

## • 综述 •

## 活化蛋白 C 的生物学活性及其作用机制研究进展

武子霞(综述) 李银平 姚咏明(审校)

【关键词】 活化蛋白 C; 脓毒症; 生物学活性; 研究进展

蛋白 C(PC)系统是维持机体内环境稳定的重要天然抗凝体系,其活性的发挥主要以活化蛋白 C(APC)为主。近年来大量动物及临床研究证实,APC 及其激活异常与脓毒症、弥散性血管内凝血(DIC)、深静脉血栓形成、暴发性紫癜等多种疾病的发生发展密切相关。APC 不仅调控机体的凝血及纤溶平衡,而且通过抗炎、抗凋亡机制,保护内皮细胞、改善微循环、减缓器官功能障碍,参与多种疾病的病理生理过程。APC 作用机制研究的进一步深入,可能为防治这些疾病开辟新的途径。

## 1 PC 系统的组成及生理特性

1.1 PC 的生理特性:PC 是肝脏合成的维生素 K 依赖性糖蛋白,属丝氨酸蛋白酶家族成员。蛋白分子由 1 条轻链和 1 条重链经单一二硫键连接而成,分子量 62 ku,轻链有 155 个氨基酸残基,包含 1 个维生素 K 依赖性  $\gamma$ -羧基谷氨酸(Gla)区和 2 个表皮生长因子(EGF)样片段;重链有 304 个氨基酸残基,包含 1 个丝氨酸蛋白酶(SP)调节子。人类 PC 基因位于 2q13-14,基因 DNA 全长 11 kb,含 9 个外显子。PC 肝脏合成,以酶原形式分泌到血浆。在凝血酶-血栓调节蛋白(T-TM)复合物作用下,PC 发生酶解反应,其重链氨基端精氨酸-异亮氨酸键断裂,脱下 1 个包含 12 个氨基酸残基的激活肽,暴露丝氨酸水解酶活性中心,成为 APC。有资料显示,循环 APC 水平依赖体内 PC 的水平及凝血酶浓度,APC 的量与凝血酶和 PC 浓度呈正相关<sup>[1]</sup>。APC 与内皮细胞蛋白 C 受体

(EPCR)结合而发挥生物学功能,EPCR 不仅增强 T-TM 复合物对 PC 的激活作用,还介导 APC 的抗炎、抗凋亡及其他细胞活性。

1.2 蛋白 S(PS)的生理特性:PS 是 APC 发挥抗凝作用的重要辅助因子,是肝脏合成维生素 K 依赖性单链糖蛋白,由 634 个氨基酸残基组成,包含 1 个谷氨酸区、1 个凝血酶敏感区和 4 个 EGF 区,分子内部含多个二硫键,分子量 69 ku。人类 PS 基因位于 3p11.1-11.2,基因 DNA 全长 80 kb,含 15 个外显子。PS 在血浆以游离型(FPS)和结合型两种形式存在,二者通过不同途径发挥其生物学活性。FPS 是 APC 抗凝的重要辅助因子,通过促进 APC 与磷脂结合,可解除 F<sub>Xa</sub> 对 F<sub>Va</sub>、F<sub>VIIIa</sub> 的保护作用,同时增强 APC 对 F<sub>Va</sub>、F<sub>VIIIa</sub> 的灭活效率。新近研究指出,PS 可以解除 F<sub>Xa</sub> 对 F<sub>Va</sub> Arg506 的保护作用,同时还可加强 APC 对 F<sub>Va</sub> Arg306 的裂解活性<sup>[2]</sup>。结合型 PS 与补体 C4b 结合蛋白  $\beta$  链相结合后形成 C4b 结合蛋白  $\beta$ -PS 复合物,刺激吞噬细胞的吞噬功能,并调节补体系统。

1.3 血栓调节素(thrombomodulin, TM)的生理特性:TM 是位于内皮细胞上的跨膜糖蛋白,对凝血酶激活 PC 起重要辅助作用,成熟的单链 TM 包含 557 个氨基酸残基,分子量 60 ku,含有多个结构域,主要包括 1 个氨基端的 C 型凝集素区和 6 个重复排列的 EGF 样结构区,EGF 样结构区在 PC 活化过程中起了决定性作用。人类 TM 基因位于 20 号染色体(20p11.2)短臂上,其 mRNA 基因全长 3.7 kb,其中编码区为 1.7 kb。研究发现,TM 在凝血过程中具有抗凝和抗纤溶双相作用,TM 与凝血酶具有高度亲和力,二者形成复合物后,凝血酶的促凝活性转化为抗凝活性,可大幅度提高凝血酶激活 PC 的效率;同时,TM 可加速血浆中凝血酶激活纤溶抑制物(TAFI)的活化而抑制纤溶反应。研究证实,TM 通过不同结构域发挥以

上功能。EGF4~6 与激活 PC 密切相关,PC、凝血酶分别结合于 EGF4、EGF5 和 EGF6 区,而 TM 对 TAFI 的激活需要 EGF3 区。另外,PC 与 TAFI 相互竞争性抑制与 TM 的结合。TM 的表达受多种因素影响,肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、内毒素等可下调内皮细胞 TM mRNA 的表达,而凝血酶则上调 TM mRNA 转录。内皮细胞受损后或一些炎症介质能促使 TM 从血管内皮细胞脱落入血,成为可溶性 TM(sTM),血浆 sTM 浓度与内皮细胞的损伤密切相关,因此,sTM 已经成为血管内皮细胞损伤的重要标志物之一。

1.4 EPCR 的生理特性:EPCR 是 PC 系统的新成员,可以介导 APC 发挥多种生物学效应。EPCR 属 I 型跨膜蛋白,与 CD1/1 类主要组织相容性复合物(MHC)有高度同源性,参与抗原呈递、激活 PC。人类成熟 EPCR 含有 221 个氨基酸残基,分子量 46 ku;人类 EPCR 基因位于 20 号染色体(20q11.2)长臂,基因组全长 6 kb,包含 3 个内显子和 4 个外显子。EPCR 有两种存在形式:结合型 EPCR 主要表达在大血管内皮细胞表面,在动脉、静脉、毛细血管中表达递减,在人肺泡上皮细胞、单核/巨噬细胞和中性粒细胞(PMN)上也有表达;游离型 EPCR(sEPCR)存在于血浆中。两型 EPCR 对 PC/APC 具有相同的亲和力,但介导 PC/APC 发挥不同的生物学效应;sEPCR 可显著抑制 PC 活化及 APC 的抗凝活性<sup>[3]</sup>,而结合型 EPCR 可增强 PC/APC 的生物学活性。结合型 EPCR 可将 PC 呈递给 T-TM 复合物,与 TM 协同作用,提高 PC 的活化效率。据报道,EPCR 转基因型鼠腹腔注射内毒素后,血浆 APC 水平明显升高<sup>[4]</sup>。结合型 EPCR 与 APC 结合后,在 APC 的抗炎及抗凋亡过程中发挥作用。EPCR 的表达受多种因素的影响,体外观察证明,TNF- $\alpha$  可显著降低内皮细胞 EPCR mRNA 表达<sup>[5]</sup>,呈时间-剂量依赖性。内毒素和凝血酶可上调 EPCR mRNA 转

作者单位:300193 天津中医药大学 2004 级硕士研究生(武子霞);300050 天津市天和医院(李银平);解放军总医院第一附属医院(原解放军第三〇四医院)全军烧伤研究所(姚咏明)

通讯作者:李银平,研究员,硕士生导师 (Email:cccm.23042150@yahoo.com.cn)

作者简介:武子霞(1980-),女(汉族),山西省人,医学硕士,医师。

录,与凝血酶内皮细胞接触后,可通过 sEPCR 结合蛋白酶-3 介导 EPCR 从细胞表面脱落成为 sEPCR 入血。

## 2 APC 的生物学活性

**2.1 抗凝作用:**1960 年 Mammen 等<sup>[6]</sup>首次报道了 PC 通路具有抗凝功能,在随后的研究中,通过多种不同动物制备各种血栓模型证实,APC 有抗凝活性且该抗凝特性具有种专一性。这是 PC 通路第一个被人类确知的功能,也是 APC 的特性之一。APC 主要依赖其丝氨酸蛋白酶活性发挥抗凝效应,在  $Ca^{2+}$  存在时,APC 通过酶解作用裂解 FVa、FVIIa 重链,降低其与磷脂的结合力,灭活 FVa 和 FVIIa 的生物学活性。同时,APC 限制 FXa 与血小板结合,FXa 是 FXa 与血小板结合的媒介,APC 灭活 FVa 后,使 FXa 与血小板的结合受到阻碍,最终减弱凝血酶原的激活,抑制凝血酶的产生。该抗凝功能的发挥需以血浆 FPS 和 FVa 作为辅助因子,PS 辅助 APC 裂解 FVa,而 APC 对 FVIIa 的灭活则需 PS、FVa 的共同辅助。近年来发现,APC 还可通过抑制 EPCR 依赖性组织因子的释放发挥其抗凝特性,已证实人类单核细胞白血病细胞簇中,APC 可抑制 EPCR 依赖性组织因子的产生<sup>[3]</sup>。APC 还具有促纤溶作用,通过抑制纤溶酶原激活抑制物-1(PAI-1)活性及阻止 TAFI 生成,进而诱导纤溶酶原激活物的释放,发挥促纤溶作用。已明确,严重脓毒症患者常见凝血-纤溶系统失衡,其程度与脓毒症病程及病死率密切相关。van Veen 等<sup>[7]</sup>通过观察 APC 腹腔灌洗对严重腹腔感染所致脓毒症动物模型的作用,认为 APC 通过调节凝血与纤溶之间的平衡,提高动物模型的存活率。

## 2.2 抗炎效应

**2.2.1 直接抗炎作用:**业已明确,APC 可直接抑制炎症反应,而不依赖于其抗凝特性。研究发现,APC 能直接抑制炎症介质的释放。通过研究 APC 对内毒素诱导单核细胞系 THP-1 的作用发现,APC 可降低单核细胞释放 TNF- $\alpha$ 、白细胞介素-1(IL-1)、IL-6、IL-8 等炎症细胞因子<sup>[8]</sup>,同时抑制巨噬细胞炎症蛋白-1 $\alpha$ (MIP-1 $\alpha$ )和巨噬细胞趋化因子-1(MCP-1)的释放<sup>[9]</sup>。另外,APC 通过 EPCR 依赖性方式发挥其抗炎特性。Sturn 等<sup>[10]</sup>证实,PMN 可表达 EPCR mRNA 及 EPCR 蛋白,APC 通过 EPCR

介导抑制单核细胞和 PMN 的趋化性;APC 与 EPCR 结合后,可下调 PMN 和嗜酸粒细胞的 CD11b/CD18 表达,阻止白细胞与内皮细胞间的相互作用<sup>[11]</sup>。另外,Kurosawa 等<sup>[12]</sup>研究认为,PC 与 sEPCR 结合形成的复合物与 PMN 相互作用,抑制炎症介质和内皮细胞黏附,阻止白细胞与内皮细胞相互作用。APC 可调节细胞信号转导通路及内皮细胞基因表达<sup>[13]</sup>。前炎症介质刺激后的内皮细胞经 APC 处理后,c-Fos、FosB 和 c-Rel 等转录因子表达受到抑制,同时炎症介质 IL-6 和 IL-8 以及细胞间黏附分子-1(ICAM-1)表达均下降<sup>[14]</sup>。Brueckmann 等<sup>[15]</sup>研究证实,APC 呈时间-剂量依赖性刺激人脐静脉内皮细胞趋化因子 fractalkine mRNA 转录,释放可溶性趋化因子 fractalkine。有研究显示,APC 还可以通过对内皮细胞核转录因子- $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)的影响,发挥抗炎效应。APC 作用于脓毒症患者外周血单核细胞后,发现 APC 可降低 NF- $\kappa$ B 活性并抑制 MIP-1 $\alpha$  释放,但 APC 对健康人的单核细胞 NF- $\kappa$ B 活性无明显影响<sup>[16]</sup>。Yuksel 等<sup>[17]</sup>也证实,APC 可抑制活化蛋白-1(AP-1)的活性和 NF- $\kappa$ B 核移位,抑制内毒素诱导单核细胞产生 TNF- $\alpha$ 、IL-1 等细胞因子。同时,APC 还抑制脂质过氧化反应和晚期糖基化终末产物(AGE)的形成。Yamaji 等<sup>[18]</sup>认为,APC 可能是通过独特的抗氧化作用,调节氧化应激,发挥抗炎及保护细胞的效应。

在动物实验中,Slofstra 等<sup>[19]</sup>观察吸入法给予内毒素诱导急性肺损伤(ALI)动物 APC 的作用,发现 APC 能剂量依赖性降低支气管肺泡灌洗液(BALF)中的炎症介质、减少肺泡腔的蛋白渗出,从而减轻肺部炎症,改善肺功能。在同样的动物模型中,Kotanidou 等<sup>[20]</sup>也发现,BALF 中 TNF- $\alpha$ 、IL-6、MIP-1 $\alpha$ 、细胞总数及 PMN 和巨噬细胞分类下降,蛋白质含量减少及肺血管细胞黏附分子-1(VCAM)-1 表达下降。Nick 等<sup>[21]</sup>给内毒素攻击致肺损伤动物静脉注射 APC,发现肺内炎症介质、炎症细胞趋化性显著降低,APC 通过抑制炎症细胞的聚集和迁移,减轻实验动物肺组织损伤。体内外研究证明,APC 通过下调促炎因子、趋化因子及黏附因子表达,抑制 PMN 激活,调节白细胞与内

皮细胞的黏附、移行,发挥直接抗炎效应。但近年一些应用治疗剂量 APC 研究其非抗凝活性时发现,APC 的抗炎特性可能不涉及炎症因子降低,而是通过降低白细胞趋化性及调节白细胞与内皮细胞间的相互作用而发挥作用,并且 APC 对白细胞的作用仅限于趋化性,对白细胞的其他功能如吞噬功能、氧化爆发等影响不明显<sup>[10,22,23]</sup>。

**2.2.2 间接抗炎作用:**APC 在发挥其抗凝活性的同时间接抑制了凝血酶的促炎效应,从而起到间接抗炎效应。凝血酶有较强的促炎作用,可直接诱导内皮细胞和巨噬细胞释放致炎因子,诱导内皮细胞活化因子激活 PMN,同时激活血管内皮细胞表达 P-选择素,引起 PMN 和单核细胞黏附。同时,APC 通过抑制凝血酶的生成,间接发挥其抗炎作用。

**2.3 细胞屏障保护作用:**体外观察表明,APC 对人内皮细胞屏障具有保护作用<sup>[24,25]</sup>。凝血酶通过激活蛋白酶活化受体-1(PAR-1)暂时性阻断内皮屏障作用<sup>[26]</sup>,用凝血酶刺激来源于不同血管床的人内皮细胞证实,APC 可抑制凝血酶诱导的内皮细胞屏障损伤。故认为 APC 的细胞屏障保护效应涉及到 EPCR 与 PAR-1 的相互作用;推测其与 1-磷酸神经鞘氨醇(S-1-P)通路及 Rho 激酶途径有关。新近证实 APC 通过 S-1-P 通路阻断凝血酶对内皮细胞屏障的破坏,保护内皮细胞屏障的完整性<sup>[27]</sup>,阻止白细胞向组织迁徙,保护器官功能。

**2.4 对内毒素血症动物模型微循环的保护作用:**Roback 等<sup>[28]</sup>在研究 APC 对脑膜炎球菌内毒素休克兔体循环影响时发现,尽管 APC 未能阻止平均动脉压下降及心率的增快,但动物死亡率明显下降,推测 APC 通过改善内毒素血症动物微循环,提高组织供氧,预防器官功能障碍发生,提高模型动物存活率。进一步研究证实,APC 能提高内毒素血症动物模型微循环的灌注,增加供氧量,动物预后显著改善,提示 APC 通过抑制白细胞与内皮细胞间的相互作用,阻断微循环灌注恶化<sup>[29,30]</sup>。Hoffmann 等<sup>[29]</sup>通过活体显微镜观察金仓鼠内毒素血症模型的背部皮肤发现,APC 能显著减少毛细血管前小动脉及毛细血管后微静脉内白细胞滚动及黏附。白细胞滚动及黏附主要依赖选择素家族的黏附分子,APC 通过下调白细胞与内皮细胞表面选择素的表达

而减少白细胞滚动,维持微循环的灌注。

**2.5 抗凋亡作用:**应用原始内皮细胞及内皮细胞样细胞株已证明 APC 具有抗凋亡作用。APC 可直接作用于细胞并改变细胞基因表达,而不依赖于其抗凝特性。APC 作用于人脐静脉内皮细胞后,通过阻断 NF- $\kappa$ B 调节途径,使凋亡相关基因表达受抑制,促炎反应信号通路相关基因表达下调,抗凋亡基因 mRNA 及其转录产物增加<sup>[13,31]</sup>。在局部缺血诱导人脑内皮细胞凋亡的实验中,APC 通过封闭 p53 基因表达及蛋白合成,调整 Bax/Bcl-2 表达的比率,降低半胱氨酸活性,从而发挥抗凋亡效应<sup>[32]</sup>。APC 抗凋亡活性与 EPCR 及 PAR-1 通路有关。Domotor 等<sup>[33]</sup>研究证实,APC 通过 EPCR 介导降解 PAR-1,减轻人脑内皮细胞中 Ca<sup>2+</sup> 内流而发挥抗凋亡作用。Stephenson 等<sup>[8]</sup>研究发现,APC 可呈剂量依赖性抑制喜树碱诱导单核细胞系 THP-1 凋亡,其抗凋亡效应依赖丝氨酸蛋白酶功能及 EPCR 与 PAR-1 信号通道的共同参与。大量资料显示,细胞凋亡在脓毒症及多器官功能障碍发生中起重要作用<sup>[34]</sup>。器官实质细胞及血管内皮细胞凋亡,增加器官功能障碍的危险性,而 APC 通过抗凋亡机制,提高细胞存活,保护血管和器官功能。

### 3 对抗缺血/再灌注(I/R)损伤

近年来研究证实,APC 对 I/R 组织具有保护作用。Mizutani 等<sup>[35]</sup>在肾 I/R 损伤模型中观察到,预防使用 APC 能有效减轻肾脏组织学改变及血管渗透性损伤,而使用 F $\kappa$ a 抑制剂及肝素无上述作用,因此推测 APC 可能通过直接抑制白细胞活性发挥其保护缺血肾组织的作用,而不依赖其抗凝活性。Schoots 等<sup>[36]</sup>在肠 I/R 损伤模型中证实,APC 在抗凝的同时可明显抑制炎症反应,与其他各组比较,APC 治疗组动物组织血管内血栓形成明显降低,同时,组织中 PMN 减少,推测 APC 通过抗炎和抗凝的联合作用保护 I/R 损伤的器官;且 APC 抑制 PMN 与内皮细胞黏附,下调中性粒细胞弹性蛋白酶(NE)及氧自由基释放,使血管通透性降低,减轻缺血所引起的肠道损害,保护肠道屏障功能。

### 4 PC 系统和严重脓毒症

脓毒症时,在 TNF- $\alpha$ 、IL-1 等炎症细胞因子刺激下,内皮细胞、单核细胞、巨噬细胞表达组织因子,激活凝血系

统,减少体内抗凝物质,最终导致微血管血栓形成、循环衰竭、休克甚至多器官功能障碍综合征。严重脓毒症发展过程中常见继发性 PC 缺乏。在观察重组人 APC(rhAPC)疗效的 I、II 期临床试验中,超过 85% 的患者出现 PC 水平降至生理水平以下,该结果与早期报道的脓毒症患者 PC 缺乏结果相符<sup>[37]</sup>。继发性 PC 缺乏的主要原因有 NE 降解,肝脏合成 PC 减少,PC 与 sEPCR 结合增强等。已明确 PMN 是介导脓毒症炎症反应的关键环节,其释放的炎症介质如 NE 可急剧降低 PC 含量<sup>[38]</sup>。Heuer 等<sup>[39]</sup>在大鼠脓毒症模型中证实,动物感染后 20 h 肝组织 PC mRNA 的表达迅速下降;另据报道,脓毒症动物模型肝组织 PC mRNA 转录水平选择性降低,而肝、肺、肾组织 EPCR mRNA 表达上调<sup>[40]</sup>。严重脓毒症常继发性 PC 缺乏,伴随着膜结合型 EPCR、TM 缺乏,PC 通路各成分不足,导致 APC 生成减少及功能减弱。Gu 等<sup>[41]</sup>研究证实,静脉给予内毒素可诱导动物心、肺组织 EPCR mRNA 表达增强,同时血浆 sEPCR 水平增加,而心、肺组织膜结合型 EPCR 水平无明显变化,这可能是 EPCR mRNA 表达的增加代偿了膜 EPCR 脱落。体外观察证实,内毒素和炎症因子可下调内皮细胞表面 TM 表达,TM 也可被 NE 分解,释放入血循环。脑膜炎球菌感染致严重脓毒症患儿皮肤活检显示,TM、EPCR 表达下降或减少<sup>[42]</sup>。总之,PC 水平降低,TM、EPCR 下调或脱落均可诱发循环 APC 浓度下降,PC 系统功能障碍,从而加剧脓毒症的发生发展。通过系列的狒狒脓毒症模型证实,APC 对脓毒症的防治可能是抗凝、抗炎等多种效应协同作用的结果。将亚致死剂量大肠杆菌注入狒狒体内,同时抑制 APC 的活性或注入 PS 单克隆抗体,可使 DIC 反应加重,实验动物死亡率增加;如果仅抑制 EPCR 与 PC 或 APC 的结合,同样可以观察到脓毒症反应加重,这可能是由于 PC 激活受阻和抑制了依赖 EPCR/PAR-1 的 APC 功能所致<sup>[3,43]</sup>。

### 5 总结

综上所述,APC 具有多生物活性,除抗凝及促纤溶活性外,还通过多条作用途径影响炎症、凋亡相关信号转导通路及基因表达,阻断炎症与凝血之间的相互促进效应,并降低脓毒症时器官

功能障碍的发生率以及减轻组织 I/R 损伤等。

### 参考文献:

- 1 冯丽洁, Amy L. Szyszko. 关于脓毒症及脓毒性休克治疗的几个观点 (Internet 网上专题讨论) [J]. 中国危重病急救医学, 2003, 15(1): 62-64.
- 2 Norstrom E A, Tran S, Steen M, et al. Effects of factor Xa and protein S on the individual activated protein C - mediated cleavages of coagulation factor Va [J]. J Biol Chem, 2006, 281(42): 31486-31494.
- 3 Taylor F B Jr, Stearns-Kurosawa D J, Kurosawa S, et al. The endothelial cell protein C receptor aids in host defense against Escherichia coli sepsis [J]. Blood, 2000, 95(5): 1680-1686.
- 4 Li W, Zheng X, Gu J, et al. Overexpressing endothelial cell protein C receptor alters the hemostatic balance and protects mice from endotoxin [J]. J Thromb Haemost, 2005, 3(7): 1351-1359.
- 5 Nan B, Lin P, Lumsden A B, et al. Effects of TNF- $\alpha$  and curcumin on the expression of thrombomodulin and endothelial protein C receptor in human endothelial cells [J]. Thromb Res, 2005, 115(5): 417-426.
- 6 Mammen E F, Thomas W R, Seegers W H. Activation of purified prothrombin to autoprothrombin I or autoprothrombin I (platelet cofactor I or autoprothrombin I - A) [J]. Thromb Diath Haemorrh, 1960, 5(5): 218-249.
- 7 van Veen S Q, Levi M, van Vliet A K, et al. Peritoneal lavage with activated protein C alters compartmentalized coagulation and fibrinolysis and improves survival in polymicrobial peritonitis [J]. Crit Care Med, 2006, 34(11): 2799-2805.
- 8 Stephenson D A, Tolt L J, Beaudin S, et al. Modulation of monocyte function by activated protein C, a natural anticoagulant [J]. J Immunol, 2006, 177(4): 2115-2122.
- 9 Brueckmann M, Hoffmann U, De Rossi L, et al. Activated protein C inhibits the release of macrophage inflammatory protein-1-alpha from THP-1 cells and from human monocytes [J]. Cytokine, 2004, 26(3): 106-113.
- 10 Sturn D H, Kaneider N C, Feistritz C, et al. Expression and function of the endothelial protein C receptor in human neutrophils [J]. Blood, 2003, 102(4): 1499-1505.
- 11 Joyce D E, Nelson D R, Grinnell B W. Leukocyte and endothelial cell interactions in sepsis: relevance of the protein C

- pathway [J]. *Crit Care Med*, 2004, 32 (5 Suppl):S280 - 286.
- 12 Kurosawa S, Esmon C T, Stearns-Kurosawa D J. The soluble endothelial protein C receptor binds to activated neutrophils; involvement of proteinase - 3 and CD11b/ CD18 [J]. *J Immunol*, 2000, 165(8):4697 - 4703.
  - 13 Joyce D E, Gelbert L, Ciaccia A, et al. Gene expression profile of antithrombotic protein C defines new mechanisms modulating inflammation and apoptosis [J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(14):11199 - 11203.
  - 14 Franscini N, Bachli E B, Blau N, et al. Gene expression profiling of inflamed human endothelial cells and influence of activated protein C [J]. *Circulation*, 2004, 110(18):2903 - 2909.
  - 15 Brueckmann M, Nahrup A S, Lang S, et al. Recombinant human activated protein C upregulates the release of soluble fractalkine from human endothelial cells [J]. *Br J Haematol*, 2006, 133 (5):550 - 557.
  - 16 Brueckmann M, Hoffmann U, Dvorsak E, et al. Drotrecogin alfa (activated) inhibits NF - kappa B activation and MIP - 1 - alpha release from isolated mononuclear cells of patients with severe sepsis [J]. *Inflamm Res*, 2004, 53 (10): 528 - 533.
  - 17 Yuksel M, Okajima K, Uchiba M, et al. Activated protein C inhibits lipopolysaccharide - induced tumor necrosis factor - alpha production by inhibiting activation of both nuclear factor - kappa B and activator protein - 1 in human monocytes [J]. *Thromb Haemost*, 2002, 88 (2): 267 - 273.
  - 18 Yamaji K, Wang Y, Liu Y, et al. Activated protein C, a natural anticoagulant protein, has antioxidant properties and inhibits lipid peroxidation and advanced glycation end products formation [J]. *Thromb Res*, 2005, 115(4):319 - 325.
  - 19 Slofstra S H, Groot A P, Maris N A, et al. Inhalation of activated protein C inhibits endotoxin - induced pulmonary inflammation in mice independent of neutrophil recruitment [J]. *Br J Pharmacol*, 2006, 149(6):740 - 746.
  - 20 Kotanidou A, Loutrari H, Papadomichelakis E. Inhaled activated protein C attenuates lung injury induced by aerosolized endotoxin in mice [J]. *Vascul Pharmacol*, 2006, 45(2):134 - 140.
  - 21 Nick J A, Coldren C D, Geraci M W, et al. Recombinant human activated protein C reduces human endotoxin - induced pulmonary inflammation via inhibition of neutrophil chemotaxis [J]. *Blood*, 2004, 104(13):3878 - 3885.
  - 22 Feistritzer C, Sturn D H, Kaneider N C, et al. Endothelial protein C receptor dependent inhibition of human eosinophil chemotaxis by protein C [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2003, 112(2):375 - 381.
  - 23 Baltch A, Bopp L, Yan S B, et al. Effects of recombinant activated protein C on bactericidal activity and modulation of pro - inflammatory cytokines in the presence of antimicrobial agents in human monocyte - derived macrophages [M]// Boston M A, Alexandria V A. 42 nd Annual Meeting of the Infectious Diseases Society of America (IDSA) abstract book. IDSA, 2004; 247 - 248.
  - 24 Zeng W, Matter W F, Yan S B, et al. Effect of drotrecogin alfa (activated) on human endothelial cell permeability and Rho kinase signaling [J]. *Crit Care Med*, 2004, 32 (5 Suppl):S302 - 308.
  - 25 Finigan J H, Dudek S M, Singleton P A. Activated protein C mediated novel lung endothelial barrier enhancement: role of sphingosine 1 - phosphate receptor trans - activation [J]. *J Biol Chem*, 2005, 280 (17):17286 - 17293.
  - 26 Coughlin S R. Thrombin signaling and protease - activated receptors [J]. *Nature*, 2000, 407(6801):258 - 264.
  - 27 Feistritzer C, Riewald M. Endothelial barrier protection by activated protein C through PAR1 dependent sphingosine 1 phosphate receptor - 1 crossactivation [J]. *Blood*, 2005, 105(8):3178 - 3184.
  - 28 Roback M G, Stack A M, Thompson C, et al. Activated protein C concentrate for the treatment of meningococcal endotoxin shock in rabbits [J]. *Shock*, 1998, 9 (2): 138 - 142.
  - 29 Hoffmann J N, Vollmar B, Laschke M W, et al. Microhemodynamic and cellular mechanisms of activated protein C action during endotoxemia [J]. *Crit Care Med*, 2004, 32(4):1011 - 1017.
  - 30 Iba T, Kidokoro A, Fukunaga M, et al. Activated protein C improves the visceral microcirculation by attenuating the leukocyte - endothelial interaction in a rat lipopolysaccharide model [J]. *Crit Care Med*, 2005, 33(2):368 - 372.
  - 31 Riewald M, Petrovan R J, Donner A, et al. Activation of endothelial cell protease activated receptor 1 by the protein C pathway [J]. *Science*, 2002, 296 (5574):1880 - 1882.
  - 32 Cheng T, Liu D, Griffin J H, et al. Activated protein C blocks p53 - mediated apoptosis in ischemic human brain endothelium and is neuroprotective [J]. *Nat Med*, 2003, 9(3):338 - 342.
  - 33 Domotor E, Benzakour O, Griffin J H, et al. Activated protein C alters cytosolic calcium flux in human brain endothelium via binding to endothelial protein C receptor and activation of protease activated receptor - 1 [J]. *Blood*, 2003, 101 (12):4797 - 4801.
  - 34 盛志勇. 努力提高脓毒症的认识水平 [J]. *中国危重病急救医学*, 2003, 15(3):131.
  - 35 Mizutani A, Okajima K, Uchiba M, et al. Activated protein C reduces ischemia/ reperfusion - induced renal injury in rats by inhibiting leukocyte activation [J]. *Blood*, 2000, 95(12):3781 - 3787.
  - 36 Schoots I G, Levi M, van Vliet A K, et al. Inhibition of coagulation and inflammation by activated protein C or anti - thrombin reduces intestinal ischemia/reperfusion injury in rats [J]. *Crit Care Med*, 2004, 32 (6):1375 - 1383.
  - 37 Kinasewitz G T, Yan S B, Basson B, et al. Universal changes in biomarkers of coagulation and inflammation occur in patients with severe sepsis, regardless of causative micro - organism [SRCTN74215569] [J]. *Crit Care*, 2004, 8(2):R82 - 90.
  - 38 Dhainaut J F, Marin N, Mignon A, et al. Hepatic response to sepsis; interaction between coagulation and inflammatory processes [J]. *Crit Care Med*, 2001, 29 (7 Suppl):S42 - 47.
  - 39 Heuer J G, Sharma G R, Gerlitz B, et al. Evaluation of protein C and other biomarkers as predictors of mortality in a rat cecal ligation and puncture model of sepsis [J]. *Crit Care Med*, 2004, 32 (7): 1620 - 1621.
  - 40 Ganopoulosky J G, Castellino F J. A protein C deficiency exacerbates inflammatory and hypotensive responses in mice during polymicrobial sepsis in cecal ligation and puncture model [J]. *Am J Pathol*, 2004, 165(4):1433 - 1446.
  - 41 Gu J M, Katsuura Y, Ferrell G L, et al. Endotoxin and thrombin elevate rodent endothelial cell protein C receptor mRNA levels and increase receptor shedding in vivo [J]. *Blood*, 2000, 95(5):1687 - 1693.
  - 42 Faust S N, Levin M, Harrison O B, et al. Dysfunction of endothelial protein C activation in severe meningococcal sepsis [J]. *N Engl J Med*, 2001, 345 (6):408 - 416.
  - 43 Taylor F B Jr, Peer G T, Lockhart M S, et al. Endothelial cell protein C receptor plays an important role in protein C activation in vivo [J]. *Blood*, 2001, 97 (6): 1685 - 1688.

(收稿日期:2006-12-12)

(本文编辑:徐颖)