DOI:10.13406/j.cnki.cyxb.000914

基于母胎胆汁酸代谢轮廓的妊娠肝内胆汁淤积症分度研究

崔 悦[1]，王文娟[1]，田 刚[1]，张晓清[1]，邓 丹[2]，邵 勇[3]，丁 敏[1]

（1. 重庆医科大学检验医学院、临床检验诊断学教育部重点实验室；2. 重庆医科大学公共卫生与管理学院卫生统计学教研室；3. 重庆医科大学附属第一医院妇产科，重庆 400016）

【摘 要】目的：探讨基于母胎血清胆汁酸代谢轮廓的妊娠肝内胆汁淤积症（intrahepatic cholestasis of pregnancy，ICP）分度。**方法**：采用高效液相色谱-紫外检测法对 61 名正常孕妇，轻、重度 ICP 患者母、脐血的 9 种结合型胆汁酸成分进行测定，并将受试者分为建模集（n=40）与验证集（n=21），结合偏最小二乘判别分析对胆汁酸代谢轮廓进行分析、建模与验证。**结果**：母血胆汁酸代谢模型可区分正常孕妇组，轻度 ICP 组，与重度 ICP 组；脐血胆汁酸代谢模型可区分重度 ICP 组与非重度组。母、脐血分度模型的验证效率分别达 90.5%与 100.0%。牛磺熊去氧胆酸（P=0.004），牛磺胆酸（P=0.005）以及甘氨胆酸（P=0.032）在 ICP 孕妇中明显增高；甘氨石胆酸（P<0.001）和牛磺脱氧胆酸（P=0.001）在 ICP 胎儿中明显增高。**结论**：ICP 母、脐血各有其特征的胆汁酸代谢轮廓，均可用于对 ICP 分度。

【关键词】妊娠肝内胆汁淤积症；胆汁酸代谢轮廓；分度；胎盘保护

【中图分类号】R714.25 **【文献标志码】**A **【收稿日期】**2015-07-27

Metabolic profile of stratified degrees of intrahepatic cholestasis of pregnancy based on serum bile acids in mothers and fetuses

Cui Yue[1], Wang Wenjuan[1], Tian Gang[1], Zhang Xiaoqing[1], Deng Dan[2], Shao Yong[3], Ding Min[1]

(1. Key Laboratory of Laboratory Medical Diagnostics, Ministry of Education, Department of Laboratory Medicine, Chongqing Medical University; 2. Teaching and Research Section of Health Statistics, School of Public Health and Management, Chongqing Medical University; 3. Department of Obstetrics and Gynecology, The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University)

【Abstract】*Objective*: To investigate the profiles of serum conjugated bile acids in mothers and fetuses for stratifying the degrees of intrahepatic cholestasis of pregnancy (ICP). ***Methods***: High-performance liquid chromatography with ultraviolet detection was used to determinate 9 conjugated bile acids in 61 women and fetuses with stratified degrees of ICP and normal pregnancies. The subjects were divided into modeling (n=40) and validating (n=21) sets. Metabolic profile analysis and validation were performed by partial least squares-discriminant analysis. ***Results***: In the maternal model, the profile of normal pregnancies and stratified degrees of ICP were separated. In the cord model, the profile of non-severe group and severe ICP group were separated. The validated efficiencies of two stratified models were of 90.5% and 100.0%, respectively. The elevation of tauroursodeoxycholic acid (P=0.004), taurocholic acid (P=0.005), and glycocholic acid (P=0.032) was greater in ICP mothers, while the elevation of glycolithocholic acid (P<0.001) and taurodeoxycholic acid (P=0.001) was greater in ICP fetuses. ***Conclusion***: Different bile acid profiles exist in mothers and fetuses with ICP available for stratifying degrees of ICP.

【Key words】intrahepatic cholestasis of pregnancy; metabolic profile of bile acids; stratified degree; transplacental protection

---

作者介绍：崔 悦，Email：genius-cy206@163.com，
研究方向：生物活性的胆汁酸成分研究。

通信作者：丁 敏，Email：dingmin@cqmu.edu.cn。

基金项目：国家自然科学基金资助项目（编号：81401228、81471473）；
教育部高等学校博士学科点专项科研基金（博导类）资助项目（编号：20115503110013）。

优先出版：http://www.cnki.net/kcms/detail/50.1046.r.20160408.1603.004.html
（2016-04-18）

妊娠肝内胆汁淤积症(intrahepatic cholestasis of pregnancy,ICP)是一种妊娠特有的严重并发症,以妊娠中晚期孕妇出现四肢瘙痒、肝功能紊乱和血清总胆汁酸(total bile acid,TBA)增高为特征,主要影响围生儿预后,可造成自发性早产、胎儿宫内窘迫、不明原因的胎儿宫内死亡等危害。目前该病的发病机制仍不明确,可能与遗传、激素以及环境因素等有关[1]。

根据病情的轻重,ICP 可分为轻度和重度。研究发现,轻度 ICP 胎儿的发病风险与正常组无明显差异,而重度 ICP 出现羊水粪染和胎儿并发症的风险极高[2-3]。因此,ICP 的分度有助于指导临床选择合适的治疗时机与处理措施。目前,ICP 的分度标准还未达成共识。一些研究者提出将 TBA 作为 ICP 分度的指标[2,4],但部分 ICP 患者的 TBA 并不增高[5]。2011 年中华医学会提出了 ICP 的诊疗指南[6],提出胆汁酸系列和肝酶系列作为 ICP 分度的标准,但未得到国际认可。

近期研究表明,血清游离型胆汁酸在正常孕妇与 ICP 患者间并无差异,仅结合型胆汁酸在 ICP 时增高,且轻、重度 ICP 孕妇拥有不同的血清胆汁酸代谢轮廓[7]。由于该病主要危害胎儿,且很少有关于脐血胆汁酸代谢轮廓的报道。因此,本研究基于诊疗指南的分度,采用高效液相色谱-紫外检测(high-performance liquid chromatography-ultraviolet detection,HPLC-UV)测定正常及轻、重度 ICP 患者的母、脐血血清结合型胆汁酸,采用偏最小二乘判别分析(partial least square-discriminant analysis,PLS-DA)对血清胆汁酸代谢轮廓进行分析,建立基于母、胎胆汁酸代谢轮廓的 ICP 分度模型,并对其进行验证,同时探讨胎盘对 ICP 母胎间胆汁酸转运的影响。

1 材料与方法

1.1 实验器材

1.1.1 实验仪器 Shimadzu 2010LC 高效液相色谱仪及 Shimadzu LBRORAEL-200 天平(日本 Shimadzu 公司),Macherey-Nagel Chromabond-C18 固相萃取小柱(3 ml/200 mg 德国 Macherey-Nagel 公司),Aglient 及固相萃取装置(美国 Aglient 公司),Waters Nova C18 色谱柱(3.9 mm×150 mm,5 μm,美国 Waters 公司),Thermo Fresco 17 微量台式冷冻离心机(美国 Thermo 公司),BF2000 氮气吹干仪(北京八方世纪科技有限公司),SB-3200 超声波清洗器(宁波新芝科器研究所),MILLIPORE 超纯水过滤装置及 MILLIPORE 真空泵(美国 Millipore 公司),Roche Modular DDP 全自动生化分析仪(瑞士 Roche 公司)。

1.1.2 实验试剂 牛磺结合型(tauro-,T-)的熊去氧胆酸(ursodeoxycholic acid,UDCA)、胆酸(cholic acid,CA)、鹅脱氧胆酸(chenodeoxycholic acid,CDCA)、脱氧胆酸(deoxycholic acid,DCA)、石胆酸(lithocholic acid,LCA),与甘氨结合型(glyco-,G-)的 CA、LCA、CDCA、DCA 均购自美国 Sigma 公司。甲醇(美国 TEDIA 公司,色谱纯),其余试剂为分析纯。

1.2 样品及信息收集

61 名研究对象均来自 2011 年 1 月至 2013 年 12 月重庆医科大学附属第一医院产科住院孕妇,其基本信息(年龄、孕周、肝功结果)及妊娠结局(分娩方式、新生儿体质量、自发性早产、Apgar 评分、羊水粪染、产后出血)等均被收集。该研究已获得研究对象的知情同意及重庆医科大学附属第一医院伦理委员会批准通过。遵循诊疗指南的诊断与分度标准[6],选取未接受药物治疗的 ICP 病人。排除病毒性肝炎、妊高症、ICP、妊娠期急性脂肪肝、孕妇药物性黄疸、内科合并症或并发症,随机选取正常孕妇。研究对象均收集其母血和脐血:母血于产前抽取 2 ml 空腹静脉血,脐血于生产时抽取 2 ml 脐带血。离心后取上清,置于-20 ℃冰箱保存备用。

1.3 实验方法

1.3.1 样品预处理 300 μl 血清中加入 1 ml 0.05%甲酸充分混匀后加至已用 1 ml 甲醇、1 ml 水活化过的固相萃取小柱,用 2 ml 0.05%甲酸、1 ml 甲醇/水(45/55,v/v)依次淋洗小柱,最后用 3 ml 甲醇洗脱。洗脱液在 60 ℃氮气下吹干后溶于 50 μl 流动相 A/B (34/66,v/v)(流动相 A:60 mmol/L 磷酸盐缓冲液,pH 3.3;流动相 B:甲醇)。超声 2 min,离心 13 000×g 10 min,取 20 μl 进样。

1.3.2 色谱检测方法 测定胆汁酸的 HPLC-UV 方法参考文献[8]。该方法检测血清中各胆汁酸日内变异系数均小于 6.0%,日间变异系数均小于 7.9%。该方法平均回收率在83.1%~101.3%。

1.4 数据处理

根据 Heuman 的方法[9],计算受试者胆汁酸疏水指数(hydrophobicity indices,HI)。用 SIMCA-P 11.5(瑞典 Umetrics 公司)软件对胆汁酸数据进行多元分析,经过最大方差法旋转,用 PLS-DA 建立基于母、胎胆汁酸的 ICP 分度模型并对其进行验证。其中 40 名受试者被用来建立分度模型,另有 21 人用来验证模型。数据分析采用 SPSS 18.0 软件包。正态计量资料用均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,偏总分布计量资料用 $M(Q_1, Q_3)$表示,计数资料用率表示。数据的正态性检验采用 Kolmogorov-Smirnov 检验,率之间的比较采用卡方检验,母、脐血之间的胆汁酸比较采用两独立样本 t 检验。胆汁酸 3 组间比较采用 Kruskal-Wallis H 秩和检验,两两间的比较采用 Bonferroni 修正的 Mann-Whitney U 秩和检验。检验水准 α=0.05。

2 结 果

2.1 受试者一般信息

40 名建模患者中，轻度 ICP 患者 11 人，重度 ICP 患者13人，正常孕妇 16 人。孕妇基本信息及妊娠结局见表 1。3 组间孕妇年龄无统计学差异，生产时孕周有统计学差异。3 组间实验室检查结果均有统计学差异。妊娠结局显示，3 组间自发性早产与羊水粪染有统计学差异，剖宫产率、小于胎龄儿、Apgar 评分≤7 分与产后出血在 3 组间无统计学差异。

2.2 胆汁酸代谢轮廓分析

母血 9 种结合型胆汁酸检测结果如表 2 所示，TUDCA、TCA、GCA、GLCA、TCDCA、TDCA 和 GDCA 浓度在 3 组间有统计学差异（$P<0.05$），CA/CDCA 和 HI 在 3 组间均有明显差异（$P<0.05$）。脐血 9 种结合型胆汁酸测定结果如表 3 所示，TCA、GCA、GLCA、TCDCA、TDCA、GDCA 和 TLCA 浓度在 ICP 组中明显增高，差异有统计学意义（$P<0.05$），CA/CDCA 和 HI 在 3 组间均有明显差异（$P<0.05$）。

探究母胎间胆汁酸的变化可为胎盘的胆汁酸转运提供信息。图 1 表示母、脐血胆汁酸浓度之差（ΔC）在 3 组间的变化情况。结果显示正常妊娠时，脐血中 TUDCA、TCA、GCA、TCDCA较高，母血中 GLCA 较高；而重度 ICP 时，母血中TUDCA、TCA、GCA、TCDCA 较高，脐血中 GLCA 较高。上述胆汁酸代谢均出现了倒置现象，尤其 TCA 和 GCA 在轻度 ICP 时就已出现倒置现象，表明胆汁酸代谢在 ICP 疾病时出现明显紊乱。对比母、脐血之间的胆汁酸差异，TCA 和 GLCA 倒置明显，3 组均具有统计学意义，GCA 和 TDCA 的倒置在重度 ICP 组中有统计学差异。

表 1 40 名受试者的一般信息（n，%）

Tab.1 General information within the study population（n，%）

围产期信息	正常妊娠（n=16）	轻度 ICP（n=11）	重度 ICP（n=13）	P 值
孕妇年龄（岁）	29.6 ± 3.6	28.4 ± 4.2	28.8 ± 4.8	0.857[a]
孕周（周）	39.2 ± 1.1	38.1 ± 0.9	36.9 ± 1.2	0.000
实验室检查				
ALT 或 AST≥200 U/L	0（0.0）	0（0.0）	6（46.2）	0.010[b]
TBIL≥21 μmol/L 或 DBIL≥6 μmol/L	0（0.0）	2（18.2）	9（69.2）	0.000[b]
TBA≥40 μmol/L	0（0.0）	0（0.0）	7（53.8）	0.000[b]
妊娠结局				
剖宫产	4（25.0）	6（54.5）	9（69.2）	0.052[b]
自发性早产	1（6.3）	1（9.1）	6（46.2）	0.016[b]
小于胎龄儿	0（0.0）	2（18.2）	2（15.4）	0.221[b]
Apgar 评分 ≤ 7 分	1（6.3）	1（9.1）	1（7.7）	0.962[b]
羊水粪染	0（0.0）	3（27.3）	6（46.2）	0.011[b]
产后出血	1（6.3）	1（9.1）	1（7.7）	0.962[b]

注：a，Kruskal-Wallis H 秩和检验；b：卡方检验

表 2 40 名受试者的母血血清胆汁酸浓度（μmol/L）[a]

Tab.2 Concentrations of maternal serum bile acids within the study population（μmol/L）[a]

胆汁酸	正常妊娠（n=16）	轻度 ICP（n=11）	重度 ICP（n=13）	P 值[b]	P_1[c]	P_2[c]	P_3[c]
TUDCA	0.241（0.235，0.247）	0.227（0.193，0.258）	0.333（0.226，0.445）	0.024	0.217	0.032	0.022
TCA	0.401（0.189，0.699）	4.548（4.078，4.905）	14.794（11.982，17.446）	0.000	0.000	0.000	0.000
GCA	0.624（0.454，1.187）	2.711（1.764，3.283）	6.108（4.487，8.945）	0.000	0.000	0.000	0.000
GLCA	0.510（0.430，0.575）	0.361（0.181，0.428）	0.743（0.714，0.768）	0.000	0.002	0.000	0.000
TCDCA	0.429（0.203，1.549）	1.648（1.376，2.016）	2.107（1.419，3.716）	0.001	0.007	0.001	0.173
TDCA	0.308（0.219，0.417）	0.779（0.733，0.827）	1.315（1.043，1.604）	0.000	0.000	0.000	0.003
GCDCA	0.718（0.266，1.866）	1.387（1.187，1.633）	1.572（1.123，2.047）	0.084	0.139	0.035	0.543
GDCA	0.388（0.350，0.412）	0.741（0.566，0.876）	1.087（1.014，1.149）	0.000	0.000	0.000	0.000
TLCA	0.233（0.206，0.318）	0.250（0.159，0.340）	0.286（0.219，0.329）	0.591	0.882	0.293	0.505
CA/CDCA	0.634（0.504，1.235）	2.360（1.926，2.669）	4.814（3.662，7.884）	0.000	0.000	0.000	0.000
HI	0.152（0.135，0.267）	0.290（0.278，0.298）	0.468（0.428，0.573）	0.000	0.009	0.000	0.000

注：a，表中数据均用 $M(Q_1,Q_3)$ 表示；b：Kruskal-Wallis H 秩和检验；c：Bonferroni 修正的 Mann-Whitney U 秩和检验；P_1，正常妊娠与轻度 ICP 组间比较；P_2：正常妊娠与重度 ICP 组间比较；P_3：轻度 ICP 与重度 ICP 组间比较

表 3 40 名受试者的脐血血清胆汁酸浓度(μmol/L)[a]

Tab.3 Concentrations of cord serum bile acids within the study population(μmol/L)[a]

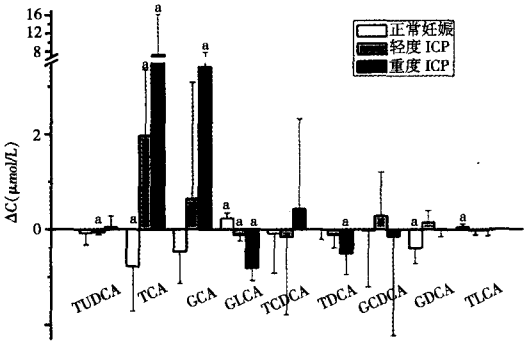
胆汁酸	正常妊娠（n=16）	轻度 ICP（n=11）	重度 ICP（n=13）	P 值[b]	P_1[c]	P_2[c]	P_3[c]
TUDCA	0.276（0.108,0.423）	0.298（0.231,0.323）	0.308（0.281,0.386）	0.464	0.961	0.405	0.173
TCA	0.949（0.448,1.859）	2.310（1.503,3.487）	2.815（1.564,15.033）	0.001	0.004	0.001	0.401
GCA	1.055（0.432,2.153）	0.917（0.341,4.626）	2.052（1.349,4.824）	0.045	0.844	0.012	0.099
GLCA	0.270（0.233,0.290）	0.441（0.372,0.467）	1.649（1.255,1.760）	0.000	0.000	0.000	0.000
TCDCA	0.706（0.465,1.347）	1.428（1.102,2.644）	2.295（1.155,3.083）	0.038	0.076	0.018	0.469
TDCA	0.333（0.200,0.501）	0.793（0.613,1.194）	1.658（1.559,1.926）	0.000	0.000	0.000	0.000
GCDCA	0.996（0.680,1.682）	0.954（0.343,1.496）	1.313（0.977,1.988）	0.426	0.657	0.293	0.259
GDCA	0.876（0.581,1.014）	0.506（0.449,0.721）	1.093（1.022,1.190）	0.000	0.054	0.002	0.000
TLCA	0.202（0.169,0.262）	0.303（0.261,0.321）	0.291（0.220,0.386）	0.006	0.006	0.010	0.794
CA/CDCA	0.993（0.634,1.455）	1.598（1.078,1.912）	3.148（1.013,4.584）	0.016	0.054	0.010	0.213
HI	0.218（0.188,0.299）	0.243（0.209,0.454）	0.531（0.484,0.665）	0.000	0.139	0.000	0.001

注：a，表中数据均用 $M(Q_1,Q_3)$ 表示；b：Kruskal-Wallis H 秩和检验；c：Bonferroni 修正的 Mann-Whitney U 秩和检验；P_1：正常妊娠与轻度 ICP 组间比较；P_2：正常妊娠与重度 ICP 组间比较；P_3：轻度 ICP 与重度 ICP 组间比较

2.3 建立母、脐血胆汁酸代谢轮廓分度模型

为了比较 3 组间母血胆汁酸代谢轮廓的差异，采用PLS-DA 分析母血胆汁酸代谢轮廓。其得分图显示 3 组可较好的区分(图 2)，表明轻、重度 ICP 孕妇较正常孕妇的胆汁酸代谢轮廓已发生明显改变。模型变量的参数 R^2Y=0.839，Q^2(cum)=0.786，显示该母血模型具有较好的分度和预测能力。该模型 R^2 和 Q^2 的截距分别是 0.0604 和-0.219，提示该模型没有过度拟合。

与母血相比，3 组间脐血结合型胆汁酸代谢轮廓的区分度并不理想[R^2Y=0.680，Q^2(cum)=0.539](图 3)。鉴于胎儿出现并发症的风险在正常组与轻度 ICP 组无统计学差异，而重度 ICP 胎儿有着极高的发病风险。因此将脐血分为重度 ICP 组和非重度组 2 组。其 PLS-DA 得分图显示两者的胆汁酸代谢轮廓具有明显差异(图 4)。该脐血 2 组模型的分度和预测能力较 3 组明显提高[R^2Y=0.950，Q^2(cum)=0.923]，且没有过度拟合(R^2=0.0943，Q^2=-0.433)。



注：a，母、脐血之间的胆汁酸比较采用 t 检验，$P<0.05$

图 1 母、脐血的血清胆汁酸浓度之差（$\bar{x}\pm s$）

Fig.1 Difference of serum bile acids between mothers and fetuses（$\bar{x}\pm s$）

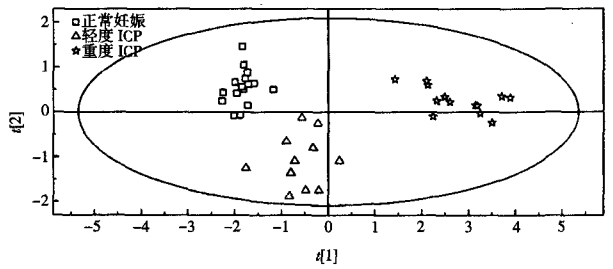


图 2 轻、重度 ICP 与正常妊娠母血胆汁酸 PLS-DA 得分图

Fig.2 Scores plot of PLS-DA of metabolic profile of maternal bile acids of normal pregnancy, mild ICP, and severe ICP

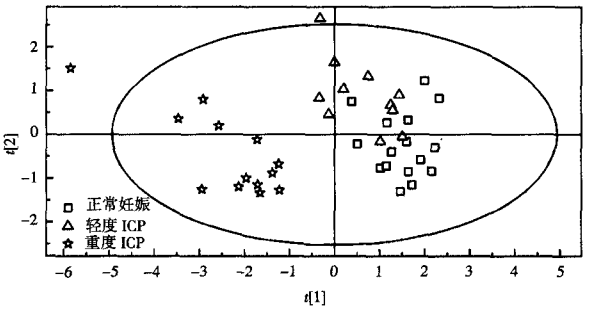


图 3 轻、重度 ICP 与正常妊娠脐血胆汁酸 PLS-DA 得分图

Fig.3 Scores plot of PLS-DA of metabolic profile of cord bile acids of normal pregnancy, mild ICP, and severe ICP

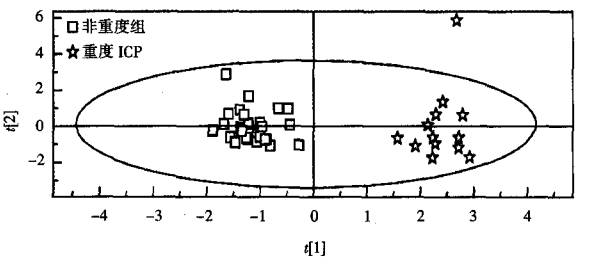


图 4 重度 ICP 与非重度组脐血胆汁酸 PLS-DA 得分图

Fig.4 Scores plot of PLS-DA of metabolic profile of cord bile acids of non-severe group and severe ICP

2.4 验证模型

另检测 21 名受试者的胆汁酸浓度，以验证建立的母、脐血胆汁酸代谢轮廓模型。其中轻度 ICP 患者 4 人，重度 ICP 患者 8 人，正常孕妇 9 人。

在母血验证模型中，1 名正常孕妇被误判为轻度 ICP，1 名轻度 ICP 被误判为正常。判别正确率分别为 88.9%（正常孕妇），75.0%（轻度 ICP）和 100.0%（重度 ICP），模型总判别正确率为 90.5%。该母血 3 组模型验证结果满意。

在脐血模型验证中，13 名非重度和 8 名重度 ICP 全部判别正确，判别效率为 100.0%。该脐血 2 组模型验证结果满意。

3 讨 论

ICP 是妊娠特有的并发症，会对胎儿造成严重危害。研究 ICP 的分度，对选择合适的治疗时机与处理措施，改善胎儿的妊娠结局具有重要意义。然而，国内外还没有统一的标准对 ICP 进行分度。目前我国主要采用的分度方法是依据 2011 年中华医学会产科学组提出的 ICP 诊疗指南[6]，该指南指出 ICP 的分度需综合考虑患者的临床症状和生化指标，但目前所用的实验室指标缺乏灵敏性和特异性，甚至部分 ICP 患者需在产后才能明确其分度，评估较为复杂。由于该病主要危害胎儿[1]，且目前还没有关于 ICP 胎儿胆汁酸的分度研究，因此，本文分别建立了母、脐血结合型胆汁酸代谢轮廓的分度模型，可实现 ICP 灵敏、特异且简便的分度，该模型优于临床其他指标的分度结果。

本试验中，重度 ICP 在母、脐血中均可明显区分，而轻度 ICP 只在母血中能较好的区分，这可能是由于胎盘具有一定的保护能力，可代偿轻度 ICP 胎儿胆汁酸代谢轮廓发生的变化，以防止出现并发症，而重度 ICP 胎儿的胆汁酸代谢轮廓变化已超过胎盘的代偿能力。研究表明，ICP 疾病时机体的 CA/CDCA 会明显增高，导致不良的妊娠结局[10]。另有研究提出，各胆汁酸的疏水性从小到大依次 UDCA<CA<CDCA<DCA<LCA，且随着体内疏水性强的胆汁酸的累积，会对胎儿和胎盘造成严重的危害[11]。本研究中，轻、重度 ICP 的母血 CA/CDCA 分别增高 3.7 倍与 7.6 倍，脐血仅分别增高 1.6 倍与 3.2 倍；轻、重度 ICP 的母血 HI 分别增高 1.9 倍与 3.1 倍，而脐血仅分别增高 1.1 倍与 2.4 倍。上述现象表明胎盘对 ICP 的胎儿有一定的保护作用，可部分代偿 ICP 时的胆汁酸代谢变化。此外，本研究中，重度 ICP 组的羊水粪染率和自发性早产率较正常组明显增高，而轻度 ICP 组胎儿不良的妊娠结局与正常组无统计学差异，可能是由于胎盘在一定程度上起到了代偿保护的作用，从而防止轻度 ICP 的胎儿出现并发症。

随着 ICP 的进展，体内胆汁酸不断累积，会对胎儿和胎盘造成严重的细胞毒作用，从而导致早产、低体重儿、胎儿窘迫及胎儿死亡的发生，且浓度依赖性的血管收缩反应也会增加胎儿宫内窘迫的风险[11-13]。此外，胎儿-母体的转运系统也会受到损伤，使胆汁酸的转运速度降低，代谢受限，从而导致更多的胆汁酸在体内淤积[14]。随着 ICP 病情不断发展，其严重程度超过有限的胎盘保护能力时，机体将陷入恶性循环，最终导致严重的妊娠结局。根据对 ICP 患者胆汁酸代谢轮廓的分度研究以及对临床妊娠结局的综合考察，本研究认为轻度 ICP 患者更适合期待疗法，而重度 ICP 患者需积极治疗、并适时终止妊娠。

胎盘作为转运中枢，可输送营养、氧气以及运走代谢产物等物质[15]。本研究通过对比分析 ICP 疾病时，母胎间胆汁酸浓度的变化情况，为胎盘转运提供了信息。游离胆汁酸与甘氨酸或牛磺酸结合可增加水溶性，减少溶血、线粒体损伤及细胞凋亡等[16]。早期研究表明，高浓度的 CA 可增加胎盘绒毛膜血管的阻力，减少绒膜板的含氧血流，影响胎儿的灌注与氧合，从而导致胎儿窒息[17]。本研究发现母体 TCA 与 GCA 在 ICP 疾病时明显增高，与早期报道一致[7]。CDCA 对胎盘关键受体类法尼醇 X 受体（farnesoid X receptor，FXR）有较强的激活作用[18]，后者通过调节抑制胆固醇-7α 羟化酶的表达，减少胆汁酸的内源性合成，从而保护细胞免受胆汁酸的损害[19]，但参与胆汁酸体内平衡的 FXR 等的基因表达很低[18]，不足以防止母体出现胆汁淤积。且近期有研究表明，CDCA 介导 11β-羟化固醇脱氢酶-2（11β-hydroxysteroid dehydrogenase type-2，11β-HSD-2）的表达下降，后者可防止胎儿暴露于母体过量的皮质醇，保护胎儿[20]，因此 CDCA 增高可能会对胎儿造成严重的危害。本研究中，TCA，GCA 和 TCDCA 在重度 ICP 母、脐血中均明显增高，表明可能会对机体产生极大的危害。LCA 作为疏水性和毒性最强的单羟基胆汁酸，可诱导胎盘肿瘤坏死因子-α（tumor necrosis factor-α，TNF-α）的上调和滋养层细胞的凋

亡[21]。Zimber 等报道滴注 LCA 可导致胚胎畸形[22]。另有研究体内、体外试验均证实次级胆汁酸对大鼠胚胎有致畸作用[12]。本研究中结合型的次级胆汁酸 GLCA 在脐血 ICP 时明显增高，可能会对胎儿造成严重的危害，导致不良的妊娠结局。正常妊娠时，胆汁酸主要依据胎儿-母体方向转运[23]，且由于无肠道细菌的作用，胎儿几乎不产生次级胆汁酸[24]。然而，ICP 时由于母体胆汁淤积，转运方向转变为母体-胎儿方向[23]，本研究中 GLCA 和 TDCA 在脐血 ICP 时明显增高，表明其均来自于母体经胎盘的转运。显然，胎盘在 ICP 时，促进与阻止成分胆汁酸的转运与正常时不同。因此，调节成分胆汁酸的转运可能会缓解或治疗母、胎的 ICP 疾病。

本研究依据脐血胆汁酸代谢轮廓建立的分度模型，其验证效率虽高达 100.0%，但脐血标本为生产时所采集，对 ICP 处理方式的指导意义有一定限制，因此本课题组将针对产前与产时脐血的胆汁酸代谢轮廓是否一致进行进一步研究，以指导临床决定 ICP 的分娩方式。此外，后续研究还将扩大实验样本量，进一步验证所建的模型，从而获得更全面、准确的胆汁酸代谢信息，用于 ICP 的深入研究。

参 考 文 献

[1] Williamson C, Hems LM, Goulis DG, et al. Clinical outcome in a series of cases of obstetric cholestasis identified via a patient support group[J]. BJOG, 2004, 111(7): 676-681.

[2] Glantz A, Marschall HU, Mattsson LA. Intrahepatic cholestasis of pregnancy: relationships between bile acid levels and fetal complication rates[J]. Hepatology, 2004, 40(2): 467-474.

[3] Garcia-Flores J, Cañamares M, Cruceyra M, et al. Clinical value of maternal bile acid quantification in intrahepatic cholestasis of pregnancy as an adverse perinatal outcome predictor[J]. Gynecol Obstet Invest, 2015, 79(4): 222-228.

[4] Brouwers L, Koster MP, Page-Christiaens GC, et al. Intrahepatic cholestasis of pregnancy: maternal and fetal outcomes associated with elevated bile acid levels[J]. Am J Obstet Gynecol, 2015, 212(1): 100.e1-e7.

[5] Castaño G, Lucangioli S, Sookoian S, et al. Bile acid profiles by capillary electrophoresis in intrahepatic cholestasis of pregnancy[J]. Clin Sci (Lond), 2006, 110(4): 459-465.

[6] 中华医学会妇产科学分会产科学.妊娠期肝内胆汁淤积症诊疗指南(第 1 版)[J]. 中华妇产科杂志, 2011, 46(5): 391-395.

[7] Chen JB, Deng WP, Wang JW, et al. Primary bile acids as potential biomarkers for the clinical grading of intrahepatic cholestasis of pregnancy[J]. Int J Gynecol Obstet, 2013, 122(1): 5-8.

[8] 王文娟, 邓文平, 王 猛, 等. 高效液相色谱法同时测定胆汁中9种结合型胆汁酸[J]. 重庆医科大学学报, 2009, 34(1): 59-62.

[9] Heuman DM. Quantitative estimation of the hydrophilic-hydrophobic balance of mixed bile salt solutions[J]. J Lipid Res, 1989, 30(5): 719-730.

[10] Tribe RM, Dann AT, Kenyon AP, et al. Longitudinal profiles of 15 serum bile acids in patients with intrahepatic cholestasis of pregnancy [J]. Am J Gastroenterol, 2010, 105(3): 585-595.

[11] Perez MJ, BrizO. Bile-acid-induced cell injury and protection[J]. World J Gastroentero, 2009, 15(14): 1677-1689.

[12] Monte MJ, Morales AI, Arevalo M, et al. Reversible impairment of neonatal hepatobiliary function by maternal cholestasis[J]. Hepatology, 1996, 23(5): 1208-1217.

[13] Oztekin D, Aydal I, Oztekin O, et al. Predicting fetal asphyxia in intrahepatic cholestasis of pregnancy[J]. Arch Gynecol Obstet, 2009, 280 (6): 975-979.

[14] Leslie KK, Reznikov L, Simon FR, et al. Estrogens in intrahepatic cholestasis of pregnancy[J]. Obstet Gynecol, 2000, 95(3): 372-376.

[15] Godfrey KM. The role of the placenta in fetal programming-a review[J]. Placenta, 2002, 23(SA): S20-S27.

[16] Bathena SP, Mukherjee S, Olivera M, et al. The profile of bile acids and their sulfate metabolites in human urine and serum[J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2013(942-943): 53-62.

[17] Sepúlveda WH, González C, Cruz MA, et al. Vasoconstrictive effect of bile acids on isolated human placental chorionic veins[J]. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 1991, 42(3): 211-215.

[18] Cariou B, Staels B. FXR: a promising target for the metabolic syndrome?[J]. Trends Pharmacol Sci, 2007, 28(5): 236-243.

[19] Grober J, Zaghini I, Fujii H, et al. Identification of a bile acid-responsive element in the human ileal bile acid-binding protein gene Involvement of the farnesoid X receptor/9-cis-retinoic acid receptor heterodimer[J]. J Biol Chem, 1999, 274(42): 29749-29754.

[20] Martineau M, Papacleovoulou G, Abu-Hayyeh S, et al. Cholestatic pregnancy is associated with reduced placental 11βHSD2 expression[J]. Placenta, 2014, 35(1): 37-43.

[21] Du Q, Zhang Y, Pan Y, et al. Lithocholic acid-induced placental tumor necrosis factor-alpha upregulation and syncytiotrophoblast cell apoptosis in intrahepatic cholestasis of pregnancy[J]. Hepatol Res, 2014, 44(5): 532-541.

[22] Zimber A, Zusman I. Effects of secondary bile acids on the intrauterine development in rats[J]. Teratology, 1990, 42(3): 215-224.

[23] Mazzella G, Rizzo N, Azzaroli F, et al. Ursodeoxycholic acid administration in patients with cholestasis of pregnancy: effects on primary bile acids in babies and mothers[J]. Hepatology, 2001, 33(3): 504-508.

[24] Marin JJ, Macias RI, Serrano MA. The hepatobiliary-like excretory function of the placenta. A review[J]. Placenta, 2003, 24(5): 431-438.

（责任编辑：张辉洁）