

doi:10.3969/j.issn.1005-3697.2021.01.024

❖ 临床研究 ❖

# 妊娠期肝内胆汁淤积症产妇血清 MMP-9、PLTP、IL-18 水平及临床意义

池晶晶

(首都医科大学附属北京世纪坛医院,北京 100038)

**【摘要】目的:** 观察妊娠期肝内胆汁淤积症(ICP)产妇血清基质金属蛋白酶-9(MMP-9)、磷脂转运蛋白(PLTP)、白细胞介素-18(IL-18)水平变化,探讨其在 ICP 发病中的作用。**方法:** 将 ICP 孕妇 80 例设为 ICP 组,并按指南将 ICP 患者分为轻度组( $n=48$ )及重度组( $n=32$ ),将同期 40 名正常孕妇设为对照组,均行血清 MMP-9、PLTP、IL-18 及肝功能指标检测,并将其进行相关性分析;采用 ROC 曲线评价血清 MMP-9、PLTP、IL-18 水平诊断 ICP 及重度 ICP 的临床价值。**结果:** ICP 组血清 MMP-9、PLTP、IL-18 水平均明显高于对照组( $P<0.05$ ),且重度组明显高于轻度组( $P<0.05$ )。Spearman 相关分析显示 ICP 组血清 MMP-9、PLTP、IL-18 水平与总胆红素、谷丙转氨酶、谷草转氨酶水平均呈正相关( $P<0.05$ )。ROC 曲线分析显示血清 MMP-9、PLTP、IL-18 水平诊断 ICP 的曲线下面积分别为 0.710(95% CI:0.597~0.823)、0.979(95% CI:0.951~1.000)和 0.953(95% CI:0.910~0.997),诊断重度 ICP 的曲线下面积分别为 0.658(95% CI:0.539~0.777)、0.963(95% CI:0.921~1.000)和 0.911(95% CI:0.838~0.984)。**结论:** MMP-9、PLTP 和 IL-18 可作为 ICP 诊断的指标之一。

**【关键词】** 肝内胆汁淤积症;妊娠期;基质金属蛋白酶-9;磷脂转运蛋白;白细胞介素-18

**【中图分类号】** R714.55 **【文献标志码】** A

## Levels and clinical significance of serum MMP-9, PLTP and IL-18 in puerperae with intrahepatic cholestasis of pregnancy

CHI Jing-jing

(Beijing Shijitan Hospital Affiliated to Capital Medical University, Beijing 100038, China)

**【Abstract】Objective:** To observe the changes in levels of serum matrix metalloproteinase-9 (MMP-9), phospholipid transfer protein (PLTP) and interleukin-18 (IL-18) in puerperae with intrahepatic cholestasis of pregnancy (ICP), and to investigate their roles in pathogenesis of ICP. **Methods:** According to the guideline, 80 pregnant women with ICP were divided into mild group ( $n=48$ ) and severe group ( $n=32$ ), and 40 normal pregnant women in the same period were selected as the control group. All of them were tested for serum MMP-9, PLTP and IL-18 and liver function, and correlation analysis was performed. The clinical value of serum MMP-9, PLTP and IL-18 levels in diagnosis of ICP and severe ICP was evaluated by ROC curve. **Results:** The levels of serum MMP-9, PLTP and IL-18 in ICP group were significantly higher than those in the control group ( $P<0.05$ ), the levels in severe group were significantly higher than those in the mild group ( $P<0.05$ ). Spearman correlation analysis showed that levels of serum MMP-9, PLTP and IL-18 were positively correlated with levels of total bilirubin, alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase levels in ICP group ( $P<0.05$ ). ROC curve analysis showed that the areas under the curves of serum MMP-9, PLTP and IL-18 levels for diagnosis of ICP were 0.710 (95% CI:0.597~0.823), 0.979 (95% CI:0.951~1.000) and 0.953 (95% CI:0.910~0.997), respectively. The areas under the curves for diagnosis of severe ICP were 0.658 (95% CI:0.539~0.777), 0.963 (95% CI:0.921~1.000) and 0.911 (95% CI:0.838~0.984), respectively. **Conclusion:** MMP-9, PLTP and IL-18 can be used as a indicator for diagnosis of ICP.

**【Key words】** Intrahepatic cholestasis; Pregnancy period; Matrix metalloproteinase-9; Phospholipid transfer protein; Interleukin-18

妊娠期肝内胆汁淤积症(intrahepatic cholestasis of pregnancy, ICP)是产科常见并发症,多见于妊娠中晚期,以皮肤瘙痒、血清转氨酶及胆汁酸水平增高为主要特征,可导致早产、胎儿窘迫、死胎等多种围生儿并发症<sup>[1-2]</sup>。早期诊断 ICP 并及时干预,对于

改善围生儿预后尤为重要。血清总胆汁酸(total bile acid, TBA)被认为是诊断 ICP 最敏感的实验室指标,但其异常升高出现通常较晚,不利于早期诊断,且其表达在不同人群中存在较大差异,使得其作为诊断指标可能并不全面<sup>[3]</sup>。因此,探寻更加精确

的适合 ICP 的诊断指标有着重要意义。基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMPs)是一组锌离子和钙离子依赖的内源性蛋白水解酶家族,对细胞外基质中蛋白成分有降解作用,能够直接影响滋养细胞对子宫肌层的浸润和血管重铸,参与妊娠过程的调节,并与多种病理妊娠发生相关<sup>[4]</sup>。基质金属蛋白酶-9(MMP-9)作为 MMPs 家族的重要成员,被认为与妊娠并发症的关系尤为密切<sup>[5]</sup>。磷脂转运蛋白(phospholipid transporter, PLTP)在胆固醇转运中发挥着重要作用,其表达增高能够促进胆汁酸合成,从而可能通过引起血脂改变而促进 ICP 发生<sup>[6]</sup>。白细胞介素-18(IL-18)是一种有着多种生物学活性的细胞因子,参与了多种肝受损病理过程<sup>[7]</sup>。本研究通过检测 ICP 患者血清 MMP-9、PLTP、IL-18 水平变化,旨在探讨其与 ICP 发病的关系,为 ICP 的诊治提供一定参考。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

收集 2014 年 6 月至 2019 年 6 月在首都医科大学附属北京世纪坛医院规律产检并住院分娩的 ICP 孕产妇 80 例,均单胎妊娠,无 ICP 以外的其他妊娠并发症,参照《妊娠期肝内胆汁淤积症诊疗指南(2015)》<sup>[8]</sup>中 ICP 诊断及分度标准。患者年龄(28.64 ± 3.95)岁,分娩孕周(38.76 ± 1.12)周,体质指数(25.78 ± 1.86) kg/m<sup>2</sup>;轻度 48 例,重度 32 例。另选取同期住院分娩的 40 名正常单胎孕产妇为对照组,均无妊娠合并症及并发症,年龄(28.21 ± 3.76)岁,分娩孕周(38.36 ± 1.15)周,体质指数(25.48 ± 1.71) kg/m<sup>2</sup>。所有对象均排除孕期及孕前严重感染、内分泌疾病、肝脏病变和近期手术创伤应激,均不存在严重酗酒史及长期药物滥用

史。两组年龄、分娩孕周、体质指数比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。本研究征得我院伦理委员会批准,所有对象均对研究充分知情,并签署知情同意书。

### 1.2 方法

入院时,所有孕妇均采集空腹外周静脉血 5 mL,离心 3 000 rpm,10 min 后留取上清液,做好标记,置于 -80 °C 环境下保存备用。采用酶联免疫吸附法进行 MMP-9、PLTP、IL-18 水平的测定。MMP-9 检测试剂盒为美国 Sigma-Aldrich 公司产品,PLTP 检测试剂盒为武汉华美生物科技有限公司产品,IL-18 检测试剂盒为美国 RD 公司产品,严格按试剂盒说明书进行操作。此外,采用日立 7060 型全自动分析仪进行血清 TBA 及肝功能检测,血脂包括总胆红素(TBIL)、直接胆红素(DBIL)、谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)。

### 1.3 统计学分析

采用 SPSS 20.0 进行统计分析。计量资料以( $\bar{x} \pm s$ )表示,两组间比较用独立样本  $t$  检验;多组间比较用单因素方差分析,两两比较用 LSD- $t$  检验;变量间关系分析采用 Spearman 相关分析;血清 MMP-9、PLTP、IL-18 对 ICP 发病及严重程度的诊断效能采用 ROC 曲线分析。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 各组 TBA 及肝功能指标比较

ICP 组 TBA 明显高于对照组( $P < 0.05$ ),且重度组明显高于轻度组( $P < 0.05$ ),但轻度组与对照组 TBA 比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。ICP 组肝功能指标 TBIL、DBIL、ALT、AST 均明显高于对照组( $P < 0.05$ ),且重度组上述肝功能指标高于轻度组( $P < 0.05$ )。见表 1。

表 1 各组 TBA 及肝功能指标比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	TBA (μmol/L)	TBIL(μmol/L)	DBIL(μmol/L)	ALT(U/L)	AST(U/L)
ICP 组(n=80)	20.12 ± 7.11 *	21.65 ± 2.74 *	6.05 ± 1.17 *	236.60 ± 24.58 *	153.14 ± 20.67 *
重度(n=32)	25.16 ± 6.89 **	26.15 ± 3.17 **	8.43 ± 1.34 **	269.47 ± 23.65 **	175.49 ± 23.21 **
轻度(n=48)	16.76 ± 5.26	18.65 ± 2.36 *	4.46 ± 0.89 *	214.68 ± 26.58 *	138.24 ± 17.57 *
对照组(n=40)	14.69 ± 4.74	8.31 ± 1.14	2.32 ± 0.68	26.41 ± 2.65	32.38 ± 5.46

\*  $P < 0.05$ ,与对照组相比;# $P < 0.05$ ,与轻度组相比。

### 2.2 各组血清 MMP-9、PLTP、IL-18 水平比较

ICP 组血清 MMP-9、PLTP、IL-18 水平均高于对照组( $P < 0.05$ );且重度组高于轻度组( $P < 0.05$ )。见表 2。

### 2.3 血清 MMP-9、PLTP、IL-18 水平与肝功能指标

### 的相关性分析

Spearman 相关分析显示,ICP 组血清 MMP-9、PLTP、IL-18 水平与 TBIL、ALT、AST 水平均呈正相关( $P < 0.05$ ),而与 DBIL 无相关性( $P > 0.05$ )。见表 3。

表2 各组血清 MMP-9、PLTP、IL-18 水平比较 ( $\bar{x} \pm s, \text{ng/mL}$ )

组别	MMP-9	PLTP	IL-18
ICP 组 ( $n=80$ )	816.22 ± 157.49 *	4.82 ± 1.27 *	63.39 ± 19.39 *
重度 ( $n=32$ )	865.49 ± 152.78 *#	6.08 ± 1.12 *#	83.15 ± 18.46 *#
轻度 ( $n=48$ )	773.37 ± 166.25 *	3.98 ± 0.58 *	48.21 ± 14.32 *
对照组 ( $n=40$ )	672.41 ± 123.54	2.72 ± 0.36	41.19 ± 12.87

\*  $P < 0.05$ , 与对照组相比; #  $P < 0.05$ , 与轻度组相比。

表3 血清 MMP-9、PLTP、IL-18 水平与肝功能指标的相关性分析

指标	MMP-9		PLTP		IL-18	
	$r$ 值	$P$ 值	$r$ 值	$P$ 值	$r$ 值	$P$ 值
TBIL	0.561	<0.05	0.612	<0.05	0.546	<0.05
DBIL	0.287	>0.05	0.295	>0.05	0.302	>0.05
ALT	0.598	<0.05	0.636	<0.05	0.572	<0.05
AST	0.574	<0.05	0.513	<0.05	0.529	<0.05

#### 2.4 血清 MMP-9、PLTP、IL-18 水平诊断 ICP 及重度 ICP 的 ROC 曲线分析

MMP-9、PLTP、IL-18 诊断 ICP 的 ROC 曲线结果显示,三者曲线下面积分别为 0.710 (95% CI: 0.597 ~ 0.823)、0.979 (95% CI: 0.951 ~ 1.000) 和 0.953 (95% CI: 0.910 ~ 0.997), 最佳界值分别为 721.54 ng/mL、3.37 pg/mL 和 47.84 ng/L, 敏感度分别为 69.2%、92.3% 和 88.8%, 特异度分别为 66.7%、93.8% 和 86.5%。MMP-9、PLTP、IL-18 诊断重度 ICP 的 ROC 曲线下面积分别为 0.658 (95% CI: 0.539 ~ 0.777)、0.963 (95% CI: 0.921 ~ 1.000) 和 0.911 (95% CI: 0.838 ~ 0.984), 最佳界点分别为 816.25 ng/mL、4.64 pg/mL 和 62.17 ng/L, 敏感度分别为 62.4%、88.7% 和 87.1%, 特异度分别为 66.8%、97.2% 和 85.3%。见图 1 和图 2。

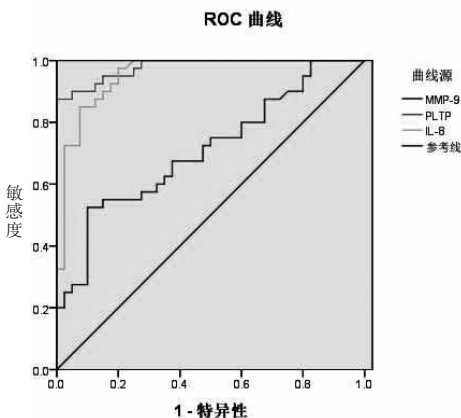


图1 血清 MMP-9、PLTP、IL-18 水平诊断 ICP 的 ROC 曲线

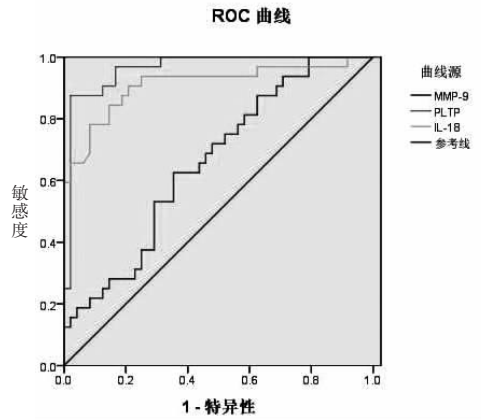


图2 血清 MMP-9、PLTP、IL-18 水平诊断重度 ICP 的 ROC 曲线

### 3 讨论

MMPs 是一组内切蛋白酶家族,主要作用是降解细胞外基质,在组织重构及维持细胞外基质的生理稳态及血供上起着至关重要的作用;其参与血管新生活性的调节,在胎盘植入、妊娠早期胎盘形成等妊娠多个阶段中起着重要的作用<sup>[9]</sup>。MMP-9 是 MMPs 家族的重要成员,被发现与多种妊娠并发症相关。有研究<sup>[10]</sup>表明,MMP-9 异常表达是内皮细胞功能紊乱的重要原因,而内皮细胞功能异常又是子痫前期的重要病理生理过程。Fortunato 等<sup>[11]</sup>发现,胎儿羊膜 MMP-9 表达异常增高与羊膜过早破裂有关。此外,MMP-9 表达异常还可影响胎盘血管生成,使得胎盘血流灌注不足、缺血缺氧,胎盘组织血液供应及物质交换障碍,从而促使 ICP 病理变化<sup>[12]</sup>。本研究显示,ICP 组血清 MMP-9 水平明显高于对照组,且重度组明显高于轻度组,提示 MMP-9 可能与 ICP 发病有关,并能够反映其病情严重程度。因此,MMP-9 表达增高可能是 ICP 发病的重要因素。

PLTP 是一种转运磷脂酰胆碱的蛋白质,由 476 个氨基酸组成,广泛表达于胸腺、卵巢及胎盘等多种人体组织。研究<sup>[13]</sup>发现,PLTP 在胎盘中主要定位于胎盘血管的内皮细胞,其通过载体介导磷脂在脂蛋白间的穿梭,还可介导游离胆固醇、维生素 E 及脂质小分子的转运。PLTP 异常高表达可引起低密度脂蛋白 (LDL) 分泌增加,高密度脂蛋白 (HDL) 分泌减少<sup>[14]</sup>。PLTP 可促进 HDL 的成熟增大,进而促进肝脏对 HDL 的摄取清除,加快胆汁酸合成,且能够直接刺激肝脏合成胆汁酸<sup>[15]</sup>。本研究显示,ICP 组血清 PLTP 水平明显高于对照组,且重度组明显高于轻度组,提示 PLTP 可能与 ICP 发病及病情严重程度相关。ICP 发生机制可能包括:(1) 胎盘

PLTP 过表达促进 HDL 颗粒的增大、成熟,提高肝脏对 HDL 的摄取清除,增加胆汁酸合成;(2)血清中高水平的 PLTP 对肝脏造成直接刺激,促进胆汁酸合成<sup>[16]</sup>。因此,推测 PLTP 可能是 ICP 发病机制中的重要因子。

IL-18 是一种多效能的 TH1 型细胞因子,其参与了多种肝细胞损害过程。IL-18 表达增高可诱导 TH1 型免疫反应,进而加重肝细胞损伤,且能促进单核-吞噬细胞对 TH1 型细胞因子的分泌,从而促进病情进展<sup>[17]</sup>。IL-18 还可刺激 NK 细胞增殖,诱导肝微循环障碍,致使肝脏局部缺血,抑制了肝脏的氧化磷酸化,造成肝损害<sup>[18]</sup>。李枫林等<sup>[19]</sup>研究表明,IL-18 在肝脏脂肪病变过程发挥着重要作用,可作为肝细胞损伤的重要标志因子。还有研究<sup>[20]</sup>发现,IL-18 在肝细胞炎性损伤中有着不可忽视的作用,可作为慢性乙型肝炎病情评估及预后判断的重要指标。但目前关于 IL-18 与 ICP 所致肝损害的关系仍未明确。本研究显示,ICP 组血清 PLTP 水平明显高于对照组,且重度组明显高于轻度组,提示 PLTP 也可能与 ICP 发病及病情严重程度相关。

血清 TBA 被认为是诊断 ICP 的最敏感实验室指标,但其在不同人群中的表达存在较大差异,使得其作为诊断指标可能并不全面。本研究显示,虽然 ICP 组及重度 ICP 组血清 TBA 均明显高于对照组,但轻度 ICP 与对照组比较差异无统计学意义。故仅以 TBA 作为诊断指标可能存在一定局限,临床迫切需要寻找更为敏感的诊断标志物。本研究进一步采用 ROC 曲线分析了血清 MMP-9、PLTP、IL-18 水平诊断 ICP 的曲线下面积分别为 0.710、0.979、0.953,诊断重度 ICP 的曲线下面积分别为 0.658、0.963、0.911,这表明三者均对 ICP 诊断有重要价值,且以 PLTP 诊断效能最高。

综上所述,血清 MMP-9、PLTP、IL-18 可能参与了 ICP 的发生、发展,其表达检测对于 ICP 的诊断、分度有重要意义。

#### 参考文献

[1] Keitel V, Dröge C, Stepanov S, *et al.* Intrahepatic cholestasis of pregnancy (ICP): case report and review of the literature [J]. *Z Gastroenterol*, 2016, 54(12): 1327 - 1333.

[2] 刘滢瑜, 尤子善, 任贤勤. 妊娠期肝内胆汁淤积症 161 例临床分析 [J]. *中国妇产科临床杂志*, 2017, 18(5): 73 - 74.

[3] Huang W, Gowda M, Donnelly J. Bile Acid Ratio in Diagnosis of Intrahepatic Cholestasis of Pregnancy [J]. *Am J Perinatol*, 2009, 26(4): 291 - 294.

[4] Majali-Martinez A, Hiden U, Ghaffari-Tabrizi-Wizsy N, *et al.* Placental membrane-type metalloproteinases (MT-MMPs): Key players in pregnancy [J]. *Cell Adh Migr*, 2016, 10(1 - 2): 136 - 146.

[5] 崔世红, 申琳娜, 职云晓, 等. 胎膜早破绒毛膜羊膜炎患者胎膜组织中 HMGB1 和 MMP-9 的表达及意义 [J]. *现代妇产科进展*, 2016, 25(8): 582 - 585.

[6] 李华, 张利平, 高霞, 等. 地塞米松联合熊脱氧胆酸治疗妊娠期肝内胆汁淤积的临床疗效及对血清 PLTP IL-18 水平的影响 [J]. *河北医学*, 2018, 24(8): 1254 - 1258.

[7] 方宏罡, 董秀鹏. 慢性乙型肝炎介素 18 及其结合蛋白与乙型肝炎病毒 DNA 载量的相关性 [J]. *中国老年学杂志*, 2015, 35(14): 3953 - 3955.

[8] 中华医学会妇产科学分会产科学组. 妊娠期肝内胆汁淤积症诊疗指南 (2015) [J]. *中华妇产科杂志*, 2015, 31(7): 481 - 485.

[9] Sundrani D, Narang A, Mehendale S, *et al.* Investigating the expression of MMPs and TIMPs in preterm placenta and role of CpG methylation in regulating MMP-9 expression [J]. *Iubmb Life*, 2017, 69(12): 985 - 993.

[10] Caritis SN, Hankins G, Hebert M, *et al.* Impact of Pregnancy History and 17-Hydroxyprogesterone Caproate on Cervical Cytokines and Matrix Metalloproteinases [J]. *Am J Perinatol*, 2017, 35(5): 470 - 480.

[11] Fortunato SJ, Menon R, Lombardi SJ. Amniochorion gelatinase-gelatinase inhibitor imbalance in vitro: a possible infectious pathway to rupture [J]. *Obstet Gynecol*, 2000, 95(2): 240 - 244.

[12] Chen Z, Shen Z, Hu L, *et al.* Identification of Matrix Metalloproteinase-2 and 9 as Biomarker of Intrahepatic Cholestasis of Pregnancy [J]. *Ann Hepatol*, 2017, 16(2): 291.

[13] Scholler M, Wadsack C, Lang I, *et al.* Phospholipid Transfer Protein in the Placental Endothelium Is Affected by Gestational Diabetes Mellitus [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2012, 97(2): 437 - 445.

[14] 秦树存, 于杨, 赵亚南, 等. 磷脂转运蛋白在高密度脂蛋白代谢和胆固醇逆向转运中的生物学作用 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2015, 23(12): 1210 - 1214.

[15] 陈学颖, 王尹曼, 孙爱军, 等. 血浆磷脂转运蛋白在脂质代谢和动脉粥样硬化中的作用 [J]. *上海医学*, 2015, 38(5): 450 - 454.

[16] 曹杰, 蔡艾杞, 田立碧, 等. 熊去氧胆酸、腺苷蛋氨酸联合多烯磷脂酰胆碱对妊娠期肝内胆汁淤积症患者相关指标的影响 [J]. *中国药房*, 2017, 28(18): 2509 - 2511.

[17] Lana JP, Martins LB, Oliveira MC, *et al.* TNF and IL-18 cytokines may regulate liver fat storage under homeostasis conditions [J]. *App Physiol Nutr Metab*, 2016, 41(12): 1295 - 1302.

[18] 杜晨阳, 宋虎, 王星星, 等. miRNA-30a-3p 通过调控 Caspase1 介导的焦亡抑制肝癌细胞增殖和转移 [J]. *中华普通外科杂志*, 2018, 33(11): 920 - 923.

[19] 李枫林, 张宝, 管石侠, 等. 非酒精性脂肪肝大鼠 IL-1 $\beta$ 、IL-18、TNF- $\alpha$  水平的变化 [J]. *安徽医科大学学报*, 2016, 51(3): 351 - 354.

[20] 陈育义, 吴家辉, 郑宗志. 慢性乙型肝炎患者血清及肝组织中 IL-18 和 TNF- $\alpha$  的表达及临床意义 [J]. *中西医结合肝病杂志*, 2016, 26(6): 341 - 343.

(收稿日期: 2020 - 09 - 25

修回日期: 2020 - 11 - 02)