

• 临床研究 •

[文章编号] 1007-3949(2010)18-09-0744-02

## 血小板活化因子 CD62P和 CD63的表达 在急性脑梗死中的临床意义

徐培敬<sup>1</sup>, 张枫林<sup>1</sup>, 陈颖<sup>1</sup>, 韩雪花<sup>2</sup>

(徐州医学院附属淮安市二医院 1老年科, 2 中心实验室, 江苏省淮安市 223002)

[关键词] 急性脑梗死; 活化血小板; 流式细胞术

[摘要] 目的 探讨血小板 $\alpha$ 颗粒膜糖蛋白 CD62P和溶酶体膜糖蛋白 CD63的表达与急性脑梗死的关系。方法 用流式细胞仪和单克隆抗体标记法检测 61例急性脑梗死患者 CD62P和 CD63水平, 并与 59例正常对照组比较。结果 急性脑梗死患者 CD62P和 CD63的表达明显高于正常对照组(6.26%  $\pm$  1.68%比 2.32%  $\pm$  1.14%和 6.14%  $\pm$  1.89%比 2.88%  $\pm$  1.15%,  $P < 0.01$ )。结论 急性脑梗死患者血栓的形成与血小板的活化密切相关, 且活化血小板的检测可以作为脑梗死早期诊断一项较特异的指标。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

### Clinical Significance of Platelet CD62P and CD63 Expression in Patients with Acute Cerebral Infarction

XU PeiJing, ZHANG Feng-Lin, CHEN Yin, and HAN Xue-Hua

(The Second Affiliated Hospital of Xuzhou Medical University, Huai'an 223002, China)

[KEY WORDS] Acute Cerebral Infarction, Activated Platelets, Flow Cytometry

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the relationship between platelet CD62P and CD63 expression and acute cerebral infarction (ACI). **Methods** The expression of CD62P, CD63 was detected by flow cytometry in 61 patients with acute cerebral infarction (ACI), and 59 healthy control subjects. **Results** CD62P, CD63 in acute cerebral infarction were 6.26%  $\pm$  1.68% vs 2.32%  $\pm$  1.14%, 6.14%  $\pm$  1.89% vs 2.88%  $\pm$  1.15% respectively, and the result has statistical significance compared with those of the control group ( $P < 0.01$ ). **Conclusion** The formation of thrombus in acute cerebral infarction patients is highly related to the platelets activation, which can be a diagnostic indicator of cerebral infarction disease.

急性脑梗死 (acute cerebral infarction, ACI) 的发病机制与血管内皮细胞的损害、血小板的激活及血液流变学的改变、脑血栓形成有密切的关系。随着免疫学和分子生物学的发展, 人们对血小板活化在脑梗死发生发展中的重要作用有了更深入的了解, 活化的血小板及静止血小板相比, 其细胞膜糖蛋白常发生显著变化, 尤其是原来存在于 $\alpha$ 颗粒膜糖蛋白 CD62P和溶酶体膜糖蛋白 CD63等在细胞膜上的大量表达, 成为活化血小板的分子标志物, 并已成为血小板活化的重要指标<sup>[1]</sup>。为探讨血小板活化状态与急性脑梗死 (acute cerebral infarction, ACI) 发病的关系, 本研究应用流式细胞仪 (flow cytometry, FCM) 及单克隆抗体标记法检测血小板活化因子 CD62P和 CD63, 旨在探讨急性脑梗死患者血小板

活化因子表达的临床价值。

### 1 资料与方法

#### 1.1 资料

选择 2007年 11月 ~ 2010年 1月间在我院住院病人, 急性脑梗死组患者 61例, 发病在 3天以内, 全部病例符合 1995年全国第四次脑血管病学术会议制订的诊断标准<sup>[2]</sup>, 均经过头颅 CT 或磁共振成像 (MRI) 检查证实。其中男 31例, 女 30例, 年龄 60 ~ 82岁, 平均 68.6  $\pm$  5.8岁。病人均在 10天以内未服用任何抗血小板药物、解热镇痛药、消炎药等。对照组为健康体检者 59名, 均无心脑血管疾病、高血压病及糖尿病史, 2周内无服用影响血小板功能药物。其中男 28名, 女 31名, 年龄 60 ~ 80岁, 平均 68.2  $\pm$  5.2岁。急性脑梗死组与对照组之间年龄及性别构成差异无显著性, 具有可比性。

#### 1.2 仪器

流式细胞仪购自美国 Beckman coulter公司, 单

[收稿日期] 2010-07-31 [修回日期] 2010-09-10

[作者简介] 徐培敬, 主任医师, 研究方向为心脑血管疾病, E-mail 为 xpj2004@163.com。张枫林, 硕士, 副主任医师, 研究方向为心脑血管疾病。陈颖, 副主任医师, 研究方向为心脑血管疾病。

克隆抗体血小板 GPIIIa (CD61)-Percp, 选择素 (CD62P) FITC 及 Mouse IgG1-PE 购自 Beckman Coulter 公司。

### 1.3 检测方法

用 10 mL 注射器采静脉血 (要求不系压脉带, 抽取顺利) 5 mL, 留取抽出的中间段 1 mL 与抗凝剂比例 9:1 轻混; 荧光素标记的抗血小板单克隆免疫荧光染色: 在阴性对照管中加 Mouse IgG1 FITC、CD61-PE 各 20  $\mu$ L; 测定管中加 CD62P-FITC、CD63-FITC 各 20  $\mu$ L, 再分别加入 5  $\mu$ L 全血。置室温避光反应 15 min, 立即加入 110 mL 1% 多聚甲醛 (2 $^{\circ}$ C ~ 6 $^{\circ}$ C) 混匀, 4 $^{\circ}$ C 冰箱保存, 12 h 内流式细胞仪上机。

### 1.4 流式细胞术分析

以 CD61-Percp 和侧散射光散点图设血小板门, 同型对照设定阴性群体, 进一步再用 CD62-PE 单克隆抗体技术, 测定 CD62P、CD63 表达百分率。

### 1.5 统计学处理

数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 组间比较用  $t$  检验。  $P < 0.05$  为差异有显著性。

## 2 结果

急性脑梗死组与对照组相比 CD62P 和 CD63 水平明显增高 ( $P < 0.01$ ; 表 1)。

表 1. 血小板活化现象比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

分 组	n	CD62P	CD63
急性脑梗死组	61	6.26% $\pm$ 1.68% <sup>a</sup>	6.14% $\pm$ 1.89% <sup>a</sup>
对照组	59	2.32% $\pm$ 1.14%	2.88% $\pm$ 1.15%

a 为  $P < 0.01$ , 与对照组比较。

## 3 讨论

在急性脑梗死的发生发展过程中, 由于血管内皮损伤后胶原的暴露, 促使血小板的黏附和激活, 原本存在于静息血小板细胞质内  $\alpha$  颗粒膜上的糖蛋白 CD62P 和溶酶体膜上的 CD63, 在血小板活化时, 随着活化血小板脱颗粒, 发生异位而与血小板细胞膜融合, 暴露于活化血小板的膜表面, 成为识别活化

血小板的分子标记物, CD62P、CD63 与受体结合, 血小板表面表达或脱落增加, 成为活化血小板最特异和灵敏的标志物<sup>[3]</sup>。

血小板活化后, 颗粒膜蛋白在质膜上高水平表达, 引起 CD63、CD62P 的显著性改变。CD62P 由 789 个氨基酸残基构成, 是选择素家族的代表, 位于血小板  $\alpha$  颗粒和内皮细胞棒状小体内, 这种颗粒蛋白在静止期不表达或很少表达。选择性的分布于静止血小板内的  $\alpha$ 2 颗粒上, 血小板活化后  $\alpha$  颗粒迅速与血小板膜融合并释放, 使 CD62P 重新分布于血小板表面, 所以 CD62P 在血小板表面的表达是血小板活化的特异性标志物。正常情况下血小板与内皮细胞不发生粘附和聚集, 处于静息状态。但如果血管内皮细胞受损, 血管内皮下胶原暴露, 流经此处的血小板即被激活。这时, 血小板胞质内  $\alpha$ 2 颗粒上的糖蛋白 CD62P、TSP 及溶酶体颗粒上的 CD63 随着活化血小板“脱颗粒”发生移位而与血小板质膜融合, 在血小板膜上表达。

本试验用 FCM 测定发现急性脑梗死患者血小板活化标志物 CD62P 和 CD63 水平明显高于对照组, 表明脑梗死患者血栓的形成, 老年急性脑梗死患者血小板活化程度明显增高, 血小板的活化与疾病的发生关系密切, 活化血小板的检测为患者的病程、病情观察提供了一个较为特异的指标。

通过研制直接阻断 CD62P、CD63 表达的抗血小板活化的治疗药物, 可能成为预防和治疗急性脑梗死的新的有效途径<sup>[4]</sup>。有研究表明 CD62P、CD63 的表达与不同部位的梗死灶无明显关系。

### [参考文献]

- [1] 曹凌, 贺茂林. 急性缺血性脑血管病时血小板活化状态 [J]. 国外医学·脑血管病分册, 2006, 21: 70-72
- [2] 中华医学会. 各类脑血管病诊断要点 [J]. 中华神经科杂志, 1996, 29 (6): 37-39
- [3] Suzuki H, Abe K, Tojo S et al. Expression of p2selectin and HSP722like immunoreactivities in rat brain after transient middle cerebral artery occlusion [J]. Brain Res 1997, 759 (2): 321-329
- [4] Fourcade O, Simon ME, Litt L, et al. Propofol inhibits human platelet aggregation induced by proinflammatory lipid mediators [J]. Anesth Analg, 2004, 99 (2): 393-398

(此文编辑 李玲玲)