

# 维生素 D 与稽留流产的免疫相关性研究

苏贞文, 姚吉龙, 姜艳华

深圳市罗湖区妇幼保健院妇产科, 广东 深圳 518001

**摘要:** **目的** 探讨维生素 D 与稽留流产的免疫相关性。**方法** 选择 2013 年 7 月至 2014 年 7 月住院治疗的稽留流产患者 73 例作为观察组,另取同期人工流产的 75 例正常女性作为对照组。比较两组血清维生素 D<sub>3</sub> 水平、细胞免疫(CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>)及 Th1、Th2 细胞因子水平差异,分析维生素 D 与稽留流产的免疫相关性。**结果**

(1)观察组血清维生素 D<sub>3</sub> 水平低于对照组[(12.93 ± 1.74) nmol/L vs (19.95 ± 2.99) nmol/L],差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。(2)观察组 CD4<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>、IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$  水平均高于对照组,CD8<sup>+</sup>、IL-6、IL-10 水平低于对照组,差异均有统计学意义( $P$  均  $< 0.01$ )。(3)单因素回归分析显示,维生素 D<sub>3</sub> 水平与 CD4<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>、IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$  水平呈负相关,与 CD8<sup>+</sup>、IL-6、IL-10 水平呈正相关( $P$  均  $< 0.01$ )。**结论** 稽留流产孕妇维生素 D 缺乏、细胞免疫功能亢进、辅助性 T 细胞向 Th1 细胞偏移,且维生素 D<sub>3</sub> 含量与免疫功能存在相关性。

**关键词:** 稽留流产; 维生素 D; 细胞免疫; 辅助性 T 细胞; 干扰素- $\gamma$ ; 肿瘤坏死因子- $\alpha$ ; 白介素-6; 白介素-10  
**中图分类号:** R 714.21 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-8182(2015)03-0280-03

## Correlation between vitamin D level and immunity in missed abortion

SU Zhen-wen, YAO Ji-long, JIANG Yan-hua

Department of Gynaecology and Obstetrics, Shenzhen Luohu Maternal and Child Health Hospital,  
Shenzhen, Guangdong 518001, China

**Abstract: Objective** To study vitamin D level and immunity in missed abortion and their correlation. **Methods** Seventy-three patients with missed abortion admitted in our hospital from July 2013 to July 2014 were selected as observation group, and 75 normal females received induced abortion in the same time were selected as control group. Serum Vitamin D<sub>3</sub> levels, cell immunity (CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>) and T helper cells (Th)1 and Th2 factors levels in two groups were compared, and the correlation between vitamin D level and immunologic functions in missed abortion was analyzed. **Results**

Serum Vitamin D<sub>3</sub> level in observation group decreased significantly compared with control group [(12.93 ± 1.74) nmol/L vs (19.95 ± 2.99) nmol/L,  $P < 0.05$ ]. The levels of CD4<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>, interferon (IFN)- $\gamma$  and tumor necrosis factor (TNF)- $\alpha$  in observation group increased significantly compared with control group (all  $P < 0.01$ ), and the levels of CD8<sup>+</sup>, interleukin (IL)-6 and IL-10 in observation group decreased significantly compared with control group (all  $P < 0.01$ ). Single factor regression analysis showed that the vitamin D<sub>3</sub> level was negatively correlated with CD4<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>, IFN- $\gamma$  and TNF- $\alpha$  levels and positively correlated with CD8<sup>+</sup>, IL-6, IL-10 levels (all  $P < 0.01$ ). **Conclusion** The pregnant women with missed abortion present vitamin D deficiency, cell immune function hyperfunction, Th1 offset in helper T cells and the correlation between vitamin D<sub>3</sub> content and immune functions.

**Key words:** Missed abortion; Vitamin D; Cell immune; Helper T cell; Interferon- $\gamma$ ; Tumor necrosis factor- $\alpha$ ; Interleukin-6; Interleukin-10

稽留流产的发生率约 13.4%, 已经成为我国重要的公共卫生问题<sup>[1]</sup>。由于稽留流产导致妇女宫腔操作率增加,引起盆腔感染、不孕等,严重危害广大妇女身心健康,甚至影响家庭和谐。本研究从病因作为起点,分析维生素 D 与稽留流产的免疫相关性,从而

为稽留流产提供新的治疗方向。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选择 2013 年 7 月至 2014 年 7 月在本院接受治疗的稽留流产患者 73 例作为观察组,纳入标准:(1) 夫妇双方和/或胚胎染色体正常,无家族遗传病史;(2) 妇科检查、超声检查排除器质性病变和生殖器官解剖畸形;(3) 月经周期正常;(4) 性激素、甲状腺功能、血糖、胰岛素等内分泌检查

均正常; (5) 排除生殖道感染性疾病, 如霉菌、支原体、衣原体等感染; (6) 巨细胞病毒、弓形虫等病原体 IgM 检查均为阴性; (7) 检查抗磷脂抗体排除抗磷脂综合征。将 10 ~ 12 周活胎要求终止妊娠者的妇女 75 例作为正常对照组, 入组标准: 既往无自然流产、死胎、死产史, 无遗传、解剖、内分泌方面的异常及感染、自身免疫性疾病史, 此次妊娠期间无阴道流血、腹痛等先兆流产症状和体征; 超声证实胚胎发育正常, 有心管搏动。观察组年龄 25 ~ 36 (28.17 ± 6.11) 岁; 孕次 1 ~ 3 (1.32 ± 0.27) 次。对照组年龄 23 ~ 35 (27.65 ± 4.92) 岁; 孕次 1 ~ 3 (1.29 ± 0.21) 次。两组年龄、孕次等基线资料比较差异无统计学意义 ( $P$  均 > 0.05)。

## 1.2 观察指标

1.2.1 血清维生素 D<sub>3</sub> 水平 抽取外周静脉血 5 ml, 测定两组研究对象的血清维生素 D<sub>3</sub> 水平。试剂盒由大连宝晶生物技术公司提供, 检测方法: 酶联免疫法。

1.2.2 细胞免疫水平 抽取外周静脉血 5 ml, 采用流式细胞法测定细胞免疫指标 CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 等水平。

1.2.3 Th1/Th2 细胞因子含量 抽取外周静脉血 5 ml, 采用 ELISA 法测定 Th1 细胞因子干扰素 (IFN)- $\gamma$ 、肿瘤坏死因子 (TNF)- $\alpha$ , Th2 细胞因子白介素 (IL)-6、IL-10 水平。试剂盒购自深圳晶美生物工程有限公司 (美国 Genzyme 公司分装产品), 严格按照说明书进行。

1.3 统计学方法 采用 SPSS 13.0 软件进行统计分析, 计量资料用  $\bar{x} \pm s$  表示, 组间比较采用  $t$  检验。两变量间相关性比较采用直线相关分析。  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 两组血清维生素 D<sub>3</sub> 水平比较 观察组维生素 D<sub>3</sub> 含量 (12.93 ± 1.74) nmol/L, 对照组维生素 D<sub>3</sub> 含量 (19.95 ± 2.99) nmol/L, 观察组维生素 D<sub>3</sub> 含量低于对照组, 差异有统计学意义 ( $t = 6.698, P < 0.01$ )。

2.2 两组细胞免疫水平比较 观察组 CD4<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 水平均高于对照组, CD8<sup>+</sup> 水平低于对照组, 差异均有统计学意义 ( $P$  均 < 0.01)。见表 1。

2.3 两组 Th1/Th2 细胞因子含量比较 观察组 Th1 因子水平高于对照组, Th2 因子水平低于对照组, 差异均有统计学意义 ( $P$  均 < 0.01)。见表 2。

2.4 血清维生素 D<sub>3</sub> 与稽留流产的免疫相关性 经单因素回归分析, 维生素 D<sub>3</sub> 水平与 CD4<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>、IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$  水平呈负相关, 与 CD8<sup>+</sup>、IL-6、

表 1 两组细胞免疫指标比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别    | 例数 | CD4 <sup>+</sup> (%) | CD8 <sup>+</sup> (%) | CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup> |
|-------|----|----------------------|----------------------|------------------------------------|
| 观察组   | 73 | 54.82 ± 6.23         | 22.28 ± 2.94         | 2.46 ± 0.37                        |
| 对照组   | 75 | 33.49 ± 4.95         | 28.49 ± 3.42         | 1.18 ± 0.24                        |
| $t$ 值 |    | 5.985                | 5.049                | 6.995                              |
| $P$ 值 |    | < 0.01               | < 0.01               | < 0.01                             |

表 2 两组 Th1/Th2 细胞因子含量比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别    | 例数 | Th1 细胞因子             |                      | Th2 细胞因子       |                    |
|-------|----|----------------------|----------------------|----------------|--------------------|
|       |    | TNF- $\alpha$ (ng/L) | IFN- $\gamma$ (ng/L) | IL-6 (ng/L)    | IL-10 ( $\mu$ g/L) |
| 观察组   | 73 | 62.45 ± 8.34         | 51.67 ± 6.91         | 62.79 ± 8.46   | 22.31 ± 3.04       |
| 对照组   | 75 | 39.65 ± 6.22         | 30.45 ± 4.68         | 114.32 ± 16.66 | 36.52 ± 4.83       |
| $t$ 值 |    | 7.298                | 6.877                | 8.598          | 7.998              |
| $P$ 值 |    | < 0.01               | < 0.01               | < 0.01         | < 0.01             |

表 3 维生素 D 与稽留流产的免疫相关性情况

| 检测指标                               | 回归系数 $b$ | 决定系数 $\gamma^2$ | $t$ 值  | $P$ 值  |
|------------------------------------|----------|-----------------|--------|--------|
| CD4 <sup>+</sup>                   | -2.382   | 0.519           | 14.587 | < 0.01 |
| CD8 <sup>+</sup>                   | 1.993    | 0.447           | 11.485 | < 0.01 |
| CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup> | -2.033   | 0.482           | 15.672 | < 0.01 |
| TNF- $\alpha$                      | -1.485   | 0.561           | 17.482 | < 0.01 |
| IFN- $\gamma$                      | -1.757   | 0.558           | 14.402 | < 0.01 |
| IL-6                               | 2.582    | 0.602           | 17.799 | < 0.01 |
| IL-10                              | 1.394    | 0.495           | 9.495  | < 0.01 |

IL-10 水平呈正相关。见表 3。

## 3 讨论

稽留流产是指胚胎或胎儿已死亡滞留宫腔内未能及时自然排出者, 是流产中的一种特殊类型, 是妇产科常见疾病。近年来的生殖免疫学研究表明, 稽留流产除常见的染色体异常、环境因素、内分泌异常、感染因素外, 还与免疫因素有关<sup>[2]</sup>。根据免疫学理论, 妊娠过程中, 带有父方异性抗体的胚胎对母体而言是一种半异体移植物, 母体免疫系统识别胚胎并产生保护性免疫应答, 直至胎儿娩出。体内细胞免疫和体液免疫功能的平衡对于维持妊娠具有重要价值<sup>[3]</sup>。这种平衡一旦打破, 细胞免疫功能过度亢进, 将导致妊娠失败。T 淋巴细胞是介导细胞免疫的主要细胞, 其中 CD4<sup>+</sup> 是重要的辅助性 T 细胞, 能够协同并增强细胞免疫反应<sup>[4]</sup>; CD8<sup>+</sup> 是重要的抑制性 T 细胞, 能够抑制免疫反应<sup>[5]</sup>。本研究通过比较两组对象的 T 细胞亚群含量显示, 观察组的 CD4<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 水平高于对照组, CD8<sup>+</sup> 水平低于对照组。这说明稽留流产产妇存在细胞免疫功能亢进<sup>[6]</sup>。

有研究报道, 稽留流产的发生与 CD4<sup>+</sup> T 细胞介导的细胞免疫增强有关<sup>[7]</sup>, CD4<sup>+</sup> T 细胞又可分为 Th1 和 Th2 两类亚群细胞, Th1 细胞分泌 IL-2、IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$  等细胞因子, 它们的功能主要是促进细胞免疫, 参与细胞免疫为主的免疫性疾病<sup>[8]</sup>; Th2 细胞分泌 IL-4、IL-5、IL-6、IL-9、IL-10 和 IL-13 等, 它们的功

能主要是促进体液免疫,在以抗体形成为主的体液免疫中起重要作用<sup>[9]</sup>。在正常妊娠的母体中,细胞免疫功能受到抑制、体液免疫功能得到增强,Th1/Th2 细胞比值向 Th2 细胞方向偏移,Th2 细胞处于优势地位并有利于维持妊娠<sup>[10]</sup>;当免疫功能发生异常时,Th1/Th2 细胞比值向 Th1 细胞方向偏移,Th1 细胞分泌具有胚胎毒作用的大量因子,阻碍早期胚胎的发育,导致病理性妊娠、稽留流产的发生<sup>[11]</sup>。本研究结果显示,观察组的 IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$  水平高于对照组,IL-6、IL-10 水平低于对照组。这说明稽留流产孕妇体内的 Th1 细胞功能加强,表现为 Th1 细胞因子水平增高,进而介导疾病的发生。

维生素 D 是人体一种必需的维生素,其活化代谢物为 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>。维生素 D 缺乏在世界范围内普遍存在,约为 30%~50%;活性维生素 D 的生物效应由细胞内特异的维生素 D 受体介导,在体内能够发挥促进胚胎肌肉发育和成熟,免疫系统调节,抑制细胞坏死、肿瘤浸润和转移,调节细胞增殖和分化等作用<sup>[12]</sup>。本研究结果显示,观察组的维生素 D<sub>3</sub> 含量低于对照组,说明稽留流产孕妇存在维生素 D<sub>3</sub> 的缺乏。活性维生素 D 的功能包括调节抗原呈递细胞(APC)、诱导免疫耐受、影响细胞因子的分泌、抑制活性诱导的细胞死亡等,最终可以发挥免疫抑制的作用<sup>[13]</sup>。为了明确维生素 D<sub>3</sub> 水平与稽留流产免疫异常的相关性,我们以维生素 D<sub>3</sub> 为自变量进行了单因素回归分析,结果显示,维生素 D<sub>3</sub> 水平与 CD4<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>、IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$  水平呈负相关,与 CD8<sup>+</sup>、IL-6、IL-10 水平呈正相关。说明维生素 D<sub>3</sub> 可能通过影响免疫功能导致稽留流产的发生。

本研究结果表明,稽留流产孕妇维生素 D<sub>3</sub> 缺乏、细胞免疫功能亢进、辅助性 T 细胞向 Th1 细胞偏移,且维生素 D<sub>3</sub> 含量与免疫功能存在相关性。本研究的局限性在于观察指标较单一,其可能的作用机制探讨不深入,可能会对结果造成偏倚,有待于今后扩大样

本更深入的研究。

## 参考文献

- [1] 曹卫平,钱秋菊,汪科换,等. 稽留流产患者外周血 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> 调节性 T 细胞的表达及意义[J]. 中国妇幼保健,2010,25(27):3963-3965.
- [2] Tilburgs T,Schonkeren D,Eikmans M,et al. Human decidua contains differentiated CD4<sup>+</sup> effector-memory T cells with unique properties[J]. J Immunol,2010,185(7):4470-4477.
- [3] 康美花,田春芳. 稽留流产患者皮质醇与 IL-12 浓度水平测定及意义[J]. 中国妇幼保健,2013,28(24):3998-3999.
- [4] Grossmann M,Hoermann R,Francis C,et al. Measuring thyroid peroxidase antibodies on the day nulliparous women present for management of miscarriage:a descriptive cohort study[J]. Reprod Biol Endocrinol,2013,11:40.
- [5] 方杰,鲍婷郡,Baniya S,等. 稽留流产妇女蜕膜 IFN- $\gamma$  水平与 IgE 检测及临床分析[J]. 中国医药科学,2013,3(19):52-53.
- [6] 刘颂平,温坚. 1,25-(OH)<sub>2</sub> 维生素 D<sub>3</sub> 对稽留流产患者蜕膜产生的细胞因子的影响[J]. 中国医药导报,2012,9(29):82-84.
- [7] Maeda Y,Ohtsuka H,Tomioka M,et al. Effect of progesterone on Th1/Th2/Th17 and regulatory T cell-related genes in peripheral blood mononuclear cells during pregnancy in cows[J]. Vet Res Commun,2013,37(1):43-49.
- [8] 程萍. 稽留流产的预防与营养的关系[J]. 中国社区医师(医学专业),2013,15(5):154-155.
- [9] Nakashima A,Ito M,Shima T,et al. Accumulation of IL-17-positive cells in decidua of inevitable abortion cases[J]. Am J Reprod Immunol,2010,64(1):4-11.
- [10] Crome SQ,Wang AY,Levings MK. Translational mini-review series on Th17 cells: function and regulation of human T helper 17 cells in health and disease[J]. Clin Exp Immunol,2010,159(2):109-119.
- [11] 骆海娟,王敏,程丽萍. 糖皮质激素、白介素 12 在稽留流产患者中的表达及意义[J]. 海南医学,2012,23(16):43-45.
- [12] 郑瑶. 生殖道支原体和沙眼衣原体感染与稽留流产的相关性分析[J]. 吉林医学,2014,35(28):6252-6254.
- [13] 范雅萍,朱中平,吴祥林. 孕妇血镉、铅、钙、铜、锌水平与稽留流产的关联性研究[J]. 广东医学院学报,2014,32(4):454-457.

收稿日期:2014-11-20 修回日期:2014-12-15 编辑:王国品