

• 论 著 •

子痫前期患者胎盘组织中 miR-155 及 CXCR4 的表达及意义*

张 展^{1,2}, 王媛媛³, 李爱萍¹, 宋婉玉³, 徐 娜¹, 刘 慧¹

(1. 郑州大学第三附属医院检验科, 郑州 450052; 2. 河南省商丘医学高等专科学校临床医学系, 河南商丘 476000; 3. 郑州大学第三附属医院妇产科, 郑州 450052)

摘 要:目的 探讨子痫前期(PE)患者胎盘组织中微小 RNA-155(miR-155)及趋化因子受体 4(CXCR4)的表达变化及临床意义。方法 选取 2015 年 12 月至 2016 年 2 月在郑州大学第三附属医院产科以剖宫产术分娩的 30 例重度子痫前期(sPE)孕妇作为 sPE 组, 同期因社会因素行剖宫产术分娩的 30 例健康孕妇为健康对照组(N 组)。采用实时荧光定量 PCR 技术(RT-PCR)检测 2 组孕妇胎盘组织中 miR-155 及 CXCR4 mRNA 表达水平, 并对 miR-155 含量与 CXCR4 含量的相关性进行分析。采用免疫组化链霉亲和素-生物素-过氧化物酶复合物(SABC)法, 检测同课题组前期构建的胎盘绒毛滋养细胞(VCT)组织芯片(正常对照 1 组 42 例, PE 组 56 例)和绒毛外滋养细胞(EVCT)组织芯片(正常对照 2 组 29 例, PE 组 47 例)中 CXCR4 蛋白的表达。**结果** (1) 2 组孕妇的年龄、分娩孕周、孕前体质量指数(BMI)分别比较, 差异均无统计学意义($P>0.05$)。2 组孕妇血压比较, 差异有统计学意义($P<0.05$)。sPE 组新生儿出生体质量明显低于 N 组, 差异有统计学意义($P<0.05$)。sPE 组孕妇尿蛋白明显高于 N 组, 差异有统计学意义($P<0.05$)。(2) 胎盘 VCT 和 EVCT 组织芯片中: 2 组孕妇年龄比较, 差异无统计学意义($P>0.05$); PE 组分娩孕周早于 N 组, PE 组孕妇收缩压、舒张压及尿蛋白均高于 N 组, 新生儿出生体质量显著低于 N 组, 差异均具有统计学意义($P<0.05$)。(3) sPE 组胎盘组织中 miR-155 mRNA 表达水平为 1.53 ± 0.92 , 明显高于对照组的 0.87 ± 0.73 , 差异具有统计学意义($P<0.05$)。(4) N 组孕妇胎盘组织中 CXCR4 mRNA 含量为 1.51 ± 1.85 , sPE 组为 0.54 ± 0.38 , 两组比较差异有统计学意义($P<0.05$)。(5) sPE 组孕妇胎盘组织中 miR-155 含量与 CXCR4 含量有显著相关性($r=-0.773, P<0.05$)。(6) CXCR4 蛋白在 VCT 及 EVCT 均可见表达; 胎盘 VCT 组织芯片中 PE 组 CXCR4 阳性表达率为 48.21%(27/56), sPE 组阳性表达率为 47.92%(23/48), 早发型 PE 组阳性表达率为 53.66%(22/41), 均显著低于正常对照组的 83.33%(35/42), 差异均有统计学意义($P<0.05$)。(7) 胎盘 EVCT 组织芯片中 PE 组 CXCR4 阳性表达率为 48.94%(23/47), sPE 组阳性表达率为 50.00%(22/44), 早发型 PE 组阳性表达率为 52.63%(20/38), 均显著低于正常对照组的 79.31%(23/29), 差异均有统计学意义($P<0.05$)。**结论** sPE 患者胎盘组织中 miR-155 含量升高, CXCR4 含量则明显降低, 两者呈负相关关系, 可能与 PE 的发病相关。

关键词: 子痫前期; miR-155; CXCR4; 胎盘组织; 滋养细胞

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2017.09.006

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2017)09-1167-05

Expression and significance of miR-155 and CXCR4 in placenta tissues from patients with preeclampsia*

ZHANG Zhan^{1,2}, WANG Yuanyuan³, LI Aiping¹, SONG Wanyu³, XU Na¹, LIU Hui¹

(1. Department of Clinical Laboratory, Third Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou, Henan 450052, China; 2. Faculty of Clinical Medicine, Shangqiu Medical College, Shangqiu, Henan 476000, China; 3. Department of Obstetrics and Gynecology, Third Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou, Henan 450052, China)

Abstract: **Objective** To investigate the expression changes and clinical significance of microRNA-155(miR-155) and chemokine receptor 4(CXCR4) in placental tissue from the patients with preeclampsia(PE). **Methods** Thirty pregnant women with severe PE (sPE) in the Third Affiliated Hospital of Zhengzhou University from December 2015 to February 2016 served as the sPE group, and contemporaneous 30 healthy pregnant women undergoing cesarean section due to the social factors served as the healthy control group(N). The real-time fluorescent quantitative PCR(RT-PCR) was used to detect the expression of miR-155 and CXCR4 mRNA in placental tissue and the relationship between miR-155 and CXCR4 levels was analyzed. The immunohistochemistry SABC methods were used to detect the expression of CXCR4 protein in villous cytotrophoblast(VCT) tissue microarray(TMA, 42 cases in the normal control group 1, 56 cases in the PE group) and extravillous cytotrophoblast(EVCT) TMA(29 cases in the normal control group 2, 47 cases in the PE group) constructed by the same research group. **Results** (1) There was no statistically significant difference in the age, gestational age and pre-pregnancy body mass index(BMI) between the two groups($P>0.05$). The differences of blood pressure between the two groups were statistically significant($P<0.05$). The neonatal birthweight in the sPE group was significantly lower than that in the control group with statistically significant differences($P<0.05$). The urine protein in the sPE group was significantly higher than that in the control group with statistically significant differences($P<0.05$). (2) In the placental VCT and EVCT TMA, the age had no statistical difference between the two groups($P>0.05$). The gestational weeks of the PE

* 基金项目: 河南省科技厅开放合作项目(142106000044)。

作者简介: 张展, 女, 教授, 博士生导师, 主要从事生殖免疫学方面研究。

group were earlier than those in the N group 1, the systolic/diastolic blood pressure and urine protein were higher than those in the N group, the differences all were statistically significant ($P < 0.05$), the neonatal birthweight was significantly lower than that in the N group with statistically significant differences ($P < 0.05$). (3) The expression level of miR-155 mRNA in placental tissue in the sPE group was 1.53 ± 0.92 , which was significantly higher than 0.87 ± 0.73 in the control group, the difference between the two groups was statistically significant ($P < 0.05$). (4) The expression level of CXCR4 mRNA in the N group was 1.51 ± 1.85 , which in the sPE group was 0.54 ± 0.38 , the difference between the two groups was statistically significant ($P < 0.05$). (5) In the sPE group, the miR-155 level and CXCR4 level in placental tissue had a significant correlation ($r = -0.773, P < 0.05$). (6) CXCR4 protein was expressed in VCT and EVCT TMA; the CXCR4 positive expression rate of the PE group in VCT TMA was 48.21% (27/56), which in the sPE group was 47.92% (23/48) and which in the early onset PE group was 53.66% (22/41), which all were significantly lower than 83.33% (35/42) in the normal control group, the differences all were statistically significant ($P < 0.05$). (7) The positive expression rate of CXCR4 in the PE group in placental EVCT TMA was 48.94% (23/47), which in the sPE group was 50.00% (22/44) and which in the early PE onset group was 52.63% (20/38), which all significantly lower than 79.31% (23/29) in the normal control group, the differences all were statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** The level of placental tissue miR-155 is increased in the patients with sPE, while the level of CXCR4 is decreases obviously, both have a negative correlation, which may be associated with the pathogenesis of PE.

Key words: preeclampsia; miR-155; CXCR4; placental tissue; trophoblastic cells

子痫前期(PE)是妊娠期特发的全身性疾病,其发生率达 2%~8%,以全身小血管痉挛为病理生理基础,在妊娠 20 周后出现高血压伴蛋白尿等临床症状,是导致全球孕产妇和新生儿发病、死亡的主要原因。迄今为止 PE 的发病机制仍不完全清楚。基于胎盘从母体娩出后 PE 的临床症状消失的事实,胎盘功能障碍被推测为 PE 发生的关键因素^[1]。微小 RNAs(miRNAs)是一类长度为 19~25 个核苷酸的非编码小 RNA,具有多种生物学功能,在转录后基因表达调控中起到重要作用。近年来越来越多的研究发现 PE 发生时,一些 miRNAs 可出现异常表达,miR-155 是其中之一^[2]。趋化因子受体 4(CXCR4)是 G 蛋白偶联受体,在整个孕期绒毛组织中均有表达。基质细胞衍生因子-1(SDF-1)是 CXCR4 的特异性配体,二者有较高的亲和力,可形成 SDF-1/CXCR4 生物轴发挥其生物学功能。国内曾有研究证实,在胃癌中 miR-155 可通过靶向调控 CXCR4 基因,影响癌细胞的增殖和血管生成,增加肿瘤细胞的侵袭性^[3]。但是在 PE 发病过程中,miR-155 与 CXCR4 之间的相关性以及如何参与 PE 的发病机制尚未见相关的研究报道。

本研究选取 PE 孕妇及健康孕妇为研究对象,采用实时荧光定量 PCR(RT-PCR)技术同时检测 2 组胎盘组织中 miR-155 与 CXCR4 水平的变化,并分析二者水平变化的相关性。同时,本研究使用本课题组前期构建并验证成功的胎盘组织芯片检测 PE 及健康孕妇胎盘组织中 CXCR4 蛋白的表达情况,从而在蛋白水平探讨 PE 的发病机制,为 PE 的治疗提供理论依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

1.1.1 RT-PCR 研究对象 选取 2015 年 12 月至 2016 年 2 月在郑州大学第三附属医院产科以剖宫产术分娩的 30 例重度子痫前期(sPE)孕妇作为实验组(sPE 组),其诊断标准参照《妇产科学》(第 8 版),同期因社会因素行剖宫产术分娩的 30 例健康孕妇为健康对照组(N 组)用于 mRNA 的检测。2 组孕妇均为剖宫产、单胎妊娠,均无其他妊娠期并发症及内、外科合并症。

1.1.2 胎盘组织芯片研究对象 选取 2007 年 12 月至 2010 年 12 月在郑州大学第三附属医院住院以剖宫产术分娩的 80 例子痫前期患者和 58 例健康孕妇的胎盘组织。同一课题组前

期使用 HE 染色在每一例胎盘组织样本中选取绒毛滋养细胞(VCT)和绒毛外滋养细胞(EVCT)目标区域,以目标区域中能够容纳采样针 3 次为挑选原则,然后使用细胞角蛋白、波形蛋白和 HLA-G 抗体免疫组化染色验证,在 VCT 组织芯片中保留 VCT 组织且染色效果好的共 98 例胎盘组织,即可分析 56 例 PE(其按发病时间分:早发型 PE 41 例,晚发型 PE 15 例;按严重程度分:轻度 PE 8 例,重度 PE 48 例)和 42 例健康孕妇的胎盘组织(正常对照 1 组);在 EVCT 组织芯片中保留 EVCT 组织且染色效果好的共 76 例胎盘组织,即可分析 47 例 PE(其按发病时间分:早发型 PE 38 例,晚发型 PE 9 例;按严重程度分:轻度 PE 3 例,重度 PE 44 例)和 29 例健康孕妇的胎盘组织(正常对照 2 组)。胎盘组织芯片成功建立后,经验证发现可能存在组织位点丢失的现象,因此胎盘 VCT 和 EVCT 组织芯片中能够分析的样本数不一致。胎盘组织芯片作为一种新兴的高通量的检测工具,在 1 张玻片上集中大量不同样本的胎盘组织,相对于传统的病理切片而言,可以消除不同批次实验造成的误差^[4]。早发型 PE 的诊断标准是妊娠 34 周之前发病;而妊娠 34 周之后发病者诊断为晚发型 PE。

1.2 仪器与试剂 Trizol 总 RNA 分离试剂盒(美国 Invitrogen)、ReverTra Ace qPCR RT kit(日本 TOYOBO)、SYBR Green Realtime PCR Master Mix(日本 TOYOBO)、兔抗人 CXCR4 单克隆抗体(美国 abcam)、SABC 三步法(兔 IgG)试剂盒(武汉博士德)、DAB 显色试剂盒(武汉博士德)、PCR 标志物 50 bp DNA ladder(北京索莱宝)、ABI 7500 RT-PCR 仪(美国)、Thermo Nano Drop 1000 紫外分光光度计(美国)、光学显微镜(日本 OLYMPUS)。

1.3 方法

1.3.1 胎盘组织标本的收集和处理 在剖宫产术胎盘娩出 10 min 内,快速在中央自母体面向胎儿面取大小约 $1.0 \text{ cm} \times 1.0 \text{ cm}$ 的区域,避开钙化坏死区,用无菌生理盐水进行冲洗干净,无菌滤纸反复进行吸干水分,放入无菌冻存管,置于液氮罐内,后转入 -80°C 冰箱冻存,用于提取总 RNA。

1.3.2 RT-PCR 技术检测胎盘组织中 miR-155 及 CXCR4 mRNA 的表达 (1)取 100 g 组织采用 Trizol 法提取总 RNA。(2)将所提取的总 RNA 逆转录为 cDNA,按照说明书步骤进行操作。(3)PCR 扩增:目的基因的引物由上海生工生物公司设

计并合成, miR-155-RT 5'-CTC AAC TGG TGT CGT GGA GTC GGC AAT TCA GTT GAG ACC CCT AT-3', 上游 5'-ACA CTC CAG CTG GGT TAA TGC TAA TCG TGA T-3', 下游 5'-TGG TGT CGT GGA GTC G-3', 扩增产物长度 60~70 bp; CXCR4 上游 5'-ACT ACA CCG AGG AAA TGG GCT-3', 下游 5'-CCC ACA ATG CCA GTT AAG AAG A-3', 扩增产物长度 133 bp;管家基因 U6 和 β -actin 购自上海生工生物公司。扩增采用 SYBR Green Realtime PCR Master Mix 试剂盒(购自日本 Toyobo), 建立 20 μ L 反应体系: 蒸馏水 6. 4 μ L, SYBR Green Realtime PCR Master Mix 10 μ L, 上、下游引物各 0. 8 μ L, cDNA 模板 2 μ L。PCR 条件: 95 $^{\circ}$ C 预变性 30 s, 95 $^{\circ}$ C 变性 5 s, 55 $^{\circ}$ C 退火 10 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 15 s, 循环 40 次。对扩增产物进行琼脂糖凝胶电泳检测, 用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 方法计算其相对表达量。

1. 3. 3 免疫组化(SABC)法检测胎盘 ECT 和 EVCT 组织芯片中 CXCR4 蛋白的定位和表达情况 实验步骤按照 SABC 试剂盒说明书进行, 兔抗人 CXCR4 多克隆抗体孵育一抗浓度为 1: 100。染色结果由 2 位病理学专业医师独立判断, 以细胞膜、细胞质内出现棕色或褐色颗粒, 且染色强于背景的棕(黄)色作为判断标准, 将染色强度分 4 个等级: 未着色(—)、黄色(+)、浅棕色(++)、深棕色(+++)。

1. 4 统计学处理 采用 SPSS22. 0 软件对实验数据进行统计学处理。计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示, 使用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 方法分析 RT-PCR 实验结果。检验数据正态性及方差齐性后, 符合正态分布且方差齐者, 2 组间比较采用 t 检验; 不符合者采用 Mann-Whitney 检验。相关分析采用 Spearman 相关分析法。免疫组化的实验结果使用有序多分类资料的秩和检验进行统计, 以 $\alpha=0. 05$ 为

检验水准, $P<0. 05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2. 1 2 组孕妇一般资料的比较 2 组孕妇的年龄、分娩孕周、孕前体质质量指数(BMI)比较, 差异无统计学意义($P>0. 05$); 2 组孕妇收缩压、舒张压及平均动脉压比较, 差异均有统计学意义($P<0. 05$); sPE 组新生儿出生体质量均明显低于 N 组, 差异均有统计学意义($P<0. 05$); sPE 组孕妇尿蛋白明显高于 N 组, 差异有统计学意义($P<0. 05$)。见表 1。

表 1 2 组孕妇一般资料的比较($\bar{x}\pm s$)			
项目	sPE 组($n=30$)	N 组($n=30$)	P
年龄(岁)	27. 7 \pm 2. 8	28. 8 \pm 2. 5	0. 361
分娩时 BMI(kg/m ²)	21. 2 \pm 2. 9	22. 2 \pm 2. 4	0. 324
收缩压(mm Hg)	169. 5 \pm 17. 6	112. 6 \pm 9. 4	0. 000 *
舒张压(mm Hg)	112. 4 \pm 15. 7	71. 8 \pm 7. 1	0. 000 *
平均动脉压(mm Hg)	131. 5 \pm 15. 6	85. 6 \pm 7. 5	0. 000 *
分娩孕周(周)	37. 2 \pm 2. 7	38. 7 \pm 0. 8	0. 513
新生儿出生体质量(g)	2 210. 6 \pm 905. 1	3 650. 5 \pm 403. 6	0. 000 *
尿蛋白(g/L)	5. 6 \pm 2. 6	0. 0 \pm 0. 0	0. 000 *

注: 与 N 组相比, * $P<0. 05$ 。

2. 2 胎盘组织芯片中 2 组孕妇一般资料的比较 胎盘 VCT 和 EVCT 组织芯片中: 比较 2 组孕妇的年龄, 差异无统计学意义($P>0. 05$); PE 组分娩孕周早于 N 组, PE 组孕妇收缩压、舒张压及尿蛋白均高于 N 组, 新生儿出生体质量显著低于 N 组, 差异均具有统计学意义($P<0. 05$)。见表 2。

表 2 胎盘组织芯片中 2 组孕妇一般资料的比较($\bar{x}\pm s$)						
项目	EVCT TMA			VCT TMA		
	PE 组($n=47$)	N 组($n=29$)	P	PE 组($n=56$)	N 组($n=42$)	P
年龄(岁)	29. 7 \pm 5. 6	28. 9 \pm 3. 7	0. 416	30. 3 \pm 5. 7	28. 4 \pm 3. 9	0. 055
分娩孕周(d)	237. 7 \pm 23. 2	272. 8 \pm 8. 4	0. 001 *	237. 5 \pm 21. 9	273. 2 \pm 9. 7	0. 001 *
收缩压(mm Hg)	160. 9 \pm 17. 6	111. 1 \pm 10. 3	0. 001 *	159. 8 \pm 18. 1	109. 7 \pm 8. 7	0. 001 *
舒张压(mm Hg)	105. 2 \pm 11. 9	72. 1 \pm 7. 2	0. 001 *	105. 0 \pm 12. 3	72. 1 \pm 8. 2	0. 001 *
尿蛋白(g/L)	9. 0 \pm 7. 1	0. 0 \pm 0. 0	0. 001 *	8. 3 \pm 6. 5	0. 0 \pm 0. 0	0. 001 *
新生儿出生体质量(g)	1 781. 1 \pm 757. 3	3 448. 4 \pm 433. 9	0. 001 *	1 829. 6 \pm 782. 0	3 478. 1 \pm 464. 1	0. 001 *

注: 与 N 组相比, * $P<0. 05$ 。

2. 3 2 组孕妇胎盘组织中 miR-155 及 CXCR4 mRNA 的表达

2. 3. 1 2 组孕妇胎盘组织中 miR-155 的表达 N 组孕妇胎盘组织中 miR-155 mRNA 的水平为 $0. 87\pm 0. 73$, sPE 组为 $1. 53\pm 0. 92$, 明显高于 N 组, 差异有统计学意义($P<0. 05$)。

2. 3. 2 2 组孕妇胎盘组织中 CXCR4 mRNA 的表达 N 组孕妇胎盘组织中 CXCR4 mRNA 的水平为 $1. 51\pm 1. 85$, sPE 组为 $0. 54\pm 0. 38$, 低于 N 组, 2 组比较差异有统计学意义($P<0. 05$)。

2. 4 sPE 组中 miR-155 及 CXCR4 mRNA 表达的相关性分析 sPE 组孕妇胎盘组织中 miR-155 mRNA 的水平为 $1. 53\pm 0. 92$, CXCR4 mRNA 的含量为 $0. 54\pm 0. 38$, 采用 Spearman 检验对两者的表达进行相关性分析, 结果显示, 二者呈显著负相关关系($r=-0. 773, P<0. 05$)。见图 1。

2. 5 胎盘 VCT 和 EVCT 组织芯片中 PE 组与 N 组中 CXCR4 蛋白的表达及定位

2. 5. 1 PE 组与 N 组中 VCT 组织芯片中 CXCR4 蛋白表达的比较 胎盘 VCT 组织芯片中 PE 组 CXCR4 阳性表达率为 48. 21%(27/56), sPE 组阳性表达率为 47. 92%(23/48), 早发型 PE 组阳性表达率为 53. 66%(22/41), 均显著低于正常对照 1 组的 83. 33%(35/42), 差异均有统计学意义(P 均 $<0. 05$)。见表 3。

2. 5. 2 PE 组与 N 组中胎盘 EVCT 组织芯片中 CXCR4 蛋白表达的比较 胎盘 EVCT 组织芯片中 PE 组 CXCR4 阳性表达率为 48. 94%(23/47), sPE 组阳性表达率为 50. 00%(22/44), 早发型 PE 组阳性表达率为 52. 63%(20/38), 均显著低于正常对照 2 组的 79. 31%(23/29), 差异均有统计学意义($P<$

0.05)。见表 4。

表 3 胎盘 VCT 组织芯片中 PE 组和正常对照 1 组 CXCR4 表达强度的比较

组别	总例数	—		+		++		+++	
		例数	构成比	例数	构成比	例数	构成比	例数	构成比
PE 组	56	29	51.79%	12	21.43%	8	14.29%	7	12.50%
sPE 组	48	25	52.08%	11	22.92%	7	14.58%	5	10.42%
轻度 PE 组	8	3	3/8*	3	3/8*	2	2/8*	0	0/8*
早发型 PE 组	41	19	46.34%	11	26.83%	6	14.63%	5	12.20%
晚发型 PE 组	15	6	6/15*	5	5/15*	2	2/15*	2	2/15*
正常对照 1 组	42	7	16.67%	13	30.95%	10	23.81%	12	28.57%

注：* 例数少于 20 不计算构成比。

表 4 胎盘 EVCT 组织芯片中 PE 组和正常对照 2 组 CXCR4 表达强度的比较

组别	总例数	—		+		++		+++	
		例数	构成比	例数	构成比	例数	构成比	例数	构成比
PE 组	47	24	51.06%	18	38.30%	3	6.38%	2	4.26%
sPE 组	44	22	50.00%	17	38.64%	3	6.82%	2	4.55%
轻度 PE 组	3	2	2/3*	1	1/3*	0	0/3*	0	0/3*
早发型 PE 组	38	18	47.37%	16	42.11%	2	5.26%	2	5.26%
晚发型 PE 组	9	3	3/9*	3	3/9*	2	2/9*	1	1/9*
正常对照 2 组	29	6	20.69%	8	27.59%	10	34.48%	5	17.24%

注：* 例数少于 20 不计算构成比。

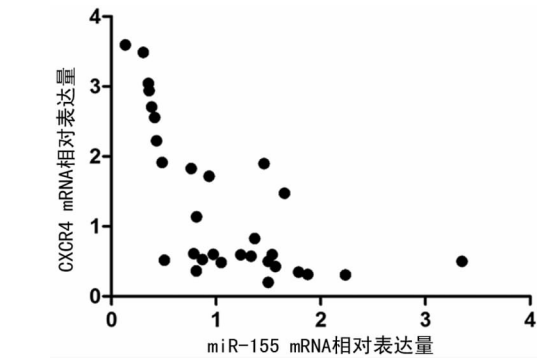


图 1 sPE 组中 miR-155 及 CXCR4 mRNA 表达的相关性

3 讨 论

3.1 miR-155 与 PE 的关系 miRNA 是 1993 年 Filip 等[5]首次发现的一个庞大的具有转录后基因表达调控功能的小 RNA 家族,广泛存在于动、植物及病毒中,可参与胚胎发育以及肿瘤疾病等重要的生物学过程。miRNA-155 编码基因位于 21q21 B 细胞整合簇基因的第三个外显子内,并被认为是炎症相关的 miRNA。至今,已有大量研究证实,miRNA-155 与心血管疾病[6]、妇科生殖疾病[7]、肿瘤[8]等疾病的发生、发展密切相关。Zhang 等[9]研究过度表达的 miRNA-155 可能通过下调富含半胱氨酸蛋白 61(CYR61)和血管内皮生长因子(VEGF),使血管内皮细胞迁移,损害血管内皮的完整性,导致胎盘血管供血不足,进而参与 PE 的发生、发展。此外,邱智华[10]曾证实不同表达水平的 miRNA-155 可能通过下调 G1/S-特异性周期蛋白-D1(cyclin D1)的表达,使细胞停留在有丝分裂 G1 期,进而表现为抑制人滋养细胞的增殖活力,而这种抑制作用与 miR-

NA-155 表达水平呈现正相关,从而导致滋养细胞侵袭能力发生异常,子宫螺旋动脉重构障碍,参与 PE 的发病。

本研究分别检测了健康孕妇及 sPE 患者胎盘组织中 miRNA-155 的水平,结果发现 sPE 组胎盘组织中 miRNA-155 水平较健康对照组明显升高,这与 Zhang 等[9]和邱智华[10]的研究结果一致,表明了 miRNA-155 参与了 PE 的发病,可能是 PE 发病机制中的重要因子之一。

3.2 CXCR4 与 PE 的关系 CXCR4 属于 CXC 类趋化因子受体,至今已发现 100 多种趋化因子和至少 20 种趋化因子受体[11]。CXCR4 在人类胎盘组织中广泛表达,并参与关键的生殖生物学过程,例如胎盘形成、胚胎发育及母胎免疫耐受和早孕期间血管重建[12-13]。其异常表达可导致流产、早产、胎儿宫内生长受限和 PE 等疾病。

本研究利用胎盘 VCT 和 EVCT 组织芯片对 CXCR4 蛋白在 PE 及正常妊娠孕胎盘组织中的表达进行高通量检测,由于组织芯片中晚发型 PE 及轻度 PE 的组织标本量较少,因此本次实验仅对 CXCR4 在早发型 PE 组、sPE 组与对照组之间的表达差异进行了统计学分析。结果发现,在 VCT 和 EVCT 组织芯片中,CXCR4 蛋白在 PE 组中的阳性表达率均显著低于正常对照组;而 RT-PCR 的结果同样显示,在 mRNA 水平上,PE 组与正常对照组比较显著下降。以往有研究表明 CXCR4 和 VEGF 之间表达呈显著正相关[14],据此推测,CXCR4 表达下降使 VEGF 表达也减少,从而导致血管生成减少,滋养细胞浸润障碍以及螺旋动脉重构障碍,从而诱发 PE 等病理过程的发生。由此可见,CXCR4 可能在 PE 的发生发展中有着重要的作用。

3.3 miR-155 水平与 CXCR4 水平的关系 本研究结果显示,

sPE 患者胎盘组织中 miR-155 水平升高, CXCR4 水平降低, 通过相关性分析发现二者呈负相关关系 ($r = -0.773$, $P < 0.05$)。这与李海龙等^[3]的研究结果相似, 其研究发现胃癌细胞株中 miR-155 过表达后, 其靶基因 CXCR4 在 mRNA 水平和蛋白水平都显著降低。由此可见, miR-155 与 CXCR4 的水平具有相关性, miR-155 可影响 CXCR4 水平变化, 且二者协同参与 PE 的发生。

综上所述, 胎盘组织中 miR-155 及 CXCR4 可能与 PE 的发病有关。在 PE 发病的过程中, miRNA-155 可能是影响 CXCR4 水平变化的因素之一, 两者协同导致胎盘功能障碍。但需要更进一步从分子机制去探索 PE 的发病机制, 进而为 PE 的预防及治疗提供新的思路。

参考文献

- [1] Redman CW, Sargent IL, Staff AC. IFPA Senior Award Lecture: making sense of pre-eclampsia-two placental causes of preeclampsia? [J]. Placenta, 2014, 35 Suppl(2): S20-S25.
- [2] Murphy MS, Casselman RC, Tayade C, et al. Differential expression of plasma microRNA in preeclamptic patients at delivery and 1 year postpartum[J]. Am J Obstet Gynecol, 2015, 213(3): 361-367.
- [3] 李海龙. 胃癌中差异表达 microRNA 的筛选及 miR-155-5p 调控胃癌生物学行为的机制研究[D]. 兰州: 兰州大学, 2014.
- [4] Zhang Z, Zhang L, Yang X, et al. Construction and validation of a placental tissue microarray from specimens of well-documented preeclampsia patients [J]. Placenta, 2013, 34(2): 187-192.
- [5] Filip A. MiRNA—new mechanisms of gene expression control[J]. Postepy Biochem, 2007, 53(4): 413-419.
- [6] Nazari-Jahantigh M, Wei Y, Noels H, et al. MicroRNA-155 promotes atherosclerosis by repressing Bcl6 in mac-

- rophages[J]. J Clin Invest, 2012, 122(11): 4190-4202.
- [7] Wang X, Tang S, Le SY, et al. Aberrant expression of oncogenic and tumor-suppressive microRNAs in cervical cancer is required for cancer cell growth[J]. PLoS One, 2008, 3(7): e2557.
- [8] Huang C, Li H, Wu W, et al. Regulation of miR-155 affects pancreatic cancer cell invasiveness and migration by modulating the STAT3 signaling pathway through SOCS1[J]. Oncol Rep, 2013, 30(3): 1223-1230.
- [9] Zhang Y, Diao Z, Su L, et al. MicroRNA-155 contributes to preeclampsia by down-regulating CYR61[J]. Am J Obstet Gynecol, 2010, 202(5): 461-466.
- [10] 邱智华. 不同表达水平微小 RNA-155 对人滋养细胞增殖的影响[D]. 南京: 东南大学, 2011.
- [11] Zhao HB, Tang CL, Hou YL, et al. CXCL12/CXCR4 axis triggers the activation of EGF receptor and ERK signaling pathway in CsA-induced proliferation of human trophoblast cells[J]. PLoS One, 2012, 7(7): e38375.
- [12] Ren L, Liu YQ, Zhou WH, et al. Trophoblast-derived chemokine CXCL12 promotes CXCR4 expression and invasion of human first-trimester decidual stromal cells[J]. Hum Reprod, 2012, 27(2): 366-374.
- [13] Quinn KE, Ashley AK, Reynolds LP, et al. Activation of the CXCL12/CXCR4 signaling axis may drive vascularization of the ovine placenta[J]. Domest Anim Endocrinol, 2014, 47(1): 11-21.
- [14] Kim SC, Moon SH, Lee DH, et al. Differential expressions of stromal cell-derived factor-1alpha and vascular endothelial growth factor in the placental bed of pregnancies complicated by preeclampsia[J]. Hypertens Pregnancy, 2014, 33(1): 31-40.

(收稿日期: 2016-12-06 修回日期: 2017-01-28)

(上接第 1166 页)

- [3] 李留霞, 李冰熠, 李秀芳, 等. 上皮性卵巢癌组织中 IMP1 的表达[J]. 郑州大学学报(医学版), 2014, 49(3): 374-377.
- [4] Yisraeli JK. VICKZ proteins: a multi-talented family of regulatory RNA-binding proteins[J]. Biol Cell, 2005, 97(1): 87.
- [5] Köbel M, Weidensdorfer D, Reinke C, et al. Expression of the RNA-binding protein IMP1 correlates with poor prognosis in ovarian carcinoma[J]. Oncogene, 2007, 26(54): 7584-7589.
- [6] Hammer NA, Tv H, Byskov AG, et al. Expression of IGF-II mRNA-binding proteins (IMPs) in gonads and testicular cancer. [J]. Reproduction, 2005, 130(2): 203-212.
- [7] Ioannidis P, Trangas T, Dimitriadis E, et al. C-MYC and IGF-II mRNA-binding protein (CRD-BP/IMP-1) in benign and malignant mesenchymal tumors[J]. Int J Cancer, 2001, 94(4): 480-484.

- [8] Dimitriadis E, Theoni T, Milatos S, et al. Expression of oncofetal RNA-binding protein CRD-BP/IMP1 predicts clinical outcome in colon cancer[J]. Int J Cancer, 2007, 121(3): 486-494.
- [9] Yaniv K, Yisraeli JK. The involvement of a conserved family of RNA binding proteins in embryonic development and carcinogenesis[J]. Gene, 2002, 287(1/2): 49-54.
- [10] Doyle GA, Betz NA, Leeds PF, et al. The c-myc coding region determinant-binding protein: a member of a family of KH domain RNA-binding proteins. [J]. Nucleic Acids Res, 1998, 26(22): 5036-5044.
- [11] 王皓, 钟理, 徐家馨, 等. GAGE-7 自身抗体在食管鳞状细胞癌中的表达[J]. 世界华人消化杂志, 2010, 18(10): 998-1003.

(收稿日期: 2016-10-13 修回日期: 2017-01-09)