

CNIC-01498
NLNM-0004

胎盘型碱性磷酸酶与高危妊娠关系的研究
**RELATIONSHIP BETWEEN PLAP AND
HIGH-RISK PREGNANCY**
(In Chinese)

中国核情报中心
China Nuclear Information Centre

CNIC-01498
NLNM-0004

胎盘型碱性磷酸酶与高危妊娠关系的研究

俞惠新 肖为红 曹国宪 李卫一 沈波

(核医学国家重点实验室, 江苏省原子医学研究所, 无锡, 214063)

摘要

从人胎盘组织中提取及纯化胎盘型碱性磷酸酶 (PLAP), 以此作为抗原免疫家兔, 制得抗血清。利用放射性核素 ^{125}I 标记抗原, 得 ^{125}I -PLAP, 进而建立孕妇血清 PLAP 的放射免疫分析方法。该法灵敏度: $1.54 \mu\text{g/L}$, 可测范围: $2 \sim 1000 \mu\text{g/L}$, 回收率: $96.7\% \sim 105.2\%$, 批内 CV : 8.94% , 批间 CV : 9.43% , 与肝碱性磷酸酶无交叉反应。利用该法测定了 649 例正常妊娠孕妇及 164 例病理妊娠孕妇血清 PLAP 的含量并进行了统计学分析。与同孕周正常孕妇相比, 妊高征患者与胎儿宫内生长迟缓患者 ($31 \sim 36$ 孕周, $P < 0.05$; $37 \sim 40$ 孕周, $P < 0.01$) 以及胎儿宫内窘迫孕妇 ($35 \sim 40$ 孕周, $P < 0.05$) 和新生儿窒息孕妇 ($35 \sim 38$ 孕周, $P < 0.05$) 的血清 PLAP 值均明显低于正常值。因此本方法对于胎盘功能测定、婴儿生长状况监测、病理妊娠诊断、高危妊娠监护及预后具有较高的临床价值。

Relationship between PLAP and high-risk pregnancy (*In Chinese*)

YU Huixin XIAO Weihong CAO Guoxian LI Weiyi SHENG Bo
(National Key Laboratory of Nuclear Medicine,
Jiangsu Institute of Nuclear Medicine, Wuxi, 214063)

ABSTRACT

PLAP was isolated and purified from human placenta and the antiserum was obtained by immunizing the rabbits. A radioimmunoassay of PLAP (PLAP RIA) was established by labeling the antigen using the choramine-T method. Its sensitivity was 1.54 $\mu\text{g/L}$, the recovery rate was between 96.7% and 105.2%, the intra- and inter-assay *CV* were 8.94% and 9.43%, respectively, the antiserum provided a linear response from 2 to 1000 $\mu\text{g/L}$. The assay has no cross-reactivity with liver AP. Serum level of PLAP were measured by PLAP RIA in 649 cases of normal pregnancy and 164 cases of high-risk pregnancy. The results indicated that the PLAP level increased proportionally with the advance of gestational age ($r=0.9843$). In 33 cases of pregnancy induced hypertension and 21 cases of intrauterine fetal growth retardation, the PLAP were at significantly low level. In 7 cases of neonatal asphyxia and 26 cases of fetal distress, the PLAP level in the mother's serum were also low. In 53 cases of intrahepatic cholestasis of pregnancy, the PLAP level were similar to those of normal pregnancy. This study illustrated that PLAP RIA can play an important role in evaluation of placental function and fetal prognosis for cases of high-risk pregnancy.

前 言

胎盘具有很丰富的酶类，其特异性的酶主要有：胎盘型碱性磷酸酶、催产素酶、二胺氧化酶和 N-乙酰- β -氨基葡萄糖酶等，妊娠期间，均出现于母体血液中参与各种特殊的生理功能^[1]。

碱性磷酸酶 (alkaline phosphatase, AP) 正式化学名为磷酸单酯水解酶 (orthophoric monoester phosphohydrolase, EC3.1.3.1)，其最适 pH 为 7.6~9.9^[2]。AP 定位于生物膜，为基质小泡和质膜的标记酶。以几种同功酶形式存在于人的循环体系中，同功酶部分是由于遗传因子决定的，部分是由于翻译后修饰的结果。已知至少有 3 种不同的遗传位点为 AP 同功酶编码：肝/骨型（组织非特异型）、小肠型和胎盘型^[3]。AP 在生物体内分布广泛，以小肠粘膜和胎盘的含量最高，肾脏和骨骼次之，肝、肺、脾再次之，而在肌肉和红细胞膜上则无 AP 活性。

人胎盘型碱性磷酸酶 (placental alkaline phosphatase, PLAP) 是一种对热高度稳定的碱性磷酸酶 (AP) 的同功酶，故又名耐热性碱性磷酸酶 (heat stable alkaline phosphatase, HSAP)，分子量为 130 000 Da，由两个相同的亚基组成^[4]。PLAP 由胎盘合体滋养细胞合成后分泌进入母体血液，从而参与细胞膜对物质的主要转运及对钙、磷化合物的利用，提供胎儿生长发育所需的营养成份。因此，正常妊娠时孕妇血清 AP 活性的明显升高主要是胎盘型碱性磷酸酶的增高所致。

自 Cayle 和 Fabre 于 1935 年发现正常妊娠妇女血清中碱性磷酸酶 (AP) 活性增高以来，许多学者做了大量的有关胎盘酶的研究工作，希望通过测定胎盘酶活性来了解胎盘功能，从而监护高危妊娠及判断母婴预后。十多年来国内外很多作者采用酶活性测定方法证实 PLAP 与胎盘功能密切相关，可反应胎盘的功能状况。但是由于酶活性测定方法干扰因素多，重复性差，难于标准化，而且血清样本需进行预处理，因此在临床上应用不多。我们从人胎盘组织中纯化得到 PLAP，建立了 PLAP RIA，并对 PLAP 与各种高危妊娠的关系进行了研究。

1 材料与方 法

1.1 材料与设备

人胎盘由解放军某医院提供；DEAE-DE52 和 Sephadex G-200 为 Pharmacia 产品；CM52 为 Whatman 产品；巯基乙醇、考马斯亮蓝 G250 为 Fluka 产品；苯甲烷基酰氟化物 (PMSF)、氯胺-T 为 Merck 产品；丙烯酰胺、甲叉丙烯酰胺、Ampholine、TEMED 均为 Pharmacia 产品；福氏完全和不完全佐剂为 Sigma 产品；电泳用标准分子量蛋白为中科院上海东风试剂厂产品；Na¹²⁵I 为中国原子能科学研究院产品；十二烷基硫酸钠 (SDS) 及苯基磷酸二钠为进口分装；其余试剂均为国产分析纯。

从苏州市妇幼保健院、原苏州医学院附属一院和无锡市妇幼保健院选择门诊及住院临产正常妊娠孕妇 649 例及各种病理妊娠孕妇 164 例，全部病理妊娠病例均随访至分娩。

1.2 PLAP 的纯化

胎盘的预处理和正丁醇抽提参照文献^[4~6]进行。将正丁醇抽提液加热至 65 °C 并保持

10 min 后离心除去热变性蛋白, 所得上清即热变性抽提液。对缓冲液 A (0.01 mol/L Tris-HCl, pH 7.6, 1 mmol/L MgCl₂, 10 mmol/L ZnCl₂) 充分透析后上 DEAE-DE52 柱 (1.6 cm×20 cm), 线性梯度洗脱 (含 0~0.3 mol/L NaCl 缓冲液 A), 分部收集, 合并活力峰, 浓缩后对缓冲液 C (0.01 mol/L 柠檬酸-柠檬酸三钠 pH 6.0, 1 mmol/L MgCl₂, 10 mmol/L ZnCl₂) 透析 4 h 后上 CM52 柱 (1.6 cm×17 cm), 用缓冲液 C 洗脱, 分部收集, 合并酶活力峰。浓缩后直接上 Sephadex G-200 柱 (2.6 cm×80 cm), 用缓冲液 A 洗脱, 合并酶活力峰, 分装、冻干。

1.3 PLAP 抗血清的制备及鉴定

取 0.47 mg/ml 的 PLAP 1 ml, 福氏完全佐剂 1.5 ml, 乳化后对 2.6 kg 的新西兰兔进行皮下注射免疫, 以后每间隔两星期加强免疫一次, 即加福氏不完全佐剂, 剂量同前。每次加强免疫后利用免疫双扩散法测其抗血清效价。加强免疫七次后, 颈动脉放血, 分离血清, 冷冻干燥, -30 °C 保存。滴度和特异性分析用免疫双扩散法, 亲和常数用 Scatchard 作图法计算, 工作浓度分析用 RIA 实验设计优化法计算。

1.4 ¹²⁵I-PLAP 的制备及鉴定

采用氨胺-T 法标记。氨胺-T 及偏焦亚硫酸钠均在临用前用 0.05 mol/L PBS pH 7.5 溶液配制。3 μg PLAP 溶于 20 μl 0.2 mol/L PBS pH 7.5 的缓冲液中, 加入 3.7 MBq Na¹²⁵I 和 20 μg 氨胺-T 反应 45 s, 立即加入 100 μg 偏焦亚硫酸钠以终止反应。反应产物上 Sephadex G-50 柱 (1 cm×40 cm), 分部收集。三氯醋酸沉淀法测标记物放化纯, 合并放化纯和结合率高而非特异性结合低的峰管用于 PLAP 放射免疫分析。

1.5 PLAP RIA 的建立^[8]

反应缓冲液为 0.05 mol/L PBS, pH 7.5, 内含 0.2% BSA 及 0.02% NaN₃。依次加入 100 μl PLAP 参考标准 (1.9, 3.9, 7.8, 15.6, 31.3, 62.5, 125, 250, 500, 1000 μg/L) 或待测血清样品、100 μl PLAP 抗血清、100 μl ¹²⁵I-PLAP (约 10 000cpm), 4 °C 保温 20 h, 加入 500 μl 稀释了 50 倍的正常兔血清和 100 μl 稀释 10 倍的羊抗兔第二抗体, 37 °C 反应 2 h。4000 r·min⁻¹ 离心弃上清, γ-计数器测各管沉淀的计数。数据经四参数 Logistic RIA 数据处理程序处理。

1.6 PLAP 活性测定

主要参考鲍氏法^[7]测定并作较大改进。以苯基磷酸二钠为底物, 反应缓冲液为 0.04 mol/L 巴比妥缓冲液, pH 9.6, 于 37 °C 保温 15 min 后用三氯醋酸沉淀去蛋白质, 离心, 吸取 0.1 ml 上清, 加入定磷试剂, 经 45 °C 保温 10 min 后在 660 nm 进行比色。酶活力单位 (U) 定义为在此条件下每分钟产生 1 μg 无机磷的酶量为 1 个单位。

米氏常数的测定。设置不同的底物浓度 (S), 测定单位蛋白量的相应酶活力 (V), 以双倒数法作图计算 K_m。

最适反应温度及最适反应 pH 的测定。分别在一系列不同的温度 (20~90 °C) 和不同 pH 体系 (pH 10.00~pH 10.93) 中测量酶活力, 并经数据处理, 求出酶活力最高时的反应温度或 pH。类似地, 进行酶的耐热性试验。

1.7 PLAP 理化性质的测定

蛋白纯度用 PAGE 和 SDS-PAGE 电泳鉴定。

蛋白含量测定使用 Lowry 法, 以 BSA 为标准。

分别用 Sephadex G-200 柱和 SDS-PAGE 测定 PLAP 的分子量及亚基分子量。色谱分子量参考范围为：75 kDa~440 kDa；电泳标准蛋白分子量范围则为：17.5 kDa~94 kDa。

用薄层等电聚焦电泳测定 PLAP 的等电点，标准 pI 蛋白为 2.40~5.65。

1.8 氨基酸组成分析

蛋白于 HCl 中高温消化，真空干燥后，经定容，用日立 8350 型氨基酸全自动分析仪进行氨基酸组成分析。

2 结果

2.1 PLAP 的纯化及理化性质

人胎盘组织经正丁醇抽提、热变性处理后，先后经阴离子交换柱 DEAE-DE52 柱（酶活力峰为梯度洗脱中的第一个蛋白峰，合并。见图 1）和阳离子交换柱 CM52 柱（酶活力峰为蛋白穿过峰，合并。见图 2）分离，最后经分子筛 Sephadex G-200 柱层析获得 PLAP 纯品（见图 3）。酶的最终比活为 4379 U/mg，提高了 38 倍。酶总活力回收为 57.9%（见表 1）。

测得其米氏常数 K_m 为 2.5×10^{-3} mol/L。最适反应温度在 65 °C 左右，最适反应 pH 为 10.5 左右。

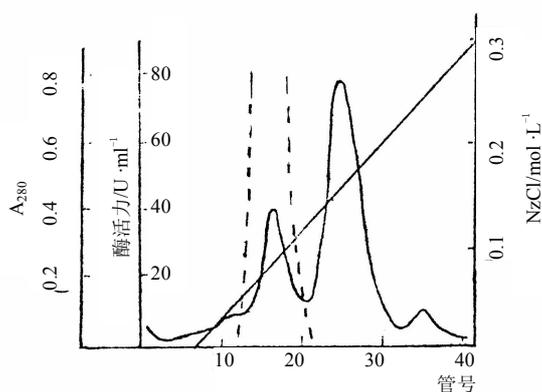


图 1 DEAE 柱层析纯化 PLAP

实线：蛋白浓度 A_{280}

虚线：酶活力 U/ml

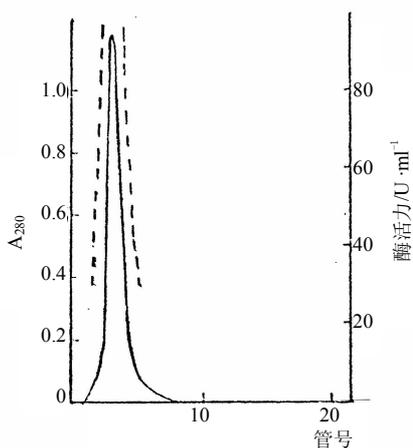


图 2 CM 柱层析纯化 PLAP

实线：蛋白浓度 A_{280}

虚线：酶活力 U/ml

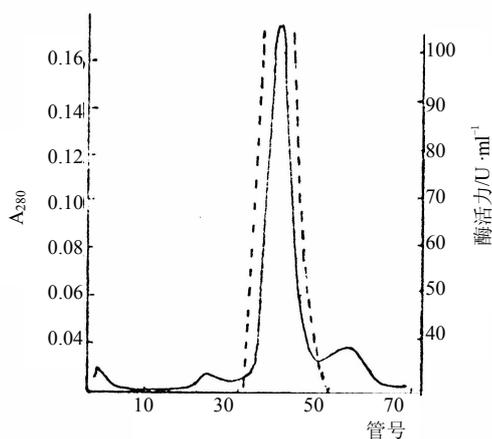


图 3 Sephadex G-200 纯化 PLAP

实线：蛋白浓度 A_{280}

虚线：酶活力 U/ml

表 1 PLAP 的分离纯化

步骤	蛋白量/mg	比活/ $U \cdot mg^{-1}$	活力回收/%
正丁醇抽提液	2560	113.7	100
热变性抽提液	980	276.4	93.1
DEAE 柱层析	62.5	2982.4	64.1
CM 柱层析	50.2	3475.5	60.0
Sephadex G200 层析	38.5	4379.2	57.9

用 Sephadex G200 柱层析测得 PLAP 分子量约为 130 000，而 SDS-PAGE 测定其亚基分子量为 65 000（见图 5），说明 PLAP 由两个相同的亚基组成，与文献报道相符^[4]。IFE 测得 PLAP 的等电点为 4.6。

PLAP 的耐热试验表明，纯酶在 65 °C 保温 3 h，活性仍保留 80% 以上，在室温下可放置 1 至 2 月，而当温度提高至 90 °C 时很快失活（见图 4）。

PAGE 及 SDS-PAGE 均显示所制备的 PLAP 为单一条带（见图 5）。其氨基酸组成也与文献报道一致^[9]。

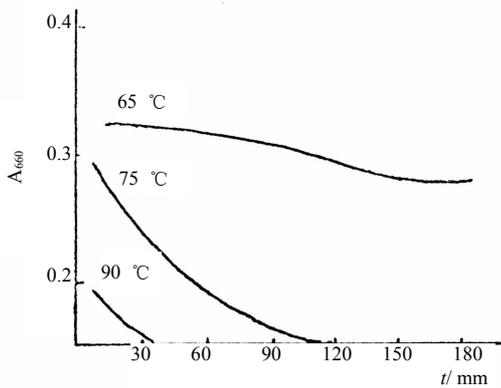


图 4 PLAP 的热稳定性

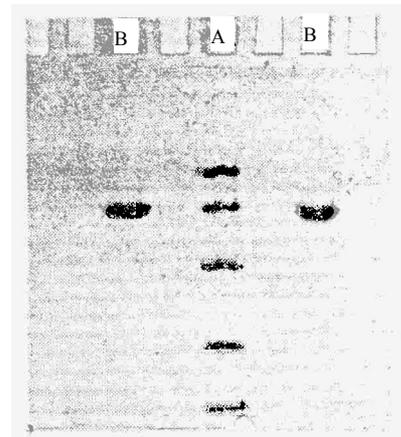


图 5 PLAP 的 SDS-PAGE

A——低分子量标准，从上到下依次为 94000，67000，43000，30000 和 17500；B——PLAP。

2.2 PLAP 抗血清的质量鉴定

PLAP 抗血清滴度达 1 : 64，亲和常数为 $1.11 \times 10^{10} L/mol$ ，50% 抗体结合工作浓度为 1 : 100 000（图 6），适合于放射免疫分析。同时，实验表明，PLAP 抗血清与肝碱性磷酸酶之间无交叉反应（见图 7）。

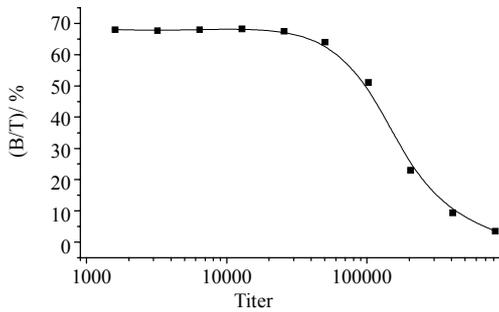


图6 PLAP 抗血清稀释曲线

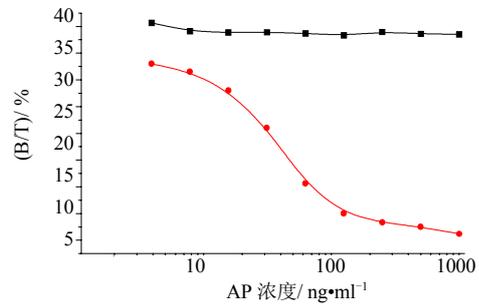


图7 PLAP 抗血清与肝型 AP 的交叉反应

◆ 肝型 AP ● PLAP

2.3 PLAP RIA 方法学考核

^{125}I -PLAP 的放射化学纯度 $>95\%$ ，比放射性为 $1.2 \text{ MBq}/\mu\text{g}$ ，经标准曲线比较法和稀释度曲线比较法以及最高结合率和非特异结合鉴定，证实其免疫反应性基本无损伤。标准曲线见图 8。

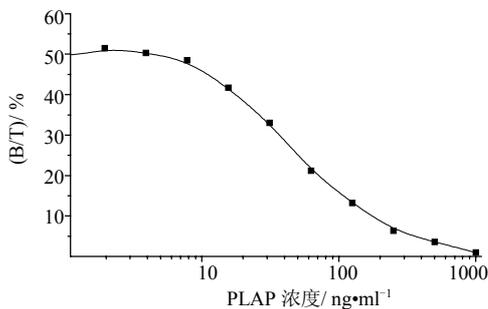


图8 PLAP RIA 标准曲线

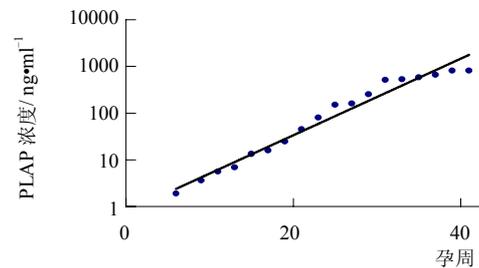


图9 正常孕妇血清 PLAP 值与孕周的关系

以 10 次标准曲线零标准管 ($\text{mean} \pm \text{SD}$) 计算，本法灵敏度为 $1.54 \mu\text{g}/\text{L}$ ，精密度图显示测量范围为 $2 \sim 1000 \mu\text{g}/\text{L}$ ；在人混合血清中加低中高 4 种不同剂量的标准品，测得回收率为 $96.7\% \sim 105.2\%$ ； ED_{25} ， ED_{50} ， ED_{75} 分别为 105.61 ， 38.60 ， $14.49 \mu\text{g}/\text{L}$ ；取 4 份标本，每份测 10 只复管，得批内平均 CV 为 8.94% ，批间平均 CV 为 9.43% ， $\text{RER} < 0.04$ ；取孕妇血清按 $1:4$ ， $1:16$ ， $1:64$ 稀释，测定结果表明稀释度与 PLAP 值呈线性关系 ($r=0.985$)。

2.4 正常孕妇各孕周血清 PLAP 正常参考值

649 例正常孕妇按孕周分为 18 组，测定数据见表 2。孕妇血清的 PLAP 值随着妊娠时间的增加而增加，经数据处理表明 PLAP 值与孕周呈如下关系： $\ln y = 0.1905x - 0.5035$ （其中： y 为 PLAP 值，单位为 $\mu\text{g}/\text{L}$ ； x 为孕周），相关系数 $r=0.9843$ 。见图 9。

表 2 不同孕周的正常孕妇血清 PLAP 测量值 μg/L

孕周	例数	PLAP 值 (mean±SD)
<8	8	1.88±0.75
9~10	18	3.60±2.79
11~12	15	5.55±2.99
13~14	32	6.83±3.84
15~16	21	13.23±9.98
17~18	23	15.72±16.20
19~20	30	24.60±22.63
21~22	34	44.36±28.75
23~24	28	79.71±55.37
25~26	33	151.11±142.45
27~28	25	159.31±82.58
29~30	35	252.34±172.24
31~32	43	515.64±221.66
33~34	70	531.25±255.93
35~36	65	586.54±296.43
37~38	61	656.29±188.04
39~40	67	808.28±175.62
41~42	41	811.04±167.10
43~	9	800.21±172.13

2.5 血清 PLAP 含量与各种高危妊娠的关系

高危妊娠孕妇按病种分组，并与同孕周正常孕妇作比较。数据列于表 3 中。

表 3 高危妊娠孕妇血清 PLAP 测量值 μg/L

孕周	高危妊娠									
	妊高征		胎儿宫内生长迟缓		妊娠合并肝内胆汁积征		胎儿宫内窘迫		新生儿窒息	
例数	mean±SD	例数	mean±SD	例数	mean±SD	例数	mean±SD	例数	mean±SD	
31~32	5 323.00±119.12 ¹⁾	4 282.50±87.30 ¹⁾	4 230.00±98.99 ¹⁾	1 230						
33~34	4 335.62±102.38 ¹⁾	3 252.33±86.67 ¹⁾	5 361.80±178.51	1 213						
35~36	5 406.14±93.03 ¹⁾	4 259.50±92.87 ¹⁾	12 591.67±138.4	7 355.86±133.50 ¹⁾	3 493.3±11.5 ¹⁾					
37~38	10 467.57±154.41 ²⁾	5 316.60±62.30 ²⁾	24 560.00±179.93 ¹⁾	9 269.67±86.06 ¹⁾	4 447.50±139.40 ¹⁾					
39~40	9 518.63±178.36 ²⁾	5 367.60±191.12 ²⁾	8 651.25±244.36 ¹⁾	8 482.00±285.84 ¹⁾						

注: 1)0.01<P<0.05; 2)P<0.01。

其中 33 例妊高征患者 PLAP 值明显低于同孕周正常值 (31~36 孕周 P<0.05; 37~40

孕周 $P < 0.01$)。孕周越高, 差异越显著。21 例胎儿宫内生长迟缓孕妇 PLAP 值明显低于同孕周正常值 (31~36 孕周 $P < 0.05$; 37~40 孕周 $P < 0.01$)。53 例妊娠合并肝内胆汁淤积征患者 PLAP 值总体上略低于同孕周正常值, 但统计学上无显著意义 (31~32 和 37~40 孕周 $P < 0.05$; 33~36 孕周 $P > 0.05$)。但从个体上看, 有的明显低于正常值, 而有的与正常值间无明显差异。26 例胎儿宫内窘迫孕妇 PLAP 值总体上略低于同孕周正常值, (35~40 孕周 $P < 0.05$)。但从个体上看, 有的明显低于正常值, 而有的与正常值间无明显差异。7 例新生儿窘迫孕妇 PLAP 值明显低于正常值 (35~38 孕周 $P < 0.05$)。9 例过期妊娠 (43 孕周以上) 孕妇 PLAP 值与 39~42 孕周正常值相比无显著差异 ($P > 0.05$)。其它 15 例病理妊娠包括: 肝功能损害 4 例 (明显低于正常值), 先天性心脏病 2 例 (无显著差异), 贫血 1 例 (无显著差异), 胎膜早破 3 例 (显著低于正常值), 先兆早产 3 例 (其中 2 例明显低于正常值), 羊水过少和过多各 1 例 (均明显低于正常值)。因这些病理妊娠例数太少, 无统计学意义, 故不作评判, 仅供参考。

3 讨论

我们建立的 PLAP RIA 适于测量血清 PLAP 的含量。高含量血清样品经 1:4~1:64 稀释后用于 PLAP RIA, 结果经换算后非常接近; 用稀释血清替代 PLAP 参考标准作标准曲线, 经 Logitic 转换也呈线性, 其斜率与标准曲线斜率基本一致, 表明本方法有良好的健全性, 并不受血清基质的影响。批内和批间重复性研究、灵敏度、回收率及测量范围等考核均可证明本方法可靠、灵敏、稳定、准确、重复性好, 适于血清 PLAP 含量的测定。

正常妊娠时血清总碱性磷酸酶 (AP) 活性增高, 这主要是由于 PLAP 增加所致^[9]。PLAP 随妊娠进程而增加, 至 37~38 孕周达到高峰, 而后胎盘逐渐老化, PLAP 合成分泌减少, 逐渐降低^[10]。我们将 PLAP 值对孕周作图, 证实逐渐升高的 PLAP 值与孕周成指数关系, 呈现一定的规律性, 这与胎儿体重呈指数增长的模式相符^[11], 表明 PLAP 与胎盘功能和代谢密切相关, 可作为检测胎盘功能好坏与否的指标。

实验表明, 多种病理妊娠的孕妇血清 PLAP 值明显低于同孕周正常值, 其中以孕高征和胎儿生长迟缓尤为显著。妊高征时, 由于全身小动脉痉挛, 各脏器组织缺氧及功能障碍, 造成胎盘梗塞, 滋养层细胞肿胀, 子宫胎盘血流灌注减少, 导致 PLAP 合成、分泌及向母体循环转运减少, 因而孕妇血清 PLAP 含量显著降低。因此 PLAP 值可用于判断妊高征的严重程度及母儿预后。

胎盘功能与胎儿的生长发育密切相关。整个孕期子宫胎盘血流量的增加与胎儿体重及孕周的增长相平行^[12]。在病理情况下, 如造成子宫胎盘血流量增加不足甚至减少, 绒毛可因缺血缺氧而受损或发生功能障碍, 使胎盘运输及代谢能力降低, 导致胎儿生长迟缓。本研究中 21 例胎儿宫内生长迟缓的孕妇血清 PLAP 值均明显低于同孕周正常孕妇, 表明有胎盘功能的降低, 这与 Ronin 的结论相一致^[13]。

胎儿宫内窘迫起因较多, 在孕妇血清 PLAP 的检测中, 部分与正常值无明显差异 (可能为脐带等因素所致), 部分则与正常值有显著差异。特别当连续测定呈下降型时, 常常是胎儿宫内窘迫的先兆。因此, 与其它检测手段相配合, PLAP RIA 可有较高的临床应

用价值。新生儿窒息孕妇血清 PLAP 值明显低于正常值, 结合 E/C 值测定及胎心监护很有价值。

妊娠合并肝内胆汁瘀积征 PLAP 值与正常值差异较小。正常孕妇 PLAP 与 AP 水平一般随妊娠进程同步升高, 且 AP 的升高主要是因 PLAP 升高所致。而肝内胆汁瘀积征患者肝脏门静脉周围组织缺血, 肝静脉窦压力增高, 挤压肝细胞, 导致肝内胆汁瘀积, 出现黄疸^[14]。孕妇血清 AP 水平随肝脏阻塞性黄疸的加重而急剧升高, 但此时 AP 主要来源于肝脏而 PLAP 的含量变化不大。因此若对这些孕妇在测定血清总 AP 的同时测定 PLAP 值, 就能发现 AP 与 PLAP 分离的现象。AP/PLAP 比值不仅反映肝胆瘀积的严重程度, 也反映了胎盘功能受损的程度。

另外, 近年来研究表明, PLAP 对某些恶性肿瘤的诊断, 特别是精原细胞瘤、卵巢腺癌及胰腺癌价值较高。因此, 就恶性肿瘤而言, PLAP 可能成为一个新的肿瘤标志酶^[15]。

经多家临床试用, 证明我们建立的 PLAP RIA 方法准确性和重复性较好, 为胎盘功能的测定、胎儿生长状况的检测、病理妊娠的诊断、高危妊娠监护和预后, 提供了重要的手段。

参考文献

- 1 上海第一医学院. 妇产科学. 北京: 人民卫生出版社, 1980. 60
- 2 刘侠, 乐以伦. 碱性磷酸酶与钙化. 中国生物医学工程学报, 1997, 16: 70~88
- 3 陈惠黎, 李文杰. 分子酶学. 北京: 人民卫生出版社, 1983. 449~451
- 4 Holmgren P A, Stigbran T. Purification and partial characterization of two genetic variants of placental alkaline phosphatase. *Biochem Genetics*, 1976, 14: 777
- 5 Doellgast G T, Fishman W H. Purification of placental alkaline phosphatase. *Biochem J*, 1974, 141: 4406
- 6 Greene P J, Sussman H H. Structural comparison of ectopic and normal placental alkaline phosphatase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1973, 70: 2936
- 7 上海医学化验所主编. 临床生化检验(上). 上海: 上海科学技术出版社, 1979. 351~356
- 8 肖为红, 沈波, 俞惠新. 胎盘型碱性磷酸酶放射免疫分析. *中华核医学杂志*, 1993, 13: 182~183
- 9 沈波, 肖为红, 俞惠新. 人胎盘耐热性碱性磷酸酶的分离纯化及其性质的研究. *生物化学与生物物理进展*, 1993, 20: 63~65
- 10 肖为红, 曹国宪, 俞惠新等. 孕妇血清耐热性碱性磷酸酶放射免疫测定的临床应用. *中华妇产科杂志*, 1995, 30: 77~79
- 11 田雪萍主编. 高危妊娠的处理. 上海: 上海科学技术出版社, 1986. 107
- 12 唐敏. 正常子宫血管及妊娠子宫胎盘血管床的生理性及病理性改变. *中华妇产科杂志*, 1984, 19: 49
- 13 Ronin W E. Placental alkaline phosphatase compared with human placental lactogen and oestriol in high-risk pregnancies. *Gynecol Obstet Invest*, 1984, 18: 206
- 14 王菊华. 妊娠中毒症与妊娠合并症. 上海: 上海科学技术出版社, 1979: 1~91
- 15 Fishman W H. The advancement of alkaline phosphatase isoenzyme. *Clin Biochem*, 1990, 23: 99



俞惠新：中国核医学国家重点实验室助理研究员。1989年毕业于南京大学生物化学系生物化学专业，获理学学士学位。

YU Huixing: Assistant Research Professor of National Key Laboratory of Nuclear Medicine. Graduated from Department of Biochemistry of Nanjing University, received degree of Science Bachelor in 1989.