

· 综 述 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2015.34.037

白细胞介素在早产中的预测价值*

张 晶,陈 黎 综述,张国英[△] 审校

(南京医科大学第一附属医院产科/国家临床重点专科建设项目产科,南京 210029)

[关键词] 白细胞介素;早产;炎症反应

[中图分类号] R714.3

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2015)34-4849-03

早产是妊娠期最常见的并发症之一,是导致围生期母胎高病死率和新生儿不良结局的主要原因。母胎界面感染和(或)炎症反应是发生早产的主要原因^[1],存在于约 1/2 未足月胎膜早破早产和近 1/3 自发性早产中。炎症反应是分娩发动的重要特征之一,其可能在早产发生机制中亦发挥重要作用。

机体免疫系统有赖于 T、B 细胞介导的细胞和体液反应,其产生的细胞因子是妊娠维持的重要组成部分,包括辅助性 T1 细胞反应(参与细胞免疫)和辅助性 T2 细胞反应(参与体液免疫)。正常妊娠时,Th1/Th2 反应在母胎界面保持平衡状态,并以 Th2 细胞因子活性为主^[2]。最初 Chaouat 等通过孕鼠研究发现,由 IL-2、TNF- α 等导致孕鼠流产的结局可通过 Th1 细胞因子抑制剂和抗炎性 Th2 细胞因子的应用得以改善。然而,分娩发动并不是纯粹的 Th2 细胞因子表达量下降所致,而是同时伴随有 Th1 细胞因子水平的变化,使 Th1/Th2 平衡反应偏向于 Th1 细胞反应,促进妊娠终止^[3]。若将分娩发动看成临产前炎症信号通路的激活,大量炎性介质释放打破 Th1/Th2 反应平衡,使 Th1 细胞因子发挥主导作用而导致分娩发动,那么,当这些炎性信号通路受到某些外界刺激(如发生感染、炎症反应等)而过早激活,则分娩提前发动导致早产。基于白细胞介素(IL)作为炎症反应的重要参与者以及母胎界面感染和(或)炎症反应是造成早产的主要原因,国内外学者通过动物模型、人体取样等实验方法,在白细胞介素与早产方面做了大量研究。现对有关白细胞介素在早产发生中的可能预测价值综述如下。

1 IL 的结构和功能

IL 最初是在白细胞中被发现,是一种由多种细胞产生且作用于多种细胞的细胞因子,是细胞间多种信号传递的重要枢纽。主要来源于活化的 T 细胞、单核细胞、淋巴细胞、树突状细胞、纤维母细胞等,其分子结构和生物学功能基本明确,具有激活与调节免疫细胞,T、B 细胞的活化、增殖和分化,以及免疫炎症调节等作用。目前,已正式命名的有 IL-1~IL-38,分为 IL-1 家族、IL-2 家族、IL-6 家族、IL-10 家族及 IL-8 等。根据作用特点主要分为抗炎和促炎两大类,抗炎类有 IL-4、IL-5、IL-10 等,促炎类有 IL-1、IL-6、IL-8 等。尽管 IL 家族中众多成员与免疫炎症反应的发生紧密相关,但由于各免疫炎症信号通路的复杂多样性以及不同白细胞家族成员的结构、功能不尽相同,其具体调控机制暂未完全明确。

2 IL 与早产

2.1 促炎类 IL

2.1.1 IL-1 是首个被认为与感染性早产的发生密切相关的

抗炎性细胞因子,介导宿主感染和损伤反应,其生物活性主要取决于 IL-1 β 。其参与早产的可能机制:诱导核转录因子如 NF- κ B 等信号通路活化,刺激 IL-1 β 表达和分泌,促进前列腺素分泌以及直接促进细胞外基质重构酶的形成,从而加强子宫肌层收缩^[4];IL-1 β 通过 COX-2 通路间接发挥作用,刺激蜕膜组织增加缩宫素的分泌^[5];诱导蜕膜细胞中基质金属蛋白酶产生,分解羊膜细胞外基质导致胎膜破裂等。动物模型及人体取样研究结果均提示血清或羊水中高浓度 IL-1 与早产发生有关^[6-7]。

2.1.2 IL-6 属于非典型 Th2 细胞因子,主要由 Th2 细胞产生,也可由 Th1 和非 T 细胞产生,可促进 T 细胞和 B 细胞增殖分化等,是机体主要促炎性调节介质之一。在妊娠组织如蜕膜、羊膜、绒毛膜及胎盘滋养细胞均可合成 IL-6。当发生羊膜腔感染时,细菌、病毒及其代谢物刺激妊娠组织合成并释放大炎症因子 IL-1、TNF 等,上调 IL-6 表达,通过促进前列腺素合成及诱导胶原酶活性等途径而发生早产。国内外学者在孕妇血清、羊水中检测 IL-6 水平变化,发现早产者羊水中 IL-6 含量明显高于足月分娩者,提出血清、羊水中 IL-6 可作为预测感染性早产的指标^[8-9]。Kacerovsky 等^[10]收取 68 例孕 24~36⁺6 周的单胎妊娠未足月胎膜早破孕妇的宫颈阴道分泌物,检测 IL-6 和 IL-8 浓度,发现伴有羊膜腔微生物侵入和(或)绒毛膜羊膜炎者的宫颈阴道分泌物中 IL-6 明显升高,表明宫颈阴道分泌物 IL-6 浓度升高可提示羊膜腔微生物侵入和(或)绒毛膜羊膜炎的存在,未足月胎膜破裂可能与其存在因果关系。Wei 等^[11]对数十年来关于炎症因子与自发性早产的相关研究进行了系统回顾,指出只有宫颈阴道分泌物和羊水中 IL-6 水平升高与自发性早产紧密相关,血清中 IL-6 则不然。

2.1.3 IL-8 属于趋化因子家族,对嗜中性粒细胞、淋巴细胞等具有较强趋化作用,是由多种细胞产生的具有促炎作用的小分子活性多肽,1986 年首次发现称为嗜中性粒细胞激活因子。IL-8 在多种细胞中与其受体相结合发挥作用——趋化和激活 T 细胞,并诱导 T 细胞浸润导致炎症反应;诱导趋化中性粒细胞,增强中性粒细胞的吞噬作用;促进溶酶体酶释放等。妊娠组织如子宫宫颈、绒毛、蜕膜及羊膜组织均可合成 IL-8。IL-8 作为非 Th1/Th2 型 IL,当母胎界面发生感染和(或)炎症反应时,IL-8 发挥其对白细胞的强趋化作用,导致宫颈、阴道、子宫肌层等部位中性粒细胞和巨噬细胞等炎性细胞大量聚集浸润,IL-8 mRNA 表达量明显增加,刺激基质金属蛋白酶合成,促进宫颈成熟、扩张及分解羊膜细胞外基质,促进分娩发动^[12]。此外,羊水中 IL-8 主要来源于蜕膜组织,分娩发动时绒毛蜕膜组

* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(81300507)。 作者简介:张晶(1989—),在读硕士,主要从事产科临床及围产医学研究。 $\triangle$

通讯作者,Tel:13915963188;E-mail:zgzying168@sina.com。

织中 IL-6、IL-8 等合成增加并释放入羊水中,进一步促进 COX-2 合成,刺激妊娠组织中前列腺素 E₂ 的合成^[13],前列腺素 E₂ 的大量释放可导致胎膜破裂、宫颈扩张及子宫收缩。Sakai 等^[14] 研究结果发现早产临产和未足月胎膜早破早产者宫颈黏液中 IL-8 的浓度较足月分娩者显著增高。还有学者从基因水平研究早产者羊膜、绒毛膜蜕膜组织中炎性因子 mRNA 的表达,发现单纯早产者 IL-8 mRNA 表达量与正常者相比增加了 50 多倍,而合并有绒毛膜羊膜炎的早产者增加了 100 多倍^[15]。

2.1.4 IL-16 是多种免疫细胞的趋化因子,与机体免疫炎症、过敏反应等有关。IL-16 能刺激免疫细胞产生促炎细胞因子如 IL-6、TNF- α 等,且可抑制 IL-4 等 Th2 细胞因子产生,使得机体 Th1/Th2 反应偏向于 Th1 反应。Athayde 等^[16] 研究发现早产和存在羊膜腔微生物侵入的孕妇羊水中 IL-16 浓度高于足月分娩者。Hsu 等^[17] 通过单变量分析及多因素 Logistic 回归分析了 350 例妊娠中期羊水中 IL-16、IL-18 及铁蛋白水平,认为妊娠中期羊水中 IL-16 浓度升高可作为早产预测的独立指标。但妊娠期血清和羊水中 IL-16 的主要来源以及二者 IL-16 水平变化有无相关性等尚不清楚。

2.1.5 IL-18 属于 IL-1 家族成员,主要来源于活化的巨噬细胞、单核细胞,可调节机体免疫反应、诱导效应细胞及相关细胞因子预防感染^[18]。IL-18 的独特性在于其不仅可刺激 Th2 细胞因子合成,还参与 Th1 反应,其在正常妊娠、早产方面的作用机制尚不明确。Dubicke 等^[19] 检测孕妇宫颈组织中促炎和抗炎因子 mRNA 表达情况时,发现早产临产和足月临产分娩者宫颈组织 IL-18 mRNA 表达量下降。

2.2 抗炎类白介素

2.2.1 IL-4 属于 Th2 细胞因子,由 NK 细胞、调节性 T、B 细胞以及妊娠组织(如蜕膜、羊膜绒毛膜等)产生。在正常妊娠维持机制中发挥多种作用,如促进胎盘形成、调节滋养细胞侵入和分化以及抑制促炎细胞因子形成^[20]。在整个妊娠期均有 IL-4 的表达。早在 1996 年 Dudley 等^[21] 研究数据显示早产者,尤其是伴有绒毛膜羊膜炎的早产者,羊水中 IL-4 水平明显上升,其可能原因是 IL-4 在感染性早产中发挥促炎作用,或者是机体为抑制炎症、保护母儿而进行的反馈性调节所致。

2.2.2 IL-10 1989 年在小鼠 Th2 细胞中首次被发现,可抑制 Th1 细胞分泌 IL-2、INF- γ 等因子,被称为细胞因子抑制因子。属于 Th2 细胞因子,主要由 Th2 细胞和单核巨噬细胞产生,具有重要的免疫抑制和抗炎作用,主要通过 JAK 和 STAT 等信号传导通路发挥抑炎作用^[21-22]。其作用机制:直接关闭 IL-1、IL-6、IL-12 等 Th1 促炎细胞因子合成的启动基因的表达;下调脂多糖信号通路中 TLRs 的表达,抑制促炎介质的生成;抑制 NF- κ B 的信号转导,减少促炎因子合成发挥抗炎效应。IL-10 的免疫调节作用表现在:抑制 CD4⁺T、CD8⁺T 细胞的增殖活性和单核巨噬细胞依赖性抗原的表达,减少母体对胎儿的免疫排斥,并使得母胎界面 Th1/Th2 的表达趋向于 Th2 细胞因子而维持妊娠。Terrone 等^[23] 把细菌脂多糖作为外源性炎性介质注入大鼠静脉构造先兆早产的动物模型,发现同时将 IL-10 注入大鼠静脉可改善先兆早产预后。Drew 等动物实验结果提示 IL-10 能显著降低由 IL-1 β 引起的羊膜腔内高前列腺素水平。大量研究结果支持 IL-10 水平异常降低与早产发生有关。然而,Gotsch 等^[24-25] 研究表明伴有羊膜腔感染的早产者羊水中 IL-10 浓度明显升高,其可能是由于炎症过程中大量 Th1 促炎细胞因子合成,反馈性地促进 IL-10 的表达以发挥

免疫抑制及抗炎作用,这或许是对母儿的一种保护机制。

3 结 语

早产发生机制复杂,给临床预防诊治工作带来极大困难。既往大量基础及临床研究提示 ILs 水平变化与早产发生可能存在关系,表明 IL-1、IL-6、IL-8、IL-10 等具备一定的早产预测价值,但可能由于种族、样本量少、孕中期羊膜腔穿刺风险、细胞因子检测方法的局限性等原因,故无明确的最适检查孕周和预测参考值范围,研究结果尚不能应用于临床检测。此外,单纯检测某一指标水平缺乏特异性,因此,需从细胞、分子及基因水平进一步探究相关细胞因子在信号通路中相互作用、相互调节的具体机制,通过 2 种及 2 种以上 ILs 水平的变化综合评估、预测,寻找对母儿创伤小、灵敏度高的预测方法,对早产高危人群进行早期干预,改善围产结局。

参考文献

- [1] Weissenbacher T, Laubender RP, Witkin SS, et al. Diagnostic biomarkers of pro-inflammatory immune-mediated preterm birth[J]. Arch Gynecol Obstet, 2013, 287(4): 673-685.
- [2] Sykes L, Macintyre DA, Yap XJ, et al. The Th1; Th2 dichotomy of pregnancy and preterm labour[J]. Mediators Inflamm, 2012, 2012: 967629.
- [3] Wilczynski JR. Th1/Th2 cytokines balance-yin and yang of reproductive immunology[J]. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2005, 122(2): 136-143.
- [4] Chevillard G, Derjuga A, Devost D, et al. Identification of interleukin-1beta regulated genes in uterine smooth muscle cells[J]. Reproduction, 2007, 134(6): 811-822.
- [5] Friebe-Hoffmann U, Baston DM, Hoffmann TK, et al. The influence of interleukin-1 beta on oxytocin signalling in primary cells of human decidua[J]. Regul Pept, 2007, 142(3): 78-85.
- [6] Kemp MW, Saito M, Newnham JP, et al. Preterm birth, infection, and inflammation advances from the study of animal models[J]. Reprod Sci, 2010, 17(7): 619-628.
- [7] Puchner K, Iavazzo C, Gourgiotis D, et al. Mid-trimester amniotic fluid interleukins (IL-1 β , IL-10 and IL-18) as possible predictors of preterm delivery[J]. In Vivo, 2011, 25(1): 141-148.
- [8] 张卫社, 周昌菊, 吴新华, 等. 孕妇外周血中 C 反应蛋白和白细胞介素 6 在亚临床感染性早产预测中的价值[J]. 中华妇产科杂志, 2007, 42(1): 56-58.
- [9] Kim A, Lee ES, Shin JC, et al. Identification of biomarkers for preterm delivery in mid-trimester amniotic fluid[J]. Placenta, 2013, 34(10): 873-878.
- [10] Kacerovsky M, Musilova I, Jacobsson B, et al. Vaginal fluid IL-6 and IL-8 levels in pregnancies complicated by preterm prelabor membrane ruptures[J]. J Matern Fetal Neonatal Med, 2015, 28(4): 392-398.
- [11] Wei SQ, Yang FJ, Fraser W, et al. Inflammatory cytokines and spontaneous preterm birth in asymptomatic women: a systematic review[J]. Am J Obstet Gynecol, 2009, 201(1): S190-S191.
- [12] Zaretsky MV, Alexander JM, Byrd W, et al. Transfer of

inflammatory cytokines across the placenta[J]. *Obstet Gynecol*,2004,103(3):546-550.

[13] Osman I,Young A,Ledingham MA,et al. Leukocyte density and pro-inflammatory cytokine expression in human fetal membranes, decidua, cervix and myometrium before and during Labour at term[J]. *Mol Hum Reprod*,2003,9(1):41-45.

[14] Sakai M,Sasaki Y,Yoneda S,et al. Elevated interleukin-8 in cervical mucus as an indicator for treatment to prevent premature birth and preterm, pre-labor rupture of membranes;a prospective study[J]. *Am J Reprod Immunol*, 2004,51(3):220-225.

[15] Marvin KW,Keelan JA,Eykholt RL,et al. Use of cDNA arrays to generate differential expression profiles for inflammatory genes in human gestational membranes delivered at term and preterm[J]. *Mol Hum Reprod*,2002,8(4):399-408.

[16] Athayde N,Romero R,Maymon E,et al. Interleukin 16 in pregnancy, parturition, rupture of fetal membranes, and microbial invasion of the amniotic cavity[J]. *Am J Obstet Gynecol*,2000,182(1Pt 1):135-141.

[17] Hsu TY,Lin H,Lan KC,et al. High interleukin-16 concentrations in the early second trimester amniotic fluid:an independent predictive marker for preterm birth [J]. *J Matern Fetal Neonatal Med*,2013,26(3):285-289.

[18] D'Acquisto F,Maione F,Pederzoli-Ribeil M. From IL-15 to IL-33;the never-ending list of new players in inflammation. Is it time to forget the humble aspirin and move ahead? [J]. *Biochemical Pharmacol*, 2010, 79(4): 525-534.

[19] Dubicke A,Fransson E,Centini GA,et al. Pro-inflamma-

• 综 述 • doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2015.34.038

tory and anti-inflammatory cytokines in human preterm and term cervical ripening[J]. *J Reprod Immunol*,2010, 84(2):176-185.

[20] Chatterjee P,Chiasson VL,Bounds KR,et al. Regulation of the anti-inflammatory cytokines interleukin-4 and interleukin-10 during pregnancy[J]. *Front Immunol*,2014, 5:253.

[21] Dudley DJ,Hunter C,Varner MW,et al. Elevation of amniotic fluid interleukin-4 concentrations in women with preterm labor and chorioamnionitis[J]. *Am J Perinatol*, 1996,13(7):443-447.

[22] Hutchins AP,Diez D,Miranda-Saavedra D. The IL-10/STAT3-mediated anti-inflammatory response; recent developments and future challenges[J]. *Brief Funct Genomics*,2013,12(6):489-498.

[23] Terrone DA,Rinehart BK,Granger JP,et al. Interleukin-10 administration and bacterial endotoxin-induced preterm birth in a rat model[J]. *Obstet Gynecol*,2001,98(3):476-480.

[24] Sadowsky DW,Novy MJ,Witkin SS,et al. Dexamethasone or interleukin-10 blocks interleukin-1beta-induced uterine contractions in pregnant rhesus monkeys[J]. *Am J Obstet Gynecol*,2003,188(1):252-263.

[25] Gotsch F,Romero R,Kusanovic JP,et al. The anti-inflammatory limb of the immune response in preterm labor,intra-amniotic infection/inflammation, and spontaneous parturition at term;a role for interleukin-10 [J]. *J Matern Fetal Neonatal Med*,2008,21(8):529-547.

(收稿日期:2015-05-15 修回日期:2015-07-06)

小鼠肝脏细胞分离和原代培养技术研究进展*

杨 东¹综述,刘 鑫²,郑新川²,郑 江^{2△}审校

(1.解放军第 163 医院检验科,湖南长沙 410003;2.第三军医大学西南医院综合实验中心,重庆 400038)

[关键词] 肝细胞;细胞分离;原代培养

[中图分类号] R-1 [文献标识码] A [文章编号] 1671-8348(2015)34-4851-04

肝脏是机体主要的消化、代谢器官,同时也是重要的免疫器官;获得肝脏细胞[肝细胞(hepatocytes,HCs)、肝血窦内皮细胞(liver sinusoidal endothelial cells,LSECs)、肝星形细胞(hepatic stellate cells,HSCs)和枯否细胞(kupffer cells,KCs)等]并进行成功的原代培养,将有助于为研究肝脏的生物学特性(药物代谢、免疫及生理功能等)和“人工肝”工程等提供实验工具和材料;故探索和研究肝脏细胞的分离和原代培养技术具有重要意义。1976 年,Seglen 首次建立完整的大鼠肝脏原位 2 步酶灌洗消化技术,而据其方法改良产生了小鼠肝脏细胞的分离和培养技术,并随着分子生物学技术和实验动物学技术的进步,也取得了较大的进展。

小鼠肝脏细胞的分离和原代培养技术主要包括:小鼠肝脏的原位灌洗分离和各型单个细胞制备、肝脏细胞的鉴定和活性测定、各型细胞的培养等,主要涉及肝脏 2 步灌洗技术、机械消化、酶消化、密度梯度离心、结合荧光抗体标记的流式细胞仪分选、免疫磁珠法、原代细胞培养等技术。

1 小鼠肝脏的原位灌洗分离和各型单个细胞悬液的制备

肝脏的原位灌洗分离技术:大量有活力的肝脏单细胞悬液

* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(81372089)。 作者简介:杨东(1977—),主管技师,在读博士,主从事脓毒症拮抗策略研究。

△ 通讯作者,Tel:(023)68765468;E-mail:zhengj99219@gmail.com。