

doi: 10.3969/j.issn.1009-6469.2020.12.025

◇临床医学◇

## 白细胞分化抗原 38、白细胞分化抗原 138 联合宫腔镜检查 对反复胚胎移植失败病人慢性子宫内膜炎的诊断价值

徐汉杰<sup>1a</sup>, 张雨<sup>1b,2</sup>, 郑圣霞<sup>1a</sup>, 刘雨生<sup>1b</sup>, 吴大保<sup>1a</sup>, 赵卫东<sup>1a</sup>作者单位:<sup>1</sup>中国科学技术大学附属第一医院(安徽省立医院),<sup>a</sup>妇产科,<sup>b</sup>生殖医学中心,安徽 合肥 230001;  
<sup>2</sup>安徽省妇幼保健院妇产科,安徽 合肥 230001

**摘要:**目的 探讨白细胞分化抗原 38(Cluster of Differentiation 38, CD38)、白细胞分化抗原 138(Cluster of Differentiation 138, CD138)联合宫腔镜检查诊断反复胚胎移植失败(Repeated Implantation Failure, RIF)病人罹患慢性子宫内膜炎(Chronic Endometritis, CE)的临床价值。方法 对中国科学技术大学附属第一医院 2017 年 2 月至 2019 年 6 月 186 例 RIF 病人行宫腔镜检查,获取组织标本后行 CD38、CD138 免疫组化染色,计算分析 CE 患病率及宫腔镜检查诊断的灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值等指标。结果 41.40% 的 RIF 病人诊断出组织病理学 CE,宫腔镜对 CE 检查结果与组织病理学结果具有中度一致性(Kappa = 0.553),灵敏度为 94.81%,特异度为 64.22%,阳性预测值为 65.18%,阴性预测值为 94.60%。结论 在 RIF 病人中,采用 CD38、CD138 免疫组化技术联合宫腔镜检查诊断 CE,可提高诊断的准确率,为 CE 病人的系统性治疗提供指导,值得推广。

**关键词:**子宫内膜炎; 宫腔镜检查; 胚胎移植; 抗原,CD38; 抗原,CD138

## Evaluating diagnostic value of the combination of hysteroscopy and histology of diagnosing chronic endometritis in repeated implantation failure patients

XU Hanjie<sup>1a</sup>, ZHANG Yu<sup>1b,2</sup>, ZHENG Shengxia<sup>1a</sup>, LIU Yusheng<sup>1b</sup>, WU Dabao<sup>1a</sup>, ZHAO Weidong<sup>1a</sup>

Author Affiliations: <sup>1a</sup>Department of Obstetrics and Gynecology, <sup>1b</sup>Department of Reproductive Medicine Center, The First Affiliated Hospital of USTC, Division of Life Sciences and Medicine, University of Science and Technology of China, Hefei, Anhui 230001, China; <sup>2</sup>Department of Obstetrics and Gynecology, Anhui Women and Child Health Care Hospital, Hefei, Anhui, 230001, China

**Abstract: Objective** To assess the clinical value of combination of hysteroscopy and histology (CD38 and CD138) in diagnosing chronic endometritis (CE) in repeated implantation failure (RIF) patients. **Methods** A total of 186 patients with RIF in The First Affiliated Hospital of University of Science and Technology of China from February 2017 to June 2019 were included in this study. The combination of hysteroscopy and histology was used to diagnose CE. The prevalence of CE in the RIF patients was recorded. The sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive value of hysteroscopy in diagnosing chronic endometritis were also evaluated. **Results** Seventy-seven cases (41.40%) of patients with RIF, were diagnosed as histopathological CE. The results of hysteroscopy for CE examination were moderately consistent with those of histopathology (Kappa = 0.553). The sensitivity and specificity of hysteroscopy were 94.81% and 64.22%, respectively. The positive predictive value was 65.18%, and negative predictive value was 94.60%. **Conclusion** Hysteroscopy combined with immunohistochemistry (CD38 and CD138) can improve the accuracy of diagnosis and provide guidance for the systemic treatment of CE patients. It is worthy of promotion.

**Key words:** Endometritis; Hysteroscopy; Embryo transfer; Antigens, CD38; Antigens, CD138

随着辅助生殖技术的不断发展,现阶段体外受精和胚胎移植一个周期后的妊娠率高达 60%,但仍有一部分病人出现反复胚胎移植失败(Repeated Implantation Failure, RIF)。2005 年欧洲人类生殖及胚胎协会将 RIF 定义为 3 次以上高质量胚胎移植而未妊娠或多次胚胎移植中,合计移植 > 10 个胚胎仍未妊娠<sup>[1]</sup>。常见原因是基因异常、内分泌功能

障碍、血栓性疾病、自身免疫性疾病、黄体功能不全,但仍有一部分病人无法找到病因<sup>[2]</sup>。近年,越来越多的生殖遗传学家认为慢性子宫内膜炎(Chronic Endometritis, CE)与 RIF 的发生密切相关<sup>[3-5]</sup>。

CE 是一种发生在子宫内膜的慢性炎症,大多数病人无临床症状或仅表现为异常子宫出血、盆腔疼痛等轻微症状,其诊断的必备条件为在子宫内膜间

质中存在浆细胞<sup>[6-7]</sup>。在实际工作中,采用传统的苏木精-伊红(HE)染色难以区分浆细胞与单核细胞及子宫内膜间质的成纤维细胞,已有大量研究指出,白细胞分化抗原 38(Cluster of Differentiation 38, CD38)、白细胞分化抗原 138(Cluster of Differentiation 138, CD138)能特异的表达在浆细胞的细胞质或细胞膜表面,为 CE 的诊断提供新的策略。但 CE 病人无症状或临床症状轻微以及子宫内膜组织取材的局限性,导致 CE 的准确诊断率仍不高。本研究拟初步了解 CE 在 RIF 病人中的患病率,同时探讨 CD38、CD138 免疫组化联合宫腔镜检查诊断 CE 的应用价值,为 CE 的诊断提供新的策略。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选取中国科学技术大学附属第一医院 2017 年 2 月至 2019 年 6 月 RIF 病人,纳入标准:年龄 < 40 岁,彩超及子宫输卵管造影未见明显异常,行 3 次或以上胚胎移植失败或至少累积移植 6 个高质量的胚胎失败。排除标准:月经周期第 3 天卵泡刺激素(Follicle-Stimulating Hormone, FSH) > 10 UI/L、体质量指数(Body Mass Index, BMI) > 30 kg/m<sup>2</sup>、反复流产史、子宫内膜增生、子宫内膜结核、黏膜下肌瘤、宫腔粘连、子宫内膜异位囊肿、子宫腺肌症、免疫性疾病。以上所有病人签署宫腔镜检查知情同意书并在卵泡期(月经干净 3~7 d)行宫腔镜检查及子宫内膜活检术,取出的子宫内膜组织行 HE 染色及 CD38、CD138 免疫组化染色,研究方案经安徽省立医院伦理委员会批准(P-019),所有入组病人已完成必要的辅助检查,并签署知情同意书。

**1.2 宫腔镜检查方法** 病人取截石位,用碘伏消毒外阴及阴道,铺无菌洞巾,再次消毒宫颈外口,避免扩宫,连接宫腔镜检查镜,全面观察宫腔,然后观察子宫内膜是否存在 CE 征象:子宫内膜点状、局灶性或者弥漫性充血、子宫内膜细小息肉、子宫内膜血管增粗、子宫内膜黏膜水肿等<sup>[8-9]</sup>,可予以定点活检,若未见明显异常,可予以分散活检 3~5 处子宫内膜,获取子宫内膜组织。

**1.3 免疫组织化学检测 CD38、CD138 的表达** 使用 10% 的中性甲醛固定,常规脱水后行石蜡包埋,按 2~4 μm 厚度连续切片,60 °C 烤箱过夜后脱蜡至水,制作成切片分别进行 HE 染色及免疫组织化学染色,采用链霉菌抗生物素蛋白-过氧化物酶连结法(Streptavidin-Perosidase, SP)法,乙醇梯度脱水后蒸馏水洗,加入柠檬酸抗原高压修复,高压锅冒汽后 2 min,室温冷却,3% 的过氧化氢封闭 10 min,加 CD38 抗体(1:1 500; HPA022132, Sigma)或 CD138

(1:100; CM167CK, Biocare Medical), 4 °C 冰箱过夜,磷酸缓冲盐溶液(Phosphate Buffer Saline, PBS)冲洗,加通用型二抗(PV6000 工作液),DAB 显色,苏木精复染,脱水透明,中性树脂封片。用 PBS 液作为一抗为阴性对照。

**1.4 结果判定** CD38 定位于细胞膜,出现棕黄色为阳性,CD138 定位于细胞膜及细胞质中,出现棕黄色为阳性。在高倍镜视野下发现有 1 个以上细胞 CD38 阳性,同时在相同高倍镜视野下发现有 1 个以上细胞 CD138 表达阳性,诊断为组织病理学 CE<sup>[10]</sup>。

**1.5 统计学方法** 采用 SPSS 20.0 统计软件分析,计数资料采取例数(%)表示。本研究以免疫组化诊断结果为参考,计算宫腔镜检查灵敏度、特异度、阳性预测值和阴性预测值等指标,并对比宫腔镜检查结果与免疫组化诊断结果的一致性(Kappa 值)。当 Kappa 值在 0.40~0.75 认为两种诊断方式具有中度至高度一致性, Kappa > 0.75 则两种诊断方式一致性好。

## 2 结果

**2.1 RIF 病人宫腔镜下的表现情况** 186 例 RIF 病人宫腔镜下诊断为 CE 的病人为 112 例(CE/HS 组),呈正常宫腔镜表现的病人 74 例(非 CE/HS 组),详见图 1。

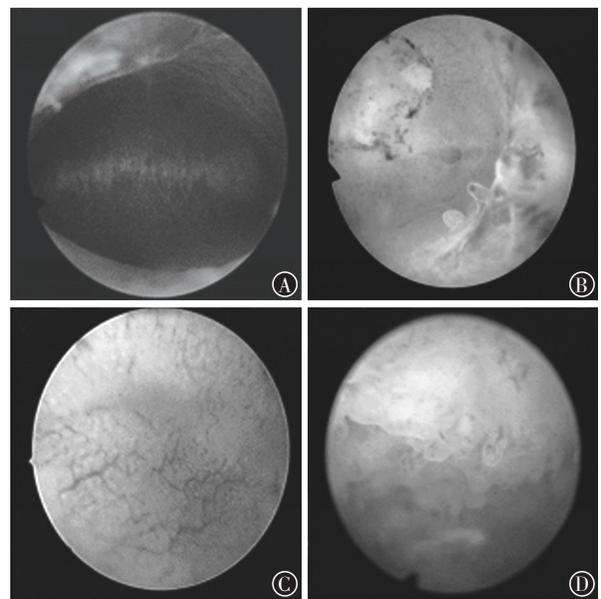


图1 宫腔镜下慢性子宫内膜炎的表现:A为宫腔下子宫内膜充血;B为宫腔镜下子宫内膜微息肉;C为宫腔镜下子宫内膜血管增粗;D为宫腔镜下子宫内膜间质水肿伴微息肉

**2.2 RIF 病人子宫内膜组织 CD38、CD138 表达情况** 186 例 RIF 病人子宫内膜组织中 CD38 呈阳性 83 例(44.62%), CD138 呈阳性 79 例(42.47%), CD38、CD138 表达均呈阳性 77 例(41.40%, 诊断为

组织病理学CE), 详见表1。

表1 反复胚胎移植失败病人子宫内膜组织CD38、CD138的表达情况/例(%)

组别	例数	CD38(+)	CD138(+)	CD38、CD138(+)
CE/HS组	112	77(68.75)	75(66.96)	73(65.18)
非CE/HS组	74	6(8.11)	4(5.41)	4(5.41)
合计		83(44.62)	79(42.47)	77(41.40)

注: CD38为白细胞分化抗原38, CD138为白细胞分化抗原138, CE为慢性子宫内膜炎。宫腔镜下诊断为CE的病人为112例(CE/HS组), 呈正常宫腔镜表现的病人74例(非CE/HS组)

**2.3 宫腔镜对CE的诊断参数** 宫腔镜对CE诊断结果与组织病理学结果具有中度一致性(Kappa = 0.553), 灵敏度为94.81%, 特异度为64.22%, 阳性预测值为65.18%, 阴性预测值为94.60%, 详见表2。

表2 宫腔镜对慢性子宫内膜炎(CE)的诊断参数/例

组织病理学	例数	宫腔镜	
		CE/HS	非CE/HS
CE	77	73	4
非CE	109	39	70
合计	186	112	74

### 3 讨论

CE是指各种原因引起的子宫内膜炎性改变, 其确切病因尚不清楚, 现阶段普遍认为是细菌、支原体、衣原体等感染引起的。虽然子宫内膜周期性的剥落使感染的病原体排出体外, 但是基底层内膜无法周期性剥脱, 一旦基底层内膜组织发生长期感染, 最终导致CE的发生。Kitaya等<sup>[11]</sup>对142例RIF病人行子宫内膜活检, 结果发现33.7%的人患有CE, 经过有效的抗生素治疗后, 病人的临床妊娠率明显提高。Cicinelli等<sup>[8]</sup>同样发现CE病人经过抗生素治疗后, 病人的胚胎种植率、临床妊娠率明显提高, 明显改善其生殖预后。因此早期诊断、准确诊断CE显得尤其重要。

CE诊断金标准为在子宫间质发现浆细胞, 但是单核细胞浸润、大量有丝分裂的基质细胞、呈类浆细胞样的基质细胞、月经后期以及活检取材的局限性, 使浆细胞的寻找尤为困难, 较易造成误诊、漏诊<sup>[7, 12-13]</sup>。因此, 寻找新的方法提高浆细胞的检出率显得尤为重要。在正常浆细胞中, 免疫表型主要表现为CD38、CD138等, 浆细胞较为特异的指标为CD138, 同时另有研究表明, 浆细胞中的CD38分子具有较强的着色力。CD38是转膜糖蛋白中的II型, 主要表达于浆细胞, 但也表达在活化的T细胞、胸腺细胞; CD138是由核心蛋白和未分枝的糖胺聚糖链

共价结合形成的一类糖结合物, 也是浆细胞特异性标志物之一, 表达于活化的 $\beta$ 细胞、浆细胞以及胸腺细胞, 大约95%石蜡切片的浆细胞表明均有CD138表达。因CD38、CD138不仅仅表达在浆细胞, 在临床实际工作中, 采用免疫组化方法联合检测CD38、CD138提高对浆细胞的准确识别, 该方法对于CE的诊断优于传统HE染色法, 并被学者广为推荐<sup>[14-16]</sup>。

Johnston-MacAnanny等<sup>[10]</sup>获取33例RIF病人的子宫内膜组织, 并使用CD138行免疫组化进行染色, 结果发现10例病人表达为阳性, 阳性率为30.3%; 另一研究显示, 同样对RIF病人的子宫内膜行CD138免疫组化染色, 发现33.7%(142/421)的病人表达为阳性, 被诊断为CE<sup>[11]</sup>。Yang等<sup>[17]</sup>对202例RIF病人的子宫内膜组织行CD38、CD138免疫组化染色, 发现43.6%的病人表达为阳性, 诊断为子宫内膜炎。本研究结果显示, CD38细胞膜强阳性, CD138为浆细胞胞膜强阳性, 胞质弱阳性染色, 在显微镜下相对于HE染色寻找浆细胞更容易, 尤其在疑似CE病人标本时, HE染色无法准确辨认浆细胞时, 免疫组化染色可以有效显示浆细胞, 从而提高CE诊断的灵敏度和特异度。研究结果显示, 186例RIF病人中, 77例CD38、CD138表达皆为阳性, 诊断为CE, 阳性率为41.40%。这与Johnston-MacAnanny等<sup>[10]</sup>、Yang等<sup>[17]</sup>团队的研究结果相似, 显示CD138主要表达于浆细胞膜及细胞质, CD38表达于细胞膜, 大约有1/3的RIF病人患有CE。但国外研究中多采用CD138单一指标行CE的诊断, 容易造成假阳性的出现, 联合采用CD38, 可提高诊断的特异度。

CD38、CD138免疫组化染色能够很好地解决寻找浆细胞的问题, 但在临床工作中, 取材受限也是造成漏诊的重要原因。随着微创器械技术的不断发展, 宫腔镜已被广泛应用于宫腔状况评估, 具有检查时间短, 创伤较小的优点, 通过直观观察宫腔形态, 明确病变部位, 对可疑异常部位做出精确的活检。子宫内膜炎引起的子宫内膜间质、血管、腺体等多方面的改变, 可以通过宫腔镜检测, 宫腔镜下子宫内膜局灶或弥漫性充血、子宫内膜微小息肉(<1 mm)、子宫内膜间质水肿等对于CE的诊断具有重要作用<sup>[8-9, 18-19]</sup>, 但国内对宫腔镜下CE诊断的灵敏度及特异度性鲜有报道, 其诊断CE临床价值尚需进一步证实。本研究中, 186例病人均行宫腔镜检查, 112例宫腔镜下诊断为CE, 余下74例宫腔镜下未见明显异常, 在CE/HS组病人中, 73例组织学诊断为CE, 阳性率为65.18%, 74例非CE/HS组病人中, 4例诊断为CE, 阳性率为5.41%, 宫腔镜在诊断

CE与免疫组化病理学诊断结果具有中度一致性,灵敏度为94.81%,特异度为64.22%,阳性预测值为65.18%,阴性预测值为94.60%。结果提示,宫腔镜检查在CE的诊断具有一定的临床意义,其灵敏度较高,特异度稍低,阴性预测值较高,不易漏诊,但是其特异度、阳性预测值低,无法取代组织病理学诊断方法。因其灵敏度较高,同时可以全面评估宫腔以及子宫内膜情况,对于RIF病人可行宫腔镜检查,评估子宫内膜情况,对于可疑CE的部位进行取材,联合CD38、CD138进行免疫组化诊断CE,在临床工作中对于CE的诊断具有重要意义。

综上所述,宫腔镜诊断CE具有较高的灵敏度及阴性预测值,因其特异度低,无法替代组织病理学诊断方法,联合CD38、CD138免疫组化染色能显著提高CE的检出率,具有重要的临床意义。

### 参考文献

- [1] RINEHART J. Recurrent implantation failure: definition [J]. *J Assist Reprod Genet*, 2007, 24(7): 284-287.
- [2] MARGALIOTH EJ, BEN-CHETRIT A, GAL M, et al. Investigation and treatment of repeated implantation failure following IVF-ET [J]. *Hum Reprod*, 2006, 21(12): 3036-3043.
- [3] ZHANG Y, XU H, LIU Y, et al. Confirmation of chronic endometritis in repeated implantation failure and success outcome in IVF-ET after intrauterine delivery of the combined administration of antibiotic and dexamethasone [J/OL]. *Am J Reprod Immunol*, 2019, 82(5): e13177. DOI: 10.1111/aji.13177.
- [4] PUENTE E, ALONSO L, LAGANÀ AS, et al. Chronic endometritis: old problem, novel insights and future challenges [J]. *Int J Fertil Steril*, 2020, 13(4): 250-256.
- [5] ZARGAR M, GHAFOURIAN M, NIKBAKHT R, et al. Evaluating chronic endometritis in women with recurrent implantation failure and recurrent pregnancy loss by hysteroscopy and immunohistochemistry [J]. *J Minim Invasive Gynecol*, 2020, 27(1): 116-121.
- [6] GREENWOOD SM, MORAN JJ. Chronic endometritis: morphologic and clinical observations [J]. *Obstet Gynecol*, 1981, 58(2): 176-184.
- [7] LIU Y, CHEN X, HUANG J, et al. Comparison of the prevalence of chronic endometritis as determined by means of different diagnostic methods in women with and without reproductive failure [J]. *Fertil Steril*, 2018, 109(5): 832-839.
- [8] CICINELLI E, MATTEO M, TINELLI R, et al. Prevalence of chronic endometritis in repeated unexplained implantation failure and the IVF success rate after antibiotic therapy [J]. *Hum Reprod*, 2015, 30(2): 323-330.
- [9] KUMAR A, KUMAR A. Hysteroscopic markers in chronic endometritis [J]. *J Minim Invasive Gynecol*, 2017, 24(7): 1069-1070.
- [10] JOHNSTON-MACANANNY EB, HARTNETT J, ENGMANN LL, et al. Chronic endometritis is a frequent finding in women with recurrent implantation failure after in vitro fertilization [J]. *Fertil Steril*, 2010, 93(2): 437-441.
- [11] KITAYA K, MATSUBAYASHI H, TAKAYA Y, et al. Live birth rate following oral antibiotic treatment for chronic endometritis in infertile women with repeated implantation failure [J/OL]. *Am J Reprod Immunol*, 2017, 78: e12719. DOI: 10.1111/aji.12719.
- [12] BOUET PE, EL HH, MONCEAU E, et al. Chronic endometritis in women with recurrent pregnancy loss and recurrent implantation failure: prevalence and role of office hysteroscopy and immunohistochemistry in diagnosis [J]. *Fertil Steril*, 2016, 105(1): 106-110.
- [13] CRUM CP, EGAWA K, FENOGLIO CM, et al. Chronic endometritis: the role of immunohistochemistry in the detection of plasma cells [J]. *Am J Obstet Gynecol*, 1983, 147(7): 812-815.
- [14] FAN X, LI XF, LI YA, et al. Endometrial CD138 count appears to be a negative prognostic indicator for patients who have experienced previous embryo transfer failure [J]. *Fertil Steril*, 2019, 112(6): 1103-1111.
- [15] RIBATTI D. The discovery of plasma cells: an historical note [J]. *Immunol Lett*, 2017, 188: 64-67.
- [16] RAWSTRON AC, ORFAO A, BEKSAC M, et al. Report of the European Myeloma Network on multiparametric flow cytometry in multiple myeloma and related disorders [J]. *Haematologica*, 2008, 93(3): 431-438.
- [17] YANG R, DU X, WANG Y, et al. The hysteroscopy and histological diagnosis and treatment value of chronic endometritis in recurrent implantation failure patients [J]. *Arch Gynecol Obstet*, 2014, 289(6): 1363-1369.
- [18] SONG D, LI TC, ZHANG Y, et al. Correlation between hysteroscopy findings and chronic endometritis [J]. *Fertil Steril*, 2019, 111(4): 772-779.
- [19] LIU H, SONG J, ZHANG FF, et al. A new hysteroscopic scoring system for diagnosing chronic endometritis [J]. *J Minim Invasive Gynecol*, 2020, 27(5): 1127-1132.

(收稿日期:2020-05-06,修回日期:2020-06-09)