

王静,路成吉,臧建新,等. 人羊膜上皮细胞移植对子宫瘢痕模型大鼠子宫内膜的影响及机制 [J]. 中国比较医学杂志, 2023, 33(12): 21-27.

Wang J, Lu CJ, Zang JX, et al. Effect and mechanism of transplantation of human amniotic epithelial cells on endometrium of uterine scar model rats [J]. Chin J Comp Med, 2023, 33(12): 21-27.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2023.12.004

人羊膜上皮细胞移植对子宫瘢痕模型大鼠子宫内膜的影响及机制

王 静¹,路成吉^{1*},臧建新¹,衣志爽¹,彭家晟¹,张 峰²

(1.新乡医学院三全学院临床学院,河南 新乡 453000;2.郑州大学第三附属医院妇产科,郑州 450000)

【摘要】 目的 探讨人羊膜上皮细胞(hAECs)移植对大鼠子宫瘢痕模型子宫内膜的改善及对基质金属蛋白酶 8(MMP-8)、血管内皮生长因子(VEGF)的影响。**方法** 建立大鼠子宫瘢痕模型,并随机分为模型组及移植组,每组各 18 只,另取 18 只大鼠作为假手术组。移植组大鼠于子宫瘢痕处注射 hAECs,模型组及假手术组仅给予等量 PBS。4 周后,各组取 8 只大鼠子宫组织,HE 染色和 Masson 染色分别观察组织形态学变化和纤维化情况,测量子宫内膜厚度和腺体数量;细胞角蛋白和整合素 $\beta 3$ 免疫组化染色分别评估子宫内膜生长和容受性;RT-qPCR 技术检测子宫内膜组织中 MMP-8、VEGFA mRNA 表达水平;Western blot 法检测组织中 MMP-8、VEGFA 蛋白表达水平;8 周后,取各组剩余 10 只大鼠进行妊娠能力测定。**结果** 模型组及移植组大鼠子宫内膜厚度、腺体数、角蛋白和整合素 $\beta 3$ IOD 值、MMP-8、VEGFA mRNA 和蛋白相对表达水平、妊娠率和子宫胚胎数低于假手术组($P<0.05$);移植组大鼠子宫内膜厚度、腺体数、角蛋白和整合素 $\beta 3$ IOD 值、MMP-8、VEGFA mRNA 和蛋白相对表达水平、妊娠率和子宫胚胎数高于模型组($P<0.05$),另外,hAECs 移植可改善子宫瘢痕大鼠子宫内膜组织病理形态,减轻子宫内膜纤维化程度。**结论** hAECs 移植可改善子宫内膜损伤,减少瘢痕形成,提高子宫内膜容受性,并增强模型大鼠的妊娠功能,其作用机制可能与促进 MMP-8 和 VEGFA 表达有关。

【关键词】 人羊膜上皮细胞;子宫瘢痕;子宫内膜;基质金属蛋白酶 8;血管内皮生长因子 A

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2023) 12-0021-07

Effect and mechanism of transplantation of human amniotic epithelial cells on endometrium of uterine scar model rats

WANG Jing¹, LU Chengji^{1*}, ZANG Jianxin¹, YI Zhishuang¹, PENG Jiasheng¹, ZHANG Feng²

(1. Clinical College of Sanquan College of Xinxiang Medical College, Xinxiang 453000, China.

2. Department of Obstetrics and Gynecology, the Third Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450000)

【Abstract】 Objective To investigate the effect of human amniotic epithelial cell (hAEC) transplantation on endometrium improvement and matrix metalloproteinase 8 (MMP-8) and vascular endothelial growth factor (VEGF) expression in a rat model of uterine scarring. **Methods** The uterine scar model was established in rats that were randomly divided into model and transplantation groups with 18 rats in each group. The other 18 rats were used as the sham operation

【基金项目】2020 年河南省医学科技攻关计划项目(LHGJ20200448)。

【作者简介】王静(1987—),女,主治医师,讲师,研究方向:临床妇产科学,高等医学教育。E-mail:disho899@163.com

【通信作者】路成吉(1956—),男,主任医师,教授,研究方向:全科医学,高等医学教育。E-mail:moyin354@163.com

group. Rats in the transplantation group were injected with hAECs in the uterine scar, and rats in model and sham operation groups were administered the same amount of PBS. After 4 weeks, the uterine tissues of eight rats in each group were collected. Histomorphological changes and endometria fibrosis were observed by HE staining and Masson staining respectively, and the endometrial thickness and number of glands were measured. Endometrial growth and receptivity were evaluated by immunohistochemical staining of cytokeratin and integrin $\beta 3$, respectively. mRNA expression of MMP-8 and VEGFA in endometrial tissues was measured by RT-qPCR. Western blot was used to measure MMP-8 and VEGFA protein expression. After 8 weeks, the remaining 10 rats in each group were used to assess gestational ability. **Results** The endometrial thickness, gland number, IOD value of keratin and integrin $\beta 3$, relative mRNA and protein expression levels of MMP-8 and VEGFA, pregnancy rate and number of uterine embryos in model and transplantation groups were lower than those in sham operation group ($P < 0.05$). The endometrial thickness, gland number, IOD value of keratin and integrin $\beta 3$, relative mRNA and protein expression of MMP-8 and VEGFA, pregnancy rate and number of uterine embryos were higher than those in model group ($P < 0.05$). Additionally, hAEC transplantation improved the pathological morphology of endometrial tissue in rats with uterine scarring and reduced the degree of endometrial fibrosis. **Conclusions** hAEC transplantation improves endometrial injury, reduces scar formation, improves endometrial receptivity, and enhances pregnancy function in model rats, which may be related to promotion of MMP-8 and VEGFA expression.

[Keywords] human amniotic epithelial cells; uterine scar; endometrium; matrix metalloproteinase 8; vascular endothelial growth factor A

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

正常情况下子宫内膜可随月经动态、周期性地生长、分化、脱落和再生,损伤后无法自行修复,可发生纤维化、瘢痕化及粘连,引起月经紊乱、痛经、不孕等后果,因而积极促进子宫内膜再生及修复对育龄妇女具有重要意义^[1-2]。众所周知,所有涉及子宫的侵入性手术如剖宫产都会在不同程度上破坏其结构和功能的完整性,并不可避免地导致异常瘢痕形成^[3],研究发现,相对于非剖宫产瘢痕综合征组,剖宫产瘢痕缺损极易导致子宫内膜异位及慢性子宫内膜炎的发生^[4],而在子宫瘢痕模型中探讨子宫内膜的相关研究较少。干细胞疗法已被公认为是子宫瘢痕的潜在治疗策略^[5],来自胎盘的人羊膜上皮细胞(human amniotic epithelial cells, hAECs)基于其安全性及可用性,国外学者认为其可能对子宫瘢痕的功能修复和胶原降解有效,但这一点缺乏足够实验依据支持^[6]。孟宪宁等^[7]证明基质金属蛋白酶 8(matrix metalloproteinase 8, MMP-8)和血管内皮生长因子 A(vascular endothelial growth factor A, VEGFA)参与了子宫瘢痕疾病发生,但关于其是否可通过 MMP-8 和 VEGFA 促进子宫内膜修复还需进一步探究。故本研究拟构建子宫瘢痕大鼠模型,并进行 hAECs 移植,通过对比观察子宫内膜组织学变化,并检测 MMP-8 和 VEGFA 因子的表达水平,以期 hAECs 治疗子宫侵入性手术并发症提供一种基于干细胞的新型策略。

1 材料和方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物

SD 大鼠雌性 64 只,雄性 30 只,SPF 级,6~7 周龄,体重(250 ± 20)g,购自济南朋悦实验动物繁育有限公司[SCXK(鲁)2019-0003]。于华兰生物工程有限公司[SYXK(豫)2018-0014]内饲养,室温为 23~25℃,相对湿度为 40%~60%,12 h/12 h 光/暗循环,所有大鼠均可自由进食和饮水,适应性饲养 1 周。每天上午 9:00 通过阴道涂片确定发情周期,仅选择具有连续 4 d 发情周期的雌性大鼠(共获得 58 只)。本实验过程遵循实验动物“3R”原则,经新乡医学院三全学院动物伦理学审批通过(XXSQ-20220115)。

1.1.2 细胞

hAECs 购自上海赛奥生物技术有限公司。

1.2 主要试剂与仪器

HE 染色试剂盒(G1120)、Masson 染色试剂盒(G1340)均购自北京索莱宝生物科技有限公司;角蛋白(ab8068)、整合素 $\beta 3$ (ab210515)、MMP-8(ab72897)、VEGFA(ab46154)抗体均购自美国 Abcam 公司。HistoStar 型组织包埋机、HM325 石蜡切片机、BI7500 实时荧光定量 PCR 仪均购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司;DM750 生物显微镜购

自德国徕卡公司;DYCZ-24KS 型双板垂直电泳仪购自北京六一生物科技有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 造模、分组及干预

子宫瘢痕大鼠模型构建^[8]:从具有连续发情周期的雌性大鼠中随机选取 40 只,腹腔注射戊巴比妥钠 50 mg/kg 进行麻醉,下腹部中线作切口,并暴露子宫角,从每个子宫角切除约 1 cm 长和 0.5 cm 宽(总周长的 1/3~1/2 段)的子宫壁,并保留子宫系膜,6-0 尼龙缝线标记子宫伤口的四个边缘,盐水冲洗腹腔后,4-0 丝线以间断方式缝合直肌筋膜和皮肤,子宫壁全层切除 30 d 再次打开腹腔以确认瘢痕形成。假手术组不切除子宫角。大鼠术后均肌肉注射青霉素 3 d。共成模 36 只,随机分为模型组(18 只)和移植组(18 只)。剩余 18 只大鼠作为假手术组,假手术组及模型组大鼠子宫瘢痕处注射 50 μL PBS(不含 hAECs),移植组注射 50 μL PBS(含 10⁶ 个 hAECs)。

1.3.2 标本采集与处理

hAECs 移植后 4 周,戊巴比妥钠 50 mg/kg 腹腔注射诱导麻醉,收集各组 8 只子宫瘢痕处内膜组织,分成两份,分别置于 4%多聚甲醛和液氮中保存。

1.3.3 HE 染色观察子宫内膜形态

4%多聚甲醛固定 48 h 后,石蜡包埋,切片(5 μm),脱蜡、水化,苏木精、伊红染色,封片后高倍视野下(200×)随机选择 5 个视野计数子宫内膜腺体数量,取平均值(位于黏膜下层和基底层,多呈圆形或椭圆形)。

1.3.4 Masson 染色观察子宫内膜纤维化情况

石蜡组织切片常规脱蜡、水化,依次采用 Weigert 氏铁苏木素液、酸性乙醇、Masson 蓝化液、丽春品红、弱酸工作液、磷钼酸、苯胺蓝处理后,脱水、透明、封片,镜下观察并采集图片。胶原纤维染色呈蓝色,用于评估子宫内膜纤维化。Image J 软件测量子宫内膜厚度(在子宫横截面上测量为子宫内膜-肌层界面与子宫内膜表面之间的垂直距离)。

1.3.5 免疫组化染色检测子宫内角蛋白及整合素 β3 阳性表达情况

取石蜡组织切片,加热进行抗原修复,3% H₂O₂ 处理 15 min,PBS 洗涤,5%山羊血清 37℃ 封闭 30 min,于 1:200 稀释的一抗(角蛋白、整合素 β3)中 4℃ 孵育过夜,PBS 洗涤,加入二抗(1:1000 稀释)

37℃ 孵育 30 min,DAB 显色,苏木精复染,脱水、封片。光镜下,角蛋白在细胞质中呈褐色颗粒状,整合素 β3 在细胞质和细胞膜中呈褐色颗粒状。每张切片随机取 5 个视野,使用 Image Pro Plus 6.0 软件分析各个视野的平均光密度值(average optical density,AOD)。

1.3.6 RT-qPCR 检测子宫内膜组织中相关 mRNA 水平

TRIzol 试剂盒提取总 RNA,并测定纯度及浓度,逆转录为 cDNA,制备 RT-qPCR 反应体系并进行定量检测。PCR 热循环参数:95℃ 10 min,95℃ 15 s,60℃ 60 s 40 个循环。mRNA 表达水平以 GAPDH 为内参,采用 2^{-ΔΔCT} 法量化。引物序列见表 1。

1.3.7 Western blot 法检测子宫内膜组织中相关蛋白表达水平

RIPA 裂解液加入到子宫组织中进行裂解,提取蛋白,BCA 法测定浓度。进行电泳转膜后,用含有 0.1% Tween-20 的 Tris-HCl 缓冲溶液配制的 5%脱脂牛奶室温封闭 2 h,孵育 MMP-8、VEGFA 一抗(均 1:1000 稀释)、二抗(1:10 000 稀释),洗膜,滴加 ECL 显色,Image J 软件分析条带灰度值。

1.3.8 检测各组大鼠妊娠能力

通过保留胚胎以备怀孕的能力评估子宫功能。hAECs 移植后 8 周,取各组剩余 10 只雌性大鼠与性成熟雄性大鼠 1:1 合笼交配,次日上午检查阴道塞,在存在阴道塞 10 d 后处死雌性大鼠进行子宫检查,记录妊娠率和胚胎数量。

1.4 统计学方法

SPSS 26.0 软件分析数据,以平均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示符合正态分布的计量资料,多组间和两组间比较分别采用单因素方差分析和 LSD-*t* 检验。*P*<0.05 为差异有统计学意义。

表 1 引物序列(5'-3')
Table 1 Primer sequence(5'-3')

基因 Gene	引物 Primer
MMP-8	F:GATTCAGAAGAAACGTGGACTCAA
	R:GAAGACACAGTGGTGAAGAAG
VEGFA	F:AAGACATGGCACCTCCAG
	R:ACAAGCTCCTCTGAGCTATAC
GAPDH	F:GCAAGGATACTGAGAGCAAGAG
	R:GGATGGAATTGTGAGGGAGATG

2 结果

2.1 大鼠子宫内膜形态

假手术组大鼠子宫内膜的上皮边界连续,表面光滑呈波浪状,腺上皮和管腔上皮细胞完整,排列紧密,腺体丰富;模型组大鼠子宫的内膜连续性差,腺体分散、边缘不完整,腺上皮和管腔上皮呈低柱状或扁平状;移植组大鼠子宫内膜的连续性相对良好,腺上皮和管腔上皮细胞排列紧密,腺体密度增加。见图 1。

2.2 大鼠子宫内膜纤维化

假手术组大鼠子宫内膜间质见少量胶原纤维;模型组大鼠子宫内膜间质胶原纤维呈蓝色大范围深染,纤维化严重;与模型组比较,移植组大鼠子宫内膜胶原纤维蓝染减弱,纤维化程度减轻。见图 2。

2.3 大鼠子宫内膜厚度及腺体数

经测定,与假手术组比较,模型组及移植组大鼠子宫内膜厚度、腺体数降低($P<0.05$);与模型组比较,移植组大鼠子宫内膜厚度、腺体数增加($P<0.05$)。见表 2。

2.4 大鼠子宫内膜中角蛋白、整合素 $\beta 3$ 表达

免疫组化结果显示,角蛋白在腺上皮或管腔上皮细胞的细胞质中呈褐色颗粒,整合素 $\beta 3$ 管腔和

腺上皮细胞的细胞质和细胞膜中呈褐色颗粒状。与假手术组比较,模型组和移植组大鼠子宫内膜组织中角蛋白、整合素 $\beta 3$ IOD 值降低($P<0.05$);与模型组比较,移植组大鼠子宫内膜组织中角蛋白、整合素 $\beta 3$ IOD 值升高($P>0.05$)。见表 3,图 3。

2.5 大鼠子宫内膜 MMP-8、VEGFA mRNA 表达

与假手术组比较,模型组及移植组大鼠的子宫内膜组织中 MMP-8、VEGFA mRNA 相对表达水平显著降低($P<0.05$);与模型组比较,移植组大鼠 MMP-8、VEGFA mRNA 相对表达水平升高($P<0.05$)。见表 4。

2.6 大鼠子宫内膜 MMP-8、VEGFA 蛋白表达

与假手术组比较,模型组及移植组大鼠的子宫内膜组织中 MMP-8、VEGFA 蛋白相对表达水平降低($P<0.05$);与模型组比较,移植组大鼠 MMP-8、VEGFA 蛋白相对表达水平升高($P<0.05$)。见图 4,表 5。

2.7 大鼠妊娠能力

如表 6 所示,经检测,假手术组大鼠妊娠率为 100%,模型组及移植组大鼠妊娠率分别为 60%、80%;与假手术组比较,模型组和移植组大鼠子宫胚胎数减少($P<0.05$);与模型组比较,移植组大鼠子宫胚胎数增加($P<0.05$)。

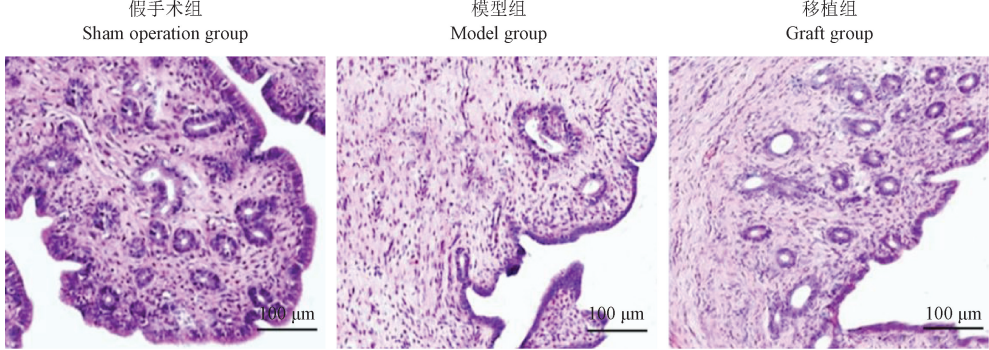


图 1 子宫内膜组织 HE 染色结果
Figure 1 HE staining results of endometrial tissue

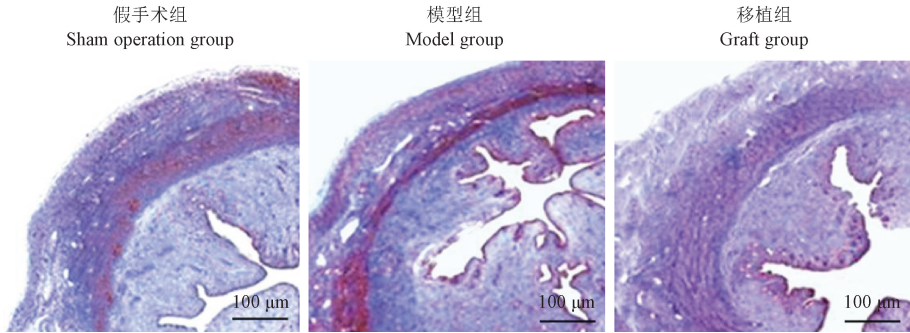


图 2 子宫内膜组织 Masson 染色结果
Figure 2 Masson staining results of endometrial tissue

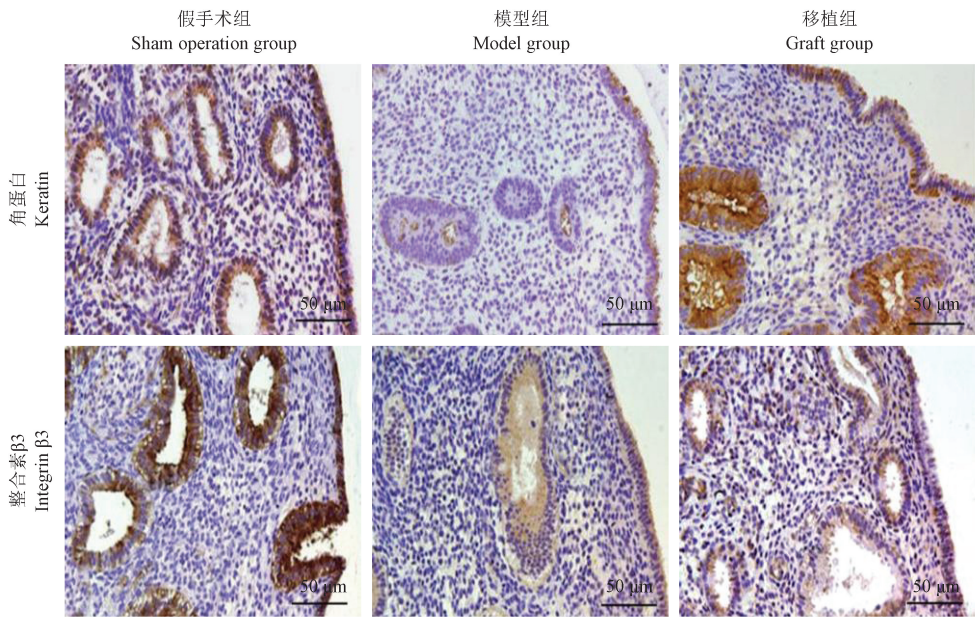


图 3 各组大鼠子宫内膜组织中角蛋白和整合素 β3 阳性表达及分布 (免疫组化染色)
Figure 3 Keratin and integrin β3 positive expression and distribution in endometrium of rats in each group (immunohistochemical staining)

表 2 各组大鼠子宫内膜厚度及腺体数($\bar{x}\pm s, n=8$)
Table 2 Endometrial thickness and gland number of rats in each group

组别 Groups	子宫内膜厚度(μm) Endometrial thickness	腺体数(n) Glands number
假手术组 Sham operation group	345.37±33.05	22.88±3.14
模型组 Model group	218.99±18.75*	4.38±1.41*
移植组 Graft group	290.17±26.50**	15.75±1.49**

注:与假手术组比较, * $P<0.05$;与模型组比较, ** $P<0.05$ 。
Note. Compared with sham operation group, * $P<0.05$. Compared with the model group, ** $P<0.05$.

表 3 各组大鼠子宫内膜组织中角蛋白、整合素 β3 IOD 值($\bar{x}\pm s, n=8$)
Table 3 Keratin and integrin β3 IOD value in endometrial tissue of rats in each group

组别 Groups	角蛋白 Keratin	整合素 β3 Integrin β3
假手术组 Sham operation group	804.08±58.67	538.88±47.61
模型组 Model group	346.95±48.34*	290.98±36.99*
移植组 Graft group	667.25±58.35**	445.13±37.21**

注:与假手术组比较, * $P<0.05$;与模型组比较, ** $P<0.05$ 。
Note. Compared with sham operation group, * $P<0.05$. Compared with the model group, ** $P<0.05$.

表 4 各组大鼠子宫内膜中 MMP-8、VEGFA mRNA 相对表达水平($\bar{x}\pm s, n=8$)
Table 4 Relative expression level of MMP-8 and VEGFA mRNA in endometrium of rats in each group

组别 Groups	MMP-8	VEGFA
假手术组 Sham operation group	1.01±0.01	1.00±0.01
模型组 Model group	0.35±0.03*	0.41±0.03*
移植组 Graft group	0.76±0.05**	0.84±0.05**

注:与假手术组比较, * $P<0.05$;与模型组比较, ** $P<0.05$ 。
Note. Compared with sham operation group, * $P<0.05$. Compared with the model group, ** $P<0.05$.

表 5 各组大鼠子宫内膜中 MMP-8、VEGFA 蛋白相对表达水平($\bar{x}\pm s, n=8$)
Table 5 Relative expression level of MMP-8 and VEGFA protein in endometrium of rats in each group

组别 Groups	MMP-8/GAPDH	VEGFA/GAPDH
假手术组 Sham operation group	0.48±0.03	0.68±0.04
模型组 Model group	0.17±0.02*	0.26±0.02*
移植组 Graft group	0.34±0.03**	0.51±0.05**

注:与假手术组比较, * $P<0.05$;与模型组比较, ** $P<0.05$ 。
Note. Compared with sham operation group, * $P<0.05$. Compared with the model group, ** $P<0.05$.

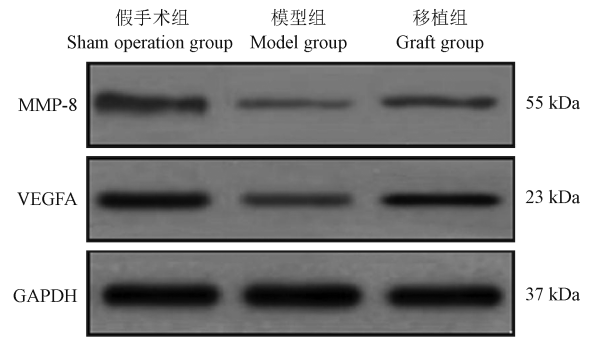


图 4 各组子宫内膜组织中 MMP-8、VEGFA 蛋白表达条带
Figure 4 Expression bands of MMP-8 and VEGFA protein in endometrial tissue of each group

表 6 各组大鼠妊娠率及胚胎数 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)
Table 6 Pregnancy rate and embryo number of rats in each group

组别 Groups	妊娠率 (%) Pregnancy rate	胚胎数 (n) Embryos number
假手术组 Sham operation group	100	10. 10±0. 74
模型组 Model group	60	3. 90±3. 41 *
移植组 Graft group	80	7. 40±3. 95 * *

注:与假手术组比较, * $P < 0. 05$;与模型组比较, * $P < 0. 05$ 。
Note. Compared with sham operation group, * $P < 0. 05$. Compared with the model group, * $P < 0. 05$.

3 讨论

在包括结缔组织的所有软组织和器官中,手术后伤口愈合不良均可导致实质组织被过量的细胞外基质沉积所取代,最终导致组织纤维化、瘢痕形成和器官功能丧失^[8],因此增强内源性组织再生和修复能力是减少瘢痕形成、恢复器官功能的有效策略。hAECs 具有增殖、分化能力以及免疫调节特性,此外,还具有易于分离、数量丰富、避免伦理争论以及非免疫原性、非致瘤性等优势^[9],hAEC 移植已被证明可有助于通过不同的分子机制修复和重建受损组织和器官的功能^[10],提示其应用于子宫伤口愈合的积极意义。

子宫为胚胎植入和妊娠维持提供必要的内部环境。在育龄妇女中,正常的子宫内膜会经历大约 400 个增殖、分化、脱落和再生周期而不会形成瘢痕,但当剖腹产、刮宫术、子宫肌瘤切除术或感染引起的严重子宫外伤损害子宫内膜基底时,就会引起组织纤维化和子宫瘢痕,子宫内膜进而可出现胶原性瘢痕,增大了不孕、反复流产、胎盘植入、宫内生长受限等的风险^[11]。据报道,子宫内膜腺上皮细胞

和管腔上皮细胞形态、数量与子宫内膜再生及修复相关^[12],子宫内膜厚度可影响胚胎着床率^[13],Ouyang 等^[14]研究发现,通过 hAECs 移植可减轻刮宫和子宫内膜炎引起的子宫内膜损伤,增加子宫内膜厚度,促进腺体和血管增殖,减少子宫内膜纤维化区域。故本研究经切除子宫角构建子宫瘢痕大鼠模型,并应用 hAECs 移植介入以探讨其对子宫瘢痕大鼠受损子宫内膜的效果,结果显示,与模型组比较,hAECs 移植可有效改善子宫内膜上皮病理损伤,促进管腔和腺上皮形态恢复,增加内膜厚度及腺体数量,减轻内膜间质纤维化程度,同时提高妊娠率和胚胎数,提示其对减轻子宫内膜瘢痕形成及妊娠功能恢复具有一定促进作用。细胞角蛋白是上皮细胞中的主要结构蛋白,作为细胞骨架对维持细胞或组织结构完整性发挥了重要的作用,在子宫内膜腺上皮和管腔上皮内强表达,可用于评估子宫内膜损伤和修复情况^[15];整合素是一类细胞黏附分子,为异二聚体糖蛋白,由非共价联系的 α 和 β 亚单位组成,整合素 $\beta 3$ 可在腺上皮和腔上皮表达呈周期性,常作为子宫内膜容受性的标志,据报道,大约 30% 的反复胚胎植入失败归因于子宫内膜容受性缺陷,整合素 $\beta 3$ 蛋白增加,子宫内膜血管生成增加均提示子宫内膜容受性改善,胚胎植入率因此可显著提高^[16-17]。本研究结果显示,hAECs 移植可促进子宫瘢痕大鼠子宫内膜中角蛋白及整合素 $\beta 3$ 的阳性表达,提示 hAECs 移植可减少瘢痕形成,改善损伤,提高子宫内膜容受性及生育能力。

MMP 参与伤口愈合过程,包括伤口闭合、炎症和组织重塑^[18]。Zhang 等^[19]研究表明,hAECs 可分泌丰富的蛋白质,包括 MMP-8。另有研究结果显示,局部应用选择性 MMP-8 抑制剂会延缓伤口愈合,而局部使用活性重组 MMP-8 可促进伤口愈合,减少炎症并增强血管生成^[20],提示 hAECs 改善子宫内膜损伤并减少瘢痕形成可能与提高 MMP-8 表达水平有关。在伤口愈合过程中,血管通过提供营养和氧气,促进伤口愈合,而局部血管生成不足,血运不良,则可导致创面愈合不良^[21],据报道,hAECs 具有促血管生成作用^[22]。VEGF 家族包括 VEGFA、VEGFB、VEGFC、VEGFD、VEGFE、VEGFF 和胎盘生长因子,其中 VEGFA 是 VEGF 家族中最重要成员,是组织修复过程中参与新血管形成的重要生长因子,主要在月经期和增殖期表达,可参与微血管的维持和形成以及子宫内膜组织的重建^[10]。另有研

究发现,在妊娠前 3 个月通过 VEGFA 通路刺激蜕膜血管生成可有利于提高妊娠成功机会^[22]。此外,通过分析 MMP-8、VEGFA mRNA 和蛋白相表达结果推测,hAECs 促进子宫内膜组织血管生成与修复,很可能是与促进二者表达水平有关,进而改善子宫内膜损伤,减少瘢痕形成,提高子宫内膜容受性,并增强模型大鼠的妊娠功能。

综上所述,hAECs 移植可改善子宫瘢痕模型大鼠子宫内膜结构及功能,其作用机制可能与促进 MMP-8 和 VEGFA 表达有关。本研究实验对象单一,还需扩大实验动物种类及样本量以进一步验证。

参考文献:

- [1] 刘星妤,胡小芳,徐广立,等. 人脐带间充质干细胞修复子宫内膜损伤 [J]. 中国组织工程研究, 2022, 26(24): 3921-3927.
- [2] Hua Q, Zhang Y, Li H, et al. Human umbilical cord blood-derived MSCs trans-differentiate into endometrial cells and regulate Th17/Treg balance through NF- κ B signaling in rabbit intrauterine adhesions endometrium [J]. Stem Cell Res Ther, 2022, 13(1): 301.
- [3] Gao M, Yu Z, Yao D, et al. Mesenchymal stem cells therapy: a promising method for the treatment of uterine scars and premature ovarian failure [J]. Tissue Cell, 2022, 74: 101676.
- [4] Nobuta Y, Tsuji S, Kitazawa J, et al. Decreased fertility in women with cesarean scar syndrome is associated with chronic inflammation in the uterine cavity [J]. Tohoku J Exp Med, 2022, 258(3): 237-242.
- [5] 韦伟,黄灵绣,宋光辉,等. 利用绿色荧光蛋白示踪干细胞在大鼠瘢痕子宫模型内分布的研究 [J]. 中国妇幼保健, 2019, 34(5): 1164-1167.
- [6] Fan Y, Sun J, Zhang Q, et al. Transplantation of human amniotic epithelial cells promotes morphological and functional regeneration in a rat uterine scar model [J]. Stem Cell Res Ther, 2021, 12(1): 207.
- [7] 孟宪宁,李红霞,吴亚男,等. 血清及腹腔液中 VEGF、MMP-2、MMP-9 水平在子宫内膜异位症中的诊断价值 [J]. 疑难病杂志, 2018, 17(8): 825-827, 832.
- [8] Eming SA, Martin P, Tomic-Canic M. Wound repair and regeneration: mechanisms, signaling, and translation [J]. Sci Transl Med, 2014, 6(265): 265sr6.
- [9] Zhang Q, Lai D. Application of human amniotic epithelial cells in regenerative medicine: a systematic review [J]. Stem Cell Res Ther, 2020, 11(1): 439.

- [10] Li B, Zhang Q, Sun J, et al. Human amniotic epithelial cells improve fertility in an intrauterine adhesion mouse model [J]. Stem Cell Res Ther, 2019, 10(1): 257.
- [11] Xu L, Ding L, Wang L, et al. Umbilical cord-derived mesenchymal stem cells on scaffolds facilitate collagen degradation via upregulation of MMP-9 in rat uterine scars [J]. Stem Cell Res Ther, 2017, 8(1): 84.
- [12] Tempest N, Hill CJ, MacLean A, et al. Novel microarchitecture of human endometrial glands: implications in endometrial regeneration and pathologies [J]. Hum Reprod Update, 2022, 28(2): 153-171.
- [13] Zhang L, Li Y, Dong YC, et al. Transplantation of umbilical cord-derived mesenchymal stem cells promotes the recovery of thin endometrium in rats [J]. Sci Rep, 2022, 12(1): 412.
- [14] Ouyang X, You S, Zhang Y, et al. Transplantation of human amnion epithelial cells improves endometrial regeneration in rat model of intrauterine adhesions [J]. Stem Cells Dev, 2020, 29(20): 1346-1362.
- [15] 罗惠娟,王宁,周娟,等. 脐带间充质干细胞移植治疗子宫切口瘢痕缺陷大鼠的疗效观察 [J]. 中国病理生理杂志, 2018, 34(11): 2079-2084.
- [16] Li R, Wu J, He J, et al. Mice endometrium receptivity in early pregnancy is impaired by maternal hyperinsulinemia [J]. Mol Med Rep, 2017, 15(5): 2503-2510.
- [17] Koo HS, Yoon MJ, Hong SH, et al. CXCL12 enhances pregnancy outcome via improvement of endometrial receptivity in mice [J]. Sci Rep, 2021, 11(1): 7397.
- [18] Chang M, Nguyen TT. Strategy for treatment of infected diabetic foot ulcers [J]. Acc Chem Res, 2021, 54(5): 1080-1093.
- [19] Zhang Q, Bu S, Sun J, et al. Paracrine effects of human amniotic epithelial cells protect against chemotherapy-induced ovarian damage [J]. Stem Cell Res Ther, 2017, 8(1): 270.
- [20] Chang M. Restructuring of the extracellular matrix in diabetic wounds and healing: a perspective [J]. Pharmacol Res, 2016, 107: 243-248.
- [21] 路明,陈哲. 自制纳米银+重组人碱性成纤维细胞生长因子抗菌敷料对糖尿病足大鼠创面愈合及血管生成相关因子、炎症因子的影响 [J]. 中国现代医药杂志, 2022, 24(9): 17-22.
- [22] Wei P, Zhong C, Yang X, et al. Exosomes derived from human amniotic epithelial cells accelerate diabetic wound healing via PI3K-AKT-mTOR-mediated promotion in angiogenesis and fibroblast function [J]. Burns Trauma, 2020, 8: tkaa020.

[收稿日期] 2023-01-04