

中文翻译版

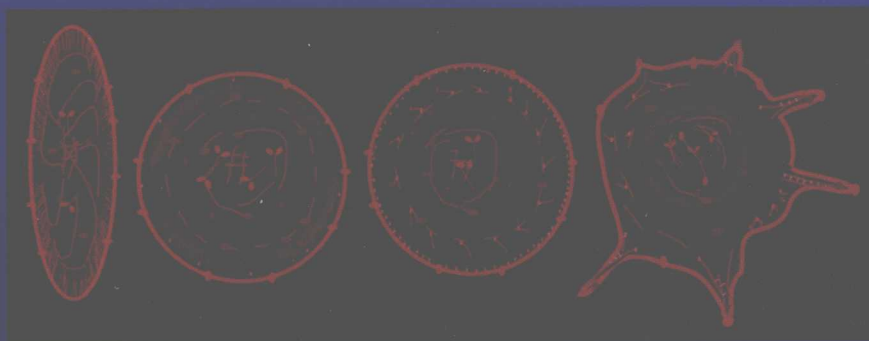
血小板功能

——评估、诊断和治疗

Platelet Function

Assessment, Diagnosis, and Treatment

[爱尔兰] Martin Quinn, Desmond Fitzgerald 著



科学出版社
www.sciencep.com

血小板功能

——评估、诊断和治疗

Platelet Function

Assessment, Diagnosis, and Treatment

〔爱尔兰〕 Martin Quinn, Desmond Fitzgerald 著

卢瑾 郭如华 主 译

张广森 余晋林 审 校

科学出版社

北 京

图字:01-2006-6122

内 容 简 介

本书分3个部分,从基础到临床全面综述了血小板的生理、功能评估和临床应用各方面,甚至涉及蛋白质组学、转录本组学和基因组学这些新兴领域在血小板研究与实验中的应用。

本书对于血液研究者、临床医生、医学院校的本科生和研究生、血站工作人员等是一本不可多得的好书。

图书在版编目(CIP)数据

血小板功能:评估、诊断和治疗 / (爱尔兰)奎因(Quinn, M.)等著;卢瑾,郭如华译. —北京:科学出版社,2008

ISBN 978-7-03-020160-7

I. 血… II. ①奎… ②卢… ③郭… III. 血细胞-研究 IV. R331.1

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2007)第 196402 号

责任编辑:向小峰 吴茵杰 / 责任校对:宋玲玲

责任印制:刘士平 / 封面设计:黄 超

The original English language work has been published by HUMANA PRESS
Totowa, New Jersey, U. S. A.

© 2005 by Humana Press. All rights reserved.

版权所有,违者必究。未经本社许可,数字图书馆不得使用

科 学 出 版 社 出 版

北京东黄城根北街16号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

中国科学院印刷厂印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2008年1月第 一 版 开本:787×1092 1/16

2008年1月第一次印刷 印张:17 1/2

印数:1—2 000 字数:400 000

定价:90.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换(科印))

《血小板功能——评估、诊断和治疗》

翻译人员

主 译 卢 瑾(佛山市中心血站)
郭如华(佛山市中心血站)

审 校 张广森(中南大学湘雅二医院血液科)
余晋林(佛山市中心血站)

参 译 (按姓氏笔画排序)
马春会 卢 瑾 朱业华
何其通 罗海玲 郭如华
温丽玲

前言

血小板是血液中微小的、无细胞核的颗粒,它在血凝块形成中起关键作用。在内皮受损区域和凝血级联反应的激活过程中,血小板发生形态改变,释放颗粒内容物并活化。该过程中平滑的圆盘形血小板变成黏性的具有突起的颗粒,从而获得了结合血浆纤维蛋白原并形成凝块的能力。先天性或获得性血小板功能缺陷较罕见,通常出血症状轻微。相反,血小板活化过度或不足则比较常见,例如在内皮受损部位的过度活化,成为许多心血管疾病比如心肌梗死、不稳定型心绞痛和卒中等发病的基础。抗血小板药物对处理这些情况起了重要作用,现在已经有多种药物可用于临床。

血小板功能很难评估,许多检测试验都以血小板聚集反应为基础。检测手段上的相对贫乏,导致了理解血小板生物学、评估患者的血栓形成风险和确定抗血小板药物的合理剂量等方面都受到局限。本书集中介绍了血小板的生物学和目前所用的评估血小板功能的各种方法。

第一部分为血小板生理,使读者掌握血小板的生物学知识,这为后面的功能分析打下了基础。第二部分介绍了评估血小板功能的方法,包括普遍应用的血小板聚集试验、血栓烷生成、血小板活化标记的表达、促凝血活性和流动状态下的血小板功能等,对生命科学新技术如蛋白质组学和基因组学以及它们在血小板研究中的应用也作了介绍,该部分的内容主要集中在血小板研究的技术和结果两方面。第三部分描述了各种评估体内血小板功能的方法及其临床应用,并概述了抗血小板治疗的现状。

本书的读者对象为科学工作者、临床研究者、临床医生以及其他对血小板生物学感兴趣的卫生和保健工作者。

Martin Quinn, MB BCh BAO, PhD

Desmond Fitzgerald, MD, FRCPI, FESC, AAP

CONTRIBUTORS

- ELAINE L. BEARER, MD, PhD • *Department of Pathology and Laboratory Medicine, Brown University Medical School, Providence, RI*
- TATIANA BYZOVA, PhD • *Joseph J. Jacobs Center for Thrombosis and Vascular Biology, Department of Molecular Cardiology, Lerner Research Institute of the Cleveland Clinic Foundation, Cleveland, OH*
- IAN DEL CONDE, MD • *Thrombosis Research Section, Department of Medicine, Baylor College of Medicine, Houston, TX*
- DERMOT Cox, PhD • *Department of Clinical Pharmacology, Royal College of Surgeons in Ireland, Dublin, Ireland*
- JING-FEI DONG, MD, PhD • *Thrombosis Research Section, Department of Medicine, Baylor College of Medicine, Houston, TX*
- DESMOND FITZGERALD, MD, FRCPI, FESC, AAP • *Vice President of Research, University College Dublin; formerly Department of Clinical Pharmacology, Royal College of Surgeons in Ireland, Dublin, Ireland*
- MARK I. FURMAN, MD • *Center for Platelet Function Studies, Division of Cardiovascular Medicine, Department of Medicine, University of Massachusetts Medical School, Worcester, MA*
- MEINRAD GAWAZ, MD • *Medizinische Universitätsklinik und Poliklinik, Klinikum auf dem Schnarrenberg, Universität Tübingen, Tübingen, Germany*
- LISA K. JENNINGS, PhD • *Vascular Biology Center of Excellence, Departments of Medicine, Molecular Science, Surgery, and the Joint Program of Biomedical Engineering, The University of Tennessee Health Science Center, Memphis, TN*
- MICHAEL KALAFATIS, PhD • *Joseph J. Jacobs Center for Thrombosis and Vascular Biology, Department of Molecular Cardiology, Lerner Research Institute of the Cleveland Clinic Foundation, Cleveland; Department of Chemistry, Cleveland State University, Cleveland, OH*
- NEAL KLEIMAN, MD • *Director Cardiac Catheterization Laboratory, Methodist DeBakey Heart Center, Department of Medicine, Baylor College of Medicine, Houston, TX*
- STEPHAN LINDEMANN, MD • *Department of Medicine, Johannes Gutenberg-University, Mainz, Germany*
- JOSÉ A. LÓPEZ, MD • *Thrombosis Research Section, Department of Medicine, Baylor College of Medicine, Houston, TX*
- KATRIN MARCUS, PhD • *Medical Proteom-Center, Ruhr-University of Bochum, Bochum, Germany*
- ANDREW MAREE, MD • *Department of Clinical Pharmacology, Royal College of*

- Surgeons in Ireland, Dublin, Ireland*
- THOMAS M. MCINTYRE, PhD • *Departments of Internal Medicine and Pathology and the Eccles Institute of Human Genetics, University of Utah, Salt Lake City, UT*
- JAMES MCREDMOND, PhD • *The Conway Institute of Biomedical and Biomolecular Research, University College Dublin, Dublin, Ireland*
- HELMUT E. MEYER, PhD • *Medical Proteom-Center, Ruhr-University of Bochum, Bochum, Germany*
- ALAN D. MICHELSON, MD • *Center for Platelet Function Studies, Department of Pediatrics, University of Massachusetts Medical School, Worcester, MA*
- DAVID J. MOLITERNO, MD • *Gill Heart Institute, Division of Cardiovascular Medicine, University of Kentucky Chandler Medical Center, Lexington, KY*
- EMIL NEGRESCU, MD, PhD • *Joseph J. Jacobs Center for Thrombosis and Vascular Biology, Department of Molecular Cardiology, Lerner Research Institute of the Cleveland Clinic Foundation, Cleveland, OH*
- CARLO PATRONO, MD • *Department of Pharmacology, University of Rome La Sapienza, Rome, Italy*
- KARLHEINZ PETER, MD • *Department of Cardiology and Angiology, University of Freiburg, Freiburg, Germany*
- EDWARD F. PLOW, PhD • *Joseph J. Jacobs Center for Thrombosis and Vascular Biology, Department of Molecular Cardiology, Lerner Research Institute of the Cleveland Clinic Foundation, Cleveland, OH*
- STEPHEN M. PRESCOTT, MD • *Department of Internal Medicine and the Huntsman Cancer Institute, University of Utah, Salt Lake City, UT*
- MARTIN QUINN, MB BCh BAO, PhD, MSc • *Department of Cardiology, St. Vincents University Hospital, Dublin, Ireland*
- BIANCA ROCCA, MD • *Research Center on Physiopathology of Haemostasis, Department of Internal Medicine, Catholic University School of Medicine, Rome, Italy*
- ZAVERIO M. RUGGERI, MD • *The Roon Research Center for Atherosclerosis and Thrombosis, Division of Experimental Hemostasis and Thrombosis, Department of Molecular and Experimental Medicine, The Scripps Research Institute, La Jolla, CA*
- BRIAN SAVAGE, PhD • *The Roon Research Center for Atherosclerosis and Thrombosis, Division of Experimental Hemostasis and Thrombosis, Department of Molecular and Experimental Medicine, The Scripps Research Institute, La Jolla, CA*
- JACQUELINE SAW, MD • *Laurel Cardiology, Vancouver General Hospital, Vancouver, British Columbia, Canada*
- ANDREW S. WEYRICH, PhD • *Department of Internal Medicine and the Eccles Institute of Human Genetics, University of Utah, Salt Lake City, UT*
- MELANIE M. WHITE, BS • *Vascular Biology Center of Excellence and the Department of Medicine, The University of Tennessee Health Science Center, Memphis, TN*
- GUY A. ZIMMERMAN, MD • *Department of Internal Medicine and the Eccles Institute of Human Genetics, University of Utah, Salt Lake City, UT*

目 录

前言

第一部分 血小板生理

第一章	血小板生理	(3)
第二章	血小板整合素和信号转导	(16)
第三章	血小板黏附	(31)
第四章	血小板细胞骨架的结构与功能	(51)
第五章	血小板与炎症	(79)
第六章	血小板信号依赖性蛋白质合成	(103)
第七章	人血小板磷酸化蛋白的蛋白质组学	(121)

第二部分 血小板功能评估

第八章	血小板功能研究	(141)
第九章	流动状态下的血小板的功能	(157)
第十章	GP II b/III a 受体阻断剂的药效动力学	(174)
第十一章	血小板功能中前列腺素生成的作用(评估和临床联系)	(188)
第十二章	血小板和凝血酶原	(198)
第十三章	血小板活化标记及颗粒分泌	(211)
第十四章	血小板基因组学和蛋白质组学分析(临床应用)	(221)

第三部分 临床应用

第十五章	抗血小板药物	(235)
第十六章	临床实验对血小板功能的评估	(260)

图版

第一部分

血小板生理

第一章 血小板生理

内容:

简介

血小板活化

血小板黏附和GP Ib/IX/V

血小板和炎症反应

结论

参考文献

一、简介

血小板是循环在血液中的一种没有细胞核的颗粒。它们以非活化形式在机体中循环,直到它们接触到内皮细胞的缺损区或遇到凝血级联反应才被活化。此时它们黏附于内皮细胞的缺损部位,发生形变,释放颗粒内容物,并相互黏附形成聚集物。从生理学角度,这些过程有助于限制血液流失;然而,不恰当的或过度的血小板活化会导致急性血管阻塞,比如急性心肌梗死的发生。活化的血小板也表达和释放一些分子,这些分子能通过激活白细胞和内皮细胞来刺激局部的炎症反应。目前已经明确血小板的功能不仅仅是止血。事实上,血小板与许多病理过程有关联,包括宿主防御反应、炎症性关节炎、成人型呼吸窘迫综合征以及肿瘤生长和转移。本书第一章主要介绍血小板生理学,为后续章节更深入地讨论提供一个全局性背景。

二、血小板活化

血小板活化是指血小板由平滑的、非黏性状态转变成黏性的、有突起的状态,释放和表达生物活性物质,并获得结合血浆纤维蛋白原的能力。当血小板暴露于化学刺激物,通常称为诱导剂时,活化过程便迅速发生。高流体剪切应力也能刺激血小板活化过程的发生,比如在严重动脉狭窄处^[1]。

(一) 血小板诱导剂

许多诱导剂均可产生、表达或释放于内皮受损处或凝血级联反应的激活部位(表 1-1)。

表 1-1 血小板聚集诱导剂

二磷酸腺苷(ADP)	胶原
凝血酶	剪切应力
血栓素 A ₂	前列腺素 E ₂ (PGE ₂ ;低浓度)
肾上腺素	8-异前列腺素 F _{2α} (8-Iso-PGF _{2α})
血清素	

各种诱导剂诱导血小板活化的能力不尽相同:凝血酶、胶原和血栓素 A_2 (TXA₂) 都是强诱导剂,可引起不依赖于血小板颗粒分泌的聚集反应;二磷酸腺苷(ADP)和血清素是中等强度诱导剂,需要颗粒分泌才能引起不可逆性聚集反应;而肾上腺素仅在超生理浓度下才有作用。

1. 凝血酶 凝血酶(因子Ⅱ)是一种酶,确切地说是一种丝氨酸蛋白酶,它具有多种生理功能。除了能够刺激血小板活化和将纤维蛋白原转化为纤维蛋白之外,它还参与血管张力的调节,平滑肌细胞的增殖和迁移以及炎症反应^[2~5]、血管生成^[6]和胚胎发育^[7,8]。在凝血级联反应中,凝血酶从无活性前体的凝血酶原裂解而来。活化的血小板能为凝血酶原酶复合物的组装提供带负电荷的磷脂,大大地促进了凝血级联反应。凝血酶原酶复合物和凝血酶的生物学作用在第十二章中有更详细的介绍。

凝血酶信号发生由 G 蛋白连接受体中的一个被称为蛋白酶活化受体(PAR)的特殊家族所介导^[9]。凝血酶通过裂解它们的胞外区氨基末端来激活这些受体,暴露出一段活化序列而使受体自身激活^[10]。PAR-1~4 是 4 个独立的 PAR 受体。其中 PAR-1、PAR-3 和 PAR-4 可被凝血酶激活。PAR-2 对凝血酶不敏感,但可被胰蛋白酶激活。能被凝血酶激活的 3 个 PAR 受体中,PAR-1^[11]和 PAR-4^[12]可以调节凝血酶对人类血小板的作用^[13]。另一个受体 PAR-3 仅在鼠血小板中表达。PAR-1 和 PAR-4 受体在与凝血酶的亲和力以及活化和失活时间等方面是不相同的。由于受体内化的原因,低浓度的凝血酶(约 1nmol/L)刺激 PAR-1 诱导的反应比刺激 PAR-4 诱导的反应更加迅速和短暂^[14]。然而,由于反式激活现象,在 PAR-3 的存在下,低浓度的凝血酶通过结合 PAR-3,裂解附近的 PAR-4,使 PAR-4 活化^[15]。凝血酶诱导的聚集反应不依赖于 Gi 蛋白;然而,它对腺苷酸环化酶的抑制作用依赖于 ADP 的分泌和 Gi 蛋白经由 P2Y₁₂ ADP 受体所产生的信号^[16]。

凝血酶也能通过它的 exocite II 结合位点,结合到血小板血管性血友病因子受体的糖蛋白(GP) Ib-α 亚单位及 GP Ib/IX/V,导致血小板活化^[17]。这个相互作用别构抑制了凝血酶裂解纤维蛋白原^[18],但增强了凝血酶对 PAR-1 的活化作用^[19]。由凝血酶-GP Ib相互作用诱导的聚集反应依赖于血小板纤维蛋白的结合,不被 RGDS 所抑制^[17]。

2. 胶原 内皮损伤暴露出细胞外基质蛋白胶原是一种很强的血小板诱聚剂。血小板有三个独立的表面胶原受体:GP Ia/IIa(整合素 α₂β₁)、GP VI(免疫球蛋白超家族成员)和 GP Ib/IX/V(参见下面的血小板黏附和 GP Ib/IX/V 部分)。胶原诱导的信号转导以及 GP VI 的非共价结合都需要血小板的免疫受体连接部分 Fc 受体 γ 链(FcRγ)^[20]。非共价结合发生在血小板膜上的脂质筏上^[21,22],该结构域富含胆固醇、鞘类磷脂和信号分子。有人提出一个分步式的活化模式,即血小板先通过 GP Ia/IIa 黏附在胶原上,然后与 GP VI/FcRγ 相互作用而完全活化^[23]。信号发生与 GP IV/Fc 复合物的免疫受体酪氨酸活化基序(ITAM)的酪氨酸磷酸化有关,该磷酸化由 Src 家族的激酶 Lyn 和 Fyn 所催化,导致 Syk 结合和磷脂酶 C 的活化^[24]。跨膜糖蛋白血小板/内皮细胞黏附分子-1(PECAM-1/C31)相互交联后,可以通过 PECAM-1 上的免疫受体酪氨酸抑制基序(ITIM)抑制 ITAM 信号发生^[25]。与 GP IIb/IIIa 活化有关的鸟苷三磷酸酶(GTPase)RAP-1,也是被 GP VI/Fc 的信号所激活,该过程在某种程度上依赖于 ADP 分泌和经 P2Y₁₂ 的信号发生^[26]。与这个发现一致的是,高浓度的胶原可以诱导微弱的、不依赖于 ADP 释放和 TXA₂ 诱导的血小板聚集;然而,大量聚集反应则需要 TXA₂ 和 ADP 分泌^[27]。

3. 血栓素 A₂ (TXA₂) TXA₂ 产生于花生四烯酸,后者是在磷脂酶 A₂ 的作用下从膜

磷脂上释放。花生四烯酸被环氧合酶(COX),也称为 PGH 合酶,代谢为中间产物前列腺素(PG)H₂。PGH₂通过一种 P-450 酶(血栓素合成酶)进一步代谢为血栓素 A₂或者是 PGE₂,但后者较少出现于血小板中^[28,29](更详细的讨论参见第十一章)。TXA₂不稳定,半衰期很短(约 30s),可迅速被水解成无活性的 TXB₂。目前已经鉴定出两个独立的 TXA₂受体亚型,分别为 TXR α 和 TXR β 。前者与 G_q 有关,而后者与 G_i 有关^[30,31]。TXA₂的前体 PGH₂也能刺激这些受体^[32]。低浓度(nmol/L)的 PGE₂能增强血小板的活化,使某些诱导剂在阈下浓度时就能活化血小板;相反,高浓度(μ mol/L)时它的作用却表现为抑制。

4. 二磷酸腺苷(ADP) ADP 来自血小板活化后释放的致密颗粒、红细胞以及受损的内皮细胞^[33,34]。血小板对 ADP 的应答由 G 蛋白连接受体 P2Y₁ 和 P2Y₁₂ 所介导^[35,36](图 1-1)。ADP 也激活血小板 P2X₁ 配体-门控的离子通道,诱导跨膜钙流动。P2X₁ 的激活在 ADP 诱导的聚集反应中并不显得十分重要^[37,38];然而,低浓度胶原(<1 μ g/ml)释放 ATP,并通过激活 P2X₁ 诱导细胞外信号调节激酶(ERK)-2 的活化^[39]。P2Y₁₂ 的激活与腺苷酸环化酶通过 G_i 的抑制作用有关,G_q 偶联受体 P2Y₁ 与磷脂酶 C 的 β -亚型活化、血小板变形和细胞内钙动员有关^[35,40]。血小板的完全活化和 TXA₂ 产生需要各个受体的信号协同作用^[36,41],尽管 P2Y₁₂ 在高浓度 ADP 的存在下,通过依赖于磷酸次黄嘌呤核苷酸 3-激酶的信号途径,可以单独激活 GP IIb/IIIa 受体^[42]。ADP 受体拮抗剂氯吡格雷可能是通过形成 Cys17 和 Cys270 之间的二硫键,不可逆性地拮抗 P2Y₁₂ 受体^[43]而发挥作用。

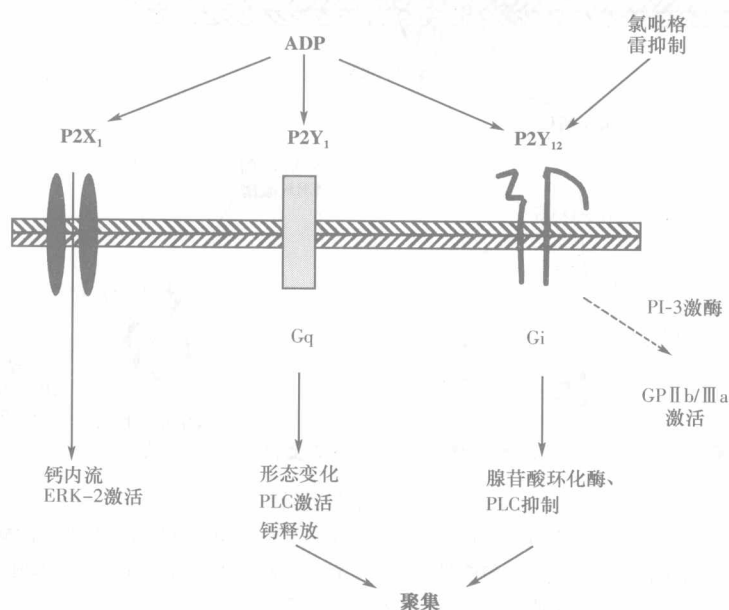


图 1-1 血小板 ADP 受体
ERK-2, 细胞外信号调节激酶 2; PLC, 磷脂酶 C

5. 剪切应力和肾上腺素 肾上腺素经由与 G_i 连接的 α_2 肾上腺素能血小板受体,抑制腺苷酸环化酶,诱导血小板活化。它是一种弱诱导剂,需要其他的诱导剂共同作用诱导血小板聚集反应。高剪切应力,如在严重冠状动脉狭窄的发生处,也会导致血小板活化。高剪切

应力诱导 vWF 与 GP Ib/IX/V 结合,提高细胞内钙浓度和激活蛋白激酶 G(PKG)信号途径,导致有丝分裂原激活蛋白(MAP)激酶和 GP IIb/IIIa 活化^[44]。

(二) “内-外”信号转导

所谓“内-外”信号转导(inside-out signal transduction),是指刺激血小板诱导剂受体,诱导血小板内部信号的发生,它导致细胞骨架重排、形状变化、蛋白质合成和颗粒分泌,最终改变血小板受体与纤维蛋白原和 GP IIb/IIIa 的亲和力(图 1-2)。起始信号通过许多不同的 G 蛋白^[45],包括 Gi、Gq 和 G12/G13 等进行传递^[46,47]。后继信号由以下过程所介导:磷脂酶 C β 的激活,磷脂酰肌醇水解为第二信使三磷酸肌醇(IP₃)和甘油二酯(DAG),非受体蛋白质酪氨酸激酶(PTKs)的激活等,这导致许多血小板蛋白质的酪氨酸和苏氨酸磷酸化。IP₃ 刺激钙释放并引起磷脂酶 A₂ 活化。磷脂酶 A₂ 从细胞膜上释放花生四烯酸,后者转变为 TXA₂。DAG 激活蛋白激酶 C(PKC),导致 MAP 激酶亚型和 ERKs 的激活^[48],最终导致 GP IIb/IIIa 的激活^[49]。磷脂酰肌醇-3 激酶(PI3K)通过将磷脂酰肌醇(PtdIns) 4-磷酸盐和磷脂酰基 4,5-二磷酸转化为它们的 3-磷酸基对应物,在整合素激活中也起到一定作用^[50,51]。它们都嵌于细胞膜中,并募集磷脂酶 C γ 和 Src 到细胞膜上^[52]。

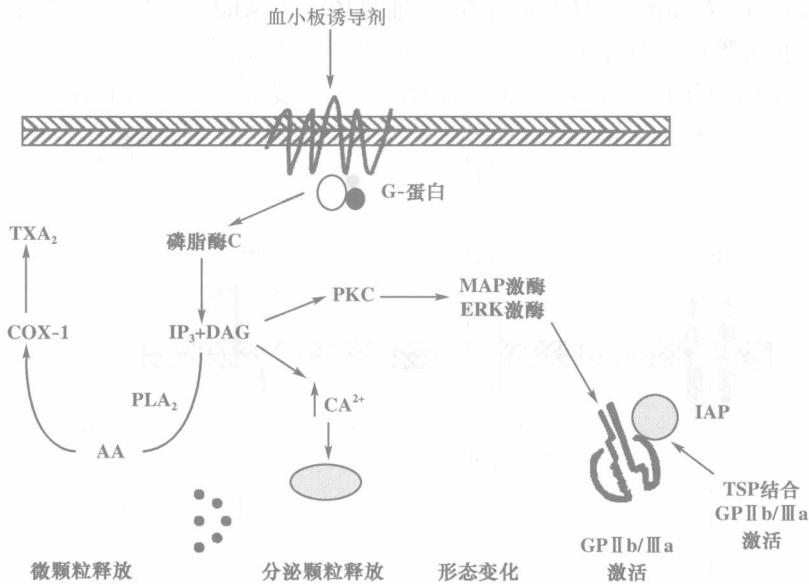


图 1-2 “内-外”信号转导

AA, 花生四烯酸; COX-1, 环氧合酶 1; DAG, 甘油二酯; ERK, 细胞外信号调节激酶;
IAP, 整合素相关蛋白; IP₃, 三磷酸肌醇; MAP, 有丝分裂原激活蛋白; PKC, 蛋白激酶 C;
PLA₂, 磷脂酶 A₂; TSP, 血小板反应素; TXA₂, 血栓素 A₂

不依赖于信号系统的整合素激活途径也已经被阐明。凝血酶敏感蛋白的羧基末端细胞结合域(CBD)可以与整合素相关蛋白(IAP/CD47)结合。凝血酶敏感蛋白/整合素相关蛋白复合物与 GP IIb/IIIa 相互作用,引起整合素的激活,该激活作用不需依赖于细胞内信号^[53]。凝血酶敏感蛋白/整合素相关蛋白的相互作用也参与血小板黏附到肿瘤坏死因子(TNF)- α 激活的内皮细胞上^[54],有助于活化血小板定位到内皮的激活区域。

(三) 血小板分泌

血小板活化后会释放许多生物活性物质(表 1-2),包括 α 颗粒和致密颗粒内容物、溶菌酶和血小板源性的微颗粒。除此以外,活化的血小板合成和分泌许多生物活性物质并表达炎症刺激因子 CD40L^[55]。血小板 α 颗粒内含血小板源性生长因子、P-选择素、vWF、 α_2 -抗纤溶酶、 β -血小板球蛋白、血小板因子 4、凝血因子 V 以及一些黏附分子如纤维蛋白原^[56]、纤维结合蛋白和凝血酶敏感蛋白;致密颗粒内包含 ADP 和血清素。释放的 ADP 可通过反馈回路进一步刺激血小板,而血清素则使一些从 α 颗粒中释放出来的蛋白质,通过迄今尚未鉴定的受体与某种血小板亚群(subpopulation)相结合^[57]。血小板分泌需要可溶性 N-乙基马来酰亚胺敏感因子(NSF)附着蛋白(SNAP)和 SNAP 受体(SNARE)复合物^[58]的形成,而 SNARE 复合物是由突触融合蛋白(syntaxin)-4、SNAP-25 和突触囊泡相关膜蛋白(VAMP-3 和-8)三者共同组成。

表 1-2 血小板分泌物

血小板源性生长因子	纤维结合蛋白
P-选择素	凝血酶敏感蛋白
RANTES	ADP
血小板活化因子	血清素
β -血小板球蛋白	CD40L
血小板因子 4	基质金属蛋白酶 1 和 2
血管性血友病因子	血管内皮生长因子
α_2 -抗纤溶酶	胰岛素样生长因子
凝血因子 V	表皮和成纤维细胞生长因子
纤维蛋白原	转化生长因子 β_1

活化的血小板也能释放膜微粒。这些膜微粒包括 GP IIb/III a、凝血酶敏感蛋白和 P-选择素,它们增加了局部凝血酶的形成^[59],并在单核细胞和内皮细胞中产生前列腺环素,诱导 COX-2 的表达^[60]。

三、血小板黏附和 GP I b /IX /V

在动脉血流的高剪切应力环境下,循环中的血小板为了迅速黏附在受损的内皮和其下层的内皮下基质,需要特殊的受体协助。初始的黏附首先由血小板 vWF 受体 GP I b /IX /V 介导^[61,62]。循环中的 vWF 与暴露在内膜下的胶原结合,使之能够通过 vWF A1 域与 GP I b /IX /V 相互作用^[63]。该相互作用是可逆的;这使得黏附的血小板可以滚动,并且(可能是通过受体的聚集成簇^[64])导致血小板活化^[65]。活化的血小板变形、伸展开来以覆盖内皮的缺损部分,并通过 GP IIb/III a、胶原、层粘连蛋白($\alpha_6\beta_1$)和纤维结合蛋白($\alpha_5\beta_1$)受体等形成稳固的黏附。另外,血小板可通过纤维蛋白原与活化 GP IIb/III a 的结合而黏附于内皮细胞上,两者的结合使 $\alpha_v\beta_3$ 和表达在活化内皮细胞上的细胞间黏附分子-1(ICAM-1)^[66]受体之间形成桥梁。血小板还能通过 GP I b /IX /V 与内皮 P-选择素的相互作用而黏附在内皮细胞上。

(一) 糖蛋白(GP) IIb/IIIa

GP IIb/IIIa 被认为是血小板的纤维蛋白原受体;然而,它不仅仅可与纤维蛋白原结合,其他黏附性和非黏附性配体也可与之结合,包括 vWF、纤维结合蛋白、玻璃粘连蛋白、红细胞 ICAM-4^[67]、凝血酶原和凝血酶敏感蛋白。血浆中的纤维蛋白原浓度很高,因此它是 GP IIb/IIIa 在体内的主体配体。其余受体上的纤维蛋白原结合部位本来是隐藏着的,但是在活化过程中受体构象变化使之暴露出来^[68]。纤维蛋白原与邻近血小板多价交联形成聚合物。可能是细胞内受体尾区传递的信号使 GP IIb/IIIa 亲和性随着活化而发生了改变^[69~71],这种改变可能是整合素胞浆尾区之间或胞浆尾区与活化或抑制性血小板内因子相互作用变化的结果^[72~76]。小分子 GTP 酶 RAP1b 可能通过调整 GP IIb/IIIa 与细胞骨架的相互作用来增加 GP IIb/IIIa 的亲和力^[77]。与之类似的是,小分子 GTP 酶 Rac3 与钙和整合素结合蛋白(CIB)相互作用,促进了 GP IIb/IIIa 介导的黏附作用^[78]。

GP IIb/IIIa 是最丰富的血小板受体,每个血小板中有 40~80 000 个 GP IIb/IIIa 复合物^[79]。它是一种整合素受体^[80],由两个亚基组成: α_{IIb} (CD41)和 β_{III} (CD61)。两亚基的编码基因各不相同,都位于 17 号染色体长臂的 q²¹—q²² 区^[81,82]。两个亚基以非共价键结合在一起形成一个球形的氨基末端头部区域,再延伸出两个羧基末端的尾部,形成 GP IIb/IIIa 的跨膜段和胞内段^[83]。 α_{IIb} 亚基是两者中的较大者,它由一条细胞外重链 $\alpha_{IIb}a$ (125kDa)和一条跨膜的轻链 $\alpha_{IIb}b$ (25kDa)组成, $\alpha_{IIb}a$ 通过二硫键与 $\alpha_{IIb}b$ 的胞浆外区域连接在一起^[84]。 α_{IIb} 的氨基末端包含 7 组长度为大约 60 个氨基酸的重复序列,类似于异二聚体 G 蛋白中的重复模式。最近 $\alpha_V\beta_3$ 受体的晶体结构研究显示,这些重复序列形成“ β -螺旋”结构的叶片。 β_3 链(100kDa)由一条含有 28 个二硫键的多肽链构成。它们对维持 GP IIb/IIIa 的三级结构非常重要。这些二硫键的断裂会引起受体活化^[87,88]和血小板聚集^[89],这表明二硫键与血小板活化过程中的构象改变有关。

确切的 GP IIb/IIIa 上的配体结合区域目前还不清楚,但肯定涉及 α_{IIb} 和 β_3 两者的相关区域。 α_{IIb} 氨基末端的“ β -螺旋”结构在配体结合中似乎起了重要作用^[90~93]。配体结合区域的残基位于 β -螺旋结构的上面;钙结合区域位于下面。GP IIIa 的结合活性区也被定位于它的氨基末端内^[94,95]。它包含在 GP IIIa 的金属离子结合位点内,与 α (但不是 α_{IIb})链的插入结构域或 I-结构域(inserted domain)同源。围绕在这个区域的氧合残基 Ser121 和 Ser123 位点的定点诱变会削弱配体的结合^[96],提示这个区域在配体结合中的重要性。

“外-内”(outside-in)信号转导

GP IIb/IIIa 不仅仅是一个被动的纤维蛋白原黏附受体,它还诱导许多细胞内的配体结合信号^[97],导致细胞骨架重排、伪足形成以及在固相纤维蛋白原上的伸展(图 1-3)。由外部传入的信号导致许多血小板蛋白质的酪氨酸磷酸化和信号蛋白的局灶性黏附(focal adhesion)复合物的形成,使激活过程得到放大,比如 TXA₂ 产生和磷酸肌醇的代谢^[98,99]。这些信号似乎是通过一种受体与配体结合之后的构象改变来传递的,该结合位点称为配体诱导的结合位点(LIBS)^[100],导致 β 链的胞内尾区磷酸化^[101]。磷酸化的 β 链可与信号蛋白质 GRB2(生长因子受体结合蛋白 2)和 SHC(含 SH2 蛋白)相互作用,还可以与细胞骨架蛋白质肌球蛋白结合^[102,103]。其他信号分子包括酪氨酸激酶 Src 也参与了整合素信号通路。Src 关系到 GP IIb/IIIa 的胞内尾区与固相纤维蛋白原的黏附。抑制 Src 会阻止 Syk 的磷酸化,

也会阻止 Syk 底物 Vav1、Vav3 和 SLP-76 的磷酸化,从而阻止血小板的伸展^[104]。磷脂酰肌醇(3,4)二磷酸[PtdIns(3,4)P₂]的产生也与“外-内”信号转导有关,纤维蛋白原结合 GP IIb/IIIa 需要依赖于它^[105],并且对肌动蛋白的装配和 pleckstrin(血小板-白细胞 C 激酶底物)的磷酸化发挥作用^[106,107]。

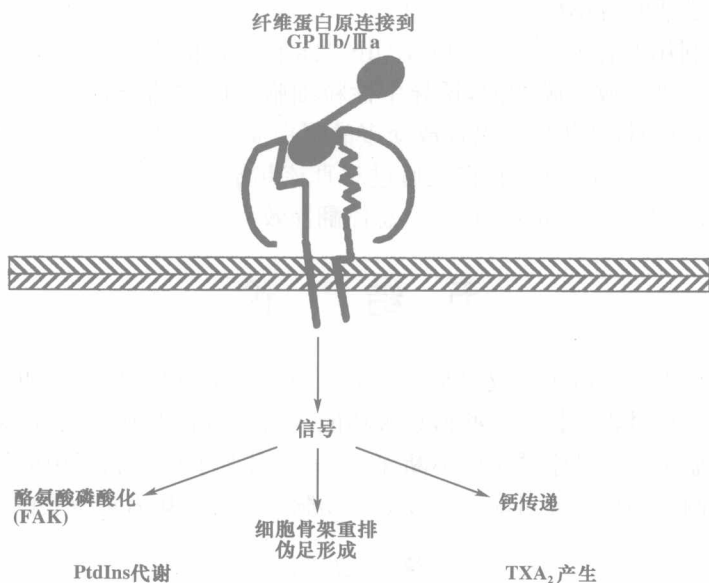


图 1-3 “外-内”信号转导
PtdIns, 磷脂酰肌醇; TXA₂, 血栓素 A₂

(二) 纤维蛋白原

纤维蛋白原由 3 对不同的亚基组成(α 、 β 和 γ),每对亚基之间完全相同,共有 6 个不同的位点能与 GP IIb/IIIa 相互作用:每条 α 链上有两个精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸(RGD)域,分别位于 95~97 位和 572~574 位残基处,每条 γ 链的羧基末端(400~411 位残基)上有一个十二肽域。RGD 域和十二肽域分别与 GP IIb/IIIa 上的不同位点结合^[94,108,109]。尽管 RGD 能抑制纤维蛋白原结合,但十二肽序列似乎是体内的主要受体结合域。在流动条件下,只有完整的纤维蛋白原分子才能支持黏附作用,说明要实现正常血小板的功能需要完整纤维蛋白原分子中的 RGD 域与十二肽位点或其他未明确的潜在位点之间的相互协同作用^[112]。

四、血小板和炎症反应

活化的血小板在炎症反应中起重要作用,它能表达和释放许多分子,导致白细胞的激活和分泌^[113]。CD40 配体(L)是由血小板表达的最重要的免疫介质中的一个,它是一个与肿瘤坏死因子- α (TNF- α)相关的 33kDa 的跨膜蛋白质^[55]。血小板是血管内 CD40L 的主要来源,CD40L 可与它的受体 CD40 相互作用,诱导内皮表达 E-选择素、血管细胞黏附分子(VCAM)-1 和 ICAM-1,分泌趋化因子白介素-8(IL-8)和单核细胞趋化蛋白(MCP-1)。通过裂解并释放它的可溶性失活形式,血小板 CD40L 的表达可迅速下调。释放的 CD40L 与