

益气养血方联合西药治疗非老年成人再生障碍性贫血疗效 预测因素分析

张朝畅^{1,2}, 李芮^{1,2}, 刘健^{1,3}, 丁宇斌⁴, 王金环⁵, 刘奇峰⁶,

徐瑞荣⁷, 王海霞⁸, 邱海侠⁹, 孙岸骏¹⁰, 许勇钢¹,

杨秀鹏¹, 刘凤¹, 麻柔¹, 唐旭东^{1*}

(1. 中国中医科学院 西苑医院, 北京 100091;

2. 中国中医科学院 研究生院, 北京 100700;

3. 北京中医药大学 研究生院, 北京 100029;

4. 深圳市中医院, 广东 深圳 518033;

5. 黑龙江中医药大学 附属第一医院, 哈尔滨 150040;

6. 吉林省人民医院, 长春 130021;

7. 山东中医药大学 附属医院, 济南 250011;

8. 潍坊医学院 附属医院, 山东 潍坊 261041;

9. 廊坊市中医医院, 河北 廊坊 065000; 10. 中国中医科学院 广安门医院, 北京 100053)

[摘要] 目的:探讨益气养血方联合西药治疗非老年成人再生障碍性贫血(AA)患者疗效的预测因素,为中医益气养血方联合西药治疗非老年成人AA提供预后参考。方法:回顾性分析2018年9月至2021年3月就诊于中国中医科学院西苑医院等19家医院并采用益气养血方联合西药治疗的非老年成人AA患者的临床资料,根据治疗6个月的疗效评价结果分为有效组和无效组,分析两组患者在性别、年龄、疾病分型[非重型再障(NSAA)/重型再障(SAA)]、病程、家族史、合并症、药物过敏史、基线血常规[包括血红蛋白(HGB)、白细胞(WBC)、中性粒细胞(ANC)、血小板(PLT)及网织红细胞(Ret)]、T淋巴细胞亚群、骨髓有核细胞增生程度、T-bet及GATA-3基因指标上的差异。结果:共纳入101例非老年成人AA患者,有效组81例,无效组20例。与无效组比较,有效组无药物过敏史患者占比更高($P<0.05$);两组患者在身高、体质量、性别、年龄、分型、病程、家族史、合并症方面差异均无统计学意义。与无效组比较,有效组患者治疗前ANC、PLT水平更高($P<0.05$),有效组ANC $\geq 1.6\times 10^9$ 个/L、PLT $\geq 25\times 10^9$ 个/L的患者占比更高($P<0.05$, $P<0.01$);两组患者在WBC、HGB、Ret基线水平上无显著统计学差异。有效组患者治疗前CD3⁺HLA-DR⁺T细胞水平明显高于无效组($P<0.05$),两组患者治疗前CD3⁺CD19⁺T细胞、CD4⁺T细胞、CD8⁺T细胞、Th1细胞、Th2细胞、CD3⁺CD25⁺T细胞水平差异均无统计学意义。有效组患者治疗前骨髓有核细胞增生活跃患者占比明显高于无效组,增生减低、极度减低患者的占比明显低于无效组($P<0.05$)。两组患者治疗前T-bet、GATA-3基因表达水平差异均无统计学意义。多因素二元Logistic回归分析显示,治疗前ANC水平及药物过敏史是疗效的独立影响因素($P<0.05$, $P<0.01$),其他指标均不是疗效的影响因素。应用ROC曲线分析治疗前ANC水平对益气养血方联合西药治疗非老年成人AA的预测价值,曲线下面积为0.679($P<0.05$),以 1.595×10^9 个/L为临界值,灵敏度为0.42,特异度为0.95。结论:药物过敏史、治疗前ANC、PLT、CD3⁺HLA-DR⁺T细胞水平、骨髓有核细胞增生程度是益气养血方联合西药治疗非老年成人AA患者疗效的预测因素;无药物过敏史,治疗前ANC、PLT水平更高,尤其是ANC $\geq 1.6\times 10^9$ 个/L、PLT $\geq 25\times 10^9$ 个/L及治疗前CD3⁺HLA-DR⁺T细胞水平更高,骨髓有核细胞增生更为活跃的非老年成人AA患者运用益气养血方联合西药治疗更易起效。

[关键词] 再生障碍性贫血; 益气养血方; 中西医结合治疗; 预测因素

[中图分类号] R2-0;R22;R242;R287;R556.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2023)20-0088-11

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20232027 **[增强出版附件]** 内容详见 <http://www.syfjxzz.com> 或 <http://cnki.net>

[网络出版地址] <https://link.cnki.net/urlid/11.3495.R.20230821.1740.006>

[网络出版日期] 2023-08-22 12:08:24

[收稿日期] 2023-05-09

[基金项目] 国家中医药管理局中医药行业科研专项(201507001-13);第二批北京市研究型病房建设项目(BCRW202108)

[第一作者] 张朝畅,硕士,从事中西医结合防治血液病的临床与基础研究,E-mail:zcc_97@163.com

[通信作者] *唐旭东,博士,主任医师,博士生导师,从事中西医结合防治血液病的临床与基础研究,E-mail: tangxudong001@163.com

Analysis of Predictive Factors for Efficacy of Yiqi Yangxue Prescription Combined with Western Medicine in Treatment of Aplastic Anemia in Non-elderly Adults

ZHANG Chaochang^{1,2}, LI Rui^{1,2}, LIU Jian^{1,3}, DING Yubin⁴, WANG Jinhuan⁵, LIU Qifeng⁶,
XU Ruirong⁷, WANG Haixia⁸, DI Haixia⁹, SUN Antao¹⁰, XU Yonggang¹, YANG Xiupeng¹,
LIU Feng¹, MA Rou¹, TANG Xudong^{1*}

- (1. Xiyuan Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100091, China;
2. Graduate School, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;
3. Graduate School, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China;
4. Shenzhen Traditional Chinese Medicine (TCM) Hospital, Shenzhen 518033, China;
5. First Affiliated Hospital, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China;
6. Jilin Province People's Hospital, Changchun 130021, China;
7. The Affiliated Hospital of Shandong University of TCM, Jinan 250011, China;
8. Affiliated Hospital of Weifang Medical University, Weifang 261041, China;
9. Langfang TCM Hospital, Langfang 065000, China;
10. Guang'anmen Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100053, China)

[Abstract] Objective: To explore the predictive factors for the efficacy of Yiqi Yangxue prescription combined with western medicine in treating aplastic anemia (AA) in non-elderly adults, so as to provide a reference for predicting the prognosis of this therapy. **Method:** A retrospective study was conducted with the clinical data of non-elderly adult AA patients who visited 19 hospitals including Xiyuan Hospital of the China Academy of Chinese Medical Sciences from September 2018 to March 2021 and were treated with Yiqi Yangxue Prescription combined with western medicine. According to the efficacy evaluation results at the 6th month of treatment, the patients were assigned into effective and ineffective groups. The two groups were compared in terms of the gender, age, disease classification [non-severe aplastic anemia (NSAA)/severe aplastic anemia (SAA)], course of disease, family history, complications, history of drug allergy, baseline blood routine examination [hemoglobin (HGB), white blood cell (WBC), neutrophil (ANC), platelet (PLT), and reticulocyte (Ret)], T lymphocyte subsets, degree of proliferation of nucleated cells in bone marrow, and expression of T-bet and GATA-3. **Result:** A total of 101 non-elderly adult AA patients were enrolled in this study, including 81 in the effective group and 20 in the ineffective group. The effective group had a higher proportion of the patients without a history of drug allergy than the ineffective group ($P<0.05$). The body height, body weight, gender, age, disease classification, course of disease, family history, and complications showed no significant differences between two groups. The effective group had higher levels of ANC and PLT before treatment ($P<0.05$) and higher proportion of patients with $ANC\geq 1.6\times 10^9/L$ and $PLT\geq 25\times 10^9/L$ ($P<0.05$, $P<0.01$) than the ineffective group. The baseline levels of WBC, HGB, and Ret showed no significant statistical differences between two groups. The levels of $CD3^+HLA-DR^+$ T cells in the effective group before treatment was higher than that in the ineffective group ($P<0.05$). The levels of $CD3^+CD19^+$ T cells, $CD4^+$ T cells, $CD8^+$ T cells, Th1 cells, Th2 cells, and $CD3^+CD25^+$ T cells showed no significant statistical differences between two groups before treatment. The proportion of patients with active bone marrow nucleated cells proliferation in the effective group before treatment were significantly higher than that in the ineffective group, while the proportion of patients with reduced or extremely reduced proliferation were significantly lower than that in the ineffective group ($P<0.05$). The expression levels of T-bet and GATA-3 genes had no significant differences between two

groups before treatment. The multivariate binary logistic regression analysis showed that the ANC level before treatment and history of drug allergy were independent influencing factors for efficacy ($P<0.05$, $P<0.01$), while other indicators were not influencing factors for efficacy. The receiver operating characteristic (ROC) curve was applied to analyze the predictive value of the ANC level before treatment in the treatment of AA in non-elderly adults with Yiqi Yangxue prescription combined with western medicine. The area under the curve was 0.679 ($P<0.05$), with the critical value of $1.595\times 10^9/L$, the sensitivity of 0.42, and the specificity of 0.95. **Conclusion:** The history of drug allergy, pre-treatment ANC, PLT, $CD3^+HLA-DR^+$ T cell levels, and proliferation of nucleated cells in bone marrow before treatment are predictive factors for the efficacy of Yiqi Yangxue prescription combined with western medicine in treating AA in non-elderly adults. This therapy tends to be more effective for the patients with no history of drug allergy, higher ANC and PLT levels before treatment, especially those with $ANC\geq 1.6\times 10^9/L$, $PLT\geq 25\times 10^9/L$, and higher $CD3^+HLA-DR^+$ T cell levels and the more active proliferation of nucleated cells in bone marrow before treatment.

[Keywords] aplastic anemia; Yiqi Yangxue prescription; treatment with integrated traditional Chinese and western medicine; predictive factors

再生障碍性贫血简称再障(AA),是一种以全血细胞减少及其所导致的贫血、感染、出血为主要临床表现的骨髓造血功能衰竭综合征,可分为重型再障(SAA)和非重型再障(NSAA)。目前认为多种机制参与了AA发生,以T淋巴细胞为主的免疫异常在AA发病机制中占有更为重要的地位。AA在各年龄段均可发病,我国的发病率为0.74/10万^[1],明显高于欧洲,提示其发病率在世界范围内存在明显地域差异^[2-3]。现代医学对于SAA和NSAA治疗方案的选择有所不同,HLA相合同胞供者造血干细胞移植(MSD-HSCT)是年轻SAA患者的首选治疗,对于不符合适应证的SAA及NSAA患者,则采用马抗淋巴细胞球蛋白(ATG)联合环孢素A(CsA)的标准一线免疫抑制治疗(IST)方案^[4]。另外,雄激素、血小板生成素受体激动剂(TPO-RA)等在AA的临床治疗中也扮演着重要的角色。

研究表明,中西医结合治疗AA有着显著的临床疗效且安全性良好^[5-6]。唐旭东等^[7-9]对补肾中药联合西药治疗AA的疗效预测指标做了一些探索,但是益气养血法作为AA临床常用的重要治法之一,益气养血法联合西药治疗AA的疗效预测因素尚不清楚。同时,儿童AA与成人AA有所不同^[10]且对IST的反应率高于成人^[11],而在成人患者中,老年AA患者的治疗较年轻患者更为复杂,结局也会更差,同时更加注重生活质量的提高^[4]。鉴于儿童和老年AA的特殊性,本文对益气养血方(由元代《瑞竹堂经验方》所载方剂八珍汤化裁而来)联合西药治疗非老年成人AA的基线临床特征进行分析,探讨益气养血方联合西药治疗非老年成人AA疗效

的预测因素,为中医益气养血法联合西药治疗此类患者提供预后参考。

1 资料与方法

1.1 临床资料 本研究为回顾性研究,研究数据来源于一项多中心、前瞻性、双盲、随机对照临床试验(中国临床试验注册中心注册号ChiCTR-OOC-16009834,经中国中医科学院西苑医院伦理委员会批准,伦理审查批件号2018XLA036-3)。由中国中医科学院西苑医院牵头,包括中国中医科学院广安门医院、北京中医药大学东直门医院、北京中医药大学东方医院、吉林省人民医院、山东中医药大学附属医院、天津中医药大学第一附属医院、上海中医药大学附属岳阳中西医结合医院、上海市中医医院、浙江中医药大学附属第一医院、黑龙江中医药大学附属第一医院、湖南中医药大学第一附属医院、河北省沧州中西医结合医院、廊坊市中医医院、石家庄平安医院、潍坊医学院附属医院、甘肃中医药大学第一附属医院、贵州中医药大学第二附属医院、河南中医药大学第一附属医院共19家单位共同完成,所有入组患者均签署知情同意书。

益气养血组共入组191例患者,运用益气养血方联合基础西药治疗6个月后评价疗效,观察期结束因脱落、失访等原因剔除27例,共164患者完成治疗。本研究为分析益气养血方联合西药治疗非老年成人AA患者疗效的预测因素,故排除年龄 <18 岁及年龄 ≥ 60 岁患者40例、数据资料不全影响分析者13例,共纳入非老年成人AA患者101例。男性57例,女性44例,中位年龄35岁。NSAA患者95例,SAA患者6例;病程 <6 月的患者22例,病程 $\geq$

6月且<12月的患者8例,病程≥12月的患者71例。有AA家族史患者3例,无家族史患者98例;有合并症患者22例,无合并症患者79例;有药物过敏史患者10例,无药物过敏史患者91例;骨髓有核细胞增生程度活跃、减低、极度减低患者分别为27例、57例、17例。详细一般资料情况见增强出版附加材料。

根据治疗6个月疗效分为有效组81例(基本治愈1例、缓解5例、明显进步75例),无效组20例。分析两组基线临床特征差异,包括性别、年龄、疾病类型(NSAA/SAA)、病程、家族史、合并症、药物过敏史、基线血常规[血红蛋白(HGB)、白细胞(WBC)、中性粒细胞(ANC)、血小板(PLT)及网织红细胞(Ret)]、T淋巴细胞亚群、骨髓有核细胞增生程度、T-bet及GATA-3基因,探讨益气养血方联合西药治疗非老年成人AA患者疗效的预测因素。

1.2 诊断标准

1.2.1 西医诊断标准 参照《血液病诊断及疗效标准(第四版)》^[12],诊断标准(包括NSAA及SAA)如下,①具有贫血、出血、感染等临床表现;②一般无肝、脾大;③全血细胞减少,网织红细胞百分数减低,淋巴细胞比例增高;④骨髓穿刺示:多部位增生减低或重度减低,淋巴细胞、浆细胞等非造血细胞比例升高,造血细胞减少,骨髓小粒空虚;⑤骨髓活检示:脂肪组织和(或)非造血细胞增多,造血组织减少;⑥除外其他可引起全血细胞减少的疾病。

1.2.2 中医证候标准 参照参照《中药新药临床研究指导原则(试行)》^[13]及中医虚证辨证参考标准^[14],气血两虚证主证为神疲乏力,少气懒言,面色苍白或萎黄,头晕目眩,心悸;次证为自汗,动则加剧,口唇、爪甲色淡,健忘,失眠;舌脉特点为舌淡胖或有齿痕,苔薄白,脉虚细无力。具备2项主证、1项次证,结合舌脉特点,即可辨为气血两虚证。

1.3 纳入标准 符合AA诊断标准;同时满足气虚两虚证的中医证候标准;年龄≥18岁且<60岁;肝肾功能正常;未参加其他临床研究;签署知情同意书。

1.4 排除标准 阵发性睡眠性血红蛋白尿症(PNH)、范科尼贫血、免疫相关性全血细胞减少症、Evans综合征等可引起全血细胞减少的其他疾病;先天性AA;年龄<18岁的未成年患者及年龄≥60岁的老年患者;合并严重心、脑、肝、肾疾病及精神病患者;妊娠期及哺乳期妇女。

1.5 脱落与剔除标准 由于主、客观原因,未根据规定服药,或资料不全影响疗效判定者;治疗过程

中转骨髓增生异常综合征、再生障碍性贫血-阵发性睡眠性血红蛋白尿(AA-PNH)综合征者;治疗过程中出现严重不良反应,如严重脏器功能不全,无法继续观察者;对试验药物过敏等无法耐受实验者;中途自动退出实验者。

1.6 治疗方法

1.6.1 中药治疗 中药治疗予益气养血方免煎速溶颗粒(由北京康仁堂药业有限公司生产,制剂生产符合《药品生产质量管理规范》要求,药品经检验合格并提供检验报告书),方药组成:党参20g(批号18017831)、茯苓20g(批号18016081)、炒白术20g(批号18013881)、生地黄25g(批号18009921)、白芍20g(批号18018102)、当归20g(批号18008431)、川芎10g(批号18002611)、炙甘草15g(批号18015741)。以上中药颗粒每日1剂,早晚各1次温开水冲服。

1.6.2 基础西药治疗 参照英国血液学标准委员会2016年修订的再生障碍性贫血诊断治疗指南^[4]。

①雄激素,司坦唑醇片(广西南宁百会药业集团有限公司,国药准字H45020728,2mg/片),2~4mg/次,每日3次,饭后口服;或十一酸睾酮软胶囊(荷兰N.V.ORGANON公司,批准文号H20140962,40mg/粒),40~80mg/次,每日3次,饭后口服。②免疫抑制剂,环孢素A软胶囊(杭州中美华东制药有限公司,国药准字H10960121,25mg/粒),常用剂量为100~125mg/次,每日2次,饭后口服,血药浓度维持在100~250 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$;兔抗人胸腺细胞免疫球蛋白(法国Genzyme Polyclonals S.A.S.公司,国药准字J20150136,5mL:25mg),适用于SAA,2.5~3.5 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$,连用5d;或抗人T细胞猪免疫球蛋白(武汉中生毓晋生物医药有限责任公司,国药准字S10830001,5mL/250mg)20~30 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$,连用5d。

1.6.3 支持治疗 ①贫血:HGB<60 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 及HGB<80 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的高龄患者贫血症状较为明显,可予红细胞悬液输注;②出血:PLT<10 $\times 10^9$ 个/L、有明显出血症状者或PLT>10 $\times 10^9$ 个/L、存在出血危险因素(如应用ATG或并发感染),可予单采PLT输注;③感染:根据感染性质、部位及严重程度,及时给予有效抗感染药物治疗。

连续应用3个月为1疗程,连续观察2个疗程,每月末进行随访。

1.7 观察指标

1.7.1 治疗相关指标 ①治疗前后血常规检测,分

别采集患者用药前后的空腹静脉血样本,采用XE-2100+ SP-1000i型全自动血细胞分析仪(日本Sysmex公司)检测并观察用药前后WBC、ANC、HGB、PLT、Ret计数变化。②骨髓细胞形态学检查,采集患者用药前后的骨髓血样本,观察骨髓有核细胞增生程度(极度减低、减低、活跃、明显活跃、极度活跃),判断骨髓造血功能有无改善。③T淋巴细胞亚群检测,采集患者用药前后空腹静脉血样本,检测患者用药前后T淋巴细胞亚群变化,检测任务由天津见康华美医学诊断技术有限公司承担(BC Navios流式细胞分析系统,美国Beckman Coulter公司),包括总T淋巴细胞、辅助T细胞1型(Th1细胞)、辅助T细胞2型(Th2细胞)、CD4⁺T细胞、CD8⁺T细胞、CD3⁺HLA-DR⁺T细胞、CD3⁺CD25⁺T细胞;采用荧光标记抗体为CD4-ECD、CD25-PE、CD3-FITC(美国Beckman Coulter公司,货号分别为6604727、A07774、A07746),CD196-PE-Cy7、CD183-APC(美国BD公司,货号分别为560620、550967),CD19-BV421、CD8-A700(美国Bio Legend公司,货号分别为302234、344724),HLA-DR-APC-Cy7、CD45-QB500(北京旷博生物技术股份有限公司,货号分别为Z6410081、A6015V32)。④T-bet、GATA-3基因表达水平检测,采集患者用药前后空腹静脉血样本,由天津见康华美医学诊断技术有限公司承担检测任务。提取患者样本中单个核细胞总RNA后,将其反转录为cDNA;采用美国Applied Biosystems公司生产的ABI 7500型实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)仪,运用TaqMan探针法定量检测样本中目的基因和内参基因ABL的拷贝数;ABL拷贝数 $>10 \times 10^4$ 则为合格;定量检测结果采用目的基因与内参基因拷贝数的比值(%)表示。试剂TaqMan Gene Expression Master Mix(批号91239275),美国Applied Biosystems公司;T-bet,包括T-bet-P(批号S9073003691T)、T-bet-F(批号S9073003692T)、T-bet-R(批号S9073003690T),美国Genewiz公司;GATA-3,包括GATA-3-P(批号S9073003694T)、GATA-3-F(批号S9073003695T)、GATA-3-R(批号S9073003693T),美国Genewiz公司;ABL: ENF1003、ENR1063、ENPr1043/ABL($10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$,美国Invitrogen公司,批号HG2205069025)。

1.7.2 不良反应指标 ①肝、肾功能检查,采用Cobas8000型生化分析仪(瑞士罗氏公司)每月监测患者肝、肾功能有无异常,包括丙氨酸氨基转移酶、

天冬氨酸氨基转移酶、肌酐、尿素氮等指标。②心电图检查,采用MAC1200ST型心电图机(美国GE公司)在服药前后分别对患者进行心电图检查,观察有无异常。③尿常规检查,采用UF-1000i型全自动尿液有形成分分析仪(日本Sysmex公司)+AX-4030型全自动尿液分析仪(日本Arkray公司)检测患者治疗前后尿常规有无异常。

1.8 疗效判定标准 参照《血液病诊断及疗效标准(第四版)》^[12],在治疗6个月末对患者进行疗效评价。基本治愈:贫血和出血症状消失,HGB男性达 $120 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、女性达 $110 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$,ANC $>1.5 \times 10^9$ 个/L,PLT $>100 \times 10^9$ 个/L,随访1年以上未复发。缓解:贫血和出血症状消失,HGB男性达 $120 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、女性达 $110 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$,WBC达 3.5×10^9 个/L左右,PLT有一定程度增加,随访3个月病情稳定或继续进步。明显进步:贫血和出血症状明显好转,不输血,HGB较治疗前1个月内常见值增长 $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 以上,并能维持3个月。判定以上三项疗效标准均应3个月内不输血。无效:治疗后临床症状、血常规未达明显进步。基本治愈、缓解、明显进步者判定为有效。

1.9 统计学方法 符合正态分布分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 t 检验,不符合正态分布的计量资料以中位数(P_{25}, P_{75})表示,采用Mann-Whitney U 检验;等级资料亦采用Mann-Whitney U 检验;计数资料以例数(%)表示,采用 χ^2 检验或Fisher确切概率法。应用多因素二元Logistic回归筛选益气养血方联合西药治疗非老年成人AA有效的独立影响因素;应用Graphpad Prism 9.3绘制受试者工作特征曲线(ROC曲线)分析治疗前ANC水平对益气养血方联合西药治疗非老年成人AA疗效的预测价值。 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者一般资料比较 与无效组患者比较,益气养血方联合西药治疗有效组无药物过敏史患者占比更高($P < 0.05$),提示无药物过敏史的非老年成人AA患者运用益气养血方联合西药治疗更容易起效。两组患者在身高、体质量、性别、年龄、分型、病程、家族史、合并症方面差异均无统计学意义。见表1。

2.2 两组患者基线血象水平比较 与无效组患者比较,益气养血方联合西药治疗有效组患者治疗前ANC、PLT水平更高($P < 0.05$),提示治疗前ANC、PLT水平更高的非老年成人AA患者运用益气养血方联合西药治疗更易起效。两组患者在治疗前WBC、HGB、Ret基线水平上差异无统计学意义。见

表1 两组患者一般资料比较

Table 1 Comparison of general data between two groups

组别	例数	身高($\bar{x}\pm s$)/cm	体质量 [$M(P_{25}, P_{75})$]/kg	性别 /男/女	年龄 [$M(P_{25}, P_{75})$]/岁	病程/例(%)		
						<6月	≥6月<12月	≥12月
有效组	81	168.92±8.03	67(56, 76)	46/35	36(30, 48)	18(22.22)	6(7.41)	57(70.37)
无效组	20	166.75±6.70	65(55, 71.5)	11/9	31.5(26.25, 41.25)	4(20.00)	2(10.00)	14(70.00)
组别	例数	分型/例(%)		家族史/例(%)		合并症/例(%)		药物过敏史/例(%)
		SAA	NSAA	有	无	有	无	有
有效组	81	5(6.17)	76(93.83)	2(2.47)	79(97.53)	16(19.75)	65(80.25)	5(6.17) ¹⁾
无效组	20	1(5.00)	19(95.00)	1(5.00)	19(95.00)	6(30.00)	14(70.00)	5(25.00)

注:与无效组比较¹⁾ $P<0.05$ (表2、表4、表5同)

表2。根据治疗前ANC、PLT水平,将两组患者分为ANC<1.6×10⁹个/L、ANC≥1.6×10⁹个/L组及PLT<25×10⁹个/L、PLT≥25×10⁹个/L组,分别进行 χ^2 检验,发现有效组治疗前ANC≥1.6×10⁹个/L及PLT≥

25×10⁹个/L的患者占比更高($P<0.05$, $P<0.01$),由此看出,治疗前ANC≥1.6×10⁹个/L及PLT≥25×10⁹个/L的非老年成人AA患者运用益气养血方联合西药治疗更易起效。见表3。

表2 两组患者基线血象水平比较 [$M(P_{25}, P_{75})$]

Table 2 Comparison of baseline blood image levels between two groups [$M(P_{25}, P_{75})$]

组别	例数	WBC ($\times 10^9$)/个/L	ANC ($\times 10^9$)/个/L	HGB/g·L ⁻¹	PLT ($\times 10^9$)/个/L	Ret($\bar{x}\pm s$)/%
有效组	81	2.84(1.93, 4.20)	1.29(0.76, 2.14) ¹⁾	74.00(61.00, 110.50)	33.00(13.50, 68.50) ¹⁾	0.46±0.23
无效组	20	2.30(1.63, 3.46)	0.85(0.62, 1.30)	69.00(59.25, 90.00)	16.00(8.50, 28.00)	0.40±0.24

表3 两组患者治疗前ANC、PLT水平比较

Table 3 Comparison of ANC, PLT levels between two groups before treatment

组别	例数	ANC		PLT	
		ANC<1.6×10 ⁹ 个/L	ANC≥1.6×10 ⁹ 个/L	PLT<25×10 ⁹ 个/L	PLT≥25×10 ⁹ 个/L
有效组	81	47(58.02) ²⁾	34(41.98) ²⁾	31(38.27) ¹⁾	50(61.73) ¹⁾
无效组	20	19(95.00)	1(5.00)	14(70.00)	6(30.00)

注:与无效组比较¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$

2.3 两组患者治疗前T细胞亚群水平比较 对两组

患者治疗前CD3⁺CD19⁻T细胞、CD4⁺T细胞、CD8⁺T细胞、Th1细胞、Th2细胞、CD3⁺HLA-DR⁺T细胞及CD3⁺CD25⁺T细胞水平分析表明,益气养血方联合西药治疗有效组患者治疗前CD3⁺HLA-DR⁺T细胞水平明显高于无效组($P<0.05$),提示治疗前CD3⁺HLA-DR⁺T细胞更高的非老年成人AA患者运用益气养血方联合西药治疗更易起效。两组患者治疗前CD3⁺CD19⁻T细胞、CD4⁺T细胞、CD8⁺T细胞、Th1细胞、Th2细胞、CD3⁺CD25⁺T细胞水平差异均无统计学意义。见表4。

表4 两组患者治疗前T淋巴细胞亚群水平比较 [$M(P_{25}, P_{75})$]

Table 4 Comparison of T lymphocyte subsets between two groups before treatment [$M(P_{25}, P_{75})$]

组别	例数	CD3 ⁺ CD19 ⁻ T细胞/%	Th1细胞/%	Th2细胞($\bar{x}\pm s$)/%	CD4 ⁺ T细胞/%	CD8 ⁺ T细胞($\bar{x}\pm s$)/%	CD3 ⁺ HLA-DR ⁺ T细胞/%	CD3 ⁺ CD25 ⁺ T细胞/%
有效组	81	76.94(70.62, 83.33)	13.24(9.60, 16.62)	18.91±8.30	35.34(25.04, 43.08)	30.04±16.19	12.18(5.22, 21.77) ¹⁾	3.93(2.20, 6.65)
无效组	20	80.13(72.08, 85.78)	11.67(10.04, 14.27)	19.05±9.44	33.61(2.20, 43.61)	28.82±16.95	7.49(4.63, 10.25)	3.44(2.57, 6.11)

2.4 两组患者治疗前骨髓有核细胞增生程度比较

对两组患者治疗前的骨髓有核细胞增生程度分析显示,有效组患者治疗前骨髓有核细胞增生活跃患者占比明显高于无效组,而增生减低、极度减低患者的占比明显低于无效组($P<0.05$),提示治疗前

骨髓增生更为活跃的非老年成人AA患者运用益气养血方联合西药治疗更易起效。见表5。

2.5 两组患者治疗前T-bet、GATA-3基因表达水平比较 对两组患者治疗前T-bet、GATA-3基因表达水平分析显示,两组患者治疗前T-bet、GATA-3基因

表5 两组患者治疗前骨髓有核细胞增生程度比较

Table 5 Comparison of degree of bone marrow nucleated cells proliferation before treatment between two groups 例(%)

组别	例数	活跃	减低	极度减低
有效组	81	25(30.86) ¹⁾	45(55.56) ¹⁾	11(13.58) ¹⁾
无效组	20	2(10.00)	12(60.00)	6(30.00)

表达水平差异无统计学意义。见表6。

表6 两组患者治疗前 T-bet、GATA-3 基因表达水平比较 [M(P₂₅, P₇₅)]

Table 6 Comparison of T-bet and GATA-3 gene expression levels between two groups before treatment [M(P₂₅, P₇₅)]

组别	例数	T-bet/%	GATA-3/%
有效组	81	74.92(52.82, 149.52)	37.78(20.40, 49.91)
无效组	20	77.66(48.67, 147.51)	40.64(29.81, 60.82)

2.6 益气养血方联合西药治疗非老年成人AA疗效影响因素的多因素二元 Logistic 回归分析 以患者治疗前指标为自变量,包括年龄、药物过敏史(无0,有1)、WBC、ANC、PLT、骨髓有核细胞增生程度(减低及极度减低0,活跃1),以疗效为因变量(无效0,有效1),建立多因素二元 Logistic 回归模型,经 Hosmer-Lemeshow 检验,模型拟合状况良好,预测总体准确度为85.1%。结果显示,治疗前ANC水平及药物过敏史是益气养血方联合西药治疗非老年成人AA疗效的独立影响因素,治疗前ANC水平每提升1个单位,运用益气养血方联合西药治疗非老年成人AA有效的可能性增加4.517倍;同时,无药物过敏史作为治疗有效的保护因素,提示无药物过敏史的非老年成人AA患者运用益气养血方联合西药治疗更易起效。两组患者疗效影响因素的多因素二元 Logistic 回归分析结果见增强出版附加材料。

2.7 治疗前ANC水平对益气养血方联合西药治疗非老年成人AA疗效的预测价值 应用ROC曲线分析治疗前ANC水平对益气养血方联合西药治疗非老年成人AA疗效的预测价值,结果显示AUC=0.679(P<0.05)。根据约登指数计算出临界值为1.595×10⁹个/L,灵敏度为0.42,特异度为0.95,与上文χ²检验结果基本一致,更反映出预测的准确性。故认为治疗前ANC≥1.6×10⁹个/L的非老年成人AA患者运用益气养血方联合西药治疗更易起效。ANC预测价值的ROC曲线图见增强出版附加材料。

3 讨论

现代医学认为,AA的发生是多种机制共同作用的结果,包括免疫异常、造血干/祖细胞(HSPC)缺陷、造血微环境异常及某些遗传学异常。目前认为,免疫异常在AA的发生中扮演着更为重要的角色,T淋巴细胞免疫亢进介导的HSPC损伤导致骨髓衰竭是其最主要的发生机制^[1, 15-16]。有研究发现,AA患者CD3基因表达上调,提示T细胞可能在外周处于持续的信号刺激中,从而导致T细胞的异常活化^[17]。AA患者CD4⁺/CD8⁺T细胞比例降低,骨髓和外周血CD8⁺T淋巴细胞比例增加,未经治疗的AA患者的CD8⁺HLA-DR⁺T细胞(活化的细胞毒性T淋巴细胞)比例及细胞中穿孔素、颗粒酶B、肿瘤坏死因子(TNF)-β和Fas配体(FasL)表达增加并可增强正常人CD3⁺骨髓细胞的凋亡^[18-19]。另外,AA患者也存在包括Th1、Th2、调节性T细胞(Treg)、辅助T细胞(Th)17在内的CD4⁺T细胞数量及功能的异常^[20]。CD4⁺T细胞向不同谱系分化受到多种细胞因子的调控,干扰素(IFN)-γ、白细胞介素(IL)-2等主要由Th1细胞分泌,可促进Th1细胞增殖并抑制Th2细胞增殖;IL-4、IL-10等主要由Th2细胞分泌,可促进Th2细胞增殖并抑制Th1细胞增殖。AA患者Th1细胞、Th1/Th2及Th1型造血负调控细胞因子IFN-γ显著升高且与疾病严重程度相关,表明Th1/Th2失衡、Th1偏移在AA的发生发展中具有重要意义^[21]。调节性T细胞(Treg)是抑制机体免疫应答的重要细胞,可抑制自身反应性T细胞介导的病理性免疫应答,AA患者存在Treg数量减少^[22],迁移能力受损、免疫抑制功能缺陷,进而导致自身反应性效应T细胞对骨髓造血细胞的破坏^[23]。Th17细胞可分泌IL-17、IL-22等多种细胞因子参与免疫病理损伤,AA患者Th17细胞增多,骨髓衰竭模型小鼠抗IL-17治疗后骨髓细胞总数、血小板数上升,骨髓衰竭程度降低,Treg上调和Th17细胞降低,说明Th17免疫反应参与了AA的病理过程^[24]。研究表明,AA患者对IST的反应是免疫致病机制的最佳证据,大多数患者应用ATG及CsA治疗后可出现血液学改善^[25]。故马ATG联合CsA是本病非移植治疗标准的一线IST方案^[4]。据报道,ATG联合CsA的方案治疗AA6个月的血液学反应率在70%左右,但仍有部分患者复发或发生克隆演变^[26]。近年来,在标准IST基础上加用TPO-RA的方案使AA的治疗取得了一定进展,但在进一步提高有效率、减少复发方面仍须继续探索。

中医古籍并无“再生障碍性贫血”或“再障”病名的明确记载,根据其临床表现及特点,属中医学“血证”“血虚”“虚劳”“虚损”等范畴。现代中医血液病专家对AA的中医病名已经达成了共识,依据病位、病情及病性,将其命名为“髓劳”,“髓”代表病位在骨髓,“劳”代表病性为虚损性疾病^[27-28]。《诸病源候论·虚劳病诸候》云:“夫虚劳者,五劳、六极、七伤是也。”中医学认为,本病的发生涉及七情内伤、劳逸失度、外感六淫、邪毒等诸多致病因素,与肝、心、脾、肾等脏有关。《黄帝内经·素问·阴阳应象大论》云:“肾生骨髓”。《类证治裁·虚损劳瘵论治》云:“凡虚损症,多起于脾胃”,由此看出,AA的发生主要责之于脾肾。脾胃为后天之本,气血化生之源,《黄帝内经·灵枢·决气》云:“中焦受气取汁,变化而赤,是谓血。”《四圣心源·六气解·六气偏见》云:“血藏于肝而化于脾”,脾胃之气充足、功能健运,则气血化生有源,身体强健,正如《景岳全书·杂证谟·血证》所言:“气全则神王”“血盛则形强”。临床实践中,AA患者往往表现出神疲乏力、气短懒言、面色苍白、头晕、心悸等气血亏虚之象,因此,益气养血法为AA中医治疗中不可或缺的重要治法。本研究所用益气养血方由元代《瑞竹堂经验方》所载方剂八珍汤化裁而来,方中以党参、生地黄为君药,党参健脾益气、补气生血,生地滋阴养血;白术补气健脾,当归养血补血,共为臣药;佐以茯苓健脾养心,白芍敛阴养血和营,川芎活血兼可行气,令瘀血去而新血得生,并可使诸药补而不滞;炙甘草益气和中,兼能调和诸药,用以为使。诸药合用,共奏补脾益气、生血养血之功。现代药理研究发现,党参所含多糖成分可促进血细胞生长发育,增强骨髓造血功能,对免疫功能具有调节作用^[29],还能通过增加能量来源、减少有害代谢产物积累、提高抗氧化活性从而增强抗疲劳和抗缺氧能力^[30]。白术^[31]、茯苓^[32]、炙甘草^[33]均具有调节免疫、抗炎、保肝等药理作用。中药地黄、白芍、当归、川芎通过激活PI3K/Akt/FoxO信号通路,下调Bim基因表达,抑制小鼠骨髓基质细胞凋亡,从而改善骨髓造血微环境,发挥补血作用^[34]。

临床研究证实,益气养血方联合基础西药治疗后AA患者外周血WBC、红细胞(RBC)、HGB、PLT均显著提高,Th1/Th2降低,T-bet水平降低,GATA-3水平升高,患者免疫紊乱明显改善,从而发挥对骨髓造血功能的正向调控作用^[35]。本课题组既往研究显示,益气养血方联合西药治疗AA的有效率为

79.9%(131/164)^[36],临床疗效良好。本文通过分析益气养血方联合基础西药治疗非老年成人AA有效和无效患者治疗前的临床特征,探讨益气养血方联合西药治疗非老年成人AA患者疗效的预测因素。结果显示,有效组和无效组患者在身高、体质量、性别、年龄、分型、病程、家族史、合并症方面无显著统计学差异。既往研究表明,年龄较小的患者对IST的反应率较高,尤其是对<40岁的患者而言^[37-38],提示AA患者对IST的反应与年龄有关。然而,本研究在益气养血方联合西药治疗非老年成人AA的疗效上未发现显著的年龄差异,可能因为本研究仅纳入了非老年成人患者,而没有纳入儿童及老年患者。LIU等^[39]发现,无论使用ATG还是ALG联合CsA的方案,诊断与治疗的间隔时间<30 d的SAA患者在治疗12个月后的总体反应率均明显高于≥30 d的患者。本研究对益气养血方联合西药治疗非老年成人有效和无效AA患者在病程方面未发现显著差异,可能因为本研究纳入的患者病程普遍较长且大多数为NSAA患者,且观察时间为6个月而非12个月。然而,本研究发现药物过敏史无论在单因素分析还是多因素二元Logistic回归分析中均是疗效的影响因素,无药物过敏史的非老年成人AA患者运用益气养血方联合西药治疗更容易起效,其具体原因有待进一步探究。

研究表明,治疗前ANC水平可作为AA患者对IST反应的预测因素^[38, 40],本研究得出了类似的结果。本研究发现,治疗前ANC水平无论在单因素分析还是多因素二元Logistic回归分析中均是益气养血方联合西药治疗非老年成人AA疗效的影响因素。单因素分析显示,有效组患者治疗前ANC水平明显高于无效组且有效组治疗前ANC≥ 1.6×10^9 个/L的患者占比明显高于无效组。多因素二元Logistic回归分析显示,治疗前ANC水平是益气养血方联合西药治疗非老年成人AA疗效的独立影响因素,治疗前ANC水平每提升1个单位,运用益气养血方联合西药治疗非老年成人AA有效的可能性增加4.517倍;利用ROC曲线进一步分析治疗前ANC水平对疗效的预测价值,根据约登指数计算出临界值为 1.595×10^9 个/L,灵敏度为0.42,特异度为0.95,与单因素分析的结果基本一致。因此,笔者认为治疗前ANC≥ 1.6×10^9 个/L的非老年成人患者运用益气养血方联合西药治疗更易起效。BODDU等^[41]发现,基线PLT计数可以预测IST 3个月的反应率。本研究发现,治疗前PLT水平更高的非老年成人患者,

尤其是 $PLT \geq 25 \times 10^9$ 个/L 的患者,运用本治法治疗6个月更易起效,但是在多因素分析中未发现其与疗效显著的相关性。因此,笔者认为治疗前 PLT 水平可作为益气养血方联合西药治疗非老年成人AA有效的预测因素,但对AA患者中西医结合治疗的早期疗效具有更强的预测意义,本课题组前期的研究证明了这一点^[42]。AFABLE等^[43]发现,治疗前Ret绝对计数可以预测SAA患者对IST的反应率,Ret $>30 \times 10^9$ 个/L的患者对IST具有更高的反应率。本研究显示两组患者在Ret这一指标上无显著差异,可能与本研究同时纳入了SAA和NSAA患者而且采用Ret百分比而非绝对计数进行分析有关。

HLA-DR是主要组织相容性复合体(MHC) II类分子,为T细胞活化的晚期标志,HLA-DR⁺细胞主要为活化的抑制性T细胞,可分泌大量负性造血调控因子,抑制骨髓正常造血^[44-45]。唐旭东等^[46]发现,AA患者外周血CD3⁺HLA-DR⁺T细胞水平明显升高,这也再次证实T细胞免疫紊乱是AA发生的重要机制之一。本研究发现,CD3⁺HLA-DR⁺T细胞更高的非老年成人AA患者运用益气养血方联合西药治疗更易起效,据此,推测益气养血方对AA患者的免疫紊乱状态具有较好的调节作用,但尚需进一步实验研究证实。本研究显示骨髓有核细胞增生更为活跃的非老年成人AA患者运用益气养血方联合西药治疗更易起效,可能与骨髓增生更为活跃的患者残存造血细胞较多、骨髓损伤较轻有关。转录因子T-bet、GATA-3分别调控CD4⁺T细胞向Th1、Th2方向发育分化,AA患者转录因子T-bet表达增加,GATA-3表达降低,同时Th1细胞比例升高、Th2细胞比例降低,Th1/Th2失衡^[47-48],在AA的发生发展中占有重要地位。本课题组既往研究显示,治疗前T-bet水平可作为补肾中药联合基础西药治疗AA早期起效的预测指标,治疗前T-bet水平较高的患者起效更快^[42]。本研究分析了运用益气养血中药联合基础西药治疗有效和无效患者治疗前的T-bet水平,两组患者治疗前T-bet表达水平无显著统计学差异,可能与治疗方法及纳入患者群体不完全相同有关,故尚不能认为治疗前T-bet水平可作为益气养血方联合基础西药治疗非老年成人AA患者有效的预测因素。AA患者血浆IFN- γ 水平显著升高^[49],IFN- γ 可通过Fas/FasL途径诱导CD34⁺细胞凋亡,在体外减少人造血祖细胞集落形成^[20]。有研究表明,治疗前IFN- γ 水平升高的患者运用IST治疗有效率更高^[50]。本研究未纳入这一指标,其是否可作为益气

养血方联合西药治疗非老年成人AA疗效的预测指标尚不清楚,是本研究的不足之处。

综上,药物过敏史、治疗前ANC、PLT、CD3⁺HLA-DR⁺T细胞水平、骨髓有核细胞增生程度是益气养血方联合西药治疗非老年成人AA患者疗效的预测因素;无药物过敏史,治疗前ANC、PLT水平更高,尤其是ANC $\geq 1.6 \times 10^9$ 个/L、PLT $\geq 25 \times 10^9$ 个/L及治疗前CD3⁺HLA-DR⁺T细胞水平更高,骨髓有核细胞增生更为活跃的非老年成人AA患者运用益气养血方联合西药治疗更易起效。未来,还需要进一步扩大样本量、纳入更多指标探究益气养血方联合西药治疗此类患者疗效的预测因素,以期更好地指导非老年成人AA患者的临床诊疗及预后。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[致谢] (按姓氏笔画排序):

丁晓庆(北京中医药大学东方医院)

王文儒(北京中医药大学东方医院)

王涛(河南中医药大学第一附属医院)

毛悦(北京中医药大学研究生院)

申小惠(甘肃中医药大学第一附属医院)

史哲新(天津中医药大学第一附属医院)

江劲波(湖南中医药大学第一附属医院)

许亚梅(北京中医药大学东直门医院)

李建英(石家庄平安医院)

沈建平(浙江中医药大学附属第一医院)

周永明(上海中医药大学附属岳阳中西医结合医院)

孟祥玲(河北省沧州中西医结合医院)

胡琦(上海市中医医院)

姚宇红(贵州中医药大学第二附属医院)

蒋佩珍(中国中医科学院研究生院)

靳楠(北京中医药大学研究生院)

[参考文献]

- [1] 中华医学会血液学分会红细胞疾病(贫血)学组. 再生障碍性贫血诊断与治疗中国指南(2022年版)[J]. 中华血液学杂志, 2022, (11): 881-888.
- [2] YOUNG N S, KAUFMAN D W. The epidemiology of acquired aplastic anemia [J]. Haematologica, 2008, 93(4): 489-492.
- [3] MONTANE E, IBANEZ L, VIDAL X, et al. Epidemiology of aplastic anemia: A prospective multicenter study [J]. Haematologica, 2008, 93(4): 518-523.
- [4] KILLICK S B, BOWN N, CAVENAGH J, et al. Guidelines for the diagnosis and management of adult aplastic anaemia [J]. Br J Haematol, 2016, 172(2): 187-207.

- [5] 杨丽,王素珍,王海霞. 基于倾向指数匹配法的慢性再生障碍性贫血疗效评价研究[J]. 中国卫生统计, 2020,37(4):614-616.
- [6] 冀晓红,李草旒,杨学民,等. 中西医结合治疗慢性再生障碍性贫血的临床疗效及不良反应分析[J]. 中华中医药学刊, 2016, 34(12): 3027-3029.
- [7] 唐旭东,张姗姗,许勇钢,等. T细胞亚群在重型再生障碍性贫血治疗中的疗效预测价值[J]. 中医杂志, 2013, 54(20): 1755-1758.
- [8] 唐旭东,张姗姗,麻柔,等. 补肾中药为主的中西医结合治疗再生障碍性贫血的免疫学机制及疗效预测指标探讨[J]. 中华中医药杂志, 2012, 27(4): 1101-1105.
- [9] 唐旭东,刘锋,李柳,等. 以补肾中药为主联合抗淋巴细胞球蛋白/抗胸腺细胞球蛋白治疗重型再生障碍性贫血的预测因素[J]. 世界中医药, 2018, 13(4): 813-817, 821.
- [10] HARTUNG H D, OLSON T S, BESSLER M. Acquired aplastic anemia in children [J]. *Pediatr Clin North Am*, 2013, 60(6): 1311-1336.
- [11] SCHEINBERG P, WU C O, NUNEZ O, et al. Long-term outcome of pediatric patients with severe aplastic anemia treated with antithymocyte globulin and cyclosporine [J]. *J Pediatr*, 2008, 153(6): 814-819.
- [12] 沈悌,赵永强. 血液病诊断及疗效标准(第四版)[M]. 北京:科学出版社, 2018: 18-20.
- [13] 郑筱萸. 中药新药临床研究指导原则(试行)[M]. 北京:中国医药科技出版社, 2002: 378-383.
- [14] 沈自尹,王文健. 中医虚证辨证参考标准[J]. 中西医结合杂志, 1986(10): 598.
- [15] 杨洁茹,王化泉,邵宗鸿. 再生障碍性贫血发病机制的研究进展[J]. 中华血液学杂志, 2019, 40(9): 796-800.
- [16] 刘春燕,邵宗鸿. 再生障碍性贫血发病机制研究进展[J]. 中国实用内科杂志, 2016, 36(5): 345-349.
- [17] LI B, LIU S, NIU Y, et al. Altered expression of the TCR signaling related genes CD3 and FcεR1γ in patients with aplastic anemia [J]. *J Hematol Oncol*, 2012, 5:6.
- [18] SCHOETTLER M L, NATHAN D G. The pathophysiology of acquired aplastic anemia: Current concepts revisited [J]. *Hematol Oncol Clin North Am*, 2018, 32(4): 581-594.
- [19] XING L, LIU C, FU R, et al. CD8⁺HLA-DR⁺T cells are increased in patients with severe aplastic anemia [J]. *Mol Med Rep*, 2014, 10(3): 1252-1258.
- [20] ZENG Y, KATSANIS E. The complex pathophysiology of acquired aplastic anaemia [J]. *Clin Exp Immunol*, 2015, 180(3): 361-370.
- [21] 张红霞,吴广胜,郭蔚玲. 再生障碍性贫血患者血清Th1/Th2细胞及相关细胞因子和T细胞亚群变化及意义[J]. 海南医学院学报, 2016, 22(10): 1024-1026, 1030.
- [22] SOLOMOU E E, REZVANI K, MIELKE S, et al. Deficient CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺ T regulatory cells in acquired aplastic anemia [J]. *Blood*, 2007, 110(5): 1603-1606.
- [23] SHI J, GE M, LU S, et al. Intrinsic impairment of CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells in acquired aplastic anemia [J]. *Blood*, 2012, 120(8): 1624-1632.
- [24] DE LATOUR R P, VISCONTE V, TAKAKU T, et al. Th17 immune responses contribute to the pathophysiology of aplastic anemia [J]. *Blood*, 2010, 116(20): 4175-4184.
- [25] YOUNG N S, CALADO R T, SCHEINBERG P. Current concepts in the pathophysiology and treatment of aplastic anemia [J]. *Blood*, 2006, 108(8): 2509-2519.
- [26] SCHEINBERG P, NUNEZ O, WEINSTEIN B, et al. Horse versus rabbit antithymocyte globulin in acquired aplastic anemia [J]. *N Engl J Med*, 2011, 365(5): 430-438.
- [27] 陈信义,麻柔,李冬云. 规范常见血液病中医病名建议[J]. 中国中西医结合杂志, 2009, 29(11): 1040-1041.
- [28] 蓝海,侯丽,郎海燕,等. 常见血液病的中医分类与命名[J]. 中医杂志, 2019, 60(9): 750-753, 778.
- [29] GAO S M, LIU J S, WANG M, et al. Traditional uses, phytochemistry, pharmacology and toxicology of *Codonopsis*: A review [J]. *J Ethnopharmacol*, 2018, 219: 50-70.
- [30] XIE Q, SUN Y, CAO L, et al. Antifatigue and antihypoxia activities of oligosaccharides and polysaccharides from *Codonopsis pilosula* in mice [J]. *Food Funct*, 2020, 11(7): 6352-6362.
- [31] 杜航,何文生,胡红兰,等. 白术活性成分药理作用研究进展[J]. 江苏中医药, 2022, 54(5): 76-80.
- [32] 叶青,刘东升,王兰霞,等. 茯苓化学成分、药理作用及质量控制研究进展[J]. 中医药信息, 2023, 40(2): 75-79.
- [33] 谢瑞强,王长福. 炙甘草化学成分和药理作用研究进展[J]. 中医药信息, 2023, 40(4): 84-89.
- [34] 冯伟科,胡琦,张亚楠,等. 基于PI3K-Akt-FoxO信号通路的四物汤对小鼠骨髓基质细胞凋亡的影响[J]. 时珍国医国药, 2020, 31(2): 304-307.
- [35] 杨思琦. 补肾生血法与益气养血法治疗再障的临床

- 观察及对Th1/Th2、T-bet和GATA-3的影响研究[D]. 哈尔滨:黑龙江中医药大学, 2020.
- [36] 李芮, 丁宇斌, 王文儒, 等. 补肾生血方治疗慢性再生障碍性贫血的临床疗效及对T细胞亚群、T-bet与GATA3表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28(15): 94-101.
- [37] PEFFAULT DE LATOUR R, TABRIZI R, MARCAIS A, et al. Nationwide survey on the use of horse antithymocyte globulins (ATGAM) in patients with acquired aplastic anemia: A report on behalf of the French Reference Center for Aplastic Anemia [J]. Am J Hematol, 2018, 93(5): 635-642.
- [38] SONG M K, CHUNG J S, JOO Y D, et al. Is the early cyclosporine A level predictive of the outcome of immunosuppressive therapy in severe aplastic anemia? [J]. Eur J Haematol, 2009, 83(1): 72-78.
- [39] LIU L, DING L, HAO L, et al. Efficacy of porcine antihuman lymphocyte immunoglobulin compared to rabbit antithymocyte immunoglobulin as a first-line treatment against acquired severe aplastic anemia [J]. Ann Hematol, 2015, 94(5): 729-737.
- [40] LIU J, LU X Y, CHENG L, et al. Clinical outcomes of immunosuppressive therapy for severe aplastic anemia patients with absolute neutrophil count of zero [J]. Hematology, 2019, 24(1): 492-497.
- [41] BODDU P, GARCIA-MANERO G, RAVANDI F, et al. Clinical outcomes in adult patients with aplastic anemia: A single institution experience [J]. Am J Hematol, 2017, 92(12): 1295-1302.
- [42] 张朝畅, 刘健, 王文儒, 等. 补肾生血方联合西药治疗再生障碍性贫血早期疗效预测指标[J]. 中国实验方剂学杂志, 2023, 29(14): 64-72.
- [43] AFABLE M G, SHAIK M, SUGIMOTO Y, et al. Efficacy of rabbit anti-thymocyte globulin in severe aplastic anemia [J]. Haematologica, 2011, 96(9): 1269-1275.
- [44] 唐晓文, 邵景章, 张学光, 等. 再生障碍性贫血患者外周血T细胞亚群检测[J]. 中华血液学杂志, 1997, 18(4): 205-206.
- [45] 张丽琴. 补肾生血法和益气养血法对照治疗再障的临床观察及对CD3⁺HLA-DR⁺细胞表达的影响[D]. 哈尔滨:黑龙江中医药大学, 2021.
- [46] 唐旭东, 麻柔, 刘锋, 等. 再生障碍性贫血CD3⁺CD25⁺和CD3⁺HLA-DR⁺T细胞亚群的表达与中医辨证分型的相关性研究[J]. 中国中医基础医学杂志, 2006, 12(11): 850-852.
- [47] SOLOMOU E E, KEYVANFAR K, YOUNG N S. T-bet, a Th1 transcription factor, is up-regulated in T cells from patients with aplastic anemia [J]. Blood, 2006, 107(10): 3983-3991.
- [48] 沈红石, 任传路, 陈海飞, 等. T-bet、GATA-3与T细胞亚群在再障中的相关性研究[J]. 现代生物医学进展, 2012, 12(9): 1677-1679.
- [49] DUTTA A, DE R, DOLAI T K, et al. Changes in different cytokines (IL-2, TNF- α , and IFN- γ) profile in acquired aplastic anemia patients: A study from eastern India [J]. J Pediatr Hematol Oncol, 2020, 42(3): 185-192.
- [50] 牟晓艳, 常红, 刘霆, 等. 重型再生障碍性贫血免疫抑制治疗疗效预测指标的研究[J]. 四川大学学报: 医学版, 2009, 40(5): 897-900.
- [责任编辑 张丰丰]