

黄体酮联合主动免疫疗法治疗不明原因复发性流产的保胎效果及其对孕妇雌孕激素水平、凝血指标的影响

李珍¹, 张亚琴¹, 乔鹏艳²
(山西省妇幼保健院, 1. 计生科; 2. 产科, 山西 太原 030013)

【摘要】目的：探讨黄体酮联合主动免疫疗法(LIT)治疗不明原因复发性流产(URSA)患者的保胎效果及对雌孕激素水平、凝血指标的影响。**方法：**选取 110 例 URSA 患者为研究对象,按照治疗方案不同分为对照组和观察组,每组各 55 例。对照组予以黄体酮联合 HCG 治疗;观察组予以黄体酮联合 LIT 治疗。比较两组妊娠结局、临床症状改善情况、孕激素[人绒毛促性腺激素(HCG)、孕酮(P)、雌二醇(E₂)]水平、子宫动脉血流阻力[收缩末期峰值/舒张末期流速(S/D)、搏动指数(PI)、阻力指数(RI)]水平、凝血指标[纤维蛋白原(FIB)、D-二聚体(D-D)、活化部分凝血活酶时间(APTT)]水平、细胞因子[γ 干扰素(IFN-γ)、白细胞介素 4(IL-4)、辅助性细胞亚群(Th1/Th2)]水平。**结果：**观察组患者保胎成功率高于对照组(83.64% vs. 61.81%, $P < 0.05$);腰酸腹痛、下腹痛及阴道流血症状消失时间短于对照组($P < 0.05$);HCG、P、E₂、APTT、IL-4 水平高于对照组($P < 0.05$),S/D、PI、RI、FIB、D-D、IFN-γ 及 Th1/Th2 低于对照组($P < 0.05$)。**结论：**在黄体酮的基础上联合 LIT 可提高 URSA 患者的保胎成功率,改善患者临床症状,调节患者体内雌孕激素水平、凝血功能及免疫功能。

【关键词】 不明原因复发性流产;黄体酮;主动免疫疗法;雌孕激素;凝血指标

【中图分类号】 R714.21 **【文献标志码】** A

Effect of progesterone combined with active immunotherapy on the treatment of recurrent abortion of unknown cause and its influence on the level of estrogen and progesterone and coagulation index in pregnant women

LI Zhen¹, ZHANG Ya-qin¹, QIAO Peng-yan²
(1. Department of Family Planning; 2. Department of Obstetrics, Shanxi Maternal and Child Health Hospital, Taiyuan 030013, Shanxi, China)

【Abstract】Objective: To explore fetal protection effect of progesterone combined with lymphocytes immunotherapy (LIT) and its influences on estrogen and progesterone and coagulation indexes in unexplained recurrent spontaneous abortion (URSA). **Methods:** A total of 110 URSA patients were divided into control group ($n = 55$, progesterone + HCG) and observation group ($n = 55$, progesterone + LIT) according to the different treatment plan. The pregnancy outcomes, improvement of clinical symptoms, progesterone [human chorionic gonadotropin (HCG), progesterone (P), estradiol (E₂)], uterine arterial blood flow resistance [peak systolic velocity/end diastolic velocity (S/D), pulsatility index (PI), resistance index (RI)], coagulation indexes [fibrinogen (FIB), D-dimer (D-D), activated partial thromboplastin time (APTT)] and cytokines [interferon-γ (IFN-γ), interleukin-4 (IL-4), helper cell subsets (Th1/Th2)] were compared between the two groups. **Results:** The success rates of fetal protection in observation group was higher than that in control group (83.64% vs. 61.81%, $P < 0.05$). The disappearance time of symptoms (lumbago, lower abdominal pain, vaginal bleeding) in observation group was shorter than that in control group ($P < 0.05$). Compared with control group, levels of HCG, P, E₂, APTT and IL-4 were higher ($P < 0.05$), while S/D, PI, RI, FIB, D-D, IFN-γ and Th1/Th2 were lower in observation group ($P < 0.05$). **Conclusion:** LIT combined with progesterone can increase success rate of fetal protection in URSA patients, improve clinical symptoms, regulate levels of estrogen and progesterone, coagulation function and immune function.

【Key words】 Unexplained recurrent spontaneous abortion; Progesterone; Lymphocyte immunotherapy; Estrogen and progesterone; Coagulation index

近年妊娠早期自然终止愈发常见。临床将妊娠 < 28 周或胎儿重量 < 2 000 g 定义为流产^[1]。而妊娠 12 周前终止称为早期流产,占自然流产的 10% ~ 15%。复发性自然流产(RSA)指孕 20 周内同一

伴侣 ≥ 2 次流产^[2],其发生与染色体、内分泌及免疫异常相关^[3]。RSA 发病率占育龄妇女 1%~5%,占自然流产 15%~20%。研究^[4]表明,流产次数增加明显提升再发风险, ≥ 4 次流产会降低 ≤ 37 岁女性活产率并增加流产率。40%~50% RSA 患者病因未明,称为不明原因复发性流产(unexplained recurrent spontaneous abortion,URSA),其发病机制存在争议,可能涉及滋养细胞迁移侵袭不足导致胎盘形成异常^[5]。大多数 URSA 患者尽管孕前内分泌正常,但孕后也易出现低孕酮现象,黄体酮联合绒毛膜促性腺激素(HCG)治疗为传统的保胎疗法。淋巴细胞主动免疫疗法(lymphocyte immunotherapy, LIT)首次被 Günther 等^[6]提出,该方法可提高活产率。研究^[7]表明,该方案可将 URSA 保胎成功率提高至约 75.00%。目前临床上暂未有研究报道 LIT 疗法联用黄体酮用于 USRA 患者保胎治疗中,联合应用效果尚未明确。本研究旨在探讨黄体酮联合 LIT 治疗 URSA 患者的保胎效果及对雌孕激素水平、凝血指标的影响。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2021 年 10 月至 2024 年 10 月山西省妇幼保健院收治的 110 例 URSA 患者为研究对象,按照治疗方案不同分为对照组和观察组,每组各 55 例。本研究符合《赫尔辛基宣言》,患者及其家属知情同意。两组患者一般资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 1。纳入标准:(1)孕期 <12 周且 URSA 诊断符合专家共识^[8];(2)配偶身体健康,抗配偶淋巴细胞抗体试验阴性;(3)流产次数 ≥ 2 次。排除标准:(1)子宫器质性病变、生殖道感染;(2)近 3 个月内使用过激素药物;(3)凝血功能异常、染色体异常、甲状腺功能失调或者伴有免疫功能不全。

表 1 两组患者一般资料比较($\bar{x}\pm s$)

组别	年龄(岁)	孕周(周)	流产次数(次)
观察组($n=55$)	28.25 $\pm$ 1.28	5.19 $\pm$ 0.81	2.56 $\pm$ 0.13
对照组($n=55$)	28.16 $\pm$ 1.34	5.22 $\pm$ 0.79	2.51 $\pm$ 0.18
t 值	0.360	0.197	1.670
P 值	0.719	0.845	0.098

1.2 方法

对照组患者给予黄体酮(广州白云山明兴制药有限公司,规格 1 mL:5 mg)肌肉注射治疗,1 次/d,20 mg/次。隔日给予绒毛促性腺激素(HCG)肌肉注射治疗,1 次/d,2 000 U/次,持续至孕龄 12 周。观察组患者在对照组基础上给予 LIT 治疗:抽取其配偶的静脉血,加入 2% 肝素钠抗凝剂处理后转移至离心管中,管中装有淋巴细胞分离液。以 3 000

r/min 速度离心 15 min,取中间层稀释,得到淋巴细胞浓度为 2~3 $\times 10^7$ /mL 的稀释液,注射区域为内侧肱三头肌附近,共注射 3 处,每处注射量大约为 0.3 mL。整个治疗过程共需注射 4 次,相邻两次注射的间隔时间为 4 周。完成最后一次免疫接种 2 周后,重新检查抗配偶淋巴细胞抗体,一旦抗体呈现阳性反应,随即安排患者进行怀孕尝试。妊娠成功后 1 个月进行一次加强免疫,治疗持续至孕龄 16 周。

1.3 观察指标

(1)妊娠结局包括足月分娩、提前分娩及流产。保胎成功率=(足月生产+早产)例数/总例数 $\times 100\%$ 。(2)临床症状改善情况:包括腰酸、下腹痛、阴道流血缓解时间。(3)孕雌激素水平:治疗前及治疗结束后 1 d,取患者空腹静脉血清,1 500 r/min 离心 15 min 后取血清样,采用 Advia Chemistry XPT 全自动生化分析仪检测人绒毛促性腺激素(HCG)、孕酮(P)、雌二醇(E_2)水平。(4)子宫动脉血流阻力:治疗前及治疗结束后 1 d,采用 Vivid T9 多普勒超声诊断仪检测收缩末期峰值/舒张末期流速(S/D)、搏动指数(PI)、阻力指数(RI)水平。(5)凝血指标:治疗前及治疗结束后 1 d,取空腹静脉血,1 500 r/min 离心 15 min 后取血浆样,采用 C3100 全自动凝血分析仪检测纤维蛋白原(FIB)、D-二聚体(D-D)、活化部分凝血活酶时间(APTT)水平。(6)细胞因子:治疗前及治疗结束后 1 d,取患者空腹静脉血清,采用 SpectraMax iD3 酶标仪检测 γ 干扰素($IFN-\gamma$)、白细胞介素 4(IL-4)水平;C6 PLUS 流式细胞仪检测辅助性细胞亚群(Th1/Th2)水平。

1.4 统计学分析

采用 SPSS 24.0 软件对数据进行处理与分析。计量资料符合正态分布且方差齐性,以($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较行独立样本 t 检验,组内比较行配对样本 t 检验;计数资料以[$n(\%)$]表示,组间比较行独立样本 χ^2 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者妊娠结局比较

观察组患者保胎成功率高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 2。

表 2 两组患者妊娠结局比较[$n(\%)$]

组别	足月分娩	提前分娩	流产	保胎成功
观察组($n=55$)	39(70.91)	7(12.73)	9(16.36)	46(83.64)
对照组($n=55$)	28(50.91)	6(10.91)	21(38.18)	34(61.82)
χ^2 值				6.600
P 值				0.010

2.2 两组患者临床症状改善情况比较

观察组患者腰酸、下腹痛、阴道流血消失时间短于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表3。

2.3 两组 URSA 患者孕雌激素水平比较

治疗前,两组患者 HCG、P、E₂ 水平比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。治疗后 1 d,两组患者 HCG、P、E₂ 水平均升高($P<0.05$),且观察组高于对照组($P<0.05$)。见表4。

表 3 两组临床症状改善情况比较($\bar{x}\pm s,d$)

组别	腰酸	下腹痛	阴道流血
观察组($n=55$)	8.43±1.24	7.44±1.36	7.35±1.47
对照组($n=55$)	10.96±1.51	9.85±1.28	9.64±1.66
t 值	9.602	9.569	7.659
P 值	<0.001	<0.001	<0.001

表 4 两组患者孕雌激素水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	hCG(IU/L)		P(μg/L)		E ₂ (ng/L)	
	治疗前	治疗后 1 d	治疗前	治疗后 1 d	治疗前	治疗后 1 d
观察组($n=55$)	1 016.34±259.16	6 943.20±536.76 ^①	10.38±1.69	22.13±2.46 ^①	369.42±76.23	487.15±89.52 ^①
对照组($n=55$)	1 021.52±271.09	6 101.41±513.48 ^①	10.44±1.71	17.95±2.02 ^①	371.09±72.18	402.08±79.55 ^①
t 值	0.102	8.404	0.185	9.739	0.118	5.268
P 值	0.919	<0.001	0.854	<0.001	0.906	<0.001

① $P<0.05$,与同组治疗前比较。

2.4 两组患者子宫动脉血流阻力比较

治疗前,两组患者 S/D、PI、RI 水平,无统计学差异($P>0.05$)。治疗后 1 d,两组患者 S/D、PI、RI

水平均降低($P<0.05$),且观察组低于对照组($P<0.05$)。见表5。

表 5 两组患者子宫动脉血流阻力水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	S/D		PI		RI	
	治疗前	治疗后 1 d	治疗前	治疗后 1 d	治疗前	治疗后 1 d
观察组($n=55$)	17.35±1.29	10.12±2.11 ^①	5.42±0.86	2.56±0.24 ^①	2.68±0.31	1.24±0.22 ^①
对照组($n=55$)	17.28±1.31	12.96±2.08 ^①	5.37±0.75	3.17±0.28 ^①	2.64±0.35	1.71±0.27 ^①
t 值	0.282	7.108	0.325	12.267	0.634	10.008
P 值	0.778	<0.001	0.746	<0.001	0.527	<0.001

① $P<0.05$,与同组治疗前比较。

2.5 两组患者凝血指标比较

治疗前,两组患者 APTT、FIB、D-D 水平比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。治疗后 1 d,两组患者

APTT 水平均升高($P<0.05$),且观察组高于对照组($P<0.05$);FIB 及 D-D 水平均降低($P<0.05$),且观察组低于对照组($P<0.05$)。见表6。

表 6 两组患者凝血指标比较($\bar{x}\pm s$)

组别	APTT(s)		FIB(g/L)		D-D(μg/L)	
	治疗前	治疗后 1 d	治疗前	治疗后 1 d	治疗前	治疗后 1 d
观察组($n=55$)	29.12±3.08	33.92±2.93 ^①	4.56±0.98	3.39±0.52 ^①	376.43±72.49	108.63±19.42 ^①
对照组($n=55$)	28.87±2.96	30.75±3.01 ^①	4.52±1.01	3.90±0.55 ^①	369.58±68.17	128.12±17.63 ^①
t 值	0.434	5.597	0.211	4.997	0.511	5.511
P 值	0.665	<0.001	0.833	<0.001	0.611	<0.001

① $P<0.05$,与同组治疗前比较。

2.6 两组患者细胞因子水平比较

治疗前,两组患者 IL-4、IFN-γ 及 Th1/Th2 水平比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。治疗后 1 d,

两组患者 IL-4 水平均升高($P<0.05$),且观察组高于对照组;IFN-γ 及 Th1/Th2 均降低($P<0.05$),且观察组低于对照组($P<0.05$)。见表7。

表 7 两组患者免疫细胞因子水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	IFN- γ (ng/L)		IL-4 (ng/L)		Th1/Th2	
	治疗前	治疗后 1 d	治疗前	治疗后 1 d	治疗前	治疗后 1 d
观察组 ($n = 55$)	348.42 $\pm$ 76.28	267.20 $\pm$ 48.93 ^①	10.41 $\pm$ 1.68	13.52 $\pm$ 2.12 ^①	35.16 $\pm$ 12.46	21.04 $\pm$ 5.75 ^①
对照组 ($n = 55$)	340.86 $\pm$ 80.16	322.45 $\pm$ 59.76 ^①	10.63 $\pm$ 1.77	11.34 $\pm$ 2.18 ^①	35.11 $\pm$ 10.45	27.63 $\pm$ 7.29 ^①
t 值	0.507	5.305	0.669	5.317	0.023	5.264
P 值	0.613	<0.001	0.505	<0.001	0.982	<0.001

① $P < 0.05$, 与同组治疗前比较。

3 讨论

在正常怀孕期间,封闭抗体借助与母体淋巴细胞表面的抗原及滋养细胞的互动,阻止母体对胎儿产生免疫排斥和辨识。但 RSA 患者通常缺乏这种抗体,致使母体自身免疫对胎儿发起攻击,进而导致流产的发生。治疗通常包括肌肉注射黄体酮和 HCG 等方法。子宫平滑肌的兴奋性随着黄体酮浓度的升高而降低,从而降低宫缩频率,为胚胎在子宫内的健康成长提供良好环境^[9]。胎盘滋养层细胞分泌的糖蛋白激素 HCG,功能与黄体生成激素类似,能激发妊娠黄体释放雌激素和孕激素^[10],保护滋养层免受免疫攻击,但单纯使用对 URSA 患者效果不佳。LIT 治疗通过提取患者健康配偶的外周血淋巴细胞进行小剂量多次注射,已被证明是一种有效且安全可靠的方法。

本研究结果显示,治疗结束后,观察组患者保胎成功率高于对照组 ($P < 0.05$);临床症状的改善时间短于对照组 ($P < 0.05$),与 Chen 等^[11]研究结果一致,说明 LIT 疗法有助于维持正常的胚胎发育环境并提高 URSA 患者正常妊娠的成功率。此治疗方法旨在激发母体对胚胎抗原或关联同种异体抗原的免疫应答。胚胎带有父亲的半数同种异体抗原,类似异体移植。妊娠女性血清里的抗配偶淋巴细胞抗体能抑制针对配偶 HLA 特异性抗体的淋巴细胞毒性,同时也能防止对异体移植物的排斥现象,从而提高妊娠率。孕雌激素正常水平是成功妊娠的关键因素之一,其中 HCG 主要用于维持黄体功能,异常妊娠时会出现水平上升缓慢或下降;P 及 E₂ 主要用于促进子宫内膜发育和准备着床等,水平不足可能导致流产。本研究中,观察组患者孕雌激素水平的改善情况优于对照组 ($P < 0.05$),提示 LIT 疗法可以调整 URSA 患者体内 HCG、P、E₂ 水平^[12]。在健康的妊娠周期内,子宫动脉会慢慢随着孕期的增加逐渐伸直,血管内径也随之增大,血管内血液传输加快,进而促使子宫血流灌注量增多。子宫动脉的多普勒频谱变化与组织学形态的改变具有同步性,孕龄不断延长时,S/D、RI、PI 等指标会逐步降低^[13],

且在舒张早期,切迹会慢慢变浅直至消失。通过子宫动脉的脉冲超声血流参数可以体现子宫内膜的接纳能力,进而对妊娠的最终结果有一定的预示作用。对于 RSA 患者来说,因多次流产,其形成血栓的概率也相对较大^[14]。在临床中,这类患者往往会出现 S/D、PI、RI 数值上升的情况。如果患者持续处于此种状况,可能会使机体的纤溶功能受到抑制,同时促使凝血作用加强,子宫及胎盘微血栓增加从而降低血液灌注量,组织被迫缺血缺氧后,最终可能引发流产。本研究结果也显示,观察组患者 S/D、RI、PI 均低于对照组 ($P < 0.05$),进一步表明 LIT 疗法有助于改善 URSA 患者子宫动脉血流阻力。

淋巴细胞主动免疫治疗的原理在于向有妊娠计划的女性体内注入其配偶或他人的健康淋巴细胞激活其免疫系统^[15],进而促使机体产生封闭抗体。在患者后续的妊娠过程中,这些封闭抗体能够精准识别并紧密连接胚胎上的外来抗原,构建起一道封闭的保护屏障,为胚胎的健康生长和发育保驾护航。正常妊娠期间 Th2 因子浓度更高,可抑制 Th1 型因子引发的免疫反应,防止胎儿及滋养层细胞受二次伤害,保障妊娠顺利;但在流产患者中,Th1 因子浓度超过 Th2,其分泌的 IFN- γ 、IL-2 会介导急性排斥、炎症反应等过程。研究^[16]显示,经过主动免疫治疗后,约 85% 患者可生成封闭抗体,促使 Th1 型因子向 Th2 型转变,助力顺利妊娠。胎儿免遭母体排斥及避免过度侵袭,离不开 Th1/Th2 型因子的精准平衡,这对维持正常妊娠极为重要,平衡失调易致妊娠失败及并发症。IFN- γ 可促进杀伤细胞活化、增殖,进而损害胎盘组织。同时,生殖道分泌的刺激因子利于胚胎成长,但 IFN- γ 会抑制其分泌,防止滋养层受损。IL-4 可促进胎盘细胞增殖,维持内皮细胞生存环境。在免疫学中,常把 IL-4、IFN- γ 分别当作 Th2、Th1 的典型因子,检测二者水平可把握 Th2、Th1 功能状态。Peng 等^[17]研究还证实,IFN- γ /IL-4 对于 URSA 的诊断具有较高的价值。此外,本研究中观察组患者的妊娠成功率更高 ($P < 0.05$),充分证实主动免疫对 URSA 患者比传统疗法效果更好。

综上,LIT 联合黄体酮治疗方案是目前治疗

URSA 的简单易行、安全有效的方法,可提高患者的保胎成功率,改善患者临床症状,调节患者体内孕雌激素水平、凝血功能及免疫功能,但具体机制仍未完全清楚。

参考文献

[1] 自然流产诊治中国专家共识编写组,赵爱民. 自然流产诊治中国专家共识(2020年版)[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2020,36(11):1082-1090.

[2] Van WM. Series of overviews on miscarriage and recurrent miscarriage[J]. Fertility and Sterility,2023,120(5):932-933.

[3] Youssef A,Lashley L,Dieben S,*et al.* Defining recurrent pregnancy loss;associated factors and prognosis in couples with two versus three or more pregnancy losses[J]. Reproductive Biomedicine Online,2020,41(4):679-685.

[4] Zhao ST,Liu YB,Zhang Q,*et al.* The impact of the number of previous miscarriages on embryo euploid rate and pregnancy outcomes in patients with unexplained recurrent pregnancy loss[J]. Zhonghua Yi Xue Za Zhi,2023,103(36):2874-2880.

[5] Liu H,Chen H,Han T,*et al.* Lipid imbalance and inflammatory oxylipin cascade at the maternal-fetal interface in recurrent spontaneous abortion[J]. Heliyon,2024,10(24):e40515.

[6] Günther V,Alkatout I,Meyerholz L,*et al.* Live birth rates after active immunization with partner lymphocytes [J]. Biomedicines, 2021,9(10):1350.

[7] Li J,Gu Y,Zhang S,*et al.* Effect of prepregnancy lymphocyte active immunotherapy on unexplained recurrent miscarriage, pregnancy success rate,and maternal-infant outcome[J]. BioMed Research International,2021,2021:7878752.

[8] 中华医学会妇产科学分会产科学组. 复发性流产诊治的专家共识[J]. 中华妇产科杂志,2016,51(1):3-9.

[9] 庞艳玉,林诗舟,马春来. 9个城市112家医院门急诊患者孕激素类药物临床应用的处方大数据分析[J]. 中国医院用药评价与分析,2023,23(7):872-876.

[10] 查红英,袁庆新. 妊娠期糖尿病母体胎盘激素和能量代谢改变的研究进展[J]. 实用妇产科杂志,2023,39(6):425-429.

[11] 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.

[12] 牛明明,郝霞. 益肾壮母汤联合地屈孕酮对不明原因复发性流产患者免疫调节失衡的调节作用[J]. 中华中医药学刊,2020,38(5):224-228.

[13] 张娜,宋金荣,陈立燕,等. 超声多普勒对不同孕龄母胎血流动力学参数值综合性评估的研究[J]. 中国超声医学杂志,2021,37(3):314-318.

[14] 蒋莎,贾丹,李娜,等. 补肾活血法对肾虚血瘀型不明原因复发性流产血栓前状态和血管生成因子的影响[J]. 中华中医药杂志,2020,35(8):4250-4254.

[15] Mak ML,Reid KT,Crome SQ. Protective and pathogenic functions of innate lymphoid cells in transplantation[J]. Clinical and Experimental Immunology,2023,213(1):23-39.

[16] 李福星,刘莎,张嘉宇,等. Th1/Th2 平衡偏移在苯并[a]芘宫内暴露与胚胎停育关联中的中介效应[J]. 中华疾病控制杂志,2024,28(11):1264-1269.

[17] Peng Y,Yin S,Wang M. Significance of the ratio interferon- γ /interleukin-4 in early diagnosis and immune mechanism of unexplained recurrent spontaneous abortion[J]. International Journal of Gynaecology and Obstetrics,2021,154(1):39-43.

(收稿日期:2025-01-07 修回日期:2025-03-27)