

本文引用: 张宝君, 杨亚丽, 雷蕊. 银杏内酯 B 注射液对 ITP 患者 T 细胞亚群、MDSCs 免疫失衡的影响[J]. 湖南中医药大学学报, 2025, 45(3): 529-533.

银杏内酯 B 注射液对 ITP 患者 T 细胞亚群、MDSCs 免疫失衡的影响

张宝君^{1*}, 杨亚丽², 雷蕊²

1.廊坊市中医医院血液科,河北廊坊 065000;2.廊坊市中医医院检验科,河北廊坊 065000

【摘要】目的 探究原发性免疫性血小板减少症(ITP)患者应用银杏内酯 B 注射液治疗对 T 细胞亚群和髓源性抑制细胞(MDSCs)免疫失衡的影响。**方法** 选取 2021 年 12 月至 2023 年 12 月廊坊市中医医院收治的 132 例 ITP 患者作为研究对象,将其随机分为研究组($n=66$)和对照组($n=66$)。给予对照组利妥昔单抗治疗,给予研究组银杏内酯 B 注射液治疗,两组治疗周期均为 14 d。对比两组疗效;对比两组治疗前后 Th1/Th2 细胞因子[肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、干扰素- γ (IFN- γ)、白细胞介素(IL)-4、IL-10]、MDSCs、Treg/Th17 水平;对比两组不良反应发生率。**结果** 研究过程中,对照组 3 例患者退出研究,研究组 1 例患者退出研究,最终对照组纳入 63 例,研究组纳入 65 例。研究组(95.38%)治疗总有效率高于对照组(74.60%)($P<0.05$)。治疗后,两组 TNF- α 、IFN- γ 、Th17 均降低($P<0.05$),IL-4、IL-10、MDSCs、Treg 和 Treg/Th17 均升高($P<0.05$);与对照组比较,研究组 TNF- α 、IFN- γ 、Th17 水平均降低($P<0.05$),IL-4、IL-10、MDSCs、Treg 和 Treg/Th17 均升高($P<0.05$)。与对照组(26.98%)比较,研究组(9.23%)总不良反应发生率降低($P<0.05$)。**结论** 应用银杏内酯 B 注射液治疗 ITP 患者,可提升患者临床疗效,改善 Th1/Th2 细胞因子和 MDSCs 免疫失衡,且不会增加患者不良反应发生率。

【关键词】 原发性免疫性血小板减少症;银杏内酯 B 注射液;Th1/Th2 细胞因子;髓源性抑制细胞;调节性 T 细胞;辅助性 T 细胞 17

[中图分类号]R259

[文献标志码]B

[文章编号]doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2025.03.021

Effects of ginkgolide B injection on immune imbalance of T cell subsets and MDSCs in ITP patients

ZHANG Baojun^{1*}, YANG Yali², LEI Rui²

1. Department of Hematology, Langfang TCM Hospital, Langfang, Hebei 065000, China; 2. Department of Laboratory Medicine, Langfang TCM Hospital, Langfang, Hebei 065000, China

【Abstract】Objective To investigate the effects of ginkgolide B injection on immune imbalance of T cell subsets and myeloid-derived suppressor cells (MDSCs) in patients with primary immune thrombocytopenia (ITP). **Methods** A total of 132 ITP patients admitted to Langfang TCM Hospital from December 2021 to December 2023 were selected as the research objects and were randomly divided into a study group ($n=66$) and a control group ($n=66$). The control group received rituximab treatment, while the study group was treated with ginkgolide B injection. The treatment cycle for both groups was 14 d. The therapeutic efficacy was compared between the two groups. The levels of Th1/Th2 cytokines [tumor necrosis factor- α (TNF- α), interferon- γ (IFN- γ), interleukin (IL)-4, IL-10], MDSCs, and Treg/Th17 were compared before and after treatment between the two groups. The incidence of adverse reactions was also compared between the two groups. **Results** During the research process, three patients in the control group and

[收稿日期]2024-08-12

[基金项目]河北省中医药管理局 2023 年度中医药类科学研究课题计划项目(2023231)。

[通信作者]* 张宝君,女,副主任检验师,E-mail:zhangbaojun78@126.com。

one patient in the study group withdrew from the study. Ultimately, 63 patients were included in the control group and 65 in the study group. The overall effective rate of treatment in the study group (95.38%) was higher than that in the control group (74.60%) ($P<0.05$). After treatment, TNF- α , IFN- γ , and Th17 levels decreased in both groups ($P<0.05$), while the levels of IL-4, IL-10, MDSCs, and Treg, as well as the Treg/Th17 increased ($P<0.05$). Compared with the control group, the study group had lower levels of TNF- α , IFN- γ , and Th17 ($P<0.05$) and higher levels of IL-4, IL-10, MDSCs, and Treg, as well as the Treg/Th17 ($P<0.05$). The overall incidence of adverse reactions in the study group (9.23%) was lower than that in the control group (26.98%) ($P<0.05$). **Conclusion** Ginkgolide B injection for the treatment of ITP patients can improve clinical therapeutic efficacy, alleviate the immune imbalance of Th1/Th2 cytokines and MDSCs, and does not increase the incidence of adverse reactions.

[**Keywords**] primary immune thrombocytopenia; ginkgolide B injection; Th1/Th2 cytokines; myeloid-derived suppressor cells; regulatory T cells; T helper 17 cells

原发性免疫性血小板减少症(primary immune thrombocytopenia, ITP)是一种以血小板损伤及造血功能下降为主要特征的自身免疫病,该病的发生与血小板抗体、巨核细胞以及T淋巴细胞均有关,这些因素均可导致血小板损伤,且各发病机制存在差异^[1]。已有研究发现,ITP患者体内产生的自身抗体与血小板膜表面的特定抗原发生免疫反应,促进血小板的损伤^[2]。越来越多的研究显示,ITP与调控免疫系统的失调密切相关,对于初次确诊的ITP患者,单纯应用糖皮质激素药物治疗可取得较好的近期疗效,但仍有较多的患者会出现药物依赖性 or 严重不良反应,进而发展为难治性ITP^[3]。对于一些常规治疗无效或耐药的ITP患者而言,利妥昔单抗是一种有效的治疗选择,但该药物易导致患者出现不良反应,进而降低患者的服药依从性^[4]。银杏内酯B是一种中药提取物,已有研究证实其在缺血性脑卒中、血栓等疾病中的作用,可有效降低血小板激活因子^[5],但银杏内酯B注射液在ITP治疗中的研究较少。基于此,本研究选取ITP患者作为研究对象,分析银杏内酯B注射液的治疗效果及应用价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2021年12月至2023年12月廊坊市中医医院收治的ITP患者,共计132例,随机分为研究组和对照组,每组66例。对照组和研究组相关基线资料比较,差异均无统计学意义($P>0.05$),两组具有可比性,详见表1。患者及家属对本研究方案了解且签署知情同意书,本研究已获得廊坊市中医医院伦理委员会批准(批准号:2021-0606)。

表1 两组患者一般资料($n=66$)

Table 1 General information of the two groups of patients ($n=66$)

组别	性别/[例(%)]		年龄/($\bar{x}\pm s$,岁)	病程/($\bar{x}\pm s$,年)
	男	女		
对照组	23(34.85)	43(65.15)	53.52 \pm 3.22	4.89 \pm 1.26
研究组	25(37.88)	41(62.12)	53.87 \pm 3.38	4.87 \pm 1.28
χ^2 值	0.131		-0.609	0.090
P 值	0.717		0.544	0.928

1.2 纳入标准

(1)符合ITP诊断标准^[6]。①多次化验检查血小板计数减少;②脾脏不增大或仅轻度增大;③骨髓检查巨核细胞数增多或正常,有成熟障碍;④泼尼松或切脾治疗有效、血小板寿命测定缩短。(2)血小板计数 $<30\times 10^9/L$ 。(3)临床资料完整。

1.3 排除标准

(1)合并其他免疫病。(2)合并严重肝、肾功能损害。(3)合并病毒感染。(4)既往已接受本研究药物治疗。

1.4 治疗方法

1.4.1 对照组 给予患者利妥昔单抗(德国罗氏诊断有限公司,国药准字: SJ20160030,规格:500 mg/50 mL)治疗,静脉滴注100 mg/次,1次/周,共4次。治疗前给予25 mg 苯海拉明(北京中新药业股份有限公司,国药准字: H13020674,规格:25 mg)、5 mg 地塞米松(湖北美林药业有限公司,国药准字: H42020620,规格:1 mL:5 mg)抗过敏处理,均在利妥昔单抗输注前30 min给药,每次输注利妥昔单抗前均需使用。泼尼松(江西国药有限责任公司,国药准字: H12020689,规格:5 mg):1 mg/(kg·d),4次/d,病情稳定后,逐渐减少用量。

1.4.2 研究组 给予患者银杏内酯B注射液[成都百裕制药股份有限公司,国药准字: Z20110035,规

格:每支装 2 mL(含萘类内酯 10 mg),静脉滴注 20 mL 银杏内酯 B 与 250 mL 50 g/L 葡萄糖液混合液,每日 1 次。

1.4.3 疗程 两组均治疗 8 周。

1.5 观察指标

1.5.1 临床疗效 痊愈:治疗后,患者无任何出血表现且血小板计数 $\geq 100 \times 10^9/L$;有效:治疗后,患者无任何出血表现且血小板计数 $\geq 30 \times 10^9/L$ (相较基础水平增加 2 倍);无效:治疗后,患者未达到上述标准^[7]。总有效率=痊愈率+有效率。

1.5.2 Th1/Th2 细胞因子 治疗前后采集患者空腹肘静脉血 5 mL,3 500 r/min 离心 10 min(离心半径为 7.5 cm)。取上层血清,采用美国 Biorad 酶标仪测定肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、干扰素- γ (interferon- γ , IFN- γ)、白细胞介素(interleukin, IL)-4 和 IL-10 因子水平。

1.5.3 髓源性抑制细胞(myeloid suppressor cells, MDSCs) 治疗前后采集空腹肘静脉血 5 mL,给予肝素抗凝,以 3 000 r/min 离心 6 min(离心半径为 15 cm),离心完毕后分离上层液并丢弃。将 PBS 洗涤液提前冷处理,以辅助细胞沉淀,加入 500 μ L 结合缓冲液重悬细胞,再依次加入 Annexin V-FITC 与 PI 各 5 μ L,混匀后静置 10 min。采用流式细胞仪对 MDSCs 进行检测,并在光学显微镜下观察,计算 MDSCs 比例。

1.5.4 Treg/Th17 细胞比例 Treg 细胞标记:将外周血单个核细胞与单克隆抗体混合,同时将其置于避光环境下孵育 10 min,将固定剂加入后与叉头框蛋白 3(forkhead box protein 3, FOXP3)单克隆抗体混匀,并将其置于避光环境下孵育,30 min 后将上清液弃除并将 PBS 缓冲液加入。Th17 细胞标记:将外周血单个核细胞置于条件为 37 $^{\circ}$ C、5% CO_2 中孵育,5 h 后离心并将上清液弃除,将固定剂加入并于 Th17 单抗中混匀,同时将其置于避光环境下,

孵育 30 min 后行离心操作并将 PBS 缓冲液加入。采用流式细胞仪检测标本中 Treg、Th17 含量,并计算 Treg/Th17 细胞比例。

1.5.5 不良反应 记录两组患者治疗期间发热、寒战、头痛、恶心/呕吐情况。

1.6 统计学分析

采用 SPSS 26.0 处理数据。计量资料行正态检验,均符合正态分布,以“ $\bar{x} \pm s$ ”表示,组间/组内比较采用独立/配对 t 检验。计数资料采用“例(%)”表示,行 χ^2 检验。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者疗效比较

研究过程中,对照组 3 例患者退出研究,研究组 1 例患者退出研究,最终对照组纳入 63 例,研究组纳入 65 例。研究组总有效率为 95.38%,显著高于对照组的 74.60%($P < 0.05$)。详见表 2。

表 2 两组患者疗效比较[例(%)]

Table 2 Comparison of therapeutic efficacy between the two groups of patients [case(%)]

组别	<i>n</i>	痊愈	有效	无效	总有效
对照组	63	27(42.85)	20(31.75)	16(25.40)	47(74.60)
研究组	65	41(63.07)	21(32.31)	3(4.62)	62(95.38)
χ^2 值					9.348
<i>P</i> 值					0.002

2.2 两组患者治疗前后 Th1/Th2 细胞因子比较

治疗前,两组 TNF- α 、IFN- γ 、IL-4、IL-10 水平比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。治疗后,两组 TNF- α 、IFN- γ 水平均较治疗前降低($P < 0.05$),IL-4、IL-10 水平均较治疗前升高($P < 0.05$);且研究组 TNF- α 、IFN- γ 水平低于对照组($P < 0.05$),IL-4、IL-10 水平高于对照组($P < 0.05$)。详见表 3。

2.3 两组患者治疗前后 MDSCs 比较

治疗前,两组 MDSCs 差异无统计学意义($P > 0.05$)。

表 3 两组患者治疗前后 Th1/Th2 细胞因子变化($\bar{x} \pm s$, ng/L)

Table 3 Changes in Th1/Th2 cytokines before and after treatment in the two groups of patients ($\bar{x} \pm s$, ng/L)

组别	<i>n</i>	TNF- α		IFN- γ		IL-4		IL-10	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
对照组	63	61.36 \pm 7.85	45.63 \pm 4.61*	26.33 \pm 2.87	21.63 \pm 3.19*	2.61 \pm 0.31	4.52 \pm 0.77*	16.38 \pm 3.06	25.69 \pm 3.05*
研究组	65	62.16 \pm 7.71	31.92 \pm 4.06*	26.91 \pm 2.82	14.88 \pm 2.09*	2.58 \pm 0.32	6.89 \pm 0.91*	16.57 \pm 3.11	34.92 \pm 4.19*
<i>t</i> 值		-0.582	17.870	-1.153	14.203	0.538	-15.882	-0.348	-14.212
<i>P</i> 值		0.562	<0.001	0.251	<0.001	0.591	<0.001	0.728	<0.001

注:与治疗前比较,* $P < 0.05$ 。

治疗后,两组 MDSCs 均较治疗前升高($P<0.05$);且研究组 MDSCs 高于对照组($P<0.05$),详见表 4。

表 4 两组患者治疗前后 MDSCs 比较($\bar{x}\pm s, \%$)

Table 4 Comparison of MDSCs before and after treatment between the two groups of patients ($\bar{x}\pm s, \%$)

组别	<i>n</i>	治疗前	治疗后
对照组	63	0.79±0.11	1.59±0.26*
研究组	65	0.81±0.13	2.96±0.33*
<i>t</i> 值		-0.938	-26.036
<i>P</i> 值		0.350	<0.001

注:与治疗前比较,* $P<0.05$ 。

2.4 两组患者治疗前后 Treg、Th17 及 Treg/Th17 比较

治疗前,两组 Treg、Th17、Treg/Th17 差异均无统计学意义($P>0.05$)。治疗后,两组 Treg 和 Treg/Th17 均较治疗前升高($P<0.05$),Th17 均较治疗前降低($P<0.05$);且研究组 Treg 和 Treg/Th17 高于对照组($P<0.05$),Th17 低于对照组($P<0.05$)。详见表 5。

2.5 两组患者不良反应发生率比较

研究组总不良反应发生率(9.23%)低于对照组(26.98%)($P<0.05$)。详见表 6。

3 讨论

ITP 是一种自身免疫性疾病,其致病机制尚未完全明确。ITP 以 T 细胞功能紊乱为主要病理特点,引起血小板破坏增加、巨核细胞发育不良^[8]。目前认为,ITP 的发病机制为抗血小板抗体与血小板相互

作用,并与其表面 Fc 型受体发生相互作用^[9]。以往研究表明,ITP 的发生与机体的体液免疫紊乱、血浆中的血小板结合性抗体增多、血小板被破坏等因素有关^[10]。近年来,免疫学和分子生物学等研究表明,T 淋巴细胞在 ITP 发病中起重要作用^[11]。

MDSCs 是一种异质性的未成熟髓系细胞,可产生 IL 等免疫抑制因子,而炎性环境可能促进 ITP 患者 MDSC 的增加^[12]。本研究结果发现,相较于对照组,研究组 MDSCs 比例更低,且研究组总有效率更高。分析其原因可能是银杏内酯 B 作为一种中药提取物,主要自银杏叶中提取分离,对血小板活化因子有明显的抑制效应^[13]。银杏内酯 B 可以调节免疫细胞的活性,降低自身免疫反应的强度,减少自身抗体对血小板的攻击和破坏。LI 等^[14]研究发现,在血小板活化因子受体于机体作用过程中,可参与炎症、免疫等生理过程,而银杏内酯 B 可与其发生相互作用,调控血小板活化因子诱导血小板激活,对血栓的形成有一定的抑制作用,从而发挥保护血管内皮细胞的效果,同时机体炎症效应的改善也间接导致 MDSCs 比例下降。此外,银杏内酯 B 可以调节免疫细胞的活性,降低自身免疫反应的强度,减少自身抗体对血小板的攻击和破坏^[15]。银杏内酯 B 还可通过下调氧化低密度脂蛋白介导的炎症相关基因的表达,抑制核因子 κ B 的激活^[16]。

Th1 分泌 TNF- α 、IFN- γ 等细胞因子,可介导细胞免疫反应;Th2 细胞主要分泌 IL-4、IL-10 等细胞

表 5 两组患者治疗前后 Treg、Th17 及 Treg/Th17 比较($\bar{x}\pm s$)

Table 5 Comparison of Treg, Th17, and Treg/Th17 before and after treatment between the two groups of patients ($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	Treg/%		Th17/%		Treg/Th17	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
对照组	63	2.26±0.29	4.59±0.53*	2.06±0.23	1.53±0.19*	1.26±0.16	3.26±0.38*
研究组	65	2.29±0.31	5.29±0.47*	2.11±0.21	1.32±0.15*	1.25±0.17	4.59±0.32*
<i>t</i> 值		-0.565	-7.912	-1.285	6.952	0.342	-21.444
<i>P</i> 值		0.573	<0.001	0.201	<0.001	0.733	<0.001

注:与治疗前比较,* $P<0.05$ 。

表 6 两组患者不良反应发生率比较[例(%)]

Table 6 Comparison of incidence of adverse reactions between the two groups of patients [case(%)]

组别	<i>n</i>	发热	寒战	头痛	恶心/呕吐	总不良反应发生
对照组	63	4(6.35)	3(4.76)	4(6.35)	6(9.52)	17(26.98)
研究组	65	1(1.54)	1(1.54)	2(3.08)	2(3.08)	6(9.24)
χ^2 值						6.841
<i>P</i> 值						0.009

因子,可介导体液免疫反应。本研究结果发现,相较于对照组,研究组 TNF- α 、IFN- γ 水平更低,IL-4、IL-10 水平更高。银杏内酯 B 具有较强的抗氧化能力,且在机体中可与血小板因子发生反应,进而减轻自由基对血小板的损伤,保护血小板的完整性和功能^[17]。此外,银杏内酯 B 可维持 ITP 患者血管内皮的正常生理功能,为血小板提供良好的生存环境,促进其正常黏附、聚集,释放反应,进而促进血小板生成,改善 T 细胞亚群细胞因子^[15]。本研究结果表明,治疗后,两组 Treg、Treg/Th17 均升高,Th17 均降低,且相较于对照组,研究组 Treg、Treg/Th17 更高,Th17 更低。分析原因,可能是银杏内酯 B 可通过多种途径刺激造血干细胞分化为血小板,增加血小板的数量,抑制血小板活化和聚集,避免血栓形成和血小板的过度消耗^[18]。总之,银杏内酯 B 注射液对 ITP 的作用机制具有多面性,其通过免疫调节、抗氧化应激以及改善血管内皮功能等多种方式,有效促进血小板的生成和功能恢复。然而,在使用银杏内酯 B 注射液或其他相关药物时,必须严格遵循医生的专业建议,并结合患者的具体个体情况进行科学评估和治疗。

综上所述,应用银杏内酯 B 注射液治疗 ITP 患者,可显著提升患者临床疗效,改善 Th1/Th2 细胞因子、MDSCs 及免疫失衡情况,提升临床治疗安全性。本研究为单中心研究、未对 ITP 患者进行随访,无法判定银杏内酯 B 注射液的长期效果。因此,未来应采用多中心样本,增加随访时间,进一步证实银杏内酯 B 注射液对 ITP 的临床应用价值。

参考文献

- [1] 聂甜,江劲波,何娅娜,等. 牛角地黄汤对免疫性血小板减少症大鼠外周血单个核细胞IDO表达的影响[J]. 湖南中医药大学学报, 2021, 41(9): 1334-1338.
- [2] 文光焰,陈斯敏,吴婵,等. 原发免疫性血小板减少症发病机制及其相关指标的研究进展[J]. 承德医学院学报, 2024, 41(4): 326-330.
- [3] BESTWICK J P, SKELLY B J, SWANN J W, et al. Splenectomy in the management of primary immune-mediated hemolytic Anemia and primary immune-mediated thrombocytopenia in dogs[J]. Journal of Veterinary Internal Medicine, 2022, 36(4): 1267-1280.
- [4] 侯兰芬,李文静,李丽,等. 益气养血汤联合小剂量利妥昔单抗治疗难治性免疫性血小板减少症的效果观察[J]. 解放军医药杂志, 2022, 34(6): 126-130.
- [5] 李娜,王黎,伏建峰. 银杏内酯 B 缓解急性缺氧所致大脑损伤保护机制的研究进展[J]. 华南国防医学杂志, 2022, 36(3): 234-237.
- [6] 中华医学会血液学分会止血与血栓学组. 成人原发免疫性血小板减少症诊断与治疗中国专家共识(2016年版)[J]. 中华血液学杂志, 2016, 37(2): 89-93.
- [7] 徐岩,王春美,李白,等. 艾曲泊帕治疗持续性/慢性原发性免疫性血小板减少症疗效观察[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2023, 37(3): 313-317.
- [8] 黎诗婷,韩滋芸,代喜平. 透热转气治法在血热型原发免疫性血小板减少症治疗中的应用[J]. 中医杂志, 2023, 64(1): 88-91.
- [9] 王秀娟,孙明玲,马金忠,等. 原发与继发免疫性血小板减少症患者血小板膜糖蛋白特异性抗体及其与出血评分关系的研究[J]. 中国现代医学杂志, 2024, 34(1): 78-83.
- [10] 胡群,王天有. 规范儿童原发性免疫性血小板减少症的诊断治疗[J]. 中华儿科杂志, 2021, 59(10): 807-809.
- [11] 罗雅琴,黄伟. 细胞自噬在免疫性血小板减少症中的作用机制研究进展[J]. 新乡医学院学报, 2022, 39(4): 381-386.
- [12] 刘要伟. 成人ITP患者骨髓MDSC数量及功能研究[D]. 天津: 天津医科大学, 2018.
- [13] 薛昌雯,邵小宝,陈鑫,等. 银杏内酯 B 抑制血小板与肿瘤细胞相互作用的实验研究[J]. 临床输血与检验, 2024, 26(2): 205-212.
- [14] LI Y S, GAO J S, YANG X, et al. Combination of curcumin and ginkgolide B inhibits cystogenesis by regulating multiple signaling pathways[J]. Molecular Medicine Reports, 2021, 23(3): 195.
- [15] 阴俊俊. 基于异病同治理论探讨银杏内酯 B 对 CPZ 脱髓鞘和 MPTP-PD 小鼠神经保护作用及其机制[D]. 太原: 山西中医药大学, 2020.
- [16] 肖斯婷,曹春然,刘红艳,等. 银杏叶提取物的药学研究进展[J]. 中国药事, 2022, 36(4): 429-443.
- [17] CHEN A M, HUA J, YUAN J, et al. Ginkgolide B promotes spontaneous recovery and enhances endogenous netrin-1 after neonatal hypoxic-ischemic brain damage[J]. International Journal of Developmental Neuroscience, 2023, 83(8): 740-752.
- [18] LI Y, ZHANG M M, LI S Y, et al. Selective ischemic-hemisphere targeting Ginkgolide B liposomes with improved solubility and therapeutic efficacy for cerebral ischemia-reperfusion injury[J]. Asian Journal of Pharmaceutical Sciences, 2023, 18(2): 100783.

(本文编辑 周旦)