

生长停滞特异性蛋白 6 对脓毒症小鼠凝血功能的影响

陈隆望 赵光举 连洁 洪广亮 支绍册 李萌芳 卢中秋 邱俏檬

【摘要】目的 探讨生长停滞特异性蛋白 6 (growth arrest-specific protein 6, Gas6) 对脓毒症小鼠凝血功能的影响。**方法** 建立盲肠结扎穿孔 (cecal ligation and puncture, CLP) 诱导的脓毒症小鼠模型。将 120 只雄性清洁级 BALB/c 小鼠随机 (随机数字法) 分为假手术组、CLP 脓毒症组、CLP 脓毒症 + 生理盐水组、CLP 脓毒症 + Gas6 (1 μ g) 组、CLP 脓毒症 + Gas6 (3 μ g) 组和 CLP 脓毒症 + Gas6 (6 μ g) 组, 每组 20 只。经过不同处理后检测 24 h 凝血酶原时间 (PT)、凝血酶时间 (TT)、活化部分凝血活酶时间 (APTT)、纤维蛋白原 (Fbg)、D-二聚体 (DD) 和血小板 (PLT) 计数, 采用 ELISA 检测血浆组织因子 (TF) 浓度、P 选择素和细胞间黏附分子 (ICAM-1) 的变化。数据采用 SPSS 18.0 统计软件, 两组样本比较采用独立样本 *t* 检验, 多组间比较采用单因素方差分析和 Bonferroni 检验。**结果** 与假手术组比较, CLP 脓毒症组血浆 PT、TT、APTT、DD、TF、P 选择素和 ICAM-1 延长或增高, Fbg 和 PLT 降低 ($P=0.000$)。尾静脉注射 rmGas6 (1、3、6 μ g) 后脓毒症小鼠血浆 PT ($P=0.000$)、TT ($P=0.000$)、APTT ($P=0.000$)、Fbg ($P=0.000$)、DD ($P=0.0002$)、PLT ($P=0.000$)、IF ($P=0.0002$)、P 选择素 ($P=0.001$) 和 ICAM-1 ($P=0.0004$) 延长或增高。**结论** Gas6 可能通过活化血管内皮细胞、上调脓毒症小鼠 IF 水平进一步激活凝血系统, 加剧凝血功能障碍。

【关键词】 生长停滞特异基因 6; 脓毒症; 凝血功能; 内皮细胞; 血小板; 组织因子; P 选择素; 细胞间黏附分子

Effects of growth arrest-specific protein 6 on blood coagulation in septic mice Chen Longwang, Zhao Guangju, Lian Jie, Hong Guangliang, Zhi Shaoce, Li Mengfang, Lu Zhongqiu, Qiu Qiaomeng. Emergency Department, The First Affiliated Hospital of Wenzhou Medical University, Wenzhou 325000, China

Corresponding author: Qiu Qiaomeng, Email: qqm@wzhospital.cn

【Abstract】Objective To investigate the effects of growth arrest-specific protein 6 on blood coagulation in septic mice. **Methods** Septic mice model was induced by cecal ligation and puncture (CLP). One hundred and twenty male BALB/c mice of clean grade were randomly (random number) divided into six groups: sham operation group ($n=20$), CLP group ($n=20$), CLP + vehicle group ($n=20$), CLP + Gas6 (Growth Arrest-Specific Protein 6) (1 μ g) group ($n=20$), CLP + Gas6 (3 μ g) group ($n=20$) and CLP + Gas6 (6 μ g) group ($n=20$). All the survived mice were sacrificed after 24 h of operation. Plasma prothrombin time (PT), thrombin time (TT), active partial thrombo-plastin time (APTT), fibrinogen (Fbg), d-dimer (DD) and Platelets (PLT) count was measured. Plasma tissue factor (TF), P-selectin, Intercellular Adhesion Molecule 1 (ICAM-1) was measured by ELISA method. Statistical analyses were performed using one-way analysis of variance (SPSS18.0, Chicago, USA) test

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2015.12.012

基金项目: 国家自然科学基金 (81401621); 浙江省自然科学基金 (LY13H150004); 浙江省中医药优秀青年人才基金 (2013ZQ023); 浙江省医学创新学科建设计划 (11-CX26); 浙江省中医药重点学科计划 (2012-XK-A28); 浙江省“十二五”重点学科建设项目 (2012-207)

作者单位: 325000 浙江省温州, 温州医科大学附属第一医院急诊医学中心

通信作者: 邱俏檬, Email: qqm@wzhospital.cn

followed by Bonferroni test to compare three or more groups or by Student's *t*-test to compare two groups.

Results Plasma PT, TT, APTT, DD, TF, P-selectin and ICAM-1 in CLP group was longer or higher than that in sham group ($P=0.000$), while Fbg and PLT in CLP + vehicle group were lower than that in sham group ($P=0.000$). Treatment with rmGas6 significantly increase plasma PT, TT, APTT, Fbg, DD, PLT, TF, P-selectin and ICAM-1 in septic mice ($P < 0.01$). **Conclusions** Gas6 can activate coagulation system and aggravate coagulation dysfunction in septic mice, which may partially through activate endothelial cells and up-regulate TF levels.

【Key words】 Growth arrest-specific protein 6; Sepsis; Blood coagulation; Endothelial Cells; Blood Platelets; Tissue factor; P-selectin; Intercellular Adhesion Molecule 1

脓毒症 (sepsis) 是感染因素所致的全身炎症反应综合征, 进一步发展可导致脓毒性休克、多器官功能障碍综合征 (multiple organ dysfunction syndrome, MODS)。脓毒症的发病机制极为复杂。研究发现, 脓毒症主要是由凝血活化、炎症反应及纤溶抑制相互作用形成的级联反应过程, 其中凝血活化是脓毒症发病的重要环节^[1]。脓毒症时炎症反应可激活凝血系统; 同时, 生理性抗凝机制的抑制和下调纤维蛋白溶解, 使血液处于高凝状态, 微血栓形成造成微血管栓塞、弥散性血管内凝血 (disseminated intravascular coagulation, DIC), 进一步发展可诱发严重脓毒症及脓毒性休克^[2]。Gas6 (growth arrest-specific protein 6) 是血浆中依赖维生素 K 蛋白家族中最后发现的一个成员, 是 Gas6 基因编码产物。许多研究表明, Gas6 具有后促进细胞增殖、对抗细胞凋亡、刺激细胞吞噬等作用^[3-5]。近来大量文献报道 Gas6 对血小板活化及血栓稳定性具有重要作用^[6-7]。然而 Gas6 在脓毒症凝血功能异常中的作用尚不清楚。本实验通过建立小鼠 CLP 脓毒症模型, 通过不同剂量的重组小鼠 Gas6 干预, 24 h 后检测小鼠凝血酶原时间 (PT)、凝血酶时间 (TT)、活化部分凝血活酶时间 (APTT)、纤维蛋白原 (Fbg)、D-二聚体 (DD) 和血小板 (PLT) 计数, 采用 ELISA 检测血浆组织因子 (TF) 浓度、P 选择素和细胞间黏附分子-1 (ICAM-1) 的变化, 初步探讨 Gas6 蛋白对脓毒症小鼠凝血功能的影响。

1 材料与方法

1.1 主要试剂

Recombinant Mouse Gas6 (R&D 公司, 明尼阿波利斯, 美国), 小鼠 TF ELISA Kit (R&D 公司, 明尼阿波利斯, 美国), 小鼠 P 选择素 (P-Selectin) ELISAKit (岚派生物科技有限公司, 上

海, 中国), 小鼠细胞间黏附分子-1 (ICAM-1) ELISAKit (岚派生物科技有限公司, 上海, 中国)。

1.2 动物模型制备

小鼠脓毒症模型采用目前公认的与临床相关性较强的 CLP (cecal ligation and puncture) 脓毒症模型。清洁级小鼠禁食 1 d, 自由饮水, 腹腔注射 2% 戊巴比妥钠麻醉后采用正中切口 2 ~ 3 cm, 3-0 丝线在血管弓结扎末端 20% 盲肠, 20 号针头穿透结扎线远端盲肠的两侧肠壁, 使肠内容物少量自穿刺孔溢出, 将盲肠还纳回腹腔, 用 1-0 丝线逐层缝合关腹, 术毕立即皮下注射 1 mL 生理盐水液体复苏。假手术组只开腹、牵引盲肠、复位、关腹、复苏, 但盲肠既不结扎, 也不穿孔。

1.3 动物分组与给药

健康雄性清洁级 BALB/c 小鼠 60 只, 体质量 20 ~ 25 g, 由上海斯莱克实验动物有限责任公司提供, 生产许可证号: SCXK (沪) 2012-0002。小鼠饲养及动物实验在温州医科大学实验动物中心进行, 使用许可证号: SYXK (浙) 2010.0150。将 120 只 BALB/c 小鼠随机分为假手术组、CLP 脓毒症组、CLP 脓毒症 + 生理盐水组、CLP 脓毒症 + Gas6 (1 μg) 组、CLP 脓毒症 + Gas6 (3 μg) 组和 CLP 脓毒症 + Gas6 (6 μg) 组, 每组 20 只。CLP 脓毒症 + 生理盐水组在造模后尾静脉注射 100 μL 生理盐水, CLP 脓毒症 + Gas6 (1、3、6 μg) 组则是在造模后分别在尾静脉注入用生理盐水稀释不同剂量的 rmGas6 成 100 μL 的 Gas6 溶液。

1.4 标本采集及检测

小鼠经过不同处理后于 24 h 后分别用眼眶静脉丛采血器行眼眶后静脉窦采血, 采集完后置于含有 0.109 mol/L 枸橼酸钠抗凝液的 EP 管中, 轻轻颠倒混匀, 3 000 r/min 离心 15 min, 收集上层液 (血浆, 黄色)。采用凝血四项分析仪 (STA Compact CT) 检测小鼠凝血酶原时间 (PT)、凝

血酶时间 (TT)、活化部分凝血活酶时间 (APTT)、纤维蛋白原 (Fbg), 血常规分析仪行血小板 (PLT) 计数。采用酶联免疫荧光定量法测定 D-二聚体 (DD)。按照 ELISA 试剂盒说明书操作检测小鼠血标本组织因子 (TF) 浓度、P 选择素和细胞间黏附分子-1 (ICAM-1)。

1.5 统计学方法

统计学方法采用 SPSS 18.0 统计软件, 计量资料用均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 假手术组和 CLP 模型组比较用独立样本 *t* 检验, Gas6 干预组和生理盐水组比较采用单因素方差分析和 Bonferroni 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 rmGas6 蛋白对脓毒症小鼠凝血功能的影响

造模后 1 d 脓毒症小鼠凝血功能变化, 见表 1。与假手术组相比较, CLP 组 PT (19.4 ± 0.3)、TT

(19.1 ± 0.4)、APTT (37.1 ± 1.1) 均延长, DD (2.1 ± 0.3) 增加, Fbg (1.7 ± 0.3) 和 PLT (122.3 ± 4.2) 减少 ($P < 0.01$)。不同剂量 Gas6 对脓毒症小鼠凝血四项及血小板的影响, 见表 2。与 CLP + 生理盐水组比较, Gas6 蛋白干预组 PT、TT、APTT 均延长, DD 增高, Fbg 和 PLT 增高 ($P < 0.01$)。与 Gas6 1 μg 组比较, Gas6 3 μg 组 PT、APTT 延长 ($P < 0.01$), 而 TT ($P = 0.0749$)、Fbg ($P = 0.99$)、PLT ($P = 0.99$)、DD ($P = 0.3265$) 差异无统计学意义。与 Gas6 3 μg 组比较, Gas6 6 μg 组 PT、TT、PLT 升高或延长 ($P < 0.01$), APTT 减小 ($P = 0.001$), 而 Fbg 和 DD 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。与 Gas6 1 μg 组相比, Gas6 6 μg 组 APTT ($P = 0.097$)、PT ($P = 0.0001$)、TT ($P = 0.029$)、PLT ($P = 0.000$) 增高和延长, 而 DD ($P = 0.99$)、Fbg ($P = 0.279$) 差异无统计学意义。

表 1 脓毒症小鼠凝血功能的变化 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

Table 1 The change of coagulative function in septic mice ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

组别	PT (s)	TT (s)	APTT (s)	Fbg (g/L)	PLT ($\times 10^9 L^{-1}$)	DD (mg/L)
假手术组	11.3 ± 0.5	14.2 ± 0.2	25.1 ± 0.7	3.1 ± 0.2	190.3 ± 5.9	0.7 ± 0.2
CLP 组	19.4 ± 0.3 ^a	19.1 ± 0.4 ^a	37.1 ± 1.1 ^a	1.7 ± 0.3 ^a	122.3 ± 4.2 ^a	2.1 ± 0.3 ^a
<i>t</i> 值	-43.933	-30.006	25.202	10.634	25.714	-10.634
<i>P</i> 值	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

注: 与假手术组比较, ^a $P < 0.01$

表 2 rmGas6 蛋白对脓毒症小鼠凝血功能的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

Table 2 Effects of rmGas6 protein on coagulative function in septic mice ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

组别	PT (s)	TT (s)	APTT (s)	Fbg (g/L)	PLT ($\times 10^9 L^{-1}$)	DD (mg/L)
CLP + 生理盐水组	20.2 ± 0.4	20.2 ± 0.3	35.1 ± 0.7	2.1 ± 0.4	132.2 ± 4.4	2.1 ± 0.2
CLP + Gas6 1 μg	27.2 ± 0.2 ^a	26.1 ± 0.6 ^a	41.7 ± 0.6 ^a	2.6 ± 0.3 ^a	141.2 ± 2.1 ^a	2.6 ± 0.1 ^a
CLP + Gas6 3 μg	32.1 ± 0.2 ^a	25.1 ± 1.2 ^a	45.1 ± 1.2 ^a	2.8 ± 0.2 ^a	142.6 ± 4.5 ^a	2.9 ± 0.3 ^a
CLP + Gas6 6 μg	34.1 ± 0.5 ^a	27.5 ± 0.6 ^a	43.2 ± 0.5 ^a	2.9 ± 0.1 ^a	156.3 ± 3.3 ^a	2.8 ± 0.4 ^a
<i>F</i> 值	495.9	134.3	223.0	12.67	54.07	10.75
<i>P</i> 值	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0002

注: 与 CLP + 生理盐水组相比, ^a $P < 0.01$

2.2 rmGas6 蛋白对脓毒症小鼠血浆组织因子 (TF) 的影响

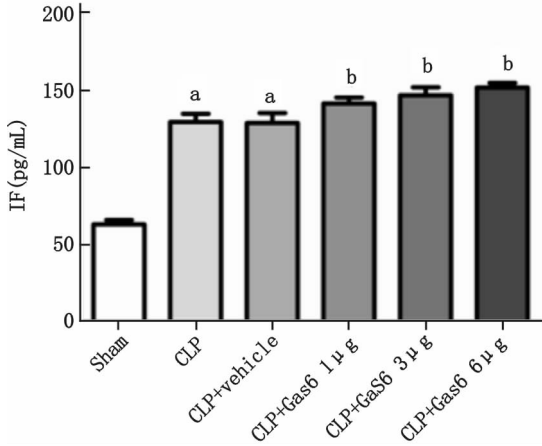
ELISA 检测各组小鼠血浆组织因子 (TF) 浓度见图 1, 与假手术组相比较, CLP 脓毒症组 IF 浓度升高明显 ($t = -17.37$, $P = 0.000$)。与 CLP + 生理盐水组比较, Gas6 干预组组织因子上升明显 ($F = 10.82$, $P = 0.0002$)。与 Gas6 1 μg 组相比, Gas6 3 μg 组 TF 值差异无统计学意义 ($P = 0.99$), 与 Gas6 3 μg 组相比, Gas6 6 μg 组 TF 值差异无统

计学意义 ($P = 0.99$), 与 Gas6 1 μg 组相比, Gas6 6 μg 组 TF 值差异无统计学意义 ($P = 0.148$)。

2.3 rmGas6 蛋白对脓毒症小鼠 P 选择素 (P-selectin) 的影响

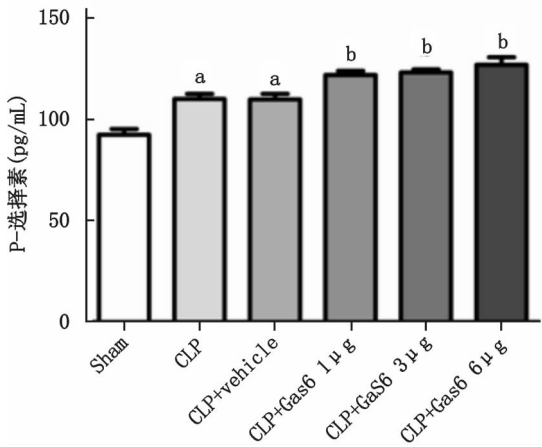
ELISA 检测各组小鼠血浆 P 选择素 (P-selectin) 见图 2, 与假手术组相比较, CLP 组 P 选择素升高明显 ($t = -4.683$, $P = 0.001$)。与 CLP + 生理盐水组比较, Gas6 干预组 P 选择素上升明显 ($F = 8.173$, $P = 0.001$)。与 Gas6 1 μg 组相比,

Gas6 3 μg 组 P 选择素值差异无统计学意义 ($P = 0.99$), 与 Gas6 3 μg 组相比, Gas6 6 μg 组 P 选择素值差异无统计学意义 ($P = 0.99$), 与 Gas6 1 μg 组相比, Gas6 6 μg 组 P 选择素值差异无统计学意义 ($P = 0.99$)。



与 sham (假手术组) 比较, $^aP < 0.01$; 与 CLP + 生理盐水 (vehicle) 组比较, $^bP < 0.01$

图 1 rmGas6 蛋白对脓毒症小鼠血浆组织因子 (TF) 的影响
Fig 1 Effects of rmGas6 protein on TF in septic mice



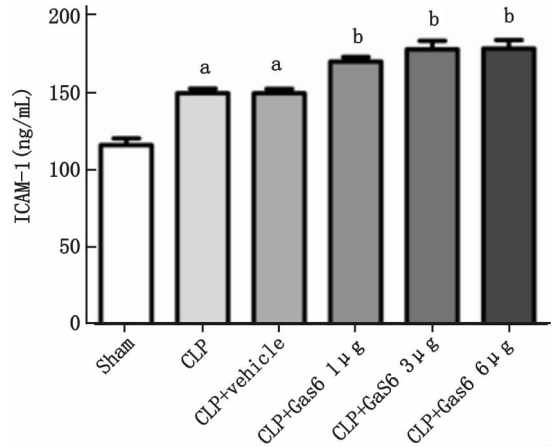
与 sham (假手术组) 比较, $^aP < 0.01$; 与 CLP + 生理盐水 (vehicle) 组比较, $^bP < 0.05$

图 2 rmGas6 蛋白对脓毒症小鼠血浆 P 选择素 (P-selectin) 的影响
Fig 2 Effects of rmGas6 protein on P-selectin in septic mice

2.4 rmGas6 蛋白对脓毒症小鼠细胞间黏附分子-1 (ICAM-1) 的影响

ELISA 检测各组小鼠血清细胞间黏附分子-1 (ICAM-1) 见图 3, 与假手术组相比较, CLP 组 ICAM-1 升高明显 ($t = -6.33, P = 0.000$)。与 CLP + 生理盐水组比较, Gas6 干预组 ICAM-1 上升明显 ($F = 9.384, P = 0.0004$)。与 Gas6 1 μg 组相

比, Gas6 3 μg 组 ICAM-1 值差异无统计学意义 ($P = 0.99$), 与 Gas6 3 μg 组相比, Gas6 6 μg 组 ICAM-1 值差异无统计学意义 ($P = 0.99$), 与 Gas6 1 μg 组相比, Gas6 6 μg 组 ICAM-1 值差异无统计学意义 ($P = 0.99$)。



与 sham (假手术组) 比较, $^aP < 0.01$; 与 CLP + 生理盐水 (vehicle) 组比较, $^bP < 0.01$

图 3 rmGas6 蛋白对脓毒症小鼠血浆细胞间黏附分子-1 (ICAM-1) 的影响
Fig 3 Effects of rmGas6 protein on ICAM-1 in septic mice

3 讨论

凝血系统功能正常是机体凝血与抗凝血平衡的基础。凝血系统被激活后可产生高浓度凝血酶, 这是维持凝血的关键, 但产生的凝血酶也同时激活了抗凝系统和纤溶系统, 以维持新的凝血与抗凝平衡。凝血功能障碍在脓毒症中经常发生^[8]。在严重脓毒症中, 机体凝血纤溶系统的异常可导致弥漫性血管内凝血 (DIC)、微血管内血栓形成、灌注不足, 最终引起多器官功能衰竭 (MODS) 和死亡^[9]。研究表明, 脓症患者病死率约 18% ~ 30%, 脓毒症并发 DIC 患者病死率上升到 35%^[10]。凝血功能异常贯穿了整个脓毒症病程, 脓毒症早期促发凝血亢进和 DIC 发生, 随后出现凝血因子消耗和纤溶的激活^[11]。凝血系统在脓毒症的发病过程中起着重要作用, 它与炎症反应相互促进、共同构成脓毒症发生、发展中的关键因素^[12]。内毒素和 TNF 通过诱发巨噬细胞和内皮细胞释放组织因子, 可激活外源性凝血途径, 被内毒素激活的凝血因子 X II 也可进一步激活内源性凝血途径, 最终导致弥漫性血管内凝血 (DIC)。

本实验采用盲肠结扎穿孔 (CLP) 的方法制备

脓毒症模型,这是目前公认的与临床相关性较强的脓毒症模型^[13]。造模后,在内毒素或内毒素样物质的作用下,机体中性粒细胞、单核巨噬细胞、血管内皮发生复杂的免疫网络反应,释放出大量的内源性炎症介质,激活凝血系统,导致凝血功能紊乱。在脓毒症发展过程中,血小板(PLT)、凝血四项、DD与脓毒症病情严重程度显著相关^[14-15]。血小板(PLT)在脓毒症早期出现显著降低,并随着病情的进展发生改变。脓毒症并发弥散性血管内凝血可使PLT消耗,PLT的进行性降低是病情严重恶化、预后凶险的征兆^[16]。Gando^[17]等研究表明,脓毒症患者的凝血途径被激活,促使凝血酶和Fb形成;同时,激活的纤溶激酶,对交联Fb进行降解,使DD大量产生。本次研究结果显示,CLP脓毒症组小鼠24h APTT、PT、TT、DD显著延长或升高;而PLT、Fbg都有不同程度减少。由此可见CLP脓毒症小鼠凝血功能异常,凝血因子消耗,APTT、PT、TT的延长,PLT、Fbg降低;纤维蛋白形成增加的同时,纤溶激酶激活,对交联后的Fb进行降解,D-二聚体水平升高。显示脓毒症存在凝血亢进、血栓形成而参与DIC的过程。

脓毒症凝血异常以外源性途径异常为主,而组织因子(TF)是启动这一途径的关键凝血因子^[18]。血管外层的平滑肌细胞、成纤维细胞、周细胞、星形细胞、足状突细胞等不与血液直接接触的组织细胞,可恒定表达TF,一旦血管壁损伤,组织因子释放。IF可通过Ca²⁺形成TF-Ca²⁺-XII复合物,FVII则被激活为FVIIa,于是外源性凝血系统被激活,从而启动凝血系统。本实验结果显示,CLP造模后24h,血液中的TF浓度便显著升高,说明循环中各种效应细胞(中性粒细胞、巨噬细胞、VEC)在炎症因子或介质刺激下激活而产生大量的TF,从而激活了凝血系统。在脓毒症发病过程中,内皮细胞对凝血功能的调节具有重要作用^[19]。P-选择素和ICAM-1都与血管内皮活化有关,P-选择素主要介导粒细胞和单核细胞在内皮细胞表面的滚动、粒细胞和单核细胞与血小板的黏附,ICAM-1可介导单核细胞与内皮细胞的黏附促进炎症的发展。本实验结果CLP 24h后小鼠血浆P-选择素和ICAM-1都是升高的,表明血管内皮细胞活化,激活凝血系统加重凝血反应。

生长停滞特异基因6(growth arrest-specific gene6, Gas6)蛋白是由Gas6基因编码的,与蛋白

S 44%同源,它是依赖维生素K蛋白家族中的一员。Gas6蛋白在许多细胞中都有表达,如内皮细胞、血管平滑肌细胞、巨噬细胞、骨髓细胞^[20]。已有大量研究发现Gas6蛋白与Gas6受体TAM(Tyro3、Axl、Mer)相互作用,促进血小板的活化和稳定^[20-21]。Cosemans等^[21]研究发现人血浆Gas6蛋白与TAM相互作用,激活P13k,与ADP协同增强或延长Akt磷酸化,进一步活化aIIb β 3,促进血小板聚集和稳定。而干扰Gas6-TAM途径可减少血小板聚集、血块回缩、组织因子表达。Angelillo-Scherrer等^[22]研究发现动静脉血栓的小鼠Gas6表达升高,而Gas6敲除的小鼠体内动静脉血栓发生率低,证实了Gas6促进血小板聚集的作用。又有文献报道Gas6能够调节组织因子的表达,血管内皮Gas6敲除的小鼠组织因子表达降低,而重组Gas6蛋白能上调降低的TF水平^[23]。Gas6也可通过加强内皮细胞、血小板和白细胞的作用促进炎症反应^[24]。在本次试验中,rmGas6蛋白能延长或升高脓毒症小鼠血浆PT、TT、APTT、Fbg、DD、TF、PLT、P-selectin、ICAM-1水平。本研究表明rmGas6可能通过活化血管内皮细胞,上调脓毒症小鼠组织因子水平,启动外源性凝血途径,进一步激活凝血系统,凝血系统激活后相应的抗凝系统也激活导致凝血-抗凝血平衡失调。血小板在rmGas6输入后是升高的,有可能是脓毒症DIC消耗血小板减少,也可能是血小板本身数量增加,促凝作用增强。综合以上结果分析得出Gas6蛋白可能通过活化血管内皮细胞,上调脓毒症小鼠IF水平进一步启动凝血系统加剧DIC的发展。如果敲除或干扰血小板上的TAM受体,阻断Gas6-TAM相互作用,理论上将减轻脓毒症小鼠凝血功能障碍,为脓毒症凝血功能紊乱的治疗提供新的靶点。

近来Gas6在脓毒症中的研究也越来越多,Ekman等^[25]发现脓症患者血Gas6和sAxl显著升高,Gas6升高更明显。并且Gas6的值与脓毒症严重程度和病死率密切相关。Gas6与严重脓症患者多器官功能障碍密切相关,研究发现静脉注射Gas6蛋白后可降低脓毒症小鼠血清AST、ALT和LDH值,减少促炎因子IL-6、IL-17,降低脓毒症小鼠病死率,减轻肺组织病理损害^[26]。可见Gas6具有减轻脓毒症多器官功能障碍的作用,而本文研究结果显示Gas6加剧脓毒症凝血功能障碍,这就需要我们进一步探讨Gas6在脓毒症中的作用机制。

综上所述, Gas6 蛋白可能通过活化血管内皮细胞, 上调脓毒症小鼠 IF 水平进一步激活凝血系统, 加剧凝血功能障碍。然而 Gas6 对脓毒症凝血功能影响的确切机理有待进一步研究。

参 考 文 献

- [1] 姚咏明, 盛志勇. 脓毒症防治学 [M]. 北京: 科学技术文献出版社, 2008: 460-480.
- [2] 姚咏明, 柴家科, 林洪远. 现代脓毒症理论与实践 [M]. 北京: 科学出版社, 2005: 544-594.
- [3] van der Meer JHM, van der Poll T, vant Veer C. TAM receptors, Gas6, and protein S: roles in inflammation and hemostasis [J]. *Blood*, 2014, 123 (16): 2460-2469.
- [4] Lemke G. Biology of the TAM receptors [J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2013, 5 (11): a009076.
- [5] Shao WH, Zhen Y, Eisenberg RA, et al. The Mer receptor tyrosine kinase is expressed on discrete macrophage subpopulations and mainly uses Gas6 as its ligand for uptake of apoptotic cells [J]. *Clin Immunol*, 2009, 133 (1): 138-144.
- [6] Cosemans JMEM, van Kruchten R, Olieslagers S, et al. Potentiating role of Gas6 and Tyro3, Axl and Mer (TAM) receptors in human and murine platelet activation and thrombus stabilization [J]. *J Thromb Haemost*, 2010, 8 (8): 1797-808.
- [7] Laurance S, Lemarié CA, Blostein MD. Growth arrest-specific gene 6 (gas6) and vascular hemostasis [J]. *Adv Nutr*, 2012, 3 (2): 196-203.
- [8] 王武超, 曹宝平. 脓症患者纤维蛋白原/C 反应蛋白对弥漫性血管内凝血的预测价值 [J]. *中华急诊医学杂志*, 2014, 23 (8): 903-907.
- [9] Hardaway RM, Williams CH, Vasquez Y. Disseminated intravascular coagulation in sepsis [J]. *Semin Thromb Hemost*, 2001, 27 (6): 577-83.
- [10] Kaukonen KM, Bailey M, Suzuki S, et al. Mortality related to severe sepsis and septic shock among critically ill patients in Australia and New Zealand, 2000-2012 [J]. *JAMA*, 2014, 311 (13): 1308-1316.
- [11] 苏磊, 彭娜, 唐丽群. 脓毒症时弥漫性血管内凝血的发病机制与临床进展 [J]. *中华急诊医学志*, 2012, 21 (4): 345-350.
- [12] 温前宽, 李彦, 杨建萍, 等. 严重脓症患者炎症因子的动态变化及预后意义 [J]. *中华急诊医学杂志*, 2015, 24 (7): 779-783.
- [13] Doi K, Leelahavanichkul A, Yuen PS, et al. Animal models of sepsis and sepsis-induced kidney injury [J]. *J Clin Invest*, 2009, 119 (10): 2868-2878.
- [14] 徐丽华, 卢中秋, 邱俏檬, 等. 脓毒症休克患者凝血功能紊乱与病情严重程度及预后的关系 [J]. *中国急救医学*, 2008, 28 (5): 403-405.
- [15] 王红, 张淑文, 任爱民, 等. 重度脓毒症凝血功能紊乱与病情严重程度及预后的关系 [J]. *中华急诊医学杂志*, 2005, 14 (10): 804-806.
- [16] 李伟. 血小板计数和 APACHE II 评分对脓毒症预后的影响 [J]. *中国急救医学*, 2011, 31 (2): 164-165.
- [17] Gando S, Nanzaki S, Sasaki S, et al. Activation of the extrinsic coagulation pathway in patients with severe sepsis and septic shock [J]. *Crit Care Med*, 1998, 26 (12): 2005-2009.
- [18] Van Der Poll T. Tissue factor as an initiator of coagulation and inflammation in the lung [J]. *Crit Care*, 2008, 12 (Suppl 6): S3.
- [19] 赵光举, 卢中秋. 脓毒症内皮细胞损伤与微循环障碍 [J]. *临床急诊杂志*, 2012, 13 (1): 8-12.
- [20] Haley Axelrod, Kenneth J. Pienta. Axl as a mediator of cellular growth and Survival [J]. *Oncotarget*, 2014, 5 (19): 8818-8852.
- [21] Cosemans JMEM, van Kruchten R, Olieslagers S, et al. Potentiating role of Gas6 and Tyro3, Axl and Mer (TAM) receptors in human and murine Platelet activation and thrombus stabilization [J]. *J Thromb Haemost*, 2010, 8 (8): 1797-1808.
- [22] Angelillo-Scherrer A, de Frutos P, Aparicio C, et al. Deficiency or inhibition of Gas6 causes platelet dysfunction and protects mice against thrombosis [J]. *Nat Med*, 2001, 7 (2): 215-221.
- [23] Robins RS, Lemarié CA, Laurance S, et al. Vascular Gas6 contributes to thrombogenesis and promotes tissue factor up-regulation after vessel injury in mice [J]. *Blood*, 2013, 121 (4): 692-699.
- [24] Marc Tjwa, Lola Bellido-Martin, Yuan Lin, et al. Gas6 promotes inflammation by enhancing interactions between endothelial cells, platelets, and leukocytes [J]. *Blood*, 2008, (8): 4096-105.
- [25] Ekman C, Linder A, Kesson P, et al. Plasma concentrations of Gas6 (growth arrest specific protein 6) and its soluble tyrosine kinase receptor sAxl in sepsis and systemic inflammatory response syndromes [J]. *Critical Care*, 2010, 14: R158.
- [26] Giangola MD, Yang WL, Rajayer SR, et al. Growth arrest-specific protein 6 (Gas6) attenuates neutrophil migration and acute lung injury in sepsis [J]. *Shock*, 2013, 40 (6): 485-491.

(收稿日期: 2015-04-22)

(本文编辑: 何小军)