

论著 · 临床研究

脓毒症患者血清来源外泌体对巨噬细胞向 M1 型极化的影响

胡 雷¹, 李永念¹, 祝丽丽¹, 罗昭逊^{2△}

(1. 贵州医科大学基础医学院, 贵州贵阳 550003; 2. 贵州医科大学儿科学院, 贵州贵阳 550004)

摘 要:目的 研究脓毒症患者血清来源的外泌体对巨噬细胞极化的影响。方法 人单核细胞系的 U937 细胞经佛波酯(PMA) 刺激 12 h 后, 分别用脂多糖(LPS)、白细胞介素(IL)-4、健康者血清来源外泌体和脓毒症患者血清来源外泌体刺激 48 h, 然后收集 U937 细胞并离心取上清液, 用实时荧光定量 PCR(qPCR)检测趋化因子(c-x-c 模体)配体(CXCL)10、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞分化抗原(CD)206、肿瘤生长因子- β (TGF- β)和 IL-1 β 的表达, 用 ELISA 法检测培养上清液中 CXCL10、TNF- α 、IL-1 β 、和 TGF- β 的水平。结果 PMA 诱导 U937 细胞向巨噬细胞样细胞转化。这些巨噬细胞样细胞经 LPS 刺激后有明显较长的突起生成, 而且 CXCL10、TNF- α 、IL-1 β 表达水平增高, 而 IL-4 刺激后细胞形态无明显变化, CD206 和 TGF- β 表达水平增加。脓毒症患者血清来源外泌体刺激后细胞有明显较长的突起生成, 而且 CXCL10、TNF- α 、IL-1 β 表达水平增高; 健康者血清来源外泌体未明显影响细胞形态和 CXCL10、TNF- α 、IL-1 β 的表达。结论 脓毒症患者血清来源外泌体促进巨噬细胞向 M1 型极化。

关键词:脓毒症; 外泌体; 巨噬细胞; 极化

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2019.15.010

中图法分类号:R446.63

文章编号:1673-4130(2019)15-1831-06

文献标识码:A

The serum of patients with sepsis derived exosome accelerates the polarization of M1 macrophages

HU Lei¹, LI Yongnian², ZHU Lili², LUO Zhaoxun^{1△}

(1. College of Basic Medicine, Guizhou Medical University, Guiyang, Guizhou 550003, China;

2. Department of Pediatrics, Guizhou Medical University, Guiyang, Guizhou 550004, China)

Abstract: **Objective** To investigate the effect of exosome derived from serum of patients with sepsis on macrophage polarization. **Methods** After U937 cells were treated with phorbol 12-myristate 12-acetate(PMA) for 12 h, they were further separately stimulated by lipopolysaccharide(LPS), interleukin(IL)-4, exosome isolated from the serum of healthy individuals or patients with sepsis for 48 h. The mRNA level of chemokine (C-X-C motif) ligand(CXCL)10, tumor necrosis factor(TNF)- α , IL-1 β , CD206 and transforming growth factor (TGF)- β was detected by using real-time fluorescence quantitative PCR(qPCR), and the cultural supernatant were collected for the measurement of CXCL10, TNF- α , IL-1 β , and TGF- β concentrations by using ELISA. **Results** Treatment with PMA resulted in the transformation of U937 cells into macrophage-like cells. These cells developed elongated projections and expressed high level of CXCL10, TNF- α and IL-1 β due to the treatment with LPS. IL-4 did not affect the cell morphology of PMA-treated U937 cells, but induced the upregulation of CD206 and TGF- β mRNA expression. After the PMA-treated U937 cells were stimulated by exosome extracted from the serum of patients with sepsis, more cell projections were developed, and the increased expression of CXCL10, TNF- α and IL-1 β was induced. The exosome extracted from the serum of healthy individuals did not affect the cell morphology and the expression of CXCL10, TNF- α and IL-1 β in PMA-treated U937 cells. **Conclusion** The serum of patients with sepsis derived exosome accelerates the polarization of M1 macrophages.

Key words: sepsis; exosome; macrophages; polarization

脓毒症是由重度感染引起的临床综合征, 常伴有多种器官功能受损, 具有较高的病死率。健康者的免疫和生理反应可以有效地杀伤病原体, 这些功能的失

调会导致脓毒症的发生, 而持续的中性粒细胞、单核/巨噬细胞的活化会加速这个过程。另外, 淋巴细胞共刺激分子的表达增多、淋巴细胞凋亡的加速、中性粒

作者简介: 胡雷, 女, 医师, 主要从事免疫学方向研究。 △ 通信作者, E-mail: 61178106@qq.com。

本文引用格式: 胡雷, 李永念, 祝丽丽, 等. 脓毒症患者血清来源外泌体对巨噬细胞向 M1 型极化的影响[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(15): 1831-1835.

细胞凋亡的延迟以及组织细胞坏死的增强均是脓毒症形成的重要机制^[1]。单核细胞协同其他吞噬细胞(包括中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞、肥大细胞和自然杀伤细胞)共同构成人体的固有免疫系统,它们是机体对抗病原体的第一道防线^[2-3]。机体受到寄生虫或者细菌感染时,特别是在经典的 I 型炎症环境中,在促炎症因子干扰素(IFN)和肿瘤坏死因子(TNF)等的刺激下,骨髓中的单核细胞会进入血液或者其他组织中,分化为经典活化 M1 型巨噬细胞,并且常高表达一氧化氮合酶(iNOS)^[4]。而在 II 型炎症环境中(如线虫感染或手术后),在炎症因子 IL-4、IL-13 等的刺激下,组织原位的巨噬细胞不依赖骨髓来源的单核细胞而自行增殖分化为选择性活化的 M2 型巨噬细胞,这类细胞高表达精氨酸酶 1^[5-6]。外泌体是细胞分泌的囊状微泡,其内包裹大量蛋白、脂类、微小 RNA、mRNA、DNAs,用于细胞间信息传递和分子转运。外泌体主要通过调节抗原提呈、活化或抑制免疫细胞、影响免疫监督和细胞间通讯等方式发挥免疫调节功能^[7-9]。而外泌体在脓毒症形成过程中的作用还鲜有报道,特别是其是否影响单核巨噬细胞的极化而发挥其免疫调控作用还不清楚。本研究通过收集脓毒症患者血液中的外泌体,并用其刺激人单核细胞系的 U937 细胞,观察其是否影响细胞的极化,旨在阐明外泌体在脓毒症形成过程中的作用提供一定的理论依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 将 2016 年 1 月至 2017 年 12 月贵州医科大学附属医院 ICU 收治的脓毒症患者 23 例纳入研究,男 16 例、女 7 例,抽取每位患者血液 5 mL 用于外泌体的提取。患者均知情同意并签署知情同意书。上述患者均有明显高热和显著的白细胞、炎性反应指标升高,均有致病菌感染,均符合脓毒症诊断标准^[1]。纳入标准:(1)年龄 ≥ 18 岁;(2)体温 $> 38^{\circ}\text{C}$ 或 $< 36^{\circ}\text{C}$;(3)心率 > 90 次/分;(4)患者呼吸频率 > 20 次/分;(5)WBC $> 12 \times 10^9/\text{L}$ 或 $< 4 \times 10^9/\text{L}$ 。排除标准:(1)伴有恶性肿瘤或免疫缺陷疾病;(2)伴有慢性肾衰竭;(3)伴有急慢性心功能衰竭;(4)伴有血液系统疾病;(5)入院 48 h 内死亡或者出院的患者。另外,选取 23 例同期于该院进行体检且年龄匹配的健康体检者作为对照,用同样的方法抽取 5 mL 血液标本备用。

1.2 仪器与试剂 U937 细胞购自武汉普诺赛生命科技有限公司;DMSO、LPS 和 TRIzol 均为 Invitrogen 公司产品,佛波酯(PMA)为 MCE 公司产品;细胞培养采用的 RPMI 1640 培养基和无外泌体血清均为 Gibco 公司产品;ReverTra Ace 实时荧光定量 PCR (qPCR) 反转录试剂盒、SYBR Green 试剂均为 TOYOBO 公司产品;重组人白细胞介素(IL)-4 蛋白、兔抗 CD63 抗体、兔抗 CD9 抗体、人 IP-10 ELISA 试

剂盒(CXCL10)、人 TNF- α ELISA 试剂盒、人 IL-1 β ELISA 试剂盒、人肿瘤生长因子(TGF)- β ELISA 试剂盒均为 Abcam 公司产品;RIPA 裂解液、BCA 蛋白定量试剂盒和 SDS-PAGE 蛋白凝胶试剂盒均购自碧云天生物技术公司;ECL 发光试剂盒为美国 millipore 公司生产;HRP 标记的羊抗兔 IgG 购自北京鼎国生物技术有限责任公司;血清总外泌体提取试剂为 Invitrogen 公司产品。低温离心机为 Eppendorf 公司 5810R 型; -80°C 低温冰箱为青岛海尔公司 DW-86L626 型;倒置显微镜为 Nikon 公司 TS100 型;酶标仪为 Bio-rad 公司 680 型;凝胶成像仪为 ChemiScope 公司 5600 型和 qPCR 仪为 Bio-Rad 公司 iQ5 型。

1.3 方法

1.3.1 细胞培养 U937 细胞用含 10% 胎牛血清(FBS)的 RPMI 1640 培养基在 37°C 、5% CO_2 、饱和湿度的细胞培养箱中进行培养,每隔 1 d 换液,每 3 d 进行一次传代。用 PMA(浓度为 100 ng/mL)诱导 U937 细胞 12 h,使其向巨噬细胞分化,以加入同体积的 DMSO 作为对照;在此基础上分别用 LPS(浓度为 100 ng/mL)诱导 48 h,使其向 M1 型巨噬细胞分化,或者用 IL-4(浓度为 20 ng/mL)诱导 48 h,使其向 M2 型巨噬细胞分化;并在 PMA 刺激后分别用健康者人和脓毒症患者来源的外泌体(浓度为 0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$)刺激细胞 48 h。

1.3.2 外泌体的提取与鉴定 将收集的血液室温下静置 30 min,在 4°C 离心机 $1\ 200 \times g$ 离心 15 min,分装于 1.5 mL EP 管中,储存于 -80°C 冰箱备用。根据血清总外泌体提取试剂盒操作步骤提取外泌体,用碧云天 BCA 蛋白定量试剂盒定量后,一部分用 PBS 重悬用于刺激细胞,另一部分用 Western blot 的方法检测 CD63 和 CD9 的表达,一抗稀释 1 000 倍,二抗稀释 3 000 倍。

1.3.3 Real-time PCR 通过 TRIzol 裂解细胞,并提取总 RNA。用 ReverTra Ace qPCR 反转录试剂盒合成 cDNA,并按照 SYBR green 试剂的实验步骤进行 PCR 反应。所有目的基因表达量以 GAPDH 的表达量作为内参,所有目的基因的表达均消除各自内参后得到相对循环阈值(C_t 值),即 ΔC_t ,若要做 A 与 B 两组某种基因表达的比较,即 A 是 B 的 $2^{-(\Delta C_t A - \Delta C_t B)}$ 倍。引物序列如下,CD68 正向:5'-AGG CTG TGG GTG GGA TCA-3',CD68 反向:5'-CTT GGA AAG GAG GAA ATG AAA GTC-3';CXCL10 正向:5'-TTC CTG CAA GCC AAT TTT GTC-3',CXCL10 反向:5'-TCT TCT CAC CCT TCT TTT TCA TTG T-3';TNF- α 正向:5'-GCA GGT CTA CTT TGG GAT CAT TG-3',TNF- α 反向:5'-GCG TTT GGG AAG GTT GGA-3';IL-1 β 正向:5'-TCA GCC AAT CTT CAT TGC TCA A-3',IL-1 β 反向:5'-TGG CGA GCT CAG GTA CTT CTG-3';CD206 正向:5'-CGC

TAC TAG GCA ATG CCA ATG-3',CD206 反向: 5'-GCA ATC TGC GTA CCA CTT GTT TT-3'; TGF-β 正向: 5'-CGC GTG CTA ATG GTG GAA A-3',TGF-β 反向: 5'-GCT GTG TGT ACT CTG CTT GAA CTT GT-3';GAPDH 正向: 5'-CTT AGC ACC CCT GGC CAA G-3',GAPDH 反向: 5'-GAT TCT GGA GAG CCC CG-3'。

1.3.4 ELISA U937 细胞经 PMA 诱导 12 h 后,再分别进行 IL-4、LPS、健康者血清外泌体和脓毒症患者外泌体刺激 48 h,收集培养上清,按照 Abcam 公司 ELISA 检测试剂盒说明书实验步骤检测 CXCL10、TNF-α、IL-1β 和 TGF-β 的水平。

1.4 统计学处理 用统计分析软件 SPSS17.0 进行处理,多组间实验数据的比较使用单因素方差分析,两组间的比较用 SNK-q 检验,P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 PMA 诱导 U937 细胞向巨噬细胞样细胞分化 U937细胞是悬浮细胞,经 PMA 诱导后,大量细胞黏附在培养板底,并有一些细胞长出小的突起,见图 1A,且 PMA 诱导促使巨噬细胞标记分子 CD68 的 mRNA 表达明显增加,见图 1B,表明 PMA 可诱导 U937 细胞向巨噬细胞样细胞分化。

2.2 外泌体的鉴定 从健康者与脓毒症患者血清提取的外泌体,经 PBS 重悬后 BCA 法进行蛋白定量,取 10 μg 总蛋白,提取的外泌体均明显表达 CD63 和 CD9 这两个外泌体的分子标记,见图 2。

2.3 脓毒症患者来源外泌体对 U937-巨噬细胞样细胞形态学的影响 LPS 促使 U937-巨噬细胞样细胞有更多的突起生成,IL-4 对 U937-巨噬细胞样细胞的形态无明显影响,脓毒症患者来源外泌体也明显地促使 U937-巨噬细胞样细胞的突起生成,这与 LPS 诱导后的细胞形态相似,而健康者血清来源的外泌体无这种功能,见图 3。这表明脓毒症患者来源的外泌体具有 M1 型巨噬细胞诱导剂相似的功能。

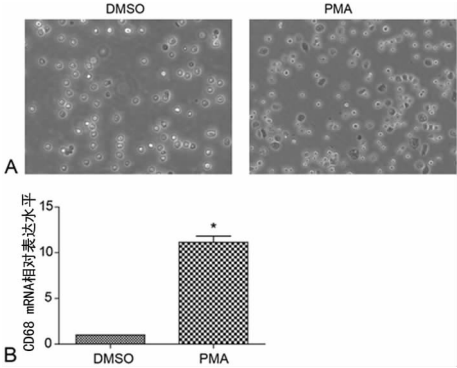


图 1 PMA 诱导 U937 细胞向巨噬细胞样细胞分化(×200)

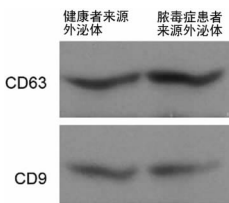


图 2 健康者人和脓毒症患者血清来源的外泌体表达 CD63 和 CD9

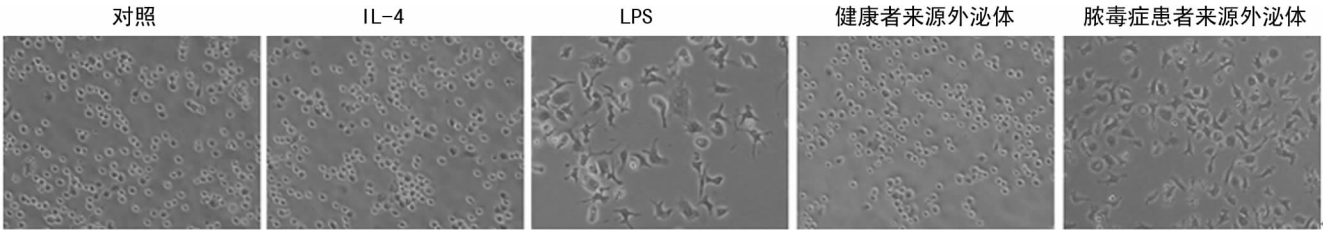


图 3 不同因素刺激下 U937-巨噬细胞样细胞的形态学变化

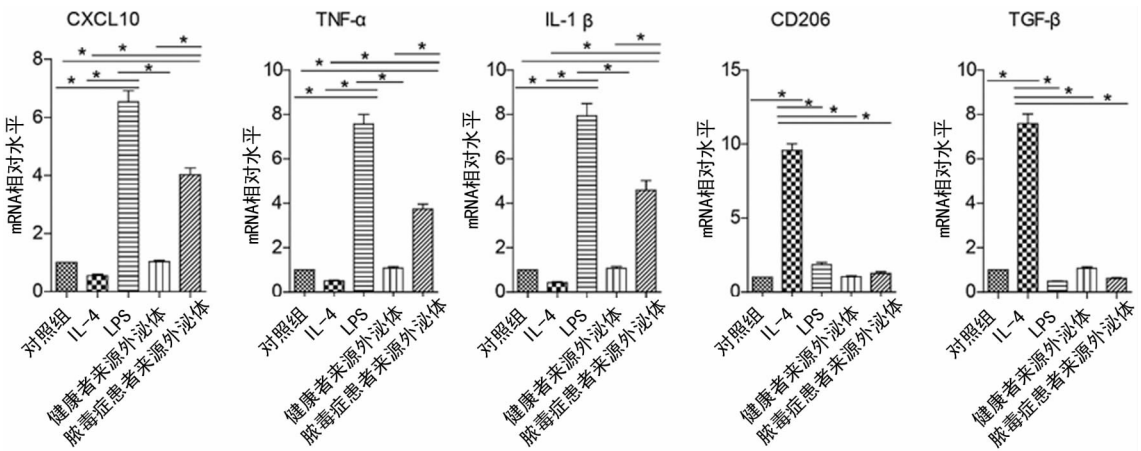


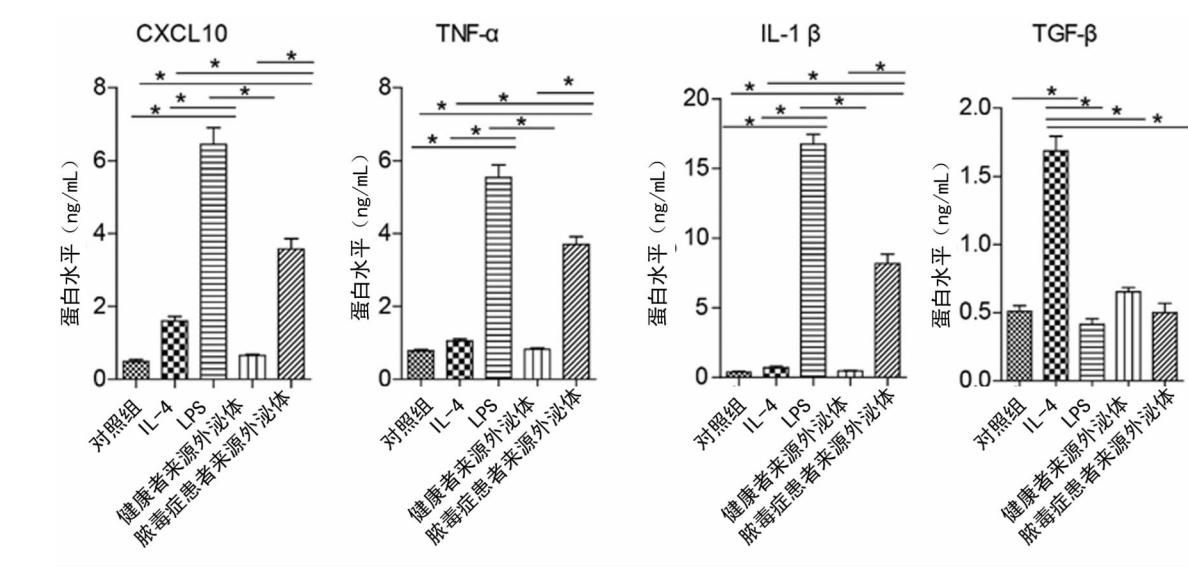
图 4 脓毒症患者来源的外泌体促使 U937-巨噬细胞样细胞中 CXCL10、TNF-α、IL-1β 的转录

注: * 表示 P<0.05

2.4 脓毒症患者来源外泌体促进 U937-巨噬细胞样细胞 CXCL10、TNF-α、IL-1β 的转录 qPCR 检测 M1 型巨噬细胞标记分子(CXCL10、TNF-α、IL-1β)和 M2 型巨噬细胞标记分子(CD206、TGF-β)在 mRNA 水平的表达发现, LPS 促使巨噬细胞样细胞 CXCL10、TNF-α、IL-1β 的表达增加, IL-4 促使巨噬细胞样细胞 CD206、TGF-β 的表达增加, 脓毒症患者来源的外泌体也明显地促使 CXCL10、TNF-α、IL-1β 表达的增加, 这与 LPS 的效应相似, 而健康者血清来源的外泌

体无这种功能。见图 4。

2.5 脓毒症患者来源外泌体促进 U937-巨噬细胞样细胞分泌 CXCL10、TNF-α、IL-1β LPS 使巨噬细胞样细胞 CXCL10、TNF-α、IL-1β 的分泌增加, IL-4 使巨噬细胞样细胞 TGF-β 的分泌增加, 脓毒症患者来源的外泌体也促进了 CXCL10、TNF-α、IL-1β 的分泌, 这与 LPS 有相似的功能, 而健康者来源的外泌体无这种功能。这表明脓毒症患者来源的外泌体可促使巨噬细胞样细胞向 M1 型极化。见图 5。



注: * 表示 $P<0.05$

图 5 脓毒症患者来源的外泌体促使 U937-巨噬细胞样细胞中 CXCL10、TNF-α、IL-1β 的分泌

3 讨 论

脓毒症目前仍是重症医学领域面临的重大难题, 每年都有大量患者因此死亡^[10]。有研究针对全球 37 个国家超过 11 000 名脓毒症患者的资料进行汇总, 结果发现有 57% 的患者是革兰阴性菌感染, 有 44% 的患者是革兰阳性菌感染, 11% 的患者是真菌感染^[11]。可见, 脓毒症往往是由病原体感染引起的, 这些病原体感染后引发的免疫应答可能是导致多种临床症状的主要原因, 抑制病原体和减弱由病原体感染诱导的免疫应答是缓解脓毒症的重要手段。

巨噬细胞因其功能状态不同, 可分为 M1 和 M2 型。M1 型巨噬细胞高表达 CXCL10、TNF-α 和 IL-1β (可作为 M1 型巨噬细胞的分子标记)^[12]。巨噬细胞吞噬细菌后会产生一系列炎症因子, 进而激活固有免疫系统来抵御细菌的侵袭^[1], 此时的巨噬细胞为 M1 型。M2 型巨噬细胞具有抗炎功能, 表现为高表达甘露醇受体 CD206 和 TGF-β^[13]。IL-4 能促进巨噬细胞 CD206 的表达增加^[14-15]。在疾病发生过程中, 巨噬细胞的极化程度取决于其所处的组织微环境^[16]。在脓毒症的发生过程中, 病原体的持续存在会过度活化体内免疫细胞, 导致免疫应答的持续活跃。巨噬细胞作为免疫应答中的重要一环, 其向 M1 型转变会加重

脓毒症。

细胞释放的外泌体中含有丰富的蛋白、脂类、miRNA 和 mRNA, 通过这些物质的转运来发挥细胞间信息传递的作用, 大量研究表明其也具有调控免疫应答的功能^[7]。外泌体因其来源的细胞及所处的微环境不同而发挥不同的免疫调节作用。细菌感染的巨噬细胞来源的外泌体具有明显的免疫调节作用, 其具有刺激巨噬细胞和中性粒细胞高表达 TNF 和 iNOS 的作用^[17], 而且这些外泌体还可增强机体免疫监视的功能^[18]。另外, CD4⁺ T 细胞来源的外泌体能促进 T 细胞的活化^[19]。成熟树突细胞来源的外泌体可通过 TNF 信号途径活化免疫反应^[20]。相对于以上提到的外泌体所具有的促进免疫应答和炎症反应的作用来说, 肿瘤细胞来源的外泌体具有抑制免疫应答和炎症反应的作用^[21]。肿瘤细胞来源的外泌体可以有效抑制 T 细胞和 NK 细胞活性, 并活化粒细胞来源的抑制细胞来发挥免疫抑制作用^[22-23]。此外, 黑色素瘤细胞外泌体内包裹的 Fas 配体可通过促进淋巴细胞的凋亡来抑制免疫应答^[24]。而在脓毒症形成过程中, 体内的免疫细胞可能也会受到外泌体的影响而发生功能状态的改变, 从而加剧脓毒症的进程。

在本研究中, 为了判断脓毒症患者来源外泌体对

巨噬细胞功能的影响,本课题组首先用 PMA 诱导人 U937 单核细胞向巨噬细胞样细胞分化^[25],结果发现 PMA 促使悬浮生长的 U937 细胞贴壁生长,并长出小的突起,具有了巨噬细胞样的形态特征,而且巨噬细胞的标记分子 CD68 也表达增加。在此基础上,本课题组采用健康者血清与脓毒症患者来源的外泌体刺激 PMA 诱导后的 U937 细胞,并以健康者来源外泌体、IL-4 或者 LPS 刺激作为对照,结果发现 IL-4 诱导的细胞可有效表达 M2 型巨噬细胞的标记分子, LPS 诱导的细胞可高表达 M1 型巨噬细胞标记分子,脓毒症来源的外泌体具有与 LPS 相似的功能,也促进 PMA 诱导的 U937 细胞高表达 M1 型巨噬细胞标记分子,而健康者血清来源的外泌体却没有这种功能。

4 结 论

脓毒症来源的外泌体具有促进巨噬细胞向 M1 型极化的作用,为外泌体在炎症疾病发生中的作用增加了实验依据,提示外泌体诱导的巨噬细胞向促炎症表型分化可能是脓毒症形成的一种病理机制,也为脓毒症的防治提供了一定的理论基础。

参考文献

- [1] STEARNS-KUROSAWA D J, OSUCHOWSKI M F, VALENTINE C, et al. The pathogenesis of sepsis [J]. *Annu Rev Pathol*, 2011, 6(1): 19-48.
- [2] MARTIN G, ALEXANDER M, SIMON Y, et al. Developmental and functional heterogeneity of monocytes[J]. *Immunity*, 2018, 49(4): 595-613.
- [3] SHEEL M, ENGWERDA C R. The diverse roles of monocytes in inflammation caused by protozoan parasitic diseases[J]. *Trends Parasitol*, 2012, 28(10): 408-416.
- [4] LIU L, WEI Y, WEI X, et al. The immune function of Ly6 chi inflammatory monocytes during infection and inflammation[J]. *Curr Mol Med*, 2017, 17(1): 4-12.
- [5] SHI C, VELAZQUEZ P, HOHL T M, et al. Monocyte trafficking to hepatic sites of bacterial infection is chemokine independent and directed by focal intercellular adhesion molecule-1 expression [J]. *J Immunol*, 2010, 184(11): 6266-6274.
- [6] JENKINS S J, RUCKERL D, COOK P C, et al. Local macrophage proliferation, rather than recruitment from the blood, is a signature of T(H)2 inflammation[J]. *Science*, 2011, 332(635): 1284-1288.
- [7] ZHOU D, HUANG C, LIN Z, et al. Macrophage polarization and function with emphasis on the evolving roles of coordinated regulation of cellular signaling pathways[J]. *Cell Signal*, 2014, 26(2): 192-197.
- [8] SEO N, AKIYOSHI K, SHIKU H. Exosome-mediated regulation of tumor immunology[J]. *Cancer Sci*, 2018, 109(10): 2998-3004.
- [9] NATASHA G, GUNDOGAN B, TAN A, et al. Exosomes as immunotherapeutic nanoparticles[J]. *Clin Ther*, 2014, 36(6): 820-829.

- [10] TRAN T H, MATTHEOLABAKIS G, ALDAWSARI H, et al. Exosomes as nanocarriers for immunotherapy of cancer and inflammatory diseases [J]. *Clin Immunol*, 2015, 160(1): 46-58.
- [11] RHODES A, EVANS L E, ALHAZZANI W, et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock; 2016 [J]. *Crit Care Med*, 2017, 45(3): 486-552.
- [12] UMEMURA N, SAIO M, SUWA T, et al. Tumor-infiltrating myeloid-derived suppressor cells are pleiotropic-inflamed monocytes/macrophages that bear M1- and M2-type characteristics[J]. *J Leukoc Biol*, 2008, 83(5): 1136-1144.
- [13] MARTINEZ F O, GORDON S, LOCATI M, et al. Transcriptional profiling of the human monocyte-to-macrophage differentiation and polarization: new molecules and patterns of gene expression [J]. *J Immunol*, 2006, 177(10): 7303-7311.
- [14] MUELLER-QUERNHEIM U C, POTTHAST L A, ZISSEL G. Tumor-cell co-culture induced alternative activation of macrophages is modulated by interferons in vitro [J]. *J Interf Cytok Res*, 2012, 32(4): 169-177.
- [15] STEIN M, KESHAV S, HARRIS N, et al. Interleukin-4 potently enhances murine macrophage mannose receptor activity-a marker of alternative immunological macrophage activation[J]. *J Exp Med*, 1992, 176(1): 287-292.
- [16] PORCHERAY F, VIAUD S, RIMANIOL A C, et al. Macrophage activation switching: an asset for the resolution of inflammation [J]. *Clin Exp Immunol*, 2005, 142(3): 481-489.
- [17] MARTIN G, BRUNKHORST F M, JANES J M, et al. The international PROGRESS registry of patients with severe sepsis: drotrecogin alfa (activated) use and patient outcomes [J]. *Crit Care*, 2009, 13(3): 1-14.
- [18] SINGH PP, LI L, SCHOREY JS, et al. Exosomal RNA from *Mycobacterium tuberculosis* infected cells is functional in recipient macrophages [J]. *Traffic*, 2015, 16(6): 555-571.
- [19] SINGH PP, SMITH VL, KARAKOUSIS PC, et al. Exosomes isolated from mycobacteria-infected mice or cultured macrophages can recruit and activate immune cells in vitro and in vivo [J]. *Immunol*, 2012, 189(2): 777-785.
- [20] VANDERVLIST E J, ARKESTEIJN G J, VANDELEST C H, et al. CD4(+) T cell activation promotes the differential release of distinct populations of nanosized vesicles [J]. *J Extracell Vesicles*, 2012, 1(18364): 1-14.
- [21] POUTSIKA D D, SCHRODER E W, TAYLOR D D, et al. Membrane vesicles shed by murine melanoma cells selectively inhibit the expression of I a antigen by macrophages. [J]. *J Immunol*, 1985, 134(1): 138-144.
- [22] FILIPAZZI P, BURDEK M, VILLA A, et al. Recent advances on the role of tumor exosomes in immunosuppression and disease progression [J]. *Semin Cancer Biol*, 2012, 22(4): 342-349.

后出血有一定的防治意义。D-二聚体是反映机体高凝状态和纤溶亢进的分子标记物之一,也提示着机体内同时血栓形成和溶解两种过程,其水平增高提示继发性纤溶活性增强^[14]。在本研究显示,PT 和 APTT 与 HIP 严重程度呈负相关关系,即随着 HIP 严重程度的增加,PT 和 APTT 数值降低。重度子痫前期组和子痫组产前 PT 和 APTT 水平均较 HIP 组和轻度子痫前期组明显缩短,且子痫组的 PT 和 APTT 明显短于重度子痫前期组。PT 是反映外源凝血系统是否出现异常的指标,APTT 则是检测内源凝血系统是否正常的指标,PT 和 APTT 时间的缩短提示血液高凝状态和血栓形成^[14-15]。本研究显示,HIP 患者凝血功能增强,在一定程度上促进了 HIP 的发生;同时,随着 HIP 程度加重,患者的血液高凝状态也愈发严重。本研究还显示,Fib 和 D-二聚体水平与 HIP 严重程度呈正相关,即随着 HIP 严重程度的增加,Fib 和 D-二聚体水平升高。重度子痫前期组和子痫组研究对象的产前 Fib 和 D-二聚体水平均明显高于 HIP 组和轻度子痫前期组,而且子痫组较重度子痫前期组的 Fib 和 D-二聚体水平也明显升高。Fib 是血浆中水平最高的凝血因子,在凝血酶的作用下变为纤维蛋白,增强凝血功能,其血浆水平升高也提示着血栓形成风险增加^[16]。以上结果提示 HIP 患者体内的血液高凝状态激发了继发性纤溶系统,引发患者产后出血。因此,对于 HIP 患者应当进行凝血功能指标的检测和 D-二聚体水平的检查,以采取合适措施积极预防产后出血的发生。同时,在本研究中,子痫组纳入病例及总样本量较少,可能造成研究结果有所偏倚,应当进行进一步的研究观察。

4 结 论

随着 HIP 严重程度的增加,产后出血发生率也有所提高,应当积极的采取措施预防产后出血,加强孕期保健,及时纠正贫血和蛋白血症;同时,HIP 患者应当进行凝血功能指标的检测和 D-二聚体水平的检查,以采取合适措施积极预防产后出血的发生。

参考文献

[1] 黄芳映. 妊娠期高血压疾病的高危因素与病因研究进展

(上接第 1835 页)

[23] GUTIERREZ-VAZQUEZ C, VILLARROYA-BELTRI C A, SANCHEZ-MADRID F. Transfer of extracellular vesicles during immune cell-cell interactions [J]. Immunol Rev, 2013, 251(1): 125-142.

[24] BOBRIE A, COLOMBO M, RAPOSO G, et al. Exosome secretion; molecular mechanisms and roles in immune responses [J]. Traffic, 2011, 12(12): 1659-1668.

[J]. 医药卫生(全文版), 2016, 8(9): 283-284.

[2] 张超, 韩洁, 苏妍, 等. 妊娠期高血压疾病的相关危险因素 [J]. 实用临床医药杂志, 2016, 20(9): 193-194.

[3] 李力, 顾焱, 陈建坤. 妊娠期高血压疾病与产后出血 [J]. 中国计划生育和妇产科, 2016, 8(4): 10-12.

[4] 刘晶, 孟涛. 妊娠期高血压疾病并发产后出血的防治 [J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2012, 28(4): 253-255.

[5] 苟文丽, 方静. 妊娠期高血压疾病的定义及诊断变迁 [J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2004, 20(10): 581-583.

[6] 乐杰. 妇产科学 [M]. 7 版. 北京: 人民卫生出版社, 2008.

[7] COUNTOURIS M E, SCHWARZ E B, ROSSITER B C, et al. Effects of lactation on postpartum blood pressure among women with gestational hypertension and pre-eclampsia [J]. Am J Obstet Gynecol, 2016, 215(2): 1-8.

[8] 李力, 易萍. 产后出血及其临床救治 [J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2011, 27(2): 99-102.

[9] 沈铿, 马丁. 妇产科学 [M]. 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2015.

[10] 姬春萍. 产后出血的病因分析及护理措施 [J]. 中国保健营养, 2017, 27(10): 364.

[11] 华杰. 妊娠期高血压疾病患者凝血功能及抗氧化能力的变化及临床意义 [J]. 中国妇幼保健, 2016, 31(2): 266-268.

[12] 肖贤, 王勇, 张恒, 等. 妊娠期高血压疾病孕妇血管内皮功能变化研究 [J]. 中国医学创新, 2017, 14(7): 42-45.

[13] 陈秋连. 妊娠期高血压疾病与妊娠结局的相关性研究 [J]. 中国当代医药, 2016, 23(20): 93-95.

[14] 陈俊莉, 曹晓丽, 高建萍. 妊娠期高血压患者 D-二聚体及凝血指标临床检验分析 [J]. 医疗装备, 2017, 30(2): 35-36.

[15] 袁迎九, 后建丽, 丁文清. 妊娠期高血压疾病患者凝血指标的变化及临床意义 [J]. 中国当代医药, 2016, 23(4): 94-96.

[16] 梁福笑, 方运勇, 文海平, 等. 血浆 D-二聚体及凝血四项检测在妊娠高血压综合征中的价值 [J]. 中国当代医药, 2017, 24(30): 126-128.

(收稿日期: 2018-12-24 修回日期: 2019-03-16)

[25] SANCHEZ-REYES K, BRAVO-CUELLAR A, HER- NANDEZ-FLORES G, et al. Cervical cancer cell supernatants induce a phenotypic switch from U937-derived macrophage-activated M1 state into M2-like suppressor phenotype with change in Toll-like receptor profile [J]. Biomed Res Int, 2014, 2014: 683068.

(收稿日期: 2018-11-20 修回日期: 2019-03-28)