

基于母胎免疫失衡的孕母菌群改变所致早产的机制研究

刘思征¹, 刘琴²

¹汕头大学医学院第二附属医院新生儿科 广东汕头

²汕头大学医学院第二附属医院产科 广东汕头

【摘要】目的 本研究旨在探讨母胎免疫失衡下孕母阴道菌群改变与早产的关系。**方法** 纳入 2021 年 1 月至 2021 年 12 月在我院产科住院的早产孕妇（孕周<37 周）30 名和足月产孕妇（孕周≥37 周）30 名，并于其分娩前采集阴道拭子，提取微生物 DNA，并进行 16S rRNA 测序，采用 Shannon 指数、OTU 数量和 Faith's PD 指数分别评估菌群多样性、丰富度和演化多样性。胎盘免疫组织化学染色观察 FoxP3 蛋白表达分布，并计算其平均累计光密度值，以了解 Treg 细胞分布情况。**结果** 早产孕妇组的 Shannon 指数（ 2.35 ± 0.43 ）低于足月孕妇组（ 3.12 ± 0.50 ）， $P < 0.05$ ，早产孕妇组的平均 OTU 数量（ 432.11 ± 58.22 ）低于足月孕妇组（ 509.12 ± 65.32 ）， $P < 0.05$ ；早产孕妇组的 Faith's PD 指数（ 15.71 ± 3.41 ）低于足月孕妇组（ 18.92 ± 4.22 ）， $P < 0.05$ 。与足月胎盘组（ 0.201 ± 0.13 ）相比，早产胎盘组（ 0.168 ± 0.12 ）具有较低的 FoxP3 蛋白平均累计光密度值。**结论** 早产孕妇阴道菌群多样性、丰富度和演化多样性均降低，可能通过改变 Treg 细胞分布来影响妊娠维持，从而导致早产。

【关键词】 母胎免疫失衡；孕母菌群；Treg 细胞；早产

【基金项目】 广东省医学科学技术研究基金项目（A2021050）；汕头市医疗卫生科技计划项目（210623156491460）

【收稿日期】 2024 年 9 月 7 日 **【出刊日期】** 2024 年 10 月 20 日 **【DOI】** 10.12208/j.ijped.20240009

Study on the mechanism of preterm birth caused by changes in maternal microflora based on maternal fetal immune imbalance

Sizheng Liu¹, Qin Liu²

¹Department of Neonatology, The Second Affiliated Hospital of Shantou University Medical College, Shantou, Guangdong

²Department of Obstetrics, The Second Affiliated Hospital of Shantou University Medical College, Shantou, Guangdong

【Abstract】Objective The purpose of this study was to investigate the relationship between the changes of vaginal flora and preterm labor in pregnant women with imbalanced maternal fetal immunity. How: Thirty preterm pregnant women (<37 weeks gestation) and 30 full-term pregnant women (≥37 weeks gestation) admitted to the obstetrics Department of our hospital from January 2021 to December 2021 were included. Vaginal swabs were collected before delivery, microbial DNA was extracted, and 16S rRNA sequencing was performed. Shannon index, OTU number and Faith's PD index were used to evaluate microbial diversity, richness and evolutionary diversity, respectively. The distribution of FoxP3 protein was observed by immunohistochemical staining of placenta, and its average cumulative optical density was calculated to understand the distribution of Treg cells. Results: The Shannon index (2.35 ± 0.43) in the preterm pregnant women group was lower than that in the full-term pregnant women group (3.12 ± 0.50), $P < 0.05$. The mean OTU number in the preterm pregnant women group (432.11 ± 58.22) was lower than that in the full-term pregnant women group (509.12 ± 65.32), $P < 0.05$. The Faith's PD index of preterm pregnant women (15.71 ± 3.41) was lower than that of full-term pregnant women (18.92 ± 4.22), $P < 0.05$. Compared with the full-term placenta group (0.201 ± 0.13), the preterm placenta group (0.168 ± 0.12) had a lower average cumulative

optical density of FoxP3 protein. Conclusion: The diversity, richness and evolutionary diversity of vaginal flora in preterm pregnant women are decreased, which may affect the maintenance of pregnancy by changing the distribution of Treg cells, thus leading to preterm birth.

【Keywords】 Maternal fetal immune imbalance; Maternal flora; Treg cells; Premature.

早产, 即孕期少于 37 周的出生是全球新生儿发病和死亡的重要原因之一, 其给家庭和社会带来了沉重的负担。近年来研究表明母胎免疫失衡在早产中扮演着关键的角色^[1], 而母体菌群, 特别是肠道和生殖道微生物群落的改变则是诱发这种免疫失衡的重要因素, 在正常妊娠过程中母体的免疫系统必须在耐受胎儿半同种异体抗原和防御病原体感染之间找到平衡^[2], 而这种平衡很容易受到菌群变化的影响, 其中在妊娠期母体阴道菌群通常主要是由乳酸菌主导, 其在维持阴道的酸性环境、抑制病原体生长方面至关重要, 如果这种菌群平衡被打破则会导致有害细菌过度生长, 从而影响局部、系统性的炎症反应, 打破免疫平衡, 最终促使免疫系统过度活跃, 增加其早产的风险^[3]。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2021 年 1 月至 2021 年 12 月在我院产科住院的孕妇 60 名, 其中 30 名为早产孕妇(孕周<37 周)作为实验组, 另外 30 名为足月产孕妇(孕周≥37 周)作为对照组, 两组患者一般资料对比, $P>0.05$, 差异有统计学意义。所有参与者均签署了知情同意书, 并通过医院伦理委员会审批。

1.2 方法

在产妇的分娩前阶段通过无菌操作采集孕妇的阴道拭子, 将其储存在 -80°C 冷冻设施中以备后续分析。

而后从阴道拭子样本中提取微生物 DNA, 使用的是 QIAGEN DNA 提取试剂盒。提取后的 DNA 用于 16S rRNA 基因扩增并测序, 选择 16S rRNA 基因中保守的 V3-V4 区段作为扩增目标, 在 PCR 扩增完成后, 采用 Illumina MiSeq 平台进行高通量测序, 进而生成双端 300 bp 的测序数据, 每个样本至少获得 30000 个有效序列以确保数据的可靠性。

之后将初始测序数据通过 QIIME 软件进行初步处理, 去除低质量数据、拼接双端序列以及去除嵌合体序列, 并根据 97% 的序列相似性标准聚类生成

OTU。

同时 OTU 主要通过 greengene (version gg_13_5) 数据库进行鉴定, 获得相应的分类信息, 为了分析菌群组成的变化使用 R 语言中的 phyloseq 包, 绘制样本间 OTU 丰度及分布图。

最后 α 多样性通过 Shannon 指数、Chao1 指数以及 Faith's PD 指数进行评估, 分析组间菌群多样性差异, 采用软件进行统计检验, 其中 Shapiro-Wilk 测试用于正态性检验, 若数据符合正态分布, 则使用独立样本 t 检验, 否则使用 Wilcoxon 秩和检验。

1.3 评价指标

术前阴道菌群多样性指数: 通过 Shannon 指数评估实验组与对照组间的阴道菌群多样性。

菌群丰度的 OTU 数量: 比较早产孕妇与足月产孕妇样本的 OTU 数量, 分析孕母菌群的丰富度差异。

菌群演化多样性: 评估两组孕妇样本中菌群的进化多样性, 探讨其早产孕妇菌群结构的潜在演化特征。

免疫组化对比: 对比两组孕妇的区域面积、累计光密度值, 计算平均累计光密度值。

1.4 统计学方法

选取 spss20.0 软件对数据进行整理分析, 计量资料采用 $(\bar{x} \pm s)$ 进行表示, 行 t 检验, 计数资料采用 % 进行表示, 行 χ^2 检验, $P<0.05$, 差异有统计学意义。

2 结果

2.1 阴道菌群多样性指数、OTU 数量、Faith's PD 指数对比

采用 Shannon 指数评估阴道菌群多样性, 如表 1 所示, 早产孕妇的平均 Shannon 指数为 2.35 ± 0.43 , 而足月产孕妇为 3.12 ± 0.50 , $P<0.05$, 两组之间的菌群多样性差异具有统计学意义。

通过 OTU 数量来对比两组间菌群丰富度的差异, 如表 1 所示, 在实验组中平均 OTU 数量为 432.11 ± 58.22 , 而在对照组中为 509.12 ± 65.32 , $p<0.05$, 说明实验组中早产孕妇的菌群丰富度低于对照组的足月产孕妇。

表 1 阴道菌群多样性指数、OTU 数量、Faith's PD 指数对比

组别	例数	平均 Shannon 指数	平均 OTU 数量	Faith's PD 指数
实验组	30	2.35 ± 0.43	432.11 ± 58.22	15.71 ± 3.41
对照组	30	3.12 ± 0.50	509.12 ± 65.32	18.92 ± 4.22
T		0.813	69.125	2.125
P		0.000	0.000	0.001

如表 1 所示, 实验组的 Faith's PD 指数为 15.71±3.41, 对照组的指数为 18.92±4.22, $p < 0.05$, 早

产组中菌群的演化多样性低于足月产组。

2.2 免疫组化对比

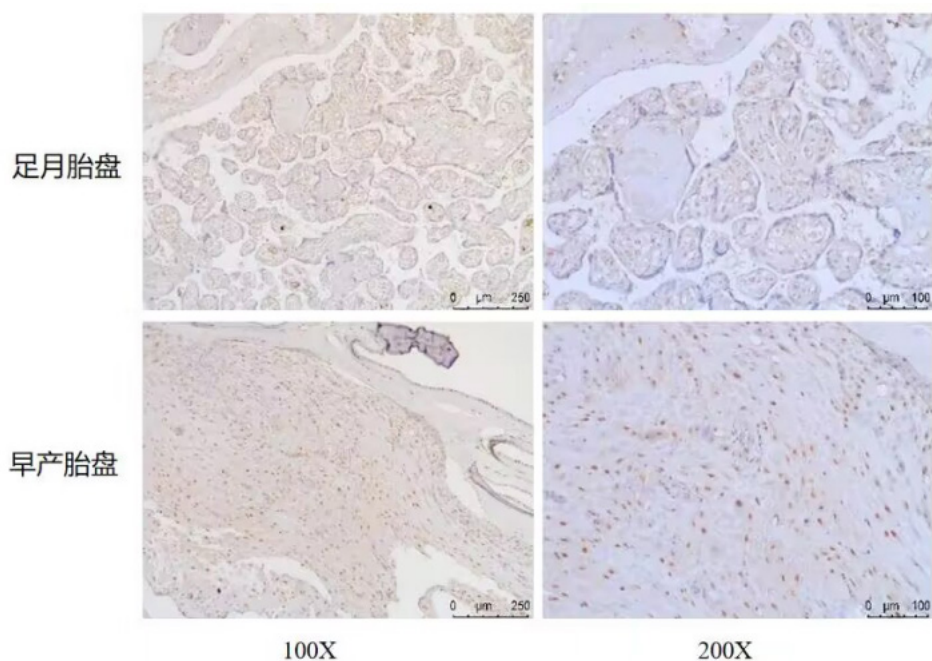


图 1 足月胎盘与早产胎盘的 FoxP3 蛋白免疫组化染色图

表 2 免疫组化对比

组别	平均区域面积 (Mean Area)	累计光密度值	平均累计光密度值(Mean)
试验组	24.79 ± 0.23 mm ²	4.19 ± 0.32	0.168 ± 0.13
对照组	20.61 ± 0.14mm ²	4.14 ± 0.31	0.201 ± 0.12

由表 2 可知, 与对照组 (足月胎盘) 相比, 实验组 (早产胎盘) 具有较低的 FoxP3 蛋白平均累计光密度值。

3 讨论

早产孕妇阴道菌群多样性降低使其更容易受到病原微生物的侵袭。健康阴道菌群以乳杆菌为主, 其产生的乳酸来维持阴道酸性环境, 进而抑制其他病原

微生物的生长, 而当菌群多样性降低时, 这种保护作用减弱, 加之早产孕妇自身免疫力相对较低, 更容易发生感染, 这些感染会引发炎症反应, 释放前列腺素等物质, 从而刺激子宫收缩, 最终导致早产^[4-5]。

OTU 数量减少反映了早产孕妇阴道菌群丰富度降低。菌群丰富度下降同样会削弱阴道微生态的稳定性, 使其更易受到外界干扰, 导致菌群结构失衡。

Faith's PD 指数降低表明早产孕妇阴道菌群演化多样性也存在不足, 演化多样性旨在反映菌群中不同物种之间的亲缘关系和进化历史, 较低的演化多样性说明菌群功能的单一化, 无法有效应对环境变化和病原体入侵^[6-7]。

胎盘 FoxP3 蛋白表达水平降低进一步支持了免疫调节异常在早产中的作用。FoxP3 是调节性 T 细胞 (Treg) 的关键转录因子, Treg 在维持妊娠免疫耐受中发挥重要作用, FoxP3 表达降低、分布改变, 说明 Treg 细胞分布改变, 尤其是功能减低, 导致母体对胎儿抗原的免疫耐受下降, 可能引发免疫排斥反应, 最终导致早产^[8]。

4 小结

综上所述, 早产孕妇阴道菌群的多样性、丰富度和演化多样性均降低, 其与菌群改变、炎症反应等因素有关, 并且在早产的发生发展中扮演重要角色。

参考文献

- [1] Fettweis, Jennifer M et al. "The vaginal microbiome and preterm birth." *Nature medicine* vol. 25,6 (2019): 1012-1021.
- [2] 宋秋瑾, 钱晓红, 陈骞. 肠道菌群与妊娠并发症相关性的研究进展[J]. 国际生殖健康/计划生育杂志, 2023, 42(05):

409-413.

- [3] Erlebacher, Adrian. "Immunology of the maternal-fetal interface." *Annual review of immunology* vol. 31 (2013): 387-411.
- [4] Gupta, Juhi K et al. "Genome and transcriptome profiling of spontaneous preterm birth phenotypes." *Scientific reports* vol. 12,1 1003. 19 Jan. 2022.
- [5] 张晓卿, 高路. 胎盘免疫与妊娠并发症及防控研究进展[J]. 中国计划生育和妇产科, 2023, 15(02): 19-22.
- [6] Ma Y, Ye S, Liu Y, et al. Interferon regulatory factor 1 mediated inhibition of Treg cell differentiation induces maternal-fetal immune imbalance in preeclampsia. [J]. *International immunopharmacology*, 2024, 141112988.
- [7] 傅祝婧, 田野, 周旋乐, 等. 槲皮素对母胎界面免疫调节的影响[J]. 浙江大学学报(医学版), 2023, 52(01): 68-76.
- [8] 赵颖, 章勤. 免疫机制诱导复发性流产的中西医研究概况 [J]. 湖南中医杂志, 2020, 36(07): 175-178.

版权声明: ©2023 作者与开放获取期刊研究中心(OAJRC)所有。本文章按照知识共享署名许可条款发表。

<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



OPEN ACCESS