

抗磷脂抗体及凝血因子 XII 缺乏与视网膜静脉阻塞的相关研究

孙红晶 李毓敏

The correlation of antiphospholipid antibody and factor XII deficiency in patients with retinal vein occlusion

Sun Hongjing, Li Yumin. Department of Ophthalmology, Chinese Medicine Hospital in Zhejiang Province, Hangzhou 310006, China

Abstract Objective Antiphospholipid antibody and factor XII deficiency are among the coagulation disorders that have been implicated in many thrombotic events. The aim of this study was to investigate the prevalence of antiphospholipid antibodies and factor XII deficiency in patients with retinal vein occlusion (RVO). **Methods** The investigation was a case control study. The periphery blood was collected from a cohort of 33 consecutive patients with RVO and 30 age- and gender-matched normal subjects. Anticardiolipin antibody (ACA) was detected by ELISA as binding index (BI) = A value/standard A value. The lupus anticoagulant antibody was examined by APTT test and the activity of factor XII was detected. This study was approved by The Human Research Ethics Committee of this hospital, and written informed consent was obtained from all the subjects before initiation of any study protocol. **Results** The total positive rate of APA in RVO group was 24.24% (8/33), showing a insignificant difference in comparison with control group (6.67%, 2/30) ($P = 0.085$). The positive rate of anticardiolipin antibody in RVO group was 18.18% (6/33), presenting an obvious enhance in control group ($P = 0.025$). Three patients in RVO group disclosed positive response for IgG-anticardiolipin antibody, one patient for IgM-anticardiolipin antibody, two patients for both isotypes IgG and IgM anticardiolipin antibodies, and two patients revealed positive reaction for lupus anticoagulant antibody. The presence of lupus anticoagulant antibody among the patients with ≤ 50 years and > 50 years was similar to that in age-matched controls ($P = 0.160, P = 0.206$). Factor XII deficiency was found in 14 of 33 patients (42.42%) and in 4 of 30 controls (13.33%) ($P = 0.013$). The prevalence of factor XII deficiency among the patients with ≤ 50 years and > 50 years was similar to that in age-matched controls ($P = 0.206, P = 0.052$). **Conclusion** Our results indicate that the prevalence of ACA and factor XII deficiency in RVO patients appears to be correlated.

Key words retinal vein occlusion; antiphospholipid antibody; anticardiolipin antibody; factor XII deficiency

摘要 目的 观察抗磷脂抗体 (APA) 及凝血因子 XII (FXII) 缺乏在视网膜静脉阻塞 (RVO) 发病中的作用。 **方法** 对 RVO 患者 33 例 (33 眼) 及正常对照组 30 例 (30 眼), 采用 ELISA 法检测抗心磷脂抗体 (ACA) (IgG、IgM、IgA); APTT 法检测 LA; 一期法测定 FXII 活性。采用 Fisher 检验进行统计学分析。 **结果** RVO 组 APAs 总阳性率 24.24% (8/33) 与对照组 6.67% (2/30) 比较差异无统计学意义 ($P = 0.085$)。RVO 组 ACA 阳性率 18.18% (6/33) 与对照组 (0/30) 比较差异有统计学意义 ($P = 0.025$)。 ≤ 50 岁组及 > 50 岁组 RVO 患者 LA 总阳性率与同年龄对照组相比差异均无统计学意义 ($P = 0.160, P = 0.206$)。RVO 组 FXII 缺乏率 42.42% (14/33) 与对照组 13.33% (4/30) 比较差异有统计学意义 ($P = 0.013$)。 ≤ 50 岁组及 > 50 岁组 RVO 患者 FXII 缺乏与同年龄对照组比较差异无统计学意义 ($P = 0.206, P = 0.052$)。 **结论** 研究表明 ACA 阳性及 FXII 缺乏引起的凝血障碍与 RVO 发病相关。

关键词 视网膜静脉阻塞; 抗磷脂抗体; 抗心磷脂抗体; 凝血因子 XII 缺乏

分类号 R 774.03 **文献标识码** A **文章编号** 1003-0808(2009)11-1019-04

视网膜静脉阻塞 (retina vein occlusion, RVO) 是中

老年人群中致盲的主要疾病之一, 亦是继糖尿病视网膜病变 (diabetic retinopathy, DR) 后第二种常见的引起视力丢失的视网膜血管性疾病, 确切的发病原因尚不清楚。抗磷脂抗体 (antiphospholipid antibody, APA) 是

作者单位: 310006 杭州, 浙江省中医院眼科 (孙红晶); 310016 杭州, 浙江大学附属邵逸夫医院眼科 (李毓敏)

通讯作者: 孙红晶 (Email: bzshj@sohu.com)

存在于循环血清中的一组能与磷脂特异性结合的多克隆免疫球蛋白的统称,主要包括抗心磷脂抗体(anticardiolipin antibodies, ACA)、狼疮抗凝物(lupus anticouglant, LA)及抗磷脂酰丝氨酸、抗磷脂酰肌醇、抗磷脂酸等抗体。实验和临床结果表明血清中高滴度APA的存在是血栓形成的危险因素^[1-5]。凝血因子XII(hageman factor, FXII)是一种涉及凝血、纤溶和补体系统的接触活性物质,已有研究表明FXII缺乏是血管易栓危险因素之一^[6-7]。但迄今为止,对于高凝因素在RVO患者发病中的作用研究仍较少,APA、FXII的生物学作用及其在RVO中的作用存在争议。本研究通过对RVO组及正常对照组APAs阳性率及FXII缺乏发生率的检测对其在RVO发病中的作用进行探讨。

1 资料与方法

1.1 资料

1.1.1 一般资料 2005年3月—2008年6月在浙江省中医院眼科确诊的RVO患者33例(33眼),其中男17例,女16例;年龄29~81岁,平均(56.96±13.82)岁。RVO组≤50岁共11例(33.33%);年龄29~50岁,平均(40.43±8.58)岁; >50岁共22例(66.67%),年龄53~81岁,平均(64.13±8.33)岁。最佳矫正视力数指/眼前~20/40。病程20d~1年。正常对照组30例,来自健康体检者,均排除自身免疫性疾病、心脑血管疾病和肝肾病史,其中男15例,女15例;年龄17~70岁,平均(49.05±17.10)岁。≤50岁者13例,其中男6例,女7例;年龄17~49岁,平均(33.56±12.36)岁。 >50岁患者共17例,其中男7例,女10例;年龄57~70岁,平均(62.09±5.36)岁。2组患者的人口基线特征比较见表1。本试验通过医院伦理委员会批准,所有研究对象均签署知情同意书。

表1 RVO组与正常对照组一般情况比较
Table 1 The demographic characters of RVO group and normal group

Group	n	Age(Year) * ($\bar{x} \pm s$)	Gender(n)	
			Male	Femal
RVO	33	56.96±13.82	17	16
Normal	30	49.05±17.10	15	15

* P > 0.05

1.1.2 主要仪器 Snellen 视力表; Haag-Streit 900 BM 裂隙灯; Volk Optical 前置镜、检眼镜; 德国 Heidelberg 激光共焦眼底血管造影仪。

1.2 方法

1.2.1 检查项目 记录详细病史,所有患者均行详细眼部检查,包括最佳矫正视力、裂隙灯前置镜眼底检查及荧光素眼底血管造影。

1.2.2 标本采集及处理 采集患者空腹8h后的静脉血5mL,置于3.8%枸橼酸钠抗凝的真空管中,4℃、3000 r/min,离心20min后,分别取上层去血小板血浆和血清,-80℃冻存待测。

1.2.3 ACA检测 采用ELISA法分别检测血清IgG、IgM、IgA型ACA,结果以结合指数(binding index, BI)表示:BI = 被测吸收度(A)值/标准A值。高于正常平均值2个标准差以上为阳性。

1.2.4 LA检测 按照1991年LA诊断标准。包括3个试验:(1)筛选试验:采用APTT 2 LA试剂检测血浆APTT,时间延长超过标准血浆5s者,则进行下一步试验。(2)纠正试验:取患者血浆与正常混合血浆等量混合后测APTT,若不能被纠正,则进行下一步试验。(3)血小板中和试验:取上述等量混合血浆加入外源磷脂测APTT,若被纠正,则为LA阳性,反之为阴性。

1.2.5 APTT一期法测定FXII活性 正常血浆FXII活性值为94.5%±41%。FXII活性低于正常范围者认为存在FXII缺乏。

1.3 统计学方法

采用SPSS 12.0统计学软件进行统计学处理。RVO组和对照组ACA、LA、APA和FXII缺乏的频数和阳性率的比较采用Fisher精确概率法。P < 0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 ACA、LA、APA检测结果比较

RVO组ACA阳性6例,其中ACA IgG 3例,ACA IgM 1例,ACA IgG及ACA IgM均呈阳性者2例。LA阳性2例。对照组ACA阳性0例,LA阳性2例。RVO组APAs总阳性率24.24%(8/33),与对照组6.67%(2/30)比较差异无统计学意义(P = 0.085)。RVO组ACA阳性率18.18%(6/33)与对照组(0/30)比较差异有统计学意义(P = 0.025)。RVO组LA阳性率6.06%(2/33)与对照组6.67%(2/30)比较差异无统计学意义(P = 1.000)(表2)。≤50岁RVO患者APAs阳性3例,占27.27%(3/11);对照组≤50岁者APAs阳性1例,占7.69%(5/13),2组比较差异无统计学意义(P = 0.160)。 >50岁RVO患者APAs阳性5例,占27.27%(5/22);对照组 >50岁者APAs阳性1例,占5.88%(1/17),2组比较差异无统计学意义(P = 0.206)。≤50岁RVO患者ACA阳性2例,占

18.18% (2/11); 对照组 ≤ 50 岁 ACA 阳性 0 例 (0/13),

表 2 RVO 组与正常对照组 ACA、LA、APA、FXII 缺乏检测结果比较 (%)

Table 2 The results of ACA, LA, APA, FXII between RVO group and control group (%)

Group	ACA	LA	APA	FXII deficiency
RVO	6(18.18)	2(6.06)	8(24.24)	14(42.42)
Control	0(0)	2(6.67)	2(6.67)	4(13.33)
P	0.025	1.000	0.085	0.013

(Fisher Exact test)

表 3 RVO 组与正常对照组不同年龄患者 ACA、LA、APA、FXII 缺乏检测结果比较 (n, %)

Table 3 The results of ACA, LA, APA, FXII between RVO patients and control subjects with different age (n, %)

Group	APA		ACA		LA		FXII deficiency	
	≤ 50 Age	> 50 Age	≤ 50 Age	> 50 Age	≤ 50 Age	> 50 Age	≤ 50 Age	> 50 Age
RVO	3(27.27)	5(27.27)	2(18.18)	4(18.18)	1(9.09)	1(4.55)	6(54.55)	8(36.36)
Control	1(7.69)	1(5.88)	0(0)	0(0)	1(7.69)	1(5.88)	3(23.08)	1(5.88)
P	0.160	0.206	0.199	0.118	1.000	1.000	0.206	0.052

(Fisher Exact test)

2.2 FXII 活性检测结果比较

RVO 组 FXII 缺乏 14 例, 占 42.42% (14/33); 对照组 FXII 缺乏 4 例, 占 13.33% (4/30), 2 组比较差异有统计学意义 ($P=0.013$)。 ≤ 50 岁 RVO 患者 FXII 缺乏 6 例, 占 54.55% (6/11); 对照组 ≤ 50 岁者 FXII 缺乏 3 例, 占 23.08% (3/13), 2 组比较差异无统计学意义 ($P=0.206$)。 > 50 岁 RVO 患者 FXII 缺乏 8 例, 占 36.36% (8/22); 对照组 > 50 岁者 FXII 缺乏 1 例, 占 5.88% (1/17), 2 组比较差异无统计学意义 ($P=0.052$)。

3 讨论

APAs 是一组具高度异质性、能与磷脂特异性结合的自身免疫球蛋白 (IgG、IgM、IgA 或复合物), 主要包括 ACA 和 LA, 现已证实是获得性血栓的主要原因。APAs 通过其识别的抗原特异性不同, 与各种磷脂-蛋白复合物结合, 干扰各种依赖磷脂的凝血和抗凝因子发挥作用。其中 ACA 检测敏感性高于 LA 的检测及梅毒血清学试验, 并且发现与临床关系较为密切, 其表现形式包括 IgG、IgM 及 IgA。促血栓形成机制可能与以下几个方面有关: (1) APAs 损伤血小板和内皮细胞膜, 导致细胞膜内层带负电荷磷脂暴露于胞膜表面, APAs 与之结合后导致内皮功能受损, 促进血栓形成。(2) APAs 干扰蛋白共辅因子 β_2 糖蛋白结合于细胞膜的负电荷磷脂, 并抑制其抗凝作用。(3) APAs 与磷脂结合后抑制蛋白 C 在内皮细胞和血小板表面活化, 导致蛋白 C 抗凝血功能的缺陷, 使血液处于高凝状态,

2 组比较差异无统计学意义 ($P=0.199$)。 > 50 岁 RVO 患者 ACA 阳性 4 例, 占 18.18% (4/22)。对照组 > 50 岁 ACA 阳性 0 例 (0/17), 2 组比较差异无统计学意义 ($P=0.118$)。 ≤ 50 岁者 RVO 患者 LA 阳性 1 例, 占 9.09% (1/11); 对照组 ≤ 50 岁 LA 阳性 1 例, 占 7.69% (1/13), 2 组比较差异无统计学意义 ($P=1.000$)。 > 50 岁者 RVO 患者 LA 阳性 1 例, 占 4.55% (1/22); 对照组 > 50 岁 LA 阳性 1 例, 占 5.88% (1/17), 2 组比较差异无统计学意义 ($P=1.000$) (表 3)。

促进血栓形成。

本研究发现 RVO 组 ACA 阳性率为 18.18% (6/33), 与对照组比较差异有统计学意义, 提示 ACA 是 RVO 发病的危险因素之一。Abu El-Asrar 等^[7] 研究也发现 15 例 RVO 患者 (26.3%) APAs 阳性, 其中 12 例为 LA 阳性, 另外 3 例 ACA 水平明显升高; 对照组 74 例中有 3 例 APAs 呈阳性结果, 2 组比较差异有统计学意义。另外本研究中 ≤ 50 岁组及 > 50 岁组 RVO 患者中 APAs 阳性率接近, 与同年龄组对照组比较差异均无统计学意义。但是 Bashshur 等^[8] 的研究中 RVO 患者 24 例, LA 检测均呈阴性, ACA 阳性者 10 例 (24%), 年龄均 < 45 岁, 与 ACA 阴性组比较年龄差异有统计学意义。分析其原因, 可能与病例选取及样本含量有关, 另外在不同的 ELISA 检测系统中也存在很多差异, 包括封闭试剂、患者样本的冻融状态、稀释浓度、缓冲系统离子强度、心磷脂包被方法的不同等, 都会对 ACA 的检测结果产生影响。APAs 可通过多种途径干扰凝血系统, 使患者血液处于高凝状态, 促进血栓形成, 所以治疗上应强调抗血小板和抗凝治疗。Abu El-Asrar 等^[7] 认为 RVO 患者应进行 APAs 检测, 阳性患者应进行长期抗凝药物治疗直至 APAs 持续阴性 4~6 个月。Bick 等^[9] 提出 APAs 检测阳性的 RVO 患者推荐药物治疗为已酰可可碱 400 mg, 每日 4 次。

FXII 在血浆中以单链的非激活酶类酶原形式存在, 其质量浓度约为 30 ng/L。FXII 的内含子/外显子基因在结构上有着与组织型纤溶酶原激活物和尿激酶型

纤溶酶原激活物相似的丝氨酸蛋白酶部分。FⅫ在外界的刺激下激活变成FⅫa, FⅫa可以直接或间接地激活血浆中的几个反应,如凝血系统、纤溶系统和补体系统,促进血小板浸润及缓冲血管损伤,同时也可以促进激肽的产生。1955年, Ratnoff等^[10]首次发现FⅫ缺乏。Halbmayer等^[11]研究认为在一般人群中FⅫ缺乏的发生率为1.5%~3.0%。近年来FⅫ的纤溶作用越来越受到重视,研究认为远大于其在内源性凝血途径中的作用, FⅫ缺乏患者并无出血倾向但有血栓形成的危险。目前国内对FⅫ的研究多在心脑血管疾病方面^[12-13]。

本研究中RVO患者FⅫ缺乏发生率为42.42%,对照组FⅫ缺乏发生率13.33%,二者比较差异有统计学意义,表明FⅫ缺乏引起的凝血障碍与RVO的发病相关。另外≤50岁组及>50岁组RVO患者中APAs阳性率均高于同年龄对照组,但是二者比较差异无统计学意义,可能与样本含量偏小有关。Kuhli等^[14]报道RVO组FⅫ缺乏的发生率9.3%(14/150)与对照组0.7%(1/135)比较差异有统计学意义,并且≤50岁组及>50岁组的RVO患者FⅫ缺乏的发生率与同年龄对照组比较差异有统计学意义,认为FⅫ缺乏是眼血管的易栓危险因素之一,尤其是<50岁者。由于FⅫ缺乏在血栓形成和影响纤溶酶原活性方面的作用越来越重要,已有研究考虑将FⅫ活性及抗原水平的检测作为血栓前状态的一个筛选试验^[15]。但是如何针对FⅫ缺乏的RVO患者进行有效的治疗,目前尚无统一方法。

目前研究认为高凝因素在RVO患者中较普遍存在,本研究亦表明ACA及FⅫ缺乏与RVO的发病相关,RVO患者中出现的易栓危险因素提示新的诊断及治疗思路。然而本研究样本含量较小,仅为一个横断面研究,对以上存在高凝因素的RVO患者缺乏长期的随访观察,该类患者的临床特点及如何采取合理的针对性治疗尚不明确,是否应对RVO患者进行常规检测仍

存在争议,尚需进行深入的研究。

参考文献

- 1 Michael L, Murat T, John K, et al. Laboratory evaluation of hypercoagulable states in patients with central retinal vein occlusion who are less than 56 years of age [J]. *Ophthalmology*, 2002, 109: 126-131
- 2 Prisco D, Marcucci R. Retinal vein thrombosis: risk factors, pathogenesis and therapeutic approach [J]. *Pathophysiol Haemost Thromb*, 2002, 32(5-6): 308-311
- 3 Prisco D, Marcucci R, Bertini L, et al. Cardiovascular and thrombophilic risk factors for central retinal vein occlusion [J]. *Eur J Intern Med*, 2002, 13(3): 163-169
- 4 Lahey JM, Kearney JJ, Tunc M. Hypercoagulable states and central retinal vein occlusion [J]. *Curr Opin Pulm Med*, 2003, 9(5): 385-392
- 5 van Cott EM, Laposata M, Hartnett ME. Prothrombin gene mutation G20210A, homocysteine, antiphospholipid antibodies and other hypercoagulable states in ocular thrombosis [J]. *Blood Coagul Fibrinolysis*, 2004, 15(5): 393-397
- 6 Speicher L, Philipp W, Kunz FJ. Factor XII deficiency and central retinal vein occlusion [J]. *Lancet*, 1992, 340(8813): 237
- 7 Abu El-Asrar AM, Abdel Gader AG, Al-Amro S, et al. Hypercoagulable states in patients with retinal venous occlusion [J]. *Doc Ophthalmol*, 1998, 95(2): 133-143
- 8 Bashshur ZF, Taher A, Masri AF, et al. Anticardiolipin antibodies in patients with retinal vein occlusion and no risk factors: a prospective study [J]. *Retina*, 2003, 23(4): 486-490
- 9 Bick RL, Baker WF. Antiphospholipid and thrombosis syndromes [J]. *Semin Thromb Hemost*, 1994, 20: 3-15
- 10 Ratnoff OD, Colopy JE. A familial hemorrhagic trait associated with a deficiency of a clot-promoting fraction of plasma [J]. *J Clin Invest*, 1955, 34(4): 602-613
- 11 Halbmayer WM, Haushofer A, Schon R, et al. The prevalence of moderate and severe FⅫ (Hageman factor) deficiency among the normal population: evaluation of the incidence of FⅫ deficiency among 300 healthy blood donors [J]. *Thromb Haemost*, 1994, 71(1): 68-72
- 12 胡翊群, 王鸿利, 焦洁茹, 等. 脑血栓患者凝血因子Ⅻ对纤溶活性影响的初步研究 [J]. *中华血液学杂志*, 2000, 21(9): 466-468
- 13 胡翊群, 焦洁茹, 王鸿利, 等. 腔隙性脑梗死患者FⅫ CRM+及其对纤溶酶原活性影响的初步研究 [J]. *临床血液学杂志*, 2000, 13(5): 201-203
- 14 Kuhli C, Scharrer I, Koch F, et al. Factor XII deficiency: a thrombophilic risk factor for retinal vein occlusion [J]. *Am J Ophthalmol*, 2004, 137(3): 459-464
- 15 Winter M, Gallimore M, Jones DW. Should factor XII assays be included in thrombophilia screening [J]? *Lancet*, 1995, 34: 52

(收稿: 2008-12-11 修回: 2009-09-25)

(本文编辑: 尹卫靖)

读者·作者·编者

本刊稿约声明

本刊已入编美国《化学文摘》、《荷兰医学文摘》、俄罗斯《科学文摘》(AJ)、中国科学引文数据库(CSCD)、中国生物医学文献光盘数据库检索系统(CBMdisc)、中文生物医学期刊文献数据库(CMCC)、中国期刊全文数据库(CJFD)、中国学术期刊光盘版(CNKI)、维普科技期刊数据库(光盘)、万方数据网络系统、中文科技期刊数据库、台湾华艺中文电子期刊服务(CEPS)一思博网等电子数据库,其作者文章著作权使用费与本刊稿费一次性付清。凡不同意入编的稿件,请作者在投稿时声明。

(本刊编辑部)