

· 综 述 ·

经血源性间充质干细胞在妇科疾病治疗的前景

方 鸽, 童国庆*

(上海中医药大学附属曙光医院, 上海 201210)

【摘要】本文从经血源间充质干细胞的来源、增殖培养、鉴定、分化、免疫原性、安全性以及在子宫内膜异位症、子宫腺肌病和Asherman综合征的临床应用等方面综述了经血源性间充质干细胞在妇科疾病治疗的前景。

【关键词】干细胞; 经血; 妇科疾病

【中图分类号】R711

【文献标识码】A

【文章编号】ISSN.2095-8803.2019.3.13.04

Prospect of percutaneous mesenchymal stem cells in the treatment of gynecological diseases

FANG Ge, TONG Guo-qing

(Reproductive medicine center of Shuguang Hospital Affiliated To Shanghai University
of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200120, China)

【Abstract】In this paper, we review the clinical application of meridional mesenchymal stem cells(mscs) in gynecological diseases from the aspects of source, proliferation, culture, identification, differentiation, immunogenicity, safety and endometriosis, adenomyosis and Ashman syndrome.

【keywords】Mesenchymal stem cell; Menstrual blood; Gynecologic diseases

1 概 述

干细胞(stem cell)是指一类具有高度增殖潜能、自我更新能力以及高度分化能力的早期未分化细胞^[1]。经血源子宫内间充质干细胞是近年从健康女性经血中分离出来具有多向分化能力的间充质干细胞。经血获得不具有侵入性, 来源广泛, 体外培养具有成体干细胞样特征^[2], 在妇科子宫内膜损伤修复方面已有成功临床医报道。是目前干细胞研究的热点, 现对经血源性间充质干细胞在妇科疾病治疗的研究进展做一概述。

2 经血源性间充质干细胞的生物学特性及临床前研究

2.1 经血源性间充质干细胞的来源

子宫内膜具有强大的再生能, 功能层在月经期脱落, 在随后的月经循环中再由基底层再生。经血源子宫内间充质干细胞来源于月经血, 月经血主要通过月经杯收集来自于健康成年女性, 所需月经血一般为5 mL, 也被称作来源经血的自我更新细胞。经血源性间充质干细胞的提取与其他干细胞相比有更多优势, 月经血收集便捷, 无创, 且每个月都可以收集^[2]。

美国科学家首先在子宫内膜活检组织中首次发现成骨细胞, 证明了子宫内膜中干细胞的存在^[3]。美国Musina领导的研究小组从健康女性的月经血中得到重复分离的干细胞。2008年, 日本的Hida领导的研究小组也利用女性月经血成功分离培养出具有多重分化功能的干

细胞^[4]。2013年Gang等从经血中分离出该细胞并鉴定出为子宫内膜组织间充质干细胞^[5]。

2.2 经血源性间充质干细胞的增殖

经血源性间充质干细胞的形态是典型的间充质干细胞形态, 以50~70 um的成纤维样细胞为主, 同一位患者细胞的增殖活性和分离的干细胞数量可能会因环境等外界因素的改变而变化, 女性患有呼吸系统疾病或精神压力较大可能会提取干细胞失败。增殖活性随着细胞培养时间延长而降低, 在老年患者上体现更加显著, 40岁以上的患者细胞培养15~18个月后会细胞生长被大幅抑制, 然而30岁以下的患者提取分离的细胞可以培养4年以上甚至时间更长。来源于经血的间充质干细胞与脐血间充质干细胞、骨髓间充质干细胞相比, 增殖活性更高^[6]。

2.3 经血源性间充质干细胞的鉴定

经血源性间充质干细胞阳性表达CD9, CD13, CD29, CD44, CD73, CD90, CD105, CD146, 不表达造血标志物CD11a、CD19、CD34、CD45、CD117和HLADR。骨髓间充质干细胞和脂肪组织来源间充质干细胞表达CD105、CD73和CD90, 不表达CD45, CD34和CD14^[7]。有研究显示W5C5可能会成为经血源性子宫内间充质干细胞新的单一标记物, 与传统的CD146和CD140相比较。首次发现移植标记W5C5的经血源间充质干细胞在子宫内膜基质样组织中表达, 证明经血源间充质干细胞在体内可以转化为子宫内膜细胞^[8]。

2.4 经血源性间充质干细胞的分化

经血源性间充质干细胞经过长时间的培养仍具有稳定的染色体核型。与脐血间充质干细胞相比,具有更高的分化潜能,可以分化成九种稳定的细胞系,心肌细胞、上皮、神经细胞、心肌细胞、内皮细胞、肝细胞、脂肪细胞、成骨细胞、胰脏细胞^[2]。经血源性间充质干细胞成脂分化能力更低,与来源骨髓、皮肤、脂肪的间充质干细胞相比,成骨分化能力则没有差异^[6]。有研究在骨髓间充质干细胞和经血源性间充质干细胞成骨诱导中加入血清或人血小板释放物,两种培养基中,骨髓干细胞成骨分化钙沉积水平均高于经血源间充质干细胞,但是用人血小板释放物代替FBS诱导成骨分化钙化后,则可改善经血源性间充质干细胞成骨分化能力^[9]。Khanjani等人比较经血源性间充质干细胞与骨髓干细胞肝细胞分化能力发现,经血源性间充质干细胞第一代、第三代白蛋白表达水平平均高于骨髓干细胞,第三代经血源性间充质干细胞白蛋白、CK-18(细胞角蛋白18)和CYP7A1(胆固醇7 α -羟化酶活性)在蛋白质和RNA表达上均高于第一代和第二代。考虑经血源性间充质干细胞无创易得性、不受伦理争议,建议经血源性间充质干细胞为未来干细胞治疗慢性肝病合适和安全的替代^[10]。从月经血或子宫内膜组织培养的成纤维间质细胞具有间充质干细胞特征,并且表现向内胚层、中胚层、外胚层的广泛多向分化潜能^[11]。

2.5 经血源性间充质干细胞免疫原性及安全性

在体外增殖实验中,与骨髓间充质干细胞相比,经血源性间充质干细胞显示对外周血单核细胞抑制作用更低,产生更少的抑制因子。在基础和激活条件下的比较,经血源性间充质干细胞表达的COX-2、IL-6水平明显降低以及活化素A的低分泌,在免疫反应中起重要作用的PDL-1的水平,与骨髓间充质干细胞相比,经血源性间充质干细胞没有明显上升。经血源性间充质干细胞与骨髓间充质干细胞相比迁移能力更强,注射干细胞一天后,经血源性间充质干细胞和骨髓间充质干细胞的数量在肝脏、脾脏、小肠有显著性差异。到第8天则无显著性差异^[12]。经血源性间充质干细胞的异体移植的安全性首次在2007年首次证实,4名患多发性硬化症的女性患者通过静脉或鞘内注射的方式输注经血源性间充质干细胞后12个月无副作用产生^[13]。谭季春等人给7名严重Asherman综合征患者自体移植经血来源间充质干细胞,所有患者均没有发生免疫排斥反应及与干细胞相关的不良反应^[14]。

3 经血源性间充质干细胞的临床应用

在小鼠子宫内膜修复与再生的模型中,经血源性间充质干细胞扮演着一个重要的角色,骨髓来源干细胞在子宫内膜损伤修复中也可能发挥着作用,经血源性间充质干细胞不仅在子宫内膜异位、Asherman综合征、薄型子宫内膜中发挥重要作用,在外生殖组织,如心脏、骨

骼也发挥着作用^[15]。经血源性间充质干细胞特异性标记物的发现可以证实其在子宫内膜增殖性疾病的作用,包括宫内膜异位症、子宫腺肌病和Asherman综合征^[11]。

3.1 在严重子宫内膜损伤中的应用

谭季春等人招募七例患有严重Asherman综合征的不孕妇女,收集月经血,在辅助生殖移植周期月经第16天将分离提取培养的经血来源子宫内膜间充质干细胞移植到子宫内,五例患者子宫内膜厚度达到7~8毫米,一例患者移植干细胞3个月后自然妊娠,另外四例患者有两例妊娠。自体经血源性间充质干细胞移植可成为治疗Asherman综合征的潜在可行方式^[14]。Yanling Zhang等人建立了小鼠子宫内膜损伤模型,观察了经血源性间充质干细胞(MNSCs)在子宫内膜损伤修复中的作用。干细胞移植后第7天子宫内膜明显加速修复,内膜厚度增加,微血管密度增加,且干细胞组受孕率高于对照组(53.57% $\pm$ 14.29%, $P=0.014$)。收集过滤经血源性间充质干细胞培养基,与脐静脉内皮细胞共培养,可降低过氧化氢诱导的人脐静脉内皮细胞凋亡,促进人脐静脉内皮细胞增殖、迁移和血管生成。在基质胶栓塞实验中也证实了经血源性间充质干细胞培养基的血管生成作用。此外,此研究发现经血源性间充质干细胞培养基可以激活Akt和ERK通路,并诱导人脐静脉内皮细胞中eNOS、VEGFA、VEGFR1、VEGFR2和TIE2的过度表达。经血源性间充质干细胞恢复受损子宫内膜,提高子宫内膜损伤的生育力,可能归因于经血源性间充质干细胞诱导的血管生成^[16]。

3.2 在子宫内膜异位症中的应用

子宫内膜异位症的特征是宫腔外子宫内膜的异位生长,有研究认为子宫内膜中提取分离到子宫内膜间充质干细胞,干细胞因为月经期子宫内膜的异常脱落逆行进入腹腔,建立异位种植体,而引起子宫内膜异位症^[11]。MGotte等人的研究认为成体干细胞与子宫内膜异位症的病理学发病机制有密切关系,RNA结合蛋白Musashi-1与上皮祖细胞的生长、不对称细胞分裂有密切关系,他们强调了子宫内膜祖细胞Musashi-1的表达在子宫内膜异位症的作用,提出了子宫内膜异位症干细胞起源的概念^[17]。子宫内膜干细胞在早发型子宫内膜异位症患者子宫出血中扮演重要作用,据推测,脱落的子宫内膜组织被阻塞在宫颈管,子宫内膜组织中含有子宫内膜上皮祖细胞和子宫内膜干细胞,这些细胞迅速侵入或黏附在新生儿间皮,月经初潮,雌激素升高,子宫内膜上皮祖细胞被激活,导致了早发型子宫内膜异位症^[18]。干细胞是否能作为子宫内膜异位症的潜在治疗方式仍存在争议,有研究表明异体脂肪间充质干细胞可能会维持或促进异位内膜组织的生长。间充质干细胞存在于子宫内膜中,可能参与了子宫内膜的发病机制^[19]。L.N.Xu等人将人脐带间充质干细胞与异位子宫内膜共培养,观察分析发现人脐带间充质干细胞通过上调相关基因的表达,

抑制异位子宫内膜细胞的增值,促进异位子宫内膜细胞的凋亡^[20]。

3.3 在子宫腺肌病中的应用

子宫腺肌病是一种常见的妇科疾病,影响8%-62%的育龄妇女^[21]。子宫腺肌病与子宫内膜的异常增生有关,有研究表明宫内膜间充质干细胞可能在子宫腺肌病的病理生理学发病机制发挥了重要作用^[22]。Leyendecker等人提出慢性微小创伤促进的子宫内膜肌层慢性蠕动,导致了组织损伤修复的反复循环,从而导致子宫腺肌病的发生^[23]。局部雌激素的升高促进子宫蠕动和自体创伤形成,允许基底内膜腺体和基质穿透子宫肌层,组织损伤可能也会激活成体干细胞,破坏子宫内膜干细胞龛而导致异位子宫内膜病变的形成^[24]。在Yi-Jen Chen等人的研究中,分离提取了正常子宫内膜干细胞和子宫腺肌病患者子宫内膜干细胞,通过微阵列比较基因杂交技术,发现COX-2基因在子宫腺肌病患者的表达上调,并且,COX-2抑制剂能显著抑制子宫腺肌病患者间充质干细胞在体外的迁移和侵袭。这使COX-2可能成为子宫腺肌病新的治疗靶点^[25]。

4 展望

经血来源间充质干细胞便于获得、来源丰富、较强的增殖活性使它成为以细胞为基础的妇科治疗和其他再生医学最有希望的潜在治疗方式。目前还需更多的研究致力于干细胞的特异性标记和基因标记以确定各种细胞类型在体内的活性作用,这将会加快干细胞在临床运用的进程。

参考文献

- [1] Eckfeldt CE,Mendenhall EM,Verfaillie CM.The molecular repertoire of the 'almighty' stem cell.Nat Rev Mol Cell Biol 2005;6(9):726-3.
- [2] Meng X,Ichim TE,Zhong J,et al.Endometrial regenerative cells:A novel stem cell population.JTransl Med 2007;5:57.
- [3] Wolff, Erin F.;Wolff,Andrew B.et al.Demonstration of Multipotent Stem Cells in the Adult Human Endometrium by In Vitro Chondrogenesis[J].Reproductive Sciences.2007 ,Vol.14(No.6):524-533.
- [4] 周云帆,杨波,胡祥,焦洪亮,等.经血源性子宫内膜间充质干细胞的分离、培养与鉴定[J].中国组织工程研究与临床康复,2010,14(32):5952-5956.
- [5] Gang EJ;Bosnakovski D;Figueiredo CA.et al.SSEA-4 identifies mesenchymal stem cells from bone marrow[J].BL OOD.2007,Vol.109(No.4):1743-1751.
- [6] R.A.Musina (2);A.V.Belyavski (1);O.V.Tarusova(2) et al.Endometrial mesenchymal stem cells isolated from the menstrual blood.[J].Bulletin of Experimental Biology and Medicine.2008,Vol.145(No.4):539-543.
- [7] Zemel'ko VI,Kozhukharova IB,Alekseenko LL,et al.Neurogenic potential of human mesenchymal stem cells isolated from bone marrow,adipose tissue and endometrium: a comparative study.Tsitologia,2013,55(2):101-110.
- [8] Masuda H,Anwar SS,Buehring HJ,et al.A novel marker of human endometrial mesenchymal stem-like cells[J].Cell Transplant,2012,21(10):2201-2214.
- [9] Darzi S;Zarnani AH;Jeddi-Tehrani M ,et al.Talebi S;Khanmohammadi M;Kazemnejad S.Osteogenic differentiation of stem cells derived from menstrual blood versus bone marrow in the presence of human platelet releasate[J].Tissue Engineering.Part A.2012,Vol.18(No.15-16):1720-1728.
- [10] Sayeh Khanjani.Manijeh Khanmohammadi.Amir-Hassan Zarnani et al.Comparative Evaluation of Differentiation Potential of Menstrual Blood-Versus Bone Marrow-Derived Stem Cells into Hepatocyte-Like Cells[J].PLOS ONE.2014:2014.
- [11] Gargett,Caroline E.Schwab,Kjiana E.1;Deane,James A.1,2 et al.Endometrial stem/progenitor cells: the first 10 years[J]. Human Reproduction Update.2016,Vol.22(No.2):137-163.
- [12] Patricia Luz-Crawford1,2,3;Maria J.Torres1;Daniele No?12,3;Ainoa Fernandez1,5 et al.The immunosuppressive signature of menstrual blood mesenchymal stem cells entails opposite effects on experimental arthritis and graft versus host diseases[J].STEM CELLS.2016,Vol.34(No.2):456-469.
- [13] Ulrich D;Muralitharan R;Gargett CE..Toward the use of endometrial and menstrual blood mesenchymal stem cells for cell-based therapies[J].Expert Opinion on Biological Therapy.2013,Vol.13(No.10):1387-1400.
- [14] Jichun Tan1,Pingping Li1;Qiushi Wang2;et al.Autologous menstrual blood-derived stromal cells transplantation for severe Asherman's syndrome[J].Hum Reprod.2016,Vol.31(No.12):2723-2729.
- [15] Caroline E.Gargett(1)(2),Hong P.T.Nguyen(1)(2)(3);Louie Ye (1) (2).Endometrial regeneration and endometrial stem/progenitor cells[J].Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders.2012,Vol.13(No.4):235-251.
- [16] Zhang Y1,Lin X2,Dai Y3,et al.Endometrial stem cells repair injured endometrium and induce angiogenesis via AKT and ERK pathways.[J].Reproduction.2016,Vol.152(No.5):389-402.
- [17] M Göttele1,M Wolf1,A Staebler2;O Buchweitz1;R Kelsch3;AN Schüring1;L Kiesell.Increased expression of the adult stem cell marker Musashi-1 in endometriosis and endometrial carcinoma[J].The Journal of Pathology.2008,Vol.215(No.3):317-329.
- [18] C.E.Gargett;K.E.Schwab;J.J.Brosens;P.et al.Potential role of endometrial stem/progenitor cells in the pathogenesis of early-onset endometriosis[J].MHR:Basic science of reproductive medicine.2014,Vol.20(No.7):591-598.

- [19] Abomaray F,Gidl?f S,Bezubik B;,Engman M,G?therstr?m C.Mesenchymal Stromal Cells Support Endometriotic Stromal Cells In Vitro[J].Stem Cells Int.2018.
- [20] Bulun,SE.Endometriosis Reply[J].The New England Journal of Medicine.2009,Vol.360(No.18):1912.
- [21] Xu LN1,Lin N2,Xu BN3,Li JB1,Chen SQ1.Effect of human umbilical cord mesenchymal stem cells on endometriotic cell proliferation and apoptosis.[J].Genet Mol Res.2015,Vol .14(No.4):16553-16561.
- [21] Isaac E.Sasson1,Hugh S.Taylor1,2.Stem Cells and the Pathogenesis of Endometriosis[J].Annals of the New York Academy of Sciences.2008:106-115.
- [23] Leyendecker G,Wildt L,Mall G.The pathophysiology of endometriosis and adenomyosis:tissue injury and repair.[J]. Arch Gynecol Obstet.2009,Vol.280(No.4).
- [24] Gargett CE,Chan RW,Schwab KE.Endometrial stem cells. [J].Current Opinion In Obstetrics & Gynecology.2007,Vol. 19(No.4):377-383.
- [25] Yi-Jen Chen,Hsin-Yang Li,Yuh-Lih Chang,et al.Suppression of migratory/invasive ability and induction of apoptosis in adenomyosis-derived mesenchymal stem cells by cyclooxygenase-2 inhibitors[J].Fertility and Sterility.2010,Vol.94(No.6):1972-1979e4.

本文编辑：李 豆

(上接6页)

重视性，并选择适合的方式进行避孕，例如宫内节育器等。

近年来，临床上进一步推广了超声引导下进行妇科计划生育手术的方式，并且提倡在无痛人流术后放置节育环或口服短效避孕药，以帮助患者达到避孕的目的^[7]。超声可直接对患者子宫各部位进行扫描，分辨率更强，清晰度更高，并且不受气体等影响，能够有效的判断患者子宫内情况^[8]。在超声引导下行妇科计划生育手术具有微创性，确保了手术视野的清晰，危险性极小，安全可靠。本研究中，接受超声引导下妇科计划生育手术治疗的观察组患者无痛人流术手术时间、术中出血量以及节育环置入术手术时间、术中出血量较对照组来说均更低，且观察组术后总并发症发生率较对照组更低，符合王玉玲^[9]学者研究结果，提示超声引导下进行手术治疗安全性更高。

国内外研究证实，超声引导下行妇科计划生育手术时，手术时间较常规手术患者显著更低，且超声引导技术可充分发挥其可视性的优势，从而减少妇科计划生育手术中的失误，降低手术风险，因此对于治疗来说安全性更高，患者接受程度也更高。并且临床治疗时，可以在征求患者意愿的基础上选择患者愿意接受的方式进行手术，以达到提高医院医疗服务质量目的。

综上所述，超声引导下进行妇科计划生育手术效果

更为理想，可有效减轻患者痛苦，降低患者并发症发生几率，改善患者预后，值得推广。

参考文献

- [1] 陈 静,吴海靖,曾晓秋.超声引导下手术与常规手术对妇科计划生育的影响[J].中国实用医药,2016,3(3):282-283.
- [2] 杜丽君.超声检查在妇科计划生育临床手术中的应用探讨[J].实用妇科内分泌杂志(电子版),2017,4(11):14.
- [3] 于慧佳,杨新鸣,杨东霞,et al.介入性超声在妇产科中的应用[J].社区医学杂志,2016,14(13):84-86.
- [4] 左 莉.超声引导下无痛人流术与常规无痛人流术的对比研究[J].中国卫生标准管理,2016,7(6):63-64.
- [5] 冯 聪.50例腹部超声引导下人工流产术的临床分析[J].中国卫生标准管理,2017,8(2):36-37.
- [6] 乔明霞.妇科计划生育临床手术中使用超声检查的应用效果[J].实用妇科内分泌杂志(电子版),2017,4(24):15-16.
- [7] 王尚英.超声引导下微创无痛人流流产术应用体会[J].河南外科学杂志,2016,22(5):94-95.
- [8] 田庆荣.常规无菌技术下计划生育手术的临床效果分析[J].中国医药指南,2018,16(7):75-76.
- [9] 王玉玲.超声引导下手术与常规手术对妇科计划生育的影响[J].实用妇科内分泌杂志(电子版),2016,3(6):9-10.

本文编辑：李 豆