

孕妇血清可溶性 B7-H4 水平 与胎膜早破早产之间的关系研究*

张慧雅¹, 魏建勋², 刘秋霞¹

(1. 西电医院妇产科, 西安 710077; 2. 延安大学附属医院产科, 陕西延安 716000)

摘要:目的 探讨孕妇血清可溶性 B7-H4 (soluble B7-H4, sB7-H4) 浓度和未足月胎膜早破 (preterm premature rupture of membranes, pPROM) 之间的关系。方法 研究纳入 41 例患者, 其中未足月胎膜早破组患者 22 例、足月胎膜早破 (preterm premature rupture of membranes, PROM) 组患者 19 例; 同时纳入 35 例健康妊娠女性为对照组; 采用酶联免疫吸附测定受试者妊娠 11~13 周时血清中 sB7-H4 的浓度。结果 pPROM 组患者血清中 sB7-H4 的浓度高于 PROM 组患者和对照组女性, 其差异均有统计学意义 ($P < 0.05$); 区分 pPROM 组患者与对照组患者的 sB7-H4 临界值为 13.01 ng/ml, 特异度为 96.5%, 敏感度为 62.1%。结论 pPROM 组患者妊娠早期血清中 sB7-H4 的浓度既可预示母胎交互作用时的动态免疫反应程度, 也可作为妊娠并发症的预测指标。

关键词: 未足月胎膜早破; 可溶性 B7-H4; 酶联免疫吸附测定

中图分类号: R714.433; R446.61 文献标志码: A 文章编号: 1671-7414(2019)03-140-04

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2019.03.036

Relationship between Serum Soluble B7-H4 Level and Premature Rupture of Membrane in Pregnant Women

ZHANG Hui-ya¹, WEI Jian-xun², LIU Qiu-xia¹

(1. Department of Obstetrics and Gynecology, Xidian Hospital, Xi'an 710077, China; 2. Department of Obstetrics, Affiliated Hospital of Yan'an University, Shaanxi Yan'an 716000, China)

Abstract: Objective To investigate relationship between serum soluble B7-H4 (sB7-H4) and preterm premature rupture of membranes (pPROM) in pregnant women. Methods The study included 41 patients, 22 cases in preterm premature rupture of membranes (pPROM) group, 19 cases in premature rupture of membranes (PROM) group, and included 35 healthy pregnant women (control group). Maternal serum levels of sB7-H4 were determined with enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) in patients between 11 and 13 weeks' gestation. Results Serum concentrations of sB7-H4 in the pPROM group were higher than those in the PROM group and the control group, the differences were statistically significant (all $P < 0.05$). The ability to discriminate between pPROM cases and controls with an optimal threshold of 13.01 ng/ml, specificity of 96.5% and sensitivity of 62.1%. Conclusion Serum concentration of sB7-H4 in early pregnancy in patients with pPROM may not only indicate the degree of dynamics immune response during maternal-fetal interaction, but also serve as a predictor of pregnancy complications.

Keywords: preterm premature rupture of membranes (pPROM); soluble B7-H4; enzyme-linked immunosorbent assay

免疫耐受在女性妊娠过程中扮演着至关重要的角色。T 淋巴细胞具有识别外来抗原、使机体产生炎症反应的能力。在女性妊娠期间, 特异性免疫耐受反应可以抑制母胎交互作用时 T 细胞的此类功能, 进而阻止母体对胎儿的抗原进行免疫防御的过程^[1]。与此同时, 母体体内一定程度的炎症反应是确保胎儿成功着床和成功分娩的所需因素。免疫耐受是女性妊娠过程中胎儿正常发育所必需的反应, 母体对外来细胞缺乏适当的耐受能力, 会诱发妊娠并发症^[2]。未足月胎膜早破 (preterm premature rupture of membranes, pPROM) 的发生率占妊娠女性人群的 2%~3.5%, 其与早产相关联,

这是影响新生儿发病和死亡的主要因素^[3-5]。虽然其发病机理尚不明确, 但与感染存在一定关系^[6-7]。本研究旨在评估免疫耐受因子 [血清可溶性 B7-H4 (soluble B7-H4, sB7-H4)] 与胎膜早破早产之间的关系。通过分析最终发展为 pPROM 和 PROM 的患者在妊娠期为 11~13 周时血清中 sB7-H4 的浓度, 并将其与正常妊娠女性进行比较, 最终通过结果分析来揭示 sB7-H4 与胎膜早破早产之间的关系。

1 材料与方法

1.1 研究对象 选择 2008 年 4 月~2015 年 12 月于西电医院妇产科接受产前检查和分娩的女性

* 基金项目: 陕西省教育厅自然科学研究项目 (项目编号: 2013JK0773)。

作者简介: 张慧雅 (1984—), 女, 本科, 主治医师, 研究方向: 妇科肿瘤治疗和产后的康复治疗, E-mail: zhanghuiyaxidian@163.com。

通讯作者: 刘秋霞 (1981—), 女, 硕士, 主治医师, E-mail: liuqiuxia0516@163.com。

为研究对象。纳入标准:①年龄18~35岁;②人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)、乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)、丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)筛查阴性;③患者临床资料完整。排除标准:①狼疮抗凝物阳性、血浆中抗心磷脂抗体 ≥ 40 GPL KU/L或血浆中同型半胱氨酸 ≥ 25 $\mu\text{g/L}$;②相关性激素(如绒毛膜促性腺激素)或孕甾酮类药物使用史;③血浆免疫球蛋白A(immunoglobulin A, IgA)不足,清蛋白或免疫球蛋白过敏史;④抗炎药物或抗凝药物长期服用史;⑤女性子宫异常或双亲染色体异常;⑥其它慢性疾病或糖尿病史。本研究经医院伦理道德委员会审核通过,所有研究对象均签订知情同意书。

研究共纳入41例胎膜早破患者和35例健康妊娠女性。将41例胎膜早破患者分为2组,其中一组为妊娠期 <37 周时诊断为未足月胎膜早破的患者(pPROM组, $n=22$),包括绒毛膜羊膜炎患者7例,非绒毛膜羊膜炎患者15例;另一组为妊娠期 ≥ 37 周时胎膜破裂自然分娩或行剖宫术的患者(PROM组, $n=19$)。羊膜破裂的鉴定根据患者临床资料调查、阴道羊水流出性检测、阴道酸碱度(pondus hydrogenii, pH)测定、超声检查和胰岛素样生长因子-1(insulin-like growth factors -1, IGF-1)及结合蛋白检测等手段进行。35例健康妊娠女性纳入对照组。

1.2 试剂和仪器 抗凝采血管(美国BD公司);ELISA检测试剂盒(德国BIOZOL公司);多功能酶标仪(美国MD公司)。

1.3 方法

1.3.1 血样的采集和处理:于受试者肘静脉处采

集外周血9 ml,置于枸橼酸钠(浓度为0.129 mol/L)抗凝管中,并贮存于4℃环境中。为避免细胞裂解,样本需在采集后4 h内完成处理并贮存在-80℃,检测(样品在1个月内完成检测)。

1.3.2 血清标本中sB7-H4蛋白定量分析:采用酶联免疫吸附法测定血清中sB7-H4的蛋白浓度,具体操作参照ELISA试剂盒(BIOZOL, Eching, Germany)说明书进行。

1.4 统计学分析 连续性变量采用均值 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)或中位值(范围)表示;分类变量以 $n(\%)$ 表示;组间连续性变量差异度比较采用 t 检验;非连续性变量组间比较采用Kruskal-Wallis检验;分类变量组间比较采用卡方检验(χ^2 检验);优势比(odds ratio, OR),95%置信区间(confidence interval, CI)和 P 值用Logistic回归分析;pPROM组、PROM组和对照组间的sB7-H4水平用ROC曲线分析;患病组和对照组区分的精确度用曲线下面积(area under the curve, AUC)评估。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 pPROM组、PROM组和对照组的临床基本资料比较 见表1。pPROM组、PROM组和对照组在妊娠年龄、BMI值和妊娠次数之间比较,其差异均无统计学意义($P > 0.05$)。pPROM组、PROM组和对照组在分娩时孕周、剖宫产率、新生儿出生体重、5 min Apgar评分、C反应蛋白(C reactive protein, CRP)水平和白细胞(white blood cell, WBC)计数间的差异均有统计学意义($P < 0.05$);pPROM组患者血清中sB7-H4浓度高于PROM组患者和对照组女性,其差异有统计学意义($P < 0.05$)。

表1 pPROM组、PROM组和健康对照组产妇和新生儿临床基本特征

临床特征	pPROM组($n=22$)	PROM组($n=19$)	对照组($n=35$)	t/χ^2	P
妊娠年龄(岁)	30.9 \pm 5.7	34.1 \pm 4.9	33.1 \pm 5.2	1.94	0.06
BMI/kg·m ⁻²	24.96 \pm 5.07	26.34 \pm 6.31	23.89 \pm 4.02	0.78	0.44
妊娠次数(次)	1.8 \pm 1.5	1.8 \pm 1.3	2.0 \pm 1.2	0.23	0.822
流产次数(次)	1.2 \pm 0.8	1.7 \pm 1.5	1.0 \pm 0.6	1.36	0.182
分娩时孕周(周)	31.4 \pm 3.7	39.6 \pm 2.5	39.7 \pm 1.8	8.18	<0.001
出生体重(g)	1 907.6 \pm 723.8	3 511.4 \pm 527.0	3 509.8 \pm 448.2	8.00	<0.001
5min Apgar 评分	7.9 \pm 1.2	9.8 \pm 1.4	9.6 \pm 1.1	4.68	<0.001
pH值	7.30 \pm 0.11	7.28 \pm 0.07	7.32 \pm 0.14	0.68	0.499
剖宫产[$n(\%)$]	16/22(72.7)	3/19(15.8)	8/35(22.9)	18.98	<0.001
CRP水平(mg/L)	2.77 \pm 3.58	0.79 \pm 0.32	0.43 \pm 0.32	2.40	0.021
WBC($\times 10^9$ /L)	13.78 \pm 3.76	11.43 \pm 2.52	10.08 \pm 2.96	2.31	0.026
sB7-H4(ng/ml)	14.77 \pm 6.18	5.83 \pm 1.85	7.03 \pm 2.88	6.07	<0.001

2.2 sB7-H4浓度对患者临床结局的预测 见表

2。sB7-H4浓度在区分pPROM组与对照组时,其

最佳临界值为 13.01 ng/ml、特异度为 96.5%、敏感度为 62.1%；血清中 sB7-H4 浓度的增加（每 ng/ml 水平）会提高 pPROM 发生的风险，其优势比(odds ratio, OR)为 1.52(95% CI:1.09~1.88, $P=0.001$)。

表 2 PROM 组和 pPROM 组与对照组相比较 ROC 曲线分析结果

临床结局	AUC	95%CI	特异度(%)	敏感度(%)
PROM 组	0.64	0.44~0.79	65.8	63.7
pPROM 组	0.83	0.68~0.94	96.5	62.1

2.3 急性绒毛膜羊膜炎和非绒毛膜羊膜炎 pPROM 患者的 sB7-H4 浓度比较 患有 pPROM 并伴有急性绒毛膜羊膜炎的患者，其妊娠早期血清中 sB7-H4 的浓度高于非绒毛膜羊膜炎 pPROM 患者，但差异无统计学意义($P>0.05$)；两组患者在妊娠年龄、BMI 值、妊娠次数、流产次数、pH 值、WBC 计数间的差异均无统计学意义(均 $P>0.05$)；两组患者在分娩时孕周、新生儿出生体重、5 min Apgar 评分、CRP 水平间的差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。

3 讨论 本研究表明妊娠期 <37 周即发展为 pPROM 的患者、妊娠期 ≥ 37 周后发展为 PROM 的患者与健康妊娠女性相比，pPROM 患者妊娠早期血清中 sB7-H4 的浓度较高，其差异有统计学意义($P<0.05$)；此外，本研究还发现急性绒毛膜羊膜炎 pPROM 患者中妊娠早期 sB7-H4 的浓度处于较高水平。综上，本研究结果显示对于妊娠早期女性，其血清中 sB7-H4 的浓度可用于预测发展为 pPROM 的可能性。

目前相关研究已表明 pPROM 的发生与女性妊娠期间免疫耐受功能紊乱相关联^[8]。本研究中 pPROM 组妊娠早期血清中过高的 sB7-H4 浓度表明在此阶段这些女性的免疫系统活性显著增加。在女性怀孕的前三个月内，抗炎性 Th2 细胞占主导地位，主要用于维持正常的胎儿发育；反之，在此期间如果 Th1 细胞占主导地位，母体的免疫系统活性增加，胎儿的正常发育就很可能受负面影响^[9]。sB7-H4 在免疫系统中的功能尚不明确，XIE 等^[10]针对老鼠模型的研究表明 sB7-H4 作为诱饵分子可以阻断细胞相关性 B7-H4 的抑制功能，导致 T 细胞介导的自身免疫反应增强。但也有研究显示 sB7-H4 作为 T 细胞负调节分子可以抑制宿主的免疫力，使肿瘤可以逃脱免疫系统的监控^[11-12]。ILIAN 等^[13]的研究表明不同来源的 sB7-H4 具有不同的结构和功能。此外，相关报道也显示对于分娩期间的产妇，羊膜破裂同免疫反应向

Th1 转换相关联。B7-H4 抑制 Th1 免疫反应^[14]，这可用于解释本研究中所观测到的 pPROM 组患者血清中 sB7-H4 浓度升高。目前对于围产期的分娩动因研究显示，分娩的发动与促炎症因子的表达具有相关性，如 IL-6 和 IL-8 因子^[15-16]；JENESSA 等^[12]还观测到 IL-6 和 IL-10 因子可以刺激巨噬细胞中 B7-H4 的表达，以维持慢性感染条件下母体足够的免疫耐受。这可用于解释发展为 pPROM 的患者其血清中 sB7-H4 浓度处于较高水平这一研究结果，尤其是急性绒毛膜羊膜炎 pPROM 患者。因此，免疫系统活性对妊娠期母体及胎儿具有一定程度的适应性，主要用于维持正常的胎儿发育和产妇分娩。

对妊娠期间免疫进程和免疫系统活性更深层次的研究，有助于制定新的治疗策略以预防胎儿早产。探寻生物标记分子既有助于识别有早产风险的高危患者，也有助于确定适当的早产预防策略。尽管如此，目前尚无有效的生物预测分子可以减少无分娩症状女性的早产或延迟分娩。本研究中女性妊娠早期 sB7-H4 的浓度在区分 pPROM 组和对照组之间表现出较高的特异度和敏感度，这表明 sB7-H4 可作为潜在的生物标记分子用于预测妊娠期间免疫系统活性的增加和妊娠并发症发生的风险。鉴于本研究的局限性，对于 sB7-H4 作为预测 pPROM 发生风险的标记分子尚需更多的前瞻性研究，以便更好地应用于临床，以采取相应的治疗措施减少早产的发生。

参考文献：

- [1] AMY EF, ROBERTO R, TARA NM, et al. Human chorionic gonadotropin has anti-inflammatory effects at the maternal-fetal interface and prevents endotoxin-induced preterm birth, but causes dystocia and fetal compromise in mice[J]. Biol Reprod, 2016, 94(6): 136.
- [2] SCHUMACHER A, ZENCLUSSEN AC. Effects of heme oxygenase-1 on innate and adaptive immune responses promoting pregnancy success and allograft tolerance[J]. Front Pharmacol, 2014, 5:288.
- [3] 张赞, 李娅, 郭旭昌, 等. 胎膜早破孕妇生殖道感染病原菌的分布及耐药性分析[J]. 现代检验医学杂志, 2015, 30(3): 98-100.
ZHANG Yun, LI Ya, GUO Xuchang, et al. Distribution and drug resistance of genital tract pathogenic bacteria in pregnant women with premature rupture of membrane[J]. J Mod Lab Med, 2015, 30(3): 98-100.
- [4] 王君莲, 孙江川, 常淑芳. 未足月胎膜早破的治疗进展[J]. 重庆医学, 2014, 43(15): 1951-1953.
WANG Junlian, SUN Jiangchuan, CHANG Shufang. Progress in the treatment of premature rupture of membranes in immature fetuses[J]. Chongqing Medi-

- cine, 2014, 43(15):1951-1953.
- [5] 李小伙,解娟,詹颖,等.围产期胎膜早破与生殖道病原菌感染的分析[J].现代检验医学杂志,2016,31(4):90-92.
- LI Xiaoxia, XIE Juan, ZHAN Jie, et al. Analysis of perinatal premature rupture of membranes and reproductive tract pathogen infection[J]. J Mod Lab Med, 2016, 31(4):90-92.
- [6] 秦江霞,贾金平,岳玉焕.未足月胎膜早破患者阴道菌群微生态的评价[J].中国计划生育和妇产科,2014,6(2):28-30,34.
- QIN Jiangxia, JIA Jinping, YUE Yuhuan. Microecological evaluation of vaginal microflora in pregnant women with preterm premature rupture of membranes[J]. Chinese Journal of Family Planning & Gynecotology, 2014, 6(2):28-30, 34.
- [7] 杨筱青,郭华峰,杨俊娟.未足月胎膜早破孕妇生殖道感染及潜伏期对母婴结局的影响[J].中国妇幼保健,2014,29(33):5455-5457.
- YANG Xiaoqing, GUO Huafeng, YANG Junjuan. Effects of reproductive tract infection and incubation period on maternal and infant outcomes in women with premature rupture of membranes[J]. Maternal & Child Health Care of China, 2014, 29(33):5455-5457.
- [8] 薛会灵,刘金,梁玲,等.未足月胎膜早破产妇胎膜组织中TLR2表达变化及意义[J].山东医药,2014,54(18):8-9.
- XUE Huiling, LIU Jin, LIANG Ling. Expression changes of TLR2 in fetal membranes of patients with preterm premature rupture of membranes and the significance[J]. Shandong Medical Journal, 2014, 54(18):8-9.
- [9] LOGIODICE F, LOMBARDELLI L, KULLOLLI O, et al. Decidual interleukin-22-producing CD4⁺ T cells (Th17/Th0/IL-22⁺ and Th17/Th2/IL-22⁺, Th2/IL-22⁺, Th0/IL-22⁺), which also produce IL-4, are involved in the success of pregnancy[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(2):428.
- [10] XIE Nan, CAI Jiabin, ZHANG Lu, et al. Upregulation of B7-H4 promotes tumor progression of intrahepatic cholangiocarcinoma [J]. Cell Death Dis, 2017, 8(12):3205.
- [11] LEANDERSSON P, KALAPOTHARAKOS G, HENIC E, et al. A biomarker panel increases the diagnostic performance for epithelial ovarian cancer Type I and II in young women[J]. Anticancer Res, 2016, 36(3):957-965.
- [12] SMITH JB, LANITIS E, DANGAJ D, et al. Tumor regression and delayed onset toxicity following B7-H4 CAR-T cell therapy [J]. Mol Ther, 2016, 24(11):1987-1999.
- [13] RADICHEN I A, MANEVA-RADICHEVA L V, AMATYA C, et al. Loss of peripheral protection in pancreatic islets by proteolysis-driven impairment of VTCN1 (B7-H4) presentation is associated with the development of autoimmune diabetes [J]. J Immunol, 2016, 196(4):1495-1506.
- [14] XIAO Zexiu, ZHENG Xu, HU Li, et al. Immunosuppressive effect of B7-H4 pathway in a murine systemic lupus erythematosus model [J]. Front Immunol, 2017, 8:1765.
- [15] TARCA A L, FITZGERALD W, CHAEMSAITHONG P, et al. The cytokine network in women with an asymptomatic short cervix and the risk of preterm delivery [J]. Am J Reprod Immunol, 2017, 78(3):e12686.
- [16] 廖晓燕,陈艺菲.基质金属蛋白酶-8、白细胞介素-6水平与早产关系的研究[J].华西医学,2015,30(3):480-483.
- LIAO Xiaoyan, CHEN Yifei. The correlation of amniotic fluids levels and blood serum levels of matrix metalloproteinases-8 and interleukin-6 with preterm delivery [J]. West China Medical Journal, 2015, 30(3):480-483.