

不同血友病 A 患者临床表型中 CD4⁺CD25⁺调节 T 细胞差异及其与 FⅧ抑制物阳性的关系^{*}

于冬雯 郑炜 刘登辉 杨瑛

(大连市中心医院血液科, 辽宁 大连 116089)

【摘要】 目的 探究不同血友病 A(HA)患者临床表型中 CD4⁺CD25⁺调节 T 细胞差异及其与凝血因子Ⅷ(FⅧ)抑制物阳性的关系。方法 选择 2020 年 2 月—2023 年 2 月在我院接受治疗的 HA 患者 105 例作为观察对象,以自发性出血频率 6 次/年为分界点,年出血频率≤6 次/年为临床表现轻度表型组(简称轻度组, n=42), >6 次/年为临床表现重度表型组(简称重度组, n=63),比较两组患者临床资料。根据 FⅧ抑制物检测结果,将 HA 患者分为阳性组(n=16)和非阳性组(n=89),通过单因素和多因素 Logistic 分析 FⅧ抑制物阳性的影响因素。应用样条函数与 Logistic 回归相结合的限制性立方样条法分析 CD4⁺CD25⁺T 细胞与 FⅧ抑制物阳性的剂量-反应关系。结果 轻度组和重度组在血小板计数(PLT)、FⅧ:C、CD4⁺T 细胞、CD4⁺T 细胞/CD8⁺T 细胞、CD4⁺CD25⁺T 细胞比较差异统计学意义(P<0.05)。单因素和多因素 Logistic 回归分析结果显示,年龄、HA 严重程度、基因突变类型、首次暴露原因、累积暴露日是 HA 患者 FⅧ抑制物阳性的危险因素(P<0.05),CD4⁺CD25⁺T 细胞水平是 HA 患者 FⅧ抑制物阳性的保护因素(P<0.05)。CD4⁺CD25⁺T 细胞与 FⅧ抑制物阳性关系的 Logistic 回归分析,调整混杂因素后,CD4⁺CD25⁺T 细胞水平 3.9%~4.4%、<3.9%与 FⅧ抑制物阳性显著相关。限制性立方样条分析结果显示,无论轻度组或重度组,CD4⁺CD25⁺T 细胞水平的连续变化与 FⅧ抑制物阳性的关联强度都呈非线性剂量-反应关系(非线性检测, P<0.001)。结论 不同临床表型的 HA 患者的 CD4⁺CD25⁺T 细胞水平具有显著差异,CD4⁺CD25⁺T 细胞水平随着 HA 严重程度增加而降低;调整混杂因素后,CD4⁺CD25⁺T 细胞水平与 HA 患者 FⅧ抑制物阳性仍显著相关。

【关键词】 血友病 A;临床表型;调节性 T 细胞;抑制物;限制性立方样条

【中图分类号】 R554⁺.1 **【文献标志码】** A **DOI:**10. 3969/j. issn. 1672-3511. 2025. 04. 017

The difference of CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells in different clinical phenotypes of hemophilia A and its relationship with positive FⅧ inhibitor

YU Dongwen, ZHENG Wei, LIU Denghui, YANG Ying

(Department of Hematology, Dalian Central Hospital, Dalian 116089, Shandong, China)

【Abstract】 Objective To explore the difference of CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells in different clinical phenotypes of hemophilia A (HA) and its relationship with positive factor Ⅷ (FⅧ) inhibitors. **Methods** A total of 105 HA patients who received treatment in our hospital from February 2020 to February 2023 were selected as the research objects, with the frequency of spontaneous bleeding 6 times/year as the dividing point, the annual bleeding frequency ≤6 times/year was considered as the clinical manifestations of mild group (n=42), and the annual bleeding frequency > 6 times/year was considered as the clinical manifestations of severe group (n=63), and the clinical data of the two groups were compared. According to the results of FⅧ inhibitor test, HA patients were divided into positive group (n=16) and non-positive group (n=89), and the influencing factors of FⅧ inhibitor positive were analyzed by univariate and multivariate Logistic analysis. The dose-response relationship between CD4⁺CD25⁺ T cells and positive FⅧ inhibitor was analyzed by restricted cubic spline method combined with Logistic regression. **Results** There were statistical differences among Platelet count (PLT), FⅧ:C, CD4⁺ T cells, CD4⁺ T cells /CD8⁺ T cells, and CD4⁺CD25⁺ T cells between the mild

基金项目:大连市医学科学研究计划项目(1911006)

引用本文:于冬雯,郑炜,刘登辉,等.不同血友病 A 患者临床表型中 CD4⁺CD25⁺调节 T 细胞差异及其与 FⅧ抑制物阳性的关系[J].西部医学, 2025,37(4):564-569. DOI:10. 3969/j. issn. 1672-3511. 2025. 04. 017

and severe groups ($P < 0.05$). Univariate and multivariate Logistic regression analysis showed that age, HA severity, fund mutation type, cause of first exposure, and cumulative exposure day were risk factors for FVIII inhibitor positive in HA patients ($P < 0.05$), and $CD4^+ CD25^+$ T cell level was protective factor for FVIII inhibitor positive in HA patients ($P < 0.05$). Logistic regression analysis of the positive relationship between $CD4^+ CD25^+$ T cells and FVIII inhibitor were showed, after adjusting confounding factors, $CD4^+ CD25^+$ T cell levels of 3.9~4.4%, <3.9% were significantly correlated with positive FVIII inhibitor. The results of restricted cubic spline analysis showed a nonlinear dose-response relationship between continuous changes in $CD4^+ CD25^+$ T cell levels and positive FVIII inhibitor in both mild and severe groups (nonlinear detection, $P < 0.001$). **Conclusion** The level of $CD4^+ CD25^+$ T cells is significantly different in HA patients with different clinical phenotypes, and the level of $CD4^+ CD25^+$ T cells decreases with the increase of HA severity. The level of $CD4^+ CD25^+$ T cells in the positive group is significantly lower than that in the non-positive group. After adjusting for confounding factors, the level of $CD4^+ CD25^+$ T cells is still significantly correlated with the positive FVIII inhibitor in HA patients.

【Key words】 Hemophilia A; Clinical phenotype; Regulatory T cells; Inhibitors; Restricted cubic splines

血友病 A (Hemophilia A, HA) 是一种凝血因子 VIII (Factor VIII, FVIII) 基因缺陷所引起的出血性疾病, 也属于临床常见 X 染色体隐性遗传病, 因此男性发病率较低^[1-3]。血友病 A 主要表现为反复发生的异常出血, 常常出现在关节、肌肉等部位, 给患者的生活带来极大的痛苦和不便。目前, 临床尚无根治 HA 的方法, 治疗主要以控制出血和预防并发症为主^[4-6]。血友病抑制物的产生不仅增加了治疗难度, 使得治疗效果难以保证, 而且提高了 HA 患者的致残率和死亡率^[7], 且使得患者的身体无法正常地对抗疾病, 导致疾病恶化, 甚至引发其他并发症^[8]。调节性 T 细胞是人体免疫系统中的重要调节细胞, 通过抑制其他免疫细胞的活动, 保持机体免疫状态的稳定, 控制自身免疫反应和免疫耐受, 是近年来 HA 患者抑制物产生机制研究较多的因素之一^[9-11]。 $CD4^+ CD25^+$ 调节 T 细胞降低是免疫性疾病发生的重要原因。目前, $CD4^+ CD25^+$ 调节 T 细胞与 HA 及 FVIII 抑制物阳性的相关性研究较少。基于此, 本研究拟通过观察不同临床表型的 HA 患者 $CD4^+ CD25^+$ 调节 T 细胞水平差异及 FVIII 抑制物阳性情况, 探讨 $CD4^+ CD25^+$ 调节 T 细胞与 FVIII 抑制物阳性相关性, 以期丰富 HA 临床资料, 现报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2020 年 2 月—2023 年 2 月在我院接受治疗的 HA 患者 105 例作为观察对象, 年龄 20~33 岁, 平均(23.03±2.77)岁。纳入标准: ①符合临床 HA 诊断标准。②1 年内未进行 3 个月以上预防治疗。③年龄 > 18 岁。④依从性较好。⑤临床资料完整。排除标准: ①合并严重心、肾受损者。②妊娠期或哺乳期女性。③年龄 < 18 岁者。④临床资料不全或配合度较低者。本研究所有患者或家属均知情且同意并签署知情同意书。本研究已获大连市中心

医院医学伦理委员会审批通过(批号: C20-017)。以自发性出血频率 6 次/年为分界点^[12], 年出血频率 ≤ 6 次/年为临床表现轻度表型组(简称轻度组, $n=42$), > 6 次/年为临床表现重度表型组(简称重度组, $n=63$)。

1.2 研究方法

1.2.1 资料收集 收集患者一般资料及临床病例参数, 包括患者年龄、BMI、高血压、糖尿病、饮酒、吸烟、HA 家族史、民族、教育水平、家庭月收入、居住地、基因突变类型、首次暴露原因、累积暴露日等资料。患者入院后于次日早晨 8:00~10:00 空腹(禁食 8~12 h)采集血液样本 5 mL, 检测血小板计数(Platelet count, PLT)、甲状旁腺激素(Intact parathyroid hormone, iPTH)、尿酸(Uric acid, UA)、肌酐(Serum creatinine, SCr)、胱抑素 C(Cystatin c, Cys)、血钙(Calcium, Ca)、血磷(Phosphorus, P)、低密度脂蛋白胆固醇(Low density lipoprotein cholesterol, LDL-C)、高密度脂蛋白(High density lipoprotein cholesterol, HDL-C)、C 反应蛋白(C reactive protein, CRP)、白蛋白(Albumin, ALB)及 T 细胞亚群($CD3^+$ T 细胞、 $CD4^+$ T 细胞、 $CD8^+$ T 细胞、 $CD4^+ CD25^+$ T 细胞, 计算 $CD4^+$ T 细胞/ $CD8^+$ T 细胞)。

1.2.2 疾病严重程度分型 根据患者首次诊断时血浆中 FVIII 水平(FVIII:C)的不同进行分型: $5\% < FVIII:C \leq 40\%$ 定义为轻型, $1\% < FVIII:C \leq 5\%$ 定义为中间型, $FVIII:C \leq 1\%$ 定义为重型。

1.2.3 抑制物阳性定义 采用 Bethesda 法改良法对其进行抑制物筛查^[13]。将 1~4 周内连续 2 次检测抑制物滴度 ≥ 0.6 Bethesda 单位(BU)/mL 定义为抑制物阳性, 且 2 次检测时间至少间隔 1 周。根据检测结果, 将 HA 患者分为阳性组($n=16$)和非阳性组($n=89$)。

1.3 统计学分析 应用 SPSS 22.0 软件进行数据分析, 计量资料和计数资料分别采用($\bar{x} \pm s$)和(%)表

示,组间比较分别采用 *t* 检验、 χ^2 检验;采用非条件 Logistic 回归分析 CD4⁺CD25⁺T 细胞与 FⅧ抑制物阳性之间的关系。应用样条函数与 Logistic 回归相结合的限制性立方样条法分析 CD4⁺CD25⁺T 细胞与 FⅧ抑制物阳性的剂量-反应关系。通过单因素和多因素 Logistic 分析 FⅧ抑制物阳性的影响因素。以 *P* < 0.05 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 轻度组和重度组患者临床资料比较 轻度组和重度组年龄、性别、BMI 等比较差异无统计学意义 (*P* > 0.05), FⅧ:C、PLT、CD4⁺T 细胞、CD4⁺T 细胞/CD8⁺T 细胞、CD4⁺CD25⁺T 细胞比较差异有统计学意义 (*P* < 0.05),见表 1。

表 1 两组患者临床资料比较 [$\bar{x} \pm s, n(\times 10^{-2})$]

Table 1 Comparison of clinical data between the two groups

项目	轻度组(n=42)	重度组(n=63)	χ^2/t	<i>P</i>
年龄(岁)	22.57±2.25	23.33±3.11	1.363	0.176
性别			0.251	0.616
男	4(9.52)	8(12.70)		
女	38(90.48)	55(87.30)		
BMI(kg/m ²)	20.76±3.26	21.04±3.44	0.417	0.677
高血压			0.179	0.673
是	13(30.95)	22(34.92)		
否	29(69.05)	41(65.08)		
糖尿病			0.071	0.789
是	11(26.19)	18(28.57)		
否	31(73.81)	45(71.43)		
吸烟			0.029	0.865
是	14(33.33)	20(31.75)		
否	28(66.67)	43(68.25)		
饮酒			0.334	0.563
是	8(19.05)	15(23.81)		
否	34(80.95)	48(76.19)		
HA 家族史			0.068	0.795
有	4(9.52)	7(11.11)		
无	38(90.48)	56(88.89)		
民族			0.118	0.731
汉族	40(95.24)	59(93.65)		
少数民族	2(4.76)	4(6.35)		
教育水平			0.291	0.864
大专/本科及以上	22(52.38)	36(57.14)		
高中/中专	14(33.33)	18(28.57)		
初中及以下	6(14.29)	9(14.29)		
家庭月收入(元)			0.797	0.671
<2 000	3(7.14)	6(9.52)		
2 000~5 000	16(38.10)	28(44.44)		
>5 000	23(54.76)	29(46.03)		
居住地			0.800	0.371
城市	23(54.76)	40(63.49)		
农村	19(45.24)	23(36.51)		
FⅧ:C(%)	10.04±2.38	5.96±1.32	11.269	<0.001
PLT(g/L)	256.14±60.38	292.52±63.51	2.932	0.004
CD3 ⁺ T 细胞(%)	63.45±6.15	62.82±5.94	0.525	0.601
CD4 ⁺ T 细胞(%)	33.58±5.19	36.74±5.24	3.039	0.003
CD8 ⁺ T 细胞(%)	22.01±4.37	20.75±3.69	1.591	0.115
CD4 ⁺ T 细胞/CD8 ⁺ T 细胞	1.44±0.38	1.65±0.45	2.489	0.014
CD4 ⁺ CD25 ⁺ T 细胞(%)	5.23±0.49	4.34±0.37	10.590	<0.001

2.2 CD4⁺CD25⁺调节 T 细胞水平与临床表型的 Logistic 分析 单因素 Logistic 分析结果(模型 1)显示,与 CD4⁺CD25⁺T 细胞水平 4.5%~4.9%相比,CD4⁺CD25⁺T 细胞水平 >4.9%、3.9%~4.4%、<3.9%的患者发生重度表型的风险(OR)分别为 0.719、1.742 和 2.790,CD4⁺CD25⁺T 细胞水平越低重度表型风险越高。调整年龄与性别后 CD4⁺CD25⁺T 细胞水平与重度表型的发生存在统计学关联(模型 2)。进一步调整 HA 严重程度、基因突变类型、首次暴露原因、累积暴露日后(模型 3),CD4⁺CD25⁺T 细胞水平 >4.9%、3.9%~4.4%、<3.9%的患者发生重度表型的风险分别是参照组的 0.746、1.356 和 2.480 倍,CD4⁺CD25⁺T 细胞水平 3.9%~4.4%组、<3.9%组与 4.5%~4.9%组对比均具有统计学意义 (*P* < 0.05),而 CD4⁺CD25⁺T 细胞水平 >4.9%组与 4.5%~4.9%组无显著差异(*P* = 0.142)。见表 2。

表 2 CD4⁺CD25⁺调节 T 细胞水平与临床表型的 Logistic 回归分析结果
Table 2 Logistic regression analysis results of CD4⁺CD25⁺ regulation of T cell level and clinical phenotype

模型	CD4 ⁺ CD25 ⁺ T 细胞(%)	β	SE	Wald χ^2	OR	95%CI	<i>P</i>
模型 1	>4.9	-0.330	0.098	11.332	0.719	0.495~1.025	0.069
	4.5~4.9				Ref	1.00	
	3.9~4.4	0.558	0.126	19.605	1.742	1.431~1.963	<0.001
模型 2	<3.9	1.026	0.135	57.765	2.790	2.375~3.114	<0.001
	>4.9	-0.402	0.086	21.847	0.669	0.436~0.927	0.036
	4.5~4.9				Ref	1.00	
模型 3	3.9~4.4	0.520	0.113	21.175	1.682	1.314~1.981	<0.001
	<3.9	1.135	0.101	126.200	3.110	2.461~3.755	<0.001
	>4.9	-0.293	0.052	31.755	0.746	0.472~1.118	0.142
模型 3	4.5~4.9				Ref	1.00	
	3.9~4.4	0.305	0.133	5.243	1.356	1.094~1.624	0.004
	<3.9	0.908	0.080	128.896	2.480	1.933~2.847	<0.001

2.3 不同 CD4⁺CD25⁺调节 T 细胞水平 HA 患者基线资料对比 将观察对象按 CD4⁺CD25⁺调节 T 细胞从低到高分分为五分位数组(Q₁~Q₅),对其基线资料进行对比发现,各组患者年龄、高血压、HA 严重程度、基因突变类型、首次暴露原因、累积暴露日、FⅧ:C 的差异具有统计学意义 (*P* < 0.05),随着 CD4⁺CD25⁺调节 T 细胞水平的降低(Q₁~Q₅),患者年龄、HA 严重程度、基因突变类型、首次暴露原因、累积暴露日、FⅧ:C 逐渐升高,差异均有统计学意义 (*P* < 0.05),见表 3。

2.4 CD4⁺CD25⁺调节 T 细胞水平与 FⅧ抑制物阳性相关性的亚组分析 在不同年龄、高血压、HA 严重程度、基因突变类型、首次暴露原因、累积暴露日、FⅧ:C 水平亚分组中 CD4⁺CD25⁺调节 T 细胞水平与 FⅧ抑制物阳性的相关性稳定存在,且亚组间不存在交互作用(*P*_{交互} > 0.05),见表 4。

表 3 不同 CD4⁺CD25⁺ 调节 T 细胞水平 HA 患者基线资料比较 [$(\bar{x} \pm s), n(\times 10^{-2})$]

Table 3 Comparison of baseline data of HA patients with different CD4⁺CD25⁺ regulation of T cell levels

项目	CD4 ⁺ CD25 ⁺ 调节 T 细胞水平五分位数组					P
	Q ₁ (≥5.15, n=16)	Q ₂ (4.83~5.14, n=20)	Q ₃ (4.37~4.82, n=24)	Q ₄ (3.99~4.36, n=25)	Q ₅ (≤3.98, n=20)	
年龄(岁)	22.43±2.42	22.36±2.34	24.08±3.17	23.16±2.62	23.20±2.24	0.031
性别(男/女)	3/13	2/18	2/22	3/22	2/18	0.665
BMI(kg/m ²)	20.76±2.67	22.14±3.22	20.88±3.74	21.43±2.86	21.77±3.63	0.763
高血压	4(25.00)	7(35.00)	11(45.83)	13(52.00)	10(50.00)	0.039
糖尿病	3(18.75)	5(25.00)	8(33.33)	7(28.00)	6(30.00)	0.075
吸烟	6(37.50)	8(40.00)	7(29.17)	10(40.00)	3(15.00)	0.054
饮酒	2(12.50)	4(20.00)	5(20.83)	7(28.00)	5(25.00)	0.086
HA 家族史	1(6.25)	2(10.00)	3(12.50)	3(12.00)	2(10.00)	0.767
HA 严重程度						
轻型	2(12.50)	1(5.00)	1(4.17)	2(8.00)	0(0.00)	0.018
中型	11(68.75)	14(10.00)	16(66.67)	14(56.00)	00(45.00)	0.023
重型	3(18.75)	5(25.00)	7(29.17)	10(40.00)	11(55.00)	0.009
基因突变类型						
1 倒位、大片段缺失、无义突变	5(31.25)	7(35.00)	8(33.33)	10(40.00)	7(35.00)	0.012
错义突变、小缺失/插入、剪接位点突变	11(68.75)	13(65.00)	16(66.67)	17(68.00)	11(55.00)	0.015
首次暴露原因						
一般性出血	8(50.00)	12(60.00)	14(58.33)	16(64.00)	16(80.00)	0.009
严重出血	6(37.50)	8(40.00)	8(33.33)	7(28.00)	10(50.00)	0.011
累积暴露日(d)						
<20	2(12.50)	4(20.00)	6(25.00)	10(40.00)	9(45.00)	0.032
20~50	4(25.00)	6(30.00)	8(33.33)	13(52.00)	12(60.00)	0.028
>50	3(18.75)	4(20.00)	5(20.83)	9(36.00)	10(50.00)	0.041
FⅧ:C(%)	0.81±0.22	0.86±0.27	0.95±0.30	1.12±0.35	1.05±0.32	0.033
CD3 ⁺ T 细胞(%)	62.74±5.54	63.62±6.63	62.52±5.52	63.73±6.74	63.26±6.14	0.704
CD4 ⁺ T 细胞(%)	32.76±4.63	34.58±4.76	36.22±6.32	35.28±5.65	35.54±5.41	0.656
CD8 ⁺ T 细胞(%)	21.73±3.75	21.52±4.32	20.46±3.45	20.74±3.83	21.37±3.56	0.652
CD4 ⁺ T 细胞/CD8 ⁺ T 细胞	4.32±0.32	4.62±0.37	4.21±0.31	4.93±0.49	4.76±0.45	0.895

表 4 CD4⁺CD25⁺ 调节 T 细胞水平五分位数组与 FⅧ抑制物阳性相关性的亚组分析 [$M(P_{25}, P_{75})$]

Table 4 Subgroup analysis of positive correlation between CD4⁺CD25⁺ regulated T cell level quartile array and FⅧ inhibitor

项目	CD4 ⁺ CD25 ⁺ 调节 T 细胞水平五分位数组					P _{趋势}	P _{交互}
	Q ₁ (≥5.15, n=16)	Q ₂ (4.83~5.14, n=20)	Q ₃ (4.37~4.82, n=24)	Q ₄ (3.99~4.36, n=25)	Q ₅ (≤3.98, n=20)		
年龄(岁)							0.724
<24	1.00	1.28(0.85~1.53)	1.44(0.98~1.70)	1.60(1.34~1.86)	1.92(1.66~2.39)	0.076	
≥24	1.00	1.33(0.97~1.60)	1.48(1.23~1.75)	1.63(1.39~1.89)	2.12(1.77~2.77)	0.042	
高血压							0.566
是	1.00	1.27(0.92~1.53)	1.41(1.15~1.99)	1.66(1.40~1.91)	2.87(1.59~4.14)	<0.001	
否	1.00	1.18(0.80~1.53)	1.46(1.19~1.73)	1.48(1.23~1.73)	2.24(1.26~3.71)	0.006	
HA 严重程度							0.413
轻型	1.00	1.25(1.02~1.52)	1.56(1.30~1.81)	1.89(1.61~2.15)	2.56(1.70~3.83)	0.004	
中型	1.00	1.41(1.15~1.67)	1.59(1.35~1.86)	1.93(1.68~2.21)	2.15(1.51~3.42)	0.022	
重型	1.00	1.35(1.05~1.68)	1.62(1.25~1.93)	1.92(1.52~2.44)	2.28(1.64~3.49)	0.015	
基因突变类型							
1 倒位、大片段缺失、无义突变	1.00	1.27(0.99~1.73)	1.69(1.43~1.95)	1.87(1.63~2.13)	2.14(1.88~2.68)	0.031	
错义突变、小缺失/插入、剪接位点突变	1.00	1.22(0.97~1.70)	1.59(1.33~1.85)	1.93(1.67~2.20)	3.16(1.98~3.93)	<0.001	
首次暴露原因							0.793
一般性出血	1.00	1.37(1.12~1.63)	1.64(1.39~1.91)	1.87(1.60~2.14)	2.29(2.08~2.57)	0.022	
严重出血	1.00	1.36(1.09~1.61)	1.66(1.38~1.92)	1.90(1.65~2.15)	2.18(1.94~2.43)	0.027	
累积暴露日(d)							0.562
<20	1.00	1.16(0.93~1.53)	1.40(1.14~1.68)	1.61(1.34~1.88)	2.93(2.64~3.57)	<0.001	
20~50	1.00	1.29(1.03~1.55)	1.48(1.27~1.81)	1.62(1.35~1.91)	2.86(2.60~3.73)	<0.001	
>50	1.00	1.31(1.20~1.85)	1.52(1.30~1.95)	1.64(1.38~2.05)	2.96(2.55~3.87)	<0.001	
FⅧ:C(%)							0.549
<0.94	1.00	1.18(1.02~1.57)	1.49(1.23~1.87)	1.59(1.30~1.86)	1.94(1.49~2.23)	0.023	
≥0.94	1.00	1.09(1.01~1.48)	1.52(1.28~1.91)	1.53(1.26~1.79)	1.89(1.37~2.17)	0.019	

2.5 不同临床表型 HA 患者 CD4⁺CD25⁺ 调节 T 细胞水平与 FⅧ抑制物阳性关联强度剂量反应关系 按临床表型分层后应用限制性立方样条模型分析 CD4⁺CD25⁺ 调节 T 细胞水平与 FⅧ抑制物阳性的关系,结果显示调整年龄、HA 严重程度、基因突变类型、首次

暴露原因、累积暴露日后,CD4⁺CD25⁺ 调节 T 细胞水平与 FⅧ抑制物阳性的关联强度呈非线性剂量-反应关系(非线性检测, $P < 0.001$),见图 1。随着 HA 患者 CD4⁺CD25⁺ T 细胞水平降低,发生 FⅧ抑制物阳性的风险显著增加。

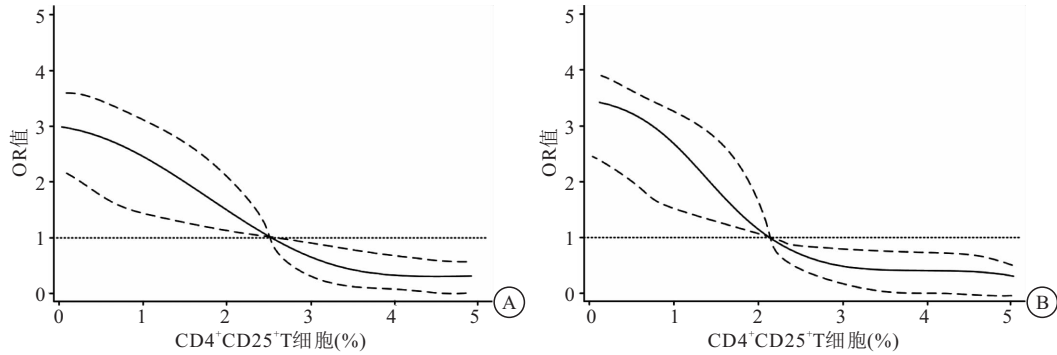


图 1 基于限制性立方样条模型分析 CD4⁺CD25⁺ 调节 T 细胞水平与 FⅧ抑制物阳性剂量-反应关系

Figure 1 Analysis of the relationship between CD4⁺CD25⁺ regulation of T cell level and positive dose-response of FⅧ inhibitor based on restricted cubic spline model

注:A.轻度组患者 CD4⁺CD25⁺ 调节 T 细胞水平与 FⅧ抑制物阳性剂量-反应关系;B.重度组患者 CD4⁺CD25⁺ 调节 T 细胞水平与 FⅧ抑制物阳性剂量-反应关系。

3 讨论

HA 是一种较罕见的 X 染色体隐性遗传病,与 FⅧ缺乏或活性降低密切相关,导致患者容易发生自发性出血或外伤后出血不止的情况。目前,HA 治疗主要是通过补充 FⅧ因子或使用其他药物来控制出血和预防并发症^[14-16]。对于 HA 患者,定期监测 FⅧ水平非常重要,以便及时调整治疗方案。抑制物的产生是 HA 患者长期替代治疗的一种严重并发症,与患者的免疫系统对 FⅧ因子的异常反应有关,多发生于重型 HA 患者中,其发生可以降低 FⅧ因子的活性,削弱治疗效果甚至导致治疗无效,临床表现为患者出血症状难以控制^[17-19]。因此,探究 HA 患者 FⅧ抑制物阳性的危险因素,在 HA 的临床治疗中意义重大。

CD4⁺CD25⁺ 调节 T 细胞水平是目前研究较多的调节性 T 细胞亚型,在自身免疫耐受中扮演重要角色,具有抑制自身反应性 T 细胞的功能^[20]。研究表明^[21-22],调节 T 细胞水平与 HA 临床表型及 FⅧ抑制物阳性的发生存在密切关系。本研究分别对不同临床表型 HA 患者 T 淋巴细胞进行检测,发现轻度组 CD4⁺CD25⁺ T 细胞水平明显高于重度组。提示 CD4⁺CD25⁺ T 细胞水平的降低可能是 HA 患者病情加重的原因之一。CD4⁺CD25⁺ T 细胞作为外周自身耐受和免疫稳态的关键介质,主要通过抑制其他 T 细胞功能来减少机体抑制物的产生,同时分泌 IL-10 等免疫抑制分子抑制机体的免疫应答,从而维持机体免疫状态稳定^[23-24]。本研究发现,FⅧ抑制物阳性组 CD4⁺

CD25⁺ T 细胞水平明显低于非阳性组,在调整混杂因素后,CD4⁺CD25⁺ T 细胞水平与 HA 患者 FⅧ抑制物阳性仍显著相关。既往研究表明^[25-26],CD4⁺CD25⁺ T 细胞不仅参与 FⅧ抑制物阳性的过程,还在 HA 的发生、发展重扮演着重要角色。本研究中不同临床表型 HA 患者临床资料对比发现,CD4⁺CD25⁺ T 细胞水平与 HA 患者严重程度呈负相关。剂量-反应关系分析也显示,随 CD4⁺CD25⁺ T 细胞水平的降低,其与 FⅧ抑制物阳性的关联强度呈非线性升高。

HA 患者 FⅧ抑制物阳性一直是临床较为棘手的问题。本研究对 105 例 HA 患者的 FⅧ抑制物情况调查分析发现,阳性组有 16 人,约占 15.24%。多因素分析发现年龄、HA 严重程度、基因突变类型、首次暴露原因、累积暴露日是 HA 患者 FⅧ抑制物阳性的危险因素,CD4⁺CD25⁺ T 细胞水平是 HA 患者 FⅧ抑制物阳性的保护因素。本研究所纳入样本数量较少,可能一定程度上会影响分析结果的可靠性和稳定性;其次,HA 患者 FⅧ抑制物阳性机制复杂,影响的因素也很多,本研究未完全纳入,我们将在未来研究中进一步证实本研究的分析结果。

4 结论

不同临床表型的 HA 患者的 CD4⁺CD25⁺ T 细胞水平具有显著差异,CD4⁺CD25⁺ T 细胞水平随着 HA 严重程度增加而降低;且与 HA 患者 FⅧ抑制物阳性情况密切相关,随着 CD4⁺CD25⁺ T 细胞水平的降低,HA 患者 FⅧ抑制物阳性的风险逐渐升高。临床可依

据患者 CD4⁺CD25⁺T 细胞水平评估患者病情严重程度,并可依据其水平变化对 FⅧ抑制物阳性进行预测,及时调整临床治疗方案。

【参考文献】

- [1] KHAN U Z, YANG X W, MASROOR M, *et al.* Surgery-associated acquired hemophilia A: a report of 2 cases and review of literature[J]. *BMC Surg*, 2020, 20(1): 213.
- [2] TÓTH G, ZÁTROCH I, KISS D, *et al.* Rapid diagnosis of acquired hemophilia A with ClotPro viscoelastometry analyser[J]. *Orv Hetil*, 2023, 164(40): 1600-1604.
- [3] 林艾灵,谭宝滢,宣建伟,等. 成人血友病 A 患者预防治疗的多维度价值综述[J]. *中国卫生经济*, 2023, 42(4): 61-64.
- [4] NOIZAT C, BÉRANGER N, JOLY B S, *et al.* Acquired hemophilia A: clinical and biological characteristics and therapeutic management of a series of eight patients hospitalized in Lariboisière and Saint-Louis hospitals[J]. *Ann Biol Clin*, 2021, 79(1): 75-82.
- [5] GUAN T, AI D, ZHAO N, *et al.* Treatment-related outcome from patient report outcome (PRO) of children with severe and moderate hemophilia A in China: an analysis report of registration data from patient organization "hemophilia home care center"[J]. *Haemophilia*, 2023, 29(6): 1467-1474.
- [6] 梁舒敏,张伟,蒋桂香,等. 血源性人凝血因子Ⅷ治疗血友病 A 患者的有效性及安全性评价[J]. *中国输血杂志*, 2023, 36(9): 786-790.
- [7] 房倩,侯红幸. 血友病抑制物产生与疫苗接种相关性研究进展[J]. *中国小儿血液与肿瘤杂志*, 2023, 28(2): 141-144.
- [8] 易维佳,郭玉霞,曾星,等. 5 例儿童 A 型血友病合并凝血因子Ⅷ抑制物生成临床回顾性分析[J]. *儿科药学杂志*, 2022, 28(10): 37-41.
- [9] DIKIY S, RUDENSKY A Y. Principles of regulatory T cell function[J]. *Immunity*, 2023, 56(2): 240-255.
- [10] TRAXINGER B R, RICHERT-SPUHLER L E, LUND J M. Mucosal tissue regulatory T cells are integral in balancing immunity and tolerance at portals of antigen entry[J]. *Mucosal Immunol*, 2022, 15(3): 398-407.
- [11] 张叶萌,张莹,张延霞. 慢性活动性 EBV 感染患者外周血淋巴细胞表达水平及预后危险因素分析[J]. *西部医学*, 2023, 35(11): 1699-1705, 1710.
- [12] 秦芳梅,叶洁瑜,黄顺桦,等. 血小板活化功能及血小板微粒对重型血友病 A 临床异质性的意义[J]. *第三军医大学学报*, 2015, 37(13): 1362-1366.
- [13] 张丽华,谢智强,庄和,等. 凝血因子Ⅷ抑制物阳性血友病患者 APTT 纠正试验结果分析[J]. *中国实验血液学杂志*, 2023, 31(6): 1791-1796.
- [14] OHMORI T. Advances in gene therapy for hemophilia: basis, current status, and future perspectives[J]. *Int J Hematol*, 2020, 111(1): 31-41.
- [15] 王稳,崔东艳,蒋丽娟,等. 20 例抑制物阳性的血友病 A 患者的临床分析[J]. *临床血液学杂志*, 2021, 34(1): 31-34.
- [16] 朱履镔,杨林花,王刚. 血友病 A 患者凝血因子Ⅷ抑制物产生机制及相关遗传因素研究进展[J]. *中国医药*, 2023, 18(1): 148-152.
- [17] NOGAMI K, TAKI M, MATSUSHITA T, *et al.* Clinical conditions and risk factors for inhibitor-development in patients with haemophilia: a decade-long prospective cohort study in Japan, J-HIS2 (Japan hemophilia inhibitor study 2)[J]. *Haemophilia*, 2022, 28(5): 745-759.
- [18] LÉVESQUE H, GUILLET B, BENHAMOU Y. Acquired hemophilia and pregnancy: a necessarily multidisciplinary approach[J]. *Rev Med Interne*, 2022, 43(8): 494-497.
- [19] 伍立恒,李德款,连通,等. 血浆相关因子对重组 FVIII 稳定循环及降解途径的影响[J]. *药物生物技术*, 2023, 30(3): 234-238.
- [20] FIORI A, UHLIG S, KLÜTER H, *et al.* Human adipose tissue-derived mesenchymal stromal cells inhibit CD4⁺T cell proliferation and induce regulatory T cells as well as CD127 expression on CD4⁺CD25⁺T cells[J]. *Cells*, 2021, 10(1): 58.
- [21] JING W Q, CHEN J, CAI Y H, *et al.* Induction of activated T follicular helper cells is critical for anti-FVIII inhibitor development in hemophilia A mice[J]. *Blood Adv*, 2019, 3(20): 3099-3110.
- [22] VELA-OJEDA J, GARCIA-CHAVEZ J, MAJLUF-CRUZ A, *et al.* Important decrease in invariant natural killer T, CD4⁺regulatory T cells, CD8⁺regulatory T cells, gamma-delta T cells, and CD4⁺T lymphocytes in HIV-negative patients with hemophilia[J]. *Blood Coagul Fibrinolysis*, 2021, 32(1): 8-15.
- [23] 杨博,王刚,张夏林,等. 血友病 A 免疫抑制耐受的研究进展[J]. *临床血液学杂志*, 2021, 34(5): 366-369.
- [24] PAȘCALĂU A V, CHEREGI C D, MUREȘAN M Ș, *et al.* CD4⁺CD25⁺regulatory T-cells role in tumor microenvironment of the squamous cell carcinoma[J]. *Rev Roum De Morphol Embryol*, 2021, 62(1): 249-253.
- [25] FU P A, CHEN C W, HSU Y T, *et al.* A case of acquired hemophilia A and bullous pemphigoid following SARS-CoV-2 mRNA vaccination[J]. *J Formos Med Assoc*, 2022, 121(9): 1872-1876.
- [26] EL-ASRAR M A, HAMED A E L S, DARWISH Y W, *et al.* Assessment of the frequency of regulatory T cells (CD4⁺CD25⁺CD127⁻) in children with hemophilia A: relation to factor VIII inhibitors and disease severity[J]. *Blood Coagul Fibrinolysis*, 2016, 27(1): 42-46.

(收稿日期:2024-01-08;修回日期:2025-02-26;编辑:黎仕娟)