

围产医学

DOI: 10.11699/cyxb20131003

滋养细胞侵袭力分子调节机制的研究进展

白冰, 李娟, 罗欣, 漆洪波

(重庆医科大学附属第一医院妇产科, 重庆 400016)

【摘要】妊娠期,绒毛外滋养细胞(extravillous trophoblasts, EVT)的侵袭力对于胎盘的形成功能十分重要。它除受到自身和周围局部环境分泌物质的精细调节外,还受到多种信号通路以及转录调节因子的调控。任何因素导致这些调节的失控,均会导致 EVT 生物学行为改变,进而导致妊娠相关性疾病,如子痫前期和胎儿生长受限。本文对近年来有关滋养细胞侵袭力分子调节机制的研究成果作一综述。对调节滋养细胞侵袭力分子机制的探索有利于了解滋养细胞在子痫前期以及其他伴有螺旋动脉重铸障碍的妊娠相关性疾病中所扮演的角色,为该疾病发病机制和治疗方法的深入研究提供新的思路。

【关键词】滋养细胞侵袭力;自分泌和旁分泌因子;信号通路;转录调节因子;妊娠相关性疾病

【中国图书分类法分类号】R722.1;R722.6;R725.6

【文献标志码】A

【收稿日期】2013-04-15

Recent advances in molecular regulation of human trophoblast invasion

BAI Bing, LI Juan, LUO Xin, QI Hongbo

(Department of Obstetrics and Gynecology, The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University)

【Abstract】Invasion of extravillous trophoblasts (EVT) is fundamental to the development of placenta during early pregnancy. Being regulated precisely by the secretions of trophoblasts and other cells, trophoblast invasion is also mediated by signaling pathways and regulatory transcription factors. Any factor leading to these regulations uncontrolled will induce dysfunction of trophoblast in gestational diseases such as preeclampsia and fetal growth restriction. This article reviewed the literatures in recent years about molecular regulation of human trophoblast invasion, which will improve our understanding about the role of the trophoblasts in gestational diseases such as preeclampsia and other pregnancy complications with incomplete spiral artery remodeling and provide new ideas for the studies of pathogenesis and treatments of these disorders.

【Key words】trophoblast invasion; autocrine and paracrine factors; signaling pathways; regulatory transcription factors; gestational diseases

在正常妊娠过程中,滋养细胞侵袭力是母胎界面血管网络形成的基础,有助于建立起有效的母胎循环系统之间的生理交换,以满足胎儿的营养需求。然而,滋养细胞侵袭力受到各种因素的严格调节,使其侵袭限制在蜕膜浅肌层约 1/3 处。任何因素导致这些调节的失控,均会导致滋养细胞生物学行为改变,引起子宫螺旋动脉重铸障碍,最终导致妊娠期特异性疾病,如胎儿生长受限和子痫前期。因此,对这些调控因素的认识和掌握则显得十分重要。近年来,在滋养细胞侵袭力的调控机制方面的研究取得了很大的进展,了解这些新成果、新理论可以提高对子痫前期等伴有螺旋动脉重铸障碍的妊娠相关性疾病的认识,拓宽研究思路。

1 绒毛外滋养细胞(extravillous trophoblasts, EVT)侵袭力在母胎界面血管形成中的作用

胎儿与母体之间的联系开始于胎盘组织内的锚定绒毛

作者介绍:白冰, Email: 71493097@qq.com,

研究方向:妊娠高血压疾病。

通信作者:漆洪波, Email: qi_hongbo@yahoo.com.cn。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(编号:81070502);国家临床重点专科建设经费资助项目(编号:201101ckZD)。

附着于母体子宫,即蜕膜组织上。锚定绒毛的终末端上皮层由细胞滋养细胞(cytotrophoblasts, CTB)和合体滋养细胞(syncytiotrophoblasts, STB)形成,其附着于母体蜕膜后,CTB 受到各种因素的精细调节,并最终分化为 EVT。大致过程是(图 1)^[1]:首先,CTB 分化为具有高度增殖能力的滋养细胞,即绒毛滋养细胞(column trophoblasts, CCT)。短暂增殖生长后,绒毛细胞柱末端的滋养细胞出现生长停滞,从细胞柱上脱离下来,分化为具有高度侵袭力的 EVT。这时的 EVT 包括两种类型,一种是内皮型滋养细胞(endovascular cytotrophoblasts, eCTB),另外一种为间质型滋养细胞(interstitial cytotrophoblasts, iCTB)。eCTB 沿着血管逆行迁移并阻塞子宫螺旋动脉,形成局部缺氧状态,进而减少了氧自由基等细胞毒性物质的生成并取代血管内皮细胞(endothelial cell, EC),从内部重构血管壁。而 iCTB 侵袭母体蜕膜间质,并迁移至螺旋动脉血管外部,从外部重构螺旋动脉或者分化为滋养细胞的最终阶段——多核巨细胞(giant cell, GC)。另外, iCTB 还可通过表达人白细胞抗原-C 与子宫自然杀伤(uterine natural killer, uNK)细胞上的免疫球蛋白样受体结合,调节母体免疫反应,进而促使血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cells, SMC)壁断裂。总之, eCTB 和 iCTB 两者协同促使子宫螺旋动

脉发生重构。

因此,早孕期,母胎界面发生的血管阻塞、血管重构、氧浓度调节以及干扰母体蜕膜细胞等过程无一不是依赖于 EVT 迁移侵袭力,可见 EVT 迁移侵袭力在整个妊娠过程中起关键作用,那么调控 EVT 的各种分子机制则显得至关重要。

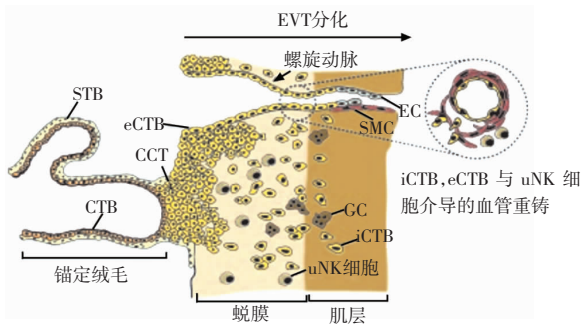


图 1 滋养细胞的分化路径

Fig.1 Differentiation pathways of the extravillous trophoblast

2 锚定绒毛的侵袭分化程序

由于胎盘中的血流在整个妊娠过程中受到精细的调节,所以氧被认为是滋养细胞增殖和分化的主要调节因素。低氧状态可诱导产生缺氧诱导因子-1 α (hypoxia-inducible factor-1 α , HIF-1 α) 进而促进 EVT 的增殖,而高氧状态可促进 EVT 的迁移侵袭。然而,它并不能解释最初沿血管逆行迁移进入并阻塞血管管腔的 EVT 的侵袭迁移现象,因为此时 EVT 处于无血流/氧状态。Bauer 等^[2]将早孕期绒毛组织置于常氧(20%氧浓度)、无血清条件下培养,结果发现,绒毛组织仍会出现基质黏着、滋养细胞柱的形成以及细胞增殖分化,该结果提示锚定绒毛中的 CTB 可能存在着内在的增殖分化程序。另外, Lacey 等^[3]将早孕期绒毛组织块置于无血清和无生长因子的培养基中培养,发现绒毛组织块中的细胞并没有分化为具有迁移侵袭能力的 EVT,但是在培养基中加入胰岛素样生长因子-I (insulin-like growth factor-I, IGF-I) 后,组织块出现了迁移侵袭,该结果提示一些由滋养细胞和绒毛间质细胞分泌的某些生长因子如 IGF-I、IGF-II 和激活素等可能控制着滋养细胞的内源性分化程序。该机制有待进一步研究。

3 调控滋养细胞迁移侵袭的可溶性因子

EVT 与肿瘤细胞具有类似的生物学行为,但与肿瘤细胞高浸润力不同的是 EVT 侵袭在多种自分泌及旁分泌因子(如生长因子、蛋白酶、激素、细胞因子以及趋化因子等)的调节下呈现严格的时间和空间限制。

3.1 旁分泌因子

由于 EVT 侵袭仅局限于子宫浅肌层,所以一般认为蜕膜组织对于 EVT 的侵袭是起着抑制作用的。然而,随着进一步

的研究发现,蜕膜组织中的 uNK 细胞、间质细胞(decidual stromal cells, DSC)以及巨噬细胞可分泌不同的生长因子、细胞因子、白介素、炎症趋化因子、前列腺素以及促血管生长因子,促进或抑制滋养细胞的侵袭迁移(图 2)^[4]。在这些旁分泌因子中,单个因子对滋养细胞的侵袭迁移作用已被广泛研究,但是这些单个因子在不同孕周的浓度以及多种因子的联合效应仍不清楚。因此,蜕膜组织对滋养细胞侵袭迁移作用仍是一个研究热点。

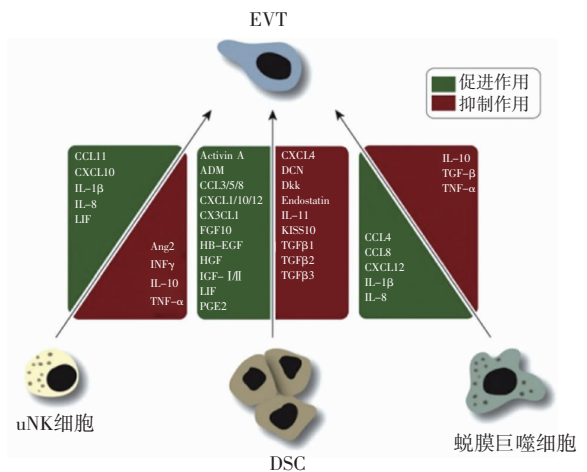


图 2 不同蜕膜细胞对于 EVT 迁移侵袭的作用

Fig.2 Influence of decidual cell types on interstitial trophoblast invasion and migration

3.2 内分泌因子

同肿瘤细胞一样, EVT 侵入子宫蜕膜组织也需要生长因子依赖性蛋白酶系统,如基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)和尿激酶型纤溶酶原激活物(urokinase plasminogen activator, uPA),两者均能使细胞外基质降解,进而促进 EVT 的侵袭。研究发现,自分泌因子如 IGF-II, 高糖基化人绒毛膜促性腺激素(hyperglycosylated hCG, h-hCG)、肝素结合表皮生长因子(heparin-binding epidermal growth factor, HB-EGF)以及白介素(interleukin, IL)等可以增加 MMPs 和 uPA 的表达和激活^[4-6](图 3)。EVT 和蜕膜细胞分泌的可溶性因子具有较大的重叠性,图 2 中显示的某些蜕膜细胞分泌的因子(如 CXCL12、FGF10、CCL3/5 等), EVT 同样可以分泌。它们可激活 MMPs 和 uPA, 增加 EVT 的侵袭力。蜕膜细胞和 EVT 还可分泌一些抑制因子,如金属蛋白酶组织抑制剂(metalloproteinases, TIMPs)和纤溶酶原激活物抑制剂(plasminogen activator inhibitors, PAIs), 这些对滋养细胞侵袭力有着精细的抑制调节作用^[7]。蜕膜细胞和 EVT 分泌的如转化生长因子、Nodal 或肿瘤坏死因子(tumour necrosis factor- α , TNF- α)等因子可增加 TIMPs 或 PAIs 的表达^[7-9]。总之, EVT 在 MMPs、uPA 以及 TIMPs、PAIs 等精细调节下,其侵袭力受到严格的时空限制。此外,滋养细胞还可表达不同的结合素,如 α 5 β 1 和 α 1 β 1 异二聚体,两者通过与纤连蛋白和层黏连蛋白相互影响进而促进滋养细胞的黏连和迁移^[10]。

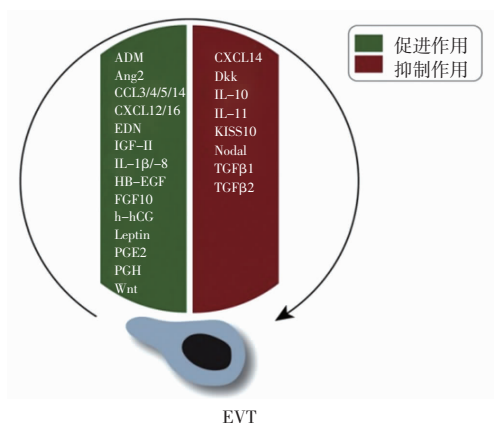


图3 EVT分泌因子促进或抑制其自身的侵袭力

Fig.3 Autocrine factors secreted from EVT promoting and inhibiting trophoblast motility

4 调节 EVT 迁移侵袭力的信号通路

调节其他细胞生长和运动的信号通路对于 EVT 的分化、增殖以及侵袭迁移过程同样重要。近年来通过化学抑制剂、反义寡核苷酸或 siRNA 介导的基因沉默技术对调控滋养细胞增殖和迁移侵袭的生长因子和信号转导通路的级联反应的研究层出不穷,这里简单总结一下(图4)^[4]。

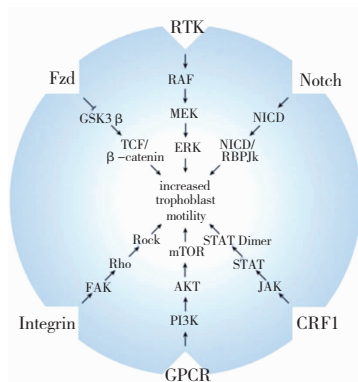


图4 促进 EVT 侵袭迁移的信号转导通路

Fig.4 Signaling pathways promoting trophoblast invasion and migration

研究发现,抑制 MEK/ERK 或 PI3K/AKT/mTOR 信号通路会影响 HCG、表皮生长因子(epidermal growth factor,EGF)、IGF-II 和肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor,HGF)介导的 EVT 侵袭迁移,提示这些因子通过多种信号级联反应参与 EVT 的侵袭迁移的调控^[11]。其他的一些蛋白如 IGF-I 和胰岛素样生长因子联合蛋白-1(insulin-like growth factor binding protein-1,IGFBP-1)可能通过激活局部的黏着斑激酶(focal adhesion kinase,FAK)和整联蛋白联合激酶(integrin-linked kinase,ILK)进而促进滋养细胞的迁移,因为研究发现下调这些激酶的表达可抑制 IGF-I 等刺激物介导的 EVT 迁移。此外,利用基因沉默技术将 Rho-ROCK 通路中的 Rho、Rac1、CDC42 和 ROCK 沉默后,抑制了前列腺素 E2(prostaglandin E2,

PGE2)和 IGF-II 介导的促 EVT 迁移侵袭作用。瘦素与 IL-11 则是通过 JAK/信号传导及转录激活因子(activator of transcription,STAT)信号通路调节滋养细胞侵袭力的,因为沉默 STAT3 表达后,降低了瘦素与 IL-11 介导的促滋养细胞侵袭力作用。Wingless(Wnt)通过 PI3K/AKT 信号通路参与糖原合成酶激酶-3β(glycogen synthase kinase-3β,GSK-3β)依赖的 β-连环蛋白稳定作用、核的形成以及在转录水平上激活 T 细胞因子-4(T-cell factor-4,TCF-4)/β-连环蛋白复合物,进而参与调节 EVT 的侵袭力^[12-14]。此外,研究发现 Notch 信号通路也可参与血管内滋养细胞的侵袭,主要是促进 Notch 蛋白的胞内段(notch intracellular domain,NICD)的生成,NICD 为一种转录因子 RBPJk 的共激活因子^[15]。

5 调控 CCT 增殖和 EVT 分化的转录调节因子

如前所述,EVT 的分化需经历锚定绒毛末端的 CTB 分化为高增殖力的 CCT 形成细胞柱,经过短暂的增殖生长后,部分 CCT 出现生长停滞,从细胞柱末端脱落,进而分化为高侵袭力的 EVT,进而侵入母体蜕膜组织这些过程。在这些过程中,许多关键的转录调节因子组成了一个复杂的网络,调节着 CCT 的生长、增殖以及分化,最终分化形成 EVT 的 2 种细胞型,即 iCTB 和 eCTB。转录调节因子可分为 2 类,一类是在 CCT 和 EVT 上差异性表达,另一类是在 CCT 和 EVT 上无差异性表达。后者虽然表达无差异,但对于 CCT 的生长、增殖和分化以及 EVT 的侵袭却起着不同的作用,原因可能是它们的激活受到不同的转录后修饰和(或)辅激活因子募集反应的调节。关于这些转录调节因子的表达以及在 CCT 的增殖和 EVT 的分化中的作用详见图 5^[4]。

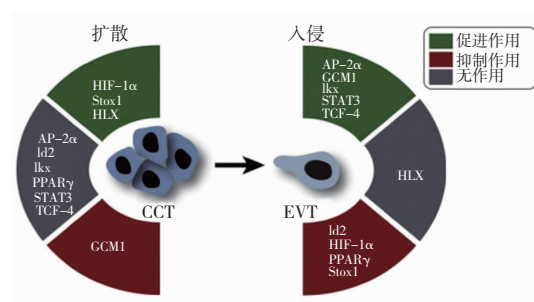


图5 转录调节因子的表达在 EVT 分化中的作用

Fig.5 Expression patterns and roles of regulatory transcription factors in EVT differentiation

	CCT	EVT
ID2	强表达	弱/不表达
HLX	强表达	弱/不表达
GCM1	强表达	弱/不表达
TCF-4	强表达	弱/不表达
AP-2α	强表达	弱/不表达
HIF-1α	强表达	弱/不表达
PPARγ	强表达	弱/不表达
ILK	强表达	弱/不表达
STAT3	强表达	弱/不表达
Stox1	强表达	弱/不表达

同源盒基因 H2.0(H2.0-like homeobox, HLX)、HIF-1 α 以及 Stox1(the winged helix protein Storkhead box 1, Stox1) 可促进滋养细胞的增殖, 然而将 HIF-1 α 以及 Stox1 基因沉默后却增加了滋养细胞的侵袭力, 提示 HIF-1 α 以及 Stox1 对于 EVT 的分化是起抑制作用的, 而且两者均参与了子痫前期的发病^[16-17]。转录生长因子 β 3(transcription factors β 3, TGF β 3) 也可抑制 EVT 的分化和侵袭, 并参与子痫前期的发病。研究发现 TGF β 3 在子痫前期产妇的胎盘上表达上调, 而且体外培养子痫前期绒毛组织发现, 下调 TGF β 3 表达可在一定程度上恢复绒毛组织的侵袭。TGF β 3 抑制 EVT 的侵袭和分化受到 HIF-1 α 调控^[18]。转录调节因子 Stox1 被认为是一种家族性子痫前期的易感基因^[17]。Y153H 为 Stox1 的突变体, 它可增加 Stox1 与靶基因如 T-连环蛋白的结合进而维持滋养细胞的黏连和增殖而非促进 EVT 的分化。此外, DNA 结合抑制因子 2 是滋养细胞侵袭力的负性调节因子, 在分化阶段下调其表达后可刺激 EVT 内碱性/螺旋-环-螺旋活性的增加^[19]。过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 通过调控促 EVT 侵袭基因(如 HCG)的表达参与 EVT 迁移侵袭的调节。转录因子 GCM1、TCF-4、Ikaros 和 AP-2 α 均可促进 EVT 的迁移侵袭^[12,20-22]。MMPs 和 uPA 可能是这些转录因子主要的靶基因^[21]。

综上所述, 滋养细胞的增殖、分化、迁移、浸润受到多种自分泌和旁分泌因子构成复杂的网络、信号转导通路、转录调节因子以及锚定绒毛的内源性分化程序的调节。对这些调节机制的探索有利于对胎儿生长受限和子痫前期等危害母婴健康的妊娠相关性疾病的认识和发病机制的深入研究, 进而从源头上找到治疗这些疾病新的靶点。

参 考 文 献

- [1] Pollheimer J, Knöfler M. The role of the invasive, placental trophoblast in human pregnancy[J]. *Wien Med Wochenschr*, 2012, 162(9-10): 187-190.
- [2] Bauer S, Pollheimer J, Hartmann J, et al. Tumor necrosis factor- α inhibits trophoblast migration through elevation of plasminogen activator inhibitor-1 in first-trimester villous explant cultures[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2004, 89(2): 812-822.
- [3] Lacey H, Haigh T, Westwood M, et al. Mesenchymally-derived insulin-like growth factor 1 provides a paracrine stimulus for trophoblast migration[J]. *BMC Dev Biol*, 2002, 2: 5.
- [4] Knöfler M, Pollheimer J. IFPA award in placentology lecture: molecular regulation of human trophoblast invasion[J]. *Placenta*, 2012, 33(s): s55-s62.
- [5] Lala P K, Chakraborty C. Factors regulating trophoblast migration and invasiveness: possible derangements contributing to pre-eclampsia and fetal injury[J]. *Placenta*, 2003, 24(6): 575-587.
- [6] Knöfler M. Critical growth factors and signaling pathways controlling human trophoblast invasion[J]. *Int J Dev Biol*, 2010, 54(2-3): 269-280.
- [7] Lala P K, Graham C H. Mechanisms of trophoblast invasiveness and their control: the role of proteases and protease inhibitors[J]. *Cancer Metastasis Rev*, 1990, 9(4): 369-379.
- [8] Haider S, Knöfler M. Human tumour necrosis factor: physiological and pathological roles in placenta and endometrium[J]. *Placenta*, 2009, 30(2): 111-123.
- [9] Nadeem L, Munir S, Fu G, et al. Nodal signals through activin receptor-like kinase 7 to inhibit trophoblast migration and invasion: implication in the pathogenesis of preeclampsia[J]. *Am J Pathol*, 2011, 178(3): 1177-1189.
- [10] Aplin J D, Haigh T, Jones C J, et al. Development of cytotrophoblast columns from explanted first-trimester human placental villi: role of fibronectin and integrin α 5 β 1[J]. *Biol Reprod*, 1999, 60(4): 828-838.
- [11] Knöfler M. Critical growth factors and signalling pathways controlling human trophoblast invasion[J]. *Int J Dev Biol*, 2010, 54(2-3): 269-280.
- [12] Pollheimer J, Loregger T, Sonderegger S, et al. Activation of the canonical wingless/T-cell factor signaling pathway promotes invasive differentiation of human trophoblast[J]. *Am J Pathol*, 2006, 168(4): 1134-1147.
- [13] Sonderegger S, Haslinger P, Sabri A, et al. Wingless (Wnt)-3A induces trophoblast migration and matrix metalloproteinase-2 secretion through canonical Wnt signaling and protein kinase B/AKT activation[J]. *Endocrinology*, 2010, 151(1): 211-220.
- [14] Sonderegger S, Pollheimer J, Knöfler M. Wnt signalling in implantation, decidualisation and placental differentiation review[J]. *Placenta*, 2010, 31(10): 839-847.
- [15] Hunkapiller N M, Gasperowicz M, Kapidzic M, et al. A role for Notch signaling in trophoblast endovascular invasion and in the pathogenesis of pre-eclampsia[J]. *Development*, 2011, 138(14): 2987-2998.
- [16] Murthi P, Rajaraman G, Brennecke S P, et al. The role of placental homeobox genes in human fetal growth restriction[J]. *J Pregnancy*, 2011, 2011: 548171.
- [17] van Dijk M, Oudejans C B. STOX1: key player in trophoblast dysfunction underlying early onset preeclampsia with growth retardation[J]. *J Pregnancy*, 2011, 2011: 521826.
- [18] Caniggia I, Winter J, Lye S J, et al. Oxygen and placental development during the first trimester: implications for the pathophysiology of pre-eclampsia[J]. *Placenta*, 2000, 21(sA): s25-s30.
- [19] Janatpour M J, McMaster M T, Genbacev O, et al. Id-2 regulates critical aspects of human cytotrophoblast differentiation, invasion and migration[J]. *Development*, 2000, 127(3): 549-558.
- [20] Baczyk D, Drewlo S, Proctor L, et al. Glial cell missing-1 transcription factor is required for the differentiation of the human trophoblast[J]. *Cell Death Differ*, 2009, 16(5): 719-727.
- [21] Biadasiewicz K, Sonderegger S, Haslinger P, et al. Transcription factor AP-2 α promotes EGF-dependent invasion of human trophoblast[J]. *Endocrinology*, 2011, 152(4): 1458-1469.
- [22] Yamamoto E, Ito T, Abe A, et al. Ikaros is expressed in human extravillous trophoblasts and involved in their migration and invasion[J]. *Mol Hum Reprod*, 2005, 11(11): 825-831.

(责任编辑: 冉明会)