

· 脓毒症 ·

血必净注射液经肌醇需求酶 1 α 信号通路影响组织因子凝血活性

柴彦 李静远 柴艳芬 姚咏明

【摘要】目的 探讨不同浓度血必净注射液对内毒素诱导大鼠内皮细胞组织因子 (tissue factor, TF) 凝血活性的影响。**方法** 随机将内皮细胞分为对照组、脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 组 (500 ng/mL)、血必净组 (1、5、25 μ L/mL)、LPS+ 血必净组 (1、5、25 μ L/mL)，培养 24、48 和 72 h 后采用 CCK-8 法检测细胞增殖；留取上清，检测乳酸脱氢酶 (lactic dehydrogenase, LDH) 释放量；以刺激 72 h 为观察点，采用 Western blot 技术检测肌醇需求酶 1 α (inositol-requiring enzyme 1 α , IRE1 α)、未剪接型 X 盒结合蛋白 (unspliced-box binding protein-1, uXBP-1)、剪接型 X 盒结合蛋白 (spliced-box binding protein-1, sXBP-1) 及蛋白质二硫化物异构酶 (protein disulfide isomerase, PDI) 的表达水平；加入 Ca^{2+} 、凝血因子 (coagulation factor, F) VII 和 F X，用发色底物法检测活化 F X a 水平。**结果** 与对照组相比，LPS 组细胞增殖能力下降，LDH 释放增多 ($P<0.05$)，IRE1 α 、uXBP1、sXBP1、PDI 表达均上调，差异具有统计学意义 ($P<0.05$)。与对照组相比，血必净组细胞增殖能力增强，LDH 释放减少 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$)，随着时间增加，此效应逐渐增强；LPS+ 血必净组较 LPS 组细胞增殖活性升高，LDH 释放下降 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$)，IRE1 α 、uXBP1、sXBP1 和 PDI 表达均明显减弱 ($P<0.01$)，F X a 产生随 IRE1 α 、XBP1、PDI 表达水平降低而减少 ($P<0.05$)，其中 LPS+5 μ L/mL 血必净组降低 F X a 效果尤为明显 ($P<0.05$)。**结论** 血必净注射液能通过阻断 IRE1 α -XBP1 通路，降低 PDI 的表达，影响内皮细胞 TF 凝血活性。

【关键词】 脓毒症；肌醇需求酶 1 α ；蛋白质二硫化物异构酶；活化凝血因子 X；组织因子

The effect of Xuebijing injection on the procoagulation of tissue factor by inositol-requiring enzyme 1 α signaling pathway Chai Yan, Li Jingyuan, Chai Yanfen, Yao Yongming Emergency

Department of General Hospital, Tianjin Medical University, Tianjin 300052, China(Chai Y, Li JY, Chai YF); Trauma Research Center, First Hospital Affiliated to the Chinese PLA General Hospital, Beijing 100048, China(Yao YM)

Corresponding author: Yao Yongming, Email: c_ff@sina.com; Chai Yanfen, Email: chaiyanfen2012@126.com

【Abstract】 Objective To investigate the effect of Xuebijing injection on lipopolysaccharide (LPS)-mediated the procoagulant activity of tissue factor (TF) in abdominal aortic endothelial cells from rats. **Methods** Abdominal aortic endothelial cells from rats were randomly divided into the control group, LPS group (500 ng/mL), Xuebijing group (1, 5, 25 μ L/mL), and LPS+Xuebijing group (1, 5, 25 μ L/mL), respectively. Cell proliferation was measured by CCK8 and lactate dehydrogenase (LDH) level in supernatants was determined at 24, 48, and 72 h; Expressions of inositol-requiring enzyme-1 α (IRE1 α), unspliced-box binding protein-1 (uXBP-1), spliced-box binding protein 1 sXBP-1), and protein disulfide isomerase (PDI) were determined by Western blotting at 72 h. Procoagulant activity of TF was measured as the ability of monolayer to support activation of factor with the addition of a and Ca^{2+} by chromogenic substrate method. **Results** Compared with the control group, the cell proliferation was

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2018.02.009

基金项目：国家自然科学基金 (81730057, 81372054)；国家重点研发计划项目 (2017YFC1103302)

作者单位：300052 天津，天津医科大学总医院急诊医学科 (柴彦、李静远、柴艳芬)；100048 北京，解放军总医院第一附属医院创伤研究中心 (姚咏明)

通信作者：姚咏明，Email:c_ff@sina.com；柴艳芬，Email: chaiyanfen2012@126.com

decreased and LDH level was increased in the LPS group ($P<0.05$), and there were markedly up-regulated in the expression of IRE1 α , uXBP1, sXBP1, and PDI ($P<0.05$). Compared with the control group, treatment with Xuebijing injection could promote cell proliferation and reduce the release of LDH ($P<0.05$ or $P<0.01$), which were gradually enhanced along with the observational intervals. Compared with the LPS group, the LPS+Xuebijing group showed obviously higher cell proliferation and lower release of LDH ($P<0.05$ or $P<0.01$), expressions of IRE1 α , uXBP1, sXBP1, and PDI were significantly reduced ($P<0.01$); meanwhile, F X a activity was decreased in the LPS+Xuebijing group, and 5 μ L/mL Xuebijing was the optimal dose in down-regulation of F X a. **Conclusions** These results suggest that treatment with Xuebijing injection can markedly down-regulate the expression of PDI by inhibiting the IRE1 α -XBP1 signaling pathway to suppress the procoagulant activity of TF in abdominal aortic endothelial cells from rats.

【Key words】 Inositol-requiring enzyme 1 α ; disulfide isomerase; factor X a; Tissue factor

脓毒症 (sepsis) 是指机体对感染反应失调所引起的致命性器官功能障碍^[1]，脓毒症诱发多器官功能障碍综合征 (multiple organ dysfunction syndrome, MODS) 与凝血功能异常密切相关，50% ~ 70% 脓毒症患者发生凝血功能障碍^[2]。研究表明脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 等致病因子可破坏细胞稳态，激活内质网应激 (endoplasmic reticulum stress, ERS)，其中肌醇需求酶 1 α (inositol-requiring enzyme 1 α , IRE1 α) 信号通路活化可增加蛋白质二硫化物异构酶 (protein disulfide isomerase, PDI) 表达，后者则增强组织因子 (tissue factor, TF) 凝血活性^[3-5]。据此推测脓毒症时 ERS 在增加 TF 凝血活性，诱导凝血功能障碍中发挥重要作用。血必净注射液 (简称血必净) 主要由红花、赤芍、川芎、丹参、当归等五味中药提取而成，可有效改善脓毒症患者凝血功能^[5-6]。本研究拟进一步探讨血必净改善凝血功能紊乱的信号机制，旨在为临床应用血必净防治脓毒症状态下凝血功能障碍提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物、试剂和仪器

清洁级雄性 SD 大鼠，购自北京华阜康生物科技股份有限公司；内皮细胞培养基、内皮细胞生长因子及胎牛血清均购自美国 ScienCell 公司；CCK-8 试剂 (货号 CK04) 和乳酸脱氢酶 (lactic dehydrogenase, LDH) 试剂购自东仁化学科技有限公司；LPS 购自美国 Sigma 公司；SP 免疫组化试剂盒和 DAB 显色试剂盒购自北京中杉金桥生物技术有限公司；血必净注射液 (天津红日药业股份有限公司生产，国药准字 Z20040033)。IRE1 抗体 (货号 ab37073)、X 盒结合蛋白 (box binding protein-1, XBP-1) 抗体 (货号 ab37152) 和 PDI 抗体 (货号 ab2792) 及 F X a 检测试剂盒 (货号

ab204711) 均购自 Abcam 公司。

1.1.1 内皮细胞分和培养 颈椎脱臼法处死大鼠，充分暴露胸、腹主动脉，从近心端分离主动脉至髂总动脉分支处，无菌剥离血管外膜的脂肪组织和纤维组织。将主动脉切成约 1.5 mm × 1.5 mm 小块，置于 0.25% 的 IV 型胶原酶中，37℃ 消化 15 min，小心吸走消化液，再加入 1.0% 中性蛋白酶，37℃ 消化 15 min，吸走消化液，补充内皮细胞培养基 (ECM)，离心，弃上清液，保留碎块。将组织块平铺于 10 cm 的培养皿底部，加入适量 ECM，以没入组织块为宜。7 d 左右可见内皮细胞由组织块边缘爬出，呈扁平短梭形或多角形，此时去除组织块，用 0.25% 胰蛋白酶消化，按 1:3 的比例在 25 cm² 的培养瓶中传代，用第 3 ~ 4 代细胞进行实验。

1.1.2 鉴定内皮细胞纯度 采用免疫细胞化学法检测 F VIII 表达，鉴定内皮细胞纯度，接种细胞至 6 孔板 (内置灭菌载玻片)，待细胞铺满 70% 状态时，弃上清，严格按照说明书处理细胞，显微镜下观察。阳性细胞选择：细胞 DAB 显色，棕色铺路石样细胞即为内皮细胞，根据阳性细胞分布情况，在 400 倍镜下选择 1 ~ 2 个阳性视野，计算 200 个细胞中阳性细胞数作为内皮细胞纯度。计算方式为 (阳性细胞数 / 细胞总数) × 100%。

1.1.3 细胞培养和分组 5% 胎牛血清 ECM 培养基重悬内皮细胞，调整细胞浓度为 1.2×10^5 /mL，培养 12 h。实验分组：对照组、LPS 组、血必净组和 LPS+ 血必净组，每组设 6 个平行孔。对照组不给予刺激，正常培养；LPS 组加入浓度为 500 ng/mL 的 LPS 诱导模拟脓毒症环境；血必净组分别加入 1、5、25 μ L/mL 血必净注射液；LPS+ 血必净组分别加入 1、5、25 μ L/mL 血必净注射液，预处理 60 min 后加入 LPS，调整 LPS 浓度为 500 ng/mL，将培养板放入 37℃、5% CO₂ 培养箱内，分别培养 24、48、72 h 后留取上清和细胞，检测各

项指标。

1.1.4 检测细胞增殖和损伤程度 采用 CCK-8 法测定细胞增殖能力, 以细胞上清中 LDH 释放量评价细胞损伤程度。制备细胞悬液, 以 $1.2 \times 10^5/\text{mL}$ 接种细胞, 将 $100\mu\text{L}$ 细胞悬液接种于 96 孔板中, 分别于刺激后 24、48、72 h 后收集上清, 按说明书即时测各组 OD 值。

1.1.5 Western blot 检测 IRE1 α 、uXBP-1、sXBP-1 及 PDI 表达水平 收集各组细胞, 按照普利莱细胞提取说明书, 提取蛋白, 采用 BCA 法检测蛋白浓度。蛋白上样量为 $30\mu\text{g}$, SDS 聚丙烯酰胺胶电泳浓缩胶质量分数为 4%, uXBP-1、sXBP-1 及 PDI 分离胶质量分数为 10%, IRE1 α 分离胶质量分数为 8%。采用恒流 25 mA , 电泳至溴酚蓝跑至玻璃板底面时, 即停止电泳, 约 2 h, 进行转膜, 90 mA 电泳 1 h, ECL 显影。采用 Image J 软件对条带进行分析, 计算出灰度值, 用目标条带灰度值分别于对应内参 β -actin 灰度值的比值来衡量表达情况, 作为 IRE1 α 、uXBP-1、sXBP-1 及 PDI 的相对表达量。

1.1.6 发色底物法检测 F X a 含量 在生理状态下, 多数 TF 无促凝功能, 即处于“加密状态”, 有促凝活性的 TF 为“解密状态”, 两种形式 TF 均可和 F VII a 结合。“加密状态” TF 无法活化 F X a, F X 被 VII a-TF 复合物激活成为 F X a, 因此以 F X a 生成量反映 TF 凝血活性^[8]。

1.3 统计学方法

采用 GRAPH6.01 统计软件分析, 计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 进行单因素方差分析, 两两比较采用 LSD-t 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 内皮细胞纯度

如图 1 所示, F VIII 由内皮细胞特异性释放, 根据此原理采用免疫组化法检测 F VIII, 作为鉴定内皮细胞纯度依据。内皮细胞纯度达 96%, 可进行下一步实验。

2.2 血必净对内皮细胞增殖能力的影响

与对照组比较, 各血必净组细胞增殖能力无明显变化, 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$); 与对照组比较, LPS 组细胞增殖活性下降, 随着时间延长, 抑制效应逐渐增强 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 与 LPS 组比较, LPS+ 血必净组 ($1, 5, 25\mu\text{l}/\text{mL}$) 24 和 48 h 增殖能力增强, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$), 72 h 时差异更为显著 ($P < 0.01$); 与 LPS+5 $\mu\text{l}/\text{mL}$ 血必净组比较, 48 h 和 72 h 时 LPS+1 $\mu\text{l}/\text{mL}$ 和 LPS+25 $\mu\text{l}/\text{mL}$ 血必净组差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1

($P < 0.05$)。见表 1

2.3 血必净对内皮细胞 LDH 活性的影响

与对照组比较, 各浓度血必净组 LDH 释放无明显变化 ($P > 0.05$); 与对照组比较, LPS 组释放 LDH 增多, 随着时间延长该效应逐渐增强 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 与 LPS 组比较, LPS+1 $\mu\text{l}/\text{mL}$ 血必净组 LDH 释放减少 ($P < 0.05$), LPS+5 $\mu\text{l}/\text{mL}$ 血必净和 LPS+25 $\mu\text{l}/\text{mL}$ 血必净组在 24、48 h 释放减少 ($P < 0.05$), 72 h 时差异有统计学意义 ($P < 0.01$); 与 LPS+5 $\mu\text{l}/\text{mL}$ 血必净组比较, 48、72 h 时 LPS+1 $\mu\text{l}/\text{mL}$ 和 LPS+25 $\mu\text{l}/\text{mL}$ 血必净组差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2

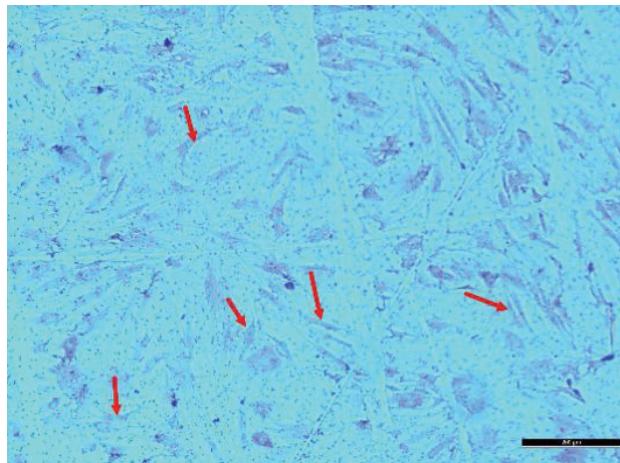
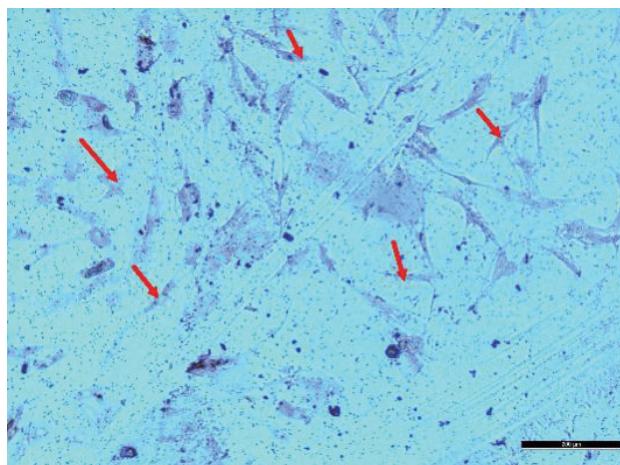


图 1 上图红色箭头所指棕色铺路石样细胞即为内皮细胞

Fig 1 Cells arrowed by red points with brown paving flagstone were endothelial cells

2.4 血必净对 IRE1 α 信号通路的影响

与对照组相比, LPS 组 IRE1 α 、uXBP1、sXBP1 和 PDI 表达均明显上调 ($P < 0.05$); 与 LPS 组比较, 各浓度血必净组 IRE1 α 、uXBP1、sXBP1 和 PDI 表达均下调, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。见图 2, 图 3。

表 1 各组细胞 24、48、72 h 细胞增殖能力比较(吸光度, $\bar{x}\pm s$)Table 1 Differences in cell proliferative activities among groups at 24, 48, and 72 h (A , $\bar{x}\pm s$)

组别	组数	CCK-8		
		24 h	48 h	72 h
对照组	6	1.663±0.184	1.723±0.131	1.873±0.038
LPS 组	6	1.540±0.032 ^a	1.522±0.334 ^a	1.389±0.008 ^b
1 μL/mL 血必净组	6	1.646±0.122 ^c	1.663±0.056 ^c	1.793±0.051 ^c
5 μL/mL 血必净组	6	1.651±0.058 ^c	1.695±0.122 ^c	1.880±0.076 ^c
25 μL/mL 血必净组	6	1.638±0.218 ^c	1.652±0.325 ^c	1.781±0.045 ^c
LPS+1 μL/mL 血必净组	6	1.398±0.054 ^d	1.591±0.254 ^{def}	1.694±0.069 ^{ef}
LPS+5 μL/mL 血必净组	6	1.512±0.124 ^d	1.694±0.361 ^d	1.791±0.057 ^e
LPS+25 μL/mL 血必净组	6	1.417±0.092 ^d	1.676±0.158 ^{def}	1.683±0.086 ^{ef}

注: 与对照组相比, ^a $P<0.05$, ^b $P<0.01$; 与对照组相比, ^c $P>0.05$; 与 LPS 组比较, ^d $P<0.05$, ^e $P<0.01$; 与 LPS+5 μL/mL 血必净组比较, ^f $P<0.05$

表 2 各组细胞上清 24、48、72 h 释放 LDH 比较(吸光度, $\bar{x}\pm s$)Table 2 Differences of LDH levels in cell supernatant at 24, 48, and 72 h (OD , $\bar{x}\pm s$)

组别	组数	LDH		
		24 h	48 h	72 h
对照组	6	0.514±0.011	0.531±0.007	0.489±0.020
LPS 组	6	0.814±0.024 ^b	0.877±0.035 ^b	0.932±0.047 ^b
1 μL/mL 血必净组	6	0.532±0.020 ^a	0.539±0.030 ^a	0.510±0.038 ^a
5 μL/mL 血必净组	6	0.521±0.024 ^a	0.524±0.019 ^a	0.502±0.037 ^a
25 μL/mL 血必净组	6	0.604±0.078 ^a	0.564±0.016 ^a	0.652±0.020 ^a
LPS+1 μL/mL 血必净组	6	0.677±0.024 ^c	0.752±0.038 ^{ce}	0.675±0.047 ^{ce}
LPS+5 μL/mL 血必净组	6	0.569±0.029 ^c	0.549±0.027 ^c	0.516±0.038 ^d
LPS+25 μL/mL 血必净组	6	0.694±0.024 ^c	0.691±0.031 ^{ce}	0.621±0.037 ^{de}

注: 与对照组比较, ^a $P>0.05$; 与对照组比较, ^b $P<0.01$; 与 LPS 组比较, ^c $P<0.05$, ^{de} $P<0.01$; 与 LPS+5 μL/mL 血必净组比较, ^{ce} $P<0.05$

2.5 血必净对 FX 活化水平的影响

与对照组比较, LPS 组 FX 活化水平升高, FXa 产生增多 ($P<0.05$); 与 LPS 组比较, 各浓度血必净组 FX 活化水平显著降低 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$); 与 LPS+5 μL/mL 血必净组比较, LPS+1 μL/mL 血必净组和 LPS+25 μL/mL 血必净组 FXa 产生减少, 差异有统计学意义 ($P<0.05$)。见表 3。

表 3 血必净对 FX 活化水平的影响 ($\bar{x}\pm s$, $\mu\text{g/mL}$)Table 3 The effect of Xuebijing injection on the FX activation ($\bar{x}\pm s$, $\mu\text{g/mL}$)

组别	组数	72 h
对照组	6	0.526±0.017
LPS 组	6	1.367±0.142 ^a
LPS+1 μL/mL 血必净组	6	0.854±0.091 ^{bd}
LPS+5 μL/mL 血必净组	6	0.611±0.031 ^c
LPS+25 μL/mL 血必净组	6	0.938±0.052 ^{bd}

注: 与对照组比较, ^a $P<0.05$; 与 LPS 组比较, ^b $P<0.05$, ^c $P<0.01$; 与 LPS+5 μL/mL 血必净组比较, ^d $P<0.05$

3 讨论

内皮细胞不仅是脓毒症发生时受损的靶器官, 而且通过其广泛的生物学效应主动参与组织损害, 是引起凝血功能障碍的关键环节^[8-9]。脓毒症所致凝血功能障碍机制尚未完全清楚, 内皮细胞在 LPS

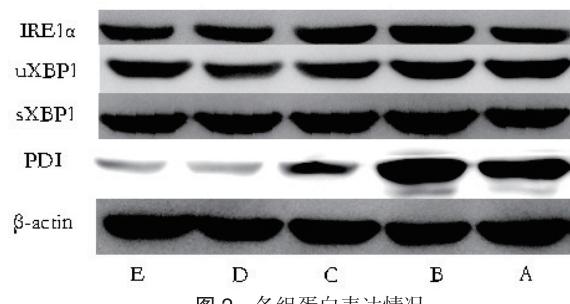
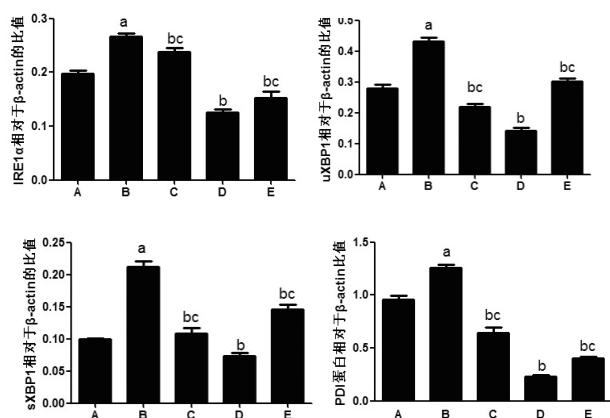


图 2 各组蛋白表达情况

Fig. 2 The protein expression of various markers in each group.

直接或间接作用下出现损伤, 可释放多种炎症因子和凝血因子, 活化凝血系统^[10]。中药血必净注射液具有拮抗炎症介质、清除内毒素、改善凝血功能的作用。本研究证实单纯给予血必净处理不会影响内皮细胞增殖活性; LPS 刺激内皮细胞后细胞增殖能力下降, LDH 释放增多; 细胞经血必净预处理 60 min 后再给予 LPS 刺激, 其增殖能力较 LPS 组明显改善, LDH 释放减少, 且随着时间延长, 血必净保护细胞效应逐渐增强。进一步分析发现, 血必净干预呈现一个最适浓度, 浓度过低或过高其保护效应均有所减弱, 在本实验中血必净在 5 μL/mL 时效应最为明显。

脓毒症病理过程中, 由于细菌及其毒素直接作



注：与对照组相比较，^aP<0.05；与LPS组比较，^bP<0.05；与LPS+5 μL/mL比较，^cP<0.05。

A：对照组；B：LPS组；C：LPS+1 μL/mL血必净组；D：LPS+5 μL/mL血必净组；E：LPS+25 μL/mL血必净组

图3 IRE1α、uXBP1、sXBP1、PDI与β-actin的比值

Fig. 3 Changes in the ratio of IRE1α, uXBP1, sXBP1, and PDI to β-actin.

用诱发炎症反应，机体处于严重应激状态，内环境失衡，内质网通过激活未折叠蛋白反应保护细胞，恢复细胞稳态；若刺激因素过强，则不能恢复细胞平衡状态^[11]。本组资料中，LPS刺激内皮细胞可诱导细胞损伤，激活ERS，使细胞持续处于失衡状态。IRE1α是镶嵌在内质网膜上的一种跨膜蛋白，在维持内质网稳态方面发挥重要作用^[12]，通过合成uXBP1来剪切26个碱基，形成一个开放阅读框架，以合成一个新的转录因子sXBP1。我们观察到在LPS刺激内皮细胞72 h后，IRE1α、uXBP1和sXBP1的表达均上调，说明ERS激活；而1、5、25 μL/mL浓度血必净处理组IRE1α、uXBP1和sXBP1表达水平均明显下调，说明血必净可有效抑制ERS，且在5 μL/mL剂量时血必净抑制IRE1α信号通路效应最强，此效应与恢复内皮细胞增殖能力，减少LDH释放结果相符。已有研究表明，激活IRE1α-XBP1通路可引起PDI表达增加^[13-15]，而PDI进一步通过调控TF膜外Cys186-Cys209间二硫键的形成，增强TF的凝血活性^[8]。本实验结果显示，LPS刺激活化ERS，随着IRE1α通路激活，PDI和FXa表达均增加；而LPS+血必净组IRE1α、uXBP1、sXBP1和PDI表达降低，FXa活性亦相应降低，且在5 μL/mL时血必净抑制FXa效果最佳，与IRE1α通路改变基本一致。因此，笔者推测血必净可能通过阻断IRE1α-XBP1通路，降低PDI的表达，减弱TF促凝活性，从而防止脓毒症时外源性凝血途径的激活，纠正脓毒症所致凝血功能紊乱。

参考文献

[1] Fiusa MM, Carvalho-Filho MA, Annichino-Bizzacchi JM, et al.

Causes and consequences of coagulation activation in sepsis: an evolutionary medicine perspective[J]. BMC Med, 2015, 13:105. DOI: 10.1186/s12946-015-0327-2.

[2] Okamoto K, Tamura T, Sawatubashi Y. Sepsis and disseminated intravascular coagulation[J]. Intensive Care, 2016, 4:23. DOI: 10.1186/s40560-016-0149-0.

[3] Wang SL, Chen Z, Lam V, et al. IRE1α-XBP1s induces PD1 expression to increase MTP activity for hepatic VLDL assembly and lipid homeostasis[J]. Cell Metab, 2012, 16(4):473-486. DOI: 10.1016/j.cmet.2012.09.003.

[4] Reinhardt C, von BML, Manukyan D, et al. Protein disulfide isomerase acts as an injury response signal that enhances fibrin generation via tissue factor activation[J]. J Clin Invest, 2008, 118(3):1110-1122. DOI: 10.1172/JCI32376.

[5] Kiouptsi K, Reinhardt C. Protein disulfide-isomerase: a trigger of tissue factor-dependent thrombosis[J]. Clin Hemorheol Microcirc, 2016, 64(3):279-286. DOI: 10.3233/CH-168106.

[6] 归咏刚, 姚咏明, 柴艳芬. 血必净对脓毒症大鼠IL-6表达及血小板的影响[J]. 中国急救复苏与灾害医学杂志, 2009, 4(1): 13-16. DOI: 10.3969/j.issn.1673-6966.2009.01.005.

[7] Langer F, Spath B, Fischer C, et al. Rapid activation of monocyte tissue factor by antithymocyteglobulin is dependent on complement and protein disulfide isomerase[J]. Blood, 2013, 121(12): 2324-2335. DOI: 10.1182/blood-2012-10-460493.

[8] Chen VM, Hogg PJ. Encryption and decryption of tissue factor[J]. Thromb Haemost, 2013, 11 (Suppl.1): 277-284. DOI: 10.1111/jth.12228.

[9] Yi L, Huang X, Guo F, et al. Yes-associated protein (YAP) signaling regulates lipopolysaccharide-induced tissue factor expression in human endothelial cells[J]. Surgery, 159(5): 1436-1448. DOI: 10.1016/j.surg.2015.12.008.

[10] Nimah M, Brilli RJ. Coagulation dysfunction in sepsis and multiple organ system failure[J]. Crit Care Clin, 2003, 19(3):441-458. DOI: 10.1016/S0749-0704(03)00008-3.

[11] 陶永康, 张国强. 脓毒症与内质网应激[J]. 中华急诊医学杂志, 2017, 26(4): 367-369. DOI: 10.3760/10.3760/cma.j.issn.1671-0282

[12] Dicks N, Gutierrez K, Michalak M, et al. Endoplasmic reticulum stress, genome damage, and cancer[J]. Front Oncol, 2015, 5:11. DOI: 10.3389/fonc.2015.00011.

[13] Langer F, Ruf W. Synergies of phosphatidylserine and protein disulfide isomerase in tissue factor activation[J]. Thromb Haemost, 2014, 111(4): 590-597. DOI: 10.1160/TH13-09-0802.

[14] Popescu NI, Lupu C, Lupu F. Extracellular protein disulfide isomerase regulates coagulation on endothelial cells through modulation of phosphatidylserine exposure[J]. Blood, 2010, 116(6):993-1001. DOI: 10.1182/blood-2009-10-249607.

[15] Bowley SR, Fang C, Merrill-Skoloff G, et al. Protein disulfide isomerase secretion following vascular injury initiates a regulatory pathway for thrombus formation[J]. Nat Commun, 2017, 8:14151. DOI: 10.1038/ncomms14151.

(收稿日期: 2018-01-03)

(本文编辑: 何小军)