

首次接受唑来膦酸治疗对骨质疏松患者血淋巴细胞计数的影响

郭彦宏¹, 范翩翩¹, 王 覃¹, 李 静¹, 罗夕茗¹, 卢春燕¹, 陈德才^{1,2△}

1. 四川大学华西医院 内分泌代谢科(成都 610041); 2. 四川大学华西医院 骨质疏松医疗教育中心(成都 610041)

【摘要】 目的 探究首次使用唑来膦酸治疗骨质疏松症患者白细胞计数的变化,寻找其预测指标。**方法** 对四川大学华西医院内分泌代谢科 2009 年 10 月至 2015 年 2 月首次使用唑来膦酸 5 mg 治疗骨质疏松症的住院患者的临床资料进行回顾性分析,比较所有患者静脉滴注唑来膦酸前及滴注后第 3 d 血常规指标以及相关的影响因素。**结果** 253 例患者入组。男性 27 例(10.7%),女性 226 例(89.3%),平均年龄(69.2±8.9)岁,其中女性患者平均绝经年龄为(48.3±3.9)岁,体质指数(23.1±4.4) kg/m²,骨质疏松症相关病程为 8 d~45 年。给药后第 3 d,患者淋巴细胞计数下降($P<0.001$);而白细胞总数有下降趋势,中性粒细胞计数有上升趋势,但差异均无统计学意义($P>0.05$)。给药前 1,25(OH)₂D₃/给药后 3 d 内最高体温与患者淋巴细胞计数下降幅度存在线性相关(标准偏回归系数分别为 0.244 和 0.271, P 分别为 0.036 和 0.015)。**结论** 首次采用静脉滴注唑来膦酸抗骨质疏松治疗后会淋巴细胞计数降低。用药前 1,25(OH)₂D₃ 水平、用药后发热的最高体温对淋巴细胞计数降低有一定的预测价值。

【关键词】 唑来膦酸 淋巴细胞降低 骨质疏松

骨质疏松症是一种以低骨量和骨组织微结构破坏为特征、脆性增加且易于骨折为特点的系统性骨病。随着年龄增加发病率逐渐升高,骨质疏松性骨折的发生率也随之增加^[1],因此骨质疏松症的治疗十分重要。双膦酸盐类是目前常用的抗骨质疏松药物,其中,唑来膦酸不仅可用于治疗女性绝经后骨质疏松症、男性骨质疏松症,还可用于预防长期使用糖皮质激素(使用激素超过 12 个月)所致的继发性骨质疏松症,能降低骨质疏松相关骨折新发以及再发的风险^[2,3],故其临床使用广泛。唑来膦酸作为含氮类二膦酸盐其作用机制主要是通过阻断甲羟戊酸途径中法尼基焦磷酸合成酶(FPP 合成酶),阻断了破骨细胞结构蛋白形成通路,降低破骨细胞功能及活性从而抑制骨吸收^[4]。目前一些个案研究提示患者使用唑来膦酸后会出现血清中淋巴细胞数量下降^[5,6],我们在临床上也观察到该现象。为进一步探讨首次使用唑来膦酸治疗骨质疏松症后白细胞计数降低的现象,探寻能预测白细胞计数降低的相关因素并预测白细胞变化趋势,本研究对四川大学华西医院内分泌代谢科 2009 年 10 月至 2015 年 2 月首次使用唑来膦酸 5 mg 治疗骨质疏松症的住院患者资料进行了回顾性分析,报道如下。

1 对象及方法

1.1 研究对象的纳入和排除标准

从 2009 年 10 月起至 2015 年 2 月止,收集就诊于四川大学华西医院内分泌代谢科首次静脉滴注唑来膦酸(5 mg, 密固达,北京诺华)治疗骨质疏松症的住院患者资料。研究资料纳入标准:①首次接受唑来膦酸治疗的已确诊骨质疏松

症患者;②肝肾功能正常。排除标准:患者合并血液系统疾病,用药前有发热或合并其它系统肿瘤、严重感染以及其它系统慢性消耗性疾病。

1.2 观察指标

从住院资料中查询上述患者输注唑来膦酸的具体日期,收集其住院期间给药前、给药后第 3 d、给药后第 7 d 的血常规、肝肾功能、骨代谢标志物等检查资料进行分析,上述指标均由四川大学华西医院检验科检测并出具报告。检测方法:骨碱性磷酸酶(B-ALP)采用微粒子化学发光法检测,血清 I 型胶原羧基末端肽(CTX)、血清骨钙素 N 端片段(NMID)、甲状旁腺激素(PTH)采用电化学发光法检测,抗酒石酸酸性磷酸酶(TRAP-5b)、1,25(OH)₂D₃/25(OH)D₃采用酶联免疫吸附法(ELISA)测定。

考虑静脉滴注唑来膦酸时对患者进行口服或静脉补液,为避免血液稀释干扰细胞计数,采用红细胞压积(HCT)校正后进行细胞数量观察[HCT 滴注前为(0.39±0.04) L/L,滴注后为(0.38±0.04) L/L, $P<0.001$]。

1.3 统计学方法

所有数据用 PASW[version 18.0, 析数软件(上海)有限公司]进行统计处理。符合正态分布的计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,不符合正态分布的以中位数(最小值,最大值)表示。治疗前、治疗后第 3 d、治疗后第 7 d 组间计量资料的比较采用配对 t 检验及协方差分析,淋巴细胞下降程度与各因素之间相关性分析采用多元线性回归, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 患者的一般资料

首次静脉输注唑来膦酸的骨质疏松症患者共计 271 例,

△ 通讯作者, E-mail: 18980601309@163.com

排除合并感染者 16 例、合并淋巴瘤 2 例,筛选 253 例患者入组。男性 27 例(10.7%),女性 226 例(89.3%),平均年龄(69.2±8.9)岁,其中女性患者平均绝经年龄为(48.3±3.9)岁,体质指数(23.1±4.4) kg/m²,骨质疏松症相关病程为 8 d~45 年。

2.2 静脉滴注唑来膦酸的安全性评价

输注唑来膦酸后第 3 d 患者丙氨酸氨基转移酶(ALT)、谷氨酸氨基转移酶(AST)较用药前升高($P<0.05$);白蛋白(ALB)、尿素(BUN)、肌酐清除率(CREA)较用药前下降($P<0.05$);2 例患者用药第 3 d 复查出现 ALT 升高超过正常上限,出院前上述患者再次复查肝功 ALT 均恢复至正常水平($ALT<40$ IU/L)。静脉滴注唑来膦酸后未出现明显肝肾毒性。见表 1。

表 1 253 例患者输注唑来膦酸前与用药后第 3 d 的肝肾功能			
	给药前	给药后第 3 d	<i>P</i>
ALT(IU/L)	18.39±11.06	20.44±12.26	0.005
AST(IU/L)	23.74±10.46	25.62±10.78	0.023
ALB(g/L)	40.83±3.37	38.12±3.74	<0.001
BUN(mol/L)	5.76±1.82	4.88±1.79	<0.001
CREA(μmol/L)	66.4±17.07	65.09±18.17	0.021

表 3 253 例患者输注唑来膦酸前与用药后第 3 d 主要白细胞的变化(HCT 校正后)				
	给药前	给药后第 3 d	变化值	<i>P</i>
白细胞总数(×10 ⁹ /L)	5.14±0.09	4.93±0.09	-0.18±0.13	0.178
中性粒细胞(×10 ⁹ /L)	3.06±0.08	3.25±0.08	0.20±0.12	0.088
淋巴细胞(×10 ⁹ /L)	1.59±0.35	1.25±0.35	-0.34±0.05	<0.001
HCT(L/L)	0.39±0.04	0.38±0.04	-0.01±0.03	<0.001

表 4 29 例发生淋巴细胞减少症患者输注唑来膦酸后主要白细胞变化(HCT 校正后)				
	用药前	用药后第 3 d	用药后第 7 d	<i>P</i>
白细胞总数(×10 ⁹ /L)	4.88±0.22	4.58±0.22	4.21±0.34	0.132
中性粒细胞(×10 ⁹ /L)	3.14±0.21	3.47±0.21	2.73±0.33	0.088
淋巴细胞(×10 ⁹ /L)	1.26±0.06	0.68±0.06*	1.01±0.09*	<0.001
HCT(L/L)	0.38±0.04	0.37±0.04	0.36±0.04	0.018

* $P<0.05$,与用药前相比

2.4 淋巴细胞下降的多元回归分析

253 例患者资料中,将给药后第 3 d 患者淋巴细胞计数下降幅度作为自变量,患者年龄、用药后 3 d 内最高体温、给药前 1,25(OH)₂D 水平、骨代谢标志物为因变量进行多元线性回归分析后得出:给药前 1,25(OH)₂D 水平、给药后 3 d

此次研究中,7 d 内使用唑来膦酸治疗后发生淋巴细胞减少的患者均未出现继发呼吸、消化等系统感染。

2.3 静脉滴注唑来膦酸前后骨代谢标志物及白细胞的改变

输注唑来膦酸后第 3 d B-ALP、CTX、N-MID、TRACP-5b 较用药前下降,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 2。

表 2 253 例患者输注唑来膦酸前与用药后第 3 d 的骨代谢标志物			
	给药前	给药后第 3 d	<i>P</i>
B-ALP(μg/L)	18.70±9.48	16.69±7.69	<0.001
CTX(ng/L)	0.77±2.32	0.09±0.06	0.002
N-MID(ng/L)	20.20±9.63	19.78±9.62	0.008
TRAP-5b(IU/L)	3.70±1.63	2.80±1.20	<0.001

用药后第 3 d,淋巴细胞计数下降($P<0.001$),白细胞总数和中性粒细胞计数均无明显变化($P>0.05$),见表 3。253 例患者中 79 例(31.2%)出现白细胞减少症($<4.0\times 10^9/L$),88 例(34.8%)出现淋巴细胞减少症($<1.0\times 10^9/L$),45 例(17.8%)出现中性粒细胞减少症($<2.0\times 10^9/L$),但所有患者并未在用药后发生严重感染。用药后第 3 d 发生淋巴细胞减少症的 88 例患者中,有 29 例在给药后第 7 d 进行了复查,淋巴细胞计数高于给药后第 3 d,但仍低于给药前(P 均 <0.05),见表 4。

表 5 给药后第 3 d 患者淋巴细胞下降的多元线性回归

因素	偏回归系数	标准误	标准偏回归系数	<i>t</i>	<i>P</i>
年龄(岁)	-0.001	0.008	-0.022	-0.686	0.846
给药后 3 d 内最高体温(℃)	0.153	0.084	0.271	2.497	0.015
给药前 1,25(OH) ₂ D(pmol/L)	0.003	0.002	0.244	2.187	0.036
给药前 B-ALP(μg/L)	-0.016	0.011	-0.272	-1.484	0.147
给药前 CTX(ng/mL)	-0.174	0.41	-0.099	-0.423	0.675
给药前 NMID(ng/mL)	0.021	0.014	0.321	1.499	0.144
给药前 TRAP-5b(U/L)	-0.032	0.063	-0.099	-0.517	0.609
给药前 PTH(pmol/L)	-0.021	0.021	-0.117	-0.993	0.324
给药前 25(OH)D(nmol/L)	0.001	0.002	0.031	0.287	0.775

3 讨论

此次研究中,仅 2 例患者输注唑来膦酸第 3 d 后出现一过性 ALT 升高,输注唑来膦酸第 3 d 后患者 BUN、CREA 小幅下降。未发现患者使用唑来膦酸后肝功能、肾功能进一步受损。本研究观察到患者首次使用唑来膦酸 3 d 后可出现淋巴细胞减少,79 例(31.2%)出现白细胞减少症,88 例(34.8%)出现淋巴细胞减少症,45 例(17.8%)出现中性粒细胞减少症,部分发生淋巴细胞减少症的患者用药 7 d 后再次复查,其淋巴细胞计数出现恢复趋势。上述淋巴细胞计数先下降后回升的原因是由于给药初期,人外周血中性粒细胞摄取唑来膦酸并抑制 T 淋巴细胞功能,随时间延长,中性粒细胞代谢生成的过氧化氢、丝氨酸蛋白酶、精氨酸酶等产物又激活 T 淋巴细胞增殖,使中性粒细胞对 T 细胞的抑制作用解除^[7]。Welton 等^[8]研究中同样发现骨质疏松患者接受唑来膦酸治疗后,出现外周 T 淋巴一过性下降。我们以大样本的临床观察验证了上述研究结论。此次研究观察到约 1/3 的患者首次使用唑来膦酸后存在淋巴细胞减少症风险,虽然目前尚无减少该风险发生的有效措施,然而并未在此次研究中观察到使用唑来膦酸治疗后发生淋巴细胞减少的患者继发呼吸、消化等系统感染,提示唑来膦酸一过性抑制淋巴细胞增殖的同时并未出现机体免疫功能明显下降。

临床上观察到患者使用唑来膦酸后最常见的急性期不良反应是发热,在用药 3 d 后温度逐渐恢复,与淋巴细胞变化趋势相似。发热为机体炎症反应启动的体温调节过程,因此推断用药后最高体温能一定程度上反映淋巴细胞减少程度。此次研究发现患者用药后发热的最高体温与淋巴细胞计数下降幅度存在线性相关(标准偏回归系数=0.271),提示发热温度对淋巴细胞减少有预测价值。其机制是由于唑来膦酸可阻断 FFP 合成酶途径,使该途径上游代谢产物聚集并激活 $\gamma\delta$ T 细胞,分泌大量炎症因子如 γ -干扰素(IFN- γ)、肿瘤坏死因子- β (TNF- β)、白介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α),引起炎症反应,启动体温调节应答,从而导致体温上升^[7,9]。但随着炎症反应的进行,机体会产生避免过强免疫应答的负反馈,启动活化诱导细胞死亡(activation-induced cell death, AICD),不仅清除 $\gamma\delta$ T 细胞^[10],其它自身反应性淋巴细胞也将被清除从而导致淋巴细胞数目减少。因此急性期发热温度越高、炎症反应持续时间越长,表明炎症因子浓度越大,被动员的淋巴细胞越多,急性期反应后淋巴细胞计数的降低也就越显著。

基础研究提示 1,25(OH)₂D 可直接抑制 T 淋巴细胞的增殖、阻碍 B 淋巴细胞前体细胞分化为浆细胞、减少免疫球蛋白的产生和诱导 B 淋巴细胞的凋亡^[11,12],因此推测 1,25(OH)₂D 高者输注唑来膦酸后易出现淋巴细胞数量减少。此次研究发现患者用药前 1,25(OH)₂D 水平与淋巴细胞计数下降幅度存在线性相关(标准偏回归系数=0.244),提示用药前患者 1,25(OH)₂D 水平对淋巴细胞减少有预测价值,同时也侧面反映了 1,25(OH)₂D 的免疫调节作用。

此次研究未发现年龄与淋巴细胞减少值存在线性相关,Reid 等^[13]研究发现骨质疏松患者中年龄较小者使用唑来膦酸后发生急性期反应的风险高于年长者,其机制可能是因为老年个体存在更多衰老且不能表达诱导凋亡因子 CD95 的 T 细胞^[14],从而避免了上述 AICD 过程对淋巴细胞的清除,因此从上述机制推测年龄越大越不易发生淋巴细胞减少。Reid 等的研究中主要观察指标是临床症状,未观察淋巴细胞减少与年龄的关系,此次研究未发现年龄与淋巴细胞减少值存在线性相关,因此年龄与淋巴细胞减少值关系尚不明确,需今后加大研究样本量进一步分析;此次研究未将性别因素纳入分析,一方面目前国内外尚无相关研究提示唑来膦酸药物反应存在性别差异,另一方面唑来膦酸作用机制与性激素无明显关联,因此考虑性别因素影响淋巴细胞下降的依据不足,未将其纳入分析。

急性期反应中发热的最高温度是此次研究的主要观察指标,在此次研究中预防和治疗发热时采取了物理降温及解热药物等处理,可能因此低估了发热期的最高温度。但这种情况下,淋巴细胞下降幅度与发热最高温度仍然存在线性相关,因此更加肯定了使用唑来膦酸后发热的最高体温对淋巴细胞减少的预测作用;此次研究中纳入分析的患者绝大部分为老年人,不能较好的比较不同年龄段人群使用唑来膦酸治疗骨质疏松症后淋巴细胞减少的差异。另外,本研究主要反映使用唑来膦酸后 1 周内淋巴细胞的变化,今后可以进一步延长唑来膦酸使用后患者白细胞变化的观察时间,得到白细胞计数变化的长期规律。

综上,首次使用唑来膦酸治疗骨质疏松的患者易出现淋巴细胞减少,其发生率为 31.2%。用药前 1,25(OH)₂D 水平越高、用药后发热的最高体温越高,淋巴细胞下降幅度越大,提示患者 1,25(OH)₂D 水平、用药后发热的最高体温对淋巴细胞计数降低有一定的预测价值,同时提示唑来膦酸具有免疫调节作用。

参 考 文 献

- 1 刘明,潘薇,陈德才. 甲状旁腺激素治疗骨质疏松症的研究进展. 中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志, 2012;5(2):151-155.
- 2 Boonen S, Orwoll E, Magaziner J, *et al.* Once-yearly zoledronic acid in older men compared with women with recent hip fracture. *J Am Geriatr Soc*, 2011;59(11):2084-2090.
- 3 Serefoglu EC, Tandogdu Z. Efficacy and safety of zoledronic acid in the treatment of glucocorticoid-induced osteoporosis. *Ther Clin Risk Manag*, 2010;6(1):219-223.
- 4 Farshdousti Hagh M, Noruzinia M, Mortazavi Y, *et al.* Zoledronic acid induces osteoblastic differentiation of mesenchymal stem cells without change in hypomethylation status of OSTERIX promoter. *Cell J*, 2012;14(2):90-97.
- 5 Rossini M, Adami S, Viapiana O, *et al.* Long-term effects of amino-bisphosphonates on circulating gammadelta T cells. *Calcif Tissue Int*, 2012;91(6):395-399.

(下转第 127 页)

mortality: a meta-analysis of prospective studies. *Int J Clin Exp Med*,2015;8(1):1-9.

13 李 君, 张新军. 微量白蛋白尿在原发性高血压患者中的临床意义. *华西医学*,2012;27(11):1729-1732.

14 Tenekecioglu E, Yilmaz M, Yontar OC, *et al.* Microalbuminuria in untreated prehypertension and hypertension without diabetes. *Int J Clin Exp Med*,2014;7(10):3420-3429.

15 Cerasola G, Cusimano P. Hypertension,microalbuminuria and renal dysfunction: the Renal Dysfunction in Hypertension (REDHY) study. *J Nephrol*,2008;21(3):368-373.

16 Hara H, Kougami K, Shimokawa K, *et al.* The prevalence and risk factors of microalbuminuria in hypertensive patients under current medical treatment. *Intern Med*,2014;53(12):1275-1281.

17 Hitha B, Pappachan JM, Pillai HB, *et al.* Microalbuminuria in patients with essential hypertension and its relationship to target organ damage: an Indian experience. *Saudi J Kidney Dis Transpl*,2008;19(3):411-419.

18 王方芳, 杨冬花, 李昭屏. 微量白蛋白尿在原发性高血压中的研究进展. *中国心血管病研究*,2009;7(4):305-307.

19 Basi S, Fesler P, Mimran A, *et al.* Microalbuminuria in type 2 diabetes and hypertension: a marker, treatment target, or innocent bystander? *Diabetes Care*,2008;31(Suppl 2):S194-S201.

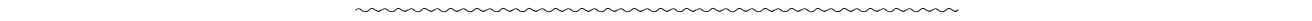
20 Yang F, Tan HM, Wang H. Hyperhomocysteinemia and atherosclerosis. *生理学报*,2005;57(2):103-114.

21 周英智, 马丽娜, 杨 伟等. 血清同型半胱氨酸高水平的老年高血压病患者尿微量白蛋白的变化. *心脏杂志*,2014;26(2):152-153.

22 Wu AY, Low LP. Managing vascular risk in hypertension with a focus on microalbuminuria: attitude and practices. *Singapore Med J*,2009;50(10):976-981.

(2015-03-02 收稿,2015-06-17 修回)

编辑 余 琳



(上接第 113 页)

6 陈 燕, 卢春燕, 刘 婷等. 首次使用唑来膦酸治疗骨质疏松症急性期反应及其危险因素分析. *四川大学学报(医学版)*,2013;44(4):681-684.

7 Kalyan S, Chandrasekaran V, Quabius ES, *et al.* Neutrophil uptake of nitrogen-bisphosphonates leads to the suppression of human peripheral blood gammadelta T cells. *Cell Mol Life Sci*,2014;71(12):2335-2346.

8 Welton JL, Morgan MP, Marti S, *et al.* Monocytes and gammadelta T cells control the acute-phase response to intravenous zoledronate: insights from a phase IV safety trial. *J Bone Miner Res*,2013;28(3):464-471.

9 Lee CT, Zhong L, Mace TA, *et al.* Elevation in body temperature to fever range enhances and prolongs subsequent responsiveness of macrophages to endotoxin challenge. *PLoS One*,2012;7(1):393-405.

10 Kalyan S, Quabius ES, Wiltfang J, *et al.* Can peripheral blood gammadelta T cells predict osteonecrosis of the jaw? *An immunological perspective on the adverse drug effects of aminobisphosphonate therapy*. *J Bone Miner Res*,2013;28(4):728-735.

11 Jeffery LE, Wood AM, Qureshi OS, *et al.* Availability of 25-hydroxyvitamin D(3) to APCs controls the balance between regulatory and inflammatory T cell responses. *J Immunol*,2012;189(11):5155-5164.

12 Chen S, Sims GP, Chen XX, *et al.* Modulatory effects of 1, 25-dihydroxyvitamin D3 on human B cell differentiation. *J Immunol*,2007;179(3):1634-1647.

13 Reid IR, Gamble GD, Mesenbrink P, *et al.* Characterization of and risk factors for the acute-phase response after zoledronic acid. *J Clin Endocrinol Metab*,2010;95(9):4380-4387.

14 Todo-Bom A, Mota-Pinto A, Alves V, *et al.* Aging and asthma-changes in CD45RA, CD29 and CD95 T cells subsets. *Allergol Immunopathol (Madr)*,2012;40(1):14-19.

(2015-05-18 收稿,2015-10-08 修回)

编辑 吕 熙