

探讨血小板膜糖蛋白在免疫性血小板输注无效中的临床意义

宋晨辉 梁 静^{通讯作者}

(新疆医科大学第六附属医院 830000)

摘要: 目的: 探究血小板膜糖蛋白在免疫性血小板输注无效发生机制中的重要作用。方法: 采用流式细胞技术检测免疫性 PTR 患者和输注血小板有效者血小板膜糖蛋白。采用 SPSS 23.0 统计学软件对所得数据进行分析。结果: PTR 患者 CD36、CD61 表达较血小板输注有效组显著降低, 而两组样本中 CD41a 表达情况无显著差异。结论: 免疫性 PTR 的发生不能完全归于血小板抗体的产生, 患者血小板膜糖蛋白的异常表达提示血小板膜糖蛋白可能参与免疫性 PTR 的发生。

关键词: 免疫性血小板输注无效; 血小板膜糖蛋白; 血小板特异性抗体

前言

血小板输注是治疗血小板数量减少和其他血小板功能缺陷所致疾病的一种具有良好效果的方法。但临床上存在患者在输入足量血小板后, 血小板计数并未明显增加、止血目的未达到的情况, 同时还会有发热、过敏等不良反应, 这种情况就是血小板输注无效 (platelet transfusion refractoriness, PTR)。简单地定义为输注血小板后血小板计数增加值不满意, 但缺乏明确的定义^[1]。PTR 是治疗出血性疾病过程中常见的难治性临床问题, 发生率高达 30%~70%^[2,3], 可导致患者严重的不良后果。现在临床上应对免疫性 PTR 时多采取人类白细胞抗原 (HLA) 配型和血小板交叉配型, 但实际临床工作中由于血小板的保存期短、库存不足、供应不及时, 配型输注很难在短时间内完成。改善免疫性输注无效患者血小板输注效果需要明确其机制, 但现阶段针对 PTR 的研究一直比较稀缺。本课题旨在通过流式细胞术检测免疫性血小板输注无效(病例)组、血小板输注有效组(对照)血小板膜糖蛋白表达, 研究血小板膜糖蛋白表达在免疫性血小板输注无效患者中的临床意义, 为免疫性输注无效患者提供新的输注策略, 从而改善血小板输注效果, 现报道如下。

1 资料与方法:

1.1 研究对象: 选取 2021 年 1 月至 2021 年 11 月新疆医科大学第六附属医院收治的共 33 名需要输血的患者, 其中 PTR 患者 (PTR 组) 23 名, 包括男 10 名, 女 13 名, 平均 (39.25 ± 2.68) 岁; 血小板输注有效患者 (对照组) 10 名, 包括男 4 名, 女 6 名, 平均 (40.10 ± 2.57) 岁。两组年龄、性别构成比较, 差异无统计学意义 (P>0.05)。本次研究所有患者均表示知情同意, 本研究经本院伦理委员会批准同意。

1.2 外周血 CD4+和 CD8+T、B 淋巴细胞检测: 采集所有纳入研究对象抽取空腹静脉血 3~5 mL, 向抗凝血液中加入细胞表面荧光标记抗体, 轻轻混匀后低温避光静置 15min, 用磷酸缓冲盐溶液 (phosphate buffer saline, PBS) 洗涤 3 次, 再加入溶血素 (美国 BD 公司) 2mL, 室温下作用 10min, 1500r/min 离心 10min, 弃上清, 加入破膜剂 1mL, 室温下作用 30min, 1500r/min 离心 10min, 弃上清。加入内标荧光标记抗体, 轻轻混匀后低温避光静置 30min。PBS 洗涤 2 到 3 次, 采用 FACSria 流式细胞仪 (美国 BD 公司) 检测血小板膜糖蛋白 (CD36、CD61、CD41a)。流式细胞术涉及抗体均购自美国 BD 公司。

1.3 统计学方法采用 SPSS 23.0 统计学软件对所得数据进行分析, 所有数据采用均值 ± 标准差 (x ± s) 表示, 两组组间比较采用独立样本 T 检测, 以 P<0.05 为差异有统计学意义。

2.结果:

采用流式细胞技术对 PTR 患者血小板膜糖蛋白 (CD36、CD61、CD41a) 表达情况进行检测, 结果显示, 病例组与对照组比较, 病例组样本中 CD36、CD61 表达显著降低; 两组样本中 CD41a 较空白对照组均表达异常, 其病例组 CD41a 表达低于对照组, 如下图 1,2 所示。

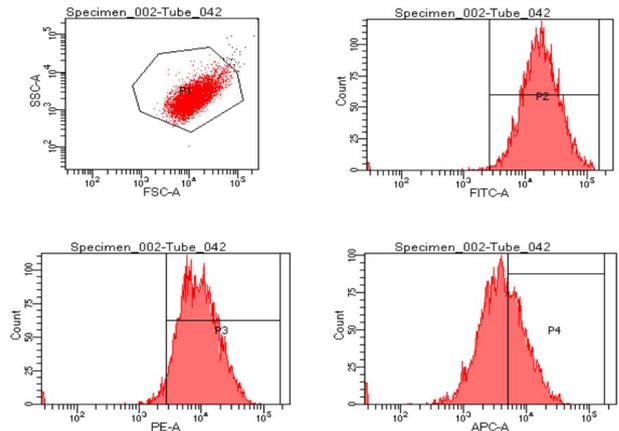


图 1 流式检测血小板糖蛋白表达图 (对照组)

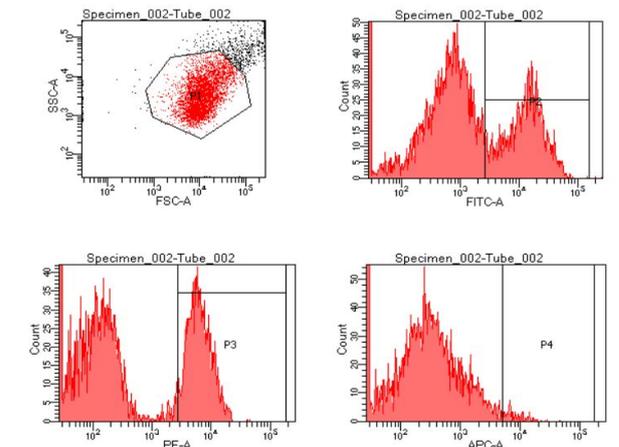


图 2 流式检测血小板糖蛋白表达图 (病例组)

3.讨论:

PTR 发生时, 输入的血小板在体内被迅速破坏, 严重情况下可导致患者死亡。临床上引起 PTR 的主要原因包括非免疫因素和免疫因素, 非免疫性因素包括出血、发烧、感染、脾肿大、弥散性血管内凝血 (DIC)、自身环境等^[4]。PTR 约 80% 是由非免疫因素引起^[5]。治疗原发性疾病或去除用药因素可改善非免疫性 PTR^[6]。免疫性因素是由 B 细胞通过体液免疫应答产生血小板抗体引起^[7], 包括针对人类白细胞抗原 (human leukocyte antigen, HLA)、人类血小板抗原 (human platelet antigen, HPA)、ABH 血型抗原等的抗体, 导致输入体内血小板存活时间明显缩短, 是引发 PTR 的重要原因之一。但新的研究发现在难治性血小板输注无效和免疫性血小板减少症患者中约 17%~40% 并没有明确的血小板抗体^[8], 说明体液免疫清除机制不能完全解释 PTR 的发生。

血小板膜糖蛋白 CD41a (GP II b) 和 CD61 (GP III a), 共同

形成 GP II b/III a 复合体, 又称整合素 α II b β 3, 是血小板(PLT)膜上含量最多的膜糖蛋白, 在血小板止血功能发挥重要作用^[9-13]。有研究发现, 血小板膜糖蛋白的特异性抗体会导致巨噬细胞对血小板及巨核细胞的吞噬和破坏^[14], 说明血小板膜蛋白的破坏在血小板稳态中起着至关重要的作用。

在本研究中, 我们采用流式细胞技术对 PTR 患者血小板膜糖蛋白(CD36、CD61、CD41a)表达情况进行检测, 发生 PTR 患者 CD36、CD61 表达较血小板输注有效组显著降低, 而两组样本中 CD41a 表达情况无显著差异。说明, 部分 PTR 患者没有产生血小板抗体, 除血小板抗体外还有其他免疫因素参与 PTR 发生。

综上所述, 免疫性 PTR 的发生不能完全归于血小板抗体的产生, 继续深入了解其机制可以为 PTR 的治疗提供新的思路, 从而建立更加有效和全面的小血小板输注策略。

参考文献:

- [1] Hod E, Schwartz J. Platelet transfusion refractoriness[J]. British Journal of Haematology, 2010, 142(3):348-360.
- [2] 杨小莉, 余泽波. 血小板输注无效原因及对策研究进展[J]. 检验医学与临床, 2019, 16(07):127-130.
- [3] 周燕, 李丽兰, 钟周琳, 等. 造血干细胞移植术后抗-CD36 注无效症和相关病例的实验研究[J]. 中国实验血液学杂志, 2018, 26(2):541-546.
- [4] Weinstock C, Schnaidt M. Human Leucocyte Antigen Sensitisation and Its Impact on Transfusion Practice[J]. Transfusion Medicine and Hemotherapy, 2019, 46(5).
- [5] Doughty H A, Murphy M F, Metcalfe P, et al. Relative Importance of Immune and Non-Immune Causes of Platelet Refractoriness[J]. Vox Sanguinis, 1994.
- [6] 刘瑛, 许先国, 马开荣, 等. HLA I 基因型配合输注策略用于免疫性血小板输注无效的实验研究. 中国输血杂志, 2021,

34(8): 832-835.

[7] Silberstein, Leslie, E, et al. Platelet refractoriness: it's not the B-all and end-all[J]. Blood: The Journal of the American Society of Hematology, 2016, 127:1740-1741.

[8] Vassallo R R, Norris P J. Can we "terminate" alloimmune platelet transfusion refractoriness?[J]. Transfusion, 2016, 56(1):19-22.

[9] Zhao BW, XH Zhang, Gu Y, et al. Anti-platelet aggregation mechanism of Xixian Tongshuan Preparation based on molecular simulation methods [J]. China journal of Chinese materia medica, 2019, 44(9): 1882-1888

[10] Dan X U, Cheng-Fu J I, Chen C, et al. The Effect of Dexamethasone Combined with Caffeic Acid Tablet on PAIgG and GP II b/ III a Levels in Patients with Primary Immune Thrombocytopenia [J]. Journal of Clinical Transfusion and Laboratory Medicine, 2019, 9 (11): 103-106

[11] Malakootikhah, Naghavi H, Firouzabadi N, et al. Association of human platelet alloantigens encoding gene polymorphisms with the risk of Coronary artery disease in Iranian patients [J]. BMC Cardiovascular Disorders, 2021, 21(1): 3-9

[12] Srzentic S J, Lilic M, Vavic N, et al. Genotyping of Eight Human Platelet Antigen Systems in Serbian Blood Donors: Foundation for Platelet Apheresis Registry [J]. Transfusion Medicine and Hemotherapy, 2021, 10(11): 1-6

[13] Qiao, Deng S, Zhang M, et al. Effects of two different glycoprotein platelet II b/III a inhibitors and the clinical endpoints in patients with intracranial Pipeline flow diverter implant [J]. Journal of Interventional Medicine, 2020, 3(4): 19-24

[14] 刘双. 血小板生成素受体激动剂对慢性 ITP Fc γ Rs 的调控研究. 山东大学, 2017.