

# 复发性流产患者子宫内膜 IDO、CD56、CD163 表达变化及其临床预测价值

陈艳青<sup>1</sup>, 王海清<sup>1</sup>, 吕霞明<sup>1</sup>, 燕纪林<sup>1</sup>, 李玉斌<sup>2</sup>

(张家口市第一医院, 1. 妇产科; 2. 病理科, 河北 张家口 075000)

**【摘要】目的:** 分析复发性流产患者子宫内膜吲哚胺 2,3-双加氧酶 (IDO)、CD56、CD163 表达变化及其临床预测价值。**方法:** 选取 82 例复发性流产患者为研究对象 (研究组); 95 例人工流产终止妊娠的健康孕妇为对照组。比较两组患者子宫内膜 IDO、CD56、CD163 表达情况、临床资料; 多因素 Logistic 回归分析引起复发性流产的危险因素; 绘制受试者工作特征曲线 (ROC) 分析子宫内膜 IDO、CD56 单独及联合检测对复发性流产的预测价值。**结果:** 研究组 IDO 阴性率、CD56<sup>+</sup> 细胞百分率均高于对照组 ( $P < 0.05$ )。多因素 Logistic 回归分析显示, 吸烟、被动吸烟、作息不规律、IDO 阴性、CD56<sup>+</sup> 细胞百分率升高均为复发性流产的危险因素 ( $P < 0.05$ )。ROC 曲线分析显示, IDO、CD56 单独及联合检测对复发性流产的曲线下面积 (AUC) 为 0.810、0.698、0.878, 联合检测最高。**结论:** 复发性流产患者子宫内膜 IDO 阳性表达更低, CD56 表达水平更高, 但 CD163 表达水平变化不明显, 吸烟或被动吸烟、作息不规律、IDO 阴性、CD56<sup>+</sup> 细胞百分率升高均是复发性流产的危险因素, IDO、CD56 联合检测复发性流产预测价值更高。

**【关键词】** 复发性流产; 子宫内膜; 吲哚胺 2,3-双加氧酶; CD56; CD163; 预测价值

**【中图分类号】** R711 **【文献标志码】** A

## Expression and clinical value of IDO, CD56, CD163 in endometrium of patients with recurrent abortion

CHEN Yan-qing<sup>1</sup>, WANG Hai-qing<sup>1</sup>, LV Xia-ming<sup>1</sup>, YAN Ji-lin<sup>1</sup>, LI Yu-bin<sup>2</sup>

(1. Department of Obstetrics and Gynecology; 2. Department of Pathology, the First Hospital of Zhangjiakou, Zhangjiakou 075000, Hebei, China)

**【Abstract】Objective:** To analyze the expression and clinical value of indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO), CD56, CD163 in endometrium of patients with recurrent abortion. **Methods:** 82 patients with recurrent abortion were included in the study group, and 95 healthy pregnant women who requested abortion to terminate pregnancy were selected as the control group. The expression of IDO, CD56 and CD163 in the endometrium and clinical data of the two groups were compared. The risk factors of recurrent abortion were analyzed by multivariate Logistic analysis, and receiver operating characteristic (ROC) curve was drawn to analyze the predictive value of IDO and CD56 alone and combined detection in the recurrent abortion. **Results:** The negative rate of IDO and the percentage of CD56<sup>+</sup> cells in the study group were higher than those in the control group ( $P < 0.05$ ). Multivariate Logistic analysis showed that smoking OR passive smoking, irregular rest and rest, IDO negative, CD56<sup>+</sup> cell percentage increase were risk factors for recurrent abortion ( $P < 0.05$ ). The area under the curve (AUC) of IDO and CD56 alone and combined detection were 0.810, 0.698, 0.878 for endometrium of patients with recurrent abortion, combined detection was the highest. **Conclusion:** The IDO positive expression is lower and the CD56 expression is higher in the endometrium of patients with recurrent abortion, however, the expression level of CD163 is not significantly changed, smoking OR passive smoking, irregular rest and rest, IDO negative, CD56<sup>+</sup> cell percentage increase are risk factors for recurrent abortion, and the combined detection of IDO and CD56 have higher predictive value.

**【Key words】** Recurrent abortion; Endometrium; Indoleamine 2,3-dioxygenase; CD56; CD163; Predictive value

复发性流产是指连续 3 次及以上自然流产, 病因较复杂, 患者可表现出阴道出血、腹痛等症状, 治疗相对棘手<sup>[1]</sup>。部分患者有明确病因, 包括染色体异常、生殖道感染等, 但多数复发性流产患者发生流

产的病因并不完全清楚<sup>[2]</sup>。因此, 积极探索复发性流产的相关影响因素具有重要意义, 可为干预方案的选取奠定基础。妊娠过程是属于一种非同种移植过程, 胎盘形成时, 若母体免疫平衡机制失衡, 自身

免疫系统攻击绒毛外滋养细胞,可严重影响胎盘的供血和供养,增加复发性流产的风险<sup>[3]</sup>。2,3-双加氧酶(indoleamine 2,3-dioxygenase,IDO)与自身免疫性疾病发生密切相关,CD56、CD163 表达于人体各类免疫细胞的细胞膜上,分析子宫内膜 IDO、CD56、CD163 表达情况,对进一步阐明复发性流产发病机制至关重要,但目前其预测复发性流产的临床价值尚未明确。本研究旨在分析复发性流产患者子宫内膜 IDO、CD56、CD163 表达情况及其预测价值。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取 2020 年 3 月至 2022 年 3 月张家口市第一医院收治的 82 例复发性流产患者为研究对象并设为研究组;选取 95 例人工流产终止妊娠的健康孕妇为对照组。纳入标准:(1)复发性流产符合《妇产科学》<sup>[4]</sup>中诊断标准,有 3 次及以上的自然流产史者;(2)月经周期规律者;(3)肝肾功能正常者;(4)造血功能及凝血功能正常者;(5)配偶精液正常者;(6)临床资料完整者。排除标准:(1)1 年内放置过宫内节育器者;(2)合并免疫功能障碍(如艾滋病、自身免疫性疾病)者;(3)子宫发育畸形者;(4)合并恶性肿瘤者;(5)存在染色体异常者;(6)生殖道感染者等。本研究获张家口市第一医院医学伦理委员会批准。

### 1.2 方法

采用子宫内膜刮器收集两组子宫内膜组织,使用聚甲醛室温固定(浓度 4%),固定时间 12 h,随后以磷酸盐缓冲盐水洗涤,48 h 内完成石蜡包埋并完成样本切片(4  $\mu\text{m}$ ),指标检测送金域医学检验中心进行。免疫组化染色的一抗准备:IDO 抗体(ce11signaling technology, 86630, 稀释比 1:300);CD56 抗体(gene tech, GT200529, 稀释比 1:400);CD163 抗体(novocastra, NCL-L-CD163, 稀释比 1:200)。将切片置于 60  $^{\circ}\text{C}$  恒温烤箱烤片 0.5~1 h,待组织块与载玻片完全贴合并且紧密粘附后取出。石蜡切片脱蜡操作,浸泡 5 min 二甲苯脱蜡,共脱蜡 2 次,随后利用梯度酒精(100%、95%、80%及 70%)浸泡,每次浸泡 2 min,共浸泡 2 次,完成后利用自来水冲洗 1 min。局部滴加适量的第一抗体,在湿盒中且室温条件下进行 2 h 孵育操作,磷酸盐缓冲盐水浸泡 3 min,总共浸泡 4 次。随后进行 3,3'-二氨基联苯胺显色,达到良好的肉眼观察效果后,终止显色。最后利用苏木素进行 1 min 快速染色操作,并于盐酸酒精中分化 1 s,于自来水中进行 20 min 蓝化操作,并利用中性树脂封片。随后选取观察视野 200

倍大小(5 个视野)使用病理成像系统完成样本中 IDO、CD56 及 CD163 表达水平进行阳性评级。

### 1.3 观察指标

1.3.1 临床资料 收集两组临床资料,包括年龄、孕前体质量指数(BMI)、是否吸烟或被动吸烟、是否饮酒、子宫位置(前倾前屈位、水平位、后倾后屈位)、是否合并高血压、是否作息规律。

1.3.2 两组对象子宫内膜 IDO、CD56、CD163 表达情况 根据切片中细胞染色强度和阳性细胞比例,分为阳性(存在局部或弥漫性细胞染色)及阴性(未发现细胞染色或仅存在微弱染色),分别计算 IDO 阳性率、CD56<sup>+</sup>、CD163<sup>+</sup> 细胞百分率。

### 1.4 统计学分析

采用 SPSS 26.0 软件对数据进行处理与分析。计数资料用[ $n(\%)$ ]表示,组间比较采用独立样本  $\chi^2$  检验,多组间比较采用行  $\times$  列表  $\chi^2$  检验;计量资料用( $\bar{x} \pm s$ )表示,组间比较采用独立样本  $t$  检验;复发性流产的影响因素采用多因素 Logistic 回归分析;采用 MedCalc 11.4 绘制受试者工作特征(ROC)曲线,分析子宫内膜 IDO、CD56 及联合检测对复发性流产的预测价值。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组患者子宫内膜 IDO、CD56、CD163 表达

研究组 IDO 阴性率、CD56<sup>+</sup> 细胞百分率均高于对照组( $P < 0.05$ );两组患者子宫内膜 CD163<sup>+</sup> 细胞百分率无统计学差异( $P > 0.05$ )。见表 1。

### 2.2 两组患者临床资料比较

研究组吸烟或被动吸烟、作息不规律比例均高于对照组( $P < 0.05$ )。见表 2。

### 2.3 影响复发性流产的多因素分析

将单因素分析具有统计学意义的指标作为自变量,复发性流产作为因变量,对其进行赋值。见表 3。

多因素 Logistic 分析显示,吸烟或被动吸烟、作息不规律、IDO 阴性、CD56<sup>+</sup> 细胞百分率升高均为复发性流产的危险因素( $P < 0.05$ )。见表 4。

表 1 两组子宫内膜 IDO、CD56、CD163 表达情况[ $\bar{x} \pm s, n(\%)$ ]

指标	研究组( $n=82$ )	对照组( $n=95$ )	$t/\chi^2$ 值	$P$ 值
IDO			29.498	<0.001
阳性	34(41.46)	77(81.05)		
阴性	48(58.54)	18(18.95)		
CD56 <sup>+</sup> 细胞百分率(%)	5.43 $\pm$ 1.52	4.04 $\pm$ 1.23	6.722	<0.001
CD163 <sup>+</sup> 细胞百分率(%)	2.20 $\pm$ 0.78	2.13 $\pm$ 0.68	0.638	0.524

表 2 两组患者临床资料比较 [ $\bar{x} \pm s, n(\%)$ ]

指标	研究组 (n=82)	对照组 (n=95)	$t/\chi^2$ 值	P 值
年龄(岁)	28.86 ± 2.16	29.01 ± 2.45	0.429	0.669
孕前 BMI(kg/m <sup>2</sup> )			1.241	0.743
< 18.5	5(6.10)	9(9.47)		
18.5 ~ 23.9	32(39.02)	31(32.63)		
24 ~ 27.9	39(47.56)	47(49.47)		
≥ 28.0	6(7.32)	8(8.42)		
吸烟或被动吸烟史	12(14.63)	3(3.16)	7.473	0.006
饮酒史	11(13.41)	10(10.53)	0.351	0.553
子宫位置			0.284	0.594
前倾前屈位	33(40.24)	42(44.21)		
水平位	24(29.27)	30(31.58)		
后倾后屈位	25(30.49)	23(24.21)		
合并高血压史	7(8.54)	7(7.37)	0.082	0.774
作息不规律	30(36.59)	20(21.05)	5.239	0.022

表 3 影响复发性流产的多因素分析

自变量	赋值
吸烟或被动吸烟	无 = 0, 有 = 1
作息不规律	无 = 0, 有 = 1
IDO	阳性 = 0, 阴性 = 1
CD56 <sup>+</sup> 细胞百分率 (%)	原值输入

表 4 影响复发性流产的多因素分析

变量	$\beta$ 值	SE 值	Wald 值	P 值	OR 值	95% CI
吸烟或被动吸烟	0.782	0.272	8.266	0.004	2.186	1.283 ~ 3.725
作息不规律	0.767	0.304	6.366	0.012	2.153	1.187 ~ 3.907
IDO	0.521	0.203	6.587	0.010	1.684	1.131 ~ 2.506
CD56 <sup>+</sup> 细胞百分率 (%)	0.638	0.236	7.308	0.007	1.893	1.192 ~ 3.006
常量	-10.298	2.154	22.857	<0.001		-

### 2.4 子宫内膜 IDO、CD56 单独及联合检测对复发性流产的预测价值

将复发性流产纳入阳性,健康人工流产终止妊娠纳入阴性,绘制 ROC 曲线分析 IDO、CD56 单独及联合检测对复发性流产的曲线下面积(AUC)为 0.810、0.698、0.878,联合检测最高。见图 1 及表 5。

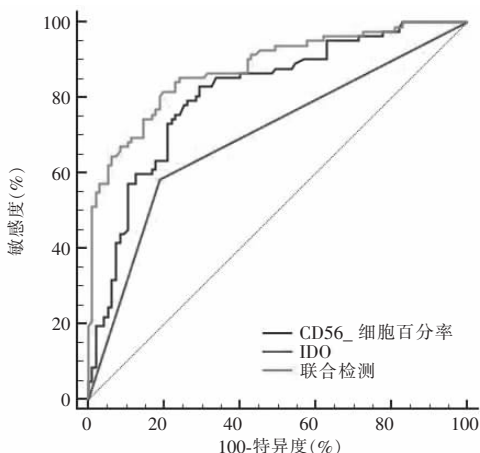


图 1 子宫内膜 IDO、CD56 单独及联合检测对复发性流产的预测价值

表 5 子宫内膜 IDO、CD56 单独及联合检测对复发性流产的预测价值

方法	AUC 值	灵敏度 (%)	特异度 (%)	P 值	95% CI	截断值
IDO 阴性	0.698	58.54	81.05	0.033	0.745 ~ 0.865	-
CD56 <sup>+</sup> 细胞百分率	0.810	82.93	70.53	0.041	0.625 ~ 0.765	4.52%
联合检测	0.878	81.71	80.00	<0.001	0.820 ~ 0.922	-

### 3 讨论

复发性流产容易增加患者身心负担及家庭、社会的经济负担。胚胎属于同种异体移植,随着生殖免疫学的发展,人们意识到母体对胚胎的免疫耐受是其存在及发育的必备条件,如母体对胚胎的免疫耐受降低,胚胎流产概率将大幅增高<sup>[5-7]</sup>。

本研究发现,多因素 Logistic 分析显示,吸烟或被动吸烟、作息不规律为复发性流产的危险因素。分析其原因为,香烟是室内细颗粒物最主要的来源,它能较长时间悬浮于空气中,易附带尼古丁、氨、一氧化碳、氮氧化物、二噁英、烟尘等有毒、有害物质,吸烟或被动吸烟,对人体健康影响较大,可增加胎盘缺血缺氧,诱导流产的发生<sup>[8-9]</sup>。因此,临床上应指导复发性流产产妇产禁烟,并在生活中远离二手烟<sup>[10]</sup>。不良生活习惯如作息不规律,一方面可降低孕妇自身免疫力,使其容易遭受细菌和病毒的入侵,增加胎儿受到感染、异常免疫损伤的风险<sup>[11-12]</sup>;另一方面可造成血流动力学不稳定,增加胎儿细胞损伤,使细胞发育停止,影响其生长发育,从而引发流产<sup>[13]</sup>。因此,临床上应指导复发性流产孕妇规律休息,促进胎儿生长发育,避免流产。

胚胎作为携带父系抗原的同种半异体移植体可能受到母体排斥,母胎界面可以维持母胎免疫耐受,为胚胎发育提供营养支持,母胎界面微环境遭到破坏时,其免疫应答细胞及细胞因子异常变化,会导致免疫耐受的失衡,难以维持胎儿正常的生长发育,导致流产<sup>[14-15]</sup>。IDO 可催化色氨酸转化为犬尿氨酸,而色氨酸是机体免疫力增加的重要氨基酸,可促进抗体形成与抗体功能增强,IDO 在子宫内膜阳性表达,可促进母体免疫耐受,维持胎儿发育,避免流产<sup>[16-17]</sup>。CD56 表达于人体各类免疫细胞膜上,主要为自然杀伤细胞以及小部分活化的 T 淋巴细胞,其表达水平升高提示母胎子宫内膜的免疫表达状况异常,自然杀伤细胞增加,可通过细胞胞浆颗粒向母体子宫内膜上其余细胞释放大量穿孔素,产生细胞毒性,母体对免疫耐受不足<sup>[18]</sup>。本研究中,研究组 IDO 阴性率、CD56<sup>+</sup> 细胞百分率高于对照组,多因素 Logistic 分析显示,IDO 阴性、CD56<sup>+</sup> 细胞百分率升

高为复发性流产的危险因素,绘制 ROC 曲线分析 IDO、CD56 单独及联合检测预测复发性流产的 AUC 为 0.810、0.698、0.878,联合检测最高,提示 IDO、CD56 可能参与复发性流产的发生。Cheng 等<sup>[19]</sup>进行动物研究发现,IDO 基因缺陷可增加复发性流产的发生风险,IDO 在母体胎盘部位表达水平高,可维持妊娠母体中的免疫调节机制处于动态平衡,从抑制的角度参与免疫,起到抑制母体 T 细胞免疫反应的作用,提示 IDO 低表达或不表达为复发性流产的重要影响因素。Lapides 等<sup>[20]</sup>研究指出 CD56 表达增加,可增加母胎免疫耐受不足风险,导致妊娠失败,与本研究结果相似。

综上,复发性流产患者子宫内膜 IDO 阳性表达更低,CD56 表达情况更高,但 CD163 表达水平变化不明显,吸烟或被动吸烟、作息不规律、IDO 阴性、CD56<sup>+</sup> 细胞百分率升高为复发性流产的危险因素,IDO、CD56 联合检测复发性流产预测价值更高。但本研究为样本量有限的单中心研究,复发性流产患者子宫内膜 IDO、CD56、CD163 表达情况仍有待进一步行大样本量、多中心研究予以验证。

#### 参考文献

[1] Chen J, Liu B, Zhang Y, *et al.* Effect of immunotherapy on patients with unexplained recurrent spontaneous abortion [J]. *Annals of Palliative Medicine*, 2020, 9(5): 2545 - 2550.

[2] 魏亮, 李小花, 刘阿庆. 子宫螺旋动脉血流指数和 sEng、sFlt-1 联合预测复发性流产的研究进展 [J]. *中国计划生育和妇产科*, 2023, 15(1): 34 - 36.

[3] 王挺, 周伟宁, 任丛勉, 等. 外周血自然杀伤 T 细胞与原因不明复发性流产的相关性分析 [J]. *中国妇幼保健*, 2019, 34(1): 145 - 147.

[4] 沈铿, 马丁. 妇产科学 [M]. 第 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2015: 246 - 247.

[5] Li L, Liu Y, Feng T, *et al.* The AHNAK induces increased IL-6 production in CD4<sup>+</sup> T cells and serves as a potential diagnostic biomarker for recurrent pregnancy loss [J]. *Clinical and Experimental Immunology*, 2022, 209(3): 291 - 304.

[6] 黄月红, 范光琴, 张研琳. 复发性自然流产者再妊娠血清维生素 D、miR-21 水平与不良妊娠结局关系 [J]. *中国计划生育学杂志*, 2023, 31(2): 371 - 375.

[7] Rasmark RE, Bruno V, Nedstrand E, *et al.* Low-molecular-weight-

heparin increases Th1- and Th17-associated chemokine levels during pregnancy in women with unexplained recurrent pregnancy loss; a randomised controlled trial [J]. *Scientific Reports*, 2019, 9(1): 12314.

[8] 许灵波, 刘海飞, 王丽艳, 等. 慢性子宫内膜炎影响胚胎植入的机制研究进展 [J]. *现代妇产科进展*, 2023, 32(2): 155 - 158.

[9] 谭菲, 张丹, 陈妮, 等. 子宫动脉血流异常的不明原因复发性流产的治疗方法探索 [J]. *成都医学院学报*, 2021, 16(1): 61 - 65.

[10] 程虹, 符爱贞, 周娃娃. 原因不明复发性流产患者再次妊娠早孕期 HMGB1、单核细胞上 Tim-3、PD-1 表达与免疫失衡的关系 [J]. *中国性科学*, 2023, 32(5): 68 - 72.

[11] 陈水莲, 梁志江, 黄冠豪, 等. 广东省育龄妇女自然流产发生情况及其影响因素分析 [J]. *中国生育健康杂志*, 2020, 31(2): 119 - 122, 126.

[12] 钟兴明. 关于复发性流产诊治中争议问题的思考 [J]. *实用医学杂志*, 2022, 38(9): 1045 - 1050.

[13] Von Woon E, Greer O, Shah N, *et al.* Number and function of uterine natural killer cells in recurrent miscarriage and implantation failure: a systematic review and meta-analysis [J]. *Human Reproduction Update*, 2022, 28(4): 548 - 582.

[14] 冯丹, 石文静, 严琴, 等. 母-胎界面微环境在复发性流产中的研究进展 [J]. *中华生殖与避孕杂志*, 2022, 42(5): 518 - 523.

[15] 苏迎春, 戚青林. 淋巴细胞主动免疫治疗对胚胎移植反复失败患者妊娠预后的影响 [J]. *现代免疫学*, 2020, 40(3): 216 - 220.

[16] 王瑞, 翁宇红, 赵淑云, 等. IL-6 上调绒毛及蜕膜组织吲哚胺 2, 3-双加氧酶 (IDO) 的表达 [J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2021, 37(2): 158 - 163.

[17] Tao Y, Li YH, Zhang D, *et al.* Decidual CXCR4<sup>+</sup> CD56<sup>bright</sup> NK cells as a novel NK subset in maternal-foetal immune tolerance to alleviate early pregnancy failure [J]. *Clinical and Translational Medicine*, 2021, 11(10): e540.

[18] Chen X, Zhang T, Liu Y, *et al.* Uterine CD56<sup>+</sup> cell density and euploid miscarriage in women with a history of recurrent miscarriage: a clinical descriptive study [J]. *European Journal of Immunology*, 2021, 51(2): 487 - 489.

[19] Cheng H, Huang Y, Huang G, *et al.* Effect of the IDO gene on pregnancy in mice with recurrent pregnancy loss [J]. *Reproductive Sciences*, 2021, 28(1): 52 - 59.

[20] Lapides L, Varga I, Klein M, *et al.* When less is more-pipelle endometrial sampling for quantification of uterine natural killer cells in patients with recurrent implantation failure or habitual abortion [J]. *Physiological Research*, 2022, 71(Suppl 1): S65 - S73.

(收稿日期: 2023 - 09 - 22

修回日期: 2023 - 10 - 27)