

检测妊娠相关蛋白 A 在孕中期筛查的临床应用

曾昭伟 王学谦 崔兰 呼蓓蓓 李会强 孙辉

基金项目:天津市科技支撑计划项目(08ZCGYSS01800)

作者单位:300070 天津市,天津医科大学(曾昭伟 李会强)

300211 天津市,天津医院(王学谦)

300040 天津市,天津市妇幼保健中心(崔兰)

300041 天津市,天津市和平区妇产科医院(呼蓓蓓)

300384 天津市,沃克(天津)生物科技有限公司(孙辉)

唐氏综合征(Down's syndrome, DS)是胎儿非整倍体遗传疾病之一,又称为 21-三体综合征,是胎儿常见先天缺陷之一,新生儿发病率约为 1/700~1/800,患者有严重的智力障碍、畸形,生活不能自理,给家庭和社会带来沉重的负担^[1]。因此,如何及早诊断是否有娩出 DS 胎儿的可能并及时终止妊娠是非常必要的。

近年来国内外学者对 DS 的早期筛查做了大量的工作,通过初步的筛查虽然不能够确诊,但是避免了绝大部分孕妇做有创检查,比如子宫穿刺细胞培养等。

妊娠相关蛋白 A (pregnancy-associated plasma protein A, PAPP-A)最早是 1974 年 Lin 从孕妇血清中分离出来的,是一种大分子糖蛋白化合物,由胎盘合体滋养层细胞和蜕膜细胞产生。近年的研究发现,PAPP-A 也存在于非孕妇的非胎盘组织中,甚至男性的体内也有 PAPP-A 存在。自从 Bischof 等^[2]将 PAPP-A 应用于临床检测早期妊娠状况,PAPP-A 便在检测早期妊娠普查中得到了广泛的应用。目前常见的是将 PAPP-A 应用于早期检测 DS,应用于妊娠中期检测的很少。本文对妊娠中期的孕妇血清 PAPP-A 进行检测,评价其用于筛查 DS 患儿的临床价值,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 收集 2009 年 12 月至 2010 年 3 月天津市妇幼保健中心产前筛查中心的孕妇血清样本 368 份,年龄 21~42 岁,末次月经结合 B 超确认孕周为 15~20 w。

1.2 方法

1.2.1 孕周计算方法 以孕妇末次月经时间为基准,到检测时的周数为孕周,同时辅以超声检测胎儿的状况计算孕周。

1.2.2 标本采集 抽取患者静脉血 3 ml,以离心半径 1 cm,3000 r/min 离心 10 min 分离血清,-20℃保存待测,检测时室

温溶解,避免反复冻融。

1.2.3 检测方法 血清标本室温溶解后,用稀释液稀释 10 倍,用生物素-亲和素酶联免疫检测方法(biotin avidin-enzyme linked immunosorbent assay, BA-ELISA)检测血清中的 PAPP-A 值。本实验用美国 R&D 试剂盒为参照标准,同时以国际质控品为标准定值稀释一系列抗原标准品。生物素化抗体以及酶标抗体的浓度均达到最适合的浓度,建立了自己的检测体系。生物素以及连接的亲和素均已包被在微孔板上,加入生物素化抗体,抗原标准品和血清标本,37℃温育 30 min,干燥微孔板,每孔加入酶标抗体,37℃温育 30 min,干燥微孔板,加底物 TMB 避光显色 15 min,终止反应。每次检测均设标准对照曲线,根据待测标本光密度值反算浓度值。

1.2.4 诊断标准 各正常孕周组检测 PAPP-A 得到正常值,各项检测结果均以中位数(MOM)表示。根据文献^[3]以 PAPP-A<0.4 MOM 为阳性结果,符合这一条件的为筛选出来的高危人群,鼓励进一步做羊水细胞培养的染色体检查。每例受检的孕妇均随访至胎儿出生,进行回顾性研究。

1.3 统计学处理 数据采用 SPSS 10.0 统计软件进行分析。PAPP-A 检测结果以 MOM 表示,计数资料比较采用 χ^2 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 正常孕妇各孕周 PAPP-A 检测结果 认为孕妇血清中 PAPP-A 值小于 0.4 MOM 为高危人群,共检出 15 例。见表 1。

2.2 高危组与低危组异常妊娠率比较 收集的 368 例孕妇中经筛查 PAPP-A 浓度小于相应孕周 0.4 MOM 的高危阳性者 15 例,其中 13 例接受羊水细胞培养染色体分析。经随访,异常妊娠 3 例,异常妊娠率为 20.0%。筛查阴性者 353 例,经随访有异常妊娠 5 例,异常妊娠率为 1.4%,两组间异常妊娠

率差异有统计学意义($\chi^2=27.448, P<0.05$)。见表 2。

表 1 正常孕妇各孕周血清的 PAPP-A 检测结果($\mu\text{g/mL}$)

孕周	例数	MOM	0.4 倍 MOM
15	45	7.39	2.96
16	67	7.59	3.03
17	43	9.49	3.80
18	71	10.66	4.26
19	87	19.33	7.73
20	55	25.59	10.24

表 2 高危组、低危组异常妊娠率比较

组别	例数	异常妊娠		异常妊娠率(%)
		DS	死胎、畸形	
高危组	15	1	2	20.0*
低危组	353	0	5	1.4

注:*与低危组比较, $P<0.05$

3 讨论

PAPP-A 是一种大分子糖蛋白,属 α_2 -巨球蛋白,来源于绒毛周围纤维蛋白,由合体滋养层及蜕膜细胞产生。经研究发现,在孕中期 DS 筛查中,PAPP-A 的作用在迄今为止已发现的血清标记物中较为突出,因此已被作为 DS 筛查血清标记物的首选。

妊娠 7w 开始 PAPP-A 水平明显升高,随妊娠进展,PAPP-A 水平继续上升,足月时达高峰。高危组与低危组间异常妊娠率比较差异有统计学意义($P<0.05$),提示 PAPP-A 检测对 DS 的筛选有一定临床价值。DS 胎儿由于染色体异常,所有器官均可能发育不全,胎盘作为胚胎生长发育过程的重要结构同样可能受到影响,特别是当胎盘合体滋养层的某些特殊细胞的作用受影响,滋养层功能下降,导致胎盘产物异常,合成 PAPP-A 减少。1990 年初就有人发现,这一标记物在孕早期对 DS 等染色体异常疾病较敏感。本文研究采用生物素化牛血清白蛋白-链霉亲和素包被微孔板形成的 BA-ELISA 检测系统对 PAPP-A 进行检测。通过这种间接包被模式,使反应链变长,极大地减少了空间位阻效应,而且生物素和亲和素的结合具有极高的亲和力,是抗原抗体反应的百万倍^[4,5]。因此,本方法具有高度的敏感性、特异性和稳定性。

由于很多孕妇并不能及时在孕早期进行产前筛查,PAPP-A 作为近几年在国际上广泛应用的一种孕早期筛查指标,是否可以应用于孕中期的检测很值得探讨。截至目前,关于 PAPP-A 应用于孕中期检测胎儿状况已有少量报道^[6,7],本文研究在此基础上进一步应用了 BA-ELISA 检测方法,提高了检测灵敏度。测得正常孕妇各孕周的血清 PAPP-A 值并得

到正常范围的中位数值,依据 DS 胎儿母体血清的 PAPP-A<0.4 MOM,本文研究检出高危妊娠孕妇 15 例,经随访,出生 DS 患儿 1 例,死胎、畸形患儿 2 例,异常妊娠率达到 20.0%,低危组孕妇经随访并没有 DS 患儿出生,死胎、畸形有 5 例,异常妊娠率为 1.4%。高危组与低危组间异常妊娠率比较差异有统计学意义($P<0.05$),提示 PAPP-A 检测对孕中期 DS 的筛查有一定的临床价值。

PAPP-A 检测虽不能作出明确诊断,但对胎儿无创伤性,且能最大限度地减少羊膜腔穿刺或取绒毛膜细胞等创伤性检查。本文研究结果显示,并未漏检 DS 胎儿。羊膜腔穿刺等产前诊断具有创伤性,不容易被接受,基层医院均难以开展。而用 ELISA 法检测 PAPP-A,具有操作简单,重复性好,结果准确可靠等优点,利于基层单位普及产前筛查工作,对查出的高风险孕妇进一步再做产前诊断可明显减少对孕妇及胎儿造成的不必要损伤。另外,检测血清 PAPP-A 水平可直接了解胎盘功能,间接反映孕早期胎儿宫内发育情况,且在双胎妊娠的早期诊断方面有一定价值。

综上所述,PAPP-A 检测可以应用于孕中期的产前筛查。在今后的研究中可以进一步提高 PAPP-A 对胎儿产前筛查的灵敏度,加大样本量建立本地区的各个孕周正常值范围,并结合常规的孕中期指标甲胎蛋白和人绒毛膜促性腺激素等以提高 DS 筛查的阳性率,更好的为临床产前筛查服务。

4 参考文献

- 1 梁蓉,郁卫东,杜军根,等. 叶酸代谢相关酶基因多态性与唐氏综合征发生易感性的关系. 实用医学杂志,2006,22:1372-1375.
- 2 Bischof P, DuBerg S, Herrmann W, et al. Pregnancy-associated plasma protein-A (PAPP-A) and hCG in early pregnancy. Br J Obstet Gynaecol, 1981, 88:973-975.
- 3 Spencer CA, Allen VM, Flowerdew G, et al. Low levels of maternal serum PAPP-A in early pregnancy and the risk of adverse outcomes. Prenat Diagn, 2008, 28:1029-1036.
- 4 孔令青,李勇,高洪,等. 生物素-亲和素标记技术. 动物医学进展, 2008, 29:100-102.
- 5 李金明, 主编. 临床酶免疫测定技术. 北京: 人民军医出版社, 2006:82-83.
- 6 林琳华,方群,游泽山,等. PAPP-A 在妊娠中、晚期对非整倍体胎儿的筛查. 中山大学学报(医学科学版), 2004, 25:272-275.
- 7 Cooper S, Johnson JA, Metcalfe A, et al. The predictive value of 18 and 22 week uterine artery Doppler in patients with low first trimester maternal serum PAPP-A. Prenat Diagn, 2009, 29:248-252.

(收稿日期:2011-01-17)

(本文编辑:李霖)