

子痫前期患者血清中基质金属蛋白酶2和9及其抑制因子的水平研究

何 慧*,蔡怡琦,周冬梅,郑 翠,杨 如

(苏州市市立医院东区妇产科,江苏 苏州 215001)

[摘要] 目的:研究子痫前期患者血清中的基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMP)-2和MMP-9及其抑制因子(tissue inhibitors of matrix metalloproteinases, TIMP)2与TIMP1的表达水平。方法:选取88例妊娠妇女,其中25例妊娠高血压、18例子痫前期轻度患者、15例子痫前期重度患者及30例正常妊娠者,采用ELISA法检测血清中的MMP-2、MMP-9、TIMP1及TIMP2的表达水平,并计算MMP-2净含量(MMP-2/TIMP2)和MMP-9净含量(MMP-9/TIMP1)。结果:子痫前期患者血清中MMP-2含量显著增高。子痫前期重度组含量达 (2.58 ± 0.33) ng/ml,该组MMP-2含量及净含量(MMP-2/TIMP2)较其他各组均显著增加($P < 0.05$)。相反,子痫前期患者血清中MMP-9含量明显降低,而正常妊娠组MMP-9含量为 (0.79 ± 0.20) ng/ml,其MMP-9含量及净含量(MMP-9/TIMP1)较其他各组均增高($P < 0.05$)。结论:子痫前期患者血清中MMP-2表达增加,MMP-2可能是妊娠高血压疾病的主要相关因子。

[关键词] 子痫前期;血清;基质金属蛋白酶

[中图分类号] R714.244

[文献标志码] B

[文章编号] 1007-4368(2015)02-246-03

doi: 10.7655/NYDXBNS20150226

全球妊娠期高血压的发生率达到10%,已成为发展中国家孕产妇死亡的主要原因之一^[1]。孕期20周后发生的高血压可分为妊娠高血压、子痫前期及子痫。研究均显示胎盘缺血缺氧是子痫前期的主要诱发因素^[2]。基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMP)是一组具有重塑和改造细胞外基质(ECM)成分特性的锌、钙依赖性的内肽酶,其活性受内源性MMP抑制因子(tissue inhibitors of matrix metalloproteinases, TIMP)调节^[3]。已有研究发现MMP-2和MMP-9参与胎盘和子宫螺旋动脉的重塑^[4],但目前该具体机制尚不明确,而且有关子痫前期患者的MMP-2和MMP-9活性及含量变化的研究结果也不相同^[5]。因此本研究旨在检测妊娠期高血压患者外周血中的MMP-2、MMP-9、TIMP1及TIMP2的表达水平,并计算MMP-2净含量(MMP-2/TIMP2)和MMP-9净含量(MMP-9/TIMP1),探讨MMPs在妊娠高血压发病中作用。

1 对象和方法

1.1 对象

选取2010年8月~2013年6月在本院就诊的妊娠期高血压患者58例作为研究对象,其中妊娠高血

压组(H)25例、子痫前期轻度组(L)18例和子痫前期重度组(M)15例。另外选取血压正常妊娠者30例作为正常对照组(N)。诊断及分类标准参照《妇产科学》(人民卫生出版社,第6版)。排除标准:妊娠前或孕期20周前发生高血压者、双胞胎或多胎者、有其他确诊并发症和合并症者。所有研究对象孕期30~36周,年龄25~35岁,各组间年龄和孕期无显著性差异。

1.2 方法

1.2.1 标本采集

所有研究对象早晨空腹抽血,然后室温下离心(1 500 g, 10 min),血清存储于-70℃冰箱内以备检测。

1.2.2 指标检测

MMP-2、MMP-9、TIMP1及TIMP2的含量均采用双抗体夹心ELISA法,试剂盒为上海蓝基生物公司提供。具体步骤为:①从-70℃超低温冰箱中取出标本解冻。从4℃冰箱中取出试剂盒,室温放置20 min;②空白孔加标准品各50 μl,空白对照孔加50 μl蒸馏水;③各孔中加100 μl酶标记溶液(空白对照不加)。37℃孵育60 min;④洗板5次,用吸水纸把板彻底拍干;⑤每孔依次加入显色剂A、B各50 μl,室温下避光孵育15 min;⑥加入终止液50 μl/孔,终止反应。30 min内,在酶标仪(MK3, Thermo公司,美国)上450 nm处,读取吸光值。每个标本检测2次,取其平均值。测得各组MMP-2、MMP-9、TIMP1及TIMP2的含量后,再分别

[基金项目] 苏州市科技计划项目(SYS201048)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: hjzhu1977@163.com

计算 MMP-2 净含量(MMP-2/TIMP2)和 MMP-9 净含量(MMP-9/TIMP1)。

1.3 统计学方法

应用 SPSS13.0 统计软件进行结果分析,采用 Kruskal Wallis 检验,并采用 LSD 法进行组间的两两比较。

2 结 果

2.1 各组 MMP-2 与 MMP-9 的表达水平

子痫前期重度组患者外周血中的 MMP-2 含量最高,达(2.58 ± 0.33)ng/ml,而血压正常妊娠组外周血 MMP-2 含量为(0.47 ± 0.16)ng/ml,前者是后者的 5.47 倍。子痫前期重度组患者外周血中的 MMP-2 含量较其他组增加均有统计学意义 ($P < 0.05$)。MMP-9 在血压正常妊娠组含量最大,为(0.79 ± 0.20)ng/ml,较其他各组 MMP-9 含量增加均有统计学意义($P < 0.05$),而子痫前期重度组 MMP-9 含量最低,是(0.30 ± 0.11)ng/ml。MMP-9 外周血含量在子痫前期轻度组与子痫前期重度组无统计学意义($P > 0.05$,表 1)

表 1 各组 MMP-2、MMP-9、TIMP1 与 TIMP2 的表达水平
(ng/ml, $\bar{x} \pm s$)

指标	N 组	H 组	L 组	M 组
MMP-2	0.47 ± 0.16	0.77 ± 0.23 ^③	1.51 ± 0.28 ^②	2.58 ± 0.33 ^①
MMP-9	0.79 ± 0.20 ^①	0.47 ± 0.17 ^④	0.36 ± 0.10	0.30 ± 0.11
TIMP1	0.54 ± 0.11	0.73 ± 0.15 ^③	1.25 ± 0.29 ^①	1.04 ± 0.17 ^②
TIMP2	0.49 ± 0.13	0.40 ± 0.11	0.66 ± 0.09 ^②	0.78 ± 0.13 ^①

①:与其他各组比较, $P < 0.05$;②:与 N、L 组比较, $P < 0.05$;
③:与 N 组比较, $P < 0.05$;④:与 L、M 组比较, $P < 0.05$ 。

2.2 各组 TIMP1 与 TIMP2 的表达水平

TIMP1 在子痫前期轻度组患者外周血中含量最高,达(1.25 ± 0.29)ng/ml,较其他各组的 TIMP1 含量均显著增加 ($P < 0.05$),是血压正常妊娠组 TIMP1 含量的 2.33 倍。子痫前期重度组患者外周血中的 TIMP2 含量为(0.78 ± 0.13)ng/ml,较其他组增加均有统计学意义($P < 0.05$),而血压正常妊娠组 TIMP2 含量最低,是(0.49 ± 0.13)ng/ml(表 1)。

2.3 各组 MMP-2/TIMP-2 与 MMP9/TIMP1

子痫前期重度组患者外周血中的 MMP-2/TIMP2 值最高,较其它各组 MMP-2/TIMP2 值均显著增加($P < 0.05$),而血压正常妊娠组外周血 MMP-2/TIMP2 值最低,妊娠高血压组与子痫前期轻度组的 MMP-2/TIMP2 值无显著差异性($P > 0.05$,图 1)。MMP-9/TIMP1 值在血压正常妊娠组最大,较其他

各组均有显著性差异($P < 0.05$),而在子痫前期重度组最小。子痫前期轻度组与子痫前期重度组的 MMP-9/TIMP1 值无显著性差异($P > 0.05$,图 2)。

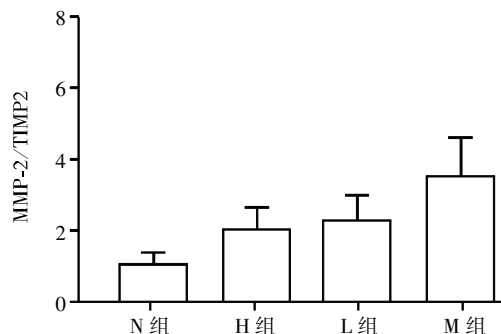


图 1 各组 MMP2/TIMP2

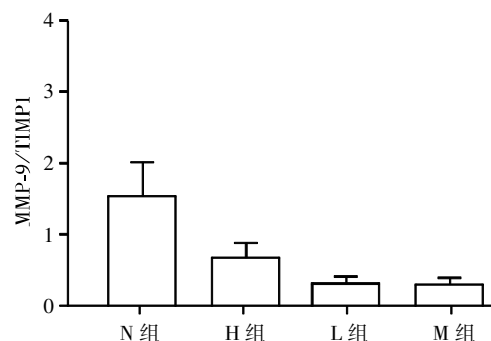


图 2 各组 MMP9/TIMP1

3 讨 论

血管内皮功能障碍是子痫前期的主要病理改变,而 MMP-2 活性增加会导致血管内皮功能障碍^[6]。MMP-2 还可以调节子宫自然杀伤细胞的蛋白酶活性,而后者参与调节滋养细胞的侵袭性和子宫螺旋动脉的重塑^[7]。Davidge 等^[8]研究发现子痫前期患者外周血中的 MMP-2 明显增高。本研究发现 MMP-2 含量较血压正常妊娠组明显增高,其中子痫前期重度组增高最显著。这提示 MMP-2 含量可能与子痫前期病情严重程度有关。MMP-2 可以通过裂解血管活性肽降低子痫前期患者血管舒张功能而增加血管收缩功能。血压正常妊娠者不同妊娠期 MMP-2 含量可以正常调节,而子痫前期患者的这种平衡调节能力被严重损害^[8]。本研究还发现虽然子痫前期患者外周血中 TIMP2 含量也显著提高,但 MMP-2/TIMP2 即 MMP-2 净含量还是以子痫前期重度组增加最明显。这与 Palei 等^[9]研究报道相类似。Hurst 等^[10]发现 TIMP-2 主要存在于初级蜕膜组织,参与调节蜕膜组织侵袭,而葡萄胎及绒毛膜癌组织中的 TIMP-2 蛋白含量及 mRNA 均显著降低,这提示 MMPs-TIMPs 不平衡与这些疾病的发生有关^[11]。有研究报道称

子痫前期患者在尚未确诊之前,其外周血中的 MMP-2 含量已经明显提高^[12]。子痫前期内皮细胞产生释放 MMP-2 的量明显高于正常细胞^[13]。因此 MMP-2 的净活性增加也许是血管内皮功能障碍的促成因素。

与 MMP-2 表达相反,有研究发现子痫前期患者外周血及胎盘组织中的 MMP-9 表达均减少^[14]。这些与本文研究结果类似,本研究发现 MMP-9 在血压正常妊娠组含量最高,子痫前期重度组含量最低。另外与 Palei 等^[15]报道相仿,本文发现子痫前期组外周血的 TIMP1 含量显著增加,血压正常妊娠组 MMP-9/TIMP1、即 MMP-9 净活性最高。但是子痫前期轻度组与子痫前期重度组的 MMP-9/TIMP1 值无显著性差异。这提示 MMP-9 可能是正常妊娠的重要调节因子,因为正常妊娠者外周血中的 MMP-9 与孕期相关^[14],而抑制 MMP-9 活性可以阻滞滋养层细胞侵袭,MMP-9 基因敲除大鼠胎盘植入受限,最终发展为子痫前期表现^[16],因此 MMP-9 变异被认为是预测发生子痫前期的易感指标^[17]。

本研究结果显示子痫前期重度组 MMP-2 净含量最高,而正常血压妊娠组 MMP-9 净含量最大,这提示 MMP-2 可能是妊娠高血压发病的主要相关因子,联合监测 MMP-2 与 MMP-9 净含量有利于观察和判断病情变化。

[参考文献]

- [1] Hutcheon JA, Lisonkova S, Joseph KS. Epidemiology of preeclampsia and the other hypertensive disorders of pregnancy [J]. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*, 2011, 25(4): 391-403
- [2] Granger JP, Alexander BT, Llinas MT, et al. Pathophysiology of preeclampsia: linking placental ischemia/hypoxia with microvascular dysfunction [J]. *Microcirculation*, 2002, 9(3): 147-160
- [3] Visse R, Nagase H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry [J]. *Circ Res*, 2003, 92(8): 827-839
- [4] Isaka K, Usuda S, Ito H, et al. Expression and activity of matrix metalloproteinase 2 and 9 in human trophoblasts [J]. *Placenta*, 2003, 24(1): 53-64
- [5] Palei AC, Granger JP, Tanus-Santos JE. Matrix metalloproteinases as drug targets in preeclampsia [J]. *Curr Drug Targets*, 2013, 14(3): 325-334
- [6] Shibahara H, Suzuki T, Kikuchi K, et al. Serum matrix metalloproteinase and tissue inhibitor of metalloproteinase concentrations in infertile women achieved pregnancy following IVF-ET [J]. *Am J Reprod Immunol*, 2005, 54(4): 186-192
- [7] Naruse K, Lash GE, Innes BA, et al. Localization of matrix metalloproteinase (MMP)-2, MMP-9 and tissue inhibitors for MMPs (TIMPs) in uterine natural killer cells in early human pregnancy [J]. *Hum Reprod*, 2009, 24(3): 553-561
- [8] Narumiya H, Zhang Y, Fernandez-Patron C, et al. Matrix metalloproteinase-2 is elevated in the plasma of women with preeclampsia [J]. *Hypertens Pregnancy*, 2001, 20(2): 185-194
- [9] Palei AC, Sandrim VC, Amaral LM, et al. Association between matrix metalloproteinase (MMP)-2 polymorphisms and MMP-2 levels in hypertensive disorders of pregnancy [J]. *Exp Mol Pathol*, 2012, 92(2): 217-221
- [10] Hurst PR, Palmay RD. Matrix metalloproteinases and their endogenous inhibitors during the implantation period in the rat uterus [J]. *Reprod Fertil Dev*, 1999, 11(7-8): 395-402
- [11] Okamoto T, Niu R, Yamada S, et al. Reduced expression of tissue inhibitor of metalloproteinase (TIMP)-2 in gestational trophoblastic diseases [J]. *Mol Hum Reprod*, 2002, 8(4): 392-398
- [12] Myers JE, Merchant SJ, Macleod M, et al. MMP-2 levels are elevated in the plasma of women who subsequently develop preeclampsia [J]. *Hypertens Pregnancy*, 2005, 24(2): 103-115
- [13] Merchant SJ, Narumiya H, Zhang Y, et al. The effects of pre-eclampsia and oxygen environment on endothelial release of matrix metalloproteinase-2 [J]. *Hypertens Pregnancy*, 2004, 23(1): 47-60
- [14] Montagnana M, Lippi G, Albiero A, et al. Evaluation of metalloproteinases 2 and 9 and their inhibitors in physiologic and pre-eclamptic pregnancy [J]. *J Clin Lab Anal*, 2009, 23(2): 88-92
- [15] Palei AC, Sandrim VC, Amaral LM, et al. Matrix metalloproteinase-9 polymorphisms affect plasma MMP-9 levels and antihypertensive therapy responsiveness in hypertensive disorders of pregnancy [J]. *Pharmacogenomics J*, 2012, 12(6): 489-498
- [16] Plaks V, Rinkenberger J, Dai J, et al. Matrix metalloproteinase-9 deficiency phenocopies features of preeclampsia and intrauterine growth restriction [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013, 110(27): 11109-11114
- [17] Rahimi Z, Rahimi Z, Shahsavandi MO, et al. MMP-9 (-1562 C:T) polymorphism as a biomarker of susceptibility to severe pre-eclampsia [J]. *Biomark Med*, 2013, 7(1): 93-98