

过敏性紫癜患儿 PBMC 中 Toll 样受体 2,4 表达与 T 细胞亚群的关系研究*

陆 烨¹, 方 凤¹, 袁 洁¹, 王 晟², 陈 乐³ (1. 上海儿童医学中心浦滨儿童医院儿内科, 上海 200120; 2. 上海市宝山区罗店医院儿科, 上海 201908; 3. 上海交通大学医学院附属上海儿童医学中心儿内科, 上海 200127)

摘要:目的 分析 Toll 样受体 2,4 (TLR2, TLR4) 在过敏性紫癜 (HSP) 患儿外周血单个核细胞 (PBMC) 细胞中的表达, 并探讨 TLR2 和 TLR4 水平与患儿 T 细胞亚群的关系。方法 选取 2015 年 3 月~2017 年 2 月上海儿童医学中心收治的经确诊为 HSP 的患儿 65 例为研究对象, 其中单纯 HSP 49 例 (HSP 组), 伴肾脏受累的 16 例 (HSPN 组); 选取同期体检健康的儿童 30 例为对照组。采用实时荧光定量 PCR 检测 PBMC 细胞中 TLR2 和 TLR4 的表达; 采用流式细胞仪检测 Th1, Th2, Th17 和 Treg 细胞比例, 以及 Th1/Th2, Th17/Treg 比值; 采用 Pearson 法分析 TLR2, TLR4 表达与 Th1/Th2, Th17/Treg 比值的相关性。结果 HSPN 组, HSP 组和对照组 TLR2 表达分别为 2.13 ± 0.36 , 1.64 ± 0.27 和 1.05 ± 0.12 , 差异有统计学意义 ($F=129.630$, $P<0.01$); TLR4 表达分别为 2.21 ± 0.45 , 1.82 ± 0.34 和 1.13 ± 0.17 , 差异有统计学意义 ($F=81.241$, $P<0.01$)。HSPN 组 Th1, Treg 细胞比例以及 Th1/Th2 比值均明显低于 HSP 组和对照组, 差异有统计学意义 ($F=34.103, 63.828, 91.432$, 均 $P<0.01$); HSPN 组 Th2, Th17 细胞比例以及 Th17/Treg 比值均明显高于 HSP 组和对照组, 差异有统计学意义 ($F=48.559, 48.475, 34.909$, 均 $P<0.01$)。TLR2, TLR4 与 Th1/Th2 比值呈负相关 ($r=-0.601, -0.652$, $P<0.01$), 与 Th17/Treg 比值呈正相关 ($r=0.617, 0.712$, $P<0.01$)。结论 HSP 患儿 PBMC 细胞 TLR2, TLR4 表达增加, 且可能与患儿 Th1/Th2, Th17/Treg 免疫应答失衡有关。

关键词:过敏性紫癜; 外周血单个核细胞; Toll 样受体 2,4; T 细胞亚群

中图分类号:R554.6; R392.11 **文献标志码:**A **文章编号:**1671-7414(2017)06-046-04

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2017.06.013

Expression of Toll Like Receptor 2,4 in PBMC Cells of Children with Henoch Schonleinpurpura and Its Relationship with T-cell Subgroups

LU Ye¹, FANG Feng¹, YUAN Jie¹, WANG Sheng², CHEN Le³ (1. Department of Pediatrics, Pubin Children's Hospital, Shanghai Children's Medical Center, Shanghai 200120, China; 2. Department of Pediatrics, Luodian Hospital of Baoshan District in Shanghai, Shanghai 201908, China; 3. Department of Pediatrics, Shanghai Children's Medical Center Affiliated to Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai 200127, China)

Abstract: Objective To analyze the expression of toll like receptor 2/4 (TLR2, TLR4) in peripheral blood mononuclear cells (PBMC) cells of children with henoch schonlein purpura (HSP), and investigate its relationship with T-cell subgroups.

Methods A total of 85 HSP children treated in Shanghai Children's Medical Center from March 2015 to February 2017 were selected, including 49 children without renal failure (HSP group) and 16 children with renal failure (HSPN group). 30 healthy children were enrolled as control group. The expression of TLR2, TLR4 was examined by real-time PCR. The ratio of Th1, Th2, Th17, Treg, Th1/Th2 and Th17/Treg was detected by flow cytometry. The relationship between TLR2, TLR4 and Th1/Th2, Th17/Treg was analyzed. **Results** The expression of TLR2 in HSPN, HSP and control group were 2.13 ± 0.36 , 1.64 ± 0.27 and 1.05 ± 0.12 , the expression of TLR4 were 2.21 ± 0.45 , 1.82 ± 0.34 and 1.13 ± 0.17 respectively. The differences were statistically significant ($F=129.630, 81.241$, all $P<0.01$). The percentage of Th1, Treg cells and the ratio of Th1/Th2 in HSPN group were significantly lower than those in HSP group and control group, and the differences were statistically significant ($F=34.103, 63.828, 91.432$, all $P<0.01$). The percentage of Th2, Th17 cells and the ratio of Th17/Treg in HSPN group were significantly lower than those in HSP group and control group, and the differences were statistically significant ($F=48.559, 48.475, 34.909$, $P<0.01$). The expression of TLR2 and TLR4 were negatively correlated with Th1/Th2 ($r=-0.601, -0.652$, $P<0.01$), and positively correlated with Th17/Treg ($r=0.617, 0.712$, $P<0.01$). **Conclusion** The expression of TLR2, TLR4 increases in HSP children, and may be related to the imbalance of Th1/Th2 and Th17/Treg immune response.

Keywords: henoch schonlein purpura; peripheral blood mononuclear cells; toll like receptor 2,4; T-cell subgroups

* 作者简介: 陆 烨 (1974—), 男, 大学本科, 主治医师, 主要从事儿童呼吸疾病的诊治研究, E-mail: ludot126@126.com。

通讯作者: 陈 乐 (1975—), 男, 大学本科, 副主任医师, 主要从事儿童呼吸疾病的诊治研究, E-mail: nason7037@163.com。

过敏性紫癜(henoch-schonlein purpura, HSP)是儿科常见疾病,主要表现为皮肤紫癜,但易累及肾脏引起紫癜性肾炎^[1]。近年来,小儿 HSP 发病率呈逐年升高之势,严重影响患儿生长发育。HSP 发病机制尚不十分清楚,临床上主要以支持治疗和对症治疗为主,然其副作用较大,病情易反复。因此,探索 HSP 发病机制对于疾病的防治具有重要意义。近年来研究认为^[2],免疫功能紊乱与 HSP 发病密切关系,主要表现为 T 细胞亚群中 Th1/Th2, Th17/Treg 免疫应答失衡。Toll 样受体 2, 4 (toll-like receptors 2/4, TLR2 和 TLR4)是能够识别病原相关分子模式的细胞表面受体,可能参与了 Th1/Th2, Th17/Treg 免疫应答失衡^[3,4]。本研究主要分析 HSP 患儿外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cells, PBMC)细胞 TLR2, TLR4 表达,及其与 Th1/Th2, Th17/Treg 平衡的关系,旨在为 HSP 的临床治疗提供一定的理论依据,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 研究对象 选取 2015 年 3 月~2017 年 2 月上海儿童医学中心收治的 65 例 HSP 患儿为研究对象。男性 37 例,女性 28 例;年龄 2~12 岁,平均年龄 6.7 ± 3.7 岁;病程 1~23 周,平均病程 12.3 ± 7.4 周;其中出现肾脏受累的患儿 16 例(HSPN 组),其余 49 例均为单纯性紫癜患儿(HSP 组)。纳入标准:符合第七版《诸福棠实用儿科学》有关 HSP 诊断标准;均为首次发病治疗,之前未接受其它药物治疗。排除标准:免疫抑制类药物或激素类药物;风湿性关节炎、系统性红斑狼疮、特发性血小板减少性紫癜等自身免疫性疾病;免疫系统缺陷病。同时,选取同期体检的健康儿童 30 例为对照组。3 组在性别、年龄等方面比较差异无统计

表 1 TLR2 和 TLR4 表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

指 标	HSPN 组 (n=49)	HSP 组 (n=16)	对照组 (n=30)	F	q_1	q_2	q_3
TLR2 表达	2.13 ± 0.36	1.64 ± 0.27	1.05 ± 0.12	129.630	5.870	16.070	6.574
TLR4 表达	2.21 ± 0.45	1.82 ± 0.34	1.13 ± 0.17	81.241	3.706	12.745	6.098

注: F 表示三组间比较, q_1 表示 HSPN 组与 HSP 组比较, q_2 表示 HSPN 组与对照组比较, q_3 表示 HSP 组与对照组比较, $P < 0.01$ 。

三组儿童 TLR2, TLR4 表达比较差异有统计学意义 ($F = 129.630$, 均 $P < 0.01$), HSPN 组和 HSP 组 TLR2 和 TLR4 表达高于对照组, 差异有

表 2 T 细胞亚群比较 ($\bar{x} \pm s$)

指 标	HSPN 组 (n=49)	HSP 组 (n=16)	对照组 (n=30)	F	q_1	q_2	q_3
Th1 (%)	3.59 ± 1.03	4.43 ± 1.43	5.51 ± 0.62	34.103	2.906	8.249	3.475
Th2 (%)	5.58 ± 0.34	5.16 ± 0.71	4.52 ± 0.26	63.828	3.604	11.297	5.108
Th1/Th2	0.63 ± 0.16	0.87 ± 0.35	1.24 ± 0.12	91.432	4.283	13.522	6.142
Th17 (%)	5.08 ± 0.39	4.46 ± 0.39	3.97 ± 0.66	48.559	4.382	9.744	3.221
Treg (%)	0.79 ± 0.27	1.21 ± 0.32	1.64 ± 0.52	48.475	3.899	9.801	3.713
Th17/Treg	5.43 ± 2.03	3.65 ± 1.54	2.31 ± 0.63	34.909	3.789	8.249	2.653

注: F 表示三组间比较, q_1 表示 HSPN 组与 HSP 组比较, q_2 表示 HSPN 组与对照组比较, q_3 表示 HSP 组与对照组比较, $P < 0.01$ 。

学意义 ($P > 0.05$)。所有儿童家属均签署知情同意书, 经医院医学伦理委员会审核批准。

1.2 方法

1.2.1 实时荧光定量 PCR 检测 TLR2, TLR4 表达: 采集研究对象清晨空腹肘静脉血 10 ml, 聚蔗糖(Ficoll)密度梯度离心法提取 PBMC 细胞。Trizol 法提取细胞总 RNA, 逆转录成 cDNA。以 cDNA 为模板进行 PCR 扩增。TLR2, TLR4 和 GAPDH 引物委托上海生工生物有限公司合成。TLR2 上游: 5'-AGTG TAGTCGCTAGCTGTCA C-3', 下游: 5'-CGT CGAAGCTGCTAGCTAGC-3'; TLR4 上游: 5'-TACGCTAGCGACTAGCT ACT-3', 下游: 5'-GCGTACGTACGCTAGCGC AT-3'; GAPDH 上游: 5'-ACGTCCGTAGCTTC GATCGTAG-3', 下游: 5'-CGATTGCATGCTG GCATGGCTA-3'。扩增条件: 95℃ 5 min, 95℃ 30 s, 55℃ 30 s, 72℃ 30 s, 共 40 个循环。采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 计算目的基因相对含量(RQ), $RQ = 2^{-\Delta\Delta C_t}$ 。

1.2.2 T 细胞亚群水平检测: 采集对象清晨空腹肘静脉血 5 ml。采用流式细胞仪检测 Th1, Th2, Th17 和 Treg 细胞比例, 以及 Th1/Th2, Th17/Treg 比值, 仪器为德国 Partec 公司的 Partec Cy-Flow[®]Cube6 全能型流式细胞仪。

1.3 统计学分析 采用 SPSS 19.0 统计学软件, 计量数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 组内两两比较采用 SNK-q 检验; 计数资料以百分率描述, 比较采用 χ^2 检验; TLR2, TLR4 表达与 Th1/Th2, Th17/Treg 比值的相关性采用 Pearson 分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 TLR2 和 TLR4 表达比较 见表 1。

统计学意义 ($P < 0.01$), HSPN 组又高于 HSP 组, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。

2.2 T 细胞亚群比较 见表 2。

三组儿童 Th1, Th2, Th17 和 Treg 细胞比例, 以及 Th1/Th2 和 Th17/Treg 比值比较, 差异均有统计学意义 ($P < 0.01$)。HSPN 组和 HSP 组 Th1, Treg 细胞比例和 Th1/Th2 比值低于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$); HSPN 组又低于 HSP 组, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。HSPN 组和 HSP 组 Th2, Th17 细胞比例和 Th17/Treg 比值高于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$); HSPN 组又高于 HSP 组, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。

2.3 TLR2, TLR4 表达与 Th1/Th2, Th17/Treg 比值的相关性 Pearson 分析显示: TLR2, TLR4 与 Th1/Th2 比值均呈负相关 ($r = -0.601, -0.652, P < 0.01$); 与 Th17/Treg 比值呈正相关 ($r = 0.617, 0.712, P < 0.01$)。

3 讨论 众多研究均认为^[5,6], Th1/Th2 免疫应答失衡与 HSP 发病密切相关。HSP 急性发作时, Th1 功能减弱, Th2 功能增强, 引起免疫功能紊乱, 从而促进疾病的发生、进展。 γ -干扰素 (interferon- γ , IFN- γ) 是 Th1 细胞代表性细胞因子, 能够促使 T 淋巴细胞分化、成熟; 诱导巨噬细胞和单核细胞表面 MHC-II 类抗原表达, 从而参与抗原递呈和特异性免疫识别过程^[7]。此外, 还能拮抗 Th2 类细胞因子白细胞介素-4 (interleukin-4, IL-4) 诱导的 IgE 分泌, 降低其致敏作用。IL-4 是 Th2 细胞代表性细胞因子, 能够刺激 B 细胞分泌 IgE, 抑制 IFN- γ 产生, 激发肥大细胞脱颗粒, 引起多种炎症介质释放^[8]。近几年, 又陆续发现了 Th17 和 Treg 等 T 细胞亚型。Th17 是重要的促炎性细胞因子, 通过分泌白细胞介素-17 (interleukin-17, IL-17), 刺激白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6) 等炎症细胞因子以及细胞趋化因子的释放, 从而参与组织炎症反应^[9]。Treg 是一类抑制性细胞因子, 能够分泌白细胞介素-10 (interleukin-10, IL-10) 和转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β) 等细胞因子, 具有抗炎反应和维持自身免疫耐受的功能^[10]。张建江等^[11]学者研究发现, HSPN 患儿 Th17 水平和 Th17/Treg 比值明显高于 HSP 患儿, 推测与患儿肾脏损伤有关。本研究中, HSPN 和 HSP 患儿 Th1, Treg 细胞比例以及 Th1/Th2 比值明显小于对照组, 而 Th2, Th17 细胞比例以及 Th17/Treg 比值明显大于对照组; 而且 HSPN 和 HSP 患儿 Th1, Th2, Th17, Treg, 以及 Th1/Th2, Th17/Treg 也存在明显差异。这一结果说明 HSPN 和 HSP 患儿 Th1/Th2, Th17/Treg 免疫应答失衡, Th2 和 Th17 过度活化, 导致免疫功能异常。

然而, 有关 Th1/Th2, Th17/Treg 免疫应答失衡的发生机制仍不明确。感染是诱发 HSP 的关键因素, 约 80% 的患儿存在感染情况。TLR2, TLR4 是机体感染后启动免疫应答反应的首道防线, 是人体固有免疫和适应性免疫的重要连接枢纽。本研究中, HSPN 和 HSP 患儿 TLR2, TLR4 表达较对照组明显升高, 且 HSPN 患儿 TLR2, TLR4 表达最高。这一结果说明 TLR2, TLR4 表达升高可能参与了疾病的发生。核转录因子- κ B (nuclear transcription factor- κ B, NF- κ B) 通路是重要的炎症反应通路, 在免疫应答、炎症反应等调控中发挥重要作用。NF- κ B 是 TLR2, TLR4 下游的重要蛋白转录因子, 当 TLR2, TLR4 受到外界刺激而活化时, 通过其胞浆作用域与髓样分化因子 88 (myeloid differentiation factor 88, MyD88) 的羧基末端作用而形成复合物, 该复合物通过 MyD88 的死亡结构域与白细胞介素-1 受体相关激酶 (IL-1 receptor associated kinase, IRAK) 相互作用并使其磷酸化, 磷酸化的 IRAK 与肿瘤坏死因子受体相关因子 6 (tumor necrosis factor-associated factor 6, TNFAF6) 相结合, 活化的 TNFAF6 与 NF- κ B 抑制蛋白 (NF- κ B Inhibitor, I κ B) 相互作用使其磷酸化降解, NF- κ B 得以激活并转入细胞核中并诱导其下游多种炎症因子表达, 从而改变 Th1/Th2, Th17/Treg 免疫应答的平衡^[12]。本研究相关性分析显示, TLR2, TLR4 与 Th1/Th2 比值呈负相关, 与 Th17/Treg 比值呈正相关。这也提示我们 TLR2, TLR4 可能通过其下游多种机制实现对 Th1/Th2, Th17/Treg 免疫应答的调控。

综上所述, HSP 患儿 TLR2, TLR4 表达增加, 且可能与患儿 Th1/Th2, Th17/Treg 免疫应答失衡有关。

参考文献:

- [1] Gao JJ, Wei JM, Gao YH, et al. Central venous catheter infection-induced Henoch-Schlein purpura in a patient on hemodialysis [J]. Renal Failure, 2014, 36 (7): 1145-1147.
- [2] 程小丽, 陈 蔚, 杨玉琮, 等. 过敏性紫癜患儿 T 细胞亚群及体液免疫功能的分析 [J]. 现代检验医学杂志, 2012, 27 (4): 50-52.
Cheng XL, Chen W, Yang YC, et al. Analysis of T-cell subsets and humoral immune function in children with Henoch-Schlein purpura [J]. J Mod Lab Med, 2012, 27 (4): 50-52.
- [3] 黄 可. 过敏性紫癜患儿 TLR2, TLR4 表达及其与 Th1 和 Th2 型免疫应答的关系 [J]. 海南医学院学报, 2015, 21 (12): 1664-1667.
Huang K. TLR2 and TLR4 expression in HSP children and its correlation with the Th1 and Th2 type immune responses [J]. J Hainan Med Univ, 2015, 21

- (12);1664-1667.
- [4] Chang H, Yu DS, Liu XQ, et al. Clinical significance of TLR3 and TLR4 in peripheral blood mononuclear cells from children with Henoch-Schlein purpura nephritis[J]. *Exp Ther Med*, 2014, 7(6):1703-1707.
 - [5] 王战胜, 刘雨露, 施雪颖, 等. 纠正 Th1/Th2 迁移在小儿过敏性紫癜早期肾损伤急救中的临床意义[J]. *中华损伤与修复杂志(电子版)*, 2016, 11(2):113-116.
Wang ZS, Liu YL, Shi XY, et al. Clinical significance of correction of Th1/Th2 migration in the treatment of early renal injury in children with allergic purpura [J]. *Chin J Injury and Wound Healing (Electronic Edition)*, 2016, 11(2):113-116.
 - [6] 孙大庆, 张秋业, 董增义, 等. 过敏性紫癜患儿树突细胞分泌白细胞介素-12 水平与 TH1/TH2 的变化[J]. *中国当代儿科杂志*, 2006, 8(4):307-310.
Sun DQ, Zhang QY, Dong ZY, et al. Levels of IL-12 produced by dendritic cells and changes of Th1 /Th2 balance in children with Henoch-Schonlein purpura [J]. *Chin J Contemp Pediatr*, 2006, 8(4):307-310.
 - [7] 吴容, 王强, 董巍. 过敏性紫癜患儿血浆 IL-2, IFN- γ , IL-4 与 TGF- β 1 的变化及其意义[J]. *实用医院临床杂志*, 2014, 11(1):144-146.
Wu R, Wang Q, Dong W. The changes of plasma IL-23, INF- γ , IL-4 and TGF- β in children with Henoch-Schonlein purpura and their clinical significance[J]. *Practical J of Clin Med*, 2014, 11(1):144-146.
 - [8] 蔡新民. 清热化瘀汤对过敏性紫癜患者 IL-4 及 IFN- γ 水平的影响[J]. *新中医*, 2015, 47(8):82-83.
Cai XM. Effect of Qingre Huayu Decoction on the levels of IL-4 and IFN- γ in patients with henoch schonlein purpura[J]. *J New Chin Med*, 2015, 47(8):82-83.
 - [9] 张婷婷, 吉晓菲, 李少游, 等. 过敏性紫癜患儿 Th17, Treg 细胞及 IL-17, IL-23 水平的测定[J]. *中国免疫学杂志*, 2016, 32(12):1801-1804, 1814.
Zhang TT, Ji XF, Li SY, et al. Detection of Th17, Treg cells and IL-17, IL-23 levels in children with Henoch Schonlein purpura[J]. *Chin J Immun*, 2016, 32(12):1801-1804, 1814.
 - [10] 王强, 史洋溢, 曹玫, 等. Th17 细胞/Treg 细胞失衡在儿童过敏性紫癜发病机制中的作用[J]. *中国实验血液学杂志*, 2015, 23(5):1391-1396.
Wang Q, Shi YY, Cao M. Role of imbalance between Th17 cells and Treg cells in the pathogenesis of children with Henoch-Schonlein purpura[J]. *J Exp Hematol*, 2015, 23(5):1391-1396.
 - [11] 张建江, 史佩佩, 王森, 等. Th17/Treg 失衡及 IL-17, TGF- β 1 水平在儿童过敏性紫癜和紫癜性肾炎中的研究[J]. *中华肾脏病杂志*, 2014, 30(9):702-703.
Zhang JJ, Shi PP, Wang M, et al. Th17/Treg imbalance and IL-17, TGF- β 1 levels in children with Henoch Schonlein purpura and Henoch Schonlein purpura nephritis[J]. *Chin J Nephrol*, 2014, 30(9):702-703.
 - [12] 张自力, 王高峰, 梅道启, 等. 过敏性紫癜患儿外周血单核细胞 TLR2 表达及与免疫应答的相关性[J]. *中国组织工程研究*, 2015, 19(45):7356-7361.
Zhang ZL, Wang GF, Mei DQ, et al. TLR2 expression in peripheral blood mononuclear cells of Henoch-Schonlein purpura children and its association with immune response [J]. *Clin L Tis Eng Res*, 2015, 19(45):7356-7361.
- 收稿日期:2017-09-25
修回日期:2017-10-16
-
- (上接 45 页)
- in the absence of changes in peripheral leukocyte counts or fibrinogen concentration[J]. *Am J Reprod Immunol*, 2014, 72(4):376-385.
 - [8] Borbely AU, Sandri S, Fernandes IR, et al. The term basal plate of the human placenta as a source of functional extravillous trophoblast cells[J]. *Reprod Biol Endocrin*, 2014, 12(1):7-12.
 - [9] Ibrahim MI, Harb HM, Ellaithy MI, et al. First trimester assessment of pentraxin-3 levels in women with primary unexplained recurrent pregnancy loss [J]. *Eur J Obstet Gynr B*, 2012, 165(1):37-41.
 - [10] 李新菊. 子痫前期发病及其严重程度与 NF-kB, TNF- α 及 PLGF 相关性研究[J]. *中国妇幼保健*, 2014, 29(12):1849-1851.
Li XJ. Study on the correlation between onset, degree of severity of preeclampsia and NF-kB, TNF- α , PLGF[J]. *Maternal and Child Health Care of China*, 2014, 29(12):1849-1851.
 - [11] Keane KN, Mustafa KB, Hinchliffe P, et al. Higher β -HCG concentrations and higher birthweights ensue from single vitrified embryo transfers[J]. *Reprod Biomed Online*, 2016, 33(2):149-160.
 - [12] 罗振宇, 柴冬宁, 李萍, 等. 复发性流产病因分析及免疫治疗[J]. *中国妇幼保健*, 2016, 31(4):782-784.
Luo ZY, Chai DN, Li P, et al. Etiological analysis and immunotherapy of recurrent spontaneous abortion [J]. *Maternal and Child Health Care of China*, 2016, 31(4):782-784.
 - [13] Timur H, Yimaz N, Kahyaoglu I, et al. The effect of serum and follicular fluid amyloid-associated protein levels on in vitro fertilization outcome in patients with polycystic ovary syndrome[J]. *J Assist Reprod Gen*, 2015, 32(11):1637-1640.
 - [14] 李屹, 贾杰, 孙艺娟, 等. 子痫前期产妇血浆中白细胞介素-6 与肿瘤坏死因子- α 含量变化的相关性[J]. *广东医学*, 2016, 37(24):3701-3703.
Li Y, Jia J, Sun YJ, et al. Correlation of the change of interleukin-6 with tumor necrosis factor- α in plasma of pre-eclampsia woman [J]. *Guangdong Medical Journal*, 2016, 37(24):3701-3703.
 - [15] Park HJ, Shim SS, Cha DH. Combined screening for early detection of pre-eclampsia[J]. *Int J Mol Sci*, 2015, 16(8):17952-17974.
 - [16] Hunter CA, Jones SA. IL-6 as a keystone cytokine in health and disease[J]. *Nat Immunol*, 2015, 16(5):448-457.
 - [17] Nair RR, Khanna A, Singh K. Association of interleukin 1 beta(IL-1B) gene polymorphism with early pregnancy loss risk in the North Indian population [J]. *Int J Immunogenet*, 2014, 41(1):41-43.
 - [18] Almasry SM, Eldomiaty MA, Elfayomy AK, et al. Expression pattern of tumor necrosis factor alpha in placenta of idiopathic fetal growth restriction[J]. *J Mol Histo*, 2012, 43(3):253-254.
- 收稿日期:2017-07-11 修回日期:2017-09-04