

血小板的止血外作用

刘 磊综述 李 剑 罗心平审校

【摘要】 血小板主要参与止血、加速凝血和伤口愈合等过程。随着研究的深入,人们发现血小板还有以下重要特性:(1)分泌多种血管生成促进因子,并可直接参与血管的形成;(2)分泌多种炎症因子,参与炎症反应;(3)诱导和促进动脉粥样硬化;(4)调控 P2Y₁₂ 表达;(5)调节血脂;(6)参与天然免疫。

【关键词】 血小板;多效性;新生血管形成;炎症反应;动脉粥样硬化

DOI:10.3969/j.issn.1673-6583.2011.03.006

在传统观念中,血小板无细胞核,主要生理作用是参与止血过程,形成血栓,修复伤口。近年来,越来越多的证据表明,血小板在血管新生、炎症反应、动脉粥样硬化和其他心、脑血管疾病发生中有重要作用。

1 血小板与血管新生

Knighton 等^[1]发现,在凝血酶刺激下活化的血小板可以诱导兔角膜血管生成,于是提出血小板可能参与了血管新生的观点。血小板内含有多种促进血管新生的调节因子,提示血小板参与了组织的血管新生。

1.1 分泌血管生成促进因子

血小板内存在多种血管生成促进因子,如血管内皮生长因子(VEGF)、碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)等。血管新生调节因子主要局限在 α 颗粒内,并随着凝血酶对血小板的激活而释放。血小板和巨核细胞内含有 2 种不同形态的 α 颗粒,含有 VEGF 等促血管新生物质和内皮他汀等抑制血管新生物质。血小板细胞膜上的 2 种凝血酶受体:蛋白水解酶激活受体-1(PARs-1)和-4(PARs-4)分别调节血小板内的 VEGF 和内皮他汀的释放^[2,3]。有研究观察 VEGF、bFGF 对人脐静脉内皮细胞(HUVEC)增殖的效果,在使用特异性抗体中和这两个因子之后,HUVEC 的增殖效应完全消失,这证明血小板来源的 VEGF 和 bFGF 在血小板促内皮细胞增殖中起关键作用^[4]。

1.2 直接参与血管新生

将凝血酶诱导血小板产生的血小板微粒输注

到体内,可以诱导血管新生,并能促进慢性缺血动物模型的再血管化^[5]。血小板微粒能够通过磷酸肌醇 3-激酶等信号途径促进 HUVEC 的增殖、存活、迁移和毛细管状结构的形成^[6]。有研究发现,血小板微粒是肿瘤微环境中的重要组分之一,能影响肿瘤的生长和转移^[7]。当然,凝血酶激活 PARs-1 释放 VEGF 不只局限于人血小板,体外研究证实人晚期内皮祖细胞也表达 PARs-1,其激活上调了内皮祖细胞自身基质细胞衍生因子-1 及其受体(SDF1/CXCR4)的表达,促进血管新生^[8]。

1.3 促进肿瘤血管新生

肿瘤患者通常存在血小板的异常,包括血小板数量增多或活性增高^[9]。在接受治疗的肿瘤患者,其外周血 VEGF 水平和肿瘤无关,却与外周血的血小板计数强烈相关^[10]。血小板与肿瘤细胞相互作用时释放的生物活性物质(如黏糖蛋白、VEGF、PD-VEGF、凝血因子、花生四烯酸代谢产物等)及血管内皮损伤是血小板激活和释放的主要原因。活化的血小板又可释放大量生物活性物质,加强癌细胞和内皮细胞的结合,促进黏附分子黏附肿瘤细胞和内皮细胞,并促进肿瘤血管生成^[3]。活化血小板可以直接黏附于肿瘤细胞的表面,从而保护它不被自然杀伤细胞损伤,而且还能使它耐受血流剪切力的冲击。虽然血小板在肿瘤血管生成中的作用机制不完全清楚,但是目前已经明确,肿瘤的血管新生也是由血小板内的血管生成调节因子、膜表面受体和分泌的蛋白酶等多方面协同作用的结果^[11]。

上述证据表明,血小板直接参与了血管生成,并在不同阶段选择性释放各种血管生成因子调节,如血小板内的血管生成促进因子有明显的促进血管内皮细胞增殖以及管腔形成的作用。

2 血小板与炎症反应

血小板内含有血小板颗粒、线粒体、核糖体和溶酶体等各种细胞器,可以储存分泌三磷酸腺苷(ATP)、二磷酸腺苷(ADP)、5-羟色胺、血小板因子,参与机体的急、慢性炎症反应。血小板参与炎症还可通过活化后表达多种受体、释放具有促炎作用的蛋白等方式。

2.1 白细胞介素(IL)-1

静止的血小板内含有编码 IL-1 前体的 mRNA。活化后的血小板可表达 IL-1, IL-1 还诱导细胞间黏附分子-1(ICAM-1)表达,促进中性粒细胞、单核细胞黏附到内皮细胞上,并作用于内皮细胞,使其合成相应的趋化因子^[12],如 IL-8、血小板活化因子(PAF)等,对器官损伤具有重要作用。

2.2 P-选择素

活化的血小板表面表达 P-选择素,配体是 P 选择素糖蛋白配体-1(PSGL-1)。PSGL-1 与 P-选择素相互作用,使血小板聚集在白细胞周围,增加白细胞与内皮细胞的黏附性,P-选择素直接活化和上调白细胞黏附分子(CD11b/CD18),后者与糖蛋白 II b/III a(GP II b/III a)接合,促进白细胞与血小板的黏附及在血栓部位的聚集^[13],促进动脉粥样硬化相关的慢性炎症。

2.3 CD40 与 CD40 配体(CD40L)

CD40 在 B 淋巴细胞、单核细胞、巨噬细胞、内皮细胞及血小板表面均有表达。血小板活化后很快在膜表面表达 CD40L,CD40L 裂解后即可溶性 CD40L(sCD40L),循环中的 sCD40L 主要来自于血小板^[14],并具有生物活性。CD40L 主要功能包括^[14,15]:(1)诱导内皮、平滑肌和巨噬细胞分泌大量细胞因子,并在细胞表面表达黏附分子,调节白细胞在炎症部位信号途径;(2)诱导内皮、平滑肌和巨噬细胞表达组织因子,下调血栓调节蛋白,使内皮细胞的凝血活性增强、纤溶活性降低,促进局部血栓形成;(3)sCD40L 同样可通过 CD40 直接诱导血小板活化,通过结合 3-整合素(3-integrin),诱导 GP II b/III a 胞浆区磷酸化,触发血小板外向内的信号传导,促进血小板伸展和血栓形成。这些因素均与动脉粥样硬化的发生、发展密切相关。

2.4 LIGHT

LIGHT 是肿瘤坏死因子(TNF)超家族的成员,在血小板活化时,LIGHT 作为一种可溶性配体以 GP II b/III a 依赖机制释放。血小板源性 LIGHT

介导的炎症反应在动脉粥样硬化、动脉斑块活动及其他炎性过程,如白细胞浸润中发挥了致病原的作用^[16]。血小板衍生的 LIGHT 具多种生物学活性,能促进内皮细胞释放趋化因子,并上调内皮细胞黏附分子的表达,从而促进单核细胞与血管内皮细胞的黏附,促进炎症反应^[17]。

炎症和血栓间有着错综复杂的联系,因此血小板可以作为一个炎症治疗的靶点,抗血小板治疗除能抗血栓形成,还有抑制炎症的作用,这为炎症疾病和血栓性疾病的治疗提供了新的思路。靶向针对这些分子的治疗药物将成为抗炎症反应和血栓性疾病新的治疗策略。

3 参与粥样斑块形成

3.1 释放炎性因子与细胞因子

血小板不仅具有促进血栓形成的作用,而且是炎症和动脉粥样硬化的重要联系体。还可以通过表达和释放炎症介质,诱导白细胞的炎症作用,促进内皮细胞活化及变性,形成动脉粥样硬化和血栓性病变。血小板并不是简单地参与血栓形成,而是通过释放大量的促炎物质如第 4 因子(PF4)、IL-1 β 启动动脉粥样硬化^[18]。研究发现,血小板早于白细胞出现在斑块局部。血小板主要通过膜 GP I b-V-IX、GP VI 黏附 vWF 因子(von Willebrand factor)和胶原的作用,导致血小板活化以及 GP II b/III a、GP I a/II a 的变形和释放,同时在 α II b β 3 受体的作用下,诱导更多的血小板聚集,参与动脉粥样硬化的发展^[19]。血小板之间的相互连接的过程为血小板聚集,主要通过 GP II b/III a 受体与纤维蛋白原来完成的,当血小板活化后,血小板的致密颗粒、 α 颗粒、溶酶体、管道系统、胞质等释放或表达多种细胞因子及细胞因子类似物等,这些物质相互作用并与相应蛋白结合,调节血栓形成、炎症发生、动脉粥样硬化和血管重塑^[18]。

血小板能以 P-选择素及 β 1、2 类整合素依赖的方式介导 CD34⁺ 祖细胞分化成泡沫细胞,导致白细胞向血管内皮细胞趋化,引起动脉粥样硬化,因此源于 CD34⁺ 祖细胞的血管内皮细胞再生与血小板介导的泡沫细胞形成之间的平衡可能在动脉粥样硬化病损中起着至关重要的作用^[20]。

血小板中含有高水平的过氧化物酶增殖体活化受体 γ (PPAR γ),研究发现,PPAR γ 的激活剂可以减弱血小板的活化,特别是阻碍 CD40L 的释放^[21]。抗 CD40L 抗体可以减缓动脉粥样硬化斑块

的进展,并且形成更加稳定,富有胶原,缺乏巨噬细胞和 T 淋巴细胞的斑块结构^[22]。对 CD40/CD40L 系统的影响在动脉粥样硬化病变中发挥重要作用。

3.2 调控 P2Y₁₂ 表达

微小 RNA(miRNAs)由 21~24 个核苷酸组成,是基因表达的重要调控因素,无核血小板内含有 mRNA 并且有蛋白合成的能力。研究发现人类血小板含有大量和多样的 miRNAs。进一步分析显示,血小板含有 Ago2(Argonaute2)复合物,分别具有对 miRNAs 前体进行加工和控制特殊指示物转录体的功能。前体 miRNAs 在血小板内被加工成为 miRNAs,血小板内的 miRNAs 能介导 RNA 沉默。血小板内含有有功能的 Ago2-mRNA 复合体,能调控人类血小板中 P2Y₁₂ 的表达^[23]。作为血小板 ADP 受体亚基,P2Y₁₂ 受体已经成为重要的心血管病抗血栓治疗靶点。

3.3 参与体内血脂调节

在建立载脂蛋白 E(ApoE)敲除小鼠模型中,小鼠的血清胆固醇、三酰甘油和低密度脂蛋白含量显著升高,主动脉内膜出现明显的动脉粥样硬化斑块^[24]。有趣的是研究发现^[25]在 ApoE 敲除的动脉粥样硬化动物模型中,注射不同剂量 P-选择素或 PSGL-1 单克隆抗体,小鼠斑块中巨噬细胞数目降低,内膜增厚程度也降低,这暗示着血小板和血脂之间的某种联系。同时,低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)的清除过程与 ApoE/ApoB 及其受体密切相关,LDL 受体作为一种糖蛋白,在血小板表面也存在。以上结果提示,血小板直接参与了血脂代谢,但是其途径还需要进一步研究。

随着对血小板和血管内皮细胞交互作用分子机制研究的深入以及相关先进技术手段和研究方法的应用,血小板在动脉粥样硬化中的作用机理正逐渐明确,这将为临床上通过抗血小板治疗动脉粥样硬化提供新的策略。

4 参与天然免疫

在血小板活化时,可以释放多种多样、含量巨大的细胞内成分以及新合成活性物质,并且表达不少免疫性受体如 CD40L、血小板 Toll 样受体(TLRs)等。目前普遍认为血小板通过活化以及释放活性物质,可以触发增强免疫炎症效应,特别是通过 CD40/CD40L 途径。Clark 等^[26]在感染模型中发现,TLR4 捕获血中同源配体,引起血小板聚集,随后粒细胞聚集,形成粒细胞胞外网,尤其在

肝血窦、肺毛细管。这提示血小板可能通过识别分子模式和感染早期预警信号,直接或间接地监测病原菌,从而促进免疫,使血小板-粒细胞相互作用以增强对细菌的清除。血小板不仅表达 TLRs,而且表达 TLRs 具有调节炎症因子、黏附因子功能的作用。

随着血小板研究的不断深入,血小板的止血外功能逐渐被认识,这些功能与临床疾病的发生、发展的关系也陆续得到阐明,最终指导临床实践。

参 考 文 献

- [1] Knighton DR, Hunt TK, Thakral KK, et al. Role of platelets and fibrin in the healing sequence; an in vivo study of angiogenesis and collagen synthesis[J]. Ann Surg, 1982, 196(4):379-388.
- [2] Italiano JE Jr, Richardson JL, Patel-Hett S, et al. Angiogenesis is regulated by a novel mechanism; pro-and antiangiogenic proteins are organized into separate platelet alpha granules and differentially released[J]. Blood, 2008, 111(3):1227-1233.
- [3] Ma L, Perini R, McKnight W, et al. Proteinase-activated receptors 1 and 4 counter-regulate endostatin and VEGF release from human platelets[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2005, 102(1):216-220.
- [4] Pintucci G, Froum S, Pinnell J, et al. Trophic effects of platelets on cultured endothelial cells are mediated by platelet-associated fibroblast growth factor-2 (FGF-2) and vascular endothelial growth factor (VEGF)[J]. Thromb Haemost, 2002, 88(5):834-842.
- [5] Brill A, Dashevsky O, Rivo J, et al. Platelet-derived microparticles induce angiogenesis and stimulate post-ischemic revascularization[J]. Cardiovasc Res, 2005, 67(1):30-38.
- [6] Kim HK, Song KS, Chung JH, et al. Platelet microparticles induce angiogenesis in vitro[J]. Br J Haematol, 2004, 124(3):376-384.
- [7] Ratajczak J, Wysoczynski M, Hayek F, et al. Membrane-derived microvesicles; important and underappreciated mediators of cell-to-cell communication[J]. Leukemia, 2006, 20(9):1487-1495.
- [8] Smadja DM, Bièche I, Uzan G, et al. PAR-1 activation on human late endothelial progenitor cells enhances angiogenesis in vitro with upregulation of the SDF-1/CXCR4 system[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2005, 25(11):2321-2327.
- [9] Suppiah R, Shaheen PE, Elson P, et al. Thrombocytosis as a prognostic factor for survival in patients with metastatic renal cell carcinoma[J]. Cancer, 2006, 107(8):1793-1800.
- [10] Brattstrom D, Bergqvist M, Hesselius P, et al. Serum VEGF and bFGF adds prognostic information in patients with normal platelet counts when sampled before, during and after treatment for locally advanced non-small cell lung cancer[J].

- Lung Cancer, 2004, 43(1):55-62.
- [11] Folkman J. Angiogenesis; an organizing principle for drug discovery[J]. Nat Rev Drug Discov, 2007, 6(4):273-286.
- [12] von Hundelshausen P, Weber C. Platelets as immune cells; bridging inflammation and cardiovascular disease [J]. Circ Res, 2007, 100(1):27-40.
- [13] Ma YQ, Plow EF, Geng JG. P-selectin binding to P-selectin glycoprotein ligand-1 induces an intermediate state of alphaMbeta2 activation and acts cooperatively with extracellular stimuli to support maximal adhesion of human neutrophils[J]. Blood, 2004, 104(8):2549-2556.
- [14] Balla J, Magyar MT, Bereczki D, et al. Serum levels of platelet released CD40 ligand are increased in early onset occlusive carotid artery disease [J]. Dis Markers, 2006, 22(3):133-140.
- [15] Freedman JE. CD40-CD40L and platelet function: beyond hemostasis[J]. Circ Res, 2003, 92(9):944-946.
- [16] Cognasse F, Hamzeh H, Chavarin P, et al. Evidence of Toll-like receptor molecules on human platelets[J]. Immunol cell Biol, 2005, 83(2):196-198.
- [17] Otterdal K, Smith C, Oie E, et al. Platelet-derived LIGHT induces inflammatory responses in endothelial cells and monocytes[J]. Blood, 2006, 108(3):928-935.
- [18] King SM, McNamee RA, Hough AK, et al. Platelet dense-granule secretion plays a critical role in thrombosis and subsequent vascular remodeling in atherosclerotic mice[J]. Circulation, 2009, 120(9):785-791.
- [19] Lindemann S, Krämer B, Seizer P, et al. Platelets, inflammation and atherosclerosis[J]. J Thromb Haemost, 2007, 5 (Suppl 1): 203-211.
- [20] Stellos K, Seizer P, Bigalke B, et al. Platelet aggregates-induced human CD34 + progenitor cell proliferation and differentiation to macrophages and foam cells is mediated by stromal cell derived factor 1 in vitro [J]. Semin Thromb Hemost, 2010, 36(2):139-145.
- [21] Akbiyik F, Ray DM, Gettings KF, et al. Human bone marrow megakaryocytes and platelets express PPAR, and PPAR agonists blunt platelet release of CD40 ligand and thromboxanes[J]. Blood, 2004, 104(5):1361-1368.
- [22] Prasad KS, Andre P, Yan Y, et al. The platelet CD40L/GP II b-III a axis in atherothrombotic disease [J]. Curr Opin Hematol, 2003, 10(5):356-361.
- [23] Landry P, Plante I, Ouellet DL, et al. Existence of a microRNA pathway in anucleate platelets[J]. Nat Struct Mol Biol, 2009, 16(9):961-966.
- [24] Yuan Z, Su Z, Miyoshi T, et al. Quantitative trait locus analysis of circulating adhesion molecules in hyperlipidemic apolipoprotein E-deficient mice [J]. Mol Genet Genomics, 2008, 280(5):375-383.
- [25] Phillips JW, Barringhaus KG, Sanders JM, et al. Single injection of P-selectin or P-selectin glycoprotein ligand-1 monoclonal antibody blocks neointima formation after arterial injury in apolipoprotein E-deficient mice [J]. Circulation, 2003, 107(17):2244-2249.
- [26] Clark SR, Ma AC, Tavener SA, et al. Platelet TLR4 activates neutrophil extracellular traps to ensnare bacteria in septic blood[J]. Nat Med, 2007, 13(4):463-469.

(收稿:2011-03-07 修回:2011-04-06)

(本文编辑:丁媛媛)

“第四届首都急诊医学高峰论坛”征文通知

“第四届首都急诊医学高峰论坛”(CFECCM)将于 2011 年 8 月 26~28 日在北京国际会议中心(BICC)隆重召开。本次论坛由首都医科大学急诊医学系所属 15 家三甲医院和中日友好医院等医疗机构联合主办。大会将邀请国内、外从事急诊医学及相关领域的专家、学者分享国内外最新的研究进展和发展动态,共同探讨我国急诊医学的发展之路。会议内容涉及到心脑血管、儿科、护理、呼吸、危重病等多个领域学科,并授予国家继续教育学分 I 类 6 分。大会组委会诚挚地邀请您前来参加此次会议!

邮寄地址:北京市宣武区广安内大街 208 号信恒大厦 B 座 319 室 邮编:100053

投稿邮箱:cfeccm@163.com 电话:010-83553348 传真:01083554458 网址:www.cfeccm.org