

血清自分泌运动因子、甲壳质酶蛋白 40 与妊娠期肝内胆汁淤积症患者辅助性 T 细胞 17/调节性 T 细胞失衡和妊娠结局的关系研究

王安鑫¹, 马颖¹, 徐菊红²

1. 陕西省宝鸡市妇幼保健院产科, 陕西 宝鸡 721000; 2. 陕西省宝鸡高新医院妇产科, 陕西 宝鸡 721000

【摘要】目的 探讨血清自分泌运动因子(ATX)、甲壳质酶蛋白 40(YKL-40)与妊娠期肝内胆汁淤积症(ICP)患者辅助性 T 细胞 17(Th17)/调节性 T 细胞(Treg)失衡和妊娠结局的关系。**方法** 选取 2017 年 8 月至 2022 年 8 月宝鸡市妇幼保健院收治的 ICP 患者 178 例作为观察组,根据患者病情严重程度分为轻度组($n=126$)和重度组($n=52$);且患者根据妊娠结局分为正常妊娠组($n=128$)和不良妊娠组($n=50$)。另选同期健康孕妇 80 例作为对照组。检测血清 ATX、YKL-40 水平并计算 Th17/Treg 比值。采用 Pearson 相关性分析血清 ATX、YKL-40 与 Th17/Treg 的关系。采用多因素 Logistic 回归分析 ICP 患者不良妊娠结局的危险因素。**结果** 重度组 ATX、YKL-40、Th17、Th17/Treg 高于对照组和轻度组,且轻度组高于对照组($P<0.05$);重度组 Treg 水平低于对照组和轻度组,且轻度组低于对照组($P<0.05$)。Pearson 相关性分析显示,ATX、YKL-40 与 Th17/Treg 均呈现显著正相关($P<0.05$)。多因素 Logistic 回归分析结果显示,高 Th17/Treg、高 YKL40、高 ATX、高 TBA、高 TBil 为 ICP 患者不良妊娠结局的独立危险因素($P<0.05$)。**结论** 血清 ATX、YKL-40 与 ICP 患者 Th17/Treg 失衡相关,高 TBil、高 TBA、高 ATX、高 YKL40、高 Th17/Treg 为 ICP 患者不良妊娠结局的独立危险因素。

【关键词】 妊娠期肝内胆汁淤积症;妊娠结局;血清自分泌运动因子;甲壳质酶蛋白 40;辅助性 T 细胞 17/调节性 T 细胞失衡

【中图分类号】R714.255

【文献标志码】A

【文章编号】1672-6170(2024)06-0088-05

Study on the relationship between the serum autocrine motility factor, chitinase protein 40, helper T cell 17/regulatory T cell imbalance and the pregnancy outcomes in patients with intrahepatic cholestasis of pregnancy WANG An-xin¹, MA Ying¹, XU Ju-hong² 1. Department of Obstetrics, Baoji Maternal and Child Health Hospital, Baoji 721000, China; 2. Department of Gynaecology and Obstetrics, Baoji High Tech Hospital, Baoji 721000, China

【Corresponding author】XU Ju-hong

【Abstract】Objective To explore the relationship between the serum autotaxin (ATX), chitinase protein-40 (YKL-40) and the T helper cell 17 (Th17)/regulatory T cell (Treg) imbalance as well as the pregnancy outcome in patients with intrahepatic cholestasis of pregnancy (ICP). **Methods** One hundred and seventy-eight ICP patients admitted to our hospital from August 2017 to August 2022 were enrolled in an observation group. The patients were divided into a mild group ($n=126$) and a severe group ($n=52$) according to the severity of the patient's condition. The patients were further divided into a normal pregnancy group ($n=128$) and an adverse pregnancy group ($n=50$) base on the pregnancy outcome. Another 80 healthy pregnant women were selected as a control group. The levels of serum ATX and YKL-40 were detected and the ratio of Th17/Treg was calculated. The relationship between the serum ATX, YKL-40 and the Th17/Treg was analyzed by using Pearson correlation analysis. The risk factors of adverse pregnancy outcomes in the ICP patients were analyzed by multivariate logistic regression analysis. **Results** The levels of ATX, YKL-40, Th17 and Th17/Treg in the severe group were higher than those in the control group and the mild group, and the mild group were higher than those of the control group ($P<0.05$). The levels of Treg in the severe group was lower than that in the control group and the mild group, and the mild group was lower than that of the control group ($P<0.05$). Pearson correlation analysis showed that ATX and YKL-40 were positively correlated with Th17/Treg ($P<0.05$). Multivariate logistic regression analysis showed that high Th17/Treg, high YK-40, high ATX, high TBA and high TBil were independent risk factors for adverse pregnancy outcomes in the ICP patients ($P<0.05$). **Conclusions** Serum ATX and YKL-40 are associated with Th17/Treg imbalance in ICP patients. High TBil, high TBA, high ATX, high YKL-40 and high Th17/Treg are independent risk factors for adverse pregnancy outcomes in ICP patients.

【Key words】 Intrahepatic cholestasis of pregnancy; Pregnancy outcome; ATX; YKL-40; Th17/Treg imbalance

妊娠期肝内胆汁淤积症(intrahepatic cholestasis of pregnancy, ICP)是以皮肤瘙痒和肝功能异常为主要特征的妊娠期严重的并发症^[1]。近年来的研究

表明,ICP 患者的免疫系统失衡与疾病的发生和发展密切相关^[2,3]。免疫系统失衡可能导致过度的炎症反应或免疫抑制,这不仅加剧了 ICP 的病理过程,还可能对妊娠结局产生严重影响。而在免疫系统中,辅助性 T 细胞 17(T helper cell 17, Th17)和调节

【基金项目】陕西省重点研发计划(编号:2021SF-211)

【通讯作者】徐菊红

性 T 细胞(regulatory T cell, Treg)是两个重要的细胞类型,它们在维持免疫平衡和预防过度炎症反应中起着重要作用^[4]。自分泌运动因子(autotaxin, ATX)是一种多功能蛋白质,参与细胞生长、分化和迁移等关键生物过程,可参与妊娠期胆汁淤积性瘙痒症的发生^[5]。甲壳质酶蛋白 40(chitinase protein-40, YKL-40)与炎症和纤维化有关,ATX 可能通过调节胆汁成分和细胞信号转导参与 ICP 的病理过程,而 YKL-40 的促炎和促纤维化作用可能参与 ICP 的病理过程^[6,7]。本研究探讨 ICP 患者血清 ATX、YKL-40、Th17/Treg 失衡的相关性,分析 ICP 患者不良妊娠结局的危险因素。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2017 年 8 月至 2022 年 8 月宝鸡市妇幼保健院收治的 ICP 患者 178 例纳入观察组,年龄 22~46 岁[(31.54±3.81)岁]。纳入标准:①符合 ICP 相关诊断标准^[8];②患者或家属知情同意;③均为单胎妊娠。排除标准:①存在妊娠期高血压;②合并精神障碍、认知障碍;③存在免疫类疾病。另选我院同期产检健康孕妇 80 名纳入对照组,年龄 21~41 岁[(31.18±3.73)岁]。本研究经宝鸡市妇幼保健院伦理委员会审核批准(2017A-105)。

1.2 方法

1.2.1 血清 ATX、YKL-40 与 Th17/Treg 检测与计算 ICP 患者入院后,健康孕妇孕检时抽取 4 ml 肘部静脉血,分别置于 2 个试管内,各自 2 ml,然后将其放置在常温下静置 20 分钟。其中 1 管血标本以离心半径为 15 cm、3500 转/分钟的速度进行离心 10 分钟,将分离的血清保存在冰箱(-70 °C 的温度)中待检。血清 ATX、YKL-40 均采用酶联免疫吸附法检测,实验操作将遵循试剂盒(购自上海酶联生物科技有限公司)的说明书。另一管血标本采用购自贝克曼公司的流式细胞仪(规格型号 EPICS XL MCL-4C)检测 Treg 细胞比例, Th17 细胞比例,并计

算 Th17/Treg 比值。

1.2.2 临床资料收集 收集研究对象的年龄、分娩孕周、分娩次数、体质量指数(BMI)、流产次数、ICP 家族史、天门冬氨酸氨基转移酶(ALT)、胆固醇(TC)、总胆红素(TBil)、甘油三酯(TG)、间接胆红素(IBil)、低密度脂蛋白(LDL-C)、总胆汁酸(TBA)、甘胆酸(CG)、高密度脂蛋白(HDL-C)、直接胆红素(DBil)、丙氨酸氨基转移酶(AST)、活化部分凝血活酶时间(APTT)、纤维蛋白原(Fbg)。

1.2.3 预后分组 根据病情严重程度判定^[8,9]。轻度 ICP:①血清总胆汁酸浓度在 10~40 μmol/L;②主要临床症状表现为皮肤瘙痒,其他症状并不明显。重度 ICP:①血清总胆汁酸浓度≥40 μmol/L;②皮肤瘙痒症状严重。不良妊娠情况则包括自然流产、早产、羊水污染、死胎、低出生体重儿、新生儿窒息、巨大儿、胎儿生长受限、产后出血、胎儿宫内窘迫等^[10]。根据妊娠结局,将患者分为不良妊娠组和正常妊娠组。

1.3 统计学方法 应用 SPSS 26.0 统计学软件进行数据分析。计数资料以例数(%)表示,比较行 χ^2 检验;符合正态分布的计量资料以均数±标准差表示,比较采用 *t* 检验(或校正 *t* 检验),不符合正态分布的数据则以 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示,比较行非参数 Mann-Whitney *U* 秩和检验;Pearson 相关性分析 ICP 患者血清 ATX、YKL-40 与 Th17/Treg 的相关性。多因素 Logistic 回归以逐步后退法分析 ICP 患者不良妊娠结局的独立危险因素。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 三组血清 ATX、YKL-40、Th17/Treg 比较

重度组 ATX、YKL-40、Th17、Th17/Treg 高于对照组和轻度组,且轻度组高于对照组($P<0.05$);重度组 Treg 低于轻度组和对照组,且轻度组低于对照组($P<0.05$)。见表 1。

表 1 三组血清 ATX、YKL-40、Th17/Treg 比较

组别	<i>n</i>	ATX(μg/L)	YKL-40(μg/L)	Th17(%)	Treg(%)
对照组	80	15.71±8.20	3.98±1.36	2.94±0.63	5.55±1.47
轻度组	126	32.23±14.26	11.67±4.38	4.06±1.94	4.32±1.11
重度组	52	36.43±12.83	14.98±4.60	5.62±2.05	2.50±0.58
<i>F</i>		58.798	159.827	40.695	109.713
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2.2 ICP 患者血清 ATX、YKL-40 与 Th17/Treg 的相关性分析 ICP 患者血清 YKL-40、ATX 与

Th17/Treg 均呈显著正相关($P<0.05$)。见表 2。

表 2 血清 ATX、YKL-40 与 Th17/Treg 的相关性分析

变量		ATX	YKL-40	Th17/Treg
ATX	<i>r</i>	-	0.389	0.341
	<i>P</i>	-	<0.001	<0.001
YKL-40	<i>r</i>	0.389	-	0.436
	<i>P</i>	<0.001	-	<0.001
Th17/Treg	<i>r</i>	0.341	0.436	-
	<i>P</i>	<0.001	<0.001	-

2.3 不良妊娠组与正常妊娠组一般临床资料比较

178 例 ICP 患者中,羊水污染 8 例、产后出血 5 例、早产 6 例、死胎 2 例、低出生体重儿 6 例、胎儿宫内窘迫 5 例、胎儿生长受限 5 例、新生儿窒息 13 例,不良妊娠率为 28.09% (50/178)。不良妊娠组和正常妊娠组患者年龄、TBil、TBA、CG、APTT、ATX、YKL-40、Th17/Treg 比较,差异有统计学意义 ($P<0.05$); 两组流产次数、DBil、分娩次数、Fbg 等其他资料比较,差异无统计学意义 ($P>0.05$)。见表 3。

表 3 不良妊娠组与正常妊娠组临床资料比较

项目		不良妊娠组 ($n=50$)	正常妊娠组 ($n=128$)	统计量	<i>P</i>
年龄(岁)		33.65±4.69	30.99±3.36	$t=3.660$	<0.001
分娩孕周(周)		38.43±2.01	38.72±1.95	$t=0.884$	0.378
分娩次数(次)		1.35±0.54	1.33±0.49	$t=0.238$	0.812
流产次数(次)		1(0,1)	1(0,1)	$Z=0.739$	0.460
ICP 家族史 [$n(\%)$]	有	28(56.00)	52(40.63)	$\chi^2=3.435$	0.064
	无	22(44.00)	76(59.37)		
BMI(kg/m^2)		29.48±3.97	29.43±3.93	$t=0.076$	0.939
TG(mmol/L)		4.72±1.23	4.38±1.27	$t=1.619$	0.107
LDL-C(mmol/L)		2.93±0.89	2.78±0.59	$t=1.101$	0.275
HDL-C(mmol/L)		1.18±0.27	1.22±0.24	$t=-0.964$	0.336
TBil(mmol/L)		43.71±5.74	38.52±5.21	$t=5.803$	<0.001
DBil(pmol/L)		9.61±2.77	8.99±2.17	$t=1.421$	0.159
IBil(pmol/L)		31.06±5.04	29.72±4.80	$t=1.651$	0.101
TBA($\mu\text{mol}/\text{L}$)		54.74±9.05	47.38±6.20	$t=5.286$	<0.001
CG($\mu\text{mol}/\text{L}$)		5.23±1.36	4.73±1.03	$t=2.350$	0.022
AST(mg/L)		64.59±8.76	62.94±8.26	$t=1.178$	0.241
ALT(U/L)		59.79±8.28	58.53±8.18	$t=0.920$	0.359
APTT(s)		48.76±6.55	43.79±5.87	$t=4.912$	<0.001
Fbg(g/L)		2.39(1.45,3.15)	2.44(1.41,3.23)	$Z=1.250$	0.209
ATX($\mu\text{g}/\text{L}$)		41.59±14.06	30.28±13.57	$t=4.947$	<0.001
YKL-40($\mu\text{g}/\text{L}$)		15.52±4.29	11.51±4.34	$t=5.558$	<0.001
Th17/Treg		2.27(1.51,2.88)	1.22(0.91,1.96)	$Z=3.090$	0.002

2.4 ICP 患者不良妊娠结局的多因素分析 多因素 Logistic 回归分析结果发现,高 TBil、高 TBA、高

ATX、高 YKL40、高 Th17/Treg 为 ICP 患者不良妊娠结局的独立危险因素 ($P<0.05$)。见表 4。

表 4 ICP 患者不良妊娠结局的多因素 Logistic 分析

项目	β	SE	Wald χ^2	<i>P</i>	OR	95% CI
年龄	0.146	0.096	2.345	0.126	1.158	0.960 ~ 1.396
TBil	0.167	0.070	5.781	0.016	1.182	1.031 ~ 1.355
TBA	0.167	0.058	8.266	0.004	1.182	1.055 ~ 1.325
CG	0.319	0.299	1.138	0.286	1.375	0.766 ~ 2.471
APTT	0.117	0.060	3.776	0.052	1.124	0.999 ~ 1.266
ATX	0.07	0.033	4.410	0.036	1.072	1.005 ~ 1.144
YKL40	0.268	0.100	7.227	0.007	1.307	1.075 ~ 1.588
Th17/Treg	15.525	4.524	11.776	0.001	1.935	1.815 ~ 2.210

3 讨论

ICP 是妊娠晚期特有肝脏疾病,与免疫失衡紧密相关^[11]。Th17 和 Treg 细胞是免疫系统中的关键组成部分,它们之间的平衡对于维持正常免疫功能至关重要^[12]。在 ICP 患者中,这种平衡被打破,可能导致过度的炎症反应或免疫抑制,从而影响妊娠结局^[13,14]。本研究发现,178 例 ICP 患者不良妊娠结局有 50 例,发生率为 28.09%,说明 ICP 患者不良妊娠发生率较高。因此,研究 Th17/Treg 失衡在 ICP 中的作用以及分析 ICP 患者妊娠结局的影响因素对于临床诊治和改善妊娠结局具有重要意义。

本研究结果显示,重度组 ATX、YKL-40、Th17、Th17/Treg 高于对照组和轻度组,且轻度组高于对照组;重度组 Treg 低于轻度组和对照组,且轻度组低于对照组。此外,Pearson 相关性分析显示,ATX、YKL-40 与 Th17/Treg 均呈现显著正相关性。提示 ATX、YKL-40、Th17 和 Treg 细胞协同参与了 ICP 发病和进展,且与疾病严重程度有关。本研究也发现,高 TBil、高 TBA、高 ATX、高 YKL40、高 Th17/Treg 为 ICP 患者不良妊娠结局的独立危险因素。胆汁酸是胆汁中的一种成分,对于脂肪的消化和吸收具有重要作用^[15];TBil 升高表明胆汁淤积症的严重程度加剧,胆汁流出受阻,导致胆管内压力升高^[16],是导致 ICP 患者不良妊娠结局的重要因素。TBA 升高可能表明胆汁酸代谢异常,当胆汁酸代谢异常时,可导致血液中积累高浓度的胆汁酸,而高浓度的胆汁酸可能对胎儿的皮肤和肝脏造成损害,导致不良妊娠结局的发生^[17]。ATX 是一种由肝细胞分泌的蛋白质,参与调节胆汁的分泌和流动,高 ATX 水平在 ICP 中可能表明胆汁淤积和炎症反应的加剧,对肝细胞和胆管细胞造成损害,进一步加重胆汁淤积的症状^[18]。此外,相关研究发现^[5],高 ATX 水平可能导致免疫失衡,高 ATX 水平可能影响 Th17 和 Treg 的活化和分化,导致免疫失衡,从而加重 ICP 的症状,进而增加不良妊娠结局的风险。YKL-40 是一种与胆汁生成和分泌有关的蛋白质,其在胆汁的生成和分泌过程中发挥着重要作用,当 YKL-40 水平升高时,可能表明 ICP 患者胆汁淤积的严重程度增加,患者不良妊娠风险增加^[19]。Th17 和 Treg 是免疫系统中的两种重要细胞类型,它们在维持免疫稳态和预防疾病方面发挥着重要作用。Th17 细胞主要产生促炎细胞因子,如白介素(IL)-17,参与抵抗感染和炎症反应,而 Treg 细胞则产生抑制性细胞因子,如 IL-10,以抑制过度炎症反应和免疫失调^[20]。黄慧娟等^[21]研究表明,在 ICP 中,Th17/Treg

失衡可能导致过度炎症反应。当 Th17 细胞活化增强时,机体产生促炎细胞因子,进而加剧炎症反应。此外高水平 YKL-40 可抑制 IL-10 的分泌,进一步导致 Treg 细胞作用减弱,因而无法有效抑制过度炎症反应,导致免疫失调^[22]。免疫失调影响胚胎的发育和母体的免疫耐受,导致流产、早产、胎儿发育受限等从而增加不良妊娠结局的风险。

综上所述,血清 ATX、YKL-40 与 ICP 患者 Th17/Treg 失衡相关,高 TBil、高 TBA、高 ATX、高 YKL40、高 Th17/Treg 水平为 ICP 患者不良妊娠结局的独立危险因素。但本研究存在以下不足:① ICP 患者不良妊娠结局的影响因素较为复杂,本研究选择的因素可能存在局限性,期待后续加入更多因素进行分析;② ATX、YKL-40 与 ICP 患者 Th17/Treg 失衡相关的具体作用机制还需进一步加以研究分析。

【参考文献】

- [1] Smith DD, Rood KM. Intrahepatic Cholestasis of Pregnancy[J]. Clin Obstet Gynecol, 2020, 63(1):134-151.
- [2] 张美艳,刘玲,周春霞. 妊娠期肝内胆汁淤积症患者发病的风险因子及对妊娠结局的影响[J]. 中国临床医生杂志, 2023, 51(11):1357-1361.
- [3] 朱媛媛,丁丽云,陆玮. 妊娠期肝内胆汁淤积症流行病学调查及危险因素分析[J]. 实用预防医学, 2021, 28(10):1258-1260.
- [4] 王建峰,杨楠楠. 脓毒症患者外周血 Th1/Th2 和 Th17/Treg 平衡变化及临床意义[J]. 锦州医科大学学报, 2021, 42(2):86-89.
- [5] 张译之,陈煜. 妊娠期血浆置换对胆汁淤积性瘙痒症和自分泌运动因子活性的影响[J]. 肝脏, 2019, 24(9):990-991.
- [6] Tizaoui K, Yang JW, Lee KH, et al. The role of YKL-40 in the pathogenesis of autoimmune diseases: a comprehensive review[J]. Int J Biol Sci, 2022, 18(9):3731-3746.
- [7] 郑皓文. ICP 患者外周血中 TH1/TH2、TH17/TREG 及 YKL-40 的表达及临床意义[D]. 江苏:扬州大学, 2020.
- [8] 中华医学会妇产科学分会产科学组. 妊娠期肝内胆汁淤积症诊疗指南(2015)[J]. 临床肝胆病杂志, 2015, 31(10):1575-1578.
- [9] 杨瑞利,张慧丽,郭晓波,等. 血清 SULT2A1、Betatrophin、syn-decan-1 与妊娠期肝内胆汁淤积症患者肝功能的关系及对围生儿结局的影响[J]. 检验医学与临床, 2023, 20(2):210-214.
- [10] 汤秀琦,周亮燕. NLR、MPV 和甘胆酸在妊娠期肝内胆汁淤积症患者中的水平变化及对不良妊娠结局的预测价值[J]. 检验医学与临床, 2023, 20(5):630-633,638.
- [11] Girling J, Knight CL, Chappell L, et al. Intrahepatic cholestasis of pregnancy: Green-top Guideline No. 43 June 2022[J]. BJOG, 2022, 129(13):e95-e114.
- [12] 郭瑞霞,雷蔚华,龚景进,等. 妊娠期肝内胆汁淤积症患者血清总胆汁酸水平与炎症因子、Th17/Treg 平衡及母婴结局的关系研究[J]. 现代生物医学进展, 2021, 21(13):2560-2563.