

本文引文格式:孙利娟,刘丽霞.环孢素 A 联合淋巴细胞主动免疫对 URSA 患者血清 T 细胞亚群、激素水平及 ACA 抗体水平的影响[J].右江民族医学院学报,2021,43(1):56-59.

【论著与临床报道】

环孢素 A 联合淋巴细胞主动免疫对 URSA 患者血清 T 细胞亚群、激素水平及 ACA 抗体水平的影响

孙利娟,刘丽霞

(河南省鹤壁市人民医院妇产科,河南 鹤壁 458030)

摘要:目的 探究环孢素 A(CsA)联合淋巴细胞主动免疫(LIT)对原因不明复发性流产(URSA)患者血清 T 细胞亚群、激素水平及抗心磷脂抗体(ACA)水平的影响。方法 选取我科 2017 年 10 月—2019 年 10 月期间 87 例 URSA 患者,根据随机数字表法分组。基础治疗采用低分子肝素钙,对照组 43 例给予 LIT 治疗,观察组 44 例增加 CsA 治疗,对比两组患者血清 T 细胞亚群:CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺;激素水平:血清人绒毛膜促性腺激素(HCG)、孕激素(P)、雌二醇(E2);ACA 抗体(ACA-IgM、ACA-IgG)水平;不良反应;妊娠结局。结果 治疗后观察组 CD8⁺、ACA-IgM、ACA-IgG 水平、早期流产率低于对照组,CD3⁺、CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺、HCG、P、E2 水平、临床妊娠率高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。观察组不良反应发生率 11.36% 高于对照组 9.30%,差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论 CsA 联合 LIT 治疗 URSA 患者,可有效改善免疫功能,提高孕激素水平,降低 ACA 抗体水平,药物安全性高,提升妊娠率。

关键词:环孢素 A;淋巴细胞主动免疫;原因不明复发性流产;抗心磷脂抗体

中图分类号:R714.21

文献标识码:A

文章编号:1001-5817(2021)01-0056-04

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2021.01.012

Effects of cyclosporine A combined with active lymphocyte immunotherapy on serum T cell subsets, hormone levels and ACA levels in patients with URSA

Sun Lijuan, Liu Lixia

(Department of Obstetrics and Gynecology, Hebi People's Hospital, Hebi 458030, Henan, China)

Abstract: **Objective** To explore the effect of cyclosporin A (CsA) combined with active lymphocyte immunotherapy (LIT) on serum T cell subsets, hormone levels and anticardiolipin antibody (ACA) levels in patients with unexplained recurrent spontaneous abortion (URSA). **Methods** A total of 87 URSA patients visiting our department from October 2017 to October 2019 were selected and grouped according to the random number table. Low-molecular-weight heparin calcium was used as basic treatment. The control group ($n = 43$) were treated with LIT, and the observation group ($n = 44$) were treated with CsA combined with LIT. We compared the serum T cell subsets (CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD4⁺/CD8⁺), hormone levels [serum human chorionic gonadotropin (HCG), progesterone (P) and estradiol (E2)], ACA levels (ACA-IgM, ACA-IgG), adverse reactions and pregnancy outcomes between two groups. **Results** After treatment, the observation group had lower levels of CD8⁺, ACA-IgM, ACA-IgG and early abortion rate and higher levels of CD3⁺,

CD4⁺, CD4⁺/CD8⁺, HCG, P, E2 and clinical pregnancy rate than the control group, with statistically significant differences ($P < 0.05$). The incidence of adverse reactions of the observation group (11.36%) was higher than that of the control group (9.30%), showing no statistically significant difference ($P > 0.05$). **Conclusion** The combination of CsA and LIT can effectively improve the immune function, increase progesterone levels and reduce ACA antibody levels. It can enhance the safety of the drug and pregnancy rate in the treatment of URSA patients.

Key words: cyclosporine A; active lymphocyte immunotherapy; unexplained recurrent spontaneous abortion; anticardiolipin antibody

复发性流产 (recurrent spontaneous abortion, RSA) 是临床上常见的病理性妊娠疾病, 发生 2 次或 2 次以上的流产大约占生育期妇女的 5%, 发生 3 次或 3 次以上的流产约占 1%, 大约 50% 的 RSA 患者病因不明, 称之为原因不明复发性流产 (unexplained recurrent spontaneous abortion, URSA)^[1]。RSA 发病机制和病因尚不明确, 可能与生殖免疫功能紊乱、内分泌异常、遗传因素、感染等因素相关。目前临床上对 RSA 病因明确的患者采用针对性治疗, 但对 URSA 的患者常以传统经验进行治疗^[2]。淋巴细胞主动免疫 (lymphocyte immunotherapy, LIT) 是通过抑制母体对胎儿免疫排斥反应, 对 URSA 疾病具有一定疗效。环孢素 A 环孢素 (cyclosporine, CsA) 具有抑制自身免疫反应的效果, 通过母体对胚胎排斥反应进行抑制, 使滋养细胞生长, 进而达到治疗目的^[3]。鉴于此, 本文旨在观察 CsA 和 LIT 联合使用对 URSA 患者的疗效, 现将结果报告如下:

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取我科 2017 年 10 月—2019 年 10 月期间 87 例 URSA 患者作为研究对象, 根据随机数字表法分组, 分为对照组和观察组。对照组 43 例, 年龄在 24~30 岁, 平均 (27.01±1.20) 岁, 流产次数 2~4 次, 平均 (3.00±0.14) 次; 观察组 44 例, 年龄在 25~31 岁, 平均 (28.00±1.21) 岁, 流产次数 3~5 次, 平均 (4.01±0.12) 次。纳入标准: 所有患者均符合 RSA 诊断标准^[4], 经检查未明确发病机制为 URSA, 染色体正常, 经宫腔镜检查宫腔形态正常。所有患者及家属知情并签订知情同意书, 经我院医学伦理委员会同意。排除标准: 合并心肾肝功能异常、恶性肿瘤、免疫性系统疾病、精神疾病、生殖器官异常、严重感染, 对本研究药物过敏者。两组患者一般资料对比, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

1.2 方法 两组患者均以低分子肝素钙为基础治疗, 低分子肝素钙注射液 (生产厂家: Sanofi Winthrop Industrie, 国药准字: J20040119, 规格: 0.6 ml) 皮下注射, 每次 4000 IU, 1 次/天, 持续治疗至妊娠 3 个月后。

对照组给予 LIT 治疗, 采取丈夫空腹静脉血 15~30 ml, 将 25 ml 肝素钠和 25 ml 生理盐水加入血液中, 采用 Ficoll 密度梯度离心, 分离出淋巴细胞, 使用无菌生理盐水洗涤 3 次, 将其制作成淋巴细胞悬液, 细胞浓度调整为 (3~4) × 10⁷ 个/毫升。在患者前臂内侧注射淋巴细胞悬液 6~8 点, 0.2~0.3 毫升/点, 每次间隔 3~4 周治疗 1 次, 4 次为 1 个疗程。观察组在此基础上增加 CsA 治疗, 环孢素软胶囊 (生产厂家: 仙乐健康科技股份有限公司, 国药准字: H20058147, 规格: 25 mg) 口服, 2~4 mg/kg, 2 次/天, 从月经结束开始服用至月经来潮停止服用, 妊娠第 10 周停止服用, 定期检查血 CsA 含量, 药物浓度维持在 90~150 mg/L。

1.3 观察指标 ①血清 T 细胞亚群: 治疗前后分别抽取患者空腹静脉血 3 ml 置于肝素钠抗凝管内离心, 分离血清, 采用美国 BD 公司 FACS Calibur 流式细胞检测仪检测 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺。②激素水平: 治疗前后分别抽取患者空腹静脉血 2~3 ml 置于促凝管内以 3000 r/min, 10 min 离心, 分离血清, 采用化学发光法检测血清人绒毛膜促性腺激素 (HCG)、孕激素 (P)、雌二醇 (E2)。③抗心磷脂抗体 (ACA) 水平: 治疗前后抽取患者静脉血分离血清, 采用酶联免疫吸附法检测 ACA-IgM、ACA-IgG 水平。④不良反应: 在治疗过程中观察并记录患者出现恶心呕吐、出血、皮周感染不良反应及不良反应发生率。⑤妊娠结局: 记录两组患者临床妊娠率、早期流产率。

1.4 统计学方法 将本研究 87 例 URSA 患者治疗前后数据采用 SPSS 21.0 统计软件分析, 计数资料数据用 (%) 表示, 比较用 χ^2 检验, 计量资料数据用 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 比较用 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者治疗前后血清 T 细胞亚群水平对比 治疗前两组患者 T 细胞亚群水平差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 治疗后观察组 CD8⁺ 低于对照组, CD3⁺、CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺ 水平高于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1。

表1 T细胞亚群水平对比

组别	n	CD3 ⁺		CD4 ⁺		CD8 ⁺		CD4 ⁺ /CD8 ⁺	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
观察组	44	39.22±9.17	57.31±10.35 ^a	41.36±8.20	55.19±8.56 ^a	40.16±5.22	31.79±3.28 ^a	1.02±0.55	1.74±0.67 ^a
对照组	43	39.25±9.23	48.27±10.24 ^a	41.38±8.24	47.64±8.61 ^a	40.12±5.20	35.44±3.27 ^a	1.03±0.57	1.34±0.68 ^a
t		0.015	4.090	0.011	4.101	0.036	5.197	0.083	2.764
P		0.494	<0.001	0.496	<0.001	0.486	<0.001	0.467	0.004

注:①表内计量资料数据以($\bar{x}\pm s$)表示;②与同组治疗前比较,a: $P < 0.05$ 。

2.2 两组患者治疗前后激素水平对比 治疗前两组患者激素水平差异无统计学意义($P > 0.05$),治疗后

观察组 HCG、P、E2 水平高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.001$)。见表2。

表2 激素水平对比

组别	n	HCG/(IU·L ⁻¹)		P/(ng·ml ⁻¹)		E2/(ng·ml ⁻¹)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
观察组	44	921.35±20.66	7018.54±65.14 ^a	11.57±1.52	37.95±2.73 ^a	245.17±63.59	613.47±80.49 ^a
对照组	43	925.41±20.76	6364.30±64.04 ^a	11.59±1.50	30.41±2.64 ^a	247.20±65.62	421.24±79.55 ^a
t		0.914	47.230	0.062	13.091	0.147	11.202
P		0.182	<0.001	0.475	<0.001	0.442	<0.001

注:①表内计量资料数据以($\bar{x}\pm s$)表示;②与同组治疗前比较,a: $P < 0.05$ 。

2.3 两组患者治疗前后 ACA 抗体水平对比 治疗前两组患者 ACA 抗体水平差异无统计学意义($P > 0.05$),治疗后观察组 ACA-IgM、ACA-IgG 水平低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.001$)。见表3。

表3 ACA 抗体水平对比

组别	n	ACA-IgM		ACA-IgG	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
观察组	44	17.54±5.36	9.49±4.13 ^a	18.61±7.10	10.02±6.18 ^a
对照组	43	17.56±5.38	12.88±4.17 ^a	18.62±7.11	15.27±6.23 ^a
t		0.017	3.810	0.007	3.946
P		0.493	<0.001	0.497	<0.001

注:①表内计量资料数据以($\bar{x}\pm s$)表示;②与同组治疗前比较,a: $P < 0.05$ 。

2.4 两组患者不良反应及妊娠结局对比 观察组发生恶心呕吐2例,出血1例,皮周感染2例,其不良反应发生率为11.36%;对照组发生恶心呕吐2例,出血1例,皮周感染1例,其不良反应发生率为9.30%;两组患者不良反应发生对比,差异无统计学意义($\chi^2 = 0.001, P = 0.971$)。观察组临床妊娠率为81.82%(36/44),早期流产率为4.55%(2/44);对照组临床妊娠率为46.51%(20/43),早期流产率为23.26%(10/43);两组对比差异有统计学意义($\chi^2 = 11.820, P < 0.001; \chi^2 = 6.403, P = 0.011$)。

3 讨论

RSA 属于一种不育症,在妇产科较为常见,也是妊娠期妇女的并发症之一,大多数患者发病原因尚不明确,称为 URSA。有研究显示,URSA 患者可能与父亲染色体异常、内分泌疾病、微量元素缺乏、ACA 抗体综合征等因素相关,但50%的RSA患者与免疫系统疾病相关^[5]。T细胞在自身免疫系统中具有重要作用,妊娠期缺少可造成母亲对胚胎的免疫耐受力降低,进而刺激免疫系统对胚胎进行攻击,最终导致流产。发生辅助性T淋巴细胞和调节性T淋巴细胞表达紊乱时,会高度出现URSA疾病。母体和胚胎的免疫耐受遭遇破坏等多种免疫因素是造成URSA疾病发生的最关键原因^[6]。因此,在母体建立良好的免疫耐受环境,防止蜕膜免疫应答、保护胚胎是妊娠成功的最重要治疗前提。

URSA患者在妊娠过程中,免疫调节机制会产生巨大变化,使免疫抑制作用增强,免疫排斥反应减低;在正常状态下,免疫排斥反应和免疫抑制作用应处于平衡状态,如两者失衡,母体免疫功能将发生异常,出现流产情况^[7]。本研究显示,对照组HCG、P、E2均高于治疗前,低分子肝素钙通过对血管内皮生长因子1受体调节,可降低血管舒张压和收缩压,提高子宫内血流灌注,促进胎盘血管生成;其还具有免疫调节的作用,可调节滋养细胞增殖和侵袭力,调控滋养细胞凋亡进程中的关键酶活性,降低血液中自然杀伤细胞,起到

保护胚胎和血管重塑作用,进而使患者孕激素水平提高^[8-9]。本研究显示,对照组 CD3⁺、CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺ 高于治疗前,CD8⁺ 低于治疗前,LIT 可维持患者机体正常免疫状态,是通过反复注射丈夫外周血淋巴细胞,对母体免疫功能刺激生成耐受环境,产生有助于胚胎存活的封闭抗体,抗体水平提高可改善妊娠结局。其通过抑制 NK 细胞和 T 细胞毒性,降低免疫系统反应,提升抑制性细胞的分泌,利于降低母体对胚胎的免疫损害,增强胚胎免疫保护,助于妊娠成功。LIT 还可抑制细胞毒性 CD8⁺ 细胞和反应性 CD4⁺ 细胞的活化、效应功能,进而抑制母体对胚胎的免疫排斥反应,改善妊娠结局^[10-11]。对照组采用 LIT 和低分子肝素钙治疗,可改善患者免疫功能、孕激素水平,但对 ACA 抗体水平改善不显著。

本研究显示,观察组 CD3⁺、CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺、HCG、P、E2 高于治疗后对照组,CD8⁺ 低于对照组,CsA 是一种强效免疫抑制剂,其对 T 淋巴细胞亚群具有选择性抑制作用,可有效抑制辅助性 T 淋巴细胞活性。通过抑制 HLA-II 抗原和静止期 Th 细胞的分化,降低 Th 细胞的释放、淋巴因子的分泌合成,促使活化 T 淋巴细胞减少;通过抑制 Ts 细胞和 Th 细胞增殖分化,使钙调磷酸酶活性降低,进而降低淋巴细胞对胚胎的浸润,减低 T 细胞诱导的免疫反应^[12-13]。除此之外,其还对抗原提呈细胞抑制,如巨噬细胞、B 细胞、树突状细胞表面刺激因子的表达,调节 Th1、Th2 细胞因子的平衡,进而抑制细胞免疫效应,诱发免疫耐受,维持妊娠^[14]。ACA 抗体在病理状况下心磷脂分子将转移到外层结构,被自身免疫系统识别出,诱发一系列免疫反应,对血管内皮细胞造成损害。治疗后观察组 ACA-IgM、ACA-IgG 水平均低于对照组,在早孕期给予适量的 CsA 可提高滋养细胞生长能力,改善滋养细胞形态,加强其侵袭力和运动力;其还对母体对胚胎抗原的免疫排斥具有抑制作用,在母胎免疫调节过程中具有双重调节效果,进而降低 ACA 抗体水平^[15]。本结果显示,观察组不良反应高于对照组,无统计学差异,提示药物安全性高;临床妊娠率高于对照组,有统计学差异,经调节 T 淋巴细胞、改善子宫内血流灌注和提高孕激素,进而提升临床妊娠率。

综上所述,CsA 联合 LIT 通过抑制 T 淋巴细胞毒性和调节 Th1、Th2 辅助性细胞因子比例对 URSA 患者治疗,可有效改善免疫功能,提高孕激素水平,降低 ACA 抗体水平,提高妊娠率,药物安全性高。

参考文献:

- [1] 陈月婵. 原因不明复发性流产患者外周血 NK 细胞亚群及细胞因子水平的研究[J]. 检验医学与临床, 2020, 17(14): 2033-2035.
- [2] 冯达红, 闫建军, 汪宁. 重要炎症介质基因多态性在不明原因复发性流产患者中的表达及与雌孕激素的相关性研究[J]. 临床和实验医学杂志, 2020, 19(6): 645-648.
- [3] 陈海娥, 张中华, 许维. 淋巴细胞主动免疫治疗在反复胚胎种植失败患者中的应用研究[J]. 中国医师进修杂志, 2020, 43(4): 325-329.
- [4] 中华医学会妇产科学分会产科学组. 复发性流产诊治的专家共识[J]. 中华妇产科杂志, 2016, 51(1): 3-9.
- [5] 薛红艳, 王敬敏, 吴明媛. 小剂量低分子肝素钙用于原因不明复发性流产的疗效观察[J]. 临床医学, 2017, 37(7): 46-48.
- [6] 贾丽媛, 奚永志, 孙玉英. 免疫学因素在原因不明复发性自然流产发病机制中的研究进展[J]. 解放军医学院学报, 2020, 41(4): 404-408, 412.
- [7] 崔蓉, 钟兴明. 免疫因素与复发性流产[J]. 中国医刊, 2020, 55(3): 241-244.
- [8] 姜朵生, 张迎春, 李芳园, 等. 中西医结合治疗对原因不明复发性流产患者性激素及外周血免疫细胞的影响[J]. 现代中西医结合杂志, 2017, 26(5): 461-463, 480.
- [9] Gomez S, Tabernacki T, Kobrya J, et al. Combining epigenetic and immune therapy to overcome cancer resistance. [J]. Semin Cancer Biol, 2020, 65: 99-113.
- [10] 刘博文, 倪媛, 杨菁. 封闭抗体阴性复发性流产患者主动免疫治疗的研究进展[J]. 中华生殖与避孕杂志, 2019, 39(10): 844-848.
- [11] Mand Vandereyken, Olivia J James, Mahima Swamy. Mechanisms of activation of innate-like intraepithelial T lymphocytes[J]. Mucosal Immunol, 2020, 13(5): 721-731.
- [12] 田红菊, 梁亚芳, 杜美蓉, 等. 120 例复发性流产病因分析及环孢素 A 治疗效果观察[J]. 中国医师杂志, 2020, 22(6): 926-928.
- [13] 罗小琼, 凌正宝, 覃莉, 等. 多囊卵巢综合征患者预处理对宫腔内人工授精临床结局的影响研究[J]. 右江民族医学院学报, 2019, 41(1): 75-79.
- [14] 陈晗笑, 高睿, 张曜耀, 等. 环孢素 A 治疗免疫性复发性流产疗效的 Meta 分析[J]. 中国计划生育和妇产科, 2020, 12(5): 20-24.
- [15] 马涛, 金晶, 魏云, 等. 环孢素 A 联合淋巴细胞治疗 URSA 对患者血清 T 细胞亚群、ACA 及妊娠结局影响[J]. 中国计划生育学杂志, 2020, 28(1): 40-43.

收稿日期: 2020-09-10; 修回日期: 2020-10-09