妊娠高血压患者免疫反应的表现及其机制

韩莹,贾慧慧,赵哲,杨秀健

(河北港口集团有限公司港口医院检验科,河北秦皇岛 066000)

摘要: 为探讨妊娠高血压患者的免疫耐受情况,选取 42 例妊娠高血压患者作为观察组,同期住院的 50 例血压正常的妊娠者作为对照组,对比两组患者白细胞抗原和 T 淋巴细胞水平,并分析其对免疫反应的影响。结果显示,与对照组比较,观察组舒张压和尿蛋白显著增高,组织白细胞抗原 mRNA 表达量明显降低,血清白细胞抗原浓度明显降低,T 淋巴细胞 CD3⁺、CD4⁺ 和 CD8⁺ 水平均显著升高。结果提示,妊娠高血压患者免疫耐受降低,可能与妊娠高血压患者体内白细胞抗原降低,T 淋巴细胞升高有关。

关键词: 妊娠高血压; 白细胞抗原; T 淋巴细胞; 免疫反应

中图分类号:R714.246

文献标识码:A

Mechanism of immune response in the gestational hypertension

HAN Ying, JIA Huihui, ZHAO Zhe, YANG Xiujuan

(Department of Laboratory, Hebei Port Group Co., Ltd. Port Hospital,
Qinhuangdao 066000, Hebei, China)

Abstract: To investigate the immune tolerance of pregnant patients with hypertension, 42 patients with gestational hypertension were enrolled as the observation group. 50 normal pregnant women at the same period were used as the control group. Compare the levels of leukocyte antigen and T lymphocytes in the two groups and analyze their effects on immune response. Results showed, compared with the control group, the diastolic blood pressure and urine protein in the observation group increased significantly, the expression of leukocyte antigen mRNA was significantly reduced, the serum leukocyte antigen concentration was significantly lower, and the levels of T-lymphocyte CD3⁺, CD4⁺ and CD8⁺ were significantly higher. The results suggest that the decreased immune tolerance in gestational hypertension patients is related to lower level of white blood cell antigen in patients with gestational hypertension, and the higher level of T lymphocytes.

Key words: gestational hypertension; leukocyte antigen; T lymphocyte; immune response

目前,尚无单一检测指标以预测妊娠高血压(Gestational hypertension, GH)得到发生和发展,而高血压是诊断 GH 的主要标志^[1]。GH 患者主要表现为水肿、体重突增、视力模糊和血压升高等,但有些 GH 患者表现为无症状,因此难以发现和诊治,危及患者及其胎儿健康^[2-3]。研究表明,肥胖、年龄及糖尿病病史均为 GH 的危险因素^[4]。因此,本文将对 GH 患者体内白细胞抗原和 T 淋巴细胞的变化及其对免疫反应进行分析,旨在为临床诊断和治疗 GH 提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2017 年 1 月至次年 7 月于本院分娩的 42 例 GH 患者作为观察组,纳入标准:符合 GH 诊断标准^[5],择期进行分娩者,入院前 2 周无服用任何药物者,同意参与本研究;排除标准:患其他妊娠合并症,免疫功能和/或血液系统障碍(疾病)者,严重其他脏器疾病者,肿瘤患者。参照观察组方式,选取同期分娩的 50 例正常患者作为对照组,两组年龄、孕周、体重等一般资料差异不显著($P>0.05$)具有可比性,见表 2。

1.2 样品收集

血样:于清晨(8:30 前)收取全部患者空腹静脉血,移入抗凝管后静置 30 min,低温离心分离血

浆,获取待测液。

组织样:分娩后,在无菌状态下取长宽高均为 0.5 cm 的胎盘绒毛组织块 5~10 块,用生理盐水洗净后摘取血管和膜组织,得到待测样。

1.3 指标检测

1.3.1 RT-PCR 检测 HLA mRNA 使用 RT-PCR 检测滋养细胞中人类白细胞抗原基因座 G (human leukocyte antigen-G, HLA-G) 和人类白细胞抗原基因座 C (human leukocyte antigen-C, HLA-C) mRNA 表达。按照试剂盒 (Trizol RNA 抽提试剂盒, R&D Sys-

tems, 美国) 步骤抽提组织样总 RNA, 以 NCBI 的 GenBank 中 HLA-G、HLA-C 和 β -肌动蛋白(内参)基因序列为参照合成引物(见表 1), cDNA 以 RNA 链为模板逆转录获得。用 20 μ L 体系进行 RT-PCR, 其中 cDNA 模板 2 μ L、EX Taq 酶 0.2 μ L、上下游引物各 0.5 μ L、dNTP 0.4 μ L、10 $\times$ buffer 2 μ L, 加无菌水补齐至 20 μ L。以 40 个循环进行 PCR, 反应完成后, 应用软件计算相应荧光反应曲线, 结果以循环数阈值(Ct 值)表示^[6]。

表 1 HLA-G、HLA-C 和 β -肌动蛋白引物

基因	引物 F	引物 R
HLA-G	5'-CCATCATGGGTATCGTTGCT-3'	5'-CCTCCTTTTCAATCTGAGCTCTT-3'
HLA-C	5'-GGAGCCCGCGCAGGGAGGAGGCTC-3'	5'-GGAGGGGTCGTGACCTGCG-3'
β -actin	5'-CTACAATGAGCTGCGTGTGGC-3'	5'-CAGGTCCAGAGCCAGGATGGC-3'

1.3.2 酶联免疫检测 使用 ELISA(吸附)试剂盒 (R&D Systems, 美国) 检测患者血清中白细胞抗原水平。

1.3.3 流式细胞仪检测 使用流式细胞仪 (Cyt-oFLEX FCM, Beckman, 美国) 检测 T 淋巴细胞 CD3⁺、CD4⁺ 和 CD8⁺ T 淋巴细胞百分比。

1.4 数据处理

用 SPSS17.0 软件进行统计分析, 计量数据使用 ($\pm$ s) 表示, 组间两两比较采用 SNK 法或 *t* 检验;

计数资料使用百分数 (%) 表示, 用 χ^2 检验; 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 两组患者临床资料

两组患者年龄、孕周和体重无显著差异 ($P > 0.05$), 舒张压和尿蛋白差异明显 ($P < 0.05$), GH 组存在血压增高, 尿蛋白体征。见表 2。

表 2 两组患者一般资料

组别	<i>n</i>	年龄(岁)	孕期(周)	体重(kg)	舒张压(mmHg)	尿蛋白(mg/24h)
对照组	50	26.26 $\pm$ 6.14	35.46 $\pm$ 3.67	65.72 $\pm$ 8.36	78.32 $\pm$ 3.49	246.65 $\pm$ 86.32
观察组	42	27.10 $\pm$ 6.43	34.82 $\pm$ 3.65	67.01 $\pm$ 7.57	98.74 $\pm$ 10.56	641.03 $\pm$ 120.58
<i>t</i>		0.640	0.835	0.759	12.873	18.232
<i>P</i>		>0.05	>0.05	>0.05	<0.05	<0.05

2.2 两组白细胞抗原 mRNA 表达对比

与对照组相比, 观察组 HLA-G 和 HLA-C mRNA 表达量明显降低 ($P < 0.05$), 说明 GH 患者免疫耐受降低(见表 3)。

表 3 两组白细胞抗原 mRNA 表达对比

组别	<i>n</i>	HLA-G mRNA	HLA-C mRNA
对照组	50	9.01 $\pm$ 8.57	8.86 $\pm$ 7.21
观察组	42	1.56 $\pm$ 4.98	2.38 $\pm$ 3.57
<i>t</i>		4.970	5.301
<i>P</i>		<0.05	<0.05

2.3 两组血清白细胞抗原浓度对比

与对照组相比, 观察组血清组织白细胞抗原 sHLA-G 和 sHLA-C 浓度明显降低, 浓度具体, 说明观察组免疫耐受降低 ($P < 0.05$) (见表 4)。

表 4 两组血清白细胞抗原浓度对比

组别	<i>n</i>	sHLA-G (ng/L)	sHLA-C (ng/L)
对照组	50	1035.48 $\pm$ 248.62	911.53 $\pm$ 303.24
观察组	42	654.18 $\pm$ 200.37	547.16 $\pm$ 189.56
<i>t</i>		7.993	6.754
<i>P</i>		<0.05	<0.05

2.4 两组 T 淋巴细胞水平对比

与对照组比较, 观察组 T 淋巴细胞亚群 CD3⁺、CD4⁺ 和 CD8⁺ 水平均明显增高, 说明 GH 患者机体内产生了不必要的免疫应答, 见表 4。

表 5 两组 T 淋巴细胞水平比较

组别	n	CD3 ⁺ (%)	CD4 ⁺ (%)	CD8 ⁺ (%)
对照组	50	63.59±5.56	38.15±4.66	24.84±3.23
观察组	42	68.24±7.15	44.01±5.62	29.37±4.25
t		3.507	5.469	5.803
P		<0.05	<0.05	<0.05

3 讨 论

GH 主要表现为母体和胎儿综合症, 包括母体高血压、蛋白尿并伴体内脏器损伤; 胎儿会因此生长受限, 严重者会因宫内窘迫而引发早产, 甚至死亡。目前认为, 这种疾病是遗传与免疫相互关联和相互作用的结果, 且互为因果^[7-8]。在妊娠期间, 胚胎作为母体的异己, 理应引起母体免疫反应; 但母体免疫反应又易导致流产, 因此在妊娠期间母体存在一定程度的免疫耐受^[9]。本研究对比正常妊娠患者和 GH 妊娠患者间白细胞抗原水平发现, GH 患者白细胞抗原 HLA-G 和 HLA-C 不论是 mRNA 表达水平还是血清水平都明显低于正常妊娠组。HLA 是一种基因复合物, 主要编码人类组织相容复合物蛋白以负责细胞表面蛋白对体内免疫系统的调节^[10]。其中 HLA-A 和 HLA-C 都是 MHC I 类分子, 它们绑定来自病原体的抗原, 将其暴露于细胞表面呈递给 T 细胞识别^[11]。HLAs 还能绑定自然杀伤(NK) 细胞使其失效, 故当体内 HLAs 水平下降时, 在病毒感染或异常细胞介导下, 促发 NK 细胞进行程序化细胞死亡^[12]。此外, 妊娠其前列腺素分泌也能影响淋巴细胞白细胞介素-2 产生, 达到抑制自然杀伤(NK) 细胞的目的^[13]。故 HLAs 水平降低可能导致免疫耐受降低, 从而产生不必要的免疫应答。

另一方面, 本研究发现观察组患者 T 淋巴细胞亚群 CD3⁺、CD4⁺ 和 CD8⁺ 水平明显更高。这一结果验证了我们上述推测, 机体内产生了不必要的免疫应答。在功能正常的免疫系统中, 只允许不结合自身肽的 T 细胞离开胸腺, 因此, T 细胞与外源或异常肽结合并启动细胞凋亡或程序性细胞死亡, 完成对病原体的防御^[14]。而 GH 患者 HLAs 水平下降, T 淋巴细胞上受体无法与 HLAs 及其呈递的肽结合并相互作用, 致使 T 淋巴细胞异常活跃, 因此高 T 淋

巴细胞水平表征了机体内高免疫反应^[15]。换言之, 高 T 淋巴细胞水平反应了 GH 患者机体内产生了不必要的免疫应答。

总之, 妊娠高血压患者体内白细胞抗原降低, T 淋巴细胞增高, 可能是导致妊娠高血压患者免疫耐受降低的原因。

参考文献:

- [1] NOBUMOTO E, MASUYAMA H, MAKI J, et al. Comparison of kidney function between gestational hypertension and preeclampsia[J]. Acta Medica Okayama, 2017, 71(2):161-9.
- [2] 殷为, 钟梅. 妊娠期高血压疾病的病因、预测及诊疗进展[J]. 实用医学杂志, 2016, 32(11):1887-90.
- [3] 杨冬雪, 魏秋菊, 郝振民. 组织多普勒超声监测妊娠期高血压患者左心功能的临床应用[J]. 中国地方病防治杂志, 2017, 32(1):84.
- [4] 袁妙兰, 李意, 冯慧芳, 等. 妊娠期糖尿病危险因素研究及对妊娠结局的影响[J]. 中国医师杂志, 2017, 19(10):1538-41.
- [5] 曾慧倩, 赖毓冕. 应用妊娠期糖尿病新诊断标准后妊娠结局的变化[J]. 广东医学, 2016, 37(1):122-4.
- [6] 王欣玉, 胡峻岩, 金真伊, 等. HLA-G1 及 Th17/Tregs 轴相关免疫调节分子在 B-ALL 中的表达变化及其相关性分析[J]. 山东医药, 2016, 56(25):24-7.
- [7] 李丽娜, 徐振宇, 孔丽娜. 母-胎免疫调节机制在妊娠高血压综合征病理过程中的作用[J]. 中国免疫学杂志, 2017, 33(9):1398-401.
- [8] 刘青, 叶鹏, Shinya, 等. 基质相互作用分子 1 基因与妊娠期高血压疾病的相关性: 病例对照研究[J]. 中华高血压杂志, 2018, 26(1):35.
- [9] 王松存, 杜美蓉, 李大金. 母-胎免疫耐受研究进展[J]. 科学通报, 2016, 61(27):2996-3001.
- [10] HACKMON R, PINNADUWAGE L, ZHANG J, et al. Definitive class I human leukocyte antigen expression in gestational placentation: HLA-F, HLA-E, HLA-C, and HLA-G in extravillous trophoblast invasion on placentation, pregnancy and parturition[J]. Am J Reprod Immunol, 2017, 77(6):e12643.
- [11] GARRIDO-RODRIGUEZ D, ÁVILA-RIOS S, GARCIA-MORALES C, et al. Killer cell immunoglobulin-like receptor and human leukocyte antigen gene profiles in a cohort of HIV-infected Mexican Mestizos[J]. Immunogenetics, 2016, 68(9):1-15.
- [12] DULBERGER CL, MCMURTREY CP, HOLZEMER A, et al. Human leukocyte antigen f presents peptides and regulates immunity through interactions with NK cell receptors[J]. Immunity, 2017, 46(6):1018-29.
- [13] Van d PK, Chang C, Ivarsson MA, et al. Modulation of human leukocyte antigen-C by human cytomegalovirus stimulates KIR2DS1 recognition by natural killer cells[J]. Front Immunol, 2017, 8(2):298.
- [14] RANASINGHE S, LAMOTHE PA, SOHHOIAN DZ, et al. Antiviral CD8⁺, T cells restricted by human leukocyte antigen class II exist during natural HIV infection and exhibit clonal expansion[J]. Immunity, 2016, 45(4):917-30.
- [15] 刘绍卿, 刘国红, 孙芸, 等. 胸腺上皮细胞分化发育的研究进展[J]. 解剖学杂志, 2017, 40(1):100-3.

(本文编辑: 秦旭平)