

中国工程科技论坛

血栓与血管生物学前沿

● 中國工程院

高等教育出版社

中国工程科技论坛

血栓与血管生物学前沿

Xueshuan Yu Xueguan Shengwuxue Qianyan

高等教育出版社·北京

内容提要

本书是中国工程院中国工程科技论坛系列丛书之一。书中重点介绍了血栓、出血和血管生物学等诸多科学问题和学术热点的最新进展,在剖析血栓、止血与心脑血管疾病之间学科局限、沟通薄弱环节的基础上,就相关领域最新研究成果进行了深度解析,探讨了血栓、出血和血管疾病的发病机制及其防治措施。本次论坛汇聚了国内外知名专家学者的远见卓识,阐述了我国血栓、出血与血管疾病的诊治现状,指明了本领域研究的未来发展方向,并提出加强国内外医疗、科研机构之间合作交流的建議。

本书可供血栓与止血、心脑血管疾病领域相关医生、专家、科研工作者阅读,以及医疗卫生行业主管部门决策人员参考,也可供高等院校基础和临床医学等相关专业的师生参阅。

图书在版编目(CIP)数据

血栓与血管生物学前沿 / 中国工程院编著. -- 北京:高等教育出版社,2014.6

(工程科技论坛)

ISBN 978-7-04-039757-4

I. ①血… II. ①中… III. ①血栓栓塞-研究②血管-生物学-研究 IV. ①R543②R322.1

中国版本图书馆CIP数据核字(2014)第104824号

总策划 樊代明

策划编辑 王国祥 黄慧靖

责任编辑 沈晓晶

封面设计 顾 斌

责任印制 韩 刚

出版发行 高等教育出版社
社 址 北京市西城区德外大街4号
邮政编码 100120
印 刷 北京汇林印务有限公司
开 本 787mm × 1092mm 1/16
印 张 5
字 数 98千字
插 页 1
购书热线 010-58581118

咨询电话 400-810-0598
网 址 <http://www.hep.edu.cn>
<http://www.hep.com.cn>
网上订购 <http://www.landradio.com>
<http://www.landradio.com.cn>
版 次 2014年6月第1版
印 次 2014年6月第1次印刷
定 价 60.00元

本书如有缺页、倒页、脱页等质量问题,请到所购图书销售部门联系调换
版权所有 侵权必究
物 料 号 39757-00

编辑委员会

主 任：阮长耿

副主任：戴克胜

委 员：白 霞 董宁征 胡仁萍 江 森

闫 荣 叶明昌 赵丽丽 赵小娟

朱 燕

目 录

第一部分 综述

综述	3
----------	---

第二部分 主题报告及报告人简介

血栓止血领域的转化医学实践	阮长耿	9
次大面积(中危)肺血栓栓塞症的溶栓治疗与 rt-PA 半量溶栓方案	王 辰	15
肿瘤黏蛋白在小鼠 Trousseau 综合征模型中触发血小板与中性粒 细胞的相互活化	Rodger P. McEver	24
平足蛋白与血小板 CLEC-2 相互作用维护高内皮微静脉完整性	夏利军	36
整合素双向信号传导及抗血小板治疗的新理念	杜小平	44
GPIIb-IX 和 VWF 的相互作用诱导血小板发生活化、凋亡和信号 转导研究	戴克胜	47
蛋白酶 Corin 在血管重塑中的作用	吴庆宇	54
动脉粥样硬化研究的人源化模式动物:转化医学研究的捷径	刘国庆	63
附录 与会人员名单		68
后记		70

第一部分

综 述

综 述

中国工程科技论坛是由中国工程院主办,旨在促进我国工程科技事业发展,促进工程科技重大方向性和前沿性问题的研究,在提高我国工程科技创新能力和水平方面起到巨大的推动作用。本次论坛是工程科技论坛第 169 场,主题是“血栓与血管生物学”,由苏州大学附属第一医院、江苏省血液研究所承办,2013 年 10 月 12 日在江苏省苏州市举行,会议主席为中国工程院院士阮长耿教授。本次论坛得到国际血栓与止血学会(International Society on Thrombosis and Haemostasis, ISTH)的支持,邀请多名国际血栓与血管生物学知名学者莅会。与论坛同期举行的还有第十四届全国血栓与止血学术会议以及第十二次全国动脉硬化性疾病学术会议。来自美国、荷兰、日本、加拿大等国的血栓与血管生物学领域著名的专家、学者和全国各地参会代表共 500 余人参加了会议。

血栓形成是严重威胁人类健康的一种病理过程,与许多疾病,如肿瘤、感染性疾病、外伤和产科意外等密切相关,涉及内科、外科、妇科、儿科等多数临床学科。尤其随着人们生活水平的提高,以血栓形成为基本病理特征的心脑血管疾病,如中风、心肌梗死等,起病急、病情重、死亡率高,已超过恶性肿瘤,成为引起我国人口死亡与致残的首位原因,占总死亡率的 50% 以上。长期以来,在传统意义上,血栓属于血液病学领域,而血管生物学则属于心脑血管疾病范畴,人为造成两大领域之间学术交流不活跃。本次论坛打破了学科领域的局限,邀请到世界顶级专家,提供了高水平的学术交流平台,不仅使国内学者了解到该领域国际最新发展方向与进展,更加促进了两大领域专家、学者的相互交流。

论坛上,中国工程院副院长樊代明院士首先致开幕词。中国医学科学院、北京协和医学院副院长詹启敏院士以“转化医学研究与医院竞争力”为题,充分论证了转化医学研究在现代医学中的重要性,指出创建以转化医学为特色的研究型医院是可持续发展的成功模式。南京军区总医院、全军肾脏病研究所、国家肾脏病临床医学研究中心刘志红院士,就肾病综合征血栓栓塞并发症的诊断与治疗做了精彩报告。苏州大学附属第一医院、江苏省血液研究所、卫生部血栓与止血重点实验室阮长耿院士,以“血栓止血领域的转化医学实践”为题,概括了我国尤其是苏州血液转化医学的最新研究进展,指出了我国血液转化医学未来的发展方向。

国际著名血小板研究专家、宾夕法尼亚大学 Joel S. Bennett 教授,就血小板

信号转导机制研究的新进展及抗栓药物研究策略做了介绍。国家呼吸疾病临床医学研究中心、北京医院呼吸病学研究中心、北京呼吸疾病研究所王辰院士,对肺栓塞的严重危害、溶栓方案实践等最新研究进展及治疗概念做了高度概括和深度解析。华中科技大学附属协和医院血液病研究所、湖北省血栓与止血临床医学研究中心胡豫教授,介绍了血栓性疾病的形成、发病率和特征,分析血栓形成的外在和内在因素,探讨我国静脉血栓形成的诊治现状。北京大学心血管研究所刘国庆教授,论述了动脉粥样硬化研究中人源化模式动物的应用价值和前景。苏州大学医学部主任、唐仲英血液研究中心吴庆宇教授,阐述了心肌酶Corin在血管重建中的价值和前景。美国伊利诺伊大学杜小平教授,苏州大学附属第一医院、江苏省血液研究所戴克胜教授,对血小板在血栓与出血性疾病中的作用及其防治措施的最新研究成果进行了介绍。此外,还有其他数十位专家、学者,就血栓与血管生物学的研究成就进行了广泛交流。

此外,论坛汇聚了本领域专家学者的真知灼见,针对出血性疾病诊治新进展、血栓形成的基础与临床等诸多科学问题和学术热点进行了大会交流和讨论,展示了我国当前血栓与止血领域的最新研究成果与水平,与项目咨询、科技合作相结合,加强了国内与国外医疗科研机构之间的合作交流,在与会人员中产生强烈反响,得到国内外知名专家学者的一致好评。本次论坛的召开,有利于促进本领域与其他学科的交叉融合,协同创新,进一步推动了血栓与止血领域的发展,对我国血栓与血管生物学基础和临床研究工作的发展起到很好的推动作用。

对本次论坛组织工作的总结

1) 中国工程科技论坛与国家产业发展战略相结合,聚焦“血栓与血管生物学”主题,由阮长耿院士牵头,集合了世界范围内本学科领域顶尖学者,搭建了基础与临床相结合的学术交流平台,完成了预期目标,得到与会者的广泛赞誉,对工程科技医药卫生领域的发展起到良好的推动作用。

2) 本次论坛邀请到樊代明院士、詹启敏院士、刘志红院士、王辰院士和 Joel S. Bennett 教授等顶级专家做大会报告,为血栓与血管生物学基础研究及临床发展起到很好的推动作用,由此酝酿出新的研究课题和科技发展项目。

3) 本次论坛得到中国工程院医药与卫生学部办公室的大力支持,在院士邀请、会议举办、信息咨询等方面提供了重要的建议,得到了苏州大学附属第一医院、江苏省血液研究所及相关单位的大力支持与配合。

4) 根据中国工程院要求,会议承办方在规定时间内提交大会现场照片、录音录像资料、中国工程院简报及网站通讯稿,递交论坛报告幻灯片电子版、授权委托书原件,及时提交其他存档资料,较好地完成了会议的组织工作。

5) 本次中国工程院工程科技论坛预算合理,由于与会人数众多,对于专家

住宿人数预估不足,故增加了专家住宿费支出费用。

6) 根据中国工程院要求编撰了本报告集,由于时间限制,只收录了截至2014年2月28日所收集到的多位专家、学者的报告,予以刊登。

第二部分

主题报告及报告人简介

血栓止血领域的转化医学实践

阮长耿

苏州大学附属第一医院,江苏省血液研究所

摘要:出血与血栓性疾病一直是血液学的重要研究方向之一,它不仅是血液病工作者的研究内容,还与很多非血液疾病,尤其是严重危害人类健康一些疾病密切相关,比如脑梗死、冠心病、心肌梗死等。在过去的数十年中,我们对于血栓性疾病的发病机理已有了较深的认识。相对于其他一些疾病,血栓与止血领域的基础理论大部分已经得到确认,但在相关临床疾病的治疗上,实验室理论与患者的期望之间仍然存在着巨大的鸿沟。“转化医学”概念的出现,促使研究者从一个更重要的角度来看待血栓与止血领域内的科研成果转化。这些成果转化的明确目标就是提高在诊断、治疗等各方面的水平,使患者能有更好的预后和生活质量。

关键词:血栓;止血;转化医学

一、引言

转化医学(translational medicine)在20世纪末、21世纪初作为一个新的名词正式出现之前,相关的工作其实一直在进行,一般称为医学应用研究或医学成果转化。在医药工业研发部门,产品最终能在临床获得应用始终是进行相关研究的动力和终极目标。

美国以国立卫生研究院(National Institute of Health,NIH)为先导者,倾巨资建立各类型转化研究中心,希望加快整合基础与临床研究,推动科研机构和企业实体共同协作,促进研究成果转化并尽早进入到临床实践。从美国医学研究界掀起的这股推崇转化医学的热潮,其背景是人们对连续多年投入巨大的医学科研而找不出多少用于临床的成果感到失望。曾经,科学家们雄心勃勃地宣布,随着人类基因组详细图谱的完成,一个个性化的、全面攻克各项疾病的时代就要到来,但现实是,尽管各国政府每年拨大量经费用于科学研究,但大多数疾病的治疗现状并未得到改观。这种失望引来的不仅是政府和纳税人,也包括学术界自身对医学研究模式的反思,医学研究必须回归实地,采用更务实的态度、集中有

限的资源去解决面临的问题。

一般认为,转化医学的内涵包含两个方面,即 bedside to bench(从临床到实验室)以及 bench to bedside(从实验室回到临床),即通常所说的双向 B2B 过程。前一个 B2B(bedside to bench)是指通过临床观察分析为基础医学研究提供思路、指导实验设计的过程。第二个 B2B(bench to bedside)是指将实验室的研究成果应用到临床、转化为医药产品或者诊疗技术的过程,两者相辅相成,构成了转化医学的双向循环,不把二者作为一个整体或者忽视任何一面都是对转化医学的片面理解。

在转化医学理念的实践过程中,对前一层次的 B2B,即从临床发现问题,寻找研究的切入点,大多数的科研人员都已经做得很好。无论在课题立项,还是项目申请或是研究生开题,预期成果的临床意义都是受到充分重视的。转化医学的瓶颈主要在后一层次的 B2B,即从实验室回到临床。这个过程实践起来往往感觉很不容易。不容易的原因在于从实验室到临床之间存在着巨大的鸿沟,这个绕不过去的鸿沟就是成果的产业化。我们实验室在血栓止血领域开展转化医学实践已有十多年时间,取得了一些成果,但也有不少的困难要去克服。

二、“普莱单抗”的转化之路

1981 年,我在法国攻读博士学位期间,发现了世界上第一株抗血小板膜糖蛋白单克隆抗体 AN-51,回国后我继续从事抗血小板抗体的研究,几年时间内我们(血栓与止血重点实验室)就先后建立了一系列以苏州(SZ)命名的单抗,其中不乏具有针对有效抗栓靶点的特异性抗体,如 SZ-21(普莱单抗的前身),其抗原是血小板膜糖蛋白 IIIa(GPIIIa),在人体外试验中可以抑制纤维蛋白原所介导的血小板聚集,阻断形成血小板血栓的最终途径,在实验动物中也显示了强有力的抗栓效果,这些实验结果都显示其成为一种有效抗栓药物的潜力。几乎在同时,7E3 的发明者 Barry S. Coller 开始涉足抗血小板单克隆抗体的研究,Coller 当时是美国纽约州立大学的一名博士后,在多年后的回忆录中,有一段文字描述他刚接触到这一领域的内心活动,“有人告诉我这些(抗体)的作用,我立刻意识到我接下来可以做什么了。”到 1984 年左右,Coller 手头也拥有了一组抗血小板单抗,其中包括后来大放异彩的明星抗体——7E3。1986 年,我在多伦多举办的国际血栓与止血会议上报告了我们 SZ21 的实验结果,受到国际同行的关注。我当时所不了解的是,就在同一年,Coller 的 7E3 已经开始了产业化的路程,由纽约州立大学的一个基金会承担最初的风险投资,Coller 本人亲自牵头组织了一家公司。在随后几年时间里,这个名为 Centocor 的公司一边不断在实验室中对 7E3 进行改造以降低其免疫源性,一边则完善各项法律程序,从专利的覆盖到上市申请。经过 7 年的努力,7E3 的人源化产品 Reopro 最终获得美国食品药品监

督管理局(FDA)批准,用于防止心血管手术后患者再次血栓形成。Reopro 开始在多个国际临床医学中心得到应用,多中心的临床数据进一步证实了其有效性,在这过程中,Colter 根据临床应用的反馈,主导开发了实时监测 Reopro 药效的便携式仪器 Verifynow,用于床旁监测药效,及时调整剂量并控制出血副作用。Verifynow的开发使 Reopro 的接受程度更高,仅仅到 2005 年,美国就已有 200 万患者使用过该药物,创造了数十亿美元的经济价值和不可计算的社会效益。

与 Reopro 的辉煌相对照的是我们 SZ21(普莱单抗)多年的沉寂,这期间,普莱单抗也完成了多项基因工程改造,获得了专利甚至国家科技进步奖,但迟迟没有成为产品去造福患者,直到 2005 年,在一部分海外回归风险投资人的推动下,普莱单抗才最终走上产业化之路,定名为普莱单抗并得到药监局批准,目前已准备进入二期临床试验,此时,距 Reopro 上市已 12 年。这两者在学术上几乎同时诞生,但获得应用却相差 10 多年,不得不让人感到非常遗憾。

三、以 GPIIb 为靶点的新型抗血小板药物

上面提到的 Reopro 和普莱单抗能阻断血小板血栓形成的最终环节,效果强力有效,但一些患者会出现明显的出血副作用,这就限制了这类药物的应用。因此,目前国际上包括我们(江苏省血液研究所)等数个研究机构都在开发新一代的抗血小板药物,这类药物的靶点是在血小板黏附阶段,通过抑制 GPIIb、GPVI 或胶原受体,以阻断病理性血栓的形成而且不妨碍正常的血小板聚集,所以出血不良反应小,有着较好的应用前景。2009 年,我们的“新型抗人血小板膜糖蛋白 IIb 单抗药物 SZ2 的临床前研究”课题得到国家“重大新药创制”专项的资助,对我们自己研制的针对 GPIIb 的单克隆抗体 SZ2 进行完整的新药临床前研究。目前,该课题已顺利完成正待鉴定。在该课题中,我们对 SZ2 抗体进行了人源化改造,建立了能稳定高效分泌人源化抗体的工程细胞株,新药成品已通过小试生产,中试生产的工艺流程已确定,质控、检定等也已按 GMP 要求完成。我们建立了相关的大动物(猕猴、比格犬等)动脉血栓模型,在此基础上,我们完成了该抗栓新药的体内药效学评价实验,证实了其强大的抗动脉血栓作用,其出血副作用也明显小于 Reopro。药效学的实验结果为一期临床试验的剂量方案建立了有用的依据,在大动物体内的急毒和长毒试验也已完成,相关资料总结后将在近期向国家食品药品监督管理总局申请开展该药在心血管介入术后的患者中应用此药防治再梗的临床试验。

四、以 VWF-胶原作用为靶点的新型抗栓药物

以抗血小板黏附为思路的抗栓药物靶点,除了上述的 GPIIb,还有一个重要

的黏附介导蛋白——VWF。我们研制了特异性针对 VWF A3 区的单克隆抗体 SZ-123 和 SZ-125(已获得国家专利授权,专利号:ZL 2009 1 0027568.1)。体内和体外实验都证实 SZ-123/SZ-125 可以明显抑制 VWF A3 区与胶原之间的结合,从而抑制 VWF 分子在胶原表面的黏附。除此之外,令人感兴趣的是,该抗体还能抑制瑞斯托霉素诱导的血小板聚集,这提示 SZ-123/SZ-125 还干预了 VWF A1 区的功能,并且提示我们 VWF A1 区与 A3 区之间可能存在着相互作用。对此,我们提出可能的解释是,在正常生理条件下,A3 区与 A1 区相互结合保护了超大相对分子质量 VWF 不被 VWF 裂解酶 Adamts13 裂解,使机体随时保持着成栓止血的能力;当血管受损、内皮下胶原暴露时,由于 A3 区与 A1 区之间的亲和力小于 A3 区与胶原间的亲和力,A3 区与 A1 区解离,既而 A1 区与 GPIIb 结合,A2 区空间结构打开,Adamts13 开始发挥作用,将超大相对分子质量 VWF 裂解,以避免形成过度的血栓。上述过程保证了机体内血栓与止血间的动态平衡,是一种非常合理的机制。这一推论是 VWF 基础研究领域的一个创新,该课题得到国家自然科学基金面上项目“血管性血友病因子(VWF)结构域的功能分析及其在动脉血栓形成中的作用机制”(30971287)和青年项目“VWF 分子 A3 区‘front face’域基因突变对 VWF 代谢和功能的影响”(81100347)的资助,对上述假设及相关基础理论问题进行深入研究。采用免疫亲和质谱技术分析得到了抗体 SZ-123/SZ-125 所针对的抗原表位,结果显示这些表位均位于 VWF A3 区的“front face”域,我们对计算机模拟分析出的 VWF A1 区中可能与 A3 区中的这些表位相结合的位点进行了突变,通过对表达的一系列突变蛋白的功能研究,我们确证了 VWF A1 区与 A3 区之间存在着相互作用,并且明确了相互作用的关键氨基酸位点。单抗 SZ-123/SZ-125 与这些位点结合后一方面抑制了 VWF 与胶原的结合,另一方面也干预了 VWF A1 区与 A3 区的相互作用,使得 VWF A1 区的结构改变受到影响,从而影响了 VWF A1 区与血小板之间的结合。

针对 SZ-123/SZ-125 在体外实验中所展示的抗栓潜力,我们在相关的应用研究方面也进行了深入的探索,具体工作包括:对单抗 SZ-123 的人源化改造、人源化抗体的高效表达及纯化制备工艺的建立、人源化抗体的体内药效学实验等。上述研究成果部分已发表 SCI 论文及在国际会议上做大会交流,达到国际先进水平。

五、以单克隆抗体 SZ-151 为基础的瑞斯妥霉素辅因子活性诊断试剂

除了治疗药物,对于具有诊断开发价值的基础研究成果转化也一直受到我们的关注。例如,抗血小板糖蛋白 GPIIb 的单克隆抗体 SZ-151,我们以 SZ-151 为基础建立了检测血管性血友病因子瑞斯妥霉素辅因子活性(VWF:Rcof)