

• 综述 •

组织因子和组织因子途径抑制物与脓毒症

郑贵军¹(综述), 李银平²(审校)

(1. 天津中医药大学, 天津 300192; 2. 天津市天和医院, 天津 300050)

【关键词】 组织因子; 组织因子途径抑制物; 脓毒症

中图分类号: R631 文献标识码: A 文章编号: 1008-9691(2008)02-0126-03

脓毒症的发生发展过程与炎症反应、凝血及抗凝过程和免疫功能紊乱等密切相关。由组织因子(TF)所启动的外源性凝血途径不仅在脓毒症凝血反应中起关键作用,而且在炎症反应中也起着重要的作用。而组织因子途径抑制物(TFPI)则为外源性凝血过程的重要负性调节物。研究表明,TF和TFPI与脓毒症关系密切。现就TF、TFPI在脓毒症中的作用进行综述。

1 TF 概述

1.1 TF 的化学结构:TF 又称凝血因子Ⅲ或组织凝血活酶,在凝血过程中起着启动子的作用。它定位于CD142,是一种相对分子质量约为47 000的跨膜糖蛋白,由263个氨基酸残基组成,包括3个部分,胞外区为可溶性TF(sTF),由氨基末端的219个氨基酸残基组成,含3个色-赖-丝氨酸重复序列及2个二硫键,并含有4个与活化的因子Ⅴa(FⅤa)连接的关键氨基酸残基;跨膜区为一疏水肽段,由23个氨基酸残基组成,其中21个是疏水性的,与磷脂紧密结合;胞内区由21个氨基酸残基组成,含有3个有功能活性的丝氨酸残基,其磷酸化具有细胞内信号转导功能,为蛋白激酶C(PKC)的作用底物。

1.2 TF 的分布及表达:TF 表达于各种正常组织中,其中脑、肺、胎盘中较为丰富。进一步研究发现,TF 抗原和TF mRNA 选择性地位于血管壁的外膜细胞,肝、脾、肾等器官的纤维囊,皮肤外层的表皮细胞,肾小球上皮细胞、脑皮质、心肌细胞、肺巨噬细胞,胃肠道壁,部分

也可位于生殖泌尿道和子宫内膜基质细胞中。

目前,根据TF表达的不同情况,体内细胞可分为3类:①固有表达TF的细胞,包括星形胶质细胞、胎盘滋养层细胞、成纤维细胞和血管平滑肌细胞等;②不表达TF的细胞,包括淋巴细胞、血小板等;③诱生性表达TF的细胞,包括血管内皮细胞、单核/巨噬细胞等。正常情况下,血管内皮细胞和外周血细胞中测不到TF,故正常人血浆中TF含量极低(<100 ng/L)。组织损伤,如创伤、烧伤、手术、组织坏死、癌组织坏死、白血病放疗或化疗后,都可释放大量的TF入血,TF活性和异常表达与多种炎症因子如白细胞介素-6(IL-6)、脂多糖(LPS)、干扰素(INF)、内毒素、免疫复合物、黏附分子等密切相关。新近研究发现,血小板亦含有外源性凝血途径的启动TF。Zillmann等^[1]在富血小板的血浆中用前列腺素预防其聚集,多次用氯化钠缓冲液洗涤血小板,然后裂解血小板,可检测到大量的TF。有报道,用流式细胞仪可在未活化的血小板及用凝血酶、胶原和二磷酸腺苷(ADP)活化的血小板表面检测到TF的表达;同时在这些血小板离心后的上清液中,用斑点杂交证实TF抗原的存在^[2]。另外,最近发现在用于输注的浓缩血小板中,用免疫细胞化学方法和功能试验都能检测到大量的TF^[3]。

1.3 TF 的活性:在正常情况下,内皮细胞屏障将循环血液与TF分开。组织损伤破坏了此屏障,TF得以与血液中的因子Ⅶ/Ⅶa(FⅦ/FⅦa)结合,TF既是FⅦ的细胞表面受体,又是FⅦ和FⅦa的辅助因子,TF的胞外区作为FⅦ/Ⅶa的受体,与FⅦ或FⅦa形成复合物,进而激活FX和FⅨ,同时启动内外两条凝血途径,在体内导致凝血酶的产生。凝血酶的生成是通过自动催化和反馈机制

来调节控制的。早期生成的少量凝血酶通过激活FⅤ、FⅧ和血小板,加速FX和凝血酶原的激活,使局部迅速生成大量凝血酶,使纤维蛋白原转变成纤维蛋白,而出现血液凝固,达到生理止血的目的^[4]。由此可见,TF是凝血过程的启动因子。

2 TFPI 概述

2.1 TFPI 的结构与功能:TFPI是一种内源性丝氨酸蛋白酶抑制剂,在体内有多种存在方式,通常所说的TFPI是指TFPI-1。成熟完整的TFPI相对分子质量约为42 000,由276个氨基酸残基组成,有肝素结合活性。TFPI属于库尼(Kunitz)型蛋白酶抑制剂家族蛋白,具有3个纵行的抑制功能区,从N端到C端分别称为K1、K2、K3,N端为带负电荷的酸性氨基端,C端为带正电荷的碱性羧基端,TFPI-1作为酶的底物占据活性区域,K3没有活性^[5]。TFPI-1的C端有重要的活性部位,TFPI-1有游离及与脂蛋白(低密度脂蛋白(LDL)、高密度脂蛋白(HDL))结合两种形式^[6]。

TFPI的抑制作用是通过其K1、K2抑制区分别与FⅤa、FXa结合而实现的。在病理情况下,TF表达并与血浆中FⅦ或FⅦa结合激活凝血途径,TFPI的K2首先与FXa结合,抑制FXa的催化活性,进而改变自身结构;然后在Ca²⁺存在的条件下,变构的TFPI再与FⅤa-TF结合形成FXa-TFPI-FⅤa-TF四合体,灭活FⅤa-TF复合物。TFPI的作用特点表明只有凝血途径启动后才会发挥其抑制凝血作用^[7]。

2.2 TFPI 的来源、分布、存在方式及代谢:TFPI主要由微血管内皮细胞合成,其他细胞如血管平滑肌细胞、单核/巨噬细胞、成纤维细胞、血小板、T淋巴细胞等也表达少量的TFPI^[7]。TFPI合成有器官特异性:人以卵巢最高,其他依次为

基金项目:天津市医药卫生中西医结合科研基金资助项目(2005088)

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

作者简介:郑贵军(1979-),男(汉族),河南省人,硕士研究生。

肺脏、肝脏、肾脏和心脏。

正常血浆的 TFPI 抗原水平平均约 100 $\mu\text{g/L}$ (25~120 $\mu\text{g/L}$), 出生时最低, 随着年龄的增加 TFPI 有轻微的增加, 但变化不大。TFPI 在体内大致分为 3 个部分: 结合于内皮细胞上的 TFPI、存在于血液和血小板中的 TFPI。结合于内皮细胞上的 TFPI 占总 TFPI 的 50%~80%, 起主要的抗凝血作用^[9]。肝素可以使内皮细胞 TFPI 的合成和分泌增加 2~8 倍, 且呈剂量依赖性, 低分子肝素和普通肝素对内皮细胞 TFPI 的合成及释放的作用没有差别。血液中的 TFPI 占总 TFPI 的 10%~50%, 其中大部分与脂蛋白结合, 大约 10% 以游离形式存在, 游离的 TFPI 有抗凝活性, 而与脂蛋白结合的 TFPI 由于缺乏羧基端, 抗凝活性很低。约 10% 的 TFPI 储存于血小板内, 在凝血酶或钙离子供体 (A23187) 等激动剂刺激下, 血小板能分泌中等量的 TFPI。

TFPI 易于蛋白水解, 近来体内、体外研究发现白细胞肽键内切酶、组织蛋白酶、凝血酶、纤维蛋白溶酶在不同位点分解 TFPI, 因此血液中的 TFPI 呈不同的截短形式。水解后的 TFPI 抗凝活性下降。TFPI 的半衰期很短, 约 80 min。血液中的 TFPI-F X a-TF-F VIIa 复合物主要经肝脏代谢^[9]。

3 TF 在脓毒症中的作用

脓毒症时, 炎症因子肿瘤坏死因子 (TNF)、IL-1 等介导血管内皮细胞表达 TF 增多, 启动外源性凝血途径。激活的凝血系统与炎症通过多个环节相互作用, 同时单核细胞、血小板、巨噬细胞和内皮细胞也参与其中, 共同交织成一复杂的网络。这时炎症与凝血异常相互作用^[10]。TF 的促凝作用众所周知, 并作为凝血系统中唯一在细胞表面表达的跨膜糖蛋白; 而 TF 的非凝血功能也逐渐成为众多学者关注的焦点, 所以在许多类型脓毒症中都在深入研究 TF。有研究表明, TF 是间接的炎症介质, 存在于脓毒症的产生、脓毒性休克中。Randolph 等^[11]证实单核/巨噬细胞通过淋巴管内皮逆转移, 对这种转移, 本质就是 TF 在这些细胞表面表达。除了 TNF- α 、IL-1 外, 还有许多因子能诱导 TF 的表达, 如内皮素 (ET)、P-选择素、组胺、激活补体 (C5a) 等。在健康志愿者体内注射 ET 能激活依赖 TF 凝血过程。Levi 等^[12]在研

究了灵长类动物模型后发现, 当实验对象预先被 TF 抗体处理后, 其与脓毒症相关的凝血就显著减弱, 这进一步支持 TF 在炎症中的重要作用。越来越多的实验证明在单核细胞膜上有 TF 表达^[13], 这些单核细胞激活凝血, 表现了在凝血系统与免疫系统之间的联系, 说明 TF 在脓毒症中有着双重作用。TF 在炎症中的作用和在凝血中的作用一样, 在脓毒症中发现, 血管内 TF 的表达可导致弥散性血管内凝血 (DIC)。提示 TF 在促炎方面起一定的作用。

近来 Randolph 等^[11]报道, 炎症初期, 大部分单核/巨噬细胞跨越内皮细胞进入其下的结缔组织中, 而炎症消退时则由淋巴管内皮细胞基底面向腔内面迁移 (反向迁移), 重新进入淋巴管道引流。此过程中, 单核/巨噬细胞与内皮细胞之间的黏附是由结合于内皮细胞表面的 TF 介导的。TF/F VIIa 复合物尚可诱导巨噬细胞内产生活性氧 (ROS), 后者是细胞内病原体的强有力杀伤因子。抗 TF 抗体则可在体内抑制巨噬细胞 ROS 生成^[14]。上述研究均间接或直接证实了 TF 在炎症发生发展中的作用。

4 TFPI 与脓毒症

TFPI 是一个可以从近端阻断凝血途径的抗凝蛋白。感染中毒时, TFPI 的水平一般没有下降, 反而可以正常或增高, 可能与内皮细胞损伤有关。研究发现, 用 TFPI 特异性阻断 TF/F VIIa, 可减轻注射大肠杆菌毒素的肺、肾损害, 降低感染中毒症的死亡率^[15]。动物实验发现, TFPI 可以改善 DIC 的临床表现, 有趣的是, 小剂量 TFPI 就可以发挥上述作用, 而这样低的剂量并没有明显的抗凝作用, 故认为 TFPI 存在抗凝以外的抗炎作用^[16]。

在对感染性 DIC 的动物研究过程中发现, 当内皮细胞接触 TNF、内毒素、凝血酶时, 细胞表面的 TFPI 输出明显增加, TF 活性增加。在体外培养基中, 人体内皮细胞对内毒素、凝血酶及应切力的反应与动物研究相似。因此推测 TFPI 对微血管内皮细胞具有保护作用; 脓毒症患者血液中 TFPI 的不断增高会导致结合于内皮细胞的 TFPI 耗竭, 特别是在脓毒症的后期, 因此需补充外源性的 TFPI。因为 TF 有促炎作用, TFPI 有抗炎作用。基于此, 已进行了一系列有关 TFPI 治疗脓毒症的研究。

近年来越来越多的动物实验和临床研究发现 TFPI 具有抗炎作用, 它能够抑制白细胞的激活, 抑制 LPS 诱导的 TNF- α 、IL-6、IL-1 等炎症介质的合成及表达^[17]。Enkhbaatar 等^[18]报道, 给鼠注射 LPS 前后输入重组 TFPI (rTFPI) 可抑制白细胞活化、肺组织 TNF- α mRNA 表达及中性粒细胞趋化, 降低细胞内钙等, rTFPI 还可降低 IL-6 和 IL-8 含量。因此, 血浆中 TFPI 抗原含量的变化对脓毒症病情进展的影响和预后判断可能有重要的意义。

Opal 等^[19]报道, TFPI 可改善盲肠结扎穿孔术 (CLP) 致腹膜炎大鼠的生存率及超抗原诱导的休克, 提示 TFPI 治疗感染性休克的潜能。Enkhbaatar 等^[18]也报道了 rTFPI 能够通过抑制白细胞的激活而减轻肺损伤。这些动物实验研究给 rTFPI 治疗脓毒症的临床研究提供了一些帮助。经 rTFPI 治疗的患者体内可溶性 Fas (一种细胞凋亡标记物) 水平较低。提示 rTFPI 有稳膜作用。此外, rTFPI 不但能增加心排量, 而且还能弱化脓毒症血压下降。

Abraham 等^[20]对北美、欧洲和以色列等 17 个国家、245 家医院、1 754 例重症脓毒症患者进行了随机对照研究, TFPI 组 (0.025 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, 96 h, 880 例) 和对照组 (精氨酸柠檬酸盐缓冲液, 874 例) 28 d 病死率分别为 34.2% 和 33.9%; TFPI 组凝血酶原片段 1 和 2 显著减少 (P 均 < 0.01); 都有出血的不良反应 (TFPI 组 6.5%, 对照组 4.8%)。因此认为, rTFPI 对重症脓症患者有一定作用, 但不能降低其病死率。

综上所述, 由于脓毒症的发病机制极为复杂, 其发病过程中凝血酶级联激活的详细机制尚未明了。TF 仅是启动脓毒症凝血功能紊乱中的一条途径, 而 TFPI 的临床应用价值仍缺乏有力的理论依据和实验支持, 其治疗指征、剂量、给药时间等还需进一步明确。

参考文献

- Zillmann A, Luther T, Müller I, et al. Platelet-associated tissue factor contributes to the collagen-triggered activation of blood coagulation [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2001, 281(2): 603-609.
- Siddiqui F A, Desai H, Amirkhosravi A, et al. The presence and release of tissue factor from human platelets [J].

Platelets, 2002, 13(4):247-253.

[3] Pérez-Pujol S, Aras O, Lozano M, et al. Stored platelets contain residual amounts of tissue factor: evidence from studies on platelet concentrates stored for prolonged periods[J]. Transfusion, 2005, 45(4):572-579.

[4] Osterud B. Tissue factor; a complex biological role[J]. Thromb Haemost, 1997, 78(1):755-758.

[5] Price G C, Thompson S A, Kam P C. Tissue factor and tissue factor pathway inhibitor[J]. Anaesthesia, 2004, 59(5):483-492.

[6] 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.

[7] Kato H. Regulation of functions of vascular wall cells by tissue factor pathway inhibitor: basic and clinical aspects[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2002, 22(4):539-548.

[8] Crawley J, Lupu F, Westmuckett A D, et al. Expression, localization, and activity of tissue factor pathway inhibitor in normal and atherosclerotic human vessels[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2000, 20(5):1362-1373.

[9] Hansén 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.

[10] Vincent J L. Microvascular endothelial dysfunction; a renewed appreciation of sepsis pathophysiology [J]. Crit Care 2001, 5(2):S1-5.

[11] Randolph G J, Luther T, Albrecht S, et al. Role of tissue factor in adhesion of mononuclear phagocytes to and trafficking through endothelium in vitro[J]. Blood, 1998, 92(11):4167-4177.

[12] Levi M, ten Cate H, Bauer K A, et al. Inhibition of endotoxin-induced activation of coagulation and fibrinolysis by pentoxifylline or by a monoclonal anti-tissue factor antibody in chimpanzees [J]. J Clin Invest, 1994, 93(1):114-120.

[13] Nemerson Y. Tissue factor; then and now [J]. Thromb Haemost, 1995, 74(1):180-184.

[14] Chen J, Bierhaus A, Schiekofr S, et al. Tissue factor—a receptor involved in control of cellular properties, including angiogenesis[J]. Thromb Haemost, 2001, 86(1):334-345.

[15] Welty-Wolf K E, Carraway M S, Miller D L, et al. Coagulation blockade prevents sepsis-induced respiratory and renal failure in baboons [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2001, 164(10 Pt 1):1988-1996.

[16] Abraham E. Tissue factor inhibition and clinical trial results of tissue factor pathway inhibitor in sepsis [J]. Crit Care Med, 2000, 28(9 Suppl):S31-33.

[17] 王兆钺. 血栓与止血研究的进展与趋势 [J]. 中华血液学杂志, 2004, 25(3):190-191.

[18] Enkhbaatar P, Okajima K, Murakami K, et al. Recombinant tissue factor pathway inhibitor reduces lipopolysaccharide-induced pulmonary vascular injury by inhibiting leukocyte activation [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2000, 162(5):1752-1759.

[19] Opal S M, Palardy J E, Parejo N A, et al. The activity of tissue factor pathway inhibitor in experimental models of super antigen-induced shock and polymicrobial intra-abdominal sepsis [J]. Crit Care Med, 2001, 29(1):13-17.

[20] Abraham E, Reinhart K, Opal S, et al. Efficacy and safety of tifacogin (recombinant tissue factor pathway inhibitor) in severe sepsis; a randomized controlled trial [J]. JAMA, 2003, 290(2):238-247.

(收稿日期:2007-06-10)

(本文编辑:保健媛)

• 读者 • 作者 • 编者 •

欢迎订阅 2008 年《中国中西医结合急救杂志》

《中国中西医结合急救杂志》系中国中西医结合学会主办、天津市天和医院承办的全国性科技期刊(为中国中西医结合学会系列杂志之一,由《中西医结合实用临床急救》杂志更名),是我国中西医结合急救医学界权威性学术期刊,已进入国内外多家权威性检索系统。本刊为双月刊,64页,国际通用16开大版本,80克双胶纸印刷。欢迎广大读者到当地邮局办理2008年的订阅手续,邮发代号:6-93,定价:每期7.6元,全年45.6元。

订阅本刊的读者如果遇有本刊装订错误,请将刊物寄回编辑部调换,我们将负责免费邮寄新刊。

《中国中西医结合急救杂志》已经进入美国《化学文摘》(CA)、俄罗斯《文摘杂志》(AJ)、“中国期刊网”、“中国学术期刊(光盘版)”、“万方数据网络系统(China Info)”、“中文科技期刊数据库”、“em120.com 危重病急救在线”以及国家中医药管理局“中国传统医药信息网”(http://www.Medicine China.com)。投本刊论文作者需对本刊以上述方式使用论文无异议,并由全部作者或由第一作者全权代表其他作者在版权转让协议和校稿上签字同意。稿酬已在本刊付酬时一次付清,不同意者论文可不投本刊。

《中国中西医结合急救杂志》开设有述评、专题讨论、博士论坛、论著、研究报告、经验交流、病例报告、治则·方剂·针灸、基层园地、临床病理(病例)讨论、消息、读者·作者·编者等栏目,欢迎广大作者踊跃投稿。同时,本刊倡导学术争鸣,对所投稿件将予以重视,优先考虑。

2008年以前的合订本和单行本请在杂志社发行部电话订购:022-23042150。

地址:天津市和平区睦南道122号天和医院内;邮编:300050。

(本刊编辑部)