

# 组织因子功能的研究进展

周瑞芳<sup>1</sup>综述,于敏<sup>2</sup>审校(1. 江苏省泰州职业技术学院医学技术学院 225300;

2. 上海市复旦大学医学院分子医学国家重点实验室 200032)

【关键词】 组织因子; 肿瘤进展; 血栓形成; 信号传递

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2012.07.039 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2012)07-0846-03

组织因子(tissue factor, TF)是一个由 263 个氨基酸残基组成的跨膜单链糖蛋白,相对分子质量约为  $47 \times 10^3$ 。其中氨基端 219 个氨基酸残基位于细胞膜外,紧随其后的 23 个氨基酸残基则穿过细胞膜,其余 21 个氨基酸残基位于细胞质内。组织因子在血管平滑肌细胞(VSMCs)、血管外膜成纤维细胞、周细胞等都有表达。内皮细胞在正常的生理条件下不表达 TF,但是体外研究表明,在肿瘤坏死因子- $\alpha$ 、组胺、凝血酶、血管内皮生长因子(VEGF)等的刺激下,血管内皮细胞可表达一定的 TF<sup>[1]</sup>。TF 的表达是有组织特异性的,比如在脑、肾脏、心脏、胎盘这些组织中表达非常高。近年来很多研究认为,血液循环中也存在很少量的 TF<sup>[2]</sup>,称为血源 TF 或血浆 TF,它以细胞和非细胞两种形态存在。细胞形态存在于血小板、嗜酸性粒细胞、单核细胞等中<sup>[3-4]</sup>,非细胞形态目前有微粒(microparticles, MPs, 是活化或凋亡细胞脱落的胞膜部分)<sup>[5]</sup>及 TF 的另外一种剪切转录本(alternatively spliced TF, asTF)<sup>[6]</sup>。人的 TF 基因位于 1 号染色体(p21~p22)上,有 6 个外显子,第 2~5 外显子编码胞外区,第 6 外显子编码跨膜及胞内区。而 asTF 是剪切时第 4 外显子直接和第 6 外显子连接而成的缺少细胞膜锚定结构的可溶性蛋白<sup>[7]</sup>。

TF 最早被认为其在启动凝血过程中发挥重要的作用。TF 通过与其有高亲和力的因子 VII (factor VII, FVII)相结合,进而进一步激活血液凝固级联反应。近来的研究表明其也发挥其他的一些功能。

## 1 TF 与血栓形成

血栓的形成是一个病理过程,研究发现在很多血栓形成相关的疾病中,如动脉粥样硬化、败血症等<sup>[8]</sup>,TF 的表达是异常的。Tilley 等<sup>[9]</sup>发现 TF 基因敲除的杂合体小鼠(血管壁的 TF 活性减少 50%或血浆 TF 减少 90%),均出现了大小相近的动脉粥样硬化病灶。另外,在不同的血栓模型中,通过 TF 抗体或组织因子途径抑制物(TFPI)抑制 TF,可以减少血栓的形成。在静脉和动脉的血栓形成中,TF 发挥的作用有所不同。在颈动脉的模型中,通过从分子水平上降低血管壁所有细胞的 TF 表达,或者特异地敲除血管平滑肌细胞中 TF 的表达,血栓闭塞(thrombotic occlusion)的时间明显延长。然而,在此模型中,封闭血液循环中的 TF,则不影响血栓的形成。Wang 等<sup>[10]</sup>在小鼠中选择性地敲除血管平滑肌细胞中的 TF 基因,其颈动脉的血栓明显减轻,这表明血管壁的 TF 对于大动脉的血栓形成非常重要。而研究认为静脉血栓的形成与血流速度及血液成分的变化等相关性更大<sup>[11]</sup>。Manly 等<sup>[12]</sup>研究证实,带有静脉血栓栓塞的肿瘤患者与不带有静脉血栓栓塞的肿瘤患者相比,微粒的 TF 活性明显要高。在颈静脉模型中,无内皮细胞损害条件下,通过抑制 TF 可以减少血栓的形成。

## 2 TF 与信号传递

TF 通过与 FVIIa 结合后,可以激活位于血管细胞上的蛋白酶激活受体(protease activated receptor, PAR)。PAR 家族

有四个成员:PAR-1~4。在 PAR-1-/-的小鼠胚胎中,在胚胎期第 10.5 天时胚胎致死率约为 50%<sup>[13]</sup>。小鼠缺少凝血酶原及 FV 时,胚胎的致死率也约为 50%;但是小鼠缺少 TF,其胚胎的致死率却高于 90%,这提示组织因子既参与止血的过程,也参与 PAR-1 的信号传递过程。组织因子的表达可以影响整合素的功能,尤其是非癌性上皮细胞上的层黏连蛋白 V,此影响通路是由于 TF 与其配体因子 VII 结合后,诱导其胞内结构域发生依赖 PAR-2 的磷酸化<sup>[14]</sup>。TF 也是促分裂素原活化蛋白激酶、p38、Erk1/2 和 rac 通路的上游<sup>[15]</sup>,并且会增强血小板源性生长因子诱导的趋化性<sup>[16]</sup>,这些均提示 TF 的胞内域参与了细胞的运动性及促迁移的信号传导。在体外培养的人脐静脉内皮细胞的缺氧-复氧损伤过程中,TF 及 PAR-1、PAR-2 的表达较未经缺氧-复氧处理的脐静脉内皮细胞中是升高的。用组织因子的反义寡核苷酸可以缓解 TF 及 PAR-1、PAR-2 的异常表达<sup>[17]</sup>。Banfi 等<sup>[18]</sup>发现,体外培养的人脐静脉内皮细胞暴露于 PAR-1 和 PAR-2 的激动剂,可以诱导 TF 的表达增加,并且由线粒体呼吸链产生的活性氧簇(reactive oxygen species, ROS)也会增多,这些提示 TF 和 PAR-1、PAR-2 可能共同促进了 ROS 的产生。最近的研究认为,TF 依赖的凝血酶的激活及 PAR-1 信号通路在炎症反应中也发挥重要的作用<sup>[19]</sup>。Nissen 等在内毒素小鼠中,PAR-1 基因敲除者,其相对于基因未敲除者,白细胞介素-6 的表达水平较低。最近的研究发现,在斑马鱼中凝血因子 III b 是维持斑马鱼血管形态正常发育所必需的,但是具体的分子机制及参与的信号通路有待进一步的研究。

## 3 TF 在肿瘤进展中参与的功能

现在越来越多的研究发现,在一些肿瘤组织中,组织因子的表达是异常的<sup>[20-22]</sup>,在很多具有肿瘤细胞侵略意义的现象中,如肿瘤干细胞标志蛋白 CD133 的表达<sup>[23]</sup>,上皮细胞向间充质细胞转化都伴随有 TF 的表达升高。在体外培养的结肠癌细胞中,下调 TF 基因的表达,可以抑制肿瘤的扩展<sup>[24]</sup>。并且,在很多动物模型中,抑制 TF 的表达或活性,可以抑制肿瘤的生长,血管的生成和肿瘤的转移<sup>[25-26]</sup>。目前的研究认为其与组织因子的促凝血功能和信号传递功能均相关。在肿瘤细胞中,TF-VIIa 有促进细胞凋亡的作用,且 TF-VIIa 复合物可以调节 PAR-2 的激活,通过一些促凝血物质及免疫细胞因子、趋化因子、生长因子等的诱导,促进肿瘤微环境的形成<sup>[27]</sup>。TF-VIIa-PAR2 信号可以通过调控 cofilin 通路及趋化因子白细胞介素-8 促进乳腺癌细胞的迁移<sup>[28]</sup>。选择性地抑制 TF-VIIa-PAR2 信号通路,可以抑制人移植乳腺癌的生长和血管的形成,这些提示靶向抑制 TF-VIIa-PAR2 信号通路,可能参与抑制肿瘤的治疗且不增加出血的倾向。

## 4 TF 的 asTF

由于 asTF 失去了组织因子的膜锚定结构域,因此其功能与 TF 是有所不同的。在细胞因子的诱导下,它可以由内皮细

胞和心肌细胞表达<sup>[26]</sup>。另外,在一些组织中,如肺、胎盘、肿瘤组织等也检测出 TF 的表达。最近发现,PI3 激酶可以降低由肿瘤坏死因子- $\alpha$  诱导的内皮细胞中 asTF 的表达<sup>[29]</sup>,在人的脐静脉细胞中,PI3 激酶/蛋白激酶 B 的通路可以通过抑制核因子  $\kappa$  B,进而调控 TF 的这两种转录本 mRNA 水平。但是 asTF 相对于整个血浆 TF 的活性以及是否参与血栓形成、促凝血等功能至今仍有争议。最近的研究表明,asTF 参与其他重要的功能,它可以增强内皮细胞的迁移和分化,且不影响内皮细胞的增殖<sup>[30]</sup>。而且,asTF 在肿瘤中也可能参与了一些功能。如在肿瘤细胞中,其表达是明显上调的<sup>[31]</sup>;非小细胞肺癌中,asTF 可以作为一个预后标志物<sup>[32]</sup>。

### 5 结 语

组织因子在止血、血栓形成、信号传递及肿瘤的进展中均发挥了一定的功能,但是这些功能主要是由于血管壁 TF 还是血生 TF,仍存在一些争论,且它们的一些作用机制仍需大量的研究进行阐明。但是,在当前的研究基础上,它对今后作为肿瘤、血栓等疾病的靶向治疗策略提供了很好的前景。

### 参考文献

[1] Steffel J, Hermann M, Greutert H, et al. Celecoxib decreases endothelial tissue factor expression through inhibition of c-Jun terminal NH2 kinase phosphorylation[J]. *Circulation*, 2005, 111(13):1685-1689.

[2] Butenas S, Bouchard BA, Brummel-Ziedins KE, et al. Tissue factor activity in whole blood[J]. *Blood*, 2005, 105(7):2764-2770.

[3] Cai H, Song C, Endoh I, et al. Serum amyloid A induces monocyte tissue factor[J]. *J Immunol*, 2007, 178(3):1852-1860.

[4] Celi A, Fiorentino AD, Cianchetti S, et al. Tissue factor modulation by Angiotensin II: a clue to a better understanding of the cardiovascular effects of renin-angiotensin system blockade? [J]. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*, 2008, 8(4):308-313.

[5] Chou J, Mackman N, Merrill-Skoloff G, et al. Hematopoietic cell-derived microparticle tissue factor contributes to fibrin formation during thrombus propagation [J]. *Blood*, 2004, 104(10):3190-3197.

[6] Szotowski B, Antoniuk S, Poller W, et al. Procoagulant soluble tissue factor is released from endothelial cells in response to inflammatory cytokines[J]. *Circ Res*, 2005, 96(12):1233-1239.

[7] Bogdanov VY, Balasubramanian V, Hathcock J, et al. Alternatively spliced human tissue factor: a circulating, soluble, thrombogenic protein[J]. *Nat Med*, 2003, 9(4):458-462.

[8] Pawlinski R, Mackman N. Tissue factor, coagulation proteases, and protease-activated receptors in endotoxemia and sepsis[J]. *Crit Care Med*, 2004, 32(5 Suppl):293-297.

[9] Tilley RE, Pedersen B, Pawlinski R, et al. Atherosclerosis in mice is not affected by a reduction in tissue factor expression[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2006, 26(3):555-562.

[10] Wang L, Miller C, Swarhout RF, et al. Vascular smooth muscle-derived tissue factor is critical for arterial thrombosis after ferric chloride-induced injury [J]. *Blood*, 2009, 113(3):705-713.

[11] Esmon CT. Basic mechanisms and pathogenesis of venous thrombosis[J]. *Blood Rev*, 2009, 23(5):225-229.

[12] Manly DA, Wang J, Glover SL, et al. Increased microparticle tissue factor activity in cancer patients with Venous Thromboembolism [J]. *Thromb Res*, 2010, 125(6):511-512.

[13] Connolly AJ, Ishihara H, Kahn ML, et al. Role of the thrombin receptor in development and evidence for a second receptor[J]. *Nature*, 1996, 381(6582):516-519.

[14] Ahamed J, Ruf W. Protease-activated receptor 2-dependent phosphorylation of the tissue factor cytoplasmic domain[J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(22):23038-23044.

[15] Ahamed J, Niessen F, Kurokawa T, et al. Regulation of macrophage procoagulant responses by the tissue factor cytoplasmic domain in endotoxemia[J]. *Blood*, 2007, 109(12):5251-5259.

[16] Siegbahn A, Johnell M, Sorensen BB, et al. Regulation of chemotaxis by the cytoplasmic domain of tissue factor [J]. *Thromb Haemost*, 2005, 93(1):27-34.

[17] Yin J, Luo XG, Yu WJ, et al. Antisense oligodeoxynucleotide against tissue factor inhibits human umbilical vein endothelial cells injury induced by anoxia-reoxygenation [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2010, 25(4-5):477-490.

[18] Banfi C, Brioschi M, Barbieri SS, et al. Mitochondrial reactive oxygen species: a common pathway for PAR1- and PAR2-mediated tissue factor induction in human endothelial cells[J]. *J Thromb Haemost*, 2009, 7(1):206-216.

[19] Chen D, Dorling A. Critical roles for thrombin in acute and chronic inflammation[J]. *J Thromb Haemost*, 2009, 7(Suppl 1):122-126.

[20] Hron G, Kollars M, Weber H, et al. Tissue factor-positive microparticles: cellular origin and association with coagulation activation in patients with colorectal cancer[J]. *Thromb Haemost*, 2007, 97(1):119-123.

[21] Yamashita H, Kitayama J, Ishikawa M, et al. Tissue factor expression is a clinical indicator of lymphatic metastasis and poor prognosis in gastric cancer with intestinal phenotype[J]. *J Surg Oncol*, 2007, 95(4):324-331.

[22] Uno K, Homma S, Satoh T, et al. Tissue factor expression as a possible determinant of thromboembolism in ovarian cancer[J]. *Br J Cancer*, 2007, 96(2):290-295.

[23] Garnier D, Milsom C, Magnus N, et al. Role of the tissue factor pathway in the biology of tumor initiating cells[J]. *Thromb Res*, 2010, 125(Suppl 2):44-50.

[24] Yu JL, May L, Lhotak V, et al. Oncogenic events regulate tissue factor expression in colorectal cancer cells: implications for tumor progression and angiogenesis [J]. *Blood*, 2005, 105(4):1734-1741.

[25] Palumbo JS, Talmage KE, Massari JV, et al. Tumor cell-associated tissue factor and circulating hemostatic

factors cooperate to increase metastatic potential through natural killer cell-dependent and-independent mechanisms [J]. Blood, 2007, 110(1):133-141.

[26] Versteeg HH, Schaffner F, Kerver M, et al. Inhibition of tissue factor signaling suppresses tumor growth[J]. Blood, 2008, 111(1):190-199.

[27] Schaffner F, Ruf W. Tissue factor and PAR2 signaling in the tumor microenvironment [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2009, 29(12):1999-2004.

[28] Zoudilova M, Kumar P, Ge L, et al. Beta-arrestin-dependent regulation of the cofilin pathway downstream of protease-activated receptor-2 [J]. J Biol Chem, 2007, 282(28):20634-20646.

[29] Eisenreich A, Malz R, Pepke W, et al. Role of the phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B pathway in regulating alternative splicing of tissue factor mRNA in hu-

man endothelial cells [J]. Circ J, 2009, 73(9):1746-1752.

[30] He Y, Chang G, Zhan S, et al. Soluble tissue factor has unique angiogenic activities that selectively promote migration and differentiation but not proliferation of endothelial cells [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2008, 370(3):489-494.

[31] Chand HS, Ness SA, Kisiel W. Identification of a novel human tissue factor splice variant that is upregulated in tumor cells [J]. Int J Cancer, 2006, 118(7):1713-1720.

[32] Rollin J, Regina S, Gruel Y. Tumor expression of alternatively spliced tissue factor is a prognostic marker in non-small cell lung cancer [J]. J Thromb Haemost, 2010, 8(3):607-610.

(收稿日期:2011-10-03)

# CTX-M 型超广谱 β-内酰胺酶耐药性特点分析

李 浩 综述, 刘 岚 审校(重庆医科大学附属儿童医院临检中心 400014)

**【关键词】** CTX-M; 超广谱 β-内酰胺酶; 基因型; 耐药性

**DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2012.07.040 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2012)07-0848-03**

超广谱 β-内酰胺酶(extended-spectrum β-lactamases, ES-  
BLs)是革兰阴性杆菌对新型广谱内酰胺类抗生素耐药最重要的  
机制之一,ESBLs 由质粒介导,能够水解青霉素、氨基糖苷、及  
1、2、3 代头孢菌素。近年来,革兰阴性杆菌分离出 ESBLs 的概  
率逐渐增加,其主要原因是临床上新型广谱 β-内酰胺类抗生素  
的广泛使用,而且 ESBLs 表型的基因种类有逐年增多的趋势。  
ESBLs 的基因型主要包括 TEM、CTX-M、SHV、OXA 及其他  
类型,根据各国学者近年研究,TEM、SHV、CTX-M 型最为常  
见。而在我国,则以 CTX-M 型 ESBLs 最为常见。以下就从  
CTX-M 型 ESBLs 的分子流行病学、结构功能、检测方法及治  
疗方面分析其耐药性的特点。

## 1 CTX-M 型 ESBLs 的分子流行病学情况

**1.1 CTX-M 型 ESBLs 的发现** CTX-M 型 ESBLs 是德国的  
Bauernfeind 等<sup>[1]</sup>在 1990 年报道发现,具有高等电点及对头孢  
噻肟高水解活性的特点。在此之后世界上很多国家分离出了  
产 CTX-M 型 ESBLs 的菌株,其中美洲、欧洲和亚洲较为多见。  
到目前为止,全世界分离出的 CTX-M 型 ESBLs 至少有 110 种  
(<http://www.lahey.org/studies/>)。

**1.2 CTX-M 型 ESBLs 世界范围内的流行** 在欧洲,继德国  
最早报道 CTX-M 酶之后,又发现了很多 CTX-M 的变异酶,如  
从阴沟肠杆菌分离出的 CTX-M-1、-3 等,分离于奇异变形杆菌  
的 CTX-M-1、-2、-20 等以及分离于大肠埃希菌的 CTX-  
M-1、-2、-9、-14、-21、-27 等。在南美,从大肠埃希菌、奇异变形  
杆菌、费劳地枸橼酸杆菌、黏质沙雷菌、产气肠杆菌等肠杆菌科  
的不同菌属中发现了编码 CTX-M-2 的基因<sup>[2]</sup>。在亚洲,分离  
出 CTX-M 型酶是在 1993 年,之后发现了 CTX-M-2、-3、-15、  
-14、Toho-2 等 CTX-M 的变异酶。而各种 CTX-M 的变异酶在  
不同国家分布不尽相同,CTX-M-2 和-3 型为日本肠杆菌科细  
菌中最常见的变异酶;印度的学者从大肠埃希菌、肺炎克雷伯  
菌和产气肠杆菌中分离出 CTX-M-15。在我国,从大肠埃希

菌、肺炎克雷伯菌和阴沟肠杆菌中已分离出 CTX-M-3、-9、  
-13、-14、-15、-22 和-24 等型酶。2004 年,加拿大学者 Abdal-  
hamid 等<sup>[3]</sup>报道了于费劳地枸橼酸杆菌中分离出的 CTX-M-30。

## 2 CTX-M 型 ESBLs 的分子生物学特征及其与耐药性关系

**2.1 CTX-M 型 ESBLs 的分子特点与亚群** CTX-M 型 ES-  
BLs 一般由 291 个氨基酸残基组成,等电点介于 7.4~9.0 之  
间<sup>[4]</sup>。由于没有相应的广谱酶基础,CTX-M 型 ESBLs 的超广  
谱活性应不是几个位点突变的结果,而是它的本质特征。按照  
CTX-M 型 ESBLs 氨基酸序列的同源性,可将其分为 5 个亚  
群<sup>[5]</sup>。其中 CTX-M-1 亚群包括 CTX-M-1、-3、-10、-11、-12、  
-15、-22、-23、-28、-32 和 FEC-1;CTX-M-2 亚群中包括 CTX-M-  
2、-4~7、-20、-24、-31 和-44;CTX-M-8 亚群中包括 CTX-M-8  
和-40;CTX-M-9 亚群中包括 CTX-M-9、-13、-14、-18、-16、-17、  
-19、-21、-24、-27 和-45;CTX-M-25 亚群中包括 CTX-M-25、-26  
和-39。

**2.2 分子结构与其耐药性的关系** CTX-M 型 ESBLs 同其他  
类型 ESBLs 一样,具有可以水解单环 β-内酰胺类抗生素、头孢  
菌素以及对酶抑制剂敏感的一般特性。但 CTX-M 型 ESBLs  
水解青霉素类抗生素的活性不如 SHV 和 TEM,其水解窄谱  
头孢菌素的活性较其他类型高。由于 CTX-M 型亚群中大部  
分氨基酸的取代部位远离酶活性中心,对它们的共有活性影响  
较小<sup>[6]</sup>。所以大多数 CTX-M 型 ESBLs(除 CTX-M-6、CTX-  
M-15 和 CTX-M-19 外)都具有水解头孢噻肟的活性高于头孢  
他啶的特性。这也是 CTM-X 型与 SHV、TEM 型 ESBLs 的  
主要区别之一。

之前有学者认为,在介导 CTX-M 型 ESBLs 促水解活性当  
中,第 104、160、167、232、237、240、244 和 276 位氨基酸可能具  
有着较为关键的作用。但现在的研究表明,第 160、244 和 276  
位氨基酸残基和 CTX-M 型 ESBLs 的催化特性无直接关系。  
在 Asn-104→Glu 突变之后,CTX-M-14 型酶对第 3 代头孢菌