

血小板活化在类风湿关节炎发病中的作用及调控机制

顾谭蓉¹ 芮棵² 彭娜¹

¹三峡大学第二人民医院风湿免疫科,湖北宜昌 443000;²江苏大学附属医院第一临床医学院,江苏镇江 212013

摘要 类风湿关节炎(RA)是一种慢性自身免疫性疾病,累及全身多处关节及内脏。其关节病理改变是多种致炎细胞因子和炎症介质介导的关节滑膜炎、血管翳形成,进而导致软骨和骨破坏,最终出现关节畸形和功能丧失。多种炎性细胞及促炎因子均参与该病的发生和发展,越来越多的研究显示,血小板除了具有止血、保持血管完整性、营养和支持毛细血管的作用外,还能对环境中失调的分子做出反应,运输和表达特有的炎症介质,并在止血和免疫之间起到调节作用。本文探讨血小板活化在类风湿关节炎发病过程中的作用及调控机制。

关键词 血小板活化;炎症;细胞因子;类风湿关节炎

中图分类号 R593.22 **文献标识码** A **DOI** 10.11768/nkjwzzzz20250215

The role and regulatory mechanism of platelet activation in the pathogenesis of rheumatoid arthritis GU Tan-rong¹, RUI Ke², PENG Na¹. ¹Department of Rheumatology and Immunology, The Second People's Hospital of Three Gorges University, Hubei Yichang 443000, China; ²The First Clinical Hospital of Jiangsu University, Jiangsu Zhenjiang 212013, China
Corresponding author: PENG Na, E-mail: doctorpeng0836@163.com

Abstract Rheumatoid arthritis (RA) is a chronic autoimmune disease that involves multiple joints and internal organs throughout the body. Its arthropathological changes are mediated by a variety of inflammatory cytokines and mediators, leading to synovial inflammation, vascular opacification, cartilage and bone destruction, and ultimately joint deformity and loss of function. A variety of inflammatory cells and pro-inflammatory factors are involved in the development and progression of this disease. A growing number of studies have shown that platelets, in addition to their role in hemostasis, maintenance of vascular integrity, and nutrient and supportive capillaries, respond to molecules that are dysregulated in the environment by transporting and expressing specific inflammatory mediators and act as a regulator between hemostasis and immunity. In this paper, we will explore the role of platelet activation in the pathogenesis of rheumatoid arthritis and its regulatory mechanisms.

Key words Platelet activation; Inflammation; Cell signaling; Rheumatoid arthritis

类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是一种以进行性关节损害为特征,关节滑膜炎为病理基础的慢性自身免疫性疾病。RA病因尚不明确,现有研究提示环境、遗传、病毒感染、性激素、免疫细胞及因子异常、遗传及神经精神状态、血小板的活化等因素参与RA的发病。血小板是由骨髓中巨核细胞产生的,它具有凝血、止血功能,同时还能分泌包括细胞因子、趋化因子和生长因子在内的多种炎症介质。活化的血小板产生的微粒,将信号分子传递到滑膜和外周循环中。近期的研究证明血小板在风湿性疾病的炎症反应及疾病进展中具有重要的作用^[1, 2], RA活动期的患者血小板计数反应性增高,临床缓解后血小板计数明显下降,血小板计数与RA疾病活动度呈正相关^[3]。本文对血小板活化机制及其在RA发病过程中的作用进行综述。

一、血小板活化的调控机制

1. FAK/Calpain 信号转导网络调控血小板活化:血小板

膜表面有各种可溶性的激动剂受体和黏附受体,如血小板糖蛋白(glycoprotein, GP)Ib/IV/V复合物、GPIIb-IIIa复合物、P选择素(P-selectin, Ps)、磷脂酰丝氨酸等, GPIIb-IIIa复合物是一种中介桥梁分子,能够双向传导血小板“膜内外”生物化学信号。当血小板受某些因素刺激后,原本处于休眠状态的GPIIb/IIIa分子空间构型发生变化,诱导血小板膜发生“内-外”的信号转导,使黏附斑激酶(focal adhesion kinase, FAK)磷酸化,然后通过一系列反应将胞内骨架蛋白、蛋白激酶以及整合蛋白三者联系起来,然后在第二信使或蛋白激酶等介导作用下,以磷酸化FAK为中心整合放大聚焦黏附复合物,实现血小板的活化^[4, 5]。而胞内的Ca²⁺与钙蛋白酶Calpain相结合使Calpain活化,然后水解蛋白激酶FAK,从而抑制血小板活化^[6],见图1。由此可见FAK/Calpain信号通路在激活血小板和抑制血小板的过程中起着重要作用^[7, 8]。

基金项目:国家自然科学基金面上项目(82171771);湖北省自然科学基金面上项目(2023AFB1049);宜昌市科学技术局宜昌市医疗卫生科研项目(A20-2-035, A23-1-044)

通信作者:彭娜, E-mail: doctorpeng0836@163.com, 湖北省宜昌市西陵区西陵一路21号

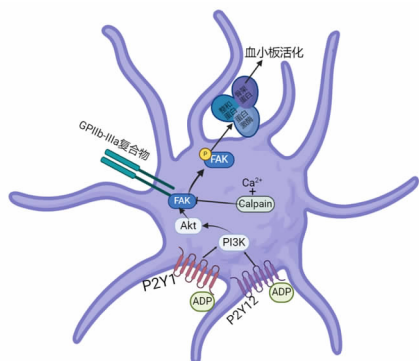


图1 血小板激活与抑制过程(FAK:黏附斑激酶;Calpain:钙蛋白酶;ADP:二磷酸腺苷;PKB/AKT:蛋白激酶B;P2Y1/P2Y12:ADP受体;GPIIb/IIIa:血小板细胞膜糖蛋白)

2. PI3K/AKT 信号转导网络调控血小板活化:PI3K/AKT 信号通路具有调控细胞生长、增殖、分化、凋亡和细胞骨架重排等作用,磷脂酰肌醇 3 激酶(phosphatidylinositol 3-kinase,PI3K)为血小板细胞内信号的重要传递因子,其可分为 I 型、II 型和 III 型。目前已经证明了 I 型(PI3K α 、PI3K β 、PI3K δ 、PI3K γ)在血小板聚集活化及血栓形成方面的作用^[9]。当血小板受到致聚集如二磷酸腺苷-ADP 刺激时,血小板表面的 ADP 受体:P2Y1 和 P2Y12 受体与对应的 G 蛋白发生偶联,使 PI3K 内部结构发生改变,从而刺激下游信号通路,此时 PI3K β 可作为磷酸供体促使 PIP2 磷酸化生成 PIP3。PIP3 作为第二信使进一步激活 PI3K 的下游蛋白激酶 B(protein kinase,PKB)即 AKT,并活化 GPIIb/IIIa 导致下游信号激活并分泌致密颗粒和 α 颗粒。最终招募相邻的血小板和激活其他受体^[10]。

在 RA 患者滑膜组织中发现 PI3K/AKT 信号通路处于异常激活状态,在 RA 小鼠体内用 PI3K/AKT 信号通路抑制剂可显著降低胶原诱导型关节炎(collagen-induced arthritis, CIA)模型中模型鼠关节炎评分和关节炎发生率,抑制炎症反应、减少软骨及骨破坏^[11, 12]。

二、血小板活化促进 RA 滑膜炎症及 RA 疾病进程

血小板在受到血管损伤等刺激发生活化后释放 Ps、血小板微粒(platelet-derived microparticles, PMPs)、血小板源性生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF)、转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)等^[13]。它们参与了机体的急、慢性炎症反应,且活化的血小板可使白介素(interleukin, IL)-1 β 、IL-8、单核细胞趋化蛋白-1(monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1)、巨噬细胞炎症蛋白-1 β (macrophage inflammatory protein-1 beta, MIP-1 β)和金属基质蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)的表达水平增高,导致 RA 患者滑膜炎症反应加重并破坏关节软骨^[14]。

1. P-选择素:Ps 亦被称为 CD62P,在静息血小板 α 颗粒膜中表达,也存在于内皮细胞上的一种特殊的分泌性杆状细胞器--Weibel-Palade 小体(Weibel-Palade body, WPB)上。当血小板在受到血管损伤等刺激发生活化时,细胞内的 α 颗粒

膜与血小板细胞质膜融合,使 CD62P 暴露于膜表面,并脱落至血液中成为可溶性 Ps。因此,Ps 在血小板活化后出现,常作为血小板活化后晚期的特异性标志物。当 Ps 与 P 选择素糖蛋白配体-1(P-selectin glycoprotein ligand-1, PSGL-1)结合后介导单核细胞、中性粒细胞聚集在内皮细胞上,促进其粘附并迁移至滑膜组织,促进固有免疫反应。

有研究发现 RA 活动期患者外周血中 Ps 的表达明显高于正常人或疾病缓解组,Ps 在 RA 患者的血小板上高表达,且与疾病严重程度、C 反应蛋白和血沉水平有关^[15],证明活化的血小板参与了 RA 发病过程。

2. 血小板微粒:炎症的一个重要标志是循环系统中 PMPs 的存在。PMPs 是由血小板受到刺激后磷脂酰丝氨酸外翻使磷脂膜失去对称性血小板质膜向外形成的一种囊泡,因此 PMPs 拥有与血小板表面相同的生物学标志物,包括 CD42(糖蛋白 Ib)和 CD41/61(整合素 α IIb β 3)^[16]。血小板发生活化或凋亡后磷脂酰丝氨酸外翻使磷脂膜失去对称性,从而释放 PMPs。循环中 PMPs 的含量在一定程度上可反映血小板的活化程度。有研究发现 RA 患者外周血中 PMPs 水平较对照组明显升高,且与疾病活动度评分(DAS28)正相关^[17, 18]。成纤维样滑膜细胞(fibroblast-like synoviocytes, FLS)在 RA 的发病过程中起着重要作用。同时在 RA 患者关节滑液中检测到大量的 PMPs, PMPs 可以促进 FLS 产生 IL-6 和 IL-8,使中性粒细胞大量聚集在关节腔内,从而参与 RA 的炎症反应过程^[19, 20]。

3. 血小板源性生长因子、转化生长因子 β :血小板活化后分泌的 PDGF、TGF- β 可介导滑膜血管的增生,促进滑膜血管翳的形成。PDGF 可促进 FLS 产生促炎细胞因子 IL-6、IL-8 和 MMP-3^[21]。用 TGF- β 刺激 RA 患者的 FLS 细胞,发现 TGF- β 能够增加 FLS 对关节软骨的侵袭性^[22]。然而同时用 TGF- β 和 PDGF 处理 FLS 后,可增强 FLS 中 MMP3、IL-6、IL-8 和 MIP-1 α 分泌。使关节腔内膜结构明显增厚以及炎症因子的浸润增加,同时分泌的 MMP3 降解结缔组织基质,导致 RA 的软骨破坏^[22, 23],同时使 PI3K δ 表达上调^[24],进一步导致 RA 疾病的进展。

血小板活化涉及多个信号转导通路,并可被多种激动剂通过不同的途径激活。从而参与 RA 疾病的发生发展过程。

三、靶向血小板活化治疗 RA

研究者发现抑制 PI3K/AKT 信号通路后,可抑制血小板活化,下调 PMPs 的表达,抑制 PMPs 介导的炎症反应,从而减轻 RA 患者炎症反应^[25]。用 PI3K/AKT 信号通路特异性抑制剂 LY294002 和 siAkt 处理的关节炎模型小鼠可显著改善关节滑膜增生和炎症细胞浸润,从而发挥抗炎作用^[26]。有研究显示可通过抑制黏附斑激酶的活化减少血小板活化产物分泌,从而减轻滑膜的炎症。川芎嗪与来氟米特合用可抑制血小板活化以降低关节炎评分、关节病理及血清中 C 反应蛋白、TGF- β 、Ps 及血管细胞黏附因子-1 水平,从而对 RA 大鼠发挥治疗作用,因此靶向血小板的活化对治疗 RA 患者有潜在的价值^[27]。

四、展望

现有研究表明,激活的血小板释放的一系列物质,如 Ps、PMPs、PDGF、TGF- β 等,可通过促进 RA 关节腔内炎症因子的浸润、增强滑膜细胞的迁徙以及软骨的破坏,来参与 RA 疾病的发生发展过程。然而,RA 和血小板激活之间是相互促进的,如 RA 中的促炎因子也会增强血小板活性,进一步加重关节炎症。因此,血小板在 RA 发病机制中发挥核心作用。目前有研究者发现血小板产生的 TGF- β 可以抑制血小板的过度激活和结缔组织的破坏,但至于为何无法在 RA 中发挥其治疗作用值得我们进一步探索,这也给临床上治疗 RA 提供了一个新的治疗思路。我们是否可以通过提高或者降低血小板激活过程中释放的某些衍生物质,如 TGF- β 的浓度,来抑制血小板的激活,从而改善 RA 患者的症状。同时也可以通过靶向抑制与血小板激活相关的信号通路延缓关节炎进展、降低疾病严重程度。

参考文献

- 1 El BH, Cornwell M, Luttrell-Williams E, et al. Platelet LGALS3BP as a mediator of myeloid inflammation in systemic lupus erythematosus [J]. *Arthritis Rheumatol*, 2023, 75(5):711-722.
- 2 Pec MJ, Jurica J, Pecova M, et al. Role of platelets in rheumatic chronic autoimmune inflammatory diseases [J]. *Semin Thromb Hemost*, 2024, 50(4):609-619.
- 3 肖敬,尹智功,蒙继勇,等.血小板参数与类风湿关节炎病情活动指标相关性分析[J]. *中国误诊学杂志*, 2011, 11(15):3622-3623.
- 4 Guidetti GF, Torti M, Canobbio I. Focal adhesion kinases in platelet function and thrombosis [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2019, 39(5):857-868.
- 5 Kim K, Shin EK, Chung JH, et al. Arsenic induces platelet shape change through altering focal adhesion kinase-mediated actin dynamics contributing to increased platelet reactivity [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2020, 391:114912.
- 6 Kerstein PC, Patel KM, Gomez TM. Calpain-Mediated proteolysis of talin and FAK regulates adhesion dynamics necessary for axon guidance [J]. *J Neurosci*, 2017, 37(6):1568-1580.
- 7 章平衡,刘健,瑞端凯,等.佐剂性关节炎大鼠血小板活化与 FAK/Calpain 信号通路紊乱有关[J]. *中国免疫学杂志*, 2019, 35(3):263-268.
- 8 魏文佳,孙皎.生物材料对血小板黏着斑激酶影响的半体内研究[J]. *生物医学工程学杂志*, 2006(2):350-352.
- 9 Schrottmaier WC, Mussbacher M, Salzmann M, et al. PI3K isoform signaling in platelets [J]. *Curr Top Microbiol Immunol*, 2022, 436:255-285.
- 10 Nam GS, Kim S, Kwon YS, et al. A new function for MAP4K4 inhibitors during platelet aggregation and platelet-mediated clot retraction [J]. *Biochem Pharmacol*, 2021, 188:114519.
- 11 Cheng Q, Chen M, Liu M, et al. Correction: semaphorin 5A suppresses ferroptosis through activation of PI3K-AKT-mTOR signaling in rheumatoid arthritis [J]. *Cell Death Dis*, 2023, 14(3):196.
- 12 Liu C, He L, Wang J, et al. Anti-angiogenic effect of Shikonin in rheumatoid arthritis by down regulating PI3K/AKT and MAPKs signaling pathways [J]. *J Ethnopharmacol*, 2020, 260:113039.
- 13 Li L, Stegner D. Immunothrombosis versus thrombo-inflammation;

platelets in cerebrovascular complications [J]. *Res Pract Thromb Haemost*, 2024, 8(1):102344.

- 14 Zhang M, Hu W, Cai C, et al. Advanced application of stimuli-responsive drug delivery system for inflammatory arthritis treatment [J]. *Mater Today Bio*, 2022, 14:100223.
- 15 Christopoulos G, Christopoulou V, Stamatou K, et al. Association between soluble cell adhesion molecules (sP-Selectin, sE-Selectin, and sICAM-1) and antibodies against the antigens of proteus mirabilis in rheumatoid arthritis patients [J]. *Cureus*, 2024, 16(7):e64942.
- 16 Boilard E, Bellio M. Platelet extracellular vesicles and the secretory interactome join forces in health and disease [J]. *Immunol Rev*, 2022, 312(1):38-51.
- 17 Anyfanti P, Gavrilaki E, Nikolaidou B, et al. Patients with autoimmune chronic inflammatory diseases present increased biomarkers of thromboinflammation and endothelial dysfunction in the absence of flares and cardiovascular comorbidities [J]. *J Thromb Thrombolysis*, 2022, 53(1):10-16.
- 18 Villar-Vesga J, Grajales C, Burbano C, et al. Platelet-derived microparticles generated in vitro resemble circulating vesicles of patients with rheumatoid arthritis and activate monocytes [J]. *Cell Immunol*, 2019, 336:1-11.
- 19 Wang W, Liu J, Yang B, et al. Modulation of platelet-derived microparticles to adhesion and motility of human rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocytes [J]. *PLoS One*, 2017, 12(7):e181003.
- 20 Michael B, Kommoju V, Kavachandana GC, et al. Characterization of cell-derived microparticles in synovial fluid and plasma of patients with rheumatoid arthritis [J]. *Rheumatol Int*, 2019, 39(8):1377-1387.
- 21 Rosengren S, Corr M, Boyle DL. Platelet-derived growth factor and transforming growth factor beta synergistically potentiate inflammatory mediator synthesis by fibroblast-like synoviocytes [J]. *Arthritis Res Ther*, 2010, 12(2):R65.
- 22 Zhu D, Zhao J, Lou A, et al. Transforming growth factor beta1 promotes fibroblast-like synoviocytes migration and invasion via TGF-beta1/Smad signaling in rheumatoid arthritis [J]. *Mol Cell Biochem*, 2019, 459(1-2):141-150.
- 23 Hassan AS, Abdul-Mohymen AM, Ahmed LA, et al. Study of transforming growth factor beta 1 gene +869T/C polymorphism in Egyptian rheumatoid arthritis patients and its relation to disease activity [J]. *Egypt J Immunol*, 2022, 29(1):19-28.
- 24 Shibuya H, Yoshitomi H, Murata K, et al. TNF alpha PDGF and TGF beta synergistically induce synovial lining hyperplasia via inducible PI3K delta [J]. *Mod Rheumatol*, 2015, 25(1):72-78.
- 25 黄传兵,万磊,刘健,等.新凤胶囊对关节炎模型大鼠 PTEN/PI3K/AKT 信号通路及血小板活化的影响 [J]. *中国免疫学杂志*, 2020, 36(12):1422-1426.
- 26 Gao X, Qin T, Mao J, et al. Correction: PTENP1/miR-20a/PTEN axis contributes to breast cancer progression by regulating PTEN via PI3K/AKT pathway [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2023, 42(1):202.
- 27 白菁安,边艳琴,牛旭艳,等.川芎嗪联合来氟米特对胶原诱导关节炎大鼠血小板活化和炎症反应的影响 [J]. *中国中医基础医学杂志*, 2017, 23(7):953-956.