

# 大剂量地塞米松联合小剂量利妥昔单抗 作为二线方案治疗65例原发性 血小板减少症患者的临床观察

闫志凌 李振宇 张焕新 陈翀 李德鹏 邢伟伟  
李护君 陈伟 程海 曹江 徐开林

**【摘要】 目的** 观察大剂量地塞米松联合小剂量利妥昔单抗作为二线方案治疗原发性免疫性血小板减少症(ITP)的疗效和安全性。**方法** 65例ITP患者纳入研究,其中糖皮质激素依赖52例、糖皮质激素无效13例;男35例,女30例,中位年龄34(18~70)岁。治疗方案:地塞米松40 mg/d,第1~4天静脉滴注,利妥昔单抗100 mg,第7、14、21、28天静脉滴注。治疗前及治疗后12个月应用流式细胞术检测外周血调节性T细胞(Treg)、B淋巴细胞活化因子(BAFF)、IL-2、IL-10、可溶性白细胞分化抗原40配体(sCD40L)。**结果** 全部65例患者治疗1个月时总有效率为81.5%(53/65),第3、6、12个月时完全反应率分别为72.3%(47/65)、66.2%(43/65)、63.1%(41/65)。糖皮质激素依赖的52例患者治疗1个月时总有效率为90.3%(47/52),第3、6、12个月时完全反应率为80.8%(42/52)、76.9%(40/52)、73.1%(38/52)。治疗12个月41例完全反应患者的外周血Treg细胞水平高于治疗前[(3.01±0.95)%对(1.69±0.35)%], $P=0.032$ ],BAFF、IL-2、sCD40L均低于治疗前[(648.03±79.63)ng/L对(972.35±93.64)ng/L, $P=0.001$ ];(2.84±0.32)ng/L对(4.18±0.46)ng/L, $P=0.012$ ;(4.55±0.66)ng/L对(7.73±1.04)ng/L, $P=0.006$ ],IL-10与治疗前比较差异无统计学意义( $P=0.136$ )。所有患者均完成了治疗,不良事件发生率为52.3%(39/65)。**结论** 大剂量地塞米松联合小剂量利妥昔单抗对常规剂量糖皮质激素治疗无效或依赖的患者仍有较高的反应率,不良反应发生率可接受。

**【关键词】** 血小板减少; 地塞米松; 利妥昔单抗; 治疗结果; T淋巴细胞,调节性

**Efficacy of high-dose dexamethasone plus low-dose rituximab as a second-line treatment in 65 patients with primary immune thrombocytopenia** Yan Zhiling, Li Zhenyu, Zhang Huanxin, Chen Chong, Li Depeng, Xing Weiwei, Li Hujun, Chen Wei, Cheng Hai, Cao Jiang, Xu Kailin. Department of Hematology, the Affiliated Hospital of Xuzhou Medical College, Xuzhou 221002, China  
Corresponding author: Xu Kailin, Email: lihmd@163.com

**【Abstract】 Objective** To observe the efficacy of high-dose dexamethasone in combination with low-dose rituximab as a second-line treatment for patients with immune thrombocytopenia (ITP). **Methods** 65 patients with ITP, previously by conventional dose of glucocorticoids, received high-dose dexamethasone in combination with low-dose rituximab (dexamethasone 40 mg/d for 4 days, rituximab 100 mg, d 7, 14, 21, 28 intravenous infusion). Treatment response, regulatory T cells (Treg), cytokines levels and treatment-related adverse effects were observed. **Results** Total response rate 1 month after treatment was achieved in 81.5% (53/65) of patients, and complete response at 3, 6 and 12 months was 72.3% (47/65), 66.2% (43/65), 63.1% (41/65). The higher efficiency and complete response rate was achieved in preexisting glucocorticoid-dependent patients. For patients with complete response, Treg cells continued to show a high level state [(3.01±0.95)% vs (1.69±0.35)%],  $P=0.032$ ], cytokines of BAFF [(648.03±79.63) ng/L vs (972.35±93.64) ng/L,  $P=0.001$ ], IL-2 [(2.84±0.32) ng/L vs (4.18±0.46) ng/L,  $P=0.012$ ], sCD40L [(4.55±0.66) ng/L vs (7.73±1.04) ng/L,  $P=0.006$ ] significantly lower than that before

treatment. The level of IL-10 was increased, but without significance compared with that before treatment ( $P=0.136$ ). All patients completed the protocol with no serious adverse reactions. **Conclusion** The data show high-dose dexamethasone in combination with low-dose rituximab still has a satisfactory outcomes for patients previously with conventional dose of glucocorticoid.

**【Key words】** Thrombocytopenia; Dexamethasone; Rituximab; Treatment outcome; T-lymphocytes, regulatory

原发免疫性血小板减少症(ITP)是常见的免疫介导的获得性出血性疾病。对于ITP患者,常规剂量泼尼松( $1\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ )和大剂量地塞米松( $40\text{ mg/d}$ )均被推荐为一线治疗方案<sup>[1]</sup>。对糖皮质激素无效或依赖的患者,维持长期缓解或维持血小板计数于安全水平是治疗的关键和难题。目前研究已明确B淋巴细胞的靶向治疗已成为治疗ITP的新策略之一。利妥昔单抗(RTX)作为清除B细胞的理想药物,近年来用于治疗糖皮质激素无效或者耐药的ITP患者取得了较好的疗效<sup>[2-3]</sup>,且小剂量( $100\text{ mg}$ )疗效与标准剂量( $375\text{ mg/m}^2$ )相似<sup>[4]</sup>,大量临床研究证实治疗1年的总有效率约70%<sup>[5]</sup>。我们前期的研究表明,大剂量地塞米松联合小剂量RTX治疗初诊ITP患者,不仅可以更早改善出血症状、提高血小板至安全水平,还具有更高的持续缓解率<sup>[6]</sup>。但是,大剂量地塞米松联合小剂量RTX作为二线方案治疗ITP的疗效鲜有报道。因此,我们应用大剂量地塞米松联合小剂量RTX治疗曾经接受过常规剂量糖皮质激素治疗的患者,观察其疗效、调节性T细胞(Treg)和细胞因子B淋巴细胞活化因子(BAFF)、IL-2、IL-10、可溶性白细胞分化抗原40配体(sCD40L)的变化。

## 病例和方法

1. 病例选择:2010年1月至2012年1月在我院血液内科治疗的65例ITP患者纳入研究。男35例,女30例,中位年龄34(18~70)岁。全部患者诊断均符合文献[7]标准。糖皮质激素无效患者13例(常规剂量糖皮质激素治疗后 $\text{PLT}<30\times 10^9/\text{L}$ 或 $\text{PLT}$ 较基线水平上升 $<2$ 倍或有出血现象);糖皮质激素依赖52例(需要接受糖皮质激素治疗以维持 $\text{PLT}\geq 30\times 10^9/\text{L}$ )。排除标准:肝肾功能异常及心肺功能不全、严重免疫缺陷及病毒感染(如HIV、HBV)、妊娠及哺乳期患者。

2. 治疗方案及疗效判定:地塞米松 $40\text{ mg/d}$ ,第1~4天静脉滴注;RTX  $100\text{ mg}$ 第7、14、21、28天静

脉滴注。治疗期间辅以止血药物, $\text{PLT}<10\times 10^9/\text{L}$ 或出现活动性出血的患者给予血小板悬液输注。参照文献[7]判定疗效:①完全反应(CR): $\text{PLT}\geq 100\times 10^9/\text{L}$ 、无出血症状;②有效(R): $\text{PLT}\geq 30\times 10^9/\text{L}$ 、 $\text{PLT}$ 较基线水平增长 $>2$ 倍、无出血症状;③无效(NR): $\text{PLT}<30\times 10^9/\text{L}$ 、较基线水平上升 $<2$ 倍或有出血现象。总有效(OR)为CR+R。持续有效(SR)指维持CR或R至少6个月。

3. 流式细胞术检测ITP患者外周血Treg细胞比例:分别于治疗开始后第1、3、6、12个月检测ITP患者外周血中Treg比例。以20名健康志愿者为正常对照组。取 $100\text{ }\mu\text{l}$ 新鲜肝素抗凝血,加入FITC anti-human CD4/PE单抗(美国BD公司产品)、anti-human CD25/AF647单抗(美国Biolegend公司产品)和anti-human CD127单抗(美国Biolegend公司产品)各 $2\text{ }\mu\text{l}$ ,混匀,避光孵育 $20\text{ min}$ ,溶血素溶血,避光放置 $5\text{ min}$ ,PBS洗涤2次,上机检测Treg细胞比例。

4. ELISA法检测细胞因子BAFF、IL-2、sCD40L及IL-10水平:治疗前及治疗12个月时分别采集患者外周血标本(枸橼酸盐抗凝)。离心 $10\text{ min}$ ( $2\text{ }000\times g$ )去除红细胞和白细胞,收集血浆分装于EP管中(每管 $100\text{ }\mu\text{l}$ ),于 $-80\text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱冻存储存。采用ELISA试剂盒(美国R&D公司产品)检测血浆BAFF、IL-2、sCD40L及IL-10水平,按照说明书进行具体操作。

5. 随访:采用电话或门诊随访,随访时间为12个月。第2~6个月每2周复查血常规1次,以后每个月复查血常规1次。

6. 统计学处理:采用统计软件SPSS 16.0进行数据分析。治疗前后Treg细胞及细胞因子水平比较采用单因素方差分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 结 果

1. 疗效:全部65例ITP患者在治疗第4天时,23例(35.4%)患者出血症状明显改善,其中7例

(10.8%) $PLT>30\times 10^9/L$ 。治疗1、2周及1个月的OR率分别为53.8%(35/65)、50.8%(33/65)、81.5%(53/65)。

全部65例患者第3、6、12个月CR率分别为72.3%(47/65)、66.2%(43/65)、63.1%(41/65)。其中既往对糖皮质激素依赖的52例患者治疗1个月时OR率为90.3%(47/52),第3、6、12个月CR率分别为80.8%(42/52)、76.9%(40/52)、73.1%(38/52)。

2. ITP患者治疗前后Treg细胞水平的变化:全部65例ITP患者治疗前外周血Treg细胞比例为 $(1.69\pm 0.35)\%$ ,与20名健康志愿者 $[(2.13\pm 0.42)\%]$ 相比差异无统计学意义( $P>0.05$ )。治疗2周时,血小板升高患者(33例)外周血Treg水平为 $(4.42\pm 0.64)\%$ ,高于治疗前( $P<0.05$ );获CR的41例患者治疗1个月时外周血Treg水平为 $(4.44\pm 0.63)\%$ ,治疗后12个月为 $(3.01\pm 0.95)\%$ ,仍高于健康志愿者( $P=0.032$ )。

3. 获CR的ITP患者治疗前后细胞因子的变化:大剂量地塞米松+RTX治疗12个月时,41例CR患者BAFF、IL-2和sCD40L低于治疗前( $P<0.05$ ),IL-10水平与治疗前比较差异无统计学意义( $P=0.136$ )(表1)。

4. 不良反应:65例患者中累积发生不良事件39例(52.3%)。在首次滴注RTX过程中8例患者出现寒战、发热,对症处理后缓解;6例患者出现流感症状,均自行缓解;3例患者出现斑丘疹伴呼吸急促,减慢滴注速度并予低流量吸氧后缓解,在随后的3次用药过程中未再出现上述反应;2例患者出现头晕、眼花,自行好转;7例出现血清钾、钙降低,给予口服补钾后正常;8例患者应用大剂量地塞米松后出现空腹及餐后血糖升高,2周后均降至正常;随访过程中,2例患者出现上呼吸道感染,1例出现肺感染,应用抗生素治疗后感染均得到控制。治疗过程中65例ITP患者无一例出现库欣综合征。所有患者均完成全部疗程,无一例因不良反应而停药。

## 讨 论

RTX作为新治疗药物之一<sup>[8]</sup>,给难治性ITP患者带来了希望,甚至有学者提出可以部分替代脾切除治疗<sup>[9-10]</sup>,但RTX并不能使所有的患者获益,其效率为60%~70%<sup>[5]</sup>,且治疗费用相对高昂,给临床医师和患者在治疗选择上带来了困难。本研究结果表明,既往常规剂量糖皮质激素治疗失败的患者对大剂量地塞米松+RTX治疗仍然有较高的反应率,治疗1周时,67.7%的患者出血症状消失,53.8%的患者血小板计数升高至安全水平。进一步分析发现,既往对糖皮质激素依赖的患者治疗1个月时总有效率高达90.3%,治疗12个月时仍有73.1%的患者处于CR中,无需进一步干预;本研究中对糖皮质激素无效患者例数过少,需在将来的临床研究中扩大样本量进一步研究。

Treg细胞和相关细胞因子与ITP的转归有密切的关系<sup>[11]</sup>。ITP患者外周血中Treg细胞比例明显降低、免疫应答抑制性细胞因子(IL-10)分泌减少、增强免疫应答的细胞因子(BAFF、IL-2、sCD40L)分泌增加,减弱了其对Th细胞的抑制功能,使Th1/Th2平衡向Th1偏移,T、B细胞异常活化,导致血小板的破坏<sup>[12-13]</sup>。我们在研究中发现,大剂量地塞米松联合小剂量RTX治疗后,治疗有效患者Treg细胞水平明显升高,12个月时仍高于正常水平,而增强免疫应答的BAFF、IL-2、sCD40L等细胞因子较治疗前明显降低,抑制免疫应答的细胞因子IL-10分泌增多。提示Treg细胞及相关细胞因子可能是大剂量糖皮质激素+RTX治疗有效的机制之一。

本组患者不良事件累积发生率为52.3%,以发热和水电解质异常最为多见,发热主要见于第1次应用RTX时,电解质异常者主要为低钾血症,后期治疗患者治疗同时给予补钾治疗,未再出现明显低钾。其他分别为体重增加、高血糖、流涕、皮疹、头晕及感染,所有不良反应经对症处理或自行好转。

表1 41例大剂量地塞米松联合利妥昔单抗治疗获得完全反应原发免疫性血小板减少症患者细胞因子变化( $ng/L, \bar{x}\pm s$ )

| 组别      | 例数 | BAFF         | IL-2      | sCD40L    | IL-10      |
|---------|----|--------------|-----------|-----------|------------|
| 治疗前     | 41 | 972.35±93.64 | 4.18±0.46 | 7.73±1.04 | 17.81±1.60 |
| 治疗后12个月 | 41 | 648.03±79.63 | 2.84±0.32 | 4.55±0.66 | 23.07±1.56 |
| F值      |    | 1.51         | 2.26      | 2.29      | 0.70       |
| P值      |    | 0.001        | 0.012     | 0.006     | 0.136      |

注:BAFF:B淋巴细胞活化因子;sCD40L:可溶性白细胞分化抗原40配体

本研究结果初步表明大剂量地塞米松联合小剂量 RTX 对常规量糖皮质激素治疗无效或依赖的患者仍有较高的反应率,不良反应可接受。但是,大剂量地塞米松联合小剂量 RTX 治疗 ITP 的疗效和安全性尚需多中心、大样本临床研究加以验证。

### 参考文献

- [1] Cheng Y, Wong RS, Soo YO, et al. Initial treatment of immune thrombocytopenic purpura with high-dose dexamethasone[J]. N Engl J Med, 2003, 349(9):831-836.
- [2] Mueller BU, Bennett CM, Feldman HA, et al. One year follow-up of children and adolescents with chronic immune thrombocytopenic purpura (ITP) treated with rituximab[J]. Pediatr Blood Cancer, 2009, 52(2):259-262.
- [3] Godeau B, Porcher R, Fain O, et al. Rituximab efficacy and safety in adult splenectomy candidates with chronic immune thrombocytopenic purpura: results of a prospective multicenter phase 2 study[J]. Blood, 2008, 112(4):999-1004.
- [4] Zaja F, Vianelli N, Volpetti S, et al. Low-dose rituximab in adult patients with primary immune thrombocytopenia [J]. Eur J Haematol, 2010, 85(4):329-334.
- [5] Arnold DM, Dentali F, Crowther MA, et al. Systematic review: efficacy and safety of rituximab for adults with idiopathic thrombocytopenic purpura[J]. Ann Intern Med, 2007, 146(1):25-33.
- [6] 邢伟伟,李振宇,闫志凌,等.两种糖皮质激素联合小剂量利妥昔单抗方案治疗成人原发性免疫性血小板减少症的疗效比较[J].中华血液学杂志,2013,34(5):409-412.
- [7] Rodeghiero F, Stasi R, Gernsheimer T, et al. Standardization of terminology, definitions and outcome criteria in immune thrombocytopenic purpura of adults and children: report from an international working group[J]. Blood, 2009, 113(11):2386-2393.
- [8] Arnold DM, Dentali F, Crowther MA, et al. Systematic review: efficacy and safety of rituximab for adults with idiopathic thrombocytopenic purpura[J]. Ann Intern Med, 2007, 146(1):25-33.
- [9] 隋涛,张磊,周泽平,等.两种小剂量利妥昔单抗治疗方案治疗原发性免疫性血小板减少症疗效比较[J].中华血液学杂志,2011,32(9):583-586.
- [10] Ghanima W, Godeau B, Cines DB, et al. How I treat immune thrombocytopenia: the choice between splenectomy or a medical therapy as a second-line treatment[J]. Blood, 2012, 120(5):960-969.
- [11] Zahran AM, Elsayh KI. CD4+ CD25+High Foxp3+ regulatory T cells, B lymphocytes, and T lymphocytes in patients with acute ITP in Assiut Children Hospital[J]. Clin Appl Thromb Hemost, 2014, 20(1):61-67.
- [12] McKenzie CG, Guo L, Freedman J, et al. Cellular immune dysfunction in immune thrombocytopenia (ITP) [J]. Br J Haematol, 2013, 163(1):10-23.
- [13] 李振宇,李德鹏,闫志凌,等.不同治疗方案对原发性免疫性血小板减少症患者外周血调节性T细胞水平的影响[J].中华血液学杂志,2013,34(6):478-481.

(收稿日期:2014-07-01)

(本文编辑:徐茂强)

·读者·作者·编者·

## 本刊对医学名词及术语的一般要求

医学名词应使用全国科学技术名词审定委员会公布的名词。尚未通过审定的学科名词,可选用最新版《医学主题词表(MESH)》、《医学主题词注释字顺表》、《中医药主题词表》中的主题词。对于没有通用译名的名词术语,在文内第一次出现时应注明原词。中西药名以最新版《中华人民共和国药典》和《中国药品通用名称》(均由中国药典委员会编写)为准。英文药物名称则采用国际非专利药名。在题名及正文中,药名一般不得使用商品名,确需使用商品名时应先注明其通用名称。冠以外国人名名的体征、病名、试验、综合征等,人名可以用中译文,但人名后不加“氏”(单字名除外,例如福氏杆菌);也可以用外文,但人名后不加“'s”。

文中应尽量少用缩略语。已被公知公认的缩略语可以不加注释直接使用,例如:DNA、RNA、HBsAg、CT、MRI等。不常用的、尚未被公知公认的缩略语以及原词过长在文中多次出现者,若为中文可于文中第一次出现时写出全称,在圆括号内写出缩略语;若为外文可于文中第一次出现时写出中文全称,在圆括号内写出外文全称及其缩略语。不超过4个汉字的名词不宜使用缩略语,以免影响论文的可读性。

本刊编辑部