

高低密度脂蛋白胆固醇对血小板免疫活化的影响及 氟伐他汀的干预作用

吴延庆¹, 程晓曙², 柴俊兵³

(南昌大学附属第二医院心内科, 江西省南昌市 330006)

[关键词] 血小板; PAC-1; CD40L; 低密度脂蛋白胆固醇; 氟伐他汀

[摘要] **目的** 观察高低密度脂蛋白胆固醇对体内及体外血小板膜 PAC-1 和 CD40L 表达的影响及氟伐他汀的干预作用并探讨可能的机制。**方法** 以低密度脂蛋白胆固醇正常的健康对象为对照, 通过流式细胞仪检测高低密度脂蛋白胆固醇患者服用氟伐他汀前后血小板膜 PAC-1 和 CD40L 表达阳性率变化; 高低密度脂蛋白胆固醇血浆体外孵育健康血小板及低密度脂蛋白胆固醇直接孵育血小板并用氟伐他汀干预, 流式细胞仪、RT-PCR 及 Western blotting 法检测血小板膜 PAC-1 和 CD40L 表达阳性率及血小板总 CD40L mRNA 及蛋白含量。**结果** 高低密度脂蛋白胆固醇患者 PAC-1 和 CD40L 表达较对照组显著升高 ($9.47\% \pm 1.96\%$ 比 $5.73\% \pm 1.20\%$ 、 $3.04\% \pm 0.62\%$ 比 $1.87\% \pm 0.49\%$, P 均 < 0.01), 服用氟伐他汀一个月后随低密度脂蛋白胆固醇浓度降低, 血小板膜 PAC-1 和 CD40L 表达阳性率均有不同程度降低 ($7.29\% \pm 1.35\%$ 比 $9.47\% \pm 1.96\%$ 、 $2.17\% \pm 0.53\%$ 比 $3.04\% \pm 0.62\%$, P 均 < 0.01); 体外高低密度脂蛋白胆固醇血浆较低密度脂蛋白胆固醇正常血浆更能促进血小板膜 PAC-1 和 CD40L 的表达 ($10.47\% \pm 1.39\%$ 比 $6.39\% \pm 1.23\%$ 、 $3.19\% \pm 0.73\%$ 比 $1.87\% \pm 0.47\%$, P 均 < 0.01), 氟伐他汀在体外未能显著抑制血小板膜 PAC-1 和 CD40L 表达 ($10.39\% \pm 1.41\%$ 比 $10.47\% \pm 1.39\%$ 、 $3.21\% \pm 0.69\%$ 比 $3.19\% \pm 0.73\%$, P 均 > 0.05); 单纯高低密度脂蛋白胆固醇在体外亦不能显著增加血小板膜 PAC-1 和 CD40L 的表达 ($3.99\% \pm 1.74\%$ 比 $3.87\% \pm 1.63\%$ 、 $0.83\% \pm 0.46\%$ 比 $0.77\% \pm 0.44\%$, P 均 > 0.05), 而高低密度脂蛋白胆固醇 + ADP 组血小板膜 PAC-1、CD40L 表达阳性率较 ADP 组显著增高 ($17.73\% \pm 2.09\%$ 比 $11.31\% \pm 2.12\%$ 、 $4.17\% \pm 0.71\%$ 比 $2.91\% \pm 0.69\%$, $P < 0.05$), 氟伐他汀的体外作用不显著; 低密度脂蛋白胆固醇对血小板总 CD40L mRNA 和蛋白表达无明显影响, 但高低密度脂蛋白胆固醇能够显著促进 ADP 活化血小板 CD40L 蛋白表达 (1.63 ± 0.19 比 1.40 ± 0.21 , $P < 0.05$), 氟伐他汀体外不能抑制这一作用。**结论** 高低密度脂蛋白胆固醇在体内体外均能够促进血小板膜 PAC-1 和 CD40L 的表达, 氟伐他汀在体内能抑制这一作用; 低密度脂蛋白胆固醇本身不能够活化血小板免疫功能, 但能够促进活化血小板, 氟伐他汀体外无抑制血小板免疫活化的作用。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

Effects of High Low Density Lipoprotein Cholesterol on Platelets Immune Activity and Fluvastatin Intervention

WU Yan-Qing, CHEN Xiao-Shu, and CHAI Jun-Bing

(Department of Cardiology, the Second Affiliated Hospital, Nanchang University, Nanchang, Jiangxi 330006, China)

[KEY WORDS] Platelets; PAC-1; CD40L; Low Density Lipoprotein Cholesterol; Fluvastatin

[ABSTRACT] **Aim** To observe the effects of high low density lipoprotein cholesterol (LDLC) and fluvastatin on PAC-1 and CD40L expression of platelets in vitro and vivo and investigate its mechanism. **Methods** In vivo experiments before and after treatment of fluvastatin for high LDLC patients, the CD40L and PAC-1 positive rate of platelets by flow cytometry were examined under the same conditions. The CD40L and PAC-1 expression of each group were compared. In vitro experiments, after the co-incubation of these chosen plasma or LDLC with the same healthy platelets and the interference with fluvastatin, the PAC-1 and CD40L positive rate of platelets were tested by flow cytometry and platelets total CD40L protein content by Western blotting and CD40L mRNA were examined under the same conditions in all objects. The PAC-1 and CD40L positive rate, the total CD40L content and CD40L mRNA of each group were compared respectively. **Results** Not only in vivo study but also in vitro study, the platelet PAC-1 and CD40L positive rate in high LDLC group were significant higher than in control group (P all < 0.01). Followed the LDLC concentration decrease, the platelet PAC-1 and CD40L positive rate decreased after the treatment of fluvastatin in vivo, but in vitro study, the fluvastatin didn't affect the expression significantly. LDLC itself didn't affect the platelet PAC-1 and CD40L positive rate in vitro study, but LDLC significantly promoted the ADP stimulating effect on increasing PAC-1 and CD40L positive rate.

[收稿日期] 2009-11-17

[修回日期] 2010-04-02

[基金项目] 江西省教育厅资助项目

[作者简介] 吴延庆, 博士, 主任医师, 教授, 硕士研究生导师, E-mail 为 wuyanqing01@sina.com。程晓曙, 博士, 主任医师, 教授, 博士研究生导师。柴俊兵, 硕士研究生。

LDLC and ADP didn't affect the platelets CD40L mRNA expression in vitro but high concentration LDLC could promote the ADP effect of increasing platelets of total CD40L protein content in vitro but fluvastatin hasn't any significant effect on CD40L mRNA and protein content in vitro

Conclusion High LDLC plasma could stimulate PAC-1 and CD40L positive rate of platelets both in vitro and vivo. Fluvastatin could inhibit the expression in vivo. LDLC itself didn't activate the platelets immune function, but high concentration LDLC could promote ADP activating platelets and fluvastatin can't inhibit the immune activation of platelets in vitro

血小板在机体内起着重要的促凝血作用。以往认为血小板本身并不主动参与免疫炎症反应。近年来发现血小板表面含有不同结构和功能的糖蛋白受体和相应的配体,在血小板不同的状态,膜上可表达不同的受体蛋白,血小板一旦被活化,表面就会出现许多新的标志物和促进许多标志物表达增加,其中一些标志物如 PAC-1、CD40L、P选择素等与血小板参与免疫炎症反应密切相关。我们称之为血小板免疫活化。基于低密度脂蛋白胆固醇 (LDLC) 在动脉粥样硬化 (As) 发生、发展中的作用及近来有关血小板在免疫学和炎症方面功能的新发现,基于近来血小板免疫活化改变在心血管疾病发生发展中有部分研究报道,但缺乏 LDLC 与血小板免疫活化关联的直接研究,因此本研究设想在高 LDLC 血症环境中或 LDLC 刺激下,血小板免疫活化会出现什么样的改变? 他汀类药物干预效果如何? 从而试图寻找高 LDLC 血症与 As 关系的新桥梁及他汀类药物的可能作用及机制。

1 对象和方法

1.1 研究对象

20 例单纯高 LDLC 血症患者,氟伐他汀 40 mg/d 睡前服,治疗时间为 4 周。病例选择标准: LDLC ≥ 4.0 mmol/L,甘油三酯 (TG) 水平 < 1.7 mmol/L,未经调脂治疗,排除慢性炎症性疾病及糖尿病、甲亢、肾病综合征或肾功能不全、阻塞性肝胆疾病或酗酒者、活动性肝病或肝功能不全者 (转氨酶、总胆红素 > 2 倍正常值)、高血压、精神病及其他系统性疾病等病史;体外与血小板共孵育血浆采用 3 名中年男性,无吸烟嗜好的高 LDLC 血症患者血浆,每份血浆做 6 次血小板孵育,其余标准同上。20 例健康对照者,总胆固醇 (TC)、LDLC 及 TG 水平均在正常范围内的健康体检者;体外与血小板共孵育血浆采用 3 名健康中年男性,无吸烟嗜好的健康人血浆,每份血浆做 6 次血小板孵育。将不同 LDLC 水平的血浆与同种血小板共孵育,观察不同 LDLC 水平血浆对体外血小板的作用,对照组为未经共孵育的血小板组 (表 1)。二磷酸腺苷 (ADP) 为公认血小板活化剂,实验中加入低浓度 ADP (1 μ mol/L) 活化

部分血小板作为第二对照组。

表 1 各组共孵育血浆中血脂水平 (mmol/L)

分组	TC	TG	LDLC
对照组	—	—	—
正常 LDLC 浓度组	3.18	1.04	1.64
	3.57	1.27	2.09
	3.94	1.09	2.47
高 LDLC 浓度组	6.35	1.07	5.18
	7.54	1.18	5.89
	7.97	1.24	6.32

1.2 血浆标本收集

晨空腹采集肘静脉血 8~10 mL,前 1~2 mL 血弃去,38 g/L 枸橼酸钠抗凝,进口 EP 管收集,2 次离心法 (22℃, 300 \times g 15 min; 22℃, 3000 \times g 10 min) 离心,收集上层血小板血浆即行血小板膜 PAC-1 和 CD40L 流式细胞仪检测,收集血浆后于 -20℃ 冰箱冻存一周内检测血脂。体外与血小板共孵育血浆在超净台中采集后 4 冰箱保存备用,保存期限 < 48 h。

1.3 仪器和试剂

FACS Calibur 流式细胞仪、小鼠抗人 PE-CD40L、小鼠抗人 FITC-PAC-1 抗体、同型对照 IgG、CD61-PE 流式抗体购自 BD 公司,羊抗人 CD40L 抗体购自 Santa Cruz 公司,TRIZOL 购自 Invitrogen 公司,兔抗山羊 IgG-HRP 购自中杉金桥生物技术有限公司 (进口分装),蛋白 Marker 购自 Fementas 公司,RT-PCR 试剂盒购自 Promega 公司,蛋白抽提试剂盒购自北京普利莱基因技术有限公司,氟伐他汀原粉由北京诺华公司提供。新鲜机采去白细胞血小板由省血液中心提供。

1.4 流式细胞仪检测血小板膜蛋白 PAC-1 和 CD40L 表达阳性率

Falcon 管编号,在每组对照管和试验管中各加入血小板标本 10 μ L,在对照管中加入 RGDS (PAC-1 受体阻断剂)、PAC-1-FITC、CD61-PE (血小板标记抗体各 10 μ L,在试验管中加入 CD61-PE、PAC-1-FITC 抗体各 10 μ L,轻轻混匀,室温暗处孵育 15~20 min,各管中加入 1 mL 冷的 1% 多聚甲醛,充分混

匀, 2℃~8℃阴暗处放置 30 min, 24 h 内上机分析。血小板膜 CD40L 检测方法同 PAC-1 检测, 对照组中加入 PE-IgG, 流式分析由实验室专人检测。体外与血浆共孵育血小板因纯度极高, 白细胞及红细胞混入极少, 参照 Garlich 等检测方法, 混匀各组血小板, 吸取部分待检血小板将其稀释至 10¹⁰/L 检测, 检测方法基本同上, 但无需用 CD61 PerCP 标记血小板。

1.5 RT-PCR 测定血小板 CD40L mRNA 表达

主要步骤包括血小板总 RNA 提取, 总 RNA 的质量、浓度检测与标化, RNA 逆转录, PCR, 琼脂糖凝胶电泳, 扩增产物相对定量及统计学分析。

1.6 Western blotting 法测定血小板 CD40L 蛋白总含量

主要过程为血小板蛋白提取、蛋白浓度测定及标化、制备 SDS-PAGE 变性凝胶、蛋白电泳转膜、免疫印迹显影、产物定量及统计学分析, 具体过程参照《抗体技术实验指南》。

1.7 血脂检测

TG、TC 检测采用氧化酶法。

1.8 统计学方法

计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 正态分布检验采用非参数 1-Sample K-S 检验, 各组间比较采用单因素方差分析, 样本均数两两比较采用 Newman-Keuls 法; 方差不齐采用秩和检验, 相关分析采用直线相关分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况及血脂水平

高 LDLC 组治疗前 LDLC 水平显著高于正常对照组 ($P < 0.01$), 而 TG 和 HDLC 水平无显著差异; 经氟伐他汀治疗 4 周后, 高 LDLC 组治疗后血浆 LDLC 水平较治疗前明显降低 ($P < 0.01$), 而 TG 及 HDLC 水平的变化与治疗前无显著差异 (表 2)。

表 2 一般情况及血脂水平 ($\bar{x} \pm s$, $n = 20$)

项目	对照组	高 LDLC 组治疗前	高 LDLC 组治疗后
年龄 (岁)	50.9 ± 6.7	52.3 ± 7.9	52.3 ± 7.9
男/女	50%/50%	50%/50%	50%/50%
吸烟	45%	30%	30%
TG (mmol/L)	0.98 ± 0.2	0.92 ± 0.21	0.86 ± 0.17
LDLC (mmol/L)	2.32 ± 0.64	4.97 ± 0.67 ^a	3.98 ± 0.57 ^b
HDLC (mmol/L)	1.17 ± 0.19	1.09 ± 0.18	1.15 ± 0.20

a 为 $P < 0.01$, 与对照组比较; b 为 $P < 0.01$, 与治疗前比较。

2.2 氟伐他汀治疗前后血小板膜 PAC-1、CD40L 表达阳性率

高 LDLC 组治疗前血小板 PAC-1、CD40L 表达阳性率较对照组显著升高 ($P < 0.01$); 高 LDLC 组治疗后 PAC-1、CD40L 表达阳性率与治疗前相比明显降低 ($P < 0.01$; 表 3)。

表 3 血小板膜 PAC-1 和 CD40L 表达阳性率 ($\bar{x} \pm s$, $n = 20$)

分组	CD40L	PAC-1
对照组	1.87% ± 0.49%	5.73% ± 1.20%
高 LDLC 组治疗前	3.04% ± 0.62% ^a	9.47% ± 1.96% ^a
高 LDLC 组治疗后	2.17% ± 0.53% ^b	7.29% ± 1.35% ^b

a 为 $P < 0.01$, 与对照组比较; b 为 $P < 0.01$, 与治疗前比较。

2.3 体内血浆 LDLC 水平与血小板膜 PAC-1 和 CD40L 表达阳性率的关系

LDLC、PAC-1 及 CD40L 数据均呈正态分布, 且血浆 LDLC 水平与血小板膜 PAC-1 表达阳性率之间存在线性相关 ($r = 0.497$, $n = 60$, $P < 0.01$), 血浆 LDLC 水平与血小板膜 CD40L 表达阳性率之间存在线性相关 ($r = 0.473$, $n = 60$, $P < 0.01$)。

2.4 体外高 LDLC 血浆对血小板 PAC-1 和 CD40L 的影响及氟伐他汀的作用

高 LDLC 组血浆孵育血小板 4 天, 血小板膜 PAC-1 表达阳性率较对照组和正常 LDLC 组显著升高 (10.47% ± 1.39% 比 3.75% ± 1.06% 和 6.39% ± 1.23%, $P < 0.01$), 血小板膜 CD40L 表达阳性率较对照组和正常 LDLC 组亦显著升高 (3.19% ± 0.73% 比 0.75% ± 0.41% 和 1.87% ± 0.47%, $P < 0.01$), 氟伐他汀组血小板膜 PAC-1 和 CD40L 表达阳性率较高 LDLC 组无明显变化 (10.39% ± 1.41% 比 10.47% ± 1.39%、3.21% ± 0.69% 比 3.19% ± 0.73%, $P > 0.05$)。

2.5 体外血浆 LDLC 水平与血小板 PAC-1 和 CD40L 表达阳性率的关系

将体外孵育血浆中 LDLC 水平与血小板 PAC-1 和 CD40L 表达阳性率进行直线回归分析, 发现 LDLC 水平与血小板 PAC-1 和 CD40L 表达阳性率之间均有线性关系 ($P < 0.05$), 回归方程分别为 $\hat{Y} = 4.037 + 1.127X$ 、 $\hat{Y} = 1.056 + 0.385X$ 。

2.6 体外单纯高 LDLC 对血小板膜 PAC-1 及 CD40L 表达阳性率的影响及氟伐他汀的作用

50 mg/L LDLC 组血小板 PAC-1、CD40L 表达阳性率与对照组相比未见明显增加 ($P > 0.05$); ADP

组血小板 PAC-1、CD40L 表达与对照组相比显著增加 ($P < 0.01$); 而高 LDLC + ADP 组血小板 PAC-1、CD40L 表达阳性率较 ADP 组显著增高 ($P < 0.05$); 氟伐他汀干预组血小板 PAC-1、CD40L 表达阳性率与较高 LDLC + ADP 组相比未见明显变化 ($P > 0.05$, 表 4)。

表 4 体外单纯 LDLC 干预血小板膜 PAC-1 和 CD40L 表达阳性率比较 ($\bar{x} \pm s$, $n = 20$)

分 组	PAC-1	CD40L
对照组	3.87% \pm 1.63%	0.77% \pm 0.44%
5 mg/L LDLC 组	3.84% \pm 1.71%	0.78% \pm 0.47%
50 mg/L LDLC 组	3.99% \pm 1.74%	0.83% \pm 0.46%
1 μ mol/L ADP 组	11.31% \pm 2.12% ^a	2.91% \pm 0.69% ^a
50 mg/L LDLC + 1 μ mol/L ADP 组	17.73% \pm 2.09% ^b	4.17% \pm 0.71% ^b
氟伐他汀组	17.81% \pm 2.15%	4.09% \pm 0.76%

a 为 $P < 0.01$ 与对照组比较; b 为 $P < 0.05$ 与 1 μ mol/L ADP 组比较。

2.7 体外单纯高 LDLC 和氟伐他汀对血小板内总 CD40L mRNA 表达的影响

高 LDLC 组 CD40L mRNA 的表达与对照组相比有所增加 (1.10 \pm 0.12 比 0.99 \pm 0.07), 但无显著差异 ($P > 0.05$); 高 LDLC + ADP 组 CD40L mRNA 表达与对照组相比亦无明显升高 (0.98 \pm 0.08 比 0.99 \pm 0.07, $P > 0.05$); 氟伐他汀组 CD40L mRNA 表达与高 LDLC + ADP 组相比无明显变化 (1.04 \pm 0.10 比 0.98 \pm 0.08, $P > 0.05$, 图 1)。

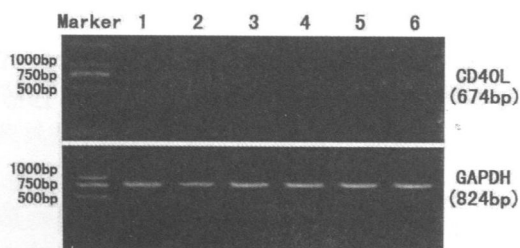


图 1 各组血小板 CD40L mRNA 的表达 1 为对照组, 2 为 5 mg/L LDLC 组, 3 为 50 mg/L LDLC 组, 4 为 ADP 组, 5 为 50 mg/L LDLC + ADP 组, 6 为氟伐他汀组。

2.8 体外单纯高 LDLC 和氟伐他汀对血小板内总 CD40L 蛋白表达的影响

高 LDLC + ADP 组 CD40L 蛋白表达较 ADP 组高 (1.63 \pm 0.19 比 1.40 \pm 0.21, $P < 0.05$); 氟伐他汀组 CD40L 蛋白较高 LDLC + ADP 组无明显差异

(1.59 \pm 0.21 比 1.63 \pm 0.19, $P > 0.05$, 图 2)。

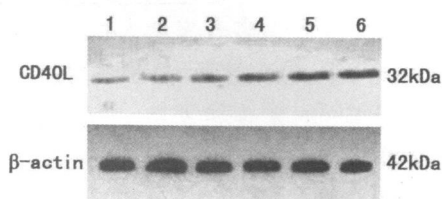


图 2 各组血小板 CD40L 蛋白的表达 1 为对照组, 2 为 5 mg/L LDLC 组, 3 为 50 mg/L LDLC 组, 4 为 ADP 组, 5 为 50 mg/L LDLC + ADP 组, 6 为氟伐他汀组。

3 讨论

LDLC 在高血压、高同型半胱氨酸条件下能显示出一定的致炎作用^[1-3], LDLC 能够通过血小板膜上载脂蛋白 B100 受体将脂质转移到血小板膜上^[4]。血小板 PAC-1 在炎症反应中发挥了重要作用^[5-8], PAC-1 可与多种配体进行连接, 如通过与纤维蛋白原的连接引起细胞聚集和细胞外向内的信号传递^[9-10]。CD40L 是一个三聚体跨膜蛋白, CD40L 通过与内皮细胞上的同源受体 CD40 结合后能够激活内皮细胞, 促进内皮细胞表达粘附分子和细胞因子, 从而促进炎症细胞募集^[12-3]。这些发现促使血小板源性 CD40L 与动脉粥样硬化的研究^[11-14]。

血小板在正常状态下不表达或很少表达与免疫炎症有关的膜蛋白及受体如 PAC-1 及 CD40L, 但在某些炎症因子或激活剂如 ADP 刺激下表达会迅速增加, 称之为免疫活化。本研究中, 高 LDLC 患者血小板 PAC-1 及 CD40L 阳性表达明显增加, 高 LDLC 血浆也能直接促进体外正常血小板 PAC-1 及 CD40L 阳性表达, 并且血小板免疫活化的增加与 LDLC 浓度呈一定程度的正相关, 表明高 LDLC 血症患者血小板免疫活化增加, LDLC 浓度与血小板免疫活化的程度存在密切关联, 血小板免疫活化可能是高 LDLC 血症患者引发动脉粥样硬化炎症反应的一个重要因素。但是高 LDLC 血浆本身可能同时伴有 ox-LDL 及其它炎症介质的升高, 有研究表明 ox-LDL 能直接促进血小板免疫活化, 为进一步研究 LDLC 本身对血小板免疫活化有无直接作用, 本研究在体外用单纯 LDLC 直接干预血小板培养, 结果发现低浓度和高浓度 LDLC 并不能直接引起血小板 PAC-1 及 CD40L 表达增加, 但高浓度 LDLC 能显著增加 ADP 激活的血小板 PAC-1 及 CD40L 表达, 表明 LDLC 本身不能直接促进血小板免疫活化, 推测 LDLC 可能是通过与血小板膜上的受体结合, 促进

血小板对其它激活物的敏感性而间接促进了血小板在一定条件下的免疫活化。从而推测高 LDLC 血症患者血小板 PAC-1 及 CD40L 表达的增加可能是血浆中 ox-LDL 或其它炎症介质等潜在激活物引起的, LDLC 可能起到了一种血小板增敏作用或增加了这些潜在血小板激活物的量或活性。

传统认为血小板是无核细胞, 不能进行 mRNA 的转录, 但最近几年研究表明血小板内的 mRNA 表达量可以增多, 认为可能与 mRNA 前体加工成熟有关, 血小板可进行蛋白翻译^[15-21]。本研究发现, 血小板在免疫活化后其膜蛋白 CD40L 表达增加的同时, 尽管血小板内 CD40L mRNA 的含量无明显变化, 但血小板内 CD40L 蛋白含量增加。推测血小板免疫活化后膜蛋白 CD40L 表达增加与 CD40L 蛋白转移至血小板膜有关; 血小板在免疫活化后 CD40L 蛋白含量的增加可能与血小板活化后有一定数量的 CD40L mRNA 翻译加工有关; 体外 4 天培养 CD40L mRNA 既无明显增加亦无明显降低可能与既有 CD40L mRNA 前体加工成熟又有一定数量的 CD40L mRNA 降解有关。血小板 CD40L mRNA 的测定国内外尚属首次, 本研究通过 2 对不同引物的 PCR 扩增均克隆到血小板有 CD40L mRNA 的表达, 但要进一步确认是否为 CD40L mRNA 还需对克隆到的 CD40L mRNA 进行测序。

他汀类药物通过调节血脂、降低 LDLC, 延缓动脉粥样硬化的发展, 他汀类药物通过抑制羟甲戊酸的途径还可起到抑制血管平滑肌细胞增殖, 改善血管内皮功能等作用, 近期研究还发现他汀类药物还具有调脂外的抗炎、调节免疫的作用^[22-23]。研究中, 高 LDLC 血症患者血小板免疫活化在氟伐他汀治疗 4 周后明显降低, 提示氟伐他汀可能具有抑制血小板免疫活化的作用, 然而在体外血小板免疫活化的实验中, 无论是高 LDLC 血浆体外活化血小板氟伐他汀干预 4 天, 还是单纯 LDLC 辅助 ADP 活化血小板干预 12 h 高浓度的氟伐他 (10^{-2} mol/L) 均不能抑制血小板免疫活化, 表明氟伐他汀可能无直接抑制血小板免疫活化的作用, 氟伐他汀抑制体内血小板免疫活化可能与其降低 LDLC 及调脂外的其它作用有关。

[参考文献]

- [1] Ammitage RJ, Sato TA, Macduff BM, et al. Identification of a source of biologically active CD40 ligand [J]. *Eur J Immunol* 1992; 22 (8): 2 071-076
- [2] Henn V, Shpisky JR, Grafe M, et al. CD40 ligand on activated platelets triggers an inflammatory reaction of endothelial cells [J]. *Nature* 1998; 391 (6667): 591-594
- [3] Pignatelli P, Sanguigni V, Lenti L, et al. gp91phox-dependent expression of platelet CD40 ligand [J]. *Circulation* 2004; 110: 326-329
- [4] Rebu A, Hackeng CM, Akkerman JW, et al. Low-density lipoprotein and its effect on human blood platelets [J]. *Cell Mol Life Sci* 2003; 60 (5): 961-971
- [5] Shattil SJ, Newman PJ. Integrins: dynamic scaffolds for adhesion and signaling in platelets [J]. *Blood* 2004; 104 (6): 1 606-615
- [6] Bennett JS. Structure and function of the platelet integrin α IIb β 3 [J]. *J Clin Invest* 2005; 115 (2): 3 363-369
- [7] Oki T, Kitaura J, Eto K, et al. Integrin α IIb β 3 induces the adhesion and activation of mast cells through interaction with fibrinogen [J]. *J Immunol* 2006; 176 (1): 52-60
- [8] Bambeli T, Schwartz BR, Harlan JM. Adhesion of activated platelets to endothelial cells: evidence for a GPIIb/IIIa-dependent bridging mechanism and novel roles for endothelial intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1), α v β 3 integrin, and GPIIb [J]. *J Exp Med* 1998; 187 (3): 329-339
- [9] Buensuceso C, de Vigilio M, Shattil SJ. Detection of integrin α IIb β 3 clustering in living cells [J]. *J Biol Chem* 2003; 278 (17): 15 217-224
- [10] Loflus JC, Albrecht RM. Redistribution of the fibrinogen receptor of human platelets after surface activation [J]. *J Cell Biol* 1984; 99 (3): 822-829
- [11] Lulgens E, Daemen MJ. CD40-CD40L interactions in atherosclerosis [J]. *Trends Cardiovasc Med* 2002; 12 (1): 27-32
- [12] Imwaki DP, McDowall A, Peters MJ, et al. CD40 is constitutively expressed on platelets and provides a novel mechanism for platelet activation [J]. *Circ Res* 2003; 92 (9): 1 041-048
- [13] Danese S, de la Motte C, Reyes BM, et al. Cutting edge: T cells trigger CD40-dependent platelet activation and granular RANTES release: a novel pathway for immune response amplification [J]. *J Immunol* 2004; 172 (4): 2 011-015
- [14] Buchner K, Henn V, Grafe M, et al. CD40 ligand is selectively expressed on CD4+ T cells and platelets: implications for CD40-CD40L signaling in atherosclerosis [J]. *J Pathol* 2003; 201 (2): 288-295
- [15] Weber AA, Hermann A, Rauch BH, et al. Molecular identity of platelet CD40 ligand (CD40L) [J]. *Thromb Haemost* 2001; 86 (2): 718-723
- [16] Hermann A, Rauch BH, Braun M, et al. Platelet CD40 ligand (CD40L)-subcellular localization, regulation of expression, and inhibition by clopidogrel [J]. *Platelets* 2001; 12 (2): 74-82
- [17] Censarek P, Steger G, Paolini C, et al. Alternative splicing of platelet cyclooxygenase-2 mRNA in patients after coronary artery bypass grafting [J]. *Thromb Haemost* 2007; 98 (6): 1 309-315
- [18] Dally S, Chaabane C, Corvazier E, et al. Increased expression of plasma membrane Ca²⁺ ATPase 4b in platelets from hypertensives: a new sign of abnormal thrombopoiesis [J]? *Platelets* 2007; 18 (7): 543-549
- [19] Amisten S, Braun OO, Bengtsson A, et al. Gene expression profiling for the identification of G-protein coupled receptors in human platelets [J]. *Thromb Res* 2008; 122 (1): 47-57
- [20] Brogren H, Walhmark K, Jem S, et al. Plasminogen activator inhibitor 1 expression in platelets is not influenced by the 4G/5G promoter polymorphism [J]. *Thromb Res* 2008; 121 (6): 793-797
- [21] Thon JN, Devine DV. Translation of glycoprotein IIIa in stored blood platelets [J]. *Transfusion* 2007; 47 (12): 2 260-270
- [22] 章义利, 戴凌燕, 周秀云, 等. 阿托伐他汀对鼠动脉粥样硬化基质金属蛋白酶和蛋白激酶 C 的影响 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2008; 16 (1): 29-32
- [23] 谷文萍, 肖慧, 李伟, 等. 阿托伐他汀对实验性脑缺血再灌注后炎症反应的影响 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2007; 15 (1): 40-42

(此文编辑 文玉珊)