

- kinetic profiles in children with acute lower respiratory tract infection: a post-hoc descriptive analysis from a randomized control trial[J]. *Clin Microbiol Infect*, 2018, 24(12): 1341-1347.
- [11] ROYSTON D, MINTY B D, NEEDHAM J R, et al. Abnormality of an index of alveolar-capillary barrier permeability associated with respiratory tract infection in the rat[J]. *Lab Anim*, 2017, 17(3): 227-229.
- [12] CASTIGLIONI S, CAZZANIGA A, LOCATELLI L, et al. Burning magnesium, a sparkle in acute inflammation: Gleams from experimental models[J]. *Magnesium Research*, 2017, 30(1): 8-15.
- [13] CHEN K, CHEN X R, ZHANG L, et al. Effect of simultaneous supplementation of vitamin A and iron on diarrheal and respiratory tract infection in preschool children in Chengdu City, China[J]. *Nutrition*, 2013, 29(10): 1197-1203.
- [14] 朱华龙, 熊永伟, 王华. 镉对胚胎/胎儿发育的损害作用及其机制[J]. *环境与职业医学*, 2019, 36(2): 151-156.
- [15] PHUAGKHAOPONG S, OSPOND PANT D, KASEMSUK T, et al. Cadmium-induced IL-6 and IL-8 expression and release from astrocytes are mediated by MAPK and NF- κ B pathways[J]. *Neurotoxicology*, 2017(60): 82-91.
- [16] SUN Z G, XIE Q, PAN J, et al. Cadmium regulates von willebrand factor and occludin expression in glomerular endothelial cells of mice in a TNF- α -dependent manner[J]. *Renal Failure*, 2019, 41(1): 354-362.
- [17] 李素芳, 来庆和, 袁永红, 等. 学龄前儿童反复呼吸道感染状态及其高危因素分析[J]. *实用预防医学*, 2016, 23(10): 1232-1233.
- [18] PEREIRA T C, CAMPOS M M, BOGO M R. Copper toxicology, oxidative stress and inflammation using zebrafish as experimental model[J]. *J Appl Toxicol*, 2016, 36(7): 876-885.

巨噬细胞表型对子宫内膜异位症性不孕患者疗效及性激素水平的影响

陈捷, 姜桂芳, 黄国伟* (暨南大学附属顺德医院妇产科, 广东佛山 528305)

摘要:目的 探讨巨噬细胞表型对子宫内膜异位症性不孕(EI)患者治疗效果及性激素水平的影响。方法 39例EI患者卵巢中异位子宫内膜样本分离细胞, 流式细胞术检测巨噬细胞表型(M1和M2型), 比较M1型和M2型患者症状评分、性激素水平及疗效差异。结果 39例EI患者中, 22例为M1型, 17例为M2型。治疗前后M1型患者症状评分、黄体生成素、卵泡雌激素、雌二醇水平均高于M2型患者($P < 0.01$), 而抗苗勒管激素水平差异无统计学意义($P > 0.05$)。治疗前两组窦卵泡数差异无统计学意义($P > 0.05$), 而治疗后M2型患者显著高于M1型患者($P < 0.01$)。M2型EI患者疗效优于M1型($P < 0.01$)。结论 异位子宫内膜中M1型巨噬细胞为主的EI患者临床症状更明显、性激素水平更高、疗效较差。

关键词: 子宫内膜异位症; 不孕症; 巨噬细胞; 性激素

中图分类号: R 711

文献标志码: A

文章编号: 2096-3610(2021)01-0055-04

Effect of macrophage phenotypes on clinical efficacy and sex hormone of patients with endometriotic infertility

CHEN Jie, JIANG Gui-fang, HUANG Guo-wei* (Department of Obstetrics and Gynecology, Affiliated Shunde Hospital, Jinan University, Foshan 528305, China)

Abstract: Objective To study the effect of macrophage phenotypes on clinical efficacy and sex hormone in patients with endometriotic infertility (EI). Methods Macrophage phenotypes (M1 and M2) in isolated cells from endometriotic ovary samples were determined by flow cytometry in 39 EI women. Symptom score, sex hormone and clinical efficacy were compared between M1 and M2 groups. Results There were 22 M1 and 17 M2 subtypes. Symptom score and levels of

基金项目: 佛山市卫生和计生局医学科研课题(No.20190303)

收稿日期: 2020-05-29; 修订日期: 2020-09-12

作者简介: 陈捷(1984-), 女, 学士, 副主任医师

通信作者: 黄国伟(1976-), 男, 本科, 主任医师

lutening hormone, follicle stimulative hormone and estradiol were higher in M1 subtype than in M2 subtype before and after therapy ($P<0.01$), while anti-mullerian hormone showed no statistical difference between two subtypes ($P>0.05$). Although antral follicle counting was comparable between two subtypes pretreatment ($P>0.05$), it was remarkably increased in M2 subtype posttreatment compared with M1 subtype ($P<0.01$). Therapeutic efficacy was better in M2 subtype than in M1 subtype ($P<0.01$). Conclusion There are obvious symptoms, high sex hormone levels and poor efficacy in EI patients with endometriotic M1 macrophage.

Key words: endometriosis; infertility; macrophage; sex hormone

子宫内膜异位症性不孕症(EI)患者常表现为继发性不孕、衍生性痛经、月经不规律、性交疼痛,有时可出现消化系统、泌尿系统等不典型性症状^[1-3]。EI不但给患者身体上带来痛苦,更给患者心理及家庭带来困扰。研究表明,炎症反应相关介质引起的子宫慢性炎症性疾病是导致EI的重要原因之一,与该疾病的发展和预后密切相关^[4-6]。人体内炎症因子的长期异常增加、子宫内炎症因子的异常积聚都是导致该病发生、发展的重要病理因素^[7-8]。炎症细胞不但存在于血管内,同时也能从血管内渗出至血管外组织中成为组织固有细胞,其中巨噬细胞在炎症反应中发挥了重要的作用^[9-10]。本研究探讨了不同巨噬细胞表型对EI患者临床治疗效果及性激素水平的影响,现将结果报道如下。

1 资料和方法

1.1 一般资料

选择2017年1月至2019年12月我院收治的39例EI患者为研究对象,年龄为23~36岁,平均(26.5±3.4)岁。纳入标准:(1)自愿参与本项目的研究;(2)年龄为20~36岁的育龄期妇女;(3)不合并泌尿生殖系统外其他系统临床确诊的急性、亚急性感染性疾病;(4)测试期间不存在感冒、发烧等上呼吸道感染性疾病;(5)无临床确诊的其他系统肿瘤性疾病;(6)无传染性疾病。排除标准:(1)临床确诊除外其他明确病因所致的不孕症;(2)自动要求退出者。

1.2 方法

所有患者均采用腹腔镜保守手术治疗,剔除卵巢囊肿时,小心将囊腔内巧克力色样黏稠液吸出,用生理盐水反复冲洗干净;囊性液全部吸除后,打开卵巢皮质菲薄处对囊壁进行钝性分离,一部分组织送检,一部分组织用于巨噬细胞收集。完成分离后,再用生理盐水反复冲洗干净,伤口缝合止血。所有患者术后第1周开始使用短效口服避孕药去氧孕烯炔雌醇片,1片/次,每天1次,持续3周停药1周为1个疗程,共治疗6个疗程。

1.3 研究指标

1.3.1 巨噬细胞表型 将刮取的组织用0.25%胰蛋白酶消化5~10 min,然后用含10% FBS的DMEM培养基终止消化,75 μm筛网过筛后,1 000 r/min离心10 min,然后用预冷的PBS洗涤细胞3次,离心后获取细胞,加入70%预冷乙醇放置于4 ℃冰箱中固定8 h。再次用PBS洗涤细胞3次,然后加入流式抗体APC-F4/80、PE-CD16及PE-CD163抗体,室温避光孵育30 min,加入PBS 1 mL洗涤细胞,1 000 r/min离心5 min,弃去上清,4%多聚甲醛200 μL固定,上流式细胞仪检测。分型标准:CD16阳性率高于CD163阳性率为M1型,CD163阳性率高于CD16阳性率为M2型^[8]。

1.3.2 患者病情症状体征评分 根据患者盆腔症状(盆腔痛、性交痛、痛经)、体征(盆腔触痛、硬块或硬结)进行评分,每个症状或体征有为1分,无为0分,分值范围为0~5分,分数越高,病情越重^[6]。

1.3.3 性激素指标 采用全自动生化分析仪及放射免疫法检测所有患者治疗前月经第3天(治疗前)、治疗结束恢复月经后第3个月经周期时月经第3天(治疗后)的性激素指标,包括黄体生成素(LH)、卵泡雌激素(FSH)、雌二醇(E2)、抗苗勒管激素(AMH)和窦卵泡数目AFC。

1.3.4 治疗效果 疗效评价在出院后第6个月时进行评估。根据患者的临床症状、体征、影像学及实验室检查结果分为显效、有效、无效3个等级:症状和体征完全消失,影像学及实验室检查结果完全正常为显效;症状和体征完全消失,影像学及实验室检查结果较治疗前明显改善为有效;症状和体征完全消失,影像学及实验室检查结果无明显变化或加重为无效^[6]。

1.4 统计学处理

实验数据经SPSS 20.0统计学软件进行分析,计量资料正态分布以 $\bar{x}\pm s$ 表示,偏态分布资料以中位数(四分位间距IQR)表示,分别采用两独立样本 t 检验或Mann-Whitney U检验;计数资料以例(%)表示,采用 χ^2 检验;有序分类资料采用秩和检验。以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 EI患者病变子宫内膜巨噬细胞表型分析

39例EI患者中,有22例分离出的巨噬细胞CD16阳性率高于CD163阳性率,为M1型;17例分离出的巨噬细胞CD163阳性率高于CD16阳性率,为M2型。见表1。

表1 EI患者病变子宫内膜巨噬细胞表型分析 (%)

分型	n	CD163	CD16
M1型	22	24.28±5.29	39.05±4.80
M2型	17	38.44±6.31	23.22±5.30

2.2 M1型和M2型EI患者的症状体征评分的比较

治疗前,M1型患者症状特征评分高于M2型患者($P<0.01$)。治疗后,M2型和M1型患者症状特征评分较治疗前降低,但M1型患者症状特征评分仍高于

M2型患者($P<0.01$)。见表2。

表2 M1型和M2型EI患者治疗前后症状体征评分的比较

分型	n	$(\bar{x}\pm s, \text{分})$	
		治疗前	治疗后
M1型	22	4.56±0.60	2.77±1.11 ^a
M2型	17	3.82±0.73 ^b	1.06±0.97 ^{ab}

与同组治疗前比较:^a $P<0.01$;与M1型比较:^b $P<0.01$

2.3 M1型和M2型EI患者性激素指标的比较

治疗前,M1型患者的LH、FSH、E2水平均高于M2型患者($P<0.01$),而AMH和AFC水平两型患者间差异无统计学意义($P>0.05$)。治疗后,两型患者的LH、FSH、E2均较治疗前降低,且M1型仍高于M2型($P<0.01$);M2型患者的AFC亦高于M1型患者($P<0.01$);AMH水平两型患者间差异无统计学意义($P>0.05$)。见表3。

表3 M1型和M2型EI患者性激素指标的比较

$(\bar{x}\pm s)$

指标	M1型(n=22)		M2型(n=17)	
	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
LH/(U/L)	6.3±1.4	4.1±1.2 ^a	5.4±1.0 ^b	2.8±0.9 ^{ab}
FSH/(U/L)	7.6±1.2	3.9±0.8 ^a	5.9±1.2 ^b	2.0±0.6 ^{ab}
E2/(pmol/L)	245.0±44.2	145.2±30.7 ^a	209.1±46.0 ^b	100.4±25.6 ^{ab}
AMH/(μg/L)	2.2±0.4	2.0±0.4	2.1±0.4	2.0±0.3
AFC/个	7.6±1.2	6.1±1.3 ^a	7.4±1.4	7.1±0.6 ^b

与同组治疗前比较:^a $P<0.01$;与M1型比较:^b $P<0.01$

2.4 M1型和M2型EI患者治疗效果的比较

M2型EI患者的治疗效果优于M1型患者,差异有统计学意义($P<0.01$)。见表4。

表4 M1型和M2型EI患者治疗效果的比较 (例)

分型	n	显效	有效	无效
M1型	22	4	7	11
M2型	17	9	6	2

两组比较: $H_c=7.468, P<0.01$

3 讨论

EI患者的子宫外出现子宫内膜组织发育,可形成不同的病变类型(腹膜、深部和卵巢囊),引起慢性炎症反应,尽管这些症状的频率可能不同,但均能导致患者疼痛或不孕^[1-2, 11]。健康女性的月生殖力(MFR)为15%~20%,随年龄增长逐渐下降。而子宫内膜异位症患者的MFR可降至2%~10%^[3, 12-13]。研究证实,人体内炎症因子的长期异常增加以及子宫内炎症因子的异常积聚是导致该病发生、发展的重要

因素^[7-8]。巨噬细胞是最具代表性的炎症细胞,可以通过吞噬氧化修饰的脂质体和细胞碎片、分泌炎症因子和金属蛋白酶等途径介导炎症反应过程^[14-16]。但是,巨噬细胞在不同的刺激因素作用下,可以向不同方向极化,从而分化为不同表型和功能的巨噬细胞^[17]。其中,M1型巨噬细胞也被称为经典激活型巨噬细胞,具有抑制和杀伤肿瘤细胞等功能;M2型巨噬细胞又被称为诱导型活化型巨噬细胞,能够分泌Arginase-1、IL-10和TGF- β 等抑制炎症细胞因子,促进血管生成及免疫抑制等功能^[18-19]。目前,对于巨噬细胞在子宫内膜异位症的发生、发展中的影响尚不明确。

本研究结果发现在EI患者中,病变子宫内膜组织中的巨噬细胞既有以CD16阳性为主的M1型,也有以CD163阳性为主的M2型;患者接受治疗前,M1型患者的临床症状和特征评分高于M2型患者,即患者的临床症状和体征在M1型患者中更为严重,经过治疗后,虽然M1型和M2型患者的症状体征评分均较治疗前降低,但M1型患者的症状体征评分仍

然高于M2型患者。由此可见,巨噬细胞的表型对患者的临床症状和疗效有一定的影响,可能与M2型巨噬细胞的抑制炎症作用相关^[18]。在患者性激素水平的检测结果中发现,治疗前M1型患者LH、FSH、E2水平均高于M2型患者,治疗后两型患者均较治疗前降低,但M1型患者的LH、FSH、E2仍均高于M2型患者,这也同时说明了巨噬细胞的表型对患者的临床症状和疗效有一定的影响,M1型患者的病情趋向更为严重,并且性激素水平改善效果更差。上述猜想在我们的临床效果评价中也得到了证实,M2型患者治疗效果明显优于M1型患者。但是,我们目前仍不清楚巨噬细胞的表型是如何对治疗效果产生影响的,猜测可能与巨噬细胞的表型对避孕药去氧孕烯炔雌醇的作用机制有关。对于巨噬细胞在EI患者病理、生理过程中的分子信号通路中的作用值得我们进一步深入研究。

参考文献:

- [1] 任红英,黄玉琴. 促性腺激素释放激素-a联合反向添加疗法应用重度子宫内膜异位症腹腔镜术后的联合研究[J]. 山西医药杂志, 2018, 47(2): 191-193.
- [2] 龚敏. 规范化治疗模式下的个性化方案对子宫内膜异位症不孕患者生活质量的改善作用[J]. 中国妇幼保健, 2017, 32(3): 563-565.
- [3] 钟方圆,罗金,谢青贞. 子宫内膜异位症性不孕的研究进展[J]. 中华生殖与避孕杂志, 2019, 39(7): 592-595.
- [4] 谢璞玉,马彩虹. 子宫内膜异位症性不孕患者控制性促排卵方案的选择[J]. 中华生殖与避孕杂志, 2019, 39(5): 409-412.
- [5] 邬素珍,许焕英. 子宫内膜异位症合并不孕与体质相关性研究[J]. 辽宁中医杂志, 2019, 46(9): 1879-1881.
- [6] 孙丹,张勇. 促性腺激素释放激素联合腹腔镜手术治疗子宫内膜异位症合并不孕症的效果[J]. 中国妇幼保健, 2018, 33(17): 3978-3981.
- [7] 和儒林,刘玉环. 活性氧簇、氧化应激与子宫内膜异位症的关系进展研究[J]. 中华妇产科杂志, 2019, 54(3): 206-209.
- [8] 王鑫丹,郑萍. 子宫内膜异位症的免疫机制研究进展[J]. 国际妇产科学杂志, 2019, 46(5): 536-540.
- [9] 叶海花,陆丽美,戴郁菁,等. 慢性子宫内膜炎的诊治进展[J]. 国际生殖健康/计划生育杂志, 2019, 38(6): 514-518.
- [10] KITAYA K, TAKEUCHI T, MIZYTA S, et al. Endometriosis: new time, new concepts[J]. Fertil Steril, 2018, 110(3): 344-350.
- [11] DE ZIEGLER D, BORHESE B, CHAPRON C. Endometriosis and infertility: pathophysiology and management[J]. Lancet, 2010, 376(9742): 730e8.
- [12] CZYZYK A, PODFIGURA A, SZELIGA A, et al. Update on endometriosis pathogenesis[J]. Minerva Ginecol, 2017, 69(5): 447-461.
- [13] MEHEDINTU C, PLOTOGEA M N, LONESCU S, et al. Endometriosis still a challenge[J]. J Med Life, 2014, 7(3): 349-357.
- [14] 张亮,曾高峰,唐朝克. 巨噬细胞增殖和凋亡与动脉粥样硬化[J]. 动脉粥样硬化杂志, 2014, 22(9): 965-969.
- [15] HU Z P, BAO Y, CHEN D N, et al. Effects of recombinant adenovirus hepatocyte growth factor gene on myocardial remodeling in spontaneously hypertensive rats[J]. J Cardiovasc Pharmacol Ther, 2013, 18(5): 476-480.
- [16] 徐元,陈龙,蒋义鑫,等. 清热解毒药对组分调控巨噬细胞M1/M2表型及其机制研究[J]. 中国中药杂志, 2018, 43(18): 3722-3728.
- [17] LAWRENCE T, NATOLI G. Transcriptional regulation of macrophage polarization: enabling diversity with identity[J]. Nat Rev Immunol, 2011, 11(11): 750-761.
- [18] 丁婷婷,洋红飞,张红,等. M2型巨噬细胞标志物CD163与肿瘤的研究进展[J]. 中国免疫学杂志, 2018, 34(7): 1114-1117.
- [19] 圣波,胡泽平,郭影,等. 肝细胞生长因子对小鼠巨噬细胞M1、M2亚型极化的影响[J]. 安徽医科大学学报, 2018, 53(11): 1725-1730.