

- on maternal and perinatal outcomes during pregnancy: a single-center cohort study of a Chinese population. *PLoS One*, 2014, 9:e109364.
- [18] Ying H, Tang YP, Bao YR, et al. Maternal TSH level and TPOAb status in early pregnancy and their relationship to the risk of gestational diabetes mellitus. *Endocrine*, 2016, 54:742-750.
- [19] Du Q, Zhu H, Yao L. Thyroid function: comparison of women in late pregnancy with control women of reproductive age in regions of dietary iodine excess. *Asia Pac J Public Health*, 2013, 25:36S-42S.
- [20] Ekinci EI, Chiu WL, Lu ZX, et al. A Longitudinal study of thyroid autoantibodies in pregnancy: the importance of test timing. *Clin Endocrinol*, 2015, 82:604-610.
- [21] Thangaratnam S, Tan A, Knox E, et al. Association between thyroid autoantibodies and miscarriage and preterm birth: meta-analysis of evidence. *BMJ*, 2011, 342:d2616.
- [22] Bhattacharyya R, Mukherjee K, Das A, et al. Anti-thyroid peroxidase antibody positivity during early pregnancy is associated with pregnancy complications and maternal morbidity in later life. *J Nat Sci Biol Med*, 2015, 6:402-405.
- [23] Twig G, Shina A, Amital H, et al. Pathogenesis of infertility and recurrent pregnancy loss in thyroid autoimmunity. *J Autoimmun*, 2012, 38:275-281.
- [24] Nazarpour S, Ramezani TF, Simbar M, et al. Effects of levothyroxine treatment on pregnancy outcomes in pregnant women with autoimmune thyroid disease. *Eur J Endocrinol*, 2017, 176:253-265.
- [25] Chen LM, Zhang Q, Si GX, et al. Associations between thyroid autoantibody status and abnormal pregnancy outcomes in euthyroid women. *Endocrine*, 2015, 48:924-928.
- [26] Maraka S, Mwangi R, Mccoy RG, et al. Thyroid hormone treatment among pregnant women with subclinical hypothyroidism: US national assessment. *BMJ*, 2017, 356:i6865.

(收稿日期: 2017-04-20)

脐带间充质干细胞治疗宫腔粘连的研究现状

郭意欣 关婷

【摘要】 宫腔粘连是常见的子宫内膜损伤性疾病。随着医学技术的不断发展, 宫腔操作频繁及宫腔镜手术逐渐普及, 宫腔粘连的发病率随之升高。目前宫腔粘连的治疗以宫腔镜下粘连分离术为主, 术后联合多种治疗措施预防再粘连, 虽然能达到一定的治疗效果, 但较高的复发率及低妊娠成功率仍为亟需解决的难题。近年来, 具有多向分化潜能的脐带间充质干细胞受到广泛关注, 为宫腔粘连的治疗提供了新思路。

【关键词】 宫腔粘连; 脐带间充质干细胞; 治疗

宫腔粘连 (intrauterine adhesions, IUA), 又称为 Asherman 综合征, 是由于宫腔手术操作、感染等因素导致子宫内膜基底层损伤, 宫腔部分或全部闭塞, 继而引起月经过少、闭经、不孕或反复流产等症状的妇科疾病。Heinrich Fritsch 于 1894 年首次对 IUA 进行报道。1948 年 Joseph Asherman 研究并详细描述了 29 例流产或产后刮宫后出现闭经并伴有宫颈内口狭窄的病例, 认为宫腔粘连可能是子宫内膜损伤的后果^[1]。宫腔镜下粘连分离术 (TCRA) 是目前临床上治疗 IUA 的首选方法。然而有文献报道, TCRA 术后再粘连发生率为 62.5%^[2]。IUA 引起的不孕、自然流产、早产、胎盘前置及异位妊娠等产科并发症严重影响女性的生殖健康。因此, 制定更加完善的治疗策略, 促进子宫内膜再生和功能恢复尤为重要。脐带间充质干细胞具有自我更新、增殖和多向分化潜能, 有望为 IUA 细胞治疗提供新思路。

一、宫腔粘连

1. 发病机制及相关因素: 正常子宫内膜从形态学上可分为功能层和基底层。子宫内膜功能层是胚胎植入的部位,

具有周期性增殖、分泌和脱落性变化; 基底层在月经后再生并修复子宫内膜创面, 重新形成子宫内膜功能层^[3]。IUA 组织病理学表现为宫腔内附着稠厚的纤维组织, 纤维组织附着部位残留少量甚至完全缺乏正常的内膜组织, 纤维附着部位子宫内膜稀薄、萎缩、腺体无活性, 缺乏有血管的间质, 粘连局部处于低氧缺血的微环境^[4]。

目前, 与 IUA 发病有关的因素包括: ① 雌激素受体表达异常。IUA 患者子宫内膜雌激素受体对雌激素的敏感性下降, 生理剂量的雌激素不足以发挥促进内膜修复的作用; ② 宫腔微环境改变与纤维化微环境增强。感染、刮宫破坏了内膜屏障, 缺乏上皮细胞覆盖宫腔表面, 间质裸露, 加上炎症反应引起水肿、炎性细胞浸润、上皮细胞坏死等, 间质纤维活性增加, 胶原沉积, 导致子宫内膜的纤维化, 从而形成宫腔粘连^[5]; ③ 信号通路调节异常。转化生长因子-β1 (TGF-β1) 是迄今发现最主要的促纤维形成细胞因子, 其信号主要经下游中介分子 Smad2、Smad3 进行转导。国内外多项研究均显示宫腔粘连患者子宫内膜 TGF-β1 的表达明显高于正常组; ④ 任何原因使子宫内膜基底层损伤造成的上皮细胞及间质细胞再生障碍、新生血管形成受阻、成纤维细胞增生, 以及细胞外基质过度沉积等, 均可导致纤维结缔组织增生, 瘢痕形成^[6]。

2. 治疗策略: IUA 的治疗目的是恢复宫腔解剖学形态及宫腔容积, 治疗不孕、疼痛等相关症状, 预防再粘连形成, 促进子宫内膜再生修复, 恢复生育能力^[7]。Conforti 等^[8]认为目前 IUA 的治疗策略为: ① 宫腔镜检查已经替代刮宫术、开腹手术成为治疗 IUA 的首选方法。宫腔镜手术方法包括机械性手术和能源性手术。机械和电气设备已经广泛应用于宫腔镜下粘连松解术, 例如 Touhy 针、电切术等。而对于宫腔完全闭塞、无明显内膜可见的 IUA, 除了松解粘连, 仍需配合其他预防再粘连的措施; ② 预防再粘连 (宫内节育器、子宫球囊支架、尿管、防粘连屏障如透明质酸等); ③ 修复子宫内膜 (雌激素、干细胞); ④ 术后评估 (重复宫腔手术、宫腔镜检查、超声)。

在宫腔镜检查出现之前, 传统方法是使用扩张、刮宫等分离粘连组织, 这种操作易发生子宫穿孔, 损伤子宫肌壁, 因此目前已不主张盲视下实施分离操作。TCRA 是治疗 IUA 的标准术式, 在直视宫腔内环境下操作能够明确粘连部位、范围、性质和输卵管开口状态, 提高手术的精确性和安全性, 于诊断和治疗都是首选方法。由于再粘连的发生率较高, TCRA 术后常联合使用宫内节育器、子宫球囊支架、Foley 球囊导尿管、雌孕激素周期治疗、透明质酸钠、医用几丁糖、创面覆盖羊膜等均能改善月经及妊娠相关并发症。如果子宫内膜损伤面积过大而完全裸露, 即使手术恢复了宫腔形态, 内膜也很难再生恢复功能^[9]。

二、脐带间充质干细胞

1. 生物学特性及临床安全性: 脐带是胎儿时期母体中连接胎儿与胎盘的条索状组织, 其表面覆盖羊膜, 中央有 1 条脐静脉 2 条脐动脉, 血管周围为胶样胚胎结缔组织华通胶。近年来, 许多学者通过不同方式分别从脐带血、羊膜、脐带静脉内皮下层、华通胶等部位分离出脐带间充质干细胞 (human umbilical cord mesenchymal stem cells, hUC-MSCs)。

hUC-MSCs 的生物学特性包括: ① 细胞形态: 倒置显微镜下观察呈贴壁生长, 细胞为长梭形的成纤维细胞形态, 形态较均一, 折光度好^[10]。② 免疫表型: hUC-MSCs 表达的表面抗原具有非单一性, 目前尚未发现特异的表面抗原。Meyer 等^[11]用组织学和免疫组化分析发现 hUC-MSCs 在体外扩增, 表达成纤维细胞和间充质细胞标志物 (CD13 和 CD105), 而不表达造血干细胞标记物 (CD14 和 CD34)。③ 分化潜能: 大量研究证实 hUC-MSCs 经诱导培养能向多种成体细胞分化。它在体外可以分化为骨细胞、软骨细胞、肝细胞、心肌细胞等。在体内可以分化为多巴胺能神经元、骨骼肌细胞、内皮细胞、胰岛细胞等, 而决定分化方向的关键是诱导分化的条件^[12]。

经过体外扩增培养的 hUC-MSCs 的安全性是临床应用首要关注的问题。间充质干细胞虽然来源广泛, 但在生物体内仍属于极低含量^[13]。由于干细胞与肿瘤细胞在细胞寿命、生长周期与调节机制、可在较长时间内反复增殖等方面具有相似性, 被认为容易恶性转化成为肿瘤细胞。目前还没有关于间充质干细胞在体外培养转化为肿瘤细胞的

证据。王有为^[14]在食蟹猴中使用 hUC-MSCs 反复给药和长期毒性进行研究, 未发现对食蟹猴的生理指标造成不利影响, 认为 hUC-MSCs 是安全的。当然, 除了毒副作用, hUC-MSCs 临床安全性还与取材规范、制备技术等有关, 仍需进一步研究。

2. 临床应用: 在不同诱导条件下, hUC-MSCs 可以向多种细胞分化, 如胰岛样细胞、肝样细胞、神经元样细胞、成骨细胞、软骨细胞等。

Cheng 等^[15]将 34 例胸腰椎脊髓损伤患者随机分为三组, 分别予 hUC-MSCs 移植、康复治疗 and 空白对照, hUC-MSCs 组中 70% 的患者在运动、自理能力、肌张力有显著改善, 康复组则为 36%; 尿动力学检查显示, 在 hUC-MSCs 组的患者表现出最大尿流率、最大膀胱容量的增加, 以及残余尿量、最大逼尿肌压力降低, 康复组最大膀胱容量减小, 其余没有明显变化。

田洪榛等^[16]选择缺血性心力衰竭并血运重建患者 40 例, 移植组经既往梗死相关动脉或心脏供血优势动脉注入 10 ml 干细胞悬液, 对照组经梗死相关动脉或心脏供血优势动脉注入 10 ml 0.9% 氯化钠注射液, 随访观 18 个月内经冠状动脉移植 hUC-MSCs 能改善缺血性心衰患者左室功能, 减少左心室容量, 阻止或延缓左室重构, 24 个月时仍提高了患者活动耐量及生活质量, 且安全有效。

除此之外, hUC-MSCs 在神经系统、免疫系统、肾脏疾病、肿瘤等方面的应用研究也在不断的进行中。

三、间充质干细胞治疗宫腔粘连

近年来有关间充质干细胞在子宫内膜损伤修复的报道逐渐增多, 其中 IUA 的治疗以骨髓间充质干细胞为主。

1. 动物实验: Kilic 等^[17]取 40 只 Wistar 大鼠分为 4 组, 第一组使用三氯乙酸注射右侧宫角建立 IUA 模型; 第二组在建模两周后宫腔注射间充质干细胞; 第三组建模两周后每日口服雌激素; 第四组建模两周后宫腔注射间充质干细胞 + 每日口服雌激素。结果在所有治疗组中, 经治疗后纤维化减少, 血管生成和免疫组化染色增加。第二组和第三组在纤维化、血管形成数量、Ki-67 和增殖细胞核抗原 (PCNA) 的结果是相近的。而第四组, 相较于第二组, 纤维化减少而 Ki-67、PCNA 和血管内皮生长因子 (VEGF) 增多。证明间充质干细胞联合雌激素治疗能促进子宫内膜再生, 有效改善宫腔粘连。

Alawadhi 等^[18]通过损伤小鼠子宫建立 IUA 模型, 对比骨髓间充质干细胞移植组、损伤组及正常对照组子宫内膜上 Y+CD45 细胞的表达及对小鼠生育能力的影响。实验结果显示损伤组小鼠的子宫内膜上 Y+CD45 细胞是未损伤的两倍, 而移植组子宫内膜上 Y+CD45 细胞较正常子宫内膜细胞减少 0.1%。骨髓间充质干细胞移植组小鼠受孕率达 90%, 损伤组仅有 30%, 正常对照组均怀孕。表明骨髓间充质干细胞在修复子宫内膜损伤, 提高生育能力方面起重要作用。

刘芳^[19]应用机械损伤和细菌脂多糖感染的双重损伤法建立新西兰大白兔宫腔粘连动物模型, 60 只新西兰大白

兔分为对照组、模型组、移植组、雌激素组、干细胞移植 + 雌激素组。结果显示单纯移植骨髓间充质干细胞和单纯雌激素治疗能使子宫内膜腺体数量增加, 间质纤维化面积减少, 基本修复子宫内膜, 而联合治疗再生的子宫内膜各方面均与正常子宫内膜更为相似。

2. 临床个案报道: Nagori 等^[20]报道给一例患者宫腔内移植自体来源的骨髓间充质干细胞后, 受损的子宫内膜再生, 并经体外受精和胚胎移植后怀孕, 成功治疗了难治性 IUA。Zhao 等^[21]对一例经 TCRA 联合周期性激素替代疗法后仍有严重宫腔粘连的患者尝试行自体骨髓间充质干细胞移植治疗。自体骨髓间充质干细胞在阴道超声引导下移植至子宫内膜, 配合周期性激素治疗 3 个月后, 超声评估子宫内膜部分恢复, 超声回声增强。

Singh 等^[22]用患者自体骨髓干细胞治疗 6 例诊断为 III ~ IV 级宫腔粘连并且于宫腔镜下粘连松解术及雌激素治疗失败的患者, 结果显示治疗后 3、6、9 个月, 所有患者的内膜厚度均较治疗前有明显增厚。6 例患者治疗前都有继发性闭经或不孕史, 治疗后有 5 例月经恢复。说明骨髓间充质干细胞能促进子宫内膜再生, 修复内膜功能。

实验证明骨髓间充质干细胞能有效治疗 IUA 并提高生育力, 而脐带间充质干细胞的绝大多数生物学特征与其相似, 例如成纤维细胞样形态学特征、典型的免疫表型、细胞周期状态等。成人骨髓间充质干细胞数量及增殖分化潜能随年龄的增大而下降, 且供者间充质干细胞的采集须行骨髓穿刺, 由于疾病的原因, 患者常有感染、体质较弱等因素也限制了自体骨髓间充质干细胞的应用^[23]。而脐带间充质干细胞具有来源丰富、对供者无影响、易于采集和运输、无异体排斥反应、避免伦理争议等诸多优点, 并有更高的增殖特性, 有利于临床上短时间内获得更大量的细胞数, 可作为骨髓源间充质干细胞的替代来源。

四、结论

正常子宫内膜能自我再生和修复, 而宫腔粘连患者的子宫内膜严重受损, 宫腔内纤维组织增生, 影响女性月经及生育能力。目前的治疗方法对轻中度宫腔粘连效果尚可, 而重度宫腔粘连术后再粘连发生率高。临床上已有应用间充质干细胞治疗宫腔粘连的报道, 对比骨髓间充质干细胞, 脐带间充质干细胞更有应用潜能。随着脐带间充质干细胞的深入研究, 应用其促进子宫内膜再生以治疗宫腔粘连将成为可能。

参 考 文 献

[1] Asherman JG. Amenorrhoea traumatica (atretica). *J Obstet Gynaecol Br Emp*, 1948, 55: 23-30.
 [2] Yu D, Wong YM, Cheong Y, et al. Asherman syndrome-one century later. *Fertil Steril*, 2008, 89: 759-779.
 [3] 谢幸, 苟文丽. 妇产科学. 8 版, 北京: 人民卫生出版社, 2013: 21.
 [4] Chen Y, Chang Y, Yao S. Role of angiogenesis in endometrial repair of patients with severe intrauterine adhesion. *Int J Clin*

Exp Pathol, 2013, 6: 1343-1350.
 [5] Schenker J G. Etiology of and therapeutic approach to synechia uteri. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 1996, 65: 109-113.
 [6] Prianishnikov VA. On the concept of stem cell and a model of function-morphological structure of the endometrium. *Contraception*, 1978, 18: 213-223.
 [7] AAGL Advancing Minimally Invasive Gynecology Worldwide. AAGL practice report: practice guidelines for management of intrauterine synechiae. *J Minim Invasive Gynecol*, 2010, 17: 1-7.
 [8] Conforti A, Alviggi C, Mollo A, et al. The management of Asherman syndrome: a review of literature. *Reprod Biol Endocrinol*, 2013, 11: 118.
 [9] Mycrs EM, Hurst BS. Comprehensive management of severe Asherman syndrome and amenorrhea. *Fertil Steril*, 2012, 97: 160-164.
 [10] 卓锋. 人脐带间充质干细胞应用研究进展. *中国矫形外科杂志*, 2012, 20: 49-51.
 [11] Meyer T, Pfeifroth A, Hocht B. Isolation and characterisation of mesenchymal stem cells in Wharton's jelly of the human umbilical cord: potent cells for cell-based therapies in paediatric surgery? *Eur Surg*, 2008, 40: 239-244.
 [12] Can A, Karahuseyinoglu S. Concise review: human umbilical cord stroma with regard to the source of fetus-derived stem cells. *Stem Cells*, 2007, 25: 2886-2895.
 [13] Hunt CJ. Cryopreservation of human stem cells for clinical application: A review. *Transfus Med Hemother*, 2011, 38: 107-123.
 [14] 王有为. 脐带间充质干细胞临床前安全性研究. 北京: 北京协和医学院, 2013: 1-171.
 [15] Cheng H, Liu X, Hua R, et al. Clinical observation of umbilical cord mesenchymal stem cell transplantation in treatment for sequelae of thoracolumbar spinal cord injury. *J Transl Med*, 2014, 12: 253.
 [16] 田洪榛, 陈江, 张晓霞, 等. 脐带华通胶间充质干细胞治疗缺血性心力衰竭的 2 年随访观察. *解放军医学院学报*, 2016, 37: 407-412.
 [17] Kilic S, Yuksel B, Pinarli F, et al. Effect of stem cell application on Asherman syndrome, an experimental rat model. *J Assist Reprod Genet*, 2014, 31: 975-982.
 [18] Alawadhi F, Du H, Cakmak H, et al. Bone marrow-derived stem cell (BMDSC) transplantation improves fertility in a murine model of Asherman's syndrome. *PLoS One*, 2014, 9: 1-6.
 [19] 刘芳. 骨髓间充质干细胞移植联合雌激素治疗宫腔粘连的实验研究. 广州: 南方医科大学, 2013: 1-128.
 [20] Nagori CB, Panchal SY, Patel H. Endometrial regeneration using autologous adult stem cells followed by conception by in vitro fertilization in a patient of severe Asherman's syndrome. *J Hum Reprod Sci*, 2011, 4: 43-48.
 [21] Zhao Y, Wang AM, Tang XR, et al. Intrauterine transplantation of autologous bone marrow derived mesenchymal stem cells followed by conception in a patient of severe intrauterine adhesions. *J Obstet Gynecol*, 2013, 3: 377-380.
 [22] Singh N, Mohanty S, Seth T, et al. Autologous stem cell transplantation in refractory Asherman's syndrome: A novel cell based therapy. *J Hum Reprod Sci*, 2014, 7: 93-98.
 [23] 马锡慧, 冯凯, 石炳毅. 人脐带间充质干细胞生物学特性及其研究进展. *中国组织工程研究与临床康复*, 2011, 15: 6064-6067.

(收稿日期: 2016-11-04)