

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2017.20.012

血清 γ 干扰素诱导蛋白 16 水平与子痫前期发病的相关性研究张展^{1,2}, 王会平¹, 石瑛¹, 袁恩武¹, 张琳琳¹

(1. 郑州大学第三附属医院检验科, 郑州 450052; 2. 商丘医学高等专科学校, 河南商丘 476100)

[摘要] **目的** 探讨人 γ 干扰素诱导蛋白 16 (IFI16) 在子痫前期患者血清中的水平及其与子痫前期发病的相关性。**方法** 选取 2015 年 8 月到 2016 年 3 月在郑州大学第三附属医院就诊的子痫前期孕妇 45 例为子痫前期组, 同期进行常规孕期检查的 30 例健康孕妇为对照组。采用全自动生化分析仪检测血清中尿素氮、尿酸、肌酐等生化指标; 采用 ELISA 方法检测血清中 IFI16 和内皮素-1 (ET-1) 的水平, 并对血清 IFI16 水平与各检测指标之间的相关性进行分析; 受试者工作特征 (ROC) 曲线用于评判血清 IFI16 水平在预测子痫前期疾病中的价值。**结果** IFI16 和 ET-1 在子痫前期组孕妇血清中的水平明显高于对照组 ($P < 0.01$); 重度子痫前期孕妇血清 IFI16 水平高于轻度子痫前期孕妇 ($P < 0.01$)。子痫前期孕妇血清中 IFI16 水平与收缩压、舒张压、24 h 尿蛋白定量和血清 ET-1 水平呈明显正相关, 与血清清蛋白水平呈负相关。以血清 IFI16 水平为 14.47 ng/mL 和 17.09 ng/mL 作为预测子痫前期及鉴别轻度子痫前期和重度子痫前期的临界值时具有较高的灵敏度和特异性。**结论** 孕妇血清中高水平的 IFI16 与子痫前期的发病具有一定相关性, 并有可能成为预测子痫前期发生的新的生物学指标。

[关键词] 先兆子痫; γ 干扰素诱导蛋白 16; 内皮素-1**[中图分类号]** R714.244**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2017)20-2774-03

Correlation of serum interferon-inducible protein 16 level with pathogenesis of preeclampsia

Zhang Zhan^{1,2}, Wang Hui ping¹, Shi Ying¹, Yuan Enwu¹, Zhang Linlin¹

(1. Department of Clinical Laboratory, Third Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou, Henan 450052, China; 2. Shangqiu Medical College, Shangqiu, Henan 476100, China)

[Abstract] **Objective** To investigate serum interferon-inducible protein 16 (IFI16) level in the patients with preeclampsia (PE) and its correlation with PE pathogenesis. **Methods** Forty-five PE pregnant women in the Third Affiliated Hospital of Zhengzhou University from August 2015 to March 2016 were selected as the PE group and contemporaneous 30 healthy pregnant women undergoing the routine pregnant examination were selected as the control group. The biochemical indexes of serum urea, uric acid, creatinine, etc. were detected by using the automatic biochemical analyzer. The serum levels of IFI16 and ET-1 were measured by ELISA. Then the correlations between serum IFI16 level with these detected indicators were analyzed. The receiver operating characteristic (ROC) curve analysis was performed to evaluate the value of serum IFI16 for predicting PE disease. **Results** The serum IFI16 and ET-1 levels in the PE group were significantly higher than those in the control group ($P < 0.01$). Furthermore the serum IFI16 level in severe PE was significantly higher than that in mild PE ($P < 0.01$). Serum IFI16 level in PE was positively correlated with systolic blood pressure, diastolic blood pressure, 24-h urine protein quantitation and serum ET-1 level, and negatively correlated with serum albumin. Serum IFI16 levels 14.47 ng/mL and 17.09 ng/mL as the critical values for predicting preeclampsia and discriminating between mild preeclampsia and severe preeclampsia has a higher sensitivity and specificity. **Conclusion** The high level of serum IFI16 in pregnant women has a certain correlation with PE pathogenesis and may be a novel biomarker for predicting PE occurrence.

[Key words] preeclampsia; interferon-inducible protein 16; endothelium-1

子痫前期是妊娠期特有的疾病, 以妊娠 20 周以后新发的持续性血压升高并伴有明显蛋白尿为主要特征, 严重影响母婴健康, 是导致孕产妇和围生儿死亡的主要原因之一。子痫前期发病的中心环节是母体全身弥漫性内皮细胞的激活和(或)损伤。人 γ 干扰素诱导蛋白 16 (interferon-inducible protein 16, IFI16) 属 HIN-200 家族成员之一, 早期研究认为, IFI16 主要存在于上皮细胞、成纤维细胞、内皮细胞和造血细胞的细胞质或细胞核内^[1]。近来研究表明, 在一些因素刺激下, IFI16 的定位可由细胞内转移到细胞外^[2-3]。有研究在自身免疫性疾病患者血清中检测到 IFI16 的存在, 且血清中高水平的 IFI16 可能与内皮细胞损伤有关^[4-5]。最近研究发现, IFI16 也可表达于子痫

前期患者胎盘组织中^[6], 然而, 关于 IFI16 是否存在于子痫前期患者血清中国内外尚未见报道。本研究主要通过检测 IFI16 在健康孕妇和子痫前期孕妇血清中的水平及子痫前期孕妇血清 IFI16 水平与血压、尿蛋白、内皮素-1 (Endothelin-1, ET-1) 等和内皮损伤有关的血清学指标之间的相关性, 探讨 IFI16 是否与子痫前期的发病有关。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2015 年 8 月到 2016 年 3 月在郑州大学第三附属医院就诊的子痫前期孕妇 45 例(轻度 12 例, 重度 33 例)为子痫前期组, 同期进行常规孕期检查的 30 例健康孕妇为对照组。子痫前期的分类及诊断标准参照《妇产科学》(第 8

版)。子痫前期组平均年龄(33±6)岁,平均采血孕周(34±3)周;对照组平均年龄(32±4)岁,平均采血孕周(35±1)周,两组孕妇年龄和采血孕周相比差异均无统计学意义($P>0.05$)。两组孕妇均为单胎,孕前均无高血压、糖尿病、肾病、自身免疫性疾病、血管性疾病、肿瘤、炎症,无烟酒等不良嗜好,无肝炎等传染病史。本研究经医院伦理委员会批准,所有患者均签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 标本收集与处理 采集子痫前期组和对照组孕妇清晨空腹外周静脉全血 4 mL,室温自然凝固 30 min 后 3 000 r/min 离心 10 min,无溶血后取上层血清置于-80 °C 冰箱中保存待测;用含甲苯防腐剂的无菌带盖容器收集 24 h 尿液标本,标本送检后立即进行 24 h 尿蛋白量的检测。

1.2.2 相关临床指标的检测 用全自动生化分析仪 BECKMAN COULTER AU5400 检测血清中总蛋白、清蛋白、尿素氮、尿酸、肌酐、胱抑素 C、 β_2 -微球蛋白、 α_1 -微球蛋白、乳酸脱氢酶和 24 h 尿蛋白水平。

1.2.3 血清中 IFI16 和 ET-1 的水平 采用 ELISA 试剂盒(上海酶联)检测孕妇血清中 IFI16 和 ET-1 的水平,操作按照说明书进行。每例样本设 3 个复孔,所有标本均为同批检测。

1.3 统计学处理 应用 SPSS 21.0 统计软件进行数据分析和处理,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,两组间比较采用独立样本 t 检验;相关性分析采用 Pearson 相关性检验;受试者工作特征(ROC)曲线用于评判血清 IFI16 水平能否作为一种新的生物学指标用于预测子痫前期的发生,并确定相应的预测界值。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组孕妇相关临床指标的比较 子痫前期组孕妇收缩压、舒张压、24 h 尿蛋白定量、尿素氮、尿酸、肌酐、 β_2 -微球蛋白、 α_1 -微球蛋白、胱抑素 C、乳酸脱氢酶均高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);子痫前期组孕妇总蛋白、清蛋白均低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

表 1 相关临床指标在两组孕妇中的比较($\bar{x}\pm s$)

项目	子痫前期组 ($n=45$)	对照组 ($n=30$)	P
年龄(岁)	33±6	32±4	>0.05
采血孕周(周)	34±3	35±1	>0.05
收缩压(mm Hg)	157±10	115±10	<0.01
舒张压(mm Hg)	104±8	74±6	<0.01
24h 蛋白尿定量(mg)	2 003±111	83±17	<0.01
总蛋白(g/L)	56.3±6.8	61.6±5.5	<0.01
清蛋白(g/L)	29.8±4.2	34.7±2.9	<0.01
尿素氮(mmol/L)	4.0±0.8	3.5±0.7	<0.05
尿酸(μ mol/L)	317.4±94.5	263.0±66.8	<0.01
肌酐(μ mol/L)	53.6±11.5	44.6±6.6	<0.01
β_2 -微球蛋白(mg/L)	2.3±0.6	1.8±0.4	<0.01
α_1 -微球蛋白(mg/L)	27.5±7.7	24.7±4.1	<0.05
胱抑素 C(μ mol/L)	1.6±0.4	1.1±0.2	<0.01
乳酸脱氢酶(U/L)	256.6±61.8	198.5±30.1	<0.01

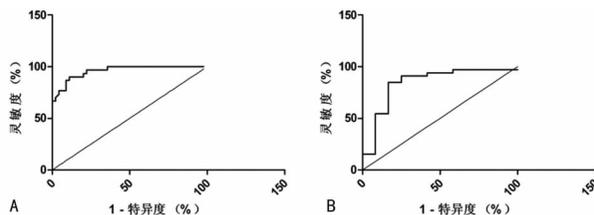
2.2 两组孕妇血清中 IFI16 和 ET-1 水平的比较 IFI16 在子痫前期组孕妇血清中的水平为(17.9±2.6)ng/mL,高于对照组的(11.2±1.4)ng/mL,差异有统计学意义($P<0.01$);ET-1 在子痫前期组孕妇血清中的水平为(41.6±9.3)ng/L,明显高于对照组的(11.0±4.9)ng/L,差异有统计学意义($P<0.01$)。轻度子痫前期孕妇和重度子痫前期孕妇血清中 IFI16 的水平分别为(15.7±2.3)ng/mL 和(18.6±2.4)ng/mL,差异有统计学意义($P<0.01$)。

2.3 子痫前期孕妇血清 IFI16 水平与各检测指标之间的相关性 子痫前期孕妇血清中 IFI16 水平与孕妇收缩压、舒张压、24 h 尿蛋白定量和血清 ET-1 水平呈正相关,与血清清蛋白水平呈负相关;与尿素氮、尿酸、肌酐、胱抑素 C、 β_2 -微球蛋白、 α_1 -微球蛋白、乳酸脱氢酶无明显相关性。见表 2。

表 2 子痫前期孕妇血清 IFI16 水平与各检测指标的相关性分析结果

项目	r	P
收缩压	0.648	0.000
舒张压	0.535	0.000
24 h 蛋白尿定量	0.696	0.000
总蛋白	0.033	0.830
清蛋白	-0.406	0.006
尿素氮	0.266	0.077
尿酸	0.120	0.432
肌酐	0.219	0.148
β_2 -微球蛋白	0.051	0.740
α_1 -微球蛋白	0.218	0.150
胱抑素 C	0.290	0.053
乳酸脱氢酶	0.149	0.328
ET-1	0.562	0.000

2.4 血清 IFI16 在预测子痫前期中的价值 ROC 曲线分析表明,当血清 IFI16 浓度为 14.47 ng/mL 时,预测子痫前期的灵敏度和特异性最高,分别为 90% 和 88.89%,ROC 曲线下面积为 0.958;当以 17.09 ng/mL 作为鉴别轻度子痫前期和重度子痫前期的临界值时,其灵敏度和特异性最高,分别为 84.85% 和 83.33%,ROC 曲线下面积为 0.841。见图 1。



A: 血清 IFI16 水平在鉴别子痫前期患者和健康孕妇时的灵敏度和特异性;B: 血清 IFI16 浓度在区分轻度子痫前期患者和重度子痫前期患者时的灵敏度和特异性

图 1 血清 IFI16 在诊断子痫前期时的 ROC 曲线

3 讨论

内皮细胞损伤是子痫前期发病的中心环节。然而,到目前为止,子痫前期中内皮细胞损伤的确切机制仍不清楚,但来自

子痫前期孕妇胎盘组织的“毒性因子”被认为在引发内皮细胞损伤中发挥了重要作用^[7-8]。研究表明,内皮细胞中过表达的 IFI16 可以抑制细胞增殖、迁移、细胞周期的进展及损害血管形成^[9]。在病毒来源的 DNA 或紫外线照射等因素刺激下,IFI16 的定位可由胞内移至胞外^[2-3],且血清中高水平的 IFI16 可能参与了内皮细胞损伤^[4-5],由此可见,IFI16 可能是血管性疾病中的一个重要调控分子。最近研究发现,IFI16 蛋白也可表达于滋养细胞系中,并且在子痫前期孕妇胎盘组织中的免疫活性和蛋白水平明显升高^[6-10],但有关 IFI16 在子痫前期患者血清中水平的研究目前尚未见报道。本研究结果表明,IFI16 在子痫前期孕妇血清中的水平高于健康孕妇,且与疾病的严重程度有关,说明 IFI16 可能与子痫前期的发病有关。

肾脏主要由一团毛细血管网组成,含大量的血管内皮细胞,当肾脏损伤时,会导致外周血中尿素氮、尿酸、肌酐等反映肾功能的血清学指标发生改变。ET-1 主要存在于血管内皮细胞,当内皮细胞受到刺激或损伤时大量合成和释放,是内皮细胞激活和(或)损伤的血清学指标之一。因此笔者通过检测这些指标在子痫前期孕妇外周血中的变化及血清 IFI16 与这些指标的相关性,探讨子痫前期孕妇血清 IFI16 是否与血管内皮细胞损伤有关。本研究发现,这些指标在子痫前期孕妇外周血中明显改变,且子痫前期孕妇血清 IFI16 水平与收缩压、舒张压、24 h 尿蛋白定量、ET-1 呈正相关,与血清清蛋白呈负相关,提示血清中高水平的 IFI16 可能通过损伤血管内皮细胞参与了子痫前期的发病。研究表明,氧化应激和各种炎性因子可以促使 IFI16 表达上调^[11-12]。众所周知,子痫前期胎盘组织处于强氧化应激和高炎症反应状态,推测胎盘组织中强氧化应激和高炎症反应状态导致 IFI16 表达升高,高表达的 IFI16 在一些因素刺激下作为胎盘来源的“毒性因子”释放进入母体血液循环,导致外周血中 IFI16 水平升高并激活和(或)损伤血管内皮细胞,从而引起肾脏毛细血管损伤,肾小球滤过功能下降,与肾功能相关的血清学指标发生改变。另外,内皮细胞损伤还会导致 ET-1 水平合成与释放,加重血管痉挛,形成恶性循环,进一步促进子痫前期的发展,诱发高血压、蛋白尿及其他临床症状的发生。ROC 曲线分析表明,适当的血清 IFI16 水平在预测子痫前期及鉴别轻度子痫前期和重度子痫前期中具有一定的意义。

本研究结果表明,IFI16 在子痫前期孕妇血清中明显升高,与疾病的严重程度具有一定相关性,可能作为潜在的胎盘来源的“毒性因子”通过损伤血管内皮细胞参与子痫前期的发病,并且血清 IFI16 水平有可能成为预测子痫前期发生的新的生物学指标。鉴于目前有关 IFI16 在子痫前期发病中的研究较少,未来仍需进一步的研究,从而为疾病的早期预测、诊断及治疗提供新的思路和方法。

参考文献

[1] Gariglio M, Azzimonti B, Pagano M, et al. Immunohistochemical expression analysis of the human interferon-

inducible gene IFI16, a member of the HIN200 family, not restricted to hematopoietic cells[J]. *J Interferon Cytokine Res*, 2002, 22(7): 815-821.

- [2] Costa S, Borgogna C, Mondini M, et al. Redistribution of the nuclear protein IFI16 into the cytoplasm of ultraviolet B-exposed keratinocytes as a mechanism of autoantigen processing[J]. *Br J Dermatol*, 2011, 164(2): 282-290.
- [3] Dell'Oste V, Gatti D, Gugliesi F, et al. Innate nuclear sensor IFI16 translocates into the cytoplasm during the early stage of in vitro human cytomegalovirus infection and is entrapped in the egressing virions during the late stage [J]. *J Virol*, 2014, 88(12): 6970-6982.
- [4] Bawadekar M, De Andrea M, Lo Cigno I, et al. The Extracellular IFI16 protein propagates inflammation in endothelial cells via p38 MAPK and NF-kappaB p65 activation [J]. *J Interferon Cytokine Res*, 2015, 35(6): 441-453.
- [5] Gugliesi F, Bawadekar M, De Andrea M, et al. Nuclear DNA sensor IFI16 as circulating protein in autoimmune diseases is a signal of damage that impairs endothelial cells through high-affinity membrane binding [J]. *PLoS One*, 2013, 8(5): e63045.
- [6] Li N, Fu Y, Chen W, et al. IFI16 mediates soluble Flt-1 and endoglin production by trophoblast cells [J]. *J Hypertension*, 2015, 33(8): 1658-1665.
- [7] 李力. 子痫前期研究现状与思考 [J]. *中国计划生育和妇产科*, 2014, 6(1): 32-34.
- [8] 卢琳, 胡继芬. 血管内皮损伤与子痫前期 [J]. *中国实用妇科与产科杂志*, 2012, 28(4): 267-269.
- [9] Raffaella R, Gioia D, De Andrea M, et al. The interferon-inducible IFI16 gene inhibits tube morphogenesis and proliferation of primary, but not HPV16 E6/E7-immortalized human endothelial cells [J]. *Exp Cell Res*, 2004, 293(2): 331-345.
- [10] Chu X, Chen W, Li N, et al. Cytosolic double-stranded DNA induces nonapoptotic programmed cell death in trophoblasts via IFI16 [J]. *J Infect Dis*, 2014, 210(9): 1476-1486.
- [11] Gugliesi F, Mondini M, Ravera R, et al. Up-regulation of the interferon-inducible IFI16 gene by oxidative stress triggers p53 transcriptional activity in endothelial cells [J]. *J Leukoc Biol*, 2005, 7(5): 820-829.
- [12] Sponza S, De Andrea M, Mondini M, et al. Role of the interferon-inducible IFI16 gene in the induction of ICAM-1 by TNF-alpha [J]. *Cell Immunol*, 2009, 257(1/2): 55-60.

(收稿日期:2017-02-13 修回日期:2017-04-13)