

CD4⁺ Th 细胞因子对孕激素治疗先兆流产的影响*

廖旭东(广东省深圳市妇幼保健院检验科 518028)

【摘要】 目的 探讨 CD4⁺ Th 细胞因子对孕激素治疗先兆流产的影响。方法 随机抽取深圳市妇幼保健院 2010 年 7 月至 2011 年 2 月收治的 60 例先兆流产患者的临床资料进行回顾性分析,本组所有患者均采用孕激素治疗,同时采用酶联免疫吸附试验对先兆流产患者使用孕激素治疗前、后血清中的 CD4⁺ Th 细胞因子进行测定,深入探讨 CD4⁺ Th 细胞因子对孕激素治疗先兆流产的影响;并且与同期 60 例先兆流产妇女未治疗患者和 60 例正常早孕者的临床资料进行对比评价。结果 经检测发现,孕激素治疗先兆流产患者前、后女性 Th1/Th2 细胞因子平衡性会有变化,由先兆流产时平衡趋向 Th1 的方向致使用孕激素治疗后平衡趋向 Th2 的方向变化,并且各组细胞 CD4⁺ Th 细胞因子均有不同,其中正常妊娠妇女白细胞介素-2(IL-2)、IL-4、IL-10 和干扰素- α (TNF- α)分别为(92.78 \pm 7.86)、(62.78 \pm 7.86)、(144.78 \pm 7.86)和(102.78 \pm 7.86)ng/L,与先兆流产未治疗组妇女的(223.78 \pm 7.86)、(23.78 \pm 7.86)、(154.78 \pm 7.86)和(26.78 \pm 7.86)ng/L,以及孕激素治疗先兆流产组的(93.78 \pm 7.86)、(63.78 \pm 7.86)、(52.78 \pm 8.33)和(103.78 \pm 7.86)ng/L比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 在先兆流产妇女的血清学检查中,Th1 型细胞因子如:TNF- α 、IL-2 活性较正常妊娠女性明显增高,而 Th2 型细胞因子如:IL-10、IL-4 活性较正常妊娠女性基本正常或略降低。

【关键词】 CD4⁺ Th 细胞因子; 孕激素; 先兆流产

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2014.13.004 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2014)13-1752-02

Influence of CD4⁺ Th cytokines on treatment effects of progesterone in threatened abortion* LIAO Xu-dong (Clinical Laboratory, Maternal and Children Hospital of Shenzhen, Shenzhen, Guangdong 518028, China)

【Abstract】 **Objective** To investigate the influence of CD4⁺ Th cytokines on treatment effects of progesterone in threatened abortion. **Methods** Clinical data were randomly selected and retrospectively analyzed in 60 patients with threatened abortion during July 2010 and February 2011. All patients were treated with progesterone, and enzyme-linked immunosorbent assay were performed to detect serum CD4⁺ Th cytokines before and after treatment. A total of 60 patients with untreated threatened abortion and 60 cases of normal pregnancy were also enrolled. **Results** In patients with threatened abortion, Th1/Th2 cytokine balance could be changed after progesterone therapy. In cases of normal pregnancy, levels of interleukin (IL-2), IL-4, IL-10 and interferon (IFN)- α were (92.78 \pm 7.86), (62.78 \pm 7.86), (144.78 \pm 7.86) and (102.78 \pm 7.86) ng/L, respectively, which were statistically different with the (223.78 \pm 7.86), (23.78 \pm 7.86), (154.78 \pm 7.86) and (26.78 \pm 7.86) ng/L in patients with untreated threatened abortion, and (93.78 \pm 7.86), (63.78 \pm 7.86), (52.78 \pm 8.33) and (103.78 \pm 7.86) ng/L in patients with threatened abortion after treatment ($P < 0.05$). **Conclusion** Activity levels of Th1 cytokines, including IFN- α and IL-2, in patients with threatened abortion could be higher, but those of Th2 cytokines, including IL-10 and IL-4, could be as the same level or lower, compared with cases with normal pregnancy.

【Key words】 CD4⁺ Th cytokine; progesterone; threatened abortion

CD4⁺ Th 细胞分为 Th1 和 Th2 型细胞,二者分泌不同的细胞因子。Th1 型细胞因子能介导细胞毒作用和相关的炎症;Th2 型细胞因子可刺激机体 B 细胞产生大量免疫球蛋白,辅助机体体液免疫功能恢复。研究表明成功的妊娠与 Th1/Th2 的平衡性有关^[1]。临床上对于先兆流产妇女主要采用孕激素治疗,但孕激素治疗先兆流产与 Th1/Th2 的平衡性报道却十分有限。为此,本文随机抽取本院 2010 年 7 月至 2011 年 2 月收治的 60 例先兆流产患者的临床资料进行回顾性分析,通过检测孕激素治疗先兆流产前、后孕妇血清中细胞因子浓度的变化,计算 Th1/Th2 平衡性的变化趋势^[2],以对孕激素治疗先兆流产提供理论依据,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 本研究对象主要来源于 2010 年 7 月至 2011 年 2 月深圳市妇幼保健院的妇产科门诊和住院患者。收集病例:病例根据妊娠是否正常和是否接受孕激素治疗分为 3 组,第 1 组为正常妊娠妇女组($n=60$),第 2 组为先兆流产妇女未治疗组($n=60$),第 3 组为孕激素治疗先兆流产组($n=60$),3 组患者在性别、年龄、生命体征、临床症状等方面差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。

1.2 仪器与试剂 仪器用 BEP III 全自动酶免分析仪处理,酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒购自晶美生物工程有限公司,检测步骤严格按照试剂盒说明书执行。

* 基金项目:广东省深圳市科技计划项目(201003468)。

作者简介:廖旭东,男,本科,主管检验师,主要从事免疫学检验研究。

1.3 入选标准 病例收集的标准按照相关标准(可行性方案)筛选出有临床表现、实验室诊断(B超等)及无特殊既往史的患者:(1)轻、中度阴道流血;(2)既往无妊娠失败史;(3)无系统性疾病和发热^[3];(4)妊娠第 5 周外观和腹围正常;(5)第 5~6 周卵黄囊功能正常;(6)第 7 周出现正常胎动;(7)妊娠时间小于 13 周。

1.4 排除标准 病例收集的排除标准:(1)有自然流产史;(2)空卵黄囊直径大于 26 mm^[4]。

1.5 样本收集与处理 60 例先兆流产患者采用孕激素治疗,同时采用 ELISA 对先兆流产患者使用孕激素治疗前、后血清中的 CD4⁺ Th 细胞因子进行测定,深入探讨 CD4⁺ Th 细胞因子对孕激素治疗先兆流产的影响,并且与同期 60 例先兆流产妇女未治疗患者和 60 例正常早孕者的临床资料进行对比评价。另外,使用孕激素治疗先兆流产患者前明确血清收集的原则和方法以及孕激素治疗先兆流产的时间和剂量,对临床诊断为先兆流产的孕妇,采用孕酮 30~40 mg/kg 治疗,连续治疗 10~14 d^[5],治疗后取患者血清进行检测。

1.6 细胞因子测定 本项目酶免疫测定法已被国际上公认为血清学中检测细胞因子的有效方法。检测先兆流产妇女血清中干扰素-α(TNF-α)、白细胞介素-2(IL-2)、IL-4、IL-10 水平与正常妊娠妇女的细胞因子水平变化,找到最精确合理的检测方法意义重大。血清收集后经 2 000 r/min 离心 30 min 后,保存于-80 ℃冰箱中,然后采用酶免疫测定法分析 3 组血清样本中细胞因子(IL-2、TNF-α、IL-10、IL-4)水平,最后用孕激素治疗后,采用 ELISA 检测先兆流产妇女细胞因子水平^[6]。

1.7 统计学方法 计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,用 SPSS11.5 软件系统对实验数据进行 *t* 检验处理,计数资料采用 χ^2 检验,以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

在使用孕激素治疗先兆流产患者前、后, Th1/Th2 细胞因子平衡性会有变化,由先兆流产时平衡趋向 Th1 的方向致使使用孕激素治疗后平衡趋向 Th2 的方向变化,各组 CD4⁺ Th 细胞因子水平见表 1。

表 1 各组 CD4⁺ Th 细胞因子水平 (ng/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	IL-2	IFN-α	IL-4	IL-10
正常妊娠妇女组	60	92.78±7.86	102.78±7.86	62.78±7.86	144.78±7.86
先兆流产妇女未治疗组	60	223.78±7.86 [#]	26.78±7.86 [#]	23.78±7.86 [#]	154.78±7.86
孕激素治疗先兆流产组	60	93.78±7.86	103.78±7.86	63.78±7.86	52.78±8.33 [#]

注:与正常妊娠妇女组相比, [#]*P*<0.05。

3 讨 论

随着对细胞因子研究的深入,炎症介质的种类繁多,如何找到与先兆流产相关的炎症因子是本项目获得重要进展及创新性成果的关键。临床认为,先兆流产可通过采用孕激素来进行治疗,并通过检测血清中 IL-2、IL-4、IL-10 和 INF-α 水平来确定临床疗效。

IL-2 主要是由活化的 CD4⁺ T 细胞和 CD8⁺ T 细胞产生的具有广泛生物活性的细胞因子,是所有 T 细胞亚群的生长因子,可促进活化 B 细胞增殖,故为调控免疫应答的重要因子,也参与抗体反应、造血和肿瘤监视。本研究发现,3 组血清中 IL-2 水平比较差异有统计学意义(*P*<0.05),并以先兆流产妇女未治疗组升高明显,由此提示血清 IL-2 可有效检测妇女是否有先兆流产情况。

IL-4 主要由活化 T 细胞产生,对于 B 细胞、T 细胞、肥大细胞、巨噬细胞均具有免疫调节作用,能够协助刺激造血细胞、肥大细胞等增殖,并诱导外周血单核细胞分泌粒细胞集落刺激因子和巨噬细胞集落刺激因子,增强中性粒细胞介导的吞噬、杀伤肿瘤细胞等。当孕妇血清 IL-4 水平下降时,往往可导致先兆流产^[7]。本研究发现,先兆流产妇女未治疗组 IL-4 水平明显低于其余两组。

IL-10 是一种多功能负性调节因子,主要由 Th2 细胞、活化 B 细胞、单核细胞、巨噬细胞产生,它参与免疫细胞、炎症细胞、肿瘤细胞等多种细胞的生物调节,在自身免疫性疾病、严重感染性疾病、肿瘤及移植免疫等多种疾病中发挥重要作用。临床在诊断妇女是否有先兆流产状况时,可通过检测 IL-10 水平来进行判断^[8-9]。在本研究中经酶免疫测定法检测发现,先兆流产妇女未治疗组血清 IL-10 水平有一定上升,但经孕激素治

疗后,获得有效控制。

IFN-α 是机体免疫细胞产生的一种细胞因子,是机体受到病毒感染时,免疫细胞通过抗病毒应答反应而产生的一组结构类似、功能接近的低分子糖蛋白,能够起到免疫调节的作用^[10]。本研究发现,未经孕激素治疗的先兆流产妇女血清 IFN-α 水平明显降低,与其余两组比较差异有统计学意义(*P*<0.05),结果与颜丹和李鹏^[1]的研究一致。

总而言之,孕激素可以为妊娠创造有利的免疫调节环境;能抑制 Th1 细胞因子的活性、并能提高 Th2 细胞因子的活性。孕激素在早产妇女的血清学检测中具有抑制促炎症细胞因子分泌的功能。孕激素治疗先兆流产是否基于妊娠妇女机体维持 Th1/Th2 细胞因子的平衡性却少见相关报道。因而研究孕激素治疗先兆流产妇女的 Th1 型细胞因子(TNF-α、IL-2)与 Th2 型细胞因子(IL-10、IL-4)的平衡性变化,能阐明孕激素治疗先兆流产的机制,对先兆流产患者药物治疗提供相应的理论支持。

参考文献

[1] 颜丹,李鹏.血清 TH1/TH2 型细胞因子在孕激素治疗先兆流产中的研究[J].医学信息:中旬刊,2011,24(1):76-77.
 [2] 刘蒙利,汪具荣,夏凡,等.地屈孕酮与绒毛膜促性腺激素治疗先兆流产的疗效分析[J].中外妇儿健康,2011,4(4):155.
 [3] 黄红英.地屈孕酮、烯丙雌醇联合绒毛膜促性腺激素治疗先兆流产临床效果对比[J].社区医学杂志,2011,9(24):72-73.
 (下转第 1755 页)

Westblot 方法、斑点-ELISA、免疫印迹法等方法操作简易,易于推广。

抗鸡卵核抗体是一类针对鸡卵核抗原的特异性抗体,试验中发现该抗体不仅可存在于自身免疫性疾病及胃癌患者体内,同时也普遍存在于健康人群血清中,并且其抗体效价与年龄、性别无关^[6]。曾经推测此抗体可能是食物不耐受抗体。食物不耐受抗体是许多食物由于人体内缺乏相应的酶,无法被人体完全消化分解,当其以多肽或其他分子形式进入肠道时作为外源性物质被机体识别,从而发生免疫反应,产生食物特异性的 IgG 抗体,此抗体与食物分子结合形成免疫复合物,被机体当成废物由肾脏排出^[7-8]。长期进食不耐受的食物会使免疫系统超负荷,导致人体多系统出现疾病^[9],如肠易激综合征^[10-11]、头痛或偏头痛^[12]、哮喘^[13]等。有研究以鸡卵黄喂养动物一段时间后,在血清中未检测出该抗体,由此表明此抗体可能不是食物不耐受抗体^[5]。同时还有学者进行人体内的抗鸡卵核抗体与天然抗体-血型抗体二者关联性研究,结果表明二者无关联^[5]。于是本研究推测有一种可能,这种抗体是遗传来的,是“天然”存在的。抗体按来源可分为天然抗体与免疫抗体。人或动物未经明显感染或人工注射抗原而天然存在于体内的抗体称为天然抗体,又称正常抗体。天然抗体不仅包括针对病原微生物及其产物的抗体,还包括针对非病原性物质的抗体,如血型抗体。天然抗体中除血型抗体主要是受遗传因素影响外,其余的可能由隐性感染或受共同抗原刺激而产生的。由于人或动物在出生后总是时刻与周围各种各样的抗原接触,所以天然抗体的产生可能与环境中的细菌、食物、花粉或异物等的刺激有关。但该抗体是否是天然抗体,本研究进行了新生儿脐带血检测,以生理盐水作为对照组,检测的 A 值即为本底吸光度值,这样可以消除本底对结果的干扰影响。以此对照+2s 以上界定为阳性,其基本思想是试验测定值如果高于+2s 说明肯定不是零,可判定为有,即为阳性。

本研究结果显示,此抗体在新生儿脐带血中并不存在,说明抗鸡卵核抗体不是“天然”存在的抗体。既然不是天然存在的抗体,那就很可能是出生后与周围环境接触刺激产生的。后天产生的原因很多,很可能是细菌或病毒等感染性因素导致该抗体产生,因为人类生活的环境不能避免这些感染因素,所有人都会接受这种感染因素的刺激。可能在婴儿时期接受到感染因素的刺激,产生了这种抗体,当再次接受感染因素刺激后,这种抗体发挥免疫作用,从而大量出现,故以后的研究应检测不同年龄段婴儿血清中该抗体的分布。有关抗鸡卵核抗体的

具体来源、生成机制以及在人群中的分布规律和其生理及病理意义尚需深入研究。

参考文献

- [1] Hui L, Shijun L, Yue M. ANA detected by ELISA using nucleus of egg cell as antigen[J]. J Immunoassay Immunochem, 2008, 29(2): 161-166.
- [2] 李燎, 许扬, 熊霞. 鸡卵核提取物中检测系统性红斑狼疮的特异性抗原[J]. 中华皮肤科杂志, 2000, 33(1): 36.
- [3] 李燎, 颜丹, 钟桂书. 系统性红斑狼疮患者血清抗鸡卵核中 42000 蛋白抗体的测定及其临床意义[J]. 泸州医学院学报, 2005, 28(2): 120-122.
- [4] 李燎, 颜丹, 钟桂书. 混合性结缔组织病患者血清抗鸡卵核中 72000 蛋白抗体测定及其临床意义[J]. 泸州医学院学报, 2005, 28(3): 233-234.
- [5] 张璐, 刘辉. 胃癌患者血清中抗核抗体的检测[J]. 大连大学学报, 2003, 24(6): 89-91.
- [6] 徐美兰, 刘辉, 刘秀瑰. 抗鸡卵核抗体在健康人群中的测定[J]. 现代检验医学杂志, 2010, 25(3): 121-122.
- [7] 孙改河. 食物不耐受血清特异性 IgG 抗体检测在临床中的应用[J]. 检验医学与临床, 2007, 4(7): 591-592.
- [8] Ortolani C. Food allergies and food intolerances[J]. Best Pract Res Clin Gastroenterol, 2005, 20(3): 467-483.
- [9] 谢志贤, 刘倩. 食物不耐受与相关性疾病[J]. 中华内科杂志, 2006, 45(2): 150-151.
- [10] Gremse DA. Alternative approach to IBS and migraine is winning over providers[J]. Dis Manag Advis, 2004, 10(1): 6-10.
- [11] Vesa TH, Seppo LM, Martean PR, et al. Role of irritable bowel syndrome in subjective lactose intolerance[J]. Am J Clin Nutr, 1998, 67(4): 710-715.
- [12] Millichap JG, Yee MM. The diet factor in pediatric and adolescent migraine[J]. Pediatr Neurol, 2003, 28(1): 9-15.
- [13] Beausoleil JL, Fiedler J, Spergel JM. Food intolerance and childhood asthma: what is the Link[J]. Paediatr Drugs, 2007, 9(3): 157-163.

(收稿日期: 2013-11-18 修回日期: 2014-02-25)

(上接第 1753 页)

- [4] 廖旭东, 吴少卿, 肖航. 地屈孕酮对先兆流产患者 Th1/Th2 型细胞因子平衡的影响[J]. 中国热带医学, 2011, 11(11): 1400-1401.
- [5] 李林, 周卓秀, 刘久英. 自拟补肾固胎汤合激素治疗先兆流产的临床观察[J]. 广西中医药, 2006, 29(4): 17-18.
- [6] 刘芳, 罗颂平. “助孕 3 号方”对早孕先兆流产患者 Th1/Th2 细胞因子和 P、β-HCG 影响的研究[J]. 中国免疫学杂志, 2008, 24(4): 332-335.
- [7] 刘芳, 孟庆春, 姚静, 等. 妊娠滋养细胞疾病中 Th1/Th2 类细胞因子的表达与葡萄胎恶变关系的探讨[J]. 新中

医, 2009, 6(9): 30-32.

- [8] 冯月儿, 刘益金, 林美娜. 烯丙雌醇联合绒毛膜促性腺激素治疗先兆流产的疗效观察[J]. 现代医药卫生, 2010, 26(13): 1962-1964.
- [9] 邱庆明. Th1/Th2 细胞在慢性乙型肝炎急性发作的免疫应答研究[J]. 山东中医药大学, 2012, 6(11): 30-32.
- [10] 张锦文, 吴江平, 孔晶. 黄体酮用于治疗先兆流产对孕妇血清 PIBF 水平的影响[J]. 现代妇产科进展, 2012, 21(12): 960-962.

(收稿日期: 2013-11-03 修回日期: 2014-02-05)