

引用本文:王亚飞,洪名云,唐志霞,等.干细胞治疗子宫内膜损伤的研究进展[J].安徽医药,2022,26(11):2153-2156.DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2022.11.008.



◇ 综述 ◇

干细胞治疗子宫内膜损伤的研究进展

王亚飞,洪名云,唐志霞,李婉晴

作者单位:安徽省妇幼保健院、安徽医科大学附属妇幼保健院生殖医学中心,安徽 合肥 230001

通信作者:洪名云,女,主任医师,硕士生导师,研究方向为妇科内分泌及生殖医学,Email:2006mingyun@sina.com

基金项目:安徽省重点研究与开发计划项目(1704a0802171);合肥市借转补项目(J2018Y03)

摘要: 子宫内膜损伤在临床上分为宫腔粘连和薄型子宫内膜,常见原因是频繁的宫腔操作、感染、缺血等,主要表现为闭经、月经量减少,反复流产,不孕和胎盘异常等。常规的治疗手段效果较差。近年来,随着人们对干细胞研究的不断深入,利用干细胞修复受损子宫内膜成为一种新的选择。现简要综述子宫内膜损伤的机理及不同来源的干细胞修复子宫内膜损伤研究进展。

关键词: 子宫内膜损伤; 宫腔粘连; 薄型子宫内膜; 干细胞

Research progress of stem cell therapy for endometrial injury

WANG Yafei, HONG Mingyun, TANG Zhixia, LI Wanqing

Author Affiliation: Reproductive Medicine Center of Anhui Province Maternity and Child Health Hospital, Maternal and Child Health Care Hospital Affiliated to Anhui Medical University, Hefei, Anhui 230001, China

Abstract: Endometrial injury is clinically divided into intrauterine adhesions and thin endometrium. The common causes are frequent intrauterine operations, infections, ischemia, etc. The main manifestations are amenorrhea, decreased menstrual flow, repeated miscarriage, infertility and placental abnormalities. Conventional treatments are less effective. In recent years, with the deepening of stem cell research, the use of stem cells to repair damaged endometrium has become a new option. This paper briefly reviews the mechanism of endometrial injury and the research progress of stem cells from different sources to repair endometrial injury.

Key words: Endometrial injury; Intrauterine adhesions; Thin endometrium; Stem cells

目前对于重度内膜损伤依然缺乏行之有效的治疗方法,深入了解子宫内膜的解剖结构及内膜正常的生理性修复机制是探索更为有效的治疗方法的基础。干细胞是一种具有多向分化潜能的细胞,在修复损伤内膜时具有独特的优势。

1 子宫内膜结构及生理性变化

子宫内膜由内膜表面 2/3 的功能层和底部 1/3 的基底层组成。功能层包括致密层和海绵层,随性激素变化而发生周期性脱落。腺体的基底部、致密基质细胞和血管构成基底层,不发生周期性的变化。月经前期雌、孕激素水平降低,引起内膜螺旋血管的收缩以及炎症细胞的浸润,导致功能层缺血、坏死、脱落。与此同时子宫内膜上皮开始非雌激素依赖性修复,当上皮层修复完成,功能层间质细胞及血管在雌激素作用下开始迅速增殖及生长^[1]。

2 子宫内膜损伤后修复障碍

子宫内膜损伤的主要原因有子宫手术、感染、

缺血等,当损伤未及基底层时,依靠自身修复或者辅以药物和其他治疗手段可完成修复,当基底层受到损伤后,内膜的再生能力受到限制,当修复障碍时就会形成宫腔粘连(intrauterine adhesion, IUA)或者薄型子宫内膜。

2.1 宫腔粘连 宫腔粘连是由于子宫内膜损伤导致宫腔部分或全部闭塞。病因可以归纳为刮宫、手术(包括黏膜下子宫肌瘤剥除术、子宫纵隔切除术等)、感染^[2]。纤维细胞增生活跃、神经反射等是解释 IUA 成因的主要学说,多数学者支持 IUA 可能与子宫内膜基底层损伤后,内膜上皮与间质细胞再生困难以及活跃成纤维细胞增生有关^[3]。宫腔镜检查是目前诊断 IUA 最常用且准确性最高的一种方法,其他辅助检查有子宫输卵管造影、经阴道超声检查、磁共振等。IUA 常用的治疗方法是宫腔镜下粘连分解术后使用雌激素修复内膜,但效果欠佳^[4]。

2.2 薄型子宫内膜 子宫内膜厚度 < 7 mm 时在临床上被诊断为薄型子宫内膜^[5]。其主要病理改变是

大部分受损的基底层内膜被上皮单层、纤维组织替代,对激素刺激反应降低,以及腺体数量和血运的不足,导致再生障碍^[6],受损内膜往往表现为腺体数量稀疏、血流灌注不良。目前常用的治疗方法有内膜微刺激^[7]、大剂量雌激素刺激^[8]、生长激素宫腔灌注、盆底神经肌肉电刺激、粒细胞集落刺激因子宫腔注射^[9]等。这些方法虽然能在一定程度上能够改善子宫内膜容受性,但对于严重内膜损伤并无明显效果。因此深入研究干细胞在内膜损伤治疗中的应用有着极为重要的临床意义。

3 干细胞种类

干细胞分为从囊胚的内细胞团中或原始性腺中分离出来的胚胎干细胞及来源于成熟组织的多能成体干细胞,具有自我更新能力和多向分化潜能。成体干细胞现已在多种组织器官中被发现^[10]。虽然胚胎干细胞在分化潜能方面具有无与伦比的优势,但是由于获取困难和伦理限制实际应用难度较大。目前的主要研究方向是成体干细胞的应用,特别是间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSC),其治疗主要机制有:(1)多向分化潜能:可定向分化为受损组织细胞,促进组织修复;(2)旁分泌及外分泌:通过分泌多种趋化因子、细胞因子及释放细胞外囊泡等,进而改善细胞微环境、重构细胞外基质,达到促进组织修复的作用,近年来此机制成为干细胞领域研究的热点方向^[11]。已有研究证实,干细胞分泌的外泌体在缺血-再灌注损伤过程中,可招募血管内皮细胞,促进新生血管形成,改善血供,促进组织损伤修复^[12];(3)抗炎及免疫调节、促血管形成等。下面将分别介绍几种干细胞的研究进展。

3.1 子宫内膜干细胞(endometrial stem cells, EDSCs) 子宫内膜周期性剥脱后的迅速修复,提示子宫内膜中可能存在拥有极强的再生能力的干细胞。EDSCs这一概念最早由Pranishnikov于1978年提出^[3],但直到2004年,Gargett领导的一个研究小组才证实人类子宫内膜含有少量负责子宫内膜腺体和基质的周期性再生的上皮干细胞和基质干细胞,并且这些细胞表现出克隆性^[13]。目前EDSCs治疗子宫内膜损伤的机制尚不明确,Santamaria等^[14]根据相关研究,推测子宫内膜干/祖细胞的功能缺陷可能是子宫内膜再生障碍的原因。近年来,有研究者从正常女性和患有宫腔粘连女性月经血中提取子宫内膜干细胞(menstrual blood-derived stem cells, MenSCs)进行试验,结果表明,正常女性月经血中的MenSCs可以在体外分化为子宫内膜细胞,且进一步在激素诱导下,在非肥胖非糖尿病非严重联合免疫

缺陷(NOD-SCID)小鼠体内可再生为子宫内膜,但患有宫腔粘连的女性月经血中的MenSCs体外分化能力低于实验组^[15]。EDSCs的修复潜能目前在体内外实验中均被证实具有一定有效性及安全性,对治疗子宫内膜损伤具有损伤小、无免疫排斥反应等优点,但获取方法不易,对于闭经女性及子宫内膜损伤患者,由于月经量较少甚至没有月经,不能分离出EDSCs,因此在临床应用中具有一定局限性。

3.2 骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cell, BMSC) BMSC存在于骨髓微环境中,因其可从骨髓中分离,较易在体外进行培养、诱导和扩增,所以目前应用较为广泛。对于BMSC治疗子宫内膜损伤的机制尚未统一,Zheng等^[16]通过宫腔直接注入和静脉注射的方式利用BMSCs治疗子宫内膜损伤,结果显示两种治疗方式都能增加内膜腺体的数量,减少内膜纤维增生面积。并且治疗之后内膜雌孕激素受体较治疗前都有所增加,因此得出BMSC移植能有效治疗子宫内膜的损伤,而其机制可能是增加雌孕激素的受体。另有研究用体外分离培养的BMSCs治疗子宫内膜损伤的大鼠,结果显示,促炎细胞因子如TNF- α 、IL-1等水平下调,IL-6等抗炎细胞因子水平上调,子宫内膜容受性相关蛋白表达上调,因此认为BMSCs能够通过促进子宫内膜上皮细胞和间质细胞的再生修复,以及改善子宫内膜容受性,从而达到治疗受损的子宫内膜的作用^[17]。除上述发现之外,还有学者曾进行试验评估血管内皮生长因子基因转染的BMSCs(VEGF-transfected BMSCs, VEGF-BMSCs)与单纯BMSCs移植相比是否有更好的治疗效果,结果表明,VEGF-BMSC移植对于促进子宫内膜再生及改善子宫内膜容受性具有更好的治疗效果^[18]。而最近Ong等^[19]指出并没有证据表明BMSCs能转化为子宫内膜上皮、基质细胞或者内皮细胞,干细胞可能系通过分泌的细胞因子起治疗作用,这一发现颠覆了人们普遍认为BMSCs能直接促进子宫内膜再生的理论,因此,未来需要更多研究来明确这个问题。然而,不管BMSCs到底通过哪种机制治疗子宫内膜损伤,上述研究均表明,骨髓间充质干细胞在修复子宫内膜及改善患者临床症状方面均具有明确的治疗效果,有很大的临床的应用前景。与此同时,BMSCs的临床应用也有其限制,如移植后干细胞低存活率、随着年龄的增长自体骨髓间充质干细胞的数量明显减少等问题,均阻碍了其推广应用。

3.3 脐带间充质干细胞(human umbilical cord mesenchymal stem cell, hUCMSCs) hUCMSCs较其他类型的干细胞具有更快的自我更新特性,且来

源丰富容易获取。更为重要的是hUCMSCs不引起同种或异种免疫细胞反应,定量RT-PCR表明,hUCMSCs产生的人白细胞抗原(HLA-I)的免疫抑制同种型和不表达HLA-DR。流式细胞仪检测显示,hUCMSCs不表达免疫反应有关的表面抗原^[20]。有研究表明,将hUCMSCs通过尾静脉注入内膜损伤的小鼠后,可通过降低转化生长因子和纤维化标志物 α 平滑肌肌动蛋白的表达来减轻纤维化。细胞增殖标记物Ki-67在脐带间充质干细胞移植后的子宫内膜中呈阳性表达。子宫内膜间质标志物波形蛋白和上皮标志物细胞角蛋白-19的表达明显增加。血管标记物CD31、血管内皮生长因子A和基质金属蛋白酶9的表达普遍上调。前炎症因子干扰素 γ (pro-inflammatory factors interferon, IFN- γ)、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor, TNF- α)和白细胞介素2(interleukin, IL-2)在干细胞移植后的大鼠中显著下调^[21]。2018年,Cao等^[22]开展了用hUCMSCs复合胶原支架治疗复发性子宫粘连的I期临床试验。在粘连分离后将装载在胶原支架上的脐带来源的间充质基质细胞移植到子宫腔中。术后3个月,与治疗前相比,病人子宫内膜平均最大厚度增加,子宫内粘连评分下降。hUCMSCs治疗可以改善子宫内膜增殖、分化和新生血管形成在组织学研究中也得到证实。

3.4 人羊膜间充质干细胞(human amniotic mesenchymal stem cell, hAMSC) 羊膜是胎盘的胎儿面,由单层上皮层、基膜层、间质层构成,具有无血管无神经等特点。hAMSC具有来源丰富、取材方便、不涉及伦理问题、低免疫原性、无致瘤性等优点。研究发现羊膜能释放有效的免疫调节和抗炎细胞因子(IL-10和IL-6)与伤口愈合相关的生长因子,其基质中的透明质酸可以抑制TGF- β ,TGF- β 是一种强有力的促纤维化细胞因子,其减少可抑制胶原合成^[23]。这一机制也揭示了hAMSC移植能有效减少纤维化程度的原因。动物实验发现,与损伤后不治疗组相对比,hAMSCs移植显著降低促炎细胞因子(TNF- α 及IL-1)的m-RNA水平,并增加抗炎细胞因子(碱性成纤维细胞生长因子和白细胞介素-6)的表达^[24],且大鼠子宫内膜较厚,腺体数量增加,纤维化区域较少。另有研究报道,给予大鼠尾静脉移植hAMSCs,2周后荧光共聚焦显微镜下观察发现子宫内膜中散在分布PKH26标记的hAMSCs,子宫内膜腺体数目增加、纤维化程度降低,说明hAMSCs对子宫内膜的修复和再生起到了积极作用,可能是通过分泌作用产生VEGF细胞因子,诱导血管再生,从而促进子宫内膜的修复,但此研究中迁移至子宫受

损部位的hAMSCs数量较少,说明干细胞移植的途径、浓度及时间均会影响其迁移至子宫内膜,有待进一步研究探究^[25]。目前有关hAMSCs对子宫内膜损伤的治疗作用的报道仍较少,若未来的研究中hAMSCs能被证实可以更有效地修复子宫内膜,这必将为子宫内膜损伤的治疗开辟新视野。

4 干细胞的移植方式

对于干细胞植入方式的研究甚少,目前移植方式有宫腔注入、静脉注射、复合支架植入等。

4.1 干细胞宫腔注入 一种方法是在一定条件下将干细胞直接注入宫腔,操作简便,风险较低;另外一种是将干细胞在体外诱导分化成为子宫内膜细胞然后再植入宫腔,这种方法不仅能使整个过程相对可控,而且相对提高了种植的成功率^[15]。

4.2 干细胞静脉注射 将干细胞按照一定浓度直接注入静脉,研究显示注入大鼠体内的干细胞主要分布在受损的子宫内膜中,由此可以证明静脉注射是一种有效的移植方法^[26]。为保证最大的治疗效果,往往需要大量的细胞数量。但数量较多的干细胞进入静脉有引起静脉栓塞的可能^[27]。

4.3 干细胞复合支架植入 支架又分为生物支架和合成高分子支架。有研究报道,hUCMSCs复合胶原支架用于创面修复治疗的有效性,但这种支架存在引起超敏反应、免疫原性反应的风险^[28]。合成高分子支架因其结构可控、功能多样、可规模化生产而在组织工程中显示出巨大的应用潜力,有研究显示聚癸二酸甘油酯(PGS)支架搭载移植BMSCs组的妊娠率显著高于胶原支架搭载移植组和聚乳酸乙醇酸(PLGA)支架搭载移植组。因此PGS支架复合干细胞可能是一种有更前景的治疗损伤内膜的方式^[29]。

5 干细胞治疗存在的风险

尽管干细胞的应用突破了传统治疗的诸多限制,但在治疗的安全性和有效性方面仍面临诸多问题。一方面,干细胞和肿瘤细胞有相似的调控生长和凋亡机制,都能不断增殖,因此干细胞具有形成肿瘤的风险。另一方面,干细胞常表现出基因组的不稳定性。虽然提高干细胞分离的纯度、将干细胞在体外向目标终末细胞分化并采用合适的移植方式能在一定程度上降低上述风险,但要实现干细胞治疗风险可控、结局可预期仍需要不断探索。

6 展望

基底层受损的子宫内膜的修复仍是一个难题,干细胞移植突破了传统治疗的局限性,从细胞水平再生修复损伤的内膜,具有独特的优势和广阔的应用前景。但当前关于干细胞应用的研究仍局限于动

物实验。干细胞来源的选择、剂量的控制和移植的方式的选择以及干细胞应用的安全性和有效性仍需要不断探索。

参考文献

- [1] 郑友红, 王沂峰. 正常人月经周期子宫内膜变化及机制[J]. 山东医药, 2016, 56(7): 90-91.
- [2] 帅汝臻, 李丹丹, 刘丹. 411例宫腔粘连临床分析[J/OL]. 实用妇科内分泌电子杂志, 2019, 6(9): 174, 176. DOI: 10.3969/j.issn.2095-8803.2019.09.122.
- [3] PRIANISHNIKOV VA. On the concept of stem cell and a model of functional-morphological structure of the endometrium[J]. Contraception, 1978, 18(3): 213-223.
- [4] EFTEKHAR M, TABIBNEJAD N, TABATABAIE AA. The thin endometrium in assisted reproductive technology: an ongoing challenge [J]. Middle East Fertil Soc J, 2018, 23(1): 1-7.
- [5] KUMBAK B, ERDEN HF, TOSUN S, et al. Outcome of assisted reproduction treatment in patients with endometrial thickness less than 7 mm[J]. Reprod Bio Med Online, 2009, 18(1): 79-84.
- [6] BARADWAN S, SHAFI D, BARADWAN A, et al. The effect of endometrial thickness on pregnancy outcome in patients with Asherman's syndrome post-hysteroscopic adhesiolysis[J]. In J Womens Health, 2018, 10: 77-82.
- [7] 朱颖春, 刘景瑜, 宋天然, 等. 内膜刺激对于薄型子宫内膜患者冷冻胚胎移植结局的影响[J]. 东南国防医药, 2017, 19(5): 477-480.
- [8] 刘艳红, 王霞, 王爱华, 等. 雌激素在不明原因薄型子宫内膜治疗中的应用[J]. 生殖医学杂志, 2018, 27(7): 623-626.
- [9] 陈熙琳, 武泽. 宫腔灌注粒细胞集落刺激因子在薄型子宫内膜患者中的应用研究[J]. 实用妇科内分泌电子杂志, 2019, 6(6): 29, 33. DOI: 10.3969/j.issn.2095-8803.2019.06.016.
- [10] MAROFI F, VAHEDI G, BIGLARI A, et al. Mesenchymal stromal/stem cells: a new era in the cell-based targeted gene therapy of cancer[J/OL]. Front Immunol, 2017, 8: 1770. DOI: 10.3389/fimmu.2017.01770.
- [11] WU P, ZHANG B, SHI H, et al. MSC -exosome: a novel cell -free therapy for cutaneous regeneration [J]. Cytotherapy, 2018, 20(3): 291-301.
- [12] BAI Y, HAN YD, YAN XL, et al. Adipose mesenchymal stem cell-derived exosomes stimulated by hydrogen peroxide enhanced skin flap recovery in ischemia-reperfusion injury [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2018, 500(2): 310-317.
- [13] CHAN RW, SCHWAB KE, GARGETT CE. Clonogenicity of human endometrial epithelial and stromal cells [J]. Biol Reprod, 2004, 70(6): 1738-1750.
- [14] SANTAMARIA X, MAS A, CERVELLÓ I, et al. Uterine stem cells: from basic research to advanced cell therapies [J]. Hum Reprod Update, 2018, 24(6): 673-693.
- [15] IRENE C, G-SCLAUDIA, AYMARA M, et al. Bone marrow-derived cells from male donors do not contribute to the endometrial side population of the recipient[J/OL]. PLoS One, 2012, 7(1): e30260. DOI: 10.1371/journal.pone.0030260.
- [16] ZHENG SX, WANG J, WANG XL, et al. Feasibility analysis of treating severe intrauterine adhesions by transplanting menstrual blood-derived stem cells [J]. International Journal of Molecular Medicine, 2018, 41(4): 2201-2212.
- [17] 林彤, 李冬宏, 张鲁榕, 等. 大鼠骨髓间充质干细胞对子宫内膜的损伤修复[J]. 中国妇产科临床杂志, 2019, 20(3): 240-242.
- [18] ZHAO J, YI Y, XI H, et al. Therapeutic effects of VEGF gene-transfected BMSCs transplantation on thin endometrium in the rat model[J]. Stem Cells International, 2018(10): 1-10.
- [19] ONG YR, COUSINS FL, YANG X, et al. Bone marrow stem cells do not contribute to endometrial cell lineages in chimeric mouse models[J]. Stem Cells, 2018, 36: 91-102.
- [20] HONGWU W, XIAOYAN Q, PING N, et al. Immunological characteristics of human umbilical cord mesenchymal stem cells and the therapeutic effects of their transplantation on hyperglycemia in diabetic rats [J]. International Journal of Molecular Medicine, 2013, 33(2): 263-70.
- [21] ZANG L, LI Y, GUAN CY, et al. Therapeutic effect of human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells on injured rat endometrium during its chronic phase [J]. Stem Cell Research & Therapy, 2018, 9(1): 36.
- [22] CAO Y, SUN H, ZHU H, et al. Allogeneic cell therapy using umbilical cord MSCs on collagen scaffolds for patients with recurrent uterine adhesion: a phase I clinical trial [J]. Stem Cell Research & Therapy, 2018, 9(1): 192.
- [23] MANUEL PILLAI U, MOODLEY Y, BORLONGAN CV, et al. Amniotic membrane and amniotic cells: potential therapeutic tools to combat tissue inflammation and fibrosis? [J]. Placenta, 2011, 32(Suppl 4): S320-S325.
- [24] GAN L, DUAN H, XU Q, et al. Human amniotic mesenchymal stromal cell transplantation improves endometrial regeneration in rodent models of intrauterine adhesions [J]. Cytotherapy, 2017, 19(5): 603-616.
- [25] 阳媛. 羊膜间充质干细胞移植联合雌激素治疗宫腔粘连的动物实验研究[D]. 重庆: 重庆医科大学, 2018.
- [26] 阳媛, 毛艳华, 王佳, 等. PKH26标记的人羊膜间充质干细胞在宫腔粘连大鼠中的迁移示踪[J]. 生物工程学报, 2018, 34(10): 1660-1667.
- [27] 王燕, 施沁, 张玉泉. 人脐带间充质干细胞移植治疗大鼠深静脉血栓[J]. 中国组织工程研究, 2019, 23(21): 3392-3397.
- [28] 何丽娟, 张博文, 贾雅丽, 等. 人脐带间充质干细胞复合胶原支架治疗小型猪皮肤缺损的实验研究[J]. 军事医学, 2020, 44(3): 192-197.
- [29] 肖邦. 间充质干细胞联合 PGS 支架移植对宫腔粘连性子宫内膜损伤的修复作用及机制研究[D]. 上海: 中国人民解放军海军军医大学, 2019.

(收稿日期: 2020-06-18, 修回日期: 2020-08-05)