

网络出版时间:2024-06-13 19:08:03 网络出版地址:https://link.cnki.net/urlid/34.1065.R.20240612.1134.002

◇辅助生殖技术研究与应用专题◇

综述

# 母胎界面异常导致反复种植失败的免疫因素及治疗进展

易海星<sup>1,2,3</sup>, 蒋欢欢<sup>1,2,3</sup>, 李彩华<sup>1,2,3</sup> 综述 周平<sup>1,2,3</sup> 审核

**摘要** 随着辅助生殖技术的精进,反复种植失败(RIF)问题越来越不容忽视。近年来RIF已成为生殖领域的热点和难点。妊娠是“半同种异体移植”胚胎成功侵入子宫内膜的过程,需要在母胎免疫耐受形成的背景下完成。子宫内膜各种免疫细胞或其分泌的细胞因子失衡,会引起母胎界面免疫微环境的异常,不利于胚胎种植及妊娠维持。现对母胎界面中异常免疫微环境导致RIF的研究现状及治疗进展做一综述。

**关键词** 反复种植失败;母胎界面;免疫耐受;细胞因子

**中图分类号** R 71

**文献标志码** A **文章编号** 1000-1492(2024)06-0935-04  
**doi**:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2024.06.002

近年来,反复种植失败(recurrent implantation failure, RIF)是生殖领域研究的热点和难点。临床诊断标准尚不统一,2023年反复种植失败中国专家共识建议将RIF定义为40岁以下的女性在3个新鲜或冷冻周期内移植至少3枚优质胚胎后仍未能实现临床妊娠<sup>[1]</sup>。近年来研究发现,免疫因素对RIF的发生起到了不容忽视的作用,母胎界面免疫微环境的失衡可能成为寻求病因的新靶点。对母体来说,携带父源白细胞抗原(human leukocyte antigen, HLA)的胚胎移植是一个半同种异体移植的过程,其种植成功与母胎界面免疫耐受形成相关。胚胎滋养细胞可分泌细胞因子,逃避母体免疫系统的攻击。母体蜕膜免疫细胞富集,各种免疫细胞交互对话利于胚胎成功种植<sup>[1]</sup>。母胎界面免疫微环境紊乱可引发妊娠失败。该文主要关注母胎界面,针对免疫异常微环境导致反复种植失败的研究现状及治疗进

展做一综述。

## 1 免疫细胞

母胎界面微环境主要包括滋养细胞、蜕膜基质细胞(decidual stromal cell, DSC)、蜕膜免疫细胞(decidual immune cell, DIC)。其中影响母胎耐受形成的DIC主要包括蜕膜自然杀伤细胞(decidual natural killer, dNK)、蜕膜巨噬细胞(decidual macrophages, DM)、T细胞等<sup>[2]</sup>。这些细胞在妊娠形成中促进免疫调节、滋养细胞侵袭、子宫螺旋动脉重塑等重要事件<sup>[2-3]</sup>。

**1.1 蜕膜自然杀伤细胞** NK细胞分为循环中的NK细胞(conventional NK, cNK或peripheral blood NK, pNK,即常规NK细胞或外周血NK细胞)和组织常驻NK细胞(tissue-resident NK, trNK)。通常pNK表达T-bet和Eomes,而trNK只表达Eomes。妊娠期大量NK细胞出现在母胎界面组织称为dNK细胞<sup>[3]</sup>。dNK细胞来源尚未达成一致,综合科学界观点总结主要有两个来源:①CD16<sup>-</sup>NK细胞被趋化因子吸引,直接从外周血迁移到蜕膜,在蜕膜微环境中分化为dNK细胞;②滋养细胞有助于pNK细胞直接转化形成dNK细胞<sup>[4-5]</sup>。一项实验<sup>[2]</sup>通过分析单细胞RNA测序揭示了CD49a<sup>+</sup>CXCR4<sup>+</sup>NK细胞在RIF患者内膜细胞比例下降。人类NK细胞根据CD56表达水平划分CD56<sup>bright</sup>CD16<sup>-</sup>亚群及CD56<sup>dim</sup>CD16<sup>+</sup>亚群<sup>[3]</sup>。CD56<sup>bright</sup>CD16<sup>-</sup>亚群NK细胞是母体子宫早期妊娠免疫微环境中主导细胞,这类NK细胞表达杀伤细胞免疫球蛋白样受体(killer cell immunoglobulin-like receptors, KIRs)<sup>[6]</sup>。Piekaraska et al<sup>[6]</sup>研究认为女性体内KIRs表达水平升高和不孕及RIF有关,KIRs基因阳性女性在RIF组中比例明显高于对照组。研究发现KIRs相关基因如KIR2DS1激活缺失有助于NK细胞分泌对妊娠有利的细胞因子及生长因子。

**1.2 蜕膜巨噬细胞** 蜕膜巨噬细胞分化为M1(经典激活的巨噬细胞)和M2(替代激活的巨噬细胞)两种亚群,M1和M2可相互转化<sup>[7]</sup>。而相较于M1

2024-03-05 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:82171640)

作者单位:<sup>1</sup>安徽医科大学第一附属医院妇产科,合肥 230022

<sup>2</sup>国家卫生健康委配子及生殖道异常研究重点实验室,合肥 230032

<sup>3</sup>生命资源保存与人工器官教育部工程研究中心,合肥 230032

作者简介:易海星,女,硕士研究生;

李彩华,女,博士,主治医师,责任作者,E-mail:2023910470@ahmu.edu.cn

型巨噬细胞, M2 型巨噬细胞促进 Th2 或抗体介导的免疫应答, 更利于维持母胎免疫耐受及正常妊娠状态<sup>[7]</sup>。Hofbauer 细胞作为一种胎儿免疫巨噬细胞, 在孕早期人胎盘基质中被大量发现, 影响胎盘血管生成和重塑; 胎盘相关的母体巨噬细胞 PAMM1a 附着在胎盘表面表达纤连蛋白这类有助于修复的因子<sup>[8]</sup>。Ding et al<sup>[9]</sup> 研究认为 M2 亚群有益于滋养层细胞侵入与迁徙, 通过共培养巨噬细胞和滋养层细胞实验发现巨噬细胞更倾向于向 M2 极化。Ganeva et al<sup>[10]</sup> 的研究关注 RIF 患者再次移植的成功率, 发现再次移植成功植入的 RIF 患者 CD68<sup>+</sup> 巨噬细胞与 CD3<sup>+</sup> T 细胞比值显著高于再次移植失败的患者。对免疫细胞组成的了解可以帮助评估 RIF 患者的子宫内膜接受性, 这也可能是预测 RIF 患者成功植入的因素。

**1.3 T 细胞** T 细胞根据功能的不同可分为多种亚群, 分泌 IL-2、TNF- $\alpha$  和 IFN- $\gamma$  的 1 型辅助型 T 细胞 (Helper T cell 1, Th1); 分泌 IL-4、IL-5、IL-6、IL-10 和 IL-13 的 Th2 细胞; 分泌 IL-17A、IL-17F 和 IL-22 的 Th17 细胞以及具有免疫抑制特性的调节型 T 细胞 (regulatory T cells, Tregs) 等<sup>[11]</sup>。临床证据提示, 母胎界面 Th1/Th2 细胞平衡可能是妊娠成功的标志, 而 Th1 细胞偏移则可能导致妊娠失败<sup>[12]</sup>。Th17 和 Tregs 的不平衡也是反复种植失败的危险因素, 一项临床试验<sup>[13]</sup> 证明 RIF 妇女使用羟氯喹可能改善这种不平衡状态, 增强 Tregs, 下调 Th17 相关细胞因子频率和功能。Zhang et al<sup>[14]</sup> 发现组蛋白甲基转移酶 Nsd2 可上调趋化因子受体 CXCR4 表达, 有助于 Tregs 募集到蜕膜中, 从而促进母胎免疫耐受。在 Nsd2 条件敲除的妊娠小鼠中, 母胎界面处的 Tregs 水平显著降低, 怀孕小鼠表现出严重的胎儿丢失现象。

**1.4 髓源性抑制细胞 (myeloid-derived suppressor cells, MDSCs)** MDSCs 有两种主要亚型, 多形核细胞型 (polymorphonuclear, PMN-MDSCs) 和单核细胞型 (monocytic, M-MDSCs)<sup>[15]</sup>。它是在宿主生物应激 (如组织损伤和炎症) 情况下机体产生的一种具有免疫抑制作用的未成熟骨髓细胞的异质性群体, 能够防止过度的免疫反应、维持免疫耐受<sup>[15-16]</sup>。有研究<sup>[15]</sup> 证明 MDSCs 可以使 Th1/Th2 平衡向 Th2 分化, 并诱导 Tregs 形成, 从而增强妊娠期间的免疫耐受。一项病例对照研究<sup>[16]</sup> 发现相较于对照组, RIF 患者外周血中 PMN-MDSCs、M-MDSCs、Tregs 以及 PMN-MDSCs 水平明显降低。该研究认为 MDSCs

的失调可能损伤母胎界面免疫耐受, 因此促进 RIF 发生。同时雌激素可通过血管内皮生长因子 VEGF 调节 MDSCs 群体并影响辅助生殖结果, 该研究为 MDSCs 作为体外受精预测标志物提供证据<sup>[17]</sup>。

## 2 细胞因子

免疫细胞产生的各种细胞因子在生殖免疫中发挥作用, 其中淋巴细胞来源的细胞因子在妊娠中作用不可忽视。研究<sup>[18]</sup> 发现 RIF 患者围着床期外周血中 IL-2、IFN- $\gamma$  等 Th1 型促炎活性的细胞因子水平升高, IL-10 等 Th2 型抑炎活性细胞因子水平下降, 且 IL-2/IL-10 和 IFN- $\gamma$ /IL-10 比值升高, Th1/Th2 比例失衡。研究<sup>[19]</sup> 发现小鼠腹腔内注射 IL-17 可诱导胎儿丢失, 而流产倾向小鼠注射抗 IL-17 抗体后得以继续妊娠。提示 IL-17 对妊娠过程存在不利影响。

骨髓源性细胞分泌的细胞因子在母胎免疫耐受中的作用同样不容小觑。RIF 患者血清中趋化因子配体 5 (C-C chemokine ligand 5, CCL5) 及 TGF- $\beta$  的浓度明显下降。CCL5 是招募及激活 MDSCs 的一个重要趋化因子, 提示 CCL5 及 MDSCs 的异常可能是导致 RIF 的一个因素<sup>[15]</sup>。缺氧对于妊娠早期母胎界面的建立至关重要, 缺氧环境中内源性血管内皮生长因子-A (vascular endothelial growth factor-A, VEGF-A) 可以通过 CCL2/CCR2 和黏附分子 (特别是 ICAM2 和 ICAM5) 增强蜕膜巨噬细胞与基质细胞之间的相互作用, 从而有助于正常妊娠早期蜕膜中巨噬细胞的富集, 对维持妊娠起到重要作用<sup>[20]</sup>。同时滋养层细胞也有助于分泌 CD206、CCL18、IL-10 及 TGF- $\beta$  等细胞因子和趋化因子, 从而募集 M2 促进免疫耐受<sup>[9]</sup>。

## 3 治疗进展

RIF 的原因主要分为胚胎因素和母体因素。在排除了胚胎异常、心理因素、生殖系统解剖结构异常之后, 基于母体免疫和母胎界面免疫因素的治疗方案获得了较为满意的治疗效果。

**3.1 糖皮质激素** 糖皮质激素被认为能够减少子 NK 细胞的异常群体, 使得细胞因子水平恢复正常, 抑制子宫内膜炎症, 改善宫内环境。早期实验中, Fried et al<sup>[21]</sup> 认为短时间内给予免疫抑制剂量的皮质类固醇可以显著提高 IVF 患者的着床率和妊娠率。然而随着后期实验的补充, 糖皮质激素在辅助生殖中的使用引起了争议。一项多中心 RCT 研究

显示 RIF 患者使用泼尼松治疗并未提高活产率。且泼尼松的使用还可能会增加早产和生化妊娠丢失的风险<sup>[22]</sup>。因此 RIF 患者能否从糖皮质激素的治疗中获益不能一概而论,需要在明确的免疫指征下指导用药,而且治疗过程中临床医师不可忽视其对胎儿健康的潜在风险。

**3.2 静脉注射免疫球蛋白 (intravenous immunoglobulin, IVIG)** IVIG 免疫机制包括下调 NK 细胞毒性、抑制 B 细胞和 NK 细胞、诱导效应 T 细胞凋亡、激活 Tregs 及中和细胞毒性抗体<sup>[23]</sup>。Sung et al<sup>[23]</sup> 研究显示糖皮质激素联合 IVIG 治疗可以明显提高反复妊娠丢失和 RIF 患者的妊娠率。另一项关于 RIF 患者 IVIG 治疗效果的研究中发现 IVIG 治疗后 RIF 患者妊娠率从 26.2% 升高到 93.8% ( $P \leq 0.0001$ ), 活产率从 17.9% 改善到 80.0% ( $P \leq 0.0001$ )<sup>[24]</sup>。因此对于 RIF 患者可以推荐使用 IVIG 治疗。

**3.3 宫腔灌注粒细胞集落刺激因子 (granulocyte colony stimulating factor, G-CSF)** G-CSF 一般被用来恢复癌症患者化疗后粒细胞功能。近些年的临床研究证明,G-CSF 能够调节骨髓细胞功能及诱导 ROS<sup>+</sup> CD15<sup>+</sup> CD14<sup>+</sup> 免疫抑制性粒细胞,抑制 T 细胞增生,从而调节妊娠期母体免疫微环境<sup>[25]</sup>。除此之外,G-CSF 还可以改善滋养层上皮间充质转化、细胞侵入与迁徙<sup>[26]</sup>。Bakry et al<sup>[27]</sup> 研究发现与 HCG 相比,G-CSF 可以显著提高 RIF 患者的种植率和临床妊娠率,显著改善妊娠结局。一项 RCT 研究显示两次及以上移植失败的患者宫腔灌注 G-CSF 可以提高临床妊娠率和活产率,降低流产率<sup>[28]</sup>。然而 Kalem et al<sup>[29]</sup> 的一项 RCT 研究表明,宫腔灌注 G-CSF 并不能改善 RIF 患者的临床妊娠率、流产率和活产率。因此,G-CSF 是否可以改善 RIF 患者临床结局需要多中心的临床研究来探讨。

**3.4 低分子肝素 (low molecular weight heparin, LMWH)** LMWH 可以通过抑制凝血过程,预防血栓形成,还具有免疫调节的作用。在复发性流产患者中使用 LMWH 可以减少微血栓,改善血液流动性,降低流产发生率<sup>[30]</sup>。RIF 患者和复发性流产患者有着相似的免疫异常,如异常升高的 NK 细胞数量及其毒性、上调的 Th1 细胞等,近年来 LMWH 也逐渐应用于 RIF 患者的治疗中。研究<sup>[23]</sup> 证明 LMWH 同样也可以改善 RIF 患者 IVF 成功率。一项关于 RIF 患者种植窗期外周血免疫状态的研究<sup>[31]</sup> 发现,RIF 患者使用 LMWH 治疗后外周血中 Th1 细胞

相关细胞因子降低,而 Th2 相关细胞因子明显增加。提示 LMWH 可以调节 RIF 患者种植窗免疫紊乱,可以作为 RIF 患者的一种治疗方案。

值得注意的是,近年来,临床上也有很多免疫抑制药物被用于 RIF 治疗,如羟氯喹、环孢素等,但这些药物使用的疗效及其安全性仍需大量实验及临床研究证明。

## 4 总结

随着辅助生殖技术的精进,RIF 越来越不容忽视。RIF 引起大量资源浪费的同时给患者带来极大心理负担。研究人员不断寻找反复种植失败的病因和治疗方案,然而仍缺少高级别的循证医学证据。从母胎界面的免疫因素入手,量化免疫指标,伴随高级别随机对照研究的证据,以期制定个性化治疗方案,提高胚胎种植成功率及临床妊娠率。

## 参考文献

- [1] 中国医师协会生殖医学专业委员会,中国女医师协会生殖医学专业委员会.反复种植失败临床诊治中国专家共识[J].中华医学杂志,2023,103(2):89-100.
- [2] Lai Z, Wang Y, Zhou W, et al. Single-cell transcriptome profiling of the human endometrium of patients with recurrent implantation failure [J]. *Theranostics*, 2022, 12(15): 6527-47.
- [3] Wang P, Liang T, Zhou H, et al. Unique metabolism and protein expression signature in human decidual NK cells [J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1136652.
- [4] Lee C L, Vijayan M, Wang X, et al. Glycodelin-A stimulates the conversion of human peripheral blood CD16<sup>-</sup> CD56<sup>bright</sup> NK cell to a decidual NK cell-like phenotype [J]. *Hum Reprod*, 2019, 34(4): 689-701.
- [5] Tao Y, Li Y H, Zhang D, et al. Decidual CXCR4<sup>+</sup> CD56<sup>bright</sup> NK cells as a novel NK subset in maternal-foetal immune tolerance to alleviate early pregnancy failure [J]. *Clin Transl Med*, 2021, 11(10): e540.
- [6] Piekarska K, Radwan P, Tamowska A, et al. ERAP, KIR, and HLA-C profile in recurrent implantation failure [J]. *Front Immunol*, 2021, 12:755624.
- [7] Chu A, Kok S Y, Tsui J, et al. Epithelial membrane protein 2 (Emp2) modulates innate immune cell population recruitment at the maternal-fetal interface [J]. *J Reprod Immunol*, 2021, 145: 103309.
- [8] Thomas J R, Appios A, Zhao X, et al. Phenotypic and functional characterization of first-trimester human placental macrophages, Hofbauer cells [J]. *J Exp Med*, 2021, 218(1): e20200891
- [9] Ding J, Yang C, Cheng Y, et al. Trophoblast-derived IL-6 serves as an important factor for normal pregnancy by activating Stat3-mediated M2 macrophages polarization [J]. *Int Immunopharmacol*, 2021, 90:106788.

- [10] Ganeva R, Parvanov D, Vidolova N, et al. Endometrial immune cell ratios and implantation success in patients with recurrent implantation failure [J]. *J Reprod Immunol*, 2023, 156: 103816.
- [11] Li Z, Peng A, Feng Y, et al. Detection of T lymphocyte subsets and related functional molecules in follicular fluid of patients with polycystic ovary syndrome [J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 6040.
- [12] Kuroda K, Ikemoto Y, Horikawa T, et al. Novel approaches to the management of recurrent pregnancy loss: The OPTIMUM (optimization of thyroid function, thrombophilia, immunity, and uterine milieu) treatment strategy [J]. *Reprod Med Biol*, 2021, 20(4): 524–36.
- [13] Sadeghpour S, Ghasemnejad berenji M, Nazarian H, et al. Effects of treatment with hydroxychloroquine on the modulation of Th17/Treg ratio and pregnancy outcomes in women with recurrent implantation failure: clinical trial [J]. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 2020, 42(6): 632–42.
- [14] Zhang L, Long X, Yin Y, et al. Histone methyltransferase Nsd2 ensures maternal–fetal immune tolerance by promoting regulatory T-cell recruitment [J]. *Cell Mol Immunol*, 2022, 19(5): 634–43.
- [15] Jiang H, Wang K, Bi K, et al. Sildenafil might impair maternal-fetal immunotolerance by suppressing myeloid-derived suppressor cells in mice [J]. *J Reprod Immunol*, 2020, 142: 103175.
- [16] Jiang H, Zhu M, Guo P, et al. Impaired myeloid-derived suppressor cells are associated with recurrent implantation failure: A case-control study [J]. *J Reprod Immunol*, 2021, 145: 103316.
- [17] Hu C, Zhen Y, Pang B, et al. Myeloid-derived suppressor cells are regulated by estradiol and are a predictive marker for IVF outcome [J]. *Front Endocrinol*, 2019, 10: 521.
- [18] Guo L, Guo A, Yang F, et al. Alterations of cytokine profiles in patients with recurrent implantation failure [J]. *Front Endocrinol*, 2022, 13: 949123.
- [19] Xu W M, Xiao Z N, Wang X B, et al. IL-17 induces fetal loss in a CBA/J × BALB/c mouse model, and an anti-IL-17 antibody prevents fetal loss in a CBA/J × DBA/2 mouse model [J]. *Am J Reprod Immunol*, 2016, 75(1): 51–8.
- [20] Qin X Y, Shen H H, Zhang X Y, et al. Hypoxia-mediated chemotaxis and residence of macrophage in decidua by secreting VEGFA and CCL2 during normal pregnancy [J]. *Reproduction*, 2023, 165(5): 543–55.
- [21] Fried E P, Blanco L, Lancuba S, et al. Improvement of clinical pregnancy rate and implantation rate of *in-vitro* fertilization—embryo transfer patients by using methylprednisone [J]. *Hum Reprod*, 1993, 8(3): 393–5.
- [22] Sun Y, Cui L, Lu Y, et al. Prednisone vs placebo and live birth in patients with recurrent implantation failure undergoing *in vitro* fertilization: A randomized clinical trial [J]. *JAMA*, 2023, 329(17): 1460–8.
- [23] Sung N, Khan S, Yiu M, et al. Reproductive outcomes of women with recurrent pregnancy losses and repeated implantation failures are significantly improved with immunomodulatory treatment [J]. *J Reprod Immunol*, 2021, 148:103369.
- [24] Ramos-medina R, Garcia-Segovia A, Gil J, et al. Experience in IVIg therapy for selected women with recurrent reproductive failure and NK cell expansion [J]. *Am J Reprod Immunol*, 2014, 71(5): 458–66.
- [25] Maneta E, Fultang L, Taylor J, et al. G-CSF induces CD15<sup>+</sup> CD14<sup>+</sup> cells from granulocytes early in the physiological environment of pregnancy and the cancer immunosuppressive microenvironment [J]. *Clin Transl Immunology*, 2022, 11(5): e1395.
- [26] Ding J, Yang C, Zhang Y, et al. M2 macrophage-derived G-CSF promotes trophoblasts EMT, invasion and migration *via* activating PI3K/Akt/Erk1/2 pathway to mediate normal pregnancy [J]. *J Cell Mol Med*, 2021, 25(4): 2136–47.
- [27] Bakry M S, Eldesouky E, Alghazaly M M, et al. Granulocyte colony stimulating factor versus human chorionic gonadotropin for recurrent implantation failure in intra cytoplasmic sperm injection: a randomized clinical trial [J]. *BMC Pregnancy Childbirth*, 2022, 22(1): 1–9.
- [28] Huang P, Yao C, Wei L, et al. The intrauterine perfusion of granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF) before frozen-thawed embryo transfer in patients with two or more implantation failures [J]. *Hum Fertil (Camb)*, 2020, 25(2): 301–5.
- [29] Kalem Z, Namli kalem M, Bakirarar B, et al. Intrauterine G-CSF administration in recurrent implantation failure (RIF): an RCT [J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 5139.
- [30] 边有鑫, 张 艳, 王文东. 低分子肝素治疗复发性流产效果及患者外周血 Th1/Th2 各型细胞因子及子宫动脉血流阻力变化 [J]. *中国计划生育学杂志*, 2023, 31(2): 286–90.
- [31] Li Q, Zhang Y, Zou L. The effect of low-molecular-weight heparin on immune balance of patients with repeated implantation failure during the implantation window [J]. *Cell Mol Biol*, 2023, 69(4):112–5.