

MSX2 对人胎盘滋养层细胞侵袭能力的影响及机理研究

孙佳¹ 孙丹² 谢晓梅¹ 刘亚梅¹

(1.沧州市人民医院 产科一区 061000; 2.沧州市中心医院 妇二科 061000)

【摘要】目的:探讨 MSX2 对人胎盘滋养层细胞侵袭能力的影响及机理。方法:选择 2018 年 3 月-2019 年 3 月的不同时期人胎盘绒毛组织及人滋养层细胞系 50 例作为研究对象,分为对照组(孕早期(5 周))和观察组(孕中期(15 周)),每组 25 例。对照组运用山羊血清替代一抗,然后加入 MSX2。观察组运用一抗,然后加入 MSX2。对实验样本后的效果进行评估,比较两组的 pro-MMP-2 和 MMP-2。结果:观察组的 MSX2 滋养细胞的侵袭能力显著高于对照组($P<0.05$)。结论:MSX2 对人胎盘滋养层细胞有侵袭能力,其可能机制是通过激活经典 Wnt 信号进而促进 EMT 并且比较强,值得推广应用。

【关键词】MSX2; pro-MMP-2 和 MMP-2; 人胎盘滋养层细胞侵袭能力

成功的胚胎植入取决于滋养层细胞的正常分化和适度侵袭。胎盘发育期间,滋养层细胞的分化和侵袭受严格的空间和时间调节。滋养层侵袭不足将导致妊娠相关疾病,如早期流产、先兆子痫等。更为严重的是,失控的过度侵袭会导致绒毛膜癌的发生。MSX2, MSX 同源框蛋白家族的一个成员,在哺乳动物的许多细胞和组织,如牙齿、软骨,和许多外胚层器官的生长和分化过程中充当着关键角色。最近的研究发现,MSX2 可以通过激活癌细胞的 EMT 进程,进而促进其向临近组织侵袭及迁移。本文以不同时期人胎盘绒毛组织及人滋养层细胞系作为对象开展研究,探讨 MSX2 对人胎盘滋养层细胞侵袭能力的影响及机理,报道如下。

1. 资料与方法

1.1 临床资料

选择 2018 年 3 月-2019 年 3 月不同时期人胎盘绒毛组织及人滋养层细胞系 50 例分为对照组和观察组。对照组 25 例,年龄(25-33),平均(29±3.50)岁。观察组 25 例,年龄(24-34)岁,平均(29±3.50)岁。

1.2 纳入、排除标准

纳入标准:自愿签署知情同意书并同意捐出自己的以上样本。

排除标准:合并传染性疾病、重要脏器损伤或恶性肿瘤者。

1.3 方法

对照组:先做实验前准备:1、脱水:取组织样本,依次在 50%、70%、80%、95%、100%、100%酒精中进行梯度脱水 1-2h。2、透明:取脱水后的组织块置于二甲苯:无水乙醇=1:1 的溶液中 30min,然后置于新鲜二甲苯溶液中 30min 两次。3、浸蜡:将透明后的组织置于新配置二甲苯:石蜡=1:1 混合溶液中,55℃浸蜡 1-2h,再置于 55℃石蜡溶液中 1-2h,最后将组织块包埋于特定包埋槽内,室温冷却并编号记录。后期试验步骤与观察组一致,不过在加入一抗时,运用山羊血清替代一抗。

观察组:同对照组一样的做实验前准备,然后开始试验。1,

将组织切片(厚度 5 μm),然后依次进行脱蜡复水处理:置于新鲜二甲苯中 10min×3 次,再依次置入酒精中各 10min。2,在摇床上浸泡在 PBS 中,5min×3 次。3,置切片于抗原修复液中(c1032-100,索莱宝),并保持 95-98℃,15min。4,室温冷却,并用 PBS 洗 5min×3 次。5,3% H₂O₂ 去离子水孵育 10min,之后用 PBS 洗 5min×3 次。6,滴加试剂 A 封闭剂(即山羊血清 X SP9001,中杉金桥),避光室温封闭 20min(时间也可以适当延长),倾去,勿洗。7,滴加一抗,MSX2(兔抗,1:50; sc-15396; SantaCruz),CK7(鼠抗,1:200; ab20206; Abcam),4℃过夜,孵育结束后用 PBS 洗 5min×3 次。8,滴加二抗(SP9001,中杉金桥),室温或 37℃孵育 30min, PBS 洗 5min×3 次。9,滴加辣根酶标记链酶卵白素工作液(S-A/HRP)(SP9001,中杉金桥),室温孵育 15min, PBS 洗 5min×3 次。10, DAB (SP9001,中杉金桥)避光显色,显微镜观察染色程度,适时终止染色反应。11,缓流水冲洗 2min。12,苏木精染色 3min。13,缓流水冲洗 3min。14,1.0% HCL 的酒精溶液分色 1-2s。15,蒸馏水返蓝 2min。16,梯度脱水:依次置于 75%酒精 5min, 95%酒精 10min, 100%酒精 15min, 100%酒精 15min。17,透明:二甲苯 15min×2 次。18,中性树脂封片,并自然晾干。

1.4 观察指标

(1) pro-MMP-2 和 MMP-2。基质金属蛋白酶(MMP-2 和 MMP-9)在滋养层细胞侵袭母体过程中起重要作用。

1.5 统计学分析

采用 SPSS18.0 软件处理,计数资料行 χ^2 检验,采用 n(%) 表示,计量资料行 *t* 检验,采用 ($\bar{x} \pm s$) 表示, $P<0.05$ 差异有统计学意义。

2 结果

两组 pro-MMP-2 和 MMP-2 比较

观察组的 MSX2 滋养细胞的侵袭能力显著高于对照组($P<0.05$),见表 1。

表 1 心理情绪状态改善情况比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	pro-MMP-2		MMP-2	
		实验前	实验后	实验前	实验后
观察组	25	55.58 ± 5.61	51.16 ± 5.29	69.22 ± 5.68	40.61 ± 4.46
对照组	25	60.12 ± 5.63	75.14 ± 5.43	70.11 ± 5.64	45.79 ± 5.34
<i>t</i>	/	1.296	8.435	0.932	6.538
<i>P</i>	/	0.124	0.000	0.295	0.000

3 讨论

MSX2 在人胎盘的细胞滋养层和滋养层柱中高表达,人先兆子痫胎盘绒毛中 MSX2 蛋白的表达水平较正常足月胎盘明显降低。MSX2 能增强人滋养细胞的侵袭能力,其可能机制是通过激活经典 Wnt 信号进而促进 EMT,且 MSX2 表达的异常可能与先兆子痫的发生相关。

本研究中,观察组的 MSX2 滋养细胞的侵袭能力显著高于对照组($P<0.05$)。说明 MSX2 的表达升高可导致经典 Wnt 信号途径的活化进而促进 EMT 事件。MSX2 在多种癌细胞系中高度表达,并且可以通过 Wnt 信号通路的激活,促进 EMT。此外,通过表达 MSX2 可诱导 Wnt3a 配体和 GSK3β 抑制因子的活化,激活 Wnt 通路,从而促进卵巢癌细胞的侵袭

综上所述,MSX2 对人胎盘滋养层细胞有侵袭能力,其可能机

制是通过激活经典 Wnt 信号进而促进 EMT 并且比较强,值得推广应用。

参考文献:

- [1]陈圆圆,程蔚蔚.内皮脂酶与重度子痫前期的相关性及其对滋养层细胞功能影响的研究[J].现代妇产科进展,2018,27(4):3-6.
- [2]孙平,王玉,刘媛,等.低分子肝素对不同氧浓度下早孕绒毛滋养层细胞侵袭力的影响作用[J].现代妇产科进展,2017,26(6):413-417.
- [3]肖艳平,付久园,王哲,等.脑源性神经营养因子对人滋养层细胞增殖和侵袭的影响及其机制[J].山东医药,2017,57(35):33-35.
- [4]林锋,王海娟,李春晓,等.食管癌细胞来源的外泌体对肿瘤细胞迁移及侵袭能力的影响及机制研究[J].解放军医学杂志,2017,42(4):45-51.