氧化低密度脂蛋白、白细胞介素-22 及白细胞介素-24 在子痫前期患者相关组织中的表达水平及相关意义

汪俊¹,王芳¹,史亚男²

(1. 武汉科技大学附属汉阳医院妇科,湖北 武汉 430100;2. 中山大学,广东 广州 510275)

摘要:目的 研究氧化低密度脂蛋白(ox-LDL)、白细胞介素-22(IL-22)以及白细胞介素-24(IL-24)在子痫前期(PE)患者血清及胎盘组织中的表达水平及其与PE疾病程度的相关性。**方法** 选取40例PE患者,根据患者病情将全部患者分为轻度组20例,重度组20例,另选取同期接受常规孕检并最终顺利分娩的20例作为对照组;分别测定三组孕妇血清及胎盘组织中的ox-LDL、IL-22以及IL-24表达水平并进行对比,分析血清ox-LDL与血清IL-22、IL-24的相关性,PE病情与ox-LDL、IL-22、IL-24的相关性。**结果** 重度组患者分娩时孕周显著低于对照组与轻度组($P < 0.01$)。重度组患者血清中ox-LDL、IL-22、IL-24表达水平均显著高于对照组与轻度组($P < 0.01$);轻度组显著高于对照组($P < 0.01$);经进一步统计学分析三组组间对比ox-LDL、IL-22、IL-24表达水平均差异有统计学意义($P < 0.01$)。血清中ox-LDL与IL-22、IL-24均具有显著正相关性($0 < r < 1, P < 0.01$)。重度组患者胎盘组织中ox-LDL、IL-22、IL-24表达水平均显著高于对照组与轻度组($P < 0.01$);轻度组显著高于对照组($P < 0.01$);经进一步统计学分析三组组间对比ox-LDL、IL-22、IL-24表达水平均差异有统计学意义($P < 0.01$)。胎盘组织中ox-LDL、IL-22、IL-24表达水平与PE病情严重程度均呈显著正相关性($0 < r < 1, P < 0.01$)。**结论** ox-LDL、IL-22、IL-24三项间密切相关,在PE患者的血清与胎盘组织中ox-LDL与IL-24均见过高表达,而IL-22随病情进展及ox-LDL与IL-24的高表达可见代偿性升高表达,三者的表达水平与PE病情的严重程度呈相关性;因此血清ox-LDL、IL-22、IL-24表达水平对于PE的诊断、病情进展及疗效评估均具有重要意义。

关键词:子痫前期;白细胞介素-22;白细胞介素-24;氧化低密度脂蛋白

doi:10.3969/j.issn.1009-6469.2018.02.015

Expression of ox-LDL, IL-22 and IL-24 in the tissues of patients with preeclampsia and its significance

WANG Jun¹, WANG Fang¹, SHI Yanan²

(1. Hanyang Hospital Affiliated to Wuhan University of Science and Technology, Wuhan, Hubei 430100, China;

2. Sun Yat-sen University, Guangzhou, Guangdong 510275, China)

Abstract: Objective To study the expression of oxidized low-density lipoprotein(ox-LDL), IL-22 and IL-24 in the serum and placenta of patients with preeclampsia and the correlation with the degree of preeclampsia. **Methods** Forty patients with preeclampsia were enrolled. All patients were divided into mild group ($n = 20$) and severe group ($n = 20$) according to the patient's condition. The levels of ox-LDL, IL-22 and IL-24 in serum and placental tissue of the three groups were measured and compared. IL-22, IL-24 and the relationship between ox-LDL, IL-22 and IL-24 in preeclampsia. **Results** The gestational age of the severe group was significantly lower than that of the control group and the mild group ($P < 0.01$). The serum levels of ox-LDL, IL-22 and IL-24 in the severe group were significantly higher than those in the control group and the mild group ($P < 0.01$). The mild group was significantly higher than the control group ($P < 0.01$). The levels of ox-LDL, IL-22 and IL-24 in the three groups were statistically different ($P < 0.01$). Serum ox-LDL had significant positive correlation with IL-22 and IL-24, $0 < r < 1, P < 0.01$. The expression of ox-LDL, IL-22 and IL-24 in the placenta of severe group was significantly higher than that of the control group and mild group ($P < 0.01$). the mild group was significantly higher than the control group ($P < 0.01$) There was a significant difference in the expression of ox-LDL, IL-22 and IL-24 between the three groups ($P < 0.01$). The levels of ox-LDL, IL-22 and IL-24 in placenta were significantly correlated with the severity of PE ($0 < r < 1, P < 0.01$). **Conclusion** Ox-LDL, IL-22, IL-24 between the three closely related in serum and placenta of patients with preeclampsia in ox-LDL and IL-24 were high expression of IL-22, and with the progress of the disease and the high expression of IL-24 and ox-LDL showed compensatory increase in expression. The severity of the three and the expression level and preeclampsia disease showed a correlation, which has important significance of serum ox-LDL, IL-22 and IL-24 expression to evaluate the progress and effect level for diagnosis, preeclampsia.

Keywords: preeclampsia; interleukin-22; interleukin-24; oxidized low density lipoprotein

子痫前期(PE)是一种发生于妊娠期的特有疾病,多伴有多脏功能损伤或衰竭,重症患者可见昏迷、抽搐、肺水肿、脑出血、心功能衰竭、血管内弥漫性出血,甚至死亡^[1-3]。同时胎儿可见生长不同程度受限,早产等妊娠并发症的发生概率显著高于正常妊娠孕妇。子痫前期孕妇的远期心血管系统疾病的患病风险也明显高于健康妊娠的孕产妇。本病的发生机制与病因目前尚未完全明确,其发生与演进过程为多因素参与的复杂过程,具有病情变化多样性及进展迅速的特征。目前临床上普遍认为本病与血管的内皮细胞组织功能障碍、受损具有密切关系,甚至有将本病划归为血管内皮细胞损伤性的一种疾病。目前血管内皮功能障碍在心脑血管疾病临床上已被作为动脉粥样硬化(AS)的一项重要的重要的早期指征应用于临床诊断当中,同时氧化低密度脂蛋白(ox-LDL)对于血管内皮组织所具有的直接性损伤起始作用已被心脑血管临床所公认。白细胞介素-22(IL-22)与白细胞介素-24(IL-24)均为白细胞介素家庭的成员,在多种炎症性疾病、肿瘤以及AS中均可见IL-22、IL-24的异常表达。因此我们将测定ox-LDL、IL-22、IL-24在子痫前期患者血清及胎盘组织中的表达水平并据此研究其在疾病中所发挥的作用。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取武汉科技大学附属汉阳医院2015年1—12月收治的40例PE患者,根据患者病情将全部患者分为轻度组20例,重度组20例,另选取同期在武汉科技大学附属汉阳医院接受常规孕检并顺利分娩的20例作为对照组。PE患者均符合子痫前期相关诊断标准^[4]。全部患者均为初产妇、单胎妊娠,均无胎膜早破、绒毛膜羊膜炎疾病,均无皮质激素应用史,无吸烟、酗酒等不良习惯,无放、化疗史。均具有剖宫产指征并剖宫产分娩,对照组均因脐带胎盘位置关系异常、胎位不正、高龄产妇以及头盆不称而接受剖宫产分娩。三组孕妇均排除合并原发性高血压、糖尿病、妊娠糖尿病、肿瘤、全身感染性疾病、免疫系统疾病或功能障碍,心、肺、肝、肾脏严重疾病或功能异常的患者。全部入选患者均完全知晓本次研究内容,并自愿参与且签署了知情同意书;获得武汉科技大学附属汉阳医院伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 主要试剂与仪器 本次研究中使用:BIORAD公司出品的酶标仪,拜耳公司出品的台式离心机,奥林巴斯公司出品的光学显微镜。DR公司出品的ELISA试剂盒,ox-LDL兔抗人试剂盒、IL-22兔

抗人试剂盒、IL-24兔抗人试剂盒、HRP羊抗兔标记二抗均购自Diagnostic Systems Laboratories公司;其它常用试剂均使用国药生物化学公司制剂,使用Sigma公司出品的中性树胶、伊红、石蜡等;DAB试剂盒为中衫金桥公司出品。

1.2.2 血清中 ox-LDL、IL-22、IL-24 检测 以ELISA法检测全部研究对象血清中的ox-LDL、IL-22、IL-24浓度。全部研究对象均于清晨抽取空腹外周静脉血液样本5 mL,置于室温条件下待凝集20 min,以2 000 r·min⁻¹速度离心20 min,吸取上层血清。置于-80℃无菌环境下储存。全部应用试剂放置于18~25℃条件下平衡30 min,严格依据试剂说明书制备试剂。ELISA操作严格按试剂盒的说明书执行。终止反应后的5 min之内于450 nm的波长处以酶标仪按顺序测定各孔吸光度值(A),使用专用Curve Expert-1.3软件计算结果。

1.2.3 胎盘组织中 ox-LDL、IL-22、IL-24 检测 以免疫组织化学法检测胎盘中ox-LDL、IL-22、IL-24表达水平。全部研究对象均于胎盘娩出后5 min之内于无菌环境下,于无出血点、无钙化及梗死区域内的母体面胎盘中央处取1 cm³胎盘组织样本,以冷生理盐水进行冲洗,使用10%的中性福尔马林液进行固定,以梯度酒精脱水后常规石蜡包埋,完全冷却后做3~5 μm厚切片,放入60℃的烤箱过夜,次日取出切片置于室温条件下储存备用。行HE染色,切片进行常规脱蜡处理,水化后以苏木素进行染色,使用自来水反复冲洗,以1%的盐酸乙醇进行分化,流水返蓝,以伊红进行染色处理,自来水反复冲洗,以梯度乙醇充分脱水、透明处理后封片,于显微镜下对病理改变情况进行观察。免疫组织化学法根据试剂盒说明书滴加一抗、二抗,以显微镜进行观察并采集图像,使用Image Pro Plus 6.0进行结果分析,结果判读采取半定量分析法,将5张无重叠图像扫描至分析软件内,选取有染色区域(AOI),测定AOI内的累积光密度(IOD),测定有效区域面积(area),由软件据此按IOD/area公式计算出该区域内的平均光密度值,并以此作为ox-LDL、IL-22、IL-24在胎盘组织中的表达水平,表达水平越高说明阳性程度越高。

1.3 观察项目 观察三组患者的一般资料差异性,对比三组患者血清及胎盘组织中ox-LDL、IL-22、IL-24表达水平的差异性,分析血清ox-LDL表达与IL-22、IL-24表达的相关性,分析胎盘组织中ox-LDL、IL-22、IL-24表达水平与PE病情严重程度的相关性。

1.4 统计学方法 本次研究中所涉及全部数据均以手工输入方式录入至SPSS 17.0软件,其中计量

资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,使用单因素 ANOVA 检验,计量资料相关性采取 Pearson 分析并绘制线性回归相关性曲线图,等级资料与计量资料相关性采取 Spearman 分析。

2 结果

2.1 一般资料 三组患者年龄差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。重度组患者分娩时孕周显著低于对照组与轻度组 ($P < 0.01$);对照组与轻度组差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 三组一般资料比较/ $\bar{x} \pm s$

组别	例数	年龄/岁	分娩时孕周/周
对照组	20	27.95 ± 3.17	38.50 ± 1.15
轻度组	20	28.05 ± 2.84	38.35 ± 0.93
重度组	20	28.95 ± 2.46	35.60 ± 1.79
F 值		0.754	29.693
P 值		>0.05	<0.01

2.2 血清中 ox-LDL、IL-22、IL-24 表达 重度组患者血清中 ox-LDL、IL-22、IL-24 表达水平均显著高于对照组与轻度组 ($P < 0.01$);轻度组显著高于对照组 ($P < 0.01$);经进一步统计学分析三组组间对比 ox-LDL、IL-22、IL-24 表达水平均差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。见表 2。

表 2 三组血清 ox-LDL、IL-22、IL-24 表达水平比较/ $\bar{x} \pm s$

组别	例数	ox-LDL/ $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	IL-22/ $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$	IL-24/ $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$
对照组	20	193.15 ± 4.26	43.20 ± 4.58	0.35 ± 0.61
轻度组	20	276.50 ± 7.97	55.15 ± 4.51	0.70 ± 0.62
重度组	20	404.95 ± 5.37	97.55 ± 4.84	0.67 ± 0.25
F 值		6184.472	755.629	462.698
P 值		<0.01	<0.01	<0.01

2.3 血清中 ox-LDL 与 IL-22、IL-24 相关性分析

血清中 ox-LDL 与 IL-22、IL-24 均具有显著正相关性 ($0 < r < 1, P < 0.01$)。见表 3。

表 3 血清中 ox-LDL 与 IL-22、IL-24 相关性分析结果

项目	r 值	P 值
血清 IL-22	0.967	<0.01
血清 IL-24	0.950	<0.01

2.4 胎盘组织中 ox-LDL 与 IL-22、IL-24 表达水平

重度组患者胎盘组织中 ox-LDL、IL-22、IL-24 表达水平均显著高于对照组与轻度组 ($P < 0.01$);轻度组显著高于对照组 ($P < 0.01$);经进一步统计学分析三组组间对比 ox-LDL、IL-22、IL-24 表达水平均

差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。见表 4。

表 4 胎盘组织中 ox-LDL、IL-22、IL-24 表达水平比较/ $\bar{x} \pm s$

组别	ox-LDL/ $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	IL-22/ $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$	IL-24/ $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$
对照组	69.50 ± 6.36	48.75 ± 6.47	45.60 ± 5.29
轻度组	92.50 ± 5.04	60.30 ± 6.43	57.10 ± 6.19
重度组	222.15 ± 6.48	87.00 ± 5.14	85.40 ± 5.58
F 值	3765.637	210.551	258.605
P 值	<0.01	<0.01	<0.01

2.5 胎盘组织中 ox-LDL、IL-22、IL-24 与 PE 病情相关性

胎盘组织中 ox-LDL、IL-22、IL-24 表达水平与 PE 病情严重程度均呈显著正相关性 ($0 < r < 1, P < 0.01$)。见表 5。

表 5 胎盘中 ox-LDL、IL-22、IL-24 与 PE 病情相关性分析

组别	r 值	P 值
胎盘 IL-22	0.894	<0.01
胎盘 IL-24	0.909	<0.01
胎盘 ox-LDL	0.943	<0.01

3 讨论

PE 是妇产科临床上一种常见的妊娠期特发疾病,对于孕妇与胎儿的健康均构成严重威胁^[5-7]。目前,PE 的病因与致病机制已经成为了一项围产期重要的研究课题。PE 尚无一致公认的明确病因,临床上以血管内皮组织功能损伤理论及滋养层的表层植入理念为主^[8-10]。PE 患者大多可见抗氧化及氧化失衡所致氧化应激反应。在疾病进展过程中,氧化应激反应生成大量的氧化自由基及诸多氧化剂,在这两者的共同作用下,机体中的 LDL 通过一系列的反应而生成了大量的 ox-LDL。ox-LDL 可经由诸多途径诱使血管的内皮细胞发生凋亡,从而发挥损害血管的平滑肌与内皮细胞的作用,巨噬细胞与内皮细胞的清道夫受体能够有效识别 ox-LDL 并与其相结合,于细胞内生成过量胆固醇积聚而成的泡沫细胞,属于心脑血管相关疾病的一项独立性高危因素。PE 患者胎盘发生的急性 AS 与心脑血管早期 AS 近似^[11]。PE 患者血清中的 ox-LDL 表达显著高于正常孕妇。IL-22 是具有活性的淋巴样组织的诱导细胞、NK 细胞、NKT 细胞及 Th17 细胞等分泌生成的免疫介质^[12-13]。IL-22 具有诸多生物学能力,主要可见对炎症反应的诱导、加快组织的再生与修复、抑制细胞的凋亡以及免疫调节作用等,可于不同的病理微环境下发挥保护或致病作用。IL-22 能够通过 STAT3 信号的通路起到上调拮抗凋亡蛋白 Bcl-2 系列中 Bcl-w、Bcl-2 及 Bcl-xl 的作用,并

可经由此通路下调促凋亡因子 Caspase3 的浓度,从而降低 ox-LDL 导致的内皮细胞的过度凋亡,协助血管内皮细胞的再生修复,延缓 AS 的进展过程。随着子痫前期病程的演进,由 ox-LDL 刺激所致的内皮细胞损伤程度加剧,促使 IL-22 的表达代偿性升高。即 AS 早期时 IL-22 表达可随 ox-LDL 表达的升高而升高,IL-22 的表达可见代偿性升高,于 AS 早期时对患者的内皮细胞发挥保护性作用。本次研究中我们发现,IL-22 的表达水平随 PE 病情而升高,三组间呈逐级升高的表达水平,PE 病情严重程度与胎盘中的 IL-22 的表达呈显著正相关性。据此分析,PE 应处于 AS 早期,随 PE 病情程度的进展,在 ox-LDL 的持续刺激下内皮细胞的损伤呈持续性加重,促使 IL-22 的表达出现代偿性的升高。

IL-24 是人体内一项关键性的细胞因子,与 IL-22 一样属于白细胞介素体系中的一员,也称为黑色素瘤分化基因-7(MDA-7),IL-24 具有广谱抗肿瘤细胞异常增殖及诱导肿瘤细胞凋亡的功能,并且可有效阻止或延缓肿瘤细胞的浸润与播散。正常的早期孕绒毛组织及蜕膜组织中均能够发现 IL-24 的阳性表达。血管的生成因子功能紊乱及全身性炎症反应与血管的内皮组织功能损伤的形成与进展均具有重要关系,PE 的发病机制有可能因 IL-24 激活 Fas,导致 Fas/FasL 死亡受体下行通路的开启,调控线粒体的通路,诱导了组织内细胞的凋亡。本次研究中我们检测到 PE 患者血清中的 IL-24 表达水平显著高于对照组,重度 PE 患者血清中的 IL-24 表达水平显著高于轻度组,三组血清中的 IL-24 表达与 IL-22 一样呈阶梯状上升趋势。因此可以推断,IL-24 对于血管上皮组织的损伤具有促进作用,因此随 PE 病情的加重而逐渐升高。通过相关性分析可知,IL-24 在胎盘组织中的表达水平与 PE 病情的严重程度呈显著正相关性。同时血清中的 IL-24、IL-22 与 ox-LDL 呈显著正相关,说明在 ox-LDL、IL-24 发挥促进 PE 患者血管上皮细胞损伤的同时,IL-22 出现代偿性上升。

综上所述,PE 患者血清及胎盘组织中的 ox-LDL、IL-24 表达升高可从多种层面与途径诱导并形成血管内皮组织的损伤,加大血管的通透性,使血管中的蛋白与液体渗出,血管的活性因子紊乱,协助血管的收缩因子占据主导地位,而致使患者血管压力加大,继而发生 PE 相关的系列体征与临床症状。然而,IL-22 在这一病理过程中发挥着代偿性的保护作用,随疾病进展其表达水平出现代偿性升高。鉴于 PE 早期时 ox-LDL、IL-24 表达即可见明显升高,同时 IL-22 也随之出现代偿性升高,因此检测

妊娠期妇女血清中的三项指标有利于 PE 的早期诊断,并且在 PE 筛查中也具有独特优势。随着病情的进展 ox-LDL、IL-24 表达出现逐渐升高并促使 IL-22 表达水平随之升高,三项指标的表达水平与病情进展呈显著正相关性,提示监测 PE 患者三项指标的表达水平有利对患者病情的进展程度作出正确评估,同时也可作为临床治疗效果的评估指标应用。总之,我们认为血清中 ox-LDL 与 IL-22、IL-24 表达水平对于 PE 的诊断、病情进展的判断以及疗效评估等均具有重要意义,胎盘中的 ox-LDL 与 IL-22、IL-24 的表达则对于明确 PE 病情、评估预后以及预后治疗方案的选择均具有重要意义。

参考文献

- [1] ANANTH CV, LAWRENCE CLEARY K. Pre-eclampsia and cardiovascular disease: more questions than answers[J]. *BJOG*, 2013, 120(8):920-923.
- [2] CULTRONE A, DE WOUTERS T, LAKHDARI O, et al. The NF- κ B binding site located in the proximal region of the TSLP promoter is critical for TSLP modulation in human intestinal epithelial cells[J]. *Eur J Immunol*, 2013, 43(4):1053-1062.
- [3] 蒋艳平, 王欣, 王维春, 等. 孕 11 ~ 14 周妊娠相关蛋白 A 联合子宫动脉搏动指数预测早发型子痫前期的研究[J]. *安徽医药*, 2016, 20(8):1539-1541.
- [4] 谢幸, 苟文丽. 妇产科学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2013:480-488.
- [5] 李勇莉, 程红, 钟少平. 白介素 24 在子痫前期胎盘的表达及与基质金属蛋白酶 2 关系的研究[J]. *现代妇产科进展*, 2011, 20(12):940-943.
- [6] MA XJ, DUAN YY, YUAN LJ, et al. Quantitative assessment of maternal common carotid artery mechanics using velocity vector imaging in pre-eclampsia[J]. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2012, 160(1):30-34.
- [7] WHITAKER EL, FILIPPOV VA, DUERKSEN-HUGHES PJ. Interleukin 24: mechanisms and therapeutic potential of an anti-cancer gene[J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2012, 23(6):323-331.
- [8] DAVIS EF, LAZDAM M, LEWANDOWSKI AJ, et al. Cardiovascular risk factors in children and young adults born to preeclamptic pregnancies: a systematic review[J]. *Pediatrics*, 2012, 129(6):e1552-e1561.
- [9] 彭洁, 唐卉. 子痫前期患者血清和胎盘组织中 IL-24、HLA-G 蛋白的表达及意义[J]. *中国妇幼保健*, 2014, 29(33):5478-5480.
- [10] GENNARI-MOSER C, KHANKIN EV, ESCHER G, et al. Vascular endothelial growth factor-A and aldosterone: relevance to normal pregnancy and preeclampsia[J]. *Hypertension*, 2013, 61(5):1111-1117.
- [11] 王丹. ox-LDL、IL-22 在子痫前期患者血清及胎盘中的表达[D]. 长沙: 中南大学, 2014.
- [12] BRENNAN LJ, MORTON JS, DAVIDGE ST. Vascular dysfunction in preeclampsia[J]. *Microcirculation*, 2014, 21(1):4-14.
- [13] 司斯, 孟涛. 子痫前期孕妇白细胞介素 6、17 和 24 水平的变化及临床意义[J]. *中国医科大学学报*, 2016, 45(6):503-505.

(收稿日期:2016-11-12, 修回日期:2017-02-18)