

转化生长因子-β₁ 在家兔羊水栓塞后肺损伤中的作用

岳 艳, 范 丽, 刘伯毅(湖北医药学院附属人民医院妇产科, 湖北十堰 442000)

【摘要】 目的 探讨羊水栓塞(AFE)肺损伤发病机制,探讨转化生长因子-β₁(TGF-β₁)在 AFE 肺损伤中的作用。**方法** 将 20 只健康妊娠晚期家兔随机分为对照组(生理盐水组,10 只)及羊水组(10 只),建立 AFE 动物模型,1 h 后取家兔肺组织制作病理切片观察肺组织病理变化,采用链霉素亲和-生物素-过氧化酶复合物法对肺组织细支气管上皮细胞 TGF-β₁ 蛋白表达进行免疫组织化学染色,采用 MIAS-2000 医学图像分析系统进行蛋白半定量分析,以最大灰度值反映 TGF-β₁ 蛋白表达量。**结果** 羊水组肺组织病理切片见肺组织水肿,肺组织 TGF-β₁ 蛋白水平:对照组(5.02±0.76)μg/L,羊水组(19.85±1.92)μg/L,羊水组 TGF-β₁ 蛋白水平明显升高(P<0.05)。**结论** AFE 肺损伤与 TGF-β₁ 水平升高密切相关。

【关键词】 羊水栓塞; 肺损伤; 转化生长因子-β₁

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2014.02.019 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2014)02-0191-02

Effects of transforming growth factor-β₁ on acute lung injury by amniotic fluid embolism in rabbit YUE Yan, FAN Li, LIU Bo-yi (Department of Obstetrics and Gynecology, People's Hospital, Hubei Medical University, Shiyan, Hubei 442000, China)

【Abstract】 Objective To explore the pathogenesis of lung injury caused by amniotic fluid embolism(AFE) and the effects of transforming growth factor-β₁ (TGF-β₁) on AFE caused acute lung injury. **Methods** 20 healthy late pregnancy rabbits were randomly divided into the control group(10 cases, injected with normal saline) and the amniotic group(10 cases, injected with amniotic fluid) to establish the animal model of AFE. The pulmonary tissue of AFE rabbits was taken out after 1h for preparing the lung tissue sections. The pulmonary tissue pathological changes were observed. The streptavidin-biotin-peroxidase complex(SABC) method was adopted to conduct the immunohistochemical staining on lung bronchiole epithelial cells TGF-β₁ protein expression, and the MIAS-2000 image analysis system was adopted to perform the semi-quantitative analysis of proteins, with the maximum gray value for reflecting the amount of TGF-β₁ protein expression. **Results** Lung tissue edema could be fined in lung tissue biopsy of the amniotic group. The TGF-β₁ protein content was(19.85±1.92)μg/L in the control group and(5.02±0.76)μg/L in the amniotic group, the TGF-β₁ content of lung tissue in the amniotic group was significantly increased(P<0.05). **Conclusion** AFE caused acute lung injury is closely related with the TGF-β₁ level.

【Key words】 amniotic fluid embolism; lung injury; transforming growth factor-β₁

羊水栓塞(amniotic fluid embolism, AFE)是由于羊水进入母体血液循环而引起的一系列严重的临床综合征,发病急,病情进展迅速,病死率高。AFE 后患者易出现急性肺损伤与急性呼吸窘迫综合征(ARDS),部分患者死于严重的低氧血症。本研究旨通过动物实验,探讨 AFE 后肺损伤的机制,现报道如下。

1 材料与方 法

1.1 动物模型制作 健康妊娠晚期(24~26 d)家兔 20 只,体质量 3.3~4.0 kg(湖北医药学院动物实验中心提供)。随机分为两组:对照组(生理盐水组)及羊水组,每组各 10 只。术前禁食 12 h,禁水 2 h。用 3%戊巴比妥钠 30 mg/kg 静脉注射麻醉,仰卧固定于兔台上,固定头部和四肢,备皮,常规局部消毒、铺巾,腹正中线切口 10 cm,暴露子宫并切开子宫,取出胎兔、胎盘,用注射器抽取羊膜腔羊水 300 mL 备用。羊水组家兔经耳缘静脉注射羊水 3 mL/kg,对照组注射生理盐水 3 mL/kg,1 h 后处死动物,切开家兔胸腔,取肺组织备用。

1.2 实验方法

1.2.1 病理学检查 取一小块肺组织用 4%多聚甲醛溶液固定 5 h,用磷酸缓冲液(PBS)冲洗,石蜡包埋、切片、HE 染色,在

显微镜下观察肺组织病理学变化。

1.2.2 肺组织转化生长因子-β₁(TGF-β₁)表达的检测 取肺组织称重,加生理盐水(按 100 mg 肺组织,加生理盐水 0.9 mL 比例),用玻璃匀浆器制备肺组织匀浆,以 1 000 r/min 的速度离心 20 min,取上清液,置于-20 ℃冰箱冻存,采用链霉素亲和素-生物素-过氧化酶复合物(SABC)法对肺组织 TGF-β₁ 蛋白表达进行免疫组织化学染色(试剂盒及 TGF-β₁ 的单克隆抗体购自武汉博士德生物工程有限公司)。按照试剂盒操作步骤操作,以 PBS 代替一抗作阴性对照,阳性染色为细胞质呈棕黄色。采用 MIAS-2000 医学图像分析系统,进行蛋白半定量分析,以最大灰度值反映 TGF-β₁ 蛋白表达量。

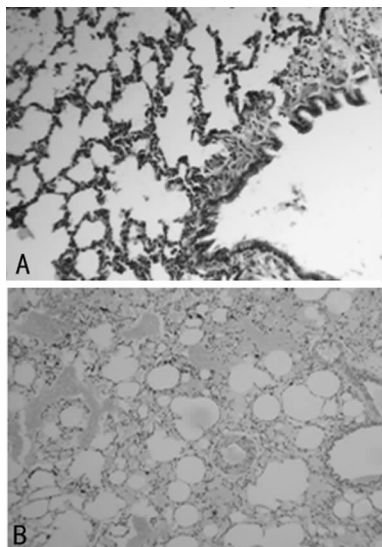
1.3 统计学处理 采用 SPSS15.0 软件进行统计分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验,以 P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 肺组织病理变化 羊水组可见肺间质及肺泡水肿、充血,肺泡可见炎症细胞浸润(图 1)。

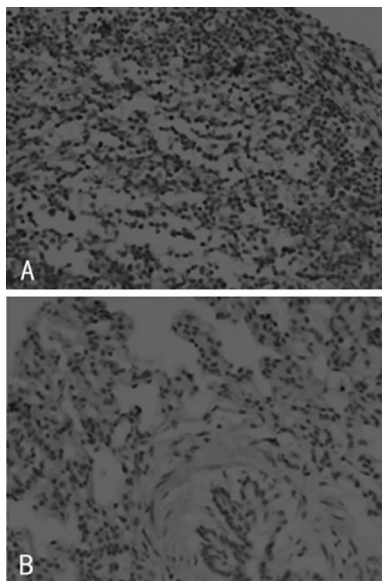
2.2 肺组织 TGF-β₁ 见图 2。对照组肺组织 TGF-β₁ 呈阴性表达,为(5.02±0.76)μg/L;羊水组肺组织 TGF-β₁ 胞质可见

棕黄色染色,呈阳性表达,为(19.85±1.92)μg/L,两组 TGF-β₁ 水平比较差异有统计学意义(P<0.05)。



注:A为对照组,B为羊水组。

图 1 家兔肺组织(HE×200)



注:A为对照组,B为羊水组。

图 2 家兔肺组织 TGF-β₁ 的表达

3 讨 论

本研究中羊水组可见肺间质及肺泡水肿、充血,提示肺部发生肺损伤。近年来,AFE 后肺部病理变化受到重视^[1],许多患者 AFE 后因 ALI/ARDS,而出现顽固性低氧血症危及患者生命 AFE 后肺损伤的机制:(1)羊水进入肺循环导致肺血管痉挛、肺动脉高压、换气功能下降^[2];(2)肺部白三烯、前列腺素、补体等物质释放,导致肺部炎症反应,引起肺损伤^[3];(3)大量中性粒细胞在肺泡腔内黏附、聚集、活化,介导炎症反应加重肺损害^[4]。部分研究发现,AFE 后肺损伤发病机制及病理生理变化复杂,某些机制不明^[5-6]。

TGF-β 是一种多功能细胞因子,TGF-β₁ 是 TGF-β 亚型,能调节多种细胞的增殖、分化、凋亡和合成细胞外基质等,在组织的发生、发育及损伤后修复过程中发挥重要作用^[7]。TGF-β₁ 在多种细胞和组织中均有表达,在肺部主要表达于气道上皮及肺泡巨噬细胞,妊娠期可表达于胎盘滋养层细胞、子宫蜕

膜细胞、肌层细胞及羊水中,对滋养层细胞和蜕膜细胞内分泌、免疫及黏附分子表达功能及胚胎发育均具有重要的调节作用^[8]。AFE 后 TGF-β₁ 与肺损伤的关系目前并无相关研究,本实验发现,羊水组肺组织 TGF-β₁ 明显升高(P<0.05),而对应的病理切片有炎症细胞浸润和肺实质及间质水肿和充血。表明 TGF-β₁ 在 AFE 后肺损伤发病机制上有重要作用。肺损伤后肺组织 TGF-β₁ 表达升高机制尚不明确^[9]。升高的 TGF-β₁ 引起肺损伤的机制:(1)TGF-β₁ 作用于细胞纤维化的多个环节,刺激各种细胞外基质起作用,使纤维化降解抑制剂的合成增加,基质降解酶减少,导致肺纤维化,加重肺损伤^[10];(2)TGF-β₁ 抑制肺表面活性物质,诱导肺细胞凋亡^[11],导致肺泡壁上皮细胞和血管内皮细胞通透性增高、肺泡炎症和水肿;(3)TGF-β₁ 抑制肺内皮细胞、上皮细胞增殖^[12],使损伤的肺组织得不到及时的修复。

综上所述,AFE 肺损伤发生与 TGF-β₁ 表达升高密切相关,从而导致肺组织损伤、纤维化,同时因损伤的肺组织不能及时修复,加重肺损伤。抑制 TGF-β₁ 表达,可以减轻或预防肺损伤,改善 AFE 患者预后。

参考文献

- [1] Michael D, Benson MD, Richard K, et al. Immunologic studies in presumed amniotic fluid embolism [J]. *Obstet Gynecol*, 2001, 97(4): 510-514.
- [2] Masson RG. Amniotic fluid embolism [J]. *Clin Chest Med*, 1992, 13(4): 657-665.
- [3] 栾秀平. 羊水栓塞的发病机制及早期诊断 [J]. *临床和实验医学杂志*, 2006, 5(3): 293-295.
- [4] 芮萌, 段蕴铀. 中性粒细胞凋亡与急性肺损伤 [J]. *中国急救医学*, 2008, 28(12): 1129-1132.
- [5] Clark SL, Hankins GD, Dudlev DA, et al. Amniotic fluid embolism: analysis of the national registry [J]. *Am J Obstet Gynecol*, 1995, 172(4 Pt 1): 1158-1167.
- [6] 张华. 羊水栓塞的发病机制及诊治进展 [J]. *实用妇产科杂志*, 2000, 16(3): 134-136.
- [7] Mahmoud M, Upton PD, Arthur HM. Angiogenesis regulation by TGF beta signalling: dues from an inherited vascular disease [J]. *Biochem Soc Trans*, 2011, 39(6): 1659-1666.
- [8] 王越, 杨静. 转化生长因子 β 与妊娠 [J]. *国外医学: 妇产科学分册*, 2003, 30(4): 234-237.
- [9] Ohta N, Shimaoka M, Imanaka H, et al. Glucocorticoid suppresses neutrophil activation in ventilator-induced lung injury [J]. *Crit Care Med*, 2001, 29(5): 1012-1016.
- [10] 郑桂林, 林群英, 涂海健, 等. 特发性肺纤维化患者血清 TGF-β₁/PDGF/IL-13 水平变化及相关研究 [J]. *中国现代医生*, 2012, 50(31): 59-61.
- [11] 陈光建, 邱海波, 陆晓旻, 等. ACE 基因 I/D 多态性与急性肺损伤发生及预后的关系 [J]. *临床麻醉学杂志*, 2009, 25(9): 806-808.
- [12] 唐仕芳, 朱洪春, 李华强. 转化生长因子 TGF-β₁ 在新生大鼠高浓度氧致肺损伤中的作用研究 [J]. *重庆医学*, 2009, 38(4): 438-440.