

# 妊娠期高血压疾病子痫前期患者外周血中调节性 T 细胞及其细胞因子的变化

沈 玮 田 庚<sup>①</sup> 高 伟 吉林省妇幼保健院 130061

中国图书分类号 R714.24<sup>+</sup>6 文献标识码 B 文章编号 1001-4411 (2012) 01-0039-02

**【摘要】** 目的: 探讨 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> 调节性 T 细胞在妊娠期高血压疾病可能发挥的作用。方法: 采用流式细胞术检测妊娠期高血压疾病患者外周血中 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> 调节性 T 细胞数量变化, 应用 ELISA 方法测定上皮性卵巢癌患者外周血清 TGF- $\beta$ 1 及 IL-10 浓度。结果: 妊娠期高血压疾病患者外周血中 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> T 细胞比例明显低于正常妊娠妇女, 外周血中 IL-10 的浓度明显降低, TGF- $\beta$ 1 的浓度明显增高。结论: CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> 调节性 T 细胞可能在妊娠期高血压疾病的发病机制中发挥重要作用。

**【关键词】** CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> 调节性 T 细胞 转化生长因子- $\beta$ 1 白细胞介素-10

妊娠期高血压疾病为妊娠期间最常见的并发症之一, 同时也是孕产妇死亡的常见原因之一, 其发病率高达 7% ~ 10%。因此妊娠期高血压疾病的研究意义重大, 但其病因及发病机制尚无确切结论。已有研究证实, 母胎耐受是妊娠得以顺利进展的关键因素之一, 妊娠期间免疫平衡的紊乱是妊娠期高血压疾病发病的原因之一。CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> 调节性 T 细胞 (regulatory T cell, Treg) 是健康个体 T 细胞库的组成成分, 占 CD4<sup>+</sup> T 细胞 5% ~ 15%。该细胞群是一类具有免疫抑制效应的细胞, 能抑制 T 细胞对外源、自体抗原及胎儿的免疫反应, 因此 Treg 对于维持母胎免疫耐受意义重大。已有研究证实, 妊娠期间母体中 Treg 明显升高, 有利于母胎免疫耐受的维持<sup>[1,2]</sup>。同时, 诱生型调节性 T 细胞 (induced regulatory T cell, iTreg) 可以分泌细胞因子白细胞介素-10 (IL-10) 及转化生长因子- $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1), 而 iTreg 细胞是以细胞因子依赖的途径发挥作用<sup>[3]</sup>。该文检测了妊娠期高血压疾病患者外周血中 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> 调节性 T 细胞数量以及 TGF- $\beta$ 1 和 IL-10 含量的变化, 探讨 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Treg 细胞及其细胞因子在妊娠期高血压疾病中的作用。

## 1 资料与方法

**1.1 临床资料** 选择吉林大学第二医院门诊及住院的 35 例妊娠期高血压疾病患者为研究组, 平均年龄 (31.6  $\pm$  3.7) 岁, 平均孕周 (35.7  $\pm$  2.8) 周, 其中轻度子痫前期 15 例、重度子痫前期 20 例。选择同期正常孕妇 15 例为对照组, 平均年龄 (30.3  $\pm$  4.9) 岁, 平均孕周 (39.3  $\pm$  2.1) 周。妊娠期高血压疾病的诊断参考乐杰主编的《妇产科学》(第 7 版) 中的标准。

**1.2 标本的采集处理** EDTA 抗凝血 2 ml, 应用 Ficoll 密度梯度离心法分离出外周血单个核细胞 (PBMC), 计数, 取  $1 \times 10^6$  个细胞标记抗 CD4-PE 单克隆抗体和抗 CD25-FITC 单克隆抗体进行 FACS 检测。外周静脉血 3 ml, 4  $^{\circ}$ C 静置 3 h, 3 000 r/min 离心 20 min 分离血清, -70 $^{\circ}$ C 储存以备 ELISA 检测使用。重组 TGF- $\beta$ 1 及 IL-10 ELISA 试剂盒购自上海森雄公司。

<sup>①</sup>通讯作者: 吉林大学第二医院妇产科

**1.3 FACS 检测** 荧光抗体标记的淋巴细胞悬液 4 $^{\circ}$ C 下避光孵育 30 min, PBS 洗涤, 然后进行 FACS 检测。

**1.4 TGF- $\beta$ 1 和 IL-10 含量的测定** 按 TGF- $\beta$ 1 及 IL-10 ELISA 试剂盒说明书绘出标准曲线, 利用同一条件下测得的标本 OD 值, 试验组和对照组血清浓度依标准曲线查出, 计算浓度时乘以稀释倍数。

**1.5 统计学方法** 实验结果以 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 组间比较采用 *t* 检验, 采用 SPSS 11.0 统计软件包处理数据。P < 0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 两组孕妇外周血中 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>/CD4<sup>+</sup> T 细胞比例的差异** 应用流式细胞仪检测外周血发现: 妊娠期高血压疾病轻度子痫前期及重度子痫前期患者外周血 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> T 细胞占 CD4<sup>+</sup> T 细胞的比例 (9.73  $\pm$  2.71, 7.47  $\pm$  2.14) 较对照组孕妇 (12.5  $\pm$  3.42) 明显降低 (P < 0.05), 而且重度子痫前期患者外周血中 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> T 细胞占 CD4<sup>+</sup> T 细胞的比例较轻度子痫前期患者也明显降低 (P < 0.05)。见表 1。

表 1 两组孕妇外周血 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> T 细胞占 CD4<sup>+</sup> T 细胞比例 ( $\bar{x} \pm s$ , %)

组别	n	CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> /CD4 <sup>+</sup>
轻度子痫前期组	15	9.73 $\pm$ 2.71
重度子痫前期组	20	7.47 $\pm$ 2.14
对照组	15	12.59 $\pm$ 3.42

**2.2 两组孕妇外周血中 TGF- $\beta$ 1 含量的差异** 妊娠期高血压疾病轻度子痫前期及重度子痫前期患者外周血中 TGF- $\beta$ 1 的含量 (36.21  $\pm$  5.34, 38.85  $\pm$  6.46) 较对照组孕妇 (30.23  $\pm$  4.39) 明显增高 (P < 0.05), 而且重度子痫前期患者外周血中 TGF- $\beta$ 1 的含量与轻度子痫前期患者比较无明显差异 (P > 0.05)。见表 2。

**2.3 两组孕妇外周血中 IL-10 含量的差异** 妊娠期高血压疾病轻度子痫前期及重度子痫前期患者外周血中 IL-10 的含

量(87.38 ± 12.85, 72.68 ± 13.44) 较对照组孕妇(126.83 ± 24.57) 明显降低(P < 0.05), 而且重度子痫前期患者外周血中 IL-10 的含量较轻度子痫前期患者也明显降低(P < 0.05)。见表 3。

表 2 两组孕妇外周血中 TGF-β1 含量 (ng/ml)

组别	n	TGF-β1
轻度子痫前期组	15	36.21 ± 5.34
重度子痫前期组	20	38.85 ± 6.46
对照组	15	30.23 ± 4.39

表 3 两组孕妇外周血中 IL-10 含量 (pg/ml)

组别	n	IL-10
轻度子痫前期组	15	87.38 ± 12.85
重度子痫前期组	20	72.68 ± 13.44
对照组	15	126.83 ± 24.57

### 3 讨论

近年来的研究表明, Treg 细胞是人体内存在的一类具有免疫抑制作用的 T 淋巴细胞亚群。Treg 在妊娠过程中表达明显增强, 从而抑制母体对胎儿的免疫排斥反应, 在妊娠的维持中发挥着重要作用。

妊娠期高血压疾病的发病与妊娠母体免疫失衡有密切联系, 但涉及妊娠期高血压疾病患者外周血调节性 T 细胞研究报道较少。该研究证实妊娠期高血压疾病患者外周血中 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T 细胞占 CD4<sup>+</sup>T 细胞的比例明显低于正常妊娠妇女, 且重度子痫前期患者外周血 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T 细胞占 CD4<sup>+</sup>T 细胞的比例较轻度子痫前期患者也明显降低。Sasaki 等<sup>[4]</sup> 也报道子痫前期患者外周血中 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> 细胞明显低于正常妊娠妇女, 与该研究结果相一致, 提示这群调节性细胞很可能参与了妊娠期高血压疾病的发病。

Treg 能够直接在母胎界面调节免疫反应。一方面 Treg 通过与其他的免疫细胞如树突状细胞、自然杀伤细胞等相互作用发挥免疫抑制作用, 另一方面 Treg 还可以诱导一些细胞因子的分泌, 如 TGF-β1、IL-10, 从而抑制被激活的细胞因子的有效功能<sup>[5,6]</sup>。IL-10 能协助幼稚 T 细胞分化成为调节性 T 细胞, 抑制树突细胞表达协同分子而间接抑制 T 细胞反应。而 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg 细胞又可分泌 IL-10, CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg 细胞与 IL-10 间的正反馈调节可能促进免疫耐受。该研究证实妊娠期高血压疾病患者外周血 IL-10 的浓度明显降低, 提示妊娠期高血压疾病患者体内 Treg 通过诱导 IL-10 分泌, 以细胞因子途径抑制母胎界面免疫反应的能力也相应降低。

Treg 可以分泌 TGF-β, TGF-β 也是维持 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg 细胞数量和功能的重要因子<sup>[7]</sup>, TGF-β 在体外可以诱导人外周血 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg 细胞增生。一般认为 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg 细胞膜表面结合的 TGF-β 可能是细胞间相互作用的效应分子, 抗 TGF-β 单克隆抗体能明显削弱 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg 细胞调控 T 细胞的抑制功能。该研究证实妊娠期高血压疾病患者外周血 TGF-β1 的浓度明显增高, 重度子痫前期患者外周血中 TGF-β1 的含量与轻度子痫前期患者比较无明显差异。妊娠期高血压疾病患者体内 TGF-β1 浓度增高的原理还有待进一步探讨。

综上所述, CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg 细胞是一种重要的具有免疫调节作用的 T 淋巴细胞, 对于维持妊娠具有重要作用。妊娠期高血压疾病患者体内 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg 细胞比例明显降低, 其免疫抑制性因子 TGF-β1 和 IL-10 浓度也同时发生改变, 可能是该病发病原因之一。由此推论, 通过各种方法补充或刺激机体产生 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg 细胞, 纠正妊娠期高血压孕妇体内免疫平衡, 可能成为妊娠期高血压疾病治疗的新思路。

### 4 参考文献

- 1 Somerset DA, Zheng Y, Kilby MD *et al.* Normal human pregnancy is associated with an elevation in the immune suppressive CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> regulatory T-cell subset (J). *Immunology*, 2004, 112: 38
- 2 Mjosberg J, Svensson J, Johansson E *et al.* Systemic reduction of functionally suppressive CD4 dim CD25 high Foxp3<sup>+</sup> Tregs in human second trimester pregnancy is induced by progesterone and 17 beta-estradiol (J). *J Immunol*, 2009, 183: 759
- 3 Wing K. Emerging possibilities in the development and function of regulatory T cells (J). *Int Immunol*, 2006, 18: 991
- 4 Sasaki Y, Darmochwaki-Kolarz D, Suzuki D *et al.* Proportion of peripheral blood and decidual CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory T cells in pre-eclampsia (J). *Clin Exp Immunol*, 2007, 149 (1): 139
- 5 Groux H, O'Garra A, Bigler M *et al.* A CD4<sup>+</sup>T-cell subset inhibits antigen-specific T-cell responses and prevents colitis (J). *Nature*, 1997, 389: 737
- 6 Weiner HL. Induction and mechanism of action of transforming growth factor-beta-secreting Th3 regulatory cells (J). *Immunol Rev*, 2001, 182: 207
- 7 Fogle JE, Mexas AM, Tompkins WA *et al.* CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T regulatory cells inhibit CD8 + IFN-gamma production during acute and chronic HIV infection utilizing a membrane TGF-beta-dependent mechanism (J). *AIDS Res Hum Retroviruses*, 2010, 26 (2): 201

(2011-11-23 收稿)

(编校 徐强)