

◇ 综述 ◇

干细胞在子宫内膜损伤修复中的研究进展

刘彩姣¹, 王嵩明²

(1. 内蒙古民族大学临床医学院, 内蒙古 通辽 028000; 2. 海军总医院妇产科, 北京 100048)

摘要:临床实践中, 子宫内膜损伤与频繁的宫腔操作史、感染及部分药物的使用密切相关。严重者可能会引起子宫内膜基底层的损伤, 影响子宫内膜上皮细胞和损伤血管的再生, 从而导致子宫内膜修复困难。临床上可表现为月经减少, 闭经, 不孕, 习惯性流产, 早产和胎盘异常等。对于重度子宫内膜损伤的治疗是临床上较为棘手的问题, 近年来国内外学者研究发现干细胞移植在子宫内膜损伤修复方面具有重要作用, 细胞治疗为子宫内膜损伤后修复提供了新的思路 and 方向。

关键词:干细胞; 子宫内膜; 损伤; 修复

doi:10.3969/j.issn.1009-6469.2017.05.001

Research progress of stem cells in the repair of endometrial injury

LIU Caijiao¹, WANG Aiming²

(1. College of Clinical Medicine, Inner Mongolia University for the Nationalities, Tongliao, Inner Mongolia 028000, China; 2. Department of Obstetrics & Gynecology, Navy General Hospital, Beijing 100048, China)

Abstract: In the clinical practice, endometrial injury is closely related to uterine cavity operation history, infection and the use of some drugs. In severe cases, uterine endometrial basal layer damage may occur, which affecting endometrial epithelial cells and vascular regeneration leading to endometrial repair difficulty. The clinical manifestations of endometrial injury include decreasing in menstrual flow, amenorrhea, infertility, recurrent miscarriage, premature birth and placental abnormalities, etc. The therapy of severe endometrial injury is a thorny problem in clinic. In recent years, domestic and foreign scholars have found that stem cell transplantation plays an important role in the repair of endometrial injury. Cell therapy provides a new way of thinking and direction for repair of endometrial injury.

Key words: Stem cells; Endometrium; Injury; Repair

子宫内膜是一个高度再生的组织, 在月经周期中进行动态的, 周期性的生长、分化、脱落和再生。子宫内膜作为胚胎发育的“土壤”, 其再生对胚胎的着床和妊娠的维持至关重要。由于频繁的宫腔操作史、感染及部分药物的使用, 子宫内膜损伤的发生逐渐增多, 特别是子宫肌瘤剔除, 子宫内膜炎或反复流产后清宫等导致的子宫内膜基底层破坏, 造成子宫内膜重度损伤, 再生修复困难, 常引起子宫前后壁之间纤维瘢痕和粘连的形成。临床上可表现为月经减少, 闭经, 不孕, 习惯性流产, 早产和胎盘异常等。有研究表明^[1], 近三分之二的胚胎种植失败是由于内膜因素所致, 而宫腔粘连又是内膜所致不孕中最主要、最难解决的一个病因。因此, 对

于重度子宫内膜损伤的治疗是临床上亟待解决的问题。

干细胞具有易于获取、高度自我更新、多向分化潜能、弱免疫原性的特点, 使得其作为非常有前途的细胞用于再生医学。许多研究已经证明干细胞可加速骨、软骨、皮肤和外周神经的修复^[2-5], 并且促进缺血性器官的功能恢复, 例如: 心脏、脑和肾脏等^[6-8]。近年来, 国内外学者研究发现干细胞在子宫内膜损伤的修复及再生方面同样具有重要作用。本研究对近几年干细胞修复受损子宫内膜的报道进行综述, 从细胞治疗的角度解释子宫内膜的损伤与修复机制。

1 子宫内膜损伤的病理学基础

在目前的研究中^[9], 子宫内膜损伤后, 电子显微镜显示: 子宫内膜腺上皮细胞和线粒体均发生肿胀, 且线粒体嵴缩短, 甚至出现液化泡; 内质网扩张, 核糖体数量减少。子宫内膜间质细胞结构疏松, 大量的成纤维细胞聚集, 细胞中含有丰富的细胞器, 内质网数量增加, 线粒体略有扩大。在基质

基金项目: 国家“十二五”科技支撑计划项目(2012BAI32B05); 国家自然科学基金项目(81000245; 81370703); 全军后勤科研课题(CHJ12J012)

作者简介: 刘彩姣, 女, 硕士研究生

通信作者: 王嵩明, 女, 教授, 博士生导师, 研究方向: 生殖内分泌, E-mail: one_army@sina.com

中,大量的胶原蛋白呈弥漫性或聚集性分布,毛细血管狭窄或闭合,并且没有发现血细胞。此外,内皮细胞之间的紧密连接是很明显的。损伤累及子宫内膜基底层时,无活性的立方柱状上皮替代腺上皮,腺体稀疏且无活性或呈囊样扩张,发生钙化或骨化的纤维组织替代间质细胞,功能层和基底层边界不清,代之以对激素无应答的单层细胞。在子宫内膜基底层严重受损的情况下,大量的中性粒细胞,单核细胞,巨噬细胞,淋巴细胞和成纤维细胞在子宫内膜损伤处聚集,引起急性或者慢性炎症,并且分泌多种炎性介质,造成子宫内膜细胞和腺体再生不活跃,并导致子宫内膜容受性降低^[10]。

2 子宫内膜损伤后病理性修复结果

频繁的宫腔操作、感染及部分药物的使用一旦损伤子宫内膜基底层,会使子宫内膜细胞和腺体再生障碍,新生血管形成受损,子宫内膜难以实现自我修复^[11]。临床上常见的薄型子宫内膜和宫腔粘连(IUA)即是子宫内膜损伤后修复障碍的结果。虽然目前对于薄型子宫内膜的评价尚无统一标准,但多数学者认为,薄型子宫内膜是指子宫内膜厚度低于胚胎着床所需的阈厚度,通常子宫内膜厚度 > 7 mm 是保证胚胎着床的前提^[12-14]。有研究表明^[15],妊娠率与病人的年龄和胚胎质量关系不大,但却随着子宫内膜厚度的增加而增加。薄型子宫内膜病人通常对药物呈低反应或无反应状态,且导致子宫内膜容受性降低,影响胚胎种植,增加流产的风险,是导致不孕的重要原因之一。子宫内膜基底层严重受损是导致 IUA 形成的主要原因,据报道超过 90% 的 IUA 是由于子宫内膜损伤后病理性修复所致^[16]。近年来,很多学者提出子宫内膜损伤后再生修复困难,可能与子宫内膜基底层的干细胞数量减少或缺失,亦或是功能受损有关^[17-18]。而外源性的补充干细胞或许成为子宫内膜损伤后修复的新的治疗方法。

3 干细胞的功能及在子宫内膜损伤修复中的作用

由于干细胞独特的生物学特性,使得其在再生医学和免疫治疗领域具有极大的应用前景。基于各种动物实验模型及临床实验的研究,发现干细胞在子宫内膜损伤修复方面具有重要作用,认为干细胞的功能及发挥其治疗作用可能有如下机制。

3.1 分化为子宫内膜细胞和(或)血管细胞的能力

干细胞具有高度自我更新和多向分化潜能,在全身多种组织中广泛存在,体外培养条件下可实现扩增,并具有“横向分化”或“跨系分化”的能力,在特定条件下可分化为神经细胞、成骨细胞、软骨细胞、

脂肪细胞等。干细胞因其这一特性而成为组织工程研究的首选种子细胞。对于子宫内膜损伤的病人,利用干细胞的分化潜能,能否使损伤的子宫内膜再生,从而补充缺失的子宫内膜,国内外学者做了很多研究。刘芳等^[19]通过制备子宫内膜条件培养液来模拟子宫内膜生长的微环境,在体外环境下添加雌激素,发现兔骨髓间充质干细胞(BMSCs)向子宫内膜上皮细胞分化;王淑娜^[20]将人胚胎干细胞同子宫内膜间质细胞、雌激素和细胞因子共培养,结果发现人胚胎干细胞向子宫内膜样细胞分化;高绿芬等^[21-22]均发现子宫内膜间质干细胞向子宫内膜上皮细胞分化;Zhang 等^[23]发现小鼠的 BMSCs 与子宫内膜间质细胞共培养, BMSCs 可向子宫内膜上皮细胞方向分化;王永刚^[24]将大鼠 BMSCs 与子宫内膜间质细胞共培养,发现 BMSCs 可以向子宫内膜间质细胞方向分化。Du 等^[25-26]均发现 BMSCs 可分化为子宫内膜间质细胞和子宫内膜上皮细胞。以上这些研究说明了干细胞向子宫内膜样细胞方向分化的可行性,为子宫内膜损伤后应用干细胞治疗提供实验依据。

血管新生是子宫内膜损伤后修复过程中必不可少的环节。应用细胞因子、细胞或其他物质刺激缺血组织的血管新生,提高组织的供血供氧,从而促进组织的修复,称为治疗性血管新生^[27]。基于干细胞的治疗性血管新生,首先要求移植的干细胞具有趋化和迁移能力,亦称为归巢能力,即迁移到损伤的特定区域,并且定居于此,进而发挥各种组织修复功能。大量的实验证明^[25,28-29],干细胞具有向损伤组织趋化和迁移的能力。直接分化为血管细胞是干细胞促进血管新生的一个机制,在组织发生损伤,尤其是缺血损伤的时候,血管结构破坏,缺血、缺氧,导致组织细胞坏死,机体自身机制启动血管新生。这个过程需要大量的内皮细胞、周细胞和血管平滑肌细胞的参与修复,当接受干细胞移植后,干细胞能够分化为血管细胞,为血管新生提供血管细胞的来源,促进和加速损伤区域新生血管的形成,进而促进组织的修复。

3.2 分泌多种生物活性分子促进损伤细胞恢复和抑制炎症的能力

很多研究者强调^[30-32],干细胞具有丰富的分泌活性,其发挥作用可能是由于旁分泌因素。这些因素包括不同类型的细胞因子的分泌,如生长因子,抗炎和促炎因子,抗凋亡因子等。

体外培养的干细胞可以分泌血管内皮生长因子(VEGF)、肝细胞生长因子(HGF)、碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)、胎盘生长因子(PIGF)、血小板

衍生因子(PDGF)等众多与血管新生相关的细胞因子。基于干细胞移植的动物实验证明^[33],干细胞在体内也可以通过分泌并提高组织内的血管生长因子水平,利于血管新生,从而促进缺血组织的修复。移植的干细胞进入损伤部位后可通过自分泌和旁分泌作用产生细胞因子。有研究发现干细胞分泌的外泌体,对抗凋亡基因 BCL2L1、BCL2 和 BIRC8 具有上调作用,对促凋亡基因 CASP1、CASP8 和 LTA 具有下调作用,从而抑制损伤细胞的凋亡,对组织的修复及再生起到重要作用^[34]。当组织发生损伤,血管系统遭到破坏的病理条件下,干细胞对损伤组织分泌的信号如炎症因子立即做出反应,通过分泌血管活性因子,刺激内皮细胞的增殖与分化,招募血管周细胞或(和)血管平滑肌细胞。当组织损伤严重的情况下,内源性的干细胞尚不足以维持内环境的稳态,需借助于移植外源性的干细胞,发挥血管新生的作用,促进组织的修复。综上,认为联合应用细胞因子和干细胞治疗重度子宫内膜损伤是非常值得深入研究的治疗策略。

3.3 缺少免疫原性和具有免疫调节功能 普遍接受的干细胞的主要的免疫学特性是低免疫原性和免疫抑制能力。干细胞的低免疫原性表现为表达低水平的 HLA/MHC I 类分子、非组成性表达 MHC II 类分子、不表达共刺激分子,以及不引起同种异源淋巴细胞的活化和增殖。目前更多的关注集中到干细胞对免疫应答的调节能力。最早认识到干细胞对免疫应答的调节能力是源于发现移植的同源异种干细胞能逃避受体的免疫监视^[35]。

体现干细胞的免疫抑制能力的最好的例子,是输入同种异源的干细胞能够有效治疗对免疫抑制剂不敏感的重症急性移植宿主病(GVHD)^[36]。干细胞的免疫抑制能力不是与生俱来的,细胞因子微环境是影响干细胞的免疫调节能力的最重要的因素。目前研究发现 γ -干扰素(IFN- γ)的分泌可能对干细胞的免疫功能起重要作用。在生理情况下,IFN- γ 处于低浓度,干细胞可能作为抗原提呈细胞启动免疫应答。体外研究发现,活化的自然杀伤细胞(NK)可以裂解干细胞,但是加入 IFN- γ 可上调干细胞表达 MHC I 分子的水平,部分保护干细胞免受 NK 细胞的攻击^[37]。肿瘤坏死因子- α (TNF- α)和 IFN- γ 也可引起干细胞的环氧化酶 2(COX-2)和前列腺素 E2(PGE2)表达上调,通过 PGE2 依赖的方式抑制免疫应答。TNF- α 和 IFN- γ 还促进干细胞上调 CD54 的表达,诱导干细胞与辅助性 T17 细胞(Th17)在体外的黏附,以细胞接触依赖方式抑制

Th17 细胞应答效应^[38]。

干细胞还具有固有免疫的某些功能,如分泌多种细胞因子和生长因子,调节 NK 细胞、B 细胞、中性粒细胞、巨噬细胞等多种免疫细胞的活性,最终诱导抗炎效应和(或)免疫耐受状态。此外,干细胞也表达多种功能性的 Toll 样受体(TLR)。最近研究表明,干细胞的 TLR 信号途径可能影响其分化、增殖、迁移和免疫抑制功能^[39]。理论上,干细胞诱导的免疫抑制可能导致机体对病原微生物的易感性,然而,干细胞表达功能性 TLR,多种病原体及其产物可以活化干细胞的 TLR 通路,一方面,可能促进干细胞的免疫抑制能力,从而抑制过度的免疫应答,限制组织损伤的程度和范围,有助于炎症的缓解;另一方面,TLR 活化的干细胞可能分泌多种致炎细胞因子,逆转间充质干细胞(MSC)对免疫应答的抑制效应,在炎症缓解后恢复机体的抗感染免疫。这样,阐明 TLR 通路活化影响干细胞的免疫调节能力的具体机制对 MSC 临床应用的有效性和安全性是非常重要的。

综上所述,越来越多的临床和基础实验的研究都显示出干细胞对子宫内膜修复的可行性。干细胞在子宫内膜修复方面的作用可能是由于其强大的分化能力,也可能是由于其分泌的生物活性分子在对组织的修复再生、抗炎及免疫调节方面发挥重要作用,更多的猜测可能是干细胞多种功能共同起作用的结果。近年来临床上应用干细胞修复受损子宫内膜进行了很多次尝试。2011 年 Nagori 等^[40]在宫腔粘连分解术后,将自体 BMSCs 灌注到 IUA 病人子宫腔内,并加以雌激素治疗,经过 4 个雌激素人工周期治疗后,行体外受精-胚胎移植(IVF-ET)术,成功妊娠。2013 年, Zhao 等^[41]针对反复流产导致的难治型 IUA 病人,常规治疗无效后,行宫腔粘连分解术,术后利用 BMSCs 联合雌激素人工周期治疗,使其成功受孕。2014 年, Singh 等^[42]对宫腔镜诊断为重度 IUA 的病人进行了自体 BMSCs 治疗,病人治疗前均有继发性闭经或不孕病史,且行传统宫腔粘连分解术及雌激素治疗失败, BMSCs 治疗后 3、6、9 个月,所有病人内膜厚度较治疗前均有明显增加,其中 5 例病人恢复了闭经。戴建武团队,研制出胶原支架复合自身干细胞的方法,通过将干细胞附着在胶原支架上,然后将其放到病人宫腔中,结合传统的宫腔镜的改进,实现对受损子宫内壁的功能性修复,有病人相继怀孕并顺利生产,目前这项研究仍在继续^[43]。这是干细胞在世界再生医学领域的重要成果,也是在生殖领域的成功突破。

4 问题与展望

干细胞具有广阔的临床应用前景,基于其独特的生物学功能,以干细胞为中心的再生治疗或替代治疗将为重度子宫内膜损伤的治疗带来新的希望。但是,干细胞技术向临床转化还有很多问题需要解决,例如,如何保持干细胞经过体外大规模培养后的分化能力、遗传特征和稳定性;避免致瘤性的发生;建立与药效作用相关的体外生物学评价方法;筛选保持活细胞稳定的药物制剂配方等。另外,注射的干细胞在体内的迁移路径和在各个器官中的分布仍然是值得深入探索的课题。干细胞被注射后体内的代谢形式和归宿问题,这直接关系到治疗中干细胞的输注部位、方式、剂量、长期安全性等在临床使用中面临的问题。同时,干细胞的“干”性由于其来源及培养试剂和方法不同而不完全相同,我们可以根据不同组织来源的干细胞的一些功能差异,选择性地将其应用于临床,进而更好地为临床服务。总之,从整体水平上提升干细胞对组织再生与修复的作用,还有很长的一段路要走。

参考文献

- [1] 古云霞,涂灵. 宫腔粘连的研究进展[J]. 南昌大学学报(医学版), 2011, 51(9): 91-96.
- [2] BEN-DAVID D, KIZHNER TA, KOHLER T, et al. Cell-scaffold transplant of hydrogel seeded with rat bone marrow progenitors for bone regeneration[J]. *J Craniomaxillofac Surg*, 2011, 39(5): 364-371.
- [3] YAMASAKI S, MERA H, ITOKAZU M, et al. Cartilage Repair With Autologous Bone Marrow Mesenchymal Stem Cell Transplantation[J]. *Cartilage*, 2014, 5(4): 196-202.
- [4] MA K, LIAO S, HE L, et al. Effects of nanofiber/stem cell composite on wound healing in acute full-thickness skin wounds[J]. *Tissue Eng Part A*, 2011, 17(9/10): 1413-1424.
- [5] DADON-NACHUM M, SADAN O, SRUGO I, et al. Differentiated mesenchymal stem cells for sciatic nerve injury[J]. *Stem Cell Rev*, 2011, 7(3): 664-671.
- [6] HENNING RJ. Stem cells in cardiac repair[J]. *Future Cardiol*, 2011, 7(1): 99-117.
- [7] BAO X, WEI J, FENG M, et al. Transplantation of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells promotes behavioral recovery and endogenous neurogenesis after cerebral ischemia in rats[J]. *Brain Res*, 2011, 1367: 103-113.
- [8] CHEN CP, LEE YJ, CHIU ST, et al. The application of stem cells in the treatment of ischemic diseases[J]. *Histol Histopathol*, 2006, 21(11): 1209-1216.
- [9] MARCH CM. Intrauterine adhesions[J]. *Obstet Gynecol Clin North Am*, 1995, 22(3): 491-505.
- [10] FAN X, KRIEG S, KUOC J, et al. VEGF blockade inhibits angiogenesis and reepithelialization of endometrium[J]. *The FASEB Journal*, 2008, 22(10): 3571-3580.
- [11] ROY KK, BARUAH J, SHARMA JB, et al. Reproductive outcome following hysteroscopic adhesiolysis in patients with infertility due to Asherman's syndrome[J]. *Arch Gynecol Obstet*, 2010, 281(2): 355-361.
- [12] AL-GHAMDI A, COSKUN S, AL-HASSAN S, et al. The correlation between endometrial thickness and outcome of in vitro fertilization and embryo transfer (IVF-ET) outcome[J]. *Reprod Biol Endocrinol*, 2008, 6: 37.
- [13] ZHAO J, ZHANG Q, LI Y. The effect of endometrial thickness and pattern measured by ultrasonography on pregnancy outcomes during IVF-ET cycles[J]. *Reprod Biol Endocrinol*, 2012, 10: 100.
- [14] LIAO YM, HSU MI, HSU CS, et al. Endometrial thickness in women with ovulatory dysfunction[J]. *Gynecol Endocrinol*, 2013, 29(4): 315-318.
- [15] RICHTER KS, BUGGE KR, BROMER JG, et al. Relationship between endometrial thickness and embryo implantation, based on 1, 294 cycles of in vitro fertilization with transfer of two blastocyst-stage embryos[J]. *Fertil Steril*, 2007, 87(1): 53-59.
- [16] KODAMAN PH, ARICI A. Intra-uterine adhesions and fertility outcome: how to optimize success[J]. *Curr Opin Obstet Gynecol*, 2007, 19(3): 207-214.
- [17] GARGETT CE, YE L. Endometrial reconstruction from stem cells[J]. *Fertil Steril*, 2012, 98(1): 11-20.
- [18] GARGETT CE, NGUYEN HP, YE L. Endometrial regeneration and endometrial stem/progenitor cells[J]. *Rev Endocr Metab Disord*, 2012, 13(4): 235-251.
- [19] 刘芳,何援利. 模拟子宫内膜微环境体外诱导兔骨髓间充质干细胞向子宫内膜上皮细胞分化的实验研究[J]. *现代妇产科进展*, 2012, 21(11): 878-881.
- [20] 王淑娜. 人胚胎干细胞向子宫内膜样细胞的诱导分化[D]. 郑州: 郑州大学, 2013.
- [21] 高绿芬, 高雪松, 麦浩山, 等. 人早孕蜕膜组织子宫内膜间质干细胞向子宫内膜上皮细胞定向分化的研究[J]. *暨南大学学报(自然科学与医学版)*, 2014, 35(5): 463-467.
- [22] 陈波. 人早孕蜕膜组织子宫内膜间质干细胞向子宫内膜上皮细胞的分化[J]. *中国组织工程研究*, 2016, 20(14): 2098-2103.
- [23] ZHANG WB, CHENG MJ, HUANG YT, et al. A study in vitro on differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells into endometrial epithelial cells in mice[J]. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2012, 160(2): 185-190.
- [24] 王永刚. 大鼠骨髓间充质干细胞向子宫内膜细胞分化的体外实验[D]. 长沙: 中南大学, 2012.
- [25] DU H, TAYLOR HS. Contribution of bone marrow-derived stem cells to endometrium and endometriosis[J]. *Stem Cells*, 2007, 25(8): 2082-2086.
- [26] BRATINCSÁK A, BROWNSTEIN MJ, CASSIANI-INGONI R, et al. CD45-positive blood cells give rise to uterine epithelial cells in mice[J]. *Stem Cells*, 2007, 25(11): 2820-2826.
- [27] ZHOU B, POON MC, PU WT, et al. Therapeutic neovascularization for peripheral arterial diseases: advances and perspectives[J]. *Histol Histopathol*, 2007, 22(6): 677-686.