

is involved in the propofol-mediated cardioprotection against ischemia/reperfusion injury[J]. Clin Interv Aging, 2021,16:621-632.

regulating MALAT1/miR-206/ATG3 axis[J]. J Biochem Mol Toxicol,2021,35(10):e22880.

[24] JING H, WANG C, ZHAO L, et al. Propofol protects cardiomyocytes from hypoxia/reoxygenation injury via

(收稿日期:2022-09-14 修回日期:2023-03-24)

• 综 述 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2023.12.025

血管性血友病的分子机制及诊治研究进展

罗婧媛 综述,陈 姝[△]审校
重庆医科大学附属第二医院血液内科,重庆 400010

摘 要:血管性血友病(VWD)是最常见的常染色体遗传性出血性疾病,由血管性血友病因子(VWF)定量或定性缺陷引起。VWD 具有遗传异质性,分子致病机制和临床表型复杂,其诊断和治疗面临挑战。近年来,对 VWD 患者 VWF 基因突变的识别提高了对 VWF 蛋白结构和功能的理解,增强了对 VWD 发病机制的认识。新型检查方法和新型药物的问世给 VWD 的诊治带来了突破。该文旨在对 VWD 的分子遗传学和诊治研究现状及进展进行综述。

关键词:血管性血友病; 分子机制; 诊断; 治疗
中图法分类号:R554.1 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-9455(2023)12-1783-07

Research advances in molecular mechanism,diagnosis and treatment of von Willebrand disease

LUO Jingyuan ,CHEN Shu[△]
Department of Hematology,Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University,Chongqing 400010,China

Abstract: von Willebrand disease (VWD) is the most common autosomal inherited bleeding disease caused by quantitative or qualitative deficiency of von Willebrand factor (VWF). VWD possesses genetically heterogeneous,with complex molecular pathogenic mechanisms and clinical phenotypes,and its diagnosis and treatment face challenges. In recent years,the identification of mutations in VWF gene in the patients with VWD improves the understanding of the structure and function of VWF protein and enhances the cognition on the molecular pathogenesis of VWD. The emergence of new type examination methods and new drugs has brought a breakthrough in the diagnosis and treatment of VWD. This paper aims to review the current status and progress of research on the molecular genetics and diagnosis and treatment of VWD.

Key words: von Willebrand disease; molecular pathogenesis; diagnosis; treatment

血管性血友病(VWD)是人类最常见的常染色体遗传性出血性疾病,由血管性血友病因子(VWF)基因突变导致 VWF 量(1 型和 3 型 VWD)或质(2 型 VWD)的缺陷引起,以皮肤黏膜出血和创伤或侵入性手术后的过度出血为主要临床表现,严重者可发生胃肠道或关节肌肉出血。VWD 复杂的分子病理机制使其诊断和治疗一直是临床上的难题。近年来的研究增强了对 VWD 发病机制的理解,同时开发出了新的诊断方法和治疗手段。本文对 VWD 的分子基础、诊断分型和治疗的研究现状及进展综述如下。

1 VWF 的生物学特点

1.1 VWF 的生物合成和分子结构 VWF 是由血管内皮细胞和骨髓巨核细胞合成的一种多聚体糖蛋白,

对血小板黏附于暴露的内皮下胶原、血小板聚集和凝血因子Ⅷ(FⅧ)的稳定至关重要,在生理性止血和血栓形成过程中起着重要作用^[1]。VWF 基因位于 12 号染色体,由 52 个外显子和 51 个内含子组成,编码含 2 813 个氨基酸残基(aa)的前体蛋白,包括 22 个 aa 的信号肽(SP),741 个 aa 的前肽(VWFPp)和 2 050 个 aa 的成熟亚单位,结构域组成为 D1-D2-D'-D3-A1-A2-A3-D4-C1-C2-C3-C4-C5-C6-CK^[2],功能结构域包括血小板糖蛋白 I b(GPIb)结合位点(A1 结构域)、蛋白裂解位点(A2 结构域)、胶原结合位点(A1 和 A3 结构域)、FⅧ结合位点(D'和 D3 结构域)及血小板糖蛋白Ⅱb/Ⅲa(GPIIb/Ⅲa)结合位点(C4 结构域),见图 1。

VWF 前体蛋白在核糖体中翻译完成,去除信号

[△] 通信作者,E-mail:chenshu@hospital.cqmu.edu.cn.
网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1167.R.20230331.1515.004.html\(2023-03-31\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1167.R.20230331.1515.004.html(2023-03-31))

肽后转运至内质网,CK 结构域之间通过二硫键(S-S)连接形成 VWF 二聚体,后者转运至高尔基体,D3 结构域之间通过 S-S 连接形成 VWF 多聚体。VWFpp 和 D'结构域使二聚体正确对齐,同时 VWFpp 通过其 CGLC 序列的蛋白二硫化物异构酶活性催化 D3 结构域之间的 S-S 形成^[3],这对于多聚化至关重要。多聚体生成后,VWFpp 被 furin 蛋白酶裂解,但仍与 D'D3 结构域保持高亲和力的非共价结合^[4]。

1.2 VWF 的储存、分泌和代谢 新生的 VWF 多聚体先被运输至内皮细胞的 Weibel-Palade 小体(WPBs)和巨核细胞/血小板的 α-颗粒中储存,后续通过基础型、调节型和组成型 3 种分泌方式释放入血^[5-6]。多聚化程度越高的 VWF 具有越强的促血小

板黏附和促血栓形成能力,金属蛋白酶 ADAMTS13 通过裂解高分子量的 VWF 多聚物(VWF-HMWs)重塑了 VWF 多聚体的大小分布,从而防止 VWF-HMWs 诱导的血小板过度聚集和血栓形成^[7]。VWF 主要被巨噬细胞内吞清除,半衰期为 8~12 h,健康人血浆 VWF 水平在 50~200 IU/dL 波动^[8]。VWFpp 与成熟 VWF 等比例地分泌入血,但其清除独立于 VWF,半衰期为 2~3 h,水平约为 100 IU/dL^[4]。VWFpp 与 VWF 在体内等比例分泌而代谢途径不同,因此 VWFpp/VWF 抗原(VWF:Ag)可以反映体内 VWF 的清除情况,健康人 VWFpp/VWF:Ag<3.0^[9],VWFpp/VWF:Ag 增加提示 VWF 清除增强。

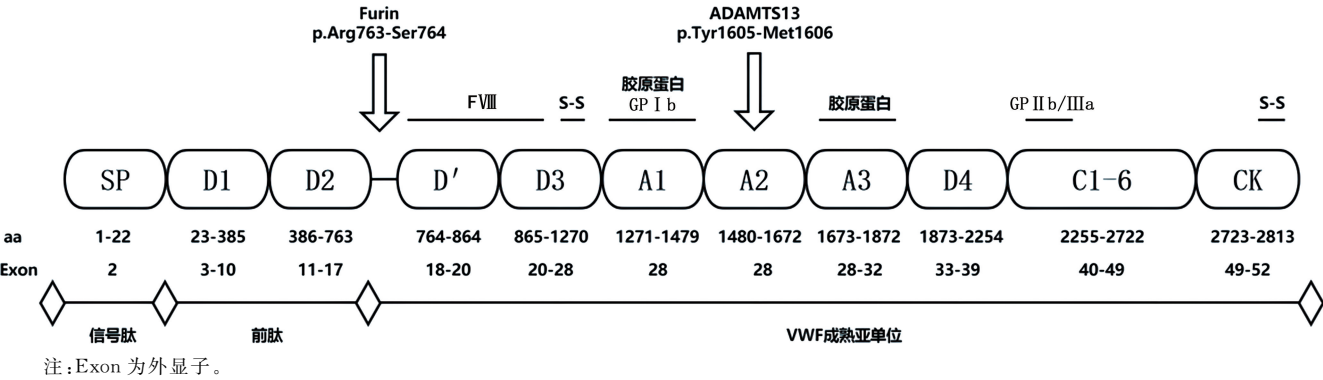


图 1 VWF 前体蛋白的结构和功能以及编码基因

2 VWD 的分型及分子机制

VWD 可分为 3 种类型:1 型为 VWF 量的部分缺失,2 型为 VWF 质的缺陷伴或不伴量的缺乏,3 型为 VWF 量的完全缺失。

2.1 1 型 VWD 1 型 VWD 为常染色体显性遗传,以 VWF 数量轻度或中度减少,但 VWF 功能及多聚体分布基本正常为特征,发病率最高,约占所有患者的 75%。人类基因突变数据库(HGMD)中记录了超过 250 种不同的 1 型 VWD 基因突变,大多数发生在 28 号外显子,约 80%为错义突变,其余为小缺失/插入、剪切突变、无义突变、启动子突变、基因转换等,所占比例均<10%。分子致病机制包括以下 3 种:(1) VWF 合成减少。低 VWF 产量一般与杂合性无效等位基因相关。无义突变、剪切突变、缺失和插入等均可产生无效等位基因,不能合成有功能的蛋白质^[10],VWF 生成仅来自非突变的等位基因,导致 VWF 产量下降 50%,如 p. Arg1659X 和 p. Arg1853X;启动子突变破坏转录因子结合,VWF 基因转录衰减,蛋白生成减少。(2)VWF 分泌受损。部分突变改变 VWF 前体蛋白结构,内质网质量控制系统阻止缺陷蛋白向高尔基体转运,VWF 滞留在内质网中或在细胞内被降解^[10]。所有破坏链内 S-S 的特异性半胱氨酸突变都可能改变 VWF 构象而导致这种细胞内滞留^[11],如 p. Cys1060Tyr、p. Cys1130Phe、p. Cys1149Arg、p. Tyr1584Cys、p. Cys2257Ser 和

p. Cys2671Tyr。p. Tyr1584Cys 是最常见的 1 型 VWD 突变,位于 A2 结构域,可在约 15%的 VWD 患者中检测到杂合子,此类患者平均 VWF:Ag 为 40 IU/dL,血型多为 O 型。p. Tyr1584Cys 不仅导致 VWF 内质网滞留,还会使 VWF 对 ADAMTS13 的敏感性增加^[12]。部分突变干扰 WPBs 形成而使 VWF 基础型和调节型分泌减少^[13-14],如 p. Cys2190Tyr 和 p. Ala1716Pro。(3)VWF 清除增强。在>40%的 1 型 VWD 患者中观察到病理学增加的 VWF 清除率,将这种 VWF 清除增强所导致的 1 型 VWD 称为 1C 型。此类突变主要位于 D3 结构域,如 p. Arg1205His/Cys/Ser、p. Cys1130Phe/Gly/Arg、p. Trp1144Gly 和 p. Cys1149Arg,这提示 D3 结构域可能包含 VWF 存活和清除的调控或识别位点。此外,位于 D4 结构域的 p. Ser2179Phe 和位于 C6 结构域的 p. Cys2671Tyr 也与 VWF 清除增加有关^[10]。VWD Vicenza(p. Arg1205His 杂合突变)是 1C 型 VWD 的经典类型,VWF:Ag 通常为 10~15 IU/dL,VWFpp/VWF:Ag 显著升高(通常>10)并伴有 VWF-HMWs 的轻微增加。研究表明 p. Arg1205His 通过增强 VWF 与肝脾巨噬细胞受体的结合提高清除率,因此有专家推荐将 VWD Vicenza 归类为 2 型 VWD(而不是 1 型),以强调与清除受体更强的相互作用是一种新的 VWF 功能缺陷^[15]。

2.2 2 型 VWD 2 型 VWD 以 VWF 功能异常为特

征, 占有 VWD 患者的 20%~30%, 基于 VWF 与血小板 GPIIb 的结合异常进一步分为 2A、2B 和 2M 型, 与 FVIII 的结合缺陷分为 2N 型。大多数 2 型 VWD 为显性遗传, 但 2N 型和部分 2A 型为隐性遗传。

2.2.1 2A 型 VWD VWF 依赖的血小板黏附功能主要由 VWF-HMWs 介导。2A 型 VWD 的发病机制为 VWF-HMWs 分泌减少或裂解增加, 选择性缺乏 VWF-HMWs 导致的 VWF-血小板结合活性下降。突变类型有错义、插入、缺失、移码突变, 大多数为错义突变且位于 A2 结构域, 集中在 ADAMTS13 酶解位点 Tyr1605-Met1606 周围、Glu1504-Lys1672 范围内, 导致 2 种不同的致病机制: (1) 改变 A2 区构象使 ADAMTS13 切割位点 (Tyr1605-Met1606) 易于暴露, VWF 对 ADAMTS13 的敏感性增加, VWF-HMWs 裂解增强^[12], 如 p. Gly1505Glu、p. Met1528Val、p. Arg1597Trp、p. Val1607Asp、p. Gly1609Arg、p. Gly1629Glu、p. Gly1631Asp 和 p. Glu1638Lys; (2) 损害 VWF 在细胞内的合成和加工, 蛋白缺陷而滞留于细胞内, VWF 多聚体特别是 VWF-HMWs 分泌减少^[16], 如 p. Gly1505Arg、p. Ser1506Leu、p. Leu1540Pro、p. Val1607Asp。值得注意的是, p. Gly1505Glu 与 p. Gly1505Arg 发生在同一个密码子上, 这说明 A2 结构域中氨基酸替换的位置与 2A 型 VWD 的分子致病机制没有关联。此外, CK 结构域的突变可影响 VWF 二聚体化, 如 p. Cys2771Arg 和 p. Cys2773Arg; D3 结构域的突变可影响 VWF 多聚体化, 如 p. Cys1099Tyr、p. Cys1143Tyr 和 p. Cys1173Arg; 上述突变均为半胱氨酸残基被替换, 导致二聚化或多聚化过程中所必需的分子间 S-S 生成障碍, VWF-HMWs 合成和分泌减少^[17]。A1 结构域的突变也可使 VWF 多聚化受损, 但机制尚不明确, 同时常伴有 VWF 与血小板 GPIIb 结合亲和力的增强或降低, 如 p. Cys1272Arg/Gly、p. Val1314Phe、p. Arg1315Cys 和 p. Cys1458Tyr。A2、CK、D3 和 A1 结构域的突变均为显性突变。D2 结构域的突变为隐性突变, 破坏 VWFpp 构象而干扰 VWF 多聚体形成, 如错义突变 p. Asn528Ser、p. Gly550Arg 和 p. Cys623Trp, 插入突变 p. Phe404_Thr405insAsnPro 和 p. Asn624_Ala625insGly, 以及缺失突变 p. Cys709LeufsTer711。造成 VWF 生物合成缺陷、细胞内滞留, 多聚体不能正常分泌的 2A 型突变为 Group I 突变; 提高 VWF-HMWs 对 ADAMTS13 的敏感性, 使其裂解增加的突变为 Group II 突变。Group I 突变会导致比 Group II 突变更严重的出血表现, 但 Group I 突变的 VWD 患者对去氨加压素 (DDAVP) 治疗的反应更好^[12,18]。

2.2.2 2B 型 VWD 2B 型 VWD 的发病机制为 VWF-HMWs 与血小板 GPIIb 的亲和力增强, 在体内自发性形成 VWF-血小板复合物后被清除, 因此 2B 型患者还常有不同程度的间歇性血小板减少, 可

因应激而加重, 特别是妊娠期间经常发生严重的血小板减少, 婴儿往往有新生儿血小板减少症^[19]。VWF 与血小板 GPIIb 的结合位点位于 A1 结构域。2B 型突变为 A1 内的功能获得性突变, 稳定 A1 的结合构象使 VWF 与 GPIIb 的结合能力增强。2B 型突变大部分为错义突变, 主要在 Cys1272-Cys1458 二硫环中, Arg1306、Arg1308、Arg1341 为突变热点^[20], p. Arg1306Trp、p. Arg1308Cys、p. Arg1341Gln 和 p. Val1316Met 4 种突变约占 2B 型突变的 90%, 其中 p. Val1316Met 会导致更为严重的血小板减少和出血症状, 增加孕期流产风险^[14,21]。p. Arg1308Leu 和 p. Pro1266Gln/Leu 为经典的非典型 2B 型突变, 不影响多聚体分布, 也不会使血小板减少^[20,22]。SACCO 等^[23]报告了第 1 例携带 D' 和 D4 结构域突变的 2B 型 VWD, 并发现 p. Arg924Gln/p. Ala2178Ser 双杂合突变引起 VWF 分子的构象转变而导致 2B 型 VWD 表型。

2.2.3 2M 型 VWD 2M 型 VWD 的发病机制为 VWF-HMWs 与血小板 GPIIb 或胶原的亲和力减弱, 其多聚体分布基本正常。2M 型突变为 A1 区域内的功能缺失性突变, 损害 VWF 与 GPIIb 的相互作用使 VWF 与 GPIIb 的结合能力减弱。绝大多数为错义突变, 如 p. Ser1285Phe、p. Gly1324Ser/Ala、p. Glu1359Lys、p. Phe1369Ile 和 p. Ile1425Phe, 其余部分为小的框内缺失, 如 p. Lys1408delLys。部分位于 A3 结构域的错义突变直接降低 VWF 与胶原结合的亲和力也导致 2M 型 VWD^[24], 如 p. Ser1731Thr、p. Leu1733Pro、p. Ser1738Ala、p. Trp1745Cys、p. Ser1783Ala、p. His1786Asp。2M 型 VWD 一般对 DDAVP 治疗反应不佳, 但 A3 结构域突变的患者对 DDAVP 反应良好^[18,25]。

2.2.4 2N 型 VWD 2N 型 VWD 较为少见, 由 VWF 结合 FVIII 的能力缺陷引起, 为常染色体隐性遗传, 基因型可以是单一 2N 突变的纯合子、2 种不同 2N 突变的复合杂合子或一种 2N 突变和一种 VWF 无效突变的复合杂合子 (同时伴有血浆 VWF:Ag 水平降低)。突变主要位于 VWF-FVIII 结合位点 D' 和部分 D3 结构域 (Ser764-Arg1035) 内, 一些结合区域附近的突变也可以阻碍 VWF-FVIII 结合^[20], 如 p. Gln1053His、p. Cys1060Arg。此外, 实现 VWF-FVIII 结合需要 VWFpp 从 VWF 成熟亚单位中裂解, furin 酶作用位点在 Arg763-Ser764, 同时 Arg760 和 Lys762 确保 furin 酶对底物的恰当识别, 因此 p. Arg760Cys、p. Arg763Gly 等突变通过影响 furin 酶切而抑制 VWF-FVIII 结合, 导致 2N 型 VWD^[20,26]。超过 90% 的 2N 型突变为错义突变, 其中 p. Arg816Trp 和 p. Arg854Gln 最常见。FVIII 活性 (FVIII:C) 水平与特定的突变相关, 例如, p. Arg816Trp 突变导致 FVIII:C 严重下降 (<10 IU/dL), 而 p. Arg854Gln 突变则导致 FVIII:C 水平约为 25 IU/dL^[20]。大多数 2N 型 VWD 患者 VWF 多聚体分布正常, 但部分突变会促使超大型多聚体

生成^[26],如 p. Arg760Cys、p. Arg763Gly、p. Tyr795Cys、p. Gln1053His;部分突变会导致 VWF-HMWs 减少^[26],如 p. Cys788Tyr、p. Cys804Phe、p. Cys1060Arg、p. Asp879Asn。

2.3 3 型 VWD 3 型 VWD 以 VWF 完全缺乏为特征,发病率最低,在所有 VWD 患者中所占比例 < 1%,经典遗传模式为常染色体隐性遗传,由纯合或复合杂合突变导致 VWF 合成或分泌重度缺陷引起。然而据报道,40%~50%的 3 型 VWD 患者表现出共显性遗传,其家族中的杂合子携带者符合 1 型 VWD 的诊断标准。HGMD 数据库中记录了超过 320 种不同的 3 型 VWD 基因突变,无义突变最常见,错义突变次之,其余包括各种剪切突变、缺失/插入、基因转换等,分子致病机制为 VWF 合成或分泌减少。(1)VWF 合成减少。除错义突变外的绝大多数突变(约 80%)均产生无效等位基因,且广泛分布于各结构域;而错义突变在 D1~D2 和 CK 结构域显示出聚集性,破坏 VWFpp 构象使 VWF 多聚化受损或破坏 VWF 的二聚体化^[12],如 p. Gly39Arg、p. Asp141Tyr/Asn、p. Lys157Glu、p. Cys275Ser、p. Cys2574Trp、p. Cys2806Arg。(2)VWF 分泌减少。部分位于 D1~D2 结构域的突变阻止 VWF 从内质网向高尔基体转运的同时抑制 WPBs 生成,导致 VWF 内质网滞留、储存和分泌障碍^[27],如 p. Gly55Glu、p. Val86Glu、p. Trp191Arg 和 p. Cys608Trp。

3 VWD 的临床诊断

VWD 的诊断很复杂,需要出血个人史、出血或 VWD 的家族史及确认性实验室检测。对于疑似 VWD 的患者,首先推荐使用国际血栓与止血协会(ISTH)开发的出血评分工具(ISTH-BAT)进行评估,分数异常(男性 ≥ 4 分,女性 ≥ 6 分,儿童 ≥ 3 分)则需完善 VWD 相关实验室检测。对于转诊到血液内科和(或)一级亲属确诊为 VWD 的男性和儿童,即使出血评分正常,也应进行进一步的实验室检查。VWD 的诊断试验包括筛查、确诊以及分型试验三大部分。筛查试验包括血小板计数(PLT)、活化部分凝血活酶时间(APTT)、凝血酶原时间(PT)及血浆纤维蛋白原(Fg)测定;确诊试验包括 VWF:Ag、VWF-血小板结合活性(VWF:Rco, VWF:GP I bM, VWF:GP I bR)和 FⅧ:C 测定;分型试验包括 VWF 多聚体分析、瑞斯托霉素诱导的血小板聚集(RIPA)试验、VWF-胶原结合活性(VWF:CB)、VWF-FⅧ结合活性(VWF:FⅧB)、VWFpp 测定、DDAVP 试验及 VWF 基因测序等。

VWF 瑞斯托霉素辅因子测定(VWF:Rco)是近年来检测 VWF 活性的“金标准”,且根据 VWF:Rco/VWF:Ag 可以确定 VWF-血小板结合活性缺陷是由于 VWF 的质量异常还是数量异常。然而,VWF:Rco 具有显著的局限性。一方面,VWF:Rco 变异系数高,易出现误诊或漏诊;另一方面,VWF:Rco 检测下限为

10~20 IU/dL,这使得在低 VWF:Ag 患者中准确识别 2 型 VWD 存在困难^[28]。此外,VWF:Rco 使用瑞斯托霉素在体外桥接 VWF 与 GP I b,所以有可能因为 VWF 结合瑞斯托霉素的能力缺陷而出现错误结果^[28],VWF:Rco 明显下降,但实际体内血小板依赖的 VWF 活性正常。近年来开发出了新的检测方法:功能获得性突变的 GP I b 结合分析(VWF:GP I bM)和瑞斯托霉素诱导的 GP I b 结合分析(VWF:GP I bR)。VWF:GP I bM 使用功能增益性突变的 GP I b,使其在体外不需要瑞斯托霉素也可自发地结合 VWF^[29]。VWF:GP I bM 同时还具有高精度度及低变异系数的优势^[29],是指南推荐的血小板依赖的 VWF 活性检测方法^[30]。VWF:GP I bR 使用重组 GP I b 片段而非血小板,受影响因素较少,检测下限更低,但仍需使用瑞斯托霉素。

1 型 VWD 患者血浆 VWF 水平在 3~50 IU/dL,临床表现为轻至中度的皮肤黏膜出血。对 VWF:Ag 为 30~50 IU/dL 伴异常出血的患者及无论出血情况如何,VWF:Ag<30 IU/dL 的患者,均应考虑 1 型 VWD 的诊断,当 VWF-血小板结合活性(如 VWF:Rco, VWF:GP I bM, VWF:GP I bR)与 VWF:Ag 的比值 > 0.7 时,可诊断为 1 型 VWD^[30-31]。1C 型 VWD 的特点是 VWF 半衰期明显缩短至 1~3 h(正常 8~12 h),VWFpp/VWF:Ag 增加至 > 3.0(正常 < 3.0)。DDAVP 可使储存在血管内皮细胞 WPBs 中的 VWF 释放,但对于 1C 型 VWD 患者,释放的 VWF 会很快被清除,DDAVP 输注后 4 h 血浆 VWF 水平比 1 h(峰值)降低超过 30%^[32]。ISTH 优先推荐将 DDAVP 试验作为 1C 型 VWD 的诊断依据^[30]。

2 型 VWD 的出血严重程度介于 1 型和 3 型之间,常表现为瘀斑、鼻出血、牙龈出血、小伤口持续出血、月经过多及术后出血,其中 2A 型胃肠道出血多见。2N 型主要是外伤后或与手术有关的出血,自发性出血通常不严重,女性月经过多和产后出血常见。当 VWF-血小板结合活性(如 VWF:Rco, VWF:GP I bM, VWF:GP I bR)与 VWF:Ag 的比值 < 0.7 时,应考虑 2A、2B 或 2M 型 VWD,其中 2M 型多聚体分布正常,2A 和 2B 型同时伴有 VWF-HMWs 缺失。RIPA 用于进一步区分 2B 型与 2A 型。2B 型患者瑞斯托霉素诱导的血小板聚集率增强,低水平的瑞斯托霉素(≤ 0.7 mg/mL)即可诱导血小板的聚集^[33-34],但该试验灵敏度较低。2N 型 VWD 患者血浆 VWF:Ag 正常或轻度减少,未结合的 FⅧ加速清除导致 FⅧ:C 减少至 5~40 IU/dL,少数患者表现出更明显的下降(1~5 IU/dL),但迄今从未低于 1 IU/dL,其诊断标志是 VWF:Ag 和 FⅧ:C 水平明显不一致,FⅧ:C/VWF:Ag 明显降低。2N 型 VWD 需要与轻型/中间型血友病 A 及其女性携带者鉴别,通过 VWF:FⅧB 或基因检测来区分。

3 型 VWD 患者血浆 VWF 水平通常 <3 IU/dL, 伴 FⅧ:C <10 IU/dL, 临床表现为严重的皮肤黏膜出血和关节肌肉出血。

4 VWD 的治疗

4.1 非替代治疗

4.1.1 DDAVP DDAVP 可刺激血管内皮细胞分泌储存在 WPBs 中的 VWF, 是 VWD 的有效治疗方法。然而, VWF 清除增强的患者在接受 DDAVP 治疗后血浆 VWF 水平会迅速降至低水平, DDAVP 疗效不佳, 特别是在严重出血时。为了充分确定 DDAVP 治疗后个体 VWF 的药代动力学反应, 建议进行 DDAVP 试验, 即分别检测 VWF 基线值以及给予 DDAVP 后 1 h、4 h 的 VWF 水平, 若 VWF 增加 3 倍及以上并可维持则表示对 DDAVP 反应良好。爱尔兰的一项队列研究表明, 大多数 VWF 水平在 $30\sim50$ IU/dL 的患者在接受 DDAVP 治疗后有很好的持续性 VWF 反应, 这些患者在诊断时不需要进行正式的 DDAVP 试验, 而是在首次临床应用 DDAVP 治疗后可以简单地确认 VWF 反应^[29,35]。DDAVP 可以皮下注射 ($0.3\ \mu\text{g}/\text{kg}$)、静脉注射 ($0.3\ \mu\text{g}/\text{kg}$, 溶解于 $100\ \text{mL}$ 正常生理盐水中, $20\ \text{min}$ 内输完) 或以鼻腔喷雾的形式给药 (成年患者 $300\ \mu\text{g}$, 儿童 $150\ \mu\text{g}$)。不良反应包括面部潮红、头痛和低血压, 还可引起液体潴留、继发性低钠血症和癫痫发作, 建议患者在每次给药后 $24\ \text{h}$ 内限制总液体摄入量, 高危患者需要监测血钠浓度^[28]。2 岁以下的儿童以及患有心血管疾病的成人患者通常避免使用 DDAVP。2B 型 VWD 患者禁止使用 DDAVP, 因为释放的 VWF 可引起明显的血小板减少而加重出血。

4.1.2 抗纤维蛋白溶解药物——氨甲环酸 (TA)

TA 通过与纤溶酶原的赖氨酸结合位点结合来抑制纤维蛋白溶解, 已被广泛用于治疗 VWD, 可用于治疗所有类型患者的黏膜出血及大量的月经出血。越来越多的证据强调, 即使在高危人群中 (如创伤、产后出血、重大骨科手术), TA 的使用似乎与显著的血栓风险无关^[29]。TA 可以口服 ($15\sim25\ \text{mg}/\text{kg}$, 每天 3 次)、静脉注射 ($15\ \text{mg}/\text{kg}$, 每天 3 次) 或作为漱口水使用。不良反应包括恶心、呕吐和腹痛。此外, 上尿路有明显血尿的患者一般避免使用 TA, 因为其可能会导致输尿管血栓性绞痛和梗阻^[36]。

4.1.3 性激素 对于经期大量出血的无生育需求的女性 VWD 患者, 采用雌激素/孕激素联合避孕药或左炔诺孕酮宫内缓释节育系统能有效地减少经期失血量^[37]。

4.2 替代治疗

4.2.1 血浆源性的 VWF 浓缩物 (pd-VWF) pd-VWF 在治疗 VWD 的出血方面既安全又有效, 对于有 DDAVP 禁忌证的患者, 或给予 DDAVP 后 VWF 反应不足以应对特定出血事件或手术挑战的患者,

pd-VWF 是治疗首选。治疗剂量取决于患者的内源性 VWF 水平和出血的严重程度, 剂量标定以制剂的 VWF 活性为准, 由于半衰期约为 $12\ \text{h}$, 通常需要重复给药。大多数 pd-VWF 同时含有 FⅧ, 加之患者体内的内源性 FⅧ被输注的 VWF 稳定, 因此反复使用 pd-VWF 可导致血浆 FⅧ:C 明显升高。FⅧ:C 升高已被证明是普通人群中静脉血栓栓塞的一种剂量依赖性危险因素, 一些 VWD 患者在使用 pd-VWF 后确实出现了血栓并发症, 但目前 FⅧ:C 的升高在 pd-VWF 治疗后 VWD 患者血栓形成病因中的重要性尚不清楚^[29,36]。VWF 大量缺失的患者在重复给予 pd-VWF 后抑制物形成风险较大, 有 $5\%\sim10\%$ 的 3 型 VWD 患者接受 pd-VWF 治疗后出现了抗 VWF 中和抗体^[38]。

4.2.2 重组人 VWF 浓缩物 (rVWF) 第一种 rVWF 已经在许多国家开发并获批用于治疗成人 VWD, 其生产过程中不暴露于 ADAMTS13, 因此富含 VWF-HMWs, 对 VWD 患者的出血疗效较好。此外, rVWF 的耐受性强, 尽管富含 VWF-HMWs, 但无发生血栓或微血管病变并发症的证据, 这可能与体内 ADAMTS13 介导的蛋白分解在 rVWF 输液后迅速发生相关^[39-40]。最重要的是, rVWF 不会导致抑制物形成。需注意的是 rVWF 不含 FⅧ, 故对伴有 FⅧ:C 降低的 VWD 出血患者, 在首次用药时需同时补充重组 FⅧ (rFⅧ), 以确保立即达到止血 FⅧ水平。不联合应用 rFⅧ的情况下, 单独输注 rVWF 仍可使血浆 FⅧ:C 正常化, 这是由于 rVWF 稳定了内源性分泌的 FⅧ。例如, 在单独给药 rVWF $6\ \text{h}$ 后 3 型 VWD 患者的 FⅧ:C 上升至 $>40\ \text{IU}/\text{dL}$, $48\ \text{h}$ 后血浆 FⅧ:C 仍可维持在 $>70\ \text{IU}/\text{dL}$ ^[41]。与 pd-VWF 相比, rVWF 似乎能更有效地稳定内源性 FⅧ, 这可能与更长的半衰期 (约 $25.5\ \text{h}$) 或更高的 VWF-HMWs 水平有关。

4.2.3 血小板源性的 VWF 正常富血小板血浆中, VWF 总量的 $15\%\sim20\%$ 储存在血小板 α 颗粒中, 在血管损伤部位血小板激活后, 以高水平局部分泌, 发挥重要的止血作用。有研究表明, 血小板源性的 VWF 不仅富含 HMWs, 而且对 ADAMTS13 蛋白裂解具有部分抗性^[29]。未来需要进一步的研究来充分确定血小板源性的 VWF 的生物学重要性, 特别是其在与 VWD 相关的可变出血表型中的作用。

5 结 语

近年来对 VWD 分子致病机制的认识取得了重大进展, 这些新颖的见解改进了 VWD 的诊断和治疗策略。新的血小板依赖性 VWF 活性测定、DDAVP 试验、VWF 基因测序等手段提高了 VWD 诊断的准确性, 但国内只有极少数医院常规开展; rVWF 的面世给 VWD 的治疗带来了突破, 但暂未能被大范围使用。因此, VWD 的分型诊断和治疗仍面临困难与挑

战,需要更多的工作来简化诊断,优化治疗。

参考文献

- [1] LENTING P J, CASARI C, CHRISTOPHE O D, et al. Von Willebrand factor: the old, the new and the unknown [J]. *J Thromb Haemost*, 2012, 10(12): 2428-2437.
- [2] ZHOU Y F, ENG E T, ZHU J, et al. Sequence and structure relationships within von Willebrand factor [J]. *Blood*, 2012, 120(2): 449-458.
- [3] LENTING P J, CHRISTOPHE O D, DENIS C V. von Willebrand factor biosynthesis, secretion, and clearance: connecting the far ends [J]. *Blood*, 2015, 125(13): 2019-2028.
- [4] RAWLEY O, LILICRAP D. Functional roles of the von Willebrand factor propeptide [J]. *Hamostaseologie*, 2021, 41(1): 63-68.
- [5] CHOI S J, LILICRAP D. A sticky proposition: the endothelial glycocalyx and von Willebrand factor [J]. *J Thromb Haemost*, 2020, 18(4): 781-785.
- [6] NIGHTINGALE T, CUTLER D. The secretion of von Willebrand factor from endothelial cells; an increasingly complicated story [J]. *J Thromb Haemost*, 2013, 11 Suppl 1(Suppl 1): 192-201.
- [7] SOUTH K, LANE D A. ADAMTS-13 and von Willebrand factor: a dynamic duo [J]. *J Thromb Haemost*, 2018, 16(1): 6-18.
- [8] WARD S E, O'SULLIVAN J M, O'DONNELL J S. The relationship between ABO blood group, von Willebrand factor, and primary hemostasis [J]. *Blood*, 2020, 136(25): 2864-2874.
- [9] SHARMA R, HABERICHTER S L. New advances in the diagnosis of von Willebrand disease [J]. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*, 2019, 2019(1): 596-600.
- [10] YADEGARI H, OLDENBURG J. The current understanding of molecular pathogenesis of quantitative von Willebrand disease, types 1 and 3 [J]. *Hamostaseologie*, 2020, 40(1): 105-118.
- [11] WANG J W, GROENEVELD D J, COSEMANS G, et al. Biogenesis of Weibel-Palade bodies in von Willebrand's disease variants with impaired von Willebrand factor intrachain or interchain disulfide bond formation [J]. *Haematologica*, 2012, 97(6): 859-866.
- [12] ZOLKOVA J, SOKOL J, SIMURDA T, et al. Genetic background of von Willebrand disease: history, current state, and future perspectives [J]. *Semin Thromb Hemost*, 2020, 46(4): 484-500.
- [13] SCHILLEMANS M, KARAMPINI E, VAN DEN ESCHOF B L, et al. Weibel-palade body localized syntaxin-3 modulates von Willebrand factor secretion from endothelial cells [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2018, 38(7): 1549-1561.
- [14] DE JONG A, EIKENBOOM J. Von Willebrand disease mutation spectrum and associated mutation mechanisms [J]. *Thromb Res*, 2017, 159: 65-75.
- [15] CASONATO A, GALLETTA E, GALVANIN F, et al. Von Willebrand disease type vicensa: in search of a classification for the archetype of reduced von Willebrand factor survival [J]. *EJHaem*, 2021, 2(3): 340-348.
- [16] WOODS A I, PAIVA J, PRIMROSE D M, et al. Type 2A and 2M von Willebrand disease: differences in phenotypic parameters according to the affected domain by disease-causing variants and assessment of pathophysiological mechanisms [J]. *Semin Thromb Hemost*, 2021, 47(7): 862-874.
- [17] LÖF A, KÖNIG G, SCHNEPPENHEIM S, et al. Advancing multimer analysis of von Willebrand factor by single-molecule AFM imaging [J]. *PLoS One*, 2019, 14(1): e0210963.
- [18] ATIQ F, HEIJDR A J, SNIJDERS F, et al. Desmopressin response depends on the presence and type of genetic variants in patients with type 1 and type 2 von Willebrand disease [J]. *Blood Adv*, 2022, 6(18): 5317-5326.
- [19] KRANZHÖFER D, PAVLOVA A, SCHNEIDER H, et al. Type 2B von Willebrand disease: early manifestation as neonatal thrombocytopenia [J]. *Hamostaseologie*, 2021, 41(6): 469-474.
- [20] BERBER E. The molecular genetics of von Willebrand disease [J]. *Turk J Haematol*, 2012, 29(4): 313-324.
- [21] RASSOULZADEGAN M, ALA F, JAZEBI M, et al. Molecular and clinical profile of type 2 von Willebrand disease in Iran: a thirteen-year experience [J]. *Int J Hematol*, 2020, 111(4): 535-543.
- [22] WOODS A I, KEMPFFER A C, PAIVA J, et al. Phenotypic parameters in genotypically selected type 2B von Willebrand disease patients: a large, single-center experience including a new novel mutation [J]. *Semin Thromb Hemost*, 2017, 43(1): 92-100.
- [23] SACCO M, LANCELLOTTI S, FERRARESE M, et al. Noncanonical type 2B von Willebrand disease associated with mutations in the VWF D'D3 and D4 domains [J]. *Blood Adv*, 2020, 4(14): 3405-3415.
- [24] SHIGEKIYO T, YAGI H, SEKIMOTO E, et al. Identification of a missense mutation (p. Leu1733Pro) in the A3 domain of von Willebrand factor in a family with type 2M von Willebrand disease [J]. *Int J Hematol*, 2020, 111(3): 467-470.
- [25] MAAS D, ATIQ F, BLIJLEVEN N M A, et al. Von Willebrand disease type 2M: correlation between genotype and phenotype [J]. *J Thromb Haemost*, 2022, 20(2): 316-327.
- [26] SEIDIZADEH O, PEYVANDI F, MANNUCCI P M. Von Willebrand disease type 2N: an update [J]. *J Thromb Haemost*, 2021, 19(4): 909-916.
- [27] YADEGARI H, BISWAS A, AHMED S, et al. Von Willebrand factor propeptide missense variants affect anterograde transport to Golgi resulting in ER retention [J]. *Hum Mutat*, 2021, 42(6): 731-744.
- [28] SHARMA R, FLOOD V H. Advances in the diagnosis and treatment of von Willebrand disease [J]. *Blood*, 2017,

130(22):2386-2391.

[29] FOGARTY H,DOHERTY D,O'DONNELL J S. New developments in von Willebrand disease[J]. Br J Haematol,2020,191(3):329-339.

[30] JAMES P D,CONNELL N T,AMEER B,et al. ASH ISTH NHF WFH 2021 guidelines on the diagnosis of von Willebrand disease[J]. Blood Adv,2021,5(1):280-300.

[31] BOWMAN M L,JAMES P D. Controversies in the diagnosis of type 1 von Willebrand disease[J]. Int J Lab Hematol,2017,39 Suppl 1:61-68.

[32] MICHIELS J J,SMEJKAL P,PENKA M,et al. Diagnostic differentiation of von Willebrand disease types 1 and 2 by von willebrand factor multimer analysis and DDAVP challenge test[J]. Clin Appl Thromb Hemost,2017,23(6):518-531.

[33] BARONCIANI L,PEYVANDI F. How we make an accurate diagnosis of von Willebrand disease[J]. Thromb Res,2020,196:579-589.

[34] WEYAND A C,FLOOD V H. Von Willebrand disease: current status of diagnosis and management[J]. Hematol Oncol Clin North Am,2021,35(6):1085-1101.

[35] LAVIN M,AGUILA S,SCHNEPPENHEIM S,et al. Novel insights into the clinical phenotype and pathophysiology underlying low VWF levels[J]. Blood,2017,130(21):2344-2353.

[36] LAVIN M,O'DONNELL J S. New treatment approaches to von Willebrand disease[J]. Hematology Am Soc Hematol Educ Program,2016,2016(1):683-689.

[37] LAFFAN M,SATHAR J,JOHNSEN J M. von Willebrand disease: diagnosis and treatment, treatment of women, and genomic approach to diagnosis[J]. Haemophilia,2021,27 Suppl 3:66-74.

[38] FRANCHINI M,MANNUCCI P M. Alloantibodies in von Willebrand disease[J]. Semin Thromb Hemost,2018,44(6):590-594.

[39] MANNUCCI P M,KEMPTON C,MILLAR C,et al. Pharmacokinetics and safety of a novel recombinant human von Willebrand factor manufactured with a plasma-free method;a prospective clinical trial[J]. Blood,2013,122(5):648-657.

[40] MANNUCCI P M. New therapies for von Willebrand disease[J]. Blood Adv,2019,3(21):3481-3487.

[41] PEYVANDI F,MAMAEV A,WANG J D,et al. Phase 3 study of recombinant von Willebrand factor in patients with severe von Willebrand disease who are undergoing elective surgery[J]. J Thromb Haemost,2019,17(1):52-62.

(收稿日期:2022-11-18 修回日期:2023-03-31)

(上接第 1770 页)

路感染诊疗专家共识[J]. 中华医学杂志,2017,97(36):2827-2832.

[10] 郭建群,马颐姣,贾实磊,等. 儿童泌尿系感染病原菌分布及耐药性分析[J]. 广东医学,2020,41(15):1577-1580.

[11] 余建洪,李玉梅,王修全,等. 自贡地区尿培养中分离菌的临床分布及耐药性分析[J]. 中国抗生素杂志,2019,44(9):1084-1090.

[12] 梁海峰,汲宗惠,刘保红,等. 不同性别间尿路感染病原体分布及耐药性的差异性分析[J]. 现代预防医学,2017,44(5):890-893.

[13] 胡付品,郭燕,朱德妹,等. 2019 年 CHINET 三级医院细菌耐药监测[J]. 中国感染与化疗杂志,2020,20(3):233-243.

[14] MICOZZI A,GENTILE G,MINOTTI C,et al. Carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae in high-risk haematological patients:factors favouring spread,risk factors and outcome of carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae bacteremias[J]. BMC Infect Dis,2017,17(1):203.

[15] 龙姗姗,喻华,黄湘宁,等. 2015—2018 年四川省细菌耐药监测网尿液标本细菌分布及耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志,2020,30(7):1066-1071.

[16] 国家卫生和计划生育委员会. 关于印发抗菌药物临床应用指导原则(2015 年版)的通知:国卫办医发〔2015〕43 号 [A]. 2015-08-27.

[17] MEZZATESTA M L,LA ROSA G,MAUGERI G,et al. In vitro activity of fosfomycin trometamol and other oral antibiotics against multidrug-resistant uropathogens[J]. Int J Antimicrob Agents,2017,49(6):763-766.

[18] THADEN J T,POGUE J M,KAYE K S. Role of newer and re-emerging older agents in the treatment of infections caused by carbapenem-resistant Enterobacteriaceae [J]. Virulence,2017,8(4):403-416.

[19] KUNTAMAN K,SHIGEMURA K,OSAWA K,et al. Occurrence and characterization of carbapenem-resistant Gram-negative bacilli;a collaborative study of antibiotic-resistant bacteria between Indonesia and Japan[J]. INT J UROL,2018,25(11):966-972.

[20] XIAO T,YU W,NIU T,et al. A retrospective,comparative analysis of risk factors and outcomes in carbapenem-susceptible and carbapenem-nonsusceptible Klebsiella pneumoniae bloodstream infections: tigecycline significantly increases the mortality [J]. Infect Drug Resist,2018,11:595-606.

(收稿日期:2022-10-20 修回日期:2023-04-17)