

中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白和血清胱抑素 C 与妊娠高血压疾病的相关性研究

刘炳旭 魏殿军 吴璠

作者单位:300211 天津市,天津医科大学第二医院检验科

【摘要】 目的 检测妊娠高血压疾病(pregnancy-induced hypertension, PIH)患者血清中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(neutrophil gelatinase-associated lipocalin, NGAL)和血清胱抑素 C(cystatin C, Cys-C),评价 NGAL 和 Cys-C 在 PIH 诊断中的临床价值。方法 将 80 例 PIH 孕妇分为妊娠期高血压亚组、轻度子痫前期亚组、重度子痫前期亚组、子痫亚组,另同期选择 40 例健康孕妇作为正常对照组。两组受试者均检测血清 NGAL、Cys-C 和 24 h 尿蛋白定量水平,分析其与 PIH 及其严重程度的相关性。结果 与正常对照组相比,PIH 组 24 h 尿蛋白定量、血清 Cys-C、NGAL 水平均明显增高,差异均有统计学意义(P 均 <0.05)。各组间 24 h 尿蛋白定量、血清 Cys-C、NGAL 水平比较,差异均具有统计学意义(P 均 <0.05)。NGAL 水平在正常对照组及 PIH 各亚组间两两比较,差异均具有统计学意义(P 均 <0.05)。Cys-C 水平在妊娠高血压亚组和子痫亚组间比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。24 h 尿蛋白定量水平除在重度子痫前期亚组和子痫亚组间比较差异无统计学意义外,其他各组间两两比较,差异均有统计学意义(P 均 <0.05)。血清 NGAL、Cys-C 水平均与 PIH 严重程度相关($r=0.936, r=0.763, P$ 均 <0.05),受试者工作特征曲线结果显示,血清 NGAL、Cys-C 和 24 h 尿蛋白定量诊断 PIH 的曲线下面积分别为 0.835、0.812、0.753。结论 血清 NGAL 和 Cys-C 与 PIH 的发生及疾病严重程度高度相关,可用于 PIH 的早期诊断。

【关键词】 妊娠高血压;中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白;血清胱抑素 C;24 h 尿蛋白定量

doi:10.3969/j.issn.1674-7151.2014.04.006

The correlation research of neutrophil gelatinase-associated lipocalin and serum cystatin C with pregnancy-induced hypertension

LIU Bing-xu, WEI Dian-jun, WU Fan. Department of Clinical Laboratory, the Second Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300211, China

【Abstract】 Objective To detected the neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) and serum cystatin C (Cys-C) in patients with pregnancy-induced hypertension (PIH), and to evaluate their clinical value in PIH diagnosis. **Methods** 80 cases of PIH pregnant women were divided into gestational hypertension subgroup, mild preeclampsia subgroup, severe preeclampsia subgroup and eclampsia subgroup. 40 cases of healthy pregnant women over the same period were collected as the normal control group. The levels of serum NGAL, Cys-C and 24 h urine protein were detected and the results were analyzed statistically. **Results** The levels of serum NGAL, Cys-C and 24 h urine protein in PIH group were all higher than that of control group, and the differences all had statistical significance (P all <0.05). There were statistical significance in the differences of serum NGAL, Cys-C and 24 h urine protein levels among all the groups (P all <0.05). There were statistical significance in the difference of serum NGAL level between each two groups (P all <0.05). There was statistical significance in the difference of Cys-C level between gestational hypertension subgroup and eclampsia subgroup ($P<0.05$). There were statistical significance in the difference of 24 h urine protein level between each two groups except severe preeclampsia subgroup and eclampsia subgroup (P all <0.05). The levels of serum NGAL and Cys-C were all correlated with severity degree of PIH ($r=0.936, r=0.763, P$ all <0.05). The area under receiver operating characteristic curve of serum NGAL, Cys-C and 24 h urine protein in diagnosis PIH were 0.835, 0.812, 0.753, respectively. **Conclusion** NGAL and Cys-C are correlated with the development and disease severity of PIH, and can be used in the early diagnosis.

【Key words】 Pregnancy-induced hypertension; Neutrophil gelatinase-associated lipocalin; Serum cystatin C; 24 h urine protein

妊娠高血压 (pregnancy-induced hypertension syndrome, PIH) 是指妊娠 20 w 后出现的血压持续性升高伴蛋白尿、水肿以及全身炎症反应, 产后即消失。血压升高和随机尿蛋白阳性是疾病发病初期的主要表现, 蛋白尿进行性增加是 PIH 恶化的重要表现, 有学者^[1]指出蛋白尿合并高血压是致使胎儿发病率和病死率增加的常见病因。中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白 (neutrophil gelatinase-associated lipocalin, NGAL) 是脂质运载蛋白家族的成员之一, 于 1993 年由 Kjeldsen 等^[2]在人类中性粒细胞中发现和分离出来, Cowland 等^[3]发现当炎症或肿瘤发生时组织内的 NGAL 迅速升高, NGAL 是评价因炎症或肿瘤形成而导致内皮损伤严重程度的重要标志物。D'Anna 等^[4]提出 NGAL 可能与子痫前期的发病有关, 该研究认为, 孕中期孕妇血清 NGAL 水平的升高是预测子痫前期发生的敏感指标。血清胱抑素 C (cystatin C, Cys-C) 是半胱氨酸蛋白酶抑制剂之一, 是较理想的反映肾小球滤过率的指标^[5]。有文献^[6]报道, 血 Cys-C 对高血压患者肾小球损伤的诊断具有重要意义, 但其在 PIH 早期肾损害中的诊断价值尚有待研究。本文研究探讨 NGAL 和 Cys-C 在 PIH 中的诊断价值及其与疾病严重程度的相关性。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选择 2013 年 2 月-2013 年 8 月我院产科收治入院的诊断为 PIH 的孕妇 80 例 (PIH 组), 诊断标准参照《妇产科学》第 7 版^[7], 其中妊娠期高血压亚组 26 例、轻度子痫前期亚组 23 例、重度子痫前期亚组 19 例, 子痫亚组 12 例。平均年龄 (30.09±4.52) 岁。正常对照组 40 例, 均为同期住院妊娠结局正常的孕妇。平均年龄 (26.83±3.86) 岁。两组均除外慢性高血压史、糖尿病史、肝肾疾病及免疫性疾病史。

1.2 标本采集 受检对象均于入院 24 h 内清晨空腹抽取肘静脉血 3 ml, 置于含有分离胶的真空采血管中混匀, 以离心半径 13.5 cm, 3000 r/min 离心 10 min 收集上层血清, 置于无菌管中, -70 °C 冻存待测。入院第二天早上 8 点起收集 24 h 尿, 于次日晨 8 点止, 按每 100 ml 尿加 0.5 ml 二甲苯防腐, 准确记录尿总量, 混匀取 5~10 ml, 以离心半径 13.5 cm, 3000 r/min 离心 10 min, 留取上清液上机检测。

1.3 仪器与试剂 血清 NGAL 浓度检测使用 NGAL ELISA 试剂盒 (美国 TSZ 公司), 按试剂盒说明书操作 (检测值范围: 1~40 μg/L)。Cys-C 检测采用免疫比浊法, 使用深圳迈瑞 BS2000M 全自动生化

分析仪及其配套试剂进行测定。24 h 尿蛋白定量采用西门子公司 BnproSpec 特种蛋白分析仪及原装配套试剂进行检测。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 17.0 统计软件对数据进行统计学分析, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间均数比较采用单因素方差分析, 采用 Spearman 相关性分析评价各指标与 PIH 严重程度的相关性, 采用受试者工作特征 (receiver operating characteristic, ROC) 曲线评价各指标对 PIH 的诊断性能, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PIH 组和正常对照组 24 h 尿蛋白定量、血 Cys-C、NGAL 检测水平比较 与正常对照组相比, PIH 组 24 h 尿蛋白定量、血 Cys-C、NGAL 水平均明显增高, 差异均有统计学意义 (P 均 < 0.05), 见表 1。

表 1 PIH 组和正常对照组 24 h 尿蛋白定量、血 Cys-C、NGAL 检测水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	24 h 尿蛋白定量 (mg/24 h)	Cys-C (mg/L)	NGAL (μg/L)
正常对照组	40	86.23±35.42	1.22±0.35	8.60±3.84
PIH 组	80	1172.44±297.20	1.47±0.36	18.07±9.91
<i>t</i> 值	-	1.025	3.538	2.769
<i>P</i> 值	-	0.001	0.001	0.007

2.2 正常对照组和 PIH 组各亚组间 24 h 尿蛋白定量、血 Cys-C、NGAL 检测水平比较 各组间 24 h 尿蛋白定量、血 Cys-C、NGAL 检测水平比较, 差异均具有统计学意义 (P 均 < 0.05)。NGAL 水平在正常对照组及 PIH 各亚组间两两比较, 差异均具有统计学意义 (P 均 < 0.05)。子痫亚组和重度子痫前期亚组的 Cys-C 水平均高于正常对照组, 且子痫亚组高于妊娠高血压亚组, 差异均具有统计学意义 (P 均 < 0.05)。24 h 尿蛋白定量水平除在重度子痫前期亚组和子痫亚组间比较差异无统计学意义外, 其他各组间两两比较, 差异均具有统计学意义 (P 均 < 0.05), 见表 2。

2.3 血 NGAL 和 Cys-C 水平与 PIH 严重程度的相关性分析 Spearman 相关性分析结果显示, 血 NGAL 和 Cys-C 均与 PIH 严重程度相关 ($r = 0.936$, $r = 0.763$, P 均 < 0.05)。

2.4 ROC 曲线评估 NGAL、Cys-C、24 h 尿蛋白定量诊断 PIH 的准确性 NGAL 诊断 PIH 的 ROC 曲线下面积为 0.835 (95% 可信区间 0.706~0.863), Cys-C 诊断 PIH 的 ROC 曲线下面积为 0.812 (95% 可信区

表 2 正常对照组和 PIH 组各亚组间 24 h 尿蛋白定量、血 Cys-C、NGAL 检测水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	24 h 尿蛋白定量(mg/24 h)	Cys-C(mg/L)	NGAL($\mu\text{g/L}$)
正常对照组	40	86.23±35.42	1.22±0.35	8.60±3.84
妊娠高血压亚组	26	331.44±179.58*	1.34±0.39	8.81±3.80*
轻度子痫前期亚组	23	629.71±283.35* [△]	1.42±0.20	10.69±3.60* [△]
重度子痫前期亚组	19	1834.82±312.06* ^{△○}	1.54±0.37*	15.29±5.91* ^{△○}
子痫亚组	12	1893.79±413.81* ^{△○}	1.72±0.40* [△]	54.51±11.50* ^{△○#}
F 值	-	359.136	3.814	30.656
P 值	-	0.000	0.013	0.000

注: *与正常对照组比较, $P < 0.05$; [△]与妊娠高血压亚组比较, $P < 0.05$; [○]与轻度子痫前期亚组比较, $P < 0.05$; [#]与重度子痫前期亚组比较, $P < 0.05$ 。间 0.578~0.854), 24 h 尿蛋白定量诊断 PIH 的 ROC 曲线下面积为 0.753 (95%可信区间 0.523~0.796)。NGAL 和 Cys-C ROC 曲线下的面积大于 24 h 尿蛋白定量, 且 NGAL 诊断 PIH 的准确性最好, 见图 1。

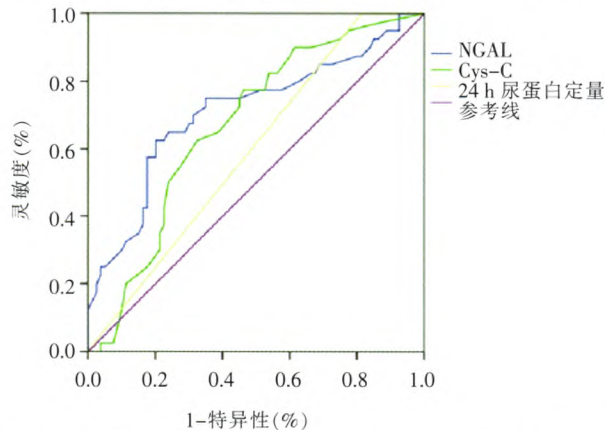


图 1 NGAL、Cys-C、24 h 尿蛋白定量诊断 PIH 的 ROC 曲线

3 讨论

PIH 是妊娠期特有的疾病。目前临床以血压及尿蛋白定性和 24 h 尿蛋白定量反映疾病的严重程度, 随着疾病的进展, 血压及 24 h 尿蛋白定量逐渐升高, 24 h 尿蛋白定量是反映 PIH 血管痉挛状态最常用的指标^[8]。本文研究结果显示, PIH 各亚组的 24 h 尿蛋白定量水平均高于正常对照组, PIH 各亚组间除重度子痫前期亚组与子痫亚组间差异无统计学意义外, 其他各组间两两比较, 差异均有统计学意义 (P 均 < 0.05), 表明 24 h 尿蛋白定量水平与 PIH 的发生发展及严重程度相关。临床实践表明, 24 h 尿蛋白定量尿液收集过程繁琐, 标本保存及尿总量计算存在一定的人为误差, 早期的检测存在一定的滞后性, 因此对肾损伤早期的检测因子 NGAL 和 Cys-C 在 PIH 早期表达的研究是非常有意义的。

NGAL 为相对分子质量为 25×10^3 的多肽, 主要存在于中性粒细胞中的过氧化物酶阴性颗粒中^[9]。

正常情况下, NGAL 只在肾脏、肝脏、胃和结肠等组织中以极低水平表达。当炎症发生或上皮细胞受到损伤性刺激时, NGAL 才被诱导而发生高表达^[10]。有研究^[11]证实, NGAL 是早期检测肾功能衰竭和急性炎症的重要指标, 具有高度的灵敏度和特异性。2008 年 Roberge 等^[12]通过前瞻性研究首次报道了子痫前期患者体内 NGAL 水平较正常妊娠妇女显著升高, 血清 NGAL 可能参与子痫前期的发病过程, 其机制可能与 NGAL 诱发的炎症反应和内皮细胞激活有关。另有研究^[13]显示, 尿中 NGAL 水平与 PIH 的发生发展相关, 但其具体机制尚有待进一步研究。本文研究结果显示, PIH 组孕妇血 NGAL 的水平明显高于正常孕妇。在 PIH 各亚组间随着疾病严重程度的增加 NGAL 水平亦呈明显增高趋势, 且各组间两两比较, 差异均有统计学意义, 提示 NGAL 不仅参与 PIH 的病理生理过程, 而且可能与其严重程度相关。

Cys-C 是血清半胱氨酸蛋白酶抑制剂 C 大家族中的一员, 是一种低分子量的非糖化蛋白, 所有的有核细胞都能稳定地产生 Cys-C。肾脏是清除 Cys-C 的唯一器官, Cys-C 能够顺利通过肾小球滤过膜, 在肾脏近曲小管处被重新吸收, 不受肾外因素的影响。因此人体内血清 Cys-C 的水平由肾小球的滤过率所决定, 且血清 Cys-C 是反映肾小球滤过率理想的生化指标^[14, 15]。本文研究结果显示, PIH 组 Cys-C 水平高于正常对照组, 且在 PIH 各亚组间其水平随疾病严重程度的增加而升高, 提示 Cys-C 是一种较好的反映 PIH 早期肾损害的指标, 用其诊断和长期监测妊娠期妇女特别是具有高危因素的孕妇肾功能损害, 做到及早发现及早治疗, 必要时适时终止妊娠, 对降低孕妇和围产儿的病死率和提高产后母婴素质有极其重要的意义。

本文 Spearman 相关性分析结果显示, NGAL 和 Cys-C 均与 PIH 的严重程度有较好的相关性, 且

NGAL、Cys-C 和 24 h 尿蛋白定量用于诊断 PIH 的 ROC 曲线下面积分别为 0.835、0.812 和 0.753, 表明 NGAL 和 Cys-C 均可用于 PIH 的诊断, 且二者对于 PIH 的诊断性能优于 24 h 尿蛋白定量。

通过以上研究表明, 血清 NGAL 和 Cys-C 可以作为预测 PIH 疾病及其严重程度的重要指标。

4 参考文献

- Scioscia M, Williams PJ, Guma K, et al. Inositol phosphoglycans and preeclampsia: from bench to bedside. *J Reprod Immunol*, 2011, 89: 173-177.
- Kjeldsen L, Johnsen AH, Sengel H, et al. Isolation and primary structure of NGAL, a novel protein associated with human neutrophil gelatinase. *J Biol Chem*, 1993, 268: 10425-10432.
- Cowland JB, Sorensen OE, Sehested M, et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin is up-regulated in human epithelial cells by IL-1b, but not by TNF-a. *J Immunol*, 2003, 171: 6630-6639.
- D'Anna R, Baviera G, Giordano D, et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin serum evaluation through normal pregnancy and in pregnancies complicated by preeclampsia. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 2010, 89: 275-278.
- Burton CJ, Scioscia M, Rademacher TW. Endometrial secretions: creating a stimulatory microenvironment within the human early placenta and implications for the aetiopathogenesis of preeclampsia. *J Reprod Immunol*, 2011, 89: 118-125.
- Cetin I, Huppertz B, Burton G, et al. Preeclampsia markers consensus meeting: what do we require from markers, risk assessment and model systems to tailor preventive strategies? *Placenta*, 2011, 32: S4-S16.
- 乐杰, 主编. 妇产科学. 第 7 版. 北京: 人民卫生出版社, 2008, 92-99.
- Stegers EA, Von Dadelszen P, Duvekot JJ, et al. Preeclampsia. *Lancet*, 2010, 376: 631-644.
- Grill S, Rusterholz C, Zanetti-Dallenbach R, et al. Potential markers of preeclampsia—a review. *Reprod Biol Endocrinol*, 2009, 7: 70.
- Wald N. Unified prenatal screening for Down's syndrome and preeclampsia. *Clin Biochem*, 2011, 44: 455.
- Qing X, Redecha PB, Burmeister MA, et al. Targeted inhibition of complement activation prevents features of preeclampsia in mice. *Kidney Int*, 2011, 79: 331-339.
- Roberge S, Villa P, Nicolaides K, et al. Early administration of low-dose aspirin for the prevention of preterm and term preeclampsia: a systematic review and meta-analysis. *Fetal Diagn Ther*, 2012, 31: 141-146.
- 李伟宁, 魏殿军, 宁莉. 尿 NGAL 在妊娠高血压肾损伤疾病中的表达及意义. *实用检验医师杂志*, 2014, 6: 161-163.
- Kirkegaard I, Henriksen TB, Ulbjerg N. Early fetal growth, PAPP-A and free beta-hCG in relation to risk of delivering a small-for-gestational age infant. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2011, 37: 341-347.
- Trogstad L, Magnus P, Stoltenberg C. Preeclampsia: risk factors and causal models. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*, 2011, 25: 329-342.

(收稿日期: 2014-06-06)

(本文编辑: 陈淑莲)

致谢

《实用检验医师杂志》编辑部全体工作人员衷心感谢以下编委/专家对本刊出版的大力支持! (姓名以拼音为序)

陈小岩 胡成进 贾克刚 焦连亭 敬 华 李健开 李立和
 刘树业 穆 红 秦 莉 任建平 孙 忠 陶庆春 王丽萍
 魏殿军 伍严安 夏时海 肖创清 徐菲莉 袁 慧 张会英
 张时民 张 正 赵克斌