

2015~2017年上海地区人群血浆PC 和PS活性检测情况的调查分析*

虞红燕¹, 刘禹², 郁大伟³, 梁茜², 王梦汝³, 许冠群², 丁磊³ (1. 解放军第904医院
苏州院区检验科, 江苏苏州 215000; 2. 上海交通大学医学院附属瑞金医院检验科, 上海 200001;
3. 苏州市第五人民医院 苏州大学附属传染病医院检验科, 江苏苏州 215000)

摘要:目的 分析目前上海市及周边地区医院实验室对血浆蛋白C活性(PC:A)和蛋白S活性(PS:A)的检测情况, 以及临床上对其临床意义的认知情况。方法 回顾性分析2015年1月~2017年12月上海市瑞金医院检验科出凝血实验室对PC:A和PS:A检测情况, 收集外单位送检标本($n=20$)进行4℃环境保存下不同时间检测PC:A和PS:A, 通过EXCEL, Graphpad Prism5.0统计软件进行数据分析。结果 门诊、住院、外单位送检标本及其检测异常率均呈现增长趋势, 其中门诊标本量最大, 外单位送检量次之, 住院标本量最少, 2015~2017年度总体异常率分别为4.6%, 5.8%和7.8%; 外单位送检共12家医院性质分为: 公立医院4家, 第三方实验室3家, 外资医院2家, 民营医院3家, 其中外资医院中PC:A和PS:A检测异常率最高, 第三方实验室次之; 在4℃环境下不同时间检测结果与即刻相比, PC:A和PS:A在第1, 2, 3天结果整体呈现平稳下降趋势, 差异无统计学意义($P>0.05$), PS:A检测结果第3天呈现异常波动, 可能与其运输过程中标本保存不当引起污染、变质有关。结论 部分临床医生对血浆蛋白PC和PS的临床意义认知肤浅或缺乏, 上海及周边地区医院开展血浆PC和PS活性检测的实验室较少, 抗凝蛋白活性检测技术及临床应用必须加强宣传教育和推广普及。

关键词:蛋白C; 蛋白S; 易栓症; 异常率

中图分类号: R446.112 文献标志码: A 文章编号: 1671-7414(2019)04-154-04

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2019.04.038

Investigation and Analysis of Plasma PC and PS Activities in Shanghai Population from 2015 to 2017

YU Hong-yan¹, LIU Yu², YU Da-wei³, LING Qian², WANG Meng-ru³, XU Guan-qun², DING Lei³
(1. Department of Clinical Laboratory, PLA 904 Hospital Suzhou District, Jiangsu Suzhou 215000, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Ruijin Hospital, Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai 200001, China; 3. Department of Clinical Laboratory, the Fifth People's Hospital of Suzhou, Infectious Disease Hospital, Suzhou University, Jiangsu Suzhou 215000, China)

Abstract: **Objective** To analyze the detection of plasma protein C activity (PC:A) and protein S activity (PS:A) in hospitals of Shanghai and surrounding areas, as well as the clinical understanding of its clinical significance. **Methods** A retrospective investigation was conducted on the detection of plasma PC and PS specimens from the coagulation laboratory of Shanghai Ruijin Hospital from January 2015 to December 2017, and collected other units samples ($n=20$) and preserved at 4℃ environment, then tests the plasma activity of PC, PS under different time, and data were analyzed by EXCEL and Graphpad Prism 5.0 statistical software. **Results** Outpatient, inpatient, and external unit inspection specimens and their abnormal rate of detection showed an increasing trend, among them, the amount of outpatient specimens was the largest. The number of specimens sent by external units was second, and the number of hospitalized specimens was the least. The overall abnormal rate were 4.6%, 5.8% and 7.8% respectively in 2015~2017. According to the nature of the hospital, there were 12 out-of-bound units, which were divided into four public hospitals, three third-party laboratories, two foreign-funded hospitals and three private hospitals. Among them, the abnormal rates of PC:A and PS:A in foreign-funded units were the highest, followed by the third-party laboratories. Compared with the immediate test results in 4° environment, PC:A and PS:A showed a steady downward trend on the 1, 2 and 3 days, and the difference was not statistically significant ($P>0.05$). PS:A test results showed abnormal fluctuations on the 3 day, which would be related to the pollution and deterioration caused by improper preservation of specimens during transportation. **Conclusion** Some clinicians had superficial or insufficient understanding of the clinical significance of plasma protein PC and PS. There were fewer laboratories in hospitals in Shanghai and its sur-

* 基金项目: 国家自然科学基金(81400100)。

作者简介: 虞红燕(1988—), 女, 本科, 主管检验师, 研究方向: 出血及血栓实验室检测工作, E-mail: 578457931@qq.com。

通讯作者: 丁磊(1988—), 男, 本科, 主管检验师, 研究方向: 出血及血栓实验室检测工作, E-mail: dinglei_0126@126.com。

许冠群, E-mail: rj_40442@163.com, 共同通讯作者。

rounding areas to carry out the detection of plasma PC and PS activity. It is necessary to strengthen the popularization and education of anticoagulant protein activity detection technology and its clinical application.

Keywords: protein C; protein S; thrombophilia; abnormal rate

易栓症是 EGEBERG^[1] 在 1965 年首次提出, 是指因分子遗传缺陷而导致的凝血、纤溶活性失衡, 极易形成血栓的一类严重疾病, 临床上主要表现为静脉血栓形成。在我国包括蛋白 C(PC)、蛋白 S(PS) 和抗凝蛋白(AT) 在内的生理性抗凝蛋白先天性缺陷是静脉血栓栓塞(VTE) 患者最常见的危险性因素^[2]。PC 是肝脏合成的一种维生素 K 依赖性蛋白, 当凝血酶作用于内皮细胞表面的血栓调节蛋白时可形成有活性的蛋白 C(APC), 它是一种天然的抗凝血剂, 可通过灭活 Va 和 VIIIa 来参与凝血系统的调节过程^[3-4]。PS 是 PC 的重要辅助因子, 只有游离的 PS 才具有这个功能, 人体内约有 40% 的 PS 以游离形式存在, 其余约 60% 与补体 C4b 结合蛋白(C4BP) 结合。

PC, PS 是临床易栓症目前实验室开展的主要检测指标, 其活性变化直接影响凝血机制的动态平衡。2017 年卫生部临检中心关于全国抗凝蛋白检测现状中发现, 开展血浆蛋白 C 活性(PC:A)、血浆蛋白 S 活性(PS:A) 检测的实验室不足 3%, 因此, 抗凝蛋白活性检测技术、临床应用及其检测技术的质量控制极需普及和加强^[5]。本文主要对上海及周边地区人群中血浆 PC:A 和 PS:A 活性检测情况进行调查与分析, 现将结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 研究对象 回顾性调查 2015 年 1 月~2017 年 12 月在上海交通大学医学院附属瑞金医院(上海瑞金医院)门诊、住院、外单位送检检测 PC:A, PS:A 项目的患者标本, 共计 33 982 例。其中男性标本 10 766 例, 女性标本 23 216 例, 年龄 1~73 (33±19) 岁; 外送单位送检标本中排除脂血、溶血、黄疸、标本量不足等影响因素后作为合格备选标本, 随机抽 20 个合格标本进行 4℃ 环境保存下不同时间检测 PC:A 和 PS:A。

1.2 试剂与仪器 实验采用美国沃芬公司型号 ACL TOP 700 全自动凝血分析仪, 及厂家提供的原装配套试剂。PC:A 测试试剂盒批号: 278345, PS:A 测试试剂盒批号: 965313。

1.3 方法 所有标本均为 0.109 mmol/L 枸橼酸钠 1:9 抗凝血, 3 000 r/min 离心 15 min 后分离得到血浆; 外单位送检标本亦按上述要求分离后的血浆, 保存在 2 ml EP 管分装后放置 4℃ 冰箱保存, 进行即刻、1、2 和 3 天不同时间检测。实验前均放置室温 30 min 后进行检测, 蛋白 C 检测采用发色底物法, 蛋白 S 检测采用凝固法。具体操作按

照试剂盒说明书进行。

1.4 统计学分析 使用 EXCEL, Graphpad Prism 5.0 统计软件, 各组数据采用均数±标准差($\bar{x} \pm s$), 计量资料采用 χ^2 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2015~2017 年上海瑞金医院 PC:A, PS:A 检测异常率分析 见表 1。2015~2017 年度送检标本及检测异常率呈增长趋势, 分别为 21.6% (280/6 025), 5.8% (704/12 049) 和 7.8% (1 239/15 908)。

表 1 近三年上海瑞金医院 PC:A, PS:A 活性检测异常率 [$n=33\ 982$, % (n)]

年 份	<i>n</i>	门诊	住院	外单位
2017	15 908	5.9(716/12 142)	8.1(90/1 105)	16.3(433/2 661)
2016	12 049	4.6(448/9 750)	6.4(34/534)	12.6(222/1 765)
2015	6 025	3.7(176/4 799)	5.7(17/297)	9.4(87/929)

备注: PC:A < 70% 或 PS:A < 60%, 即认为结果异常。

2.2 外单位送检标本中 PC:A, PS:A 检测情况 外单位送检共计 12 家, 按医院性质分为公立医院 4 家, 第三方实验室 3 家, 外资医院 2 家, 民营医院 3 家。其中外资单位 PC:A, PS:A 检测异常率最高, 第三方实验室次之。现以 2017 年度为例, 各外单位标本检测情况统计分析, 见图 1。

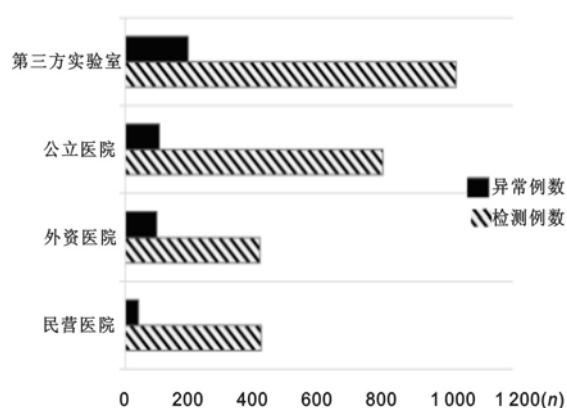


图 1 2017 年外单位标本 PC:A, PS:A 检测情况

2.3 外单位送检标本 4℃ 环境保存检测分析 随机选取 20 例外单位送检的合格标本, 与即刻相比, 1、2、3 天 PC:A 和 PS:A 检测结果整体呈现下降趋势, 但差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。PS:A 活性在第 3 天出现异常波动, 见图 2, 图 3。

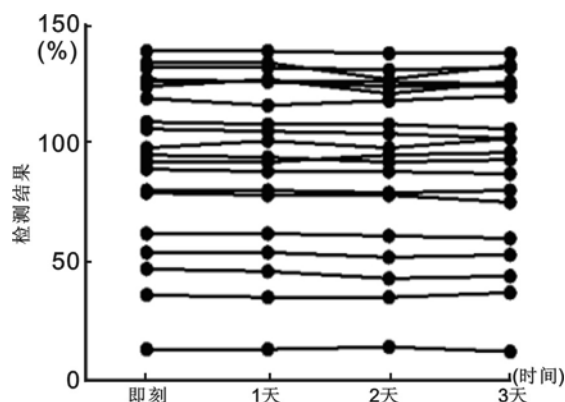


图2 标本4℃保存不同时间检测血浆蛋白PC活性结果

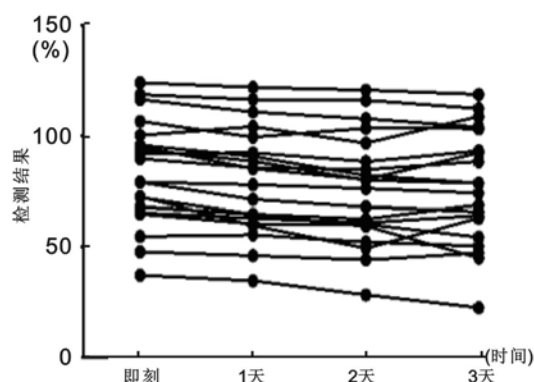


图3 标本4℃保存不同时间检测血浆蛋白PS活性结果

3 讨论 易栓症是指有血栓倾向或形成血栓的一组疾病或病理状态,按病因分为遗传性和获得性两类,东、西方人群遗传性易栓因素有着较大的差异。PC,PS缺陷是业界公认的东方人种易栓症的主要遗传风险因素之一^[6-7],所以,PC:A和PS:A是临床易栓症目前实验室开展的主要检测指标,临床上应对易栓症患者及时进行缺陷筛查,评估血栓的形成风险指标,以利于临床医生尽早进行干预治疗。

遗传性蛋白C,蛋白S缺陷是血栓形成的危险因素,其临床特点是初次发生血栓的次数多、年龄小,而且静脉血栓形成后容易造成肺栓塞;获得性PC,PS缺陷常见于弥散性血管内凝血、外科手术后、肝病、肾病等与高凝状态相关的疾病,其临床特点是降幅程度较遗传性缺陷要小得多^[8-9]。临床上怀疑易栓症患者排除PC,PS异常后还需完善其他易栓症相关指标检测,如凝血因子Ⅷ促凝活性(FⅧ:C)、同型半胱氨酸(Hcy)、抗心磷脂抗体(ACA)、狼疮抗凝物(LAC)、人凝血酶原(PLG)、组织纤溶酶原激活物(t-PA)等。上述项目上海瑞金医院检验中心和上海血液研究所均有开展,故临床医生进行开单检测或复查较为方便,因而临床应用效果较好,而外单位送检或后期复查项目较少,不易得到全面信息,故无法综合评价。对于PC,

PS的更多临床意义,仍然在研究学习中,例如与细胞保护^[10]、炎症^[11]、2型糖尿病^[12]等有着密切的联系,以及不同性别、年龄段的参考区间的设立,也是逐步努力实现的目标^[13]。

PC:A检测有活化部分凝血酶原(APTT)法和发色底物法,后者为WHO推荐的PC检测方法,其操作简便,比活化部分凝血酶原法测定更少受到干扰,稳定性好。PS:A检测为凝固法,随着时间的推移,体外环境下凝血因子逐渐失活,导致PS:A结果逐步降低。PC:A和PS:A检测在上海瑞金医院作为常规项目开展,一般不存在标本保存环境等问题。故抽取了20例外单位送来的标本做4℃保存检测实验,与即刻相比,1,2和3天PC:A和PS:A检测结果整体呈现下降趋势,但差异无统计学意义($P>0.05$),这与李蕾等^[8]实验结果相符。但我们实验中发现有PS检测结果在第3天左右开始出现异常波动,其检测结果高于前一天甚至前两天的结果。这可能是由于外送标本污染、变质等原因,因此我们推荐PS项目尽快送检完成检测,自行检测应采取冷冻冰箱短期保存,以免干扰正常结果。

由统计得出检测量和异常率均呈现逐年增加趋势,说明临床上对PC:A,PS:A的认知度和临床意义的掌握均有提升。外单位标本中以妇产、儿童为主,说明外单位部分临床医生对PC:A,PS:A的临床意义了解较狭隘,需加强相关宣传教育。PC:A,PS:A检测中外院送检标本异常率较高,其中特别是外资医院最高,这可能和其就医国外患者较多或检测针对性较强有着密不可分的关系。本院住院患者检测异常率次之,可能与其有基础疾病有关。本院标本来源科室分布较合理,但门诊标本检测结果异常率较低,说明部分临床医生对检测结果的依赖性较高。

总而言之,近年来临床上虽然对PC:A,PS:A项目有了更进一步的认识,但漏诊和把关不严的现象仍较为严重,抗凝蛋白活性检测的临床应用必须加强宣传和推广。实验室方面,目前PC:A,PS:A项目在上海部分三级综合医院虽有开展,但因标本量较少或试剂成本较高等原因基本不作为常规检测项目,包括少数第三方实验室也未开展此类项目,可见对于抗凝蛋白检测技术普及其检测质量的控制也是我们日后需要努力的方向。

参考文献:

- [1] EGEBERG O. Inherited antithrombin deficiency causing thrombophilia[J]. Thromb Diath Haemorrh, 1965,13:516-530.
- [2] 朱铁楠,赵永强. 2012版易栓症诊断中国专家共识解

- 读[J]. 临床血液学杂志, 2013, 26(3): 156-157.
- ZHU Tienan, ZHAO Yongqiang. Interpretation of the Chinese expert consensus on the diagnosis of thrombosis in 2012[J]. Journal of Clinical Hematology(China), 2013, 26(3): 156-157.
- [3] OKAJIMA K. Prevention of endothelial cell injury by activated protein C: the molecular mechanism(s) and therapeutic implications[J]. Curr Vasc Pharmacol, 2004, 2(2): 125-133.
- [4] 赵慧茹, 王聪, 苏玉, 等. 关节置换围术期患者血浆内皮细胞蛋白 C 受体和血栓调节蛋白水平变化分析[J]. 现代检验医学杂志, 2018, 33(2): 125-126, 133.
- ZHAO Huiru, WANG Cong, SU Yu, et al. Analysis of changes in plasma endothelial protein C receptor and thrombomodulin levels in patients with joint replacement during perioperative period[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2018, 33(2): 125-126, 133.
- [5] 刘秀丽, 周文宾, 李臣宾, 等. 抗凝蛋白检测现状全国性调查与分析[J]. 中华医学杂志, 2017, 97(22): 1699-1704.
- LIU Xiuli, ZHOU Wenbin, LI Chenbin, et al. Study and analysis of national current status and problems of anticagulant proteins assay[J]. Natl Med J China, 2017, 97(22): 1699-1704.
- [6] ZHU Tienan, DING Qiulan, BAI Xia, et al. Normal ranges and genetic variants of antithrombin, protein C and protein S in the general Chinese population. Results of the Chinese Hemostasis Investigation on Natural Anticoagulants Study I Group[J]. Haematologica, 2011, 96(7): 1033-1040.
- [7] 陈慧芬. 产科易栓症的检测在反复自然流产病因诊断中的临床价值[J]. 中华检验医学杂志, 2017, 40(11): 856-859.
- CHEN Huifen. The clinical value of the detection of obstetrical thrombophilia in the diagnosis of recurrent spontaneous abortion[J]. Chinese Journal of Laboratory Medicine, 2017, 40(11): 856-859.
- [8] 李蕾, 王培昌. 蛋白 C 抗凝系统及生物学作用最新研究进展[J]. 四川医学, 2012, 33(9): 1685-1687.
- LI Lei, WANG Peichang. The latest research progress of protein C anticoagulant system and its biological effects[J]. Sichuan Medical Journal, 2012, 33(9): 1685-1687.
- [9] 孟景晔, 彭武建, 骆子义, 等. 全外显子测序检测一个遗传性易栓症家系的致病基因[J]. 中国优生与遗传杂志, 2017, 25(4): 42-44.
- MENG Jingye, PENG Wujian, LUO Ziyi, et al. Identification of causative gene in a Chinese family with inherited thrombophilia by whole exome sequencing[J]. Chinese Journal of Birth Health & Heredity, 2017, 25(4): 42-44.
- [10] MOSNIER L O, ZLOKOVIC B V, GRIFFIN J H. Cytoprotective-selective activated protein C therapy for ischaemic stroke[J]. Thromb Haemost, 2014, 112(5): 883-892.
- [11] CHRISTIAANS S C, WAGENER B M, ESMON C T, et al. Protein C and acute inflammation: a clinical and biological perspective[J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2013, 305(7): L455-L466.
- [12] 谢燕, 唐巧云, 郑海建, 等. 2 型糖尿病肾病凝血异常相关因素分析[J]. 中国综合临床, 2012, 28(10): 1009-1012.
- XIE Yan, TANG Qiaoyun, ZHENG Haijian, et al. Von willebrand factor research on related factor of coagulation abnormalities in type 2 diabetic nephropathy[J]. Clinical Medicine of China, 2012, 28(10): 1009-1012.
- [13] ZHU Tienan, ZHAO Yongqiang, DING Qiulan, et al. The activity levels and prevalence of deficiency of protein C, protein S and antithrombin in Chinese Han population[J]. Chinese Journal of Hematology, 2012, 33(2): 127-130.

收稿日期: 2019-01-15

修回日期: 2019-05-16

(上接 153 页)

- [8] CABALLERO SANZ S, NOZALEDA PASTOR G, GARCIA-TIZON LARROCA S. First-trimester biochemical screening for low birth weight: clinical effectiveness of low pregnancy-associated plasma protein-A and high thyroid-stimulating hormone[J]. Clin Lab, 2018, 64(9): 1501-1508.
- [9] LIVRINOVA V, PETROY L, SAMARDZISKI L, et al. Obstetric outcome in pregnant patients with low level of pregnancy-associated plasma protein A in first trimester[J]. Open Access Maced J Med Sci, 2018, 6(6): 1028-1031.
- [10] 沈亲亲, 张檀. 孕中期血清产前筛查指标 mom 值异常与不良妊娠结局的相关性[J]. 浙江医学, 2016, 38(3): 195-197, 200.
- SHEN Qinqin, ZHANG Tan. Relationship between second-trimester maternal serum triple screening markers and adverse pregnancy outcomes[J]. Zhejiang Medical Journal, 2016, 38(3): 195-197, 200.
- [11] 赵丽, 肖建平, 杨岚, 等. 唐氏筛查单项指标人绒毛膜促性腺激素水平增高孕妇妊娠结局分析[J]. 中国全科医学, 2015, 18(27): 3304-3307.
- ZHAO Li, XIAO Jianping, YANG Lan, et al. Analysis of pregnancy outcome of women with increased HCG level in Down's screening[J]. Chinese General Practice, 2015, 18(27): 3304-3307.

收稿日期: 2019-02-18

修回日期: 2019-03-25