维普资讯 http://www.cqvip.com

临床研究 文章编号:0253-3626(2008)04-0510-03

肿瘤患者外周血活化血小板测定及其临床意义

郭金英[1],陈 彦[2],文阳安[1],姜习新[1],刘靳波[1],涂植光[1]

(1. 重庆医科大学医学检验系 临床检验诊断学省部共建教育部重点实验室、重庆市重点实验室,重庆 400016;
2. 西南大学医院检验科,重庆 400715)

【摘 要】目的:比较不同疾病状态下活化血小板测定值的差别及使用阿司匹林防治血栓的效果。方法:采用流式细胞仪测定126例肿瘤患者和60例非肿瘤患者外周血活化血小板CD62p和CD63的表达量,以及服用阿司匹林后的变化。结果:肿瘤患者外周血的活化血小板CD62p和CD63的表达量明显高于非肿瘤患者($P<0.05$),有血栓形成的肿瘤患者外周血的活化血小板CD62p和CD63的表达量明显高于无血栓形成的肿瘤患者($P<0.05$),有血栓的肿瘤患者的活化血小板经过阿司匹林干预治疗后明显下降($P<0.05$)。结论:测定活化血小板可以预测肿瘤患者存在高凝状态风险性的大小。同时,服用小剂量肠溶阿司匹林可以降低外周血活化血小板CD62p和CD63的值。

【关键词】活化血小板(CD62P和CD63);阿司匹林;恶性肿瘤;血栓
【中国图书分类及分类号】R730.49 【文献标识码】B 【收稿日期】2007-09-20

Measurement of activated blood platelets in peripheral blood of tumor patients and its clinical significance

GUO Jin-ying, et al

(*The Key Laboratory of Laboratory Medical Diagnostics, Ministry of Education; Department of Medical Laboratory, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To compare the measures of activated blood platelets in different disease conditions and the effects of aspirin on blood clots. *Methods*: The expression of activated platelet CK62p and CD63 and its changing after taking aspirin in 126 tumor patients and 60 non-tumor patients was detected with flow cytometry. *Result*: The expression of activated platelet CK62p and CD63 in tumor patients was significantly higher than that in non-tumor patients ($P<0.05$). The expression of activated platelet CK62p and CD63 in tumor patients with clots was significantly higher than that in tumor patients without clots ($P<0.05$), and the expression of activated platelet CK62p and CD63 decrease significantly after aspirin therapy ($P<0.05$). *Conclusion*: The measurement of activated platelet can predict the risk of blood bolts, and taking small dosage of aspirin can decrease the value of activated platelet in peripheral blood.

【Key words】 Activate the blood platelets(CD62P with CD63); Aspirin; Malignant tumor; The blood bolts

恶性肿瘤与静脉血栓形成有密切的关系,发病机理和肿瘤细胞对血小板的活化有关。目前使用流式细胞仪测定活化血小板已应用于临床,在全国各大医院均有开展,活化血小板应用于心血管、糖尿病等领域已有较多的研究,并在一定程度上指导临床治疗,但它在肿瘤方面的研究却报道不多,所以测定活化血小板判断肿瘤血栓形成的风险并且使用一定的药物早期预防具有一定的研究价值。血小板活化时,其膜上CD62p和CD63表达量会明显升高。本文观察了我院自2004年1月到2006年12月的非肿瘤患者以及肿瘤患者的活化血小板膜上CD62p和CD63的表达量,分析它们之间的差异及其临床意义,现将结果报告如下。

作者介绍:郭金英(1972-),女,主管检验师,
研究方向:肿瘤的辅助诊断和基因治疗。
通讯作者:涂植光,男,教授,E-mail:tuzhiguang@yahoo.com.cn。

1 材料和方法

1.1 临床资料

肿瘤病例来自于我院2004年1月至2006年12月收治并确诊的患者,共126例,另外60例来自于我院同期内科非

维普资讯 http://www.cqvip.com

肿瘤患者。具体分组如下：

A 组　无血栓形成肿瘤患者 70 例，男性 40 例：肺癌 12 例，胃癌 16 例，大肠癌 8 例，肝癌 4 例；平均年龄 60.1 岁；女性 30 例：肺癌 6 例，胃癌 8 例，大肠癌例 12 例，子宫内膜癌 4 例，平均年龄 57.2 岁。

B 组　有血栓形成的肿瘤患者 56 例，男性 40 例：肺癌 6 例，胃癌 12 例，大肠癌 10 例，肝癌 12例，平均年龄 62.3 岁；女性 16 例：卵巢癌 8 例，肝癌 8 例，平均年龄 57.6 岁。B 组均予以阿司匹林干预治疗(阿司匹林 75mg 口服 qd)，治疗后记为 B_2 组。

C 组　非肿瘤疾患 60 例，男性 36 例：溃疡病 24 例，结肠炎 12 例，平均年龄 52.8 岁，女性 24 例：溃疡病 20 例，结肠炎 4 例，平均年龄 58.2 岁。

1.2　仪器设备

采用美国 BECKMAN 公司 COULTER Epics XL 流式细胞仪。试剂：IMMUNOTECH IM1759，IM1914。

1.3　方法

1.3.1　活化血小板测定方法　患者空腹或餐后 30min 以上，安静休息 15min 以上，用大号针头注射器肘前静脉采血，将中间一段血液注入已加好枸橼酸钠抗凝剂硅化处理过的样本管中，盖好盖子后立即轻轻地颠倒混匀数次，即送检测。取 3 只硅化处理过的流式样管，分别做好标记，于各管中加入 10μl PE 标记的 Mouse IgG1 (同型对照)、CD62p、CD63；于各管中加入 PBS 工作液 50μl，放置于阴暗处备用；适当时间取出放置于阴暗处备用的流式进样管，于各管中加入刚刚按要求采集的血液标本 5μl；轻轻混匀后于阴暗处室温放置 15min；于各进样管中加 500μl PBS 工作液；选择方案[PLT CD26 & CD63]，轻轻混匀后立即上机检测。然后获取 CD62P 和 CD63 的百分比。

1.3.2　阿司匹林治疗方法　确诊为有血栓形成的肿瘤患者在检测活化血小板后，即用肠溶阿司匹林 75mg 口服 qd 治疗。服用 1 个月后重新测定活化血小板值。

1.3.3　肿瘤患者血栓形成的检查　肿瘤患者深静脉血栓的诊断采用彩色多普勒超声检查，血管造影，CT 或 MRI 检查。彩色多普勒超声检查 36 例，CT 检查 12 例，MRI 检查 6 例，血管造影检查 2 例。

1.4　统计学处理

结果以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示，t 检验进行数据处理。

2　结　果

我们将各组研究对象的活化血小板百分比进行比较，结果如下。

肿瘤组患者(A+B 组)外周血活化血小板 CD62p 和 CD63 的表达量明显高于非肿瘤组患者(C 组)，(见表 1)。

无血栓形成肿瘤组患者(A 组)外周血活化血小板 CD62p 和 CD63 的表达量明显高于非肿瘤组患者(C 组)，见表 2。

有血栓形成的肿瘤组患者(B 组)外周血活化血小板 CD62p 和 CD63 的表达量比无血栓形成肿瘤组患者(A 组)明显升高(见表 3)。

有血栓形成肿瘤组患者经阿司匹林治疗后(B_2 组)其外周血活化血小板 CD62p 和 CD63 表达量较治疗前(B 组)明显降低，但仍高于非肿瘤组(C 组)，P 均<0.05(见表 4)。

表 1　肿瘤患者和非肿瘤患者之间的 CD62p 和 CD63 表达量的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	CD62p	CD63
A+B 组(%)	5.83 ± 1.16	8.65 ± 1.89
C 组(%)	1.35 ± 0.21	3.21 ± 0.79

P<0.05

表 2　无血栓形成肿瘤患者和非肿瘤患者之间的 CD62p 和 CD63 表达量的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	CD62p	CD63
A 组(%)	3.45 ± 0.46	5.98 ± 0.98
C 组(%)	1.35 ± 0.21	3.21 ± 0.79

P<0.05

表 3　无血栓形成肿瘤患者和有血栓形成的肿瘤患者 CD62p 和 CD63 表达量的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	CD62p	CD63
A 组(%)	3.45 ± 0.46	5.98 ± 0.98
B 组(%)	8.21 ± 1.87	11.32 ± 2.79

P<0.05

表 4　有血栓形成肿瘤组患者阿司匹林治疗前后及其治疗后与非肿瘤组 CD62p 和 CD63 表达量的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	CD62p	CD63
B 组(%)	8.21 ± 1.87	11.32 ± 2.79
B_2 组(%)	2.98 ± 0.32*	5.12 ± 0.91*
C 组(%)	1.35 ± 0.21	3.21 ± 0.79

* 与 B 组、C 组比较 P 均<0.05

3　讨　论

大量临床研究表明几乎所有的肿瘤患者存在

维普资讯 http://www.cqvip.com

局部或全身高凝状态[1]。90%以上的肿瘤患者出现凝血系统相关实验室检查的异常，远高于临床发生[2]。恶性肿瘤患者并发血栓性疾病，其发病机理与恶性肿瘤组织细胞对血小板的活化有关。迄今为止，已有许多证据揭示肿瘤患者存在着各种各样临床或亚临床的血栓栓塞征象。

血小板活化是血栓形成的主要原因，在血栓性疾病的检测中，检测活化血小板值，是对反映血栓形成的诊断、预防、治疗监测的重要手段[3]。使用流式细胞仪测定活化血小板是目前公认最快捷、灵敏的方法[4]。血小板活化时，其原在胞浆内的颗粒膜蛋白 CD52p 和 CD63 在血小板质膜上大量表达，成为活化血小板分子标志物。我们通过测定外周血活化血小板膜上 CD62p 和 CD63 的表达量，观察到肿瘤患者的活化血小板 CD52p 和 CD63 表达量显著高于非肿瘤患者($P<0.05$)，而有血栓形成的肿瘤患者中活化血小板 CD52p 和 CD63 表达量更高。说明恶性肿瘤的发展中，存在着止凝血系统的紊乱，一旦血小板出现不可逆的活化发生，血小板和纤维蛋白原聚集成团便引起血栓形成。因此，在治疗肿瘤的同时，应对其并存的高凝状态做适当的处理，以防止血栓形成。

动物实验及流行病学研究发现，阿司匹林是一种既抗癌又抗血栓的药物[5]，阿司匹林通过环氧化酶乙酰化，不仅抑制了血小板的聚集和释放，而且还抑制了肿瘤细胞的前列环素形成。本研究应用阿司匹林干预治疗后的肿瘤患者活化血小板的 CD62p 和 CD63 的表达量明显下降($P<0.05$)，提示阿司匹林能抑制血小板的活化，该结果与国内外研究结果接近[6,7]。

在本研究中还显示，经过阿司匹林治疗后的有血栓形成肿瘤组患者活化血小板的 CD62p 和 CD63 的表达量虽然明显下降，但仍高于非肿瘤患者($P<0.05$)，这提示阿司匹林只能部分抑制血小板活化。分析原因主要有：(1)血小板激活途径很多，而阿司匹林抗血小板治疗存在局限性，它只能抑制 TXA2 激活的血小板聚集，而对其他刺激因素激活的血小板聚集无作用[8]。(2)可能存在阿司匹林抵抗。目前认为引起阿司匹林抵抗的原因除吸烟、应用非甾体抗炎药及阿司匹林的剂量等因素影响外，其主要原因可能与体内存在两种类型的环氧化酶(COX-1 和 COX-2)异构体有关，还与 COX-1 基因多态性有关[9]。

尽管如此，阿司匹林用于抗血小板治疗仍有其不可替代的优点：如不可逆地抑制 TXA2 诱发的血小板活化；药物的副作用相对较小，比较安全；临床医生对阿司匹林的应用已经积累了比较丰富的经验等。

血栓形成是恶性肿瘤的常见并发症之一，一旦发生，对肿瘤患者的生存质量有严重影响，以往我们往往忽略了该并发症发生的潜在风险，未在发病前采取有效的监测及预防措施，而并发症出现后再去处理，不仅效果欠佳，而且临床费用昂贵。通过本研究结果，我们认为，循环性活化血小板测定可作为肿瘤血栓性疾病的诊断、预防以及治疗监测的指标，而阿司匹林用于预防外周血 CD62p 和 CD63 高表达的肿瘤患者以预防血栓形成，物廉而有效，值得临床推广使用。

参 考 文 献

[1] 陆 化.恶性肿瘤与血栓形成[J]. 医学综述，2001;7(9):524—526.

[2] Anna F,Fredrick RR. Pathophysiology of the thrombophilic state in the cancer patient[J]. Seminars in Thrombiosis and Hemostasis, 1999;25(2):173.

[3] Luzzatto G. Schafer AL. The prethrombotic state in cancer[J]. Semin Oncol,1990;17(2):147-195.

[4] 孙 芾,王厚芳.流式细胞术的发展和临床应用[J]. 中华医学检验杂志,1999;22(6):385-386.

[5] 徐美华.阿司匹林抗消化道肿瘤作用的研究[J]. 国外医学:生理病理科学与临床分册,2002;22(5):473-474.

[6] 陈加俊,孙景春,韩雪梅.短暂脑缺血发作患者血小板膜糖蛋白 CD61、CD62p 表达及阿司匹林干预的临床研究[J]. 中国实验诊断学,2004;8(2):166-168.

[7] Blaicher AM,Landsteiner HT,A1-Falaki O,et al. Acetylsalicylic acid,diclofenac,and lornoxicam,but not rofecoxib,affect platelet CD62p expressinon[J]. Anesth Analg,2004;98(4):1082-1085.

[8] Taylor ML,Ilton MK,Misso NL,et al. The effect of aspirin on stimulated platelet adhesion receptor expression and the role of neutrophils[J]. Br J Clin Pharmacol,1998;46(2):139-145.

[9] Gum PA,Kottke-Marchant K,Poggio ED,et al. Profile and prevalence of aspirin resistance in patients with cardiovascular disease[J]. Am J Cardiol,2001;88(3):230-235.

(责任编辑：关蕴良)