

血小板微粒与心血管疾病

贝俊杰^{1,2}, 孟璟¹ 综述, 胡厚源¹ 审校

(1. 第三军医大学西南医院心内科, 重庆市 400038; 2. 武警广西总队医院心内科, 广西南宁市 530003)

[关键词] 血小板微粒; 动脉粥样硬化; 心血管疾病

[摘要] 血小板微粒是血小板在激活或凋亡过程中释放的超微膜性囊泡。它不仅是重要的促血栓和促炎症物质, 还作为多种生物活性物质的载体介导生物信息在细胞间传递。血小板微粒参与凝血、免疫炎症及血管功能等方面的调控, 在动脉粥样硬化的发生、发展过程中发挥重要的作用, 有可能成为心血管疾病新的生物标志和治疗靶点。本文主要针对血小板微粒的生物学特性及其在心血管疾病中的作用进行综述。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

Platelet-derived Microparticle and Cardiovascular Disease

BEI Jun-Jie^{1,2}, MENG Jing¹, and HU Hou-Yuan¹

(1. Department of Cardiology, Southwest Hospital of The Third Military Medical University, Chongqing 400038, China; 2. Department of Cardiology, Guangxi Provincial Corps Hospital of Chinese People's Armed Police Forces, Nanning, Guangxi 530003, China)

[KEY WORDS] Platelet-derived Microparticle; Atherosclerosis; Cardiovascular Disease

[ABSTRACT] Platelet-derived microparticle (PMP) is small plasma membrane vesicles shed from platelets upon their activation or apoptosis. Not only PMP is the important prothrombotic and proinflammatory substance, but also its function is used as vehicle for many kinds of bioactive substances mediating intracellular transfer of biological information. PMP is involved in regulation of coagulation, immune inflammation and vascular function, playing key roles in the occurrence and development of atherosclerosis and possibly becoming a new bio-marker and therapeutic target of cardiovascular diseases. This review will mainly focus on biological characteristics of PMP and its roles in cardiovascular diseases.

血小板微粒 (platelet-derived microparticle, PMP) 是一种来源于血小板或巨核细胞的超微囊性结构, 主要由血小板激活或凋亡时产生。健康人外周血中存在一定量的 PMP, 用于维持凝血酶的生成^[1]。在发生心血管疾病和严重感染时, 患者血液中的 PMP 显著增加, 提示 PMP 与动脉粥样硬化、血管炎症及血栓形成等病理过程密切相关。本文从 PMP 的形成、生物学特性、检测方法及其在心血管疾病中的作用等方面进行综述。

1 血小板微粒的形成

血液循环中的微粒来自各类细胞, 包括血小

板、白细胞、红细胞及内皮细胞, 其中 PMP 的数量最多, 为 70% ~ 90%^[1]。1967 年 Wolf 首次将 PMP 描述为“血小板微尘”, 并于 1985 年首次从电镜中观察到。PMP 大小不一, 直径为 0.1 ~ 1.0 μm 。在体内, PMP 主要来源于激活的血小板, 衰老和破坏的血小板也可以产生 PMP, 此外部分 PMP 可能直接来自巨核细胞。PMP 表面存在多种带负电荷的磷脂, 主要是磷脂酰丝氨酸 (phosphatidylserine, PS), 系血小板膜内侧的氨酰磷脂向膜外侧翻转所致。PMP 还含有多种血小板膜糖蛋白, 包括 GPIa、GP I b、GP II a、GP II b/III a、GP VI、血管性假性血友病因子 (von Willebrand's disease factor, vWF)、血小板-内皮细胞黏附分子、凝血酶敏感蛋白及趋化因子受体等。

[收稿日期] 2013-04-03

[基金项目] 国家自然科学基金 (81270362) 资助

[作者简介] 贝俊杰, 博士研究生, 主治医师, 研究方向为动脉粥样硬化及其血栓并发症的发病机制与防治, E-mail 为 beijunjie@aliyun.com。孟璟, 硕士研究生, E-mail 为 624675100@qq.com。通讯作者胡厚源, 博士, 教授, 博士研究生导师, 研究方向为动脉粥样硬化及其血栓并发症的发病机制与防治, E-mail 为 houyuanhu@hotmail.com。

此外,血小板 α 颗粒膜蛋白也存在于PMP中,如P选择素。研究显示,不同的PMP所含成分存在差异,这可能与PMP的大小和激动剂的类型有关^[2,3]。化学激动剂如胶原、凝血酶、二磷酸腺苷等可与血小板膜上相应的受体结合,引起胞内第二信使发生变化导致血小板激活释放PMP。血小板表面糖蛋白GPⅡb/Ⅲa(整合素 α Ⅱb β 3)在血小板激活中发挥重要作用,它介导细胞骨架肌动蛋白的修饰并参与血小板伸展及囊泡形成,GPⅡb/Ⅲa的数量减少和解聚障碍会导致PMP生成异常。血小板激活的另一重要因素是细胞内 Ca^{2+} 增加。 Ca^{2+} 的增加会导致 Ca^{2+} 依赖性的酶激活,主要包括钙蛋白酶和蛋白激酶C(protein kinase C,PKC)。钙蛋白酶激活后通过降解血小板的结构蛋白促使PMP形成,抑制钙蛋白酶可以阻止胶原、凝血酶、 Ca^{2+} 载体等刺激产生PMP。但是,在钙蛋白酶抑制剂存在的条件下补体C5b-9仍然可以激活血小板,提示钙蛋白酶的激活不是PMP形成的最终或唯一途径。已有研究表明,直接激活PKC也可导致血小板激活释放PMP。此外,高剪切力作用、接触外源性物质的表面及低温等物理因素也可以激活血小板产生PMP,但具体机制尚不完全清楚,可能与蛋白酪氨酸的磷酸化以及钙调蛋白的激活有关。

2 血小板微粒的生物学特性

2.1 促凝血与抗凝血

健康人血液中的细胞微粒绝大多数来源于血小板。1946年Chargaff和West报道,去除健康人血液中的微粒将延长凝血时间,提示在体外条件下微粒(主要是PMP)的存在是凝血过程所必需的。PMP具有强大的促凝活性,与其表面带负电荷的氨酰磷脂(尤其是PS)有关。在 Ca^{2+} 的介导下,各种凝血因子与暴露的PS结合,有利于tenase酶和凝血酶原酶复合物的形成。PMP同时还具有丰富的Va因子、VⅢa因子及IXa因子的结合位点,为血栓形成提供反应介面。组织因子(tissue factor,TF)是细胞内凝血级联反应主要的激活物,血小板是否表达TF仍存在争议^[4,5]。疾病状态下血浆中可检测到TF+的微粒,其主要来源可能为单核细胞^[6]。研究显示,来自单核细胞系的TF+微粒通过P选择素与P选择素糖蛋白配体1(P-selectin glycoprotein ligand-1,PSGL-1)依赖的机制与激活的血小板发生融合,并向血管损伤部位募集进一步增强促凝血

作用^[7]。

PMP也参与体内的抗凝过程。活化蛋白C具有抑制Va因子的作用,而PMP可促进此作用,作用的强弱与血小板激动剂的类型有关。此外,PMP还可加强肝素的抗凝作用。

2.2 促进炎症反应、血管生成和细胞增殖

PMP携带血小板激活所产生的大量生物活性物质,是体内促炎症分子的主要来源。已有研究表明,CD40L在介导炎症反应方面具有重要作用,而循环中可溶性的CD40L(sCD40L)主要来源于血小板及其微粒,因此PMP具有显著的促炎症作用^[8]。在全身炎症性疾病中,PMP作为病理性因子介导白细胞、内皮细胞、造血干细胞参与炎症的发生发展^[9-11]。有报道显示,体外凋亡产生的PMP可以与单核细胞结合,诱导其在纤维粘连蛋白表面黏附并向M2亚型转化,进而成为巨噬细胞发挥致炎症作用^[12]。2010年发表在Science上的一项研究显示,风湿性关节炎患者关节滑膜液中存在PMP,它可以释放白细胞介素1(interleukin-1,IL-1)导致滑膜液中的成纤维细胞激活,从而促进关节炎的发生。血小板胶原受体(GPVI)被激活是产生PMP的关键因素,耗竭血小板可以减轻鼠的炎症性关节炎^[13]。除了免疫性炎症,PMP在感染性炎症中也具有重要作用^[14]。研究表明,金黄色葡萄球菌超抗原样蛋白5(staphylococcal superantigen-like protein-5,SSL5)可以与血小板糖蛋白结合并诱导其激活。本小组独立研究进一步证实,SSL5与血小板结合的位点是GPIIb α 和GPVI,并推测PMP可能是介导某些感染因素导致急慢性炎症反应的原因之一^[15]。

已有研究显示,PMP可以促进内皮细胞增殖、生存、迁移及管腔样结构形成,从而诱导血管生成。Prokopi小组在内皮祖细胞培养物中检测到PMP,表明PMP可以诱导外周血单核细胞向内皮祖细胞转化^[16]。Mause等^[17]研究发现,PMP可以增加成血管早期生长细胞(early outgrowth cell,EOC)结合修复损伤内皮的潜能,其主要机制是PMP增强了EOC的募集、迁移、分化以及分泌促血管生成因子的能力。此外,PMP还具有刺激造血干细胞和血管平滑肌细胞增殖的功能^[9,18]。

2.3 传递生物信息与启动靶细胞的效应

微粒在脉管系统中循环流动,不仅在产生的部位起作用,还可以向远处转移并发挥其效应。同时,微粒还作为一种载体介导了生物信息在细胞间的传递。目前,PMP将生物信息传递至其靶细胞进而启动生物学效应的机制尚不完全明确,可能的机

制有 4 种:①配体与受体的相互作用,如:PMP 通过其表达的 P 选择素与白细胞表面的 PSGL-1 结合促进白细胞的聚集和蓄积^[10];CD40L 与内皮细胞表面的 CD40 结合,诱导白细胞介素 6 (interleukin-6, IL-6) 和 TF 释放。②配体或受体的传递,如:PMP 运输花生四烯酸至内皮细胞,导致后者环氧合酶 2 (cyclooxygenase-2, COX-2) 与细胞间黏附分子 1 (intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1) 的表达增加;PMP 通过 P-选择素、GP I b、GP II b/III a 及 JAM-A 等表面分子与激活的内皮相互作用,使其所含的 RANTES 在内皮上沉积,从而促进单核细胞向内皮募集^[11]。③微粒的融合,如:凝血酶和胶原诱导产生的 PMP 与 EOC 结合并发生膜融合,PMP 将趋化因子受体 4 (chemokine receptor-4, CXCR4) 转移至 EOC,从而增加后者对 CXCR4 配体的反应性^[17]。④微粒的内化,如:PMP 被内吞入脑血管的内皮细胞,进而可以改变后者的表型和功能^[19]。

3 循环微粒的检测方法

循环中的微粒是其来源细胞的激活产物,检测微粒的性质和数量可以了解特定细胞在体内的激活状态。流式细胞术是目前研究微粒最重要、最常用的方法,其可以同时检测微粒表面的多种抗原,并进行微粒定量,而且检测时间短、费用经济。通常的策略是先采用已知直径大小的标准荧光微珠对流式细胞仪进行校准并设定检测门,然后根据检测目的加入不同的荧光抗体标记样本,同时加入已知数量的计数微珠作为参照,最后通过比较荧光分布及计算测量参数确定微粒的类型及数量。但是,由于微粒直径很小,对流式细胞仪的检测灵敏度要求极高,而目前最先进的仪器检测下限仅为 0.3 μm ,因此会造成不同程度的漏检。此外,微粒在体外可能因凋亡或受保存条件等因素的影响而发生数量变化,导致检测结果与体内实际水平不一致。基于上述原因,近年来一些研究者利用光散射结合阻抗的流式细胞术进行 PMP 检测,并提出了相应的标准^[20-22],这有助于确立 PMP 正常参考值范围及对不同机构的检测结果进行比较。然而,进一步明确 PMP 的分子组成则需要依靠蛋白质组学的方法。检测微粒的其他方法包括激光共聚焦显微镜及电镜观察、酶联免疫吸附试验、凝血功能试验等。激光共聚焦显微镜可以检测富含血小板血浆中的 PMP,电镜则用于观察微粒的形态及内部结构,两者多用于有特殊需要的检测。酶联免疫吸附试验是

利用纯化的抗体与微粒结合进行检测,优点是灵敏度高且不受微粒大小的限制,缺点是检测结果易受可溶性抗原的干扰,目前不是检测的常用方法。凝血功能试验是利用微粒表面磷脂具有促凝特性的原理进行检测,但由于细胞膜磷脂的表达不具有特异性,因此该方法不能区别检出微粒的类型。

4 血小板微粒在心血管疾病中的作用

心血管疾病与动脉粥样硬化密切相关,免疫炎症反应贯穿动脉粥样硬化发生发展的全过程,而血栓形成则是导致心血管不良事件发生的主要原因。PMP 作为重要的促炎症、促血栓物质,直接参与并影响心血管疾病的进程和结局,但同时 PMP 还是血液中某些 microRNA 的运输载体^[23],介导其在心血管疾病中发挥调控作用。

4.1 血小板微粒与冠心病

冠心病主要包括稳定型心绞痛、不稳定型心绞痛和心肌梗死等类型,后两者统称为急性冠状动脉综合征 (acute coronary syndrome, ACS)。ACS 共同的病理生理学特点是在冠状动脉粥样硬化的基础上,斑块发生破裂或糜烂、溃疡,导致血栓形成、血管收缩、微血管栓塞等,造成急性或亚急性的心肌供血减少。临床研究显示,冠心病患者血液中的 PMP 水平较健康人明显增高^[24-26],而在冠心病中,ACS 患者的 PMP 水平较稳定型心绞痛患者更高^[24,26],且 ST 抬高型心肌梗死患者的 PMP 水平与心肌缺血的程度呈正相关^[27]。目前认为,缺血冠状动脉的炎症、内皮功能失调和血流剪切力的改变所导致的血小板激活是 PMP 增高的原因^[28]。最近一项研究表明,冠心病患者血液中的大多数 miRNA 与微粒相关,与稳定型冠心病患者相比,ACS 患者含有更多促炎症作用的 miRNA,其中包括 miR-223^[23]。miR-223 是 PMP 中含量最丰富的 miRNA,它主要调控 P2Y₁₂ 受体的表达,对血小板的激活、聚集及黏附产生影响^[29,30]。以上研究结果提示 PMP、miRNA 与冠心病三者之间存在联系,PMP 可能介导了某些 miRNA 调控冠心病的进展。治疗方面,ACS 患者在接受抗血栓药物(口服抗血小板及皮下注射抗凝)后,血液中 PMP 水平在发病后 24 h 及 6 个月后均明显下降,但 6 个月后的 PMP 水平仍高于健康对照者^[25],这提示 PMP 有可能作为监测病情、指导用药的一个参考。血管再狭窄是冠状动脉介入术后的常见并发症,目前认为血小板激活导致的血管平滑肌细胞过度增殖是其主要原因之一,

其机制可能涉及血小板源性生长因子 (platelet derived growth factor, PDGF) 诱导上调核受体 Nur77 的表达^[31]。Inoue 等^[32]研究发现, 支架植入术后患者血液循环中的 PMP 明显增高, 直接反映了支架所诱导的血管炎症状态, 回归分析还显示 PMP 是预测晚期冠状动脉管腔丧失的一个独立因素, 有可能成为预测术后血管再狭窄的因子之一。另外, 一项来自日本的研究报道健康男性的 PMP 水平与其 Framingham 10 年冠心病风险评分的高低呈正相关^[33], 这提示 PMP 可能是预测冠心病发生的一个线索。

4.2 血小板微粒与高血压、肺动脉高压

研究表明, 高血压患者血浆中的 PMP 水平较正常人高, 降压治疗后 PMP 水平明显下降, 提示血压的高低可以影响血小板激活^[34]。2003 年 Preston 等^[35]根据平均动脉压高低将患者分成轻度高血压组 (142/96 mmHg) 和严重高血压组 (195/127 mmHg), 检测发现血液中的 PMP 水平在严重高血压组明显增高, 而内皮细胞微粒 (endothelial microparticle, EMP) 在两组中均增高, 且两种微粒的水平与收缩压和舒张压均呈正相关关系, 这表明 PMP 和 EMP 在促凝血、白细胞激活及内皮损伤等方面具有联合效应, 可能是介导严重高血压靶器官损害的病理性因素。目前研究认为, 高血压会引起血流剪切力增加, 造成内皮损伤、内皮下胶原暴露, 诱发血小板激活, 激活的血小板和 PMP 表达 P 选择素并释放趋化因子, 通过 P 选择素与 PSGL-1 的结合及趋化作用使炎症细胞募集至血管损害的部位, 导致局部 TF 浓度增加, 血液的促凝和促炎症活性增强, 触发凝血酶产生致血栓形成, 最终造成靶器官损害。肺动脉高压以肺小动脉狭窄、压力增高为主要特征, 伴有血栓斑块和血小板功能失调。该病患者的 EMP 水平明显增高, 且与疾病的严重性相关, 但对 PMP 水平的变化报道不一致^[36-38]。最近的研究显示, 与 EMP 相同, 直径较小的 PMP (0.3 ~ 0.5 μm) 在肺动脉高压患者中明显增高, 但直径较大的 PMP (0.5 ~ 0.9 μm) 则无差别^[39], 其原因可能与不同直径的 PMP 的蛋白组成不同有关^[2]。

4.3 血小板微粒与糖尿病

糖尿病的发生发展受遗传和环境两方面因素的影响, 血管并发症是其主要的死亡原因。来自日本一系列研究显示, 糖尿病患者血液中的 PMP 水平较正常人高, 且与低密度脂蛋白水平呈正相关, 其中伴有糖尿病肾病的 PMP 水平更高, 并且随着肾病的进展呈进行性增高, 提示 PMP 参与了糖尿病的动

脉硬化进程, 并有可能成为诊断病情进展的因素之一^[40]。目前认为, 糖尿病患者 PMP 增高的原因主要与血小板的激活增强有关, 其机制包括胰岛素丧失抗血小板作用^[41]、体内钙稳态的失常、血小板表面糖蛋白和黏附分子表达的改变、血小板与纤维蛋白原的结合增加^[42]、钙蛋白酶的过度激活^[43]等。健康人群血糖增高导致血小板受体的表达减少^[44], 而糖尿病患者短期的血糖增高就可以促使血小板表面 P 选择素和 vWF 的表达增加, 导致剪切力增加进而诱导血小板激活^[45]。增多的 P 选择素又可以通过 PSGL-1 与粒细胞结合形成血小板粒细胞聚集体, 通过核因子 κB (nuclear factor- κB , NF- κB) 依赖的机制促使内皮细胞功能发生变化, 包括增加单核细胞趋化蛋白 1 的分泌和 ICAM-1 的表达, 以利于炎症细胞在血管壁的黏附。此外, 激活的血小板还能分泌 PDGF, 促使血管平滑肌增殖向内膜迁移, 加速动脉硬化进程。近年研究还发现, 糖尿病患者血液中的 miRNA 谱随着病情的进展而发生改变^[46,47], 其中包括 miR-223 和 miR-126, 两者是 PMP 中含量居前 2 位的 miRNA, 分别调控血小板的功能和血管生成^[29,30]。鉴于循环中的微粒绝大多数为 PMP, 因此有理由推测糖尿病 miRNA 谱的改变可能与 PMP 增多有关。

4.4 血小板微粒与其他心血管疾病

目前研究发现, 在其他心血管疾病 (包括外周动脉疾病^[48]、中风、静脉血栓、肺栓塞^[49]、房颤^[50]、高脂血症^[51]和青紫型的先天性心脏病^[52]) 及危险因素 (包括吸烟、肥胖) 中, 患者或相关人群的 PMP 水平均较健康者增高。这表明上述疾病或危险因素与血小板激活有关, 检测 PMP 有助于判断病情发展与转归。

5 血小板微粒研究的问题与展望

近年来 PMP 的特性及其在心血管疾病中的作用成为相关领域的研究热点, PMP 许多未知的功能逐渐被人们认识, 但同时研究也遇到了一些问题。首先, 蛋白质组学的研究显示不同来源的 PMP 其分子组成和功能存在差异性, 推测可能与激动剂的类型、PMP 大小有关, 但其产生机制是否存在差异尚不清楚。其次, 分离和检测 PMP 面临技术上的困难。血小板在体外极易激活或凋亡, 对分离和保存条件的要求较严, 加上流式细胞仪检测灵敏度有限, 客观上影响了检测的准确性, 同时造成不同机构间的实验结果缺乏可比性。最后, PMP 在生理和

病理过程中所发挥的作用该如何理解。目前有关 PMP 生理功能的研究较少,其在什么情况下发生哪些或何种程度的变化使其转变为病理因素,尚未见相关报道。尽管存在上述问题,但已有的研究结果仍表明:PMP 不仅是重要促血栓和促炎症物质,还是许多生物活性物质的载体,既发挥重要病理作用又是反映体内血小板激活或消耗状态的灵敏指标,有可能成为心血管疾病新的生物标志和治疗靶点。

[参考文献]

- [1] Berckmans RJ, Nieuwland R, Boing AN, et al. Cell-derived microparticles circulate in healthy humans and support low grade thrombin generation[J]. *Thromb Haemost*, 2001, 85 (4): 639-646.
- [2] Dean WL, Lee MJ, Cummins TD, et al. Proteomic and functional characterisation of platelet microparticle size classes[J]. *Thromb Haemost*, 2009, 102 (4): 711-718.
- [3] Biro E, Akkerman JW, Hoek FJ, et al. The phospholipid composition and cholesterol content of platelet-derived microparticles: A comparison with platelet membrane fractions[J]. *J Thromb Haemost*, 2005, 3 (12): 2 754-763.
- [4] Camera M, Brambilla M, Toschi V, et al. Tissue factor expression on platelets is a dynamic event[J]. *Blood*, 2010, 116 (23): 5 076-077.
- [5] Bouchard BA, Mann KG, Butenas S. No evidence for tissue factor on platelets[J]. *Blood*, 2010, 116 (5): 854-855.
- [6] Owens AP 3rd, Mackman N. Microparticles in hemostasis and thrombosis[J]. *Circ Res*, 2011, 108 (10): 1 284-297.
- [7] Del Conde I, Shrimpton CN, Thiagarajan P, et al. Tissue-factor-bearing microvesicles arise from lipid rafts and fuse with activated platelets to initiate coagulation[J]. *Blood*, 2005, 106 (5): 1 604-611.
- [8] Pamukcu B, Lip GYH, Snezhitskiy V, et al. The CD40-CD40L system in cardiovascular disease[J]. *Ann Med*, 2011, 43 (5): 331-340.
- [9] Baj-Krzyworzeka M, Majka M, Pratico D, et al. Platelet-derived microparticles stimulate proliferation, survival, adhesion, and chemotaxis of hematopoietic cells[J]. *Exp Hematol*, 2002, 30 (5): 450-459.
- [10] Forlow SB, McEver RP, Nollert MU. Leukocyte-leukocyte interactions mediated by platelet microparticles under flow[J]. *Blood*, 2000, 95 (4): 1 317-323.
- [11] Mause SF, von Hundelshausen P, Zernecke A, et al. Platelet microparticles: A transcellular delivery system for RANTES promoting monocyte recruitment on endothelium[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2005, 25 (7): 1 512-518.
- [12] Vasina EM, Cauwenberghs S, Feijge MA, et al. Microparticles from apoptotic platelets promote resident macrophage differentiation[J]. *Cell Death Dis*, 2011, 2: e211.
- [13] Boilard E, Nigrovic PA, Larabee K, et al. Platelets amplify inflammation in arthritis via collagen-dependent microparticle production[J]. *Science*, 2010, 327 (5965): 580-583.
- [14] Soriano AO, Jy W, Chirinos JA, et al. Levels of endothelial and platelet microparticles and their interactions with leukocytes negatively correlate with organ dysfunction and predict mortality in severe sepsis[J]. *Crit Care Med*, 2005, 33 (11): 2 540-546.
- [15] Hu H, Armstrong PC, Khalil E, et al. GpVI and GPIIb/IIIa mediate staphylococcal superantigen-like protein 5 (SSL5) induced platelet activation and direct toward glycans as potential inhibitors[J]. *PLoS ONE*, 2011, 6 (4): e19190.
- [16] Prokopi M, Pula G, Mayr U, et al. Proteomic analysis reveals presence of platelet microparticles in endothelial progenitor cell cultures[J]. *Blood*, 2009, 114 (3): 723-732.
- [17] Mause SF, Ritzel E, Liehn EA, et al. Platelet microparticles enhance the vasoregenerative potential of angiogenic early outgrowth cells after vascular injury[J]. *Circulation*, 2010, 122 (5): 495-506.
- [18] Weber A, Koppen HO, Schror K. Platelet-derived microparticles stimulate coronary artery smooth muscle cell mitogenesis by a PDGF-independent mechanism[J]. *Thromb Res*, 2000, 98 (5): 461-466.
- [19] Faille D, El-Assaad F, Mitchell AJ, et al. Endocytosis and intracellular processing of platelet microparticles by brain endothelial cells[J]. *J Cell Mol Med*, 2012, 16 (8): 1 731-738.
- [20] Robert S, Poncelet P, Lacroix R, et al. Standardization of platelet-derived microparticle counting using calibrated beads and a cytomics FC500 routine flow cytometer: A first step towards multicenter studies[J]? *J Thromb Haemost*, 2009, 7 (1): 190-197.
- [21] Lacroix R, Robert S, Poncelet P, et al. Standardization of platelet-derived microparticle enumeration by flow cytometry with calibrated beads: Results of the international society on thrombosis and haemostasis ssc collaborative workshop[J]. *J Thromb Haemost*, 2010, 8 (11): 2 571-574.
- [22] Zwicker JJ, Lacroix R, Dignat-George F, et al. Measurement of platelet microparticles [J]. *Methods Mol Biol*, 2012, 788: 127-139.
- [23] Diehl P, Fricke A, Sander L, et al. Microparticles: Major transport vehicles for distinct microRNAs in circulation[J]. *Cardiovasc Res*, 2012, 93 (4): 633-644.
- [24] Biasucci LM, Porto I, Di Vito L, et al. Differences in microparticle release in patients with acute coronary syndrome and stable angina[J]. *Circ J*, 2012, 76 (9): 2 174-182.
- [25] Skeppholm M, Mobarrez F, Malmqvist K, et al. Platelet-derived microparticles during and after acute coronary syndrome [J]. *Thromb Haemost*, 2012, 107 (6): 1 122-129.
- [26] Stepien E, Stankiewicz E, Zalewski J, et al. Number of microparticles generated during acute myocardial infarction and stable angina correlates with platelet activation[J]. *Arch Med Res*, 2012, 43 (1): 31-35.
- [27] Jung C, Sorensson P, Saleh N, et al. Circulating endothelial and platelet derived microparticles reflect the size of myocardium at risk in patients with ST-elevation myocardial infarction[J]. *Atherosclerosis*, 2012, 221 (1): 226-231.
- [28] Rautou PE, Vion AC, Amabile N, et al. Microparticles, vascular function, and atherothrombosis[J]. *Circ Res*, 2011, 109 (5): 593-606.

- [29] Hunter MP, Ismail N, Zhang X, et al. Detection of microRNA expression in human peripheral blood microvesicles[J]. *PLoS ONE*, 2008, 3 (11): e3694.
- [30] Gatsiou A, Boeckel JN, Randriamboavonjy V, et al. MicroRNAs in platelet biogenesis and function: Implications in vascular homeostasis and inflammation [J]. *Curr Vasc Pharmacol*, 2012, 10 (5): 524-531.
- [31] 王丽岳, 李俊, 王珣, 等. 血小板源生长因子诱导核受体 Nur77 调节血管平滑肌细胞增殖[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2011, 19 (6): 483-488.
- [32] Inoue T, Komoda H, Kotooka N, et al. Increased circulating platelet-derived microparticles are associated with stent-induced vascular inflammation [J]. *Atherosclerosis*, 2008, 196 (1): 469-476.
- [33] Ueba T, Nomura S, Inami N, et al. Plasma level of platelet-derived microparticles is associated with coronary heart disease risk score in healthy men[J]. *J Atheroscler Thromb*, 2010, 17 (4): 342-349.
- [34] Nomura S, Kanazawa S, Fukuhara S. Effects of efonidipine on platelet and monocyte activation markers in hypertensive patients with and without type 2 diabetes mellitus[J]. *J Hum Hypertens*, 2002, 16 (8): 539-547.
- [35] Preston RA, Jy W, Jimenez JJ, et al. Effects of severe hypertension on endothelial and platelet microparticles[J]. *Hypertension*, 2003, 41 (2): 211-217.
- [36] Bakouboula B, Morel O, Faure A, et al. Procoagulant membrane microparticles correlate with the severity of pulmonary arterial hypertension[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2008, 177 (5): 536-543.
- [37] Amabile N, Heiss C, Real WM, et al. Circulating endothelial microparticle levels predict hemodynamic severity of pulmonary hypertension[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2008, 177 (11): 1 268-275.
- [38] Diehl P, Aleker M, Helbing T, et al. Increased platelet, leukocyte and endothelial microparticles predict enhanced coagulation and vascular inflammation in pulmonary hypertension [J]. *J Thromb Thrombolysis*, 2011, 31 (2): 173-179.
- [39] Nadaud S, Poirier O, Girerd B, et al. Small platelet microparticle levels are increased in pulmonary arterial hypertension[J]. *Eur J Clin Invest*, 2013, 43 (1): 64-71.
- [40] Ogata N, Imaizumi M, Nomura S, et al. Increased levels of platelet-derived microparticles in patients with diabetic retinopathy[J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2005, 68 (3): 193-201.
- [41] Ferreira IA, Mocking AI, Feijge MA, et al. Platelet inhibition by insulin is absent in type 2 diabetes mellitus [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2006, 26 (2): 417-422.
- [42] El Haouari M, Rosado JA. Platelet signalling abnormalities in patients with type 2 diabetes mellitus: A review[J]. *Blood Cells Mol Dis*, 2008, 41 (1): 119-123.
- [43] Randriamboavonjy V, Pistrosch F, Bolck B, et al. Platelet sarcoplasmic endoplasmic reticulum Ca^{2+} -atpase and mu-calpain activity are altered in type 2 diabetes mellitus and restored by rosiglitazone[J]. *Circulation*, 2008, 117 (1): 52-60.
- [44] Schuerholz T, Losche W, Keil O, et al. Acute short-term hyperglycemia impairs platelet receptor expression even in healthy adults in vitro[J]. *Med Sci Monit*, 2008, 14 (12): BR 294-298.
- [45] Gesele P, Guglielmini G, De Angelis M, et al. Acute, short-term hyperglycemia enhances shear stress-induced platelet activation in patients with type II diabetes mellitus [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2003, 41 (6): 1 013-020.
- [46] Guay C, Roggli E, Nesca V, et al. Diabetes mellitus, a microRNA-related disease[J]? *Transl Res*, 2011, 157 (4): 253-264.
- [47] Zampetaki A, Kiechl S, Drozdov I, et al. Plasma microRNA profiling reveals loss of endothelial miR-126 and other microRNAs in type 2 diabetes[J]. *Circ Res*, 2010, 107 (6): 810-817.
- [48] van der Zee PM, Biro E, Ko Y, et al. P-selectin- and CD63-exposing platelet microparticles reflect platelet activation in peripheral arterial disease and myocardial infarction[J]. *Clin Chem*, 2006, 52 (4): 657-664.
- [49] Bal L, Ederhy S, Di Angelantonio E, et al. Factors influencing the level of circulating procoagulant microparticles in acute pulmonary embolism[J]. *Arch Cardiovasc Dis*, 2010, 103 (6-7): 394-403.
- [50] Choudhury A, Chung I, Blann AD, et al. Elevated platelet microparticle levels in nonvalvular atrial fibrillation: Relationship to P-selectin and antithrombotic therapy[J]. *Chest*, 2007, 131 (3): 809-815.
- [51] Nomura S, Inami N, Shouzu A, et al. The effects of pitavastatin, eicosapentaenoic acid and combined therapy on platelet-derived microparticles and adiponectin in hyperlipidemic, diabetic patients [J]. *Platelets*, 2009, 20 (1): 16-22.
- [52] Horigome H, Hiramatsu Y, Shigeta O, et al. Overproduction of platelet microparticles in cyanotic congenital heart disease with polycythemia[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2002, 39 (6): 1 072-077.

(此文编辑 文玉珊)