

瘦素对滋养细胞侵袭能力和内皮细胞损伤的影响及与子痫前期关系的研究

李新叶

(兰州石化总医院(甘肃中医药大学第四附属医院) 730060)

【摘要】目的:探讨瘦素对滋养细胞侵袭能力和内皮细胞损伤的影响及与子痫前期发病的相关性,为阐明子痫前期发病机制提供实验依据。方法:选取正常妊娠孕妇20例、子痫前期患者10例(轻度5例、重度5例),采用ELISA检测血清瘦素、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)及脂联素水平;免疫组织化学法和RT-PCR检测胎盘组织相关因子蛋白及mRNA表达。体外培养TEV-1滋养细胞和VEC304内皮细胞,经CoCl₂诱导缺氧及瘦素、TNF- α 干预后,MTT法检测细胞增殖,Transwell实验检测滋养细胞侵袭能力。结果:子痫前期患者血清及胎盘组织瘦素、TNF- α 表达升高,脂联素降低,与病情严重程度相关($P<0.05$)。缺氧上调滋养细胞和内皮细胞瘦素mRNA表达,抑制细胞增殖,24h时滋养细胞侵袭能力抑制最显著($P<0.05$)。瘦素以浓度依赖方式促进滋养细胞侵袭,TNF- α 促进滋养细胞瘦素分泌及侵袭,二者参与内皮细胞损伤。结论:瘦素表达异常通过调控滋养细胞侵袭、损伤内皮细胞,与TNF- α 、脂联素协同作用,参与子痫前期发病。

【关键词】子痫前期;瘦素;滋养细胞;内皮细胞;侵袭能力

The Impact of Leptin on Trophoblast Invasion Capacity and Endothelial Cell Damage and Its Association with Preeclampsia

Li Xinye

(Lanzhou Petrochemical General Hospital (Fourth Affiliated Hospital of Gansu University of Chinese Medicine) 730060)

[Abstract] Objective: To investigate the effects of leptin on the invasive capacity of trophoblasts and endothelial cell damage, as well as its correlation with preeclampsia, providing experimental evidence for elucidating the pathogenesis of preeclampsia. Methods: Twenty normal pregnant women and ten preeclamptic patients (five with mild and five with severe cases) were selected. Serum leptin, tumor necrosis factor- α (TNF- α), and adiponectin levels were measured by ELISA. Immunohistochemistry and RT-PCR were used to detect the protein and mRNA expression of relevant factors in placental tissues. TEV-1 trophoblasts and VEC304 endothelial cells were cultured in vitro, induced by CoCl₂ for hypoxia and treated with leptin and TNF- α . Cell proliferation was assessed by the MTT method, and trophoblast invasive capacity was evaluated via Transwell assays. Results: Serum and placental tissue leptin and TNF- α levels were elevated, while adiponectin was reduced in preeclamptic patients, correlating with disease severity ($P<0.05$). Hypoxia upregulated leptin mRNA expression in trophoblasts and endothelial cells, inhibited cell proliferation, and most significantly suppressed trophoblast invasive capacity at 24 hours ($P<0.05$). Leptin promoted trophoblast invasion in a concentration-dependent manner, while TNF- α enhanced leptin secretion and trophoblast invasion, both contributing to endothelial cell damage. Conclusion: Abnormal leptin expression, by regulating trophoblast invasion and damaging endothelial cells, synergizes with TNF- α and adiponectin to participate in preeclampsia pathogenesis.

[Key words] preeclampsia; leptin; trophoblasts; endothelial cells; invasive capacity

引言

子痫前期是妊娠期特有的血管性疾病,妊娠早期发生病理生理改变,20周以后才出现高血压、蛋白尿的临床症状,全球平均发病率为3%~8%。子痫前期造成胎儿生长受限、胎儿宫内窒息,是导致母亲和胎儿发病及死亡的重要原因。目前临床上只有对症治疗,没有有效的预防措施^[1]。为了挽救母婴健康,常被迫提前进行紧急剖宫产手术来终止妊娠,从而造成严重的医源性早产和剖宫产并发症。因此,对子痫前期进行的研究对于早期发现、早期诊断、早期治疗子痫前期,降低孕产妇死亡率、提高新生儿存活率具有重大意义^[2]。因此本研究拟采取临床样本检测和体外细胞实验相结合的方法,对子痫前期患者的血清以及胎盘组织中瘦素、TNF- α 、脂联素的表达差异进行系统分析,在缺氧环境下研究瘦

素对滋养细胞增殖、侵袭能力以及内皮细胞增殖功能的影响,确定瘦素与其他脂肪细胞因子之间的关系,并探究瘦素在子痫前期发病中的作用机制,希望可以为子痫前期的早期诊断提供新的生物标志物,为临床干预提供新的理论依据及靶点方向。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选择2024年1月到2025年11月在本院产科住院剖宫产分娩的孕妇20例,分为正常妊娠组10例和子痫前期组10例(轻度5例、重度5例)。两组年龄、孕周均衡可比,无原发性高血压、心肝肾及内分泌疾病史,无胎膜早破、早

产、感染迹象。本研究经过医院伦理委员会的批准，所有研究对象都签署了知情同意书。

1.2 实验试剂与仪器

leptin/TNF- α /adiponectinELISAKit (深圳晶美生物、美国 B-Brige 公司); 兔抗人 leptin/TNF- α 多克隆抗体、羊抗人 adiponectin 多克隆抗体 (美国 R&D 公司、武汉博士德生物); DMEM/F12、RPMI-1640 培养基及胎牛血清 (Hyclone、Bioind 公司); CoCl₂、重组人 leptin/TNF- α 蛋白 (Sigma、R&D 公司); PCR 扩增仪 (珠海市 Hema 公司)、酶标仪 (Labsystems 公司)、Transwell 小室 (CorningCostar 公司) 等。

1.3 实验方法

1.3.1 标本处理

胎盘娩出后, 无菌剪取胎盘脐带根部附着处母体面中央组织 (1.0cm \times 1.0cm \times 1.0cm) 2 块, 一块置于 -80 $^{\circ}$ C 冰箱保存, 用于 RT-PCR 检测; 另一块用 4% 多聚甲醛固定, 常规脱水、包埋、切片, 用于免疫组织化学检测。采集孕妇静脉血 4ml, 37 $^{\circ}$ C 水浴 1 小时后, 以 3000 转/分钟离心 10 分钟, 分离血清, 于 -80 $^{\circ}$ C 保存待测。

1.3.2 血清及胎盘组织检测

严格按照 ELISA 试剂盒说明书检测血清因子水平, 用 SP 法进行免疫组化检测胎盘蛋白表达, 根据染色强度和面积积分来判断结果, 使用 Trizol 法提取总 RNA, RT-PCR 检测 mRNA 表达, 计算目的基因与内参基因灰度值比值, 引物序列和反应条件按需设定。

1.3.3 细胞实验

TEV-1 细胞用 DMEM/F12 培养基, VEC304 细胞用 RPMI-1640 培养基, 37 $^{\circ}$ C、5%CO₂ 培养。设置正常对照组、缺氧组 (300 μ mol/LCoCl₂) 及瘦素 (5、50、500ng/ml)、TNF- α (20、40、80ng/ml) 干预组。MTT 法检测 OD492nm 值评

估增殖; Transwell 实验铺 Matrigel 基质胶, 孵育 24 小时后计数侵袭细胞, 计算侵袭指数。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 22.0 软件分析, 计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比较用 t 检验或方差分析, 相关性用 Spearman 等级相关检验, P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 正常妊娠与子痫前期患者血清因子水平比较

子痫前期患者血清瘦素水平随病情加重升高, 脂联素水平降低, 重度组 TNF- α 显著高于正常组 (P<0.05)。重度组瘦素与 TNF- α 呈正相关 (r=0.478, P<0.05), 脂联素与 TNF- α 呈负相关 (r=-0.536, P<0.05)。见表 1。

2.2 胎盘组织相关因子 mRNA 表达比较

子痫前期胎盘瘦素 mRNA 表达显著高于正常组, 脂联素 mRNA 表达显著低于正常组, 重度组变化更明显 (P<0.05)。见表 2。

2.3 缺氧对滋养细胞增殖及侵袭能力的影响

缺氧组滋养细胞 OD492nm 值显著低于正常对照组, 24h 时增殖抑制最明显; 缺氧 24h 滋养细胞侵袭指数显著低于正常对照组 (P<0.05)。见表 3。

2.4 不同浓度瘦素对滋养细胞侵袭能力的影响

不同浓度瘦素均能促进滋养细胞侵袭, 呈浓度依赖关系, 500ng/ml 组侵袭指数最高, 与对照组差异有统计学意义 (P<0.05)。见表 4。

2.5 缺氧对上皮细胞增殖能力的影响

缺氧组上皮细胞 OD492nm 值显著低于正常对照组, 48h 时增殖抑制最显著 (P<0.05)。见表 5。

表 1 两组孕妇血清瘦素、脂联素

组别	例数	瘦素	脂联素	TNF- α
正常妊娠组	10	4041.97 \pm 455.39	12.73 \pm 2.90	62.89 \pm 82.85
子痫前期组	轻度 5/	4308.60 \pm 378.83/	8.06 \pm 5.06/	73.33 \pm 57.91/
	重度 5	4476.39 \pm 115.18	5.28 \pm 1.47	538.50 \pm 551.25

表 2 胎盘组织 leptin 和 adiponectinmRNA 表达量 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	leptinmRNA	adiponectinmRNA
正常妊娠组	10	0.564 \pm 0.336	1.610 \pm 0.528
子痫前期组	轻度 5/	0.778 \pm 0.175/	1.363 \pm 0.475/
	重度 5	1.174 \pm 0.556	0.636 \pm 0.218

表 3 缺氧对滋养细胞增殖及侵袭能力的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	6hOD 值	12hOD 值	24hOD 值	24h 侵袭指数
正常对照组	0.84 \pm 0.26	1.00 \pm 0.13	1.55 \pm 0.39	1.00 \pm 0.00
缺氧实验组	0.57 \pm 0.14	0.59 \pm 0.10	0.34 \pm 0.03	0.69 \pm 0.30

表 4 不同浓度瘦素对滋养细胞侵袭能力的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	终浓度 (ng/ml)	侵袭指数
对照组	-	1.00 \pm 0.00
瘦素干预组	5	1.47 \pm 1.03
瘦素干预组	50	2.68 \pm 1.89
瘦素干预组	500	3.19 \pm 1.62

表5 缺氧对内皮细胞增殖能力的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	6hOD 值	12hOD 值	24hOD 值	48hOD 值
正常对照组	1.51 ± 0.09	1.48 ± 0.29	1.37 ± 0.12	2.66 ± 0.10
缺氧实验组	0.85 ± 0.08	1.00 ± 0.23	0.75 ± 0.03	0.83 ± 0.24

3 结论

子痫前期属于妊娠期特有的严重并发症,发病机制复杂,胎盘浅着床、血管重铸障碍是主要环节,滋养细胞功能异常、内皮细胞损伤在疾病进展中起着关键作用。瘦素属于多功能脂肪细胞因子,在妊娠期主要是胎盘滋养细胞分泌,其表达异常与子痫前期的关系受到人们的关注^[1]。本文从临床样本、细胞实验从两方面入手,系统探讨了瘦素对滋养细胞侵袭能力、内皮细胞损伤的影响以及与子痫前期的关系。

本研究采用临床样本检测和体外细胞实验相结合的方式,对瘦素与子痫前期发病的关系及调控机制进行了系统的探究。结果表明,瘦素表达异常与子痫前期发病密切相关。瘦素表达水平随病情严重程度呈梯度变化,进一步说明瘦素可以作为反映病情进展的潜在指标。具体的结论如下:

① 临床样本检测显示,子痫前期患者血清瘦素、TNF- α 水平比正常妊娠组高很多,重度子痫前期组更高,脂联素水平相反,胎盘组织中瘦素 mRNA 表达上调、脂联素 mRNA 表达下调,与血清因子变化趋势一致。相关性分析显示重度妊娠患者血清瘦素与 TNF- α 呈正相关 ($r=0.478, P<0.05$),脂联素与 TNF- α 呈负相关 ($r=-0.536, P<0.05$),说明瘦素、TNF- α 和脂联素构成的脂肪细胞因子网络失衡,可能通过协同调控炎症反应参与子痫前期的病理生理过程。

② 体外缺氧诱导实验表明胎盘缺氧是瘦素表达上调的重要原因,缺氧状态明显抑制 TEV-1 滋养细胞、VEC304 内皮细胞的增殖能力,滋养细胞在缺氧 24h 时增殖抑制最明显,其侵袭指数比正常对照组明显降低 (0.69 ± 0.30 vs $1.00 \pm 0.00, P<0.05$)。滋养细胞侵袭能力不足是造成胎盘浅着床、螺旋动脉重塑障碍的主要原因,病理改变会加重胎盘缺血缺氧,形成恶性循环。

参考文献:

- [1]JungE, omeroR, YeoL, Gomez-LopezN, ChaemsaitongP, JaovisidhaA, etal.Theetiology of preeclampsia.AmJObstetGynecol2022, 226 (2s): S844-s866.
- [2]Preeclampsia, FetalGrowthRestriction, andMaternalChronicVenousDisease.Cells2022, 11 (3) .
- [3]付帅, 钟轶磊, 祝丽琼, 等.瘦素与复发性流产患者胚胎丢失间关系的初步研究[J].中国医刊, 2020, 55 (3): 4.
- [4]廖文珺, 王洁.妊娠高血压综合征患者血清高分子量脂联素水平对滋养细胞 p53 稳态的调节和继发妊娠子痫的影响[J].吉林医学, 2022 (005): 043.
- [5]董召刚, 邓碧萍, 杨美香, 等.瘦素对绒毛滋养细胞 MMP-2/TIMP-2 表达的调控作用[C]//第六届全国免疫学学术大会.0[2025-12-17].

作者简介:李新叶,1976.1.31,女,甘肃临洮,汉族,本科,主任医师,研究方向:妇科肿瘤和危重产科。

③ 不同浓度的瘦素干预实验结果表明,瘦素对于滋养细胞侵袭功能的调节具有浓度依赖性。低浓度瘦素 (5ng/ml) 可轻微促进滋养细胞侵袭,参与正常妊娠时胎盘的生理性形成。随着浓度的升高 (50ng/ml、500ng/ml),促侵袭作用增强。500ng/ml 组的侵袭指数为 $3.19 \pm 1.62 (P<0.05)$,说明高浓度瘦素会过度激活滋养细胞侵袭功能,扰乱胎盘形成。TNF- α 可以协同瘦素一起增强滋养细胞的侵袭能力,两者都是胎盘来源的毒性因子,共同调节下游的炎症通路或者氧化应激反应来参与内皮细胞的损伤。

④ 内皮细胞损伤是子痫前期患者出现全身血管痉挛、高血压等典型临床症状的根本病理基础。本研究体外实验发现,缺氧会明显抑制内皮细胞的增殖,48 小时抑制效果最好,即 OD 值为 0.83 ± 0.24 ,比正常对照组的 2.66 ± 0.10 低很多, $P<0.05$ 。瘦素和缺氧的共同作用会加重内皮细胞的功能紊乱,破坏血管内皮屏障的完整性,促进血管收缩相关因子的分泌,从而促进子痫前期病情的发展。

内皮细胞损伤是子痫前期全身症状的重要病理基础^[4]。本研究中瘦素、TNF- α 为胎盘来源的毒性因子,促进内皮细胞的瘦素表达,虽然瘦素对内皮细胞的增殖没有直接的作用,但是可能通过氧化应激、炎症反应等途径造成内皮损伤。缺氧还会抑制内皮细胞的增殖,加重损伤。瘦素和缺氧的协同作用会加重血管内皮功能紊乱,引起全身小动脉痉挛、高血压等临床症状^[5]。

综上,瘦素通过调节滋养细胞的侵袭功能、参与内皮细胞损伤,并与 TNF- α 、脂联素相互作用,共同构成子痫前期发病的重要机制。本研究为子痫前期的早期诊断提供了潜在的生物标志物,也为临床干预提供了新的靶点方向,需要进一步研究瘦素调控上述细胞功能的具体信号通路,为优化治疗策略提供更充分的实验依据。