

• 临床检验研究 •

血小板膜糖蛋白 I b α 表达水平与急性脑梗死相关性研究

张 芹, 欧阳红梅[△], 翟 明, 朱红艳, 张 蕾, 甸自金

(昆明医学院附属昆华医院/云南省第一人民医院检验科, 昆明 650032)

摘 要:目的 探讨血小板膜糖蛋白 I b α (GP I b α)表达水平与急性脑梗死(ACI)的相关性。方法 采用流式细胞术(FCM)分别检测 119 例 ACI 患者与 117 例健康对照者 GP I b α 的表达水平并进行比较分析。结果 ACI 组的 GP I b α 表达水平低于对照组,其差异有统计学意义($P < 0.05$)。非条件 Logistic 回归分析显示 GP I b α 表达降低是 ACI 发生的独立危险因素。结论 GP I b α 的表达水平与 ACI 的发生有关。

关键词:脑梗死; 血小板膜糖蛋白; 流式细胞术

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.15.012

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2011)15-1684-02

Correlation between the expression of platelet glycoprotein I b α and acute cerebral infarction

Zhang Qin, Ouyang Hongmei[△], Zhai Ming, Zhu Hongyan, Zhang Lei, Dian Zijin

(Department of Clinical Laboratory, Affiliated Kunhua Hospital of Kunming Medical College/the First People's Hospital of Yunnan Province, Kunming Yunnan 650032, China)

Abstract: Objective To explore the correlation between the expression level of platelet glycoprotein(GP) I b α and acute cerebral infarction (ACI). Methods 119 patients with ACI and 117 healthy volunteers were divided into case group and control group, and the expression level of GP I b α was measured by flow cytometry(FCM). Results Compared with control group, the expression level of GP I b α was significant lower in case group ($P < 0.05$). And the Logistic regression analysis revealed that the reduction of the expression level of GP I b α was the independent risk factor of ACI. Conclusion There could be correlation between ACI and the decreased expression level of GP I b α ;

Key words: brain infarction; platelet membrane glycoproteins; flow cytometry

急性脑梗死(ACI)是世界范围内主要的致死和致残性疾病之一,动脉粥样硬化是 ACI 最常见的病因。血管内皮细胞损伤所致的功能障碍是动脉粥样硬化的始动环节,而血小板附着于受损和粗糙的血管内皮细胞上则形成血栓。血小板膜糖蛋白(GP)在血小板活化及初期血栓形成中起着关键作用。GP I b 是血小板膜表面的主要糖蛋白之一,GP I b α 是血管性血友病因子(vWF)的受体,是血小板发挥黏附功能必不可少的因素。笔者研究了 ACI 患者与健康对照组 GP I b α 的表达水平,以探讨 GP I b α 表达水平与 ACI 的相关性。

1 资料与方法

1.1 一般资料 ACI 组为 2007 年 1 月至 2009 年 9 月在本院神经内科就诊的 ACI 患者 119 例,男 56 例,女 63 例;年龄 35~86 岁,平均(65.4 $\pm$ 13.45)岁,符合全国第 4 届脑血管病会议修订的 ACI 诊断标准^[1],并在发病 24 h 内入院。全部病例均经头颅 CT 或 MRI 证实,排除急性心肌梗死、外周血管病、自身免疫性疾病、严重感染、肝肾功能障碍、妊娠、妇女月经期、口服抗凝剂或止血药。健康对照组为同期 117 例汉族健康体检者,男 51 例,女 66 例;年龄为 33~84 岁,平均(54 $\pm$ 10)岁,均无心、脑、肝、肾疾病,无糖尿病、甲状腺病史,近期无感染,检查前 10 d 内均未使用阿司匹林、双嘧达莫、肝素等影响血小板功能药物。两组入选人群性别、年龄差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

1.2 方法 采用流式细胞术(FCM)进行 GP I b α 表达水平的检测,检测仪器为美国 Beckman Coulter EPICS-XL 型流式细胞分析仪,试剂来自美国 Beckman Coulter 公司。病例组及健

康对照组均采集静脉血 2 mL(ACI 组需在发病 24 h 内采集),以 10%EDTA-K₂ 抗凝后,室温下离心分离富血小板血浆(RPP),以 1%多聚甲醛固定后,用异硫氰酸荧光素(FITC)标记的 GP I b α 单克隆抗体(GP I b α -FITC)室温孵育 20 min 后上机检测。采用流式细胞分析仪计数 5 000 个血小板测定 GP I b α 的表达率,并计算平均荧光强度。实验中以 FITC 标记的同型 IgG 即 IgG-FITC 作为阴性对照。

1.3 统计学处理 采用 SPSS11.5 统计软件,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间数据比较采用 t 检验,以 $\alpha = 0.05$ 作为检验水准。采用非条件 Logistic 回归分析判断各拟定 ACI 危险因素对 ACI 发生的影响程度。

2 结 果

2.1 ACI 组与健康对照组 GP I b α 表达水平比较 ACI 组和健康对照组的 GP I b α 表达水平分别为(84.94 $\pm$ 12.78)%、(93.66 $\pm$ 4.8)% ,差异具有统计学意义($t = -7.67, P = 0.001$)。

2.2 ACI 发生的危险因素分析 将 ACI 的发生作为因变量,以性别、高血压史、糖尿病史、吸烟史、GP I b α 表达水平作为自变量,采用非条件 Logistic 回归分析影响 ACI 发生的危险因素。采用 Forward:LR 法筛选变量,按 0.05 的纳入水准,0.1 的剔除水准,进入模型的为高血压史和 GP I b α 表达水平,即这 2 个变量与 ACI 的发生有关。GP I b α 表达水平的偏回归系数为负值,Exp(β) < 1 ,说明其表达降低会增加 ACI 发生的危险,见表 1。

[△] 通讯作者,E-mail:ouyhmei@163.com。

表 1 ACI 危险因素分析

自变量	β	SE	Wald	P	Exp(β)	Exp(β)的 95%CI	
						低值	高值
高血压	1.088	0.317	11.779	0.001	2.426	1.368	4.303
GP I b α	-1.202	0.624	3.708	0.054	0.301	0.088	1.022

β :偏回归系数;SE:偏回归系数的标准误;Wald:检验统计量;Exp(β):优势比 OR 值;95%CI:优势比 OR 的 95%置信区间。

3 讨 论

GP I b 是血小板膜表面的主要糖蛋白之一,它由 2 个亚单位即 GP I b α 和 GP I b β 以二硫键连接而成,所构成的 GP I b 异二聚体与 GPIX、GPV 之间在非共价键的作用下又以 2:2:1 的比例形成复合物,存在于血小板表面。静止状态下,GP I b α 的细胞质区通过肌动蛋白连接蛋白的 C 末端与膜下肌动蛋白细丝相接,具有稳定的三联结构。经凝血酶、二磷酸腺苷(ADP)以及胶原等活化后,血小板形态与结构发生一系列变化,GP I b 及 GPIX 向开放管道系统转位而在血小板表面表达降低,并失去与表面抗体的亲和性,此时血小板表面 GP I b α 分子的种类、数量、分布和构型等出现显著变化^[2-3]。发生 ACI 时在氧自由基、凝血酶原等刺激下血小板被激活,GP I b α 迅速从膜表面转移到中央管中,导致膜表面含量减少。有研究表明,血小板 GP I b α 表达的减少促进血小板的聚集与释放,是体内血小板活化的敏感指标^[4]。因此,检测血小板膜上 GP I b α 水平的变化可能对血栓性疾病的早期诊断起到积极的作用。

由于血小板体积很小,检测受到一定的限制,以往的研究中常采用放射免疫标记单抗的方法,其主要缺点是操作繁琐,有放射性污染物产生,并易受其他细胞的干扰。FCM 具有快速、简便、灵敏度高的优点,可以非常灵敏地检测到活化 GP 分子的变化^[5]。

本研究发现,GP I b α 在 ACI 组表达水平较健康对照组明显下降,这是否与编码它的基因多态性相关尚无定论^[6-9]。但 GP I b α 可以作为监测血小板活化程度的指标是毋庸置疑的。同时 Logistic 回归分析显示,GP I b α 表达降低是 ACI 的独立危险因素。因此,检测 GP I b α 对临床防治 ACI 具有重要意义。

参考文献

[1] 陈清棠. 脑卒中患者临床神经功能缺损程度评分标准(1995)[J].

(上接第 1683 页)

[J]. 脑与神经疾病杂志,2002,10(3):163-164.
[7] 高宝山,白新学,金点石,等. 脑梗死患者血浆血管性血友因子等三种因子的测定及其临床意义[J]. 中国脑血管病杂志,2006,3(8):365-368.
[8] 陈军,孙恒芳,张旭东. 急性脑梗死与活化血小板因子相关性的研究[J]. 中国社区医师,2007,21(3):209-210.
[9] 张健,欧阳红梅,翟明,等. 某地区急性缺血性脑梗死患者 GP I b α 基因 VNTR 多态性研究[J]. 国际检验医学杂志,2011,32(3):322-326
[10] Afshar-Kharghan V, Matijevic-Aleksic N, Ahn C, et al. The variable number of tandem repeat polymorphism of platelet glycoprotein Ibalpha and risk of coronary heart disease[J]. Blood, 2004,

中华神经科杂志,1996,29(6):381-383.
[2] Shimizu M, Kohara S, Yamamoto M, et al. Significant relationship between platelet activation and intra-media thickness of the carotid artery in patients with ischemic cerebrovascular disease[J]. Thromb Res, 2006, 117(6):647-652.
[3] Yip HK, Liou CW, Chang HW, et al. Link between platelet activity and outcomes after an ischemic stroke[J]. Cerebrovasc Dis, 2005, 20(2):120-128.
[4] Michelson AD. Flow cytometry: a clinical test of platelet function [J]. Blood, 1996, 87(12):4925-4936.
[5] Beltrame MP, Malvezzi M, Zanis J, et al. Flow cytometry as a tool in the diagnosis of Bernard-Soulier syndrome in Brazilian patients [J]. Platelets, 2009, 20(4):229-234.
[6] 张健,欧阳红梅,翟明,等. 某地区急性缺血性脑梗死患者 GP I b α 基因 VNTR 多态性研究[J]. 国际检验医学杂志,2011,32(3):322-326.
[7] Afshar-Kharghan V, Matijevic-Aleksic N, Ahn C, et al. The variable number of tandem repeat polymorphism of platelet glycoprotein Ibalpha and risk of coronary heart disease[J]. Blood, 2004, 103(3):963-965.
[8] Sucker C, Schmitz M, Hetzel GR, et al. Are prothrombotic variants of platelet glycoprotein receptor polymorphisms involved in the pathogenesis of thrombotic microangiopathies? [J]. Clin Appl Thromb Hemost, 2009, 15(4):402-407.
[9] Pruissen DM, Kappelle LJ, Rosendaal FR, et al. Prothrombotic genetic variants and atherosclerosis in patients with cerebral ischemia of arterial origin[J]. Atherosclerosis, 2009, 204(1):191-195.

(收稿日期:2011-06-10)

103(3):963-965.
[11] Sucker C, Schmitz M, Hetzel GR, et al. Are prothrombotic variants of platelet glycoprotein receptor polymorphisms involved in the pathogenesis of thrombotic microangiopathies? [J]. Clin Appl Thromb Hemost, 2009, 15(4):402-407.
[12] Shimizu M, Kohara S, Yamamoto M, et al. Significant relationship between platelet activation and intra-media thickness of the carotid artery in patients with ischemic cerebrovascular disease[J]. Thromb Res, 2006, 117(6):647-652.
[13] 赵新和,薛秀美,吕明录,等. vWF 基因多态性与冠心病的相关性研究[J]. 中华现代内科学杂志,2005,2(9):818-819.

(收稿日期:2011-06-10)