



DOI:10.3969/j.issn.1672-7347.2013.02.009

<http://xbyx.xysm.net/xbwk/fileup/PDF/201302162.pdf>

## 脂多糖及 TOLL 样受体 4 阻断剂对蜕膜细胞中孕激素受体、IL-1 $\beta$ 及 COX-2 的影响

李燕, 钟淑娟, 姚若进

(中南大学湘雅医院妇产科, 长沙 410008)

[摘要] 目的: 研究脂多糖 (LPS) 或拮抗剂 TOLL 样受体 4 阻断剂 (Toll-like receptor 4 antagonist, TLR4 mAb) 作用于体外培养的蜕膜细胞后其孕激素受体 (progesterone receptor, PR)、IL-1 $\beta$  及 COX-2 的表达改变, 以探讨 LPS 及其拮抗剂对蜕膜细胞中 PR 的影响, 以及 PR 与炎症因子之间的关系。方法: 分离培养早孕人蜕膜细胞, 将细胞培养至第 4 代时随机分为 6 组, 对照组: 仅加培养液。研究 1 组: 加入终质量浓度为 100 ng/mL 的 LPS。研究 2 组: 加入终质量浓度为 1  $\mu$ g/mL TLR4 mAb。研究 3 组: 加入终质量浓度为 3  $\mu$ g/mL TLR4 mAb。研究 4 组: 终质量浓度为 1  $\mu$ g/mL TLR4 mAb 预处理 24 h, 再加入质量浓度为 100 ng/mL 的 LPS。研究 5 组: 终质量浓度为 3  $\mu$ g/mL TLR4 mAb 预处理 24 h, 再加入质量浓度为 100 ng/mL 的 LPS。均培养 24 h 后, 采用 RT-PCR 半定量技术检测蜕膜细胞中 PR, IL-1 $\beta$  及 COX-2 mRNA 的表达情况。结果: LPS 使蜕膜细胞中 PR mRNA 的表达下调 ( $P < 0.05$ ), 使 IL-1 $\beta$  和 COX-2 mRNA 的表达上调 ( $P < 0.05$ ); TLR4 mAb 则使 LPS 作用后的蜕膜细胞中 PR mRNA 的表达上调 ( $P < 0.05$ )、IL-1 $\beta$  mRNA 的表达下调 ( $P < 0.05$ ); 高质量浓度 TLR4 mAb 使 COX-2 mRNA 的表达下调 ( $P < 0.05$ )。结论: LPS 作用于体外培养的人蜕膜细胞后, PR mRNA 表达下调; IL-1 $\beta$ , COX-2 的 mRNA 表达增加; 使用 TLR4 mAb 后能拮抗 LPS 对蜕膜细胞中 PR, IL-1 $\beta$  以及 COX-2 的作用。

[关键词] 自然流产; 脂多糖; TOLL 样受体 4 阻断剂; 孕激素受体; 白介素-1 $\beta$ ; 环氧合酶 2

## Influence of LPS and Toll-like receptor 4 antagonist on progesterone receptor, interleukin-1 $\beta$ , and cyclooxygenase-2 in decidual cells

LI Yan, ZHONG Shujuan, YAO Ruojin

(Department of Obstetrics and Gynecology, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008, China)

### ABSTRACT

**Objective:** To observe the expression of progesterone receptor (PR), interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), and cyclooxygenase-2 (COX-2) induced by lipopolysaccharide (LPS) or Toll-like receptor 4 antagonist (TLR4 mAb) in decidual cells in vitro, and then to explore the effect of LPS and its antagonist on PR of decidual cells and the relation between PR and inflammatory cytokines.

**Methods:** We isolated and cultured human decidua of early abortion in the sterile state. When the

收稿日期 (Date of reception): 2012-05-30

作者简介 (Biography): 李燕, 硕士研究生, 医师, 主要从事流产与免疫方面的研究。

通信作者 (Corresponding author): 姚若进, Email: ruojinyao@yahoo.com.cn

cells passaged to the 4th generation, the cells were randomly divided into 6 pore plates: A control group was added the culture medium alone; experimental group I was added 100 ng/mL of LPS; experimental group II was add 1  $\mu$ g/mL of TLR4 mAb; experimental group III was added 3  $\mu$ g/mL of TLR4 mAb; experimental group IV was added 1  $\mu$ g/mL of TLR4 mAb pretreatment for 24 h, and then 100 ng/mL LPS; and experimental group V was added 3  $\mu$ g/mL of TLR4 mAb pretreatment for 24 h, and then 100 ng/mL LPS for 24 h culture. Subsequently, HE staining and immunofluorescence were used to observe the morphology and identify the purity of decidual cells in the 6 groups. The levels of mRNA expression of PR, IL-1 $\beta$ , and COX-2 were detected by reverse transcription PCR (RT-PCR).

**Results:** LPS reduced the mRNA expression of PR ( $P<0.05$ ), increased the mRNA expression of IL-1 $\beta$  and COX-2 ( $P<0.05$ ). TLR4 mAb increased the mRNA expression of PR ( $P<0.05$ ) and reduced the mRNA expression of IL-1 $\beta$  ( $P<0.05$ ) after LPS-stimulated decidual cells. High concentrations of TLR4 mAb reduced the mRNA expression of COX-2 ( $P<0.05$ ) after LPS-stimulated decidual cells.

**Conclusion:** The mRNA expression of PR is reduced, and the mRNA expressions of IL-1 $\beta$  and COX-2 are increased after LPS-stimulated decidual cells in vitro. TLR4 mAb antagonize the role of LPS on PR, IL-1 $\beta$ , and COX-2.

## KEY WORDS

spontaneous abortion; lipopolysaccharide; Toll-like receptor 4 antagonist; progesterone receptor; interleukin-1 $\beta$ ; cyclooxygenase-2

孕激素是维持妊娠成功的重要激素, 而孕激素受体 (progesterone receptor, PR) 是孕激素作用的特异性受体, 与孕激素结合后能介导多种女性生理效应。宫内感染在早期自然流产 (spontaneous abortion) 中所占的比例逐年增加, 怀孕降低了机体免疫力, 增加了多种细菌和病毒性疾病的发病率, 这种易感性的增加, 易导致感染引起流产<sup>[1]</sup>。妊娠期感染主要以革兰阴性菌感染为主, 脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 是革兰阴性菌主要的致病成分, LPS- LPS 结合蛋白 (LPS-binding protein, LBP)-CD14 三体复合物与 Toll 样受体 (Toll-like receptor 4, TLR4)/ 髓样分化蛋白 2(myeloid differentiation protein-2, MD2) 复合体结合, 将 LPS 刺激信号向细胞内转导, 通过 MyD88 和非 MyD88 依赖的途径激活一系列信号反应<sup>[2]</sup>。其拮抗剂 TOLL 样受体 4 阻断剂 (Toll-like receptor 4 monoclonal antagonist, TLR4 mAb) 则被认为能对抗其引起的过激炎症反应。白细胞介素 -1 $\beta$ (interleukin-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ ) 是一种多功能、多效性的细胞因子之一, 参与局部和全身的炎症反应, 是触发免疫和炎症反应的重要介质之一, 它几乎影响到每个器官<sup>[3]</sup>。环氧化酶 -2(cyclooxygenase-2, COX-2) 催化人体内的花生四烯酸向前列腺素转变, COX-2 对前列腺素的合成是影响女性生殖功能主要因素。前列腺素 E<sub>2</sub> 是

前列腺素中炎症反应最强的介质之一。因此, 笔者采用对 LPS 刺激的蜕膜细胞进行 TLR4 mAb 干预后, 测定 PR、炎性因子 IL-1 $\beta$  和 COX-2 的表达, 旨在探讨 LPS 及其拮抗剂对蜕膜细胞中 PR 的影响, PR 与炎症因子之间的关系, 研究感染导致自然流产的机制及 TLR4 mAb 对感染所诱发流产的治疗作用, 避免流产的发生。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 标本采集

收取自 2011 年 7 月中南大学湘雅医院妇科门诊自愿要求行人工流产术的正常早孕妇女的蜕膜组织 10 例。患者年龄 (26.3 $\pm$ 4.2) 岁, 孕 6~8 周, 无先兆流产等临床症状, 经妇科 B 超证实为宫内妊娠单活胎, 且近期无感染及自然流产史。在患者知情并同意的情况下, 在人工流产术中用无菌人流负压瓶收集标本, 将标本置于盛有含双抗的无菌生理盐水中 (400 U/mL 青霉素, 100 U/mL 链霉素), 15 min 内送至实验室。

#### 1.1.2 主要试剂

LPS 为美国 Sigma 公司产品, TLR4 mAb 为美国 eBioscience 公司产品, DMEM/F-12 (1:1) 为美国

Hyclone 公司产品, 双抗、0.25% 胰蛋白酶-EDTA 液为美国 Gibco 公司产品, Prolactin 抗体 (PRL, 鼠单克隆抗体) 为北京博奥森生物技术有限公司产品, Cy3 标记荧光鼠 (兔) 二抗为美国 Jackson Immuno-Research Laboratories 公司产品, 反转录 PCR 试剂盒为加拿大 Fermentas 公司产品; PCR 反应液为日本 TaKaRa 公司产品; PCR 引物由北京鼎国昌盛生物技术有限责任公司合成。所有仪器均由中南大学医学遗传学国家重点实验室提供。

## 1.2 方法

### 1.2.1 蜕膜细胞培养

于负压下收集无菌人蜕膜组织置于含双抗的无菌生理盐水中, 充分清洗; 将组织剪成糊状; 加入 2 倍体积复合消化酶; 混匀后置 37 °C 培养箱中消化 30 min; 加入与消化酶等倍体积的培养液终止消化; 用培养液清洗离心细胞 2 次, 弃上清; 将细胞吹打成悬液; 用计数板计数细胞质量浓度  $4 \times 10^6$ /mL; 接种于培养皿中, 置 37 °C, 5%CO<sub>2</sub> 的培养箱中过夜, 48 h 后换液。

### 1.2.2 实验分组

在预实验中发现 100 ng/mL LPS, 1 μg/mL TLR4 mAb, 3 μg/mL TLR4 mAb 作用 24 h 对蜕膜细胞活性无不可逆性影响, 细胞数量与对照组类似, 且显微镜下细胞无形态、透明度改变或细胞浆内出现颗粒及细胞核萎缩等变化, 因此笔者将培养至第 4 代的蜕膜细胞分成 6 组 (每个实验组均设 3 个复孔)。对照组: 仅加培养液。研究 1 组: 加入终质量浓度为 100 ng/mL 的 LPS。研究 2 组: 加入终质量浓度为 1 μg/mL TLR4 mAb。研究 3 组: 加入终质量浓度为 3 μg/mL TLR4 mAb。研究 4 组: 终质量浓度为 1 μg/mL TLR4 mAb 预处理 24 h, 再加入质量浓度为 100 ng/mL 的 LPS。研究 5 组: 终质量浓度为 3 μg/mL TLR4 mAb 预处理 24 h, 再加入质量浓度为 100 ng/mL 的 LPS。将各组细胞放入 37 °C、5%CO<sub>2</sub> 培养箱内培养。

### 1.2.3 免疫荧光

吸除 24 孔板内细胞爬片上的液体, 用 4% 多聚甲醛固定 15 min; 0.1% Triton X-100 液反应 10 min; 用 5% BSA/PBS 封闭 30 min, 再每孔加 100 μL PRL 抗体 (1:50), 于 4 °C 过夜; 加入 1:300 荧光标记二抗于室温孵育 60 min; 以 DAPI 反应 90 s, 取出细胞爬片, 盖在载玻片上。于荧光显微镜下观察、拍照。

### 1.2.4 RT-PCR

将细胞离心后收集细胞样品于 1.5 mL 离心管内, 去除培养液, 加入 Trizol 室温裂解, 依次加入三氯甲烷、异丙醇、75% 乙醇, 离心、弃上清, 室

温干燥。按 Fermentas 公司反转录 PCR 试剂进行反转录, 再行 PCR。PR, IL-1β, COX-2 及 GAPDH 引物设计见表 1。用 Image J 软件行定量分析, 以目的基因与 GAPDH 条带平均灰度值表示目的基因 mRNA 的相对表达量。

表 1 IL-1β, COX-2, PR 和 GAPDH 引物

Table 1 Primers of IL-1β, COX-2, PR, and GAPDH

靶基因	引物序列	大小 /bp
PR	上游 5'-TGGAAGAAATGACTGCATCG-3'	196
	下游 5'-TAGGGCTTGGCTTTCATTG-3'	
IL-1β	上游 5'-CAGTGAATGATGGCTTATAC-3'	548
	下游 5'-CTTCAACACGCAGGACAGGT-3'	
COX-2	上游 5'-CAATCTGGCTGAGGGAACAACA-3'	466
	下游 5'-ATCTGCCTGCTCTGGTCAATGGA-3'	
GAPDH	上游 5'-AGCCACATCGCTCAGACACC-3'	302
	下游 5'-GTACTCAGCGCCAGCATCG-3'	

## 1.3 统计学处理

所有数据以均数 ± 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 全部数据采用 SPSS 18.0 软件包进行统计学处理, 采用方差分析,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 光镜下蜕膜细胞

正常蜕膜细胞呈多边形, 相互嵌紧成砖砌状排列, 胞质丰富, 核卵圆形并居中, 染色略淡蓝, 核仁大而明显 (图 1)。

### 2.2 免疫荧光实验结果

本实验采用免疫荧光技术检测蜕膜细胞中 PRL 的表达作为鉴定体外培养蜕膜细胞的方法。镜下见细胞浆内含有大量的红色颗粒, 说明培养的细胞 95% 以上含有 PRL, 蜕膜细胞纯度较高 (图 1C)。

### 2.3 PR 在各组蜕膜细胞中的表达

RT-PCR 检测结果显示: 1) 与正常对照组比较, 研究 1 组 LPS 作用于蜕膜细胞后, PR 表达明显下调 ( $P < 0.05$ ); 而研究 2 组、研究 4 组及研究 5 组 PR 表达与正常对照组比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); 研究 3 组 PR 表达稍上调 ( $P < 0.05$ )。2) 与研究 1 组 LPS 组比较, 研究 2 组、研究 3 组、研究 4 组、研究 5 组 PR 表达均明显上调 ( $P < 0.05$ )。3) 与研究 2 组比较, 研究 3 组 PR 表达上调 ( $P < 0.05$ )。4) 与研究 4 组比较, 研究 5 组 PR 表达差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ; 表 2, 图 2, 3)。

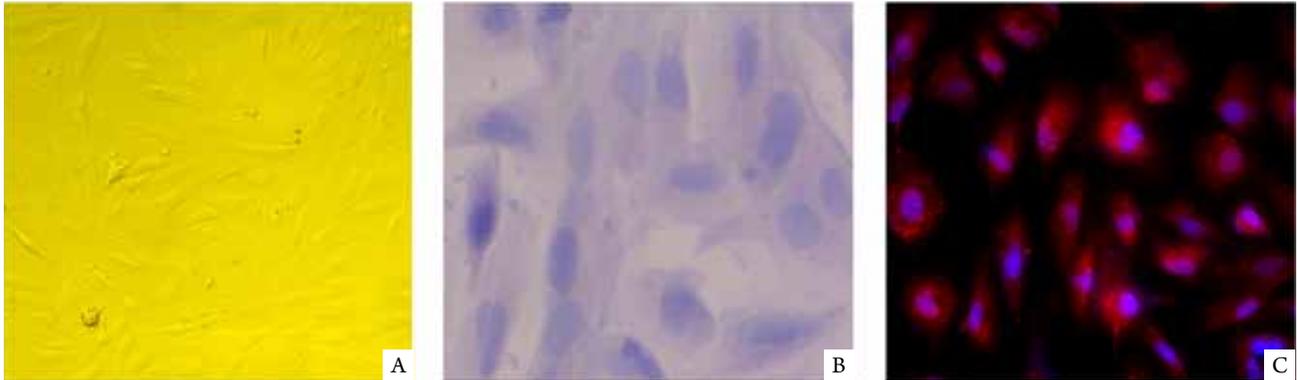


图 1 蜕膜细胞形态及其中 PRL 的表达 ( $\times 400$ )。A: 光镜下形态; B: HE 染色; C: 免疫荧光下蜕膜细胞中 PRL 的表达。

**Figure 1 Decidual cell morphology and PRL expression of decidual cells ( $\times 400$ ).** A: Decidual cells under the light microscope; B: Decidual cells by HE staining; C: PRL expression of decidual cells by immunofluorescence.

#### 2.4 IL-1 $\beta$ 在各组蜕膜细胞中的表达

RT-PCR 检测结果显示: 1) 与正常对照组比较, 研究 1 组 LPS 作用于蜕膜细胞后, IL-1 $\beta$  表达明显上调 ( $P < 0.05$ ); 研究 2 组、研究 3 组 IL-1 $\beta$  表达下调 ( $P < 0.05$ ); 而研究 4 组及研究 5 组 IL-1 $\beta$  表达上调 ( $P < 0.05$ )。2) 与研究 1 组比较, 研究 2 组、研究 3 组、研究 4 组、研究 5 组 IL-1 $\beta$  表达均下调 ( $P < 0.05$ )。3) 与研究 2 组比较, 研究 3 组 IL-1 $\beta$  表达下调 ( $P < 0.05$ )。4) 与研究 4 组比较, 研究 5 组 IL-1 $\beta$  表达差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ; 表 2, 图 2, 3)。

#### 2.5 COX-2 在各组蜕膜细胞中的表达

RT-PCR 检测结果显示: 1) 与正常对照组比较, 研究 1 组 LPS 作用于蜕膜细胞后, COX-2 表达明显上调 ( $P < 0.05$ ); 研究 4 组及研究 5 组 COX-2 表达亦上调 ( $P < 0.05$ ); 而研究 2 组与研究 3 组 COX-2 表达与正常对照组比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。2) 与研究 1 组比较, 研究 2 组、研究 3 组、研究 5 组

COX-2 表达下调 ( $P < 0.05$ )。研究 4 组 COX-2 表达与研究 1 组比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。3) 与研究 2 组比较, 研究 3 组 COX-2 表达差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。4) 与研究 4 组比较, 研究 5 组 COX-2 表达下调 ( $P < 0.05$ ; 表 2, 图 2, 3)。

表 2 RT-PCR 中 PR, IL-1 $\beta$  及 COX-2 的表达 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 2 Expression of PR, IL-1 $\beta$ , and COX-2 by RT-PCR ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	灰度值		
	PR	IL-1 $\beta$	COX-2
对照组	0.712 $\pm$ 0.098	1.005 $\pm$ 0.098	0.384 $\pm$ 0.139
研究 1 组	0.529 $\pm$ 0.054*	1.913 $\pm$ 0.237*	1.073 $\pm$ 0.366*
研究 2 组	0.761 $\pm$ 0.077 $\Delta$	0.852 $\pm$ 0.128* $\Delta$	0.485 $\pm$ 0.124 $\Delta$
研究 3 组	0.890 $\pm$ 0.155* $\Delta$ $\star$	0.438 $\pm$ 0.148* $\Delta$ $\star$	0.247 $\pm$ 0.049 $\Delta$
研究 4 组	0.742 $\pm$ 0.185 $\Delta$	1.336 $\pm$ 0.338* $\Delta$	1.123 $\pm$ 0.532*
研究 5 组	0.819 $\pm$ 0.221 $\Delta$	1.353 $\pm$ 0.413* $\Delta$	0.847 $\pm$ 0.355* $\Delta$ $\#$

与对照组比较, \* $P < 0.05$ ; 与研究 1 组比较,  $\Delta P < 0.05$ ; 与研究 2 组比较,  $\star P < 0.05$ ; 与研究 4 组比较,  $\# P < 0.05$ 。

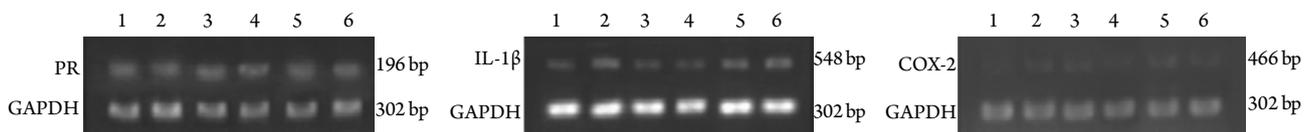


图 2 各组蜕膜细胞中 PR, IL-1 $\beta$  及 COX-2 mRNA 的表达。1: 对照组; 2: 研究 1 组; 3: 研究 2 组; 4: 研究 3 组; 5: 研究 4 组; 6: 研究 5 组。

**Figure 2 PR, IL-1 $\beta$ , and COX-2 mRNA expression of decidual cells in each group.** 1: Control group; 2: Experimental group I; 3: Experimental group II; 4: Experimental group III; 5: Experimental group IV; 6: Experimental group V.

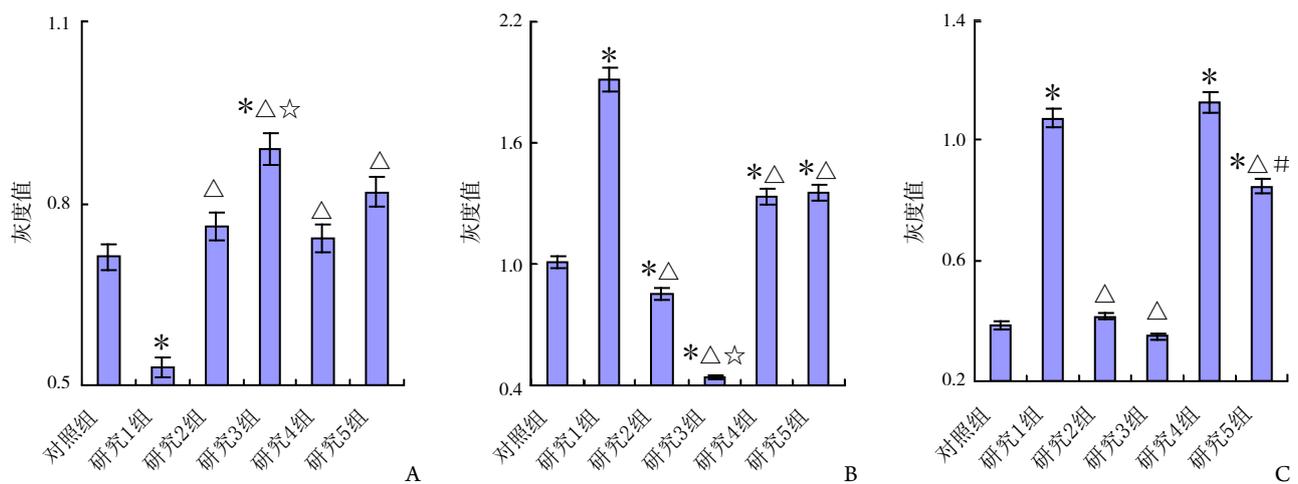


图3 PR, IL-1 $\beta$  以及 COX-2 的灰度值。A: PR; B: IL-1 $\beta$ ; C: COX-2。与对照组比较, \* $P < 0.05$ ; 与研究1组比较,  $\Delta P < 0.05$ ; 与研究2组比较,  $\star P < 0.05$ ; 与研究4组比较,  $\# P < 0.05$ 。

Figure 3 Gray value of PR, IL-1 $\beta$ , and COX-2. A: PR; B: IL-1 $\beta$ ; C: COX-2. \* $P < 0.05$  vs the control group;  $\Delta P < 0.05$  vs experimental group I;  $\star P < 0.05$  vs experimental group II;  $\# P < 0.05$  vs experimental group IV.

### 3 讨论

微生物感染能引起妊娠子宫发生炎症反应,产生一系列炎症因子而导致妊娠失败。LPS 是革兰阴性菌细胞壁外膜的成分之一,是革兰阴性菌主要的致病物质<sup>[4]</sup>。而 TLR4 蛋白被认为是内毒素激活炎症反应的关键节点,控制 TLR4 受体的过度活化,可有效抑制其引起的过激炎症反应。体外观察<sup>[5]</sup>发现,抗 TLR4 抗体可抑制 LPS 诱导的核因子- $\kappa$ B (nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B) 活化及炎症介质的产生。封闭 TLR4 的作用可能很大程度上阻断 LPS 向胞内转导信号,从而阻断 LPS 的一系列胞内下游反应。

蜕膜细胞是在孕激素作用下子宫内膜发生蜕膜化而形成,能分泌多种细胞因子,构成特殊的免疫系统,在早期妊娠的成功维持中起重要作用。PR 是一种转录蛋白,是核受体家庭的一员。研究<sup>[6-7]</sup>表明,正常受孕以后,体内孕酮分泌持续增加,通过与子宫内膜 PR 发生特异性结合发挥生理效应,导致子宫内膜发生蜕膜化,且蜕膜细胞中的 PR 也随之增多,以维持妊娠的顺利进行。

IL-1 $\beta$ , COX-2 是两种重要的炎症因子,在炎症反应中具有较为广泛的作用。IL-1 $\beta$  是触发免疫和炎症反应的重要介质,有研究<sup>[8]</sup>发现高质量浓度重组人 IL-1 $\beta$  对小鼠胚胎可能具有直接的毒性作用。有学者<sup>[9]</sup>进一步指出,在自然流产患者中产生的 IL-1 $\beta$  的活性明显增强,使母体对胎儿产生强排斥作用,这或许是导致早期自然流产的重要机制之一。COX-2 是人体内催化花生四烯酸转变为前列腺素的

限速酶,是体内重要的信使和效应分子。COX-2 在绒毛、蜕膜组织中的表达可能起到一定的抑制细胞凋亡的作用<sup>[10]</sup>,但是当细胞受各种刺激时 COX-2 可迅速合成,导致前列腺素合成增多,最终不利于继续妊娠。

本研究发现,LPS 作用于蜕膜细胞后,PR 表达明显下调,而 IL-1 $\beta$ , COX-2 表达上调,PR 的表达可能与 IL-1 $\beta$ , COX-2 存在信号级联反应。推测 LPS 的作用机制可能是 LPS 首先与 LBP 结合,然后再结合于细胞表面的 CD14 分子,LPS-LBP-CD14 三体复合物再通过与 TLR4/髓样分化蛋白 2(MD2) 复合体结合,而将 LPS 刺激信号向细胞内转导,导致 NF- $\kappa$ B 磷酸化和核转位<sup>[11-12]</sup>,进而抑制 PR 的表达,激活 IL-1 $\beta$ ,被激活的 IL-1 $\beta$  同时亦抑制了 PR 的转录活性;而 COX-2 除了直接受 NF- $\kappa$ B 的影响外还能被 IL-1 $\beta$  诱导而迅速合成,使前列腺素中最强的炎症介质前列腺素 E<sub>2</sub> 被大量合成<sup>[13]</sup>,且 IL-1 $\beta$ , COX-2 上调同时还能上调多种炎症介质,启动多条信号通路<sup>[14]</sup>,如此恶性循环,使蜕膜细胞内的 PR 表达越来越低,IL-1 $\beta$ , COX-2 表达越来越高,可能致血管炎性反应、血管内凝血级联反应、细胞膜的损伤及细胞凋亡,在早孕期有可能导致流产的发生<sup>[2,15-17]</sup>。

LPS 作用于 TLR4 mAb 预处理之后的蜕膜细胞,PR 表达并未下调;且 LPS 作用于不同质量浓度 TLR4 mAb 预处理之后的蜕膜细胞,PR 的表达随浓度的升高而稍上调,但两者之间差异无统计学意

义, PR 表达与 TLR4 mAb 剂量间无明显量效关系。在对蜕膜细胞进行 LPS 刺激之前给予 TLR4 mAb 预处理则 IL-1 $\beta$  表达较单独 LPS 组下降, 提示 TLR4 mAb 的作用机制可能是通过预先结合细胞表面的 TLR4 形成抗原抗体复合物, 使得后来的 LPS 不能与 TLR4 结合, 进而阻断下游信号转导通路, 使其下游炎症因子、PR 的表达不能受 LPS 的影响。另外, 在研究中笔者发现 COX-2 在低质量浓度 TLR4 mAb+LPS 组中表达与 LPS 组差异无统计学意义; 而在高质量浓度 TLR4 mAb+LPS 组中表达较 LPS 组下调, 推测高质量浓度 TLR4 mAb 能更有效地抑制 COX-2 的过度表达, 控制其引起的过激炎症反应, 这有待进一步研究。

在无 LPS 作用下, TLR4 mAb 能使蜕膜细胞内 PR 表达增强, 随着 TLR4 mAb 质量浓度的增加而上调; IL-1 $\beta$  的表达则随 TLR4 mAb 质量浓度的增加而下调, 由此推测: 1) 高质量浓度 TLR4 mAb 作用于蜕膜细胞时 PR 表达上调而 IL-1 $\beta$  表达下调, 高表达的 PR 可能抑制了 NF- $\kappa$ B 的转录活性, 进而抑制 IL-1 $\beta$  的表达, 与 Allport 等<sup>[9]</sup>的研究结论相符; 2) TLR4 mAb 除拮抗 LPS 作用通路外, 自身可能作用于蜕膜细胞, 通过细胞因子的局部调控, 适当增加 PR 的表达, 减少炎症因子的生成, 以保证妊娠的顺利进行, 且 TLR4 mAb 对 PR 表达的影响可能与 TLR4 mAb 质量浓度有相关性。

总之, 本研究提示 LPS 作用于体外培养的人蜕膜细胞后, PR mRNA 表达下调; IL-1 $\beta$ , COX-2 的 mRNA 表达上调; 使用 TLR4 mAb 后能拮抗 LPS 对蜕膜细胞中 PR, IL-1 $\beta$  以及 COX-2 的作用。推测 LPS 对 PR, IL-1 $\beta$  以及 COX-2 的影响可能是通过结合 TLR4 来实现, TLR4 mAb 可能封闭 LPS 向蜕膜细胞内的信号转导。本研究结果为研制新的抗内毒素靶向药物提供了前期实验依据; 但 TLR4 mAb 能否作为早期不良妊娠辅助治疗的新策略, 值得进一步研究。

## 参考文献

- Moffett A, Loke YW. The immunological paradox of pregnancy: a reappraisal[J]. J Placenta, 2004, 25: 1-8.
- Ohnishi T, Muroi M, Tanamoto K. The lipopolysaccharide-recognition mechanism in cells expressing TLR4 and CD14 but lacking MD-2[J]. Immunol Med Microbiol, 2007, 51(1): 84-91.
- Stanimirovic D, Satoh K. Inflammatory mediators of cerebral endothelium: a microcirculatory brain inflammation[J]. Brain Pathol, 2000, 10(1): 113-126.
- Barochia A, Solomon S, Cui X, et al. Eritoran tetrasodium (E5564) treatment for sepsis: review of preclinical and clinical studies[J]. Expert Opin Drug Metab Toxicol, 2011, 7(4): 479-494.
- O'Neill LA, Bowie AG. The family of five: TIR domain-containing adaptors in Toll-like receptor signaling[J]. Nat Rev Immunol, 2007, 7(5): 353-364.
- Arnett-Mansfield RL, DeFazio Anna, Mote PA, et al. Subnuclear distribution of progesterone receptors A and B in normal and malignant endometrium[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2004, 89(3): 1429-1444.
- Tan J, Paria BC, Dey SK, et al. Differential uterine expression of estrogen and progesterone receptors correlates with uterine preparation for implantation and decidualization in the mouse[J]. Endocrinology, 1999, 140(11): 5310-5321.
- 张富春, 朱士恩, 张忠诚. 重组人白细胞介素-1 $\beta$ 对小鼠玻璃化冷冻桑椹胚体外生长发育和移植存活率影响的研究[J]. 新疆大学学报: 自然科学版, 2002, 19(2): 215-218.  
ZHANG Fuchun, ZHU Shi'en, ZHANG Zhongcheng. Effects of recombinant human interleukin-1 $\beta$  on development and embryo transfer of vitrified morulae in mouse[J]. Journal of Xinjiang University. Natural Science Edition, 2002, 19(2): 215-218.
- 崔澄, 杨彦忠, 杨新华, 等. 早期自然流产患者蜕膜巨噬细胞功能的变化[J]. 白求恩医学院学报, 2003, 12(4): 206-208.  
CUI Cheng, YANG Yanzhong, YANG Xinhua, et al. The changes of decidual macrophage function from patients with unexplained spontaneous early abortion[J]. Journal of Bethune Military Medical College, 2003, 12(4): 206-208.
- 韩省华, 吴素清, 李慧卿, 等. 反复早期自然流产患者绒毛、蜕膜细胞中溶血磷脂酸受体3和环氧合酶2的表达[J]. 河北医药, 2010, 32(2): 138-139.  
HAN Shenghua, WU Suqing, LI Huiqing, et al. The expression of lysophosphatidic acid receptor 3 and cyclooxygenase 2 in villus and decidua with recurrent early spontaneous abortion[J]. Hebei Medical Journal, 2010, 32(2): 138-139.
- 罗兵, 李涛, 徐元宏. Toll 样受体的信号转导及抗感染免疫研究进展[J]. 免疫学杂志, 2011, 27(2): 165-169.  
LUO Bing, LI Tao, XU Yuanhong. Progress in Toll-like receptors signaling transduction and its role in the anti-infection immune[J]. Immunological Journal, 2011, 27(2): 165-169.
- Lorne E, Dupont H, Abraham E. Toll-like receptors 2 and 4: initiators of non-septic inflammation in critical care medicine[J]. Intensive Care Med, 2010, 36(11): 1826-1835.
- 肖世金, 赵爱民, 鲍世民. COX-2及其信号转导通路的表达与自身免疫型复发性流产的关系[J]. 上海交通大学学报: 医学版, 2011, 31(7): 1-5.  
XIAO Shijin, ZHAO Aimin, BAO Shimin. Relationship between expression of COX-2, its signal transduction pathways and autoimmune-type recurrent miscarriage[J]. Journal of Shanghai Jiaotong University. Medical Science, 2011, 31(7): 1-5.

14. Fu PK, Wu CL, Tsai TH, et al. Anti-inflammatory and anticoagulative effects of paeonol on LPS-induced acute lung injury in rats[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2012, 2012: 837513.
15. 童英, 侯朝晖, 王萍, 等. 自然流产蜕膜组织孕激素受体及p53、Bax、Bcl-2蛋白的表达及意义[J]. *医学临床研究*, 2007, 24(10): 1737-1739.
- TONG Ying, HOU Zhaohui, WANG Ping, et al. Expression of progesterone receptor, p53, Bax, and Bcl-2 protein in decidua tissue of spontaneous abortion and its significance[J]. *Journal of Clinical Research*, 2007, 24(10): 1737-1739.
16. Allport VC, Pieber D, Slater DM, et al. Human labour is associated with nuclear factor-kappa B activity which mediates cyclo-oxygenase-2 expression and is involved with the 'functional progesterone withdrawal'[J]. *Mol Hum Reprod*, 2001, 7(6): 581-586.
17. Vogt M, Sallum AW, Cecatti JG, et al. Periodontal disease and some

adverse perinatal outcomes in a cohort of low risk pregnant women[J]. *Reprod Health*, 2010, 7: 29.

(本文编辑 陈丽文)

本文引用: 李燕, 钟淑娟, 姚若进. 脂多糖及 TOLL 样受体 4 阻断剂对蜕膜细胞中孕激素受体、IL-1 $\beta$  及 COX-2 的影响[J]. *中南大学学报: 医学版*, 2013, 38(2): 162-168. DOI:10.3969/j.issn.1672-7347.2013.02.009

**Cite this article as:** LI Yan, ZHONG Shujuan, YAO Ruojin. Influence of LPS and Toll-like receptor 4 antagonist on progesterone receptor, interleukin-1 $\beta$ , and cyclooxygenase-2 in decidual cells[J]. *Journal of Central South University. Medical Science*, 2013, 38(2): 162-168. DOI:10.3969/j.issn.1672-7347.2013.02.009

## 《国际病理科学与临床杂志》2013 年征订启事

《国际病理科学与临床杂志》(原名《国外医学·生理、病理科学与临床分册》)创刊于 1981 年,为教育部主管、中南大学主办的国家级医学学术期刊,为“中国科技核心期刊(中国科技论文统计源期刊)”,并被美国《化学文摘》(CA)等国内外多家重要数据库和检索系统收录,被评为“第 2 届中国高校特色科技期刊”,“第 3 届中国高校优秀科技期刊”,“第 4 届中国高校优秀科技期刊”,已成为病理科学与临床医学领域中颇具影响力的期刊。

本刊为双月刊,逢双月末出版,16 开,国内外公开发行。定价 15 元/期,全年定价 90 元,国内统一刊号:CN 43-1458/R,国际标准刊号:ISSN 1673-2588;国内邮发代号:42-35,国外邮发代号:BM6564;各地邮局(所)均可订阅,漏订者也可直接汇款至湖南省长沙市湘雅路 110 号湘雅医学院 50 号信箱《国际病理科学与临床杂志》编辑部,邮政编码:410078,订阅者请在汇款单附言注明所订刊物的年度、期号和册数。

编辑部电话:0731-84805495, 84805496; 传真:0731-84804351

Email: gwyxxy@126.com; gwyxxy@vip.163.com

<http://www.gjbl.net>

《国际病理科学与临床杂志》编辑部