

胎盘滋养层细胞侵袭行为与 MMP-2 和 MMP-9 的研究进展

马 婧 萨日娜 俞 兰

摘 要 胎盘适度侵入子宫壁是妊娠顺利进行的基础,该侵袭行为受到多维度调控网络影响,涉及诸多因素,侵袭过度或不足均与各类病理性妊娠互为因果,其中基质金属蛋白(matrix metalloproteinase, MMP)-2 和 MMP-9 与胎盘滋养层细胞的侵袭力密切相关,近年来在病理性妊娠研究中逐渐受到重视。本文以 Pubmed、Web of Science、中国知网等为检索数据库,通过查阅分析归纳文献,系统总结胎盘滋养层细胞侵袭行为与 MMP-2 和 MMP-9 之间的关系及其主要影响因素。为进一步了解精确调控胎盘滋养层增殖和侵袭行为的基因及其影响、探索各种病理性妊娠情况下胎盘侵袭行为的异常提供研究思路;为从致病机制层面更深入探讨此类疾病的防治新方法提供方向。

关键词 病理性妊娠 胎盘 滋养层细胞 侵袭 基质金属蛋白酶

中图分类号 R71

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2021.12.034

胎盘的主要功能为保障胎儿正常生长发育。胎盘滋养层干细胞源于形成囊胚壁的外胚层,逐渐分化形成绒毛外滋养层细胞(extravillous trophoblast cell, EVT)和合体滋养层细胞(syncytiotrophoblast cell, STB)^[1]。EVT 侵袭进入母体子宫间质和螺旋动脉,参与子宫动脉重塑,其侵袭程度过深或过浅均致病理性妊娠,严重影响母体健康及胎儿的正常发育;故, EVT 侵袭子宫的生物学行为对于维持胎盘的正常功能至关重要。也由此成为妊娠研究的热点。已有研究认为,诸多因素如前列腺素 E₂、转化生长因子 β1、白细胞介素、血氧分压以及胎盘血流流速等均参与调控胎盘的侵袭能力,但深入的调控机制、通路及调控网络尚未阐明^[2-4]。

基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)首次在研究蝌蚪形态变化过程时被发现,随后在人类病理生理领域得到了广泛的研究,发现 MMPs 可降解细胞外基质(extracellular matrix, ECM)中几乎所有蛋白成分,在各类恶性肿瘤侵袭转移过程中的地位举足轻重。MMPs 家族庞大,目前已发现 26 个成员,即 MMP-1 ~ MMP-26。并根据它们的亚细胞结构分布和针对细胞外基质成分的特异性,分为基质蛋

白酶(matrilysins)、膜型基质金属蛋白酶(membrane-type matrix metalloproteinase, MT-MMP)、胶原酶(collagenases)、明胶酶(gelatinase)以及母系基质蛋白酶(stromelysins)^[5]。近年来研究发现,无论在正常、还是病理条件下, MMPs 都是调控胚胎和组织发育过程中的关键酶。其中, MMP-2 和 MMP-9 参与降解子宫上皮基膜的主要成分——IV 型胶原。因此,它们在滋养层细胞侵袭子宫的过程中,很可能扮演着重要的角色。本文就胎盘滋养层对子宫的侵袭能力、MMP-2 和 MMP-9 之间的关系综述如下。

一、胎盘滋养层细胞的侵袭行为

滋养层细胞侵入子宫是胚胎着床和胎盘发育的重要过程,由滋养层干细胞介导。生理状态下,滋养层干细胞在侵袭中分化成滋养层细胞亚群,最终形成胎盘。具体来说,在滋养层细胞侵入子宫的过程中,绒毛顶端的滋养层细胞从基膜开始向外增殖,形成细胞柱,滋养层细胞的表型也从非侵袭性增殖转变为非增殖性侵袭生长,在细胞柱中迁移、侵入和重塑母体螺旋小动脉。与此同时,子宫内膜间质细胞蜕膜化,其过程类似于排卵后子宫内膜重塑,包括子宫腺体开始分泌活跃、子宫自然杀伤细胞涌入、子宫内血管重塑、间质细胞上皮样转化为蜕膜细胞。母体蜕膜形成过程中, EVT 迁移到母体蜕膜的基质中,开始与参与血管重塑的子宫免疫细胞密切接触。子宫免疫细胞通过分泌大量细胞因子和趋化因子,促进 EVT 的侵袭,该过程在介导螺旋动脉转化过程中发挥关键作

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81860277);内蒙古自治区科技计划项目(2020GG0116)

作者单位:010020 呼和浩特,内蒙古医科大学(马婧);010017 呼和浩特,内蒙古自治区人民医院临床医学研究中心(萨日娜、俞兰)

通讯作者:俞兰,主任医师,电子信箱:yulansylvia@163.com

用^[6]。

胎盘滋养层细胞的侵袭、增殖、分化等生理行为与癌细胞极其相似,都是一个多步骤过程,包括附着并降解基膜或 ECM 成分,然后通过其降解的成分迁移。然而,与癌细胞失控的侵袭行为不同,胎盘滋养层细胞的增殖与侵袭受到严格的调控。在正常妊娠中,滋养层细胞对子宫的侵袭发生在两个高峰期:第一个高峰期发生在妊娠 10 周内,此时,螺旋动脉侵入子宫壁,直至逆行延伸至蜕膜-子宫肌层交界处;第二个侵袭高峰发生在妊娠 14~20 周内,此时已经能观察到螺旋动脉肌层段的血管生理变化:螺旋动脉的直径增加了 4~6 倍,从高阻低流的血管变成了极度扩张的血管,以满足增加胎盘和胎儿的血供要求^[7]。滋养层细胞的侵袭行为持续到妊娠 5 个月左右,在其侵袭过程中,胎盘发生上皮-间充质转化,上皮细胞获得间质细胞的表型:首先是 STB 穿透子宫内膜上皮,然后 EVT 侵袭进入整个子宫内膜、子宫肌层内 1/3 和子宫血管系统^[8]。最后,滋养层细胞从细胞柱迁移到蜕膜,侵入母体子宫螺旋动脉,建立母体-胎盘循环。

二、MMPs 及其抑制剂

MMPs 家族是一类依赖 Ca^{2+} 、 Zn^{2+} 等金属离子的内肽酶家族,其家族成员具有相似的结构,在 5 个结构域中,前肽区的主要作用是保持酶原的稳定性,用外源性酶切前肽区,MMPs 酶原即被激活;催化活性区有金属离子结合的位点,对酶催化有重要作用;羧基末端区与酶的底物特异性有关。MMPs 对器官的形态发生以及组织的重塑起重要作用,除了能降解 ECM 中几乎所有成分之外,还参与细胞外基质的重塑。在正常成人的组织中,MMPs 的表达水平极低,甚至检测不到,只有在生理性组织重塑、炎症和伤口修复等过程中才上调。其中,MMP-2 与 MMP-9 都属于明胶酶类,明胶酶可能通过其蛋白水解功能参与细胞增殖、血管生成和肿瘤转移等过程^[9]。

MMP-2 位于人类染色体 16q21,包括内含子 12 个,外显子 13 个。其他金属蛋白酶的 5' 旁侧序列 promotor 区域含 TATA 盒,而 MMP-2 则是两个 GC 盒。MMP-2 编码明胶酶 A,底物包括明胶、V 型胶原和 VI 型胶原等^[10]。MMP-2 主要以不活跃的前体形式(Pro-MMP-2)存在于细胞柱远端的滋养层细胞和 EVT 中,相对分子质量为 72kDa。细胞表面的 MT-MMP-1 与基质金属蛋白酶组织抑制因子(tissue inhibitors of metalloproteinase, TIMP)-2 结合形

成二元复合物后,Pro-MMP-2 的 Haemopexin 结构域通过与二元复合物中 TIMP-2 的 C 端结合形成 MT-MMP-1-TIMP2-Pro-MMP-2 三元复合物,Pro-MMP-2 的 N-末端蛋白水解裂解,激活了 Pro-MMP-2,成为具有活性的 aMMP-2 形式,相对分子质量为 63kDa^[11]。aMMP-2 位于细胞和基质交界处的最前端,推测它在细胞穿透基质的过程中发挥“钻头”的功能。aMMP-2 降解 ECM 分两个阶段进行:第 1 阶段 aMMP-2 的功能类似于间质胶原酶。第 2 阶段的过程是由纤维连接蛋白样结构域促进的明胶溶解,通过降解、破坏靠近细胞表面的 ECM 和基膜,为细胞扫清组织屏障,促进细胞侵袭。由此也证明了 aMMP-2 的表达与细胞的侵袭和迁移密切相关。

MMP-9 同样也是 MMPs 家族中的一员,首次发现于人的中性粒细胞中,位于人类染色体 20q11.2~q13.1,相对分子质量 92kDa,编码明胶酶 B 蛋白。与 MMP-2 不同的是,MMP-9 拥有连接活性位点和 Haemopexin 结构域的独特连接序列——O-糖基化序列(OG 结构域)^[12]。研究证明,OG 结构域的缺失降低 MMP-9 介导的细胞迁移。该酶的主要底物包括明胶、IV 型胶原 V 和 VI、VII、IX、X、XI 型胶原等。MMP-9 在正常组织中表达较低或缺失,而在炎症和伤口愈合过程中表达升高^[13]。因 MMP-9 可分解呼吸道和肺内 ECM 或基膜,并通过促进释放血管内皮生长因子参与血管生成,所以目前的研究大多聚焦于呼吸道疾病、心血管等慢性病以及各类肿瘤。妊娠期间 MMP-9 由胎盘的滋养层细胞表达,介导滋养层细胞的侵袭和迁移。

MMP-9 同样以酶原形式 Pro-MMP-9 和有活性的 aMMP-9 两种形式存在于体内。aMMP-9 的相对分子质量为 87kDa。Pro-MMP-9 通常与 TIMP-1 形成复合物,两种蛋白在 Pro-MMP-9 的羧基末端连接,当 TIMP-1 被释放后,Pro-MMP-9 转化为具有活性的 aMMP-9 形式。此外,人体内缺氧诱导转录因子启动一氧化氮的产生,通过催化 Zn^{2+} 和酶的前肽结构域之间的连接激活 Pro-MMP-9^[14]。

MMPs 发挥活性的范围和持续时间受到内源性抑制剂的严格调控,包括血清抗蛋白酶和上文提及的 TIMPs。目前已知有 4 种类型 TIMPs,每一种都通过与多个 MMPs 的催化和(或)Haemopexin 结构域结合而抑制 MMPs 功能^[15]。其中,TIMP-1 不论在健康

组织还是病理条件下,都能抑制 ECM 水解。TIMP - 1 常被误认为是 MMP - 9 的特异性抑制剂,然而有研究发现所有的 TIMPs 都能抑制 aMMP - 9,只是 TIMP - 1 复合物优先与 Pro - MMP - 9 C 端的 Haemopexin 结构域结合;多项研究结果显示,TIMP - 2 同样有抑制 ECM 水解的作用,并通过间接调节包括 MMP - 2 在内的金属蛋白酶抑制 ECM 的降解;有研究发现,TIMP - 3 是 ECM 重塑的关键抑制剂,TIMP - 3 与其他 TIMPs 的不同之处在于它与 ECM 的结合更紧密。TIMP - 4 主要表达于发育中的肺、女性生殖道、胚胎和移植组织的 ECM 蛋白水解过程中,并在心脏和大脑中的表达具有组织特异性。

三、MMP - 2 和 MMP - 9 在细胞侵袭行为中的变化

胎盘滋养层细胞侵袭子宫的行为是受到严格调控的多步骤过程,诸多调控因素参与;其中,MMP - 2 和 MMP - 9 的合成和激活是必需的环节,两者可显著增强滋养层细胞的侵袭力。MMP - 2 是人类妊娠第 6 ~ 8 周胎盘明胶酶的主导成分,是此阶段滋养层细胞侵袭的关键酶。随着妊娠进展,MMP - 2 分泌逐渐减少,MMP - 9 分泌逐渐增加^[16]。妊娠第 8 ~ 11 周,MMP - 9 的表达占优势,直到妊娠结束。因此根据胎盘的发育过程以及 MMP - 2 和 MMP - 9 表达的变化可以推测,MMP - 2 在早期胎盘植入子宫过程中起重要的作用,而 MMP - 9 在维持滋养层细胞适度侵袭中较为重要。

妊娠期间 MMP - 2 和 MMP - 9 的表达变化受到多种物质的影响,关系到滋养层细胞的侵袭行为。研究发现妊娠期血管内皮生长因子和胎盘生长因子促进胎盘 MMP - 2 和 MMP - 9 的表达和活化,促进滋养层细胞侵袭、胎盘生长以及血管重构。有研究团队发现,激活素 A 刺激原代培养的滋养层细胞产生 Pro - MMP - 9、Pro - MMP - 2 和 aMMP - 2,并对滋养层细胞侵袭起到促进作用^[17]。沉默血管生成素样蛋白 8、 β 淀粉样蛋白 1 - 42 可显著加速细胞的迁移和侵袭,同时 MMP - 2 和 MMP - 9 的表达水平升高^[18,19]。当 MMP - 2 和 MMP - 9 的表达受到正向调控的同时,负向调控也正在进行以维持动态平衡,比如滋养层细胞表达的 NOD1 受体,在其受到非特异性配体刺激时,MMP - 2 和 MMP - 9 的分泌均明显下降;当受到 NOD1 特异性配体如 iE - DAP 刺激后,MMP - 9 的分泌水平明显降低,MMP - 2 的分泌未受明显影响,因此,通过激活 NOD1 负向调节 MMP - 2

和 MMP - 9 的表达水平,使母胎界面滋养层细胞侵袭能力下降^[20]。沉默层粘连蛋白 $\alpha 4$ 亚单位、颗粒蛋白前体以及 N - 乙酰氨基葡萄糖转移酶 III 等也负向调控 MMP - 2 和 MMP - 9 的活性,并显著降低人绒毛膜滋养层细胞系 HTR - 8/SVneo 的侵袭、迁移和柱状结构的形成^[21-23]。由此可见,MMP - 2 和 MMP - 9 高表达可显著增加滋养层细胞的侵袭力;反之,其表达水平的降低会导致滋养层细胞的侵袭力降低。

近年来,关于微小 RNA (micro RNA, miRNA) 影响滋养层细胞侵袭力的研究越来越多。例如,miR - 346 和 miR - 582 - 3p 通过抑制 MMP - 2 和 MMP - 9 的表达,进而抑制滋养层细胞的侵袭力^[24]。过表达 miR - 491 - 5p 的 HTR - 8/SVneo 细胞与正常细胞比较,MMP - 9 的表达水平显著降低,推测 miR - 491 - 5p 可能通过降低 MMP - 9 的表达水平来抑制滋养层细胞的侵袭和迁移^[25]。miR - 204 同样通过降低 MMP - 9 的表达抑制滋养层细胞的侵袭;而 miR - 519d 则通过降低胎盘组织中 MMP - 2 的表达来降低滋养层细胞的侵袭能力^[26]。除此之外,沉默 STAT5B 可使 MMP - 2 在 HTR - 8/SVneo 细胞中的表达增加,提示 STAT5B 负向调控滋养层细胞的侵袭力^[27]。经敲降抗衰老基因 Klotho 处理的 HTR - 8/Svneo 细胞侵袭能力显著减弱,并且其 MMP - 2 和 MMP - 9 的表达也显著下调;当敲除 HTR - 8/Svneo 的 Nesfatin - 1 基因时,亦发现细胞表型的上述变化^[28]。

综上所述,胎盘滋养层细胞侵入子宫壁的生物行为受严格的调控;胎盘及蜕膜组织分泌的多种细胞因子及诸多 miRNA 都参与其中,或正向或负向,对维持滋养层细胞正常侵袭力的动态平衡、胚胎植入以及妊娠顺利进行均有重要意义。在该庞大周密的调控网络中的任一环节出现异常,都是病理性妊娠的发病原因,但是对于病理性妊娠的研究深度目前还不足以详尽解释,另一方面,只有充分了解调控机制,才有可能做到有的放矢,达到病因治疗的高度。对于妊娠糖尿病、先兆子痫等相对多发的病理性妊娠尤其需要关注深层机制。

四、展 望

随着晚婚晚育成为现代社会的发展趋势,生育年龄的后延,孕妇年龄的递增,使孕妇病理性妊娠的发生率增加,关注胎盘 EVT 的适度侵袭力,是针对病理性妊娠的重要防治手段。EVT 是胎盘“扎根”子宫并得以正常发育的前提,严格调控 EVT 侵袭行为才能使胎儿在母体子宫中正常发育。滋养层细胞增殖和

侵袭对子宫螺旋动脉的重塑以及母-胎之间物质交换也至关重要。不论 EVT 的异常侵袭行为是因还是果,都将导致多种妊娠相关疾病,给亲代和子代都带来不可逆的损伤。了解精确调控滋养层细胞增殖和侵袭行为的基因及影响因素,不断探索各种病理性妊娠情况下 EVT 侵袭行为的异常,不仅可以为丰富疾病的诊疗手段提供理论基础,而且可从致病机制层面更深入探讨此类疾病的防治新方法。

参考文献

- 1 Goldman - Wohl D, Greenfield C, Eisenberg - Loebel I, *et al.* Trophoblast lineage specific expression of the alternative splicing factor RBFOX2 suggests a role in placental development [J]. *Placenta*, 2020, 100: 142 - 149
- 2 Niringiyumukiza JD, Cai H, Xiang W. Prostaglandin E₂ involvement in mammalian female fertility: ovulation, fertilization, embryo development and early implantation [J]. *Reprod Biol Endocrinol*, 2018, 16(1): 43
- 3 Ge H, Yin N, Han TL, *et al.* Interleukin - 27 inhibits trophoblast cell invasion and migration by affecting the epithelial - mesenchymal transition in preeclampsia[J]. *Reprod Sci*, 2019, 26(7): 928 - 938
- 4 Zamir M, Nelson DM, Ginosar Y. Hemodynamic consequences of incomplete uterine spiral artery transformation in human pregnancy, with implications for placental dysfunction and preeclampsia[J]. *J Appl Physiol* (1985), 2021, 130(2): 457 - 465
- 5 周梦夏, 孙作珩, 查旭东, 等. 基质金属蛋白酶及抑制剂影响细胞外基质代谢参与慢性鼻 - 鼻窦炎组织重塑的机制研究[J]. *中国耳鼻咽喉颅底外科杂志*, 2020, 26(6): 717 - 720
- 6 Ng SW, Norwitz GA, Pavlicev M, *et al.* Endometrial decidualization: the primary driver of pregnancy health [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(11): 4092
- 7 Harris LK, Benagiano M, D'Elmos MM, *et al.* Placental bed research: II. Functional and immunological investigations of the placental bed[J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2019, 221(5): 457 - 469
- 8 Abbas Y, Turco MY, Burton GJ, *et al.* Investigation of human trophoblast invasion in vitro [J]. *Hum Reprod Update*, 2020, 26(4): 501 - 513
- 9 Cabral - Pacheco GA, Garza - Veloz I, Castruita - De la Rosa C, *et al.* The roles of matrix metalloproteinases and their inhibitors in human diseases[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(24): 9739
- 10 Sarker H, Hardy E, Haimour A, *et al.* Identification of fibrinogen as a natural inhibitor of MMP - 2 [J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 4340
- 11 Ligi D, Maniscalco R, Mannello F. MMP - 2 and MMP - 9 in human peripheral blood: optimizing gelatinase calibrator for degradome research and discovering a novel gelatinolytic enzyme [J]. *J Proteome Res*, 2020, 19(1): 525 - 536
- 12 Mondal S, Adhikari N, Banerjee S, *et al.* Matrix metalloproteinase - 9 (MMP - 9) and its inhibitors in cancer: a minireview [J]. *Eur J Med Chem*, 2020, 194: 112260
- 13 Opdenakker G, Van den Steen PE, Van Damme J. Gelatinase B: a

- tuner and amplifier of immune functions [J]. *Trends Immunol*, 2001, 22(10): 571 - 579
- 14 Liu S, Jiang J, Huang L, *et al.* iNOS is associated with tumorigenicity as an independent prognosticator in human intrahepatic cholangiocarcinoma [J]. *Cancer Manag Res*, 2019, 11: 8005 - 8022
- 15 Eckfeld C, Häubler D, Schoeps B, *et al.* Functional disparities within the TIMP family in cancer: hints from molecular divergence [J]. *Cancer Metastasis Rev*, 2019, 38(3): 469 - 481
- 16 Espino Y Sosa S, Flores - Pliego A, Espejel - Nuñez A, *et al.* New insights into the role of matrix metalloproteinases in preeclampsia [J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(7): 1448
- 17 Jain A, Ezashi T, Roberts RM. Deciphering transcriptional regulation in human embryonic stem cells specified towards a trophoblast fate [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 17257
- 18 Wang W, Li X, Ji D. Molecular mechanism of the effect of angiopoietin - like protein 8 on the proliferation, invasion and migration of placental trophoblasts in preeclampsia [J]. *Exp Ther Med*, 2020, 19(6): 3461 - 3468
- 19 廖丹丹, 蔡丹纯, 高云飞, 等. β 淀粉样蛋白 1 - 42 对滋养细胞迁移和侵袭的影响 [J]. *实用医学杂志*, 2018, 34(16): 2687 - 2691
- 20 蔡玉莹, 聂晓露, 邓科文, 等. NOD1 配体抑制人早孕期滋养细胞的侵袭功能 [J]. *现代生物医学进展*, 2020, 20(5): 822 - 826
- 21 Shan N, Zhang X, Xiao X, *et al.* Laminin α4 (LAMA4) expression promotes trophoblast cell invasion, migration, and angiogenesis, and is lowered in preeclamptic placentas [J]. *Placenta*, 2015, 36(8): 809 - 820
- 22 吴秋雨, 郇金亮. 颗粒蛋白前体通过调控滋养层细胞的侵袭和凋亡影响子痫前期发病 [J]. *第三军医大学学报*, 2018, 40(20): 1858 - 1864
- 23 Deng Q, Liu X, Yang Z, *et al.* Expression of N - Acetylglucosaminyltransferase III promotes trophoblast invasion and migration in early human placenta [J]. *Reprod Sci*, 2019, 26(10): 1373 - 1381
- 24 Su MT, Tsai PY, Tsai HL, *et al.* miR - 346 and miR - 582 - 3p - regulated EG - VEGF expression and trophoblast invasion via matrix metalloproteinases 2 and 9 [J]. *Biofactors*, 2017, 43(2): 210 - 219
- 25 Liu E, Zhou Y, Li J, *et al.* MicroRNA - 491 - 5p inhibits trophoblast cell migration and invasion through targeting matrix metalloproteinase - 9 in preeclampsia [J]. *Mol Med Rep*, 2020, 22(6): 5033 - 5040
- 26 张炜悦, 李亚光, 刘恩令, 等. microRNA519D 与基质金属蛋白酶 2 在 36 例子痫前期患者胎盘组织中的表达及意义 [J]. *山东大学学报: 医学版*, 2020, 58(1): 54 - 59
- 27 Chen C, Kang X, Li C, *et al.* Involvement of signal transducers and activators of transcription in trophoblast differentiation [J]. *Placenta*, 2021, 105: 94 - 103
- 28 薛筱蕾, 成芳, 范翠芳, 等. Klotho 对滋养细胞侵袭的影响 [J]. *海南医学院学报*, 2019, 25(10): 754 - 757

(收稿日期: 2021 - 07 - 06)

(修回日期: 2021 - 07 - 21)