

妊娠期高血压疾病孕妇胎盘组织中 HDAC8 和 SMAD4 的表达及与妊娠结局的相关性

安泓润, 吴亚男, 徐 然

(河北中石油中心医院产科, 河北 廊坊 065000)

[摘要]目的 探讨妊娠期高血压疾病(HDCP)孕妇胎盘组织中组蛋白去乙酰化酶 8(HDAC8)、果蝇母本抗生存因子蛋白同源物 4(SMAD4)的表达与疾病严重程度及妊娠结局的相关性。**方法** 选择 2020 年 8 月至 2022 年 12 月河北中石油中心医院收治的 96 例 HDCP 孕妇为观察对象(HDCP 组),根据病情严重程度将其分为妊娠期高血压组 35 例,轻度子痫前期(PE)组 33 例,重度 PE 组 28 例;选择同期 96 例健康孕妇为对照组。根据妊娠结局,将 HDCP 孕妇分为妊娠结局良好组 57 例与妊娠结局不良组 39 例。以免疫组化法检测 HDCP 孕妇胎盘组织中 HDAC8、SMAD4 的表达水平,以实时荧光定量 PCR(RT-qPCR)检测胎盘组织中 HDAC8 mRNA、SMAD4 mRNA 的表达水平;比较不同组别孕妇及不同妊娠结局孕妇胎盘组织中 HDAC8、SMAD4 的表达,以受试者工作特征(ROC)曲线分析 HDAC8 mRNA、SMAD4 mRNA 诊断 HDCP 孕妇发生不良妊娠结局的价值;采用多因素 Logistic 回归分析 HDCP 孕妇妊娠结局的影响因素。**结果** HDCP 组与对照组胎盘组织中 HDAC8、SMAD4 的阳性表达率(χ^2 值分别为 30.561、40.776),以及 HDAC8 mRNA、SMAD4 mRNA 表达水平(t 值分别为 12.101、22.342)比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。妊娠期高血压组、轻度 PE 组、重度 PE 组胎盘组织中 HDAC8、SMAD4 的阳性表达率(χ^2 值分别为 21.055、15.903),以及 HDAC8 mRNA、SMAD4 mRNA 表达水平(F 值分别为 48.158、21.879)比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。HDCP 组与对照组早产儿、胎儿生长受限、胎儿窘迫、新生儿窒息的发生率比较差异均有统计学意义(χ^2 值分别为 5.858、6.391、6.752、4.301, $P < 0.05$)。妊娠结局良好组的收缩压、舒张压、24h 尿蛋白及 HDAC8 mRNA 和 SMAD4 mRNA 表达水平比较,差异均有统计学意义(t 值分别为 2.770、5.058、3.062、7.282、6.031, $P < 0.05$)。HDAC8 mRNA、SMAD4 mRNA 及二者联合诊断 HDCP 孕妇发生不良妊娠结局的曲线下面积分别为 0.780、0.779、0.918,二者联合诊断的曲线下面积明显高于单独诊断者(Z 值分别为 2.412、2.522, $P < 0.05$)。收缩压($OR = 2.895, 95\% CI: 1.580 \sim 5.305$)、舒张压($OR = 2.342, 95\% CI: 1.241 \sim 4.419$)、SMAD4 mRNA($OR = 2.765, 95\% CI: 1.545 \sim 4.948$)均是 HDCP 孕妇发生不良妊娠结局的独立危险因素($P < 0.05$),HDAC8 mRNA($OR = 0.764, 95\% CI: 0.638 \sim 0.915$)是 HDCP 孕妇发生不良妊娠结局的保护因素($P < 0.05$)。**结论** HDCP 孕妇胎盘组织中 HDAC8 表达降低,SMAD4 表达升高;其与孕妇病情严重程度及不良妊娠结局有关,可能参与了 HDCP 的发生及发展。

[关键词] 妊娠期高血压疾病;组蛋白去乙酰化酶 8;果蝇母本抗生存因子蛋白同源物 4;妊娠结局

Doi:10.3969/j.issn.1673-5293.2024.11.008

[中图分类号]R173

[文献标识码]A

[文章编号]1673-5293(2024)11-0061-08

Expression of HDAC8 and SMAD4 in placental tissue of pregnant women with hypertensive disorder complicating pregnancy and the correlation with pregnancy outcomes

AN Hongrun, WU Yanan, XU Ran

(Department of Obstetrics, Hebei PetroChina Central Hospital, Hebei Langfang 065000, China)

[Abstract] Objective To investigate the correlation between the expression of histone deacetylase 8 (HDAC8) and small mother against decapentaplegic (SMAD) in placental tissue of pregnant women with hypertensive disorder complicating pregnancy (HDCP) and the severity of disease and pregnancy outcomes. **Methods** A total of 96 pregnant women diagnosed with HDCP at Hebei PetroChina Central Hospital from August 2020 to December 2022 were selected as the observation group (HDCP group). Based on disease severity, they were divided into three subgroups: 35 cases in the gestational hypertension group, 33 cases in the mild preeclampsia (PE) group, and 28 cases in the severe PE group. Additionally, 96 healthy pregnant women during the same period were selected as the control group. According to pregnancy outcomes, HDCP pregnant women were further divided into a

[收稿日期]2023-10-26

[基金项目]廊坊市科技支撑计划项目(2022013125)

[作者简介]安泓润(1986—),女,主治医师,硕士,主要从事高危妊娠的研究。

[通讯作者]吴亚男,副主任医师。

good outcome group (57 cases) and a poor outcome group (39 cases). The expression levels of HDAC8 and SMAD4 in the placental tissue of HDCP pregnant women were detected using immunohistochemistry, while real-time quantitative PCR (RT-qPCR) was employed to assess the expression levels of HDAC8 mRNA and SMAD4 mRNA in placental tissue. The expression of HDAC8 and SMAD4 in different groups and different pregnancy outcome groups was compared. The diagnostic value of HDAC8 mRNA and SMAD4 mRNA for adverse pregnancy outcomes in HDCP pregnant women was analyzed using receiver operating characteristic (ROC) curves. Multivariable logistic regression was used to analyze the influencing factors of pregnancy outcomes in HDCP pregnant women. **Results** The positive expression rates of HDAC8 and SMAD4 in placental tissues of the HDCP group ($\chi^2=30.561$ and 40.776 , respectively, $P<0.05$) and the mRNA expression levels of HDAC8 and SMAD4 ($t=12.101$ and 22.342 , respectively, $P<0.05$) in the placental tissues of the HDCP group were significantly different from those of the control group. The positive expression rates of HDAC8 and SMAD4 in placental tissue among the gestational hypertension group, mild PE group, and severe PE group ($\chi^2=21.055$ and 15.903 , respectively, $P<0.05$), as well as the expression levels of HDAC8 mRNA and SMAD4 mRNA ($F=48.158$ and 21.879 , respectively, $P<0.05$), also demonstrated statistically significant differences. The incidence rates of preterm birth, fetal growth restriction, fetal distress, and neonatal asphyxia in the HDCP group compared to the control group were statistically significant ($\chi^2=5.858, 6.391, 6.752$, and 4.301 , respectively, $P<0.05$). The systolic blood pressure, diastolic blood pressure, 24h urine protein, and expression levels of HDAC8 mRNA and SMAD4 mRNA in the good pregnancy outcome group showed statistically significant differences ($t=2.770, 5.058, 3.062, 7.282$ and 6.031 , respectively, $P<0.05$). The area under the curve of HDAC8 mRNA, SMAD4 mRNA and the combined diagnosis of HDCP patients with adverse pregnancy outcomes were $0.780, 0.779$ and 0.918 , respectively, and the area under the curve of the combined diagnosis of HDCP patients was significantly higher than that of patients diagnosed alone ($Z=2.412$ and 2.522 , respectively, $P<0.05$). Systolic blood pressure ($OR=2.895$, $95\%CI:1.580-5.305$), diastolic blood pressure ($OR=2.342$, $95\%CI:1.241-4.419$), SMAD4 mRNA ($OR=2.765$, $95\%CI:1.545-4.948$) was an independent risk factor for adverse pregnancy outcomes in HDCP patients ($P<0.05$), while HDAC8 mRNA was a protective factor ($OR=0.764$, $95\%CI:0.638-0.915$, $P<0.05$). **Conclusion** The expression of HDAC8 is decreased, and SMAD4 is increased in the placental tissue of HDCP pregnant women. These expressions are associated with the severity of the mother's condition and adverse pregnancy outcomes, and they may be involved in the occurrence and development of HDCP.

[Key words] hypertensive disorder complicating pregnancy; histone deacetylase 8; small mother against decapentaplegic homolog 4; pregnancy outcome

妊娠期高血压疾病(hypertensive disorder complicating pregnancy, HDCP)为妊娠期特有的疾病,可影响胎儿正常发育,造成胎儿心衰、肾衰、早产等不良母婴结局^[1]。在 HDCP 中,由于滋养层的侵袭性降低,导致蜕膜螺旋动脉重构不足,并剥夺母体的氧气供应,导致细胞因子、炎症因子大量分泌,引起疾病的发生^[2]。组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylase, HDAC)通过调节乙酰化水平,调节基因转录,与高血压、心肌重构、心律失常等心血管疾病的发生发展密切相关^[3]。HDAC8 属于 HDAC 家族,在癌症中,HDAC8 参与调节肿瘤细胞的侵袭与转移,促进肿瘤生长^[4]。研究显示,HDAC8 在自发性高血压大鼠(spontaneously hypertensive rat, SHR)及血管紧张素Ⅱ诱导的高血压小鼠模型中的表达水平显著降低^[5]。SMAD 同源物 4(SMAD4)是人体内重要转录因子,可通过参与调节胰岛素抵抗、

炎症反应、细胞增殖等,调节滋养层细胞侵袭,与妊娠期糖尿病、HDCP 等疾病密切相关^[6]。研究显示,在轻度子痫前期(preeclampsia, PE)患者胎盘组织中,SMAD4 及 SMAD4 mRNA 水平升高,上调 SMAD4 表达,导致滋养层细胞增殖与侵袭数量减少,细胞凋亡率增加^[7]。转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β)/SMAD4 信号通路参与多种疾病的调节。研究显示,HDAC 8 与 SMAD 3/4 异源三聚体形成复合物,并占据乙酰化转移酶 Sirtuin7 (SIRT7)启动子,HDAC8 抑制剂通过 SIRT7-SMAD4 轴 TGF- β 信号传导,从而抑制乳腺癌肺转移,并提高乳腺癌的化疗效果^[8]。由此可以推测,HDAC8 及 SMAD4 可能共同参与了 HDCP 的进展,但二者在 HDCP 中的临床价值尚不清楚。本研究探讨了 HDAC8、SMAD4 的表达与疾病严重程度及妊娠结局的相关性,为 HDCP 的临床诊治提供

新思路。

1 研究对象与方法

1.1 研究对象

选择 2020 年 8 月至 2022 年 12 月河北中石油中心医院收治的 96 例 HDCP 孕妇为观察对象(HDCP 组),根据病情严重程度将其分为妊娠期高血压组 35 例,轻度 PE 组 33 例,重度 PE 组 28 例;选择同期 96 例健康孕妇为对照组;根据妊娠结局,将 HDCP 孕妇分为妊娠结局良好组 57 例与妊娠结局不良组 39 例。

1.2 纳入与排除标准

纳入标准:①符合 HDCP 诊治指南(2020)中的诊断标准^[9],且按照病情严重程度分组;②单胎妊娠;③孕周在 28 周以上;④检查前 2 周未服用过影响血压的药物。

排除标准:①孕前高血压、糖尿病、冠心病等;②合并肝肾功能障碍、自身免疫性疾病;③孕妇或胎儿伴感染性疾病;④合并严重内分泌疾病;⑤临床资料不全;⑥胎儿畸形、胎位异常或胎儿伴有先天性疾病;⑦恶性肿瘤或精神异常无法配合检查者。

本研究经过河北中石油中心医院医学伦理委员会批准(编号:KYLL-2022-34)。

1.3 研究方法

1.3.1 资料的收集

收集所有入组者的一般资料,包括年龄、孕前体质量指数(body mass index,BMI)、分娩孕周、是否为初产妇。收集所有入组者的胎膜早破、早产儿、胎儿生长受限、胎儿窘迫、新生儿窒息等资料。

1.3.2 免疫组化法检测胎盘组织中 HDAC8 和 SMAD4 的表达

在分娩后 15min 内,取 1cm×1cm×1cm 胎盘组织,生理盐水冲洗后,使用 4%多聚甲醛固定 24h,石蜡包埋,切成 4μm 的切片,采用免疫组化法检测 HDAC8、SMAD4 的表达。免疫组化法检测试剂盒(货号:SP0041)、兔抗人 HDAC8、SMAD4 单克隆抗体(货号:AF2737、AF1291)均购自碧云天生物科技有限公司,一抗 HDAC8、SMAD4 抗体均按照 1:1 000 稀释,用磷酸盐缓冲液代替一抗做为阴性对照,使用已知阳性切片作为阳性对照。

结果的判定:显微镜下随机选取 5 个视野,根据

染色强度:未着色、淡黄色、黄色、棕黄色,分别记为 0、1、2、3 分;阳性细胞所占百分比为<5%、5%~25%、26%~50%、51%~75%、>75%,分别记为 0、1、2、3、4 分;两项积分相乘,得分 0~1 分为阴性(-),得分≥2 分为阳性(+)。

1.3.3 实时荧光定量 PCR 检测胎盘组织中 HDAC8 mRNA 和 SMAD4 mRNA 的表达

使用 TRIzol Reagent 试剂(上海齐源生物科技有限公司,货号:QYK-12830)提取胎盘组织中的总 RNA,检测总 RNA 纯度和浓度,使用逆转录试剂盒(Thermo,货号:K1622)将 RNA 逆转录为 cDNA,HDAC8、SMAD4 以 GAPDH 作为内参,引物由上海吉玛制药技术公司合成,见表 1。采用实时荧光定量 PCR(RT-qPCR)进行扩增后,采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 公式估算 HDAC8 mRNA、SMAD4 mRNA 的表达水平。

表 1 HDAC8、SMAD4 的引物序列

Table 1 Primer sequence of HDAC8 and SMAD4

基因	引物序列
HDAC8	F:CCAAGAGGGCGATGATGATC
	R:GTGGCTGG GCAGTCATAACC
SMAD4	F:GGAACACCACTACGCCTTCAAC
	R:AGTGCATCACCTGTTCTAGGC
GAPDH	F:GAAGGTGAAGGTCGGAGTC
	R:GAAGATGGTGATGGGATTTC

1.4 统计学方法

应用 SPSS 25.0 统计学软件分析数据,符合正态分布的连续变量用均数±标准($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较采用 t 检验,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD- t 检验;计数资料用例数(百分率)[$n(\%)$]表示,组间比较采用 χ^2 /校正 χ^2 检验,组间多重比较采用 Bonferroni 法;用受试者工作特征(ROC)曲线分析 HDAC8 mRNA、SMAD4 mRNA 对 HDCP 孕妇发生不良妊娠结局的诊断价值;用多因素 Logistic 回归分析 HDCP 孕妇妊娠结局的影响因素。以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HDCP 组与对照组孕妇胎盘组织中 HDAC8 和 SMAD4 的表达情况

免疫组化法检测结果显示,与对照组比较,

HDCP 组胎盘组织中 HDAC8 阳性表达率明显降低, SMAD4 阳性表达率明显升高, 差异均有统计学意义 ($P < 0.001$); RT-qPCR 检测结果显示, 与对照

组比较, HDCP 组胎盘组织中 HDAC8 mRNA 表达水平明显降低, SMAD4 mRNA 表达水平明显升高, 差异均有统计学意义 ($P < 0.001$), 见表 2、图 1。

表 2 HDCP 组与对照组孕妇胎盘组织中 HDAC8 和 SMAD4 表达的比较 [$n(\%)$, $\bar{x} \pm s$]

Table 2 Comparison of HDAC8 and SMAD4 expression in placental tissue of pregnant women in HDCP group and control group [$n(\%)$, $\bar{x} \pm s$]

组别	例数(n)	HDAC8 阳性	SMAD4 阳性	HDAC8 mRNA	SMAD4 mRNA
HDCP 组	96	35(36.46)	65(67.71)	0.78 ± 0.15	2.45 ± 0.62
对照组	96	73(76.04)	21(21.88)	1.06 ± 0.17	1.01 ± 0.12
χ^2/t		30.561	40.776	12.101	22.342
P		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

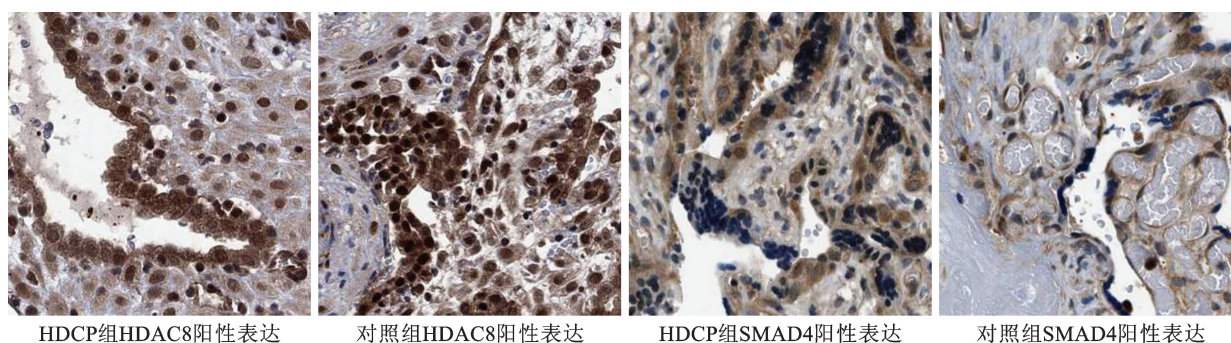


图 1 HDCP 组与对照组孕妇胎盘组织中 HDAC8 和 SMAD4 的表达

Fig.1 Expression of HDAC8 and SMAD4 in the placental tissue of pregnant women in the HDCP group and the control group

2.2 不同严重程度 HDCP 孕妇胎盘组织中 HDAC8 和 SMAD4 的表达情况

在妊娠期高血压组、轻度 PE 组、重度 PE 组胎盘组织中, HDAC8 阳性表达率及 HDAC8 mRNA 表达水平比较, SMAD4 阳性表达率及 SMAD4 mRNA 表达水平比较, 差异均有统计学意义 ($P < 0.001$), 见表 3。

两两比较显示, 与妊娠期高血压组比较, 轻度 PE 组、重度 PE 组胎盘组织中 HDAC8 阳性表达率及 HDAC8 mRNA 表达水平均明显降低, SMAD4 阳性表达率及 SMAD4 mRNA 表达水平均明显升高, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$); 与轻度 PE 组比较, 重度 PE 组胎盘组织中 HDAC8 阳性表达率及 HDAC8 mRNA 表达水平均明显降低, SMAD4 阳性表达率及 SMAD4 mRNA 表达水平均明显升高 ($P < 0.05$), 见表 3。

2.3 HDCP 组与对照组妊娠结局的比较

HDCP 组发生不良妊娠结局 39 例(妊娠期高血

压组 7 例, 轻度 PE 组 12 例, 重度 PE 组 20 例), 对照组发生不良妊娠结局 5 例, HDCP 组不良妊娠结局发生率明显高于对照组, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$); 与对照组比较, HDCP 组的早产儿、胎儿生长受限、胎儿窘迫、新生儿窒息的发生率均明显升高, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$), 而胎膜早破的发生率比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 4。

2.4 不同妊娠结局孕妇的基本情况

HDCP 孕妇妊娠结局良好组与妊娠结局不良组的年龄、孕前 BMI、分娩孕周、肌酐、甘油三酯 (triglyceride, TC)、谷丙转氨酶 (alanine aminotransferase, ALT), 以及初产妇、不良孕史、高血压家族史的分布比较, 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$); 妊娠结局不良组的收缩压、舒张压、24h 尿蛋白、SMAD4 mRNA 表达水平均明显高于妊娠结局良好组, HDAC8 mRNA 表达水平明显低于妊娠结局良好组, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 5。

表 3 不同严重程度 HDCP 孕妇胎盘组织中 HDAC8、SMAD4 表达的比较 [n(%), $\bar{x} \pm s$]

Table 3 Comparison of HDAC8 and SMAD4 expression in placental tissues of pregnant women with HDCP of different severity [n(%), $\bar{x} \pm s$]

组别	例数(n)	HDAC8 阳性	SMAD4 阳性	HDAC8 mRNA	SMAD4 mRNA
妊娠期高血压组	35	22(62.86)	16(45.71)	0.89±0.08	2.15±0.38
轻度 PE 组	33	11(33.33)	23(69.70)	0.76±0.12	2.41±0.42
重度 PE 组	28	2(7.14)	26(92.86)	0.66±0.07	2.87±0.50
χ^2/F		21.055	15.903	48.158	21.879
P		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
χ^2_1/t_1		5.927	3.994	8.115	3.513
P_1		0.015	0.046	<0.001	0.039
χ^2_2/t_2		24.475	15.557	13.740	9.310
P_2		<0.001	<0.001	<0.001	0.001
χ^2_3/t_3		6.196	5.142	5.895	5.869
P_3		0.013	0.023	<0.001	<0.001

注: χ^2/F 、 P 为妊娠期高血压组与轻度 PE 组和重度 PE 组的比较; χ^2_1/t_1 、 P_1 为妊娠期高血压组与轻度 PE 组的比较; χ^2_2/t_2 、 P_2 为妊娠期高血压组与重度 PE 组的比较; χ^2_3/t_3 、 P_3 为轻度 PE 组与重度 PE 组的比较。

表 4 HDCP 组与对照组妊娠结局的比较 [n(%)]

Table 4 Comparison of pregnancy outcomes between HDCP group and control group [n(%)]

组别	例数(n)	早产儿	胎儿生长受限	胎儿窘迫	胎膜早破	新生儿窒息	合计
HDCP 组	96	12(12.50)	8(8.33)	9(9.38)	4(4.17)	6(6.25)	39(40.63)
对照组	96	3(3.13)	0	1(1.04)	1(1.04)	0	5(5.21)
χ^2		5.858	6.391	6.752	0.821	4.301	33.577
P		0.016	0.011	0.009	0.365	0.038	<0.001

表 5 不同妊娠结局孕妇基本资料的比较 [$\bar{x} \pm s$, n(%)]

Table 5 Comparison of basic data of pregnant women with different pregnancy outcomes [$\bar{x} \pm s$, n(%)]

项目	妊娠结局良好组(n=57)	妊娠结局不良组(n=39)	t/χ^2	P
年龄(岁)	33.45±5.13	33.58±5.48	0.119	0.906
孕前 BMI(kg/m ²)	23.85±2.26	24.17±2.19	0.690	0.492
分娩孕周(周)	37.15±2.72	36.42±2.68	1.299	0.197
初产妇	28(49.12)	21(53.85)	0.207	0.649
不良孕史	9(15.79)	7(17.95)	0.078	0.780
高血压家族史	11(18.64)	8(20.51)	0.052	0.819
收缩压(mmHg)	142.64±16.78	152.38±17.12	2.770	0.007
舒张压(mmHg)	85.92±9.83	96.01±9.25	5.058	<0.001
肌酐(μmol/L)	154.69±18.14	158.03±18.72	0.875	0.384
24h 尿蛋白(g)	5.63±1.15	6.32±0.98	3.062	0.003
TC(mmol/L)	4.98±0.94	5.03±0.99	0.250	0.803
ALT(IU/L)	23.92±5.75	24.48±6.16	0.455	0.650
HDAC8 mRNA	0.85±0.12	0.68±0.10	7.282	<0.001
SMAD4 mRNA	2.18±0.55	2.84±0.49	6.031	<0.001

2.5 HDAC8 mRNA 和 SMAD4 mRNA 诊断 HDCP 孕妇发生不良妊娠结局的价值

以胎盘组织中 HDAC8 mRNA、SMAD4 mRNA 单独及联合诊断概率值为检验变量,以 HDCP 孕妇是否发生不良妊娠结局为状态变量(是=1,否=0),绘制 ROC 曲线,结果显示,HDAC8 mRNA、SMAD4 mRNA 及二者联合诊断 HDCP 孕妇发生不良妊娠结局的曲线下面积(area under the curve, AUC)分别为 0.780、0.779、0.918,二者联合诊断的 AUC 明显高于单独诊断者(Z 值分别为 2.412、2.522, $P<0.05$),见图 2、表 6。

2.6 影响 HDCP 孕妇妊娠结局的多因素 Logistic 回归分析

以 HDCP 孕妇是否发生不良妊娠结局为因变量(是=1;否=0),将收缩压、舒张压、24h 尿蛋白、HDAC8 mRNA、SMAD4 mRNA 纳入自变量进行多因素 Logistics 回归分析,结果显示,收缩压、舒张压、SMAD4 mRNA 均是 HDCP 孕妇发生不良妊娠结局的独立危险因素($P<0.05$),HDAC8 mRNA

是 HDCP 孕妇发生不良妊娠结局的保护因素($P<0.05$),见表 7。

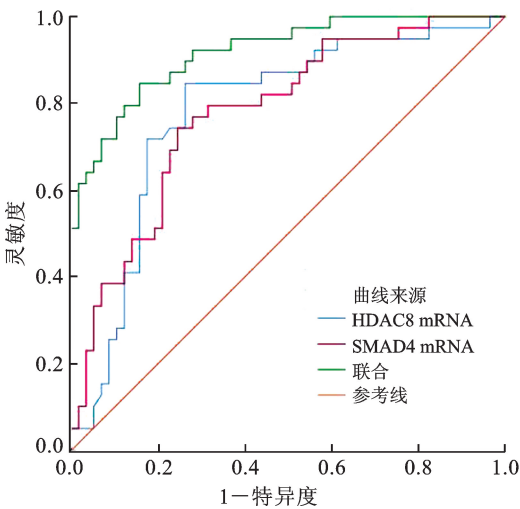


图 2 HDAC 8mRNA、SMAD4 mRNA 及二者联合诊断 HDCP 孕妇发生不良妊娠结局的 ROC 曲线
Fig.2 ROC curves of HDAC8mRNA,SMAD4 mRNA and their combination in the diagnosis of adverse pregnancy outcomes in HDCP patients

表 6 HDAC8、SMAD4 mRNA 诊断 HDCP 患者发生不良妊娠结局的价值分析

指标	AUC	95%CI	灵敏度(%)	特异度(%)	截断值	P
HDAC 8mRNA	0.780	0.681~0.858	84.62	73.68	0.75	<0.001
SMAD4 mRNA	0.779	0.683~0.857	74.36	75.44	2.42	<0.001
联合	0.918	0.844~0.964	84.62	84.21		<0.001

表 7 影响 HDCP 患者妊娠结局的多因素 Logistic 回归分析结果

影响因素	B	S.E.	Wald χ^2	P	OR	95%CI
收缩压	1.063	0.309	11.834	0.001	2.895	1.580~5.305
舒张压	0.851	0.324	6.899	0.008	2.342	1.241~4.419
24h 尿蛋白	0.076	0.125	0.370	0.543	1.079	0.845~1.379
HDAC8 mRNA	-0.269	0.092	8.561	0.003	0.764	0.638~0.915
SMAD4 mRNA	1.017	0.297	11.726	0.000	2.765	1.545~4.948

3 讨论

HDCP 是严重的妊娠并发症,多发于高龄孕妇,以高血压、水肿、蛋白尿等为主要临床特征,可导致孕妇脑出血、胎儿早产及生长受限等不良妊娠结局^[10]。因此,寻找与 HDCP 相关的诊断指标,评估患者病情及妊娠结局,给予及时干预,对于改善不良

妊娠结局具有积极作用^[11-12]。

3.1 HDAC8 与 HDCP 的相关性

HDACs 是一种蛋白酶,对改变染色体结构和调节基因表达有较大影响。有研究表明,组蛋白乙酰转移酶(histone acetyltransferase, HAT)的平衡和 HDAC 的活性在基因转录调控中起着至关重要的

作用;在 PE 中,HDACs(如 HDAC2、HDAC6 等)通过对滋养层细胞的增殖与侵袭,影响 PE 的发生及发展^[13-14]。HDACs 主要分为 4 种,HDAC8 属于 I 类 HDAC,通过调节细胞的增殖与分化、血管生成、炎症反应等,与心肌肥大、哮喘、肿瘤等疾病密切相关^[15]。有研究显示,在三阴性乳腺癌中,HDAC8 可增强乳腺癌细胞的迁移能力,抑制 HDAC8 的表达,可抑制三阴性乳腺癌细胞的增殖与迁移^[16]。本研究显示,HDCP 组胎盘组织中 HDAC8 阳性表达率及 HDAC8 mRNA 表达水平均明显低于对照组,提示 HDAC8 与 HDCP 的发生有关。有研究认为,HDCP 的发生可能与滋养层细胞的侵袭性不足有关,滋养层细胞的侵袭性不足导致子宫内膜的不完全浸润,使子宫螺旋动脉重塑和全身血管内皮受损,引起身体各器官出现各种病理生理变化^[17]。HDAC8 可促进肿瘤细胞的侵袭,推测 HDAC8 可能通过调节滋养层细胞的迁移和侵袭参与 HDCP 的发生及发展。在 HDCP 中,HDAC8 表达降低,可导致滋养层细胞的侵袭性不足,引发子宫螺旋动脉障碍,导致 HDCP 的发生。

3.2 SMAD4 与 HDCP 相关性

SMADs 是 TGF- β 信号转导的下游调节因子,TGF- β 1 可通过调节滋养层细胞侵袭,参与 PE 的发生及发展,TGF- β 1 可与其受体结合,激活 SMAD2 和 SMAD3,并与 SMAD4 形成复合体,进行信号传导并调节相应基因的表达,参与调控细胞的增殖与凋亡^[18-19]。有研究显示,活素 A 通过 ALK4 调节的 SMAD2/3-SMAD4 通路,上调整合素 β 1 表达,促进滋养层细胞的侵袭^[20]。本研究显示,HDCP 组胎盘组织中 SMAD4 阳性表达率及 SMAD4 mRNA 表达水平均明显高于对照组,提示 SMAD4 与 HDCP 的发生有关。有研究显示,肌肉生长抑制素可能通过 SMAD2/3-SMAD4 信号上调 N-钙粘蛋白增加对人类滋养层细胞的侵袭^[21]。这表明,在 HDCP 中,SMAD4 表达升高,可能与其参与调节滋养层细胞迁移与侵袭有关。

3.3 HDAC8 和 SMAD4 与 HDCP 孕妇妊娠结局的相关性

本研究显示,妊娠期高血压组、轻度 PE 组、重度 PE 组的胎盘组织中 HDAC8 阳性表达率逐渐降

低,而 SMAD4 阳性表达率逐渐升高,提示 HDAC8、SMAD4 与患者病情严重程度有关。究其原因,可能是 HDAC8、SMAD4 参与了滋养层细胞的增殖与侵袭,参与了子宫螺旋动脉的重铸,导致胎盘组织缺氧缺血,释放大炎症物质,引起母体血管功能障碍,进而导致 PE 的发生及发展。本研究还显示,妊娠结局不良组胎盘组织中 HDAC8 mRNA 表达水平明显低于妊娠结局良好组,而 SMAD4 mRNA 表达水平明显高于妊娠结局良好组;二者联合诊断对不良妊娠结局有一定的预测价值,且多因素 Logistics 回归分析显示,SMAD4 mRNA 是 HDCP 孕妇发生不良妊娠结局的独立危险因素,HDAC8 mRNA 是 HDCP 孕妇发生不良妊娠结局的保护因素,提示 HDAC8、SMAD4 与 HDCP 妊娠结局有关。分析其原因,HDAC8、SMAD4 可能通过影响滋养层细胞的增殖与侵袭,进而影响胎盘供血,导致 HDCP 的发生及发展,从而影响妊娠结局。

综上,HDCP 孕妇胎盘组织中 HDAC8 表达降低,SMAD4 表达升高,与患者病情严重程度及不良妊娠结局有关,HDAC8、SMAD4 可能参与了 HDCP 的发生及发展,HDAC8、SMAD4 在 HDCP 中的临床诊断应用仍需扩大样本量行进一步研究。

[参考文献]

- [1]刘佩琳,马丽丽,高万里.血清 PLGF、PAPP-A、 β -hCG 与妊娠期高血压疾病的相关性及预测不良妊娠结局价值[J].中国计划生育学杂志,2022,30(5):1154-1158.
- [2]张长存,张爱萍,李玉琴.Snail 高表达对子痫前期大鼠胎盘滋养细胞侵袭能力的影响及其机制[J].吉林大学学报(医学版),2021,47(4):911-918.
- [3]Maechler H, Zirlik A, McKinsey T A, et al. HDAC inhibition regulates cardiac function by increasing myofilament calcium sensitivity and decreasing diastolic tension[J]. *Pharmacology*, 2022, 14(7): 1509.
- [4]Rahmani G, Moloudi M R, Amini R, et al. Effect of histone deacetylase 8 gene deletion on breast cancer cellular mechanism in vitro and in vivo study[J]. *Life Sci*, 2022, 311(Pt A): 121156.
- [5]Kee H J, Kim G R, Lin M Q, et al. Expression of class I and class II a/b histone deacetylase is dysregulated in hypertensive animal models[J]. *Korean Circ J*, 2017, 47(3): 392-400.

- [6] Li L, Bai Y, Du R, et al. The role of Smad4 in the regulation of insulin resistance, inflammation and cell proliferation in HTR8-Svneo cells[J]. *Cell Biochem Funct*, 2021, 39(1):126-138.
- [7] Qi Y, Cui S, Liu L, et al. Expression and role of miR-146a and SMAD4 in placental tissue of pregnant women with preeclampsia[J]. *J Obstet Gynaecol Res*, 2022, 48(8): 2151-2161.
- [8] Tang X, Li G, Su F, et al. HDAC8 cooperates with SMAD3/4 complex to suppress SIRT7 and promote cell survival and migration[J]. *Nucleic Acids Res*, 2020, 48(6):2912-2923.
- [9] 中华医学会妇产科学分会妊娠期高血压疾病学组. 妊娠期高血压疾病诊治指南(2020)[J]. *中华妇产科杂志*, 2020, 55(4):227-238.
- [10] 朱志敏, 赵芳, 宋洋洋, 等. 妊娠期高血压疾病患者血清指标与妊娠结局的相关性[J]. *中国妇幼健康研究*, 2023, 34(3):29-34.
- [11] Che R, Pei J, Chen H, et al. The influence of hypertensive disorders during pregnancy on the perinatal outcome of different chorionic twins[J]. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 2022, 35(25):7146-7152.
- [12] 姚丽波, 朱春江, 张逢春, 等. 妊娠期高血压疾病孕妇血清胎盘生长因子、可溶性 fms 样酪氨酸激酶 1 水平变化及与妊娠结局的关系[J]. *临床和实验医学杂志*, 2022, 21(18):1960-1964.
- [13] Zhang K, Zhang H, Gao S, et al. Effect and mechanism of microRNA-515-5p in proliferation and apoptosis of trophoblast cells in preeclampsia via manipulating histone deacetylase 2[J]. *Mol Reprod Dev*, 2023, 90(1): 59-66.
- [14] Mei Z, Huang B, Zhang Y, et al. Histone deacetylase 6 negatively regulated microRNA-199a-5p induces the occurrence of preeclampsia by targeting VEGFA in vitro[J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 114(1):108805.
- [15] 白诗瑶, 赵杰禹, 孙佳敏, 等. 组蛋白去乙酰化酶 8 抑制剂 PCI-34051 抑制哮喘小鼠气道旁血管生成和 VEGF/ERK 信号通路活性[J]. *中国组织化学与细胞化学杂志*, 2022, 31(5):441-446.
- [16] An P, Li J, Lu L, et al. Histone deacetylase 8 triggers the migration of triple negative breast cancer cells via regulation of YAP signals[J]. *Eur J Pharmacol*, 2019, 845(1):16-23.
- [17] Zhu L, Liu Z. Serum from patients with hypertension promotes endothelial dysfunction to induce trophoblast invasion through the miR-27b-3p/ATPase plasma membrane Ca^{2+} transporting 1 axis[J]. *Mol Med Rep*, 2021, 23(5):319.
- [18] Liu J, Song G, Zhao G, et al. Gene polymorphism associated with TGF- β 1 and susceptibility to preeclampsia: a meta-analysis and trial sequential analysis[J]. *J Obstet Gynaecol Res*, 2021, 47(6):2031-2041.
- [19] 王文芳, 谭三阳, 王绪松, 等. miR-142-3p 对滋养层细胞迁移、侵袭和转化生长因子- β 受体 1/Smad 通路的影响[J]. *中国性科学*, 2022, 31(4):103-107.
- [20] Zhu S, Li Z, Cui L, et al. Activin A increases human trophoblast invasion by upregulating integrin β 1 through ALK4[J]. *FASEB J*, 2021, 35(2):e21220.
- [21] AbdelHafez F, Klausen C, Zhu H, et al. Myostatin increases human trophoblast cell invasion by upregulating N-cadherin via SMAD2/3-SMAD4 signaling[J]. *Biol Reprod*, 2022, 106(6):1267-1277.

[专业责任编辑:李春芳]

[中文编辑:王 懿;英文编辑:方 柳]