

单核细胞/血小板复合体与动脉粥样硬化

邹继宏 杨丽霞

【摘要】 在动脉粥样硬化中,单核细胞/血小板复合体(MPA)扮演着重要角色,广泛参与内皮损伤、炎性细胞招募、纤维帽形成和破裂等过程。P 选择素、血小板糖蛋白 II b/III a 受体、蛋白激酶受体-1、细胞外基质金属蛋白酶诱导因子等促进了单核细胞/血小板复合体的形成,后者则可通过激活经典的炎症性核因子- κ B 通路,分泌环氧化物酶-2、组织因子、白细胞介素、肿瘤坏死因子- α 等影响动脉粥样硬化的发展。

【关键词】 动脉粥样硬化;单核细胞/血小板复合体;细胞因子

doi:10.3969/j.issn.1673-6583.2013.01.008

在动脉粥样硬化过程中血小板和单核细胞既可以独自发挥作用,也可以形成单核细胞/血小板复合体(MPA)参与其中。研究发现 MPA 存在于动脉粥样硬化的多种高危因素疾病中,有重要的临床意义。在高血压患者中,血压升高将抑制血小板合成一氧化氮(NO),增加 P 选择素的表达,促进循环中 MPA 的形成^[1];在高血脂患者中有血小板激活、聚集,也有大量的 MPA 形成,并随着血脂的升高而升高;在吸烟者、糖尿病患者和稳定型心绞痛患者体内同样发现大量激活的 MPA,而在急性心肌梗死患者中 MPA 则是早期敏感指标^[2]。单核细胞是泡沫细胞的主要来源^[3],MPA 中激活的血小板可以增强单核细胞的功能,促使其分泌多种活性因子,直接参与了血栓形成、炎症反应等,同时 MPA 还可以影响内皮细胞的功能。可见单核细胞和血小板的相互作用在动脉粥样硬化发展中有重要意义^[4]。

1 MPA 的形成

大量研究发现,激活的血小板需要借助一些分子才能黏附到单核细胞表面形成 MPA,发挥各种作用。其中最重要的是 P 选择素/P 选择素配体(PSGL-1),此外还有血小板糖蛋白 II b/III a(GP II b/III a)受体、蛋白激酶受体-1(PAR-1)、细胞外基质金属蛋白酶诱导因子(EMMPRIN)等。

1.1 P 选择素/PSGL-1

P 选择素是选择素类蛋白之一,血小板静息时主要储存在 α -颗粒中,激活后表达于血小板表面,介导血小板与其他细胞间的连接^[5],参与了动脉粥

样硬化等过程,是评价血小板功能的重要指标,也是促进 MPA 形成的最重要表面分子。PSGL-1 主要是在单核细胞上表达,P 选择素/PSGL-1 不仅可影响血小板上受体的分布,而且影响 MPA 的形成。研究发现 PSGL-1 比 GP II b/III a 和单核细胞趋化因子-1(MCP-1)能更好地促进 MPA 的形成^[6]。C-反应蛋白(CRP)是动脉粥样硬化中重要的炎性标志物,可通过 P 选择素途径促进 MPA 的形成,当用 PSGL-1 拮抗剂作用于含人类 CRP 的转基因小鼠时,CRP 对 MPA 形成的促进作用受阻^[7]。Bournazos 等^[8]发现 PSGL-1 拮抗剂和 Ca^{2+} 螯合剂都可以阻断血小板的激活,减少 MPA 进而减轻动脉粥样硬化。由此可见,P 选择素/PSGL-1 对 MPA 的形成中有重要的作用。

1.2 GP II b/III a 受体

GP II b/III a 受体是血小板表达量最多的整合素蛋白,由 α 和 β 两个亚基组成。既往研究不同的 GP II b/III a 受体抑制剂的作用时发现:这些抑制剂降低了 ADP 对血小板的激活作用,减少了血小板间的聚集,所有抑制剂组 MPA 的形成都减少,同时组织因子也随着 MPA 减少下降,说明 GP II b/III a 发挥作用可能和组织因子有关^[9]。除了组织因子外,GP II b/III a 受体抑制剂还可以通过降低 sCD40L 来抑制 MPA 的形成^[10]。在临床上,经皮冠状动脉介入治疗术(PCI)后患者使用阿西单抗时,肌钙蛋白 T 降低,血小板与单核细胞、单核细胞与内皮细胞间的黏附减少,炎症反应减轻,使患者得到较好的获益。

1.3 蛋白激酶受体-1

蛋白激酶受体(PARs)是重要的凝血酶受体,

影响血小板的功能^[11]。PARs 有 4 个亚型,其中第一个亚型 PAR-1 参与了多个心血管疾病过程。用 PAR-1 激动剂 SFLLRN 注入体内后周期性检测血液指标发现,随着 PAR-1 水平的增高,激活聚集的血小板逐渐增多,同时 MPA 和血浆组织型纤溶酶原激活剂(tPA)也增加,当用 GP II b/III a 受体抑制剂完全抑制血小板聚集时,PAR-1 激动剂还能继续促进 MPA 的形成^[12]。这可能与细胞内的 Ca^{2+} 和血小板释放的 ADP 有关^[13]。Serebruany 等^[14]在冠状动脉疾病患者中使用 PAR-1 的拮抗剂 E5555 时发现,E5555 可以选择性拮抗 ADP 和凝血酶原对血小板的激活作用,减少血小板表面活性标志物的表达和 MPA 的形成。

1.4 EMMPRIN

EMMPRIN 不仅可通过诱导金属蛋白激酶影响斑块稳定性,而且可以促进 MPA 的形成。过去显示 EMMPRIN 主要表达于单核细胞,然而, Schmidt 等^[15]用透射电子显微镜观察到 EMMPRIN 也存在血小板上,主要在开放小管系统和 α -颗粒中。当血小板的形态发生改变或者脱颗粒时 EMMPRIN 释放增多,表达于血小板膜上;且通过构建 EMMPRIN-Fc 重组蛋白与血小板、单核细胞上的 EMMPRIN 配体亲环素 A(CypA)结合,上调基质金属蛋白酶-9(MMP-9),加强了细胞与细胞间的联系。

2 MPA 的作用

MPA 参与了动脉粥样硬化的多个阶段,可分泌多种细胞因子如:环氧合酶-2(COX-2)、组织因子,更为重要的是激活经典的炎症性核因子- κB (NF- κB)通路分泌白细胞介素(IL)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、MMP-9 等。

2.1 NF- κB 通路

MPA 形成后主要是激活 NF- κB 通路。NF- κB 参与感染、炎症、创伤、氧化应激等,可诱导多种活性因子表达上调^[16]。Dixon 等^[17]的研究发现,在 MPA 中 P 选择素/PSGL-1 可以激活 NF- κB 通路。用 NF- κB 抑制剂 BMS-345541 作用于 MPA,发现 MPA 可经过 NF- κB 途径诱导 IL-1、IL-10、TNF- α 表达^[8]。TNF- α 是重要的炎症因子,可调节金属蛋白激酶、纤维蛋白酶原激活抑制剂-1 等活性因子,促进各种炎性细胞和内皮细胞的黏附,改变内皮细胞的通透性,使脂质沉积。MPA 在 EMMPRIN 介导下,通过 NF- κB 通路促进单核细胞上 MMP-9、IL-6 和 TNF- α 的表达。

2.2 COX-2

MPA 在炎症早期的重要作用可能与 COX-2 有关。抑制 COX-2 能减轻内皮细胞的炎症反应,减少单核细胞的渗入,增强血液内其他细胞的功能,增加斑块的稳定性,减少不良心血管事件的发生^[6]。Dixon 等研究^[17]发现,在单独的单核细胞组中并没有 COX-2 表达;在 MPA 组中,激活的血小板通过联合信号转导和转录控制促进共同培养的单核细胞表达 COX-2 和前列腺素,在 0.5 h 和 8 h 都发现 COX-2 mRNA,且逐渐增多,血小板长时间的黏附还使单核细胞中的 COX-2 mRNA 处于较稳定的状态,当在 MPA 体系中加入 P 选择素或 PSGL-1 后激活胞外信号调节激酶(ERK)和 p38 丝裂原活化蛋白激酶(p38 MAPKs)途径,使 Hu 抗原 R 从细胞核内转移到细胞质中,促进 COX-2、IL-1 表达。COX-2 还能促进单核细胞和内皮细胞的黏附,用 COX-2 的选择性抑制剂 NS-398 作用后将抑制单核细胞 CD16 表达和向内皮细胞的黏附,减少前列腺素受体 1/受体 2 表达。

2.3 组织因子

组织因子可通过与 VII 因子作用启动凝血途径。其中,血液细胞上的组织因子(TF)的作用比血管壁上的组织因子的作用更强^[18]。在单核细胞上的组织因子激活后将影响内皮细胞、白细胞等多种细胞的功能^[19],在动脉粥样硬化斑块上也有组织因子的表达。在高血糖或胰岛素抵抗等患者体内发现 MPA 和组织因子是同时升高的^[20]。组织因子在单核细胞上表达量较少,当加入激活的血小板,在 P 选择素参与下形成 MPA 后,组织因子的表达将大量增加,同时促进血栓形成^[21]。Kopp 等^[22]的研究也发现,在正常人体内,单核细胞表面的组织因子表达是有限的,但在急性心肌梗死和不稳定型心绞痛患者体内,随着 MPA 的增多,组织因子的表达也增多;当加入凝血酶抑制剂时,组织因子随着 MPA 的数量减少^[23],表明组织因子与 MPA 是密切相关的。在 MPA 中,激活的血小板主要是通过 P 选择素和 CD40 经酪氨酸蛋白激酶 Lyn 磷酸化途径诱导组织因子、IL-8 和 MCP-1 在单核细胞上表达,用非受体蛋白酪氨酸激酶抑制剂 SU6656 可以抑制这一过程,但是酪氨酸激酶家族 Src 抑制剂 PP2 则没有抑制作用^[24]。

4 小结

综上所述,MPA 在动脉粥样硬化中扮演着重要角色,也体现了细胞与细胞间的相互联系在动脉

粥样硬化中的作用。MPA 是动脉粥样硬化的早期敏感指标,也是其治疗的新靶点。但是 MPA 复合体具体的病理生理机制还不清楚,其他细胞形成的复合体系又有什么样的作用,怎样才能有效地抑制这种复合体系的形成等还需要进一步的研究,以使用于临床动脉粥样硬化疾病的早期诊断及治疗。

参 考 文 献

- [1] Gkaliagkousi E, Corrigan V, Becker S, et al. Decreased platelet nitric oxide contributes to increased circulating monocyte-platelet aggregates in hypertension[J]. *Eur Heart J*, 2009, 30(24): 3048-3054.
- [2] Furman MI, Barnard MR, Krueger LA, et al. Circulating monocyte-platelet aggregates are an early marker of acute myocardial infarction[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2001, 38(4): 1002-1006.
- [3] Iwata H, Nagai R. Novel immune signals and atherosclerosis[J]. *Curr Atheroscler Rep*, 2012, 14(5): 484-490.
- [4] Michelson 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[J]. *Circulation*, 2001, 104(13): 1533-1537.
- [5] Khismatullin DB, Truskey GA. Leukocyte rolling on p-selectin: a three-dimensional numerical study of the effect of cytoplasmic viscosity[J]. *Biophys J*, 2012, 102(8): 1757-1766.
- [6] Fernandes LS, Conde ID, Wayne Smith C, et al. Platelet-monocyte complex formation: effect of blocking PSGL-1 alone, and in combination with alphaIIb beta3 and alphaM beta2, in coronary stenting[J]. *Thromb Res*, 2003, 111(3): 171-177.
- [7] Danenberg HD, Kantak N, Grad E, et al. C-reactive protein promotes monocyte-platelet aggregation: an additional link to the inflammatory-thrombotic intricacy[J]. *Eur J Haematol*, 2007, 78(3): 246-252.
- [8] Bournazos S, Rennie J, Hart SP, et al. Monocyte functional responsiveness after PSGL-1-mediated platelet adhesion is dependent on platelet activation status[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2008, 28(8): 1491-1498.
- [9] Zhao L, Bath PM, Fox S, et al. The effects of GP II b/III a antagonists and a combination of three other antiplatelet agents on platelet-leukocyte interactions[J]. *Curr Med Res Opin*, 2003, 19(3): 178-186.
- [10] Kopp CW, Steiner S, Nasel C, et al. Abciximab reduces monocyte tissue factor in carotid angioplasty and stenting[J]. *Stroke*, 2003, 34(11): 2560-2567.
- [11] Kreutz RP, Breall JA, Kreutz Y, et al. Protease activated receptor-1 (PAR-1) mediated platelet aggregation is dependant on clopidogrel response[J]. *Thromb Res*, 2012, 130(2): 198-202.
- [12] Gudmundsdottir IJ, Megson IL, Kell JS, et al. Direct vascular effects of protease-activated receptor type 1 agonism in vivo in humans [J]. *Circulation*, 2006, 114 (15): 1625-1632.
- [13] Johnston-Cox HA, Ravid K. Adenosine and blood platelets [J]. *Purinergic Signal*, 2011, 7(3): 357-365.
- [14] Serebruany VL, Kogushi M, Dastros-Pitei D, et al. The in-vitro effects of E5555, a protease-activated receptor (PAR)-1 antagonist, on platelet biomarkers in healthy volunteers and patients with coronary artery disease[J]. *Thromb Haemost*, 2009, 102(1): 111-119.
- [15] Schmidt R, Bultmann A, Fischel S, et al. Extracellular matrix metalloproteinase inducer (CD147) is a novel receptor on platelets, activates platelets, and augments nuclear factor kappaB-dependent inflammation in monocytes[J]. *Circ Res*, 2008, 102(3): 302-309.
- [16] DiDonato JA, Mercurio F, Karin M. NF-kappaB and the link between inflammation and cancer[J]. *Immunol Rev*, 2012, 246(1): 379-400.
- [17] Dixon DA, Tolley ND, Bemis-Standoli K, et al. Expression of COX-2 in platelet-monocyte interactions occurs via combinatorial regulation involving adhesion and cytokine signaling[J]. *J Clin Invest*, 2006, 116(10): 2727-2738.
- [18] Cimmino G, D'Amico C, Vaccaro V, et al. The missing link between atherosclerosis, inflammation and thrombosis: is it tissue factor? [J]. *Expert Rev Cardiovasc Ther*, 2011, 9(4): 517-523.
- [19] Osterud B, Bjorklid E. Tissue factor in blood cells and endothelial cells[J]. *Front Biosci (Elite Ed)*, 2012, 1(4): 289-299.
- [20] Vaidyula VR, Boden G, Rao AK. Platelet and monocyte activation by hyperglycemia and hyperinsulinemia in healthy subjects[J]. *Platelets*, 2006, 17(8): 577-585.
- [21] Weerasinghe A, Athanasiou T, Philippidis P, et al. Platelet-monocyte pro-coagulant interactions in on-pump coronary surgery[J]. *Eur J Cardiothorac Surg*, 2006, 29(3): 312-318.
- [22] Kopp C W, Gremmel T, Steiner S, et al. Platelet-monocyte cross talk and tissue factor expression in stable angina vs. unstable angina/non ST-elevation myocardial infarction[J]. *Platelets*, 2011, 22(7): 530-536.
- [23] Christersson C, Johnell M, Siegbahn A. The influence of direct thrombin inhibitors on the formation of platelet-leukocyte aggregates and tissue factor expression[J]. *Thromb Res*, 2010, 126(4): e327-333.
- [24] Christersson C, Johnell M, Siegbahn A. Tissue factor and IL8 production by P-selectin-dependent platelet-monocyte aggregates in whole blood involves phosphorylation of Lyn and is inhibited by IL10[J]. *J Thromb Haemost*, 2008, 6(6): 986-994.

(收稿:2012-09-04 修回:2012-10-17)

(本文编辑:金谷英)