

doi: 10.3969/j.issn.1009-6469.2020.01.018

◇ 综述 ◇

## 抗血小板治疗的研究进展

熊亚楠

作者单位:江苏省连云港中医药高等职业技术学校,江苏 连云港 222007

**摘要:**临床上常用的抗血小板药作用机制都包括一定的抗血栓治疗效果,但都具有内在出血风险,严重的会导致心血管不良事件甚至是死亡。最新临床前研究发现抑制磷酸化磷脂酰肌醇激酶(PI3K $\beta$ )、蛋白质二硫键异构酶、血小板表面膜糖蛋白 II b/III a (Platelet glycoprotein II b/III a, GP II b/III a) 外向信号传导、蛋白酶活化受体和血小板膜糖蛋白 VI(GPVI)介导的黏附途径等,可以抑制血栓同时保持止血,这可能带来更有效,更安全的抗血小板治疗方法。

**关键词:**血小板聚集抑制剂; 蛋白质二硫化物异构酶类; 血小板膜糖蛋白 II b/III a; 整合素  $\beta$ 3; 磷酸化磷脂酰肌醇激酶; 受体 PAR-1; 阿司匹林; 环氧酶 1; 嘌呤能 P2Y 受体拮抗剂; 综述

## Research progress of the antiplatelet therapy

XIONG Yanan

Author Affiliation: Lianyungang Higher Technical College of Traditional Chinese Medicine, Lianyungang, Jiangsu 222007, China

**Abstract:** The antiplatelet drugs commonly used in clinical have certain antithrombotic effects, but all carry an inherent risk of bleeding, which is associated with serious cardiovascular adverse events or even death. Recent preclinical studies have found that inhibiting phosphatidylinositol 3-kinase- $\beta$ (PI3K $\beta$ ), protein disulfide-isomerase, GP II b/III a outside-in signalling, protease-activated receptors and platelet GPVI-mediated adhesion pathways can inhibit thrombosis while maintaining haemostasis at the same time, which may lead to more effective and safer treatment method.

**Key words:** Platelet aggregation inhibitors; Protein disulfide-isomerases; Platelet membrane glycoprotein II b/III a; Integrin beta 3; Phosphatidylinositol 3-kinases  $\beta$ ; Receptor PAR-1; Aspirin; Cyclooxygenase 1; Purinergic P2Y receptor antagonists; Review

动脉血栓,主要表现为心肌梗死(MI)和缺血性中风等心脑血管疾病,每年导致全球 1400 万人死亡,是全球死亡和致残的主要原因。在不久的将来,随着糖尿病和肥胖症的流行,预计由动脉血栓引发疾病的人数仍会大幅增长<sup>[1]</sup>。由于血小板在介导动脉血栓形成中起了关键的作用,抗血小板药物是用于预防和治疗动脉血栓形成的重要措施之一。本研究对目前可用的抗血小板药物作用机制及其应用进行概述,重点是防止出血等并发症,希望为临床前和临床开发中提供新的治疗策略。

### 1 体内血栓形成机制及其异质性

病理性动脉血栓形成的诱因通常是动脉粥样硬化斑块的破裂或内皮层急性侵蚀。内皮下基质蛋白因子,如血管性血友病因子(vWF)和胶原暴露出来,vWF 结合胶原蛋白,并暴露出血小板糖蛋白(GP)Ib-IX-V 复合物的多个结合位点。在动脉切变力下,血小板的黏附是由 GP Ib 和 vWF 的相互作用介导的,这使得血小板膜糖蛋白 VI(GPVI)能够与胶

原蛋白结合,进而导致血小板活化和可溶性激动剂二磷酸腺苷(ADP),血栓素 A2(thromboxane A2, TxA2)和凝血酶的释放<sup>[2]</sup>。可溶性激动剂分别作用在 P2Y 嘌呤受体 1 和 12(P2Y<sub>1</sub>, P2Y<sub>12</sub>),血栓素和蛋白酶激活受体上,以产生细胞内信号激活血小板黏附受体—GP II b/III a,使其构象发生改变。活化的 GP II b/III a 将构象从静息低亲和状态改变为高亲和力的状态,以结合可溶性血浆蛋白,包括 vWF、纤连蛋白和主要的 GP II b/III a 纤维蛋白原配体,结合纤维蛋白原的 GP II b/III a 充当血小板聚集的桥梁,从而使得血小板稳定聚集并促进血栓形成。ADP 和 TxA2 等可溶性激动剂的释放加固了新生血小板血栓。凝血酶的生成是由斑块中组织因子的释放引起的,增强血小板的激活并激活凝血,形成稳定血小板血栓的纤维蛋白网络。

在血管内皮损伤部位,生长的血栓由两个区域组成:止血栓和增生血栓。止血栓的形成取决于可溶性激动剂例如凝血酶,ADP 和血栓素 A2 的释放。

止血栓由高度活化的血小板组成和丰富的纤维蛋白组成。相反,增生的血小板血栓由低活化状态的血小板组成,生长血栓区域受磷脂酰肌醇 3-激酶- $\beta$  (PI3K $\beta$ ), GP II b/III a 外部信号传导以及蛋白质二硫键异构酶(PDI)的激活来调控<sup>[3]</sup>。血小板活化可发生在血流受到扰动的区域,这与 PI3K $\beta$  信号传导密切相关,而在这些区域形成稳定的血小板聚集体则依赖 GP II b/III a。血小板源性 PDI 在调节血小板聚集方面具有重要作用,但并非作用于血小板黏附的初始阶段,因而它不影响正常的止血过程<sup>[4]</sup>。抑制调节血栓增殖的因子似乎可以防止血栓闭塞,同时保持正常止血。

这些进展显示血栓和止血反应有重要的差异,可以在治疗上加以利用。选择性靶向治疗血栓形成过程中血小板聚集的过程,而不是止血所需血小板黏附的初始阶段,可能会发展成为抗血小板的有效策略,而不会增加出血的风险。

## 2 现代抗血小板治疗

抗血小板药物是用于急性冠脉综合征(ACS)病人,冠状动脉疾病稳定的病人,以及接受血管重建的病人,如经皮冠状动脉介入治疗(PCI)等病人的重要治疗措施。目前临床单独或联合使用的四大类药物有:环氧酶 1 (COX1;也被称为 PTGS1)抑制剂(阿司匹林), ADP P2Y<sub>12</sub> 受体抑制剂(氯吡格雷 clopidogrel, 普拉格雷 prasugrel, 替卡格雷 ticagrelor, 坎格瑞洛 cangrelor), PAR<sub>1</sub> 拮抗剂(沃拉帕沙 vorapaxar), GP II b/III a 抑制剂(阿昔单抗 abciximab, 依替巴肽 eptifibatide, 替罗非班 tirofiban)。西洛他唑是目前仅获得 FDA 批准用于治疗周围血管疾病的一种抑制磷酸二酯酶的抗血小板药物。

**2.1 环氧酶 I (COX-1) 抑制剂** 阿司匹林是最为经典的 COX-1 抑制剂,通过不可逆抑制 COX1 阻断 TxA<sub>2</sub> 的产生,从而抑制 TxA<sub>2</sub> 诱导的血小板活化和聚集。目前已成为抗血小板治疗中研究和临床应用最为广泛的抗血小板药物,使用较低剂量的阿司匹林(75 ~ 100 mg / d)能够获得临床最大收益,较高剂量阿司匹林不仅增加出血的风险,且不能改善心肌缺血的症状<sup>[5]</sup>。

**2.2 P2Y<sub>12</sub>-受体拮抗剂** P2Y<sub>1</sub> 及 P2Y<sub>12</sub> 是 ADP 受体的两个主要的亚型,它们共同参与了人体 ADP 的信息传导过程。在 ADP 刺激下, P2Y<sub>12</sub> 受体在调节血小板黏附受体 GP II b/III a 的持续激活中起重要作用,如诱导血小板的聚集、参与血小板及血栓素 A<sub>2</sub> 的释放等,但由于 P2Y<sub>12</sub> 仅在血小板膜和脑细胞中表达,因而更具有组织选择性。P2Y<sub>12</sub> 抑制剂包括

两类药物:噻吩嘧啶(氯吡格雷 clopidogrel、普拉格雷 prasugrel)以及核苷-核苷酸衍生物(替卡格雷 ticagrelor 和坎格瑞洛 cangrelor)。

噻吩嘧啶是口服前药,并通过血浆酯酶或肝细胞色素 P450 (CYP450) 转化为活性代谢物,该活性代谢物不可逆地抑制 P2Y<sub>12</sub> 受体。与氯吡格雷相比,普拉格雷的体内生物利用度更大,抗血小板作用更强,个体间的差异更小。

核苷-核苷酸拮抗剂是 P2Y<sub>12</sub> 受体的直接作用抑制剂,不需要 CYP450 介导激活。替卡格雷是一种口服的、直接作用的 P2Y<sub>12</sub> 拮抗剂,已在大规模、随机、对照试验中进行了评估。它不需要代谢激活,比氯吡格雷更快速、更有效和更可预测的达到抗血小板效果。坎格瑞洛是另一种直接作用的可逆性竞争 P2Y<sub>12</sub> 受体拮抗剂,且是唯一的静脉注射 P2Y<sub>12</sub> 受体抑制剂。它已经得到了 FDA 和欧洲药物管理局(EMA)的批准,并具有快速的作用和极短的半衰期(3-6 分钟),从而使血小板功能迅速恢复。坎格瑞洛可以实现迅速起效和消除对 P2Y<sub>12</sub> 的抑制作用,例如需要紧急 PCI 的 ACS 病人或需要在手术前需要双联抗血小板治疗(DAPT)桥接的 ACS 病人<sup>[6]</sup>。

**2.3 PAR 抗体** 蛋白凝血酶在凝血中起着重要的作用,在动脉粥样硬化病变中具有很高的活性<sup>[7]</sup>。凝血酶作用人血小板反应主要通过两个 G 蛋白耦合的部分 PARs 介导: PAR<sub>1</sub> 和 PAR<sub>4</sub>。PAR<sub>1</sub> 拮抗剂沃拉帕沙(vorapaxar)经 FDA 批准用于治疗减少患有 MI 或外周血管疾病的缺血性的病人。然而,沃拉帕沙与标准的抗血小板药物联用,对 ACS 的治疗没有太大作用。在 TRA-2P-TIMI50 和 TRACER<sup>[8]</sup> 试验中,病人加入沃拉帕沙显著提高了出血率,特别是颅内出血率。此外,颅内出血的发生率在缺血性卒中病史中尤其明显。出于安全性的考虑,限制了沃拉帕沙在临床上的使用,并且该药物在卒中史、短暂性缺血发作或颅内出血的病人中是禁忌的。

目前正在开发一类新的 PAR<sub>1</sub> 拮抗剂,被称为 parmodulins,与抑制来自 PAR<sub>1</sub> 受体的所有下游信号传导的正体抑制剂如沃拉帕沙不同, parmodulins 选择性地阻断由 PAR<sub>1</sub> 介导的血小板和内皮细胞活化,而不抑制内皮细胞中的细胞保护性信号传导途径<sup>[9]</sup>。该化合物在小动物模型中显示出抗血栓作用,还未检测其对正常止血的作用。目前正在努力开发 parmodulin 化合物的口服生物利用度并改善其药理学特征<sup>[10]</sup>。

特异性靶向 PAR<sub>4</sub> 可产生很强的抗血栓效力,

对止血效果影响极小<sup>[11]</sup>。事实上,与PAR1相比,PAR4被认为参与血小板活化的后期阶段,并且在高浓度的凝血酶条件下介导血小板聚集体的稳定化。目前已经开发了一种新型的PAR4拮抗剂(BMS-986120),在非人灵长类动物中表现出类似于氯吡格雷的抗血栓形成效力,但对止血影响极小。BMS-986120目前正在进行I期临床试验的评估。

**2.4 GP II b/III a抑制剂** GP II b/III a是最丰富的血小板黏附受体,每个血小板表面大约有8万份。GP II b/III a的黏附功能对于稳定的血小板黏附和聚集至关重要,GP II b/III a先天缺陷导致格兰茨曼血小板无力症,可以增加出血倾向。GP II b/III a抑制剂是一种能阻止纤维蛋白原与活化血小板结合的配体模拟分子,从而直接抑制其聚集。目前有三种药物正在使用:阿昔单抗(abciximab),一种小鼠单克隆抗体的人源化抗原结合片段;依替巴肽(eptifibatid),在GP II b/III a中,一种具有赖氨酸-甘氨酸-天冬氨酸(KGD)基序的环状七肽,它模仿纤维蛋白原结合GP II b/III a的序列。替罗非班(tirofiban),一种非肽类小分子同样模仿纤维蛋白原结合位点。这些药物在20世纪90年代中期首次上市,广泛应用于ACS病人和PCI病人。因此,GP II b/III a抑制剂的临床优点似乎仅限于特定的高危亚群,例如在未给予P2Y12拮抗剂的心肌梗死的PCI病人。虽然GP II b/III a抑制剂是有效的抗血栓药物,但它们会导致多达50%的病人出现出血并发症。由于它阻碍了所有循环血小板的产生,增加了出血风险。现在临床应用的GP II b/III a配体模拟抑制剂,与GP II b/III a结合后可以诱导其构象变化,从而可能导致严重的血小板减少和反常的血小板活化。

RUC-4,一种小分子整合素 $\alpha$  II b $\beta$ 3抑制剂,是目前可用的替代品,RUC-4与整合素 $\beta$ 亚基上的金属离子结合位点结合,从而抑制配体结合<sup>[12]</sup>。与其他GP II b/III a抑制剂不同,RUC-4不诱导GP II b/III a的构象变化或反常的血小板激活。此外,在临床前研究中,RUC-4具有高的抗血栓功效,且适合于肌内注射。然而,RUC-4抑制未激活的GP II b/III a,并且因此抑制所有循环血小板。该制剂的出血风险情况尚未确定。

针对GP II b/III a的进一步研究涉及到对整合素早期阶段的信号转导的特异性抑制。纤维蛋白原与GP II b/III a的结合通常会引起细胞内信号的连锁反应,从而支撑血小板的传播、颗粒的分泌和凝块的收缩。实验证据表明,选择性抑制 $\beta$ <sub>3</sub>亚基的胞内结构域和G $\alpha$ <sub>13</sub>与肉豆蔻酰化肽ExE肽基序(mP<sub>6</sub>)之

间的相互作用就可以选择性地抑制GP II b/III a外部信号传导。这种方法似乎并不妨碍最初的血小板黏附或初级聚集,但可防止体内闭塞性血栓形成而不影响止血<sup>[13]</sup>。因此,靶向整合素信号传导是一种有前途的方法,将GP II b/III a的促血栓形成和止血功能进行分离。

### 3 新型血栓形成调节剂

**3.1 PI3K $\beta$ 抑制剂** PI3K是脂质激酶家族,其中 $\beta$ -异构体已经证明对血小板受体下游信号通路非常重要,如GPIb、P2Y12,GP II b/III a。PI3K $\beta$ 在剪切应力下稳定血小板黏附有着重要作用。因此,在临床前模型,PI3K $\beta$ 缺乏小鼠免受动脉血栓,且没有增加出血时间。AZD6482具有温和的抗血小板作用和抑制血小板聚集的作用,另一项研究表明,在健康志愿者中使用PI3K $\beta$ 抑制剂AZD6482,与阿司匹林联合,证明体外血小板抑制能力比阿司匹林和氯吡格雷联用效果好<sup>[14]</sup>。实验工作证明,用AZD6482来抑制PI3K $\beta$ ,可以抑制血小板的募集以形成血栓,但可能导致血栓发展成为栓塞<sup>[15]</sup>。这种效应是否导致下游栓塞和微循环的闭塞还未研究。考虑到AZD6482只能在静脉内注射,而且半衰期很短,因此正在进行进一步的工作,以改善它的药动学特征和对PI3K $\beta$ 的选择性。该制剂准备进行进一步的临床试验。

**3.2 PDI抑制剂** 基于蛋白质二硫键异构酶(PDI)在调节血栓形成中的作用,人们把PDI作为新型抗血栓靶标。临床前数据表明,抑制PDI可抑制血管损伤部位的血小板聚集和纤维蛋白形成。槲皮素类黄酮是PDI的抑制剂,这些化合物存在于多数的水果和蔬菜。PDI抑制剂如异槲皮素具有公认的安全性特征,且该化合物在降低静脉血栓形成速率方面的功效显著,目前正在癌症病人的II-III期临床试验中进行测试。PDI抑制剂ML359比槲皮素更具选择性和有效性,其抗血栓作用还需进一步测试<sup>[16]</sup>。PDI抑制剂作为心血管疾病治疗策略,特别是与出血相关的治疗风险仍然有待确立。

**3.3 GPVI和胶原蛋白之间的相互作用** 血小板膜糖蛋白VI(GPVI)是通过胶原蛋白来调节血小板活性的主要受体。GPVI与暴露的胶原结合导致GPVI的交联,促进释放可溶激动剂如TxA<sub>2</sub>、ADP的释放和GP II b/III a的激活而导致血小板活化。虽然GPVI对胶原蛋白作用血小板的反应至关重要,但GPVI缺乏的病人通常只有轻微的出血表型。GPVI对止血作用不太重要的原因尚不清楚,但可能是由于其他血小板激动剂,尤其是凝血酶,提供了充分的

补偿激活。与此相反,在动脉血栓临床前模型中,GPVI缺乏或被抗体阻断可以预防动脉血栓形成。

这些观察结果表明GPVI是血小板特异性的,这种蛋白质的药理学拮抗作用具备有效的抗血栓作用和最小的出血风险。目前,针对GPVI通路以开发出的两种策略,第一种基于小鼠单克隆抗体的抗原结合片段,称为9O12.2,其以高亲和力结合和阻断GPVI的胶原结合位点。这种方法在血栓形成的临床前模型中具有明显的抗血栓形成功效,并可以维持正常止血功能。9O12.2的人源化单链抗体(scFv)准备进入早期临床试验。第二种抗GPVI试剂revacept由人免疫球蛋白G1(IgG1)的片段可结晶(Fc)区域融合的GPVI的胞外域的重组二聚体形式组成。在I期试验中,revacept无副作用,并有效抑制胶原蛋白诱导的人血小板体外聚集。目前进行II临床研究,以评估revacept与阿司匹林联用对于颈动脉狭窄,短暂性脑缺血发作,黑质瘤或中风病人的效果。这种可溶性的GPVI模拟物被认为是一种血管涂层,它与血小板GPVI相竞争来结合胶原蛋白。这种治疗方法似乎特别有效地抑制了血流动力学条件下体外动脉粥样硬化斑块上的血小板聚集,表明revacept在动脉粥样硬化斑块破裂部位可以维持强效抗血栓作用<sup>[17]</sup>。

#### 4 结论

目前抗血小板药物的优点毋庸置疑,但出血风险的增加大大限制了它们的使用。过去十年进行的研究使人们对血栓形成和止血的分子机制有了更深入的了解,最重要的是两者之间机制的差异。在临床前动物模型中已经出现了各种新的抗血栓形成策略。现在,有选择性地抑制病理血栓形成而不阻碍止血的抗血小板策略已经出现。这些新疗法将如何适应目前的抗血小板治疗模式,以及它们是否能在临床中实现更安全的联合抗血小板治疗仍然有待确定。然而,随着对血栓形成和止血的持续研究,新抗血小板药物开发的进入了新纪元,有望为越来越多的病人提供更为安全和有效的治疗。

#### 参考文献

- [1] GLOBAL, regional, and national age-sex specific mortality for 264 causes of death, 1980—2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016 [J]. *Lancet*, 2017, 390 (10100): 1151-1210.
- [2] MCFADYEN JD, JACKSON SP. Differentiating haemostasis from thrombosis for therapeutic benefit [J]. *Thrombosis & Haemostasis*, 2013, 110(5): 859-867.
- [3] STALKER TJ, TRAXLER EA, WU J, et al. Hierarchical organization in the hemostatic response and its relationship to the platelet-signaling network [J]. *Blood*, 2013, 121(10): 1875-1885.
- [4] KIM K, HAHM E, LI J, et al. Platelet protein disulfide isomerase is required for thrombus formation but not for hemostasis in mice [J]. *Blood*, 2013, 122(6): 1052-1061.
- [5] 胡章海. 抗血栓药物的临床应用研究进展 [J]. *安徽医药*, 2017, 21(5): 785-788.
- [6] BHATT DL, STONE GW, MAHAFFEY KW, et al. Effect of platelet inhibition with cangrelor during PCI on ischemic events [J]. *N Engl J Med*, 2013, 368(14): 1303-1313.
- [7] KALZ J, TEN CH, SPRONK HM. Thrombin generation and atherosclerosis [J]. *Journal of Thrombosis & Thrombolysis*, 2014, 37(1): 45-55.
- [8] TRICOCI P, HUANG Z, HELD C, et al. Thrombin-receptor antagonist vorapaxar in acute coronary syndromes [J]. *N Engl J Med*, 2012, 366(1): 20-33.
- [9] AISIKU O, PETERS CG, DE CEUNYNCK K, et al. Parnodulins inhibit thrombus formation without inducing endothelial injury caused by vorapaxar [J]. *Blood*, 2015, 125(12): 1976-1985.
- [10] FLAUMENHAFT R, DE CEUNYNCK K. Targeting PAR1: now what? [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2017, 38(8): 701-716.
- [11] WONG PC, SEIFFERT D, BIRD JE, et al. Blockade of protease-activated receptor-4 (PAR4) provides robust antithrombotic activity with low bleeding [J]. *Science Translational Medicine*, 2017, 9(371): 5294.
- [12] LI J, VOOTUKURI S, SHANG Y, et al. RUC-4: a novel alpha iib beta 3 antagonist for prehospital therapy of myocardial infarction [J]. *Arteriosclerosis Thrombosis & Vascular Biology*, 2014, 34(10): 2321-2329.
- [13] SHEN B, ZHAO X, O'BRIEN KA, et al. A directional switch of integrin signalling and a new anti-thrombotic strategy [J]. *Nature*, 2013, 503(7474): 131-135.
- [14] NYLANDER S, WÄGBERG F, ANDERSSON M, et al. Exploration of efficacy and bleeding with combined phosphoinositide 3-kinase  $\beta$  inhibition and aspirin in man [J]. *Journal of Thrombosis & Haemostasis*, 2015, 13(8): 1494-1502.
- [15] LAURENT PA, SÉVERIN S, HECHLER B, et al. Platelet PI3K $\beta$  and GSK3 regulate thrombus stability at a high shear rate [J]. *Blood*, 2015, 125(5): 881-888.
- [16] FLAUMENHAFT R, FURIE B, ZWICKER JL. Therapeutic implications of protein disulfide isomerase inhibition in thrombotic disease [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2015, 35(1): 16-23.
- [17] JAMASBI J, MEGENS R T, BIANCHINI M, et al. Differential inhibition of human atherosclerotic plaque-induced platelet activation by dimeric GPVI-Fc and anti-GPVI antibodies: functional and imaging studies [J]. *Journal of the American College of Cardiology*, 2015, 65(22): 2404-2415.

(收稿日期:2018-03-29,修回日期:2018-11-07)