

防栓抗栓

现代治疗策略

主编 周玉杰 葛均波 韩雅玲

人民卫生出版社

防栓抗栓 现代治疗策略

主审	胡大一		
主编	周玉杰	葛均波	韩雅玲
编者	卜聪亚 方 哲 刘宇扬 张 妍 张维君 李艳芳 赵迎新 曹 政	马长生 王健龙 闫振娴 张 健 李 曦 杜新平 聂 斌 谢 英	马涵英 史冬梅 吴小滢 张丽洁 李月平 周志明 聂晓敏 郭永和

人民卫生出版社

图书在版编目(CIP)数据

防栓抗栓现代治疗策略/周玉杰等主编. —北京:
人民卫生出版社, 2006. 4

ISBN 7-117-07440-X

I. 防… II. 周… III. 血栓栓塞-治疗
IV. R543.05

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2006)第 009679 号

防栓抗栓现代治疗策略

主 编: 周玉杰 葛均波 韩雅玲

出版发行: 人民卫生出版社(中继线 67616688)

地 址: (100078)北京市丰台区方庄芳群园 3 区 3 号楼

网 址: <http://www.pmph.com>

E - mail: pmph@pmph.com

邮购电话: 010-67605754

印 刷: 中国农业出版社印刷厂

经 销: 新华书店

开 本: 787×1092 1/16 印张: 15.75

字 数: 368 千字

版 次: 2006 年 4 月第 1 版 2006 年 4 月第 1 版第 1 次印刷

标准书号: ISBN 7-117-07440-X/R·7441

定 价: 60.00 元

著作权所有, 请勿擅自用本书制作各类出版物, 违者必究

(凡属印装质量问题请与本社销售部联系退换)

序

据世界卫生组织 2001 年的报告,血栓疾病是全球总死亡率第一位的疾病,预计到 2020 年,心肌梗死将在各种死因中从第五位上升为第一位,脑卒中将从第六位上升到第四位。全人类正面临着血栓栓塞性疾病的巨大挑战。

血栓形成或栓塞是导致心、脑和外周血管事件的最后关键环节,是致死和致残的直接原因,没有血栓就没有“事件”。稳定斑块、抗栓治疗是防治“事件”的关键,联合使用不同机制的抗血栓药物,不但是新的研究方向,而且已经成为新的医疗实践。

然而,目前国内大多数医生对血栓栓塞性疾病的诊治存在着许多不规范、甚至不合理的地方,迫切需要应用科学的理论和循证医学的原则来指导血栓栓塞性疾病的诊断和防治。为此,中国医师协会循证医学专业委员会设立了全国性“血栓栓塞性疾病防治技术推广”项目,其宗旨就是要在基础理论和循证医学的基础上,规范血栓栓塞性疾病的诊断和防治方法。

由周玉杰、葛均波、韩雅玲等教授编撰的《防栓抗栓现代治疗策略》一书的出版恰逢其时。该书不仅涵盖了止血与抗凝、防栓及抗栓的基础理论及临床实践,还着重介绍了国内外在该领域的最新进展和临床指南,对于深入理解血栓栓塞性疾病的发病规律和规范临床实践有着重要的促进作用。

我相信《防栓抗栓现代治疗策略》能够为广大医务工作者的临床实践提供有益的帮助。

胡大一

中国医师协会循证专业委员会主任委员

同济大学医学院院长

2006 年 1 月 15 日

前言

业已证实,循环系统的血栓栓塞事件是人类健康的大敌,是新世纪新的挑战。目前临床主要预防措施是应用抗血小板和抗凝药物治疗,以减少血栓形成。如何有效地防止血栓形成、血栓形成后如何进一步处理是临床医生亟待解决的问题。近几年来各种有关抗血小板、抗血栓的研究和试验不断取得新的突破和进展,随着各种大规模临床试验的揭晓和指南的制定,新的治疗措施已经或即将诞生,临床医生的相关知识需要及时更新。有鉴于此,我们编写了《防栓抗栓现代治疗策略》一书,该书以最先进、最快捷、最准确为初衷,相信每一位从事心血管专业的临床医师读过此书后即可迅速掌握血栓疾病防栓抗栓治疗的精髓。

《防栓抗栓现代治疗策略》一书有以下几个特点:①新:将最新国内外有关抗血小板、防止血栓形成的大规模临床试验纳入,包括一些还未付印在线发表的研究成果;②全:该书中翔实地介绍了临床上各种抗栓防栓的药物以及详细的相关内容(药理机制、药代动力学、药效学、副作用以及目前临床应用情况及注意事项),所依据的资料来自专家数十年临床经验及大量文献书籍的综合,与国际先进科学技术接轨;③权威:书中的研究成果都来自世界上最权威的心脏研究机构和中心,达到与世界同步的高度。故而,该书既适合作为患者了解防栓抗栓知识、为自己选择最佳治疗措施的良师益友,也是非心血管疾病专业医生学习防栓抗栓基本知识的参考书,是了解世界防栓抗栓领域最新进展的工具,更是从事心血管介入专业研究和临床工作的医生掌握防栓抗栓治疗最快捷、最有效的武器。

该书突出了新、快和实用的特点,相信该书的出版能够指导广大临床医生规范防栓抗栓的治疗,为推动我国血栓疾病治疗的发展起到积极作用。

周玉杰 首都医科大学附属北京安贞医院

葛均波 复旦大学附属中山医院

韩雅玲 沈阳军区总医院

2006年1月10日

目 录

第一章 凝血及纤溶病理生理机制与血栓形成	1
第一节 血液凝固病理生理机制及血栓形成	1
第二节 纤溶的病理生理机制及血栓形成	12
第三节 血栓形成及出血机制	22
第二章 抗血小板药物的作用机制	30
第一节 血小板的基本结构	30
第二节 血小板膜分子结构	32
第三节 血小板的活化及其生理功能	34
第四节 主要抗血小板药物的作用机制	37
第三章 抗凝药物的作用机制	45
第一节 生理的抗凝机制	45
第二节 抗凝药物的抗凝机制	48
第四章 抗血小板药物的分类及临床应用	59
第一节 抗血小板药物的分类	59
第二节 抗血小板药物的临床应用	60
第三节 其他抗血小板药物	93
第五章 抗凝药物的分类和临床应用	107
第一节 注射剂抗凝剂的临床应用	107
第二节 口服抗凝剂的临床应用	123
第三节 其他抗凝药物的临床应用	126
第四节 新型抗凝药物的临床应用	130



第六章 溶栓药物的分类、作用机制及临床应用	149
第七章 防栓抗栓治疗并发症及药物毒副作用	171
第一节 抗血小板药	171
第二节 抗凝血药	173
第三节 溶栓药	177
第四节 蛇毒类抗栓剂	178
第八章 常见疾病的标准化治疗及防栓抗栓策略	180
第一节 深静脉血栓形成	180
第二节 肺栓塞 (PTE)	183
第三节 冠状动脉疾病	185
第四节 心房颤动	195
第五节 风湿性瓣膜病	205
第六节 缺血性脑卒中的抗栓治疗	206
第九章 防栓抗栓药物的临床试验荟萃	215
第一节 急性冠脉综合征的防栓抗栓治疗	215
第二节 冠心病的 PCI 围术期的防栓抗栓治疗	225
第三节 房颤脑卒中的防栓抗栓治疗	230
第四节 肺栓塞、静脉血栓防栓抗栓治疗	232
第十章 防栓抗栓药物的循证医学前景展望	238

1

第一章

凝血及纤溶病理生理机制与血栓形成

第一节 血液凝固病理生理机制及血栓形成

血液凝固简称凝血(coagulation),是血液由液体状态转为凝胶状态的过程。凝血系统包括凝血和抗凝两个方面,两者间的动态平衡是正常机体维持体内血液液体流动状态和防止血液丢失的关键。血栓是由纤维蛋白网和血细胞组成,因此凝血过程的激活在血栓形成中有极为重要的作用。凝血因子的激活涉及临床多种疾病的病因和发病机制,因而凝血与血栓形成的研究一直是医学的重要课题之一。由于各种新技术的发展,尤其是分子生物学突飞猛进的发展,特别是基因定点诱变和基因敲除(knock out)的普遍开展,与凝血有关的各种血浆和细胞成分的结构、特征及病理意义已基本被阐明,人们对凝血、纤溶及血栓形成的过程及病理生理的意义有了新的、更进一步的认识,促使传统抗栓治疗方法不断发展、新的抗栓治疗不断涌现。

一、凝血过程

凝血过程是一系列凝血因子被相继酶解激活的复杂生理过程,最终生成凝血酶,形成纤维蛋白凝块,其过程是血液由溶胶状态转变为凝胶状态的过程。

综观人类对凝血机制的研究,可分为以下三个阶段:

1. 基本概念形成阶段 早在17世纪中叶,意大利科学家Malpighi从血细胞和血清中分离出“凝块纤维”,并借助显微镜对“凝块纤维”的形态特征进行了研究。而现代凝血概念起源于19世纪初,英国科学家Hewson最先证明“凝块纤维”来源于血浆,Babington把“凝块纤维”命名为纤维蛋白并认识到它是由存在于血浆中的前体转变而来,之后不久,

其前体纤维蛋白原从血浆中得以分离。之后 Buchanan 又发现血浆中存在“第二因子”促使纤维蛋白原转为纤维蛋白,不久 Schmidt 提出“第二因子”在血浆中必定是以无活性的前体形式存在,这一前体首先转为活性形式才发挥使纤维蛋白原转变的功能,由此形成凝血途径的基本概念,“第二因子”即为现在的凝血酶,其前体即为凝血酶原。

2. 血液凝固经典理论的引出阶段 20 世纪初,德国生理学家 Morawitz 综合有关研究成果提出凝血理论,依据这一理论,凝血酶原向凝血酶的转变需要源于组织的活性物质(即组织凝血活酶,现称组织因子 tissue factor, FⅢ)的存在,此理论后来被称为血液凝固的经典理论,是外源性凝血途径的基础,但在当时认为凝血过程只有 4 个因子参与,即纤维蛋白原、凝血酶原、组织凝血活酶和钙离子。在其后的 50 年中,其余参与外源性凝血途径的因子才陆续得以描述。

3. 凝血瀑布学说提出阶段 综合有关研究成果,美国的 Davie、Ratnoff 和英国的 MacFarlane 分别提出凝血过程的瀑布学说,详见下文。凝血过程的瀑布学说为内源性凝血途径的基础,自此即形成了较为完善的凝血理论。近些年来,随着研究的进一步深入,凝血理论又得到不断的发展和完善。尤其分子生物学技术的应用使多种凝血因子和凝血过程的多个环节在分子水平上得到阐述。即便如此,迄今机体内正常的凝血过程尚未完全弄清。

笔者将凝血过程归纳为三部曲:①凝血因子激活;②凝血酶形成;③纤维蛋白形成。最终导致瀑布式凝血过程的发生。抓住这三个环节,就抓住了整个凝血瀑布反应的核心,目前所有关于凝血瀑布反应的研究,都以这三个凝血步骤为基础。

(一) 血瀑布学说^[1,2]

凝血瀑布学说是由美国的 Davie 和 Ratnoff 和英国的 MacFarlane 在 20 世纪 60 年代提出来的,被称为凝血机制的经典解释。根据这一学说,认为凝血是一系列酶解反应的过程,在这一过程中,多数凝血因子相继经酶解激活,从无活性前体转变为活性形式,直至最终形成凝血酶,而且每步酶解反应均有放大效应,结果少量凝血Ⅻ因子(FⅫ)即能使大量凝血酶原转为凝血酶。瀑布式凝血过程分为内源、外源及共同途径,最终形成凝血酶,催化纤维蛋白原向纤维蛋白单体、聚合物转变。

凝血过程通常分为:①内源性凝血途径;②外源性凝血途径;③共同凝血途径。内源性凝血途径和外源性凝血途径的交合点在 FⅩa 形成,从 FⅩa 至纤维蛋白形成的过程称为共同通路。内源性凝血途径和外源性凝血途径的主要区别在于启动方式和参加的凝血因子不同。但所谓内源性或外源性凝血并非绝对独立的,而是互有联系。这一学说可以很清楚的解释试管内的凝血试验,但对许多临床情况无法解释,如 HK(高分子量激肽原)、PK(前激肽释放酶)、因子Ⅺ缺乏但无出血表现的现象。因此近 10 年来人们对这一学说不断进行修正,认为内源性凝血不是体内凝血的有意义的过程,而外源性凝血是体内凝血过程的重要途径。

1. 内源性凝血途径 内源性凝血途径是指参加的凝血因子全部来自血液(内源性)。临床上常以活化部分凝血活酶时间(APTT)来反映体内内源性凝血途径的状况。内源性凝血途径是指从因子Ⅺ激活,到因子Ⅹ激活的过程。当血管壁发生损伤,内皮下组织暴露,带负电荷的内皮下胶原纤维与凝血因子接触,因子Ⅺ即与之结合,在 HK 和 PK 的参与下被活化为Ⅺa。在不依赖钙离子的条件下,因子Ⅺa 将因子Ⅹ激活。在钙离子的存在

下,活化的 XIa 又激活了因子 IX 。单独的 IXa 激活因子 X 的效力相当低,它要与 $VIIIa$ 结合形成1:1的复合物,又称为因子 X 酶复合物。这一反应还必须有 Ca^{2+} 和 PL (磷脂)共同参与。

2. 外源性凝血途径 外源性凝血途径是指参加凝血的凝血因子并非全部存在于血液中,还有外来的凝血因子参与止血。这一过程是从组织因子暴露于血液而启动,到因子 X 被激活的过程。临床上以凝血酶原时间(prothrombin time,PT)测定来反映外源性凝血途径的状况。组织因子(TF)是存在于多种细胞质膜中的一种特异性跨膜蛋白。当血管损伤或血管内皮细胞及单核细胞受到细菌内毒素、补体 $C5a$ 、免疫复合物、白细胞介素-1、肿瘤坏死因子等因素刺激时^[3,5],TF得以释放,在钙离子的参与下,它与因子 VII 一起形成1:1复合物^[6]。一般认为,单独的因子 VII 或组织因子均无促凝活性。但因子 VII 与组织因子结合会很快被活化的因子 X 激活为 $VIIa$,从而形成 $VIIa$ 组织因子复合物,后者比 $VIIa$ 单独激活因子 X 增强16 000倍。外源性凝血所需的时间短,反应迅速。血管内皮损伤是临床上常见的引发外源性凝血过程的条件。外源性凝血途径主要受组织因子途径抑制物(TFPI)调节。TFPI是存在于正常人血浆及血小板和血管内皮细胞中的一种糖蛋白,它通过与因子 Xa 或因子 $VIIa$ -组织因子-因子 Xa 结合形成复合物来抑制因子 Xa 或因子 $VIIa$ -组织因子的活性。另外,研究表明,内源凝血和外源凝血途径可以通过 $VIIa$ -组织因子复合物联系起来,相互活化^[6,7]。

3. 凝血的共同途径(见图1-1) 从因子 X 被激活至纤维蛋白形成,是内源、外源凝血的共同凝血途径。构成上述凝血瀑布三部曲中的后两步,主要包括凝血酶生成和纤维蛋白形成两个阶段。

(1)凝血酶的生成:即因子 Xa 、因子 Va 在钙离子和磷脂膜的存在下组成凝血酶原复合物,即凝血活酶,将凝血酶原转变为凝血酶。

(2)纤维蛋白形成:纤维蛋白原被凝血酶酶解为纤维蛋白单体,并交联形成稳定的纤维蛋白凝块,这一过程可分为三个步骤:纤维蛋白单体的生成、纤维蛋白单体的聚合、纤维蛋白的交联。纤维蛋白原含有三对多肽链,其中纤维蛋白肽A(FPA)和B(FPB)带较多负电荷,凝血酶将带负电荷多的纤维蛋白肽A和肽B水解后除去,转变成纤维蛋白单体。从纤维蛋白分子中释放出的FPA和FPB可以反映凝血酶的活化程度,因此FPA和FPB的浓度测定也可用于临床高凝状态的预测。纤维蛋白单体生成后,即以非共价键结合,形成能溶于尿素或氯醋酸中的纤维蛋白多聚体,又称为可溶性纤维蛋白。纤维蛋白生成后,可促使凝血酶对因子 $XIII$ 的激活,在 $XIIIa$ 与钙离子的参与下,相邻的纤维蛋白发生快速共价交联,形成不溶的稳定的纤维蛋白凝块。纤维蛋白与凝血酶有高亲和力,因此纤维蛋白生成后即能吸附凝血酶,这样不仅有助于局部血凝块的形成,而且可以避免凝血酶向循环中扩散。

在凝血共同途径中有两步重要的正反馈反应,有效地放大了内、外源凝血途径的作用。一是 Xa 形成后,可反馈激活因子 V 、 VII 、 $VIII$ 、 IX ;二是凝血酶形成后,可反馈激活因子 V 、 VII 、 $VIII$ 、 X 、 XI 、以及凝血酶原。凝血酶还可促使血小板发生聚集和释放反应,刺激血小板收缩蛋白引起血块退缩。但大量凝血酶的产生却反过来破坏因子 $VIII$ 和因子 V ,这是正常凝血的负反馈调节,以防止不适当的过度凝血。

4. 凝血过程现代概念 在本世纪的前半个世纪内,在Schmid与Morawitz倡导下,

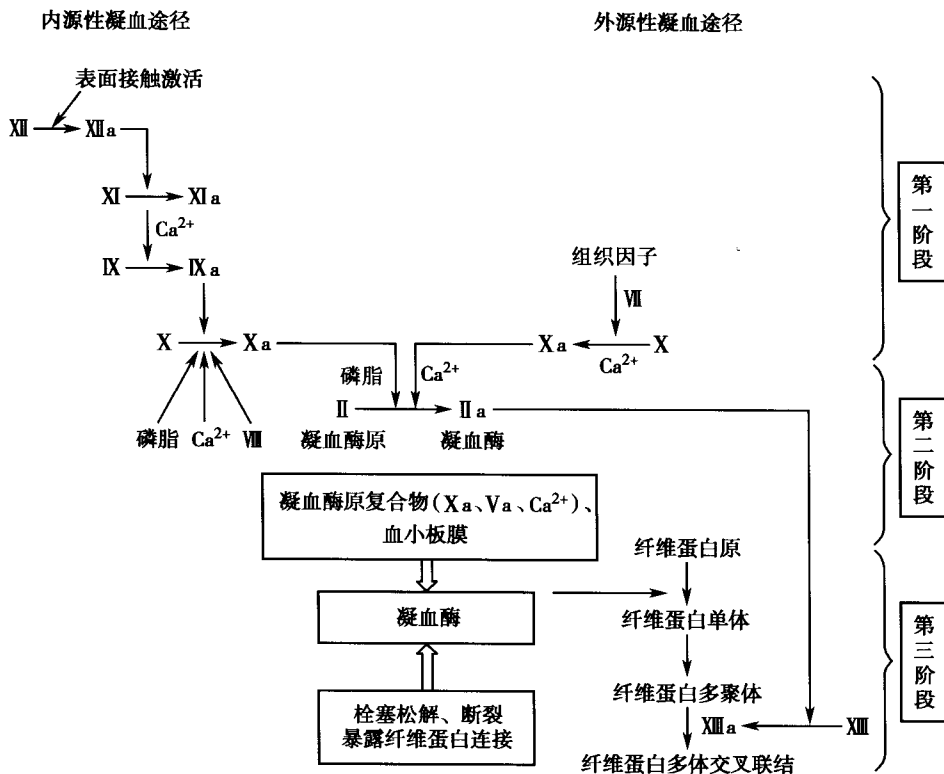


图 1-1 正常凝血机制

普遍认为血液凝固是血浆暴露于受损组织引起的,并将组织中负责启动凝血过程的物质称为组织凝血活酶,随后命名为组织因子或因因子Ⅲ。但实验证明没有组织因子参加,血液也会凝固。特别是对先天性出血性疾病研究的深入发展和一系列凝血因子相继分离纯化,促使人们对血液凝固的启动机制进行重新认识。如前所述,经典的瀑布学说认为接触激活相是内在途径的始动阶段。可是后来发现 FⅫ、激肽释放酶原(PK)与高分子量激肽原(HMWK)缺陷患者并无出血倾向;相反 FⅫ 与 PK 纯合子缺陷患者存在血栓倾向。因此接触激活在体内凝血过程中的地位受到了严重的挑战。新近实验表明接触激活不仅不参与生理性止血,而且在病理条件下(如内毒素血症、败血症)也与弥散性血管内凝血发生没有明显的相关性,而主要与血压降低和炎症反应有关。因为激肽释放酶(KK)作用于 HMWK,使之生成缓激肽;缓激肽通过刺激血管内皮细胞释放内皮舒张因子(主要为 NO)与前列环素(PGI₂),二者引起血管显著扩张,这就是接触激活引起血压降低的基本原因。其次, FⅫa 与 KK 对白细胞具有趋化作用,且能激活补体系统,故与炎症反应的发生发展有关。根据已有的资料,可以认为在生理性止血的凝血过程中,参与接触激活的凝血因子中仅有 FⅫ 是维持内在途径必需的。然而,在生理与病理条件下, FⅫ 究竟是如何被活化的,目前尚未完全阐明。

随着凝血因子结构与功能以及因子间相互关系的逐步阐明,特别是组织因子途径抑制物(TFPI)的发现与深入研究,迫使人们更新和修正了经典的瀑布学说。根据近十年来研究进展, Davie 与 Broze 等对经典的瀑布学说进行了修正,他们先后提出了凝血过程分

为两个阶段的概念。据发现,因子 XIIa -组织因子复合物除激活因子 X 外,还可以活化因子 IX , IXa 对因子 XII 也有激活作用,这证明内源性途径和外源性途径不是截然分开的,两者之间有密切的联系。根据近年来的研究,在活体内应将这种凝血过程予以修正(见图 1-2)。首先是启动阶段,重新确认生理止血中的凝血过程是由组织因子途径启动的。因受损局部的 TF 与血中 FVII 和 FVIIa 结合形成复合物,其中 VIIa/TF 能激活 FX 与 IX。通过 FXa 与 FVIIa/TF 反馈地激活 FVII/TF,形成较多的 FVIIa/TF。可是由于血中的组织因子途径抑制的(TFPI)对 FXa 与 FVIIa/TF 的灭活作用,只可能形成少量凝血酶,不足以完成生理止血的凝血过程。然后是放大阶段,即少量凝血酶反馈地激活血小板与 FXI、FVIII 和 FV。通过内源性途径促使足量凝血酶生成与纤维蛋白形成。修正后的瀑布学说强调组织因子途径负责体内凝血过程的启动,由此生成的微量凝血酶对 FXI 激活是组织因子途径与内源性途径放大反应的衔接点。新近使用重组人活化的 FVII(rhFVIIa)与抗组织因子途径抑制物的单克隆抗体(McAbTFPI)可以有效地纠正血友病甲与血友病乙的凝血障碍,这就进一步支持组织因子在凝血过程中居于主角地位的概念。修正后的瀑布学说如图 1-2 所示。

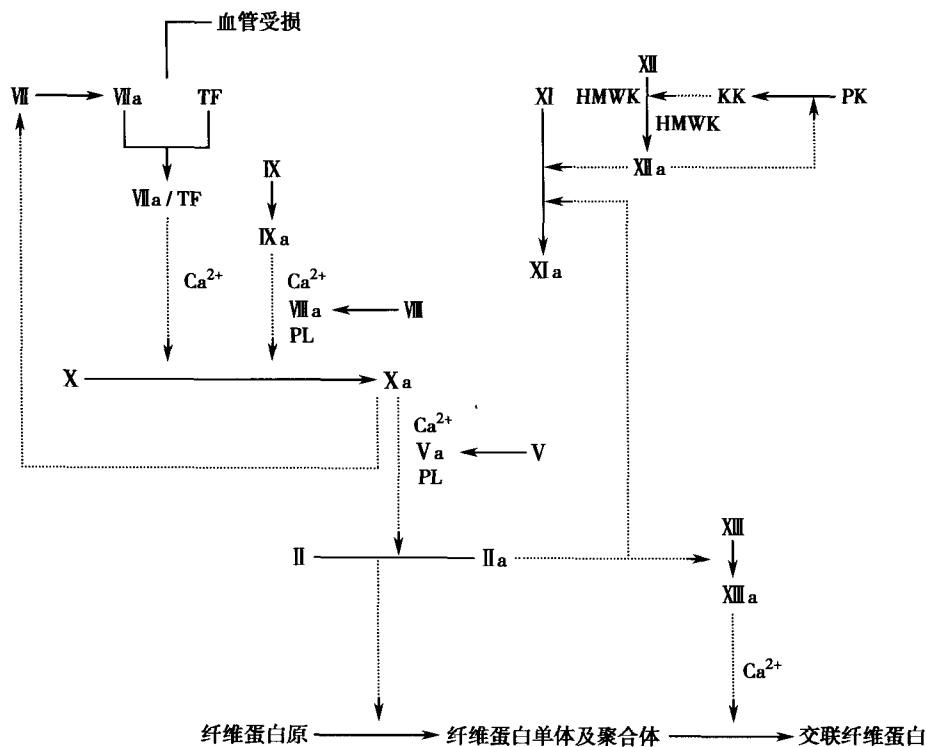


图 1-2 凝血过程现代概念

FV(a)-XIII(a): (活化的)凝血因子 V-XIII; HMWK: 高分子量激肽原;

KK: 激肽释放酶; PK: 前激肽释放酶; PL: 磷脂;

TF: 组织因子; —→ 转变; - - -→ 催化

事实上,凝血的启动过程是组织血管壁受损后,组织因子释放或表达、组织因子途径

抑制物能与因子Ⅹa结合并与因子Ⅺa组织因子形成四合体,使因子Ⅺa-组织因子迅速灭活。由于因子Ⅺa对因子Ⅸ起活化作用,以及凝血酶对因子Ⅷ和因子Ⅹ的激活,维持了凝血过程。因此,凝血的瀑布学说已经开始发展为临床探索凝血-抗凝-纤溶多层面的、多维的、相互关联相互影响的网络概念。

凝血过程的现代概念是对传统凝血瀑布第一过程的修正,更加强调内、外源性凝血过程不是相互独立的,其启动、激活、作用不是孤立存在的,而是相辅相成互相影响,故而更加强调机体凝血的整体意识。

(二) 参与凝血过程的凝血因子

凝血因子是参与凝血过程的生物分子,其中多数凝血因子是根据它们被发现的先后顺序分别以罗马数字命名。迄今为止,参与凝血的因子共有14个,其中用罗马数字编号的有12个(从Ⅰ~Ⅻ,其中因子Ⅵ并不存在),其本质均为蛋白质,而且多数是蛋白酶(原)。除Ⅲ因子外,其他因子都存在于新鲜血浆中,而且多数在肝脏合成。习惯上,前4个凝血因子常分别称为纤维蛋白原(因子Ⅰ)、凝血酶(因子Ⅱ)、组织因子(因子Ⅲ)和钙离子(因子Ⅳ)。凝血因子Ⅵ已知是血清中活化的凝血因子Ⅴ,故不再视为一独立的凝血因子,目前凝血因子的主要特征和在凝血中的作用详见表1-1。

表 1-1 血浆凝血因子

凝血因子编号	名称	生成部位	功能	参与凝血途径
Ⅰ	纤维蛋白原	肝细胞	凝块结构	共同
Ⅱ	凝血酶原	肝细胞	酶原	共同
Ⅲ	组织因子	内皮、巨核细胞等	细胞辅因子	外源
V	前加速因子	肝、巨核细胞	血浆辅因子	共同
Ⅶ	前转化素	肝细胞	酶原	外源
Ⅷ	抗血友病甲因子	肝细胞	血浆辅因子	内源
Ⅸ	抗血友病乙因子	肝细胞	酶原	内源
Ⅹ	Stuart 因子	肝细胞	酶原	共同
Ⅺ	抗血友病丙因子	肝细胞	酶原	内源
Ⅻ	Hageman 因子	肝细胞	酶原	内源
Ⅼ	纤维蛋白稳定因子	肝、单核细胞、血小板	酰氨基转移	共同
PK	前激肽释放酶	肝细胞	酶原	内源
HK	高分子量激肽原	肝、内皮细胞	血浆辅因子	内源

1. 凝血因子Ⅰ(纤维蛋白原) 纤维蛋白原(fibrinogen)即FⅠ,是凝血系统中的“中心”蛋白质,凝血的最后阶段是凝血酶形成,使纤维蛋白原转变为纤维蛋白。凝血因子Ⅰ参与凝血的最后阶段,是一大分子糖蛋白,相对分子质量为340 000,是血浆中含量最高的凝血因子,在正常人的血浆中的浓度是2.0~4.0g/L。它是一条复杂的糖链蛋白,由3条不同的多肽链(α 链:相对分子质量67 600; β 链:相对分子质量52 300; γ 链:相对分子质量48 900)组成,二硫键将3条肽链在其N末端连接形成二聚体(A_α 、 B_β 、 γ)₂,每条 β 和 γ

链上分别有一条糖链,而 α 链上无糖链。通过氨基酸序列分析和 cDNA 基因克隆已测得人纤维蛋白原的氨基酸序列。

纤维蛋白原在肝细胞内合成,单个多肽经加工处理后组合成完整的纤维蛋白原分子。当组织受到损伤,或有炎症及应激反应时,纤维蛋白原的合成急剧增加。纤维蛋白原的合成也受到许多转录因子的调控,转录因子 Spl 可与 γ 链基的-51bp~-46bp 间的 DNA 序列相互作用而影响 γ 链的合成。

纤维蛋白原除作为 F I 而直接参与凝血过程外,还具有其他多种功能,如与血小板膜蛋白 II b/III a 结合介导血小板聚集反应,参与动脉粥样硬化及肿瘤血行转移等;纤维蛋白原还影响血液粘度,尤其近年来人们发现血浆纤维蛋白原水平升高是心、脑血管血栓性疾病发病的重要危险因素。而研究表明在人群中,个体之间血浆纤维蛋白原水平的差异多半是与遗传因素尤其是 B₂ 链基因多态性紧密相关。进一步研究有待于弄清纤维蛋白原多态性的部位与血浆纤维蛋白原水平及心血管疾病易患性的关系。

2. 凝血因子 II (凝血酶原) 凝血酶原(prothrombin)即 F II,是最早被提纯和测定氨基酸顺序的凝血因子。凝血酶原属依赖维生素 K 的凝血因子。依赖维生素 K 凝血因子的共同生化特征是分子中均含有特殊的氨基酸残基—— γ -羧基谷氨酸(Gla),Gla 是可以和 Ca^{2+} 结合的氨基酸,它的存在使依赖维生素 K 的凝血因子具有与金属离子结合的特征。依赖维生素 K 的凝血因子与 Ca^{2+} 结合后发生构象改变,从而显露出与磷脂膜结合的特征,进而参与血液凝固过程。凝血酶原由肝脏合成后分泌入血,在血中由酶原转化为丝氨酸蛋白酶。凝血酶原的相对分子质量为 71 600。凝血酶原在正常人血浆中的浓度为 150~200mg/L,其血浆含量在所有凝血因子中仅次于纤维蛋白原,占第二位。人凝血酶原是一种糖蛋白,糖含量 8.2%,由 579 个氨基酸残基及 3 个 N 端连接点的糖链组成。凝血酶原的 mRNA 长约 2000 个核苷酸,其中 1866 个核苷酸编码了 43 个氨基酸的前导肽和 597 个氨基酸的成熟多肽链。前导肽中有一疏水部分(第-37 位到-26 位的氨基酸残基),前导肽的最后一个氨基酸是精氨酸残基。前导肽系血浆中依赖维生素 K 凝血因子所共有,当这些凝血因子在粗面内质网的腔面进行羧化时,这些同源的前导肽起一定的作用。在前导肽从多肽链上切下之前就有羧基化反应发生,位于-16 和-10 位的保守的苯丙氨酸在羧基化酶的识别顺序中起重要作用。

凝血酶是蛋白水解酶,通过对多种凝血因子的蛋白水解作用参与凝血过程;另外,它还有酯酶活性,对 L-精氨酸-甲基酯的裂解作用最强,用乙酸酐将凝血酶乙酰化会使凝血酶丧失大部分蛋白水解活性,但仍保持酯酶活性,可引起纤溶系统的激活。除此之外,凝血酶还有其他多种功能,如可激活蛋白 C 发挥抗凝活性,能诱导血小板活化,近年来又发现它有刺激成纤维细胞分裂、对巨噬细胞有趋化性、参与内皮细胞增殖调控等多项功能。现已证明在血小板及内皮细胞表面存有凝血酶的特异性受体,这一受体在凝血酶诱导的血小板活化、血管内皮细胞增生及炎症反应中起重要作用,因此该受体参与动脉血栓形成、动脉粥样硬化、炎症及心肌梗死等病理过程。

3. 凝血因子 III (组织因子,TF) 组织因子(tissue factor,TF)又称组织凝血活酶(tissue thromboplastin)或组织凝血活酶因子(tissue thromboplastin factor),是惟一不存在于正常人血浆中的凝血因子,它分布于各种不同的组织细胞中,其中脑、肺、胎盘含量丰富,血管内皮细胞及白细胞中也含有大量的 TF。人 TF 首次分离成功是在 1985 年,

Broze 等^[8]用 FⅦ亲和层析柱从人脑组织中分离出 TF; 随后, Morrissey 等^[9]于 1987 年成功克隆 TF 的 cDNA。组织因子是生理凝血过程中最重要的启动因子。借助 X 线晶体衍射技术、重组 DNA、人工致突变及基因剔除等技术, 发现 TF 与全身炎症反应综合征及休克、DIC、血栓性疾病、移植排斥反应、恶性肿瘤等的发生发展有密切的关系。

TF 是一种含有糖基的单链跨膜蛋白, 相对分子质量为 47 000, 基因编码的前体蛋白为 295 个氨基酸, 经过加工剪掉 32 个氨基酸后成为含 263 个氨基的 TF 蛋白, 包括胞外区的 219 个氨基酸、跨膜区的 23 个氨基酸、胞内区的 21 个氨基酸, 其中胞外区与促凝功能最为密切。

TF 在凝血过程中的作用是作为 FⅦ的辅因子从而启动外源性凝血过程。TF 的胞外区是 FⅦ的受体, 在 Ca^{2+} 存在的条件下, TF 通过胞外区与 FⅦ结合而形成 TF-FⅦ复合物, TF-FⅦ的形成会使 FⅦ获得凝血活性, 而 TF-FⅦa 的形成使 FⅦa 的催化活性大大增强。近些年研究显示, 除作为一种凝血因子外, TF 还可以作为一种信号受体发挥信号转导功能, FⅦa 与细胞表面 TF 结合可诱导细胞内钙水平变化^[6], 对多种参与生长、转录、细胞移动等的基因有调控作用^[10]。另外, TF 还可通过诱导单核细胞产生趋化因子而发挥促炎症作用, 由此显示其可同时激发凝血和免疫系统功能^[11]。

4. 凝血因子 V 凝血因子 V 曾被称为易变因子(labile factor)或前加速因子(proaccelerin)。凝血因子 V 是凝血因子辅因子, 是在肝脏和巨核细胞中合成的单链蛋白, 在血中以非活性的辅因子形式存在。约 25% 的凝血因子 V 存在于血小板的 α 颗粒中, 其余的都在血浆中。凝血因子 V 的相对分子质量为 330 000, 血浆浓度为 30 nmol/L。凝血因子 V 是凝血酶原转化为凝血酶的辅因子, 这一反应需钙离子和磷脂参与, 并由因子 Xa 催化。在参与凝血过程前, 凝血因子 V 的 2196 个氨基酸的单链蛋白在凝血酶的催化下, 在第 709 位、1018 位和 1545 位精氨酸处发生裂解。

在凝血过程中, FV 的作用是作为 FXa 的辅因子, 加速后者对凝血酶原的激活。在 Ca^{2+} 存在的条件下, FVa 与 FXa 在磷脂膜表面形成复合物, 从而使 FXa 催化活力大大提高。FV 与 FVa 都能与磷脂膜发生作用, 而这一过程不需要 Ca^{2+} 参与, FV 与富含磷脂酰丝氨酸的磷脂膜有较高亲和力; 而在血小板膜表面有两种类型的 FV/FVa 结合部位, 即高亲和力结合部位和低亲和力结合部位, 但其高亲和力结合部位只能特异性的结合 FVa。FVa 在与血小板膜表面特异性部位结合后, 可能成为 FXa 的受体, FXa 与之结合形成 FXa-FVa 复合物, 从而发挥凝血活性。

5. 凝血因子Ⅲ 凝血因子Ⅲ曾称稳定因子(stable factor)或血清凝血酶原转化加速因子(serum prothrombin conversion accelerator, SPCA), 它是一主要参与外源性凝血途径的凝血因子。FⅢ在正常人血浆中的浓度很低, 仅为 0.5~2.0 mg/L, 其血浆半衰期是 6~8 小时, 是所有凝血因子中半衰期最短的。凝血因子Ⅲ是一种单链糖蛋白, 相对分子质量为 50 000, 在肝脏中合成, 以酶原的形式分泌入血, 含有 416 个氨基酸, 由前导肽、Gla 区、两个 EGF 区、活化肽及催化区组成。在活化的凝血因子Ⅲ的第 145 位和 322 位的天门冬氨酸有两个潜在的糖链连接位点, 另有少见的糖链连接在丝氨酸上。

凝血因子Ⅲ经过有限的蛋白裂解后转化为丝氨酸蛋白酶成为凝血因子Ⅲa, 在组织因子和钙离子的参与下, 凝血因子Ⅲa 将凝血因子 X 转化为凝血因子 Xa, 凝血因子Ⅲa 转化为凝血因子Ⅲa。

凝血因子Ⅶ在凝血酶、凝血因子Ⅸa、Ⅹa以及Ⅺa存在的情况下转化为凝血因子Ⅶa。在生理性凝血过程中,因子Ⅶa-组织因子复合物起着重要的启动作用。该复合物促使因子Ⅹ活化和少量凝血酶的形成,通过因子Ⅶa-组织因子复合物对因子Ⅸ的激活以及凝血酶对因子Ⅴ和因子Ⅷ的激活,凝血过程大大增加。目前,基因工程产品——重组FⅦa(rFⅦa)已用来治疗血友病患者的出血,尤其用于体内已有FⅦ、FⅥ抑制物形成的血友病患者^[12,13]。有报道,因子Ⅶa-组织因子复合物还可促进血管内皮细胞及某些细胞的信息传递,加强细胞内钙流和蛋白质磷酸化,并导致基因的翻译。

6. 凝血因子Ⅷ 凝血因子Ⅷ是存在于血浆中的一种球蛋白,曾被称为抗血友病因子(antihemophilic factor, AHF)或抗血友病球蛋白(antihemophilic globulin, AHG)。因子Ⅷ的血浆含量为0.1mg/L,是所有血浆凝血因子中含量最少的。FⅧ以单联形式合成,分子量为330 000,由2332个氨基酸残基组成。凝血因子Ⅷ参与凝血过程的第二阶段,它是凝血辅因子。在凝血因子、钙离子和磷脂存在的情况下,加速因子Ⅹ活化为Ⅹa,因子Ⅷ须经凝血酶或其他丝氨酸蛋白酶的轻微的蛋白水解方呈现辅因子活性,其蛋白水解部位在精氨酸740处。

7. 凝血因子Ⅸ 凝血因子Ⅸ在血液中以酶原形式存在,经因子Ⅸa与因子Ⅶa与组织因子复合物激活后形成具有蛋白酶活性的活化因子Ⅸ(因子Ⅸa)。因子Ⅸ缺乏导致血友病乙。

因子Ⅸ是相对分子质量为56 000的单链糖蛋白,糖含量约为17%。在肝细胞中,因子Ⅸ表达的最初产物为因子Ⅸ前体,由461个氨基酸组成。因子Ⅸ是内源性凝血途径的重要因子之一,具有丝氨酸蛋白酶的作用,裂解激活因子Ⅹ。在无因子Ⅷ、磷脂和钙离子的条件下,因子Ⅸa激活因子Ⅹ极缓慢;但在钙离子和合适磷脂表面存在时,反应的 K_m 值约降低到1/5000,加入因子Ⅷa、磷脂和钙离子使因子Ⅹ激活的速率相当于因子Ⅸa单独激活的 10^9 倍。因此,绝大多数情况下,内源途径激活因子Ⅹ完全依赖因子Ⅷa和因子Ⅸa,因而临床上难以区别血友病甲和血友病乙。

8. 凝血因子Ⅹ 凝血因子Ⅹ是一种依赖维生素K的糖蛋白,相对分子质量58 800,糖含量约15%,参与凝血的第二阶段。凝血因子Ⅹ也在肝脏中合成,以丝氨酸蛋白酶前体的形式分泌入血。

在凝血过程中,人因子Ⅹ在向因子Ⅹa转化要经过裂解重链中的精氨酸-异亮氨酸肽键,然后释放出一个52个氨基酸组成的小活性肽。在内源性凝血途径中,这一反应在因子Ⅷa、磷脂和钙离子参与下由因子Ⅸa催化;而在外源性凝血途径中,这一反应在组织因子参与下由因子Ⅶa催化。

9. 凝血因子Ⅺ 凝血因子Ⅺ是糖蛋白,属于接触活化凝血因子,相对分子质量为143 000,含糖量5%,在血中与高相对分子质量的激肽原(HMWK)形成复合物。凝血因子Ⅺ由两条相同的多肽链经一个二硫键相连,凝血因子Ⅺa的每条重链中有4个串联重复顺序,这一重复序列由90或91个氨基酸组成,4个重复序列的同源性为23%~34%,通常称这些重复序列为苹果区,它们在重链中形成独立的结构。现已证实,凝血因子Ⅺ由第一苹果区与HMWK结合,而第二苹果区则和因子Ⅺ和因子Ⅸ之间的相互作用有关。在血浆中,FⅪa主要是被 α_1 -蛋白酶抑制物、抗凝血酶、C1抑制物及 α_2 -抗纤溶酶灭活^[14]。

因子Ⅺ缺陷曾成为血友病丙,主要为常染色体显性遗传性疾病,自发性出血极少见,

症状很轻。

10. 凝血因子Ⅺ 凝血因子Ⅺ也属于接触活化凝血因子,参与凝血过程的启动。凝血因子Ⅺ是单链糖蛋白,由596个氨基酸组成,含糖16.8%,相对分子质量为80 000。凝血因子Ⅺ在血浆激肽释放酶限制性蛋白酶作用下产生两种活化酶形式: α 因子Ⅺa和 β 因子Ⅺa。在因子Ⅺ活化过程中,首先在精氨酸353位断裂,产生相对分子质量为80 000的双链 α 因子Ⅺa。 α 因子Ⅺa由重链和轻链组成,肽链之间由二硫键连接,N端在重链区,具有较强的表面结合能力。C端位于轻链,占有酶活性中心,其组成的结构与其他丝氨酸蛋白水解酶相似。 α 因子Ⅺa可以被血浆激肽释放酶进一步水解,在重链精氨酸334位断裂为 β 因子Ⅺa。 β 因子Ⅺa仍然具有酶活性,但是失去了表面结合力。

11. 凝血因子Ⅻ 凝血因子Ⅻ以酶原形式存在于血浆中,它是一种转酰胺酶,当存在纤维蛋白时,凝血酶可将因子Ⅻ转化为活化的因子Ⅻa,由于凝血酶和纤维蛋白都是在凝血过程的最后阶段才形成,因此因子Ⅻ的活化是凝血过程的最后一步。因子Ⅻ的作用是催化多种蛋白质底物形成分子与分子之间的 δ -(γ 谷氨酰胺)-赖氨酸键。这些蛋白质包括纤维蛋白单体、 α_2 -血浆素抑制物、纤维连接素及胶原等。这一血浆中及细胞外间质中种种蛋白质之间的连接反应对于止血、伤口愈合以及妊娠都有重要意义。因此缺乏因子Ⅻ将导致终生的出血倾向,伤口愈合延缓以及反复自发性流产。

凝血因子Ⅻ相对分子质量为320 000,在血中与纤维蛋白原结合。它由2个a亚单位和2个b亚单位形成四聚体 a_2b_2 亚单位经非共价键连接在一起。在a亚单位中存在着具有转谷氨酰胺酶活性的活化中心,而b亚单位似乎起到保护或稳定a亚单位的作用,但其精确功能尚不清楚。

凝血因子Ⅻa亚单位的相对分子质量为75 000,在血中以 a_2b_2 的四聚体形式存在,但在许多其他组织中如胎盘、前列腺、子宫、血小板及巨噬细胞中则以二聚体(a_2)形式存在。对因子Ⅻa亚单位的基因、cDNA以及蛋白质顺序进行比较即可以发现其氨基酸存在明显的多态现象。

Ⅻb亚单位的相对分子质量为80 000,是一种血浆糖蛋白,含糖量为8.5%,由肝脏合成,在血中它或与a亚单位聚合成 a_2b_2 四聚体或以二聚体(b_2)形式存在。近几年来人们发现,人群中FⅫa亚单位在激活肽区存在有多态性——FⅫ缬氨酸34→亮氨酸,其与体内血栓形成的关系尚不能完全肯定^[15,16]。

二、影响凝血过程的因素

(一) 抑制凝血过程的因素

1. 生理性抗凝因子 在体内存在很多生理抗凝因子,如组织因子途径抑制物(TFPI)、抗凝血酶、蛋白C和蛋白S,这些因子是体内重要的抗凝因子,广义的看纤溶系统也起抗凝的作用。近年还报道蛋白Z(PZ),它是依赖PZ蛋白酶抑制物(ZPI)抑制FZa的辅因子。

2. 病理性抗凝物质 在病理状态下可合成病理性抗凝物质,如获得性因子Ⅷ抗体、因子Ⅺ抑制物、因子V抑制物等,对凝血过程发生抑制。

(二) 促进凝血过程的因素

血小板因子3是凝血过程的重要因素,红细胞膜(红细胞溶解后)也有促进凝血作用,