

滋肾健脾方联合淋巴细胞免疫治疗复发性流产脾肾两虚证临床研究

宋艳丽¹, 卫爱武^{2*}, 孙自学¹, 门波¹, 张华¹

(1.河南省中医院生殖医学科, 河南 郑州 450002; 2.河南中医药大学第一附属医院, 河南 郑州 450000)

摘要: **目的** 观察滋肾健脾方联合淋巴细胞免疫治疗复发性流产(RSA)脾肾两虚证的疗效及安全性。 **方法** 将 120 例复发性流产脾肾两虚证患者随机分为对照组和治疗组, 各 60 例。对照组采用淋巴细胞免疫, 观察组在对照组治疗基础上给予滋肾健脾方, 观察患者中医证候评分, 血清封闭抗体(CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺)和炎症因子(IFN- γ 、TNF- α 、IL-1 β 、IL-10)水平; 比较 2 组患者有效率和不良反应发生率。 **结果** 研究期间对照组脱落 3 例, 治疗组脱落 2 例。治疗组生产率 89.7%, 高于对照组的 71.9% ($P < 0.05$)。治疗组总有效率 94.8%, 高于对照组的 80.7% ($P < 0.05$)。治疗组患者的中医证候评分、血清封闭抗体和炎症因子水平均明显改善, 优于对照组 ($P < 0.05 \sim 0.01$)。治疗组不良反应发生率 10.3% (6/58) 低于对照组的 28.1% (16/57) ($P < 0.05$)。 **结论** 滋肾健脾方联合淋巴细胞免疫治疗复发性流产脾肾两虚证能明显提高足月分娩率, 其机理可能与调节血清封闭抗体及炎症因子水平有关。

关键词: 滋肾健脾方; 淋巴细胞免疫治疗; 复发性流产; 生产率; 脾肾两虚证

中图分类号: R271 文献标志码: A 文章编号: 1672-0482(2018)05-0461-04

DOI: 10.14148/j.issn.1672-0482.2018.0461

Clinical Study on ZiShen Jianpi Formula Combined with Lymphocyte Immunotherapy for Recurrent Abortion of Deficiency of Both the Spleen and Kidney

SONG Yan-li¹, WEI Ai-wu^{2*}, SUN Zi-xue¹, MEN Bo¹, ZHANG Hua¹

(1. Department of Reproduction, Henan Province Hospital of TCM, Zhengzhou, 450002, China; 2. The First Affiliated Hospital of Henan University of TCM, Zhengzhou, 450000, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To observe the efficacy and safety of Zishen Jianpi Formula combined lymphocyte immunotherapy for recurrent abortion of deficiency of both the spleen and kidney syndrome. **METHODS** 120 patients with recurrent abortion of deficiency of both the spleen and kidney were randomly divided into control group and experimental group, 60 cases in each group. The control group was treated with lymphocyte immunotherapy, and the experimental group was given Zishen Jianpi Formula on the basis of the treatment of control group. The TCM syndrome scores, serum blocking antibodies (CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD4⁺/CD8⁺) and inflammatory factors (IFN- γ , TNF- α , IL-1 β , IL-10) were observed. The effective rate and adverse reaction rate of the two groups were compared. **RESULTS** 3 patients in control group and 2 patients in experimental group were fell off during the study. The term birth rate of experimental group was 89.7%, which was higher than that of control group 71.9% ($P < 0.05$). The total effective rate of experimental group was 94.8%, which was higher than that of control group 80.7% ($P < 0.05$). The TCM symptom scores, serum blocking antibody and inflammatory factor levels in experimental group were higher than the control group ($P < 0.05$). The incidence of adverse reaction in treatment group was 10.3% (6/58), which was lower than that of control group 28.1% (16/57) ($P < 0.05$). **CONCLUSION** Zishen Jianpi Formula combined with lymphocyte immunotherapy for recurrent abortion of deficiency of both the spleen and kidney syndrome can significantly improve the rate of full-term delivery. The mechanism may be related to improving blood coagulation function, regulating serum blocking antibody and inflammatory factor levels.

KEY WORDS: Zishen Jianpi Formula; lymphocyte immunotherapy; recurrent abortion; birth rate; deficiency of both spleen and kidney

收稿日期: 2018-05-21

基金项目: 河南省中医药科学研究专项课题(2017XY3004)

作者简介: 宋艳丽(1982—), 女, 主治医师。* 通信作者: 卫爱武, 女, 主任医师, 教授, 主要从事不孕症及复发性流产的中医药防治研究, E-mail: wdaw123@163.com

复发性流产(RSA)指妊娠 20 周前胚胎丢失次数 ≥ 2 次,发生率占育龄期妇女的 0.8%~1.4%^[1]。其病因较为复杂,除了遗传、感染、内分泌、解剖、不良生活习惯以外,约 60%的患者病因不明,而 70%~90%的不明原因 RSA 与免疫因素相关^[2]。研究显示封闭抗体的下降或缺失可增强育龄期妇女机体免疫系统识别能力,从而引起流产的发生^[3]。淋巴细胞免疫治疗 RSA 为目前国内外学者的研究热点。而传统中医药对不明原因 RSA 的经历了长期的临床实践,疗效肯定。

本文采用滋肾健脾方联合淋巴细胞免疫治疗复发性流产,可明显提高患者的足月分娩率,患者凝血功能、血清封闭抗体、炎症因子水平明显改善。现报道如下。

1 临床资料

1.1 一般资料

选取 2016 年 1 月—2017 年 5 月在河南省中医院生殖医学科就诊的 RSA 脾肾两虚证患者 120 例,按随机数字表法分为对照组和治疗组各 60 例。对照组患者年龄 24~38 岁,平均(27.9 $\pm$ 5.43)岁;流产次数 2~8 次,平均(3.5 $\pm$ 1.4)次;流产周数 3~17 周,平均(6.4 $\pm$ 2.2)周。治疗组患者年龄 23~41 岁,平均(29.4 $\pm$ 5.26)岁;流产次数 2~10 次,平均(3.4 $\pm$ 1.7)次;流产周数 3~13 周,平均(6.5 $\pm$ 2.6)周。2 组患者一般资料比较,无明显差异($P>0.05$)。研究期间对照组脱落 3 例,治疗组脱落 2 例。本研究经河南省中医院医学伦理委员会批准,夫妻双方知情同意并签署知情同意书。

1.2 诊断标准

(1)西医诊断参照《妇产科学》^[4]妊娠早期自然流产 ≥ 2 次。(2)中医诊断参照《中药新药临床研究指导原则》^[5]“滑胎”脾肾两虚证。主证:①屡孕屡堕;②食少纳呆;③腰酸膝软。次证:①头晕耳鸣;②尿频、夜尿多;③畏寒肢冷;④面色无华;⑤大便溏泄;⑥眼眶黯黑。具备所有主证及 2 项次证,结合舌脉象即可诊断。

1.3 纳入标准

①符合上述诊断标准;②年龄 23~42 岁;③月经周期 28~32 d;④近 12 月未使用淋巴细胞免疫治疗,近 6 月未使用治疗 RSA 的中药制剂。

1.4 排除及脱落标准

排除标准:①合并内分泌紊乱、自身免疫性疾

病、子宫解剖结构异常;②合并抗精子抗体、抗子宫内膜抗体阳性;③夫妻中一方存在染色体核型分析异常;④合并心肝肾和造血功能障碍等原发性疾病;⑤男方精液数量或活性异常。脱落标准:依从性差、证型改变、失访、数据不全、未按研究方案治疗。

2 方法

2.1 治疗方法

对照组:采用淋巴细胞免疫疗法,取配偶空腹静脉血,制成淋巴细胞混悬液(30×10^6 mL⁻¹)。抽取 2 mL,于患者前臂皮下多点注射。孕前每 3 周 1 次,连续治疗 5 次,治疗期间避孕。治疗 5 次后安排受孕,5 月内若未受孕,给予重复治疗。受孕后,分别在孕期第 3、5、7、9、12 周治疗 1 次。

治疗组:在对照组淋巴细胞免疫治疗基础上给予滋肾健脾方。方剂组成菟丝子 30 g,桑寄生 15 g,续断 15 g,党参 20 g,山药 20 g,白芍 15 g,阿胶(烊化)10 g,炒白术 15 g,炙甘草 6 g,山茱萸 15 g,麦冬 20 g。以上中药由河南省中医院中药师采用全自动煎药包装一体机统一煎制,每日 1 剂,每日 2 次,服用 6 日,休息 1 日。连续治疗至孕期 12 周。

2.2 观察指标及方法

①中医证候评分^[5]:观察 2 组患者治疗前及孕前治疗后中医证候评分,包括屡孕屡堕、食少纳呆、腰酸膝软、头晕耳鸣、夜尿频多、畏寒肢冷、面色无华、大便溏泄。食少纳呆、腰酸膝软每项 0~10 分,其余每项 0~5 分。②分别于治疗前后抽取空腹静脉血。取 5 mL 离心、分离血清,采用酶联免疫吸附法检测血清封闭抗体(CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺)和炎症因子(IFN- γ 、TNF- α 、IL-1 β 、IL-10)的水平(试剂盒由北京索莱宝科技有限公司生产);③记录正常怀孕人数、生产率;④观察研究期间出现的所有不良反应。

疗效判定参照《中药新药临床研究指导原则》^[5]。痊愈:成功妊娠,或临床症状基本消失,疗效指数 $\geq 80\%$;有效:临床症状明显改善,30% $\leq$ 疗效指数 $<80\%$;无效:临床症状有所改善,疗效指数 $<30\%$ 。疗效指数=(治疗后子宫内膜的厚度-治疗前子宫内膜的厚度)/治疗前子宫内膜的厚度 $\times 100\%$ 。

2.3 统计学方法

采用 SPSS18.0 软件处理数据,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用 t 检验。计数资料以百分率(%)表示,

采用 χ^2 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 2组患者足月生产率比较

结果见表1。

表1 2组患者足月生产率比较

组别	例数	正常怀孕	生产率/%
对照组	57	49	71.9
观察组	58	56	89.7*

注:与对照组比较, $\chi^2=4.13$, $*P<0.05$ 。

3.2 2组患者临床疗效比较

结果见表2。

表2 2组患者临床疗效比较

组别	例数	治愈	好转	无效	总有效率/%
对照组	57	27	19	11	80.7
观察组	58	43	12	3	94.8*

注:与对照组比较, $\chi^2=3.97$, $*P<0.05$ 。

3.3 2组患者治疗前后中医证候评分比较

结果见表3。

3.4 2组患者治疗前后血清封闭抗体水平比较

观察组患者治疗后血清CD3⁺、CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺水平均明显降低($P<0.05$),CD8⁺水平明显升高($P<0.05$);且较对照组改变更加明显($P<0.05$)。见表4。

表3 2组患者治疗前后中医证候评分比较($\bar{x}\pm s$)

组别	时间	例数	食少纳呆	腰膝酸软	头晕耳鸣	夜尿频多
对照组	治疗前	57	8.17±1.83	8.62±2.37	4.25±1.43	3.71±1.13
	孕前治疗后	57	8.06±1.79	7.25±2.15*	4.13±1.38	2.86±1.28*
观察组	治疗前	58	8.24±1.76	8.47±2.29	4.31±1.72	3.64±1.26
	孕前治疗后	58	3.27±1.05***#	4.86±1.43***#	2.72±0.83***#	1.28±0.62***#
组别	时间	例数	畏寒肢冷	面色无华	大便溏泄	总评分
对照组	治疗前	57	3.46±0.93	2.73±1.32	3.91±1.64	34.85±12.51
	孕前治疗后	57	3.38±0.87	2.09±1.37*	3.73±1.29	31.57±11.28
观察组	治疗前	58	3.57±0.84	2.59±1.91	3.86±1.57	35.91±13.64
	孕前治疗后	58	1.19±0.51***#	1.49±0.76*	1.26±0.43***#	15.07±5.63***#

注:组内比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;组间比较,# $P<0.05$,## $P<0.01$ 。

表4 2组患者治疗前后血清封闭抗体水平比较($\bar{x}\pm s$,%)

组别	时间	例数	CD3 ⁺	CD4 ⁺	CD8 ⁺	CD4 ⁺ /CD8 ⁺
对照组	治疗前	57	77.92±6.59	61.82±7.27	35.92±6.92	1.93±0.97
	治疗后	57	69.52±5.28*	53.46±6.81*	38.26±6.73*	1.32±0.84*
观察组	治疗前	58	78.64±6.83	60.82±7.06	34.92±6.46	1.91±1.02
	治疗后	58	62.43±4.83*#	47.62±6.24*#	42.61±6.86*#	1.02±0.71*#

注:组内比较,* $P<0.05$;组间比较,# $P<0.05$ 。

3.5 2组患者治疗前后血清炎症因子水平比较

观察组患者治疗后血清IFN- γ 、IL-1 β 水平均明

显降低($P<0.05$),IL-6、IL-10水平明显升高($P<0.05$),较对照组改变更加明显($P<0.05$)。见表5。

表5 2组患者治疗前后血清炎症因子比较($\bar{x}\pm s$)

组别	时间	例数	IFN- γ /(ng·L ⁻¹)	IL-1 β /(ng·L ⁻¹)	IL-6/(pg·L ⁻¹)	IL-10/(pg·L ⁻¹)
对照组	治疗前	57	48.64±5.67	39.43±5.27	4.37±0.81	11.92±2.17
	治疗后	57	41.92±4.81	30.93±4.69*	5.19±0.91*	16.71±2.94*
观察组	治疗前	58	47.93±5.45	38.81±5.71	4.26±0.79	11.35±2.52
	治疗后	58	32.91±4.38*#	12.81±4.01*#	6.18±1.06*#	19.43±3.14*#

注:组内比较,* $P<0.05$;组间比较,# $P<0.05$ 。

3.6 2组患者不良反应发生率比较

结果见表6。

表6 2组不良反应发生率比较

组别	例数	发烧	皮疹	血清病	肝功能异常	肾功能异常	血小板减少	红细胞减少
对照组	57	5	2	2	3	1	1	2
观察组	58	2	1	1	1	0	0	1

注:与对照组比较, $\chi^2=8.56$, $*P<0.05$ 。

4 讨论

RSA 归属中医“滑胎”范畴。祖国医学认为肾藏精、主生殖,为先天之本。肾精充实,任通冲盛,胎胞安和;肾气亏虚,冲任不固,胎元不坚。脾主运化,为后天之本,气血生化之源。脾气充盛,精血充足,冲任得固;脾气不足,生化乏源,精亏血少,胎胞失养不固。胎儿居于母体,依赖肾气系之、精血养之;肾精充盈,脾气健运,精血化生充足,冲任气血调和,输布于五脏六腑,则胞系所主,胎固母安。因此,肾为固胎之本,脾为养胎之源,脾肾为孕育的基本条件。

妊娠过程相似于外源物质移入,胚胎中来自父亲的抗原不断刺激母体免疫调节系统使其产生免疫因子^[6]。正常母体含有一定量的封闭抗体,妊娠过程封闭抗体能与来源于父亲的抗原结合,以免胚胎被母体免疫因子破坏^[7]。淋巴细胞免疫治疗的机制是通过大剂量注射与女方没有血缘关系的男性淋巴细胞给复发性流产患者^[8],刺激母体的免疫应答反应,使其分泌大量的封闭抗体,患者再次妊娠后,封闭抗体可识别并与胚胎中丈夫的抗原相结合,以发挥封闭效应,保护胚胎的正常生长^[9]。

滋肾健脾方为本课题组经验方,由菟丝子、桑寄生、续断、党参、山药、白芍、阿胶(烔化)、炒白术、炙甘草、山茱萸、麦冬组成。方中菟丝子滋补肝肾、固精安胎,桑寄生补肾强骨、益血安胎,两者共为君药。续断补肾益精,活络通络,固经止带,山药健脾益胃,补精益气,党参补气养血,白芍补气敛阴,阿胶(烔化)补血、止血、滋阴、润燥,炒白术补脾肺气,固精安胎,山茱萸益肾涩精,麦冬养阴润燥生津,同为臣药。炙甘草补脾益胃,益气复脉为使。诸药合用补肾益精以固胎之本,补气健脾以养胎之源。

T 细胞为免疫调节最主要的细胞群,可产生并分泌多种免疫细胞以维持妊娠期间母体对胚胎的免疫耐受力^[9]。T 细胞的数目或活性异常变化时,将导致母体免疫系统排斥胚胎,不益于妊娠稳定。CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺ 是重要的 T 细胞亚群,其中 CD3⁺、CD4⁺ 可参与完成细胞和体液免疫,增加母体对胎儿的攻击,易出现复发性流产^[10];CD8⁺ 可抑

制 CD4⁺ 的活性,降低细胞和体液免疫功能。治疗后患者血清 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺ 水平明显改善,表明滋肾健脾方联合淋巴细胞免疫治疗可有效改善复发性流产患者的免疫功能。本研究结果表明,滋肾健脾方联合淋巴细胞免疫治疗能明显提高复发性流产脾肾阳虚证患者的生产率、有效率,明显改善中医证候评分、炎症因子水平。本文采用中西医结合方法治疗复发性流产脾肾阳虚证患者,为复发性流产的治疗提供临床依据。

参考文献:

- [1] 韩宁,许雅娟.固肾安胎丸联合低分子肝素干预复发性流产妇女血栓前状态的疗效[J].中成药,2017,39(12):2481-2484.
- [2] LIANG TG, SHUI ZC, YAN WB, et al. Rs4265085 in GPER1 gene increases the risk for unexplained recurrent spontaneous abortion in Dai and Bai ethnic groups in China[J].Reprod Biomed Online, 2017,34(4):399-405.
- [3] 姚守珍,刘玲,王璐璐.复发性流产孕妇早期妊娠滋养细胞中 E-钙黏素的表达与 HPV 感染的相关性[J].中华医院感染学杂志,2014,24(12):3038-3040.
- [4] 谢幸,苟文丽.妇产科学[M].北京:人民卫生出版社,2013:47-49.
- [5] 中药新药临床研究指导原则[M].北京:人民卫生出版社,2002:130-131.
- [6] GUO TT, YANG YL, LIU RP, et al. Enhanced removal of intracellular organic matters (IOM) from microcystic aeruginosa by aluminum coagulation[J]. Sep Purif Technol, 2017,189(22):279-287.
- [7] YATING QB, XIN WG, RUANC HJ, et al. Circular RNAs expressed in chorionic villi are probably involved in the occurrence of recurrent spontaneous abortion [J]. Biomed Pharmacother, 2017,88(4):1154-1162.
- [8] AMBER BO, MIRANDA VE. Lipoproteins as modulators of atherothrombosis: from endothelial function to primary and secondary coagulation[J]. Vasc Pharm, 2016, 82(6): 1-10.
- [9] RON-EIR, HERMAN A, GOLAN A, et al. Gonadotropins and combined gonadotropin-releasing hormone agonist- gonadotropins protocols in a randomized prospective study[J]. Fertil Steril, 1991,55(3):574-578.
- [10] PENG FL, JIB WL, ZHUB F, et al. A study on phthalate metabolites, bisphenol A and nonylphenol in the urine of Chinese women with unexplained recurrent spontaneous abortion [J]. Environ Res, 2016,150(10):622-628.

(编辑:周建英)