

· 研究原著 ·

文章编号 1000-2790(2008)04-0328-03

## 不同促排卵方案宫颈黏液中 IL-6 与卵泡发育、排卵的相关性

吕淑兰, 张巧利, 曹缙孙 (西安交通大学医学院第一附属医院妇产科 陕西 西安 710061)

### Correlation of IL-6 level in cervical mucus with follicle development and ovulation in different protocols of ovulation stimulation

LÜ Shu-Lan, ZHANG Qiao-Li, CAO Zuan-Sun

Department of Obstetrics and Gynecology, First Affiliated Hospital, Medical School, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710061, China

**【Abstract】**AIM: To investigate the level of IL-6 in cervical mucus when applying variable protocols of ovulation stimulation, and its possible correlation with either follicle development or ovulation. **METHODS:** Thirty-six patients with infertility were observed in this study, and 15 women with normal menstruation and conception were taken as controls. The patients were divided into 3 subgroups according to the ovulation stimulating protocol they received: clomiphene menotrophin (HMG) and controlled ovarian hyperstimulation (COH) subgroups. We collected cervical mucus and serum, respectively during early follicular phase, peri-ovulation phase, and mature luteal phase, and tested IL-6, FSH, LH, E<sub>2</sub>, and P levels of both mucus and serum using double radioimmunoassay. Simultaneously, the condition of follicle development, thickness of endometrium and ovulation were monitored by transvaginal ultrasonography. **RESULTS:** ① IL-6 of cervical mucus appeared periodical changes along the menstrual and ovulating cycle: ascending in follicular phase, reaching the platform in ovulation phase, declining as stepping into luteal phase, with statistical difference among different phases ( $P < 0.05$ ). ② IL-6 in cervical mucus showed a positive correlation with the size of follicle ( $r = 0.792, P < 0.05$ ), but no obvious relationship with the thickness of endometrium and the score of mucus. ③ Compared with unovulation group, IL-6 level was significantly higher in ovulation group ( $P < 0.05$ ). **CONCLUSION:** ① Periodical variation and ovulation phase peak level of IL-6 in cervical mucus might make it a potential marker applied for forecasting ovulation. ② IL-6 level in cervical mucus is distinctively higher in HMG group and IVF-ET COH group than in control cases, which is probably due to up-regulation effect of Gn for IL-6. ③ IL-6 might

play a key role in the process of follicle development and ovulation.

**【Keywords】** ovulation induction; cervix mucus; interleukin-6; ovarian follicle development; ovulation

**【摘要】**目的: 探讨不同促排卵方案患者宫颈黏液(CM)中 IL-6 水平与卵泡发育及排卵的相关性。方法: 选择 36 例不孕妇女为研究对象, 15 例正常月经周期妇女为对照组。实验组分三组, 分别采用克罗米酚(CC)、尿促性素(HMG)及超促排卵(COH)。于月经早卵泡期、围排卵期及黄体高峰期收集 CM 及血清, 采用双抗 RIA 测定 IL-6 水平及 FSH, LH, E<sub>2</sub>, P 水平, 同时行阴道 B 型超声监测卵泡发育、子宫内膜厚度及排卵情况。结果: ① CM 中 IL-6 在正常月经周期及促排卵周期中存在周期性变化, 卵泡期开始上升, 围排卵期达高峰, 黄体期下降, 三期中围排卵期 CM IL-6 水平最高, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。② CM 中 IL-6 与卵泡大小呈正相关 ( $r = 0.792, P < 0.05$ ) 与子宫内膜厚度、宫颈黏液评分无相关。③ 排卵组与未排卵组 CM 中 IL-6 比较, 排卵组 IL-6 水平明显高于未排卵组, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。结论: ① CM 中 IL-6 在正常月经周期及促排卵周期中存在周期性变化, 排卵期达高峰, 有望作为预测排卵的新指标。② HMG 促排卵组和 IVF-ET COH 组 CM 中 IL-6 水平高于对照组, 可能与促性腺激素对 IL-6 的上调作用及激活生殖道局部细胞免疫有关。③ IL-6 在卵泡发育及排卵过程中起重要作用。

**【关键词】** 排卵诱导; 宫颈黏液; 白细胞介素 6; 卵泡发育; 排卵  
**【中图分类号】** R711.59 **【文献标识码】** A

### 0 引言

近年来在世界范围内, 不孕症的发病率逐年升高, 而其中 25% ~ 30% 的原因为排卵障碍<sup>[1]</sup>。促排卵治疗及监测卵泡的发育、排卵成为该群体治疗的核心内容。宫颈黏液中 IL-6 与卵泡发育及排卵的关系也是研究的热点。IL-6 是一种多功能的细胞因子, 其对生殖的多个环节产生作用<sup>[2]</sup>。本实验以我院不孕患者为研究对象, 对不同促排卵方法宫颈黏液中 IL-6 水平、血清性激素水平进行测定, 同时阴道 B 超监测卵泡发育、子宫内膜厚度及排卵状况, 探讨不促排卵方案中宫颈黏液中 IL-6 水平变化及卵泡发育及排卵的关系, 为临床促排卵方案的选择提供一定的理论依据。

收稿日期 2007-09-18; 接受日期 2007-11-20

作者简介: 吕淑兰, 博士, 副教授。Tel: (029) 85323843 Email: shulanlu819@yahoo

## 1 对象和方法

**1.1 对象** 收集 2004-10/2005-01 在本院生殖内分泌研究室就诊的 36 例 22~36 岁不孕妇女为实验组。实验组分三组,分别采用克罗米酚(clomiphene citrate, CC)、尿促性素(human menopausal gonadotropin, HMG)及超促排卵(controlled ovarian hyperstimulation, COH)。其中 CC 促排卵主要为无排卵或稀发排卵的不孕者;HMG 促排卵主要针对下丘脑、垂体功能低下的不孕者;COH 主要用于女性输卵管梗阻的不孕患者,方法为 GnRH-a + HMG + HCG 长方案。选取同期在我院就诊的 23~35 岁月经周期正常妇女 15 例为对照组。两组在年龄、不孕年限和体质量指数上差异无统计学意义。所有研究对象进入试验前 3 mo 未使用任何激素类药物。

### 1.2 方法

**1.2.1 血清的采集与分离** 所有研究对象均于月经周期第 2~4 日(早卵泡期),第 12~14 日(围排卵期)及第 19~21 日(黄体期)晨 09:00~11:00 点收集空腹肘静脉血 5 mL,3000 r/min 离心分离血清 20 min, -40℃ 保存。采用 RIA 测定血清 FSH, LH, E<sub>2</sub>, P。

**1.2.2 宫颈黏液的采集** 采血的同日收集宫颈黏液。用窥器暴露宫颈,灭菌干棉球拭净宫颈表面分泌物,用 1 mL 注射器从宫颈内口处尽量吸净黏液,置于 Apendoff 管中,放入 -40℃ 冰箱保存。检测前先行冻融,称质量后加入 1 mL 生理盐水在 -4℃ 条件下用超声波粉碎机液化,然后以 3000 r/min 离心 20 min,取上清液置入 -40℃ 冰箱保存待测。采用双抗 RIA 测定 IL-6。

**1.2.3 监测卵泡及子宫内膜** 使用 EUB-500 型日立阴道 B 超监测卵泡发育。正常对照组及 CC 促排卵组从月经第 8 日开始监测卵泡发育(CC M5-9, 50~100 mg/d, 共 5 d);HMG 组(月经周期第 2 日始,肌注 HMG 2~3 支,1 次/d);COH(阿拉瑞林 150 μg iH, 1 次/d, M21 日至注射 HCG 日,FSH 2~4 支 iH, 1 次/d, M3 日至注射 HCG 日)组于月经周期第 8 日监测卵泡发育。三组均监测有 2 个卵泡直径 ≥ 18 mm 时,肌注 HCG 5 × 10<sup>3</sup> ~ 1 × 10<sup>4</sup> U,COH 组 36 h 后取卵,其余均需监测卵泡破裂情况、时间,并记录。

**1.2.3.1 子宫内膜厚度测定** 纵切显示子宫内膜,距宫底 1 cm 处测量前后子宫肌层与内膜交界面的距离,既自一侧子宫内膜强回声线与声晕交界至另一侧子宫内膜强回声与声晕交界处为子宫内膜厚度。

**1.2.3.2 监测卵泡** 当卵泡发育成优势卵泡时选取卵泡最大切面测量卵泡大小(有多个卵泡时选取最

大的卵泡),测其相互垂直的长短径,其均值为卵泡径线。

**1.2.4 排卵征象的判断**<sup>[3]</sup> ① 卵巢卵泡消失;② 卵泡直径缩小;③ 卵泡形态改变,边缘出血、邹折或不光滑;④ 或伴有 Douglas 腔液性暗区。

统计学处理:计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,数据分析采用 SPSS 11.5 统计分析软件,统计学方法为方差分析和 Spearman 相关分析法,  $P < 0.05$  为差别有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 各组 IL-6 水平在生殖周期中的变化** 围排卵期 IL-6 水平最高,各期相比,差异有统计学意义( $P < 0.05$ , 表 1)。与对照组相比,各组中 COH 组 IL-6 水平最高, HMG 组次之,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。

表 1 IL-6 水平在生殖周期中的变化 (ng/L,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	卵泡期	围排卵期	黄体期
CC	12	247 ± 130	392 ± 126 <sup>a</sup>	250 ± 110
HMG	12	320 ± 162	502 ± 154 <sup>ab</sup>	312 ± 172
COH	12	326 ± 180	636 ± 86 <sup>ab</sup>	296 ± 126
正常对照	15	226 ± 118	363 ± 132 <sup>a</sup>	262 ± 136

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 卵泡期和黄体期; <sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 正常对照和 CC。CC: 克罗米酚; HMG: 尿促性素; COH: 超促排卵。

**2.2 IL-6 与卵泡大小、子宫内膜厚度及宫颈黏液评分的相关分析** CM 中 IL-6 与卵泡大小呈正相关( $r = 0.792$ ,  $P < 0.05$ ),与子宫内膜厚度、宫颈黏液评分无明显相关性( $P > 0.05$ )。

**2.3 排卵组与未排卵组 CM 中 IL-6 水平比较** 排卵组与未排卵组宫颈黏液中 IL-6 比较(本试验将 IVF-ET 促排卵组因行穿卵采集卵子而不计其中),共计 39 人,采用 B 超监测为排卵组 28 人,未排卵组 11 人,进行比较。结果排卵组 IL-6 水平高于未排卵组 [(451 ± 130) ng/L vs [61 ± 126] ng/L],差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。

## 3 讨论

近年来研究发现,免疫系统对女性生殖内分泌有重要的调节作用,但确切机制尚未阐明。IL-6 与女性生殖关系密切,其主要由单核细胞活化 T 细胞等多种细胞产生,是介导天然免疫反应的细胞因子,具有多种生物学效应<sup>[4-6]</sup>。本研究发现,正常对照组女性月经周期 CM 中 IL-6 水平在围排卵期最高,与卵泡期和黄体期相比有统计学差异性( $P < 0.05$ )。可能与

$E_2$  高峰的卵泡破裂时卵泡液刺激单核细胞释放 IL-6 增加,同时 IL-6 又在排卵时的“免疫性反应”过程中参与卵泡破裂和排卵有关。另有学者发现,生理浓度的促性腺激素(Gn)可增加外周血单核细胞分泌 IL-6<sup>[7]</sup>。本研究显示三组促排卵方案中,IVF-ET 组及 HMG 组 CM 中 IL-6 在围排卵期高于正常对照组及 CC 组( $P < 0.05$ ),可能与促排卵时的外源性 Gn 药物对 IL-6 的上调作用有关,因为 FSH 和 LH 能使外周血单核细胞分泌 IL-6 增加,血液中 IL-6 可能渗透至宫颈。另外,高浓度的 FSH 和/或 LH 可能直接作用于宫颈局部的单核巨噬细胞分泌和释放 IL-6。三组在生理周期的变化趋势与正常月经周期相一致,在卵泡期开始上升,围排卵期达高峰,至黄体期回落。

卵泡的发育受多种因素调控,如促性腺激素、雌激素、雄激素、胰岛素样生长因子、卵泡刺激素及多种细胞因子等<sup>[8]</sup>。动物垂体实验研究发现 IL-6 可通过潜在的旁分泌和自分泌作用刺激 FSH, LH 和 PRL 的释放,间接促进卵泡发育<sup>[9-10]</sup>。另有研究发现在青春期小鼠卵巢中检测到高水平 IL-6 的 mRNA,其主要存在于内皮细胞,因而认为 IL-6 可能与发育卵泡的血管生成有关。近期有研究认为 IVF-ET 促排卵卵泡液中 IL-6 水平较高者,卵母细胞成熟度佳,进一步证明 IL-6 在卵泡发育成熟中发挥重要作用。我们的研究发现,围排卵期 HMG 及 IVF-ET 促排卵组中 IL-6 水平较正常对照组及 CC 组高( $P < 0.05$ )。同时,两组围排卵期卵泡发育好,推测可能部分与使用外源性 Gn 对 IL-6 分泌有上调作用,从而促进卵泡发育。

排卵是一个极其复杂的过程,该过程可以涉及多种卵巢细胞(如颗粒细胞、膜细胞、基质细胞、卵巢表皮细胞等)、多种信息传递途径和多种特定基因的调控性表达。卵泡破裂发生排卵被认为是一种炎症反应,IL-6 实为一种炎症因子<sup>[11]</sup>,在排卵时的“炎症性反应”过程中也可能参与了卵泡破裂。有研究表明排卵前卵泡液中中性粒细胞的趋化活性增高,IL-6 可在排卵前卵泡颗粒细胞中表达。炎症性细胞因子 IL-6, IL-8 等可能通过激发“炎症性反应”而促使排卵,排卵后“抗炎”细胞因子 IL-1 受体拮抗蛋白(IL-1ra)则起到抑制“炎症反应”、促进排卵后“炎症”消退的作用。本研究显示排卵组 IL-6 水平较未排卵组高,差

异有显著性,充分证明 IL-6 在排卵时的“炎症性反应”过程中发挥着重要作用。

## 【参考文献】

- [1] Strauss JF, Barbieri RL 著(林守清主译). 生殖内分泌学[M]. 北京:人民卫生出版社,2006:627.
- [2] Koumantaki Y, Matalliotakis I, Sifakis S, et al. Detection of interleukin-6, interleukin-8, and interleukin-11 in plasma from women with spontaneous abortion[J]. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2001, 98(1):66-71.
- [3] 庄广伦,周灿权,梁晓燕. 现代辅助生殖技术[M]. 北京:人民卫生出版社,2005:12-14.
- [4] Yoshida S, Harada T, Iwabe T, et al. A combination of interleukin-6 and its soluble receptor impairs sperm motility: Implications in infertility associated with endometriosis[J]. Hum Reprod, 2004, 19(8):1821-1825.
- [5] Yang JH, Wu MY, Chang DY, et al. Increased interleukin-6 messenger RNA expression in macrophage cocultured endometrial stromal cells in adenomyosis[J]. Am J Reprod Immunol, 2006, 55(3):181-187.
- [6] Deura I, Harada T, Taniguchi F, et al. Reduction of estrogen production by interleukin-6 in a human granulosa tumor cell line may have implications for endometriosis-associated infertility[J]. Fertil Steril, 2005, 83(Suppl 1):1086-1092.
- [7] Yang JH, Chen MJ, Wu MY, et al. Decreased suppression of interleukin-6 after treatment with medroxyprogesterone acetate and danazol in endometrial stromal cells of women with adenomyosis[J]. Fertil Steril, 2006, 86(5):1459-1465.
- [8] Tasci Y, Dilbaz B, Uzmez Onal B, et al. The value of cord blood interleukin-6 levels for predicting chorioamnionitis, funisitis and neonatal infection in term premature rupture of membranes[J]. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2006, 128(1-2):34-39.
- [9] Wang TH, Chang CL, Wu HM, et al. Insulin-like growth factor-II (IGF-II), IGF-binding protein-3 (IGFBP-3), and IGFBP-4 in follicular fluid are associated with oocyte maturation and embryo development[J]. Fertil Steril, 2006, 86(5):1392-1401.
- [10] 赵海波,何亚绒,李爱莉,等. 人卵泡液中白血病抑制因子浓度及其对卵母细胞发育的影响[J]. 第四军医大学学报, 2004, 25(6):554-556.
- [11] Goffinet F, Kayem G, Maillard F, et al. Detection of interleukin 6 mRNA by RT-PCR in vaginal secretions: Association with preterm delivery and neonatal infection in women with preterm labour and intact membranes[J]. Eur Obstet Gynecol Reprod Biol, 2005, 123(2):167-173.