

类钝化酶的产生是临床上细菌对氨基糖苷类抗生素耐药的主要机制,许多 G<sup>-</sup>菌、金黄色葡萄球菌和肠球菌均可产生此酶。已发现的氨基糖苷酶有 20 种以上,此类酶按机制不同分为 3 类:乙酰转移酶(AAC)、核苷转移酶(ANT)及磷酸转移酶(APH)。其中 AAC 可以使游离羟基乙酰化,ANT 可以使游离羟基核苷化;APH 可以使游离羟基磷酸化。它们的作用使药物不容易进入细菌体内,也不易与细菌内靶位结合,从而失去抑制细菌蛋白质合成的能力<sup>[6]</sup>。(3)大环内酯类(MSL)药物钝化酶:编码 MSL 钝化酶的基因主要位于质粒上,可水解红霉素的大环内酯结构。林可霉素类钝化酶在很多葡萄球菌和乳酸杆菌中被发现,该酶使抗生素分子的羟基磷酸化或者核苷乙酰化。(4)氯霉素乙酰转移酶(CAT);由 CAT 基因编码,产生乙酰基转移酶,使氯霉素转化成无活性的代谢产物而失去抗菌活性。

**2.2.2 抗生素作用靶位的改变** 细菌在抗生素作用下产生诱导酶对菌体进行化学修饰,使抗生素结合的有效靶位发生改变,从而阻止抗生素对细菌的作用,如青霉素结合蛋白编码的基因突变致 PBP<sub>3</sub> 构象改变,与 β-内酰胺类药物结合降低而耐药;拓扑异构酶 IV 编码基因突变,编码促旋酶的 GYRA、GYRB 基因及编码拓扑异构酶 IV 的 PARC、PARE 基因突变,其表达产物的构象改变即可致细菌对喹诺酮类药物耐药。

**2.2.3 细菌细胞膜通透性的改变<sup>[7]</sup>** 细菌细胞膜是一种具有高度选择性的通透屏障,抗生素大多通过膜上的一类水溶性通道蛋白进入菌体内部发挥作用,这类蛋白叫做膜孔蛋白或多膜蛋白,主要有 OMPF、OMPC、OMPE 3 种。疏水性强的药物如甲氧西林易对 G<sup>-</sup>菌产生耐药,带负电多的抗生素分子不易通过外膜通道蛋白,这些机制都使某些细菌对相应药物产生耐药。由于某些细菌发生基因突变,可以使其通道蛋白关闭或消失,于是对相应抗生素产生明显耐药,如铜绿假单胞菌失去特异性外膜蛋白 D2 后对原来敏感的亚胺培南发生耐药<sup>[8]</sup>。

**2.2.4 细菌的主动泵出功能** 细菌的外膜上存在特殊的药物泵出系统,这一机能是细菌对四环素、大环内酯类抗生素耐药的重要机制,也是金黄色葡萄球菌对喹诺酮类药物耐药的重要机制。如铜绿假单胞菌存在多种外排系统,如 MexAB-oprm、MexCD-oprJ、MexEF-oprN、Mexxy-oprM、MexJk-oprM、MexHI-oprM 和 Mexwr-oprM,是其固有耐药性或获得性多重耐药性形成的主要原因<sup>[9]</sup>。

**2.2.5 细菌生物被膜的形成** 生物被膜的理论首先由 Costerton 等<sup>[9]</sup>在 1978 年提出,它是细菌为适应生存环境,生长过程中黏附于固体或有机腔道表面,形成微菌落,并分泌细胞外多糖蛋白复合物将自身包裹其中而形成的膜状物<sup>[10]</sup>,其形成后

可减少抗生素的渗透,吸附抗生素钝化酶促进药物分解。生物被膜的形成使细菌在一定程度上逃避了机体对其的免疫杀伤作用,致使细菌对该类药物产生高度耐药。

**2.3 细菌的其他耐药机制** 细菌可产生新的药物代谢旁路,虽然抗生素可与靶位结合,但靶位的生理功能已被其他的新的成分代替。此外,细菌的多重耐药是由于细菌多种耐药机制协同作用的结果。

虽然细菌在其进化的过程中有其固有的遗传耐药基础,但其后天的获得性耐药更为主要。因此,临床上减少经验性用药,在药物敏感试验结果指导下用药或及时调整用药,隔离多重耐药菌患者,对减少多重耐药菌株的发生,防止多重耐药菌的扩散有重要意义。

#### 参考文献

- 1 仲兆舍. 氟喹诺酮类药物在眼科治疗中心的应用[J]. 国外医学抗生素分册, 2002, 23(5): 230-235.
- 2 廉祖焯. 细菌耐药的分子机制[J]. 临床儿科杂志, 2005, 23(7): 422-424.
- 3 Moosdeen F. The evolution of resistance to cephalosporins [J]. Clin Infect Dis, 1997, 24: 487-493.
- 4 Livermore DM. Beta-lactamase-mediated resistance and opportunities for its control[J]. Antimicrob Chemother, 1998, 41(Suppl D): 25-41.
- 5 Ambler RP. The structure of beta-lactamases [J]. Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Series B. Biological Sciences, 1980, 289: 321-331.
- 6 Garan J. The clinical impact of macrolide resistance in pneumococcal respiratory infections [J]. Antimicrob Agents, 2001, 18(Suppl 1): S33-S38.
- 7 王睿, 柴栋. 细菌耐药机制与临床治疗对策[J]. 国外医学抗生素分册, 2003, 24(3): 97-103.
- 8 吴迪, 陈升汶. 铜绿假单胞菌对碳青霉烯类药物耐药机制的研究[J]. 国际呼吸杂志, 2007, 27(8): 610-612.
- 9 Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP, et al. Bacterial biofilms, a common cause of persistent infections [J]. Science, 1999, 284: 1318-1322.
- 10 彭青, 钱元恕. 细菌生物被膜及其相关感染的研究进展[J]. 中国抗感染化疗杂志, 2004, 4(2): 126-128.

(收稿日期: 2007-08-17)

## 人绒毛膜促性腺激素的临床意义及检测进展

杨廷富 综述, 秦 书 审校

(重庆市江津区人民医院检验科 402260)

**【关键词】** 人绒毛膜促性腺激素; 妊娠高血压; 检测方法

中图分类号: R446.1

文献标志码: C

文章编号: 1672-9455(2007)10-976-03

人绒毛膜促性腺激素(HCG)是一种糖蛋白,相对分子质量约为 46 kd。当受精卵植入子宫壁后,HCG 立即由胎盘的

滋养层细胞开始分泌。

胎盘激素 HCG 与黄体生成素(LH)、卵泡刺激素(FSH)、

人甲状腺刺激素(hTSH)相似,它们都有 2 个碳水化合物链结合的非共价结合的糖蛋白,被称为  $\alpha$  和  $\beta$  亚基。它们的  $\alpha$  亚基很相似,但  $\beta$  亚基部分决定了它们的生化特性和免疫学特性。在健康妊娠者血中,主要存在完整的天然 HCG 免疫活性分子,而在异位妊娠和滋养细胞患者血中,至少有 7 种具有 HCG 免疫活性的分子:天然 HCG;酸性 HCG;有缺口的 HCG( $\beta$ 44-45, $\beta$ 47-48 或  $\beta$ 48-49 位的肽连接缺失);天然游离的  $\beta$  亚基;有缺口的游离  $\beta$  亚基; $\beta$  核心片段;血清  $\beta$  核心片段蛋白复合物。基于不同原理和不同目的的各种免疫学检测方法,检测到 HCG 的亚组分可能不同。

由于对 HCG 的检测灵敏而有效,HCG 浓度成为预报早孕及流产,帮助异位妊娠和多胎妊娠的检查及相关疾病的常用手段。

1 对健康妊娠的评估

由于正常情况下 HCG 由胎盘(或它的前体)细胞合成分泌的,所以健康的未怀孕的人体内的浓度应低至可能检测不到。此时血清中  $\beta$ -hCG 浓度应小于 5 mIU/ml。

在怀孕早期,母体血清中 HCG 浓度迅速升高, $\beta$ -hCG 浓度介于 5~25 mIU/ml 之间可以判断为怀孕早期。

通常 HCG 在怀孕前 3 个月达到峰值,之后的整个孕期内缓慢下降。血清 HCG 浓度的迅速下降或跳跃可能表示异常的妊娠,可能需要进一步的临床评估和追踪。健康妊娠期间  $\beta$ -hCG 的浓度范围:最后一次月经后的 3~4 周约 9~130 mIU/ml,4~5 周约 75~2 600 mIU/ml,5~6 周约 850~20 500 mIU/ml,6~7 周约 4 000~100 200 mIU/ml,7~12 周约 11 500~289 000 mIU/ml,12~16 周约 18 300~137 000 mIU/ml,16~29 周约 1 400~53 000 mIU/ml,29~41 周约 940~60 000 mIU/ml。对于多胎妊娠,HCG 将高于同期单胎妊娠组。

2 在疾病诊疗中的应用

2.1 异位妊娠 在健康妊娠的最初 3 个月,血清  $\beta$ -hCG 值平均 2.2 d 约增加 1 倍。据此,总结出这样的公式来诊断异位妊娠:

$$R = (1/t) \log(C_2/C_1)$$

R: $\beta$ -hCG 的指数增长率( $\text{day}^{-1}$ );t:2 次抽血时间间隔(day);  
 $C_1$ 、 $C_2$  第 1、第 2 次的血清  $\beta$ -hCG 浓度(mIU/ml)。

第 1、第 2 次血清  $\beta$ -hCG 6~1 200 mIU/ml 时,R 的判断下限为 0.137  $\text{d}^{-1}$ ;第 1、第 2 次血清  $\beta$ -hCG 1 200~6 000 mIU/ml 时,R 的判断下限为 0.116  $\text{d}^{-1}$ ;第 1 次血清  $\beta$ -hCG 600~6 000 mIU/ml,第 2 次血清  $\beta$ -hCG 6 000~18 000 mIU/ml 时,R 的判断下限为 0.086  $\text{d}^{-1}$ ;第 1、第 2 次血清  $\beta$ -hCG 6 000~30 000 mIU/ml 时,R 的判断下限为 0.068  $\text{d}^{-1}$ 。

用于诊断时,HCG 检测结果应与其他数据(如症状)、其他检测结果、临床印象等联合使用。其中超声检查是十分重要的联合使用手段。

对异位妊娠,常伴有腹腔血和盆腔血的发生。异位妊娠者腹腔血或盆腔血 HCG 含量高于同期静脉血含量。腹腔血或盆腔血 HCG 更能真实反映异位妊娠滋养细胞的活动状态,对异位妊娠的诊断具有特殊意义<sup>[1,2]</sup>。

血清 HCG 浓度的高低是影响异位妊娠保守治疗结果的重要因素,且为预测治疗效果的有效指标。血清  $\beta$ -hCG 水平超过 10 000 mIU/ml 时药物治疗不易成功。

对于异位妊娠成功的手术治疗,患者血清 HCG 应在治疗

后 3 周恢复至正常水平,若术后 48 h HCG 浓度不下降及术后 3 周 HCG 仍为阳性应考虑手术彻底性。对于异位妊娠成功的保守治疗,HCG 亦应下降。林坦和陈瑞华<sup>[3]</sup>研究表明,保守治疗后每周血清  $\beta$ -hCG 是否成对数下降,可作为观察治疗效果及预后判断的指标,对于治疗后血清 HCG 下降不顺利的可用其他治疗以提高保守治疗成功率。

2.2 唐氏综合征 有报道<sup>[4]</sup>,以 AFP<0.7 multiplier, $\beta$ -hCG >2.3 MoM 定为唐氏综合征筛查阳性界值;AFP>2.5 MoM 定为开放性神经管畸形筛查的阳性界值。

2.3 妊娠高血压综合征(PIH) 研究发现<sup>[5]</sup>,对 PIH 和妊娠糖尿病的孕妇,在妊娠早期,其 HCG 水平会降低(在妊娠 10~14 周测定时显著降低);在妊娠中晚期,HCG 水平会升高。在妊娠中晚期,母血  $\beta$ -hCG 水平升高(>2.0 MoM)与母血  $\beta$ -hCG 水平降低(<2.0 MoM)相比,前者发展为 PIH 及先兆子痫的更多,而在 PIH 合并蛋白尿及重度 PIH 者,血 HCG 水平升高更明显<sup>[6]</sup>。孕中期 HCG 水平升高可支持 PIH 之胎盘缺血学说,是因为滋养细胞缺血缺氧可使 HCG 分泌量增加,且 HCG 升高水平与 PIH 病情严重程度相关<sup>[7]</sup>。国内左建新和张陵娜<sup>[8]</sup>报道孕中期  $\beta$ -hCG 均值水平为:妊高征组(3 018.31 ± 253.37)mIU/ml,健康对照组(1 431.81 ± 301.29)mIU/ml。

2.4 流产 HCG 浓度对流产有一定的预测价值,对 HCG 异常的下降或跳跃要引起足够的重视。HCG 和催乳素已联合用于自发性流产的预报。妊娠早期低水平的 HCG 与较高的自然流产率相关<sup>[9]</sup>。

2.5 胎膜早破 胎膜早破后阴道液  $\beta$ -hCG 浓度较健康妊娠高出 44~67 倍。李幼飞和成媛<sup>[10]</sup>报道,阴道液  $\beta$ -hCG 的定性(早孕金标试条)和定量检测是诊断胎膜早破较准确的方法,尤其是定性(早孕金标)与 pH 试纸联合应用,适用于难辨性胎膜早破的快速诊断;而当胎膜早破孕妇血清  $\beta$ -hCG $\geq$ 2 MoM 时,绒毛膜羊膜炎的发生率明显升高。

2.6 早产 HCG 水平越高,早产发生率越高<sup>[11]</sup>。宫颈分泌的 HCG 水平亦可作为预测早产的一个指标。

2.7 妊娠糖尿病 妊娠早期低水平的 HCG 与妊娠糖尿病有关<sup>[5]</sup>。

2.8 胎儿/新生儿相关疾病 妊娠早期高水平的 HCG 可能与胎儿异常、新生儿呼吸窘迫综合征、新生儿黄疸及死胎的发生有关<sup>[7]</sup>。

2.9 滋养层细胞疾病 HCG 对葡萄胎、绒癌、睾丸畸胎瘤等患者的诊治、随访有重要意义。在滋养层细胞疾病和异位妊娠血液中有完整的 HCG,有裂口的 HCG 以及游离的  $\alpha$  链、 $\beta$  链等组成,而健康妊娠血清中除含完整的 HCG 外,游离的  $\alpha$  链、 $\beta$  链很少,滋养层疾病和异位妊娠的患者中完整的 HCG 和 HCG 的亚单位相对浓度变化很大。有研究性比较不同的检测方法对滋养层细胞疾病患者血清 HCG 的结果差异较大,除未采用相同国际标准品外,可能与此类患者血清中完整的 HCG 和 HCG 亚基变化幅度很大,而不同方法检测 HCG 组分不同有关<sup>[12]</sup>。

2.10 恶性滋养层细胞肿瘤 恶性滋养层细胞肿瘤产生 HCG 也受人关注,许多恶性滋养层细胞肿瘤和非性腺肿瘤可产生异位 HCG,表达机制目前不十分清楚。

3 检测方法进展

HCG 的检测主要是用免疫学方法,特别是标志免疫的方

法,从早期的动物试验到目前不断发展的标志免疫学分析,随免疫学的进展,特别是标志免疫分析的进展而日新月异。下面就标志免疫分析对 HCG 的检测进展作一叙述。

**3.1 酶联免疫吸附分析(ELISA)** ELISA 定量检测的灵敏度、特异性、稳定性目前受到很大挑战。ELISA 检测 HCG 采用的双抗体夹心法,高剂量 HOOK 效应是值得关注的。在孕峰值和滋养细胞疾病患者未治疗时的血清中,HCG 有极高的浓度,尤其值得注意,如检测时发生 HOOK 效应,使检测值偏低甚至为阴性。还有,若人体接触过鼠抗原(经常接触老鼠或接受过鼠克隆抗体治疗),检测样品中有人抗鼠抗体(human anti-mouse antibodies, HAMA),可能产生 HAMA 效应导致假阴性或假阳性。在所有免疫学方法测 HCG 时都应关注这些问题。

**3.2 放射免疫分析(RIA)** RIA 是一种传统方法,具良好灵敏度、特异性,但有放射污染,操作烦琐,趋于淘汰。RIA 是运用 HCG 的  $\beta$  链羧基端特有的氨基片段,制备成高特异的 HCG  $\beta$  链的抗体,用  $^{125}\text{I}$  标志的  $\beta$ -hCG 与血清中 HCG 竞争结合不足量的抗体,但标志的抗原与血清中不同组分 HCG 存在不平等的竞争。而且,RIA 法所测  $\beta$ -hCG 主要是从 HCG 分子上脱落下来的  $\beta$  亚基,而很难识别完整 HCG 分子中的  $\beta$  亚基,这是由其均相免疫分析的特点所决定的。如前所述,健康妊娠、异位妊娠和滋养层细胞疾病者血清中完整的 HCG 和 HCG  $\beta$  亚基比例有差别,应用 RIA 法检测  $\beta$ -hCG 应注意这个问题。

**3.3 金标免疫分析(GIA)** 有免疫渗滤分析和免疫层析分析两种方式。目前 GIA 主要用于尿液  $\beta$ -hCG 定性检测,对于早早孕试验已有普及应用。其优点是简便、快捷、特异,有一定灵敏度,还适合床旁使用,但不适用于定量检测,且灵敏度有限。

**3.4 磁分离酶免疫分析** 是瑞士 Serouo 诊断中心研发的 Serozyme 酶联免疫双抗体夹心检测系统,用抗异氢酸荧光素抗体偶联的磁性微珠分离结合及游离碱性磷酸酶(AKP)标志的抗体,用单磷酸酚肽作底物,加 KOH 终止反应,用三波长(492 nm/550 nm/630 nm)比色。它采用液相分离方法明显优于 ELISA 的固相分离方法。有报道,检测 HCG 与 ELISA、RIA 有良好相关性,且灵敏度达 1 mIU/ml<sup>[4]</sup>。

**3.5 微粒子酶免疫分析** 为 Abbott 公司的 AxSYM 和 IMx 全自动免疫发光仪上的方法之一,亦是采用双抗体夹心法,检测的是总  $\beta$ -hCG,包括前述所有的  $\beta$  亚基。其以特殊微粒子包被抗体于液相中,AKP 标志第二抗体,4-甲基磷酸伞形酮作发光底物,通过测定荧光速率值建立标准曲线,检测 HCG。检测 HCG 灵敏度 1 mIU/ml 以下,线性范围为 0~1 000 mIU/ml。

**3.6 化学发光免疫分析** 如 Bayer 公司 ACS-180 全自动化学发光仪,检测 HCG 亦是采用的双抗体夹心模式。它是以丫啶酮作为发光底物,在有过氧化氢的弱碱溶液中即可迅速发光,具特异性、灵敏度高,无污染,药盒效期长,比 RIA 更高准确度与精密度的优点。检测 HCG 灵敏度 1 mIU/ml 以下,线性范围为 0~10 000 mIU/ml。

**3.7 电化学发光免疫分析** 是由德国 BM 公司(现被瑞士 Roche 公司收购)最近推出的标志免疫检测方法。它利用稀土元素钆进行标志,利用磁性颗粒作 B/F 分离,利用电极上的氧化还原反应来进行分析。检测 HCG 灵敏度达 0.5 mIU/ml,

线性范围为 0~10 000 mIU/ml。

**3.8 时间分辨免疫分析** 是以抗原抗体反应结合荧光物质发光和时间分辨技术的近代光谱技术。利用镧系元素螯合物被激活后产生的特异荧光比一般荧光长的时间分辨特性建立的极高灵敏度的发光分析技术。

#### 参考文献

- 1 陈倩. 检测腹腔血  $\beta$ -hCG 在诊断异位妊娠中的价值[J]. 中国医学理论与实践, 2001, 20(8): 989-990.
- 2 罗彩红. 盆腔血  $\beta$ -hCG 测定在异位妊娠的诊断价值[J]. 广西医学, 2002, 24(4): 477-478.
- 3 林坦, 陈瑞华. 血清  $\beta$ -hCG 监测在 150 例异位妊娠保守治疗中间应用[J]. 福建医药杂志, 2000, 22(6): 38-39.
- 4 温严, 俞文熠, 付平, 等. 磁性分离酶免疫法在唐氏综合征产前筛查中的应用[J]. 中国计划生育学杂志, 2001, 73(5): 286-287.
- 5 Ong CY, Liao AW, Spencer K, et al. First trimester maternal serum free beta human chorionic gonadotrophin and pregnancy associated plasma protein A as predictors of pregnancy complications[J]. BJOG, 2000, 107(10): 1265-1267.
- 6 Merviel P, Muller F, Guibourdenche J, et al. Correlations between serum assays of human chorionic gonadotrophin (hCG) and human placental lactogen (hPL) and pre-eclampsia or intrauterine growth restriction (IUGR) among nulliparas younger than 38 years[J]. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2001, 95(1): 59-61.
- 7 Lepage N, Chitayat D, Kingdom J, et al. Association between second-trimester isolated high maternal serum maternal serum human chorionic gonadotrophin levels and obstetric complications in singleton and twin pregnancies[J]. Am J Obstet Gynecol, 2003, 188(5): 1354-1356.
- 8 左建新, 张陵娜. 妊娠高血压综合征患者外周血 M-CSF 和  $\beta$ -hCG 含量的变化及意义[J]. 齐鲁医学杂志, 2001, 16(4): 285-286.
- 9 Yaron Y, Ochshorn Y, Heifetz S, et al. First trimester maternal serum free human chorionic gonadotropin as a predictor of adverse pregnancy outcome[J]. Fetal Diagn Ther, 2002, 17(6): 352-353.
- 10 李幼飞, 成姪. 阴道液和血清  $\beta$ -hCG 在胎膜早破诊断和感染判断上的价值[J]. 第三军医大学学报, 2002, 24(3): 354-358.
- 11 麻莉, 成姪, 任萍, 等. 早孕血清人绒毛膜促性腺激素水平改变及其与胎盘损害的关系[J]. 中华围产医学杂志, 2002, 5(1): 21.
- 12 丁鸿燕, 林向阳, 陈晓江. 化学发光免疫法测定绒毛膜促性腺激素的临床评价[J]. 实用医学杂志, 2002, 18(1): 93-94.

(收稿日期: 2007-06-06)