

· 综 述 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2019.03.027

## 血小板自噬在动脉血栓形成中的作用研究进展\*

李丽娟<sup>1</sup>, 梁 珊<sup>1</sup>, 何亚州<sup>1</sup>, 黄彩依<sup>1</sup>, 黄景伟<sup>1</sup>综述, 王庆高<sup>2△</sup> 审校

(1. 广西中医药大学研究生院, 南宁 530001; 2. 广西中医药大学第一附属医院  
心血管内科, 南宁 530001)

**[摘要]** 动脉血栓造成的血管堵塞是引发心肌梗死等缺血性心血管疾病的主要病理过程, 血小板在动脉血栓形成中具有重要作用。虽然双抗的应用在防治动脉血栓中的临床收益显著, 但仍有相当数量的复发性血栓性心血管事件发生, 并且在治疗过程中还有可能增加出血风险, 进一步探讨血小板在血栓形成中的作用机制, 研发新型抗栓药物, 仍具有重要意义。自噬在病理生理中发挥重要的调控作用, 近年研究发现, 血小板作为无核的细胞也存在自噬机制, 而且血小板自噬可影响血小板黏附、聚集功能, 进而影响动脉血栓形成。本文主要总结了血小板自噬在动脉血栓形成中的作用的研究进展。

**[关键词]** 血小板; 自噬; 动脉血栓; 缺血性心脏病

**[中图分类号]** R-1

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1671-8348(2019)03-0470-03

心血管疾病 (cardiovascular disease, CVD) 在我国乃至全世界范围内都属于高发病率、高病死率的疾病, 给家庭和社会造成巨大负担。血栓性心血管疾病是临床上最常见的心血管疾病, 其中血栓栓塞导致的急性心肌梗死 (AMI) 则直接威胁患者的生命健康。冠状动脉 (冠脉) 内粥样斑块的破裂及随后发生的血小板黏附、活化和聚集导致动脉血栓形成, 血栓堵塞冠脉, 引起心肌缺血、缺氧等病理反应。由于血小板在动脉血栓形成中占主导地位, 抗血小板药物是防治血栓性缺血性心脏病的基石。虽然阿司匹林联合氯吡格雷等双重抗血小板治疗的临床效果显著, 但双抗导致的出血风险增加<sup>[1-3]</sup>, 且用药过程中易出现治疗抵抗等不良反应<sup>[4-6]</sup>。目前的抗血小板治疗已不满足临床需求, 因此寻找不影响血小板止血功能的高效抗栓治疗, 降低出血风险, 成为当前基础和临床需要解决的关键问题。

细胞自噬是将细胞内衰老、受损的细胞器及错误折叠的蛋白质等“垃圾”运输到溶酶体内进行消化降解的过程, 以维持细胞内环境平衡和能量代谢的需要。自噬被认为在细胞应激反应中主要发挥保护作用<sup>[7]</sup>, 但一定条件下又可触发细胞程序性死亡<sup>[8]</sup>。正常水平的自噬可以保护细胞免受环境刺激的损害, 但自噬过度或不足却可使细胞功能障碍, 导致病理生理状态改变。血小板也存在自噬机制, 并影响血栓形成, 血小板自噬对动脉血栓形成及血栓性心血管病的作用相关的研究目前尚处于起步阶段, 血小板自噬或许可以为新型抗血小板药物的研究提供新的理论依据。

### 1 自噬与血小板的产生

血小板是从骨髓成熟的巨核细胞胞质裂解脱落而来的细胞碎片, 因此无核。巨核细胞的分化成熟是血小板形成的前提条件, 自噬可以影响巨核细胞分化成熟的过程, 从而影响血小板的形成。研究发现, 自噬诱导剂雷帕霉素诱导的自噬能促进巨核细胞系 Dami 细胞的分化; 原代巨核细胞分化为成熟巨核细胞, 释放前血小板, 血小板的生成过程均有自噬相关蛋白表达<sup>[9]</sup>。同时, CAO 等<sup>[10]</sup>在自噬相关基因 7 (ATGs) 敲除的小鼠品系中发现, 自噬缺陷导致巨核细胞分化受阻, 与野生型小鼠相比, Atg7 基因敲除的小鼠, 外周血小板的数量明显减少, 平均血小板体积增加。这些证据说明了自噬在巨核细胞分化、血小板的产生的过程中是必不可少的。WANG 等<sup>[11]</sup>的研究提示, 在巨核细胞形成的早期诱导或抑制自噬, 会影响巨核细胞和血栓形成。因此, 自噬可作为临床条件下巨核细胞或血小板相关疾病合适的干预靶点。

### 2 血小板存在自噬

自噬被研究以来, 都是以有核细胞作为研究对象。冯文峰<sup>[12]</sup>在健康人类的血小板中发现无核的血小板存在自噬发生所需的相关机制, 自噬泡可以被饥饿和自噬诱导剂雷帕霉素诱导产生, 且具有降解功能。血小板自噬的发生依赖 III 型磷脂酰肌醇 3-激酶 (PI3K) 的活性, 其对维持血小板功能起重要作用, 同时该研究也说明了细胞核, 至少从基因转录的层面上来说, 对于自噬发生不是必需的因素。另外, PIECZARKA 等<sup>[13]</sup>在为一只阉割雄性猎犬评估贫血时发现, 血液涂片检查中大约 50% 的血小板含有单一到多

\* 基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81160437); 广西自然科学基金资助项目 (2013GXNSFAA019200); 中医内科学广西高校重点学科研究课题 (J14036)。作者简介: 李丽娟 (1991-), 在读硕士, 主要从事中医药防治心血管疾病研究。△ 通信作者, E-mail: wangqinggao888@163.com。

个大小不一的透明液泡,透射电子显微镜显示该液泡符合自噬泡的特征,说明血小板内存在自噬体形成。以上人类和动物的血小板样本研究均证明了血小板也存在自噬。

### 3 血小板自噬与动脉血栓形成

血小板存在自噬,且已有研究证明血小板的自噬与血小板黏附聚集及血栓形成有密切关系。FENG 等<sup>[14]</sup>研究发现,和野生型小鼠相比,自噬相关基因 *Becn1* 杂合缺失 (*Becn1*<sup>+/-</sup>) 的小鼠在 I 型胶原蛋白诱导下血小板聚集明显减少,血小板附着率降低。当大多数 *Becn1*<sup>+</sup> 的血小板黏附发展形成聚集集体时, *Becn1*<sup>+/-</sup> 血小板黏附保持孤立,表明 *Becn1*<sup>+/-</sup> 抑制胶原诱导的血小板黏附与聚集。III 型 PI3K, 又称为 Vps34, 在血小板中表达,是血小板功能的重要调节器,血小板自噬的发生也依赖 III 型 PI3K 的活性<sup>[12]</sup>。在三氯化铁 ( $\text{FeCl}_3$ ) 诱导的鼠肠系膜动脉血栓形成模型中, *Vps34*<sup>-/-</sup> 的小鼠血管闭塞时间延长,且不影响尾部出血时间<sup>[15-16]</sup>; 但进一步研究得出的数据表明, *Vps34* 不参与血小板活化相关自噬流的改变,由 *Vps34* 缺乏引起的血小板功能抑制可能不是自噬依赖性的<sup>[15]</sup>。OUSEPH 等<sup>[17]</sup> 的研究也证明了在小鼠和人类血小板中存在自噬机制; 静息血小板存在基础自噬水平,也发现了不同血小板激动剂诱导下自噬相关蛋白 LC3 II 表达减少,说明活化血小板也发生自噬流改变; 该研究还发现, *Atg7*<sup>-/-</sup> 的离体血小板在低浓度的凝血酶和胶原蛋白作用下,聚集反应适当减弱; 而在体内实验中,与野生型小鼠相比, *Atg7*<sup>-/-</sup> 的小鼠尾部出血时间延长,  $\text{FeCl}_3$  诱导的颈动脉损伤模型中血栓闭塞的时间也延长,因此在止血和血栓形成过程中, *Atg7* 可能是血小板自噬作用的限速因子。另外, LEE 等<sup>[18]</sup> 在糖尿病患者和小鼠的血小板中发现,氧化应激可诱导血小板线粒体发生自噬,进而移除受损的线粒体来保护血小板免受凋亡,维持血小板正常功能,减少血栓形成。

血小板的自噬能够被药物调节。LIU 等<sup>[19]</sup> 发现高剂量的 R-硫辛酸 (ALA) 处理的血小板活性氧水平、自噬相关分子 ATG5、ATG7 和 *Beclin1* 的 mRNA 和蛋白水平均升高, LC3-II/LC3-I 比值也增加, mTOR 的磷酸化明显下调; 该研究还发现高剂量 ALA 是通过调节 III 类 PI3K 的活性而介导的血小板自噬,并且血小板过度自噬可能导致血小板数量减少,寿命缩短。因此,未来有望通过药物在分子水平上调控血小板自噬,以维持血小板正常的数量和功能,为血栓性疾病和出血不良反应的防治提供更多的选择。

### 4 血小板与自噬相关抑制性信号通路

在血小板膜受体接受信号后,需要血小板内的一些信号转导通路传送信息,完成一个活化过程。PI3Ks 是脂质激酶家族,在血小板活化中作为细胞内

信号传导的关键递质,也参与血小板功能调节和血栓形成<sup>[20-21]</sup>。蛋白激酶 B (Akt) 是 PI3K 下游的主要效应分子, PI3K 激活后可使 Akt 磷酸化, PI3K/Akt 信号通路广泛存在于多种细胞中,也参与血小板活化和血栓形成的过程。SU 等<sup>[22]</sup> 的研究发现 *Psm2* 通过影响 PI3K/Akt 信号转导,以剂量依赖性方式抑制 ADP、U4619、凝血酶和胶原蛋白诱导的血小板聚集和血栓形成。PI3K/Akt 也在细胞自噬中起调节作用, WANG 等<sup>[23]</sup> 发现雷帕霉素在新生大鼠心室肌细胞缺血再灌注过程中通过 PI3K/Akt 信号通路,以浓度依赖性的方式诱导自噬,抑制心肌凋亡。XUAN 等<sup>[24]</sup> 也发现 PI3K/Akt 信号通路的激活介导了 17-甲氧基-7-羟基-苯乙酮 (MHBFC) 抑制细胞凋亡和过度自噬的作用,从而对受损心肌细胞起到保护作用。mTOR 是 PI3K/Akt 信号通路的下游效应器,也是自噬启动阶段的关键调节分子,活化的 mTOR 可抑制自噬的发生,而 PI3K/Akt/mTOR 是自噬唯一的抑制性信号通路。研究发现,心肌缺血再灌注损伤和糖尿病均可抑制 PI3K/Akt/mTOR 信号通路,从而增强心肌细胞自噬水平,提高心肌细胞生存能力<sup>[25]</sup>。PI3K/Akt/mTOR 也可抑制过度自噬,防止因过度自噬造成的损伤,如在创伤性脑损伤后,硫化氢钠通过激活 PI3K/Akt/mTOR 信号通路,抑制过度自噬,以改善创伤性脑损伤后的功能恢复<sup>[26]</sup>。羟基红花黄色素 A 通过 I 类 PI3K/Akt/mTOR 信号通路抑制自噬,保护大脑微血管内皮细胞免受氧糖剥夺/复氧损伤<sup>[27]</sup>。自噬抑制性信号通路参与了有核细胞的自噬过程,也参与了血小板功能调节,但在血小板自噬中,该通路是否也参与其中并调控血小板自噬水平,调节血小板功能,减少血栓形成,降低出血风险,目前尚未见报道。

### 5 结 语

综上所述,和有核细胞一样,血小板也存在自噬机制,并且对血小板黏附聚集及血栓形成、出血反应有调控作用。血小板自噬相关分子的缺失可抑制血小板的黏附聚集、血栓形成,甚至在延长血栓形成的同时而不影响正常止血,说明或许可以从血小板和凝血系统这两种主要途径中寻求生理止血和病理血栓形成可分离的相关靶点和机制,选择性地干预血栓形成的途径,从而在提高抗栓效率的同时降低或者避免出血风险,血小板自噬有望成为这一干预靶点。血小板自噬的研究多在于抑制某一自噬相关基因的表达上,自噬相关信号通路的参与是否也能调控血小板自噬水平,从而减少血栓形成,又或者存在特异性抑制血小板自噬的基因和通路,使得在抑制血小板自噬的同时不影响其他细胞自噬水平,这些仍需进一步探索。

### 参考文献

[1] ALLI O, SMITH C, HOFFMAN M, et al. Incidence, pre-

- dictors, and outcomes of gastrointestinal bleeding in patients on dual antiplatelet therapy with aspirin and clopidogrel[J]. *J Clin Gastroenterol*, 2011, 45(5):410-414.
- [2] GÉNÉREUX P, GIUSTINO G, WITZENBICHLER B, et al. Incidence, predictors, and impact of post-discharge bleeding after percutaneous coronary intervention[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2015, 66(9):1036-1045.
  - [3] DI MINNO A, SPADARELLA G, PRISCO D A, et al. Antithrombotic drugs, patient characteristics, and gastrointestinal bleeding: clinical translation and areas of research[J]. *Blood Rev*, 2015, 29(5):335-343.
  - [4] RAO Z, ZHENG H, WANG F, et al. The association between high on-treatment platelet reactivity and early recurrence of isch-emic events after minor stroke or TIA[J]. *Neurol Res*, 2017, 39(8):719-726.
  - [5] YI X, LIN J, ZHOU Q, et al. Clopidogrel resistance increases rate of recurrent stroke and other vascular events in Chinese population[J]. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2016, 25(5):1222-1228.
  - [6] 刘欣, 李洁, 郁迪. 血栓弹力图评估经皮介入治疗后患者抗血小板药物抵抗发生情况及影响因素[J]. *中国分子心脏病学杂志*, 2017, 17(5):2210-2213.
  - [7] CARAMÈS B, TANIGUCHI N, OTSUKI S, et al. Autophagy is a protective mechanism in normal cartilage, and its aging-related loss is linked with cell death and osteoarthritis[J]. *Arthritis Rheum*, 2010, 62(3):791-801.
  - [8] DATAN E, SHIRAZIAN A, BENJAMIN S A, et al. mTOR/p70S6K signaling distinguishes routine, maintenance-level autophagy from autophagic cell death during influenza A infection[J]. *Virology*, 2014, 452(2/453):175-190.
  - [9] 王琦. 自噬参与巨核细胞成熟与前血小板释放的初步研究[D]. 苏州: 苏州大学, 2013.
  - [10] CAO Y, CAI J Y, ZHANG S P, et al. Loss of autophagy leads to failure in megakaryopoiesis, megakaryocyte differentiation, and thrombopoiesis in mice[J]. *Exp Hematol*, 2015, 43(6):488-494.
  - [11] WANG Q, YOU T, FAN H Q, et al. Rapamycin and ba-filomycin A1 alter autophagy and megakaryopoiesis[J]. *Platelets*, 2017, 28(1):82-89.
  - [12] 冯文峰. 血小板中自噬发生及功能研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2012.
  - [13] PIECZARKA E M, YAMAGUCHI M, WELLMAN M L. Platelet vacuoles in a dog with severe nonregenerative anemia: evidence of platelet autophagy [J]. *Vet Clin Pathol*, 2014, 43(3):326-329.
  - [14] FENG W, CHANG C, LUO D, et al. Dissection of auto-phagy in human platelets[J]. *Autophagy*, 2014, 10(4):642-651.
  - [15] LIU Y Y, HU M J, LUO D J, et al. Class III PI3K positively regulates platelet activation and thrombosis via PI(3)P-Directed function of NADPH oxidase[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2017, 37(11):2075.
  - [16] VALET C, LEVADE M, CHICANNE G, et al. A dual role for the class III PI3K, Vps34, in platelet production and thrombus growth [J]. *Blood*, 2017, 130(18):2032-2042.
  - [17] OUSEPH M M, HUANG Y J, BANERJEE M, et al. Autophagy is induced upon platelet activation and is essential for hemostasis and thrombosis[J]. *Blood*, 2015, 126(10):1224-1233.
  - [18] LEE S H, DU J, STITHAM J, et al. Inducing mitophagy in diabetic platelets protects against severe oxidative stress[J]. *EMBO Mol Med*, 2016, 8(7):779-795.
  - [19] LIU J, SONG Q Q, HUANG Y W, et al. R-lipoic acid overdosing affects platelet life span via ROS mediated autophagy[J]. *Platelets*, 2018, 29(7):695-701
  - [20] HUANG Z S, ZENG C L, ZHU L J, et al. Salvianolic acid A inhibits platelet activation and arterial thrombosis via inhibition of phosphoinositide 3-kinase[J]. *J Throm Haemos*, 2010, 8(6):1383-1393.
  - [21] SU X I, SU W, HE Z L, et al. Tripeptide SQL inhibits platelet aggregation and thrombus formation by affecting PI3K/Akt signaling. [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2015, 66(3):254-260.
  - [22] SU X L, SU W, WANG Y, et al. The pyrrolidinoindoline alkaloid Psm2 inhibits platelet aggregation and thrombus formation by affecting PI3K/Akt signaling [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2016, 37(9):1208-1217.
  - [23] WANG L Q, CHENG X S, HUANG C H, et al. Rapamycin protects cardiomyocytes against anoxia/reoxygenation injury by inducing autophagy through the PI3k/Akt pathway[J]. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci*, 2015, 35(1):10-15.
  - [24] XUAN F F, JIAN J, LIN X, et al. 17-methoxyl-7-hydroxy-benzene-furanchalcone ameliorates myocardial ischemia/reperfusion injury in rat by inhibiting apoptosis and autophagy via the PI3K-Akt signal pathway[J]. *Cardiovasc Toxicol*, 2017, 17(1):79-87.
  - [25] 孙超. 基于自噬和 PI3K-Akt-mTOR 信号转导通路研究缺血预处理对糖尿病心肌缺血/再灌注损伤的保护作用[D]. 北京: 协和医学院, 2017.
  - [26] XU K B, WU F F, XU K, et al. NaHS restores mitochondrial function and inhibits autophagy by activating the PI3K/Akt/mTOR signalling pathway to improve functional recovery after traumatic brain injury[J]. *Chem Biol Interact*, 2018(286):96-105.
  - [27] YANG G, WANG N, SETO S W, et al. Hydroxysafflor yellow A protects brain microvascular endothelial cells against oxygen glucose deprivation/reoxygenation injury: Involvement of inhibiting autophagy via class I PI3K/Akt/mTOR signaling pathway[J]. *Brain Res Bull*, 2018(140):243-257.