

综 述

易栓症相关遗传因素研究进展

项松鹤 李健(审校)

作者单位:100853 北京市,解放军总医院临床检验科

深静脉血栓(deep vein thrombosis, DVT)形成和肺栓塞(pulmonary embolism, PE)均属于静脉血栓栓塞症(venous thromboembolism, VTE),他们是同一疾病的不同表现形式。DVT 的发生率随年龄增加而增高,年轻患者若无肥胖、妊娠、手术等获得性危险因素而发生血栓或有血栓栓塞性疾病家族史者反复发生血栓时,可诊断为易栓症。易栓症患者临床上以反复发作性静脉血栓为主要表现,也可发生动脉血栓栓塞。血栓形成或栓塞可为自发或诱发生,其诱因常是妊娠、产后、手术、创伤和药物等。

易栓症于 1965 年由 Egeberg 在报道一个挪威家族遗传性抗凝血酶(antithrombin, AT)缺乏症伴血栓栓塞时提出。近年来,该词的含义已扩大到其他有血栓栓塞的遗传性血液凝固调节蛋白缺陷、凝血因子异常和纤溶成分缺陷或代谢障碍等疾病。常见的遗传性易栓症有蛋白 C(protein C, PC)缺陷症、蛋白 S(protein S, PS)缺陷症、AT 缺陷症、因子 V Leiden(factor V Leiden, FVL)突变和凝血酶原 20210A 突变等,皆为基因缺陷导致相应蛋白减少和(或)质量异常所致。临床上易栓症患者的血栓与止血检验主要是某个血液凝固调节蛋白、凝血因子和纤溶成分分子结构的单一性缺陷,可通过基因分析和(或)蛋白活性水平测定,对易栓症进行实验室分型,检验结果对易栓症的诊断具有决定性的作用。本文就近年来易栓症相关遗传因素的研究进展做一综述。

1 PC 系统遗传缺陷

PC 系统的遗传缺陷为常染色体遗传病^[1]。PC 系统是血浆中重要的抗凝系统,由 PC、PS、血栓调节蛋白(thrombomodulin, TM)、内皮细胞蛋白 C 受体(endothelial protein C receptor, EPCR)组成,其中 PC 为抗凝系统的关键成分。PC 和 PS 是由肝脏合成的维生素 K 依赖性糖蛋白,PC 以酶原形式存在于血浆中,在内皮细胞表面被凝血酶激活成活化的蛋白 C(activated protein C, APC);在体内,凝血酶与 TM 结合成复合物后,能迅速与 PC 结合,使 PC 活化速度增加,APC 与他的辅助因子 PS 在负电荷磷脂膜表面共同灭活凝血因子 V 和 VIII,限制凝血因子 Xa 与血小板结合,促进纤维蛋白溶解。

PC、PS 缺陷症是最早发现的遗传缺陷,PC 和 PS 缺乏是中国人人群中 VTE 的重要危险因素,而 AT 缺失与 VTE 的发生

并无显著关联。但西方近几年研究^[2-3]发现只有少数血栓形成与 PC、PS 的遗传缺陷有关。有研究^[4]报道在基因变异影响 PC 和 PS 活性的程度上,鉴定了其在性别上的差异,女性 PS 的活性比男性低,若考虑年龄关系,在 50 至 59 岁的个体中,女性 PS 的活性比男性低 16%。在日本人群中, γ -羧基化相关单核苷酸基因多态性与 PC 和 PS 的活性有关联。此研究结果支持了 γ -羧基化系统的遗传变异和个体间维生素 K 依赖的血浆蛋白质水平及其活性的差异。另有研究^[5]表明,PC 活性在非洲家系中较低,并显示了种族起源是独立于后天性危险因素的决定性因素。

1.1 PC 基因缺陷 PC 基因位于第 2 号染色体(2q13-q14),基因长 11 kb,其 cDNA 已被克隆,包括 5' 非编码区(73 bp)、开放阅读框架(1383 bp)、3' 非编码区(296 bp)及 polyA 尾(38 bp)。PC 缺陷分为两型,Ⅰ型同时有 PC 浓度与功能的减低,Ⅱ型主要为功能异常,Ⅰ型较Ⅱ型多见,但表型的不同与血栓的危险程度没有明显关系。PC 缺陷症患者除表现为复发性 DVT 外,还常表现为暴发性紫癜、出血性皮肤坏死、血栓性血小板减少性紫癜、弥漫性血管内凝血等。个别患者还可以有动脉系统血栓的形成,尤其是纯合子患者。杂合子患者血栓形成的发生率较低,且常有较明确的诱因。

PC 基因突变的遗传多态性是静脉栓塞的重要危险因素,在中国汉族人群中,PC 单体型-1641A/-1654C 与器官损伤有关,并且是致命性败血症的独立危险因素^[6]。由于 PC 系统的抗凝、抗炎、细胞保护和免疫调节机制特性,基因编码 PC 途径构成是潜在的后备力量,不仅对动脉粥样硬化和局部缺血是如此,对炎症及其他与老龄化相关联的疾病也有相同作用^[7]。对于急性肺损伤的患者,其血浆及肺水肿液中浓集的 PC、TM、组织因子、纤溶酶原活化抑制剂-1(plasminogen activator inhibitor, PAI-1)是急性肺损伤患者病情恶化的生物学标记物。这些物质的含量的改变受环境因素影响,同时也受基因遗传性的影响^[8]。幼儿 PC 启动子基因型与脑膜炎球菌性疾病的易感性有关,可以发展成为脑膜炎球菌败血症,出现低血压,甚至需要肾上腺素能药物的支持^[9]。

1.2 PS 基因缺陷 PS 基因位于第 3 号染色体上,cDNA 长 1.8 kb。PS 为 PC 的辅因子,可提高 APC 的活性,所以 PS 缺陷

也可导致血栓形成。血浆中的 PS 有两种状态, 65% 的 PS 与补体 C4b 结合蛋白形成复合物, 无辅因子活性, 其余 35% 的 PS 呈游离状态, 是 PS 的活性部分。PS 基因的启动子区有 Sp1 转录因子区域, 该区域是抗凝表达的本质区域^[10]。PS 缺陷可分为 3 型: I 型为量的缺乏, 游离 PS 与总 PS 均减少, 但分子结构正常; II 型为质的异常, 导致抗凝功能的丧失; III 型为游离 PS 减少, 但总 PS 量正常。

血浆 PS 浓度在男性稍高于女性, 女性在妊娠期有逐渐降低的趋势, 使用含雌激素的避孕药或激素替代治疗也可降低血浆 PS 浓度。有研究^[11]证实雌激素受体 beta 1730GNA 多态性的 GG 遗传型对实验控制组中 PS 活性的增强有影响, PS 活性在雌激素受体 beta 1730GNA 基因多态性 AA 遗传型的正常妇女中较低, 说明了雌激素受体的多态现象通过与 Sp1 部位相互作用而干涉了反应型。PS 缺陷在人群中的发生率尚不清楚, 约 3% 的 VTE 患者的游离 PS 浓度降低, 而在正常对照仅为 1.3%, 提示低浓度的游离 PS 是静脉血栓的一个轻度危险因素, 仅使血栓发生的危险性增加 2 倍左右, 但能增加其它遗传缺陷发生血栓的概率。

1.3 TM TM 基因位于第 20 号染色体, 是一单拷贝基因, cDNA 长 3.7 kb, 包含 5' 非编码区 (146 bp), 阅读框架 (1725 bp, 编码 575 氨基酸的蛋白质), 3' 非编码区 (17790 bp) 及 40 bp 的 polyA 尾, 与 PC 分子有同源性, 已知 TM 存在于除脑血管外的所有血管内皮细胞中, 淋巴管内皮细胞、成骨细胞、血小板、原始巨核细胞及循环单核细胞中也有发现。

TM 主要是作为凝血酶受体发挥生物学效应, 一方面, TM 作为凝血酶受体与凝血酶 1:1 结合形成高亲和力的可逆性复合物后, 迅速与 PC 结合, 使 PC 活化效能提高约 1000 倍, 并促进 APC 发挥抗凝作用; TM-凝血酶复合物可引起凝血酶结构改变, 使凝血酶丧失了活化纤维蛋白原、促进血小板聚集和反馈性激活凝血因子 V、VIII、XI 的作用; TM 通过与活化的凝血因子 Xa 结合来抑制该因子对凝血酶原的活化作用; TM 还将凝血酶吞噬入细胞内, 导致后者被溶酶体降解, 使其自体内被清除。另一方面, TM-凝血酶复合物可活化纤溶抑制物从而抑制纤维蛋白溶解, 达到促凝的作用^[12]。

TM 也是细胞间黏附分子的一种, 参与肿瘤细胞的产生、增殖和转移。TM 在体内通常在细胞膜表面和血浆中稳定表达, 当人体内正常内皮细胞病变和损伤时, 常发生 TM 在膜表面和血浆中表达水平的变化^[13]。近些年的临床研究^[14]表明, 许多心脑血管疾病, 肿瘤疾病, 儿科疾病的发病与治疗前后常发生 TM 表达水平的显著变化。但吴永忠等^[15]通过对 49 名脑梗死患者和 30 名年龄及性别相匹配的健康对照者的研究发现, 脑梗死组 C1418T 基因突变率与对照组相比较, 两者间无统计学差异, 提示该基因突变并非是我国脑血管病患者发病的危险因素。TM 水平变化及基因突变还可能与一些疾病的

发生有重要关系, 其具体机制还有待于进一步研究。

1.4 EPCR EPCR 基因位于染色体 20q11.2, 长 6 kb, 是一种完整的膜蛋白。EPCR 基因至少有四个单元型, 其中 A1 和 A3 单元型由 4678G/C 和 4600A/G 多态性标记。A1 单元型携带者可以通过增加血浆中 APC 浓度来降低早产儿心肌梗死的风险; A3 单元型仅仅在部分提高可溶性 EPCR 浓度的时候, 可以减少心肌梗死的风险, 然而其作用机制尚不清楚。

对欧美老年心脏疾病患者的研究表明^[7], PROCr Ser219Gly 突变体与高浓度的可溶性 EPCR 有很大的关系, 同时与高浓度 PC 有关, 但是没有证据说明 PROCr Ser219Gly 与心血管疾病有关; 另外一个普通的 PROCr 变种 rs2069948 与增加创伤和死亡率有关, 在随访中发现, PROCr 变种 rs2069948 可以降低患者存活率, 并且可以降低 PROCr mRNA 在淋巴样细胞中的表达。PC-EPCR 途径在内皮及免疫细胞中所起到的作用, 不仅与 PROCr rs2069948 对自然老化的表现现象影响有关联, 同时也与 APC 在治疗严重性败血症时的益处相关。有证据^[16]证明 rs2069948 和 EDEM2 及 GSS 区域基因的表达有关, EDEM2 及 GSS 分别关系到蛋白质折叠和氧化性损伤反应。还有一些其他的细胞进程或许对 PROCr 危险单体的某些表现效应起作用。

2 AT

AT 是血浆中最重要的抗凝物质之一, 人类 AT 基因位于 1 号染色体长臂 (1q23-25), 长约 13.5 kb, 包括 7 个外显子和 6 个内含子, 主要由肝细胞合成。AT 可中和凝血因子 II、VII、IX、X、XI, 抑制血栓形成, 其与丝氨酸蛋白酶作用的活性位点位于 Arg393-Ser394 处, 这种共价结合是不可逆的, 但是能被肝素或硫酸乙酰肝素大大加强。AT 与其他丝氨酸蛋白酶抑制物如肝素辅因子、PAI 等在氨基酸序列结构上有同源性。AT 基因被雌激素经由雌激素受体调节, 而在口服避孕药或者激素替代疗法的亚群中, AT 的含量比较低^[11], 这是导致妊娠及产后出现血栓形成倾向的原因。

3 凝血因子 V1691G/A 突变和活化蛋白 C 抵抗

凝血因子 V 是由肝细胞和巨核细胞合成的一种单链糖蛋白, 在凝血过程中位于内外源性凝血途径的交汇点, 加速和促进凝血酶原的激活和凝血酶的生成。经 Xa 裂解后活化, 活化的凝血因子 V 可以提高 Xa 和 IXa 的活性。研究^[6, 17]发现, 凝血因子 V 基因 1691 位点突变 (G→A), 使 506 位的精氨酸被谷氨酰胺替代, 称为 FVL, 使 APC 对凝血因子 V 的灭活作用明显减弱而造成血液高凝状态, 这种凝血因子 V 对 APC 的不反应或反应降低称为活化蛋白 C 抵抗 (activated protein C resistant, APCR), APCR 导致血液高凝状态, 破坏体内凝血和抗凝平衡, 抗凝作用减弱, 从而使血栓发病风险增加。

FVL 和凝血酶原 G20210A 突变体是 DVT 最流行的遗传因素。研究^[18]显示这些突变在一些患者的亚群中有更重要的

作用,特别在口服避孕药的患者中。FVL 的突变率在白种人中是遗传性易栓症中最常见的一种异常,但是在我国人群中较少见^[6]。初发 DVT 的患者多数合并有 FVL 突变,有易栓症家族史患者的 FVL 突变阳性率更高。FVL 突变的杂合子携带者与非携带者相比较,FVL 突变的杂合子携带者增加了静脉血栓形成的风险。然而在脑血栓、DVT 和 PE 患者中,FVL 突变所致发病率与实验控制组相比差异均无统计学意义^[19]。FVL 突变的杂合子发生静脉血栓的概率比一般人高,纯合子的发生概率更高。在有 APCR 而无 FVL 突变的家系中已发现有因子 V 第 506 位氨基酸点突变(因子 V Cambridge)与单倍型因子 V 突变,后者与 FVL 共遗传者发生静脉血栓栓塞的危险高于单纯的 FVL 突变者^[19]。

4 凝血酶原基因 G20210A(FⅡG20210A)突变

凝血酶原是凝血酶的前体,能激活凝血因子 V 和Ⅷ,使纤维蛋白原转变为纤维蛋白。1996 年首次报道凝血酶原基因 3' 端转录区 20210 位鸟嘌呤突变为腺嘌呤(G→A)与血浆凝血酶原含量升高有关,使血液促凝活性增强,是静脉系统血栓性疾病的危险因素之一。FⅡG20210A 突变是比 FVL 相对较弱的 VTE 危险因素。出现血栓症临床症状的 FⅡG20210A 基因携带者多伴随继发因素(口服避孕药、妊娠、手术、创伤)和高龄因素。有研究^[20]发现,去除其它遗传因素(AT、PC、PS 缺乏或凝血因子 V 1691G/A 突变)影响后,与 FⅡG20210A 突变关联的 VTE 患者是实验对照组的 3.4 倍。以年龄为控制因素,年轻患者中(45 岁以下)FⅡG20210A 基因型是相对较弱的危险因素,患者同时存在继发危险因素时才出现血栓症状。相反,在年长患者中(45 岁以上),FⅡG20210A 基因型者易自发形成血栓。对于合并 PE 的静脉血栓患者 FⅡG20210A 基因携带率与单纯静脉血栓患者相仿,FⅡG20210A 携带者可能和独立存在的 PE 并不相关。研究^[21]表明,FⅡG20210A 突变在中国人群中非常少见,并非是 VTE 或 PE 的独立危险因素。

5 高同型半胱氨酸(homocysteine, HCY)血症和亚甲基四氢叶酸还原酶(methylenetetrahydrofolate reductase, MTHFR)基因 C677T 多态性

高 HCY 血症是先天性蛋氨酸代谢紊乱造成血浆中 HCY 升高超过正常值的 95%而产生的疾病。HCY 的体内代谢有两条途径:一条是经转硫基途径生成胱氨酸,需胱硫醚 β 合成酶和维生素 B₆ 作为辅因子。另一条是经再甲基化途径生成蛋氨酸,需维生素 B₁₂ 和 MTHFR 参与。因此,维生素 B₆、维生素 B₁₂、叶酸的缺乏和 MTHFR、胱硫醚 β 合成酶的异常都可造成 HCY 升高。高 HCY 血症引起 VTE 的机制与组织因子的表达增加、抗凝过程的削弱、凝血酶活性的加强、凝血因子 V 活性的增加、纤维蛋白溶解电位的损坏、血管的损伤及内皮功能障碍有关,但其分子机制并未完全明了,可能涉及氧化应激、

DNA 低甲基化和促炎症反应^[22]。

在西方人中的研究^[23]表明,高 HCY 血症、低血清叶酸和维生素 B₁₂ 为 VTE 的独立危险因素。但 MTHFR 基因 C677T 基因型与患 VTE 风险增加的关系不大。中国人群中高 HCY 血症和叶酸缺乏是 VTE 的独立危险因素,叶酸缺乏是高 HCY 血症的原因之一,而 MTHFR 基因 C677T 多态性只是引起叶酸缺乏的遗传因素而已,但中国人群 MTHFR 基因 C677T 基因型频率明显高于西方人群^[21,24]。

1993 年 APCR 的发现、1994 年 FVL 突变的确立、1995 年 MTHFR 基因 677C→T 突变以及 1996 年凝血酶原 G20210A 多态的发现,基本确立了白种人群 VTE 的主要遗传易感因素。然而在白种人中最常见的 FVL 和凝血酶原 G20210A 在我国却非常少见,PC 系统的异常及高 HCY 血症却明显多于西方人群,成为中国人 VTE 的重要危险因素,提示 VTE 遗传性危险因素存在着种族差异,所以遗传性易栓症种族差异较大,西方人 VTE 患者中 FVL 突变和凝血酶原 G20210A 突变的检出率>50%,而 PC、PS 和(或)ATⅢ缺乏的检出率较低,其中高加索人 3 种抗凝蛋白检出率均<1%。而汉族 VTE 患者中这 3 种抗凝蛋白缺乏的检出率明显增高^[25,26]。ABO 血型与 VTE 发生的关系也不能被人们忽视,非 O 血型可能会影响血栓形成的风险,这在一个种群的研究^[22,27]中已经确立了它的高危险性。有文献^[6,9]表明,PC 的缺乏比 V 因子和凝血酶原 G20210A 位基因突变更易导致血栓形成。

有研究^[28]显示,遗传性易栓症与妊娠相关疾病存在联系,在伴有妊娠合并症的妇女中,有 49%~65%出现血栓形成倾向异常,而在正常妊娠的妇女中只有 18%~22%,其风险增加了 3~8 倍,但迄今为止,其潜在的病理生理机制尚不清楚。

易栓症的遗传性因素有很多,在我们发现并明确了部分原因的同时,还有很多尚未明确的因素存在,因此,在区分种族、性别、年龄、地域等因素的情况下,仍需要大量的研究进行更进一步的探索,为预防和治疗易栓症提供更多的依据。

6 参考文献

- 1 Dahlback B, Villoutreix BO. The anticoagulant protein C pathway. FEBS Lett, 2005, 579: 3310-3316.
- 2 Chen TY, Su WC, Tsao CJ. Incidence of thrombophilia detected in southern Taiwanese patients with venous thrombosis. Ann Hematol, 2003, 82: 114-117.
- 3 Undas A, Brozek J, Szczeklik A. Homocysteine and thrombosis: from basic science to clinical evidence. Thromb Haemost, 2005, 94: 907-915.
- 4 Kimura R, Kokubo Y, Miyashita K, et al. Polymorphisms in vitamin K dependent gamma-carboxylation-related genes influence interindividual variability in plasma protein C and protein S activities in the general population. Int J Hematology, 2006, 84: 387-397.

- 5 Jerrard-Dunne P, Evans A, McGovern R, et al. Ethnic differences in markers of thrombophilia: implications for the investigation of ischemic stroke in multiethnic populations: the South London Ethnicity and Stroke Study. *Stroke*, 2003, 34: 1821-1826.
- 6 Chen QX, Wu SJ, Wang HH, et al. Protein C -1641A/-1654C haplotype is associated with organ dysfunction and the fatal outcome of severe sepsis in Chinese Han population. *Hum Genet*, 2008, 123: 281-287.
- 7 Reiner AP, Carty CL, Jenny NS, et al. PROC, PROCr and PROS1 polymorphisms, plasma anticoagulant phenotypes, and risk of cardiovascular disease and mortality in older adults: the Cardiovascular Health Study. *J Throm Haemost*, 2008, 6: 1625-1632.
- 8 Sapru A, Wiemels JL, Witte JS, et al. Acute lung injury and the coagulation pathway: Potential role of gene polymorphisms in the protein C and fibrinolytic pathways. *Intensive Care Med*, 2006, 32: 1293-1303.
- 9 Binder A, Endter G, Rieger S, et al. Protein C promoter polymorphisms associate with sepsis in children with systemic meningococemia. *Hum Genet*, 2007, 122: 183-190.
- 10 Tatewaki H, Tsuda H, Kanaji T, et al. Characterization of the human protein S gene promoter: a possible role of transcription factors Sp1 and HNF3 in liver. *Thromb Haemost*, 2003, 90: 1029-1039.
- 11 Alessio AM, Hoehr NE, Siqueira LH, et al. Association between estrogen receptor alpha and beta gene polymorphisms and deep vein thrombosis. *Thromb Res*, 2007, 120: 639-645.
- 12 侯晓艳, 孟强. 血栓调节蛋白基因多态性及其血浆水平与脑梗死的关系. *中国神经免疫学和神经病学杂志*, 2011, 18: 126-128.
- 13 董韶, 刘秀珍, 刘从彬, 等. 血栓调节蛋白的临床研究进展. *安徽医药*, 2010, 14: 383-384.
- 14 Olivot JM, Labreuche J, De Broucker T, et al. Thrombomodulin gene polymorphisms in brain infarction and mortality after stroke. *J Neurol*, 2008, 255: 514-519.
- 15 吴永忠, 常履华, 任惠, 等. 汉族急性脑血管病患者血浆血栓调节蛋白的变化和血栓调节蛋白基因 Ala455Val (C1418T) 多态性研究. *国际脑血管病杂志*, 2010, 18: 21-25.
- 16 Medina P, Navarro S, Corral J, et al. Endothelial protein C receptor polymorphisms and risk of myocardial infarction. *Haematologica*, 2008, 93: 1358-1363.
- 17 姜孝奎, 戈小虎. 遗传性易栓症的研究现状. *中国普外基础与临床杂志*, 2010, 17: 686-689.
- 18 Rosendaal FR. Venous thrombosis: the role of genes, environment, and behavior. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*, 2005: 1-12.
- 19 Altinisk J, Ates O, Ulutin T, et al. Factor V Leiden, prothrombin G20210A, and protein C mutation frequency in Turkish venous thrombosis patients. *Clin Appl Thromb Hemost*, 2008, 14: 415-420.
- 20 Emmerich J, Rosendaal FR, Cattaneo M, et al. Combined effect of factor V Leiden and prothrombin 20210A on the risk of venous thromboembolism—pooled analysis of 8 case-control studies including 2310 cases and 3204 controls. Study Group for Pooled-Analysis in Venous Thromboembolism. *Thromb Haemost*, 2001, 86: 809-816.
- 21 Lu Y, Zhao Y, Liu G, et al. Factor V gene G1691A mutation, prothrombin gene G20210A mutation, and MTHFR gene C677T mutation are not risk factors for pulmonary thromboembolism in Chinese population. *Thromb Res*, 2002, 106: 7-12.
- 22 Procure-GEHT Group. ABO blood group but not haemostasis genetic polymorphisms significantly influence thrombotic risk: a study of 130 homozygotes for the Factor V Leiden mutation. *Br J Haematol*, 2006, 135: 697-702.
- 23 Oger E, Lacut K, Le Gal G, et al. Hyperhomocysteinemia and low B vitamin levels are independently associated with venous thromboembolism: results from the EDITH study: a hospital based case-control study. *J Thromb Haemost*, 2006, 4: 793-799.
- 24 Wang MT, Li Q, Han FL, et al. Relationship of plasma homocysteine and folic acid levels and 5, 10-methylenetetra-hydrofolate reductase gene mutation with venous thromboembolism. *Zhong hua Nei Ke Za Zhi*, 2004, 43: 591-594.
- 25 王增智, 赵秀清, 郭伟, 等. 肺血栓栓塞症患者易栓症的分析研究. *心肺血管病杂志*, 2010, 29: 357-359.
- 26 张子波, 杨康鹏, 郝萍, 等. 朝鲜族居民高血压遗传特征及危险因素分析. *中国公共卫生*, 2011, 27: 40-42.
- 27 邱旭升. ABO 血型与静脉血栓栓塞症的关系. *医学综述*, 2010, 16: 2889-2892.
- 28 阮焱, 张为远. 遗传性易栓症对母婴不良结局的影响. *实用妇产科杂志*, 2009, 25: 134-136.

(收稿日期: 2011-01-12)

(本文编辑: 李鑫)

热烈庆祝首届医师协会医师节,
祝全国广大医师节日快乐!

实用检验医师杂志