维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号:0253－3626(2003)04－0500－03

主动免疫治疗复发性自然流产的免疫功能监测

曾品鸿，丘 彦，桂文武，刘 敬，刘淑文，周永芳，王富兰

(重庆医科大学临床学院妇产科，重庆 400016)

【摘 要】目的：观察复发性自然流产(recurrent spontaneous abortion，RSA)患者主动免疫治疗前后细胞免疫功能的变化情况，探讨主动免疫对 RSA 的疗效。方法：采用小剂量丈夫淋巴细胞皮内注射治疗 RSA32 例，观察其局部皮肤反应及治疗前后外周血 CD_4、CD_8 细胞和 CD_4/CD_8 的变化。结果：局部皮肤反应随免疫次数的增加而逐渐减轻，首次免疫与末次免疫后皮肤反应面积比较，差异有显著性($P<0.001$)，妊娠结局良好。主动免疫治疗前后 CD_4 细胞百分比无明显改变($P>0.05$)，而 CD_8 细胞百分比治疗后有明显升高($P<0.05$)，CD_4/CD_8 比率明显下降($P<0.001$)。结论：局部皮肤反应联合细胞免疫功能测定可以有效地监测主动免疫治疗效果，提高免疫治疗的成功率。

【关键词】复发性自然流产；免疫疗法；皮肤反应；细胞免疫

【中国图书分类法分类号】R714.21；R457.2 【文献标识码】A 【收稿日期】2002－03－24

The observation of treatment of recurrent spontaneous abortion by active immunotherapy

ZENG Pinhong, et al

(*Department of Obstetrics and Gynecology, College of Clinical Medicine, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To observe the changes of cellular immunity after the therapy and investigate the effect of the treatment of recurrent spontaneous abortion by active immunotherapy. *Methods*: 32 cases with RSA were treated by their husbands' lymphocyte and were observed the local skin reaction. The changes of the serum CD_4, CD_8 cell and the ratio of CD_4/CD_8 before and after the active immunotherapy were observed simultaneously. *Results*: The local skin reactions were gradually alleviated by the active immunotherapy. The skin reaction area of the last therapy were remarkablely different from that of the first therpy time ($P<0.001$), and the pregnant results after therpy are satisfactable. The percentage of CD_4 cell had no significant change after the treatment($P>0.05$), but the percentage of CD_8 cell was higher significantly ($P<0.05$) and the ratio of CD_4/CD_8 was decreased remarkably after theactive immunotherapy ($P<0.001$). *Conclusion*: Application of local skin reaction combined with cellular immunity could effectively inspect the effect of active immunotherapy, and raise the success rate of treatment.

【Key words】Recurrent spontaneous abortion; Immunotherapy; Skin reaction; Cellular immunity

复发性自然流产(Recurrent Spontaneous Abortion)又称习惯性流产，(habitual abortion)是指自然流产次数连续发生 3 次或以上者。其病因十分复杂，除染色体异常、内分泌、感染、母子血型不合及子宫畸形等因素外，约 50%～60% 与免疫因素密切相关，其中约 1/3 与自身抗体特别是抗心磷脂抗体有关，这部分患者是一种自身免疫疾病；约 2/3 与孕期母体对胎儿父系抗原呈低反应，以致无法产生足够的保护性或封闭抗体而胎儿遭排斥，所以这种类型可能是一种同种免疫疾病[1]。对同种免疫疾病有学者提出丈夫淋巴细胞皮下注射主动免疫疗法，以刺激母体产生封闭抗体(blocking antibody，BA)，诱导 CD_8 细胞增殖，产生免疫耐受[2,3]。本研究即为 32 名 RSA 患者定期注射小剂量丈夫淋巴细胞，观察局部皮肤反应及治疗前后 CD_4、CD_8、CD_4/CD_8 的变化，确定免疫治疗的疗效。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选择 1999～2001 年辅助生殖中心门诊就诊的曾发生连

作者介绍：曾品鸿(1969－)，女，主治医师，硕士，主要研究方向：不孕症治疗及人工辅助生殖技术。

维普资讯 http://www.cqvip.com

续 3 次或 3 次以上流产患者共 41 人,年龄 24～34 岁,平均年龄 28.95 岁。治疗前常规双方检查除外感染、内分泌、遗传、血型、生殖器官异常、自身免疫等因素疾病。行主动免疫治疗后局部皮肤红肿硬结增大＞5mm 为(＋),共 32 例作为同种免疫疾病所致流产者入选,进行下一次治疗。

1.2 治疗方法

取丈夫静脉血 20ml(抗凝),常规分离,提取淋巴细胞,洗涤 2 次,调整细胞总数为 30×10^6 个丈夫淋巴细胞(约 0.5ml)[4],分别于患者双手臂内侧作皮内注射 2 个皮丘,皮丘间距 4cm。两周后重复 1 次;皮肤反应严重者,单个皮丘＞4cm 即皮丘发生融合者,延迟至 3 周后再重复治疗。一般 2～3 次治疗,早孕后加强 1 次。

1.3 观察指标

1.3.1 局部皮肤反应

患者手臂内侧注射部位产生红肿硬结,分别于注射后 24h 和 48h 测量纵径(a)和横径(b),计算 4 个注射点的红肿面积,公式如下:红肿面积 $=\pi/4a_1b_1+\pi/4a_2b_2+\pi/4a_3b_3+\pi/4a_4b_4$[5],再将二次测量所得计算面积相加作为一次免疫后的局部皮 肤反应红肿面积,以此衡量局部皮肤反应的程度。

1.3.2 细胞免疫功能测定

分别于第一次主动免疫前及疗程结束后 7～10 天抽取患者静脉血,采用碱性磷酸酶桥联酶标法(APAAP)(试剂购置于北京邦定泰克公司),测定 CD_4、CD_8 及 CD_4/CD_8。

1.4 统计学方法

采用配对 t 检验对治疗前后结果进行统计学分析,$P<0.05$ 认为有显著性差异。

2 结 果

2.1 局部皮肤反应程度

32 例中 29 例(90.6%)免疫治疗后皮肤红肿面积随治疗次数的增加而缩小,3 例没有缩小。首次免疫治疗后皮肤红肿面积为 $36.81\pm10.41cm^2$,末次免疫治疗后皮肤红肿面积为 $20.12\pm7.81cm^2$,二者比较,差异显著($P<0.001$)。

2.2 细胞免疫功能测定见表 1

主动免疫治疗前后 CD_4 细胞的百分比无明显变化,差异无显著性($P>0.05$),而 CD_8 细胞百分比明显高于治疗前($P<0.05$),CD_4/CD_8 比率显著低于免疫治疗前($P<0.001$)。

表 1 患者免疫治疗前后 CD_4、CD_8、CD_4/CD_8 的变化

组别	n	CD_4%	CD_8%	CD_4/CD_8%
治疗前	32	40.7	27.6	1.86
治疗后	32	41.8	31.1*	1.43**

*:$P<0.05$,**:$P<0.001$

2.3 妊娠结果

32 例中,16 例已足月分娩,2 例妊娠中,4 例妊娠早期再次发生自然流产(其中 3 例局部皮肤红肿面积无明显缩小,CD_8 细胞升高不显,均为 2 次治疗后即妊娠,患者坚决放弃治疗),10 例尚未妊娠,治疗后妊娠成功率 81.8%。已出生新生儿中,外观无畸型,Apgar 评分均正常,无新生儿发育异常、低体重等,智力发育正常。

3 讨 论

近年随着生殖免疫研究的不断发展,发现原因不明性的反复自然流产大多与免疫异常有关[6],即人类白细胞抗原有关,RSA 夫妇含有相同 HLA 抗原的频率高于正常夫妇[7,8],过多的共有抗原可阻止母体对妊娠作为异体抗原的辨认,不能刺激母体产生维持妊娠所需的抗体,由于缺乏抗体的调节作用,母体免疫系统易对胎儿产生免疫攻击而导致流产[7]。目前多采用主动免疫治疗 RSA[9]。

对 RSA 患者进行小剂量丈夫淋巴细胞免疫治疗的有效性已经得到肯定,对其疗效的监测标准通常应用下列 3 种方法[10]:①补体依赖性微量细胞毒性试验(CDC)以监测被免疫患者是否产生封闭抗体,但国内研究发现,CDC 阳转者,再次妊娠的预后并非一定就好[11];②夫妇间淋巴细胞混合培养;③皮肤迟发型反应。也可通过检测 T 辅助细胞 1、2 型细胞因子,但有研究显示结果偏差较大,且需检测的因子比较多[12,13];我们采用免疫治疗后局部皮肤反应程度变化结合细胞免疫功能监测免疫治疗效果,方法简便,较为切实可行和可靠的。与国内其它研究相似,我们发现末次免疫后皮肤红肿面积与首次免疫后的皮肤红肿面积相比,差异有显著性($P<0.001$)[11]。其机制可能是诱导患者免疫系统的迟发型过敏反应——抑制 T 细胞,产生免疫耐受。皮肤反应随治疗次数的增加而逐渐减轻,表明患者对丈夫的抗原反应降低,已产生免疫耐受,可防止再次流产[14]。治疗 32 例中,其中 16 例已足月分娩,2 例晚期妊娠,4 例妊娠早期再次发生自然流产,治疗后妊娠成功率 81.8%,与国内报道一致(70%～90%)[1,11]。主动免疫刺激母体体液免疫系统产生保护性抗体,封闭母体免疫系统对胚胎的攻击;同时诱导 CD_8 细胞增殖,导致 CD_4/CD_8 比率下降,产生

维普资讯 http://www.cqvip.com

免疫耐受[2,3,15]。林其德[1]提出,子宫内膜 T 细胞主要为 CD_8 细胞,CD_8^+ T 细胞可分为 Tc1 和 Tc2 细胞,Tc1 可分泌 Th1 型细胞因子(IL-2,IFN-γ,TNF-β 及 TNF-α),促进细胞免疫,导致妊娠失败;Tc2 可分泌 Th2 型细胞因子(IL-4,IL-5,IL-10,IL-13),有利于妊娠。主动免疫治疗后 CD_8 细胞增殖,可能主要是分泌 Th2 型细胞因子的 Tc2 的增殖,从而促进 Th1、Th2 型细胞因子的平衡向 Th2 型细胞因子转换,从而进一步诱导免疫耐受,使妊娠得以继续维持。本组免疫功能测定显示,CD_8 细胞百分比升高($P<0.05$),CD_4/CD_8 比率明显下降($P<0.001$),可能 CD_8 细胞释放的抑制因子是患者治疗后血清中抑制因子的主要成分。因此观察局部皮肤反应的基础上增加免疫功能的测定来评价主动免疫治疗的疗效,将更加客观准确,可帮助我们较准确地判定主动免疫的治疗效果,从而降低免疫治疗失败率,提高 RSA 患者的再次妊娠成功率。

参 考 文 献

[1] 张丽珠,主编.临床生殖内分泌与不孕症[M].北京:科学出版社,2001;204.

[2] Bebar R, Carph H, Livneh A, et al. Differential suppression activity induced by paternal leukocyte immunization in habitual abortion[J]. Gynecol Obstet Invest, 1993;36:202.

[3] King A, Loke Y W. Uterine large granular lymphocytes: a possible role on embroyonic implantation[J]. Am J Obstet Gynecol, 1990;162:308.

[4] 林其德,周涵春,赵爱民,等.原因不明性习惯性流产的免疫学诊断及治疗[J].中华妇产科杂志,1993;28:143.

[5] 藤井知行,高见泽胜,川名尚,等.用丈夫淋巴细胞对早期习惯流产免疫疗法的评价及研究[J].日本产科妇人科学会杂志,1989;41(2):115.

[6] Gafter U, Sredni B, Segal J, et al. Suppressed cell-mediated immunity and natural killer cell activity following allogeneic immunization of women with spontaneous recurrent abortion [J]. J Clin Immunol, 1997;17(5):408.

[7] Beer A E, Quebbeman J F, Ayers J W, et al. Major histocompatibility complex antigens, maternal and paternal human [J]. Am J Obstet Gynecol, 1981;141(8):987.

[8] Gill T J. Immunogenetics of spontaneous abortion in humans[J]. Transplantation, 1983;35(1):1.

[9] Sugi T, Makino T, Naruyama T, et al. Influence of immunotherapy on antisperm antibody titer in unexplained recurrent aborters[J]. Am J Reprod Immunol, 1993;29:95.

[10] 郑怀美,主编.现代妇产科学[M].上海:上海第二医科大学出版社,1998;141.

[11] 叶嘉玲,陈巧儿,黄振球,等.免疫治疗反复自然流产患者的局部皮肤反应与其疗效的关系[J].广东医学,2001;22(1):34.

[12] 赵爱民,林其德.Th1/Th2 细胞因子与复发性流产相关[J].上海第二医科大学学报,2000;20.

[13] 邱丽华,林其德,洪 燕,等.原因不明习惯性流产患者主动免疫治疗前后 T 辅助细胞 1、2 型细胞因子的变化[J].中华妇产科杂志,2001;(7):408.

[14] 罗丽兰,主编.生殖免疫学[M].武汉:湖北科学技术出版社,1998;75.

[15] Ramhorst R, Agriello E, Zittermann S. Is the paternal mononuclear cells' immunization a successful treatment for recurrent spontaneous abortion[J]. Am J Reprod Immunol, 2000;44(3):129.