

TGF- β 1、TNF- α 、IL-4、IL-6 在早期胚胎停育中的意义

金力荣¹, 杨麦青^{2,3}, 徐洪波⁴, 魏燕妮⁵

(1. 昌邑市人民医院产科, 山东 昌邑 261300;

2. 昌邑市人民医院病理科, 山东 昌邑 261300;

3. 潍坊市人民医院病理科, 山东 潍坊 261041;

4. 昌邑市人民医院输血科, 山东 昌邑 261300;

5. 潍坊护理职业学院健康管理系, 山东 潍坊 261041)

摘要:目的 观察早期胚胎停育患者血清中转化生长因子 β 1(TGF- β 1)、肿瘤坏死因子(TNF- α)、白细胞介素 4(IL-4)和白细胞介素 6(IL-6)的表达水平,探讨其在早期胚胎停育中的作用。方法 选取 2018 年 1 月-2021 年 8 月在昌邑市人民医院确诊的早期胚胎停育患者 35 例作为观察组,并选取 35 例同期正常孕妇为对照组,比较两组 TGF- β 1、TNF- α 、IL-4、IL-6 的表达情况,分析 TGF- β 1、TNF- α 、IL-4、IL-6 与临床指标的关系及 TGF- β 1 的表达与 TNF- α 、IL-4、IL-6 的关系。结果 观察组血清 TGF- β 1、IL-4、IL-6 的表达低于对照组,TNF- α 的表达高于对照组($P<0.05$);TGF- β 1、TNF- α 、IL-4、IL-6 的表达与年龄、孕周、停经天数、孕囊大小均无关($P>0.05$);TGF- β 1 的表达与 IL-4($r=0.368$)、IL-6($r=0.338$)的表达呈正相关,与 TNF- α 的表达呈负相关($r=-0.329$)。结论 早期胚胎停育患者血清中 TGF- β 1、IL-4、IL-6 的表达较正常孕妇降低,TNF- α 的表达升高;TGF- β 1 的表达分别与 IL-4、IL-6 的表达呈正相关,与 TNF- α 的表达呈负相关。

关键词:早期胚胎停育;TGF- β 1;TNF- α ;IL-4;IL-6

中图分类号:R714

文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.1006-1959.2022.11.024

文章编号:1006-1959(2022)11-0093-04

Significance of TGF- β 1, TNF- α , IL-4 and IL-6 in Early Embryo Arrest

JIN Li-rong¹, YANG Mai-qing^{2,3}, XU Hong-bo⁴, WEI Yan-ni⁵

(1. Department of Obstetrics, Changyi People's Hospital, Changyi 261300, Shandong, China;

2. Department of Pathology, Changyi People's Hospital, Changyi 261300, Shandong, China;

3. Department of Pathology, Weifang People's Hospital, Weifang 261041, Shandong, China;

4. Department of Blood Transfusion, Changyi People's Hospital, Changyi 261300, Shandong, China;

5. Department of Health Management, Weifang Nursing Vocational College, Weifang 261041, Shandong, China)

Abstract Objective To observe the expression of transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1), tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-4 (IL-4) and interleukin-6 (IL-6) in serum of patients with early embryo arrest, and to explore its role in early embryo arrest. **Methods** A total of 35 patients with early embryo arrest diagnosed in Changyi People's Hospital from January 2018 to August 2021 were selected as the observation group, and 35 normal pregnant women at the same period were selected as the control group. The expressions of TGF- β 1, TNF- α , IL-4 and IL-6 were compared between the two groups. The relationship between TGF- β 1, TNF- α , IL-4, IL-6 and clinical indicators and the relationship between TGF- β 1 expression and TNF- α , IL-4, IL-6 were analyzed. **Results** The expression of serum TGF- β 1, IL-4 and IL-6 in the observation group was lower than that in the control group, and the expression of TNF- α was higher than that in the control group ($P<0.05$). The expression of TGF- β 1, TNF- α , IL-4 and IL-6 was not correlated with age, gestational age, amenorrhea days and gestational sac size ($P>0.05$). The expression of TGF- β 1 was positively correlated with the expressions of IL-4 ($r=0.368$) and IL-6 ($r=0.338$), and negatively correlated with the expression of TNF- α ($r=-0.329$). **Conclusion** The expression of TGF- β 1, IL-4 and IL-6 in serum of patients with early embryo arrest is lower than that of normal pregnant women, and the expression of TNF- α is higher. The expression of TGF- β 1 is positively correlated with the expression of IL-4 and IL-6, respectively, and negatively correlated with the expression of TNF- α .

Key words Early embryonic arrest; TGF- β 1; TNF- α ; IL-4; IL-6

早期胚胎停育(early embryonic arrest)又称为稽留流产,是自然流产中的一种,是妇产科常见病,占所有临床妊娠的 15%^[1,2]。近年来,随着饮食、生活习惯的改变和电离辐射、环境异常等原因,早期胚胎停育的发病率逐渐升高,影响了广大育龄女性的身心健康。早期胚胎停育发病机制非常复杂,目前尚不清

楚^[3,4]。寻求新的用于早期诊断和有效的干预治疗的生物分子对于早期胚胎停育的研究和临床治疗意义重大。妊娠是机体同种移植中的特例,机体会通过免疫调节使母体对胚胎形成免疫耐受,而这个过程与机体细胞产生的多种细胞因子有关^[5]。研究认为^[6,7],自身免疫系统的紊乱在流产过程中有重要的作用。转化生长因子 β (TGF- β) 包括 3 种亚型:TGF- β 1、TGF- β 2、TGF- β 3,这 3 种亚基生物学效应基本相同,其中 TGF- β 1 作用最强。TGF- β 1 是一种分子量为 25 kD 的细胞因子,具有多种生物学功能,参与调节细胞分化、炎症反应及免疫应答等^[8,9]。辅助性 T

作者简介:金力荣(1973.3-),女,山东昌邑人,硕士,副主任医师,主要从事病理妊娠的发病机制研究

通讯作者:杨麦青(1979.11-),女,山东昌邑人,博士,主治医师,主要从事基础医学研究

细胞分泌细胞因子的平衡是维持机体免疫功能的前提。辅助性T细胞分为Th0、Th1、Th2, Th1细胞主要分泌TNF- α 、Interleukin (IL-2)、Interferon- γ 等,负责细胞免疫;Th2细胞主要分泌Interleukin (IL-4)、Interleukin (IL-5)、Interleukin (IL-6)等,负责体液免疫^[10,11]。TNF- α 有157个氨基酸,是炎症的中枢调节因子,对肿瘤和病毒具有抑制作用^[12,13]。IL-4、IL-6介导体液免疫,是维持体内免疫平衡的典型细胞因子^[13-16]。TGF- β 1在胚胎停育中的研究有过相关报道,但TGF- β 1联合TNF- α 、IL-4、IL-6在早期胚胎停育中的报道甚少。为此,本实验通过检测早期胚胎停育患者血清中TGF- β 1表达水平的变化及与TNF- α 、IL-4、IL-6表达之间的关系,探究TGF- β 1、TNF- α 、IL-4、IL-6在早期胚胎停育过程中的作用。

表1 两组一般资料比较($\bar{x}\pm s$)

组别	n	年龄(岁)	停经天数(d)	孕周(周)	孕囊大小(cm)
观察组	35	30.97 $\pm$ 7.19	59.43 $\pm$ 7.10	8.24 $\pm$ 1.38	2.45 $\pm$ 0.42
对照组	35	30.23 $\pm$ 6.80	61.57 $\pm$ 8.63	8.31 $\pm$ 1.19	2.48 $\pm$ 0.50
t		0.432	1.067	0.234	0.359
P		0.669	0.293	0.817	0.721

1.2 方法 所有受试者保证清晨空腹,抽取清晨空腹静脉血5 ml,放入非抗凝试管中,以3000 r/min离心10 min后取血清做好标记,放入-80℃冰箱。检测TGF- β 1、TNF- α 、IL-4、IL-6的表达水平时,自冰箱内取出血清,冰上解冻,然后2000 r/min,离心15 min,取上清液,严格按照说明书用双抗体夹心ABC-ELISA法检测。试剂盒购买于武汉赛培生物科技有限公司,使用美国全自动酶联检测仪450 nm读取OD值,将OD值代入标准曲线及标准公式计算出样品浓度。

1.3 观察指标 比较两组血清TGF- β 1、TNF- α 、IL-4、IL-6的表达水平;分析早期胚胎停育患者血清TGF- β 1、TNF- α 、IL-4、IL-6表达与临床指标的关系及血清TGF- β 1与TNF- α 、IL-4、IL-6表达的关系。

1.4 统计学处理 采用SPSS 17.0处理本实验数据,计量资料用($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较采取t检验,计数资

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择2018年1月-2021年8月在昌邑市人民医院产科就诊并经过临床诊断的35例早期胚胎停育患者作为观察组,均经彩超确诊为宫内妊娠,胚胎停止发育。另选同期35例健康产妇作为对照组,彩超提示孕囊内见胚芽组织、心管搏动。两组年龄、停经天数、孕周、孕囊大小比较,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性,见表1。纳入标准:①月经周期规律;②血常规、凝血功能正常;③经血液及彩超检查排除染色体、解剖异常。排除标准:①无高血压病、糖尿病、免疫性疾病;②显性遗传病史。所有受试者均由两名产科医师明确诊断,均对本研究知情同意并签署知情同意书。

料采用[n(%)]表示,行 χ^2 检验,相关关系采用Pearson相关性分析, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组TGF- β 1、TNF- α 、IL-4、IL-6表达水平比较 观察组血清TGF- β 1、IL-4、IL-6表达水平低于对照组,血清TNF- α 表达水平高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$),见表2。

2.2 观察组血清TGF- β 1、TNF- α 、IL-4、IL-6的表达与临床指标的关系 观察组血清TGF- β 1、TNF- α 、IL-4、IL-6表达水平分别与年龄、停经天数、孕周、孕囊大小无关,差异无统计学意义($P>0.05$),见表3。

2.3 观察组血清TGF- β 1与TNF- α 、IL-4、IL-6表达的关系 TGF- β 1的表达与IL-4($r=0.368$)、IL-6($r=0.338$)的表达呈正相关,与TNF- α 的表达呈负相关($r=-0.329$),见表4、图1。

表2 两组TGF- β 1、TNF- α 、IL-4、IL-6水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	n	TGF- β 1 (pg/L)	TNF- α (ng/L)	IL-4 (pg/ml)	IL-6 (pg/ml)
观察组	35	35.46 $\pm$ 14.11	8.38 $\pm$ 2.67	21.63 $\pm$ 10.95	16.51 $\pm$ 7.75
对照组	35	46.09 $\pm$ 15.95	5.02 $\pm$ 1.49	34.19 $\pm$ 11.32	24.22 $\pm$ 11.41
t		3.029	6.022	4.432	3.842
P		0.005	0.000	0.000	0.001

表 3 观察组血清 TGF- β 1、TNF- α 、IL-4、IL-6 与临床指标的关系(n)

项目	n	TGF- β 1 低表达 (n=29)	χ^2	P	TNF- α 高表达 (n=26)	χ^2	P	IL-4 低表达 (n=28)	χ^2	P	IL-6 低表达 (n=29)	χ^2	P
年龄(岁)			0.181	0.670		0.048	0.827		0.001	0.977		0.018	0.892
≤30	20	19			15			17			17		
>30	15	10			11			11			12		
停经天数(d)			0.093	0.761		0.442	0.506		0.045	0.842		0.092	0.761
≥60	12	8			6			8			8		
<60	23	21			20			20			21		
孕周(周)			0.468	0.494		0.603	0.437		0.001	0.976		0.004	0.952
≥8	11	6			5			8			8		
<8	24	23			21			20			21		
孕囊(cm)			0.591	0.442		0.035	0.851		0.001	0.974		0.013	0.908
≥2	10	5			6			7			7		
<2	25	24			20			21			22		

表 4 观察组血清 TGF- β 1 与 TNF- α 、IL-4、IL-6 表达的关系(n)

TGF- β 1	n	TNF- α	χ^2	P	IL-4	χ^2	P	IL-6	χ^2	P
低表达	29	26	4.943	0.026	28	5.301	0.021	29	5.486	0.019
高表达	6	0			0			0		

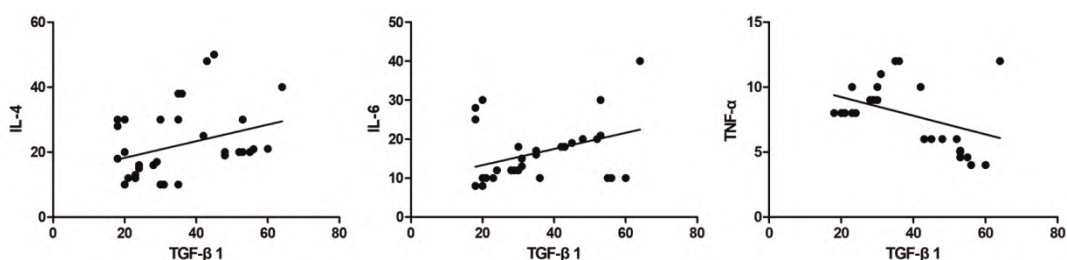


图 1 TGF- β 1 与 TNF- α 、IL-4、IL-6 的相关性

3 讨论

早期胚胎停育是一种常见的产科疾病,其致病原因有遗传因素、内分泌紊乱、免疫因素、社会心理因素等。因停止发育的孕囊滞留在宫腔未自然完全排出,可能会引起孕产妇的凝血功能障碍^[17]。但早期胚胎停育的发病机制仍不明确,近年来随着发病率的增加,严重影响广大育龄女性的身心健康^[1,17,18]。有研究指出^[19],妊娠子宫局部和母体全身免疫系统的功能对于维持正常的妊娠至关重要。

TGF- β 1 是 TGF- β 亚型的一种,机体多种细胞可以合成,参与细胞生长、代谢的多种生理病理过程。在机体活动中,其作用方式比较复杂,与多种其他细胞因子互相作用,产生的生物学效应也各不相同。有研究证实^[20],TGF- β 1 参与正常妊娠成功的关键过程,包括蜕膜化、滋养层细胞的侵袭、血管生成和免疫调节等。由此可见,TGF- β 1 对于维持正常的妊娠过程,起着重要的作用。本研究表明,TGF- β 1 在早期胚胎停育患者血清中的表达比对照组

低,印证了 TGF- β 1 的减少参与了早期胚胎停育的发生发展。

T 淋巴细胞对于妊娠的作用主要靠辅助性 T 细胞,辅助性 T 细胞包括 Th0、Th1、Th2。Th1 分泌的细胞因子有 TNF- α 、IL-2、Interferon- γ 等,参与细胞免疫;Th2 分泌的细胞因子有细胞 IL-4、IL-5、IL-6 等,参与体液免疫。在妊娠过程中 Th2 参与体液免疫主要起保护作用,妊娠的成功需要 Th1、Th2 的功能保持动态平衡,任何一方的免疫过度,都会影响到妊娠的结局^[10,11]。研究表明,在怀孕期间,TNF- α 能够影响激素的合成、胎盘结构和胚胎发育。TNF- α 水平升高与流产和先兆子痫相关,TNF- α 水平升高能影响胎儿营养的供应,还可能通过改变胎盘免疫调节因子的分泌而影响母婴关系,进而影响母体免疫细胞细胞因子的表达^[21,22]。TNF- α 水平的改变会进一步影响 IL-4、IL-6 的表达,进而加重免疫紊乱的过程^[23]。使用 TNF- α 拮抗剂可在妊娠相关疾病中起到一定的临床效果^[21]。本研究发现,在早期胚胎停育患者血清

中 TNF- α 的表达增多,而 IL-4、IL-6 的表达水平降低,说明 TNF- α 、IL-4、IL-6 介入了早期胚胎停育的发展,Th1、Th2 介导参与的免疫平衡被打破。

本研究发现,TGF- β 1、TNF- α 、IL-4、IL-6 的表达在早期胚胎停育患者中与年龄、停经天数、孕周、孕囊的大小均无关。TGF- β 1 的表达与 TNF- α 、IL-4、IL-6 的表达变化有关,且 TGF- β 1 的表达与 TNF- α 的表达呈负相关,与 IL-4、IL-6 的表达呈正相关,说明 TGF- β 1 与 Th1、Th2 介导参与的免疫平衡相关;与 IL-4、IL-6 可发挥协同作用。但是 TGF- β 1 是如何引发的 Th1、Th2 介导参与的免疫平衡,本研究尚未探究,今后将从该方向进一步研究。

综上所述,TGF- β 1、IL-4、IL-6 在早期胚胎停育患者血清中的表达降低,而 TNF- α 表达升高,TGF- β 1 的表达与 TNF- α 的表达呈负相关,与 IL-4、IL-6 的表达分别呈正相关。随着分子生物技术的不断提高,TNF- α 拮抗剂可能会有效地应用于早期胚胎停育的治疗。

参考文献:

- [1]Zhu Q,Dong YC,Zhang L,et al.miR -98 is involved in missed abortion by targeting GDF6 and FAPP2[J].Reproduction, 2020,159(5):525-537.
- [2]Biyik I,Albayrak M,Keskin F.Platelet to Lymphocyte Ratio and Neutrophil to Lymphocyte Ratio in Missed Abortion [J].Rev Bras Ginecol Obstetm,2020,42(5):235-239.
- [3]赖翠英.稽留流产患者的病因分析及防治对策研究[J].山西医药杂志,2021,50(14):2192-2195.
- [4]陈振轩,陈晓燕,许梅燕.早孕期血清 hCG、P 及 E₂ 水平变化与不同妊娠结局之间的关系 [J]. 国际医药卫生导报,2021,27(12):1763-1766.
- [5]Pacini G,Paolino S,Andreoli L,et al.Epigenetics, pregnancy and autoimmune rheumatic diseases[J].Autoimmun Rev,2020,19(12):102685.
- [6]Peng Y,Yin S,Wang M.Significance of the ratio interferon- γ /interleukin-4 in early diagnosis and immune mechanism of unexplained recurrent spontaneous abortion [J].Int J Gynaecol Obstet,2021,154(1):39-43.
- [7]Zhang X,Zhang K,Zhang Y.Pigment epithelium-derived factor facilitates NLRP3 inflammasome activation through down-regulating cytidine monophosphate kinase 2: A potential treatment strategy for missed abortion [J].Int J Mol Med,2020,45(5):1436-1446.
- [8]Papoutsoglou P,Tsubakihara Y,Caja L,et al.The TGFB2-AS1 lncRNA Regulates TGF- β Signaling by Modulating Corepressor Activity[J].Cell Rep,2019,28(12):3182-3198.
- [9]Zhang C,Hao Y,Wang Y,et al.TGF- β /SMAD4-Regulated lncRNA -LINP1 Inhibits Epithelial-Mesenchymal Transition in Lung Cancer[J].Int J Biol Sci,2018,14(12):1715-1723.
- [10]Baxter EW,Graham AE,Re NA,et al.Standardized protocols for differentiation of THP-1 cells to macrophages with distinct M(IFN γ +LPS), M(IL-4) and M(IL-10) phenotypes[J]. Immunol Methods,2020,478:112721.
- [11]Coppola C,Hopkins B,Huhn S,et al.Investigation of the Impact from IL-2, IL-7, and IL-15 on the Growth and Signaling of Activated CD4⁺ T Cells[J].Int J Mol Sci,2020,21(21):7814.
- [12]Zhuang YT,Xu DY,Wang GY,et al.IL-6 induced lncRNA MALAT1 enhances TNF- α expression in LPS-induced septic cardiomyocytes via activation of SAA3 [J].Eur Rev Med Pharmacol Sci,2017,21(2):302-309.
- [13]Wang XM,Ma ZY,Song N.Inflammatory cytokines IL-6, IL-10, IL-13, TNF- α and peritoneal fluid flora were associated with infertility in patients with endometriosis [J].Eur Rev Med Pharmacol Sci,2018,22(9):2513-2518.
- [14]Bantulà M,Roca-Ferrer J,Arimendi E,et al.Asthma and Obesity: Two Diseases on the Rise and Bridged by Inflammation[J].J Clin Med,2021,10(2):169.
- [15]Saribal D,Hocaoglu-Emre FS,Erdogan S,et al.Inflammatory cytokines IL-6 and TNF- α in patients with hip fracture[J].Osteoporos Int,2019,30(5):1025-1031.
- [16]He B,Pan B,Pan Y,et al.IL-4/IL-4R and IL-6/IL-6R genetic variations and gastric cancer risk in the Chinese population [J].Am J Transl Res,2019,11(6):3698-3706.
- [17]Zhi Z,Yang W,Liu L,et al.Early missed abortion is associated with villous angiogenesis via the HIF-1 α /VEGF signaling pathway[J].Arch Gynecol Obstet,2018,298(3):537-543.
- [18]祖迎莱,张东方,左振伟,等.胚胎停育患者蜕膜组织中 AQP3、TGF- β 1 的表达[J].中国妇幼保健,2019,34(24):5726-5728.
- [19]Hornsby E,Pfeffer PE,Laranjo N,et al.Vitamin D supplementation during pregnancy: Effect on the neonatal immune system in a randomized controlled trial [J].J Allergy Clin Immunol, 2018,141(1):269-278.
- [20]Warren J,Im M,Ballesteros A,et al.Activation of latent transforming growth factor- β 1,a conserved function for pregnancy-specific beta 1-glycoproteins [J].Mol Hum Reprod,2018,24(12):602-612.
- [21]Romanowska-Próchnicka K,Felis-Giemza A,Olesińska M, et al.The Role of TNF- α and Anti-TNF- α Agents during Preconception, Pregnancy, and Breastfeeding [J].Int J Mol Sci, 2021,22(6):2922.
- [22]Singh KP,Shakeel S,Naskar N,et al.Role of IL-1 β , IL-6 and TNF- α cytokines and TNF- α promoter variability in Plasmodium vivax infection during pregnancy in endemic population of Jharkhand, India[J].Mol Immunol,2018,97:82-93.
- [23]郑玫,谢文玲,黄峰.稽留流产患者血清中 IL-6、TNF- α 、HIF-1 α 和 VEGF 表达[J].广东医科大学学报,2018,36(2):180-182.
- [24]Moens A,van der Woude CJ,Julsgaard M,et al.Pregnancy outcomes in inflammatory bowel disease patients treated with vedolizumab, anti-TNF or conventional therapy: results of the European CONCEIVE study [J].Aliment Pharmacol Ther, 2020,51(1):129-138.

收稿日期 2021-11-20 修回日期 2021-12-05

编辑/成森