



本文经编委遴选,英文版将通过 ScienceDirect 全球发行。

血小板单核细胞聚集体 在急性心脑血管疾病发病中的地位*

□ 彭立 张光银 丁义 曹阳 (天津中医药大学 天津 300193)

张军平** (天津中医药大学第一附属医院心血管内科 天津 300193)

摘要:动脉粥样硬化是心脑血管疾病的主要病理基础,血小板单核细胞粘附聚集在急性心脑血管疾病的发病中占有重要地位,本文就此聚集体的形成的分子机制、诱使斑块破裂的机理、影响急性心脑血管疾病的病机、中西药物的作用靶点及相应的单克隆抗体和基因敲除等进行综述,并就目前研究中存在的问题进行剖析,以期引起同道的重视。

关键词:动脉粥样硬化 血小板单核细胞聚集体 心脑血管疾病 粘附

doi: 10.3969/j.issn.1674-3849.2011.03.011

近年来,心脑血管疾病的发生率明显增高,其中不稳定心绞痛、急性心肌梗死、缺血性脑卒中等急性心脑血管疾病具有明显的致死性或致残性,其主要病理基础是动脉粥样硬化(Atherosclerosis, AS)。研究表明,血小板白细胞聚集体(Platelet-Leukocyte Aggregates, PLA)在动脉粥样硬化性血栓形成性疾病的发生和发展中起着重要作用^[1-2],而血小板与单核细胞黏附聚集形成的聚集体(Platelet-Monocyte Aggregates, PMA)较血小板-中性粒细胞聚集体(Platelet-Neutrophil Aggregates, PNA)和血小板-淋巴细胞聚集体(Platelet-Lymphocyte Aggregates, PLyA)在急性心脑血管疾病中升高的更为明显^[3-4],可见血小板单核细胞粘附聚集在急性心脑血管疾病的发病中占有重要地位。

一、PMA 形成的分子机制

PMA 的形成主要是血小板活化所致,而单核细胞是否活化对 PMA 形成的影响不大^[5]。血小板活化后,血小板膜表面的 P 选择素(P selectin, PS)和糖蛋白 II b/III a(GP II b/III a)的表达增加,血小板通过 P-选择素和单核细胞表面的 P-选择素糖蛋白配基-1(P-selectin glycoprotein ligand-1, PSGL-1)的结合形成 PMA。此外,血小板表面的 GP II b/III a 和单核细胞表面的黏附受体 Mac-1(CD11b/CD18)分别与纤维蛋白原结合,通过纤维蛋白原的桥接作用形成 PMA^[2,6]。但 PS 与 PSGL-1 相互作用是 PMA 形成的主要途径^[7]。

PS 是一种分子量约为 140kD 的跨膜糖蛋白,通常储存于血小板的 α 颗粒和内皮细胞的 Weibel-Palade 小体中,由不同的结构域组成,如凝集素样结构域、表皮生长因子样结构域等。PSGL-1 也是一种

收稿日期: 2010-11-14

修回日期: 2011-06-14

* 国家自然科学基金面上项目(30901904):四妙勇安汤及有效单体干预动脉粥样硬化 PMA 及 MMP-1,2,3,9,13 相关表达的研究,负责人:彭立;天津市自然科学基金重点项目(09JCZDJC20700):从细胞粘附角度探究四妙勇安汤干预易损斑块的分子机制,负责人:张军平。

** 通讯作者:张军平,本刊编委,教授,博士生导师,主要研究方向:心脑血管疾病中医药防治研究, E-mail: tjzhtcm@163.com。

跨膜糖蛋白,由两个单体通过二硫键构成分子量为240kD的同源二聚体,主要表达在白细胞的微绒毛体上,是惟一与PS具有高度亲和性的配体。研究发现,当血小板或内皮细胞受凝血酶、组胺、肿瘤坏死因子等刺激而活化后, α 颗粒和Weibel-Palade小体膜、胞膜迅速融合,使储存的PS在细胞表面快速表达并与PSGL-1结合,从而介导活化的内皮细胞和血小板与中性粒细胞、单核细胞、淋巴细胞等相互作用,且这种作用是通过钙离子的参与来调节的^[8-9]。

二、PMA致AS斑块破裂的机制

PMA形成后,活化的血小板可从多方面影响单核细胞的功能。血小板释放的二磷酸腺苷(Adenosine Diphosphate, ADP)、血小板衍生生长因子(Platelet-Derived Growth Factor, PDGF)能使单核细胞脱颗粒,促进单核细胞产生氧自由基;血小板黏附、血小板微颗粒和释放的活性物质,如血小板因子IV(Platelet Factor 4, PF4)和血栓素A₂(Thromboxane A₂, TXA₂),可促进单核细胞在内皮细胞上的滚动和黏附。另外,PDGF和PF4还是单核细胞的趋化因子。同样,活化的单核细胞也可影响血小板的功能,单核细胞及其释放的一些活性物质,如氧自由基、血小板活化因子(Platelet Activating Factor, PAF)、弹性蛋白酶和组织蛋白酶G可促使血小板聚集和分泌活性物质。PMA的形成使氧自由基、血栓素A₂和PAF的合成明显增加,用PS单克隆抗体阻滞血小板与单核细胞之间的黏附可明显减少其产生^[10]。

更为重要的是,PMA的形成使单核细胞与内皮细胞之间的相互作用明显加强了。在冠状动脉粥样病变时,血管内皮处于失功能状态,对PS表达增高,内皮细胞通过PS/PSGL-1途径与单核细胞粘附,从而介导炎症细胞黏附聚集在动脉粥样斑块周围,特别是纤维帽肩部,造成局部炎性细胞的浸润性反应,并释放大量的组织活性因子,如氧自由基、白细胞介素-1(Interleukin-1, IL-1)、TXA₂及弹力蛋白酶和基质金属蛋白酶(Matrix Metalloproteinases, MMPs)等^[11],尤其是MMPs可导致结构性基质成分分解,加速了纤维帽基质的降解,这些因素共同作用下最终导致斑块的稳定性下降,斑块破裂。

三、PMA对急性心脑血管疾病发病的影响

虽然单核细胞占白细胞的比例不足10%,但是

在与活化血小板粘附聚集方面,单核细胞显示出比其他白细胞亚群更强的优势。临床观察显示行经皮冠状动脉介入治疗(Percutaneous Coronary Intervention, PCI)的患者血PMA含量明显高于PNA的含量,可能与PMA半衰期长、单核细胞吞噬活化和衰老血小板的能力较强有关^[7]。而在急性脑梗死患者中,PNA和PLyA无显著性增高,但PMA显著增加,经有效治疗后明显降低,提示在PLA各指标中,PMA是比较敏感的指标^[12]。

有研究报道称,在急性冠脉综合征、缺血性脑卒中等血栓性疾病中,PMAs可高达60%~80%,而正常人仅为4%~14%^[13-14]。PMA能促进血栓形成,血管闭塞,导致血流动力学改变,加重局部缺血^[15],而PMA的分解能有效减少血管再闭塞的发生^[16]。因此测定PMAs可以反映急性心脑血管疾病患者血小板活化情况和血管内斑块的稳定性,且PMA目前在临床上已经成为急性冠脉综合征和冠脉介入手术抗血小板治疗中的新兴研究靶点。

四、中西药物对PMA的作用

抗血小板药物已广泛应用于动脉粥样硬化性血栓形成性疾病的防治,PMA是血小板活化后形成的产物,抗血小板治疗是否可以减少PMA的形成,目前尚处于探索阶段。下面列举几种常见抗血小板药物来说明。

1. 环氧合酶抑制剂

阿司匹林是临床应用最为广泛的血小板聚集抑制剂,但其仅仅抑制了TXA₂途径引起的血小板活化,而不能抑制其他途径,如凝血酶、PAF和ADP等诱导的血小板活化,不能减少血小板表面P-选择素和单核细胞表面CD11b的表达,因此不能抑制PMA的形成,研究证实阿司匹林对PMA的形成没有影响^[17-18]。

2. ADP受体拮抗剂

目前认为,ADP受体是血小板活化时的主要受体,ADP受体拮抗剂(如氯吡格雷)除能够抑制ADP诱导的血小板活化外,还可减弱TXA₂、胶原和凝血酶引起的血小板活化,从而减少血小板表面P-选择素和GP II b/III a的表达,使血小板与单核细胞之间的聚集明显减少,很多报道表明,ADP受体拮抗剂对PMA的形成有明显抑制作用^[19-21]。

3. GP II b/III a拮抗剂

短期使用GP II b/III a拮抗剂(如阿昔单抗)可抑

制血小板聚集,并可阻止 GP II b/III a 途径的血小板-单核细胞聚集这一始动环节^[22],但 GP II b/III a 拮抗剂并不能抑制血小板活化,较长时间使用后血小板表面的 P-选择素表达增加,因此长时间给予 GP II b/III a 拮抗剂后不但没有减少反而会增加 PMA 的形成^[23-25],但也有人认为,埃替巴肽不但能抑制 PMA 的形成,还可抑制 CD51/61 和 CD42b 表达,从而抑制 PMA 与内皮细胞之间的黏附^[26]。

4. 磷酸二酯酶抑制剂

双嘧达莫可以通过作用于 PMA 上特殊的靶点来抑制其基因的表达,从而阻止 PMA 的形成,但也有报道表明,单用双嘧达莫对 PLA 的形成没有影响,而合用阿司匹林可以明显地减少 PMA 的形成^[27-28]。

祖国医学在急性心脑血管疾病的防治中发挥了重要作用,有着良好的应用前景。通心络胶囊是以人参、水蛭、全蝎、土鳖虫、蜈蚣、蝉蜕、赤芍、冰片等为主要成分的纯中药制剂,具有益气活血、通络止痛等功效。研究表明,通心络胶囊可以抑制血小板活化^[29-30],在服用阿司匹林的基础上同时给予通心络胶囊,在降低患者 PMA 水平及抑制血小板活化方面,通心络胶囊与阿司匹林有协同作用,两者合用与氯吡格雷效果相似^[31]。此外,中药如四妙勇安汤^[32]、复方丹参滴丸^[33]、血府逐瘀汤^[34]、银杏叶提取物^[35]等均具有抗血小板活化作用,但对于是否能抑制 PMA 的形成尚未见报道。

五、PS/PSGL-1 单克隆抗体与基因敲除

PS 与 PSGL-1 的相互作用在炎症发生和血栓形成等生理病理过程中的重要作用,提示了 PS/PSGL-1 的抗体、可溶性结构及其他结构类似物具有可观的抗炎抗血栓应用前景。在灵长类动物的血栓形成模型中,针对 PS 的单克隆抗体加速了血栓的溶解,并且在冠状动脉内皮损伤模型中,可减少血栓形成和缺血损伤。而在静脉血栓形成的大鼠模型中,针对 PS 的单克隆抗体不仅具有有效的抗血栓作用,同时也可减少炎症细胞的浸润^[36]。选用重组的 PSGL-1 Ig 特异性阻断 PSGL-1 与 PS 的结合,可以减少球囊损伤后所致的新内膜的过度增生,也可以减少血栓炎症反应、新内膜的增殖以及心脏瓣膜手术后的再狭窄^[37]。

PS 主要表达在血管内皮细胞和血小板上,PS 基因敲除后,白细胞无法通过 PS/PSGL-1 途径与血小板形成牢固的 PMA 并进而穿透血管内皮细胞进入内

皮下,因而可抑制 AS 的发生发展及斑块的破裂。研究表明,小鼠股动脉内膜损伤 1h 后,野生型小鼠动脉壁内有数层血小板黏附沉积,其上又进一步募集白细胞,而 P-选择素缺失小鼠黏附的血小板非常少,无白细胞募集,损伤 4w 后 P-选择素缺失小鼠可有效抑制动脉内膜增生^[38]。提示阻断 P-选择素有望成为稳定动脉粥样硬化斑块及防治急性心脑血管疾病的有效治疗手段。

六、结 语

PS/PSGL-1 相互作用,活化并促进血小板-单核细胞粘附聚集,参与内皮损伤,介导炎症细胞粘附,促进 AS 的发生发展,同时又促使 MMPs 在 AS 斑块周围特别是纤维帽肩部的释放,加速了纤维帽基质的降解,诱使 AS 斑块破裂,形成急性心脑血管疾病发生的共同病理基础。目前,PLA 尤其是 PMA 的形成已成为影响心脑血管疾病的独立危险因素,西药研究主要集中在抑制 PMA 的形成上,而对于抑制 PMA 与血管内皮粘附及粘附后诱使斑块易损的研究较少,恰恰后者在心脑血管疾病的发病中是相当关键的,应该在以后的研究中引起足够的重视。传统中医药强调整体观念、辨证论治,对于心脑血管疾病的防治中具有独特的优势,尤其是经过千百年临床实践的反复验证形成了很多行之有效的经典方剂,但大部分中药的研究还集中在抗血小板活化作用上,应进一步加强对中医药作用机制的深入研究。

参考文献

- 1 Huo Y, Schober A, Forlow SB, et al. Circulating activated platelets exacerbate atherosclerosis in mice deficient in apolipoprotein E. *Nat Med*, 2003, 9:61-67.
- 2 Konstantopoulos K, Neelamegham S, Burns AR, et al. Venous levels of shear support neutrophil-platelet adhesion and neutrophil aggregation in blood via P-selectin and beta2-integrin. *Circulation*, 1998, 98:873-882.
- 3 王引明,刘春风,冯萍,等.急性脑梗死患者血小板白细胞聚集体的变化. *临床神经病杂志*, 2006, 19(6):408-410.
- 4 王引明,曹勇军,刘春风,等.抗血小板药物对脑梗死患者血小板-白细胞聚集体的影响. *中华内科杂志*, 2007, 46(7):562-565.
- 5 K Kozek-Langenecker SA, Spiss CK, Michalek-Sauberer A, et al. Effect of prostacyclin on platelets, polymorphonuclear cells, and heterotypic cell aggregation during hemofiltration. *Crit Care Med*, 2003, 31:864-868.
- 6 Habazettl H, Hanusch P, Kupatt C. Effects of endothelium/leukocytes/platelet interaction on myocardial ischemia-reperfusion injury. *Z Kar-*

- diol, 2000, 89(Suppl 9):IX/92-5.
- 7 Sarma J, Laan CA, Alam S, et al. Increased platelet binding to circulating monocytes in acute coronary syndromes. *Circulation*, 2002, 105: 2166~2171.
 - 8 Ushiyama S, Laue TM, Moore KL, et al. Structural and functional characterization of monomeric soluble P-selectin and comparison with membrane P-selectin. *J Biol Chem*, 1993, 268:15229~15237.
 - 9 McEver RP, Cummings RD. Perspectives series: cell adhesion in vascular biology. Role of PSGL-1 binding to selectins in leukocyte recruitment. *J Clin Invest*, 1997, 100:485~491.
 - 10 Eppihimer MJ, Schaub RG. P-Selectin-dependent inhibition of thrombosis during venous stasis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2000, 20: 2483~2488.
 - 11 Martins Pda C, Zwaginga JJ. Leukocyte-platelet aggregates: new particle reflecting and effecting cardiovascular disease. *Thromb Haemost*, 2005, 94:1120~1121.
 - 12 冯萍,朱雪明,刘春风,等.急性脑梗死患者血小板-白细胞聚集体的检测及其临床意义.临床检验杂志,2008,26(1):7~9.
 - 13 Michelsom AD, Barnard MR, Krueger LA, et al. Circulating monocyte-platelet aggregates are a more sensitive marker of in vivo platelet activation than platelet surface P-selectin: studies in baboons, human coronary intervention, and human acute myocardial infarction. *Circulation*, 2001, 104:1533~1537.
 - 14 Furman MI, Barnard MR, Krueger LA, et al. Circulating monocyte-platelet aggregates are an early marker of acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*, 2001, 38:1002~1006.
 - 15 Konstantopoulos K, Grotta JC, Sills C, et al. Shear-induced platelet aggregation in normal subjects and stroke patients. *Thromb Haemost*, 1995, 74:1329~1334.
 - 16 Alemanno L, Ramos T, Gargadenec A, et al. Preferential binding of platelets to monocytes over neutrophils under flow. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 329:345~355.
 - 17 Uchiyama S, Yamazaki M, Maruyama S. Role of platelet-activating factor in aggregation of leukocytes and platelets in cerebral ischemia. *Lipids*, 1991, 26:1247~1249.
 - 18 Klinkhardt U, Bauersachs R, Adams J, et al. Clopidogrel but not aspirin reduces P-selectin expression and formation of platelet-leukocyte aggregates in patients with atherosclerotic vascular disease. *Clin Pharmacol Ther*, 2003, 73:232~241.
 - 19 Storey RF, Judge HM, Wilcox RG, et al. Inhibition of ADP-induced P-selectin expression and platelet-leukocyte conjugate formation by clopidogrel and the P2Y12 receptor antagonist AR-C69931MX but not aspirin. *Thromb Haemost*, 2002, 88:488~494.
 - 20 Gurbel PA, Malinin AI, Callahan KP, et al. Effect of loading with clopidogrel at the time of coronary stenting on platelet aggregation and glycoprotein II b/III a expression and platelet-leukocyte aggregate formation. *Am J Cardiol*, 2002, 90:312~315.
 - 21 Klinkhardt U, Graff J, Harder S. Clopidogrel, but not abciximab, reduces platelet leukocyte conjugates and P-selectin expression in a human ex vivo in vitro model. *Clin Pharmacol Ther*, 2002, 71:176~185.
 - 22 Ray MJ, Walters DL, Bett JN, et al. Platelet-monocyte aggregates predict troponin rise after percutaneous coronary intervention and are inhibited by Abciximab. *Int J Cardiol*, 2005, 101:249~255.
 - 23 Barlage S, Wimmer A, Pfeiffer A, et al. MK-383 (tirofiban) induces a GPIIb/IIIa receptor conformation which differs from the resting and activated receptor. *Platelets*, 2002, 13:133~140.
 - 24 Scholz T, Zhao L, Temmler U, et al. The GPIIb/IIIa antagonist eptifibatide markedly potentiates platelet-leukocyte interaction and tissue factor expression following platelet activation in whole blood in vitro. *Platelets*, 2002, 13:401~406.
 - 25 Xiao Z, Theroux P, Frojmovic M. Modulation of platelet-neutrophil interaction with pharmacological inhibition of fibrinogen binding to platelet GP II b/III a receptor. *Thromb Haemost*, 1999, 81:281~285.
 - 26 Serebruany VL, Malinin AI, Oshrine BR, et al. Lack of uniform platelet activation in patients after ischemic stroke and choice of antiplatelet therapy. *Thromb Res*, 2004, 113:197~204.
 - 27 Weyrich AS, Kraiss LW, Prescott SM, et al. New roles for an old drug: inhibition of gene expression by dipyridamole in platelet-leukocyte aggregates. *Trends Cardiovasc Med*, 2006, 16:75~80.
 - 28 De La Cruz JP, Blanco E, Sánchez de la Cuesta F. Effect of dipyridamole and aspirin on the platelet-neutrophil interaction via the nitric oxide pathway. *Eur J Pharmacol*, 2000, 397:35~41.
 - 29 卢孔杰,韦凡平,张宗新.通心络胶囊对急性冠脉综合征高敏C反应蛋白及血小板活化功能的影响.实用中医药杂志,2007,23(7):416~417.
 - 30 邵华,袁高辉.通心络胶囊对急性冠脉综合征患者血小板活化功能的影响.基层医学论坛,2007,11(7):594~595.
 - 31 刘建芳,王引明,曹勇军,等.通心络胶囊对急性脑梗死患者血小板-单核细胞聚集体的影响.苏州大学学报(医学版),2009,29(1):146~148.
 - 32 陈真,蒋建勤,于忠晓.四妙勇安提取物对血液凝固和血栓形成的影响.中国药科大学学报,1999,30(6):441~443.
 - 33 刘培良,沈苑真,靖涛,等.复方丹参滴丸及阿司匹林对老年ACS患者血小板聚集功能及PKB活性变化的影响.中国新药杂志,2009,18(10):900~902.
 - 34 汤诺,黄晓雷,何燕,等.舒心饮与血府逐瘀汤对不同证型冠心病心绞痛患者血小板活化相关因子的影响.上海中医药大学学报,2007,21(2):25~28.
 - 35 姜秀新,管斯斯,鲍利,等.银杏内酯B对胶原或二磷酸腺苷刺激血小板活化后一氧化氮含量及血管舒张因子刺激磷酸蛋白磷酸化的影响.中国组织工程研究与临床康复,2009,13(11):2066~2070.
 - 36 Thanaporn P, Myers DD, Wroblewski SK, et al. P-selectin inhibition decreases post-thrombotic vein wall fibrosis in a rat model. *Surgery*, 2003, 134:365~371.
 - 37 Yan JC, Zhu J, Gao L, et al. The effect of elevated serum soluble CD40 ligand on the prognostic value in patients with acute coronary syndromes. *Clin Chim Acta*, 2004, 343:155~159.
 - 38 Smyth SS, Reis ED, Zhang W, et al. Beta (3)-integrin-deficient mice but not P-selectin-deficient mice develop intimal hyperplasia after vascular injury: correlation with leukocyte recruitment to adherent platelets

1 hour after injury. *Circulation*, 2001, 103:2501~2507.

究.现代生物医学进展,2006,6(10):104~107.

39 叶志义,全学军.炎症反应中选择素粘附分子与配体间相互作用的研

Role of Platelet - Monocyte Aggregation in the Onset of Acute Cardiovascular and Cerebrovascular Diseases

Peng Li¹, Zhang Guangyin¹, Ding Yi¹, Cao Yang¹, Zhang Junping²

(1. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China;

2. Department of Cardiovascular Medicine of the First Teaching Hospital of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China)

Abstract: Atherosclerosis is the main pathological basis of cardiovascular and cerebrovascular diseases. Adhesion and aggregation of platelet and monocyte play an important role in patients with acute cardiovascular and cerebrovascular diseases. This article reviewed molecular mechanism of aggregation formation, mechanism of inducing plaque rupture, pathogenesis of impacting acute cardiovascular and cerebrovascular disease occurrence, targets of Chinese medicine and western medicine, and corresponding monoclonal antibodies and gene knockout, etc. Problems existed in the current study were also analyzed in order to arouse the attention of fellow researchers.

Keywords: Atherosclerosis, platelet-lymphocyte aggregates, cardiovascular and cerebrovascular diseases, adhesion

(责任编辑:李沙沙,责任译审:王 晶)