

抗凝血酶研究进展

周伟杰,余飞

(广西百色市人民医院,右江民族医学院附属西南医院检验科,广西 百色 533000)

E-mail:63675020@qq.com)

摘要: 抗凝系统是人体内重要的功能系统,它与纤溶系统共同组成一个完整的人体防御体系。在生理情况下,抗凝系统与纤溶系统维持着一种适宜的动态平衡以防止血管内形成血栓。抗凝血酶(antithrombin, AT)是人体抗凝系统的重要组成部分,约占抗凝系统总活性的 70%。因此,本文将从 AT 的发现、结构、功能及相关疾病的研究成果等方面进行阐述。

关键词: 抗凝血酶;抗凝血酶活性;基因多态性

中图分类号: R55

文献标识码: A

文章编号: 1001-5817(2016)05-0529-03

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2016.05.026

抗凝系统是人体内重要的功能系统,它与纤溶系统共同组成一个完整的人体防御体系。抗凝血酶(antithrombin, AT)是人体抗凝系统的重要组成部分,约占抗凝系统总活性的 70%。一旦 AT 发生病理变化,将会打破抗凝系统与纤溶系统的动态平衡。引起血管内血栓形成,严重的可能危害到患者生命安全。因此,本文将从 AT 的发现、结构、功能及相关疾病的研究成果等方面进行阐述。

1 AT 的发现

AT 曾称 ATⅢ或肝素辅助因子 I, P. Morawitz 于 1905 年首先在人血浆中发现。Gasser^[1] 1916 年构建了凝血酶作用曲线的现代模型。他认为凝血酶的活性以指数为系数缓慢衰减,衰减的原因是由于人体内生成了 AT 复合物,并首次运用碱化-酸化处理法量化了复合物的水平。肝素第一次从肝组织中提取到之后,经试验证明肝素能增强正常血液 AT 的活性。1963 年 A. Hensen 和 E. A. Loeliger^[2] 建立了第一个应用在临床的 AT 标准化检验流程。在 AT 的早期研究中,可吸附凝血酶的纤维蛋白被命名为 AT I,肝素辅助因子被称为 AT II,促 AT 被称为 AT III,并从最初分类系统一直沿用下来。由于在 AT 中,AT III 起着决定性的作用,因此国际血栓和止血协会 1993 年推荐把 AT III 简称为 AT。

2 AT 的结构及功能

人 AT 基因位于第 1 号染色体长臂 23~25 位点,基因符号 SERPINC1,长约 16 kb,相对分子量为 58 KD,由 7 个外显子(exon1、2、3A、3B、4、5、6)和 6 个内含子组成,编码 432 个氨基酸(aa)。它是一种球蛋白,由 3 个 β 折叠结构、9 个 α 螺旋结构和 1 个反应中心环(reactive center loop, RCL)构成。有重要功能的区域

如酶结合区(反应位点)、肝素结合位点、构象敏感的色氨酸以及 s-s 交联等。AT 反应位点在 Arg393-Ser394,通过与凝血酶活性中心的 Ser 结合,形成稳定的 AT-凝血酶复合物从而使凝血酶丧失活性^[3]。

AT 是机体出血与止血维持动态平衡的重要因素之一。主要由肝脏合成,其他脏器如肺、脾、肾、心、肠、脑等也能合成 AT,血管内皮细胞和巨核细胞也是 AT 的合成场所。在正常血液循环系统中,AT 浓度为 2 $\mu\text{mol/L}$,活性为 70%~130%。AT 可以抑制已活化的 VII、IX、X、XII 等凝血因子和凝血酶。一般情况下,其抗凝活性较弱。当肝素分子中的戊糖(pentacaccharide)序列的糖胺单位与 AT 结合后,AT 的构象发生变化,RCL 暴露出来,从而增强了 AT 的抗凝作用^[4]。肝素还可以从 AT-凝血酶复合物中解离出来,继续与游离的 AT 结合,不断地强化 AT 的抗凝作用。在此过程中,肝素通过促进 AT-肝素-蛋白酶复合物(michaelis complex)的稳定以及介导 AT 变构激活(allosteric activation),使 AT 与 FXa 和 FIXa 更容易结合,并且促进 AT 反应中心环上的外结合位点(exosite)与 FXa 和 FIXa 的作用^[5]。Gonzalo Izaguirre 和 Steven T. Olson^[6] 研究认为 Tyr²⁵³ 和 Glu²⁵⁵ 是外结合位点关键因子,它们能与 FXa 和 FIXa 上的 Arg150 特异结合,而凝血酶缺乏 Arg150,因此不参与该反应。

3 AT 活性水平与相关疾病

1965 年 Olav Egeberg 报道了遗传性 AT 缺乏引起的血栓性疾病,一种常染色体显性遗传基因。携带者在受到创伤、手术、感染,特别是怀孕时,很容易引起静脉血栓栓塞,从而危及生命。因此 AT 在临床方面的研究越来越受到关注。

3.1 AT 活性水平与脓毒症血症 有研究表明^[7],由于脓毒症的炎症细胞被激活后,释放出的大量因子损伤了人体各重要器官。进而激活体内凝血系统,并破坏血管内凝血系统的平衡,产生微血栓。黄彩芝等^[8]在该院儿科重症监护病房住院患儿的研究结果证明,脓毒症患儿的 AT—Ⅲ活性水平明显下降,下降程度与患儿病情的严重程度及预后呈正相关。AT—Ⅲ活性水平下降非常严重时,甚至可导致患儿死亡。

3.2 AT 活性水平与脑梗死 有研究表明^[9],AT 参与了脑梗死的血凝障碍病理生理过程。脑梗死特别是急性脑梗死,病发时体内处于一种高凝状态,大量消耗血管内的 AT,造成血管内凝血功能亢进,同时 AT 合成反而减少。这与马付坚等^[10]研究结果相符。表明 AT 活性水平下降程度与脑梗死的发生和严重程度可能呈正相关。

3.3 AT 活性水平与弥散性血管内凝血(DIC) DIC 是在多种致病因素的共同作用下,全身范围内的小血管产生微血栓,同时纤溶系统受抑制的一种获得性、全身性血栓—出血综合征。聂兴旺等^[11]研究认为,在 DIC 病程中,血管内的抗凝系统被启动,导致 AT 被大量消耗,使 AT 水平明显低于发病前。因此,结合 AT 活性水平与其他凝血项目的连续监测,对 DIC 的早期临床诊断、判断疗效及预防病情的恶化都很有参考价值。

3.4 AT 活性水平与易栓症 易栓症可分为遗传性和获得性,主要临床表现为以静脉血栓为主的血栓形成,严重危及生命,常见并发症有:肺栓塞、深静脉血栓(DVT)及动脉粥样硬化性血栓性脑梗死(ATCI)等。林建蓓等^[12]研究显示,AT 活性水平与易栓症的严重程度呈负相关关系,AT 活性水平越低易栓症的风险就越大,是诊断 DVT 和 ATCI 发生及进展的敏感指标。

3.5 AT 活性水平与肿瘤 肿瘤特别是恶性肿瘤是一种严重危害人类健康的疾病。患者在自身免疫系统刺激下,产生大量组织因子(TF)。并释放到血管内与 AT 形成复合物,导致 AT 活性水平降低。陈喜军等^[13]对恶性肿瘤患者(共 636 例)的研究显示,肝癌患者的 AT 活性水平与健康对照组比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。这与苏学飞等^[14]研究结果相符。AT 主要由肝脏、血管内皮细胞和巨核细胞合成。肝癌患者肝功能遭破坏以后,AT 的合成减少以及凝血因子大量消耗引起凝血功能障碍。同时肝癌患者癌组织解体、坏死释放促凝物质破坏了凝血及纤溶系统的动态平衡。

3.6 AT 活性水平与习惯性流产(RPL) 微血栓形

成(或形成倾向)的反复发作是 RPL 的主要病因之一。谭燕等研究认为^[15],RPL 患者 AT 活性较正常人明显降低,凝血与纤溶平衡被破坏。子宫螺旋动脉或绒毛血管微血栓形成,是引起多次流产发生的主要原因。另有研究表明^[16]AT 缺陷引起的血栓形成倾向可能会导致不良妊娠结局,认为 AT 缺乏与流产存在关系,AT 缺乏的病人虽然在妊娠期间 AT 的活性没有明显改变,但发生早中期流产的风险增加了 2 倍,发生死胎的可能增加了 5 倍。

4 AT 基因多态性与相关疾病的关系

4.1 AT 基因多态性与颅内静脉系统血栓形成(CVT) 汪丽萍等^[17]使用变性高效液相色谱(DH-PLC)技术,对南方医科大学南方医院生育期 50 例女性 CVT 就诊患者和 52 例健康女性进行 AT 基因的突变及多态性筛查。在一例存在静脉血栓形成家族史的 CVT 患者中发现 Exon6+88 G>A(G13328A)突变,该突变导致 AT 蛋白多肽链 404 位的丙氨酸被苏氨酸所置换(Ala404Thr),为 I 型 AT 缺乏。一例为新发现的突变:Exon4+243G>A,即 c335GTG→GTA(Val),属同义突变。AT 基因突变可能是导致生育期非妊娠女性 CVT 的遗传因素之一。

4.2 AT 基因多态性与子痫 据文献报道^[18],正常妇女妊娠,血液会处于一种恰当的高凝状态,生理性预防产妇生产过程中大量出血。这时如凝血系统活性增强,AT 等活性降低,纤溶抑制物活性升高,导致血液过度高凝,可能会诱发子痫前期和子痫。通过对 567 例广东籍汉族妇女 AT 和 Factor V 基因多态性的研究,得出 AT 基因多态性可能与广东籍汉族妇女子痫发病相关,而 Factor V Leiden 突变与其发病无关。

4.3 AT 基因多态性与 RPL RPL 是一种常见、多种因素引起的疾病,美国生殖医学学会将其定义为连续 2 次或 2 次以上发生在妊娠 20 周以前的自然流产^[19]。2012 年,在对巴西 117 例有在 20 周内流产 2 次以上的妇女,以及 264 例生育 2 次且无流产史的妇女,进行凝血相关基因的 SNPs 研究中,Guerra—Shinohara EM 等^[20]发现 SERPINC1(rs2227589)基因多态性与 RPL 高风险相关。Cao YL 等^[21]首次在汉族人群中研究凝血相关基因的 SNPs 与 RPL 的相关性研究认为,SERPINC1 基因多态性(rs2227589)可能与 RPL 无关。之所以与前者矛盾,可能是种族间不同的遗传、社会历史、地理迁徙的原始模式导致。而且,Guerra—Shinohara EM 等^[20]还发现,当排除了有子宫解剖异常和染色体异常的参与者之后,这种相关性有所减弱。

近几十年来,随着检验技术特别是分子诊断技术的发展,AT 活性检测及其基因多态性的研究越来越

受到学者的关注,并取得了很大进展,为进一步明确 AT 活性水平及其基因多态性与疾病的关系提供了更多的手段。将为易栓疾病的诊断提供更多的参考依据。

参考文献:

- [1] Gasser HS. The significance of prothrombin and of free and combined thrombin in blood—serum [J]. *Amer J Physiol*, 1916, 42: 378—394.
- [2] Hensen A, Loeliger EA. Antithrombin III. Its metabolism and its function in blood coagulation [J]. *Thromb Diath Haemorrh*, 1963, 83(Suppl 1): 1—84.
- [3] 彭德珍, 陈刚. 抗凝血酶检测及临床研究进展[J]. *华夏医学*, 2012, 25(3): 465—468.
- [4] Johnson DJ, Li W, Adams TE. Antithrombin—S195A factor Xa—heparin structure reveals the allosteric mechanism of antithrombin activation[J]. *EMBO*, 2006, 25(9): 2029—2037.
- [5] Olson ST, Richard B, Izaguirre G, et al. Molecular mechanisms of antithrombin—heparin regulation of blood clotting proteinases. A paradigm for understanding proteinase regulation by serpin family protein proteinase inhibitors[J]. *Biochimie*, 2010, 92(11): 1587—1596.
- [6] Izaguirre G, Olson ST. Residues Tyr²⁵³ and Glu²⁵⁵ in strand 3 of β —sheet C of antithrombin are key determinants of an exosite made accessible by heparin activation to promote rapid inhibition of factors Xa and IXa[J]. *J Biol Chem*, 2006, 281(19): 13424—13432.
- [7] de Laforcade A. Diseases associated with thrombosis[J]. *Top Companion Anim Med*, 2012, 27(2): 59—64.
- [8] 黄彩芝, 莫丽亚, 邓永超, 等. 抗凝血酶Ⅲ、D—二聚体和血小板检测在儿童脓毒症中的价值[J]. *临床儿科杂志*, 2013, 31(6): 530—532.
- [9] 覃乃辉, 周达利, 秦立, 等. 脑梗死患者血 D—二聚体、超敏 C 反应蛋白及抗凝血酶Ⅲ的检测及意义[J]. *海南医学院学报*, 2014, 20(1): 50—53.
- [10] 马付坚, 黄承乐. 急性脑梗塞患者的凝血、抗凝及纤溶状态评价[J]. *右江民族医学院学报*, 2000, 22(4): 525—527.
- [11] 聂兴旺, 罗艳, 闭珏. 血浆 D—二聚体、FDP、AT Ⅲ的测定在 DIC 诊断和治疗中的临床意义[J]. *内蒙古中医药*, 2013, 32(34): 77.
- [12] 林建蓓, 汤卓琼. 易栓症患者血浆抗凝血酶与 D—二聚体水平的相关性研究[J]. *现代实用医学*, 2014, 26(8): 953—954.
- [13] 陈喜军, 窦敏, 林一. 肿瘤患者血浆抗凝血酶Ⅲ、FDP 和 D—二聚体的结果分析[J]. *实验与检验医学*, 2014, 32(1): 46—47.
- [14] 苏学飞, 黄秋莲, 陈广新, 等. 肿瘤患者抗凝物质的检测及临床意义[J]. *右江民族医学院学报*, 2006, 28(3): 454.
- [15] 谭燕, 陆琳琳, 伍达锋, 等. 早期复发性流产患者 D 二聚体及抗凝血酶Ⅲ活性的检测及分析[J]. *齐齐哈尔医学院学报*, 2015, 36(21): 3136—3137.
- [16] Sabadell J, Casellas M, Alijotas—Reig J, et al. Inherited antithrombin deficiency and pregnancy: maternal and fetal outcomes[J]. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, 2010, 149(1): 47—51.
- [17] 汪丽萍, 裴毓雯, 尹爱兰, 等. 应用变性高效液相色谱筛查颅内静脉系统血栓形成 AT—Ⅲ基因突变及多态性[J]. *南方医科大学学报*, 2009, 29(10): 1982—1986.
- [18] 苏念军, 李冰, 冯建怀, 等. 广东籍汉族妇女抗凝血酶Ⅲ和 Factor V 基因多态性与子痫前期和子痫的相关性研究[J]. *热带医学杂志*, 2011, 11(4): 436—438, 453.
- [19] Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Definitions of infertility and recurrent pregnancy loss: a committee opinion[J]. *Fertility and Sterility*, 2013, 99(1): 63.
- [20] Guerra—Shinohara EM, Bertinato JF, Tosin Bueno C, et al. Polymorphisms in antithrombin and in tissue factor pathway inhibitor genes are associated with recurrent pregnancy loss[J]. *Thromb Haemost*, 2012, 108(4): 693—700.
- [21] Cao YL, Zhang ZF, Xu JH, et al. The association of idiopathic recurrent pregnancy loss with polymorphisms in hemostasis—related genes[J]. *Gene*, 2013, 530(2): 248—252.

收稿日期: 2016—07—09; 修回日期: 2016—09—23