

银屑病辨证分型与血小板活化分子 CD62P 及 CD63 表达的关系

李冠勇 刘华昌 尹格平 孙晓明

内容提要 目的:观察银屑病中医辨证分型与血小板活化的关系。方法:采用流式细胞仪和特异性抗活化血小板单克隆抗体,对不同证型银屑病患者血小板活化分子 CD62P(α -颗粒膜蛋白)及 CD63(溶酶体完整膜蛋白)的表达进行了定量研究。结果:(1)银屑病患者血小板 CD62P 及 CD63 表达量较健康人显著增高($P < 0.001$);(2)CD62P 及 CD63 表达量:血瘀型 > 血燥型 > 血热型;(3)血燥型患者 CD62P 及 CD63 表达量显著高于血热型患者($P < 0.001$);(4)血瘀型患者 CD62P 及 CD63 表达量显著高于血燥型患者($P < 0.001$)。结论:血小板活化可能在血粘度增高、内皮细胞损伤、微循环障碍等方面参与了银屑病血瘀证的发生与发展。

关键词 银屑病 中医分型 血小板活化分子

Relationship between Syndrome Differentiation-Typing and Expression of Platelet-Activation Molecule CD62P and CD63 on Platelets in Psoriatic Patients LI Guan-yong, LIU Hua-chang, YIN Ge-ping, et al *Department of Dermatology, Jinan Military General Hospital, Jinan (250031)*

Objective: To understand the relationship between Syndrome Differentiation-Typing and platelet activation in psoriatic patients. **Methods:** Expression of platelet-activation molecules CD62P (α -granule membrane glycoprotein) and CD63 (lysosomal integral membrane protein) on platelets from 36 psoriatic patients with Syndrome Differentiation-Typing in TCM and 31 health subjects were investigated by using flow cytometry and specific monoclonal antibodies against activated platelet. **Results:** (1) Increased expression of CD62P and CD63 on platelets from psoriatic patients was observed ($P < 0.001$); (2) The expression of CD62P and CD63 was in following order: The group of Blood Stasis > Blood Dryness > Blood Heat; (3) Compared with the group of Blood Heat, increased expression of CD62P and CD63 was observed in the group of Blood Dryness ($P < 0.001$); (4) Compared with the group of Blood Dryness, increased expression of CD62P and CD63 was observed in the group of Blood Stasis ($P < 0.001$). **Conclusion:** The platelet activation might play an important role in higher blood viscosity, endothelial cell injury, abnormal microcirculation, which was correlated with Blood Stasis, found in psoriasis.

Key words psoriasis, Syndrome Differentiation and Typing, platelet-activation molecule

近几年研究表明,血小板活化及其产物在血粘度增高、血栓形成、动脉粥样硬化(AS)、炎症反应、周围血管疾病发生等方面起了重要作用^(1~3)。用抗活化血小板单克隆抗体(McAb)作探针,经免疫荧光标记,流式细胞术(FCM)可快速、灵敏、特异地检测活化血小板。采用 FCM,我们对不同证型银屑病患者血小板活化分子 CD62P 及 CD63 的表达进行了定量研究,旨在为本病中医辨证分型提供客观指标,更好地指导本病的辨证论治。

资料和方法

1 资料 36 例银屑病患者,均为我院门诊及住

院患者,男 19 例,女 17 例;年龄 17~61 岁,平均 35 岁;病程 1 个月至 34 年;诊断主要依据临床典型皮疹,即丘疹、斑块,上覆银白色鳞屑,刮之易脱,Auspitz 征阳性⁽⁴⁾。另选健康对照组 31 例,男 16 例,女 15 例;年龄 18~59 岁,平均 34 岁。两组均排除心血管疾病及糖尿病、高血压病史。两组 2 个月内均未应用对血小板有影响的药物。

中医辨证分型:主要参考《简明中医皮肤病学》⁽⁵⁾等对银屑病的分型标准。(1)血热型:11 例,证见皮疹发生及发展迅速,皮疹潮红,皮疹多呈点滴状,新生皮疹不断出现,鳞屑较多,伴有口干舌燥,心烦易怒,大便干,小便黄。舌质红,舌苔黄或腻,脉弦滑或数。(2)血燥型:12 例,证见皮疹色淡,病程较久,原有皮疹部分

消退。舌质淡红,苔少,脉缓或沉细。(3)血瘀型:13例,证见皮损肥厚,颜色暗红,经久不退。舌质紫暗或见瘀点或瘀斑,脉涩或细缓。

2 方法

2.1 试剂 异硫氰酸荧光素(FITC)标记的单克隆抗体:CD62P(抗血小板 α -颗粒膜蛋白,GMP-140)、CD63(抗血小板溶酶体完整膜蛋白,LIMP,鼠抗人);阴性对照为免疫球蛋白G₁(IgG₁,羊抗鼠)。由法国国际免疫公司生产(批号:950608)。

2.2 流式细胞仪 FACScan 型,美国 Becton-Dickinson 公司生产。

2.3 血液样品的处理 晨起采集空腹静脉血 2ml,2% EDTA 抗凝,静置或 600~800rpm 离心 5min,分离富含血小板的血浆层,加固定剂,室温放置 20min,1500rpm 离心 5min,弃上清,加 PBS 5ml 洗两遍,调整血小板浓度为 $300 \times 10^9/L$,4℃ 保存备用。

2.4 CD62P、CD63 检测 取 100 μ l 血小板悬液加入 4 支试管中,分别加入 CD62P-FITC、IgG₁-FITC、CD63-FITC 及 IgG₁-FITC 20 μ l,室温避光反应 30min 后,2000rpm 离心 5min,弃上清,PBS 洗 2 遍,上流式细胞仪检测。上机前先以标准荧光微球调整仪器,使变异系数稳定在 2% 左右,上机后收集 2 万个细胞,荧光强度以对数放大,光散射数据存软盘,测试完后在 Macintosh 650 计算机上用 Cell Qutst plot 软件(美国 Becton-Dickinson 公司产)分析数据,由 HP 1200C/PS 打印结果,得 CD62P、CD63 表达量。

2.5 统计学方法 采用 t 检验。

结 果

1 两组血小板 CD62P、CD63 表达量比较 见附表。36 例银屑病患者 CD62P 及 CD63 表达量明显高于 31 例健康对照者($P < 0.001$)。

2 不同证型银屑病患者血小板 CD62P 及 CD63 表达量比较 见附表。血燥型患者 CD62P 表达量明显高于血热型患者;血瘀型患者表达量明显高于血燥

附表 不同证型银屑病患者血小板 CD62P 及 CD63 表达量比较 (% , $\bar{x} \pm s$)

组 别	例数	CD62P	CD63
健康对照	31	3.16 ± 1.14	2.83 ± 0.86
银屑病	36	$22.73 \pm 10.38^*$	$21.46 \pm 9.87^*$
血热型	11	$11.43 \pm 5.87^\Delta$	$9.01 \pm 4.83^\Delta$
血燥型	12	22.67 ± 6.45	20.05 ± 5.46
血瘀型	13	$34.09 \pm 5.98^\Delta$	$35.32 \pm 6.34^\Delta$

注:与对照组比较, $P < 0.001$,与血燥型比较, $^\Delta P < 0.001$

型患者;血燥型患者 CD63 表达量明显高于血热型患者;血瘀型患者 CD63 表达量明显高于血燥型患者。

讨 论

血小板被活化时,血小板的分泌导致其颗粒膜与质膜或表面连接小管系统膜相融合,颗粒膜蛋白 CD62P、CD63 等在质膜上表达,成为活化血小板的分子标志物^(1~3)。检测表达活化标志物的血小板数量,可以特异地评价血小板活化程度。结果显示银屑病患者血小板 CD62P 及 CD63 表达量显著增高,提示血小板活化可能在银屑病发病中起了重要作用。银屑病患者血小板 CD62P 及 CD63 表达量血瘀型 > 血燥型 > 血热型,说明血小板活化与银屑病血瘀证的发生及发展密切相关。

血小板含有三种颗粒: α -颗粒、致密颗粒及溶酶体⁽¹⁾。CD63 为溶酶体完整膜蛋白。CD62P 为 α -颗粒完整膜蛋白,属膜蛋白选择素(Selectin)家族成员⁽³⁾。这些颗粒膜蛋白在静止期血小板不表达或少量表达。血小板活化时,这些膜蛋白在血小板表面表达明显增强⁽¹⁾。研究结果显示银屑病患者血小板 CD62P 及 CD63 表达量明显增高,说明银屑病患者活化血小板明显增多。血小板活化除可引起血粘度增高、内皮细胞损伤外⁽⁶⁾,还与炎症反应密切相关⁽²⁾,已有研究发现血小板表面 CD63 表达可能和血小板与内皮细胞表面的选择素分子结合有关⁽¹⁾。另有研究报告血小板 CD62P 分子在血小板与中性粒细胞粘附、血小板与单核细胞粘附、白细胞趋化及吞噬等方面均具有重要意义⁽²⁾。血小板活化可能在银屑病患者血粘度增高、内皮细胞损伤、炎症反应等方面起了重要作用。

研究结果显示血瘀型患者活化血小板明显增多,进一步说明血小板活化与血瘀证密切相关。由此可设想,应用降低血小板功能的中西医疗法有助于提高活血化瘀治疗银屑病的疗效。

参 考 文 献

1. Metzelaar MJ, Clevers HC. Lysosomal membrane glycoproteins in platelets. *Thromb Haemostas* 1992;68:378—382.
2. Hamburger SA, McEver RP. GMP-140 mediates adhesion of stimulated platelets to neutrophils. *Blood* 1990;75:550—554.
3. Abrams C, Shattil SJ. Immunological detection of activated platelets in clinical disorders. *Thromb Haemostas* 1991;65:467—473.
4. 赵 辨主编. 临床皮肤病学. 南京:江苏科学技术出版社, 1989:667—668.
5. 张志礼主编. 简明中医皮肤病学. 北京:中国展望出版社, 1983:201—202.
6. 李冠勇, 刘华昌, 赵喜荣, 等. 银屑病患者血小板指数及血浆脂质过氧化物的研究. *中华皮肤科杂志* 1995;28(2):72—74.

(收稿:1996—09—18 修回:1996—11—07)