

Treg/Th17平衡失调在复发性流产中的作用

成 雁^{1*} 郭红玲¹ 滕银成²

(¹苏州大学附属太仓市第一人民医院, 苏州 215400; ²上海交通大学附属第六人民医院, 上海 200233)

摘要 正常妊娠被认为是一种成功的半同种移植, 有赖于母胎界面生理性抑制反应的增强, 称为免疫耐受。孕妇的免疫系统失调可导致生殖失败, 同种免疫的异常很有可能是复发性流产的发病机理。随着对免疫耐受机制研究的不断深入, 母胎免疫耐受的研究从Th1/Th2细胞平衡失调进一步发展到对Treg/Th17细胞平衡失调的研究, 该文综述了Treg/Th17细胞平衡失调在原因不明复发性流产中的作用。

关键词 流产; 复发性; 调节性; Th17细胞

The Role of Treg/Th17 Imbalance in the Recurrent Spontaneous Abortion

Cheng Yan^{1*}, Guo Hongling¹, Teng Yincheng²

(¹Department of Gynecology, the First People's Hospital of Taicang, Taicang 215400, China; ²Department of Obstetrics and Gynecology, Sixth Affiliated Hospital of Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200233, China)

Abstract The human gestation is considered to be a successful semi-allograft, which depends on the enhancement of physiologic inhibition response in maternal-fetal interface, called immune tolerance. The imbalance of pregnant women immune system leads to reproductive failure, and the abnormal homologous immunization could be most likely the pathogenesis of recurrent spontaneous abortion (RSA). Mechanisms of immune tolerance are in the deepening, from the Th1/Th2 balance to the Treg/Th17 balance. In this paper, the role of Treg/Th17 imbalance in RSA is reviewed.

Keywords abortion; recurrent; regulatory; Th17 cells

复发性流产(recurrent spontaneous abortion, RSA)是指连续自然流产2次或2次以上, 散发的流产通常存在胚胎畸形或染色体异常, 而复发性流产大多数情况下为特发性, 没有明确的原因, 故又称为原因不明复发性流产(unexplained recurrent spontaneous abortion, URSA), 约有1%~3%要求生育的夫妇受此疾病困扰^[1]。随着对妊娠期免疫研究的深入, 研究者们逐渐发现, URSA的发生常常与同种免疫失调有很大的因果关系^[1]。母体容受性调节的异常可导致妊娠失败, 但是其中复杂的机制目前尚未完全阐明^[2]。

早在1991年, Th1/Th2细胞的假说已被提出, 此后的研究认为, 精确的Th1/Th2细胞因子的平衡是维持生理性妊娠所必需的: 1型CD4⁺辅助型T细胞(helper T cell 1, Th1)分泌白介素-2(interleukin-2, IL-2)和 γ -干扰素(interferon- γ , IFN- γ), 诱导细胞免疫反应, 与组织损伤相关, 可抑制胚胎着床、滋养细胞生长和胚胎的正常发育; 2型CD4⁺辅助型T细胞(Th2细胞)分泌IL-4、IL-5、IL-10等细胞因子, 介导B淋巴细胞增殖、抗体产生和同种免疫耐受作用。Th1型细胞因子不利于妊娠的维持, 而Th2型细胞因子对正常妊娠

收稿日期: 2015-07-03 接受日期: 2015-12-16

江苏省卫生厅课题资助项目(批准号: H201311)和苏州市临床重点病种诊疗技术专项项目(批准号: LCZX201302)资助的课题

*通讯作者。Tel: 13773219390, E-mail: yeats_ny99@hotmail.com

Received: July 3, 2015 Accepted: December 16, 2015

This work was supported by Jiangsu Province Health Department Funded Projects (Grant No.H201311) and the Diagnosis and Treatment Technology of Suzhou Clinical Key Disease Special Project (Grant No.LCZX201302)

*Corresponding author. Tel: +86-13773219390, E-mail: yeats_ny99@hotmail.com

网络出版时间: 2016-03-15 11:51:15 URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20160315.1151.008.html>

的维持起重要作用,正常妊娠时Th2型细胞因子占优势,Th1/Th2细胞因子平衡失调可能导致妊娠失败以及某些妊娠并发症的发生^[3]。

但是,一些学者在对自身免疫性疾病的研究中发现了一些问题,对这种细胞分类方法提出了质疑。实验性自身免疫性脑脊髓炎(encephalomyelitis, EAE)曾经被认为是一种受Th1细胞调节的疾病,但研究发现,IFN- γ 并没有加重EAE,而且IFN- γ 抗体也没有对EAE产生保护作用,反而促使病情加重^[4]。相反,Langrish等^[5]的研究发现,产生IL-17的T细胞能够诱发EAE。从此,研究方向逐渐从Th1/Th2细胞平衡转向对Treg/Th17细胞平衡的研究,研究的疾病也扩展至其他领域,也包括因免疫因素导致的复发性流产。本文就Treg/Th17细胞平衡失调在复发性流产中的作用作一综述。

1 CD4⁺CD25⁺Treg细胞

1995年,在小鼠体内首次发现,CD4⁺CD25⁺调节性T细胞(T regulatory cell, Treg)是调节性T细胞的一个特殊的亚群,分泌的细胞因子主要有IL-10、TGF- β (transforming growth factor- β),主要介导外周耐受、移植耐受和母胎免疫耐受。叉头样转录因子p3(forkhead box p3, *Foxp3*)是Treg细胞发育及功能调节的主控基因,使T细胞具有抑制的功能。CD4⁺Foxp3^{high}和CD4⁺Foxp3^{low}T细胞分别与不同淋巴细胞亚型相关^[6]。CD4⁺Foxp3⁺细胞与CD3⁻CD56⁺NK细胞负相关。CD4⁺Foxp3^{high}Treg细胞与CD3⁺CD4⁺TNF- α ⁺细胞正相关,而与CD3⁺CD8⁺IL-10⁺T细胞呈负相关,其中一半为产生细胞因子的CD3⁺CD8⁺细胞。但是,Foxp3短暂的或低水平的表达没有赋予细胞监管功能,无法使这些细胞转化为效应T细胞^[7-8]。Foxp3是目前最可信赖的Treg细胞的表面标志,同时CD25^{high}、CD127^{low}和CD62L也特定表达于Treg细胞表面。URSA患者蜕膜组织中,CD4⁺CD25⁺CD127^{dim}⁻Treg细胞的数量和免疫抑制功能均降低,提示其对蜕膜局部免疫耐受环境产生影响,参与流产的发病过程,因而,CD127有可能成为新的标志物^[9]。

1.1 正常妊娠期的Treg细胞

目前尚缺乏非孕女性的子宫内膜和妊娠女性的蜕膜中Treg细胞数量的比较研究,大多研究是针对妊娠期的研究。外周血CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺Treg细

胞在早孕和中孕期逐渐增加,而在晚孕期和产后减少^[10]。妊娠期子宫内膜和蜕膜对Treg细胞的募集受一些细胞因子受体及其配体的调节。Treg细胞表达的趋化因子受体5(chemokine receptor 5, CCR5)与高度抑制表型相关,并可能是那些被父系同种抗原激活的细胞的一种标志^[11]。趋化因子配体4(chemokine ligand 4, CCL4)是CCR5的一个配体,集中表达于妊娠子宫,与妊娠期CCR5⁺Treg细胞的选择性积聚相关^[12]。此外,人绒毛膜促性腺激素(human chorionic gonadotropin, hCG)也是一种在母胎界面促进Treg细胞转运的激素。Treg细胞有LH/CG受体,JEG3细胞和早孕期的滋养细胞产生的hCG能有效地吸引Treg细胞^[13]。孕期高雌激素浓度也能促使Treg细胞扩张并增加Foxp3表达^[14]。

Treg细胞对妊娠的维持具有相当重要的作用。蜕膜中的CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺Treg能促进绒毛的侵袭性和人白细胞抗原-G(human leucocyte antigen-G, HLA-G)的表达,导致优先生成Th2细胞因子,并且抑制蜕膜内CD56^{bright}CD16-NK细胞毒性,从而有利于妊娠的维持^[15]。人类和小鼠母体免疫细胞在妊娠期首次接触胎儿抗原时,Treg细胞对孕期的扩张发挥关键性的保护作用^[16]。小鼠在交配中启动了一系列反应,雌鼠的树突状细胞交叉出现精液抗原并活化T细胞,这些T细胞通过血液循环定植于子宫内膜。人类生殖道也可能出现相似的事件,精液诱导免疫细胞改变,主要是产生足够的Treg细胞^[17]。研究证实,易流产小鼠在孕0~2 d时,输入Treg可阻止自然流产,但在孕4~5 d时,输入则不能阻止,说明Treg是受精卵成功植入所必需的;将来自正常怀孕小鼠的Treg输给易流产小鼠,可阻止自然流产,而输入正常非孕小鼠的Treg则无法阻止易流产小鼠的流产,这说明Treg能侵入母胎界面,但只有以前接触过父系抗原的Treg才有保护性调节活性^[18]。在妊娠24~28周的孕妇体内,已经证实具有父系诱导的特殊Treg细胞^[19]。其他研究也发现,母体胸腺和胎儿表达的共同抗原使子宫回流的淋巴液中抗原特异Treg细胞的增殖明显增加^[20]。此外,在人类妊娠期,胎儿特有的CD4⁺CD25^{bright}Treg细胞被选择性地从外周血募集到蜕膜中^[21]。这些发现提示,精液中的父系抗原和胎儿的同种异体抗原能够诱导母体外周的Treg细胞的扩张,并能优先募集于母胎界面,从而控制母体对胎儿抗原的免疫反应,使妊娠结局良好。然而,

这些研究并没有证实Treg细胞暴露于这些特殊的抗原与其功能直接相关,也没有证实抑制重吸收与抗原表达位点相关。虽然证实,Treg细胞的扩增发生于子宫回流的淋巴液中,但是降低重吸收的过程中 $CD25^+CD4^+$ T细胞流向哪里以及达到什么程度尚不清楚^[22]。

1.2 复发性流产女性的Treg细胞

许多研究证实,RSA的女性外周血和蜕膜组织中Treg细胞数量下降,活力降低^[23-25]。Arruvito等^[26]研究发现,RSA女性中 $CD4^+CD25^+$ 、 $CD4^+CD25^{high}$ 和 $Foxp3^+$ Treg细胞在整个月经周期中没有出现明显的波动,细胞数明显低于对照组,与绝经后女性水平一样低,并且RSA女性中的Treg细胞表现出的抑制功能明显低于对照组。Bao等^[19]研究发现,URSA患者 $CD4^+CD25^+CD127^{dim/-}$ Treg细胞明显低于对照组,IL-10和TGF- β 表达也低于对照组,其抑制效应T细胞增殖的作用也降低。Inada等^[27]研究发现,在胚胎正常的流产组中, $Foxp3^+CD4^+$ T细胞出现频率明显低于正常妊娠者和胚胎异常的流产组。胚胎正常的流产组中, $Ki67^+Foxp3^+CD4^+$ T细胞群明显小于正常妊娠组。而 $Ki67^+Foxp3^+CD4^+$ 细胞和 $CCR5^+Foxp3^+CD4^+$ 细胞出现频率在三组中并无不同。这些数据显示,底蜕膜中增加的 $Ki67^+$ Treg细胞在诱导免疫耐受中可能具有重要作用,并且免疫调节的流产可能是由于植入部位 $Ki67^+$ Treg细胞减少所致。Liu等^[28]研究发现,复发性流产女性中表达的与Treg细胞稳定相关基因较少,使这些Treg细胞也缺乏稳定性,RSA女性特定Treg细胞较少表达Ubc13(ubiquitin conjugating enzyme 13),下调Treg细胞的Ubc13将使Treg细胞转变为效应T细胞。与没有复发性流产的女性相比,RSA女性为低水平特定Treg和高水平Th1细胞。Yin等^[29]近期研究发现,给流产组小鼠注射体外扩增的 $CD25^+CD4^+$ Treg细胞,能有效减少重吸收,避免自然流产,而注射新鲜分离的Treg细胞则作用甚微,并且体外培养的 $CD25^+CD4^+$ Treg细胞TGF- β 1和IL-10的表达明显增加,IL-10/IFN- γ 比值升高。这些发现提示,RSA女性Treg细胞的数量不足及功能缺陷可能是生殖失败的原因。

2 Th17细胞是一种新的效应T细胞

分泌IL-17的 $CD4^+$ T细胞(Th17)的发现是解开

EAE之谜的一个主要进步。在人类,幼稚 $CD4^+$ 细胞受TGF- β 、IL-6、IL-23和IL-1细胞因子的影响转化为Th17细胞,分泌IL-17A、IL-17F、IL-22和IL-26, Th17细胞的转录因子是维甲酸孤儿受体- γ (retinoic acid-related orphan receptor- γ , ROR- γ)^[30]。IL-17能通过中性粒细胞浸润以及IL-1、IL-6、IL-8、TNF- α 、一氧化氮(nitric oxide, NO)、基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMP)、核因子- κ B配体受体激活剂(receptor activator of NF- κ B ligand, RANKL)和粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(human granulocyte macrophage-colony stimulating factor, GM-CSF)产生的刺激诱导炎症反应^[31]。 $CD4^+$ T细胞是IL-17产生的主要来源,在对抗病毒、某些细菌、真菌和慢性炎症中发挥一定作用。此外,有研究表明,TGF- β 3与IL-6共同驱动了Th17细胞中具有致病性的细胞的发展,而TGF- β 1和IL-6则共同诱导了相对非致病性的细胞。因此,也可能存在具有不同功能的Th17细胞亚型^[32]。人类中,促进炎症反应的Th17细胞稳定的表达1型多药耐药基因,其表型为 $CCR6^+CXCR3^{high}CCR4^{low}CCR10^+CD161^{+}$ ^[33]。

2.1 正常妊娠期的Th17细胞

对于妊娠期Th17细胞的相关研究结果并不一致。一些研究发现,循环中的Th17细胞在非孕期和妊娠早中晚期中均没有区别^[34],而妊娠早期三个月蜕膜中的Th17细胞比率明显高于外周循环中Th17细胞。另一些研究发现,与非妊娠女性相比,妊娠中期三个月和晚期三个月中的Th17/ $Foxp3^+$ Treg比例下降^[35]。Bansal等^[36]认为,孕前的各种子宫内膜炎症是导致Th17细胞形成的原因,孕前TGF- β 升高和局部IL-6水平增加,可使幼稚T细胞分化为Th17细胞。蜕膜中Th17细胞增多明显高于外周血的原因,可能是因为宫腔并不是一个完全无菌的环境, Th17细胞起着诱导保护性免疫反应来防御细胞外微生物入侵的作用。还有研究发现, Th17细胞能诱导黄体酮的分泌,对成功妊娠可能也有所帮助^[37]。

2.2 复发性流产女性的Th17细胞

在过去几年中,对于生殖失败女性体内Th17细胞进行了相关研究。Wang等^[24]发现,不明原因RSA女性的外周血和蜕膜中Th17细胞比正常妊娠女性增加,与Treg细胞数量呈反相关。RSA女性的血浆中IL-17和IL-23水平明显升高,而且蜕膜中IL-17、IL-23和RORC显著表达。同时他们还发现,RSA女

性外周血中CCR6⁺CD4⁺T细胞和CCR6⁺IL-17⁺T细胞比例比人工流产的女性明显升高。在体外研究中发现, RSA女性的CD4⁺T细胞产生的IL-17明显升高, 并且Treg细胞对IL-17的表达抑制减少^[38]。这预示了在母胎界面局部免疫排斥中Th17细胞起着关键作用, 对妊娠产生有害作用。Liu等^[25]的研究发现, URSA患者的Th17细胞比例和IL-17A浓度均明显高于正常早孕及非妊娠者, Treg细胞比例明显低于正常早孕者, 并且Th17/Treg细胞的比值明显高于其他两组。在RSA中检测到促进炎性的细胞因子水平增加, 包括IL-6和IL-1 β , 这些细胞因子与Th17细胞比例正相关^[39]。Fu等^[40]研究发现, 转入IL-6和TGF- β 极化的Th17细胞能够使胎儿的流产率升高。在妊娠期, 母胎界面同种异体的胚胎抗原刺激产生的炎性介质, 系统性炎症以及增加的炎性细胞因子均可能诱发Th17细胞的分化。蜕膜中的NK细胞能够通过IFN- γ 通路抑制Th17调节的局部炎性反应。RSA的女性中, Th17细胞比例明显增加, 并且NK细胞介导的调节功能丧失, 导致Th17细胞引起的局部炎症显著加剧, 并最终导致母体耐受性的丧失^[40]。

但是, 也有许多研究对Th17细胞在流产中的作用持不同观点。在自然流产发展过程中, 当阴道出血增多伴腹痛加剧, 流产不能避免的阶段, 称为难免流产。还有一种特殊的流产称为稽留流产, 也叫过期流产, 指胚胎或胎儿已死亡滞留宫腔未及时自然排出者。Nakashima等^[31]发现, IL-17⁺CD4⁺T细胞在难免流产女性蜕膜中积聚, 其数量与蜕膜中中性粒细胞数量呈正相关。而在过期流产和正常妊娠的蜕膜中没有发现IL-17⁺T细胞数量的变化。因而, 他们认为, IL-17⁺T细胞可能参与了流产晚期的炎性反应过程, 而非引起流产的病因。但是由于这些数据仅限于难免流产, 而不是针对RSA, 其结果可能难以用来解释RSA的免疫机制。

2.3 Th17细胞的调节

研究发现, Th17细胞受到许多因素的调节。血清糖皮质激素激酶1(serum glucocorticoid kinase 1, SGK1), 是一种丝/苏氨酸激酶, 是下游的关键位点。对IL-23R的表达及Th17细胞表型的稳定起关键性作用。SGK1的表达能促使IL-23R的表达, 从而促进Th17细胞分化^[41]。

Th17的分化还可能受昼夜节律的调节。转录因子NFIL3能够直接绑定并抑制ROR- γ t启动子, 从

而抑制Th17细胞的产生。转录因子REV-ERB α 是一个与生物钟有关的重要基因, NFIL3通过REV-ERB α 使Th17细胞的分化受到光照周期的调节, 与昼夜节律相关^[42-43]。

3 复发性流产中Th17/Treg平衡的调节

Lee等^[23]发表了一项对于自发性的RSA女性关于促炎性细胞因子(TNF- α 、IFN- γ 和IL-17)和抗炎细胞因子(IL-10和Foxp3)的研究。与对照的育龄女性相比, RSA的非妊娠女性中IL-17⁺T细胞[包括Th17和细胞毒性T细胞17(cytotoxic T cell 17, Tc17)]明显增加。在Foxp3⁺Treg细胞亚群中, Foxp3⁺、Foxp3^{low}和CD4⁺Foxp3⁺T细胞在RSA女性中明显降低, 但是Foxp3^{high}和CD4⁺Foxp3⁺T细胞没有不同。然而, 复发性流产女性与正常育龄女性相比, 其每种IL-17⁺细胞/Foxp3⁺T细胞亚型的比率均明显升高。有趣的是, IL-17⁺T细胞水平与CD3⁺CD4⁺TNF- α ⁺T细胞, Th1/Th2比率, CD3⁺CD4⁺TNF- α ⁺/CD3⁺CD4⁺IL-10⁺细胞比率以及CD3⁺CD4⁺IFN- γ ⁺/CD3⁺CD4⁺IL-10⁺细胞比率呈正相关。这些结果提示, RSA女性具有通过Th1和Th17免疫促进炎性反应的倾向以及通过Foxp3⁺Treg细胞抑制免疫调节功能的倾向。

复发性流产女性与正常妊娠女性相比, Th17/Treg细胞比率明显增加, 有明显的Th17/Treg细胞失衡以及相应细胞因子表达的变化, 这些细胞因子可能是复发性流产的发病机制^[25,44]。Tregs细胞分泌的细胞因子TGF- β 、IL-10和IL-35能够抑制IL-17的表达及Th17细胞的分化, 从而发挥负性调控作用^[45-46]。但是RSA患者的Treg细胞对于Th17细胞的抑制活性降低。在风湿性关节炎患者的关节中, 孤立的Treg细胞也表现为抑制效应T细胞分泌IL-17, 并且Treg细胞激活IL-10的信号通路受到IL-12细胞因子家族或Toll样受体适配器蛋白髓样分化主要反应基因髓样分化因子88(myeloid differentiation factor 88, MYD88)的调控^[47]。Ozkan等^[48]的研究发现, RSA女性的血清中IL-35和细胞因子信号传导抑制因子3(suppressor of cytokine signaling 3, SOCS3)水平明显低于正常妊娠组; 而IFN- γ 、TNF- α 、IL-4、IL-6、IL-10、IL-17和TGF- β 这些细胞因子的水平明显高于正常妊娠组。RSA组中, TNF- α /IL-10、TNF- α /IL-4、IFN- γ /IL-10、IFN- γ /IL-6和IFN- γ /IL-4的比例明显高于正常妊娠组, IL-35/IL-17比例明显低于正常妊娠组。因而得出结

论: 血清中SOCS3和IL-35水平降低伴随着抗炎性细胞因子的比例降低, 从而使抗炎作用减弱, 这一病理生理过程可能在特发性复发流产中发挥重要作用。

然而, 关于Treg细胞抑制Th17细胞的能力也有相反的结果报道。Saifi等^[49]研究发现, 抑制Treg细胞的产生并没有引起肠道实质性的伤害, 并且Th17细胞比例并没有改变, 因此推测还有其他的细胞参与了Th17细胞的调控。

细胞因子TGF- β 和IL-6在调节Th17/Treg平衡中起着重要辅助作用。TGF- β 为低浓度水平时, 幼稚T细胞分化为Th17细胞, TGF- β 为高浓度水平, 诱导幼稚T细胞分化为Treg细胞^[24,50]。IL-6是由活化的树突状细胞分泌, 是决定初始CD4⁺T细胞向Treg细胞或向Th17细胞方向分化的关键因子^[51]。初始CD4⁺T细胞在TGF- β 单独存在的条件下被诱导分化成具有免疫抑制作用的Treg细胞, 而当TGF- β 与IL-6共同存在时, 其分化成分泌IL-17的Th17细胞。这些研究提示了Treg和Th17细胞的表型可能并不稳定^[52], 在内分泌失调^[53]、严重感染^[54]和TLR信号环境^[55]中都有出现Treg和Th17细胞之间的转换。将RSA女性的外周血单核细胞与她们配偶的精子抗原共同培养后, 发现Th17细胞增殖明显增加, 而Treg细胞增殖较少^[28], 提示了这些女性中存在着Treg和Th17细胞的失衡, 有可能是丧失了这种平衡的调节功能。

目前发现, 一些治疗方法可以通过恢复这种平衡来改善妊娠的结局。Haas等^[56]在其综述中分析了过去的四个研究, 这些研究均发现, 在复发流产女性中使用黄体酮能够明显降低流产率。黄体酮能够抑制Th17细胞的反应, 增强Treg细胞的增殖及其某些功能。但是, 大多数研究数据是50年前的、需要随机的大样本临床试验来进一步证实^[57]。免疫治疗也有助于恢复Th17/Treg细胞的平衡, 从而有助于改善复发流产女性的妊娠结局。Kim等^[58]使用静脉注射丙种球蛋白治疗复发流产合并免疫缺陷的女性。病人组总体的Treg细胞和Th17细胞的水平并没有变化, 但是, 如果按照其免疫细胞水平进一步分层分析, 静脉注射丙种球蛋白导致Treg细胞数最低组的Treg细胞增加, 并导致Th17细胞最高组的Th17细胞的水平降低。这项研究表明了使用丙种球蛋白能够修复部分免疫失衡, 但是其对妊娠率没有改善。并且, 该研究不是双盲对照研究, 需要进一步的评价。用来自孩子父亲的单核细胞进行免疫治疗能够影响

Th1/Th2和Th17/Treg平衡, 导致ROR- γ t/Foxp3的比值降低, Th17/Treg平衡向Treg细胞倾斜, 血清中分泌的Treg相关的细胞因子(如TGF- β 和Th2细胞因子)增加, 而分泌的Th17细胞相关细胞因子(如IL-17A和Th1细胞因子)下降, 使得Th17/Treg比例平衡, 利于维持妊娠^[59]。动物实验也证实免疫治疗有助于降低流产率。流产组的小鼠模型在孕前使用Balb/c脾脏细胞免疫, 暴露于Balb/c的精液中^[60]或给予特殊的细胞因子治疗, 例如TGF- β 等, 这些免疫治疗方法都能够减少胚胎吸收率^[61]。

4 结论与展望

免疫耐受和有效的免疫防御是成功妊娠的必需因素, 对于复发性流产的病因研究已从Th1/Th2细胞平衡延伸到Th17/Treg细胞平衡层面的研究, Th17细胞作为一个新的效应细胞, 可能是Th1/Th2细胞平衡中一个丢失的组件, 它参与难以用Th1/Th2细胞平衡理论来解释的炎症进程。Treg细胞发挥关键调节功能来中和Th17细胞的效应, 从而在胚胎移植、维持妊娠的免疫效应和免疫调节之间达到一个精细的免疫平衡。在复发性流产中, Th17和Treg是在生殖方面互惠发展并作用相反的两组细胞, Th17/Treg细胞之间不平衡是URSA发病机理中一个重要的原因。除了Th1/Th2细胞平衡, Th17细胞介导的炎症进程和Treg细胞的免疫调节更可能成为复发性流产的病因机理。但是仍需更多的大样本研究来阐明其中免疫机制, 研究Th17/Treg细胞平衡及其细胞因子相互影响的精细调节机理, 各种变化在母胎界面和外周的一致性, Th17细胞在正常妊娠时和复发性流产时扮演何种角色等。对Th17/Treg细胞平衡研究的深入, 将有可能为预测和治疗复发性流产提供科学的理论依据。

参考文献 (References)

- 1 Larsen EC, Christiansen OB, Kolte AM, Macklon N. New insights into mechanisms behind miscarriage. *BMC Med* 2013; 11: 154.
- 2 Hsu P, Nanan RK. Innate and adaptive immune interactions at the fetal-maternal interface in healthy human pregnancy and pre-eclampsia. *Front Immunol* 2014; 5: 125.
- 3 Kwak-Kim J, Park JC, Ahn HK, Kim JW, Gilman-Sachs A. Immunological modes of pregnancy loss. *Am J Reprod Immunol* 2010; 63(6): 611-23.
- 4 Steinman L. A brief history of T(H)17, the first major revision in the T(H)1/T(H)2 hypothesis of T cell-mediated tissue damage.

- Nat Med 2007; 13(2): 139-45.
- 5 Langrish CL, Chen Y, Blumenschein WM, Mattson J, Basham B, Sedgwick JD, *et al.* IL-23 drives a pathogenic T cell population that induces autoimmune inflammation. *J Exp Med* 2005; 201(2): 233-40.
- 6 Lee SK, Kim JY, Jang BW, Hur SE, Na BJ, Lee M, *et al.* Foxp3(high) and Foxp3(low) Treg cells differentially correlate with T helper 1 and natural killer cells in peripheral blood. *Hum Immunol* 2011; 72(8): 621-6.
- 7 Miyara M, Yoshioka Y, Kitoh A, Shima T, Wing K, Niwa A, *et al.* Functional delineation and differentiation dynamics of human CD4⁺ T cells expressing the FoxP3 transcription factor. *Immunity* 2009; 30(6): 899-911.
- 8 Wan YY, Flavell RA. Regulatory T-cell functions are subverted and converted owing to attenuated Foxp3 expression. *Nature* 2007; 445(7129): 766-70.
- 9 Bao SH, Wang XP, De Lin Q, Wang WJ, Yin GJ, Qiu LH. Decidual CD4⁺CD25⁺CD127^{dim/-} regulatory T cells in patients with unexplained recurrent spontaneous miscarriage. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2011; 155(1): 94-8.
- 10 Xiong H, Zhou C, Qi G. Proportional changes of CD4⁺CD25⁺-Foxp3⁺ regulatory T cells in maternal peripheral blood during pregnancy and labor at term and preterm. *Clin Invest Med* 2010; 33(6): E422.
- 11 Kallikourdis M, Andersen KG, Welch KA, Betz AG. Alloantigen-enhanced accumulation of CCR5⁺ effector⁺ regulatory T cells in the gravid uterus. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104(2): 594-9.
- 12 Kallikourdis M, Betz AG. Periodic accumulation of regulatory T cells in the uterus: Preparation for the implantation of a semi-allogeneic fetus? *PLoS One* 2007; 2(4): e382.
- 13 Schumacher A, Brachwitz N, Sohr S, Engeland K, Langwisch S, Dolaptchieva M, *et al.* Human chorionic gonadotropin attracts regulatory T cells into the fetal-maternal interface during early human pregnancy. *J Immunol* 2009; 182(9): 5488-97.
- 14 Tai P, Wang J, Jin H, Song X, Yan J, Kang Y, *et al.* Induction of regulatory T cells by physiological level estrogen. *J Cell Physiol* 2008; 214(2): 456-64.
- 15 Du MR, Guo PF, Piao HL, Wang SC, Sun C, Jin LP, *et al.* Embryonic trophoblasts induce decidual regulatory T cell differentiation and maternal-fetal tolerance through thymic stromal lymphopoietin instructing dendritic cells. *J Immunol* 2014; 192(4): 1502-11.
- 16 Guerin LR, Prins JR, Robertson SA. Regulatory T-cells and immune tolerance in pregnancy: A new target for infertility treatment? *Hum Reprod Update* 2009; 15(5): 517-35.
- 17 Robertson SA, Prins JR, Sharkey DJ, Moldenhauer LM. Seminal fluid and the generation of regulatory T cells for embryo implantation. *Am J Reprod Immunol* 2013; 69(4): 315-30.
- 18 Guerin LR, Moldenhauer LM, Prins JR, Bromfield JJ, Hayball JD, Robertson SA. Seminal fluid regulates accumulation of FOXP3⁺ regulatory T cells in the preimplantation mouse uterus through expanding the FOXP3⁺ cell pool and CCL19-mediated recruitment. *Biol Reprod* 2011; 85(2): 397-408.
- 19 Mjosberg J, Berg G, Ernerudh J, Ekerfelt C. CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells in human pregnancy: Development of a Treg-MLC-ELISPOT suppression assay and indications of paternal specific Tregs. *Immunology* 2007; 120(4): 456-66.
- 20 Chen T, Darrasse-Jeze G, Bergot AS, Courau T, Churlaud G, Valdivia K, *et al.* Self-specific memory regulatory T cells protect embryos at implantation in mice. *J Immunol* 2013; 191(5): 2273-81.
- 21 Tilburgs T, Roelen DL, van der Mast BJ, de Groot-Swings GM, Kleijburg C, Scherjon SA, *et al.* Evidence for a selective migration of fetus-specific CD4⁺CD25^{bright} regulatory T cells from the peripheral blood to the decidua in human pregnancy. *J Immunol* 2008; 180(8): 5737-45.
- 22 Teles A, Thuere C, Wafula PO, El-Mouseh T, Zenclussen ML, Zenclussen AC. Origin of Foxp3(+) cells during pregnancy. *Am J Clin Exp Immunol* 2013; 2(3): 222-33.
- 23 Lee SK, Kim JY, Hur SE, Kim CJ, Na BJ, Lee M, *et al.* An imbalance in interleukin-17-producing T and Foxp3(+) regulatory T cells in women with idiopathic recurrent pregnancy loss. *Hum Reprod* 2011; 26(11): 2964-71.
- 24 Wang WJ, Hao CF, Yi-Lin, Yin GJ, Bao SH, Qiu LH, *et al.* Increased prevalence of T helper 17 (Th17) cells in peripheral blood and decidua in unexplained recurrent spontaneous abortion patients. *J Reprod Immunol* 2010; 84(2): 164-70.
- 25 Liu YS, Wu L, Tong XH, Wu LM, He GP, Zhou GX, *et al.* Study on the relationship between Th17 cells and unexplained recurrent spontaneous abortion. *Am J Reprod Immunol* 2011; 65(5): 503-11.
- 26 Arruvito L, Sanz M, Banham AH, Fainboim L. Expansion of CD4⁺CD25⁺ and FOXP3⁺ regulatory T cells during the follicular phase of the menstrual cycle: Implications for human reproduction. *J Immunol* 2007; 178(4): 2572-8.
- 27 Inada K, Shima T, Nakashima A, Aoki K, Ito M, Saito S. Characterization of regulatory T cells in decidua of miscarriage cases with abnormal or normal fetal chromosomal content. *J Reprod Immunol* 2013; 97(1): 104-11.
- 28 Liu C, Wang XZ, Sun XB. Assessment of sperm antigen specific T regulatory cells in women with recurrent miscarriage. *Early Hum Dev* 2013; 89(2): 95-100.
- 29 Yin Y, Han X, Shi Q, Zhao Y, He Y. Adoptive transfer of CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells for prevention and treatment of spontaneous abortion. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2012; 161(2): 177-81.
- 30 Laurence A, O'Shea JJ. T(H)-17 differentiation: of mice and men. *Nat Immunol* 2007; 8(9): 903-5.
- 31 Nakashima A, Ito M, Shima T, Bac ND, Hidaka T, Saito S. Accumulation of IL-17-positive cells in decidua of inevitable abortion cases. *Am J Reprod Immunol* 2010; 64(1): 4-11.
- 32 Lee Y, Awasthi A, Yosef N, Quintana FJ, Xiao S, Peters A, *et al.* Induction and molecular signature of pathogenic TH17 cells. *Nat Immunol* 2012; 13(10): 991-9.
- 33 Ramesh R, Kozhaya L, Mckevitt K, Djuretic IM, Carlson TJ, Quintero MA, *et al.* Pro-inflammatory human Th17 cells selectively express P-glycoprotein and are refractory to glucocorticoids. *J Exp Med* 2014; 211(1): 89-104.
- 34 Nakashima A, Ito M, Yoneda S, Shiozaki A, Hidaka T, Saito S. Circulating and decidual Th17 cell levels in healthy pregnancy. *Am J Reprod Immunol* 2010; 63(2): 104-9.
- 35 Toldi G, Rigo JJ, Stenczer B, Vásárhelyi B, Molvarec A. Increased prevalence of IL-17-producing peripheral blood lymphocytes in pre-eclampsia. *Am J Reprod Immunol* 2011; 66(3): 223-9.

- 36 Bansal AS. Joining the immunological dots in recurrent miscarriage. *Am J Reprod Immunol* 2010; 64(5): 307-15.
- 37 Pongcharoen S, Supalap K. Interleukin-17 increased progesterone secretion by JEG-3 human choriocarcinoma cells. *Am J Reprod Immunol* 2009; 61(4): 261-4.
- 38 Wang WJ, Hao CF, Qu QL, Wang X, Qiu LH, Lin QD. The deregulation of regulatory T cells on interleukin-17-producing T helper cells in patients with unexplained early recurrent miscarriage. *Hum Reprod* 2010; 25(10): 2591-6.
- 39 Lee SK, Kim JY, Lee M, Gilman-Sachs A, Kwak-Kim J. Th17 and regulatory T cells in women with recurrent pregnancy loss. *Am J Reprod Immunol* 2012; 67(4): 311-8.
- 40 Fu B, Li X, Sun R, Tong X, Ling B, Tian Z, *et al.* Natural killer cells promote immune tolerance by regulating inflammatory TH17 cells at the human maternal-fetal interface. *Proc Natl Acad Sci USA* 2013; 110(3): E231-40.
- 41 Wu C, Yosef N, Thalhamer T, Zhu C, Xiao S, Kishi Y, *et al.* Induction of pathogenic TH17 cells by inducible salt-sensing kinase SGK1. *Nature* 2013; 496(7446): 513-7.
- 42 Curtis AM, Bellet MM, Sassone-Corsi P, O'Neill LA. Circadian clock proteins and immunity. *Immunity* 2014; 40(2):178-86.
- 43 Yu X, Rollins D, Ruhn KA, Stubblefield JJ, Green CB, Kashiwada M, *et al.* TH17 cell differentiation is regulated by the circadian clock. *Science* 2013; 342(6159): 727-30.
- 44 Saifi B, Rezaee SA, Tajik N, Ahmadpour ME, Ashrafi M, Vakili R, *et al.* Th17 cells and related cytokines in unexplained recurrent spontaneous miscarriage at the implantation window. *Reprod Biomed Online* 2014; 29(4): 481-9.
- 45 Saito S, Nakashima A, Shima T, Ito M. Th1/Th2/Th17 and regulatory T-cell paradigm in pregnancy. *Am J Reprod Immunol* 2010; 63(6): 601-10.
- 46 Collison LW, Workman CJ, Kuo TT, Boyd K, Wang Y, Vignali KM, *et al.* The inhibitory cytokine IL-35 contributes to regulatory T-cell function. *Nature* 2007; 450(7169): 566-9.
- 47 Stewart CA, Metheny H, Iida N, Smith L, Hanson M, Steinhagen F, *et al.* Interferon-dependent IL-10 production by Tregs limits tumor Th17 inflammation. *J Clin Invest* 2013; 123(11): 4859-74.
- 48 Ozkan ZS, Deveci D, Simsek M, Ilhan F, Risvanli A, Sapmaz E. What is the impact of SOCS3, IL-35 and IL17 in immune pathogenesis of recurrent pregnancy loss? *J Matern Fetal Neonatal Med* 2015; 28(3): 324-8.
- 49 Zheng Y, Josefowicz S, Chaudhry A, Peng XP, Forbush K, Rudensky AY. Role of conserved non-coding DNA elements in the Foxp3 gene in regulatory T-cell fate. *Nature* 2010; 463(7282): 808-12.
- 50 Chen Z, Lin F, Gao Y, Li Z, Zhang J, Xing Y, *et al.* FOXP3 and RORgammat: Transcriptional regulation of Treg and Th17. *Int Immunopharmacol* 2011; 11(5): 536-42.
- 51 张蓝方, 郝云良. Th17/Treg平衡调节与疾病的关系研究进展. *济宁医学院学报(Zhang Lanfang, Hao Yunliang. J Jining Med Univ)* 2011; (01): 68-71.
- 52 Sakaguchi S, Vignali DA, Rudensky AY, Neeb RE, Waldmann H. The plasticity and stability of regulatory T cells. *Nat Rev Immunol* 2013; 13(6): 461-7.
- 53 Li X, Wang B, Li Y, Wang L, Zhao X, Zhou X, *et al.* The Th1/Th2/Th17/Treg paradigm induced by stachydrine hydrochloride reduces uterine bleeding in RU486-induced abortion mice. *J Ethnopharmacol* 2013; 145(1): 241-53.
- 54 Rowe JH, Ertelt JM, Xin L, Way SS. *Listeria monocytogenes* cytoplasmic entry induces fetal wastage by disrupting maternal Foxp3⁺ regulatory T cell-sustained fetal tolerance. *PLoS Pathog* 2012; 8(8): e1002873.
- 55 Nyirenda MH, Sanvito L, Darlington PJ, O'Brien K, Zhang GX, Constantinescu CS, *et al.* TLR2 stimulation drives human naive and effector regulatory T cells into a Th17-like phenotype with reduced suppressive function. *J Immunol* 2011; 187(5): 2278-90.
- 56 Haas DM, Ramsey PS. Progesterone for preventing miscarriage. *Cochrane Database Syst Rev* 2013; 10: D3511.
- 57 Prins JR, Kieffer TE, Scherjon SA. Immunomodulators to treat recurrent miscarriage. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2014; 181: 334-7.
- 58 Kim DJ, Lee SK, Kim JY, Na BJ, Hur SE, Lee M, *et al.* Intravenous immunoglobulin G modulates peripheral blood Th17 and Foxp3⁺ regulatory T cells in pregnant women with recurrent pregnancy loss. *Am J Reprod Immunol* 2014; 71(5): 441-50.
- 59 Wu L, Luo LH, Zhang YX, Li Q, Xu B, Zhou GX, *et al.* Alteration of Th17 and Treg cells in patients with unexplained recurrent spontaneous abortion before and after lymphocyte immunization therapy. *Reprod Biol Endocrinol* 2014; 12: 74.
- 60 Clark DA, Rahmati M, Gohner C, Bensussan A, Markert UR, Chaouat G. Seminal plasma peptides may determine maternal immune response that alters success or failure of pregnancy in the abortion-prone CBAXDBA/2 model. *J Reprod Immunol* 2013; 99(1/2): 46-53.
- 61 Bonney EA, Brown SA. To drive or be driven: the path of a mouse model of recurrent pregnancy loss. *Reproduction* 2014; 147(5): R153-67.