

# 移植前胚胎培养液 IL-8 在评价胚胎质量和妊娠结局中的价值\*

黄官友, 龙爱专, 赵淑云\*\*, 周桦, 杨朝, 田维婷

(贵州医科大学附院 生殖中心, 贵州 贵阳 550004)

**[摘要]** 目的: 探讨移植前人胚胎培养液中白细胞介素-8(IL-8)在评价胚胎质量和妊娠结局中的价值。方法: 选取330例行体外受精-胚胎移植(IVF/ICSI)前胚胎培养液标本作为研究组, 再将研究组分为IL-8阳性组(IL-8 > 0.19 ng/L)和IL-8阴性组(IL-8 ≤ 0.19 ng/L); 另选9例没有放置胚胎的培养液作为阴性对照; 采用液相芯片高通量蛋白质分析技术(LHTPA)测定培养液中IL-8含量, 比较阴性对照组、IL-8阳性组和IL-8阴性组移植前人胚胎培养液中IL-8水平, 比较IL-8阳性组和IL-8阴性组孕妇的年龄、不孕时间、病因(原发不孕、继发不孕及输卵管因素)、胚胎移植周期数、获卵数、移植胚胎数及妊娠期失访率, 比较普通胚胎和优质胚胎移植组被检者移植前胚胎培养液中IL-8阳性和阴性构成及妊娠率, 比较IL-8阳性组和IL-8阴性组妊娠率、临床妊娠率、种植率、生化妊娠率、流产率、活产率及活婴出生例数与接受胚胎移植患者总例数比值(NLBPP)。结果: 研究组IL-8的阳性率为32.42%, IL-8阳性组中IL-8水平高于阴性对照组和IL-8阴性组( $P < 0.05$ ); IL-8阳性组和IL-8阴性组被检者的年龄、不孕时间、病因(原发不孕和继发不孕)、胚胎移植周期数、注射HCG日的子宫内膜厚度、获卵数、移植胚胎数和妊娠期失访率比较, 差异均无统计学意义( $P > 0.05$ ); IL-8阳性组和IL-8阴性组移植优质或普通胚胎构成比比较, 差异无统计学意义( $P = 0.76$ ); IL-8阳性组移植优质胚胎的妊娠率高于IL-8阴性组( $P = 0.02$ ), 而移植普通胚胎的妊娠率, 差异无统计学意义( $P = 0.82$ ), IL-8阳性组患者妊娠率、胚胎种植率显著高于IL-8阴性组( $P < 0.05$ ); 其余指标比较差异无统计学意义( $P \geq 0.05$ )。结论: 移植前人胚胎培养液中IL-8可作为评价胚胎发育潜能的指标。

**[关键词]** 胚胎; 移植; 妊娠结局; 白细胞介素-8; 试管婴儿; 体外受精-胚胎移植; 液相芯片高通量蛋白质分析

**[中图分类号]** R711.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2017)11-1287-05

**DOI:** 10.19367/j.cnki.1000-2707.2017.11.011

## Value of Interleukin-8 in Embryo Culture Fluid on Evaluating Embryo Quality and Pregnancy Outcome before Implantation

HUANG Guanyou, LONG Aizhuan, ZHAO Shuyun, ZHOU Hua, YANG Chao, TIAN Weiting  
(Reproductive Medicine Center of Affiliated Hospital of Guizhou Medical University, Guiyang 550004, Guizhou, China)

**[Abstract]** **Objective:** To explore the value of interleukin-8 (IL-8) in embryo culture fluid on evaluating embryo quality and pregnancy outcome before implantation. **Methods:** 330 specimens of embryos culture fluid were selected as the study group before vitro fertilization and embryo transfer (IVF/ICSI), and the study group was divided into IL-8 positive group (IL-8 > 0.19 ng/L) and IL-8 negative group (IL-8 ≤ 0.19 ng/L). The culture fluid without embryo was selected as negative control in 9 cases. The content of IL-8 in culture fluid was determined by the technique of liquid chip high throughput protein analysis (LHTPA); the levels of IL-8 in the embryo culture fluid of the negative control

\* [基金项目] 国家自然科学基金项目(86547321); 贵州省科学技术基金[黔科合J字(2013)2056号]; 贵州医科大学附属医院博士科研启动基金资助

\*\* 通信作者 E-mail: zhaosy68@126.com

网络出版时间: 2017-11-15 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/52.1164.R.20171115.2215.007.html>

group, the IL-8 positive group and the IL-8 negative group were compared; The age, duration of infertility, cause of disease (factors of primary infertility, secondary infertility and oviduct), the number of embryo transfer, the number of retrieved oocytes, the number of transferred embryos and the rate of missed pregnancy were between the IL-8 positive group and the IL-8 negative group. IL-8 positive and negative components as well as pregnancy rates were compared between normal embryos and high quality embryo transfer recipients. The total number of patients receiving embryo transfer (NLBPP) was compared with the pregnancy rate, clinical pregnancy rate, implantation rate, biochemical pregnancy rate, abortion rate, live birth rate and the number of live birth in IL-8 positive and negative group.

**Result:** The positive rate of IL-8 in the study group was 32.42%; the level of IL-8 in IL-8 positive group was higher than that in negative control group and IL-8 negative group ( $P < 0.05$ ); the age, duration of infertility, etiology (primary infertility and secondary infertility), embryo transfer cycles, endometrial thickness on the day of HCG injection, the number of oocytes, missed visit rate in pregnancy of examinee were compared in IL-8 positive and negative group; the difference was not statistically significant ( $P > 0.05$ ). Constituent ratio of transplanted high-quality or common embryos was compared in IL-8 positive and negative group, and the difference was not statistically significant ( $P = 0.76$ ). The pregnancy rate of transplanted high-quality embryos in IL-8 positive group was higher than that of IL-8 negative group ( $P = 0.02$ ), and the difference was not statistically significant ( $P = 0.82$ ). The rate of pregnancy and embryo implantation in the IL-8 positive group was significantly higher than that in the IL-8 negative group ( $P < 0.05$ ), and the difference was not statistically significant in other indexes ( $P = 0.05$  or  $> 0.05$ ). **Conclusion:** IL-8 can be used as an index to evaluate the developmental potential of embryos in embryo culture fluid before implantation.

[**Key words**] embryo; transplant; pregnancy outcome; interleukin-8; test tube baby; *in vitro* fertilization- embryo transplantation; liquid chip high throughput protein analysis

随着不孕症发病率的逐年上升,辅助生殖技术周期数在全世界范围也逐年增加,如何既快又无创伤性地选择最好的胚胎进行移植以提高妊娠率是生殖医学面临的一个难题。虽然采用增加胚胎移植数等方法可以在一定程度上提高体外受精-胚胎移植(IVF/ICSI)患者的妊娠率,但也会使多胎妊娠率随之增加。目前,多胎妊娠所带来的医学、社会及经济问题已经引起业内专家的重视,预防多胎妊娠已成为辅助生殖技术的一个中心任务<sup>[1]</sup>。因此,选择胚胎种植潜能高的单胚胎进行移植,同时又不降低妊娠率,一直是生殖医学专家们共同努力的目标。目前,评价胚胎质量的主要方法是形态学评估法,但该方法评价胚胎质量不能很好地预测胚胎的种植潜能,有一定的局限性<sup>[2]</sup>。许多研究者一直在寻求其他方法来评价胚胎的生殖潜能<sup>[3]</sup>,液相芯片高通量的蛋白质分析技术(LHTPA)是在流式细胞技术、酶联免疫吸附试验技术和传统芯片技术基础上开发的新一代生物芯片技术和新型蛋白质研究平台,具有高通量平行分析、灵敏度较高、所需样品量少等特点<sup>[4]</sup>。有研究表明,白细胞介

素-8(IL-8)在子宫内膜容受前期和容受期时表达明显增高<sup>[5-7]</sup>,胚胎移植成功后胚胎植入部位的趋化因子和前炎症细胞因子水平与IVF/ICSI患者的临床结局成正相关,胚胎植入部位的趋化因子和前炎症细胞因子是胚胎成功种植的关键<sup>[6-7]</sup>。本研究用液相芯片高通量蛋白质分析技术(LHTPA)测定330例体外受精-胚胎移植(IVF/ICSI)被检者移植前胚胎培养液中IL-8含量,分析IL-8的浓度与胚胎质量和妊娠结局的关系。

## 1 材料和方法

### 1.1 一般资料

连续收集2014年1月~12月生殖中心行IVF/ICSI助孕治疗的330例有可移植胚胎不孕夫妇胚胎培养液标本作为研究组,再将研究组分为IL-8阳性组(IL-8 > 0.19 ng/L)和IL-8阴性组(IL-8 ≤ 0.19 ng/L);以同样条件下选取9例没有放置胚胎的培养液作为阴性对照。行IVF/ICSI助孕治疗的适应症包括输卵管因素、子宫内膜异位症、男

性因素或特发性不孕。ICSI 适用于男性因素、免疫学因素或前 IVF 周期不明原因失败者。本研究没有选择病例,也没有排除标准。本研究得到医院伦理委员会批准,并征得被检者的同意。

## 1.2 方法

**1.2.1 卵巢刺激方案、捡卵及精子的准备** 促排、取卵、授精、培养方法参考文献[8],选用药物为氯米芬、来曲唑、达菲林、思则凯、重组卵泡刺激素或人绝经促性腺激素及重组人绒毛膜促性腺激素等。

**1.2.2 胚胎的评价和移植** 根据标准组合评分系统(CSS)<sup>[9]</sup>,将培养第3天的胚胎分为优质胚胎、普通胚胎及劣质胚胎,只有优质胚胎和普通胚胎才能移植,年龄<35岁,移植2个胚胎;年龄≥35岁,移植3个胚胎;周期数≥2次,移植3个胚胎。第3天移植未使用的胚胎,可以冷冻保存,也可以置于培养液中进一步培养至囊胚阶段。

**1.2.3 移植前胚胎培养液的收集** 胚胎移植后,收集每例患者新鲜移植胚胎的所有培养液作为1份标本,以同样条件下9例没有放置胚胎的培养液作为阴性对照。将所收集标本立即置于20℃的冰箱保存。

**1.2.4 LHTPA 分析** 采用 LHTPA 技术测定每1份标本中 IL-8 的浓度,所有样本均由上海透景生命科技有限公司检测。用灵敏度高的人类细胞因子试剂盒(EMA milipore corporation, billerica, MA)作为抗体,用 MEGPIX System(EMD millipore corporation)读数, MILLIPLEX Analyst 软件评估,最后得到相应浓度(ng/L)。

**1.2.5 IVF/ICSI 治疗后的随访** 行胚胎移植后孕妇即以黄体酮支持治疗,移植后第14天时查尿和血 HCG, HCG 阳性者2周后B超监测孕囊,妊娠第10周左右停用黄体酮,并定期随访至胎儿出生。

## 1.3 观察指标

比较阴性对照组、IL-8 阳性组和 IL-8 阴性组移植前人胚胎培养液中 IL-8 的浓度,比较 IL-8 阳性组和 IL-8 阴性组孕妇的年龄、不孕时间、病因(原发不孕、继发不孕及输卵管因素)、胚胎移植周期数、获卵数、移植胚胎数及妊娠期失访率,比较 IL-8 阳性组和 IL-8 阴性组使用普通胚胎和优质胚胎的妊娠率,比较 IL-8 阳性组和 IL-8 阴性组妊娠率、临床妊娠率、种植率、生化妊娠率、流产率、活产率及活婴出生例数与接受胚胎移植患者总例数比值(NLBPP)。根据移植胚胎质量将研究组分为优质胚胎组和普通胚胎组(优质胚胎组移植的胚胎

均为优质胚胎,或至少有1枚优质胚胎;普通胚胎组移植的均为普通胚胎),比较2胚胎移植组被检者移植前胚胎培养液中 IL-8 阳性和阴性构成及妊娠率。

## 1.4 统计学方法

数据用 SPSS 13.0 处理,计数资料以均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,组间数据比较采用单因素方差分析,两两比较采用 *t* 检验;计量资料用率(%)表示,数据比较采用  $\chi^2$  检验;*P* 为双侧,*P* < 0.05 表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 移植前胚胎培养液中 IL-8 水平

结果显示,研究组移植前胚胎培养液中 IL-8 的阳性率为 32.42%, IL-8 阳性组中 IL-8 的浓度高于阴性对照组和 IL-8 阴性组,差异有统计学意义(*P* < 0.05)。见表1。

表1 3组被检者移植前胚胎培养液中 IL-8 水平

Tab.1 The level of IL-8 of 3 groups in embryo culture fluid before implantation

组别	<i>n</i>	浓度(ng/L)
阴性对照组	9	0.019 ± 0.006
IL-8 阴性组	223	0.06 ± 0.003
IL-8 阳性组	107	1.74 ± 0.27 <sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup>与阴性对照组比较,*P* < 0.05

### 2.2 研究组被检者基本特征

IL-8 阳性组和 IL-8 阴性组被检者的年龄、不孕时间、病因(原发不孕和继发不孕)、胚胎移植周期数、注射 HCG 日的子宫内膜厚度、获卵数、移植胚胎数、移植胚胎细胞数和妊娠期失访率比较,差异无统计学意义(*P* > 0.05)。见表2。

### 2.3 移植不同质量胚胎的构成比及移植后的妊娠率

结果显示,IL-8 阳性组和 IL-8 阴性组间移植优质或普通胚胎的构成比比较,差异无统计学意义(*P* = 0.76);但 IL-8 阳性组移植优质胚胎的妊娠率高于 IL-8 阴性组,差异有统计学意义(*P* = 0.02),而移植普通胚胎的妊娠率比较,差异无统计学意义(*P* = 0.82)。见表3。

### 2.4 移植前胚胎培养液 IL-8 与 IVF/ICSI 结局

IL-8 阳性组被检者妊娠率、胚胎种植率显著高于 IL-8 阴性组,差异有统计学意义(*P* < 0.05);IL-8 阳性组的临床妊娠率、活产率和 NLBPP 虽高于

IL-8 阴性组,流产率低和生化妊娠率低于 IL-8 阴性组,但差异无统计学意义( $P \geq 0.05$ )。见表 4。

表 2 研究组被检者基本特征比较

Tab.2 Comparison of the basic characteristics of the examinee in the study group

基本特征	移植前胚胎培养液		P
	IL-8 阳性组	IL-8 阴性组	
年龄(岁)	32.69 ± 0.46	32.20 ± 0.31	0.38
不孕时间(年)	5.50 ± 0.39	5.40 ± 0.28	0.84
不孕症病因(%)			
原发不孕	38.32(41/107)	45.74(102/223)	0.20
继发不孕	61.68(66/107)	54.26(121/223)	
输卵管因素	84.11(90/107)	83.41(186/223)	0.87
胚胎移植周期(个)	1.18 ± 0.05	1.18 ± 0.04	0.98
注射 HCG 日的子宫内膜厚度(mm)	11.39 ± 0.24	11.44 ± 0.18	0.87
获卵数(个)	10.63 ± 0.45	9.61 ± 0.30	0.055
移植胚胎数(个)	2.23 ± 0.04	2.18 ± 0.03	0.36
妊娠期失访率(%)	3.45(2/58)	5.49(5/91)	0.56
移植胚胎细胞数(个)	6.86 ± 0.09	6.73 ± 0.07	0.27

表 3 2 组被检者移植不同质量胚胎的构成比及移植后的妊娠率(%)

Tab.3 The proportion of different quality embryos and pregnancy rate after transplantation in two groups

组别	胚胎	
	优质	普通
构成比		
IL-8 阳性组	91.59(98/107)	8.41(9/107)
IL-8 阴性组	90.58(202/223)	9.42(21/223)
妊娠率		
IL-8 阳性组	58.16(57/98)	11.11(1/9)
IL-8 阴性组	43.56(88/202) <sup>(1)</sup>	14.23(3/21)

<sup>(1)</sup>与 IL-8 阳性组比较,  $P < 0.05$

表 4 移植前胚胎培养液中 IL-8 与 IVF/ICSI 结局(%)

Tab.4 The outcome of IL-8 and IVF/ICSI in the embryo culture fluid before transplantation

IVF/ICSI 结局	移植前胚胎培养液		P
	IL-8 阳性组	IL-8 阴性组	
妊娠率	54.21(58/107)	40.81(91/223)	0.02
临床妊娠率	44.86(48/107)	35.87(80/223)	0.12
胚胎种植率	27.62(66/239)	19.92(97/487)	0.02
生化妊娠率	10.34(6/58)	9.89(9/91)	0.93
流产率	6.90(4/58)	16.48(15/91)	0.09
活产率	68.97(40/58)	65.93(60/91)	0.70
NLBPP	37.38(40/107)	26.90(60/223)	0.05

## 4 讨论

目前正在研究的评价胚胎质量的方法包括测定胚胎培养液中的葡萄糖、乳酸、丙酮酸或氨基酸的含量,测定胚胎的耗氧量;以及基因组学和蛋白组学方法<sup>[10]</sup>。近年来非创伤性方法被认为是预测辅助生殖技术后临床结局最为有希望的方法<sup>[1,3,10-14]</sup>。已有研究者用非创伤性方法检测发育胚胎的数项代谢学指标,结果表明胚胎培养液中代谢物与患者的临床妊娠结局相关;用时差成像技术选择胚胎进行移植,能够获得良好的临床结局<sup>[15]</sup>。然而,由于缺乏大样本及随机的临床研究,很难判断哪一种动力学参数在评价胚胎质量上更有价值<sup>[16-17]</sup>。细胞因子是细胞分泌的一类蛋白,基本功能是通过自分泌、旁分泌或远距离分泌(特定情况下)作用方式,和细胞膜上特定的受体结合,诱导信号通路的级联反应,结果致细胞和组织发生效应,从而改变它们的性能。在生理或病理状况下,该蛋白作为激素调控器在较低浓度下即可调控细胞和组织的功能。在生殖免疫学,细胞因子不仅参与月经、排卵、胚胎种植、妊娠和分娩等生理过程,还参与早产和子宫内膜异位症等病理过程<sup>[18]</sup>。近年的研究表明,胚胎植入部位的趋化因子和前炎症细胞因子是胚胎种植成功的关键<sup>[19]</sup>。细胞因子 IL-8 既有趋化功能,同时又参与与炎症相关的固有免疫应答,称为前炎症细胞因子<sup>[20-22]</sup>。因此在早

孕和中期妊娠早期,胚胎植入部位的 IL-8 在维持妊娠方面起着极为重要的作用。胚胎的成功植入是妊娠的前提。在临床上,胚胎植入失败与复发性流产和 IVF/ICSI 的低成功率密切相关,在胚胎植入时,植入部位的微环境中含有大量的趋化因子和前炎症细胞因子<sup>[4,23]</sup>。母胎界面的趋化因子是胚胎植入所必需的因子,在子宫内膜容受期和妊娠早期,趋化因子的 mRNA 表达上调<sup>[24]</sup>。在移植早期,移植部位有高水平的 IL-8、TNF- $\alpha$  等前炎症细胞因子。在本研究中采用 LHTPA 技术,可以检测到移植前胚人胎培养液中含有 IL-8,检测到的 IL-8 的最低浓度(敏感性)为 0.16 ng/L 并且,移植前人胚胎培养液中 IL-8 的阳性或阴性结果与 IVF/ICSI-ET 的临床结局密有关,移植前人胚胎培养液中 IL-8 阳性 IVF/ICSI 患者有较高的妊娠率和胚胎种植率及婴儿活产数。既然在形态学上质量相同的移植胚胎,其培养液中 IL-8 的阳性 IVF/ICSI 患者有较高的妊娠率和较好的胚胎种植潜能及患者的婴儿活产数,提示移植前人胚胎培养液中的 IL-8 水平可以作为一个预测 IVF/ICSI 患者临床结局的独立指标。

综上,移植前人胚胎培养液中的 IL-8 不仅可以作为评价胚胎发育潜能的一个指标,还可以作为预测 IVF/ICSI 患者临床结局一个独立的指标。

#### 4 参考文献

- [1] Rebmann V, Switala M, Eue I, et al. Soluble HLA-G is an independent factor for the prediction of pregnancy outcome after ART; a German multi-centre study[J]. *Human Reproduction*, 2010(7):1691-1698.
- [2] Sjöblom P, Menezes J, Cummins L, et al. Prediction of embryo developmental potential and pregnancy based on early stage morphological characteristics[J]. *Fertil Steril*, 2006(4):848-861.
- [3] Marhuenda-Egea FC, Gonsálvez-Álvarez R, Martínez-Sabater E, et al. Improving human embryos selection in IVF; non-invasive metabolomic and chemometric approach[J]. *Metabolomics*, 2011(2):247-256.
- [4] Van Mourik MS, Macklon NS, Heijnen CJ. Embryonic implantation: cytokines, adhesion molecules, and immune cells in establishing an implantation environment[J]. *J Leuk Biol*, 2009(1):4-19.
- [5] Caballero-Campo P, Domínguez F, Coloma J, et al. Hormonal and embryonic regulation of chemokines IL-8, MCP-1 and RANTES in the human endometrium during the window of implantation[J]. *Mol Hum Reprod*, 2002(4):375-384.
- [6] Huang SJ, Schatz F, Masch R, et al. Regulation of chemokine production in response to pro-inflammatory cytokines in first trimester decidual cells[J]. *J Reprod Immunol*, 2006(1-2):60-73.
- [7] Dekel N, Gnainsky Y, Granot I, et al. The role of inflammation for a successful implantation[J]. *Am J Reprod Immunol*, 2014(2):141-147.
- [8] 周从容,李荣荣,赵淑云,等. 囊胚培养及移植在体外受精-胚胎移植中的应用[J]. *贵阳医学院学报*, 2004(2):113.
- [9] Qian YL, Ye YH, Xu CM, et al. Accuracy of a combined score of zygote and embryo morphology for selecting the best embryos for IVF[J]. *J Zhejiang Univ Sci B*, 2008(8):649-655.
- [10] Gardner DK, Meseguer M, Rubio C, et al. Diagnosis of human preimplantation embryoviability[J]. *Human Reproduction Update*, 2015(6):727-747.
- [11] Scott R, Seli E, Miller K, et al. Noninvasive metabolomic profiling of human embryo culture media using Raman spectroscopy predicts embryonic reproductive potential: a prospective blinded pilot study[J]. *Fertil Steril*, 2008(1):77-83.
- [12] Gardner DK, Lane M, Stevens J, et al. Noninvasive assessment of human embryo nutrient consumption as a measure of developmental potential[J]. *Fertil Steril*, 2001(6):1175-1180.
- [13] Seli E, Botros L, Sakkas D, et al. Noninvasive metabolomic profiling of embryo culture media using proton nuclear magnetic resonance correlates with reproductive potential of embryos in women undergoing in vitro fertilization[J]. *Fertility and Sterility*, 2008(6):2183-2189.
- [14] Vergouw CG, Botros LL, Roos P, et al. Metabolomic profiling by nearinfrared spectroscopy as a tool to assess embryo viability: A novel, non-invasive method for embryo selection[J]. *Hum Reprod*, 2008(8):1499-1504.
- [15] Athayde WK, Chen AA, Conaghan J, et al. Atypical embryo phenotypes identified by time-lapse microscopy: high prevalence and association with embryo development[J]. *Fertil Steril*, 2014(6):1637-1648.
- [16] Kirkegaard K, Agerholm IE, Ingerslev HJ. Time-lapse monitoring as a tool for clinical embryo assessment[J]. *Hum Reprod*, 2012(5):1277-1285.
- [17] Armstrong S, Arroll N, Cree LM, et al. Time-lapse systems for embryo incubation and assessment in assisted reproduction[J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2015(2):CD011320.

(下转第 1296 页)

- [12] Mina MJ, Burke RM, Klugman KP. Estimating the prevalence of coinfection with influenza virus and the atypical bacteria *Bordetella pertussis*, *Chlamydia pneumoniae*, and *Mycoplasma pneumoniae* [J]. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2014(9):1585-1589.
- [13] Pavic-Espinoza I, Bendezú-Medina S, Herrera-Alzamora A, et al. High prevalence of *Bordetella pertussis* in children under 5 years old hospitalized with acute respiratory infections in Lima, Peru [J]. *BMC Infect Dis*, 2015(15):554.
- [14] 黄辉, 邓莉, 肖飞, 等. 儿童百日咳发病特点及诊断中联合呼吸道病毒检测的临床意义分析[J]. *中华儿科杂志*, 2017(8):580-585.
- [15] Worthington ZE, Van Rooijen N, Carbonetti NH. Enhancement of *Bordetella parapertussis* infection by *Bordetella pertussis* in mixed infection of the respiratory tract [J]. *FEMS Immunol Med Microbiol*, 2011(1):119-128.
- [16] Katfy K, Guiso N, Diawara I, et al. Epidemiology of pertussis in Casablanca (Morocco): Contribution of conventional and molecular diagnosis tools [J]. *BMC Infect Dis*, 2017(1):348.
- [17] Capili CR, Hettinger A, Rigelman-Hedberg N, et al. Increased risk of pertussis in patients with asthma [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2012(4):957-963.
- [18] Wang Z, Cui Z, Li Y, et al. High prevalence of erythromycin-resistant *Bordetella pertussis* in Xi'an, China [J]. *Clin Microbiol Infect*, 2014(11):825-830.
- [19] 韩玉玲, 杨春, 丁明杰, 等. 济南市市单中心迁延性咳嗽患儿中百日咳的横断面调查 [J]. *中国循证儿科杂志*, 2016(3):200-203.  
(2017-07-31 收稿, 2017-10-22 修回)  
中文编辑: 周凌; 英文编辑: 赵毅

(上接第 1291 页)

- [18] Ostanin AA, Aizikovich BI, Aizikovich IV, et al. Role of cytokines in the regulation of reproductive function [J]. *Bull Exp Biol Med*, 2007(1):75-79.
- [19] Petkovi AB, Mati SM, Stamatovi NV, et al. Proinflammatory cytokines (IL-1b and TNF-a) and chemokines (IL-8 and MIP-1a) as markers of peri-implant tissue condition [J]. *Int J Oral Maxillofac Surg*, 2010(5):478-485.
- [20] Schröder JM, Mrowietz U, Morita E, et al. Purification and partial biochemical characterization of a human monocyte-derived, neutrophil-activating peptide that lacks interleukin 1 activity [J]. *J Immunol*, 1987(139):3474-3483.
- [21] Schröder JM, Christophers E. Secretion of novel and homologous neutrophil-activating peptides by LPS-stimulated human endothelial cells [J]. *J Immunol*, 1989(142):244-251.
- [22] Van DJ, Decock B, Conings R, et al. The chemotactic activity for granulocytes produced by virally infected fibroblasts is identical to monocyte-derived interleukin 8 [J]. *Eur J Immunol*, 1989(19):1189-1194.
- [23] Mor G, Cardenas I, Abrahams V, et al. Inflammation and pregnancy: the role of the immune system at the implantation site [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2011(1):80-87.
- [24] Jones RL, Hannan NJ, Kaitu'u TJ, et al. Identification of chemokines important for leukocyte recruitment to the human endometrium at the times of embryo implantation and menstruation [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2004(12):6155-6167.  
(2017-07-22 收稿, 2017-10-28 修回)  
中文编辑: 吴昌学; 英文编辑: 乐萍