

[文章编号] 1000-2200(2004)01-0090-02

深静脉血栓形成的分子生物学研究进展

段鹏飞 综述, 李晓强 审校

[关键词] 血栓形成; 血管疾病; 静脉; 分子生物学; 综述

[中国图书资料分类法分类号] R 364.15; R 543.6 [文献标识码] A

随着人们生活水平的提高,深静脉血栓形成的发生率呈逐渐上升的趋势;且与年龄有关,由儿童时期的1/100 000万到老年后的几乎1%。自20世纪80年代陆续发现蛋白C、蛋白S遗传缺陷所致的家族高静脉血栓形成倾向以来,又有一些在凝血和抗凝两系统中易致血栓形成的危险因素也相继被揭示。研究表明^[1],所有这些危险因素共同作用可以增加静脉血栓的发病率10倍以上。本文就深静脉血栓形成的分子生物学研究进展作一综述。

1 抗凝蛋白缺陷

1.1 蛋白C(PC)缺陷 PC缺陷所引起的血栓形成发病率约为2%~5%。在年轻的复发血栓患者中这一比例高达10%~15%。PC缺陷是一常染色体隐性遗传疾病,在具有这种基因缺陷的家族成员中,30~40岁年龄段人群的血栓发病率甚至可达到50%^[2],这说明PC缺乏是一极其危险因素。目前已鉴定为基因突变导致的PC缺乏症已达300多例,突变热点主要在3222G mRNA剪切区供体e和3439C→T导致Gln132→终止密码^[3]。新近还在中国长沙一个有遗传静脉血栓形成(VTB)的家族中检测到一种新突变His134→ASN,称为PC长沙^[4]。

1.2 蛋白S(PS)缺陷 PS缺乏人群静脉血栓的发生率约为0.1%,占静脉血栓总发病率的5%~6%。Martinelli等^[5]对有血栓形成倾向的50个家庭中723人检测发现,PS缺乏占6%,低于PC缺乏(9%)、FVLeiden突变(28%)及抗凝血酶III(AT-III)缺陷(12%),但PS缺乏患者发生血栓的比率达30%,明显高于其他遗传缺陷,且100%为深静脉血栓形成(DVT),提示PS缺乏与DVT的关系可能更加密切。台湾和香港学者研究均发现PS缺陷发病率高达32.9%和21.3%,可能为国人静脉血栓常见病因。迄今为止,PS基因突变已报道了43种,一种特殊突变是其终止密码于636TAA→TAT,导致PS延长14个氨基酸,蛋白物象发生变化^[6]。

1.3 抗凝血酶III(AT-III)缺乏症 AT-III是正常人血浆中重要的丝氨酸蛋白酶抑制剂,它通过抑制凝血酶、FXa等凝血因子的活性来调节血凝平衡^[7],但AT-III本身并无活性,它需要被内皮细胞表面的肝素或肝素样分子激活,从而暴露出AT-III的反应中心环(RCL)^[8],这一机制就是使用肝素抗凝的基础。AT-III缺乏分为两型:I型为正常AT-III分子合

成降低50%;II型为变异型,不仅功能活性降低,而且抗原活性升高。II型中又分为RS型,影响到活性作用位点;HBS型,影响到肝素结合位点;PE型,具有复合和多效作用。AT-III缺陷是第一个被发现与家族性VTB有关的遗传性疾病,主要表现为DVT,约2/3的患者首次发病在35岁以前。有报道,在中国广东省遗传易栓症患者中该缺陷发生率较高,约占15%~30%。

1.4 组织因子途径抑制物(TFPI)与VTB 现代凝血新概念的特点是:所有已知凝血因子均通过组织因子(TF)/FVIIa走一个通路而启动凝血过程。TFPI是一种糖蛋白,由276个氨基酸组成,血浆中TFPI大多与低密度脂蛋白(LDL)结合,少数为游离型,这一点可被静脉注射肝素引起血浆TFPI浓度升高2~8倍证明。TFPI基因位于染色体2q31~q31.1上,但目前尚未发现有缺陷的报道,Huang等^[9]研究发现,剔除了TFPI的小鼠表现为无法控制的凝血激活,待耗尽凝血因子后死亡。由此推断缺乏TFPI的人群是无法生存的。

2 凝血因子与VTB

2.1 FVLeiden突变与活化的蛋白C抵抗现象(APCR) Dehalkack首次报道了一种新的遗传病APCR,随后证实APCR的原因是FV基因1691G→A,这样生成的特殊分子命名为FVLeiden。FVLeiden突变不改变血浆的凝血活性,只是增加了它抵抗裂解灭活的稳定性,并可通过引发APCR减弱FVIIIa被APC/PS灭活的速度和间接灭活纤溶酶等方式导致静脉血栓发生的危险性升高^[10]。APCR在中国大陆正常人和VTB患者中约占4%。至2001年,又在印度发现5例,泰国发现2例。1996年关月在我国正常人群和DVT患者中进行了1691A频率分布的调查,显示VTB患者中,1691A频率显著高于正常对照组,从而证实突变基因1691A在不同种族人群中是普遍存在的,并与VTB发生有关。

2.2 凝血酶原基因(FII)变异 1996年Poort等在VTB复发患者FII3'-WTR的20210位核苷酸发现了一个G→A转换。此变异据报道主要发生于白种人群,在具有家族性静脉血栓形成史的病例中占到18%,在未经选择的首次发生VTB的病例中发病率为6.3%,而在健康对照组中则仍有2.5%^[11]。研究表明^[12],携带有20210A等位基因的凝血酶原,可使血浆中凝血酶的水平增高2.8倍,因此,被认为是一种独立的致VTB的中等危险因素。

3 高同型半胱氨酸血症(HHCy)

Hcy是一种含硫氨基酸,经甲基化后成为蛋氨酸,有三种酶参与由叶酸循环提供甲基的反应:亚甲基四氢叶酸还原酶(MTHFR)、依赖Vit B₁₂的蛋氨酸合成酶(MS)和胱硫醚β

[收稿日期] 2003-05-30

[作者单位] 蚌埠医学院附属医院 血管外科(现在苏州大学附属第二医院,215000),安徽蚌埠233004

[作者简介] 段鹏飞(1974—),男,安徽淮南人,硕士,研究方向:深静脉血栓形成的防治。

合成酶(CBS)。MTHFR、MS、CBS 基因的突变是目前发现引起 HHCy 的主要遗传因素。国内对于 MTHFR C667T 多态性的一组研究显示 TT 型(纯合子突变型)明显高于 CC 型(野生型)和 CT 型(杂合子型)^[13]。另外 CBS833T→C 以及 1224 2A→C 也是家族性 HHCy 的一个重要遗传因素。同时,HCy 的水平还受营养因素如叶酸、Vit B₁₂ 以及年龄和性别的影响。Douglas 等^[14]通过对 185 例 20~70 岁之间的静脉血栓复发患者和 220 名健康对照者的研究显示,在这些复发者中无论是限食后的还是蛋氨酸负荷试验的 HCy 水平均高于对照组,而且不论在何年龄段,HCy 在女性患者中的发生率均明显高于男性。

4 P-选择素与血小板活化

P-选择素是黏附分子选择素家庭中的一员。P-选择素正常贮存在静止血小板颗粒及内皮细胞中,当被炎性介质如组胺、凝血酶、氧自由基等刺激后随着脱颗粒释放作用,颗粒膜与细胞膜发生融膜作用,导致 P-选择素快速转位到细胞表面进行表达。有文献报道,P-选择素能反应体内血小板活化程度和血栓形成倾向,在启动和加速血栓形成中具有重要意义^[15]。邹丽芳等^[16]研究 DVT 患者的血小板的表面 P-选择素明显升高,达 904.37±432.14 分子数/血小板,与正常对照组相比有显著差异。

5 细胞因子与 VTB

5.1 IL-10 IL-10 是一潜在的抗炎因子,Joseph 等通过对静脉血栓形成过程中静脉壁所释放的 IL-10 的量的检测和增加外源性 IL-10 可以降低血栓形成所诱发的静脉壁炎性反应的现象,推断 IL-10 在调节血液瘀滞所诱发的静脉壁的炎性反应中发挥着重要的作用。IL-10 可抑制 IL-1、TNF 等的积聚;阻止组织因子(TF)的产生及降低细胞间黏附分子(ICAM)和血管内皮黏附分子(ECAM)的表达来阻止淋巴细胞对激活的人脐静脉内皮细胞(HUVEC)的黏附^[17]。动物实验诱发 VTB 时,立即注射外源性 IL-10 不仅可以降低局部炎症反应,而且更重要的是它还可以减轻血栓重量。

5.2 IL-1 IL-1 主要由单核细胞或巨噬细胞产生,IL-1 可明显改变血管内皮细胞(VEC)的抗凝血功能。体外实验表明,IL-1 可以使正常状态时具有抗凝作用的 HUVEC 表面表现出促凝活性,IL-1 诱导了可被单核细胞抗体 H4/18 识别的 VEC 抗原活性的表达,而扩大白细胞 HL-60 对可被 IL-1 激活的 VEC 的黏附。IL-1 α 还能使鼠血管紧张素受体(AT₁)结合力上升 1.4~1.7 倍。AT₁ mRNA 表达增强 23 倍,而血管收缩将触发凝血系统,促进血栓形成。

综上所述,深静脉血栓形成是一多因素疾病,包括基因缺陷、基因间相互作用和炎症反应中细胞因子相互作用等诸多方面。目前关于基因缺陷导致 VTB 的分子遗传学研究已比较深入,静脉血栓形成的分子流行病学研究也已展开,这些研究对于探讨血栓形成的发病机制、提高对 VTB 的认识和防治能力来说非常重要。

[参 考 文 献]

[1] Davie EW. Biochemical and molecular aspects of coagulation cascade[J]. *Thromb Haemost*, 1995, 74(1): 1~6.
[2] Bilora F, Boccioletti E, Manfredini F, et al. Seasonal variation in

the incidence of deep vein thrombosis in patients with deficiency of protein C or protein S[J]. *Clin Appl Thromb Hemost*, 2002, 8(3): 231~237.

- [3] Bucek RA, Reiter M, Minar E, et al. C-reactive protein in the diagnosis of deep vein thrombosis[J]. *Br J Haematol*, 2002, 119(2): 385~389.
[4] 郑艳珍,朱定尔,周伯通,等.蛋白 C 基因新突变 HIS134ASN 所致 I 型蛋白 C 缺乏症[J]. *中华血液学杂志*, 1998, 19(3): 138~142.
[5] Martinelli I, Mannucci PM, De-Stefano V, et al. Different risks of thrombosis in four coagulation defects associated with inherited thrombophilia: A study of 150 families[J]. *Blood*, 1998, 92(7): 2353~2358.
[6] Suehisa E, Nomura T, Kawasaki T, et al. Frequency of natural coagulation inhibitor (antithrombin III, protein C and protein S) deficiencies in Japanese patients with spontaneous deep vein thrombosis[J]. *Blood Coagul Fibrinolysis*, 2001, 12(2): 95~99.
[7] Turk B, Briedtis I, Bock SC, et al. The oligosaccharide side chain on Asn-135 of alpha-antithrombin, absent in beta-antithrombin, decreases the heparin affinity of the inhibitor by affecting the heparin-induced conformational change[J]. *Biochemistry*, 1997, 36(22): 6682~6691.
[8] Seligsohn U, Lubetsky A. Genetic susceptibility to venous thrombosis[J]. *N Engl J Med*, 2001, 344(16): 1222~1231.
[9] Huang ZF, Higuchi D, Lasky N, et al. Tissue factor pathway inhibitor gene disruption produces intrauterine lethality in mice[J]. *Blood*, 1997, 90(3): 944~951.
[10] Simioni P, Prandoni P, Lensing AW, et al. Risk for subsequent venous thromboembolic complications in carriers of the prothrombin or the factor V gene mutation with a first episode of deep vein thrombosis[J]. *Blood*, 2000, 96(10): 3329~3333.
[11] Soria JM, Almasy L, Sonto JC, et al. Linkage analysis demonstrates that the prothrombin G20210A mutation jointly influences plasma prothrombin levels and risk of thrombosis[J]. *Blood*, 2000, 95(9): 2780~2785.
[12] Rosendaal FR, Doggen CJ, Zivelin A, et al. Geographic distribution of the prothrombin 20210 G to A prothrombin variant[J]. *Thromb Haemost*, 1998, 79(4): 706~708.
[13] 周宪梁,胡爱华,惠汝太,等. MTHFR 基因多态性及血浆同型半胱氨酸水平与脑卒中的关系[J]. *中华心血管病杂志*, 1999, 27(2): 121~123.
[14] Shemin D, Lapane KL, Baussennan L, et al. Plasma total homocysteine and hemodialysis access thrombosis: A prospective study[J]. *J Am Soc Nephrol*, 1999, 10(5): 1095~1099.
[15] Myers DD, Henke PK, Wroblewski SK, et al. P-selectin inhibition enhances thrombus resolution and decreases vein wall fibrosis in a rat model[J]. *J Vasc Surg*, 2002, 36(5): 928~938.
[16] 邹丽芳,杨精文,胡余.血小板活化在下肢深静脉血栓形成中的临床意义[J]. *上海第二医科大学学报*, 1997, 17(2): 111~113.
[17] Henke PK, DeBruyne LA, Strieter RM, et al. Viral IL-10 gene transfer decreases inflammation and cell adhesion molecule expression in a rat model of venous thrombosis[J]. *J Immunol*, 2000, 164(4): 2131~2141.