

· 论 著 ·

内皮细胞微颗粒在阿尔茨海默病患者血浆中的水平及其临床意义

戴 兰¹, 朱明清¹, 薛寿儒², 李旺俊², 阮长耿^{1△}

(1. 苏州大学附属第一人民医院/江苏省血液研究所/卫生部血栓与止血重点实验室, 江苏苏州 215006; 2. 苏州大学附属第一人民医院神经内科, 江苏苏州 215006)

摘 要:目的 分析阿尔茨海默病(AD)患者血浆 CD31⁺CD42b⁻ 内皮细胞微颗粒(EMPs)的水平,探讨 EMPs 与 AD 之间的关系。方法 首先建立 EMPs 流式细胞检测方法;然后采用流式细胞仪检测 30 例 AD 患者和 30 例健康志愿者血浆中 EMPs 水平,并对 AD 患者进行认知功能障碍程度的评定。结果 AD 组 CD31⁺CD42b⁻ EMPs 血浆水平为(2 100.3±160.7)个/微升,健康对照组为(960.9±128.2)个/微升,AD 患者 CD31⁺CD42b⁻ EMPs 水平明显高于健康对照组,且与痴呆程度呈正相关。结论 CD31⁺CD42b⁻ EMPs 是目前反映血管内皮细胞功能紊乱的有效指标,其水平与疾病严重程度具有相关性,可用来辅助判定患者的痴呆程度。

关键词:阿尔茨海默病; 内皮细胞; 流式细胞术; 微颗粒

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.15.002

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2011)15-1661-02

Level of endothelial microparticles in plasma of patients with Alzheimer's disease and its clinical significance

Dai Lan¹, Zhu Mingqing¹, Xue Shouru², Li Wangjun², Ruan Changgeng^{1△}

(1. The First Affiliated Hospital of Soochow University/Jiangsu Institute of Hematology/The Key Laboratory of Thrombosis and Hemostasis of Ministry of Health, Suzhou Jiangsu 215006, China; 2. Department of Neurology, the First Hospital Affiliated to Soochow University, Suzhou Jiangsu 215006, China)

Abstract: Objective To investigate the level of microparticles originated from endothelial (EMPs) in plasma of patients with Alzheimer's disease (AD), and to analyze the correlation between the level of EMPs and AD. **Methods** The flow cytometry assay of EMPs was established. Then the plasma level of EMPs were detected in 30 patients with AD and 30 cases of healthy individuals. Measuring scales of dementia of patients with AD were assessed. **Results** The level of EMPs was (2 100.3±160.7)/μL in AD group, and (960.9±128.2)/μL in control group. There was significant positive correlation between the level of EMPs and the degree of dementia in patients with AD. **Conclusion** There could be endothelial dysfunction and significant elevation of the level of EMPs in patients with AD. The level of EMPs could be used to assess the degree of dementia severity in patients with AD.

Key words: Alzheimer disease; endothelial cell; flow cytometry; microparticles

内皮细胞(EC) 激活或凋亡时,细胞的膜结构发生改变,磷脂酰丝氨酸外翻,会以“出泡”的方式从细胞膜上脱落微颗粒,称为内皮细胞微颗粒(EMPs)。EMPs 作为 EC 受损的标志,正成为目前研究的热点^[1-2]。阿尔茨海默病(AD)的病因迄今仍不明确,越来越多的证据表明 AD 与血管病变的关系密切^[3-4],血管病变促进 AD 的发生,加速 AD 的病程。所以,笔者检测了本院 AD 患者和健康对照者的血浆 EMPs 水平,并探讨其与疾病的相关性。

1 资料与方法

1.1 一般资料 AD 患者 30 例,均符合 AD 的诊断标准^[5],并根据临床痴呆评定量表(CDR)将患者分为轻度、中度、重度组。

每组中位年龄 70 岁,男女之比为 1.2:1。健康对照组 30 例,取自本院体检人群,所有人员身体健康,无高血压、神经系统疾病、高血脂、高血糖及血栓病史,排除可能存在的各种疾病,生化指标、血常规、免疫指标均正常。性别、年龄与 AD 组基本一致。

1.2 仪器与试剂 异硫氰酸荧光素(FITC)标记鼠 IgG(IgG-FITC)、荧光素 PE 标记 IgG(IgG-PE)、鼠抗人 CD31-FITC、CD42b-PE、Flow-Count 荧光微球(1 024 个/微升)均购于 Beckman Coulter 公司。0.3 μm 和 0.8 μm 的标准微球购于美国 BD 公司。美国 Beckman Coulter 公司 FC500 流式细胞仪。

1.3 方法 流式细胞术检测 EMPs 的方案见图 1,其中 W 门

阮长耿,中国工程院院士,苏州大学医学教授,博士生导师。现任江苏省血液研究所所长,江苏省医学会副会长,《中华内科杂志》副总编,以及《中华医学杂志》、《J Thromb & Hemost》、《Thromb Res》、《Int J Hematol》等国内外杂志的编委。阮院士长期从事血液学——血栓与止血的研究。1979~1981 年在法进修期间,鉴定出国际上第 1 个抗血小板膜糖蛋白 I 单克隆抗体,并首先阐明血小板膜糖蛋白 I 作为黏附蛋白 von Willebrand (vW)因子受体的功能,成为第 1 位获得法国国家博士学位的中国人。学成回国后,阮院士建立了中国第 1 个血栓与止血研究室,研制成功国际公认的中国第 1 组抗人血小板、vW 因子等苏州(SZ)系列单抗,在血小板糖蛋白结构与功能的基础与临床研究中提出了新的见解。先后发表科研论文 500 余篇,其中 70 多篇在国外期刊上发表,主编专著 5 部。先后获得国家发明专利 4 项、美国专利 1 项、国家发明奖 1 项、国家科技进步三等奖 2 项、部级科技进步二等奖 14 项。培养博士研究生 43 名、硕士研究生 37 名。2006 年 9 月在苏州举办第 4 届亚太血栓与止血会议上担任大会主席。阮院士曾荣获“国家级有突出贡献的中青年专家”、“全国五一劳动奖章”、“全国先进工作者”、“法国功勋骑士勋章”、“法国医学科学院外籍通讯院士”等荣誉称号和奖励。近日,阮院士还被法国总统授予了法兰西国家功勋军官勋章。连获 2 枚法兰西国家功勋勋章,阮院士是获此殊荣的为数不多的华人科学家之一。

△ 通讯作者, E-mail: changgengruan@hotmail.com。

为研究对象,分析对象的直径为 0.3~0.8 μm ,再选择 CD31^+
 CD41^- 的群体。 $\text{EMPs}(\text{个}/\text{微升})=1\,024\times\text{EMPs 绝对值}/$
 Flow-Count 检测值 。实验时取出冻存无血小板血浆(PFP),冰
水混合物中解冻。每管分别取 PFP 5 μL ,对照管加入 20 μL
鼠 IgG-FITC、IgG-PE,测定管加入 CD31-FITC 、 CD42b-PE ,充
分混合,避光孵育 15 min,加 5 μL Flow-Count 荧光微球及 1
mL 磷酸盐缓冲液(PBS),充分混匀后上流式细胞仪检测
EMPs。

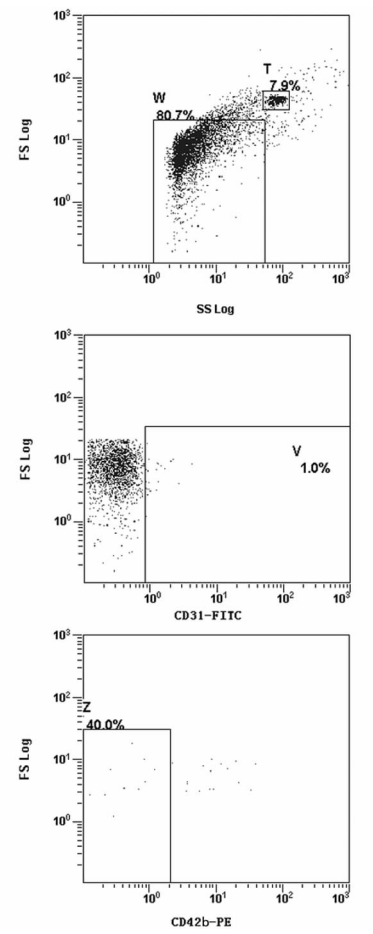


图1 流式细胞术 EMPs 检测方案

1.4 统计学处理 各组结果以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用 t 检
验。将 AD 患者血浆中的 EMPs 水平和痴呆程度进行相关性
分析,采用 Pearson 相关分析。

2 结 果

2.1 AD 患者 EMPs 水平的变化 AD 组的 $\text{CD31}^+\text{CD42b}^-$
EMPs 在血浆中为 $(2\,100.3\pm160.7)$ 个/微升,健康对照组为
 (960.9 ± 128.2) 个/微升,AD 组明显高于健康组,差异有统计
学意义($P<0.05$)。

2.2 AD 患者 EMPs 水平和痴呆程度相关性分析 AD 组患
者随着痴呆程度的加重,血浆中的 $\text{CD31}^+\text{CD42b}^-$ EMPs 的水
平随之增加($r=0.58, P<0.05$),见表 1。

表 1 不同痴呆程度 AD 患者血浆中 EMPs
水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	EMPs 水平(个/微升)
轻度组	11	1 364.3±130.3
中度组	10	2 320.2±141.1
重度组	9	2 879.2±153.2

3 讨 论

近年来,随着对 AD 认识的进一步深化,越来越多的证据
表明 AD 与脑血管病变有着密切的关系。脑血管病变促进 AD
的发生,加速 AD 的病程,各种加重血管病变的因素也是 AD
的危险因素。EC 激活或凋亡时,细胞的膜结构改变,磷脂酰
丝氨酸外翻,会以“出泡”的方式从细胞膜上脱落微颗粒,称为
EMPs,EMPs 直径约 0.05~1 μm ,具有 EC 表面膜蛋白和细胞
质成分,表面带有负电荷的磷脂,主要是磷脂酰丝氨酸,有促
凝、促炎性反应和改变血管功能的作用。许多学者普遍认为
EMPs 可以作为评价其亲本细胞的一个很好的指标^[6-7]。

在本研究中,AD 患者血浆中 EMPs 水平明显增高,且与
患者痴呆程度呈正相关。笔者认为可能主要是因为 AD 患者
脑血管病变严重, β 样淀粉蛋白沉积于小动脉的中膜,胶原蛋
白沉积于外膜,使小动脉管腔狭窄甚至闭塞,导致 EC 受损。 β
样淀粉蛋白还可导致血管收缩,进一步使其缺血缺氧加重。同
时,毛细血管改变也很严重,EC 变形、蛋白沉积、管腔狭窄,结
果损伤血管内皮,引起 EMPs 释放增加。在一些病理过程中,
EMPs 的数量较多,是 EC 受损的标志。有研究显示,EMPs 本
身也能引起 EC 受损^[8]。EMPs 的作用与超氧化物阴离子生
成增加有关^[9],可以减少 NO 的生物作用,进一步导致血管内
皮功能障碍,最终导致患者脑部的血流低灌注^[10],影响脑部氧
和葡萄糖的供应,最终引起大脑结构和功能变化,导致认知和
行为改变。通过本研究,笔者认为 EMPs 水平可作为判定 AD
患者病情严重程度的一个客观、有效的指标,同时也为研究
AD 的发病机制指出了一个新的方向。

参考文献

[1] 张淑华,卢国元. 内皮细胞微颗粒测定的临床意义[J]. 国际检验
医学杂志,2009,24(6):517-551.

[2] 卢均坤,王燕琴,贺兆发. 内皮细胞损伤对于经皮冠状动脉介入术
后血流的意义[J]. 心血管康复医学杂志,2010,19(3):262-264.

[3] 陈其龙,董文心. 阿尔茨海默病的血管危险因素及其药物治疗
[J]. 世界临床药物,2010,31(10):631-635.

[4] Pirro M,Schillaci G,Bagaglia F,et al. Microparticles derived from
endothelial progenitor cells in patients at different cardiovascular
risk[J]. Atherosclerosis,2008,197(2):757-767.

[5] 王维治. 神经病学[M]. 北京:人民卫生出版社,2006:1397-1401.

[6] Brogan PA,Shah V,Brachet C,et al. Endothelial and platelet mi-
croparticles in vasculitis of the young[J]. Arthritis Rheum,2004,
50(3):927-936.

[7] 夏金盈,李莹. 内皮微颗粒与内皮细胞凋亡[J]. 同济大学学报:医
学版,2010,31(6):122-124.

[8] Martin S,Tesse A,Hugel B,et al. Shed membrane particles from
T lymphocytes impair endothelial function and regulate endotheli-
al protein expression[J]. Circulation,2004,109(13):1653-1659.

[9] Amabile N,Guérin AP,Leroyer A,et al. Circulating endothelial
microparticles are associated with vascular dysfunction in patients
with end-stage renal failure[J]. J Am Soc Nephrol,2005,16(11):
3381-3388.

[10] Mezentsev A,Merks RM,O'Riordan E,et al. Endothelial micro-
particles affect angiogenesis in vitro: role of oxidative stress[J].
Am J Physiol Heart Circ Physiol,2005,289(3):1106-1114.