

• 论 著 •

sEng、sFlt-1 及 AT1-AA 在子痫前期患者中的表达及诊断价值

胡洪兰, 刘应芬, 曾崇亮

(四川省成都市公共卫生临床医疗中心检验科 610061)

摘要:目的 探讨可溶性内皮因子(sEng)、可溶性 Fms 样酪氨酸激酶-1(sFlt-1)、血管紧张素Ⅱ型受体自身抗体(AT1-AA)在子痫前期患者中的表达及其在子痫前期诊断中的应用价值。方法 选择 2015 年 1—12 月 85 例子痫前期患者(其中轻度子痫前期 45 例,重度子痫前期 40 例)及 80 例妊娠健康孕妇(对照组),应用 ELISA 测定两组孕妇外周血及新生儿脐血中 sEng、sFlt-1、AT1-AA 水平。应用 Pearson 相关分析各指标的相关性,应用受试者工作特征曲线(ROC)分析 sEng、sFlt-1、AT1-AA 在子痫前期中的诊断价值。结果 重度子痫前期组及轻度子痫前期组孕妇外周血及新生儿脐血中 sEng、sFlt-1、AT1-AA 水平均高于对照组($P<0.05$),而重度子痫前期组外周血及新生儿脐血中 sEng、sFlt-1、AT1-AA 水平均高于轻度子痫前期组($P<0.05$)。经 Pearson 相关分析可知,sEng 与 sFlt-1、AT1-AA 呈正相关($P<0.05$),sFlt-1 与 AT1-AA 呈正相关($P<0.05$)。经 ROC 曲线分析可知,sEng、sFlt-1、AT1-AA 在子痫前期中诊断灵敏度及特异度分别为 76.3%和 85.5%、79.2%和 85.6%、70.8%和 82.2%。结论 子痫前期孕妇外周血、脐血中 sEng、sFlt-1、AT1-AA 与子痫前期的发生及进展有密切的关系,可用于子痫前期诊断,同时可作为子痫前期发生及进展的预测指标。

关键词:可溶性内皮因子; 可溶性 Fms 样酪氨酸激酶-1; 血管紧张素Ⅱ型受体自身抗体; 子痫前期

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2017.10.024 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-9455(2017)10-1426-03

The expression and clinical significance of sEng, sFlt-1, AT1-AA in patients with preeclampsia

HU Honglan, LIU Yingfen, ZENG Suiliang

(Department of Clinical Laboratory, Public Health Clinical Medical Center of Chengdu, Chengdu, Sichuan 610061, China)

Abstract: **Objective** To investigate the expression and clinical significance of soluble endothelial growth factor (sEng), soluble Fms-like tyrosine kinase-1 (sFlt-1), angiotensin Ⅱ receptor autoantibodies (AT1-AA) in patients with preeclampsia. **Methods** A total of 85 patients with preeclampsia (45 cases with mild preeclampsia, 40 cases with severe preeclampsia) and 80 cases of healthy pregnant women (control group) were selected from January 2015 to December 2015. The levels of sEng, sFlt-1 and AT1-AA were detected by ELISA. The correlation of each index was analyzed with Pearson correlation. The diagnostic values of sEng, sFlt-1 and AT1-AA in preeclampsia were analyzed by receiver operating characteristic (ROC). **Results** The levels of sEng, sFlt-1 and AT1-AA of maternal blood and cord blood of newborns of severe preeclampsia group and mild preeclampsia were significantly higher than of control group ($P<0.05$), and the levels of sEng, sFlt-1 and AT1-AA of severe preeclampsia group were significantly higher than that of mild preeclampsia group ($P<0.05$). The level of sEng was positively correlated with sFlt-1 and AT1-AA ($P<0.05$), sFlt-1 was positively correlated with AT1-AA ($P<0.05$). The sensitivity and specificity of sEng, sFlt-1, AT1-AA were 76.3% and 85.5%, 79.2% and 85.6%, 70.8% and 82.2% by ROC analysis. **Conclusion** Maternal blood, cord blood sEng, sFlt-1 and AT1-AA in patients with preeclampsia are closely related with preeclampsia and progress, these indicators can be used to diagnose of preeclampsia, as well as predictors of preeclampsia and progress.

Key words: soluble endothelial growth factor; soluble Fms-like tyrosine kinase-1; angiotensin Ⅱ receptor autoantibodies; preeclampsia

子痫前期是发生在妊娠 20 周后的全身多系统功能紊乱征,患者以血管异常作为反应特征,表现为系统性凝血功能障碍、内管内皮细胞功能异常、血小板聚集增强及血管阻力升高^[1]。它是妊娠期特有的并发症,严重威胁母婴生命健康,是近年孕妇、胎儿围生期死亡的重要因素之一。目前关于子痫前期的发病机制尚不明确,但目前普遍认为胎盘缺陷机制或胎盘着床过深有关,也有学者认为是由于胎盘、母体、胎儿等众多因素相互作用引起的^[2]。近年研究指出,子痫前期的发生可能与胎盘因子异常分泌有关^[3]。可溶性内皮因子(sEng)是由胎盘分泌的血管生成抑制因子,可参与血管生产及重塑。可溶性 Fms 样酪氨酸激酶-1(sFlt-1)具有抵抗不正常子宫胎盘血管生成及抑制滋养细胞浅植入的作用,参与子痫前期的发

生^[4]。血管紧张素Ⅱ型受体自身抗体(AT1-AA)可改变子痫前期患者胎盘血流量及导致胎盘血管壁硬化,从而促使子痫前期的发生及进展^[5]。本研究将探讨 sEng、sFlt-1、AT1-AA 在子痫前期患者外周血及新生儿脐血中的表达,并分析其在子痫前期患者中的应用价值,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2015 年 1—12 月 85 例子痫前期患者,纳入标准:(1)临床诊断标准及病情分度均符合《妇产科学》(第 8 版)中相关标准^[6];(2)无其他产科并发症,如妊娠糖尿病、妊娠甲状腺疾病;(3)均签署知情同意书,本研究均经本院医学伦理委员会批准。排除标准:(1)孕前高血压、先天性心脏病、肾脏疾病及甲状腺功能异常;(2)合并先兆流产、早产、死胎等产

妇;(3)不愿意配合研究者。其中轻度子痫前期 45 例,年龄 25~38 岁,平均(29.6±2.8)岁;孕周 28~38 周,平均(32.5±2.4)周;体质量指数(BMI)22.45~27.58 kg/m²,平均(25.45±3.22)kg/m²。重度子痫前期 40 例,年龄 22~37 岁,平均(28.9±2.9)岁;孕周 25~38 周,平均(32.8±2.6)周;BMI 22.48~27.68 kg/m²,平均(25.25±3.32)kg/m²。另选取 80 例妊娠健康孕妇为对照组,年龄 21~38 岁,平均(29.2±2.7)岁;孕周 25~36 周,平均(32.4±2.8)周;BMI 22.38~27.62 kg/m²,平均(25.45±3.32)kg/m²。3 组一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

1.2 方法

1.2.1 治疗方法 患者入院后给予间歇性吸氧、行左侧卧位,静脉滴注硫酸镁 10 g,密切监测患者呼吸、膝腱反射、尿量。同时给予患者口服硝苯地平,每次 20 mg,每天 1 次。

1.2.2 标本制备 子痫前期患者均于入院当天抽取静脉血 5 mL,同时抽取对照组孕妇血液 5 mL,置于 4℃下以 2 500 r/min 离心处理 15 min,取上清液,于-20℃下保存待测。

1.2.3 相关指标测定 采用 sEng 试剂盒(上海常斤生物科技有限公司),sFlt-1 试剂盒(三明市和众生物技术有限公司),AT1-AA 试剂盒(上海酶联生物科技有限公司)进行检测,操作过程严格按照试剂盒说明书进行。ELISA 测定方法及步骤如

下:(1)在标本中加入特异性抗体形成固相抗体,并应用磷酸盐缓冲液洗涤及去除杂质;(2)加入受检标本,与固相抗体接触后进行反应,让固体相载体与标本抗原结合并形成抗原复合物,并用洗涤剂去除杂质;(3)向标本中加入酶标抗体使其与固相免疫复合物结合,应用缓冲液将酶标抗体洗涤及去除,此时固相载体上带有的酶量与标本中受检物质的量正相关;(4)加入酶催化底物,并根据颜色反应情况对抗原物质进行定性或定量。

1.3 统计学处理 应用 SPSS19.0 对数据进行分析,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用方差分析,进一步两两比较采用 LSD-*t* 检验;应用 Pearson 相关分析 sEng、sFlt-1、AT1-AA 各指标的相关性;采用受试者工作特征曲线(ROC)评价血清 sEng、sFlt-1、AT1-AA 临床应用价值。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组血清及脐血 sEng、sFlt-1、AT1-AA 水平比较 重度子痫前期组及轻度子痫前期组孕妇外周血及新生儿脐血中 sEng、sFlt-1、AT1-AA 水平均高于对照组($P<0.017$)(3 组研究对象两两比较,检验水准 $\alpha=0.05/3=0.017$),而重度子痫前期组外周血及新生儿脐血中 sEng、sFlt-1、AT1-AA 水平均高于轻度子痫前期组($P<0.017$),见表 1。

表 1 各组血清及脐血 sEng、sFlt-1、AT1-AA 水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	血清			脐血		
		sEng(ng/mL)	sFlt-1(pg/mL)	AT1-AA(ng/L)	sEng(ng/mL)	sFlt-1(pg/mL)	AT1-AA(ng/L)
对照组	80	2.32±0.75	290.25±28.56	58.12±5.26	2.39±0.36	302.45±78.25	62.22±6.96
轻度子痫前期	45	10.42±2.96*	785.69±78.45*	102.48±9.12*	9.58±1.25*	798.66±82.52*	102.52±8.36*
重度子痫前期	40	14.96±3.56*△	1242.65±124.69*△	128.96±10.59*△	13.48±2.93*△	1185.79±96.33*△	118.96±10.23*△
<i>F</i>		48.963	75.789	34.856	29.236	62.023	39.296
<i>P</i>		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

注:与对照组相比,* $P<0.017$;与轻度子痫前期相比,△ $P<0.017$ 。

2.2 血清 sEng、sFlt-1、AT1-AA 相互关系 经 Pearson 相关分析可知,sEng 与 sFlt-1、AT1-AA 呈正相关($r=0.415$ 、 0.602 , $P<0.05$),sFlt-1 与 AT1-AA 呈正相关($r=0.435$, $P<0.05$)。以 sEng 为因变量,以 sFlt-1 为自变量行直线回归方程分析可获得回归方程:sEng=5.263×sFlt-1+712.25($F=32.456$, $P=0.000$; $r=0.415$, $r^2=0.602$)。以 sEng 为因变量,以 AT1-AA 为自变量行直线回归方程分析可获得回归方程:sEng=12.025×AT1-AA+526.33($F=32.012$, $P=0.000$; $r=0.602$, $r^2=0.452$)。以 sFlt-1 为因变量,以 AT1-AA 为自变量行直线回归方程分析可获得回归方程:sFlt-1=31.225×AT1-AA-214.26($F=34.563$, $P=0.000$; $r=0.435$, $r^2=0.612$)。

2.3 血清 sEng、sFlt-1、AT1-AA 在子痫前期中的应用 经 ROC 分析可知,sEng 诊断子痫前期的 ROC 曲线下面积(AUC)为 0.602,最佳诊断临界值为 25.45 ng/L,灵敏度为 76.3%、特异度为 85.5%;sFlt-1 诊断子痫前期的 AUC 为 0.672,最佳诊断临界值为 165.35 ng/L,灵敏度为 79.2%,特异度为 85.6%;AT1-AA 诊断子痫前期的 AUC 为 0.728,最佳诊断临界值为 2.22 ng/L,灵敏度为 70.8%、特异度为 82.2%。

3 讨论

研究发现,在子痫前期临床症状出现前,孕妇及胎儿免疫系统及血管内皮系统已出现不同程度的病变,尤其是对于早发型子痫前期患者,其临床症状往往较严重,母婴预后较差^[7]。因此积极寻求一种先于临床症状出现的评价指标对预测早期子痫前期发病具有重要的意义。

近年研究发现,胎盘相关因子在子痫早期临床症状出现前其水平已经出现明显的变化^[8]。sEng 属于 T 淋巴细胞抗原,主要在胎盘滋养层表面及新生血管内表达,可与血液循环中转化生长因子 β(TGF-β)结合并阻止其与细胞膜受体结合,从而阻断 TGF-β 信号转导,抑制新生血管生成^[9]。此外,sEng 可阻断 TGF-β 激活一氧化氮合酶(NOS),从而阻断 NOS 依赖的血管舒张。研究发现,子痫前期患者血清 sEng 水平与患者病情发病及严重程度有密切的关系^[10]。将 sEng 导入怀孕小鼠体内可导致小鼠出现肾小球毛细血管内皮增生、尿蛋白及高血压等子痫前期症状,由此可推断 sEng 水平升高与子痫前期生理病理性改变有密切关系。Liu 等^[11]研究指出,子痫前期患者血清 sEng 水平较正常妊娠妇女高,且在发病前 2~3 d 就已经出现升高趋势,且早发型子痫前期血清 sEng 水平高于晚发型

子痫前期。本研究结果显示,重度子痫前期组及轻度子痫前期组孕妇外周血及新生儿脐血中 sEng 水平均高于对照组,而重度子痫前期组外周血及新生儿脐血中 sEng 水平均高于轻度子痫前期组,这表明 sEng 水平升高与子痫前期的发生有密切的关系。

sFlt-1 作为血管活性物质的直接抑制物,在子痫前期中其水平显著上升,并可导致血管及胎盘滋养细胞生长不良。杜娟等^[12]检测发现,在孕 13~16 周子痫前期孕妇中血清 sFlt-1 水平较正常孕妇显著升高,且与患者病情呈正相关。动物实验表明,将 sFlt-1 导入妊娠小鼠中,结果表明小鼠出现高血压、蛋白尿等子痫前期症状^[11]。Cheng 等^[13]利用 ROC 分析 sFlt-1 在子痫前期中的应用价值,结果显示,sFlt-1 在子痫前期中预测敏感度及特异度分别为 95.2%、83.5%。本研究结果显示,子痫前期组孕妇外周血及新生儿脐血中 sFlt-1 水平均高于对照组,且随着患者病情的加重,患者外周血及新生儿脐血 sFlt-1 水平显著升高,从而表明 sFlt-1 参与子痫前期病情进展。经 ROC 分析显示,sFlt-1 在子痫前期中灵敏度为 79.2%,特异度为 85.6%,这表明 sFlt-1 在子痫前期诊断中具有一定的应用价值。

一直以来,子痫前期被认为与肾素血管紧张素系统(RAS)及免疫系统有关,自身免疫抗体 AT1-AA 作为这 2 个系统中的重要调控因子,与子痫前期的发生有密切的关系。邱中原等^[14]研究指出,AT1-AA 可作用于血管紧张素 II 型受体(AT1R),可激活 AT1R 信号通路。吴珍珍^[15]指出,AT1-AA 可直接作用于 AT1R 胞外第二环肽,从而起到舒张血管的作用。Sahay 等^[16]研究指出,AT1-AA 可促进胎盘滋养细胞及内管内皮细胞中 ROS 表达,并可激活核转录因子,从而导致滋养层细胞生物学活性发生变化。本研究采用 ELISA 测定轻、重度子痫前期孕妇血清及脐血中 AT1-AA 水平,表明子痫前期孕妇 AT1-AA 水平显著高于对照组,且随着患者病情的加重而显著增加,表明子痫前期的发生与 AT1-AA 升高有密切的关系。本研究经 ROC 分析可知,sEng、sFlt-1、AT1-AA 在子痫前期中诊断灵敏度及特异度分别为 76.3%和 85.5%、79.2%和 85.6%、70.8%和 82.2%,表明 sEng、sFlt-1、AT1-AA 在子痫前期诊断中具有较高的应用价值,临床工作者可考虑通过联合检测的方式提高诊断准确率。

综上所述,子痫前期孕妇外周血、脐血中 sEng、sFlt-1、AT1-AA 与子痫前期的发生及进展有密切的关系,3 者在子痫前期发病中相互影响相互促进。sEng、sFlt-1、AT1-AA 水平可用于子痫前期诊断,可作为子痫前期发生及进展的预测指标。

参考文献

- [1] 沈洁,杨孜,王伽略.母体基础疾病状况对子痫前期发病的影响[J].中华妇产科杂志,2012,47(6):405-411.
- [2] 刘照贞,颜建英,陈素清,等.子痫前期患者胎盘、胎膜组织中水通道蛋白 9 的表达变化与子痫前期发病的关系[J].实用妇产科杂志,2014,30(7):522-526.

- [3] 杨慧霞,张眉花,孙伟杰,等.妊娠期糖代谢异常孕妇并发子痫前期的相关因素探讨[J].中华妇产科杂志,2005,40(9):577-580.
- [4] 赵小云,尚守亮,黄梅.孕中期孕妇血清 sEng、sFlt-1 联合检测预测子痫前期的探讨[J].国际检验医学杂志,2013,34(21):2850-2851,2853.
- [5] 赵先兰,刘传,刘彩.孕妇外周血、脐血和胎盘组织中 AT1-AA 及内皮素 1 的表达及其与子痫前期发病的关系[J].中华妇产科杂志,2012,47(10):721-725.
- [6] 谢幸,苟文丽.妇产科学[M].8 版.北京:人民卫生出版社,2012:82-85.
- [7] 倪琰琰,程蔚蔚.早发型子痫前期的预测研究进展[J].东南大学学报(医学版),2016,35(1):135-138.
- [8] 何平,郑婕.sEng 与 sFlt-1 在子痫前期患者血清中的表达及意义[J].广东医学,2011,32(24):3206-3208.
- [9] 杨丽萍,冯海芹,侯俊德,等.可溶性 endoglin 及可溶性血管内皮生长因子受体-1 的表达与早发型子痫前期的关系[J].实用医学杂志,2013,29(3):442-443.
- [10] Brownfoot FC, Tong S, Hannan NJ, et al. Effects of simvastatin, rosuvastatin and pravastatin on soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt-1) and soluble endoglin (sENG) secretion from human umbilical vein endothelial cells, primary trophoblast cells and placenta[J]. BMC Pregnancy Childbirth, 2016, 16(4):117.
- [11] Liu X, Deng Q, Luo X, et al. Oxidative stress-induced Gadd45a inhibits trophoblast invasion and increases sFlt1/sEng secretions via p38 MAPK involving in the pathology of pre-eclampsia[J]. J Matern Fetal Neonatal Med, 2016, 3(2):89-92.
- [12] 杜娟,朱一麟,高雪梅,等.外周血 sFlt-1、 β -hCG、PAPP-A、AFP 的表达与早发型子痫前期的关系[J].疑难病杂志,2016,15(4):394-397.
- [13] Cheng M, He P, Fu J. The relationship between circulating tissue transglutaminase, soluble fms-like tyrosine kinase-1, soluble endoglin and vascular endothelial growth factor in pre-eclampsia[J]. J Hum Hypertens, 2016, 12(4):85-86.
- [14] 邱中原,胡继芬.可溶性血管内皮生长因子 1、AT1-AA 与子痫前期[J].国际妇产科学杂志,2009,36(3):248-250.
- [15] 吴珍珍.抗血管生成因子在子痫前期早期诊断及治疗中的应用[J].实用妇产科杂志,2013,29(2):102-105.
- [16] Sahay SV, Sundrani DP. A longitudinal study of circulating angiogenic and antiangiogenic factors and AT1-AA levels in preeclampsia[J]. Hypertens Res, 2014, 37(8):753-758.