

武汉医学院

一九八一届研究生

毕业论文汇编

(下册)



我院首批获得博士学位的学科、专业和指导教师名单

(一九八一年十一月三日经国务院批准)

病理解剖学		杨述祖	教授	(已故)
药理学		吕富华	教授	
		江明性	教授	
		胡崇家	教授	
内科学	(心血管)	高 浴	教授	
	(血液)	王辨明	教授	
	(消化)	过晋源	教授	
	(呼吸)	段生福	教授	
外科学	(普外及器官移植)	裘法祖	教授	
	(普外及器官移植)	夏穗生	教授	
	(儿外)	童尔昌	教授	
计划生育医学		吴熙瑞	教授	
耳鼻喉科学		魏能润	教授	
环境卫生学		蔡宏道	教授	

第二批获得博士学位的学科、专业和指导教师名单

(一九八四年一月十三日经国务院批准)

病理解剖学		武忠弼	教授	
外科学	(胸外)	管汉屏	教授	
	(骨外)	朱通伯	教授	
麻醉学		金士翱	教授	
环境卫生学		刘毓谷	教授	

首批获得硕士学位的学科、专业名单

(一九八一年十一月三日经国务院批准)

人体解剖学、组织胚胎学、生理学、生物化学、微生物学与免疫学、寄生虫学、病理生理学、病理解剖学、药理学、内科学(心血管、血液、消化、内分泌、呼吸)、外科学(普外、胸心外、儿外、神外、显微外、器官移植、泌尿、骨、麻醉)、妇产科学、儿科学、眼科学、耳鼻喉科学、神经病学、皮肤病学、放射诊断学、核医学、流行病学、环境卫生学、营养卫生与食品卫生学、儿少卫生学、卫生统计学、劳动卫生与职业病学、中医基础理论。

第二批获得硕士学位的学科、专业名单

(一九八四年一月十三日经国务院批准)

传染病学、麻醉学、计划生育医学。

目 录

临 床 医 学 部 分

血小板减少性紫癜抗体研究的进展.....	1
ITP患者血小板表面 IgG(PSIgG)测定临床意义的探讨.....	6
胃大部切除术后缺铁性贫血的病因和治疗的探讨.....	14
血清纤维蛋白降解产物的测定在急性白血病时的临床意义.....	23
测定心肌梗塞范围的实验与临床研究.....	33
马凡氏综合征53例临床研究.....	52
收缩时间间期测定评价左心室功能的研究.....	75
心内导管检查法的临床心脏电生理的研究.....	103
冠心病睡眠时的 ST-T 改变.....	171
心电图向量图的 ST 向量及其在运动试验前后变化的初步研究.....	178
红细胞内电解质测定在洋地黄中毒的诊断与治疗方面的意义.....	210
内毒素与病毒性肝炎.....	221
应用三尖瓣超声心动图诊断早期肺心病的指标探讨.....	232
肺血流图及微分图诊断早期肺心病临床价值的研究.....	238
常见慢性肝病乙型肝炎表面抗原循环免疫复合物的检测及其临床意义的探讨.....	247
当归对 D-氨基半乳糖所致急性肝损害防治作用的初步实验研究.....	259
常见肝脏病血浆与白细胞内维生素 C 含量的观察.....	267
少年儿童一过性脑缺血发作.....	277
胆石症的溶石加振荡治疗研究.....	285
碱性反流性胃炎的动物实验和临床研究.....	302
不同部位门静脉压的测定及其临床意义.....	328
门静脉高压症血液动力学的观察.....	337
微量元素对草酸钙结晶动力学的影响.....	353
31例上尿路结石的分层 X 线衍射分析.....	366

髋关节双杯置换术·····	375
TJ骨粘固剂在人工股骨头置换中的应用20例小结·····	386
股骨颈承重能力及骨粘固剂对人工股骨头固定作用的实验观察·····	397
牛心包管作为动脉代用品的实验研究·····	408
采用显微手术切除大型听神经瘤的初步研讨——囊内减压娩出法22例·····	421
麻醉与手术期间的心律失常·····	439
肱骨髁上骨折并发肘内翻机制的生物力学研究及预防肘内翻的生物力学方法·····	456
家兔同种异体小血管化学处理后移植研究·····	471
先天性巨结肠症的实验研究·····	482
LTP及ISR的测定在卵巢恶性肿瘤治疗中的临床意义·····	503
输卵管结扎术后对女性生殖内分泌的影响·····	520
子宫颈癌的病理形态与预后关系的探讨·····	535
慢性粒细胞性白血病G显带之细胞遗传学研究·····	548
先天性智能发育不全的细胞遗传学研究·····	572
新生儿的免疫功能·····	601
小儿肾小球疾病循环免疫复合物的研究·····	620
尿纤维蛋白(原)降解产物与小儿肾小球疾病·····	626
小儿各型病毒性肝炎循环免疫复合物检测及其意义·····	633
正常儿童和肾小球疾病患儿尿渗透压的测定·····	640
50例小儿肝病尸检资料的临床分析·····	647
实验性角膜移植中的缝线反应·····	655
圆窗膜破裂引起内耳组织结构改变的实验研究·····	673
胃双重造影的价值与限度·····	685

血小板减少性紫癜抗体研究的进展

附属一院血液病研究室

研究生 彭孝廉

指导教师 王辨明教授

沈 迪教授

前 言

特发性血小板减少性紫癜 (ITP) 是一组疾病的总称, 它们的共同特点是血中血小板数减少, 骨髓巨核细胞数正常或增多, 没有引起血小板减少的原发性疾病 (如红斑性狼疮、脾功能亢进等)。早已有人指出引起这种血小板减少的因子存在于血浆中, 而且多数人认为就是抗体, 因此有人认为应将ITP视为免疫性血小板减少性紫癜⁽¹⁾或改称为 ATP (自身免疫性血小板减少性紫癜)⁽²⁾, 但是, 用一般方法测出的这种体液因子是不是血小板抗体, 它对血小板的破坏是否属于自身免疫性质, 也都还不易定论⁽³⁾。

一、血小板抗体

1. 血小板抗体及其产生: 很早就有人怀疑, 使 ITP 患者血小板破坏的体液因子是同种抗体或自身抗体⁽⁴⁾。Shulman等, Karpafkin和Siskind证实这种因子存在于血浆球蛋白部分, 可被人的血小板吸收而不被白细胞吸收, 因而是对血小板的特异性抗体^(5,6)。这种抗体可被抗 IgG 所去除, 表明它属于 IgG 型^(7,8), 而不同于人类的 IgM 型血小板同种天然抗体。以后还证实所有自身免疫性血小板减少的抗体都是 IgG。这种抗体对自身及同种血小板较之对其他血小板更易造成免疫性破坏⁽⁹⁾。

对损伤血小板的抗体的产生有两种解释⁽¹⁰⁾。一种认为这是一类与血小板无关的抗体, 与相应抗原形成的免疫复合物造成了对血小板的非特异性损伤。在这种情况下, 血小板只是免疫反应中的间接受害者 (innocant bystander)。急性 ITP 就可能是这样⁽¹¹⁾。至于慢性 ITP, 可能是吸附了外源性抗原 (有人认为可能是病毒⁽¹²⁾), 也可能是淋巴组织的反应性改变, 造成免疫功能紊乱, 产生了抗血小板抗体⁽¹³⁾。Dixon 认为后一种可能性更大⁽⁸⁾。事实上, 有些 ITP 病人 (即令为数不多) 确实有其他自身免疫现象, 如出现狼疮细胞现象、抗核因子等⁽¹⁴⁾。部分病例可合并自身免疫性溶血性贫血和其他自身免疫性疾病^(15,16)。血小板抗体产生的这些理论性推测都还有待实践证实。

2. 血小板抗体检查遇到的困难问题: 血小板就像海绵, 各种血浆成份 (包括免疫球蛋白) 不仅可吸附在它的表面, 而且可进入其开放的微管系统中⁽¹⁷⁾。要辨别血小板表面的免疫球蛋白属于特异性免疫结合还是非特异性吸附是相当困难的。Copley 认为, 血小板的主要

生理功能是参与血液的防卫和转运,高度的吸附能力正是它完成其基本功能的手段之一⁽¹⁸⁾。

血小板可受许多因素影响而发生非特异性凝聚 (aggregation), 这与免疫性凝集 (agglutination) 是难以区别的。这不仅使常用于血液细胞免疫学检查的凝集反应用于血小板检查遇到困难, 而且又常使血小板分离发生麻烦⁽¹⁷⁾。

血小板易受非特异性因素的损伤发生释放反应。用于检查血小板抗体的血小板因子可释放反应及 5-羟色胺释放反应是抗原抗体复合物引起的免疫性损伤反应, 它们与非特异性损伤的释放反应难于区别^(7,17)。

3. 关于血小板抗体的检查方法: 由于缺乏理想的检查方法, 各家创用或改良的方法繁多。它们可大致分为两类: 测血清中的游离抗体或抗原抗体复合物; 测结合于血小板表面的抗体 (IgG)。

测血清抗体几乎采用了所有沿用的血清学方法, 如凝集反应、补体结合反应、间接血凝反应等。免疫粘附血凝反应 (Immune adherence hemagglutination) 及混合血液吸附反应 (Mixed hemabsorption)⁽¹⁹⁾, PF3 释放反应⁽⁶⁾ 和 5-羟色胺释放反应⁽²⁰⁾ 等也都属于这一范畴。对于这一类测定血清抗体的方法, Dixon 和 Rosse 认为临床意义较小, 因为阳性率低, 抗体滴度与血小板减少并不完全一致, 也不能区别测出的抗体是自身抗体还是同种抗体⁽⁸⁾。

近年来发展了许多方法直接测定血小板表面的 IgG, 如抗球蛋白消耗试验⁽²¹⁾, 同位素标记的 Coombs 抗球蛋白试验⁽²²⁾, 细胞免疫化学测定⁽²³⁾, 红细胞溶解抑制试验⁽²⁴⁾ 等。这类方法测出的结合于血小板表面的 IgG 与血小板数及治疗效果基本上是一致的, 而且可区别于同种抗体, 因而远比测定血清抗体的方法优越。但这类方法并不能区别测出的 IgG 是非特异性吸附和免疫性结合, 只是根据统计学分析确定一个非特异性吸附的可能限度, 并推断超过此限度即存在免疫性结合。不过, 这要排除在特殊情况下可能发生的非特异性吸附增加, 如败血症等⁽²⁵⁾。

二、血小板抗体与 ITP 的发生机制

1. ITP 患者血小板抗体的检出率: 用血浆输注法测出的 ITP 因子的阳性率差异颇大, 5.6~60% 不等^(8,26)。这与受试者的个体差异有关, 与血浆抗体浓度、抗体对血小板的亲合性不同有关。当然也受病例选择和操作方法的影响。

体外测定血清抗体的各种方法阳性率大致为 60~70%⁽²⁷⁾。二项试验的累积阳性率可超过 80%⁽²⁸⁾, 用正常人血小板及患者自身的血小板同时测血清抗体也可提高阳性率⁽²⁹⁾。这表明不同患者所测出的抗体可能在性质上存在差别。

直接测定血小板表面的 IgG 阳性率一般比血清抗体的阳性率高。Dixon 用 IgG 致敏的绵羊红细胞作溶解抑制试验, 以每个血小板表面的 IgG 平均值 0.4pg 为界线, 300 例临床典型的 ITP 患者中 295 例高于此值⁽⁸⁾。但 Friedman 和 Karpatkin 的病例组阳性率仅为 57%⁽⁵⁾。

可见各种方法所得的结果虽然颇有差异, 但一个共同点是在临床典型的 ITP 病例中都有一部分抗体阴性病例。他们的疾病经过与治疗反应与抗体阳性病例也不尽相同, 因此可能有不同的发病机制^(8,30)。现在倾向于将概念笼统的 ITP 根据免疫机制作进一步划分。有人将其区分为免疫型和非免疫型^(30,31); 有人建议将 ITP 一语仅用于所有现代方法测不出抗体的病例, 而将可测出抗体的病例称为自身免疫性血小板减少性紫癜^{2,28}。

ITP就急性和慢性而言, 前者的血小板表面IgG明显高于后者。这一点甚至可用于两者的鉴别。据推测, 这种差异反映了两者在发病机制上存在区别³²⁾。

2. 血小板抗体的作用方式: 血小板在体内怎样作用于血小板, 现在还不太清楚。它可能直接改变血小板的表面结构使之易于为网状内皮系统细胞识别和清除, 也可能有补体系统或效应淋巴细胞的参与³³⁾。

ITP患者的血小板抗体属于IgG₃, 但在体外通常不能证明结合补体³⁸⁾。近年, 对血小板表面C3的测定表明, 血小板表面的C3结合量与IgG的结合量大体平行⁹⁾, 甚至有的病人血小板表面的IgG正常而C3增高²²⁾, 这表明结合于血小板表面的IgG在体内是结合补体的。被致敏的血小板在体内结合补体可能使血小板寿命缩短, 也可能改变血小板的功能。

有人认为ITP患者的外周淋巴细胞有破坏血小板的作用³⁴⁾。血小板抗体可促进这种破坏³⁵⁾。可是, Clancy的研究表明血小板抗体是封闭性抗体, 它可阻止效应淋巴细胞对血小板的作用³⁶⁾。这些结果说明, 血小板抗体和效应淋巴细胞之间的作用方式可能不是单一的。

已有实验证实血小板和巨核细胞之间有共同抗原³⁷⁾, 也有人证实ITP患者的巨核细胞结合有抗体^{38,39)}, 实验性免疫性血小板减少的动物发现血小板抗体对巨核细胞有损伤作用⁴⁰⁾。因此有人认为ITP患者的血小板减少既有血小板破坏加快, 也有血小板相对产生不足⁴¹⁾。不过, 对此还有待更多研究。

血小板抗体不仅影响血小板的量, 也可能改变血小板的质。Clancy等报告, 大多数ITP患者的血小板对肾上腺素、胶原, ADP引起的凝聚反应表现有不同程度的异常⁴²⁾。这种抗血小板功能因子(antiplatelet function factor)是否就是血小板抗体还不能断定。

三、血小板抗体与治疗的关系

一般说来, 血小板抗体和疾病的演变及治疗反应是平行的, 尤其是直接测定血小板表面IgG。随着疾病的缓解, 血小板抗体也减少; 疾病复发, 抗体回升。少数病例血小板数恢复正常后仍能测出血小板抗体, 这种病人或许是处在代偿性血小板溶解状态^{2,29)}。

1. 皮质类固醇治疗: 皮质类固醇对ITP的治疗作用是多方面的, 免疫抑制作用只是其一部分⁴³⁾。

皮质类固醇使血小板数上升并勿须血中抗体消失, 对这种现象有两方面的推测: (1)抑制了抗体与血小板的结合; (2)限制了网状内皮细胞系统的清除功能¹⁵⁾。有的病人经激素治疗开始缓解时, 血小板表面IgG减少而血中抗体反而出现在暂时性升高²²⁾。这似乎证明了前一种推测, 另一方面, 有些病人血小板表面IgG恢复正常以前血小板数已正常²²⁾。这似乎证明了后一种推测。由于血小板清除作用的抑制主要发生在脾脏, 因此, 皮质类固醇治疗相当于“药物性切脾”¹⁵⁾。当然, 长程类固醇治疗也会减少血小板抗体的生成, 不过完全抑制抗体产生的可能性是很小的, 因为皮质类固醇主要作用于抗体产生的诱导期⁴⁴⁾。

血小板抗体浓度与皮质类固醇的治疗效果之间也有一定关系。抗体浓度低的病例治疗效果较好, 顽固性ITP病例抗体浓度常常较高。反之, 抗体阴性病例皮质类固醇的治疗效果又不好, 可能这类病例的血小板减少与免疫机制无关^{8,31)}。

2. 脾切除: 一般说来, 切脾失败的病例术前都有较高浓度的抗体; 相反, 低浓度抗体的病例可望得到较满意的效果^{7,24)}。这可能是由于结合抗体少的血小板主要在脾脏破坏, 结

合抗体多的血小板主要在肝脏破坏^{8,15}。但是,这种区分不是切脾与否的决定指征⁴³。

现在认为脾脏既是清除致敏血小板的重要部位,也是产生血小板抗体的重要器官。这表现在有的病例切脾后血小板抗体迅速下降⁴⁶。脾组织的体外培养也证明ITP患者的脾脏能合成血小板抗体⁷。体表同位素测定血小板主要在肝内破坏的病例切脾有时也能奏效^{7,30},这或许可解释为切脾去除了一个重要的血小板抗体合成器官。有人推测,对皮质类固醇及切脾治疗有抵抗的顽固性ITP病例可能在脾脏以外的部位产生的抗体较多⁴⁵。

3. 免疫抑制剂治疗: Caplan和Berkman复习了文献中172例经免疫抑制剂治疗的ITP患者。对皮质类固醇治疗有抵抗者,切脾的缓解率是70%,免疫抑制治疗的缓解率为44%。因而作者认为它不能代替切脾,可用于某些原因而不能切脾的病例⁴⁷。但免疫抑制剂对血小板抗体影响的资料还不多。Lightsey对一切脾失败的病例作了免疫抑制剂治疗的动态观察。患者服用环磷酰胺后血小板迅速恢复正常,继续服药四月,患者维持临床缓解,血小板表面IgG也维持在正常水平。继续观察9个月,没有复发³²。免疫抑制剂除抑制抗体产生外,也抑制网状内皮系统对血小板的破坏。长春新碱还能直接作用于巨核细胞,促进其分裂⁴⁸。对长春新碱治疗有效的病例疗效迅速,或许可从这种非免疫抑制作用得到部分解释。

参 考 文 献

1. Baldini MG: Med Clin N Amer, 56(1):49, 1972
2. Karpatkin S et al: Am J Med, 51(1):1, 1971
3. Wintrobe MM: Clinical Hematology, 7-th ed, p1077, Henry Kimpton Publishers, London, 1974
4. Stefanini M et al: Blood, 80(1):26, 1953
5. Karpatkin S: Autoimmune Thrombocytopenic Purpura, Immunologic Disorders (Edited by Samter M et al) 3-rd ed. p1228~1243. little Browx and Company, 1978
6. Karpatkin S & Siskind GH: Blood, 33(6):795, 1969
7. Karpatkin S et al: Am J Med. 52(6):776, 1972
8. Dixon RH & Rosse WF: Brit J Haematol, 31(2):129, 1975
9. Hanch T W & Rosse WF: Blood, 50(6):1129, 1977
10. Willoughby MLN: Pediatric Haematology p. 258, Longman Group Limited, Edinburgh. London and New york, 1977
11. 斋藤昌信: ITP, 免疫血液病(畔柳武雄ほか), 193页, 医学书院, 东京, 1972
12. Erslev J A & Ganbuzda TG: Thrombocytes, Pathophysiology of Blood, 2nd ed, p. 157-172, WB Saunders Company, Philadelphia, London, Toronto, 1979
13. Basten A et al: Suppressor T Cells in Immune Homoestasis and Disease. Recent Advances in Clinical Immunology, NO. 2, (Edited by Thompson RA), Churehill Livingstone, Edinburgh, London, New york, 1980
14. Mikio Kimura & Hiroshi Sygimoto: Japan J Exp Med, 49(4):295, 1979
15. 福田幸治ほか: 临床血液, 20(12):1675, 1979

16. Mc Clure: Pediatrics. 55(1): 68, 1975
17. Holborow E J & Reeves WF: Immunology in Medicine, p. 940, Academic Press London, 1977
18. Copley AL: Folia Hematol, 106(5/6):732, 1979
19. 冲一, 高岛昭佳: 临床血液, 20(12):1602, 1979
20. Hirshman RJ & Shulman NR: Brit J Haematol, 24(6):793, 1973
21. Kaden BR et al: Blood, 53(4):545, 1979
22. Cines DB & Schreiber AD: New Engl J Med, 300(3):106, 1979
23. Leporrier M et al: Brit J Haematol, 42(4):605, 1979
24. Dixon R et al: New Engl J Med, 292(5):230, 1975
25. Kelton J G et al: New Engl J Med, 300(14):760, 1979
26. Harrington WJ et al: J Lab Clin Med 38(1):1, 1951
27. 山中学: ITPの病态生理, 血液疾患最近の进步 (高久史磨), 324~332页, 金厚出版株式会社, 东京, 大阪, 京都, 1978
28. Gandolfo GM et al: Acta Haematol, 58(1):10, 1977
29. Nasser Movassaghi et al: Am J Dis Child, 133(3):257, 1979
30. Торубарова НА и Акопян АЕ: Проб Гематол, (2):12, 1979
31. Watkins SP et al: J Clin Invest, 46(6):1129, 1967
32. Lightsey AL et al: J Pediat, 94(2):201, 1979
33. Wells JV: Immune Mechanisms in Tissue Damage, Basic & Clinical Immunology (Edited by Fudenberg HH et al), p. 228~229, Lange Medical Publications, Los Altos, California, 1976
34. Marmoto C et al: Clin Immunol Immunopathol, 8(2):181, 1977
35. 若林芳久ほか: 日本血液学会杂志, 42(3):436, 1979
36. Clancy R: Lancet, I (7742):6, 1972
37. Vazquez JJ & Lewis JH: Blood, 16(7):968, 1960
38. Pizzi F et al: Blood, 27(4): 521, 1966
39. 赤塚顺一: 免疫血液学, 小儿临床血液学 (小林登), 276页, 东京医学社, 1975
40. Rolovic Z et al: Blood, 35(2):173, 1970
41. Shuster J: Immunohematology, Clinical Immunology (Edited by Freedman SO), p.305, Harper & Row Publishers. New York, Evanston, San Francisco, London, 1971
42. Clancy R et al: New Engl J Med, 286(12):622, 1972
43. 安永幸二郎: ITPの治療, 血液疾患最近の进步 (高久史磨), 333~344页, 金厚出版株式会社, 东京, 大阪, 京都, 1978
44. 松本修三, 谷内昭: 免疫学の診断—の应用, 医科免疫学 (菊地浩吉ほか), 377~394页, 南江堂, 东京, 京都, 昭和51年
45. 山内胜世ほか: 临床血液, 19(3):199, 1978
46. Luiken GA et al: Blood, 50(2):317, 1977
47. Caplan SN & Berhman EM: Med Clin N Amer, 60(5):971, 1976

ITP患者血小板表面IgG(PSIgG)测定 临床意义的探讨

附属一院血液病研究室

研究生 彭孝廉

指导教师 王辨明 教授

沈 迪 教授

前 言

约65%的原发性血小板减少性紫癜(以下称ITP)患者的血清中能测出血小板抗体,有人将这部分病例称为自体免疫性血小板减少性紫癜(Autoimmune Thrombocytopenic Purpura, ATP)¹,部分病例可能是抗体浓度过低,现有方法不能测出;也可能部分病例的发病与免疫机制无关。

一般用以检查ITP免疫机制的方法是测定患者的血清抗体。由于不同患者血清抗体的性质不同,方法的敏感性不同,阳性率的差异颇大²。而且,这类方法测得的血清抗体是同种抗体,有些可能与妊娠、输血有关,并不是真正的自体抗体,也不一定是血小板减少的原因³。因而,测定血清抗体很难用以区别免疫性和非免疫性血小板减少性紫癜。

为克服测定血清抗体的上述缺点,近年来采用了许多直接测定血小板表面IgG(PSIgG)的方法,其中,Dixon创用的绵羊红细胞间接溶解抑制试验⁴颇受重视。但此法实验条件要求高,较难重复^{5,6}。为此,我们设计应用了IgG致敏的“O”型人红细胞和羊抗人IgG作指示系统的间接血凝抑制技术测定PSIgG,也获得较满意的效果。我们用这种方法测定了13例ITP患者及2例已经缓解的ITP患者的PSIgG,并对其中部分病例作了连续观察。另外,还检查了9例其他原因引起的血小板减少患者及2例血小板数正常的红斑性狼疮患者。现将结果报告如下,并略加讨论。

材 料 和 方 法

一、检查对象

1. 正常献血员(血中血小板数 >10 万/ mm^3 ,无紫癜病史)45例。
2. 符合以下条件,临床诊断为ITP的患者13例,(1)有自发的皮肤或/和粘膜淤点、淤斑及其他出血倾向;(2)血小板数 <10 万/ mm^3 ;(3)骨髓巨核细胞数正常或增多,巨核细胞幼稚化,产血小板的巨核细胞 $<50\%$;(4)无明显原发病。
3. 其他原因引起的血小板减少9例。

4. 临床确诊为系统性红斑性狼疮但无血小板减少者 2 例。

二、方法

1. 血小板分离 (用于分离血小板的注射器、吸管、试管均先除硅):

(1) ACD液 1ml, 加全血 5ml, 混合。

(2) 离心 1000rpm, 20 分钟。

(3) 将含血小板血浆移至另一试管, 2500rpm 离心 15 分钟。

(4) 弃上清液, 用 ACD液 (pH6.5) 将血小板洗涤 5 次。

(5) 弃上清液, 加 ACD液 (pH6.5) 3~4 滴, 制成血小板悬液, 计数。

(6) 用 ACD液 (pH6.5) 将血小板悬液稀释至 20 万/mm³。

2. 致敏红细胞的制备:

(1) 醛化: ①取“O”型抗凝血, 用磷酸缓冲盐水(PBS, pH7.2) 洗涤 5 次, 最后一次洗涤后离心 3500rpm, 5 分钟。②取压积红细胞, 加等量 1% 戊二醛, 冰浴中震荡 45 分钟。③用蒸馏水将醛化红细胞洗涤 5 次, 制成 10% 红细胞悬液, 加 0.01% 迭氮钠防腐。④置冰箱内保存备用。

(2) 鞣酸化: ①将醛化红细胞用 PBS (pH7.2) 洗涤 2 次后配成 2.5% 红细胞 PBS 悬液。②加等量 1/2 万鞣酸溶液, 混匀, 置 37℃ 水箱内 20 分钟, 常摇动。③离心沉淀后, 用 PBS (pH7.2) 洗涤一次。④用 PBS (pH7.2) 配成 2.5% 红细胞悬液。

(3) 致敏: ①IgG 溶液 (500μg/ml) 1 份, PBS (pH6.4) 4 份, 2.5% 鞣酸化红细胞 1 份, 混合后置 37℃ 水箱内 15 分钟, 反复震荡。②离心后, 将鞣酸化红细胞用 1% 兔血清生理盐水洗 2 次。③用兔血清盐水制成 2.5% 红细胞悬液, 使用时, 用兔血清盐水将其稀释至 0.5%。

3. 抗 IgG 血清间接血凝效价滴定: 采用上海生物制品研究所提供的羊抗人 IgG 血清, 用“V”型 (尖底型) 血清盘滴定。

(1) 用稀释液 (灭活兔血清 2 ml, 10% 明胶 1 ml, 1% 迭氮钠 1 ml, 用 pH7.2 的 PBS 稀释至 100ml) 将抗 IgG 血清从 1/100 开始作对倍稀释, 每孔 1 滴。

(2) 每孔各加 0.5% 致敏红细胞悬液 1 滴。

(3) 震荡 5 分钟, 室温下静置 1~2 小时, 读凝集效价。

(4) 以孔底无红细胞聚集为“+”; 红细胞全部沉至管底, 边缘整齐者为“-”; 红细胞沉积于孔底, 但边缘模糊者为“±”。以“+”的最后一孔血清稀释度为其间接血凝效价。用于试验的抗血清稀释度比凝集效价低一个稀释度。

4. 指示系统的敏感性测定:

(1) 将适当浓度的 IgG 溶液作对倍稀释 (1.0μg/ml, 0.5μg/ml, 0.25μg/ml, ……), 每孔加一种稀释度的 IgG 溶液 1 滴 (所用稀释液与滴定抗 IgG 血清效价所用者同)。

(2) 每孔各加 1 滴试验稀释度抗 IgG, 震荡 5 分钟, 室温下静置 30 分钟。

(3) 每孔各加 0.5% 致敏红细胞悬液 1 滴, 室温下静置 1~2 小时。

(4) 判断结果的标准与“3”相同。以凝集抑制 (“-”) 的最高稀释度的 IgG 浓度为本试验的最高敏感度。我们制备的致敏红细胞和上海生物制品所提供的抗 IgG 共同建立的指示系统可测出 0.125μg/ml (即 125000fg/mm³) 浓度的 IgG。此即本试验的最高敏感度。

5. 试验过程:

(1) 取 8 支小试管。第 1 管加稀释液 (与抗 IgG 效价滴定所用稀释液相同) 3 滴, 以后

每管各加2滴。

(2)向第1管加血小板悬液($20\text{万}/\text{mm}^3$)3滴,混匀后取2滴加于第7管作血小板对照,另于第1管取2滴加于第2管,混匀后移2滴至第3管,如此倍比稀释至第6管,混匀后取2滴去掉。第8管留作抗体对照。于是,除第7管4滴外,其余各管均为2滴,各管的血小板浓度依次为:

管次	1	2	3	4	5	6	7	8
血小板浓度 ($\text{万}/\text{mm}^3$)	10	5	2.5	1.25	0.625	0.3125	5	—

(3)除第7管外,每管各加试验用稀释度抗IgG 2滴,充分震荡后置室下30分钟。

(4)离心3000rpm,5分钟,取各管上清液2滴,移至“V”型血清盘。

(5)每孔各加0.5%致敏红细胞悬液1滴,震荡5分钟,室温下静置1~2小时。

(6)观察抑制血凝的最低血小板浓度。

(7)计算每个血小板表面的平均IgG量。

$$\text{PSIgG (fg/pt)} = \frac{125,000\text{fg}/\text{mm}^3}{\text{抑制血凝的最低血小板浓度}(\text{}/\text{mm}^3)}$$

(fg/pt: 每个血小板表面的IgG毫微微克数)

结 果

1. 各组检查对象测得的PSIgG:

45名正常人测得的PSIgG平均值为 $2.0 \pm 1.7\text{fg/pt}$; 13例ITP患者的PSIgG平均值为 $13.75 \pm 2.18\text{fg/pt}$,两者有显著差异($P < 0.001$)。

以45例正常人PSIgG值的均数中2SD(即 5fg/pt)作为正常上限,本组正常人均未超过此值,13例临床诊断为ITP的病例(已缓解者除外)中11例超过此值,阳性率为84.6%。

其他各种原因引起的血小板减少(血小板数 $< 10\text{万}/\text{mm}^3$)共9例,仅1例骨髓异常增生症患者的PSIgG值为 20fg/pt ,其余均 $\leq 5.0\text{fg/pt}$ 。其中3例急性白血病及3例再障患者均曾接受过多次输血。

2例血小板数正常的系统性红斑性狼疮患者的PSIgG值均在正常范围。

2. 13例ITP患者的临床和血液学资料(表2)。

13例中,1例为儿童,其余均为成人。5例(例2、4、9、12、13)为初次发作,另8例病程迁延较久,已有多次反复发作。

13例在检查PSIgG时均有不同程度的血小板减少及自发出血倾向,骨髓检查符合“ITP”诊断。除2例外,均正接受皮质类固醇治疗,3例尚加用硫唑嘌呤。其中仅2例(例1、例8)PSIgG正常,此2例均有职业性毒物或放射线接触史。

2例经皮质类固醇及硫唑嘌呤治疗缓解的患者(未列入表内),血小板数已正常,无出血倾向,PSIgG也在正常范围。

表1 各组检查对象测得的PSIgG值

		例数	PSIgG (fg/pt)						
			<1.25	1.25	2.5	5.0	10.0	20.0	40.0
I T P	正常献血员	45	2	20	15	8			
	未缓解病例	13			1	1	4	5	2
	已缓解病例	2		1	1				
	急性白血病	3		2	1				
	D I C	1				1			
继发性血小板减少症	巨球蛋白血症	1				1			
	再障	3		1	2				
	骨髓异常增生症	1						1	
红斑性狼疮		2		1		1			

表2 13例ITP患者的临床、血液学资料

编号	姓名	性别	年龄	病程	PRiGg测定时的治疗	PSIgG测定时血小板数 (/mm ³)	PSIgG (fg/pt)
1	张××	女	41	5年	强的松 5mg/日	4.2万	2.5
2	李××	女	17	1月	——	5.4万	20.0
3	张××	女	43	10月	强的松 10mg/日	6.8万	10.0
4	涂××	女	34	1月	——	9.0万	20.0
5	席××	女	26	4年	强的松 30mg/日	4.2万	10.0
6	李××	男	38	4+月	强的松 15mg/日	8.0万	10.0
7	严××	女	7	6+月	氢化考的松 50mg/日	6.9万	40.0
8	李××	男	39	1.5年	强的松 30mg/日, 硫唑嘌呤100mg/日	6.8万	5.0
9	李××	男	69	10天	地塞米松 40mg/日	4.0万	40.0
10	程××	女	20	10月	强的松 15mg/日, 硫唑嘌呤 100mg/日	3.6万	20.0
11	谢××	女	33	1+年	强的松 30mg/日, 硫唑嘌呤 mg/日	3.0万	20.0
12	万 ×	男	29	20+天	强的松 60mg/日	5.6万	20.0
13	陈××	女	23	3月	强的松 45mg/日	8.9万	10.0

注：例1有13年的苯接触史，例8有20年放射线接触史，但两者均有典型“ITP”的临床表现及骨髓细胞学检查的形态特征。

3. 个别ITP病例PSIgG的动态观察：

(1)例10于切脾前后PSIgG及血小板数变化的观察(图1)：

患者因不能控制的鼻衄及子宫出血而于80年11月6日行脾切除术。切脾前，PSIgG为20fg/pt，切脾半月后，PSIgG降至10fg/pt，并在往后的一个多月中稳定在此水平。血小板有上

升趋势,但波动较大。血小板数低于 $8\text{万}/\text{mm}^3$ 时仍有自发出血倾向。

(2)例8是一39岁男性患者,有20年X线接触史。近一年多常发生鼻衄及皮肤紫癜,经多次血小板计数及骨髓细胞学检查诊断为ITP。患者对皮质类固醇及硫唑嘌呤治疗无反应,血小板数稳定在较低水平。相隔3周作二次检查,PSIgG均为 $5.0\text{fg}/\text{pt}$ (图2)。

(3)例9为一69岁男性患者,入院时发病仅10天,表现为鼻衄及广泛紫癜。入院时,血小板数仅 $4\text{万}/\text{mm}^3$,PSIgG达 $40\text{fg}/\text{pt}$ 。经大剂量地塞米松静脉滴注后,血小板数在2周内迅速上升至 $20\text{万}/\text{mm}^3$ 左右,出血停止。血小板数恢复正常一周后,PSIgG亦降至 $10\text{fg}/\text{pt}$ (图3)。

讨 论

1. 关于本文介绍的方法的可用性:

用本文介绍的方法测45例正常人,PSIgG值为 $0\sim 5\text{fg}/\text{pt}$,与Kelton等报告的 $0\sim 5\text{fg}/\text{pt}$ ⁷、Lightsey等报告的 $1.446\pm 0.58\text{fg}/\text{pt}$ ⁸以及Luiken报告的 $1.231\pm 0.424\text{fg}/\text{pt}$ ⁹十分接近;稍高于Mc Millan等的数值($0.065\sim 0.311\text{fg}/\text{pt}$),稍低于Nochman的数值($38\sim 55\text{fg}/\text{pt}$)而远低于Dixon的数值($<400\text{fg}/\text{pt}$)⁴。

本组13例临床诊断为ITP的患者,PSIgG值为 $13.75\pm 2.18\text{fg}/\text{pt}$,由于其中大多数病例在测定PSIgG时均正在激素或激素加免疫抑制剂的治疗中,推测若检查在治疗前完成,可能会得到较高的数值。Luiken的病例组也有类似情况⁹。取 $5.0\text{fg}/\text{pt}$ 为正常上限,此13例病人有11例超过此值,阳性率为84.6%,介于Dixon(98%)³和Karpatkin(57%)¹⁰的结果之间。

因此,本法所得的各项可比指标与国外应用的各种同类方法十分接近。

此外,我们还检查了本法的可重复性。我们将10份正常人血小板悬液分成数份重复检查,结果一致;8份正常人血小板悬液置 4°C 冰箱内过夜后复查,其PSIgG质不变。

另外,本法与其他同类方法一样,不受同种血小板抗体的影响。本组3例急性白血病及3例再障患者均曾多次输血,然而其PSIgG值均在正常范围。

因此,我们认为本法虽然还有待完善,但可望为得到推广的方法。

2. 本法也遇到其他同类方法所共同的困难,即这类方法都需要用病人自身的血小板。重症血小板减少的患者,血小板收集十分困难,常不易得到 $20\text{万}/\text{mm}^3$ 浓度的血小板悬液。为克服这种困难,有人将患者在血小板数低下时的血清保存起来,待疾病缓解后再取血小板与保存血清孵育,使之致敏,然后测PSIgG,回顾性地确定血小板减少的性质¹⁸。对这类患者,我们采用较低浓度的血小板悬液,如 $10\text{万}/\text{mm}^3$ 或 $5\text{万}/\text{mm}^3$,有时也能获得同样效果,因为许多这类病的PSIgG值都比较高,而且,较低浓度的血小板悬液其PSIgG量同样处在本方法的敏感范围内。

另外,为了克服血小板在分离中的自发凝聚造成的血小板丢失,我们比较了ACD(pH 6.5)液与1%EDTA盐水溶液洗涤血小板的效果,发现前者明显优于后者,在分离和洗涤血小板时,血小板分散良好。

3. 由于直接测定PSIgG能比较可靠地区分免疫性和非免疫性血小板减少,近年已比较明确地认识到临床诊断的ITP并不是一个单一的疾病实体。Dixon检查的300例ITP患者中,5例的PSIgG值不高。这些病例在临床上似乎都是典型的ITP,但病程漫长(5~10年),对目

前治疗 ITP 的方法（皮质类固醇、切脾及免疫抑制剂）没有反应³。Kelton 报告的37例中，3 例的 PSiG 值不高，对其中 1 例的连续观察表明，激素及切脾治疗无效⁷。WatKins 也有类似报告¹²。本组13例临床诊断为“ITP”的病例中，2 名患者的 PSiG 值正常，对其中 1 例（例8）作系统观察证明，激素及免疫抑制剂治疗无效。这部分病例的发病机制可能和免疫无关。其中可能包括某些无效血小板生成(ineffective thrombopoiesis)病例¹³，或某些原因引起的血小板溶解性出血性血小板——血管病（Тромбоцитолитические Геморрагические Тромбозы）¹⁴ 病例。虽然目前对其发病机制研究很少，这可能是过去缺乏可靠的方法将它们区别于免疫性血小板减少的缘故。

4. 近年，由于有了研究血小板减少的免疫机制较可靠的方法，对 ITP 各种疗法如何作用于免疫机制而获得疗效的研究也比较多。

现在一般都认为，脾脏既参与致敏血小板的破坏，也参与血小板抗体的生成。Karpatkin 等研究了 8 例 ITP 患者切脾前后血清抗体滴度的变化，其中 7 例于切脾后下降¹⁵，Lightsey 等观察了 1 例儿童慢性 ITP 切脾后的 PSiG 变化，他们发现，切脾后 24 小时血小板数即上升至正常，但 PSiG 未降。切脾后 3 周复查，PSiG 降至正常⁸。本文例 10 切脾后 1 周内 PSiG 即已下降。此后连续观察 2 月，PSiG 一直保持在稍高于正常的水平，说明脾脏以外的部位也有抗体产生¹⁶。

现在认为，激素治疗使 ITP 患者的血小板数增高大概通过三种机制：①抑制抗体与血小板结合；②抑制单核——巨噬细胞系统对致敏血小板的清除；③抑制血小板抗体的产生。一些作者的研究证实，激素治疗 ITP 时，血小板数的上升与 PSiG 的下降是一致的^{3,4}。本文例 9 在大剂量地塞米松（40mg/日）治疗后，血小板数迅速上升，PSiG 相应下降。这或许与前两种机制有关。本组例 13 经激素治疗获临床缓解时（血小板数 9.8 万/mm³），PSiG 为 10fg/pt，停用激素 2 月，又出现自发出血倾向，血小板数降至 3.8 万/mm³，PSiG 又升至 20fg/pt。这可能与激素撤除后抗体的合成增加有关。这种血小板数和 PSiG 的相关变化，与文献记载一致¹⁷。但是本组切脾后的 2 例（例 10、11），血小板数虽大幅度波动（例 11 的波动范围在 3~80 万/mm³之间），然而 PSiG 却保持相对恒定。这种波动似乎与 PSiG 含量无关，从波动方式看，与所谓“周期性血小板减少症”相似^{18,19}。

小 结

本文介绍间接血凝抑制试验测定 PSiG，方法较简单，可重复性较好，可为一般临床实验室所采用。在研究自身免疫性血小板减少性疾病时可避免同种抗体的干扰，也可克服目前少数实验室所用的同类方法的复杂性，因而有助于这类疾病的鉴别和发病学研究。

用本文介绍的方法测得的正常人 PSiG 值为 0—5.0 fg/pt。临床诊断为 ITP 的病例，84.6% 超过 5.0 fg/pt。

我们对 13 例临床诊断为 ITP 的患者所作的初步研究表明，PSiG 正常的病例，其疾病经过和治疗反应与 PSiG 增高的病例似乎有所区别。看来，ITP 可能不是一个单一的疾病，而更可能是一组具有若干共同特征的症候群。不过，对此还有待更多的研究。

初步观察表明，激素治疗时的血小板数变化与 PSiG 的变化有一定关系；切脾治疗有效的病例，PSiG 亦下降。

参 考 文 献

1. Karpatkin S et al: Autoimmune Thrombocytopenic Purpura and the Compensated Thrombocytolytic State. *Am J Med*, 51(1):1, 1971
2. Gandolfo GM et al: Platelet Antibodies in Different Forms of Chronic Thrombocytopenia, *Acta Haematol*, 58(1):10, 1977
3. Dixon RH & Rosse WF: Platelet Antibody in Autoimmune Thrombocytopenia, *Br J Haematol*, 32(2):129, 1975
4. Dixon R et al: Quantitative Determination of Antibody in Idiopathic Thrombocytopenic Purpura. *New Engl J Med*, 292(5):230, 1975
5. Von dem Borne AEGKr et al: A Simple Immunofluorescence Test for the Detection of Platelet Antibodies, *Br J Haematol*, 39(2):195, 1978
6. 山中学: ITPの病态生理, 血液疾患最近の进步(高久史磨), 326页, 金厚出版株式会社, 东京, 1978年
7. Kelton J G et al: Comparison of Two Direct Assays for Platelet-Associated IgG in Assessment of Immune and Nonimmune Thrombocytopenia, *Blood*, 55(3):424, 1980
8. Lightsey AL et al: Platelet-Associated Immunoglobulin G in Childhood Idiopathic Thrombocytopenic Purpura, *J Pediat*, 94(2):201, 1979
9. Luiken GA et al: Platelet-Associated IgG in Immune Thrombocytopenic Purpura. *Blood*, 50(2):317, 1977
10. Karpatkin S: Autoimmune Thrombocytopenic Purpura, *Immunologic Disorders* (Edited by Samter M et al). 3d ed, Vol 2, p.1228~1243, Little Brown & Company, 1978
11. Minchinton RM et al: Autoimmune Thrombocytopenia in Pregnancy, *Br J Haematol*, 44(3):451, 1980
12. Watkin SP et al: Differentiation of Immunologic from Nonimmunologic Forms of Idiopathic Thrombocytopenic Purpura. *J Clin Invest*, 46(6):1129, 1967
13. Wintrobe MM: *Clinical Hematology*, 7th ed, p.1072, Lea-Febiger, Philadelphia, 1974
14. Германов ВА и Сергеева ТМ: С геморрагический тромбоцитопатией диагностика больного, *Проб. гематол.* (1):42, 1980
15. Karpatkin S et al: Cumulative Experience in the Detection of An platelet Antibody in 234 Patients with Idiopathic Thrombocytopenic Purpura, Systemic Lupus Erythematosus and Other Clinical Disorders, *Am J Med*, 52(6):726, 1972
16. 山内胜世ほか: 难治性ITP について, *临床血液*, 19(3): 199, 1978
17. Cines D B & Schreiber AD: Immune Thrombocytopenia, Use of a Coombs Antigen Test to Detect IgG and C3 on Platelet, *New Engl J Med*, 300(3):106,