

HPA 基因多态性对肝病患者血小板输注疗效的评估价值

晏丽¹ 李萍¹ 谢小双¹

[摘要] **目的:**探究血小板抗原(HPA)基因多态性对肝病患者血小板输注疗效的评估价值及血小板输注无效(PTR)的影响因素。**方法:**以 2019 年 1 月至 2021 年 7 月治疗的 98 例肝病患者为研究对象,根据 PTR 发生情况分为 PTR 组(25 例)及对照组(73 例),采用问卷调查收集患者年龄、性别、原发疾病、是否合并感染、是否存在发热症状等临床资料。应用德国 QIAGEN 公司血液 DNA 提取试剂盒提取总 DNA,行 HPA 基因多态性检测。**结果:**本研究纳入肝病患者的 HPA-2、HPA-3、HPA-15 基因多态性均符合 Hardy-Weinberg 平衡($P > 0.05$);PTR 组 HPA-2、HPA-3、HPA-15 基因 ab、bb 型检出率均高于对照组($P < 0.05$);HPA-2、HPA-3、HPA-15 基因多态性联合检测评估肝病患者血小板输注疗效的 ROC 曲线下面积(AUC) > 0.75 ;PTR 组存在存在发热症状、合并感染、血小板体外保存时间 > 3 d、输注次数 ≥ 3 次、脾脏厚度 ≥ 40 mm 的人数比例高于对照组($P < 0.05$),均为影响肝病患者出现 PTR 的危险因素($P < 0.05$)。**结论:**HPA 基因多态性对肝病患者血小板输注疗效具有评估价值,且发热、合并感染、血小板体外保存时间 > 3 d、输注次数 ≥ 3 次、脾脏厚度 ≥ 40 mm 是影响肝病患者出现 PTR 的危险因素。

[关键词] 肝病;血小板抗原;血小板输注疗效

DOI:10.13201/j.issn.1004-2806.2022.06.014

[中图分类号] R322.4;R457.1 **[文献标志码]** A

Value of HPA gene polymorphism in evaluating efficacy of platelet transfusion in patients with liver disease

YAN Li LI Ping XIE Xiaoshuang

(Department of Blood Transfusion, Neijiang First People's Hospital, Neijiang, 641000, China)

Abstract Objective: To explore the evaluation value of polymorphisms of platelet antigen(HPA) gene for platelet transfusion effect and the influencing factors of platelet transfusion refractoriness(PTR) in hepatopathy patients. **Methods:** A total of 98 patients with liver disease from January 2019 to July 2021 were divided into PTR group(25 cases) and control group(73 cases) according to the occurrence of PTR. The clinical data such as age, gender, primary disease, CO infection and fever symptoms were investigated by questionnaire. The total DNA was extracted with the blood DNA extraction kit of Qiagen company in Germany, and the HPA gene polymorphism was detected. **Results:** The polymorphisms of HPA-2, HPA-3 and HPA-15 genes were all in accordance with Hardy-Weinberg equilibrium($P > 0.05$). The detection rates of types ab and bb in HPA-2, HPA-3 and HPA-15 genes in PTR group were higher than those in control group($P < 0.05$). AUC of HPA-2 combined with HPA-3 and HPA-15 polymorphisms for evaluating platelet transfusion effect was over 0.75. The proportions of cases with fever, infection, platelet in vitro storage time > 3 d, transfusion times ≥ 3 times and spleen thickness ≥ 40 mm in PTR group were higher than those in control group($P < 0.05$). The fever, infection, platelet in vitro storage time > 3 d, transfusion times ≥ 3 times and spleen thickness ≥ 40 mm were risk factors of PTR($P < 0.05$). **Conclusion:** There may be evaluation value of HPA gene polymorphisms for platelet transfusion effect in hepatopathy patients. Fever, infection, platelet in vitro storage time > 3 d, transfusion times ≥ 3 times and spleen thickness ≥ 40 mm might be risk factors of PTR.

Key words hepatopathy; platelet antigen; platelet transfusion effect

血小板是重要的凝血因子,血小板输注对血小板减少及血小板功能异常引起的出血有较好的防治作用^[1]。相关研究指出,肝病患者多次输注血小板易出现血小板输注无效(platelet transfusion refractoriness, PTR)而危及患者生命^[2]。既往研究

发现,血小板抗原(platelet antigen, HPA)基因多态性也与 PTR 的发生有关^[3]。目前临床上已发现多种由编码基因的点突变造成的 HPA 基因多态性,与血栓性疾病有一定的关联性^[4]。肝病患者因凝血因子合成障碍导致凝血功能异常,而易诱发出血疾病,故需在住院期间反复输注红细胞悬液、血小板等血液制品,但 PTR 不仅会导致血小板输注

¹ 内江市第一人民医院输血科(四川内江,641000)

失败,还会增加出血患者死亡的危险性。分析导致肝病患者出现 PTR 的相关因素,并给予合理干预至关重要。目前尚无报道明确指出肝病患者与 PTR 发生的关系。本研究旨在探讨肝病患者 PTR 的影响因素及与 HPA 基因多态性关系,为肝病患者 PTR 的临床防治提供参考。

1 资料与方法

1.1 对象

以 2019 年 1 月至 2021 年 7 月治疗的 98 例肝病患者为研究对象,根据 PTR 发生情况分为 PTR 组(25 例)及对照组(73 例)。参考《临床输血检验》^[5]中 CCI 标准,对血小板输注效果进行评价:在患者输注血小板前及输注后 1、24 h 进行血小板计数,并计算 CCI,CCI=[(输注后血小板计数-输注前血小板计数)×体表面积(m²)]/血小板总数。输注后 1 h CCI>7.5×10⁹/L、输注后 24 h CCI>4.5×10⁹/L 即为有效。

1.2 纳入标准

①符合《实用临床肝病学》^[6]关于慢性肝炎、重症肝炎等肝病的诊断标准;②所输注的血小板均来自于健康献血者;③献血者与供血者无血缘关系;④临床资料完整者。

1.3 排除标准

①输注前 1 个月内有免疫球蛋白静脉注射史者;②输注其他血液成分者;③败血症患者。

1.4 方法

1.4.1 资料收集 采用资料问卷对患者基本信息进行调查,包括年龄、性别等,并根据患者病历统计

其临床资料,包括原发疾病、是否合并感染、是否存在发热症状等。

1.4.2 HPA 基因多态性检测 患者输注血小板前采集其空腹静脉血 3 mL,应用德国 QIAGEN 公司血液 DNA 提取试剂盒提取总 DNA,根据 HPA-2、HPA-3、HPA-15 基因序列设计引物,应用美国 ABI9700 型 PCR 仪进行 PCR 扩增,由上海生工生物工程有限公司对扩增产物进行直接测序。

1.5 观察指标

①比较 2 组 HPA 基因多态性,分析其对肝病患者血小板输注疗效的评估价值。②分析影响肝病患者出现 PTR 的危险因素。

1.6 统计学处理

应用 SPSS 22.0 软件处理数据,计数资料以例(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验;采用受试者工作特征曲线(ROC)分析 HPA 基因多态性对肝病患者血小板输注疗效的评估价值;采用 logistic 回归分析影响肝病患者出现 PTR 的危险因素。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 肝病患者 HPA 基因的 Hardy-Weinberg 平衡分析

本研究所纳入肝病患者的 HPA-2、HPA-3、HPA-15 基因多态性均符合 Hardy-Weinberg 平衡($P > 0.05$),见表 1。

2.2 PTR 组及对照组的 HPA 基因多态性比较

PTR 组 HPA-2、HPA-3、HPA-15 基因 ab、bb 型检出率均高于对照组($P < 0.05$),见表 2。

表 1 患者 HPA 基因的 Hardy-Weinberg 平衡分析

频率	HPA-2			HPA-3			HPA-15		
	aa	ab	bb	aa	ab	bb	aa	ab	bb
实际频率	39.00	37.00	22.00	32.00	41.00	25.00	29.00	38.00	31.00
理论频率	33.74	47.53	16.74	28.13	48.75	21.13	23.51	48.98	25.51
χ^2		2.406			1.245			2.493	
P		0.300			0.537			0.288	

表 2 PTR 组及对照组的 HPA 基因多态性比较

组别	例数	HPA-2			HPA-3			HPA-15			例
		aa	ab	bb	aa	ab	bb	aa	ab	bb	
PTR 组	25	7	15	3	4	16	5	4	18	3	
对照组	73	32	22	19	28	25	20	25	20	28	
χ^2			7.204			7.190			15.739		
P			0.027			0.028			<0.001		

2.3 HPA 基因多态性对肝病患者血小板输注疗效的评估价值

HPA-2、HPA-3、HPA-15 基因多态性联合检测评估肝病患者血小板输注疗效的 ROC 曲线下面

积(AUC)>0.75,提示联合诊断的真实性较好,具有较高的诊断效能,见表 3,图 1。

2.4 影响肝病患者出现 PTR 的单因素分析

PTR 组存在发热症状、合并感染、血小板体外

保存时间 > 3 d、输注次数 ≥ 3 次、脾脏厚度 ≥ 40 mm 的人数比例高于对照组 ($P < 0.05$), 见表 4。

2.5 影响肝病患者出现 PTR 的多因素分析

发热、合并感染、血小板体外保存时间 > 3 d、输注次数 ≥ 3 次、脾脏厚度 ≥ 40 mm 是影响肝病患者出现 PTR 的危险因素 ($P < 0.05$), 见表 5。

表 3 HPA 基因多态性对肝病患者血小板输注疗效的评估价值分析

因素	AUC	SE	95%CI	特异度 /%	敏感度 /%
HPA-2	0.596	0.065	0.470~0.723	72.00	47.22
HPA-3	0.726	0.056	0.615~0.836	84.00	61.11
HPA-15	0.684	0.059	0.569~0.799	84.00	52.78
联合检测	0.791	0.05	0.694~0.888	84.00	63.89

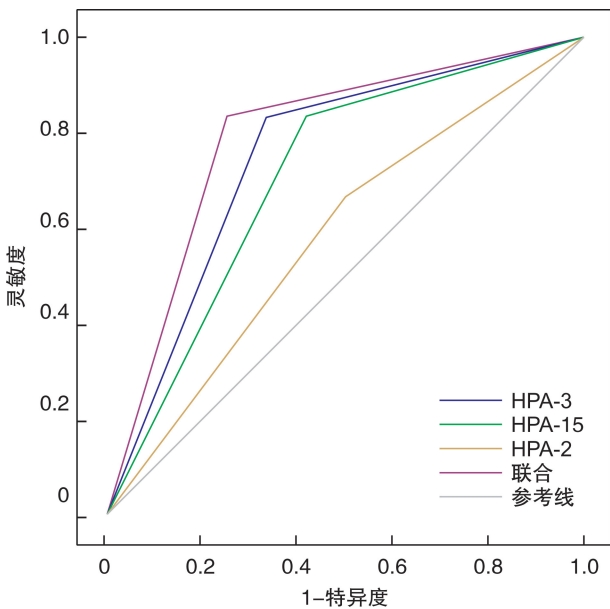


图 1 HPA 基因多态性诊断肝病患者 PTR 的 ROC 曲线分析

表 4 影响肝病患者出现 PTR 的单因素分析

因素	PTR 组 (25 例)	对照组 (73 例)	χ^2	P
性别			3.124	0.077
男	15(60.00)	57(78.08)		
女	10(40.00)	16(21.92)		
年龄			0.908	0.341
≥ 60 岁	9(36.00)	19(26.03)		
< 60 岁	16(64.00)	54(73.97)		
发热			8.663	0.003
是	17(68.00)	25(34.25)		
否	8(32.00)	48(65.75)		
疾病类型			0.523	0.971
慢性肝炎	10(40.00)	27(36.99)		
重症肝炎	6(24.00)	19(26.03)		
肝硬化	5(20.00)	12(16.44)		
肝癌	2(8.00)	9(12.33)		
肝衰竭	2(8.00)	6(8.22)		
合并感染			14.117	< 0.001
是	17(68.00)	19(26.03)		
否	8(32.00)	54(73.97)		
血小板体外保存时间			12.012	< 0.001
≤ 3 d	15(60.00)	66(90.41)		
> 3 d	10(40.00)	7(9.59)		
输注次数			4.859	0.028
≥ 3 次	17(68.00)	31(42.47)		
< 3 次	8(32.00)	42(57.53)		
脾脏厚度			4.027	0.045
≥ 40 mm	15(60.00)	27(36.99)		
< 40 mm	10(40.00)	46(63.01)		
活动性出血			2.832	0.092
是	11(44.00)	19(26.03)		
否	14(56.00)	54(73.97)		

表 5 影响肝病患者出现 PTR 的多因素分析

因素	β	SE	Wald χ^2	OR	95%CI	P
发热	0.597	0.301	3.934	1.817	1.007~3.277	0.048
合并感染	0.657	0.321	4.189	1.929	1.028~3.619	0.041
血小板体外保存时间	0.618	0.286	4.669	1.855	1.059~3.250	0.031
输注次数	0.738	0.354	4.346	2.092	1.045~4.186	0.038
脾脏厚度	0.692	0.279	6.152	1.998	1.156~3.452	0.014

赋值: PTR(是为 1, 否为 0); 发热(是为 1, 否为 0); 合并感染(是为 1, 否为 0); 血小板体外保存时间(> 3 d 为 1, < 3 d 为 0); 输注次数(≥ 3 次为 1, < 3 次为 0); 脾脏厚度(≥ 40 mm 为 1, < 40 mm 为 0)。

3 讨论

HPA 是一种表达于血小板糖蛋白上的特异性抗原, 其多态性与单核苷酸相同, 是由多种糖蛋白基因决定^[7]。相关研究指出, HPA 基因多态性与 PTR 的发生有关^[8]。李玉梅等^[9]研究指出, HPA-2、HPA-3、HPA-15 基因多态性患者发生 PTR 的

概率高于基因纯合型患者, 本研究所纳入肝病患者的 HPA-2、HPA-3、HPA-15 基因多态性均符合 Hardy-Weinberg 平衡 ($P > 0.05$), 提示该位点样本不存在近亲或小群体婚配、自然选择、物理或化学环境导致的突变率升高、迁移等, 因此该位点样本具有群体代表性。

血小板是从骨髓成熟的巨核细胞中脱落下来的小块细胞浆,是人体血液不可缺少的成分。血小板在机体止血反应中起着重要作用,一方面,其可黏附于创伤处,聚集成团,而形成较为松软的止血栓子;另一方面,血小板可促进血凝,并形成较为坚实的止血栓子。故血小板功能异常可导致机体凝血功能障碍,继而可诱发多脏器出血,增加患者死亡风险^[10]。相关研究指出,PTR 与女性妊娠史相关^[11]。妊娠期受到胎儿白细胞抗原影响有关而导致 PTR 的出现。但本研究因纳入病例较少,未分析妊娠对 PTR 的影响,后期需增加样本量以进一步分析其与 PTR 发生的关系。

既往研究指出,输注血小板次数的增多可增加 PTR 出现的概率^[12-13]。HPA-2、HPA-3、HPA-15 基因多态性患者发生 PTR 的概率高于基因纯合型患者,本研究分析了 3 种基因与 PTR 发生的关系,结果发现,PTR 组 HPA-2、HPA-3、HPA-15 基因 ab、bb 型检出率均高于对照组,说明 PTR 肝病患者的 HPA-2、HPA-3、HPA-15 基因多态性检出率较高。研究结果显示,HPA-2、HPA-3、HPA-15 基因多态性联合检测评估肝病患者血小板输注疗效的 AUC>0.75,提示联合诊断的真实性较好,具有较高的诊断效能,表明 HPA 基因多态性联合检测对肝病患者血小板输注疗效具有评估价值。因为 HPA 基因多态性患者在输注血小板后可产生血小板同种抗体,导致病理性免疫反应的发生,破坏体内血小板,导致 PTR 的发生,因而联合检测的效能更高。

本研究发现,输注次数 ≥ 3 次是影响肝病患者出现 PTR 的相关因素,与上述研究相符,因为多次输注血小板及相关血液成分易引起同种异体反应,产生血小板同种异体抗体,从而进一步导致 PTR 发生。研究结果显示,发热、合并感染、血小板体外保存时间 > 3 d、脾脏厚度 ≥ 40 mm 是影响肝病患者出现 PTR 的危险因素。分析原因,发热患者多存在 IL-1、IL-6 等致热源分泌增加现象,可激活单核-巨噬细胞系统,导致致敏血小板遭到破坏,进而影响血小板功能。而病毒感染患者出现 PTR 主要与细胞及代谢物的免疫刺激作用相关,且病毒感染后引起骨髓抑制,也可影响血小板功能^[14]。脾大患者血小板在脾脏滞留增加而导致血液循环中的血小板数量减少,另外脾脏增大时脾脏的巨噬细胞吞噬能力增强,增加了对血小板的破坏作用;血小板在离体后易出现变形、破坏现象,故保存时间过长会影响其输注效果^[15]。因而临床工作中应尽可能规避以上因素的发生。

综上所述,HPA 基因多态性对肝病患者血小板输注疗效具有评估价值,且发热、合并感染、血小板体外保存时间 > 3 d、输注次数 ≥ 3 次、脾脏厚度 ≥ 40 mm 是影响肝病患者出现 PTR 的危险因素。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Arnone GD, Kumar P, Wonais MC, et al. Impact of Platelet Transfusion on Intracerebral Hemorrhage (ICH) in Patients on Antiplatelet Therapy-An Analysis Based on ICH Score[J]. *World Neurosurg*, 2018, 111(5):e895-e904.
- [2] 张桂芬, 闫萌. 反复输血后血小板输注无效患者抗体阳性率、特异性及影响因素分析[J]. *临床血液学杂志*, 2020, 33(6):391-393.
- [3] Mangerona CM, Garcia FB, Moraes-Souza H. Frequency of human platelet antigens (HPA)-1,-2,-5 and-15 in Brazilian blood donors and establishment of a panel of HPA-typed donors [J]. *Transfus Med*, 2015, 25(3):189-194.
- [4] Bertrand G, Aarnink A, Nivet C, et al. Le cas d'un génotypage HPA-3 erroné en raison de la présence d'un antigène rare HPA-27bw chez un nouveau-né sévèrement thrombopénique [J]. *Transfus Clin Biol*, 2017, 24(3):342-343.
- [5] 胡丽华. 临床输血检验[M]. 北京:中国医药科技出版社, 2004:118-119, 274-275.
- [6] 池肇春. 实用临床肝病学[M]. 北京:人民军医出版社, 2015:25-26, 31-35.
- [7] Bal Dit Sollier C, Berge N, Hamadouche S, et al. Is platelet function testing at the acute phase under P2Y12 inhibitors helpful in predicting bleeding in real-life patients with acute coronary syndrome? The AV-ALANCHE study[J]. *Arch Cardiovasc Dis*, 2021, 114(10):612-623.
- [8] 钟丽红, 吴泳彬, 杨定坤, 等. 血小板输注无效的原因及其配型疗效的相关研究[J]. *血栓与止血学*, 2018, 24(2):53-56.
- [9] 李玉梅, 徐恒仕, 王志良. HPA 基因多态性及其等位基因对血小板输注效果的影响[J]. *中国输血杂志*, 2017, 30(7):744-747.
- [10] Sut C, Tariket S, Cognasse F, et al. Determination of predictors of severity for recipient adverse reactions during platelet product transfusions[J]. *Transfus Clin Biol*, 2017, 24(2):87-91.
- [11] 龚道方, 龙海波, 刘昭国, 等. 临床 276 例次单采血小板输注效果及相关因素分析[J]. *临床输血与检验*, 2018, 20(4):365-368.
- [12] 徐朝霞, 杨妞, 罗佳. 163 例血小板输注无效分析及血小板基因库应用[J]. *中国医师杂志*, 2017, 19(12):1884-1885.
- [13] Zhi H, Ahlen MT, Thinn AMM, et al. Atomic-Level Dissection of the Polyclonal Immune Response to the Human Platelet Alloantigen, HPA-1a (PLA1) [J]. *Blood*, 2018, 132(21):3001-3011.
- [14] Wienzek-Lischka S, König IR, Papenkort EM, et al. HLA-DRB3*01:01 is a predictor of immunization against human platelet antigen-1a but not of the severity of fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia [J]. *Transfusion*, 2017, 57(3):533-540.
- [15] Seike K, Fujii N, Asano N, et al. Efficacy of HLA virtual cross-matched platelet transfusions for platelet transfusion refractoriness in hematopoietic stem cell transplantation [J]. *Transfusion*, 2020, 60(3):473-478.

(收稿日期:2021-12-25)