

DOI:10.13602/j.cnki.jcls.2024.04.08

· 临床研究 ·

遗传性凝血因子Ⅶ缺乏症合并蛇咬伤 1 例报告*

黄佳雯,丘创华,黄春秀,林琳(深圳市第二人民医院检验科,广东深圳 518000)

摘要:**目的** 报道并分析 1 例竹叶青蛇咬伤合并遗传性凝血因子Ⅶ(FⅦ)缺乏症患者的临床资料,并对患儿及其家系成员进行 FⅦ基因突变分析。**方法** 应用 Stago 全自动凝血仪检测患儿凝血指标及 FⅦ活性(FⅦ:C);提取患儿及其家系成员外周血基因组 DNA,对 FⅦ基因编码区及侧翼序列进行 Sanger 测序和生物信息学分析。**结果** 患儿凝血酶原时间(PT)明显延长, FⅦ:C 仅为 3.0%。FⅦ基因测序发现患儿携带 2 个位于第 9 外显子的杂合错义突变:c.1034G>T(p.Gly345Val)和 c.1224T>G(p.His408Gln),家系分析显示前者来源于父亲,后者来源于母亲。经查询,c.1034G>T(p.Gly345Val)突变在东亚人群数据库(ExAC_EAS)中尚无报道。**结论** FⅦ基因 c.1034G>T 和 c.1224T>G 双重杂合突变是导致该家系遗传性 FⅦ缺乏症的分子致病机制,其中 c.1034G>T(p.Gly345Val)为新发现的突变位点。

关键词:凝血因子Ⅶ;基因突变;蛇咬伤;凝血功能障碍

中图分类号:R446

文献标志码:A

蛇咬伤是一种常见的急危重症,其中竹叶青蛇毒素成分复杂,除了局部肿胀、疼痛等症状外,还可引起严重的凝血功能紊乱。研究表明,竹叶青蛇毒素通过激活纤溶系统和释放类凝血酶样物质,导致机体呈现低纤维蛋白原血症和凝血功能异常^[1]。然而,临床上仍有部分蛇咬伤患者表现出与一般病例不同的凝血功能异常表现,提示可能存在其他凝血障碍疾病。

遗传性凝血因子Ⅶ(FⅦ)缺乏症是一种罕见的常染色体隐性遗传性出血性疾病,由 FⅦ基因突变所致。目前已知的 FⅦ基因突变类型包括错义突变(70%)、缺失突变(10%)、剪切位点突变(9%)、启动子突变(6%)以及少数无义突变和小片段插入突变^[2]。由于该病临床表现差异性大,且部分患者可无明显症状,因此容易被误诊或漏诊。

鉴于蛇咬伤后凝血功能异常与 FⅦ缺乏症临床表现的相似性,二者在早期可能难以鉴别,导致诊疗措施选择不当。本文将报道 1 例初步考虑为蛇咬伤所致凝血功能紊乱,最终确诊为遗传性 FⅦ缺乏症的病例,揭示其基因突变情况,以提高临床医师对此类罕见病的认识。

1 对象与方法

1.1 病历摘要 患者,男,2 岁 2 个月。因“被竹叶青蛇咬伤至左足肿痛 20 h”于 2021 年 11 月 8 日入

院。查体见左足背第一跖跗关节处 2 个牙痕,左足背淤痕伴肿胀疼痛,疼痛蔓延至膝下,活动稍受限,无渗血渗液。颈后、背部及双上肢红色成片皮疹,伴瘙痒,无发热、恶心呕吐、心悸乏力等不适,余未见明显异常。患儿及其家属否认异常出血史。

入院后予抗五步蛇毒血清 4 000 U 抗蛇毒,地塞米松磷酸钠注射液抗炎,阿奇霉素干混悬剂防治感染,呋塞米利尿消肿等对症治疗,病情好转后于 2021 年 11 月 16 日出院。截至 2021 年 12 月 29 日随访,患儿无任何异常出血表现,凝血指标逐渐恢复正常(表 1),但凝血酶原时间(prothrombin time, PT)持续延长。经查文献,既往研究发现竹叶青蛇咬伤所致 PT 延长在咬伤当天即可出现,其 PT 值在咬伤后第 3~4 天达到最长,至咬伤后第 8 天其 PT 值仍可稍高于正常范围,大约在咬伤后第 9 天左右可以完全恢复^[3]。患儿长达 61 天的 PT 异常,除了蛇咬伤外,是否有其他因素如 FⅦ缺乏有待考证。

1.2 实验室检查

1.2.1 血浆凝血指标的检测 PT、活化部分凝血活酶时间(activated partial thromboplastin time, APTT)、凝血酶时间(thrombin time, TT)、D-二聚体(D-dimer, DD)、血浆纤维蛋白原(fibrinogen, Fib)、凝血因子Ⅶ活性(FⅦ:C)均用法国斯塔高 Stago R Max 血液凝固分析仪及相关配套试剂进行检测。

为进一步明确 PT 延长的原因,对患儿进行 PT

* 基金项目:深圳市科技创新委员会资助项目(ZDSYS20210623092001003)。

作者简介:黄佳雯,1998 年生,女,技师,硕士研究生,主要从事凝血机制研究。

通信作者:丘创华,副主任技师,E-mail:8758259@qq.com。

纠正试验:取患儿血浆与 20 名体检健康者的混合血浆按 1:1 比例混合,分别在混合后即刻及 37 ℃ 水浴温育 2 h 后测定 PT 值。

1.2.2 凝血相关基因测序 为探索患儿 PT 延长的遗传学基础,抽取患儿及家属外周静脉血,送广州知力医学检验实验室进行 *FVII* 基因测序。所得基因序列采用 Blaster 软件与 ExAC_EAS 数据库进行比对,分析可能存在的突变位点。

2 结果

表 1 患儿蛇咬伤后治疗期间及出院后凝血指标检查结果

凝血指标	11 月 7 日(咬伤 20 min)	11 月 8 日	11 月 10 日	11 月 13 日	11 月 14 日	12 月 23 日	12 月 29 日	参考区间
PT(s)	34.3	30.0	30.8	36.5	29.7	31.9	30.7	11~15
Fib(g/L)	1.61	2.17	1.73	1.50	1.56	1.77	2.23	2~4
APTT(s)	36.5	30.6	32.7	31.5	32.3	38	34.1	28~44
TT(s)	18.40	17	18.5	19.5	18.1	19.3	16.3	14~21
DD(mg/L)	—	17.81	1.90	0.52	0.43	—	—	<0.5

注:—,未检测。

表 2 患儿及其家属的凝血指标及 FⅦ:C 对比(12 月 29 日)

凝血指标	PT (s)	APTT (s)	FIB (g/L)	TT (s)	FⅦ:C (%)
患儿	30.7	34.1	2.23	16.3	3.00
父	13.6	37.2	2.93	15.6	80.00
母	13.4	40.0	2.15	15.2	73.00
参考区间	11~15	28~44	2~4	14~21	70~120

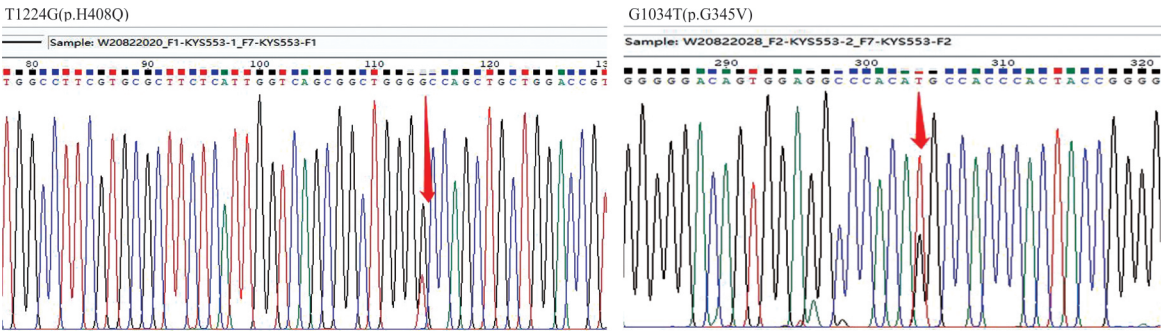
2.2 患儿及家系成员 *FVII* 基因测序结果 以 ExAC 数据库公布的 *FVII* 基因序列(NM_000131)为参照,对患儿及其家属进行 *FVII* 基因测序。结果发现,患儿 *FVII* 基因存在 2 个错义突变:c. 1034G>T (p.Gly345Val)和 c.1224T>G (p.His408Gln)。根据

2.1 患儿及其家属凝血功能分析 患儿 PT 在住院期间及出院后半个月持续延长(表 1),且 FⅦ:C 显著降低。家系其他成员 APTT、TT、Fib 及 FⅦ:C 均在正常范围内(表 2)。PT 纠正试验结果显示,患儿血浆与正常混合血浆按 1:1 混合后,无论即刻检测还是 37 ℃ 温育 2 h 后检测,PT 值均恢复正常。该结果初步排除凝血因子抑制物可能,提示患儿 PT 延长更可能由遗传性 FVII 缺陷所致。

ACMG 指南,这两个突变均为致病性变异。其中 c.1034G>T (p. Gly345Val) 为新发现的突变位点, ExAC 东亚人群数据库中尚无报道。进一步家系分析显示,患儿父亲和母亲分别为这两个突变位点的杂合携带者(表 3,图 1),提示患儿的复合杂合突变分别遗传自父母双方。

表 3 患儿及其家系成员 FⅦ活性变化及基因突变类型

	FⅦ:C (%)	突变位置	碱基突变	氨基酸突变
患儿	3.00	外显子 9	T1224G	H408Q
		外显子 9	G1034T	G345V
母亲	73.00	外显子 9	T1224G	H408Q
父亲	80.00	外显子 9	G1034T	G345V



注:箭头示突变位点。

图 1 *FVII* 基因测序结果(Sanger 测序)

2.3 突变对 FⅦ蛋白结构的影响 为分析上述突变对 FⅦ蛋白结构和功能的影响,从 PDB 数据库获取了人 FⅦ蛋白的三维结构(1CVW),并采用 PyMOL 软件对突变位点进行模拟构建。见图 2,

p.Gly345Val 和 p.His408Gln 突变使 FⅦ活性中心附近的氨基酸由甘氨酸和组氨酸替换为缬氨酸和谷氨酰胺(蓝色),可能影响该区域的空间构象,进而影响 FⅦ的活化和催化功能。

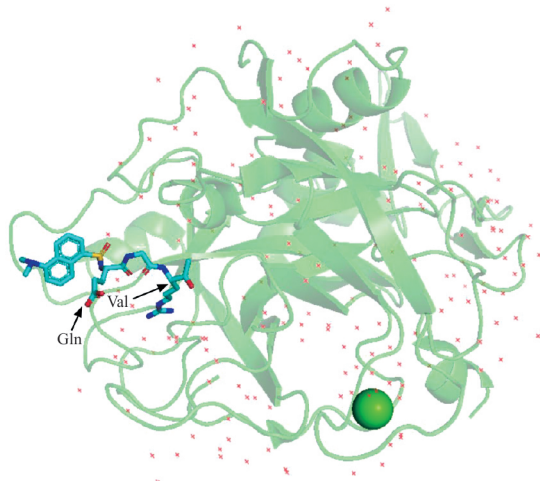


图 2 突变后 FⅦ蛋白模型

3 讨论

FⅦ 基因位于 13 号染色体 13q34, 由 9 个外显子和 8 个内含子组成。*FⅦ* 是一种维生素 K 依赖性丝氨酸蛋白酶, 在外源性凝血途径中起着重要作用。*FⅦ* 基因突变可影响其编码蛋白的结构和功能, 导致 *FⅦ* 缺乏症。该病临床表型具有异质性, Liu 等^[4] 研究表明, 杂合突变携带者通常无明显出血表现, 而复杂杂合突变或纯合突变患者可表现为不同程度的 *FⅦ* 活性降低和出血症状。但 Sevenet 等^[5] 发现, 即使 *FⅦ* 活性降低, 部分患者仍可能无出血表现。本例患儿 *FⅦ*:C 仅为 3.0% (参考范围 70%-120%), 却未出现典型的出血症状, 也提示 *FⅦ*:C 水平与出血表型无明显相关性。

结合患儿的临床表现和检查结果, 入院时 D-二聚体升高至 17.81 mg/L, 考虑为蛇毒诱导的纤溶亢进和凝血活化, 但并未出现持续性凝血因子消耗和弥散性血管内凝血 (DIC) 表现, 属非重症蛇咬伤^[6]。经治疗后, APTT、Fib 和 D-二聚体逐渐恢复正常, PT 却持续延长达 61 天。排除维生素 K 拮抗剂使用和肝功能异常等因素后, PT 纠正试验提示 *FⅦ* 缺乏可能。

基因检测发现患儿存在 *FⅦ* 基因 c.1034G>T 和 c.1224T>G 双重杂合突变, 分别来源于父母。其中 c.1034G>T 突变导致的 p.Gly345Val 在东亚人群数据库中尚无报道, 经分子模拟证实该突变可能通过改变 *FⅦ* 活性中心附近的空间构象而影响其功能。而 c.1224T>G 突变导致的 p.His408Gln 则可能

通过影响 *FⅦ* 分子的酸碱性而降低其活性。有趣的是, 患儿父母虽分别携带一种突变, *FⅦ* 活性和凝血功能却未见明显异常。这提示不同突变组合对 *FⅦ* 功能的影响存在差异, 二者共同作用可能产生协同效应。为进一步阐明其分子机制, 拟通过体外诱变和转基因动物实验深入研究不同基因型与表型的关联。此外, Mariani 等^[7] 在对 *FⅦ* 缺乏症患者进行基因型-表型关联分析时, 发现相同基因型的个体间临床表现严重程度也存在差异, 提示遗传以外的环境因素也可能参与调控 *FⅦ* 活性和临床表型。

综上, 本研究通过对一个遗传性 *FⅦ* 缺乏症家系的临床表型和基因型分析, 发现了一种新的突变位点, 丰富了 *FⅦ* 基因突变数据库。同时初步探讨了基因型-表型关联及其潜在的调控机制, 为后续的致病机理研究和遗传咨询提供了线索。*FⅦ* 缺乏症临床表现的多样性提示, 准确诊断需综合考虑患者病史、凝血功能、基因检测等多方面因素, 必要时行家系成员筛查。

4 参考文献

[1] Rojnuckarin P, Muanpasitporn C, Chanhom L, et al. Molecular cloning of novel serine proteases and phospholipases A2 from green pit viper (*Trimeresurus albolabris*) venom gland cDNA library[J]. Toxicon, 2006, 47(3): 279-287.

[2] McVey JH, Boswell E, Mumford AD, et al. Factor VII deficiency and the FVII mutation database[J]. Hum Mutat, 2001, 17(1): 3-17.

[3] 李鹤. 竹叶青蛇咬伤临床诊治新进展[J]. 蛇志, 2021, 33(4): 387-388.

[4] Liu H, Wang HF, Cheng ZP, et al. Phenotypic and genotypic characterization of four factor VII deficiency patients from central China [J]. Blood Coagul Fibrinolysis, 2015, 26(4): 408-413.

[5] Sevenet PO, Kaczor DA, Depasse F. Factor VII deficiency: from basics to clinical laboratory diagnosis and patient management[J]. Clin Appl Thromb Hemost, 2017, 23(7): 703-710.

[6] 李平, 黄爱玲, 梁子敬. 竹叶青蛇伤致血液功能障碍的特点与救治对策[J]. 现代临床医学生物工程学杂志, 2006, 12(2): 180-181.

[7] Mariani G, Bernardi F. Factor VII deficiency[J]. Semin Thromb Hemost, 2009, 35(4): 400-406.

(收稿日期:2023-07-18)
(本文编辑:王海燕)