

血清 GATA6 和 SMAD3 表达水平对孕中期胎儿心血管畸形的诊断价值

陈聪丽, 李园园, 曲冬颖

(北部战区总医院妇产科, 辽宁 沈阳 110016)

[摘要]目的 探究孕中期孕妇血清 GATA 结合 6(GATA6)、SMAD 同源物 3(SMAD3)表达水平对胎儿心血管畸形的诊断价值。**方法** 选取 2017 年 6 月至 2023 年 6 月北部战区总医院收治的有高危胎儿心血管畸形风险的孕中期孕妇 203 例作为研究对象,根据随访结果,45 例孕妇胎儿确诊为心血管畸形(疾病组),158 例孕妇胎儿心脏发育正常(对照组)。采用荧光定量 PCR 法和酶联免疫吸附(ELISA)法分别检测孕中期孕妇血清 GATA6 mRNA、SMAD3 表达水平。受试者工作特征(ROC)曲线分析孕中期孕妇血清 GATA6 mRNA、SMAD3 对胎儿心血管畸形的诊断价值。**结果** 疾病组孕妇血清 GATA6 mRNA、SMAD3 表达水平平均低于对照组,差异有统计学意义(t 值分别为 4.210、7.185, $P < 0.05$);孕中期孕妇血清 GATA6 mRNA、SMAD3 二者联合诊断胎儿心血管畸形的曲线下面积(AUC)为 0.95,优于各自单独诊断(Z 值分别为 5.41、5.23, $P < 0.05$);联合诊断的灵敏度和特异度分别为 97.78%、79.11%。**结论** 胎儿心血管畸形的孕中期孕妇血清 GATA6 mRNA、SMAD3 表达水平均较低,二者联合检测对胎儿心血管畸形有较好的诊断价值。

[关键词] GATA 结合 6; SMAD 同源物 3; 孕中期; 胎儿心血管畸形; 诊断价值

Doi:10.3969/j.issn.1673-5293.2024.09.014

[中图分类号] R173

[文献标识码] A

[文章编号] 1673-5293(2024)09-0088-06

The diagnostic value of serum GATA6 and SMAD3 expression levels for fetal cardiovascular malformations in the second trimester of pregnancy

CHEN Congli, LI Yuanyuan, QU Dongying

(Department of Gynecology and Obstetrics, General Hospital of Northern Theater Command, Liaoning Shenyang 110016, China)

[Abstract] Objective To explore the diagnostic value of serum GATA binding 6 (GATA6) and SMAD homolog 3 (SMAD3) expression levels in the second trimester of pregnancy for fetal cardiovascular malformations. **Methods** A total of 203 pregnant women with high-risk fetal cardiovascular malformations in the second trimester who were admitted to the General Hospital of Northern Theater Command from June 2017 to June 2023 were selected as the study objects. According to the follow-up results, 45 pregnant women's fetuses were diagnosed with cardiovascular malformations (disease group), and 158 pregnant women's fetuses with normal heart development (control group). The expression levels of GATA6 mRNA and SMAD3 in the serum in the second trimester of pregnancy were detected using fluorescence quantitative PCR and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) methods, respectively. The receiver operating characteristic (ROC) curve was used to analyze the diagnostic value of serum GATA6 mRNA and SMAD3 in the second trimester of pregnancy women for fetal cardiovascular malformations. **Results** The expression levels of serum GATA6 mRNA and SMAD3 in the disease group were lower than those in the control group, and the differences were statistically significant ($t = 4.210$ and 7.185 , respectively, $P < 0.05$); The area under the curve (AUC) of the combined diagnosis of fetal cardiovascular malformations by serum GATA6 mRNA and SMAD3 in the second trimester was 0.95, which was better than the respective individual diagnoses ($Z = 5.41$ and 5.23 , respectively, $P < 0.05$). The sensitivity and specificity of combined diagnosis were 97.78% and 79.11%, respectively. **Conclusion** The expression levels of serum GATA6 mRNA and SMAD3 in pregnant women with fetal cardiovascular malformations in the second trimester are low, and the combined detection of the two

[收稿日期] 2023-09-07

[基金项目] 辽宁省科学技术计划(2021JH2/10300095)

[作者简介] 陈聪丽(1990—),女,主治医师,主要从事妇产科方面临床研究。

[通讯作者] 曲冬颖,副主任医师。

has a good diagnostic value for fetal cardiovascular malformations.

[Key words] GATA binding 6; SMAD homolog 3; second trimester of pregnancy; fetal cardiovascular malformations; diagnostic value

胎儿心血管畸形是临床医学上多见的胎儿先天性畸形之一。据有关报道,胎儿心血管畸形约占先天性异常胎儿死亡率的 30%,且是导致胎儿死亡的重要原因之一^[1-2]。现在临床上主要采用 B 超、磁共振成像检测方法对胎儿心血管畸形进行产前诊断,但检测者操作水平容易影响诊断结果,有一定的局限性,且有的胎儿心血管畸形不易被发现,会导致误诊和漏诊^[3-4]。因此,联合可靠的生物学指标诊断胎儿心血管畸形,可降低漏诊率。GATA6 是一个锌指转录因子家族成员,在脊椎动物发育过程中对细胞分化和器官形成发挥着重要调控作用^[5]。GATA6 在早期胚胎发育过程中有表达,并在后期胚胎发育过程中位于中胚层细胞和内皮细胞,也在胃肠道、肺和心脏发育中扮演着重要角色,且 GATA6 突变与多种先天性畸形疾病密切相关^[6]。SMAD3 属于 SMAD 家族的一员,在影响心血管系统形成的胚胎发育中起重要作用^[7]。先前较多的研究表明,SMAD3 信号在梗死心脏的纤维化重塑中发挥关键性作用^[8-9]。目前血清 GATA6、SMAD3 在孕中期孕妇中的研究较少,因此,本研究经过检测血清 GATA6 mRNA、SMAD3 表达水平,进一步分析二者对胎儿心血管畸形的诊断价值。

1 对象与方法

1.1 研究对象

选取 2017 年 6 月至 2023 年 6 月北部战区总医院收治的有高危胎儿心血管畸形风险的孕中期孕妇 203 例作为研究对象,随访结果显示,45 例孕妇胎儿确诊为心血管畸形(疾病组),158 例孕妇胎儿心脏发育正常(对照组)。纳入标准:①所有研究对象均有高危胎儿心血管畸形因素(如有先天性心脏病家族史、放射物质接触史、有不良生育史、孕期感染史、有吸烟酗酒者等);②孕妇为单胎妊娠;③均有完善检查报告单和临床资料,且愿意接受连续随访。排除标准:①胎儿合并有其他部位畸形;②胎儿染色体不

正常;③孕妇有严重心肝肾功能不全者;④孕妇有习惯性流产史者;⑤有精神异常者;⑥男方有异常遗传因素。最终纳入的孕妇年龄 20~38 岁,孕周 15~26 周。其中初产妇 137 例,经产妇 66 例;高危因素情况:伴有先天性心脏病家族史者 56 例,有放射物质接触者 79 例,有不良生育史者 45 例,孕期感染史者 47 例,有吸烟史 53 例,有酗酒史 48 例。孕妇及其家属均知情并签署同意书,本研究已通过医院伦理委员会审批(审批号:1706046)。

1.2 研究方法

1.2.1 血清 GATA6 表达水平检测

采集有高危胎儿心血管畸形风险的孕中期孕妇空腹静脉血 4mL,以 3 500r/min 离心 8min 后,留取血清放于无菌离心管中,置于 -80℃ 冰箱保存。GATA6 及内参 GAPDH 上、下游引物序列如表 1 所示,GATA6 产物片段大小为 593bp,退火温度为 65℃。实时荧光定量逆转录 PCR(realtime fluorescence quantitative PCR, RT-qPCR)总反应体系为 20μL,包含 SYBR Premix Ex Taq II (2×)(艾科瑞生物科技有限公司)10μL,ROX Reference Dye II (50×)(江苏康润生物科技有限公司)0.4μL,cDNA (50ng/μL)2μL,上游引物、下游引物(10μmol/L)各加 0.8μL,再加入 ddH₂O 到 20μL。循环参数:95℃ 预变性 30s,95℃ 5s,60℃ 34s,72℃ 5s,总共 40 个循环;采用 Bio-Rad CFX manager 软件收集荧光信号。采用 2^{-ΔΔCt} (Ct 为循环阈值)法对血清 GATA6 mRNA 的表达水平进行定量分析。

1.2.2 血清 SMAD3 表达水平检测

采用酶联免疫吸附(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)法检测血清 SMAD3 表达,SMAD3 ELISA 试剂盒购自美国 Biolegend 公司,具体操作步骤参照试剂盒说明书。

1.2.3 胎儿心血管畸形的判断

妊娠终止进行引产者,获得胎儿父母同意进行

尸体解剖;妊娠继续者随访至分娩后,采用超声心动图对新生儿进行检查。将引产后尸检或分娩后新生儿心血管检查结果作为标准,统计胎儿心血管畸形比例。

表 1 qRT-PCR 引物序列
Table 1 qRT-PCR primer sequence

基因	上游引物 5'-3'	下游引物 5'-3'
GATA6	TGCAGACCTGCTGGAGGA	ACTTGAGCTCGCAGTTCTCG
GAPDH	CAAATTCAACGGCACAGTCAA	TGGTGAAGACACCAGTAGACTC

1.3 统计学方法

采用 SPSS 25.0 统计学软件进行数据处理。计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用 t 检验;计数资料以例数(n)和百分比(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验;运用 MedCalc 软件绘制受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线,分析孕中期孕妇血清 GATA6 mRNA、SMAD3 表达水平对胎儿心血管畸形的诊断价值,并用曲线

下面积(area under the curve,AUC)、灵敏度及特异性评价组间差异, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组一般资料比较

两组患者年龄、孕前体质量指数(body mass index,BMI)、孕周、初产妇和经产妇比例、高危因素比例相比,差异均无统计学意义($P > 0.05$),见表 2。

表 2 两组一般资料比较 [$\bar{x} \pm s, n(\%)$]
Table 2 Comparison of general information between the two groups [$\bar{x} \pm s, n(\%)$]

因素	疾病组($n=45$)	对照组($n=158$)	t/χ^2	P
年龄(岁)	28.3±6.1	29.2±6.2	0.862	0.390
BMI(kg/m ²)	21.5±1.4	21.4±1.5	0.400	0.689
孕周(周)	20.19±4.15	20.23±4.16	0.057	0.955
产妇类型				
初产妇	30(66.7)	107(67.7)	0.018	0.894
经产妇	15(33.3)	51(32.3)	0.018	0.894
高危因素				
先天性心脏病史	12(26.7)	44(27.8)	0.024	0.876
接触放射物质	18(0.4)	61(38.6)	0.029	0.866
不良生育史	10(22.2)	35(22.2)	0.000	0.992
孕期感染史	10(22.2)	37(23.4)	0.028	0.867
吸烟史	12(26.7)	41(25.9)	0.009	0.923
酗酒史	11(24.4)	37(23.4)	0.020	0.886

2.2 胎儿心血管畸形占比统计

在 203 例有高危胎儿心血管畸形风险的孕中期孕妇中,确诊为胎儿心血管畸形 45 例(其中 31 例经引产后尸检确诊,14 例经新生儿出生后诊断确诊),其中室间隔缺损占比最高,比例为 17.8%,见表 3。

2.3 两组血清 GATA6 mRNA、SMAD3 表达水平比较

疾病组孕妇血清 GATA6 mRNA、SMAD3 表达水平均低于对照组,差异有统计学意义(t 值分别为 4.210、7.185, $P < 0.05$),见表 4。

2.4 孕中期孕妇血清 GATA6 mRNA、SMAD3 表达水平对胎儿心血管畸形的诊断价值

孕中期孕妇血清 GATA6 mRNA、SMAD3 二者联合诊断胎儿心血管畸形的 AUC 为 0.95, 优于血清 GATA6 mRNA、SMAD3 各自单独诊断(Z 值分别为 5.41、5.23, $P<0.05$); 联合诊断的灵敏度和特异度分别为 97.78%、79.11%, 见图 1 和表 5。

表 3 胎儿心血管畸形情况
Table 3 State of fetal cardiovascular malformations

类别	确诊(例)	占比(%)
室间隔缺损	8	17.8
完全型房室间隔缺损	5	11.1
左心室发育不良综合征	3	6.7
右心室发育不良综合征	3	6.7
右室双出口	2	4.4
法洛四联症	4	8.9
单心房	3	6.7
单心室	1	2.2
大动脉转位	2	4.4
动脉导管早闭	3	6.7
二尖瓣闭锁	1	2.2
三尖瓣下移	2	4.4
主动脉狭窄	3	6.7
肺动脉狭窄	3	6.7
共同动脉干	2	4.4
合计	45	100.0

表 5 孕中期孕妇血清 GATA6 mRNA、SMAD3 对胎儿心血管畸形的诊断价值
Table 5 Diagnostic value of maternal serum GATA6 mRNA and SMAD3 in the second trimester for fetal cardiovascular malformations

变量	AUC	最佳截断值	95%CI	灵敏度(%)	特异度(%)	Youden 指数
GATA6 mRNA	0.76	0.95	0.71~0.83	86.67	60.76	0.47
SMAD3(pg/mL)	0.73	45.64	0.67~0.79	82.22	59.49	0.42
二者联合	0.95	—	0.91~0.97	97.78	79.11	0.77

3 讨论

人类心脏是胚胎发生过程中最早形成和发挥作用的器官之一^[10]。胎儿心血管畸形是导致胎儿和新生儿死亡率升高的主要病因^[11]。胎儿心血管畸形会导致早产或流产、神经系统发育异常、身体组织衰竭、宫内缺氧窘迫、智力发育异常等, 对胎儿来说是极其严重且不可逆的疾病。先天性心血管畸形也

表 4 两组血清 GATA6 mRNA、SMAD3 表达水平比较 ($\bar{x}\pm s$)

Table 4 Comparison of serum GATA6 mRNA and SMAD3 expression levels between the two groups ($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	GATA6 mRNA	SMAD3(pg/mL)
疾病组	45	0.8±0.2	44.3±5.3
对照组	158	1.0±0.3	51.7±6.3
t		4.210	7.185
P		<0.001	<0.001

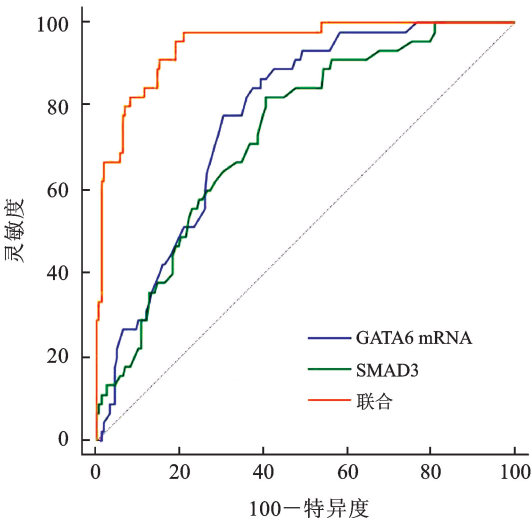


图 1 血清 GATA6 mRNA、SMAD3 诊断胎儿心血管畸形的 ROC 曲线

Fig.1 ROC curves of serum GATA6 mRNA and SMAD3 for the diagnosis of fetal cardiovascular malformations

会加大新生儿家庭的经济负担。目前临床上主要依赖超声和磁共振成像来诊断胎儿情况, 但易造成漏诊、误诊现象, 增加胎儿死亡率和新生儿心血管畸形的出生率^[12-13]。因此, 临床上需要增设敏感的指标联合诊断胎儿心血管畸形疾病, 降低新生儿和胎儿的死亡率, 从而改善患者孕妇妊娠结局。

3.1 GATA6 和胎儿心血管畸形

GATA6 是 GATA 家族成员, 由 GATA1 ~

GATA6 组成,其中 GATA4~GATA6 参与心脏、肠道细胞分化的发展过程^[14]。研究已证明,GATA6 在人类早期心脏、肺、消化系、肾上腺、卵巢、神经系统等正常发育中起着至关重要的作用^[15]。有研究发现,与对照组相比,妊娠合并心脏病孕妇血清 GATA6 mRNA 水平显著下降,心功能分级升高,血清 GATA6 低表达可能与妊娠合并心脏病孕妇不良妊娠结局有着紧密联系^[16],表明血清 GATA6 mRNA 表达水平下降可能与妊娠合并心脏病孕妇心肌损伤有关。朱淑嫔等^[17]研究也发现,妊娠合并心脏病患者血清 GATA6 mRNA 水平低于对照组,GATA6 mRNA 与妊娠风险分级呈负相关性,GATA6 mRNA 是影响不良妊娠结局的相关因素,推测 GATA6 异常水平变化可能对胎儿发生心脏畸形产生一定影响。本研究中,胎儿心血管畸形的孕中期孕妇血清 GATA6 mRNA 表达水平均显著低于对照组,孕中期孕妇血清 GATA6 mRNA 水平变化可能与胎儿心血管畸形相关;孕中期孕妇血清 GATA6 mRNA 表达水平对胎儿心血管畸形诊断的 AUC 为 0.76,其灵敏度、特异度分别为 86.67%、60.76%,当孕中期孕妇血清 GATA6 mRNA 水平低于 0.95 时,胎儿心血管畸形的可能性较大,在临床应用上有一定的参考价值。

3.2 SMAD3 及 GATA6、SMAD3 联合诊断胎儿心血管畸形

SMAD3 是 TGF- β 家族的细胞内重要介质,TGF- β 是一种分泌细胞因子,可激活 SMAD2 和 SMAD3^[18]。SMAD3 能够诱导特定的细胞类型和依赖性转录反应,其在心脏重塑中发挥重要作用^[8]。已有研究表明,TGF- β 在受伤组织中释放和激活,与其受体结合并通过激活受体 SMADS 细胞内效应器家族的级联来转导信号,可能在心血管发育过程中发挥关键性作用^[19]。本研究发现,胎儿心血管畸形的孕中期孕妇血清 SMAD3 表达水平显著低于对照组,提示血清 SMAD3 低表达可能参与胎儿心血管畸形的发展过程,表明在孕中期发生胎儿心血管畸形可能与 SMAD3 水平异常表达有关。血清 SMAD3 诊断 AUC 为 0.73,当 SMAD3 表达水平低于 45.64pg/mL 时,应联合超声或磁共振成像检测胎儿是否发生心血管畸形,以此降低新生儿先天性畸形出生率。本研究 ROC 曲线进一步分析显示,孕

中期孕妇血清 GATA6 mRNA、SMAD3 表达水平联合诊断胎儿心血管畸形的 AUC 为 0.95,其灵敏度、特异度分别为 97.78%、79.11%,均高于二者单一检测,由此表明二者联合能够更有效地诊断胎儿心血管畸形,可能对孕中期胎儿死亡率具有重要价值。

综上所述,胎儿心血管畸形的孕中期孕妇血清 GATA6 mRNA、SMAD3 表达水平均明显降低,二者联合检测对胎儿心血管畸形的发生有较好诊断价值,对临床医师针对胎儿心血管畸形的判定有一定参考价值。但是,血清 GATA6 mRNA、SMAD3 变化对胎儿心血管畸形在临床上的应用价值需通过大数据样本进一步验证,本研究在此方面尚有不足之处,需深入探究。

【参考文献】

- [1] Ryd D, Fricke K, Bhat M, et al. Utility of fetal cardiovascular magnetic resonance for prenatal diagnosis of complex congenital heart defects [J]. *JAMA Netw Open*, 2021, 4(3): e213538.
- [2] 韩啸, 吴继志, 孙耀文. MSCT 联合超声心动图对小儿先天性心脏病心血管畸形的诊断价值 [J]. *中国妇幼健康研究*, 2022, 33(6): 86-90.
- [3] Yoshizato T, Kozuma Y, Horinouchi T, et al. Diagnosis of fetal abnormalities during the first trimester [J]. *Kurume Med J*, 2021, 66(2): 85-92.
- [4] Liu K, Zhu M, Dong S Z. Prenatal diagnosis of fetal ectopia cordis by fetal cardiovascular magnetic resonance imaging [J]. *Prenat Diagn*, 2022, 42(13): 1636-1642.
- [5] Jiang X, Li T, Liu S, et al. Variants in a cis-regulatory element of TBX1 in conotruncal heart defect patients impair GATA6-mediated transactivation [J]. *Orphanet J Rare Dis*, 2021, 16(1): 334.
- [6] Kodo K, Uchida K, Yamagishi H. Genetic and cellular interaction during cardiovascular development implicated in congenital heart diseases [J]. *Front Cardiovasc Med*, 2021, 8: 653244.
- [7] Humeres C, Venugopal H, Frangogiannis N G. Smad-dependent pathways in the infarcted and failing heart [J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2022, 64: 102207.
- [8] Gu H, Duan Y, Li S, et al. MiR-96-5p regulates myocardial infarction-induced cardiac fibrosis via Smad7/Smad3 pathway [J]. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*,

- 2022,54(12):1874-1888.
- [9]Chen B, Huang S, Su Y, et al. Macrophage Smad3 protects the infarcted heart, stimulating phagocytosis and regulating inflammation[J]. *Circ Res*, 2019, 125(1): 55-70.
- [10]Tan C M J, Lewandowski A J. The transitional heart: from early embryonic and fetal development to neonatal life[J]. *Fetal Diagn Ther*, 2020, 47(5): 373-386.
- [11]Hopkins M K, Dugoff L, Kuller J A. Congenital heart disease: prenatal diagnosis and genetic associations[J]. *Obstet Gynecol Surv*, 2019, 74(8): 497-503.
- [12]Aguet J, Seed M, Marini D. Fetal cardiovascular magnetic resonance imaging[J]. *Pediatr Radiol*, 2020, 50(13): 1881-1894.
- [13]Jhaveri S, Berenstein A, Srivastava S, et al. High output cardiovascular physiology and outcomes in fetal diagnosis of vein of galen malformation[J]. *Pediatr Cardiol*, 2021, 42(6): 1416-1424.
- [14]Heredia-Soto V, Gutiérrez-Sainz L, Ghanem I, et al. The relationship between the expression of GATA4 and GATA6 with the clinical characteristics and prognosis of resectable pancreatic adenocarcinoma[J]. *Biomedicine*, 2023, 11(2): 252.
- [15]Sun Z, Yan B. Multiple roles and regulatory mechanisms of the transcription factor GATA6 in human cancers[J]. *Clin Genet*, 2020, 97(1): 64-72.
- [16]赵欣媛, 郭婷, 丁鹏. 妊娠合并心脏病孕妇外周血中 miR-27a 和 GATA6 水平与妊娠结局关系[J]. *临床检验杂志*, 2020, 38(9): 676-679.
- [17]朱淑嫔, 姚锐, 金经纬. 妊娠合并心脏病患者 MMP-1、GATA6、PTX3 水平与不良妊娠结局的关系研究[J]. *心电与循环*, 2022, 41(1): 53-57.
- [18]Zhang T, Xia W, Song X, et al. Super-enhancer hijacking LINC01977 promotes malignancy of early-stage lung adenocarcinoma addicted to the canonical TGF- β /SMAD3 pathway[J]. *J Hematol Oncol*, 2022, 15(1): 114.
- [19]Hanna A, Humeres C, Frangogiannis N G. The role of Smad signaling cascades in cardiac fibrosis[J]. *Cell Signal*, 2021, 77: 109826.

[专业责任编辑:于学文]

[中文编辑:郭乐倩;英文编辑:牛惠]