

巨噬细胞与子宫内膜异位症关系的研究进展

廖婷婷 林燕燕 周 彤 许张晔

摘 要 子宫内膜异位症在育龄女性中发生率很高,对患者的生活质量造成了一定影响,极需要研究清楚内异症的发病机制。免疫因素一直以来都是内异症发病机制研究的热点之一,其中巨噬细胞对子宫内膜异位症的发生有很大的影响。本文从巨噬细胞是如何维持子宫内膜异位症的发生、发展方面进行了详细的阐述。

关键词 子宫内膜异位症 巨噬细胞 分泌因子 新生血管 自然杀伤细胞 趋化因子 免疫因素

中图分类号 R71

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2019.10.004

子宫内膜异位症是一种慢性、炎症性妇科疾病,影响5%~15%的育龄女性,其病理特征是子宫腔外基质和子宫内膜腺体的生长^[1]。病变部位多样,可见于卵巢、盆腔腹膜、直肠阴道隔膜、肺、输尿管、甚至大脑^[2]。常见临床症状为慢性盆腔疼痛、痛经、性交困难、早产、不育等。由此导致的身体不适、工作天数的减少、外科手术干预和频繁使用辅助生殖技术消耗了高昂的社会成本^[3]。因此,子宫内膜异位症是亟待解决的医学难题,关于其发病机制当前有许多理论,包括:①上皮细胞和基质细胞通过输卵管到达腹膜,然后扩散并植入腹膜腔内^[4];②组织化生;③迁移到异位部位的子宫内膜干细胞;④表观遗传变化导致促炎微环境;⑤环境有毒物质对女性生殖系统造成内分泌干扰。然而,这些理论还是无法解释某些现象。例如有90%的女性发生经血逆流,但只有10%患者发生子宫内膜异位症^[5]。这表明有遗传、免疫、生化因素导致疾病的发展。近年来,许多研究者试图阐明免疫系统在子宫内膜异位症中的作用,并且已经报道了几种免疫的现象。免疫稳态被干扰可以使异位子宫内膜组织植入、增殖和血管发生^[6]。巨噬细胞可能通过影响腹膜炎性因子,如单核细胞趋化蛋白(monocyte chemotactic protein, MCP)、纤溶酶原激活物、黏附分子、血红素加氧酶、细胞因子和环加氧酶COX-2起作用^[7]。本文将从巨噬细胞的数量变化、功能变化、细胞因子的变化3个方面来阐述巨噬细胞是如何参与异位子宫内膜的生长和发展。

一、巨噬细胞的来源及极化

巨噬细胞(macrophages)的表面有很多皱壁和伪足,内含溶酶体和其他细胞器,具有较强的吞噬能力。巨噬细胞代表先天免疫系统的一个整体部分,是正常稳态的关键细胞^[8]。单核细胞从骨髓释放,迁移到身体的大部分组织后再分化为成熟的巨噬细胞。巨噬细胞极化为不同功能状态的类型。

巨噬细胞具有显著的可塑性,它可以随着周围环境的变化而改变自己的形式和功能。根据周围环境的不同,巨噬细胞一般分为活化的M1型和活化的M2型。组织炎症的程度取决于促炎性M1巨噬细胞和抗炎性M2巨噬细胞之间的平衡^[9]。M1巨噬细胞由IFN- γ 和LPS刺激极化后产生,而M2a巨噬细胞通过IL-4或IL-13刺激后极化形成,而M2b巨噬细胞由IL-1 β 或LPS刺激后极化形成。暴露于IL-10、TGF- β 或糖皮质激素则会产生M2c巨噬细胞^[10]。极化后的巨噬细胞也可产生大量细胞因子, M1巨噬细胞可产生大量促炎性细胞因子,如TNF- α 、COX-2、IL-6、NO、ROS等。相反, M2巨噬细胞可产生大量的IL-10、IL-4受体,发挥出抗炎和组织修复作用。

二、子宫内膜异位症时巨噬细胞的变化

1. 巨噬细胞数量和功能改变:子宫内膜异位症是一种慢性炎症疾病,具有抗炎功能的巨噬细胞数量的改变势必会对其产生影响。有研究者研究了巨噬细胞和子宫内膜细胞的相互作用诱导子宫腺肌病中的上皮-间充质转变过程,发现巨噬细胞的数量多少会影响此过程^[11]。Gou等研究了22例深部浸润性子宫内膜异位症患者与14例正常人子宫内膜组织和基质细胞,发现前者的巨噬细胞数量多于正常组,且巨噬细胞已经发生极化。被募集到异位部位的巨噬

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81471493、81771555);浙江省自然科学基金资助项目(LY14H040014)

作者单位:325000 温州医科大学附属第二医院、育英儿童医院

通讯作者:许张晔,电子邮箱:531953862@qq.com

细胞反过来可以促进异位子宫内膜基质细胞的增殖和侵袭^[12]。子宫内膜异位症患者除巨噬细胞数量增多外,关键是其吞噬功能的减弱,给异位内膜提供了良好的微环境。Qing 等研究阿魏酸(ferulic, FA)、川芎嗪(ligustrazine, LZ)和四氢巴马汀(tetrahydropalmatine, THP)对异位子宫内膜的疗效,将子宫内膜异位症大鼠随机分为 5 组:第 1 组用 0.5% 羧甲基纤维素钠处理作为阴性对照;第 2 组接受了治疗,以孕三烯酮 0.500mg/kg 每天作为阳性对照进行给药;3~5 组为实验组(FA + LZ + THP)分别为 0.045、0.090 和 0.180mg/kg 每天进行给药,对它们灌胃(FA + LZ + THP)4 周,测定腹腔巨噬细胞活性的增殖和吞噬能力。结果表明,FA + LZ + THP 治疗组腹腔巨噬细胞吞噬功能增强,内膜细胞增殖无变化。实验组的异位子宫内膜生长受到限制,这个研究从侧面反映了巨噬细胞的吞噬能力减弱促进了子宫内膜的生长^[13]。同时,有研究还评估了子宫内膜异位症组和对照组的腹膜巨噬细胞,发现子宫内膜异位症组的巨噬细胞吞噬能力低于对照组^[14]。

2. 巨噬细胞亚型的转换:在慢性炎症条件下,体内巨噬细胞表型的改变已被认为是异物逃避免疫监视的一种方式。M1 和 M2 巨噬细胞的异常分布可能有助于子宫内膜异位症的发展,维持异位细胞生长。Takebayashi 等^[15]对 36 例子宫内膜异位症患者和 37 例无子宫内膜异位症患者进行分析,对子宫内膜组织连续切片,并用 CD68(泛巨噬细胞标志物)和 CD163(M2 巨噬细胞标志物)进行免疫染色。他们发现子宫内膜异位症组 CD68 阳性细胞数明显高于对照组, M2 巨噬细胞在整个月经周期中子宫内膜异位症组明显低于正常组 M2 巨噬细胞。有研究者却认为 M2 巨噬细胞过多才会导致子宫内膜异位症的发展,研究者将子宫内膜组织移植到表达巨噬细胞特异性绿色荧光蛋白(green fluorescent protein, GFP)的免疫缺陷小鼠中。尽管 GFP 阳性巨噬细胞的数量在移植后 4、7、10 和 14 天的病变中相似,但它们的表面炎性标志物随着时间的变化发生改变。炎性标志物与从经典 M1 巨噬细胞活性到替代 M2 谱的转变一致,其与最初急性炎症的组织学标志相关^[16]。另一方面,子宫内膜异位症的发展也是组织修复和纤维发生不断反复的过程, M2 巨噬细胞的浸润逐渐增加,导致病变进一步发展。Duan 等^[17]进行了 3 个小实验,在实验 1 中,连续收集来自具有诱导的子宫内膜异位症的雌性小鼠的子宫内膜异位组织样品以评估巨噬细胞在纤维

发生中的作用。在实验 2 和实验 3 中, CD11b 启动子控制下表达人白喉毒素受体的雌性转基因小鼠,在诱导子宫内膜异位症后通过白喉毒素注射消耗巨噬细胞,实验 3 还在巨噬细胞耗尽后进行不同巨噬细胞亚群的过继转移。他们发现伴随进行性上皮间质转化过程中, M2 巨噬细胞不断的增加,导致 M1 和 M2 巨噬细胞的异常分布。总的来说,巨噬细胞亚型转换分布异常,促进了子宫内膜异位症的进一步发生。

三、子宫内膜异位症时巨噬细胞相关因子的变化

1. 巨噬细胞分泌因子的增加:随着巨噬细胞数量不断增多,分泌的细胞因子和促炎因子的量也显著上升,从而促进异位内膜的黏附、侵袭等^[18]。IL-1 β 和 TNF- α 是众所周知的促炎因子,有研究发现在子宫异位内膜细胞和单核-吞噬细胞体外共培养体系中,可显著促进 IL-1 β 和 TNF- α 的分泌。促炎细胞因子 IL-1 β 或 TNF- α 可通过 p38 / ERK1/ERK2 信号通路协同促进 ESCs 中 IL-8 和 VEGF 的表达,最终促进子宫内膜异位症新生血管的生成^[19]。Nematian 等通过质粒转染子宫内膜异位症患者血清,发现 miRNA 125b 水平与 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 呈正相关,而 miRNA Let-7b 水平与 TNF- α 呈负相关。同时用 miRNA 125b 模拟物或 Let-7b 抑制剂转染的巨噬细胞中, TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 和 IL-8 显著上调^[18]。巨噬细胞和子宫内膜基质细胞(endometrial stromal cells, ESCs)的共培养单位中, IL-10 水平也出现升高现象。在 IL-10 协同作用下,异位病灶的生长、黏附和深部浸润明显增加。有研究者通过在小鼠模型中证明了 IL-10 和子宫内膜异位的关系^[20]。IL-17A 是一种有效的血管生成和促炎性细胞因子,有报道 M2 巨噬细胞产生大量的 IL-17A,通过激活分子伴侣介导的自噬从而抑制细胞凋亡,使得异位内膜细胞逃过人体免疫系统,维持异位子宫内膜存活^[21]。Ahn 等^[22]通过研究发现组织固有免疫细胞是子宫内膜异位症患者的 IL-17A 的来源, IL-17A 具有通过 VEGF 和 IL-8 介导的途径增强病变的血管形成的潜力。它有可能通过刺激子宫内膜异位病变细胞,产生趋化因子如 G-CSF、CCL11、CXCL1、CX3CL1,从而通过募集免疫细胞来促进炎症发生。

2. 巨噬细胞抑制因子(macrophage inhibitor, MIF):MIF 由异位子宫内膜细胞释放,消除了糖皮质激素对单核细胞分泌 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 和 IL-8 的抑制作用,这些细胞因子是免疫和炎症反应的重

要诱导因子。Zhang 等^[23]将育龄期女性分成子宫内膜异位组($n=55$)和对照组($n=47$),用刮宫术获得不同时期的内膜组:子宫内膜异位增殖期($n=26$)、子宫内膜异位分泌期($n=29$)、对照增殖期($n=24$)和对照分泌期($n=23$)。研究发现 MIF 可能在子宫内膜异位症疼痛和不孕症中起作用,并且是通过抑制巨噬细胞迁移的途径产生的影响。同时,有研究者使用 MIF 基因敲除模型和子宫内膜异位症的对照小鼠模型,将子宫内膜组织注入腹腔并允许植入和生长,结果显示 MIF 缺失显著减缓子宫内膜组织向腹膜宿主组织的生长速度,导致子宫内膜植入物数量和大小也显著减少。MIF 基因缺失通过下调 VEGF、COX-2、Bcl-2 等因子,导致异位子宫内膜组织明显的萎缩和坏死^[24]。

3. 趋化因子:有研究报道子宫内膜异位症环境中产生的趋化因子可能会形成级联反应,加速白细胞向子宫内膜异位症患者腹腔内的募集。例如 FKN 是一种特异性趋化因子,能够吸引和激活单核-吞噬细胞。在位 ESCs 分泌的 FKN 可以改变巨噬细胞分泌 IL-10 和 IL-12 的释放,打破了 IL-10 和 IL-12 之间的平衡。此外,FKN 可诱导巨噬细胞 M2 极化,使 CD86 表达下调。FKN 可以通过激活 p38MAPK 和整合素 $\beta 1$ 信号通路,增加基质金属蛋白酶 9 的表达,降低金属蛋白酶组织抑制因子 1(tissue inhibitor of metalloproteinase1, TIMP1)和金属蛋白酶组织抑制因子(tissue inhibitor of metalloproteinase2, TIMP2)的表达,进而增强了 ESCs 的侵袭性^[25]。单核细胞趋化蛋白 1(monocyte chemotactic protein-1, MCP-1)是另外一种趋化因子,它能吸引和激活巨噬细胞的趋化因子。MCP-1 在子宫内膜异位症患者的腹膜环境中升高,刺激巨噬细胞分泌生长因子和细胞因子,维持异位内膜组织生长和促进病变的进一步发展。

四、子宫内膜异位症时巨噬细胞与其他因素相互作用

1. 吡啶胺 2,3-双加氧酶-1(indoleamine 2,3-dioxygenase-1, IDO1):吡啶胺 2,3-双加氧酶-1 是色氨酸沿犬尿酸途径分解代谢的限速酶,其高表达能导致微环境的免疫耐受。Xun 等用质粒转导异位子宫内膜细胞和在位子宫内膜细胞上调 IDO1,并使其与巨噬细胞共培养 48h。与在位子宫内膜细胞比较,异位子宫内膜细胞共培养的外周血单核细胞驱动的巨噬细胞表现出较低的吞噬能力,ESCs 增殖能力显著增强。Mei 等发现通过激活 IL-33,异位 ESCs 中

IDO1 表达的增加减弱了巨噬细胞的吞噬能力。综上所述,受 IDO1 激活的巨噬细胞可促进逆行子宫内膜组织的存活,并参与子宫内膜异位症的发病机制。

2. 巨噬细胞和 NK 细胞之间的关系:子宫内自然杀伤细胞(natural killer cell, NK)是正常子宫内膜中主要的白细胞群,在月经周期中, NK 细胞水平是变化的, NK 细胞功能障碍有助于月经期子宫内膜碎片回流腹腔的免疫逃逸,导致子宫内膜异位症。Yang 等^[20]通过体外模拟异位微环境,发现巨噬细胞与 ESCs 之间的相互作用可能会通过刺激 IL-10 和 TGF- β 的分泌来下调 NK 细胞的细胞毒性,并进一步触发异位片段的免疫逃逸,促进子宫内膜异位的进一步发生和发展。

3. 巨噬细胞铁超载:月经期间,逆流的经血使得血红素过量和铁超负荷,并进一步通过核因子激活诱导细胞损伤和增加促炎性基因的表达,引起氧化损伤和炎症反应;同时涉及腹膜巨噬细胞时,使其清除异物功能减弱,从而促进了子宫内膜组织的存活。在芬顿反应(Fenton reaction)中,超载的铁可以作为催化剂,当巨噬细胞的铁代谢在子宫内膜异位症中增强时,通过产生大量的活性氧来增强氧和氮的毒性,从而诱导细胞氧化损伤。在女性子宫内膜异位症的腹腔液中过量的 NO 可能在铁超负荷诱导的线粒体和死亡受体凋亡途径中起作用以促进子宫内膜异位症的进展。

4. 巨噬细胞促进新生血管的生成:在人类子宫内膜和浅表子宫内膜异位病变中,表达 CD163⁺/CD206⁺的巨噬细胞能分泌基质金属蛋白酶 27,巨噬细胞浸润的严重性与基质金属蛋白酶 27 表达相一致^[23]。同时,巨噬细胞能分泌表达 GM-CSF 和 GM-CSFR mRNAs,其中 GM-CSF 通过自分泌或旁分泌循环诱导子宫内膜异位症的增殖,经 Stat3 通路的激活,促进新生血管的生成。有研究者通过荧光激活细胞分选检测巨噬细胞表型,并通过酶联免疫吸附测定法测定趋化因子的分泌,发现巨噬细胞能促进内皮细胞迁移和新生血管形成。

五、展 望

综上所述,免疫系统的巨噬细胞与子宫内膜异位症存在显著性关系。NK 细胞功能的下调和巨噬细胞分化的异常导致免疫监视功能下降, IDO1 表达的上升和逆流经血引起的巨噬细胞铁超载减弱了巨噬细胞吞噬能力,以上两点造成了子宫内膜碎片逃脱免疫监视。异位症环境中产生的趋化因子加剧免疫细

胞的募集,随着巨噬细胞数量的增多,分泌因子和 MIF 打破病灶处促炎和抗炎的平衡,引起了子宫内膜异位症。同时,巨噬细胞分泌金属基质蛋白酶等促进新生血管的生成,促进了内异症的发展。但是,巨噬细胞造成子宫内膜异位症的具体机制尚未阐述清楚,还需进一步探究。

参考文献

- Zhao L, Gu C, Ye M, *et al.* Identification of global transcriptome abnormalities and potential biomarkers in eutopic endometria of women with endometriosis: a preliminary study [J]. *Biomed Rep*, 2017, 9(2): 654 – 662
- Liu X, Zhang Q, Guo SW. Histological and immunohistochemical characterization of the similarity and difference between ovarian endometriomas and deep infiltrating endometriosis [J]. *Reprod Sci*, 2018, 25(3): 329 – 340
- Vitagliano A, Noventa M, Quaranta M, *et al.* Statins as targeted "magical pills" for the conservative treatment of endometriosis: may potential adverse effects on female fertility represent the "dark side of the same coin"? A systematic review of literature [J]. *Reprod Sci*, 2016, 23(4): 415 – 428
- Vallcaneras S, Ghersa F, Bastón J, *et al.* TNFRp55 deficiency promotes the development of ectopic endometriotic-like lesions in mice [J]. *The Journal of Endocrinology*, 2016, 23(4): 415 – 428
- Nezhat C, Falik R, McKinney S, *et al.* Pathophysiology and management of urinary tract endometriosis [J]. *Nat Rev Urol*, 2017, 14(6): 359 – 372
- Riccio LD, Santulli P, Marcellin L, *et al.* Immunology of endometriosis [J]. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*, 2018, 50: 39 – 49
- Waiyaput W, Pumipichet S, Weerakiet S, *et al.* Effect of simvastatin on monocyte chemoattractant protein-1 expression in endometriosis patients: a randomized controlled trial [J]. *BMC Womens Health*, 2017, 17(1): 89
- Li C, Xu MM, Wang K, *et al.* Macrophage polarization and meta-inflammation [J]. *Transl Res*, 2018, 191: 29 – 44
- Liu K, Zhao E, Ilyas G, *et al.* Impaired macrophage autophagy increases the immune response in obese mice by promoting proinflammatory macrophage polarization [J]. *Autophagy*, 2015, 11(2): 271 – 284
- Sha H, Zhang D, Zhang Y, *et al.* ATF3 promotes migration and M1/M2 polarization of macrophages by activating tenascinC via Wnt/ β -catenin pathway [J]. *Mol Med Rep*, 2017, 16(3): 3641 – 3647
- Itoh F, Komohara Y, Takaishi K, *et al.* Possible involvement of signal transducer and activator of transcription-3 in cell-cell interactions of peritoneal macrophages and endometrial stromal cells in human endometriosis [J]. *Fertil Steril*, 2013, 99(6): 1705 – 1713
- Gou Y, Li X, Li P, *et al.* Estrogen receptor β upregulates CCL2 via NF- κ B signaling in endometriotic stromal cells and recruits macrophages to promote the pathogenesis of endometriosis [J]. *Hum Reprod*, 2019, 34(4): 646 – 658

- Tang Q, Shang F, Wang X, *et al.* Combination use of ferulic acid, ligustrazine and tetrahydropalmatine inhibits the growth of ectopic endometrial tissue: a multi-target therapy for endometriosis rats [J]. *J Ethnopharmacol*, 2014, 151(3): 1218 – 1225
- Xie Q, He H, Wu YH, *et al.* Eutopic endometrium from patients with endometriosis modulates the expression of CD36 and SIRP- α in peritoneal macrophages [J]. *Obstet Gynaecol Res*, 2019, 45(5): 1045 – 1057
- Takebayashi A, Kimura F, Kishi Y, *et al.* Subpopulations of macrophages within eutopic endometrium of endometriosis patients [J]. *Am J Reprod Immunol*, 2015, 73(3): 221 – 231
- Johan MZ, Ingman WV, Robertson SA, *et al.* Macrophages infiltrating endometriosis-like lesions exhibit progressive phenotype changes in a heterologous mouse model [J]. *Reprod Immunol*, 2019, 132: 1 – 8
- Duan J, Liu X, Wang H, *et al.* The M2a macrophage subset may be critically involved in the fibrogenesis of endometriosis in mice [J]. *Reprod Biomed Online*, 2018, 37(3): 254 – 268
- Nematian SE, Mamillapalli R, Kadakia TS, *et al.* Systemic inflammation induced by microRNAs: endometriosis-derived alterations in circulating microRNA 125b-5p and Let-7b-5p regulate macrophage cytokine production [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2018, 103(1): 64 – 74
- Wang XQ, Zhou WJ, Luo XZ, *et al.* Synergistic effect of regulatory T cells and proinflammatory cytokines in angiogenesis in the endometriotic milieu [J]. *Hum Reprod*, 2017, 32(6): 1304 – 1317
- Yang HL, Zhou WJ, Chang KK, *et al.* The crosstalk between endometrial stromal cells and macrophages impairs cytotoxicity of NK cells in endometriosis by secreting IL-10 and TGF- β [J]. *Reproduction*, 2017, 154(6): 815 – 825
- Guo B, Li L, Guo J, *et al.* M2 tumor-associated macrophages produce interleukin-17 to suppress oxaliplatin-induced apoptosis in hepatocellular carcinoma [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(27): 44465 – 44476
- Ahn SH, Edwards AK, Singh SS, *et al.* IL-17A contributes to the pathogenesis of endometriosis by triggering proinflammatory cytokines and angiogenic growth factors [J]. *J Immunol*, 2015, 195(6): 2591 – 2600
- Zhang X, Mu L. Association between macrophage migration inhibitory factor in the endometrium and estrogen in endometriosis [J]. *Exp Therapeut Med*, 2015, 10(2): 787 – 791
- Wang Y, Fu Y, Xue S, *et al.* The M2 polarization of macrophage induced by fractalkine in the endometriotic milieu enhances invasiveness of endometrial stromal cells [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2013, 7(1): 194 – 203
- Cakmak H, Basar M, Seval C, Celik Y, *et al.* Statins inhibit monocyte chemotactic protein 1 expression in endometriosis [J]. *Reprod Sci*, 2012, 19(6): 572 – 579

(收稿日期: 2019-02-11)

(修回日期: 2019-03-10)