

子宫内膜容受性标志物与体外受精胚胎移植反复种植失败的相关性研究

金锐, 马文叶, 唐大伟, 刘芳, 包俊华, 白刚

银川市妇幼保健院生殖中心, 宁夏 银川

收稿日期: 2022年3月26日; 录用日期: 2022年4月21日; 发布日期: 2022年4月28日

摘要

探讨子宫内膜容受性(Endometrial receptivity, ER)标志物血管内皮生长因子(Vascular Endothelial Growth Factor, VEGF)、胰岛素样生长因子(Insulin-like Growth Factor, IGF)、白细胞因子(Human Leukemia Inhibitory growth factor, LIF)等在反复种植失败患者(Repeated implantation failure, RIF)子宫内膜种植窗期的表达与妊娠的相关性。方法: 收集银川市妇幼保健院生殖中心2018年1月~2021年10月行体外受精-胚胎移植(*In vitro* fertilization-embryo transfer, IVF-ET)治疗的152例患者的种植窗期子宫内膜组织。采用免疫组化(immunohistochemistry)法检测RIF患者(RIF组, n = 82)和成功妊娠患者(对照组, n = 70) VEGF、IGF、LIF在种植窗期的表达水平。结果: RIF组种植窗期ER标志物VEGF、IGF、LIF的表达均低于对照组, 其中VEGF的表达明显低于对照组($P < 0.05$)。结论: 种植窗期子宫内膜VEGF、IGF、LIF的表达有降低的趋势, 与RIF的发生具有一定的相关性。

关键词

子宫内膜容受性, 反复种植失败, 种植窗

Correlation between Endometrial Receptivity Markers and Repeated Implantation Failure of IVF-ET

Rui Jin, Wenye Ma, Dawei Tang, Fang Liu, Junhua Bao, Gang Bai

Yinchuan Maternal and Child Health Care Hospital, Yinchuan Ningxia

Received: Mar. 26th, 2022; accepted: Apr. 21st, 2022; published: Apr. 28th, 2022

Abstract

Objective: To investigate the expression of ER markers VEGF, IGF, LIF implantation window stage

文章引用: 金锐, 马文叶, 唐大伟, 刘芳, 包俊华, 白刚. 子宫内膜容受性标志物与体外受精胚胎移植反复种植失败的相关性研究[J]. 临床医学进展, 2022, 12(4): 3471-3474. DOI: 10.12677/acm.2022.124503

and their correlation with RIF. Methods: 152 cases of IVF-ET endometrial tissues in implantation window stage were collected from Yinchuan maternal and child health hospital from Jan. 2018 to Oct. 2021. The expression levels of VEGF, IGF, LIF in patients with RIF (RIF group, n = 82) and patients with successful pregnancy (control group, n = 70) were detected by immunohistochemistry. Spearman correlation was used to analyze the relationship between VEGF, IGF, LIF, in RIF group. **Results:** At the implantation window stage, the levels of VEGF, IGF, LIF in RIF group were lower than those in the control group ($P < 0.05$). The levels of VEGF were lower significantly ($P < 0.05$). **Conclusion:** VEGF, IGF, LIF are expressed in planting window stage. The decrease of VEGF, IGF and LIF in the implantation window is closely related to RIF.

Keywords

Endometrial Receptivity, Repeated Implantation Failure, Planting Window

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 前言

体外受精 - 胚胎移植(*In vitro* fertilization-embryo transfer, IVF-ET)技术实施了 40 年, 为不孕家庭带来了福音, 特别是二胎政策开放以来, 更是帮助很多高龄夫妻实现了二胎、三胎梦想。但是临床妊娠率一直徘徊在 50%~60%, 胚胎种植率一直在 30%~40% [1], 特别是还有一部分反复移植都无法妊娠的患者, 如何提高子宫接受胚胎的能力, 一直是生殖研究的热点和难点。胚胎种植包括定位、黏附、侵袭三个阶段[2]。良好的子宫内膜环境是成功孕育的必要条件。如何改善子宫内膜容受性对非胚胎因素患者提高妊娠率有重要意义。本研究收集了银川市妇幼保健院生殖中心 2018 年 1 月至 2021 年 6 月实施 IVF-ET 的 152 例患者黄体期子宫内膜组织, 其中 RIF 患者 82 例, 同期首次移植妊娠患者 70 例, 通过免疫组化检测分析患者子宫内膜的 VEGF、IGF、LIF 表达, 探究相关因子的表达与 RIF 的关系, 为临床深入研究 RIF 的发病机制, 提供实验研究线索。

2. 资料与方法

2.1. 研究对象

银川市妇幼保健院生殖中心 2018 年 1 月至 2021 年 10 月行 IVF-ET 患者 152 例, 年龄 25~38 岁, 其中移植 3 次以上的患者为研究组 82 例, 首次移植成功妊娠患者为对照组 70 例, 所有移植胚胎均为优质胚胎。患者排除子宫内膜异位症、子宫肌瘤、子宫腺肌病、输卵管积水、多囊卵巢综合征、宫腔结构异常、内膜菲薄或形态欠佳、高凝状态或易栓症, 既往无卵巢手术史, 3 个月内无激素治疗及宫腔操作史。本研究获本院伦理委员会批准, 患者均签署知情同意书。

2.2. 研究方法

1) 子宫内膜的采集: 在冻融胚胎移植前预备周期排卵后第七天取患者的子宫内膜组织, 放入 4% 甲醛固定于免疫组化检测, 固定时间不超过 24 小时, 石蜡包埋。另一部分置于 -80°C 冰箱中保存, 用于免疫组化的检测;

2) 免疫组化结果判定标准: 每张染色片随机选择 5 个高倍镜(400 倍)视野, 磷酸酶缓冲试剂代替一

抗作为阴性对照，在阴性对照片无特异性着色的情况下对切片进行判读。阳性细胞染色结果必须符合下列要求：镜下观察组织细胞结构完整、清晰；阳性细胞染色明显高于背景；阳性颗粒定位明显清晰。按细胞胞浆内棕色颗粒染色强度分为 4 个等级：细胞均无任何染色为(-)；25%以下细胞阳性染色记为弱阳性(+); 25%~50%细胞阳性染色记为中强度阳性(++); 50%细胞阳性染色记为强阳性(+++) [3]。

3) 观察指标：两组患者一般情况、移植日子宫内膜厚度、形态、以及胚胎评分情况和妊娠结局。

2.3. 数据处理

用 SPSS19.0 Windows 统计学软件对所得数据进行分析。计量资料采用 t 检验，计数资料采用 χ^2 检验； $P < 0.05$ 为差异有统计学意义；

3. 结果

3.1. 两组患者基本情况

本研究中共检测 152 例患者种植窗期子宫内膜，两组患者在年龄、不孕年限、内膜厚度没有差异(见表 1)。

3.2. 两组种植窗期 VEGF、GIF、IFL 阳性表达比较

两组患者在种植窗期免疫组化法检测内膜中 VEGF、GIF、IFL, RIF 组的患者表达明显低于对照组(见表 2)。

Table 1. Comparison of basic situation between two groups of patients

表 1. 两组患者基本情况比较

组别	n(例)	年龄(岁)	不孕年限(年)	内膜厚度(mm)
RIF 组	82	32.74 ± 2.07	5.04 ± 3.00	9.72 ± 1.75
对照组	70	32.80 ± 2.09	4.70 ± 2.79	9.87 ± 1.68
<i>T</i>		-0.166	0.711	-0.544
<i>P</i>		0.868	0.478	0.588

Table 2. Comparison of endometrial VEGF/IGF/LIF expression between two groups

表 2. 两组患者子宫内膜 VEGF、IGF、LIF 表达对比

组别	N	VEGF 阳性表达	IGF 阳性表达	LIF 阳性表达
RIF 组	82	40.24% (33/82)	21.95% (18/82)	25.61% (21/82)
对照组	70	17.14% (12/70)	35.71% (25/70)	41.43% (29/70)
χ^2		9.67	3.53	4.281
<i>P</i>		0.002	0.045	0.029

4. 讨论

子宫内膜容受性是指子宫内膜在“接受”胚胎种植的特殊时期，即子宫内膜的“种植窗口期”(window of implantation)，通常在这个时期子宫内膜形态、组织结构和分泌的蛋白都发生了一系列的变化[2]，胚胎

只有在这个时期才能植入,在种植窗开放前或后,胚胎着床都会失败。目前,临床主要通过超声下观察子宫内膜的血流、厚度、形态来评估子宫内膜的容受性[3]。子宫内膜各种因子的表达情况被逐渐重视,成为评估子宫内膜容受性的有利方法。在患者内膜种植窗期取出子宫内膜分析各类因子表达的情况,可以客观的反映子宫内膜的状态,为临床提供胚胎移植时间的依据,有效的促进提高胚胎着床率[4]。VEGF、LIF、IGF 可同时作用于子宫内膜和胚胎[5],三者的表达在女性黄体期逐渐升高,在种植窗期达到高峰,与子宫内膜容受性的形成密切相关[6],且与子宫内膜对胚胎的接受能力呈正相关,是保证胚胎着床和妊娠成功的关键因子[7]。VEGF、LIF、IGF 作为判断子宫内膜容受性的生物学标志之一,能为种植提供血管化的容受性[8] [9]。在种植窗期,对照组子宫内膜组织 VEGF、LIF、IGF 阳性表达增加,有助于胚胎着床和早期绒毛血管形成[10] [11]; RIF 组子宫内膜 VEGF、LIF、IGF 阳性表达均明显低于对照组,其阳性表达降低可能与子宫内膜下血流灌注减少,从而影响子宫内膜容受性有关,最终导致胚胎着床失败,继而引起不孕。

本研究通过采用免疫组化法,测定进行冻融胚胎移植患者预备周期胚胎种植窗期 LIF、IGF 和 VEGF 在子宫内膜的定位和表达,例数相对较少,希望开展进一步的多中心联合研究,为找寻能预测子宫内膜容受性的良好而可靠的指标,在冻融胚胎移植周期适时将冻融胚胎移入子宫腔内,促进胚胎植入,提高冻融胚胎移植的妊娠率,改善妊娠结局提供更多的研究依据。

基金项目

宁夏自然科学基金项目,项目编号:2019AAC03277。

参考文献

- [1] 全松,刘婧.反复种植失败的定义及影响因素[J].实用妇产科杂志,2018,34(5):7-10.
- [2] Bari, P.N., Coroeu, B., Clua, E., et al. (2014) Investigations into Implantation Failure in Oocyte-Donation Recipients. *Reproductive BioMedicine Online*, **28**, 99-105. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2013.08.012>
- [3] 赵莉莉,庞有成,陶陵.子宫内膜样腺癌血管内皮生长因子的表达情况及临床意义[J].癌症进展,2017,15(10):1193-1195.
- [4] 邱峰龙,王苗苗,贾媛媛.子宫内膜容受性标志物与行 IVF-ET 反复种植失败的相关性研究[J].中国处方药,2019,19(10):19-21.
- [5] 钮怡超,张婷,童婧.子宫内膜容受性标志物与反复种植失败的相关性研究[J].中国计划生育和妇产科,2019,11(7):12-16.
- [6] 刘桂菊,王绍娟.整合素 $\alpha v\beta 3$ 拮抗剂大剂量应用对小鼠母胎的影响[J].中国基层医药,2012,19(10):1508-1509.
- [7] 杨丽,姜俊怡,乔鹏云,等.子宫内膜吸刮术对着床相关因子及反复着床失败患者妊娠结局的影响[J].中国全科医学,2015,18(14):1655-1658.
- [8] Potdar, N., Gelbaya, T. and Nardo, L.G. (2012) Endometrial Injury to Overcome Recurrent Embryo Implantation Failure: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Reproductive BioMedicine Online*, **25**, 561-571. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2012.08.005>
- [9] Laird, S.M. and Li, T.-C. (2006) Cytokine Expression in the Endometrium of Women with Implantation Failure and Recurrent Miscarriage. *Reproductive BioMedicine Online*, **13**, 13-23. [https://doi.org/10.1016/S1472-6483\(10\)62011-1](https://doi.org/10.1016/S1472-6483(10)62011-1)
- [10] Wang, W.J., Hao, C.F., Lin, Y., et al. (2010) Increased Prevalence of T Helper 17 (Th17) Cells in Peripheral Blood and Decidua in Unexplained Recurrent Spontaneous Abortion Patients. *Journal of Reproductive Immunology*, **84**, 164-170. <https://doi.org/10.1016/j.jri.2009.12.003>
- [11] Lee, S.K., Kim, J.Y., Lee, M., et al. (2012) Th17 and Regulatory T Cells in Women with Recurrent Pregnancy Loss. *American Journal of Reproductive Immunology*, **67**, 311-318. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0897.2012.01116.x>