• 系統編號	RC8706-0329		
• 計畫中文名稱	敗血症引起血小板減少之機轉探討及其治療方法之研究		
• 計畫英文名稱	Mechanisms Involved in the Antiplatelet Activity of Escherichia coli Lipopolysaccharide in Human Platelets		
• 主管機關	行政院國家科學委員會	• 計畫編號	NSC86-2314-B038-015
• 執行機構	台北醫學院醫學研究所		
• 本期期間	8508 ~ 8607		
• 報告頁數	0 頁	• 使用語言	英文
• 研究人員	許準榕 Hsh, Joen-Rong		
• 中文關鍵字	敗血症；血小板；血小板減少症；脂多醣		
• 英文關鍵字	Sepsis；Platelet；Thrombocytopenia；Lipopolysaccharide (LPS)		
• 中文摘要	在本研究中發現,在人類的血小皮懸浮液中,LPS(100-300.mu.g/ml)會以 Dose-dependent 的方式抑制由 Collagen(5.mu.g/ml);Thrombin (0.5U/ml) ,U46619(1.mu.M)及 ADP(20.mu.M)所引起的血小板凝集反應;其 IC/sub 50/分別爲 499.0、248.1、239.5 和 310.4(.mu.g/ml);且此抑制反應亦呈現出 Time- dependent(10-60 分鐘)的關係。如在 200.mu.g/ml 濃度下,LPS 隨著和血小板混合的時間增長而抑制活性增加。不論加入何種活化劑(如 Collagen、Thrombin、U46619 和 ADP 等),LPS 都呈現出這種 Time-dependent 的抑制活性。進一步研究其機轉發現,LPS 的抑制活性並不是因爲作用在血小板細胞膜上的醣蛋白受體 IIb/IIIa(Glycoprotein IIb/IIIa complex)上;另一方面,LPS(200 和 300.mu.g/ml)可以明顯抑制 Collagen(5.mu.g/ml)所引起的 Phosphoinositide breakdown 的作用,使得 Inositol monophosphate 的形成減少;接著我們亦發現 LPS(100-300.mu.g/ml)可以明顯抑制在 Fura 2-AM 標定的血小板懸浮液中,由 Collagen 所引起的細胞內鈣離子增加;另外,LPS(100-300.mu.g/ml)不會影響細胞內 Thromboxane A/sub 2/以及 Cyclic-AMP 的合成,但會 Dose-dependent 的增加細胞內 Cyclic-GMP 的含量;LPS 會 Dose-dependent(100-300.mu.g/ml)的降低細胞膜的流動性(Fluidity)。評估 LPS 對/sup 32/PO/sub 4/標定的血小板內 Protein kinase C 的抑制活性。結果顯示當 PDBu 在低濃度時(30nM),可促進 47kDa 蛋白質磷酸化;當濃度高於 50nM,則可達最大的磷酸化反應;在同樣的條件下, LPS(200.mu.g/ml)本身並不會引起 47kDa 蛋白質的磷酸化;但若 LPS(200 和 300.mu.g/ml)與血小板懸浮液充分反應 30 分鐘,則可明顯的抑制約 50%PDBu(50nM)所引起的磷酸化反應。綜合上述的實驗結果,可歸納出兩點有關 LPS 對血小板的抑制活性機轉:(1)首先 LPS 干擾血小板細胞膜的流動性,間接影響了嵌在細胞膜上的 Phospholipase C(PLC)的活性;(2)另一方面,LPS 亦能活化血小板內的 NO synthase(NOS),造成 NO 的產量上升,而 NO 再活化了 Guanylate cyclase,使得血小板內 Cyclic-GMP 的含量增加。		

- 英文摘要

In this study, Escherichia coli LPS dose-dependently (100-300.mu.g/mL) and time-dependently (10-60 min) inhibited platelet aggregation in human platelets stimulated by agonists. LPS also dose-dependently inhibited the phosphoinositide breakdown and the intracellular Ca/sup +2/ mobilization in human platelets stimulated by collagen. Moreover, LPS (100-300.mu.g/mL) dose-dependently decreased the fluorescence of platelet membranes tagged with diphenylhexatrience. In addition, LPS (200 and 300.mu.g/mL) significantly increased the formation of cyclic GMP but not cyclic AMP or thromboxane A/sub 2/ in platelets. LPS (200.mu.g/mL) also significantly increased the production of nitrate within a 30-min incubation period. Rapid phosphorylation of a platelet protein of Mr. 47,000, a marker of protein kinase C activation, was triggered by PDBu (50nmol/L). This phosphorylation was markedly inhibited by LPS (200.mu.g/mL) within a 30-min incubation period. These results indicate that the antiplatelet activity of LPS may be involved in two important pathways. (1) LPS may be due to the induction of conformational changes in the platelet membrane, leading to change in the activity of phospholipase C. (2) LPS also activated the formation of NO/cyclic GMP in human platelets, resulting in inhibition of platelet aggregation. Therefore, LPS-mediated alteration of platelet function may contribute to bleeding diathesis in septicemic and endotoxemic patients.