

血清sFlt-1/PlGF和胎盘CD146与子痫前期的相关性

丁 盈*, 于复洲, 郑祎祎

嘉兴市妇幼保健院, 浙江 嘉兴

收稿日期: 2022年8月9日; 录用日期: 2022年9月2日; 发布日期: 2022年9月13日

摘 要

目的: 通过比较实验组(子痫前期患者)和对照组(正常妊娠孕妇)血清内可溶性酪氨酸激酶受体-1 (soluble fms-like tyrosine kinase-1, sFlt-1)与胎盘生长因子(Placental growth factor, PlGF)的改变及分娩后胎盘CD146的表达情况及血清中sFlt-1/PlGF值的变化与胎盘CD146的表达之间的关系, 来探究与子痫前期发病的相关性。研究方法: 收集2020年1月~2021年10月在山东省青岛市市立医院东院区产科就诊并诊断为子痫前期的剖宫产分娩患者55例为实验组, (子痫前期诊断标准及分类参照谢庆主编的《妇产科学》第九版)取同期经选择性剖宫分娩的正常孕妇60例作为对照组, 应用酶联免疫吸附法检测血清中sFlt-1、PlGF及sFlt-1/PlGF值的变化, 选取分娩后实验组与对照组胎盘所制蜡块, 应用免疫组织化学法检测胎盘CD146的表达, 共成功检测标本115例, 分析与子痫前期相关性。结果: 1) 实验组和对照组一般资料(身高、体重、年龄)差异无统计学意义($P > 0.05$)。2) 实验组PlGF的水平为 30.489 ± 7.250 (pg/ml), 对照组PlGF水平 145.599 ± 137.658 (pg/ml), 实验组PlGF明显低于对照组, $P < 0.001$, 差异具有统计学意义。3) 实验组sFlt-1水平为 3828.496 ± 965.079 (pg/ml), 对照组sFlt-1水平为 1522.012 ± 261.275 (pg/ml), 对照组的sFlt-1要显著低于实验组, $P < 0.001$, 其差异有统计学价值。4) 实验组sFlt-1/PlGF水平为 150.387 ± 116.903 (pg/ml), 对照组sFlt-1/PlGF水平为 15.679 ± 7.505 (pg/ml), 实验组中sFlt-1/PlGF明显高于对照组, $P < 0.05$, 差异具有统计学意义。5) 实验组胎盘CD146表达与对照组比较, 实验组胎盘呈低表达或不表达, 对照组呈高表达或强表达, 差异具有统计学意义($P < 0.05$)。6) 胎盘CD146表达情况与sFlt-1/PlGF具有相关性, $P < 0.01$, $r = -0.934$, 差异具有统计学意义。

关键词

子痫前期, 胎盘生长因子, 可溶性酪氨酸血管内皮生长因子受体-1, 胎盘CD146, 相关性

Correlation of sFlt-1/PlGF and Placental CD146 with Preeclampsia

Ying Ding*, Fuzhou Yu, Yiyi Zheng

*通讯作者。

Abstract

Objective: By comparing the changes of soluble FMS-like Tyrosine kinase-1 (sFlt-1) in serum and Placental growth factor (PlGF), Placental CD146 expression after delivery, sFlt-1/PlGF changes in serum and Placental CD146 expression in the experimental group (preeclampsia) and the control group (normal pregnancy), explore the association with the onset of preeclampsia. **Research methods:** Collect 55 patients with cesarean section delivery diagnosed with preeclampsia in January 2020 to October 2021 in maternity clinic, east campus, Qingdao Hospital in Shandong province as the experimental group. (The diagnostic criteria and classification of preeclampsia refer to the ninth edition of Obstetrics and Gynecology edited by Xie Qing). In the same period by the selective normal pregnant women in childbirth 60 cases as control group, the changes of serum sFlt-1, PlGF and sFlt-1/PlGF values were detected by ELISA. The expression of CD146 in the placenta of the experimental group and control group was detected by immunohistochemistry after delivery. A total of 115 cases of placenta were successfully detected, and the correlation with preeclampsia was analyzed. **Results:** 1) There was no significant difference in general information (height, weight and age) between the experimental group and the control group ($P > 0.05$). 2) The level of PlGF in the experimental group was 30.489 ± 7.250 (pg/ml), and that in the control group was 145.599 ± 137.658 (pg/ml). The level of PlGF in the experimental group was significantly lower than that in the control group, $P < 0.001$, and the difference was statistically significant. 3) The level of sFlt-1 in the experimental group was 3828.496 ± 965.079 (pg/ml), and that in the control group was 1522.012 ± 261.275 (pg/ml). The level of sFlt-1 in the control group was significantly lower than that in the experimental group, $P < 0.001$, and the difference was statistically significant. 4) The level of sFlt-1/PlGF in the experimental group was 150.387 ± 116.903 (pg/ml), and the level of sFlt-1/PlGF in the control group was 15.679 ± 7.505 (pg/ml). The sFlt-1/PlGF in the experimental group was significantly higher than that in the control group, $P < 0.05$. The difference was statistically significant. 5) Compared with the control group, the expression of CD146 in the placenta of the experimental group was low or not high, while that of the control group was high or strong, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). 6) Placental CD146 expression was correlated with sFlt-1/PlGF, $P < 0.01$, $r = -0.934$, the difference was statistically significant.

Keywords

Preeclampsia, Placental Growth Factor, Soluble Tyrosine Vascular Endothelial Growth Factor Receptor-1, The Placenta CD146, The Correlation

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

妊娠期高血压疾病是妊娠且伴随血压升高的一种疾病，一般会伴随全身水肿、蛋白尿、肝脏和肾脏功能损害、头痛、视物模糊等临床表现的妊娠期各个系统损伤性疾病[1]。在妊娠期相关的各类高血压疾病中，子痫前期(preeclampsia, PE)的发病率排名第一，不论是母体方面还是胎儿方面，都造成了一定的生

命安全方面的威胁[2]。同时也不利于胎儿生长发育。从全球角度来看,子痫前期的发病率约为3%~5%,而在国内人群中,其发病率约为9%~10%,随着我国计划生育政策的不断放开,子痫前期发病率明显升高,占有育龄妇女的3.2%~12% [3]。

目前关于子痫前期的发病机制仍不明确,病理生理机制复杂同时也伴随各个系统功能改变,临床上也没有有效的药物治疗子痫前期。根据近些年的研究,目前认为机制主要有以下几种:1) 遗传与环境交互作用;2) 母体-胎儿之间免疫平衡失调;3) 螺旋动脉重铸;4) 滋养细胞分化障碍;5) 胎盘内血管的血流灌注欠佳而产生的血流减少及氧气不足;6) 内皮细胞功能障碍;7) 全身炎症反应。早些年,子痫前期的机制一直被认为是二阶段学说。第一阶段是在妊娠8周至18周之间,因胎盘发育还未成熟,胎盘绒毛间隙灌注功能失调导致子痫前期的发生,一般不产生临床症状。下一阶段是在妊娠18周之后,因胎盘的母胎界面发生氧化应激,将一些血管内皮生长因子等释放到母体循环中,出现临床症状如高血压、蛋白尿等。随着深入探究子痫前期的发病机制,又进一步细化继续提出了六阶段学说。第一阶段是由于同房和受精之间的时间较短,从而导致母体对胚胎中来自男性配偶一方的基因缺乏耐受性。第二阶段过程中,滋养细胞侵袭子宫螺旋小动脉,多发生在妊娠的第8周至18周之间,当胎盘有缺陷时,产生应激反应,这一过程为子痫前期的第三阶段。第四阶段与母亲血液中胎盘衍生因子过多或不足有关。通常没有临床症状,如果出现高血压、蛋白尿、水肿等症状出现,这就说明第五阶段已经开始。低于1/2的子痫前期患者会转到第六阶段,这个阶段胎盘灌注进一步减少,螺旋动脉弹性消失,螺旋动脉血栓形成和胎盘梗死[4]。综合以上研究来看,滋养细胞浸润过浅或浸润障碍导致螺旋小动脉重铸障碍和内皮细胞功能障碍是子痫前期发病机制中的两个关键特征,且目前子痫前期的临床诊断主要靠临床表现。通过现有的手段很难有效地诊断和预测指标。所以对症治疗和终止妊娠是该病最常见的临床处理措施。本文通过探究PIGF、sFlt-1、CD146等相关特异性指标,从该病的滋养细胞浸润障碍及内皮细胞障碍分析与子痫前期的相关性,为临床上识别、干预、治疗提供帮助。

PIGF是一种二元多聚异受体糖原球蛋白,起初是由Maglione [5]等人最先获得,他们所用的方法是通过在人胎盘cDNA文库中提纯而得到,主要在滋养细胞表达[6]。它与血管内皮生长因子具有高度的序列相似性,一般是通过自分泌或旁分泌在人胎盘的血管生成和滋养细胞增值分化中发挥作用。有研究显示去除妊娠小鼠的PIGF基因,胎盘血管的分支就会因此减少,再次给妊娠小鼠注射PIGF,随着PIGF的增多,也发现妊娠小鼠的滋养细胞侵袭能力增强[7]。此外,多项结果研究表明,在正常妊娠中,胎盘滋养细胞分泌PIGF,促进血管生成,但因为妊娠早期这一阶段,母体内的胎盘发育相对不足,其内部的血流结构不健全,使得胎盘的所需供给不足,所以在妊娠5~15周,PIGF水平较低;胎盘成长发育到后期,血流逐渐被完全确立,血液供应和氧气供应充分,由此导致胎盘中的相关血管结果发生变化,使其PIGF的产生和分泌增加,在15周之后迅速增加,于28~30周尤为明显,并达到最高值[8]。在滋养细胞所处的环境中,氧气浓度不足或血液供应不足时,均会导致PIGF含量减少,进而出现胎盘的自身功能发生改变,这就会使宫内的胎儿得不到生长发育所需要的物质和能量,可以引起一系列的妊娠相关疾病,这就可以得出一个推论,PIGF可以反应胎盘滋养层细胞的功能[8] [9]。

sFlt-1是合体滋养细胞分泌的生物活性因子之一,也是在滋养细胞中表达的,可以在合体滋养细胞中检测到较高浓度的sFlt-1,在早期子痫前期的发病机制中发挥重要作用[10]。sFlt-1属于PIGF的特异性配体,通过分子间结合进行信号传导,介导PIGF的功能,可以抑制PIGF生物活性,使血管生成受阻,导致滋养细胞破损[11]。已有研究表明,sFlt-1在子痫前期的发病过程中起重要作用,通过表达抑制血管活性的物质,从而使内皮细胞和滋养细胞的正常功能受到影响,影响滋养细胞增殖,阻碍了正常胎盘中母胎面的血管的产生及生长,由此出现胎盘的血流灌注不足及相应的氧气及营养物质缺乏。而sFlt-1又会因为前者氧含量不足而升高,出现恶性循环,引发子痫前期[12]。研究显示[13],PLGF会作用于内皮细

胞使其增殖, 加快胎盘血管生成, 并促进滋养细胞有丝分裂, 抑制滋养细胞凋亡。PLGF 水平降低容易引起胎盘血管生成障碍, 影响滋养细胞有丝分裂过程, 从而造成胎盘功能不良, 增加子痫前期发生风险。

免疫球蛋白超家族中有一个黏附分子是 CD146 (cluster of differentiation 146, 简称 CD146), 具有 I 型跨膜结构[14]。它也被称为 s-endo1, P1H12, Mel-CAM 和 MUC18, 是内皮细胞的一种被广泛描述的粘附标记物。由于 CD146 被认为具有特异性, 它的表达被作为鉴定循环内皮细胞(CECs)的唯一标准[15]。目前有许多相关研究文献已经报道, CD146 主要表达分布于血管内皮细胞、植入位点中间滋养层细胞[16]。CD146 也是血管内皮细胞的关键标志分子[15]。有研究发现 CD146 分子在胚胎正常发育过程中在侵袭性滋养细胞中表达, 但在妊娠高血压中, 滋养细胞的侵袭性显著降低, CD146 分子呈弱表达或不表达[17]。上述研究表明, 胎盘上 CD146 的表达和中间滋养层细胞浸润范围和浸润深度密切相关。

鉴于子痫前期发病率高, 且发病机制也未完全明确, 也没有好的治疗方式, 临床上患病数量高, 因此本课题以研究 sFlt-1/PLGF、胎盘 CD146 两者在子痫前期患者中表现出的相关性为目的, 从而为以后临床上子痫前期的诊断、治疗及其预防提供指导意义。也为科研人员更好地探究子痫前期的发病机制提供选择。

2. 研究材料与方法

2.1. 研究对象

选取就诊青岛市市立医院东院区产科孕妇, 就诊日期为 2020 年 1 月~2021 年 10 月, 按照以下纳入和排除标准进行分组, 研究组 55 例, 对照组 60 例。所有孕妇研究调查对象资料来源都经过相关知情人的同意。

2.1.1. 对照组纳入标准

- 1) 我国正常妊娠组年龄 25~40 岁的初产妇或经产妇;
- 2) 单胎活产;
- 3) 怀孕期间无血压异常, 定期定时产检, 尿蛋白检测均为阴性;
- 4) 无子痫前期家族病史;
- 5) 体质量指数(body mass index, BMI)在 18.5~24 之间。

2.1.2. 对照组排除标准

- 1) 多胎妊娠;
- 2) 前 3 个月有服用药物者;
- 3) 怀孕中出现妊娠期相关疾病;
- 4) 有慢性高血压病史、甲状腺功能亢进或甲状腺功能减退、心脏病、糖尿病、肝肾疾病病史、结缔组织病等疾病;
- 5) 各种原因导致的必要终止妊娠的;
- 6) 无法继续追踪的。

2.1.3. 实验组纳入标准

- 1) 中国正常妊娠组年龄 25~40 岁孕妇;
- 2) 单胎活产;
- 3) 符合子痫前期的诊断标准, 该诊断标准参考人卫出版社出版的全国高等学校教材第九版《妇产科学》;

- 4) 无子痫前期家族病史;
- 5) 体质量指数(body mass index, BMI)在 18.5~24 之间。

2.1.4. 实验组排除标准

- 1) 多胎妊娠;
- 2) 前 3 个月有服用药物者;
- 3) 怀孕中出现妊娠期相关疾病;
- 4) 有慢性高血压病史、甲状腺功能亢进或甲状腺功能减退、心脏病、糖尿病、肝肾疾病病史、结缔组织病等疾病;
- 5) 各种原因导致的必要终止妊娠的;
- 6) 无法继续追踪的。

2.2. 子痫前期诊断标准

本实验中所用诊断标准均以人民卫生出版社第九版《妇产科学》教科书中的诊断标准作为依据。

子痫前期诊断标准: 妊娠 20 周后出现收缩压 ≥ 140 mmHg 和(或)舒张压 ≥ 90 mmHg, 伴有尿蛋白 ≥ 0.3 g/24 h, 或随机尿蛋白(+)或虽然无蛋白尿, 但合并下列任何一项者:

- 血小板减少(血小板 $< 100 \times 10^9/L$);
- 肝功能损害(血清转氨酶水平为正常值 2 倍以上);
- 肾功能损害(血肌酐水平大于 1.1 mg/dl 或为正常值 2 倍以上);
- 肺水肿;
- 新发生的中枢神经系统异常或视觉障碍。

3. 实验方法及步骤

3.1. 临床资料收集

- 1) 主要信息: 孕妇的 ID、就诊卡号、联系电话、年龄、姓名、住院号、标本编号。
- 2) 妊娠相关信息: 末次月经、孕次、产次、胎次、流产次数、身高、体重、采血日孕周、怀孕期间血压波动范围、尿常规结果、24 小时蛋白尿定量分析、诊断为子痫前期的孕周、不良孕产史、心脏病、糖尿病、自身免疫疾病、肝脏肾脏疾病、家族遗传疾病、传染病、妊娠相关并发症合并症、既往是否发生过子痫前期等病史。

3.2. 血清标本采集与处理

- 1) 从空腹研究对象取 5 ml 肘部静脉血, 置于红色干管中, 可在 4℃冰箱中保存不超过 24 小时。如果 24 小时未能检测, 需将样本在-20℃冷冻保存(不超过 6 个月)。
- 2) 离心机 3000 r/min 离心 10~15 分钟。
- 3) 取上层血清 300 ul 分装于 EP 管中, 在管上标上姓名和实验编码。
- 4) 血清标本置于-80℃保存备用。
- 5) 血清样本在检测前放置 4℃~8℃溶解。
- 6) 打开荧光免疫分析仪。
- 7) 检查校准卡与试剂盒的批号是否一致, 然后把校准卡插入仪器中并将校准卡中的曲线导入仪器。
- 8) 取出检测卡放置室温后, 吸取 80 ul 血清样本分别滴加到 PIGF 检测卡及 sFlt-1 检测卡的加样孔中。
- 9) 室温反应 15 分钟。

- 10) 分别将检测卡插入荧光脉冲分析仪的承载器, 按下测试按钮, 仪器就会自动扫描检测卡。
- 11) 荧光免疫分析仪自动检测结果并计算样本中 sFlt-1 和 PlGF 的含量, 并给出 sFlt-1/PlGF 的值。
- 12) 将用完的检测卡移除, 将其妥善放置在生物危害品放置处。

3.3. 胎盘的采集与处理

- 1) 胎盘取材与固定: 应在胎儿分娩后, 首先取母体面, 大小为 $1 \times 1 \times 1$ cm 的组织, 立即将其置入 10% 的福尔马林中进行固定(最好不需要超过 24 小时)。
- 2) 脱水透明: 80%乙醇、90%乙醇、95%乙醇、100%乙醇, 依次每个 2 小时。
- 3) 浸蜡: 使组织完全包裹于石蜡中。
- 4) 包埋: 将固定、脱水、透明、浸蜡过的组织放在熔化的石蜡包埋框中。使胎盘组织和包埋剂冷却, 待凝固后, 根据要求贴上标签, 于零下 20℃ 冷却。
- 5) 切片: 使用德国徕卡厚度在 4 μ m 左右的显微切片对包埋的石蜡进行切片。将切片置于 40℃ 保温箱的液面上, 将其展平, 然后用载玻片收集并编号。
- 6) 烤片: 置于烤箱机内, 温度 60℃ 烘烤, 待水烤干, 蜡烤化后取出后于室温冷却。
- 7) 脱蜡: 在 65℃ 温度下, 对切片进行 20 分钟的烘烤, 将石蜡熔化到切片上。然后将二甲苯 I 溶液和二甲苯 II 溶液放入 37℃ 恒定温度的箱内加热 15 分钟, 将石蜡切片拿出并放在通风柜中, 置于二甲苯溶液内, 然后置于 37℃ 的保温箱中, 然后对每个二甲苯溶液进行 10 分钟的脱蜡。在脱蜡过程中, 必须确保每个切片的物质全部没入二甲苯溶液。
- 8) 水化: 在常温下, 分别将切片置于无水乙醇、无水乙醇、95%乙醇、80%乙醇、70%乙醇、50%乙醇和蒸馏水中, 每个 5 分钟。在水化过程中, 需要把切片上的组织全部没入乙醇溶液。
- 9) 过氧化物酶处理: 切片置于保湿盒, 给所有切片都滴入 1 滴 3% 的过氧化氢酶。为了使切片中的过氧化物酶的活性失活, 在常温将切片置于阴暗处 10 分钟。再用磷酸缓冲盐溶液多次冲洗, 每次冲洗时间约为 5 分钟左右, 共洗三次。
- 10) PH6.0 柠檬酸抗原修复(高压及高温修复): 将切片置于适量的抗原修复溶液内, 组织没入液面, 在 5℃~100℃ 下水浴加热 20 分钟左右。再用 20~30 分钟将其温度降至常温, 再用 PBS 清洗 3 次, 每次持续约 5 分钟。
- 11) 滴加 5% 羊血清封闭: 从组织切片上去除 PBS 缓冲剂, 用纸巾轻轻擦拭剩余的 PBS 缓冲剂, 依次将其放在保湿盒中, 用 5% 山羊血清将其密封, 依次将血清添加到组织切片, 应使所有切片都浸没在液体中。用 37℃ 保温箱中保温 1 小时。
- 12) 滴加一抗: 将组织切片上的残液甩掉, 将剩余残液用纸巾缓慢擦除。将抗 mcam 兔多克隆抗体滴入标本, 所有切片都浸没在液体中, 将等量的 5% 山羊血清注入阴性对照组, 并于 4℃ 冰箱内储存。在第二天, 将其用 PBS 缓冲液冲洗 2 次, 每次持续约 5 分钟。
- 13) 滴加二抗: 将组织切片上的 PBS 缓冲液甩掉, 小心擦拭剩余液体, 将处理后的组织切片放入保湿盒内, 并且依次给组织切片滴加酶标山羊抗兔 IgG, 静置于保温箱中, 温度设置在 37℃ 为宜, 时间约为 45 分钟。取出片子后, 对其用 PBS 缓冲液洗两次, 每次持续约 5 分钟。
- 14) DAB 显色: 将组织切片上的 PBS 缓冲液甩掉, 然后将上面的残液轻轻擦除, 将现制的 DAB 显色试剂溶液滴到所有切片上, 5 分钟暗处存放。利用显微镜来对切片染色情况进行观察, 细胞质和细胞膜为主要观察的染色部位, 当两者染色为褐色或黄色时则为阳性表现, 当染色较浅时, 可将染色时长增加, 最后用清水使染色停止。
- 15) 苏木素复染: 将切片经上述步骤处理后, 再放入苏木素液中进行染色 1 分钟, 再清水反复冲洗。

16) 脱水及透明: 在常温环境下, 用蒸馏水、50%乙醇、70%乙醇、80%乙醇、95%乙醇、无水乙醇和无水乙醇脱水, 置于二甲苯溶液 - 二甲苯溶液中脱水。将二甲苯溶液切片用中性树脂来封存, 将组织完全覆盖。在盖上盖玻片时要防止气泡, 然后将其自然干燥。

17) 观察: 显微成像系统中观察、拍片。

18) 分析: 图像分析。

3.4. 统计分析

利用计算机辅助统计分析软件 SPSS26.0, 通过该软件对所有实验数据进行定量统计分析, 统计描述采用平均值和标准差($\bar{x} \pm s$)进行分析。血清结果均符合正态分布。用 man-Whitney-u 试验用于对结果的对比, $P < 0.05$, 由此可得出结论, 差异有统计学意义, 使用计算机统计分析软件 SPSS26.0, 进行对胎盘的数据统计分析, 采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3.5. 胎盘的判定结果

检测 CD146 是用免疫组化法来分析胎盘组织中的定位和表达水平, 定位带有棕色或黄色细胞称为阳性细胞。病理学家双盲法阅片。将染色强度与阳性细胞分布区相组合, 通过这一方法进行半定量分析。通过评估相应阳性细胞所占据的分布面积: 阳性细胞数为 0, 细胞数 $< 10\%$ 为 1, 细胞数为 $10\% \sim 60\%$ 为 2, 细胞数为 60% 为 3。不同着色深度的阳性细胞分: 未着色记 0。浅黄色为弱阳性记 1, 棕色为强阳性记为 3, 黄色与棕色之间记为 2。将两种方法统算的分数作乘, 0~1: (-), 2~3: (+), 4~5: (++) , 5: (+++)。

4. 结果

1) 实验组与对照组之间年龄、身高、体重均没有统计学差异($P > 0.05$), 具体结果详见表 1。

2) 在对照组血清中, 其 sFlt-1/PIGF 的结果要比子痫前期组低, 其中($P < 0.05$), 即差异有统计学意义, 具体结果详见表 2。

3) 子痫前期孕妇组胎盘 CD146 呈低或不表达, 正常对照组胎盘 CD146 呈高表达, 见表 3。

4) 实验组与对照组胎盘 CD146 与血清中 sFlt-1/PIGF 不属于正态分布, 根据其胎盘表达情况及血清比值做斯皮尔曼相关性分析, 结果显示血清 sFlt-1/PIGF 与 CD146 负相关性。($P = 0.000, r = -0.934$)

Table 1. The differences of age, height and weight between the experimental group and the control group were analyzed
表 1. 实验组与对照组年龄、身高、体重差异性分析

	年龄(岁)	身高(cm)	体重(kg)
实验组(n = 55 例)	31.763 ± 5.511	164.854 ± 6.725	57.890 ± 6.961
对照组(n = 60 例)	31.716 ± 5.304	164.933 ± 6.067	59.383 ± 8.174
<i>P</i> 值	0.963	0.947	0.925

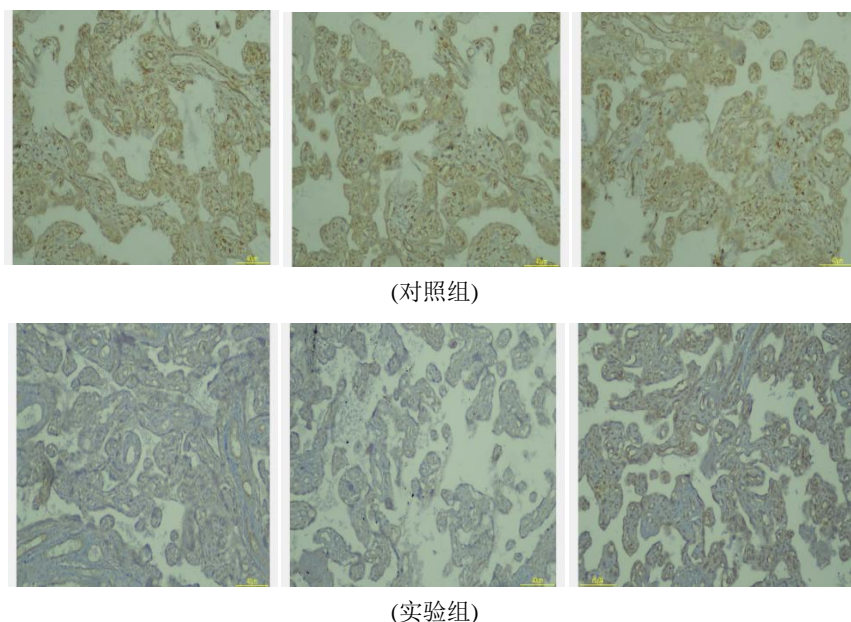
Table 2. Difference analysis of sFlt-1/PIGF between experimental group and control group
表 2. 实验组与对照组 sFlt-1/PIGF 差异性分析

组例数(n)	PIGF (pg/ml)	sFlt-1 (pg/ml)	sFlt-1/PIGF
对照组 60	145.599 ± 137.658	1522.012 ± 261.275	15.679 ± 7.505
实验组 55	30.489 ± 7.250	3828.496 ± 965.079	150.387 ± 116.903
<i>P</i> 值	0.000	0.000	0.000

Table 3. CD146 expression in experimental group and control group
表 3. 实验组与对照组 CD146 表达情况

组别例数(n)	CD146 表达情况			
	-	+	++	+++
实验组 55	35	20	0	0
对照组 60	0	0	46	14

附图:



5. 讨论

5.1. PIGF 与 sFlt-1 与子痫前期关系

尽管在过去的半个世纪中,子痫前期的发病率和死亡率显著下降,但在治疗子痫前期及其探究其发病机制及病理生理方面尚未取得革命性进展。各种药物(如阿司匹林和钙)的使用对早期预防很有希望,但并不能治疗其根本。虽然子痫前期的机制被认为是两个阶段的过程,但越来越多学者已将二阶段学说细化[18]。现证据证实,由于滋养细胞侵入深度不足,致使螺旋动脉的重铸受到影响,而同样受到影响发生障碍的还有内皮细胞的功能,这是子痫前期发病机制中的两个最重要的特征。而 VEGF 在子宫血管中扮演重要角色的过程中。VEGF 有促进血管内皮生长及促进血管生成的作用[19] [20]。血管内皮细胞因子家族中有 PIGF,在滋养细胞高表达,使细胞增殖和血管内皮细胞分化得到加强,使血管渗透性得到提高,并且防止细胞凋亡,对胎盘血管生成也有重要作用[21]。Tidcell 等研究第一次提出,发展成为 PE 的孕妇血清 PIGF 水平明显低于同孕周的正常孕产妇且临床症状越明显的 PIGF 含量越低[22]。最近的证据指出,sFlt-1 不仅是一种抗管生成因子,也是内皮功能障碍的因子,但它的起源及其在子痫前期具体作用仍不清楚[23]。它也是由胎盘制造,通过 VEGF 和 PIGF 特异性受体起作用。子痫前期患者中胎盘血管生成障碍,缺氧又可以增加 sFlt-1 的表达,所以可在血清中检测出高浓度 sFlt-1 和低浓度 PIGF 和游离的 VEGF。这类出现蛋白由血管生成的不正常情况,多出现在发生子痫前期、水肿、血压升高等临床症状的前几周[24]。2003 年第一次由 Maynard [5]等提出 sFlt-1 与子痫前期孕妇的关系,有证据表明,子痫前孕妇的

sFlt-1-mRNA 会增多, 在子痫前期, 孕妇的血清中 sFlt-1 浓度是健康孕妇的 4~5 倍。然后单独给怀孕小鼠注射 sFlt-1, 孕妇小鼠表现出与子痫前期相似的症状, 如高血压、蛋白尿和全身水肿。同年 Sugimoto [25] 等发现给大鼠注入 sFlt-1 后, sFlt-1 可导致肾小球内皮细胞快速剥离, 导致蛋白尿的产生[26]。当 PIGF 与 sFlt-1 受体相遇并结合时, 促进新生血管产生以及加快滋养细胞增殖和浸润等这些生物活性, 都可以被 sFlt-1 受体阻断, 且有强效的拮抗作用, 引起胎盘中血管生成障碍。在子痫前期患者血浆中, 因缺氧导致的 sFlt-1 增多, 而 PIGF 生物活性被抑制, 可以使滋养细胞的增殖能力减弱, 也降低了滋养细胞的浸润能力, 导致子痫前期疾病的发生。

所以有关学者认为可以利用 sFlt-1/PIGF 来辅助子痫前期诊断和临床上决策的制定。Kusanovic [27] 等做了一项 1622 例的队列研究, 用酶联免疫吸附法测定孕妇 PIGF 和 sFlt-1 浓度, 发现 sFlt-1/PIGF 值对早发性子痫前期有很好的预测效果。本实验也通过发现单独从血清中 PIGF 含量以及单独 sFlt-1 含量中, 差异均不如 sFlt-1/PIGF 大。在实验组与对照组中, PIGF 含量相差四倍多, 而 sFlt-1 含量相差二倍多, sFlt-1/PIGF 却相差十倍以上, 这说明 sFlt-1/PIGF 与子痫前期的相关性更明显。从诊断的角度来看, 可溶性血管生成标志物的发现, 无论是单独使用还是与其他标志物联合使用, 都为子痫前期的诊断和筛查提供了巨大的希望。

5.2. 胎盘 CD146 与子痫前期关系

CD146 是一类单链跨膜糖蛋白, 又叫 MUC18 [28]。CD146 分子在血管内皮细胞、平滑肌细胞植入位点中间滋养层细胞分布, 有膜型和可溶性两种形式。参与细胞的粘附和转移、及其免疫应答, 且与肿瘤的发生、转移密切相关[29]。

CD146 目前被广泛认为是一种新发现的内皮生物标志物, 是血管壁中主要存在的基质分子, 可以在血管壁中高表达, 包括血管内皮细胞。也有研究表明, CD146 与 VEGFR-2 在内皮细胞上直接相互作用, 并在分子水平上确定了 CD146 与 VEGFR-2 结合的结构基础[30]。它也是子宫内间充质标记物之一, 可以作为 VEGFR-2 的共同激活因子, 从而促进内皮细胞迁移和微血管形成[31]。有研究表明, CD146 也可以参与血管生成和肿瘤生长[32]。而人的胎盘是一种类似恶性肿瘤样结构, 具有高度侵袭性, 通过滋养细胞亚群“绒毛膜外滋养细胞”(extra villous trophoblast, EVT)又称中间滋养层细胞, 侵入子宫蜕膜及其血管系统, 以建立充分的母体胎儿物质交换。其侵袭的分子机制与癌细胞相同[33]。EVT 能够通过侵入子宫蜕膜, 进而使胎盘牢固附着于子宫上, 同时 EVT 可以向血管内侵袭, 尤其是螺旋动脉, 逐渐替代其内皮层。在这一系列的过程中, 这些螺旋动脉的血管成分发生改变, 血管内的平滑肌被降解, 同时弹性纤维被破坏, 但螺旋动脉的结构仍没有改变, 从而导致了螺旋动脉的直径扩大, 进而使其血管内血流阻力降低, 血管内血容量升高[34]。而滋养层细胞侵入过浅或失败, 在妊娠中都会产生与之有关的疾病, 如先兆流产、子痫前期等[16]。Liu 等[35]人研究表明, 在正常胎盘中, CD146 染色在最具侵袭性和迁移性的中间滋养细胞中特异性检测到。然而, 在子痫前期胎盘中, CD146 不再存在于中间滋养细胞中。说明 CD146 在滋养层细胞侵袭中起重要作用, 而子痫前期又与滋养细胞侵入过浅或浸润不足有关, 我们就此推断 CD146 与子痫前期具有相关性。

5.3. sFlt-1、PIGF、sFlt-1/PIGF、胎盘 CD146 与子痫前期的关系

本研究通过对比对照组及实验组血清 sFlt-1、PIGF、sFlt-1/PIGF 的值及产后胎盘 CD146 的结果 115 例, 选取纳入 55 例子痫前期患者标本作为实验组, 60 例正常妊娠孕妇标本作为对照组, 可以得出在实验组血清中 sFlt-1 表达水平明显高于正常妊娠组, 而实验组的血清中 PIGF 表达水平明显低于对照组, ($P < 0.05$)。证明了 sFlt-1/PIGF 与子痫前期的发病有相关性。实验中也表明, 在正常胎盘中, 在所有妊娠期

锚定绒毛和蜕膜的中间滋养细胞上均特异性检测到粘附分子 CD146。然而，在子痫前期，中间滋养层细胞 CD146 染色显著减少或无法检测到[36]。这进一步说明子痫前期导致滋养细胞侵袭能力下降，CD146 与子痫前期具有相关性。在子痫前期中，细胞滋养细胞向中间滋养细胞的分化不完全，中间滋养细胞侵袭较浅或失败。血管内侵入不会超出子宫螺旋小动脉的浅表部分，异常的侵袭常伴有细胞表面细胞粘附分子表达的明显改变。因此，这些螺旋小动脉保留了其内皮内壁，保持了相对狭窄、高阻力的血管，导致相对于正常妊娠，母体流向胎儿-胎盘单位的血液明显减少。这种胎盘灌注不良被认为是发生子痫前期的重要危险因素，再次说明 CD146 与子痫前期的相关性。由此我们也可以得知，滋养细胞在缺血缺氧时分泌 PIGF 减少，sFlt-1 是通过 PIGF 受体起到抑制作用，而胎盘 CD146 只表达在正常妊娠胎盘中间滋养层细胞中，所以我们可以进一步推断，在子痫前期发生时，因中间滋养细胞侵袭不足导致螺旋小动脉障碍，导致胎盘滋养细胞缺血缺氧，引起高阻力低容量的发生，致使 PIGF 减少，而 sFlt-1 的含量增多。我们也通过数据验证胎盘 CD146 与 sFlt-1/PIGF 具有相关性， $r = -0.934$ ，说明 sFlt-1/PIGF 越高而胎盘 CD146 表达越低。而多项研究已证实，sFlt-1/PIGF 有希望作为一种有助于分娩前预测 PE 的一项指标。

由此得知，在子痫前期发展中，如 sFlt-1、PIGF、CD146 等因子的表达起到了重要的作用，并且两者的比值及胎盘 CD146 与子痫前期的发展同样有密切的关联，在实验组的血清中，其 sFlt-1、sFlt-1/PIGF 的结果都要高于对照组，但实验组的 PIGF 值要比对照组低。在实验组中，胎盘 CD146 呈不表达或弱表达，而在对照组中，胎盘 CD146 呈强表达。通过 CD146 未在实验组患者的中间滋养层表达的现象，说明中间滋养细胞浸润螺旋动脉不全是子痫前期的病理改变，这也导致了子宫胎盘灌注不足[37]。也为 CD146 在滋养细胞侵袭和子痫前期发病机制中的作用提供了进一步的证据，综上所述，胎盘 CD146 和 sFlt-1/PIGF 与子痫前期具有相关性。

参考文献

- [1] 赵影庭, 卢海英, 刘玮. 血清 PIGF、sFlt-1 和 sEng 水平与妊娠期高血压和子痫前期的严重程度及其不良结局关系[J]. 中国妇幼保健, 2019, 34(12): 2714-2716.
- [2] 娄娟, 等. 胎盘生长因子的表达与重度子痫前期的关系[J]. 河北医药, 2018, 40(23): 3600-3602+3606.
- [3] 赵晟隆, 等. 血清中可溶性 fms 样酪氨酸激酶-1 和胎盘生长因子与子痫前期严重程度的相关性[J]. 医学综述, 2020, 26(24): 4988-4992.
- [4] 漆洪波, 童超. 从母胎界面着眼探究子痫前期的发病机制[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2020, 36(1): 61-64.
- [5] Khaliq, A., et al. (1996) Localisation of Placenta Growth Factor (PIGF) in Human Term Placenta. *Growth Factors*, **13**, 243-250. <https://doi.org/10.3109/08977199609003225>
- [6] Shore, V.H., et al. (1997) Vascular Endothelial Growth Factor, Placenta Growth Factor and Their Receptors in Isolated Human Trophoblast. *Placenta*, **18**, 657-665. [https://doi.org/10.1016/S0143-4004\(97\)90007-2](https://doi.org/10.1016/S0143-4004(97)90007-2)
- [7] Rätsep, M.T., et al. (2014) Impact of Placental Growth Factor Deficiency on Early Mouse Implant Site Angiogenesis. *Placenta*, **35**, 772-775. <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2014.07.006>
- [8] 刘姣, 董旻岳. PLGF 在孕早期子痫前期和唐氏综合征筛查中的临床应用[J]. 中国现代医生, 2019, 57(28): 165-168.
- [9] Rohra, D.K., et al. (2012) Prediction of Pre-Eclampsia during Early Pregnancy in Primiparas with Soluble FMS-Like Tyrosine Kinase-1 and Placental Growth Factor. *The National Medical Journal of India*, **25**, 68-73.
- [10] 张丽宏, 等. sFlt-1/PLGF 对早发型子痫前期的预测价值研究[J]. 河北医药, 2017, 39(19): 2953-2954+2958.
- [11] 邵丹卉, 韩秋峪, 林小满. 妊娠中期平均动脉压联合 sFlt-1、PLGF 与早发型子痫前期的相关性分析[J]. 中国优生与遗传杂志, 2020, 28(11): 1363-1365+1376.
- [12] 陈兢思, 苏春宏. 胎盘血管生成与子痫前期的发生[J]. 中华产科急救电子杂志, 2015, 4(2): 126-128.
- [13] 徐晓锋, 郭历琛, 徐玲, 等. 孕妇血清 PLGF, sFlt-1, Ca²⁺(2+), 25-(OH)-D 水平检测及其他危险因素分析对预测子痫前期的临床意义[J]. 现代检验医学杂志, 2019, 34(5): 35-39.
- [14] 段红霞, 等. CD146 三十年研究的回顾与展望[J]. 中国科学: 生命科学, 2020, 50(12): 1339-1387.

- [15] Elshal, M.F., *et al.* (2005) CD146 (Mel-CAM), an Adhesion Marker of Endothelial Cells, Is a Novel Marker of Lymphocyte Subset Activation in normal Peripheral Blood. *Blood*, **106**, 2923-2924. <https://doi.org/10.1182/blood-2005-06-2307>
- [16] 刘琴, 赵心刚, 张莹, 沈毅, 刘以训. 粘附分子 CD146 是影响滋养层细胞侵入行为的关键分子[J]. 生物化学与生物物理进展, 2004(4): 309-312.
- [17] Filshie, R.J., *et al.* (1998) MUC18, a Member of the Immunoglobulin Superfamily, Is Expressed on Bone Marrow Fibroblasts and a Subset of Hematological Malignancies. *Leukemia*, **12**, 414-421. <https://doi.org/10.1038/sj.leu.2400922>
- [18] Lam, C., Lim, K.H. and Karumanchi, S.A. (2005) Circulating Angiogenic Factors in the Pathogenesis and Prediction of Preeclampsia. *Hypertension*, **46**, 1077-1085. <https://doi.org/10.1161/01.HYP.0000187899.34379.b0>
- [19] 郭莉. microRNA-210、VEGF 在子痫前期孕妇胎盘中的表达水平及意义[J]. 中国医师杂志, 2018, 20(3): 463-465.
- [20] 谢青贞, 漆倩荣, 徐望明. 子痫前期的病理生理研究进展[J]. 中华妇产科杂志, 2015, 50(12): 949-953.
- [21] 曹伍兰. 联合检测可溶性血管内皮生长因子受体-1/胎盘生长因子和子宫动脉血流对早发型子痫前期的预测价值[J]. 中国妇幼保健, 2016, 31(21): 4386-4387.
- [22] Tidwell, S.C., *et al.* (2001) Low Maternal Serum Levels of Placenta Growth Factor as an Antecedent of Clinical Preeclampsia. *American Journal of Obstetrics & Gynecology*, **184**, 1267-1272. <https://doi.org/10.1067/mob.2001.113129>
- [23] Pant, V., Yadav, B.K. and Sharma, J. (2019) A Cross Sectional Study to Assess the sFlt-1:PIGF Ratio in Pregnant Women with and without Preeclampsia. *BMC Pregnancy Childbirth*, **19**, Article No. 266. <https://doi.org/10.1186/s12884-019-2399-z>
- [24] 王慧艳, 等. 正常孕妇尿胎盘生长因子的动态变化及其意义[J]. 实用临床医药杂志, 2011, 15(21): 193-194.
- [25] Sugimoto, H., *et al.* (2003) Neutralization of Circulating Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) by Anti-VEGF Antibodies and Soluble VEGF Receptor 1 (sFlt-1) Induces Proteinuria. *Journal of Biological Chemistry*, **278**, 12605-12608. <https://doi.org/10.1074/jbc.C300012200>
- [26] 陆牡丹, 等. 可溶性 fms 样酪氨酸激酶-1 在先兆子痫中的表达和意义[J]. 中国妇幼保健, 2011, 26(23): 3629-3630.
- [27] Kusanovic, J.P., *et al.* (2009) A Prospective Cohort Study of the Value of Maternal Plasma Concentrations of Angiogenic and Anti-Angiogenic Factors in Early Pregnancy and Midtrimester in the Identification of Patients Destined to Develop Preeclampsia. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*, **22**, 1021-1038. <https://doi.org/10.3109/14767050902994754>
- [28] 张玥. CD146 与滋养细胞及滋养细胞疾病关系的研究进展[J]. 国外医学. 妇产科学分册, 2003(4): 228-231.
- [29] 王大吉, 等. 可溶性 CD146 与疾病[J]. 中国科学: 生命科学, 2019, 49(1): 1-9.
- [30] Jiang, T., *et al.* (2012) CD146 Is a Coreceptor for VEGFR-2 in Tumor Angiogenesis. *Blood*, **120**, 2330-2339. <https://doi.org/10.1182/blood-2012-01-406108>
- [31] Tu, T., *et al.* (2015) CD146 Acts as a Novel Receptor for Netrin-1 in Promoting Angiogenesis and Vascular Development. *Cell Research*, **25**, 275-287. <https://doi.org/10.1038/cr.2015.15>
- [32] Fritzsche, F.R., *et al.* (2008) CD146 Protein in Prostate Cancer: Revisited with Two Different Antibodies. *Pathology*, **40**, 457-464. <https://doi.org/10.1080/00313020802197996>
- [33] Lala, P.K., *et al.* (2002) Human Placental Trophoblast as an *in Vitro* Model for Tumor Progression. *The Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, **80**, 142-149. <https://doi.org/10.1139/y02-006>
- [34] 刘晓霞, 丰有吉. 中间型滋养细胞的定位、形态、功能及影响因素[J]. 国外医学. 妇产科学分册, 2004(3): 139-141.
- [35] Liu, Q., Yan, X.Y., *et al.* (2004) Pre-Eclampsia Is Associated with the Failure of Melanoma Cell Adhesion Molecule (MCAM/CD146) Expression by Intermediate Trophoblast. *Laboratory Investigation*, **84**, 221-228. <https://doi.org/10.1038/labinvest.3700033>
- [36] 韩杰霞, 等. 妊娠组织中 CD146 和 HGF 的表达与稽留流产的相关性分析[J]. 现代生物医学进展, 2021, 21(4): 654-658.
- [37] 郝丽英, 等. 重度子痫前期胎盘的免疫组化改变与围产儿预后的关系[J]. 中国妇幼保健, 2007(5): 654-656.