



现 代 医 学 研 修 系 列

弥散性血管内凝血

宋善俊 王鸿利 李家增 主编

上海科学技术出版社

弥散性血管内凝血

(第二版)

主 编 宋善俊 王鸿利 李家增
副主编 邹 萍 贺石林 刘泽霖
审 阅 沈 迪 王振义

上海科学技术出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

弥散性血管内凝血/宋善俊,王鸿利,李家增主编.
2版.—上海:上海科学技术出版社,2001.7
ISBN 7-5323-5765-1

I.弥... II.①宋...②王...③李... III.弥漫性
血管内凝血 IV.R554

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2001)第 12975 号

上海科学技术出版社出版发行

(上海瑞金二路 450 号 邮政编码 200020)

上海书刊印刷有限公司印刷 新华书店上海发行所经销

1985 年 6 月第 1 版

2001 年 7 月第 2 版 2001 年 7 月第 2 次印刷

开本 787×1092 1/16 印张 24.75 插页 2 字数 589 000

印数 11 101-17 100 定价:46.00 元

本书如有缺页、错装或坏损等严重质量问题,
请向本社出版科联系调换

内 容 提 要

本书分总论和各论两部分。总论主要叙述了 DIC 相关的基础理论、病因、发病机制、病理生理、临床表现、实验室检查、诊断与鉴别诊断、治疗等,各论则详细阐述了各种疾病与 DIC 的关系,如恶性肿瘤与 DIC、传染病与 DIC、外科疾病与 DIC、妇产科疾病与 DIC、心血管疾病与 DIC、糖尿病与 DIC、医源性疾病与 DIC、婴幼儿疾病与 DIC,等等。

DIC 是临床各科常见的危重综合征,本书内容新颖、系统、详实,可以为临床各科医师日常工作提供帮助。

作者名单

(按姓氏笔画排序)

王鸿利	上海第二医科大学附属瑞金医院	教授、博士生导师
刘莉	华中科技大学同济医学院附属协和医院	副教授
刘仲萍	华中科技大学同济医学院附属协和医院	主管技师
刘泽霖	广州医学院附属二院	教授、硕士生导师
刘新月	华中科技大学同济医学院附属协和医院	副教授
李家增	中国医学科学院血液学研究所	研究员、博士生导师
邹萍	华中科技大学同济医学院血液病研究所	教授、博士生导师
陈智超	华中科技大学同济医学院附属协和医院	副教授
宋善俊	华中科技大学同济医学院血液病研究所	教授、博士生导师
贺石林	中南大学医学院	教授、博士生导师
胡俊斌	华中科技大学同济医学院血液病研究所	副教授
胡豫	华中科技大学同济医学院血液病研究所	教授、博士生导师
夏凌辉	华中科技大学同济医学院血液病研究所	副教授
洪梅	华中科技大学同济医学院附属协和医院	讲师
郭涛	华中科技大学同济医学院血液病研究所	讲师
游泳	华中科技大学同济医学院血液病研究所	讲师
魏文宁	华中科技大学同济医学院血液病研究所	副主任技师

二 版 前 言

《弥散性血管内凝血》第一版面世至今,已历时 15 年。作为我国第一部弥散性血管内凝血(DIC)临床专著,它在深化医务工作者对 DIC 的认识,提高其诊治水平方面曾发挥了一定的作用。但是,随着时代的进步,科技的发展,有关 DIC 的基础理论、发病机制、诊断与治疗原则等,均已发生巨大的变化。因此,对原书进行修订,就成了读者、作者及出版者的共同心愿。

DIC 发病机制复杂,涉及血管内皮、血小板、凝血、抗凝及纤维蛋白溶解等多个领域。有关上述各个方面的基础研究,近年来有了很大的发展。为此,本书特请国内有关方面的著名专家李家增、王鸿利、贺石林等,撰写了有关章节,以期让读者从更深层了解 DIC 发病的本质。他们的参编,为本书增色不少。

DIC 是一涉及临床多学科的综合征,病情危重,发展迅猛,发病率较高,各级医院、各科医师都经常遇到此类病例。为了满足不同层次医务人员在不同条件下诊治本病的需要,在修订中,一方面阐述了 DIC 的病因、诊断、治疗的最新进展,如相关分子标志物在 DIC 诊治中的意义和作用,同时也介绍了在一些急诊及实验条件尚欠完善条件下的 DIC 诊断及标准,并较为详细地介绍了技术要求较高及相对简单易行的 DIC 实验诊断方法。其中,许多实验又是其他血栓栓塞性疾病早期诊断的重要方法,希望这些不但能对我国 DIC 诊治水平提高有所帮助,也对我国血栓与止血临床研究产生一定的促进作用。

DIC 病因繁多,临床表现与基础疾病有许多重叠和交叉,实验室检查迄今尚缺乏高度的特异性,因此实践中临床经验及细致的观察有着重要作用。为此,我们介绍了一些典型 DIC 病例,并予以简单的评注,以供同道们在实践中参考。

DIC 一旦发生,治疗甚为棘手,后果极为严重,因此加强对前 DIC 的研究是当今国内外危重医学的一个热点,为此,介绍了国外及我们初步拟定的前 DIC 诊断标准,但由于这一研究目前尚处于起步阶段,只能供借鉴、参考。

在本书编写过程中,我国血液界前辈,著名血液病学专家王振义、沈迪教授等给予了亲切的关怀和指导,在此谨表示诚挚的谢意。

由于本书编写时间较为仓促,加之编者水平有限,因此谬误和疏漏之处在所难免,切望专家和广大读者不吝赐教。

宋善俊

1999 年 8 月于武汉

目 录

总 论

第一章 DIC 相关基础理论	1
第一节 血管内皮细胞与 DIC	1
第二节 血小板活化与 DIC	12
第三节 凝血系统激活与 DIC	23
第四节 抗凝系统异常与 DIC	35
第五节 纤维蛋白溶解与 DIC	45
第六节 DIC 动物模型的建立	54
第二章 病因、发病机制及病理生理	61
第一节 概述	61
第二节 病因及发病诱因	63
第三节 发病机制	76
第四节 病理生理	78
第三章 临床表现	83
第一节 出血	83
第二节 休克及微循环衰竭	86
第三节 多发性微血管栓塞	87
第四节 微血管病性溶血	91
第四章 实验室检查	93
第一节 血管内皮细胞有关检验	94
第二节 血小板质与量的改变	98
第三节 血浆凝血因子改变	105
第四节 抗凝系统改变	119
第五节 纤溶系统改变	124
第六节 其他检测方法	137
附: DIC 实验室检查注意事项及常用试剂的配制	142
第五章 诊断、分型、鉴别诊断	146
第一节 诊断标准	146
第二节 分型与分期	157
第三节 鉴别诊断	163
第六章 治疗与预后	168
第一节 治疗	168

第二节 抗栓治疗及其实验室监测	189
第三节 预后	193

各 论

第七章 感染性疾病与 DIC	199
第八章 传染病与 DIC	222
第九章 恶性肿瘤与 DIC	239
第十章 妇产科疾病与 DIC	262
第十一章 外科疾病与 DIC	277
第十二章 肝脏疾病与 DIC	288
第十三章 慢性阻塞性肺部疾病与 DIC	294
第一节 成人呼吸窘迫综合征	294
第二节 慢性肺源性心脏病	298
第十四章 血液病与 DIC	304
第一节 急性白血病与 DIC	304
第二节 恶性淋巴瘤与 DIC	309
第三节 溶血性贫血	310
第四节 血栓性血小板减少性紫癜	311
第五节 异常球蛋白血症	313
第十五章 糖尿病与 DIC	315
第十六章 免疫性疾病与 DIC	319
第十七章 心血管疾病与 DIC	328
第十八章 胰腺炎与 DIC	334
第十九章 烧伤与 DIC	339
第二十章 婴幼儿疾病与 DIC	344
第二十一章 多器官功能衰竭与 DIC	355
第二十二章 医源性 DIC	366
附录一 DIC 典型病例分析	372
附录二 略词英汉对照	381

总 论

第一章

DIC 相关基础理论

第一节 血管内皮细胞与 DIC

一、血管内皮细胞功能概述

血管内皮细胞(vascular endothelial cell, VEC)是一种多功能细胞,除屏障、物质转运与非特异性免疫功能外,还对血液流变学、血管通畅性、血管运动、凝血、抗凝及纤维蛋白溶解具有调节作用。VEC 可以合成与释放许多生物活性物质。在生理条件下,VEC 主要表现抗血栓形成特性;在受损或病理刺激(如炎症介质、TNF 等)条件下,VEC 主要表现促进止血或血栓形成以及炎症过程的发展。VEC 的反应形式与内容完全取决于刺激的性质和数量,有些是快速而短暂的,有些是慢速较持久的。鉴于本节讨论内容是 VEC 与 DIC 的关系,因此主要介绍 VEC 对血管紧张性、血小板活化、血液凝固、纤维蛋白溶解的调节以及 VEC 功能失调,在 DIC 发病学中的意义。关于 VEC 调节血管稳态的物质可用表 1-1 加以概括。

二、VEC 对血管紧张性调节

(一) VEC 释放的舒血管物质

1. 血管内皮源性舒张因子 ATP、缓激肽及乙酰胆碱等体内强烈的舒血管物质本身对平滑肌细胞没有作用,他们的舒血管作用是通过刺激血管内皮细胞释放血管内皮源性舒张因子(endothelial derived relaxing factor, EDRF)实现的。体内的 P 物质、组胺、凝血酶等也有类

表 1-1 血管内皮细胞分泌和表达物质与血管稳态的关系

产 物	分泌	表面表达或 结合实际	功 能
1. 对刺激快反应			
前列环素, 一氧化氮	✓		抑制血小板, 降低血管紧张性
血小板活化因子	✓	✓	活化血小板, 白细胞趋化
抗血管性血友病因子	✓		参与血小板粘附与血液凝固
组织纤溶酶原活化素	✓	✓	活化纤溶酶原
2. 对刺激反应慢但持续较久			
抗血管性血友病因子	✓		参与血小板粘附与血液凝固
内皮素	✓		增加血管紧张性
组织纤溶酶原活化素	✓	✓	活化纤溶酶原
纤溶酶原活化素抑制物-1	✓	✓	抑制纤溶酶原活化素
细胞因子包括: IL-1、IL-6、IL-8、MCP-1 与 CSFs	✓	✓	调节白细胞功能
生长因子、基质降解酶, 基质糖蛋白, 蛋白多糖	✓		促血管生长
白细胞粘附分子包括 ICAM-1、ICAM-2、VCAM-1、ELAM-1	✓		介导白细胞粘附与迁徙
主要组织相容性抗原(I类与II类)		✓	免疫系统, 活化淋巴细胞
组织因子		✓	启动凝血
凝血酶调节蛋白		✓	参与蛋白质 C 活化
3. 固有性表达			
外核苷酸酶, 血管紧张素转化酶		✓	调节血管紧张性与血小板功能
因子 Va、Xa、IXa 的结合部位		✓	参与血液凝固

似作用。近年大量的研究表明 EDRF 的本质就是一氧化氮(NO), 所以 EDRF 也称为内皮细胞源性 NO。生理条件下, 内皮细胞合成 NO 是以精氨酸为原料, 固有型 NO 合成酶(cNOS)为催化剂。NO 合成酶是一种 Ca^{2+} /CaM 敏感的合成酶, 内皮细胞持续地分泌该酶。NO 合成酶的活性可被精氨酸拟似物如 N-甲基-精氨酸所抑制。NO 为一种多功能的活性物质, 它可作为一种兴奋性神经递质, 而具有神经调节作用。激活的巨噬细胞可产生 NO, 它是一种细胞毒性物质, 还具有抑制血小板功能的作用。迄今为止, 在已发现的 NO 生物学功能中, 最重要的是其扩张血管作用。局部产生的活性物质或血流切变力改变等均能增强内皮细胞膜上钙离子通道活性, 这些因素都可刺激内皮细胞在局部产生适量的 NO, 后者参与血压的自身调节。现已公认血管系统 NO 介导的舒张机制通常处于激活状态, 故血管系统一般情况下都处于一定的舒张状态。

内皮细胞功能紊乱时, 紊乱局部合成 NO 的功能减低, 因而产生相应的血管紧张。如在缺血时冠脉收缩, 其原因就在于低氧条件下, 内皮合成 NO 减少。动物实验与人体观察均证明在动脉粥样硬化的冠脉或虽血管造影正常但有血管痉挛和血栓形成倾向的冠脉, 内皮依赖性舒张作用均有所减低, 甚至完全消失。低密度脂蛋白(LDL)是动脉粥样硬化的危险因素之一, 它也可选择性地减低内皮依赖性的血管松弛作用。

在病理状态下, 内毒素、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、 γ 干扰素、白细胞介素-1 等均可刺激内皮细胞、巨噬细胞和血管平滑肌细胞产生一种 cNOS 的异构酶, 即诱生型 NOS(iNOS)。在内毒素性休克过程中, 通过 iNOS 可以产生大量的 NO, 这些过量的 NO 就是血压降低的重要原因之一。因此, NOS 抑制剂可以减轻内毒素所致的低血压状态。此外, 糖皮质激素也可阻断诱生型 NOS 的生成。

2. 前列环素 前列环素(prostacyclin, PGI₂)为一种花生四烯酸代谢产物,是血管内皮细胞产生的一种前列腺素族物质。它具有强烈的舒张血管与抑制血小板功能的作用。由内皮细胞合成的 PGI₂ 是血液中 PGI₂ 的最重要来源。在内皮依赖性的舒血管效应中,NO 起着主导作用。但许多能诱导内皮细胞合成 NO 的活性物质同时也刺激内皮细胞合成 PGI₂,因此,PGI₂ 也可能参与内皮依赖性的舒血管作用。然而在低氧条件下,NO 合成受到抑制,PGI₂ 的释放却是增加的。血管内皮细胞具有很强的合成 PGI₂ 的能力,它既能利用其自身产生的内过氧化物(PGG₂, PGH₂)合成 PGI₂,也可以利用血小板提供的该类物质合成 PGI₂。PGI₂ 是血管内皮细胞保持其抗血栓特性的重要物质。PGI₂ 在血管内皮细胞受刺激后临时合成,并立即释放到细胞外,在内皮细胞中并无储备。一般情况下,循环中的 PGI₂ 水平很低,但若存在刺激时,则合成与释放的量大为增加。刺激内皮细胞释放 PGI₂ 的物质包括凝血酶、ATP、ADP、缓激肽和组胺等。已知的激动剂刺激内皮细胞释放 PGI₂,都是通过 G 蛋白偶联受体进行的;然后依次激活磷脂酶 C,产生三磷酸肌醇(IP₃),引起胞内钙库中的钙动员而进入胞质。组胺作用于 H₁ 受体,ATP 和 ADP 作用于 P_{2y} 嘌呤受体。而凝血酶则首先水解其内皮细胞上特异性受体的氨基末端一段小肽后,才能结合于该受体并发生作用。内皮细胞受到激动剂作用后,在几秒钟内就合成并释放 PGI₂,在 2~3min 后停止。这是由于 VEC 受到钙动员激动剂刺激后,胞内钙离子的升高从时间上可分为两相:第一相为一过性升高,此相的钙离子来源为胞内钙库,持续约 60s。第二相在钙动员的激动剂持续存在时出现,可维持较长时间,来自胞外钙离子内流,此时钙离子内流是由胞内钙动员所启动,由阳离子选择性通道所介导的。内皮细胞受刺激后只有在第一相钙离子升高,因此 VEC 受刺激后合成与释放 PGI₂ 的效应是短暂的。

3. 肾上腺髓质素 首先从嗜铬细胞瘤中提出,故取名肾上腺髓质素(adrenomedullin, ADM)。它是 1993 年被发现的一种由 52 个氨基酸残基组成的多肽。因为 VEC 合成 ADM,并以旁分泌形式作用于血管平滑肌的 ADM 受体,通过 G 蛋白激活腺苷酸环化酶,使胞内 cAMP 升高,引起血管舒张。最近证明 ADM 也以自分泌形式刺激 VEC 钙动员,通过 cNOS 促使 VEC 释放 NO,也引起血管舒张。因此 ADM 是一强力血管舒张物质。此外,ADM 对血管平滑肌细胞增殖与迁移也有一定的抑制作用。

(二) VEC 与缩血管作用

1. 血管紧张素转化酶 肾素是肾脏球旁细胞分泌的酸性蛋白酶,它可使血管紧张素原变成血管紧张素 I。血管内皮细胞表面存在血管紧张素转化酶,它可使血管紧张素 I 转化为血管紧张素 II。血管紧张素 II 是一种强烈的缩血管物质,可引起强烈的缩血管反应。血管紧张素转化酶还能灭活缓激肽,使其丧失舒张血管作用。

2. 内皮素 血管内皮细胞能够合成内皮素(endothelin, ET),内皮素是目前已知的最强烈的缩血管活性肽。体外培养的内皮细胞在不受任何刺激的情况下可持续不断地分泌内皮素,而在某些激动剂的刺激下内皮细胞释放内皮素的量增加。内皮素在血管紧张性的急性调节中的作用,目前尚无定论。一般而言,激动剂(如生长因子,细胞因子等)刺激内皮细胞释放内皮素需要有新的 mRNA 产生以及相应的蛋白合成过程,所需的时间较长,因而内皮素似乎不太可能参与血管张力的急性调节;而内皮素刺激平滑肌细胞生长的作用可能是其主要的生物学功能。但新近报道凝血酶可以刺激内皮细胞急性释放内皮素;在高血压或急性心肌梗死时,循环中的内皮素水平升高。此外,实验表明血流切变力的增加可导致内皮细胞

急性释放内皮素。这些结果提示内皮素也可能参与血管张力的急性调节。内皮素受体有 ET_A 与 ET_B 两种。 ET_A 主要存在于血管平滑肌上。当内皮素与血管平滑肌表面的 ET_A 受体结合后,引发胞内钙库钙的释放和胞外钙的内流,于是平滑肌细胞胞质中 Ca^{2+} 浓度升高,从而导致血管收缩。 ET_B 主要存在于 VEC 上。当内皮素与 VEC 表面 ET_B 结合后,可以促进 VEC 释放 NO 与 PGI_2 。当内皮素浓度很低时,内皮素主要与 ET_B 受体结合,所以此时引起的生物效应是血管舒张。

三、VEC 对血小板活化的调节

(一) VEC 抑制血小板活化的物质

1. 前列环素(PGI_2) PGI_2 和血小板膜上特异的受体结合后可活化细胞膜的腺苷酸环化酶,使血小板内 cAMP 增多,从而抑制血小板的活化(包括形态改变、释放和聚集),并抑制抗血管性血友病因子(von Willebrand factor, vWF)、纤维蛋白原与血小板表面特异性受体的结合, PGI_2 还可抑制血小板的促凝活性。高浓度 PGI_2 也有抑制血小板粘附到内皮下成分的作用,特别是抑制活化的血小板粘附于内皮细胞。 PGI_2 对血小板粘附的抑制作用受切变速率的影响,切变速率越高,抑制作用越明显。微血管处是体内切变速率最高的地方,所以, PGI_2 在该处的抗血栓形成作用最强。 PGI_2 的血浆半衰期只有 6min,它在血浆中迅速代谢为 6-酮-PGF_{1 α} 。经肝去甲基化后,则成为去甲基-6-酮-PGF_{1 α} 。尿中排出 PGI_2 代谢产物主要是 2,3-二去甲-6-酮-PGF_{1 α} 和 6,15-二酮-2,3-二去甲-PGF_{1 α} ,它们可以作为测定 PGI_2 代谢的标志物。 PGI_2 和载脂蛋白 A-1 结合,可使其血浆半衰期延长 5 倍。如上所述,在一般情况下,循环中的 PGI_2 水平很低,对血小板几无作用;但若存在刺激时,则合成与释放的量大为增加。

2. 血管内皮细胞源舒张因子 NO 是强有力的血小板抑制剂,NO 能够激活血小板鸟苷酸环化酶,从而使 cGMP 增加。对于血小板而言,cAMP 与 cGMP 均具有抑制活化效应,因此 NO 与 PGI_2 存在协同作用。大多数诱导内皮生成 PGI_2 的激动剂也诱导 NO 的生成。但也有些刺激物(如乙酰胆碱)只能诱导 NO 的生成。此外,内皮细胞释放 NO 比释放 PGI_2 持续较长的时间,而且 NO 的合成与 PGI_2 的合成对胞内钙离子浓度的要求也有所不同。NO 的合成即使在胞内钙离子浓度升高的第二相也可进行。

3. 硫酸乙酰肝素蛋白多糖 内皮细胞表面存在丰富的硫酸乙酰肝素蛋白多糖(heparan sulfate proteoglycan, HSPG)。HSPG 具有较强的负电荷,血小板表面也带有负电荷,因而在生理状态下,HSPG 可阻止血小板粘附到血管内皮细胞上。另一方面,HSPG 还存在抗凝血酶(AT-III)结合部位,能使 AT-III 募集在血管内皮细胞表面,这是血管内皮细胞表面一个重要的抗凝特性。

4. 13-羟十八碳二烯酸(13-hydroxyoctadecadienoic acid, 13-HODE) 是血管内皮细胞的亚油酸衍生物,可强烈地抑制血小板粘附、聚集和 TxA_2 的生成,同时也可诱导 VEC 的 PGI_2 生成。13-HODE 确切的作用机制仍不清楚。推测 13-HODE 可能参与调节外连素受体功能。13-HODE 也存在于内皮下基底膜,其作用与防止血小板粘附到基底膜有关。凝血酶、钙离子载体 A23187、胰蛋白酶均可抑制血管内皮细胞合成 13-HODE。

5. 腺苷 ADP 可以诱导血小板聚集,ATP 则可对抗 ADP 的血小板诱聚作用并可扩张血管。活化的血小板可释放 ADP 和 ATP。血管内皮细胞也可释放 ADP 和 ATP。血管内皮细

胞具有调节这两种物质的作用。血管内皮细胞具有腺苷三磷酸双磷酸酶 (apyrase), 能迅速分解 ADP 与 ATP, 产生 AMP 和腺苷, 后者是一种强烈的血小板功能抑制物。内皮细胞还可摄取外源性腺苷生成 ATP。低糖和低氧血症可刺激血管内皮细胞释放腺苷。

(二) 内皮细胞与促血小板活化物质

在生理状态下, 血管内皮表现抗血小板活化的功能, 而内皮下层却有较为强烈的促血小板活化作用。在血管壁受到损伤或在实验条件下人为地去除血管内皮层, 暴露出内皮下层时, 血小板就会粘附到暴露的内皮下组织, 继之发生释放和聚集反应。内皮下的 vWF 以及因子 III、IV、V 型胶原和微纤维等对血小板的活化都有一定的作用。不仅如此, 当血管内皮受到损害性刺激时, 内皮细胞通过合成下列因子促进或参与血小板的活化。

1. 血小板活化因子 血小板活化因子 (platelet activating factor, PAF) 既是一种强烈的血小板活化剂, 可以引起血小板释放与聚集; 又是一种较强的炎症介质, 对多形核白细胞、单核细胞等有趋化作用。它能引起多形核白细胞和内皮细胞结合, 使之集中于炎症区并脱颗粒。PAF 还可引起血管通透性增加和血压降低。多种细胞的膜磷脂代谢可产生 PAF, 内皮细胞也能够生成 PAF。凝血酶、加压素、血管紧张素 II、白细胞介素 - 1 (interleukin - 1, IL - 1)、TNF、白三烯 C₄ 和 D₄、组胺、缓激肽、ATP、过氧化氢等可刺激内皮细胞合成 PAF, 而 PGI₂ 可抑制 PAF 的合成。此外, 内皮细胞也可通过摄取 PAF 而清除循环血流中的 PAF。

2. 血栓烷 A₂ 血栓烷 A₂ (thromboxane, TxA₂) 是一种强烈的缩血管物质, 主要来源于血小板。它是血小板活化时发生正反馈效应的主要物质 (另一为 ADP)。除血小板外, 内皮细胞也能合成和释放少量 TxA₂。据报道, 凝血酶、ATP、ADP、低密度脂蛋白、白三烯 B₄、白三烯 D₄、心钠素等都可刺激内皮细胞合成 TxA₂。TxA₂ 本身有刺激内皮细胞表达 TxA₂ 受体的能力, 同时它也有刺激内皮细胞合成 PGI₂ 的作用。内皮细胞合成和释放的 TxA₂ 功能上可拮抗 PGI₂ 和 EDRF 的作用。TxA₂ 半衰期仅 30s, 很快转化成为 TxB₂。经肝去氢酶作用后, 则成为 11 - 脱氢 - TxB₂。

3. 抗血管性血友病因子 (vWF) 血管内皮细胞和巨核细胞是体内 vWF 的唯一来源。血液循环中的 vWF 有 90% 以上是由内皮细胞合成释放的。内皮细胞内有两个 vWF 池。其一为胞质池, 这一类 vWF 合成后持续地分泌于胞外 (上清中或基质中)。其二为小体池, 此类 vWF 合成后首先储存于 Weibel - Palade (W - P) 小体中, 当内皮细胞受到激动剂的刺激时通过出胞作用分泌到胞外。凝血酶、组胺、肾上腺素及加压素可引起内皮细胞释放 W - P 小体内的 vWF。笔者实验室发现 TNF 也具有刺激内皮细胞分泌 vWF 的作用。大量实验表明在高切变力的条件下, 血小板的聚集反应依赖于 vWF 伸展的长丝状结构。因 vWF 分子中重复排列的亚基可为血小板膜上的 vWF 受体提供大量的结合位点, 从而增加了接触点的数量和粘附的力量。内皮细胞合成的 vWF 一部分沉积于内皮下层, 内皮下层的 vWF 来自内皮细胞基础性分泌和受刺激后释放。存在于血管壁内的 vWF 有介导血小板粘附的能力, 充当连接血管壁和血小板的桥梁。但仅有内皮下的 vWF 还不能达到最大的止血效应。血浆中的 vWF 在内皮细胞层受损后可结合于暴露的内皮下成分 (如胶原、纤连素等), 促进血小板的粘附。但来源于血浆的 vWF 和存在于血管壁的 vWF 的作用可能有所不同。内皮下的 vWF 可以提供高效能的 GPI_b 结合位点, 这可以促进血小板最初的粘附。但这类 vWF 介导 GP II_b - III_a 结合的活性较低, 而这种结合是血小板聚集和不可逆粘附的必不可少的条件。血浆中的 vWF 则具有较高的介导 GP II_b - III_a 结合的活性, 尤其是血小板源性 vWF 此功能更强。

在血管受损的部位,与 vWF 结合的血管壁成分尚不清楚。在纯化系统中,vWF 可以结合于不同类型的胶原,研究最多的是 I 型和 III 型胶原,前者绝大多数存在于血管壁的较深部位,因而只有损伤较为严重时才暴露出来,后者存在于内皮下层,在血管壁的轻微损伤时充当 vWF 的结合位点。实验显示 vWF 也可结合于血管壁的多糖成分。vWF 含有两个肝素结合位点。虽然在血管壁内没有肝素存在,但在管壁的细胞外基质中存在丰富的肝素样糖胺聚糖,它们可能起到“捕获”vWF 的作用。这种机制也可能参与 vWF 和血小板的相互作用以及血小板与其他粘附分子的相互作用。

四、VEC 对血液凝固的调节

(一) VEC 的抗凝特性

1. 硫酸乙酰肝素蛋白多糖(HSPG) VEC 能够合成 HSPG。HSPG 有一核心蛋白,以蛋白为中心,存在若干多糖链。由于糖链异构化与硫酸化部位多少不一,多糖链的生物效应并不相同。只有存在与 AT-III 特异性结合的硫酸乙酰肝素(HS)才有抗凝活性。一般说来,微血管 VEC 的 HSPG 大多为具有抗凝活性,大血管 VEC 的 HSPG 大多无抗凝活性。具有抗凝活性 HSPG 中特定的五糖结构与 AT-III 结合,并使 AT-III 构象发生变化。同时凝血酶通过静电吸引也与 HSPG 结合。于是 AT-III 与凝血酶通过精-丝反应部位相互结合,而使凝血酶灭活。然后 AT-III-凝血酶复合物释放进入血流,再与外链蛋白(vitronectin, VN)形成三合体,最后三合体再次与 VEC 的 HSPG 结合,随之摄入胞内进行降解。

2. 蛋白 C 系统的有关蛋白

(1) 血管内皮细胞蛋白 C(PC)受体 这是新近从 VEC 质膜中分离纯化的一种蛋白,它与 PC 结合,故称为血管内皮细胞的 PC 受体(endothelial cell protein C receptor, EPCR)。以抗 EPCR 单抗阻断 PC 与 EPCR 结合,则 PC 激活的速率降低约 80%,这表明 EPCR 参与 PC 的激活过程。实验表明内毒素与凝血酶可使 EPCR 表达上调。急性炎症反应综合征时血中 PC 降低,可能与这种情况下内皮细胞表达 EPCR 增高有关。

(2) 凝血酶调节蛋白 凝血酶调节蛋白(thrombomodulin, TM)是内皮细胞表面的一种跨膜糖蛋白。TM 通过第 5、6 个上皮生长因子和硫酸软骨素链与凝血酶结合,引起凝血酶变构,使之丧失促凝活性,而同时获得识别与激活 PC 的特性。激活的 PC(APC)能够灭活凝血途径的两个辅因子即 FV_a 与 FVIII_a。蛋白 S(PS)是 APC 的辅因子。APC 与 PS 结合后,灭活 FV_a 与 FVIII_a 速率大大加速。TM 主要分布在毛细血管。实际上除脑的微循环外,所有血管的内皮细胞都可合成并表达 TM。血管内皮细胞表面 TM 分子数量的多少调控着血管内皮细胞抗凝活性的强弱。内皮细胞合成 TM 受许多因素的调节,例如 TNF 可以通过抑制 TM 的 mRNA 转录,从而减少内皮细胞表达 TM。凝血酶与内皮细胞表面的 TM 结合形成 TM-凝血酶复合物,该复合物被细胞通过内吞作用整合于溶酶体中,结果使表面的 TM-凝血酶复合物减少,但体内实验显示如果给健康人输入 TNF- α ,其血浆中却有高于正常的 PC 活性,这可能是 TNF- α 诱导 VEC 产生大量 TF,TF 的产生导致大量凝血酶的生成,而大量凝血酶可激活更多的 PC,因而掩盖了 TM 活性降低的表现。

3. 组织因子途径抑制物 组织因子途径抑制物(tissue factor pathway inhibitor, TFPI)是体内最重要的外源性凝血途径的抑制物,循环血液中的 TFPI 主要由血管内皮细胞产生,巨核细胞和血小板也可合成少量的 TFPI。TFPI 有 3 个 Kunitz 结构。在钙离子存在的条件下,首

先以第二个 Kunitz 结构与因子 Xa(FXa)结合,然后再与 FVIIa-TF 结合形成 FXa-TFPI-FVIIa-TF 四聚体,从而灭活组织因子途径。TFPI 在体内有 3 种存在形式,即与 VEC 结合的 TFPI,与血浆脂蛋白结合的 TFPI 和血中游离的 TFPI。大部分 TFPI 存在于血管内皮的表面或者在血液中与脂蛋白相结合,只有少部分的 TFPI 处于游离状态。在循环血液发挥抗凝作用主要靠游离的 TFPI。与血管内皮细胞表面结合的 TFPI 能够作为 FXa 的受体;当其 FXa 结合后,随即被内吞进入细胞内,这也是循环血流中 FXa 清除的重要机制之一。与脂蛋白结合的 TFPI,其生物学意义尚待进一步阐明。

血流切变力是 VEC 合成与分泌 TFPI 的经常性生理性刺激。血管内皮细胞 TFPI 分泌主要受蛋白激酶 C 途径的调控,钙信号途径可能作用不大。在病理条件下内毒素、IL-1、TNF 可刺激 VEC 合成和释放 TFPI。此外,输入肝素或低相对分子质量肝素可使 VEC 表面的 TFPI 释放入血,血中 TFPI 的浓度升高;肝素同时可增加 TFPI 的抗 FXa 的作用。大量实验表明肝素在体内抗血栓形成作用,除 AT-III 外,TFPI 起着非常重要的作用。

4. 抗血管性血友病因子(vWF) 前已述及它是血小板粘附于内皮下时最重要的桥联物质。新近研究表明当 vWF 与 FVIII 结合成为复合物时,vWF 即可阻止 FVIII 与血小板和内皮细胞结合,又可避免 FXa 对 FVIII 的激活。因此可以认为在正常循环血液中,vWF 对内在途径凝血过程具有抑制作用;但当血管受损后,vWF 在内皮下组织与血管外则发挥促进血小板粘附和聚集作用。

5. 连接素 V 连接素(annexin, AN)是一族分布很广的非糖蛋白。AN-V 是已知 13 种连接素之一。VEC 与多种细胞均能合成与分泌 AN-V。由于它对带负电荷的磷脂酰丝氨酸与磷脂酰乙醇胺具有较强亲合力,因此它对 FX 激活复合物与凝血酶原酶复合物形成具有抑制作用,从而具有阻止因子 Xa 与凝血酶生成的效应。所以,VEC 表达 AN-V 也是它的抗凝机制之一。

(二) VEC 与促凝物质

1. 内皮细胞与组织因子 组织因子(tissue factor, TF)又称因子 III。它是外源性凝血途径的始动因子。当 TF 暴露于血液时,即可激活外源性凝血途径(亦称组织因子途径),这是由于 TF 与因子 VIIa 结合形成的 FVIIa/TF 复合物能同时激活 FX 和 FIX。在血管损伤部位,受损的内皮细胞可以表达 TF。不仅如此,内皮脱落使内皮下的成纤维细胞和血管平滑肌与血液接触,这些细胞的细胞膜上都有 TF 表达,故可启动凝血过程。实验表明在某些活性物质(TNF、IL-1、凝血酶等)的刺激下,内皮细胞能够表达 TF。在体外培养的条件下,TNF 刺激的内皮细胞所产生的 TF 大部分存在于细胞外基质中,在细胞表面并不很多。因为内皮下层有大量的 TF,所以,内皮细胞单层完整性的破坏是局部发生凝血反应的先决条件。最近的研究表明,TF 可以通过细胞内一种微粒被分泌到细胞外基质中去。当内皮受到破坏,暴露出存在于内皮下的 TF,就可在该处发生凝血反应。

在正常情况下,血管内皮细胞并不表达 TF。但当血管壁受到损害性刺激(如内毒素、免疫复合物等)或细胞因子(如 TNF、IL-1 等)作用时,血管内皮细胞表达 TF,这是体内发生血栓形成的重要原因。但迄今为止,细胞内调控 TF 表达的机制尚未阐明。笔者实验室对血管内皮细胞表达 TF 的调控因素进行了初步探讨。结果发现凝血酶与佛波酯均可强烈刺激主动脉内皮细胞表达 TF;蛋白激酶 C 抑制剂 H7 等能够显著地抑制凝血酶与佛波酯对 TF 表达的刺激作用,从而表明这些刺激物的作用均与蛋白激酶 C 途径有关。钙离子载体 A23187 也

对牛主动脉内皮细胞表达 TF 具有轻度刺激作用,并且这一作用可被三氟拉嗪(钙蛋白抑制剂)所阻断,这提示细胞内钙离子升高促使内皮细胞表达 TF,这是通过钙调蛋白途径实现的。

当 TF 的浓度较低时, FIX 与 FX 相比,前者更容易被激活。因此,在低浓度 TF 时, FVIIa/TF 的作用是激活较多的 FIX 成为 FIXa,再由 FIXa 激活更多的 FX。当 TF 浓度较高时(例如高浓度 TNF 刺激), Xa 的来源主要依靠 FVIIa/TF 复合物的直接激活。在血管内血栓形成的过程中,往往内皮细胞 TF 的表达量是很小的。在这种情况下,血栓的形成在很大程度上依赖于 FIX 的激活,这一过程通常在细胞表面进行。

2. 内皮细胞与因子 IX 和 FX 内皮细胞具有结合因子 IXa、IX 和 X、Xa 受体的作用。实验表明结合状态 IXa 比处于液相 IXa 的活性高 3 倍。FV、FVIII、FX 可促进 FIX 和内皮细胞的结合,并可增加 FIXa 的活性。FX 和 FXa 也能够结合于内皮细胞表面。结合于内皮细胞表面的 FX 能被细胞通过吞饮作用摄入胞质内,但它在胞质内并不降解,且可重新出现在细胞膜上。然而 FXa 则不然,它被摄入细胞后进入溶酶体中并被降解,这可能是内皮细胞清除 Xa 的方式。内皮细胞结合 FIX、FIXa 和 FX、FXa 可使凝血过程局限化,限制活化的凝血因子进入全身循环。在有 FIX、FVIIIa、FX、FV、凝血酶原和纤维蛋白原存在的条件下,内皮细胞表面的 FIXa 可以在局部引起凝血反应,从而导致血栓形成。

3. 内皮细胞与因子 V 内皮细胞还能合成一定数量的因子 V (FV) 并在细胞表面表达该因子。机械损伤可增加内皮细胞表达 FV;而同型半胱氨酸处理的内皮细胞可加速内皮细胞分泌 FV 的活化。此外,内皮细胞也可结合外源性的 FV。

4. 内皮细胞与高相对分子质量激肽原 内皮细胞可以合成并结合高相对分子质量激肽原(high molecular weight kininogen),它可作为 FIX 与 FIXa 的结合位点,这在体内内源凝血途径启动中起着重要作用。

五、VEC 对纤溶的调节

(一) VEC 的促纤溶特性

纤溶系统的正常功能对于维持血液的稳态非常必需。VEC 在调节纤溶系统活性方面起着非常重要的作用。VEC 可以合成组织型纤溶酶原激活剂(t-PA)及其受体、尿激酶型纤溶酶原激活剂(u-PA)及其受体。虽然 VEC 并不合成纤溶酶原,但能合成纤溶酶原受体,因而 VEC 表面可能结合有较高浓度的纤溶酶原。所以,VEC 通过纤溶在维持血管通畅方面起着关键作用。

1. t-PA 及其受体

(1) t-PA t-PA 是一种丝氨酸蛋白酶,可通过酰解作用而激活纤溶酶原。虽然巨核细胞与单核细胞都可产生 t-PA,但血浆中的 t-PA 主要是由 VEC 合成和分泌的。各种应激刺激、肾上腺素、纤维蛋白的沉着、血流停滞、缺氧、酸中毒、血流切变力增高等均可刺激 VEC 分泌 t-PA。内毒素则可抑制 VEC 分泌 t-PA。由内皮细胞分泌的 t-PA 是单链的,分泌后经纤溶酶的酰解作用成为双链型 t-PA。后者的活性比前者大为增加。t-PA 是体内纤溶酶原最主要的激活物。游离的 t-PA 与纤溶酶原的亲合力很低,对纤维蛋白却具有很强的亲合力;而纤维蛋白又可结合纤溶酶原,因此 t-PA 易于在纤维蛋白表面激活纤溶酶原。实验表明 t-PA 与纤维蛋白结合后,激活纤溶酶原的速率约增快 1 500 倍。

(2) t-PA 受体 体内的 t-PA 受体有几种不同的形式,但与体内血栓溶解直接密切相关的是 VEC 表面的 t-PA 受体。研究表明 VEC 表面存在高、中、低三类不同亲和力的 t-PA 结合位点(受体)。纤溶酶原活化素抑制剂(PAI-1)是 VEC 表面结合 t-PA 效率最高的分子。VEC 合成的 PAI-1 大部分沉积于基质中,但也有一小部分存在于细胞表面,这有助于细胞表面结合 t-PA。t-PA 与 PAI-1 结合后,即失去激活纤溶酶原的活性。

VEC 是合成 t-PA 的场所,而其表面又有 t-PA 受体。t-PA 可以通过自分泌或旁分泌的方式结合于内皮细胞表面。所以,尽管血液中 t-PA 浓度相对很低,但在 VEC 表面,其浓度却相对较高。与在溶液状态下相比,VEC 表面的 t-PA 对纤溶酶原的激活作用大为增加(10 倍以上)。因 t-PA 和纤溶酶原都可以结合于血管内皮细胞,所以这种增强作用就更为明显。

某些循环中的血细胞如血小板、单核细胞和中性粒细胞表面也有 t-PA 受体。此外,肝细胞表面也存在 t-PA 受体,而且不止一种;t-PA 在肝内很快就被清除,可能与这些受体有关。

2. 尿激酶型纤溶酶原活化剂及其受体

(1) 尿激酶型纤溶酶原活化剂 尿激酶型纤溶酶原活化剂(urokinase-type plasminogen activator, u-PA)属于丝氨酸蛋白酶。天然的 u-PA 是单链的,它的催化活性较低。单链 u-PA(scu-PA)与纤维蛋白具有一定亲和力,并对纤溶酶原活化素抑制物亲和力很弱。实际上,只有当 scu-PA 被纤溶酶或其他蛋白酶分解成为双链尿激酶型纤溶酶原活化剂(tu-PA,即通常的尿激酶),它才能更有效地激活纤溶酶原。成纤维细胞与其他细胞可以合成 scu-PA。静息的血管内皮细胞并不表达 scu-PA,但在受到内毒素与细胞因子(如 TNF)刺激时则可表达 scu-PA。而尿液中的 u-PA,可能主要来自泌尿生殖系上皮细胞。实验证明 scu-PA 与 t-PA 对于激活纤溶酶原存在协同作用。

(2) 尿激酶受体(u-PA 受体) u-PA 受体是一种单一的蛋白质,由 313 个氨基酸构成,并富含半胱氨酸,分子上有大量的糖基化位点。成熟分子的相对分子质量为 55 000~60 000,糖基化的差异可能导致其对 u-PA 亲和力的不同。u-PA 受体识别 u-PA 的位点在 u-PA 分子的上皮生长因子样结构域。该结构位于 u-PA 分子的氨基端。脱去原氨基端的低相对分子质量 u-PA 不具有此结构区,故不能与 u-PA 受体结合。这个由高相对分子质量 u-PA 向低相对分子质量的转变可于体内发生,故在体内这可能是调节 u-PA 与其受体结合的一种机制。u-PA 与其抑制物 PAI-1 等所形成的复合物也可与 u-PA 受体结合,但其结合后的“命运”与 u-PA 单独与受体结合后不同。u-PA 与受体结合后存在于细胞表面,可以发挥生物活性;而 PAI-1-u-PA 复合体与 u-PA 受体结合后则被细胞内吞,这种内吞作用是一种清除 u-PA 的机制。

u-PA 受体广泛地存在于体内多种细胞。VEC 表面的 u-PA 受体丰富,每个 VEC 可结合相对分子质量 20 000~200 000 的 u-PA。实验表明许多激动剂和细胞因子可以刺激 VEC 的 u-PA 受体的表达。在人脐静脉,蛋白激酶 C(protein kinase C, PKC)依赖的和 cAMP 依赖的蛋白激酶分别可以独立地上调 u-PA 受体的表达。成纤维细胞生长因子能够刺激 VEC 的 u-PA 受体表达。凝血酶则抑制 VEC 表达 u-PA 受体。

3. 纤溶酶原受体 纤溶酶原受体广泛分布于各种细胞的表面,而且在细胞表面的密度很高。每一细胞表面都有不止一种纤溶酶原受体。纤溶酶原受体识别纤溶酶原的赖氨酸结