

冻融胚胎移植周期宫腔灌注改善子宫内膜容受性的研究进展

郭静¹ 薛聿婷² 王丽² 田泽丽² 刘芳¹

¹内蒙古医科大学附属医院生殖中心,呼和浩特 010020;²内蒙古医科大学附属医院妇产科教研室 010059

通信作者:刘芳,Email:13015005798@163.com

【摘要】 目前冻融胚胎移植(FET)已成为人类辅助生殖中重要组成部分,影响FET结局的重要因素为胚胎种植失败,在导致FET植入失败的原因中,子宫内膜容受性(ER)因素约占2/3,因此改善ER,尤其是薄型ER以提高临床妊娠率及活产率成为研究热点。本文对目前国内外冻融胚胎移植周期宫腔灌注改善ER的进展进行综述,以期为未来的科学研究及临床治疗提供参考。

【关键词】 冻融胚胎移植; 子宫内膜容受性

基金项目:内蒙古自治区自然科学基金(2018LH03006)

DOI:10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2020.06.018

目前,冻融胚胎移植(frozen-thawed embryo transfer, FET)技术在临床上已经被广泛应用。FET可以减少卵巢过度刺激综合征(OHSS)的发生率、降低患者过多促排卵的经济负担及提高累计妊娠率^[1],因此,生殖医学研究的重点之一即为如何提高FET的妊娠率。影响FET结局的重要因素为胚胎种植失败,在导致FET植入失败的原因中,子宫内膜容受性(endometrial receptivity, ER)因素约占2/3,胚胎因素约占1/3^[2]。胚胎在子宫内膜种植窗口期为排卵后6~10 d,子宫内膜在此期对胚胎的接受能力称为ER。ER的建立是在卵巢甾体激素的协同作用下多种分子物质相互协调、影响共同参与完成的^[3]。本文对目前国内外FET周期宫腔灌注改善ER,尤其是对薄型子宫内膜的疗效进展综述如下,以期对临床决策有所帮助。

1. 粒细胞集落刺激因子(G-CSF): Gleicher等^[4]报道4例无反应薄型子宫内膜患者行G-CSF宫腔灌注使子宫内膜均至少长至7 mm后,自此后学者们开始探索G-CSF在改善ER的作用。G-CSF属骨髓造血细胞增殖因子之一,可影响子宫内膜的基因表达、刺激子宫内膜干细胞、改善子宫内膜的发育,促进胚胎黏附、细胞迁移、组织重塑和血管发生^[5]。Barad等^[6]进行了一项试验,将子宫内膜厚度正常反复流产患者分为2组,试验组宫腔灌注G-CSF,对照组灌注同等剂量的生理盐水,2组患者子宫内膜的厚度均有一定程度增加,但差异无统计学意义。亦报道,G-CSF宫腔灌注可改善子宫内膜的厚度,但并未提高妊娠率^[7]。但是多项研究显示,薄型子宫内膜患者宫腔灌注G-CSF即可增厚FET周期内膜厚度,也能改善其妊娠结局^[8]。多于FET周期第12~14日宫腔灌注G-CSF 300 μg/ml,灌注48 h后或72 h后评估内

膜厚度决定是否行2次灌注。有研究表明,宫腔灌注G-CSF 100 μg时内膜厚度无明显增加^[9],提示G-CSF可能需要剂量达到阈值才能发挥作用。甘永安等^[10]对截至2016年薄型子宫内膜不孕症患者宫腔灌注G-CSF的国内外研究荟萃分析结果表明,宫腔灌注G-CSF子宫内膜厚度没有明显增加,但可以提高胚胎的种植率以及妊娠率。有学者建议应用宫腔灌注G-CSF应作为反复移植失败患者和薄型子宫内膜不孕症患者的最佳治疗^[11]。目前,FET周期宫腔灌注G-CSF用药剂量、方式,是不是可以增加子宫内膜的厚度、改善ER、提高胚胎的种植率以及妊娠率疗效尚有争议^[12],需进一步严谨的大样本量的临床研究,以便更好地指导临床应用。

2. 人绒毛膜促性腺激素(hCG):高明霞等^[13]认为hCG对胚胎植入子宫过程有着重要的影响,众多生殖器官及相关细胞均有hCG表达(妊娠过程中的黄体细胞,卵泡的颗粒细胞,子宫的内膜和绒毛膜等),有促进内膜细胞生长成熟、内膜血管的形成作用,可调控子宫内膜分泌相关的细胞因子,并启动调节内膜对胚胎的免疫耐受和调控绒毛的侵袭性。Licht等^[14]的研究显示,hCG宫腔内注射可上调有利于胚胎种植细胞因子,包括血管内皮生长因子(VEGF)、白细胞抑制因子(LIF)及基质金属蛋白酶9(MMP-9)。近年的研究表明,子宫内膜可分泌hCG,并参与增生期子宫内膜转化为分泌期内膜的过程,调节子宫内膜多种细胞因子在种植窗时期的分泌,进而影响胚胎种植^[15]。另外,hCG可通过降低子宫收缩及减少内膜蠕动波而有助于胚胎的植入^[16]。在hCG用药方式改善ER方面,目前尚无定论,有报道在排卵期小剂量hCG宫腔灌注,亦有排卵前肌肉内注射hCG,均

可促进子宫内膜的胞饮突结构发育及增殖,进而调节子宫内膜生长及改善薄型 ER^[17]。hCG 调节内膜生长及改善 ER 的作用机制尚不明确, Li 等^[18]通过大样本临床研究证实,可能通过激活的外周血单核细胞调节内膜生长、改善 ER 进而提高临床妊娠率、种植率和活产率。李婷婷等^[19]在体外受精周期和 FET 周期反复移植失败的患者宫腔灌注 hCG,结果体外受精周期, hCG 灌注组临床妊娠率比对照组有所提高(43% 比 34%),但差异无统计学意义; FET 周期, 宫腔灌注 hCG 与对照组妊娠率无明显改变(25% 比 27%)。Craciunas 等^[20]对 12 项随机对照试验(RCT)进行荟萃分析,共纳入 4 038 例不孕症患者,结果显示,治疗效果与 hCG 使用剂量相关,宫腔灌注 hCG 500 IU 及以上剂量,活产率可明显升高,而宫腔灌注 hCG 低于 500 IU 的活产率差异无统计学意义。目前,提高 FET 临床妊娠率的一个重要环节就是改善 ER, hCG 对提高 ER 的可能机制、使用剂量、效果评价及在体外受精周期和 FET 周期有无差异仍需进一步研究。

3. 生长激素(GH): GH 对促进合成人体各种组织有促进作用,逐渐应用于人类辅助生殖领域。国内研究显示,皮下注射 GH 4~6 IU/d 可促进 ER 相关因子的表达[VEGF, 表皮生长因子(EGF), 骨桥蛋白(OPN)及整合素 $\beta 3$ (ItG $\beta 3$)等],促进子宫内膜生长,提高受孕率及妊娠率^[21],激素替代疗法(HRT)周期宫腔灌注 GH 亦有效。顾娟等^[22]报道宫腔灌注生长激素成功妊娠 1 例,认为 GH 可能通过上调子宫内膜相关因子的表达增加子宫内膜血供,促进子宫内膜增殖,改善 ER,促进胚胎着床。国外仅有 1 例在应用 GH 后出现子宫内膜增厚并且成功分娩的报告,对于 GH 宫腔灌注改善 ER 的研究较少。GH 改善 ER 的作用机制尚不明确,内腺细胞和早孕蜕膜组织在分泌中晚期子宫 GH 受体的表达呈强阳性,推测内膜蜕膜化过程可能有 GH 的调节作用^[23]。

4. 自体外周血单核细胞(PBMC): 近年来,越来越多的证据表明胚胎着床过程中该部位的免疫细胞起到积极作用^[24]。动物实验表明, PBMC 宫腔灌注可以改善 ER 及促进胚胎着床^[25]。随后的一项前瞻性 RCT 研究,选取反复流产患者 240 例宫腔灌注 PBMC,结果显示,试验组胚胎着床率和临床妊娠率显著提高^[26]。Li 等^[27]大样本临床研究指出,对于 4 次以上种植失败患者,使用宫腔内灌注 hCG 激活的外周血单核细胞治疗可显著提高其临床妊娠率、种植率和活产率。

PBMC 改善 ER 的机制尚不明确,可能通过分泌多种炎症因子诱导内膜分化改善 ER,促进种植窗期的开放,使滋养层的细胞有限地侵入子宫内膜。但是在灌注的过程中导管以及灌注液对子宫内膜的机械刺激,也有助于胚胎的定植^[28]。就目前研究而言,宫腔内灌注 PBMC 可能成为改善 FET 周期 ER、提高妊娠率及活产率的新疗法。

5. 干细胞治疗: 罗卓野等^[29]为应用再生医学(包括多种干细胞宫腔移植)治疗内膜损伤提供了理论依据,具有极大的应用前景与研究价值。研究显示,骨髓来源干细胞

(BMDSC)在子宫缺血和(或)再灌注损伤时可以分化为子宫内膜间质细胞与上皮细胞来修复内膜^[30],并调节相关免疫细胞因子的表达来改善 ER^[30]。严重的宫腔粘连患者宫腔灌注 BMDSC 或 CD133 阳性 BMDSC 可增厚内膜并改善妊娠结局^[31]。近期有研究者对 5 例宫腔重度粘连的患者宫腔内植入附着有干细胞的胶原材料,结果内膜增厚并妊娠分娩。Gargett 等^[32]研究表明,子宫内成体干细胞(EDSC)可促进子宫内膜修复,其数量、位置与功能异常均有可能影响内膜的状态。有研究显示,成功在不孕患者子宫内膜组织中分离并培养出免异种蛋白(xeno-free)人子宫内膜的间充质干细胞细胞系,为临床工作中应用内膜干细胞促进内膜再生提供有效和安全的基础。

人胚胎干细胞(hESC)有分化潜能的万能细胞,可以分化为全身任意组织和器官的细胞,自体体细胞在移植 hESC 后可呈多能分化的状态,称为诱导多能干细胞(iPS)。从成纤维细胞中诱导出来的人 iPS 多方面与 hESC 相似,因此,理论上可将重度宫腔粘连 FET 患者的成纤维细胞诱导成为 iPS,植入宫腔内分化为子宫内膜细胞来增加其厚度。在动物实验宫腔内移植 iPS 可以明显改善小鼠宫腔粘连模型的子宫内膜状态以及妊娠结局。

Yan 等^[33]研究显示,人脐带中的华通胶间充质干细胞(WJ-MSC)可改善子宫内膜间质细胞的损伤,脐带中的华通胶含有巨噬细胞以及成纤维细胞,可能会作为子宫内膜损伤的一种治疗办法,还期待进一步论证。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] Decler W, Osmanagaoglu K, Meganck G, et al. Slightly lower incidence of ectopic pregnancies in frozen embryo transfer cycles versus fresh in vitro fertilization-embryo transfer cycles: a retrospective cohort study[J]. *Fertil Steril*, 2014, 101(1): 162-165. DOI:10.1016/j.fertnstert.2013.10.002.
- [2] 李华,李蓉,刘洋,等.芬吗通改善反复胚胎移植失败患者子宫内膜血流和提高妊娠率的研究[J]. *生殖医学杂志*, 2014, 23:37-41. DOI:10.3969/j.issn.1004-3845.2014.01.009.
- [3] Bhusane K, Bhutada S, Chaudhari U, et al. Secretory Endometrial receptivity: some are hidden in uterine secretome[J]. *Am J Reprod Immunol*, 2016, 75(3): 226-236. DOI:10.1111/aji.12472.
- [4] Gleicher N, Vidali A, Barad DH. Successful treatment of unresponsive thin endometrium[J]. *Fertil Steril*, 2011, 95(6): 2123-2127. DOI:10.1016/j.fertnstert.2011.01.143.
- [5] 罗卓野,杨爱敏,崔娜,等.辅助生殖中薄型子宫内膜治疗的研究进展[J]. *中华生殖与避孕杂志*, 2018, 38(1): 49-56. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2096-2916.2018.01.011.
- [6] Barad DH, Yu Y, Kushnir VA, et al. A randomized clinical trial of endometrial perfusion with granulocyte colony-stimulating factor in vitro fertilization cycles: impact on endometrial thickness and clinical pregnancy rates[J]. *Fertil Steril*, 2014, 101(3): 710-715. DOI:10.1016/j.fertnstert.2013.12.016.
- [7] Kunicki M, Lukaszuk K, Liss J, et al. Granulocyte colony stimulating factor treatment of resistant thin endometrium in women with frozen-thawed blastocyst transfer[J]. *Syst Biol*

- Reprod Med, 2017, 63(1): 49-57. DOI: 10.1080 / 19396368.2016.1251505.
- [8] Kamath MS, Chittawar PB, Kirubakaran R, et al. Use of Granulocyte-colony stimulating factor in assisted reproductive technology: a systematic review and Meta-analysis[J]. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2017, 214: 16-24. DOI:10.1016/j.ejogrb.2017.04.022.
- [9] Li Y, Pan P, Chen X, et al. Granulocyte colony-stimulating factor administration for infertile women with thin endometrium in frozen embryo transfer Program[J]. Reprod Sci, 2014, 21(3): 381-385. DOI:10.1177/1933719113497286.
- [10] 甘永安, 刘芳, 王一青, 等. 宫腔灌注粒细胞集落刺激因子对薄型子宫内膜不孕疗效的荟萃分析[J]. 生殖与避孕, 2016, 36(10): 816-821. DOI:10.7669/j.issn.0253-357X.2016.10.0816.
- [11] Zhao J, Xu B, Xie S, et al. Whether G-CSF administration has beneficial effect on the outcome after assisted reproductive technology? A systematic review and Meta-analysis[J]. Reprod Biol Endocrinol, 2016, 14(1): 62. DOI: 10.1186/s12958-016-0197-2.
- [12] 张奕文, 李蓉. 评估和改善子宫内膜容受性治疗反复种植失败的研究进展[J]. 中华生殖与避孕杂志, 2017, 37(9): 754-758. DOI:10.3760/cma.j.issn.2096-2916.2017.09.013.
- [13] 高明霞, 张学红, 赵丽辉. 人绒毛膜促性腺激素影响子宫内膜容受性的研究进展[J]. 中华生殖与避孕杂志, 2018, 38(1): 57-59. DOI:10.3760/cma.j.issn.2096-2916.2018.01.012.
- [14] Licht P, Fluhrh, Neuwinger J, et al. Is human chorionic Gonadotropin directly involved in the regulation of human implantation? [J]. Mol Cell Endocrinol, 2007, 269(1/2): 85-92. DOI:10.1016/j.mce.2006.09.016.
- [15] Niu ZH, Fen GY, Zhang PG, et al. Cytokine Profilin G in the eutopic endometrium or Fadenom yosidurin G in the implantation window after ovarian stimulation[J]. Reprod Sci, 2016, 23(1): 124-133. DOI:10.1177/1933719115597761.
- [16] Mansour R, Tawab N, Kamal O, et al. Intrauterine injection of human chorionic Gonadotropin before embryo transfer significantly improves the implantation and Pregnancy rates in vitro fertilization / intracytoplasmic sperm injection: a Prospective randomized study[J]. Fertil Steril, 2011, 96(6): 1370-1374. DOI:10.1016/j.fertnstert.2011.09.044.
- [17] Papanikolaou EG, Kyrou D, Zervakou G, et al. Follicular hCG in the endometrium Primarily for IVF patient experience in Gestrinone thin endometrium. A ProFoF concept study[J]. J Assist Reprod Genet, 2013, 30(10): 1341-1345. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2013.07.439.
- [18] Li S, Jin GW, Yan C, et al. Intrauterine administration of hCG-activated autologous human Peripheral blood mononuclear cells (PBMC) promotes live birth rates in frozen/thawed embryo transfer cycles of patients with repeated implantation failure[J]. J Reprod Immunol, 2017, 119: 15-22. DOI: 10.1016 / j.jri.2016.11.006.
- [19] 李婷婷, 汪翔, 岳超敏, 等. 宫腔内注射人绒毛膜促性腺激素对反复体外受精-胚胎移植失败患者的治疗作用[J]. 中华临床医生杂志(电子版), 2013, 7: 3862-3865. DOI: CNKI: SUN: ZLYD.0.2013-09-046.
- [20] Craciunas L, Tsampras N, Coomarasamy A, et al. Intrauterine administration of human chorionic Gonadotropin (hCG) for subfertile women undergo in G assisted reproduction [CD]. Cochrane Database Syst Rev, 2016(5): CD011537. DOI: 10.1002/14651858.CD011537.pub3.
- [21] Du XF, Yang XH, Li J, et al. Growth Hormone co-treatment within a GnRH agonist long protocol improves implantation and Pregnancy rates in Patients undergoing IVF-ET[J]. Arch Gynecol Obstet, 2016, 294(4): 877-883. DOI: 10.1007 / s00404-016-4163-1.
- [22] 顾娟, 王一波, 韩淑军, 等. 薄型子宫内膜患者冻融胚胎移植成功一例及文献复习[J]. 生殖医学杂志, 2015, 24(9): 763-765. DOI:10.3969/j.issn.1004-3845.2015.09.017.
- [23] Sbracia M, Scarpellini F, Poverini R, et al. Immunohistochemical localization of the Growth Hormone in human endometrium and decidua[J]. Am J Reprod Immunol, 2004, 51(2): 112-116. DOI:10.1046/j.8755-8920.2003.00127.x.
- [24] 张奕文, 李蓉. 评估和改善子宫内膜容受性治疗反复种植失败的研究进展[J]. 中华生殖与避孕杂志, 2017, 37(9): 754-758. DOI:10.3760/cma.j.issn.2096-2916.2017.09.013.
- [25] Yu N, Yang J, Guo Y, et al. Intrauterine administration of peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) improves endometrial receptivity in mice with embryonic implantation dysfunction[J]. Am J Reprod Immunol, 2014, 71(1): 24-33. DOI: 10.1111/aji.12150.
- [26] Yu N, Zhang B, Xu M, et al. Intrauterine administration of autologous peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) activated by HCG improves the implantation and pregnancy rates in patients with repeated implantation failure: a prospective randomized study [J]. Am J Reprod Immunol, 2016, 76(3): 212-216. DOI:10.1111/aji.12542.
- [27] Li S, Jing W, Yan C, et al. Intrauterine administration of hCG-activated autologous human peripheral blood mononuclear cells (PBMC) promotes live birth rates in frozen/thawed embryo transfer cycles of patients with repeated implantation failure[J]. J Reprod Immunol, 2017, 119: 15-22. DOI: 10.1016/j.jri.2016.11.006.
- [28] 李华, 李蓉, 王丽娜, 等. 子宫内膜容受性治疗方法的新进展[J]. 生殖医学杂志, 2015, 24(3): 240-244. DOI: 10.3969 / j.issn.1004-3845.2015.03.016.
- [29] 罗卓野, 杨爱敏, 崔娜, 等. 辅助生殖中薄型子宫内膜治疗的研究进展[J]. 中华生殖与避孕杂志, 2018, 38(1): 49-56. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2096-2916.2018.01.011.
- [30] Jin GZ, Qion GZ, Yonggan GW, et al. Rat bone marrow mesenchymal stem cells improve regeneration of thin endometrium in rat[J]. Fertil Steril, 2013, 101(2): 587-594. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2013.10.053.
- [31] Santamaria X, Cabanillas S, Cervelló I, et al. Autologous cell therapy with HCD133 + bone marrow-derived stem cells for refractory Asherman's syndrome and endometrial atrophy: a Pilot cohort study[J]. Hum Reprod, 2016, 31(5): 1087-1096. DOI: 10.1093/humrep/dew042.
- [32] Gargett CE, Ye L. Endometrial reconstruction from stem cells [J]. Fertil Steril, 2012, 98(1): 11-20. DOI: 10.1016 / j.fertnstert.2012.05.004.
- [33] Yan GX, Zhan GM, Zhan GY, et al. Mesenchymal stem cells derived from Wharton jelly of the human umbilical cord ameliorate damage to human endometrial stromal cells[J]. Fertil Steril, 2011, 96(4): 1029-1036. DOI: 10.1016 / j.fertnstert.2011.07.00.

(收稿日期: 2019-11-06)

(本文编辑: 刘小梅)