

# 间充质干细胞在女性不孕症相关疾病中的基础研究进展

廖文娟 李田 李小毛

**【摘要】** 不孕症是由多种复杂疾病导致的生殖障碍状态。近年辅助生殖技术的迅猛发展,为许多不孕症患者带来了希望,但辅助生殖技术存在伦理与法律问题。间充质干细胞(MSC)是一种多能干细胞,其在体外来源广,可大量扩增,具有多向分化潜能,能够通过归巢,分泌活性因子参与免疫调节等多种方式发挥作用。较胚胎干细胞而言, MSC 涉及的伦理学问题较少,在细胞替代治疗及再生医学等方面显示出巨大的发展前景,这为不孕症治疗带来了新的思路。该文就女性不孕症相关疾病,概述 MSC 在其中的基础研究进展。

**【关键词】** 间充质干细胞; 不孕症; 女性

**Research progress of application of mesenchymal stem cells in treatment of female infertility** Liao Wenjuan, Li Tian, Li Xiaomao. Department of Gynecology, the Third Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510630, China

Corresponding author, Li Xiaomao, E-mail: tigerlee777@163.com

**【Abstract】** Infertility is a reproductive disorder which is caused by a variety of complex diseases. The rapid development of assisted reproductive technology (ART) in recent years brings hope for many patients with infertility. However, ART still has certain ethical and legal issues. Mesenchymal stem cells (MSC) are multipotent stem cells with abundant source, active proliferation and multi-directional differentiation potential. MSC play a role via cell homing, secretion of active factors and participating in immune regulation. Compared with embryonic stem cells, there are fewer ethical issues involved in the application of MSC. MSC possess significant potential in cell replacement therapy and reproductive medicine, etc, which provides novel thinking for the treatment of infertility. In this paper, the research progress of application of MSC in the treatment of female infertility was summarized.

**【Key words】** Mesenchymal stem cells; Infertility; Female

2002 年 WHO 将不孕症定义为婚后至少 1 年有正常的性生活, 未采取任何的避孕措施而未孕。不孕症是全球普遍关注的问题, 其病因复杂, 主要有男方因素、女方因素及不明原因, 其中女性不孕因素约占 50%~60%<sup>[1]</sup>。女性不孕症是一种常见的妇科疾病, 涉及的相关疾病较多。不孕症给女性带来心理压力, 降低婚姻生活质量, 从而产生一系列的心理和社会问题。近年辅助生殖技术的迅猛发展, 为许多不孕症患者带来了希望, 但辅助生殖技术涉及伦理与法律, 在部分领域尚存在争议。间充质干细胞(MSC)是一种多能干细胞, 具有自我更新、高度增殖及多向分化等潜能。较胚胎干细胞而言,

MSC 涉及的伦理学问题较少, 在细胞替代治疗及再生医学等方面显示出极大的应用前景。近年来, 国内外学者就不同来源的 MSC 展开了一系列与女性不孕症相关疾病的临床前研究, 取得了一定进展, 可能为不孕症治疗开拓新方向。为此, 本文就 MSC 在女性不孕症相关疾病中的基础研究进展作一综述。

## 一、女性不孕症相关疾病及治疗

在我国, 女性不孕症最常见的病因是输卵管因素, 输卵管因素约占女性不孕症病因的 1/3, 其次为排卵障碍(多见于卵巢早衰), 还有子宫因素(多为子宫内膜相关疾病)和内分泌及免疫等因

素<sup>[2]</sup>。女性不孕症中约 15% ~ 30% 的病因不明<sup>[3]</sup>。女性不孕症的治疗应个体化,应根据确诊的病因进行,治疗方案的选择与患者的年龄、症状、病变严重程度和生育要求等有关。首先应针对相应疾病的器质性病变展开治疗,其次药物诱发排卵也非常重要。目前对于不明原因不孕症尚缺乏有效的治疗方法,辅助生殖技术是最常用的治疗方式,能够使 80% 以上的不孕症妇女怀孕<sup>[4]</sup>。但辅助生殖技术仍存在一定的局限性,涉及的伦理及法律问题没有解决,且可能会带来并发症,安全性有待提高。近年来,干细胞替代治疗逐渐成为治疗生殖障碍性疾病的新希望。

## 二、MSC 的特性

### 1. 来源

起初, MSC 主要来源于骨髓。随着对 MSC 的深入探索,研究发现脂肪组织、华通胶、脐带血及外周血等也可以分离出 MSC,而且这些细胞在体外能够高度增殖<sup>[5]</sup>。Hass 等<sup>[6]</sup>通过比较成人及新生儿组织来源的 MSC,发现来源于新生儿组织(脐带血)的多功能 MSC 是再生医学中非常有潜力的干细胞群体,但是对于 MSC 的最佳来源尚未确定。

### 2. 生物学特性

MSC 具有分泌活性因子、免疫调节及归巢等多重作用,有助于促进受损组织的修复重建和功能恢复。在促炎因子如 IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  等刺激后, MSC 可分泌多种不同的生长因子,如肝细胞生长因子(HGF)、血管内皮生长因子(VEGF)、胰岛素生长因子-1(IGF-1)等,这些生长因子可促进祖细胞、成纤维细胞和内皮细胞发展,并参与组织再生和修复<sup>[7]</sup>。当然,在足够的促炎性刺激后, MSC 也能够产生其他重要的免疫调节因子和细胞黏附分子,例如前列腺素 E2、一氧化氮、血管内黏附分子 1(VCAM-1)等。除了促炎因子刺激外, Delarosa 等<sup>[8]</sup>还描述了 Toll 样受体(TLR)的信号传导可能也参与了该免疫调节过程,具体方式仍有争议。MSC 的归巢作用表现为当机体组织损伤时能够特异地迁移到炎症和受损部位并改善损伤组织结构,这也可能与上述分泌的相关因子有关<sup>[9]</sup>。但是, MSC 在局部微环境中作用于邻近细胞的分泌方式与发挥调节作用的机制尚未阐明。

### 3. 表面标记及多向分化功能

2006 年国际细胞治疗学会(ISCT)对 MSC 制定 3 条基本鉴定标准:①体外正常培养条件下, MSC

应具有贴壁性;② MSC 应高表达 CD44、CD73、CD90、CD105,同时低表达或不表达 CD19、CD34、CD45 等;③ MSC 具有在体外分化为成骨细胞和脂肪细胞的能力。MSC 还可分化为软骨细胞、心肌细胞、胰岛细胞等,诱导分化方向的关键在于诱导 MSC 分化的条件。MSC 多向分化能力形成特定的组织细胞是临床细胞替代治疗的理论基础。

## 三、MSC 与女性不孕症相关疾病及相关机制

### 1. 输卵管因素

输卵管因素是女性不孕症的最常见病因,与其他因素引起的女性不孕症相比较,输卵管炎性不孕症具有治疗难度大、疗效欠佳、术后易复发粘连等特点。李田等<sup>[10]</sup>在阴道内注射人脐带 MSC 移植治疗衣原体感染诱导的小鼠慢性输卵管炎模型,可减轻炎症程度、减少粘连,这可能为输卵管炎性不孕症患者的临床治疗提供新途径。Luo 等<sup>[11]</sup>用腹腔注射人脐带华通胶 MSC 治疗混合菌液所致的大鼠急性与慢性输卵管炎模型,急性组大鼠能够恢复输卵管的功能并改善生育功能,对慢性组疗效较差。国内外对此方面的研究报道较少,对于上述研究尚存在一些争议,如动物输卵管炎的急性期与慢性期并无明确定义,且用量及治疗方式对治疗效果也存在一定影响。因此进一步探索 MSC 对于输卵管炎性不孕症的修复机制是非常重要的。

### 2. 排卵障碍

排卵障碍是女性不孕症的一个重要根源,多见于卵巢早衰及卵巢损伤所致卵巢功能减退等疾病。使用促排卵药物的排卵率较高,但妊娠成功率却很低且不良反应大,在促排卵过程中可能出现卵巢过度刺激综合征(OHSS)、多胎妊娠等情况,从而影响治疗效果。早期研究表明,骨髓来源的 MSC 移植治疗由化学治疗所致的小鼠卵巢早衰模型,可改善远期生育力<sup>[12]</sup>。Fu 等<sup>[13]</sup>用骨髓 MSC 局部移植治疗环磷酰胺所致的卵巢早衰大鼠模型,发现 MSC 在体内可减少颗粒细胞的凋亡,并诱导 Bcl-2 的上调,从而促进卵泡生成,表明 MSC 能恢复卵巢功能并促进排卵,其机制可能为 MSC 分泌细胞因子 VEGF、IGF-1、HGF 等参与颗粒细胞生长与凋亡。近年来,多种其他来源的 MSC,如脂肪 MSC 及脐带 MSC 等也可用于修复化学治疗诱导的卵巢损伤,并改善不孕状况<sup>[14-15]</sup>。Abd-Allah 等<sup>[16]</sup>通过静脉注射骨髓 MSC 治疗环磷酰胺诱导的卵巢衰竭兔模型,发现卵泡刺激素(FSH)减少及雌二醇和 VEGF 水平增加,卵泡数目增加,卵泡恢复正常

结构,说明 MSC 通过分泌影响卵巢再生的 VEGF 实现这种功能。上述研究中, MSC 治疗方式多采用局部注射和静脉注射。Zhu 等<sup>[17]</sup>通过上述 2 种方式注射人脐带 MSC 治疗化学治疗所致的卵巢早衰大鼠模型,治疗后的大鼠均恢复生育力,表明人脐带 MSC 不仅有助于卵巢内分泌功能的恢复,而且可改善卵巢排卵功能,长期结果是相似的。局部注射的 MSC 主要聚集在卵巢受损部位,但是化学治疗可能导致全身多个器官损伤,静脉注射的 MSC 则可分布到大鼠的多个器官并发挥修复作用。而且相对于局部注射,静脉注射更微创,其引起的损伤更少并且恢复时间较短。上述研究表明,不同来源的 MSC 对治疗卵巢早衰所致排卵性不孕症具有可行性,对于其初步机制的研究进展为临床应用提供了依据。

### 3. 子宫因素

子宫因素主要为子宫内膜损伤性疾病所致继发性不孕症,子宫内膜损伤易导致粘连,这类疾病治疗后易复发且后遗症较多,成为子宫内膜修复性障碍中的难题。张雯碧等<sup>[18]</sup>用小鼠骨髓 MSC 与子宫内膜基质细胞(ESC)共培养,发现骨髓 MSC 在内源性和外源性因素诱导下可向子宫内膜上皮细胞方向分化,其中生长因子和雌激素在此过程中起重要作用。Yang 等<sup>[19]</sup>探索人脐带 WJ-MSC 与米非司酮诱导的损伤 ESC 体外共培养,发现损伤的 ESC 增殖增强、凋亡减少,表明人脐带 MSC 可改善米非司酮所致的 ESC 损伤,可能与胱抑素 3、胱抑素 8 和胱抑素 9 表达下调以及 VEGF 表达上调有关。Ding 等<sup>[20]</sup>将骨髓 MSC 构建到可降解的胶原膜上,骨髓 MSC-胶原构建体移植治疗子宫内膜严重损伤的大鼠模型, MSC 主要迁移到子宫内膜基底等受损区域,可能机制为 MSC 分泌成纤维细胞生长因子、IGF-1、TGF- $\beta$ 1 和 VEGF 等诱导局部子宫内膜细胞的增殖与迁移,修复受损内膜从而恢复大鼠的受孕能力。Wang 等<sup>[21]</sup>用绿色荧光蛋白追踪骨髓 MSC 静脉注射及子宫内移植治疗机械损伤子宫所致的子宫腔粘连模型,发现子宫内注射治疗方式可能更有效,其修复机制可能与雌激素受体和孕激素受体表达上调有关。Xu 等<sup>[22]</sup>用人脐带 MSC 与子宫内膜异位细胞共培养,结果表明人脐带 MSC 可能通过上调 PTEN 的表达抑制子宫内膜异位细胞的体外增殖和促进其凋亡。这一发现为寻找治疗子宫内膜异位症的新方法提供了一定依据,为将来此方面的研究奠定了基础。

### 四、小 结

不孕症的发病率逐年增加,虽然辅助生殖技术的应用使不孕妇女妊娠成为可能,但仍存在一定局限性。MSC 在体外来源广,可大量扩增,具有多向分化潜能,能够通过归巢,分泌活性因子参与免疫调节等多种方式发挥作用,是许多临床疾病治疗的新希望。MSC 在女性不孕症相关疾病中的研究成果大多限于动物模型,但动物和人存在一定的差异性,对于 MSC 能否应用于临床仍需继续探索。此外,对于 MSC 的最佳组织来源及最优定向诱导分化条件有待进一步研究。女性不孕症涉及疾病繁杂,作用机制尚不完全清楚,为探索 MSC 与各种相关疾病所致女性不孕症之间的复杂作用机制,今后应开展更多、更全面的深入研究,为女性不孕症的治疗提供一个可行的可行途径。

### 参 考 文 献

- [1] Boivin J, Bunting L, Collins JA, Nygren KG. International estimates of infertility prevalence and treatment-seeking: potential need and demand for infertility medical care. *Hum Reprod*, 2007, 22 (6): 1506-1512.
- [2] Dun EC, Nezhat CH. Tubal factor infertility: diagnosis and management in the era of assisted reproductive technology. *Obstet Gynecol Clin North Am*, 2012, 39 (4): 551-566.
- [3] Quaas A, Dokras A. Diagnosis and treatment of unexplained infertility. *Rev Obstet Gynecol*, 2008, 1 (2): 69-76.
- [4] Schlegel PN. Evaluation of male infertility. *Minerva Ginecol*, 2009, 61 (4): 261-283.
- [5] Augello A, Kurth TB, De Bari C. Mesenchymal stem cells: a perspective from in vitro cultures to in vivo migration and niches. *Eur Cell Mater*, 2010, 20: 121-133.
- [6] Hass R, Kasper C, Böhm S, Jacobs R. Different populations and sources of human mesenchymal stem cells (MSC): a comparison of adult and neonatal tissue-derived MSC. *Cell Commun Signal*, 2011, 9: 12.
- [7] English K. Mechanisms of mesenchymal stromal cell immunomodulation. *Immunol Cell Biol*, 2013, 91 (1): 19-26.
- [8] Delarosa O, Dalemans W, Lombardo E. Toll-like receptors as modulators of mesenchymal stem cells. *Front Immunol*, 2012, 3: 182.
- [9] Nagyova M, Slovinska L, Blasko J, Grulova I, Kuricova M, Cigankova V, Harvanova D, Cizkova D. A comparative study of PKH67, DiI, and BrdU labeling techniques for tracing rat mesenchymal stem cells. *In Vitro Cell Dev Biol Anim*, 2014, 50 (7): 656-663.
- [10] 李田, 李小毛, 张琪, 何丹, 潘黎捷. 人脐带间充质干细胞移植治疗小鼠慢性输卵管炎. *中山大学学报 (医学科学版)*, 2014, 35 (1): 25-31.
- [11] Luo HJ, Xiao XM, Zhou J, Wei W. Therapeutic influence of in-

- traperitoneal injection of Wharton's jelly-derived mesenchymal stem cells on oviduct function and fertility in rats with acute and chronic salpingitis. *Genet Mol Res*, 2015, 14 (2): 3606-3617.
- [12] Lee HJ, Selesniemi K, Niikura Y, Niikura T, Klein R, Dombkowski DM, Tilly JL. Bone marrow transplantation generates immature oocytes and rescues long-term fertility in a preclinical mouse model of chemotherapy-induced premature ovarian failure. *J Clin Oncol*, 2007, 25 (22): 3198-3204.
- [13] Fu X, He Y, Xie C, Liu W. Bone marrow mesenchymal stem cell transplantation improves ovarian function and structure in rats with chemotherapy-induced ovarian damage. *Cytotherapy*, 2008, 10 (4): 353-363.
- [14] Takehara Y, Yabuuchi A, Ezoe K, Kuroda T, Yamadera R, Sano C, Murata N, Aida T, Nakama K, Aono F, Aoyama N, Kato K, Kato O. The restorative effects of adipose-derived mesenchymal stem cells on damaged ovarian function. *Lab Invest*, 2013, 93 (2): 181-193.
- [15] Wang S, Yu L, Sun M, Mu S, Wang C, Wang D, Yao Y. The therapeutic potential of umbilical cord mesenchymal stem cells in mice premature ovarian failure. *Biomed Res Int*, 2013, 2013: 690491.
- [16] Abd-Allah SH, Shalaby SM, Pasha HF, El-Shal AS, Raafat N, Shabrawy SM, Awad HA, Amer MG, Gharib MA, El Gendy EA, Raslan AA, El-Kelawy HM. Mechanistic action of mesenchymal stem cell injection in the treatment of chemically induced ovarian failure in rabbits. *Cytotherapy*, 2013, 15 (1): 64-75.
- [17] Zhu SF, Hu HB, Xu HY, Fu XF, Peng DX, Su WY, He YL. Human umbilical cord mesenchymal stem cell transplantation restores damaged ovaries. *J Cell Mol Med*, 2015, 19 (9): 2108-2117.
- [18] 张雯碧, 程明军, 徐丛剑. 小鼠骨髓间充质干细胞向子宫内膜上皮细胞方向分化的体外实验. *现代妇产科进展*, 2010, 19 (4): 257-260.
- [19] Yang X, Zhang M, Zhang Y, Li W, Yang B. Mesenchymal stem cells derived from Wharton jelly of the human umbilical cord ameliorate damage to human endometrial stromal cells. *Fertil Steril*, 2011, 96 (4): 1029-1036.
- [20] Ding L, Li X, Sun H, Su J, Lin N, Péault B, Song T, Yang J, Dai J, Hu Y. Transplantation of bone marrow mesenchymal stem cells on collagen scaffolds for the functional regeneration of injured rat uterus. *Biomaterials*, 2014, 35 (18): 4888-4900.
- [21] Wang J, Ju B, Pan C, Gu Y, Zhang Y, Sun L, Zhang B, Zhang Y. Application of bone marrow-derived mesenchymal stem cells in the treatment of intrauterine adhesions in rats. *Cell Physiol Biochem*, 2016, 39 (4): 1553-1560.
- [22] Xu LN, Lin N, Xu BN, Li JB, Chen SQ. Effect of human umbilical cord mesenchymal stem cells on endometriotic cell proliferation and apoptosis. *Genet Mol Res*, 2015, 14 (4): 16553-16561.

(收稿日期: 2017-02-24)

(本文编辑: 林燕薇)