

# 原发性免疫性血小板减少症动物模型研究进展

甘加宽, 陈飞宇, 樊憬懿, 任钧国\*, 刘建勋

(中国中医科学院西苑医院基础医学研究所, 中药药理北京市重点实验室, 北京 100091)

**[摘要]** 原发性免疫性血小板减少症(ITP)是一种以血小板减少、伴或不伴皮肤黏膜瘀紫、鼻衄、内脏出血等为特征的自身免疫性疾病, ITP动物模型是深入研究ITP发病机制与治疗方法的主要手段, 在ITP的研究中一直发挥着重要作用。因此, 如何制备与临床接近的动物模型是ITP研究领域的关键问题。目前原发性免疫性血小板减少症动物模型的研究方法众多, 主要有免疫造模、自发免疫模型、转基因造模以及其他造模方法。免疫造模是最常用的方法, 实验用动物主要是小鼠, 常用的注射途径是腹腔注射, 常用的免疫原有抗血小板血清、单克隆/多克隆抗体、血小板等, 自发模型与转基因模型比较少用。此外也有结合中医理论开展病证结合模型的研究, 主要有ITP热盛证模型, ITP肾阴虚证模型, ITP气不摄血证模型等, 为该病的证候研究提供了基础。本文对近些年来ITP疾病、病证结合动物模型的研究进展进行了比较系统的分析与总结, 希望对该疾病的动物模型的进一步研究提供参考。

**[关键词]** 原发性免疫性血小板减少症; 动物模型; 病证结合

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)03-0200-07

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2017030200

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20161118.1311.006.html>

**[网络出版时间]** 2016-11-18 13:11

## Progress in Animal Models of Primary Immune Thrombocytopenia

GAN Jia-kuan, CHEN Fei-yu, FAN Jing-yi, REN Jun-guo\*, LIU Jian-xun

(Institute of Basic Medical Sciences, Xiyuan Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing Key Laboratory of Pharmacology of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100091, China)

**[Abstract]** Primary immune thrombocytopenia (ITP), which characterizes platelets decreasing, the body bleeding, the skin mucous membrane blood stasis and purple, epistaxis, and visceral hemorrhage, is an autoimmune disease. ITP animal model is the main method of studying the pathogenesis and treatment of ITP, and has played an important role in the study of ITP. Therefore, how to create and close to the clinical animal model is the key issue in the field of ITP research. At present, there are many methods to create the animal model of ITP, such as injecting anti-platelet serum or platelet, transgenic models, Spontaneous immune models, transgenic modeling and other modeling methods. Immunological modeling is the most commonly used method, the experimental animals are mainly mice, commonly used injection is intraperitoneal injection, commonly used immunogen anti-platelet serum, monoclonal/polyclonal antibodies, platelets, spontaneous model and transgenic model use less. In addition disease and syndrome combination models with heat syndrome, Kidney yin deficiency syndrome and syndrome of qi failing to control blood. The research progress of ITP in disease models and model of disease and syndrome combination will be summarized and analyzed in this article, and to provide reference for further study of ITP animal models.

**[Key words]** primary immune thrombocytopenia; animal model; combination of disease and syndrome

**[收稿日期]** 20160509(015)

**[基金项目]** 国家重点基础研究发展计划(973计划)项目(2015CB554405)

**[第一作者]** 甘加宽, 在读硕士, 从事中药药理研究, Tel:010-62835612, E-mail:1403497842@qq.com

**[通讯作者]** \*任钧国, 博士, 研究员, 从事中药药理研究, Tel:010-62835612, E-mail:reek2003@163.com

免疫性血小板减少症 (immune thrombocytopenia, ITP) 在 2007 年国际工作组更名为特发性血小板减少性紫癜 (idiopathic thrombocytopenic purpura, ITP), 2011 年国内专家将 ITP 正式更名为“原发性免疫性血小板减少症”<sup>[1]</sup>。ITP 是一种获得性的自身免疫出血性疾病<sup>[2]</sup>, 临床表现主要是血小板计数不同程度的减少、伴或不伴皮肤黏膜出血症状, 严重者出现内脏出血危及生命, 且老年患者出血风险明显较高<sup>[3]</sup>。ITP 发病率在 (5~10)/10 万人口<sup>[4]</sup>, 占出血性疾病的 1/3<sup>[5]</sup>, 男女发病率相近, 在各个年龄阶段均可发病, 一般儿童多为急性型, 成人多为慢性型。儿童发病率较高, 多为上呼吸道感染<sup>[6]</sup>。ITP 的发病机制主要是体液免疫介导的血小板被单核巨噬细胞系统过度破坏以及细胞免疫介导的巨核细胞损伤引发血小板生成抑制<sup>[7-10]</sup>。目前 ITP 的治疗手段主要是应用激素类药物地塞米松等<sup>[11]</sup>及脾脏切除手术<sup>[12]</sup>以及强的松和益气养血活血方结合治疗的中西医结合治疗方法<sup>[13-14]</sup>, 但均非病因的治疗方法。ITP 动物模型是深入研究 ITP 发病机制与治疗方法的主要手段, 在 ITP 的研究中一直发挥着重要作用。因此, 如何制备与临床接近的动物模型是目前 ITP 研究领域的关键问题。本文对近些年来 ITP 疾病、病证结合动物模型的研究进展进行了比较系统的分析与总结, 希望对该疾病的动物模型的进一步研究提供参考。

## 1 ITP 疾病动物模型

早期研究 ITP 时多用化学试剂灌服或者腹腔注射的方法, 来探索 ITP 的发病机制及治疗方法, 化学试剂主要有马利兰、环磷酰胺等<sup>[15]</sup>。化学造模原理是通过抑制动物骨髓造血干细胞增殖分化, 导致骨髓巨核细胞减少, 使外周血血小板减少。但此模型会出现再生障碍性贫血, 放疗骨髓损伤等病症, 影响实验结果, 方法简单, 复制出的动物模型不能表现 ITP 临床特征。还有通过照射<sup>60</sup>Co 放射线, 造成血小板减少动物模型。但此模型只表现为短暂的骨髓抑制反应, 且能一定程度的自我恢复, 研究结果影响较大。自 20 世纪开始, 随着免疫学的发展, 人们发现 ITP 是一种 II 型超敏反应型免疫性疾病, 血小板上的自身抗原诱生免疫球蛋白 G (immunoglobulin G, IgG) 或免疫球蛋白 M (immunoglobulin M, IgM) 抗体, 这些抗体可调理血小板使之在脾内被吞噬清除, 引起血小板减少性紫癜。随后的造模方法主要是以免疫性造模为主, 本文进行了多种方法的探讨与研究, 主要有免疫造模、自发免疫模型、转基因造

模以及其他造模方法。

**1.1 人工免疫 ITP 模型** 免疫造模即是将外源性抗体或抗原注射入受体动物体内, 导致血小板减少, 同时抑制骨髓代偿性增生。此方法符合 ITP 自身免疫的发病机制, 造模方式简单, 重复性好, 成本低。该方法主要包括抗血小板血清 (antiplatelet serum, APS) 造模<sup>[16]</sup>、单克隆抗体造模以及注射血小板造模。

APS 造模最早出现在 20 世纪初, LeSourd 等开始用注射 APS 造模, 复制了骨髓中巨核细胞数量增加的血小板减少性模型, 开始研究巨核细胞与血小板数量减少之间联系。到了 1951 年, Harrington 给正常人注射 ITP 患者血浆, 出现血小板减少, 表明 ITP 是由抗血小板因子引起的血小板减少。1980 年之后, 基本上用纯系 Balb/C 小鼠造模, 随着同位素标记技术、骨髓和脾巨核细胞培养技术的发展应用, 使人们对血小板的调节因素及其与巨核细胞之间的相互作用有了新的认识。用 I 标记的葡萄球菌蛋白 A 来测定血小板相关抗体 (platelet associated, PA) IgG 以及用 In 标记血小板来测定血小板寿命, 都证明了 APS 免疫造模骨髓中巨核细胞数目增多, PAIgG 分泌增高、血小板寿命减少等特性与 ITP 临床表现一致<sup>[17]</sup>。对于 APS 免疫造模, 国内有些学者<sup>[18]</sup>也探索了最佳造模时间, 发现造模 27 d 隔日注射 1:4 稀释的抗血清 (APS), 发现血小板数量降低明显, 脾等脏器系数均较正常组增大, 且脑及肝有散在出血点, 说明造模是可行的, 并且模型中脾脏功能破坏, 出现了出血症状。目前, 此方法认可度高, 杨晓红等<sup>[19]</sup>人通过注射 APS 造成小鼠 ITP 模型, 检验临床经验方益气通阳汤治疗效果, 结果显示治疗前后的血小板及免疫功能的改善。但不足是, 在停止注射 APS 后模型组的小鼠外周血小板低水平仍不能长期维持, 不能完全符合临床上 ITP 长期慢性出血症状。

注射单克隆/多克隆抗体造模方法也是 ITP 造模常用的方法<sup>[20]</sup>, SONG 等<sup>[21]</sup>通过腹腔注射重症联合免疫缺陷 (SCID) 小鼠抗 GP- II b 抗体 MWReg30 成功复制出小鼠外周血小板减少的 ITP 模型, 该模型基本符合临床病理反应。Crow 等<sup>[22]</sup>人又给 SCID 小鼠不同品系腹腔注射了兔抗鼠 GP- II b 抗体, 结果发现, SCID 所有品系的小鼠均出现了小板减少, 证实了注射单克隆/多克隆抗体造模方法可操作性。

注射血小板造模出现的时间比较晚。2004 年 Musaji 等<sup>[23]</sup>通过对不同品系小鼠注射 Wistar 大鼠血小板成功制备了 ITP 模型, 主要方法是第 1 周注射  $0.5 \times 10^8$  个血小板, 之后每周注射  $0.5 \times 10^8$  个

血小板,连续 4 周。结果发现 CBA/Ht 小鼠的血小板下降的最为明显,其他品系的小鼠没有出现血小板减少。国内有些学者也采用该方法制备了 ITP 模型<sup>[24]</sup>。该方法的主要在于完全模拟了 ITP 形成的整个免疫学过程,对于深入研究 ITP 的发病机制提供了非常合适的模型,但与上述两种方法存在同样的问题,就是注射血小板第 4 周后血小板会出现上升<sup>[25]</sup>。

此外,亦有文献报道通过射线辐射将 ITP 患者的脾脏 T 细胞嵌和到 BALB/C 小鼠体内,使小鼠产生人的抗血小板抗体,从而制作出小鼠 ITP 模型<sup>[26]</sup>。且 Chow 等<sup>[27]</sup>在 CD61<sup>+</sup>SCID 小鼠进行了验证。Freeman 等<sup>[28]</sup>研究发现小鼠感染鼠  $\Gamma$  疱疹病毒-68 (GHV68),可诱导产生与血小板结合的抗体并引起血小板减少症,表明  $\Gamma$  疱疹病毒感染可诱发自身免疫性血小板减少症,并证明这种病变是由抗体介导并依赖于病毒的潜伏期。

**1.2 自发性 ITP 模型** 自发性免疫造模是动物的自身免疫系统异常产生致病性抗体。这种免疫反应大多是自发的,也可通过抗原刺激产生。Mizutani 等<sup>[29]</sup>人发现在有迟发红斑狼疮倾向的 F 雌性小鼠成年后逐渐出现血小板减少、巨核细胞增多等体征,血小板 IgG 升高,血小板寿命缩短,均符合 ITP 临床表现。杜

茜等人在临床上也证实了系统性红斑狼疮与免疫性血小板减少症的联系<sup>[30]</sup>。但此模型伴有狼疮肾及心肌梗死等其他病症,且存在多种自身抗体,表现出多种自身免疫病,干扰因素多,不利于 ITP 机制研究。

**1.3 转基因 ITP 模型** Mckenzie 等<sup>[31]</sup>最先从基因转录造模入手,将人类 Fc $\gamma$ R II a 基因转入自发性自身免疫型 ITP 模型中 (W/BF1)<sup>[32]</sup>,雄性 BXSB 鼠与雌性 NZW 鼠交配后,雄性 F1 出现了血小板自身抗体免疫性血小板减少症。Mckenzie<sup>[33]</sup>还将 FcR II A 转基因鼠与 FcR 敲除小鼠进行交配,在 FcR I 及 FcR III 缺失下出现了明显的血小板减少,说明了 FcR II A 能够在体内免疫清除掉血小板。转基因小鼠模型中比较成功的是 Fc $\gamma$ R II a 转基因小鼠模型。给予 Fc $\gamma$ R II a 转基因小鼠注射血小板抗体后也出现了明显的血小板减少,与临床 ITP 一致,且敲除 FcR $\gamma$ -链后,出现明显的免疫性血小板减少症<sup>[34]</sup>,说明 Fc $\gamma$ R II a 基因在鼠类免疫性血小板减少症的模型中起着关键作用<sup>[35-36]</sup>。转基因造模虽一定程度上模拟了人的免疫性血小板减少症的临床表现,但缺陷是小鼠和人类的 FcR $\gamma$ -受体的组成差别较大<sup>[37]</sup>,并且小鼠没有 Fc $\gamma$ R II a 基因。故转基因造模存在非本源问题,能否真实表现 ITP 临床症状与机制有待考证。

表 1 ITP 动物模型的制备方法及原理

Table 1 Preparation methods and principle of several animal model of ITP

造模方法	造模动物	制备方法	造模原理	参考文献
化学试剂造模	小鼠	灌服马利兰、环磷酰胺	抑制动物骨髓造血干细胞增殖分化,导致骨髓巨核细胞减少,使外周血血小板减少	[15]
射线造模	小鼠	照射 <sup>60</sup> Co 放射线	短暂的骨髓抑制反应,造成血小板减少	[15]
人工免疫造模	Balb/C 小鼠	注射抗血小板血清 (APS) 造模	抗血小板血清与血小板结合产生抗体依赖的细胞毒反应,导致血小板减少	[16-19]
人工免疫造模	SCID 小鼠	腹腔注射 SCID 小鼠抗 GP-II b 抗体 MWReg30	抗血小板抗体与血小板结合产生抗体依赖的细胞毒反应,导致血小板减少	[20-22]
人工免疫造模	CBA/HT 小鼠	注射 Wistar 大鼠血小板造模	血小板作为异源抗原,产生免疫应答,通过体液免疫与细胞免疫导致血小板下降	[23-25]
人工免疫造模	Balb/C 小鼠	将 ITP 患者的脾脏 T 细胞通过辐射嵌和到 Balb/C 小鼠体内	使小鼠产生人的抗血小板抗体,产生抗体依赖的细胞毒反应,导致血小板减少	[26-27]
人工免疫造模	小鼠	小鼠感染 $\gamma$ 疱疹病毒-68 ( $\gamma$ HV68) 的诱导产生与血小板结合的抗体并引起血小板减少	病毒感染引发小鼠体液免疫异常,导致血小板减少	[28]
自发免疫造模	有迟发红斑狼疮倾向的 F 雌性小鼠	成年后逐渐出现血小板减少、巨核细胞增多等体征	动物自身免疫系统异常产生多种致病性抗体,其中产生的抗血小板抗体,引发血小板减少	[29-30]
自发免疫造模	雄性 BXSB 鼠与雌性 NZW 鼠	交配后,雄性 F1 (W/BF1)	动物自身免疫系统异常,随年龄增长,血小板数量显著降低	[32]
转基因造模	雄性 BX SB 鼠与雌性 NZW 鼠	将人类 Fc $\gamma$ R II a 基因转入自发性自身免疫型 ITP 模型中 (W/BF1)	Fc $\gamma$ R II a 基因是抗体的主要部分,导致抗体产生,出现血小板减少	[31]
转基因造模	FcR II a 转基因鼠与 FcR 敲除小鼠	进行交配	FcR II a 能够导致抗体产生,减少血小板	[33-35] [36-37]

综上,通过注射马利兰的化学试剂方法 ITP 形

成病因来说并不符合临床,而且化学试剂造成的模

型并不能长时期的维持血小板减少性模型,故现在不常用。而通过辐射造模属骨髓损伤导致的各系统增生普遍偏低的模型,仅仅是暂时的骨髓抑制,并且有一定的自我恢复性,影响研究 ITP 疾病的形成原因及生理病理变化。这两种造模方法不符合 ITP 临床的发病机制,故已很少用作 ITP 发病机制的研究。而转基因造模问题是小鼠的 Fc $\gamma$ R 受体的组成和人类不同,小鼠没有 Fc $\gamma$ R II a 基因,故转基因造模存在非本源问题,不能够真切地表现 ITP 临床症状,故不能够很好的用作 ITP 模型及机制研究。而对于免疫介导的方式制作 ITP 动物模型,伴随着 ITP 免疫学,生理基础变化研究进展,更能说明 ITP 的发病机制。通过采用腹腔注射外源性抗体,导致骨髓巨核细胞增生,血小板减少,且血小板寿命缩短等,机制基本符合 ITP 的临床特点。但也存在问题,不能很好的表现 ITP 临床上慢性病的特点,血小板低水平在给药后 3 d 恢复正常,并非是病情难愈的特点。而对于自身免疫造模,目前大多是其他疾病发展过程中带有血小板减少,寿命缩短等体征,但由于携带抗体较多,不利于 ITP 疾病机制探索,故不常用。

## 2 ITP 病证结合动物模型

中医对 ITP 病症的认识多归于血证,《灵枢·百病始生》<sup>[38]</sup>篇曰:“卒然多饮食,则肠满,起居不节,用力过度,则络脉伤,阳络伤则血外溢,……阴络伤则血内溢……”。说明了饮食、劳倦等因素使络脉损伤从而引起出血症状。对于 ITP 病因病机的研究近年来主要是脏腑阴阳气血之间的辩证,中医理论认为肝藏血脾统血肾为全身阴阳之根本。无血则气无以化,无气则血无以生,故 ITP 的形成可能原因是气虚无以摄血。从虚实理论考虑,ITP 病因又有“虚”、“实”、“虚实夹杂”3 个方面:虚证主要表现为气虚、阴虚及脾肾亏虚。实证主要表现为血热、血瘀、肝郁。ITP 病程全过程都伴有血瘀,是 ITP 病势迁延难愈的重要因素。而虚实并存则认为 ITP 是气虚、血虚、阴虚、阳虚、气阴两虚、脾虚、脾肾亏虚等本虚,同时又有标实为血热、血瘀、肝郁等。随着疾病的迁延变化,虚实之间常常发生转化。章亚成则认为 ITP 疾病是先由急性期血热妄行,转而阴虚,再到阳虚,最终阴阳两虚,发展成慢性 ITP<sup>[39]</sup>。中医治疗原发免疫性血小板减少症已取得了良好的疗效,在以后的研究中,在现代医学建立 ITP 模型中加入中医对血证的病因病机认识,制作出 ITP 病症结合模型,将会促进 ITP 的疾病发生机制研究,以及中药治疗 ITP 的机制研究。目前,有关 ITP 证候动物模型

的研究比较少,主要有 ITP 热盛证模型,ITP 肾阴虚证模型,ITP 气不摄血证模型等。

**2.1 ITP 热盛证模型** 目前,中西医结合造模方法还处在起步阶段,某些疾病很难兼顾疾病病理特征与中医证候特点。ITP 目前用于病症结合造模也存在 2 个技术难关,(1)所用方法是否符合 ITP 病理特点;(2)所用模型能否展现 ITP 的中医热盛证型<sup>[40]</sup>。

热邪是中医临床出血常见的病因之一,热盛证是 ITP 患者常见的中医证候,热灼脉络,迫血妄行是 ITP 热盛证的基本病机<sup>[41-42]</sup>。建立一种比较理想的原发免疫性血小板减少性紫癜热盛证模型,有助于进一步探索 ITP 中医证型的病理本质。良好的致热源是 ITP 大鼠呈现热盛证的关键,左泽平等<sup>[43]</sup>通过实验比较不同浓度的大鼠干酵母、脂多糖、细菌内毒素制作热盛证模型,结果显示 20% 干酵母菌悬液可以使大鼠体温持续升温且发热稳定。因此可以作为 ITP 热盛证模型良好的致热源。郜新莲等<sup>[44]</sup>通过皮下注射酵母菌结合腹腔注射细菌内毒素制作出大鼠血热出血模型,但由于该模型没有引起大鼠外周血血小板的减低。故与 ITP 的病理特点不尽相符。而对于中医证候热盛血瘀证引起 ITP,聂甜等<sup>[45]</sup>人从免疫抗血小板抗体与细菌感染产生炎症建立同时符合中医“热盛证”和原发免疫性血小板减少性紫癜外周血血小板减少的大鼠模型。用大鼠背部多点注射 20% 干酵母菌悬液和腹腔注射 1:4 稀释的兔抗大鼠血小板血清(APS),模型组出现足趾紫癜和肠道黏膜出血,外周血象中血小板数显著降低,骨髓象巨核细胞数显著减少等表现了 ITP 血小板减少、出血、皮肤黏膜瘀紫等病理特点,也有炎症反应及发热等热盛证特点,故很好的制备了 ITP 热盛证模型。

**2.2 ITP 肾阴虚证模型** 临床上 ITP 辩证的难点是肾阴虚还是肾阳虚<sup>[46]</sup>,故在小动物身上可以从肾阴虚模型方面切入。有文献记载,ITP 患者普遍表现甲状腺激素水平升高<sup>[47]</sup>,糖皮质激素水平升高<sup>[48]</sup>,血清雌激素水平增高<sup>[49]</sup>,故可以从注射甲状腺激素,肾上腺皮质激素,雌激素结合 ITP 现有免疫途径造模,比较出比较完备的 ITP 肾阴虚模型。杨宇飞等<sup>[50]</sup>通过比较选择了口服甲状腺激素片结合 ITP 疾病模型小鼠来建立 ITP 肾阴虚病症结合模型,结果显示既有血小板减少等 ITP 模型特点,又有血清三碘甲状腺原氨酸增高,睾酮、皮质醇、雌二醇水平升高,体温升高等肾阴虚模型特点,又用了滋肾阴方治疗疾病及助肾阳方反证了肾阴虚的病症,表明 ITP 肾阴虚小鼠病证结合模型的可行性。但略有

牵强,甲状腺激素结合免疫途径是否是同时影响模型,还有待研究。但赵京京,张国香等人也提到在治疗 ITP 有用注射糖皮质激素,反证了 ITP 与肾阴虚证的联系<sup>[51-54]</sup>。

**2.3 ITP 气不摄血证模型** 现代学者对于 ITP 脾不统血病证结合模型研究甚少,主要是气不摄血证属慢性病证候,气不摄血证的病因不够明确规范化,疾病机制的研究不够深入。总括现有脾虚证动物模型的造模方法主要是中医病因法:其一,饮食失调法,依据《素问·痹论》之“饮食自倍,肠胃乃伤”,如饥饱不匀或过食肥甘厚腻;其二,劳倦耗气法,依据《脾胃论》之“劳倦伤脾”,如过度游泳,疲劳仪训练跑步;其三,苦寒泻下法,依据《脾胃论》之“苦寒之药损伤其脾胃”,如大黄、番泻叶、大小承气汤;其四,制造肝郁法,肝气过旺,克制脾土过度,耗伤脾气

而致脾虚;其五,通过外部环境,依据《素问·至真要大论》“诸湿肿满,皆属于脾”,如冷水湿身,久居潮湿之地等;其六,食醋灌胃法,依据《素问·生气通天论》之“胃过于酸,肝气以津,脾气乃绝”。而目前研究的病证结合模型大多是用饮食失节,泻下,劳倦等复制脾气虚的模型入手。刘宏潇等<sup>[55]</sup>采用隔日注射豚鼠抗小鼠血小板血清,每天灌胃番泻叶水浸剂造模,通过免疫法制作 ITP 模型,再结合苦寒泻下法造模,结果显示,模型组有毛色枯槁、饮食饮水量减少、消瘦等脾虚症状,以及皮下紫癜症状。且模型组的小血小板较正常组明显降低,骨髓巨核细胞明显增多。表明该模型没有改变 ITP 疾病模型的关键指标,也未影响血小板减少造模法的主要特点,方法可行。但问题在于造模 1 周后出现血小板回升至正常,不能很好的表现 ITP 的病理特征。

表 2 ITP 病证结合动物模型的制备方法及原理

Table 2 Preparation methods and principle of several disease and syndrome combination animal model of ITP

模型类别	造模动物	制备方法	造模原理	参考文献
ITP 热盛证模型	大鼠	20% 干酵母菌悬液	使大鼠体温持续升温且发热稳定,出现热盛证	[43]
ITP 热盛证模型	大鼠	皮下注射酵母菌结合腹腔注射细菌内毒素	酵母菌与内毒素联合应用可使大鼠发热、出血	[44]
ITP 热盛证模型	大鼠	大鼠背部多点注射 20% 干酵母菌悬液和腹腔注射 1:4 稀释的兔抗大鼠 APS	干酵母菌产生热盛证,注射 APS 产生血小板减少	[45]
ITP 肾阴虚证模型	小鼠	口服甲状腺激素片结合 ITP 疾病模型	甲状腺激素诱导肾阴虚证,注射 APS 产生血小板减少	[46-54]
ITP 气不摄血证模型	Balb/C 小鼠	隔日注射豚鼠抗小鼠血小板血清,每天灌胃番泻叶水浸剂造模	注射 APS 产生血小板减少,苦寒泻下产生气虚证	[55]

### 3 总结

综上所述,目前研究 ITP 造模还局限于症状的模拟相似,而且已有文献记载的模型的血小板大都在 3 周内恢复,故研究 ITP 模型与临床病因一致是研究 ITP 疾病的难点,同时仍存在一些其他问题:① ITP 动物模型均是在一定实验条件下,针对某单方面因素建立起来的,不能全面反映 ITP 感染、免疫、遗传等特点;②不同的 ITP 动物模型,其发病机制和病理特点的异同有待进一步阐释;③病证结合动物模型不够完善,各家的辨证分型不统一,缺少一个规范的诊断标准,证候的生物学基础研究不够深入。

目前,大量研究发现免疫性血小板减少症患者 HP 的检测大多是阳性,且通过对幽门螺杆菌的治疗也是临床治疗 ITP 的方法之一<sup>[56-61]</sup>,有研究报道幽门螺杆菌感染是一种倾向于 Th1 类细胞漂移的细胞免疫反应<sup>[62]</sup>。故是否可以在 ITP 造模中增加幽门螺杆菌的感染,值得进一步研究。因此,探索一种能

比较符合 ITP 临床特点的动物模型仍是今后的重中之重。

#### [参考文献]

[1] 中华医学会血液分会血栓与止血学组. 成人原发免疫性血小板减少症诊治的中国专家共识(修订版)[J]. 中华血液学杂志, 2011, 32(3): 214-216.

[2] Kuwana M, Okazaki Y, Ikeda Y. Detection of circulating B cells producing anti-GPIb autoantibodies in patients with immune thrombocytopenia[J]. PLoS One, 2014, 9(1): e86943.

[3] Memillan R. The role of antiplatelet autoantibody assays in the diagnosis of immune thrombocytopenic purpura [J]. Curr Hematol Rep, 2005, 4(2): 160-165.

[4] Provan D, Stasi R, Newland A C, et al. International consensus report on the investigation and management of primary immune thrombocytopenia [J]. Blood, 2010, 115(2): 168-186.

[5] 张莉, 钱樱, 程澎, 等. 难治性免疫性血小板减少性紫癜不同治疗方法的疗效比较[J]. 中国临床医学, 2008, 15(4): 522-523.

- [6] 段彦龙,吴润晖,吴敏媛,等. 儿童特发性血小板减少性紫癜与前驱病史的临床分析[J]. 血栓与止血学, 2010,15(4):164-166.
- [7] Ghanima W, Geyer J T, Lee C S, et al. Bone marrow fibrosis in 66 patients with immune thrombocytopenia treated with thrombopoietin-receptor agonists: a single-center, long-term follow-up[J]. *Haematologica*, 2014, 99(5): 937-944.
- [8] CUI G, LIU X, YAO J. The effect of costimulatory factors in the pathogenesis of chronic idiopathic thrombocytopenic purpura[J]. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci*, 2003, 23(4): 352-355.
- [9] 马肖容,陈银霞,张王刚,等. 特发性血小板减少性紫癜患者外周血共刺激分子的表达及与血小板抗体关系的临床研究[J]. 中国实验血液学杂志, 2009, 17(2): 483-486.
- [10] Mahevas M, Patin P, Huetz F, et al. B cell depletion in immune thrombocytopenia reveals splenic long-lived plasma cells [J]. *J Clin Invest*, 2013, 123(1): 432-442.
- [11] ZHAN Y, HUA F, JI L, et al. Polymorphisms of the IL-23R gene are associated with primary immune thrombocytopenia but not with the clinical outcome of pulsed high-dose dexamethasone therapy [J]. *Ann Hematol*, 2013, 92(8): 1057-1062.
- [12] Vianelli N, Palandri F, Polverelli N, et al. Splenectomy as a curative treatment for immune thrombocytopenia: a retrospective analysis of 233 patients with a minimum follow up of 10 years [J]. *Haematologica*, 2013, 98(6): 875-880.
- [13] 胡明辉,朱立伟,周永明,等. 中西医结合治疗阴虚血热型特发性血小板减少性紫癜临床观察[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(6): 72-74.
- [14] 唐瑛,孙嘉斌,刘永,等. 中西医结合治疗难治性血小板减少症[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(8): 173-176.
- [15] 杨宇飞,周霭祥,麻柔. 免疫性血小板减少性紫癜动物模型的建立[J]. 中华血液学杂志, 1994, 27(3): 160-161.
- [16] Stenberg P E, Levin J, Corash L. Sustained thrombocytopenia in mice: serial studies of megakaryocytes and platelet [J]. *Exp Hematol*, 1990, 18(2): 124-132.
- [17] Carpenter D, Yee T. Megakaryocytopenia in W/W<sup>v</sup> mice is accompanied by an increase in size with in ploidy groups and acceleration of maturation [J]. *Blood*, 1989, 74(1): 94-98.
- [18] 富琦,范颖,王家辉,等. 免疫性血小板减少性紫癜病证结合动物模型建立与评价[J]. 中国中医基础医学杂志, 2004, 10(2): 30-32.
- [19] 杨晓红,苏根元,许勇钢,等. 益气通阳汤对血小板减少性紫癜小鼠模型的作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(14): 148-151.
- [20] Imbach P, Barandun S, d'Apuzzo V, et al. High-dose intravenous gammaglobulin for idiopathic thrombocytopenic purpura in childhood [J]. *Lancet*, 1981, 1(8232): 1228-1231.
- [21] SONG S, Crow A R, Freedman J, et al. Monoclonal IgG can ameliorate immune thrombocytopenia in a murine model of ITP: an alternative to IVIG [J]. *Blood*, 2003, 101(9): 3708-3713.
- [22] Crow A R, Song S, Semple J W, et al. IVIg inhibits reticuloendothelial system function and ameliorates murine passive-immune thrombocytopenia independent of anti-idiotypic reactivity [J]. *Br J Haematol*, 2001, 115(3): 679-686.
- [23] Musaji A, Vanhoorelbeke K, Deckmyn H, et al. New model of transient strain-dependent autoimmune thrombocytopenia in mice immunized with rat platelets [J]. *Experimental Hematology*, 2004, 32(1): 87-94.
- [24] 陈朴,季丽莉,程韵枫,等. 抗原模拟法构建的免疫性血小板减少症小鼠模型中巨核细胞形态学及超微结构的研究[J]. 中国临床医学, 2013, 20(4): 437-439.
- [25] ZAHGN A, NING B, SUN N, et al. Indirubin increases CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Foxp3<sup>+</sup> Regulatory T cells to prevent immune thrombocytopenia in mice [J]. *PLoS One*, 2015, 10(11): e0142634.
- [26] Dekel B, Marcus H, Shenkman B, et al. Human/BALB radiation chimera engrafted with splenocytes from patients with idiopathic thrombocytopenic purpura produce human platelet antibodies [J]. *Immunology*, 1998, 94(3): 410-416.
- [27] Chow L, Aslam R, Speck E R, et al. A murine model of severe immune thrombocytopenia is induced by antibody- and CD8<sup>+</sup> T cell<sup>-</sup> mediated responses that are differentially sensitive to therapy [J]. *Blood*, 2010, 115(6): 1247-1253.
- [28] Freeman M L, Burkum C E, Lanzer K G, et al. Gammaherpesvirus latency induces antibody-associated thrombocytopenia in mice [J]. *J Autoimmune*, 2013, 42(5): 71-79.
- [29] Mizutani H, Engelman R W, Kurata Y, et al. Derelopment and characterization of monoclonal antiplatelet autoantibodies from autoimmune thrombocytopenic purpura-prone (NZW x BXSB) F1 mice [J]. *Blood*, 1993, 82(3): 837-844.
- [30] 杜茜,孙志强. 系统性红斑狼疮误诊为免疫性血小板减少症1例分析[J]. 现代医药卫生, 2016, 32(7): 1119-1120.
- [31] Mckenzie S E, Taylor S M, Malladi P, et al. The role of the human Fc receptor/FcγR II A in the immune clearance of platelets a transgenic mouse model [J].

- Immunol, 1999, 162(7): 4311-4318.
- [32] Kasono K, Nishida J, Tamemoto H, et al. Thiazolidinediones increase the number of platelets in immune thrombocytopenic purpura mice via inhibition of phagocytic activity of the reticulo-endothelial system [J]. *Life Sci*, 2002, 71(17): 2037-2052.
- [33] McKenzie S E. Humanized mouse models of FcR clearance in immune platelet disorders [J]. *Blood Rev*, 2002, 16(1): 3-5.
- [34] Crow A R, SONG S, Freedman J, et al. IV Ig-mediated amelioration of murine ITP via FcR II B is independent of SHIP1, SHP-1, and Btk activity [J]. *Blood*, 2003, 102(2): 558-560.
- [35] Teeling J L, Jansen-Hendriks T, Kuijpers T W, et al. Therapeutic efficacy of intravenous immunoglobulin preparations depends on the immunoglobulin G dimers studies in experimental immune thrombocytopenia [J]. *Blood*, 2001, 98(4): 1095-1099.
- [36] Karassa F B, Trikalinos T A, Ioannidis J P. The role of FcγR II A and III polymorphisms in autoimmune diseases [J]. *Biomed Pharmacother*, 2004, 58(5): 286-291.
- [37] 张爱军, 侯明. 免疫性血小板减少性紫癜动物模型的研究进展 [J]. *中国实验血液学杂志*, 2006, 14(3): 623-626.
- [38] 龙伯坚, 龙式昭. 《黄帝内经·灵枢》[M]. 天津: 天津科学技术出版社, 2004: 1945.
- [39] 王冲, 沈群, 季建敏. 章亚成运用益气养阴和血法治疗难治性免疫性血小板减少症经验 [J]. *中医学报*, 2012, 27(10): 1283-1285.
- [40] 付澄洲. 寒热治则浅议 [C]. 北京: 中华中医药学会中医内科学术论坛, 2013: 517-520.
- [41] 张权, 王樱. 中医药治疗特发性血小板减少性紫癜概况及展望 [J]. *辽宁中医药大学学报*, 2014, 16(4): 247-249.
- [42] 全日城, 麻柔. 麻柔辨证施治慢性免疫性血小板减少性紫癜经验 [J]. *北京中医药*, 2010, 29(4): 260-261.
- [43] 左泽平, 王志斌, 郭玉东, 等. 常用大鼠发热模型研究 [J]. *中国比较医学杂志*, 2012, 22(2): 52-57.
- [44] 郜新莲, 段红福, 崔璞, 等. 血热出血模型大鼠血清中鲜地黄高效液相色谱分析 [J]. *中医学报*, 2011, 26(9): 1067-1069.
- [45] 聂甜, 蒋文明, 彭素娟, 等. 大鼠原发免疫性血小板减少性紫癜热盛模型的建立与评价 [J]. *中国比较医学杂志*, 2015, 25(5): 13-19.
- [46] 杨宇飞, 周霭祥. 麻柔. 特发性血小板减少性紫癜中医研究进展 [J]. *中国中西医结合杂志*, 1994, 14(11): 699-702.
- [47] 曹庆学, 刘星, 刘建滨. 原发性血小板减少性紫癜的甲状腺激素变化及临床意义 [J]. *中华内科杂志*, 1990, 29(12): 745-746.
- [48] 李南夷, 唐众瑞, 杨嗣明. 方锁阳冲剂治疗激素依赖性原发性血小板减少性紫癜 28 例临床观察 [J]. *湖南中医学院学报*, 1989, 9(4): 181-184.
- [49] 曹庆学, 刘建滨, 刘竹珍, 等. 特发性血小板减少性紫癜血清雌激素的变化 [J]. *中华血液学杂志*, 1992, 13(2): 88-90.
- [50] 杨宇飞, 许永钢, 周霭祥, 等. 免疫性血小板减少性紫癜病证结合肾阴虚动物模型的建立 [J]. *中国中西医结合杂志*, 1998, 18: 191-194.
- [51] 赵京京, 陶洁. 成人原发免疫性血小板减少症的治疗新进展 [J]. *中国医药指南*, 2014, 12(14): 387-388.
- [52] 张国香, 魏武, 申徐良, 等. 三种糖皮质激素方案治疗成人原发免疫性血小板减少症的疗效比较 [J]. *长治医学院学报*, 2014, 28(4): 275-277.
- [53] 李冰, 黄鹏程, 司艳辉. 糖皮质激素联合白细胞介素-11 治疗原发免疫性血小板减少症的疗效分析 [J]. *北方药学*, 2016, 13(4): 76.
- [54] 李双月, 裴仁治, 张丕胜, 等. 幽门螺杆菌对原发免疫性血小板减少症患者 T 淋巴细胞凋亡的影响 [J]. *临床血液学杂志*, 2013, 26(9): 600-605.
- [55] 刘宏潇, 张雅丽, 田维毅, 等. 特发性血小板减少性紫癜脾不统血证动物模型建立 [J]. *辽宁中医杂志*, 2002, 29(9): 571-572.
- [56] 张励, 马茉娇, 刘小宇. 幽门螺旋杆菌感染与 ITP 的相关性研究 [J]. *临床军医杂志*, 2011, 39(6): 1272-1273.
- [57] 高敬国. (14)C-尿素呼气试验评价 Hp 相关性 ITP 患者治疗临床研究 [J]. *医学信息*, 2010, 5(7): 1752-1753.
- [58] 吴明明, 梁高飞, 孙智慧. 联用免疫疗法和根除幽门螺杆菌疗法治疗儿童特发性血小板减少性紫癜的效果研究 [J]. *当代医药论丛*, 2015, 13(13): 5-7.
- [59] 张琼. 特发性血小板减少性紫癜并发幽门螺杆菌感染患者治疗效果观察 [J]. *临床合理用药杂志*, 2015, 8(19): 43-44.
- [60] 夏永寿, 张涛, 梁蓉, 等. 糖皮质激素联合重组人促血小板生成素治疗重症 ITP 的疗效 [J]. *临床血液学杂志*, 2015, 28(11): 954-956.
- [61] Franchini M, Cruciani M, Mengoli C, et al. Effect of *Helicobacter pylori* eradication on platelet count in idiopathic thrombocytopenic purpura: a systematic review and meta-analysis [J]. *J Antimicrob Chemother*, 2007, 60(2): 237-246.
- [62] Michel M, Kellaf M, Desforges L, et al. Autoimmune thrombocytopenic purpura and *Helicobacter pylori* infection [J]. *Arch Intern Med*, 2002, 162(9): 1033-1036.

[责任编辑 周冰冰]