

36例获得性血栓性血小板减少性紫癜患者的回顾性临床分析

胡晓蓉 应双伟 黄河 孙洁

Retrospective studies on 36 patients with thrombotic thrombocytopenic purpura Hu Xiaorong, Ying Shuangwei, Huang He, Sun Jie

Corresponding author: Sun Jie, The First Affiliated Hospital of Zhejiang University, Hangzhou 310003, China. Email: jsun1492@zju.edu.cn

血栓性血小板减少性紫癜(thrombotic thrombocytopenic purpura, TTP)是一种以微血管广泛血小板血栓形成为特征的血栓性微血管病,以溶血性贫血和血小板减少性出血为临床特征,可伴有神经精神症状、不同程度的肾损伤和发热。TTP的发病机制尚未完全清楚,人血管性血友病因子裂解蛋白酶(ADAMTS 13)于2001年被发现并克隆^[1],目前认为ADAMTS13活性降低或功能缺陷是TTP的主要发病机制^[2]。TTP患者危重程度及预后相差甚远,影响预后的指标繁多^[3]。E-选择素是内皮损伤的早期敏感指标^[4-5],其与糖尿病、全身炎症反应综合征等一些血管累及性疾病的预后相关^[6-7],但E-选择素与TTP的关系尚不清楚。本研究我们对36例获得性TTP患者的临床特征、血浆ADAMTS13活性、血清E-选择素浓度等指标进行检测,并对治疗及转归进行了回顾性分析。

病例与方法

1. 病例:2010年1月至2015年3月浙江大学附属第一医院收治的36例获得性TTP患者纳入本研究。所有患者TTP诊断均符合文献^[8]标准。其中男15例,女21例,中位年龄50.5(17~78)岁。

2. 血浆ADAMTS13活性及抑制物测定:患者及健康对照者(献血员)的血样及保存采集的血样用枸橼酸钠1:9抗凝。3 000×g离心10 min取上清。将血浆分装冻存于-30℃冰箱中备用。取患者血浆及健康对照者血浆分成2份(每份50 μl),其中1份加入微量透析管缓冲液中透析3 h,另1份血浆在透析期间置室温待用,每次检测均以正常混合血浆作为对照。参照文献^[9]方法测定ADAMTS13活性水平。患者、正常混合孵育血浆透析前后ADAMTS13活性水平均缺乏为抑制物阳性。

3. ELISA法测定血清E-选择素水平:随机选取10例临

床诊断TTP患者及10名正常健康志愿者进行血清E-选择素水平检测,取静脉血标本2~3 ml(不抗凝),4 000×g离心5 min,分离血浆,保存于-18℃低温冰箱中。ELISA试剂盒购自美国R&D公司,按照产品说明书操作。

4. 随访及疗效判定:随访通过电话询问、查阅病例资料两种方式完成。随访截止日期为2015年8月15日,中位随访时间为521(5~2 046)d。参照文献^[10]判定疗效:①完全有效:PLT正常,无临床症状和体征;②部分有效:PLT $\geq 50 \times 10^9/L$ 或较基础值升高1倍,无临床症状和体征;③无效:PLT $< 20 \times 10^9/L$ 或升幅小于1倍、临床症状加重、死亡;④复发:在达到完全有效30 d后再次出现TTP临床表现。

5. 统计学处理:采用SPSS 21.0软件进行数据分析。计量资料以中位数(范围)表示,组间比较使用*t*检验;分类资料以频数表示,使用Fisher确切概率法进行比较。以*P* < 0.05 为差异具有统计学意义。

结 果

1. 临床特征:36例获得性TTP患者均急性起病。4例(11.11%)并存自身免疫性疾病(系统性红斑狼疮、雷诺综合征、结缔组织病、干燥综合征各1例),7例(19.44%)无自身免疫性疾病表现但发病时抗核抗体阳性(1:80~1:320);2例(5.56%)伴肺部感染;1例(2.78%)为分娩诱发(随访中确诊为系统性红斑狼疮);22例(61.11%)患者无明显诱因。36例患者中20例(55.56%)在有效治疗前或治疗过程中出现了典型“五联”征。34例(94.44%)伴不同程度的神经精神症状;27例(75.00%)伴出血表现;30例(83.33%)伴微血管病性溶血性贫血(MAHA);27例(75.00%)伴发热;18例(50.00%)伴肾功能不全(表1)。全部36例患者发病到确诊的中位时间为8(2~100)d,无效组、有效组分别为8(5~18)、10(2~100)d,两组差异无统计学意义(*P*=0.187)。

2. 血细胞分析:36例患者中位HGB为75.5(49~145)g/L,中重度贫血者(HGB < 90 g/L)占72.2%(26/36);中位PLT为14(3~79) $\times 10^9/L$,PLT $< 20 \times 10^9/L$ 者占72.2%(26/36)。21例患者行外周血涂片检查,破碎红细胞比例中位数为4.0%(0.4%~15.0%),其中4例(19.05%)患者破碎红细胞比例 $\leq 1.0\%$,17例(80.95%) $> 1.0\%$ 。

3. 生化检查及凝血功能结果及分析:36例中1例缺少胆红素水平数据,35例患者总胆红素中位数为40(5~151)mmol/L(正常参考值0~21.0 mmol/L);间接胆红素中位数为24(2~56)mmol/L(正常参考值3~14 mmol/L);36例患者

LDH中位数为1 050 (153~4 427)U/L(正常参考值109~245 U/L),其中19例(52.8%)患者LDH>1 000 U/L。18例肾功能异常患者血肌酐中位数为101.5(44.0~483.0) μ mol/L(正常参考值45.0~104.0 μ mol/L),尿素氮中位数为11.8(5.6~27.5)mmol/L(正常参考值2.9~8.2 mmol/L)。10例患者凝血指标异常,其中7例轻度异常,主要表现为APTT及血浆凝血酶原时间(PT)轻度延长,3例明显异常,其中1例有酒精性肝硬化病史。

表1 36例获得性血栓性血小板减少性紫癜患者临床表现

| 临床表现 | 例数 |
|------------|----|
| 出血 | |
| 皮肤黏膜瘀斑 | 21 |
| 血尿 | 10 |
| 黑便 | 8 |
| 胃出血 | 2 |
| 月经量增多 | 1 |
| 咯血 | 1 |
| 微血管病性溶血性贫血 | 30 |
| 神经精神症状 | |
| 神志淡漠、意识不清 | 26 |
| 抽搐 | 14 |
| 烦躁不安 | 10 |
| 头痛 | 6 |
| 面瘫 | 3 |
| 失语 | 2 |
| 颜面部、肢体麻木 | 2 |
| 谵妄 | 1 |
| 肾功能异常 | |
| 肌酐升高 | 10 |
| 尿素氮升高 | 16 |
| 发热 | 27 |

4. 血浆ADAMTS13活性及抑制物测定结果:36例TTP患者中22例行ADAMTS13检测,其中1例检测结果正常,其余21例(95.45%)患者血浆ADAMTS13活性<5%。在21例ADAMTS13活性缺乏患者中9例(42.86%)血浆ADAMTS13抑制物检测结果为阳性。

5. 血清E-选择素水平测定结果及分析:10例临床诊断TTP患者组血清E-选择素水平高于10名正常对照组[(62.81 \pm 12.10) μ g/L对(24.67 \pm 18.48) μ g/L, $P<0.05$]。

6. 治疗:36例患者中接受单纯血浆置换(PE)、单纯血浆输注(PI)、PE联合PI治疗的患者分别为12、4、20例。接受PE治疗32例患者的中位PE次数为3(1~10)次。88.9%(32/36)患者接受糖皮质激素治疗(地塞米松10~15 mg/d \times 3~5 d, 静脉滴注,根据病情适当延长疗程或逐渐减量)。2例患者

应用免疫抑制剂(长春新碱、环孢素A)治疗。2例患者在PE期间或缓解后应用利妥昔单抗治疗,另2例患者在复发后加用利妥昔单抗治疗(100 mg,每周1次,连用4次)。

7. 疗效:36例患者中23例(63.89%)治疗有效(完全有效+部分有效);13例(36.11%)患者无效死亡(院内死亡2例,11例因治疗无效自动出院并于院外死亡)。

随访至2015年8月15日,23例治疗有效患者中3例失访,另外20例中4例(20%)于出院后1.5~14个月出现疾病复发(1例患者复发3次,其余3例患者仅复发1次),4例患者复发前均无明显诱因,复发后激素、PE及利妥昔单抗治疗有效。36例接受含有PE/PI+糖皮质激素治疗的患者中22例(61.11%)有效,10例(27.78%)死亡;其中接受PE/PI+糖皮质激素+利妥昔单抗3例及接受PE+糖皮质激素+环孢素A+利妥昔单抗治疗的1例患者均存活。以上4例患者中仅1例出现复发3次,利妥昔单抗单药治疗均能达到完全有效。

PE组(32例)有效率为65.63%,非PE组(4例)为50%,差异无统计学意义($P=0.609$)(表2)。

8. 治疗有效组与无效组的患者临床特征比较:无效组(13例)患者首发症状为发热、最高体温、初始总胆红素、间接胆红素、LDH、血肌酐、尿素氮均高于治疗有效组(23例)($P<0.05$),而WBC、HGB、PLT差异无统计学意义(表3)。

讨 论

TTP年发病率约为6/100万,大多为获得性的、抗体介导的,发病时往往缺乏相应的前驱症状^[11]。本组患者发病到确诊时间中,无效组低于有效组,分析原因可能在于无效组起病相对更急、病情相对更重、更早出现“五联征”表现,导致TTP的诊断相对更易所致。

本研究受检患者中95.45%(21/22)提示血浆ADAMTS13活性缺乏,其中活性缺乏患者中42.86%(9/21)检出ADAMTS13抑制物。目前研究认为除ADAMTS13缺陷外,凝血酶敏感蛋白1(TSP1)、补体调节功能异常、抗内皮细胞抗体(AECA)可能与TTP的发生相关^[10]。反之,ADAMTS13酶活性降低或功能缺陷发生TTP外,也可发生于肝硬化、尿毒症、DIC、肿瘤等疾病^[12]。因此目前血浆ADAMTS13活性测定在临床上诊断TTP上仍然作为重要的辅助指标,而非唯一标准。

36例获得性TTP患者中,55.56%(20/36)的患者在发病时或治疗过程中出现典型的“五联征”,而既往认为发病早期“五联征”比例相对较少,当出现时往往提示病情已为较晚期。因此在临床中,如出现PLT减少、贫血、发热、神经精神症状、肾功能损害等以原发病不能解释的症状时,应高度警

表2 36例血栓性血小板减少性紫癜患者的治疗方法及转归

| 组别 | 例数 | 好转(例) | 无效(例) | 有效率(%) | 无效率(%) |
|------------|----|-------|-------|--------|--------|
| 血浆置换/血浆输注 | 32 | 21 | 11 | 65.63 | 34.37 |
| 非血浆置换/血浆输注 | 4 | 2 | 2 | 50.00 | 50.00 |
| 合计 | 36 | 23 | 13 | 63.89 | 36.11 |

表 3 治疗有效组与无效组血栓性血小板减少性紫癜患者治疗前临床特征比较

| 指标 | 有效组(23 例) | 无效组(13 例) | P 值 |
|----------------------------------|----------------------------|------------------|-------|
| 年龄[岁,中位数(范围)] | 50(19~78) | 55(17~75) | 0.491 |
| 病程中出现昏迷[例(%)] | 10(43.5) | 7(53.8) | 0.730 |
| 首发症状为发热[例(%)] | 1(4.3) | 5(38.5) | 0.016 |
| 最高体温[℃,中位数(范围)] | 37.8(36.8~40.0) | 38.7(37.6~40.0) | 0.007 |
| WBC[×10 ⁹ /L,中位数(范围)] | 8.6(2.0~18.3) | 7.7(1.4~12.8) | 0.310 |
| HGB[g/L,中位数(范围)] | 77(49~145) | 73(54~140) | 0.336 |
| PLT[×10 ⁹ /L,中位数(范围)] | 14(3~50) | 12(5~79) | 0.698 |
| 总胆红素[mmol/L,中位数(范围)] | 33(5~81) ^a | 56(16~151) | 0.011 |
| 间接胆红素[mmol/L,中位数(范围)] | 21(2~56) ^a | 32(12~52) | 0.012 |
| LDH[U/L,中位数(范围)] | 932(153~4 427) | 1 565(630~4 318) | 0.041 |
| 血肌酐[μmol/L,中位数(范围)] | 61(30~163) | 98(42~483) | 0.005 |
| 尿素氮[mmol/L,中位数(范围)] | 7.7(3.8~18.1) ^a | 11.6(5.0~27.5) | 0.006 |

注:a:1 例患者结果缺如

惕 TTP 的可能。本组 21 例(80.95%)患者检出破碎红细胞比例>1%;TTP 患者的病情早期血清 LDH 的水平常已经明显上升,本组 19 例(52.8%)患者在疾病早期检出 LDH>1 000.0 U/L,无效组的治疗前 LDH 水平高于有效组($P=0.041$),提示在 TTP 的诊断过程中不应过于强调五联征的特异性,应第一时间进行外周血涂片检查和 LDH 检查,及早作出判断,如有条件进一步检测血浆 ADAMTS13 活性。

E-选择素作为细胞黏附分子选择素家族中的一员,仅表达在内皮细胞上,当内皮细胞受到炎性因子白细胞介素 1、肿瘤坏死因子、细菌脂多糖等刺激后,E-选择素的表达大大增加^[4]。E-选择素在内皮损伤中主要发挥介导内皮细胞与中性粒细胞黏附^[5]及内皮祖细胞归巢作用^[13]。我们既往的研究证实在内毒素所致的内皮损伤中,基质细胞衍生因子 SDF1 α 及其受体 CXCR4(SDF-1 α /CXCR4)能加强 E-选择素介导的内皮集落形成细胞的黏附和迁移^[13]。文献报道,在 SLE^[14]、缺血性心脏病^[15]、糖尿病微血管病变^[6]、全身炎症反应综合征^[7]等多种血管累及性疾病中均存在血清 E-选择素升高,且其升高水平与疾病的严重程度、多器官功能障碍呈一定的相关性^[6-7]。TTP 作为一类以微血管内皮细胞损伤为基本病理改变的疾病,关于 TTP 与血清 E-选择素水平两者的关系报道甚少,仅 Praprotnik 等^[16]在 4 例 TTP 中发现血清 E-选择素水平升高明显。我们对 10 例治疗前临床诊断为 TTP 患者和 10 名正常对照组进行血清 E-选择素水平检测发现两者水平比较差异有统计学意义($P<0.05$),提示血清 E-选择素升高在 TTP 中具有特异性,可能成为 TTP 的一项诊断指标,但仍需进一步研究加以证实及探索其与 TTP 危重程度及预后的关系。

迄今为止 PE 仍是 TTP 最佳的治疗方法,该疗法使 TTP 患者的病死率从 90%降至 10%~20%,但至少 30%~60%的患者会在 PE 治疗后复发^[17-18]。PE/PI 可补充患者缺乏的或被抑制的 ADAMTS13,同时清除自身抗体及促血小板凝聚的超大分子 VWF。对暂时无条件行 PE 治疗的患者,可输注新鲜血浆。比较 PE 组与非 PE 组治疗疗效,PE 组有效率达到 65.63%,而非 PE 组为 50.0%,Fisher 确切概率法提示两者差

异无统计学意义($P=0.609$),可能的原因包括①PE 组部分患者 PE 次数及置换量不足;②非 PE 组患者均行 PI。

利妥昔单抗通常用于治疗难治或复发的 TTP 患者,缓解率良好,尤其在 ADAMTS13 活性缺乏和抑制物阳性的患者中反应率更佳^[19-21]。本研究 2 例患者在 PE 期间或缓解后应用利妥昔单抗治疗,另 2 例患者在复发后加用利妥昔单抗治疗,均表现较好疗效。但利妥昔单抗的最佳剂量、输注时间、维持疗法疗程和长期不良反应仍存在问题,需前瞻性研究长期随访来明确利妥昔单抗单药或联合 PE 相比于 PE 的真实有效性和安全性^[22-23]。

TTP 作为一种临床危重疾病,存在治疗前对其进行预后评价的必要性,但其预后相关因素较多,包括病因、发病机制、临床表现等。本研究提示首发症状为发热,治疗前体温、胆红素、LDH、血肌酐、尿素氮水平偏高患者预后欠佳。既往文献报道不同的病因所致的 TTP 预后相差较大^[24];年龄、HGB、体温等临床指标对评价预后有一定的价值,而性别、PLT、肌酐、ADAMTS13 活性缺乏的严重程度、神经精神症状对评价预后价值不大^[25-26],但以上结论均存在争议^[3]。

综上所述,TTP 的诊断依赖临床资料综合分析,其中早期检测血浆 ADAMTS13 活性有助于 TTP 的临床诊断,同时血清 E-选择素升高在 TTP 中具有特异性,可能成为 TTP 的一项诊断指标。目前 PE 仍作为首选方案,联合糖皮质激素、免疫抑制剂、利妥昔单抗可进一步降低病死率及复发率。如何更有效地治疗初发难治及慢性复发 TTP 仍是目前的难题,治疗药物剂量、疗程、方案的优化及新型药物的研究是目前研究的热点,以上影响预后因素的明确,均有待于大宗临床研究来进一步证实。

参考文献

- [1] Levy GG, Nichols WC, Lian EC, et al. Mutations in a member of the ADAMTS gene family cause thrombotic thrombocytopenic purpura[J]. Nature, 2001, 413(6855):488-494. doi:10.1038/35097008.
- [2] Fujikawa K, Suzuki H, McMullen B, et al. Purification of

- human von Willebrand factor- cleaving protease and its identification as a new member of the metalloproteinase family [J]. *Blood*, 2001, 98 (6):1662- 1666. doi: 10.1182/blood.V98.6.1662.
- [3] Forzley BR, Clark WF. TTP/HUS and prognosis: the syndrome and the disease(s) [J]. *Kidney Int Suppl*, 2009, (112):S59-61. doi: 10.1038/ki.2008.623.
- [4] Bevilacqua MP, Stengelin S, Gimbrone MA Jr, et al. Endothelial leukocyte adhesion molecule 1: an inducible receptor for neutrophils related to complement regulatory proteins and lectins [J]. *Science*, 1989, 243 (4895):1160- 1165. doi: 10.1126/science.2466335.
- [5] Haraldsen G, Kvale D, Lien B, et al. Cytokine-regulated expression of E-selectin, intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1), and vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) in human microvascular endothelial cells [J]. *J Immunol*, 1996, 156 (7): 2558-2565.
- [6] Kuryliszyn-Moskal A, Dubicki A, Zarzycki W, et al. Microvascular abnormalities in capillaroscopy correlate with higher serum IL-18 and sE-selectin levels in patients with type 1 diabetes complicated by microangiopathy [J]. *Folia Histochem Cytobiol*, 2011, 49(1):104-410. doi: 10.5603/FHC.2011.0015.
- [7] Cowley HC, Heney D, Gearing AJ, et al. Increased circulating adhesion molecule concentrations in patients with the systemic inflammatory response syndrome: a prospective cohort study [J]. *Crit Care Med*, 1994, 22(4):651-657.
- [8] 中华医学会血液学分会血栓与止血学组. 血栓性血小板减少性紫癜诊断与治疗中国专家共识(2012年版) [J]. *中华血液学杂志*, 2012, 33(11): 983-984. doi: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2012.11.025.
- [9] 高维强, 苏健, 邢秀萍, 等. von Willebrand因子裂解酶活性水平的检测及其临床应用 [J]. *中国实验血液学杂志*, 2004, 12 (6):726-729. doi: 10.3969/j.issn.1009-2137.2004.06.002.
- [10] 孙玲, 余自强, 步云文, 等. 51例获得性血栓性血小板减少性紫癜患者的临床研究 [J]. *中华血液学杂志*, 2014, 35(2):147-151. doi: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2014.02.019.
- [11] Scully M, Yarranton H, Liesner R, et al. Regional UK TTP registry: correlation with laboratory ADAMTS 13 analysis and clinical features [J]. *Br J Haematol*, 2008, 142 (5):819- 826. doi: 10.1111/j.1365-2141.2008.07276.x.
- [12] Allford SL, Hunt BJ, Rose P, et al. Guidelines on the diagnosis and management of the thrombotic microangiopathic haemolytic anaemias [J]. *Br J Haematol*, 2003, 120 (4):556- 573. doi: 10.1046/j.1365-2141.2003.04049.x.
- [13] Sun J, Li Y, Graziani GM, et al. E-selectin mediated adhesion and migration of endothelial colony forming cells is enhanced by SDF-1 α /CXCR4 [J]. *PLoS One*, 2013, 8 (4):e60890. doi: 10.1371/journal.pone.0060890.
- [14] Kuryliszyn-Moskal A, Klimiuk PA, Ciołkiewicz M, et al. Clinical significance of selected endothelial activation markers in patients with systemic lupus erythematosus [J]. *J Rheumatol*, 2008, 35(7):1307-1313.
- [15] Modrzejewski W, Knapp M, Dobrzyń A, et al. Ceramides and adhesive molecules in stable ischaemic heart disease [J]. *Przegl Lek*, 2008, 65(3):131-134.
- [16] Praprotnik S, Blank M, Levy Y, et al. Anti- endothelial cell antibodies from patients with thrombotic thrombocytopenic purpura specifically activate small vessel endothelial cells [J]. *Int Immunol*, 2001, 13 (2):203- 210. doi: 10.1093/intimm/13.2.203.
- [17] George JN. How I treat patients with thrombotic thrombocytopenic purpura-hemolytic uremic syndrome [J]. *Blood*, 2000, 96 (4):1223-1229.
- [18] Shumak KH, Rock GA, Nair RC. Late relapses in patients successfully treated for thrombotic thrombocytopenic purpura [J]. *Ann Intern Med*, 1995, 122(8):569-572. doi:10.7326/0003-4819-122-8-199504150-00002.
- [19] Fakhouri F, Vernant JP, Veyradier A, et al. Efficiency of curative and prophylactic treatment with rituximab in ADAMTS13-deficient thrombotic thrombocytopenic purpura: a study of 11 cases [J]. *Blood*, 2005, 106 (6):1932- 1937. doi: http://dx.doi.org/10.1182/blood-2005-03-0848.
- [20] Caramazza D, Quintini G, Abbene I, et al. Rituximab for managing relapsing or refractory patients with idiopathic thrombotic thrombocytopenic purpura-- haemolytic uraemic syndrome [J]. *Blood Transfus*, 2010, 8 (3):203-210. doi: 10.2450/2009.0101-09.
- [21] Scully M, Cohen H, Cavenagh J, et al. Remission in acute refractory and relapsing thrombotic thrombocytopenic purpura following rituximab is associated with a reduction in IgG antibodies to ADAMTS-13 [J]. *Br J Haematol*, 2007, 136(3):451-461. doi: 10.1111/j.1365-2141.2006.06448.x.
- [22] Tun NM, Villani GM. Efficacy of rituximab in acute refractory or chronic relapsing non-familial idiopathic thrombotic thrombocytopenic purpura: a systematic review with pooled data analysis [J]. *J Thromb Thrombolysis*, 2012, 34(3):347-359.
- [23] Jasti S, Coyle T, Gentile T, et al. Rituximab as an adjunct to plasma exchange in TTP: a report of 12 cases and review of literature [J]. *J Clin Apher*, 2008, 23 (5):151-156. doi: 10.1002/jca.20172.
- [24] George JN, Vesely SK, Terrell DR. The Oklahoma Thrombotic Thrombocytopenic Purpura-Hemolytic Uremic Syndrome (TTP-HUS) Registry: a community perspective of patients with clinically diagnosed TTP-HUS [J]. *Semin Hematol*, 2004, 41(1):60-67. doi:10.1053/j.seminhematol.2003.10.001.
- [25] Wyllie BF, Garg AX, Macnab J, et al. Thrombotic thrombocytopenic purpura/haemolytic uraemic syndrome: a new index predicting response to plasma exchange [J]. *Br J Haematol*, 2006, 132(2):204-209. doi: 10.1111/j.1365-2141.2005.05857.x.
- [26] Vesely SK, George JN, Lämmle B, et al. ADAMTS13 activity in thrombotic thrombocytopenic purpura- hemolytic uremic syndrome: relation to presenting features and clinical outcomes in a prospective cohort of 142 patients [J]. *Blood*, 2003, 102(1): 60-68. doi: 10.1182/blood-2003-01-0193.

(收稿日期:2015-12-06)

(本文编辑:徐茂强)