

CyclinB1 与早期自然流产的相互关系

唐莉, 宿凌云, 师义, 雷毅, 董云华, 陈熙琳
(云南省第一人民医院生殖遗传科, 云南昆明 650032)

[摘要] **目的** 探讨细胞周期调节蛋白 CyclinB1 与早期自然流产发生的相关性. **方法** 选择早期自然流产和正常早孕人流患者绒毛和蜕膜组织各 30 例, 采用逆转录 - 聚合酶链反应法检测两种组织中 CyclinB1 的表达. **结果** CyclinB1 在早期自然流产组绒毛和蜕膜组织中的表达量显著低于正常早孕人流组绒毛和蜕膜组织中的表达量, 差异具有统计学意义 ($P < 0.01$). **结论** CyclinB1 可能与早期自然流产的发生相关.

[关键词] 早期自然流产; 正常人工流产; CyclinB1

[中图分类号] R714.21 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1003 - 4706 (2012) 01 - 0037 - 03

The Correlation between CyclinB1 and the Pathogenesis of Early Spontaneous Abortion

TANG Li, SU Ling - yun, SHI Yi, LEI Yi, DONG Yun - hua, CHEN Xi - lin
(Dept. of Reproduction and Genetics, The First People's Hospital of Yunnan Province,
Kunming Yunnan 650032, China)

[Abstract] **Objects** To investigate the correlation between CyclinB1 and the pathogenesis of Early spontaneous abortion. **Method** We detected the expression of CyclinB1 in the villus and decidua of 30 cases of early spontaneous abortions and 30 cases of normal artificial abortions by using the method of Polymerase chain reaction. **Result** The expression level of CyclinB1 in the tissues of early spontaneous abortions patients was significantly lower than that in normal artificial abortions patients ($P < 0.01$). **Conclusion** CyclinB1 may be involved in the pathogenesis of early spontaneous abortion.

[Key words] Early spontaneous abortion; Normal artificial abortion; CyclinB1

妊娠后于 12 周前发生自然流产者称为早期自然流产, 是常见的病理性妊娠之一. 据统计, 现在自然流产的发生率占全部妊娠的 15% 左右, 其中 80% 为早期自然流产^[1]. 目前, 医学上认为早期自然流产可能与染色体异常、子宫环境异常、内分泌紊乱、免疫功能不全、吸烟、全身性疾病及创伤等多因素有关, 但其确切的发病机制仍不明确. 而且, 由于早期自然流产目前的临床疗效欠佳, 使流产患者的身心健康遭受很大伤害, 严重影响了其工作与生活, 甚至家庭的稳定. 因此, 对早期自然流产发病机制的探讨有着重要的临床及社会意义. 本文从细胞周期蛋白调节基因 CyclinB1 与早期自然流产发生的相关性进行研究, 将结果报告如下.

1 材料与方法

1.1 一般资料

选取 2008 年 11 月至 2009 年 6 月在云南省第一人民医院生殖遗传科就诊的正常早孕人工流产的患者 (A 组) 和早期自然流产患者 (B 组) 各 30 例. A 组和 B 组平均年龄分别为 (26.39 ± 3.31) 岁和 (27.70 ± 3.28) 岁; 孕周 6 ~ 10 周之间. 各相关因素无统计学差异 ($P > 0.05$). 所有研究对象既往月经规则、无生殖系统异常、无全身性疾病, 近期无用药及重大手术史.

[基金项目] 云南省应用基础研究基金资助项目 (2008ZC079M)

[作者简介] 唐莉 (1971 ~), 女, 湖南荆门市人, 医学博士, 副主任医师, 主要从事生殖医学临床工作.

1.2 正常早孕组 (A 组)

A 组患者除满足以上条件外, 还需: (1) B 超检查可见宫腔内孕囊及原始心血管搏动; (2) 妊娠期间无阴道流血及腹痛等先兆流产病史; (3) 无自然流产等不良生育病史。

1.3 稽留流产组 (B 组)

B 组患者除满足以上条件外, 还需: B 超检查示胚胎停止发育。

1.4 实验方法

逆转录 - 聚合酶链反应法 (RT-PCR): 用 Trozel (购自美国 GIBCO 公司) 抽提组织总 RNA, 逆转录, PCR 扩增 CyclinB1 及 β 肌动蛋白 (内参照)。引物序列为: CyclinB1: 5'-ggccaaaatgcctatg - aaga-3' (上游), 5'-agatgtttccattgggctg-3' (下游), 扩增片段长度为 229 bp。 β - actin 序列为: 5'-ag-aaaatctggcaccacacc -3' (上游), 5' aacggcagaagagaga-aacca -3' (下游), 扩增片段长度为 209 bp。引物均由上海生工公司合成。采用分管扩增法进行扩增。PCR 反应条件 CyclinB1 和 β -actin 均为: 94 °C 3 min, 94 °C 30 S, 55 °C 30 s, 72 °C 60 S, 扩增 35 个循环, 72 °C 5 min。扩增 30 个循环, 72 °C 10 min。PCR 产物经 2% 琼脂糖凝胶电泳分离。对结果进行灰度扫描分析, 计算各组间灰度值的比值。

1.5 统计学处理

应用 SPSS 统计软件包进行统计学分析, 实验数据为正态分布, 所有数据方差具有齐同性, 采用独立样本 *t* 检验进行比较分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

CyclinB1 在 A 组绒毛 (AA) 和蜕膜 (AB) 组织中的表达显著高于 B 组绒毛 (RA) 和蜕膜 (RB) 组织中的表达量 ($P < 0.01$)。A 组绒毛组织 (AA) 中 CyclinB1 的表达量高于蜕膜组织 (AB) 中的表达量, 但没有统计学差异 ($P > 0.05$), B 组绒毛组织 (RA) 中 CyclinB1 的表达量也高于蜕膜组织 (RB) 中的表达量, 但没有统计学差异 ($P > 0.05$), 见图 1、图 2。

3 讨论

人体是从受精卵开始, 经历胚胎形成和各器官发育成熟等一系列复杂变化, 最终形成一个完整的个体。细胞增殖是细胞分化、组织和器官形成的基础。由于细胞增殖具有周期性, 细胞周期的功能改

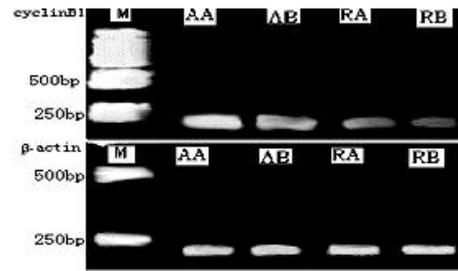


图 1 CyclinB1 在 A 组和 B 组绒毛和蜕膜组织中的表达
Fig. 1 Expression of CyclinB1 in the villus and deciduas in A group and B group

M:DNA marker; AA:A 组绒毛组织; AB:A 组蜕膜组织; RA:B 组绒毛组织; RB:B 组蜕膜组织。

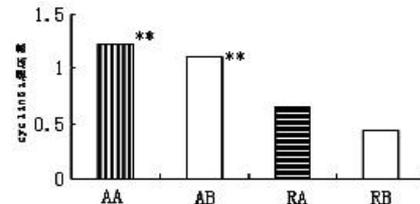


图 2 CyclinB1 在 A 组和 B 组绒毛和蜕膜组织中的表达量的比较
Fig. 2 Expression of CyclinB1 in the villus and deciduas in A group and B group

AA:A 组绒毛组织; AB:A 组蜕膜组织; RA:B 组绒毛组织; RB:B 组蜕膜组织。与 B 组比较, $**P < 0.01$ 。

变将直接影响正常妊娠的维持。细胞周期在不同时相的多个检查点上受到调控, 其中以 G1/S 期和 G2/M 期检查点最为重要, 周期素依赖性激酶 (CDKs)、周期素 (Cyclins) 和周期素依赖性激酶抑制因子 (CKIs) 三类因子参与了该过程的调控。真核细胞周期是由激活的各种蛋白复合物启动的一系列细胞活动, 成为 M 期 -G1 期 -S 期 -G2 期 -M 期循环, 并通过复杂的信号传递反馈调控保证各个步骤准确有序的完成。细胞分裂就是 DNA 复制和有丝分裂的结果, 这两个事件的起始是由一类复合物调控的, 这类复合物是由 Cyclin 调节亚基和 Cdc 家族的催化亚基组成, 前者调控细胞周期的 G1/S 期转化, 对 DNA 的合成起主要作用; 后者是 G2/M 检查的监督机制, 对于有丝分裂极其关键^[2]。

Cyclin B1 是典型的 G2/M 期周期素, 在 G1 期水平很低。在 S 期和 G2 期逐渐升高, 在 G2/M 期转化时达到高峰。很多研究者在多种肿瘤组织中发现 Cyclin B1 普遍存在基因表达水平的上调^[3]。Strunk KE 等^[4]认为, 在恶性细胞进入 S 期和 G2 期时, Cyclin B1 基因过度表达并积累, 且与

p34cdc2形成过多的成熟促进因子,通过恶性细胞有缺陷的G2/M期检测点而引发核内重要蛋白结构的改变,进入M期,从而促进恶性肿瘤细胞的分裂、增殖。Shih HC等人^[6]研究证实,CylinD3、E、A、B1及其激酶CDK4、CDK2、CDC2在正常人子宫内膜组织的增生期均有表达,而且其活性与增殖细胞核抗原(Ki-67)的表达水平呈正相关关系。Tang L等人^[9]研究证明,CyclinB1在子宫内膜异位症患者的在位和异位内膜组织中的表达量都显著高于正常人子宫内膜组织。还有研究表明,CyclinD3可以增加大鼠基质细胞增值和蜕膜化过程,而这种作用可能与Cyclin B1的调节有关^[7]。这些结果都提示我们:CyclinB1可能与子宫内膜细胞的增殖、分化和蜕膜化过程相关。

本研究表明,CyclinB1在正常妊娠早期绒毛组织中的绒毛和蜕膜组织中均有表达,而且CyclinB1在正常早孕人流组绒毛和蜕膜组织中的表达显著高于早期自然流产患者。因此推测,CyclinB1在早孕绒毛组织中的表达可能与正常妊娠的建立及维持有关。早期自然流产组绒毛和蜕膜组织中CyclinB1表达强度明显低于正常早孕组,提示绒毛和蜕膜组织中CyclinB1的表达降低都可能与自然流产的发生有关。其发生机制可能是绒毛和蜕膜组织中CyclinB1表达下降,影响了细胞的增殖和分化,使绒毛和蜕膜组织发育不良,因此不能为胚胎发育提供足够的营养供应,使得妊娠难以维持。此推论有待大样本研究加以进一步证实。

[参考文献]

- [1] 乐杰主编. 妇产科学[M]. 第7版. 北京:人民卫生出版社,2008:83-86.
- [2] SHERR C J. Cancer cell cycles [J]. Science,1996,274(5293):1672-1677.
- [3] GAVET O, PINES J. Progressive activation of CyclinB1-Cdk1 coordinates entry to mitosis [J]. Dev Cell, 2010,18(4):533-543.
- [4] STRUNK K E, HUSTED C, MIRAGLIA L C, et al. HER4 D-box sequences regulate mitotic progression and degradation of the nuclear HER4 cleavage product s80HER4 [J]. Cancer Res, 2007,67(14):6582-6590.
- [5] SHIH HC, SHIOZAWA T, KATO K, et al. Immunohistochemical expression of cyclins, cyclin-dependent kinases, tumor-suppressor gene products, Ki-67, and sex steroid receptors in endometrial carcinoma: positive staining for cyclin A as a poor prognostic indicator [J]. Hum Pathol, 2003,34(5):471-478.
- [6] TANG L, WANG T T, WU Y T, et al. High expression levels of cyclin B1 and Polo-like kinase 1 in ectopic endometrial cells associated with abnormal cell cycle regulation of endometriosis [J]. Fertil Steril, 2009,91(4):979-987.
- [7] LI F, DEVI Y S, BAO L, et al. Involvement of cyclin D3, CDKN1A (p21), and BIRC5 (Survivin) in interleukin 11 stimulation of decidualization in mice [J]. Biol Reprod, 2008,78(1):127-133.

(2011-11-14 收稿)