

流式微球芯片俘获技术对免疫性血小板减少症患者抗体的检测及临床意义

张小侠¹, 曾庆曙², 李庆生², 钱伟¹, 杨明珍¹

摘要 **目的** 使用流式微球检测法测定免疫性血小板减少症(ITP)患者自身抗体的表达,探索该方法在诊断ITP患者中的临床意义,并探究血小板特异性自身抗体的种类与临床用药疗效之间的关系。**方法** 对81例ITP患者的抗血小板膜糖蛋白Ⅰb(GPⅠb)抗体、抗血小板膜糖蛋白Ⅱb/Ⅲa(GPⅡb/Ⅲa)抗体表达使用流式微球芯片俘获技术(FICBA)进行检测,将其中71例结果与使用单克隆抗体俘获特异性血小板抗原(MAIPA)法得出的实验结果进行比较。ITP患者分为激素治疗组和重组人血小板生成素(rhTPO)治疗组,两组患者分别为49、28例,其他为4例。另外,依据临床疗效分为有效组和无效组。**结果** ① FICBA法检测结果:抗GPⅠb抗体阳性患者和抗GPⅡb/Ⅲa抗体阳性患者分别为30、29例,阳性率分别为42.25%、40.85%,两种抗体联合检测阳性患者42例,总阳性率59.15%。② MAIPA法检测结果:抗GPⅠb抗体阳性患者和抗GPⅡb/Ⅲa抗体阳性患者分别为19、22例,阳性率分别为26.76%、30.99%,两种抗体联合检测阳性患者33例,总阳性率46.48%。③ 比较FICBA法和MAIPA法的实验结果,差异无统计学意义($P > 0.05$)。④ 对采用激素治疗的49例患者,使用FICBA法检测其抗体表达水平,结果显示抗GPⅠb抗体阳性患者和抗GPⅠb抗体阴性患者分别为19、30例,治疗后的有效率分别为42.11%、73.33%,差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 在血小板特异性自身抗体检测方面,相较于MAIPA法,FICBA法更方便快捷,其敏感度差异无统计学意义,这对ITP患者的临床诊断具有重要的意义。使用糖皮质激素治疗效果不明显的影响因素之一可能是抗GPⅠb抗体阳性。

关键词 免疫性血小板减少症;流式微球法;血小板特异性自身抗体

中图分类号 R 558.2

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2021)02-0311-05

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2021.02.026

2020-09-20 接收

基金项目:安徽省2017年度第一批科技计划项目(编号:1704a0802166);安徽省自然科学基金(编号:1808085MH299)

作者单位:¹安徽医科大学第四附属医院血液内科,合肥 230022

²安徽医科大学第一附属医院血液内科,合肥 230022

作者简介:张小侠,女,硕士研究生;

杨明珍,男,教授,主任医师,博士生导师,责任作者,E-mail: yangmz89@163.com

免疫性血小板减少症(imune thrombocytopenia, ITP)的临床特征主要为皮肤黏膜出血、血小板计数减少、巨核细胞增加且成熟障碍^[1-2]。ITP的发病机制主要是机体的体液免疫发生异常,导致机体产生血小板特异性自身抗体,引发血小板发生破坏^[3]。常见的抗体为抗血小板膜糖蛋白(glycoprotein, GP)Ⅱb/Ⅲa和抗GPⅠb抗体。现阶段,一般使用单克隆抗体俘获特异性血小板抗原技术(monoclonal antibody immobilization of platelet antigen technique, MAIPA)检测血小板自身抗体^[4],该方法操作复杂,耗时长,结果缺乏稳定性,临床价值不高。近年来,出现一种新兴的血清学检测方法,即流式微球芯片俘获技术(flow cytometric immuno-bead array, FICBA),该法操作方便、耗时短、结果稳定、所需样本量少,现阶段已成主流的检测方法^[5]。该研究使用FICBA法测定ITP患者自身抗体的表达,并与MAIPA法实验结果比较,分析FICBA法在ITP中的临床诊断价值,并探究血小板特异性自身抗体的种类与临床治疗效果之间的关系。

1 材料与方法

1.1 病例资料 选取2017年2月—2019年11月期间由安徽医科大学第一附属医院门诊和住院收治的初诊ITP患者81例。其中男30例,女51例,年龄48(16~84)岁,超过45岁者48例,血小板计数 $< 10 \times 10^9/L$ 者44例。所有患者均符合ITP诊断标准^[6]。

1.2 疗效判定标准 参照专家共识制定判定标准^[6]。①完全有效:治疗后血小板计数 $\geq 100 \times 10^9/L$,并且没有皮肤黏膜出血症状;②有效:治疗后血小板计数 $\geq 30 \times 10^9/L$,或者相较于基础血小板计数增加超过2倍,且没有皮肤黏膜出血症状;③无效:治疗后血小板计数 $< 30 \times 10^9/L$,或者相较于基础血小板计数增加低于2倍,或出现皮肤黏膜出血症状。

1.3 主要试剂与器材 ITP抗血小板特异性自身抗体检测试剂盒(常州福隆生物有限公司)。溶血

剂、破膜剂、流式细胞仪(美国 BD 公司)。Coulter-
 lh750 型血细胞自动计数仪(美国 Beckman 公司)。
 抗血小板 GP II b 抗体即 CD41 (NOVUS 公司),
 抗血小板 GP III a 抗体即 CD61 (NOVUS 公司),
 抗血小板 GP I b 抗体即 CD42 (NOVUS 公司)。
 牛血清白蛋白(bovine serum albumin, BSA) (Solarbio 公司),
 四硝基苯基磷酸二钠盐 (PNPP, 德国 SIGMA 公
 司), AP 标记的羊抗人的 IgG (德国 SIGMA 公司),
 亲和纯化的羊抗鼠 IgG 抗体 (德国 SIGMA 公司)。

1.4 实验方法

1.4.1 FICBA 检测血小板特异性自身抗体 血小板制备: 采集 ITP 患者外周血, 1 400 r/min 离心 5 min, 分离富血小板血浆(platelet rich plasma, PRP), 获取 PRP, 使用离心机进行 2 min 离心, 离心速度设定为 5 400 r/min, 去除上清液, 留下下层血小板, 将其取出, 采用 800 μl 血小板洗涤液洗涤 3 遍, 放置于 -20 ℃ 冰箱中进行持续 2 周的保存; 将 110 μl 裂解液加入至血小板中, 振荡混匀, 在室温下, 使用摇床进行约 30 min 的裂解操作, 再使用离心机进行 20 min 离心, 离心速度设定为 5 400 r/min; 取上清液 100 μl, 转移至另一 EP 管, 加入已经包被 5 种不同单抗的微球混合液 50 μl, 振荡混匀, 室温避光孵育 1 h; 加入 600 μl 微球洗涤液, 使用离心机进行 20 min 离心, 离心速度设定为 3 800 r/min, 去除上清液, 底部约留 100 μl 残留液; 再加入 FITC 标记的羊抗人 IgG 多克隆抗体 10 μl, 振荡混匀。室温避光孵育 30 min; 加入 600 μl 微球洗涤液, 用离心机进行 20 min 离心, 离心速度设定为 3 800 r/min, 去除上清液, 底部约留 100 μl 残留液, 向其中加入 500 μl 微球洗涤液, 上机检测; 在试剂盒使用前, 按照本实验方法用 3 份正常人血小板作为阴性对照实验, 以确定本实验室的临界值。

1.4.2 MAIPA 法检测血小板特异性自身抗体 对 ITP 患者外周血中 GP I b、II b、III a 血小板特异性自身抗体的表达水平采用现已报道的 MAIPA 方法^[7]进行检测。

1.4.3 分组及治疗方法 81 例 ITP 患者分为激素治疗组和重组人血小板生成素(recombinant human thrombopoietin, rhTPO) 治疗组, 两组患者分别为 49、28 例, 其余 4 例患者使用丙种球蛋白治疗纳入其他组。另外, 依据临床疗效分为有效组和无效组。使用糖皮质激素(glucocorticoid, GC) 对 GC 组患者治疗, 方法为给予地塞米松 40 mg/d, 或甲泼尼龙 1~2 mg/(kg·d), 连续使用 4 d, 当 $80 \times 10^9/L <$ 血小板

计数 $< 100 \times 10^9/L$ 后, 治疗方法改为口服泼尼松 1 mg/(kg·d)。rhTPO 组患者进行 rhTPO 皮下注射, 注射剂量设定为 300 U/(kg·d), 治疗时间为 14 d。若治疗时间 $< 14 d$, 血小板计数 $\geq 100 \times 10^9/L$, 停药。其他组患者进行丙种球蛋白静脉注射, 剂量为 400 mg/(kg·d), 连用 5 d。

1.5 统计学处理 采用 SPSS 19.0 软件包进行数据分析, 计数资料用率或构成比表示, 组间比较使用 χ^2 检验。P < 0.05 示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 FICBA 法与 MAIPA 法检测抗体的敏感性差异 对 81 例 ITP 患者的抗 GP I b 抗体、抗 GP II b/III a 抗体表达使用 FICBA 法进行检测, 将其中 71 例结果与使用 MAIPA 法得出的实验结果进行比较, 分析两种方法的敏感性差异。

2.1.1 抗 GP I b 抗体表达结果比较 FICBA 检测结果示 30 例 ITP 患者的抗 GP I b 抗体表达为阳性, 阳性率为 42.25%; MAIPA 法检测结果示 19 例 ITP 患者的抗 GP I b 抗体表达为阳性, 阳性率为 26.76%。两组检测结果比较差异无统计学意义($\chi^2 = 3.77, P > 0.05$)。见表 1。

2.1.2 抗 GP II b/III a 抗体表达结果比较 FICBA 检测结果示 29 例 ITP 患者的抗 GP II b/III a 抗体表达为阳性, 阳性率为 40.85%; MAIPA 法检测结果示 22 例 ITP 患者的抗 GP II b/III a 抗体表达为阳性, 阳性率为 30.99%。两组检测结果比较差异无统计学意义($\chi^2 = 1.499, P > 0.05$)。见表 1。

表 1 FICBA 和 MAIPA 检测血小板特异性抗体表达结果比较 [n (%)]

抗体类型	n	阳性		阴性	
		FICBA	MAIPA	FICBA	MAIPA
Anti-GP I b	71	30(42.25)	19(26.76)	41(57.75)	52(73.24)
Anti-GP II b/III a	71	29(40.85)	22(30.99)	42(59.15)	49(69.01)
两种抗体联合	71	42(59.15)	33(46.48)	29(40.85)	38(53.52)

2.1.3 抗 GP II b/III a 抗体和(或)抗 GP I b 任意抗体阳性表达结果比较 FICBA 检测结果示 42 例 ITP 患者抗 GP II b/III a 抗体或者抗 GP I b 抗体表达为阳性, 阳性率为 59.15%; MAIPA 法检测结果示 33 例 ITP 患者抗 GP II b/III a 抗体或者抗 GP I b 抗体表达为阳性, 总阳性率为 46.48%, 两组检测结果比较差异无统计学意义($\chi^2 = 2.289, P > 0.05$)。见表 1。使用 FICBA 检测血小板特异性自身抗体的表

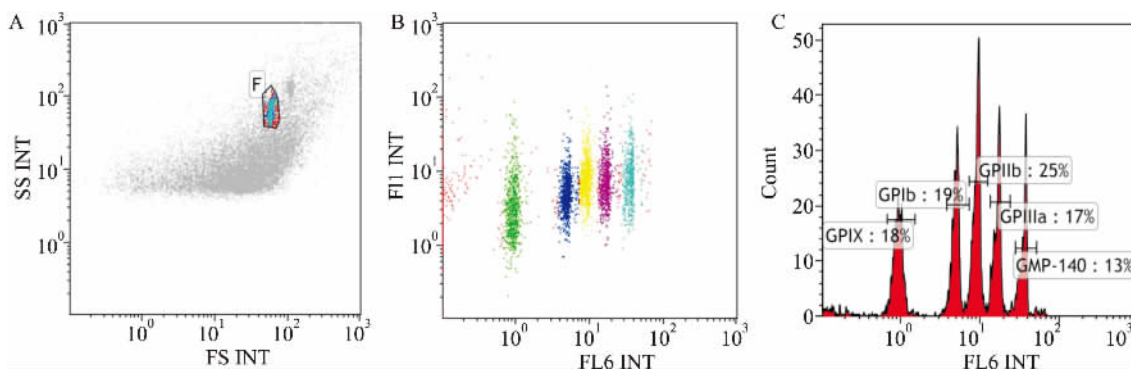


图1 FICBA 检测结果图

FS INT: 前向散射光轴; SS INT: 侧向散射光轴; FL1 INT: 1 通道轴; FL2 INT: 2 通道轴 Count: 数值

达水平见图 1。

2.2 血小板特异性自身抗体的表达与患者治疗效果的关系

对 49 例采用糖皮质激素治疗的患者 (GC 组) 以及 28 例采用 rhTPO 注射液皮下注射治疗的患者 (rhTPO 组) 使用 FICBA 法检测进行检测, 结果显示, 在 GC 组中, 有 19 例 ITP 患者抗 GP I b 抗体表达为阳性, 其治疗后 8 例有效, 11 例无效。另外, 有 30 例 ITP 患者抗 GP I b 抗体表达为阴性, 其治疗后 22 例有效, 8 例无效。对比分析两组的结果发现, 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 4.778, P < 0.05$), 21 例 ITP 患者抗 GP II b/ III a 抗体表达为阳性, 治疗后 12 例有效, 9 例无效。28 例 ITP 患者抗 GP II b/ III a 抗体表达为阴性, 治疗后 18 例有效, 10 例无效。差异无统计学意义 ($\chi^2 = 0.321, P > 0.05$)。在 rhTPO 组中, 有 14 例 ITP 患者抗 GP I b 抗体表达为阳性, 治疗后 8 例有效, 6 例无效, 14 例 ITP 患者抗 GP I b 抗体表达为阴性, 治疗后 12 例有效, 2 例无效。对比两组的结果发现差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。13 例 ITP 患者抗 GP II b/ III a 抗体表达为阳性, 治疗后 8 例有效, 5 例无效。15 例 ITP 患者抗 GP II b/ III a 抗体阴性, 治疗后有效 12 例, 无效 3 例。两组结果比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 2。

表 2 GC 组和 rhTPO 组血小板特异性抗体表达类型和疗效的关系 [n(%)]

抗体表达	阳性		阴性	
	GC 组	rhTPO 组	GC 组	rhTPO 组
Anti-GP I b +	8(42.11)*	8(57.14)	11(57.89)*	6(42.86)
Anti-GP I b -	22(73.33)	12(85.71)	8(26.67)	2(14.29)
Anti-GP II b/ III a +	12(57.14)	8(61.54)	9(42.86)	5(38.46)
Anti-GP II b/ III a -	18(64.29)	12(80.86)	10(35.71)	3(20.00)

与 GC 组中 Anti-GP I b - 比较: * $P < 0.05$

3 讨论

ITP 是一种临床常见的血液系统疾病, 尚未明确疾病的病因。ITP 发病机制相关文献报道众多, 涉及多个方面。分析既往文献得知, ITP 的发病过程与体液免疫系统和细胞免疫系统紊乱关系密切^[8]。现阶段, 已经证实血小板膜糖蛋白自身抗体可以诱导单核 - 巨噬细胞系统对血小板进行破坏。因此, 在临床上, 对血小板特异性自身抗体进行检测可以诊断 ITP, 另外也可以对临床治疗 ITP 的疗效进行监测。

FICBA 法检测血小板自身抗体的基本原理是通过使用不同荧光编码的聚合微球, 分析复杂样品中的多种分析物。对微球表面进行修饰, 使其与相应的待测抗原或抗体进行反应, 如果将表面不同的微球进行混合即可以进行多重检测。FICBA 法不仅具有荧光编码微球的特异性, 而且还具有流式细胞仪的敏感性^[9]。依照实验的原理, 课题组将多种特异性单克隆抗体包裹在荧光微球的表面, 捕获相对应的血小板膜糖蛋白, 再和被 FITC 标记的羊抗人多克隆抗体共同进行孵育, 如果有血小板特异性自身抗体与血小板膜糖蛋白相结合, 则可以形成微球 - 血小板膜糖蛋白 - 血小板自身抗体 - FITC 标记的羊抗人多克隆抗体复合物, 检测结果显示微球荧光强度增强。本研究显示 FICBA 法与 MAIPA 法的检测结果差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。但 FICBA 法相较于 MAIPA 法, 更节约检测时间, 重复性好, 可以同时测定多个抗体, 更加便捷的检测 GP I b、GP II b/ GP III a 抗体的表达, 完全可以替代 MAIPA 法, 更适用于 ITP 的临床检测。

本研究结果显示, 抗 GP I b 抗体阳性 ITP 患者使用糖皮质激素治疗的疗效不佳。而抗 GP II b/ III a

抗体是否阳性,激素治疗效果差异不大,分析原因可能是两种抗体导致血小板减少的机制不同。GP II b/GP III a 属于整合素家族,具有联接血小板与纤维蛋白原的功能,与血小板特异性 GP II b/GP III a 抗体结合后形成抗原-抗体复合物,通过 Fc 受体单核巨噬细胞系统识别抗原-抗体复合物破坏血小板。GP I b 属于富含亮氨酸家族蛋白,可结合血管假性血友病因子介导血小板黏附,与抗体结合之后会通过非 Fc 受体依赖途径引起血小板破坏^[10-11]。建议对抗 GP I b 阳性患者避免应用激素等以网状内皮系统的 Fc 受体为主要作用靶点的治疗方法,可能会取得更好的治疗效果。

同时我们将临床资料纳入分析,结果显示,GP I b、GP II b/GP III a 抗体的表达与血小板计数高低也无相关性。在实验中还监测到 15 例 ITP 患者的治疗前后抗体的表达情况,其中 GP I b 抗体治疗后有 2 例转阴性。GP II b/GP III a 抗体治疗后有 3 例患者转阴性。说明 ITP 患者经过治疗后可以降低抗体阳性率。结果与文献报道一致^[12]。

综上所述,本研究表明 FICBA 法可以更直接的检测 ITP 患者外周血中的血小板特异性自身抗体,相较于 MAIPA 法,其敏感性无差异,但更高效便捷,对提高实验诊断水平及指导临床治疗有一定的价值。另外对于检测出抗 GP I b 抗体阳性的患者,采取非激素治疗方案可能更有利于患者预后,避免使用激素带来的副作用,降低血小板减少带来的出血风险。

参考文献

[1] Lazarus A H, Semple J W, Cines D B. Innate and adaptive immunity in immune thrombocytopenia [J]. *Semin Hematol*, 2013, 50

(Suppl 1) : S68 - 70.

- [2] Rodeghiero F, Michel M, Gernsheimer T, et al. Standardization of bleeding assessment in immune thrombocytopenia: report from the international working group [J]. *Blood*, 2013, 121(14) : 2596 - 606.
- [3] Kuwana M, Okazaki Y, Ikeda Y. Detection of circulating B cells producing anti-GP I b autoantibodies in patients with immune thrombocytopenia [J]. *PLoS One*, 2014, 9(1) : e86943.
- [4] Porcelijn L, Huiskes E. Progress and development of platelet antibody detection [J]. *Transfus Apher Sci*, 2020, 59(1) : 102705.
- [5] Zhao Y, Zhu M, Jiang M, et al. An improved flow cytometric immunobead array to detect autoantibodies in plasma from patients with immune thrombocytopenic purpura [J]. *Clin Chim Acta*, 2015, 438: 396 - 400.
- [6] 侯明,秦平. 成人原发免疫性血小板减少症诊治的中国专家共识(2016版)解读 [J]. *临床血液学杂志*, 2016, 29(7) : 523 - 7.
- [7] 阮敏,朱凌燕,曾庆曙. 抗凝剂在改良 MAIPA 法中对 ITP 患者血小板特异性自身抗体 (GP II b/III a 和 GP I ba) 检测的影响 [J]. *安徽医科大学学报*, 2013, 48(7) : 832 - 4.
- [8] Le Vine D N. Immune thrombocytopenia (ITP) : Pathophysiology update and diagnostic dilemmas [J]. *Vet Clin Pathol*, 2019, 48 (Suppl 1) : 17 - 28.
- [9] He Y, Zhao Y X, Zhu M Q, et al. Detection of autoantibodies against platelet glycoproteins in patients with immune thrombocytopenic purpura by flow cytometric immunobead array [J]. *Clin Chim Acta*, 2013, 415: 176 - 80.
- [10] Cantoni S, Carpenedo M, Nichelatti M, et al. Clinical relevance of antiplatelet antibodies and the hepatic clearance of platelets in patients with immune thrombocytopenia [J]. *Blood*, 2016, 128 (17) : 2183 - 5.
- [11] Quach M E, Dragovich M A, Chen W, et al. Fc-independent immune thrombocytopenia via mechanomolecular signaling in platelets [J]. *Blood*, 2018, 131(7) : 787 - 96.
- [12] Wei Y, Ji X B, Wang Y W, et al. High-dose dexamethasone vs prednisone for treatment of adult immune thrombocytopenia: a prospective multicenter randomized trial [J]. *Blood*, 2016, 127(3) : 296 - 302.

Detection of antibody in patients with immune thrombocytopenia by flow cytometric immuno-bead array and the clinical significance

Zhang Xiaoxia¹, Zeng Qingshu², Li Qingshen², et al

(¹Dept of Hematology, The Fourth Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022;

²Dept of Hematology, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022)

Abstract Objective To detect the expression of autoantibodies in patients with immune thrombocytopenia (ITP) by flow cytometric immuno-bead array, as well as explore its clinical significance in the diagnosis of ITP patients, and the relationship between the types of platelet specific autoantibodies and the clinical effects of drugs. **Methods**

Flow cytometry immuno-bead array was used to detect the expression of anti platelet membrane glycoprotein I b (GP I b) antibody and antiplatelet membrane glycoprotein II b/III a (GP II b/III a) antibody. The results of 71 cases were compared with those of monoclonal antibody capture specific platelet antigen (MAIPA). Patients with ITP

网络出版时间: 2020-12-25 14:50 网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20201224.1107.027.html>

3D 模板技术在老年晚期肺癌患者粒子植入中的临床应用

韩晓燕¹, 方 曙², 吴惠梅¹, 金 铭², 邸 劲², 王 奕², 周金华^{2,3}, 王 炯¹

摘要 目的 评估 3D 打印放射性粒子植入模板引导¹²⁵I 粒子植入治疗老年肺癌患者的临床疗效及并发症。方法 回顾性分析 2016 年 1 月—2019 年 12 月入住安徽医科大学第一附属医院老年呼吸与危重症学科治疗的 80 例老年晚期肺癌患者, 其中采用自制 3D 打印非共面尼龙模板辅助粒子植入联合化疗的 19 例患者为模板组, 徒手穿刺植入粒子联合化疗的 21 例患者为传统组, 仅实施化疗的 40 例患者为化疗组, 比较三组的局部控制率和有效率、剂量学参数、肿瘤标志物水平及并发症的发生情况。结果 模板组的局部控制率和有效率、剂量学参数在术后显著优于传统组, 植入后 6 个

月和 12 个月模板组与传统组、化疗组的癌胚抗原(CEA)、细胞角蛋白 19 片段(CYFRA21-1)水平差异有统计学意义($P < 0.05$), 而三组的神经元特异性烯醇化酶(NSE)水平差异无统计学意义。模板组和传统组的手术并发症发生率差异无统计学意义, 三组的化疗并发症发生率差异无统计学意义。结论 自制 3D 打印非共面尼龙模板引导放射性粒子植入在老年肺癌患者局部控制效果较好, 剂量分布满意, 手术相关并发症较少, 是一种临床疗效满意和适合作为老年肺癌患者的辅助治疗手段。

关键词 放射性粒子; 肺癌; 尼龙; 3D 打印

中图分类号 R 734.2

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2021)02-0315-07
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2021.02.027

2020-09-10 接收

基金项目: 安徽省自然科学基金(编号: 1608085MH191); 安徽医科大学学校基金资助项目(编号: 2020xkj016); 安徽医科大学省级大学生创业训练项目(编号: S201910366007X)

工作单位: ¹ 安徽医科大学第一附属医院老年呼吸与危重症学科, 合肥 230022

安徽医科大学² 生物医学工程学院、³ 生物医学材料研究与工程转化中心, 合肥 230032

作者简介: 韩晓燕, 女, 硕士研究生;

王 炯, 男, 副教授, 主任医师, 责任作者, E-mail: wangjiong7286@163.com;

周金华, 男, 副教授, 责任作者, E-mail: zhoujinhua@ahmu.edu.cn

2018 年最新肿瘤流行病学权威数据发布结果显示, 全球范围内肺癌发病率和死亡率均为第 1 位, 分别为 11.6% 和 18.4%^[1]。对于手术无法切除的中晚期肺癌, 化疗是改善其生存的非常有效的一线治疗方式, 但是单一治疗手段疗效仍有限。根据 2018 版中华医学会肺癌临床诊疗指南, 对于中晚期或不能耐受手术的早期肺癌患者, 首选具有 1 类推荐证据的同步放化疗, 其中放射性¹²⁵I 粒子近距离治疗以其高局控率使患者获益^[2]。Meta 分析研究

were halved into the groups of hormone treatment and recombinant human thrombopoietin (rhTPO) treatment, with 49 and 28 cases respectively, and 4 cases from the other groups. Moreover, the patients were divided into effective group and ineffective group based on the clinical effects. **Results** ① Results of flow cytometric immuno-bead array: There were comparatively 30 and 29 patients with positive anti GP I b antibody and anti GP II b/III a antibody, making the positive rates 42.25% and 40.85%. Upon the combined detection of the two antibodies, 42 patients were finally positive, with a total positive rate of 59.15%. ② Results of MAIPA method: there were 19 and 22 cases of patients with the two antibodies, and the positive rates were 26.76% and 30.99% respectively. The combined detection of the two antibodies was 33 cases creating a total positive rate of 46.48%. ③ The comparison between the above two methods showed no significant difference ($P > 0.05$). ④ The results of the 49 patients in hormone therapy whose antibody expression was detected by flow cytometry showed that there were 19 and 30 cases with positive anti GP I b and with negative anti GP I b with the effective rates 42.11% and 73.33%. The difference was statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** Compared with MAIPA method, flow cytometric immuno-bead array is more speedy in detecting the platelet-specific autoantibody, but the sensitivity is not different. It is of great significance for the clinical diagnosis of ITP patients. In addition, the reason why the effect of glucocorticoid treatment is not obvious may be related to the positive anti GPIB antibody.

Key words immune thrombocytopenia; flow cytometric immuno-bead array; platelet-specific autoantibody