

## 第一节 炎症性肠病与血栓形成

克隆病(CD)与溃疡性结肠炎(UC)统称为炎症性肠病(IBD)。患者多伴有肠外表现,其中血栓栓塞为最常见并发症之一。早在1936年, Barges和Barker就报道了血栓栓塞和IBD之间的联系。这项主要建立在临床观察基础上的工作,指出在IBD病人中存在严重的、致命性的血栓栓塞,特别是年轻的活动性UC病人中。IBD患者的血栓栓塞,部位多变,动静脉均可累及。Talbot等<sup>[1]</sup>对7199例IBD患者进行长达11年的研究,期间有92例(1.3%)发生血栓栓塞,以下肢深静脉血栓和肺动脉栓塞最多见,且好发于疾病活动期。

以往文献中报道IBD患者的血栓发生率变化很大,多在1~8%左右,而尸检中血栓发生率则可达41%<sup>[2]</sup>。这是由于过去对IBD治疗比现在更具侵入性,而大部分的临床资料都是那个年代进行的研究。例如1952年Dennis等的研究中有半数以上的UC病人接受了手术治疗<sup>[3]</sup>。某些预防血栓形成的措施,例如肝素的应用和术后早期活动,可以掩盖部分早期栓塞的报道。虽然尸检可以检测出一些亚临床的血栓病例,但是由于没有适合的对照组,很难评判这些研究的价值。最近的2项研究针对这些问题,为IBD患者的高血栓发生率提供了一些更有说服力的论据,提示IBD病人的肺动脉栓塞和下肢深静脉血栓发病率高出普通人群3倍<sup>[4]</sup>。其中Bernstein等<sup>[4]</sup>对IBD患者进行13年的随访研究,结果表明在CD病人中肺动脉栓塞和下肢深静脉血栓的发生率为31.4/10,000和10.3/10,000人年数(person-years),UC病人的肺动脉栓塞和下肢深静脉血栓的发生率为30.0/10,000和19.8/10,000人年数。研究发现栓塞的发生率与患者性别无关。超过60岁的IBD患者可有较高的肺动脉栓塞和下肢深静脉血栓的发生率,而年龄小于40岁患者的发病率则更高。另一项研究在校正了一些血栓形成的危险因素(比如手术、口服避孕药的使用、抽烟、体重指数等)后研究了炎症对照组(类风湿性关节炎)、肠胃病对照组(乳糜泻)和IBD组患者的血栓发生情况,结果显示前两组患者的血栓发病率都要低于IBD组的病人<sup>[5]</sup>。然而并非所有研究都显示IBD与血栓的发病率增高有关,Grip等<sup>[6]</sup>的研究提示IBD患者的血栓发生率与对照组没有明显区别,但该研究也指出IBD患者发生血栓的平均年龄要低于普通人群,分别为53岁和64岁。另一项研究提示IBD患者的疾病特性与血栓的发病相关,Solem等<sup>[7]</sup>回顾了98例并发血栓的IBD病人,发现大部分CD患者存在肠道病变,而UC患者有着更多的肠道损害,发生血栓的危险度和肠病的严重程度相关。在该研究结果发表之前,其他一些研究UC病人的学者也曾注意到这个问题,即疾病的活动程度可能与血栓的发病相关。需要注意的是,即使在疾病稳定期,也会有血栓并发症的形成,例如术后的周围动脉血栓形成,冠状动脉血栓形成,肠系膜和门静脉血栓形成以及自发性外周小静脉血栓形成<sup>[1]</sup>。

血栓栓塞是IBD较为严重的并发症,好发于年轻患者,死亡率达8%,而IBD患者的血栓形成归因于其血栓前状态,对IBD患者血栓前状态的研究具有重要的现实意义。所谓的前状态(prethrombotic state, PTS)既往又称血液高凝状态(hypercoagulable state, HCS),是多种因素引起的止血、凝血和抗凝系统失调的一种病理过程,具有易导致血栓形成的多种血液学变化。近年来,在IBD患者中发现许多的血栓形成及血小板活性异常的证据。由于IBD患者血液的高凝状态,使肠粘膜毛细血管闭塞,血液沉积、淤滞,进而微小血栓形成,肠粘膜组织坏死,形成溃疡。而炎症或组织坏死,往往可引起血液中纤维蛋白增多,血浆粘度再增高,导致肠粘膜微循环障碍,反过来加重IBD的病情发展,从而影响组织的再生、炎症和感染的控制甚至引起组织坏死,并可使抗炎药物不能达到病变部位,由此形成恶性循环,使IBD病情反复发作。大量的基础和临床研究工作表明,导致血栓形成多种因素在血栓形成之前已发生不同程度的变化。因此,正确认识IBD患者的血栓前状态,及时加以处理,防止其发病无疑具有重要的临床意义。

## 第二节 IBD患者的血液学异常

正常止血由血管、血小板和凝血机制三方面因素共同构成。①完整的血管壁结构和功能决定了止血功能的正常与否,血管壁收缩促使凝血物质局部积聚及血小板粘附。另外,血管内皮细胞能合成一些粘附蛋白,与血小板受体结合,诱导其粘附、聚集,血管内膜损伤,内膜下组织暴露,可以激活血小板和血浆中

的凝血系统。②血小板是通过血小板糖蛋白粘附于内皮下的胶原纤维，再通过ADP途径、前列腺素环过氧化物及TXA<sub>2</sub>途径、PAF途径进行聚集，释放活性物质，其表面吸附的各种凝血因子如纤维蛋白原、因子V、XI等促进凝血。③凝血系统是防止出血的重要机制，目前主要认为是一个凝血因子以另一个凝血因子为底物的连锁反应，是由接触因子途径(内源途径)或组织因子途径(外源途径)启动后，逐步形成多成分酶复合物，进而凝血酶原活化，生成凝血酶，形成纤维蛋白，从而形成血栓。同时上述凝血反应的每个阶段都有相应的制约物而达到反馈调节的作用，抑制血栓的形成，另外血液系统中还有纤维蛋白溶解系统来降解沉积在血管壁纤维蛋白，清除已形成的血栓，维持血液的通畅。研究发现活动期IBD患者除血小板数量增多并有异常的自发血小板聚集现象外，还伴有血浆纤维蛋白原和VII，VIII，XIII因子的改变，循环血管性假血友病因子(von Willebrand factor, vWF)和接触活性增高导致凝血途径激活，生理性抗凝物质的缺乏及纤溶过程失调等因素。检测IBD患者血栓前状态的这些分子标志物水平不仅对探讨疾病的发病机制有一定临床意义，而且对病情的活动程度及疗效评价均有一定参考价值。

## 一、血管内皮损伤

结构完整的血管内皮细胞具有抗凝血作用。血管内皮不仅是机体的重要屏障，而且是机体最大的内分泌器官，在调节炎症反应、凝血纤溶功能、免疫反应中起着重要作用。内皮细胞合成的血栓调节蛋白，可维持正常血流；通过直接释放大量的组织型纤溶酶原激活剂(t-PA)或通过合成并释放一氧化氮(NO)、前列腺素 I<sub>2</sub>(PGI<sub>2</sub>)间接促进内皮细胞释放 t-PA，抑制 I 型纤溶酶原激活物抑制因子(PAI-1)，从而增强纤溶系统功能；其合成并释放的 NO、类花生酸类活性因子可抑制血小板聚集。内皮细胞因子参与许多疾病的发病过程，内皮细胞损伤引起内皮细胞因子的异常分泌，往往是疾病的起始原因。肠系膜血管内皮细胞损伤是IBD发病机制中的早期变化，损伤的内皮不仅失去了抗凝功能，而且通过提供暴露的胶原，以及分泌血管性假血友病因子、血栓烷素 A<sub>2</sub>(TXA<sub>2</sub>)、血管内皮素(ET)及血栓调节蛋白(TM)等促凝血生物活性物质，参与血栓形成。

### 1. 血管性假血友病因子(von Willebrand factor, vWF)

vWF是一种大分子的糖蛋白，是为凝血VIII因子中VIII:C的载体蛋白，主要由内皮细胞合成并贮存于胞质内的Weibel-Palade小体中，可与VIII因子、血小板GPIb等结合，参与凝血与止血，其缺陷将引起血管性假血友病。血浆内含量不多，当缺氧、内毒素及炎症细胞因子IL-1，TNF等刺激下内皮细胞受损时释放入血增多，导致血浆vWF含量增加，血栓前状态时可见vWF增高。因而vWF可作为反映血管内皮细胞损伤和血液高凝状态的指标。IBD患者肠系膜内皮细胞损伤，基底膜胶原暴露，刺激血小板生成及活化，而vWF是血小板粘附、聚集反应的强烈介质，在调节血小板粘附于受损血管过程中起关键作用，使机体处于血栓前状态。vWF在IBD急性期的显著升高，Xu等<sup>[8]</sup>对29例UC患者血浆中vWF水平进行监测，发现无论在活动期还是非活动期均可有不同程度升高，并与患者性别无关。Stevens等<sup>[9]</sup>分别研究CD和UC患者血清vWF水平，发现64.3%活动期CD患者和53.6%非活动期CD患者水平升高，而UC患者中活动期和非活动期升高的比例分别为69.6%和33.3%，结果提示vWF水平与UC患者的疾病活动度有关，而与CD患者的病变活动相关性较小。此外还发现IBD患者血清vWF浓度升高同时，其对二巯基丙醇(DTT)抑制的敏感性也增加，活动性IBD患者循环中存在一种以上构型的vWF，其中有一部分从内皮细胞释放，这部分可能对DTT高度敏感。

### 2. 血栓调节蛋白(Thrombomodulin, TM)

作为内皮细胞损伤的分子标志物TM，逐渐受到国内外学者的重视，对TM的研究也日益深入。TM是一个含有575个氨基酸和5个主要基团的完整的膜糖蛋白，其结构类似低密度脂蛋白受体，含有1个植物血凝素样片段和6个上皮生长因子(EGF)样重复结构。其中，最后3个EGF样结构是凝血酶结合及蛋白C激活所必需的部位。TM广泛存在于动、静脉，微血管内皮细胞的表面，由血管内皮细胞合成并分泌入血。TM可与凝血酶以化学计量1:1的比例形成可逆性复合物，该复合物形成后，凝血酶不再具有促凝活性，但获得了比游离的凝血酶强1000~20000倍的激活蛋白C的能力。活化蛋白C(APC)能使因子Va和VIIIa失活，

抑制内、外源凝血反应，产生抗凝作用，还能降解纤溶酶原激活物抑制剂，增加血中纤溶酶原激活物水平，促进纤溶。TM还能和Xa结合，影响Xa的功能，使凝血酶原不能激活。当有TM存在时，AT-III灭活凝血酶的速度增加。另外，在凝血酶存在的情况下，TM还可通过激活凝血酶活化纤溶抑制物（TAFI）而发挥纤溶抑制作用。可见TM通过作用于多个环节，影响凝血和纤溶功能，是内源性调节凝血及纤溶的桥梁。

正常人血浆中TM的含量很低，当血管内皮细胞受损时TM释放入血增多而致血浆TM含量增高，其升高程度与内皮损伤程度成正比。Boehme等<sup>[10]</sup>检测了IBD患者血清TM的水平和炎症性肠组织血管内皮细胞上的TM，结果显示UC患者血清TM水平显著高于CD和对照组，而炎症性肠组织血管内皮细胞TM减少甚至缺乏，且与疾病活动性有关。血管内皮细胞损伤，其TM减少可能是导致血清TM升高的主要原因。内皮细胞受损后可激发外源性凝血系统，促进血液凝固，同时局部TM减少有利于肠道微血栓形成。故UC患者血清TM升高可作为肠道血管内皮细胞受损的一种标志，有助于判断疾病的活动性。CD患者血清TM并不升高，因此通过测定血清TM的水平，可用以鉴别CD与UC，并提示两者的发病机制和病变过程的不同。

### 3. 内皮素(endothelin, ET)

ET是目前发现的最强的缩血管物质，自1988年发现ET以来，一直是人们研究的热点。它不仅存在于血管内皮，也广泛存在于各种组织和细胞中，是调节心血管功能的重要因子，对维持基础血管张力与心血管系统稳态起重要作用。ET由血管内皮细胞合成和分泌，为21个氨基酸残基组成的短链多肽，有三种亚型（ET1、ET2、ET3），它们来自不同的基因，当血管内皮细胞受损时释放入血增多而致血浆中含量增高。ET-1引起动脉、静脉血管收缩，其作用强烈而持久，较血管紧张素II强10倍，对肾动脉和肺动脉最敏感，并可使心肌收缩以及刺激血管活性物质释放，从而导致血流减慢促进血栓前状态形成，其作用机制是通过与受体结合而活化钠通道，增加细胞外钙的流入和动员肌浆网的钙释放引起胞浆内钙离子浓度增高。凝血酶、肾上腺素、血管加压素、白介素I等均刺激内皮细胞释放ET-1，研究显示老年人ET-1水平较年轻人高，这可能是老年人易患血栓性疾病的原因之一。

多种疾病在血栓前状态的血浆中可见ET-1增高，如各种类型心绞痛，急性心肌梗塞，高血压，急性肾衰、内毒素性休克和DIC等。炎症性肠病的发生也与ET有关。目前认为ET在活动性IBD患者血浆中高表达，参与肠道内皮的缺血性损伤。Murch等<sup>[11]</sup>测定了IBD患者肠道组织内ET-1含量，其中CD病16例、UC9例，正常对照组13例。结果表明，IBD患者的ET免疫活性细胞百分率显著高于对照组，且肠道组织内ET含量亦显著升高。由此认为在IBD发生时，局部炎性细胞合成、释放ET，促进血管收缩，导致肠道缺血、缺氧，进而刺激肠粘膜细胞合成、分泌ET，加重肠道损伤，形成了恶性循环。总之，ET在炎症性肠病的发生发展中具有重要的作用。动物实验也证实ET-1拮抗剂可以降低IBD的发病率和减轻病变程度<sup>[12]</sup>。

### 二、血小板激活在炎症性肠病中的作用

血小板在介导炎症反应及血栓形成中均起重要作用。血小板激活和聚集是IBD患者高凝状态以及血栓形成的重要原因。研究显示活动性IBD患者主要表现为血小板计数升高，血小板密度增加，平均血小板容积(MPV)减低。血小板计数在IBD患者中异常升高，且与疾病严重程度有关，Harries等<sup>[13]</sup>提出血小板计数可以作为区别IBD与感染性腹泻的简单方法。Jaremo<sup>[14]</sup>对IBD患者血小板的密度及大小进行了研究，27例患者(UC18例，CD9例)与正常对照者比较，活动期IBD患者血小板密度较大而平均血小板容积(MPV)较小，较低的血小板容积与疾病的活动情况有关。此外体外研究也发现IBD患者对血小板促效剂尤为敏感有关<sup>[15]</sup>。Andoh等<sup>[16]</sup>研究不同条件刺激下的IBD患者血小板聚集反应，发现即使在疾病缓解期，几乎所有UC和CD患者对激动剂敏感性仍有一定程度的增加。活动性IBD患者血小板计数和血浆血小板源性微粒(PDMP)水平较对照组均有显著性增高，结论提示IBD患者血小板聚集反应增强，即使在非活动阶段的患者亦如此。

IBD患者血小板激活和聚集的原因可能有多种：(1)肠系膜血管内皮细胞损伤造成基底膜胶原暴露，触发血小板激活；内皮细胞暴露于内毒素或IL-1后会表达组织因子，随后形成凝血酶原复合物及产生凝血酶，造成一种高凝状态，进而刺激血小板激活和聚集。活动性IBD患者可能存在内毒素血症。内毒素或其它细

菌产物除诱导内皮细胞的促凝活性外，还可直接激活单核和/或中性粒细胞间接激活血小板。另外，PAF、血栓素 A2 等释放入肠系膜血循环也可导致血小板的激活。(2) IBD 患者常伴有血便，大便次数增多，造成血容量相对不足，血小板相对增多，而为了减少出血或止血，临床医生会选择应用各种止血、促凝药物，这又会进一步加重高凝状态，最终导致血栓形成。(3) 部分 IBD 患者要口服激素或静脉使用激素，糖皮质激素可促进骨髓生成血小板，使血小板数目增多。活化的血小板将其产生的血栓素、血小板活化因子释放至肠粘膜血循环中，又可以进一步促进血小板的活化。

血小板活性增加在IBD患者的病理生理变化中可能起着重要作用。聚集活化的血小板促进血栓形成阻塞微血管而引起缺血性损伤甚至梗塞。这已从组织学上证实，IBD患者的肠活检标本有血小板聚集，而衍生的血栓烷A2(TXA2)通过引起局部血管收缩加重缺血。血小板能够粘附于血管损伤部位，粘连变性的血小板可以相互聚集形成初期止血栓子；接触内皮下组织或在各种诱导剂作用下，血小板可通过膜磷脂代谢，产生各种磷脂代谢产物，如TXA2、血小板活化因子(PAF)等，而这些代谢产物又可导致血小板的释放反应，加强血小板聚集、血管收缩和血栓形成。血小板不仅参与了血液凝固过程的各个环节，还与炎症的发生发展有密切的关系。活化的血小板作为炎症细胞可直接参与炎症反应，释放多种炎症介质、化学趋化物并激活其他炎症细胞而促发IBD的肠粘膜病变。除了本身参与炎症反应，活化的血小板也可激活其他的炎症细胞参与炎症反应，有研究发现在UC患者血中因血小板的活化而形成大量血小板-白细胞聚集体(platelet-leukocyte aggregates, PLAs)，并参与血栓的形成<sup>[17]</sup>。血栓形成后加重了肠粘膜的缺血、缺氧，而进一步损伤肠粘膜，成为便血的重要机制，且损伤范围越广的患者，这种情况越明显。此外由血小板产生的血小板衍生因子(PDGF)也是中性粒细胞和成纤维细胞的趋化因子，因此其不仅参与炎症过程的起始过程，也与愈合、纤维化和狭窄形成有关。

另外近年来有许多研究报道了通过检测其表面的CD40L评判血小板的活性状态。CD40/CD40L系统是免疫炎症反应中细胞信息通道的关键介导因子，CD40/CD40L在IBD发病机制中具有重要作用，正常没有活化的血小板不表达或仅少量表达CD40L，而活动性IBD患者CD40L表达显著升高，且升高的CD40L主要来源于活化的血小板。而在病情活动期，血小板增多，血小板能被血液中各种不同因子活化并诱导表达CD40L。给予凝血酶刺激后，CD40L快速升高，1h内迅速降至基线，而UC和CD则升高更加明显。另外，人肠微血管内皮细胞(HIMEC)能够通过血小板上调CD40L和促进CD40L分泌，表明炎症的肠内微血管在介导IBD血小板活化上起着关键作用，更加突出了CD40L和CD40/CD40L相互作用在IBD发病机制中的重要地位<sup>[18,19]</sup>。

### 1. P-选择素(P-selectin)

P-选择素(又名血小板活化依赖颗粒表面膜蛋白，PADGEM，GMP-140)：分子量为140kd的单链糖蛋白，存在于静息血小板的 $\alpha$ 颗粒及内皮细胞的Weibel-Palade小体中，是细胞黏附分子中选择素家族成员，主要介导活化血小板、内皮细胞与白细胞等的黏附，其在IBD病理过程中的作用越来越受重视。Fagerstam等<sup>[20]</sup>研究发现IBD患者表达P-选择素的血小板基础水平高于正常者。P-选择素与多种炎症细胞的活化和浸润密切相关，因此在炎症反应中起重要作用，是血小板活化时敏感性和特异性较高的指标，在血栓前状态时常可见其增高。静止的血小板及内皮细胞表面不表达P-选择素，当组织发生炎症或受其他损伤时，经凝血酶或组胺等刺激，血小板的 $\alpha$ 颗粒和内皮细胞Weibel-Palade小体迅速与质膜融合而使P-选择素在血小板和内皮细胞的表面表达，与中性粒细胞、单核细胞表面的P-选择素配体相互作用，介导白细胞与活化的血小板的黏附反应以及在血管内皮细胞表面的滚动。血小板被激活后大量表达P-选择素，两者在炎症反应中所起的作用能够加速炎症反应过程，从而使IBD的易感性大大增加。

Schiirmann等<sup>[21]</sup>用免疫组织化学方法首次对IBD患者内皮细胞上的P-选择素表达情况作全面观察，发现IBD炎症区中P-选择素表达明显上调，而正常肠组织和炎症邻近区的P-选择素表达无多大改变，提示P-选择素参与炎症细胞向受累部位的聚集。此外研究发现P-选择素存在两种形式：一种为储存形式(见于胞浆)；另一种为释放形式(见于沿内皮细胞表面的纵向带)。在正常肠段及IBD未受累的肠段以储存形式为主，而高度炎症肠段则以释放形式为主。Collins等<sup>[22]</sup>研究IBD患者P-选择素水平，在30位CD患者中发现13例P-选

择素表达异常, 21例UC患者中有9例P-选择素异常, 均较正常人明显升高( $P<0.01$ )。该研究还显示活动期UC患者P-选择素显著高于缓解期患者, 后者又明显高于正常水平, 表明UC患者血小板处于活化状态, 且随病情加重而明显。此后相关研究发现活动期UC患者P-选择素含量与病情活动性及病情分型呈显著正相关, 缓解期患者P-选择素含量与病情活动性的相关性减弱, 提示血小板活化程度与病情变化密切相关。

P-选择素可作为血小板活化的敏感指标, 在临床上观察P-选择素的浓度变化可以了解IBD患者体内血小板活化程度及其活动程度。Collins<sup>[20]</sup>对UC和活动期类风湿性关节炎患者的P-选择素进行比较, 发现前者增加明显, 而后者与正常对照组相仿, 因此P-选择素可作为IBD病情活动性及病情分型较特异的指标。抗P-选择素抗体、纯化游离P-选择素可抑制活化的血小板和单核细胞及中性粒细胞的连接, 从而抑制炎症反应产生, 有鉴于此可进一步研究抗P-选择素抗体等在IBD 治疗中的意义<sup>[23]</sup>。

## 2. 血浆血小板球蛋白( $\beta$ -TG)

目前研究发现血小板释放功能亢进, 其释放产物 $\beta$ -TG及血小板4因子(PF-4)增加。 $\beta$ -TG是血小板 $\alpha$ 颗粒合成并分泌的一种血小板特异性蛋白质, 当血小板被激活时由 $\alpha$ 颗粒中释放出来入血, 导致血浆中含量增高。 $\beta$ -TG及PF-4能加速血小板聚集, 同时,  $\beta$ -TG还能抑制内皮细胞产生PGI<sub>2</sub>, 加重血液高凝状态。Vrij 等<sup>[24]</sup>研究发现与非炎症组比较, 活动期及非活动期IBD患者 $\beta$ -TG及PF-4均明显增高。血小板计数、 $\beta$ -TG及PF-4与疾病活动指数呈正相关。甚至经12个月的追踪观察,  $\beta$ -TG及PF-4水平仍高于正常。说明即使是在疾病的非活动期, 仍存在血小板的释放功能亢进, 这可能是导致处于血栓前状态的重要原因。Chamouard等<sup>[25]</sup>对21例CD患者研究发现,  $\beta$ -TG及PF-4在CD患者中的升高率分别为100%及60%。 $\beta$ -TG与CD患者VanHees活动指数呈显著性相关。Webberley等<sup>[26]</sup>测定了104位IBD患者的血小板功能, 患者的TXB<sub>2</sub>及 $\beta$ -球蛋白水平, 均较对照组显著升高( $P<0.001$ )。其中35人有自发性血小板聚集, 而正常对照组中却无这种现象( $P<0.0001$ ); 另有20例对低剂量ADP、胶原等血小板聚集剂有高敏反应( $P<0.001$ )。

## 3. 血浆血栓烷B<sub>2</sub>(TXB<sub>2</sub>)

众所周知, 血栓烷A<sub>2</sub>(TXA<sub>2</sub>)是血小板花生四烯酸代谢产物之一, 亦属血小板活化的标志物。因其半寿期短, 无法检测, 故多测其进一步转化为已无生物活性的TXB<sub>2</sub>。Hommes等<sup>[27]</sup>检测IBD患者TXB<sub>2</sub>水平, 在UC和CD患者中平均为719.3和549.7pg/ml, 远高于正常对照组(287.3pg/ml)。TXB<sub>2</sub>含量受多种体外因素的影响, 少量血小板在体外活化就可明显地增高血浆TXB<sub>2</sub>的含量。近年来已有检测血浆DH-TXB<sub>2</sub>的报道, DH-TXB<sub>2</sub>是由TXB<sub>2</sub>在体内形成的半寿期长的酶代谢产物, 由于它只在体内血小板活化后产生而不在体外形成, 故DH-TXB<sub>2</sub>测定是反映体内血小板活化的理想指标, 且其半寿期长(45分钟), 易于检测。

## 三、凝血系统活力增强和抗凝功能异常

IBD活动期除了有血小板变化外, 还可能有某些凝血因子的改变, 凝血活性增强和抗凝功能的异常。在急性暴发型病例中, 维生素K缺乏可引起凝血酶原(第II因子)降低以及第VII和第X因子轻度至中度减少, 以致凝血酶原时间(prothrombin time, PT)延长。在病变广泛者, 可见因子VII、XIII及血浆纤维蛋白原的增加。

因子VII是一种丝氨酸蛋白酶, 主要参与外源性凝血过程, 与组织凝血活酶及钙离子形成复合物, 激活因子X, 触发凝血的共同途径。Hudson等<sup>[28]</sup>研究发现IBD患者血浆因子VII浓度显著高于正常对照组, 它在有组织因子与Ca<sup>2+</sup>存在时, 激活因子X的能力增加16 000倍, 因而增加了凝血酶和纤维蛋白的产生。它还能促使局部纤维蛋白在肠血管腔表面沉积, 导致肠壁微血管的损伤和炎症。对血浆因子VII浓度升高的原因有不同解释。有人认为它不是急性反应物, 因它与IBD疾病活动性、C反应蛋白无关; 又有报道认为血浆VII浓度受饮食中脂肪含量的影响, 但Hudson的研究提示IBD组与正常对照组血浆甘油三酯浓度无显著性差异, 肠道炎症组织释放的激肽和激肽酶活化VII因子, 后者激活因子IX而增加因子VII产生, 因此VII因子可

通过内源性凝血系统的激活而增加<sup>[28]</sup>；另外，还有人认为血浆因子Ⅷ浓度可能是遗传决定的，这有助于认识IBD的遗传危险性<sup>[29]</sup>。

因子Ⅷ可使不稳定的纤维蛋白转变为稳定纤维蛋白，前者可溶于5M尿素及1%一氯醋酸，而后者不能溶于这两种溶液。Mori等<sup>[30]</sup>对14例UC患者(10例全结肠炎，4例左半结肠炎)及5例CD患者进行了调查，发现凝血因子Ⅷ及Ⅸ活动性增强。此外，血小板计数、聚集率及FBI也增加，因此认为，这种血液的高凝状态可能反映了临床疾病的活动情况和严重程度，也可反映疾病的预后并作为外科手术的适应证。

因子XⅢ的主要作用是在凝血过程中联结纤维蛋白γ链，使之成为不可溶性纤维蛋白，对纤维母细胞的生长和胶原纤维的合成也有重要作用，故它在凝血和创伤愈合中起重要作用。SeitzR等<sup>[31]</sup>的研究表明IBD患者活动期血浆因子XⅢ的水平显著低于静止期和健康对照组。另外，有人检测UC患者血浆因子XⅢ亚单位a与b的浓度，认为与疾病活动状态有关的是亚单位a而不是亚单位b的降低。假定在凝血过程中由于消耗了血浆XⅢ因子而使之水平下降，其下降可能是血液高凝状态的一种信号。它的低水平又可能导致出血倾向增加，而出血是UC的一个重要特征<sup>[32]</sup>。Lorenz等人发现传统治疗失败的IBD患者，其血浆因子XⅢ水平降低，用因子XⅢ替代治疗后，患者症状明显改善。因此，如果IBD中确实存在因子XⅢ低水平，则其替代疗法有望成为IBD患者的辅佐治疗。

约有55%的IBD患者纤维蛋白原(FBI)含量增高<sup>[26]</sup>；纤维蛋白肽A(FPA)是在凝血酶的作用下纤维蛋白原Au链的N端脱离FBI而形成的，脱离FPA后的FBI成为纤维蛋白1。FPA是凝血酶作用于纤维蛋白原的早期产物，反映凝血酶已形成的敏感指标，于血栓前状态时含量常增高，表明凝血功能亢进。Weber等<sup>[26]</sup>研究发现IBD患者FPA在活动期升高达到60%，而IBD患者FPA在静止期未见增高。

抗凝血酶Ⅲ(AT-Ⅲ)是血浆中最重要的生理性抗凝物质，约占血浆中总抗凝血酶活性的50%~70%。肝素作用于AT-Ⅲ的赖氨酸残基而使其抗凝血酶活性增强1000倍。在肝素的介导下灭活凝血酶、FIXa、FXa、FXIa、FXIIa等丝氨酸蛋白酶。一旦凝血酶形成后，由于机体的调控和防御作用，迅速与AT-Ⅲ以1:1摩尔浓度的比例关系结合成TAT以消除凝血酶的影响，因此TAT更能直接反映凝血酶生成和活性高低。Souto等<sup>[33]</sup>研究发现IBD患者AT-Ⅲ含量降低以及TAT含量增加，认为这可能与凝血酶产生增加及消耗增多有关。Sonoda等<sup>[34]</sup>报道，并发血栓的UC患者表达TAT相对于无血栓并发症的患者显著升高。在对18例UC患者研究发现，F<sub>1+2</sub>、TAT、纤溶酶-抗纤溶酶复合物((PAP)、PAI-1)与对照组相比显著升高，且与疾病活动有关，并发现纤维蛋白稳定因子(FXⅢ)在UC活动期的活性显著减低，从而认为UC活动期患者存在血栓形成的潜在危险。

前凝血酶原片段1+2(F<sub>1+2</sub>)是凝血酶原在Xa或其复合物的作用下，其氨基端273位精氨酸与274位苏氨酸之间肽链断裂的产物。正常人血浆中F<sub>1+2</sub>含量很低，血栓前状态早期凝血酶原激活物生成增多时，可见F<sub>1+2</sub>含量增高。Weber等<sup>[26]</sup>对年龄从4.5~23岁阶段的儿童及青年IBD患者进行了研究，结果24%的患者显示F<sub>1+2</sub>增高。Smith等<sup>[35]</sup>对29例连续的门诊IBD患者进行了观察，并收集了55份血样进行了分析。根据病变活动、近期活动(2个月内)、非活动期进行分组，结果显示43.3%(13/30)活动者及62.5%(5/8)近期活动者F<sub>1+2</sub>升高，非活动期患者未见F<sub>1+2</sub>升高，说明活动及近期活动患者存在形成血栓的危险。

#### 四、纤维蛋白溶解系统的作用减弱

一般而言，在人体凝血系统被激活的同时，纤溶系统也被激活而形成纤溶酶，后者降解未交联的纤维蛋白(及纤维蛋白原)而产生FDP，它是反映体内纤溶活性总水平的参数。纤溶酶降解已交联的纤维蛋白而产生D-二聚体，后者含量的增高表明机体的凝血和纤溶系统的双重激活。D-二聚体(D-dimer)是交联纤维蛋白降解后形成γ-γ链的纤维蛋白产物、为特异性最小片段，分子量为18600。在高凝状态和血栓形成的病理情况下明显增高，是一个反映凝血酶生成增高和继发性纤溶活性增强的有价值的指标。活动期UC患者血浆D-二聚体水平明显高于缓解期UC患者，也高于CD患者及对照组，且与病变范围呈正相关，表明活动期UC患者存在继发性纤溶功能亢进的病理生理改变，且其血浆内水平与反映炎症的指标的C反应蛋白和血清粘蛋

白相关<sup>[36]</sup>。虽然缓解期UC患者各指标也有可能轻度增高,但远不及活动期UC患者明显,因此纤溶指标升高程度可反映UC患者病情的活动程度。经治疗缓解后,炎症反应虽然得到一定控制,但仍高于健康人群对照组,表明对UC患者进行维持治疗的重要性,有学者提出对活动期UC患者进行可以进行低分子肝素抗凝治疗,而且没有明显的副作用<sup>[37]</sup>。

## 五、遗传因素

有人研究发现IBD并发血栓的患者大多年龄较轻,认为遗传因素参与了IBD患者血栓并发症的形成。曾有报道认为,UC患者存在因子V Leiden,凝血酶原 G20210A突变和亚甲基四氢叶酸还原酶在纯合子C677T的基因多态性<sup>[38]</sup>。最近有研究认为UC并发血栓的患者存在蛋白C缺乏,是由于因子V Leiden基因突变导致蛋白C的抵抗,从而使抗凝血活性降低所致<sup>[39]</sup>。Nagv等<sup>[40]</sup>检测了49例CD患者,29例UC患者和57例正常对照组的因子V Leiden基因突变率,入选的IBD患者既往无栓塞病史,结果发现3组的突变率分别为14.28%,27.58%和5.26%,无论是UC组或CD组与对照组比较都有统计学意义。Oldenburg等<sup>[41]</sup>的研究也证实IBD血栓发生与因子V Leiden基因突变有关。为研究IBD患者的血栓前状态是否与前凝血酶G20210A基因的突变有关,在Haslam等<sup>[42]</sup>对39例IBD患者(CD24例,UC15例)和100例正常对照者进行检查,IBD患者中未发现前凝血酶G20210A突变,提出前凝血酶 G20210A突变与IBD可能无关。在另一个大样本的队列研究也未发现高凝状态的易感基因突变与IBD患者并发血栓的相关性<sup>[43]</sup>。因此IBD血栓前状态是否存在遗传因素尚待进一步研究证实。

## 六、其他危险因素

IBD作为与自身免疫有关的疾病,亦具有自身免疫性疾病的基本特征。Braham等<sup>[44]</sup>提到了抗磷脂抗体(AcAPL)尤其是抗心磷脂抗体(anti-cardiolipin antibodies,ACL)和狼疮样抗凝物质在IBD中有异常表达。ACL主要作用于磷脂酰丝氨酸和磷脂酰肌醇。其促进血栓形成机制如下:①与血管内皮细胞表面带负电荷的磷脂作用后,使PGI<sub>2</sub>减少;②对血管内皮细胞造成直接免疫损伤,从而使血小板、XII因子活化;③增加纤维连接蛋白和vWF因子的释放;④刺激内皮细胞表达组织因子,减少纤溶酶激活物释放;⑤抑制凝血酶对蛋白C的活化;⑥抑制蛋白C对Va和VIIIa的灭活;⑦抑制蛋白S与磷脂结合。Koutroubakis等<sup>[45]</sup>报道比较83例UC与100例健康对照者的ACL水平,UC患者中有18%呈阳性,健康对照者仅有3%阳性,具有显著性差异,UC患者的ACL平均为53±31U/mL,远高于健康对照者2.5±0.6U/mL。

此外,近年来研究发现IBD患者血栓发生率增高可能与高同型半胱氨酸(Hey)血症有关,Hey作为一种炎症递质参与了IBD肠粘膜内皮炎症。近年来有报道显示,在UC患者的血浆和肠粘膜中Hey均有升高。Maire等<sup>[46]</sup>开展大规模的人群调查,对171例CD患者(男64例,女107例)的血样标本检测了Hey、叶酸和B<sub>12</sub>的浓度,89例(52%)CD患者观察到了高同型半胱氨酸血症,并与年龄、性别、吸烟习惯、血浆B<sub>12</sub>浓度和外科手术史有关。另外Oldenburg等<sup>[41]</sup>研究发现既往有血栓史的IBD患者Hey水平高于对照IBD患者,分别为40.9和27.2mM,由此提出高同型半胱氨酸血症是UC的血栓并发症危险因素之一。Kristensen等<sup>[47]</sup>发现,排除年龄、性别、体重指数、血清胆固醇和甘油三酯的影响,异常Hey水平与t-PA浓度显著相关,提示中度Hey升高可能增加与纤溶系统活性相关的血栓发生的危险度。

### 第三节 IBD 患者的抗凝治疗

由于多数IBD患者存在便血症状,UC中可达90%,以往的大多数临床医生采用止血芳酸、氨甲环酸等药物进行止血治疗,效果并不理想,病情反复发作。后经证实IBD患者的手术标本中,肠粘膜内存在许多微小血栓形成,并注意到IBD患者活动期局部血运是处于高凝状态,IBD患者的全血粘度低切值、全血粘度高切值、血浆粘度、全血还原粘度、红细胞压积等较正常人显著升高,红细胞聚集指数、血沉、血沉方程k值以及血小板聚集试验(PAgT)也明显升高。由于炎性刺激,血液中的血小板数量增多,粘附性增强,

从而促使血小板聚集成团，导致在粘膜表面血管中形成牢固的血栓，这是临床上使用抗凝剂治疗的理论依据之一<sup>[23]</sup>。

针对血小板在IBD发病中的作用，有人应用抑制血小板活化和聚集的药物取得了一定疗效。有学者认为小剂量阿司匹林可通过减少血栓素的合成而抑制血小板聚集降低IBD患者的血栓发生率，症状缓解后，也可以加用阿司匹林口服维持，对抑制IBD的复发可能起到积极的预防作用<sup>[23]</sup>。并且阿司匹林目前证实具有抑制结肠肿瘤发生的作用，因此在UC患者中进行阿司匹林的小剂量治疗的长期研究，观察其疾病缓解率和肿瘤发生率将是一件非常有意义的研究工作<sup>[48]</sup>。但需注意的是大剂量阿司匹林可能因其副作用较大而加重IBD的病情。

选择性抗血栓烷素剂可抑制三硝基苯磺酸诱导的动物结肠炎模型诱发的肠损害及非甾体消炎药诱导的肠道溃疡。现已有特异性血栓素合成抑制剂和受体拮抗剂可供使用，如Ridogrel治疗UC已有一定疗效，治疗动脉血管疾病的Picotamine也用于IBD的临床试验。但在Stack等<sup>[49]</sup>的研究中，76例活动性UC患者应用有对抗血小板活化因子作用的SR27417A进行治疗，但研究结果却显示与安慰剂组无显著疗效，因而关于其在活动性IBD患者的实际疗效尚需进一步研究考证。

近年来有许多学者探索了低分子肝素对IBD的治疗作用。在一项20例IBD患者(17例UC，3例CD)的研究中发现肝素治疗组与口服激素治疗组在症状缓解、内镜表现、病理组织学检查方面具有相近的疗效<sup>[50]</sup>。目前关于肝素治疗UC的机制尚未明确。低分子肝素是一种新型的抗凝血酶III(AT III)依赖性抗血栓形成药，是从肝素(SH)分离或降解而来(分子量4000~6000)其药理作用与普通肝素基本相似，但低分子肝素半衰期较长。普通肝素可分离抗血栓活性和抗凝血活性，血浆中凝血酶(即因子II a)活性和凝血关系密切，因子Xa活性与血栓形成关系密切。由于低分子肝素抗因子Xa活性与抗因子II a活性之比为2.5—5.0，而普通肝素为1.0左右，因此，低分子肝素对动静脉血栓的形成有抑制和溶解作用，抗凝作用强，对白陶土部分凝血活酶时间(KPTT)，凝血酶凝结时间(TT)影响小，并不影响血小板凝聚，也不影响微血管通透性，出血副作用少，一般剂量无需实验室监测。此外，Michell等<sup>[51]</sup>提出其治疗作用还可能与其直接抗炎作用有关。肝素作为一种粘多糖，具有多种生物学效应，包括强有力的抗炎作用和增强生长因子的活性，后者在粘膜的再生、修复中起重要作用。也有研究认为肝素可以补充成纤维细胞生长因子的结合位点促进溃疡粘膜的愈合<sup>[52]</sup>。

低分子肝素较普通肝素有效且安全，能减少或延迟糖皮质激素的应用。故而对IBD患者血液的高凝状态，用其辅助治疗活动性IBD，不仅能预防和溶解肠粘膜内微小血栓形成，改善肠粘膜微循环，还可直接抑制肠粘膜的炎性反应，达到减少炎性渗出、修复粘膜的目的。Gaffney等<sup>[53]</sup>报道肝素治疗10例UC患者(重度8例，中度2例)，其中9例用SASP和强的松控制疗效差，10例中4例开始肝素30000~36000 U静滴，继以10000U皮下注射，每日2次，另外6例一直用10000U皮下注射，每日2次，同时这些患者合用SASP 1.0 g，每日3次，疗程6个月。9例患者的临床内镜和组织学完全缓解，平均好转时间3.2周，平均缓解时间6周，另1例病人也有好转。Evans等<sup>[54]</sup>报道16例UC经大剂量激素治疗无效后改用肝素治疗，开始25000 U/日，以后根据临床缓解情况降至5000 U/日，1周后有12例患者显示大便次数显著减少，2周后大便次数从原来的8次/日减为3.5次/日；4周时这12例患者临床症状均有所缓解，仅有4例无效。在应用肝素使用过程中需注意联合应用5-氨基水杨酸或柳氮磺胺吡啶等药物，单独使用低分子量肝素则对疾病的治疗效果欠佳。Panes等<sup>[55]</sup>在UC的多中心随机研究中分甲泼尼龙组和肝素组，治疗10天后，甲泼尼龙组69%患者获得良好控制或病情缓解，而肝素组无一例改善，而且有3例因便血加重退出试验，其中1例接受手术治疗。因此作者认为单用肝素在治疗中、重度UC无效，且可加重便血的危险。另外的一些报道也认为肝素治疗IBD可能无效。有学者对低分子量肝素进行的一项随机对照双盲研究中发现，在结肠炎症活动情况和临床分级，内镜检查和病理组织学分型情况等方面，肝素治疗组和对照组并无显著性差异<sup>[56]</sup>。

中药治疗IBD以其独到的优势，已经得到普遍肯定。近年来以活血化瘀为主治疗IBD的临床用药包括川芎注射液、丹参注射液、红花注射液等，但尚缺乏大规模双盲随机对照的临床研究。