

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2023.24.019

宫腔灌注 HCG 对反复种植失败患者子宫内膜血流、Th17 细胞和妊娠结局的影响*

李 慧 唐淮云[△] 汤丽莎 关慧娟 张 帅 宋 佳 赵佳慧

(南京医科大学康达学院附属医院 / 连云港市妇幼保健院生殖医学科 江苏 连云港 222062)

摘要 目的:观察宫腔灌注人绒毛膜促性腺激素(HCG)对反复种植失败(RIF)患者子宫内膜血流、辅助性 T 细胞 17(Th17)和妊娠结局的影响。**方法:**回顾性分析连云港市妇幼保健院 2020 年 3 月~2022 年 12 月期间收治的 RIF 行冻融囊胚移植的患者 148 例。根据冻融囊胚移植前是否进行宫腔灌注 HCG 分为对照组(n=71)和研究组(n=77),对照组接受常规子宫内膜准备方案,研究组则在对照组的基础上接受宫腔灌注 HCG 治疗。对比两组子宫内膜螺旋动脉血流参数、Th17 细胞因子和妊娠结局。**结果:**两组移植后搏动指数(PI)、阻力指数(RI)下降,且研究组低于对照组($P<0.05$)。两组移植后白细胞介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-17(IL-17)、Th17 细胞比例下降,且研究组低于对照组($P<0.05$)。研究组的囊胚种植率、活产率、临床妊娠率高于对照组,生化妊娠率低于对照组($P<0.05$),两组早期流产率组间对比无统计学差异($P>0.05$)。**结论:**宫腔灌注 HCG 可有效改善 RIF 患者子宫内膜血流、Th17 细胞水平以及妊娠结局,具有较好的临床应用价值。

关键词:宫腔灌注;人绒毛膜促性腺激素;反复种植失败;内膜血流;辅助性 T 细胞 17;妊娠结局

中图分类号:R714.2 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2023)24-4697-04

Effects of Intrauterine Infusion of HCG on Endometrial Blood Flow, Th17 Cell, and Pregnancy Outcome in Patients with Recurrent Implantation Failure*

LI Hui, TANG Huai-yun[△], TANG Li-sha, GUAN Hui-juan, ZHANG Shuai, SONG Jia, ZHAO Jia-hui

(Department of Reproductive Medicine, Affiliated Hospital of Kangda College of Nanjing Medical University/Lianyungang Maternal and Child Health Hospital, Lianyungang, Jiangsu, 222062, China)

ABSTRACT Objective: To observe the effects of intrauterine infusion of human chorionic gonadotropin (HCG) on endometrial blood flow, helper T cell 17 (Th17) and pregnancy outcome in patients with recurrent implantation failure (RIF). **Methods:** A retrospective analysis was performed on 148 patients with RIF who underwent freeze-thawing blastocyst transplantation in the Lianyungang Maternal and Child Health Hospital from March 2020 to December 2022. According to whether intrauterine infusion of HCG was performed before freeze-thawing blastocyst transplantation, they were divided into control group (n=71) and study group (n=77). The control group received conventional endometrial preparation regimen, while the study group received intrauterine infusion of HCG therapy on the basis of the control group. Blood flow parameters of endometrial spiral artery, Th17 cytokine and pregnancy outcome were compared in the two groups. **Results:** After transplantation, the pulsatile index (PI) and resistance index (RI) of two groups decreased, and the study group was lower than the control group ($P<0.05$). The proportion of interleukin-6 (IL-6), tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-17 (IL-17) and Th17 cells of two groups after transplantation decreased, and the study group was lower than the control group ($P<0.05$). The blastocyst implantation rate, live birth rate and clinical pregnancy rate of the study group were higher than those of the control group, and the biochemical pregnancy rate was lower than that of the control group ($P<0.05$). There was no statistical difference in the early abortion rate in the two groups ($P>0.05$). **Conclusion:** Intrauterine infusion of HCG can effectively improve endometrial blood flow, Th17 cell level and pregnancy outcome in patients with RIF, and which has good clinical application value.

Key words: Intrauterine perfusion; Human chorionic gonadotropin; Recurrent implantation failure; Endometrial blood flow; Helper T cell 17; Pregnancy outcome

Chinese Library Classification(CLC): R714.2 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2023)24-4697-04

* 基金项目:江苏省卫生健康委科研课题(H2018014)

作者简介:李慧(1982-),女,硕士,副主任医师,研究方向:生殖医学,E-mail: 18036626563@163.com

[△] 通讯作者:唐淮云(1978-),女,硕士,主任医师,研究方向:生殖医学,E-mail: thylyg@163.com

(收稿日期:2023-05-08 接受日期:2023-05-31)

前言

近年来,随着我国计划生育政策的调整及女性生育年龄的升高,有更多生育要求的女性求助于辅助生殖技术(ART),虽然 ART 已取得明显进步,但胚胎种植率低的问题仍然困扰着临床医师和患者,全球约 5%~10%ART 患者依旧受到反复种植失败(RIF)的困扰^[1]。RIF 病因主要分为胚胎因素及母体因素,胚胎染色体核型异常是种植失败的重要因素之一,部分 RIF 的发生还与宫腔环境异常有关^[2,3]。子宫内膜容受性为胚胎种植的先决条件,相关研究显示,通过改善子宫内膜容受性、加强子宫内膜与胚胎同步化及降低内膜的免疫排斥反应可以有效提高胚胎的种植率^[4,5]。人绒毛膜促性腺激素(HCG)是由滋养层细胞分泌的促进胚胎种植的胎盘激素^[6]。宫腔灌注 HCG 会刺激包括血管内皮生长因子、白血病抑制因子、基质金属蛋白酶(MMP)-9 等因子的激活,同时抑制巨噬细胞集落刺激因子、胰岛素样生长因子结合蛋白-1(IGFBP-1)分泌,进而提高子宫内膜容受性^[7]。HCG 还可通过激活 MMP,降低子宫内膜的免疫排斥反应,促进滋养层细胞对子宫内膜的侵袭,对维持母胎界面的免疫环境的平衡起到重要的作用^[8,9]。本研究回顾性分析宫腔灌注 HCG 对 RIF 患者子宫内膜血流、辅助性 T 细胞 17(Th17)和妊娠结局的影响,以期对 RIF 的治疗提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料

回顾性分析连云港市妇幼保健院 2020 年 3 月~2022 年 12 月期间收治的 RIF 行冻融囊胚移植的患者 148 例。本研究经连云港市妇幼保健院医学伦理委员会审核批准通过。纳入标准:(1)既往 3 次或 3 次以上冻胚移植周期胚胎着床失败,且每次移植至少一枚优质胚胎;(2)有卵裂期胚胎冻存拟行冻融囊胚移植的患者;(3)年龄范围 18 岁及以上;(4)双方染色体均正常。排除标准:(1)合并严重的心、肾、肝等脏器功能障碍;(2)合并甲状腺功能异常、糖尿病、自身免疫性疾病、心脏病等疾病;(3)合并子宫内膜异位症、子宫腺肌病、子宫畸形及多发性子宫肌瘤等器质性病变;(4)存在宫腔内环境及解剖结构异常,如子宫内膜炎、黏膜下子宫肌瘤、宫腔积液、子宫内膜结核、中重度宫腔粘连、子宫内膜多发息肉等;(5)一侧或双侧输卵管积水行手术结扎处理者;(6)既往存在移植困难史;(7)既往存在复发性流产病史。148 例患者根据冻融囊胚移植前是否进行宫腔灌注 HCG 分为对照组(n=71)和研究组(n=77),对照组年龄范围 21~37 岁,平均(29.68±3.15)岁;不孕年限范围 2~10 年,平均(5.28±0.57)年;体质指数范围 19~28 kg/m²,平均(23.86±1.27)kg/m²。研究组年龄范围 22~37 岁,平均(29.37±2.98)岁;不孕年限范围 3~11 年,平均(5.32±0.64)年;体质指数范围 20~27 kg/m²,平均(23.79±0.84)kg/m²。两组一般资料组间比较未见差异(P>0.05),均衡可比。

1.2 方法

两组患者均使用降调后激素替代周期方案。患者月经第 1 天或第 2 天予注射用醋酸曲普瑞林注射液 [生产厂家 Lpsen Pharma(Biotech),注册证号 H20140298,规格:3.75 mg]3.75 mg

皮下注射,28 d 后复诊达到降调节标准后联合激素替代准备内膜,阴道应用雌二醇片/雌二醇地屈孕酮片复合包装(Abbott Biologicals B.V.,注册证号 H20150345,规格:雌二醇片含雌二醇 2 mg;雌二醇地屈孕酮片含雌二醇 2 mg 和地屈孕酮 10 mg)前 3 d 红片 2 片/日,后 4 d 3 片/日,7d 后 B 超监测子宫内膜生长情况,必要时调整用药剂量,红片用药第 11-14d B 超监测内膜,当子宫内膜厚度≥8 mm 时,改用黄片,加黄体酮软胶囊(法国法杏大药厂 Laboratoires Besins International,注册证号 H20090062,规格:30 粒/盒)600 mg/d 转化内膜,于转化内膜后 5 d 移植,移植后按原用药方案进行黄体支持。研究组在对照组基础上联合 HCG 宫腔灌注。在移植日用移植管宫腔灌注 HCG 500IU 50 μL,7 min 后进行胚胎移植。

1.3 观察指标

(1)子宫内膜螺旋动脉血流参数 两组降调前、移植后,采用彩色多普勒超声系统(深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司,规格:Z6)检测子宫内膜螺旋动脉血流参数:搏动指数(PI)、阻力指数(RI)。(2)Th17 细胞因子 所有患者均在降调前、移植后的清晨空腹状态下采集 10 mL 静脉血,离心半径 6 cm,经 3700 r/min 离心 8 min,取上层血清置于 -80℃ 冷藏待测。采用酶联免疫吸附法检测 Th17 相关细胞因子:白细胞介素-6(试剂盒购自上海抚生实业有限公司,IL-6)、白细胞介素-17(试剂盒购自上海抚生实业有限公司,IL-17)、肿瘤坏死因子-α[试剂盒购自上海将来实业股份有限公司,TNF-α]。应用流式细胞仪(上海厦泰生物科技有限公司生产,规格:NL-CLC B14)检测外周血 Th17 细胞比例。(3)妊娠结局 比较两组的妊娠结局情况,包括生化妊娠率、囊胚种植率、临床妊娠率、早期流产率、活产率。生化妊娠率=生化妊娠周期数/移植周期数×100%;囊胚种植率=着床孕囊数/移植胚胎总数×100%;临床妊娠率=妊娠周期数/移植周期数×100%;早期流产率=早期流产周期数/妊娠周期数×100%;活产率=活产周期数/移植周期数×100%。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 26.0 软件处理数据。计量资料用($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用 t 检验;计数资料采用频数或率(%)表示,组间比较采用卡方检验。检验水准为 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 子宫内膜螺旋动脉血流参数对比

两组降调前 PI、RI 组间比较差异无统计学意义(P>0.05)。两组移植后 PI、RI 下降,且研究组低于对照组(P<0.05),见表 1。

2.2 Th17 细胞因子对比

两组降调前 IL-6、IL-17、TNF-α、Th17 细胞比例组间比较差异无统计学意义(P>0.05)。两组移植后 IL-6、IL-17、TNF-α、Th17 细胞比例下降,且研究组低于对照组(P<0.05),见表 2。

2.3 妊娠结局对比

研究组囊胚种植率、临床妊娠率、活产率高于对照组,生化妊娠率低于对照组(P<0.05)。两组早期流产率组间对比无统计学差异(P>0.05),见表 3。

表 1 子宫内膜螺旋动脉血流参数对比($\bar{x} \pm s$)Table 1 Comparison of endometrial spiral artery blood flow parameters($\bar{x} \pm s$)

Groups	Time	PI	RI
Control group(n=71)	Before falling tone	1.49± 0.27	0.82± 0.09
	After transplantation	1.16± 0.21	0.71± 0.08
t		8.129	7.697
P		<0.001	<0.001
Study group(n=77)	Before falling tone	1.47± 0.31	0.83± 0.11
	After transplantation	0.92± 0.18 ^a	0.62± 0.07 ^a
t		13.463	14.133
P		<0.001	<0.001

Note: Compared with the control group after transplantation, ^aP<0.05.

表 2 Th17 细胞因子对比($\bar{x} \pm s$)Table 2 Comparison of Th17 cytokine($\bar{x} \pm s$)

Groups	Time	IL-6 (pg/mL)	IL-17 (pg/mL)	TNF-α(mg/L)	Proportion of helper T cell 17(%)
Control group(n=71)	Before falling tone	31.26± 2.48	73.27± 4.59	23.46± 3.32	1.31± 0.29
	After transplantation	27.38± 2.51	61.96± 4.32	16.39± 2.78	1.02± 0.27
t		9.265	15.119	13.757	6.167
P		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
Study group(n=77)	Before falling tone	31.34± 2.59	73.32± 4.52	23.11± 2.53	1.32± 0.35
	After transplantation	24.67± 2.43 ^a	49.48± 3.48 ^a	11.35± 2.49 ^a	0.79± 0.16 ^a
t		16.480	36.672	29.070	12.085
P		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

Note: Compared with the control group after transplantation, ^aP<0.05.

表 3 妊娠结局对比 [例(%)]

Table 3 Comparison of pregnancy outcome [n(%)]

Groups	Blastocyst implantation rate	Biochemical pregnancy rate	Clinical pregnancy rate	Live birth rate	Early miscarriage rate
Control group(n=71)	17(23.94)	20(28.17)	28(39.44)	15(21.13)	10(14.08)
Study group(n=77)	31(40.26)	9(11.69)	45(58.44)	32(41.56)	6(7.79)
χ^2	4.487	6.368	5.338	7.115	1.517
P	0.034	0.012	0.021	0.008	0.218

3 讨论

近年来,随着 ART 医学技术的不断进步,冻融胚胎移植已广泛应用于辅助生殖领域^[10]。而胚胎着床是一个涉及胚胎与子宫内膜分子相互作用的复杂过程。故针对不同人群选择合适的治疗方案是临床医师面临的主要问题。临床常用的子宫内膜准备方案主要目标在于改善子宫内膜微循环状态,提高机体免疫耐受,以改善妊娠结局。有研究显示^[11],月经规律的女性在子宫内膜准备方案中并无有明确的临床优势。对于排卵障碍的患者子宫内膜准备方案则更倾向于选择激素替代治疗。激素替代周期方案通过外源性雌孕激素的使用,可有效控制子宫内膜发

育,掌握胚胎移植时机,但该方案有时无法完全抑制垂体,因此用药期间可能出现优势卵泡发育,干扰胚胎着床的内环境^[12]。宫腔灌注指用移植管经阴道进入宫颈,穿过宫颈内后将药液缓慢推入宫腔内,用以改善子宫内膜容受性的一种方法,尤其是针对 RIF 患者,可以通过改善子宫内膜容受性,提高胚胎种植率^[13]。临床使用宫腔灌注的药物主要为 HCG,HCG 是卵泡着床前分泌的一种细胞因子,能够改善因激素非生理水平导致容受窗偏移的子宫内膜,是成功受孕的关键因子^[14]。有荟萃分析提示,宫腔灌注 HCG 可以促进子宫内膜重塑和胚胎粘附过程,提高胚胎种植率和临床妊娠率^[15,16]。

本文的研究结果表明,宫腔灌注 HCG 可有效改善 RIF 患

者子宫内膜螺旋动脉血流参数。PI、RI 可反映子宫内膜的血流情况,PI、RI 下降提示子宫内膜血流改善良好。分析可能是因为 HCG 具有释放各种细胞因子、诱导子宫内膜合成的作用,可控制胎盘绒毛膜细胞的侵袭及种植,有助于减少子宫收缩及内膜蠕动波,从而改善机体子宫内膜血流状况^[7]。相关研究也发现 HCG 可通过上调子宫内膜细胞血管内皮生长因子的基因表达刺激血管生成,从而改善子宫内膜微循环状态^[8]。既往研究表明^[9],免疫特别是免疫耐受的相关细胞因子,在胚胎移植过程及妊娠维持中具有至关重要的作用。同时也有不少研究证实^[20,21],Th17 细胞参与妊娠的建立和维持。Th17 细胞可分泌细胞因子 IL-6、TNF- α 、IL-17,从而促进自身免疫和移植排斥的发生,最终引起早期妊娠失败^[2]。本次研究结果显示,宫腔灌注 HCG 可有效改善 RIF 患者的 Th17 细胞和 IL-6、IL-17、TNF- α 水平。这可能是因为宫腔灌注 HCG 通过自分泌促进细胞滋养细胞的分化,调节子宫内膜局部免疫微环境诱导母体和胚胎之间的免疫耐受,抑制炎症反应,有利于成功妊娠^[23]。本次研究结果还显示,宫腔灌注 HCG 可有效改善 RIF 患者的妊娠结局。其机制可能为 HCG 通过自分泌促进绒毛外滋养细胞的迁移,诱导内间质细胞分泌 IL-6、转化生长因子- β 以旁分泌形式作用于 Treg 细胞的表面受体而发挥作用,调节子宫内膜局部免疫微环境,诱导子宫内膜重构以及增强子宫内膜容受性,最终改善患者的妊娠结局^[24,25]。

综上所述,宫腔灌注 HCG 可调节 RIF 患者子宫内膜血流、Th17 细胞水平,一定程度上改善患者的妊娠结局。

参考文献(References)

- [1] Benkhalifa M, Joao F, Duval C, et al. Endometrium Immunomodulation to Prevent Recurrent Implantation Failure in Assisted Reproductive Technology [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(21): 12787
- [2] Franasiak JM, Alecsandru D, Forman EJ, et al. A review of the pathophysiology of recurrent implantation failure. *Fertil Steril* [J]. 2021, 116(6): 1436-1448
- [3] Bashiri A, Halper KI, Orvieto R. Recurrent Implantation Failure-update overview on etiology, diagnosis, treatment and future directions[J]. *Reprod Biol Endocrinol*, 2018, 16(1): 121
- [4] 茹慧波,吴纯,杨扬,等.反复胚胎种植失败与反复妊娠丢失相关母体危险因素比较[J]. *中国性科学*, 2023, 32(7): 37-41
- [5] 石森林,吕爱香,宋文妍,等.胚胎发育动力学参数与胚胎种植率的关系[J]. *郑州大学学报(医学版)*, 2019, 54(4): 563-567
- [6] Herkert D, Meljen V, Muasher L, et al. Human Chorionic Gonadotropin-A Review of the Literature [J]. *Obstet Gynecol Surv*, 2022, 77(9): 539-546
- [7] 季晓媛,苏雁,李欣,等.宫腔灌注 HCG 对反复种植失败患者妊娠结局的影响[J]. *东南大学学报(医学版)*, 2021, 40(1): 7-11
- [8] 鹿战军,周君桂.人绒毛膜促性腺激素对绒毛癌细胞系 JEG-3 表达基质金属蛋白酶-19 的影响 [J]. *中国临床药理学杂志*, 2009, 25(5): 430-433
- [9] 王珊.宫腔灌注 HCG 对复发性流产患者子宫内膜容受性及临床妊娠率的影响[J]. *现代中西医结合杂志*, 2016, 25(11): 1218-1220
- [10] 贾俊龙,程耀萍,王玲,等.冻融胚胎移植周期中胚胎致密化的应用价值[J]. *实用医学杂志*, 2023, 39(9): 1118-1122
- [11] 焦雨帆,刘飞萍,傅夏燕,等.不同子宫内膜准备方案与冻融胚胎移植患者妊娠结局的相关性分析 [J]. *同济大学学报(医学版)*, 2022, 43(1): 107-112
- [12] 赵梓宇,王晓宁,徐鸿毅,等.促黄体生成素在辅助生殖技术中的研究进展[J]. *生殖医学杂志*, 2023, 32(3): 469-474
- [13] Kong X, Tang G, Liu Y, et al. Efficacy of intrauterine infusion therapy before embryo transfer in recurrent implantation failure: A systematic review and network meta-analysis [J]. *J Reprod Immunol*, 2023, 156(3): 103819
- [14] Zhang T, Chen X, Wang CC, et al. Intrauterine infusion of human chorionic gonadotropin before embryo transfer in IVF/ET cycle: The critical review[J]. *Am J Reprod Immunol*, 2019, 81(2): e13077
- [15] Osman A, Pundir J, Elsherbini M, et al. The effect of intrauterine HCG injection on IVF outcome: a systematic review and meta-analysis[J]. *Reprod Biomed Online*, 2016, 33(3): 350-359
- [16] 李荣,李汝斐,谭茁杰,等.宫腔灌注人绒毛膜促性腺激素对反复移植失败患者冻融胚胎移植后妊娠结局的影响[J]. *广西医科大学学报*, 2021, 38(6): 1192-1195
- [17] 王薇,袁月,杨婷,等.人绒毛膜促性腺激素改善反复种植失败患者冻融周期子宫内膜厚度及血流的研究[J]. *中华生殖与避孕杂志*, 2018, 38(10): 837-841
- [18] 魏占才,高明霞,张学红.hCG 对卵泡及子宫内膜发育作用的研究进展[J]. *生殖与避孕*, 2016, 36(9): 758-762
- [19] 陈全,杨晓葵.反复种植失败的体外受精-胚胎移植免疫学因素研究进展[J]. *中国计划生育和妇产科*, 2020, 12(1): 16-19
- [20] Esparvarinha M, Madadi S, Aslanian-Kalkhoran L, et al. Dominant immune cells in pregnancy and pregnancy complications: T helper cells (TH1/TH2, TH17/Treg cells), NK cells, MDSCs, and the immune checkpoints[J]. *Cell Biol Int*, 2023, 47(3): 507-519
- [21] 瞿慧,张霞,梁朝明,等.不明原因复发性流产再次妊娠患者血清 1,25 (OH)2D3、sTim-3 与 Th17/Treg 免疫失衡和妊娠结局的关系 [J]. *现代生物医学进展*, 2023, 23(9): 1796-1800
- [22] 杨丽,唐明燕,徐珍珍,等.不明原因复发性流产患者再次妊娠早孕期外周血 Treg 及 Th17 细胞与妊娠结局关系的研究[J]. *中华检验医学杂志*, 2017, 40(3): 174-179
- [23] 熊永崂,蔡桂丰,杨桂艳,等.冻融囊胚移植前 HCG 宫腔灌注对 IVF-ET 反复种植失败患者妊娠结局的影响 [J]. *生殖医学杂志*, 2021, 30(5): 616-619
- [24] Yuan B, Luo S, Mao J, et al. Effects of intrauterine infusion of platelet-rich plasma on hormone levels and endometrial receptivity in patients with repeated embryo implantation failure [J]. *Am J Transl Res*, 2022, 14(8): 5651-5659
- [25] Liu X, Ma D, Wang W, et al. Intrauterine administration of human chorionic gonadotropin improves the live birth rates of patients with repeated implantation failure in frozen-thawed blastocyst transfer cycles by increasing the percentage of peripheral regulatory T cells[J]. *Arch Gynecol Obstet*, 2019, 299(4): 1165-1172