

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2020.04.008

View this article at: http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2020.04.008

## TGF- $\beta$ 1在胎膜早破患者羊膜上皮细胞中的表达及意义

邓初夏<sup>1</sup>, 罗婷婷<sup>1</sup>, 许静芸<sup>2</sup>, 宫国良<sup>2,3</sup>, 吴盛桂<sup>3</sup>

(1. 汕头潮南民生医院妇产科, 广东 汕头 515044; 2. 汕头大学医学院第一附属医院病理科, 广东 汕头 515041;  
3. 汕头潮南民生医院病理科, 广东 汕头 515044)

**[摘要]** 目的: 探讨TGF- $\beta$ 1在胎膜早破(premature rupture of membranes, PROM)患者胎盘组织羊膜上皮细胞中的表达情况, 进而阐述胎膜早破发生的可能分子机制, 为PROM的诊断、治疗及预防提供新的思路。方法: 97例胎膜早破患者分为早产胎膜早破(preterm premature rupture of membranes, PPROM)和足月胎膜早破(full-term premature rupture of membranes, TPROM)两组, 其中PPROM 49例, TPROM 48例, 匹配同一时间段内正常足月产患者31例为对照组。首先收集患者的临床及病理基本信息, 进而利用胎盘组织行TGF- $\beta$ 1免疫组织化学染色, 观察羊膜上皮细胞中TGF- $\beta$ 1的表达情况。结果: C反应蛋白在各组间存在差异, 而年龄、白细胞计数、怀孕次数、分娩次数、分娩方式、组织学绒毛膜羊膜炎各组间差异无统计学意义( $P>0.05$ )。免疫组织化学染色发现: 在正常对照组、PPROM组及TPROM组均出现不同程度的TGF- $\beta$ 1表达, PPROM组及TPROM与对照组比较差异具有统计学意义( $P=0.004$ ), 而PPROM组与TPROM组比较差异无统计学意义( $P=0.355$ )。结论: TGF- $\beta$ 1参与了PROM的发病过程, 其作用的增强可能是发生PROM的病理基础。

**[关键词]** 胎膜早破; TGF- $\beta$ 1; 免疫组织化学; 羊膜

## Expression and significance of TGF- $\beta$ 1 in amnion epithelial cells of patients with premature rupture of membranes

DENG Chuxia<sup>1</sup>, LUO Tingting<sup>1</sup>, XU Jingyun<sup>2</sup>, GONG Guoliang<sup>2,3</sup>, WU Shenggui<sup>3</sup>

(1. Department of Obstetrics and Gynecology, Chaonan Minsheng Hospital of Shantou, Shantou Guangdong 515044; 2. Department of Pathology, First Affiliated Hospital of Shantou University Medical College, Shantou Guangdong 515041; 3. Department of Pathology, Chaonan Minsheng Hospital of Shantou, Shantou Guangdong 515044, China)

**Abstract** **Objective:** To investigate the expression of TGF- $\beta$ 1 in amnion epithelial cells of placental tissue in patients with premature rupture of membranes (PROM), to explain the possible molecular mechanism of premature rupture of membranes, and to provide new ideas for the diagnosis, treatment and prevention of PROM.

收稿日期 (Date of reception): 2019-07-03

通信作者 (Corresponding author): 宫国良, Email: blkggl@163.com

基金项目 (Foundation item): 2018年度汕头市科技计划项目 [汕府科(2018)78号]; 2019年度汕头市科技计划项目 [汕府科(2019)106号]。

This work was supported by the Shantou City Science and Technology Plan Project in 2018 [Shanfu(2018) 78], Shantou City Science and Technology Plan Project in 2019 [Shanfu(2019) 106], China.

**Methods:** Ninety-seven patients with PROM were divided into a preterm premature rupture of membranes (PPROM) group ( $n=49$ ) and a full-term premature rupture of membranes (TPROM) group ( $n=48$ ). Thirty-one women with normal term delivery in the same period were selected as a control group. Firstly, the clinical and pathological basic information of the patients were collected, and then TGF- $\beta$ 1 immunohistochemical staining was performed on placental tissue to observe the expression of TGF- $\beta$ 1 in amniotic membrane epithelial cells. **Results:** There were differences in CRP among 3 groups, while there were no significant differences in age, white blood cell count, number of pregnancies, number of deliveries, mode of delivery, and histological chorioamnionitis. Immunohistochemical staining showed that there were different degrees of TGF- $\beta$ 1 expression in the 3 groups. Compared with the control group, the PPRM group and the TPROM group showed statistically significant differences ( $P=0.004$ ), while the comparison between PPRM group and TPROM group showed no statistically significant differences ( $P=0.355$ ). **Conclusion:** TGF- $\beta$ 1 plays a role in the pathogenesis of PROM, and its enhancement may be the pathological basis of PROM.

**Keywords** premature rupture of membranes; TGF- $\beta$ 1; immunochemistry; amniotic membrane

胎膜早破(premature rupture of membranes, PROM)定义为临产前胎膜破裂, 羊水流出, 是妇产科的常见病、多发病。根据胎膜破裂发生的时间, PROM可分为足月PROM(full-term premature rupture of membranes, TPROM)和早产PROM(preterm premature rupture of membranes, PPRM), TPROM指妊娠37周或之后的PROM, PPRM指妊娠37周之前的PROM。PROM可引起早产、胎盘早剥、羊水过少、脐带脱垂、胎儿窘迫和新生儿呼吸窘迫综合征等不良后果, 甚至引起新生儿长期瘫痪或者死亡等严重并发症<sup>[1-2]</sup>, 因此, 对PROM的发病机制进行深入研究有重要的临床意义。PROM的确切机制尚不清楚, 可能为多因素相互作用的结果, 如生殖道感染、羊膜腔压力增高、胎膜受力不均、营养因素及细胞因子等方面。近年来, 学者们从酶、细胞凋亡、基因、感染等方面对PROM的发病机制进行了深入的研究, PROM的发病机制已从以往的单纯的机械力学、感染上升到分子生物学的高度。越来越多的证据<sup>[3-4]</sup>表明: 胎盘因素在PROM发生中起重要作用, 为PROM的防治提供了基础依据。转化生长因子 $\beta$ 1(transforming growth factor- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 1)在PROM发生中的作用早有研究<sup>[5-6]</sup>, 但结果不一致, 原因可能与检测方法不同有关。本研究采用更为直观的免疫组织化学方法对羊膜上皮细胞TGF- $\beta$ 1的表达情况进行分析, 探讨TGF- $\beta$ 1在PROM患者羊膜上皮细胞中的表达情况, 进而阐述PROM发生的可能分子机制, 为PROM的诊断、治疗及预防提供新的思路。

## 1 对象与方法

### 1.1 对象

选取汕头潮南民生医院2015年9月1日至2017年8月31日产科因PROM而住院的患者。共收集PROM患者胎盘97例, 年龄15~38岁; 并收集同一时间段正常产胎盘31例作为对照组, 年龄18~40岁。PROM定义为分娩前至少存在2 h以上的羊水泄漏, 通过pH值确诊PROM。对照组入选条件为足月经阴道产或剖宫产产妇, 均不伴有其他妊娠合并症。采集的患者临床数据均为入院后第一次记录或检查结果, 包括产妇年龄、孕产次、白细胞计数、C反应蛋白水平等信息。

### 1.2 方法

送检胎盘经10%中性甲醛固定, 病理取材共6块, 脐带1块, 胎盘绒毛部位4块, 胎膜1块, 所用取材均制作成组织蜡块, 苏木精伊红染色后, 行病理组织学观察。病理组织学诊断由两名病理学医生发出, 观察重点内容为组织学绒毛膜羊膜炎, 参考《妇产科诊断病理学》<sup>[7]</sup>中胎盘的评估及妊娠疾病和胎盘相关章节介绍及相关文献<sup>[8]</sup>, 将组织学绒毛膜羊膜炎分为3个等级。

免疫组织化学采用EnVision两步法, TGF- $\beta$ 1多克隆抗体均购自福州迈新生物技术开发有限公司。免疫组织化学均设阳性对照及阴性对照。免疫组织化学结果评价采用免疫反应评分(immunoreactivity score, IRS)法<sup>[9]</sup>, 在染色强度和阳性细胞百分比的基础上进行评估, 结果以染色

强度×阳性细胞百分比表示, IRS的范围0~9, 根据最终得分分为3组: IRS=0为阴性, IRS=1~4为低表达, IRS>4为高表达。染色强度定义如下: 0, 阴性; 1, 弱阳性; 2, 温和; 3, 强阳性。阳性细胞的百分比定义如下: 0, 阴性; 1, 1%~20%细胞阳性; 2, 21%~50%细胞阳性; 3, 51%~100%的细胞阳性。本研究已获得汕头潮南民生医院医学伦理委员会审批。

### 1.3 统计学处理

采用R软件(version 3.3.3), 连续数值变量资料以均数±标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示, 离散数值变量用例(%)表示。年龄、白细胞计数、C反应蛋白, 怀孕次数、分娩次数、分娩方式、组织学绒毛膜羊膜炎情况的统计分析采用Kruskal-Wallis秩和检验; TGF- $\beta$ 1多组间比较采用Kruskal-Wallis秩和检验; 以 $\alpha=0.05$ 为检验水准,  $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 基本临床资料

本研究入组患者均为单胎妊娠, PROM组均

以胎膜破裂为第一诊断, 并且排除合并有其他严重并发症的病例。本研究发现: 与对照组比较, PPRM组和TPROM组CRP检测量差异有统计学意义( $P<0.05$ , 表1)。对照组CRP测量值为 $10.9\pm 20.1$ , PPRM组为 $4.4\pm 6.5$ , TPROM组为 $12.1\pm 21.1$ , 对照组与PPROM组差异无统计学意义( $P=0.08$ ); TPROM组较对照组有明显升高, 差异有统计学意义( $P=0.039$ ); TPROM组显著高于PPROM组, 差异有统计学意义( $P=0.028$ )。其他年龄、白细胞计数、孕产次数、分娩方式及组织学绒毛膜羊膜炎等指标在3组间差异均无统计学意义( $P>0.05$ )。

### 2.2 TGF- $\beta$ 1在PROM中的表达情况

TGF- $\beta$ 1主要表达于羊膜上皮细胞质, 按照免疫反应评分(IRS), 分为阴性、低表达(图1)和高表达(图2)三种模式。由于部分病例羊膜上皮脱落, TGF- $\beta$ 1只染色了能够完整显示羊膜上皮细胞的病例。各组间TGF- $\beta$ 1表达结果差异具有统计学意义( $P=0.04$ , 表2); 对照组与PPROM组差异具有统计学意义( $P=0.026$ ); 对照组与TPROM组差异具有统计学意义( $P<0.001$ ); PPRM组与TPROM组差异无统计学意义( $P=0.355$ )。

表1 PROM患者基本临床资料

Table 1 Basic clinical data of patients with PROM

| 组别     | n           | 年龄/岁       | 白细胞        | C反应蛋白            | 怀孕次数      | 分娩次数      |
|--------|-------------|------------|------------|------------------|-----------|-----------|
| 对照组    | 31          | 26.8 ± 5.4 | 11.7 ± 5.1 | 10.9 ± 20.1      | 2.4 ± 1.5 | 1.9 ± 1.1 |
| PPROM组 | 49          | 26.0 ± 5.2 | 11.7 ± 2.9 | 4.4 ± 6.5        | 2.1 ± 1.4 | 1.8 ± 1.0 |
| TPROM组 | 48          | 25.5 ± 4.4 | 12.1 ± 4.1 | 12.1 ± 21.1      | 1.8 ± 1.2 | 1.5 ± 0.9 |
| P      |             | 0.523      | 0.879      | 0.027            | 0.189     | 0.185     |
| 组别     | 分娩方式/[例(%)] |            |            | 组织学绒毛膜羊膜炎/[例(%)] |           |           |
|        | 经阴道产        | 剖宫产        | 无          | 一级               | 二级        | 三级        |
| 对照组    | 12 (38.7)   | 19 (61.3)  | 8 (25.8)   | 9 (29.0)         | 10 (32.3) | 4 (12.9)  |
| PPROM组 | 13 (26.5)   | 36 (73.5)  | 13 (26.5)  | 13 (26.5)        | 12 (24.5) | 11 (22.4) |
| TPROM组 | 8 (16.7)    | 40 (83.3)  | 13 (27.1)  | 10 (20.8)        | 14 (29.2) | 11 (22.9) |
| P      | 0.090       |            |            | 0.907            |           |           |

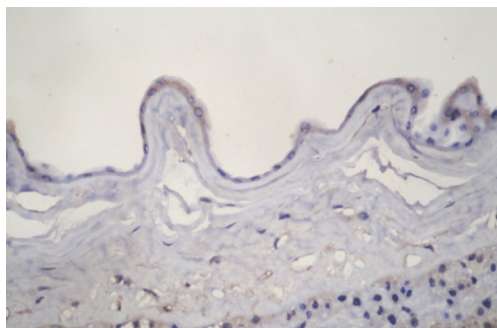


图1 PPROM患者, 羊膜上皮细胞TGF- $\beta$ 1低表达(EnVision法,  $\times 400$ )

Figure 1 Low expression of TGF- $\beta$ 1 in amniotic epithelial cells in PPROM patients (EnVision,  $\times 400$ )

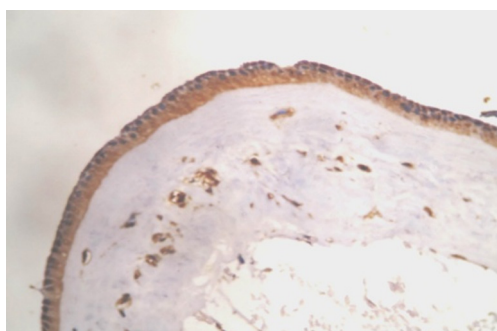


图2 PPROM患者, 羊膜上皮细胞TGF- $\beta$ 1高表达(EnVision法,  $\times 400$ )

Figure 2 High expression of TGF- $\beta$ 1 in amniotic epithelial cells in PPROM patients (EnVision,  $\times 400$ )

表2 TGF- $\beta$ 1在PROM患者胎盘羊膜上皮细胞中的表达情况

Table 2 Expression of TGF- $\beta$ 1 in placental amnion epithelial cells of PROM patients

| 组别     | n  | TGF- $\beta$ 1/[例(%)] |           |           |
|--------|----|-----------------------|-----------|-----------|
|        |    | 阴性                    | 低表达       | 高表达       |
| 对照组    | 31 | 14 (50.0)             | 10 (35.7) | 4 (14.3)  |
| PPROM组 | 49 | 10 (22.7)             | 17 (38.6) | 17 (38.6) |
| TPROM组 | 48 | 6 (14.6)              | 13 (31.7) | 22 (53.7) |
| P      |    | 0.04                  |           |           |

### 3 讨论

胎膜由羊膜、绒毛膜及蜕膜构成, 羊膜是胎盘的最内层, 与人眼结膜组织结构相似, 光滑, 无血管、神经及淋巴, 具有弹性, 厚0.02~0.5 mm, 分为五层: 上皮层、基底膜、致密层、纤维母细

胞层和海绵层, 羊膜中含有大量的胶原蛋白, 所以, 羊膜虽然较薄, 但比绒毛膜强度更大, 破裂的可能性更低<sup>[10]</sup>。在PROM的发生过程中, 羊膜的生物学变化是重要的环节, 显然, 羊膜上皮细胞在其中的作用是不言而喻的。因此, 本研究着重观察了羊膜上皮细胞的免疫组织化学变化情况。

PROM本质上是由多个因素引起的。在现有的PROM机制中, 炎症、MMPs、细胞因子、细胞凋亡和氧化应激得到广泛认可<sup>[11]</sup>。炎症似乎在PROM的病因学中起重要作用, 大量证据支持感染在PROM发展中的作用<sup>[12]</sup>。本研究发现: 与对照组比较, PPROM和TPROM组在C反应蛋白检测量数值方面存在差异, C反应蛋白是临床常用的反应炎症的指标, 这一结果也支持炎症在PROM中发挥重要作用, 而同时, 本研究评价了组织学绒毛膜羊膜炎在3组中的情况, 结果并不存在统计学差异。生化炎症指标和组织学绒毛膜羊膜炎是不一致的, 两者结果的差异, 笔者认为并不矛盾, 原因有两个: 其一, PROM的发生机制是复杂的, 各种机制表现在生化指标方面, 可能体现为炎症指标的变化, 而组织学方面, 却不一定是炎症变化, 也可能是细胞的凋亡、氧化应激等等; 其二, 组织病理学检查发生在生化检查之后, 在这期间, 所有的PROM患者均经过了抗生素治疗, 这也影响了组织学绒毛膜羊膜炎的诊断。

TGF- $\beta$ 1是一类多功能的细胞因子, 属TGF超家族, 由多种组织细胞合成, 调控着细胞周期, 影响细胞的增殖、分化、转移和凋亡, 广泛参与哺乳类动物的多种病理生理过程。TGF- $\beta$ 1在PROM中的作用机制国内外均有研究, 有学者<sup>[13]</sup>提出: TGF- $\beta$ 1通过影响细胞凋亡在PROM中发挥作用, TGF- $\beta$ 1有抑制凋亡或诱导凋亡的功能。Simpson等<sup>[14]</sup>研究发现在妊娠中晚期母体胎膜面TGF- $\beta$ 1明显升高, 未临产的母体胎膜面TGF- $\beta$ 1 mRNA表达高于早产孕妇; 提示在妊娠中晚期这种特定条件下, TGF- $\beta$ 1可能主要起抑制作用, 维持妊娠。也有研究<sup>[6]</sup>显示: TGF- $\beta$ 1在剖宫产组表达阳性率最高, 阴道分娩组次之, PROM组最低, 也提示在妊娠末期和分娩期这个特定的环境下, TGF- $\beta$ 1主要起抑制性作用, 抑制胎膜破裂, 是一个维持妊娠因子。符爱珍<sup>[15]</sup>认为TGF- $\beta$ 1可调节细胞外基质合成与降解, TGF- $\beta$ 1可能通过MMPs/TIMPs起负性调控作用, TGF- $\beta$ 1能刺激成纤维细胞增生, 促使胶原纤维合成, 调节细胞外基质沉积, 导致PROM的发生。这些研究的结果虽然不一致, 但均提出在PROM的发生过程中, TGF- $\beta$ 1

发挥了作用。本研究中TGF- $\beta$ 1在各组间存在差异性表达, TGF- $\beta$ 1在PROM中的表达显著强于对照组, 支持了PROM过程中TGF- $\beta$ 1在羊膜上皮细胞中的表达是增强的这一理论。

综上, TGF- $\beta$ 1参与了PROM的发病过程并发挥了作用, 其作用的增强可能是发生PROM的病理基础。

## 参考文献

- Mercer BM. Preterm premature rupture of the membranes[J]. *Obstet Gynecol*, 2003, 101(1): 178-193.
- Marcellin L, Goffinet F. Are biological markers relevant for the diagnosis and the prognosis of preterm premature rupture of membranes (PPROM)?[J]. *Clin Chem Lab Med*, 2012, 50(6): 1015-1019.
- Guadalupe GL, Felipe VO, Horacio ML, et al. Evidence of in vitro differential secretion of 72 and 92 kDa type IV collagenases after selective exposure to lipopolysaccharide in human fetal membranes[J]. *Mol Hum Reprod*, 2007, 13(6): 409-418.
- Ilona H, Katerina K, Katarina I, et al. Expression profile of C19MC microRNAs in placental tissue of patients with preterm prelabor rupture of membranes and spontaneous preterm birth[J]. *Mol Med Rep*, 2017, 16(4): 3849-3862.
- 范明松, 姜子燕, 邹艳芬, 等. 转化生长因子 $\beta$ 1对羊膜细胞中基质金属蛋白酶9及其组织抑制物1表达的影响[J]. *中华妇产科杂志*, 2013, 48(1): 29-33.  
FAN Mingsong, JIANG Ziyang, ZOU Yanfen, et al. Effect of transforming growth factor  $\beta$ 1 on the expression of matrix metalloproteinase-9 and its tissue inhibitor 1 in amnion cells[J]. *Chinese Journal of Obstetrics and Gynecology*, 2013, 48(1): 29-33.
- 郭琦, 李巧云, 童嘉宁. 胎膜中MMP-9、TIMP-1、TIMP-2、TGF- $\beta$ 1表达与胎膜早破的关系[J]. *广东医学*, 2014, 35(8): 1197-1200.  
GUO Qi, LI Qiaoyun, TONG Jianing. Relationship between expression of MMP-9, TIMP-1, TIMP-2 and TGF- $\beta$ 1 in fetal membrane and premature rupture of membranes[J]. *Guangdong Medical Journal*, 2014, 35(8): 1197-1200.
- Chrislopher PC, Kenneth RL. 妇产科诊断病理学[M]. 回允中译. 北京: 北京大学医学出版社, 2007: 1059-1089.  
Chrislopher PC, Kenneth RL. *Obstetrics and gynecology diagnostic pathology*[M]. Translated by HUI Yunzhong. Beijing: Peking University Medical Press, 2007: 1059-1089.
- Redline RW, Faye-Petersen O, Heller D, et al. Amniotic infection syndrome: nosology and reproducibility of placental reaction patterns[J]. *Pediatr Dev Pathol*, 2003, 6(5): 435-448.
- Rajkumar T, Stamp GW, Pandha HS, et al. Expression of the type 1 tyrosine kinase growth factor receptors EGF receptor, c-erbB2 and c-erbB3 in bladder cancer[J]. *J Pathol*, 1996, 179(4): 381-385.
- Arikat S, Novince RW, Mercer BM, et al. Separation of amnion from choriondecidua is an integral event to the rupture of normal term fetal membranes and constitutes a significant component of the work required[J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2006, 194(1): 211-217.
- Goldenberg RL, Hauth JC, Andrews WW. Intrauterine infection and preterm delivery[J]. *N Engl J Med*, 2000, 342(20): 1500-1507.
- Gomez-Lopez N, Laresgoiti-Servitje E, Olson DM, et al. The role of chemokines in term and premature rupture of the fetal membranes: a review[J]. *Biol Reprod*, 2010, 82(5): 809-814.
- 王春雷, 黄志强, 周宁新, 等. TGF- $\beta$ 1诱导鼠肝细胞凋亡信号转导机制的研究[J]. *消化外科*, 2004, 3(6): 439-442.  
WANG Chunlei, HUANG Zhiqiang, ZHOU Ningxin, et al. Study on the mechanism of apoptotic signal transduction of murine hepatocytes induced by TGF- $\beta$ 1[J]. *Journal of Digestive Surgery*, 2004, 3(6): 439-442.
- Simpson H, Robson SC, Bulmer JN, et al. Transforming factor beta expression in human placenta and placenta and placental bed during early pregnancy[J]. *Placenta*, 2002, 23(1): 44-58.
- 符爱珍. 转化生长因子 $\beta$ 1与明胶酶在妇科肿瘤的研究[J]. *国外医学妇产科学分册*, 2005, 32(6): 364-367.  
FU Aizhen. Study on transforming growth factor  $\beta$ 1 and gelatinase in gynecological tumors[J]. *Foreign Medical Obstetrics and Gynecology*, 2005, 32(6): 364-367.

本文引用: 邓初霞, 罗婷婷, 许静芸, 宫国良, 吴盛桂. TGF- $\beta$ 1在胎膜早破患者羊膜上皮细胞中的表达及意义[J]. *临床与病理杂志*, 2020, 40(4): 858-862. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2020.04.008

**Cite this article as:** DENG Chuxia, LUO Tingting, XU Jingyun, GONG Guoliang, WU Shenggui. Expression and significance of TGF- $\beta$ 1 in amnion epithelial cells of patients with premature rupture of membranes[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2020, 40(4): 858-862. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2020.04.008