



血栓与止血

基础理论与临床

(第三版)

主编 王振义 李家增 阮长耿
宋善俊 王鸿利 韩忠朝

Thrombosis
& Hemostasis

Basic Principles & Clinical Practice

上海科学技术出版社

血栓与止血基础理论与临床

(第三版)

主编 王振义 李家增 阮长耿
宋善俊 王鸿利 韩忠朝

上海科学技术出版社

图书在版编目(CIP)数据

血栓与止血基础理论与临床/王振义等主编. —3 版.
上海:上海科学技术出版社,2004. 12
ISBN 7-5323-7660-5

I 血... II. 王... III. ①血栓栓塞—诊疗②止血
IV. ①R543②R459.9

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2004)第 065108 号

世纪出版集团 出版、发行
上海科学技术出版社

(上海瑞金二路 450 号 邮政编码 200020)

新华书店上海发行所经销

南京理工排版校对有限公司排版

苏州望电印刷有限公司印刷

开本 787×1092 1/16 字数 1 480 000

印张 61.5 插页 4

1988 年 12 月第 1 版

1996 年 9 月第 2 版

2004 年 12 月第 3 版第 4 次印刷

印数 11 701—14 900

定价:160.00 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

出版说明

科学技术是第一生产力。21 世纪,科学技术和生产力必将发生新的革命性突破。

为贯彻落实“科教兴国”和“科教兴市”战略,上海市科学技术委员会和上海市新闻出版局于 2000 年设立“上海科技专著出版资金”,资助优秀科技著作在上海出版。

本书出版受“上海科技专著出版资金”资助。

上海科技专著出版资金管理委员会

内 容 提 要

本书以第二版《血栓与止血基础理论与临床》为基础进行修订,分为血栓与止血的基础理论、出血性疾病、血栓形成和血栓栓塞性疾病、各种疾病中的止凝血异常、血栓与止血的预防和治疗、血栓与止血的实验室检查等六篇。内容包括血栓和止血的基础理论和临床实践,并涉及内、外、妇、儿及临床其他学科有关的血栓与止血问题。内容详实,资料新颖,涉及学科多,具实用性。本书基本反映了国内外在血栓与止血领域的最新进展,并具有中国特色,是国内血栓和止血临床与科研领域的经典著作。

本书可供内科和其他科室的各级临床医生和研究人员,尤其是血液科的专业医务人员和研究人员阅读、参考。

编者名单

丁家增	上海第二医科大学附属瑞金医院	副教授 副主任医师
马丽萍	中山大学第二附属医院	副教授 副主任医师
王 焰	上海第二医科大学附属瑞金医院	主治医师
王兆铖	苏州大学附属第一医院 江苏省血液研究所	教授 主任医师
王学锋	上海第二医科大学附属瑞金医院	教授 主任医师
王振义	上海第二医科大学附属瑞金医院 上海血液学研究所	院士 教授
王康孙	上海第二医科大学附属瑞金医院	教授
王鸿利	上海第二医科大学附属瑞金医院 上海血液学研究所	教授 主任医师
王耀平	上海第二医科大学附属新华医院 上海儿童医学中心	教授 主任医师
方 峻	华中科技大学同济医学院附属协和医院	主治医师
尹 俊	汕头大学医学院	副教授
邓常青	湖南中医学院	教授
包承鑫	中国协和医科大学 中国医学科学院血液学研究所	教授 研究员
冯 义	中国协和医科大学 中国医学科学院血液学研究所	硕士
冯 莹	广州医学院第二附属医院	副教授
朱明德	上海第二医科大学附属仁济医院	教授 主任医师
刘泽霖	广州医学院第二附属医院	教授
刘敏涓	广州医学院第二附属医院	主任医师
汤希伟	上海第二医科大学附属仁济医院	教授 主任医师
阮长耿	苏州大学附属第一医院 江苏省血液研究所	院士 教授
杨仁池	中国协和医科大学 中国医学科学院血液学研究所	教授 主任医师
李 昕	中南大学附属湘雅医院	主治医师
李家增	中国协和医科大学 中国医学科学院血液学研究所	教授 研究员
吴竞生	安徽省立医院	教授 主任医师
何 睿	中国协和医科大学 中国医学科学院血液学研究所	博士
余自强	苏州大学附属第一医院 江苏省血液研究所	主任医师
宋善俊	华中科技大学同济医学院血液病研究所 华中科技大学附属协和医院	教授 主任医师
汪关煜	上海第二医科大学附属瑞金医院	教授 主任医师
沈志祥	上海第二医科大学附属瑞金医院	教授 主任医师
张 雷	上海第二医科大学附属瑞金医院	博士
陈方平	中南大学附属湘雅医院	教授
陈赛娟	上海第二医科大学附属瑞金医院 上海血液学研究所	院士 教授

武文漫	上海第二医科大学附属瑞金医院 上海血液学研究所	主治医师
武怀珠	中国协和医科大学 中国医学科学院血液学研究所	副教授 副研究员
周荣富	上海第二医科大学附属瑞金医院 上海血液学研究所	副教授
胡 豫	华中科技大学附属协和医院	教授 主任医师
胡钧培	上海第二医科大学附属第九人民医院	教授 主任医师
胡俊斌	华中科技大学同济医学院附属协和医院	副教授 副主任医师
胡翊群	上海第二医科大学附属瑞金医院	教授
战 梅	中国协和医科大学 中国医学科学院血液学研究所	博士
贺石林	中南大学湘雅医学院	教授
夏凌辉	华中科技大学同济医学院附属协和医院	副教授 副主任医师
徐立卓	中山大学第二附属医院	教授 主任医师
徐建民	复旦大学附属中山医院	教授
高维强	苏州大学附属第一医院 江苏省血液研究所	博士
韩忠朝	中国协和医科大学 中国医学科学院血液学研究所	教授 研究员
傅 斌	中南大学附属湘雅医院	主治医师
谢 爽	上海第二医科大学附属瑞金医院 上海血液学研究所	主管检验师
熊立凡	上海第二医科大学附属仁济医院	教授
魏文宁	华中科技大学同济医学院附属协和医院	副主任技师

学术秘书 王学锋 陈瑜 戴菁 丁秋兰

前 言

《血栓与止血基础理论与临床》(第一版)是在 1988 年出版的,第二版写在 1996 年,现又过了 8 年。随着生命科学的突飞猛进,这本专著的内容有的无疑已很陈旧,需要再版。在这 8 年中,“血栓与止血”领域中的基础理论有了飞速的进展,临床上也已累积了很多经验,有些理论和治疗方法已得到验证和总结,并提供一些比较肯定的结论和指导性意见。与此同时,这领域中还不断涌现出许多新的诊治方法,血栓、止血与临床其他各科之间,如与外科、儿科、妇产科、眼科等以及内科其他专业的联系和相互渗透较以前更加深入。此外,分子生物学在血栓与止血领域中的应用也有了很大的进展,已从基因水平阐明有些遗传性和先天性,甚至某些获得性血栓和出血性疾病的发病机制。以上情况说明本专著中有关分子生物学的内容也需要修订和补充。

本版根据以下原则作了修订:①在篇幅作适当扩大的前提下,使内容更能反映当前国内外在血栓与止血领域中的最新理论和实践经验。②将分子生物学的内容融入到各有关疾病的发病机制中,取消上一版第二篇单独介绍血栓与止血的分子生物学基础。基因检查方法及其意义在本版第六篇中另列一章。③为便于读者查阅,本版所引用的文献都在正文中标出。④编者作了适当调整,原副主编都担任主编,使主编增加至 6 人,各主编都审阅各自负责的篇章,保证本版内容的先进性和质量。此外,还邀请了一些多年从事有关领域工作的年轻专家和后起之秀编写有关章节,使本版编委会成员更具代表性。

当然,本版还存在不少缺点,如还没有将血栓与止血这一学科的国内专家全部组织到编委里来,因此离开真正能反映我国在这一领域中的权威性和成就尚有一定的距离。有的内容还可能存在错误,遗漏某些最新的和重要的成就,欢迎读者不吝批评和指正。

编 者

2004 年 10 月

目 录

第一篇 基础理论	1
第一章 血管与血管内皮细胞的止血促栓和防栓功能.....	3
第二章 巨核细胞	30
第三章 血小板	54
第四章 血液凝固	81
第五章 抗凝机制.....	116
第六章 纤维蛋白溶解系统.....	125
第七章 新生儿及儿童止凝血系统的生理特点.....	155
第八章 老年人止凝血功能的特点.....	165
第二篇 出血性疾病	175
第一章 总论.....	177
第二章 血管因素所致出血性疾病.....	213
第三章 血小板数量异常所致出血性疾病.....	225
第四章 血小板功能异常所致出血性疾病.....	273
第五章 凝血因子缺陷所致出血.....	300
第六章 病理性抗凝物质所致出血.....	397
第七章 纤溶亢进所致出血性疾病.....	417
第八章 弥散性血管内凝血.....	426
第九章 新生儿及小儿出血性疾病.....	437
第十章 老年人出血性疾病.....	444
第三篇 血栓形成和血栓栓塞性疾病	451
第一章 总论.....	453
第二章 动脉血栓.....	493
第三章 静脉血栓.....	508
第四章 冠状动脉缺血性心脏病与血栓形成.....	529
第五章 脑血管血栓性疾病.....	545
第六章 易栓症.....	574
第四篇 各种疾病中的止凝血异常	607
第一章 肺部疾病中的血栓与止血问题.....	609

第二章	肾脏疾病中的出血和血栓形成·····	623
第三章	肝脏疾病中的出血与弥散性血管内凝血·····	635
第四章	糖尿病中的止血与血栓·····	646
第五章	系统性红斑狼疮中的出血与血栓·····	652
第六章	感染中的出血问题·····	658
第七章	肾综合征出血热与弥散性血管内凝血·····	661
第八章	止血障碍与恶性肿瘤·····	669
第九章	血液净化治疗中的血栓与出血·····	679
第十章	体外循环及人工瓣膜、人工心脏中的血栓与止血·····	688
第十一章	器官移植中的血栓形成与止血·····	699
第十二章	外科手术中的血栓与止血·····	713
第十三章	视网膜疾病中止凝血异常·····	729
第十四章	妇产科中的出血与血栓形成·····	742
第十五章	药物引起的出血·····	764
第五篇	血栓与止血的预防和治疗·····	769
第一章	止血药物·····	771
第二章	抗血小板药物·····	780
第三章	抗凝药物和抗凝治疗·····	790
第四章	溶栓药物及蛇毒类降纤药·····	809
第五章	血液制品的应用·····	825
第六章	中医学对血栓与止血性疾病的认识和防治·····	857
第六篇	血栓与止血的实验室检查·····	871
第一章	筛选试验·····	873
第二章	血管内皮细胞的实验室检查·····	882
第三章	血小板的实验室检查·····	887
第四章	凝血系统的实验室检查·····	902
第五章	抗凝因子的实验室检查·····	908
第六章	纤维蛋白溶解系统的实验室检查·····	919
第七章	血液流变学的实验室检查·····	927
第八章	分子生物学的实验室检测·····	941
附 录	常用英汉缩略语词汇·····	958

第一篇

基础理论

第一章

血管与血管内皮细胞的止血促栓和防栓功能

第一节 血管生成与血管新生及其调控 (3)	第二节 血管内皮细胞的促栓和抗栓功能 (20)
一、血管生成与血管新生 (3)	一、血管内皮细胞的结构 (21)
二、血管新生的调控因子及其机制 ... (5)	二、血管内皮细胞的抗血栓作用 ... (21)
三、血管新生调控在临床治疗中的作用 (12)	三、血管内皮细胞的促血栓形成 ... (25)

第一节 血管生成与血管新生及其调控

血液在血管系统中循环,血栓发生在血管之中并影响血液循环,出血意味血液流出血管壁进入组织,血管内皮细胞具有促凝和抗凝作用,这些表明血管在血栓与止血中的重要性。最近的研究进一步发现,血管干细胞的数量和质量在维持血管功能的完整性和组织对血液供应的需求方面起关键作用,而血管新生又与肿瘤的发生、发展紧密相关。

一、血管生成与血管新生

器官和组织的血管系统形成由两种不同的过程所决定:血管生成(vasculogenesis)和血管新生(angiogenesis)。前者是指中胚层来源的血管干细胞(angioblast)或称内皮祖细胞(endothelial progenitor cells, EPCs)在原位进行分化、聚集,形成心脏和大血管的始基以及胚胎和胚胎外的毛细血管;后者是指 EPCs 和内皮细胞的增殖和迁移,从先前存在的血管发芽或非发芽(又称套叠)的形式生成新的毛细血管。血管生成发生在胚胎早期,可发生于几个独立的位点,包括胚胎主体及胚外,如卵黄囊。胚胎生成过程中,血管系统是最早形成并发挥作用的系统。胚胎生成早期,最早的血管干细胞作为个体细胞起源于轴旁中胚层及胚外中胚层。在卵黄囊内,血管干细胞与造血干细胞共同形成血岛被认为是胚胎造血及血管生成的第一步,血管干细胞位于血岛外层,包绕位于中央的造血干细胞。外层的血管干细胞可逐渐分化形成内皮细胞,并局部增生、排列,相互连接形成管状结构,进而发展成为均一的蜂窝状原始毛细血管网。同时胚胎主体内也可形成心脏和大的主干动脉的原基,如背主动脉及主静脉。除了原位分化增生外,某些血管干细胞可迁移较远距离,形成远处位点血管

丛,如神经周血管丛。^[1~3]曾经以为血管生成仅发生于早期胚胎生成阶段,不发生于成人。然而最近,Shi 等人的研究发现成人骨髓及外周血均含有血管干细胞,在缺血或某些因子的刺激下,它们可聚集到血管生成部位。说明血管生成不仅限于胚胎生成早期,在成人也具有生理及病理方面的作用。^[4]

血管新生:当原始血管丛形成后,更多的内皮细胞产生,血管丛进一步发展成熟,即血管新生,它在胚胎及成人时期均可发生。主要有两种类型,发芽性和非发芽性血管新生。^[5]

发芽性血管新生是一种侵袭性过程,包括已生成血管的内皮细胞的活化,细胞外基质的降解,内皮细胞的迁移增生,血管结构的形成及吻合。开始,在一氧化氮(NO)等因子的作用下,血管扩张,内皮细胞对血管生成因子的反应增强,内皮细胞激活。同时,血管通透性增高,管内纤维蛋白原等血浆蛋白质外渗,与管外纤维连接素等多种成分形成交错的胶滞体,为内皮细胞的生长、迁移提供了一个临时网状支架。活性细胞蛋白酶可降解基底膜及细胞外基质,激活的内皮细胞从血管脱离,在细胞外基质内迁移。到达血管生成位点后,内皮细胞增生并彼此紧密连接排列,形成管状结构,基底膜重建,周细胞等支持细胞聚集到内皮细胞周围。如形成较大血管,内皮细胞还需吸引平滑肌细胞,最终形成成熟血管系统。此过程是一顺序发生的连续的过程,每一步的发生对下一步都是必需的。^[5,6]

非发芽性血管新生(或套叠)最早发现于肺,在肺血管形成过程中占主要地位,在某些心肌血管的生成过程中也发挥作用。它是通过跨细胞小梁或间质组织柱插入已形成血管的管腔内,分隔管腔,最终形成分支的两条血管。这种类型较少。^[6]

(一) 血管干细胞

早在一个世纪前就有人提出造血细胞和血管细胞可能有一个共同的干细胞,即血液血管干细胞(hemangioblast)。血液血管干细胞可以发育分化成造血干细胞(HSC)和血管干细胞,后者进一步分化增殖形成血细胞和血管两大系统。但直到近几年,才有实验研究证实了血液血管干细胞的存在,而且可以通过免疫磁珠或流式细胞仪等技术进行鉴别和分离纯化。这些干细胞虽然数量很少,但其双重分化潜能使之成为临床移植治疗血液和血管性疾病的候选干细胞。^[7~9]

已知血液血管干细胞的发育与分化是一个多阶段连续过程,在此过程中,不同层次的干细胞表达的细胞表面分子有所不同。血液血管干细胞目前发现只表达 Flk-1/KDR,但这一分子在所有血管内皮细胞均表达,但在 HSC 不存在。通常用作 HSC 特异性标志的 CD34 在血管内皮细胞表达,但在早期 HSC 不表达。AC133 在血液和早期血管干细胞有表达,但在成熟的血管内皮细胞不表达。CD31 在血管内皮细胞和造血细胞均有表达,在胚胎干细胞也有较强的表达。综上所述,不同阶段的血液血管干细胞表面特异分子的识别,不但是深入阐明干细胞发育分化机制的关键,也为这些干细胞的鉴别、分离和应用所必需。

(二) 血管干细胞的分化培养和富集

通常认为血液血管干细胞主要存在于胚胎组织,出生后组织中只有 HSC 和血管干细胞。血管是胚胎发育过程中形成最早的器官,为胚胎发育提供氧气和营养物质,排除代谢产物。胚胎干(ES)细胞能在适当的条件下形成胚胎小体(EB),后者存在血管样结构,培养后能形成血管样结构。^[10]因此,可以采用 ES 细胞作为血管干细胞的来源,进一步诱导分化并富集血管干细胞。

除 ES 细胞外,其他胚胎组织、脐血、外周血以及骨髓均含有一定数量的血管干细胞。

它们的鉴别、分离、生物学特性、体外扩增和体内应用已有许多文献报道。中国医学科学院血液学研究所从胎儿骨髓中分离到 Flk-1⁺ CD31⁻ CD34⁻ 的细胞。将其细胞接种在含有 VEGF 和 bFGF 的基底膜胶中不仅可以形成血管结构,同时还产生造血细胞样的 CD34⁺ 的圆形细胞。在血管结构还未形成时加入抗血管形成剂苏拉明,不能形成血管,若在血管结构刚刚形成时,加入苏拉明,血管结构消失,而圆形细胞还在原来的血管周围,此结果提示圆形 CD34⁺ 细胞和血管内皮来自同一细胞,说明 Flk-1⁺ CD31⁻ CD34⁻ 具有血液血管干细胞的特征。^[11]

除胎儿骨髓外,脐带血 CD133⁺ 细胞也是一类血液血管干细胞,可以培养临床适用性血管内皮干细胞。我们将脐带血 CD133⁺ 细胞在体外诱导扩增 10 d 后,从脐带血 CD133⁺ 细胞中可诱导出血管内皮干细胞,表现为表达内皮细胞标志的贴壁细胞,移植后可整合到缺血部位新生血管内。移植血管内皮干细胞后缺血后肢的毛细血管密度、血流灌注及坏死程度均较对照组明显改善:缺血手术后 2 周血管内皮干细胞组的缺血肢/正常肢的血流比由 19.1%±3.1%恢复为 77.3%±5.6%,而对照组仅恢复为 40.6%±3.4%;缺血后肢的完全恢复率由对照组的 1/10 上升至 7/12。缺血局部血管内皮细胞生长因子(VEGF)mRNA 上调,体外 VEGF 对血管内皮干细胞具有趋化作用。实验表明脐带血 CD133⁺ 细胞能诱导成血管内皮干细胞,体内移植后能促进肢体缺血的恢复,而缺血局部上调的 VEGF 表达可能是血管内皮干细胞定向整合到缺血局部的关键因素。^[12~14]

二、血管新生的调控因子及其机制

整个血管形成的过程是受刺激和抑制因子共同调控的,通过促血管生成因子与抑制血管生成因子作用的相互平衡,将血管新生保持在正常生理范围内。^[15,16] 迄今为止,已知的促血管新生因子包括:VEGF,碱性和酸性成纤维细胞生长因子(bFGF、aFGF),血管生成素-1、2(Ang-1、Ang-2),血小板衍生生长因子-BB(PDGF-BB),转化生长因子-β(TGF-β),红细胞生成素(EPO),表皮生长因子(EGF),肝细胞生长因子(HGF),白细胞介素(IL)-6 等。常见的血管新生的抑制剂有:血小板敏感蛋白-1(TSP-1)、血小板第 4 因子(PF4)、基质金属蛋白酶组织抑制剂(TIMP)、内皮抑素(endostatin)、血管抑素(angiostatin)、甲氧明(vasostatin)、IL-12、干扰素(IFN)-γ 及 α、杀菌性/渗透性增高蛋白(BPI)等。

1. VEGF VEGF 又称为血管通透因子(VPF),是 1986 年 Senger 等从癌性腹水和癌细胞培养介质中纯化到的分子量为 34~42 kD 的热、酸稳定分子,常与肝素结合,它是由二硫键连接的糖蛋白二聚体。^[17] 现知共有四种 VEGF 的 cDNA 克隆,分别编码 121、165、189 和 206 个氨基酸多肽,其中 VEGF-121 和 VEGF-165 属于分泌型蛋白质,与 VEGF 的生物学活性密切相关。

Namiki 等首先提出 VEGF 介导了低氧所致的血管新生。^[18] 在完全低氧的情况下,VEGF 的水平是原来的 13 倍。低氧条件改善,VEGF mRNA 水平能够可逆地下降。目前已经知道,VEGF 基因启动子的 5'端由 28 个氨基酸所组成的序列介导了低氧所诱导的转录。另外,低氧增加 mRNA 的稳定性是重要的转录后调节机制,介导这一特性与 VEGF mRNA 的 3'端非翻译区有关。低氧介导 VEGF 表达的信号传递途径是近年来人们所关注的问题。Mukhopadhyay 等发现蛋白质酪氨酸激酶抑制剂 5,4,3'-三羟异黄酮,能够减低低氧所有诱导的 VEGF mRNA 的表达(IC₅₀≈36 μmol/L),在浓度为 360 μmol/L,VEGF

mRNA 降至基线水平。使用抗磷酸化酪氨酸-416-src 抗体和 c-src 单抗,进行蛋白质印迹分析,在低氧超过 60 min,srcY416 的磷酸化增加,提示低氧增加了 src 的催化活性以及 src 自身磷酸化位点的酪氨酸磷酸化。为了研究 src 活化和 VEGF mRNA 的相互关系,通过表达 c-src 的质粒转染 U87 和 293 细胞,分别检测处于低氧和非低氧状态下 VEGF mRNA 水平,发现在低氧状态下 c-src 的过表达增加了 VEGF 的转录($\leq 3\sim 4$ 倍),而非低氧状态,VEGF 的水平无显著影响。以上结果提示,低氧所诱导的 VEGF mRNA 增加是通过 c-src 的活化而实现的。^[19]

2. bFGF FGF 是一种结构相关的多肽,至少有 17 种,其中 bFGF 是研究最多、生物效应最强、作用最广泛的成纤维细胞生长因子之一。bFGF 是一个 18kD 的多肽,由 155 个氨基酸残基组成,其独特的结构特征为无信号肽。bFGF 有 4 种不同分子量的同种异形:18 kD 或低分子量的 bFGF,22 kD、22.5 kD、24 kD 的高分子量 bFGF。不同的 bFGF 与不同的细胞功能有关。低分子量的 bFGF 由细胞分泌出来,刺激细胞迁移、增殖,通过结合到表面受体刺激 bFGF 受体下调。^[20] bFGF 位于细胞核,并调节细胞增殖。由于高分子量 bFGF 缺乏经典分泌途径所需的信号肽,高分子量 bFGF 从细胞中通过何种机制分泌到细胞外仍不清楚。一般 bFGF 发现于细胞外,并以自分泌形式调节多种细胞功能。多种肿瘤细胞和内皮细胞都有 bFGF 受体的表达,bFGF 是通过 4 个高亲和酪氨酸激酶受体和细胞表面肝素硫酸化蛋白聚糖组成的双受体系统发挥生物活性的。体外、体内研究表明,FGF 有促进血管内皮细胞增殖、迁移;促进蛋白激酶释放以降解基底膜;促进内皮细胞形成管腔的作用等。^[21] 也可通过 PDGF 间接促进平滑肌细胞的增殖。在心肌缺血的模型中,bFGF 浓度上升和特异性受体的上调可促进血管新生和侧支循环的建立。bFGF 相对 VEGF 来说没有内皮细胞作用特异性。bFGF 受体可在内皮细胞、平滑肌细胞、成纤维细胞、成肌细胞和许多肿瘤细胞上表达。而为什么在 bFGF 诱导肿瘤血管新生时以显著的内皮细胞增生为特点,而平滑肌细胞和成纤维细胞增生不明显的原因仍是个疑问。此外,bFGF 受体是否在体内微血管内皮上表达还不清楚。这可能是 bFGF 比 VEGF 在新血管形成过程中缺乏特有效果的原因。^[22]

3. 血管生成素 Davis 等从人 SHEPH1-1 和鼠 C₂C₁₂ ras 细胞克隆了 TGF- β 抑制元件 2(TIE₂)配基 APO-1,其 cDNA 克隆的 DNA 序列是编码 498 个氨基酸的阅读框架,两者存在 97.6% 同源性。APO-1 是 70 kD 的糖蛋白,能够特异地结合 TIE₂,解离常数(K_d)是 3.7 nmol/L。有趣的是 APO-1 不能诱导内皮细胞的生长反应,在胚胎 9~11 天,APO-1 主要定位于心内膜周围,以后分布在血管的间质。为了阐明 APO-1 的生理作用,Suri 等通过基因敲除(knockout)的方法构建了一个缺乏 APO-1 表达的小鼠。在胚胎形成第 11 天表现出异常,其中最显著的缺陷是心内膜以及心肌的发育异常,TIE₂ mRNA 水平降低,而其内皮细胞的数量与正常胚胎近似。由此可见,APO-1/TIE₂ 系统在心脏发生早期和血管新生的过程中具有重要的作用。APO-1 缺陷胚胎与正常胚胎血管超微结构的主要区别在血管组织皱襞,正常胚胎血管内皮细胞呈薄的扁平状,与外周内皮细胞(periendothelial cell)、胶原样的纤维丝结合在一起;APO-1 缺陷小鼠血管表现为缺乏外周内皮细胞,纤维丝孤立存在,而且呈散在的排列。组织皱襞在血管的分支、重建、外周细胞的趋化、基质成分的构成过程中有着重要的作用。所以,从 APO-1 缺陷胚胎的异常表现可以提示,APO-1 参与了构建血管非内皮细胞的部分,使得血管结构得以完整。^[23]

APO-1/TIE₂ 系统在血管形成过程中的作用机制尚不清楚。Vikkula 等提出了“环路-偶联”假说,所谓的环路就是指内皮细胞所表达的 TIE₂ 和平滑肌细胞(SMCs)所表达的 APO-1 形成反馈环路,内皮细胞的激活信号对 APO-1 的表达起到负调控作用,“TIE₂-配基”环路与血小板衍生生长因子(PDGF)和转化生长因子(TGF- β)所介导的血管 SMCs 的趋化、增生、分化相偶联;若两者失偶联,则导致血管形成不良。Folkman 等在此基础上修补,提出“间质细胞的趋化模式”:间质细胞释放的 APO-1 与受体 TIE₂ 结合后,内皮细胞产生趋化局部间质细胞形成血管的信号(即 PDGF 和 EGF),当两个细胞相互接触,TGF- β 被活化,进而诱导间质细胞分化为周细胞和 SMCs,抑制内皮细胞的增生和刺激基质沉积。^[24]

4. TSP 最近的研究表明 TSP 是生理性的血管新生抑制剂。^[25] 子宫内膜具有生长-抑制周期性变化的特性,在周期变化的过程中,伴随新血管的生成。因此,子宫内膜是研究血管新生较好的模型。TSP 主要表达在子宫内膜的上 2/3,分布在腺体、小血管、毛细血管的基底层,在子宫内膜分泌期 TSP mRNA 的水平是增生期的 3.5~4.2 倍。另外,TSP mRNA 水平与黄体酮的剂量、作用时间有关,其最大的诱导作用在 10~25 $\mu\text{mol/L}$,与内皮细胞作用 6~8 h 后 TSP mRNA 水平最高,是对照组的 4.2 倍,而作用 24 h 后 TSP 的水平低于对照组。以上结果表明黄体酮对 TSP 的调控是双向的,开始表现为刺激,随后出现抑制作用。黄体酮对 TSP 基因的调控机制,目前还不十分清楚。到目前为止,已知存在 5 种不同类型的 TSP 蛋白,仅有 TSP-1 和 TSP-2 具有影响血管新生的功能区,其中 TSP-1 受 p53 的调控。

5. 血管新生的调节 血管新生是个复杂的过程,涉及多方面的因素。正确认识血管新生的调节机制是解决血管新生相关疾病的基础。这也是目前研究的焦点。

Hanahan 等最近提出了肿瘤血管新生的平衡学说:正常情况下,血管新生的诱导剂和抑制剂处于平衡的状态,维持血管系统的正常生长。一旦平衡状态被打破,或者激活静息的血管系统,发芽长出新的微血管;或者使血管处于持久的关闭状态。^[26] 此假说为肿瘤的发生、转移以及治疗提供了理论依据。它的提出是基于以下三个实验结果。第一,体外研究表明,bFGF 和 VEGF 能够抑制内皮细胞的增生和迁移反应,若同时给予 TSP,以上反应将被抑制。第二,Dameron 等为了检测 p53 肿瘤抑制基因的丢失对血管新生的影响,培养 Li-Fraumeni 病人的成纤维细胞。该个体分别遗传了一个野生型和突变型的 p53 基因,最后发展为肿瘤。在早期传代的 Li-Fraumeni 成纤维细胞是二倍体,各有一个突变和野生的等位基因,培养的细胞分泌大量的 TSP 进入基质;在晚期,传代细胞变为非整倍体,仅保留突变型 p53 等位基因,细胞分泌的 TSP 减少,其 mRNA 水平下降 92.8%~94%。并且体外实验结果表明,Li-Fraumeni 成纤维细胞的基质丧失了抑制肿瘤或 bFGF 所诱导的血管新生。第三,bFGF、VEGF 构成性地表达在正常或转基因小鼠 RIP1-Tag2 的胰岛细胞。在 RIP1-Tag2 小鼠的病理过程中,包括增生期、血管形成早期、血管形成期、肿瘤期几个阶段,而在正常小鼠的胰岛中却不存在血管新生的表型,很可能血管新生抑制剂保持着血管新生的关闭状态。一旦抑制剂的作用消失,则平衡发生改变,启动肿瘤形成过程中的血管新生表型。动物实验结果支持了上述假说。联合使用血管新生抑制剂(AMG-140、四环素、IFN)能够显著抑制转基因小鼠(RIP1-Tag2)的肿瘤进展,治疗组与对照组相比,肿瘤体积和血管密度是对照组的 10%和 40%。但是,以上三种血管新生抑制剂对肿瘤血管新生表型的阻断作用是不完全的。如何组合血管新生抑制剂,使得原发肿瘤处于“静息”状态,是需要人们进