

损伤的保护作用[J]. 实用医学杂志, 2010, 26(8): 1318-1320.

[22] 魏红玲, 杜军保, 唐朝枢, 等. 硫化氢对低氧性肺动脉高压中氧化应激的调节作用[J]. 北京大学学报: 医学版, 2007, 39(6): 565-569.

[23] 周军, 陈焯, 石恒林, 等. 参附注射液复合异丙酚对围手术肝缺血-再灌注损伤影响的研究[J]. 现代预防医学, 2008, 35(9): 1759-1761.

[24] 陈雯, 刘莉, 张颖, 等. 外源性 H₂S 吸入对大鼠肢体缺血/再灌注后心肌损伤的保护作用研究[J]. 中国急救医学, 2008, 28(10): 902-905.

[25] 李晓惠, 杜军保, 唐朝枢. 硫化氢供体对大鼠高肺血流性肺动脉高压中内皮素-1 及结缔组织生长因子表达的影响[J]. 中国病理生理杂志, 2008, 24(3): 446-450.

[26] 郝云龙, 闻勤生. 还原型谷胱甘肽对肝缺血再灌注损伤细胞凋亡的影响[J]. 现代中西医结合杂志, 2010, 19(17): 2101-2102.

[27] Acquaviva R, Campisi A, Murabito P, et al. Propofol attenuates peroxynitrite-mediated DNA damage and apoptosis in cultured astrocytes: an alternative protective mechanism[J]. Anesthesiology, 2004, 101(6): 1363-1371.

[28] Takemura G, Fujiwara H. Doxorubicin-induced cardiomyopathy from the cardiotoxic mechanisms to management[J]. Prog Cardiovasc Dis, 2007, 49(5): 330-352.

[29] 黄晓伟, 姚玲玲, 姚泰, 等. 外源性 H₂S 在大鼠心肌缺血再灌注损伤中的作用[J]. 复旦学报: 医学版, 2008, 35(2): 216-219.

[30] 廖新学, 杨春涛, 杨战利, 等. 硫化氢对抗化学性缺氧引起的心肌

细胞损伤及其机制[J]. 中国药理学通报, 2009, 25(8): 1012-1017.

[31] 于水, 杨海扣, 米琰, 等. PI3K/Akt 信号通路在外源性硫化氢后处理大鼠离体心肌中的作用[J]. 中国药理学通报, 2010, 26(6): 759-764.

[32] 魏水生, 廖新学, 谭钰婷, 等. 热休克蛋白 90 在硫化氢抗化学性缺氧诱导心肌细胞氧化应激损伤中的作用[J]. 中国病理生理杂志, 2009, 25(12): 2329-2333.

[33] 汪莉, 徐钢, 季永, 等. 硫化氢钠后处理对缺氧/复氧心肌细胞线粒体渗透性转换的影响[J]. 中国药理学通报, 2008, 24(12): 1610-1614.

[34] 张国华, 薛富善, 孙莉, 等. 芬太尼对大鼠肝脏缺血再灌注损伤后期细胞凋亡因子的影响[J]. 实用医学杂志, 2009, 25(13): 2047-2049.

[35] 刘开祥, 李浩, 俸军林, 等. 低分子肝素对鼠脑缺血再灌注损伤 P-选择素和 L-选择素表达的影响[J]. 广东医学, 2008, 29(10): 1628-1630.

[36] 李丹丹, 焦炳华, 孟建中, 等. 低分子肝素对大鼠肾缺血再灌注损伤时 ICAM-1 及 MCP-1 表达的影响[J]. 山东医药, 2008, 48(8): 12-14.

[37] Sivarajah A, Collino M, Yasin M, et al. Anti-apoptotic and anti-inflammatory effects of hydrogen sulfide in a rat model of regional myocardial I/R[J]. Shock, 2009, 31(3): 267-274.

(收稿日期: 2012-05-29)

• 综 述 •

血小板在机体清除腺病毒中的作用

邢宇玲^{1,2} 综述, 辛晓敏^{2△}, 金英玉² 审校

(哈尔滨医科大学附属第一医院检验科, 黑龙江哈尔滨 150001)

关键词: 腺病毒科; 血小板; 综述

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2012.22.023

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2012)22-2741-03

基因治疗作为一种新兴的医疗手段, 为人类疾病治疗开辟了一条新的途径。基因治疗最关键的问题之一是要选择合适的载体以确保治疗基因安全、高效地导入靶细胞。腺病毒因具有诸多优点而被作为最广泛的运载工具, 特别是用于肿瘤基因治疗。但是作为非血液传染的病原体, 腺病毒在血液里没有幸存的变异机制, 在血液循环过程中很快会被清除^[1]。而血小板减少症也是在应用腺病毒做基因载体治疗时高剂量全身给药的一个副作用^[2]。近年来, 腺病毒引起血小板减少的机制是研究热点, 本文对血小板与腺病毒之间的相互关系做了汇总, 将在这里粗浅地探讨一下腺病毒在体内被清除时, 血小板所发挥的作用。

1 腺病毒

1.1 腺病毒介绍 因该病毒最初来自腺体, 故命名为腺病毒。腺病毒分布十分广泛, 能够引起呼吸道、肠黏膜上皮细胞溶解性感染^[3]。在军队中也可引起呼吸系统疾病的暴发流行^[4]。可在淋巴样和腺样细胞中引起潜伏感染, 在啮齿动物细胞中引起转化感染。

1.2 腺病毒分类 根据宿主范围不同, 腺病毒分为哺乳动物腺病毒属和禽类腺病毒属。人腺病毒属于腺病毒科, 根据免疫学、生物学、生物化学特性不同, 将其分为 A~G 7 个亚种, 共

有 55 个血清型^[5], 不同血清型的腺病毒有不同的器官亲和性并引起相应的临床表现^[6]。

1.3 腺病毒结构 腺病毒是一种线性无包膜的双链 DNA 病毒, 病毒颗粒直径 60~90 nm, 呈二十面体立体对称。病毒衣壳有 252 个壳粒, 规则排列成 240 个六邻体(每面 12 个)和 12 个五邻体单位, 其中五邻体位于顶角处, 从每个顶角壳粒的基底伸出一根纤毛突起, 其末端具有一个结节区, 因此腺病毒的衣壳结构可以分为五邻体和六邻体两部分, 其中五邻体又由五邻体基底部、纤毛突起和结节区组成^[7]。在体外试验中, 纤维蛋白介导了病毒与宿主细胞的黏附, 接着五邻体基质又参与促使病毒内陷入细胞的过程^[8]。

1.4 腺病毒作为基因载体的用途 由于腺病毒载体转导目的基因具有高效率、低致病性、高滴度以及在体内不整合入宿主细胞染色体等优点, 已被认为是最有效的转基因载体之一, 并广泛应用于人类基因治疗。但是腺病毒载体的应用还存在一些不足, 如临床上注射腺病毒载体后的一个普遍的副作用: 血小板减少症^[7]。

2 血小板

2.1 血小板介绍 血小板是一类小的、圆盘形的细胞, 来源于

△ 通讯作者, E-mail: xinxiaomin0451@yahoo.com.cn.

巨噬细胞系^[9]。血小板的形状不规则,比红细胞和白细胞小得多,无细胞核。血小板具有特定的形态结构和生化组成,它在止血、伤口愈合、炎症反应、血栓形成及器官移植排斥等生理和病理过程中起着重要的作用。血小板只存在于哺乳动物血液中。

2.2 血小板的功能 如果说血小板在止血与血栓形成及启发损伤修复过程中所起的重要作用已经被人们清楚地认识,那么它们在宿主抵抗感染过程中所起的防御作用仍没有得到关注^[10]。血小板的正常计数为 $(100\sim 300)\times 10^9/L$,严重的损伤和外科手术能够消耗一些血小板。但是事实上只有其中一小部分参与止血反应,这表明循环中的大部分血小板还有着其他的功能^[11]。近年来的研究已证实血小板有抵抗病毒、细菌和其他颗粒物的功能^[12]。血小板因能吞噬病毒而引人注目^[10]。最早由 Zucker-Franklin 等^[13]证实了血小板能够吞噬 HIV。临床上也见到患病毒性疾病时总出现血小板减少的现象。因此血小板有可能同皮肤、黏膜和白细胞一样是构成机体对抗病毒的一道防线,成为免疫系统的一个组成成分^[14]。

2.3 血小板的宿主免疫功能 对血小板表达受体详细的分析显示了大量新发现的、与免疫或是先天免疫有关的分子^[11]。血小板不仅能与病毒相互作用,还能和细菌、真菌、寄生虫作用,发挥它的防御功能^[11]。

3 血小板受体

3.1 整合素 血小板膜上的整合素属于 α 、 β 异源二聚体黏附受体家族的成员,是分布在细胞表面的跨膜糖蛋白,参与细胞-细胞、细胞-细胞外基质的黏附及细胞内外信号传递。整合素也是腺病毒进入细胞的结合受体。许多腺病毒血清型的五邻体基座上都有细胞整合素的识别位点 RGD 肽,由精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸构成,是一个重要的前体化合物,许多蛋白中都有这种高度保守的氨基酸序列,与许多生物活性密切相关^[15]。RGD 在血小板聚集集中主要介导了血小板间的相互作用。另一种结合素类如 $\alpha\beta 3$ 和 $\alpha\beta 5$ 也可能与腺病毒相互作用^[10]。

3.2 柯萨奇病毒和腺病毒受体(CAR) CAR 是研究最广泛的腺病毒受体,CAR 于 1997 年被分离和鉴定^[9],分布广泛,在不同种属和组织中分布不同。在人体组织的许多器官能检测到其 mRNA,包括心、大脑、胰、肠、肺、肝、肾以及睾丸,在心脏和胰腺中表达较强^[15]。A~F 亚群的腺病毒,除了 B 群腺病毒外,其余的都用柯萨奇病毒和腺病毒受体作为主要的附着受体^[16]。在人类血小板上检测到了 CAR^[17],之前的研究表明腺病毒载体不引起、抑制或促进人类血小板聚集^[18-19]。相反的,最近研究表明给小鼠经静脉注射腺病毒 5 后病毒迅速地结合到循环的血小板上,从而引起了血小板的活化和聚集以及以后发生的肝窦的捕获^[20]。病毒-血小板聚集物被肝脏枯否细胞捕获并使之破坏或退化^[21]。

3.2 P 选择素 P 选择素是细胞黏附分子选择素家族的成员之一,它主要调节包含配体在内的特殊碳水化合物的结合,主要存在于血小板的 α 颗粒和内皮细胞的 Weibel-Palade 小体中,是血小板活化的标志。P 选择素最主要的识别配体是 P 选择素糖蛋白配体 1 抗体,这一配体在大多数的白细胞和少数的血小板中能被检测到。正因如此,P 选择素能激活内皮细胞、血小板,并调节白细胞和内皮细胞表面的黏附^[17]。

4 腺病毒与血小板的相互作用

4.1 腺病毒与血小板的结合 腺病毒引起的血小板减少症是剂量依赖性的、可饱和的和可逆转的,这与配体与受体作用的机制是相同的^[2,22]。实验证明,腺病毒注入小鼠体内能够迅速

地引起血小板减少症。病毒注入不久后,循环池中的血小板被清除,它们黏附到脾脏巨噬细胞上,等待被吞噬。电子显微镜下可以看到一些包含了腺病毒样颗粒的血小板表现出活化的标记^[10]。然而这只是在动物实验中得到了证实,另外有体外实验证明了血小板能够吞噬 HIV 和慢性病毒,血小板通过与微生物直接作用将它们吞噬到一个特殊的不同于表面相连管道(SCCS)的空间中。血小板分泌颗粒与这个空间融合从而导致微生物的破坏。这个观察提示了血小板在宿主组织对微生物感染的潜在的保护和防御作用。然而,对于血小板摄取病毒是否有利于病毒的运输和感染的传播,亦或是相反的,血小板帮助宿主组织抵御感染的了解还不是很清楚。血小板-病毒间的相互作用也许是两面作用,这取决于病毒的物种和血小板与巨噬细胞的环境。那么,对于人类血小板是否能够像吞噬 HIV 和慢性病毒那样与腺病毒发生相同的反应还有待于进一步研究。

4.2 结合腺病毒后的血小板的变化 Othman 等^[17]在动物实验中发现给小鼠体内注射腺病毒后,血小板计数与注射前相比明显减少,而代表血小板活化的标志——P 选择素的水平相比病毒注射前也是呈倍数增加。而通过电镜也观察到了被巨噬细胞吞噬的血小板上黏附有腺病毒样颗粒^[10]。这些表明了腺病毒能够促使循环中的血小板活化,并表达 P 选择素。

4.3 腺病毒、血小板结合后的结局 腺病毒与血小板结合后,使血小板活化,并形成血小板-白细胞聚集物,活化后的血小板表面表达 P 选择素,从而激活内皮细胞,使存在于内皮细胞的血管性血友病因子(vWF)释放,vWF 主要调节血小板的转移并黏附于暴露的内皮下膜。vWF 结合血小板主要是通过血小板 GP1b 介导^[23]。再者,内皮活化与 P 选择素快速释放是密切联系的。vWF 与血小板的结合是通过血小板 GP/b 介导的^[24]。血小板-白细胞聚集物最后在脾脏中被巨噬细胞吞噬,或是到肝脏中被 Kupffer 细胞吞噬,从而引起血小板计数的减少^[22,25],完成了机体对腺病毒的清除过程。

可见,腺病毒在体内的清除过程中血小板起了很重要的作用,人们对血小板的认识从最开始的无功能的细胞碎片到止血中的重要作用,并在近几十年又发现血小板有抵抗病原微生物的作用,这在人类医学发展史上是一个大的突破。但是对血小板的研究过程仍存在很多问题,笔者将通过不断地研究完善这一领域。

参考文献

- [1] Stone D, Liu Y, Shayakhmetov D, et al. Adenovirus-platelet interaction in blood causes virus sequestration to the reticuloendothelial system of the liver[J]. J Virol, 2007, 81(9): 4866-4871.
- [2] Shimony N, Elkin G, Kolodkin-Gal D, et al. Analysis of adenoviral attachment to human platelets[J]. J Virol, 2009, 6(2): 25.
- [3] Lynch JP 3rd, Fishbein M, Echavarría M. Adenovirus[J]. Semin Respir Crit Care Med, 2011, 32(4): 494-511.
- [4] Gregory SM, Nazir SA, Metcalf JP. Implications of the innate immune response to adenovirus and adenoviral vectors[J]. Future Virol, 2011, 6(3): 357-374.
- [5] Trinh HV, Lesage G, Chennampampill V, et al. Avidity binding of human adenovirus serotypes 3 and 7 to the membrane cofactor CD46 triggers infection[J]. J Virol, 2012, 86(3): 1623-1637.
- [6] 陈娜娜, 向冬喜, 郑丛龙. 腺病毒及其研究进展[J]. 大连医科大学学报, 2010, 32(5): 586-590.
- [7] 范凌云, 谢庆军. 腺病毒载体的研究进展[J]. 中国生物制品学杂

- 志, 2008, 21(2):153-157.
- [8] Marttila M, Persson D, Gustafsson D, et al. CD46 is a cellular receptor for all species B adenoviruses except types 3 and 7[J]. J Virol, 2005, 79(22):14429-14436.
- [9] Yeaman MR. Platelets in defense against bacterial pathogens[J]. Cell Mol Life Sci, 2010, 67(4):525-544.
- [10] Flaujac C, Boukour S, Cramer-Bordé E. Platelets and viruses: an ambivalent relationship[J]. Cell Mol Life Sci, 2010, 67(4):545-556.
- [11] Clemetson KJ. Platelets and pathogens[J]. Cell Mol Life Sci, 2010, 67(4):495-498.
- [12] Li Z, Yang F, Dunn S, et al. Platelets as immune mediators: their role in host defense responses and sepsis[J]. Thromb Res, 2011, 127(3):184-188.
- [13] Zucker-Franklin D, Seremetis S, Zheng ZY. Internalization of human immunodeficiency virus type 1 and other retroviruses by megakaryocytes and platelets[J]. Blood, 1990, 75(10):1920-1923.
- [14] Elzey BD, Sprague DL, Ratliff TL. The emerging role of platelets in adaptive immunity[J]. Cell Immunol, 2005, 238(1):1-9.
- [15] 马春玲, 卢山. 人类腺病毒受体的研究进展[J]. 微生物与感染, 2008, 3(4):238-242.
- [16] Wang H, Li ZY, Liu Y, et al. Desmoglein 2 is a receptor for adenovirus serotypes 3, 7, 11 and 14[J]. Nat Med, 2011, 17(1):96-104.
- [17] Othman M, Labelle A, Mazzetti I, et al. Adenovirus-induced thrombocytopenia: the role of von Willebrand factor and P-selectin in mediating accelerated platelet clearance[J]. Blood, 2007, 109(7):2832-2839.
- [18] André P, Hartwell D, Hrachovinová I, et al. Pro-coagulant state resulting from high levels of soluble P-selectin in blood[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2000, 97(25):13835-13840.
- [19] Escutenaire S, Cerullo V, Diaconu I, et al. In vivo and in vitro distribution of type 5 and fiber-modified oncolytic adenoviruses in human blood compartments[J]. Ann Med, 2011, 43(2):151-163.
- [20] Güray U, Erbay AR, Güray Y, et al. Levels of soluble adhesion molecules in various clinical presentations of coronary atherosclerosis[J]. Int J Cardiol, 2004, 96(2):235-240.
- [21] Di Paolo NC, van Rooijen N, Shayakhmetov DM. Redundant and synergistic mechanisms control the sequestration of blood-born adenovirus in the liver[J]. Mol Ther, 2009, 17(4):675-684.
- [22] Wolins N, Lozier J, Eggerman TL, et al. Intravenous administration of replication-incompetent adenovirus to rhesus monkeys induces thrombocytopenia by increasing in vivo platelet clearance[J]. Br J Haematol, 2003, 123(5):903-905.
- [23] Sadler JE. Biochemistry and genetics of von Willebrand factor[J]. Annu Rev Biochem, 1998, 67(1):395-424.
- [24] Wagner DD, Olmsted JB, Marder VJ. Immunolocalization of von Willebrand protein in Weibel-Palade bodies of human endothelial cells[J]. J Cell Biol, 1982, 95(1):355-360.
- [25] Bondanza A, Sabbadini MG, Pellegatta F, et al. Anti-beta 2 glycoprotein I antibodies prevent the de-activation of platelets and sustain their phagocytic clearance[J]. J Autoimmun, 2000, 15(4):469-477.

(收稿日期:2012-06-23)

• 综 述 •

血栓与止血检验研究进展

于 水¹, 伦 语²综述, 伦立民^{1△}审核

(青岛大学医学院:1. 附属医院东区检验科;2. 临床医学系, 山东青岛 266101)

关键词:血栓形成; 止血; 综述

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.22.024

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2012)22-2743-03

近年来,血栓与止血作为研究凝、止血机制及其疾病的学科已取得了很大的发展。其实验室检验可以用于出血性疾病的诊断、血栓前状态的预测、易栓症的评价、弥散性血管内凝血(DIC)的实验诊断以及对抗凝治疗患者的用药指导等,对于临床意义重大。现就血栓与止血检验的研究进展作如下阐述。

1 新检验项目的出现^[1-3]

20世纪80年代以前,血小板计数(PLT)、平均血小板体积(MPV)、出血时间(BT)、活化部分凝血活酶时间(APTT)、凝血酶原时间(PT)、凝血酶时间(TT)、纤维蛋白原(FIB)、纤维蛋白(原)降解产物(FDPs)、D-二聚体等指标的检测实验应用于临床。这些实验简单、快速、经济,目前在临床中主要用于初步分析血栓形成或出血的原因。80年代之后,临床上出现了新的检验项目:血浆内皮素-1(ET-1)、血管性血友病因子(vWF)、血栓调节蛋白(TM)等因子的检测用于诊断血管病变,血小板黏附试验(PAdT)、血栓烷素(TXB₂)、血小板聚集试验(PAGt)、血小板颗粒释放蛋白(GMP-140)等的检测用于评价血小板功能,纤溶酶原活性及纤溶酶-抗纤溶酶复合物

(PAP)、组织纤溶酶原激活物(t-PA)、纤溶酶原激活物抑制物(PAI-1)等的检测用于检查纤溶系统等^[4];这些检测项目目前在临床得到了广泛的应用。近年来,国内外又出现一大批更新的检测方法:如反映血管损伤和抗活化蛋白C(APC)抗凝作用的特异性标志物——可溶性血管内皮细胞蛋白C受体(sEPCR)测定,能较完整地反映血小板参与血栓形成和血液凝固功能的水小板微颗粒(PMP)的检测,反映动脉血栓形成的特异性标志物之一的血小板——白细胞聚集体(PLAg)测定,限制血栓形成的指标之一的血管性血友病因子裂解蛋白酶(vWF-cp)活性测定,用于蛋白C系统筛选检测的蛋白C Global 试验以及凝血酶激活的纤溶抑制物测定(TAFI),蛋白Z抗原测定(PZ)和可溶性尿激酶受体(SH-PAR)测定等^[5]。这些检测更有利于临床诊断,更好地服务临床。

2 自动化、多功能、智能化血凝分析仪的使用^[6-8]

以前大部分的血栓与止血检验都是手工操作,因其费时费力且检验结果的准确度和精密度低而逐渐被淘汰,取而代之的是血凝分析仪的应用。近年来,国内引进了国外许多先进的血

△ 通讯作者, E-mail: lunlm@yahoo.com.cn.