

反复自然流产患者免疫治疗前后封闭抗体的变化及其意义

罗晓红¹, 张金华², 李晓园², 王英¹, 侯玲玉², 段朝晖^{1*}

(1. 中山大学附属第二医院检验科, 广州 510120; 2. 中山大学附属第二医院儿科遗传室, 广州 510120)

[摘要] 目的: 观察淋巴细胞免疫治疗反复自然流产(RSA)的效果, 探讨免疫治疗前后封闭抗体(APLA)的变化及其对妊娠结局的意义。方法: 用酶联免疫法(ELISA)测定 988例 RSA患者的 APLA水平, 选取其中 941例 APLA阴性者进行淋巴细胞免疫治疗, 疗程结束后复查 APLA。结果: 988例 RSA患者免疫治疗前 APLA阳性率为 4.76% (47/988), 941例 APLA阴性者免疫治疗一个疗程后, APLA阳性率为 75.98% (715/941), 2个疗程后 APLA阳性率为 95.96% (903/941), 与治疗前比较差异有显著性($P < 0.01$); 免疫治疗后, 再次妊娠的成功率为 94.07% (856/910), 其中 APLA阳性者再次妊娠的成功率为 94.96% (848/893), APLA阴性者再次妊娠的成功率为 47.06% (8/17), 两者比较差异有显著性($P < 0.01$)。结论: 淋巴细胞主动免疫治疗能提高 RSA患者 APLA的阳性率及再次妊娠的成功率, APLA对预计再次妊娠的结局有良好的参考价值。

[关键词] 反复自然流产; 淋巴细胞; 免疫治疗; 封闭抗体

[中图分类号] R714.21

[文献标识码] B

[文章编号] 1004-8685(2007)10-1897-02

Changes and significance of APLA for RSA before and after lymphocyte immunotherapy

Luo Xiao-hong, Zhang Jin-hua, Li Xiao-yuan, Wang Ying, Hou Ling-yu, Duan Zhao-hu

(Department of Laboratory Tests, The Second Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510120, China)

[Abstract] **Objective:** To study the changes and significance of APLA for RSA before and after lymphocyte immunotherapy. **Methods:** The APLA in 988 RSA was detected with ELISA. A number of 941 out of the 988 RSA with negative reaction were treated with lymphocyte immunotherapy, and then the APLA was determined with ELISA. **Results:** The positive rate of APLA in 988 RSA was 4.76% (47/988) before lymphocyte immunotherapy. The positive rate of APLA in 941 with negative reaction was 75.98% (715/941) with one course of treatment, and then the positive rate of APLA was 95.96% (903/941) after two courses of treatment. The positive rate before was significantly different from that after lymphocyte immunotherapy ($P < 0.01$). The achievement ratio of re-enceinte was 94.07% (856/910) with one or two courses of treatment of lymphocyte immunotherapy, and the achievement ratio of re-enceinte with positive APLA was 94.96% (848/893). The achievement ratio of re-enceinte with negative APLA was 47.06% (8/17) ($P < 0.01$). **Conclusion:** The lymphocyte immunotherapy can promote APLA positive rate and re-gestation in RSA.

[Key words] Recurrent spontaneous abortions; Lymphocyte; Immunotherapy; Antipaternal lymphocyte antibody (APLA)

妊娠早期反复自然流产 (recurrent spontaneous abortions, RSA) 在妇科领域中属常见疾病。RSA 的病因比较复杂, 排除遗传、解剖、内分泌、感染等因素后, 仍有 40% ~ 80% 原因不明^[1-3]。近年来, 随着生殖免疫学的研究进展, 特别是 70 年代末继人类白细胞抗原 (HLA) 分型方法取得突破后, 研究发现 HLA 及其基因产物与人类妊娠有许多关系, 进一步发现 RSA 与 HLA 免疫应答相关, 临床表现为 RSA 患者的封闭抗体, 即抗丈夫淋巴细胞抗体 (Antipaternal lymphocyte antibody, APLA) 阳性率很低。1981 年, Taylor 报道, 对 4 名 APLA 阴性的 RSA 病人进行 HLA 免疫治疗后, 有 3 人成功分娩, 从而引起了围产医学界的广泛关注^[4,5]。近年来, 我们对 941 例 APLA 阴性的 RSA 病人进行主动免疫治疗, 即运用配偶或无关的健康个体的淋巴细胞进行免疫治疗, 在治疗过程中检测其 APLA 的变化, 并借此观察 RSA 患者免疫治疗前后 APLA 的变化与疾病转归的关系。现报道如下:

[作者简介] 罗晓红 (1963 -), 男, 主管技师, 主要从事临床免疫学检验研究。

* 通讯联系人, E-mail: duanzhaohui@sohu.com

1 材料与方法

1.1 研究对象

2004 年 8 月至 2007 年 7 月在我院妇产科门诊就诊的 RSA 患者 988 例, 其中选取 APLA 阴性的 RSA 患者 941 例, 年龄 25 ~ 43 岁, 平均 30.8 岁, 连续自然流产 2 次, 均为孕 20 周内流产, 排除了遗传、解剖、内分泌、感染等因素, 其配偶精液检查各项参数正常。

1.2 方法

1.2.1 免疫治疗方法 主动免疫原首选丈夫淋巴细胞, 若丈夫不宜作为免疫原供者 (如 HBsAg 阳性或出差) 则选用无关的健康个体, 抽取供者外周血 30 ml 肝素抗凝, 在无菌条件下常规分离提取淋巴细胞, 用生理盐水洗涤 3 次后, 调至淋巴细胞浓度为 $(2 \sim 4) \times 10^7 / \text{ml}$, 细胞悬液量约 3 ml, 用皮内注射的方法, 注入女方左右手臂皮内 6 ~ 8 个点。每隔 2 ~ 3 周一次, 4 次为 1 个疗程, 治疗过程中避孕。疗程结束 2 周后复查 APLA。阴性者继续进行下一个疗程的免疫治疗, 直至 APLA 转为阳性后再考虑受孕。阳性者鼓励患者在 6 个月内妊娠, 如获妊娠则马上再进行一个疗程的维持治疗, 直至孕 16 周左右。同时嘱患者妊娠后注意休息, 避免妊娠早期性生活频繁,

解除精神紧张,并注意观察妊娠早期反应。

1.2.2 封闭抗体检测 RSA患者免疫治疗前后进行封闭抗体检测,方法为抽取患者外周血 2 ml,分离血清,用 ELISA法进行测定,按试剂盒说明书操作,所用试剂由美国莱姆德公司生产,北京索奥生物技术有限公司提供。

1.2.3 统计学方法 率的比较采用 χ^2 检验。

2 结果

2.1 免疫治疗前后封闭抗体的变化

988例 RSA患者在免疫治疗前仅 47例 APLA阳性,阳性率为 4.76% (47/988)。941例 APLA阴性的 RSA患者在接受免疫治疗 1个疗程后,APLA阳性 715例,阳性率为 75.98% (715/941),剩下的 226例继续进行第 2个疗程的免疫治疗,在完成了第 2个疗程后,APLA阳性有 188例。941例 RSA患者在接受两个疗程的免疫治疗后,APLA总阳性数为 903例,总阳性率为 95.96% (903/941),与治疗前比较有高度显著性差异 ($P < 0.01$)。

2.2 免疫治疗后妊娠结果

在接受免疫治疗的 941例患者中,有 920例再次妊娠,将妊娠超过 5个月、B超未见异常或分娩出活婴视为妊娠成功,则有 856例获得妊娠成功,54例再次发生早期流产,2例输卵管妊娠,8例处于孕早期尚未知妊娠结局,妊娠成功率 94.07% (856/910)。能随访及了解到的所产的婴儿体格、智力发育正常。

2.3 免疫治疗后封闭抗体阳性者与阴性者的妊娠成功率比较

免疫治疗后,920例再次妊娠的患者中,有 903例 APLA阳性,17例 APLA阴性。在 APLA阳性患者中,除 2例输卵管妊娠,8例处于孕早期外,有 848例获得妊娠成功,45例再次发生流产,妊娠成功率为 94.96% (848/893);在 APLA阴性患者中,有 8例获得妊娠成功,9例再次发生流产,妊娠成功率为 47.06% (8/17)。免疫治疗后 APLA阳性患者,再次妊娠的成功率明显高于 APLA阴性患者,差异有高度显著性 ($P < 0.01$),见表 1。

表 1 免疫治疗后封闭抗体阳性者与阴性者的妊娠结局比较

治疗后抗体	例数	妊娠成功	再次流产	妊娠成功率 (%)
阳性	893	848	45	94.96
阴性	17	8	9	47.06
合计	910	856	54	94.07

两组比较, $\chi^2 = 68.58, P < 0.01$

3 讨论

现代生殖免疫学认为,妊娠是成功的半同种移植过程,在母体免疫功能正常时,既保护母体不受外来微生物的侵犯,又对宫内胚胎移植不发生免疫排斥反应,并维持妊娠继续。正常的妊娠中,夫妇 HLA 抗原不相容,胚胎所带的父源性 HLA 抗原(在滋养细胞表面)能刺激母体免疫系统并产生封闭抗体,即抗丈夫淋巴细胞的特异性 IgG 抗体 (APLA),它能与滋养细胞表面的 HLA 抗原结合,覆盖来自父方的 HLA 抗原,抑制混合淋巴细胞反应,从而封闭母体淋巴细胞对滋养层细胞的细胞毒作用,保护胚胎或胎儿免受排斥。

越来越多的研究认为,RSA 的发生与母体缺乏 APLA 有关,流产次数越多的患者,其体内 APLA 缺乏的可能性越大。APLA 的产生不足,使得免疫系统容易对胚胎产生免疫攻击,母体对胎儿产生强烈的排斥相象,怀孕早期可出现 RSA,怀孕

晚期则可出现妊娠高血压疾病、胎儿宫内生长受限,甚至出现胎死宫内,最终导致流产^[4,6]。对 APLA 缺乏的 RSA 患者应用配偶淋巴细胞免疫治疗,已有较多文献报道^[4,7],其治疗目的是增加 RSA 患者体内 APLA 的水平,使再次妊娠得以成功。本文对 941 例 APLA 阴性的 RSA 患者进行淋巴细胞免疫治疗后,APLA 的阳性率显著提高;再次妊娠的成功率达 94.07%,高于国内的文献报道 (70 - 87.9%)^[4,7-11],且没有发现对母体的副反应;在再次妊娠的患者中,APLA 阳性者妊娠成功率明显高于阴性者。说明免疫治疗后,APLA 产生增加,母体免疫耐受形成,胎儿易于存活,妊娠成功率提高。这支持 RSA 的发病机理与免疫低反应性有关,也一定程度上证实了主动免疫治疗的合理性^[4]。而我们对 941 例 APLA 阴性的 RSA 患者在接受免疫治疗一个疗程后,剩下的 226 例 APLA 仍阴性的 RSA 患者在接受第 2 个疗程的治疗过程中,有 17 例意外妊娠,这 17 例 APLA 阴性者中也有 47.06% (8/17) 获得妊娠成功,这可能是由于主动免疫治疗使这些患者诱发了由细胞免疫参与的免疫抑制,使封闭效应增强所致^[4,10-12]。但 APLA 阴性者妊娠成功率与 APLA 阳性者比较差异有显著性,提示免疫治疗后未产生 APLA 的情况下妊娠,仍有相当大的再次流产风险,APLA 对预计再次妊娠结局有一定的预示作用。

临床上对于 RSA 患者进行 APLA 的检测是非常必要的。对于 APLA 阴性的患者,应用淋巴细胞主动免疫治疗,能提高 APLA 的阳性率及再次妊娠的成功率。淋巴细胞主动免疫治疗 RSA 安全有效,APLA 水平变化的监测,对指导 RSA 患者妊娠及对再次妊娠的结局有良好的参考价值。

[参考文献]

- [1] 伍兴斌, 诸葛宝忠, 朱冬沂. 反复自然流产患者封闭抗体及 CD25 分子的流式分析 [J]. 中国现代医学杂志, 2004, 14 (23): 116 - 118.
- [2] 黄传英, 孙运凤, 邱少慧. 反复自然流产患者血清 sL - 2R 及淋巴细胞表面标志物变化 [J]. 山东医学, 2005, 45 (1): 47 - 48.
- [3] 师伟, 刘金星. 反复自然流产中封闭抗体缺乏的检测和治疗研究进展 [J]. 河南中医, 2003, 23 (9): 81 - 83.
- [4] 李带莉. 30 例原因不明性反复自然流产患者免疫治疗的临床分析 [J]. 国际医药卫生导报, 2005, 11 (24): 38 - 40.
- [5] 元涛, 兰炯采. 主动免疫治疗不明原因习惯性流产的研究进展 [J]. 中国输血杂志, 2003, 16 (4): 290 - 292.
- [6] Pandey MK, Agreawal S. Induction of MLR - Bf and protection of fetal loss a current double blind randomized trial of paternal lymphocyte immunization for women with recurrent spontaneous abortion [J]. Int Immunopharmacol, 2004, 4 (2): 289 - 298.
- [7] 孟庆勇, 林萍, 王鸣, 等. 配偶淋巴细胞免疫治疗反复自然流产 91 例分析 [J]. 中国优生与遗传杂志, 2005, 13 (12): 57 - 58.
- [8] 吴日然, 谭志伟, 廖月婵, 等. 反复自然流产不孕患者的封闭抗体检测与治疗 [J]. 医药论坛杂志, 2005, 26 (9): 7 - 9.
- [9] 辛力. 免疫学因素与反复自然流产关系的研究进展 [J]. 中国优生与遗传杂志, 2003, 11 (4): 143 - 144.
- [10] 李尚为, 黄仲英, 马黔红, 等. 原因不明性反复自然流产患者免疫治疗结局的探讨 [J]. 实用妇产科杂志, 2001, 17 (2): 105 - 106.
- [11] 杨玉发, 张国清, 黄玲惠, 等. 用丈夫淋巴细胞治疗原因不明性习惯性流产 59 例分析 [J]. 宁夏医学杂志, 2005, 27 (8): 557 - 558.
- [12] Szpakowski A, Malinowski A, Głowacka E. The influence of paternal lymphocyte immunization on the balance of Th1 / Th2 type reactivity in women with unexplained recurrent spontaneous abortion [J]. Ginekol Pol, 2000, 71 (6): 586 - 592.

(收稿日期: 2007 - 08 - 11)