

·实验研究·

本文引用:黄长盛, 辛兴涛, 贺守第, 谭 宁. 槲皮素对自然流产小鼠模型母胎免疫耐受的影响[J]. 湖南中医药大学学报, 2023, 43(2): 197-202.

槲皮素对自然流产小鼠模型母胎免疫耐受的影响

黄长盛¹, 辛兴涛², 贺守第¹, 谭 宁^{1*}

1.华中科技大学协和深圳医院中医风湿科, 广东 深圳 518000; 2.河北省第八人民医院普外科, 河北 石家庄 050011

[摘要] 目的 研究槲皮素对自然流产(spontaneous abortion, SA)动物模型的影响,从免疫耐受调节的角度探讨槲皮素对SA的免疫机制。方法 将雌性CBA/J小鼠与雄性BALB/c小鼠合笼交配建立正常妊娠模型,为正常组,共6只;将雌性CBA/J小鼠与雄性DBA/2小鼠合笼交配建立SA模型,24只SA模型小鼠再随机分为模型组、地屈孕酮组、低浓度槲皮素组、高浓度槲皮素组,每组6只。第1天起,地屈孕酮组[3.75 mg/(kg·d)]、低浓度槲皮素组[300 mg/(kg·d)]、高浓度槲皮素组[600 mg/(kg·d)]开始灌胃,正常组、模型组灌胃等体积的助溶剂,1次/d。第14天,脱颈处死小鼠,计算孕鼠的流产率;ELISA法检测血清小鼠肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-10(interleukin-10, IL-10)、 γ -干扰素(interferon- γ , IFN- γ)、雌二醇(estradiol, E2)、孕酮(progesterone, P)的水平;流式细胞术检测外周血CD3-CD56+CD16+自然杀伤(natural killer, NK)细胞、CD19+CD5+B细胞、CD4+T细胞、CD8+T细胞比例;HE染色观察子宫蜕膜组织结构。结果 与正常组比较,模型组流产率及TNF- α 、IFN- γ 水平升高($P<0.01$),外周血CD3-CD56+CD16+NK细胞、CD19+CD5+B细胞、CD4+T细胞比例升高($P<0.01$);IL-10、E2、P水平和CD8+T细胞比例下降($P<0.01$);子宫蜕膜组织结构紊乱,胞浆空泡变增加,血管数量减少。与模型组比较,地屈孕酮组、低浓度槲皮素组、高浓度槲皮素组流产率及TNF- α 、IFN- γ 水平下降($P<0.01$),外周血CD3-CD56+CD16+NK细胞、CD19+CD5+B细胞、CD4+T细胞比例下降($P<0.01$),IL-10、E2、P水平和CD8+T细胞比例上升($P<0.01$);低浓度槲皮素组、高浓度槲皮素组的子宫蜕膜组织结构清晰,血管数量增加,组织间质水肿减少、胞浆空泡变减少。与地屈孕酮组比较,低浓度槲皮素组、高浓度槲皮素组流产率及IL-10、P水平明显升高($P<0.01$),CD8+T细胞明显降低($P<0.01$);子宫蜕膜组织结构稍紊乱,胞浆空泡变少量增加,血管数量减少。结论 槲皮素能改善SA动物模型的流产率及蜕膜组织结构,可能与调节NK细胞、T细胞、B细胞及Th1/Th2细胞因子平衡有关。

[关键词] 槲皮素;自然流产;免疫耐受;小鼠;NK细胞;Th1/Th2细胞因子

[中图分类号] R285.5

[文献标志码] A

[文章编号] doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2023.02.004

Effects of quercetin on maternal-fetal immune tolerance in the spontaneous abortion mouse model

HUANG Changsheng¹, XIN Xingtao², HE Shoudi¹, TAN Ning^{1*}

1. Rheumatology Department of Chinese Medicine, Huazhong University of Science and Technology Union Shenzhen Hospital, Shenzhen, Guangdong 518000, China; 2. Department of General Surgery, The Eighth People's Hospital of Hebei Province, Shijiazhuang, Hebei 050011, China

[Abstract] **Objective** To study the effects of quercetin on spontaneous abortion (SA) animal model, and to further study the immune mechanism of quercetin on SA from the perspective of immune tolerance regulation. **Methods** Female CBA/J and male BALB/c mice were co-mated to establish the normal group with 6 mice, and female CBA/J mice were co-mated with male DBA/2 mice to establish SA model. Twenty-four SA model mice were randomly divided into normal group, model group, dydrogesterone

[收稿日期] 2022-05-02

[基金项目] 广东省中医药管理局项目(20181235);广东省省级科技计划项目公益研究与能力建设(2017A020215129);深圳市科技计划项目基础研究(自由探索)(JCYJ20160429183052202);深圳市南山区科技创新局项目(2020088,2020100);华中科技大学协和深圳医院院内课题(2020007)。

[第一作者] 黄长盛,女,博士,副主任医师,研究方向:中医药防治自然流产、不孕症等女性生殖障碍的研究。

[通信作者] * 谭 宁,女,硕士,主任医师, E-mail: tanning1011@163.com。

group, low-concentration quercetin group, and high-concentration quercetin group, with 6 mice in each group. The mice in the dydrogesterone group were given intragastric administration of dydrogesterone with a dose of 3.75 mg/(kg·d), the mice in the low-concentration quercetin group and the high-concentration quercetin group were respectively given intragastric administration of quercetin with a dose of 300 mg/(kg·d) and 600 mg/(kg·d), the mice in the normal group and the model group were intragastrically administered an equal volume of cosolvent, once a day. On the 14th day, the mice were sacrificed by cervical dislocation to calculate the abortion rate of pregnant mice; ELISA method was used to detect the concentration of tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-10 (IL-10), gamma-interferon (IFN- γ), estradiol (E2) and progesterone (P) in serum of mice; flow cytometry was taken to detect the proportion of peripheral blood CD3-CD56+CD16+natural killer (NK) cells, CD19+CD5+B cells, CD4+T cells and CD8+T cells; the structure of uterine decidua was observed by HE staining. **Results** Compared with the normal group, in the model group, the abortion rate, the concentration of TNF- α , IFN- γ , and the proportion of peripheral blood NK cells, CD19+CD5+B cells, CD4+T cells increased ($P<0.01$); the concentration of IL-10, E2, P and the proportion of CD8+T cells were reduced ($P<0.01$); the model group was characterized by the structurely disordered uterine decidua, increased cytoplasmic vacuoles, and less blood vessels. Compared with the model group, the abortion rate, the concentration of TNF- α and IFN- γ , the proportion of peripheral blood CD3-CD56+CD16+NK cells, CD19+CD5+B cells, and CD4+T cells in the dydrogesterone group, low-concentration quercetin group and high-concentration quercetin group were reduced ($P<0.01$), while the concentration of IL-10, E2, P and the proportion of CD8+T cells increased ($P<0.01$); in the low-concentration quercetin group and high-concentration quercetin group, the structure of uterine decidua was clear, the number of blood vessels increased, the interstitial edema and the cytoplasmic vacuoles were reduced. Compared with the dydrogesterone group, in the low-concentration quercetin group and the high-concentration quercetin group, the abortion rate and the concentration of IL-10 and P were significantly higher ($P<0.01$), CD8+T cells decreased significantly ($P<0.01$), the structure of uterine decidua was slightly disordered, the cytoplasmic vacuoles increased slightly, and the number of blood vessels was reduced. **Conclusion** Quercetin can reduce the abortion rate and improve the structure of uterine decidua of SA animal model, which may be related to regulating the balance of NK cells, T cells, B cells and Th1/Th2 cytokines.

[**Keywords**] quercetin; spontaneous abortion; immune tolerance; mice; natural killer cell; Th1/Th2 cytokine

自然流产(spontaneous abortion, SA)是妇科常见生殖功能障碍疾病。据目前不完全统计,SA的发病率为2%~4%^[1],并且具有反复发作的特点。SA严重影响妇女的身心健康,也关系到人类种族繁衍,因此,研究其防治的方法具有较大的临床和社会意义。成功的妊娠是母体免疫系统识别和耐受胚胎的种植过程。研究发现,SA与母胎界面免疫耐受相关,母胎界面免疫受损是导致SA的重要环节之一^[2]。提高母胎界面的免疫耐受性是近年来治疗SA的研究热点,研究新的药物对母胎界面的免疫耐受性的影响,是治疗SA的重要方向。

本团队前期研究表明,补肾复方减味寿胎丸能减少SA动物模型的流产率,菟丝子是该方最重要的药物^[3]。研究表明,槲皮素是菟丝子黄酮中具有类雌激素活性的重要成分^[4],菟丝子黄酮和其主要成分槲皮素对SA具有有效治疗作用^[3],槲皮素对妊娠大鼠调节母胎界面免疫耐受的T淋巴细胞亚群有改善作用^[5],但槲皮素是否对SA动物模型具有免疫调节作用尚未见系统研究。地屈孕酮是一种治疗

先兆流产的孕激素,可降低子宫平滑肌兴奋性,抑制子宫收缩,促进胚胎正常发育^[6]。因此,本文研究槲皮素对SA动物模型免疫调节的影响,从母胎免疫耐受调节的角度进一步阐明槲皮素治疗SA的免疫机制。

1 材料

1.1 药物与主要试剂

槲皮素(美国Sigma公司,批号:117-39-5);荧光素标记-抗小鼠CD56、CD16、CD19、CD5、CD4、CD8、CD3荧光抗体(美国Ebioscience公司,批号:21-0125-62、24-0175-61、06-0028-13、58-0164-21、21-0125-62、12-0040-68、12-0102-18);小鼠肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-10(interleukin-10, IL-10)、 γ -干扰素(interferon- γ , IFN- γ)(北京四正柏公司,批号:BBMS7262、MS7267、MS5424);雌二醇(estradiol, E2)、孕酮(progesterone, P)ELISA试剂盒(上海纪宁生物有限公司,批号:42348-14-6、60241-11-2)。

1.2 主要仪器

酶标仪(美国 Thermo 公司,型号:Multiskan FC);流式细胞仪(美国 BD 公司,型号:FACSCanto II);倒置荧光显微镜(中国世纪科信公司,型号:FRD-6C)。

2 方法

2.1 实验动物

SPF 级雌性 CBA/J 小鼠 60 只、雄性 BALB/c 小鼠 4 只、雄性 DBA/2 小鼠 4 只,6~8 周,动物购于广东省实验动物中心,动物许可证号:SCXK(粤)2022-0063,所有小鼠均饲养于深圳大学实验动物中心,环境温度:(24±2)℃,相对湿度:45%±5%,每日光照时间和黑夜时间均等,各 12 h,自由获得水及食物,适应性饲养 1 周。所有操作均符合深圳大学实验动物伦理委员会批准,伦理审批号:2020-088。

2.2 模型制备、分组及干预方法

2:1 比例的雌性 CBA/J 与雄性 BALB/c 小鼠合笼交配建立正常妊娠小鼠模型,为正常组,共 6 只;2:1 比例的雌性 CBA/J 小鼠与雄性 DBA/2 小鼠合笼交配建立 SA 小鼠模型^[9],检出阴栓者确定为妊娠第 0 天。将 SA 小鼠模型随机分为模型组、地屈孕酮组、低浓度槲皮素组、高浓度槲皮素组,每组 6 只。每只小鼠分别标记,采用表格记录其妊娠第 0 天的时间。从妊娠第 0 天起开始灌胃,根据前期试验基础^[7],低浓度槲皮素组、高浓度槲皮素组分别灌胃槲皮素 300、600 mg/(kg·d)(0.5%羧甲酸纤维素钠溶液溶解),地屈孕酮组灌胃地屈孕酮 3.75 mg/(kg·d)(0.5%羧甲酸纤维素钠溶液溶解),正常组及模型组灌胃等体积的 0.5%羧甲酸纤维素钠溶液。灌胃均为 1 次/d,第 14 天处死动物。

2.3 检测指标及方法

2.3.1 流产率统计 灌胃后第 14 天解剖动物,取出子宫观察胚胎流产情况,以胚胎体积明显缩小、胎盘出现明显出血或坏死为流产,按照流产率公式计算:流产率=流产胚胎数/(流产胚胎数+正常胚胎数)×100%^[8]。

2.3.2 血清学指标检测 眼球取血,置于-4℃冰箱静置 20 min,室温,3500 r/min,离心 10 min,离心半径 10 cm,收集血清,根据 ELISA 试剂盒说明书操作检测血清中 IFN-γ、IL-10、TNF-α、E2、P 水平。

2.3.3 外周血 CD3-CD56+CD16+NK 细胞、CD19+

CD5+B 细胞、CD4+细胞、CD8+T 细胞比例检测 收集小鼠外周血,用淋巴分离液提取外周单个核细胞,根据流式配色方案,分别加入流式相关抗体孵育,流式细胞仪检测 CD3-CD56+CD16+NK 细胞、CD19+CD5+B 细胞、CD4+T 细胞和 CD8+T 细胞比例。

2.3.4 子宫蜕膜 HE 染色 分离子宫蜕膜组织,4%多聚甲醛固定过夜、不同浓度的乙醇中脱水,石蜡包埋、切片、脱蜡,HE 染液染色,光学显微镜下观察蜕膜组织情况。

2.4 统计学方法

数据用 SPSS 22.0 软件分析,计量资料以“ $\bar{x} \pm s$ ”形式表示,资料满足正态性、方差齐性的多组比较采用方差分析,不满足正态性或方差不齐的多组比较采用非参数检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 各组小鼠流产率比较

与正常组比较,模型组流产率升高($P < 0.01$);与模型组比较,高浓度槲皮素组、地屈孕酮组流产率降低($P < 0.05$);与地屈孕酮组比较,低浓度槲皮素组、高浓度槲皮素组流产率升高($P < 0.01$)。详见表 1。

表 1 各组小鼠流产率比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	流产率/%
正常组	6	7.71±3.12
模型组	6	43.43±3.18 ^{##}
低浓度槲皮素组	6	40.12±2.32 ^{###}
高浓度槲皮素组	6	35.57±4.53 ^{###}
地屈孕酮组	6	21.42±2.24 ^{***}

注:与正常组比较,^{##} $P < 0.01$;与模型组比较,^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$;与地屈孕酮组比较,^{##} $P < 0.01$ 。

3.2 各组小鼠子宫蜕膜组织病理比较

与正常组比较,模型组的子宫蜕膜组织结构紊乱,胞浆空泡变增加,血管数量减少。与模型组比较,低浓度槲皮素组、高浓度槲皮素组、地屈孕酮组子宫蜕膜组织结构清晰,血管数量增加,组织间质水肿减少、胞浆空泡变减少。与地屈孕酮组比较,子宫蜕膜组织结构轻度紊乱,胞浆空泡变少量增加,血管数量减少。详见图 1。

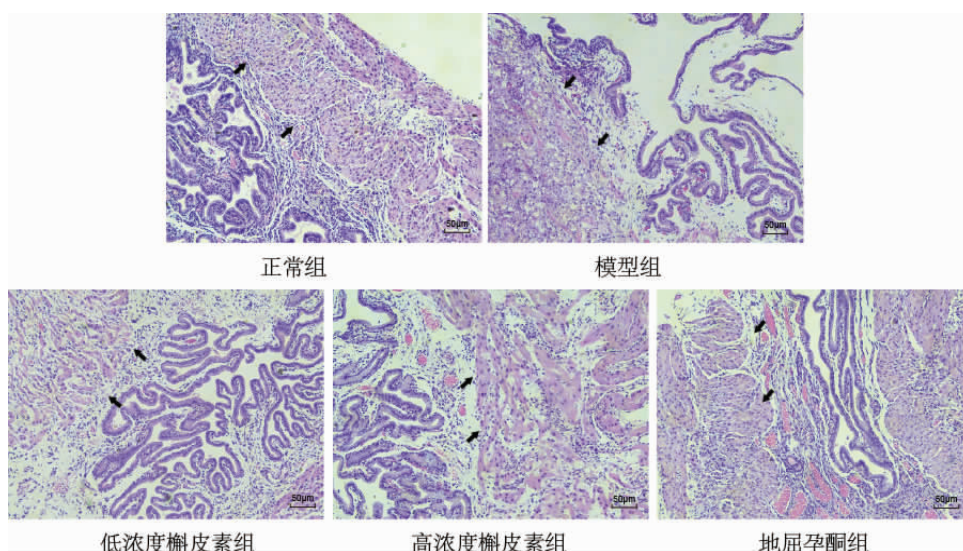


图1 各组小鼠子宫蜕膜组织病理变化(HE,×40)

3.3 各组小鼠血清 IFN- γ 、IL-10、TNF- α 水平比较

与正常组比较,模型组 IFN- γ 、TNF- α 水平明显升高,IL-10 水平明显降低($P<0.01$);与模型组比较,低浓度槲皮素组、高浓度槲皮素组、地屈孕酮组的 IL-10 明显升高($P<0.01$),IFN- γ 、TNF- α 浓度明显降低($P<0.01$);与地屈孕酮组比较,低浓度槲皮素组、高浓度槲皮素组 IL-10 水平明显升高($P<0.01$)。详见表 2。

表2 各组小鼠血清 IFN- γ 、IL-10、TNF- α 水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	n	IFN- γ /(pg/mL)	IL-10/(pg/mL)	TNF- α /(pg/mL)
正常组	6	38.67 $\pm$ 5.51	325.33 $\pm$ 18.58	55.56 $\pm$ 2.65
模型组	6	83.33 $\pm$ 3.21 [#]	68.21 $\pm$ 1.36 [#]	141.24 $\pm$ 4.58 [#]
低浓度槲皮素组	6	45.33 $\pm$ 5.86 ^{**}	180.67 $\pm$ 11.92 ^{##**&&}	113.67 $\pm$ 6.66 ^{##**}
高浓度槲皮素组	6	40.01 $\pm$ 7.81 ^{**}	246.10 $\pm$ 9.54 ^{##**&&}	89.12 $\pm$ 2.23 ^{##**}
地屈孕酮组	6	47.12 $\pm$ 7.81 ^{**}	137.32 $\pm$ 11.24 ^{##**}	92.68 $\pm$ 4.04 ^{##**}

注:与正常组比较,[#] $P<0.01$;与模型组比较,^{**} $P<0.01$;与地屈孕酮组比较,^{&&} $P<0.01$ 。

3.4 各组小鼠血清 E2、P 水平比较

与正常组比较,模型组 E2、P 水平明显下降($P<0.01$);与模型组比较,低浓度槲皮素组、高浓度槲皮素组、地屈孕酮组 E2、P 水平明显升高($P<0.01$);与地屈孕酮组比较,低浓度槲皮素组 P 水平明显下降($P<0.01$)。详见表 3。

3.5 各组小鼠外周血 CD3-CD56+CD16+NK 细胞、CD19+CD5+B 细胞、CD4+T 细胞、CD8+T 细胞比例比较

与正常组比较,模型组 CD3-CD56+CD16+NK 细胞、CD19+CD5+B 细胞、CD4+T 细胞比例明显升

表3 各组小鼠血清 E2、P 水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	n	E2/(ng/L)	P/(pmol/L)
正常组	6	68.43 $\pm$ 2.23	1452.21 $\pm$ 72.54
模型组	6	16.24 $\pm$ 1.65 ^{##}	452.21 $\pm$ 23.21 ^{##}
低浓度槲皮素组	6	30.10 $\pm$ 2.41 ^{##**}	721.59 $\pm$ 52.57 ^{##**&&}
高浓度槲皮素组	6	45.41 $\pm$ 3.75 ^{##**}	956.24 $\pm$ 45.98 ^{##**}
地屈孕酮组	6	54.81 $\pm$ 1.36 ^{**}	1098.24 $\pm$ 42.12 ^{##**}

注:与正常组比较,^{##} $P<0.01$;与模型组比较,^{**} $P<0.01$;与地屈孕酮组比较,^{&&} $P<0.01$ 。

高($P<0.01$),CD8+T 细胞明显下降($P<0.01$);与模型组比较,低浓度槲皮素组、高浓度槲皮素组、地屈孕酮组 CD3-CD56+CD16+NK 细胞、CD19+CD5+B 细胞、CD4+T 细胞比例明显下降($P<0.01$),CD8+T 细胞明显升高($P<0.01$);与地屈孕酮组比较,低浓度槲皮素组、高浓度槲皮素组 CD8+T 细胞明显降低($P<0.01$),低浓度槲皮素组 CD4+T 细胞明显升高($P<0.01$)。详见表 4。

4 讨论

SA 是妇女妊娠期最常见的并发症之一,近年研究发现,SA 与母胎界面免疫耐受损伤密切相关,子宫环境中的炎症状况在病因学中起重要作用,而炎症与免疫密切相关^[3]。从免疫学角度而言,妊娠产物与母体是半异己的同种移植物,母体免疫系统对胚胎及其抗原的识别并耐受,是妊娠的建立与维持的重要因素。当母胎界面免疫耐受下降时,免疫细胞及其炎症因子发生紊乱,引起免疫排斥反应,导致流产^[9]。通过对外周血和母胎界面的研究,TRIPATHI 等^[10]

表 4 各组小鼠外周血 CD3-CD56+CD16+NK 细胞、CD19+CD5+B 细胞、CD4+T 细胞、CD8+T 细胞比例比较 ($\bar{x}\pm s$, %)

组别	n	CD3-CD56+CD16+NK 细胞	CD19+CD5+B 细胞	CD4+T 细胞	CD8+T 细胞
正常组	6	5.12±0.12	15.83±0.31	45.25±0.71	14.25±0.18
模型组	6	8.32±0.21 ^{##}	27.21±0.23 ^{##}	56.42±0.21 ^{##}	9.54±0.13 ^{##}
低浓度槲皮素组	6	6.25±0.13 ^{**}	22.57±0.21 ^{***}	49.82±0.51 ^{**ΔΔ}	10.54±0.29 ^{***ΔΔ}
高浓度槲皮素组	6	5.45±0.35 ^{**}	20.45±0.31 ^{***}	46.62±0.24 ^{**}	12.32±0.42 ^{***ΔΔ}
地屈孕酮组	6	5.14±0.08 ^{**}	21.85±0.12 ^{***}	45.85±0.32 ^{**}	14.92±0.62 ^{**}

注:与正常组比较,[#] $P<0.05$,^{##} $P<0.01$;与模型组比较,^{**} $P<0.01$;与地屈孕酮组比较,^{ΔΔ} $P<0.01$ 。

发现母体免疫系统对胚胎的耐受性与不同免疫细胞的各种调节机制有关。炎症免疫细胞在 SA 中起着关键作用,NK 细胞、T 淋巴细胞、B 淋巴细胞等介导的细胞免疫反应在某些条件下出现免疫亢进,导致母胎界面免疫耐受低下^[8]。有文献报道,子宫内 NK 细胞过度表达可导致 SA 动物模型的胎儿死亡,而子宫 NK 细胞的降低、TNF- α 的减少,或 IL-10 的增加能改善妊娠结局^[8],患有复发性 SA 的女性有更高的子宫 NK 细胞水平^[11]。因此,过量的子宫 NK 水平或者过高的 NK 细胞活性可能导致妊娠失败。研究发现,外周血 NK 细胞能反映复发性 SA 妇女蜕膜 NK 细胞的变化,外周血 NK 细胞在全血中比值的增加对正常妊娠造成损害^[12]。NK 细胞功能的激活也是 NK 细胞发挥调节功能的一个重要方面,据报道,复发性 SA 妇女 CD56+/IFN- γ /TNF- α 细胞比值明显高于健康妇女,但复发性 SA 妇女 CD56+/IL-4/IL-10 细胞的比例明显低于健康妇女^[13]。CD4+T 细胞和 CD8+T 细胞是 T 淋巴细胞的两大亚群。CD4+T 细胞是辅助性 T 淋巴细胞,能分泌细胞因子,增强 T 淋巴细胞和 B 淋巴细胞的增殖、分化和成熟,促进细胞免疫应答;CD8+T 细胞是细胞毒性 T 淋巴细胞,具有抑制免疫应答的功能^[14]。与正常分娩者相比,SA 患者的 CD4+T 细胞比例显著增加,CD8+T 细胞比例显著降低,免疫细胞比率的失衡可能诱发 SA,而补肾中药复方可以降低 CD4+T 细胞/CD8+T 细胞的比值,改善患者妊娠结局^[15]。

中医学认为,肾主生殖,肾与下丘脑-垂体-卵巢轴及生殖内分泌密切相关,肾虚是 SA 的根本病因。因此,目前中药防治 SA 主要以补肾填精为基本方法,包括辨证分型论治、单方验方治疗,取得了一定疗效^[16]。已有研究证实,补肾中药复方可以通过调节 CD4+T 细胞/CD8+T 细胞亚群比值及 Th1/Th2 细

胞因子比值,调节母胎界面免疫耐受,维持细胞因子稳定的内环境,从而治疗 SA^[17]。槲皮素为中药菟丝子的主要有效单体之一^[3]。研究发现,槲皮素能改善 SA 小鼠模型妊娠结局,其作用可能通过调节部分免疫平衡因子产生^[18]。体外实验发现槲皮素能改善人早孕蜕膜凋亡,抑制细胞早期凋亡率、Caspase-3 凋亡基因表达^[19]。

本研究建立了 SA 动物模型,发现用槲皮素治疗,能改善 SA 动物模型的流产率及蜕膜组织结构紊乱,说明槲皮素能抑制 SA 的进展。进一步实验发现,SA 动物模型外周血 NK 细胞、CD19+CD5+B 细胞、CD4+T 细胞比例上调,IL-10 水平、CD8+T 细胞比例下降,而槲皮素能通过下调外周血中的 NK 细胞、CD19+CD5+B 细胞、CD4+T 细胞的比例纠正免疫紊乱。妊娠免疫耐受的形成还与辅助性 T 细胞密切相关,辅助性 T 细胞具有核心调控的作用^[20],研究发现,辅助性 T 细胞中的亚型 Th2 型细胞因子可促进滋养细胞的生长、蜕膜的形成和胚胎的发育,亚型 Th1 型细胞因子可抑制滋养细胞的分化、增殖、胚胎的发育^[21]。LIM 等^[22]发现,复发性 SA 患者围着床期的子宫内膜中,Th1 型细胞因子明显升高,而正常妊娠妇女中 Th2 型细胞因子明显升高,说明 Th1 型细胞因子与复发性 SA 有关,Th2 型细胞因子与正常妊娠有关。Th1 细胞分泌 TNF- α 、IFN- γ ^[23],IL-10 为 Th2 细胞分泌,在 SA 患者中,TNF- α /IL-10 与 IFN- γ /IL-10 升高,与 Th1/Th2 细胞比率有关^[24]。本研究发现,模型组 TNF- α 、IFN- γ 水平升高,IL-10 水平下降,说明 SA 模型呈 Th1 优势,而槲皮素治疗后,能提高 Th2 比例、改善 SA 模型 Th1/Th2 细胞的平衡。

综上所述,槲皮素能改善 SA 动物模型的流产率及蜕膜组织结构,可能与调节 NK 细胞、T 细胞、B 细胞及 Th1/Th2 细胞因子平衡有关。

参考文献

- [1] ZHU W T, ZHENG H Q, LIU J Y et al. The correlation between chronic exposure to particulate matter and spontaneous abortion: A meta-analysis[J]. *Chemosphere*, 2022, 286: 131802.
- [2] LUO F Y, YUE J, LI L L, et al. Narrative review of the relationship between the maternal-fetal interface immune tolerance and the onset of preeclampsia[J]. *Annals of Translational Medicine*, 2022, 10(12): 713.
- [3] 郝晓丽.减味寿胎丸对 SA 病证结合模型小鼠安胎机理的研究[D]. 广州:广州中医药大学,2016.
- [4] 曾 诚,宓穗卿,罗颂平,等.菟丝子灌胃大鼠槲皮素含量测定及药代动力学研究[J].*中医药学刊*,2004,22(6):1148-1150.
- [5] WANG X D, MA A T, SHI W Y, et al. Quercetin and bornyl acetate regulate T-lymphocyte subsets and INF- γ /IL-4 ratio In utero in pregnant mice[J]. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2011, 2011: 745262.
- [6] 石 玲,吴晓鹏.地屈孕酮、黄体酮不同支持方案对先兆流产患者妊娠结局的影响[J].*中国计划生育学杂志*,2019,27(4):484-486.
- [7] 黄长盛,贺守第,管雁丞,等.菟丝子黄酮和槲皮素对雷公藤多苷致卵巢早衰大鼠卵巢功能的影响[J].*中国临床药理学杂志*,2020,36(6):667-670.
- [8] MURPHY S P, FAST L D, HANNA N N, et al. Uterine NK cells mediate inflammation-induced fetal demise in IL-10-null mice[J]. *Journal of Immunology*, 2005, 175(6): 4084-4090.
- [9] LIU T, GUO X, LIAO Y, et al. Correlation between the presence of antinuclear antibodies and recurrent pregnancy loss: A mini review[J]. *Frontiers in Endocrinology*, 2022, 13: 873286.
- [10] TRIPATHI S, GULERIA I. Role of PD1/PDL1 pathway, and TH17 and treg cells in maternal tolerance to the fetus[J]. *Biomedical Journal*, 2015, 38(1): 25-31.
- [11] SACKS G. Enough! Stop the arguments and get on with the science of natural killer cell testing[J]. *Human Reproduction*, 2015, 30(7): 1526-1531.
- [12] PARK D W, LEE H J, PARK C W, et al. Peripheral blood NK cells reflect changes in decidual NK cells in women with recurrent miscarriages[J]. *American Journal of Reproductive Immunology*, 2010, 63(2): 173-180.
- [13] FUKUI A, KWAK J, NTRIVALAS E, et al. Intracellular cytokine expression of peripheral blood natural killer cell subsets in women with recurrent spontaneous abortions and implantation failures[J]. *Fertility and Sterility*, 2008, 89(1): 157-165.
- [14] MARUYAMA J, REYNA R, KISHIMOTO U M, et al. CD4+T-cell depletion prevents lassa fever associated hearing loss in the mouse model[J]. *PLoS Pathog*, 2022, 18: e1010557.
- [15] GAO H Y, TAO E X, WANG Y, et al. Immunomodulatory and clinical effects of the "Tiaomian III decoction" in patients with blood blocking antibody deficiency and recurrent spontaneous abortion[J]. *Genetics and Molecular Research: GMR*, 2015, 14(2): 3421-3425.
- [16] 史淑慧.固肾安胎丸辅助复发性流产肾虚血瘀型临床观察[J].*实用中医药杂志*,2022,38(6):995-997.
- [17] ZHU X H, ZHAO L, FU J H, et al. "Nourishing the kidney" and the treatment of recurrent pregnancy loss using traditional Chinese medicine[J]. *International Journal of Gynaecology and Obstetrics*, 2014, 127(1): 90-91.
- [18] 卢 浩,吴雷振,张瑞平,等.槲皮素对细菌脂多糖诱导流产小鼠子宫蜕膜巨噬细胞功能的影响[J].*解剖学杂志*,2018,41(4):391-394,421.
- [19] 刘秀明.减味寿胎丸提取工艺及其有效成分的药动学和血清药理学研究[D].广州:广州中医药大学,2014.
- [20] WEGMANN T G. Bidirectional cytokine interactions in the maternal-fetal relationship: Is successful pregnancy a TH2 phenomenon[J]. *Immunology Today*, 1993, 14(7): 353-356.
- [21] CHAUOAT G. A brief review of recent data on some cytokine expressions at the materno-foetal interface which might challenge the classical Th1/Th2 dichotomy[J]. *Journal of Reproductive Immunology*, 2002, 53(1/2): 241-256.
- [22] LIM K J H, ODUKOYA O A, AJJAN R A, et al. The role of T-helper cytokines in human reproduction[J]. *Fertility and Sterility*, 2000, 73(1): 136-142.
- [23] 胡智立,雷期音,贺守第,等.鱼腥草素钠调控 T 细胞平衡对 OVA 诱导急性哮喘小鼠模型的影响[J].*湖南中医药大学学报*,2021,41(10):1523-1527.
- [24] LEE S K, NA B J, KIM J Y, et al. Determination of clinical cellular immune markers in women with recurrent pregnancy loss[J]. *Biosensors & Bioelectronics*, 2013, 70(5): 398-411.

(本文编辑 周 旦)