

# 子痫前期标记物的研究进展

卢帅军<sup>1a</sup> 朱长玲<sup>2</sup> 厉倩<sup>1a</sup> 谭龙益<sup>1b</sup>

(1. 上海市第一人民医院宝山分院 a. 中心实验室 b. 检验科, 上海 200940;

2. 温州市中山医院 妇产科, 浙江 温州 325027)

**【摘要】** 子痫前期(preeclampsia, PE)属于妊娠高血压病,对母婴伤害严重,加强孕妇的早期监测,预测该病的发生发展对减少并发症,降低母婴死亡率有重要意义。各种生长因子、激素、蛋白类及其他分子化合物之间的相互作用是研究子痫前期发生发展的关键。血管生成学、蛋白质组学和肿瘤坏死标记物对预测子痫前期的发展有良好的临床应用前景。

**【关键词】** 子痫前期;标记物

子痫前期(preeclampsia, PE)是一种常见的孕妇多系统紊乱综合征,是孕妇和胎儿发病率和病死率最高的疾病之一,主要表现为在怀孕 20 周后出现高血压和蛋白尿。PE 发生率约为 2%~8%,全球每年大约有 7 万孕妇死于 PE,超过 15%早产儿是由于 PE 导致的,因此 PE 的医疗费用巨大<sup>[1]</sup>。

PE 大多发生于未生育过的女性,目前的观点认为遗传因素和血管内皮细胞功能紊乱是 PE 的两大高危因素<sup>[2]</sup>。尽管近 20 年来关于 PE 的研究越来越多,但到目前为止,PE 的病理生理机制仍未完全阐明,也无理想的早中期筛查指标,直至临床症状出现进而诊断干预,此时母婴均已受到不同程度损伤,因此临床亟需各种生物标记物来辅助 PE 的早期筛查和诊断以指导孕期保健和降低围产期风险。本文对新近出现的外周血 PE 相关生物标记物进行了综述。

## 1 比较明确的标记物

这些标记物选择的标准:①大样本研究( $\geq 100$ );②不同研究小组的多项研究结果一致。

1.1 促血管生长和抗血管生长标记物 这些标记物,如:生长因子、激素类、蛋白类和其他的分子化合物,在促血管生长和抗血管生长的过程中扮演重要的角色,主要包括促血管生长的血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、胎盘生长因子(placental growth factor, PLGF)和抗血管生长的可溶性 fms 样酪氨酸激酶-1(fms-like

tyrosine Kinas, sFlt-1)、可溶性内皮因子(soluble endoglin, sENG)。

VEGF 是促进血管发生和血管新生的重要生长因子,它通过与 2 个 VEGF 受体(Flt-1、KDR)结合来调节血管生长和再生,VEGF 激酶配体/受体信号系统在调节血管生长和血管通透性方面起着重要的作用<sup>[3]</sup>。sFlt-1 也叫 sVEGFR-1,由胎盘滋养层细胞合成,是 Flt1 的分泌形式,缺少跨膜区和胞浆区,但保留了配体结合域,能与循环中的 VEGF 结合,抑制 VEGF 与其受体 KDR 和 Flt1 的相互作用,最终阻断 VEGF 的生物学效应<sup>[4]</sup>。PLGF 是 VEGF 家族另一成员,主要由胎盘合成, sFlt-1 也结合 PLGF 并抑制其生物学效应<sup>[5]</sup>。sENG 是 TGF- $\beta$ 1 和 TGF- $\beta$ 3 共同受体的细胞外片段,由血管内皮和合体滋养层上大量合成<sup>[6,7]</sup>。

Baumann 等<sup>[8]</sup>通过回顾性分析发现发生 PE 的孕妇体内的循环 sFlt-1 和 sEng 浓度在早期妊娠期间已经高于正常组。Bills 等<sup>[9]</sup>通过对照实验却发现,PE 病人在孕 12 周时循环 sFlt-1 和 sEng 水平变化不大,而低浓度的循环 VEGF 水平是 PE 的良好预测因子。Espinoza 等<sup>[10]</sup>报道在孕 22~26 周时结合异常脐动脉血流和低浓度血浆 PLGF( $< 280$  pg/ml)能较好地预测 PE 的发生,Parra<sup>[11]</sup>的研究小组也得出了相似的结论。Kim 等<sup>[12]</sup>发现早发 PE 和重症 PE 病人体内的 sENG 水平显著高于迟发 PE 和轻型 PE。Levine 等<sup>[13]</sup>通过检测整个孕程的 VEGF、PLGF 和 sFlt-1 发现高浓度 sFlt-1 和低浓

度 PLGF 能预测后续 PE 的发生发展,他们的另一项研究表明孕 25~28 周尿液低浓度 PLGF 与后续 PE 发生也密切相关。Lim 等<sup>[14]</sup>发现血浆中(sFlt-1 + sENG)与(PLGF + TGF- $\beta$ 1)的浓度比值能很好地预测 PE 的发生,且比值高低与 PE 严重程度正相关。Maynard 等<sup>[15]</sup>通过体外实验证实 PE 患者 sFlt1 循环水平的增加是由 VEGF 和 PLGF 循环水平的下降引起的,从而引起内皮细胞功能障碍并进而引起高血压、蛋白尿和水肿等临床症状。

以上资料表明促血管生长因子和抗血管生长因子的失衡是 PE 发生及发展的重要原因。外周血中高浓度的抗血管生长因子(如 sFlt-1、sENG)和低浓度促血管生长因子(如 VEGF、PLGF、TGF- $\beta$ )可能成为 PE 的良好预测指标,但这些因子的浓度变化与孕周密切相关,因此寻找不同孕程中这些因子的浓度变化规律将极大有助于这些指标在临床的应用。

1.2 蛋白组标记物 蛋白质组学对人们分析蛋白质的结构和功能提供了大量的数据。最近,这种方法已经应用在 PE 标记物的识别上。Blumenstein 等<sup>[16]</sup>通过对一系列 PE 病例组血浆采用蛋白质印迹技术分析后发现 2 簇蛋白的过度表达能预测 PE 的风险且准确率 >90%,即纤维蛋白 gama 链和  $\alpha$ -1-抗胰凝乳蛋白酶。而 Buhimschi 等<sup>[17]</sup>用尿蛋白组途径评估 PE 患者早期血浆中丝氨酸蛋白酶抑制物 A1(Serine Protease Inhibitor A1, SEPINA1)、白蛋白和  $\alpha$ -1-抗胰凝乳蛋白酶等片段发现重度 PE 患者有 13 个标记物峰值(包括 P1 至 P13,它们是与 SEPINA1 和白蛋白肽链片段相匹配)。另外,重度 PE 患者的尿蛋白组学分数也有明显的升高。

1.3 炎性标记物 由于妊娠可带来全身炎症样反应,且氧化应激也被认为与 PE 的发病机制密切相关,因此炎性因子也有可能成为 PE 的标志物。Sibai 等<sup>[18]</sup>通过检测孕妇外周血中可溶性肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor receptor, TNF-R)受体浓度变化发现 PE 孕妇在孕早期和孕 24~28 周时可溶性 TNF-R2 水平均高于对照组。Von 等<sup>[19]</sup>的研究发现孕期 CRP(C-反应蛋白)、NEO(新蝶呤是 GTP 分解代谢产物)、SA(唾液酸)浓度全部升高,其中 PE 组 NEO 浓度显著高于正常妊娠组。Tjoa 等<sup>[20]</sup>报道孕 10~14 周外周血高水平 CRP 可预测 PE 的发生。

## 2 证据尚不充分的标记物

这些标记物的选择标准:①作为特定的标记物很少被关注;②小分子物质;③不确定的、易混淆的、结果相对的。

2.1 PP-13、PAPP-A、抑制素标记物 这些似乎是错综复杂的,混淆了胎盘蛋白-13(placental protein-13, PP-13)、孕妇有关血浆蛋白(pregnancy-associated plasma Protein, PAPP-A)和抑制素标记物的有效性。Romero 等<sup>[21]</sup>认为孕妇血清 PP-13 浓度在早产和 PE 启动早期是明显降低的,它对分娩时重度 PE 和轻度 PE 的鉴别是很弱的标记物,需要更多的研究来证实该标记物的有效性。Spencer 等<sup>[22]</sup>没有证实 PP-13 的水平是与 PE 的发生相关联的,仅是联合 22~24 孕周孕妇的多普勒流量与 PAPP-A 的早期水平,对 PE 提供一些预测价值。然而,对比单独多普勒流量的测定,联合 PP-13 和多普勒速度流量的测定并没有明显提高 PE 的检测率。

Zwalen 等<sup>[23]</sup>对大量的病例检测抑制素家族、PAPP-A 和 PLGF 的水平,用多变量分析表明抑制素 A 和激活素浓度的增加、PLGF 和 PAPP-A 水平降低与 PE 风险增加有关。尽管在这批研究中 PLGF 的结果与早期研究的结果一致,但 Zwalen 等警告这 2 种标记物的预测价值与孕期年龄相关。因此,用这些标记物去预测 PE 可能在处理数据时变得很复杂。Parra 等<sup>[11]</sup>表明,对比 PE 组和控制组孕妇,用子宫动脉多普勒和几种氧化应激、损伤胎盘、抗血管生长因子和内皮功能障碍等标记物测定,显示 UtA PI、sFlt1、PAI-1/PAI-2 比率(plasminogen activator inhibitor, PAI)、F-2isoprostane(氧化剂应激指数)明显增加,因而他们推断出用这些标记物可分析 PE 的发病机制。

2.2 基因组和核酸标记物 仅有少量的文献是关于 PE 基因组和核酸标记物(包括 mRNA 表达和 cell-free mRNA 的改变)。Ng 等<sup>[24]</sup>用促肾上腺皮质激素(corticotropin-releasing hormone, CRH) mRNA 新标记物做单变量分析,发现 PE 孕妇体内 CRH mRNA 血浆浓度是增加的,且与同孕周无 PE 的孕妇相比其 CRH mRNA 的血浆浓度中间值增加 10.5 倍。Farina 等<sup>[25]</sup>通过取样 PE 患者绒毛膜绒

毛组织研究发现,它的 mRNA 表达因涉及血管生长或氧化应激,早期发展为 PE 的滋养层基因是有所改变的。然而,这一小部分研究必须要大量的数据来验证。Purwosunu 等<sup>[26]</sup>提到血管内皮生长因子受体 1(Vascular endothelial growth factor receptor 1,FLT1)为最高检出率标记物,而胎盘特殊因子 1(placenta-specific factor 1,PLAC1)为最低检出率标记物。他们同时提到联合检测 PE 患者 15~20 孕周血浆 mRNA(包括 FLT1、VEGFA、endoglin、SERPINE1 和 PLAC1 的 mRNA 水平的表达),它们的表达是增加的。

2.3 血型标记物 Hiltunen 等<sup>[27]</sup>评估了 ABO 血型、易栓症相关多态性、抗  $\beta 2$  糖蛋白 I 抗体、抗心脂抗体等患 PE 的风险,结果表明仅血型 AB 为 PE 的风险因子,但作者强调应做进一步的评估。

### 3 其他母体变量标记物

个别研究中,下面列举的也作为 PE 标记物:

- ①  $H_2O_2$  和 NO;
- ② 抗氧化状态、氧化应激、胎盘和内皮功能、血清脂质的浓聚物;
- ③ 代谢产物;
- ④ L-精氨酸和内皮损伤标记物;
- ⑤ 凝血调节蛋白和纤连蛋白;
- ⑥ 产前诊断和生物化学标记物。

Aris 等<sup>[28]</sup>对 PE 孕妇胎盘循环中监测到,  $H_2O_2$  水平增加的同时 NO 水平是减少的。Chappell 等<sup>[29]</sup>评估抗氧化剂状态、氧化应激、胎盘和内皮功能障碍和血清脂质浓聚物,表明 PE 患者和小胎龄儿孕妇的抗坏血酸是明显减少,且瘦素、胎盘生长因子、PAI-1/PAI-2 比率和尿酸水平能预测 PE 的发展。Kengny 等<sup>[30]</sup>评估了各种代谢产物作为 PE 的预测,指出血浆中小分子代谢产物水平能诊断 PE。这些结果表明代谢组学技术对筛选 PE 是非常有前景的。

Noris 等<sup>[31]</sup>通过高效液相色谱法检测出脐带血和绒毛组织 NO 的前体 L-精氨酸的浓度是明显降低的。这其中的缘由是精氨酸酶 II(arginaseII,这个酶能把精氨酸降解成鸟氨酸)的基因表达和蛋白质组织内容在 PE 绒毛组织中比正常孕妇更高。这就也就能用生物学解释子痫前期胎盘 NO 活性缺陷和氧化性应激的增加。正常胎盘,足够浓度的 L-精氨酸作用于内皮 NO ecNOS(nitric oxide synthase)异型体向 NO 转化。而在 PE 患者体内 L-精氨酸酶 II 过度表达直接将 ecNOS 向过氧亚硝基转化引起

正常 L-精氨酸浓度更低。但 Noris 等的研究也存在不足:如她们是从孕妇有明显的 PE 的临床表现才开始关注的,而通常在妊娠晚期这些标记物的水平改变先于临床表现。

Shaaraway 等<sup>[32]</sup>评估了内皮损伤标记物,表明 PE 患者严重程度与 PAI-1、纤连蛋白的循环水平正相关,而与血栓调节蛋白没什么关系。Stamilio 等<sup>[33]</sup>却从产前诊断和生物化学标记物去关注,发现了与重度 PE 密切相关的因素:未生育过产妇、PE 病史、平均动脉压升高。

### 4 结 论

综合上述文献:特殊血管生长因子(sVEGF、PLGF)和抗血管生长因子(sFlt-1,sEng)标记物和蛋白质组学标记物(纤维蛋白原和  $\alpha 1$ -抗胰凝乳蛋白酶、SERPINA1、白蛋白、1-抗胰凝乳蛋白酶和 P1-P13)对预测 PE 具有重要意义,sFlt-1 水平增加和 PLGF 水平减少能预测 PE 的后续发展。因此联合检测上述标记物有望成为临床预测和早期诊断 PE 的指标,有利于 PE 病因及发病机制的研究和子痫前期防治,以及降低围产期母婴死亡率。

### 参 考 文 献

- [1] Duley L. The global impact of pre-eclampsia and eclampsia [J]. *Semin Perinatol*, 2009, 33:130-137.
- [2] Sibai BM, Caritis SN, Hauth J. What we have learned about preeclampsia [J]. *Semin Perinatol*, 2003, 27:239-246.
- [3] Kanno S, Oda N, Abe M, et al. Roles of two VEGF receptors, Flt-1 and KDR, in the signal transduction of VEGF effects in human vascular endothelial cells [J]. *Oncogene*, 2000, 19:2138-2146.
- [4] Mutter WP, Karumanchi SA. Molecular mechanisms of preeclampsia [J]. *Microvasc Res*, 2008, 75:1-8.
- [5] Maynard SE, Venkatesha S, Thadhani R, et al. Soluble Fms-like tyrosine kinase 1 and endothelial dysfunction in the pathogenesis of preeclampsia [J]. *Pediatr Res*, 2005, 57:1R-7R.
- [6] Levine RJ, Lam C, Qian C, et al. Soluble endoglin and other circulating antiangiogenic factors in preeclampsia [J]. *N Engl J Med*, 2006, 355:992-1005.
- [7] Rana S, Karumanchi SA, Levine RJ, et al. Sequential changes in antiangiogenic factors in early pregnancy and risk of developing preeclampsia [J]. *Hypertension*, 2007, 50:137-42.
- [8] Baumann MU, Bersinger NA, Mohaupt MG, et al. First-trimester serum levels of soluble endoglin and soluble fms-like tyrosine

- kinase-1 as firsttrimester markers for late-onset preeclampsia[J]. *Am J Obstet Gynecol*,2008,199:266. e1-266. e6.
- [9] Bills VL, Varet J, Millar A, et al. Failure to up-regulate VEGF165b in maternal plasma is a first trimester predictive marker for pre-eclampsia[J]. *Clin Sci*,2009,116:265-272.
- [10] Espinoza J, Romero R, Nien JK, et al. Identification of patients at risk for early onset and/or severe preeclampsia with the use of uterine artery Doppler velocimetry and placental growth factor[J]. *Am J Obstet Gynecol*,2007,196:326. e1-326. e13.
- [11] Parra M, Rodrigo R, Barji P, et al. Screening test for preeclampsia through assessment of uteroplacental blood flow and biochemical markers of oxidative stress and endothelial dysfunction[J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2005,193:1486-1491.
- [12] Kim YN, Lee DS, Jeong DH, et al. The relationship of the level of circulating antiangiogenic factors to the clinical manifestations of preeclampsia[J]. *Prenat Diagn*, 2009, 29(5):464-470.
- [13] Levine RJ, Maynard SE, Qian C, et al. Circulating angiogenic factors and the risk of preeclampsia[J]. *N Engl J Med*,2004, 350:672-683.
- [14] Lim JH, Kim SY, Park SY, et al. Effective prediction of preeclampsia by a combined ratio of angiogenesis-related factors[J]. *Obstet Gynecol*, 2008,111:1403-1409.
- [15] Maynard SE, Min JY, Merchan J, et al. Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1) may contribute to endothelial dysfunction, hypertension, and proteinuria in preeclampsia[J]. *J Clin Invest*,2003,111:649-658.
- [16] Blumenstein M, McMaster MT, Black MA, et al. A proteomic approach identifies early pregnancy biomarkers for preeclampsia: novel linkages between a predisposition to preeclampsia and cardiovascular disease [J]. *Proteomics*, 2009,9:2929-2945.
- [17] Buhimschi IA, Zhao G, Funai EF, et al. Proteomic profiling of urine identifies specific fragments of SERPINA1 and albumin as biomarkers of preeclampsia [J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2008,199:551. e1-551. e16.
- [18] Sibai B, Romero R, Klebanoff MA, et al. Maternal plasma concentrations of the soluble tumor necrosis factor receptor 2 are increased prior to the diagnosis of preeclampsia[J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2009,200:630. e1-630. e8.
- [19] Von Versen-Hoeynck FM, Hubel CA, Gallaherl MJ, et al. Plasma levels of inflammatory markers neopterin, sialic acid, and C-reactive protein in pregnancy and preeclampsia[J]. *Am J Hypertens*,2009,22:687-692.
- [20] Tjoa L, van Vugt JMG, Gob ATJJ, et al. Elevated C-reactive protein levels during first trimester of pregnancy are indicative of preeclampsia and intrauterine growth restriction [J]. *J Reprod Immunol*,2003,59:29-37.
- [21] Romero R, Kusanovic JP, Than NG, et al. First-trimester maternal serum PP13 in the risk assessment for preeclampsia [J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2008,199:122. e1-122. e11.
- [22] Spencer K, Cowans NJ, Chefetz I, et al. Firsttrimester maternal serum PP-13, PAPP-A and second-trimester uterine artery Doppler pulsatility index as markers of preeclampsia [J]. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2007,29:128-134.
- [23] Zwahlen M, Gerber S, Bersinger NA. First trimester markers for pre-eclampsia: placental vs. non-placental protein serum levels[J]. *Gynecol Obstet Invest*,2007,63:15-21.
- [24] Ng EKO, Tse Leung N, Tsui NBY, et al. The concentration of circulating corticotropin-releasing hormone mrna in maternal plasma is increased in preeclampsia[J]. *Clin Chem*,2003,49: 5:727-731.
- [25] Farina A, Sekizawa A, De Sanctis P, et al. Gene expression in chorionic villous samples at 11 weeks' gestation from women destined to develop preeclampsia[J]. *Prenat Diagn*,2008,28: 956-961.
- [26] Purwosunu Y, Sekizawa A, Okazaki S, et al. Prediction of preeclampsia by analysis of cell-free messenger RNA in maternal plasma[J]. *Am J Obstet Gynecol*,2009,200:386. e1-386. e7.
- [27] Hiltunen LM, Laivuori H, Rautanen A, et al. Blood group AB and factor V Leiden as risk factors for pre-eclampsia: a population based nested case-control study[J]. *Thromb Res*, 2009,124:167-173.
- [28] Aris A, Benali S, Ouellet A, et al. Potential biomarkers of preeclampsia: inverse correlation between hydrogen peroxide and nitric oxide early in maternal circulation and at term in placenta of women with preeclampsia[J]. *Placenta*,2009,30: 342-347.
- [29] Chappell LC, Seed PT, Briley A, et al. A longitudinal study of biochemical variables in women at risk of preeclampsia[J]. *Am J Obstet Gynecol*,2002,187:127-36.
- [30] Kenny LC, Dunn WB, Ellis DI, et al. Novel biomarkers for preeclampsia detected using metabolomics and machine learning[J]. *Metabolomics*, 2005,1:227-234.
- [31] Noris M, Todeschini M, Cassis P, et al. L-arginine depletion in preeclampsia orients nitric oxide synthase toward oxidant species[J]. *Hypertension*,2004,43:614-622.
- [32] Shaarawy M, Didy HE. Thrombomodulin, plasminogen activator inhibitor type 1 (PAM) and fibronectin as biomarkers of endothelial damage in preeclampsia and eclampsia[J]. *Int J Gynecol Obstet*,1996,55:135-139.
- [33] Stamiliio DM, Sebdev HM, Morgan MA, et al. Can antenatal clinical and biochemical markers predict development of severe preeclampsia[J]. *Am J Obstet Gynecol*,2000,182:589-594.

编辑:郭丽丽

(收稿日期:2011-10-24)