

本文引用格式:王慧茹,刘会兰.血小板输注无效临床诊疗困境[J].安徽医学,2023,44(8):883-886.DOI:  
10.3969/j.issn.1000-0399.2023.08.001

· 血小板输注无效诊疗 ·

## 血小板输注无效临床诊疗困境

王慧茹 刘会兰

**【摘要】** 血小板输注无效(PTR)是多次输注血小板患者常见的并发症,不仅会导致危及生命的出血风险、住院时间延长和生存期降低等,还会因反复输血增加输血安全问题。本文就PTR发生的原因以及对策进行了回顾总结,重点探讨免疫因素导致的PTR和相应的血小板输注策略,以期对解决PTR困境提供思路。

**【关键词】** 血小板输注无效;血小板减少;人类白细胞抗原抗体  
doi:10.3969/j.issn.1000-0399.2023.08.001

血小板在正常的凝血和止血过程中发挥重要作用。血小板输注对于维持低血小板计数患者体内平衡至关重要,血小板输注无效(platelet transfusion refractoriness, PTR)是多次输注患者常见的并发症,具体表现为输注血小板后血小板计数未如预期增长。如果患者在多次输血后血小板计数无任何增长,则会出现危及生命的出血风险、住院时间延长和生存期降低等不良结局,以及医疗费用的增加<sup>[1-2]</sup>。PTR患者因反复输血也增加输血安全问题,如非溶血性发热反应、过敏反应、输血相关的急性肺损伤、输血相关的循环超负荷、细菌脓毒症和溶血性反应等。因此,PTR是需要反复输注血小板患者面临的一个重要临床问题<sup>[3-4]</sup>。

目前认为,PTR的发生取决于患者个体因素、疾病类型以及输注血制品的白细胞去除等相关因素,其发生率文献报道不一,通常被低估。早期文献报道PTR发生率为10%~27%,但在骨髓衰竭性疾病中发生率为30%~70%,在造血干细胞移植患者特别是脐血移植患者中发生更普遍。免疫及非免疫因素均可介导PTR,随着血制品去白细胞的广泛应用,免疫性PTR发生率通常小于10%,在接受血小板输注的患者中,免疫性PTR发生率约4%~8%<sup>[5-8]</sup>,成为临床血小板有效输注的阻碍。

### 1 PTR的诊断

临床认为,对血小板减少患者提供未经选择或随机的血小板产品(单采或手工)用于最初的血小板输血治疗,重复输注随机供者血小板后未能获得满意的疗效及血小板计数的增加,应怀疑PTR可能,需要通过计算输血后血小板计数的增长情况,但判断PTR的输血后血小板增量的计算方法目前尚缺乏共识<sup>[9]</sup>。最常使用的计算公式和推荐指标包括:①输血后增量(the post-transfusion increment, PI);②血小板恢复百分比(the percentage platelet recovery, PPR);③校正计数增量(the corrected count increment, CCI)。连续2次输注ABO相合的新鲜(72 h内)单采血小板结束后10~60 min内及16~24 h采血进行血小板

计数,评估2次输血后血小板增量PI或CCI,均低于相应的值即可判定PTR。

PI是最简单的计算方法,即(输注后-输注前)的血小板计数,在临床实践中最常用。输注后1 h或24 h的 $PI > 10 \times 10^9/L$ 则认为输血有效;如未达到,则考虑输注无效。 $PPR = PI \times TBV \times PD^{-1} \times 100$ ,TBV即全血容量[total blood volume (L)],PD即输注血小板剂量(platelet dose),通常每个单位单采血小板为 $4 \times 10^{11}/L$ ;  $CCI = PI \times BSA \times PD^{-1}$ ,BSA即体表面积。PPR及CCI因计算繁杂在临床上应用较少,但为了纠正由于患者体质量或输注血小板的数量不同而引起的血小板数量变化,许多中心通过估计血站提供的标准血小板产品的血小板剂量(血站不常规提供每份单采血小板具体数据),来计算更准确的CCI和PPR。输血后1 h  $PPI < 20\% \sim 30\%$ 或 $CCI < 5 \times 10^9/L$ 或输血后16~24 h  $PPI < 10\% \sim 20\%$ 或 $CCI < 4.5 \times 10^9/L$ 即判定为PTR<sup>[9-10]</sup>。

### 2 非免疫因素PTR的诊断和处理

大多数慢性血小板减少血液病患者PTR的原因复杂,免疫和非免疫因素可能同时存在,其中非免疫因素是导致PTR的最常见原因,占80%左右。非免疫性PTR最常见的原因有发热或感染,或败血症、出血、弥漫性血管内凝血、药物(肝素、两性霉素B、万古霉素、兔抗人体胸腺球蛋白、干扰素等)、脾肿大、移植物流抗宿主病以及血小板质量差或储存时间长等因素导致的小血小板过渡消耗<sup>[11]</sup>。研究表明,血小板输注后18~24 h缺乏应答表明血小板存在潜在的外周消耗或脾脏扣留,而免疫因素可快速致血小板破坏,通常为输血后1 h  $CCI < 7.5 \times 10^9/L$ 和 $PI < 5 \times 10^9/L$ <sup>[12]</sup>,但根据输血后不同时间(输血后1 h或24 h)的血小板计数来确定PTR的发生原因尚未达成共识<sup>[13]</sup>。

与危重症相关的临床因素(非免疫因素)导致的PTR往往难以避免,是临床医师面临的重大挑战。一旦确诊PTR,临床医师应首先评估和治疗潜在的非免疫因素,通过详细病史资料和体格检查通常来区分PTR的原因,对于非免疫性PTR,应仔细

评估患者出血的性质和积极治疗原发病,尽可能通过局部措施来处理局部出血,应用氨基己酸或氨甲环酸等抗纤溶药物止血等。重复输注血小板(单采或手工血小板)是一种不断补充消耗的血小板而防治出血的方法,目前尚没有证实某种特殊血小板产品可以减缓血小板在体内的消耗而实现血小板输注的最佳疗效。

### 3 免疫相关 PTR 原因及处理

PTR 相关的免疫因素包括由于输血、妊娠或移植暴露于人类白细胞抗原(human leukocyte antigen, HLA)和/或人类血小板抗原(human platelet antigen, HPA)引起的同种异体免疫。其他免疫因素包括 ABO 血型不合、血小板自身抗体(如与血小板糖蛋白自身抗体相关的 PTR)和药物-血小板糖蛋白复合物抗体的产生。HLA 系统由高度多态性的细胞表面蛋白组成,这些蛋白在免疫反应中负责区分自我与非我,在免疫因素介导的 PTR 中,由 HLA 抗体中介的 PTR 占 80%。输血是 HLA 抗体产生的重要原因。外周血液中淋巴细胞表面 HLA 分子表达最高,每个淋巴细胞表面携带多达 25 万个 HLA I 类分子,每个血小板表面携带 5~12 万个 HLA I 类分子,而红细胞表面极少表达 HLA 分子,因此输注血制品中白细胞残留是输血相关 HLA 致敏的主要原因。多次输血患者 HLA 致敏的风险为 23%。在抗 HLA I 类分子抗体中,抗 HLA-A 和抗 HLA-B 是导致 PTR 的主要抗体,而抗 HLA-C 抗体较少导致 PTR<sup>[14]</sup>。多次输血的患者可能会在开始随机输血后 6~8 周内检测到 HLA 抗体,这些抗体只有在遇到带有相关抗原的血小板输血时才具有临床意义。妊娠是 HLA 致敏的另一个主要原因,有研究<sup>[15]</sup>表明,1 次妊娠产生同种异体免疫的风险为 11%,≥4 次妊娠的风险为 32%。妊娠后产生的抗体,经过多年或几十年,抗体滴度可能会低于检测阈值。实体器官移植和造血干细胞移植后也可能产生 HLA 抗体从而导致 PTR。除了接触同种异体 HLA 抗原的必要条件外,受者的免疫状态则是决定是否发生同种异体免疫和产生 HLA 抗体持续时间的关键。HLA 抗体检测方法包括经典的补体依赖的细胞毒试验(complement-dependent cytotoxicity assays, CDC)、血小板粘附免疫荧光试验(platelet adhesion immunofluorescence test, PAIFT)、单克隆抗体特异性固定血小板抗原试验(monoclonal antibody-specific immobilisation of platelet antigens, MAIPA)以及 Luminex 为平台的微珠分析技术等,其中 CDC 最经典,但不够敏感,而 Luminex 微珠分析技术最敏感,但引起 PTR 的 HLA 抗体平均荧光强度(mean fluorescence intensity, MFI)阈值尚不清楚。

已知 HPA 有 35 种,与 HLA 系统相比,HPA 系统具有较少的抗原变异性,单独由 HPA 抗体引起的 PTR 很少见。在 2%~8% 的多次输血的血小板减少患者中存在 HPA 抗原的同种异体免疫,且 HPA 抗体通常与 HLA 抗体伴随存在<sup>[16]</sup>,这也反应了免疫性 PTR 的复杂性。

3.1 免疫性 PTR 的血小板输注策略 输注 HLA 和/或 HPA 匹配的血小板是免疫性 PTR 患者血小板输注治疗的基础,但 HLA 匹配血小板输注依赖于献血者 HLA 配型资料和血小板资源是否充足<sup>[17]</sup>。对于免疫介导的 PTR 患者预防性 PLT 输注的阈值目前也没有明确的标准,多数情况下仍提倡在血小板计数低于  $10 \times 10^9/L$  时需要预防性输注血小板,具体输注策略可从以下方

面考虑。

3.1.1 HLA-A、HLA-B 抗原匹配 从 HLA-A 和 HLA-B 抗原与患者相匹配的献血者获得单采血小板支持,可减少将来发生异体免疫的风险。这需要事先有患者 HLA 基因配型数据或短时间内能获得 HLA 配型结果,同时需要拥有大量献血者的 HLA 配型资料和有充足库存的血液中心(>1 万供者数据库)。对于不常见或罕见的 HLA-A 和 HLA-B 抗原的患者,很难获得 HLA 抗原匹配的血小板。要获得 HLA 抗原完全匹配的血小板不仅昂贵而且费时费力,很难满足实际应用的需要<sup>[10]</sup>。目前国际上筛选 HLA 完全匹配的血小板输注只有少量临床研究,尚没有大规模开展。

3.1.2 HLA 抗体特异性回避血小板输注 通过选择患者 HLA 抗体靶向抗原阴性的血小板(即特异性抗体回避)输注。提供兼容的血小板仅基于患者的 HLA 抗体,而不需要与患者的 HLA 抗原相匹配。使用抗体特异性预测选择缺乏相应抗原的供体时,介导 PTR 的 HLA 抗体 MFI 阈值尚没有达成共识,有研究发现致病性 HLA 抗体 MFI 阈值(Luminex 方法)为 3 000<sup>[18]</sup>。该方法的输注效果与 HLA 抗原匹配的方法相当,增加了可兼容的供者数量。然而这需要有患者定期检测的 HLA 抗体数据,以及一个庞大的 HLA 型供体库(>1 万供体),但是无法确保实现对广泛免疫或罕见单倍型患者的完全匹配,方法既耗时又昂贵,且由于 HLA 抗原不匹配具有进一步加重同种异体免疫的潜在风险。目前,国内多家大型血液中心已经建立了 HLA 型供体库,在鉴定 PTR 患者 HLA 抗体的基础上可进行供体筛选。

3.1.3 HLA 表位匹配+抗体回避 抗体回避策略是识别那些必须被排除在外的献血者,但并非所有其他抗体未靶向的 HLA 抗原对患者都可兼容。HLA 表位匹配(HLA epitope-matched, HEM)是确定可接受的 HLA 抗原不匹配。HLA 抗原表位是利用等位基因水平分型,采用计算机计算在抗原表位水平上确定供体-受体相容性,利用 HLA Matchmaker 软件(<http://www.hlamatchmaker.net>)进行评估致敏患者的血清抗体反应性分析和搜寻可接受表位错配的潜在供体,可降低成本和资源需求<sup>[19]</sup>。近期一项非劣效性、交叉、随机试验<sup>[20]</sup>支持了 HEM 血小板输注在 HLA 抗体介导的 PTR 患者中的作用,HEM 和标准的抗原匹配血小板输血后 1 小时 PI 无明显差异,血小板计数、输血需要量和出血事件的次要结果也没有差异,这表明 HEM 的血小板可用于 HLA 同种异体免疫的 PTR 患者,比抗原匹配相比能更有效地利用血小板资源。

3.1.4 血小板交叉配型 交叉配型是获得兼容血小板最快、最简单的方法,在血小板和患者血清之间进行交叉配血,测试患者血清对一组血小板的反应以确定相容性,缺乏反应性的供者血小板被认为是“交叉配型兼容”,相关的血小板浓缩物是输血的首选,多用于 HLA 抗体百分比较低的患者。交叉配型的优势为获得相容的血小板时间短,与 HLA 和 HPA 抗体相容,短期支持成本低(不需要 HLA 分型或抗体鉴定)。主要缺点是难以找到高度同种异体免疫的患者找到兼容的血小板;潜在的 HLA 抗原不匹配可能在后期有发生同种异体免疫的风险,影响以后提供 HLA 匹配的血小板。目前全国多家大型血液中心已经为 PTR 的患者进行血小板交叉配型并获得了较好地临床反馈<sup>[21]</sup>。

3.1.5 HPA 匹配 当大多数交叉配型不匹配或 HLA 匹配输血

失败时,需要进行 HPA 抗体检测,尽管 HPA 抗体引起的 PTR 发生率很小。如果存在针对 HPA 的抗体,需要招募已知血小板抗原表型的献血者。患者的亲属可能与患者有相同的表型,应进行检测。

3.1.6 其他有待证实的策略 ①血小板持续滴注。当免疫性 PTR 患者没有 HLA/HPA 兼容的血小板供体或持续出血的情况下,低剂量持续输注 ABO 同型单采血小板可能是有效治疗和预防患者出血的手段<sup>[22-23]</sup>。②家庭成员血小板。因亲缘关系,家庭成员有可能提供匹配良好的血小板单位。如果患者接受亲属供体的造血干细胞移植,受者针对供者次要 HLA 抗原可能会产生抗体,有造成植入失败的风险,因此进行亲属移植的候选者应尽量避免使用亲属血小板。③选择 HLA-I 类抗原低表达血小板。研究<sup>[24]</sup>表明,9%~34%的供体血小板上 HLA-B8、HLA-B12 和 HLA-B35 等抗原表达低或检测不到,而 HLA-I 类抗体介导的血小板破坏与 HLA 抗原的表达密切相关,由于目前中心血站尚不能提供供体血小板 HLA 抗原表达的数据,因此临床尚不适用。④血小板吸附抗体策略。血小板高表达 HLA 抗原,可先使用供体血小板来吸附患者血清或血浆中的 HLA 抗体,如患者体内存在很强的 HLA-A2 抗体,反复输注 HLA-A2 抗原阳性血小板来耗尽抗体后,再输入一个 HLA-A2 阳性血小板单位,可提高血小板输注效果。⑤补体抑制剂治疗。补体激活可导致与 HLA 抗体结合的血小板加速破坏,能够固定补体的 HLA 抗体(IgG1 和 IgG3)更可能导致 PTR。有研究显示 10 名 PTR 患者接受了单次补体抑制剂 eculizumab 治疗,其中 4 名(40%)患者克服了 PTR,这提示补体抑制可能克服广泛的 HLA 同种免疫导致的 PTR,进一步应用还需大规模的临床试验支持<sup>[25]</sup>。

由于血液病或移植患者发生 PTR 的原因复杂,通常免疫与非免疫因素共存,因此,即使采用 HLA 匹配的血小板输注可能仍然无效。无论采用何种血小板制剂输注,判断输注疗效的指标均是输血后血小板计数的增加(输血后 1 h 和 24 h 的血小板计数)。通过监测对 HLA 抗原匹配血小板输血后的血小板增量,可以第一时间提示已知的 HLA 同种异体免疫的患者是否取得进展,如果有改善,应继续使用 HLA 抗原匹配血小板输注;如果对 HLA 抗原匹配的血小板输注反应不佳,应再寻求原因,持续更新策略,以便后续输血成功。

3.2 免疫相关 PTR 的预防及展望 目前研究表明,使用白细胞减少的血液制品可减少输血相关 PTR 的发生。血制品输注刺激机体免疫反应的机制仍不完全清楚,但与输注的供体血制品的成分和受者的免疫状态有关。血小板和白细胞输注都可能导致 HLA 同种异体免疫,去白细胞的血液成分输注已被证明可以降低 HLA 同种异体免疫反应的频率和 PTR。因此,最佳的预防策略是针对这两种细胞。TRAP 研究表明,血制品去白细胞可导致 HLA 同种异体免疫发生率下降(由 45% 降至 17%~18%)和同种免疫性 PTR 下降(由 13% 降至 3%~4%)<sup>[12]</sup>。在加拿大,普遍实施血制品去白细胞措施后,同种异体免疫率从 19% 下降到 7%,同种免疫性 PTR 从 14% 下降到 4%<sup>[26]</sup>。然而,去白细胞并没有完全消除这一问题,使残余白细胞失活可能是消除或进一步减少同种异体免疫的解决方案<sup>[25]</sup>。病原体减少后的同种异体免疫减少尚未得到证实,病原体减少的血小板储存导致高磷脂酰丝氨酸暴露,反而增加 PTR 可能<sup>[27]</sup>。使用免疫抑制来改善

PTR 患者的预后并非完全有效,有报告称静脉注射丙种球蛋白、利妥昔单抗、血浆置换和皮质类固醇治疗的成功率各有不同<sup>[28]</sup>。

综上所述,PTR 是临床亟待解决的问题,特别是在血小板资源紧缺的情况下,筛选 HLA 和或 HPA 匹配的血小板输注更是难上加难。免疫性 PTR 患者血小板输注可以以下方面作为切入点:①开发和建立基于 DNA 检测且同时提供 RBC、HPA 和 HLA 等通用献血者基因分型平台及供者库<sup>[29]</sup>。②采用人类 iPSCs 产生的巨核细胞进行 HLA I 类基因敲除,生成具有止血功能的 HLA 通用型血小板,再在生物反应器中实现大规模生产<sup>[30]</sup>,未来可能会在输血医学领域开辟新的天地。

#### 参考文献

- [1] MEEHAN K R, MATIAS C O, RATHORE S S, et al. Platelet transfusions: utilization and associated costs in a tertiary care hospital[J]. *Am J Hematol*, 2000,64(4):251-256.
- [2] KERKHOFFS J L, EIKENBOOM J C, VAN DE WATERING L M, et al. The clinical impact of platelet refractoriness: correlation with bleeding and survival[J]. *Transfusion*, 2008, 48(9): 1959-1965.
- [3] KAUFMAN R M, DJULBEGOVIC B, GERNSHEIMER T, et al. Platelet transfusion: a clinical practice guideline from the AABB[J]. *Ann Intern Med*, 2015,162(3):205-213.
- [4] MATHEW S. Platelet refractoriness: examining associated morbidity and mortality[J]. *Clin J Oncol Nurs*, 2021, 25(1): 89-92.
- [5] SLICHTER S J, DAVIS K, ENRIGHT H, et al. Factors affecting posttransfusion platelet increments, platelet refractoriness, and platelet transfusion intervals in thrombocytopenic patients [J]. *Blood*, 2005,105(10):4106-4114.
- [6] TANOUE S, KONUMA T, KATO S, et al. Platelet transfusion refractoriness in single-unit cord blood transplantation for adults: risk factors and clinical outcomes[J]. *Blood Marrow Transplant*, 2018,24(9):1873-1880.
- [7] SOLVES P, SANZ J, FREIRIA C, et al. Factors influencing platelet transfusion refractoriness in patients undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation[J]. *Ann Hematol*, 2018,97(1):161-167.
- [8] HESS J R, TRACHTENBERG F L, ASSMANN S F, et al. Clinical and laboratory correlates of platelet alloimmunization and refractoriness in the PLADO trial[J]. *Vox Sang*, 2016, 111(3):281-291.
- [9] STANWORTH S J, NAVARRETE C, ESTCOURT L, et al. Platelet refractoriness--practical approaches and ongoing dilemmas in patient management[J]. *Br J Haematol*, 2015, 171(3): 297-305.
- [10] 中华医学会血液学分会. 血小板无效输注诊断和治疗中国专家共识(2022年版)[J]. *中华血液学杂志*, 2022,43(11): 897-902.
- [11] BELIZAIRE R, MAKAR R S. Non-alloimmune mechanisms

- of thrombocytopenia and refractoriness to platelet transfusion [J]. *Transfus Med Rev*, 2020,34(4):242-249.
- [12] Trial to Reduce Alloimmunization to Platelets Study Group. Leukocyte reduction and ultraviolet B irradiation of platelets to prevent alloimmunization and refractoriness to platelet transfusions[J]. *N Engl J Med*, 1997,337(26):1861 - 1869.
- [13] DALY P A, SCHIFFER C A, AISNER J, et al. Platelet transfusion therapy. one-hour posttransfusion increments are valuable in predicting the need for HLA-matched preparations[J]. *JAMA*, 1980,243(5):435-438.
- [14] KAO K J, COOK D J, SCORNIK J C, et al. Quantitative analysis of platelet surface HLA by W6/32 anti-HLA monoclonal antibody[J]. *Blood*, 1986,68(3):627-632.
- [15] MASSON E, VIDAL C, DESCHAMPS M, et al. Incidence and risk factors of anti-HLA immunization after pregnancy [J]. *Hum Immunol*, 2013,74(8):946 - 951.
- [16] COHN C S. Platelet transfusion refractoriness: how do I diagnose and manage?[J] *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*, 2020,2020(1):527-532.
- [17] GAVVA C, BARROSO J, GERNSHEIMER T, et al. Response to random apheresis platelets versus HLA-selected platelets versus pooled platelets in HLA-sensitized patients [J]. *Transfusion*, 2019,59(7):2276-2281.
- [18] BLANDIN L, DOUGÉ A, FAYARD A, et al. Platelet transfusion refractoriness and anti-HLA immunization[J]. *Transfusion*, 2021,61(6):1700-1704.
- [19] DUQUESNOY R J. HLA matching at the epitope level: the way to go[J]. *Clin Transpl*, 2013:441-451.
- [20] MARSH J C, STANWORTH S J, PANKHURST L A, et al. An epitope-based approach of HLA-matched platelets for transfusion: a noninferiority crossover randomized trial[J]. *Blood*, 2021,137(3): 310-322.
- [21] 谭茜茜,魏习薇,巩天祥,等. 血小板抗体筛查及交叉配型的临床应用[J]. *中国输血杂志*,2021,34(4):382-385
- [22] HOD E, SCHWARTZ J. Platelet transfusion refractoriness [J]. *Br J Haematol*, 2008,142(3):348-360.
- [23] CID J, GUIJARRO F, CARBASSÉ G, et al. 24 h continuous infusion of platelets for patients with platelet transfusion refractoriness[J]. *Br J Haematol*. 2018,181(3):386-389.
- [24] SARIS A, TOMSON B, BRAND A, et al. Platelets from donors with consistently low HLA-B8, -B12, or -B35 expression do not undergo antibody-mediated internalization[J]. *Blood*, 2018,131(1):144-152.
- [25] VO P, PUREV E, WEST K A, et al. A pilot trial of complement inhibition using eculizumab to overcome platelet transfusion refractoriness in human leukocyte antigen alloimmunized patients[J]. *Br J Haematol*, 2020,189(3):551-558.
- [26] SEFTEL M D, GROWE G H, PETRASZKO T, et al. Universal prestorage leukoreduction in Canada decreases platelet alloimmunization and refractoriness[J]. *Blood*, 2004, 103(1): 333-339.
- [27] SARIS A, PAVENSKI K. Human leukocyte antigen alloimmunization and alloimmune platelet refractoriness[J]. *Transfus Med Rev*, 2020,34(4):250-257.
- [28] PAVENSKI K, FREEDMAN J, SEMPLE J W. HLA alloimmunization against platelet transfusions: pathophysiology, significance, prevention and management[J]. *Tissue Antigens*, 2012,79(4):237-245.
- [29] GLEADALL N S, VELDHUISEN B, GOLLUB J, et al. Development and validation of a universal blood donor genotyping platform: a multinational prospective study[J]. *Blood Adv*, 2020,4(15):3495-3506.
- [30] EVANS A L, DALBY A, FOSTER H R, et al. Transfer to the clinic: refining forward programming of hPSCs to megakaryocytes for platelet production in bioreactors[J]. *Blood Adv*, 2021,5(7):1977-1990.

(2022-11-20收稿)

(本文编校:崔月婷,张迪)