

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2018.08.026

免疫不孕症患者外周血 Th1、Th2 细胞因子与血清 AhCGAb、AsAb、AoAb 相关抗体的关系

刘亚敏, 苏锦敏

(海南省三亚市人民医院妇产科 572000)

摘要:目的 探讨免疫不孕症患者外周血特异性 T 辅助细胞(Th)1、Th2 细胞因子与血清抗人绒毛膜促性腺激素抗体(AhCGAb)、抗精子抗体(AsAb)、抗卵巢抗体(AoAb)相关抗体的关系。方法 选取 2014 年 2 月至 2015 年 12 月在该院就诊的 58 例免疫不孕症患者作为试验组,同时选取 60 例孕育功能正常的健康妇女为对照组。应用酶联免疫吸附测定(ELISA)检测两组受试对象的 Th 细胞因子水平(IL-2、IL-21、IFN- γ 、TNF- α 、IL-4、IL-6、IL-10)及 AhCGAb、AsAb、AoAb 的表达,并分析其相关性。结果 与对照组相比,试验组 Th1 型细胞因子 IL-2、IL-21、IFN- γ 、TNF- α 水平明显高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$);Th2 型细胞因子 IL-4、IL-6、IL-10 水平也高于对照组,但仅有 IL-4 和 IL-6 指标差异有统计学意义($P < 0.05$)。抗体结果显示,试验组各相关抗体阳性率明显高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。相关性分析显示,IL-21 与 AhCGAb、AsAb、AoAb 的产生呈正相关($r = 0.612, 0.603, 0.726, P < 0.05$);IL-6 与 AhCGAb、AsAb、AoAb 的产生呈正相关($r = 0.426, 0.479, 0.616, P < 0.05$)。TNF- α 与 AoAb 的产生呈负相关($r = -0.544, P < 0.05$)。结论 免疫不孕症患者外周血 Th1、Th2 细胞因子与血清 AhCGAb、AsAb、AoAb 相关抗体有一定相关性;AhCGAb、AsAb、AoAb 3 种抗体的检测和定量作为免疫不孕症的诊断指标具有一定临床意义。

关键词:免疫不孕症; Th1 细胞因子; Th2 细胞因子; 抗人绒毛膜促性腺激素抗体; 抗精子抗体; 抗卵巢抗体

中图法分类号:R711.6

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2018)08-1140-04

Relationship between Th1 and Th2 cytokines in peripheral blood and AhCGAb, AsAb and AoAb antibody in patients with immune infertility

LIU Yamin, SU Jinmin

(Department of Obstetrics and Gynecology, Sanya People's Hospital, Sanya, Hainan 572000, China)

Abstract: **Objective** To investigate the relationship between Th1 and Th2 cytokines in peripheral blood of patients with immune infertility and serum AhCGAb, AsAb and AoAb antibody. **Methods** A total of 58 patients with immunodeficiency infertility were selected from February 2014 to December 2015. In the same period, 60 healthy pregnant women were selected as the control group. ELISA was used to detect the levels of Th cytokines(IL-2, IL-21, IFN- γ , TNF- α , IL-4, IL-10, IL-6) and the expression of AhCGAb, AsAb and AoAb in two groups. **Results** Compared with the control group, the levels of IL-2, IL-21, IFN- γ and TNF- α in Th1 type were significantly higher than in the control group($P < 0.05$); IL-4, IL-6 and IL-10 were also higher than those in the control group, but only with statistically significant($P < 0.05$) in IL-4 and IL-6. The positive rate of each antibody in the experimental group was remarkably higher than that in the control group, with statistically significant difference($P < 0.05$). The correlation analysis showed that IL-21 positively correlated with the production of AhCGAb, AsAb and AoAb, and the r values were 0.612, 0.603 and 0.726, respectively($P < 0.05$). IL-6 positively correlated with the production of AhCGAb, AsAb and AoAb, respectively, 0.426, 0.479, 0.616($P < 0.05$). TNF- α negatively correlated with AoAb production, r value was -0.544 , ($P < 0.05$). **Conclusion** Th1 and Th2 cytokines in peripheral blood of patients with immune infertility are related to serum AhCGAb, AsAb and AoAb antibodies. The detection and quantification of AhCGAb, AsAb and AoAb antibodies as a diagnostic index of immune infertility have certain clinical significance.

Key words: immune infertility; Th1 cytokine; Th2 cytokine; aAhCGAb; AsAb; AoAb

近年来,随着社会生活节奏的加快及环境质量的下降,我国已婚夫妇不孕不育症的发生率越来越高。不孕不育病因十分复杂,任何影响排卵、受精、着床的因素都会导致该病的发生。排卵障碍,输卵管疾病,免疫紊乱,骨盆粘连/子宫内膜异位症是引起女性不孕的主要原因。其中免疫因素导致不孕的发病率近年来呈急剧上升趋势,不孕症中大约有 20% 为免疫因素所造成^[1]。已知特异性 T 辅助细胞(Th)及其细胞因子参与不育阶段,而不孕症与抗精子抗体(AsAb)、抗人绒毛膜促性腺激素抗体(AhCGAb)、抗卵巢抗体(AoAb)也有一定的关系,是造成不孕症的重要免疫因素,但是 Th 细胞因子与相关抗体的关系却很少有人研究^[2-3]。因此,本研究通过检测免疫不孕症患者外周血中 Th 细胞因子及 AhCGAb、AsAb、AoAb 抗体表达水平,探讨 Th 细胞因子与 AhCGAb、AsAb、AoAb 抗体的关系,为临床免疫不孕症的诊治提供新的临床依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2014 年 2 月至 2015 年 12 月在本院就诊的 58 例免疫不孕症患者作为试验组。所有入选患者均经过至少 12 个月没有避孕的正常性生活而未妊娠(WHO 标准),同时排除炎症及其他器质性疾病造成的不孕。患者年龄 27~42 岁,平均(33.5±2.64)岁。同时期选取 60 例孕育功能正常的健康妇女为对照组,年龄 26~40 岁,平均(31.2±2.17)岁。两组研究对象在研究前 3 个月内均未服用过性激素类药物,而且无其他自身免疫性疾病。两组研究对象

一般资料进行比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。试验前,所有受试者均签署了知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 采集标准 所有受试对象在月经第 2 天早晨空腹时进行肘静脉采血 5 mL。血液标本在常温下静置 30 min,3 000 r/min 离心 10 min,转移血清,冻存于-20℃冰箱待测。

1.2.2 细胞因子检测 采用酶联吸附免疫测定(ELISA)对各组血清中细胞因子进行检测,试剂盒购于长沙安迪生物科技有限公司,试验操作均严格按说明书进行。

1.2.3 自身抗体检测 AhCGAb、AsAb、AoAb 等抗体也采用 ELISA 进行检测,抗体检测试剂盒购于浙江伊利康生物技术有限公司,试验操作均严格按试剂盒说明书进行。

1.3 统计学处理 采用 SPSS17.0 进行统计分析。计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用 t 检验进行比较;计数资料以百分数表示,采用 χ^2 检验进行比较;相关性分析采用 Pearson 法;以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 细胞因子检测结果 与对照组相比,试验组 Th1 型细胞因子白细胞介素(IL)-2、IL-21、干扰素- γ (IFN- γ)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)水平明显高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);Th2 型细胞因子 IL-4、IL-6、IL-10 水平也高于对照组,但仅有 IL-4 和 IL-6 指标差异有统计学意义($P<0.05$),见表 1。

表 1 两组血清中细胞因子含量比较($\bar{x}\pm s$,pg/mL)

组别	n	Th1 型细胞因子				Th2 型细胞因子		
		IL-2	IL-21	IFN- γ	TNF- α	IL-4	IL-6	IL-10
对照组	60	12.7±3.1	32.6±5.9	9.3±2.7	47.2±4.3	93.1±5.4	32.4±5.6	18.8±4.2
试验组	58	22.8±5.4	52.3±9.4	27.4±4.3	92.7±7.4	112.6±6.1	41.8±6.7	21.3±3.8
P		<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.05	<0.05	>0.05

表 2 两组血清 AhCGAb、AsAb、AoAb 相关抗体阳性表达率[n(%)]

组别	n	AhCGAb	AsAb	AoAb
对照组	60	0(0.00)	2(3.33)	4(6.66)
观察组	58	28(48.32)	20(33.33)	21(36.21)
χ^2		35.356	16.868	12.902
P		0.000	0.000	0.000

2.2 抗体检测结果 抗体结果显示,试验组各相关

抗体阳性率明显高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 2。

2.3 Th1 和 Th2 细胞因子与 AhCGAb、AsAb、AoAb 抗体的相关性分析 将试验组血清中各细胞因子的水平与 AhCGAb、AsAb、AoAb 抗体阳性表达的蛋白量分别进行相关性分析。结果显示,IL-21 与 AhCGAb、AsAb、AoAb 的产生呈正相关($r=0.612、0.603、0.726,P<0.05$);IL-6 与 AhCGAb、AsAb、AoAb 的产生呈正相关($r=0.426、0.479、0.616,P<0.05$)。TNF- α 与 AoAb 的产生呈负相关

($r=-0.544, P<0.05$), 见表 3。

表 3 细胞因子水平与 AhCGAb、AsAb、AoAb 抗体相关性[$r(P)$]

抗体	IL-2	IL-21	TNF- α	IFN- γ	IL-4	IL-6	IL-10
AhCGAb	0.476(0.054)	0.612(0.001)	-0.472(0.069)	-0.315(0.112)	0.261(0.146)	0.426(0.043)	0.193(0.316)
AsAb	0.413(0.069)	0.603(0.001)	-0.421(0.082)	-0.286(0.159)	0.192(0.207)	0.479(0.033)	0.214(0.375)
AoAb	0.386(0.073)	0.726(0.001)	-0.544(0.035)	-0.406(0.086)	0.303(0.105)	0.616(0.018)	0.192(0.443)

3 讨 论

Th 根据其分泌的细胞因子不同可分为 Th1 和 Th2 两种亚群, Th1 细胞主要分泌 IL-2、IL-21、IFN- γ 、TNF- α ; Th2 细胞主要分泌 IL-4、IL-6 和 IL-10。Th1 型细胞因子主要介导细胞免疫, 参与炎症反应。Th2 型细胞因子主要介导体液免疫应答, 辅助 B 细胞增殖分化。

Th1/Th2 的平衡对于维持正常的妊娠过程起着重要的作用, 如果平衡被打破, 比值变化偏向 Th1 时, Th1 介导的细胞免疫反应增强, 巨噬细胞活化, 可能对滋养层细胞产生细胞毒作用而形成免疫损伤, 影响胚胎着床及发育, 甚至会引起妊娠丢失^[4-5]。CHAOUAT 等^[6]研究显示, 将 IL-2、IFN- γ 和 TNF- α 注入孕鼠体内, 孕鼠的妊娠过程将会被终止, 说明 Th1 型细胞因子 IL-2、IFN- γ 和 TNF- α 对妊娠组织而言具有细胞毒效应。体外试验证明 IFN- γ 能够抑制滋养层的生长, 和 TNF- α 协同作用, 还可抑制胚胎的发育^[7]。TNF- α 和 IL-2 共同作用会促使 NK 样细胞转化成 LAK 细胞, 也会损害胎盘组织^[8]。IL-21 能通过 STAT3 通路引起 B 细胞分化成浆细胞, 产生大量自身抗体, 引起自身免疫疾病, 对女性来说, 常会导致免疫不孕症^[9]。Th2 型细胞因子对胎儿的生长发育有一定的正向促进作用。有研究表明, 妊娠成功的母胎界面以 Th2 型细胞因子表现为主, Th2 型细胞可维持母胎界面的免疫耐受^[10]。IL-4 对细胞的生长、分化有一定的调节作用, 能够抑制 NK 细胞黏附于血管内皮细胞, 并抑制其进一步的活化^[11]。IL-6 可以抑制 Th1 细胞和调节性 T 细胞的产生和分化, 在浆细胞的产生及自身抗体的分泌过程中也起重要作用。IL-10 则可以通过选择性抑制 IL-6、IL-2、TNF- α 等细胞因子的合成, 直接抑制免疫应答。本研究结果显示, Th1 型细胞因子 IL-2、IL-21、IFN- γ 、TNF- α 水平均明显高于对照组 ($P<0.05$), 而 Th2 型细胞因子仅有 IL-4、IL-6 水平高于对照组, IL-10 增高不明显, 差异无统计学意义 ($P>0.05$)。本研究发现, 虽然与对照组相比, Th1 和 Th2 型细胞因子水平都有所增加, 但是 Th1 型细胞因子水平差异更为显著。正是因为 Th1 型细胞因子的过度表达, 导致 Th1/Th2 比例失衡, 进而引起一系列异

常免疫反应, 影响胚胎着床及发育, 引起妊娠损失, 进而导致不孕, 这与安利峰等^[12]研究结果一致。

免疫不孕症主要是由免疫因素引起, Th 细胞功能的紊乱也会引起 B 细胞抗体分泌的异常。近年来, 大量研究表明, 不孕症与 AhCGAb、AsAb、AoAb 有一定关系, 是造成不孕症的重要免疫因素。AhCGAb 具有阻断 hCG 的作用, 导致妊娠不能维持, 使得受精卵不能着床, 引起 RSA 或胚胎停止发育等不良妊娠结局。AsAb 是最早被肯定的抗生育抗体, 它不仅干扰精子的代谢和获能, 而且还影响受精卵着床和胚胎发育过程, 最后导致不孕和流产的发生。卵巢组织成分, 如卵母细胞、颗粒细胞和黄体细胞等, 会在感染、创伤或手术等情况下刺激机体产生 AoAb, 从而引起自身免疫反应, 导致孕酮、孕激素合成分泌不足, 影响卵泡发育, 加快卵巢闭锁, 引起不良妊娠结局。本研究结果显示, 试验组 AhCGAb、AsAb、AoAb 等抗体阳性率明显高于对照组 ($P<0.05$), 说明 3 种抗体均参加了免疫性不孕的病理过程, 且在生理期呈高表达, 因此 3 种抗体也可以用来作为新的诊断指标来筛选免疫不孕症。

另外, 本研究还对 Th1 和 Th2 细胞因子与 AhCGAb、AsAb、AoAb 等抗体做了相关性分析, 结果显示 IL-21 和 IL-6 与 AhCGAb、AsAb、AoAb 的产生均呈正相关, 这说明 IL-21 和 IL-6 可能通过促进 B 淋巴细胞增殖分化为浆细胞进而分泌 AhCGAb、AsAb、AoAb 抗体来发挥作用, 而 IL-6 则可能是通过诱导 IL-21 的产生来促进 T 细胞辅助 B 细胞的能力, 进而促进 B 细胞产生抗体。此外, 研究结果还显示 TNF- α 与 AoAb 的产生呈负相关, 说明 TNF- α 可能在 AoAb 的产生过程中发挥着相反的作用, 至于具体原因还有待进一步研究。

综上所述, 免疫不孕症的发生与 Th1 和 Th2 型细胞因子水平变化及 AhCGAb、AsAb、AoAb 等抗体的高表达有着密切的关系, 但是具体机制还有待进一步研究。从另一方面来说, 免疫不孕症患者血清中 AhCGAb、AsAb、AoAb 的高表达还提示, 这 3 种抗体可以用来作为筛选免疫不孕症新的诊断指标。

(下转第 1146 页)

man papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer; a retrospective cross-sectional worldwide study [J]. *Lancet Oncol*, 2010, 11(11): 1048-1056.

[2] BOSCH F X, BURCHELL A N, SCHIFFMAN M, et al. Epidemiology and natural history of human papillomavirus infections and type-specific implications in cervical neoplasia [J]. *Vaccine*, 2008, 26(Suppl 10): K1-16.

[3] CHAN P K, HO W C, CHAN M C, et al. Meta-Analysis on prevalence and attribution of human papillomavirus types 52 and 58 in cervical neoplasia worldwide [J]. *PLoS One*, 2014, 9(9): e107573.

[4] 李永川, 徐含青, 赵娜, 等. 重庆地区 32 882 例女性宫颈人乳头瘤病毒的感染状况调查 [J]. *第三军医大学学报*, 2016, 38(9): 1031-1034.

[5] 蔡静芬, 杨幼易. 无锡市 113 207 名妇女宫颈人乳头瘤病毒感染状况分析 [J]. *中国医药导报*, 2014, 11(7): 104-107.

[6] 王睿, 卜范峰, 田欣欣, 等. 山东地区女性人乳头瘤病毒感染亚型、多重感染情况及年龄分布差异 [J]. *中国生物制品学杂志*, 2016, 29(1): 57-60.

[7] GUAN P, HOWELL-JONES R, LI N, et al. Human papillomavirus types in 115,789 HPV-positive women: A meta-analysis from cervical infection to cancer [J]. *International Journal of Cancer*, 2012, 131(10): 2349-2359.

[8] PSYRRI A, DIMAIO D. Human papillomavirus in cervical and head-and-neck cancer [J]. *Nat Clin Pract Oncol*, 2008,

5(1): 24-31.

[9] 袁艳. 贵州地区 8102 例就诊妇女 HPV 感染状况及 52、58 亚型存在状态研究 [D]. 贵阳: 贵阳医学院, 2013.

[10] 冯余宽, 彭英, 朱联, 等. 四川地区 HPV 亚型及多重感染与宫颈癌前病变的关系初探 [J]. *四川大学学报(医学版)*, 2015, 46(3): 422-425.

[11] CHAN P S, CHEUNG J K, CHEUNG T H, et al. HLA-DQB1 polymorphisms and risk for cervical cancer: A case-control study in a southern Chinese population ☆ [J]. *Gynecol Oncol*, 2007, 105(3): 736-741.

[12] CHAN P S, LAM C W, CHEUNG T H, et al. Association of human papillomavirus type 58 variant with the risk of cervical cancer [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2002, 94(16): 1249-1253.

[13] DE VINCENZO R, RICCI C, CONTE C, et al. HPV vaccine cross-protection: highlights on additional clinical benefit [J]. *Gynecol Oncol*, 2013, 130(3): 642-651.

[14] SANDRI M T, RIGGIO D, SALVATICI M, et al. Typing of human papillomavirus in women with cervical lesions: prevalence and distribution of different genotypes [J]. *J Med Virol*, 2009, 81(2): 271-277.

[15] LEE S A, KANG D, SEO S S, et al. Multiple HPV infection in cervical cancer screened by HPV DNA chip [J]. *Cancer Lett*, 2003, 198(2): 187-192.

(收稿日期: 2017-09-22 修回日期: 2017-11-28)

(上接第 1142 页)

参考文献

[1] BRAZDOVA A, SENECHAL H, PELTRE G, et al. Immune aspects of female infertility [J]. *Int J Fertil Steril*, 2016, 10(1): 1-10.

[2] RESTREPO B, CARDONA-MAYA W. Antisperm antibodies and fertility association [J]. *Actas Urol Esp*, 2013, 37(9): 571-578.

[3] AN L F, ZHANG X H, SUN X T, et al. Unexplained infertility patients have increased serum IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-21, TNFalpha, IFNgamma and increased Tfh/CD4 T cell ratio; increased Tfh and IL-21 strongly correlate with presence of autoantibodies [J]. *Immunol Invest*, 2015, 44(2): 164-173.

[4] CHALLIS J R, LOCKWOOD C J, MYATT L, et al. Inflammation and pregnancy [J]. *Reprod Sci*, 2009, 16(2): 206-215.

[5] 徐澄, 陆启滨. Th1/Th2 细胞因子失衡致复发性流产的机制及治疗 [J]. *长春中医药大学学报*, 2014, 30(5): 934-936.

[6] CHAOUAT G, ZOURBAS S, OSTOJIC S, et al. A brief review of recent data on some cytokine expressions at the

materno-foetal interface which might challenge the classical Th1/Th2 dichotomy [J]. *J Reprod Immunol*, 2002, 53(1/2): 241-256.

[7] ZOU G M, REZNIKOFF-ETIEVANT M F, HIRSCH F, et al. IFN-gamma induces apoptosis in mouse embryonic stem cells, a putative mechanism of its embryotoxicity [J]. *Dev Growth Differ*, 2000, 42(3): 257-264.

[8] 郭辉, 王庆荣, 张朝霞, 等. 反复流产的免疫学研究进展 [J]. *中国优生与遗传杂志*, 2008, 16(2): 127-129.

[9] DUAN Y G, YU C F, NOVAK N, et al. Immunodeviation towards a Th17 immune response associated with testicular damage in azoospermic men [J]. *Int J Androl*, 2011, 34(6 Pt 2): e536-545.

[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): 451-456, 481.

[11] 齐卫红. 反复自然流产患者外周血及母胎界面中白细胞介素 10、8 及肿瘤坏死因子-α 的表达 [J]. *生殖医学杂志*, 2007, 16(1): 52-53.

[12] 安利峰, 胜利, 赵霏, 等. 不孕症患者外周血中 Th1、Th2 细胞因子与自身抗体产生的相关性 [J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2014, 30(5): 527-529.

(收稿日期: 2017-09-11 修回日期: 2017-12-08)