

• 个案分析 •

F7 基因 c. 1224T>G 纯合突变致遗传性凝血因子Ⅶ缺陷症 临床及家系分析*

余 曼,彭 燕,万腊根,周普辉[△]
南昌大学第一附属医院检验科,江西南昌 330006

关键词:凝血因子Ⅶ; 基因突变; 表型

DOI:10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2022. 02. 026

文章编号:1673-4130(2022)02-0254-03

中图法分类号:R596

文献标志码:B

遗传性凝血因子Ⅶ(FⅦ)缺陷症是由 F7 基因突
变所致的一种常染色体隐性出血性疾病,男女均可发
病。遗传性 FⅦ 缺陷症在人群中发病率约为 1/
500 000,临床表现呈异质性,部分患者无症状,部分患
者存在不同程度出血,常见的出血症状为鼻出血、牙
龈出血、皮肤瘀斑、创伤及手术后出血难止,有时可出
现致命的颅内出血^[1-6]。

1 资料与方法

1.1 病例资料 先证者为 38 岁女性,因稽留流产和
子宫腺瘤术前筛查提示凝血酶原时间(PT)延长,既往
有鼻出血及碰伤出血轻微出血病史,父母为表兄妹近
亲结婚。

1.2 凝血功能和凝血因子活性检测 采集先证者及
家系成员外周血于 0. 109 mol/L 枸橼酸钠溶液的抗
凝管中(血:抗凝剂=1:9),2 000×g 离心(离心机:
上海科学器材有限公司)15 min 分离乏血小板血浆,
CS-5100 全自动血凝仪(日本 Sysmex 公司)检测活化
部分凝血活酶时间(APTT)、PT,应用基于 PT 一步
法乏因子血浆测定凝血因子Ⅱ、Ⅴ、Ⅶ和Ⅹ活性。

1.3 F7 基因分析 用 TIANGEN 全血 DNA 抽提试

剂盒(北京天根生化科技有限公司)提取先证者及家
系成员外周血基因组 DNA。设计合成引物见表 1,在
聚合酶链反应(PCR)仪(美国 Thermo Fisher 公司)
上扩增 F7 基因所有外显子及侧翼序列。PCR 扩增产
物在琼脂糖凝胶电泳(北京君意东方电泳设备有限公
司)后割胶回收,TIANGEN 胶纯化试剂盒(北京天根
生化科技有限公司)纯化后送测序分析。所有测序均
进行正反向测序验证。

2 结 果

2.1 临床及实验室表型 先证者 PT 延长,APTT
正常,FⅦ活性为 4. 4%。先证者母亲、姐姐、哥哥和儿
子 PT 和 APTT 均正常,FⅦ活性分别为 84. 9%、
83. 8%、118. 2%和 54. 6%,见表 2。

2.2 F7 基因分析结果 先证者 F7 基因中发现一个
纯合碱基替换,位于 8 号外显子的第 1224T 被 G 替代
(c. 1224T>G,His408Gln),导致编码的组氨酸(His)被
谷氨酰胺(Gln)取代。在家系其他成员中,先证者母亲、
姐姐、哥哥和儿子均为 c. 1224T>G (His408Gln)杂合
突变,先证者哥哥为正常野生型,父亲已故,见图 1、2。

表 1 F7 基因引物序列及扩增片段长度

引物名称	引物序列(5'→3')	片段长度(bp)	退火温度(℃)
5'UTR	F:AGG CTC TCT TCA AAT ATT TAC ATC	571	55
	R:CGG GCT GGC TCC TGG ATT T		
Exon1a	F:CTT GGA GGC AGA GAA CTT TG	311	53
	R:CCT GGA TGC TGG TTT CTA GA		
Exon1b	F:CTA GCT CAC AGC ATG GCC TT	178	56
	R:GAG GGG AAG GAG GTG ATG TT		

* 基金项目:江西省青年科学基金项目(20202BAB216010);江西省卫生健康委员会普通科技计划(20185097)。

[△] 通信作者,E-mail:puhuizhou@126. com。

本文引用格式:余曼,彭燕,万腊根,等. F7 基因 c. 1224T>G 纯合突变致遗传性凝血因子Ⅶ缺陷症临床及家系分析[J]. 国际检验医学杂志,2022,43(2):254-256.

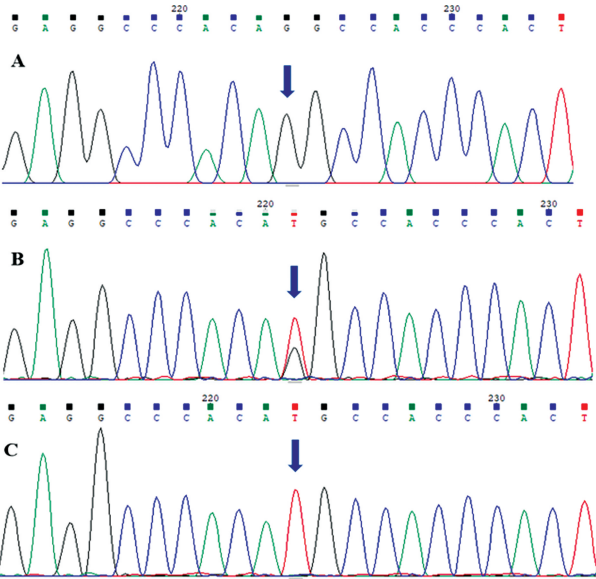
续表 1 F7 基因引物序列及扩增片段长度

引物名称	引物序列(5'→3')	片段长度(bp)	退火温度(℃)
Exon2	F:TGG GCG CTT CAC GGA ACT CG R:CAC AGC CGC AGC CAA AGA G	297	60
Exon3+4	F:TTG GGT GCT CTG GTG AAG R:GGG ACA CAG GGA CTC TCA G	540	55
Exon5	F:CTT CCA GGC AGA ACA CCA CT R:ACT GGG ACA TGA AGC CTG GT	271	57
Exon6	F:CCT AGT GGC ACG TTC ATC CC R:GCC CAT TTT CCC TTC CAG AG	259	56
Exon7	F:CAA AGA CCC CAG GAT TTC AG R:TGA GAC ACT TGA GAG CTG CG	482	54
Exon8a	F:CCC CTG CAG ACC TAG AAA TG R:ACG TTG AGG ACC ATG AGC TC	378	55
Exon8b	F:GAA CGG ACG TTC TCT GAG AG R:ATA TGG GAT TTG GTG CCA GG	498	55
3'UTR	F:AAG CTC ATG CGC TCA GAG CC R:CCT GGG AGC TAC AGC CTC AA	1 296	59

表 2 遗传性 FⅦ 缺陷症家族的基因型和表型

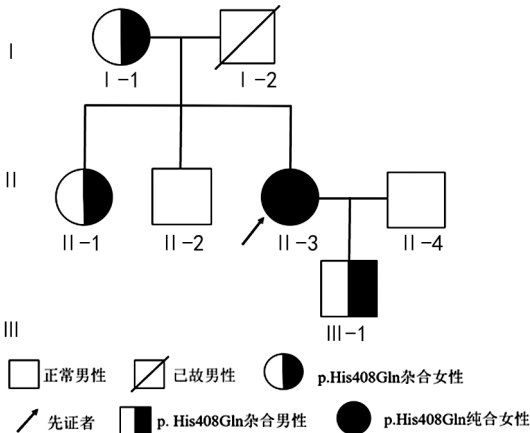
家族成员	PT(s)	APTT(s)	FⅦ 活性(%)	外显子	核苷酸突变位点	氨基酸突变位点	突变类型
先证者	24.7	29.6	4.4	8	c. 1224T>G	p. His408Gln	纯合
母亲	10.6	25.9	84.9	8	c. 1224T>G	p. His408Gln	杂合
哥哥	10.8	28.2	118.2	8	野生型	野生型	野生型
姐姐	10.4	31.4	83.8	8	c. 1224T>G	p. His408Gln	杂合
儿子	11.9	28.0	54.6	8	c. 1224T>G	p. His408Gln	杂合
参考范围	9.8~12.1	25.3~33.1	70.0~120.0	—	—	—	—

注:—为无数据。



注:A为先证者 1224T>G 纯合突变;B为 1224T>G 杂合突变;C 为先证者哥哥正常野生型。

图 1 家系的测序峰值图



注:I-1为先证者母亲,I-2为先证者父亲,II-1为先证者姐姐,II-2为先证者哥哥,II-3为先证者,II-4为先证者丈夫,III-1为先证者儿子。

图 2 遗传性 FⅦ 缺陷症的家系遗传图

3 讨 论

根据 FⅦ 数据库(<http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/gene.php?gene=F7>)及相关文献报道,His408Gln 为中

国人群中较为常见的突变类型^[7],但纯合病例报道较少。目前全世界已报道 6 例 His408Gln 纯合突变患者^[8-12],其临床表现从无症状到重度出血,其中重度 2 例、轻度 1 例和无症状 3 例,FⅦ活性均≤5.0%,FⅦ抗原水平明显下降。2000 年 KATSUMI 等^[8]报道 1 例 His408Gln 纯合突变患者,该病例为 45 岁的日本男性患者,父母近亲结婚,因反复咯血后确诊为遗传性 FⅦ缺陷症,患者既往无出血史,13 岁行阑尾手术时也无异常。GIANILY-BLAIZOT 等^[9]发现 1 例 His408Gln 纯合突变亚洲女性表现为重度出血,FⅦ活性和抗原均为 2.0%,呈现重度降低。SHEN 等^[10]发现 1 例 His408Gln 纯合突变,临床表现为轻度出血。而江明华等^[11]和金艳慧等^[12]报道了 3 例 His408Gln 纯合突变的无症状患者。

本研究中先证者因父母近亲携带 c. 1224T>G (His408Gln)突变导致 F7 基因纯合突变引起 FⅦ缺陷。该病例临床表现为鼻出血及碰伤出血轻微出血,父母无出血倾向。从现有的 7 例病例观察,发现 4 例 His408Gln 纯合突变中国患者临床表现为无症状或轻微出血。临床表现是否与不同种族相关需进一步研究,对无症状患者还需观察其出血风险。

FⅦ是主要在肝脏中合成的依赖维生素 K 丝氨酸蛋白酶原,为外源性凝血途径中重要的启动因子。FⅦ在健康人群血浆中的水平为 0.5~2.0 mg/L^[13]。F7 基因位于第 13 号染色体长臂(13q34),由 9 个外显子及 8 个内含子组成,成熟 FⅦ由 406 个氨基酸组成,相对分子质量为 50×10³^[14-15]。结构上 FⅦ由 γ-羧基谷氨酸区、2 个表皮生长因子样区和 1 个催化区(激活区和蛋白酶区)4 个功能结构域组成^[16]。

His408 在结构上位于 FⅦ丝氨酸蛋白酶催化区和螺旋状 COOH 末端^[16],His408Gln 突变可能破坏分子内部氢键导致蛋白错误折叠影响蛋白空间结构^[17]。体外细胞研究表明,His408Gln 突变导致突变蛋白异常分泌,FⅦ蛋白在细胞内被降解从而导致血浆中 FⅦ活性和抗原均降低,表现为交叉反应物质阴性,这样与其表型测定结果相符^[8]。

因此,His408Gln 突变是导致该家系遗传性 FⅦ缺陷症的原因。His408Gln 突变临床表现呈高度异质性,对于该突变患者应综合考虑患者出血史、FⅦ活性及手术类型等情况进行个体化管理。

参考文献

[1] BORHANY M,BOIJOUT H,PELLEQUER J L,et al. Genotype and phenotype relationships in 10 Pakistani unrelated patients with inherited factor Ⅶ deficiency[J]. Haemophilia,2013,19(6):893-897.

[2] LAPECORELLA M,MARIANI G. International registry on congenital factor Ⅶ deficiency. Factor Ⅶ deficiency: defining the clinical picture and optimizing therapeutic op-

tions[J]. Haemophilia,2008,14(6):1170-1175.

[3] MARIANI G,HERRMANN F H,DOLCE A,et al. Clinical phenotypes and factor Ⅶ genotype in congenital factor Ⅶ deficiency[J]. Thromb Haemost,2005,93(3):481-487.

[4] NAPOLITANO M,SIRAGUSA S,MARIANI G. Factor Ⅶ deficiency: clinical phenotype, genotype and therapy [J]. J Clin Med,2017,6(4):38-45.

[5] MARIANI G,BERNARDI F. Factor Ⅶ deficiency[J]. Semin Thromb Hemost,2009,35(4):400-406.

[6] 朱钱迎,江明华,舒旷怡,等. 遗传性凝血因子Ⅶ缺陷症患者的基因诊断与表型分析[J]. 中国实验血液学杂志,2019,27(3):904-910.

[7] 覃骏,万楚成,郭涛,等. 遗传性凝血因子Ⅶ缺乏症 1 例并文献复习[J]. 临床血液学杂志,2009,23(4):377-378.

[8] KATSUMI A,MATSUSHITA T,YAMAZAKI T,et al. Severe factor Ⅶ deficiency caused by a novel mutation His348 to Gln in the catalytic domain[J]. Thromb Haemost,2000,83(2):239-243.

[9] GIANILY-BLAIZOT M,AGUILAR-MARTINEZ P,BIRON-ANDREANI C,et al. Analysis of the genotypes and phenotypes of 37 unrelated patients with inherited factor Ⅶ deficiency[J]. Eur J Hum Genet,2001,9(2):105-112.

[10] SHEN M C,LIN J S,LIN S W,et al. Novel mutations in the factor Ⅶ gene of Taiwanese factor Ⅶ-deficient patients[J]. Br J Haematol,2001,112(3):566-571.

[11] 江明华,王兆钺,余自强,等. 4 个遗传性凝血因子Ⅶ缺陷症家系的基因与表型分析[J]. 中华血液学杂志,2011,32(3):147-152.

[12] 金艳慧,王明山,郑芳秀,等. 9 例遗传性凝血因子Ⅶ缺陷症患者的分子发病机制与临床特性[J]. 中华医学遗传学杂志,2012,29(4):404-407.

[13] BERNARDI F,MARIANI G. Biochemical, molecular and clinical aspects of coagulation factor Ⅶ and its role in hemostasis and thrombosis [J]. Haematologica, 2021, 106(2):351-362.

[14] ROBINSON K S. An overview of inherited factor VⅦ deficiency[J]. Transfus Apher Sci,2019,58(5):569-571.

[15] O'HARA P J,GRANT F J,HALDEMAN B A,et al. Nucleotide sequence of the gene coding for human factor Ⅶ, a vitamin K-dependent protein participating in blood coagulation[J]. Proc Natl Acad Sci U S A,1987,84(15):5158-5162.

[16] MCVEY J H,BOSWELL E,MUMFORD A D,et al. Factor Ⅶ deficiency and the FⅦ mutation database[J]. Hum Mutat,2001,17(1):3-17.

[17] BANNER D W,D'ARCY A,CHÈNE C,et al. The crystal structure of the complex of blood coagulation factor Ⅶa with soluble tissue factor[J]. Nature,1996,380(6569):41-46.