

论著·“生殖医学的多维突破”重点号

复发性流产患者流产组织染色体异常特征因病因分型而异:母体/夫妇因素未解释型以非整倍体升高为主要特征

熊逸清, 谭美玲, 戴礼猛, 阎 萍, 杨 节, 王 丹 陆军军医大学(第三军医大学)第一附属医院妇产科, 重庆

[摘要] **目的** 复发性流产(recurrent spontaneous abortion, RSA)病因复杂, 胚胎染色体异常是重要因素。为明确RSA患者胚胎染色体异常特征、比较不同病因分型间的异常构成差异, 并分析母体临床因素与不同染色体异常类型的关系, 采用流产组织(products of conception, POC)拷贝数变异测序(copy number variation sequencing, CNV-seq)进行检测。**方法** 采用回顾性队列研究, 通过预设纳入与排除标准、统一病因学评估流程、统一CNV-seq检测及异常判读标准、规范临床变量提取与统计分析控制研究质量。纳入2021年1月至2024年12月在陆军军医大学第一附属医院妇产科就诊并完成POC CNV-seq的RSA患者534例, 共629次妊娠事件。依据系统病因学评估结果分为母体/夫妇因素可解释复发性流产(maternal/parental factor-explained recurrent spontaneous abortion, MPF-eRSA)组和母体/夫妇因素未解释复发性流产(maternal/parental factor-unexplained recurrent spontaneous abortion, MPF-uRSA)组。比较2组胚胎染色体异常构成差异, 并采用混合效应Logistic回归模型分析母体年龄、孕周、流产次数、受孕方式及母体风险因素与不同染色体异常类型之间的关联。进一步对RSA相关致病性CNV覆盖基因进行GO/KEGG功能富集分析, 并筛选部分候选基因进行qRT-PCR初步验证。**结果** 629份POC标本共检出染色体异常321例, 检出率为51.0%, 其中以染色体数目异常为主, 占异常样本的75.1%。单因素分析显示, MPF-uRSA组非整倍体及单一三体比例高于MPF-eRSA组($P<0.001$), 而嵌合体在MPF-eRSA组中比例较高($P=0.015$)。混合效应Logistic回归分析显示, MPF-eRSA组总体染色体异常发生风险低于MPF-uRSA组($OR=0.41, 95\%CI: 0.21\sim0.82, P=0.011$); 母体年龄与总体染色体异常($OR=1.48, 95\%CI: 1.22\sim1.80, P<0.001$)、非整倍体($OR=1.44, 95\%CI: 1.17\sim1.77, P<0.001$)及单一三体($OR=1.55, 95\%CI: 1.20\sim2.00, P<0.001$)发生风险呈正相关。MPF-eRSA组非整倍体($OR=0.24, 95\%CI: 0.11\sim0.51, P<0.001$)及单一三体($OR=0.14, 95\%CI: 0.05\sim0.36, P<0.001$)发生风险均低于MPF-uRSA组。母体内分泌因素与单一三体发生风险升高相关($OR=2.87, 95\%CI: 1.19\sim6.90, P=0.018$), 母体遗传因素与单一三体($OR=3.75, 95\%CI: 1.20\sim11.69, P=0.023$)及pCNV($OR=9.91, 95\%CI: 2.87\sim34.21, P<0.001$)发生风险升高相关。GO/KEGG功能富集分析显示, RSA相关致病性CNV覆盖基因主要涉及DNA损伤修复、细胞外基质稳态及炎症相关过程。qRT-PCR结果显示, 与对照组相比, RSA组RAD21、LIG4及COL4A1表达水平降低, 而CTSB及GSDMD表达水平升高($P<0.05$)。**结论** RSA患者POC染色体异常以数目异常为主, 不同病因分型的异常构成存在差异, 其中MPF-uRSA以非整倍体升高为主要特征。母体年龄是胚胎染色体异常的重要影响因素, 主要与非整倍体发生风险相关。POC遗传学检测结合病因分型有助于完善RSA病因评估、风险分层及临床管理。

[关键词] 复发性流产; 拷贝数变异测序; 染色体异常; 非整倍体; 拷贝数变异

[中图法分类号] R181.33; R363.1; R714.21 **[文献标志码]** A

[基金项目] 重庆市自然科学基金面上项目(CSTB2022NSCQ-MSX0169)

[通信作者] 王 丹, E-mail: wangdan@tmmu.edu.cn

2097-0927/Copyright © 2026, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循CC BY许可协议(<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>)

引用格式: 熊逸清, 谭美玲, 戴礼猛, 等. 复发性流产患者流产组织染色体异常特征因病因分型而异: 母体/夫妇因素未解释型以非整倍体升高为主要特征[J]. 陆军军医大学学报, 2026, 48(14): 2014-2024. DOI: 10.16016/j.2097-0927.202602070.

Citation: XIONG Y Q, TAN M L, DAI L M, et al. Chromosomal abnormality profiles in abortion tissues from patients with recurrent pregnancy loss vary by etiological subtype: unexplained cases show a higher risk of aneuploidy [J]. J Army Med Univ, 2026, 48(14): 2014-2024. DOI: 10.16016/j.2097-0927.202602070.

Chromosomal abnormality profiles in abortion tissues from patients with recurrent pregnancy loss vary by etiological subtype: unexplained cases show a higher risk of aneuploidy

XIONG Yiqing, TAN Meiling, DAI Limeng, YAN Ping, YANG Jie, WANG Dan Department of Obstetrics and Gynecology, First Affiliated Hospital, Army Medical University (Third Military Medical University), Chongqing, China

[Abstract] **Objective** The etiology of recurrent spontaneous abortion (RSA) is complex, with embryonic chromosomal abnormalities representing a major contributing factor. This study aims to characterize the embryonic chromosomal abnormalities products of conception (POC) from RSA patients, compare the composition of abnormalities across various etiological subtypes, and analyze the association between maternal clinical factors and different types of chromosomal abnormalities. **Methods** A retrospective cohort study was conducted with predefined inclusion and exclusion criteria, a unified etiological evaluation protocol, standardized copy number variation sequencing (CNV-seq) and abnormality interpretation criteria, and systematic clinical variable extraction and statistical analysis to ensure quality control. A total of 534 RSA patients involving 629 pregnancy events who underwent POC CNV-seq in our hospital between January 2021 and December 2024 were recruited. According to systematic etiological evaluation, the patients were classified into a maternal/parental factor-explained recurrent spontaneous abortion (MPF-eRSA) group and a maternal/parental factor-unexplained recurrent spontaneous abortion (MPF-uRSA) group. The distribution of embryonic chromosomal abnormalities was compared between the 2 groups. Mixed-effects logistic regression models were used to evaluate the associations of maternal age, gestational age, number of previous miscarriages, mode of conception, and maternal risk factors with different types of chromosomal abnormalities. Gene Ontology (GO) and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) enrichment analyses were further performed on genes covered by RSA-related pathogenic CNVs (PCNVs), and the selected candidate genes were preliminarily validated by qRT-PCR. **Results** Among the 629 POC samples, chromosomal abnormalities were detected in 321 cases, with an overall detection rate of 51.0%. Numerical abnormalities were the predominant type, accounting for 75.1% of abnormal cases. Univariate analysis showed that the MPF-uRSA group had higher proportions of aneuploidy and single trisomy than the MPF-eRSA group ($P<0.001$), whereas mosaicism was more frequent in the MPF-eRSA group ($P=0.015$). Mixed-effects logistic regression analysis revealed a lower risk of overall chromosomal abnormalities in the MPF-eRSA group than the MPF-uRSA group ($OR=0.41$, 95%CI: 0.21 to 0.82, $P=0.011$). Maternal age was positively associated with the risk of overall chromosomal abnormalities ($OR=1.48$, 95%CI: 1.22 to 1.80, $P<0.001$), aneuploidy ($OR=1.44$, 95%CI: 1.17 to 1.77, $P<0.001$), and single trisomy ($OR=1.55$, 95%CI: 1.20 to 2.00, $P<0.001$). The risks of aneuploidy ($OR=0.24$, 95%CI: 0.11 to 0.51, $P<0.001$) and single trisomy ($OR=0.14$, 95%CI: 0.05 to 0.36, $P<0.001$) were significantly lower in the MPF-eRSA group than the MPF-uRSA group. Maternal endocrine factors were associated with an increased risk of single trisomy ($OR=2.87$, 95%CI: 1.19 to 6.90, $P=0.018$), while maternal genetic factors were associated with increased risks of single trisomy ($OR=3.75$, 95%CI: 1.20 to 11.69, $P=0.023$) and PCNVs ($OR=9.91$, 95%CI: 2.87 to 34.21, $P<0.001$). GO/KEGG enrichment analyses showed that the genes covered by RSA-related PCNVs were mainly involved in DNA damage repair, extracellular matrix homeostasis, and inflammation-related processes. qRT-PCR showed that RAD21, LIG4, and COL4A1 were downregulated, whereas CTSB and GSDMD were upregulated in the RSA group compared with the control group ($P<0.05$). **Conclusion** Embryonic chromosomal abnormalities in POC from RSA patients are predominantly numerical abnormalities, and their distribution differs across etiological subtypes. Aneuploidy is more common in MPF-uRSA patients. Maternal

age is an important influencing factor for embryonic chromosomal abnormalities, mainly associated with the risk of aneuploidy. POC genetic testing combined with etiological classification may help improve etiological evaluation, risk stratification, and clinical management of RSA.

[Key words] recurrent spontaneous abortion; CNV-seq; chromosomal abnormalities; aneuploidy; copy number variation

Supported by the General Project of Natural Science Foundation of Chongqing (CSTB2022NSCQ-MSX0169). Corresponding author: WANG Dan, E-mail: wangdan@tmmu.edu.cn

复发性流产(recurrent spontaneous abortion, RSA)通常指连续发生 ≥ 2 次妊娠 28 周前的自然流产,其发生率约占育龄女性的 1%~5%,且多发生于妊娠早期^[1-2]。RSA 病因具有明显的多因素和异质性特征,临床评估通常包括子宫解剖结构、内分泌功能、免疫凝血状态及夫妻染色体核型等方面^[2-3]。在完成系统病因学评估后,部分患者可识别出明确的母体或夫妇相关异常因素,而仍有相当比例患者在常规评估后未能明确病因。如何在现有评估框架下进一步提高 RSA 的病因识别水平,仍是临床实践中的难点。

近年来研究逐渐认识到, RSA 并非完全随机事件,而可能具有一定的遗传学基础^[3-4]。部分患者存在家族聚集现象,其一级女性亲属发生 RSA 的风险明显升高,而且同一对夫妇往往在相近的妊娠发育阶段反复发生妊娠丢失,但不同个体之间丢失孕周又存在差异。这些临床特征提示, RSA 在一定程度上可能受到相对稳定的内在因素影响,其中遗传因素是重要组成部分。流产胚胎中染色体异常占比 50%~60%,且以染色体数目异常为主,提示遗传学检测对于 RSA 病因的探索具有重要价值^[3,5-7]。近年来,在流产组织(products of conception, POC)中应用拷贝数变异测序(copy number variation sequencing, CNV-seq)开展遗传学检测研究,相较于传统核型分析有较多优势。该方法无需细胞培养、检测周期更短并可识别亚显微拷贝数变异,从而为评估流产胚胎染色体异常及其在不同年龄、孕周与流产次数分层中的差异提供了更多遗传学信息^[7-9]。本研究采用 CNV-seq 对复发性流产患者 POC 进行遗传学分析,系统描述胚胎染色体异常类型及构成特征,比较不同病因分型 RSA 患者胚胎染色体异常的分布差异,并结合母体临床资料分析相关影响因素。在此基础上,进一步对 RSA 相关拷贝数变异(copy number variation, CNV)覆盖基因进行功能富集分析及候选基因 qRT-PCR 初步验证,旨在为 RSA 病因评估、遗传咨询及后续机制研究提供参考依据。

1 研究对象与方法

1.1 研究对象

本研究为回顾性队列研究,纳入于 2021 年 1 月 1 日至 2024 年 12 月 31 日期间在陆军军医大学第一附属医院妇产科门诊或住院就诊的单胎妊娠患者 534 例;纳入标准:①诊断为 RSA,即连续发生 ≥ 2 次的妊娠 28 周前的胚胎或胎儿丢失,包括连续发生的生化妊娠;②经超声提示宫内胚胎或胎儿停止发育,且通过自然排出或终止妊娠手术获得孕囊、胚胎、胎儿或胎盘组织;③POC 经实验室检测确认可用于染色体 CNV-seq 分析;④孕妇临床资料完整,包括年龄、孕周、流产次数及病因学评估检查结果。排除标准:①合并严重基础疾病,如严重肝肾功能不全、恶性肿瘤等;②临床资料缺失,无法判断其 RSA 类型或缺乏关键评估指标。本研究获陆军军医大学第一附属医院伦理委员会批准[(B)KY2025164]。

1.2 研究分组

参考《复发性流产病因分级筛查临床实践中国专家共识(2025 年版)》及美国生殖医学会关于复发性流产评估的相关建议^[2-3],本研究对患者进行了系统病因学筛查,包括子宫解剖结构、内分泌功能、免疫凝血指标及夫妻染色体核型检查。本研究依据病因学评估结果,将患者分为以下 2 个研究组:母体/夫妇因素可解释复发性流产组(maternal/parental factor-explained recurrent spontaneous abortion, MPF-eRSA)和母体/夫妇因素未解释复发性流产组(maternal/parental factor-unexplained recurrent spontaneous abortion, MPF-uRSA)。其中,MPF-eRSA 组指至少存在一种明确母体或夫妇相关异常因素者;MPF-uRSA 组指经系统病因学评估未发现明确异常,且夫妻双方染色体核型正常者。

所有患者均通过自然排出或终止妊娠手术获得 POC,并完成 CNV-seq 检测后纳入分析。本研究以妊娠事件作为统计单位,每份 POC 标本对应一次妊娠事件,共纳入 534 例患者的 629 次妊娠事件。其中,67 例

患者存在重复妊娠事件,包括2次妊娠52例、3次妊娠5例、4次妊娠8例、5次妊娠1例及6次妊娠1例。考虑到部分患者存在重复妊娠事件,后续回归分析中以患者ID作为随机效应项,以控制个体内相关性。

1.3 POC样本采集及CNV-seq检测

收集POC的绒毛或胎儿组织样本,于4℃保存。使用柱式试剂盒提取基因组DNA,质检合格后,参照华大基因标准流程构建测序文库:经限制性内切酶片段化(200~300 bp)、末端修复与加A尾、接头连接及PCR扩增。文库在BGISEQ-500/DNBSEQ平台上进行单端50 bp低深度全基因组测序,目标数据量≥15万条测序读段样本,对应约0.25×基因组覆盖度。

原始数据经BWA比对至hg19参考基因组。通过滑动窗口法(窗口50 kb,步长5 kb)计算覆盖度,并进行GC校正与群体归一化处理。全基因组拷贝数比标准差≤0.10为质控合格。以窗口平均拷贝比阈值(>1.1或<0.9)判定CNV,并通过相邻窗口合并确定边界,常规报告分辨率≥50 kb。检测结果依据ACMG/ClinGen CNV指南进行临床判读,对可疑多倍体或母源污染等案例,辅以QF-PCR或STR分析验证。

1.4 POC染色体异常判读及类型划分

基于CNV-seq检测结果,参照美国医学遗传学与基因组学学会/临床基因组资源联盟(ACMG/ClinGen) CNV解读指南^[10],并结合本研究技术特点,对所有检出的胚胎染色体异常进行系统性分类。具体包括:①染色体数目异常:单一三体、多重三体、性染色体单体、三倍体;②CNV根据变异类型可分为缺失型CNV和重复型CNV,依据ACMG/ClinGen评分体系进一步划分为致病性CNV(pathogenic copy number variation, pCNV)、可能致病性CNV、意义不明确(variant of uncertain significance, VUS),并结合片段大小、基因密度、是否涉及已知剂量敏感基因以及人群频率进行综合判读;③嵌合体;④复杂变异,在同一个体的基因组中,同时存在两种或两种以上不同类型、或涉及多个不连续染色体片段的遗传物质异常。

1.5 CNV相关基因功能验证

为分析RSA相关致病性CNV可能涉及的功能方向,本研究基于CNV-seq结果整理pCNV区域,并筛选两组样本共同涉及的pCNV交集区域。利用ClinGen数据库对pCNV覆盖区域进行基因注释,提取相关蛋白编码基因作为功能富集分析的目标基因集。采用Metascape数据库对目标基因进行GO及KEGG功能富集分析,以 $P<0.05$ 作为富集条目筛选阈值,并采用R软件进行可视化。结合富集结果及pCNV覆盖基因情

况,选择RAD21、LIG4、COL4A1、CTSB及GSDMD作为候选基因进行qRT-PCR初步验证。qRT-PCR验证样本包括RSA组6例和对照组6例,均取绒毛组织进行RNA提取及表达检测。采用TRIzol法提取总RNA,经逆转录合成cDNA后,使用SYBR Green法进行实时荧光定量PCR检测。以GAPDH作为内参基因,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法计算目标基因相对表达水平。各基因引物序列见表1。

表1 qRT-PCR引物序列
Table 1 Primer sequences for qPCR

Genes		Primer sequences(5'-3')
RAD21	Forward	5'-TCATGGTCTTCAGCGTGCTC-3'
	Reverse	5'-ACTTTGCGGCAGCTTGTTTT-3'
LIG4	Forward	5'-GGCTTGACGTCAGGAAACCA-3'
	Reverse	5'-TCTCGTTTAACTGGCCTCGG-3'
COL4A1	Forward	5'-TGCGGCTCAAAGGTGACAAA-3'
	Reverse	5'-TTCAATCCTACAGAACCCGGC-3'
CTSB	Forward	5'-CAGCGCTGGGTGGATCT-3'
	Reverse	5'-AGTTGACCAGCTCATCCGAC-3'
GSDMD	Forward	5'-CAGTTTCACTTTTACTCTGGGC-3'
	Reverse	5'-CCCATGCTCCGTGACCG-3'
GAPDH	Forward	5'-TGACTTCAACAGCGACACCCA-3'
	Reverse	5'-CACCTGTTGCTGTAGCCAAA-3'

1.6 统计学分析

采用R软件(版本4.3.1)进行统计学分析中完成。计量资料经正态性检验后,符合正态分布的以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用独立样本 t 检验;非正态分布者以 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示,组间比较采用Wilcoxon秩和检验。计数资料以频数(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验或Fisher精确概率法。为评估母体临床因素与不同类型胚胎染色体异常之间的独立关联,针对主要异常类型构建多因素混合效应Logistic回归模型,以各异常类型的有无为因变量,纳入母体年龄、孕周、流产次数、RSA分组、受孕方式及母体风险因素作为自变量,并以患者ID作为随机效应项,以控制同一患者多次妊娠事件所带来的个体内相关性。年龄、孕周及流产次数在描述性分析中分组展示,在回归模型中进行Z标准化处理(均值为0,标准差为1),所得OR表示相应变量每增加1个标准差对结局的影响。对于事件数较少或混合效应Logistic模型不稳定的异常类型,采用Firth校正Logistic回归进行敏感性或替代分析。鉴于部分异常亚型样本量有限,本研究未进行多重比较校正。所有结果以OR及其95%CI表示, $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 MPF-eRSA 组与 MPF-uRSA 组一般临床特征差异无统计学意义

在 534 例 RSA 患者的 629 次妊娠事件中,共获取 629 份 POC 标本并完成 CNV-seq 检测。以妊娠事件为统计单位,根据母体病因学评估结果分为 MPF-eRSA 组 261 次妊娠事件和 MPF-uRSA 组 368 次妊娠事件。对 2 组一般临床资料进行比较,结果显示,2 组在年龄、胎停孕周、孕次、产次及流产次数方面差异均无统计学意义。在受孕方式方面,MPF-eRSA 组中辅助生殖者占 27. 97%,自然受孕者占 72. 03%;MPF-uRSA 组中辅助生殖者占 21. 47%,自然受孕者占 78. 53%,组间差异无统计学意义。染色体异常检出率方面,MPF-eRSA 组为 48. 28%,MPF-uRSA 组为 52. 99%,2 组间差异亦无统计学意义。见表 2。

2.2 RSA 胚胎染色体异常以数目异常为主,MPF-uRSA 组非整倍体比例升高

在 629 份流产组织标本中,共检出染色体异常 321 例,总检出率为 51. 0%,其中以染色体数目异常为主,非整倍体是最主要异常类型。单因素比较显示,MPF-uRSA 组单一三体及非整倍体总体比例高于

MPF-eRSA 组,而 MPF-eRSA 组嵌合体及 CNV 总体比例较高($P<0. 001$),其余异常类型组间差异无统计学意义。见表 3。

进一步进行多因素 Logistic 回归分析显示,MPF-eRSA 组总体染色体异常风险低于 MPF-uRSA 组($OR=0. 41, 95\%CI: 0. 21\sim 0. 82, P=0. 011$);自然受孕及母体遗传因素与总体染色体异常发生风险升高相关。异常亚型分析显示,MPF-eRSA 组非整倍体总体及单一三体发生风险均低于 MPF-uRSA 组;嵌合体在 MPF-eRSA 组呈升高趋势,但未达到统计学显著性。见表 4。

2.3 母体年龄、遗传及内分泌因素与部分染色体异常亚型发生风险升高相关

混合效应 Logistic 回归分析结果显示,在控制 RSA 分组、受孕方式及其他母体因素后,母体年龄与胚胎染色体异常总体检出率呈显著正相关($OR=1. 48, 95\%CI: 1. 22\sim 1. 80, P<0. 001$,表 4),随着母体年龄增加,非整倍体比例总体呈上升趋势,且该趋势在 35 岁以后更为明显(图 1)。分型分析进一步提示,年龄与多种染色体异常亚型均呈正相关,包括非整倍体总体($OR=1. 44, 95\%CI: 1. 17\sim 1. 77, P<0. 001$)、单一三体($OR=1. 55, 95\%CI: 1. 20\sim 2. 00, P<0. 001$)、多重三体

表 2 两组妊娠事件一般临床特征比较 [例(%), $\bar{x}\pm s$]
Table 2 Baseline clinical characteristics of pregnancy events in the MPF-eRSA and MPF-uRSA groups [$n(\%)$, $\bar{x}\pm s$]

Clinical characteristic	MPF-eRSA group ($n=261$)	MPF-uRSA group ($n=368$)	P
Maternal age/years	31. 6 $\pm$ 4. 5	31. 7 $\pm$ 4. 5	0. 890
Gestational age at miscarriage/weeks	9. 3 $\pm$ 3. 1	9. 8 $\pm$ 2. 9	0. 076
Gravidity	3. 3 $\pm$ 1. 6	3. 3 $\pm$ 1. 3	0. 814
Parity	0. 3 $\pm$ 0. 5	0. 4 $\pm$ 0. 5	0. 100
Number of previous miscarriages	2. 5 $\pm$ 1. 1	2. 5 $\pm$ 0. 8	>0. 900
Mode of conception			0. 200
Assisted reproduction	73 (27. 97)	79 (21. 47)	
Natural conception	188 (72. 03)	289 (78. 53)	
Chromosomal abnormality			0. 258
Negative	135 (51. 72)	173 (47. 01)	
Positive	126 (48. 28)	195 (52. 99)	

表 3 MPF-eRSA 组与 MPF-uRSA 组染色体异常类型频数分布比较
Table 3 Frequency distribution of chromosomal abnormality types in the MPF-eRSA and MPF-uRSA groups

Group	Aneuploidy				Complex abnormality	Mosaicism	Triploidy	Copy number variation
	Single trisomy	Multiple trisomies	Sex chromosome monosomy	Total				
MPF-uRSA group	125	10	18	153	5	11	13	13
MPF-eRSA group	47 ^a	7	11	65 ^a	5	17	10	29 ^a

a: $P<0. 001$, compared with the MPF-uRSA group

($OR=1.83$, $95\%CI: 1.20\sim2.78$, $P=0.005$)及复杂变异($OR=2.27$, $95\%CI: 1.32\sim3.92$, $P=0.003$)。此外,自然受孕方式亦与总体染色异常($OR=2.47$, $95\%CI: 1.55\sim3.94$, $P<0.001$)、多重三体($OR=4.89$, $95\%CI: 1.00\sim23.80$, $P=0.049$)及三倍体($OR=5.15$, $95\%CI: 1.10\sim24.01$, $P=0.037$)的发生风险升高相关。见图1。

母体风险因素方面,遗传因素与总体染色异常($OR=5.80$, $95\%CI: 2.39\sim14.07$, $P<0.001$)、非整倍体($OR=2.52$, $95\%CI: 1.02\sim6.27$, $P=0.046$)及单一三体($OR=3.75$, $95\%CI: 1.20\sim11.69$, $P=0.023$)的发生呈正相关,内分泌因素与单一三体($OR=2.87$, $95\%CI: 1.19\sim6.90$, $P=0.018$)及 pCNV ($OR=3.40$, $95\%CI: 1.04\sim11.06$, $P=0.042$)发生风险正相关,在 pCNV 亚型中,母体遗传因素($OR=9.91$, $95\%CI: 2.87\sim34.21$,

$P<0.001$)及母体解剖因素($OR=5.52$, $95\%CI: 1.50\sim20.30$, $P=0.010$)同样与发生风险升高相关。此外,母体解剖因素与复杂变异发生风险相关($OR=6.22$, $95\%CI: 1.18\sim32.80$, $P=0.031$)。其余母体因素在各异常亚型分析中均未见稳定统计学关联。多因素回归分析结果见表4。

2.4 15号三体在MPF-eRSA组中构成比例升高

非整倍体的具体组成中,单一三体为主要亚型。进一步比较各染色体三体在2组中的构成分布显示,15号三体在MPF-eRSA组构成比例显著高于MPF-uRSA组(76.9% vs 23.1%, $P=0.0187$)。7号与8号三体在MPF-uRSA组构成比例较高,但差异未达统计学显著性;16号、21号、22号等常见三体亚型两组间构成比例无显著差异。见图2。

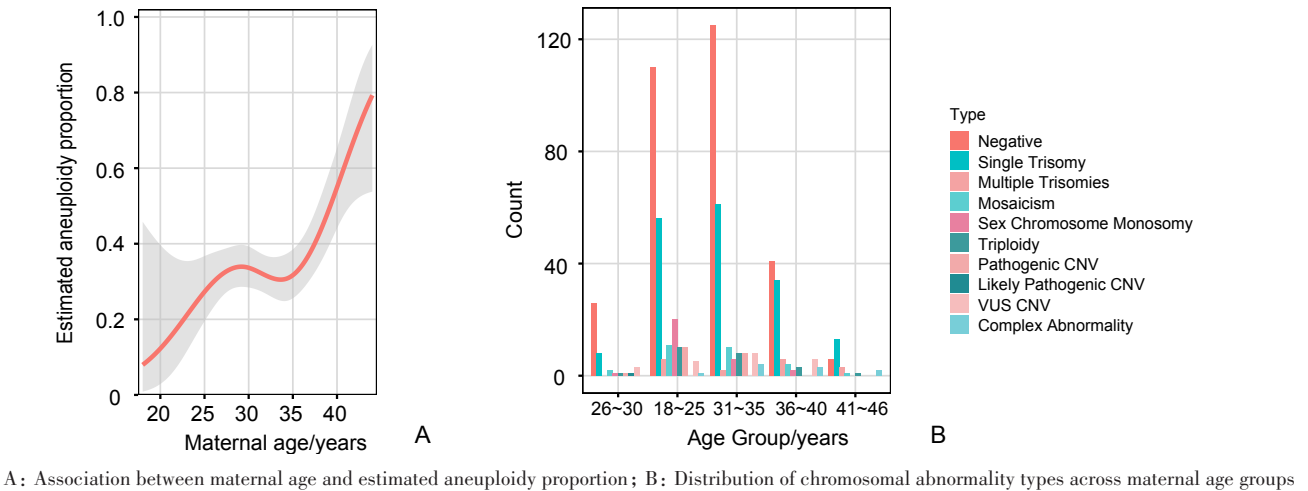


图1 母体年龄与RSA流产组织染色体异常亚型的关系

Figure 1 Relationship between maternal age and chromosomal abnormality subtypes in products of conception (POC) from patients with recurrent spontaneous abortion (RSA)

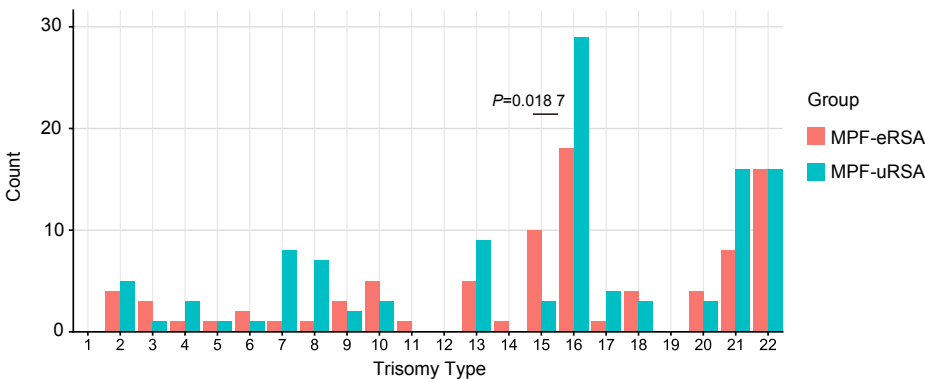


图2 MPF-eRSA组与MPF-uRSA组非整倍体亚型分布

Figure 2 Distribution of aneuploidy subtypes between the MPF-eRSA and MPF-uRSA groups

表4 多因素回归分析结果

Table 4 Multivariable regression analysis of factors associated with chromosomal abnormality subtypes

Variable	OR	95%CI	P
Overall chromosomal abnormality			
Age	1.48	1.22—1.80	<0.001
Group, reference: MPF-uRSA	0.41	0.21—0.82	0.011
Natural conception	2.47	1.55—3.94	<0.001
Genetic factor	5.80	2.39—14.07	<0.001
Aneuploidy			
Age	1.44	1.17—1.77	<0.001
Group, reference: MPF-uRSA	0.24	0.11—0.51	<0.001
Genetic factor	2.52	1.02—6.27	0.046
Single trisomy			
Age	1.55	1.20—2.00	<0.001
Group, reference: MPF-uRSA	0.14	0.05—0.36	<0.001
Genetic factor	3.75	1.20—11.69	0.023
Endocrine factor	2.87	1.19—6.90	0.018
Multiple trisomies			
Age	1.83	1.20—2.78	0.005
Natural conception	4.89	1.00—23.80	0.049 ^a
Triploidy			
Natural conception	5.15	1.10—24.01	0.037 ^a
pCNV			
Endocrine factor	3.40	1.04—11.06	0.042
Genetic factor	9.91	2.87—34.21	<0.001
Anatomical factor	5.52	1.50—20.30	0.010
Complex abnormality			
Age	2.27	1.32—3.92	0.003 ^a
Anatomical factor	6.22	1.18—32.80	0.031 ^a
Mosaicism			
Group, reference: MPF-uRSA	3.24	0.99—10.58	0.052

a: The corresponding subtypes had relatively small sample sizes and wide confidence intervals, indicating limited stability of the estimates. These results should therefore be interpreted with caution

2.5 pCNV覆盖基因富集于DNA损伤修复、细胞外基质稳态及炎症相关过程

GO生物过程富集分析显示,RSA相关致病性CNV覆盖基因主要富集于肝素硫酸蛋白聚糖生物合成过程、DNA双链断裂修复、同源重组介导的DNA双链断裂修复、糖胺聚糖生物合成过程、肿瘤坏死因子反应、多糖代谢过程及碱基切除修复等功能条目(图3A)。KEGG通路富集分析显示,相关基因主要涉及多种核苷酸糖生物合成、内吞作用、糖胺聚糖生物合成、NOD样受体信号通路、溶酶体、补体与凝血级联反应以及

非同源末端连接等通路(图3B)。

基于上述富集结果及CNV覆盖基因情况,本研究进一步选择RAD21、LIG4、COL4A1、GSDMD和CTSB进行qRT-PCR验证。上述基因分别代表DNA损伤修复及染色体稳定性、细胞外基质/基底膜结构、炎症性细胞死亡及溶酶体相关功能等富集方向。其中,RAD21和LIG4主要对应DNA双链断裂修复及基因组稳定性维持,COL4A1与基底膜及细胞外基质结构相关,GSDMD与NOD样受体信号通路及炎症性细胞死亡相关,CTSB则与溶酶体功能及细胞应激调控相关。因此,本研究选取上述基因作为代表性候选基因进行表达验证。

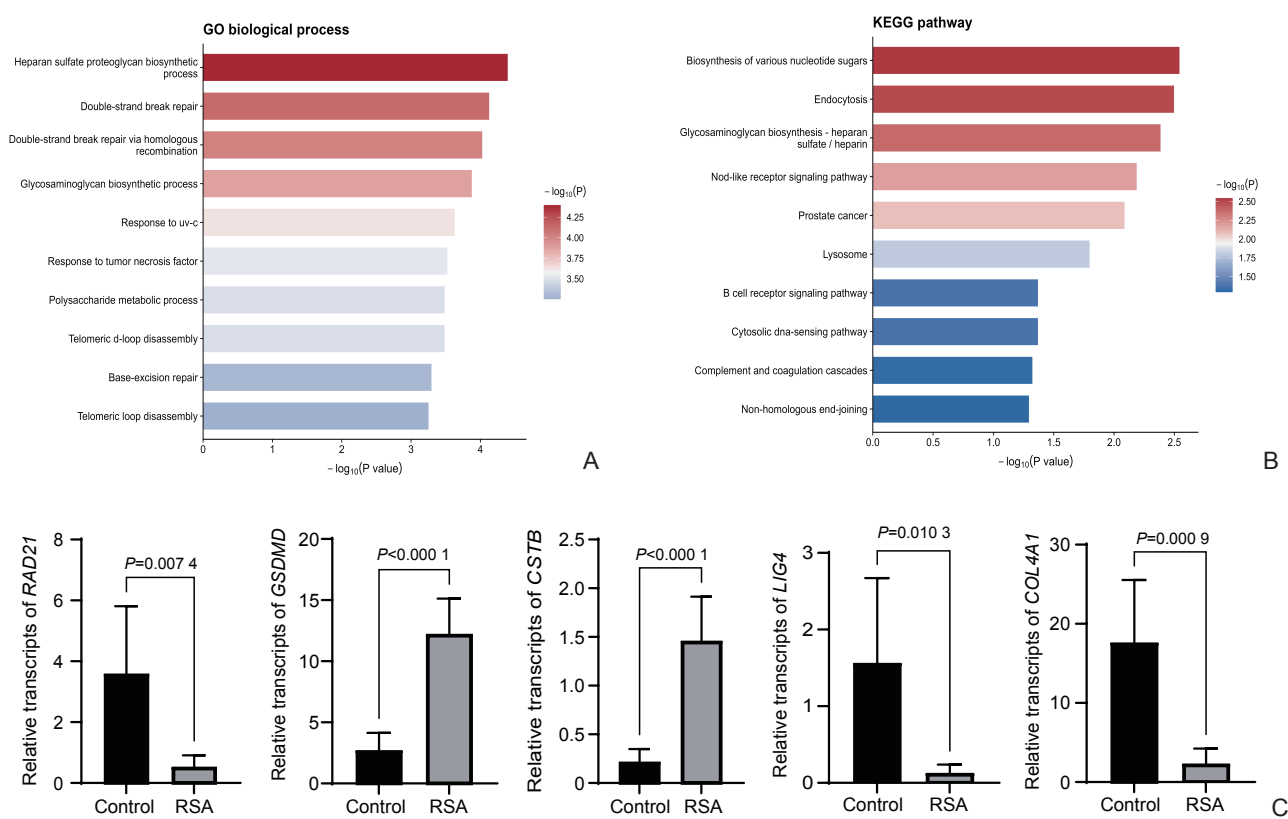
qRT-PCR结果显示,与对照组相比,RSA组RAD21、LIG4及COL4A1表达水平降低,而GSDMD及CTSB表达水平升高($P<0.05$,图3C)。

3 讨论

RSA的致病机制复杂且个体差异明显,虽然现行专家共识已建立相对系统的病因筛查流程并用于临床评估,但在完成常规检查之后仍有相当比例患者难以获得明确病因,而该人群的病因解释长期被视为临床诊疗中的重点与难点之一^[2]。对POC开展遗传学检测被认为可补充既有RSA评估体系,并进一步从胚胎遗传学背景层面理解妊娠丢失发生机制^[5-6]。然而既往多数研究多将RSA作为整体样本进行统计并主要关注染色体异常的总体检出水平,而在规范化病因分型前提下,比较不同亚型RSA胚胎染色体异常构成差异的系统性分析相对有限。因此,本研究在完成标准化病因学评估后,依据评估结果将研究对象区分为MPF-eRSA与MPF-uRSA,并采用CNV-seq对POC进行分层遗传学分析,同时结合母体临床变量开展多因素统计建模,从而更加细致地呈现不同分层人群的胚胎遗传学特征,并为RSA的遗传咨询实践和后续研究提供可供参考的数据依据。

3.1 母体年龄是RSA胚胎非整倍体发生的重要影响因素

在本研究中,母体年龄与胚胎染色体异常风险呈正相关,且主要体现在非整倍体中的单一三体上。年龄与多重三体及复杂变异亦呈一定的正相关趋势。既往研究普遍认为,妊娠丢失中的非整倍体多来源于母源减数分裂错误,其发生风险随年龄增加而升高,是早期妊娠丢失中较为稳定的生殖生物学背景因素^[7-9,11]。本研究进一步在按常规病因学评估分层的



A: Gene Ontology biological process enrichment analysis; B: Kyoto encyclopedia of genes and genomes pathway enrichment analysis; C: qRT-PCR of *RAD21*, *LIG4*, *COL4A1*, *CSTB*, and *GSDMD* expression in villous tissues from the RSA and control groups

图3 RSA 相关 CNV 候选基因的功能富集分析及 qRT-PCR 验证

Figure 3 Functional enrichment analysis and qRT-PCR validation of RSA-related CNV candidate genes

MPF-eRSA 与 MPF-uRSA 人群中分别分析年龄与异常类型的关系,发现上述年龄相关趋势在 2 组中均存在,并未仅出现在某一分组。提示年龄对染色体异常的影响可能是一种普遍的危险因素。年龄效应主要集中于染色体数目异常,而 CNV 与年龄之间的关系仍不确定^[8-9]。值得注意的是,本研究中 35 岁以后非整倍体比例出现明显上升,提示在现有年龄分层基础上,35 岁可能已是一个值得关注的临界节点。根据《胚胎植入前遗传学检测的遗传咨询专家共识》,女性年龄 ≥ 38 岁被定义为高龄人群,是胚胎植入前非整倍体检测 (preimplantation genetic testing for aneuploidy, PGT-A) 的重要适应证之一^[12],而本研究结果提示,相关风险的变化可能早于传统认知的年龄界限。未来仍需在更大样本及多中心研究中进一步验证,以评估不同年龄分层标准在临床决策中的适用性,从而为高龄人群的妊娠管理提供更加合理的依据。

同时,本研究发现母体遗传因素与胚胎染色体异常风险升高相关,而辅助生殖受孕方式在该类患者中可能降低异常胚胎的受孕概率。因此,对有遗传因素

异常的 RSA 患者开展 POC 遗传学评估可能改善此类患者的妊娠结局。此外,结果显示母体解剖、遗传及内分泌因素异常与 pCNV 的发生风险升高相关,提示 pCNV 可能受到母体本身合并症影响,但其内在机制尚不明确,仍需结合更大样本及功能研究进一步验证。对于存在明确母体高危因素的患者,可结合流产组织遗传学检测结果开展更有针对性的风险沟通与随访管理。同时,本研究进一步观察到母体解剖因素与胚胎复杂变异发生风险呈正相关。

需要指出的是,本研究中部分染色体异常亚型——如三倍体及复杂变异事件数较少,分析结果应视为探索性发现,不宜作为确定性结论进行解释。

3.2 病因分型有助于识别 RSA 胚胎染色体异常构成的异质性

本研究显示,MPF-eRSA 组总体染色体异常风险显著低于 MPF-uRSA 组,且染色体异常构成特征存在差异:MPF-uRSA 组以数目异常为主,提示染色体异常构成特征的分层解读对于 RSA 的病因评估具有重要意义^[7,13]。以往针对原因不明 RSA 的研究常聚焦于母

体本身因素,如女性个体可能携带与着床、免疫耐受或胎盘形成等过程相关的遗传变异,使妊娠维持的代偿能力下降,从而增加反复丢失的风险^[4]。但本研究发现 MPF-uRSA 组非整倍体比例升高,提示胚胎数目异常在其妊娠丢失的病因中占据重要地位。

单因素分析提示 CNV 总体比例在 MPF-eRSA 组中升高,但进一步进行多因素 Logistic 回归分析提示结果无显著性。与非整倍体不同,pCNV 的临床解释通常不能仅凭一次检测即作出明确归因,而需要结合变异类型与证据等级进行综合判读,并在必要时通过家系验证或补充检测完善证据链,以避免过度解读或误判。相关研究及指南建议对复发性妊娠丢失中检出的 CNV 应纳入分层管理流程,强调验证、随访与风险沟通,从而为后续妊娠决策提供更可靠的依据^[10,12,14],未来需在更大的样本中进行相关研究。

此外,本研究在单因素分析中观察到 MPF-eRSA 组嵌合体比例高于 MPF-uRSA 组,但在多因素模型中该差异未再达到统计学显著性。嵌合体通常被认为来源于受精后早期卵裂阶段的有丝分裂异常,其形成机制包括染色体分离错误、后期滞留及三体自我纠正等过程,早期胚胎细胞周期调控尚不稳定,在一定条件下可能增加有丝分裂错误发生概率,从而提高嵌合体的发生率。此外,体外培养环境等因素可能对胚胎发育过程产生一定影响,但其具体作用机制仍有待进一步研究。嵌合体与不良妊娠结局相关,其比例升高通常提示胚胎发育过程中存在一定程度的不稳定性^[15]。

结合本研究结果,MPF-eRSA 组中嵌合体在单因素分析中比例较高,可能与该组所包含的内分泌、免疫炎症及解剖异常等母体因素相关。这些因素可能通过影响胚胎发育微环境,在一定程度上增加受精后早期细胞分裂异常的发生概率。然而,在多因素模型中该差异未再达到统计学显著性,提示嵌合体的组间差异可能更多反映上述临床因素的综合作用,而非 RSA 分型本身的独立效应。尽管回归分析中其发生风险呈升高趋势但未达到统计学显著性,相关结果仍需更大样本研究中进一步验证。

3.3 pCNV 覆盖基因提示 RSA 可能涉及基因组稳定性、母胎界面结构及炎症相关过程

由于 CNV-seq 检测结果往往涉及多个基因区域,仅依据单个 CNV 位点本身较难直接解释其潜在生物学意义,因此本研究进一步对 RSA 相关 CNV 覆盖基因进行了 GO/KEGG 功能富集分析,以从整体层面观察这些基因可能涉及的生物学过程及功能方向。结果

显示,相关基因主要富集于 DNA 双链断裂修复、糖胺聚糖生物合成、多糖代谢及对肿瘤坏死因子的反应等生物过程;KEGG 分析提示,NOD 样受体信号通路、溶酶体及补体与凝血级联等通路可能与这些基因相关。整体来看,上述富集方向主要集中于基因组稳定性维持、细胞外基质稳态及炎症相关过程。

基于上述富集结果,并结合 CNV 覆盖区域内基因的已知功能,本研究进一步筛选 *RAD21*、*LIG4*、*COL4A1*、*CTSB* 及 *GSDMD* 进行 qRT-PCR 初步验证。其中,*RAD21* 及 *LIG4* 主要参与 DNA 损伤修复及染色体稳定性维持,与本研究 GO 富集中 DNA 双链断裂修复相关条目对应^[16-17]; *COL4A1* 与基底膜及细胞外基质结构相关,与糖胺聚糖生物合成及细胞外基质稳态方向具有一定联系^[18]; *CTSB* 与溶酶体功能及细胞应激过程相关,*GSDMD* 参与炎症性细胞死亡过程,二者分别与 KEGG 分析中溶酶体及 NOD 样受体信号通路等炎症相关方向相对应^[19-21]。因此,上述基因能够在一定程度上代表本研究富集分析所涉及的主要功能方向。

qRT-PCR 结果显示,与对照组相比,RSA 组 *RAD21*、*LIG4* 及 *COL4A1* 表达水平降低,而 *CTSB* 及 *GSDMD* 表达水平升高。该结果提示,在 RSA 绒毛组织中,与 DNA 损伤修复、染色体稳定性及细胞外基质结构相关的候选基因表达呈下降趋势,而与溶酶体功能及炎症性细胞死亡相关的候选基因表达呈升高趋势。该表达模式与富集分析所提示的功能方向具有一定一致性,为从 CNV 相关基因层面理解 RSA 中基因组稳定性、母胎界面结构稳态及炎症反应异常提供了初步线索。

母胎界面炎症反应与 RSA 发生密切相关。妊娠早期滋养层细胞侵袭、血管重塑及免疫耐受建立均依赖稳定的局部微环境,炎症因子释放增加、固有免疫信号激活及异常细胞死亡均可能影响早期胎盘形成^[22-23]。本研究中,炎症相关通路在 CNV 覆盖基因中呈现富集趋势,同时 *GSDMD* 及 *CTSB* 表达升高,提示炎症性细胞死亡、溶酶体功能异常及固有免疫相关过程可能是 RSA 相关 CNV 后续机制研究的重要方向。该结果也提示,CNV 相关基因的潜在影响可能不仅局限于胚胎遗传学异常本身,还可能与母胎界面炎症微环境及滋养层细胞稳态改变有关。

需要指出的是,本研究的 GO/KEGG 分析及 qRT-PCR 结果主要用于从 CNV 相关基因层面提供探索性线索。由于不同样本间 CNV 数量及变异构成可能存在差异,相关富集结果仍可能受到样本量及变异分布

影响;同时,本研究仅进行了组织水平的初步表达验证,尚不能直接说明上述基因在RSA发生中的具体作用机制。因此,后续研究可进一步围绕炎症相关方向展开,重点关注NOD样受体信号通路、GSDMD介导的炎症性细胞死亡、溶酶体功能异常及补体/凝血相关反应,并结合细胞功能实验、通路干预实验及更大样本验证,进一步明确CNV相关候选基因与RSA炎症微环境改变之间的关系。

3.4 临床意义和局限性

本研究基于CNV-seq技术,对RSA组织的遗传学异常特征进行了系统分析,并在病因学分型框架下比较了不同类型RSA人群的异常构成特点。相较于仅对POC检测结果进行一般性描述,本研究进一步将胚胎遗传学异常与母体病因学评估相结合,有助于从更完整的临床背景下认识RSA的异质性,也为流产组织遗传学检测在RSA病因评估中的应用提供了更多依据。与此同时,本研究对CNV相关基因的功能富集特征进行了初步分析。相关结果主要反映不同分组CNV覆盖基因集合的功能分布特点,可为后续研究提供一定参考。

本研究仍存在一定局限性。首先,作为单中心回顾性研究,样本来源相对集中,可能存在一定的人群选择偏倚;同时,对于发生率较低的染色体异常类型,样本量仍较有限,相关分析的统计效能不足,部分结果仍需更大样本中进一步验证。其次,本研究依据患者最终一次妊娠后完成的系统病因学评估结果,对既往妊娠事件进行统一分型。该处理方式在提高分型一致性的同时,也可能使部分妊娠事件的病因归类带有一定的回顾性赋值特征,从而引入潜在的分型偏倚。

综上所述,本研究从病因学分层视角对RSA流产组织的CNV-seq检测结果进行了系统分析,丰富了对RSA胚胎遗传学异常特征及其临床异质性的认识,并为POC遗传学检测在病因评估、遗传咨询及妊娠风险分层中的应用提供了参考。相关结论的进一步推广仍需结合更大样本、多中心研究及后续功能验证加以完善。

利益冲突 本文所有作者声明不存在利益冲突

参考文献:

[11] QUENBY S, GALLOS I D, DHILLON-SMITH R K, *et al.* Miscarriage matters: the epidemiological, physical, psychological, and economic costs of early pregnancy loss [J]. *Lancet*, 2021, 397 (10285): 1658-1667. DOI:

10.1016/S0140-6736(21)00682-6.

[2] 上海市医学会妊娠免疫专科分会, 全国卫生产业企业管理协会生殖免疫专业委员会, 复发性流产病因分级筛查临床实践中国专家共识编写组, 等. 复发性流产病因分级筛查临床实践中国专家共识(2025年版)[J]. *中国实用妇科与产科杂志*, 2025, 41(11): 1111-1123. DOI:10.19538/j.fk2025110112.

Pregnancy and Immunity Specialty of Shanghai Medical Association, Reproductive and Immune Special Committee of National Association of Health Industry and Enterprise Management, Compiling Group of China, *et al.* Chinese expert consensus on clinical practice of graded screening for pathogeny of recurrent spontaneous abortion (2025 edition) [J]. *Chin J Pract Gynecol Obstet*, 2025, 41 (11): 1111-1123. DOI:10.19538/j.fk2025110112.

[3] Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Evaluation and treatment of recurrent pregnancy loss: a committee opinion [J]. *Fertil Steril*, 2012, 98 (5): 1103-1111. DOI:10.1016/j.fertnstert.2012.06.048.

[4] COLLEY E, HAMILTON S, SMITH P, *et al.* Potential genetic causes of miscarriage in euploid pregnancies: a systematic review [J]. *Hum Reprod Update*, 2019, 25 (4): 452-472. DOI:10.1093/humupd/dmz015.

[5] XIA Z Y, ZHOU R, LI Y M, *et al.* Reproductive outcomes in couples with sporadic miscarriage after embryonic chromosomal microarray analysis [J]. *Ann Med*, 2023, 55 (1): 837-848. DOI:10.1080/07853890.2023.2183986.

[6] 包文晶, 王书琴, 陈秀娟. 复发性流产遗传学病因学研究进展[J]. *生殖医学杂志*, 2021, 30(3): 405-409. DOI:10.3969/j.issn.1004-3845.2021.03.023.

BAO W J, WANG S Q, CHEN X J. Research progress in genetic etiology of recurrent spontaneous abortion [J]. *J Reprod Med*, 2021, 30 (3): 405-409. DOI: 10.3969/j.issn.1004-3845.2021.03.023.

[7] SHAO Y Q, YANG S S, CHENG L, *et al.* Identification of chromosomal abnormalities in miscarriages by CNV-Seq [J]. *Mol Cytogenet*, 2024, 17 (1): 4. DOI:10.1186/s13039-024-00671-7.

[8] 韩田田, 冯杏琳, 宋雅倩, 等. CNV-seq技术在流产组织检测中的临床应用[J]. *中国优生与遗传杂志*, 2025, 33(8): 1774-1779. DOI:10.13404/j.cnki.cjbhh.2025.08.015.

HAN T T, FENG X L, SONG Y Q, *et al.* Clinical application of CNV-seq technology in the detection of abortion tissues [J]. *Chin J Birth Heal Hered*, 2025, 33(8): 1774-1779. DOI:10.13404/j.cnki.cjbhh.2025.08.015.

[9] DAI Y F, WU X Q, HUANG H L, *et al.* Experience of copy number variation sequencing applied in spontaneous abortion [J]. *BMC Med Genomics*, 2024, 17(1): 15. DOI:10.1186/

- s12920-023-01699-1.
- [10] RIGGS E R, ANDERSEN E F, CHERRY A M, *et al.* Technical standards for the interpretation and reporting of constitutional copy-number variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) and the Clinical Genome Resource (ClinGen) [J]. *Genet Med*, 2020, 22(2): 245-257. DOI:10.1038/s41436-019-0686-8.
- [11] 江旭, 姚迪, 沈晔, 等. 自然妊娠、辅助生殖妊娠自然流产与流产组织染色体异常的关联[J]. *中南大学学报(医学版)*, 2025, 50(1): 36-44. DOI: 10.11817/j.issn.1672-7347.2025.240380.
- JIANG X, YAO D, SHEN Y, *et al.* Association between spontaneous abortion and chromosomal abnormalities of products of conception from spontaneous and ART-conceived pregnancies [J]. *J Cent South Univ Med Sci*, 2025, 50(1): 36-44. DOI: 10.11817/j.issn.1672-7347.2025.240380.
- [12] 中国遗传学会遗传咨询分会, 中国医师协会医学遗传医师分会生殖遗传学组, 出生缺陷防控协同创新共同体, 等. 胚胎植入前遗传学检测的遗传咨询专家共识[J]. *中华妇产科杂志*, 2024, 59(12): 899-909. DOI: 10.3760/cma.j.cn112141-20240618-00346.
- Genetic Counseling Branch of the Chinese Society of Genetics, Reproductive Genetics Group of the Medical Geneticist Branch of Chinese Medical Doctor Association, Collaborative Innovation Community for Birth Defect Prevention and Control, *et al.* Experts consensus on genetic counseling for preimplantation genetic testing [J]. *Chin J Obstet Gynecol*, 2024, 59(12): 899-909. DOI: 10.3760/cma.j.cn112141-20240618-00346.
- [13] DAHDOUH E M, KUTTEH W H. Genetic testing of products of conception in recurrent pregnancy loss evaluation [J]. *Reprod BioMedicine Online*, 2021, 43(1): 120-126. DOI:10.1016/j.rbmo.2021.03.015
- [14] SIERRA S, MIN J, SAUMET J, *et al.* The investigation and management of recurrent early pregnancy loss: a Canadian Fertility and Andrology Society clinical practice guideline [J]. *Reprod BioMedicine Online*, 2025, 50(3): 104456. DOI:10.1016/j.rbmo.2024.104456.
- [15] TAYLOR T H, GITLIN S A, PATRICK J L, *et al.* The origin, mechanisms, incidence and clinical consequences of chromosomal mosaicism in humans [J]. *Hum Reprod Update*, 2014, 20(4): 571-581. DOI: 10.1093/humupd/dmu016.
- [16] CHENG H Z, ZHANG N G, PATI D. Cohesin subunit RAD21: From biology to disease [J]. *Gene*, 2020, 758: 144966. DOI:10.1016/j.gene.2020.144966.
- [17] CHIRUVELLA K K, LIANG Z B, WILSON T E. Repair of double-strand breaks by end joining [J]. *Cold Spring Harbor Perspect Biol*, 2013, 5(5): a012757. DOI: 10.1101/cshperspect.a012757.
- [18] VAN AGTMAEL T, SCHLÖTZER-SCHREHARDT U, MCKIE L, *et al.* Dominant mutations of Col4a1 result in basement membrane defects which lead to anterior segment dysgenesis and glomerulopathy [J]. *Hum Mol Genet*, 2005, 14(21): 3161-3168. DOI:10.1093/hmg/ddi348.
- [19] XIE Z, ZHAO M, YAN C, *et al.* Cathepsin B in programmed cell death machinery: mechanisms of execution and regulatory pathways [J]. *Cell Death Dis*, 2023, 14(4): 255. DOI:10.1038/s41419-023-05786-0.
- [20] BURDETTE B E, ESPARZA A N, ZHU H, *et al.* Gasdermin D in pyroptosis [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2021, 11(9): 2768-2782. DOI:10.1016/j.apsb.2021.02.006.
- [21] LIU X, ZHANG Z B, RUAN J B, *et al.* Inflammasome-activated gasdermin D causes pyroptosis by forming membrane pores [J]. *Nature*, 2016, 535(7610): 153-158. DOI:10.1038/nature18629.
- [22] TANG C, HU W Q. The role of Th17 and Treg cells in normal pregnancy and unexplained recurrent spontaneous abortion (URSA): New insights into immune mechanisms [J]. *Placenta*, 2023, 142: 18-26. DOI: 10.1016/j.placenta.2023.08.065
- [23] YAO Y, YE Y Q, CHEN J, *et al.* Maternal-fetal immunity and recurrent spontaneous abortion [J]. *Am J Reprod Immunol*, 2024, 91(5): e13859. DOI:10.1111/aji.13859.
- (收稿:2026-02-12;修回:2026-05-22)
(编辑 邓强庭)