

# 胎儿纤维连接蛋白在复发性流产患者 妊娠早期中的表达

郭小玲, 李丽琴, 习凤英, 龚翠梅, 龚小倩

韶关市妇幼保健院妇科, 广东 韶关 512026

**摘要:** **目的** 观察胎儿纤维连接蛋白 (fFN) 在复发性流产 (RSA) 妇女再次妊娠时孕早期的表达, 探索 fFN 对 RSA 患者妊娠结局的预测价值。 **方法** 选择有 RSA 史、于 2013 年 6 月至 2014 年 11 月诊断为早期妊娠者 93 例作为观察组, 选取同期诊断为正常早期妊娠者 50 例为对照组。fFN 采用上转发光免疫分析仪进行测量, 标记样本 fFN 浓度  $>50$  ng/ml 为阳性, 反之阴性。比较两组的 fFN 阳性表达率及胚胎丢失率。观察 fFN 作为预测指标的灵敏性、特异性、阳性预测值、阴性预测值。分析 RSA 患者再次妊娠发生胚胎丢失的危险因素。 **结果** 观察组 fFN 阳性率显著高于对照组 (79.57% vs 34.00%,  $P < 0.01$ ), 胚胎丢失率显著高于对照组 (61.29% vs 16.00%,  $P < 0.01$ )。fFN 在研究中整体敏感性 (92.85%)、阴性预测值 (90.38%) 高, 特异性 (64.38%)、阳性预测值 (71.43%) 稍差。Logistic 回归分析结果显示, 生殖系感染 ( $OR = 1.201, P = 0.008$ )、解剖异常 ( $OR = 1.092, P = 0.032$ )、免疫异常 ( $OR = 1.422, P = 0.002$ ) 是 RSA 患者再次妊娠发生胚胎丢失的危险因素。 **结论** fFN 在 RSA 患者早期妊娠中能较好地预测妊娠结局, 其应用有待进一步探究。

**关键词:** 胎儿纤维连接蛋白; 复发性流产; 早期妊娠; 胚胎丢失

**中图分类号:** R 714.21 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-8182(2015)04-0432-04

## Expression of fetal fibronectin in early pregnant women with recurrent spontaneous abortion

GUO Xiao-ling, LI Li-qin, XI Feng-ying, GONG Cui-mei, GONG Xiao-qian

Department of Gynecology, Maternal and Child Health Hospital of Shaoguan City, Shaoguan, Guangdong 512026, China

**Abstract: Objective** To observe the expression of fetal fibronectin (fFN) in early pregnancy of gestation again in recurrent spontaneous abortion (RSA) women and explore its predictive value for pregnant outcome of RSA patients. **Methods** Ninety-three early pregnant women with RSA history between June 2013 and November 2014 were selected as observed group, and 50 normal early pregnant women at the same time were selected as control group. The fFN was detected by forward light immunity analyzer. The sample of fFN concentration more than  $>50$  ng/ml was defined as positive, and otherwise was defined as negative. The positive expression rates of fFN and embryo loss rate in two groups were compared. The sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive value for the fFN as a predictive index were observed. The risk factors of embryo loss during gestation again in RSA patients were analyzed. **Results** The positive rate of fFN in observed group was significantly higher than that in control group (79.57% vs 34.00%,  $P < 0.01$ ), and the embryo loss rate in observed group was also significantly higher than that in control group (61.29% vs 16.00%,  $P < 0.01$ ). The overall sensitivity (92.85%) and negative predictive value (90.38%) were satisfactory, but the specificity (64.38%) and positive predictive value (71.43%) were poor. The logistic regression analysis showed that reproductive system infections ( $OR = 1.201, P = 0.008$ ), anatomic abnormalities ( $OR = 1.092, P = 0.032$ ) and immune abnormalities ( $OR = 1.422, P = 0.002$ ) were the risk factors of embryo loss during gestation again in RSA patients. **Conclusions** The fFN can better predict the outcome of early pregnancy in RSA patients, but its application needs further to be explored.

**Key words:** Fetal fibronectin; Recurrent spontaneous abortion; Early pregnancy; Embryo loss

复发性流产 (recurrent spontaneous abortion,

RSA)<sup>[1]</sup> 是指与同一性伴侣连续发生 3 次或 3 次以上的自然流产。世界范围内报道其发生率为 2% ~ 4%<sup>[2]</sup>。据最近国内相关报道育龄妇女的 RSA 发生

率逐年升高<sup>[3]</sup>。在临床上妊娠早期用于预测 RSA 患者妊娠结局的方法很少。超声探及胎心搏动是判断良好妊娠结局的可靠指标,但超声下的胎心搏动大多出现在妊娠 40 d 后。对于 RSA 患者的再次妊娠,及时的医疗干预,避免胚胎丢失的发生显得极为重要,妊娠早期(<40 d)在超声尚未出现胎心搏动的情况下,医生即需要获得及时和较准确的指标指导治疗。胎心搏动的时限性在一定程度上制约了临床医生的判断,在这种情况下,超声的应用受到很大限制。

胎儿纤维连接蛋白(fetal fibronectin, fFN)是纤维连接蛋白的一种,是一种重要的细胞外基质,由蜕膜分泌,对受精卵的植入、绒毛和蜕膜起到连接和粘附作用。流产、稽留流产发生前往往存在免疫失调等因素,蜕膜及其分泌的细胞因子发生异常改变,常导致绒毛膜-蜕膜界面的进行性蛋白水解破坏,使完整的或降解的绒毛膜或蜕膜细胞外基质蛋白释放入宫颈和阴道分泌物中,导致检测到 fFN 阳性。另外,最近在小鼠体内也发现, fFN 对于早期妊娠时子宫内膜基质发生形态学分化,层粘连蛋白以及纤维连接蛋白所呈现的动态表达起着重要的作用<sup>[4]</sup>。这些发现为将 fFN 用于流产预测提供了可能。本研究通过临床观察,研究 fFN 在 RSA 妇女再次妊娠时妊娠早期的表达,探索 fFN 对 RSA 患者妊娠结局的预测价值。

## 1 资料与方法

1.1 一般资料 选择有 RSA 史,于 2013 年 6 月至 2014 年 11 月在我院诊断为早期妊娠者 93 例作为观察组。选取同期我院诊断为正常早期妊娠者 50 例为对照组。纳入标准:(1)孕周 < 12 周;(2)无先兆流产症状,如腹痛、阴道流血等;(3)超声检查见典型孕囊,无孕囊周边血肿等表现;(4)24 h 内无性生活和妇科检查;(5)无慢性宫颈炎、宫颈息肉等宫颈疾病,无宫颈手术史;(6)无严重内科疾病及妊娠并发症,某些妇科内分泌疾病除外(多囊卵巢综合征、黄体功能不全等);(7)签署知情同意书。观察过程中,所有孕妇均禁房事、避免体力劳动及剧烈运动、适当休息、补充叶酸。一旦出现先兆流产症状如腹痛、阴道流血等,按照先兆流产住院保胎治疗。两组一般情况比较差异均无统计学意义:年龄观察组(28.53 ± 6.31)岁,对照组(26.87 ± 7.27)岁( $t = 1.688, P > 0.05$ );取样孕周观察组(7.41 ± 2.46)周,对照组(7.80 ± 2.64)周( $t = 2.454, P > 0.05$ );妊娠次数观察组(5.63 ± 2.46)次,对照组(4.98 ± 1.80)次( $t = 2.112, P > 0.05$ )。

1.2 主要试剂 北京热景生物技术有限公司提供的

fFN 定量测定试剂盒及 UPT 上转发光免疫分析仪。

1.3 样本采集 由熟练的妇产科医生取材:(1)孕妇取截石位,一次性阴道扩张器缓缓撑开阴道,阴道扩张器不可涂抹润滑油。在阴道镜检查或其他一些检查和操作之前取样,取样动作要轻。(2)试剂盒每份单人包装内包含有无菌拭子,只能使用本无菌拭子进行采样。将无菌拭子置于阴道后穹窿处 10 s,充分浸润后取出,立即放入含有稀释液的试管中,拭子头应浸没在稀释液中,拭子头在内壁上滚动或是震荡试管 10 ~ 15 s,以保证标本尽可能多的溶于稀释液,随后即将拭子取出丢弃,盖上试管盖。如若无法在采样后 8 h 内检测,则需置于 -20 °C 以下保存。(3)将单人份包装平衡至室温(20 ~ 25 °C),拆开检测卡的铝箔袋包装,将检测卡放置在平衡的表面上,在检测卡外壳上写上待测样本的编号,取 70 μl 标本加入加样孔中,室温放置 20 min,将检测卡放入上转发光免疫分析仪中进行 fFN 浓度的测量。

1.4 指标判读 由检验科的固定人员判读结果:记录上转发光免疫分析仪上的数据并打印结果,标记样本 fFN 浓度 > 50 ng/ml 为阳性,反之阴性。

1.5 观察指标 一般情况:年龄、取样孕周、妊娠次数。fFN 检测结果:阳性或阴性。灵敏性和特异性:计算观察组 fFN 阳性预测流产发生的灵敏性(真阳性率),即 fFN 检测阳性的患者占总流产例数的比例。fFN 阳性预测流产发生的特异性(真阴性率),即 fFN 检测为阴性的例数占总正常例数的比例。阳性预测值和阴性预测值:阳性预测值(预测阳性结果的正确率),即 fFN 检测阳性的患者中真正发生流产的例数所占的比例。阴性预测值(预测阴性结果的准确率),即 fFN 检测阴性结果的患者中没有发生流产的例数所占的比例。

早孕期常规检查结果如:血常规、肝肾功能、抗心磷脂抗体、不孕症抗体、封闭抗体、宫颈分泌物病原学检查、乙肝两对半、TORCH 全套等,追踪结果做好记录。

1.6 随访 观察过程中,所有孕妇均禁房事、避免体力劳动及剧烈运动、适当休息、补充叶酸。一旦出现先兆流产症状如腹痛、阴道流血等,按照先兆流产住院保胎治疗。所有孕妇追踪至孕 14 周,注意记录妊娠 12<sup>+</sup>周 ~ 13<sup>+</sup>周所行胎儿颈项透明层的彩超结果。随访终点当 B 超提示胎儿心管搏动良好、胚胎发育与孕周同步判定成功渡过早孕期。若 B 超提示胎儿停止发育,伴或不伴有流产的临床表现判定为妊娠失败。对于妊娠失败病例需追查免疫、内分泌、感染、解剖、生活习惯等各方面因素,谨慎排查引起流产的

原因。

1.7 统计学方法 采用 SPSS 20.0 统计软件对数据进行分析。率的比较采用  $\chi^2$  检验;对 fFN 阳性与否在流产预测中的判断效能,采用敏感性、特异性、阳性预测值、阴性预测值描述;对 RSA 患者再次妊娠发生胚胎丢失的危险因素采用 Logistic 分析。 $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 两组 fFN 阳性率、胚胎丢失率的比较 本文胚胎丢失指随访时发生不完全流产、完全流产或稽留流产。观察组 fFN 阳性率显著高于对照组 ( $\chi^2 = 10.856, P < 0.01$ ),差异有统计学意义。观察组胚胎丢失 62 例,对照组胚胎丢失 8 例,观察组与对照组比较,胚胎丢失率显著升高 ( $\chi^2 = 9.811, P < 0.01$ )。见表 1。

2.2 fFN 对流产预测在两组中的敏感性、特异性、阳性预测值、阴性预测值 观察组 93 例病例,fFN 作为预测指标体现出高敏感性(91.94%),其阳性预测值(77.03%)、阴性预测值(73.68%)较为满意,而特异性差(45.16%)。对照组 50 例观察对象,其敏感性(100%)、特异性(78.57%)、阴性预测值(100%)较高,而阳性预测值低(47.06%)。总体 143 例观察对象,fFN 的敏感性(92.85%)、阴性预测值(90.38%)高,特异性(64.38%)、阳性预测值(71.43%)较差。见表 2。

2.3 RSA 患者胚胎再次丢失的影响因素的 Logistic 分析结果 对影响因素的评判标准进行详细规定:吸烟(妊娠前 3 个月每日 1 包以上),饮酒(妊娠前 3 个月每日啤酒 600 ml 以上或白酒 80 ml 以上),应激(妊娠早期急性病史如严重感染、高热等,或出现较大精神创伤、刺激、精神紧张等),生殖系感染(存在明确的病原学证据如支原体培养阳性、淋球菌培养阳性等),BMI(正常范围 18.5 ~ 24,低于或高于正常范围均记为 BMI 异常),内分泌疾病(存在影响妊娠的疾病病史,如多囊卵巢综合征、黄体功能不全等),免疫(不孕症抗体检测找到阳性证据,或者封闭抗体检测找到阴性证据),解剖(流产后追踪检查,宫腔镜见宫腔畸形或形态改变),遗传(存在 RSA 家族史)。对 RSA 患者再次发生胚胎丢失的影响因素进行分析,93 例观察对象的研究表明,生殖系感染、免疫、解剖因素是再次流产的危险因素 ( $P < 0.01$  或  $P < 0.05$ )。见表 3。

表 1 两组病例 fFN 是否阳性与妊娠结局 例(%)

组别	例数	fFN 结果	P 值	胚胎丢失	继续妊娠	P 值
观察组	93	阳性 74(79.57)	<0.01	57(61.29)	17(18.28)	<0.01
		阴性 19(20.43)		5(5.38)	14(15.05)	
对照组	50	阳性 17(34.00)		8(16.00)	9(18.00)	
		阴性 33(66.00)		0	33(66.00)	

表 2 fFN 对流产预测在两组中的敏感性、特异性、阳性预测值、阴性预测值 (%)

组别	例数	敏感性	特异性	阳性预测值	阴性预测值
观察组	93	91.94	45.16	77.03	73.68
对照组	50	100.00	78.57	47.06	100.00
合计	143	92.85	64.38	71.43	90.38

表 3 RSA 患者胚胎再次丢失影响因素的 Logistic 分析

影响因素	$\beta$ 值	Wald 值	P 值	OR 值	OR 95% CI
吸烟	1.108	4.706	0.078	1.001	0.967 ~ 1.427
饮酒	0.883	2.911	0.164	0.994	1.001 ~ 1.490
应激	0.821	2.548	0.201	0.814	0.897 ~ 1.203
生殖系感染	2.466	7.622	0.008	1.201	1.025 ~ 1.433
BMI	-0.973	3.277	0.191	0.901	0.976 ~ 1.315
内分泌疾病	0.602	1.569	0.296	0.799	0.889 ~ 1.115
免疫	2.591	8.731	0.002	1.422	1.132 ~ 1.688
解剖	1.783	6.150	0.032	1.092	0.997 ~ 1.498
遗传	0.416	0.899	0.321	0.781	0.801 ~ 1.093
不明原因	-0.100	0.121	0.487	0.566	0.833 ~ 1.018

## 3 讨论

胚胎的植入牵涉到复杂的免疫反应过程,在正常妊娠的早期,促炎因子如肿瘤坏死因子(TNF)- $\alpha$ 、干扰素(IFN)- $\gamma$ 、白细胞介素(IL)-17 等和抑炎因子 IL-10、转化生长因子(TGF)- $\beta$ 、叉头状转录因子(Foxp)-3 等相互作用达到一个平衡<sup>[5-7]</sup>,母体对胚胎这一移植植物产生了免疫耐受,使得胚胎成功种植在子宫内膜并进一步发育。当子宫内膜存在免疫失衡时,容易发生反复流产、胚胎种植失败。若单从免疫反应这一机制入手对反复流产的发生机制进行研究,复杂的细胞-因子网络、体液-局部调节过程将大大增加研究难度。因此寻求简单、直观的预测指标是临床医生及患者的需要。超声探及胎心搏动能直观地判断胚胎的存活、妊娠的成功。但超声下的胎心搏动大多出现在妊娠 40 d 左右,部分 RSA 的患者在妊娠 40 d 之前即出现了流产症状,提示超声反映妊娠结局并不及时;另一方面,RSA 患者再次妊娠时往往存在较大的心理压力<sup>[8]</sup>,不适时地反复行超声未探及胎心搏动,对于患者来说造成了额外的心理负担。

2006 年张新艳发表在《世界核心期刊文摘(妇产科分册)》的《不明原因的复发性流产中宫颈 fFN 能否预测妊娠早期结局》中结论:该研究探讨了测定宫颈 fFN 来预测早期妊娠结局的可能性。2011 年张荣

将 fFN 检测用于晚期流产干预的临床研究认为 fFN 能早期预测流产的发生。这些研究为临床上妊娠早期 RSA 患者妊娠结局的预测提供了新的思路。国外学者认为 fFN 作为不依赖于孕周的独立预测因子,在妊娠不同阶段有其特定的预测价值。

我们通过筛选 93 例 RSA 再次妊娠的病例,及 50 例正常早期妊娠妇女进行观察,发现观察组 fFN 的阳性率显著高于对照组,提示 fFN 在 RSA 患者中确实存在高表达。观察组胚胎丢失率显著高于对照组,证实在 RSA 患者再次妊娠时存在较高的妊娠风险<sup>[9-10]</sup>,需及时制定方案进行干预,珍惜 RSA 患者的黄金生育期。在我们的研究中,fFN 作为观察指标,其灵敏性、阴性预测值均较为满意,在 RSA 病例中对流产预测的灵敏性达到 91.94%,是具有发掘潜力的指标<sup>[11]</sup>。由于本项目中研究的病例数量有限,且 fFN 样本浓度 > 50 ng/ml 时才判为阳性,因此 fFN 的实际应用有待进一步观察。我们对 RSA 患者胚胎再次丢失的影响因素进行分析,发现生殖系感染、宫腔解剖异常、免疫异常是其危险因素,与文献报道相符<sup>[12-15]</sup>。

总之,本研究结果提示,fFN 作为实验室指标,在 RSA 患者早期妊娠中能较好地预测其妊娠结局,但在不同原因引起的流产中 fFN 的表达特点及其预测的准确性本研究尚未涉及,有待今后进一步探讨。

## 参考文献

- [1] 谢幸. 妇产科学 [M]. 8 版. 北京:人民卫生出版社,2013:47-51.
- [2] Stephenson M, Kuttah W. Evaluation and management of recurrent early pregnancy loss [J]. Clin Obstet Gynecol, 2007, 50 (1): 132-145.
- [3] 王克蓉. 复发性流产史孕妇早孕末期超声筛查的结果分析 [J]. 医学影像, 2013, 51 (16): 86-87, 90.
- [4] Kaloglu C, Onarlioglu B. Extracellular matrix remodelling in rat endometrium during early pregnancy: the role of fibronectin and laminin [J]. Tissue Cell, 2010, 42 (5): 301-306.
- [5] 梁佩燕, 李观贵, 连若纯, 等. 促/抑炎因子平衡在反复胚胎种植失败中的作用 [J]. 生殖医学杂志, 2013, 22 (4): 237-241.
- [6] 朱姝, 陆启滨. 抗心磷脂抗体导致妊娠丢失的免疫病理机制及安子合剂的干预作用 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18 (11): 177-181.
- [7] Nigro G, Mazzocco M, Mattia E, et al. Role of the infections in recurrent spontaneous abortion [J]. J Matern Fetal Neonatal Med, 2011, 24 (8): 983-989.
- [8] 孙宇, 赵红. 自然流产患者心理问题及其干预的研究现状 [J]. 中华护理杂志, 2013, 48 (7): 648-651.
- [9] 谷春会, 梁文君, 付璐璐, 等. 复发性自然流产 156 例危险因素分析 [J]. 中国实验诊断学, 2013, 17 (7): 1317-1319.
- [10] 楚伟, 郭文潮, 王方娜, 等. 石家庄地区 1513 对自然流产夫妇的细胞遗传学分析 [J]. 中华医学遗传学杂志, 2013, 30 (1): 121-122.
- [11] 谭燕, 黎雪, 伍达锋, 等. 胎儿纤维连接蛋白对稽留流产的预测价值 [J]. 广东医学院学报, 2014, 32 (1): 41-43.
- [12] 刘玉昆, 陈欣, 刘颖琳, 等. 高龄早期复发性流产患者流产原因分析 [J]. 中山大学学报 (医学科学版), 2013, 34 (4): 646-650, F3.
- [13] 江卫红, 贺晓红. 不明原因复发性自然流产外周血自然杀伤细胞亚群检测的临床意义 [J]. 中国综合临床, 2014, 30 (6): 574-576.
- [14] 张亦心, 吕丽华, 高章圈, 等. 618 例早期妊娠胚胎丢失相关因素分析 [J]. 中国妇幼健康研究, 2013, 24 (1): 18-20.
- [15] 林晓萍, 刘建军, 邱惠萍, 等. 疱疹病毒感染与不良妊娠结局相关性的研究进展 [J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2014, 34 (4): 319-322.

收稿日期: 2014-12-03 修回日期: 2015-01-12 编辑: 石嘉莹

(上接第 431 页)

differentiation, cell cycle control, tumor growth, and tumor cell motility: a clinicopathologic and immunohistochemical study of 31 cases [J]. Am J Surg Pathol, 2003, 27 (9): 1203-1215.

- [18] Shintani Y, Ohta M, Iwasaki T, et al. Pulmonary pleomorphic carcinoma with rapid progression [J]. Asian Cardiovasc Thorac Ann, 2013, 21 (2): 231-234.
- [19] Hara S, Hosoi K, Suga Y, et al. Multiple cytokines-producing pleomorphic carcinoma of lung with metastasis to the small intestine [J]. Ann Thorac Cardiovasc Surg, 2014, 20 Suppl: 666-668.
- [20] Wakizaka K, Otani Y, Aiyama T, et al. Pulmonary pleomorphic carcinoma with rapid growth causing death in a short period after surgery: report of a case [J]. Kyobu Geka, 2012, 65 (13): 1184-1187.
- [21] Matsubara Y, Tateishi M, Okuyama T, et al. The operated case of 89 year-old patient with pleomorphic carcinoma of the lung [J]. Fukuoka Igaku Zasshi, 2012, 103 (9): 182-185.
- [22] Li PF, Lo CH, Yang SH, et al. Pulmonary pleomorphic carcinoma with multiple metastases to the right posterior knee complicated by paraneoplastic hypercalcemia [J]. Oncol Lett, 2014, 7 (2): 452-454.

收稿日期: 2014-12-20 修回日期: 2015-02-12 编辑: 王国品