

· 综述 ·

组织因子及组织因子通路抑制物在脓毒症中的研究进展

段晓琴 胡家昌(综述) 李艳辉(审校)

【关键词】 脓毒症; 组织因子; 组织因子通路抑制物; 凝血功能

近年来对于全身炎症反应综合征(SIRS)以及多器官功能障碍综合征(MODS)发生机制的研究愈来愈受到人们的重视,而有关 SIRS 的研究多来自对脓毒症患者的观察或脓毒症模型的研究,其中凝血功能紊乱在脓毒症中的作用日益引起学者的关注。组织因子(TF)作为外源性凝血途径的启动因子在凝血与炎症反应之间起到了重要作用,成为当前二者关系研究的焦点所在。

1 脓毒症与凝血功能紊乱

由感染引起的全身炎症反应称为脓毒症^[1],当伴有器官功能障碍、组织灌注不良或低血压时称为严重脓毒症,其病死率高达 30%~50%。几乎所有脓毒症患者均有凝血功能异常,轻者仅见无明显临床意义的实验室检查改变,重者可导致弥散性血管内凝血(DIC)。Gando 等^[2]研究表明,所有脓毒症及脓毒性休克患者的外源性凝血途径是激活的,与对照组比较,其凝血酶生成增多、活性增强,且生成的凝血酶不能被自身的抗凝血酶Ⅲ(AT-Ⅲ)完全中和。Levi 等^[3]也证实脓毒症患者机体的凝血系统激活从外源性途径开始,是发生止血、血栓病理改变的主要部分。外源性凝血途径主要因炎症级联反应导致内皮细胞损伤,引起 TF 释放、凝血物质增多、抗凝物质减少、纤溶激活物减少、纤溶活性降低,导致血液处于高凝状态^[4]。此外,脓毒症尤其是存在内毒素血症时,内毒素除了损伤血管内皮细胞,使 TF 释放入血,启动外源性凝血系统外,还可直接激活凝血因子Ⅻ(FⅫ),从而启动内源性凝血系统,进而触发凝血“瀑布效应”,最终导致广泛微血栓形成、出血、低血压、休克,临床表现多为多器官功能衰竭和 DIC。越来越

作者单位:130041 长春,吉林大学第二医院急救医学科

通讯作者:李艳辉,教授,主任医师, Email:lyh-jxf@sogou.com

作者简介:段晓琴(1983-),女(汉族),云南省人,硕士研究生, Email:dxq213@sina.com。

越多的证据表明,炎症反应和凝血系统之间存在相互交叉,不仅炎症反应能引发凝血激活,凝血也能影响炎症反应^[5]。炎症和凝血系统激活的交叉是临床 DIC 的标志。研究表明炎症介质对血液凝固的影响是多方面的,如促炎因子可致 TF 增加、凝血酶调节蛋白(TM)减低;补体成分减少可增加接触因子、损伤细胞膜、增加促凝活性;C-反应蛋白(CRP)促进 TF 表达;中性粒细胞弹性蛋白酶破坏 AT、TM;中性粒细胞聚集在闭塞毛细血管床激活的内皮细胞 P-选择素促进血小板聚集等^[6]。另一方面,Opal^[7]注意到凝血活动影响炎症反应的机制较多,如凝血活动的致炎作用,可见凝血酶的形成促进 P-选择素、E-选择素表达,使血小板活化因子(PAF)、缓激肽和组胺释放增加,使血小板活化及增强多形核粒细胞与内皮细胞的相互作用;AT 减少可致前列环素(PGI₂)合成减少、细胞因子合成增加及中性粒细胞聚集和黏附;蛋白 C(PC)减少引起 E-选择素表达增加,细胞因子产生,中性粒细胞黏附;血小板活化 P-选择素促进中性粒细胞黏附;内皮细胞的激活促进中性粒细胞和单核细胞的黏附、补体和致炎因子的产生等。在炎症与凝血系统的交互作用中,TF 作为一个重要的炎症介质,同时作为凝血的启动因子起到了不可忽视的作用^[5]。

2 TF

2.1 TF 的结构及特点:TF 是一种由 263 个氨基酸残基组成的跨膜糖蛋白,相对分子质量约为 47 000,其中氨基端 219 个氨基酸残基位于细胞膜外,其后的 23 个氨基酸残基穿过细胞膜,其余 21 个氨基酸残基位于细胞内。TF 来源于组织,生理情况下不表达,只有血管损伤或内皮细胞、单核细胞在补体、内毒素或肿瘤坏死因子(TNF)作用下才产生,且只有与 TF 形成复合物时才起作用。

2.2 TF 与炎症反应:许多刺激均可诱导内皮细胞、单核细胞和血管平滑肌细胞表达 TF,如促炎因子、凝血酶、内毒

素、CRP、黏附分子、氧化型低密度脂蛋白(ox-LDL)、应切力等^[8]。此外,有学者认为多种细胞因子、生长因子和生物生成的胺等多种刺激使内皮细胞、血管平滑肌细胞和单核细胞表达及活化 TF,这些介质通过各种不同信号转导机制,包括多种促分裂素原活化蛋白(MAP)激酶、P132 激酶和激活蛋白激酶 C(PKC)作用于细胞 TF,以表面、隐源和细胞内蛋白的形式存在于 3 个池里,亦可在血液检测出,称为循环或血液中 TF。在脓毒症中,促炎因子如白细胞介素-1(IL-1)、IL-6 等在炎症反应发生级联时大量增多,从而引起单核细胞、内皮细胞上的 TF 随之大量表达、活化,导致凝血与抗凝系统失衡,凝血障碍加重,甚至引起 DIC。同时,TF 可与细胞受体结合,从而产生和释放炎症介质,引发或加重炎症反应。有学者认为,TF 在炎症反应中的作用是通过凝血系统发挥的,TF 启动凝血过程时,FⅤa、FⅩa 和 FⅡa 均可作为炎症前体,经活化蛋白酶受体介导后引起炎症反应,诱发多种因子的表达,包括组织坏死因子,ILs,黏附因子(如细胞内黏附分子-1、血管细胞黏附分子-1、选择素等),生长因子(如内皮细胞生长因子、血小板趋化因子)等^[9]。此外,纤维蛋白及其片段也能促发炎症反应,故而凝血级联发生的同时,炎症反应的后果也是不可估量的^[10]。

2.3 TF 与凝血功能:TF 是外源性凝血途径始动因子,它是 FⅦ 的丝氨酸蛋白酶受体,当血管壁损害时,TF 进入血流,与 FⅦ 结合后通过变构使之激活为 FⅦa,TF 与 FⅦ 复合物(TF/FⅦa)可迅速催化 FⅩ 的激活。另外,TF/FⅦa 能以较低的速率激活 FⅩ,激活的 FⅩa 在辅助因子 FⅧ 的存在下可激活 FⅩ 转变成 FⅩa,形成内源性凝血途径。FⅩa 形成以后,内源性凝血途径成为一条通路,最终导致凝血酶产生^[11]。凝血酶进而催化纤维蛋白原转变为纤维蛋白并在受损血管局部聚合形成纤维蛋白

块^[12]。对于出血者,TF 以此达到局部止血的良好效果,相反,在脓毒症、肿瘤等重症者中,TF 可引起危及生命的血管内血栓形成。

3 TF 通路抑制物

事实上,凝血过程启动后,血管损伤部位的纤维蛋白凝块可负反馈调节血液凝固,而不致血管内血流阻断^[12]。凝血反应的终止是通过一系列抗凝蛋白介导的,负反馈控制凝血过程到处可见,大部分蛋白质有其循环或者局部抑制剂,组织因子通路抑制因子(TFPI)则是针对 TF 的抑制剂,TFPI 联合 F VIIa 和 F Xa 终止凝血起始反应;同时,AT-III 和活化蛋白 C(APC)起作用,从而终止凝血反应^[13]。脓毒症中,炎症和凝血是密切相关的,临床观察表明,靶向抗凝治疗比单纯抗炎在降低脓毒性休克的发病率和病死率方面更具有潜力^[14]。因此,近年对 TFPI 的研究已成为抗凝治疗中的热点问题之一。TFPI 是新发现的一种体内天然抗凝蛋白,它对外源性凝血途径具有特异性抑制作用,此外还有抗炎和促进某些细胞凋亡等多种作用。重组 TFPI(rTFPI)治疗脓毒症现已通过临床 II 期实验,结果显示疗效良好^[15]。

3.1 TFPI 的结构:人类 TFPI 是一种内源性丝氨酸蛋白酶抑制剂,是体内主要的生理性抗凝物质,正常血浆中 TFPI 含量约 1.5~3.4 nmol/L,由血管内皮细胞合成及分泌。TFPI 分为 TFPI-1 和 TFPI-2,TFPI-1 是一种相对稳定的糖蛋白,有游离形式以及与脂蛋白[低密度脂蛋白(LDL)、高密度脂蛋白(HDL)]结合两种形式^[16],相对分子质量约 46 000,包含 3 个串联的 Kunitz 型蛋白酶抑制区域,第一和第二个区域分别抑制 TF/F VIIa 和 F Xa,第三个区域无蛋白酶活性但包含有肝素结合位点(C 末端基本区域)。TFPI-1 以抗凝血作用为主,而 TFPI-2 是广谱丝氨酸蛋白酶抑制剂,二者在结构上有部分同源性,均由 3 个重复的 Kunitz 结构域组成。但二者在基因序列、组织来源、分布和作用机制上差异很大,导致二者在多种病理生理过程中发挥的作用也大不相同^[17]。

3.2 TFPI 的抗凝机制:TFPI-1 是 TF 的主要抑制剂。TFPI-1 通过一种糖基磷脂酰肌醇(GPI)连接蛋白间接连接到细胞膜表面,这种 GPI 连接蛋白目前尚未识别。K1 和 K2 区域是 TFPI-1 结合及

抑制 TF/F VIIa 复合物和 F Xa 的区域,TFPI-1 作为酶的底物占据活性区域,K3 区没有活性^[18]。TFPI-1 的 C 末端通过阴离子膜结构相互影响从而结合到 TFPI-1 表面,C 末端具有重要的活性,是肝素结合部位^[19]。TFPI 通过两个反应抑制 TF 依赖的凝血途径,一是快速与 F Xa 紧密结合使之失活,二是 F Xa/TFPI 复合物与 TF/F VIIa 结合为四聚体灭活后者^[20]。在单核细胞以及成纤维细胞内,TFPI 通过 LDL 相关受体蛋白以细胞内摄入或者降解的方式对细胞表面 TF 起反馈作用。另外,TFPI 还可抑制纤维蛋白原形成,抑制血小板聚集^[21]。体外试验表明 TFPI 能被多种蛋白酶分解,如凝血酶、纤溶酶、F Xa、白细胞弹性蛋白酶及基质金属蛋白酶。而凝血酶刺激调节内皮细胞的抗凝血特性作用系通过细胞内存储的 TFPI 释放和在细胞表面再分布完成。另外,肝素可增强 TFPI 的合成和释放,从而导致细胞的促凝活性下降^[22],上述机制对肝素的抗凝血作用十分重要。

3.3 TFPI 在脓毒症治疗中的研究进展:Creasey 等^[23]发现,TFPI 从多环节干扰了凝血系统激活,包括 F VIIa 活性、F Xa 活性、前凝血酶复合物、凝血酶生成,rTFPI 在脓症患者及模型动物中起到抗凝、抗炎的双重功效,因而 TFPI 被认为是一种能保护器官免受损害的方法。多项动物实验也证实 rTFPI 提高了脓毒症动物的生存率。但 Fourrier^[24]完成的随机对照试验表明,使用 rTFPI 治疗后,对脓症患者病死率没有明显改善。Laterre 等^[25]对 TFPI 的药理作用进行了探讨,试验研究表明,以抑制 TF 激活为目的的干预手段是有效的,其结果对纠正凝血紊乱、改善炎症和生存率有潜在益处,而 TFPI 作为体内最主要的生理性抗凝物质,虽然有两个脓毒症的临床试验已对它的作用进行了评价,均未获得明显改善的结果,但观察所得的数据值得进一步临床研究。此外,有学者新近发现蛋白 S(PS)通过促进 TFPI 和 F Xa 的相互作用而达到对 TF 的特异性抑制,因此,PS 缺乏因其与 PC 系统不协调而增加了血栓形成的危险,同时减弱了 TFPI 下调外源性凝血的能力^[26]。日本北海道大学医学院的 Gando 等^[27]系统研究了 TF、TFPI 以及中性粒细胞弹性蛋白酶在脓毒症和脓毒性休克

中的关系,结果表明:TF 与 TFPI 失衡在 DIC 和 SIRS 的发病过程中起重要作用。他们还认为活化的中性粒细胞大量释放弹性蛋白酶可部分解释脓毒症时 TF 和 TFPI 之间的失衡,同时认为低浓度 TFPI 不能防止 TF 所诱发的 DIC 和 SIRS,从而导致 MODS 甚至死亡。美国科研人员使用 TF 单克隆抗体研究阻断 FX 与 TF 和 TF/F VIIa 结合对预防脓毒症引起的器官损害作用,发现此途径能减轻脓毒症时肺及其他器官的损伤^[28]。目前,TFPI 作为 TF 的特异性抑制物,同样能阻断凝血因子与 TF 及其复合物的结合,关于其对脓毒症引起的器官损害的保护作用还有待进一步研究。

参考文献

- [1] 姚咏明,盛志勇,林洪远,等.脓毒症定义及诊断的新认识[J].中国危重病急救医学,2004,16(6):321-324.
- [2] Gando S, Nanzaki S, Sasaki S, et al. Activation of the extrinsic coagulation pathway in patients with severe sepsis and septic shock[J]. Crit Care Med, 1998,26(12):2005-2009.
- [3] Levi M, de Jonge E, van der Poll T. New treatment strategies for disseminated intravascular coagulation based on current understanding of the pathophysiology[J]. Ann Med, 2004, 36(1): 41-49.
- [4] Strukova S. Blood coagulation-dependent inflammation. Coagulation-dependent inflammation and inflammation-dependent thrombosis[J]. Front Biosci, 2006,11:59-80.
- [5] Levi M, van der Poll T, ten Cate H. Tissue factor in infection and severe inflammation[J]. Semin Thromb Hemost, 2006,32(1):33-39.
- [6] Vervloet M G, Thijs L G, Hack C E. Derangements of coagulation and fibrinolysis in critically ill patients with sepsis and septic shock[J]. Semin Thromb Hemost, 1998,24(1):33-44.
- [7] Opal S M. Phylogenetic and functional relationships between coagulation and the innate immune response[J]. Crit Care Med, 2000,28(9 Suppl):S77-80.
- [8] McVey J H. Tissue factor pathway[J]. Baillieres Best Pract Res Clin Haematol, 1999,12(3):361-372.
- [9] Chu A J. Role of tissue factor in thrombosis: coagulation-inflammation-thrombosis circuit[J]. Front Biosci, 2006,11: 256-271.
- [10] Chu A J. Tissue factor mediates in-

- flammation [J]. Arch Biochem Biophys, 2005, 440(2):123-132.
- [11] Ruf W. The interaction of activated factor VII with tissue factor: insight into the mechanism of cofactor-mediated activation of activated factor VII. Blood Coagul Fibrinolysis, 1998, 9 Suppl 1:S73-78.
- [12] Gomez K, McVey J H. Tissue factor initiated blood coagulation [J]. Front Biosci, 2006, 11:1349-1359.
- [13] Amaral A, Opal S M, Vincent J L. Coagulation in sepsis [J]. Intensive Care Med, 2004, 30(6):1032-1040.
- [14] Dellinger R P. Inflammation and coagulation: implications for the septic patient [J]. Clin Infect Dis, 2003, 36(10):1259-1265.
- [15] 林伊凤, 张农, 马端. 组织因子途径抑制剂治疗弥散性血管内凝血的研究进展 [J]. 复旦学报 (医学版), 2006, 33(3):411-413.
- [16] Piro O, Broze G J Jr. Role for the Kunitz-3 domain of tissue factor pathway inhibitor- α in cell surface binding [J]. Circulation, 2004, 110(23):3567-3572.
- [17] 余波, 冷希岗. 人类组织因子途径抑制因子的研究进展 [J]. 国际生物医学工程杂志, 2006, 29(1):25-28.
- [18] Price G C, Thompson S A, Kam P C. Tissue factor and tissue factor pathway inhibitor [J]. Anaesthesia, 2004, 59(5):483-492.
- [19] 刘晓蓉, 任新生. 脓毒症凝血机制及组织因子通路抑制剂治疗的研究现状及治疗进展 [J]. 中国急救医学, 2005, 25(11):833-835.
- [20] 周新福, 朱文玲. 组织因子与急性冠脉综合征研究进展 [J]. 心血管病学进展, 2006, 27(3):317-321.
- [21] Jagneux T, Taylor D E, Kantrow S P. Coagulation in sepsis [J]. Am J Med Sci, 2004, 328(4):196-204.
- [22] Hansen J B, Svensson B, Olsen R, et al. Heparin induces synthesis and secretion of tissue factor pathway inhibitor from endothelial cells in vitro [J]. Thromb Haemost, 2000, 83(6):937-943.
- [23] Creasey A A, Reinhart K. Tissue factor pathway inhibitor activity in severe sepsis [J]. Crit Care Med, 2001, 29(7 Suppl):S126-129.
- [24] Fourrier F. Coagulation inhibitors in severe sepsis: state of the art [J]. Rev Med Interne, 2003, 24(5):295-304.
- [25] Laterre P F, Wittebole X, Collienne C. Pharmacological inhibition of tissue factor [J]. Semin Thromb Hemost, 2006, 32(1):71-76.
- [26] Hackeng T M, Seré K M, Tans G, et al. Protein S stimulates inhibition of the tissue factor pathway by tissue factor pathway inhibitor [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2006, 103(9):3106-3111.
- [27] Gando S, Kameue T, Morimoto Y, et al. Tissue factor production not balanced by tissue factor pathway inhibitor in sepsis promotes poor prognosis [J]. Crit Care Med, 2002, 30(8):1729-1734.
- [28] 杨国兴, 周国勇, 胡森. 阻断组织因子与凝血因子 X 结合能减轻脓毒症诱发的肺和肾功能衰竭 [J]. 中国危重病急救医学, 2005, 17(9):522.

(收稿日期: 2007-03-16)

修回日期: 2007-07-12)

(本文编辑: 李银平)

• 科研新闻速递 •

多中心回顾性研究确定严重脓毒症患者早期补液与住院病死率无关

液体复苏是恢复严重脓毒症患者血流动力学紊乱和组织灌注的一个关键因素。最近加拿大学者进行了一项研究, 以确定严重脓毒症患者确诊后 6 h 内所给液体的类型和液体量与住院或重症加强治疗病房 (ICU) 病死率及器官衰竭的关系。此项回顾性研究包括了 5 家加拿大医院的 ICU, 选择 2000 年 7 月 1 日—2002 年 6 月 30 日确诊为严重脓毒症的患者。诊断标准为出现低血压、有感染性疾病以及符合两条全身炎症反应综合征指标。研究者以患者第 1 次出现低血压作为采集液体数据的起点, 用多变量回归分析研究患者确诊后第 1 个 6 h 内输入液体的总量和种类与医院或 ICU 病死率以及器官衰竭发生率之间的关系。根据选择标准, 研究共纳入了 496 例患者, 平均年龄为 (61.2 ± 16.5) 岁, 急性生理学与慢性健康状况评分系统 II (APACHE II) 评分为 (29.0 ± 8.0) 分。分析发现, 输入液体量和种类与住院或 ICU 病死率以及器官衰竭发生率之间均没有统计学意义。然而, 在确诊为严重脓毒症后的 24 h 内大量输液会增加心血管衰竭的风险, 但可降低发生肾功能衰竭的风险。输入胶体和晶体混合液与单独输入晶液体相比, 可更有效地降低肾功能衰竭发生的危险。研究者认为, 确诊为严重脓毒症后第 1 个 6 h 内输入液体量和种类与住院病死率无关。

耿世佳, 编译自《Can J Anaesth》, 2007, 54(10):790-798; 胡森, 审校

急性呼吸窘迫综合征患者肺泡灌洗液细胞凋亡的研究

细胞凋亡被认为在急性呼吸窘迫综合征 (ARDS) 的发展中起着重要作用。韩国科研人员对 31 例 ARDS 患者肺泡灌洗液中细胞凋亡进行了研究, 对照组为 20 例健康成年人。用酶联免疫吸附法 (ELISA) 检测肺泡灌洗液中细胞角蛋白 (CK-18)、白细胞介素-8 (IL-8)、可溶性脂肪酸 (sFas)、可溶性脂肪酸配体 (sFasL)、癌生长基因- α (GRO- α)、粒细胞集落刺激因子 (G-CSF)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 相关细胞凋亡诱导配体 (TRAIL) 的含量。结果显示, 与对照组相比, ARDS 患者的肺泡灌洗液中 CK-18 及上述各可溶性介质含量都明显增高, 上皮细胞凋亡增多, 并与肺损伤的严重程度相关。肺泡灌洗液中 IL-8 含量与 sFas、GRO- α 及 TRAIL 含量均呈正相关, 而 IL-8、sFas、G-CSF、TRAIL 含量又与肺泡灌洗液中中性粒细胞计数有关, 死亡的 ARDS 患者肺泡灌洗液中 G-CSF 水平 (76.7 ~ 315.9 ng/L, 平均 183.4 ng/L) 明显高于存活的 ARDS 患者 (36.2 ~ 137.2 ng/L, 平均 63.8 ng/L, $P < 0.05$)。ARDS 患者肺泡灌洗液中 sFas 含量与氧合指数 (PaO₂/FiO₂) 呈正相关 ($r = 0.40$, $P < 0.05$), TRAIL 水平与多器官功能障碍程度呈负相关 ($r = -0.37$, $P < 0.05$)。研究者认为, ARDS 患者肺泡灌洗液所含各介质中 G-CSF 与 ARDS 预后相关, sFas 和 TRAIL 的变化有助于判断 ARDS 的病情严重程度。

包呈梅, 编译自《Respir Med》, 2007-11-05 (电子版); 胡森, 审校