

·综 述·

血小板信号转导及相关抗血小板药物的研究进展

黄玲芳^{1,2}, 张二云^{1,2}, 高 波^{1,2}, 吴晓俊², 王峥涛^{1,2} (1. 中国药科大学生药学研究室, 江苏 南京 210038; 2. 上海中医药大学中药研究所中药标准化教育部重点实验室暨上海市复方中药重点实验室, 上海 201203)

摘要: 阐述血小板活化过程的相关信号转导, 并对临床已用和正在研发的抗血小板聚集药物以及相关的中药活性成分进行总结。结果表明, 随着血小板活化信号转导通路的不断阐明, 可能的治疗干预靶点也逐渐被揭示。目前抗血小板治疗的药物主要是化学单体, 针对血小板活化过程的某一个靶点进行干预, 进而到达抗血小板聚集的目的, 但是存在抗血小板效果不佳、出血及过敏反应等缺陷。建议针对不同途径的靶点进行药物干预, 有针对性地联合用药, 以减少出血并发症的发生率。同时要加强中药活性成分抗血小板治疗的研究, 为新抗血小板聚集药物的研究开发提供思路。

关键词: 血小板; 信号转导; 抗血小板药, 中药活性成分

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2014)03-0378-06

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2014.03.035

Progress in Signaling Transduction During Platelet Activation and Antiplatelet Agents

HUANG Lingfang^{1,2}, ZHANG Eryun^{1,2}, GAO Bo^{1,2}, WU Xiaojun², WANG Zhengtao^{1,2} (1. Department of Pharmacognosy, China Pharmaceutical University, Nanjing 210038 Jiangsu, China; 2. The Ministry of Education Key Laboratory for Standardization of Chinese Medicines and Shanghai Key Laboratory of Compound Chinese Medicines, Institute of Chinese Materia Medica, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201210, China)

Abstract: In this study, we discuss the signaling transduction during platelet activation, and review the active components of antiplatelet Chinese medicine which have been used clinically or are under investigation. The results of articles review showed that with the clarification of signaling transduction during platelet activation, the possible therapeutic target has gradually been revealed. Currently, the main antiplatelet agents used clinically are chemical monomer with a single target, which is prone to increase the risks of bleeding and irritability in addition to low efficacy. Targets of components from traditional Chinese medicine with anti-platelet aggregation effect should be specified which may increase their clinical application. Combination of traditional Chinese and western medicine may improve the efficacy and reduce the bleeding risk of currently used anti-platelet drugs. Moreover, new drugs or cocktail of approved drugs specially targeting multi-steps in the activation of platelet signaling pathways with high efficacy but low side-effect should be developed.

Keywords: Platelets; Signaling transduction; Antiplatelet agents; Active components of traditional Chinese medicine

收稿日期: 2014-01-05

作者简介: 黄玲芳, 女, 硕士研究生, 研究方向: 分子药理学。Email: yvonlin3@163.com。通讯作者: 吴晓俊, 研究员, 硕士生导师, 研究方向: 中药神经精神药理。Email: xiaojunwu320@126.com。王峥涛, 教授, 博士生导师, 研究方向: 中药活性成分与质量标准。Email: ztwang@shutcm.edu.cn。

基金项目: 国家自然科学基金重点项目(U1032604); 教育部高等学校博士学科点专项科研基金优先发展领域项目(20123107130002); 上海市教委科研创新重点项目(13ZZ099)。

血小板是循环在血液中的没有细胞核的颗粒,在止血、血栓形成等生理、病理过程中发挥着重要的作用。正常条件下,血小板以非活化的形式在机体中循环,处于一种“静息”状态,当其接触到内皮细胞的缺损区或者遇到凝血级联反应时被活化。此时内皮细胞分泌的血管性血友病因子(von Willebrand factor, vWF)与暴露在内膜下的胶原结合,并且与糖蛋白 Ib/IX/V(glycoprotein Ib/IX/V, GPIb/IX/V)相互作用使血小板黏附于内皮细胞的缺损部位,发生形变,释放内容物,包括腺苷二磷酸(adenosinediphosphate, ADP)、血栓烷素 A_2 (thromboxane A_2 , TXA_2)、5-羟色胺(5-hydroxy tryptamine, 5-HT)等,进一步促进血小板活化;同时引发多个信号通路的交叉反应,尤其是内源性的信号扩增机制,最后诱导整合素的“内-外”信号转导,激活 $\alpha_{IIb}\beta_3$,引起血小板黏附和聚集,并且触发整合素诱导的“外-内”信号转导,促进血小板颗粒体的进一步释放及增加血小板聚集的稳定性^[1]。

近年来,血栓栓塞性疾病如心脏病和缺血性卒中是造成死亡的常见病因。由于血小板活化和聚集在血栓形成中发挥重要作用,因此,抗血小板治疗已成为目前心脏病治疗中不可或缺的一种手段。本研究从抗血小板的靶点及机制角度,对临床应用以及正在研发的抗血小板聚集药物进行综述,并且对一些具有抗血小板作用的中药活性成分进行概述,为抗血小板新药的研发提供思路。

1 vWF、胶原及血小板可溶性激动剂及其抑制剂

血小板激活的初始信号是通过血小板 vWF、胶原或者血小板可溶性激动剂(包括 ADP、凝血酶、 TXA_2 、5-HT 等)和各自相应的受体相互作用之后所产生的。

1.1 vWF 受体、胶原受体及其抑制剂 GPIb/IX/V 复合物是一种血小板上特殊的 vWF 受体,在止血和血栓形成过程中有多种功能。在高剪切力的流体条件下, GPIb/IX/V 复合物在介导血小板黏附及固定暴露在血管损伤区的 vWF 起重要作用。GPVI 是表达在血小板表面的最主要的胶原受体。由内皮细胞分泌的 vWF 与暴露在内膜下的胶原结合,使之能够通过 vWF A1 域与 GPIb/IX/V 相互作用,进而启动血小板黏附过程。有研究表明, GPIb/IX/V 复合物与 Fc 受体(Fc receptor, FcR) γ -链和 Fc γ RIIa 相互连接,这两个蛋白包含了免疫受体酪氨酸活化基序(im-

munoreceptor tyrosin-based activation motif, ITAM),同时胶原受体 GPVI 与 FcR γ -链在细胞表面非共价结合,然后, Src 家族的酪氨酸激酶催化 FcR γ 链和 Fc γ RIIa 进行酪氨酸磷酸化,从而促进与脾源性酪氨酸激酶(spleen tyrosine kinase, Syk)的结合以及 Syk 自身的活化^[2-3]。激活的 Syk 启动信号生成,导致 T 细胞活化衔接蛋白(linker for activated T cells, LAT)、含巯基结构的 76kDa 白细胞磷酸蛋白(SH2 domain-containing leukocyte phosphoprotein of 76 kDa, SLP-76)和磷脂酶 C- γ 2(phospholipase C- γ 2, PLC- γ 2)的磷酸化,并在随后形成三磷酸肌醇(inositol triphosphate, IP3)和二酰甘油(diacylglycerol, DAG),引起胞浆内钙离子浓度升高,并激活蛋白激酶 C(protein kinase C, PKC)^[4]。

GPIb 的胞质区与和 Src 家族激酶(src-family kinase, SFKs)相互作用,启动了 GPIb/IX 的早期信号转导,包括 PI3 激酶(phosphoinositide 3 kinase, PI3K)、Src 相关酪氨酸酶。除了上述的信号通路, vWF 受体、胶原受体活化还包括由 v-src-1 Yamaguchi 肉瘤病毒相关癌基因同源物(v-src-1 Yamaguchi sarcoma viral related oncogene homolog, Lyn)激活 PI3K 及其下游的蛋白激酶 B(protein kinase B, PKB)而引起血小板黏附的通路。该过程促进一氧化氮(NO)的合成,增加环磷酸鸟苷(cyclic guanosine monophosphate, cGMP)依赖性的蛋白激酶(cGMP-dependent protein kinase, PKG)和丝裂原活化蛋白激酶(mitogen activated protein kinases, MAPKs)的活性^[5]。

目前,并没有上市的拮抗 vWF 和胶原受体的药物,但已有几种拮抗剂已经处于临床研究阶段。其中安非博肽^[6]、ALX-0081、ARC-1779、6B4h6B4、AJvW2/AJW200、GPG-290 等主要抑制 vWF 和 GPIb 的结合,而 PR-15、82D6A3 则抑制 vWF 和胶原结合^[2]。中药活性成分槲皮素可以剂量依赖性抑制血小板内蛋白酪氨酸的磷酸化,包括胶原受体 GPVI 以及胶原诱导的 FcR γ 链、Syk、LAT 及 PLC- γ 2 的酪氨酸磷酸化^[7];丹酚酸 A 可以抑制 PI3K 以及 PKB 的磷酸化^[8];白藜芦醇可抑制血小板 NO-cGMP 生成,并且抑制磷脂酶 C、PKC 和 p38 MAPK 的激活^[9]。

1.2 ADP 受体及其抑制剂 ADP 是促进血小板聚集和血栓形成的活性物质,主要通过和血小板上的 G 蛋白偶联受体 P2Y₁ 和 P2Y₁₂ 结合而引起血小板的活化。P2Y₁ 主要和 G_q 蛋白发生偶联,从而介导 PLC 的 β 亚型活化,导致胞浆内钙离子水平升高,整合

素 $\alpha_{IIb}\beta_3$ 活化, 血小板变形和聚集。P2Y₁₂ 主要和 G_i 蛋白偶联, 可以使腺苷酸环化酶(adenylate cyclase, AC)下调, 从而降低 cAMP 浓度, 同时激活 PI3K 的 β 、 γ 受体, 最终活化鸟苷三磷酸酶(guanosine triphosphatase, GTPase), 抑制 cGMP 生成, 减少对磷酸二酯酶(phosphodiesterase 3, PDE3)的抑制, 从而使环磷酸腺苷(cyclic adenosine monophosphate, cAMP)降解, 最终导致血小板聚集^[10-11]。

由于 P2Y₁₂ 只在血小板和脑中表达, 相较于 P2Y₁ 更有选择性, 因此目前抗 ADP 受体活化的药物主要是针对 P2Y₁₂ 受体的。临床上常用的药物主要有: (1) 氯吡格雷、普拉格雷, 需要通过细胞色素 P450 酶代谢之后产生活性成分, 然后与 P2Y₁₂ 受体结合, 抑制血小板聚集, 但是容易与其他需要 P450 酶代谢的药物互相影响。(2) 替卡格雷、坎格雷洛、依诺格雷, 无需经过肝脏代谢, 与 P2Y₁₂ 受体可逆性结合, 且半衰期较短, 可减少局部缺血性心脏病等心血管疾病的发生率, 并降低急性冠状动脉综合征(acute coronary syndrome, ACS)等心血管病死率。但是服用替卡格雷的患者更容易出现呼吸困难, 应引起重视。(3) 其他正在研究的 P2Y₁₂ 受体抑制剂有 LG231306, YH14659, G-0041 等, 均处于临床 I 期研究阶段^[12]。新型的 P2Y₁₂ 受体抑制剂均能较强地抑制血小板聚集, 但伴随的是较高的出血风险, 在临床应用时需引起注意。从川芎中分离的有效成分川芎嗪, 从黄连根茎中分离得到的小檗碱, 从钩藤带勾茎枝中分离得到的钩藤碱均能显著地抑制 ADP 诱导的血小板聚集, 但是否通过其受体起作用, 目前尚无定论^[13]。

AC 促进 cAMP 生成, PDE3 能降解 cAMP, 因而增强 AC 活性以及抑制 PDE3 活性, 增加细胞内 cAMP 水平, 可以抗血小板聚集。穿心莲提取物可激活血小板 AC^[14], 银杏叶提取物抑制 PDE3 活性^[15], 从而提高血小板内的 cAMP 的水平。西洛他唑、双嘧达莫、K-134 能抑制 cAMP 活性, 是临床用于抗血栓疾病治疗的药物^[16]。

1.3 凝血酶受体及其抑制剂 凝血酶是一种丝氨酸蛋白酶, 是血小板活化的最有效的激动剂, 活性远高于 ADP 及 TXA₂。它通过蛋白酶激活受体(protease activated receptors, PARs)介导血小板聚集, 其中 PAR1 和 PAR4 可以调节凝血酶对人类血小板的作用, PAR3 只在鼠血小板中表达。研究表明, PAR1 和 G_q、G₁₃、G_{i/z} 偶联, PAR4 只和 G_q、G₁₃ 偶联,

从而使凝血信号与胞内信号通路链接起来, 导致 PLC β 、PI3K 和 Ras 相似物(rashomologue, Rho)激酶的活化, 引起 IP₃ 水解, 钙动员以及 PKC 活化^[17]。

PAR1 介导的血小板激活主要参与了病理性血栓的形成, 其抑制剂可抑制血小板聚集, 但不影响凝血酶诱导的纤维蛋白原裂解。临床抗凝血酶受体主要是针对 PAR1 受体进行药物研发。目前处于临床研究阶段的主要有 vorapaxar 和 atopaxar。Vorapaxar 处于 III 期临床研究阶段, 通过口服, 快速吸收, 其与受体不可逆结合。研究表明, vorapaxar 能降低心血管疾病以及中风的死亡率, 但是会引起中度乃至严重的出血, 包括脑出血。Atopaxar 处于 II 期临床研究阶段, 是 PAR1 受体拮抗剂, 抑制凝血酶诱导的血小板中 CD40 的释放, 能够明显抑制血小板聚集, 但是临床实验发现使用 atopaxar 有出血风险, 会引起肝功能紊乱, 并缺乏剂量依赖性^[18]。

1.4 TXA₂ 受体及其抑制剂 TXA₂ 是血小板活化和血管平滑肌收缩的强激动剂。不仅如此, 它还可以放大由低剂量诱导剂如凝血酶和 ADP 诱导的血小板活化信号。它经由环氧合酶催化花生四烯酸形成不稳定的环内过氧化物前列腺素 H₂(prostaglandin H₂, PGH₂), 然后经血栓素合成酶作用下生成, 主要在血小板微粒体合成与释放。TXA₂ 通过激活血小板上的 TXA₂/前列腺素 H₂ 受体(TXA₂/prostaglandin H₂ receptor, TP), 与特异性的 G 蛋白偶联受体 G_q 和 G₁₃ 结合使血小板活化。TXA₂ 与受体结合后通过 G_q 受体激活其下游的 PLC β , 引起 IP₃ 和 DAG 激活, 进而使胞浆内钙离子浓度增加, PKC 激活^[19]。与此同时, TXA₂ 又通过 G₁₃ 活化其下游的 RhoA(如 p115RhoGEF), 然后激活 Rho 激酶, 进而调节肌球蛋白轻链(myosin light chain, MLC)的磷酸化, 引起血小板变形和血小板内颗粒体的释放^[20]。

临床应用最广泛的抗血小板聚集药物为阿司匹林, 能不可逆地抑制环氧合酶, 抑制 TXA₂ 的生成, 从而发挥抗血小板聚集的作用。但其容易引起药物抵抗, 增加出血的风险^[21]。目前研究的新型 TXA₂ 抑制剂主要有 Terutroban^[22], EV-077^[23], triplantin^[24], 5, 6-二甲基咕吨-4-乙酸^[25]。但研究表明, 上述 Terutroban, EV-077 两种 TXA₂ 抑制剂与低剂量的阿司匹林所产生的药效和副作用无显著性差异。中药活性成分川芎嗪、葛根素是 TXA₂ 合成酶的抑制剂, 绿原酸和咖啡酸均可以抑制环氧合酶-1(cyclooxygenase-1, COX-1)和环氧合酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)。

-ase-2, COX-2) 的活性, 人参皂苷 Rk1 和 Rg5 可以抑制花生四烯酸诱导的血小板聚集, 并且具有剂量依赖性, 异钩藤碱可以抑制 TXA₂ 的生成, 这些活性成分均具有开发为抗血小板药物的潜力^[13,26]。

1.5 5-HT 受体及其抑制剂 5-HT 参与血小板聚集和平滑肌收缩, 广泛分布于中枢神经系统、外周组织和血小板致密颗粒中。主要有 7 大类(5-HT₁~5-HT₇), 在血小板上发现的 5-HT 受体为 5-HT_{2A}, 它们是 G 蛋白偶联受体超家族成员, 通过激活 Gq 蛋白进而引起 PLC β 活化, 促进 IP₃ 和 DAG 的代谢。同时, 5-HT 能放大血小板的活化信号^[27]。

APD-791 是 5-HT_{2A} 受体拮抗剂, 实验表明, 其能抑制犬心绞痛模型中血栓的形成。沙格雷酯可以特异性地与 5-HT_{2A} 受体结合, 在临床上应用于外周血管性疾病, 如慢性缺血性血管闭塞症、冠心病、神经系统疾病、血栓性疾病等^[27]。红花总黄色素和葛根素能够抑制血小板活化因子诱导的 5-HT 的释放, 从而发挥抗血小板聚集的作用^[28]。

2 钙离子及其抑制剂

胞浆内钙离子浓度在血小板活化过程中发挥重要的作用。它主要有两个来源, 一是血小板内钙离子的释放, 二是血小板外钙离子进入细胞内。前者产生的主要原因是: 当激动剂刺激不同的血小板受体之后, 使血小板上的 PLC 的各种异构体活化, 从而水解磷酸酰肌醇, 使之生成 IP₃。IP₃ 激活内质网上的受体 IP₃R, IP₃R 作为直接的钙离子通道, 释放钙离子到胞浆中。后者产生的主要原因有: (1) 磷酸酰肌醇被水解生成 DAG, 介导血小板外钙离子通过瞬时受体电位离子通道蛋白 6 (Transient receptor potential channel 6, TRPC6) 进入胞浆内; (2) ATP 激活 P₂X₁ 受体, 使之作为血小板膜上直接的钙离子通道介导钙离子进入胞浆内; (3) 钙释放激活的钙离子通道蛋白 1 介导钙离子进入胞浆内。

胞浆内钙离子浓度升高激活了不同的信号通路, 包括 PKC、钙调蛋白、NO 的合成和钙离子依赖性蛋白酶。近期研究^[29]表明, 钙和二酰基甘油调节的鸟嘌呤核苷酸交换因子 1 (calcium and diacylglycerol-regulated guanine nucleotide exchange factor 1, CalDAG-GEF1) 介导多种钙离子反馈信号, 包括激活 Rap1、TXA₂ 合成和颗粒体的释放。同时, 钙离子浓度的升高还正向调节 SFKs 和 PI3K/PKB 信号通路。

AZD6482^[31]、川芎嗪抑制血小板中磷脂酰基 -4, 5- 二磷酸和 20K 蛋白质磷酸化, 前者是 IP₃ 和 DAG

的前体, 从而影响钙离子信号转导^[30]; 异钩藤碱通过抑制细胞外钙内流抑制血小板内钙离子浓度升高^[31]; 香椿子正丁醇提取物、槲皮素可降低血小板细胞内游离钙离子^[7]。

3 整合素 $\alpha_{\text{IIb}}\beta_3$ 及其抑制剂

正常状态下, 整合素 $\alpha_{\text{IIb}}\beta_3$ 处于静息和低亲和力的状态, 当血小板被激活后, $\alpha_{\text{IIb}}\beta_3$ 处于高亲和力的状态, 容易和纤维蛋白原结合, 这是血小板活化常见的最后途径。研究表明, “内 - 外” 的信号转导要求 β_3 - 胞浆区和裸蛋白、内联蛋白的直接结合, 进而显示调控 $\alpha_{\text{IIb}}\beta_3$ 亲和力的直接效应。起始信号通过许多不同的 G 蛋白进行传递, 后继信号由以下过程所介导: PLC 的激活使磷酸酰肌醇水解为第二信使 IP₃ 和 DAG, 非受体蛋白质酪氨酸激酶激活等, 从而使血小板内多种蛋白质的酪氨酸和苏氨酸磷酸化。IP₃ 刺激钙释放并引起磷脂酶 A₂ 活化, 促进花生四烯酸的释放, 使之转化为 TXA₂。DAG 激活 PKC, 导致 MAPKs 亚型和细胞外信号调节激酶 (extracellular signal-regulated kinases, ERKs) 的激活, 最终使 $\alpha_{\text{IIb}}\beta_3$ 激活, 进而和纤维蛋白原结合, 触发整合素的 “外 - 内” 信号转导^[31]。

“外 - 内” 信号转导过程最主要的信号通路是 G 蛋白亚基 G α_{13} 和 β_3 - 胞浆区相结合, 然后激活 SFKs, 尤其是 β_3 结合的 c-Src。SFKs 通过 Fc γ RIIa 的磷酸化激活 Syk, 然后使 Syk 与 β_3 - 胞质区相结合, 促进 SLP-76/LAT/Atk/Vav 的集合, 从而介导 PLC γ 2 的活化, 最终使血小板活化的信通路归结为 GPVI 介导的 ITAM 信号通路^[32]。

$\alpha_{\text{IIb}}\beta_3$ 受体抑制剂主要通过阻断血小板聚集的最后共同通路, 发挥抗血小板聚集的作用。阿昔单抗是作用于 $\alpha_{\text{IIb}}\beta_3$ 受体的单克隆抗体, 用于经皮冠状动脉介入治疗 (Percutaneous Coronary Intervention, PCI) 血管成形术或动脉粥样化切除术引起血栓的辅助治疗, 但是容易产生过敏及出血。替罗非班是一种特定的非肽类的 $\alpha_{\text{IIb}}\beta_3$ 受体拮抗剂, 与 $\alpha_{\text{IIb}}\beta_3$ 受体可逆性结合, 不具有抗原性, 不良反应较少。依替巴肽是一个合成型的环多肽, 可封闭 $\alpha_{\text{IIb}}\beta_3$ 受体, 较阿昔单抗减少了出血事件发生的概率^[33]。金银花及其所含的有机酸类化合物能抑制血小板膜 $\alpha_{\text{IIb}}\beta_3$ 受体活性^[34]。

4 P-选择素(CD62P)及其受体抑制剂

P- 选择素是一种介导异型细胞相互作用的血管

黏附受体,在内皮细胞和活化的血小板中迅速地释放并在表面上表达。它和配体 PSGL-1 结合后促进血小板的黏附和聚集^[35]。Inclamumab 是一种 P- 选择素靶点的单克隆抗体,在心血管疾病中表现出良好的抗血栓作用。PSI-697 是一个新的 P- 选择素受体抑制剂,能够抑制血小板聚集,并且呈现出剂量依赖性^[36]。绿原酸和咖啡酸可抑制 ADP 诱导的血小板表面 P- 选择素的表达^[34]。

5 总结与展望

微小无核的血小板曾被认为仅仅是止血系统中的一个成分,现在已经明确地知道了它参与并影响着许多生理和病理过程。随着血小板活化信号转导通路的不断阐明,可能的治疗干预靶点也逐渐被揭示。全面了解血小板黏附和活化过程中信号转导途径的特性,对于设计一种可以调节血小板黏附和活化所引起的病理状况的药物是必不可少的。血小板信号转导通路的研究,为临床治疗心血管、炎症以及癌症等相关疾病提供了理论基础,为新型的抗血栓药物的开发提供了理论依据。

从抗血小板治疗西药以及中药活性单体的研究现状不难发现:(1)目前抗血小板治疗的药物主要是化学单体,针对血小板活化过程的某一个靶点进行干预,进而达到抗血小板聚集的目的,但是存在一些缺陷,包括抗血小板效果不佳、出血及过敏反应等,提示尚有不明确的作用靶点或者通路间相互作用存在。(2)已有的药物针对 ADP 受体、TXA₂ 抑制比较多,对于钙离子拮抗剂、 $\alpha_{\text{m}}\beta_3$ 受体抑制剂、凝血酶受体抑制剂以及血小板信号转导下游的信号分子如 PI3K, IP3 的抑制剂研究较少。(3)已发现多种具有抗血小板活性的中药活性成分,但由于其作用靶点不明确,限制了其临床应用。针对以上问题,在临床上,我们应针对不同途径的靶点进行药物干预,并采用联合用药进行治疗,以提高药效,减少出血并发症的发生率;在药物研发中,可加大对钙离子拮抗剂、凝血酶拮抗剂和血小板信号转导下游信号分子抑制剂的开发,并且加强中药活性成分特异性靶点的研究,明确其作用机制,为新药研发奠定基础。同时可关注西药合用以及中药活性成分和西药合用时的协同作用,增加药效,减少副作用。展望未来,通过加强对血小板信号转导及通路间相互作用研究,将有助于寻找更有效而副作用小的抗血小板聚集新药。

参考文献:

- [1] Vorchheimer DA, Becker R. Platelets in atherothrombosis[J]. Mayo Clin Proc, 2006, 81(1): 59-68.
- [2] De Meyer SF, Stoll G, Wagner DD, et al. von Willebrand factor: an emerging target in stroke therapy[J]. Stroke, 2012, 43(2): 599-606.
- [3] Tomlinson MG, Calaminus SD, Berlanga O, et al. Collagen promotes sustained glycoprotein VI signaling in platelets and cell lines[J]. J Thromb Haemost, 2007, 5(11): 2274-2283.
- [4] Gross BS, Lee JR, Clements JL, et al. Tyrosine phosphorylation of SLP-76 is downstream of Syk following stimulation of the collagen receptor in platelets[J]. J Biol Chem, 1999, 274(9): 5963-5971.
- [5] Canobbio I, Stefanini L, Cipolla L, et al. Genetic evidence for a predominant role of PI3K β catalytic activity in ITAM-and integrin-mediated signaling in platelets[J]. Blood, 2009, 114 (10): 2193-2196.
- [6] Lei X, Reheman A, Hou Y, et al. Anfibatide, a novel GPIIb complex antagonist, inhibits platelet adhesion and thrombus formation in vitro and in vivo in murine models of thrombosis[J]. Thromb Haemost, 2014, 111(2): 279-289.
- [7] Navarro-Núñez L, Lozano ML, Martínez C, et al. Effect of quercetin on platelet spreading on collagen and fibrinogen and on multiple platelet kinases[J]. Fitoterapia, 2010, 81(2): 75-80.
- [8] Huang ZS, Zeng CL, Zhu LJ, et al. Salvianolic acid A inhibits platelet activation and arterial thrombosis via inhibition of phosphoinositide 3-kinase[J]. J Thromb Haemost, 2010, 8(6): 1383-1393.
- [9] Li H, Xia N, Förstermann U. Cardiovascular effects and molecular targets of resveratrol[J]. Nitric Oxide, 2012, 26(2): 102-110.
- [10] Malin SA, Molliver DC. Research Gi- and Gq-coupled ADP (P2Y) receptors act in opposition to modulate nociceptive signaling and inflammatory pain behavior[J]. Mol Pain, 2010, 21 (6): doi: 10.1186/1744-8069-6-21.
- [11] Nylander S, Kull B, Björkman JA, et al. Human target validation of phosphoinositide 3-kinase(PI3K) β : effects on platelets and insulin sensitivity, using AZD6482 a novel PI3K β inhibitor[J]. J Thromb Haemost, 2012, 10(10): 2127-2136.
- [12] Damman P, Woudstra P, Kuijt WJ, et al. P2Y12 platelet inhibition in clinical practice[J]. J Thromb Thrombolysis, 2012, 33 (2): 143-153.
- [13] 白颖, 李林. 中药抗血小板作用及其机制研究进展[J]. 中华中医药杂志, 2011, 26(4): 770-773.
- [14] 彭六保, 谭汝虹, 周亚辉. 穿琥宁注射液引起可逆性血小板下降[J]. 中国医院药学杂志, 2002, 22(1): 63.
- [15] 谭萍, 郝勇, 丁素菊, 等. 银杏叶提取物抗血小板聚集机制研究[J]. 中华神经医学杂志, 2011, 10(3): 260-263.
- [16] Shinohara Y, Katayama Y, Uchiyama S, et al. Cilostazol for prevention of secondary stroke (CSPS 2): an aspirin-controlled, double-blind, randomised non-inferiority trial[J]. Lancet Neurol, 2010, 9(10): 959-968.
- [17] Hua Y, Keep RF, Gu Y, et al. Thrombin and brain recovery after intracerebral hemorrhage[J]. Stroke, 2009, 40(3 suppl 1): S88-S89.
- [18] Ueno M, Ferreira JL, Angiolillo DJ. Mechanism of action and

- clinical development of platelet thrombin receptor antagonists [J]. *Expert Rev Cardiovasc Ther*, 2010, 8(8): 1191-1200.
- [19] Chakraborty R, Pydi SP, Gleim S, et al. New Insights into structural determinants for prostanoid thromboxane A₂ receptor- and prostacyclin receptor-G protein coupling[J]. *Mol Cell Biol*, 2013, 33(2): 184-193.
- [20] Bhavaraju K, Lakhani PR, Dorsam RT, et al. G12/13 signaling pathways substitute for integrin $\alpha_{IIb}\beta_3$ -signaling for thromboxane generation in platelets[J]. *PLoS one*, 2011, 6(2): e16586.
- [21] Vadász D, Sztriha LK, Sas K, et al. Aspirin and clopidogrel resistance: possible mechanisms and clinical relevance. Part II: Potential causes and laboratory tests[J]. *Ideggyogy Sz*, 2013, 66(1-2): 15-22.
- [22] Bousser MG, Amarenco P, Chamorro A, et al. Terutroban versus aspirin in patients with cerebral ischaemic events (PERFORM): a randomised, double-blind, parallel-group trial[J]. *Lancet*, 2011, 377(9782): 2013-2022.
- [23] Richardson A, Sakariassen KS, Meyer JP, et al. Single ascending oral dose pharmacokinetics and pharmacodynamics study of EV-077: The specific inhibitor of prostanoid- and isoprostan- induced cellular activation[J]. *Eur J Clin Pharmacol*, 2013, 69: 459-465.
- [24] Ma D, Assumpção TCF, Li Y, et al. Triplatin, a platelet aggregation inhibitor from the salivary gland of the triatomine vector of chagas disease, binds to TXA₂ but does not interact with GPVI[J]. *Thromb Haemost*, 2012, 107(1): 111.
- [25] Zhang SH, Zhang Y, Shen J, et al. Tumor vascular disrupting agent DMXAA inhibits platelet activation and thrombosis via inhibition of TXA₂ signaling and phosphodiesterase [J]. *J Thromb Haemost*, 2013, 11 (10): 1855-1866.
- [26] Lee JG, Lee YY, Kim SY, et al. Platelet antiaggregating activity of ginsenosides isolated from processed ginseng[J]. *Pharmazie*, 2009, 64(9): 602-604.
- [27] Przyklenk K, Frelinger AL, Linden MD, et al. Targeted inhibition of the serotonin 5HT_{2A} receptor improves coronary patency in an in vivo model of recurrent thrombosis[J]. *J Thromb Haemost*, 2010, 8(2): 331-340.
- [28] 王婕, 林成仁, 王敏. 中药对血小板功能影响的研究进展[J]. *北京中医药*, 2008, 27(11): 893-896.
- [29] Varga-Szabo D, Braun A, Nieswandt B. Calcium signaling in platelets[J]. *J Thromb Haemost*, 2009, 7(7): 1057-1066.
- [30] Wu H, Li J, Sheng R, et al. Synthesis of a series of glycine derivatives ligustrazine-aromatic acid and their inhibitory effects on platelet aggregation[J]. *J Pharm Pharmacol*, 2011, 8: 5.
- [31] Springer TA, Dustin ML. Integrin inside-out signaling and the immunological synapse[J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2012, 24(1): 107-115.
- [32] Legate KR, Wickström SA, Fässler R. Genetic and cell biological analysis of integrin outside-in signaling[J]. *Genes Dev*, 2009, 23(4): 397-418.
- [33] Bledzka K, Smyth SS, Plow EF. Integrin $\alpha_{IIb}\beta_3$ From Discovery to Efficacious Therapeutic Target [J]. *Circ Res*, 2013, 112(8): 1189-1200.
- [34] 汤喜兰, 刘建勋, 李磊. 中药有机酸类成分的药理作用及在心血管疾病的应用[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2012, 18(5): 243-243.
- [35] Théorêt JF, Yacoub D, Hachem A, et al. P-selectin ligation induces platelet activation and enhances microaggregate and thrombus formation [J]. *Thromb Res*, 2011, 128(3): 243-250.
- [36] Japp AG, Chelliah R, Tattersall L, et al. Effect of PSI-697, a novel P-selectin inhibitor, on platelet monocyte aggregate formation in humans[J]. *J Am Heart Assoc*, 2013, 2(1): doi: 10.1161/JAHA.112.006007.

(编辑: 梁进权)

代谢组学在中药毒理学研究中的应用

黄 群, 杨改红, 袁金斌, 杨武亮, 陈海芳, 严志宏 (江西中医药大学现代中药制剂教育部重点实验室, 江西南昌 330004)

摘要: 代谢组学是近年来发展起来的用于研究生物体系受外部刺激所产生的所有代谢产物变化的一门新兴技术。由于其具有与中医理论整体观类似的特点, 并可根据代谢物组的图谱变化发现生物标志物, 阐明中药毒性的整体效应, 近几年代谢组学方法在中药毒理学研究中广泛应用。本文综述代谢组学在中药单味和配伍的毒理学研究以及中药毒性成分研究的进展。

关键词: 代谢组学; 中药毒性; 中药毒理学; 安全性评价

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2014)03-0383-06

收稿日期: 2013-09-23

作者简介: 黄群, 女, 硕士研究生, 研究方向: 中药物质基础与质量控制。Email: huangqun0126@163.com。通讯作者: 袁金斌, 理学博士, 副教授, 研究方向: 中药物质基础与质量控制。Email: kings2008@163.com。

基金项目: 国家自然科学基金(81060326); 江西省教育厅科研项目(GJJ09277)。