

血栓·抗凝·溶栓

林松波 陈韵蕉 郑悦
连祺周 编著



福建科学技术出版社

血栓 · 抗凝 · 溶栓

林松波 陈韵蕉 编著
郑悦 连祺周

(闽)新登字 03 号

图书在版编目 (CIP) 数据

血栓·抗凝·溶栓/林松波等编著. —福州: 福建科学技术出版社, 1999. 8

ISBN 7-5335-1523-4

I. 血… II. 林… III. 血栓形成-诊疗 IV. R543

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (99) 第 32615 号

福建科学技术出版社出版、发行

(福州市东水路 76 号)

各地新华书店经销

福建省科发电脑排版服务公司排版

福建地质印刷厂印刷

开本 787×1092 毫米 1/16 11.75 印张 2 插页 288 千字

1999 年 8 月第 1 版

1999 年 8 月第 1 次印刷

印数: 1—1 200

ISBN 7-5335-1523-4/R · 301

定价: 16.00 元

书中如有印装质量问题, 可直接向承印厂调换

前 言

血栓形成是一种常见的现象，在许多疾病的发生、发展过程中，都有血栓形成。体内血栓形成，血流阻断，可引起严重后果，如由冠状动脉血栓引起的急性心肌梗死和由脑血栓引起的脑梗死。这些疾病极大地影响人类健康，严重时可导致死亡。因此，研究血栓形成的原因、探寻预防和治疗血栓形成的方法，已成为基础和临床医学工作者的重要课题。

本书收集国内外有关资料，详细叙述了血液凝固、抗凝、纤维蛋白溶解的机制，血栓形成的原因和防治方法，并对临床各科出现的血栓性疾病进行了论述。同时，鉴于中医学对血栓性疾病早有研究、在临床实践中对血栓性疾病的治疗也取得了明显效果，本书也简要地叙述了中医对血栓性疾病的认识和对血栓性疾病的诊治。

由于编者水平有限，错误和不足之处在所难免，希望读者不吝指教。

本书写成之后，因经济问题未能及时出版，新加坡淡禅法师得闻，本着普济众生、治病救人之宗旨，慷慨解囊，使本书才有与读者见面的机会。在此特表由衷感谢，祝淡禅法师健康长寿、福泽善生！

编 者

1997 年 7 月

目 录

第一篇 凝血、抗凝和溶栓的基本知识

第一章 血液凝固的机制	(1)
一、凝血因子的种类和特性	(1)
二、血液凝固过程	(10)
第二章 抗凝机制	(11)
一、通过蛋白酶抑制物抑制活性型凝血因子	(12)
二、通过蛋白酶使因子 V a 和 VIII a 失活	(15)
三、细胞抗凝	(18)
第三章 纤溶系统	(19)
一、纤溶系统的成分和特性	(19)
二、纤溶系统的激活	(27)
三、纤溶系统的调节	(27)
第四章 血小板的构造和功能	(28)
一、血小板的超微结构	(28)
二、血小板的生化组成	(30)
三、血小板在止血、血栓形成和其他病理过程中的作用	(36)

第二篇 血栓形成

第一章 概述	(39)
一、血栓的分类	(40)
二、血栓的转归	(40)
第二章 血栓形成的影响因素	(41)
一、血管壁因素	(41)
二、血小板和白细胞	(43)
三、凝血因子	(44)
四、抗凝及纤溶系统	(44)
五、血液流变学因素	(45)
第三章 血栓形成的诊断	(47)
一、临床检查法	(47)
二、机械性检查	(50)
三、血液学检查	(52)

第四章 血栓形成的防治	(53)
一、抗凝疗法	(53)
二、溶栓疗法	(60)
三、抗血小板药	(63)
四、降低血液粘度的方法	(68)
五、防治血栓形成的其他方法	(71)

第三篇 疾病与血栓

第一章 遗传性血栓性疾病	(72)
一、诊断	(72)
二、常见遗传性血栓性疾病	(73)
第二章 动脉血栓形成	(76)
一、动脉血栓的主要病因	(76)
二、常见的动脉血栓性疾病的诊治	(77)
第三章 静脉血栓形成	(80)
一、病因和发病机制	(81)
二、病理变化	(81)
三、临床表现	(81)
四、辅助检查 (详见前文)	(82)
五、治疗	(83)
六、预防	(84)
第四章 肺血栓栓塞	(84)
一、病因	(84)
二、病理变化	(85)
三、病理生理	(87)
四、临床表现	(88)
五、诊断	(88)
六、鉴别诊断	(89)
七、治疗	(89)
八、预后和转归	(90)
九、预防	(90)
第五章 慢性阻塞性肺病与血栓	(91)
一、发病机制	(91)
二、诊断	(91)
三、治疗	(91)
第六章 成人呼吸窘迫综合征	(92)
第七章 肺癌与血栓	(92)
第八章 弥散性血管内凝血	(93)
一、病因及发病机制	(93)

二、临床表现	(94)
三、实验室检查	(94)
四、诊断	(96)
五、鉴别诊断	(99)
六、治疗	(99)
第九章 抗磷脂抗体综合征与血栓	(102)
一、抗磷脂抗体的测定	(102)
二、抗磷脂抗体综合征的特征	(103)
三、抗磷脂抗体综合征的诊断标准	(103)
四、抗磷脂抗体综合征与血栓症的关系	(103)
五、抗磷脂抗体综合征引起血栓的治疗	(104)
第十章 肾脏病与血栓形成	(104)
一、血栓形成与肾小球疾病发病机制	(104)
二、肾小球疾病中的高凝状态和血栓形成	(105)
第十一章 恶性肿瘤与血栓	(107)
一、恶性肿瘤患者容易发生血栓的机制	(107)
二、止、凝血检查的变化	(110)
三、恶性肿瘤伴发高凝状态引起的特殊临床综合征	(110)
四、恶性肿瘤并发血栓栓塞的防治	(112)
第十二章 糖尿病与血栓形成	(113)
一、糖尿病并发高凝状态和血管病变的机制	(113)
二、对糖尿病治疗的启示	(114)
第十三章 妊娠及应用避孕药与血栓形成	(115)
一、正常妊娠期血液生理的变化	(115)
二、妊娠期血栓形成	(116)
三、妊娠期抗凝治疗的特殊问题	(116)
四、应用避孕药与血栓形成	(117)
第十四章 视网膜疾病与血栓	(118)
一、视网膜中央动脉阻塞	(118)
二、视网膜静脉阻塞	(118)
三、糖尿病性视网膜病变	(119)
第十五章 外科手术中的血栓形成问题	(121)
一、外科手术并发血栓形成的机制	(121)
二、手术并发血栓形成的治疗	(122)
第十六章 血液透析和腹膜透析中的血栓栓塞	(122)
一、血液透析和腹膜透析病人易并发血栓栓塞的原因	(122)
二、血液透析和腹膜透析中血栓的防治	(123)
第十七章 人工瓣膜与血栓形成	(124)
一、瓣膜手术和人工瓣膜发生血栓栓塞的影响因素	(124)
二、人工瓣膜并发血栓栓塞的临床表现	(125)

三、预防和治疗·····	(125)
第十八章 器官移植与血栓形成·····	(126)
一、器官移植并发血栓形成的机制·····	(126)
二、器官移植后发生血栓形成的临床表现·····	(127)
三、实验室检查·····	(127)
四、治疗·····	(128)

第四篇 中医对血栓性疾病的认识

第一章 血瘀证的几个问题·····	(129)
一、血瘀学说的历史概况·····	(129)
二、血瘀证的概念及应用范围·····	(130)
三、血瘀证的发病机制·····	(132)
四、血瘀证的诊断·····	(134)
第二章 活血化瘀的临床运用·····	(135)
一、活血化瘀药物·····	(135)
二、活血化瘀治法的配伍·····	(137)
三、活血化瘀法在临床中的应用·····	(138)
第三章 活血化瘀的经验介绍·····	(150)

附篇 止、凝血功能的实验室检查

一、血管壁和血小板试验·····	(157)
二、凝血机制试验·····	(163)
三、抗凝血系统试验·····	(170)
四、纤维蛋白溶解试验·····	(172)
五、血液中抗凝物质试验·····	(176)
六、血栓弹力图 (TEG) 检查 ·····	(177)
七、血液流变学试验·····	(180)

第一篇 凝血、抗凝和溶栓的基本知识

血液成分在循环血液中凝聚,形成一种半固体凝块,叫做血栓;生成血栓的病理过程,称为血栓形成。由此看来,体内血液凝固,是血栓形成的基本原因。要了解血栓形成的原因和机制,首先要知道血液凝固的原因和机制。

血液在血管中呈溶胶状态,不断地流动,一旦离开血管,即迅速变成凝胶状态。这是由于体内存在着复杂的凝血、抗凝和纤溶系统,它们之间保持动态平衡,使血液在正常体内保持溶胶状态,而在血管破裂时,则迅速凝固,将血管裂口堵塞,使血液不至丧失过多。如果上述平衡被破坏,凝血功能障碍,将导致止血障碍;若凝血功能亢进,或抗凝和纤溶功能障碍则可引起血液在体内血管中凝固,导致血栓形成。

第一章 血液凝固的机制

血液凝固是一个复杂的生理过程,包括酶促反应和分子的聚合,需要多种因子参加。以下分别介绍凝血因子的种类、特性以及凝血的机制。

一、凝血因子的种类和特性

20世纪60年代初期,国际凝血因子命名委员会以罗马数字命名一批凝血因子,分别称为凝血因子I~XIII。通常因子I至IV只叫其名称,不叫罗马数字,例如因子I为纤维蛋白原,因子II为凝血酶原,因子III为组织凝血激酶,因子IV为钙离子,而不称为因子I、II、III、IV。后来发现因子VI是因子V的激活物,并非独立的凝血因子,故以罗马数字命名的凝血因子,实际上只有12种,后来又发现前激肽释放酶和高分子激肽原也与凝血有关。

(一) 纤维蛋白原

纤维蛋白原由肝细胞制造,其正常血浆含量为2.0~4.0 g/L,半衰期为90h左右,较为稳定。

纤维蛋白原是由A α 、B β 和 γ 三对肽链以二硫键互相结合而成的二聚体,可用(A α —B β — γ)₂表示。纤维蛋白原是大分子的糖蛋白,含碳水化合物4.5%,分子量为 3.4×10^5 ,其中A α 的分子量为 6.7×10^4 ,B β 为 5.6×10^4 , γ 为 4.75×10^4 ,并分别由610个、461个和411个氨基酸残基组成,B β 链和 γ 链附有糖链。每个纤维蛋白原分子中有58个半胱氨酸残基,它们都形成二硫键,故有29对二硫键。这些二硫键大部分都集中于分子的一定部位,担任着连接各种肽链的作用,并使纤维蛋白原具有特殊的立体构象。一部分二硫键集中于氨基末端,形成由三条肽链组成的集束(cluster),这个区域相当于纤维蛋白原在纤溶酶分解后产生的E部分。此外,用CNBr处理后,可得到分子量 5.0×10^4 的氨基末端部分,该部分含二硫键特别多,称为二硫键结(N-disulfide knot)。在羧基末端也集中有二硫键,互相连接各肽链,形成集束。这个部位对于纤溶酶也有抵抗性,经过纤溶酶处理后得到的羧基末端部分,称为D部分,相

当于纤维蛋白原分解产物的 D 部分。因此，纤维蛋白原分子是由一个位于氨基末端的 E 部分和两个位于羧基末端的 D 部分，通过拧成螺旋状的三条肽链结合而成的。早年用电子显微镜观察纤维蛋白原分子，发现它呈三球形，各球之间以带状结构连接，外侧两球的直径为 6nm，中央球直径为 5nm，连接带宽 1.5nm，长 14~16.5nm，整个分子长度为 45~50nm。经过 Fowler 的阴性染色（negative staining）电镜观察和化学分析法，这种三球形构造已被确认。（见图 1-1）

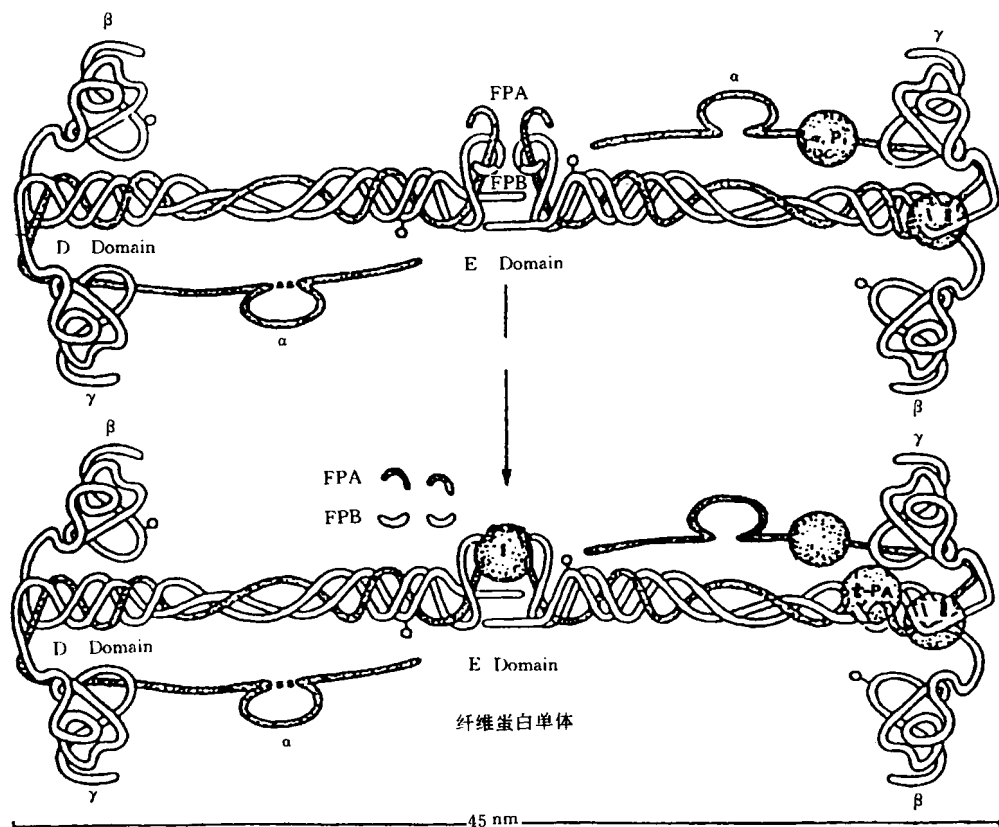


图 1-1 纤维蛋白原结构

FPA: 纤维蛋白肽 A FPB: 纤维蛋白肽 B

在 $A\alpha$ 链和 $B\beta$ 链的氨基末端分别附有由 16 个氨基酸残基组成的纤维蛋白肽 A (FPA) 和由 14 个氨基酸残基组成的纤维蛋白肽 B (FPB)，这些肽链含有许多酸性氨基酸，带负电荷，使纤维蛋白原分子互相排斥不发生凝聚，一旦它们被裂解，就可引起纤维蛋白发生凝聚。

在凝血酶的作用下，首先 $A\alpha$ 链的精氨酸¹⁶—甘氨酸¹⁷键被裂解，释放出一对 FPA，使纤维蛋白原失去负电荷，转变为溶解度低的纤维蛋白，称为去 A 肽纤维蛋白单体。接着 $B\beta$ 链的精氨酸¹⁴—甘氨酸¹⁵键被裂解，释放出一对 FPB。最终纤维蛋白原 ($A\alpha-B\beta-\gamma$)₂ 转变为纤维蛋白 ($\alpha-\beta-\gamma$)₂，开始规则地结合（聚合反应）。由凝血酶引起的这种裂解，是特异性很高的反应，裂解部位及其周围的氨基酸成分是决定其功能的重要因素。例如， $A\alpha$ 链的精氨酸¹⁶，门冬氨酸⁷，苯丙氨酸⁸，甘氨酸¹²，精氨酸¹⁸，若被其他氨基酸取代，将引起 FPA 裂解的明显障碍，导致纤维蛋白原不能转变为纤维蛋白。

纤维蛋白原失去 FPA 和 FPB 后，成为纤维蛋白单体，暴露出了分子中适合于互相结合的

聚合反应部位(polymerization sites),这种聚合反应部位具有一定的氨基酸排列顺序,而且形成特异的立体构型。根据各种实验结果和异常纤维蛋白原分子的分析结果推测,至少有二对反应部位,一对是在 FPA 裂解后暴露出的位于 E 区的“A”反应部位(位于 α 链的 17~20 位氨基酸和 β 链的 15~42 位氨基酸)和位于 D 区的“a”反应部位(位于 γ 链的 347~396 位氨基酸),二者形成“A”-“a”对;另一种是 FPB 裂解后暴露出的“B”反应部位(位于 β 链的 15~42 位氨基酸)和两个纤维蛋白分子以各自的 D 区互相结合后形成的“bb”反应部位。在“A”-“a”和“B”-“bb”二对反应部位的作用下,纤维蛋白单体整齐地聚合。(见图 1-2)

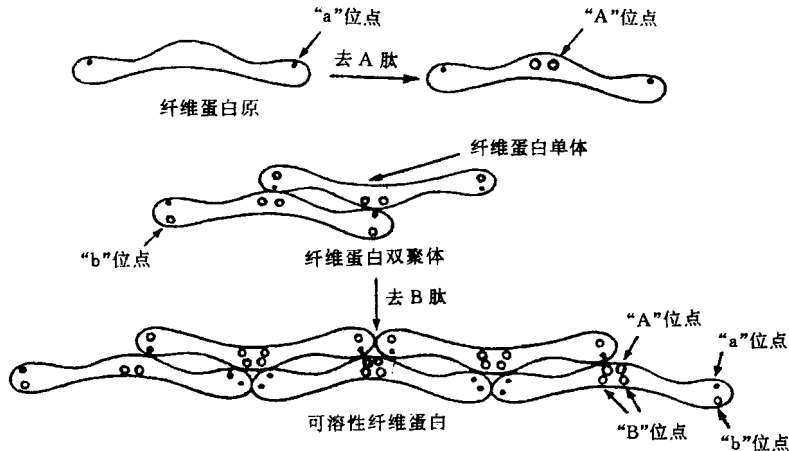


图 1-2 纤维蛋白原向纤维蛋白转化过程

现已发现,纤维蛋白表面有许多特殊的结合位点。除上述“A”-“a”和“B”-“bb”位点外,还有 t-PA 结合位点(位于 α 链的 148~160 位氨基酸和 γ 链的 311~384 位氨基酸)、 α_2 -AP 位点(位于 α 链的第 330 位谷氨酰胺上)、凝血酶第二结合位点(位于 β 链的 15~42 位氨基酸,该位点能强吸附凝血酶,防止凝血酶扩散)、纤溶酶原/纤溶酶结合位点(部位尚未明确,可能与纤维蛋白表面的众多赖氨酸有关)。纤维蛋白表面的位点,在凝血和纤溶的调节方面,具有重要意义,例如 t-PA 和纤溶酶原只有与纤维蛋白结合以后,才能迅速产生纤溶酶。

上述步骤所产生的纤维蛋白是不稳定的,能溶解于 30% 尿素溶液和 1% 一氯醋酸溶液,称为可溶性纤维蛋白。但在活性型因子 XIII_a 的作用下,纤维蛋白分子 γ 链的羧基末端的 γ 赖氨酸⁴⁰⁶与 γ 谷氨酰胺³⁹⁸之间通过异肽键(iso-peptide)结合($-\text{CO} \cdot \text{NH}-$)而形成架桥(形成 γ - γ 二聚体),这种反应是不同分子之间的 γ 链以相反的方向并排、迅速地进行的。接着 α 链之间也在赖氨酸和谷氨酰胺之间形成异肽键结合,但这种反应需要大量的活性型因子 XIII_a,而且反应速度很慢,其结果为形成 α 多聚体。在因子 XIII_a 作用下形成架桥结合后产生的稳定的纤维蛋白,不溶于 30% 尿素和 1% 一氯醋酸。

纤维蛋白原除参与凝血外,还能通过血小板膜糖蛋白 GP II b/III a,参与血小板的聚集反应,还与因子 XIII 一起,参与创伤的修复过程。在发生感染等急性炎症时,做为急性期的反应物质(acute phase reactant),血浆中的纤维蛋白原浓度增高,使血沉加快。遗传性纤维蛋白原分子异常,还可引起出血和血栓形成。

(二) 凝血酶原

凝血酶原在肝脏合成,是一种依赖维生素 K 的凝血因子,在其生物合成过程中,维生素 K 能使其部分肽链上的谷氨酸羧基化成为 γ -羧基谷氨酸,而具有和钙离子结合的能力。凝血酶原是一种单链糖蛋白,含碳水化合物 10%,分子量为 72 000。血浆中的浓度为 0.15~0.2 g/L (15~20mg%)。电泳时走在 α_2 和 β 球蛋白区,可被硫酸钡吸附。耐热,在贮藏过程中稳定性好。凝血酶原的作用是在凝血激酶的作用下,转变为凝血酶,从而使纤维蛋白原变为纤维蛋白。

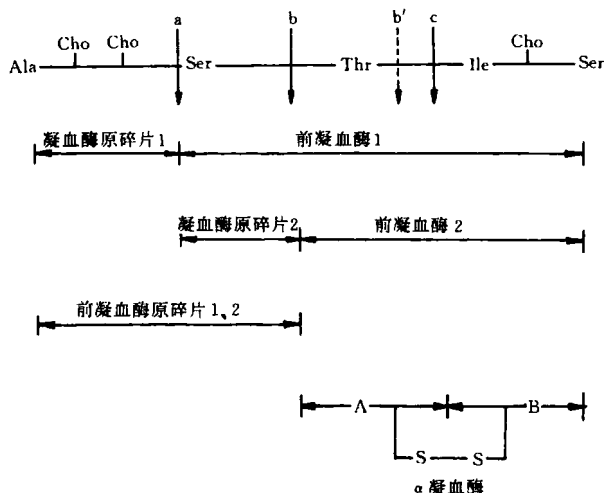


图 1-3 凝血酶原激活作用图解

Ala: 丙氨酸 Ile: 异亮氨酸 Thr: 苏氨酸 Ser: 丝氨酸 a、b、c: 人和牛凝血酶裂解部位 b': 人凝血酶原的又一裂解部位 Cho: 碳水化合物(糖链)

凝血酶原在因子 Xa 的作用下,分解成碎片 1 和前凝血酶 1,前凝血酶 1 又可分解为碎片 2 和前凝血酶 2,最后前凝血酶 2 再转变为双链的凝血酶(见图 1-3)。双链凝血酶分子量为 36 000,含氨基酸残基约 258 个。A 链由 49 个氨基酸残基组成,其氨基末端的氨基酸为苏氨酸, B 链氨基末端的氨基酸为异亮氨酸。A、B 二链由二硫键相连接。现已证实,凝血酶原被因子 Xa 激活时,精氨酸³²³—异亮氨酸³²⁴发生裂解,生成中间产物——前凝血酶 2 并释放碎片 1、2。此外凝血酶原也可被凝血酶激活,于 N 端的精氨酸¹⁵⁶—丝氨酸¹⁵⁷处发生裂解,生成中间产物——前凝血酶 1 和碎片 1。前凝血酶 1 再被因子 Xa 水解,产生前凝血酶 2 和碎片 2;最后前凝血酶被因子 Xa 水解为具有活性的双链凝血酶。凝血酶是丝氨酸蛋白水解酶,它除能裂解纤维蛋白原的 FPA 和 FPB,使纤维蛋白原变为纤维蛋白外,也能水解因子 V、VIII、XIII 和凝血酶原。此外,凝血酶还具有酯酶活性,对 TAME (Tosyl-L-arginine methylester, 对苯甲酰-L-精氨酸-甲基酯) 的裂解作用最强。用乙酸酐使凝血酶乙酰化,可使其失去大部分活性,但仍保留酯酶活性,将这种酯酶凝血酶或凝血酶-E 给狗输注,可引起纤溶系统的激活。

(三) 组织凝血激酶(组织因子)

组织凝血激酶广泛存在于各种组织中,以肺、脑、肾、胎盘活性最高。一般说来,越容易出血的器官,组织因子的活性越高,表明它是止血的重要因子。但恶性肿瘤细胞和白血病

细胞也具有组织因子活性,可能是这些病易发生弥散性血管内凝血的基础。在组织损伤时,组织凝血激酶与血液接触,使因子Ⅶ激活,启动外源性凝血系统。组织凝血活酶是由蛋白质和脂质组成的稳定复合物,是一种脂蛋白,如果将蛋白质和脂质分开,即失去活性。以人脑为例,其脂质部分中的磷脂类物质包括磷脂酰胆碱(34%~43%)、磷脂酰乙醇胺(13%~22%)、鞘磷脂(7%~9%)、磷脂酰丝氨酸(6%~7%)、磷脂酰肌醇(微量)等。组织凝血激酶的载脂蛋白是一种糖蛋白,其分子量约为50 000~53 000。

在培养的血管内皮细胞,无组织因子活性,用胰蛋白酶处理后,则显示出活性,说明在细胞膜中的组织凝血激酶,表面处于被覆盖状态,因此其活性被抑制,现也有人认为组织凝血激酶位于内皮细胞的基底膜一侧,因而不与血液接触。一旦细胞损伤,组织凝血激酶暴露,在 Ca^{2+} 存在的条件下,与因子Ⅶ形成复合物。因子Ⅶ可能是和组织凝血激酶的磷脂相结合,但也有人认为是与载脂蛋白部分相结合。

组织凝血激酶本身无酶活性,不能激活因子Ⅶ。在因子Ⅶ的激活过程中,需要因子 Xa 、 IXa 、 XIa ,或凝血酶。组织凝血激酶与因子Ⅶ结合后产生少量的组织凝血激酶-因子Ⅶ(TP-Ⅶ)复合物,具有蛋白酶的活性,可产生少量因子 Xa 。 Xa 又反过来使(TP-Ⅶ)复合物变为活性型(TP-Ⅶa)复合物。后者具有强大的激活因子 X 的能力,因而使凝血过程迅速发生。现已确定 TP-Ⅶa 复合物也能激活因子 IX ,可启动内源性凝血过程,但它激活因子 IX 的速度,只及激活因子 X 的15%。

(四) 因子Ⅴ

因子Ⅴ是凝血酶原转变为凝血酶所必需的凝血因子。它是由肝脏制造的单链糖蛋白,由2 196个氨基酸残基组成。近来发现血管内皮细胞和血小板也能制造因子Ⅴ。分子量为330 000,电泳泳动在白蛋白。血浆中浓度为5~10mg/L。不被硫酸钡吸附。因子Ⅴ贮存时很不稳定,故又称为易变因子。在血浆中的因子Ⅴ半衰期只有12~36h。因子Ⅴ作为因子 Xa 的一种辅因子,可能通过改变底物的分子构象,使其肽键容易裂解。因子Ⅴ可吸附在血小板上,每个血小板有因子Ⅴ受体800个,吸附在血小板上的因子Ⅴ半衰期可达5天。血小板上的因子Ⅴ可能是因子 Xa 的受体,如果缺乏因子Ⅴ,可使因子 Xa 对凝血酶原的转变速度显著减慢。因子Ⅴ可被凝血酶、血小板活化物和蝮蛇毒所活化。但凝血酶对因子Ⅴ的作用具有双重性,初期的小量凝血酶可使因子Ⅴ活性增强,大量的后期凝血酶则可破坏因子Ⅴ,这样可以使凝血过程不会无限制地进行下去。

因子Ⅴ含有 $\text{A}_1\text{—A}_2\text{—B—A}_3\text{—C}_1\text{—C}_2$ 区域(domain),三个A区域的构造分别含有350~370个氨基酸残基,与铜蓝蛋白很相似。在凝血酶作用下,裂解出含有836个氨基酸残基的B区域(710~1 545位残基),在该区域的1 139~1 471位氨基酸之间,存在〔苏氨酸/天冬酰胺/脯氨酸〕—亮氨酸—丝氨酸—脯氨酸—天冬氨酸—亮氨酸—丝氨酸—谷氨酰胺—苏氨酸的结构,反复出现9次,其功能尚不明。

在凝血酶的作用下,因子Ⅴ链上的精氨酸⁷⁰⁹—丝氨酸⁷¹⁰、精氨酸¹⁰¹⁸—苏氨酸¹⁰¹⁹和精氨酸¹⁵⁴⁵—丝氨酸¹⁵⁴⁶键被裂解,生成分子量为94 000的重链(包括 A_1 、 A_2 区域)和分子量为74 000的轻链(包括 A_3 、 C_1 、 C_2)两个亚单位,这两个亚单位在钙离子存在时能保持因子Ⅴa的活性。但在印度蝮蛇毒的作用下只有精氨酸¹⁵⁴⁵—丝氨酸¹⁵⁴⁶键被裂解,所产生的Ⅴa也具有完全的促凝活性。因此,精氨酸⁷⁰⁹和精氨酸¹⁰¹⁸裂解的意义尚待研究。

因子Ⅴa在活性化的蛋白C作用下,其重链内有几处被裂解,生成分子量为70 000和20 000的碎片,在轻链上有一处被裂解,生成分子量为30 000和48 000的碎片,从而失去活性,其

主要的裂解部位在第 506 位的精氨酸，同第 306 位的精氨酸也有关系。未被激活的因子 V 则不被活性蛋白 C 降解。

通过对单克隆抗体的研究,发现因子 V_a 和因子 X_a 结合部位分别存在于重链和轻链,但若将重链和轻链分离,则失去结合能力,说明重链和轻链结合部位的存在是必要的。因子 V_a 同凝血酶原结合的部位在重链,同磷脂膜和细胞表面结合的部位在轻链,同活性蛋白 C 的结合部位在轻链。近来发现活性蛋白 C 在降解因子 VII_a 时,除需要蛋白 S 作为辅因子外,还要有因子 V 参与,如果无因子 V 则降解能力减弱。因子 V_a 无这种作用。

由于因子 V 不稳定,故纯化很困难,现在利用单克隆抗体精制蛋白质和从纯化蛋白质肽链片段决定部分氨基酸顺序的技术,将基因和 cDNA 克隆化,并通过其碱基的排列顺序推测出因子 V 的氨基酸顺序。(见图 1-4)

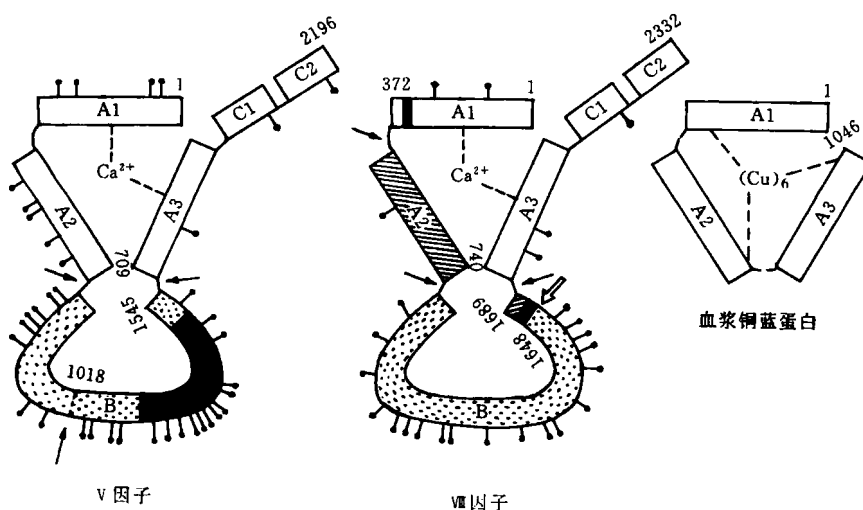


图 1-4 因子 V 和因子 VII 的构造和凝血酶引起的活性化

i. N 型糖链结合部位 ↓: 因子被凝血酶切断的部位 (数字表示切断部位精氨酸的位置)
○: 因子 VII 被某种未知的蛋白酶从此部位开始, 切断几处, 产生不同大小的 B 区域 因子 VII 的斜线部分: 与 vW 因子结合的部位 黑色部位: 发挥凝血作用的区域

(五) 因子 VII (前转变素)

因子 VII 为维生素 K 依赖因子, 是一种丝氨酸蛋白酶, 分子量为 45 000~50 000, 电泳泳动在 α 或 β 球蛋白, 含碳水化合物约为 50%。由肝脏产生, 血浆中的浓度为 2mg/L, 易被硫酸钡吸附。

因子 VII 是外源性凝血系统的凝血因子, 是由 406 个氨基酸残基组成的单链分子, 被激活后即变为双链分子。未被激活的因子 VII 具有某些内源酶活性, 因此用因子 VII(a) 来表示, 但只有在组织凝血激酶并存时才表现出内源酶活性, 可激活因子 X 和因子 IX。因子 VII(a) 先与组织凝血激酶结合成复合物, 后者可少量激活因子 X, 被激活的因子 X_a 使因子 VII(a)/TP 转变为因子 VII_a/TP, 后者可大大加快因子 X 的激活速度, 其活性增加 25~30 倍。因子 VII 在精氨

酸¹⁵²—异亮氨酸¹⁵³键裂解后被激活为双链分子,并释放肽链,使其分子量从 50 000 降至 46 000,称为 α -因子 VIIa。在凝血酶、因子 Xa 的作用下,因子 VII 的重链精氨酸—甘氨酸键裂解,生成 β -因子 VIIa,失去活性。

因子 VII 的作用是裂解因子 X 重链氨基末端的精氨酸—异亮氨酸键,使因子 X 被激活。在有组织凝血激酶的参与下,激活过程大大加速。因子 VII 除被组织凝血激酶激活外,还可被因子 Xa、因子 XIIa、因子 IXa、凝血酶、纤溶酶等激活。VIIa 也能激活因子 IX,因此内源性凝血和外源性凝血有很密切的关系。

(六) 因子 VIII (抗血友病因子)

因子 VIII 是由 2 332 个氨基酸残基组成的单链糖蛋白,含碳水化合物 5.8%,分子量为 200 万,电泳泳动在 α_2 球蛋白。在血浆中浓度少于 10mg/L,不被硫酸钡吸附。因子 VIII 产生于肝脏,但也有一部分产生于血管内皮细胞。控制因子 VIII 生成的基因在性染色体——X 染色体上。因子 VIII 的作用是作为因子 IXa 的辅因子,促使钙离子和磷脂将因子 X 转变为活化的因子 Xa。因子 VIII 在刚合成时是单链糖蛋白,但在向血流分泌的过程中,在蛋白酶的作用下,从其分子上的精氨酸¹⁶⁴⁸开始,有数处被特异地裂解,因而在血中出现的是由两个亚单位构成的异二聚体 (heterodimer),其重链是氨基末端的分子量为 90 000~210 000 的肽链,轻链是羧基末端分子量为 80 000 的肽链 (1 649~2 332 位氨基酸残基)。这两个亚单位在钙离子存在时组成异二聚体,并与 von Willebrand 因子 (vW 因子) 形成复合物而存在血中。

因子 VIII 在凝血酶或因子 Xa 的作用下,其精氨酸³⁷²—丝氨酸³⁷³,精氨酸⁷⁴⁰—丝氨酸⁷⁴¹—精氨酸¹⁶⁸⁹—丝氨酸¹⁶⁹⁰被裂解,产生分子量分别为 50 000 (A_1 区域)、43 000 (A_2 区域) 和 73 000 (A_3 — C_1 — C_2 区域) 的三个碎片,其中 A_2 仍与 vW 因子相结合,而 A_1 和 A_3 — C_1 — C_2 则与 vW 因子分离,生成由钙离子保持的异二聚体—活性型因子 VIIIa,发挥其促凝作用。因子 VIII 在活性化的蛋白 C 的作用下,其精氨酸³³⁶—甲硫氨酸³³⁷键被裂解而失去活性。最近应用特定部位变异诱导法 (site-directed mutagenesis),用异亮氨酸分别取代精氨酸^{336,372,740,1689,1721},发现在凝血酶或因子 Xa 激活因子 VIII 时,应裂解精氨酸^{372,1689},而使其失活则必须裂解精氨酸³³⁷。凝血酶引起的精氨酸⁷⁴⁰和因子 Xa 引起的精氨酸¹⁷²¹的裂解则与因子 VIII 的激活和失活无关。

由于因子 VIII 与 vW 因子紧密结合,长期以来误认为二者属于同一物质,现在已经明确,二者是完全不同的物质。前者的基因存在于 X 染色体上,后者的基因位于常染色体上。前者为凝血的辅因子,如果缺乏因子 VIII,可引起凝血障碍,即血友病甲;后者的缺乏则引起血管性假血友病。

研究发现,因子 VIII 与因子 V 有许多相似之处:①二者都由 A_1 — A_2 —B— A_3 — C_1 — C_2 区域组成,而且各个区域的氨基酸构成也有很大的相似性。②在凝血酶的作用下,二者都裂解出 B 区域。③二者都是凝血的辅因子,均非丝氨酸蛋白酶,能加速含 γ 羧基谷氨酸的蛋白酶 (因子 IXa 和因子 Xa) 对含 γ 羧基谷氨酸基质 (因子 X 和凝血酶原) 的水解作用。④其辅因子作用依赖于钙离子和磷脂表面,且受限制性蛋白水解酶作用的调节。⑤发挥作用时需经凝血酶激活。⑥可被活化的蛋白 C 灭活。

(七) 因子 IX (血浆凝血激酶)

因子 IX 是产生于肝脏的依赖维生素 K 的凝血因子,为单链糖蛋白,电泳泳动在 β 球蛋白,分子量为 54 000,由 262 个氨基酸残基组成,含碳水化合物 26%,血浆浓度为 3~4mg/L,能被硫酸钡吸附,贮存中十分稳定。因子 IX 在凝血早期被因子 XIa 激活,其激活过程需要钙离子的存在,首先裂解为双链 (轻链和重链,以二硫键连接),然后从重链裂解下一个肽链,成为

有活性的因子Ⅹa。因子Ⅹa是丝氨酸蛋白酶，其活性部位在重链。在凝血过程中，因子Ⅹa与因子Ⅷa、磷脂和钙离子形成复合物，激活因子Ⅹ。因子Ⅹa在凝血过程中不被消耗，血清中因子Ⅹa的活性比在血浆中高数倍。缺乏因子Ⅹ可引起凝血障碍，称为血友病乙。

因子Ⅹ也能被因子Ⅶa激活。反之，因子Ⅹa、凝血酶和纤溶酶也能激活因子Ⅶ。

(八) 因子Ⅹ

因子Ⅹ在肝脏合成，分子量59 000，电泳泳动在α球蛋白至前白蛋白之间，是双链糖蛋白，由195个氨基酸残基组成。含碳水化合物10%，是依赖维生素K的凝血因子，能被硫酸钡吸附，血浆中浓度为6~8mg/L。生物半衰期为48~72h。

因子Ⅹ是内源性和外源性凝血其同途径的凝血因子。在内源性凝血系统，因子Ⅹ由因子Ⅹa、磷脂、因子Ⅷa和钙离子形成的复合物激活；在外源性凝血系统，因子Ⅹ由因子Ⅶa、组织因子和钙离子组成的复合物激活，激活的因子Ⅹa与因子Ⅴa、磷脂、钙离子组成复合物，激活凝血酶原。因子Ⅹa除有促凝活性外，也有酯酶活性，对TAME裂解作用最强。因子Ⅹa的促凝活性和酯酶活性均可被血浆抗凝血酶抑制。

(九) 因子Ⅺ（血浆凝血激酶前质）

因子Ⅺ是由肝脏合成的双链蛋白质，分子量16 000，电泳泳动在β和γ球蛋白之间。血浆中浓度为4mg/L。能被硫酸钡部分吸附。耐热，在加热至56℃ 30min，只丧失部分活性。生物半衰期为48~84h。因子Ⅺ可被吸附在负电荷表面上，很容易被同时吸附在负电荷表面上的因子Ⅺa激活，使其精氨酸³⁶⁹—异亮氨酸³⁷⁰键被裂解。在负电荷表面存在高分子激肽原时，因子Ⅺa激活因子Ⅺ的速度可提高130倍。因子Ⅺ除被因子Ⅺa激活外，还可通过其他途径激活，甚至在纯化因子Ⅺ的过程中，也可自动地产生因子Ⅺa，因此，在因子Ⅺ缺乏时，可以无出血倾向。被激活后的因子Ⅺa，可使因子Ⅹ转变为活性因子Ⅹa。

(十) 因子Ⅺ

因子Ⅺ是单链糖蛋白，分子量80 000，由536个氨基酸残基组成，电泳泳动在β球蛋白，含碳水化合物3.3%，在肝脏合成，生物半衰期为48~52h，血浆中浓度为2.9mg/L，不被硫酸钡吸附。因子Ⅺ可被多种物质激活，如玻璃、不锈钢、白陶土、涎酸、硅藻土、羧甲基纤维素、长链脂肪酸、胶原、弹性蛋白等。其激活方式，归纳起来有两大类，一类是固相激活，即在负电荷表面被激活，激活后分子量无明显变化，可能因构象的变化而露出活性部位。这种激活还可逆转为无活性的因子Ⅺ，而且这种转变可以反复进行数次。另一类是液相激活，即因子Ⅺ被激肽释放酶、纤溶酶、胰蛋白酶激活，激肽释放酶系裂解因子Ⅺ的精氨酸³⁵³—缬氨酸³⁵⁴键，生成α-因子Ⅺa。α-因子Ⅺa为双链蛋白质，由二硫键连接。重链位于N端，分子量50 000，有很强的表面结合能力；轻链位于C端，分子量28 000，为酶活性中心区域。α-因子Ⅺa可被血浆激肽释放酶进一步分解，重链上精氨酸³³⁴处断裂，产生β-因子Ⅺa，仍具有酶活性，但失去表面结合能力。此外，α-因子Ⅺa也可分解因子Ⅺ。被固相激活的因子Ⅺ，更容易被液相激活。

激活后的因子Ⅺa，主要启动内源性凝血系统，在激肽释放酶和高分子激肽原的协同作用下，使因子Ⅺ转变为活性因子Ⅺa，此外，因子Ⅺa也能激活纤溶系统，增强血管通透性，形成激肽和趋化因子，可能还有引起血小板聚集的作用。因子Ⅺ激活，可被带有正电荷的物质如细胞色素c，硫酸鱼精蛋白和核糖核酸酶等抑制。体内的许多蛋白水解酶抑制剂如C_T抑制剂，α₂巨球蛋白和抗凝血酶Ⅲ也能抑制因子Ⅺa和因子Ⅺa碎片。

(十一) 因子 XIII (纤维蛋白稳定因子)

因子 XIII 是肝脏合成的、由两对不同的肽链 (α 链和 β 链) 以非共价键结合而成的糖蛋白, 含碳水化合物 4.9%, α 链分子量为 75000, β 链分子量为 88000, 因而因子 XIII 的分子量为 320 000, 电泳泳动在 α_2 球蛋白, 血浆浓度为 25mg/L, 生物半衰期为 3~5 天。血小板中也有因子 XIII, 可能是由巨核细胞合成, 其结构与血浆因子 XIII 不同, 只有一对 α 链。血小板中因子 XIII 的活性, 相当于血浆中因子 XIII 总量的 20%。因子 XIII 以酶原形式存在于血浆中, 由凝血酶激活后形成活性型因子 XIII a, 其激活的过程中首先从 α 链上氨基末端的精氨酸—甘氨酸键裂解下一个含有 37 个氨基酸残基的肽链, 然后在钙离子作用下, 使 α 链与 β 链分离, 露出 α 链上的活性中心巯基团 (位于第 314 个氨基酸残基), 成为有活性的转酰胺酶。因子 XIII a 的作用是使一个纤维蛋白单体侧链上的谷氨酸与另一个纤维蛋白单体侧链的赖氨酸之间形成 ϵ (γ 谷氨酰) 联结 (架桥结合), 这种结合主要发生于纤维蛋白的 γ 链, 其次为 α 链。形成架桥结合后的纤维蛋白, 不被 5mol/L 尿素溶液或 1%~2% 一氯醋酸溶液溶解, 称为非溶性纤维蛋白。因子 XIII 也可被胰蛋白酶激活。激活的因子 XIII a 对于纤维母细胞的生长和合成胶原纤维具有重要作用。此外, 它还能将纤维结合蛋白结合到纤维蛋白网中, 因而对于伤口的愈合具有重要意义。缺乏因子 XIII 的新生儿, 出生后即有严重脐带出血, 且创面愈合不良、伤口宽阔、疤痕宽厚。

(十二) 前激肽释放酶

前激肽释放酶是单链的蛋白质, 分子量 85 000, 由 619 个氨基酸残基组成, 电泳泳动在 γ 球蛋白, 血浆中浓度为 (30 ± 10) mg/L。在活性型因子 XII a 的作用下, 其精氨酸³⁷¹—异亮氨酸³⁷²键被裂解, 转变为激肽释放酶, 使激肽原生成激肽, 并在高分子激肽原的协同下, 促使因子 XII 转为活性型因子 XII a, 并激活因子 VII 和纤溶酶原。前激肽释放酶虽然不是启动内源性凝血系统必需的因子, 但它能使激活速度加快, 在缺乏前激肽释放酶时, 激活速度减慢, 而且不能生成激肽或启动纤溶和趋化活性, 因此, 某些前激肽释放酶缺乏的病人, 表现为血栓形成。

(十三) 高分子激肽原 (HMW-K)

高分子激肽原是单链的蛋白质, 分子量为 110 000, 由 626 个氨基酸残基组成, 电泳泳动在 α 球蛋白, 血浆中的浓度为 (80 ± 10) mg/L。HMW-K 不具有蛋白水解酶活性, 而是一种辅因子, 协同激肽释放酶激活因子 XII。它在内源性凝血的初期, 分别与前激肽释放酶和因子 XII 形成复合物, 将该两因子固定于负电荷的固相表面上, 促进激肽释放酶激活因子 XII 以及因子 XII a 激活因子 XI 和前激肽释放酶的反应。最近还发现它能作为半胱氨酸蛋白酶抑制物 (cystatin)。其构造和功能的关系已逐步明确, 基因的构造也已被确定。在其分子中存在分别与钙离子、负电荷表面、前激肽释放酶和因子 XII 结合的部位。HMW-K 在激肽释放酶的作用下, 转变为缓激肽, 后者又被激肽酶分解而失活。

(十四) von Willebrand 因子 (vW 因子)

vW 因子是高分子量糖蛋白, 是由成熟的 vW 因子亚单位组成的齐分子量聚合物 (oligomer), 这种成熟 vW 因子亚单位包含由 2 050 个氨基酸残基组成的蛋白质和占重量比 18.7% 的糖链, 分子量为 250 000~270 000。上述聚合物还可通过端端结合, 直至构成长度达 $2\mu\text{m}$ 的丝状物, 分子量可达到 50 万~2 000 万。vW 因子在血管内皮细胞和骨髓的巨核细胞内合成, 合成后存在于血管内皮细胞、内皮下组织、骨髓巨核细胞、血小板、胎盘合体细胞中。血小板的 vW 因子占血流中 vW 因子总量的 15%~25%, 主要存在于 α 颗粒中, 在 ADP、凝血酶等刺激下被释放。vW 因子是一种粘附蛋白质, 具有与多种物质络合的特异构造, 可以和