

· 临床分析 ·

子痫前期患者血清 CXCR4 表达及与炎症因子相关性

王 婷 李爱萍 周莎莎

郑州大学第二附属医院(450014)

摘 要 目的:探讨 SDF-1/CXCR4 轴在子痫前期炎症机制中的作用。方法:收集 2020 年 1—10 月在本院剖宫产术分娩的 30 例重度子痫前期孕妇作为观察组,取同期健康孕妇 30 例作为对照组。RT-PCR 法检测两组血清中特异性趋化因子受体 4(CXCR4)、核转录因子- κ Bp65(NF- κ Bp65)mRNA 的表达情况。酶联免疫吸附法检测两组血清中白细胞介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子(TNF- α)、hsCRP 水平。Pearson 方法分析 CXCR4 与 NF- κ Bp65 及炎症因子的相关性。结果:观察组血清中 CXCR4 mRNA 的表达低于对照组,而 NF- κ Bp65 mRNA 表达高于对照组,血清炎症因子(IL-6、TNF- α 、hsCRP)水平高于对照组(均 $P < 0.05$)。观察组孕妇血清 CXCR4 mRNA 与 NF- κ Bp65 mRNA 呈负相关($r = -0.857, P = 0.007$)、与 IL-6、TNF- α 、hsCRP 呈负相关($r = -0.763, -0.894, -0.904, P = 0.010, 0.006, 0.005$)。结论:重度子痫前期患者血清 CXCR4 的低表达可能导致下游 NF- κ B 信号通路的激活,并释放多种炎症因子进入母体血液循环,SDF-1/CXCR4 轴在子痫前期的炎症反应机制中可能发挥重要作用,其表达异常可能会对母胎健康产生不利影响。

关键词 子痫前期;特异性趋化因子受体 4;核转录因子- κ B;炎症因子

Expression of serum CXCR4 of pregnant women with preeclampsia and its relevant with their inflammatory factors levels

WANG Ting, LI Aiping, ZHOU Shasha

The Second Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou, Henan Province, 450014

Abstract Objective: To investigate the role of SDF-1/CXCR4 axis in the inflammatory pathogenesis of pregnant women with preeclampsia. Methods: From January 2020 to October 2020, 30 pregnant women delivered by cesarean section because of severe preeclampsia were recruited in observation group. Meanwhile, 30 healthy pregnant women were randomly selected in control group. The expressions of CXCR4 and NF- κ Bp65 mRNA in serum of the women in the two groups were detected by RT-PCR. The levels of inflammatory factors, such as interleukin(IL)-6, tumor necrosis factor- α (TNF- α), high - sensitivity C-reactive protein (hsCRP), of the women in the two groups were measured by ELISA. Pearson method was used to analyze the correlation between the serum CXCR4 and NF- κ Bp65 levels of the women and their inflammatory factors levels. Results: The expression level of CXCR4 mRNA of the women in the observation group was significantly lower than that of the women in the control group, while the expression level of NF- κ Bp65 mRNA of the women in the observation group was significantly higher (all $P < 0.05$). The serum levels of inflammatory factors (IL-6, TNF- α , and hsCRP) of the women in the observation group were significantly higher than those of the women in the control group ($P < 0.05$). In the observation group, the CXCR4 mRNA level of the women was negatively correlated with their NF- κ Bp65 mRNA level ($r = -0.857, P = 0.007$), and also was negatively correlated with their IL-6 level, TNF- α level, and hsCRP level ($r = -0.763, P = 0.010; r = -0.894, P = 0.006; r = -0.904, P = 0.005$). Conclusion: The low expression of the serum CXCR4 level of the pregnant women with severe preeclampsia may lead to the activation of NF- κ B pathway and to the releasing of varieties of inflammatory factors into the maternal blood circulation. Therefore, it is speculated that SDF-1/CXCR4 axis may play an important role in the inflammatory pathogenesis of preeclampsia, and the abnormal expression of SDF-1/CXCR4 may have detrimental impacts on the maternal and fetal health.

Key words Preeclampsia; CXCR4; NF- κ B; Inflammatory factors

DOI: 10.3969/j.issn.1004-8189.2022.01.033

基金项目:河南省医学科技攻关计划联合共建项目(项目编号:LHGJ20200414)

收稿日期:2021-08-23 修回日期:2021-12-08

子痫前期(PE)妊娠期特有疾病,也是导致孕产妇和新生儿发病及死亡的主要原因之一^[1-2]。特异性趋化因子受体4(CXCR4)在调节胎儿-母体微环境的免疫炎症反应中起重要作用^[3]。核转录因子- κ B(NF- κ B)可调节炎症免疫应答,p65亚基在经典的炎症激活途径中起关键作用^[4]。因此,p65的表达水平可以反映出NF- κ B的转录活性。在病理妊娠状态下,NF- κ B p65高表达可引起子宫螺旋动脉重铸障碍,导致胎盘缺血、缺氧,释放多种炎症因子(如IL-6、TNF- α 、hsCRP)进入母体血液循环,导致氧化应激及内皮细胞损伤^[5]。笔者检测了子痫前期患者血清中CXCR4、NF- κ B p65的表达,以及血清炎症因子(IL-6、TNF- α 、hsCRP)水平,同时分析其相关性,旨在探讨SDF-1/CXCR4轴在子痫前期炎症机制中的作用。

1 对象与方法

1.1 对象

选择2020年1-10月在本院剖宫产孕妇60例,30例重度子痫前期孕妇作为观察组,30例健康孕妇为对照组。子痫前期诊断及分类标准参照第9版《妇产科学》^[6]和《妊娠期高血压疾病诊治指南(2020)》^[7],两组孕妇均为单胎妊娠、剖宫产术分娩。无慢性高血压、糖尿病、心脏疾病、肾病等病史。本研究经本院伦理委员会批准,并取得研究对象知情同意。

1.2 方法

1.2.1 标本收集 抽取空腹静脉血,留取1ml血清,2~8℃冰箱保存7d,长期保存置于-20℃。

1.2.2 主要试剂与仪器 RNA逆转录试剂盒(Toyobo,美国ABI 7500 Fast),引物(上海生工生物有限公司),紫外分光光度计(美国Thermo Nano Drop 1000),酶联免疫吸附试验试剂盒(武汉赛培生

物科技有限公司)、酶标仪(Thermo Fishers)。

1.2.3 总RNA提取、反转录及扩增 提取观察组和对照组血清中CXCR4、NF- κ B p65的总RNA,并使用紫外分光光度计测定RNA的纯度及水平。RNA反转录为cDNA并进行扩增,每组设置3个复孔,操作方法按试剂盒说明书。以目的基因的相对表达量作为判断标准,采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 的方法计算CXCR4、NF- κ B p65 mRNA的相对表达量。引物序列见表1。

表1 目的基因及引物序列

目的基因名称	引物序列
CXCR4	
上游为5'	-ACTACACCGAGGAAATGGGCT-3'
下游为5'	-CCCACA ATGCCAGTTAAGAAGA-3'
NF- κ B p65	
上游为5'	-CGGCAGTCCTTTCCTACAAG-3'
下游为5'	-TCAATGGCTACACAGGACCA-3'
GAPDH	
上游为5'	-CTTTGGTATCGTGAAGGACT-3'
下游为5'	-GTAGAGGCAGGGATGATGTTCT-3'

1.2.4 血清中炎症因子(IL-6、TNF- α 、hsCRP)测定 酶联免疫吸附实验检测血清中炎症因子水平。

1.3 统计学分析

采用SPSS22.0统计学分析。定量资料符合正态分布的数据采用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,两组数据间差异采用两独立样本 t 检验;相关性分析采用Pearson相关分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料

两组对象年龄、分娩时体质指数(BMI)及分娩孕周均无差异($P > 0.05$)。观察组孕妇收缩压、舒张压及尿蛋白水平均高于对照组($P < 0.05$)。见表2。

表2 两组对象一般资料比较 $(\bar{x} \pm s)$

项目	观察组(n=30)	对照组(n=30)	t	P
年龄(岁)	31.7±2.8	29.8±2.5	0.521	0.361
分娩孕周	34.2±2.2	37.0±1.2	0.316	0.513
收缩压(mmHg)	168.5±7.6	110.6±8.4	1.145	0.000
舒张压(mmHg)	108.4±5.7	70.8±5.1	1.254	0.000
尿蛋白(g/L)	5.6±2.6	0.0±0.0	6.234	0.000

2.2 CXCR4、NF- κ Bp65 mRNA 表达水平

观察组血清中 CXCR4 mRNA 表达低于对照组,而 NF- κ Bp65 mRNA 的表达高于对照组(均 $P < 0.05$)。见表 3。

表 3 两组血清 CXCR4、NF- κ Bp65 mRNA 表达($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	CXCR4 mRNA	NF- κ Bp65 mRNA
观察组	30	0.526 \pm 0.199	3.601 \pm 0.531
对照组	30	1.529 \pm 0.200	1.609 \pm 0.292
<i>t</i>		13.07	13.82
<i>P</i>		<0.001	<0.001

2.3 IL-6、TNF- α 、hsCRP 水平

观察组血清中 IL-6、TNF- α 、hsCRP 水平均高于对照组($P < 0.05$)。见表 4。

表 4 两组血清炎症因子水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	IL-6 (ng/ml)	TNF- α (ng/ml)	hsCRP (ng/ml)
观察组	30	2.372 \pm 0.086	2.109 \pm 0.398	2.839 \pm 0.083
对照组	30	1.694 \pm 0.045	1.435 \pm 0.037	0.703 \pm 0.093
<i>t</i>		13.067	12.765	14.231
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001

2.4 相关性分析

观察组血清 CXCR4 mRNA 与 NF- κ Bp65 mRNA、IL-6、TNF- α 、hsCRP 呈显著负相关关系。见表 5。对照组则无明显相关性。

表 5 观察组各指标相关性分析($\bar{x} \pm s$)

项目	CXCR4 mRNA	
	<i>r</i>	<i>P</i>
NF- κ Bp65 mRNA	-0.857	0.007
IL-6	-0.763	0.010
TNF- α	-0.894	0.006
hsCRP	-0.904	0.005

3 讨论

研究认为 PE 是一种全身炎症性疾病,而且临床上尚缺乏有效的治疗手段^[8]。早期妊娠时,滋养层细胞分泌的趋化因子和细胞因子可促进母胎界面的免疫炎症微环境,利于正常妊娠的进行,但过度的炎症反应会导致母胎界面免疫失衡,使滋养细胞功

能紊乱、子宫螺旋动脉重铸障碍、血管内皮损伤,引起胎盘和胎儿缺氧及全身炎症^[9-10]。

有研究发现,CXCR4 与其配体基质细胞衍生因子-1(SDF-1)结合之后,可影响妊娠早期人绒毛组织中滋养细胞的侵袭和迁移功能,说明了 SDF-1/CXCR4 生物轴在母-胎界面的重要性^[11-12]。CXCR4 也是一种小分子炎性细胞因子,与细胞表面的相关受体结合后引起免疫炎症反应^[13]。与母胎界面的炎症反应一样,妊娠期孕妇血清中也会出现炎症反应。有研究通过构建小鼠模型发现,在妊娠早期,抑制 CXCR4 的表达会减少树突状细胞向母胎界面募集,同时可能会影响外周血中的免疫细胞的功能^[14]。虽然 SDF-1/CXCR4 轴具有免疫调节功能,但在子痫前期患者中,SDF-1/CXCR4 是如何参与炎症反应的发生发展,还鲜有报道,其具体细节尚需要进一步研究。笔者前期的实验发现与正常妊娠孕妇相比,子痫前期孕妇胎盘组织中 CXCR4 表达水平明显下降^[15],同时也在细胞水平进行了相应的验证实验,结论一致^[16]。为了探讨 PE 患者血清中 CXCR4 的表达情况,本实验检测了子痫前期患者及正常孕妇血清中的 CXCR4 mRNA 的表达水平,发现其明显下降。

NF- κ B 是由五个亚基(p65、cRel、RelB、p50 和 p52)组成的转录因子家族^[4,17],是多种炎症反应的上游调节因子。NF- κ B 信号通路的经典激活机制涉及 p65 亚基,通路激活后,p65 亚基会转移到细胞核上,调节各种炎症基因的表达,最终可刺激细胞产生大量的炎性因子(IL-6、TNF- α 、hsCRP 等),这些炎性因子可作为配体增加 NF- κ B 的活性,从而引发促炎级联反应,导致组织损伤^[18-21]。本实验通过检测 PE 血清 NF- κ B p65 mRNA 的表达水平,发现 PE 患者明显升高,同时检测了血清中炎性因子 IL-6、TNF- α 、hsCRP 的水平,发现 PE 患者也有明显升高。因此,推测在 PE 的发生过程中,CXCR4 与炎症反应的途径中相关的炎性因子可能有一定的相关性。为了验证这一推测,本实验又进行了 CXCR4 mRNA 与 NF- κ B p65 mRNA、炎性因子(IL-6、TNF- α 、hsCRP)的相关性分析,发现子痫前期组孕妇血清 CXCR4 mRNA 与 NF- κ Bp65 mRNA、炎性因子(IL-6、TNF- α 、hsCRP)均呈显著负相关关系。因此,推测 CXCR4 可能通过负向调控炎症反应的上游调节因子 NF- κ B p65 的激活,从而激活

机体的炎症免疫应答,释放大量的炎性因子(IL-6、TNF- α 、hsCRP),参与子痫前期的发生、发展。

综上所述,CXCR4在PE发生的炎症机制中可能起到一个负向调控的作用。但SDF-1/CXCR4轴是如何调控NF- κ B信号通路对全身的循环或组织进行免疫调节的,还需要通过构建动物模型进行补充实验,同时在细胞水平进行验证。

参考文献

- [1] Filipek A, Jurewicz E. Preeclampsia - a disease of pregnant women[J]. *Postepy Biochem*, 2018, 64(4):229-232.
- [2] Coutinho T, Lamai O, Nerenberg K. Hypertensive Disorders of Pregnancy and Cardiovascular Diseases: Current Knowledge and Future Directions [J]. *Curr Treat Options Cardiovasc Med*, 2018, 20(7):56.
- [3] Quinn K E, Prosser S Z, Kane K K, et al. Inhibition of chemokine (C-X-C motif) receptor four (CXCR4) at the fetal-maternal interface during early gestation in sheep: alterations in expression of chemokines, angiogenic factors and their receptors[J]. *J Anim Sci*, 2017, 95(3):1144-11153.
- [4] Giorgi V S, Peracoli M T, Peracoli J C, et al. Silibinin modulates the NF-kappaB pathway and pro-inflammatory cytokine production by mononuclear cells from preeclamptic women[J]. *J Reprod Immunol*, 2012, 95(1-2):67-72.
- [5] Mor G, Aldo P, Alvero A B. The unique immunological and microbial aspects of pregnancy[J]. *Nat Rev Immunol*, 2017, 17(8):469-482.
- [6] 谢幸,孔北华,段涛.妇产科学[M].九版.北京:人民卫生出版社,2018:83-85.
- [7] 中华医学会妇产科学分会妊娠期高血压疾病学组.妊娠期高血压疾病诊治指南(2020)[J].*中华妇产科杂志*, 2020, 55(4):227-238.
- [8] Tooher J, Thornton C, Makris A, et al. All Hypertensive Disorders of Pregnancy Increase the Risk of Future Cardiovascular Disease[J]. *Hypertension*, 2017, 70(4):798-803.
- [9] Ren L, Liu Y Q, Zhou W H, 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.
- [10] Mor G, Aldo P, Alvero A B. The unique immunological and microbial aspects of pregnancy[J]. *Nat Rev Immunol*, 2017, 17(8):469-482.
- [11] Griffith J W, Sokol C L, Luster A D. Chemokines and chemokine receptors: positioning cells for host defense and immunity[J]. *Annu Rev Immunol*, 2014, 32:659-702.
- [12] Jaleel M A, Tsai A C, Sarkar S, et al. Stromal cell-derived factor-1 (SDF-1) signalling regulates human placental trophoblast cell survival[J]. *Mol Hum Reprod*, 2004, 10(12):901-909.
- [13] Salamonsen L A, Hannan N J, Dimitriadis E. Cytokines and chemokines during human embryo implantation: roles in implantation and early placentation [J]. *Semin Reprod Med*, 2007, 25(6):437-444.
- [14] Sanchez-Martin L, Estecha A, Samaniego R, et al. The chemokine CXCL12 regulates monocyte-macrophage differentiation and RUNX3 expression[J]. *Blood*, 2011, 117(1):88-97.
- [15] Barrientos G, Tirado-Gonzalez I, Freitag N, et al. CXCR4 (+) dendritic cells promote angiogenesis during embryo implantation in mice[J]. *Angiogenesis*, 2013, 16(2):417-427.
- [16] 张展,王媛媛,李爱萍,等.子痫前期患者胎盘组织中 miR-155及CXCR4的表达及意义[J].*国际检验医学杂志*, 2017, 38(9):1167-1171.
- [17] 张展,李爱萍,王媛媛等. MicroRNA-155通过调节CXCR4/PI3K/AKT途径影响滋养细胞的侵袭与迁移[J].*中国免疫学杂志*, 2017, 33(1):41-46, 51.
- [18] Wang L, Wu J, Guo X, et al. RAGE Plays a Role in LPS-Induced NF-kappaB Activation and Endothelial Hyperpermeability[J]. *Sensors (Basel)*, 2017, 17(4):722.
- [19] Jovanovic M, Vicovac L. Interleukin-6 stimulates cell migration, invasion and integrin expression in HTR-8/SVneo cell line[J]. *Placenta*, 2009, 30(4):320-328.
- [20] Sunderland NS, Thomson SE, Heffernan SJ, et al. Tumor necrosis factor alpha induces a model of preeclampsia in pregnant baboons (*Papio hamadryas*) [J]. *Cytokine*, 2011, 56(2):192-199.
- [21] Loukovaara MJ, Alftan HV, Kurki MT, et al. Serum highly sensitive C-reactive protein in preterm premature rupture of membranes[J]. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2003, 110(1):26-28.

[责任编辑:张璐]