

doi: 10.7499/j.issn.1008-8830.2015.03.003

论著·临床研究

胎盘炎症及胎儿炎症反应综合征与早产儿脑损伤的关系研究

张强¹ 卢红艳¹ 王金秀² 毛旭琴³ 马江林¹ 卢隽滢¹ 王秋霞¹

(1. 江苏大学附属医院儿科, 江苏 镇江 212001; 2. 常州市妇幼保健院, 江苏 常州 213000;
3. 镇江市妇幼保健院, 江苏 镇江 212001)

[摘要] **目的** 探讨胎盘组织学绒毛膜羊膜炎(HCA)及胎儿炎症反应综合征(FIRS)与早产儿脑损伤的关系。**方法** 选取胎龄34周以下并伴有胎膜早破(PROM)的单胎早产儿103例,分为HCA⁻FIRS⁻、HCA⁺FIRS⁻、HCA⁺FIRS⁺等3组,采用液相芯片分析技术检测脐血IL-6、IL-8、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、粒细胞集落刺激因子(G-CSF)水平。**结果** HCA发生率、FIRS及脑损伤发生率分别为53.4%、20.4%、38.8%。HCA⁻FIRS⁻、HCA⁺FIRS⁻、HCA⁺FIRS⁺组脑损伤发生率分别为21%、41%和76%($P<0.01$)。胎盘2级和3级炎症及炎症的2期和3期均是早产儿脑损伤的危险因素($P<0.01$)。HCA⁺FIRS⁺组IL-8、TNF- α 及G-CSF水平明显高于另外2组,且HCA⁺FIRS⁻高于HCA⁻FIRS⁻组($P<0.05$)。**结论** 胎盘炎症合并FIRS与早产儿脑损伤密切相关,且胎盘炎症程度越重、进展越快,早产儿脑损伤发生风险越高。IL-8、TNF- α 及G-CSF可能在胎盘炎症合并FIRS的早产儿脑损伤发生过程中起重要介导作用。**[中国当代儿科杂志, 2015, 17(3): 217-221]**

[关键词] 胎盘炎症; 胎儿炎症反应综合征; 脑损伤; 细胞因子; 早产儿

Relationship between placental inflammation and fetal inflammatory response syndrome and brain injury in preterm infants

ZHANG Qiang, LU Hong-Yan, WANG Jin-Xiu, MAO Xu-Qin, MA Jiang-Lin, LU Jun-Ying, WANG Qiu-Xia. Department of Pediatrics, The Affiliated Hospital of Jiangsu University, Zhenjiang, Jiangsu 212001, China (Lu H-Y, Email: lhy5154@163.com)

Abstract: Objective To explore the relationship between histological chorioamnionitis (HCA) and fetal inflammatory response syndrome (FIRS) and brain injury in preterm infants. **Methods** One hundred and three singleton infants with premature rupture of membranes (PROM) (gestation ages of less than 34 weeks) were enrolled. All the placentas were submitted for pathological evaluation. Umbilical cord blood interleukin 6 (IL-6), interleukin 8 (IL-8), tumor necrosis factor alpha (TNF- α) and granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF) levels were measured with liquid chip. All preterm infants accepted brain imaging examinations. Based on the placental pathological examination and umbilical cord blood level of IL-6, the 103 infants were classified into HCA⁻FIRS⁻, HCA⁺FIRS⁻, and HCA⁺FIRS⁺ groups. **Results** The incidences of HCA, FIRS, and brain injury were 53.4%, 20.4% and 38.8% respectively. The prevalence of brain injury in HCA⁻FIRS⁻, HCA⁺FIRS⁻, and HCA⁺FIRS⁺ cases was 21%, 41%, and 76% respectively ($P<0.01$). The grade 2 and grade 3 of placental inflammation and the inflammation at stage 2 and stage 3 increased the risk of brain injury. The cord blood levels of IL-8, TNF- α , and G-CSF in the HCA⁺FIRS⁺ group were significantly higher than in the other two groups, and the levels of the above parameters in the HCA⁺FIRS⁻ were higher than in the HCA⁻FIRS⁻ group ($P<0.05$). **Conclusions** Placental inflammation and FIRS are associated with brain injury in preterm infants. Preterm infants exposed to severe placental inflammation have an increased risk of brain injury. Cord blood IL-8, TNF- α and G-CSF may be involved in the process of brain injury in preterm infants with placental inflammation and FIRS. **[Chin J Contemp Pediatr, 2015, 17(3): 217-221]**

Key words: Placental inflammation; Fetal inflammatory response syndrome; Brain injury; Cytokine; Preterm infant

[收稿日期] 2014-07-29; [接受日期] 2014-09-23

[作者简介] 张强, 男, 硕士研究生。

[通信作者] 卢红艳, 女, 主任医师。

据统计,目前我国早产儿出生率约为8.1%^[1],其发生原因部分与宫内感染有关,宫内感染可引起胎儿炎症反应综合征(fetal inflammatory response syndrome, FIRS),导致多脏器损伤^[2-3]。研究报道,有绒毛膜羊膜炎暴露的早产儿,其罹患严重的脑室周围-脑室内出血(periventricular-intraventricular hemorrhage, PVH-IVH)或脑室周围白质软化(periventricular leukomalacia, PVL)等脑损伤的风险会明显增加^[4-5]。孕母绒毛膜羊膜炎可引起FIRS, FIRS是胎儿免疫系统活化释放大致炎因子(IL-6、IL-1、IL-8、TNF- α 等)而导致的一种亚临床状态,这些致炎因子可干扰胎儿大脑细胞因子的正常表达,导致早产儿脑损伤^[6]。目前联合胎盘炎症及FIRS研究早产儿脑损伤的报道较少,本研究基于胎盘病理检查及相关细胞因子检测,探讨胎盘炎症及FIRS与早产儿脑损伤的关系,为早产儿脑损伤的预防及早期监测提供临床依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2012年8月至2013年10月在江苏大学附属医院、常州市妇幼保健院、镇江市妇幼保健院产科分娩的胎龄<34周伴有胎膜早破(premature rupture of the membranes, PROM)的单胎早产儿为研究对象。排除以下病例:(1)母亲有合并症,如妊娠期糖尿病、妊娠高血压综合征、胎盘早剥、前置胎盘及妊娠合并心脏病等;(2)胎儿有遗传代谢疾病、神经系统畸形、围生期后感染性疾病和其它系统畸形。

1.2 胎盘组织病理检查

胎盘及胎膜于娩出后以胎盘破口为中心取4 cm×4 cm胎膜组织并制成胎膜卷,在胎盘中心、中间带及边缘多点取材。要同时包括羊膜、绒毛膜板、绒毛及蜕膜。标本经10%甲醛固定,石蜡包埋切片,苏木精-伊红染色,切片由病理科高年资医生专人负责阅片,并对其在临床信息方面施盲。

1.3 脐带血细胞因子检测

胎儿出生断脐后从胎盘端行脐静脉穿刺抽取脐血3 mL,静置10 min后离心(2000 r/min)10 min,留取血清,保存于-70℃待检,用液相芯

片分析仪检测白细胞介素-6(IL-6)、白细胞介素-8(IL-8)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、粒细胞集落刺激因子(G-CSF)(试剂盒购自美国默克密理博公司),操作方法严格按照试剂盒说明进行。

1.4 胎盘炎症分级及分期诊断标准

以胎盘组织学绒毛膜羊膜炎(histological chorioamnionitis, HCA)为主,即母体中性粒细胞浸润到羊膜、绒毛膜及蜕膜。

根据中性粒细胞浸润的数量分为三级代表炎症程度:1级:1~9个/20×;2级:10~19个/20×;3级:≥20个/20×。

炎症分期:1期:中性粒细胞浸润较少、散在,几乎全部局限于绒毛膜间隙;2期:中性粒细胞浸润增多,并延伸至绒毛膜组织内绒毛膜板,但未进入羊膜;3期:中性粒细胞浸润到羊膜上皮细胞,分期代表病程进展情况^[7]。

1.5 FIRS 诊断标准

(1)新生儿脐带血IL-6>11 pg/mL;(2)胎盘病理表现为绒毛膜羊膜炎^[8]。根据胎盘病理及脐带血IL-6水平,将所有病例分为HCA⁻FIRS⁻、HCA⁺FIRS⁻及HCA⁺FIRS⁺等3组。

1.6 早产儿脑损伤影像学检查

所有早产儿生后3 d内行首次头颅超声检查,后隔周复查1次,直至出院。对头颅超声未见异常,但疑有颅内病变者行头颅MRI或CT检查,确诊是否存在脑损伤。早产儿脑损伤可分为:(1)颅内出血:包括PVH-IVH、蛛网膜下腔、小脑、基底核及桥脑等出血;(2)PVL;(3)其它如脑梗塞等^[9]。有上述改变之一者均纳入脑损伤组。

1.7 统计学分析

采用SPSS 16.0统计软件对数据进行处理,资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)或率(%)或例数表示,组间比较采用方差分析或 χ^2 检验。胎盘炎症分级、分期与早产儿脑损伤风险的关系采用logistic回归分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况

本研究纳入早产儿共103例,其中男61例,女42例,平均出生体重2106±476 g,平均胎龄32.8±1.6周。HCA 55例(53.4%),FIRS 21例

(20.4%)。其中 HCA⁻FIRS⁻ 组 48 例、HCA⁺FIRS⁻ 组 34 例、HCA⁺FIRS⁺ 组 21 例。3 组间的性别、出生体重、胎龄差异无统计学意义 ($P>0.05$), 见表 1。

表 1 患儿一般临床资料 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	性别 (例)		出生体重 (g)	胎龄 (周)
		男	女		
HCA ⁻ FIRS ⁻	48	28	20	2027 ± 457	32.9 ± 1.6
HCA ⁺ FIRS ⁻	34	19	15	2151 ± 462	32.6 ± 1.5
HCA ⁺ FIRS ⁺	21	14	7	2215 ± 530	32.8 ± 1.6
$F(\chi^2)$ 值		(0.655)		1.385	0.496
P 值		0.721		0.255	0.611

2.2 早产儿脑损伤与 HCA 及 FIRS 的关系

罹患脑损伤的早产儿 40 例 (38.8%), 其中颅内出血 23 例, PVL 15 例, 脑梗塞 2 例。HCA⁻FIRS⁻、HCA⁺FIRS⁻、HCA⁺FIRS⁺ 组脑损伤发生率分别为 21% (10/48)、41% (14/34) 和 76% (16/21), 3 组间脑损伤发生率差异有统计学意义 ($\chi^2=18.964$, $P<0.01$), 其中 HCA⁺FIRS⁺ 组高于 HCA⁺FIRS⁻ 组和 HCA⁻FIRS⁻ 组, HCA⁺FIRS⁻ 组高于 HCA⁻FIRS⁻ 组 ($P<0.05$)。

2.3 早产儿脑损伤与胎盘炎症分级及分期的关系

Logistic 回归分析显示: 胎盘炎症 2 级和 3 级是早产儿脑损伤的危险因素; 胎盘炎症的 2 期和 3 期也是早产儿脑损伤的危险因素。见图 1, 表 2~3。

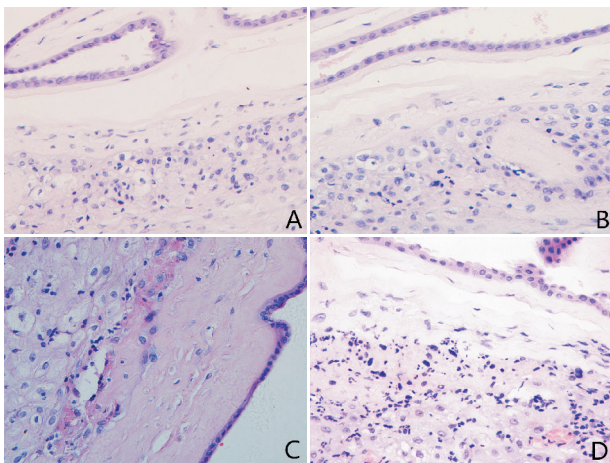


图 1 胎盘组织病理切片的炎症分级及分期 (苏木精-伊红染色, $\times 200$) A: HCA+0 级、0 期, 正常绒毛膜羊膜组织; B: HCA+1 级、1 期, 少量中性粒细胞浸润到绒毛及羊膜下层; C: HCA+2 级、2 期, 中等量的中性粒细胞浸润到绒毛及羊膜下层; D: HCA+3 级、3 期, 大量中性粒细胞浸润到绒毛及羊膜的基底膜, 有部分羊膜上皮细胞坏死脱落。

表 2 胎盘炎症分级与早产儿脑损伤风险的分析

HCA	例数	脑损伤发病率 [例 (%)]	OR	95% CI	P 值
0 级	48	10(21)	1	参照	参照
1 级	25	10(40)	2.5	0.877~7.319	0.086
2 级	18	11(61)	7.6	2.284~5.292	0.001
3 级	12	9(75)	11.4	2.593~50.116	0.001

表 3 胎盘炎症分期与早产儿脑损伤风险的分析

HCA	例数	脑损伤发病率 [例 (%)]	OR	95% CI	P 值
0 期	48	10(21)	1	参照	参照
1 期	28	11(39)	2.459	0.878~6.886	0.087
2 期	18	12(67)	5.971	1.842~19.358	0.003
3 期	9	7(78)	13.300	2.384~74.195	0.003

2.4 胎盘炎症及 FIRS 与脐血 IL-8、G-CSF、TNF- α 含量的关系

HCA⁺FIRS⁻、HCA⁺FIRS⁺ 组脐血细胞因子 IL-8、TNF- α 和 G-CSF 水平明显高于 HCA⁻FIRS⁻ 组, 且 HCA⁺FIRS⁺ 组上述细胞因子水平明显高于 HCA⁺FIRS⁻ 组, 差异均有统计学意义 ($P<0.05$), 见表 4。

表 4 胎盘炎症及 FIRS 与脐血 IL-8、G-CSF、TNF- α 含量的关系 ($\bar{x} \pm s$, pg/mL)

组别	例数	IL-8	G-CSF	TNF- α
HCA ⁻ FIRS ⁻	48	29 ± 19	122 ± 51	23 ± 8
HCA ⁺ FIRS ⁻	34	42 ± 25 ^a	177 ± 65 ^a	28 ± 14 ^a
HCA ⁺ FIRS ⁺	21	66 ± 34 ^{a,b}	407 ± 137 ^{a,b}	35 ± 14 ^{a,b}
F 值		12.79	62.676	9.15
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

注: a 示与 HCA⁻FIRS⁻ 组比较, $P<0.05$; b 示与 HCA⁺FIRS⁻ 组比较, $P<0.05$ 。

3 讨论

PROM 是产科常见并发症, 也是早产最常见的原因^[10]。约 30% 的 PROM 妇女被发现羊膜腔有微生物侵入, 至少 50% 的 PROM 病人在分娩时有感染的组织学征象^[11]。本研究发现, PROM 后 HCA 发生率为 53.4%, 且这部分早产儿脑损伤发

生率较未合并绒毛膜羊膜炎者明显增高,说明母亲 PROM 后合并绒毛膜羊膜炎是早产儿脑损伤的高危因素。Zanardo 等^[4]报道,孕母罹患绒毛膜羊膜炎的早产儿脑室内出血发生率可达 16.1%,且胎盘炎症及炎症的 3 级及 3 期可使脑室内出血的风险高 3.2 倍。本研究发现,胎盘 2、3 级炎症及 2、3 期炎症为早产儿脑损伤的危险因素,与文献报道一致。提示胎盘炎症程度、进展情况与早产儿脑损伤发病风险密切相关,胎盘炎症分级及分期越高,脑损伤发病风险越高。当胎盘组织炎症反应持续进展及炎症反应强度增加时,可导致严重的羊膜炎及 FIRS。目前,宫内感染导致早产儿脑损伤的具体机制尚不十分清楚,可能与干扰胎盘血液循环及引起胎儿全身炎症反应有关。研究发现,发生绒毛膜羊膜炎时,胎盘血流减少,胎儿及新生儿脑血流明显下降,早产儿脑血管自主调节功能发育不完善,可引起缺血性脑损伤^[12]。Brochu 等^[13]报道,宫内感染后血流动力学障碍可能和大量前炎症细胞因子释放有关。这些前炎症细胞因子可通过影响小胶质细胞、少突胶质细胞、星形细胞和髓鞘形成,诱导其它细胞因子产生细胞损害、介导一氧化氮的神经毒性和兴奋性氨基酸的细胞毒性作用等多种途径最终导致脑损伤^[14-16]。

宫内感染可引起 FIRS,这种反应受前炎症细胞因子、单核巨噬细胞产生的小分子糖蛋白调节。Gomez 等^[17]发现,胎儿脐血 IL-6 含量是新生儿发生严重并发症的独立危险因素,并首次定义 FIRS,以脐血 IL-6 > 11 pg/mL 作为 FIRS 参考标准,而绒毛膜羊膜炎是 FIRS 的组织病理学标志^[18]。本研究联合胎盘炎症及 FIRS 发现,HCA⁺FIRS⁻组和 HCA⁺FIRS⁺组早产儿脑损伤发病率较 HCA⁻FIRS⁻组明显增高,HCA⁺FIRS⁺组早产儿脑损伤发生率 HCA⁺FIRS⁻组明显增加,进一步说明宫内感染后 FIRS 是早产儿脑损伤发生的重要病理生理学基础。Salas 等^[19]发现,严重的胎儿炎症反应和早产儿神经发育障碍及死亡有密切联系。

胎儿发生宫内感染时,病原微生物被相应受体识别,并激活天然免疫系统,诱导一系列炎症级联反应发生,产生 IL-1 β 、IL-6、IL-8、TNF- α 、G-CSF 等大量炎症细胞因子。本研究发现,与 HCA⁻FIRS⁻组相比,HCA⁺FIRS⁻组脐血 IL-8、TNF- α 及 G-CSF 水平明显升高,提示孕母绒毛膜羊膜炎时,母体

免疫系统活化,炎症细胞因子水平增加可预测宫内感染。与 HCA⁺FIRS⁻组相比,HCA⁺FIRS⁺组脐血 IL-8、TNF- α 及 G-CSF 水平明显升高,提示宫内感染胎盘炎症反应可进一步诱导 FIRS,炎症细胞因子进一步增加。Hecht 等^[7]发现脐血细胞因子水平与胎儿炎症反应的严重程度呈线性关系,提示胎儿炎症反应越重,则脐血炎性细胞因子浓度升高越明显。监测炎症细胞因子水平可预测胎儿炎症反应程度,但胎儿全身炎症反应后,炎症细胞因子如何通过血脑屏障,如何引起发育中的大脑炎症反应,导致脑损伤,确切机制尚不完全清楚。动物实验发现,羊膜内注入脂多糖(LPS)后 48~96 h,在脑室周围及皮层下白质、室周损伤的血管等组织中,炎症细胞因子 mRNA 表达量明显增加,脑白质中炎症细胞增加,脑损伤的发生率及严重程度较对照组明显增加,说明炎症细胞因子在宫内感染后早产儿脑损伤中起重要介导作用,测定脐血炎性细胞因子水平可作为早产儿脑损伤的早期预测方法之一^[20]。

综上,本研究结果提示胎盘炎症合并 FIRS 与早产儿脑损伤密切相关,且胎盘炎症程度越重、进展越快,早产儿脑损伤发病风险越高。脐血中 IL-8、TNF- α 及 G-CSF 可能在宫内感染合并 FIRS 后早产儿脑损伤发生的过程中起重要的介导作用。因此,对 PROM 的孕产妇行胎盘病理学检查,并对其炎症程度分级、分期,同时结合脐血 IL-8、TNF- α 及 G-CSF 等细胞因子检测,能早期、快速、准确诊断宫内感染及 FIRS 的存在,并为早产儿脑损伤的早期监测提供依据。

[参 考 文 献]

- [1] 李娟,王庆红,吴红敏,等. 2005 年中国城市产科新生儿出生状况调查[J]. 中国当代儿科杂志, 2012, 14(1): 7-10.
- [2] Vrachnis N, Vitoratos N, Iliodromiti Z, et al. Intrauterine inflammation and preterm delivery[J]. Ann N Y Acad Sci, 2010, 1205(1): 118-122.
- [3] Hofer N, Kothari R, Morris N, et al. The fetal inflammatory response syndrome is a risk factor for morbidity in preterm neonates[J]. Am J Obstet Gynecol, 2013, 209(6): 542.
- [4] Zanardo V, Vedovato S, Suppiej A, et al. Histological inflammatory responses in the placenta and early neonatal brain injury[J]. Pediatr Dev Pathol, 2008, 11(5): 350-354.
- [5] Leviton A, Allred EN, Kuban KCK, et al. Microbiologic and histologic characteristics of the extremely preterm infant's placenta predict white matter damage and later cerebral palsy.

- the ELGAN study[J]. *Pediatr Res*, 2010, 67(1): 95-101.
- [6] Meyer U, Feldon J, Yee BK. A review of the fetal brain cytokine imbalance hypothesis of schizophrenia[J]. *Schizophr Bull*, 2009, 35(5): 959-972.
- [7] Hecht JL, Fichorova RN, Tang VF, et al. The relationship between neonatal blood protein profiles and placenta histologic characteristics in extremely low gestation age newborns[J]. *Pediatr Res*, 2011, 69(1): 68-73.
- [8] 邵肖梅, 叶鸿瑁, 丘小汕. 实用新生儿学 [M]. 第 4 版. 北京: 人民卫生出版社, 2011: 39-40.
- [9] 刘敬, 杨于嘉, 封志纯. “早产儿脑损伤诊断与防治专家共识”解读 [J]. *中国当代儿科杂志*, 2012, 14(12): 885-887.
- [10] Hansen-Pupp I, Hallin AL, Hellström-Westas L, et al. Inflammation at birth is associated with subnormal development in very preterm infants[J]. *Pediatr Res*, 2008, 64(2): 183-188.
- [11] Magee B, Smith G. Histological chorioamnionitis associated with preterm prelabour rupture of membranes at kingston general hospital: a practice audit[J]. *J Obstet Gynaecol Can*, 2013, 35(12): 1083-1089.
- [12] Fukuda S, Yokoi K, Kitajima K, et al. Influence of premature rupture of membrane on the cerebral blood flow in low-birth-weight infant after the delivery[J]. *Brain Dev*, 2010, 32(8): 631-635.
- [13] Brochu ME, Girard S, Lavoie K, et al. Developmental regulation of the neuroinflammatory responses to LPS and/or hypoxia-ischemia between preterm and term neonates: an experimental study[J]. *J Neuroinflammation*, 2011, 8(8): 55.
- [14] Campbell LR, Pang Y, Ojeda NB, et al. Intracerebral lipopolysaccharide induces neuroinflammatory change and augmented brain injury in growth-restricted neonatal rats[J]. *Pediatr Res*, 2012, 71(6): 645-652.
- [15] Khwaja O, Volpe JJ. Pathogenesis of cerebral white matter injury of prematurity[J]. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*, 2008, 93(2): 153-161.
- [16] Kaur C, Rathnasamy G, Ling EA. Roles of activated microglia in hypoxia induced neuroinflammation in the developing brain and the retina[J]. *J Neuroimmune Pharmacol*, 2013, 8(1): 66-78.
- [17] Gomez R, Romero R, Ghezzi F, et al. The fetal inflammatory response syndrome[J]. *Am J Obstet Gynecol*, 1998, 179(1): 194-202.
- [18] Pacora P, Chaiworapongsa T, Maymon E, et al. Funisitis and chorionic vasculitis: the histological counterpart of the fetal inflammatory response syndrome[J]. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 2002, 11(1): 18-25.
- [19] Salas AA, Faye-Petersen OM, Sims B, et al. Histological characteristics of the fetal inflammatory response associated with neurodevelopmental impairment and death in extremely preterm infants[J]. *J Pediatr*, 2013, 163(3): 652-657.
- [20] Polglase GR, Nitsos I, Baburamani AA, et al. Inflammation in utero exacerbates ventilation-induced brain injury in preterm lambs[J]. *J Appl Physiol*, 2012, 112(3): 481-489.

(本文编辑: 王庆红)

· 消息 ·

中德儿科高峰论坛暨新生儿临床实践疑难问题研讨会学习班通知

由南方医科大学附属佛山市妇幼保健院、佛山市医学会与中华实用儿科临床杂志社联合举办的中德儿科高峰论坛暨新生儿临床实践疑难问题研讨会学习班 [国家级继续医学教育项目, 编号: 2015-06-03-062 (国)] 定于 2015 年 3 月 26~29 日在佛山举行。欢迎儿科及新生儿科同道踊跃参会。

联系方式: 郑老师 (18929938411)、张老师 (18927764056);

Email: 422103111@qq.com;

地址: 佛山市禅城区人民西路 11 号, 邮政编码: 528000。

南方医科大学附属佛山市妇幼保健院

佛山市医学会

2015 年 1 月 23 日