

血浆蛋白 C、蛋白 S 和血管性血友病因子在克罗恩病患者中的表达及意义

沈永华 胡妍妍 朱 浩 陈 敏 刘文佳 邹晓平 张晓琦

【摘要】 目的 评估血浆蛋白 C(PC)、蛋白 S(PS)和血管性血友病因子(vWF)在克罗恩病(CD)中的表达变化及其与疾病活动的相关性。方法 选取 2015 年 3 月至 2016 年 7 月在南京大学医学院附属鼓楼医院住院诊治的 30 例 CD 患者及同期的 37 名健康志愿者作为研究对象,收集两组的临床资料并采集血液检测 PC、PS 和 vWF 活性。结果 与对照组相比较,CD 组患者的 PC 活性明显降低,差异具有统计学意义($P = 0.003$),而 PS 和 vWF 活性的差异无统计学意义。PC 活性与简化克罗恩病活动指数(CDAI)计算法分值(分型),PS 活性与简化 CDAI 计算法、Best CDAI 计算法分值(分型),vWF 活性与简化 CDAI 计算法、Best CDAI 计算法分值(分型)之间均无明显相关性,仅有 PC 活性与 Best CDAI 计算法分值($r = -0.418, P < 0.05$)及分型($r = -0.347, P < 0.05$)之间存在负相关。结论 在 PC 活性明显下降的患者中以及中重度活动期 CD 患者中需考虑应用预防性抗凝药物。

【关键词】 蛋白 C;蛋白 S;疾病活动性;克罗恩病;血管性血友病因子

DOI: 10.3969/j.issn.1673-534X.2017.06.014

克罗恩病(CD)又称局限性结肠炎,在 1930 年由 Crohn 首次报道。CD 是一组以胃肠道病变为主、发病机制不明的慢性炎症性疾病,可累及胃肠道多个部位,好发于回肠末段和邻近结肠的部位。临床上主要以腹痛、腹泻、腹部包块、瘻管形成和肠梗阻为特点,可伴有其他部位的损伤,并有终生复发的倾向。近年来,CD 的发病率在中国呈逐渐升高趋势。许多研究提示 CD 患者存在高凝状态,可增高动静脉血栓和肺栓塞的发生率^[1-2]。然而,目前有关预测 CD 患者发生血管栓塞的危险因素的研究仍较少^[3]。蛋白 C(PC)、蛋白 S(PS)和血管性血友病因子(vWF)是人体凝血与抗凝系统的重要蛋白分子,其活性变化决定了凝血系统与抗凝系统能否保持生理平衡,因此监测其活性变化有助于对高凝状态进行鉴别。本试验对 30 例 CD 患者和 37 名健康对照者的 PC、PS 和 vWF 活性进行检测,研究 CD 患者中上述反映高凝状态指标的变化及其与疾病活动的相关性,为对 CD 患者应用预防性抗凝治疗

提供科学依据。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取 2015 年 3 月至 2016 年 7 月在南京大学医学院附属鼓楼医院消化科住院诊治的 30 例 CD 患者作为研究对象。CD 的诊断和疾病评估参考 2012 年广州《炎症性肠病诊断与治疗的共识意见》^[4],结合临床表现、内镜、影像学 and 病理组织学检查结果进行综合分析,并参照该共识意见进行规范化治疗。另选取同期在该院体检的 37 名健康志愿者作为对照组。

1.2 研究方法

1.2.1 临床观察指标 运用简化克罗恩病活动指数(CDAI)计算法^[5]评估 CD 活动性的严重程度, ≤ 4 分为缓解期,5~8 分为中度活动期, ≥ 9 分为重度活动期。同时,应用 Best CDAI 计算法^[6]评估其活动性的严重程度, < 150 分为缓解期, ≥ 150 分为活动期,其中 150~220 分为轻度,221~450 分为中度, > 450 分为重度。

1.2.2 标本采集与处理 所有研究对象均抽取 1 份枸橼酸钠(3.2%,1:9 抗凝)抗凝血(2~3 mL),

3 000 r/min离心 10 min,并在 2 h 内检测,如遇特殊情况不能及时测定者,将血浆分离置于 -80 °C 冰箱冻存,检测前于 37 °C 解冻。

1.2.3 仪器与试剂 检测仪器使用美国贝克曼 ACL-TOP700 全自动血凝分析仪,PC、PS 和 vWF 试剂盒由法国 Diagnostica Stago 公司提供,随批质控。

1.2.4 检测方法 PC 测定采用发色底物法,PS 测定使用凝固法原理,vWF 检测采用双抗体夹心酶联免疫吸附法,具体操作步骤参照试剂盒说明书。PC 活性正常范围为 60%~140%,PS 活性正常范围为 63.5%~149%,vWF 活性正常范围在 O 型血人群中为 42%~140.8%,其他血型人群为 66.1%~176.3%。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 19.0 软件对数据进行处理及统计学分析,计量资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,组间比较采用 *t* 检验,相关性分析采用 Pearson 积差相关分析法。 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 临床资料

30 例 CD 患者中男 20 例,女 10 例,年龄 16~53 岁,平均(29.33 ± 10.27)岁。CD 发病的中位持续时间为 42 个月,诊断的中位时间为 8.5 个月。37 名对照组中男 19 人,女 18 人,年龄 20~58 岁,平均(34.65 ± 9.90)岁。两组研究对象的基本资料比较差异无统计学意义,具备可比性。CD 患者中采用简化 CDAI 法计算分值在 1~16 分,分型为缓解期 4 例,中度活动期 21 例,重度活动期 5 例;采用 Best CDAI 法计算分值在 20~394 分,分型为缓解期 7 例,轻度活动期 16 例,中度活动期 7 例,无重度活动期患者。在肠外表现方面,仅有 1 例患者出现口腔溃疡及结节性红斑;并发症方面,有 3 例患者出现腹腔脓肿,并有 3 例肠狭窄、6 例肛瘘、4 例肛周脓肿及 1 例消化道出血。

2.2 两组高凝状态相关指标活性检测结果比较

在 CD 组患者中,仅有 7 例(23.3%)患者的 PC、PS、vWF 活性在正常范围。与对照组相比较,CD 组患者的 PC 活性明显降低,差异具有统计学意义($P = 0.003$),而 PS 和 vWF 的活性差异均无统计学意义。见表 1。

2.3 高凝指标与疾病活动间的相关性

将 CD 患者的 PC、PS 和 vWF 活性分别与简化

CDAI 算法以及 Best CDAI 算法分值进行相关性分析,结果显示 PC 活性与简化 CDAI 算法分值、PS 活性与简化 CDAI 算法、PS 活性与 Best CDAI 算法分值,vWF 活性与简化 CDAI 算法、vWF 活性与 Best CDAI 算法分值之间均无明显相关性($P > 0.05$),仅有 PC 活性与 Best CDAI 算法分值之间存在负相关($r = -0.418, P < 0.05$) (见图 1)。进一步根据简化 CDAI 算法将 CD 患者分为缓解期、中度活动期和重度活动期,并根据 Best CDAI 算法将 CD 患者分为缓解期、轻度、中度和重度活动期,行秩相关分析发现,仍仅有 PC 活性与 Best CDAI 算法分型之间存在负相关($r = -0.347, P < 0.05$) (见图 2)。

表 1 两组中 PC、PS 和 vWF 因子的活性情况

	PC/%	PS/%	vWF/%
对照组	98.9 ± 12.8	74.2 ± 19.3	141.9 ± 43.7
CD 组	86.1 ± 19.3 ^a	74.6 ± 17.7	146.1 ± 48.6

注:与对照组相比较,^a $P < 0.05$

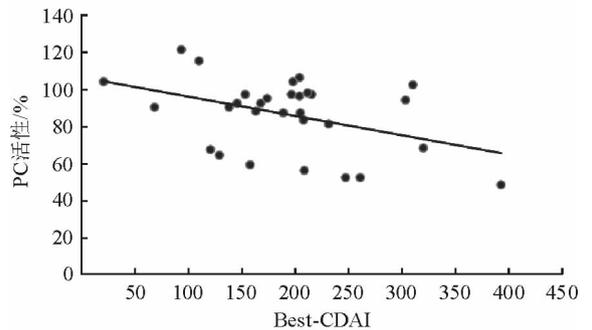


图 1 血浆 PC 活性与 Best CDAI 算法分值之间的相关性分析

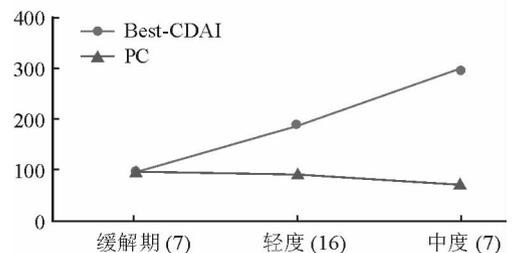


图 2 血浆 PC 活性与 Best CDAI 算法分型之间的相关性分析

3 讨论

静脉血栓栓塞(VTE)是临床上发病率和病死率较高的疾病,发病机制复杂,近年来血液中相关抗凝和凝血物质异常在其中的作用日益受到人们重视^[7]。PC 是凝血级联反应中的重要抑制物,PS

是PC的辅因子,两者共同灭活凝血加速剂V a和Ⅷa因子,因此PC和PS活性降低或缺乏可使血栓形成危险度升高。vWF在止血过程中发挥作用,可增加血小板在血管损伤部位的黏附和聚集,是血栓性疾病的独立危险因素。CD是炎症性肠病(IBD)的一种,IBD患者发生VTE的风险是普通人群的3倍,住院的IBD活动期患者发生VTE的风险是非住院者的6倍,因此国外指南建议无严重出血的中重度活动期IBD患者应行预防性抗凝治疗^[8]。然而,由于东西方人种差异,国内相关指南并未指出对CD患者何时需抗凝治疗,所以研究中国人群中CD患者是否存在高凝状态及其与疾病活动性的相关性显得十分必要。本研究检测CD患者中PC、PS和vWF活性的变化及其与疾病活动的相关性,探索CD患者高凝状态的相关机制。

早期有研究认为在CD患者中存在PS表达缺陷^[9]。其后Cakal等^[10]研究进一步发现,CD患者的血浆PC、PS活性显著低于健康对照组,再对其进行亚组分析后发现活动期CD患者的PC、PS活性明显低于缓解期,而在缓解期CD患者中的PC、PS活性与健康对照组相比较差异无统计学意义。本研究结果显示,CD组患者的PC活性较对照组明显降低,且与疾病活动指数呈负相关,这与以往的研究结果相似。CD患者的PC活性仅与Best CDAI 计算法分值相关,而与简化CDAI 计算法分值无相关性,提示两种算法各有利弊,应互为补充。有研究尝试探索PC系统在CD中的抗凝机制,但发现其与肿瘤坏死因子- α 、白细胞介素-6及C反应蛋白等炎症因子无相关性^[11]。因此,PC和PS在CD患者中活性变化的相关机制仍需要进一步研究。另外,目前针对vWF在CD中作用的研究较少,有研究发现IBD患者的血浆vWF活性明显高于健康对照组,提示IBD患者血管内皮细胞显著受损,血栓前状态可能是IBD的发病因素之一^[12]。本研究发现两组的PS及vWF活性差异无统计学意义,这可能与CD复杂的凝血机制、样本量偏小、缓解期患者的影响等有关。

综上所述,本研究旨在探讨PC、PS和vWF的活性在CD患者中的变化及其与疾病活动的相关性。结果指出,在CD组患者和对照组中,仅PC活性的差异具有统计学意义,且其与疾病活动性相关,提示在临床工作中对于PC活性明显下降以及

中重度活动期CD患者需考虑应用预防性抗凝药物。本研究中仍然存在一些偏倚因素,如患者所服药物变异性较大、未对vWF检测时的血型作亚组分析等,可能影响结论的可靠性,因此今后仍需要进一步开展更多高质量、大样本的研究。

参 考 文 献

- 1 Kume K, Yamasaki M, Tashiro M, et al. Activations of coagulation and fibrinolysis secondary to bowel inflammation in patients with ulcerative colitis[J]. Intern Med, 2007, 46: 1323-1329.
- 2 Kappelman MD, Horvath-Puho E, Sandler RS, et al. Thromboembolic risk among Danish children and adults with inflammatory bowel diseases: a population-based nationwide study[J]. Gut, 2011, 60: 937-943.
- 3 Zezos P, Papaioannou G, Nikolaidis N, et al. Thrombophilic abnormalities of natural anticoagulants in patients with ulcerative colitis [J]. Hepatogastroenterology, 2007, 54: 1417-1421.
- 4 中华医学会消化病学分会炎症性肠病学组. 炎症性肠病诊断与治疗的共识意见[J]. 中华内科杂志, 2012, 51: 818-831.
- 5 Harvey RF, Bradshaw JM. A simple index of Crohn's disease activity[J]. Lancet, 1980, 1: 514.
- 6 Best WR, Beckett JM, Singleton JW, et al. Development of a Crohn's disease activity index: national cooperative Crohn's disease study[J]. Gastroenterology, 1976, 70: 439-444.
- 7 Franchini M, Mannucci PM. Direct oral anticoagulants and venous thromboembolism [J]. Eur Respir Rev, 2016, 25: 295-302.
- 8 Nguyen GC, Bernstein CN, Bitton A, et al. Consensus statements on the risk, prevention, and treatment of venous thromboembolism in inflammatory bowel disease: Canadian Association of Gastroenterology[J]. Gastroenterology, 2014, 146: 835-848.
- 9 Koutroubakis IE, Sfiridaki A, Mouzas IA, et al. Resistance to activated protein C and low levels of free protein S in Greek patients with inflammatory bowel disease [J]. Am J Gastroenterol, 2000, 95: 190-194.
- 10 Cakal B, Gokmen A, Yalinkilic M, et al. Natural anticoagulant protein levels in Turkish patients with inflammatory bowel disease [J]. Blood Coagul Fibrinolysis, 2010, 21: 118-121.
- 11 蒋峻梅, 吴芬芝, 饶和平. 炎症性肠炎中蛋白C系统的抗炎和抗凝的分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2013, 23: 921-924.
- 12 黄庆科, 黄智铭. 炎症性肠病患者的vWF、血小板检测及其临床意义[J]. 胃肠病学和肝病学杂志, 2003, 12: 282-283.

(收稿日期:2017-03-27)

(本文编辑:王雨婷)