

遗传性血小板病研究与治疗进展

王兆钺 阮长耿

The progresses in research and treatment of inherited platelet disorders Wang Zhaoyue Ruan Changgeng

Corresponding author: Wang Zhaoyue, Jiangsu Institute of Hematology, Key Laboratory of Thrombosis and Hemostasis of Ministry of Health, The First Affiliated Hospital of Soochow University, Suzhou 215006, China. Email: zwang11@sina.com

血小板在初期止血中起着重要的作用。血小板在损伤血管的表面发生黏附和聚集,同时激活凝血系统,促进凝血酶的生成与纤维蛋白凝块的形成。此外,血小板也参与炎症与免疫反应过程^[1]。遗传性血小板病是一类少见的遗传性疾病,大多数呈常染色体隐性遗传,表现为血小板数量减少和/或功能异常,往往自幼即有出血倾向。这类疾病的诊断较为复杂,临床上极易误诊或漏诊。

一、我国主要的遗传性血小板病

1. 巨血小板综合征(Bernard Soulier Syndrome, BSS): BSS以出血时间延长、血小板减少、血小板巨大以及瑞斯托霉素不能诱导血小板聚集为特征。该病的分子基础是编码血小板膜糖蛋白(GP) I b/IX/V复合物的基因缺陷。我国已报告多例BSS,并提出GP IX的穿膜区突变导致GP I b与GP IX不能形成复合物^[2]。BSS患者出血程度差异很大。如患者同时有血小板微丝蛋白基因异常将加重出血危险^[3]。

2. 血小板无力症(Glanzmann's thrombasthenia, GT): GT是由于ITG2AB或ITGB3基因缺陷导致血小板膜糖蛋白GP II b/GP III a质或量的异常,血小板对各种生理性诱导剂如肾上腺素、ADP、凝血酶与胶原等均无聚集反应,患者的血小板数量正常。本病相对多见,在我国已发现100多例。GT分为三种类型: I型为血小板GP II b/III a缺乏, II型为GP II b/III a减少,变异型的GP II b/III a量基本正常但不能与纤维蛋白原结合。临床上以I型GT多见,出血倾向也最严重。近年来有人发现,在ITG2AB或ITGB3基因正常情况下也可表现GT样血小板异常;这可能是由于调节蛋白talins与kindlins参与GP II b/III a活化,调节蛋白异常影响了血小板内向外的信号传导通路^[4]。

3. MYH9相关疾病: MYH9相关疾病是最常见的遗传性

血小板病,在我国已有多例报告并有系统总结^[5]。本病呈常染色体显性遗传,由编码非肌性肌球蛋白重链II A的MYH9基因突变所致。临床表现各异,曾分为四种综合征。本病的主要特点为程度不等出血倾向,部分患者伴有白内障、神经性耳聋与肾脏损害,可逐渐进展为肾功能衰竭。血细胞检查显示血小板计数减少,血小板巨大,中性粒细胞胞浆内可见包涵体。

4. Wiskott-Aldrich综合征(Wiskott Aldrich Syndrome, WAS): WAS是WASP基因突变引起的一种X伴性隐性遗传性疾病,临床主要表现为血小板数量减少、血小板体积偏小、湿疹和免疫功能缺陷引起的反复感染;其中血小板体积偏小是本病的典型特征之一。无免疫缺陷的轻型患者又称为性联血小板减少症。男性儿童如有血小板偏小和血小板减少伴免疫缺陷应怀疑本病。我国已报告多例,并进行了小规模^[6]的总结。

5. 灰色血小板综合征(gray platelet syndrome, GPS): GPS又称 α 贮存池病,血小板 α 颗粒及其所含蛋白质减少或缺失。血常规检查常示血小板减少。血片瑞氏染色可见增大的血小板呈灰色,常不易辨识。临床上表现不同程度的出血,常伴有脾肿大及骨髓纤维化,血小板聚集试验结果差异较大。本病的分子机制为NBEAL2基因(编码neurobeachin-like 2)突变,国际上已有较多的研究。我们报告了1例GPS患者有严重的出血倾向与血小板功能障碍^[7]。GATA1、VPS33B、VIPAS39与GFI1B基因突变也可引起血小板 α 颗粒减少或缺失^[8]。

6. 植物固醇血症: 植物固醇血症是一种常染色体隐性遗传性代谢疾病,致病基因为ABCG5和ABCG8。基因突变使肠道对植物固醇吸收增加,而分泌到胆汁中的量减少。临床表现为肌腱与皮下出现多个黄褐瘤、动脉粥样硬化与关节炎等。部分患者可合并或单独表现显著的血液学异常,其特点为贫血、血小板减少与巨脾。外周血涂片易见口形红细胞且大小形态不一,血小板巨大;红细胞渗透脆性增加。实验室诊断指标为血浆植物固醇含量过度升高,胆固醇含量正常或轻度升高。植物固醇血症被认为是一种罕见的疾病,全球至今仅有100余例报告;但我们近年来发现了20例有巨大血小板减少与溶血性贫血的植物固醇血症患者,说明本病并不少见,可能原因是临床医师对本病不熟悉,需用特殊设备如高效液相色谱或气相色谱-质谱测定植物固醇^[9]。

7. 其他遗传性血小板病: 先天性无巨核细胞性血小板减少症、GATA-1基因相关的巨血小板减少、血小板型血管性血友病、家族性血小板疾病伴急性髓性白血病、Paris-Trousseau血小板减少症、血小板减少伴桡骨缺失(TAR)、遗传性小

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2018.10.019

基金项目: 江苏省科教强卫工程-临床医学中心(YXZX2016002)

作者单位: 215006 苏州大学附属第一医院、江苏省血液研究所, 卫生部血栓与止血重点实验室, 血液学协同创新中心

通信作者: 王兆钺, Email: zwang11@sina.com

板减少伴尺桡骨融合以及Hermansky-Pudlak综合征等在我国尚未见正式报告或仅见临床个案报告。

二、新一代测序技术鉴定原因不明的遗传性血小板病

遗传性血小板病的临床异质性以及广泛分布的致病基因对其诊断与治疗造成巨大挑战。目前临床上获得明确分子诊断的遗传性血小板病患者只占小部分,并且在已知致病基因以外还存在大量未知遗传变异。新一代测序技术的普及推动了个体化基因检测的发展。运用全基因组测序、全外显子组测序和靶向基因测序等手段已鉴定出至少十几种新的遗传性血小板病,并初步阐明了发病机制^[10-11]。

1. 血小板信号转导障碍:RASGRP2基因突变导致患者血小板Rap1蛋白的活化能力下降, α IIb β 3整合素介导的信号传递受阻,血小板在流动条件下形成血栓的能力下降^[12]。Stormorken综合征是一种罕见的常染色体显性遗传病,表现为血小板减少、血小板功能异常和肌病。STIM1基因突变可能使STIM1处于持续活化状态,钙库操纵性钙内流明显降低^[13]。FYB基因编码造血细胞特异性蛋白ADAP与血小板生成,形态和功能有关,FYB基因突变引起血小板减少,血小板体积减小和明显的出血倾向,患儿骨髓中成熟巨核细胞比例降低^[14]。GFI1B是一种存在于红系和巨核系细胞的转录因子,该基因突变表现为血小板数量减少,体积增大,功能障碍以及红细胞大小不均^[15]。RUNX1是RUNT相关性转录因子,调节造血细胞的分化。RUNX1基因突变患者表现为轻度血小板减少,血小板大小正常但功能异常。如发生其他基因突变或染色体异常很易转化为MDS、急性髓细胞白血病或T细胞性急性淋巴细胞白血病^[16]。

2. 血小板骨架异常:ACTN1编码肌动蛋白交联蛋白超家族成员之一,参与细胞骨架形成。ACTN1基因突变导致中度巨血小板减少和红细胞大小不均,但患者通常只有轻微出血倾向^[17]。PRKACG基因编码cAMP依赖蛋白激酶A的 γ -催化亚基,该突变与前血小板形成障碍及巨核细胞内细丝蛋白A水平降低有关,可导致常染色体隐性遗传的巨血小板减少症^[18]。

3. 血小板颗粒异常:GPS是第一个通过全基因组测序确定基因的遗传性血小板疾病,NBEAL2突变是隐性遗传GPS的主要致病原因。该基因编码BEACH/ARM/WD40结构域蛋白,与血小板 α 颗粒发育相关^[19]。血小板致密颗粒缺乏的分子机制较为复杂,FLI1和RUNX1基因突变可能是部分患者致密颗粒缺陷的发病原因。Hermansky-Pudlak综合征(HPS)是一种血小板贮存池缺陷的常染色体隐性遗传病,同时表现为眼皮肤白化病、肉芽肿性结肠炎和高渗透性肺纤维化等。最近我国Wei等^[20]报告HPS-1、HPS-3、HPS-5和HPS-6基因突变患者表现为典型的眼或眼皮肤白化病与血小板致密颗粒缺乏。

4. 伴桡骨异常的遗传性血小板病:血小板减少伴桡骨缺失综合征(TAR)的特点是血小板减少与前臂桡骨缺失。RBM8A基因编码外显子连接复合体的Y14亚基,其突变与TAR的发生相关。此外,1q21.1亚显微缺失导致RBM8A基

因转录减少、Y14表达量降低,导致TAR综合征的发生^[21]。尺桡骨融合与无巨核细胞血小板减少症是一种遗传性骨髓衰竭性疾病,特征为血小板减少和遗传性尺桡骨融合。HOXA11基因突变是主要病因^[22],少数与MECOM基因突变有关。

三、遗传性血小板病的治疗

遗传性血小板病患者的血小板数量和/或质量异常,出血为主要临床表现,部分患者可能发生致命性出血。目前对遗传性血小板病尚无特效治疗;患者应避免外伤,禁用抗血小板药物和非甾体消炎止痛药。抗纤溶药物(氨甲环酸类)对轻度黏膜出血与月经过多有效,在手术或明显出血时合用抗纤溶药物有加强止血的作用。

1. 血小板输注:血小板输注是控制出血的主要治疗措施;患者在创伤、手术或分娩时亦需输注血小板预防过量出血。但部分患者可能产生抗HLA和/或抗GP II b/GP III a抗体,导致血小板输注无效。

2. 重组活化因子VII(rFVIIa):rFVIIa通过直接活化因子X激活凝血系统,主要用于有抑制物的血友病、获得性血友病与因子VII缺乏症患者出血的治疗。rFVIIa结合血小板表面,促进因子IX与因子X活化并增强凝血酶的产生,使纤维蛋白原转变为纤维蛋白并激活血小板,增加血小板的黏附与聚集,从而达到止血的目的。rFVIIa对GT及其他遗传性血小板病的出血事件控制率与预防手术过度出血有效率分别达到69%与96%^[23]。欧洲药物局批准,有抗HLA抗体和(或)抗GP II b/GP III a抗体或血小板输注无效的GT患者,在接受手术或有创性操作时可用rFVIIa治疗。

3. 造血干细胞移植:在有反复严重出血,特别是有抗血小板同种抗体与血小板输注无效的患者可考虑造血干细胞移植。干细胞来源包括脐血、HLA相同的同胞兄妹、HLA相合的无关供者或家庭成员,已成功治愈GT、BSS、WAS与先天性无巨核细胞性血小板减少症等疾病^[24]。目前已有将野生型ITGA2B基因转入GT患者自身的诱导型多能干细胞(iPSC),恢复了GP II b表达与聚集功能^[25];这一新技术避免了供体来源不足以及GVHD并发症等问题,将为遗传性血小板病患者的干细胞移植带来根本性突破。

4. 基因治疗:大多数遗传性血小板病是单基因遗传性疾病,是基因治疗的理想靶点。Fang等^[26]将人 β 3基因导入慢病毒载体并转染至缺乏 β 3基因(β 3^{-/-})小鼠的骨髓细胞,移植后小鼠的血小板稳定表达鼠GP II b与人GP III a复合物,对ADP、肾上腺素与蛋白酶活化受体4(PAR4)有聚集反应,出血时间缩短。他们又用同样方法将人 α II b基因导入慢病毒载体,转染缺乏 α II b基因犬的造血细胞。移植后犬的血小板表达人GP II b与犬GP III a复合物,出血减少,出血时间缩短,血小板聚集恢复并使纤维蛋白凝块退缩,这些效果在5年后仍持续存在^[27]。Mukherjee等^[28]采用逆转录病毒载体治疗了10例WAS患者,有2例表现为血小板增多,同时出血、湿疹与感染症状改善。近年来基因治疗技术有了很多突破性的新进展。CRISPR/Cas9基因编辑技术利用RNA引导的

核酸内切酶 Cas9, 通过 RNA-DNA 杂合来特异性地切割基因组序列, 能可靠、高效与快速地敲除或加入特定 DNA 片段, 并避免了病毒载体的致癌危险; 已在血友病 A 与血友病 B 以及多种血液病的实验治疗中获得成功^[29], 相信不久也将试用于遗传性血小板病治疗。这些体内外研究结果令人鼓舞, 但基因治疗尚处于启动阶段, 尚需解决基因表达的量与持续时间的问题, 并考虑抗体产生的可能性。

四、遗传性血小板病研究的意义与展望

遗传性血小板病是一类少见而复杂的血小板量的减少和/或功能异常的遗传性疾病, 极易误诊或漏诊。遗传性血小板病的出血危险差异很大, 应根据具体情况进行个体化治疗, 减轻患者的痛苦和负担。基因治疗将是根本治愈遗传性血小板病的方向。此外, 积极开展遗传咨询与产前诊断有助于减少发病率。对遗传性血小板病分子机制的研究使我们深入了解血小板在止血中的作用, 并且对指导抗血栓药物开发具有重大的意义。抗 GP II b/III a 单抗(阿昔单抗)与替巴肽, 以及新一代 P2Y₁₂ 抑制剂(坎格雷洛)已成为临床治疗心脑血管疾病的主要药物^[30], 血小板活化蛋白酶抑制剂与抗 GP I/IX 单抗也进入临床试验阶段^[31], 这将极大地促进血栓性疾病防治的发展。

参考文献

- [1] Morrell CN, Aggrey AA, Chapman LM, et al. Emerging roles for platelets as immune and inflammatory cells[J]. *Blood*, 2014, 123(18):2759-2767. DOI: 10.1182/blood-2013-11-462432.
- [2] Wang Z, Zhao X, Duan W, et al. A novel mutation in the transmembrane region of glyco- protein IX associated with Bernard-Soulier syndrome[J]. *Thromb Haemost*, 2004, 92(3): 606-613. DOI: 10.1160/TH04-04-0240.
- [3] Li J, Dai K, Wang Z, et al. Platelet functional alterations in a Bernard-Soulier syndrome patient with filamin A mutation[J]. *J Hematol Oncol*, 2015, 8:79. DOI: 10.1186/s13045-015-0171-z.
- [4] Provasi D, Negri A, Collier BS, et al. Talin-driven inside-out activation mechanism of platelet α IIb β 3 integrin probed by multimicrosecond, all-atom molecular dynamics simulations[J]. *Proteins*, 2014, 82(12):3231-3240. DOI: 10.1002/prot.24540.
- [5] Sun XH, Wang ZY, Yang HY, et al. Clinical, pathological, and genetic analysis of ten patients with MYH9-related disease[J]. *Acta Haematol*, 2013, 129(2):106-113. DOI: 10.1159/000342123.
- [6] 江明华, 王兆钺, 苏健, 等. 6 例 Wiskott-Aldrich 综合征患儿的临床特点和基因分析[J]. *中华血液学杂志*, 2011, 32(9):577-582. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2011.09.001.
- [7] Cao L, Su J, Li J, et al. A novel nonsense NBEAL2 gene mutation causing severe bleeding in a patient with gray platelet syndrome[J]. *Platelets*, 2018, 29(3):288-291. DOI: 10.1080/09537104.2017.1306041.
- [8] Nurden A, Nurden P. Should any genetic defect affecting α -granules in platelets be classified as gray platelet syndrome?[J]. *Am J Hematol*, 2016, 91(7):714-718. DOI: 10.1002/ajh.24359.
- [9] Wang Z, Cao L, Su Y, et al. Specific macrothrombocytopenia/hemolytic anemia associated with sitosterolemia [J]. *Am J Hematol*, 2014, 89(3):320-324. DOI: 10.1002/ajh.23619..
- [10] Westbury SK, Mumford AD. Genomics of platelet disorders[J]. *Haemophilia*, 2016, 22 Suppl 5:20-24. DOI: 10.1111/hae.12964.
- [11] Najm J, Rath M, Schröder W, et al. Diagnostic single gene analyses beyond Sanger. Economic high-throughput sequencing of small genes involved in congenital coagulation and platelet disorders [J]. *Hamostaseologie*, 2017, 99(99). DOI: 10.5482/HAMO-17-01-0008.
- [12] Canault M, Ghalloussi D, Grosdidier C, et al. Human CalDAG-GEFI gene (RASGRP2) mutation affects platelet function and causes severe bleeding [J]. *J Exp Med*, 2014, 211(7):1349-1362. DOI: 10.1084/jem.20130477.
- [13] Misceo D, Holmgren A, Louch WE, et al. A dominant STIM1 mutation causes Stormorken syndrome[J]. *Hum Mutat*, 2014, 35(5):556-564. DOI: 10.1002/humu.22544.
- [14] Levin C, Koren A, Pretorius E, et al. Deleterious mutation in the FYB gene is associated with congenital autosomal recessive small-platelet thrombocytopenia[J]. *J Thromb Haemost*, 2015, 13(7):1285-1292. DOI: 10.1111/jth.12966.
- [15] Stevenson WS, Morel- Kopp M- C, Chen Q, et al. GF11B mutation causes a bleeding disorder with abnormal platelet function [J]. *J Thromb Haemost*, 2013, 11(11):2039-2047. DOI: 10.1111/jth.12368.
- [16] Schlegelberger B, Heller PG. RUNX1 deficiency (familial platelet disorder with predisposition to myeloid leukemia, FPDMM) [J]. *Semin Hematol*, 2017, 54(2):75-80. DOI: 10.1053/j.seminhematol.2017.04.006.
- [17] Guéguen P, Rouault K, Chen JM, et al. A missense mutation in the alpha-actinin 1 gene (ACTN1) is the cause of autosomal dominant macrothrombocytopenia in a large French family [J]. *PLoS One*, 2013, 8(9):e74728. DOI: 10.1371/journal.pone.0074728.
- [18] Manchev VT, Hilpert M, Berrou E, et al. A new form of macrothrombocytopenia induced by a germ-line mutation in the PRKACG gene [J]. *Blood*, 2014, 124(16):2554-2563. DOI: 10.1182/blood-2014-01-551820.
- [19] Nurden AT, Freson K, Seligsohn U. Inherited platelet disorders [J]. *Haemophilia*, 2012, 18 Suppl 4:154-160. DOI: 10.1111/j.1365-2516.2012.02856.x.
- [20] Wei A, Yuan Y, Bai D, et al. NGS-based 100-gene panel of hypopigmentation identifies mutations in Chinese Hermansky-Pudlak syndrome patients [J]. *Pigment Cell Melanoma Res*, 2016, 29(6):702-706. DOI: 10.1111/pcmr.12534.
- [21] Albers CA, Paul DS, Schulze H, et al. Compound inheritance of a low-frequency regulatory SNP and a rare null mutation in exon-junction complex subunit RBM8A causes TAR syndrome [J]. *Nat Genet*, 2012, 44(4):435-439. DOI: 10.1038/ng.1083.
- [22] Castillo-Caro P, Dhanraj S, Haut P, et al. Proximal radio-ulnar synostosis with bone marrow failure syndrome in an infant without a HOXA11 mutation [J]. *J Pediatr Hematol Oncol*,

2010, 32(6):479-485. DOI: 10.1097/MPH.0b013e3181e5129d.

[23] Rajpurkar M, Chitlur M, Recht M, et al. Use of recombinant activated factor VII in patients with Glanzmann's thrombasthenia: a review of the literature [J]. Haemophilia, 2014, 20(4):464-471. DOI: 10.1111/hae.12473.

[24] Kothari A, Ngwube A, Hayashi R, et al. Hematopoietic cell transplantation using reduced-intensity conditioning is successful in children with hematologic cytopenias of genetic origin [J]. Biol Blood Marrow Transplant, 2015, 21 (7):1321-1325. DOI: 10.1016/j.bbmt.2015.03.019.

[25] Hu L, Du L, Zhao Y, et al. Modeling Glanzmann thrombasthenia using patient specific iPSCs and restoring platelet aggregation function by CD41 overexpression [J]. Stem Cell Res, 2017, 20: 14-20. DOI: 10.1016/j.scr.2017.02.003.

[26] Fang J, Hoidalva-Dilke K, Johnson BD, et al. Therapeutic expression of the platelet-specific integrin, α IIb β 3 in a murine model for Glanzmann thrombasthenia [J]. Blood, 2005, 106(8): 2671-2679. DOI: 10.1182/blood-2004-12-4619.

[27] Fang J, Jensen ES, Boudreaux MK, et al. Platelet gene therapy improves hemostatic function for integrin α IIb β 3-deficient dogs [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2011, 108 (23):9583-9588. DOI: 10.1073/pnas.1016394108.

[28] Mukherjee S, Thrasher AJ. Gene therapy for PIDs: progress, pitfalls and prospects [J]. Gene, 2013, 525 (2):174-181. DOI: 10.1016/j.gene.2013.03.098.

[29] Shi H, Jiang M, Wang Z. Comprehensive update on applications of CRISPR/Cas9 for hematological diseases [J]. Int J Clin Exp Med, 2017, 10(8):11409-11423.

[30] Sible AM, Nawarskas JJ. Cangrelor: A new route for P2Y12 inhibition [J]. Cardiol Rev, 2017, 25(3):133-139. DOI: 10.1097/CRD.000000000000142.

[31] McFadyen JD, Schaff M, Peter K. Current and future antiplatelet therapies: emphasis on preserving haemostasis [J]. Nat Rev Cardiol, 2018, 15(3):181-191. DOI: 10.1038/nrcardio.2017.206.

(收稿日期:2018-05-21)
(本文编辑:徐茂强)

《中华血液学杂志》第九届编辑委员会委员名单

- 顾 问 曹雪涛 陈赛娟 阮长耿
- 名誉总编辑 王建祥
- 总 编 辑 黄晓军
- 副 总 编 辑 胡 豫 马 军 邵宗鸿 沈志祥 吴德沛 肖志坚 张凤奎
- 编 辑 委 员(按汉语拼音排序) 艾辉胜 秘营昌 常英军 陈 虎 陈方平 陈芳源 陈国安 陈国强
 陈洁平 陈苏宁 陈协群 陈元仲 程 涛 董文革 方美云 冯建明 付 蓉 高春记
 高子芬 韩明哲 侯 健 侯 明 胡 豫 胡灯明 胡建达 黄 河 黄慧强 黄晓军
 纪春岩 江 明 江 倩 金 洁 克晓燕 赖永榕 李 娟 李 薇 李 晓 李 艳
 李建勇 李军民 李扬秋 李玉明 梁爱斌 刘 红 刘 林 刘 霆 刘代红 刘开彦
 刘启发 刘卓刚 罗建民 马 军 牛 挺 裴雪涛 彭 军 邱录贵 任汉云 邵宗鸿
 沈志祥 石远凯 宋永平 孙自敏 王 椿 王 敏 王 欣 王季石 王健民 王景文
 王学锋 魏旭东 吴德沛 肖志坚 徐 卫 徐开林 杨林花 杨仁池 于 力 张 梅
 张 曦 张凤奎 张广森 张连生 张晓辉 赵洪国 赵维莅 赵永强 郑以州 周 晋
 周道斌 周剑峰 朱 军 竺晓凡
- 通 讯 编 委(按汉语拼音排序) 白 海 常春康 崔久嵬 杜 欣 冯四洲 韩 冰 韩艳秋 胡 炯
 贾永前 姜尔烈 李 剑 刘 兵 刘 澎 钱文斌 邱 林 汝 昆 施 均 宋玉琴
 孙春艳 唐晓文 佟红艳 王 迎 王 昱 王宏伟 魏 辉 吴 彤 肖 扬 许兰平
 俞文娟 张 磊 张翼鹭 郑国光 庄俊玲