

• 临床检验研究论著 •

外周血胎盘蛋白-13、胎盘生长因子等 指标预测子痫前期的临床价值*

钱 雷¹, 吴凤会¹, 徐 敏², 汪晓莺^{2△}

(1. 江苏省滨海县人民医院检验科 224500; 2. 南通大学免疫学教研室, 江苏南通 226001)

摘要:目的 分析血管内皮生长因子(VEGF)₁₆₅ b、胎盘蛋白-13(PP-13)、胎盘生长因子(PIGF)、可溶性 CD105 淋巴细胞抗原(sEng)和可溶性血管内皮生长因子受体-1(sFlt-1)在子痫前期(PE)患者孕早期血清中的表达,探讨其预测 PE 发生的临床意义。方法 收集 67 例无高血压健康孕妇和 65 例 PE 孕妇 9~10 周的外周血,采用 ELISA 法检测血清 PP-13、PIGF、VEGF₁₆₅ b、sEng 和 sFlt-1 的浓度。使用 ROC 曲线分析 VEGF₁₆₅ b、PP-13 和 PIGF 预测 PE 发生的灵敏度和特异性。结果 孕妇孕 9~10 周,PE 患者的外周血与健康孕妇比较,PP-13[(50.20±31.20)与(108.7±51.2)pg/mL]、PIGF[(58.64±18.01)与(86.19±16.78)pg/mL]、VEGF₁₆₅ b[(1.27±0.41)与(2.03±0.75)ng/mL],差异有统计学意义($P<0.05$);sEng 和 sFlt-1 差异无统计学意义($P>0.05$)。ROC 曲线结果显示孕 9~10 周,PP-13、PIGF 中值倍(MoM)之和预测 PE 的发生,具有较高的灵敏度(96.0%)和特异性(96.3%)。结论 孕早期联合检测 PP-13、PIGF 等指标对预测 PE 的发生有较好的临床价值。

关键词:先兆子痫; 胎盘蛋白-13; 胎盘生长因子; 妊娠期

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.08.006

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2012)08-0907-03

Clinical value of serum placental protein-13 and placental growth factor for the risk assessment of preeclampsia during the first trimester of pregnancy*

Qian Lei¹, Wu Fenghui¹, Xu Min², Wang Xiaoying^{2△}

(1. Department of Laboratory Medicine, People's Hospital of Binhai County, Binhai Jiangsu 224500, China;

2. Department of Immunology, Nantong University, Nantong Jiangsu 226001, China)

Abstract:Objective To evaluate the signification of serum vascular endothelial growth factor(VEGF)₁₆₅ b, placental protein-13 (PP-13), placental growth factor(PIGF) soluble, soluble endoglin(sEng) and fms-like tyrosine kinase1 (sFlt-1) for predicting risk of preeclampsia(PE) during the first trimester of pregnancy. **Methods** 65 cases of gravida with PE and 67 cases of healthy gravida without hypertension were enrolled and detected for serum level of PP-13, PIGF, VEGF₁₆₅ b, sEng and sFlt-1 during 9—10 weeks of gestation. The sensitivity and specificity of VEGF₁₆₅ b, PP-13 and PIGFR for the prediction of PE were analyzed through receiver operating characteristic(ROC) curve. **Results** During 9—10 weeks of gestation, serum levels of PP-13, PIGF and VEGF₁₆₅ b of gravida with PE were (50.20±31.2)pg/mL, (58.64±18.01)pg/mL and (1.27±0.41)ng/mL, which were significantly different with (108.7±51.2)pg/mL, (86.19±16.78)pg/mL and (2.03±0.75)ng/mL of healthy gravida($P<0.01$), but there was no statistical difference of sEng and sFlt-1($P>0.05$). ROC curve indicated that the sum of multiple of the median(MoM) of serum PP-13 and PIGF level during the first trimester were with sensitively of 96.0% and specificity of 96.3% for predicting the risk of PE. **Conclusion** Combined detection of PP-13, PIGF and other serum markers might be with fine clinical value for detecting PE.

Key words: preeclampsia; placental protein-13; placental growth factor; pregn

子痫前期(pre-eclampsia, PE)是一种起源于胎盘,累及全身多脏器的妊娠期特发性疾病,主要表现为妊娠 20 周后出现的高血压、水肿、蛋白尿,严重影响母婴健康,发病机制尚未阐明。多数学者认为,滋养细胞侵袭性下降导致对子宫内膜浸润不足,使得子宫螺旋动脉广泛的重塑障碍是子痫前期发病的关键环节。全身血管内皮受损而产生的子痫前期的病理、生理表现,则被认为是胎盘缺血、缺氧的继发反应^[1]。鉴于子痫前期起源于胎盘的病理、生理特点,目前研究均着重从孕妇血液中寻找胎盘来源的相关生物标志物进行早期预测,如血管内皮生长因子(VEGF)₁₆₅ b、胎盘蛋白-13(PP-13)、胎盘生长因子

(PIGF)、可溶性 CD105 淋巴细胞抗原(sEng)和可溶性血管内皮生长因子受体-1(sFlt-1)。本研究采用这些指标对子痫前期患者的孕早、中期外周血进行检测,并用 ROC 曲线分析这些生物学指标在孕早期预测子痫前期发生的诊断价值^[2-3]。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2009 年 5 月至 2011 年 9 月在滨海县人民医院门诊体检的孕妇,于孕 9~10 周、18~19 周和 27~28 周抽取静脉血进行检测,其中发展为 PE 患者共 65 例,早发型 8 例、晚发型 57 例。诊断标准参照第 7 版《妇产科学》。产妇平均年龄(27.0±1.3)岁,孕周为 29~41 周,平均孕周 36 周,其

* 基金项目:江苏高校优势学科建设工程资助项目(PAPD)。 △ 通讯作者, E-mail:369721666@qq.com。

中孕 29~31 周 8 例、孕 32~41 周 57 例。设 67 例无高血压健康孕妇为对照, 产妇平均年龄(26.3±1.2)岁, 孕周为 37~41 周, 平均孕周 38 周。每次静脉血抽取 2 mL, 分离血清, -70℃冰箱保存。各组年龄、体质量指数(BMI)差异均无统计学意义($P>0.05$), 均排除妊娠并发症和内外科合并症。

1.2 仪器与试剂 Immulon-2HB 96 孔板为 Thermo 公司产品, 鼠抗人 VEGF₁₆₅ b 抗体、VEGF₁₆₅ b 标准品、生物素标记的抗人 VEGF₁₆₅ b 抗体、sEng、sFlt-1、PP-13 和 PIGF。ELISA 检测试剂盒为 R&D Systems 产品, Superblock 封闭缓冲液购自 Pierce 公司, 辣根过氧化物酶标记链亲和素 (Streptavidin/HRP), 酶标仪为奥地利 CliniBio 128-C-340。

1.3 方法

1.3.1 ELISA 法检测血清 VEGF₁₆₅ b 浓度 在 Immulon-2HB 板内每孔加入 100 μL 含 2.0 μg/mL 抗人 VEGF₁₆₅ b 抗体的 pH 值为 9.6 的碳酸盐缓冲液, 4℃过夜, pH7.4 PBS/0.05% Tween20 洗涤, 每孔加入 100 μL Superblock 封闭 12 h, 洗涤后, 加入 100 μL VEGF₁₆₅ b 标准品或患者血清, 37℃孵育 2 h, PBS 洗涤后, 每孔加入 100 μL 生物素标记的抗人 VEGF₁₆₅ b 抗体(50 ng/mL), 37℃孵育 1 h, PBS 洗涤后, 每孔加入 100 μL Streptavidin/HRP, 37℃孵育 30 min, PBS 洗涤后, 加入底物 A(H₂O₂)和底物 B(四甲基联苯胺)各 50 μL, 37℃孵育 15 min, 1 μmol/L H₂SO₄ (50 μL/孔)终止反应, 所有标本均行两孔同批测定, 均值为最终浓度, 酶标仪 450 nm 比色测定, 批内

CV 值小于 8%。

1.3.2 ELISA 法检测血清 sEng、sFlt-1、PP-13、PIGF 浓度 按说明书进行操作, 所有标本均行两孔同批测定, 均值为最终浓度, 酶标仪 450 nm 测定吸光度值。

1.3.3 统计学处理 将数据换算成中值倍(multiple of the median, MoM)后, 用 MedCalc 软件进行受试者工作曲线(ROC)分析, 并计算曲线下面积(AUC)。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 孕妇外周血 PP-13 浓度检测结果 孕 9~10 周, PE 组外周血 PP-13 低于健康对照组, 差异有统计学意义($P<0.05$), 孕 18~19 周、孕 27~28 周 PE 组外周血 PP-13 高于健康对照组, 差异有统计学意义($P<0.05$)。

2.2 孕妇外周血 VEGF₁₆₅ b 浓度检测结果 孕 9~10 周、18~19 周和 27~28 周 PE 组外周血 VEGF₁₆₅ b 都低于健康对照组, 差异有统计学意义($P<0.05$)。

2.3 孕妇外周血 PIGF 浓度检测结果 孕 9~10 周、18~19 周和 27~28 周 PE 组外周血 PIGF 都低于健康对照组, 差异有统计学意义($P<0.05$)。

2.4 两组孕 9~10 周孕妇外周血生物学指标检测结果 见表 1。

2.5 ROC 曲线分析 PP-13、VEGF₁₆₅ b、PIGF、MoM 各项指标在孕 9~10 周预测子痫前期的发生情况, 见表 2。

表 1 两组对象孕 9~10 周外周血生物学指标检测结果比较(±s)

检测指标	健康对照组	健康对照组(MoM)	PE 组	PE 组(MoM)
sFlt1(ng/mL)	2.14±1.25	0.98(0.84~1.23)	2.21±1.33	1.01(0.75~1.33)
PP-13(pg/mL)	108.7±51.2	1.00(0.67~1.13)	50.20±31.2▲	0.43(0.28~0.56)▲
sEng(ng/mL)	4.42±1.93	0.99(0.78~1.31)	4.45±1.71	1.02(0.70~1.45)
VEGF ₁₆₅ b(ng/mL)	2.03±0.75	1.00(0.89~1.35)	1.27±0.41▲	0.71(0.54~0.84)▲
PIGF(pg/mL)	86.19±16.78	1.00(0.88~1.07)	58.64±18.01▲	0.63(0.56~0.74)▲

▲: $P<0.05$, 与正常对照组比较。

表 2 孕早期 PP-13、VEGF₁₆₅ b 和 PIGF MoM 预测子痫前期的发生情况

检测指标	临界值	AUC[95%CI]	灵敏度(%)	特异性(%)
PP-13	≤0.67	0.836(0.71~0.92)	83.3	70.4
VEGF ₁₆₅ b	≤0.86	0.775(0.64~0.88)	73.1	76.0
PIGF	≤0.85	0.867(0.74~0.95)	84.0	70.4
PP-13+PIGF	≤1.32	0.984(0.90~1.0)	96.0	96.3
PP-13+VEGF ₁₆₅ b+PIGF	≤2.28	0.963(0.87~0.99)	100	88.0

3 讨论

可溶性 Eng(sEng)通过结合循环中的 TGF-β₁ 阻止其与细胞膜上的受体结合, 进而阻断 TGF-β₁ 信号传递, 抑制血管形成。有研究表明, 子痫前期的患者在妊娠中期血清中的 sEng 浓度显著升高, 特别是早发型子痫前期患者升高最显著^[4]。本实验检测了发展成 PE 的患者在孕 9~10 周血清中

的 sEng 浓度, 与健康对照组比较差异有统计学意义($P<0.05$)。

VEGF 在胚胎植入过程中参与子宫血管通透性的调节, 介导子宫内膜血管变化和血管发生。其包括 VEGF₁₂₁、VEGF₁₄₅、VEGF₁₆₅、VEGF₁₆₅ b 等。VEGF₁₆₅ b 具有抑制 VEGF₁₆₅ 介导的血管生成作用。Victoria 等^[5]研究发现, 孕早期时 VEGF₁₆₅ b 的浓度显著偏低, 而且随着孕周的增加, 与血压正常的孕妇比较, 持续偏低。本研究结果也显示, 孕 9~10 周的孕妇外周血 VEGF₁₆₅ b 浓度预测子痫前期的发生, 有一定的灵敏度和特异性。

sFlt-1 与 VEGF、PIGF 结合后, 使得 VEGF 和 PIGF 的生理功能得不到发挥, 从而具有抗血管生成和抗内皮细胞存活的作用, 最终导致子痫前期症状的出现^[6-7]。Noori 等^[8]研究发现, 成为子痫前期的患者其血清中 sFlt-1 浓度在妊娠 17 周已经较健康对照组升高, 妊娠 33 周时这种变化更加显著。本研究发现, 发展成 PE 的患者在孕 9~10 周 sFlt-1 浓度与健康对照组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。

Chafetz 等^[9]研究发现,子痫前期患者在孕 9~12 周时外周血 PP-13 浓度显著低于健康妊娠女性。Romem 等^[10]进一步研究发现,孕 8~13 周时外周血 PP-13 浓度预测早发型子痫前期的效果优于晚发型。Khalil 等^[11]报道,孕早期联合检测 PP-13、子宫动脉搏动指数预测子痫前期有较好的效果。本研究也证实,在孕早期,发展为子痫前期的患者外周血 PP-13 浓度低于同期健康妊娠女性,孕中期则高于同期健康妊娠女性。

PlGF 是一种主要由胎盘分泌的糖蛋白,属于 VEGF 家族成员。Foidart 等^[12]检测发展为子痫前期孕妇和健康妊娠孕妇孕早期血清中 PlGF 浓度,发现 PlGF 浓度在子痫前期血清中显著降低。本研究发现,发展成 PE 的患者 PlGF 在孕早、中期均下降,在孕早期与健康妊娠孕妇差异有统计学意义($P<0.05$)。应用 ROC 曲线对数据进行分析,发现单项检测孕早期血清中 PlGF 预测子痫前期发生的灵敏度和特异性并不高,但应用孕早期 PP-13、PlGF 的中值倍之和预测子痫前期的发生有较好的临床意义。

参考文献

[1] Mohaupt M. Molecular aspects of preeclampsia[J]. Mol Aspects Med, 2007, 28(12): 169-191.

[2] 李俊立,王昌富. ROC 曲线在评价自制试剂检测日本血吸虫抗体中的应用[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(3): 327-328.

[3] 王宏斌,夏先考. 应用 ROC 曲线评价尿蛋白定量与定性检测对蛋白尿的诊断价值[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(9): 986-987.

[4] Robert W, Arun J, Rebecca G, et al. Soluble fms-like tyrosine kinase 1(sFlt1), Endoglin and Placental Growth Factor (PlGF) in preeclampsia among high risk pregnancies[J]. Plos One, 2010, 5(10): 32-63.

[5] Victoria L, Bill S, Julia V, et al. Failure to up-regulate VEGF₁₆₅ b in maternal plasma is a rsttrimester predictive marker for pre-eclampsia[J]. Clinical Science, 2009, 116(38): 265-272.

[6] Bridges JP, Gilbert JS, Colson D, et al. Oxidative stress contributes to soluble fms-like tyrosine kinase-1 induced vascular dysfunction in pregnant rats[J]. Am J Hypertens, 2009, 22(19): 564-568.

[7] Gu Y, Lewis DF, Wang Y, et al. Placental productions and expressions of soluble endoglin, soluble fms-like tyrosine kinase receptor-1 and placental growth factor in normal and preeclamptic pregnancies[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2008, 93(21): 260-266.

[8] Noori M, Donald AE, Angelakopoulou A, et al. Prospective study of placental angiogenic factors and maternal vascular function before and after preeclampsia and gestational hypertension[J]. Circulation, 2010, 122(5): 478-487.

[9] Chafetz I, Kuhnreich I, Sammar M, et al. First-trimester placental protein 13 screening for preeclampsia and intrauterine growth restriction[J]. Am J Obstet Gynecol, 2007, 197(1): 35-37.

[10] Romem R, Kusanovic JP, Than NG, et al. First-trimester maternal serum PP-13 in the risk assessment for preeclampsia[J]. Am J Obstet Gynecol, 2008, 199(2): 122-124.

[11] Khalil A, Cowans JK, Spencer S, et al. First-trimester markers for the prediction of pre-eclampsia in women with apriori high risk[J]. Ultrasound Obstet Gynecol, 2010, 35(11): 671-679.

[12] Foidart JM, Munaut C, Chantraine F, et al. Maternal plasma soluble endoglin at 11-13 weeks' gestation in pre-eclampsia[J]. Ultrasound Obstet Gynecol, 2010, 35(8): 680-687.

(收稿日期:2012-01-30)

(上接第 906 页)

病肾病组 CysC 和 β_2 -MG 明显高于健康对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。

糖尿病早期存在慢性炎症反应时,肾脏出现肾小球毛细血管内皮损伤,基底膜和生理功能减弱,血中 CRP 也逐渐升高,因此 hs-CRP 也是早期肾损伤的敏感标志物^[4]。mAlb 属于肾小球蛋白,是肾小球电荷选择性和筛选性屏障损伤的主要标志性蛋白,是判断肾小球受损程度的重要蛋白。肾损伤早期由于肾小球滤膜上的负电荷减少和高压过滤的作用,孔径变大,使尿 mAlb 排泄量增加,并随着肾小球的损伤而加重。本研究结果表明,糖尿病肾病组患者 mAlb 含量明显高于健康对照组,差异有统计学意义($P<0.05$),与相关报道一致^[5]。

综上所述,本组通过免疫比浊法联合检测 CysC、 β_2 -MG、hs-CRP 和 mAlb 可以发现早期糖尿病肾病,为临床诊断和治疗早期糖尿病提供重要的临床参考,值得推广应用。

参考文献

[1] 郑新山. 血清胱抑素 C 和尿微量清蛋白在糖尿病早期肾损害中的诊断价值[J]. 检验医学与临床, 2009, 6(1): 34-36.

[2] 李晓娟. 胱氨酸蛋白抑制剂 C 的临床应用[J]. 国外医学临床生物化学与检验学分册, 2004, 25(2): 9-10.

[3] 孔岩,杨建梅,徐国宾,等. 对 2 型糖尿病患者肾小球滤过功能的评价[J]. 中华检验医学杂志, 2007, 30(11): 1219-1222.

[4] Lateiza F, Price P, Soolt G, et al. Cystatin C and in Proveol estimator of glaneru fittration rate[J]. Clin Chem, 2003, 52(9): 699-707.

[5] 崔剑,周爱华,管爱军,等. 血清胱抑素 C 和尿微量清蛋白联合检测在糖尿病早期肾损伤诊断中的意义[J]. 国际检验医学杂志, 2009, 29(7): 131-132.

(收稿日期:2012-02-01)