

血小板成分与纤溶系统的相互作用

李 树 清

(昆明医学院病理生理教研室)

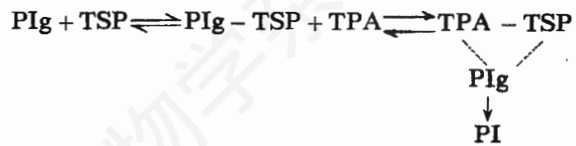
随着细胞生物学和分子生物学的发展与应用,纤维蛋白溶解(简称纤溶)及其调节,以及血小板在纤溶中的作用越来越受到医学研究的广泛重视。已知,纤溶过程大致分为两个步骤:第一步是血浆中血纤维蛋白溶酶原(Plasminogen, PIg)在各种激活物作用下转变为血纤维蛋白溶酶(Plasmin, PI);第二步是PI使凝胶状态的纤维蛋白溶解,产生可溶性的纤维蛋白裂解产物(FDP)。在上述纤溶过程中,除各种PIg激活物外,还有一些能抑制PIg转变为PI的抑制物参与,这些物质连同纤维蛋白溶解的一系列酶促反应,总称为纤溶系统。纤溶系统中最重要的成分为PI,其水平的高低决定着机体纤溶活性的强弱;而血小板糖蛋白、膜磷脂等成分对这种活性又具有明显影响;因此,探索其作用的生物学意义,阐明其相互作用的分子机制,将有助于揭示血栓性疾患的某些病因,并为其防治提供理论依据。本文就此作一综合介绍。

一、血小板糖蛋白与纤溶的作用

1. 凝血栓蛋白(Thrombospondin, TSP)与纤溶的作用

TSP为血小板 α -颗粒分泌的一种多功能糖蛋白,分子量为450000。在凝血酶刺激下,血小板分泌的蛋白质中,20—30%为TSP。TSP能与多种大分子物质,如纤维蛋白原、纤维连接蛋白、肝素、凝血酶、胶原、富组氨酸糖蛋白以及血小板膜表面结合^[1,2],对血管表面的血栓形成具有重要的调节作用^[3]。近来, Silverstein等将TSP与PIg一同温育,发现TSP使PIg活化作用受到明显抑制;并

观察到,TSP能与PIg以及一种称之为组织血纤维蛋白溶酶原激活物(TPA)的物质形成三元复合物^[4],即:



正是由于这种复合物的形成,PIg由TPA作用下生成PI的过程为TSP所抑制,结果使血管内纤维蛋白的沉积增加^[4]。TSP-PIg的相互作用受PIg分子中赖氨酸键位(LBS)的调节。换言之,由PIg A链的LBS介导TSP与PIg的结合^[3,4]。若以10 mmol/L EDTA或赖氨酸使PIg的LBS饱和,则可完全抑制上述复合物的形成^[4]。目前认为,TSP可能是大分子物质的一种集合部位,由于TSP的存在,大分子物质被局限于特殊的微环境中;所形成的多分子复合物又具有重要的调节功能。譬如,增加局部活性物质的浓度,保护其免受循环中抑制物的作用,或促进结合物之间的相互作用;过量的PIg对TSP-PIg的相互作用也有抑制效应^[3]。在血栓形成部位,TSP可能作为一种前调节物(Promodulator)而加速局部纤维蛋白的形成^[4-5],对PIg的活化起抑制性调节作用^[4]。

2. 纤维连接蛋白(Fibronectin, FN)的作用

FN为一种糖蛋白,分子量450000。FN不仅存在于血小板 α -颗粒,其他细胞亦能合成^[6]。血液凝固过程中,FN可通过分子中的纤维蛋白结合区域(domain)与纤维蛋白结合,从而抑制纤维蛋白凝块的形成,起着对抗血栓

形成的作用。经FN作用过的凝块，由于其纤维蛋白的机械性质发生了改变，故对血浆中PI的降解作用更为敏感，其机理可能是FN的纤维蛋白结合部位与纤维蛋白A链的C-端结合，干扰了纤维蛋白的聚合，使之易被PI所降解；另一种解释即认为凝块中的FN和/或溶于凝块周围的FN可直接作用于PI而影响纤溶过程^[7]。已证明，血浆中PIg以Glu-PIg形式存在，当其分子中含77个氨基酸残基的肽链(即Glu₁-Lys₇₇)被裂解后，便形成Lys-PIg，这种修饰形式的PIg易于活化，而且与纤维蛋白的亲合性很高^[8~10](图1)；故凝块一旦形成，就有大量Lys-PIg与纤维蛋白结合

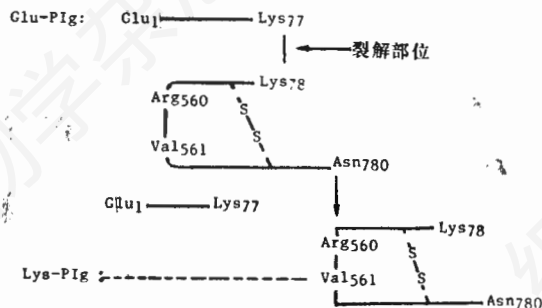


图1 Glu-PIg活化为Lys-PIg的变化过程^[8]

并在激活物作用下迅速转变为PI，进而降解纤维蛋白。在体外，生理浓度的FN对纤溶系统具有增强效应，表现在FN能刺激FN与PI的酰胺解活性(amidolytic activity)，即水解蛋白质酰胺键的活性，但对尿激酶的这种作用则无影响；能促进TPA和尿激酶对Lys-PIg的活化，而对Glu-PIg的活化则不然。提示FN对TPA活化过程的促进作用可能与Lys-PIg分子的Glu₁-Lys₇₇活性肽丧失有关^[8]。还发现，PI与FN结合后，PI的分子构型可发生改变，这种变化的结果是增强蛋白溶解活性^[7]。由于PIg的LBS在介导PIg与其他蛋白质的相互作用中具有特殊作用^[1,10]，Gilboa等用赖氨酸使LBS饱和，结果表明FN对PIg的促进效应未受影响，即赖氨酸虽能饱和LBS，但因FN对PIg的作用并非由LBS介导^[7]，

故仍具有促使PIg活化为PI的作用。进一步的研究将有助于阐明FN在纤溶调节中的作用机理及其病理生理意义。

3. von Willebrand因子(vWF)与纤溶的作用

vWF为一种大分子糖蛋白(分子量为 20×10^6)，循环中15—25%的vWF来自血小板，当ADP、胶原和凝血酶刺激血小板时，其 α -颗粒中的vWF便可释放至血浆中^[11~12]。血管受损后，血小板与内皮下层的粘附对原发性止血及血液凝固的启动极为重要。近年研究表明，这一过程依赖于vWF与血小板膜蛋白——糖蛋白Ib的相互作用。伯一苏(Bernard-Soulier)二氏综合症(即巨血小板综合症)患者的出血倾向正是一种以血小板与内皮下层粘附障碍为特征的出血性疾病^[13]。体外研究表明，PI对vWF有降解作用。在PI作用下，vWF释出一种分子量为34000的碎片(即P34)；其氨基酸顺序与完整vWF亚单位的N端相符，由15个残基组成，所生成的碎片仍由双硫键连接，故认为PI的降解部位大多位于vWF的双硫键链内^[14]。PI与vWF作用的模式见图2。此外，PI对vWF受体亦有降解作用。已证明，血小板膜糖蛋白Ib含有vWF受体部位，糖蛋白Ib中的糖萼蛋白(Glycocalicin)即

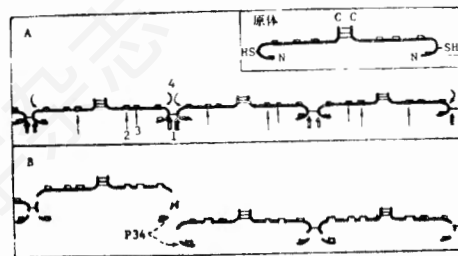


图2 血纤维蛋白溶酶降解vWF的模式图^[14]

A: vWF原体为一种分子量240,000的二聚体，C和N分别示羧基端和氨基端；亚单位间由双硫键连接，多个原体构成vWF多聚体。

箭头所指处系血纤维蛋白溶酶的作用部位。双箭头处裂解可生成二个同样的碎片(如p34)，而单箭头处裂解只生成一个碎片(如箭头2和3所指处)。

B: 为典型的vWF降解产物，由数个多聚体和p34组成。

为 vWF 的结合部位。Adelman 等将富含血小板血浆 (PRP) 与链激酶 (一种提自溶血性链球菌的 PIg 激活物) 活化的 PI 或纯化的 PI 一同温育, 血小板膜上的 vWF 受体——糖蛋白 Ib 被水解, 从而降低了 vWF 介导的血小板凝集反应^[13]。

许多病理情况下, 如弥漫性血管内凝血 (DIC) 及肝脏疾患时, 病人多半伴有出血倾向; 而其病因常被认为系 PI 水平升高 (因 DIC 时可发生继发性纤溶亢进和肝病时 PIg 灭活机能减退), 致使血浆纤维蛋白原大量降解及 FDP 增多所致^[13]; 事实上, PI 对 vWF 的降解导致血小板聚集性降低也是出血的原因之一。

二、血小板其他成分与纤溶的作用

1. 血小板纤溶增强物的作用

现已证明, 血小板不仅是凝血与血栓形成的主要成分之一, 而且对纤溶的调节具有重要作用。Deguchi 等的研究揭示了血小板的另一新功能, 即通过与 TPA 的相互作用, 而增强对 PIg 的活化; 并将血小板的这种成分称为纤溶增强物 (Fibrinolysis-potentiating substance)。由于这种增强物的作用需 TPA 和 PIg 参与才具生物活性, 提示其增强效应是通过加强 TPA 对 PIg 的活化而发挥作用的。一些资料认为, 纤维蛋白原及其碎片对 PIg 的活化也有一定作用, 故上述纤溶增强效应是否与此有关? 结果发现, 去纤维蛋白原血症患者的血小板内也含有纤溶增强物, 故认为这种纤溶增强作用确实来自血小板, 而与纤维蛋白原及其碎片无关^[15]。在血管受损处, 凝血酶与血小板的相应激活可促进血凝块的形成; 而 PI 与血小板的相互作用又可促进其溶解^[16], 体现了机体凝血与纤溶既对立又统一的相互关系, 这对于保持血液的流动性具有重要的生理意义。关于血小板纤溶增强物的作用机理, 可能与下列因素有关: ① 血小板使结合在自身表面的 PIg 活化为 PI, 从而促进了纤维蛋白的溶解; ② 由于结合着 PIg 的血小板被纤维蛋白网罗于凝

块内, 有利于 PIg 的活化及对纤维蛋白发挥水解作用^[15]。这可能就是血栓溶解多从内部开始的部分原因, 本室的工作已证明了这一特点^[22]。

与血小板的促纤溶效应相反, PI 对血小板功能具有抑制作用。经 PI 治疗后的人血小板对凝血酶、胶原及 ADP 的刺激反应低下^[13], 0.1—0.5 cu/ml 的 PI 可使血小板的聚集性完全丧失^[16]。然而, 也有关于 PI 促进血小板聚集的报道。Guccione 等发现, PI 可使兔血小板聚集并释放其贮存颗粒中的内容物。被 PI 作用过的血小板, 浮力密度减小, 视体积增大; 还观察到, 即使 PI 的浓度很低也具上述效应^[17]。由于低浓度的 ADP 对 PI 的血小板促聚集效应有协同作用, 而 EDTA 可阻滞 PI 的这种促聚集效应, 甚至可以使其解聚, 表明 PI 的作用需二价正离子参与^[17]。可见, 当前对纤溶调节的认识已集中到血小板-纤溶-抑制物方面; 深入研究血小板功能已成为生理、病理及药理的重要课题^[16]。

2. 血小板活化因子 (PAF) 的作用

PAF 为一种内源性磷脂, 也是变态反应和炎症过程的一种重要介质, 由血小板等细胞合成并释放, 现在认为内皮细胞也有这种功能^[18]。已知, PAF 具有广泛的生物活性, 如舒张血管、降低血压、增加血管通透性及活化血小板^[19], 是迄今所知最有效的血小板聚集剂。近来, Klocking 等发现, 以浓度为 10^{-11} — 5×10^{-9} mol/L 的 PAF 灌注游离的猪耳血管, 可增加 TPA 的释放; 若酯酶-PAF 浓度超过 5×10^{-9} mol/L 时, 则因血管收缩而使组织灌流量减少; 当灌注液中加入抗纤溶剂——对羧基苄胺 (PAMBA) 或用加热纤维蛋白平板 (不含 PIg) 检查时, 上述纤溶活性消失。显然, 灌注液的纤溶活性系由于 PAF 促进 TPA 释放所致^[20]。还证明, 凡能干扰脂肪酸代谢的脂氧化酶抑制物, 如去甲二氢愈创木酸 (Nordihydroguaiaretic acid, NDGA) 均可抑制 PAF 的促纤溶作用^[19,20]。

3. 血小板花生四烯酸(AA)及前列腺素(PGs)与纤溶的作用

AA 具有很强的促血小板聚集作用, 其主要是通过生物合成血栓素 $A_2(TXA_2)$ 来实现的, 动脉粥样硬化和血栓形成与 AA 代谢紊乱有一定关系; AA 还是 PGs(按其环状结构的不同, 可分为 A、B、C、D、E、F、G、H、I、TXA 和 TXB 等类)生物合成的前体, AA 的生物效应大多是通过合成 PGs 而起作用的。因此, 能干扰 AA 代谢的物质也能影响 PGs 的生物合成以及生物效应的发挥。近来的研究表明, PI 对 PGs 的代谢具有明显影响。Schafer 等证明, PI 对血小板膜磷脂池中内源性 AA 的释放有抑制作用, 甚至可以完全阻滞凝血酶诱导的内源性 AA 的释放; 但 PI 对 A 23187(即钙离子载体)诱导的释放则无抑制作用; 然而, 无论是凝血酶, 还是 A 23187 诱导的血栓素 $B_2(TXB_2)$, 为 TXA_2 的代谢产物, 较稳定)生成过程, 均可被 PI 所抑制; 其中对凝血酶作用的抑制效应更为明显。其机理可能与 PI 抑制磷脂酶 C(受凝血酶激活)的作用较抑制磷脂酶 A(受 A 23187 激活)强有关。而且, PI 具有灭活血小板磷脂酶或使膜磷脂中 AA 前体耗竭的作用^[16], 其结果可使血小板聚集性降低。Meats 等认为, PGs 与 TPA 的生成及释放也有某些一致性关系。例如, 在滑膜人工培养基中加入软骨细胞, 不仅能刺激 PGE 的生成, 且能促进 TPA 的释放, 两种效应均随培养时间的延长而减弱。提示, 在 PGE 和 TPA 生成过程中, 可能存在某种共同的途径, 同时也表明 PGs 与纤溶系统之间有着密切的内在联系^[21]。

可见, 对血小板与纤溶系统作用机理的研究, 将有助于阐明血凝与纤溶、纤溶与疾病之间的相互关系, 医学实践中某些与血小板—纤溶有关的病因与发病的认识也将随之而发生深刻的变化。

摘 要

血小板是止血和血栓形成的主要成分之

一。近年发现, 血小板所释放的糖蛋白(如 TSP、FN、vWF)及其他成分(如血小板纤溶增强物、PAF、AA 及 PGs)可与纤溶系统相互作用, 并通过促进或抑制血纤维蛋白溶酶原的活化而影响纤溶系统的活性。因此, 阐明血小板与纤溶系统的作用机制, 对于临床及基础研究均具有重要的实践意义。

参 考 文 献

- [1] 李树清: 1986, 国外医学分子生物学分册 2 : 64—68.
- [2] Kao KJ et al, 1986 *Thromb Haemost* 55 : 136—142.
- [3] Silverstein RL et al, 1985, *J Clin Invest* 75 : 2065—2073.
- [4] Silverstein RL et al, 1984, *J Clin Invest* 74 : 1625—1633.
- [5] Silverstein RL et al, 1985, *J Biol Chem* 260 : 10346—10352.
- [6] George JN et al, 1984, *N Eng J Med* 311 : 1084—1098.
- [7] Gilboa N et al, 1985, *Thromb Haemost* 54 : 639—644.
- [8] 李树清: 1983, 国外医学分子生物学分册 2 : 68—71.
- [9] Takeshi ABE: 1982, *Acta Haematol Jpn* 45 : 11—16.
- [10] Aoki N: 1983, *Acta Haematol Jpn* 46 : 1367—1373.
- [11] Enayat MS et al, 1987, *Thromb Haemost* 57 : 217—221.
- [12] Kunicki TJ et al, 1985, *Blood* 65 : 352—356.
- [13] Adelman B et al, 1985, *Blood* 65 : 32—40.
- [14] Hamilton KK et al, 1985, *J Clin Invest* 76 : 261—270.
- [15] Deguchi K et al, 1985, *Thromb Res* 40 : 853—861.
- [16] Schafer AI et al, 1985, *J Clin Invest* 75 : 456—461.
- [17] Guccione MA et al, 1985, *Thromb Haemost* 53 : 8—14.
- [18] Rosam AC et al, 1986, *Nature* 319 : 54—56.
- [19] Emeis JJ et al, 1985, *Blood* 66 : 86—91.
- [20] Klöcking HP et al, 1985, *Thromb Res* 38 : 413—416.

[21] Meats JE et al, 1980, *Nature* 286 : 891-892.

[22] 李树清等, 1982, 中华医学杂志 62 : 330-332.

免疫网络学说及其在医学中的应用进展

刘秉慈

(中国预防医学科学院劳动卫生与职业病研究所)

一、免疫网络学说简介

1. 第一级免疫反应和第二级免疫反应

自1972年Jerne⁽¹⁾提出免疫网络(Immune Network)学说前后,大量的研究表明,正常体内确实存在着一系列复杂的免疫连锁反应,这些反应形成一网络结构,对免疫系统的平衡起重要的调节作用。机体的免疫系统可以产生数以百万计的不同抗体,可以识别并结合入侵的外来物质以消除它们,这是机体的第一级免疫反应,而每一种抗体又可作为抗原被另一抗体所识别和结合,从而诱发机体的第二级免疫反应。抗体之间的这种连锁反应使免疫系统维持动态平衡。

2. 独特型(Idiotype)和抗独特型(Anti-idiotypic)

抗体是由B细胞产生的。它就是免疫球蛋白,通常作为抗原受体存在于B细胞膜上,一旦遇到相应的抗原,该B细胞立即转化成浆细胞分泌大量针对该抗原的抗体,这就是第一级免疫反应中产生的Ab1。抗体是由可变区和恒定区构成,抗原结合部位就在可变区上。它们都具有抗原性,在恒定区上的抗原决定簇称为同型(Isotype),可变区上的抗原决定簇称为独特型(Idiotype, Id),每个克隆的抗体分子上都具有其独特的Id,因此数以百万计的B细胞克隆的存在,就表明有数以百万计的Id存在,由于每一种特定Id的含量太低,机体

不对它产生免疫耐受。然而一旦某抗原引发了免疫反应,产生了大量特异的Ab1,相应的Id浓度突然上升,就会刺激细胞表面具有Id受体的B细胞增殖并分泌抗Id抗体(Anti-idiotypic Antibodies, AId),这就是第二级免疫反应中产生的Ab2。

V区上具有许多不同的Id,可诱发各种不同的AId,若Id的位置远离Ab1上的抗原结合部位,所产生的AId便不影响抗原与Ab1的结合,这类AId称为 α 型AId,或结合部位无关抗体[2]。若Id位于Ab1的结合部位上,所产生的AId会干扰抗原和Ab1结合,这类AId称为 γ 型AId,或结合部位相关抗体。第三类AId称为 β 型AId,也是理论和实践上非常重要的一类AId,它具有类似抗原的结构,可以“冒充”抗产生与抗原相同的生物效应,被认为是外部抗维在机体免疫系统中的“内在影像”(internal image)。这类具有“内在影像”AId只占AId总数的一小部分,绝大部分AId不能仿效原来抗原的功能。

3. 连锁性的反应网络

免疫系统的反应并未到Ab2为止。因为AId上同样具有Id,就可以诱发抗AId(Ab3),进而产生Ab4、Ab5等,形成多层次结构的免疫网络(图1),然而实验证明这些连锁反应并非无限的分歧下去,因为发现 β 型AId产

本文承中国科学院上海细胞生物学研究所叶敏副教授审阅,特此致谢。