

# A Relationship between the Expressions of bcl-2 and FasI in Placental and the Concentrations of ET-1 and PGE<sub>2</sub> in Maternal Blood and Amniotic Fluid on Labor Onset

Guozhen Pan<sup>1</sup>, Rubo Zhao<sup>2</sup>, Dali Lu<sup>3</sup>, Yan Yang<sup>1</sup>, Hongwei Zhang<sup>1</sup>, Youcheng Zhang<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Obstetrics and Gynecology, The People's Hospital of Guizhou Province, Guiyang Guizhou

<sup>2</sup>Outpatient Department, The People's Hospital of Guizhou Province, Guiyang Guizhou

<sup>3</sup>Medical Statistics Office, The People's Hospital of Guizhou Province, Guiyang Guizhou

Email: \*zhangyoucheng489@sohu.com

Received: Nov. 28<sup>th</sup>, 2017; accepted: Dec. 14<sup>th</sup>, 2017; published: Dec. 21<sup>st</sup>, 2017

---

## Abstract

**Objective:** To investigate the expressions of bcl-2 and FasI proteins in placental trophoblastic cells on labor onset and their relationships with the concentrations of Endothelin-1 and Prostaglandin E<sub>2</sub> in maternal blood and amniotic fluid. **Methods:** Fifty-three women on term pregnancy were divided into two groups. One group on the time of labor onset was twenty-eight women. Another group not on the time of labor onset was twenty-five women. Expressions of bcl-2 and FasI proteins in placental trophoblastic cells were detected by immunohistochemical assay. The concentrations of ET-1 and PGE<sub>2</sub> in maternal blood and amniotic fluid were detected by radioimmune assay. **Results:** 1) Expressions of bcl-2 and FasI proteins in the group of labor onset were significantly lower than that in the group of not labor onset. There was a statistically difference in the average gray scale and the ratio of positive cells between the two groups ( $p < 0.05$ ). 2) The concentrations of ET-1 and PGE<sub>2</sub> in maternal blood and amniotic fluid of labor onset group were higher than that of not labor onset group ( $p < 0.05$ ). 3) There was a positive correlation between the concentrations of ET-1 and PGE<sub>2</sub> in maternal blood and amniotic fluid, and the expression of bcl-2 proteins had a negative correlation with the concentrations of ET-1 and PGE<sub>2</sub> respectively, but there was no correlation between the expression of FasI proteins and the concentrations of ET-1 and PGE<sub>2</sub>. **Conclusions:** It was considered that the apoptosis of placental trophoblastic cells induced by bcl-2 and FasI may play an important role in the initiation of term labor onset. ET-1 and PGE<sub>2</sub> may control the expression of bcl-2.

## Keywords

Placental, bcl-2, FasI, Endothelin-1, Prostaglandin E<sub>2</sub>

---

\*通讯作者。

# 临产前后胎盘上bcl-2、Fasl的表达与母血、羊水中ET-1、PGE<sub>2</sub>浓度之间的关系

潘国珍<sup>1</sup>, 赵汝波<sup>2</sup>, 卢大丽<sup>3</sup>, 杨 艳<sup>1</sup>, 张宏伟<sup>1</sup>, 张有成<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>贵州省人民医院妇产科, 贵州 贵阳

<sup>2</sup>贵州省人民医院门诊部, 贵州 贵阳

<sup>3</sup>贵州省人民医院统计室, 贵州 贵阳

Email: \*zhangyoucheng489@sohu.com

收稿日期: 2017年11月28日; 录用日期: 2017年12月14日; 发布日期: 2017年12月21日

## 摘 要

**目的:** 探讨临产前后bcl-2、Fasl在胎盘滋养层细胞的蛋白表达变化及其与母血、羊水中内皮素-1 (Endothelin-1, ET-1)、前列腺素E<sub>2</sub> (ProstaglandinE<sub>2</sub>, PGE<sub>2</sub>)的浓度之间的关系。**方法:** 53例足月妊娠妇女分成两组, 其中临产组28例, 未临产组25例。用免疫组化(Immunohistochemical, IHC)法测定胎盘滋养层细胞bcl-2、Fasl的蛋白表达, 用放射免疫法测定孕妇母血、羊水中ET-1、PGE<sub>2</sub>的浓度。**结果:** 1) 临产组胎盘滋养层细胞bcl-2、Fasl的蛋白表达明显低于未临产组, 两组平均灰度及阳性细胞率比较, 差异有显著性( $p < 0.05$ )。2) 临产组母血、羊水中ET-1、PGE<sub>2</sub>水平平均高于未临产组( $p < 0.05$ )。3) 母血、羊水中ET-1的浓度与PGE<sub>2</sub>的浓度变化呈明显的正相关; 母血、羊水中ET-1、PGE<sub>2</sub>的变化与bcl-2的蛋白表达呈负相关( $p < 0.05$ ), 而与Fasl的表达不相关( $p > 0.05$ )。**结论:** bcl-2、Fasl介导的胎盘滋养层细胞凋亡在启动分娩发动过程中具有重要作用; bcl-2的作用可能受ET-1、PGE<sub>2</sub>等细胞因子的调控。

## 关键词

胎盘, bcl-2, Fasl, 内皮素-1, 前列腺素E<sub>2</sub>

Copyright © 2017 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

胎盘是母、儿在体内相互接触的部位, 对妊娠的维持发挥着重要作用, 但其在分娩中的作用尚不清楚。已有的研究表明, 孕晚期胎盘存在细胞凋亡[1], 而一些细胞因子与分娩发动相关, 可以推测这些细胞因子与胎盘凋亡可能有关。ET-1 和 PGE<sub>2</sub> 在分娩过程中发挥着重要的作用, 而调控胎盘细胞凋亡的基因主要是 bcl-2 及 Fasl [2]。本课题应用免疫组化及放免方法, 通过检测 bcl-2 及 Fasl 在正常足月妊娠妇女胎盘的表达以及母血、羊水中 ET-1 和 PGE<sub>2</sub> 含量的测定, 探讨分娩发动时胎盘凋亡与细胞因子之间的关系。

## 2. 资料与方法

### 2.1. 一般资料

该研究纳入病例均征得孕妇本人同意并签署知情同意书。2006年9月至11月53例足月妊娠住院孕妇根据临产状态分为未临产组及临产组。分类标准参照谢幸、苟文丽主编第8版《妇产科学》，如下：

1) 未临产组 25例：为骨盆狭窄或社会因素要求剖宫产，胎心监护仪显示无宫缩，肛查宫口未开。年龄20~34岁，孕龄37~41周，新生儿出生体重3000~3830g。2) 临产组 28例：均为经阴道自然分娩。年龄19~34岁，孕龄37~41周，新生儿出生体重3010~3700g。两组孕妇均为初产妇，入选标准为无任何病理妊娠及妊娠并发症，产程中无特殊用药。入院时肝、肾功能检查正常，两组孕妇年龄、产次、孕龄及新生儿体重比较，差异无显著性( $p > 0.05$ )。

### 2.2. 方法

#### 2.2.1. 标本采集及处理

临产组于宫缩进入活跃期后抽取产妇肘正中静脉血4ml，分成两份，各2ml分别加入含EDTA 30 $\mu$ l及抑肽酶40 $\mu$ l的试管中，4 $^{\circ}$ C，3000r/min，离心10min，分离血浆，分离样本标记后一起置-70 $^{\circ}$ C冰箱保存。并于人工破膜时经前羊膜囊穿刺取羊水4ml，4 $^{\circ}$ C，3000r/min，离心5min后，取上清，分装两管，标记后置-70 $^{\circ}$ C冰箱保存。未临产组于术前取血及术中切开子宫下段肌层后经胎膜取羊水，取法及处理同上。胎盘娩出后立即在母体面中央及四周边缘部各剪取组织一块，大小1 $\times$ 1 $\times$ 0.5cm。生理盐水中漂洗干净，中性甲醛固定24小时，梯度酒精脱水，二甲苯透明，浸蜡，石蜡包埋。

#### 2.2.2. IHC 检测胎盘滋养层 bcl-2、FasI 的表达及计算机图象扫描分析

1) IHC 染色 SP 法：试剂盒由福州迈新生物技术公司提供。标本制成4 $\mu$ m切片，二甲苯脱蜡，梯度乙醇水化，高温高压修复抗原，内源性过氧化物酶阻断10min，PBS洗3 $\times$ 5min，非免疫源性动物血清10min，PBS洗3 $\times$ 5min，一抗4 $^{\circ}$ C冰箱过夜，PBS洗3 $\times$ 5min，生物素化二抗10min，PBS洗3 $\times$ 5min，链亲和素-过氧化物酶10min，PBS洗3 $\times$ 5min，DAB显色，苏木素复染，盐酸乙醇分化，自来水返蓝，中性树脂封片。

2) 计算机图象扫描分析：采用15,400计算机图象分析仪对切片进行图象分析。每张切片随机选取10个绒毛，分别计算单个绒毛阳性细胞总面积及绒毛合体滋养细胞、细胞滋养细胞、间质细胞的总扫描面积、总灰度参数；用阳性细胞率(阳性细胞总面积/总扫描面积)及平均灰度(总灰度/总扫描面积)代表 bcl-2、FasI 表达强度。

#### 2.2.3. 放免法检测 ET-1、PGE<sub>2</sub>

采用非平衡法测定血浆和羊水中的 ET-1、PGE<sub>2</sub> 浓度，药盒由解放军总医院东亚放免所提供。

#### 2.2.4. 统计学分析

所有数据用 SPSS 10.0 统计学软件包处理。根据资料性质，分别采用 t 检验或 t' 检验；两因素相关分析用直线相关分析。结果均以( $\bar{x} \pm s$ )表示。

## 3. 结果

### 3.1. 两组胎盘绒毛滋养细胞计算机扫描定量分析结果

两组平均扫描视野和扫描面积比较，差异有显著性。(p < 0.05)平均灰度及阳性细胞率见表 1。

### 3.2. 两组母血、羊水中 ET-1、PGE<sub>2</sub> 检测结果

两组母血、羊水 ET-1、PGE<sub>2</sub> 检测结果显示，临产组母血、羊水中 ET-1、PGE<sub>2</sub> 值均明显高于未临产

组, 有差异显著性( $p < 0.05$ ), 见表 2。

### 3.3. bcl-2、Fasl 的表达与 ET-1、PGE<sub>2</sub> 量之间的关系

bcl-2、Fasl 平均灰度及阳性细胞率分别与母血、羊水中 ET-1、PGE<sub>2</sub> 放免值作直线相关分析发现, bcl-2 平均灰度及阳性细胞率分别与母血、羊水中 ET-1、PGE<sub>2</sub> 浓度呈显著负相关, 直线相关系数  $r$  有统计学意义( $p < 0.05$ )。Fasl 平均灰度及阳性细胞率与母血、羊水中 ET-1、PGE<sub>2</sub> 浓度不相关( $p > 0.05$ )。

## 4. 讨论

### 4.1. bcl-2、Fasl 的表达与分娩发动的关系

bcl-2 是胎盘凋亡的抑制基因[1]。在 bcl-2 高表达的组织, 细胞凋亡相对较少, 而低表达的组织, 细胞凋亡增多。本实验应用免疫组化 SP 法对两组胎盘绒毛滋养层细胞进行染色后发现, 在光镜下, bcl-2 主要定位于合体滋养细胞, 阳性颗粒分布于胞膜及胞浆上, 阳性细胞呈弥漫性或局灶性分布。临产组及未临产组均有 bcl-2 表达, 通过做图象分析使染色结果量化后发现, 未临产组 bcl-2 表达的阳性细胞率及平均灰度高于临产组( $p < 0.05$ ), 证明未临产组 bcl-2 表达明显高于临产组。说明分娩发动状态下, bcl-2 的表达是减少的, 由于 bcl-2 的降低使其对胎盘滋养细胞的抑凋亡作用减弱, 从而可能使细胞凋亡增加。研究结果表明, bcl-2 介导的胎盘滋养层细胞凋亡是分娩发动中存在的一种现象, 并可能在参与启动分娩发动方面起重要的作用。

另一个凋亡基因 Fasl 的测定结果显示, 胎盘绒毛细胞滋养细胞、合体滋养细胞、间质细胞均有 Fasl 的表达, 阳性颗粒分布于胞浆。光镜下两组 Fasl 在滋养细胞的表达皆以中度及弱阳性为主, 强阳性不多, 与文献报道的观察结果一致[2]。但进一步作图象分析量化后发现, 未临产组 Fasl 的阳性细胞率及平均灰度仍大于临产组, 统计学检验, 差别有显著性( $p < 0.05$ )。已知 Fasl 是 Fas 的配体, 二者结合后, 能引起表达 Fas 的淋巴细胞凋亡, 本实验结果推测, 临产组低 Fasl 的表达可能与分娩发动有关, 由于 Fasl 的降低, 使 Fas 阳性表达的淋巴细胞凋亡减少, 从而使母体对胎儿及胎盘的免疫反应增强, 引起分娩发动。

**Table 1.** Comparison of two groups of placental bcl-2 and Fasl gene expression ( $\bar{x} \pm s$ )

**表 1.** 两组胎盘 bcl-2、Fasl 基因表达的比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	bcl-2		Fasl	
		平均灰度	阳性细胞率	平均灰度	阳性细胞率
临产组	28	91.29±11.66 <sup>1)</sup>	0.48±0.17 <sup>1)</sup>	99.54±12.43 <sup>1)</sup>	0.54±0.09 <sup>1)</sup>
未临产组	25	99.95±9.27	0.64±0.13	116.98±10.18	0.77±0.09

注: 与未临产组比较 <sup>1)</sup> $p < 0.05$ 。

**Table 2.** Two groups of maternal blood and amniotic fluid ET-1, the concentration of PGE<sub>2</sub> ( $\bar{x} \pm s$ )

**表 2.** 两组母血、羊水中 ET-1、PGE<sub>2</sub> 浓度比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	PGE <sub>2</sub> (pg/ml)		ET-1 (pg/L)	
		母血	羊水	母血	羊水
临产组	28	470.6±61.8 <sup>1)</sup>	7884.3±110.0 <sup>1)</sup>	161.7±23.83 <sup>1)</sup>	100.6±24.23 <sup>1)</sup>
未临产组	25	300.9±29.2	2154.4±152.9	102.0±32.58	52.9±19.78

注: 与未临产组比较 <sup>1)</sup> $p < 0.05$ 。

## 4.2. ET-1、PGE<sub>2</sub>与分娩发动的关系

已知前列腺素(Prostaglandins, PG<sub>S</sub>)为人体多种生理及病理代谢调节的中介物。已有的研究表明,人胎膜局部释放的 PGE<sub>2</sub>可引起子宫平滑肌收缩和宫颈成熟,且其促宫缩作用比缩宫素强[3]。已知羊膜是合成 PGE<sub>2</sub>的主要部位,这与羊膜层主要表达前列腺素合成酶(Prostaglandin endoperoxide H synthase, PGHS)活性有关,绒毛膜中也存在少许 PGHS 活性。

ET 是一组有强的血管收缩作用的多肽类物质,本实验测定了与妊娠关系密切的母血及羊水水中的 ET-1 浓度。发现临产组母血及羊水中 ET-1 浓度分别明显大于未临产组。且临产组浓度较正常值(50.8 ± 7.58)成倍数关系。由此说明,ET 与分娩发动关系密切。研究证明,ET 有强的子宫收缩作用,并可刺激羊膜上 PGE<sub>2</sub>的形成[4],子宫肌上存在 ET 受体,ET 与其受体结合后,使胞内 G<sub>a</sub><sup>2+</sup>浓度升高,引起宫缩[5],同时,羊水中 ET 的作用使 PGE<sub>2</sub>形成增多,PGE<sub>2</sub>作用于子宫平滑肌,进一步加强宫缩,促进分娩发动。

## 4.3. bcl-2、Fasl 的表达与 ET-1、PGE<sub>2</sub>的关系

bcl-2、Fasl 的阳性细胞率、平均灰度分别与母血、羊水水中的 ET-1、PGE<sub>2</sub>浓度进行相关分析后发现,胎盘凋亡基因 bcl-2 的表达与母血、羊水水中的 ET-1、PGE<sub>2</sub>的量呈显著负相关,相关系数 r 统计学检验有意义(p < 0.05),说明 ET-1、PGE<sub>2</sub>可能对 bcl-2 的表达存在负性调节作用。目前研究表明,前列腺素可诱导足月妊娠胎盘滋养层细胞发生凋亡[6],而 ET-1 有促进前列腺素合成的作用,本实验结果认为,ET-1 是通过促进 PGE<sub>2</sub>的合成而增加滋养层细胞凋亡的。而实验证实,在人体的胃肠道等部位,PGE<sub>2</sub>的促凋亡作用是通过抑制 bcl-2 的表达而实现的。并且可能也适用于其他组织[7]。本实验中,ET-1、PGE<sub>2</sub>与 bcl-2 呈明显的负相关,因此 ET-1 通过 PGE<sub>2</sub>增加滋养层细胞凋亡的作用可能也是通过抑制 bcl-2 基因的表达而实现的。而胎盘凋亡基因 Fasl 的表达与母血、羊水水中的 EGF、ET 的量不相关,相关系数 r 统计学检验无意义(p > 0.05),说明临产后 Fasl 的低表达与前列腺素作用可能无关,可能是临产后胎盘表达的一种生理现象,但在启动母胎免疫机制上却发挥重要的作用。

## 参考文献 (References)

- [1] Hosseini, A., Espona, F.M., Soto, C.V., *et al.* (2013) Molecular Interactions of Prodiginines with the BH3 Domain of Anti-Apoptotic Bcl-2 Family Members. *PLoS ONE*, **8**, e57562. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0057562>
- [2] Sharp, A.N., Heazell, A.E.P., Crocker, I.P., *et al.* (2010) Placental Apoptosis in Health and Disease. *American Journal of Reproductive Immunology*, **64**, 159-169. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0897.2010.00837.x>
- [3] Hua, R., Pease, J.E., Cheng, W., *et al.* (2013) Human Labour Is Associated with a Decline in Myometrial Chemokine Receptor Expression: The Role of Prostaglandins, Oxytocin and Cytokines. *American Journal of Reproductive Immunology*, **69**, 21-32. <https://doi.org/10.1111/aji.12025>
- [4] Kotani, T., Iwase, A., Tsuda, H., *et al.* (2013) Altered Expression of Enzymes Regulating the Activity of Endothelin-1 in the Lower Segment of the Human Amnion during Labor 1. *Biology of Reproduction*, **89**, 1-7. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.113.108480>
- [5] Vukelic, S.A., Cvijanovic, O., Dudaric, L., *et al.* (2012) The Influence of Clinical and Anthropometric Parameters on the Serum Levels of the Endothelin-1 in Pregnant Women and Their Newborns. *International Journal of Collegium Antropologicum*, **36**, 395-400.
- [6] Basak, S. and Duttaroy, A.K. (2013) Effects of Fatty Acids on Angiogenic Activity in the Placental Extravillous Trophoblast Cells. *Prostag, Leukotr and Ess*, **88**, 155-162. <https://doi.org/10.1016/j.plefa.2012.10.001>
- [7] Sheng, H., Shao, J., Morrow, J.D., *et al.* (1998) Modulation of Apoptosis and Bcl-2 Expression by Prostaglandin E2 in Human Colon Cancer Cells. *Cancer Research*, **58**, 362-366.

**知网检索的两种方式：**

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>  
下拉列表框选择：[ISSN]，输入期刊 ISSN：2161-8712，即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>  
左侧“国际文献总库”进入，输入文章标题，即可查询

投稿请点击：<http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱：[acm@hanspub.org](mailto:acm@hanspub.org)