

银屑病辨证分型与血小板膜糖蛋白表达的关系

刘洪普¹ 刘华昌¹ 李冠勇¹ 杜芙萍²

1998年11月~1999年12月,我们采用流式细胞技术对不同证型的银屑病患者血小板膜糖蛋白(CD41、CD61)的表达进行了定量研究,旨在进一步为中医辨证分型提供客观指标。

资料和方法

1 临床资料 依据《临床皮肤病学》[赵辨主编,南京:江苏科学技术出版社,1989:567—668]诊断标准,即丘疹斑块,上覆银白色鳞屑,刮之易脱,Auspitz征阳性。48例患者(门诊30例,住院18例)男28例,女20例,年龄16~60岁,平均37岁;病程3周~35年,平均14.2年,排除心血管疾病及糖尿病、高血压病,2个月内均未应用对血小板有影响的药物,中医辨证分型参考《简明中医皮肤病学》[张志礼主编,北京:中国展望出版社,1983:201—202]标准:血热型16例,血燥型15例,血瘀型17例。另选健康查体者40例为健康人组,男24名,女16名,年龄17~59岁,平均38岁。

2 试剂和仪器 异硫氰酸荧光素(FITC)标记的单克隆抗体CD41、CD61;阴性对照为FITC标记的免疫球蛋白G₁(IgG₁,羊抗鼠),由法国国际免疫公司生产(批号950608)。流式细胞仪:FACScan型,美国Becton-Dickinson公司生产。

3 方法

3.1 血液样品处理 取肘静脉血2ml,用质量浓度为20g/L的EDTA抗凝(抗凝剂:血=1:9),静置或600~800r/min离心5min,分离富含血小板的血浆层,加多聚甲醛固定剂(终浓度为1%),室温放置20min,离心(1500r/min,5min),弃上清液,再加PBS 5ml洗2遍(1500r/min,5min),调整血小板浓度为 $300 \times 10^9/L$,4℃保存备用。

3.2 免疫反应 取血小板悬液100 μ l加入4只试管中,分别加入CD41-FITC、IgG₁-FITC、CD61FITC及IgG₁-FITC20 μ l,室温避光反应30min后,离心(2000r/min)5min,弃上清液,PBS漂洗2遍,上机检测。

3.3 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,上机后每个样本收集 2×10^4 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 Qutstplot软件(美国Becton-Dickinson公司产)分析数据,由HP1200C/PS打印结果。

3.4 统计学方法 采用t'检验及直线相关分析。

结 果 (1)两组患者血小板CD41、CD61表达量结果

见表1。银屑病患者血小板CD41及CD61表达量显著高于健康人组($P<0.01$)。(2)不同证型患者血小板CD41及CD61表达量结果 见表1。CD41表达量:血热型显著高于血燥型,血瘀型显著高于血热型;CD61表达量:血热型显著高于血燥型,血瘀型显著高于血热型。

表1 不同证型银屑病患者血小板CD41及CD61表达量比较(%, $\bar{x} \pm s$)

组别	例数	CD41	CD61
健康人	40	1.38 ± 0.33	5.02 ± 1.54
银屑病	48	$3.48 \pm 0.97^*$	$8.04 \pm 1.96^*$
血热型	16	$3.75 \pm 0.72^\Delta$	$7.80 \pm 0.85^\Delta$
血燥型	15	2.26 ± 0.89	6.16 ± 1.10
血瘀型	17	$4.28 \pm 0.65^\blacktriangle$	$9.86 \pm 1.34^\blacktriangle$

注:与健康人组比较,* $P<0.01$;与血燥型比较, $^\Delta P<0.01$;与血热型比较, $^\blacktriangle P<0.05$

讨 论 血小板CD41是整合素 α IIb β 链(GP IIb),CD61是整合素 β 链(GP IIIa),二者非共价结合形成GP IIb-IIIa复合物(α IIb β_3 ,整合素),这一复合物为粘附分子的主要受体,可介导血小板粘附,是血小板聚集的重要因素。活化的GP IIb-IIIa可与4种粘附因子(纤维蛋白原、VWF因子、纤维结合素、玻璃体结合蛋白)结合,引发一系列反应。检测血小板CD41及CD61表达量,可特异性地评价血小板活化程度。结果显示银屑病患者血小板CD41及CD61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一定作用。银屑病患者辨证分型不同,CD41及CD61的表达量也有区别,血瘀型>血热型>血燥型。

银屑病微循环异常,易合并微血管疾患,已被同道们所关注。GP IIb-IIIa复合物与配体的结合区隐蔽在静止的血小板上,血小板活化暴露了GP IIb-IIIa的配基结合点,直到复合物被激活后,才有机会与粘附因子结合。血小板活化增强导致血小板聚集或粘附可能在该方面发挥作用。本研究结果显示,银屑病患者血小板CD41及CD61表达量显著增高,说明银屑病患者活化血小板显著增多。在银屑病患者中,血瘀型患者血小板CD41及CD61表达量显著高于血热型和血燥型,进一步说明了血小板活化与血瘀证的密切关系,由此可设想,通过CD41及CD61的测定为血瘀证量化提供可能性,并且应用通过改善血小板活化的中西药物来提高治疗银屑病的疗效。

(收稿 2000-01-19 修回 2000-10-20)

1. 济南军区总医院皮肤科(济南 250031) 2. 山东陵县中医院