

论著·临床研究

TGF- β 1 和 PAI-1 在早产儿支气管肺发育不良中的表达及意义

张金凤 黄润忠 黄冠芬 欧伟明 李剑峰 陈锦金

(暨南大学附属顺德妇幼保健院, 佛山市顺德区妇幼保健院新生儿科, 广东 佛山 528300)

[摘要] **目的** 探讨支气管肺发育不良(BPD)与转化生长因子-1(TGF- β 1)及纤溶酶原激活物抑制剂-1(PAI-1)的关系。**方法** 回顾性分析2010年1月至2012年12月间胎龄 ≤ 32 周并存活28d以上极低出生体重儿96例的临床资料,其中BPD组21例,非BPD组75例。采用ELISA法测定2组患儿血液中TGF- β 1、PAI-1的表达。**结果** BPD组TGF- β 1和PAI-1在生后第7、14、21天表达逐渐增高,且高于同时点非BPD组,差异有统计学意义($P<0.01$),而非BPD组在生后第7、14、21天TGF- β 1及PAI-1蛋白表达差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** BPD组患儿血液中TGF- β 1及PAI-1表达增高,BPD的发病过程可能与TGF- β 1及PAI-1高表达有关。
[中国当代儿科杂志, 2014, 16(8): 810-813]

[关键词] 支气管肺发育不良; 转化生长因子 β -1; 纤溶酶原激活物抑制剂-1; 早产儿

Expression of TGF- β 1 and PAI-1 in premature infants with bronchopulmonary dysplasia

ZHANG Jin-Feng, HUNAG Run-Zhong, HUANG Guan-Fen, OU Wei-Ming, LI Jian-Feng, CHEN Jin-Jin. Department of Neonatology, Shunde Hospital for Women and Children's Health, Foshan, Guangdong 528300 (Email: hunanzhif@aliyun.com)

Abstract: Objective To study the expression of transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1) and plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) and its significance in premature infants with bronchopulmonary dysplasia (BPD). **Methods** A retrospective analysis was performed on the clinical data of 96 very low birth weight infants (gestational age of ≤ 32 weeks) who survived for more than 28 days and were admitted to the Neonatal Intensive Care Unit between January 2010 and December 2012. These subjects were divided into BPD group ($n=21$) and non-BPD group ($n=75$). The expression of TGF- β 1 and PAI-1 in blood was measured by ELISA. **Results** The levels of TGF- β 1 and PAI-1 in the BPD group increased gradually from the 7th day to the 14th day and then to the 21st day after birth, and were significantly higher than in the non-BPD group at all time points ($P<0.01$). The TGF- β 1 and PAI-1 levels in the non-BPD group on the 7th, 14th, and 21st days after birth were not significantly different from each other ($P>0.05$). **Conclusions** The expression of TGF- β 1 and PAI-1 in blood is elevated in premature infants with BPD, which may be associated with the development of BPD.
[Chin J Contemp Pediatr, 2014, 16(8): 810-813]

Key words: Bronchopulmonary dysplasia; Transforming growth factor- β 1; Plasminogen activator inhibitor-1; Premature infant

支气管肺发育不良(bronchopulmonary dysplasia, BPD)是引起持续性呼吸窘迫的慢性肺部疾病,近年来成为新生儿重症监护病房最为棘手的问题之一。研究表明不同高浓度氧吸入导致的BPD的病理变化并不相同,大于80%高氧吸入

所引起的肺组织病变以渗出、大量炎症细胞浸润、胶原生成、严重纤维化为主。当吸入氧浓度在60%左右时肺组织的病变却是以肺泡简单化、间隔变厚、发育迟滞为主要表现,炎症渗出和纤维化较为轻微^[1]。BPD患儿肺组织中出现成纤维细

[收稿日期] 2014-01-17; **[接受日期]** 2014-04-21

[基金项目] 广东省卫生厅项目(A2011616); 佛山市科技局科研立项(201108195)。

[作者简介] 张金凤,女,硕士,主任医师。

胞增生、细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 沉积、肺组织纤维化^[2]。肺纤维化是由多种原因引起的, 研究表明生长转化因子 β (TGF- β) 可影响肺发育, 同时也在不成熟肺高氧性肺损伤及纤维化发生发展过程中扮演十分重要的角色, 其中 TGF- β 1 在体细胞系中所占的比例最高, 活性最强, 致纤维化作用最突出^[3]。纤溶酶原激活物抑制剂-1 (PAI-1) 是纤维蛋白溶解系统的主要抑制剂, 其主要作用是抑制尿激酶型纤溶酶原激活剂 (urokinase type plasminogen activator, u-PA) 和组织型纤溶酶原激活剂 (tissue-type plasminogen activator, t-PA), 纤溶酶原通过 t-PA 和 u-PA 转化为纤溶酶, 降解 ECM 或纤维蛋白。近年来动物实验研究表明, 转基因大鼠肺组织内 PAI-1 的密度与肺纤维化的程度呈正相关, 气管内滴入重组 u-PA 可以降低肺纤维化发生和病死率^[4]。故推测 TGF- β 1、PAI-1 可能参与了 BPD 中肺纤维化的病理过程。本研究通过对早产儿血液中 TGF- β 1、PAI-1 的蛋白表达进行检测, 探讨两种因子在 BPD 发病中的变化, 从而在其复杂的发病环节中找寻新靶点, 为今后临床治疗提供依据。

1 资料与方法

1.1 研究对象

2010 年 1 月至 2012 年 12 月我院收治胎龄 ≤ 32 周、出生体重 ≤ 1500 g 并存活 28 d 以上的早产儿 96 例, 其中男 71 例, 女 25 例, 胎龄 25~32 周, 出生体重 750~1500 g, 其中诊断为 BPD 21 例 (BPD 组), 75 例非 BPD 组为对照组。本研究经过医院伦理委员会批准及家长知情同意。

1.2 BPD 诊断标准

2001 年美国国家儿童保健及人类发展研究院 (NICHD) 根据末次月经后孕龄 (PMA) 定义了 BPD 的诊断标准: 早产、低出生体重儿, 有或无机械通气治疗史, 吸氧时间 ≥ 28 d 或到纠正胎龄 36 周仍需要氧疗, 伴有持续性或进行性呼吸功能不全及肺部典型影像学表现: 肺部 CT 两肺野呈磨

玻璃状改变、多灶充气过度, 如小囊状影 (薄壁) 或网格状影 (壁厚), 纹理增粗、紊乱, 条状密度增高影和胸膜增厚等。病变多发生在两下肺, 常呈对称性。

1.3 标本采集

所有入选患儿分别于生后 7 d、14 d、21 d 取静脉血 1 mL, 注入促凝管, 室温静置 30 min 后 1200 rpm 离心 15 min, 取上清转移至消毒后 1.5 mL EP 管, 标记后 -20°C 冰箱保存备用, ELISA 方法检测 TGF- β 1 及 PAI-1 蛋白表达水平。

1.4 临床治疗

临床上尽早根据生后气促、发绀、呻吟及肺部影像学等表现选择应用肺表面活性物质, 必要时应用呼吸机或选择性应用鼻塞持续气道正压通气 (nCPAP), 有感染指征者控制感染, 适当限制液体量, 反复呼吸暂停者给予氨茶碱。

1.5 统计学分析

采用 SPSS 16.0 统计软件包处理, 计量资料用均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 两独立样本组间比较采用成组 t 检验; 不同时间点的组间比较采用重复测量多因素方差分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组间 TGF- β 1 蛋白表达的比较

BPD 组 TGF- β 1 于生后 7 d、14 d、21 d 表达逐渐增高, 且明显高于同时间点非 BPD 组, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$); 各时间点非 BPD 组 TGF- β 1 蛋白表达差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 1 和图 1。

2.2 两组间 PAI-1 蛋白表达的比较

BPD 组 PAI-1 蛋白表达于生后 7 d、14 d、21 d 逐渐增高, 且明显高于同时间点非 BPD 组, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$); 非 BPD 组 PAI-1 蛋白表达在各个时间点差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 1 和图 2。

表 1 两组 TGF-β 1 和 PAI-1 蛋白的表达比较 (x̄±s)

组别	例数	TGF-β 1(ng/L)			PAI-1(ng/mL)		
		7 d	14 d	21 d	7 d	14 d	21 d
非 BPD 组	75	951 ± 22	968 ± 22	1 039 ± 55	10.2 ± 2.5	15.5 ± 2.6	13.1 ± 2.8
BPD 组	21	2 225 ± 131	2 861 ± 122 ^a	3 067 ± 112 ^{a,b}	26.8 ± 3.2	50.5 ± 4.3 ^a	66.4 ± 4.0 ^{a,b}
<i>t</i> 值		2 310.1	5 852.4	6 298.1	369.7	1 150.6	2 701.1
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注: a 示与同组 7 d 比较, *P*<0.01; b 示与同组 14 d 比较, *P*<0.01。

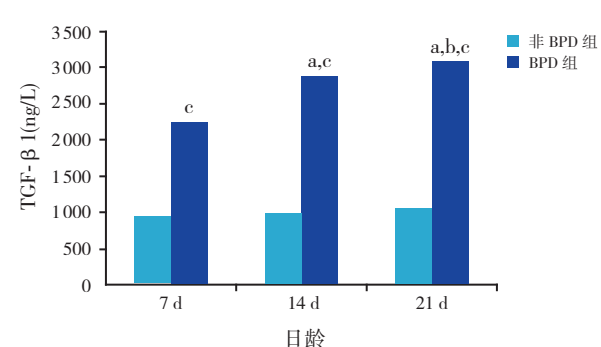


图 1 两组 TGF-β 1 蛋白的表达比较 注: a 示与同组 7 d 比较, *P*<0.01; b 示与同组 14 d 比较, *P*<0.01; c 示与同时时间非 BPD 组比较, *P*<0.01。

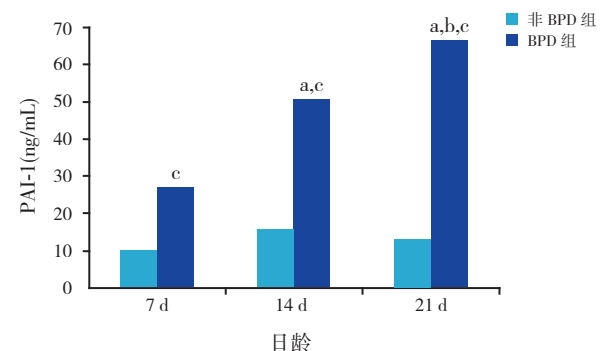


图 2 两组 PAI-1 蛋白的表达比较 注: a 示与同组 7 d 比较, *P*<0.01; b 示与同组 14 d 比较, *P*<0.01; c 示与同时时间非 BPD 组比较, *P*<0.01。

3 讨论

新生儿处于特定的肺发育时期, 对于各种刺激具有独特的反应。早产儿出生时肺刚脱离小管期进入囊泡期, 由于肺发育不成熟, 早产儿出生后比足月儿更多暴露于机械通气、高浓度氧、炎症损伤等不利环境之中。且早产儿本身对氧化应激易感, 抗氧化酶活性及维生素 C、E 等自由基清除剂水平均低^[5]。因此新生儿肺损伤和肺纤维化中的机制可能与成人不尽相同。氧中毒、气压伤或容量伤以及感染或炎症等各种不利因素对发育不成熟的肺导致的急性肺损伤, 以及损伤后异常修复损伤是引起“经典型”BPD 的主要原因^[6]。胎龄 <28 周的早产儿宫内感染和 (或) 炎症发生率高达 90%^[7], 体重 ≤ 1 250 g, 呼吸机使用 ≥ 10 d, 痰培养阳性 3 次以上是发生 BPD 的独立危险因素^[8]。

TGF-β 1 不仅可以促进细胞外基质沉积, 同时影响其他纤维化细胞因子, 导致纤维化发生。刘冬云等^[9]在 BPD 患儿肺灌洗液中检测到有 IL-8、SPA 及 TGF-β 1 的过高表达, 孙永强等^[10]通过免疫组织化学及免疫荧光技术发现死亡的 BPD 患儿肺组织内 TGF-β 1 表达明显增高, 提示 BPD 的发生与炎症、TGF-β 1 的高表达有着密切的关系。

本研究结果也显示在 BPD 患儿血液中 TGF-β 1 表达明显高于非 BPD 组, 与文献结果一致^[7-8]。唐仕芳等^[11]在新生大鼠高氧暴露同时给予外源性抗 TGF-β 1 抗体干预, 发现高氧引起的急性肺损伤明显减轻, 有效阻断了肺纤维化的发生、发展, 提示 TGF-β 1 蛋白的过度表达在 BPD 患儿肺间质纤维化中发挥着重要作用。

PAI-1 是内皮细胞型 PAI, 是 PA 快速、专一有效的生理抑制因子。u-PA 和 PAI-1 作为纤溶家族的主要成员, 二者之间的比例和平衡决定着 ECM 转换的结局。正常肺泡腔内由于存在着 u-PA 而保持着“净纤维蛋白溶解活性”, 如果 u-PA/PAI-1 失衡, 肺泡腔内渗出物不能清除, 成纤维细胞和其他细胞侵入、增殖并产生新的基质蛋白引起瘢痕形成^[12]。在脂多糖诱导的大鼠急性肺损伤的动物模型的研究显示, 高氧暴露 24 h、48 h PAI-1 mRNA 有上升的趋势, 与正常空气组对比持续时间延长^[13]。本研究对象为 ≤ 32 周, 体重 ≤ 1 500 g 的早产儿, 肺组织发育不成熟, 存在应用呼吸机、肺部感染等所致的急性肺损伤的高危因素, BPD 组在 7~21 d 的病程中 PAI-1 的表达呈上升趋势, 提示 PAI-1 参与了 BPD 的发病过程。

动物试验发现新生大鼠高氧暴露早期 u-PA 的

表达增多,与早期肺炎性细胞浸润等病理改变相平行,随着高氧暴露时间延长,肺血管发育障碍和上皮细胞受损,PAI-1表达增强,肺组织u-PA/PAI-1表达的动态变化趋势与病理改变相平行,提示u-PA/PAI-1失衡参与了高氧致慢性肺疾病的发生发展^[12]。BPD组患儿血液中生后7d TGF- β 1、PAI-1表达已增高,提示早产儿出生后不久已经有了肺损伤的倾向。

研究显示肌成纤维细胞能分泌无活性TGF- β 1和PAI-1,而后者与TGF- β 结合蛋白在纤溶酶的作用下从基质中释放的过程有关^[14]。BPD组在TGF- β 1增高的同时,PAI-1的表达也明显高于非BPD组。因此,推测两种因子在BPD的发病过程中可能起到了协同作用。目前已有文献报道通过以慢病毒介导的小分子干扰RNA技术(siRNA)沉默TGF- β 1基因,可以达到对高体积分数氧致新生小鼠肺损伤的保护作用^[15]。关于抑制PAI-1基因表达的研究较少,有人认为干扰素、一氧化氮、尿钠排泄因子和降脂药有抑制PAI-1表达的作用^[16]。如果从不同的环节阻断或抑制TGF- β 1及PAI-1的表达,有可能阻断BPD的发病过程。

对于活体肺组织内TGF- β 1、PAI-1蛋白或mRNA表达方面的组织病理学研究仍有很大的局限性。由于本研究仅从血液中检测到TGF- β 1、PAI-1的高表达,有待于多中心、大样本及组织病理学的研究论证,如能从不同的环节干预肺组织EMC的沉积,对BPD的发病将起到明显的阻碍作用。

[参 考 文 献]

- [1] 付红敏,许峰,黄波,等.高氧暴露对早产鼠ACEII生长增殖的影响及CGRP的干预作用[J].第四军医大学学报,2009,30(5):389-392.
- [2] Li LF, Liao SK, Ko YS, et al. Hyperoxia increases ventilator induced lung injury via mitogen-activated protein kinases: A prospective, controlled animal experiment[J]. Crit Care, 2007, 11(2): 126-140.
- [3] 张志梅,封志纯.转化生长因子- β 1在中浓度氧致新生鼠支气管肺发育不良模型中的作用[J].山西职工医学院学报,2010,20(2):1-4.
- [4] 张彦萍,曹书颖.PAI-1与肺纤维化[J].国外医学呼吸系统分册,2005,25(5):343-344.
- [5] 常立文,李文斌.“新型”支气管肺发育不良—超低出生体重儿常见呼吸系统疾病[J].中国实用儿科杂志,2012,27(1):7-10.
- [6] Bry K, Hogmalm A, Bäckström E. Mechanisms of inflammatory lung injury in the neonate: lessons from a transgenic mouse model of bronchopulmonary dysplasia[J]. Semin Perinatol, 2010, 34(3): 211-221.
- [7] Viscardi RM. Perinatal inflammation and lung injury[J]. Semin Fetal Neonatal Med, 2012, 17(1): 30-35.
- [8] 陈幽,韩玉昆,叶贞志,等.呼吸窘迫综合症并发支气管肺发育不良危险因素分析[J].中国当代儿科杂志,2007,9(1):15-18.
- [9] 刘冬云,吴静,张小英,等.支气管肺发育不良新生儿支气管肺泡灌洗液IL-8,SPA和TGF- β 1的表达[J].中国当代儿科杂志,2010,12(6):444-446.
- [10] 孙永强,李秋平,封志纯.支气管肺发育不良患儿TGF- β 1蛋白表达的研究[J].中国妇幼健康研究,2010,21(4):402-405.
- [11] 唐仕芳,朱洪春,李华强,等.转化生长因子- β 1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.
- [12] 刘雪雁,薛辛东.高氧致慢性肺疾病新生大鼠肺组织尿激酶型纤溶酶原激活因子和纤溶酶原激活物抑制因子1表达的动态改变及意义[J].中华儿科杂志,2008,46(6):458-463.
- [13] 陈扬,陆铸金,杨毅,等.一氧化氮和高氧吸入对大鼠急性肺损伤PAI-1表达的影响[J].中国小儿急救医学,2008,15(会议专辑):174-177.
- [14] 王金星,魏裔君,李慧.TGF- β 1与慢性肺疾病研究进展[J].当代医学,2009,15(3):40.
- [15] 段江,陈洪清,李然,等.慢病毒介导TGF-B1 siRNA对高体积分数氧致新生小鼠肺损伤的影响[J].第四军医大学学报,2009,30(9):785-788.
- [16] Cho SH, Ryu CH, Oh CK. Plasminogen activator inhibitor-1 in the pathogenesis of asthma[J]. Exp Bid Med, 2004, 229(2): 138-146.

(本文编辑:王庆红)