DOI:10.16016/j.2097-0927.202107142

Th1/Th2 促进早发性重度子痫前期胎盘滋养细胞焦亡

王海娇,王 毅,何红美,祁 麟,崔玉娇,刘 力 050051 石家庄,石家庄市第四医院检验科

[摘要] **目的** 研究 Th1/Th2 对早发性重度子痫前期(early-onset severe preeclampsia,EOSP)胎盘滋养细胞焦亡的影响。**方法** 收集 2018 年 6 月至 2019 年 12 月本院妇产科确诊为 EOSP 的 55 例临床资料为子痫前期组,选取同期本院产检正常孕妇 30 例为正常组。应用流式细胞仪检测各组孕妇静脉血中 Th1 和 Th2 细胞的比例,应用 ELISA 检测血清中细胞焦亡相关因子 IL-1β、IL-18 的含量、应用 TUNEL 染色观察胎盘组织焦亡的情况;应用免疫荧光染色观察胎盘组织特异性切割关键焦亡底物蛋白消皮素 D(Gasdermin D,GSDMD)的表达;应用 Western blot 检测 Caspase-1、NLRP3、接头蛋白(ASC)、GSDMD 的蛋白表达。**结果** 流式结果显示,子痫前期组 Th1/Th2 细胞的比例与正常组相比较明显升高;ELISA 结果显示,子痫前期组血清中细胞焦亡相关因子 IL-1β、IL-18 的含量明显升高;TUNEL 染色结果显示,子痫前期组可见大量的类似凋亡细胞,明显多于正常组;免疫荧光染色 GSDMD 发现,子痫前期组的表达量明显多于对照组;Western blot 结果显示,Caspase-1、NLRP3、ASC、GSDMD 的蛋白表达明显高于正常组。**结论** 早发性重度子痫前期时,Th1/Th2 的比例增高促进了胎盘滋养细胞发生细胞焦亡。

[关键词] 早发性重度子痫前期;Th1/Th2;胎盘滋养细胞;细胞焦亡;GSDMD;Caspase-1
[中图法分类号] R321.4; R392.12; R714.245 [文献标志码] A

Increased ratio of Th1/Th2 cells promotes pyroptosis of placental trophoblast cells in early-onset severe preeclampsia

WANG Haijiao, WANG Yi, HE Hongmei, QI Lin, CUI Yujiao, LIU Li Department of Clinical Laboratory, Forth Hospital of Shijiazhuang, Shijiazhuang, Hebei Province, 050051, China

[**Abstract**] **Objective** To investigate the effect of Th1/Th2 ratio on pyroptosis of placental trophoblast cells in early-onset severe preeclampsia. **Methods** The clinical data of 55 cases of early-onset severe preeclampsia diagnosed in our hospital from June 2018 to December 2019 were collected as the preeclampsia group, and another 30 healthy pregnant women in our hospital during the same period were subjected as the normal control. Flow cytometry was used to detect the proportion of Th1 and Th2 cells in venous blood of the subjects; ELISA was adopted to measure the contents of pyroptosis-related factors IL-1β and IL-18 in serum. The placental tissue pyroptosis and the expression of GSDMD protein in placental tissue were observed by TUNEL staining and immunofluorescence staining respectively. The protein levels of Caspase-1, NLRP3, ASC and GSDMD were determined by Western blotting. **Results** Flow cytometry showed that the ratio of Th1/Th2 cells was significantly increased in the preeclampsia group. ELISA results indicated that the contents of IL-1β and IL-18 in the serum were remarkably higher in the preeclampsia group than the normal group ($P<0.01$). TUNEL staining and immunofluorescence staining also confirmed a large number of pyroptosis-like cells and high level of GSDMD in the preeclampsia group; Western blotting demonstrated that the protein levels of Caspase-1, NLRP3, ASC and GSDMD were all notably elevated, as

[基金项目] 河北省医学科学研究重点课题计划(20201380)
[通信作者] 刘 力,E-mail:489569712@qq.com

2097-0927/Copyright © 2022, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循 CC BY 许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

compared with the normal group. **Conclusion** In early-onset severe preeclampsia, the increased Th1/Th2 ratio promotes pyroptosis of placental trophoblast cells.

[**Key words**] early-onset severe preeclampsia; Th1/Th2; placental trophoblast cells; pyroptosis; GSDMD; Caspase-1

Supported by the Key Project of Medical Science Research in Hebei Province (20201380). Corresponding author: LIU Li, E-mail: 489569712@qq.com

早发性重度子痫前期(early-onset severe preeclampsia,EOSP)是指孕周≤34 周时的一种多系统疾病,患者既往血压正常或具有慢性高血压,其特征是高血压伴蛋白尿或终末器官功能障碍[1]。EOSP 与孕妇围产期的发病率和死亡率相关[2],特别是在发展落后的地区,由于其孕期营养差、医疗水平落后,孕妇一旦发病,往往得不到很好的救治。

EOSP 与胎盘滋养细胞的焦亡密切相关。细胞焦亡又称"细胞炎症性坏死",其与凋亡相似,但与凋亡不同的是,细胞焦亡通过炎性信号通路的 Nod 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3(nucleotide binding oligomerization domainlike recetor family pyrin domain containing 3, NLRP3)感受各种活化信号,经接头蛋白 ASC 招募并激活 Caspase-1[3],分泌促炎反应细胞因子并释放细胞质成分至细胞外,引起炎症反应,是促炎反应的细胞程序性死亡方式[4]。Caspase-1 通过特异性切割关键焦亡底物蛋白消皮素 D(Gasdermin D, GSDMD)启动,GSDMD 仅用于代表细胞焦亡,具有显著特异性[5],活化的 Caspase-1 还可以水解 IL-1β 前体、IL-18 前体,形成活性 IL-1β 与 IL-18,释放至胞外,导致细胞焦亡。

辅助性 T 细胞分为 Th1 和 Th2,Th1 细胞调节细胞免疫,促进炎症反应,Th2 细胞调节体液免疫,刺激细胞增殖分化。Th1 细胞主要分泌 TNF-α、IFN-γ。TNF-α 属于促炎因子,可诱导多种炎症因子释放,并可诱导炎症细胞黏附、趋化与浸润导致强烈的炎症反应。Th2 细胞主要分泌 IL-4、IL-10,可抑制 TNFα、IFN-γ 而发挥抗炎效应[6]。当体内 Th1/Th2 的比例增高时,限制了妊娠活动;而当 Th2/Th1 的比例较低时,才能利于妊娠[7]。Th1/Th2 在 EOSP 是如何中发挥作用,其比例增高时会不会导致胎盘滋养细胞发生焦亡呢? 鉴于此,我们设计了下面的试验,以探讨 Th1/Th2 对 EOSP 胎盘滋养细胞焦亡的影响。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集 2018 年 6 月至 2019 年 12 月本院妇产科确诊为 EOSP 的 55 例临床资料为子痫前期组,年龄为 28~40 岁,孕周为 28~32 周,纳入标准为患者诊断均符合第 9 版《妇产科学》诊断标准。排除标准包括多胎妊娠,既往高血压病史,合并其他妊娠期疾病(妊娠期糖尿病等),肝肾功能不全,心血管疾病,免疫性疾病等。收集孕周、年龄、体质量与本研究组相匹配的本院产检正常孕妇 30 例为正常组。本研究已获得石家庄市第四医院伦理委员会批准(审批号 20190046)和患者知情同意。

1.2 主要试剂及仪器

Caspase-1、NLRP3、接头蛋白(ASC)、GSDMD 抗体购于 Abcam 公司;流式抗体(CD3-PerCP-Cy5-5、CD8-PE、INF-γ-FITC、IL-4-APC)购于 Biolegend 公司,ELISA 试剂盒、ECL 发光剂购于美国 Thermo 公司;TUNEL 试剂盒购于南京碧波生物科技有限公司;PBS 缓冲液购于 BI 生物公司;胎牛血清购于美国 GIBCO 公司;流式细胞仪购于 BD 公司,显微镜(ECLIPSE E100)购于尼康仪器(上海)有限公司;组织包埋机(EG11508)/石蜡切片机(RM2135)均购于 Leica 公司;紫外分光光度计(NanoDrop ONE)、PCR 仪(SimpliAmp)购于 Thermo 公司;Western Blot 用电泳槽(DYCZ-24DN)、转移电泳仪(DYCZ-24DN)及恒温循环器(WD-9412A)、制冰机(SIM-F124)均购于北京六一生物科技有限公司;酶标仪(synergy2)购于基因有限公司。

1.3 采用流式细胞仪检测各组静脉血中 Th1 与 Th2 细胞的比例

1.3.1 血液标本采集 抽取各组晨起空腹静脉血 1 mL(均于治疗前抽血),注入肝素无菌管中 8 h 内检测 Th1、Th2 细胞百分比。

1.3.2 流式法检测 Th1、Th2 细胞百分比 用足量红细胞裂解液将静脉血中的红细胞裂解,剩余白细胞用 RPMI-1640 培养液重悬,加入打孔剂孵育 15 min,PBS 清洗后加入抗体(CD3-PerCP-Cy5-5、CD8-PE、INF-γ-FITC、IL-4-APC)各 5 μL 避光孵育 30 min,清洗后用流式细胞仪计数 1×10^4 个 CD4($CD3^+CD8^-$细胞)淋巴细胞中,表达 INF-γ 的 Th1 细胞和表达 IL-4 的 Th2 细胞所占的百分比。所得数据用 Cytomer-FSCS CantoⅡ软件分析,首先以单个核细胞群设门 1(P1),然后以 $CD3^+CD8^-$设门为 CD4 细胞,再分析标本中 Th1 = $CD3^+CD8^-IFN\gamma^+IL4^-$、Th2 = $CD3^+CD8^-IFN\gamma^-IL4^+$比例。

1.4　ELISA 法检测各组血清中 IL-1β、IL-18 水平

晨起空腹采集静脉血 5 mL,4 ℃静置过夜,3 000 r/min 离心 15 min,提取上层血清,按照 ELISA 试剂盒说明书操作进行检测。

1.5　TUNEL 染色观察胎盘滋养细胞凋亡情况

取各组孕妇分娩后新鲜胎盘组织,常规石蜡包埋、切片。脱蜡至水,0.01 mmol/L TBS 1∶200 稀释 Proteinase K 37 ℃消化 30 min,TBS 洗 3 遍,每片组织取 20 μL TUENL 检测液(TdT、DIG-d-UTP、标记缓冲液以 1∶1∶18 的比例配制)37 ℃孵育 2 h,TBS 洗 3 遍,封闭 30 min。使用生物素化抗地高辛抗体 37 ℃孵育 30 min,TBS 洗 3 遍,SABC 液 37 ℃孵育 30 min,TBS 洗 3 遍,DAPI 复染,封片。每张切片取 400 倍荧光显微镜下 9 个不同视野阳性细胞数,取均值。以凋亡细胞个数表示细胞凋亡程度。

1.6　免疫荧光染色胎盘组织的 GSDMD 表达

取各组孕妇分娩后新鲜胎盘组织,4%的多聚甲醛固定 15 min。切片脱蜡至水,用柠檬酸修复液高压修复 3 min,保温 30 min。双氧水孵育 30 min,含有 Tween 20 的 3%牛血清白蛋白/TBS 缓冲液封闭 2 h,一抗过夜孵育,再用 TBS 缓冲液清洗两次。第 2 天二抗孵育 30 min,用 TBS 缓冲液清洗两次,再用 1 μg/mL DAPI 复染。使用荧光显微镜(×400)、运用 Axio Vision 4.8 软件进行观测和获取图像。每次至少检验 100 个形态学完整的细胞。

1.7　Western blot 检测细胞焦亡相关因子的蛋白表达

提取胎盘组织总蛋白后,通过 BCA 法测定蛋白质浓度。按照比例加入 5×电泳加样缓冲液并置于金属浴(100 ℃)中 10 min。按每孔 30 μg 蛋白量上样,进行 SDS-PAGE 凝胶电泳(浓缩胶 80 V/40 min,分离胶 110 V/60 min),结束电泳,分离的蛋白转膜至 PVDG 膜(300 mA),5%脱脂奶粉或 5%BSA 封闭后,加入一抗。4 ℃过夜,洗膜后加入二抗,室温孵育 1 h 后洗膜,ECL 试剂盒显影,并进行统计分析。

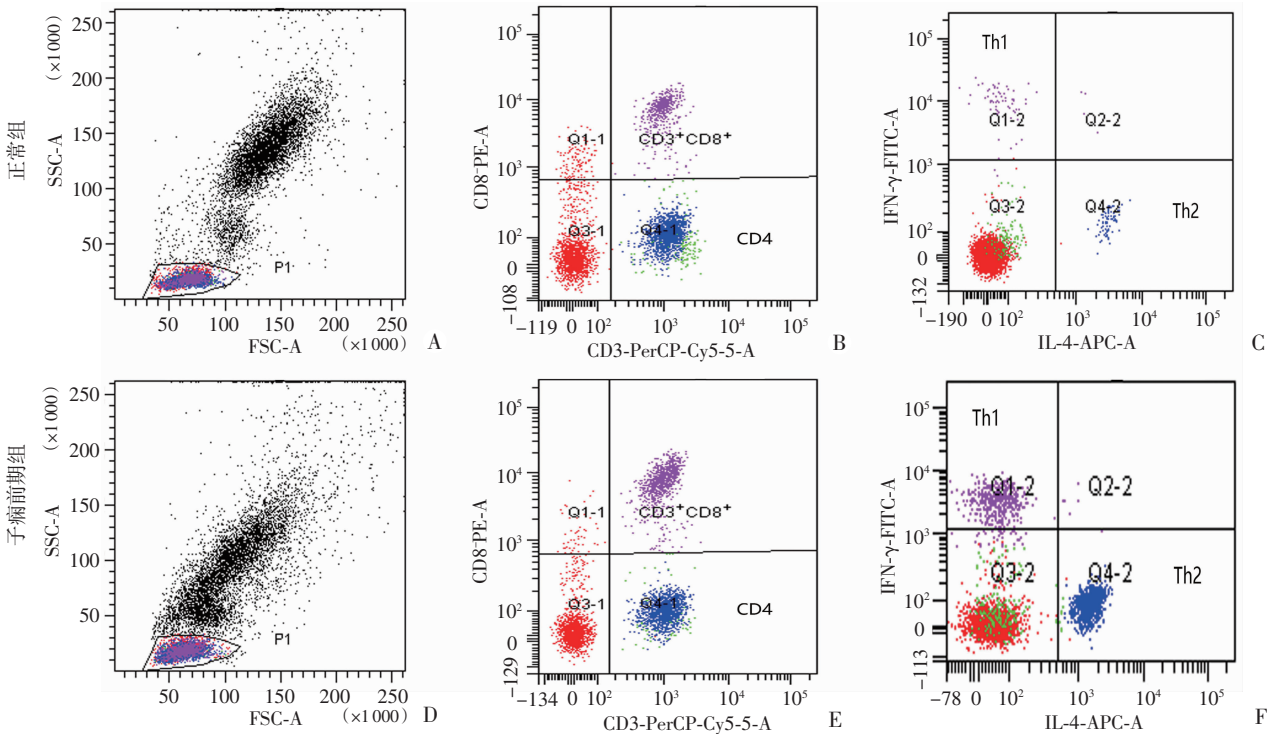
1.8　统计学处理

试验数据采用 SPSS 25.0 统计学软件进行分析。计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用 t 检验,$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结果

2.1　流式细胞仪检测抗凝血标本中 Th1、Th2 细胞比例

图 1、表 1 中显示,$CD3^+CD8^-$代表 CD4 细胞,$CD3^+CD8^-IFN\gamma^+IL4^-$表示 Th1 细胞,$CD3^+CD8^-IFN\gamma^-IL4^+$表示 Th2 细胞,子痫前期组 Th1/Th2 比值明显高于正常组,差异具有统计学意义。



A:正常组图中 P1 根据 SSC 和 FSC 圈定单个核细胞;B:正常组图中显示 CD4 细胞($CD3^+CD8^-$);C:表示正常组中 Th1、Th2 细胞的比例;D:子痫前期组图中 P1 根据 SSC 和 FSC 圈定单个核细胞;E:子痫前期组图中显示 CD4 细胞($CD3^+CD8^-$);F:表示子痫前期组中 Th1、Th2 细胞的比例

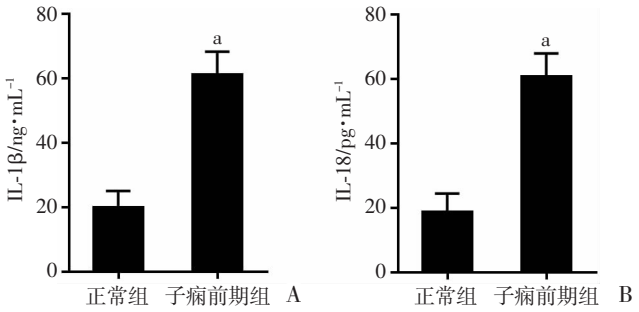
图 1　流式细胞仪检测抗凝血标本中 Th1、Th2 细胞比例

表 1 流式细胞仪检测各组孕妇晨起静脉血中 Th1、Th2 细胞的比例($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	Th1 占比	Th2 占比	Th1/Th2
正常组	30	11.67±3.27	1.60±0.28	7.57±2.67
子痫前期组	55	19.51±21.54	1.96±0.24	17.09±3.48
统计值		7.498	4.262	7.501
P		<0.01	<0.01	<0.01

2.2 EOSP 细胞焦亡相关因子 IL-1β、IL-18 高表达

细胞焦亡相关因子检测结果(图 2A、B)显示了子痫前期组的血清中 IL-1β、IL-18 的含量明显高于正常组($P<0.01$)。这个结果提示了在 EOSP 中可能出现了细胞焦亡的情况。



a:$P<0.01$,与正常组比较

图 2 ELISA 法观察血清中 IL-1β(A)、IL-18(B)的含量
(正常组 $n=30$,子痫前期组 $n=55$,$\bar{x}\pm s$)

2.3 EOSP 可见较多类似凋亡细胞

应用了 TUNEL 染色观察了胎盘组织滋养细胞 DNA 断裂的情况。结果发现(图 3 所示),相比正常妊娠孕妇(15.20±4.36),EOSP 孕妇(60.22±9.70)的胎盘组织阳性细胞的数量明显增多($P<0.01$),我们考虑该类细胞的产生与细胞焦亡有关。

2.4 EOSP 时特征性蛋白 GSDMD 高表达

我们应用了免疫荧光染色观察了 GSDMD 在胎盘组织中的表达。结果发现(图 4),相较于正常组(1.04±0.20),子痫前期组(2.31±0.40)出现了 GSDMD 的明显升高($P<0.01$)。该结果证实了 EOSP 中胎盘组织细胞焦亡的发生。

2.5 EOSP 中 Caspase-1 介导了细胞焦亡

为了验证 EOSP 与细胞焦亡的关系,我们从蛋白表达的角度检测了焦亡相关因子的表达。结果发现(图 5):和正常组相比,子痫前期组 Caspase-1(1.05±0.22 *vs* 0.28±0.10,$P<0.01$)、NLRP3(1.18±0.28 *vs* 0.58±0.17,$P<0.01$)、ASC(1.49±0.20 *vs* 1.11±0.26,$P<0.01$)、GSDMD(1.60±0.21 *vs* 0.99±0.19,$P<0.01$)出现了显著上调。该结果提示在 EOSP 时细胞焦亡的发生与 Caspase-1、NLRP3、ASC、GSDMD 的介导有关系。

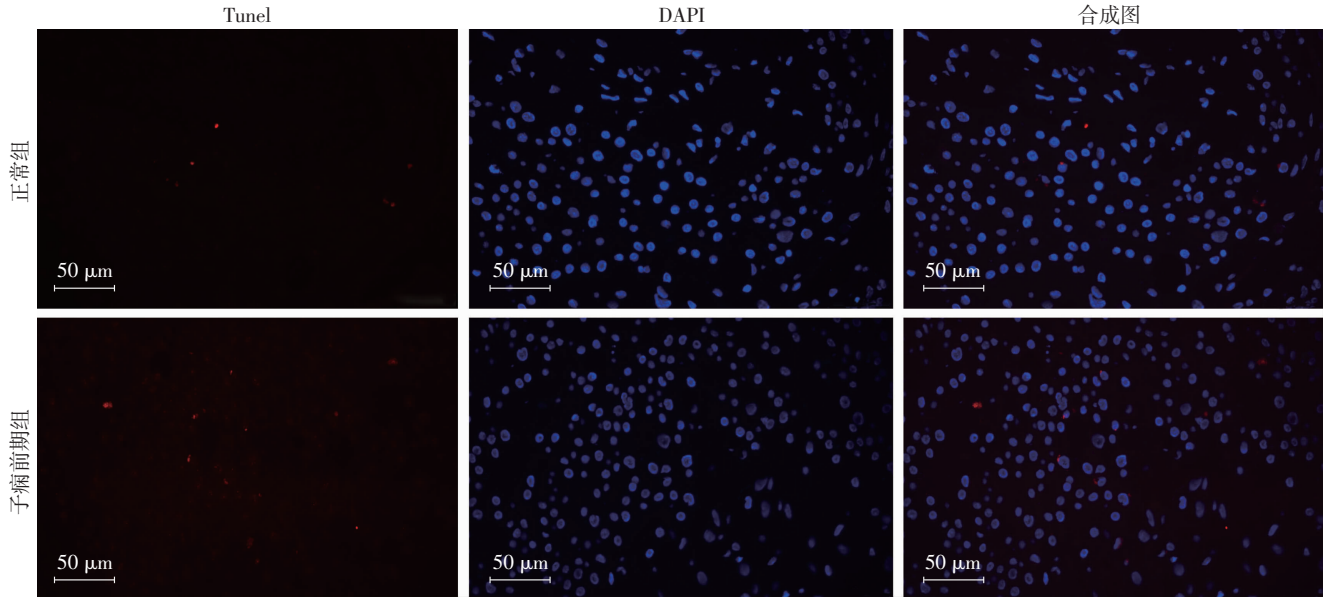


图 3 TUNEL 法染色观察胎盘组织滋养细胞焦亡情况

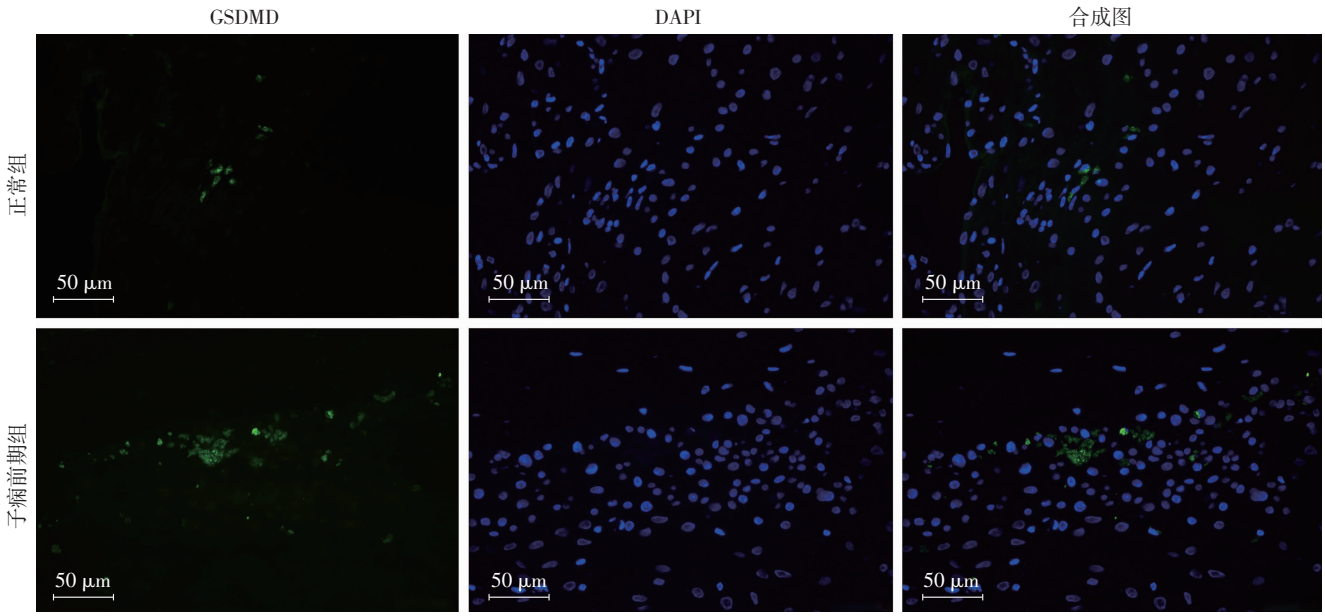
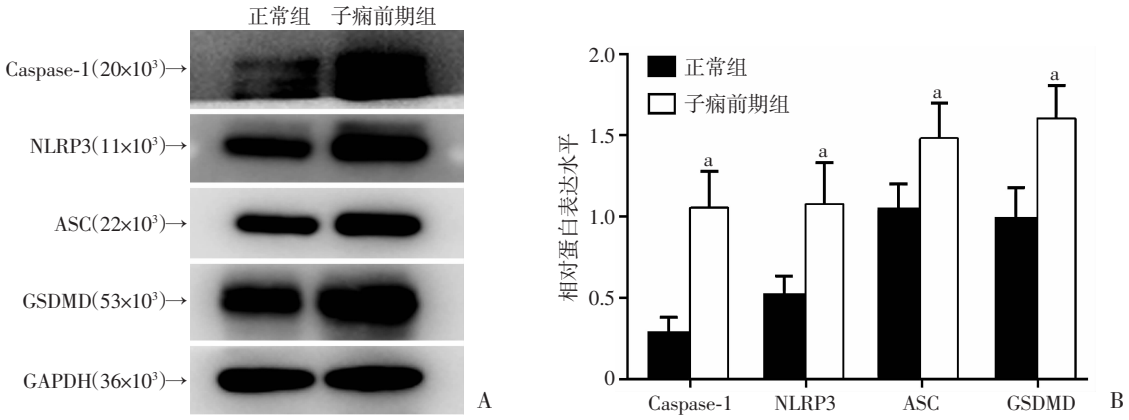


图 4 免疫荧光染色观察 GSDMD 在胎盘组织中的表达



a:$P<0.01$,与正常组比较

图 5 Wsetern Blot 法检测胎盘组织中蛋白的表达(A)及定量分析(B) (正常组 $n=30$,子痫前期组 $n=55$,$\bar{x}\pm s$)

3 讨论

子痫前期作为妊娠期高血压疾病的一种典型类型,是多种病因共同作用的综合征,目前认为的其病因主要包括:遗传因素,胎盘因素,滋养细胞侵袭等[9-10],随着子痫前期发病机制的深入研究,其二阶段模型的发病过程逐渐被认可,第一阶段,滋养细胞侵袭不良可障碍螺旋动脉重铸过程,使母胎界面血液供应不充分,这一过程因胎盘缺氧与功能异常进而分泌某些细胞因子,它们侵入母体血液循环后造成母体内皮细胞功能损伤,第二阶段,后期胎盘功能无法满足正常妊娠的需求,母胎界面长期处于缺血缺氧状态时,导致胎盘过度释放各种因子进入血液循环,引起母体血管内皮活化,炎性细胞因子大量释放,免疫系统失衡,最终导致高血压、蛋白尿等临床症状[11]。

在 EOSP 时,产生影响的辅助性 $CD4^+$T 细胞主要有两种。Th1 细胞表达 IFN-γ[12] 的 $CD4^+$的淋巴细胞,Th2 细胞为表达 IL-4 的 $CD4^+$淋巴细胞[13]。在 Th1 占据优势时,IFN-γ 抑制了 Th2 的功能,相反,在 Th2 占据优势时,IL-4 又能抑制 Th1 发挥作用。Th1/Th2 的不平衡是引起各种疾病免疫异常的重要原因[14]。在我们的试验中,在早发性子痫前期中 Th1/Th2 细胞百分比与正常组相比较明显升高意味着出现了 Th1/Th2 的失调。

细胞焦亡是由多种病原体或非感染因素刺激而产生的一种固有免疫反应,是依赖胱天蛋白酶(Caspase)

1、4、5、11、炎症小体以及 GSDMD (Gasdermin D)蛋白的一种程序性细胞死亡模式[15],不同于细胞凋亡与细胞坏死,其病理表现为细胞不断胀大直至细胞膜破裂,导致细胞内容物释放进而激活强烈的炎症反应。GSDMD 是所有 Caspase 的共同底物,能够在细胞膜上形成孔洞,是细胞焦亡途径的最后执行蛋白。Caspace 活化后可以特异性切割 GSDMD,从而使其特异性识别细胞膜上的磷脂分子并打孔,导致细胞内渗透压改变,引发细胞肿胀破裂,导致细胞焦亡[16]。炎症小体是细胞内多聚体蛋白复合物,包括结合寡聚化结构域样受体(NLRs)、ASC,其中 NLRP3 是引起细胞焦亡的最主要的炎性复合物,其可以感受各种活化信号,经 ASC 招募并激活 Caspase-1。活化的 Caspase-1 水解 IL-1β 前体、IL-18 前体,形成活性 IL-1β 与 IL-18,释放至胞外,导致细胞焦亡。

子痫前期与胎盘滋养细胞关系密切,滋养细胞能分泌炎性因子,诱导炎性活动,血管内皮出现损伤,进而导致了子痫前期的发生。曾有报道提到,子痫前期与 Caspase-1 介导的细胞焦亡有关系,并伴有 IL-1β、IL-18 高表达的特征[17]。在试验中,我们也发现了 IL-1β、IL-18 和 Caspase-1 在 EOSP 时高表达。我们考虑 EOSP 的发生与滋养细胞焦亡的关系确实存在。此外,在病理切片中也观察到了 EOSP 胎盘组织中出现了大量的类似凋亡细胞。最后,我们应用免疫荧光技术和 Western blot 技术检测了特征性焦亡相关蛋白 GDSMD 的表达,再一次印证了我们关于 EOSP 中细胞焦亡存在的想法。但也有观点认为,IL-18 等的升高是肝肾功能损伤导致的[18]。

经过了多角度的研究,我们认为早发性子痫前期的发生与细胞焦亡密不可分。而对于细胞焦亡的产生机制,我们考虑是由于胎盘滋养细胞分泌了 IFN-γ 等炎症因子引起的免疫反应,而不同炎症因子分泌量的变化是由于 Th1/Th2 不平衡所导致的。所以我们认为 Th1/Th2 的失衡对 EOSP 中的细胞焦亡有一定的影响,那么在临床中如何针对 Th1/Th2 失衡防治早发性子痫前期还需要更多的研究来验证。

参考文献:

[1] LE Y P, YE J, LIN J H. Expectant management of early-onset severe preeclampsia: a principal component analysis [J]. Ann Transl Med, 2019, 7(20): 519. DOI:10.21037/atm.2019.10.11.

[2] NGWENYA S, JONES B, MWEMBE D, *et al*. Early onset severe preeclampsia and eclampsia in a low-resource setting, Mpilo Central Hospital, Bulawayo, Zimbabwe[J]. BMC Res Notes, 2019, 12(1): 822. DOI:10.1186/s13104-019-4865-0.

[3] 胡海洋, 肖凤, 肖智勇, 等. 缺氧复氧诱导神经细胞焦亡的研究进展[J]. 神经解剖学杂志, 2020, 36(6): 693-696. DOI:10.16557/j.cnki.1000-7547.2020.06.017.
HU H Y, XIAO F, XIAO Z Y, *et al*. The research progress of hypoxia and reoxygenation induced nerve cells pyroptosis [J]. Chin J Neuroanat, 2020, 36(6): 693-696. DOI:10.16557/j.cnki.1000-7547.2020.06.017.

[4] 孙白云, 乔东艳, 于红. 滋养细胞焦亡与子痫前期发病机制的研究进展[J]. 国际妇产科学杂志, 2017, 44(6): 610-613, 625. DOI:10.3969/j.issn.1674-1870.2017.06.002.
SUN B Y, QIAO D Y, YU H. The pyroptosis of trophoblast in relation to preeclampsia[J]. J Int Obstet Gynecol, 2017, 44(6): 610-613, 625. DOI:10.3969/j.issn.1674-1870.2017.06.002.

[5] SHI J, ZHAO Y, WANG K, *et al*. Cleavage of GSDMD by inflammatory caspases determines pyroptotic cell death[J]. Nature, 2015, 526(7575): 660-665. DOI:10.1038/nature15514.

[6] 张力杰, 陈明, 朱伟东. 良性前列腺增生患者前列腺组织及外周血 Th1/Th2/Th17 及相关细胞因子多参数检测的临床意义[J]. 中国免疫学杂志, 2020, 36(24): 3030-3035. DOI:10.3969/j.issn.1000-484X.2020.24.017.
ZHANG L J, CHEN M, ZHU W D. Significance of multi-parameter detection of Th1/Th2/Th17 cells and related cytokines of prostate tissue and peripheral blood in benign prostatic hyperplasia[J]. Chin J Immunol, 2020, 36(24): 3030-3035. DOI:10.3969/j.issn.1000-484X.2020.24.017.

[7] 杨华, 赵璐. Th1/Th2 平衡调控对妇产科疾病影响的研究进展[J]. 国际妇产科学杂志, 2018, 45(5): 579-581, 600. DOI:10.3969/j.issn.1674-1870.2018.05.023.
YANG H, ZHAO L. Research progress on the effects of Th1/Th2 balance regulation on gynecological and obstetrical diseases[J]. J Int Obstet Gynecol, 2018, 45(5): 579-581, 600. DOI:10.3969/j.issn.1674-1870.2018.05.023.

[8] SOUTHCOMBE J H, REDMAN C W, SARGENT I L, *et al*. Interleukin-1 family cytokines and their regulatory proteins in normal pregnancy and pre-eclampsia[J]. Clin Exp Immunol, 2015, 181(3): 480-490. DOI:10.1111/cei.12608.

[9] MOJIRI-FORUSHANI H, HEMMATI A A, KHODADADI A, *et al*. Valsartan attenuates bleomycin-induced pulmonary

fibrosis by inhibition of NF-κB expression and regulation of Th1/Th2 cytokines[J]. Immunopharmacol Immunotoxicol, 2018, 40(3): 225-231. DOI:10.1080/08923973.2018.1431924.

[10] LOUWEN F, MUSCHOL-STEINMETZ C, REINHARD J, *et al*. A lesson for cancer research: placental microarray gene analysis in preeclampsia[J]. Oncotarget, 2012, 3(8): 759-773. DOI:10.18632/oncotarget.595.

[11] DUSSE L M, RIOS D R, PINHEIRO M B, *et al*. Pre-eclampsia: relationship between coagulation, fibrinolysis and inflammation[J]. Clin Chim Acta, 2011, 412(1/2): 17-21. DOI:10.1016/j.cca.2010.09.030.

[12] GONNELLA D. The Th1 chemokine MIG in Graves' ophthalmopathy[J]. Clin Ter, 2019, 170(5): e368-e372. DOI:10.7417/CT.2019.2162.

[13] STARK J M, TIBBITT C A, COQUET J M. The metabolic requirements of Th2 cell differentiation[J]. Front Immunol, 2019, 10: 2318. DOI:10.3389/fimmu.2019.02318.

[14] MORIYAMA M, NAKAMURA S. Th1/Th2 immune balance and other T helper subsets in IgG4-related disease[J]. Curr Top Microbiol Immunol, 2017, 401: 75-83. DOI: 10.1007/82_2016_40.

[15] 刘超, 高嘉良, 王阶. 冠心病细胞焦亡的分子机制及其新药靶点的研究进展[J]. 医学综述, 2021, 27(2): 246-252. DOI:10.3969/j.issn.1006-2084.2021.02.007.
LIU C, GAO J L, WANG J. Research progress in molecular mechanism of pyroptosis in coronary heart disease and its new drug targets[J]. Med Recapitul, 2021, 27(2): 246-252. DOI:10.3969/j.issn.1006-2084.2021.02.007.

[16] KUANG S, ZHENG J, YANG H, *et al*. Structure insight of GSDMD reveals the basis of GSDMD autoinhibition in cell pyroptosis[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2017, 114(40): 10642-10647. DOI:10.1073/pnas.1708194114.

[17] 乔东艳, 孙白云, 虞天一, 等. 早发型子痫前期患者血清细胞焦亡相关因子的表达及临床分析[J]. 东南大学学报(医学版), 2019, 38(1): 145-149. DOI:10.3969/j.issn.1671-6264.2019.01.030.
QIAO D Y, SUN B Y, YU T Y, *et al*. Expression and clinical analysis of serum cytokine of pyroptosis in early-onset preeclampsia[J]. J Southeast Univ Med Sci Ed, 2019, 38(1): 145-149. DOI:10.3969/j.issn.1671-6264.2019.01.030.

[18] 毕书琴, 张欢欢. 重度子痫前期患者血清 sFlt 1、PLGF、vWF、TSP-1、IL-18 及 IL-10 的水平变化分析[J]. 试验与检验医学, 2017, 35(5): 776-779. DOI:10.3969/j.issn.1674-1129.2017.05.051.
BI S Q, ZHANG H H. Analysis of changes of serum sFlt 1, PLGF, vWF, TSP-1, IL-18 and IL-10 in patients with severe preeclampsia[J]. Exp Lab Med, 2017, 35(5): 776-779.

(**收稿**:2021-07-23;**修回**:2021-11-04)

(编辑 邓强庭)