

106例反复自然流产患者封闭抗体的检测及临床应用

吴勤如¹, 陈桂兰², 何惠玲³, 何凤屏¹ (广东韶关粤北人民医院 1. 检验科; 2. 妇产科; 3. 小儿外科, 韶关 512026)

摘要:目的 评价反复自然流产 (RSA) 患者封闭抗体 (BA) 的水平, 并应用淋巴细胞免疫治疗的方法观察其治疗效果。方法 用酶联免疫法 (ELISA) 测定 106例 RSA 患者 BA 抗体水平, 选取其中 92例 BA 抗体水平阴性者进行淋巴细胞免疫治疗, 疗程结束后复查 BA 抗体水平。结果 106例反复自然流产患者中, BA 抗体阳性率 13.21% (14/106); 其中 92例 BA 抗体阴性者免疫治疗一个疗程后, BA 抗体阳性率为 55.43% (51/92), 2个疗程后 BA 抗体阳性率为 75% (69/92), 3个疗程后 BA 抗体阳性率为 87% (80/92), 三者与未治疗的 106例 RSA 比较差异均有显著性 ($P < 0.01$); 免疫治疗后 BA 抗体阳性的 RSA 再次妊娠的成功率为 82.05% (64/78)。结论 反复自然流产患者中 BA 抗体阳性水平较低, 用淋巴细胞免疫治疗 RSA 患者能提高 BA 抗体阳性率及再次妊娠的成功率。

关键词: 反复自然流产; 封闭抗体; 检测; 临床应用

中图分类号: R714.21 **文献标识码:** B **文章编号:** 1006-9534 (2008) 12-0074-02

反复自然流产 (recurrent spontaneous abortion, 以下简称 RSA) 是妇女妊娠期常见的一种并发症, 其病因涉及遗传, 免疫, 解剖, 内分泌, 感染及胚胎畸形等因素, 但在 40% - 60% 病因不明的 RSA 患者中, 目前认为免疫因素尤为重要^[1]。生殖免疫学观点认为流产是胎母之间的免疫平衡遭到破坏, 发生免疫排斥的结果^[2]。封闭抗体 (blocking antibodies, BA) 是人类白细胞抗原 (HLA)、滋养层及淋巴细胞交叉反应抗原 (TLX) 等刺激母体免疫系统, 所产生的一类 IgG 型抗体^[3]。以往研究认为, 反复自然流产的发生与母体缺乏封闭抗体有关^[4]。我们对一组反复自然流产患者, 检测其封闭抗体水平, 并应用淋巴细胞免疫治疗其 1~3 个疗程, 观察其封闭抗体水平的变化, 为临床上进一步明确 RSA 的病因, 正确指导与治疗 RSA 提供理论依据, 现将详细结果报告如下。

资料与方法

1. 研究对象 106例反复自然流产患者, 全部来自本院妇产科门诊就诊的患者, 其选择标准为: a 连续 2 次以上自然流产; b 男方精液常规分析在正常范围, 性生活正常, 无内分泌及其他免疫性疾病史; c 女方无内分泌失调及子宫畸形, 无弓形体、巨细胞病毒、单纯疱疹病毒、风疹病毒感染; d 双方染色体核型分析正常; e 年龄 20 - 38 岁。

2. 研究方法

(1) 标本采集 抽取 RSA 患者静脉血 3ml, 分离血清, 并置 -20 保存, 每个星期测定 1 次。

(2) 检测方法 BA 抗体检测采用 ELISA 法, 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。每孔加已稀释的标本 10 μ l, 同时设阳性对照 3 孔、阴性对照 3 孔、HLA - IgG 阳性质控 3 孔与空白对照。轻轻的振荡、摇匀, 置 37 水浴箱温育 45min 后, 用洗涤液洗涤 3 次。然后每孔加 1:100 稀释的碱性磷酸酶酶标抗体 10 μ l, 轻轻的振荡、摇匀, 置 37 水浴箱温育 30min, 用洗涤液洗涤 4 次, 甩干, 加底物 10 μ l 显色, 参比阳性对照, 呈蓝色反应为阳性。

(3) 淋巴细胞免疫治疗法 检出封闭抗体阴性的患者, 应用丈夫淋巴细胞或丈夫不宜作为免疫原供者可选用无关的健康个体进行免疫治疗。方法: 无菌条件下取 20ml 由加拿大 Cedarlane 公司生产 Lympholyte 人淋巴细胞分离液 20ml

置于离心管, 加入 20ml 丈夫抗凝静脉血于分离液上层。在恒温 (20 $^{\circ}$ C) 离心机上以 2000 转 / min 的转速离心 25min, 小心吸出淋巴细胞液层, 并用生理盐水洗涤 3 次, 调整淋巴细胞浓度为 2 $\times 10^7$ / ml, 且细胞悬液量约 3ml。淋巴细胞悬液分装于 2 支注射器, 在患者前臂皮下注射 6~8 点, 每点注射淋巴细胞液为 0.15~0.2 ml, 3 周治疗 1 次, 4 次为一疗程, 一疗程后复查封闭抗体, 阴性者继续治疗 1~2 个疗程。

3 统计学处理: 采用卡方 (χ^2) 检验对获得的实验数据进行统计学处理。

结果

1. 免疫治疗前后封闭抗体的变化: 106 例 RSA 患者在免疫治疗前仅 14 例封闭抗体阳性, 阳性率为 13.21% (14/106)。92 例 BA 抗体阴性的 RSA 患者在接受免疫治疗 1 个疗程后, BA 抗体阳性 51 例, 阳性率为 55.43% (51/92); 剩下的 41 例继续进行第 2 个疗程的治疗, 在完成了第 2 个疗程后, BA 抗体阳性有 18 例, 92 例 RSA 患者在接受两个疗程的免疫治疗后, BA 抗体总阳性数为 69 例, 总阳性率为 75% (69/92); 剩下的 23 例继续进行第 3 个疗程, 在完成了第 3 个疗程后, BA 抗体阳性有 11 例, 其总的阳性数为 80 例, 总阳性率 87% (80/92)。3 者与治疗前比较差异均有显著性差异 ($P < 0.01$)。表明反复自然流产患者封闭抗体阳性率较低, 用淋巴细胞免疫治疗能提高其封闭抗体阳性率。

2 免疫治疗后封闭抗体阳性者妊娠结果: 在接受免疫治疗的 92 例患者中, BA 抗体阳性有 80 例, 其中有 64 例再次妊娠成功, 14 例再次发生早期流产, 宫外孕 2 例, 妊娠成功率为 82.05% (64/78)。而另 12 例经治疗 BA 抗体仍阴性的 RSA 患者中, 有 4 例获得妊娠成功, 8 例再次发生流产, 妊娠成功率为 33.33% (4/12)。表明免疫治疗后 BA 抗体阳性的 RSA 患者再次妊娠成功率高于 BA 抗体阴性的 RSA 患者。

讨论

BA 是母体针对胚胎抗原产生的一种保护性抗体。妊娠的正常维持, 除有母体免疫耐受外, 还有其它免疫调节作用, 其中之一即为特异性抗体的封闭效应, 此特异性抗体即为

BA。目前认为,BA可在首次妊娠时出现,抑制母体淋巴细胞识别父体抗原,在妊娠晚期下降,分娩后3~6w又上升,以后持续存在^[5]。正常孕产妇血清中BA均为阳性,有77%正常分娩史者BA为阳性,而88%RSA患者BA为阴性^[4]。如果妊娠时母体缺乏足够的BA,则母体会引起同种免疫识别保护功能低下,母体免疫系统容易对胎儿作异物排斥,而造成流产^[3]。造成BA的缺乏,从而导致RSA的机制可能是:

夫妇间HLA相容性增大。夫妇间TLX的一致性。本文中,106例RSA患者BA阳性率仅为13.21%,表明这些患者的BA不足或缺失与反复流产是有密切联系的,BA不足或缺失,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现象,最终造成流产。因此RSA患者的病因之一可能是BA缺乏或不足。

研究认为,父方的HLA可再刺激母体产生相应的HLA抗体,这些抗体能够保护胎儿免受母体免疫系统的攻击。基于以上原理,Beer等在1981年建立了RSA患者的免疫疗法^[6],国内近几年也有较多的这方面文献报道^[7]。本文对92例BA阴性者用淋巴细胞免疫疗法行皮下注射促使其产生BA,治疗1、2、3个疗程后,其BA抗体阳性率分别为55.43%、75%、87%,与未治疗的106例RSA比有统计学意义($P < 0.01$);并且免疫治疗后,80例BA抗体阳性的RSA患者中有64例再次妊娠成功,再次妊娠成功率为82.05%。以上表明RSA患者通过免疫治疗后可提高BA抗体的水平,从而使胎儿的保护性免疫作用增强,抑制母体对胎儿的免疫排斥,使再次妊娠得以成功。

总之,通过对106例RSA的检测,发现RSA患者BA阳

性率较低,表明BA缺乏或不足与RSA有一定关系。而通过淋巴细胞主动免疫治疗一定疗程后,能极大地提高RSA患者体内BA阳性率与再次妊娠成功率,表明淋巴细胞免疫治疗BA阴性的RSA是一种比较有效的治疗手段之一。

参 考 文 献

[1] Collins JA, Crosignani PG. Unexplained infertility: a review of diagnosis, prognosis, treatment efficacy and management [J]. Int J Gynecol Obstet, 1992, 39 (4): 267.

[2] 闰春芳,于学文,崔绪琴. 反复自然流产的免疫学研究进展 [J]. 国外医学妇幼保健分册, 2000, 11 (4): 164.

[3] Pandey MK, Saxena V, Agrawal S. Characterization of mixed lymphocyte reaction blocking antibodies (MLR - Bf) in human pregnancy [J]. BMC Pregnancy Childbirth, 2003, 3 (1): 2.

[4] 余江,张进,何晓宇. 封闭抗体在反复自然流产中的作用 [J]. 中华妇产科杂志, 2000, 35 (4): 248 - 249.

[5] 姚珍薇,杨戎,魏沙俐,等. 反复自然流产夫妇的免疫学因素探讨 [J]. 实用妇产科杂志, 1994, 10 (2): 89 - 90.

[6] Beer AE, Sempnini AE, Zhu XY, Quebbeman JF. Pregnancy outcome in human couples with recurrent spontaneous abortions: HLA antigen profiles, HLA antigen sharing, female serum HLR blocking factors, and paternal leukocyte immunization [J]. Exp Clin Immunogenet, 1985, 2 (3): 137 - 153.

[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.

收稿日期: 2008 - 10 - 14

(上接第 81 页)

宫肌瘤剔除。对于剖宫产术中是否剔除肌瘤,多年来尚无一一致意见。反对者认为:(1)妊娠期子宫壁及肌瘤血运丰富,剖宫产同时剔除肌瘤出血较多。(2)妊娠期肌瘤充血变软,剥离困难,手术难度大。(3)产后肌瘤可以缩小。主张剖宫产同时剔除肌瘤者认为:(1)可以避免再次手术的痛苦并减轻经济负担。(2)留下肌瘤会影响术后子宫缩复,使产褥感染机会增加。(3)产后肌瘤虽可缩小但不会完全消失,仍有再次手术的可能性,并且可避免日后因肌瘤而行子宫切除,从而使卵巢因缺乏靶器官而早衰,妇女提前进入更年期,影响生活质量^[5]。本文资料表明剖宫产时肌瘤剔除与单纯剖宫产对比增加出血量不多,手术时间、术后发热率、伤口愈合及术后平均住院天数无显著差异,说明剖宫产时行肌瘤剔除是可行的,所以对妊娠合并子宫肌瘤患者应适当放宽剖宫产指征。

3. 剖宫产时是否剔除肌瘤要根据病人情况而定,若遇

妊娠合并心脏病、子痫、心衰、产前出血、DIC及剖宫产术中大出血等危重患者,应尽量缩短手术时间,为保证产妇安全不宜同时行肌瘤剔除术^[6]。此外对特殊部位和特别大的肌瘤应慎重处理。

参 考 文 献

[1] 曹泽毅,主编. 中华妇产科学 [M]. 北京:人民卫生出版社, 1999. 1824.

[2] 乐杰,主编. 妇产科学 [M]. 第六版. 北京:人民卫生出版社, 2004. 298.

[3] 张国英,邢军,夏凤艳,等. 108例妊娠合并子宫肌瘤临床分析 [J]. 实用妇产科杂志, 1995, 5: 261 - 262.

[4] 黄萍,杨孜,李蓉,等. 妊娠合并子宫肌瘤 130例临床分析 [J]. 中国妇产科临床杂志, 2005, 6 (3): 165 - 168.

[5] 李云龙. 中国妇幼保健, 2006, 21 (20): 2847 - 2848.

[6] 宋雪凌,杨孜. 中华妇产科临床杂志, 2005, 7: 309.

收稿日期: 2008 - 01 - 03

