

• 论 著 •

血清维生素 D、sPD-L1 及 HCG 与复发性流产主动免疫治疗预后的关系研究

王会敏¹, 李 春¹, 王 丹¹, 朱争艳¹, 李春燕², 杨 菁^{3△}

(1. 湖北省武汉市第三医院妇产科, 湖北武汉 420000; 2. 武汉大学人民医院妇产科, 湖北武汉 430000; 3. 武汉大学人民医院生殖医学中心, 湖北武汉 430000)

摘 要:目的 研究血清维生素 D、可溶性程序性死亡分子配体 1(sPD-L1)及人绒毛膜促性腺激素(HCG)水平与复发性流产主动免疫治疗预后的关系。**方法** 选取 2017 年 1 月至 2018 年 2 月武汉市第三医院收治的 92 例流产患者为研究对象,其中包括复发性流产患者 46 例(复发性流产组)和非复发性流产患者 46 例(非复发性流产组),另选取健康妊娠妇女 46 例作为对照组。比较 3 组血清维生素 D、sPD-L1 及 HCG 水平;比较治疗前后及不同预后复发性流产患者的血清维生素 D、sPD-L1 及 HCG 水平;采用 Spearman 相关分析血清维生素 D、sPD-L1 及 HCG 水平与复发性流产主动免疫治疗预后的相关性。**结果** 复发性流产组治疗前血清维生素 D、HCG 水平均低于非复发性流产组治疗前与对照组,sPD-L1 水平高于非复发性流产组治疗前与对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。与治疗前比较,复发性流产组治疗后血清维生素 D 及 HCG 水平均明显升高,sPD-L1 水平明显降低,差异均有统计学意义($P<0.05$)。复发性流产组患者随访 1 年后,再次妊娠流产患者血清维生素 D 及 HCG 水平均明显高于流产患者,sPD-L1 水平明显低于流产患者,差异均有统计学意义($P<0.05$)。血清维生素 D 及 HCG 水平与复发性流产主动免疫治疗预后呈正相关($P<0.05$),sPD-L1 水平与复发性流产主动免疫治疗预后呈负相关($P<0.05$)。**结论** 血清维生素 D、sPD-L1 及 HCG 水平与复发性流产主动免疫治疗预后具有相关性,可作为患者预后评价的重要参考指标。

关键词:复发性流产; 维生素 D; 可溶性程序性死亡分子配体 1; 人绒毛膜促性腺激素; 主动免疫治疗

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2020.18.022 **中图法分类号:**R714.21

文章编号:1673-4130(2020)18-2268-04 **文献标识码:**A

Study on the relationship between serum vitamin D, sPD-L1, HCG and prognosis of active immunotherapy for recurrent abortion

WANG Huimin¹, LI Chun¹, WANG Dan¹, ZHU Zhengyan¹, LI Chunyan², YANG Jing^{3△}

(1. Department of Obstetrics and Gynecology, Wuhan Third Hospital, Wuhan, Hubei 420000, China; 2. Department of Obstetrics and Gynecology, People's Hospital of Wuhan University, Wuhan, Hubei 430000, China; 3. Center of Reproductive Medicine, People's Hospital of Wuhan University, Wuhan, Hubei 430000, China)

Abstract: Objective To study the relationship between serum vitamin D, soluble programmed death molecular ligand 1 (sPD-L1) and human chorionic gonadotropin (HCG) levels and the prognosis of active immunotherapy for recurrent abortion. **Methods** A total of 92 cases of abortion patients admitted to Wuhan Third Hospital from January 2017 to February 2018 were selected as the research objects, including 46 cases of recurrent abortion (recurrent abortion group) and 46 cases of non-recurrent abortion (non-recurrent abortion group), and 46 cases of healthy pregnant women were selected as the control group. The serum levels of vitamin D, sPD-L1 and HCG were compared among the 3 groups. The serum levels of vitamin D, sPD-L1 and HCG in patients with recurrent abortion were compared before and after treatment and with different prognosis. Spearman correlation analysis was used to analyze the correlation between serum vitamin D, sPD-L1, HCG levels and the prognosis of active immunotherapy for recurrent abortion. **Results** Serum vitamin D and HCG

作者简介:王会敏,女,主治医师,主要从事妇产科、优生优育、遗传咨询方面的疾病诊断与治疗研究。△ 通信作者, E-mail: 253948987@qq.com。

本文引用格式:王会敏,李春,王丹,等.血清维生素 D、sPD-L1 及 HCG 与复发性流产主动免疫治疗预后的关系研究[J].国际检验医学杂志, 2020, 41(18): 2268-2271.

levels in the recurrent abortion group before treatment were lower than those in the non-recurrent abortion group before treatment and the control group, and sPD-L1 level was higher than that in the non-recurrent abortion group before treatment and the control group, the differences were statistically significant ($P<0.05$). Compared with before treatment, serum vitamin D and HCG levels in the recurrent abortion group were significantly increased after treatment, and sPD-L1 level was significantly reduced after treatment, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). After 1 year of follow-up in the recurrent abortion group, the serum vitamin D and HCG levels in the re-pregnant live birth patients were significantly higher than those in the abortion patients, and the sPD-L1 level was significantly lower than that in the abortion patients, the differences were statistically significant ($P<0.05$). Serum vitamin D and HCG levels were positively correlated with the prognosis of active immunotherapy for recurrent abortion ($P<0.05$), and sPD-L1 level was negatively correlated with the prognosis of active immunotherapy for recurrent abortion ($P<0.05$). **Conclusion** Serum vitamin D, sPD-L1 and HCG levels are correlated with the prognosis of active immunotherapy for recurrent abortion and can be used as an important reference indicator for prognosis evaluation of patients.

Key words: recurrent abortion; vitamin D; soluble programmed death molecular ligand 1; human chorionic gonadotropin; active immunotherapy

复发性流产主要指与同一性伴侣连续发生流产次数在 3 次及以上的自然流产, 主要与免疫失衡有关。流行病学调查显示, 复发性流产的发病率为 1%~3%^[1]。研究显示, 维生素 D 可作为胚胎种植过程中的调节因子, 在生殖健康中发挥重要作用^[2]。复发性流产患者体外受精的相关研究发现, 通过对患者进行维生素 D 治疗, 可明显提升再次妊娠成功率^[3]。可溶性程序性死亡分子配体 1 (sPD-L1) 是免疫抑制类受体之一, 通过活化 T 细胞表达, 诱导保护性免疫及免疫耐受^[4]。目前, 关于 sPD-L1 在复发性流产中的作用尚不明确。人绒毛膜促性腺激素 (HCG) 可调控激素水平, 在患者受孕及早期妊娠中具有重要作用^[5]。本研究通过探讨血清维生素 D、sPD-L1 及 HCG 联合检测在复发性流产主动免疫治疗预后中的作用, 以为临床治疗提供参考依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2017 年 1 月至 2018 年 2 月武汉市第三医院收治的 92 例流产患者为研究对象, 年龄 20~35 岁, 平均 (26.33±2.33) 岁; 体质量指数 (BMI) 为 (23.18±1.39) kg/m²; 文化程度: 小学及以下 29 例, 中学或中专 27 例, 大专及以上 36 例。纳入标准: (1) 符合流产诊断标准^[6]; (2) 夫妻双方染色体正常; (3) 宫颈分泌物检查排除生殖道感染。排除标准: (1) 3 个月内使用过内分泌激素或维生素 D; (2) 配偶精液异常; (3) 既往月经周期异常。根据复发性流产的诊断标准, 将纳入的 92 例流产患者分为复发性流产组 (46 例) 和非复发性流产组 (46 例), 另选取同期产前检查的健康妊娠妇女 46 例作为对照组, 3 组流产次数、孕次见表 1。3 组年龄、BMI 比较, 差异均无统计学意义 ($P>0.05$), 具有可比性, 见表 1。所有研

究对象均签署知情同意书, 本研究经武汉市第三医院伦理委员会批准。

表 1 3 组基线资料比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	年龄 (岁)	BMI (kg/m ²)	流产次数 (次)	孕次 (次)
复发性流产组	46	26.13±2.11	23.08±1.11	3.11±0.45	4.12±0.64
非复发性流产组	46	26.53±2.59	23.28±1.59	1.33±0.32	1.90±0.94
对照组	46	26.14±2.61	23.21±1.41	1.22±0.25	1.98±0.68
<i>F</i>		1.263	1.369	11.090	10.087
<i>P</i>		0.325	0.221	<0.001	<0.001

1.2 方法

1.2.1 免疫制剂制备 采集患者配偶的肘静脉血 4 mL, 抗凝处理后进行淋巴细胞分离, 抽吸淋巴细胞, 使用生理盐水进行洗涤, 调整淋巴细胞计数为 (20~30)×10⁶/mL。

1.2.2 主动免疫治疗 复发性流产患者采取主动免疫治疗。在无菌环境下, 在患者前臂进行 6 点皮内注射免疫制剂, 治疗频次为 3 周 1 次, 共治疗 4 次。在整个治疗过程中患者均进行避孕, 治疗完成后患者再次妊娠。

1.2.3 血清维生素 D、sPD-L1 及 HCG 水平检测 抽取肘静脉血 4 mL, 3 500 r/min 离心后取上清液, 采用罗氏 cobas e411 全自动电化学发光分析仪检测血清维生素 D、sPD-L1 及 HCG 水平, 操作过程严格按照说明书进行。对照组于产前检查当日进行检测, 非复发性流产组在治疗前进行检测, 复发性流产组在治疗前、治疗 12 周后及随访 1 年后进行检测。

1.3 观察指标 比较复发性流产组治疗前、非复发性流产组治疗前及对照组的血清维生素 D、sPD-L1、

HCG 水平;比较复发性流产组治疗前后血清维生素 D、sPD-L1 及 HCG 水平;对复发性流产组随访 1 年,比较再次妊娠活产患者与流产患者的血清维生素 D、sPD-L1 及 HCG 水平;分析血清维生素 D、sPD-L1 及 HCG 水平与复发性流产主动免疫治疗预后的相关性。

1.4 统计学处理 采用 SPSS21.0 软件进行数据分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用 *t* 检验,多组间比较采用 *F* 检验,组间两两比较采用 LSD-*t* 检验;相关性分析采用 Spearman 相关。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 3 组血清维生素 D、sPD-L1 及 HCG 水平比较 复发性流产组治疗前、非复发性流产组治疗前及对照组血清维生素 D、sPD-L1 及 HCG 水平比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。其中,复发性流产组治疗前血清维生素 D、HCG 水平均低于非复发性流产组治疗前与对照组,sPD-L1 水平高于非复发性流产组治疗前与对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$);非复发性流产组治疗前血清维生素 D、HCG 水平均低于对照组,sPD-L1 水平高于对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 3 组血清维生素 D、sPD-L1 及 HCG 水平比较($\bar{x} \pm s$)				
组别	<i>n</i>	维生素 D(ng/mL)	sPD-L1(ng/mL)	HCG(U/L)
复发性流产组	46	26.13±1.31* [#]	23.15±1.39* [#]	1.21±0.43* [#]
非复发性流产组	46	32.53±1.06*	12.21±1.06*	1.66±0.14*
对照组	46	46.15±2.32	10.03±1.26	6.55±1.52
<i>F</i>		11.236	12.333	14.259
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001

注:与非复发性流产组比较,* $P < 0.05$;与对照组比较,* $P < 0.05$ 。

2.2 复发性流产组治疗前后血清维生素 D、sPD-L1 及 HCG 水平比较 与治疗前比较,复发性流产组治疗后血清维生素 D 及 HCG 水平均明显升高,sPD-L1 水平明显降低,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 复发性流产组治疗前后血清维生素 D、sPD-L1 及 HCG 水平比较($\bar{x} \pm s$)				
项目	<i>n</i>	维生素 D(ng/mL)	sPD-L1(ng/mL)	HCG(U/L)
治疗前	46	26.13±1.31	23.15±1.39	1.21±0.43
治疗后	46	34.55±1.45	13.26±1.77	4.29±1.49
<i>t</i>		29.224	28.805	13.470
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001

2.3 主动免疫治疗不同预后患者血清维生素 D、sPD-L1 及 HCG 水平比较 复发性流产组随访 1 年

后,再次妊娠活产患者有 26 例,流产患者有 20 例。活产患者血清维生素 D 及 HCG 水平均明显高于流产患者,sPD-L1 水平明显低于流产患者,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 4。

表 4 主动免疫治疗不同预后患者血清维生素 D、sPD-L1 及 HCG 水平比较($\bar{x} \pm s$)				
项目	<i>n</i>	维生素 D(ng/mL)	sPD-L1(ng/mL)	HCG(U/L)
活产	26	36.47±2.01	10.47±1.01	6.83±1.52
流产	20	32.46±1.91	16.02±1.51	2.81±1.55
<i>t</i>		6.853	14.920	8.817
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001

2.4 血清维生素 D、sPD-L1 及 HCG 水平与复发性流产主动免疫治疗预后的相关性 以复发性流产再次妊娠活产为预后良好,流产为预后不良,分析血清维生素 D、sPD-L1 及 HCG 水平与复发性流产主动免疫治疗预后的相关性。结果显示,血清维生素 D 及 HCG 水平与复发性流产主动免疫治疗预后呈正相关($P < 0.05$),sPD-L1 水平与复发性流产主动免疫治疗预后呈负相关($P < 0.05$)。见表 5。

表 5 相关性分析结果		
项目	<i>r</i>	<i>P</i>
维生素 D	0.445	<0.001
sPD-L1	-0.556	<0.001
HCG	0.497	<0.001

3 讨 论

流产是临床较为常见的产科疾病之一,根据患者既往流产次数,流产可以分为多种类型,其中复发性流产不仅给患者带来生理上的痛苦,也给患者心理造成一定的负担^[7]。有研究显示,内分泌功能紊乱造成的黄体功能不足可影响患者精子和卵子结合后的存活时间,造成患者短期内流产^[8]。此外,有研究报道,妊娠期妇女广泛存在血清维生素 D 水平下降,且维生素 D 水平下降可能会导致免疫功能低下,进而引发流产^[9]。血清 HCG 主要在受精卵着床形成合体滋养层细胞后开始分泌,在健康妊娠妇女中,其水平在受孕后 9~11 d 开始升高,在妊娠 8~10 周达高峰,从 12 周开始逐渐下降^[10]。HCG 水平在一定程度上可反映妊娠的预后情况^[11]。sPD-L1 作为 B7/CD28 协同刺激分子的重要成员,主要通过负性协同刺激信号抑制机体的免疫功能,导致妊娠过程中免疫耐受机制明显下调,造成流产的发生^[12]。

本研究中,主动免疫治疗前复发性流产组血清维生素 D、HCG 水平均低于非复发性流产组治疗前与对照组,sPD-L1 水平高于非复发性流产组治疗前与

对照组;主动免疫治疗后复发性流产组血清维生素 D、HCG 水平较治疗前明显升高,sPD-L1 水平较治疗前明显降低。经过主动免疫治疗后,机体的免疫功能恢复,其负性协同刺激信号明显下调,sPD-L1 水平也随之下降。随着患者免疫功能的改善,局部细胞的新陈代谢水平也随之改善,患者的 HCG 及维生素 D 水平明显升高。复发性流产患者中,协同刺激分子可抑制 T 淋巴细胞的活化与增殖,调控患者的免疫应答,而机体的免疫功能受到明显抑制后,可进一步造成胎盘的免疫耐受功能下调,对非机体的免疫反应过强,进而引发流产^[12]。有研究显示,在对复发性流产患者进行主动免疫治疗时,患者体内的淋巴细胞、自然杀伤细胞具有调节作用,能明显提高封闭抗体及混合淋巴细胞反应封闭因子水平,同时,通过对患者 T 淋巴细胞水平进行调节能够促进抗体的分泌^[13-14]。高克非等^[15]在对复发性流产患者进行主动免疫治疗后,患者妊娠相关血清学指标明显改善,在一定程度上验证了主动免疫治疗的有效性 & 安全性。本研究中,对复发性流产患者随访 1 年后,再次妊娠活产患者血清维生素 D 及 HCG 水平均明显高于流产患者,sPD-L1 水平明显低于流产患者,提示维生素 D、HCG 及 sPD-L1 水平可能与复发性流产患者主动免疫治疗预后有关。进一步行相关性分析发现,血清维生素 D 及 HCG 水平与复发性流产主动免疫治疗预后呈正相关($P < 0.05$),sPD-L1 水平与复发性流产主动免疫治疗预后呈负相关($P < 0.05$),提示上述 3 项指标可作为主动免疫治疗预后评价的重要参考指标。

4 结 论

综上所述,复发性流产患者主动免疫治疗前后存在血清维生素 D、HCG、sPD-L1 水平变化,且维生素 D、HCG、sPD-L1 水平与患者主动免疫治疗预后具有相关性,可作为预后评价的重要参考指标。

参考文献

[1] 沈佩军,黎俊,蔡美玲,等.血清 β -HCG、PLGF 联合 VEGF 水平在输卵管妊娠诊断鉴别中的临床应用[J].现代生物医学进展,2017,17(14):2678-2680.

[2] 田浩,康晓艳,杨琳,等.外周血 sPD-L1 在小细胞肺癌患者化疗期间变化及其临床意义[J].中国肿瘤临床,2019,46(9):452-456.

[3] 陈静,杨润雨,陈璐,等.自然杀伤细胞与不明原因复发性流产关系的研究进展[J].国际免疫学杂志,2018,41(3):

322-326.

[4] 何泽现,王健,穆雅琴,等.原因不明复发性流产患者外周血单核细胞上 Tim-3 和 PD-1 的表达及意义[J].免疫学杂志,2017,33(4):321-326.

[5] 陈旭菲,梁逸仙,林春明,等.原因不明性复发性流产孕妇外周血 NKT 亚型及血清 IFN- γ 、IL-4 表达变化[J].贵阳医学院学报,2017,42(2):223-225.

[6] 肖碧如,孙蓉蓉,陈秋月,等.原因不明复发性流产患者绒毛组织中 miR-29a 的表达及其调控机制[J].中华妇产科杂志,2018,53(11):776-778.

[7] 高玉霞,董学彩,王文翔,等. miRNA-223-3p 在不明原因复发性流产患者绒毛组织中表达以及在血管生成中的作用[J].安徽医药,2018,22(2):242-245.

[8] YE S L, GU X K, TAO L Y, et al. Efficacy of different treatment regimens for antiphospholipid syndrome-related recurrent spontaneous abortion[J]. Chin Med J (Engl), 2017,130(12):1395-1399.

[9] WANG P, YANG H, WANG G, et al. Predictive value of thromboelastography parameters combined with antithrombin III and D-Dimer in patients with recurrent spontaneous abortion[J]. Am J Reprod Immunol, 2019, 82(4):e13165.

[10] REZAUL I M, FENG B H, CHEN T T, et al. Absciscic acid prevents pollen abortion under high-temperature stress by mediating sugar metabolism in rice spikelets [J]. Physiol Plant, 2019, 165(3):644-663.

[11] MATSUBARA S, TAKAHASHI H. Placenta previa accreta and previous cesarean section: some clarifications [J]. Chin Med J (Engl), 2018, 131(12):1504-1505.

[12] 吴梦茹,朱玥洁,赵静,等.不明原因反复性流产患者血清中 sPD-1 和 sPD-L1 与相关细胞因子的水平变化[J].免疫学杂志,2015,31(7):603-607.

[13] DENG Y C, XU H, ZENG X H. Induced abortion and breast cancer: an updated meta-analysis [J]. Medicine, 2018,97(3):e9613-e9617.

[14] GROSSMAN D, GRINDLAY K, ALTSHULER A L, et al. Induced abortion provision among a national sample of obstetrician-gynecologists[J]. Obstet Gynecol, 2019, 133(3):477-483.

[15] 高克非,许红雁,刘宝玲.正常早孕及不明原因复发性流产主动免疫治疗前后血清蛋白组学的比较[J].广东医学,2014,35(13):2069-2072.

(收稿日期:2020-01-14 修回日期:2020-06-28)