

IGF-1、PLGF 水平与早发型子痫前期的关系研究

杨丽萍 侯俊德 冯海芹 刘彩茹 张丽娜

【摘要】目的 探讨早发型子痫前期孕妇血清及胎盘组织胰岛素样生长因子-1(IGF-1)和胎盘生长因子(PLGF)水平与早发型子痫前期的关系及临床意义。**方法** 选取早发型子痫前期孕妇 50 例(观察组),按子痫前期的病情程度诊断标准分为重度组(27 例)和轻度组(23 例)。选取同期行规范产前检查并住院分娩的正常晚期孕妇 25 例作为对照组。采用 ELISA 法检测孕妇血清 IGF-1、PLGF 水平,采用免疫组化 SP 法检测胎盘组织 IGF-1、PLGF 水平。比较观察组与对照组孕妇 IGF-1、PLGF 水平,并分析观察组孕妇 IGF-1 水平与 PLGF 水平相关性。**结果** 观察组孕妇血清及胎盘组织 IGF-1、PLGF 水平均低于对照组(均 $P < 0.05$),且重度组孕妇血清及胎盘组织 IGF-1、PLGF 水平均低于轻度组(均 $P < 0.05$)。观察组孕妇血清、胎盘组织 IGF-1 水平与相应的 PLGF 水平均呈正相关($r = 0.639, 0.576$, 均 $P < 0.05$)。**结论** 孕妇血清及胎盘组织 IGF-1、PLGF 水平可作为预测早发型子痫前期发病和疾病严重程度的指标。

【关键词】 胰岛素样生长因子-1 胎盘生长因子 早发型子痫前期

子痫前期是妊娠期高血压疾病发展的严重阶段,是妊娠期特有的并发症,依据孕周可分为早发型和晚发型。早发型子痫前期指孕 34 周前发病^[1],其危害性远大于晚发型,可引起全身多脏器的损害,是导致孕产妇及围生儿病死率升高的主要疾病之一^[2-3]。早发型子痫前期病因和发病机制迄今尚未明确,故有效预测早发型子痫前期的发病风险并及早干预成为妇产科临床研究的重点。目前研究认为,胎盘浅着床和血管重铸障碍是其发生的中心环节^[4],同时妊娠过程中滋养细胞的生物学行为也受细胞因子影响,具有促进血管生成及增加血管通透性作用。现已发现,胰岛素样生长因子-1(IGF-1)与胎盘生长因子(PLGF)能促进胎盘滋养细胞的侵入及迁移,降低血管重铸障碍,维持血管内皮细胞功能,改善血管通透性及胎盘缺血缺氧状态。基于此,本研究通过检测孕妇血清及胎盘组织中 IGF-1、PLGF 水平,探讨两者与早发型子痫前期的关系及临床意义,现报道如下。

1 对象和方法

1.1 对象 选取 2014 年 3 月至 2015 年 4 月在本院产

科行规范产前检查并住院分娩的早发型子痫前期孕妇 50 例(观察组),按子痫前期的病情程度诊断标准分为重度组(27 例)和轻度组(23 例)。选取同期在本院行规范产前检查并住院分娩的正常晚期孕妇 25 例作为对照组。3 组孕妇均为单胎初产妇,3 组孕妇年龄、孕周比较差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$),见表 1。

表 1 3 组孕妇年龄、孕周比较

组别	n	年龄(岁)	采血孕周(周)	分娩孕周(周)
重度组	27	26.2 ± 1.7	30.1 ± 2.1	34.6 ± 1.3
轻度组	23	28.3 ± 1.4	30.3 ± 1.2	36.3 ± 1.4
对照组	25	27.4 ± 0.9	30.5 ± 1.6	38.0 ± 1.1
P 值		>0.05	>0.05	>0.05

1.2 标本采集及处理 3 组孕妇均在清晨空腹抽取肘正中静脉血 5ml,于 4℃下以 3 000r/min 离心 15min,分离血浆,取上清液,置于 EP 管, -20℃低温冰箱保存待用。3 组孕妇均在胎盘娩出后,即刻在无菌状态下取母面中央近脐带处避开钙化区的胎盘组织 2 份,大小约 1.5cm×1.5cm×1.5cm,漂洗干净后,置入 10%中性甲醛溶液固定 24h 以上,随后常规石蜡包埋,制成蜡块切成 4μm 切片备用。

1.3 血清 IGF-1、PLGF 水平检测 采用 ELISA 法检测,检测试剂盒均购自深圳晶美生物公司,先将试剂盒室温复温平衡 30min;用蒸馏水稀释成原倍的洗涤液;加入标准品和待测样本:设置标准品孔、待测样本孔和

doi:10.12056/j.issn.1006-2785.2017.39.19.2016-117

基金项目:河北省卫生和计划生育委员会科研基金项目(20140307)

作者单位:056008 河北,邯郸市中心医院产科

通信作者:杨丽萍, E-mail:1119673794@qq.com

空白对照孔,记录各孔位置,在标准品孔中加入标准品 50 μ l;待测样本孔中先加入待测样本 10 μ l,再加样本稀释液 40 μ l;37 $^{\circ}$ C 恒温箱温育 30min;反复洗板 5 次;每孔加入酶标工作液 50 μ l;37 $^{\circ}$ C 恒温箱温育 30min;重复洗板 5 次;每孔加入显色剂 A 液 50 μ l,再加入显色剂 B 液 50 μ l,平板混匀器混匀 30s,37 $^{\circ}$ C 避光显色 15min;每孔加终止液 50 μ l,终止反应;在终止后 15min 内,用 450nm 波长测量各孔的吸光度值(OD 值);以 OD 值为纵坐标,相应的标准品浓度为横坐标,作相应的曲线,样本的相应浓度可根据其 OD 值由标准曲线换算出。

1.4 胎盘组织 IGF-1、PLGF 水平检测 采用免疫组化法 SP 检测,免疫组化染色步骤严格按照兔 SP 检测试剂盒(北京中杉生物技术公司)说明书进行。将石蜡切片置入 60 $^{\circ}$ C 烤片机中烘烤 20min,PBS 充分洗涤后,二甲苯脱蜡,不同浓度乙醇(100%、95%、90%、85%、70%)水化,浸于枸橼酸钠缓冲液(pH 值为 6.0)中,置于沸水(100 $^{\circ}$ C)中孵育 20min,室温 20min,3%过氧化氢溶液中室温下孵育 20min,封闭 20min,PBS 洗涤,分别滴加兔抗人 IGF-1 多克隆抗体(美国 Proteintech 公司,批号:10924-2-AP;)和兔抗人 PLGF 多克隆抗体(美国 Proteintech 公司,批号:10424-1-AP),湿盒 4 $^{\circ}$ C 过夜。PBS 清洗,滴加辣根过氧化物酶标记的羊抗兔 IgG 抗体(北京中杉生物技术公司,批号:ZDR-5401)室温孵育 30min,DAB 试剂盒(北京中杉生物技术公司,批号:PV-9000-D)显色。以 PBS 液代替一抗作为阴性对照。苏木素复染、脱水、透明、封片,镜下观察。结果判定:IGF-1 及 PLGF 阳性细胞表现为细胞质内有棕黄色颗粒,每张切片随机选取 5 个不重复的高倍视野($\times 400$),用 Powersite 显微图像分析系统计算每高倍视野滋养细胞的平均光密度值,以光密度值作为反映 IGF-1、PLGF 水平的指标。

1.5 统计学处理 应用 SPSS17.0 统计软件;计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD- t 检验;IGF-1 水平与相应部位 PLGF 水平进行直线相关分析; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3 组孕妇血清 IGF-1、PLGF 水平比较 见表 2。

表 2 3 组孕妇血清 IGF-1、PLGF 水平比较(μ g/L)

组别	<i>n</i>	IGF-1	PLGF
重度组	27	21.53 $\pm$ 2.68	33.57 $\pm$ 4.14
轻度组	23	32.35 $\pm$ 3.47	51.40 $\pm$ 6.03
对照组	25	45.12 $\pm$ 5.26	65.23 $\pm$ 7.41
<i>P</i> 值		< 0.05	< 0.05

由表 2 可见,3 组孕妇血清 IGF-1、PLGF 水平比较差异均有统计学意义($P < 0.05$),观察组孕妇血清 IGF-1、PLGF 水平均低于对照组(均 $P < 0.05$),且重度组孕妇血清 IGF-1、PLGF 水平均低于轻度组(均 $P < 0.05$)。

2.2 3 组孕妇胎盘组织 IGF-1、PLGF 水平比较 见表 3。

表 3 3 组孕妇胎盘组织 IGF-1、PLGF 水平比较(光密度值)

组别	<i>n</i>	IGF-1	PLGF
重度组	27	28.18 $\pm$ 4.64	43.21 $\pm$ 5.28
轻度组	23	40.38 $\pm$ 5.15	61.13 $\pm$ 6.82
对照组	25	63.39 $\pm$ 7.01	82.34 $\pm$ 8.56
<i>P</i> 值		< 0.05	< 0.05

由表 3 可见,3 组孕妇胎盘组织 IGF-1、PLGF 水平比较差异均有统计学意义($P < 0.05$),观察组孕妇胎盘组织 IGF-1、PLGF 水平均低于对照组(均 $P < 0.05$),且重度组孕妇胎盘组织 IGF-1、PLGF 水平均低于轻度组(均 $P < 0.05$)。

2.3 观察组孕妇 IGF-1 水平与 PLGF 水平相关性分析 观察组孕妇血清、胎盘组织 IGF-1 水平与相应的 PLGF 水平均呈正相关($r = 0.639, 0.576$, 均 $P < 0.05$)。

3 讨论

早发型子痫前期是孕产妇及围生儿死亡最常见的原因之一,也是导致医源性早产最常见的原因,因母儿双方的利益难以平衡,临床处理非常棘手。早发型子痫前期病因与发病机制十分复杂,多系统功能参与其中,至今具体情况不甚明了。

IGF-1 是近年来发现的一种调节内皮细胞生长因子,由 70 个氨基酸组成,由胎盘组织中的合体滋养细胞、细胞滋养细胞及胎膜的平滑绒毛层细胞合成,可调节滋养细胞的侵入、迁移及舒张胎盘血管的作用,与滋养细胞的浸润密切相关^[5]。IGF-1 可以使血管平滑肌细胞合成 NO 增加并增加 Na⁺/K⁺ATPase 活性,从而发挥舒张血管作用,参与血压的调节^[6]。本研究结果显示,早发型子痫前期轻、重度孕妇血清及胎盘组织 IGF-1 水平均明显低于正常孕妇,且伴随疾病的严重程度加重而逐渐降低。这说明血清及胎盘组织 IGF-1 水平的异常与早发型子痫前期的发病相关,并在一定程度上反映了病情的轻重。母体血清 IGF-1 水平降低,导致其舒张血管作用下降,血管舒缩障碍,胎盘供血不足、缺血缺氧,导致胎盘局部 IGF-1 表达减少,使滋养细胞浸润能力下降,进而引起子宫螺旋小动脉重铸障碍,促进早发型子痫前期的发生和发展。本研究结果与 Rohra 等^[7]及张海

芬等^[8]研究结论一致。

PLGF 是一种血管内皮生长因子,由合体滋养细胞和细胞滋养细胞分泌,通过与特异性血管内皮生长因子受体相结合而发挥其生物功能,可促进滋养细胞增殖、迁移及诱导血管生成的作用,并参与血管重铸过程^[9]。本研究结果显示,早发型子痫前期轻、重度孕妇血清及胎盘组织 PLGF 水平均明显低于正常孕妇,且随着病情加重有逐渐下降趋势。推测早发型子痫前期孕妇可能由于胎盘缺血缺氧,滋养细胞合成分泌 PLGF 下降,而 PLGF 生成减少后,使早发型子痫前期孕妇滋养细胞增殖和浸润能力受到限制,血管生成和形成受阻,导致胎盘浅着床和血管重铸障碍,使胎盘缺血缺氧进一步加重,引起恶性循环^[10-11],最终导致早发型子痫前期发生和发展。由此说果 PLGF 与早发型子痫前期的发生、发展密切相关,且其水平的变化对于预测早发型子痫前期的预后也具有重要意义。但也有学者得出的 PLGF 水平与本研究结果有差异,可能与不同条件下子痫前期的诊断、吸烟、药物治疗、不同公司的检测试剂盒、孕龄及患者的种族起源等诸多因素有关^[12]。

本研究还发现,早发型子痫前期孕妇血清及胎盘组织 IGF-1 水平与相应的 PLGF 水平呈正相关。这提示可能是由于 IGF-1 水平降低而引起胎盘血管舒张功能障碍,导致胎盘组织缺血、缺氧,而胎盘缺血缺氧又进一步抑制合体滋养细胞和细胞滋养细胞 PLGF 的表达;PLGF 释放的减少又加重了胎盘缺血缺氧,形成恶性循环,最终诱发或加重早发型子痫前期的发生。因此,及时监测孕妇血清及胎盘组织 IGF-1、PLGF 水平的变化,对早发型子痫前期的早期预防及病情的评估具有重要的临床意义。

4 参考文献

- [1] 黄萍, 张林艳, 姜文静. 早发型重度子痫前期的诊治进展[J]. 中国妇产科临床杂志, 2014, (1):92-94.
- [2] 武春梅, 张爱英. 早发型和晚发型重度子痫前期的特点及妊娠结局[J]. 安徽卫生职业技术学院学报, 2014, 13 (3):27-28.
- [3] 钱卫, 周倩, 刘憬兰, 等. 早发型子痫前期与晚发型子痫前期重度子痫前期临床表现及母婴结局的对比分析 [J]. 现代生物医学进展, 2011, 11(5):2461-2463.
- [4] 冯亚玲, 许倩, 项静英. 早发型子痫前期病因及其预测的研究进展[J]. 中华妇幼临床医学杂志, 2013, 9 (1):113-116.
- [5] 彭红婴, 薛敏, 夏爱斌. 子痫前期患者血清及胎盘中 IGF-1、瘦素水平变化及相关性研究[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2011, 27(2):192-194.
- [6] 周飞, 程小尧, 王滢, 等. IGF-1 与妊娠期高血压疾病的关系[J]. 四川医学, 2014, 32(4):468-470.
- [7] Rohra D K, Zeb A, Qureshi K N, et al. prediction of preeclampsia during early pregnancy in primiparas with soluble fmslike tyrosine kinase-1 and placental growth factor[J]. Natl Med J India, 2012, 25(2):68-73.
- [8] 张海芬, 贾永森, 李晓林, 等. 子痫前期患者血清 IGF-1 和 PLGF 的表达及临床意义[J]. 河北联合大学学报(医学版), 2013, 15(3):307-308.
- [9] Mandala M, Osol G. Physiological Remodelling of the Maternal Uterine Circulation during Pregnancy[J]. Basic Clin Pharmacol Toxicol, 2012, 110(1):12-18.
- [10] Duhig K E, Chappel L C, Shennan A H, et al. How placental growth factor detection might improve diagnosis and management of pre-eclampsia[J]. Expert Rev Mol Diagn, 2014, 14(4):403-406.
- [11] 彭文, 王燕芸, 贾颐舫. 子痫前期患者胎盘组织及外周血 PLGF 及 sFlt-1 的表达及作用机制[J]. 中国妇幼保健, 2015, 30(26):4559-4561.
- [12] Konstanze Miehle, Holger Stepan, Mathias Fasshauer. Leptin, adiponectin and other adipokines in gestational diabetes mellitus and pre-eclampsia[J]. Clin Endocrinol, 2012, 76 (1):2-11.

(收稿日期:2016-01-18)

(本文编辑:李媚)

《浙江医学》对作者署名的一般要求

同时具备以下 3 项条件者方可署名为作者:(1)参与选题和设计或资料的分析与解释者;(2)起草或修改论文中关键性理论或其他主要内容者;(3)能对编辑部的修改意见进行核修,在学术界进行答辩,并最终同意该文发表者。仅参与研究项目资金的获得或收集资料者不能列为作者,仅对科研小组进行一般管理者也不宜列为作者。对文章中的各主要结论,均必须至少有 1 位作者负责。作者中如有外籍作者,应征得其同意,并在投稿时向编辑部提供相应证明材料。集体署名的文稿,在题名下列出署名单位,于文末列出整理者姓名,并须明确该文的主要负责人,在论文首页脚注通信作者姓名、单位、邮政编码及 E-mail 地址。通信作者一般只列 1 位,由投稿者确定。如需注明协作组成员,则于文末参考文献前列出协作组成员的单位及姓名。作者的具体排序应在投稿前即确定,在编排过程中不应再改动,确需改动时必须出示单位证明。

本刊编辑部