

早产儿脐血激活素 A 水平检测的临床意义

钟颖 李娟 魏克伦

(中国医科大学附属盛京医院新生儿科, 辽宁 沈阳 110004)

〔摘要〕 目的 探讨早产儿脐血清激活素 A 检测的临床意义。方法 将 41 例胎龄为 28 ~ 36 周的早产儿作为研究对象, 分别留取脐带、脐血和胎膜, 用 ELISA 方法检测脐血清激活素 A 的水平, 镜下观察胎膜及脐带的病理改变。结果 41 例早产儿脐血清激活素 A 平均水平为 2069 pg/mL。5 例宫内感染的患儿脐血清激活素 A 水平明显高于无感染患儿 (2510 pg/mL vs 1975 pg/mL, $P < 0.01$)。脐血清激活素 A 对宫内感染的诊断临界值为 2490 pg/mL, 敏感度为 80.0%, 特异度为 90.6%。脐血清激活素 A 的水平与生后是否发生呼吸窘迫综合征无关, 但与生后氧疗时间存在正相关关系 ($r = 0.326$, $P < 0.05$)。结论 脐血清激活素 A 可作为反映早产儿宫内感染的指标, 其水平高低与生后氧疗时间有关。 [中国当代儿科杂志, 2011, 13(10): 776-779]

〔关键词〕 激活素 A; 宫内感染; 早产儿

〔中图分类号〕 R722 [文献标识码] A [文章编号] 1008-8830(2011)10-0776-04

Measurement of umbilical activin A level in preterm infants

ZHONG Ying, LI Juan, WEI Ke-Lun. Department of Neonatology, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, China (Li J, Email: lijuan8@yahoo.com.cn)

Abstract: Objective To evaluate the clinical significance of umbilical activin A in preterm infants. **Methods** Forty-one preterm infants (gestation 28 to 36 weeks) were enrolled. Fetal membranes, umbilical cords and blood samples from umbilical vein were obtained. Umbilical activin A level was measured using ELISA. The histological examinations of fetal membranes and umbilical cords were performed. **Results** The umbilical level of activin A averaged 2069 pg/mL in the 41 preterm infants. The umbilical activin A level in the 5 infants with intrauterine infection was higher than in those without intrauterine infection (2510 pg/mL vs 1975 pg/mL; $P < 0.01$). Umbilical activin A level at cutoff of 2490 pg/mL showed a sensitivity of 80.0% and a specificity of 90.6% as a marker of intrauterine infection. There were no significant differences in the umbilical activin A level between the infants with and without respiratory distress syndrome. Umbilical activin A level was positively correlated with the duration of postnatal oxygen therapy ($r = 0.326$, $P < 0.05$). **Conclusions** Umbilical activin A may serve a marker of intrauterine infection in preterm infants. The umbilical activin A level is correlated with the duration of postnatal oxygen therapy. [Chin J Contemp Pediatr, 2011, 13 (10): 776-779]

Key words: Activin A; Intrauterine infection; Preterm infant

近年研究发现, 宫内感染与早产儿尤其是极低出生体重儿的预后有关, 胎龄小于 32 周的早产常由慢性、无症状性宫内感染所致^[1]。宫内感染是由各种病原体侵入宫内环境导致的产前炎症状态。宫内炎症反应导致早产, 同时影响胎儿呼吸系统及中枢神经系统, 导致支气管肺发育不良 (bronchopulmonary dysplasia, BPD) 和脑瘫等疾病^[2]。据报道, 60% 以上的超低出生体重儿由宫内感染所致, 而宫

内感染占胎膜早破的 1/3^[3]。由于宫内感染超低出生体重儿血培养仅 2% 为阳性^[4], 难以细菌学检查作为诊断早产儿宫内感染的标准, 病理学诊断仍是金标准, 但由于医院条件各异, 尚不能对所有早产分娩者进行病理检查, 如能寻找到与宫内感染相关的实验室指标, 将有助于早产儿生后早期管理及评估预后。

激活素 A (activin A) 是 TGF- β 超家族成员, 由

〔收稿日期〕2011-04-11;〔修回日期〕2011-06-03
〔作者简介〕钟颖, 女, 硕士研究生。现工作单位: 深圳市南山妇幼保健院, 邮编 518000。
〔通信作者〕李娟, 主任医师。

两个 β_A 亚基所组成,在孕期由胎盘和胎膜分泌至母体循环和羊水中。孕早期和中期,母体血清激活素 A 呈低水平,24 周左右逐渐上升,近足月时达到高峰^[5]。有研究者向动物模型注射脂多糖(LPS)后发现激活素 A 是急性全身炎症反应时体液中最先检测到的细胞因子,其分泌高峰在注射后 40 min 内即出现,早于 TNF- α 和 IL-6^[6-7]。目前尚不清楚它在早产儿中的水平及其与早产的关系如何,也缺乏相关报道。因此,本研究通过测定早产儿脐血血清激活素 A 的水平及其影响因素,探讨其与早产和宫内感染的关系。

1 资料与方法

1.1 研究对象

2010 年 4~7 月于中国医科大学附属盛京医院出生的 41 例早产儿为研究对象,母亲产前均无发热、腹部压痛、心动过速、CRP 升高等明显感染表现。剖宫产出生 19 例(46%),阴道分娩 22 例(54%);单胎 30 例(73%),双胎 11 例(27%);男性 22 例(54%),女性 19 例(46%);平均胎龄为 32.5 ± 2.6 周,出生体重 1729 ± 509 g。按早产原因将 41 例早产儿分为 3 组^[8]:胎膜完整的自发性早产(SPB,4 例,10%);胎膜早破(PPROM,14 例,34%);有医学指征的早产(IPB,23 例,56%)。41 例早产儿生后第 1 天的动脉血气、血常规、CRP 结果均无异常。

22 例早产儿住院期间曾进行氧疗(机械通气或鼻导管吸氧等方式),平均氧疗时间为 $3(1 \sim 42)$ d。进行了机械通气治疗的共 17 例,其中 9 例诊断为呼吸窘迫综合征(RDS),其平均通气时间为 $5(1 \sim 20)$ d。

1.2 方法

1.2.1 标本获取 产妇分娩时留取脐静脉血 1 mL,于胎膜破口处取胎膜,大小为 $2\text{ cm} \times 2\text{ cm}$,脐带断端 0.5 cm。脐静脉血静置 2 h 后离心, $2000\text{ g} \times 20\text{ min}$,分离血清, -20°C 保存。胎膜及脐带以 10% 福尔马林固定,石蜡包埋,苏木精-伊红染色,光镜下观察组织学变化。

1.2.2 脐血血清激活素 A 水平的检测 血清标本用酶联免疫吸附法(ELISA)测定,以双份血清检测取均值。试剂盒由武汉博士德生物工程有限公司提供。按照说明书进行操作,简述如下:将样品按 1:10 稀释, 37°C 90 min,再加入生物素激活素 A 抗体工作液, 37°C 60 min,以 0.01 M PBS 洗涤 3 次,加入 ABC 工作液 37°C 30 min,0.01 M PBS 洗涤 5 次,TMB 显色, 37°C 避光反应 15~20 min,TMB 终止反应,

450 nm 测定 OD 值并计算所对应的激活素 A 的浓度。

1.2.3 宫内感染的病理诊断 宫内感染的病理改变主要表现为绒毛膜羊膜炎及脐带炎。绒毛膜羊膜炎指绒毛膜、羊膜等处可见聚集的中性粒细胞;脐带炎是指脐血管壁内、脐带表面或胶质中有中性粒细胞聚集^[9]。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 17.0 进行统计学分析。数据以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)或 $M(X_{\min} \sim X_{\max})$ 表示。用 Kruskal-Wallis 或 Mann-Whitney 方法进行组间比较,Spearman 秩相关进行相关性检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 围产因素对激活素 A 水平的影响

41 例早产儿脐血血清激活素 A 的平均水平为 2069($1347 \sim 5733$) pg/mL,不同早产原因组间的脐血血清激活素 A 水平差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 1。产前有无应用激素和抗生素、分娩方式、胎龄、出生体重等围产因素对脐血血清激活素 A 水平无明显影响,见表 2。

表 1 不同早产原因组间脐血血清激活素 A 水平的比较 [$M(X_{\min} \sim X_{\max})$, pg/mL]

组别	例数	脐血血清激活素 A
SPB	4	1857 (1505 ~ 2587)
PPROM	14	2475 (1881 ~ 2880)
IPB	23	1975 (1347 ~ 5783)
Z 值		1.216
P 值		0.115

表 2 不同围产因素对脐血血清激活素 A 水平影响的比较 [$M(X_{\min} \sim X_{\max})$, pg/mL]

因素	例数	脐血血清激活素 A	Z 值	P 值
产前应用激素				
是	12	1975 (1347 ~ 5733)		
否	29	2196 (1716 ~ 2880)	-0.832	0.406
产前应用抗生素				
是	9	1987 (1347 ~ 5733)		
否	32	2139 (1839 ~ 2880)	-1.245	0.213
分娩方式				
剖宫产	19	2139 (1505 ~ 5733)		
阴道分娩	22	1928 (1347 ~ 2634)	-0.353	0.724
胎龄				
<32 周	20	2178 (1505 ~ 5733)		
≥ 32 周	21	1881 (1347 ~ 2634)	-1.944	0.052
出生体重				
<1500 g	15	2166 (1505 ~ 2880)		
≥ 1500 g	26	1975 (1347 ~ 5733)	-1.354	0.176

2.2 血清激活素 A 与宫内感染的关系

2.2.1 宫内感染的病理诊断 本研究总共收集了 12 例胎膜标本,从组织学上诊断为宫内感染的有 5 例,其中 4 例存在绒毛膜羊膜炎的病理改变(1 例同时伴有脐带炎),1 例仅有脐带炎表现,胎盘未见明显异常。见图 1。

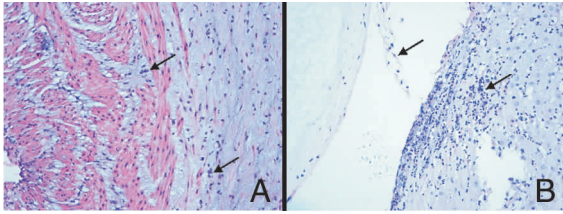


图 1 胎膜及脐带病理改变(光镜,×200) A:脐静脉壁内及周围可见中性粒细胞聚集(箭头所示);B:羊膜上皮脱落,蜕膜内大量中性粒细胞聚集(箭头所示)。

2.2.2 激活素 A 水平与宫内感染的关系 5 例病理诊断为宫内感染者,均来自 PPRM 组。孕妇产前均无发热、宫体紧张、心动过速等明显感染的临床表现,血常规、CRP 均正常;早产儿生后血常规、CRP 均正常。其中 2 例(胎龄分别为 29 周和 29⁺ 周)生后因呼吸衰竭行机械通气治疗,通气时间分别为 9 d 和 2 d。宫内感染组及无宫内感染组脐血血清激活素 A 水平分别为 2510(2216 ~ 2880)pg/mL 及 1975(1347 ~ 5733)pg/mL,前者脐血血清激活素 A 水平明显高于后者($Z = -2.871, P = 0.004$)。

将脐血血清激活素 A 对宫内感染的诊断价值进行 ROC 曲线分析,曲线下面积(A_z)为 0.889(95% CI,0.748 ~ 1.00),诊断临界值为 2490 pg/mL,脐血血清激活素 A 作为诊断试验的敏感度为 80.0%,特异度为 90.6%。

2.3 激活素 A 的水平与早产儿肺疾病的关系

17 例行机械通气的患儿中有 9 例诊断为 RDS,其脐血血清激活素 A 的水平为 1881(1435 ~ 2452)pg/mL,非 RDS 组水平为 2110(1347 ~ 5733)pg/mL,两组之间的差异无统计学意义($P = 0.298$)。

进行了氧疗的 22 例患儿胎龄为 28 ~ 35⁺ 周。经直线相关分析,脐血血清激活素 A 水平与早产儿生后氧疗时间(d)存在正相关关系($r = 0.326, P = 0.037$)。

3 讨论

有研究发现,由宫内感染致早产者,孕妇在分娩前外周血中的激活素 A 水平增加;当存在促炎介质

时,体外培养的羊膜产生激活素亦增加;循环中激活素水平常在其他急性期细胞因子如 TNF- α 及 ILs 出现前即增高^[5-6]。这些研究均提示激活素 A 是炎症反应后可首先检测到的细胞因子。产科管理 PPRM 的目的是决定是否推迟分娩(尤其胎龄小于 32 ~ 34 周者)以保障胎儿健康及促进胎儿更加成熟,因此 PPRM 不仅影响母亲,更关系到早产儿的预后。本研究结果显示产前有无应用激素、有无应用抗生素、分娩方式、胎龄、出生体重等围产因素对激活素 A 水平无明显影响。本研究结果还显示病理诊断为宫内感染者脐血激活素 A 水平明显增高,提示宫内感染可能通过炎症反应刺激脐血激活素 A 的产生。Hodges 等^[3] 研究显示,与无宫内感染组比较,宫内感染孕妇在入院时或分娩前 72 h 血清激活素 A 水平无明显变化,进一步提示激活素 A 在急性全身炎症反应早期释放。本研究中宫内感染儿脐血激活素 A 水平明显高于无宫内感染儿,提示脐血激活素 A 可能是反映早产儿出生前感染的早期指标,该指标对评价早产儿宫内状况有一定价值。但由于本研究所获取的标本例数较少,研究结果尚不能反映早产儿宫内实际情况。

当宫内感染发生后,病原体通过 Toll 蛋白样受体经多种途径促进激活素 A 的产生和释放。激活素 A 可促进几种关键的炎性介质产生,包括 IL-1 β 、TNF α 、IL-6 等,进一步促进炎症反应的启动。IL-1 β 、TNF- α 反过来也促进激活素 A 的分泌,形成了一个正反馈环。激活素 A 可抑制已激活的髓样细胞(例如单核细胞、巨噬细胞、树突细胞、骨髓间质细胞、肥大细胞)和淋巴样细胞所产生的免疫反应,从而调节后续的免疫。因此激活素 A 的调节存在促进和抑制免疫反应双方面的机制。宫内感染后肺内多种血管发育的标志物都减少,例如内皮一氧化氮合成酶、血管内皮生长因子、血小板内皮黏附分子、结缔组织生长因子等^[10]。逐渐发生微小动脉壁的内皮增厚,肺泡体积增大、数目减少、结构简单化,即出现 BPD 的病理改变^[11]。宫内感染同时也可促进肺成熟,在肺泡灌洗液中表面活性蛋白-A、B、C 和 D 的 mRNA 水平增高。由于宫内感染主要影响早产儿肺发育,本研究同时也发现脐血激活素 A 水平与早产儿生后氧疗时间呈正相关关系,提示早产儿肺疾病的发生与出生前因素即宫内感染有关。

总之,本研究显示,脐血血清激活素 A 是反映早产儿宫内感染的指标,其水平高低与早产儿生后氧疗时间呈正相关,需进一步动态观察其变化规律及是否直接参与 BPD 的发生。

[参 考 文 献]

[1]

Chakraborty M, McGreal EP, Kotecha S. Acute lung injury in preterm newborn infants: mechanisms and management[J]. Paediatr Respir Rev, 2010, 11(3): 162-170.

[2]

Been JV, Zimmermann LJ. Histological chorioamnionitis and respiratory outcome in preterm infants[J]. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed, 2009, 94(3): F218-F225.

[3]

Hodges R, Salvador L, D'Antona D, Georgiou HM, Wallace EM. Activin A as a marker of intrauterine infection in women with preterm prelabour rupture of membranes[J]. J Perinatol, 2010, 30(1): 22-26.

[4]

Stoll BJ, Hansen N, Fanaroff AA, Wright LL, Carlo WA, Ehrenkranz RA, et al. Changes in pathogens causing early-onset sepsis in very-low-birth-weight infants[J]. N Engl J Med, 2002, 347(4): 240-247.

[5]

Manuelpillai U, Schneider-Kolsky M, Dole A, Wallace EM. Activin A and activin receptors in gestational tissue from preeclamptic pregnancies[J]. J Endocrinol, 2001, 171(1): 57-64.

[6]

Jones KL, Brauman JN, Groome NP, de Kretser DM, Phillips DJ. Activin A release into the circulation is an early event in systemic inflammation and precedes the release of follistatin[J]. Endocrinology, 2000, 141(5): 1905-1908.

[7]

Phillips DJ, de Kretser DM, Hedger MP. Activin and related proteins in inflammation: not just interested bystanders[J]. Cytokine Growth Factor Rev, 2009, 20(2): 153-164.

[8]

Goldenberg RL, Culhane JF, Iams JD, Romero R. Epidemiology and causes of preterm birth[J]. Lancet, 2008, 371(9606): 75-84.

[9]

Redline RW, Faye-Petersen O, Heller D, Qureshi F, Savell V, Voqler C, et al. Amniotic infection syndrome: nosology and reproducibility of placental reaction patterns[J]. Pediatr Dev Pathol, 2003, 6(5): 435-448.

[10]

Kallapur SG, Bachurski CJ, Le Cras TD, Joshi SN, Ikegami M, Jobe AH. Vascular changes after intra-amniotic endotoxin in preterm lamb lungs[J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2004, 287(6): 1178-1185.

[11]

Willet KE, Jobe AH, Ikegami M, Newnham J, Brennan S, Sly PD. Antenatal endotoxin and glucocorticoid effects on lung morphometry in preterm lambs[J]. Pediatr Res, 2000, 48(6): 782-788.

(本文编辑:邓芳明)

· 消息 ·

国际儿科肾脏病学会(中国)培训中心招募学员通知

2010年4月北京大学第一医院儿(肾)科联合香港玛嘉烈医院青少年部被国际儿科肾脏病学会(International Pediatric Nephrology Association, IPNA)正式批准为中国首家国际儿科肾脏病学会培训中心(IPNA Training Center)。该中心主任为丁洁教授,副主任为赵孟准教授(香港)、肖慧捷主任医师、姚勇主任医师,主要专家还有钟旭辉、赖伟明(香港)、谢纪超(香港)等医师。我国拥有国际性儿科肾脏病培训中心可以避免在其他国家受训时的语言障碍,非常有利于我国儿肾医师队伍的培养和壮大。按照IPNA规定,学员在培训中心经过系统培训期满后,经中心评估、IPNA审查后可以获得“IPNA Fellow”的称号,并享有IPNA给予的如下待遇:(1)获得IPNA颁发的“IPNA Fellow”证书;(2)获得IPNA赠送的一部Pediatric Nephrology专著;(3)由IPNA资助(免会议注册费,提供交通费和食宿费)参加一次亚洲或国内学术会议、或继续医学教育(CME)课程。

IPNA(中国)中心将于2012年继续招收培训学员,预计招收1~2名学员,培训时间约8个月(其中2个月在香港玛嘉烈医院青少年部接受培训);IPNA将资助学员在培训期间的食宿费用、学员所在地至北京及北京至香港的往返机票。

申请者条件:医学本科以上学历、有儿内科执业医师证书并有三年以上临床工作经验、有一定英语基础的儿科医生。

申请程序:(1)申请者将个人简历(包括学历、职称、英语水平以及肾脏领域的医、教、研经历等)、所在单位(科室)负责人和一位正高级职称医师的书面推荐信寄往北京大学第一医院儿(肾)科;(2)IPNA(中国)培训中心将对申请者材料进行审核;(3)获准学员的资料将被报送IPNA备案;(4)由IPNA(中国)培训中心通知被批准学员具体事宜。

申请材料邮寄地址:北京市西城区西安门大街1号,北京大学第一医院儿科(信封外面标注“IPNA培训中心”字样);邮编100034;收件人钟旭辉医师。

申请截止日期为2012年1月15日。

联系人:钟旭辉医师;联系电话:010-83572168;Email: xuhui7876@yahoo.com.cn。

北京大学第一医院儿(肾)科