

Th17/Treg 相关细胞因子失衡参与子痫前期的发病机制

谢丝雨,张英,陈繁

摘要 目的 探究 T 细胞 17/调节性 T 细胞(Th17/Treg) 相关细胞因子失衡在子痫前期发病机制中的作用。方法 收集 50 例子痫前期孕妇和 30 例正常孕妇的血清标本,用 ELISA 法测定血清中白介素-23(IL-23)及白介素-2 受体(IL-2R)的浓度;用细胞微球芯片技术(CBA)测定血清中白介素-6(IL-6)及白介素-10(IL-10)的浓度,再选取 10 例子痫前期孕妇和 6 例正常孕妇的胎盘及蜕膜组织进行实时荧光 PCR(QPCR)及免疫组化法来进一步验证相关细胞因子的表达情况。结果 子痫前期孕妇血清中 IL-10、IL-2R、IL-23、IL-6 的浓度均高于正常孕妇($P < 0.05$)。QPCR 结果显示与正常孕妇相比,子痫前期患者胎盘及蜕膜中 IL-23 mRNA 表达差异无统计学意义($P > 0.05$),而子痫前期孕妇胎盘及蜕膜中 IL-10 mRNA 的表达水平低于正常孕妇,差异有统计学意义($P < 0.05$),IL-2R mRNA 在子痫前期孕妇胎盘及蜕膜中的表达水平高于正常孕妇,差异有统计学意义($P < 0.05$)。免疫组化结果显示,IL-10 在子痫前期孕妇胎盘及蜕膜中的表达均低于正常孕妇,差异有统计学意义($P < 0.05$),IL-2R 及 IL-23 在子痫前期胎盘中的表达高于正常孕妇,差异有统计学意义($P < 0.05$),而两组蜕膜中 IL-23 及 IL-2R 的表达差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论 与正常孕妇相比,IL-10、IL-23 及 IL-2R 的表达水平在子痫前期孕妇中存在差异,这种差异可能与 Th17/Treg 细胞免疫失衡有关,提示 Th17/Treg 免疫失衡介导的相关细胞因子改变可能参与了子痫前期的发病过程。

关键词 子痫前期;Th17/Treg;IL-10;IL-23;IL-2R

中图分类号 R 714.254

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2023)07-1194-06
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2023.07.022

子痫前期是一种常见的妊娠特有的多系统疾病,它影响全世界 1.5%~16.7% 的孕妇^[1]。正常成功妊娠依赖于母体的免疫耐受机制,抑制对胎儿

和胎盘的不良免疫反应,并为胎儿生长发育提供营养支持^[2]。正常妊娠的维持是由多种免疫细胞共同参与,传统研究^[3]认为,T 细胞 1/T 细胞 2(T helper 1/T helper 2,Th1/Th2)在维持正常妊娠起主要作用。而另一对辅助性 T 细胞,T 细胞 17/调节性细胞(T helper 17/regulatory cells,Th17/Treg)在维持母婴免疫耐受中发挥重要作用,研究^[4]表明 Th17/Treg 失衡参与子痫前期的发病机制。白介素-23(interleukin-23,IL-23)作为促炎性细胞因子决定 Th17 细胞的致病性,而白介素-10(interleukin-10,IL-10)作为抑炎性细胞因子,可由 Treg 细胞分泌并反过来调节 Treg 细胞的数量,白介素-2 受体(interleukin-2 receptor,IL-2R)作为白介素-2(interleukin-2,IL-2)的受体,在子痫前期患者体内表现出差异表达^[5]。该研究通过测定子痫前期患者血清及胎盘蜕膜组织中 Th17/Treg 相关细胞因子的表达,进一步探究其在子痫前期的发病机制中的作用,并通过分析细胞因子的差异表达,以期寻找子痫前期生物标志物,对子痫前期早期发现、早期诊断具有指导意义。

1 材料与方法

1.1 研究对象 收集在安徽医科大学第一附属医院 2020 年 10 月—2022 年 3 月住院分娩孕妇 80 例,其中 50 例子痫前期孕妇,30 例正常孕妇,所有参与患者均为剖宫产方式终止妊娠并均签署知情同意书。子痫前期组纳入标准:选取标准参照《妇产科学》第 9 版教材对子痫前期的诊断,即妊娠 20 周后出现收缩压 ≥ 18.67 kPa 和(或)舒张压 ≥ 12 kPa,伴尿蛋白 ≥ 0.3 g/24 h,或随机尿蛋白阳性。或虽无蛋白尿但合并下列任何一项者:血小板减少(血小板 $< 100 \times 10^9/L$);肝功能损害(转氨酶水平为正常值 2 倍以上);肾功能损害(血肌酐水平大于)0.11 mg/L 或为正常值 2 倍以上;肺水肿;新发的中枢神经系统障碍或视觉障碍。排除标准:妊娠血小板减少、妊娠糖尿病(血糖控制不佳)、妊娠肝内胆汁淤积症以及慢性肾功能损害等疾病,以及近期存在感染性疾

2023-06-01 接收

基金项目:安徽省转化医学研究院科研基金项目(编号:2017zhys09);
安徽省重点研究与开发计划项目(编号:
201904a07020046)

作者单位:安徽医科大学第一附属医院妇产科,合肥 230022

作者简介:谢丝雨,女,硕士研究生;

张英,女,副教授,主任医师,硕士生导师,责任作者,E-mail:ahyingj@163.com

病或服用免疫相关药物。本课题经安徽医科大学第一附属医院伦理委员会审查通过(批号: P2020-12-22)。

1.2 标本收集与处理 ① 血清标本的采集与处理:采集孕妇空腹肘静脉血 3 ml,室温离心(3 000 r/min, 15 min),收取上清液,分装后置于 -80 °C 冰箱中保存待检。② 用于免疫组化检测的胎盘及蜕膜组织的标本采集与处理:术中从胎盘母体面正中取 1 cm × 1 cm × 1 cm 大小新鲜组织,用 PBS 缓冲液漂洗去除血污后用 10% 甲醛溶液固定 24 h 后石蜡包埋保存备用;另外,取胎盘娩出后宫腔擦拭取出的蜕膜组织,同法保存备用。③ 用于实时荧光 PCR (QPCR) 检测的胎盘及蜕膜组织的标本采集与处理:术中收集胎盘及蜕膜组织用 PBS 缓冲液漂洗去除血污后浸泡 5 倍体积的 RNAlater 液中,4 °C 过夜,转移至 -80 °C 冰箱保存备用。

1.3 试剂 酶联免疫吸附法 (ELISA) 试剂盒购自 R&D system 公司;细胞微球芯片技术 (CBA) Th1/Th2/Th17 细胞因子试剂盒购于美国 BD 公司;抗体购自美国 GeneTex 公司,货号如下:IL-23 (GTx85496), IL-2R (GTx60792), IL-10 (GTx632359);RNA 快速提取试剂盒购自 TIANGEN 公司;组织 RNAFixer 储存液购自北京普鲁顿生物科技有限公司;引物由上海生工生物工程有限公司设计,并购自该公司。

1.4 ELISA 法 在进行 ELISA 实验前,将血清样本置入冰上解冻,涡旋混匀;IL-2R:在每孔中添加 100 μl 的 RD1-1 稀释液,标准孔中加入 50 μl 的标准品,实验孔加入 50 μl 的血清样本,向每孔加入 200 μl 的 IL-2R 结合物,混匀后室温孵育 3 h。每孔加入 350 μl 的洗涤液,洗涤 4 次,最后一次洗涤完成后完全倾倒洗涤液,并用吸水纸擦干。再分别添加 200 μl 提前配好的显色液,室温避光孵化 20 min,每孔中添加 50 μl 的终止液。混合均匀。IL-23:在每孔中添加 100 μl 的 RD1-22 稀释液,标准孔加入 100 μl 标准品,实验孔加入 100 μl 的血清样本,室温震动器上孵化 2 h。每孔中加入 350 μl 的洗涤液,洗涤 4 次,最后一次洗涤完成后完全倾倒洗涤液,并用吸水纸擦干。每孔中加入 200 μl 提前配好的显色剂,室温震动器上孵化 2 h。重复第三步洗涤后,每孔加入 200 μl 的 IL-23 结合物,在室温下避光孵化 30 min。每孔加入 50 μl 的终止液,混合均匀。酶标仪上立刻测定吸光度,根据标准孔计算标准曲线,根据标准曲线计算每个孔对应的浓度值。

1.5 细胞微球芯片技术 (cell microsphere array,

CBA) 制备 Th1/Th2/Th17 细胞因子标准品,浓度按照说明书等比例配制,制备 Th1/Th2/Th17 细胞因子捕获微球混悬液,将微球混匀后,每管加入 50 μl 捕获微球混悬液,再依次加入 50 μl 的 Th1/Th2/Th17 PE 信号标记荧光抗体并混匀。每管加入 50 μl 相应的 Th1/Th2/Th17 细胞因子标准品稀释液,及 50 μl 待检测血清。在室温避光孵育 3 h 后各管加入 1 ml 洗液,3 000 r/min 离心 5 min。弃上清液后各管加入 300 μl 洗液,重新悬浮微球,使用流式细胞仪分析样本,根据检测获取的数据,用 CBA 专用软件自动绘制标准曲线,根据标准曲线自动计算出样本中各细胞因子含量。

1.6 QPCR 取保存于 RNAlater 液中的胎盘及蜕膜组织,严格按照动物组织 RNA 快速提取试剂盒说明书,提取组织中 RNA 并测定 RNA 浓度和纯度;按照试剂盒说明书严格操作,将 RNA 逆转录合成 cDNA,引物序列见表 1。PCR 反应体系为 20 μl,反应条件 95 °C, 30 s, 95 °C, 5 s, 60 °C, 34 s, 40 个循环;同时每个样本设置复孔,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算 IL-10、IL-23、IL-2R 的表达水平,其中 Ct 值为循环阈值。

表 1 细胞因子及内参引物序列

基因	引物序列(5'-3')
IL-10	F: GTTGTAAAGGAGTCCTTGCTG R: TTCACAGGAAGAAATCGAT
IL-23	F: TTATGAGAAGCTGCTAGGATCG R: GAAGGATTTTGAAGCGGAGAAG
IL-2R	F: TGTGAACTGTAATGCAAGAG R: TTTCTGTTCTTCAGGTTGAGGT
GADPH	F: TTCACCACCATGGAGAAGGC R: GGCATGGACTGTGGTCATGA

1.7 免疫组化 将石蜡切片放置于 60 °C 烤箱烤片 30 ~ 60 min,而后依次将其放入二甲苯 I、II、III 各 10 min,乙醇溶液(浓度梯度高至低: 100%、95%、80%、70%)浸泡各 2 min,水洗 5 min, PBS 洗 3 次, 5 min/次进行脱蜡及水化。用预热的封闭通透液浸润切片 30 min, PBS 洗 3 次;将切片浸入 pH 6.0 的柠檬酸钠缓冲液,在微波炉里高火 4 min 至沸腾后,取出自然冷却至室温,重复 2 次, PBS 洗 3 次。山羊血清 37 °C 封闭 1 h,轻轻甩去血清,一抗按照抗体说明书进行稀释(IL-10 按 1 : 500 稀释, IL-2R 按照 1 : 500 稀释, IL-23 按照 5 μg/ml 进行稀释),阴性对照采用 PBS 代替一抗,4 °C 过夜。对圈内的组织滴加稀释好的二抗,37 °C 孵育 30 min, PBS 洗 3 次, 5 min/次。用 DAB-H₂O₂ 显色 10 min;结果判定由本

院病理科医师阅片后判定。以细胞膜出现黄色棕褐色颗粒者为阳性细胞,根据每份标本中的阳性细胞染色强度所占百分比进行评定;采用 Image J 进行平均吸光度值分析。

1.8 统计学处理 应用 SPSS 26.0 软件进行统计学分析。首先对统计资料进行正态性检验,若计量资料符合正态分布,则以 $\bar{x} \pm s$ 的形式进行描述,并且两组数据运用独立样本 *t* 检验进行比较,同时要判断方差齐性;如计量资料不符合正态分布,对计量资料分型分类,运用非参数检验等统计学方法进行分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组孕妇一般临床资料的比较 对纳入研究的两组孕妇进行年龄、体质量指数 (body mass index, BMI)、孕期体质量增长量、终止孕周、收缩压、舒张压、新生儿出生体质量、Apgar 评分、随机尿尿蛋白等临床信息进行统计,见表 2。

2.2 两组血清 IL-23、IL-10、IL-6、IL-2R 表达水平比较 IL-23、IL-6、IL-10 结果的数据资料显示为非正态分布,其子痫前期患者血清中 IL-23、IL-6、IL-10 的浓度高于正常孕妇组,运用非参数检验曼-惠特尼 *U* 检验,两组差异有统计学意义,结果见表 3。IL-2R 结果的数据资料显示其为正态分布,子痫前期组为 (700.37 ± 212.85) pg/ml,正常孕妇组为 (360.58 ± 127.03) pg/ml,子痫前期患者血清中 IL-

2R 的浓度高于正常孕妇组,差异有统计学意义 ($t = 6.250, P = 0.001$)。

2.3 两组胎盘组织中 IL-10、IL-23、IL-2R mRNA 的表达 在子痫前期组胎盘组织中,IL-10 表达较正常孕妇组明显降低,差异有统计学意义 ($P < 0.05$);而 IL-2R 在子痫前期组胎盘组织中表达升高,差异有统计学意义 ($P < 0.05$);IL-23 在子痫前期组胎盘组织中表达降低,差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见图 1A-1C。

2.4 两组蜕膜组织中 IL-10、IL-23、IL-2R mRNA 的表达 在子痫前期组胎盘组织中,IL-10 表达较正常孕妇组明显降低,差异有统计学意义 ($P < 0.05$);而 IL-2R 在子痫前期组胎盘组织中表达升高,差异有统计学意义 ($P < 0.05$);IL-23 在子痫前期组胎盘组织中表达降低,差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见图 1D-1F。

2.5 IL-10、IL-23、IL-2R 在胎盘中的表达 IL-10 在正常孕妇胎盘中表达高于子痫前期组孕妇,通过测量平均吸光度值进行比较,差异有统计学意义 ($t = -3.134, P = 0.014$)。IL-23 在子痫前期患者胎盘中表达高于正常孕妇组,差异有统计学意义 ($t = 3.217, P = 0.008$);IL-2R 在子痫前期患者胎盘中表达高于正常孕妇组,差异有统计学意义 ($t = 3.421, P = 0.003$)。见图 2。

2.6 IL-10、IL-23、IL-2R 在蜕膜中的表达 IL-10 在正常孕妇蜕膜中表达高于子痫前期组孕妇,通过

表 2 两组孕妇临床参数比较 ($\bar{x} \pm s$)

指标	子痫前期组	正常孕妇组	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
<i>n</i>	50	30		
年龄(岁)	31.38 ± 5.10	30.60 ± 2.63	0.90	>0.05
BMI(kg/m ²)	29.90 ± 4.11	27.69 ± 3.38	2.48	<0.05
孕期体质量增长量(kg)	14.30 ± 6.10	15.48 ± 4.17	-0.94	>0.05
收缩压(kPa)	21.85 ± 2.93	15.71 ± 1.43	12.55	<0.01
舒张压(kPa)	14.38 ± 1.78	10.20 ± 1.29	11.17	<0.01
随机蛋白尿(1+ ~ 3+)	2.54 ± 0.61	0	29.29	<0.01
终止孕周	32.52 ± 3.60	38.79 ± 1.20	-11.33	<0.01
新生儿出生体质量(g)	1 750.60 ± 825.22	3 361.50 ± 312.51	-12.40	<0.01
1 min Apgar 评分	7.20 ± 2.89	10.00	-6.85	<0.01
5 min Apgar 评分	8.38 ± 2.72	10.00	-4.22	<0.01

表 3 两组血清 IL-23、IL-10、IL-6 表达水平比较 [pg/ml, $P_{50}(P_{25} \sim P_{75})$]

组别	<i>n</i>	IL-23	IL-10	IL-6
子痫前期	22	101.75(88.39 ~ 551.17)	2.02(0 ~ 2.50)	5.22(3.00 ~ 13.30)
正常孕妇	18	83.28(77.97 ~ 92.20)	0(0 ~ 0)	2.69(1.42 ~ 3.90)
<i>Z</i> 值		-3.49	-3.53	-3.07
<i>P</i> 值		0	0	0

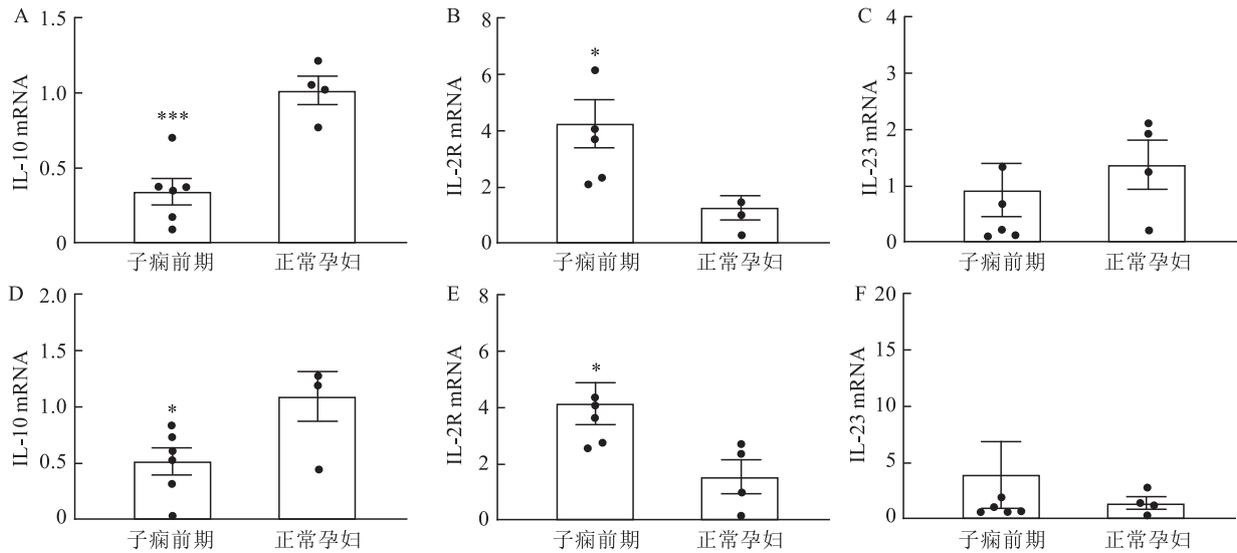


图1 IL-10、IL-23、IL-2R mRNA 在子痫前期和正常孕妇胎盘蜕膜中的表达
A、B、C: 胎盘; D、E、F: 蜕膜; 与正常孕妇组比较: * $P < 0.05$, *** $P < 0.001$

测量平均吸光度进行比较, 差异有统计学意义 ($t = -3.062, P = 0.012$); IL-23 及 IL-2R 在子痫前期患者与正常孕妇蜕膜中表达差异无统计学意义。见图 2。

3 讨论

免疫系统通过自我调节来维持正常妊娠过程, 传统研究认为 Th1/Th2 在整个妊娠期发挥主要作用, Th17/Treg 轴弥补了单一 Th1/Th2 轴的不足。在正常妊娠期间, 为了调节孕妇对胎儿免疫耐受反应, 母体胎盘蜕膜及外周血中 Treg 细胞数量显著增加。然而 Th17 细胞过度激活高表达促炎因子则会进一步招募免疫效应细胞, 从而导致一系列炎症性疾病, 如子痫前期等^[6]。

子痫前期的发病机制目前尚不明确, 而辅助性 T 细胞在子痫前期患者的免疫调节中起到核心作用^[7]。子痫前期患者外周血中 Th17 细胞百分率及 Th17/Treg 比值明显高于正常孕妇^[8], 外周血中促进 Th17 细胞生成的细胞因子也呈升高趋势, 而与 Treg 生成的相关细胞因子呈下降趋势, Treg 细胞下降并向 Th17 细胞偏移会导致子痫前期^[9]。在子痫前期患者表现出临床症状之前, 已存在辅助性 T 细胞以 Treg 向 Th17 分化增多, 并伴随相关细胞因子的变化, 细胞因子通常分为促炎因子和抗炎因子, 并与表达他们的 Th 细胞亚群相关联, Th17 及 Treg 都有其特定的细胞因子谱, 由这些辅助性 T 细胞亚群产生的细胞因子在免疫细胞分化和效应细胞反应中

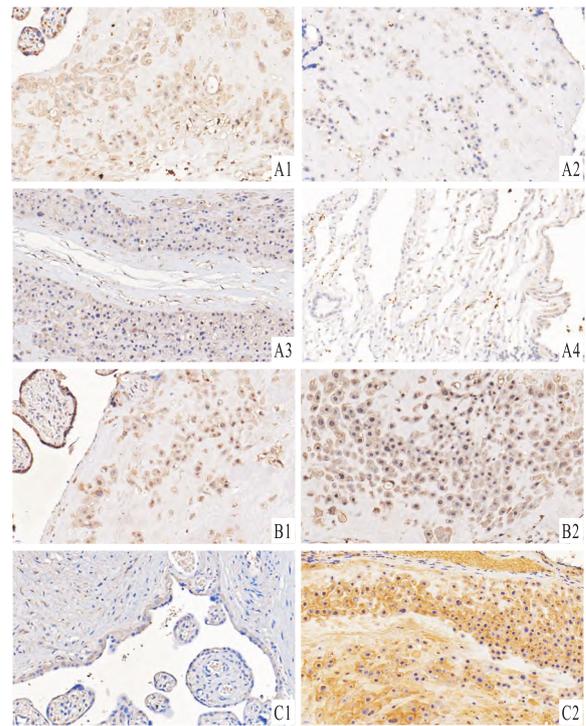


图2 免疫组化检测子痫前期和正常孕妇中
IL-10、IL-23、IL-2R 的表达 ×40

A1: IL-10 在正常孕妇胎盘中的表达; A2: IL-10 在子痫前期胎盘中的表达; A3: IL-10 在正常孕妇蜕膜中的表达; A4: IL-10 在子痫前期蜕膜中的表达; B1: IL-23 在正常孕妇胎盘中的表达; B2: IL-23 在子痫前期胎盘中的表达; C1: IL-2R 在正常孕妇胎盘中的表达; C2: IL-2R 在子痫前期胎盘中的表达

起重要作用。

IL-6、IL-23 是诱导 T 细胞分化为 Th17 细胞必

须的,IL-23 对 Th17 起到稳定活化及扩增的作用,IL-23 能将 CD4(+) T 细胞诱导为高致病性 Th17,阻断 IL-23 能够有效抑制如子痫前期等疾病的发生及进展^[10]。IL-10 具有强大的抗炎效应,不仅可以影响 Th17 细胞的分化,IL-10 同样是 Treg 细胞发挥抗炎作用并维持动态平衡所必须的^[11]。

IL-2R 即白细胞介素 2 受体,介导了 IL-2 的作用,它与血清中的 IL-2 结合抵消了细胞因子与细胞表面受体的结合,影响了白介素特异性的细胞反应。在子痫前期以及多种妊娠期疾病中均有较高的表达^[12]。

本研究通过测定子痫前期和正常孕妇血清及胎盘蜕膜组织中 Th17/Treg 相关性细胞因子的浓度,进一步分析 Th17/Treg 细胞轴在子痫前期发病机制中所起的作用。本研究中子痫前期组外周血中 IL-10、IL-6、IL-23、IL-2R 浓度明显高于正常孕妇组,IL-23、IL-6 作为炎性细胞因子,是促进 Th17 分化及诱导其致病性的关键细胞因子,其浓度升高提示子痫前期患者外周血中 Th17 细胞占主导地位,以炎症反应为主。IL-10 作为一种抗炎性细胞因子,其在子痫前期组表达上升,与传统观点不符,由于子痫前期患者往往终止孕周较小,而 IL-10 在外周血中的含量受到孕周影响^[13],因此孕周差异可能是导致结果与其他学者结论不一致的原因,需要扩大样本量来验证。子痫前期患者往往在表现出临床症状之前,已出现特殊标志物改变,研究^[14]表明 IL-2R 可在子痫前期患者体内表现出差异表达。本研究中子痫前期患者血清中 IL-2R 水平明显高于正常孕妇组,作为免疫细胞激活标志物,其含量明显上升,可通过进一步研究子痫前期严重程度与 IL-2R 表达水平是否存在相关性,来检验其能否作为子痫前期诊断以及分类的重要指标。

QPCR 结果提示 IL-10 mRNA 在子痫前期组胎盘及蜕膜中明显低于正常孕妇组,进一步免疫组化验证结果与 QPCR 一致。这与传统研究认为 IL-10 作为 Treg 相关细胞因子,与 Treg 细胞数量下降相符。作为一种抗炎性细胞因子,其表达含量在子痫前期中下降,提示 Treg 细胞被抑制,体内存在抗炎与抑炎反应失衡,可能是导致胎盘功能受损的原因之一。子痫前期患者胎盘及蜕膜组织中 IL-23 表达差异与血清中不同。IL-23 在子痫前期患者胎盘及蜕膜组织中表达情况尚不明确^[15],IL-23 作为 Th17 致病性的关键性细胞因子在子痫前期患者胎盘及蜕膜组织中表达升高。而本研究胎盘及蜕膜组织中

IL-23 mRNA 的表达水平差异无统计学意义,进一步通过免疫组化法检测 Th17 相关细胞因子 IL-23 的表达,结果显示与正常孕妇相比,子痫前期组胎盘中 IL-23 表达含量增多,提示 Th17 细胞数量增多可能导致 IL-23 表达升高,而本研究 QPCR 结果在两组中表达无差异,提示胎盘及蜕膜组织中可能存在其他细胞因子影响 IL-23 的表达。IL-2R 作为 T 淋巴细胞激活的标志物,其表达含量在胎盘蜕膜中均呈现上升趋势。这种差异表达可以进一步为评估子痫前期发病机制及进展提供思路。而免疫组化结果提示胎盘中子痫前期组表达增多,与 QPCR 结果一致,而蜕膜中两组差异无统计学意义,可能与蜕膜组织难以处理有关。

综上所述,在子痫前期与正常孕妇的体内,Th17/Treg 相关细胞因子存在差异表达,促炎因子 IL-23 表达含量的改变与子痫前期中 Th17 细胞活化、炎症过度激活有关。IL-10 作为抑炎性细胞因子,与 Treg 数量下降有直接关系,进而参与子痫前期的发病机制。本研究中 IL-2R 在子痫前期中表达水平存在明显差异,证明其表达增多参与子痫前期的发病机制,而这种差异表达可将其作为预测并诊断子痫前期重要标志物,为早诊断、早期发现子痫前期提供新思路。

参考文献

- [1] Phipps E A, Thadhani R, Benzing T, et al. Pre-eclampsia: pathogenesis, novel diagnostics and therapies [J]. *Nat Rev Nephrol*, 2019, 15(5): 275 - 89.
- [2] de Groot C J, van der Mast B J, Visser W, et al. Preeclampsia is associated with increased cytotoxic T-cell capacity to paternal antigens [J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2010, 203(5): 496 e1 - 6.
- [3] Eghbal-Fard S, Yousefi M, Heydarlou H, et al. A bias away from Th2 in amniotic fluid is involved in preeclampsia [J]. *J Reprod Immunol*, 2022, 152: 103656.
- [4] Eghbal-Fard S, Yousefi M, Heydarlou H, et al. The imbalance of Th17/Treg axis involved in the pathogenesis of preeclampsia [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(4): 5106 - 16.
- [5] Chen H Y, Wang X Y, Lu K M, et al. Maternal Th17/Treg cytokines and small extracellular vesicles in plasma as potential biomarkers for preeclampsia [J]. *Int J Med Sci*, 2022, 19(11): 1672 - 9.
- [6] Sakaguchi S. Naturally arising Foxp3-expressing CD25 + CD4 + regulatory T cells in immunological tolerance to self and non-self [J]. *Nat Immunol*, 2005, 6(4): 345 - 52.
- [7] McRae J L, Russell P A, Chia J S, et al. Overexpression of CD39 protects in a mouse model of preeclampsia [J]. *Nephrology (Carlton)*, 2013, 18(5): 351 - 5.

- [8] Zhang Y, Liu Z, Tian M, et al. The altered PD-1/PD-L1 pathway delivers the 'one-two punch' effects to promote the Treg/Th17 imbalance in pre-eclampsia [J]. *Cell Mol Immunol*, 2018, 15(7): 710–23.
- [9] Vijayendra Chary A, Hemalatha R, Seshacharyulu M, et al. Vitamin D deficiency in pregnant women impairs regulatory T cell function [J]. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2015, 147: 48–55.
- [10] Tristão F S M, Rocha F A, Carlos D, et al. Th17-inducing cytokines IL-6 and IL-23 are crucial for granuloma formation during experimental paracoccidiodomycosis [J]. *Front Immunol*, 2017, 8: 949.
- [11] Kobayashi T, Matsuoka K, Sheikh S Z, et al. NFIL3 is a regulator of IL-12 p40 in macrophages and mucosal immunity [J]. *J Immunol*, 2011, 186(8): 4649–55.
- [12] Permanyer M, Bošnjak B, Glage S, et al. Efficient IL-2R signaling differentially affects the stability, function, and composition of the regulatory T-cell pool [J]. *Cell Mol Immunol*, 2021, 18(2): 398–414.
- [13] Kumar A, Begum N, Prasad S, et al. IL-10, TNF-alpha & IFN-gamma: potential early biomarkers for preeclampsia [J]. *Cell Immunol*, 2013, 283(1–2): 70–4.
- [14] Kaleli I, Kaleli B, Demir M, et al. Serum levels of neopterin and interleukin-2 receptor in women with severe preeclampsia [J]. *J Clin Lab Anal*, 2005, 19(2): 36–9.
- [15] Gharesi-Fard B, Mobasher-Nejad F, Nasri F. The expression of T-helper associated transcription factors and cytokine genes in preeclampsia [J]. *Gharesifard B*, 2016, 13(4): 296–308.

Th17/Treg related cytokine imbalance participates in the pathogenesis of preeclampsia

Xie Siyu, Zhang Ying, Chen Fan

(Dept of Obstetrics and Gynecology, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022)

Abstract Objective To explore the role of T cell 17/regulatory T cell (Th17/Treg) related cytokine imbalance in the pathogenesis of preeclampsia. **Methods** Serum samples from 50 preeclampsia pregnant women and 30 normal pregnant women were collected, and the concentration of interleukin-23 (IL-23) and interleukin-2 receptor (IL-2R) in serum was tested using ELISA. Additionally, the concentration of interleukin-6 (IL-6) and interleukin-10 (IL-10) in serum was measured using cell microsphere array (CBA) technology. Then placental and decidual tissues of 10 pregnant women with preeclampsia and 6 normal pregnant women were selected for further verification of the expression of related cytokines by using QPCR and immunohistochemistry. **Results** The concentrations of IL-10, IL-2R, IL-23 and IL-6 in the serum of preeclampsia pregnant women were higher than those of normal pregnant women ($P < 0.05$). The QPCR results showed that, compared to normal pregnant women, there was no statistically significant difference in the expression of IL-23 mRNA in the placenta and decidua tissues of preeclampsia patients ($P > 0.05$), while the expression level of IL-10 mRNA in the placenta and decidua tissues of preeclampsia patients was lower than that of normal pregnant women, with a statistically significant difference ($P < 0.05$). The expression level of IL-2R mRNA in the placenta and decidua tissues of preeclampsia patients was higher than that of normal pregnant women, with a statistically significant difference ($P < 0.05$). The immunohistochemical results showed that the expression of IL-10 in the placenta and decidua of preeclampsia pregnant women was lower than that of normal pregnant women, with a statistically significant difference ($P < 0.05$). The expression of IL-2R and IL-23 in the placenta of preeclampsia was higher than that of normal pregnant women, with a statistically significant difference ($P < 0.05$). However, there was no statistically significant difference in the expression of IL-23 and IL-2R in the decidua of the two groups ($P > 0.05$). **Conclusion** Compared with normal pregnant women, there are differences in the expression levels of IL-10, IL-23, and IL-2R in preeclampsia pregnant women. This difference may be related to Th17/Treg cellular immune imbalance, suggesting that Th17/Treg immune imbalance mediated changes in related cytokines may be involved in the pathogenesis of preeclampsia.

Key words preeclampsia; Th17/Treg; IL-10; IL-23; IL-2R