DOI:10.16016/j.1000-5404.1988.01.019

三氟啦嗪对胶原和ADP诱导血小板合成 TXA_2 的不同影响

——提示花生四稀酸释放机理不同

钱月明 黄钺华（药理教研室）

血小板内只含有少量游离的花生四烯酸（AA），而多数却连接在磷脂上，当血小板受到诱导剂刺激时，AA则从膜磷脂上释放出来。已知AA释放可能涉及到三个不同的机理[1][2][3]。不同的诱导剂在诱导AA释放时，其途径亦可能不尽相同[4]。本文通过测定AA环氧酶途径代谢产物— TXB_2，比较了胶原和ADP诱导AA释放的差异。

材料与方法

ADP（Sigma）。胶原（用兔跟腱自制，10μl可诱导兔血小板聚集60～70%）。AA（Sigma）。三氟啦嗪（上海黄河制药厂）。血栓素P_2放射免疫测定盒（中国医学科学院基础所）。

富含血小板血浆（PRP）制备

兔颈动脉放血，每9 ml血加1 ml 3.8%枸橼酸钠抗凝，离心分离PRP（200×g，8 min）及贫血小板血浆（PPP，1200×g，10min）。用PPP调整PRP使血小板计数在4000×10^9/L左右。

PRP中血栓素B_2（TXP_2）的提取及测定

取经三氟啦嗪（TFP，100 μmol/L）和EDTA（10 mmol/L）或生理盐水作用1 min的PRP0.05 ml，在37℃、连续电磁搅拌的条件下，加ADP（5×10^{-6}mol/L）、胶原（10μl）或AA（0.12 mmol/L）刺激血小板合成TXA_2，分别在2 min、5 min和2 min用冰冷的0.1 mol/L HCl终止反应，反应液经离心（1200×g，10min），取上清，用重蒸乙酸乙酯提取TXP_2（TXA_2的稳定代谢物），经负压抽干后，样品于-20℃保存待测，所有样品保存时间均不超过1个月。用放射免疫分析法测定TXB_2，根据标准曲线回归方程，以百分结合率的logit值求出TXB_2量的对数值。

结果

ADP和胶原对血小板合成TXA_2的诱导作用

血小板经ADP和胶原刺激后，测得PRP中TXB_2量分别为1.2±0.4，36±16 ng/ml，与未刺激对照组TXP_2量0.76±0.2 ng/ml相比，两者均明显升高，但胶原组TXB_2明显高于ADP组（图1），说明胶原刺激血小板合成TXA_2的作用强于ADP的作用。

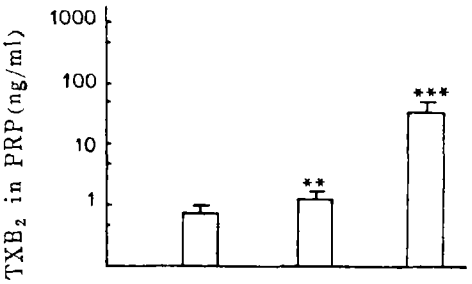


图1 ADP和胶原诱导血小板合成血栓素

（与生理盐水组比较：**P<0.05 ***P<0.01）

TFP和EDTA对血小板利用外源性AA合成TXA_2的影响 在PRP中加入外源性AA，迅速被血小板转变为TXA_2，测得TXB_2为114±28 ng/ml，经TFP和EDTA作用后的PRP，加入AA，TXB_2分别为119±40，134±30ng/ml，与AA对照组相比无明显差异（图2），说明TFP和EDTA不影响血小板利用外源性AA。

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

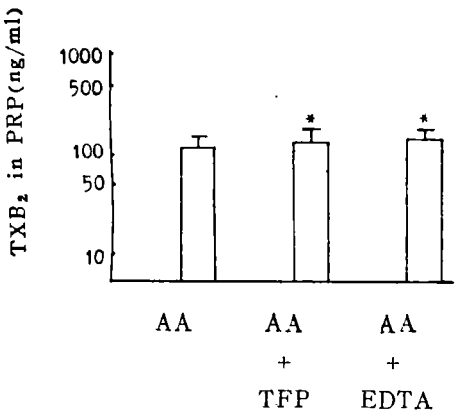


图 2　TFP和EDTA对AA转变成血栓素的影响

（与AA组比较：*P＞0.05）

TFP和EDTA对ADP和胶原诱导血小板合成TXA_2的影响　血小板经TFP或EDTA作用1 min后，用ADP刺激，测得TXB_2量分别为1.1±0.5，1.1±0.5ng/ml，与未经药物作用的ADP刺激对照组相比无明显差异，但经TFP或EDTA作用的血小板，改用胶原刺激，TXP_2量分别为1.4±0.7，5.4±0.4ng/ml与未经药物作用的胶原刺激对照组相比明显降低（图3）。

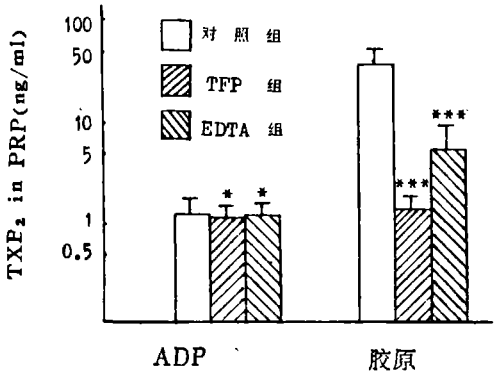


图 3　TFP和EDTA对ADP和胶原诱导血小板合成血栓素的影响

（与相应的对照组比较：*P＞0.05，***P＜0.01）

讨　论

ADP或胶原刺激血小板释放AA，AA在环氧酶和TXA_2合成酶的作用下进一步转变成TXA_2。TFP和EDTA不影响血小板利用外源性AA合成TXA_2，提示环氧酶和TXA_2合成酶不受细胞外钙或钙调蛋白的调节，这与Stuart[5]和Walenga[8]报道的结果相似。由于从AA转变成TXA_2过程不受TFP和EDTA的影响，那么测定TXA_2稳定的代谢产物—TXB_2，可以了解TFP和EDTA对血小板释放AA的影响。

虽然ADP和胶原都可刺激血小板释放AA，但前者不如后者作用强，而且ADP诱导的AA释放不受TFP和EDTA的影响，胶原诱导的AA释放则明显受这两种药物抑制，因此推测胶原和ADP诱导血小板释放AA是通过两个不同的途径。已知磷脂酰胆碱（PC）和磷脂酰乙醇胺（PE）通过磷脂酶A_2（PLA_2）水解释放AA的途径受钙离子和钙调蛋白的调节[1][8]，EDTA络合钙离子，TFP拮抗钙调蛋白均可使这一途径受阻（图4）。

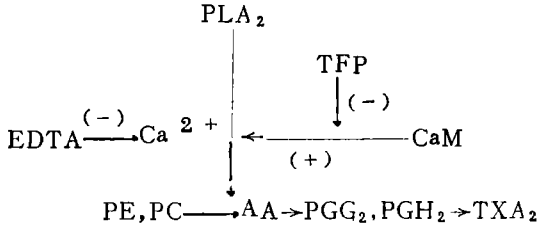


图 4　钙离子、钙调蛋白(CaM)、EDTA和TFP对花生四烯酸释放的影响

因此我们的结果提示，胶原诱导血小板释放AA与PLA_2途径有关，而ADP诱导血小板释放AA可能不通过这条途径。由于磷脂酶C（PLC）促使磷脂酰胆碱（PI）转变为甘油二酯（DG），在甘油二酯脂酶的作用下，DG水解而释放AA[2]，已知磷脂酶

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

C不受钙调蛋白拮抗剂的影响[6]，而我们实验表明TFP不影响ADP诱导的AA释放，因此推测ADP可能是通过PLC-甘油二酯脂酶途径诱导AA释放，但有待进一步实验证实。

参考文献

1. Mckean ML. et al. Formation of lysophosphatidylcholine by human platelets in response to thrombin. J Biol Chem 1981; 256:1522
2. Bell RL. et al. Diglyceride lipase: a pathway for arachidonate release from human platelets. Proc Natl Acad Sci USA 1979; 76:3238
3. Billah MM, et al. Phospholipase A2 activity specific for phosphatidic acid: a possible mechanism for the production of arachidonic acid in platelets. J Biol Chem 1981; 256:5399
4. Best L, et al. Phosphoinositide metabolism in human blood platelets: effects of two types of divalent cation chelators. Thromb Res 1982; 26:241
5. Stuart MJ, et al. The influence of albumin and calcium on human platelet arachidonic acid metabolism. Blood 1980; 55:418
6. Walenga RW. et al. Differential effects of calmodulin antagonists on phospholipases A2 and C in thrombin-stimulated platelets. J Biol Chem 1982; 256:12523

肺原发性骨肉瘤一例报告

朱英桂（病理教研室）

原发于肺的骨肉瘤十分罕见，国内只朱家光等[1]报告过一例。我们在尸检中遇到一例，现报告如下：

病历摘要 患者女，17岁，学生。因心慌气喘、心前区压迫感及胸、腹疼痛1⁺月，加重4天入院。

现病史 一月前，自感心慌，气喘，胸部疼痛，以右侧为甚，咳嗽时加重。腹部亦感胀痛及阵发性绞痛，不能平卧，间或咳嗽、无痰，上述症状加重四天入院。

检查 重病容，端坐，呼吸促迫，口唇发绀。气管左移，右胸饱满，腋侧向外凸出，右肺呼吸音明显降低，左肺（－），心界向左扩大。腹壁紧张，以左上腹靠剑突处明显，肝在右季肋下二指余，脾区似有包块，质中，界不清，压痛。双下肢凹陷性水肿。临床诊断：1、结核性胸腔积液；2、结核性脾肿大；3、腹块待查。

尸检所见 切开胸腔，右胸腔溢出红褐色液体计有5000ml，纵隔左移1～2cm，右横膈下降5cm，左胸腔积液300ml。两肺萎陷，以右肺最严重，三个肺叶如同三个串联的鸡蛋，紧附于纵膈上。脏层胸膜增厚（0.3～0.5cm），质地甚硬。在近大支气管周围有多个圆形或不规则结节，灰白色，质硬，最大直径2～3cm。支气管壁有的被病组织破坏或阻塞。右肺内侧与心包粘连其间有一4×1.5cm血肿，肺组织高度萎陷。切面见瘤组织与肺分界不清，灰白色或灰红色，有砂砾感。左肺与右肺大致相似，但病变轻，在肺实质及胸膜均有呈弥漫性散在分布的呈簇状或条索状小结节，灰白、硬。纵隔内淋巴组织及软组织多被瘤组织代替，胸导管被肿瘤阻塞。

腹腔内有咖啡色液体800ml，腹壁上有米粒～黄豆大结节散在，以下腹壁多见。肝推向左侧，在剑突下21cm，左锁骨中线下13cm，脾推向后方。在降结肠、直肠、大网膜及肠系膜亦有灰白色小结节散在。

镜检 肺内之肿块，镜下为瘤组织，其结构基本相同，瘤细胞呈片状或散在性分布，部分区域是由成骨细胞及骨样组织、纤维组织和少量透明的骨基质相混杂构成（图1）。在瘤组织的中央区域，有多少不等呈珊瑚状兰染物质，其间有多量致密的骨样组织及少量骨组织，骨小梁形状不规则，而在

（下转第68页）

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net