

• 临床检验研究论著 •

非结合雌三醇在孕中期产前筛查中的应用研究

龚文胜, 吴劲松[△], 郭 辉

(暨南大学第二临床医学院/深圳市人民医院检验科, 广东深圳 518020)

摘要:目的 比较孕中期产前生化筛查中三联筛查与二联筛查的筛查效率, 评估非结合雌三醇(uE3)在产前筛查中的应用价值。方法 应用时间分辨荧光检测技术, 对同意接受产前筛查的孕 14+0^d~20+6^d 周单胎妊娠孕妇血清标本进行检测, 测定甲胎蛋白(AFP)、人绒毛膜促性腺激素游离 β 亚基(free β-HCG)、uE3 浓度。使用 Multical 软件分别计算三联筛查(AFP+free β-HCG+uE3)和二联筛查(AFP+free β-HCG)的风险值, 通过比较两种联合筛查风险模型(二联筛查、三联筛查)结果(灵敏度、特异度、假阳性率、假阴性率、筛查阳性率)的差异, 以及 uE3 单项指标水平(升高或降低)与妊娠结局的关联, 探讨 uE3 在产前筛查中的价值。结果 在 1 839 例随访到妊娠结局的孕妇中, 共发现唐氏综合征 7 例, 当风险截断值为 1/270 时, 二联的灵敏度、特异度、假阳性率、假阴性率、筛查阳性率分别是 57.1%、91.7%、5.3%、42.9%、5.7%; 三联筛查的依次是 85.7%、93.8%、6.2%、14.3%、6.5%。uE3 单项指标异常 176 例, 筛查阳性率为 9.57%, 检出率为 26.1%。结论 临床应用上, 联合 uE3 的三联筛查的效率高于二联筛查; uE3 单一指标对产前筛查辅助诊断具有一定的提示意义, 联合筛查对疾病预示有较好的效果。

关键词:唐氏综合征; 产前筛查; 非结合雌三醇

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.06.013

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2014)06-0684-03

Application of unconjugated estriol in prenatal screening during second trimester pregnancy

Gong Wensheng, Wu Jinsong[△], Guo Hui

(Department of Clinical Laboratory, the Second Clinical College of Jinan University/
People's Hospital of Shenzhen, Shenzhen, Guangdong 518020, China)

Abstract: Objective To compare the screening effectiveness of the double test and the triple test in the prenatal biochemical screening during second trimester pregnancy and to evaluate the application value of unconjugated estriol (uE3) in the prenatal screening. Methods The levels of human chorionic gonadotropin free β subunit (free β-HCG), alpha-fetoprotein (AFP) and uE3 from serum samples of singleton pregnant women receiving the prenatal screening were detected by time-resolved fluoroimmunoassay. The values at risk of the double test (AFP+free β-HCG) and the triple test (AFP+free β-HCG+uE3) were calculated by the Multical software respectively. The value of uE3 in the prenatal screening was evaluated by comparing the difference between the double test and the triple test and the associations between the level of single uE3 with the pregnancy outcome. Results Among 1 839 pregnant women with follow-up pregnant outcome, 7 cases of Down's syndrome were found. When the cut-off value at risk was set at 1 : 270, the sensitivity, specificity, false positive rates, false, negative rates and screening positive rates in the double test and the triple test were 57.1%, 91.7%, 5.3%, 42.9%, 5.7% and 85.7%, 93.8%, 6.2%, 14.3%, 6.5% respectively. 176 cases was found to be the single abnormality of uE3 with the screening positive rates of 9.57% and the detection rate of 26.1%. Conclusion The triple test including uE is more effective screening option for Down's syndrome than the double test in clinic. The level of single uE3 has certain implication significance for the prenatal auxiliary diagnosis and the combination detection has better effect for the disease prediction.

Key words: Down's syndrome; prenatal screening; unconjugated estriol

唐氏综合征(DS)是新生儿出生缺陷中最常见的染色体异常疾病, 只能通过产前诊断和选择性流产预防患儿的出生^[1]。然而唐氏综合征的发病率只有 1/700 左右, 并非每位孕妇都有羊水或脐血做染色体检查的必要, 因为羊水或脐血做染色体检查有一定的流产风险, 所以选择合适的术对象一直是令人困扰的问题。唐氏综合征产前筛查技术由此得以应用和发展, 先通过母血清生化指标和超声等检查, 筛查出唐氏综合征高危孕妇, 再对这些高危妊娠孕妇通过羊膜腔穿刺或者脐静脉穿刺方法获得胎儿细胞进行染色体核型分析进一步确诊, 这样既能减少侵袭性产前诊断技术应用的盲目性, 又能降低漏检率。产前筛查是用比较经济、简便、对胎儿无损伤的检测方法, 对孕妇进行怀有某些先天性异常胎儿的“危险”程度的筛选。其目的是进一步对高危人群确诊, 并为孕妇提供终止妊娠的方法预防和减少出生缺陷。孕中期产前筛查通过检测母血清中相关生化指标, 结合孕妇妊娠信息, 计算怀有异常染色体胎儿

的风险度^[2-5]。目前采用的筛查指标包括三联筛查[甲胎蛋白(AFP)、人绒毛膜促性腺激素游离 β 亚基(free β-HCG)、非结合雌三醇(uE3)]和二联筛查(AFP+free β-HCG), 对 uE3 在产前筛查中的应用还存在有不同看法^[6-7]。本研究对 2010 年 1~9 月来本院门诊产检的孕 14+0^d~20+6^d 周的孕妇分别进行中孕三联和二联筛查, 并对 uE3 单项水平与异常妊娠的关联进行分析, 现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2010 年 1~9 月在深圳市人民医院产科门诊就诊的孕 14+0^d~20+6^d 周单胎孕妇, 在知情同意情况下, 接受孕中期筛查共 3 200 例, 在预产期后电话随访妊娠结局, 共随访到 1 839 例, 随访率 57.4%。

1.2 仪器与试剂 测定方法采用时间分辨免疫荧光法, 试剂由芬兰 Wallac 公司提供, 所用仪器为 Wallac 公司生产的 VIC-TORTim1420 时间分辨荧光免疫分析仪, 测定方法参照相关说

明书进行;每批检测的质量控制按本实验室室内质控规则进行;风险值采用 Wallac 公司提供的 Multical 软件进行计算。

1.3 方法

1.3.1 检测方法 在孕 14+0^d~20+6^d 周取孕妇静脉血 2 mL,分离血清,测定 AFP、free β-HCG、uE3 浓度。将三项测定结果导入 Multical 软件,综合孕妇的年龄、体质量、孕周等相关信息来计算风险值。二联筛查只采用 AFP、free β-HCG 的结果,综合孕妇的年龄、体质量、孕周等相关信息进行风险值计算。

1.3.2 结果判定 设定 DS 风险截断值为 1/270,即大于 1/270 为高危孕妇。严格核对末次月经确定孕周,对于孕妇不能确定末次月经或平时月经周期不规律者,采用 B 超检查,根据胎儿头臀长(早孕期)或双顶径(中孕期)来估算孕龄。对 21-三体、18-三体高风险孕妇建议做羊水或脐血染色体核型分析。

1.4 统计学处理 采用 SPSS11.0 统计学软件进行处理。以 P<0.05 为差异有统计学意义。

表 1 7 例唐氏综合征产前筛查及妊娠结局

序号	染色体	年龄(岁)	AFP(MoM)	UE3(MoM)	HCG(MoM)	T18-RISK	T21-RISK	
							二联	三联
1	47,XY,+21	37	0.952	0.789	0.858	1/8 800	1/1 00	1/990
2	47,XY,+21	42	0.689	0.758	1.279	1/2 200	1/80	1/60
3	47,XY,+21	37	0.666	0.733	1.686	1/8 600	1/160	1/120
4	47,XY,+21	37	0.564	0.547	1.719	1/6 700	1/120	1/60
5	47,XY,+21	36	0.369	0.644	1.93	1/3 800	1/60	1/40
6	47,XY,+21	29	0.387	0.152	1.154	1/10 700	1/480	1/260
7	47,XY,+21	29	0.616	0.718	2.061	1/29 400	1/340	1/260

2.3 两种检测方法比较 用 Multical 软件分别计算三联筛查(AFP+free β-HCG+uE3)和二联筛查(AFP+free β-HCG)的风险值,在风险截断值为 1/270 时比较两种方法的灵敏度、特异度、假阳性率、假阴性率与筛查阳性率的变化情况见表 2。应用统计学 χ² 检验分析,表 2 中两种方案的灵敏度、特异度等概 5 项概率比较差异无统计学意义(P>0.05)。

表 2 1/270 风险截断值时二联和三联筛查的比较(%)

方案	灵敏度	特异度	假阳性率	假阴性率	筛查阳性率
二联	57.1	94.7	5.3	42.9	5.7
三联	85.7	93.8	6.2	14.3	6.5

2.4 uE3 单项指标筛查结果 在随访的 1 839 例中,uE3 单项指标异常(uE3<0.72 MoM)的有 176 例。上述 43 例异常妊娠中,共有 12 例阳性,筛查阳性率为 26.1%,其中确证为唐氏综合征的 7 例中,uE3 筛查阳性的占有 3 例,检出效率为 42.9%。见表 3。

表 3 游离雌三醇单项指标筛查结果

序号	染色体	uE3(MoM)
1	45,X	0.631
2	46,XX,der(21),(qter)-p12	0.654
3	47,XY,+13	0.703
4	47,XX,+18	0.186

2 结 果

2.1 筛查结果 在 1 839 例随访到妊娠结局的孕妇中,共发现唐氏综合征 7 例,18-三体 1 例,13-三体 1 例,45,X 3 例,臂间倒位 2 例,缺失 3 例,遗传多态 5 例,重型地贫 2 例,无脑畸形 1 例,先天性肾病综合征 1 例,其他不良结局 17 例(不良结局包括早产、死胎、羊水过少、围生儿死亡、胎儿结构异常、妊娠高血压综合征、先天肢体畸形等)。二联方法筛查唐氏综合征高风险 105 例,筛查阳性率 5.71%(105/1 839);三联方法筛查出唐氏综合征高风险 121 例,筛查阳性率为 6.58%(121/1 839)。游离雌三醇单项指标异常 176 例,筛查阳性率为 9.57%。

2.2 7 例唐氏综合征的产前筛查及妊娠结局 在上述查出的 7 例唐氏综合征中,当风险截断值为 1/270 时,二联产前筛查检出 4 例,检出率为 57.1%;三联产前筛查检出 6 例,检出率为 85.7%。见表 1。

续表 3 游离雌三醇单项指标筛查结果

序号	染色体	uE3(MoM)
5	46,XY,1qh+	0.597
6	胎儿水肿胎死宫内	0.310
7	46,XY,15ps+	0.594
8	先心病房缺室缺	0.322
9	46,XX,16qh+	0.600
10	47,XY,+21	0.547
11	47,XX,+21	0.644
12	47,XX,+21	0.718

3 讨 论

孕早、中期孕妇血清标志物联合筛查技术为唐氏综合征及其他严重出生缺陷儿的产前筛查与诊断提供了高危妊娠孕妇对象,降低了产前诊断的盲目性,是一种简单、无创、有效的产前筛查技术体系。

当风险截断值为 1/270 时,二联的灵敏度、特异度、假阳性率、假阴性率、筛查阳性率分别是 71.4%、91.7%、5.3%、42.9%、5.7%。三联筛查的依次是 85.7%、93.8%、6.2%、14.3%、6.5%。除假阴性率,二联筛查高于三联筛查外,在灵敏度和特异度上联合 uE3 检测的三联筛查均高于二联筛查,同时三联筛查可以提高筛查阳性率,相应假阳性率也提高。统计学 χ² 检验分析表明两种方法比较差异无统计学意义(P>0.05),且本研究的唐氏综合征发病率为 0.38%(7/1 839),高

于该病的发病率 0.143%,但都在允许的范围内,这是由于本研究针对的孕妇例数不大,研究基数较小,造成了统计概率上的影响。基于临床应用,联合 uE3 检测的三联筛查的效率上较二联筛查的还是存在优势。目前国内外一般是将唐氏综合征风险截断值定为 1/270^[6],建议在大样本研究基数的前提下,将风险截断值适当地进行调整,在各项统计学概率处于可接受范围的同时,提高检出率,也为可取方法。但需进行大样本研究,以制定更好的筛查方案和风险截断值。

由于游离雌三醇几乎全部来源于胎儿和胎盘,故可作为胎儿代谢变化的敏感指标,1988 年有研究者最先报道受唐氏儿影响的孕妇血清 uE3 明显降低,提出在孕中期测定 uE3 水平是一项有效的指标。由表 1 可见,第 6、7 例二联方法为低风险(1/480、1/340),但因 uE3 为 0.152 MoM、0.718 MoM,三联筛查转为高风险(1/260、1/260)。本研究的 43 例异常妊娠中,共有 12 例阳性,筛查阳性率为 26.1%;在确证为唐氏综合征的 7 例中,uE3 筛查阳性的占有 3 例,检出效率为 42.9%。可见,作为单项指标,uE3 在对唐氏综合征的辅助判断中有较好的提示意义。同时,在其他染色体易位、缺失、多态等遗传疾病中也有一定的提示作用。由于 uE3 是孕中期三联筛查中随孕周变化而变化最大的血清指标,故在检测过程中正确核对孕周是非常必要的。当然,在检测过程中,对血液标本的质量也要有严格要求,黄疸、脂血等标本对 uE3 的检测结果具有不同程度的影响。因此在规范操作、减少人为因素影响的前提下,uE3 单一指标对产前筛查有一定的提示意义^[7]。

高检出率、简便有效、成本低的唐氏综合征产前筛查方案是全世界产前诊断工作者共同追求的目标,以求减少漏诊的发生率,最大程度地检出唐氏患儿,并减少假阳性患者的比例,从而减少侵袭性产前诊断技术的应用。多指标联合检测,单一指标辅助诊断已经是现在产前筛查发展的流行趋势^[6-7]。目前国际多数学者提倡孕早中期联合筛查方案,期中酌情序贯筛查方案是目前最好的筛查方案,即对孕早期筛查结果为极高危风险

者,进行绒毛取材染色体核型分析;孕早期筛查结果为极低危风险者,在孕中期不进行进一步筛查;孕早期筛查结果介于两者之间,进行孕中期再次筛查,风险比高危者,进行羊水穿刺染色体核型分析,风险比低危者,不作进一步检查。此方案的检出率高同时假阳性率低,医生和孕妇对此方案的满意度均较高。

参考文献

[1] Wright D, Bradbury I, Benn P, et al. Contingent screening for Down's syndrome is an efficient alternative to non-disclosure sequential screening[J]. Prenat Diagn, 2004, 24(10): 762-766.

[2] Brambati B, Macintosh MC, Teisner B, et al. Low maternal serum levels of pregnancy associated plasma protein A (PAPP-A) in the first trimester in association with abnormal fetal karyotype[J]. Br J Obstet Gynecol, 1993, 100(4): 324-326.

[3] Palacio M, Jauniaux E, Kingdom J, et al. Perinatal outcome in pregnancies with a positive serum screening for Down's syndrome due to elevated levels of free-beta-human chorionic gonadotropin [J]. Ultrasound Obstet Gynecol, 1999, 13(1): 58-62.

[4] 林琳华, 任景慧, 袁红, 等. 妊娠相关血浆蛋白 A 对唐氏综合征胎儿的筛查价值[J]. 中国妇幼保健, 2005, 13(20): 1623-1625.

[5] 宋婕萍, 易松. 孕中期母血清 AFP 检测产前筛查胎儿神经管缺陷的研究[J]. 中国优生与遗传杂志, 2008, 16(5): 97-101.

[6] 任景慧, 林琳华, 李芳芳. 孕妇血清甲胎蛋白、人绒毛膜促性腺激素 β 亚单位、妊娠相关血浆蛋白 A 联合筛查出生缺陷的研究[J]. 中华围产医学杂志, 2002, 9(5): 192-195.

[7] 袁晖, 王晨虹, 张黎, 等. 孕妇血清 PAPP-A、AFP、F β -HCG、uE3 联合筛查法在产前诊断中的应用[J]. 中国优生与遗传杂志, 2004, 12(4): 46-47.

(收稿日期: 2013-12-20)

(上接第 683 页)

源性 MHC 的特异性抗体,同时可以通过旁路活化途径使预存于机体中的具有产生抗 CD3、CD4 和 CD8 的 B 淋巴细胞克隆大量活化,进而产生相应的抗淋巴细胞表面 CD3、CD4 和 CD8 抗体,而这些抗体正是可以保护胚胎着床以及生长发育的保护性抗体。

CD3、CD4 和 CD8 封闭效率检测也可以为治疗效果进行评估。ELISA 方法对封闭抗体的检测通常是一种定性的方法,受到干扰的因素比较多,而 CD3、CD4 和 CD8 分子封闭效率检测是针对女方体内是否具有抗 CD3、CD4 和 CD8 的特异性抗体,因此干扰因素较少,不仅可以定性,而且可以定量,有利于对治疗效果及过程进行全程监测,更有利于临床对免疫治疗效果的评价。

参考文献

[1] Toth B, Jeschke U, Rogenhofer N, et al. Recurrent miscarriage: current concepts in diagnosis and treatment[J]. Reprod Immunol, 2010, 85(2): 25-32.

[2] Jaslow CR, Carney JL, Kutteh WH. Diagnostic factors identified in 1020 women with two versus three or more recurrent pregnancy losses[J]. Fertil Steril, 2010, 93(1): 1234-1243.

[3] 苏琳, 孙燕, 欧珊, 等. 淋巴细胞主动免疫治疗复发性流产的疗效分析[J]. 吉林医学, 2012, 33(9): 1822-1823.

[4] 林其德. 现代生殖免疫学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 157.

[5] Sipak-Szmigiel O, Ronin-Walknowska E, Cybulski C, et al. Antigens HLA G, sHLA G and sHLA-class I in reproductive failure [J]. Folia Histochem Cytobiol, 2007, 45 Suppl 1: S137-141.

[6] Wilczyński JR, Radwan P, Tchórzewski H, et al. Immunotherapy of patients with recurrent spontaneous miscarriage and idiopathic infertility: does the immunization-dependent Th2 cytokine overbalance really matter? [J]. Arch Immunol Ther Exp, 2012, 60(2): 151-160.

[7] 曹文丽, 叶玲玲, 姜雯, 等. 复发性流产的免疫因素及抗免疫治疗效果的评价Ⅲ[J]. 中国妇幼保健, 2010, 25(8): 1118-1119.

[8] Pandey MK, Thakur S, Agrawal S. Lymphocyte immunotherapy and its probable mechanism in the maintenance of pregnancy in women with recurrent spontaneous abortion[J]. Arch Gynecol Obstet, 2004, 269(3): 161-72.

[9] Matthiesen L, Kalkunte S, Sharma S. Multiple pregnancy failures: an immunological paradigm[J]. Am J Reprod Immunol, 2012, 67(4): 334-40.

[10] Perricone C, de Carolis C, Perricone R. Pregnancy and autoimmunity: a common problem [J]. Best Pract Res Clin Rheumatol, 2012, 26(1): 47-60.

(收稿日期: 2013-12-08)