



胎盘淋巴细胞凋亡及 CD44 表达水平与子痫前期的相关性研究

黄 海 陈 梅 马 丽 李景平

(深圳市南山区西丽人民医院 518000)

摘要：目的：研究胎盘淋巴细胞凋亡及 CD44 表达水平与子痫前期的相关性；方法：以我院 2016 年 6 月 1 日—2017 年 11 月 30 日住院分娩的无产科合并症及内外科合并症产妇 60 例为研究对象，其中子痫前期产妇 30 例为研究组，正常产妇 30 例为对照组，对比两组产妇的胎盘淋巴细胞凋亡及 CD44 表达水平差异，分析上述两指标与子痫前期的相关性；结果：研究组产妇的 CD44 表达水平与淋巴细胞凋亡率均高于对照组，两组相比 $t=4.454, 2.100$ ； $P<0.05$ ，提示 CD44 表达水平与胎盘淋巴细胞凋亡率呈现正相关性，CD44 水平与子痫前期的发生存在一定相关性；结论：CD44 表达水平与胎盘淋巴细胞凋亡率成正相关，CD44 表达高水平在预测子痫前期中具有一定参考价值。

关键词：胎盘淋巴细胞；CD44；子痫前期；相关性研究

中图分类号：R256.12

文献标识码：A

文章编号：1009-5187 (2018) 16-025-02

前言

子痫前期(Preeclampsia, PE)是妊娠期特发的多系统类型疾病，是一种因血管痉挛致器官灌注量低于内皮激活的继发疾病。该疾病对围生期母婴安全造成极大威胁而作为产科病理学的重点研究项目，现有研究未能较好阐明该病的发病机制，对子痫前期的早诊治产生不良影响。CD44 为最主要的淋巴细胞归巢受体，其在淋巴细胞再循环、活化及炎症反应中发挥重要作用，影响母体与胎儿的免疫平衡。现有研究认为胎盘滋养细胞的凋亡及 Fas/FasL 调控系统的表达与子痫前期发生存在联系，较少研究提出 CD44 在子痫前期产妇淋巴细胞中的表达与淋巴细胞凋亡相关性，本研究通过对我院子痫前期产妇及正常产妇胎盘淋巴细胞凋亡及 CD44 表达水平来探索其与子痫前期的相关性，现将本次研究报道如下：

1. 资料与方法

1.1 一般资料

以我院 2016 年 6 月 1 日—2017 年 11 月 30 日住院分娩的无产科合并症及内外科合并症产妇 120 例为研究对象，其中子痫前期产妇 60 例为研究组，正常产妇 60 例为对照组。子痫诊断标准：以《实用妇产科学》[1]中有关子痫前期的诊断标准为标准进行临床诊断，同时排除除子痫前期外其他产科合并症与内外科合并症。选择标准：所有产妇均无其他产科合并症且为单胎妊娠，研究组产妇须符合子痫前期诊断标准。所有产妇均对研究知情同意并签署知情同意书。排除存在其他妊娠合并症、可影响胎盘淋巴细胞凋亡及 CD44 表达水平合并症产妇。所纳入的产妇中，研究组年龄范围(23~34)岁，平均年龄(28.76±3.59)岁，孕周数(37~40)岁，平均孕周数(37.97±0.93)周，对照组年龄范围(23~33)岁，平均年龄(28.31±3.62)岁，孕周数(37~40)岁，平均孕周数(37.84±0.73)周。两组一般资料无明显差异， $P>0.05$ ，具有对比价值。本研究内容经我院伦理委员会批准同意。

1.2 方法

1.2.1 实验器材

淋巴细胞分离液(级别: BR, 密度: $1.077 \pm 0.002 \text{g/ml}$, PH (25℃): 6.5~7.5); 一步法 RNA 抽提试剂盒(规格: 500ml/100ml); RT-PCR 试剂盒(规格: P4251-100G); 全蛋白提取试剂盒(型号: BC3640-50T)。

1.2.2 操作方法

于产妇入院完成各项检查确定符合研究标准后进行外周 EDTA 抗凝血及胎盘母体面中央绒毛组织样本采集，采集完成后使用淋巴细胞分离液分离淋巴细胞备用。

CD44 mRNA 表达水平检测方法：以 RNA 抽提试剂盒抽提总 RNA 并在 Gene bank 中查得 CD44 的基因序列，借助 Primer 3.0 软件进行引物与探针设计，采用 RT-PCR 通用试剂盒检测 CD44 的 mRNA 水平。

CD44 蛋白水平检测方法：使用蛋白提取试剂盒提取淋巴细胞总蛋白，进行电泳凝胶的制备。电泳完成后切割胶条，转膜缓冲液平衡

5min，共 3 次。提前剪裁胶条同面积的滤纸与 NC 膜，放入转膜液中持续 10min。按照顺序安装转膜装置，量 NC 膜、凝胶与滤纸精准对齐，清除旗袍并加压 500g 物品，碳板上多余液体予以吸干。接通电源后以 1mA/cm^2 的横流转移 1.5h，完成后取膜取待测膜条进行免疫印迹法。将有蛋白标准的条带进行染色，50s 后在进行脱色，双蒸水清晰，风干并在两层滤纸间保存。免疫反应：洗膜(0.01M PBS, 5min/次，共 3 次)，加包被液于室温环境下平稳摇晃 2h。扔去包被液再洗洗膜，5min/次，共 3 次。加入 CD44 单抗，使用 0.01M PBS 稀释至合适比例并覆盖膜，4℃温度条件下放置 $>12 \text{g}$ 。阴性对照将一抗替换为 1%BSA，余下步骤同实验组。0.01M PBS 分别洗膜，5min/次，共 4 次。加入辣根过氧化物酶偶联的二抗(同上稀释法)，室温下平稳摇晃 2h。弃二抗，用 0.01M PBS 洗膜，5min/次，共 4 次。加入显色液，避光状态下显色至出现条带时放入双蒸水中终止反应。

淋巴细胞凋亡检测方法：染色：取约 2.0×10^6 淋巴细胞，加入适量的 Annexin V-FITC 和 PI 试剂，室温避光孵育 30min，加入预冷的 PBS 液离心洗涤 2 次，以除去未结合的多余抗体成分，采用 1%的多聚甲醛溶液重悬细胞。流式细胞术：将上述染色后的细胞标本上流式细胞仪检测淋巴细胞凋亡率(凋亡细胞：PI 阴性 Annexin V 阳性的细胞)。

1.3 统计学方法

所有数据经 SPSS19.0 处理，配对样本进行率的比较， P 值 >0.05 视为无统计学差异， P 值 <0.05 视为有统计学差异， P 值 <0.01 视为有统计学差异，并且差异有极显著意义。

2. 结果

2.1 两组产妇的胎盘淋巴细胞凋亡率与 CD44 表达水平对比

结果显示，研究组产妇的 CD44 表达水平与淋巴细胞凋亡率均高于对照组，两组相比 $t=4.454, 2.100$ ； $P<0.05$ ，提示 CD44 表达水平与胎盘淋巴细胞凋亡率呈现正相关性，CD44 水平与子痫前期的发生存在一定相关性，详见表 1。

表 1. 两组产妇的胎盘淋巴细胞凋亡率与 CD44 表达水平对比(例，%)

组别	例数	胎盘淋巴细胞凋亡率	CD44 表达水平
研究组	30	15.72 ± 2.24	38.03 ± 6.21
对照组	30	13.24 ± 2.07	25.14 ± 4.23
t		4.454	2.100
P		0.000	0.020

3. 讨论

现有研究认为胎盘浅着床，血管重铸障碍、免疫异常、凋亡过度、滋养细胞浸润能力异常等与子痫的发生具有较强关联性[2]。正常妊娠的维持，有赖于胎儿母体间免疫平衡的建立与稳定，而这种平衡一旦失调，即可导致子痫前期的发生[3]。母胎界面的蜕膜内有绒毛外



• 论 著 •

滋养层细胞、免疫细胞和蜕膜细胞组成的相互影响、相互制约的网络状免疫微环境。其淋巴细胞中,大颗粒淋巴细胞(NK)的比例高达45%,且处于特定的功能状态。CD44是最主要的淋巴细胞归巢受体,参与淋巴细胞的再循环,淋巴细胞活化及炎症反应,并在母胎免疫耐受中起重要作用。目前普遍认为,胎盘浅着床和血管重铸障碍是子痫前期发病的中心环节,而这两者都与细胞滋养细胞浸润能力降低有关[4]。淋巴细胞凋亡异常可导致母胎界面滋养细胞凋亡异常,致使细胞滋养细胞向子宫内侵入不良——“浅着床”和血管重铸障碍,继而导致子痫前期的发生。在张亚明[5]的研究中提出调节性T淋巴细胞水平较低,对Th1细胞增殖抑制能力减小,从而促使Th1/Th2的平衡偏向Th1,使其不能对胚胎抗原产生免疫抑制保护作用,外周血中NK细胞升高影响滋养细胞的正常功能,产生血管重铸障碍从而促发子痫前期。这与本研究子痫前期产妇的胎盘淋巴细胞凋亡率高存在一致性,免疫反应增强而淋巴细胞数量增多,凋亡增多,研究组产妇的CD44表达水平与淋巴细胞凋亡率均高于对照组,提示CD44表达水平与胎盘淋巴细胞凋亡率呈现正相关性,CD44水平与子痫前期的发生存在一定相关性。

综上所述,胎盘淋巴细胞凋亡率与CD44表达水平呈现正相关性,正常产妇的胎盘淋巴细胞凋亡率低且CD44表达水平低,CD44表达高

水平在预测子痫前期中具有一定参考价值。

参考文献

- [1].《实用妇产科学》(第3版)出版发行[J].中国临床医生杂志,2014,42(11):79.
 - [2]董胜雯,郭洁,宋殿荣.子宫螺旋动脉重铸与病理妊娠[J].国际妇产科学杂志,2017,44(02):176-179.
 - [3]卢健翔,石瑾秋,周明.miR-574-5p在子痫前期中的表达研究[J].中国实用妇科与产科杂志,2018,34(07):805-807.
 - [4]田松柏,隋珍,赵晓琴,马姜彦,谷强,邵彩华,闫华.PD-1在子痫前期患者外周血Treg/Th17细胞中的表达[J].中国妇幼保健,2018,33(14):3134-3136.
 - [5]张亚明.调节性T淋巴细胞及NK细胞的变化与子痫前期发病的关系[J].中外医学研究,2017,15(34):1-2.
- 基金编号:南科研卫2016052号
项目名称:胎盘淋巴细胞凋亡及CD44表达水平与子痫前期的相关性研究
项目来源:深圳市南山区卫生和计划生育局
个人简介:黄海,女,1982年9月30日,本科学历,职称:副主任医师,主研方向:妇科腹腔镜手术的应用,妇科肿瘤

(上接第21页)

脑瘫发病病因主要为父母酗酒、母亲精神疾病、父母吸毒等因素引发。患儿发病后临床症状主要表现为反应迟缓、斜视、姿势固定、身体发软等。脑瘫对患儿正常生长发育有严重影响,会造成患儿智力低下、行为异常、言语障碍等。脑瘫合并吞咽障碍在临床较为常见,患儿临床表现以口腔咀嚼不协调、流涎、误吸、饮水呛咳等为主。若不及时给予相关治疗,会导致患儿摄食困难,造成严重影响不良。

中医理论认为,脑瘫合并吞咽障碍发病机制主要为虚、瘀及痰,因此治疗原则应以行气活血、利咽活络为主^[4]。针灸与按摩为中医常用治疗脑瘫合并吞咽障碍的手段,有舒经活络活血化瘀、滋补肝肾之效,用于患儿治疗中可有效改善吞咽障碍,增强患儿摄食能力,改善营养状况。使用针刺舌根可对舌下神经进行刺激,增强舌肌收缩功能,减少患儿吞咽时呛咳与发音障碍^[5]。使用手法按摩可起到调整肺腑疏通经络的效果。对患儿面部、口唇周边、舌根等部位进行按摩,可加强其口腔咀嚼协调能力,对肌肉组织、神经进行刺激,促进局部血循环,诱导患儿产生吞咽动作,进而起到改善吞咽障碍的作用。但在对患儿进行针灸时应注意,因患儿年龄较小,进针深度与成年人相比

要更浅一点。对其进行手法按摩时应轻柔、缓慢,避免盲目追求治疗效果增加患儿痛苦。本次研究中,对脑瘫合并吞咽障碍患儿使用针灸与按摩联合治疗后,其吞咽障碍与营养状况均明显改善。

综上所述,针灸与按摩联合用于脑瘫合并吞咽障碍患儿治疗中效果理想,可改善其吞咽障碍与营养状况,提升生存质量,值得临床应用。

参考文献:

- [1]郑宏,冯士梅,张建奎,等.针灸联合按摩治疗脑瘫合并吞咽障碍的临床研究[J].中国康复医学杂志,2014,29(10):918-922.
- [2]林桦.针灸联合按摩治疗脑瘫合并吞咽障碍的临床研究[J].中西医结合心血管病电子杂志,2017,5(19):2-3.
- [3]刘晓璟.观察针灸联合按摩治疗脑瘫合并吞咽障碍的临床效果[J].临床研究,2017,25(7):172-173.
- [4]王颖,WANG Ying.针灸结合穴位按摩治疗脑瘫合并吞咽障碍37例[J].中国中医药现代远程教育,2015,13(22):81-82.
- [5]刘攀.针灸联合按摩在小儿脑瘫合并吞咽障碍患者治疗中的应用[J].临床医药文献电子杂志,2016,3(53):10542-10542.

(上接第24页)

对较高,因此限制了临床应用。近年来临床治疗中多采取阿奇霉素的序贯疗法,然而该治疗方案的治疗有效率相对较低,且治疗中的起效时间较为缓慢,患儿的药物不良反应也相对较高。有报道指出[2],通过以红霉素与阿奇霉素两者联合行序贯疗法,能够有效弥补单独应用红霉素或阿奇霉素治疗的不足[3]。阿奇霉素的药效更强,在患者体内的代谢速度较为缓慢,且作用时间较长,给药后患者不良反应率相对较低,因此针对支原体肺炎长以阿奇霉素序贯疗法[4]。本次研究通过联合运用红霉素与阿奇霉素序贯疗法治疗,观察组患儿的总体治疗有效率显著高于对照组,同时该组患儿高热、咳嗽及啰音等消退时间和住院时间均短于对照组。这提示该治疗方案在小儿支原体肺炎的治疗中具有良好疗效。同时本次研究结果提示,观察组患儿治疗期间的不良反应率明显低于对照组,进一步表明该序贯疗法的安全性较高,值得在小儿支原体肺炎的治疗中应用并推广[5]。

综上所述,针对小儿支原体肺炎采取红霉素联合阿奇霉素的序贯疗

法,可有效提高临床疗效,能够缩短患儿的临床症状消退时间,且安全性较高。

参考文献:

- [1]刘开云.红霉素联合阿奇霉素序贯疗法在小儿支原体肺炎治疗中的应用价值探讨[J].中外医疗,2016,35(11):36-37+40.
- [2]王骁公.观察红霉素结合阿奇霉素序贯疗法应用在小儿支原体肺炎治疗中的临床疗效[J].中国医药指南,2017,15(04):94.
- [3]谢树英.红霉素联合阿奇霉素序贯疗法与单用阿奇霉素序贯疗法治疗小儿支原体肺炎的对比分析[J].中国实用医药,2017,12(13):17-19.
- [4]樊成.阿奇霉素在小儿支原体肺炎应用中的研究进展[J].微量元素与健康研究,2017,34(04):72-74.
- [5]侯昌凤.红霉素联合阿奇霉素序贯疗法在小儿支原体肺炎治疗中的应用探究[J].海峡药学,2017,29(08):103-104.