

生过程中发挥了重要的免疫抑制作用,测定支气管肺泡灌洗液中 IL-10 水平对肺结核的诊断具有重要的辅助意义。

参考文献

- 1 Venet F, Pachot A, Debard AL, et al. Human CD4 + CD25 + regulatory T lymphocytes inhibit lipopolysaccharide-induced monocyte survival through a Fas /Fas ligand-dependent mechanism [J]. J Immunol, 2006, 177(9): 6540 - 6547.
- 2 中华医学会结核病学分会. 肺结核诊断和治疗指南 [J]. 中华结核和呼吸杂志, 2001, 24(2): 70 - 74.
- 3 中华医学会呼吸病学分会. 支气管肺泡灌洗液细胞学检测技术规范(草案) [J]. 中华结核和呼吸杂志, 2002, 25(7): 390 - 391.
- 4 Oral HB, Budak F, Uzaslan EK, et al. Interleukin-10 (IL-10) gene polymorphism as a potential host susceptibility factor in tuberculosis

[J]. Cytokine, 2006, 35(3 - 4): 143 - 147.

- 5 Cobbold SP, Castejon R, Adams E, et al. Induction of foxP3 + regulatory T cells in the periphery of T cell receptor transgenic mice tolerized to transplants [J]. J Immunol, 2004, 172(10): 6003 - 6010.
- 6 邵燕丽, 吕世静, 黄罗佳. 结核病人胸腔积液中的 TNF- α 和 IL-10 临床意义 [J]. 临床肺科杂志, 2007, 12(3): 229 - 231.
- 7 张 婧, 梁永杰. 结核性胸膜炎治疗前后白介素-10 及转化生长因子的变化 [J]. 中国防痨杂志, 2009, 31(9): 542 - 543.
- 8 刘武胜, 张耀亭. 肺结核患者血清 IL-6 和 IL-10 的动态变化及临床意义 [J]. 临床肺科杂志, 2010, 15(6): 808 - 809.
- 9 张 放, 杨 飞. 糖尿病合并肺结核患者肺部病灶组织中细胞因子的表达及意义 [J]. 中国医科大学学报, 2014, 43(4): 314 - 315, 319.

[收稿日期 2014 - 08 - 28] [本文编辑 潘洪平]

课题研究 · 论著

妊娠中期危险因素与子痫前期的相关性分析

马银瑶, 严思萍, 田 矛, 鄢 华, 梁旭霞

基金项目: 广西自然科学基金课题(编号: 2014GXNSFBA118176); 广西卫生厅科研课题(编号: Z2013350)

作者单位: 530021 南宁, 广西壮族自治区人民医院产科

作者简介: 马银瑶(1980 -), 女, 研究生学历, 医学硕士, 主治医师, 研究方向: 子痫前期等产科危重症的临床及基础研究。E-mail: mayinyao8899@163.com

[摘要] 目的 探讨妊娠中期主要危险因素与子痫前期(PE)的关系。方法 选取 320 例孕中期产妇, 记录年龄、体重增加值、平均动脉压等一般体检资料, 并采用全自动生化仪测定各孕妇血清总钙[TCa]、含量及离子钙[Ca²⁺]。含量; 酶联免疫法测定 CD4⁺CD25⁺Treg 免疫抑制功能, 随访至分娩, 按妊娠期间孕妇是否发生 PE 分为 PE 组及正常对照组, 观察各指标与 PE 发病的关系。结果 (1) 随访结果: 320 例孕产妇妊娠期内有 27 例发展为 PE, 发生率约为 8.44%, 其中轻度 21 例, 重度 6 例, 其余 293 例为正常分娩。(2) 子痫前期组与正常对照组比较, 平均动脉压显著增高, 而血清[TCa]、血清[Ca²⁺]、及 Treg 抑制率显著降低, 差异具有统计学意义($P < 0.05$)。两组年龄、体重增加值差异无统计学意义($P > 0.05$); 重度子痫前期组血清[Ca²⁺]、含量低于轻度子痫前期组, 差异具有统计学意义($P < 0.05$)。(3) 血清钙水平与 Treg 抑制率的相关性分析表明, 血清[TCa]、血清[Ca²⁺]、与 CD4⁺CD25⁺Treg 抑制率的皮尔森(Pearson)系数分别为 $r_1 = 0.031$, $P = 0.585$; $r_2 = 0.129$, $P = 0.021$, 提示血清[TCa]、水平与 Treg 抑制率无相关性, 血清[Ca²⁺]、水平与 Treg 抑制率则存在着正相关关系。结论 妊娠中期平均动脉压升高及血清[TCa]、[Ca²⁺]、不足、CD4⁺CD25⁺Treg 抑制功能下降是 PE 发病的危险因素, 血清[Ca²⁺]、与 CD4⁺CD25⁺Treg 抑制率具有密切的正相关关系。

[关键词] 子痫前期; 危险因素; 钙; CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞

[中图分类号] R 714.24*5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674 - 3806(2015)01 - 0013 - 04

doi:10.3969/j.issn.1674 - 3806.2015.01.05

Correlation analysis between risk factors in second trimester pregnant women and preeclampsia MA Yin-yao, YAN Si-ping, TIAN Mao, et al. Department of Obstetrics, the People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530021, China

[Abstract] Objective To explore the correlation between main risk factors in second trimester pregnant women and preeclampsia (PE). **Methods** Three hundred and twenty pregnant women were included in the study, and their general physical examination data were recorded, such as age, weight gain, mean arterial blood pressure etc. Automatic biochemistry analyzer was used to determinate the levels of serum total calcium ($[TCa]_o$) and ionized calcium ($[Ca^{2+}]_o$). The suppression function of $CD4^+CD25^+$ Tregs was detected by enzyme-linked immunosorbent assay. The pregnant women were followed up until delivery, and were divided into PE group and control group (pregnant women without PE). The correlation of these indexes and PE was observed. **Results** (1) Follow-up outcomes: among 320 pregnant women, 27 cases developed PE (PE group), the incidence was about 8.44%, including 21 cases of mild PE, 6 cases of severe; 293 cases had normal delivery (normal group). (2) Compared with the normal group, mean arterial blood pressure was higher in the PE group; serum $[TCa]_o$, serum $[Ca^{2+}]_o$ and Treg inhibition rate were lower ($P < 0.05$). There were no significant differences in age, weight gain ($P > 0.05$). In severe PE group serum $[Ca^{2+}]_o$ was lower than that in mild PE group, the difference was statistically significant ($P < 0.05$). (3) Correlation between levels of serum $[TCa]_o$, serum $[Ca^{2+}]_o$ and $CD4^+CD25^+$ Treg inhibition rate: the Pearson coefficients of serum $[TCa]_o$, serum $[Ca^{2+}]_o$ and $CD4^+CD25^+$ Treg inhibition rate were $r_1 = 0.031$, $P = 0.585$; $r_2 = 0.129$, $P = 0.021$, respectively, indicating that there was no correlation between TCa levels in serum and Treg inhibition rate but that there was a positive correlation between serum $[Ca^{2+}]_o$ and Treg inhibition rate. **Conclusion** Insufficient serum $[TCa]_o$, serum $[Ca^{2+}]_o$, deficient $CD4^+CD25^+$ Treg inhibition function and increased mean arterial pressure are independent risk factors of PE in the second trimester pregnant women. There was a close positive correlation between serum $[Ca^{2+}]_o$ and $CD4^+CD25^+$ Treg inhibition rate.

[Key words] Preeclampsia; Risk factors; Calcium; $CD4^+CD25^+$ regulatory T cells

子痫前期 (preeclampsia, PE) 是发生于妊娠 20 周之后, 多因素参与、严重危害母婴健康的产科疾病, 具有发病隐蔽、进展迅速、危害性大等特点, 是导致孕产妇和围产儿死亡的主要原因之一^[1]。早期发现、早期干预是本病防治的关键^[2]。我们在前期研究基础上, 2012 ~ 2013 年在我院分别选择妊娠中期 (20 ~ 24 周) 孕妇背景特征、血管血流变学指标、发病机制生物标志物 3 个方向的代表性指标 (如年龄、平均体重增加值、平均脉压差、钙营养及免疫耐受等), 评估其与 PE 发病的关系。

1 对象与方法

1.1 研究对象 选择 2012-01 ~ 2013-06 在我院产产常规孕期体检及分娩的孕产妇 320 例作为研究对象, 随访至分娩。所有研究对象均为单胎初产妇, 孕 20 ~ 24 周, 首次产检体重质量指数为 $18.5 \sim 24.9 \text{ kg/m}^2$, 未合并其他严重并发症; 年龄 20 ~ 40 岁; 签署知情同意书。排除有甲状腺功能亢进、慢性溃疡性结肠炎、原发性胆汁性肝硬化、类风湿性关节炎及系统性红斑狼疮等自身免疫性疾病者; 有原发性高血压、心脏病、糖尿病、慢性肾炎、严重精神疾病等内科合并症及先兆早产等妊娠并发症者。320 例孕妇纳入时的平均年龄为 (25.06 ± 3.03) 岁, 平均动脉压为 (80.37 ± 10.69) mmHg, 平均体重增加值为 (3.26 ± 0.50) kg。PE 的诊断标准参照曹泽毅^[3]主编的《中华妇产科

学》第 2 版。

1.2 主要试剂 人 $CD4^+CD25^+$ T 细胞磁珠分离试剂盒购自加拿大 Stemcell 公司, 鼠抗人 CD3、CD28 单克隆抗体购自 ebioscience 公司, Cell Counting Kit-8 (CCK-8) 购自日本同仁化学研究所。

1.3 血清钙的测定 妊娠中期 (20 ~ 24 周) 孕妇, 清晨空腹采集外周血 10 ml, 肝素抗凝, 分离血清及单个核细胞 (PBMC), 血清送全自动生化仪 (日本日立公司 7600-120 型) 测定血清总钙含量 $[TCa]_o$ 及血清离子钙含量 $[Ca^{2+}]_o$ 。

1.4 $CD4^+CD25^+$ Treg 对自身 $CD4^+CD25^-$ T 细胞的抑制功能检测^[4] 取分离的 PBMC, 按人 $CD4^+CD25^+$ T 细胞磁珠分离试剂盒说明书分离 $CD4^+CD25^+$ Treg 和 $CD4^+CD25^-$ T 细胞, 台盼蓝染色法测定分离细胞的活性。分别取 1×10^5 个细胞, 按照 1:1 比例混合接种在 96 孔培养板上, 加入抗 CD3、CD28 单克隆抗体各 $10 \text{ } \mu\text{g/ml}$, 以 $CD4^+CD25^-$ T 细胞为对照组, 37°C , 5% CO_2 培养 96 h, 培养终止前 4 h 向各孔加入 $20 \text{ } \mu\text{l}$ CCK-8, 振荡, 继续培养 4 h, 采用酶联免疫检测仪 (美国, biotek 宝特公司 ELX800 型) 测定 450 nm 处 OD 值。 $CD4^+CD25^+$ Treg 抑制率 = $[1 - (\text{混合培养细胞孔 OD 值} / \text{单独 } CD4^+CD25^- \text{ T 细胞孔 OD 值})] \times 100\%$ 。

1.5 观察指标 (1) 观察妊娠中期 (20 ~ 24 周) 产

妇年龄、体重增加值、平均动脉压、血清[TCa]、[Ca²⁺]。含量及外周血中 CD4⁺CD25⁺Treg 对自身 CD4⁺CD25⁻T 细胞的抑制功能。(2)随访至妊娠结束,统计发展为子痫前期的病例数与疾病分期情况。

1.6 统计学方法 应用 SPSS18.0 统计软件进行数据分析,计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用独立样本 *t* 检验,用 Pearson 相关性分析血清钙水平与 Treg 抑制率的关系。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

表 1 两组妊娠中期观察指标结果比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	年龄(岁)	体重增加值(kg)	平均动脉压(mmHg)	血清[TCa] ₀ (mmol/L)	血清[Ca ²⁺] ₀ (mmol/L)	Treg 抑制率(%)
子痫前期组	27	25.74 ± 2.59	3.30 ± 0.48	84.03 ± 10.08	2.20 ± 0.19	1.15 ± 0.10	64.12 ± 12.67
正常对照组	293	25.01 ± 3.07	3.26 ± 0.50	80.03 ± 10.69	2.31 ± 0.22	1.22 ± 0.09	72.32 ± 15.03
<i>t</i>	—	1.1965	0.3990	1.8690	2.5123	3.8306	2.7453
<i>P</i>	—	0.1162	0.3451	0.0313	0.0062	0.0001	0.0032

2.2 轻度与重度子痫前期患者观察指标结果比较 重度子痫前期组血清[Ca²⁺]。含量低于轻度子痫前期组,差异具有统计学意义(*P* < 0.05),而年龄、体

2 结果

2.1 两组妊娠中期观察指标结果比较 随访至分娩,最终有 27 例发生 PE(子痫前期组),发病率为 8.44%,其中轻度子痫前期 21 例,重度子痫前期 6 例;其余 293 例为正常妊娠分娩(正常对照组)。子痫前期组平均动脉压高于正常对照组,血清[TCa]、血清[Ca²⁺]。及 Treg 抑制率低于正常对照组,差异具有统计学意义(*P* < 0.05),在年龄、体重增加值上差异无统计学意义(*P* > 0.05)。见表 1。

重增加值、平均动脉压、血清[TCa]、Treg 抑制率两组差异无统计学意义(*P* > 0.05)。见表 2。

表 2 轻度与重度子痫前期患者观察指标结果比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	年龄(岁)	体重增加值(kg)	平均动脉压(mmHg)	血清[TCa] ₀ (mmol/L)	血清[Ca ²⁺] ₀ (mmol/L)	Treg 抑制率(%)
轻度子痫前期组	21	25.48 ± 2.65	3.27 ± 0.51	84.02 ± 10.07	2.23 ± 0.20	1.18 ± 0.08	66.27 ± 13.01
重度子痫前期组	6	26.64 ± 2.31	3.37 ± 0.40	84.05 ± 11.10	2.10 ± 0.13	1.04 ± 0.07	56.60 ± 8.46
<i>t</i>	—	0.9692	0.4409	0.0063	1.4930	3.8723	1.7072
<i>P</i>	—	0.1709	0.3315	0.4975	0.0740	0.0003	0.0501

2.3 血清钙含量与 Treg 抑制率直线相关分析 通过散点图分析发现血清[TCa]。与 Treg 抑制率无明显相关性趋势,而血清[Ca²⁺]。与 Treg 抑制率则具有相关性趋势,采用皮尔森(Pearson)相关分析血清[TCa]、[Ca²⁺]。与 Treg 抑制率关系(*r*₁ = 0.031, *P* = 0.585; *r*₂ = 0.129, *P* = 0.021),提示血清[TCa]。与 Treg 抑制率无相关性,血清[Ca²⁺]。与 Treg 抑制率则存在着正相关关系。

3 讨论

3.1 目前临床上对 PE 发病的预测方法很多,归纳起来主要包括孕妇背景特征、血管血流变学指标及发病机制分子标志物等 3 个方面。孕妇背景特征主要包括孕产妇年龄、体重、既往史、家族史和合并症等,但这些评估指标缺乏特异性^[5]。血管血流变学指标主要包括平均动脉压及彩色多普勒测定的子宫

动脉阻力指数(RI)、搏动指数(PI)、收缩期与舒张期血流速度比值(S/D)等^[6]。随着 PE 发病机制的研究进展,越来越多与本病相关的分子标志物被发现^[7]。鉴于 PE 发病因素的复杂性,将孕妇背景特征、血管血流变学指标及发病机制分子标志物三者数据在相同维度上进行综合评估,构建预测模型是未来研究的趋势之一^[8]。

3.2 研究发现,PE 的发病率随着妊娠妇女年龄的增加而提高,>35 岁的妊娠妇女发生 PE 的危险性较年轻妊娠妇女增加 2~4 倍^[9]。本研究年龄因素未提示与 PE 发病相关,可能与入组患者年龄普遍较轻有关。随着生活水平的提高及传统观念的影响,妊娠期肥胖或体重增加过多的孕妇越来越多,而肥胖可导致妊娠期高血压疾病、糖尿病等并发症增加^[10]。本研究未发现体重增加值与 PE 相关,可能

与孕妇体重增加主要集中在妊娠中晚期阶段有关。PE 的基本病理变化是胎盘浅着床,子宫螺旋动脉重铸不良,继而导致母体血管内皮损伤,全身小动脉痉挛,影响血液流变学,血压升高^[11]。因此,通过观察子宫动脉阻力指数、平均动脉压等血流变学变化预测 PE 是目前临床上应用较多的方法。但最近 Conde-Agudelo 等^[12]通过大样本(43 个研究,40 000 例患者)的荟萃分析发现,彩色多普勒对子宫动脉阻力指数的测定尚不足以预测 PE,并且彩色多普勒的检测还受到仪器、孕期、正常血流速度波形界定等诸多因素的干扰。而平均动脉压的高低可间接反应全身小动脉痉挛的程度及发展趋势,妊娠中期平均动脉压 ≥ 85 mmHg 对 PE 具有较好的预测作用,且操作更为简便^[13]。

3.3 孕期钙营养缺乏及免疫失衡是 PE 发病机制中的两个重要学说。钙是人体含量最丰富、必需的矿物质营养素,其中离子钙(Ionized calcium, iCa^{2+})是钙的生理活性形式,尤为各种高级生物体所必需。大量研究证实了低钙血症与 PE 存在密切关系,通过增加钙摄入量能有效减少孕妇患 PE 的风险。最近 Hofmeyr 等^[14]对 13 个补钙与安慰剂比较的随机对照试验(共包括 15 730 名孕妇)进行了荟萃分析,结果表明妊娠期通过补充足量的钙可减少妊娠期高血压疾病的发病率,并降低了早产的风险及母婴死亡率,未发现不良反应。由于我国传统膳食不含或少有奶制品,城乡居民膳食钙的摄入量仅 400 mg/d 左右,孕期孕妇普遍存在钙营养不足的情况。近年 $CD4^+CD25^+$ 调节性 T 细胞($CD4^+CD25^+$ regulatory T cell, Treg)/Th17 免疫平衡轴与 PE 发病的关系越来越受到关注^[15]。本课题组前期研究表明,妊娠中期外周血 Treg 数量减少和(或)抑制功能下降与 PE 的发生相关,可作为 PE 的预测性指标^[3]。

本研究结果表明,妊娠中期孕妇平均动脉压升高、血清[TCa]、 $[Ca^{2+}]$ 。不足及 Treg 免疫抑制功能下降是 PE 发病的危险因素。更重要的发现是,孕妇血清 $[Ca^{2+}]$ 。水平与 Treg 免疫抑制率具有密切的正相关关系,而这是否预示着钙营养缺乏与 Treg/Th17 轴免疫失衡两者间存在某种内在联系,还有待进一步研究证实。

参考文献

- 1 Fabry IG, Richart T, Chengz X, et al. Diagnosis and treatment of hypertensive disorders during pregnancy [J]. *Acta Clin Belg*, 2010, 65 (4): 229 - 236.
- 2 黄玲玲, 钟琳琳, 苏莎. 早发型子痫前期的临床特征及其预后分析[J]. *中国临床新医学*, 2010, 3(8): 725 - 727.
- 3 曹泽毅. 中华妇产科学[M]. 第 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 2007: 398 - 422.
- 4 马银瑶, 严思萍, 梁旭霞. 孕妇外周血 $CD4^+CD25^+$ 调节性 T 细胞对子痫前期的预测[J]. *现代临床医学*, 2013, 39(2): 100 - 103.
- 5 王琪, 张为远, 李阳, 等. 子痫前期预测指标的筛选及应用价值[J]. *现代妇产科进展*, 2010, 19(9): 652 - 654.
- 6 Takahashi K, Ohkuchi A, Hirashima C, et al. Establishing reference values for mean notch depth index, pulsatility index and resistance index in the uterine artery at 16 - 23 weeks' gestation [J]. *J Obstet Gynaecol Res*, 2012, 38(11): 1275 - 1285.
- 7 Masoura S, Kalogiannidis IA, Gitis G, et al. Biomarkers in pre-eclampsia: a novel approach to early detection of the disease [J]. *J Obstet Gynaecol*, 2012, 32(7): 609 - 616.
- 8 梁丽丽, 蔡春芳, 万波, 等. 可溶性血管内皮生长因子受体-1 与子痫前期的相关性研究[J]. *中国临床新医学*, 2011, 4(7): 623 - 626.
- 9 Guzmán-Juárez W, Avila-Esparza M, Contreras-Solís RE, et al. Factors associated with gestational hypertension and preeclampsia [J]. *Ginecol Obstet Mex*, 2012, 80(7): 461 - 466.
- 10 Walsh SW. Obesity: a risk factor for preeclampsia [J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2007, 18(10): 365 - 370.
- 11 Zezza L, Ralli E, Conti E, et al. Hypertension in pregnancy: the most recent findings in pathophysiology, diagnosis and therapy [J]. *Minerva Ginecol*, 2014, 66(1): 103 - 126.
- 12 Conde-Agudelo A, Villar J, Lindheimer M. World Health Organization systematic review of screening tests for preeclampsia [J]. *Obstet Gynecol*, 2004, 104(6): 1367 - 1391.
- 13 Prajapati SR, Maitra N. Prediction of pre-eclampsia by a combination of maternal history, uterine artery Doppler, and mean arterial pressure (a prospective study of 200 cases) [J]. *J Obstet Gynaecol India*, 2013, 63(1): 32 - 36.
- 14 Hofmeyr GJ, Lawrie TA, Atallah AN, et al. Calcium supplementation during pregnancy for preventing hypertensive disorders and related problems [J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2010, (8): CD001059.
- 15 马银瑶, 严思萍, 梁旭霞, 等. 子痫前期母胎界面免疫耐受失衡的信号通路调控机理[J]. *现代临床医学*, 2013, 39(3): 163 - 166.

[收稿日期 2014-07-29][本文编辑 韦颖]