

• 临床检验研究论著 •

不明原因复发性自然流产患者外周血淋巴细胞亚群特征的研究

刘瑞霞, 王 芳

(广东省深圳市人民医院龙华分院妇产科 518000)

摘 要:目的 探讨不明原因复发性自然流产患者外周血免疫细胞亚群的特征。方法 将 34 例早孕难免流产患者分为不明原因复发性自然流产(URSA)和偶发性自然流产(SA)两组,采用流式细胞术检测患者外周血免疫细胞的特征,将两组的检测结果进行比对研究。结果 Th/Ts 两组均见异常升高,URSA 组为 (2.77 ± 5.16) ,SA 组为 (3.67 ± 6.12) ;NK 细胞比例 URSA 组为 $(15.57 \pm 6.45)\%$ 明显升高,而 SA 组仅为 $(11.38 \pm 3.66)\%$,两组差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 URSA 组与 SA 组均存在一定的免疫紊乱,共同的表现是特异性免疫方面均有 Th/Ts 异常升高,不同的表现是 URSA 组在非特异性免疫方面 NK 细胞比例增高较 SA 组更为明显。

关键词:流产,自然; 淋巴细胞亚群; 流式细胞术
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.08.007 文献标识码:A 文章编号:1673-4130(2012)08-0910-02

Characteristics investigation of lymphocyte subgroups in peripheral blood of patients with unexplained recurrent spontaneous abortion

Liu Ruixia, Wang Fang

(Department of Gynaecology and Obstetrics, Longhua Branch of Shenzhen Peoples's Hospital, Shenzhen Guangdong 518000, China)

Abstract:Objective To investigate the characteristics of lymphocyte subgroups in peripheral blood of patients with unexplained recurrent spontaneous abortion(URSA). **Methods** 34 cases of patients at early stage of pregnancy and with inevitable abortion were divided into tow groups, including URSA group and sporadic spontaneous abortion group(SA group). Flow cytometry was performed to detect characteristics of lymphocyte subgroups in peripheral blood. Results of the two groups were compared. **Results** Increasing of helper T cells(Th)/suppressor T cells(Ts) could be demonstrated in both groups, with (2.77 ± 5.16) in URSA group and (3.67 ± 6.12) in SA group. Proportion of natural killer(NK) cells in URSA group and SA group was $(15.57 \pm 6.45)\%$ and $(11.38 \pm 3.66)\%$ respective, and with statistical difference between the two groups($P < 0.05$). **Conclusion** Patients with URSA and SA might be with certain degree of immunologic derangement, demonstrated as the increasing of Th/Ts. But according to nonspecific immunity, increasing of the proportion of NK cells might be more obvious in URSA group than that in SA group.

Key words:abortion, spontaneous; lymphocyte subsets; flow cytometry

妊娠被认为是一个特殊的半同种异体移植过程,该过程顺利、完整地进行依赖于母胎之间的免疫平衡,母体一方面对胚胎提供免疫营养,一方面向胚胎提供免疫耐受而非免疫攻击,维持母胎之间的免疫平衡。如果这种免疫耐受被破坏,则会导致母胎之间免疫平衡的失调,使免疫攻击占据支配地位,引发免疫排斥反应进而发生自然流产^[1]。一般来说,患者曾连续遭受 2 次或 2 次以上 20 周前妊娠产物丢失的称为复发性自然流产(RSA)^[2]。据文献统计,目前 RSA 的发病率在 5% 左右^[3]。

引起 RSA 的因素较多,除子宫畸形、内分泌因素、遗传因素及感染致胎儿畸形等外,约有 60%~70% 的患者是原因不明复发性自然流产(URSA)。现通过 URSA 患者和 SA 患者免疫细胞特征的比对研究,揭示 URSA 患者免疫细胞的特征,以利于及时对患者采取干预措施,避免流产结果的发生。

1 资料与方法

1.1 一般资料 该院 2009 年 10 月至 2011 年 10 月期间诊疗的 34 例早孕难免流产患者(流产的时间为孕 6~12 周),分为不明原因复发性自然流产 URSA 组和偶发性流产(SA)组。两组年龄均在 23~35 岁之间,差异无统计学意义($P > 0.05$)。

1.1.1 URSA 组符合以下条件 (1)连续发生 2 次及 2 次以上的早期自然流产(RSA);(2)染色体核型正常;(3)生殖内分泌激素测定无异常,无内分泌疾病史;(4)抗磷脂抗体、抗核抗

体等自身免疫抗体阴性;(5)盆腔 B 超排除生殖器质性病变;(6)就诊时为早孕,有腹痛及阴道流血症状,经阴道彩超延续证实为胚胎停育、难免流产,近 3 个月未使用免疫药物或免疫治疗;(7)宫颈分泌物检查沙眼衣原体、解脲支原体为阴性;(8)男方染色体核型正常,精液常规检查正常。

1.1.2 SA 组符合以下条件 (1)既往无自然流产病史;(2)染色体核型正常;(3)既往无内分泌疾病、免疫疾病史;(4)行盆腔 B 超、宫颈分泌物检查及沙眼衣原体、解脲支原体、生殖内分泌激素检查均无异常;(5)有腹痛或阴道流血症状,经阴道彩超证实胚胎停育、难免流产;(6)男方染色体核型正常,精液常规检查正常。

1.2 临床处理 34 例患者中 23 例为 URSA 组,11 例为 SA 组。对 34 例患者均予以清宫处理。检测 URSA 和 SA 两组患者均于清宫前抽取外周血 3 mL 送检。

1.3 检测指标 T 淋巴细胞亚群:T 细胞比例、Th 细胞比例、Ts 细胞比例、Th/Ts。其他免疫细胞:白细胞数量、淋巴细胞总数量(LYM 细胞)、B 细胞比例、NK 细胞比例。

1.4 方法 在流式细胞术检测方法的基础上,将各组患者静脉血 3 mL,常规 EDTA 抗凝后,按美国 Bioscience 公司的 Simultest IMK-Lymphocyte 双色淋巴细胞亚群分析试剂盒说明书处理标本^[4]。采用美国 Coulter Epics Altra 流式细胞仪,使

用 Simultest IMK-Lymphocyt 软件分选和计算细胞亚群,包括 T 细胞比例、Th 细胞比例、Ts 细胞比例、Th/Ts,以及白细胞数量、LYM 细胞数量、B 细胞比例、NK 细胞比例。

1.5 统计学处理 采用秩和检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 两组的 T 淋巴细胞亚群之 Th/Ts 均异常升高,URSA 组为 (2.77 ± 5.16) ,SA 组为 (3.67 ± 6.12) 。判断标准为 Th/Ts 小于 1.0 或大于 2.0 为异常^[5]。

2.2 其他免疫细胞之 NK 细胞比例,URSA 组明显升高,为 $(15.57\pm6.45)\%$,SA 组升高仅为 $(11.38\pm3.66)\%$,两组差异有统计学意义($P<0.05$),见表 1。

表 1 两组免疫细胞特征的检测结果比较

检测项目	URSA 组($n=23$)	SA 组($n=11$)	P 值
T 淋巴细胞亚群			
T 细胞百分率(%)	70.89 ± 6.55	73.67 ± 5.75	0.243
Th 细胞百分率(%)	38.76 ± 5.24	43.18 ± 3.89	0.019
Ts 细胞百分率(%)	25.66 ± 6.14	23.78 ± 5.84	0.411
Th/Ts 比例	2.77 ± 5.16	3.67 ± 6.12	0.083
其他免疫细胞			
WBC($\times 10^9/L$)	7.58 ± 2.30	6.77 ± 0.96	0.259
LYW($\times 10^9/L$)	2.07 ± 0.57	1.82 ± 0.39	0.182
B 细胞百分率(%)	14.24 ± 4.00	13.90 ± 4.79	0.446
NK 细胞百分率(%)	15.57 ± 6.45	11.38 ± 3.66	0.029

3 讨 论

偶发性自然流产(SA)多为偶发性的基因或胚胎染色体异常,即使不进行医学干预,80%的患者能够再次成功妊娠并分娩,其原因在于再次妊娠时重复发生基因或胚胎染色体异常的可能性较小^[6]。不明原因复发性自然流产(URSA)则不同,根据近年来较多的流行病学调查显示,70%URSA 患者的发病过程与多种不同性质的免疫学异常相关,原因复杂多变且难以寻找,流产反复发生且原因不明,这也是临床上不育症难治的重要原因^[7]。URSA 的免疫学异常基本上可归结为母胎之间的免疫耐受平衡遭到破坏,从而导致胚胎半同种异体移植的失败。

T 淋巴细胞是体内重要免疫细胞,Th 细胞是介导细胞免疫,其功能亢进或数量增多可使母体细胞免疫增强,对胚胎产生较强的免疫排斥,使妊娠无法继续;而 Ts 细胞一方面可抑制由 B 淋巴细胞介导的体液免疫,另一方面也可抑制 Th 细胞介导的迟发性超敏反应等,从而确保胚胎抗原不被排斥。Th 细胞和 Ts 细胞两者相互作用,相互制约,达到动态平衡,使得妊娠可持续进行^[8]。本研究发现,URSA 组与 SA 组均存在 Th/Ts 异常升高现象(Th/Ts 小于 1.0 或大于 2.0 时,即可视为免疫调节功能异常),表明两组均发生特异性免疫耐受紊乱。T 细胞异常变化对 URSA 患者影响更大,从而导致流产发生^[9]。

NK 细胞主要分布于外周血,占外周血淋巴细胞数量的 10%~15%,具有细胞毒性效应,不需要抗原预先致敏就能自动攻击杀伤靶细胞^[10]。在胚胎处于种植期和早孕期时,子宫内的淋巴细胞群体中 NK 细胞居于主导和优势地位。由于子宫蜕膜中 NK 细胞能够与胎儿滋养细胞直接接触,产生毒性杀伤作用,因此一般认为胚胎损伤、自然流产与 NK 细胞有密切关系^[11]。蜕膜中 NK 细胞的情况可通过检测外周血中 NK 细胞比例来反映,研究表明 URSA 难免流产患者 NK 细胞比例明显高于 SA 难免流产者,认为是母体对胚胎的杀伤作用增强的表现,因而发生流产。

从本组的统计结果显示,URSA 组患者与 SA 组患者均存在一定程度的免疫紊乱,共同的表现是特异性免疫方面均有 Th/Ts 异常升高,不同的表现是 URSA 组患者在非特异性免疫方面较 SA 组患者存在 NK 细胞比例明显升高现象。由此可见,患者外周血 T 淋巴细胞亚群之 Th/Ts 和 NK 细胞比例是否异常或明显升高,对于判断患者是否会发生难免流产具有指导性意义。对于不明原因复发性自然流产(URSA)患者而言,其具有 NK 细胞比例明显升高的特征对于早发现早治疗、及时对患者采取干预措施而避免流产的发生具有较好的作用。随着 T 淋巴细胞亚群研究的进一步深入,原因不明复发性流产的基础与临床研究会取得新的成果。

参考文献

[1] Jerzak M, Bischof P. Apoptosis in the first trimester human placenta; the role in maintaining immune privilege at the maternal-fetal interface and in the trophoblast remodeling[J]. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2002, 100(56): 138-139.

[2] 林其德. 原因不明复发性流产的基础与临床研究进展[J]. 中华妇产科杂志, 2003, 38(8): 481-483.

[3] 刘阳, 赖翼. 流式细胞术检测细胞存活率的方法学建立[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(15): 1663-1664.

[4] Warren JE, Silver RM. Genetics of pregnancy loss[J]. Clin Obstet Gynecol, 2008, 51(1): 84-95.

[5] 张建平, 林其德, 李大金, 等. 复发性流产的诊断与治疗[J]. 现代妇产科进展, 2006, 15(7): 481-492.

[6] 黄桓, 王红祥. 原因不明复发性流产患者调节性 T 细胞数量功能的改变及机制探讨[J]. 中国优生与遗传杂志, 2008, 16(10): 44-46.

[7] Saito S, Sasaki Y, Sakai M, et al. CD4⁺ CD25⁺ high regulatory T cell in human pregnancy[J]. J Immunol, 2005, 165(2): 111-120.

[8] 邱丽华, 林其德. 调节性 T 细胞与原因不明复发性流产的相关性研究[J]. 中华妇产科杂志, 2004, 39(12): 816-818.

[9] Cosmi L, Liotta F, Lazzeri E, et al. Human CD4⁺ CD25⁺ thymocytes share phenotypic and functional features with CD4⁺ CD25⁺ regulatory thymocytes[J]. Blood, 2003, 102(12): 4107-4109.

[10] 张建平. NK 细胞与复发性自然流产母胎免疫紊乱[J]. 中山大学学报: 医学科学版, 2010, 31(4): 452-456.

[11] 余抒, 吴超, 刘伟勇, 等. T 淋巴细胞新亚群——Th 细胞研究新进展[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(14): 1592-1593.