

doi: 10.7499/j.issn.1008-8830.2015.05.006

论著·临床研究

新生儿呼吸窘迫综合征患儿血清 TGF- β 1 及 BMP-7 的表达及意义

李小琴 郑玲芳

(西安医学院第二附属医院新生儿科, 陕西 西安 037008)

[摘要] **目的** 了解新生儿呼吸窘迫综合征(NRDS)患儿血清中TGF- β 1和BMP-7的表达趋势,为临床NRDS的早期防治提供帮助。**方法** 32例出生后12h内给予肺表面活性物质(PS)的NRDS早产儿作为PS组;28例未使用PS的NRDS早产儿作为非PS组;另外选同期无NRDS的早产儿30例作为对照组。分别于生后0、1、3、7d采用ELISA检测3组患儿血清中TGF- β 1和BMP-7的表达情况。**结果** PS组血清TGF- β 1表达量在生后1、3d高于对照组($P<0.05$);非PS组TGF- β 1的表达量在生后1、3、7d明显高于对照组($P<0.05$),生后3、7d明显高于PS组($P<0.05$)。PS组血清BMP-7的表达量在生后1、3d高于对照组($P<0.05$);非PS组BMP-7的表达量在生后1、3、7d高于对照组($P<0.05$),生后7dBMP-7表达量较前有所下降,但仍高于PS组($P<0.05$)。**结论** NRDS患儿早期血清TGF- β 1和BMP-7的表达均增加,后期随着血清TGF- β 1表达的增加,BMP-7的表达呈下降趋势,提示给予外源性BMP-7可能降低TGF- β 1的表达,这可能成为治疗NRDS的途径之一。

[中国当代儿科杂志, 2015, 17(5): 445-448]

[关键词] 新生儿呼吸窘迫综合征;骨形态发生蛋白-7;转化生长因子- β 1;早产儿

Expression profile of TGF- β 1 and BMP-7 in serum of preterm infants with respiratory distress syndrome

LI Xiao-Qing, ZHENG Ling-Fang. Department of Neonatology, Second Affiliated Hospital of Xi'an Medical College, Xi'an 037008, China (Email: lixqsmu@163.com)

Abstract: Objective To study the expression profile and significance of serum transforming growth factor-beta 1 (TGF- β 1) and bone morphogenetic protein-7 (BMP-7) in preterm infants with respiratory distress syndrome (RDS). **Methods** Thirty-two preterm infants with RDS who were given pulmonary surfactant (PS) within 12 hours after birth were enrolled as the PS group. Twenty-eight preterm infants with RDS who were not given PS were selected as the non-PS group. Another 30 preterm infants without RDS were used as the control group. Serum levels of TGF- β 1 and BMP-7 in the three groups were measured using enzyme-linked immunosorbent assay at 0, 1, 3, and 7 days after birth. **Results** The PS group had higher serum levels of TGF- β 1 than the control group at 1 and 3 days after birth ($P<0.05$). The non-PS group had significantly higher serum levels of TGF- β 1 than the control group at 1, 3, and 7 days after birth ($P<0.05$), and serum levels of TGF- β 1 in the non-PS group were significantly higher than the PS group at 3 and 7 days after birth ($P<0.05$). The PS group had higher serum levels of BMP-7 than the control group at 1 and 3 days after birth ($P<0.05$). The non-PS group had higher serum levels of BMP-7 than the control group at 1, 3, and 7 days after birth ($P<0.05$). The levels of BMP-7 in the non-PS group at 7 days after birth were reduced than before, but were still higher than in the PS group ($P<0.05$). **Conclusions** Both serum TGF- β 1 and BMP-7 levels increase in the early stage in preterm infants with RDS, however, in the late stage, the expression of BMP-7 decreases with the increase in TGF- β 1 expression, suggesting that administration of exogenous BMP-7 may reduce the expression of TGF- β 1, which might be a therapeutic approach for RDS in preterm infants. [Chin J Contemp Pediatr, 2015, 17(5): 445-448]

Key words: Respiratory distress syndrome; Bone morphogenetic protein-7; Transforming growth factor- β 1; Preterm infant

[收稿日期] 2014-08-20; [接受日期] 2014-11-07

[作者简介] 李小琴,女,硕士,主治医师。

新生儿呼吸窘迫综合征 (NRDS) 是新生儿期危重症之一,也是新生儿尤其是早产儿死亡的重要原因之一^[1]。近年来,随着医疗技术的逐渐提高、机械通气的普遍开展及肺泡表面活性物质 (PS) 的广泛使用,大大提升了极低出生体重儿的存活率^[2-3]。然而,持续机械通气及给氧成为 NRDS 进展为支气管肺发育不良 (BPD) 的危险因素^[4]。目前使用 PS 作为替代治疗已取得一定疗效。但是,仍有相当部分患儿发展为 BPD,肺功能不同程度受损,生存质量严重下降。近年来研究证实,血清中的炎症因子、细胞因子、蛋白和酶的变化,对早期预测和评估早产儿 NRDS 的预后有一定意义^[5]。转化生长因子- $\beta 1$ (transforming growth factor- $\beta 1$, TGF- $\beta 1$) 与骨形态发生蛋白-7 (bone morphogenetic protein-7, BMP-7) 同属于 TGF- β 超家族的成员,二者在多种炎症中均参与了疾病的发生发展,可通过体内一系列信号转导影响并导致急慢性肺损伤^[6]。富建华等^[7]研究发现 TGF- $\beta 1$ 能够上调肺成纤维细胞中结缔组织生长因子 (connective tissue growth factor, CTGF) 基因表达,从而导致肺纤维化的发生。有研究认为, BMP-7 在肺的过敏性炎症反应中起着积极的作用,可以拮抗 TGF- $\beta 1$ 的致纤维化作用^[8]。目前有关 TGF- $\beta 1$ 及 BMP-7 与 NRDS 的相关关系研究甚少。本研究对 NRDS 患儿血清中 TGF- $\beta 1$ 及 BMP-7 的表达与 NRDS 的关系及其预后进行分析,以期临床早期防治提供线索。

1 资料与方法

1.1 研究对象

收集 2012 年 3 月至 2014 年 2 月我院住院治疗的胎龄 28~32 周存活的早产儿,排除宫内感染、湿肺、吸入性肺炎及致死性先天畸形如中枢神经系统畸形、膈疝、呼吸系统畸形、严重先天性心脏病 (室间隔缺损、房间隔缺损或动脉导管未闭除外)、染色体异常。入选条件为: (1) 胎龄 ≤ 32 周,生后 12 h 内住院; (2) 符合 NRDS 诊断标准^[9],并具有以下特征: ①早产儿,生后 6 h 内出现进行性呼吸困难; ②胸片变化,选择 II 级及以上改变者; ③血气分析为低氧血症和 (或) 高碳酸血症; (3) 需要机械通气者。

本研究共纳入 60 例 NRDS 患儿,其中 32 例出生后 12 h 内给予 PS 的 NRDS 患儿作为 PS 组,28 例因家庭经济条件困难未接受 PS 治疗的 NRDS 患儿作为非 PS 组,其他治疗均无差异。另取同期 30 例无 NRDS 早产儿作为对照组。

PS 组中男 22 例,女 10 例;胎龄 30.6 ± 1.4 周;体重 1.3 ± 0.3 kg;入院时平均出生时间 3.5 ± 1.0 h;自然分娩 8 例,剖宫产 24 例。非 PS 组中男 20 例,女 8 例;胎龄 31.2 ± 0.8 周;体重 1.3 ± 0.5 kg;入院时平均出生时间 4.2 ± 1.2 h;自然分娩 10 例,剖宫产 18 例。对照组中男 21 例,女 9 例;胎龄 32 ± 0.5 周;体重 1.6 ± 0.4 kg;入院时平均出生时间 4.6 ± 1.4 h;自然分娩 6 例,剖宫产 24 例。3 组之间性别、胎龄、年龄、体重及出生方式差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。本研究获得医院医学伦理委员会批准及家长书面知情同意。

1.2 标本采集

所有患儿分别于生后 0、1、3、7 d 各抽取静脉血 3 mL,分别用于检测 TGF- $\beta 1$ 和 BMP-7 含量。

1.3 血清 BMP-7 和 TGF- $\beta 1$ 的检测

采用酶联免疫吸附法 (ELISA),标本储存和检测步骤严格按照试剂盒说明书操作。TGF- $\beta 1$ 试剂盒购自上海富众生物科技发展有限公司, BMP-7 试剂盒均购自上海研晶科技有限公司。

1.4 统计学分析

采用 SPSS 17.0 统计软件进行分析。数据以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,多组间比较采用单因素方差分析 (ANOVA),组间两两比较采用 SNK- q 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组血清 TGF- $\beta 1$ 的含量

对照组各时间点 TGF- $\beta 1$ 有轻度表达,组内各时间点比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$); PS 组 TGF- $\beta 1$ 含量生后 1、3 d 高于对照组 ($P < 0.05$),生后 7 d 较前下降,与对照组相比差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 非 PS 组 TGF- $\beta 1$ 含量随着日龄的增加,表达逐渐增加,在生后 1、3、7 d 明显高于对照组 ($P < 0.05$),生后 3、7 d 明显高于 PS 组 ($P < 0.05$)。见表 1。

2.2 各组血清 BMP-7 的含量

对照组各时间点 BMP-7 有轻度表达, 组内各时间点比较差异无统计学意义 ($P>0.05$); PS 组 BMP-7 生后 3 d 达高峰, 7 d 较前有明显恢复, 生

后 1、3 d 高于对照组 ($P<0.05$); 非 PS 组生后 3 d BMP-7 表达达高峰, 生后 7 d 较前稍有恢复, 但恢复较慢, 生后 1、3、7 d 高于对照组 ($P<0.05$), 生后 7 d 高于 PS 组 ($P<0.05$)。见表 2。

表 1 各组患儿不同时间点血清中 TGF- β 1 的表达 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	0 d	1 d	3 d	7 d	F 值	P 值
对照组	30	34 $\pm$ 6	34 $\pm$ 6	34 $\pm$ 6	34 $\pm$ 6	0.031	0.991
PS 组	32	36 $\pm$ 6	39 $\pm$ 6 ^a	40 $\pm$ 5 ^a	36 $\pm$ 5	0.685	0.578
非 PS 组	28	36 $\pm$ 4	43 $\pm$ 4 ^{a,c}	45 $\pm$ 6 ^{a,b,c}	46 $\pm$ 3 ^{a,b,c}	4.207	0.03
F 值		0.296	4.692	4.090	11.104		
P 值		0.751	0.04	0.049	0.004		

注: a 示与同时点对照组比较, $P<0.05$; b 示与同时点 PS 组比较, $P<0.05$; c 示与同组 0 d 比较, $P<0.05$ 。

表 2 各组患儿不同时间点血清中 BMP-7 的表达 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	0 d	1 d	3 d	7 d	F 值	P 值
对照组	30	40 $\pm$ 4	40 $\pm$ 5	40 $\pm$ 4	40 $\pm$ 5	0.011	0.98
PS 组	32	45 $\pm$ 5	47 $\pm$ 4 ^a	48 $\pm$ 4 ^a	43 $\pm$ 5	0.901	0.47
非 PS 组	28	46 $\pm$ 5	49 $\pm$ 5 ^a	51 $\pm$ 4 ^a	50 $\pm$ 4 ^{a,b}	0.737	0.55
F 值		0.507	5.36	7.76	3.912		
P 值		0.619	0.029	0.011	0.047		

注: a 示与同时点对照组比较, $P<0.05$; b 示与同时点 PS 组比较, $P<0.05$ 。

3 讨论

NRDS 表现为出生后不久即出现进行性呼吸困难和呼吸衰竭。国外资料显示 BPD 的发生率约占 NRDS 患儿的 20%^[10], 因此, 为了尽可能减少 BPD 的发生, 早期预测和评估 NRDS 对临床有针对性的治疗非常重要。多种损伤因素如机械通气、高浓度氧、感染等均可干扰不成熟肺的正常程序性发育^[11], 从而可引起一系列炎症反应并导致慢性肺损伤。

TGF- β 1 主要来源于巨噬细胞、上皮细胞、内皮细胞和成纤维细胞, 是一组多功能调节细胞生长和分化的细胞因子^[12]。TGF- β 1 参与了急慢性肺损伤的发生发展已得到证实。刘冬云等^[13]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。TGF- β 1 不仅自身在肺炎发生和肺纤维化过程中具有重要作用, 而且能诱导肺脏高水平表达结缔组织生长因子, 加快肺纤维化的发生^[7]。本研究显示, 对照组各时间点 TGF- β 1 有轻度表达, 提示在正常肺组织内存在分泌 TGF- β 1 的细胞; PS

组患儿 TGF- β 1 表达量在生后 3 d 达高峰, 生后 7 d 较前有所恢复, 提示 PS 可以调节体内炎症反应, 减少炎症因子的产生; 而非 PS 组 TGF- β 1 表达持续上升, 到生后 7 d 时表达明显增高, 提示炎症反应持续存在, 由于 TGF- β 1 的持续高表达, 可通过体内一系列信号转导造成机体严重失衡, 从而极易导致 BPD 的发生。然而, 由于 PS 价格昂贵, 几乎近一半的患儿由于家庭经济困难而放弃使用 PS。因此, 积极找寻一种替代物来控制炎症反应已非常必要。

BMP-7 与 TGF- β 1 同属于 TGF- β 超家族的成员, 目前 BMP-7 在肺损伤中的作用研究资料甚少。BMP-7 对细胞的增殖分化具有调控作用, 它具有广泛而重要的生物学功能^[14]。有研究认为, BMP-7 在肺的过敏性炎症反应中起着积极的作用, 可以拮抗 TGF- β 1 的致纤维化作用, 给予重组 BMP-7 后支气管肺泡灌洗液中的 TGF- β 1 明显降低, 且有剂量依赖性^[8]。本研究中, 对照组各时间点 BMP-7 有轻度表达, 提示在正常肺组织内存在表达 BMP-7 的细胞, 在正常状态下, 这些细胞处于

无活性或低活性状态,所以表达量少且稳定;PS组BMP-7的表达量在生后1、3d高于对照组,生后7d较前有明显恢复,与对照组相比差异无统计学意义,提示疾病趋于恢复状态;非PS组BMP-7的表达量在生后1、3、7d高于对照组,生后7dBMP-7表达量较前有所下降,但仍高于PS组。由于BMP-7具有拮抗TGF- β 1的作用,在炎症反应初期,随着TGF- β 1表达的增加,BMP-7代偿性增加,从而维持机体自身的平衡,但随着炎症的继续,TGF- β 1表达量持续增加,由于分泌BMP-7的细胞功能受限,故表达量较前有所下降。因此,在炎症初期,TGF- β 1和BMP-7的表达均增加,在炎症后期,随着TGF- β 1表达的增加,BMP-7的表达呈下降趋势,提示给予外源性BMP-7可能降低TGF- β 1的表达,这可能成为治疗NRDS的途径之一。设想在炎症初期给予重组BMP-7治疗拮抗TGF- β 1的致炎作用,可能有助于降低炎症反应的发生,从而可以减少并发症的发生,降低BPD的风险。

综上,了解炎症反应及多种炎症介质在NRDS中的表达变化趋势,有助于尽早进行临床防治,改善患儿预后。本组临床研究局限性在于样本小,观察时间短,范围局限,还需进一步对患儿进行出院后随访,或进行多中心研究有助于更加详细了解NRDS患儿体内血清TGF- β 1和BMP-7的变化趋势,定期监测肺功能,了解患儿的远期预后和转归。

[参 考 文 献]

- [1] Kamath BD, Macquire ER, McClure EM, et al. Neonatal mortality from respiratory distress syndrome: lessons for low-resource countries[J]. *Pediatrics*, 2011, 127(6): 1139-1146.
- [2] Ma L, Liu C, Wang Y, et al. Mortality of neonatal respiratory failure related to socioeconomic factors in Hebei province of China[J]. *Neonatology*, 2011, 100(1): 14-22.
- [3] Ruegger C, Hegglin M, Adams M, et al. Swiss Neonatal Network. Population based trends in mortality, morbidity and treatment for very preterm-and very low birth weight infants over 12 years[J]. *BMC Pediatr*, 2012, 12: 17.
- [4] 早产儿支气管肺发育不良调查协作组. 早产儿支气管肺发育不良发生率及高危因素的多中心回顾调查分析[J]. *中华儿科杂志*, 2011, 49(9): 655-662.
- [5] Sezer RG, Aydemir G, Bozaykut A, et al. The relationship between the first episode of wheezing and matrix metalloproteinases-9 and MMP-2 and tissue inhibitors of MMP-1 levels in preterm infants[J]. *Ann Thorac Med*, 2013, 4(8): 209-213.
- [6] Patel AS, Song JW, Chu SG, et al. Epithelial cell mitochondrial dysfunction and PINK1 are induced by transforming growth factor-beta1 in pulmonary fibrosis[J]. *PLoS One*, 2015, 10(3): e0121246.
- [7] 富建华, 杨海萍, 潘丽, 等. TGF- β 1影响肺成纤维细胞结缔组织生长因子基因表达的研究[J]. *中国当代儿科杂志*, 2011, 13(1): 36-39.
- [8] Stumm CL, Halcsik E, Landgraf RG, et al. Lung remodeling in a mouse model of asthma involves a balance between TGF- β 1 and BMP-7[J]. *PLoS One*, 2014, 9(4): e95959.
- [9] 邵晓梅, 叶鸿瑁, 丘小汕. 实用新生儿学[M]. 第四版. 北京: 人民卫生出版社, 2004: 421-427.
- [10] Sharon LP. Prolonged mechanical ventilation in children[J]. *Pediatr Clin North Am*, 1994, 41(3): 473-512.
- [11] Britt RD Jr, Velten M, Tipple TE, et al. Cyclooxygenase-2 in newborn hyperoxic lung injury [J]. *Free Radic Biol Med*, 2013, 61C(8): 502-511.
- [12] Gaede KI, Amicosante M, Schurmann M, et al. Function associated transforming growth factor-beta gene polymorphism in chronic beryllium disease[J]. *J Mol Med*, 2005, 83(5): 397-405.
- [13] 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.
- [14] Shimasaki S, Moore RK, Ootsuka F, et al. The bone morphogenetic protein system in mammalian reproduction[J]. *Endocrine Rev*, 2004, 25(1): 72-101.

(本文编辑: 王庆红)