

卵巢子宫内膜异位症女性 AMH 与免疫水平的研究

季沈杰

(江苏省启东市人民医院检验科 226200)

摘要:目的 探究子宫内膜异位症(EMT)女性抗苗勒管激素(AMH)水平与免疫水平。方法 选择 2015 年 12 月至 2017 年 6 月该院收治的 EMT 患者 49 例作为观察组,其中 I~II 期 20 例,III~IV 期 29 例,对照组为同期住院因输卵管因素不孕行腹腔镜手术患者 48 例。采用酶联免疫吸附试验(ELISA)法检测 2 组患者血清 AMH 水平,利用流式细胞仪检测外周血免疫调节细胞 Th17、Treg 占 CD4⁺T 细胞比例;ELISA 法检测血清及腹腔液的白细胞介素-6(IL-6)和肿瘤坏死因子-α(TNF-α)水平。**结果** 观察组 AMH 水平低于对照组,且随年龄增长,AMH 呈下降趋势;观察组患者 Th17 所占 CD4⁺T 细胞比例水平明显高于对照组[(2.18±0.67)%],且 III~IV 期患者[(6.74±2.32)%]高于 I~II 期[(4.61±0.79)%]、Treg 所占 CD4⁺T 细胞比例低于对照组[(6.28±1.25)%],且 III~IV 期患者[(3.09±1.13)%]低于 I~II 期[(5.64±1.02)%],观察组 Th17/Treg 高于对照组($P<0.05$);血清及腹腔液炎症因子 IL-6、TNF-α 高于对照组($P<0.05$)。**结论** EMT 患者体内 AMH 水平随年龄增长逐渐下降,免疫调节细胞 Th17 及 Treg 存在紊乱现象。

关键词:卵巢; 子宫内膜异位症; 抗苗勒管激素; 免疫水平
中图分类号:R713 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-9455(2018)17-2630-03

子宫内膜异位症(EMT)又叫内异症,主要由于具有生长功能的异位子宫内膜所致,是妇科一种常见的良性疾病^[1-2]。其发病率在育龄女性中高达 30%,且近年来逐渐上升^[3-4]。目前 EMT 的发病机制说法不一,最经典的理论为 1921 年 SAMPSON 提出的经血逆流种植学说理论。该理论解释,异位的内膜源于子宫内膜组织,而这些组织通过经血逆流、血管播散、淋巴传播、医源性种植等方式转移到宫腔外各部位再生长^[5]。

虽然病理组织学表明 EMT 是一种良性疾病,但也存在浸润、增生、转移等不良风险,所以揭示 EMT 的发病机制是为了更好地进行预防和治疗^[6]。较多研究者发现 EMT 患者的免疫水平可能会改变,但目前无系统研究。现探讨 EMT 患者的免疫水平,并进行统计和研究。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2015 年 12 月至 2017 年 6 月该院收治的 EMT 患者 49 例作为观察组,均经病理学检查确证,按照修正的 AFS 分期标准,其中 I~II 期为轻度,20 例患者,III~IV 期为重度,29 例患者。对照组为同期住院因输卵管因素不孕行腹腔镜手术患者 48 例。2 组患者的年龄、产次等一般资料比较,差异均无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。见表 1。

表 1 2 组患者一般资料结果比较

项目	对照组($n=48$)	观察组($n=49$)
年龄($\bar{x}\pm s$,岁)	37.68±8.46	39.78±8.13
产次($\bar{x}\pm s$,次)	1.28±0.56	1.39±0.62
I~II 期(n)	—	20
III~IV 期(n)	—	29

注:—表示无数据

1.2 纳入与排除标准 纳入标准:育龄期女性,月经

规律;术前未接受雌、孕激素治疗;取得患者及家属同意,并签署知情同意书者。排除标准:合并子宫腺肌症患者;结核性疾病、免疫性疾病及代谢性疾病患者。

1.3 标本采集 分别取同一患者标本,同时进行相应处理,术前晨起采集患者外周血、静脉血,使用肝素钠管采血,手术直视下采集无血液污染的腹腔液,采集标本应严格按照无菌操作进行,避免影响检测的准确性。

1.4 观察指标及操作方法 (1)抗苗勒管激素(AMH):酶联免疫吸附试验(ELISA)法(法国 Immuno-
notech Beckman Coulter 公司),测定范围 0.06~18.0 ng/mL,相关系数(r) $\geq 0.990 0$ 。(2)辅助性 T 细胞 17 (Th17)及调节性 T 细胞(Treg)细胞所占比例:细胞流式仪[赛百慷(上海)生物技术股份有限公司],取全血 100 μ L 加入 CD3 FITC、CD8 APC-CY7、CD127 PEMAB 抗体各 10 μ L,避光孵育 20 min,溶解红细胞,固定、破膜 50 min,其次加入白细胞介素-17(IL-17)ALEXA647 标记的抗体 10 μ L,继续避光孵育 50 min,洗涤细胞后在 PBS 液重悬上机检测 Th17 及 Treg 细胞占 CD4 细胞比例。(3)血清和腹腔液白细胞介素-6(IL-6)和肿瘤坏死因子-α(TNF-α)水平:分别取外周血及腹腔液 3~5 mL,室温下 3 000 r/min 离心 10 min,采用 ELISA 法(上海酶研生物技术有限公司),按照说明书一次性检测血清及腹腔液 IL-6 和 TNF-α 水平。

1.5 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计软件进行数据分析。正态分布的计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较使用 t 检验,组内比较采用单因素方差分析,计数资料以例数或百分率表示,应用 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 2 组患者血清 AMH 水平结果比较 不同组别不同年龄段 EMT 患者的血清 AMH 水平不同,随年龄增长其下降。2 组 AMH 水平比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 2。

表 2 2 组患者 AMH 水平结果比较($\bar{x}\pm s, \%$)			
AMH	对照组 ($n=48$)	观察组($n=49$)	
		I~II 期	III~IV 期
≤ 30 岁	4.17 ± 0.49	2.56 ± 0.46^b	1.86 ± 0.51^b
$>30\sim <40$ 岁	3.28 ± 0.41	2.36 ± 0.38^b	1.57 ± 0.53^b
≥ 40 岁	2.46 ± 0.52	1.68 ± 0.54^b	1.19 ± 0.43^b

注:与对照组比较, $^bP<0.05$

2.2 2 组患者免疫细胞 Th17 及 Treg 所占 CD4⁺ T 细胞比例结果比较 观察组患者 Th17 所占 CD4⁺ T 细胞比例高于对照组,Treg 所占 CD4⁺ T 细胞比例低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 3。

表 3 2 组患者外周血 Th17 及 CD4 ⁺ T 细胞比例($\bar{x}\pm s, \%$)			
项目	对照组 ($n=48$)	观察组($n=49$)	
		I~II 期	III~IV 期
Th17%	2.18 ± 0.67	4.61 ± 0.79^b	6.74 ± 2.32^b
Treg%	6.28 ± 1.25	5.64 ± 1.02	3.09 ± 1.13^b
Th17/Treg	0.36 ± 0.12	0.59 ± 0.86^b	1.97 ± 1.03^b

注:与对照组比较, $^bP<0.05$

2.3 2 组患者血清及腹腔液 IL-6、TNF- α 水平结果比较 观察组血清及腹腔液 IL-6、TNF- α 水平均高于对照组,且 III~IV 期患者水平高于 I~II 期,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 4。

表 4 2 组患者血清和腹腔液 IL-6、TNF-α 水平 结果比较(±s)			
项目	对照组(n=48)	观察组(n=49)	
		I ~ II 期	III ~ IV 期
血清			
IL-6(pg/mL)	36.97±4.29	68.35±11.72 ^b	126.47±18.36 ^c
TNF-α(ng/mL)	0.86±0.06	0.96±0.06	1.78±0.11 ^b
腹腔液			
IL-6(pg/mL)	37.96±5.37	72.98±13.46 ^b	128.96±26.72
TNF-α(ng/mL)	0.84±0.04	0.98±0.04	1.81±0.11 ^b

注:与对照组比较, $^bP<0.05$;与对照组比较, $^cP<0.01$

3 讨 论

近年来,许多研究表明免疫因素参与了 EMT 的发病,患者血清中很多细胞因子发生了变化,并在疾病中发挥了作用,如 AMH、Th17、Treg、IL-6、TNF- α 等^[7]。AMH 是一种新型的、能预测卵巢储备功能的指标,许多研究通过对 AMH 指标评估其对 EMT 的影响。有研究报道,年龄和血清 AMH 水平密切相关,随年龄增加患者 AMH 基础水平逐渐降低^[8]。本研究结果显示,观察组 I~II 期和 III~IV 期患者血清

AMH 水平显著低于对照组($P<0.05$),且 III~IV 期患者水平低于 I~II 期($P<0.05$)。同时随年龄的增长患者 AMH 水平会降低,说明 EMT 患者 AMH 水平会降低,同时年龄越大 AMH 水平越低。

Th17 是新发现的一种能够分泌 IL-17 的 T 细胞亚群,在机体防御反应和自身免疫性疾病中具有重要的意义。Th17 的特异转录因子为 ROR- γ t,参与机体炎性反应和适应性免疫反应过程,并在对抗胞外特定病原体上发挥重要作用^[8-9]。Treg 是一种控制体内自身免疫反应性的 T 细胞亚群,主要分泌 IL-10、转化生长因子 β (TGF- β)。Treg 的特异转录因子为 FoxP3,参与体内自身抗原耐受,保持机体免疫平衡,进而抑制机体免疫疾病的发生。当机体 Th17 与 Treg 之间的动态平衡打破,导致自身免疫疾病^[10]。本研究结果表明,观察组患者 Th17 所占 CD4⁺ T 细胞比例高于对照组($P<0.05$),Treg 所占 CD4⁺ T 细胞比例低于对照组($P<0.05$),且 Th17/Treg 观察组显著高于对照组($P<0.05$),说明 EMT 患者 Th17/Treg 比例更大,更易使机体免疫失衡。

IL-6 是参与造血、免疫应答的调节及炎性等反应的细胞因子,其能活化 T 细胞,使 B 细胞前体成为产生抗体的细胞,能促进原始骨髓源细胞的生长和分化,增强自然杀伤细胞的裂解功能,并在内分泌和免疫系统中发挥重要作用^[11-12]。TNF- α 是一种由激活的巨噬细胞产生的、能抑制成刺激破骨细胞和骨细胞的细胞因子。具有杀伤肿瘤细胞、调节代谢,同时还能对女性经期排卵有所调节。另一方面,有研究证实 TNF- α 通过降低芳香化酶活性抑制雌二醇及酮的生成,影响卵泡发育^[13]。本研究检测 2 组患者 IL-6 和 TNF- α 水平,观察组患者血清、腹腔液 IL-6、TNF- α 水平均高于对照组($P<0.05$),且 III~IV 期患者 IL-6、TNF- α 水平高于 I~II 期($P<0.05$),说明 EMT 患者血清、腹腔液 IL-6、TNF- α 水平升高,且 EMT 后期较前期升高。

综上所述,EMT 患者机体 AMH 水平随年龄增长逐渐下降,免疫调节细胞 Th17 及 Treg 存在紊乱现象。

参考文献

[1] SENAPATI S, BARNHART K. Managing endometriosis-associated infertility[J]. Clin Obstet Gynecol, 2011, 54(4):720-726.

[2] 李雅男,王丹波,陈英汉,等.不同类型子宫内膜异位症临床特点及意义分析[J].实用妇产科杂志,2015,31(1):34-36.

[3] 郭昕,陈廷玉,卢北燕.子宫内膜异位症不孕患者血清中 IL-17、IL-6 及 TNF- α 检测的意义[J].中国医药指南,2011,9(16):73.

[4] ROCHA A L, CARRARELLI P, NOVEMBRI R, et al. Activin a stimulates interleukin 8 and vascular endothelial growth factor release from cultured human endome-trial

- stromal cells; possible implications for the patho-genesis of endometriosis[J]. Reprod Sci, 2012, 19(8): 832-838.
- [5] 徐丛剑, 程明军, 黄宇婷, 等. 子宫内膜异位症病因学研究进展[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2009, 25(9): 712-714.
- [6] 王鑫, 黄豪光, 万美兰, 等. 子宫内膜异位症合并不孕患者血清内分泌激素、VEGF、IGF-I 水平及自身免疫抗体变化及其意义[J]. 检验医学与临床, 2017, 14(15): 2299-2301.
- [7] 尚秀敏, 闫晶晶, 李佩玲. 炎症因子与子宫内膜异位症相关性的研究[J]. 哈尔滨医科大学学报, 2015, 49(2): 136-138.
- [8] LUNA M, GRUNFELD L, MUKHERJEE T, et al. Moderately elevated levels of basal follicle-stimulating hormone in young patients predict low ovarian response, but should not be used to disqualify patients from attempting in vitro fertilization[J]. Fertil Steril, 2007, 112(87): 782-787.
- [9] WHITESIDE T L. Regulatory T cell subsets in human cancer: are they regulating for or against tumor progression? [J]. Cancer Immunology Immunotherapy, 2014, 63(1): 67-72.
- [10] 邵素芳, 于春美. 卵巢癌患者外周血 Th17/Treg 细胞的检测及其临床意义[J]. 中国免疫学杂志, 2015, 31(4): 537-540.
- [11] 陈祚珈, 高雅懿, 李志远, 等. FOXP3(+) + 调节性 T 细胞[J]. 生命科学, 2010, 7(6): 515-528.
- [12] 崔颖, 孙大为. 白细胞介素与子宫内膜异位症[J]. 中国妇产科临床杂志, 2005, 6(1): 74-75.
- [13] 吴佩蔚. 子宫内膜异位症不孕患者血清 IL-6 及 TNF- α 水平变化研究[J]. 中国妇幼保健, 2013, 28(10): 1644-1646.

(收稿日期: 2018-04-04 修回日期: 2018-06-19)

• 临床探讨 • DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2018.17.034

普门 PA-900 特定蛋白分析仪检测超敏 C-反应蛋白性能验证

刘新刚, 曹科[△], 沈丹, 吴苏伟, 唐丹, 陈运生, 马东礼
(广东省深圳市儿童医院检验科 518038)

摘要:目的 探讨普门 PA-900 特定蛋白分析仪检测超敏 C-反应蛋白的主要性能验证。方法 对普门 PA-900 特定蛋白分析仪检测超敏 C-反应蛋白的空白检测、携带污染率、精密度、仪器间比对、线性范围及准确度等进行验证。结果 (1)空白检测: A、B、C 通道结果均小于 0.499。(2)携带污染率: A、B、C 通道均小于 1%。(3)批内精密度低、中、高值: A 通道分别为 2.73%、2.33%、1.71%; B 通道分别为 2.11%、2.77%、1.16%; C 通道分别为 1.73%、2.15%、1.10%。日间精密度低、中值: A 通道分别为 9.67%、4.95%; B 通道分别为 6.06%、3.58%; C 通道分别为 6.39%、4.80%。(4)仪器间比对: 20 例全血标本中有 18 份检测结果偏差 $\leq 12.5\%$ 。(5)线性范围: 0.3~200 mg/L。(6)准确度: 与厂家 5 个水平校准品偏差 A 通道分别为 4.7%、-2.4%、-0.6%、1.2%、-8.8%, B 通道分别为 -0.9%、0.4%、4.4%、4.0%、-7.8%, C 通道分别为 2.3%、2.5%、2.8%、-2.1%、-8.6%; 与国际参考品偏差分别为 A 通道 3.3%, B 通道 4.4%, C 通道 4.8%。结论 普门 PA-900 特定蛋白分析仪检测超敏 C-反应蛋白的主要性能指标能满足临床要求, 可用于临床检测。

关键词:超敏 C-反应蛋白; 性能验证; 特定蛋白分析仪

中图法分类号:R446

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2018)17-2632-03

根据《医疗机构临床实验室管理办法》和《医学实验室质量和能力认可准则》的规定要求, 实验室应对设备、检测系统或方法的主要分析性能进行验证^[1-2]。证实其能够达到临床检测所要求的标准^[3-4]。现参照相关文献资料结合本实验室工作实际情况, 制定了相应的验证方案, 对普门 PA-900 特定蛋白分析仪检测超敏 C-反应蛋白的主要性能进行验证。报道如下。

1 材料与方法

1.1 一般材料 该院住院患者的静脉血标本。

1.2 仪器与试剂 普门 PA-900、PA-980 特定蛋白分析仪及各自配套试剂和校准品。伯乐特定蛋白质控品(批号 66342)和国际参考品 ERM-DA474(欧洲标准局网站购买, 批号 6094)。

1.3 实验方法

1.3.1 空白检测 使用稀释液当作标本检测, 每个通道检测结果应小于 0.5 mg/L。

1.3.2 携带污染率 取高值、低值全血标本各 1 例依次测高值 3 次(H1、H2、H3)、低值 3 次(L1、L2、L3), 计算携带污染率。携带污染率小于 1%, 结果为可接受。计算公式: 携带污染率 = $| (L1 - L3) | / (H3 - L3) \times 100\%$ 。

1.3.3 精密度 (1)批内精密度: 取高值、中值、低值 3 个浓度的全血标本, 每个检测通道连续重复测定 11 次取后 10 次检测结果, 计算各检测通道的均值(X)、标准差(SD)和变异系数(CV)。判断是否小于厂家规定(CV $\leq 5\%$)的性能指标。(2)日间精密度: 取中值、低值 2 个浓度的伯乐质控品, 每天在每个检测通道检测 1 次, 连续测定 20 d, 计算各检测通道均值(X)、标准