

## • 经验交流 •

## 原发免疫性血小板减少症糖皮质激素抵抗的临床因素分析

伞玉双<sup>1</sup> 申静枝<sup>2</sup> 方美云<sup>3</sup>

**[摘要]** 对比分析糖皮质激素敏感与抵抗的原发免疫性血小板减少症(ITP)的临床参数,明确抵抗介导因素,寻求克服抵抗的方法。回顾性分析2015年5月—2020年11月初诊接受糖皮质激素规范治疗并可评价疗效的120例ITP患者的临床资料,按疗效分为激素敏感组(97例)和激素抵抗组(23例),分析并比较2组患者间一般资料、血液学参数、免疫学检查结果、骨髓细胞学分析及染色体等的差异。120例ITP患者中男39例,女81例,男:女为0.48:1.00,中位年龄56(16~91)岁,发病高峰60~70岁,次高峰50~60岁。激素治疗2周后评估疗效发现,激素敏感组和激素抵抗组间年龄、性别、初诊血小板计数、网织血小板绝对值、网织血小板比例、免疫球蛋白、补体、抗核抗体、骨髓增生程度、原始巨核细胞数、裸核巨核细胞数、NAP积分值、NAP阳性率比较差异无统计学意义,而巨核细胞总数、幼稚巨核细胞数和颗粒巨核细胞数比较差异有统计学意义( $P<0.05$ )。提示巨核细胞总数、幼稚巨核细胞数和颗粒巨核细胞数是影响ITP激素疗效的重要因素,与激素疗效呈正相关。

**[关键词]** 原发免疫性血小板减少症;糖皮质激素抵抗;巨核细胞

**DOI:**10.13201/j.issn.1004-2806.2022.07.014

**[中图分类号]** R558.2 **[文献标志码]** B

## Analysis of clinical factors of glucocorticoid resistance in primary immune thrombocytopenia

SAN Yushuang<sup>1</sup> SHEN Jingzhi<sup>2</sup> FANG Meiyun<sup>3</sup>

(<sup>1</sup>The First Affiliated Hospital of Dalian Medical University, Dalian, 116011, China; <sup>2</sup>Department of Hematology, the First Affiliated Hospital of Dalian Medical University; <sup>3</sup>Department of Hematology, Zhongshan Hospital Affiliated to Dalian University)

Corresponding author: FANG Meiyun, E-mail: fangmeiyun@aliyun.com

**Summary** To compare the clinical parameters of patients with primary immune thrombocytopenia(ITP) who were sensitive and resistant to glucocorticoids, in order to identify resistance-mediated factors. A cohort of 120 patients with newly diagnosed ITP from May 2015 to November 2020 were enrolled. According to the therapeutic effect, 120 patients were divided into glucocorticoid-sensitive group(97 cases) and glucocorticoid-resistant group (23 cases). Clinical parameters were collected and compared between the two groups, including general information, hematology parameters, immunological examination results, bone marrow cytology analysis, chromosomes, etc. Among the 120 patients with ITP, there were 39 males and 81 females. The ratio of male to female was 0.48:1.00. The median age was 56(range, 16-91) years old, and the peak incidence was 60-70 years old, the secondary peak was 50-60 years old. The therapeutic effect was evaluated after 2 weeks of glucocorticoid therapy. There was no significant difference in age, gender, initial platelet count, absolute value of reticulocyte, immature platelet fraction, immunoglobulin, complement, antinuclear antibodies, myeloproliferation, the number of primitive megakaryocytes, the number of naked megakaryocytes, the NAP score, and the positive rate of NAP between the two groups. There was significant difference in the total number of megakaryocytes, the number of immature megakaryocytes, and the number of granular megakaryocytes between the two groups( $P<0.05$ ). It indicates the total number of megakaryocytes, the number of immature megakaryocytes and the number of granular megakaryocytes are important factors that affect glucocorticoid therapy, and are positively correlated with the therapeutic effect of glucocorticoid.

**Key words** primary immune thrombocytopenia; glucocorticoid resistance; megakaryocytes

原发免疫性血小板减少症(primary immune

thrombocytopenia, ITP)是一种获得性自身免疫性疾病,是最常见的出血性疾病。目前国内尚无基于人口基数的ITP流行病学数据,国外报道的成人ITP年发病率为(2~10)/10万人<sup>[1-2]</sup>,血小板严重

<sup>1</sup>大连医科大学附属第一医院(辽宁大连,116011)

<sup>2</sup>大连医科大学附属第一医院血液科

<sup>3</sup>大连大学附属中山医院血液科

通信作者:方美云, E-mail: fangmeiyun@aliyun.com

低下者可因颅内出血和重要脏器出血而致死。研究证实 ITP 的发病机制主要是由于血小板自身抗原免疫耐受失调,致使体液和细胞免疫异常活化,导致血小板破坏加速和生成不足<sup>[3-4]</sup>。中国 2020 年最新指南中指出<sup>[2]</sup>,糖皮质激素依然是治疗 ITP 的一线药物,但临床 20%~30% 的患者一线治疗无效,称之为激素抵抗。激素抵抗的机制至今尚不明确,破解激素抵抗可最终提高 ITP 治疗效果。本文对影响 ITP 激素疗效的相关因素进行分析,寻找能有效判定激素疗效的临床指标,以期对于存在影响预后不良因素的患者采取个体化治疗,从而克服抵抗获得更显著的疗效。

## 1 资料与方法

### 1.1 资料

选择 2015 年 5 月—2020 年 11 月初诊接受糖皮质激素规范治疗并可评价疗效的 120 例 ITP 患者。纳入标准:所有患者均符合中国 2020 年 ITP 诊疗指南诊断标准,均接受规范化糖皮质激素治疗且持续激素治疗 2 周及以上者。排除标准:继发性血小板减少,未使用激素治疗者。

收集患者首发症状、出血部位、年龄、性别、血常规、网织血小板、免疫全套、骨髓细胞学分析、外周血涂片、染色体等参数。

### 1.2 治疗方案

方案 1:大剂量地塞米松 40 mg/d × 4 d 静脉给药,无效患者 10 d 后可重复 1 次。方案 2:泼尼松 1 mg/(kg·d)口服 2 周,起效后渐减量。

### 1.3 疗效判断

按成人 ITP 诊疗中国指南(2020 年版)疗效标准<sup>[2]</sup>:完全反应(CR):治疗后血小板计数 $\geq 100 \times 10^9/L$ 且无出血表现。有效(R):治疗后血小板计数 $\geq 30 \times 10^9/L$ ,比基础血小板计数增加至少 2 倍,且无出血表现。无效(NR):治疗后血小板计数 $< 30 \times 10^9/L$ ,或血小板计数增加不到基础值的 2 倍,或有出血。在确定 CR 或 R 时,至少检测 2 次血小板计数,间隔至少 7 d。CR 和 R 归为敏感组,NR 归为抵抗组。

### 1.4 统计学处理

使用 SPSS 23.0 进行统计分析。符合正态分布的计量资料以  $\bar{X} \pm S$  表示,采用 *t* 检验;非正态分布的计量资料以  $M(P_{25}, P_{75})$  表示,采用秩和检验;分类资料以例和百分比表示,采用  $\chi^2$  检验,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 一般资料

120 例 ITP 患者中男 39 例,女 81 例,男:女为 0.48:1.00;中位年龄 56(16~91)岁,发病高峰 60~70 岁(29 例),次高峰 50~60 岁(23 例)。105 例首发症状为出血,部位依次为皮肤 69 例,黏膜 31

例,表现为牙龈、鼻腔、呼吸道、泌尿道、球结膜等部位,5 例为单纯月经增多;另外 15 例无出血表现于体检时发现。

### 2.2 疗效分组

120 例患者中激素敏感 97 例(80.83%),激素抵抗 23 例(19.17%)。采用方案 1 治疗 19 例,激素敏感 12 例(63.16%),激素抵抗 7 例(36.84%);采用方案 2 治疗 101 例,激素敏感 85 例(84.16%),激素抵抗 16 例(15.84%)。

### 2.3 临床参数比较

血液学参数:治疗前血小板计数  $0 \sim 29.40 \times 10^9/L$ ,其中血小板计数 $< 10 \times 10^9/L$ 者 75 例(62.50%)。网织血小板比例增高 108 例(90.00%),为 4.70%~61.20%;正常 8 例(6.67%),为 0.31%~4.00%;减少 4 例(3.33%),为 0~0.10%。网织血小板绝对值增高 4 例(3.33%),为  $7.00 \times 10^9/L \sim 12.50 \times 10^9/L$ ;正常 96 例(80.00%),为  $0.58 \times 10^9/L \sim 6.57 \times 10^9/L$ ;减少 20 例(16.67%),为  $0 \sim 0.40 \times 10^9/L$ 。贫血 10 例(8.33%),其中 4 例为小细胞低色素贫血,6 例为正细胞性贫血。

免疫学参数:免疫球蛋白异常 35 例(29.17%),IgG 增高 18 例(15.00%),为 16.20~21.40 g/L;IgA 增高 12 例(10.00%),为 4.08~6.29 g/L;IgM 增高 5 例(4.17%),为 2.31~3.04 g/L;C3 降低 26 例(21.67%),为 0.49~0.89 g/L;C4 降低 4 例(3.33%),为 0.09~0.10 g/L。抗核抗体(ANA)阳性 76 例(63.33%),其中 1:100 阳性 43 例(35.83%),1:320 阳性 17 例(14.17%),1:1000 阳性 16 例(13.33%)。

骨髓增生程度:I 级 1 例(0.83%),II 级 10 例(8.33%),III 级 102 例(85.00%),IV 级 7 例(5.83%)。巨核细胞  $0 \sim 2970$  个,中位巨核细胞 193.5 个,增多 114 例(95.00%),参考值:7~35 个/ $1.5 \text{ cm} \times 3.0 \text{ cm}$ 。120 例患者巨核细胞均以颗粒巨核细胞为主,未见产板巨核细胞,巨核细胞成熟障碍。NAP 积分值增高 106 例(88.33%),参考值 7~51;NAP 阳性率增高 82 例(68.33%),参考值 10%~40%。

细胞遗传学检查:120 例患者中 4 例未见分裂象,109 例有可供分析的核型结果,5 例染色体结构和数量异常(表 1),这 5 例患者均为激素敏感。

### 2.4 治疗前激素敏感组和激素抵抗组临床参数比较

分析和比较治疗前激素敏感组和激素抵抗组患者间年龄、性别、初诊血小板计数、网织血小板绝对值、网织血小板比例、免疫球蛋白、补体、ANA、骨髓增生程度、巨核细胞总数、原始巨核细胞数、幼稚巨核细胞数、颗粒型巨核细胞数、裸核型巨核细胞数、NAP 积分值、NAP 阳性率等资料。结果发现,2 组间巨核细胞总数、幼稚巨核细胞数、颗粒型

巨核细胞数差异有统计学意义( $P < 0.05$ ), 2 组其他指标差异无统计学意义, 见表 2。

### 3 讨论

ITP 患者主要出现皮肤和黏膜出血, 但具有致命出血并发症的风险, 出血风险和出血致死率随年龄增长而增加, 因此血小板计数  $< 30 \times 10^9/L$  时必须治疗, 要引起高度重视<sup>[5]</sup>。目前糖皮质激素仍是 ITP 一线治疗方案, 但激素治疗有效率为 70%~80%, 本研究激素治疗有效率为 80.83%, 与文献报道一致。

表 1 5 例染色体核型分析异常资料

例号	性别	年龄/岁	核型分析
1	女	68	45,XX,-20[3]/46,XX[7]
2	女	27	45,XX,+12,-13,-18,+20,-21,+mar[1]/46,XX[9]
3	男	64	55,XY,+2,+4,+5,+6,+8,+12,+12,+18,+20[1]/46,XY[19]
4	男	91	45,X,-Y[3]/46,XY[2]
5	女	56	46,XX,t(1;17)(q23;q21)[1]/46,XX[19]

表 2 激素敏感组和激素抵抗组间临床参数比较

临床参数	激素敏感组(97 例)	激素抵抗组(23 例)	P
年龄/岁	62(40,70)	56(37,65)	0.308
男:女/例	28:69	11:12	0.119
初诊血小板计数/( $\times 10^9 \cdot L^{-1}$ )	6.50(2.55,19.50)	5.50(2.00,20.25)	0.868
网织血小板绝对值/( $\times 10^9 \cdot L^{-1}$ )	1.30(0.18,2.73)	1.20(0.55,2.73)	0.857
网织血小板比例/%	19.05 $\pm$ 12.15	19.07 $\pm$ 13.58	0.997
IgG/( $g \cdot L^{-1}$ )	12.77 $\pm$ 3.14	12.03 $\pm$ 3.04	0.329
IgA/( $g \cdot L^{-1}$ )	2.61 $\pm$ 1.12	2.41 $\pm$ 0.98	0.447
IgM/( $g \cdot L^{-1}$ )	1.10 $\pm$ 0.58	1.03 $\pm$ 0.48	0.620
C3/( $g \cdot L^{-1}$ )	1.04 $\pm$ 0.23	1.00 $\pm$ 0.20	0.474
C4/( $g \cdot L^{-1}$ )	0.22 $\pm$ 0.08	0.24 $\pm$ 0.18	0.361
ANA/例(%)			
1:100 阳性	35(36.08)	8(34.78)	
1:320 阳性	15(15.46)	2(8.70)	0.668
1:1000 阳性	13(13.40)	3(13.04)	
巨核细胞总数/个	208.00(126.00,396.75)	136.50(72.00,254.25)	0.013
原始巨核细胞数/个	0(0,4.00)	0(0,2.75)	0.651
幼稚巨核细胞数/个	17.00(9.25,29.00)	10.00(5.00,15.75)	0.003
颗粒型巨核细胞数/个	178.50(107.75,360.75)	117.50(52.50,231.00)	0.022
裸核型巨核细胞数/个	5.00(2.25,10.00)	5.50(2.25,10.00)	0.871
NAP 积分值/分	125.97 $\pm$ 71.63	127.74 $\pm$ 57.26	0.914
NAP 阳性率/%	56.16 $\pm$ 24.86	60.13 $\pm$ 21.85	0.493
骨髓增生程度/例(%)			
I 级	1(1.03)	0	
II 级	7(7.22)	3(13.04)	0.323
III 级	84(86.60)	18(78.26)	
IV 级	5(5.15)	2(8.70)	

本研究 120 例 ITP 患者中男 39 例, 女 81 例, 女性多于男性, 与大多数文献报道相符, 女性多发可能是雌激素有增强单核巨噬细胞吞噬表面血小板抗体的血小板以及抑制血小板生成的作用; 中位发病年龄 56(16~91)岁, 发病高峰为 60~70 岁(29 例), 次高峰 50~60 岁(23 例), 表明老年人是 ITP 的高发人群。

巨核细胞是骨髓中生成血小板的祖细胞, 发育过程中按原始、幼稚、颗粒、产板型巨核细胞顺序逐渐成熟。通常情况下 ITP 患者会出现骨髓巨核细胞数量增多, 一般认为是血小板减少刺激了巨核细胞前体细胞代偿性增生, 但也有少部分患者会出现巨核细胞数量减少的情况。目前国内外研究显示,

骨髓巨核细胞数量与其治疗效果有明显的正相关性, 是判定疗效的一项重要指标。刘慧卿<sup>[6]</sup>收集 140 例 ITP 患者研究发现, 巨核细胞数  $> 35$  个/ $cm^2$  组患者的激素有效率为 93.33%(84/90), 巨核细胞小于 7 个/ $cm^2$  组患者的激素治疗有效率仅 25.00%(4/16), 2 组存在明显差异, 与本研究结果相符。Tripathi 等<sup>[7]</sup>研究也证实巨核细胞数量减少组的疗效差于增多或正常组。本研究也得出同样结论, 激素敏感组和激素抵抗组间骨髓巨核细胞总数比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ ), 统计分析巨核细胞种类(原始、幼稚、颗粒、裸核巨核细胞)对疗效的影响发现, 2 组间幼稚巨核细胞数和颗粒型巨核细胞数比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。

提示血小板生成减少不仅是 ITP 的发病机制,还是判断激素疗效的重要参数,且在 ITP 治疗中促进巨核细胞增殖可能是治疗的重要环节。

网织血小板又称未成熟血小板,未成熟血小板比例指网织血小板占血小板总数的百分比,在骨髓中干细胞分化为成熟血小板过程中产生,网织血小板的数量反映血小板的生成速度。王丹微等<sup>[8]</sup>研究显示,ITP 组网织血小板比例明显高于对照组,网织血小板比例可用于血小板减少的诊断和鉴别诊断。Takami 等<sup>[9]</sup> 研究显示,在初诊为原发性 ITP 的患者中,治疗前未成熟血小板比例 $\geq 12\%$ 预示对糖皮质激素的良好反应,治疗有效时血小板计数上升,网织血小板比例下降,呈负相关。但本研究统计初发 ITP 治疗前的网织血小板绝对值及比例,在激素敏感组及激素抵抗组中差异无统计学意义。

本研究 120 例 ITP 患者中 76 例(63.33%) ANA 阳性,ANA 是以细胞核内各种蛋白质分子以及蛋白质分子的复合物为靶抗原的自身抗体总体<sup>[10]</sup>。由于其能识别各种细胞核组分,特征性地表达于许多自身免疫性疾病中,可用于判断相关自身免疫性疾病的治疗反应及预后,从而指导临床治疗,但 ANA 对 ITP 的疗效与预后的影响目前没有统一的结论。潘倩颖等(2012 年)研究认为,ANA 阳性患者糖皮质激素治疗的近期疗效优于 ANA 阴性组;秦伟等<sup>[11]</sup> 分析表明,ANA 表达和未表达 ITP 患者间近期疗效差异无统计学意义,但 ANA 表达对长期预后存在不良影响;本研究也认为 ANA 不是影响糖皮质激素近期疗效的预后因素。风湿免疫疾病早期无特异抗体表现,对于 ANA 大于 1:320 阳性的患者,警惕发展为风湿免疫病,需要长期观察风湿免疫指标,早期发现干预治疗。

NAP 是指在成熟中性粒细胞中存在的使所有磷酸单酯水解反应的催化酶,可作为成熟中性粒细胞的标志酶之一,用于血液病临床诊断。在各类型血液病患者中,NAP 阳性积分有明显差异。急、慢性淋巴细胞白血病中 NAP 阳性积分比较低,原因可能是疾病导致粒细胞发生病变,存在于粒细胞中的碱性磷酸酶活性发生变化,下调特异性激酶致使 NAP 活性降低。而在骨髓造血功能障碍的疾病中,如再生障碍性贫血和 ITP,粒细胞并非发生病变,NAP 活性几乎不会受到明显影响,因此 NAP 阳性积分高。NAP 的升高是否影响 ITP 患者糖皮质激素的疗效,陶洁等(2014 年)对 76 例 ITP 患者的研究结果显示,单因素分析发现 NAP 阳性率是糖皮质激素疗效的预后因素,而 logistic 回归分析将此因素排除,而本研究单因素分析显示 NAP 积分值和阳性率并非是影响糖皮质激素疗效的预后因素。

120 例 ITP 患者中有 5 例染色体核型异常,分析发现例 1 为重现性 20 号染色体缺失,复习形态

学未达到诊断 MDS 的最低诊断标准(该患诊断 ITP 时间为 2018 年 2 月,电话随访该患者目前病情稳定,无进展)。例 2、例 3、例 5 均为 1 个分裂象有异常,考虑随机性大,不具备临床意义。例 4 为 Y 染色体缺失,但该患者 91 岁,考虑与年龄相关,非 ITP 相关。因此本组 5 例染色体核型异常未对激素疗效产生影响,但因病例数较少,对细胞遗传学异常是否影响激素疗效需进一步研究。

综上所述,巨核细胞总数、幼稚巨核细胞数、颗粒型巨核细胞数在 ITP 激素敏感和激素抵抗组中差异有统计学意义,因此可作为 ITP 激素疗效的预测指标,对这部分患者应重视巨核细胞促增殖治疗,可望改善疗效。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] Lee JY, Lee JH, Lee H, et al. Epidemiology and management of primary immune thrombocytopenia: A nationwide population-based study in Korea[J]. *Thromb Res*, 2017, 155: 86-91.
- [2] 成人原发免疫性血小板减少症诊断与治疗中国指南(2020 年版)[J]. *中华血液学杂志*, 2020, 41(8): 617-623.
- [3] 马静瑶, 陈振萍, 谷昊, 等. 血小板凋亡与免疫性血小板减少症关系的研究进展[J]. *临床血液学杂志*, 2020, 33(9): 650-653, 658.
- [4] Zufferey A, Kapur R, Semple JW. Pathogenesis and therapeutic mechanisms in immune thrombocytopenia (ITP)[J]. *J Clin Med*, 2017, 6(2): 16.
- [5] 侯明. 免疫性血小板减少症的治疗进展[J]. *临床血液学杂志*, 2020, 33(1): 6-9.
- [6] 刘慧卿. 成人免疫性血小板减少症骨髓巨核细胞数变化与治疗效果的关系[J]. *中国实用医刊*, 2017, 44(5): 50-52.
- [7] Tripathi AK, Mishra S, Kumar A, et al. Megakaryocyte morphology and its impact in predicting response to steroid in immune thrombocytopenia[J]. *Platelets*, 2014, 25(7): 526-531.
- [8] 王丹微, 杨平, 沈瀚. 网织血小板检测在免疫因素相关的血小板减少性疾病中的诊断价值[J]. *国际检验医学杂志*, 2017, 38(18): 2611-2613.
- [9] Takami A, Mizuno S, Nakamura A, et al. Pretreatment Immature Platelet Fraction as a Surrogate of Reticulated Platelets Predicts the Response to Corticosteroids in Adults with Immune Thrombocytopenia[J]. *Acta haematol*, 2021, 144(3): 345-349.
- [10] 王淑英, 王峰, 王贞美, 等. 86 例系统性红斑狼疮患者抗核抗体谱检测结果分析[J]. *中国实验诊断学*, 2016, 20(3): 422-424.
- [11] 秦伟, 左立辉, 韩红满, 等. ANA 及 ANAs 表达对原发免疫性血小板减少症患者临床疗效及预后的影响[J]. *国际检验医学杂志*, 2019, 40(20): 2479-2481, 2485.

(收稿日期:2021-04-15)