

DKK1与尿蛋白在子痫前期中的研究进展

陶金晶^{1,2}, 瓮占平^{2*}, 郑祎祎^{1,2}

¹大连医科大学研究生院, 辽宁 大连

²山东省青岛市市立医院妇产科, 山东 青岛

收稿日期: 2023年4月17日; 录用日期: 2023年5月9日; 发布日期: 2023年5月18日

摘要

子痫前期(Preeclampsia, PE)作为妊娠期特有并发症, 大量潜在的生物标记物已被发现, 协助于诊断并治疗PE病情。WNT信号通路是调控生物体内细胞生长、发育及分化的关键信号传导通路之一, 在PE发病中起到关键作用。DKK1作为WNT信号通路的拮抗剂, 其蛋白表达水平与子痫前期的发病率密切相关, 并且现已证实DKK1参与肾脏的病变, 成为子痫前期蛋白尿症状的影响因素之一。通过探究DKK1在母体血清中的表达情况, 联合尿蛋白水平, 探讨二者在PE发病中起到的作用。

关键词

子痫, WNT信号通路, DKK1, 尿蛋白

Progress in Research of DKK1 and Urinary Protein in Preeclampsia

Jinjing Tao^{1,2}, Zhanping Weng^{2*}, Yiyi Zheng^{1,2}

¹Graduate School, Dalian Medical University, Dalian Liaoning

²Department of Obstetrics and Gynecology, Qingdao Municipal Hospital, Qingdao Shandong

Received: Apr. 17th, 2023; accepted: May 9th, 2023; published: May 18th, 2023

Abstract

As a unique complication of pregnancy, a number of potential biomarkers have been identified to assist in the diagnosis and treatment of PE. The WNT signalling pathway is one of the key signalling pathways that regulate cell growth, development and differentiation in organisms and plays a key role in the development of PE. DKK1, an antagonist of the WNT signalling pathway, is closely

*通讯作者。

associated with the incidence of PE. It has also been shown that DKK1 is involved in renal pathology and is one of the factors influencing the symptoms of proteinuria in PE. In this study, we investigated the role of DKK1 in the development of PE by examining its expression in maternal serum in combination with urinary protein levels.

Keywords

Preeclampsia, WNT Signaling Pathway, DKK1, Urinary Protein

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



1. 子痫的定义及发病机制

子痫前期(Preeclampsia, PE)一般是在妊娠 20 周后发生的妊娠期特有的疾病, 诊断标准一般是血压高于正常值, 伴有尿蛋白 ≥ 0.3 g/24h, 或随机蛋白尿阳性; 其发病率在 2%~5%, 是导致母婴妊娠不良结局的主要病因之一, 包括子痫、胎盘早剥、HELLP 综合征、死产等[1]。如果有可能预测 PE 的发生发展, 进行适当的监测, 并且在获得一些临床或实验室证据支持高危血栓形成的前提条件下, 早期引入阿司匹林、钙或肝素, 对于预防妊娠不良结局起到更大作用[2]。

目前研究表明, PE 的病理特点主要是螺旋动脉血管内浅层细胞滋养细胞浸润和内皮细胞功能障碍[3]。目前病因虽未完全明确, 但有 4 种假说受到认可: 胎盘缺血、极低密度脂蛋白与毒性预防活性、免疫失调和遗传印迹。需要说明的是, 虽然这四种假说是分开描述的, 但它们相互作用。PE 作为胎盘起源类疾病, 分为两阶段。第一阶段是螺旋动脉形成受影响, 导致胎盘血液供应不足。第二阶段是胎盘供血不足造成的对母婴的影响。内皮细胞功能障碍似乎成为 PE 发病的共同途径, 各种因素加上母体易感性的差异, 造成 PE 的病情严重程度变化[4]。随着研究进展, Redman [5]完善其提出的子痫前期“二阶段模式”学说, 发表了“六阶段模式”学说。其中, 第一阶段是从受精开始至胚胎在子宫内膜着床, 第一阶段用时短, 母体会出现对于胚胎来自父亲基因的免疫不耐受。第二阶段则开始时间早、持续时间长, 通常发生在妊娠的第 8~18 周, 即胎盘产生发育的重要时期。PE 发病的重要原因被认为是子宫螺旋动脉受滋养细胞侵袭, 导致胎盘形成异常。故第二阶段被认为是研究胎盘滋养细胞病理改变和寻找 PE 早期预测和诊断生物标志物的黄金阶段。第三阶段是指母体机体出现应激反应。第四阶段是指妊娠到达中晚期后, 胎盘会释放出各类损伤因子进入母体的血液循环, 造成母体的血管内皮细胞损伤及各靶器官的炎症免疫反应。PE 的第五阶段是指母体出现临床表现, 如高血压等。较少患者到达第六阶段, 此时患者病情急剧变化, 螺旋动脉迅速粥样硬化, 胎盘血液灌注减少, 血管内血栓形成, 最终胎盘梗死引起后续病变[6]。

2. 子痫和 WNT 信号通路

PE 被认为是胎盘起源的妊娠并发症, 滋养细胞作为胎盘的主要细胞类型之一, 与癌细胞具有相似的侵袭性, 对人类具有免疫耐受性。其生物学行为模式具有正常分化、增殖、凋亡、迁移和浸润的能力, 是胚胎着床与胎盘形成的关键之一。滋养细胞的生长增殖与 PE 的发病率密切相关。相关研究提示, 子痫前期是滋养层形成胎盘的浅着床和子宫螺旋动脉重塑失败的结果。而体内细胞功能的改变, 主要依靠信号传导通路传递分子信息来实现[7] [8]。

WNT 基因是一类癌基因, 包括至少 19 种 WNT 蛋白。它在进化上高度保守, 作为哺乳动物发育的主要调节因子, 是大多数类型组织干细胞的关键驱动因素。突变的 WNT 信号通路会引起机体发育异常, 与多种肿瘤的发生密切相关[9]。WNT 信号传导通路被经典的分为两种细胞内通路, 典型的不依赖 β -catenin 的 WNT 通路和其他的不依赖 β -catenin 的 WNT 通路, 这些通路统称为非典型的 WNT 通路。但这两种通路之间存在交叉信号[10]。目前研究表明, WNT 信号通路在胚胎发生和成体组织稳态期间对于干细胞更新、细胞增殖和分化上都起到重要作用[11]。作为胚胎发生、器官形成发育和体内维持平衡的强大调节因子。WNT 信号通路涉及直接参与基因转录和细胞粘附的蛋白质, 对于细胞增殖、组织再生、胚胎发育等正常生理过程发挥关键作用, 其信号通路的特点是有大量的配体、受体和共受体, 并且在不同水平下进行调控[10]。

目前研究已经证实 WNT 信号通路障碍与一些疾病密切相关, 包括癌症、风湿病、骨病、糖尿病和阿尔茨海默病。WNT 信号通路目前研究最受关注的 WNT 信号通路是 WNT/ β -catenin 信号通路, 其是调控生物体内细胞生长、发育及分化的关键信号传导通路之一, 经典的 WNT 信号通路是 WNT 蛋白与膜受体结合后传递信号, 引起细胞质的 β -连环蛋白(β -catenin)改变, 引起目的基因的转录, 进而起到调控靶细胞的分化、增殖、凋亡等目的。随着在典型 WNT 通路激活中发现关键的“细胞内”信号介质, 多种 WNT 配体、WNT 拮抗剂和 WNT 激动剂被逐渐确认, 这些配体具有复杂的调节机制。到目前为止, 已经发现了 5 个可溶性和细胞外 WNT 拮抗剂家族。分别是分泌卷曲相关蛋白(sFRP)、WNT 抑制因子(WIF-1)、Cerberus、Wise/SOST 和 Dickkopf 家族蛋白。sFRPs 和 WIF1 在细胞外空间隔离 WNT 配体, DKK 家族蛋白和 Wise/SOST 则是竞争性的结合 WNT 配体受体 LRP5/6。DKK 基因在脊椎动物中由多个家族成员构成(包括 DKK1、DKK2、DKK3 及 DKK4 等)。DKK 蛋白共享两个高度保守的富含半胱氨酸的结构域, 即 CRD1 和 CRD2。DKK1、2 和 4 结合到 WNT 受体 LRP5 和 LRP6, 并作为 WNT 拮抗剂存在。同时, DKK3 在 WNT 信号通路中发挥的作用仍未完全明确。DKK1 目前已被证实是一种分泌型糖蛋白, 广泛表达于多种组织中, 包括皮肤、骨细胞、内皮组织和胎盘, 其可通过与 LRP5/6 结合来抑制 WNT 诱导的 Fzd-LRP5/6 复合物形成, 在拮抗 WNT 信号转导通路中起到关键作用, 它可以与脂蛋白受体相关蛋白结合, 阻断脂蛋白受体相关蛋白和 WNT 蛋白复合物的形成, 从而抑制典型的 WNT 信号通路。因此, DKK1 被认为是 WNT 信号通路的全面调节因子, 参与机体的炎症、动脉粥样硬化发生和糖代谢调节等[12] [13] [14] [15]。WNT 信号通路传递信号突变时, DKK1 水平升高与 WNT 靶基因 DKK1 在典型 WNT 通路中已发现的调节作用(负反馈)一致。同时, DKK1 也是 β -catenin 的靶基因, 当 β -catenin 水平升高时, DKK1 水平随之升高。在正常细胞中, DKK1 对 WNT/ β -catenin 通路起到负反馈作用, 通过与细胞膜上与受体结合的 WNT 配体竞争降低活性[16]。WNT 信号通路的功能障碍可能抑制胎盘滋养细胞的增殖和侵袭, 导致浅层滋养细胞侵袭和子宫螺旋动脉重构失败。作为 WNT 信号通路的拮抗剂, DKK1 可以通过与 LRP5/6 结合, 抑制 WNT 通路诱导的 Fz-LRP5/6 复合物的形成, 达到抑制胎盘着床到子宫内膜的目的, 即抑制人绒毛外植体中细胞滋养层细胞的增殖[8]。

3. 子痫的尿蛋白产生机制

PE 发病机制复杂, 是多因素共同作用的结果, 发病过程涉及全身多个器官、多个系统。肾脏是 PE 病理改变的主要靶器官之一。PE 患者由于内皮细胞功能紊乱, 往往处于抗血管生成状态, 全身小动脉痉挛收缩, 引起各脏器血流灌注减少, 肾小动脉血流灌注量下降, 引起肾脏缺血, 肾小球滤过屏障受损, 滤过率下降; 受肾小球滤过率下降影响, 肾小球基底膜损伤。肾小球基底膜通透性上升后, 无法正常过滤蛋白质, 最终引起尿液中蛋白质含量增加, 出现蛋白尿[17] [18]。由于 PE 患者血液处于高凝状态, 血液流速减小, 黏滞度增加, 内皮细胞功能紊乱, 微血管血栓形成也会加剧肾脏的受损程度, 导致体液和

蛋白质渗漏,影响 PE 预后。子痫疾病是一个动态过程[19],原则向来是早发现早治疗,尽可能降低并发症对于母婴安全健康的影响。作为对于缺血缺氧最敏感的脏器之一,肾脏常作为反应病情严重程度并评价预后的指标之一。但由于肾脏的代偿能力十分强大,其发病常常隐匿,发病早期常无明显症状,所以虽然肾脏最早受累,但寻找早期能够准确反映肾功改变的指标也十分重要。起病初期,血肌酐、尿素氮实验室检查结果多处于正常范围,尿常规检查、尿蛋白也提示阴性。病变轻微的患者易被遗漏。尿液检测出现异常时,肾脏通常已出现明显损害。目前临床上测定尿蛋白平较常采用 24 小时尿蛋白定量,但其结果易受尿液浓度、尿量和留尿时间差异的影响导致误差。并且,用试纸检测蛋白尿已被证明是不准确的。假阳性和假阴性率都高,尿液中蛋白质的浓度也不是恒定的,它的浓度直接受到尿液被肾脏浓缩的程度影响,以致一直变化。并且,尿液检测中通常选择白蛋白而非总蛋白过滤率,是因为总蛋白含有 Tamm-Horsfall 糖蛋白,该糖蛋白在肾小管中产生,不反应肾小球损伤。因此选择白蛋白比总蛋白排泄率更能反应内皮功能障碍和肾小球损伤。然而,这种误差来源可以通过检测尿白蛋白/肌酐比值而不是尿液蛋白质浓度本身来消除。带有负电荷的尿微量白蛋白由肝脏分泌,因电荷排斥作用无法从滤过膜通过。因此被选作为判断肾小球滤过率和电荷滤过屏障损伤程度的重要标志蛋白。但其易受尿液浓缩、尿量变化的影响,不稳定。而人体内的肌酐的排泄率不受尿流量影响,数值相对恒定。为排除干扰因素,故现多选用尿微量白蛋白/肌酐比值评估患者的肾脏功能。其可用于快速排除或确诊蛋白尿,以及在临床症状包括蛋白尿的疾病,如肾病、子痫前期、糖尿病肾病、高血压肾病及儿童蛋白尿中,定量估计尿蛋白[20][21][22][23][24]。

近年来,WNT 信号通路因其在肾脏疾病、癌症、骨病、糖尿病、类风湿性关节炎和阿尔茨海默病中的作用而受到了相当多的关注。WNT 信号通路在肾脏系统发育的数个阶段都起到了重要作用,WNT-2b, WNT-4, WNT6, WNT7b, WNT9b 等均在肾脏发育中表达,另外, WNT-4 在肾小管形成中也起到关键作用。它强调了下游信号系统对于信号级联反应的依赖性。文献表明,考虑到 WNT 信号系统敲除所导致的严重表型,WNT 信号传导失败可能与人类先天性肾和尿路异常有关[25][26]。WNT 信号通路的失调已被证实可导致肾功能异常,通过导致足细胞损伤、系膜细胞功能障碍和细胞外基质沉积,最终造成肾纤维化、缺血性损伤和急性肾功能衰竭[27]。

WNT 信号通路在细胞增殖、细胞迁移、干细胞维持、组织修复和胚胎发育中都起到了至关重要的作用。WNT 信号通路在细胞外的拮抗剂可分为两类,均可在细胞表面阻止 WNT-Fz 相互作用。第一类拮抗剂可以直接与 WNT 配体结合,包括 WIF-1、sFRP 和 Cerberus。第二类是包括 Dickkopf 家族的成员,它们不同于前者,不通过 WNT 与 Fz 受体结合起到抑制作用[27]。DKK1 作为 WNT 信号通路的特异性拮抗剂,通过调节 WNT 信号通路的活性影响细胞增殖、分化等行为。作为 WNT 信号通路的下游靶基因之一,DKK1 随着 WNT 通路激活而活化。DKK1 异常的表达通过影响 WNT 通路活性参与癌症等疾病的发生发展。目前,DKK1 已被证实参与肾纤维化、葡萄糖代谢和炎症[27]。在狼疮鼠模型中,不仅肾脏组织中的 DKK1 mRNA 水平升高,DKK1 蛋白在血清中的表达水平也明显升高。并且,狼疮鼠模型中,高浓度的 DKK1 不仅抑制 WNT/ β -catenin 信号通路,同时还有明显的促凋亡作用[28]。

肾脏功能受损可检测的早期标志物是微量白蛋白尿的出现,随后是蛋白尿、滤过性升高,直至肾小球滤过屏障破坏。在糖尿病肾病中,蛋白尿被认为是疾病严重程度进展的指标。WNT 通路目前已被证实参与肾纤维化,并在糖尿病肾病的发病机制中发挥双重作用。改善 WNT 信号通路可改善蛋白尿症状,系膜细胞功能障碍和细胞外基质沉积,下调 WNT 通路则引起肾损伤和肾纤维化,WNT 信号通路的过度激活会促进足细胞损伤而加重蛋白尿。DKK1 作为 WNT 信号通路的内源性抑制剂,也被报道有助于改善微血管并发症。不过在 Hou [27]等人的实验中,DKK1 水平随着 24 小时尿蛋白的增加而逐渐降低,而 DKK1 的水平降低导致 WNT 信号通路异常激活,导致肾细胞损伤加重,蛋白尿增加。然而,冯[29]通过

实验证明, 在糖尿病患者中, 随着蛋白尿水平的增加, 血清 DKK1 的水平逐渐上升。两人研究的差别可能与样本采集、样本量和保存时间的差异引起, 需进一步实验证明。

4. 总结

综上所述, 作为 WNT 信号通路的拮抗剂, DKK1 蛋白的表达水平与子痫前期的发病率密切相关, 它参与肾脏的病变, 成为子痫前期蛋白尿症状的影响因素之一。通过研究这三者之间的关联, 有助于研究 PE 的疾病诊断及治疗, 为研究子痫前期的发病机制寻找新的途径。

参考文献

- [1] Poon, L.C., Shennan, A., Hyett, J.A., *et al.* (2019) The International Federation of Gynecology and Obstetrics (FIGO) Initiative on Pre-Eclampsia: A Pragmatic Guide for First-Trimester Screening and Prevention. *International Journal of Gynecology & Obstetrics*, **145**, 1-33.
- [2] Gupta, N., Gupta, T. and Asthana, D. (2017) Prediction of Preeclampsia in Early Pregnancy by Estimating the Spot Urinary Albumin/Creatinine Ratio. *The Journal of Obstetrics and Gynecology of India*, **67**, 258-262. <https://doi.org/10.1007/s13224-016-0958-z>
- [3] Rana, S., Lemoine, E., Granger, J.P., *et al.* (2019) Preeclampsia: Pathophysiology, Challenges, and Perspectives. *Circulation Research*, **124**, 1094-1112. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.118.313276>
- [4] Dekker, G.A. and Sibai, B.M. (1998) Etiology and Pathogenesis of Preeclampsia: Current Concepts. *American Journal of Obstetrics & Gynecology*, **179**, 1359-1375. [https://doi.org/10.1016/S0002-9378\(98\)70160-7](https://doi.org/10.1016/S0002-9378(98)70160-7)
- [5] Redman, C. (2014) The Six Stages of Pre-Eclampsia. *Pregnancy Hypertension*, **4**, 246. <https://doi.org/10.1016/j.preghy.2014.04.020>
- [6] 漆洪波, 童超. 从母胎界面着眼探究子痫前期的发病机制[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2020, 36(1): 61-64.
- [7] Lamarca, B.D., Gilbert, J. and Granger, J.P. (2008) Recent Progress toward the Understanding of the Pathophysiology of Hypertension during Preeclampsia. *Hypertension*, **51**, 982-988. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.107.108837>
- [8] Zhang, L., Leng, M., Li, Y., *et al.* (2019) Altered DNA Methylation and Transcription of WNT2 and DKK1 Genes in Placentas Associated with Early-Onset Preeclampsia. *Clinica Chimica Acta*, **490**, 154-160. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2018.12.026>
- [9] Nusse, R. and Clevers, H. (2017) WNT/ β -Catenin Signaling, Disease, and Emerging Therapeutic Modalities. *Cell*, **169**, 985-999. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.05.016>
- [10] Baetta, R. and Banfi, C. (2019) Dkk (Dickkopf) Proteins. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, **39**, 1330-1342. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.119.312612>
- [11] Steinhart, Z. and Angers, S. (2018) WNT Signaling in Development and Tissue Homeostasis. *Development*, **145**, dev146589. <https://doi.org/10.1242/dev.146589>
- [12] Nelson, W.J. and Nusse, R. (2004) Convergence of WNT, beta-Catenin, and Cadherin Pathways. *Science*, **303**, 1483-1487. <https://doi.org/10.1126/science.1094291>
- [13] 陈先侠, 刘晓利, 陈晓宇, 等. β -catenin 和 DKK-1 在子痫前期胎盘组织中的表达及意义[J]. 中国妇幼保健, 2013, 28(21): 3493-3497.
- [14] Huang, Y., Liu, L. and Liu, A. (2018) Dickkopf-1: Current Knowledge and Related Diseases. *Life Sciences*, **209**, 249-254. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2018.08.019>
- [15] Chae, W.J. and Bothwell, A.L.M. (2019) Dickkopf1: An Immunomodulatory Ligand and WNT Antagonist in Pathological Inflammation. *Differentiation*, **108**, 33-39. <https://doi.org/10.1016/j.diff.2019.05.003>
- [16] Betella, I., Turbitt, W.J., Szul, T., *et al.* (2020) WNT Signaling Modulator DKK1 as an Immunotherapeutic Target in Ovarian Cancer. *Gynecologic Oncology*, **157**, 765-774. <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2020.03.010>
- [17] 梁启兰, 黄伟建, 陈莉. 尿微量白蛋白与肌酐比值在孕子痫前期诊断的应用价值[J]. 数理医药学杂志, 2020, 33(12): 1881-1882.
- [18] 吴莉莉. 血清尿酸、尿微量白蛋白/肌酐比值在妊娠期高血压疾病早期肾损伤中的应用研究[J]. 中国处方药, 2021, 19(6): 144-146.
- [19] Hypertension in Pregnancy (2013) Report of the American College of Obstetricians and Gynecologists' Task Force on Hypertension in Pregnancy. *Obstetrics & Gynecology*, **122**, 1122-1131.

- [20] 潘自华. 妊娠高血压病人尿蛋白/肌酐比值、血浆 D-二聚体水平与不良妊娠结局关系研究[J]. 安徽医药, 2021, 25(12): 2487-2490.
- [21] 魏天祥, 崔世红, 陈娟, 等. 血清胱抑素 C、尿 β_2 -微球蛋白及随机尿微量白蛋白与肌酐比在妊娠期高血压疾病早期肾损伤中的临床应用[J]. 现代妇产科进展, 2018, 27(10): 766-768.
- [22] 夏姣, 颜红梅, 陈会霞, 等. 子痫前期孕妇尿微量白蛋白/肌酐比值与病情程度和妊娠结局[J]. 中国计划生育学杂志, 2022, 30(3): 707-710.
- [23] Nisell, H., Trygg, M. and Bäck, R. (2006) Urine Albumin/Creatinine Ratio for the Assessment of Albuminuria in Pregnancy Hypertension. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica*, **85**, 1327-1330. <https://doi.org/10.1080/00016340600808747>
- [24] Kamińska, J., Dymicka-Piekarska, V., Tomaszewska, J., et al. (2020) Diagnostic Utility of Protein to Creatinine Ratio (P/C Ratio) in Spot Urine Sample within Routine Clinical Practice. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, **57**, 345-364. <https://doi.org/10.1080/10408363.2020.1723487>
- [25] Halt, K. and Vainio, S. (2014) Coordination of Kidney Organogenesis by WNT Signaling. *Pediatric Nephrology*, **29**, 737-744. <https://doi.org/10.1007/s00467-013-2733-z>
- [26] Yoshino, K., Rubin, J.S., Higinbotham, K.G., et al. (2001) Secreted Frizzled-Related Proteins Can Regulate Metanephric Development. *Mechanisms of Development*, **102**, 45-55. [https://doi.org/10.1016/S0925-4773\(01\)00282-9](https://doi.org/10.1016/S0925-4773(01)00282-9)
- [27] Hou, N.N., Kan, C.X., Huang, N., et al. (2021) Relationship between Serum Dickkopf-1 and Albuminuria in Patients with Type 2 Diabetes. *World Journal of Diabetes*, **12**, 47-55. <https://doi.org/10.4239/wjd.v12.i1.47>
- [28] Lee, A.Y., He, B., You, L., et al. (2004) Dickkopf-1 Antagonizes WNT Signaling Independent of beta-Catenin in Human Mesothelioma. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **323**, 1246-1250. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2004.09.001>
- [29] 冯小娟, 薄维波, 韦丽丽, 等. 血清 DKK1、NGAL 和 MCP-1 在 2 型糖尿病肾病患者中的表达及临床意义[J]. 检验医学与临床, 2022, 19(9): 1243-1247.