基础研究 DOI:10.13406/j.cnki.cyxb.001018

重组人血小板生成素诱导小鼠反应性血小板增多症的病理变化

翟海龙[1]，汪玉芳[2]

（1. 湖北理工学院医学院，黄石 435003；2. 黄石市中心医院血液内科，黄石 435000）

【摘 要】**目的**：为了研究重组人血小板生成素（rhTPO）诱导小鼠反应性血小板增多症的病理变化。**方法**：将 48 只 4 周龄 SPF 级 BALB/c 小鼠，随机分为 rhTPO 组和对照组，各 24 只。rhTPO 组每只小鼠每日腹腔注射 rhTPO 500 μg/(kg·d)，0.3 ml/只，对照组每只小鼠每日腹腔注射生理盐水 0.3 mL/只，连续注射 10 d。实验第 3、5、7 和 10 天，取 2 组小鼠各 6 只拉颈处死，检测两组小鼠的外周血细胞数量、血小板（platelet，PLT）聚集实验（platelet aggregation test，PAgT）、血小板 ATP 释放试验、血浆 D-二聚体（D-dimer）浓度测定、小鼠血栓表现的观察、骨髓活检、脾、肝系数及脾、肝病理检查。**结果**：rhTPO 组 PLT 数量在第 3 天明显高于对照组（$P<0.05$），在第 5、7 和 10 天明显高于对照组（$P<0.01$）。rhTPO 组 5 min 内最大凝集率和血小板 ATP 释放量在 3、5、7 和 10 天与对照组均无统计学差异（$P>0.05$）。rhTPO 组血浆 D-dimer 浓度在第 3、5、7 和 10 天明显逐渐升高（$P<0.01$），在第 3 天明显高于对照组（$P<0.05$），在第 5、7 和 10 天明显高于对照组（$P<0.01$）。2 组小鼠均无血栓表现。rhTPO 组在第 3、5、7 和 10 天巨核细胞大量增生，体积增大，且随时间日益明显。rhTPO 组脾系数在第 5、7 天均明显高于对照组（$P<0.05$），在第 10 d 明显高于对照组（$P<0.01$），rhTPO 组肝系数在第 10 天明显高于对照组（$P<0.05$）。rhTPO 组脾脏巨核系和脾体积在第 3 天内不变，但脾脏巨核系在第 5、7 和 10 天逐渐增生，第 10 天尚可见红系增生，脾体积在第 5、7 和 10 天逐渐增大。肝脏在第 10 天可见红系、粒系和巨核系增生且体积增大。**结论**：rhTPO 诱导小鼠反应性血小板增多症的病理变化：骨髓中巨核细胞大量增生，外周血 PLT 数量急剧升高，但生成的 PLT 功能正常，初期，脾、肝未发生病理变化，中后期可刺激脾、肝先后髓外造血，体积先后增大。中后期可刺激脾脏巨核系逐渐增生，后期尚可见红系增生，脾体积也逐渐增大。肝在后期且可见红系、粒系和巨核系三系增生且体积增大。

【关键词】重组人血小板生成素；小鼠；反应性血小板增多症

【中图分类号】R558+.3 【文献标志码】A 【收稿日期】2015-11-18

Pathological changes of reactive thrombocytosis induced by recombinant human thrombopoietin in mice

Zhai Hailong[1]，*Wang Yufang*[2]

（*1. Hubei Polytechnic University，School of Medicine；2. Department of Hematology，Huangshi Central Hospital*）

【Abstract】***Objective***：To investigate the pathological changes of reactive thrombocytosis induced by recombinant human thrombopoietin(rhTPO) in mice. ***Methods***：Forty-eight 4-week-old SPF BALB/c mice were randomly divided into rhTPO group and control group，24 in each group. Mice in rhTPO group has been intraperitoneally injected rhTPO 500 μg/(kg·d)，0.3 ml daily for 10 days，while those in control group received saline 0.3 mL. Six mice in each group were executed on day 3，5，7，10 respectively；peripheral blood cell count was measured；PLT aggregation test(PAgT)，PLT ATP release test，plasma D-dimer concentration detection were conducted；manifestations of thrombosis in mice were observed；bone marrow biopsy as well as coefficient of spleen and liver and pathological examination of spleen and liver were all performed. ***Results***：PLT was significantly higher in rhTPO group than in control group on day 3($P<0.05$) and was significantly higher in rhTPO group than in control group on day 5，7 and 10($P<0.01$). There was no difference in five-min maximum aggregation rates and PLT ATP released quantities on day 3，5，7，10 between rhTPO group and control group($P>0.05$). Plasma D-dimer in rhTPO group were significantly higher than that in control group on day 3($P<0.05$) and was significantly higher in rhTPO group than in control group on day 5，7，10($P<0.01$). Manifestations of thrombosis were not observed in both groups. Bone marrow biopsy for rhTPO group on day 3，5，7，10 showed megakaryocytic hyperplasia，increased

作者介绍：翟海龙，Email：zhl135246@sohu.com，研究方向：血液病学。

通信作者：汪玉芳，Email：wangyufang@sina.com。

基金项目：湖北省教育厅科技研究计划指导项目（编号：B2014027）。

优先出版：http://www.cnki.net/kcms/detail/50.1046.r.20160706.1636.020.html（2016-07-06）

volume, which became increasingly obvious as time went by. Spleen coefficients in rhTPO group were significantly higher than those in control group on day 5, 7, and was significantly higher in rhTPO group than in control group on day 10 ($P<0.01$). Hepatic coefficients in rhTPO group were significantly higher than those in control group on day 10 ($P<0.05$). Megakaryocytes in spleen and spleen volume in rhTPO group were unchanged within 3 days, but megakaryocytes in spleen gradually proliferated on day 5, 7, 10. Erythroid proliferation was found on day 10. At the same time, spleen volume gradually increased on day 5, 7, 10. Erythroid, myeloid, megakaryocytic hyperplasia and increased volume were found in liver on day 10. ***Conclusion***: Pathological changes of reactive thrombocytosis induced by high dose rhTPO in BALB/c mice include bone marrow megakaryocytes proliferation, a sharp increase in the number of peripheral blood PLT with normal PLT production function, no pathological change in spleen and liver at initial stage, extramedullary hematopoiesis and increased volume in spleen and liver at middle and late stage, megakaryocytic proliferation in spleen at middle and late stage, erythroid hyperplasia in spleen at late stage as well as increased spleen volume, erythroid, myeloid, megakaryocytic hyperplasia and increased volume in liver at late stage.

【Key words】recombinant human thrombopoietin; mice; reactive thrombocytosis

血小板增多症是指循环血液内的血小板数量异常增多。目前，血小板增多症的标准尚未统一，一般以血小板（platelet，PLT）数量≥450 × 10^9 个/L 为标准[1]。反应性血小板增多症是其中最常见的一种，占成人血小板增多症的 88%~97%，占小儿血小板增多症的接近 100%[2-4]。感染（典型急性的）、肿瘤、组织损伤、慢性炎症性疾病是成年人反应性血小板增多症最常见的病因，>75%的成年人反应性血小板增多症有一种或一种以上的这些原发病因[5]。有报道，反应性血小板增多症患者血清的内源性血小板生成素（thrombopoietin，TPO）水平升高，反应性血小板增多症很大程度上是这些升高的内源性 TPO 诱导所致[6-7]。

反应性血小板增多症的病理变化还未搞清楚，国内尚未见相关报道。本研究采用了腹腔注射重组人血小板生成素（recombinant human thrombopoietin，rhTPO）的方法诱导小鼠发生反应性血小板增多症，并研究了其病理变化，现予报道。

1 材料与方法

1.1 动物及分组

将 48 只 4 周龄 SPF 级 BALB/c 小鼠（购自华中科技大学实验动物中心），随机分为 rhTPO 组和对照组，各 24 只。

1.2 诱导

rhTPO 组每只小鼠每日腹腔注射 rhTPO（美国 PeproTech 产）500 μg/（kg·d），0.3 mL/只，对照组每只小鼠每日腹腔注射生理盐水 0.3 mL/只，连续注射 10 d。

1.3 检测

实验第 3、5、7 和 10 天，取 2 组小鼠各 6 只拉颈处死，完成以下检测。

1.3.1 外周血细胞检测 心脏穿刺取血 50 mL，其中 30 mL 血用 Sysmex XS800i 全自动血细胞分析仪（日本希森美康株式会社）测 RBC 数、Hb 水平、WBC 数、PLT 数。

1.3.2 PLT 聚集实验（platelet aggregation test，PAgT） 将 38 g/L 枸橼酸钠按体积比 1:9 的比例加入到剩余 20 ml 血中抗凝，取其中 17 mL 抗凝血，800 r/min 离心 10 min，取上层液即为富血小板血浆（PRP），剩余部分以 3 000 r/min 离心 10 min，取上层液即为贫血小板血浆（PPP），用 PPP 调整 PRP 的血小板计数至 3×10^8/mL。用血小板聚集仪（美国 Chrono-log 公司）测定 PAgT，每次取 PRP200 μL 于比浊杯中，温育 5 min，加入诱导剂肾上腺素 10 μL，记录 5 min 内最大凝集率。

1.3.3 血小板 ATP 释放试验 利用荧光法与血小板聚集实验同步测定。即在测定前向上述 PRP 中加入 50 μL 荧光素/荧光素酶（美国 Chrono-log 公司）（40 mg/mL），温育后加入磁棒、5 μg/mL 胶原，同步测定血小板聚集及 ATP 释放。其释放量以入 ATP 标准品进行校正，所获取的 ATP 释放以下公式计算，结果以 nmol/10^8 血小板表示。ATP 释放量=（测定荧光记录值测定状态的增益×测定 ATP 标准品时的增益×2）/（测定状态的增益×ATP 标准品的荧光记录值）。

1.3.4 血浆 D-二聚体（D-dimer）浓度测定 取剩余的 3 mL 抗凝血，4 000 r/min 离心 5 min，取 2 mL 血浆，用小鼠 D-dimer ELISA 检测试剂盒（上海奥陆生物科技有限公司）ELISA 法测定小鼠血浆 D-dimer 浓度。

1.3.5 小鼠血栓表现的观察 每天观察 2 组小鼠饮水、饮食、行为活动等有无异常，尤其观察小鼠是否出现四肢肿胀、浅静脉怒张、静脉索条状物，甚至肺血栓猝死等血栓表现。

1.3.6 骨髓活检 剪取小鼠单侧股骨常规固定、脱水、脱钙、包埋、切片、HE 染色，用显微镜观察骨髓组织。

1.3.7 测脾、肝系数及脾、肝病理检查 取脾、肝，用电子天平称质量，除以体质量为肝脾系数。HE 染色做脾、肝病理检查。

1.4 统计学方法

运用 SPSS 11.5 for windows 统计软件做统计学处理。各

计量资料均采用均数±标准差（$\bar{x}\pm s$）表示，多组数据比较采用单因素方差分析，两组比较采用 t 检验。检验水准 α=0.05。

2 结 果

2.1 外周血细胞检测

rhTPO 组 PLT 数量在第 3、5、7、10 天 4 个时间点逐渐升高（P<0.01），对照组则无统计学变化（P>0.05），rhTPO 组 PLT 数量在第 3 天明显高于对照组（P<0.05），在第 5、7 d 和 10 d 明显高于对照组（P<0.01）。rhTPO 组和对照组的 WBC 数量、RBC数量、Hb 水平在第 3、5、7、10 天 4 个时间点均无统计学变化（P>0.05），rhTPO 组 WBC 数量、RBC 数量、Hb 水平在4 个时间点与对照组均无统计学差异（P>0.05）（表 1）。

2.2 PAgT

rhTPO 组和对照组的 5 min 内最大凝集率在第 3、5、7、10 天 4 个时间点均无统计学变化（P>0.05），rhTPO 组 5 min 内最大凝集率在 3、5、7 d 和 10 d 4 个时间点与对照组均无统计学差异（P>0.05）（表 2）。

2.3 血小板 ATP 释放试验

rhTPO 组和对照组的血小板 ATP 释放量在第 3、5、7、10 天 4 个时间点均无统计学变化（P>0.05），rhTPO 组在 3、5、7 d 和 10 d 4 个时间点的血小板 ATP 释放量与对照组均无统计学差异（P>0.05）（表 2）。

2.4 血浆 D-dimer 浓度测定

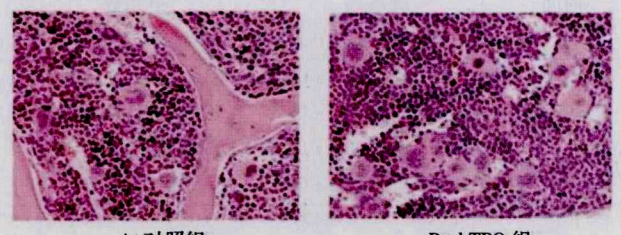
rhTPO 组血浆 D-dimer 浓度在第 3、5、7、10 天 4 个时间点逐渐升高（P<0.01），对照组则无变化（P>0.05），rhTPO 组血浆 D-dimer 浓度在第 3 天高于对照组（P<0.05），在第 5、7 和 10 天高于对照组（P<0.01）（表 2）。

2.5 小鼠血栓表现的观察

注射 rhTPO 的 10 d 内 2 组小鼠饮水、饮食、行为活动等正常，2 组小鼠均未出现四肢肿胀、浅静脉怒张、静脉索条状物，甚至肺血栓猝死等血栓表现。

2.6 骨髓活检

rhTPO 组在第 3、5、7 和 10 天 4 个时间点骨髓活检均显示巨核细胞大量增生，体积增大，且随时间日益明显，而对照组则变化不大（图 1）。



A. 对照组　　B. rhTPO 组

图 1 对照组和 rhTPO 组的骨髓活检片（HE 染色，100×）

Fig. 1 Bone marrow biopsy in control group and rhTPO group (HE staining, 100×)

表 1 不同时期对照组和 rhTPO 组的外周血细胞数量（$\bar{x}\pm s$，n=6）

Tab.1 Numbers of peripheral blood cells in control group and rhTPO group at different times ($\bar{x}\pm s$, n=6)

时间（d）	PLT（×10⁹/L）		WBC（×10⁹/L）		RBC（×10¹²/L）		Hb（g/L）	
	对照组	rhTPO组	对照组	rhTPO组	对照组	rhTPO组	对照组	rhTPO组
3	550±30	592±36[a]	5.58±1.10	5.61±1.12	10.50±0.70	10.61±0.73	152±30	150±28
5	542±89	650±40[b]	5.20±0.46	5.25±0.57	10.48±0.69	10.51±0.67	146±10	151±12
7	560±129	862±151[b]	5.06±0.20	5.10±0.41	10.52±0.70	10.49±0.72	140±16	138±15
10	538±60	1 236±95[a]	4.93±0.16	4.85±0.36	10.47±0.65	10.45±0.62	143±23	146±25
F 值	2.216	8.459	1.093	1.172	0.373	0.069	1.136	1.633
P 值	0.075	0.010	0.085	0.089	0.091	0.083	0.078	0.079

注：a，与对照组比较 P<0.05；b：与对照组比较 P<0.01

表 2 对照组和 rhTPO 组的 PAgT 的 5 min 内最大凝集率、ATP 释放量及血浆 D-dimer 浓度（$\bar{x}\pm s$，n=6）

Tab.2 Maximum agglutination rates within 5 minutes of PAgT, released volumes of ATP and plasma D-dimer concentrations in control group and rhTPO group ($\bar{x}\pm s$, n=6)

时间（d）	最大凝集率（%）		ATP 释放量（nmol/10⁸ 血小板）		血浆 D-dimer 浓度（mg/L）	
	对照组	rhTPO组	对照组	rhTPO组	对照组	rhTPO组
3	79.5±19.6	78.2±13.6	1.26±0.12	1.25±0.11	0.55±0.10	0.76±0.12[a]
5	76.7±18.5	78.1±12.5	1.27±0.17	1.28±0.19	0.53±0.08	1.15±0.13[b]
7	78.6±14.7	76.4±17.7	1.25±0.15	1.24±0.13	0.58±0.11	1.97±0.20[b]
10	77.3±13.1	76.2±11.6	1.24±0.11	1.25±0.13	0.56±0.09	2.37±0.51[b]
F 值	1.614	1.779	1.063	1.132	1.214	6.479
P 值	0.086	0.082	0.073	0.081	0.073	0.001

注：a，与对照组比较 P<0.05；b：与对照组比较 P<0.01

2.7 测脾、肝系数及脾、肝病理检查

rhTPO 组脾系数在第 3、5、7、10 天 4 个时间点逐渐升高（$P<0.01$），对照组则无变化（$P>0.05$），rhTPO 组脾系数在 3 d 与对照组均无差异（$P>0.05$），在第 5、7 天均高于对照组（$P<0.05$），在第 10 天高于对照组（$P<0.01$），rhTPO 组肝系数在第 3、5、7、10 天 4 个时间点不全相同（$P<0.05$），在第 10 天升高，对照组则无变化（$P>0.05$），rhTPO 组肝系数在第 3、5、7 天与对照组均无统计学差异（$P>0.05$），在第 10 天高于对照组（$P<0.05$）（表 3）。

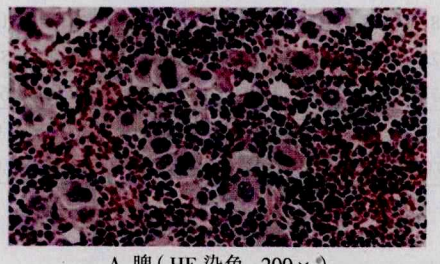
表 3 不同时期对照组和 rhTPO 组的肝脾系数（$\bar{x}\pm s$，$n=6$）

Tab.3 Spleen coefficients and liver coefficients in control group and rhTPO group at different times（$\bar{x}\pm s$，$n=6$）

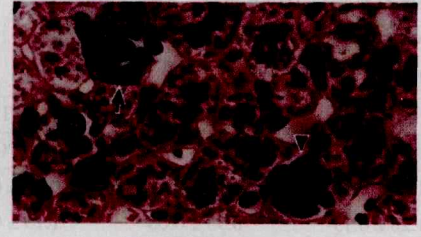
时间	脾系数		肝系数	
（d）	对照组	rhTPO组	对照组	rhTPO组
3	3.26 ± 0.08	3.27 ± 0.18	4.63 ± 0.19	4.64 ± 0.21
5	3.31 ± 0.19	3.93 ± 0.25[a]	4.58 ± 0.17	4.61 ± 0.23
7	3.28 ± 0.11	4.28 ± 0.41[a]	4.61 ± 0.22	4.67 ± 0.81
10	3.27 ± 0.17	5.06 ± 0.36[b]	4.67 ± 0.11	5.02 ± 0.13[a]
F 值	1.217	9.479	0.093	4.172
P 值	0.078	0.002	0.095	0.087

注：a，与对照组比较 $P<0.05$；b：与对照组比较 $P<0.01$；脾系数：rhTPO 组与对照组比较，d5，$t=3.361$，$P=0.020$；d7，$t=3.368$，$P=0.020$；d10，$t=4.776$，$P=0.005$

rhTPO 组脾脏巨核系和脾体积在第 3 天内不变，但脾脏巨核系在第 5、7 和 10 天逐渐增生，第 10 天尚可见红系增生，同时脾体积在第 5、7 和 10 天也逐渐增大。肝脏在第 10 天可见红系、粒系和巨核系增生且体积增大，而对照组脾、肝病理变化则不大（图 2）。



A. 脾（HE 染色，200×）



B. 肝（HE 染色，1 000×）

长箭头，红系；短箭头，粒系

图 2 rhTPO 组在第 10 天的脾、肝的病理检查

Fig. 2 Pathological examination of spleen and liver in rhTPO group on day 10

3 讨 论

PLT 是在复杂的细胞因子环境下生成的，调节 PLT 生成的首要的细胞因子是 TPO，TPO 在肝脏产生入血，作用的受体是 Mpl。TPO 可刺激巨核系集落形成单位和早期巨核细胞祖细胞活性和生长，使巨核细胞成倍增加。因而，TPO 可特异性地增加骨髓、脾和肝内成熟巨核细胞和血小板的生成[8-13]。rhTPO 由中国仓鼠卵巢细胞产生，是糖基化的 TPO，与 TPO 有相同的氨基酸结构，rhTPO 静脉给药的半衰期是 30~40 h，人体注射后 5 d 血小板开始剂量依赖性地升高，10~14 d 达高峰[14]。如今，TPO 已广泛地用于治疗免疫性血小板减少性紫癜等血小板减少性疾病，以提高患者的血小板数量[15]。

有研究表明，给动物注射 rhTPO 可诱导反应性血小板增多症，增加动物骨髓的巨核细胞和外周血 PLT，如 Harker 等[16]给狒狒每日皮下注射 2.5 μg/kg TPO 连续 28 d，先是动物骨髓产生正常狒狒 12倍的巨核细胞，然后是外周血中 PLT 增长到正常狒狒的 7 倍。而外周血中 WBC 和 RBC 的量无明显变化。但国内尚未见系统地研究 rhTPO 诱导反应性血小板增多症的病理变化，因此开展了本研究。升 PLT 效果与 rhTPO 存在剂量依赖性的量效关系，为了得到典型的反应性血小板增多症效果，本研究采用 500 μg/(kg·d)这样大剂量的 rhTPO。

本研究中 rhTPO 组小鼠在大剂量 rhTPO 诱导下在第 3、5、7 和 10 天 4 个时间点骨髓活检均显示巨核细胞大量增生，体积增大，且随时间日益明显，表明 rhTPO 刺激骨髓内巨核系的增生，伴随着骨髓内巨核系的增生，rhTPO 组小鼠外周血 PLT 数量第 3、5、7、10 天 4 个时间点逐渐升高，rhTPO 组 PLT 数量在第 3 天高于对照组，在第 5 天、7 天和 10 天高于对照组。即 rhTPO 可诱导小鼠发生反应性血小板增多症，这与 Kaushansky 等的研究结果[17]类似。而 rhTPO 组 WBC 数量、RBC 数量、Hb 水平在 4 个时间点与对照组均无统计学差异，这与 Harker 等[16]的研究结果类似，表明 rhTPO 仅作用于骨髓内巨核系，而对粒系、红系的生成、发育无作用。在外周血 PLT 的 PAgT 中，rhTPO 组小鼠 5 min 内最大凝集率在 3、5、7 d 和 10 d 4 个时间点与对照组均无统计学差异，血小板 ATP 释放试验中，rhTPO 组在 3、5、

7 d和 10 d 4 个时间点的血小板 ATP 释放量与对照组均无统计学差异，这 2 项实验表明 rhTPO 刺激小鼠生成的 PLT 功能正常。

为了研究 rhTPO 可诱导小鼠发生反应性血小板增多症中与血液系统密切相关的脾和肝的病理变化，本研究又检测了脾、肝系数及脾、肝病理检查。其中脾、肝系数等于脾、肝质量除以体质量，可反映脾、肝的相对大小。本研究表明，rhTPO 在诱导初期，脾、肝未发生病理变化，rhTPO 诱导小鼠发生反应性血小板增多症的中后期可刺激脾、肝先后髓外造血，体积先后增大：rhTPO 组脾脏巨核系和脾体积在第 3 天内不变，但脾脏巨核系在第 5、7 和 10 天逐渐增生，巨核细胞主要存在于骨髓，在脾、肝中也有巨核细胞存在，这表明 rhTPO 除可刺激骨髓巨核细胞扩增外，尚可刺激脾内巨核细胞的扩增[10-11,17]。第 10 天尚可见红系增生，同时脾体积在第 5、7 天和10 天也逐渐增大。肝系数在第 10 天高于对照组，体积增大，且可见红系、粒系和巨核系三系增生。这是因为 TPO 除了刺激脾、肝中巨核系增生外，还可刺激红系、粒系细胞数量的增加[9,18]。而且有研究表明，给如小鼠这样的啮齿目动物用大剂量的重组血生长因子常可观察到脾、肝的髓外造血[19]，因此，本研究中给小鼠大剂量地使用 rhTPO 后小鼠发生脾、肝的髓外造血除 rhTPO 可刺激脾、肝的髓外造血外，大概还与 rhTPO 是重组试剂有关。

反应性血小板增多症有时会并发血栓形成，但反应性血小板增多症总体来说是一种自限性过程，一旦解决其原发基础病，则反应性血小板增多症也会随之解决[5]。反应性血小板增多症并发血栓的发病率并不高，如 643 例反应性血小板增多症患者并发血栓的发病率仅有 1.6%，这些血栓均为静脉血栓，而且这些病人多有易致血栓形成的基础病，如术后或肿瘤[2]。即使是严重的反应性血小板增多症，其并发血栓的发病率也不高，仅有 4%~6%[20]。本研究 rhTPO 诱导的小鼠反应性血小板增多症生成的 PLT 数量在第 3、5、7、10 天 4 个时间点逐渐升高，小鼠血液逐渐处于高凝状态，而且功能正常，rhTPO 组血浆 D-dimer 浓度在第 3、5、7、10 天 4 个时间点逐渐升高，且均高于对照组，却未见血栓表现，可能因为反应性血小板增多症并发血栓的发病率并不高，小鼠无易致血栓形成的基础病，rhTPO 诱导的时间短，而且小鼠血液是逐渐处于高凝状态，随着小鼠血液内微血栓生成逐渐增加，抗凝、纤溶也逐渐增强，足以分解这些微血栓，使之不至于生成大的血栓。

综上所述，本研究 BALB/c 小鼠在大剂量 rhTPO 诱导下发生反应性血小板增多症的病理变化：骨髓中巨核细胞大量增生，外周血 PLT 数量急剧升高，但生成的 PLT 功能正常，初期，脾、肝未发生病理变化，中后期可刺激脾、肝先后髓外造血，体积先后增大。中后期可刺激脾脏巨核系逐渐增生，后期尚可见红系增生，脾体积也逐渐增大。肝在后期且可见红系、粒系和巨核系三系增生且体积增大，小鼠发生脾、肝的髓外造血除 rhTPO 可刺激脾、肝的髓外造血外，大概与 rhTPO 是重组试剂有关。

本研究虽然初步揭示了 rhTPO 诱导下发生反应性血小板增多症的病理变化，但仍处于器官、组织细胞层面，如欲在分子水平研究此病理变化，还需要进一步深层次的研究。

参 考 文 献

[1] Skoda RC. Thrombocytosis[J]. Hematology, 2009, 79(1): 159-167.

[2] Griesshammer M, Bangerter M, Sauer T, et al. Aetiology and clinical significance of thrombocytosis: analysis of 732 patients with an elevated platelet count[J]. Journal of Internal Medicine, 1999, 245(3): 295-300.

[3] Santhosh-Kumar CR, Yohannan MD, Higgy KE, et al. Thrombocytosis in adults: analysis of 777 patients[J]. Journal of Internal Medicine, 1991, 229(6): 493-495.

[4] Yohannan MD, Higgy KE, al-Mashhadani SA, et al. Thrombocytosis: etiologic analysis of 663 patients[J]. Clinical Pediatrics, 1994, 33(6): 340-343.

[5] Bleeker JS, Hogan WJ. Thrombocytosis: diagnostic evaluation, thrombotic risk stratification, and risk-based management strategies[J]. Thrombosis, 2011, 2011(7): 1-16.

[6] Ishiguro A, Suzuki Y, Mito M, Shimbo T, et al. Elevation of serum thrombopoietin precedes thrombocytosis in acute infections[J]. British Journal of Haematology, 2002, 116(5), 612-618.

[7] Hsu HC, Tsai WH, Jiang ML, et al. Circulating levels of thrombopoietic and inflammatory cytokines in patients with clonal and reactive thrombocytosis[J]. Journal of Laboratory and Clinical Medicine, 1999, 134(4): 392-397.

[8] de Sauvage FJ, Carver-Moore K, Luoh SM, et al. Physiological regulation of early and late stages of megakaryocytopoiesis by thrombopoietin[J]. J Exp Med 1996, 183(2): 651-656.

[9] Wörmann B. Clinical Indications for thrombopoietin and thrombopoietin-receptor agonists[J]. Transfus Med Hemother, 2013, 40(9): 319-325.

[10] Smith BW, Murphy GJ. Stem cells, megakaryocytes, and platelets

DOI:10.13406/j.cnki.cyxb.001386

大黄灌肠对重症急性胰腺炎患者血清高迁移率族蛋白 B1、PCT、IL-6、TNF-α 的影响

彭　艳[1]，王学虎[2]，周发春[1]，闫　挺[3]

（重庆医科大学附属第一医院 1. 重症医学科；2. 血管外科；3. 肝胆外科，重庆　400016）

【摘　要】目的：观察大黄灌肠对重症急性胰腺炎（severe acute pancreatitis，SAP）患者血清高迁移率族蛋白 B1（high mobility group B1，HMGB1）、降钙素原（procalcitonin，PCT）、白细胞介素-6（interleukin-6，IL-6）、肿瘤坏死因子-α（tumor necrosis factors α，TNF-α）及疾病预后的影响。**方法**：收集 SAP 患者 60 例，随机分为大黄治疗观察组组（大黄灌肠，30 例）和常规治疗对照组（肥皂水灌肠，30 例），分别在入院后第 1、3、5 天动态监测各组患者血清的 HMGB1、PCT、IL-6 与 TNF-α 浓度变化，并观察患者腹痛腹胀缓解时间、排气排便时间、CRRT 时间及 2 组患者的治疗效果。**结果**：治疗当天 2 组患者 HMGB1、PCT、IL-6、TNF-α 水平差异均无统计学意义（P 值分别为 0.535、0.876、0.973、0.419）；不同时间点间各组炎症因子 HMGB1、PCT、IL-6、TNF-α 的变化存在统计学差异（$P<0.01$），并且观察组 HMGB1、IL-6、TNF-α 的水平较对照组低（$P<0.01$），而 PCT 表达差异不存在统计学意义（$P=0.059$）。Δ_{3-1}HMGB1（第 3 天与第 1 天的 HMGB1 差值）与第 3 天急性生理与慢性健康（acute physiology and chronic health evaluation system，APACHE）Ⅱ评分呈明显负相关（$P<0.01$），而 PCT、IL-6、TNF-α 与第 3 天 APACHE Ⅱ评分均无明显相关关系（P 值均大于 0.05）。治疗第 5 天时，急性胰腺炎严重程度床边指数（bedside index for severity in AP，BISAP）观察组明显较对照组低（$P=0.038$）。观察组的腹痛腹胀时间、排气排便时间、CRRT 时间均较对照组短（P 值均小于 0.01）。观察组的总体有效率也明显高于对照组（$P=0.023$）。**结论**：大黄能够有效抑制重症急性胰腺炎患者炎症因子 HMGB1、PCT、IL-6、TNF-α 的表达，降低 BISAP 评分，并且能改善 SAP 患者的症状和转归，而 HMGB1 表达量变化可能与患者预后相关。

【关键词】大黄；重症急性胰腺炎；高迁移率族蛋白 B1；降钙素原；白细胞介素-6；肿瘤坏死因子-α

【中图分类号】R576　　**【文献标志码】**A　　**【收稿日期】**2017-04-07

作者介绍：彭　艳，Email：597769672@qq.com，
研究方向：胰腺疾病。

通信作者：周发春，Email：zfc88@126.com。

基金项目：重庆市卫生与计划生育委员会基金资助项目（编号：ZY20150247）。

优先出版：http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.r.20170630.1132.062.html
（2017-06-30）

[J]. Curr Opin Hematol，2014，21(5)：430-437.

[11] Hitchcock IS，Kaushansky K. Thrombopoietin from beginning to end[J]. British Journal of Haematology，2014，165(2)：259-268.

[12] Svoboda O，Bartunek P. Origins of the vertebrate erythro/megakaryocytic system[J]. BioMed Research International，2015，2015(8)：1-10.

[13] Kuter DJ. The biology of thrombopoietin and thrombopoietin receptor agonists[J]. Int J Hematol，2013，98(7)：10-23.

[14] Vadhan-Raj S，Verschraegen CF，Bueso-Ramos C，et al. Recombinant human thrombopoietin attenuates carboplatin-induced severe thrombocytopenia and the need for platelet transfusions in patients with gynecologic cancer[J]. Ann Intern Med，2000，132(5)：364-368.

[15] Kuter DJ，Bussel JB，Lyons RM，et al. Efficacy of romiplostim in patients with chronic immune thrombocytopenic purpura：a double-blind randomised controlled trial[J]. Lancet，2008，371(9610)：395-403.

[16] Harker LA，Marzec UM，Hunt P，et al. Dose-response effects of pegylated human megakaryocyte growth and development factor on platelet production and function in nonhuman primates[J]. Blood，1996 88(2)：511-521.

[17] Kaushansky K，Lok S，Holly RD，et al. Promotion of megakaryocyte progenitor expansion and differentiation by the c-Mpl ligand thrombopoietin[J]. Nature，1994，369(6)：568-571.

[18] Kaushansky K. Thrombopoietin：More than a lineage-specific megakaryocyte growth factor[J]. Stem Cells，1997，15(s1)：97-103.

[19] Ulich TR，del Castillo J，Yi ES，et al. Hematologic effects of stem cell factor in vivo and in vitro in rodents[J]. Blood，1991，78(3)：645-650.

[20] Buss DH，Stuart JJ，Lipscomb GE，et al. The incidence of thrombotic and hemorrhagic disorders in association with extreme thrombocytosis：an analysis of 129 cases[J]. American Journal of Hematology，1985，20(4)：365-372.

（责任编辑：张辉洁）