

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2019.14.008
文章编号: 1005-8982 (2019) 14-0040-05

高原地区妊娠期高血压产妇胎盘 Stat3、Survivin 及 MMP-2 的表达水平及意义

李宗英¹, 赵得熊¹, 张海燕¹, 郝丽娟²

(青海红十字医院 1. 妇产科, 2. 耳鼻喉科, 青海 西宁 810000)

摘要: 目的 探究高原地区妊娠期高血压产妇胎盘中信号传导和转录活化因子 3 (Stat3)、Survivin 及基质金属蛋白酶-2 (MMP-2) 的表达水平及意义。**方法** 选取青海红十字医院收治的 30 例轻中度妊娠期高血压、27 例重度妊娠期高血压及 22 例正常者胎盘组织标本进行研究, 用苏木精-伊红染色观察各组胎盘组织变化, 逆转录聚合酶链反应、免疫组织化学法检测胎盘组织中 Stat3、Survivin 及 MMP-2 蛋白表达, Pearson 法分析 Stat3、Survivin 及 MMP-2 与新生儿体重、胎盘的相关性。**结果** 轻中度组 Stat3、Survivin、MMP-2 mRNA 水平和蛋白阳性率均较正常组下降 ($P < 0.05$), 重度组均较轻中度组下降 ($P < 0.05$)。妊娠期高血压胎盘中 Stat3、Survivin、MMP-2 相互间及其与胎盘重量、新生儿体重呈正相关 ($P < 0.05$)。**结论** 胎盘中 Stat3、Survivin 及 MMP-2 低表达可能与妊娠期高血压的发生及新生儿预后相关。

关键词: 高血压; 孕妇; 胎盘

中图分类号: R714.25

文献标识码: A

Expression levels and significances of Stat3, Survivin and MMP-2 in placenta of pregnancy induced hypertension syndrome in plateau area

Zong-ying Li¹, De-xiong Zhao¹, Hai-yan Zhang¹, Li-juan Hao²

(1. Department of Obstetrics and Gynecology, Qinghai Red Cross Hospital, Xining, Qinghai 810000, China; 2. Department of ENT, Qinghai Red Cross Hospital, Xining, Qinghai 810000, China)

Abstract: Objective To investigate the expression and significance of signal transduction and activator of transcription 3 (Stat3), Survivin, and matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) in the placenta of pregnancy induced hypertension syndrome in plateau area. **Methods** A total of 30 cases placenta tissue specimens of patients with mild to moderate pregnancy induced hypertension, 27 cases of severe degree and 22 cases of normal puerperas were collected for study. HE staining was used to observe the changes of placenta tissues; the expressions of Stat3, Survivin, and MMP-2 proteins in placenta tissues were detected by RT-PCR and immunohistochemistry; the correlations among Stat3, Survivin, MMP-2 and neonatal weight, placenta were analyzed by Pearson correlation analysis. **Results** The levels of Stat3, Survivin, and MMP-2 mRNAs in three groups were significantly different ($P < 0.05$). Compared with the normal group, the expressions of Stat3, Survivin and MMP-2 mRNAs in placenta of mild to moderate pregnancy-induced hypertension group decreased ($P < 0.05$); the expressions of Stat3, Survivin

and MMP-2 mRNAs in severe group were lower than those in mild and moderate group ($P < 0.05$). Stat3, Survivin, and MMP-2 were positively correlated with each other and they were positively correlated with placental weight and neonatal weight in pregnancy induced hypertension ($P < 0.05$). **Conclusions** The low expressions of Stat3, Survivin and MMP-2 in placenta may be related to the occurrence of pregnancy induced hypertension and the prognosis of the neonates.

Keywords: hypertension; pregnant women; placenta

妊娠期高血压疾病是女性妊娠期的常见并发症, 近年来发病率呈逐渐上升趋势, 且高原地区发病率高于平原地区^[1-2]。关于妊娠期高血压疾病的发生机制尚未有统一定论。有研究证实胎盘中滋养细胞参与妊娠期高血压疾病的发生, 胎盘组织中信号传导、转录活化因子 3 (signal transducers and activators of transcription 3, Stat3)、Survivin 及基质金属蛋白酶 -2 (matrix metalloproteinase-2, MMP-2) 与滋养细胞能力下降密切相关^[3-4]。本研究检测高原地区妊娠期高血压患者胎盘中 Stat3、Survivin 及 MMP-2 的表达, 以探究高原环境中妊娠期高血压疾病的发生与 3 者的联系。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2016 年 2 月—2017 年 4 月在青海红十字会行分娩的 79 例产妇作为研究对象。将产妇分为轻中度组、重度组和正常组, 分别为 30、27 和 22 例。其中, 轻中度组产妇年龄 19 ~ 38 岁, 平均 (28.64 ± 3.21) 岁; 分娩孕周 38 ~ 40 周, 平均 (39.69 ± 2.34) 周。重度组产妇年龄 20 ~ 39 岁, 平均 (29.13 ± 3.54) 岁; 分娩孕周 39 ~ 40 周, 平均 (39.09 ± 2.16) 周。正常组产妇年龄 22 ~ 39 岁, 平均 (27.86 ± 2.67) 岁; 分娩孕周 38 ~ 40 周, 平均 (39.73 ± 3.06) 周。纳入标准: ①符合《妇产科学》^[5] 诊断标准; ②单胎妊娠。排除标准: ①高血压、心脑血管及糖尿病病史; ②心、肝、肾及免疫系统存在严重缺陷; ③出现胎膜早破、前置胎盘及胎儿窘迫等异常情况。研究对象均知情同意。

1.2 方法

1.2.1 标本采集 产妇分娩后在无菌环境中剪取脐带根部面积约 0.5 m^2 的胎盘组织, 生理盐水漂洗后用纱布吸干水分, 一部分放入 -80°C 冰箱中保存, 另一部分放入 4% 多聚甲醛溶液中固定。

1.2.2 胎盘组织苏木精-伊红 (hematoxylin-eosin, HE) 染色 常规制备胎盘组织石蜡切片, 脱水后进行苏木精复染, 浸入 1% 盐酸 5 s 后水洗, 加入伊红染液染色脱水, 滴加二甲苯进行透明处理, 用中性树脂进行封片, 将切片放置显微镜下进行观察。

1.2.3 逆转录聚合酶链反应 (reverse transcription polymerase chain reaction, RT-PCR) 从冰箱中取出保存胎盘组织, 采用 RNA 提取试剂盒提取组织总 RNA, 采用逆转录试剂盒将 RNA 逆转录为 cDNA, 反应体系: $10 \times \text{cDNA}$ 模板 $1 \mu\text{l}$, 正反向引物各 $0.5 \mu\text{l}$, H_2O $8 \mu\text{l}$, $10 \mu\text{l} \ 2 \times \text{SYBR Mix}$ 。反应条件: 95°C 预变性 3 min, 95°C 变性 10 s, 60°C 退火 30 s, 72°C 延伸 2 min, 共计 35 个循环, 72°C 继续延伸 10 min。运用 CFX manager 3.0 软件以 β -actin 作为内参基因按照 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法进行基因相对定量分析。

1.2.4 免疫组织化学法 胎盘组织石蜡切片脱水后置于柠檬酸盐缓冲液中 20 min, 磷酸盐缓冲液 (phosphate buffered saline, PBS) 清洗后, 加入 3% 过氧化氢溶液放置 25 min。PBS 清洗后, 滴加山羊血清反应 15 min, 加 Stat3、Survivin 及 MMP-2 一抗置于 4°C 冰箱中过夜。PBS 清洗后加入二抗, 室温下孵育 20 min 后加入 DAB 显色液进行显色反应。水洗后, 进行苏木精复染, 蒸馏水冲洗后置于 1% 盐酸中 5 s 后清洗, 脱水后滴加二甲苯进行透明处理, 用中性树脂进行封片, 置于显微镜下进行观察。每张切片挑选 10 个视野, 计算阳性染色细胞数比例, 当比例 $< 5\%$ 细胞总数为阴性, 比例介于 $5\% \sim 100\%$ 为阳性。

1.3 统计学方法

数据分析采用 SPSS 21.0 统计软件, 计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组比较用方差分析, 两两比较用 SNK- q 检验; 计数资料以率 (%) 表示, 用 χ^2 检验, 进一步两两比较用 χ^2 分割法, 检验水准 $\alpha = 0.0125$, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组胎盘组织 HE 染色结果

正常组胎盘组织中绒毛血管数量较多且体积小,血管壁均未见异常。轻中度组胎盘中绒毛数量有所下降,且滋养细胞增多形成结节,宫腔变窄,管壁周围出现纤维状坏死。而重度组情况更为严重。见图 1。

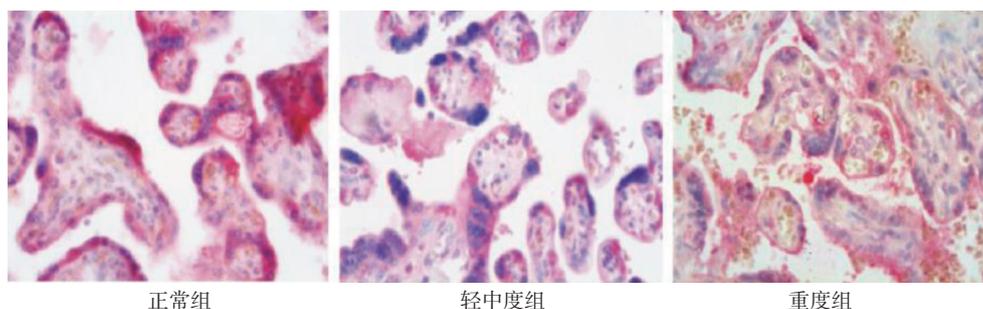


图 1 各组胎盘组织染色结果 (HE × 100)

表 1 各组胎盘中 Stat3、Survivin 及 MMP-2 mRNA 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	Stat3	Survivin	MMP-2
正常组	22	0.85 ± 0.08	0.89 ± 0.07	0.81 ± 0.05
轻中度组	30	0.72 ± 0.04	0.74 ± 0.03	0.68 ± 0.03
重度组	27	0.63 ± 0.01	0.57 ± 0.03	0.59 ± 0.02
F 值		121.865	312.736	251.124
P 值		0.000	0.000	0.000

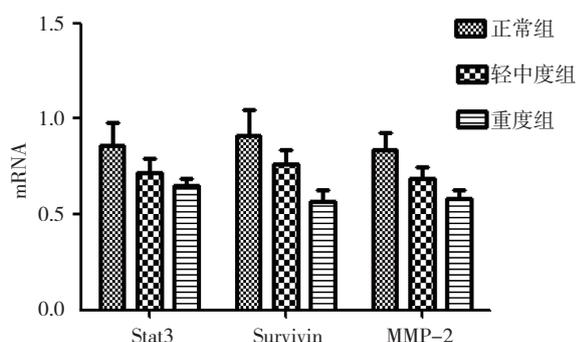


图 2 各组胎盘中 Stat3、Survivin 及 MMP-2 mRNA 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

2.2 各组胎盘中 Stat3、Survivin 及 MMP-2 mRNA 水平比较

各组 Stat3、Survivin 及 MMP-2 mRNA 水平比较,经方差分析,差异有统计学意义 ($P < 0.05$);进一步两两比较,轻中度组各指标均较正常组下降 ($P < 0.05$),重度组各指标均较轻中度组下降 ($P < 0.05$)。见表 1 和图 2。

2.3 各组胎盘组织中 Stat3、Survivin 及 MMP-2 蛋白阳性率比较

Stat3、Survivin 及 MMP-2 阳性细胞主要分布于胞浆中,呈棕黄色。各组 Stat3、Survivin 及 MMP-2 蛋白阳性率比较,经 χ^2 检验,差异有统计学意义 ($P < 0.05$);轻中度组各指标阳性率均较正常组下降 ($P < 0.05$),重度组各指标阳性率均较轻中度组下降 ($P < 0.05$)。见表 2 和图 3。

2.4 各组胎盘和新生儿资料比较

各组胎盘重量、新生儿身高及体重比较,经单因

表 2 各组胎盘组织中 Stat3、Survivin 及 MMP-2 蛋白阳性率比较 例 (%)

组别	n	Stat3	Survivin	MMP-2
正常组	22	18 (81.82)	19 (86.36)	20 (90.91)
轻中度组	30	16 (53.33)	17 (56.67)	20 (66.67)
重度组	27	7 (25.39)	8 (29.63)	11 (40.74)
χ^2 值		15.210	15.831	13.429
P 值		0.000	0.000	0.001

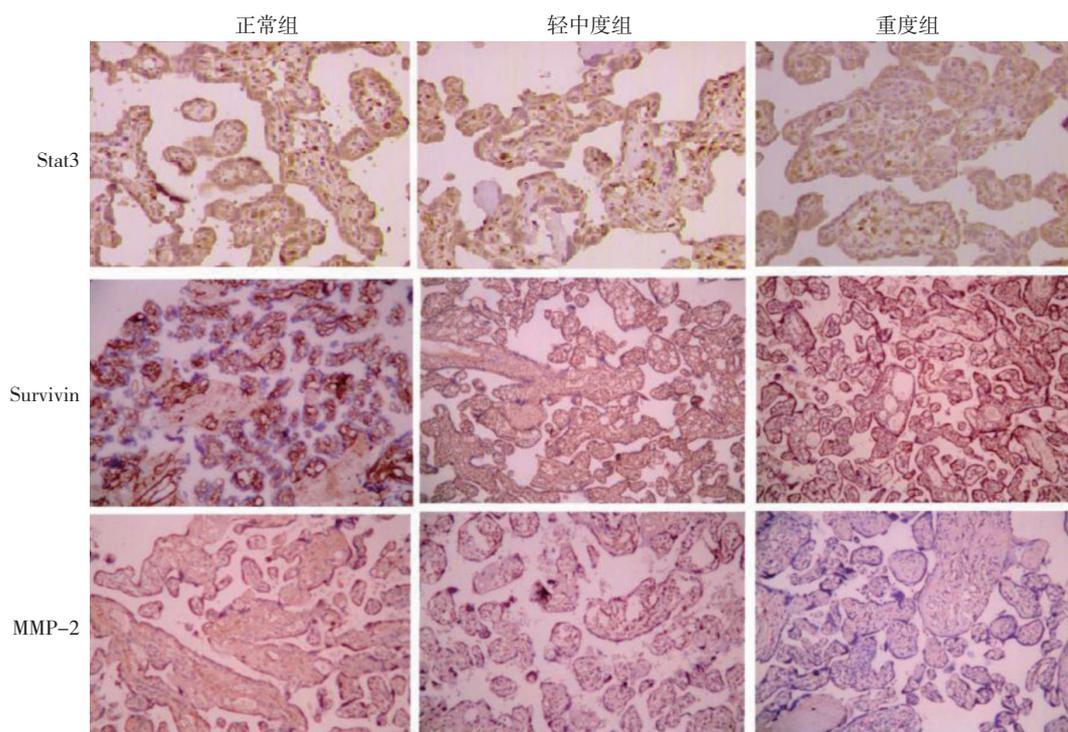


图 3 各组胎盘组织中 Stat3、Survivin 及 MMP-2 蛋白表达情况 (×100)

素方差分析, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 进一步两两比较经 SNK- q 检验, 轻中度组各指标均较正常组下降 ($P < 0.05$), 重度组各指标均较轻中度组下降 ($P < 0.05$)。见表 3。

2.5 Stat3、Survivin、MMP-2 的相关性分析

Stat3、Survivin 及 MMP-2 相互间及其与胎盘重量、新生儿体重均呈正相关 ($P < 0.05$)。Survivin 与身高呈正相关 ($P < 0.05$)。见表 4。

表 3 各组胎盘和新生儿资料比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	胎盘重量 /kg	新生儿身高 /cm	新生儿体重 /kg
正常组	22	0.53 ± 0.11	52.24 ± 1.68	3.14 ± 0.51
轻中度组	30	0.46 ± 0.06	51.16 ± 2.06	2.47 ± 0.48
重度组	27	0.39 ± 0.04	50.13 ± 1.47	1.91 ± 0.34
F 值		22.657	8.619	46.006
P 值		0.000	0.003	0.000

表 4 Stat3、Survivin、MMP-2 的相关性分析

指标	Stat3	Survivin	MMP-2	胎盘重量	新生儿身高	新生儿体重
Stat3						
r 值	-	0.492	0.476	0.479	0.384	0.625
P 值	-	0.042	0.040	0.042	0.069	0.029
Survivin						
r 值	0.448	-	0.578	0.628	0.413	0.513
P 值	0.048	-	0.032	0.023	0.023	0.037
MMP-2						
r 值	0.586	0.647	-	0.513	0.371	0.621
P 值	0.031	0.014	-	0.037	0.072	0.019

3 讨论

高原地区海拔一般 >3 000 m, 气候恶劣, 紫外线辐射强, 高寒缺氧, 体内供氧和耗氧常失衡, 导致一系列的病理生理改变, 例如对血液流变学及血管收缩产生较大的影响, 血液易发生浓缩现象且血容量明显降低, 这些因素均为妊娠期高血压疾病的发生提供条件^[6]。本研究通过检测高原地区产妇胎盘中 Stat3、Survivin 及 MMP-2 的表达, 试图阐明在高原环境中 3 者的表达与妊娠期高血压疾病发生的联系。

胎盘病变在妊娠期高血压疾病的发生中起重要作用, 有学者认为滋养细胞发生异常是胎盘病变的前提^[7]。本研究显示盘中绒毛数量下降, 且滋养细胞增多形成结节, 血管发育不良, 重度组情况更为严重, 分析原因可能为母体发生病变的情况下滋养细胞对子宫的侵袭能力下降, 导致子宫螺旋动脉功能重塑受阻, 血管变窄, 绒毛间隙狭窄, 进而加重病情^[8]。本研究结果显示, 妊娠期高血压疾病患者 MMP-2 mRNA、阳性表达低于正常分娩者, 随着病情程度的增加阳性表达率逐渐降低, 可能是 MMP-2 在滋养细胞中含量下降, 使浸润能力受影响, 导致绒毛发育不良胎盘病变。细胞外基质降解在滋养细胞侵袭中发挥着关键作用, 有研究发现 MMP-2 等基质金属蛋白酶参与此过程, 能够分解胶原、凝胶、黏连蛋白等, 且妊娠期高血压疾病者 MMP-2 蛋白表达低于正常妊娠者^[9]。本研究结果与以上研究相符合, 提示 MMP-2 与妊娠期高血压疾病的发生相关。

Survivin 属于细胞凋亡抑制因子, 在胚胎、胎儿组织中高度表达。Stat3 是 Stat 蛋白家族成员, 能够通过信号转导途径对凋亡相关因子进行调控进而促进细胞的增殖、凋亡。相关研究显示 Survivin 在整个妊娠过程中均有表达, 且 Survivin 在妊娠期高血压疾病患者中水平低于正常者^[10]。Stat3 水平升高能够激活抑癌基因 *P21* 以及抗凋亡蛋白 Bcl-2、Survivin 的表达发挥抗凋亡、促增殖的作用^[11]。本研究显示妊娠期高血压疾病患者胎盘中 Survivin、Stat3 阳性表达率低于正常分娩者, 随着病情程度的增加其表达水平逐渐降低。有研究发现, 胎盘组织中 Survivin 表达下降导致细胞过渡凋亡, 从而降低胎盘功能, Stat3 蛋白表达降低能够抑制滋养细胞侵袭^[12-13]。以上研究表明 Survivin、Stat3 蛋白与妊娠期高血压疾病的发生、病情进展相关。本研究还发现 Stat3、Survivin 及 MMP-2 相互间呈正相关, 且 3 者与胎盘重量、新生儿体重呈正相关, 说明 Stat3、Survivin、MMP-2 的表达与胎盘以及胎儿的

生长、发育密切相关, 可以根据 3 者蛋白表达对患者病情程度及新生儿预后进行评估。

综上所述, Stat3、Survivin 及 MMP-2 蛋白与妊娠期高血压疾病的发生密切相关, 且与病情严重程度及新生儿预后相关, 为妊娠期高血压疾病的治疗提供一定的参考, 但本研究仅从组织学方面进行检测, 其具体生理机制及分子机制还需后续深入研究。

参 考 文 献:

- [1] VEERBEEK J H, HERMES W, BREIMER A Y, et al. Cardiovascular disease risk factors after early-onset preeclampsia, late-onset preeclampsia, and pregnancy-induced hypertension[J]. *Hypertension*, 2015, 65(3): 600-606.
- [2] 刘怡, 刘石萍. 高原与平原地区产妇围生期相关因素分析[J]. *中国乡村医药*, 2015, 22(14): 50-52.
- [3] 张莉, 李治, 王景, 等. 人胎盘来源间充质干细胞对妊娠期高血压病细胞滋养细胞凋亡的影响: 随机对照实验方案[J]. *中国组织工程研究*, 2015, 19(50): 8190-8194.
- [4] ELEUTERIO N M, PALEI A C, RANGEL MACHADO J S, et al. Positive correlations between circulating adiponectin and MMP2 in preeclampsia pregnant[J]. *Pregnancy Hypertens*, 2015, 5(2): 205-210.
- [5] 乐杰, 谢幸. 妇产科学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 75-81.
- [6] 胡劼, 李华, 牛铭, 等. 高原环境中妊娠期母体缺氧与胎羊先天性心脏病病理损伤相关性研究的实验研究[J]. *中国超声医学杂志*, 2016, 32(11): 1041-1044.
- [7] 潘耀平, 桂琦, 潘景. 自噬相关蛋白 P62, OPTN 在重度子痫前期胎盘滋养细胞中的表达及意义[J]. *云南师范大学学报(自然科学版)*, 2017, 37(3): 63-65.
- [8] TYURENKOV I N, PERFILOVA V N, SMIRNOV A V, et al. Features of endothelial dysfunction and morphofunctional changes of the uteroplacental complex in experimentally induced preeclampsia[J]. *Pregnancy Hypertens*, 2016, 6(4): 423-429.
- [9] RICCI S, BRUZZESE D, CARLO A D I. Evaluation of MMP-2, MMP-9, TIMP-1, TIMP-2, NGAL and MMP-9/NGAL complex in urine and sera from patients with bladder cancer[J]. *Oncol Lett*, 2015, 10(4): 2527-2529.
- [10] 周小娜, 刘春城, 刘国炳. 妊娠高血压疾病胎盘组织中 hTERT mRNA 与 NF- κ B, survivin 表达的相关性[J]. *分子影像学杂志*, 2015, 38(3): 267-270.
- [11] WANG X, QIU W, ZHANG G, et al. MicroRNA-204 targets JAK2 in breast cancer and induces cell apoptosis through the STAT3/BCL-2/survivin pathway[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(5): 5017-5022.
- [12] 徐小华, 郑双芸, 金亚玲, 等. 自然早产胎盘中细胞凋亡抑制因子 survivin 表达水平[J]. *中国优生与遗传杂志*, 2016, 24(4): 28-30.
- [13] MOUIHATE A, MEHDAWI H. Toll-like receptor 4-mediated immune stress in pregnant rats activates STAT3 in the fetal brain: role of interleukin-6[J]. *Pediatr Res*, 2016, 79(5): 781-786.

(李科 编辑)