

[16] Kampa M, Theodoropoulou K, Mavromati F, et al. Novel oligomeric proanthocyan -idin derivatives interact with membrane androgen sites and induce regression of hormone-in-dependent prostate cancer[J]. J Pharmacol Exp Ther, 2011, 337(1): 24-32.

[17] 刘洁, 庄乾元, 张维怡. 葡萄籽提取物原花青素对人膀胱癌 BIU87 细胞周期的影响及其机制研究[J]. 第三军医大学学报, 2009, 31(17): 1661-1663.

[18] Agarwal C, Sharma Y, Agarwal R. Anticarcinogenic effect of a polyphenolic fraction isolated from grape seeds in human prostate carcinoma DU145 cells: modulation of mitogenic signaling and cell cycle regulators and induction of G1 arrest and apoptosis [J]. Mol Carcinog, 2000, 28(3): 129-138.

[19] Elizabeth ET, Ye J, Williams D, et al. Suppression of Estrogen Biosynthesis by Procyanidin Dimers in Red Wine and Grape Seeds [J]. Cancer Res, 2003, 63(23): 8516-8522.

[20] Mantena SK, Baliga MS, Katiyar SK. Grape seed proanthocyanidins induce apoptosis and inhibit metastasis of highly metastatic breast carcinoma cells [J]. Carcinogenesis, 2006, 27(8): 1682-1691.

[21] Feng R, Ni HM, Wang SY, et al. Cyanidin-3-rutinoside, a natural polyphenol antioxidant, selectively kills leukemic cells by induction of oxidative stress[J]. J Bio Chem, 2007, 282(18): 13468-13476.

[22] Hu H, Qin YM. Grape seed proanthocyanidin extract induced mitochondria-associated apoptosis in human acute myeloid leukaemia 14. 3D10 cells [J]. Chin Med J, 2006, 119(5): 417-421.

[23] 杜晓芬, 谢笔钧, 张玲珍, 等. 莲房原花青素对人口腔表皮样癌 (KB) 细胞生长及形态的影响 [J]. 现代口腔医学杂志, 2005, 19(4): 384-386.

[24] Zhang FJ, Yang JY, Mou YH, et al. Oligomeric procyanidins induce generation of reactive oxygen species and collapse of mitochondrial membrane potential in glioblastoma cell lines [J]. Chin Herbal Med, 2009, 1(1): 45-52.

[25] 谢跃文, 王强, 夏洁. 肿瘤标志物检测在恶性肿瘤诊断中的应用 [J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(1): 107-109.

(收稿日期: 2011-05-29)

• 综 述 •

## 抗磷脂综合征与纤溶减弱

程 峰<sup>1</sup>综述, 武爱敏<sup>2</sup>审校

(1. 黑龙江省绥化市人民医院检验科 152000; 2. 哈尔滨医科大学第一临床学院 150001)

关键词: 抗磷脂综合征; 纤溶;  $\beta_2$ -糖蛋白 I; 膜联蛋白 A2

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2011. 19. 024

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2011)19-2218-03

抗磷脂综合征 (antiphospholipid syndrome, APS) 是患者体内抗磷脂抗体 (antiphospholipid antibodies, APL) 阳性, 反复发生小动、静脉血栓及流产的非炎性自身免疫性疾病<sup>[1]</sup>。APL 是 APS 患者血栓形成的最普遍原因, 并与因血栓而导致的心血管死亡密切相关<sup>[2]</sup>。APL 包括狼疮抗凝物 (lupus anticoagulant, LA)、抗心磷脂抗体 (anticardiolipin antibody, ACL)。LA 是一种作用于凝血酶原复合物以及 Tenase 复合体的免疫球蛋白, 在体外能延长磷脂依赖的凝血试验的时间。 $\beta_2$ -Glycoprotein I ( $\beta_2$ -GPI) 是磷脂结合蛋白, 是心磷脂中发挥作用的物质。ACL 在与含阴性电荷的磷脂抗原反应时必须有助因子  $\beta_2$ -GPI 存在, 故又称为磷脂依赖性抗  $\beta_2$ -GPI 抗体。

APL 介导血栓形成的病理过程涉及许多病理机制, 如血管内皮细胞、单核细胞、血小板的激活, 以及这些细胞释放的血栓形成微粒的作用<sup>[3]</sup>。其他机制包括补体系统的激活、降解血栓纤溶系统的减弱等。目前已有研究报道, 发生 APS 时抗凝活性会明显减弱, 现就导致纤溶减弱的可能性因素进行综述。

### 1 纤溶系统的组成

纤溶过程主要是指富含纤维蛋白的血栓的修饰和降解的过程。纤溶酶原在纤溶酶原激活物的作用下转换成纤溶酶, 纤溶酶降解纤维蛋白导致纤维蛋白降解产物的释放, 包括 D-二聚体等。纤溶酶原激活物主要包括组织型纤溶酶原激活物 (tissue plasminogen activator, tPA) 和尿激酶型纤溶酶原激活物 (urokinase plasminogen activator, uPA)。tPA 由血管内皮细胞和巨噬细胞合成, 在维持血管壁的纤溶活性和溶栓过程中发挥着重要的作用。与 tPA 相比, uPA 则主要在细胞的侵袭和迁移过程中发挥作用<sup>[4]</sup>。

纤溶酶可通过外激活途径和内激活途径而激活。外激活途径是通过活化的 tPA 和 uPA 激活纤溶酶, 内激活途径是内源性凝血系统的凝血因子Ⅻ、激肽释放酶 K 和凝血酶裂解纤溶酶还原形成纤溶酶<sup>[5]</sup>。血浆中 tPA 的水平通常很低, 但是当身体处于运动状态和应激状态时可以升高。tPA 的活性主要由丝氨酸蛋白酶抑制剂和纤溶酶原激活抑制物-1 (PAI-1) 调节, 纤溶酶原激活物-2 也发挥着一定的作用。纤维蛋白含有 tPA 的结合位点, 体内纤维蛋白水平较高时可以促进 tPA 激活纤溶酶。纤维蛋白-纤溶酶复合物产生后, 就会被血浆纤溶抑制物  $\alpha_2$ -巨球蛋白和  $\alpha_2$ -纤溶抑制物等保护。因此, 在生理情况下, 纤溶系统在纤溶酶的激活物和抑制物的调解下以及纤溶酶原和纤溶酶的转换下保持着动态平衡, 防止体内血栓的形成<sup>[6]</sup>。当任何一种平衡被破坏时, 就会导致血栓的形成。APS 患者纤溶酶原和纤溶酶的转换处于失衡状态, 这也可能是 APS 患者纤溶减弱的重要机制。

### 2 APS 与纤溶

目前, 已有若干研究探讨 APL 在纤溶过程中的作用, APL 引起纤溶系统的紊乱可以导致血栓的形成<sup>[7]</sup>。Jurado 等<sup>[8]</sup>发现, 静脉闭塞的 APS 患者与健康人群相比 PAI-1 的活性较强。Ames 等<sup>[9]</sup>等报道, APS 患者静脉闭塞后 PAI-1 水平升高且 tPA 的生成会减少。这些研究均表明 APS 患者纤溶系统处于紊乱状态。

Atsumi 等<sup>[10]</sup>发现了 APS 患者纤溶系统紊乱活性减弱的另一个机制即 APS 患者血浆含有高水平的脂蛋白 a [lipoprotein a, Lp(a)]。Lp(a) 是纤溶酶原的同源蛋白, 两者在结构上极为相似。Lp(a) 可以对纤溶酶原和纤维蛋白及细胞表面的

结合进行竞争,而抑制纤维蛋白的水解作用。Li 等<sup>[11]</sup>报道 Lp(a)可以增加内皮细胞 PAI-1 的表达。因此,Lp(a)干扰了纤溶酶介导的纤维蛋白的降解。APL 减弱纤溶还存在其他的机制。纤溶酶是 APS 患者的自身抗原,APL 通过和纤溶酶结合抑制纤溶。Chen 等<sup>[12]</sup>用人纤溶酶免疫小鼠后可以获得纤溶酶的单克隆抗体支持这一观点。而且,Yang 等<sup>[13]</sup>报道 28% 的 APS 患者体内含有抗纤溶酶原抗体,该抗体能够减弱纤溶酶介导的纤溶。其他研究报道 APL 结合 tPA,从而阻止 tPA 激活纤溶酶原酶<sup>[14]</sup>。通过研究还发现,APS 患者抗 tPA 抗体和血浆 tPA 的活性呈负相关关系<sup>[15]</sup>。在这个过程中发挥作用的物质主要是  $\beta_2$ -GPI。

### 3 $\beta_2$ -GPI 与纤溶

$\beta_2$ -GPI 是 APS 患者的主要靶抗原。它能与细胞膜的膜磷脂发生相互作用<sup>[16]</sup>。新近的研究发现  $\beta_2$ -GPI 和  $\beta_2$ -GPI 抗体在纤溶系统中发挥着重要作用。 $\beta_2$ -GPI 是一种隶属于载脂蛋白家族的血浆糖蛋白,是一种磷脂结合蛋白,健康者血浆  $\beta_2$ -GPI 的浓度大约是 200  $\mu\text{g/mL}$ <sup>[17]</sup>。 $\beta_2$ -GPI 属于补体调控蛋白超基因家族中的一员,有 5 个结构相似的结构区域,属于短共有序列。 $\beta_2$ -GPI 的区域 V 是一个非典型的短共有序列,富含赖氨酸,使  $\beta_2$ -GPI 与磷脂类能容易结合。纤溶酶能够切开这种序列,断开  $\beta_2$ -GPI 与磷脂类的结合。

$\beta_2$ -GPI 可以通过和纤溶酶原发生直接作用来调节纤溶。 $\beta_2$ -GPI 的区域 V 能被纤溶酶以蛋白水解的方式切开,形成有切口的  $\beta_2$ -GPI,与完整的  $\beta_2$ -GPI 相比,它对带负电荷的磷脂有较低的亲和力<sup>[18]</sup>。Yasuda 等<sup>[19]</sup>报道,有切口的  $\beta_2$ -GPI 可以结合纤溶酶原阻止纤溶酶的形成,认为其结合是缺口  $\beta_2$ -GPI 的区域 V 富含赖氨酸的序列和纤溶酶原的区域 V 的环状结构域的一个赖氨酸的结合。该报道表明有切口的  $\beta_2$ -GPI 通过负反馈机制来控制纤溶的外激活途径。

López-Lira 等<sup>[20]</sup>研究发现,完整的  $\beta_2$ -GPI 可以促进纤溶酶的产生。 $\beta_2$ -GPI 与纤溶酶原之间的结合也是依靠赖氨酸。研究学者发现,完整的  $\beta_2$ -GPI 与纤溶酶原之间的低亲和力是由于赖氨酸残基与 tPA 形成了三元络合物,当纤溶酶原和 tPA 都存在时,因依赖  $\beta_2$ -GPI 而产生的纤溶酶会增加<sup>[20]</sup>。与 Yasuda 等<sup>[19]</sup>的研究结论一致。这些研究表明完整的  $\beta_2$ -GPI 会促进纤溶酶的产生,但是接下来的纤溶酶原的活性以及切开的  $\beta_2$ -GPI 会抑制纤溶酶进一步的产生,因此,纤溶酶的产生保持着动态平衡。

Ieko 等<sup>[21]</sup>还证明了  $\beta_2$ -GPI 能够阻止 PAI-1 抑制 tPA 的活性。在另一个实验中,Takeuchi 等<sup>[22]</sup>用血浆优球蛋白溶解时间评估纤溶活性。在这个实验中,当  $\beta_2$ -GPI 存在时,单克隆抗  $\beta_2$ -GPI 抗体可以减弱纤溶,甚至当过量的凝血因子Ⅺ存在时,也会产生这种效果。因此,这些实验结果表明,APL 能以抗  $\beta_2$ -GPI 抗体抑制纤溶的内激活途径和外激活途径。

$\beta_2$ -GPI 与 tPA 的高亲和力的相互作用可以使 tPA 的酰胺活性增强,同时在纤溶酶原存在时也会促进 tPA 刺激纤维蛋白的降解。这种相互作用是通过  $\beta_2$ -GPI 区域 V 介导的,而且这种作用会使 tPA 介导的纤溶酶原活性大约增强 20 倍。当去除血浆中的  $\beta_2$ -GPI 时,血块溶解时间会延长,恢复正常  $\beta_2$ -GPI 时,血浆血块溶解时间也恢复正常,这表明  $\beta_2$ -GPI 在刺激纤溶时发挥着一定的作用。更重要的是,添加来自于 APS 患者血浆中的抗  $\beta_2$ -GPI 抗体或者是单克隆的抗  $\beta_2$ -GPI 抗体,都会明显减弱  $\beta_2$ -GPI 介导的纤溶活性的增强<sup>[23]</sup>。这些结果表明,有抗  $\beta_2$ -GPI 活性的 APL 可以通过  $\beta_2$ -GPI 刺激血块溶解

的方式来减弱纤溶,从而促进血栓的增长和稳固。

因此,对于 APS 患者来说,体内存在与磷脂- $\beta_2$ -GPI 复合体反应的抗  $\beta_2$ -GPI 抗体,可以与  $\beta_2$ -GPI 磷脂酰丝氨酸、 $\beta_2$ -GPI 磷脂肌醇等酸性磷脂复合体发生反应。反应后,可抑制  $\beta_2$ -GPI 的作用特别是抑制  $\beta_2$ -GPI 在凝血系统中所具有的抑制磷脂群中活化成分的作用。这样便导致纤溶障碍及血栓形成。

### 4 膜联蛋白 A2 与纤溶

细胞表面表达的膜联蛋白 A2 在调节纤溶酶原激活物活性时也发挥着重要作用。已有实验证明膜联蛋白 A2 可以作为纤溶酶原和 tPA 的共同受体,膜联蛋白 A2 可以缩短纤溶酶原和 tPA 空间上的距离,从而使 tPA 激活纤溶酶<sup>[24]</sup>。膜联蛋白 A2 的异四聚体 P11 蛋白可以促进这种交互作用。已有实验研究证明了膜联蛋白 A2 的重要性<sup>[25]</sup>。有文献报道膜联蛋白 A2 缺陷的小鼠受伤后,内皮细胞纤溶酶的产生也会明显减少,体内血栓的清除会延迟,从而会增加纤维蛋白在微血管的沉积时间<sup>[25]</sup>。但是,用膜联蛋白 A2 处理受伤的小鼠可以减少颈动脉血栓的形成。

$\beta_2$ -GPI 还可以通过细胞膜表面的膜联蛋白 A2 与细胞膜磷脂间接发生作用。膜联蛋白 A2 是  $\beta_2$ -GPI 的受体,介导由抗  $\beta_2$ -GPI 抗体导致的内皮细胞的活化<sup>[26]</sup>。膜联蛋白 A2 还与 tPA 及纤溶酶原结合促进纤溶。而且除抗  $\beta_2$ -GPI 抗体外,与膜联蛋白 A2 直接反应及与血栓形成有关的抗体都与 APS 的发生有关<sup>[27]</sup>。这些抗体抑制膜联蛋白 A2 加强 tPA 介导的纤溶酶原的激活,并阻止膜联蛋白 A2 依赖的纤溶酶的产生。在小鼠模型中发现,这些抗体也促进血栓的形成,与膜联蛋白 A2 缺陷的小鼠相比,在野生型小鼠体内形成的血栓体积非常大。因此,对于患 APS 的个体来说,抗膜联蛋白 A2 抗体可以通过和内皮细胞的膜联蛋白 A2 直接作用从而抑制纤溶。

### 5 结 语

APS 患者血栓的形成是多因素作用的结果。APL 通过和在抗凝途径中发挥作用的物质(活化的蛋白 C 和膜联蛋白 A2)发挥作用而破坏纤溶过程,同时也通过这种作用促进血栓的形成。因为  $\beta_2$ -GPI 是 APL 抗体主要的靶抗原,并且在促进纤溶方面发挥着重要作用,因此,抗  $\beta_2$ -GPI 抗体在抑制纤溶活性方面发挥着重要作用也是很容易理解的。 $\beta_2$ -GPI 在纤溶过程中可能作为支架蛋白,从而发挥抗血栓促进纤维蛋白降解的作用。因此,研究  $\beta_2$ -GPI 和抗  $\beta_2$ -GPI 抗体和一些溶纤药物的相互作用,或许可以作为治疗 APS 的新靶点。

### 参考文献

- [1] Eby C. Antiphospholipid syndrome review[J]. Clin Lab Med, 2009,29(4):305-319.
- [2] Ozturk MA, Haznedaro IC, Turgut M, et al. Current debates in antiphospholipid syndrome: the acquired antibody-mediated thrombophilia[J]. Clin Appl Thromb Hemost, 2004, 10(9): 89-126.
- [3] Pierangeli SS, Chen PP, Raschi E, et al. Antiphospholipid antibodies and the antiphospholipid syndrome: pathogenic mechanisms[J]. Semin Thromb Hemost, 2008, 34(16):236-250.
- [4] Zorio E, Gilabert-Estellés J, Espa F, et al. Fibrinolysis: the key to new pathogenetic mechanisms[J]. Curr Med Chem, 2008, 15(7): 923-929.
- [5] Renne T, Gailani D. The role of factor Ⅺ in hemostasis and thrombosis: clinical implications[J]. Expert Rev Cardiovasc Ther, 2007, 5(4):733-741.

- [6] Castellino FJ, Ploplis VA. Structure and function of the plasminogen/plasmin system[J]. Thromb Haemost, 2005, 93(16): 647-654.
- [7] Takeuchi R, Atsumi T, Ieko M, et al. Suppressed intrinsic fibrinolytic activity by monoclonal anti-beta-2 glycoprotein I autoantibodies: possible mechanism for thrombosis in patients with antiphospholipid syndrome[J]. Br J Haematol, 2002, 119(68): 781-788.
- [8] Jurado M, Páramo JA, Rocha E. Fibrinolytic potential and antiphospholipid antibodies in systemic lupus erythematosus and other connective tissue disorders[J]. Thromb Haemost, 1992, 68(13): 516-520.
- [9] Ames PR, Tommasino C, Iannaccone L, et al. Coagulation activation and fibrinolytic imbalance in subjects with idiopathic antiphospholipid antibodies crucial role for acquired free protein S deficiency[J]. Thromb Haemost, 1996, 76(14): 190-194.
- [10] Atsumi T, Khamashta MA, Andujar C, et al. Elevated plasma lipoprotein (a) level and its association with impaired fibrinolysis in patients with antiphospholipid syndrome[J]. J Rheumatol, 1998, 25(1): 69-73.
- [11] Li XN, Grenett HE, Benza RL, et al. Genotype-specific transcriptional regulation of PAI-1 expression by hypertriglyceridemic VLDL and Lp(a) in cultured human endothelial cells[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 1997, 17(62): 3215-3223.
- [12] Chen PP, Yang CD, Ede K, et al. Some antiphospholipid antibodies bind to hemostasis and fibrinolysis proteases and promote thrombosis[J]. Lupus, 2008, 17(7): 916-921.
- [13] Yang CD, Hwang KK, Yan W, et al. Identification of anti-plasmin antibodies in the antiphospholipid syndrome that inhibit degradation of fibrin[J]. J Immunol, 2004, 172(94): 5765-5773.
- [14] Lu CS, Horizon AA, Hwang KK, et al. Identification of polyclonal and monoclonal antibodies against tissue plasminogen activator in the antiphospholipid syndrome[J]. Arthritis Rheum, 2005, 52(13): 4018-4027.
- [15] Cugno M, Cabibbe M, Galli M, et al. Antibodies to tissue-type plasminogen activator (t-PA) in patients with antiphospholipid syndrome: evidence of interaction between the antibodies and the catalytic domain of t-PA in 2 patients[J]. Blood, 2004, 103(28): 2121-2126.
- [16] Ippolito S, Simone N, Nicuolo F, et al. Antiphospholipid antibodies: effects on trophoblast and endothelial cells[J]. Am J Reprod Immunol, 2007, 58(22): 150-158.
- [17] 王艳华, 陈阿梅, 刘庆平.  $\beta_2$ -GPI 在抗磷脂综合征中的作用[J]. 内蒙古医学院学报, 2006, 12(28): 83-87.
- [18] Horbach DA, van Oort E, Lisman T, et al. Beta2-glycoprotein I is proteolytically cleaved in vivo upon activation of fibrinolysis[J]. Thromb Haemost, 1999, 81(21): 87-95.
- [19] Yasuda S, Atsumi T, Ieko M, et al. Nicked  $\beta_2$ -glycoprotein I: a marker of cerebral infarct and a novel role in the negative feedback pathway of extrinsic fibrinolysis[J]. Blood, 2004, 103(83): 3766-3772.
- [20] López-Lira F, Rosales-León L, Martínez VM, et al. The role of beta2-glycoprotein I (beta2GPI) in the activation of plasminogen[J]. Biochim Biophys Acta, 2006, 1764(162): 815-823.
- [21] Ieko M, Ichicawa K, Atsumi T, et al. Effects of beta 2-glycoprotein I and monoclonal anticardiolipin on extrinsic fibrinolysis[J]. Semin Thromb Haemost, 2000, 26(19): 85-90.
- [22] Takeuchi R, Atsumi T, Ieko M, et al. Suppressed intrinsic fibrinolytic activity by monoclonal anti-beta-2 glycoprotein I autoantibodies: possible mechanism for thrombosis in patients with antiphospholipid syndrome[J]. Br J Haematol, 2002, 119(64): 781-788.
- [23] Bu C, Gao L, Xie W, et al. Beta2-glycoprotein i is a cofactor for tissue plasminogen activator-mediated plasminogen activation[J]. Arthritis Rheum, 2009, 60(14): 559-568.
- [24] Hajjar KA. The endothelial cell tissue plasminogen activator receptor[J]. J Biol Chem, 1991, 266(36): 21962-21970.
- [25] Ling Q, Febbraio M, Deora B, et al. Annexin II is a key regulator of fibrin homeostasis and neoangiogenesis[J]. J Clin Invest, 2004, 113(19): 38-48.
- [26] Ma K, Simantov R, Zhang JC, et al. High affinity binding of beta 2-glycoprotein I to human endothelial cells is mediated by annexin II [J]. J Biol Chem, 2000, 275(43): 15541-15548.
- [27] Cesarman-Maus G, Rios-Luna NP, Deora AB, et al. Autoantibodies against the fibrinolytic receptor annexin 2, in antiphospholipid syndrome[J]. Blood, 2006, 107(14): 4375-4382.

(收稿日期: 2011-09-09)

• 综 述 •

## 临床诊断中的微阵列基因组 DNA 分析技术的发展与应用

姚如恩 综述, 傅启华 审校  
(上海儿童医学中心 200127)

**关键词:** 基因组; DNA; 微阵列

**DOI:** 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2011. 19. 025

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1673-4130(2011)19-2220-04

目前, 在科研和临床实验室中涉及的各种主要微阵列技术及平台的发展和平台, 虽然还没有标准化的操作平台, 但是综合的寡核苷酸微阵列平台, 包括相对基因杂交 (comparative genomic hybridization, CGH) 和基因型杂交阵列 (genotyping hybrid arrays), 因其灵活性和设计与升级的个体化、生产制造过程的相对简单和检测基因组不平衡的高效性, 正逐步成为众多方法中的首选。拷贝数变化 (CNVs), 是一类可通过微阵列基因组 DNA 分析 (microarray-based genomic DNA profiling,

MGDP) 检测到的基因组缺失或复制的现象, 是一种常见的基因型。目前正在进行的大量健康人群的 CNVs 自然分布的调查, 结合临床患者的资料和研究, 将会提高人们对 CNVs 自然分布的了解, 成为更多新发现的来源。

人类 DNA 突变包括从单个核苷酸的改变到整个染色体的改变。新发生的单个核苷酸突变概率约为每代  $1.7 \times 10^{-8}$  个, 因此估计每个新生儿都带有 2 个引起氨基酸改变的点突变, 而整个染色体发生改变并引起非整倍体的现象在新生儿中