

• 论 著 •

HtrA4 和 VE-cadherin 在子痫前期中的表达及意义

李然然¹, 林小满², 孙礼强², 张洪文², 韩秋峪^{2△}

1. 徐州医科大学研究生学院, 江苏徐州 221004; 2. 徐州医科大学附属医院妇产科, 江苏徐州 221006

摘要:目的 探讨 HtrA 丝氨酸蛋白酶 4(HtrA4)和血管内皮钙黏素(VE-cadherin)在子痫前期(PE)中的水平变化情况。方法 分析该院收治的 PE 孕妇(根据孕周分为 PE 早发组和 PE 晚发组)及健康妊娠晚期孕妇的临床资料,收集母血和胎盘组织,采用酶联免疫吸附测定(ELISA)检测母血和胎盘组织中 HtrA4 和 VE-cadherin 水平,采用实时荧光定量 PCR(qPCR)和免疫印迹法(Western blot)测定胎盘组织中 HtrA4 和 VE-cadherin 的 mRNA 和蛋白表达水平。结果 ELISA 结果显示,与健康妊娠晚期孕妇比较,PE 孕妇的 HtrA4 水平升高,PE 晚发组 HtrA4 水平低于 PE 早发组($P<0.05$);PE 孕妇的 VE-cadherin 水平降低,PE 晚发组 VE-cadherin 水平高于早发组($P<0.05$)。qPCR 和 Western blot 结果显示,与健康妊娠晚期孕妇比较,HtrA4 和 VE-cadherin 的 mRNA 和蛋白表达水平在 PE 孕妇中降低($P<0.05$);PE 早发组 HtrA4 的 mRNA 和蛋白表达水平低于晚发组,PE 早发组 VE-cadherin 的 mRNA 和蛋白表达水平高于晚发组($P<0.05$)。结论 HtrA4 和 VE-cadherin 均参与 PE 的发生发展,VE-cadherin 的表达可能与 PE 滋养细胞的侵袭分化有关。

关键词: HtrA 丝氨酸蛋白酶 4; 血管内皮钙黏素; 子痫前期

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2021.07.023

中图法分类号: R714.259

文章编号: 1673-4130(2021)07-0865-04

文献标志码: A

Expression and significance of HtrA4 and VE-cadherin in preeclampsia

LI Ranran¹, LIN Xiaoman², SUN Liqiang², ZHANG Hongwen², HAN Qiuyu^{2△}

1. Graduate School, Xuzhou Medical University, Xuzhou, Jiangsu 221004, China;

2. Department of Obstetrics and Gynecology, Xuzhou, Jiangsu 221006, China

Abstract: **Objective** To investigate the level changes of HtrA serine peptidase 4 (HtrA4) and vascular endothelial cadherin (VE-cadherin) in preeclampsia (PE). **Methods** The clinical data of PE pregnant women (divided into early PE group and late PE group according to gestational age) and healthy pregnant women in late pregnancy were analyzed. The levels of HtrA4 and VE-cadherin in maternal blood and placenta were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The mRNA and protein expression levels of HtrA4 and VE-cadherin in placenta were determined by real-time fluorescent quantitative PCR (qPCR) and Western blot. **Results** The results of ELISA showed that the level of HtrA4 in PE pregnant women was higher than that in healthy pregnant women in late pregnancy, the level of HtrA4 in late PE group was lower than that in early PE group, the level of VE-cadherin in PE pregnant women was lower than that in healthy pregnant women in late pregnancy, and the level of VE-cadherin in late PE group was higher than that in early PE group (all $P<0.05$). The results of qPCR and Western blot showed that the mRNA and protein expression levels of HtrA4 and VE-cadherin in PE pregnant women were lower than those in healthy pregnant women ($P<0.05$). The mRNA and protein expression levels of HtrA4 in early PE group were lower than those in late PE group, and the mRNA and protein expression levels of VE-cadherin in early PE group were higher than those in late PE group ($P<0.05$). **Conclusion** HtrA4 and VE-cadherin are involved in the occurrence and development of PE. The expression of VE cadherin may be related to the invasion and differentiation of PE trophoblast.

Key words: HtrA serine peptidase 4; vascular endothelial cadherin; preeclampsia

子痫前期(PE)为妊娠期疾病,以高血压为主要特征,妊娠至 20 周后常伴有蛋白尿和(或)母体器官功能障碍^[1]。有研究认为,PE 与胎盘中滋养细胞未充分浸润及血管生成受阻有关,细胞侵袭分子及血管生成分

子的表达在 PE 中发生明显改变^[2-3]。PE 使母体和胎儿的健康受到严重危害,其全球发病率约为 3%~8%^[4]。

HtrA 丝氨酸蛋白酶 4(HtrA4)是一种丝氨酸蛋白

作者简介:李然然,女,研究生在读,主要从事围生医学相关研究。△ 通信作者,E-mail: H-hong@yeah.net。

本文引用格式:李然然,林小满,孙礼强,等. HtrA4 和 VE-cadherin 在子痫前期中的表达及意义[J]. 国际检验医学杂志,2021,42(7):865-867.

酶,健康妊娠中,血清 HtrA4 水平在妊娠 24~25 周时逐渐升高,然后整个妊娠期间保持相对稳定^[5]。研究发现,HtrA4 与 PE 关系密切^[6]。有研究表明 HtrA4 促进滋养细胞的侵袭^[7],也有研究表明 HtrA4 抑制滋养细胞的迁移和生长。在早发型 PE 中,HtrA4 的水平在发病时明显升高^[8]。然而,HtrA4 在胎盘发育中的确切作用仍不清楚。

血管内皮钙黏素(VE-cadherin)为钙黏素(cadherin)的重要成员之一,主要分布在血管内皮细胞中,为内皮细胞中特异性表达的关键黏附性连接蛋白。VE-cadherin 功能改变导致血管通透性异常。研究发现,VE-cadherin 在正常胎盘绒毛滋养细胞中表达,可抑制滋养细胞浸润生长,对滋养细胞的侵袭行为有明显抑制作用^[9]。此外,VE-cadherin 也影响妊娠滋养细胞的转移^[10-11]。本文主要研究母血和胎盘组织中 HtrA4 与 VE-cadherin 水平及其与临床指标的关系,探讨 HtrA4 与 VE-cadherin 对滋养细胞分化的影响,深入研究 PE 的发病机制。

1 资料与方法

1.1 一般资料 随机选取 2018—2019 年于本院住院分娩的 PE 孕妇 78 例,其中早发型 40 例(发病孕周≤34 周)为 PE 早发组,晚发型 38 例(发病孕周>34 周)为 PE 晚发组。选取同期健康妊娠晚期孕妇 40 例为对照组。收集所有研究对象的年龄、身高、体质量,计算体质量指数(BMI),以及所有研究对象的分娩孕周、收缩压、舒张压等基本情况。

1.2 方法 分娩前空腹抽取研究对象静脉血 3 mL,室温静置,3 000 r/min 离心 10 min,取上清液。胎盘娩出后,立即取胎盘母体面中央部位组织(约 1 cm×1 cm×1 cm),避开出血及钙化等部位,随后采用生理盐水漂洗,滤纸吸干水分,-80 ℃保存。分离母血及胎盘组织,采用酶联免疫吸附剂测定(ELISA)检测 VE-cadherin 和 HtrA4 水平。蛋白质免疫印迹法(Western blot)测定胎盘组织中 HtrA4 和 VE-cadherin 蛋白水平。实时荧光定量 PCR(qPCR)测定组织中 VE-cadherin 和 HtrA4 的 mRNA 表达水平。采用 Trizol 提取总 RNA,反转录为 cDNA,随后采用 qPCR 试剂

盒进行 qPCR 反应,以 β-actin 为内参,采用 2^{-ΔΔCt} 计算其循环阈值。引物序列如下,见表 1。

表 1 引物序列	
引物名称	上游序列(5'-3')
HtrA4	F:GTC AGC ACC AAA CAG CG
	R:GGA GAT TCC ATC AGT CAC CC
VE-cadherin	F:TAC CAG GAC GCT TTC ACC AT
	R:AAA GGC TGC TGG AAA ATG GG
β-actin	F:TGA CGT GGA CAT CCG CAA AG
	R:CTG GAA GGT GGA CAG CGA GG

1.3 统计学处理 采用 SPSS21.0 统计软件进行数据处理分析,符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 SNK-*q* 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3 组一般资料比较 3 组研究对象的年龄、BMI 比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),而 PE 孕妇在收缩压、舒张压等方面与健康妊娠晚期孕妇比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 3 组一般情况比较($\bar{x} \pm s$)			
指标	对照组	PE 早发组	PE 晚发组
年龄(岁)	27.5±4.0	28.1±4.1	26.9±4.6
孕前 BMI(kg/m ²)	21.2±1.6	21.7±1.7	21.8±1.5
入院 BMI(kg/m ²)	28.3±2.8	28.4±2.7	28.5±2.5
分娩孕周(周)	37.7±1.5	32.8±1.8 ^a	36.8±2.1 ^b
收缩压(mm Hg)	115.6±7.2	156.2±18.7 ^a	156.8±17.5 ^a
舒张压(mm Hg)	75.2±7.2	103.3±14.1 ^a	104.5±13.8 ^a

注:与对照组比较,^a $P < 0.05$;与 PE 早发组比较,^b $P < 0.05$ 。

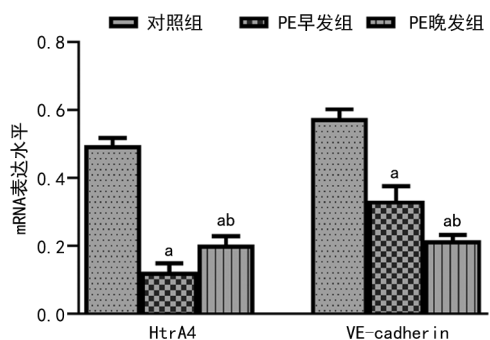
2.2 3 组母血和胎盘组织中 HtrA4 和 VE-cadherin 水平比较 与健康妊娠晚期孕妇比较,PE 孕妇母血及胎盘组织中 HtrA4 水平升高,VE-cadherin 水平降低($P < 0.05$);与 PE 早发组比较,PE 晚发组母血及胎盘组织中 HtrA4 水平降低,VE-cadherin 水平升高($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 3 组母血和胎盘中 HtrA4 和 VE-cadherin 水平比较($\bar{x} \pm s$)				
组别	HtrA4(ng/mL)		VE-cadherin(μg/mL)	
	母血	胎盘组织	母血	胎盘组织
对照组	91.60±4.17	0.138±0.010	4.24±0.22	0.150±0.009
PE 早发组	171.00±7.70 ^a	0.179±0.011 ^a	2.68±0.26 ^a	0.107±0.023 ^a
PE 晚发组	120.30±7.76 ^{ab}	0.158±0.014 ^{ab}	3.42±0.21 ^{ab}	0.125±0.008 ^{ab}

注:与对照组比较,^a $P < 0.05$;与 PE 早发组比较,^b $P < 0.05$ 。

2.3 3 组胎盘组织中 HtrA4 和 VE-cadherin 的 mRNA 表达水平比较 与健康妊娠晚期孕妇比较,PE 孕妇 HtrA4 和 VE-cadherin 的 mRNA 表达水平降低

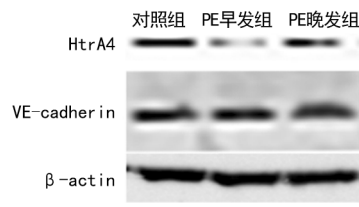
($P < 0.05$);与 PE 早发组比较,PE 晚发组 HtrA4 的 mRNA 表达水平升高,VE-cadherin mRNA 表达水平降低($P < 0.05$)。见图 1。



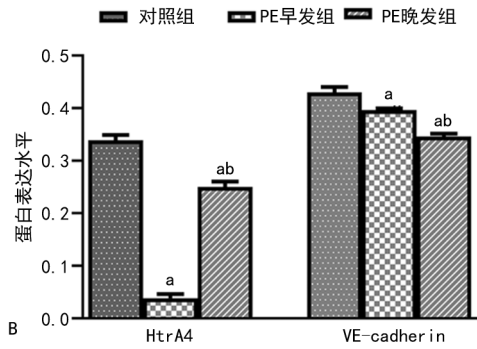
注:与对照组比较,^a $P<0.05$;与 PE 早发组比较,^b $P<0.05$ 。

图 1 3 组胎盘组织中 HtrA4 和 VE-cadherin 的 mRNA 表达水平比较

2.4 3 组胎盘组织中 HtrA4 和 VE-cadherin 的蛋白表达水平比较 与健康妊娠晚期孕妇比较,PE 孕妇胎盘组织中 HtrA4 和 VE-cadherin 的蛋白表达水平降低($P<0.05$);与 PE 早发组比较,PE 晚发组 HtrA4 蛋白表达水平升高,VE-cadherin 蛋白表达水平降低($P<0.05$)。见图 2。



A



B

注:A 为 Western blot 检测胎盘组织中蛋白表达水平结果;B 为 Western blot 检测胎盘组织中蛋白表达水平结果统计图;与对照组比较,^a $P<0.05$;与 PE 早发组比较,^b $P<0.05$ 。

图 2 胎盘组织中 HtrA4 和 VE-cadherin 的蛋白表达水平比较

3 讨 论

PE 是最常见且潜在的严重的妊娠相关疾病之一,是孕产妇死亡的主要原因,几乎占妊娠相关疾病病死率的 15%~20%^[12]。PE 并非简单的妊娠并发症,而是涉及肝、肾、肺、凝血系统和神经系统等多器官功能衰竭的综合征。研究表明 PE 与氧化应激、内皮细胞功能障碍、血管收缩、代谢变化、血栓性疾病及炎症反应等有关,然而确切的机制仍不清楚^[13-14]。

HtrA4 是一种特异性丝氨酸蛋白酶,在调节细胞生长、应激反应和衰老过程中有重要作用。研究发现,HtrA4 与 PE 密切相关,HtrA4 水平升高可能与

PE 的发病相关,HtrA4 可作为诊断 PE 的生物标志物^[6]。然而,另外的研究则认为,PE 中 HtrA4 水平降低^[7]。本研究发现,HtrA4 在健康妊娠晚期孕妇及 PE 孕妇中均有表达,与健康妊娠晚期孕妇比较,PE 孕妇 HtrA4 水平升高,与 PE 早发组比较,PE 晚发组 HtrA4 水平降低,研究结果与孔红芳等^[15]一致。然而,本研究 Western blot 和 qPCR 结果提示 PE 孕妇 HtrA4 的 mRNA 和蛋白表达水平低于健康妊娠晚期孕妇,与 PE 早发组比较,PE 晚发组 HtrA4 的 mRNA 和蛋白表达水平升高。

VE-cadherin 影响正常滋养细胞的侵袭及分化等,检测 VE-cadherin 的 mRNA 表达水平或将成为妊娠滋养细胞疾病的重要参考指标之一^[16-18]。TSENG 等^[19]研究发现,随着 HtrA4 水平升高,VE-cadherin 在人脐血管内皮细胞的水平降低;HtrA4 在人静脉内皮细胞中裂解 VE-cadherin 以破坏细胞接触并增加通透性,同时表明 HtrA4 可能是胎盘来源的蛋白酶,其通过裂解 VE-cadherin 破坏母体内皮细胞。

本文研究结果提示,HtrA4 与 VE-cadherin 均参与了 PE 疾病发展,随着 PE 孕妇孕周的增加,HtrA4 与 VE-cadherin 水平也发生改变,VE-cadherin 的表达可能与 PE 滋养细胞的侵袭分化发生改变有关。

参考文献

- [1] TRANQUILLI A L,DEKKER G,MAGEE L,et al. The classification,diagnosis and management of the hypertensive disorders of pregnancy:a revised statement from the ISSHP[J]. Pregnancy Hypertens,2014,4(2):97-104.
- [2] KHODZHAIEVA Z S,KOGAN Y A,SHMAKOV R G, et al. Clinical and pathogenetic features of early- and late-onset pre-eclampsia[J]. J Matern Fetal Neonatal Med, 2016,29(18):2980-2986.
- [3] VELICKY P,KNÖFLER M,POLLHEIMER J. Function and control of human invasive trophoblast subtypes:intrinsic vs. maternal control[J]. Cell Adh Migr,2016,10(1/2):154-162.
- [4] ABALOS E,CUESTA C,GROSSO A L,et al. Global and regional estimates of preeclampsia and eclampsia:a systematic review[J]. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2013,170(1):1-7.
- [5] HARMEET S,MIN Z,QI C,et al. Human HtrA4 expression is restricted to the placenta,is significantly up-regulated in early-onset preeclampsia,and high levels of HtrA4 cause endothelial dysfunction[J]. J Clin Endocrinol Metab,2015,100(7):936-945.
- [6] INAGAKI A,NISHIZAWA H,OTA S,et al. Upregulation of HtrA4 in the placentas of patients with severe pre-eclampsia[J]. Placenta,2012,33(11):919-926.
- [7] WANG L J,CHEONG M L,LEE Y S,et al. High-temperature requirement protein a4 (HtrA4) suppresses the fusogenic activity of syncytin-1 and promotes trophoblast invasion[J]. Mol Cell Biol,2012,32(18):3707-3717.

(下转第 871 页)

- [J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2018, 100(26): 2009-2011.
- [2] 王泽, 杨小欢. 甲状腺乳头状癌声像图特征与颈部淋巴结转移的关系[J]. 中国药物与临床, 2018, 18(7): 1122-1124.
- [3] 乔雷, 董朝, 张楠, 等. 甲状腺乳头状癌淋巴结跳跃转移规律分析[J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2018, 32(7): 522-526.
- [4] 李勇, 孙燃. CK19 与 CD56 联合应用在甲状腺乳头状癌诊断中的意义[J]. 现代肿瘤医学, 2018, 26(14): 2181-2184.
- [5] 赵子超, 葛云叶, 李金平. 高频超声对甲状腺微小乳头状癌的诊断价值[J]. 宁夏医科大学学报, 2019, 41(1): 56-59.
- [6] 葛明华. 甲状腺癌的临床诊治[M]. 北京: 军事医学科学出版社, 2010.
- [7] 董云伟, 陈革, 陈曙光, 等. 合并慢性淋巴细胞性甲状腺炎的甲状腺乳头状癌的临床病理特点及淋巴结转移风险分析[J]. 中华普通外科杂志, 2019, 34(3): 225-229.
- [8] 袁厉兵, 马蕾, 薛海波, 等. Notch1 信号通路甲状腺乳头状癌淋巴结及远处转移的相关性: Meta 分析[J]. 肿瘤, 2018, 38(2): 133-139.
- [9] 张宏春, 耿喆. 高频超声联合 FNAC 对甲状腺乳头状癌颈部淋巴结转移的诊断价值[J]. 实用癌症杂志, 2018, 33(11): 133-136.
- [10] 刘波, 王珍芳, 张雪梅, 等. 甲状腺微小乳头状癌高频超声指标预测 颈部淋巴结转移的价值[J]. 中国现代医学杂志, 2019, 33(5): 994-996.
- [11] 窦蕊, 张丽丽, 史完全, 等. 甲状腺乳头状癌不同组织学亚型 BRAF 突变与超声特征的相关性研究[J]. 中华超声影像学杂志, 2019, 28(2): 133-137.
- [12] 王泽, 杨小欢. 甲状腺乳头状癌声像图特征与颈部淋巴结转移的关系[J]. 中国药物与临床, 2018, 18(7): 1122-1124.
- [13] 张续民, 张恒刚. 术前 CT 结合彩色多普勒超声对甲状腺乳头状癌颈部淋巴结转移的诊断价值[J]. 中国 CT 和 MRI 杂志, 2020, 18(15): 108-111.
- [14] 王茜, 李俨育, 寿金朵, 等. 甲状腺结节超声要素化观测对甲状腺乳头状癌术前颈淋巴结转移风险的预测研究[J]. 中华超声影像学杂志, 2019, 28(12): 1050-1055.
- [15] 方超, 吴婷婷, 周莹颖, 等. 超声联合诊断甲状腺乳头状癌颈淋巴结转移的应用价值[J]. 中国全科医学, 2019, 22(24): 3000-3004.
- [16] HUANG J P, SUN W, ZHANG H, et al. Use of delphian lymph node metastasis to predict central and lateral involvement in papillary thyroid carcinoma: a systematic review and meta-analysis[J]. Clin Endocrinol (Oxf), 2019, 91(1): 170-178.
- [17] WU L, SHI Y, LIU B, et al. Expression of lncRNA-HOTAIR in the serum of patients with lymph node metastasis of papillary thyroid carcinoma and its impact[J]. Oncol Lett, 2020, 54(2): 93-96.
- [18] 张哲, 商建峰, 王伟, 等. 联合检测 CK19, MC, TPO 及 CD56 在甲状腺乳头状癌病理诊断中的意义[J]. 临床与实验病理学杂志, 2020, 36(2): 149-153.
- [19] 何凯骅, 章斌, 陈志强, 等. 血清 sTg 和 TgAb 水平监测甲状腺乳头状癌患者低剂量碘-131 疗效的研究[J]. 现代检验医学杂志, 2018, 33(6): 148-151.
- [20] 许克, 杨枋, 谢应海, 等. NLR, TgAb 与甲状腺乳头状癌颈部淋巴结转移的关系[J]. 中国医药导报, 2020, 17(11): 93-97.

(收稿日期: 2020-08-06 修回日期: 2020-12-19)

(上接第 867 页)

- [8] LIU C H, FENG X, HE Y Y, et al. Elevated HTRA1 and HTRA4 in severe preeclampsia and their roles in trophoblast functions[J]. Mol Med Rep, 2018, 18(3): 2937-2944.
- [9] 王勇, 陈虹. 血管内皮钙黏蛋白研究进展[J]. 重庆医学, 2012, 41(4): 387-389.
- [10] SHU H M, HUA C, YANG B L, et al. Aberrant expression of E-cadherin and integrin β -1 in trophoblasts is associated with malignant gestational trophoblastic diseases[J]. I Int J Gynecol Cancer, 2013, 23(4): 749-754.
- [11] JEAN-JACQUES C, LUCIEN F, ANGE L D, et al. Differential expression of E-cadherin, β -catenin, and Lewis x between invasive hydatidiform moles and post-molar choriocarcinomas[J]. Virchows Archiv, 2013, 462(6): 653-663.
- [12] SIBAI B, DEKKER G, KUPFERMINE M. Pre-eclampsia[J]. Lancet, 2005, 365(9461): 785-799.
- [13] HILARY S G. Emerging concepts in preeclampsia investigation[J]. Front Biosci, 2007, 12(1): 2403.
- [14] RAYMOND D, PETERSON E. A critical review of early-onset and late-onset preeclampsia[J]. Obstet Gynecol Surv, 2011, 66(8): 497-506.
- [15] 孔红芳, 王芳, 王凤暖, 等. 子痫前期患者母血及胎盘组织中 HtrA4、Syncytin-1 的表达及意义[J]. 现代妇产科进展, 2017, 26(1): 5-10.
- [16] 张志杰, 黄桂香. 妊娠滋养细胞疾病研究进展[J]. 医学综述, 2011, 17(16): 2480-2482.
- [17] 邵莉进, 张红娟, 米梅艳, 等. 妊娠滋养细胞疾病相关因素分析研究[J]. 河北医药, 2011, 33(6): 888-889.
- [18] 王修军, 莢卫东, 许戈良, 等. 肝细胞癌组织中 E-cadherin、VE-cadherin 的表达变化及意义[J]. 山东医药, 2012, 52(2): 65-66.
- [19] TSENG E, YEE-TEOH S S, WANG Y, et al. Elevated protease HtrA4 in the maternal circulation of preeclampsia may contribute to endothelial barrier disruption by cleaving key junctional protein VE-cadherin[J]. Placenta, 2019, 76(1): 51-53.

(收稿日期: 2020-08-29 修回日期: 2020-12-30)