·综述·

血管性血友病因子前导肽的作用及临床价值

殷杰　阮长耿

The function and clinical value of Von Willebrand factor propeptide *Yin Jie, Ruan Changgeng*
Corresponding author: Ruan Changgeng, Jiangsu Institute of Hematology, MOH Key Lab of Thrombosis and Hemostasis, the First Affiliated Hospital of Soochow University, Collaborative Innovation Center of Hematology, Soochow University, Suzhou 215006, China. Email: cshcma@medmail.com.cn

血管性血友病因子（von Willebrand factor, VWF）是血浆中参与止血和凝血过程的重要蛋白分子。在初期止血中，VWF一头连接在受损的内皮细胞表面，一头锚定血小板表面的糖蛋白Ⅰb，介导血小板在血管损伤部位发生黏附反应。在二期止血中，VWF作为凝血因子Ⅷ（FⅧ）的载体，保护血液循环中的FⅧ不被降解，从而延长了FⅧ的半衰期。VWF的前导肽（VWF propeptide, VWFpp）在细胞合成、分泌等过程中发挥重要作用，VWFpp突变可导致血管性血友病。近年来研究表明，VWFpp在VWD和其他疾病的诊断中也具有重要价值。

一、VWF的分子结构

前原VWF单体相对分子质量约 $350×10^3$，由22个氨基酸组成的信号肽、741个氨基酸组成的VWFpp、以及2 050个氨基酸组成的成熟亚单位组成。VWFpp从VWF分子全长的第23位氨基酸开始，到763位氨基酸结束，相对分子质量约 $80×10^3$[1]。VWFpp包括D1和D2区两个结构域，在电镜下每个D区可见VWD、C8、TIL和E四个亚单位，每个D区各有32个半胱氨酸[2]，这些半胱氨酸形成链内或链间二硫键，发挥重要作用。

二、VWFpp在VWF合成和分泌过程中的作用

VWFpp在VWF的多聚化过程中至关重要。首先，VWFpp作为内源性的非共价性氧化还原酶[3-4]，催化相邻D′区的半胱氨酸进行二硫键重排，从而完成VWF的多聚化。Purvis等[1]还发现在VWF多聚化过程中，VWFpp和D′D3区之间还短暂地形成链内二硫键，相邻的VWFpp之间也形成二硫键，这样的结构有助于缩短两个不同VWF链上的D′D3区的空间距离，从而有助于多聚化的发生。D1和D2区各包含一个CXXC基序，这个基序是许多氧化还原酶的活性部位。在这两个CXXC基序中任意一个插入一个多余的甘氨酸，VWF的多聚化功能受到抑制，而将CXXC基序相邻的氨基酸替换成甘氨酸则不影响多聚化[5]。其次，VWFpp不仅富含半胱氨酸，而且还有很多组氨酸，这些组氨酸发挥类似于pH感受器的作用，如果将这些组氨酸突变为甘氨酸，VWF多聚化也会或多或少受到抑制[6]。此外，VWFpp的D1和D2区在VWF多聚化过程中缺一不可，单独构建D1区或D2区连接成熟VWF，VWF都无法完成多聚化过程[7]。有趣的是，体外实验显示将VWFpp和成熟VWF分装在两个不同的质粒上，共同转染细胞并表达，居然不影响VWF分子的多聚化功能。这说明VWFpp即便不与成熟VWF直接相连，也可以在VWF多聚化过程中发挥作用[1,8]。

VWFpp不仅在VWF多聚化过程中不可或缺，对VWF细胞内储存也是必须的。VWFpp中任何一个D结构域的缺失，都会导致VWF不能正常贮存[7]。在荧光共聚焦显微镜下，犬的VWFpp虽然自己可以转运到储存小体中，但是不能将人类成熟的VWF分子转运到细胞内正常的位置储存。通过比较人和犬VWFpp的氨基酸序列，发现VWFpp的第416和第869位氨基酸对VWF细胞内储存非常关键[9]。成熟VWF多聚体储存在Weibel-Palade小体（WPB）中，压缩形成小管状结构。保证这种螺旋状小管结构的形成，至少需要D1-D2-D′-D3四个结构域[10]。在pH 6.2的酸性环境和钙离子存在条件下，即便没有其他蛋白的帮助，D1D2区也可自发诱导D′D3区形成螺旋小管[11]。虽然在WPB中，VWFpp已经被Furin酶切除，但是并未和成熟VWF分子分离，而以非共价键的方式仍然和D′D3区连在一起，这种共存方式对于稳定VWF小管状结构非常重要[11]。此外，这种储存结构的稳定除了依赖于VWFpp之外，还要求一定的钙离子浓度和酸性环境[11-12]。

WPB中VWF以右手螺旋压缩的小管状结构排列，这对于VWF的调节分泌非常重要。在刺激剂作用下，VWF小管被运送到细胞表面，环境中pH值升高至7.4，VWFpp与成熟VWF分离[11]。VWF多聚体解螺旋，形成VWF丝带。在血液循环中，如果VWFpp仍然与成熟VWF相连，将会抑制VWF与血小板的结合和黏附[13]。因此，VWFpp与VWF多聚体的分离，对于VWF的调节分泌、VWF多聚体解螺旋从而在血液循环中发挥止血作用非常关键。

三、VWFpp的基因突变导致血管性血友病

血管性血友病（von Willebrand disease, VWD）是由于VWF质或量的异常导致。VWD分为3型：1型VWD的VWF抗原（VWF antigen, VWF：Ag）部分缺乏，3型VWD的VWF缺如，2型VWD是由于VWF功能异常所致[13-14]。其

中，2型又进一步分成2A、2B、2M和2N四个亚型。

截止到2015年3月，ISTH-VWD数据库（http://www.ragtimedesign.com/vwf/mutation/mutationtableresults. php）共登记了65个VWFpp基因突变，包括错义突变32个（占65%）、无义突变16个、缺失突变11个、插入突变4个、重复突变2个。D1区突变导致1型或3型VWD，D2区的突变大部分表现为1型、2A型和3型，还有1个2M和1个2N型的报道。

迄今为止，D1区突变导致VWD发病机制的研究仅有6例，包含5个错义突变（p.Y87S、p.D141Y、p.R273W、p.C275S和p.C275R）及1个缺失突变（c.729_735del）。Rosenberg等[16]报道了患1型VWD的一对母女（均为p.Y87S杂合子），患者血浆VWF多聚体分析仅见一个明显增浓的二聚体条带，提示突变体VWF多聚化明显受损，但是这种中大分子量多聚体缺乏与ADAMTS13酶无关。体外细胞表达实验证实，突变体多聚化功能障碍，但是VWFpp介导的成熟VWF在细胞内储存正常。突变体p.D141Y、p.C275S和p.C275R表现为多聚化障碍和VWF分泌减少[17-18]。c.729_735del缺失突变导致VWF在第454位氨基酸处提前终止，这种截短型VWF合成减少，VWF的功能基本丧失[19]。纯合突变p.R273W患者表现为3型VWD，除了多聚化功能障碍外，还有内质网（endoplasmic reticulum, ER）内滞留现象，细胞表达实验中形成的假性WPB减少，VWF基础分泌和调节分泌均减少[20-21]。进一步的实验结果显示，p.R273W-VWF在ER内滞留，与ERp57和钙联接蛋白作用时间较野生型VWF明显延长[22]。上述所有D1区突变体VWF均表现为分泌减少，多聚化障碍。体外表达实验中VWF多聚体分析仅见到VWF二聚体条带，这可能与VWF分泌量少有关。有学者增加了突变体的上样体积，发现少许低分子量VWF多聚体，但是大、中分子量VWF多聚体仍缺乏[20]。

D2区突变导致VWD发病的病例仅有10例，分别为D437-R442del、F404insNP、N528S、C570S、C584F、C623W、G624_A625insG、R760C、R760H和R763G[19, 23-30]。D2区VWF突变体可导致2A型突变，在既往的分类中也称作为2C型突变。其特点为：①大多数表现为隐性遗传，先证者为VWFpp区纯合突变或者双杂合突变。少数杂合子表现为1型VWD。②患者血浆中缺少中大分子量VWF多聚体，但是二聚体条带明显增浓。携带者虽然多聚体分布正常，也可见到增浓的二聚体条带。VWF多聚体的条带缺少副条带。③VWF多聚化障碍是细胞内合成过程中产生的，与ADAMTS13酶无关。④患者出血症状、VWF抗原水平、VWF瑞斯托霉素辅因子活性等实验室检测结果有很大的异质性[31]。D2区突变体VWF除了引起多聚化异常外，有些还导致VWF细胞内储存异常，突变体VWFpp不与成熟VWF多聚体共存于细胞内的储存颗粒中[25,27]。突变体p.R760C则不影响VWF的细胞内储存，患者的1-脱氨-8-右旋精氨酸血管加压素（DDAVP）实验正常。但是，由于Furin酶切位点靠近VWFpp，有部分未剪切的前体VWF也出现在患者血浆

中。该突变体最突出的特点是影响了VWF和FⅧ的结合功能，患者表现为2N型VWD[24,32-34]。突变体p.R763G突变位于Furin酶切位点，导致VWFpp无法与成熟VWF分离，在患者血浆中检测到的是突变的前体VWF。患者VWF与FⅧ无法正常结合，也导致2N型VWD的发生[23,35]。与D1区突变相比，D2区突变也影响了VWF多聚化功能和VWF的分泌，有些还影响VWF细胞内的正常储存。此外，靠近furin酶切位点的D2区突变还影响VWPpp的切除及和FⅧ的结合能力。

四、VWFpp的临床价值

VWFpp和成熟VWF等比例地从细胞内分泌出来进入血液循环。VWFpp在体内的半衰期是2 h，成熟VWF的半衰期是8~12 h[36]。所以，VWFpp和VWF抗原之间的比值可以反映体内VWF合成、分泌及清除的状况[36-37]。由于VWFpp不含ABO血型抗原，所以VWFpp的清除不受血型的影响[38]。VWFpp与VWF：Ag在体内代谢途径不同，因此VWFpp/VWF：Ag增加提示VWF清除增快。目前VWFpp在体内的代谢途径、其清除受哪些因素的影响仍不明确。

1. VWFpp在VWD和获得性血管性血友病中的临床意义：起初研究者发现1型VWD患者VWFpp/VWF：Ag增高，提出VWF清除增快是导致1型VWD的机制之一[39]。有研究者发现VWFpp/VWF：Ag增高在1型VWD尤其是1C型中尤为显著[40]。患者DDAVP实验提示用药后VWF：Ag水平迅速下降，VWF半衰期缩短，相对应患者VWFpp/VWF：Ag增高。因此，有人提出检测VWFpp/VWF：Ag可代替DDAVP测试[41]。2013年，Eikenboom等[42]收集了欧洲来自154个家系的744例VWD患者及其家庭成员，发现患者的VWFpp/VWF：Ag较正常人和未累及的家系成员明显增高。同时，他还发现患者FⅧ：C/VWF：Ag明显增高，提出VWF合成减少、清除增快是1型VWD的主要发病机制。VWFpp/VWF：Ag越高，VWF半衰期越短，检出VWF基因突变的概率越高。

最近Sanders等[43]在804例不同类型的VWD患者中检测VWFpp、VWF：Ag、FⅧ：C等指标后，提出VWFpp在VWD分型诊断中具有重大价值。VWFpp/VWF：Ag比值在2型VWD（2N型除外）患者中显著高于1型VWD患者，这说明VWF在体内清除增快是导致2型VWD发病的一个重要因素。2N型VWD的VWFpp/VWF：Ag的比值和正常人及1型VWD相比，轻度增高，不像其他2型VWD那么显著。此外，他们还发现3型VWD患者VWF：Ag、VWFpp水平均明显下降，这部分患者通常为纯合或复合杂合无义突变。而对于D3、D4区错义突变的VWD患者由于VWF：Ag水平低，容易被误诊为3型VWD[39,44-45]。这部分患者VWFpp水平通常正常，所以VWFpp水平可有助于低VWF水平的1型VWD和3型VWD患者的鉴别。患者VWFpp/VWF：Ag增高，VWF清除增快，通常出血症状重，出血积分高[43]。

在获得性血管性血友病（acquired von Willebrand syndrome, AVWS）中，由于VWF清除增快，导致VWF抗原

水平下降。所以，VWFpp 在 AVWS 中明显增高，只有当VWFpp 降低到正常水平，才能说明 AVWS 获得完全缓解[46]。因此，监测 VWFpp 有助于病情判断。

2. VWFpp 在其他疾病中的临床价值：血液循环中VWFpp 和 VWF：Ag 主要来自于血管内皮细胞。许多研究表明增高的 VWF 抗原和 FⅧ水平，是内皮细胞受损的标志[47]，也是动静脉血栓性疾病的高危因素之一[48-49]。但是，VWF抗原水平受到血型因素的影响[50]，而且通过校正 FⅧ水平，VWF 增高作为血栓性疾病的危险因素似乎也不是很显著[51]。但是，由于 VWFpp 受到的影响因素少，成为敏感的血栓指标[37]。

在获得性血栓性血小板减少性紫癜（TTP）中，初诊 TTP患者 VWFpp/VWF：Ag 显著高于复发的 TTP，复发 TTP 患者的 VWFpp/VWF：Ag 高于正常人。此外，如果 TTP 患者体内VWFpp 和 VWF：Ag 持续增高，无论 ATAMTS13 酶活性处于何种水平，均提示患者内皮细胞一直处于激活状态[52]。

此外，在心肌梗死、脑梗死、糖尿病、疟疾、系统性硬化症等内皮细胞受损的疾病中，VWFp 均明显增高[53-55]。在 DIC、败血症等急性血管损伤疾病中，VWFpp 也明显增高[56]。VWFpp 在这些疾病发生、发展过程中的作用值得进一步研究。

参 考 文 献

［1］ Purvis AR, Sadler JE. A covalent oxidoreductase intermediate in propeptide- dependent von Willebrand factor multimerization［J］. J Biol Chem, 2004, 279(48):49982-49988.

［2］ Zhou YF, Eng ET, Zhu J, et al. Sequence and structure relationships within von Willebrand factor［J］. Blood, 2012, 120(2): 449-458.

［3］ Sadler JE. Von Willebrand factor, ADAMTS13, and thrombotic thrombocytopenic purpura［J］. Blood, 2008, 112(1):11-18.

［4］ Wagner DD. Cell biology of von Willebrand factor［J］. Annu Rev Cell Biol, 1990, 6:217-246.

［5］ Mayadas TN, Wagner DD. Vicinal cysteines in the prosequence play a role in von Willebrand factor multimer assembly［J］. Proc Natl Acad Sci U S A, 1992, 89(8):3531-3535.

［6］ Dang LT, Purvis AR, Huang RH, et al. Phylogenetic and functional analysis of histidine residues essential for pH- dependent multimerization of von Willebrand factor［J］. J Biol Chem, 2011, 286(29):25763-25769.

［7］ Journet AM, Saffaripour S, Wagner DD. Requirement for both D domains of the propolypeptide in von Willebrand factor multimerization and storage［J］. Thromb Haemost, 1993, 70(6): 1053-1057.

［8］ Wise RJ, Pittman DD, Handin RI, et al. The propeptide of von Willebrand factor independently mediates the assembly of von Willebrand multimers［J］. Cell, 1988, 52(2):229-236.

［9］ Haberichter SL, Jacobi P, Montgomery RR. Critical independent regions in the VWF propeptide and mature VWF that enable normal VWF storage［J］. Blood, 2003, 101(4):1384-1391.

［10］ Wagner DD, Saffaripour S, Bonfanti R, et al. Induction of specific storage organelles by von Willebrand factor propolypeptide

［J］. Cell, 1991, 64(2):403-413.

［11］ Huang RH, Wang Y, Roth R, et al. Assembly of Weibel- Palade body- like tubules from N- terminal domains of von Willebrand factor［J］. Proc Natl Acad Sci U S A, 2008, 105(2):482-487.

［12］ Michaux G, Abbitt KB, Collinson LM, et al. The physiological function of von Willebrand's factor depends on its tubular storage in endothelial Weibel-Palade bodies［J］. Dev Cell, 2006, 10 (2):223-232.

［13］ Madabhushi SR, Shang C, Dayananda KM, et al. von Willebrand factor (VWF) propeptide binding to VWF D'D3 domain attenuates platelet activation and adhesion［J］. Blood, 2012, 119 (20):4769-4778.

［14］ Sadler JE. A revised classification of von Willebrand disease. For the Subcommittee on von Willebrand Factor of the Scientific and Standardization Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis［J］. Thromb Haemost, 1994, 71 (4):520-525.

［15］ Sadler JE, Budde U, Eikenboom JC, et al. Update on the pathophysiology and classification of von Willebrand disease: a report of the Subcommittee on von Willebrand Factor［J］. J Thromb Haemost, 2006, 4(10):2103-2114.

［16］ Rosenberg JB, Haberichter SL, Jozwiak MA, et al. The role of the D1 domain of the von Willebrand factor propeptide in multimerization of VWF［J］. Blood, 2002, 100(5):1699-1706.

［17］ Baronciani L, Federici AB, Cozzi G, et al. Biochemical characterization of a recombinant von Willebrand factor (VWF) with combined type 2B and type 1 defects in the VWF gene in two patients with a type 2A phenotype of von Willebrand disease ［J］. J Thromb Haemost, 2007, 5(2):282-288.

［18］ Baronciani L, Federici AB, Cozzi G, et al. Expression studies of missense mutations p.D141Y, p.C275S located in the propeptide of von Willebrand factor in patients with type 3 von Willebrand disease［J］. Haemophilia, 2008, 14(3):549-555.

［19］ Daidone V, Barbon G, Pontara E, et al. Loss of cysteine 584 impairs the storage and release, but not the synthesis of von Willebrand factor［J］. Thromb Haemost, 2014, 112(6):1159-1166.

［20］ Allen S, Abuzenadah AM, Hinks J, et al. A novel von Willebrand disease-causing mutation (Arg273Trp) in the von Willebrand factor propeptide that results in defective multimerization and secretion［J］. Blood, 2000, 96(2): 560-568.

［21］ Michaux G, Hewlett LJ, Messenger SL, et al. Analysis of intracellular storage and regulated secretion of 3 von Willebrand disease- causing variants of von Willebrand factor［J］. Blood, 2003, 102(7):2452-2458.

［22］ Allen S, Goodeve AC, Peake IR, et al. Endoplasmic reticulum retention and prolonged association of a von Willebrand's disease- causing von Willebrand factor variant with ERp57 and calnexin［J］. Biochem Biophys Res Commun, 2001, 280(2): 448-453.

［23］ Michiels JJ, Gadisseur A, Vangenegten I, et al. Recessive von Willebrand disease type 2 Normandy: variable expression of mild hemophilia and VWD type 1［J］. Acta Haematol, 2009, 121 (2-3):119-127.

［24］ Casonato A, Pontara E, Sartorello F, et al. Identifying carriers of type 2N von Willebrand disease: procedures and significance

［J］. Clin Appl Thromb Hemost, 2007, 13（2）:194-200.

［25］ Haberichter SL, Allmann AM, Jozwiak MA, et al. Genetic alteration of the D2 domain abolishes von Willebrand factor multimerization and trafficking into storage［J］. J Thromb Haemost, 2009, 7（4）:641-650.

［26］ Holmberg L, Karpman D, Isaksson C, et al. Ins405AsnPro mutation in the von Willebrand factor propeptide in recessive type 2A（IIC）von Willebrand's disease［J］. Thromb Haemost, 1998, 79（4）:718-722.

［27］ Haberichter SL, Budde U, Obser T, et al. The mutation N528S in the von Willebrand factor（VWF）propeptide causes defective multimerization and storage of VWF［J］. Blood, 2010, 115（22）: 4580-4587.

［28］ Lanke E, Kristoffersson AC, Philips M, et al. Characterization of a novel mutation in the von Willebrand factor propeptide in a distinct subtype of recessive von Willebrand disease［J］. Thromb Haemost, 2008, 100（2）:211-216.

［29］ Gaucher C, Diéval J, Mazurier C. Characterization of von Willebrand factor gene defects in two unrelated patients with type IIC von Willebrand disease［J］. Blood, 1994, 84（4）:1024-1030.

［30］ Riddell AF, Gomez K, Millar CM, et al. Characterization of W1745C and S1783A: 2 novel mutations causing defective collagen binding in the A3 domain of von Willebrand factor［J］. Blood, 2009, 114（16）:3489-3496.

［31］ Michiels JJ, Gadisseur A, van der Planken M, et al. Laboratory and molecular characteristics of recessive von Willebrand disease type 2C（2A subtype IIC）of variable severity due to homozygous or double heterozygous mutations in the D1 and D2 domains［J］. Acta Haematol, 2009, 121（2/3）:111-118.

［32］ Casonato A, Sartorello F, Cattini MG, et al. An Arg760Cys mutation in the consensus sequence of the von Willebrand factor propeptide cleavage site is responsible for a new von Willebrand disease variant［J］. Blood, 2003, 101（1）:151-156.

［33］ Koessler J, Witz E, Plass A, et al. Von Willebrand disease caused by compound heterozygosity for p.r854q and p.r760c: diagnostic and therapeutic implications［J］. Haemophilia, 2011, 17（1）: e240-242.

［34］ Veyradier A, Fressinaud E, Goudemand J. Compound heterozygosity or heterozygosity with two mutations in cis on the same allele?［J］. Haemophilia, 2011, 17（5）:e832-833.

［35］ Hilbert L, Nurden P, Caron C, et al. Type 2N von Willebrand disease due to compound heterozygosity for R854Q and a novel R763G mutation at the cleavage site of von Willebrand factor propeptide［J］. Thromb Haemost, 2006, 96（3）:290-294.

［36］ Borchiellini A, Fijnvandraat K, ten Cate JW, et al. Quantitative analysis of von Willebrand factor propeptide release in vivo: effect of experimental endotoxemia and administration of 1- deamino- 8- D- arginine vasopressin in humans ［J］. Blood, 1996, 88（8）:2951-2958.

［37］ Nossent AY, VAN Marion V, VAN Tilburg NH, et al. von Willebrand factor and its propeptide: the influence of secretion and clearance on protein levels and the risk of venous thrombosis ［J］. J Thromb Haemost, 2006, 4（12）:2556-2562.

［38］ Ragni MV. On the cutting edge: von Willebrand factor propeptide and thrombosis［J］. J Thromb Haemost, 2006, 4（12）:2553-

2555.

［39］ Haberichter SL, Castaman G, Budde U, et al. Identification of type 1 von Willebrand disease patients with reduced von Willebrand factor survival by assay of the VWF propeptide in the European study: molecular and clinical markers for the diagnosis and management of type 1 VWD（MCMDM-1VWD） ［J］. Blood, 2008, 111（10）:4979-4985.

［40］ Sztukowska M, Gallinaro L, Cattini MG, et al. Von Willebrand factor propeptide makes it easy to identify the shorter Von Willebrand factor survival in patients with type 1 and type Vicenza von Willebrand disease［J］. Br J Haematol, 2008, 143 （1）:107-114.

［41］ Casonato A, Daidone V, Padrini R. Assessment of von Willebrand factor propeptide improves the diagnosis of von Willebrand disease［J］. Semin Thromb Hemost, 2011,37（5）:456-463.

［42］ Eikenboom J, Federici AB, Dirven RJ, et al. VWF propeptide and ratios between VWF, VWF propeptide, and FVIII in the characterization of type 1 von Willebrand disease［J］. Blood, 2013, 121（12）:2336-2339.

［43］ Sanders YV, Groeneveld D, Meijer K, et al. von Willebrand factor propeptide and the phenotypic classification of von Willebrand disease［J］. Blood, 2015, 125（19）:3006-3013.

［44］ Hampshire DJ, Burghel GJ, Goudemand J, et al. Polymorphic variation within the VWF gene contributes to the failure to detect mutations in patients historically diagnosed with type 1 von Willebrand disease from the MCMDM-1VWD cohort［J］. Haematologica, 2010, 95（12）:2163-2165.

［45］ Millar CM, Brown SA. Oligosaccharide structures of von Willebrand factor and their potential role in von Willebrand disease ［J］. Blood Rev, 2006, 20（2）:83-92.

［46］ Lee A, Sinclair G, Valentine K, et al. Acquired von Willebrand syndrome: von Willebrand factor propeptide to von Willebrand factor antigen ratio predicts remission status［J］. Blood, 2014, 124（5）:e1-3.

［47］ Lip GY, Blann A. von Willebrand factor: a marker of endothelial dysfunction in vascular disorders?［J］. Cardiovasc Res, 1997, 34 （2）:255-265.

［48］ Kyrle PA, Minar E, Bialonczyk C, et al. The risk of recurrent venous thromboembolism in men and women［J］. N Engl J Med, 2004, 350（25）:2558-2563.

［49］ Páramo JA, Beloqui O, Colina I, et al. Independent association of von Willebrand factor with surrogate markers of atherosclerosis in middle- aged asymptomatic subjects［J］. J Thromb Haemost, 2005, 3（4）:662-664.

［50］ Morelli VM, De Visser MC, Vos HL, et al. ABO blood group genotypes and the risk of venous thrombosis: effect of factor V Leiden［J］. J Thromb Haemost, 2005, 3（1）:183-185.

［51］ Koster T, Blann AD, Briët E, et al. Role of clotting factor VIII in effect of von Willebrand factor on occurrence of deep- vein thrombosis［J］. Lancet, 1995, 345（8943）:152-155.

［52］ Stufano F, LA Marca S, Pontiggia S, et al. von Willebrand factor propeptide to antigen ratio in acquired thrombotic thrombocytopenic purpura［J］. J Thromb Haemost, 2012, 10（4）:728-730.

［53］ Frijns CJ, Kasius KM, Algra A, et al. Endothelial cell activation markers and delayed cerebral ischaemia in patients with subarachnoid haemorrhage［J］. J Neurol Neurosurg Psychiatry,

2006, 77(7):863-867.

［54］ Kyrle PA, Minar E, Hirschl M, et al. High plasma levels of factor VIII and the risk of recurrent venous thromboembolism ［J］. N Engl J Med, 2000, 343(7):457-462.

［55］ Chen SF, Xia ZL, Han JJ, et al. Increased active von Willebrand factor during disease development in the aging diabetic patient population[J]. Age (Dordr), 2013, 35(1):171-177.

［56］ Fukushima H, Nishio K, Asai H, et al. Ratio of von Willebrand factor propeptide to ADAMTS13 is associated with severity of sepsis[J]. Shock, 2013, 39(5):409-414.

·病例报告·

伴复杂核型及脾梗死的白血病期原发CD5阳性弥漫大B细胞淋巴瘤一例

王琨　张建华　董春霞　任方刚　武瑞红　郭建利　王晨　杨林花

De novo CD5- positive diffuse large B- cell lymphoma in leukemic phase with highly chromosome complex aberrations and splenic infarction: a case report and literatures review　*Wang Kun, Zhang Jianhua, Dong Chunxia, Ren Fanggang, Wu Ruihong, Guo Jianli, Wang Chen, Yang Linhua*
Cooresponding author: Zhang Jianhua, Department of Hematology, the Second Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan　030001, China. Email:jhz0721@163.com

　　患者，男，56岁，因"腹胀伴低热、盗汗1周，突发左上腹痛1 d"于2014年8月底就诊。血常规：WBC $6.07×10^9$/L、HGB 111 g/L、PLT $108×10^9$/L；骨髓象示不能分类细胞占0.080，免疫分型提示为异常单克隆B细胞，予对症治疗后症状减轻。2014年9月患者入我院。查体：颈部双侧、双侧腋下及腹股沟区可触及多个肿大淋巴结，最大约2.0 cm×1.5 cm，质韧，活动可，无触痛；胸骨压痛阳性；肝肋缘下及边，脾肋下平脐，质韧，无摩擦感。血清铁蛋白399 μg/L。生化：LDH 591.0 U/L，$β_2$微球蛋白4.55 mg/L。红细胞沉降率（ESR）42 mm/h；C反应蛋白（CRP）90.2 mg/L。腹部彩超：肝大，脾脏肋线下11.1 cm。胸腹部CT：左侧胸腔积液，脾脏大片低密度灶，考虑脾脏增大、脾梗死伴脾脏包膜下血肿。骨髓象：增生明显活跃，粒系占0.430，原始细胞占0.200；POX染色：2%弱阳性，98%阴性；同期外周血片原始细胞占0.170。骨髓活检：增生较活跃（50%~60%），可见幼稚细胞散在分布，部分区域纤维组织增生，网状纤维染色（+~++）。骨髓组织病理：骨髓造血面积30%~40%，部分区域可见轻度异型的淋巴细胞小灶状分布；免疫组化：MPO(+)、CD15(+)、CD3（个别+）、CD20（局灶+）、Ki67(60%)、CD5（个别+）、CD79a（局灶+）、CD138（个别+）、CyclinD1（个别+）、CD23（个别+）、Bcl-2(+)、Bcl-6(−)、MUM1(+)、PAX-5(+)、CD10（局灶+），考虑为B淋巴细胞异常增殖灶（滤泡淋巴瘤可能）。骨髓免疫分型：原始（幼稚）细胞占0.011，淋巴细胞占0.435，表达CD19、CD5、CD20、cyCD79，其中$CD5^+CD19^+$细胞占19%；部分表达CD7、CD2、CD25、FMC7、cyZAP70；不表达CD117、CD10、CD23、IgM、CD103、CD11c、CD38、kappa、lambda、cyMPO、cyCD3；提示为B淋巴细胞表型特点。淋巴结活检（颈部）及免疫组化：CD3（散在+）、CD20（弥漫+）、CD21（残留FDC+）、CD5(+)、Ki67(80%)、CD10(−)、CD138（散在浆细胞+）、CD79a（弥漫+）、CD23（局灶+）、Bcl-2(+)、Bcl-6(−)、MUM1(+)、CyclinD1（个别+）、PAX-5（弥漫+）。骨髓细胞染色体核型分析：49, Y, add(X)(p22), +3, del(6)(q21), del(7)(q31), der(8;11)(q10;q10), +11, +16, +18, add(19)(p13)[16]/46, XY[4]。基因重排检测：IgDH基因不完全重排：DH-6-JH(+)、DH7-JH(−)，Igκ基因重排：Vκ-Kde+INTR-Kde(+)、Vκ-Jκ(−)，IgVH、Igλ(−)；BCL1/JH基因重排(−)。诊断：$CD5^+$弥漫大B细胞淋巴瘤（白血病期），脾梗死。予R-VCTP（利妥昔单抗+长春地辛+环磷酰胺+吡柔比星+泼尼松）4周方案诱导化疗1个疗程，骨髓达完全缓解（CR）。
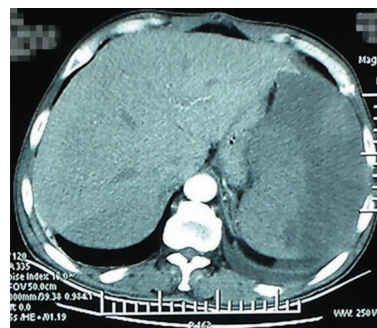

图1　腹部CT示患者脾大伴多发梗死

作者单位：030001　太原，山西医科大学第二医院血液科（王琨、张建华、董春霞、任方刚、武瑞红、郭建利、杨林花），病理科（王晨）
通信作者：张建华，Email:jhz0721@163.com