

纤维蛋白溶解的生物化学

王中枢 编著

科学出版社

纤维蛋白溶解的生物化学

59.51711
128

社

59.5.711
128

纤维蛋白溶解的生物化学

王中极 编著

34522/05

科学出版社

1991

(京)新登字 092 号

内 容 简 介

本书是根据作者多年科研与教学所积累的资料编写而成的。全书论述了纤维蛋白的结构特点、化学特性,纤溶酶原与纤溶酶,纤溶激活剂,纤溶抑制物以及溶栓疗法。重点在纤溶激活剂、溶栓疗法和中药促纤溶作用等方面,对临床上防治血栓形成和血栓栓塞病都有一定的指导意义。

本书内容新颖,探讨深入,书中尽量避免复杂的分子结构和化学反应式,但有相应的参考文献供参阅。本书可供生物化学工作者、临床医师(尤其是心血管病、血液学方面的医师)参考,也可供医学院校师生阅读。

纤维蛋白溶解的生物化学

王中枢 编 著

责任编辑 高小琪

科 学 出 版 社 出 版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码: 100707

中国科学院印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

1991年12月第 一 版 开本: 787×1092 1/32

1991年12月第一次印刷 印张: 6

印数: 0001—1:600 字数: 128 000

ISBN 7-03-002801-2/Q·354

定价: 5.50 元

序

血纤维蛋白溶解与血液凝固关系密切，其内容涉及血液生理学、生物化学以及临床有关学科，是既有理论意义又有极大实用价值的一个重要课题。

本书的论述以纤溶酶为中心，同时阐述了学科发展中的新内容和新观点，例如，纤维蛋白的聚合理论、高凝状态，已激活的凝血因子的抑制，体内血液凝固与纤维蛋白溶解之间的平衡，肝脏与 tPA，酰化纤溶酶，纤溶酶抑制物与遗传性疾病等，低分子有机物的促纤溶作用是现代纤维蛋白溶解研究中的一个探索性课题，书中亦有介绍。在溶栓疗法中汇集并比较了欧美、中、日等国家的情况。在中草药促纤溶作用中，提出了如何避免假阳性（有促纤溶效果）和假阴性（有抑制纤溶作用）反应的问题，也介绍了日本在这方面的一些有关研究。

本书在撰写中虽以生物化学为主，但尽量避免了繁杂的化学结构式和反应式等（读者如需要可从参考文献中查找）。本书可作为医学院校、综合性大学和师范大学生化专业的参考书，也可供中药工作者和有关的临床医师阅读。

国外有关纤维蛋白溶解的专业书刊不多，国内尚未见到同类书籍。笔者根据多年教学与科研所得资料整理成此册，若有不当之处，希望读者指教。

本书编写过程中，曾得到苏州医学院阮长耿和赵经涌二位副院长的关心，生化教研室朱赓伯教授等的支持，又承常

州生物化学制药厂屠玠同志帮助，常州千红制药有限公司王耀芳经理的大力支持和鼓励，在此致以深切的谢意。

1990年9月

于苏州医学院生化教研室

目 录

一、引言	1
二、人血纤维蛋白原与纤维蛋白的化学	2
(一) 人血纤维蛋白原和纤维蛋白的化学结构与特点	2
(二) 异常纤维蛋白原	8
(三) 血纤维蛋白原的制备	8
(四) 血纤维蛋白原的测定	9
参考文献	10
三、纤维蛋白生成与血液凝固	12
(一) 纤维蛋白生成	12
1. 凝血因子	14
2. 内源性凝血	15
3. 外源性凝血	19
4. 纤维蛋白生成中的几个现代概念	22
5. 有关纤维蛋白生成的几个说明	23
(二) 血小板在血液凝固中的主要作用	25
(三) 血管壁在血液凝固中的主要作用	28
(四) 血浆中其它影响凝血的因子和抗凝血因素	29
1. 肝素与抗凝血酶	30
2. C蛋白与S蛋白	30
3. 其它因素	33
参考文献	34
四、纤维蛋白溶解	36
(一) 人血纤溶酶原与纤溶酶的生物化学	37
(二) 赖氨酸结合部位在调节纤维蛋白溶解的过程中起着	

关键作用	43
(三) 人血纤溶酶原的制备与测定	45
(四) 低分子纤溶酶	47
(五) 纤溶酶降解纤维蛋白原与纤维蛋白的过程	48
1. 纤维蛋白原降解生成FgDP及其意义	48
2. 凝血酶与纤溶酶对人血纤维蛋白原的作用	49
3. 纤维蛋白的降解过程	54
4. 纤维蛋白降解与纤维蛋白的生成	56
参考文献	57
五、纤溶酶原的激活	62
(一) 内源性纤维蛋白溶解激活作用	63
(二) 外源性纤维蛋白溶解激活作用	64
1. 血浆中 tPA 的主要来源	65
2. 肝脏分泌 tPA 的问题	66
(三) 外来物的纤溶激活作用	67
(四) 纤溶激活剂的实验室检查	68
参考文献	69
六、纤溶酶原激活剂	71
(一) 组织激活剂 (tPA)	71
1. tPA 的结构与化学性质	72
2. 血浆中的 tPA 含量	73
3. tPA 与纤维蛋白的亲合力与纤维蛋白对 tPA 的影响	74
4. 人工合成 tPA	75
(二) 尿激酶 (UK 或 uPA)	75
(三) 链激酶 (SK)	78
(四) 乙酰化酶与酰化 SK·P ₆ 复合物	78
(五) 蛇毒成分激活剂	80
(六) 低分子有机物的促纤溶作用	82
1. 直接促纤溶作用的有机低分子物质	83

2. 促血管壁内皮细胞释放纤溶激活剂的低分子物质	86
3. 其它方式的促纤溶作用	88
4. 促进与增强tPA合成以提高纤溶活性的低分子物	91
参考文献	92
七、纤溶抑制物	96
(一) 人血浆中的纤溶酶抑制物 (PI)	98
1. α_2 抗纤溶酶 (α_2 AtPn)	100
2. α_2 巨球蛋白 (α_2 MG)	104
3. α_1 蛋白酶抑制物 (α_1 PI)	106
4. 抗凝血酶Ⅲ (AtⅢ)	106
5. C_T 抑制物 (C_T INH)	106
(二) 纤溶酶原激活剂抑制物 (PAI)	109
1. PAI ₁	110
2. PAI ₂	113
3. PAI ₃ (FN)	113
4. PAI的生理意义	114
(三) 人工合成的纤溶抑制物	115
1. tPA的抑制物	115
2. 几个止血酸	116
(四) 其它纤溶抑制物	117
1. 抑肽酶	117
2. 负(阴)离子对纤溶酶原活化的抑制作用	117
(五) 纤溶抑制物的临床应用	118
参考文献	118
八、溶血栓疗法	121
(一) 链激酶的使用	123
1. 链激酶治疗过程	125
2. 局部应用链激酶	125
3. 使用链激酶的禁忌症	126

4. 链激酶的副作用	127
5. 使用链激酶的实验室检查	127
(二) 酰化酶	128
(三) 尿激酶	129
1. 尿激酶的临床前药理实验	130
2. 尿激酶的临床应用	131
3. 尿激酶应用的禁忌症	133
4. 尿激酶临床应用的副作用	133
5. 使用尿激酶疗法的实验监测	133
6. 单链尿激酶或前尿激酶 (sc UK 或 pro UK)	133
(四) 组织激活剂 (tPA)	134
(五) 其它溶栓剂	137
1. 肝素	137
2. 蛇毒提取物	138
3. 低分子有机化合物	139
(六) 溶栓疗法的实验室监测	140
1. 测定或控制溶栓效果	141
2. 预测出血倾向	141
(七) 几种常见血栓性疾病的处理概要	143
1. 心肌梗塞和急性心肌梗塞	143
2. 肺栓塞	148
3. 深部静脉血栓形成	149
参考文献	150
九、中草药的促纤溶作用	155
(一) 对活血化瘀等药物的现代医学观	156
(二) 有关活血化瘀等药物促纤溶作用的研究	160
1. 丹参及冠心病 II 号方	160
2. 通脉灵	163
3. 生脉散	163

4. 蒲黄与失笑散	164
5. 其它	167
(三) 日本的有关研究	168
参考文献	170
十、不依赖纤溶酶系统的纤溶作用	174
(一) 不依赖纤溶酶系统纤溶作用的发现	175
(二) 不依赖纤溶酶系统纤溶作用的生物学意义	179
参考文献	181

一、引 言

纤维蛋白溶解系统不仅对移除血管床内的纤维蛋白有重要作用，在其它一些生命现象如组织修复、癌肿细胞的转移、巨噬细胞的吞噬功能、排卵和胚胎的着床等各个方面，都起着一定的作用。

本书仅讨论从血管床中移除纤维蛋白的这一作用的几方面问题。

纤维蛋白溶解与血液凝固是一对重要的生理过程，二者相互矛盾又彼此联系，各受一系列酶促反应的调节。现在世界上大多数国家心血管疾病发病率颇高，这些疾病的病程中，几乎迟早都会遇到血液凝固与纤维蛋白溶解方面的问题。60年代以来，有关血液凝固与纤维蛋白溶解方面的机理与药物治疗的研究日益广泛和深入。从纤维蛋白溶解作用来说，人血纤维蛋白原的化学结构已经解决，纤维蛋白单体的聚合作用已从静电排斥理论转向化学聚合学说。纤维蛋白溶解作用的机制已有相当的实验根据，纤溶激活剂与纤溶抑制物的作用也在不断地探索。抗血栓治疗与溶血栓疗法已经取得不少经验和效果。纤维蛋白溶解无论在基础理论和实际应用方面的进展都十分迅速。

二、人血纤维蛋白原与纤维蛋白的化学

有关人血纤维蛋白原与纤维蛋白化学结构方面的研究开始较早。本世纪40—50年代, Bailey和Astburg已共同发现了人血纤维蛋白原与纤维蛋白具有相同特点的X射线衍射图谱, 认为除了溶解度降低外, 纤维蛋白是分子结构没有发生根本变化的纤维蛋白原的多聚物。

(一)人血纤维蛋白原和纤维蛋白的化学结构与特点^[1-9]

60年代末, Blombäck发现组成人血纤维蛋白原的三条不同肽链(α, β, γ)中各有两个是由5个氨基酸组成的“半胱氨酸组”(第1、第5位上是半胱氨酸)。在 α 和 γ 链中, 两个“半胱氨酸组”之间有111个氨基酸插入其间。在 β 链中, 有112个氨基酸插于两个“半胱氨酸组”之间。R.F.Doolittle曾经提出: 二硫键把 α 链的第1位半胱氨酸与 β 链的第5位半胱氨酸连接起来, 又把 β 链上第1位半胱氨酸与 γ 链的第5位半胱氨酸再连起来, 再把 γ 链上第1位半胱氨酸与 α 链上的第5位半胱氨酸又连起来。这样, 就正好使三条肽链上的“半胱氨酸组”组成三条肽链间的半胱氨酸二硫环的环状结构, 从而将 α, β, γ 三条多肽链的中部联系在一起。 α, β, γ 三条肽链间共有两个这样的二硫环。环与环之间的肽链连接片段正好就

是那“111个氨基酸残基”(α, γ)和“112个氨基酸残基”(β)片段。

再说,所有 α, β, γ 链的氨基酸序列都有它突出的特点:例如,甘氨酸和脯氨酸都很少,在二硫环间的334个氨基酸残基中仅有3—4个甘氨酸和脯氨酸。按一般规律,甘氨酸、脯氨酸与 α 螺旋是不相容的,不能共存的。因此,这里正好就是三条链上的 α 螺旋区。而且在这段的非极性氨基酸次序也有一定的节律,它们的分布在三条链中几乎是同步的,同时发生的。根据一系列的计算可以估计出这些段落是 α 螺旋的高发区,而纤维蛋白原的其它部位则没有什么螺旋结构。

三条螺旋区又结成绳索状,所有极性侧链向外,而非极性疏水区则向内转。 β, γ 链的C末端高度折叠, α 链的C末端则伸展展开,极性氨基酸向外突出,因此最容易被纤溶酶切除。实验结果亦证实受纤溶酶作用首先降解的正是 α 链的C末端。迄今,人血纤维蛋白原分子的全部氨基酸的结构顺序已经确定。 α, β 和 γ 这些肽链间相互连接的方式亦已明确。纤维蛋白原的分子结构为两组通过二硫键相互连接的三条不同的肽链(α, β, γ)所组成。共有29个二硫桥,其中有3个二硫桥(—S—S—)将纤维蛋白原的两组 α, β, γ 亚基连接为一个整体,其余 2×13 个二硫桥在每组亚基中出现一次。 β 链C末端与 γ 链的N末端各结合有糖,6个N末端几乎相聚在一起,这里是纤维蛋白原结构的中心区,此处二硫键最多。

若用数字表示:

纤维蛋白原分子的

氨基酸数目	分子量(道尔顿)
α 链: $2 \times 610 = 1220$	$2 \times 67\,000 = 134\,000$

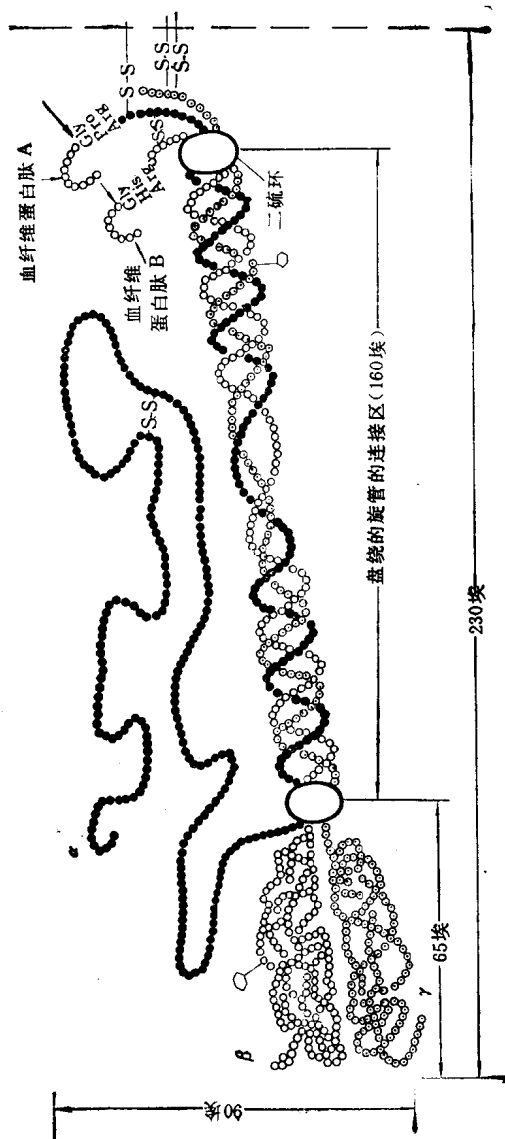


图 2-1 血纤维蛋白原结构模式简图

此图显示人血纤维蛋白原二聚体结构的一半，两个二聚体之间有3个二硫键相连。 α 、 β 、 γ 三条肽链间又借二硫环相连。两个二硫环之间是 α 螺旋区。 α 、 β 链的N末端上各有凝血酶的作用位点。 β 链C末端与 γ 链的N末端所连结的糖用六角形表示。 α 、 β 、 γ 三条肽链的C末端形状大不相同。

Gly, 甘氨酸 Pro, 脯氨酸 Arg, 精氨酸 His, 组氨酸

β 链: $2 \times 461 = 922$

$2 \times 56\ 000 = 112\ 000$

γ 链: $2 \times 411 = 822$

$2 \times 47\ 000 = 94\ 000$

还有资料表明: 每分子纤维蛋白原平均有6分子唾液酸接连在糖中, 所含之糖在纤维蛋白原转变成纤维蛋白的速度上起着重要作用^[10]。

人血纤维蛋白原结构及其特点见图2-1。

一般教科书、参考书中常采用图2-2中简单图形表示法。

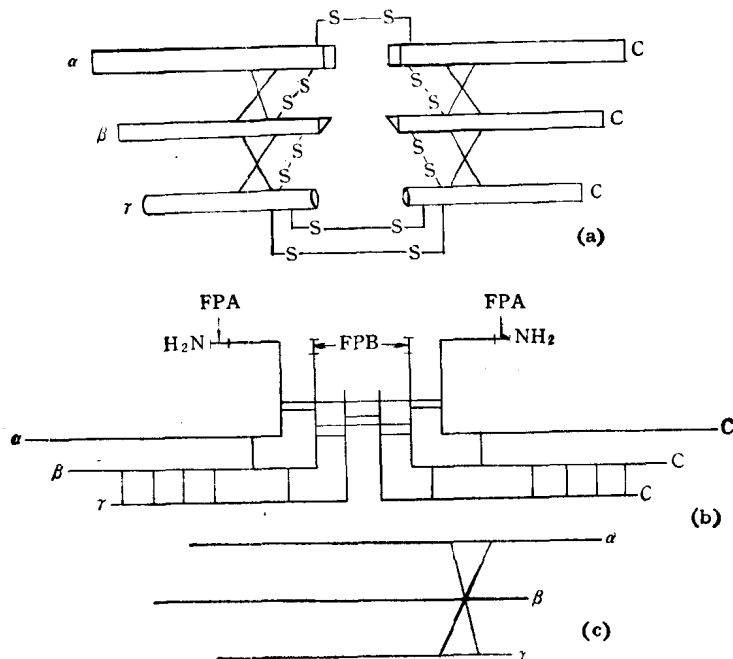


图 2-2 几种人血纤维蛋白原结构的简易图

(a), (c) 中的 $\times$ 表示二硫环; C 表示 C 末端。

(b) 中的短线表示二硫桥; FPA、FPB 分别表示血纤肽 A 与血纤肽 B

(c) 只画出纤维蛋白原单位结构 (二聚体的一半)

人血纤维蛋白原经纯化后, 在圆盘电泳上显示一条区

带，分子量340 000道尔顿。经 β 巯基乙醇还原，加十二烷基硫酸钠，行聚丙烯酰胺凝胶电泳后， α 、 β 、 γ 三条区带清晰可见，分子量分别为67 000，56 000和47 000道尔顿。

有关纤维蛋白单体能互相聚合，而纤维蛋白原却不能互相聚合的机理，在过去认为：人血纤维蛋白原的负电荷较正电荷多，又比较集中在中心区，为此，纤维蛋白原分子间因负电排斥作用以致不能相互聚集。当受凝血酶作用，失去带负电荷的血纤维蛋白多肽A（简称血纤肽A，简写为FPA）和血纤维蛋白多肽B（简称血纤肽B，简写为FPB）后，由于负电排斥作用减弱才发生聚合，再经有活性的凝血因子Ⅱ（即Ⅱ_a）及 Ca^{2+} 的作用，使纤维蛋白分子间发生链的交联，生成稳定的纤维蛋白聚合物。

Ferry等根据电镜研究结果提出纤维蛋白单体的聚合是重叠交错的，其结合机制又是化学的这一观点。他们认为：在纤维蛋白单体上有特定的聚合位点，这些位点在纤维蛋白原中却被血纤肽（主要是血纤肽A）保护着，一旦除去血纤肽A后，链的中心区（即N末端区）正好与另一个纤维蛋白分子中 α 链的C末端区结合，成为首尾相差半个分子结构距离的聚合物；除去血纤肽B后，又导致纤维蛋白分子间横向相连，使纤维蛋白的聚合加粗加固。Doolittle等曾用人工合成的、以甘一脯一精为主的肽片段（这正好是切除血纤肽A后露出来的N末端3个氨基酸）证实，它恰能与纤维蛋白原分子首尾相连地结合在一起，从而抑制纤维蛋白分子间的聚合。当用切除血纤肽B后暴露出来的N末端甘一脯一精组成的肽片段试验时，发现它也能与纤维蛋白原分子结合，但却不能抑制纤维蛋白分子间的聚合。由此看来，生成纤维蛋白多聚体起决定作用的一步是纤维蛋白分子间彼此以 α 链的N

末端与另一分子 α 链的 C 末端的首尾相连，生成相差半个纤维蛋白分子的反应。纤维蛋白分子间相聚有赖于纤维蛋白单体上的一定聚合位点的结合，并不是负电性间的排斥作用。其弱负电性是由于 γ 链上的成群的唾液酸（唾液酸串连在一起）所致。这对于分子内部的多个联结部位（intradomainal connectors）不参与分子间反应而保持开放状态，并接受纤溶酶的蛋白分解作用，甚至在聚合成纤维蛋白后也接受纤溶酶的分解是有利的。

现将纤维蛋白分子（单体）间的聚合作用用图 2-3 表示如下：

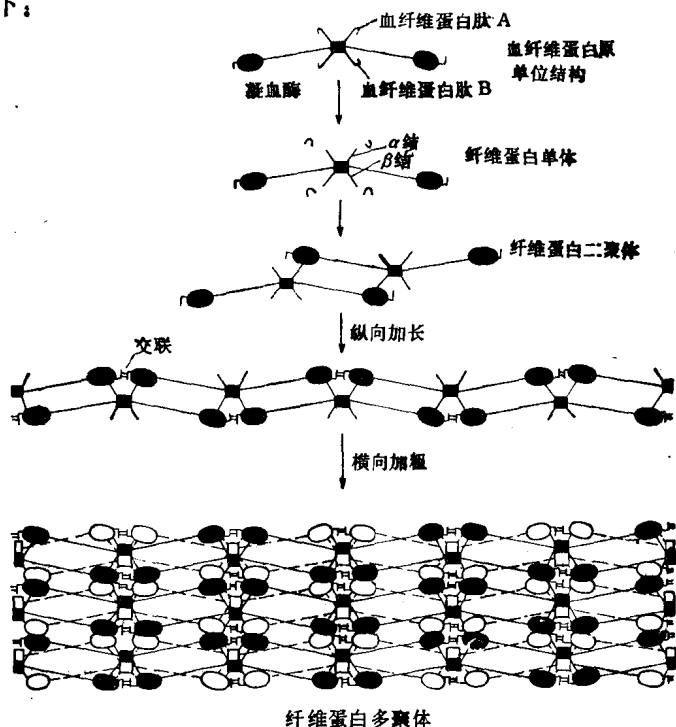


图 2-3 纤维蛋白原-纤维蛋白单体-纤维蛋白多聚体示意图