

重组人血小板生成素治疗92例成人重型原发免疫性血小板减少症的临床观察

刘晓帆 黄月婷 刘葳 陈云飞 薛峰 张磊 杨仁池

【摘要】 目的 评价重组人血小板生成素(rhTPO)治疗成人重型原发免疫性血小板减少症(ITP)的疗效及安全性。方法 对2012年5月至2014年5月期间收治的92例成人重型ITP患者的临床资料进行回顾性分析。其中新诊断ITP 7例、持续性ITP 29例、慢性ITP 56例,男35例、女57例,中位年龄34(18~65)岁。全部患者接受rhTPO $300 \text{ U} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1} \times 14 \text{ d}$ 治疗,停药后观察7 d。结果 全部92例患者rhTPO治疗的总反应率为60.9%(56/92),新诊断ITP、持续性ITP、慢性ITP患者总反应率分别为71.4%、62.1%、58.9%。所有患者治疗第4、7、14天与停药第7天中位PLT分别为27(5~49)、65(16~138)、133(28~208)、67(15~134) $\times 10^9/\text{L}$ 。获完全反应的患者PLT达到 $100 \times 10^9/\text{L}$ 的中位时间为6(5~7)d,PLT达峰值中位时间为11(5~17)d,中位PLT峰值为194(132~274) $\times 10^9/\text{L}$ 。患者性别、年龄、疾病分期、血小板膜糖蛋白特异性抗体表达及外周血CD19⁺B、CD3⁺CD4⁺T、CD3⁺CD8⁺T淋巴细胞数量均与疗效无相关性($P>0.05$)。少数患者出现低热、肌肉酸痛、乏力、头晕,均自行恢复。结论 rhTPO治疗成人重型ITP具有较好的疗效和安全性。

【关键词】 血小板减少; 血小板生成素; 治疗结果; 药物毒性

Clinical analysis of recombinant human thrombopoietin for 92 adults with severe primary immune thrombocytopenia Liu Xiaofan, Huang Yueting, Liu Wei, Chen Yunfei, Xue Feng, Zhang Lei, Yang Renchi. Institute of Hematology & Blood Diseases Hospital, CAMS & PUMC, Tianjin 300020, China
Corresponding author: Yang Renchi, Email: rcyang65@163.com

【Abstract】 Objective To evaluate the efficacy of recombinant human thrombopoietin (rhTPO) and related factors which influencing the therapeutic effect in adults with severe immune thrombocytopenia (ITP). **Methods** The efficacy of rhTPO in 92 hospitalized adult patients [35 males and 57 females, median age as 34 (18-65) years] with severe ITP, including 7 cases of newly diagnosed ITP, 29 cases of persistent ITP and 56 cases of chronic ITP from May 2012 to May 2014 was retrospectively investigated. All patients received subcutaneous rhTPO, the injected dosage was $300 \text{ U} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ for 14 days, platelet counts were recorded and followed-up for a week. **Results** The overall response rate of rhTPO treatment was 60.9%. The overall response rates in newly diagnosed, persistent and chronic ITP were 71.4%, 62.1% and 58.9% respectively. The median platelet counts on fourth, seventh, fourteenth days of treatment, and the seventh day of withdrawal were 27 (5-49), 65 (16-138), 133 (28-208) and 67 (15-134) $\times 10^9/\text{L}$, respectively. The median time was 6(5-7) days when platelet counts reached $100 \times 10^9/\text{L}$, the median peak time was 11 (5-17) days, the median maximum peak of platelet counts was 194 (132-274) $\times 10^9/\text{L}$ in patients who reached CR after treatment. Related factors which affected therapeutic effect were analyzed in patients who reached CR after treatment, and indicated that sex, age, disease stage, express of platelet membrane glycoprotein (GP) and relative number of CD19⁺B, CD3⁺CD4⁺T, CD3⁺CD8⁺T lymphocyte in blood samples did not influence the probability of complete response ($P>0.05$). A few patients with fever, muscle aches, fatigue or dizziness could be self-recovery without special intervention. **Conclusion** Severe ITP in adults treated by rhTPO had satisfactory therapeutic effect and safety.

【Key words】 Thrombocytopenia; Thrombopoietin; Treatment outcome; Drug toxicity

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2015.04.011

基金项目:国家自然科学基金(81270581、81470286);天津市应用基础及前沿技术计划研究重点项目(14JCZDJC35100)

作者单位:300020 天津,中国医学科学院、北京协和医学院血液学研究所、血液病医院血栓止血诊疗中心

通信作者:杨仁池,Email:rcyang65@163.com

原发免疫性血小板减少症(ITP)的传统治疗方法是通过免疫抑制和免疫调节降低抗血小板自身抗体的产生和减少血小板破坏,包括糖皮质激素、静脉丙种球蛋白(IVIG)、达那唑、利妥昔单抗、脾切除、环磷酰胺等^[1]。近年来多项研究表明,抗血小板自身抗体同样识别巨核细胞和前体巨核细胞的靶抗原,阻碍巨核细胞的分化与成熟,使血小板的产生减少^[1]。同时,临床应用促血小板生成药物治疗ITP取得显著疗效,反映出ITP发病机制中存在血小板生成不足的因素^[2]。重组人血小板生成素(rhTPO)、艾曲泊帕(eltrombopag)、罗米司亭(romiplostim)等促血小板生成药物已被推荐用于ITP的二线治疗^[3]。2012年5月至2014年5月,我们应用rhTPO治疗92例成人重型ITP患者,报告如下。

病例和方法

1. 病例:我院血栓止血诊疗中心2012年5月至2014年5月住院治疗的重型ITP患者92例。男35例、女57例,中位年龄34(18~65)岁。疾病分期:新诊断ITP 7例,持续性ITP 29例,慢性ITP 56例。诊断与分期标准符合文献^[3-4]。中位病程13(2~60)个月,治疗前中位PLT为 $5(2\sim9)\times 10^9/L$ 。出血表现:皮肤出血52例(56.5%),口腔血疱14例(15.2%),鼻出血9例(9.8%),牙龈出血17例(18.5%)。

符合以下3项的ITP患者纳入研究:①符合重型ITP诊断标准^[3]($PLT < 10 \times 10^9/L$ 且有需要治疗的出血症状);②既往药物治疗(包括糖皮质激素、IVIG、利妥昔单抗、达那唑、长春地辛/长春新碱、环孢素、环磷酰胺)无效或复发;③不适合或不接受脾切除治疗。

排除标准:①需要联合其他升血小板药物治疗的危重出血患者;②存在血栓性疾病病史者;③有先天性易栓症家族史的患者;④妊娠或哺乳期妇女;⑤骨髓活检提示网状纤维染色(MF \geq Ⅱ级);⑥HIV感染者;⑦病毒性肝炎活动期及有病毒性肝炎病史的患者;⑧丙氨酸转氨酶、天冬氨酸转氨酶、总胆红素、碱性磷酸酶、肌酐检测结果高于正常值上限20%。

2. 治疗方案:rhTPO(沈阳三生制药有限责任公司产品) $300 U \cdot kg^{-1} \cdot d^{-1} \times 14 d$,停药后观察1周。避免使用糖皮质激素、IVIG、达那唑、利妥昔单抗、长春地辛/长春新碱等ITP治疗药物。需要紧急治疗

的患者可接受血小板悬液输注治疗。

3. 疗效判定:参照文献^[3-4]判定疗效:①完全反应(CR):治疗后 $PLT \geq 100 \times 10^9/L$ 、无出血症状。②有效(R):治疗后 $PLT \geq 30 \times 10^9/L$ 、比基础血小板计数增加至少2倍、无出血症状。③无效(NR):治疗后 $PLT < 30 \times 10^9/L$ 者血小板计数增加不到基础值的2倍或者有出血症状。总反应(OR)率为完全反应率与有效率之和。

4. 流式细胞术检测外周血淋巴细胞亚群:取新鲜肝素抗凝外周血50 μl ,加入CD3/CD16+56/CD45/CD19试剂(美国BD公司产品)20 μl ,振荡混匀,避光,室温孵育20 min。加入1:10稀释溶血素(美国BD公司产品)450 μl ,避光、室温孵育10 min,上机(美国BD公司FACSCanto II流式细胞仪)测定CD19⁺B、CD3⁺CD4⁺T、CD3⁺CD8⁺T淋巴细胞相对数量。

5. ELISA法检测血小板膜糖蛋白抗体:采用商业化试剂盒(PAKAUTO,美国GTI公司产品),检测方法参照文献^[5]。

6. 统计学处理:应用SPSS 19.0软件进行统计学分析。不同分期患者治疗反应率的比较采用 χ^2 检验。采用单因素Logistic回归分析对影响疗效的相关因素进行分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 疗效:全部92例患者中37例(40.2%)获CR,19例(20.7%)获R,36例(39.1%)疗效判定为NR,OR率为60.9%。在新诊断ITP、持续性ITP、慢性ITP患者CR率分别为42.8%、34.5%、42.8%,OR率分别为71.4%、62.1%、58.9%。不同分期患者CR率与OR率差异无统计学意义($P > 0.05$)(表1)。

表1 重组人血小板生成素治疗92例重型原发免疫性血小板减少症(ITP)患者的疗效[例(%)]

疾病分期	例数	完全反应	有效	无效
新诊断ITP	7	3(42.8)	2(28.6)	2(28.6)
持续性ITP	29	10(34.5)	8(27.6)	11(37.9)
慢性ITP	56	24(42.8)	9(16.1)	23(41.1)
χ^2 值		0.579	1.836	0.434
P值		0.749	0.399	0.805

所有患者应用rhTPO治疗第4、7、14天与停药第7天,中位PLT分别为27(5~49)、65(16~138)、133(28~208)、67(15~134) $\times 10^9/L$ 。37例CR患者PLT升

至 $100 \times 10^9/L$ 的中位时间为 $6(5 \sim 7)d$, 达 PLT 峰值中位时间为 $11(5 \sim 17)d$, PLT 峰值中位数为 $194(132 \sim 274) \times 10^9/L$ 。

2. 不良反应: 92 例患者初次用药时, 有 1 例 (1.1%) 出现低热 (体温 $37.3\text{ }^\circ\text{C}$), 2 例 (2.2%) 出现轻度四肢肌肉酸痛, 1 例 (1.1%) 出现乏力, 1 例 (1.1%) 出现轻度头晕, 1~4 h 后上述症状自行消失。未发现与治疗相关的肝功能、肾功能损害, 无血红蛋白升高。

3. CR 患者治疗前外周血淋巴细胞亚群检测结果: 37 例 CR 患者 rhTPO 治疗前 $CD19^+B$ 淋巴细胞中位数为 $17.05\%(9.33\% \sim 39.40\%)$ (正常参考值 $5.00\% \sim 22.00\%$)、 $CD3^+CD4^+T$ 淋巴细胞中位数为 $33.60\%(23.20\% \sim 51.60\%)$ (正常参考值 $33.00\% \sim 58.00\%$)、 $CD3^+CD8^+T$ 淋巴细胞中位数为 $36.90\%(31.70\% \sim 42.28\%)$ (正常参考值 $13.00\% \sim 39.00\%$)。

4. CR 患者治疗前 CR 患者血小板膜糖蛋白特异性抗体检测结果: 37 例抗-GP II b/III a、抗-GP I b/IX、抗-GP I a/II a 抗体的阳性率分别为 $29.73\%(11/37)$ 、 $2.70\%(1/37)$ 、 $8.10\%(3/37)$ 。

5. 影响疗效的相关因素分析: 单因素 Logistic 回归分析显示, 患者的性别、年龄、疾病分期与疗效均无相关性 ($P > 0.05$)。血小板膜糖蛋白特异性抗-GP II b/III a、抗-GP I b/IX、抗-GPIa/II a 抗体表达与疗效无相关性 ($P > 0.05$)。外周血 $CD19^+B$ 、 $CD3^+CD4^+T$ 、 $CD3^+CD8^+T$ 淋巴细胞百分比与疗效无相关性 ($P > 0.05$)。详见表 2。

讨 论

ITP 患者巨核细胞血小板生成减少的假说最早

于 1915 年由 Frank 提出^[6]。早期通过光学显微镜发现大量异常的“年轻”巨核细胞的生成 (胞质颗粒减少和血小板形成不良)^[6]; 电镜观察发现细胞膜膨胀、细胞质空泡、线粒体肿胀、边缘区破坏和 caspase3 阳性等巨核细胞凋亡的表现^[7-8]。动物实验表明: 输注抗-GP II b/III a、抗-GP I b/IX 的抗体或含有抗血小板抗体血浆可导致巨核细胞生存期缩短^[9]。应用 ¹¹¹ 钪标记的血小板动力学研究表明, 2/3 慢性 ITP 患者的血小板寿命缩短^[6]。Kashiwagi 等^[10] 应用流式细胞术研究发现, 与健康受试者比较, 慢性 ITP 患者网织血小板的比例 (血小板的转换率) 增加, 而网织血小板的绝对值降低。综上所述, 目前认为巨核细胞成熟障碍是 ITP 发病机制的重要部分。

TPO 是调控巨核细胞发育和血小板生成最重要的细胞因子, 其特异性受体 (TPO-R) 称为人血小板生成素受体 (C-MPL), 表达于多能干细胞、巨核细胞、巨核细胞的前体细胞和血小板表面。TPO 与 C-MPL 结合, 通过 JAK/STAT、RAS 和活化蛋白酶等途径促进巨核细胞的分化和血小板的产生^[11]。TPO 在肝脏持续合成和分泌, 血浆中的 TPO 通过与巨核细胞或血小板表面的 TPO 受体结合消耗性清除^[12]。研究表明, ITP 患者血浆 TPO 水平不增高或轻度增高, 是由于血小板破坏增多, 使 TPO 的清除加速, 而内源性 TPO 的产生无相应增加^[11]。内源性 TPO 产生相对不足^[13] 是血小板生成障碍的原因之一, 为 TPO 及其受体激动剂治疗 ITP 提供了依据。

早期研制的重组人非全长型 TPO (PEG-rHuMGDF) 在一些健康受试者中产生抗 PEG-rHuMGDF 抗体, 并且与内源性 TPO 产生交叉反应

表 2 重组人血小板生成素治疗重型原发免疫性血小板减少症 (ITP) 患者疗效相关因素分析

解释变量	Wald 值	OR 值	OR 值可信区间	P 值
性别 (男/女)	0.217	0.818	0.352~1.903	0.641
年龄 (<34 岁/≥34 岁)	0.520	0.735	0.318~1.699	0.471
疾病分期 (持续性)	0.577			0.749
新诊断 ITP	0.170	1.425	0.265~7.657	0.680
慢性 ITP	0.556	1.425	0.562~3.615	0.456
治疗前 PLT [$<5 \times 10^9/L$ ($5 \sim 9$) $\times 10^9/L$]	0.487	1.389	0.552~3.490	0.485
抗-GP II b/III a 抗体 (阳性/阴性)	0.442	1.381	0.533~3.578	0.506
抗-GP I b/IX 抗体 (阳性/阴性)	0.070	0.717	0.061~8.387	0.791
抗-GP I a/II a 抗体 (阳性/阴性)	0.081	1.193	0.354~4.019	0.776
外周血 $CD19^+B$ 淋巴细胞百分比 (正常/异常)	0.384	0.700	0.227~2.162	0.535
外周血 $CD4^+T$ 淋巴细胞百分比 (正常/异常)	0.085	0.841	0.261~2.706	0.771
外周血 $CD8^+T$ 淋巴细胞百分比 (正常/异常)	0.450	1.450	0.490~4.293	0.502

而引起严重的血小板减少^[14]。2006年在中国上市的rhTPO为中国仓鼠卵巢(CHO)细胞表达的全长糖基化重组人TPO,其糖基化分子结构不同于PEG-rHuMGDF,免疫原性下降,被推荐用于ITP的二线治疗^[5]。

赵永强等^[15]应用rhTPO治疗82例慢性难治性ITP的近期有效率为85.3%(其中CR 48例,R 22例),给药第5、7、15天中位PLT分别为27.5(16.0~47.0)×10⁹/L、35.0(20.5~78.5)×10⁹/L、77.0(41.8~119.5)×10⁹/L。Wang等^[16]应用rhTPO治疗糖皮质激素无效的ITP患者,随机对照临床试验结果显示:rhTPO治疗后PLT峰值和OR率均高于对照组,停药14 d时PLT仍维持在50×10⁹/L。本组成人重型ITP患者rhTPO治疗的CR率与OR率分别为40.2%、60.9%。新诊断ITP、持续性ITP、慢性ITP患者CR率分别为42.8%、34.5%、42.8%,OR率分别为71.4%、62.1%、58.9%。不同分期患者CR率与OR率差异无统计学意义($P>0.05$)。rhTPO治疗第4、7、14天及停药第7天PLT中位数分别为27(5~49)、65(16~138)、133(28~208)、67(15~134)×10⁹/L。获得CR的患者PLT达到100×10⁹/L中位时间为6(5~7)d,达峰值中位时间为11(5~17)d,中位PLT峰值为194(132~274)×10⁹/L。影响疗效的相关因素分析显示:患者的性别、年龄、疾病分期、血小板膜糖蛋白特异性抗体表达与疗效无相关性($P>0.05$),外周血CD19⁺B、CD3⁺CD4⁺T、CD3⁺CD8⁺T淋巴细胞相对数量与疗效亦无相关性($P>0.05$)。

本研究结果初步表明, rhTPO对于成人重症ITP具有较好的疗效,能够提高患者的血小板数量,减少出血风险,无严重不良反应发生。

参考文献

- [1] Neunert C, Lim W, Crowther M, et al. The American Society of Hematology 2011 evidence-based practice guideline for immune thrombocytopenia [J]. *Blood*, 2011, 117(16): 4190-4207.
- [2] Rodeghiero F, Ruggeri M. ITP and international guidelines: what do we know, what do we need? [J]. *Presse Med*, 2014, 43(4 Pt 2): e61-67.
- [3] 中华医学会血液学分会血栓与止血学组. 成人原发免疫性血小板减少症诊断与治疗的中国专家共识(2012版)[J]. *中华血液学杂志*, 2012, 33(11): 975-977.
- [4] Rodeghiero F, Stasi R, Gernsheimer T, et al. Standardization of terminology, definitions and outcome criteria in immune thrombocytopenic purpura of adults and children: report from an international working group [J]. *Blood*, 2009, 113(11): 2386-2393.
- [5] 周雪丽, 阎石, 李强, 等. 一种新的血小板特异性抗体检测方法(PAKAUTO)对免疫性血小板减少症诊断价值的研究[J]. *中华血液学杂志*, 2012, 33(3): 200-203.
- [6] Kuter DJ. The biology of thrombopoietin and thrombopoietin receptor agonists [J]. *Int J Hematol*, 2013, 98(1):10-23.
- [7] Stasi R. Immune thrombocytopenia: pathophysiologic and clinical update [J]. *Semin Thromb Hemost*, 2012, 38(5):454-462.
- [8] Siegal D, Crowther M, Cuker A. Thrombopoietin receptor agonists in primary immune thrombocytopenia [J]. *Semin Hematol*, 2013, 50 Suppl 1:S18-21.
- [9] Abadi U, Yarchovsky-Dolberg O, Ellis MH. Immune thrombocytopenia: recent progress in pathophysiology and treatment [J]. *Clin Appl Thromb Hemost*, 2014 Mar 12:1-8. DOI: 10.1177/1076029614526639.
- [10] Kashiwagi H, Tomiyama Y. Pathophysiology and management of primary immune thrombocytopenia [J]. *Int J Hematol*, 2013, 98(1):24-33.
- [11] Wörmann B. Clinical indications for thrombopoietin and thrombopoietin-receptor agonists [J]. *Transfus Med Hemother*, 2013, 40(5):319-325.
- [12] Vianello F, Vettore S, Tezza F, et al. Serum thrombopoietin and cMpl expression in thrombocytopenia of different etiologies [J]. *Hematol Rep*, 2014, 6(1):4996.
- [13] Bussel JB, Lakkaraja M. Thrombopoietic agents: there is still much to learn [J]. *Presse Med*, 2014, 43(4 Pt 2): e69-78.
- [14] Stasi R, Bosworth J, Rhodes E, et al. Thrombopoietic agents [J]. *Blood Rev*, 2010, 24(4-5):179-190.
- [15] 赵永强, 王庆余, 翟明, 等. 重组人血小板生成素治疗慢性难治性特发性血小板减少性紫癜的多中心临床试验[J]. *中华内科杂志*, 2004, 43(8):608-610.
- [16] Wang S, Yang R, Zou P, et al. A multicenter randomized controlled trial of recombinant human thrombopoietin treatment in patients with primary immune thrombocytopenia [J]. *Int J Hematol*, 2012, 96(2):222-228.

(收稿日期:2014-11-04)

(本文编辑:徐茂强)