

· 临床论著 ·

# 可溶性人白细胞抗原 G 与妊娠合并绒毛膜羊膜炎的临床相关性研究

赵明瑜 张璐

**【摘要】 目的** 探讨可溶性人白细胞抗原 G (sHLA-G) 与妊娠合并绒毛膜羊膜炎的关系。**方法** 选取早产及胎膜早破孕产妇 90 例及正常足月分娩孕产妇 40 例,通过双抗体夹心酶联免疫吸附试验(ELISA)检测上述研究对象终止妊娠前外周血和羊水中 sHLA-G 的水平,同时对其产后胎膜行病理检查,判断有无绒毛膜羊膜炎。**结果** 通过对产后胎膜组织进行病理检查共检测出绒毛膜羊膜炎患者 54 例(研究组),另外 76 例无绒毛膜羊膜炎患者作为对照组。研究组患者羊水中 sHLA-G 的水平均值为  $79.38 \pm 19.08$  U/ml,显著高于对照组( $43.77 \pm 14.09$  U/ml),差异有统计学意义( $P < 0.001$ );而外周血中 sHLA-G 的水平研究组平均为  $45.98 \pm 10.05$  U/ml,亦显著高于无绒毛膜羊膜炎者( $28.66 \pm 10.88$  U/ml),差异有统计学意义( $P < 0.001$ )。**结论** 患者发生绒毛膜羊膜炎时,羊水和血清中 sHLA-G 水平均升高,这提示 sHLA-G 可能参与羊膜腔感染的宿主免疫反应调节,血清中 sHLA-G 水平可作为绒毛膜羊膜炎的辅助诊断指标。

**【关键词】** 可溶性人白细胞抗原 G;绒毛膜羊膜炎

**Clinical correlation between the concentration of soluble human leukocyte antigen-G and the presence of chorioamnionitis** ZHAO Ming-yu, ZHANG Lu. Department of Obstetrics and Gynaecology, Yantaishan Hospital (Sino-French Friendship Hospital), Yantai 264001, China

Corresponding author: ZHAO Ming-yu, Email: ytszmy@163.com

**【Abstract】 Objective** To determine if the concentration of sHLA-G (soluble human leukocyte antigen-G) change with the presence of histologic chorioamnionitis. **Methods** Total of 40 cases with normal pregnancy and 90 pregnant women with premature rupture of membranes or preterm delivery were enrolled in this study. sHLA-G concentrations of amniotic fluid (AF) or serum sample were determined by ELISA. **Results** Among the 130 patients, 54 patients were diagnosed as histologic chorioamnionitis through pathological examination. The median sHLA-G concentrations in AF

DOI:10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2011.04.007

基金项目:烟台市科学技术发展计划项目(2010309)

作者单位:264001 烟台市,烟台市烟台山医院(烟台中法友谊医院)妇产科

通讯作者:赵明瑜,Email:ytszmy@163.com

was elevated in patients with histologic chorioamnionitis than those without chorioamnionitis ( $79.38 \pm 19.08$  U/ml vs  $43.77 \pm 14.09$  U/ml,  $P < 0.001$ ). Similarly, median concentration of sHLA-G in blood of patients with histologic chorioamnionitis were higher than those without chorioamnionitis ( $45.98 \pm 10.05$  U/ml vs  $28.66 \pm 10.88$  U/ml,  $P < 0.001$ ). **Conclusions** Patients with chorioamnionitis had a higher median sHLA-G concentration in both AF and serum samples than those without histologic inflammation. So we propose that sHLA-G may participate in the regulation of host immune response against intraamniotic infection, and we can take it as a diagnostic index of chorioamnionitis.

**【Key words】** Soluble human leukocyte antigen-G; Chorioamnionitis

绒毛膜羊膜炎是一种临床常见疾病,严重危害妊娠安全和妊娠质量,但约 87.5% 的妊娠合并绒毛膜羊膜炎患者表现为亚临床感染,临床上不易识别,不能及时治疗,进而导致一系列不良妊娠结局。人类白细胞抗原 G (human leukocyte antigen-G, HLA-G) 是一种非经典 HLA-I 类抗原,是很重要的免疫耐受分子,在妊娠期外周血、脐带血和羊水中都可检测到可溶性 HLA-G (soluble human leukocyte antigen-G, sHLA-G) 的存在<sup>[1]</sup>。本研究收集早产、胎膜早破、正常足月产孕妇的外周血及羊水样本,运用双抗体夹心酶联免疫吸附试验 (ELISA) 检测其中的 sHLA-G 水平,并与产后胎膜病理检查结果进行对照,以期探讨 sHLA-G 与妊娠合并绒毛膜羊膜炎的临床相关性。

## 资料与方法

### 一、研究对象

选取 2009 年 10 月至 2010 年 10 月在烟台市烟台山医院产科分娩的病理孕产妇 90 例 (包括无胎膜早破的早产患者 15 例;足月胎膜早破患者 60 例;未足月胎膜早破患者 15 例) 以及非病理孕产妇 40 例 (足月经阴道分娩或足月剖宫产者 40 例),通过对上述孕妇产后的胎膜组织进行病理检查,划分为有绒毛膜羊膜炎组 (研究组) 和无绒毛膜羊膜炎组 (对照组)。胎膜早破的诊断参照《妇产科学》<sup>[2]</sup>。所有研究对象均为初产妇,排除其他并发症患者。

### 二、方法

所有研究对象终止妊娠前均留取少量外周血和羊水作为实验标本,具体方法如下:胎膜早破患者产时常规消毒外阴阴道,行阴道检查上推胎头,使羊水自阴道流出,用注射器抽取羊水 5 ml。非胎膜早破患者,产时暴露羊膜后用注射器穿刺抽取羊水 5 ml。所有孕产妇在采集羊水的同时抽取肘静脉血 3 ml。所得羊水和血液分别置无菌试管内离心后取上清液 1 ml 于  $-20^{\circ}\text{C}$  保存。使用 sHLA-G ELISA 试剂盒 (EXBIO Praha) 通过 ELISA 批量测定样本中的 sHLA-G 含量。分娩后取距破口 5 cm 处全层胎膜组织  $2\text{ cm} \times 2\text{ cm}$ , 福尔马林固定、石蜡包埋、切片后行 HE 染色,显微镜下观察。

### 三、结果判定

绒毛膜羊膜炎的诊断标准:胎膜病理检测呈炎症反应,绒毛膜板及羊膜上白细胞呈弥漫性聚集,每个高倍镜视野有 5~10 个中性粒细胞浸润,白细胞浸润呈极性分布<sup>[3]</sup>。

### 四、统计学处理

采用 SPSS 12.0 统计软件对数据进行分析,结果用  $\bar{x} \pm s$  表示。用双侧  $t$  检验(两组数据呈正态分布且方差齐,统计量为  $t$ )比较组间差异,假设检验的水准  $\alpha = 0.05$ 。以  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 结 果

### 一、胎膜组织病理检测及研究组与对照组的划分

对所有研究对象产后胎膜组织进行病理检查发现:15 例无胎膜早破的早产患者中检测出绒毛膜羊膜炎患者 6 例,发生率为 40.0% (6/15);15 例未足月胎膜早破患者中检测出绒毛膜羊膜炎患者 11 例,发生率为 73.0% (11/15);60 例足月胎膜早破患者中检出绒毛膜羊膜炎患者 28 例,发生率为 47.0% (28/60);40 例正常足月分娩患者中检出绒毛膜羊膜炎患者 9 例,发生率为 23.0% (9/31),见表 1。

表 1 130 例研究对象胎膜病理检测结果(例)

来源	例数	检出绒毛膜羊膜炎者	无绒毛膜羊膜炎者
无胎膜早破的早产患者	15	6	9
未足月胎膜早破患者	15	11	4
足月胎膜早破患者	60	28	32
正常足月分娩患者	40	9	31
总计	130	54	76

将检出的 54 例绒毛膜羊膜炎患者一同纳入研究组,孕产妇年龄 23~34 岁(平均  $28.52 \pm 2.61$  岁),孕周 31~41 周(平均  $37.81 \pm 2.65$  周);另外 76 例无绒毛膜羊膜炎作为对照组,孕产妇年龄 24~33 岁(平均  $27.93 \pm 2.03$  岁),孕周 34~41 周(平均  $38.55 \pm 1.88$  周)。比较两组孕妇平均年龄、取样孕周,差异均无统计学意义。

### 二、羊水中 sHLA-G 的检测结果

研究组和对照组孕产妇羊水中 sHLA-G 的含量分别为( $79.38 \pm 19.08$ ) U/ml 和( $43.77 \pm 14.09$ ) U/ml。与对照组相比,合并绒毛膜羊膜炎患者羊水水中的 sHLA-G 含量显著升高( $t = 12.240, P < 0.001$ ),见表 2。

### 三、血清中 sHLA-G 的检测结果

研究组血清中 sHLA-G 的含量为( $45.98 \pm 10.05$ ) U/ml,对照组为( $28.66 \pm 10.88$ ) U/ml。与对照组相比,合并绒毛膜羊膜炎患者血清中的 sHLA-G 含量亦显著升高( $t = 7.919, P < 0.001$ ),见表 2。



表 2 两组孕产妇血清和羊水中 sHLA-G 水平比较(U/ml,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	羊水中 sHLA-G 含量	血清中 sHLA-G 含量
研究组(有绒毛膜羊膜炎组)	54	79.38 $\pm$ 19.08	43.77 $\pm$ 14.09
对照组(无绒毛膜羊膜炎组)	76	45.98 $\pm$ 10.05	28.66 $\pm$ 10.88

## 讨 论

1987 年, Geraghty 等首次克隆出 HLA-G 基因, 其位于 6 号染色体短臂(6p2113), 为非经典 HLA-I 类基因, 具有低度多态性, 相对分子质量为 37 ~ 39 kD, 由 8 个外显子和 7 个内含子组成<sup>[4]</sup>。其编码的 HLA-G 蛋白具有较严格的局限性组织分布, 主要分布在母-胎界面绒毛外细胞滋养层上, 即浸润至子宫蜕膜层甚至达子宫浅基层及子宫螺旋动脉内皮层, 与母血及子宫组织有直接接触的滋养细胞层<sup>[5]</sup>。sHLA-G 可经体液循环遍布全身各组织器官, 目前发现人体外周血、脐带血、羊水及卵母细胞培养液中均存在 sHLA-G, 且存在于妊娠期各阶段, 孕妇血清中 sHLA-G 水平显著高于非孕妇, 但正常妊娠妇女早、中、晚期血清 sHLA-G 水平的差异无统计学意义<sup>[6]</sup>。sHLA-G 可保护滋养层细胞免受 NK 细胞杀伤, 诱导母胎界面的免疫耐受<sup>[7]</sup>。sHLA-G 的异常表达与妊娠相关疾病之间存在一定的关系。研究显示, 习惯性流产和先兆子痫患者血清 sHLA-G 的含量显著低于正常妊娠的妇女<sup>[8,9]</sup>, 从而提示 sHLA-G 的存在可能是维持妊娠的前提条件。

绒毛膜羊膜炎是一种临床常见疾病, 可导致孕妇和新生儿严重并发症, 使剖宫产、子宫内膜炎、败血症、产后出血、产褥感染的几率增加, 也增加早产、胎儿窘迫、新生儿窒息、新生儿感染、围生儿死亡等的发生率<sup>[10,11]</sup>。本研究亦提示早产、胎膜早破患者合并绒毛膜羊膜炎的几率远高于正常足月分娩者。很多绒毛膜羊膜炎患者无典型临床表现, 待组织学绒毛膜羊膜炎发展为临床期绒毛膜羊膜炎时, 往往已经无法逆转其不良并发症的发生, 因此早期诊断绒毛膜羊膜炎对母胎的预后有着重要意义。临床上常借助羊水培养或羊水涂片来做出诊断, 但由于导致感染的病原体种类极其繁多复杂, 很难做到对所有病原体进行培养或检查<sup>[12]</sup>, 且培养操作耗时较长, 也常致该疾病不易识别、治疗不及时, 于是研究人员开始将目光转向体液中炎症因子的检测。已有关于绒毛膜羊膜炎与母体血清中 C-反应蛋白、白细胞介素-6、白细胞介素-8、白细胞介素-10 等因子的相关性研究, 但其诊断的敏感性尚可, 特异性均有不同程度的欠缺, 故目前对于绒毛膜羊膜炎的早期诊断越来越提倡检测指标的联合应用, 以提高指标预测价值<sup>[13-17]</sup>。

sHLA-G 作为维持妊娠的一种重要的免疫耐受分子, 其与绒毛膜羊膜炎的关系尚不明确。Kusanovic 等<sup>[18]</sup>研究发现早产患者羊水中 sHLA-G 的升高与羊膜腔感染(绒毛膜羊膜炎)有关, 本研究将研究对象扩大为不同孕周分娩的晚孕孕妇, 亦发现合并绒毛膜羊膜炎的孕产妇羊水中 sHLA-G 的含量较对照组升高, 进一步验证了 sHLA-G 与绒毛膜羊膜炎的关系, 提示绒毛膜羊膜炎的发病可能与 sHLA-G 水平升高进而增加了对母体免疫细胞活性的抑制有关。

另外,本研究通过对不同孕产妇终止妊娠前的血清样本进行检测还发现,发生绒毛膜羊膜炎的孕产妇血清中 sHLA-G 的含量亦显著增高,差异有统计学意义。血清 sHLA-G 水平升高作为绒毛膜羊膜炎发生的早期事件,且由于其在母血中的表达水平不受孕龄等的影响,操作的可重复性高,可以作为诊断绒毛膜羊膜炎的一项辅助诊断指标。对比羊水检测与血清检测,产前抽取羊水检测为侵入性操作,风险较大,有损伤胎儿、引起早产及引起感染的可能,临床应用有一定的局限性。因此,通过测定母体血清 sHLA-G 含量来预测绒毛膜羊膜炎的发生更简单易行且更加安全,结合血清 C-反应蛋白等因子的检测可以增加绒毛膜羊膜炎的检出率,从而达到对其早期干预性治疗,减少早产、胎膜早破等的发生,避免盲目预防性应用抗生素,对改善妊娠结局、降低围生儿病死率、提高产科质量具有重大意义。

### 参 考 文 献

- 1 Hackmon R, Hallak M, Krup M, et al. HLA-G antigen and parturition: maternal serum, fetal serum and amniotic fluid levels during pregnancy. *Fetal Diagn Ther*, 2004, 19(5):404-409.
- 2 乐杰. 妇产科学. 7 版. 北京:人民卫生出版社, 2008.
- 3 侯彩英, 闵保华, 王珺, 等. 正常孕妇不同孕周血清中 sHLA-G 的水平. *细胞与分子免疫学杂志*, 2008, 24(9):926-927.
- 4 Kamishikiryo J, Maenaka K. HLA-G molecule. *Curr Pharm Des*, 2009, 15(28):3318-3324.
- 5 Apps R, Sharkey A, Gardner L, et al. Ex vivo functional responses to HLA-G differ between blood and decidual NK cells. *Mol Hum Reprod*, 2011, 17(9):577-586.
- 6 Aruna M, Sudheer PS, Andal S, et al. HLA-G polymorphism patterns show lack of detectable association with recurrent spontaneous abortion. *Tissue Antigens*, 2010, 76(3):216-222.
- 7 Yan WH. HLA-G expression in cancers: potential role in diagnosis, prognosis and therapy. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*, 2011, 11(14):76-89.
- 8 Iversen AC, Nguyen OT, Tommerdal LF, et al. The HLA-G 14bp gene polymorphism and decidual HLA-G 14bp gene expression in pre-eclamptic and normal pregnancies. *J Reprod Immunol*, 2008, 78(2):158-165.
- 9 Berger DS, Hogge WA, Barmada MM, et al. Comprehensive analysis of HLA-G: implications for recurrent spontaneous abortion. *Reprod Sci*, 2010, 17(4):331-338.
- 10 Gantert M, Been JV, Gavilanes AW, et al. Chorioamnionitis: a multiorgan disease of the fetus. *J Perinatol*, 2010, 30(Suppl):S21-S30.
- 11 Shobokshi A, Shaarawy M. Maternal serum and amniotic fluid cytokines in patients with preterm premature rupture of membranes with and without intrauterine infection. *Int J Gynaecol Obstet*, 2002, 79(3):209-215.
- 12 Romero R, Emamian M, Quintero R, et al. The value and limitations of the Gram stain examination in the diagnosis of intraamniotic infection. *Am J Obstet Gynecol*, 1988, 159(1):114-119.
- 13 Kacerovský M, Drahosová M, Hornychová H, et al. Amniotic fluid interleukin 6 levels in preterm premature rupture of membranes. *Ceska Gynekol*, 2009, 74(6):403-410.
- 14 Paananen R, Husa AK, Vuolteenaho R, et al. Blood cytokines during the perinatal period in very preterm infants: relationship of inflammatory response and bronchopulmonary dysplasia. *J Pediatr*, 2009, 154(1):39-43.
- 15 Kacerovsky M, Drahosova M, Hornychova H, et al. Value of amniotic fluid interleukin-8 for the prediction of histological chorioamnionitis in preterm premature rupture of membranes. *Neuro Endocrinol Lett*, 2009, 30(6):733-738.
- 16 Greksova K, Parrak V, Chovancova D, et al. Procalcitonin, neopterin and C-reactive protein in diagnostics of intrauterine infection and preterm delivery. *Bratisl Lek Listy*, 2009, 110(10):623-626.
- 17 Satar M, Turhan E, Yapicioglu H, et al. Cord blood cytokine levels in neonates born to mothers with prolonged premature rupture of membranes and its relationship with morbidity and mortality. *Eur Cytokine Netw*, 2008, 19(1):37-41.
- 18 Kusanovic JP, Romero R, Jodicke C, et al. Amniotic fluid soluble human leukocyte antigen-G in term and preterm parturition,

and intra-amniotic infection/inflammation. J Matern Fetal Neonatal Med, 2009, 22(12):1151-1166.

(收稿日期:2011-04-28)

(本文编辑:孙荣华)

赵明瑜, 张璐. 可溶性人白细胞抗原 G 与妊娠合并绒毛膜羊膜炎的临床相关性研究[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志:电子版, 2011, 5(4):437-442.

