文章编号:1000-5404(2005)06-0557-03

论著

白介素-1β在妊娠期高血压疾病中的作用

赵宏喜[1],姚元庆[1],李东红[1],黄 亮[1],李 怡[1],谢 丽[2],姜 峰[1],侯秀红[1] (第四军医大学:[1]唐都医院妇产科,西安 710038,[2]基础医学部细胞工程研究中心,西安 710032)

提 要:目的 通过研究缺氧对胎盘绒毛分泌白介素-1β(IL-1β)的影响及重组IL-1β体外对内皮细胞的损伤,探讨IL-1β在妊娠期高血压疾病发病中的作用。**方法** 8例正常足月胎盘绒毛分别在常氧(21%O_2)及低氧(2%O_2)的条件下培养,采用ELISA方法检测胎盘绒毛培养液中IL-1β的含量;体外培养人脐静脉内皮细胞(HUVEC),在培养液中加入重组IL-1β培养5 h后,流式细胞仪检测内皮细胞血管细胞粘附分子-1(VCAM-1)的表达。**结果** 胎盘绒毛在缺氧条件下培养分泌IL-1β的量显著高于常氧条件;重组IL-1β体外可诱导内皮细胞VCAM-1的表达。**结论** 缺氧可能是影响胎盘绒毛产生IL-1β的一个重要因素,IL-1β能引起血管内皮细胞的损伤,IL-1β可能参与了妊娠期高血压疾病的病理发生过程。

关键词: 妊娠期高血压疾病;胎盘;缺氧;白介素-1β;血管细胞粘附分子-1
中图法分类号: R329.11; R714.246.02 **文献标识码:** A

Pathophysiological roles of interleukin-1β in preeclampsia

ZHAO Hong-xi[1], YAO Yuan-qing[1], LI Dong-hong[1], HUANG Liang[1], LI Yi[1], XIE Li[2], JIANG Feng[1], HOU Xiu-hong[1] ([1]Department of Obstetrics and Gynecology, Tangdu Hospital, Xi'an 710038, [2]Cell Engineering Research Center, College of Medicine, Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China)

Abstract: Objective To explore whether IL-1β plays a role in the pathogenesis of preeclampsia by studying the influence of hypoxia in IL-1β expression and IL-1β-induced expression of VCAM-1 in human umbilical vein endothelial cells (ECs). **Methods** Normal human term placental villi eight cases was cultured either in normoxia (21%) or in hypoxia (2%) followed by determining IL-1β in the culture medium by ELISA. Vascular cell adhesion molecular-1 (VCAM-1) was detected by flow cytometry after IL-1β stimulation to ECs for 5 h. **Results** The concentrations of IL-1β in the medium of culture in hypoxia were significantly higher than those in normoxia ($P < 0.01$). The recombinant IL-1β induced the endothelial cells to express VCAM-1 *in vitro*. **Conclusion** Placental hypoxia may be an important factor that causes preeclamptic placenta to produce IL-1β and the recombinant IL-1β can cause the endothelial dysfunction, which may contribute to the pathophysiology of preeclampsia.

Key words: preeclampsia; placenta; hypoxia; IL-1β; vascular cell adhere molecular-1

妊娠期高血压疾病是孕妇妊娠期特有的疾病,其发病机制尚不清楚,近年来,多数学者认为妊娠期高血压疾病的发病主要是由于"胎盘浅着床",引起子宫螺旋动脉生理重铸障碍,胎盘血液灌注量减少,胎盘缺血缺氧,从而释放大量的细胞因子,导致血管内皮细胞损伤[1]。已有研究表明,妊娠期高血压疾病患者胎盘组织中白介素-1β(IL-1β) mRNA水平显著高于正常孕妇[2];IL-1β是免疫反应及炎症反应的重要介质,可诱导IL-6[3]等细胞因子的产生,因此有必要研究妊娠期高血压疾病胎盘产生IL-1β的原因及IL-1β介导下的内皮细胞损伤。本实验通过缺氧培养胎盘绒毛组织,体外模拟妊娠期高血压疾病胎盘环境,研究缺氧状态下胎盘绒毛分泌IL-1β的变化,并通过体外培养脐静脉内皮细胞,研究IL-1β对内皮细胞的损伤,初步达到研究IL-1β在妊娠期高血压疾病发病过程中作用的目的,并为妊娠期高血压疾病发病时胎盘缺氧与内皮细胞损伤相互联系提供依据。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30070787)
Supported by the National Natural Science Foundation of China (30070787)
作者简介: 赵宏喜(1976-),男,陕西省西安市人,硕士研究生,医师,助教,主要从事妊娠高血压疾病的机制方面的研究。电话:(029)81041129,E-mail: hongxizhao@hotmail.com
通讯作者: 姚元庆,电话:(029)83377751
收稿日期: 2004-11-11;**修回日期:** 2005-01-13

1 材料与方法

1.1 主要试剂

混合气体(2%O_2、5%CO_2、93%N_2,北京环亚北环气体有限公司)、DMEM 培养液(Gibco 公司)、胎牛血清(四季清生物公司)、内皮细胞培养液及内皮细胞生长补充物(Cascade Biologics 公司)、LDH 检测试剂盒(南京建成生物有限公司)、IL-1β 酶免试剂盒(晶美生物工程公司)、重组 IL-1β(Protech 公司)及 PE 标记的 VCAM-1 单克隆抗体(Biolegend 公司)。

1.2 缺氧条件的建立及绒毛组织培养

混合气体按说明自进气口以 20 L/min 的流速持续灌入直径为 31 cm 的 MIC101 密闭培养箱(美国 Billups-rothenberg 公司),4 min 后停止灌气,同时关闭密闭培养箱的进、出气口,建立缺氧环境,后将密闭培养箱置于 37 ℃、5%CO_2 培养箱中。选无内科合并症及并发症,仅因产科指征行选择性剖宫产的正常足月孕妇 8 例,当胎盘娩出后避开钙化点取 3~5 个胎盘小叶,无菌生理盐水彻底漂洗,减去蜕膜组织并分离去除较大的血管,在 PBS 液中将绒毛组织剪成 5~10 mg 的小块,PBS 冲洗数次,将约 400 mg 的绒毛组织接种到 12 孔细胞培养板中,每孔加 2 ml DMEM 培养液,在 37 ℃、5%CO_2 条件下培养 24 h 后换液,然后将来源于同一胎盘的绒毛组织分别进行常氧和缺氧培养。缺氧组培养板置于 MIC101 密闭培养箱中,进行缺氧培养。两组均分别培养 4、8、12、24 h,并于各个时间点收取上清液,保存于 -80 ℃待测,同时称绒毛组织湿重。

1.3 内皮细胞(HUVEC)培养及鉴定

脐带由第四军医大学唐都医院妇产科提供。参照 Jaffe 法,并由本科实验室加以改进;培养的细胞在相差显微镜下呈多角形,单层铺路石状排列;免疫组化染色Ⅷ因子相关抗原阳性;取 2~5 代细胞用于实验。

1.4 重组 IL-1β 体外刺激脐静脉内皮细胞

含 2%胎牛血清、无肝素及血管内皮生长因子的血管内皮细胞培养液 1 ml 中加入重组 IL-1β 50 ng 培养脐静脉内皮细胞 5 h 后,收集脐静脉内皮细胞,采用 PE 标记的 VCAM-1 单克隆抗体 20 μl 室温避光染色,1%~2%多聚甲醛固定,4 ℃避光保存待测。

1.5 样品检测

胎盘绒毛培养上清液中的 IL-1β 及 β-hCG 的测定采用 ELISA 的方法;绒毛组织活性是通过检测胎盘绒毛培养上清液中的乳酸脱氢酶(LDH)来确定;采用流式细胞仪检测血管内皮细胞 VCAM-1 的表达。

1.6 统计学方法

结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 11.5 软件进行 t 检验。

2 结果

2.1 常氧及缺氧条件下胎盘绒毛培养上清中 IL-1β 的含量

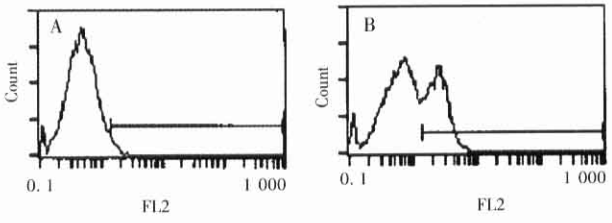
缺氧培养 4、8、12 h 及 24 h 后,胎盘绒毛培养液中 IL-1β 的含量分别为(258.9 ± 126.4)、(2 837.8 ± 547.6)、(3 982.6 ± 876.5)、(3 049.2 ± 485.4)pg/g;常氧培养 4、8、12 h 及 24 h 后,胎盘绒毛培养液中 IL-1β 的含量分别为(142.5 ± 14.6)、(184.6 ± 18.4)、(197.4 ± 16.8)、(186.5 ± 21.7)pg/g。缺氧条件下,胎盘绒毛培养液中 IL-1β 的含量显著增高($P < 0.01$)。

2.2 常氧及缺氧条件下胎盘绒毛分泌 β-hCG 及 LDH 的含量

常氧及缺氧条件下在各个时间点胎盘绒毛的培养上清液中 β-hCG 及 LDH 的含量无显著性差异($P > 0.05$, $n = 8$)表明绒毛耐受缺氧。

2.3 流式细胞仪检测脐静脉内皮细胞 VCAM-1 的表达

脐静脉内皮细胞在静息条件下 VCAM-1 的平均荧光强度为 4.16(图 1A),当 IL-1β 刺激脐静脉内皮细胞 5 h 后 VCAM-1 的为 360.09(图 1B)较静息条件下显著增加($P < 0.01$)。



A: Before IL-1β stimulation; B: After IL-1β stimulation

图 1 IL-1β 刺激前后 VCAM-1 的表达

Fig 1 VCAM-1 expression before and after IL-1β stimulation

3 讨论

妊娠期高血压疾病患者子宫螺旋动脉生理重铸障碍,胎盘血液灌注量减少,胎盘缺血缺氧,可产生大量的细胞因子。Rinehart 等[2]采用半定量 PCR 的方法发现妊娠期高血压疾病患者胎盘 IL-1β mRNA 表达增高。本研究体外模拟妊娠期高血压疾病胎盘缺氧环境,研究缺氧对胎盘绒毛分泌 IL-1β 的影响,结果表明胎盘绒毛在缺氧条件下可产生大量 IL-1β,较常氧条件下显著增高,提示缺氧是妊娠期高血压疾病胎盘产生 IL-1β 的一个主要因素。本研究还表明在缺氧条件下胎盘绒毛分泌 β-hCG 的量与常氧条件下无显著差别,胎盘绒毛培养上清中的乳酸脱氢酶(LDH)含量亦无显著差别,表明胎盘绒毛耐受缺氧,IL-1β 的表达增加并非绒毛坏死产生。因此,我们认为,缺氧可能是妊娠期高血压疾病胎盘 IL-1β 水平增高的一个主要因素。

内皮细胞损伤是妊娠期高血压疾病发病过程中的中心环节[4]。血管细胞粘附分子(VCAM-1)是内皮细胞损伤的一个显著标志。内皮细胞异常表达的 VCAM-1

可使白细胞粘附于血管内皮,从而导致内皮细胞损伤。Budak 等[5]发现先兆子痫患者 sVCAM-1 水平显著高于正常妊娠和轻度妊高征患者,且 sVCAM-1≥450 ng/ml 对诊断先兆子痫或子痫的敏感性和特异性分别为 79%和 90%。Djurovic 等[6]的研究提示测定 sVCAM-1 水平有助于监测妊娠期高血压疾病病情的发展及是否合并胎儿发育迟缓(IUGR),后者 sVCAM-1 水平升高尤为明显。本实验证实脐静脉内皮细胞在静息状态下少量表达 VCAM-1,而当加入 IL-1β 刺激时,内皮细胞大量表达 VCAM-1;与国内外以往研究相一致。表明 IL-1β 是导致血管内皮细胞损伤的一个重要因素。但 Conrad 等[7]采用 ELISA 的方法检测发现妊娠期高血压疾病患者血清中 IL-1β 的水平与正常孕妇相比无显著差异,提示 IL-1β 可能不直接参与影响妊娠期高血压疾病患者全身血管内皮细胞损伤。以往研究显示妊娠期高血压疾病患者胎盘血管存在损伤[8];妊娠期高血压疾病患者胎盘血管内皮损伤可能先于全身其它脏器[9],推测 IL-1β 可能在胎盘局部引起内皮细胞损伤,妊娠期高血压疾病外周血管内皮细胞损伤和胎盘组织血管内皮细胞损伤可能存在不同的形成机制。

综上所述,胎盘在妊娠期高血压疾病的发病过程中具有重要作用,在缺血缺氧的环境下可释放大量的 IL-1β,而 IL-1β 通过直接或间接作用导致胎盘血管及全身血管内皮细胞的损伤,从而可能在多个方面参与了妊娠期高血压疾病的发病过程。

参考文献:

[1] Granger J P, Alexander B T, Llinas M T, *et al*. Pathophysiology of hypertension during preeclampsia linking placental ischemia with endothelial dysfunction[J]. Hypertension, 2001, 38(3 Pt 2): 718 - 722.

[2] Rinehart B K, Terrone D A, Lagoo-Deenadayalan S, *et al*. Expression of the placental cytokines tumor necrosis factor alpha, interleukin 1beta, and interleukin 10 is increased in preeclampsia[J]. Am J Obstet Gynecol, 1999, 181(4): 915 - 920.

[3] Turner M A, Shaikh S A, Greenwood S L. Secretion of interleukin-1beta and interleukin-6 by fragments of term human placental villi: signalling pathways and effects of tumour necrosis factor alpha and mode of delivery [J]. Placenta, 2002, 23(6): 467 - 474.

[4] Roberts J M, Lain K Y. Recent insights into the pathogenesis of preeclampsia[J]. Placenta, 2002, 23(5): 359 - 372.

[5] Budak E, Madazli R, Aksu M F, *et al*. Vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) and leukocyte activation in preeclampsia and eclampsia[J]. Int J Gynaecol Obstet, 1998, 63(2): 115 - 121.

[6] Djurovic S, Schjetlein R, Wisloff F, *et al*. Increased levels of intercellular adhesion molecules and vascular cell adhesion molecules in preeclampsia [J]. Br J Obstet Gynaecol, 1997, 104(4): 466 - 470.

[7] Conrad K P, Miles T M, Benyo D F. Circulating levels of immunoreactive cytokines in women with preeclampsia[J]. Am J Reprod Immunol, 1998, 40(2): 102 - 111.

[8] Khong T Y. Acute atherosis in pregnancies complicated by hypertension, small-for-gestational-age infants, and diabetes mellitus[J]. Arch Pathol Lab Med, 1991, 115(7): 722 - 725.

[9] 乐 杰. 妇产科学[M]. 第 6 版. 北京: 人民卫生出版社, 2004. 98.

(编辑 陈聪连)

文章编号:1000-5404(2005)06-0559-01

个案与短篇

重庆市古楼村眼病流行病学调查分析

An epidemiological survey of ophthalmopathy in Nanping district of Chongqing

刘 苏[1],陈 琳[1], 欧阳琳[2] (重庆医科大学:[1]临床第二学院眼科学教研室、重庆市防盲技术指导中心,重庆 400010,[2]流行病学教研室,重庆 400021)

根据 2000 年初步调查,重庆市现有视力残疾约 24.3 万例。为实现重庆市致盲眼病的筛选了解致盲眼病在人群中的患病情况及流行病学特征,我们于 2003 年 3 - 12 月进行了致盲眼病流行病学抽样调查。现报告如下

1 资料与方法

采取单纯随机抽样对南坪古楼村 600 余户居民门牌号进行随机编号抽样调查,居民填写调查表。数据汇总后进行统计学处理(非条件 logistic 回归分析,将单因素 logistic 回归分析中有统计学意义的影响因素再进行多因素非条件 logistic 回归分析)

(下转 571 页)

基金项目:重庆市科学委员会资助(2001)
Supported by the Found of the Science committe (2001)

作者简介:刘 苏(1952 -),男,重庆市人,硕士,主任医师,主要从事青光眼及防盲方面的研究,发表论文 24 篇。电话:(023)63822815,E-mail: liusu2836@sina.com.cn

收稿日期:2004-07-13;修回日期:2005-03-11