

· 综述 ·

## 组织因子在凝血及血栓与止血外的作用机制研究进展

郑剑峰 邱洪

(中国医学科学院 北京协和医学院 国家心血管病中心 阜外医院, 北京 100037)

**【摘要】**组织因子是启动外源性凝血级联瀑布的关键因素,并在动脉粥样硬化斑块血栓形成中有重要作用。组织因子能以细胞相关蛋白、微粒和可溶性形式在血液中循环,在不同的细胞(甚至包括T淋巴细胞和血小板)和病理状态(如急性和慢性炎症状态)下,组织因子的表达也不相同,癌症可能会增强其表达和活性。除了凝血作用外,组织因子还是多种细胞的表面受体,参与许多细胞内信号、细胞存活、基因和蛋白表达、增殖、血管生成和肿瘤转移等机制。利用组织因子表达和/或活性调节的潜在治疗方式也被提出,开辟了医学治疗的新领域。现进一步论述组织因子的相关研究进展和作用机制。

**【关键词】**组织因子; 血栓与止血; 细胞内信号; 动脉粥样硬化

**【DOI】** 10.16806/j.cnki.issn.1004-3934.2020.09.001

## Role of Tissue Factors in Coagulation, Thrombosis and Hemostasis

ZHENG Jianfeng, QIU Hong

(Fu Wai Hospital, National Center for Cardiovascular Diseases, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100037, China)

**【Abstract】** Tissue factor is the key factor to initiate the cascades of exogenous coagulation and plays an important role in atheromatous plaque thrombosis. Tissue factors circulate in the blood in the form of cell-associated proteins, particles and solubilities. Tissue factor expression is also different in different cells(including even T lymphocyte and platelets) and pathological states(such as acute and chronic inflammatory states), and cancer may enhance its expression and activity. In addition to its clotting function, tissue factor is also the surface receptor of various cells and participates the mechanisms in many intracellular signaling, cell survival, gene and protein expression, proliferation, angiogenesis and tumor metastasis. The potential therapeutic approaches using tissue factor expression and/or activity regulation have been proposed, opening up a new field of medical treatment. This review will discuss the mechanism of tissue factor and further summarize the relevant research progress.

**【Key words】** Tissue factor; Thrombosis and hemostasis; Intracellular signaling; Atherosclerosis

组织因子(tissue factor, TF)是一种细胞表面糖蛋白,通常并不表达于与血液接触的细胞如内皮细胞等,以防止意外的凝血级联反应激活<sup>[1]</sup>。当前的一些研究证实,在某些病理情况下如急性冠脉综合征、炎症性疾病、癌症以及脓毒症,TF会暴露于血液中进而与其他凝血因子,主要是因子Ⅶ发生相互作用,激活外源性凝血通路,最终导致急性血管内血栓的形成<sup>[2]</sup>。随着研究的不断深入,对TF的认知发生了显著的改变,循环血流中也发现有TF的存在,其可为可溶性的形态或黏附于微泡或血液细胞<sup>[3]</sup>,这一发现改变了传统上认为TF仅黏附于血管壁内皮细胞层下组织的观念。此外,许多

研究已表明,TF除了作为凝血级联反应的主要启动因子外,还积极参与和凝血无关的其他生物活动中。事实上,已有研究表明,TF可调节信号转导、细胞凋亡、基因和蛋白表达、细胞增殖、血管生成和肿瘤转移。

### 1 TF在凝血中的作用

TF是一种糖基化跨膜蛋白,也称为凝血因子Ⅲ或组织凝血活素或CD142分子,属于第二类细胞因子受体超家族,成熟的TF蛋白质为一个包含263个氨基酸的多肽链。细胞外的长N端结构域由219个氨基酸组成,作为两个Ⅲ型纤连蛋白的结构域,对凝血因子Ⅶa(FⅦa)的结合至关重要。血管损伤后,内皮下的TF

暴露,并与循环血液中的凝血因子FⅦ/FⅦa高亲和力地结合。在这个复合体中,由于活性位点区域的重新排列,FⅦ的活性增强了数倍。为了充分发挥其活性,TF/FⅦa复合物需钙和磷脂来激活凝血因子FX和FIX。最终,在血管损伤的部位凝血酶生成(FⅡa),进一步导致血小板激活和聚集,纤维蛋白产生和血管内血栓形成。TF-FⅦa复合体产生的新生FXa,可先于组织因子通路抑制剂(TFPI)的抑制作用直接激活凝血因子Ⅷ和Ⅸ。FⅤa的生成需FXa从TF-FⅦa复合物中脱离,从而使游离FXa暴露在TF的抑制调控下。结合的TF/FⅦa/Ca<sup>2+</sup>三级复合体将生成FIXa和FXa,而在生化调控中FXa处于整个凝血过程中的关键节点,因为它接收上游的内源性和外源性凝血信号又需指示下游的凝血过程。因此,其也成为当前抗凝药物研究的作用靶点。

Giesen等于1999年首次发现在循环的血液中也存在TF,即所谓的血源性TF。目前普遍认为TF至少存在三种不同的血液循环方式:(1)与白细胞和血小板相关的循环<sup>[4]</sup>;(2)与来自细胞的微泡颗粒相关的循环<sup>[5]</sup>;(3)作为可溶性蛋白,即选择性剪接体TF<sup>[6]</sup>。大多数循环相关的细胞一旦“激活”,就可能成为血源性TF产生的潜在来源。单核细胞是TF的主要来源之一,参与心肌梗死患者血栓形成以及其他血栓性疾病的发病。在细胞膜上暴露TF需中性粒细胞、血小板甚至T淋巴细胞的激活,这也可能是急性冠脉综合征患者中TF的重要来源<sup>[3]</sup>。研究也发现,人嗜酸性粒细胞可在细胞内颗粒中携带TF,并在血小板活化因子或粒细胞/巨噬细胞集落刺激因子的刺激下被转移到细胞表面,进而触发凝血反应和支持跨内皮细胞的细胞迁移,而在支架内血栓患者产生的血栓中也检测到嗜酸性粒细胞<sup>[7]</sup>。

血源性TF可能参与了血栓的生长和传播,其可能的机制为与FⅦ结合后的循环TF通过承载TF/FⅦa复合物,更能靠近血小板激活部位并增强凝血级联反应。这些发现具有重要的病理生理学意义,因为它们提示凝血级联反应不一定是由血管损伤或动脉粥样硬化斑块破裂所引起,目前未知的其他血管事件也可能参与到这一反应中,但研究也证明,为了避免任何不当的凝血途径的激活,大多数血源性TF是“加密”的,而“解密”是发挥其活性的必要条件。血源性TF最具病理生理学意义的循环方式是通过微泡循环。研究显示,与健康受试者或稳定型心绞痛患者相比,急性冠脉综合征患者血浆中循环微泡水平升高,而从动脉粥样硬化斑块中提取的微泡似乎不仅来源于通常参与斑块形成的细胞如巨噬细胞和平滑肌细胞,还可能来源于与动脉粥样硬化无关的其他血细胞,如红细胞等<sup>[8]</sup>。

## 2 TF在血栓与止血之外的作用

多年来,凝血级联瀑布一直被认为是TF的主要生理作用。在过去的几十年里,有研究明确指出该糖蛋白除了参与凝血外,还发挥着其他功能,因为TF-FⅦa复合物还能激活许多不同的细胞内通路。

### 2.1 作为细胞胞浆介质

越来越多的证据表明,TF/FⅦa信号通路可能通过不同的细胞内介质起作用。1995年研究报道首次提出TF是“真正的膜受体”,TF与FⅦa间的交互作用可触发细胞内钙调细胞因子,进而刺激人脐静脉内皮细胞、猴肾成纤维细胞、人类膀胱恶性肿瘤细胞系J82和狗肾细胞等<sup>[9]</sup>,通过与FⅦa结合,TF可能会影响成纤维细胞的基因表达<sup>[10]</sup>。在成纤维细胞中,TF/FⅦa复合物可激活磷脂酶C并增强其趋化性。在人类乳腺癌细胞中,复杂的TF/FⅦa可促进p44/42丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)和Akt/蛋白激酶B的磷酸化,并激活哺乳动物雷帕霉素药物靶蛋白(mTOR)通路和促使Akt和mTOR等的磷酸化<sup>[11]</sup>。

### 2.2 与蛋白酶活化受体的作用

复合物TF/FⅦa、TF/FⅦa/FXa、凝血酶和活化蛋白C具有蛋白酶活性,可裂解蛋白酶活化受体(protein activated receptors, PARs)的胞外结构域,最终诱导G蛋白与β-arrestin偶联信号通路<sup>[12]</sup>。PARs家族包括四个成员:PAR-1、PAR-2、PAR-3和PAR-4。PAR-1、PAR-3和PAR-4的激活主要通过凝血酶,PAR-1也可被FXa、活化蛋白C和基质金属蛋白酶-1和13激活。PAR-2可能被凝血途径中的蛋白酶所激活,如FⅦa、FXa以及TF/FⅦa/FXa复合物,并且PAR-2在调节TF信号通路中起关键作用,在体内和体外均可影响胞质域的磷酸化丝氨酸残基水平<sup>[13]</sup>。TF/FⅦa-PAR2信号在生理和病理情况中的作用取决于细胞类型。TF细胞质缺失的动物中缺氧驱动的血管生成增加,而PAR-2缺失或TF-FⅦa抑制剂的应用则可逆转这一现象。此外,TF细胞质结构域和PAR-2信号通路似乎在乳腺癌和肝癌中协同调控血管生成和肿瘤生长<sup>[14]</sup>。肠道内TF胞质域参与TF转运和表面定位,并与PAR-1信号通路协同适应性血管的生成。在脂肪细胞中,TF参与了胰岛素抑制Akt磷酸化的过程,该过程与肥胖小鼠体重增加负调节因子的表达受损有关,而在肥胖小鼠中阻断TF/FⅦa的相互作用则可改善整体代谢,阻止脂肪组织炎症和胰岛素抵抗的发生,这可能是2型糖尿病和代谢综合征发生的原因之一<sup>[15]</sup>。在肝脏中,TF/FⅦa-PAR2信号通路与肝脏脂肪生成和糖异生有关,从而导致脂肪变性和肝脏胰岛素抵抗<sup>[16]</sup>。总而言之,通过PAR-2传递的TF-FⅦa复杂信号涉及多种细胞调节机制,包括癌细胞迁移、侵袭、增殖、逃避

凋亡、新生血管生成以及机体代谢等方面。

### 2.3 在动脉粥样硬化中的作用

急性心血管事件的主要原因是动脉粥样硬化引发的急性冠状动脉血栓栓塞事件<sup>[17]</sup>。TF在血栓形成中的作用已被证实,虽有研究表明TF在健康人的血管壁和动脉粥样硬化患者组织中表达,但这种糖蛋白是否在动脉粥样硬化斑块的发展进程中发挥作用仍在研究中。平滑肌细胞的增殖和迁移是动脉粥样硬化斑块生长和稳定的关键。人重组FVIIa结合TF后可通过激活p44/42并将其转运至细胞核,进而诱导细胞增殖<sup>[18]</sup>。此外,TF/FVII结合后可激活Wnt/ $\beta$ -catenin通路,Rho GTPase作为关键介质导致细胞迁移,如血管壁内皮细胞等。斑块内新生血管可能在不稳定斑块中起关键作用<sup>[19]</sup>,血管的形成能为不断增长的斑块提供充足的氧气,并且血管内皮生长因子、低氧诱导因子-1 $\alpha$ 和早期生长反应因子-1等化学介质也参与其中,TF触发这些化学介质的细胞内通路作用也已得到证明。动脉粥样硬化也被认为是一种炎症性疾病,TF/FVII复合物通过PAR-2通路,激活某些炎症信号通路,进而导致炎症细胞因子如白介素-6和其他趋化因子的分泌,最终强化致动脉粥样硬化过程<sup>[20]</sup>。因此,TF似乎在动脉粥样硬化过程的启动和扩散中也起着至关重要的作用。TF对动脉粥样硬化疾病的发生和发展有一定作用,其作为受体能触发某些信号通路,通过调节细胞增殖、迁移、炎症和新生血管生成等方式导致斑块的生长及不稳定性增加。

### 2.4 其他作用

MAPK、PI3K-Akt、JAK-STAT和mTOR等通路也与TF相联系,并参与到多种细胞内功能的调节机制中。TF胞质结构域与PI3K调控亚基的相互作用对于细胞黏附受体的信号转导非常重要,尤其是整合素 $\beta$ 3和 $\beta$ 1家族<sup>[21]</sup>。研究表明,阻断TF-整合素的相互作用一方面对凝血级联瀑布的影响很小,另一方面对TF/FVIIa信号转导和肿瘤的生长具有抑制作用。TF-整合素信号及其在血管生成和迁移中的意义得到研究证实。TF/FVIIa复合物还可诱导胰岛素生长因子受体的转录激活,从而导致肿瘤坏死因子相关的凋亡诱导配体抑制,进而阻止癌细胞的凋亡,其还能诱导受体酪氨酸激酶亚家族Eph的配体B2和A2的分裂,从而增加细胞迁移<sup>[22]</sup>。TF/FVIIa复合物新近被发现与跨膜丝氨酸蛋白裂解酶的激活有关,而跨膜丝氨酸蛋白裂解酶是上皮屏障组织发育和稳态的关键酶,裂解酶的反式激活可能连接凝血级联与上皮防御和修复程序,并有助于肿瘤和炎症的外源性通路激活介导的致病效应<sup>[23]</sup>。TF在炎症中的作用,至少部分是由内皮细胞介导,主要是通过细胞内信号而不是凝血激活。最近的研究表明,TF在内皮细胞中由对氧磷酶2

(PON2)调控,PON2是一种具有抗动脉粥样硬化特性的细胞相关抗氧化蛋白。在PON2缺乏的实验模型中,通过白介素-6和C-C基序趋化因子22的表达,可观察到内皮细胞转录后上调TF活性并形成促炎症状态,因而可将PON2抗氧化功能的丧失与血管炎症和功能障碍联系起来<sup>[24]</sup>。

### 3 临床治疗中的应用

TF/FVIIa复合物除了参与凝血反应外,还可作为多种细胞的表面受体,这一发现为心血管疾病的治疗开辟了新的领域,为临床实践提供了某些潜在的治疗方式。然而,单独调节TF的凝血反应和细胞受体间的功能非常复杂。TF的主要生理作用是止血,而其病理作用主要是导致动脉粥样硬化等疾病的进展。因此,当前开发TF相关治疗的最大局限在于如何使两者之间达到良好的平衡。

目前平衡风险和获益的潜在治疗方法为选择性地调节TF/FVIIa通路,包括PAR信号通路和/或凝血级联过程中产生的蛋白酶。在抗血栓形成、抗血管生成作用、抗炎作用和抗纤维化潜力方面,不同的TF干预措施在临床前研究中取得了满意的疗效。TF/FVIIa复合物的唯一生理性抑制剂TFPI是由内皮细胞合成并释放,与TF/FVIIa/FXa复合物结合,抑制以凝血酶激活和血栓形成为终点的下游通路。多项研究发现,重组人TFPI具有抗炎、抑制细胞迁移和抗动脉粥样硬化进展的作用<sup>[25]</sup>。FVIIa活性位点抑制剂是另一种可能的治疗性抑制剂,其能抑制TF-FVIIa依赖的凝血级联起始阶段和内源性FVIIa竞争结合TF,从而限制了功能性TF-FVIIa复合物的形成。其他小分子抑制剂如蔡胺,有试验已证明其在抑制血栓形成和减少出血方面有效<sup>[26]</sup>。这些药物由于除了抑制FVIIa活性外,对其他凝血蛋白酶也有非特异性抑制作用,因而其应用也受到一定限制。抗TF抗体也曾被作为抗血栓药物而进行相关研究,其通过干扰TF与FVIIa间的相互作用或与底物对接而起作用。随着认识的深入和技术的进步,针对转录后TF基因的特定修饰如选择性剪接,可能成为新的潜在治疗方式。非编码microRNA在调节生物功能中的潜在作用,开辟了治疗的一个新领域。有研究报道,microRNA-19b可下调TF mRNA而发挥潜在的抗血栓特性<sup>[27]</sup>。

尽管大多数药物是针对抗凝血特性而设计的,但除了凝血作用外,TF还参与许多不同的疾病病程并可能作为肿瘤治疗的新药,如抗TF抗体和线虫抗凝肽可能通过干扰信号通路来减少肿瘤的生长和转移。第一代TF靶向抗体免疫偶联物(称为ICON或ICON-1)已被研究用于治疗癌症。ICON与表达TF的恶性肿瘤细胞结合后,其作用机制为自然介导的免疫杀伤和补体依赖的细

胞毒性作用<sup>[28]</sup>。然而,由于ICON的促凝活性并未完全消除,称作L-ICON1的第二代ICON被研发出来,它由FVII轻链融合到IgG1的Fc片段上形成<sup>[29]</sup>。新一代TF靶向制剂目前正处于临床前研究的评估中,并有可能转化到临床实践中。

#### 4 结论

综上所述,TF不应仅被认为是引发外源性凝血途径的因素,还可作为多种细胞表面受体参与到某些细胞信号的传导机制。研究证明,这种糖蛋白可能更广泛地参与到心血管疾病发生的病理生理学机制中,如细胞的有丝分裂、迁移和凋亡等,而不仅局限在凝血方面。随着研究的深入,关于TF的概念也在不断更新。科研工作者们做了许多努力来更全面清晰地理解这一分子在多种疾病中的作用,新的临床治疗方式也相继出现。相信在未来,随着研究的不断发展,将为人们带来更多的临床获益。

#### 参 考 文 献

- [1] Cimmino G, Ciccarelli G, Golino P. Role of tissue factor in the coagulation network[J]. *Semin Thromb Hemost*, 2015, 41(7):708-717.
- [2] Toschi V, Gallo R, Lettino M, et al. Tissue factor modulates the thrombogenicity of human atherosclerotic plaques[J]. *Circulation*, 1997, 95(3):594-599.
- [3] Cimmino G, Cirillo P. Tissue factor: newer concepts in thrombosis and its role beyond thrombosis and hemostasis[J]. *Cardiovasc Diagn Ther*, 2018, 8(5):581-593.
- [4] Brambilla M, Camera M, Colnago D, et al. Tissue factor in patients with acute coronary syndromes: expression in platelets, leukocytes, and platelet-leukocyte aggregates[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2008, 28(5):947-953.
- [5] Lechner D, Weltermann A. Circulating tissue factor-exposing microparticles[J]. *Thromb Res*, 2008, 122(suppl 1):S47-S54.
- [6] Bogdanov VY, Balasubramanian V, Hathecock J, et al. Alternatively spliced human tissue factor: a circulating, soluble, thrombogenic protein[J]. *Nat Med*, 2003, 9(4):458-462.
- [7] Riegger J, Byrne RA, Joner M, et al. Histopathological evaluation of thrombus in patients presenting with stent thrombosis. A multicenter European study: a report of the prevention of late stent thrombosis by an interdisciplinary global European effort consortium[J]. *Eur Heart J*, 2016, 37(19):1538-1549.
- [8] Leroyer AS, Isobe H, Lesèche G, et al. Cellular origins and thrombogenic activity of microparticles isolated from human atherosclerotic plaques[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2007, 49(7):772-777.
- [9] Röttingen JA, Enden T, Camerer E, et al. Binding of human factor VIIa to tissue factor induces cytosolic Ca<sup>2+</sup> signals in J82 cells, transfected COS-1 cells, madin-darby canine kidney cells and in human endothelial cells induced to synthesize tissue factor[J]. *J Biol Chem*, 1995, 270(9):4650-4660.
- [10] Pendurthi UR, Alok D, Rao LVM. Binding of factor VIIa to tissue factor induces alterations in gene expression in human fibroblast cells: up-regulation of poly(A) polymerase[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1997, 94(23):12598-12603.
- [11] Jiang X, Zhu S, Panetti TS, et al. Formation of tissue factor-factor VIIa-factor Xa complex induces activation of the mTOR pathway which regulates migration of human breast cancer cells[J]. *Thromb Haemost*, 2008, 100(1):127-133.
- [12] Hamilton JR, Trejo J. Challenges and opportunities in protease-activated receptor drug development[J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2017, 57:349-373.
- [13] Rydén L, Grabau D, Schaffner F, et al. Evidence for tissue factor phosphorylation and its correlation with protease-activated receptor expression and the prognosis of primary breast cancer[J]. *Int J Cancer*, 2010, 126(10):2330-2340.
- [14] Chen KD, Wang CC, Tsai MC, et al. Interconnections between autophagy and the coagulation cascade in hepatocellular carcinoma[J]. *Cell Death Dis*, 2014, 5(5):e1244.
- [15] Badeanlou L, Furlan-Freguia C, Yang G, et al. Tissue factor-protease-activated receptor 2 signaling promotes diet-induced obesity and adipose inflammation[J]. *Nat Med*, 2011, 17(11):1490-1497.
- [16] Wang J, Chakrabarty S, Bui Q, et al. Hematopoietic tissue factor-protease-activated receptor 2 signaling promotes hepatic inflammation and contributes to pathways of gluconeogenesis and steatosis in obese mice[J]. *Am J Pathol*, 2015, 185(2):524-535.
- [17] 雷灵亮, 贝俊杰. 动脉粥样硬化斑块内血管生成的研究进展及治疗策略[J]. *心血管病学进展*, 2019, 40(3):478-482.
- [18] Cirillo P, Cali G, Golino P, et al. Tissue factor binding of activated factor VII triggers smooth muscle cell proliferation via extracellular signal-regulated kinase activation[J]. *Circulation*, 2004, 109(23):2911-2916.
- [19] Camaré C, Pucelle M, Nègre-Salvayre A, et al. Angiogenesis in the atherosclerotic plaque[J]. *Redox Biol*, 2017, 12:18-34.
- [20] Demetz G, Seitz I, Stein A, et al. Tissue factor-factor VIIa complex induces cytokine expression in coronary artery smooth muscle cells[J]. *Atherosclerosis*, 2010, 212(2):466-471.
- [21] Rothmeier AS, Liu E, Chakrabarty S, et al. Identification of the integrin-binding site on coagulation factor VIIa required for proangiogenic PAR2 signaling[J]. *Blood*, 2018, 131(6):674-685.
- [22] Eriksson O, Ramström M, Hörnæus K, et al. The Eph tyrosine kinase receptors EphB2 and EphA2 are novel proteolytic substrates of tissue factor/coagulation factor VIIa[J]. *J Biol Chem*, 2014, 289(47):32379-32391.
- [23] le Gall SM, Szabo R, Lee M, et al. Matriptase activation connects tissue factor-dependent coagulation initiation to epithelial proteolysis and signaling[J]. *Blood*, 2016, 127(25):3260-3269.
- [24] Ebert J, Wilgenbus P, Teiber JF, et al. Paraoxonase-2 regulates coagulation activation through endothelial tissue factor[J]. *Blood*, 2018, 131(19):2161-2172.
- [25] van den Boogaard FE, Brands X, Schultz MJ, et al. Recombinant human tissue factor pathway inhibitor exerts anticoagulant, anti-inflammatory and antimicrobial effects in murine pneumococcal pneumonia[J]. *J Thromb Haemost*, 2011, 9(1):122-132.
- [26] Suleymanov OD, Szalony JA, Salyers AK, et al. Pharmacological interruption of acute thrombus formation with minimal hemorrhagic complications by a small molecule tissue factor/factor VIIa inhibitor: comparison to factor Xa and thrombin inhibition in a nonhuman primate thrombosis model[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2003, 306(3):1115-1121.
- [27] Li S, Ren J, Xu N, et al. MicroRNA-19b functions as potential anti-thrombotic protector in patients with unstable angina by targeting tissue factor[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2014, 75:49-57.
- [28] Hu Z, Li J. Natural killer cells are crucial for the efficacy of Icon(factor VII/human IgG1 Fc) immunotherapy in human tongue cancer[J]. *BMC Immunol*, 2010, 11:49.
- [29] Chudasama V, Maruani A, Caddick S. Recent advances in the construction of antibody-drug conjugates[J]. *Nat Chem*, 2016, 8(2):114-119.

收稿日期: 2020-03-15