

胎盘外泌体在女性生殖领域研究的概述

赵小萱¹, 陈璐², 李娜², 王伟², 冯晓玲²

(1. 黑龙江中医药大学 第一临床医学院, 哈尔滨 150040; 2. 黑龙江中医药大学附属第一医院 妇科二科, 哈尔滨 150040)

摘要: 妊娠是母体成功接受半同种异体基因胎儿的过程, 全身多系统多器官均会发生适应性改变以满足胚胎着床及胎儿生长发育的需求, 而母体的变化涉及多种调节机制, 目前尚未明确, 其中细胞间通信发挥重要作用。在整个孕期, 胎盘分泌的携带有多种信号分子的特异性外泌体, 是母胎细胞间通信的重要媒介, 也是胎盘执行各种功能的重要体现, 故研究胎盘外泌体的组成、生物学功能及其在生理病理妊娠过程中的作用机制意义重大, 可为妊娠并发症病因的探索及寻找新的治疗方法提供思路。

关键词: 胎盘外泌体; 合体滋养细胞; 细胞通信; 生理妊娠; 病理妊娠

中图分类号: R714.2

文献标志码: A

文章编号: 1001-2478(2020)05-0432-06

哺乳动物尤其是人类的妊娠是一种高级、复杂的生殖方式。成功的妊娠要求母体对同种异体移植胎儿产生免疫耐受并支持其生长和发育。在合体滋养细胞中, 有 58 个父系基因优先表达并与母体的血液直接接触^[1]。因此, 覆盖于绒毛膜合体滋养层的父系抗原一旦表达并暴露于母体免疫系统就有被攻击的风险。然而, 在人类繁殖过程中同种异体移植胎儿成功地避开了母体免疫系统攻击, 并在宫腔内维持免疫豁免。这一成功的“免疫逃逸”离不开胎盘母胎界面上的细胞间通信^[2]。研究表明, 胎盘组织不仅介导了对胎儿激素、营养物质和氧气的支持, 而且还积极分泌信号分子调节妊娠期间母体免疫反应^[3]。最近的报告显示, 人类胎盘最主要和独特的细胞类型——合体滋养细胞可经过“内吞-融合-外排”等一系列加工过程将携带有蛋白质和 RNA 等信号分子的纳米级微囊泡分泌到细胞外环境^[4]。这些纳米级微囊泡从生物遗传学和形态学角度上被定义为外泌体, 在胎儿与母体细胞间建立交互对话, 通过多重机制发挥免疫抑制作用^[5], 促进同种异体移植胎儿的存活。本文总结了目前关于胎盘衍生外泌体性质的研究进展, 并着重探讨外泌体在生理及病理妊娠中的作用。

1 外泌体概述

1.1 外泌体的结构及功能 所有生物的生命活动

收稿日期: 2019-06-16

基金项目: 国家自然科学基金(81973894; 81574014)

作者简介: 赵小萱(1993—), 女, 博士生, 主要从事复发性流产、P-COS 等疾病相关研究

通信作者: 冯晓玲(E-mail: doctorfxl@126.com)

都离不开细胞间通信, 而这一信息和物质的交换过程除了依赖可溶性介质、纳米级微管、信号分子与靶细胞间的黏附接触外, 还可借助释放和吸收膜结合细胞微泡。后者可将供体细胞的信息传递给近处或远处的受体细胞从而建立细胞间联系^[6]。外泌体是微泡家族中定义最为明确的一类微泡, 形态规则且直径较小, 大小相对均匀, 生物成分较均一, 电镜下其特征为: (1)形状呈杯形; (2)大小为 30~100 nm, 在蔗糖梯度上浮力密度为 1.13~1.19 g/mL; (3)形成和释放过程涉及内吞体及转运体; (4)外泌体表面为类似于细胞膜的脂质双分子层, 具有一定的疏水性; (5)外泌体的表层由胆固醇、鞘磷脂类和四聚糖组成, 且表面有四次跨膜蛋白家族成员或聚糖磷脂酰肌醇锚定蛋白^[7]。人免疫细胞、内皮细胞及肿瘤细胞等多种细胞均可释放外泌体。外泌体首先由细胞内溶酶体微粒(endolysosomal vesicle, EV)向内出芽形成多囊泡体(multi-vesicular body, MVB); 在可溶性受体激动剂、缺氧、氧化应激等因素刺激下, 细胞质中游离钙离子增多, 激活蛋白酶、凝溶胶蛋白等, 并抑制磷酸酯酶等酶的活性, 引起细胞骨架重建^[8], 在 p53 蛋白调控下, MVB 最终与细胞膜融合并释放外泌体^[9]。外泌体作为细胞间通信的重要介质, 可通过多种途径将信号分子传递给靶细胞, 其作用方式包括: (1)直接激活靶细胞膜受体; (2)修饰靶细胞的胞外环境; (3)与细胞膜融合, 将囊泡中的物质释放到靶细胞中^[10]。这些物质具有细胞特异性, 并受组织生理和细胞功能的调节。与“经典”的细胞分泌方式相比, 外泌体是一种“非经典”的分泌物, 其优点包括: (1)保存运输蛋白的三

维结构及其生物活性；(2)保证信号传递在细胞-细胞间接接触的独立性；(3)携带信号分子的外泌体具有较低的流动性和较高的分子浓度；(4)能够保证合成

蛋白质的独立性；(5)具有将信息传递给远处细胞的生物学效应^[11]。(图1)

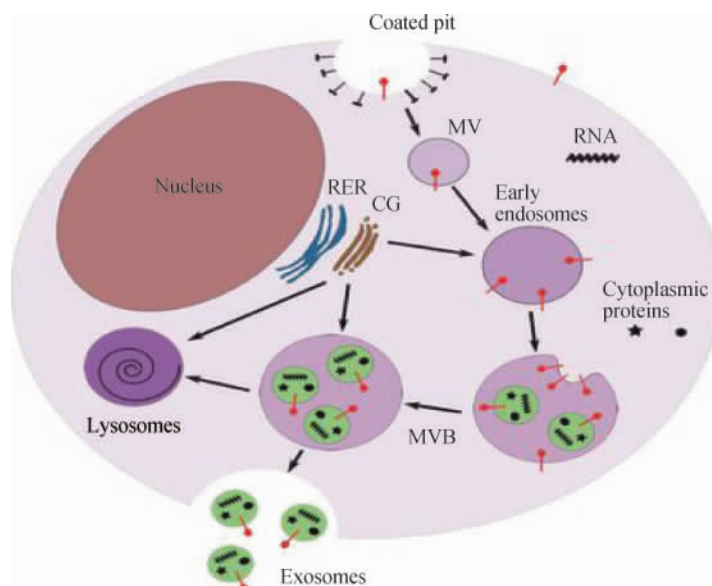


图1 外泌体产生和分泌途径示意图^[12]

注：CG-高尔基体；RER-粗面内质网

2 胎盘外泌体

2.1 定义与结构 胎盘外泌体是指妊娠期间由胎盘的组成细胞如合体滋养细胞、细胞滋养细胞、绒毛外滋养细胞及胎盘血管内皮细胞等释放的微型囊泡，其中被覆于胎盘绒毛的合体滋养细胞是产生胎盘外泌体的主要细胞。根据蛋白质组学分析显示，胎盘外泌体内包含两大类蛋白分子，一类位于外泌体膜上，另一类位于囊泡内^[13]。胎盘碱性磷酸酶位于外泌体膜的外侧，是胎盘外泌体区别于其他组织细胞来源外泌体的特异性标志物^[14]。与其他外泌体相比，胎盘外泌体膜外不表达经典的MHC分子，而是表达非经典的MHC相关分子——MHC I类链相关分子A/B(MHC class I chain-related A/B, MICA/B)、视黄酸早期标记分子和NKG2D的配体(激活NK细胞受体)。并且研究表明，HLA-G的表达仅限于侵入母体蜕膜的绒毛外滋养层，而合体滋养层完全不含HLA-G^[15]。发源于合体滋养层的外泌体因缺少HLA-G分子从而不对NK细胞起激活作用。位于胎盘外泌体囊泡内的蛋白分子除了细胞骨架蛋白、囊泡运输蛋白、巨噬细胞抑制因子和人类巨细胞病毒蛋白UL16结合蛋白外，还表达促凋亡分子FasL和TRAIL、细胞

调节因子(TGF- β 和PD-L1)转运所需的内体分选复合物相关蛋白Alix和多泡小体蛋白TSG101等。图2展示了典型的胎盘来源外泌体，并列出了一些专有蛋白质。

2.2 胎盘外泌体与生理妊娠 到目前为止，对胎盘外泌体的研究还很少。Salomon等^[17]证实，在妊娠期间从母体循环中分离出的外泌体浓度比非妊娠妇女高50倍以上($P < 0.001$)，且胎盘来源外泌体数量随着胎龄的增加而增加。但外泌体在妊娠过程中的具体调节机制仍在探索中，目前研究认为胎盘外泌体通过参与血管重塑、下调免疫反应等途径维持妊娠。

2.2.1 胎盘外泌体介导血管重塑 在胎盘的生长发育过程中，血管平滑肌细胞迁移是妊娠中子宫螺旋动脉重塑的关键步骤。Salomon等^[17]分别用JEG-3和HTR-8/SVneo细胞系建立绒毛外滋养细胞模型，通过微分法和浮力离心法分离外泌体，检测其对血管平滑肌细胞迁移的影响。结果显示，无论是JEG-3细胞还是HTR-8/SVneo细胞，其分泌的外泌体均可促进血管平滑肌细胞迁移，这提示绒毛外滋养细胞释放的外泌体可通过促进血管平滑肌细胞迁移参与螺旋动脉重塑，满足妊娠期间子宫胎盘低阻力循环形成的需要。有学者猜测胎盘外泌体

的这一功能与其所释放的生物活性蛋白有关,该蛋白能够与子宫螺旋动脉内皮相互作用。Williams 等^[18]证实,滋养细胞外泌体可通过内吞作用、表面粘连或受体配体相互作用等方式招募单核细胞,并促进促炎细胞因子、趋化因子的分泌,有利于细胞外基质降解、内皮细胞迁移及血管重塑。另外 Luo 等^[19]通过实时荧光定量 PCR、原位杂交技术及 Be

Wo 细胞系培养等实验手段发现,胎盘合体滋养层细胞通过外泌体释放胎盘特异性 miRNA 进入母体血液循环,其中 miR-155 可调控血管生长、血管功能、胎盘发育等诸多过程。可见外泌体可通过携带的信号分子调控血管重塑,为胚胎的着床与发育提供良好条件,有助于妊娠的维系^[20]。

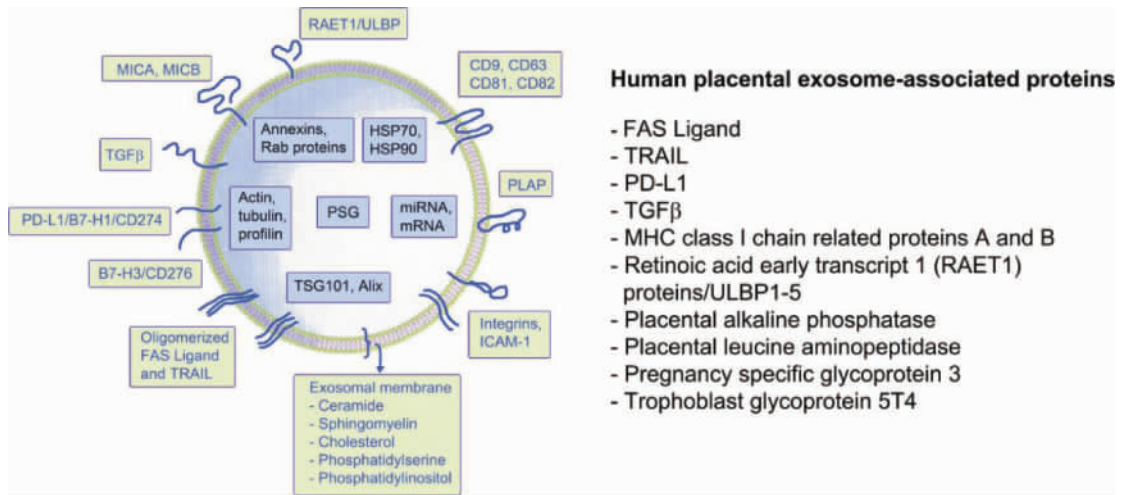


图2 胎盘外泌体及其专有蛋白质示意图^[16]

2.2.2 胎盘外泌体通过介导免疫细胞凋亡维持免疫耐受 妊娠期间细胞凋亡对调节胎儿的免疫功能至关重要。Stenqvist 等^[21]研究了人类胎盘上 2 种细胞凋亡信使 TNF 家族成员 FasL 和 TRAIL 的表达及凋亡活性。有学者发现这两种分子都表达于细胞内,并局限于合体滋养层细胞终末内涵体隔间上。通过胞膜的侵袭作用,细胞将携带有膜生物活性的 FasL 和 TRAIL 分子以外泌体的形式释放,抑制 CD3-ζ 链和 JAK3,促使 Th1 凋亡^[22-23]。此外,据报道胎盘外泌体携带 NKG2D 配体,可通过激活 NK 细胞上 NKG2D 受体以下调 NK 细胞的活性,从而影响母体 NK 细胞的免疫杀伤毒性^[24]。并且,有学者猜测外泌体携带 TGF-β 与 PD-L1,有助于 T 细胞向 Treg 转化^[25]。上述由外泌体释放的信号分子均发挥免疫抑制作用,有助于母胎免疫耐受的建立。(图 3)

3 外泌体与病理妊娠

胎盘外泌体在病理妊娠中起重要作用,各实验室对其确切作用机制的研究尚处于成型阶段。有文献报道,胎盘外泌体中存在多种生物学功能各异的蛋白分子,其种类和数量的变化可直接影响细胞间

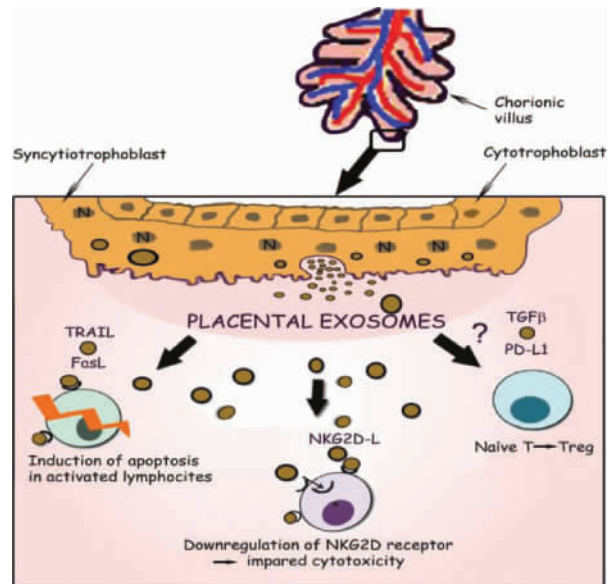


图3 人类胎盘来源外泌体在母胎界面的免疫调节作用示意图^[26]

通信,导致胎盘功能障碍,引发多种产科疾病如子痫前期、妊娠糖尿病(gestational diabetes mellitus, GDM)等。

3.1 子痫前期 子痫前期是常见且病情危急的妊娠并发症之一,占有早产病因的 40%^[27]。其发病机制尚未明确,目前学者认为滋养层细胞浸润不

足, 胎盘灌注异常可引起高血压及蛋白尿^[28]。胎盘外泌体在子痫前期患者发病中的作用主要有以下几个方面。

3.1.1 胎盘外泌体所包含的脂质、蛋白质或 miRNA 含量发生变化 Baig 等^[29]将子痫前期患者与正常妊娠人群合体滋养细胞样本中所含的微泡进行对比研究发现, 妊娠合并子痫前期人群微泡中有较高水平的磷脂酰丝氨酸和较低水平的磷脂酸、磷脂酰甘油和神经节苷脂甘露糖苷。并且与健康的孕妇相比, 子痫前期患者胎盘外泌体中合胞素 2 蛋白、基质金属蛋白酶 2 和基质金属蛋白酶 9 等功能蛋白的表达均与正常妊娠存在显著性差异^[12]。Vargas 等^[30]从子痫前期女性体内分离出的胎盘外泌体中合胞素 2 水平下降, 而低水平的合胞素 2 可影响滋养细胞对子宫螺旋动脉的侵袭^[31], 导致胎盘灌注异常。Wu 等^[32]通过研究妊娠合并重度子痫前期孕妇血浆中的 miRNA 发现, 重度子痫患者外泌体中 14 号染色体 miRNA 簇中 miR-342-3p 表达水平显著升高, 并可与其他差异表达的 miRNA 联合预测重度子痫前期。但上述与正常妊娠女性存在差异的分子究竟如何参与疾病的发生发展, 仍需进一步研究。

3.1.2 胎盘外泌体通过影响母体免疫耐受导致子痫前期患者的发病 子痫前期患者的病因与母体免疫耐受异常有关, 而胎盘外泌体参与母胎界面的免疫调节^[33]。因此, 胎盘外泌体数量的增加、含量及功能的变化导致母体免疫系统失衡从而引发子痫成为可能。Redman 等^[34]报道, 滋养细胞的囊泡和碎片脱落进入母体循环, 导致血管炎性反应和内皮损伤, 这与子痫前期的病理生理学有关。Shomer 等^[35]发现, 子痫前期患者存在血管病变时, 外周血微泡中与炎症、血管增生相关的血管蛋白较高, 提示微泡在妊娠期血管疾病的发生中起重要作用。从以上研究可知, 滋养细胞的胎盘微泡参与免疫, 并可能产生有助于子痫前期病因发生的炎症反应, 然而具体的分子机制还有待深入挖掘。

3.2 胎盘外泌体与 GDM GDM 是妊娠期常见的代谢性疾病之一。高血糖、高胰岛素血症和低氧是与其相关的主要病理变化, 研究表明这些不良内环境因素可通过影响滋养层细胞外泌体的释放和生物活性对母胎血流交换产生不利影响, 从而出现早产、胎儿窘迫、胎儿死亡等不良妊娠结局^[36]。Salomon 等^[37]在纵向研究中观察到, GDM 患者血浆中胎盘外泌体的浓度高于孕周匹配的正常妊娠女

性。其他学者通过临床研究得出一致的学术观点, 他们认为 GDM 患者胎盘外泌体的浓度可能与胎盘质量及胎儿体质量呈正相关。由上述实验结果可以推测血清外泌体的浓度与 GDM 的发生和发展有关。另外外泌体的生物活性受炎症微环境的影响, 其可以激活 GDM 患者的免疫系统, 加速疾病进展。Santovito 等^[38]报道了糖尿病患者体外 miRNA 失调, 而与血糖控制相关的脂联素通路调控外泌体 miRNA 谱。Almohammadi 等^[39]发现, GDM 女性胎盘外泌体中 miR-518a-5p、miR-518b、miR-518c、miR-518e、miR-520c-3p 及 miR-525-525-5p 的丰度较正常女性增加。综上所述, 外泌体的浓度、组成和/或生物活性(即与母体细胞的相互作用)的变化可能参与 GDM 的发病, 其可能是预测 GDM 的生物标志物, 但具体分子机制仍有待深究。

4 结语

外泌体介导的细胞间通信为理解供体细胞和靶细胞间的对话开辟了新视角。迄今为止, 外泌体与许多疾病如心血管疾病、血栓栓塞以及炎症和免疫紊乱等的相关性已被体外试验证实。在妊娠过程中胎盘的主要细胞类型——合体滋养层细胞持续不断地产生和释放外泌体, 它们在母胎之间运送重要信号分子和遗传信息, 调节母体免疫系统及母胎血供从而为胚胎着床及生长发育创造良好的宫内环境, 但具体作用机制有待深入研究。目前试验开展过程中仍缺乏从人体体液(如血液)分离纯化胎盘外泌体的标准化方法, 这限制了对胎盘外泌体的分子机制研究。技术的开发优化将有助于外泌体的进一步研究, 而在妇科疾病领域如不孕症、反复流产和妊娠合并症中, 其作用及分子机制也有待深入研究, 以期病理妊娠及相关并发症的早期预测、诊断及治疗提供重要基础。

参考文献

- [1] Colombo M, Raposo G, Théry C. Biogenesis, secretion, and intercellular interactions of exosomes and other extracellular vesicles[J]. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2014, 30: 255-289.
- [2] Atay S, Gercel-Taylor C, Suttles J, *et al.* Trophoblast-derived exosomes mediate monocyte recruitment and differentiation[J]. *Am J Reprod Immunol*, 2011, 65(1): 65-77.
- [3] Salomon C, Yee S, Sarker S, *et al.* Plasma from first trimester pre-symptomatic women who subsequently developed pre-eclampsia reduces extravillous trophoblast cells migration, a possible role of placental-derived particles [J]. *Placenta*,

- 2014, 35(9): A83.
- [4] Tong M, Chamley LW. Placental extracellular vesicles and feto-maternal communication[J]. Cold Spring Harb Perspect Med, 2015, 5(3): a023028.
 - [5] Rechavi O, Goldstein I, Kloog Y. Intercellular exchange of proteins: The immune cell habit of sharing[J]. FEBS Lett, 2009, 583(11): 1792-1799.
 - [6] Théry C, Zitvogel L, Amigorena S. Exosomes: composition, biogenesis and function[J]. Nat Rev Immunol, 2002, 2(8): 569-579.
 - [7] Susan FL, Christopher AL. Plasma microparticles and vascular disorders[J]. Br J Haematol, 2007, 137(1): 36-48.
 - [8] Xin Y, Sandra LH, Arnold JL. The regulation of exosome secretion: A novel function of the p53 protein[J]. Cancer Res, 2006, 66(9): 4795-4801.
 - [9] Carlos S, Zarin N, Christopher LD, *et al.* Placental exosomes during gestation: Liquid biopsies carrying signals for the regulation of human parturition[J]. Curr Pharm Des, 2018, 24(9): 974-982.
 - [10] Record M, Carayon K, Poirot M, *et al.* Exosomes as new vesicular lipid transporters involved in cell-cell communication and various pathophysiology[J]. Biochim Biophys Acta, 2014, 1841(1): 108-120.
 - [11] Vlassov AV, Magdaleno S, Setterquist R, *et al.* Exosomes: current knowledge of their composition, biological functions, and diagnostic and therapeutic potentials[J]. Biochim Biophys Acta, 2012, 1820(7): 940-948.
 - [12] Baig S, Kothandaraman N, Manikandan J, *et al.* Proteomic analysis of human placental syncytiotrophoblast microvesicles in preeclampsia[J]. Clin Proteomics, 2014, 11(1): 40.
 - [13] Ouyang Y, Mouillet JF, Coyne CB, *et al.* Review: placenta-specific microRNAs in exosomes—good things come in nanopackages[J]. Placenta, 2014, 35(Suppl): S69-S73.
 - [14] Kshirsagar SK, Alam SM, Jasti S, *et al.* Immunomodulatory molecules are released from the first trimester and term placenta via exosomes[J]. Placenta, 2012, 33(12): 982-990.
 - [15] Mincheva-Nilsson L, Baranov V. Placenta-Derived Exosomes and Syncytiotrophoblast Microparticles and their Role in Human Reproduction: Immune Modulation for Pregnancy Success[J]. Am J Reprod Immunol, 2014, 72(5): 440-457.
 - [16] Mincheva-Nilsson L, Baranov V. The Role of Placental Exosomes in Reproduction[J]. Am J Reprod Immunol, 2010, 63(6): 520-533.
 - [17] Salomon C, Kobayashi M, Ashman K, *et al.* Hypoxia-Induced Changes in the Bioactivity of Cytotrophoblast-Derived Exosomes[J]. PLoS One, 2013(8): e79636.
 - [18] Williams PJ, Searle RF, Robson SC, *et al.* Decidual leucocyte populations in early to late gestation normal human pregnancy[J]. J Reprod Immunol, 2009, 82(1): 24-31.
 - [19] Luo SS, Ishibashi O, Ishikawa G, *et al.* Human villous trophoblasts express and secrete placenta-specific microRNAs into maternal circulation via exosomes[J]. Biol Reprod, 2009, 81(4): 717-729.
 - [20] Morales-Prieto DM, Chaiwangyen W, Ospina-Prieto S, *et al.* MicroRNA expression profiles of trophoblastic cells[J]. Placenta, 2012, 33(9): 725-734.
 - [21] Stenqvist AC, Nagaeva O, Baranov V, *et al.* Exosomes secreted by human placenta carry functional Fas ligand and TRAIL molecules and convey apoptosis in activated immune cells, suggesting exosome-mediated immune privilege of the fetus[J]. J Immunol, 2013, 191(11): 5515-5523.
 - [22] Toth B, Lok CA, Böing A, *et al.* Microparticles and exosomes: impact on normal and complicated pregnancy[J]. Am J Reprod Immunol, 2007, 58(5): 389-402.
 - [23] Stenqvist AC, Nagaeva O, Baranov V, *et al.* Exosomes secreted by human placenta carry functional Fas ligand and TRAIL molecules and convey apoptosis in activated immune cells, suggesting exosome-mediated immune privilege of the fetus[J]. J Immunol, 2013, 191(11): 5515-5523.
 - [24] Hedlund M, Stenqvist A-C, Nagaeva O, *et al.* Human placenta expresses and secretes NKG2D ligands via exosomes that down-modulate the cognate receptor expression: evidence for immunosuppressive function[J]. J Immunol, 2009, 183: 340-351.
 - [25] Ananth CV, Keyes KM, Wapner RJ. Pre-eclampsia rates in the United States, 1980-2010: age-period-cohort analysis[J]. BMJ, 2013, 347: f6564.
 - [26] Mincheva-Nilsson L. Placental exosome-mediated immune protection of the fetus: feeling groovy in a cloud of exosomes[J]. Exp Rev Obstet Gynecol, 2010, 5: 619-634.
 - [27] Filipek A, Jurewicz E. Preeclampsia—a disease of pregnant women[J]. Postepy Biochem. 2018, 64(4): 232-229.
 - [28] Lee SM, Romero R, Lee YJ, *et al.* Systemic inflammatory stimulation by microparticles derived from hypoxic trophoblast as a model for inflammatory response in preeclampsia[J]. Am J Obstet Gynecol, 2012, 207(4): 337.e1-337.e8.
 - [29] Baig S, Lim JY, Fernandis AZ, *et al.* Lipidomic analysis of human placental syncytiotrophoblast microvesicles in adverse pregnancy outcomes[J]. Placenta, 2013, 34(5): 436-442.
 - [30] Vargas A, Zhou SF, éthier-chiasson M, *et al.* Syncytin proteins incorporated in placenta exosomes are important for cell uptake and show variation in abundance in serum exosomes from patients with preeclampsia[J]. FASEB J, 2014, 28(8): 3703-3719.
 - [31] Salomon C, Yee SW, Mitchell MD, *et al.* The possible role of extravillous trophoblast-derived exosomes on the uterine spiral arterial remodeling under both normal and pathological conditions[J]. Biomed Res Int, 2014, 2014: 693157.
 - [32] Wu L, Zhou HH, Lin HY, *et al.* Circulating microRNAs are elevated in plasma from severe preeclamptic pregnancies[J]. Reproduction, 2012, 143(3): 389-397.
 - [33] Rusterholz C, Hahn S, Holzgreve W. Role of placentally produced inflammatory and regulatory cytokines in pregnancy and the etiology of preeclampsia[J]. Semin Immunopathol, 2007, 29(2): 151-162.
 - [34] Redman CW, Tannetta DS, Dragovic RA, *et al.* Review: Does size matter? Placental debris and the pathophysiology of pre-eclampsia[J]. Placenta, 2012, 33: S48-S54.