



## 妊娠高血压患者胎盘组织基质金属蛋白酶-9与肿瘤坏死因子- $\alpha$ 的表达

妊娠期高血压疾病(简称妊高征)是严重危害母婴健康的妊娠并发症,也是引起胎儿生长受限的重要因素,迄今病因未明。既往研究认为妊娠期高血压疾病患者存在胎盘浅着床、血管内皮损伤等学说。基质金属蛋白酶-9(MMP-9)、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ ) 在胎盘发育和着床、调节内皮细胞功能方面均有一定作用[1][2]。本研究通过检测该类患者胎盘组织中的MMP-9及TNF- $\alpha$ 表达,探讨其在妊高征发病中的作用。

### 1 材料与方 法

#### 1.1 研究对象

选取2003年6月~2004年12月在我院住院分娩的妊高征患者57例为研究对象,其中重度妊高征22例,中度18例,轻度17例;病人平均年龄( $27 \pm 3$ )岁,平均孕周( $35.5 \pm 3$ )周。正常孕妇24例,平均年龄( $24 \pm 3$ )岁,平均孕周( $38.2 \pm 1.5$ )周。妊娠期高血压疾病的诊断及分类标准参照《妇产科学》第6版。各组间年龄和孕周无显著差异。

#### 1.2 方 法

胎盘娩出后,于胎盘母体面的四象限中心取 $1.0 \text{ cm} \times 1.0 \text{ cm} \times 1.0 \text{ cm}$ 组织块,40 g/L甲醛溶液固定,常规石蜡包埋,制成 $4 \mu\text{m}$ 厚的切片。MMP-9、TNF- $\alpha$ 检测应用免疫组化法。鼠抗人MMP-9、TNF- $\alpha$ 单抗及免疫组化试剂盒分别由福州迈新、北京中山生物技术有限公司提供。结果判定:根据细胞染色强度和阳性细胞分布确定MMP-9、TNF- $\alpha$ 细胞浆中的表达水平。染色强度:无染色或染色不清为0,浅黄色为1,棕黄色为2,深黄色或褐色为3。阳性细胞百分率(阳性细胞为胞浆或胞膜中出现黄色或棕黄色颗粒):无阳性细胞为0, <25%为1, 25%~50%为2, >50%为3。取以上两项的乘积:积分0~1分为(-), 2~3分为(+), 4~5分为(++), >5分为(+++)。

#### 1.3 统计学方法

采用Kruskal-Wallis秩和检验及Spearman等级相关分析。

### 2 结 果

#### 2.1 各组产妇胎盘绒毛上皮组织中MMP-9表达

对照组胎盘绒毛上皮组织中的MMP-9阳性表达率高达79.2%,而妊高征阳性表达率分别为50.9%,两者相比,差异显著( $P < 0.01$ )。其中轻度妊高征组MMP-9的阳性表达为76.4%,与对照组相比,差异无显著性( $P > 0.05$ )而中、重度妊高征组阳性表达明显弱于正常妊娠组( $P < 0.01$ ),且中、重度妊高征组间比较,差异也有显著性( $P < 0.05$ ,表1)。

表 1 各组产妇胎盘绒毛上皮组织 MMP-9 表达

Tab.1 Expression of matrix metalloproteinase-9 in placenta

Group	Total	-		+		++		+++	
		Case	Percentage	Case	Percentage	Case	Percentage	Case	Percentage
PIH	57	28	49.1	8	14.1	19	33.3	2	3.5
Mild	17	4	23.5	6	35.3	6	35.3	1	5.9
Moderate	18	8	44.4	6	33.3	3	16.7	1	5.6
Severe	22	16	72.7	4	18.2	2	9.1	0	0
Control	24	5	20.8	2	12.0	11	45.8	6	25.0

PIH: pregnancy-induced hypertension

2.2 各组产妇胎盘绒毛上皮组织中TNF- $\alpha$ 表达

对照组与轻、中、重度妊高征患者胎盘组织TNF- $\alpha$ 表达水平比较, 差异有显著性, (分别为 $P<0.05$ 、 $P<0.01$ 、 $P<0.01$ ), 且妊高征组中不同程度组间比较, 差异也有极显著性( $P<0.01$ , 表2)。

表 2 各组产妇胎盘绒毛上皮组织 TNF- $\alpha$  表达Tab.2 Expression of tumor necrosis factor- $\alpha$  in placenta

Group	Total	-		+		++		+++	
		Case	Percentage	Case	Percentage	Case	Percentage	Case	Percentage
PIH	57	15	26.3	12	21.1	19	33.3	11	19.3
Mild	17	10	58.8	6	35.3	1	5.9	0	0
Moderate	18	3	16.7	4	22.2	10	55.5	1	5.6
Severe	22	2	9.1	2	9.1	8	36.4	10	45.4
Control	24	4	16.7	17	70.8	3	12.5	0	0

2.3 MMP-9与TNF- $\alpha$ 表达水平的相关性

对照组及轻度妊高征组间, MMP-9与TNF- $\alpha$ 表达无相关性( $r=0.287$ 、 $P>0.05$ 及 $r=0.382$ 、 $P>0.05$ ), 但中、重度妊高征患者, MMP-9与TNF- $\alpha$ 表达水平存在显著的负相关性( $r=-0.563$ 、 $P<0.05$ 及 $r=-0.681$ 、 $P<0.01$ ), 随妊高征病情加重, 绒毛上皮组织MMP-9表达急剧减少, TNF- $\alpha$ 表达增加, 两者之间呈负相关性。

## 3 讨论

基质金属蛋白酶(MMP)是一组锌依赖的蛋白水解酶, 它们以酶原的形式分泌, 激活后发挥酶解作用。研究表明, 在胚胎植入过程中, MMPs基因活化, 滋养细胞大量分泌和表达MMP-1、MMP-2、MMP-9, 其中MMP-9属胶原酶类, 主要分解细胞基膜成分[3]。纯化的抗MMP-9抗体可以阻断滋养层细胞对基质的浸润, 表明MMP-9在滋养层细胞植入中起重要作用[1]。近年研究发现, 妊高征的发生与滋养叶细胞侵入子宫过程发生障碍有关。妊高征患者滋养层细胞对子宫螺旋动脉侵蚀不足, 使胎盘植入过浅, 导致胎盘血流灌注不足即胎盘缺陷, 最终引发母体系统性血管内皮损伤, 从而表现出妊高征的临床症状。研究发现妊高征时MMP-9处于无活性状态, 妊高征患者的胎盘滋养细胞在体外培养时MMP-9表达不足, 其侵蚀能力也明显下降。同时亦有离体实验证明了滋养细胞浸润能力明显降低的原因在于MMP-9的表达低于浸润所需的正常水平[4]。本研究亦发现, 妊高征患者绒

毛上皮细胞的MMP-9阳性表达明显低于正常妊娠组，且随着病情加重，MMP-9的表达呈下降趋势，推测MMP-9分泌不足，影响滋养细胞对子宫血管的不完全浸润使螺旋动脉不能发生妊娠期适应性改变，从而使胎盘血流量减少，引起一系列症状。

肿瘤坏死因子TNF- $\alpha$ 主要是由活化的单核巨噬细胞产生，可以作为一种血管生长因子促进局部新生血管的形成。在妊娠过程中绒毛组织中的巨噬细胞可分泌TNF- $\alpha$ ，对正常妊娠的维持及分娩的发动有一定作用，而当TNF- $\alpha$ 表达异常时将诱发一系列妊娠相关的疾病[5]。本研究发现，妊高征组胎盘绒毛上皮组织中TNF- $\alpha$ 表达明显高于对照组，且随病情加重，表达增强，证明TNF- $\alpha$ 表达与妊高征的发生及病情发展有关。妊高征的发病机制之一是胎盘滋养层向子宫内膜的不完全侵入，使胎盘局部缺血、缺氧，造成子宫螺旋小动脉结构的重建，胎盘细胞合成和分泌过多的TNF- $\alpha$ 。而TNF- $\alpha$ 诱导血管内皮细胞产生前列腺素和内皮素，两者都是较强的血管收缩因子，导致血管收缩和血压升高，

研究显示，在妊娠过程中，浸润的巨噬细胞和中性粒细胞释放TNF- $\alpha$ 对MMPs的激活、滋养细胞侵入过程中发挥一定的作用[6]。本研究还显示，随妊高征病情加重，绒毛上皮组织MMP-9表达急剧减少，TNF- $\alpha$ 表达增加，两者之间呈显著负相关性。因此，可推测妊高征患者的胎盘滋养细胞MMP-9表达不足，其侵蚀能力也明显下降，从而影响胎盘着床和血管重铸，使胎盘局部缺血、缺氧，胎盘细胞合成和分泌过多的TNF- $\alpha$ 。大量的TNF- $\alpha$ 通过损伤血管内皮细胞，诱导血管内皮细胞产生前列腺素和内皮素，导致全身血管痉挛，子宫胎盘缺血，由此可能引发生妊高征。

妊娠期高血压疾病发病机理纷繁复杂，单独从某一方面研究MMP-9或TNF- $\alpha$ 与其发病的关系是不全面的，本研究的意义在于，MMP-9或TNF- $\alpha$ 的作用可能是妊高征致病的重要环节，增加MMP-9的表达或TNF- $\alpha$ 特异性抗体可能对预防及治疗妊高征有一定作用。

#### 参考文献:

- [1]Wang H, Li Q, Shao L, et al. Expression of metalloproteinases-2, -9, -14, and tissue inhibitor of metalloproteinases-1, -2, -3 in the endometrium and placenta of rhesus monkey(*macaca mulatta*)during early pregnancy[J]. *Biol Reprod*, 2001, 65(1): 31-40.
- [2]Argiles JM, Carbo N, Lopez-Soriano FJ. TNF and pregnancy: the paradigm of a complex interaction[J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 1997, 8: 181-8.
- [3]Bischof P, Meisser A, Campana A. Control of MMP-9 expression at the maternal-fetal interface[J]. *J Reprod Immunol*, 2002, 55(1-2): 3-10.
- [4]Lyll F, Simpson H, Nicola BJ, et al. Transforming growth factor- $\beta$  expression in human placenta and placental bed in third trimester normal pregnancy, preeclampsia, and fetal growth restriction[J]. *Am J Pathol*, 2001, 159(5): 1827-38.
- [5]Ishihara N, Matsuo H, Murakoshi H, et al. Increased apoptosis in the syncytiotrophoblast in human term placentas complicated by either preeclampsia or intrauterine growth retardation[J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2000, 186(1): 158-66.
- [6]Xu P, Wang YL, Piao YS, et al. Effects of matrix proteins on the expression of matrix metalloproteinase-2, -9, and -14 and tissue inhibitions of metalloproteinases in human cytotrophoblast cells during the first trimester[J]. *Biol Reprod*, 2001, 65(1): 240-6.