骨桥蛋白在体重不一致性双胎胎盘中的表达

李满超[1]　何志明[2]　周祎[2]　石晓梅[2]　柴涵静[2]　方群[2*]
(1. 中山大学附属第六医院生殖医学中心,广东 广州　510655;
2. 中山大学附属第一医院妇产科胎儿医学中心,广东 广州　510080)

【摘要】 目的　探讨骨桥蛋白在体重不一致性双胎胎盘中的表达变化。**方法**　用 Western blotting 及实时荧光定量 PCR 检测双胎盘胎盘中的骨桥蛋白的表达。**结果**　体重不一致 DCDA 双胎的小胎与大胎胎盘比较,Western blotting 结果显示,体重不一致 DCDA 双胎的小胎与大胎胎盘比较,胎盘中蛋白表达明显减少(0.31±0.09 VS 0.62±0.08,t=−4.182,P=0.001),体重一致 DCDA 双胎胎盘间 OPN 蛋白表达无明显差异(0.62±0.16 VS 0.68±0.13,t=−1.687, P=0.724);实时荧光定量 PCR 结果显示,体重不一致 DCDA 双胎的小胎与大胎胎盘比较,胎盘中 OPN mRNA 表达明显减少(0.61±0.28 VS 1.01±0.12,t=3.087, P=0.014),体重一致 DCDA 双胎胎盘间 OPN mRNA 表达无明显差异(0.98±0.18 VS 1.02±0.11,t=1.884, P=0.464)。Western blotting 显示体重不一致 MCDA 的小胎与大胎比较,OPN 蛋白表达显著下降,(0.24±0.06 VS 0.73±0.18,t=5.687, P<0.001),体重一致 MCDA 双胎胎盘间 OPN 蛋白表达无明显差异(0.48±0.12 VS 0.42±0.15,t=−1.687, P=0.586);实时荧光定量 PCR 结果显示,体重不一致 MCDA 的小胎与大胎胎盘比较,OPN mRNA 表达显著下降,(0.46±0.16 VS 1.01±0.09,t=5.128, P<0.001),生长一致 MCDA 双胎胎盘间 OPN mRNA 表达无明显差异(0.89±0.15 VS 0.95±0.22,t=0.697, P=0.564)。**结论**　体重不一致性双胎胎盘中的骨桥蛋白表达有显著生差异,小胎胎盘骨桥蛋白的表达量明显减少。

【关键词】 双胎;骨桥蛋白;生长不一致;胎盘份额
【中图分类号】 R714.23　　**【文献标识码】** A

【Abstract】 Objective　To analyze the expression of OPN in placenta of discordant twins, and explore the relationship between the OPN expression and pathophysiology of discordant twins. **Method**　Real-time quantitat ive PCR reaction, Western blotting, immunohistochemistry, were used to detect the expression level of OPN mRMA and protein in placenta. **Results**　As to the discordant DCDA twin, placenta of small fetus compared with that of large fetus, Western blotting results showed that OPN protein expression was significantly decreased in placenta of small fetus(0.31±0.09 VS 0.62±0.08, P<0.05); OPN protein expression was not significantly different in the placenta between the concordant DCDA twins(0.62±0.16 VS 0.68±0.13, P>0.05); real-time quantitative PCR results showed that OPN mRNA expression was significantly decreased in placenta of small fetus for discordant DCDA twins (0.61±0.28 VS 1.01±0.12, P<0.05), OPN mRNA expression was not significantly different in the placenta between the concordant DCDA twins (0.98±0.18 VS 1.02±0.11, P>0.05). As to the discordant MCDA twin, placenta of small fetus compared with that of large fetus, Western blotting results showed that OPN protein expression was significantly decreased in placenta of small fetus(0.24±0.06 VS 0.73±0.18, P<0.05); OPN protein expression was not significantly different in the placenta between the concordant DCDA twins(0.48±0.12 VS 0.42±0.15, P>0.05); real-time quantitative PCR results showed that OPN mRNA expres-

* 通讯作者:方群,Email:fang_qun@163.com

sion was significantly decreased in placenta of small fetus for discordant DCDA twins (0.46±0.16 VS 1.01±0.09, $P<0.05$), OPN mRNA expression was not significantly different in the placenta between the concordant DCDA twins (0.89±0.15 VS 0.95±0.22, $P>0.05$). **Conclusions** The expression of OPN mRNA and correlated with twin placental territory, suggesting that OPN involved in placental development, low OPN expression may be associated with discordant twins.

【Key words】 twins; osteopontin; discordance; placental territory

随着辅助生殖技术的发展,双胎妊娠的发生率逐年升高。双胎妊娠按绒毛膜性质分为单绒毛膜(monochorionic diamniotic, MCDA)双胎和双绒毛膜(dichorionic diamniotic, DCDA)双胎,大多数DCDA双胎各自的胎盘独立,可以直接判断各自胎盘的大小;MCDA双胎共用一个胎盘,两胎胎盘间普遍存在着血管吻合,通过2个胎儿脐带发出的动静脉分支判断各自所占的胎盘份额,MCDA和DCDA双胎妊娠都可并发双胎体重不一致。双胎妊娠的母体环境及宫内环境相似,但双胎的表型可以不同,其中双胎的出生体重差值超过20%被定义为双胎体重不一致(discordant twin),双胎体重不一致极有可能是各自胎盘功能差异所致。利用双胎胎盘间互相对照进行研究,可以最大限度地控制母体因素、遗传因素及环境因素对胎儿发育的影响,单胎妊娠合并FGR受到母体、胎儿、胎盘因素这些因素的共同影响,仅部分单胎妊娠FGR是由胎盘功能障碍导致的。因此双胎妊娠是研究胎盘发育的天然对照模型,有利于探索胎盘发育差异对胎儿体重的影响。体重不一致双胎在临床产科很常见,一般随着双胎间体重差异增加,围生期死亡率也相应增加。体重不一致双胎的病因学,尤其是胎盘发育大小与双胎出生体重的关系是目前双胎研究的热点[1,2]。

骨桥蛋白(osteopontin, OPN)参与体内多种生理活动,OPN及其受体整合素β3是子宫、胎盘微环境的重要组成部分。近年研究显示OPN在胚胎植入、着床过程中发挥重作用,OPN通过RGD序列与整合素β3相互识别并结合,从而促进胚泡和子宫内膜细胞间的相互作用;定位在合体滋养层和细胞滋养层的整合素β3和OPN,可以促进细胞间的黏附、诱导细胞趋化使滋养层迁徙,从而调节早期妊娠时胚胎的着床和胎盘形成[3]。OPN在人类胎盘也是主要表达于具有侵袭能力的绒毛外滋养细胞[4,5],孕酮可以上调滋养细胞中OPN的表达[6]。说明OPN对胚胎植入过程中伴随的胎盘形成可能起一定作用。因此本文拟研究骨桥蛋白在双胎胎盘中的表达。

1 资料与方法

1.1 双胎妊娠胎盘组织收集

1.1.1 *双胎胎盘组织基本资料* 收集双胎妊娠胎盘组织共46例,分娩孕周29.2~38.6周,平均36.4周,孕妇年龄23~38岁,平均29.6岁。胎盘娩出后在脐带附着点对应的母体面剪取胎盘组织,在预冷的磷酸盐缓冲液中漂洗3次,去除血液。一部分组织在液氮中保存2~24小时后,转移至-80 ℃冰箱保存。采集胎盘组织前先检查两胎盘间胎膜分层情况,MCDA胎盘间羊膜分2层,DCDA胎盘间胎膜分4层,包括2层绒毛膜和2层绒毛膜,如果DCDA胎盘间绒毛膜融合,胎膜分为3层,包括2层羊膜和1层绒毛膜。MCDA双胎22例,分娩孕周32.6~38.5周,平均35.4周,孕妇年龄21~42岁,平均31.4岁,其中体重不一致MCDA双胎12例,分娩孕周29.2~34.1周,平均29.5周,孕妇年龄21~42岁,平均29.1岁;体重一致MCDA双胎10例,分娩孕周33.2~38.6周,平均35.5周,孕妇年龄26~37岁,平均29.8岁。DCDA双胎24例,分娩孕周32.6~38.5周,平均35.4周,孕妇年龄24~37岁,平均29.5岁,其中体重不一致DCDA双胎10例,分娩孕周32.3~37.1周,平均36.1周,孕妇年龄24~34岁,平均29.4岁;体重一致DCDA双胎14例,分娩孕周30.6~38.6周,平均37.2周,孕妇年龄25~37岁,平均29.6岁。

1.1.2 *绒毛膜性质诊断标准* 单绒毛膜:妊娠5~

7 周超声波示 1 个孕囊,妊娠 11～13^{+6}周超声波检查两胎间胎膜呈“T”征;双绒毛膜:妊娠 5～7 周超声波示 2 个孕囊,妊娠 11～13^{+6}周超声波检查两胎间胎膜呈“λ”征。

1.1.3　双胎体重不一致诊断标准　双胎出生体重差≥20%。

1.2　Western Blotting 检测胎盘组织 OPN 蛋白表达

1.2.1　胎盘组织总蛋白提取　在每 1 ml 冷 Lysis Buffer 加入 10 μl 磷酸酶抑制剂、1 μl 蛋白酶抑制剂和 5 μl 100 mM PMSF,混匀。冰上保存数分钟待用。取每份胎盘标本约 100 mg,组织块放入预冷的研钵中进行研磨,边研边加液氮,至组织块研磨成粉沫状,加入 1 ml 冷 Lysis Buffer,玻璃匀浆器在低温环境中上下手动匀浆,使组织进一步研碎。取组织匀浆液转移至 1.5 ml 预冷的离心管,4 ℃、10 000 rpm离心 5 分钟。取上清转移至新的预冷管,蛋白定量采用 BCA 法。分装保存于－80 ℃环境,避免反复冻融。

1.2.2　SDS-PAGE 电泳、转膜、印迹反应　12%浓缩胶时将电压调至 80～90 V,到 5%分离胶以后电压调至 100～120 V,待溴酚蓝迁移到分离胶底部,终止电泳。转膜:100 V 转移 90 分钟。免疫印迹反应:电转后取出 PVDF 膜,用 TBS 将膜从下向上浸湿后移至含封闭液的平皿中,室温下脱色摇床摇动封闭 2 h;孵育一抗:以 TBST 将兔抗人 OPN 多克隆一抗、GAPDH 多克隆一抗分别以 1∶1000 稀释,4 ℃摇床孵育过夜;孵育二抗 :以 TBST 洗膜 3 次,每次 10 分钟,按 1∶2000 稀释辣根过氧化物酶标记的羊抗兔二抗。室温摇床孵育 1 小时,用 TBST 在温室下摇床上清洗 2 次,再用 TBS 清洗 1 次后进行化学发光反应。化学发光:TBST 洗膜后,按说明书加发光剂,将膜蛋白面朝下与发光剂充分接触后,反应 1 分钟,去尽残液后置于 X 光片夹中,于暗室中放置 X 胶片,曝光 1 分钟,显影定影各 1 分钟。将胶片进行扫描或拍照,用凝胶图像处理系统分析光密度值。

1.3　实时荧光定量 PCR 反应检测胎盘组织 mRNA 表达

1.3.1　RNA 提取和纯度鉴定　组织研磨、匀浆:组织块放入预冷的研钵中进行研磨,边研边加液氮,不要使液氮挥发干,至组织块研磨成粉沫状。每个研钵中加入 Trizol 2 ml,转移 Trizol 至玻璃匀浆器,进一步匀浆 5 分钟,再转移至 1.5 ml EP 管,室温下放置 5 分钟。加入氯仿,0.2 ml/管,用力振摇 15 秒。室温下孵育 2～3 分钟,接着于 4 ℃,12 000 g 离心 15 分钟。RNA 全部分配于水相中。水相体积为加入的 Trizol 试剂的 60%。RNA 沉淀:小心吸取上层无色水相(500 μl 左右),将转移至一干净的 1.5 ml EP 管中,加入 0.5 ml 异丙醇,轻轻混匀。并将混合液于室温下放置 10 分钟。接着于 4 ℃下 12 000 g 离心 10 分钟。弃上清,加入 1 ml 75%乙醇后,水平摇动离心管以清洗 RNA 沉淀,洗去盐离子核残余的异丙醇。随后于 4℃下 7500 g 离心 5 分钟。小心吸取上清,于无菌环境中空气干燥 RNA 沉淀 3～5 分钟,但不能使沉淀过于干燥,以免影响 RNA 的溶解,加入 20 μl DEPC 水溶解 RNA,分装备用,－80 ℃冰箱保存。

RNA 纯度及完整性鉴定,紫外分光光度计测定 RNA 纯度:每 2 μl RNA 中加入 98 μl DEPC 水测定所提取 RNA 在 260 nm 和 280 nm 吸光度 OD 值,对各组 RNA 进行浓度监测,并用 A260/A280 判断 RNA 的纯度,比值在 1.8～2.0 之间,说明 RNA 较纯,无蛋白质污染。以 DEPC 水为空白调零。

1.3.2　mRNA 逆转录为 cDNA　cDNA 第一链的合成参照 Fermentas 公司第一链合成系统试剂盒(K1622)操作指南上的说明进行。在无菌的 0.2 ml 塑料离心管中准备模板引物混合物。反应条件为 65 ℃ 5 分钟,之后将混合物置于冰上至少 1 分钟。混合物体系为总 RNA 1 μg, Random hexamer primer 1 μl,加 DEPC 水至总体积为 12 μl。加入 8 μl cDNA 合成试剂,cDNA 合成试剂包括 5×第一链合成缓冲液 4 μl,RNA 酶抑制剂 1 μl,M-MLV 逆转录酶 1 μl,10 mM dNTP Mix 2 μl。将上述 20 μl 混合体系按以下条件进行逆转录反应,25 ℃ 5 分钟,42 ℃ 60 分钟,70 ℃ 5 分钟。反应产物－80 ℃保存或进行 PCR 扩增反应。

1.3.3 实时荧光定量PCR反应引物设计和合成 由上海生工生物工程技术服务有限公司设计及合成荧光定量PCR所需引物(目的基因的扩增片段大小为100～300 bp;退火温度在58～60 ℃范围之内;3′末端避免有G/C重复序列;(G+C)%<60%等)。GAPDH作为内参,引度溶解浓度为10 μmol/L。基因引物的具体序列见表1。

表1 实时荧光定量PCR反应引物序列

mRNA	引物	引物序列	产物长度
OPN	上游	5′-ACCTGCCGGTACTAGACAGC-3′	118 bp
	下游	5′-GAACTTGGGTGAGTGGGCAC-3′	
GAPDH	上游	5′-CAAATGCTGGACCAAACAC-3′	106 bp
	下游	5′-CAGTCTTGGCGGTGCAGAT-3′	

cDNA的PCR扩增,PCR反应体系如下,2×SYBR Green I PCR Mix 10 μl,50×ROX Reference dye 0.4 μl,模板cDNA 2 μl,上游引物2 μl,下游引物2 μl,加dd H_2O至20 μl。按上述反应体系进行加样于96孔反应板,每个基因重复3个孔,反应板封闭后放入实时荧检测系统ABI 7500 Real Time PCR System中。反应条件如下,预变性95 ℃ 10分钟,40个循环反应,每个循环95 ℃ 10秒,60 ℃ 20秒,72 ℃ 35秒,于延伸阶段检测荧光信号。反应结束将96孔反应板取出,将PCR产物4 μl上样于2.0%琼脂糖凝胶中,以110 V电压电泳1小时,检测PCR反应产物是否具有特异性。

1.4 统计学处理 采用SPSS 15.0统计学软件进行独立样本t检验,计数资料以均数$X\pm SD$表示,$P<0.05$认为差异具有统计学意义。

2 结 果

2.1 DCDA双胎胎盘中OPN mRNA和蛋白的表达 体重不一致DCDA双胎的小胎与大胎胎盘比较,Western blotting结果(见图1)显示,体重不一致DCDA双胎的小胎与大胎胎盘比较,胎盘中蛋白表达明显减少(0.31±0.09 VS 0.62±0.08,t=−4.182,P=0.001),体重一致DCDA双胎胎盘间OPN蛋白表达无明显差异(0.62±0.16 VS 0.68±0.13,t=−1.687, P=0.724);实时荧光定量PCR结果(见图2)显示,体重不一致DCDA双胎的小胎与大胎胎盘比较,胎盘中OPN mRNA表达明显减少(0.61±0.28 VS 1.01±0.12,t=3.087, P=0.014),体重一致DCDA双胎胎盘间OPN mRNA表达无明显差异(0.98±0.18 VS 1.02±0.11,t=1.884, P=0.464)。

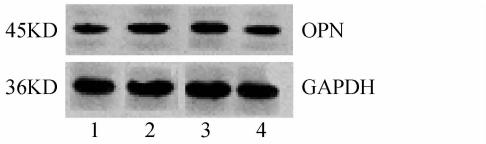


图1 DCDA双胎胎盘OPN Western blotting结果

注:1:体重不一致双胎的小胎胎盘;2:体重不一致双胎的大胎胎盘;3:体重一致双胎小胎胎盘;4:体重一致性双胎大胎胎盘。体重不一致双胎小胎胎盘与大胎胎盘比较,OPN蛋白表达减少,体重一致双胎胎盘间OPN表达无明显差异。GAPDH为内参

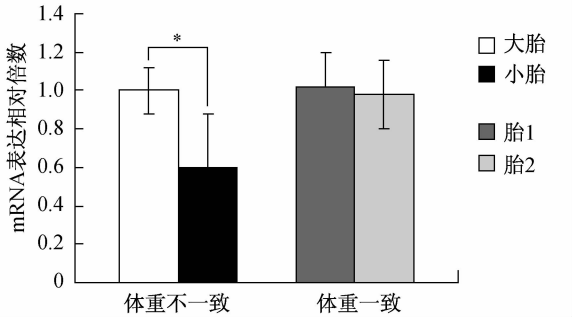


图2 DCDA双胎胎盘OPN实时荧光定量PCR结果

注:*P<0.05,体重不一致DCDA的小胎与大胎比较,胎盘中OPN mRNA表达显著下降,体重一致DCDA双胎胎盘间OPN mRNA表达无明显差异

2.2 MCDA双胎胎盘中OPN mRNA和蛋白的表达 体重不一致MCDA双胎的小胎与大胎胎盘比较,Western blotting结果(见图3)显示,体重不一致MCDA的小胎与大胎比较,胎盘中OPN蛋白表达显著下降,(0.24±0.06 VS 0.73±0.18,t=−4.967, P=0.001),体重一致MCDA的小胎与大胎比较,胎盘中蛋白表达无明显差异(0.48±0.12 VS 0.42±0.15,t=−1.687, P=0.586);实时荧光定量PCR结果(见图4)显示,体重不一致MCDA的小胎与大胎比较,胎盘中mRNA表达显著下降,(0.46±0.16 VS 1.01±0.09,t=5.128, P<0.001),生长一致MCDA双胎胎盘间OPN mRNA表达无明显差异(0.89±0.15 VS 0.95±0.22,t=0.697, P=0.564)。

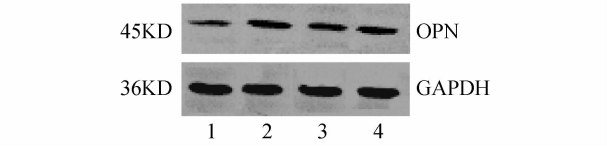


图 3　MCDA 双胎胎盘 OPN Western blotting 结果

注:1:体重不一致双胎的小胎胎盘;2:体重不一致双胎的大胎胎盘,3:体重一致双胎小胎胎盘;4:体重一致性双胎大胎胎盘。体重不一致 MCDA 双胎小胎胎盘与大胎胎盘比较,OPN 蛋白表达降低,体重一致 MCDA 双胎胎盘间 OPN 表达无明显差异。GAPDH 为内参

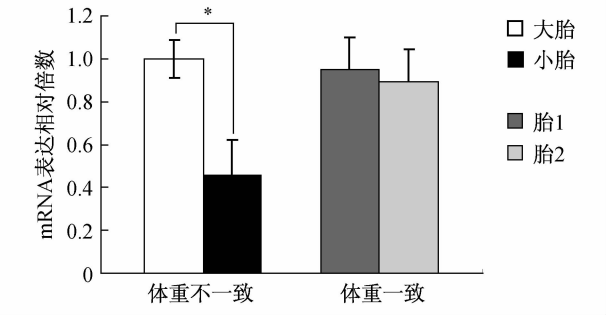


图 4　MCDA 双胎胎盘 OPN 实时荧光定量 PCR 结果

注:* $P<0.05$,体重不一致 MCDA 的小胎与大胎比较,胎盘中 OPN mRNA 表达显著下降。体重一致 MCDA 双胎胎盘间 OPN mRNA 表达无明显差异

3　讨　论

无论是 MCDA 还是 DCDA 双胎都可并发双胎体重不一致,DCDA 双胎发生的体重不一致通常发生在妊娠的中晚期;MCDA 双胎发生的体重不一致则不可预测,可以发生在妊娠的早期、中期或者晚期[7-9]。发病原因可能与胎盘、脐带或胎儿之一先天畸形、染色体异常等有关,MCDA 双胎也可因双胎输血综合征引起双胎体重不一致,是由于血液的交换不平衡所致。双胎体重不一致按起病时间可分为早发型及晚发型,早发型指孕 20 周前发现的体重不一致,晚发型指孕 26 周后发现的体重不一致,起病越早,胎儿预后越差[10-12]。

影响胎儿生长发育的因素包括母体、胎儿、胎盘三方面,双胎妊娠具有相同的母体因素及相似的宫内环境,胎盘份额或功能可能是双胎体重不一致的主要影响因素。有研究发现,无论是在 DCDA 双胎还是在 MCDA 双胎,体重不一致双胎的小胎胎盘重量小[13]。本研究结果显示,体重不一致双胎胎盘间份额有明显差别,胎盘份额差别越大,双胎间体重差越明显,两者正相关关系。还有研究显示体重不一致双胎胎盘在氨基酸转运功能有明显差异[14]。一项前瞻性多普勒超声研究显示,体重不一致双胎的小胎脐动脉舒张末期血流返向或缺失发生率高[15,16]。提示体重不一致双胎中的小胎存在胎盘灌注不足。还有研究发现在 MCDA 体重不一致双胎的小胎子宫螺旋动脉血流阻力增加[17]。以上研究显示体重不一致双胎胎盘在胎盘份额和胎盘灌注及转运功能有明显差异。

双胎体重不一致还存在其他病因。MCDA 双胎具有相同的基因,理论上双胎具备相似的生长潜力,体重差异不大,但当受精卵内细胞团形成后发生分裂时在两胚囊间的分裂球分配不等,可以使 MCDA 双胎生长潜力出现差异;MCDA 双胎的脐带异常和脐带帆状附着以及单脐动脉可能是其胎盘份额不均的影响因素[16]。DCDA 双胎可以存在遗传学方面的生长潜能差异,独立分隔的 2 个胎盘其中之一未能占据理想而有利的宫腔位置而得不到良好的血供。无论 MCDA 还是 DCDA,双胎先天性感染也是影响因素之一,虽然感染多影响到 2 个胎儿,但严重程度可能有所不同[18]。

Yusuf 等[19]通过对正常孕妇、子痫前期和单胎妊娠 FGR 的胎盘组 OPN 表达的研究发现,OPN 在细胞滋养层侵入母亲血管和或细胞外基质的过程中发挥重要作用,可能是胎盘床重塑的标志。子宫和胎盘的免疫细胞分泌的 OPN 可调节免疫细胞的行为和细胞因子的生成,并在母胎免疫屏障的形成中发挥作用[20-22]。Fedarko 等[23]发现 OPN 在正常妊娠子宫蜕膜基质细胞及蜕膜自然杀伤细胞中高表达,并随着妊娠的进展而进一步增高,在复发性流产患者蜕膜 OPN 的表达明显下调。研究发现在子痫前期患者胎盘组织中多种参与细胞内信号转导的胞质蛋白和细胞骨架蛋白如 OPN、Sre、Cas、PI-3K 及 STAT3 等蛋白表达较正常胎盘组织显著减少[24-26]。本部分实验采用免疫组织化学染色、Westem blotting 和实时荧光定量 PCR 反应,从转录到翻译水平定性定量地研究了正常妊娠及子痫前期胎盘组织 OPN 表达的差异性,OPN 蛋白在正常

晚期妊娠组和子痫前期胎盘组织中均有表达,OPN 要表达定位于胎盘绒毛滋养细胞浆中,子痫前期胎盘组织中 OPN 的蛋白及 mRNA 表达量均明显低于正常晚孕组。Batorfi 等[27]指出,在正常妊娠中,OPN 对滋养层生长和侵入的调节是一个复杂的过程,妊娠相关疾病如子痫前期、FGR、自然流产、葡萄胎这种调节被改变,其发病机制可能与 OPN 的下调有一定关系。本研究显示,体重不一致 DCDA 双胎与 MCDA 双胎两胎各自胎盘间份额差距明显,说明胎盘发育的差异可能导致双胎体重不一致。OPN mRNA 及蛋白在体重不一致双胎中的小胎胎盘中低表达,相关性分析显示,胎盘中 OPN mRNA 的表达水平与胎盘份额大小成正相关,提示 OPN 分泌不足可能导致胎盘发育障碍有关。可能是导致双胎体重不一致的机制之一。

参 考 文 献

[1] Weisz B, Hogen L, Yinon Y, et al. Perinatal outcome of monochorionic twins with selective IUGR compared with uncomplicated monochorionic twins[J]. Twin Res Hum Genet, 2011,14(5):457-462.

[2] Gao Y, He Z, Luo Y, et al. Selective and non-selective intrauterine growth restriction in twin pregnancies: high-risk factors and perinatal outcome[J]. Arch Gynecol Obstet, 2012, 285(4):973-978.

[3] Pei K, Yu C, Shi X, et al. The effects of mifepristone on the expressions of osteopontin, interleukin-6 and leukemia inhibitory factor in the villi of early pregnant women[J]. Contraception, 2010, 82(4):379-384.

[4] Daiter E, Omigbodun A, Wang S, et al. Cell differentiation and endogenous cyclic adenosine 3′,5′-monophosphate regulate osteopontin expression in human trophoblasts[J]. Endocrinology, 1996, 137(5):1785-1790.

[5] Konno S, Eckman JA, Plunkett B, et al. Interleukin-10 and Th2 cytokines differentially regulate osteopontin expression in human monocytes and dendritic cells[J]. J Interferon Cytokine Res, 2006, 26(8):562-567.

[6] Omigbodun A, Ziolkiewicz P, Tessler C, et al. Progesterone regulates osteopontin expression in human trophoblasts: a model of paracrine control in the placenta? [J]. Endocrinology, 1997, 138(10):4308-4315.

[7] Chauhan S P, Shields D, Parker D, et al. Detecting fetal growth restriction or discordant growth in twin gestations stratified by placental chorionicity[J]. J Reprod Med, 2004, 49(4):279-284.

[8] Weissman A, Achiron R, Lipitz S, et al. The first-trimester growth-discordant twin: an ominous prenatal finding[J]. Obstet Gynecol, 1994, 84(1):110-114.

[9] Ahiron R, Blickstein I. Persistent discordant twin growth following IVF-ET[J]. Acta Genet Med Gemellol (Roma), 1993, 42(1):41-44.

[10] Nassar AH, Usta IM, Khalil AM, et al. Neonatal outcome of growth discordant twin gestations[J]. J Perinat Med, 2003, 31(4):330-336.

[11] Hartley RS, Hitti J, Emanuel I. Size-discordant twin pairs have higher perinatal mortality rates[J]. Am J Obstet Gynecol, 2002, 187(5):1173-1178.

[12] Poulsen P, Vaag AA, Kyvik KO, et al. Low birth weight is associated with NIDDM in discordant twin pairs[J]. Diabetologia, 1997, 40(4):439-446.

[13] Lewi L, Gucciardo L, Huber A, et al. Clinical outcome and placental characteristics of monochorionic diamniotic twin pairs with early- and late-onset discordant growth[J]. Am J Obstet Gynecol, 2008, 199(5):511.

[14] Lopriore E, Pasman SA, Klumper FJ, et al. Placental characteristics in growth-discordant monochorionic twins [J]. Placenta, 2012, 33(3):171-174.

[15] Fieni S, Gramellini D. Very-early-onset discordant growth in monochorionic twin pregnancy[J]. Obstet Gynecol, 2004, 103:1115-1117.

[16] Chitkara U, Berkowitz GS, Levine R, et al. Twin pregnancy: routine use of ultrasound examinations in the prenatal diagnosis of intrauterine growth retardation and discordant growth[J]. Am J Perinatol, 1985, 2(1):49-54.

[17] Nayeri U A, Norwitz E, Illuzzi J. Perinatal outcomes in twin pregnancies with discordant Doppler findings[J]. J Ultrasound Med, 2011, 30(11):1561-1565.

[18] Matijevic R, Ward S, Bajoria R. Non-invasive method of evaluation of trophoblast invasion of spiral arteries in monochorionic twins with discordant birthweight[J]. Placenta, 2002, 23(1):93-99.

[19] Yusuf K, Kliman HJ. The fetus elicits maternal immunologic rejection: lessons from discordant dizygotic twin placentas [J]. J Perinat Med, 2008, 36(4):291-296.

[20] Gabinskaya T, Salafia CM, Gulle VE, et al. Gestational age-dependent extravillous cytotrophoblast osteopontin immunolocalization differentiates between normal and preeclamptic

pregnancies[J]. Am J Reprod Immunol,1998,40(5):339-346.

[21] Batorfi J, Fulop V, Kim J H, et al. Osteopontin is down-regulated in hydatidiform mole[J]. Gynecol Oncol,2003,89(1):134-139.

[22] Apparao KB, Illera MJ, Beyler SA, et al. Regulated expression of osteopontin in the peri-implantation rabbit uterus[J]. Biol Reprod,2003,68(5):1484-1490.

[23] Fedarko NS, Fohr B, Robey PG, et al. Factor H binding to bone sialoprotein and osteopontin enables tumor cell evasion of complement-mediated attack[J]. J Biol Chem,2000,275(22):16666-16672.

[24] Qu X, Yang M, Zhang W, et al. Osteopontin expression in human decidua is associated with decidual natural killer cells recruitment and regulated by progesterone[J]. In Vivo,2008,22(1):55-61.

[25] Xia J, Qiao F, Su F, et al. Implication of expression of osteopontin and its receptor integrin alphanubeta3 in the placenta in the development of preeclampsia[J]. J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci,2009,29(6):755-760.

[26] Sammar M, Nisemblat S, Fleischfarb Z, et al. Placenta-bound and body fluid PP13 and its mRNA in normal pregnancy compared to preeclampsia, HELLP and preterm delivery[J]. Placenta,2011,32 Suppl:S30-S36.

[27] Batorfi J, Fulop V, Kim JH, et al. Osteopontin is down-regulated in hydatidiform mole[J]. Gynecol Oncol,2003,89(1):134-139.

编辑:刘勇

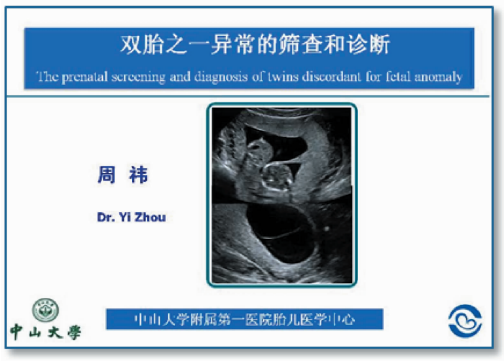
(收稿日期:2013-08-04)

视频导读

双胎之一异常的筛查和诊断

周祎

(中山大学附属第一医院 胎儿医学中心)



近年来,随着辅助生殖技术的广泛开展,双/多胎妊娠发生率明显增高,随之而来的复杂性双胎问题也日显突出,特别是单绒毛膜双胎并发症。

作为产科领域的专业医学大会,“中国胎儿医学大会”也一直非常关注复杂性双胎问题。在第二届“中国胎儿医学大会”上,来自中山大学附属第一医院胎儿医学中心,拥有多年双胎诊治经验的周祎教授就绒毛膜性的确定、双胎染色体非整倍体筛查、单绒双胎的风险、单绒双胎常见的结构异常、复杂性双胎治疗的指征与技术等问题进行了逐一阐述。