

血清游离人绒毛膜促性腺激素 β 亚基检测及临床应用

刘雪峰¹, 古丽娜尔·依明², 邵永康³ 综述, 田刚³ 审校(1. 新疆职业病医院检验科, 乌鲁木齐 830091; 2. 新疆喀什地区第一人民医院检验科 844000; 3. 天津公安医院检验科 300040)

【关键词】 绒毛膜促性腺激素, β 亚单位, 人; 放射免疫测定; 酶联免疫吸附测定; 化学发光测定法; 唐氏综合征; 异位妊娠

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2011.17.044 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2011)17-2129-02

人绒毛膜促性腺激素(human chorionic gonadotropin, HCG)是由胎盘合体滋养细胞所分泌的、由 α 和 β 亚基通过非共价键组成的糖蛋白激素, 相对分子质量为 37.5×10^3 。除整分子 HCG 外, 可在血浆、血清和尿中检测到 HCG 的亚基(游离 α 、 β 亚基)和游离亚基的降解产物^[1-2]。这些亚基来源于 α 、 β 亚基合成过剩或细胞中亚基的不完全结合。HCG 与另外 3 种糖蛋白激素卵泡刺激素(FSH)、促黄体生成素(LH)及促甲状腺激素(TSH)的 α 亚基由同一基因编码, 结构相同, 但 β 亚基不同, 仅有羧基端的 35 个氨基酸与 LH 相似, 因此仅对 LH 有交叉免疫反应。正是基于此, 游离人绒毛膜促性腺激素 β 亚基(free human chorionic gonadotropin β subunit, F- β -HCG)的测定较整分子 HCG 的测定更具灵敏性、特异性, 且明显降低了交叉反应的发生。

目前研究表明, HCG 亦可由垂体分泌, 而且在人体众多的非滋养细胞肿瘤甚至非妇科肿瘤患者的体内及肿瘤细胞中发现 HCG, 且阳性率和滴度都很高^[3-4]。随着人们对 HCG 研究的不断深入, HCG 尤其是 F- β -HCG 的检测在临床应用中具有更加重要的意义。

1 F- β -HCG 及其检测方法

1.1 F- β -HCG 概述

HCG 是妊娠时由胎盘滋养细胞分泌的一种糖蛋白激素, 由 α 、 β 两个亚基通过非共价键连接组成。F- β -HCG 是 HCG 的亚单位, 在血清中具有稳定性好、灵敏度高的特点, 引起了人们的兴趣。整分子 HCG 由两个亚基 α 、 β 组成。它们通过离子键和疏水键结合在一起。相对分子质量为 3.72×10^3 。 α 亚基分子为 14×10^3 , 是 92 个氨基酸的糖肽, 在 52 和 78 号残基上带有天门冬酰胺链接(N 端连接)的半糖, 它靠 5 个二硫键稳定。 β 亚基相对分子质量为 2.32×10^3 , 由 145 个氨基酸组成, 靠 6 个二硫键稳定, N 端连接的半糖附在 13 和 30 位氨基酸的残基上, 4 个丝氨酸连接(O 端连接)的糖键结合在 C 端肽上(在 β 亚基的 121~145 号残基上)。除了整分子 HCG 外, 可在血浆、血清和尿中检测到 HCG 的亚基(游离 α 、 β 亚基)和游离亚基的降解产物。这些亚基来源于 α 、 β 亚基合成过剩或细胞中亚基的不完全结合。游离亚基还来源于 HCG 的缓慢解离(解离的半衰期为 37°C 40 d)和缺刻快解离损伤和高糖基化 HCG 的解离(半衰期为 10~16 d)。游离 α 亚单位结构和 FSH、LH 及 TSH 的 α 亚单位结构相同, 故与上述 3 种激素均有交叉免疫反应。 β 亚单位是 HCG 所特有的。通常所测的总 β -HCG 是指整分子 HCG 加 F- β -HCG。

F- β -HCG 包括天然游离 β 亚单位和缺刻游离 β 亚单位。游离 β 亚单位是由整分子 HCG 在循环中缓慢解离形成, 仅有羧基端的 35 个氨基酸与 LH 相似, 因此仅对 LH 有交叉免疫反应。缺刻游离 β 亚单位是当天然游离 β 亚单位在胎盘、葡萄胎、癌组织或循环中产生的蛋白水解酶作用下, β 链的第 43~49 的某一位点出现缺口而产生的。其在肾脏降解为 β 核心片段(HCG β cf)并被排泄到尿液中, 在尿中的浓度较大, 几乎为血清中的 4 000 倍。HCG 由细胞分泌入血后分布到全身各个组

织器官, 经分解代谢成不同相对分子质量的代谢产物, 最终由肾脏排出体外。

1.2 F- β -HCG 的常用检测方法

标记免疫技术的发展, 使 F- β -HCG 的定量检测成为可能, 以下主要介绍几种血清学免疫检测技术。

1.2.1 放射免疫检测

放射免疫检测是指免疫分析加上放射性标记, 将同位素分析的高灵敏度与抗原抗体反应的特异性相结合, 以放射性同位素作为示踪物的标记免疫测定方法, 利用放射性同位素标记抗原(或抗体), 与相应抗体(或抗原)结合后, 通过测定抗原、抗体结合物的放射性检测结果。此方法灵敏度高、特异性强, 在医学及其他生物学科的研究领域中广泛应用。近年来, 有学者研究了针对自身抗原的液相放射免疫, 结果表明检测特异性有所提高^[5]。但由于本方法假阳性率较高, 且存在对人体的放射性损伤等因素, 现已较少应用。

1.2.2 化学发光免疫测定

化学发光免疫测定是将发光分析和免疫反应结合的一种测定技术。主要有化学发光酶免疫技术、化学发光标记免疫技术和电化学发光免疫技术。化学发光免疫测定法有较高的敏感性与特异性, 且本底低, 是一个较为活跃的研究领域。近期有研究表明, 应用化学发光法检测 HCG, 应将被测血清做 100 倍稀释才能避免钩状效应的产生, 得到更准确的结果^[6]。该法具有高敏感性和高特异性、测定范围宽、试剂稳定、无毒害、无污染、操作简单、耗时短等优点, 但因其价格昂贵, 在国内应用较少。

1.2.3 酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)

ELISA 是一种敏感的技术, 可以在微克乃至纳克水平对所测物质进行定量检测, 具有快速、敏感、简便, 易于标准化, 投入低, 基层实验室也可开展等优点。不仅适用于临床标本的检查, 而且由于一天之内可以检查几百至上千份标本, 因此, 也适合于血清流行病学调查。另外, 本法不仅可以用来测定抗体, 而且也可用于测定体液中的循环抗原, 所以也是一种早期诊断的良好方法。有研究表明, 此法敏感性及特异性均佳, 应用较广^[7]。传统 ELISA 存在固有缺陷, 主要表现为: 其一, 传统包被模式, 抗体分子有效利用率降低, 不仅浪费抗体, 增加试验成本, 且无效抗体分子占用固相表面的有限面积, 导致抗体包被量不足, 影响试验方法敏感度和检测范围。其二, 抗体分子包被量受固相表面积限制。同时, 一步法 ELISA 是将待测抗原和酶标抗体同时加入微孔板内, 当标本中抗原含量过高时, 包被抗体量相对不足, 导致不能形成双抗体夹心复合物, 抗原分子只与酶结合抗体反应。此时, 虽然待测抗原含量很高, 却没产生较高的检测信号, 这种现象称为“钩状效应”。基于上述原因, 对现有双抗体夹心 ELISA 进行改进, 建立基于生物素亲和素间接包被模式和将抗原抗体反应置于全部液相中的全新酶标技术, 用于检测血清 F- β -HCG, 将具有更加广阔的临床应用前景。

2 F- β -HCG 的临床应用

2.1 F- β -HCG 在唐氏综合征(Down's syndrome, DS)筛查中

2 000 U/L;(4)B 超检查异位妊娠包块局限于附件区,包块直径小于或等于 4 cm;(5)盆腔无积液或液平面小于 3 cm;(6)肝、肾功能,血分析正常;(7)无 5-氟尿嘧啶用药禁忌;(8)患者有生育要求,并同意药物治疗。

1.3 方法 生理盐水 750 mL 加 5-氟尿嘧啶 500 mg 单次进行腹腔灌注。常规消毒下腹部皮肤,铺无菌孔巾,用 9 号套管针在下腹中线病侧作盆腔穿刺,回抽无血液溢出,先以生理盐水 250 mL 注入一半,液体进入顺利,再注入生理盐水 500 mL 与 5-氟尿嘧啶 500 mg 混合液,随后再注入剩余 125 mL 生理盐水。灌注完毕,拔出穿刺针,用无菌纱布覆盖。用药后患者可能出现轻微腹胀或腹痛及肛门坠胀,考虑系腹腔灌注药物引起的不适。复查 B 超确定异位妊娠包块未破,密切观察生命体征,预防性使用止血药和抗生素。

重复用药疗程指征:用 5-氟尿嘧啶腹腔灌注后第 7 天,复查血 β -HCG 是否降低幅度小于 20%,同时具有保守治疗的条件下,可用同样剂量重复进行腹腔灌注。

1.4 临床观察 用药前对所有患者进行体格检查、肝肾功能、血尿分析、妇科检查、B 超、尿妊娠试验、血 β -HCG 值。用药期间观察生命体征变化,腹痛及阴道出血情况,药物不良反应。治疗疗程完成后 7 d 复查血 β -HCG 是否降至正常,常规 B 超观察包块有无缩小,是否与原有包块一样大或增大。常规复查血常规及肝、肾功能。

1.5 疗效判定标准 治愈:治疗后血 β -HCG 降至正常或接近正常,B 超提示附件包块缩小或不继续增大,无内出血,临床症状、体征消失。无效:保守治疗过程中出现异位妊娠包块破裂;血 β -HCG 持续增高或下降不明显;腹痛反复发作,有内出血增多。

2 结 果

102 例患者中,90 例用药期间生命体征正常,复查血 β -HCG 降至正常。治疗后 2 周复查 B 超示附件包块较以前明显缩小或消失,治愈率为 88.2%。其中 12 例患者出现腹痛加重,确诊内

出血多而行急诊手术。上述用药患者均无明显不良反应。

3 讨 论

近年来异位妊娠发生率增高,随着医学技术也有长足进步,B 超诊断技术及血 β -HCG 检测的敏感度提高,为异位妊娠的早期诊断提供了有力的保证,使患者能在早期接受保守治疗而免于手术痛苦^[3]。

盆腔灌注是血管外给药的一种方法,能够有效提高药物的局部吸收浓度,药物直接注入盆腔后,局部药物浓度明显高于血浆药物浓度,药物直接作用于患病部位,有效提高了局部的生物利用度,从而达到控制病灶发展,促进病灶坏死、吸收及消退的目的^[4]。

5-氟尿嘧啶是对滋养细胞极为敏感的化疗药物,在人体内将转变成 5-氟尿嘧啶脱氧核苷,抑制胸腺嘧啶脱氧核苷酸合成酶,阻止尿嘧啶脱氧核苷甲基转变为胸腺嘧啶脱氧核苷,从而干扰 DNA 合成,使滋养细胞死亡。该药物采取盆腔灌注用药方式,安全,不良反应小,用于未破型异位妊娠疗效显著,是基层医院适合开展的用药方式。

参考文献

- [1] 赵雯. 异位妊娠保守治疗两种方法的比较[J]. 吉林医学, 2011,32(7):1272-1273.
- [2] 高丹侠,钱惠勤. 异位妊娠手术治疗 158 例临床分析[J]. 临床医学工程,2011,18(3):407-408.
- [3] 安瑞娟,王术云. 超声引导介入治疗异位妊娠的疗效与护理[J]. 国际护理学杂志,2011,30(3):385-387.
- [4] 高善秀,郝俊秀. 宫腹腔镜联合盆腔灌注在盆腔粘连致不孕症中的应用[J]. 中华全科医师杂志,2007,6(8):495-496.

(收稿日期:2011-03-22)

(上接第 2130 页)

- trimester maternalserum AFP and total HCG in aneuploidies other than trisomy 21[J]. Prenat Diagn, 2010, 20(8):629-635.
- [9] Krantz D,Goetz IL, Simpson JL, et al. Association of extreme first trimester free human chorionic gonadotropin-beta, pregnancy-associated plasma protein A, and nuchal translucency within trauterine grow threstrictin and other adverse pregancy outcomes[J]. AM J Obstet Gynecol, 2010,191(4):1452-1458.
- [10] Hallahan TW, Krantz DA, Macri VJ, et al. First-trimester down syndrome screening[J]. Clin Chem, 2006, 52(1):160-161.
- [11] 董晖,李明,李萍. 孕中期胎儿染色体异常产前筛查分析[J]. 放射免疫学杂志,2008,18(4):313-315.
- [12] 石清蒲,孙雪梅,赵晶. 血清游离 β -HCG 检测在妇产科的临床应用[J]. 中国实用妇科与产科杂志,2008,22(8):634-636.
- [13] Wald NJ, George L, Smith D, et al. Serum screening for Down syndrome between 8 and 14 weeks of pregnancy[J]. Bri J Gynecol Obstet,1996,103(5):407-412.
- [14] Spencer K, Liao AW, Skentou H, et al. Screening for triploidy by fetaltranslucency and maternal serum free β -HCG and PAPP-A at week sofestation[J]. Prenat Diagn, 2006,20(6):495-499.
- [15] 廖世秀,黄飞飞,杨艳丽,等. 血清生化标记物结合胎儿颈

- 部半透明厚度产前筛查胎儿染色体异常[J]. 北京大学学报:医学版,2005,37(1):39-41.
- [16] De Leon J, Sifuentes G, Hopkins C, et al. Maternal serum free beta-HCG levels in uncomplicated pregnancies at the 10th-15th week of gestation and the development of obstetric compkications[J]. J Reond Med, 2004, 49(2):89-95.
- [17] Spencer K, Tul N, Nicolaides KH. Maternal serum free β -HCG and PAPP-A infetal sex chromosome defect inthe-firsttrimester[J]. Prenat Diagn, 2009, 20(5):390-396.
- [18] Kharfi A, Giguere Y, DeGrandpep P, et al. Human chorionic gonadotropin (HCG) maybe a marker of systemic oxidative stress in nomotensive and preeclamptic term pregnancies[J]. Clin Biochem, 2008, 38(8):717-721.
- [19] Borrelli PT, Butler SA, Docherty SM, et al. Human chorionic gonadotropin isoforms in the diagosis of ectopic pregnancy [J]. Clin Chem, 2003, 49(2):2045-2049.
- [20] Ledger WL, Sweeting VM, Chatteriee S. Rapid diagnosis of early ectopic pregnancy in an emergency gynaecology service-are measurement sof progesterone, intact and free beta human chorionicgonadotrophinhelpful[J]. Hum Reprod, 2004, 9(1):157-160.
- [21] Bagshawe KD. Choriocarcinoma: a model for tumour markers [J]. Acta Onco, 1992, 31(1):99-106.

(收稿日期:2011-04-25)