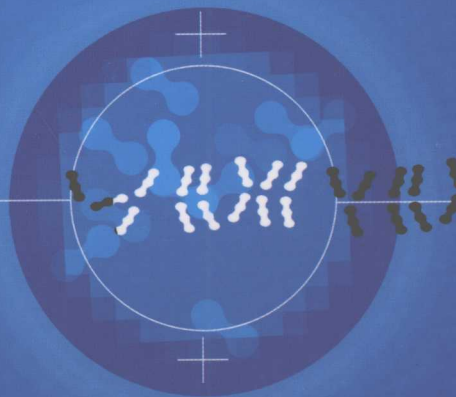


血小板疾病

◆ 主编 李家增 侯 明 包承鑫

XUEXIAOBAN
JIBING



科学技术文献出版社

血小板疾病

主编

李家增 侯 明 包承鑫

科学技术文献出版社

Scientific and Technical Documents Publishing House

北 京

图书在版编目(CIP)数据

血小板疾病/李家增等主编. -北京:科学技术文献出版社, 2009. 1
ISBN 978-7-5023-6126-6

I. 血… II. 李… III. 血小板异常-诊疗 IV. R558

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2008)第 117568 号

出 版 者 科学技术文献出版社
地 址 北京市复兴路 15 号(中央电视台西侧)/100038
图书编务部电话 (010)51501739
图书发行部电话 (010)51501720, (010)51501722(传真)
邮 购 部 电 话 (010)51501729
网 址 <http://www.stdph.com>
E-mail: stdph@istic.ac.cn
策 划 编 辑 薛士滨
责 任 编 辑 陈家显
责 任 校 对 张叫噪
责 任 出 版 王杰馨
发 行 者 科学技术文献出版社发行 全国各地新华书店经销
印 刷 者 北京高迪印刷有限公司
版 (印) 次 2009 年 1 月第 1 版第 1 次印刷
开 本 850×1168 32 开
字 数 299 千
印 张 12.375
印 数 1~4000 册
定 价 25.00 元

© 版权所有 违法必究

购买本社图书, 凡字迹不清、缺页、倒页、脱页者, 本社发行部负责调换。

前 言

很早人们就已经观察到血液中有颗粒及颗粒的聚集体,但不能确定其来源。1882年,Julius Bizzozero 发表文章确定这是血液中第三种有形成分,称之为 Platelet-血小板,他建立了计数血小板的方法,并且叙述了血小板在血栓形成和凝血中的作用。临床上十分常见的血小板的改变是血小板减少,血小板减少的原因非常复杂,除了各种病理原因引起的血小板减少症外,还可由于检测误差造成“血小板减少”,有时这一结果给医生和被测者造成困惑与恐慌,其中抗凝剂 EDTA 在少数人中引起的假性血小板减少虽不常见,但会带来许多问题。血小板功能缺陷性疾病中先天性或遗传性者很少见,但是,一些疾病或药物引起的血小板功能缺陷的确十分常见,如巨球蛋白血症的首发症状可能是皮肤出血,更为多见的是抗血小板药引起的出血,抗血小板药可以有效地防治动脉血栓栓塞性疾病,但是它的主要的副作用是引起出血,这可能是目前难以解决的问题,相伴而来的是应用抗血小板药出现的“抵抗”,如“阿司匹林抵抗”,“氯吡格雷抵抗”等目前尚未阐明的问题。

由上可见血小板数量和功能缺陷性疾病,不仅是血液科常见的疾病,而且是临床各科常遇到的问题。因此遇到这一类疾病时要全面分析,随着科学的进步和发展人们对血小板的了解必然会更加深入,许多当前尚难解决的问题必然会迎刃而解。

本书出版的目的是向读者提供有关血小板的生理和病理资料,以便读者解决或发现问题,科学发展非常迅速,我们在完成本

书的编写时又有新的文献发表,这本书如能给读者提供了有关血小板相关知识就是我们的最大心愿。

编 者

目 录

第一篇 血小板基础知识

第一章 血小板生成、调节、分布、寿命及转归	(1)
第二章 血小板的形态结构	(9)
第三章 血小板生化及血小板血型	(24)
第一节 血小板生化	(24)
第二节 血小板血型	(38)
第四章 血小板生理功能与活化	(45)
第一节 血小板生理功能	(45)
第二节 血小板信号传导与活化	(64)

第二篇 血小板数量与功能异常相关疾病

第五章 血小板增多症	(71)
第一节 原发性血小板增多症	(71)
第二节 继发性血小板增多症	(79)
第六章 血小板减少	(81)
第一节 医源性血小板减少	(81)
第二节 生成障碍所致血小板减少	(83)
第三节 分布异常所致血小板减少	(97)
第四节 破坏增多所致血小板减少	(108)
一、免疫性血小板减少	(108)
二、非免疫性血小板减少	(172)

第七章 血小板功能异常	(208)
第一节 先天性血小板功能异常	(208)
一、血小板-血管壁相互作用缺陷(黏附异常)	(210)
二、血小板-血小板相互作用缺陷(聚集异常)	(218)
三、血小板分泌异常和血小板颗粒异常	(226)
四、血小板信号传导缺陷和分泌异常(原发性分泌缺陷)	(234)
五、血小板细胞骨架调节缺陷	(245)
六、其他	(248)
第二节 获得性血小板功能异常	(249)
一、骨髓增殖性疾病	(250)
二、异常球蛋白血症	(252)
三、体外循环	(253)
四、尿毒症	(254)
五、肝脏疾病	(262)
六、药物相关	(263)

第三篇 实验诊断方法

第八章 血小板计数	(270)
一、镜下目视法	(270)
二、自动化血细胞分析仪	(271)
三、临床意义	(272)
第九章 血小板形态	(274)
第十章 血小板抗体检测	(277)
一、血小板相关免疫球蛋白	(278)
二、血小板膜糖蛋白特异性自身抗体	(282)
三、同种抗血小板抗体	(287)

第十一章 血小板功能试验及凝血活性、代谢产物

检测.....	(296)
一、血小板黏附试验	(296)
二、血小板聚集试验	(298)
三、血小板释放试验	(300)
四、血小板功能仪(PFA-100)	(305)
第十二章 流式细胞术在血小板疾病中的应用.....	(308)
一、全血及洗涤血小板的流式检测	(308)
二、流式细胞术在血小板疾病中的应用	(310)

第四篇 治疗药物

第十三章 造血因子.....	(315)
一、血小板生成素	(315)
二、白介素-11	(317)
第十四章 免疫干预.....	(318)
一、糖皮质激素	(318)
二、Anti-D	(319)
三、IVIG	(319)
四、细胞毒药物	(320)
五、单克隆抗体	(321)
六、针对脾的治疗	(323)
七、免疫抑制治疗	(325)
八、联合化疗	(326)
九、根除幽门螺杆菌治疗	(326)
十、独特型-抗独特型治疗	(329)
十一、抗雌激素	(332)
十二、蛋白 A 免疫吸附	(332)
十三、细胞因子	(333)
十四、自体血小板疫苗	(333)

血 小 板 疾 病

十五、干细胞移植	(333)
十六、其他药物	(334)
第十五章 中医治疗	(336)
一、病因病机	(336)
二、治疗	(337)
第十六章 血小板输注	(342)
一、血小板的采集	(342)
二、血小板的单位与保存	(345)
三、血小板输注的适应证	(348)
四、血小板输注的方法与注意事项	(350)
五、血小板输注无效	(352)
第十七章 血浆置换术	(358)
一、机制及原理	(358)
二、置换液	(359)
三、不良反应	(359)
四、治疗适应证	(360)
五、免疫吸附	(363)
参考文献	(365)

第一篇

血小板基础知识

第一章 血小板生成、调节、分布、寿命及转归

(一) 血小板生成

巨核细胞由多能干细胞分化而来,经过原巨核细胞祖细胞、幼巨核细胞祖细胞,最后转变为成熟巨核细胞。巨核细胞在祖细胞及早期未成熟阶段为二倍体细胞,随着细胞成熟,细胞核分裂形成 $4N$ 、 $8N$ 、 $16N$ 、 $32N$ 和 $64N$ 的多倍体细胞。在巨核细胞中,核的多倍体化的成熟早于胞质,其中有些巨核细胞在DNA合成停止时,其胞质尚处于未成熟或开始成熟阶段。胞质成熟过程中,胞浆体积大量增加,界膜系统形成,细胞内出现大量的颗粒,最后胞质分割、断裂形成最初的前血小板。

成熟血小板的 α 颗粒内容物,如血小板第4因子、 β -血小板球蛋白(β -TG)、血小板糖蛋白(GP) II b/III a均来自巨核细胞。这些物质在巨核细胞祖细胞阶段已形成,因此也可以作为识别巨核细

胞发育阶段的标志物。巨核细胞能被识别的阶段是 8 倍体之后。8 倍体的巨核细胞向着两个方向发展:一方面,细胞的 DNA 继续分化成 16N、32N、64N;另一方面,8N、16N、32N 及 64N 的巨核细胞停止分化,向成熟方向发展,形成大量胞浆。因此,血小板的生成可来源于不同倍体的成熟巨核细胞。8 倍体可能是生成血小板的最早阶段的巨核细胞。在人体内,巨核细胞数量为 $(6.1 \pm 0.7) \times 10/\text{kg}$ 体重,平均体积为 $(4700 \pm 100) \text{ fL}$,流式细胞仪测得的直径范围为 $10 \sim 65 \mu\text{m}$,在各种多倍体的巨核细胞中,以 16N 细胞居多,约为 46%~70%。

血小板来源于巨核细胞,在骨髓内成熟的巨核细胞伸出含有细胞器的突起进入空腔,断裂后形成 $2.5 \mu\text{m} \times 120 \mu\text{m}$ 的前血小板,每个巨核细胞可生成 6~8 个前血小板,前血小板在形态上不同于正常血小板,其微管和致密管道呈随机分布,离开骨髓静脉窦后,可能在肺、脾内经过一个尚不清楚的机制,形成了正常循环血小板。血小板也可由肺组织中的巨核细胞形成。有人认为这部分的巨核细胞系来源于骨髓。由肺巨核细胞生成的血小板约为总数的 7%。每个巨核细胞产生的血小板数目说法不一,最低为 200 个,最多为 8000 个,生成的血小板大约 1/3 贮存在脾脏,脾脏与循环中的血小板存在自由交换。

血小板的生成受到刺激机制和抑制机制的调节。现已有两种刺激因子被描述,包括巨核细胞集落刺激因子(Meg-CSF)、巨核细胞增幅因子(Meg-POT)、白细胞介素-3(IL3)、白细胞介素-6(IL6)、白细胞介素-11(IL11)、红细胞生成素(EPO)及近年来描述的血小板生成素(thrombopoietin, TPO)等,它们分别在多能干细胞分化演变成巨核细胞及随后由巨核细胞生成血小板的各个阶段中发挥着不同作用。血小板生成素在 SDS-PAGE 中显示 18 000U、28 000U 及 30 000U 蛋白区带,有刺激血小板和巨核细胞生成的作用,经氨基酸序列分析,3 个蛋白区带含有下列共同的氨基酸序

列:SPAPPACDPRLNKLRRDDHVLHGRL,表明 3 个蛋白来自于 1 个共同的前体。分子氨基端的结构类似于 EPO,在羧基端上富含丝氨酸、酪氨酸、脯氨酸残基及 7 个糖基化位点,它们具有调节血小板和巨核细胞的生成作用,能促进巨核细胞分化,增大细胞体积,诱导胞膜系统形成,增加巨核细胞多倍性和血小板颗粒形成,促进巨核细胞膜表面糖蛋白表达但不影响巨核系祖细胞的增殖。TPO 在血浆中浓度与血小板水平呈负相关,体内研究中显示了 TPO 能促进血小板数的增高。在小鼠实验中,1 次注射 64 000U 重组血小板生成素,可使血小板生成增加 20%,掺入到血小板的 S 量增高 40%,但将剂量降到 16 000U 时,则无刺激作用,表明 TPO 的刺激作用呈剂量依赖关系。TPO 需通过其受体 C-Mp_I起作用,在缺乏 C-Mp_I受体的小鼠中,虽然血液中 TPO 浓度增高,但巨核细胞及血小板却下降了 85%,而其他造血细胞正常,这表明 C-Mp_I是 TPO 的特异受体。C-Mp_I是属于细胞因子超家族的成员,其分子结构含有类似 EPO 受体及粒细胞克隆刺激因子受体的分子序列。

近年来,对具有上述刺激作用的一些细胞生长因子的作用机制分别已有报道,譬如 IL₃、IL₆、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)和 EPO。这些因子分别来源于 T 淋巴细胞、内皮细胞、成纤维细胞、单核细胞、巨噬细胞或肾脏细胞,其对巨核细胞生成血小板的刺激作用并非特异,常是通过多种途径起作用。譬如,IL₃ 主要刺激巨核细胞的增殖,而 IL₆ 加速巨核细胞成熟分化,增加血小板的生成,这两种白介素在加速血小板生成中又有协同作用。最近发现纤维细胞生成因子(FGF)也能刺激巨核细胞集落形成,白介素-1、白介素-11 也有非特异地刺激巨核细胞生成血小板作用。

血小板的生成受自身反馈机制及组织因子的控制,抑制血小板生成的因子主要来源于血小板本身,譬如血小板第 4 因子、 β -血

小板球蛋白及其前体、结缔组织活化肽Ⅲ、 β -转化生长因子等，它们通过抑制巨核细胞生长或抑制巨核细胞系的祖细胞而抑制血小板生成。由巨噬细胞和 T 细胞产生的，和 γ 干扰素有抑制巨核细胞生成的作用。

刺激因子及抑制因子目前已在治疗血小板减少或增多疾病中应用。

(二) 血小板异质性

正常人血小板在数量、大小及浮力密度上存在差异，即异质性。这种现象早在 1842 年 Donne' 就已描述。早年研究提出了异质性的两种解释：一种认为年轻血小板在密度和代谢活性方面大于衰老血小板，血小板随衰老而变小；另一种认为血小板异质性是由于不同倍体巨核细胞生成的血小板所致，8 倍体的巨核细胞产生的血小板较大而致密，颗粒多。

近年来的研究，已显示至少有三种体液因子参与血小板体积大小的调节，GM-CSF、巨核细胞刺激因子和相对迟作用因子。Monroy 对猴灌注 GM-CSF 后，血小板数增高同时伴有平均血小板体积(MPV)下降，而停止灌注后，血小板数恢复到原先水平，MPV 也逐渐增大。这些结果显示 GM-CSF 与血小板体积大小相关。巨核细胞刺激因子对血小板体积大小的影响可能与它刺激巨核细胞生长有关，但相对迟作用因子影响血小板体积大小的机制尚不清楚。与稳定状态下生成的血小板不同，在应激状态下生成的血小板，MPV 大于通常循环血小板者，称为“应激血小板”，这种血小板并非由脾脏释放，因为在去脾的或通过免疫机制处理的动物中也可产生这种血小板，人们推测它是巨核细胞在生长和分化后释放的血小板，与巨核细胞多倍体的变化无关。

过去几年，曾认为血小板大小随其衰老而减小，但最近的研究已证明在稳定状态造血下，由于血小板衰老而导致的血小板体积

大小变化并不明显,这种差异产生的原因与以前的研究是在放疗或化疗的患者中进行的有关。在这些患者中,放疗和化疗的副作用引起止血功能损伤,导致较大的血小板选择性的消耗。

血小板密度在正常人中变化不超过 5%,决定血小板密度的因素是血小板的颗粒成分,其中主要取决于 α 颗粒。调节血小板密度正常分布的机制尚不清楚。人血小板密度与衰老关系的报道十分混乱,兔和狗血小板密度随衰老而降低,而大鼠血小板密度较恒定,衰老对其影响甚小,这些差异的一个原因可能与使用的测定方法不同有关。在血液循环中出现低密度血小板的另一原因是从附壁栓子表面脱落的脱颗粒血小板,这种血小板在血液循环中有类似正常血小板的寿命。

不同大小、数量、密度和日龄的血小板的功能状态是不同的。血小板数量在体外的血小板聚集试验中的意义是明确的,即血小板的聚集程度随血小板浓度增高而增加。最近采用逆流离心机将一份献血人员的血小板分成大小不同的亚群,发现血小板大的亚群其聚集程度和速度大于血小板小的亚群,摄取和释放 5-HT、ATP、 β -TG,花生四烯酸的掺入、释放、代谢及血小板 GP II b/III a 复合物等的速度和量也高于小的亚群。虽然不同亚群存在着上述成分含量的差别,但各个成分的相对比例在不同亚群中是类似的。衰老对血小板大小的影响不大。最近有几个研究组观察到血小板衰老时其表面糖蛋白出现丢失,由于血小板表面糖蛋白是血小板活化和聚集所需的受体,而血小板本身又缺乏合成这些蛋白质的能力,因此导致衰老血小板功能下降。血小板密度在决定血小板活性上也有一定意义,密度高的血小板功能高于密度低的小血小板,这可能与 α 颗粒在血小板功能中的作用有关。

综上所述,在正常的止血过程中,血小板的功能不但包括数量,还包括大小、老幼、密度等因素。1974 年, O'Brien 发现了在稳定造血状态中,血小板数量与血小板平均体积之间存在着负相

关,即血小板数低者伴较大血小板,而血小板数高者伴较小血小板。在 20 世纪 80 年代,Frojmovic、Jakubowski 等提出“血小板质”(platelet mass)概念,即指血小板数和平均血小板体积的积是在一恒定值内,并认为恒定的“血小板质”调节着血小板的生成,但“血小板质”维持恒定值仅在血小板数为 $(100 \sim 450) \times 10^9/L$ 时,血小板数超过此范围就不再能维持恒定的“血小板质”。调节“血小板质”的机制尚不清楚。

(三)血小板分布

用⁵¹Cr 标记法研究证明占总量 2/3 的血小板存在于血液循环中,而余下的 1/3 存在于脾脏等血管外组织中,后者称之为血管外血小板贮存池。在该池中,占总数 16% 的血小板贮存在脾脏中,余下 13% 贮存在肝脏及其他部位。淋巴结及其他体液中不存在血小板。在循环池中的血小板与血管外血小板贮存池中的血小板存在着自由交换。注射肾上腺素后,循环血小板数量可增加 30%,这种现象在无脾者中不存在。但是在体育锻炼后出现血小板量增高并不受脾脏存在与否影响,表明存在着两种不同的调节机制。血小板贮存在脾脏中的机制还未完全阐明。一些实验结果提示,可能与血小板通过脾脏的输送时间较长有关。体内输注⁵¹Cr 标记的血小板,需经 8 分钟才达到循环内的平衡。而血小板在脾脏内的输送时间约 (9.7 ± 1.6) 分钟,脾脏血液流量为总血液流量的 $(4.8 \pm 1.9)\%$ 。这种输送缓慢的机制可能与血小板进入脾脏后,黏附在脾索的网状内皮细胞或脾窦的内皮细胞表面,从而阻碍了血小板从脾池的释放有关。其次由于血小板经过曲曲弯弯的脾索时,穿过脾脏的速度较红细胞和白细胞慢,用电镜观察时,可见到脾索及脾窦存在大量的血小板。脾池的大小在很大程度上取决于脾脏血流量的多少。注射肾上腺素时,脾脏的血流量从每分钟的 4.8% 降到 1.6%,致使循环血流量增高,循环血小板量随之

增高 25%~50%。

循环血小板池中的血小板分布用 ^{51}Cr 标记血小板进行灌注研究中发现,血小板在血液循环中的最大回收率约为输入血小板总量的 2/3,而在无脾者中约为 90%。用体表扫描法检测显示 ^{51}Cr 标记血小板输注后 15 分钟内,血小板主要在脾脏内,其放射活性超过其他脏器。

在用 EDTA 抗凝的血小板作灌注研究中,采用体表放射活性扫描法测定时,发现约 85%~95% 的血小板在灌注头 30 分钟内从循环中消失,经过 6~24 小时逐渐返回到血液循环中,但即使如此,其 24 小时的回收率仅为枸橼酸钠抗凝血小板的 40%~80%,而这些血小板经输注后在肝脏中的扣留增高。这表明血小板的分布还受制备血小板条件的影响。

(四) 血小板寿命

血小板寿命的测定方法分为两类:核素法与非核素法。

^{51}Cr 能与腺核苷酸、肌动蛋白和肌球蛋白结合而定位于胞浆与腺粒体内,用于体外测定特异性差,特别在血小板减少的患者中,使用范围受限制。 ^{32}P 与血小板酶中的丝氨酸残基结合而定位于膜与开放管道,可用于体内或体外测定。 ^{51}Cr 与 ^{32}P 对血小板存在损伤,而标记物释放后又可标记其他血小板,导致血小板寿命延长的错误结果。 ^{75}Se 、 ^{35}S 与 ^{14}C 能掺入血小板与巨核细胞,也存在再标记的缺点。 ^{111}In 与 ^{99}Tc 在近年来用于血小板标记, ^{111}In 标记物存在于胞浆中,但不影响血小板的功能,放射活性分布在脾、肝及肺中,而血小板破坏时,骨髓中占较高的核素百分数。 ^{99}Tc 标记血小板存在寿命略有缩短的缺点。采用阿司匹林阻断环氧化酶,致使花生四烯酸代谢的终末产物丙二醛或血栓烷 B_2 不能生成。检测这些代谢产物能间接地测定血小板的生成量及寿命,这项非核素法测得结果与 ^{51}Cr 标记法的结果有较好的一致性。用 ^{51}Cr 标

记法测得的人血小板寿命为 9~12 天。在正常状态下,血小板生成与破坏处于动态平衡状态,血小板的每天更新率约为 $(35.0 \pm 4.3) \times 10^9 / \text{L}$ 。

(五) 血小板归宿

脾脏是血小板主要的归宿部位。根据放射活性体表扫描,无功效和衰老血小板从血循环廓清后,约 30%~55% 被脾脏扣留,30%~45% 在肝脏,而骨髓及淋巴结中占 3%~15%,在无脾状态下,70%~90% 扣留留在肝脏,骨髓及其他部位占 25%。

在人体中,血小板在维持血管完整性时存在着恒定丢失,其丢失的速度约为 $(7 \sim 10) \times 10^9 / \text{日}$ 。在血小板减少的大鼠中,注射³⁵S 标记的血小板,见血小板黏附在血管壁内膜上,并在 30 分钟内掺入到血管内膜,表明血小板存在着正常利用中的丢失。在病理状态下,譬如血小板受 ADP、5-HT、肾上腺素、凝血酶、胶原、抗原抗体复合物、细菌与病毒的作用,可以诱发血小板聚集。纤维蛋白原参与稳固血小板聚集体的作用,这些聚集体通过网状内皮系统清除。

血管壁的损伤可致使血小板寿命缩短,它可能是内皮细胞释放的 t-PA 使纤溶酶原转化为纤溶酶,后者能水解血小板膜表面糖蛋白分子的膜外侧段。血小板膜糖蛋白(GP)Ib 对纤溶酶的水解作用较 GP II b/III a 分子更为敏感。膜表面涎酸或唾液酸糖蛋白丢失的血小板寿命缩短。动物实验已证明,血小板表面唾液酸分子的丢失或细胞与非免疫性 IgG 结合量的增高是导致血小板从循环中被加速清除的主要原因。

受少量抗体作用的血小板在脾脏中被缓慢地清除,当存在大量抗体时,快速破坏血小板的主要部位在肝脏。譬如在慢性 ITP 中,血小板在脾脏中被缓慢地破坏,而在重度 ITP 中,血小板快速在肝脏被破坏。

(包承鑫)