

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2022.24.001
文章编号: 1005-8982 (2022) 24-0001-05

早产专题·论著

干扰素诱导蛋白16在胎膜早破孕妇血清、 胎盘组织中的表达及其意义*

任艺¹, 朱锦明², 卢彩红², 李蕾², 李亚楠¹

(1. 徐州医科大学 研究生学院, 江苏 徐州 221004; 2. 徐州医科大学
附属徐州妇幼保健院 产科, 江苏 徐州 221006)

摘要: **目的** 研究孕妇血清、胎盘组织中 γ 干扰素诱导蛋白16(IFI16)表达水平与胎膜早破(PROM)的关系, 为感染性PROM的早期诊断提供参考。**方法** 选取2019年9月—2020年9月徐州医科大学附属徐州妇幼保健院收治的PROM手术终止妊娠孕妇60例作为研究组。依据孕周将研究组分为足月PROM组[(38.16±1.47)周]和未足月PROM组[(34.87±2.05)周], 各30例。选取同期该院足月正常剖宫产的产妇30例作为对照组。对比3组胎盘组织IFI16表达情况, IFI16 mRNA、Caspase-1 mRNA表达水平及孕妇血清IFI16、炎症因子[白细胞介素-6(IL-6)、IL-1 β]水平。**结果** 足月PROM组、未足月PROM组IFI16蛋白阳性率高于对照组($P < 0.05$), 足月PROM组与未足月PROM组IFI16蛋白阳性率比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。未足月PROM组、足月PROM组胎盘组织IFI16 mRNA、Caspase-1 mRNA相对表达量较对照组高($P < 0.05$)。未足月PROM组、足月PROM组血清IFI16、IL-6、IL-1 β 水平较对照组高($P < 0.05$)。**结论** IFI16在孕妇血清及胎盘组织中升高可能与PROM孕妇的炎症反应有关, IFI16水平升高对PROM炎症反应可能有预测意义。

关键词: 胎膜早破; 足月; 未足月; 炎症反应; γ 干扰素诱导蛋白16; 半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-1

中图分类号: R714.433

文献标识码: A

Expression and clinical significance of interferon-inducible protein 16 in the serum and placental tissues of pregnant women with premature rupture of membranes*

Yi Ren¹, Jin-ming Zhu², Cai-hong Lu², Lei Li², Ya-nan Li¹

(1. Graduate School, Xuzhou Medical University, Xuzhou, Jiangsu 221004, China; 2. Department of
Obstetrics, Xuzhou Maternal and Child Health Hospital Affiliated to Xuzhou Medical University,
Xuzhou, Jiangsu 221006, China)

Abstract: Objective To investigate the relationship between the expression levels of interferon-inducible protein 16 (IFI16) in the placental tissues and maternal blood and the onset of premature rupture of membranes (PROM), so as to provide references for the early diagnosis of infection-associated PROM. **Methods** We included 60 patients with PROM undergoing the operation to terminate the pregnancy who were admitted to Xuzhou Maternal and Child Health Hospital from September 2019 to September 2020. According to the gestational week when PROM occurred, the patients were divided into full-term PROM group (37 weeks to 42 weeks of pregnancy, 30 cases) and preterm PROM group (28 weeks to 36 weeks and 6 days of pregnancy, 30 cases). Thirty women with full-term pregnancy receiving cesarean sections during the same period were enrolled as the control group. The mRNA and

收稿日期: 2022-05-07

* 基金项目: 江苏省自然科学基金(No.2019S17), 江苏省妇幼健康青年人才项目(No:FRC201789)

[通信作者] 朱锦明, E-mail: yanhengstudent@163.com; Tel: 15150003256

protein expressions of IFI16, and mRNA expression of Caspase-1 in placental tissues, as well as the expression levels of IFI16 and inflammatory factors including interleukin (IL)-6 and IL-1 β in the serum of pregnant women were compared among the three groups. **Results** The positive rate of IFI16 expression in the placental tissues of pregnant women in the full-term PROM group and the preterm PROM group was higher than that in the control group ($P < 0.05$), while there was no significant difference in that between the full-term PROM group and the preterm PROM group ($P > 0.05$). The mRNA expressions of IFI16 and Caspase-1 in placental tissues of pregnant women in the full-term PROM group and the preterm PROM group were higher than those in the control group ($P < 0.05$). In addition, the maternal serum levels of IFI16, IL-6 and IL-1 β in the full-term PROM group and the preterm PROM group were higher than those in the control group ($P < 0.05$). **Conclusions** The elevated level of IFI16 in maternal blood and placental tissues may be related to inflammatory responses in PROM. The detection of IFI16 may be of predictive significance for the inflammatory responses in PROM.

Keywords: premature rupture of membranes; full-term; preterm; inflammatory response; interferon-inducible protein 16; caspase-1

胎膜早破 (premature rupture of membranes, PROM) 是围生期常见并发症, 发生率呈逐年升高趋势^[1]。PROM 威胁母胎健康、影响围生儿质量, 常引起早产、胎盘早剥、胎儿变形或死亡、新生儿败血症等并发症。根据 PROM 发生时间是否达到妊娠 37 周可分为足月 PROM 和未足月 PROM^[2]。我国孕妇 PROM 的发病率为 5% 左右, 严重威胁了母胎健康^[3]。发生 PROM 的原因很多, 病原微生物引起的感染是最重要的因素, 其中 > 60% 的 PROM 与感染及继发炎症反应有关^[4]。国内外学者发现, PROM 孕妇羊水、血清白细胞介素 1 β (Interleukin-1 β , IL-1 β) 高表达, IL-6、Caspase-1 与 PROM 有关^[5-6], 故早期识别 PROM 对防治 PROM 意义重大。

γ 干扰素诱导蛋白 16 (interferon-inducible protein 16, IFI16) 是一种重要的 DNA 感受器, 主要存在于成纤维细胞、造血干细胞等细胞的细胞核或细胞质中, 同时在胎盘滋养细胞中也有表达, 作为细胞内双链 DNA 的固有免疫受体, 参与细胞生长、凋亡及血管形成的过程; 此外 IFI16 还可合成炎症小体, 而炎症小体是激活炎症性半胱天冬酶并使促炎症细胞因子底物成熟和诱导细胞焦亡所必需的蛋白质平台, 诱发一系列的免疫反应^[7]。本研究通过检测 PROM 孕妇血清和胎盘组织 IFI16 水平, 并与足月无 PROM 产妇进行比较, 推测 IFI16 在 PROM 发生、发展中的作用, 为其防治提供新思路。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2019 年 9 月—2020 年 9 月徐州医科大学附

属徐州妇幼保健院收治的 PROM 手术终止妊娠孕妇 60 例作为研究组, 并依据孕周将研究组分为足月 PROM 组 [(38.16 \pm 1.47) 周] 和未足月 PROM 组 [(34.87 \pm 2.05) 周], 每组 30 例。选取同期该院足月 [(37.96 \pm 4.02) 周] 正常剖宫产的 30 例产妇作为对照组。纳入标准: ①符合《妇产科学》^[8] 中 PROM 诊断标准; ②单胎, 平素月经规律, 无不良孕产史。排除标准: ①重要脏器功能障碍; ②孕周 < 28 周; ③合并妊娠期高血压、糖尿病等并发症; ④自身免疫系统疾病; ⑤认知障碍或无法进行交流; ⑥精神疾病; ⑦肺动脉高压。各组一般资料比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。本研究经医院医学伦理委员会批准, 研究对象签署知情同意书。见表 1。

表 1 各组孕妇一般资料比较 ($n=30, \bar{x} \pm s$)

组别	年龄/岁	孕次	产次
未足月 PROM 组	26.47 \pm 3.82	1.65 \pm 0.87	0.84 \pm 0.63
足月 PROM 组	25.18 \pm 4.09	1.82 \pm 0.94	0.76 \pm 0.54
对照组	24.86 \pm 4.13	1.75 \pm 1.03	0.81 \pm 0.49
F 值	1.351	0.243	0.158
P 值	0.264	0.785	0.854

1.2 胎盘标本采集

本研究胎盘组织均在剖宫产术中取材, 避免阴道分娩过程中微生物污染, 对照组孕妇在分娩发动前手术。胎儿娩出后 (胎盘离体 < 10 min) 取胎盘组织 2 块, 焦碳酸二乙酯水漂洗, 于液氮中保存待测; 另取 1.0 cm \times 1.0 cm \times 0.5 cm 组织 2 块, 石蜡包埋, 4 μ m 厚切片, 用于免疫组织化学染色。

1.3 方法

1.3.1 免疫组织化学法检测胎盘组织 IFI16 阳性表达 胎盘组织切片、脱蜡,加入过氧化氢(3%)室温静置 12 min,5%牛血清白蛋白封闭 35 min,倒出封闭液后加入鼠抗人 IFI16 单克隆抗体(1:100 稀释,美国 Santa Cruz 公司),4℃孵育过夜。加入二抗室温孵育 25 min,显微镜下观察二氨基联苯氨显色情况;苏木精复染,分化、脱水、封片,使用已知阳性切片作为阳性对照,IFI16 阳性表达结果采用综合计分法进行半定量观察、分析^[9]。

1.3.2 实时荧光定量聚合酶链反应(quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR)检测 IFI16、Caspase-1 mRNA 的表达 提取胎盘组织总 RNA,在 PCR 仪(型号:M200 PRO,厦门安普利生物工程有限公司)上进行逆转录,qRT-PCR 反应体系:10 μL 2 × SYBR Mix,1 μL 10 × cDNA 模板,正反向引物各 1 μL,水 8 μL。反应程序:95℃预变性 3 min,95℃变性 15 s,68℃退火 35 s,72℃拉伸 5 min,共 37 个循环,70℃再延伸 12 min,以 GAPDH 作为内参,按照 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算 IFI16、Caspase-1 表达相对表达量。引物序列及长度见表 2。

表 2 qRT-PCR 引物序列

基因	引物序列	引物长度/bp
GAPDH	正向: 5'-GGAAGCTTGTTCATCAATGGAATC-3'	128
	反向: 5'-TGATGACCCCTTTGGCTCCC-3'	
IFI16	正向: 5'-AGTCCGAGGTGATGCTGGTTT-3'	121
	反向: 5'-TGACAGTGTGCTTGTGGAGG-3'	
Caspase-1	正向: 5'-GTACTGCATGCCGTATGCCGT-3'	116
	反向: 5'-AGCTAATGCTACTGTACGTA-3'	

1.3.3 酶联免疫吸附试验检测血清 IFI16、IL-6、IL-1β 水平 各组孕妇入院后抽取肘静脉血 5 mL,静置 30 min 后以 3 000 r/min 离心 15 min,离心半径 8 cm,留取上清液,置于-80℃冰箱保存。采用酶联免疫吸附试验测定血清 IFI16、IL-6、IL-1β 水平,试剂盒购自武汉新启迪生物科技有限公司。操作步骤:从室温平衡 20 min 后的铝箔袋中取出板条,设置标准品孔和样本孔,标准品孔各加不同浓度的标准品 50 μL;待测样本孔先加待测样本 10 μL,再加样本稀释液 40 μL,随后每个标准品孔和样本孔加入辣根过氧化物酶标记的检测抗体 100 μL,反应孔用封板

膜封住,37℃水浴锅温育 60 min 并彻底洗涤。每孔加入底物 A、B 各 50 μL,37℃避光孵育 15 min,每孔加入终止液 50 μL,15 min 内使用酶标仪(MB-530,深圳汇松科技发展有限公司)测定各孔的吸光度值^[10]。

1.4 统计学方法

数据分析采用 SPSS 18.0 统计软件。计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,比较用 *t* 检验或方差分析,进一步两两比较用 LSD-*t* 法;计数资料以构成比或率(%)表示,比较用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组胎盘组织 IFI16 蛋白阳性率比较

足月 PROM 组、未足月 PROM 组、对照组胎盘组织 IFI16 蛋白阳性率分别为 86.67%、90.00% 和 46.67%,足月 PROM 组、未足月 PROM 组分别与对照组 IFI16 蛋白阳性率比较,差异有统计学意义($\chi^2=10.800、13.017, P=0.001、0.000$),足月 PROM 组、未足月 PROM 组高于对照组。足月 PROM 组与未足月 PROM 组 IFI16 蛋白阳性率比较,差异无统计学意义($\chi^2=0.162, P=0.688$)。见图 1。

2.2 各组胎盘组织 IFI16 和 Caspase-1 mRNA 相对表达量比较

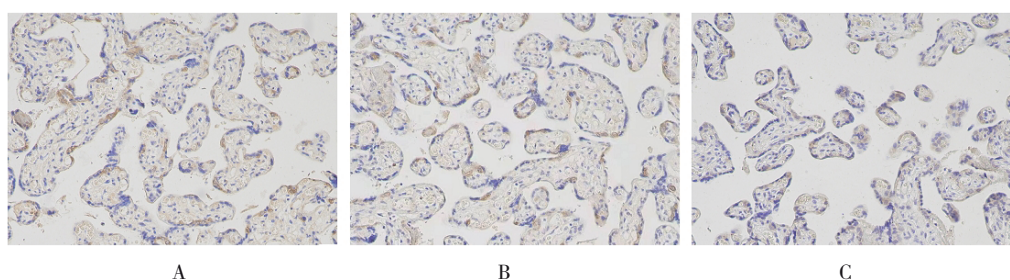
各组胎盘组织 IFI16、Caspase-1 mRNA 相对表达量比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),未足月 PROM 组、足月 PROM 组较对照组高。见表 3。

表 3 各组胎盘组织 IFI16、Caspase-1 mRNA 相对表达量比较 ($n=30, \bar{x} \pm s$)

组别	IFI16 mRNA	Caspase-1 mRNA
未足月 PROM 组	2.14 ± 0.97	1.75 ± 0.79
足月 PROM 组	1.87 ± 0.86	1.58 ± 0.47
对照组	1.34 ± 0.37	1.27 ± 0.38
<i>F</i> 值	8.202	5.388
<i>P</i> 值	0.001	0.006

2.3 各组血清 IFI16、IL-6、IL-1β 水平比较

各组血清 IFI16、IL-6、IL-1β 水平比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),未足月 PROM 组、足月 PROM 组较对照组高。见表 4。



A: 足月 PROM; B: 未足月 PROM; C: 对照组; 棕色为 IFI16 阳性。

图 1 各组胎盘组织中 IFI16 表达情况 (免疫组织化学染色 × 200)

表 4 各组血清 IFI16、IL-6、IL-1 β 水平比较
($n=30$, pg/mL, $\bar{x} \pm s$)

组别	IFI16	IL-6	IL-1 β
未足月 PROM 组	468.24 \pm 74.75	56.05 \pm 20.09	54.27 \pm 16.96
足月 PROM 组	436.57 \pm 65.02	54.32 \pm 18.42	52.13 \pm 15.19
对照组	276.84 \pm 42.16	42.86 \pm 13.57	41.95 \pm 12.82
F 值	81.712	4.988	5.712
P 值	0.000	0.009	0.005

3 讨论

PROM 是一种在孕妇分娩前发生的羊膜囊自发性破裂的疾病,为妊娠期常见并发症之一^[11-12],并可能引发宫内感染、早期败血症及胎儿窘迫等,极大地影响了妊娠结局,对 PROM 进行早期评估,可指导临床预防性干预。PROM 一直是产科医生关注的重点,IFI16 受体在 PROM 的发生、发展中发挥怎样的作用目前尚不可知,亟须进行研究^[13-14]。通过对 IFI16 在 PROM 孕妇胎盘、外周血组织中的表达及意义进行探讨,对预测 PROM 的发生具有重要的指导价值,可进一步保证母婴健康。

本研究结果显示,足月 PROM 组、未足月 PROM 组孕妇胎盘组织中 IFI16 蛋白阳性率和 mRNA 表达、Caspase-1 mRNA 表达显著高于对照组,足月 PROM 组、未足月 PROM 组胎盘组织中 IFI16 蛋白阳性率和 mRNA、Caspase-1 mRNA 表达相接近。分析原因可能为:IFI16 能够组装为炎症小体,炎症小体的产生是宿主细胞抵抗病原体入侵的重要手段,足月 PROM、未足月 PROM 孕妇由于胎盘处于强氧化应激、高炎症反应状态,故可促使 IFI16 表达升高。宿主细胞识别病原体炎症刺激信号后,炎症小体进行组装并激活 Caspase-1,促进 IL-1 β 、IL-6 等炎症因子分泌,诱发一系列免疫反应,最终启动适应性免疫应答以清除入侵机体的病原微生物^[15-18]。炎症反应

指机体通过识别危险因子后对危险事件(如创伤、病原菌等)做出的防御反应,可对孕妇及胎儿造成不良影响,主要包括:①对母体的影响。破水之后,阴道内的病原微生物上行容易引起宫腔感染,而且感染程度与破水时间有关。宫腔感染也容易诱发产后出血,有的孕妇如果突然破水,宫腔内压力骤降,可能会引起胎盘早剥,手术风险增加;②对胎儿的影响。有的破水发生在未足月的孕妇中,可能会诱发早产,早产儿容易发生呼吸窘迫综合征,而且各个脏器发育不完善,死亡率较高。Caspase-1 为 IL-1 β 转换酶,在细胞程序性死亡、调控炎症反应等过程中有重要作用,其活化、表达异常与多种疾病的发生、发展密切相关^[19-21]。IL-1 β 和 IL-6 以无活性前体形式在白细胞胞质中合成,可通过 IL-1 受体拮抗剂来调节表达、加工和分泌。IL-6 通过活化 T 细胞和 NK 细胞诱导产生 γ 干扰素,从而导致 Th1 分化,增强中性粒细胞和巨噬细胞的吞噬和杀伤能力^[22]。IL-1 β 可增强黏膜屏障功能、有助于提高 NK 细胞杀伤活力,进而更有效地发挥抗感染作用^[23]。IFI16 在调节转录、调控细胞生长等方面均有重要作用。相关研究报道,紫外线照射、病毒来源的 DNA 等因素可刺激 IFI16 蛋白自胞核转移至胞浆,并释放至胞外^[24]。IFI16 水平过高可能与损伤、内皮细胞激活等有关,LI 等^[25]研究发现,自身免疫性疾病孕妇血清 IFI16 水平异常偏高。本研究结果还显示,足月 PROM 组、未足月 PROM 组孕妇血清 IFI16 的表达较对照组显著增加。可能机制为:由于遭受细胞坏死、凋亡等因素的刺激,胎盘组织中高表达 IFI16 可能作为“毒性因子”进入母体的血液循环;此外外周血中 IFI16 水平升高可能通过损伤内皮细胞致使内皮细胞释放 IFI16,进而致使外周血中的 IFI16 水平进一步升高。

综上所述,IFI16 在孕妇血清及胎盘组织中的水

平升高可能与 PROM 炎症反应有关, IFI16 的检测对 PROM 炎症反应可能具有预测意义。但足月 PROM 和未足月 PROM 孕妇的炎症反应机制是否相同仍有待进一步研究。本研究的不足之处在于所纳入的病例样本数量较少, 且为单中心研究, 在后续的研究中需扩大样本容量并联合多中心医院共同参与研究, 以便进一步的深入研究。

参 考 文 献 :

- [1] 谢萍, 肖燕, 罗汝琼, 等. B 族链球菌孕妇感染血清炎症因子、Th1/Th2、 β -hCG 的变化及其对胎膜早破、妊娠结局的预测价值[J]. 中国现代医学杂志, 2021, 31(21): 78-85.
- [2] 潘茜茜, 杨圆圆. 未足月胎膜早破的危险因素及其对妊娠结局的影响[J]. 中国妇幼保健, 2021, 36(1): 156-158.
- [3] GIBSON K S, BRACKNEY K. Periviable premature rupture of membranes[J]. *Obstet Gynecol Clin North Am*, 2020, 47(4): 633-651.
- [4] 王永芹, 李淑红, 袁新燕, 等. 影响未足月胎膜早破产妇和新生儿结局的高危因素分析[J]. 河北医药, 2017, 39(10): 1493-1495.
- [5] BENNETT P R, BROWN R G, MACINTYRE D A. Vaginal microbiome in preterm rupture of membranes[J]. *Obstet Gynecol Clin North Am*, 2020, 47(4): 503-521.
- [6] GUO M X, LU J, YU X M, et al. The protective role of serum uric acid against premature membrane rupture in gestational diabetes: a cross-sectional study[J]. *BMC Endocr Disord*, 2021, 21(1): 95.
- [7] WANG S, BAI J. Functions and roles of IFIX, a member of the human HIN-200 family, in human diseases[J]. *Mol Cell Biochem*, 2022, 477(3): 771-780.
- [8] 谢幸, 孔北华, 段涛, 等. 妇产科学[M]. 第 9 版. 北京: 人民卫生出版社, 2018: 154-156.
- [9] 张晓杰. 妇产科病理学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2013: 245-246.
- [10] 徐晓英, 牛建丽, 谢志平, 等. 外周血中细胞因子表达水平与孕妇胎膜早破及新生儿围生期感染的相关性研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2017, 27(19): 4507-4510.
- [11] LIU L, XU H J, CHEN J L, et al. Detection of vaginal metabolite changes in premature rupture of membrane patients in third trimester pregnancy: a prospective cohort study[J]. *Reprod Sci*, 2021, 28(2): 585-594.
- [12] ZHU J M, MA C L, LUAN X M, et al. Inflammasome components and ADAMTS4 in premature rupture of membranes[J]. *Mol Med Rep*, 2021, 23(2): 101.
- [13] 张展, 王会平, 石瑛, 等. IFI16 在子痫前期孕妇胎盘组织和血清中的表达及其与子痫前期发病的相关性[J]. 现代妇产科进展, 2017, 26(1): 11-14.
- [14] İFLAZOĞLU N, EROĞLU H, TOLUNAY H E, et al. Comparison of the maternal serum endocan levels in preterm premature rupture of membrane and normal pregnancy[J]. *J Obstet Gynaecol Res*, 2021, 47(9): 3151-3158.
- [15] SHI X L, LI S H, WANG L, et al. RalB degradation by dihydroartemisinin induces autophagy and IFI16/Caspase-1 inflammasome depression in the human laryngeal squamous cell carcinoma[J]. *Chin Med*, 2020, 15(1): 64.
- [16] 孙雅琳. 未足月胎膜早破的危险因素及妊娠结局分析[J]. 实用临床医药杂志, 2019, 23(3): 99-102.
- [17] 张素娥, 陈雪雨, 陈春, 等. 胎膜早破对超早产儿早期预后的影响[J]. 中国当代儿科杂志, 2021, 23(1): 25-30.
- [18] 高磊, 刘晓巍, 姜艳, 等. 未足月胎膜早破危险因素分析及对母婴结局的影响[J]. 中国临床医生杂志, 2019, 47(2): 164-167.
- [19] VIJAYARAJ S L, FELTHAM R, RASHIDI M, et al. The ubiquitylation of IL-1 β limits its cleavage by Caspase-1 and targets it for proteasomal degradation[J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 2713.
- [20] 董婉茹, 李寒, 李云凤, 等. 基于骨骼肌 NLRP3/Caspase-1/IL-1 β 、IL-18 通路的黄连温胆汤改善 IGT 机制研究[J]. 中国中药杂志, 2021, 46(17): 4480-4487.
- [21] 王素文, 赖思煜, 习利军, 等. 黄芩甲苷调节人牙周膜细胞炎症反应及成骨分化的作用及机制研究[J]. 口腔医学研究, 2020, 36(2): 121-125.
- [22] LI D P, XIE L F, QIAO Z G, et al. IFI16 isoforms with cytoplasmic and nuclear locations play differential roles in recognizing invaded DNA viruses[J]. *J Immunol*, 2021, 207(11): 2699-2709.
- [23] GATTA L A, HUGHES B L. Premature rupture of membranes with concurrent viral infection[J]. *Obstet Gynecol Clin North Am*, 2020, 47(4): 605-623.
- [24] CAI H N, YAN L, LIU N, et al. IFI16 promotes cervical cancer progression by upregulating PD-L1 in immunomicroenvironment through STING-TBK1-NF- κ B pathway[J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 123(36): 790-792.
- [25] LI N, HE F, GAO H, et al. Elevated cell-free fetal DNA contributes to placental inflammation and antiangiogenesis via AIM2 and IFI16 during pre-eclampsia[J]. *J Cell Physiol*, 2020, 235(12): 9577-9588.

(李科 编辑)

本文引用格式: 任艺, 朱锦明, 卢彩红, 等. 干扰素诱导蛋白 16 在胎膜早破孕妇血清、胎盘组织中的表达及其意义[J]. 中国现代医学杂志, 2022, 32(24): 1-5.

Cite this article as: REN Y, ZHU J M, LU C H, et al. Expression and clinical significance of interferon-inducible protein 16 in the serum and placental tissues of pregnant women with premature rupture of membranes[J]. *China Journal of Modern Medicine*, 2022, 32(24): 1-5.