

# 子宫内膜容受性评估指标——胞饮突的研究进展

骆东浩

浙江大学医学院附属邵逸夫医院

人类的胚胎于子宫内膜着床是一系列复杂的程序，有许多生物机制参与其中。其中影响成功着床的两大因素是胚胎的质量和子宫内膜对胚胎的容受性。尽管在不孕症的治疗中目前的辅助生殖技术已取得显著进步，控制性超排卵新技术，智能的胚胎培养系统以及超声引导的胚胎移植技术的运用极大地提高了临床妊娠率，在体外受精和胚胎移植(IVF-ET)中，体外受精与胚胎植入子宫可达90%的成功率，但是临床妊娠率并没有相应的提高，一直在40%左右浮动，出生率仅为30%左右<sup>[1-2]</sup>。目前限制IVF成功的重要原因仍然是胚胎植入失败，而究其原因可能来自于胚胎与母体子宫内膜之间缺乏同步性<sup>[3-4]</sup>，即子宫内膜在胚胎最适植入时期缺乏容受性。

子宫内膜容受性(ER)是指子宫内膜接受胚泡并容许胚泡诱导内膜间质发生一系列变化，最后植入内膜的一种能力。子宫内膜能够最大限度的接纳胚胎，使胚胎顺利着床的时间称为“种植窗”(WOI)，过早或过晚都不能接纳胚胎种植，也即种植窗关闭<sup>[5]</sup>。目前普遍认为种植窗的开放时间在黄体中期，最佳的子宫内膜容受性时间大约发生在黄体生成素(LH)峰值后6~8天<sup>[6-7]</sup>。现就近年来子宫内膜容受性评估的指标及临床运用的研究进展作一综述如下。

## 一、胞饮突

胞饮突的发现源自1958年，Nilsson<sup>[8]</sup>通过电子扫描显微镜(SEM)观察大鼠子宫内膜，发现内膜腔上皮细胞表面的微绒毛在胚胎着床期融合消失并出现一种膨大的光滑质膜突起，这种结构具有胞饮功能因而被命名为“胞饮小泡”。Nikas<sup>[9]</sup>其后观察到在胚胎着床期子宫内膜上皮细胞表面“毛刺样”的微绒毛也能在短时间内融合成花状膜突出物；随后在人类的着床期子宫内膜中类似的结构也被发现<sup>[10-11]</sup>，自此以后一系列对胞饮突的研究开始了。

1. 胞饮突的发育：人类子宫内膜腔上皮是由两种细胞构成的，分别是纤毛细胞和微绒毛细胞，纤毛细胞和微绒毛细胞以1:20~1:30的比例分布在子宫内膜表面。纤毛细胞散在分布于微绒毛细胞之中，在整个黄体期其密度和超微结构基本没有变化，提示纤毛细胞不受周期性激素刺激的影响。而在黄体期另一种细胞，微绒毛细胞则经历一系列变化，起始阶段细胞慢慢膨大，表面附着的微绒毛变短、变细，随后微绒毛慢慢融合至消失进而形成名为胞饮突的结构。胞饮突细胞表面光滑，形似“气球形”<sup>[12]</sup>。胞饮突的数量在不同的患者中存在较大个体差异性，

根据胞饮突在整个子宫内膜表面积所占的百分比, 可将其丰度分层为: 丰富 (>50%)、适中 (20%~50%) 和微量 (<20%) 3 个等级。又根据形态的变化可将胞饮突分为发育中、发育完全、衰退 3 个阶段。发育中的胞饮突细胞膨胀, 微绒毛减少渐渐融合, 顶部形成一个光滑细长的膜状突起; 发育完全的胞饮突呈“水泡样”肿胀的质膜状态, 表面光滑无附着或附着少许短细微绒毛, 顶部可有细微褶皱, 是子宫内膜容受性最佳时期的标志; 衰退期的胞饮突表面逐渐出现较大皱褶, 消失的微绒毛重新出现<sup>[9]</sup>。在子宫内膜腺体口周围胞饮突分布更密集, 其原因不明。透射电镜观察到, 胞饮突是子宫内膜上皮细胞顶端胞浆的质膜突出物, 内含与分泌作用相关的细胞器及囊泡, 推测其可能具有顶浆分泌作用。

2. 胞饮突相关因子: 寻找与胞饮突相关的细胞因子, 对于胞饮突的表达的检测与种植窗的评估将提供更直接的帮助。白血病抑制因子(LIF)是一种有多种白细胞介素(IL)多向性的细胞活素, 为 IL-6 家族的成员。LIF 通过与细胞表面的 LIF 受体及 gp130 受体链组成的复合物结合而发挥生物活性。LIF 是目前最有希望作为胞饮突标志的细胞因子, Aghajanova 等<sup>[13]</sup>研究显示, 在分泌期 LIF 和 LIF 受体(LIFR)表达量与胞饮突的出现相关, 提示了 LIF 和胞饮突对人类胚胎种植的重要性。有研究发现, LIF 在胚泡着床过程中的作用机制主要有: (1)LIF 信号通路激活引发子宫内膜蜕膜反应, 便于胚胎侵入; (2)增强内膜基质细胞的增殖能力, 在胚胎植入和滋养层侵入过程中避免基质细胞遭到破坏; (3)调节金属基质蛋白酶、尿激酶型纤溶酶原激活因子 mRNA 表达, 间接辅助胚胎滋养层细胞的侵入; (4)刺激胚胎滋养层细胞分泌纤连蛋白, 促进子宫内膜整合素  $\alpha v \beta 3$  的表达, 间接促进内膜的黏附作用。胞饮突能以胞吐方式分泌 LIF, 并且胞饮突表面表达 LIFR, 促进 LIF 的作用, 影响胚胎着床<sup>[14-17]</sup>。

胞饮突的发育、衰退与血清孕激素浓度的升高、降低有较强关联性。通过免疫组织化学方法发现, 随着胞饮突的形成发育, 子宫内膜腺上皮和腔上皮细胞表面的孕激素受体(PRB)表达快速下降, 而血清雌激素浓度高低及内膜细胞表面雌激素受体(ER)表达量与不影响胞饮突的形成过程。由此推断, 血清孕激素水平的增加和反馈性 PRB 的表达降低在胞饮突的发育过程中起重要作用<sup>[18]</sup>。故而有学者提出了雌激素/孕激素( $E_2/P$ )这一概念, 一定的  $E_2/P$  决定了子宫内膜腔上皮表面糖基结合物的比例, 如果血清雌激素浓度较高, 使得  $E_2/P$  比值升高, 则会降低子宫内膜容受性。目前认为在注射人绒毛膜促性腺激素(HCG)当日如果  $E_2$  血清浓度 >300 pmol/L 时, 将抑制胞饮突的形成<sup>[19-20]</sup>。临床上可通过调整雌孕激素的剂量, 在适宜的内膜容受性种植窗内进行移植, 以提高胚胎着床率及临床妊娠率<sup>[21-23]</sup>。

3. 胞饮突的功能与临床预测价值: Bentin-Ley<sup>[24]</sup>在人类体外胚胎着床模型中观察到在胞饮突丰富区域有许多胚胎种植, 胚胎粘附位置位于胞饮突顶端。子宫内膜细胞与胚胎界面处于发育完全或发育中状态, 且与滋养外胚层细胞相连, 推断胞饮突的质膜可能含有某种受体适合囊胚粘附。Bentin-Ley<sup>[25]</sup>后来又发现, 并不是所有胚胎都粘附在胞饮突顶端, 部分胚胎通过尖端复合连接体与胞饮

突的侧面质膜发生链接，胚胎与内膜间的相互作用可能不需要表面胞饮突的参与。目前胞饮突的粘附功能仍存争议，需要更多实验来论证。此外，胞饮突表现出吞饮作用，研究者将具有电子示踪功能的铁蛋白导入大鼠的宫腔，通过电子显微镜观察发现胞饮突通过大囊泡将铁蛋白吸收入上皮细胞内<sup>[26-27]</sup>，大鼠内膜胞饮突具有的这种摄取大分子物质的能力，可能会促使胚胎与子宫内膜更接近，对胚胎定位有利，但在人类子宫内膜中，目前尚未发现胞饮突有吞饮功能。

2011年 Sudoma 和 Goncharova<sup>[28]</sup>进行了一项囊括 55 名至少 3 次胚胎反复种植失败妇女的临床试验，在孕激素补充第 8 天活检子宫内膜观察胞饮突，只有 12.7% 的被观察患者胞饮突发育成熟，10.9% 的患者存在发育过早，38.2% 的患者存在滞后，其他患者存在胚胎胞饮突发育不同步等异常现象；随后这 48 名胞饮突发育异常的患者被随机分为标准方案组和改进方案组，标准方案组在补充孕激素第 7 天移植 5d 龄囊胚，改进方案组孕激素补充时间是不同的，取决于每例活检胞饮突得到的发育情况来调整，在有较多胞饮突发育完全时移植囊胚，结果发现改进组的治疗效果在种植率、妊娠率、活产率都显著高于标准组，认为胞饮突可以评估子宫内膜种植窗，具有临床预测价值。

4. 胞饮突作为内膜容受性标志物的局限性：尽管一系列的研究发现了胞饮突在子宫内膜容受性中发挥的作用和临床价值，但对胞饮突的准确检测仍存在一些问题。首先，胞饮突的形态：扫描电子显微镜是观察胞饮突唯一可靠的工具，然而目前缺乏一个客观标准来定义什么样的结构称为胞饮突。子宫内膜表面的胞饮突存发育中、发育完全和衰退这 3 种阶段，判断形态具有一定的人为主观性，使得胞饮突的评估较难达到一致结论。其次，胞饮突的分布：由于内膜活检只取少量组织用于检测，组织块之间异质性较大，致使在计算胞饮突的平均覆盖范围时异常困难，而且由于被检测区域较少，评估获得的胞饮突覆盖率不能完全代表整个子宫内膜的状态<sup>[29]</sup>。

## 二、其他子宫内膜容受性标志物

1. 蛋白组学：在月经周期中，子宫内膜的基因和蛋白表达水平的改变会影响内膜组织学和生理学功能。目前对于子宫内膜容受性评估和胚胎种植窗的研究在多个领域皆有进展。有学者通过比较子宫内膜从增生期到分泌期、从种植前期到种植窗期的分泌蛋白谱动态变化过程<sup>[30]</sup>，发现一系列表达有显著差异的蛋白，例如膜联蛋白 IV、Rho-GDI  $\alpha$ 、CLIC1、PGRMC1 等，并从中鉴定了一些与 ER 相关的蛋白，由此衍生出一种新的方法即蛋白组学。

2. 子宫内膜容受性芯片：西班牙学者 Patricia<sup>[31]</sup> 在 2011 年构建了一种基因芯片，子宫内膜容受性芯片(endometrial receptivity array, ERA)通过检测事先挑选的 238 种基因的表达，使用生物信息学的预测程序评估子宫内膜容受性的转录印记，进而确定胚胎移植窗口期，临床试验获得了良好的内膜状态分型，提示基因表达谱变化可以作为子宫内膜容受性的标志。随后 Patricia 等<sup>[32]</sup>又进行了一项囊括 86 例健康志愿者的研究，在自然周期活检内膜并分为两组，分别

用 ERA 和传统病理学 HE 染色法评估子宫内膜容受性, 结果表明, 以 LH 峰值为参照, ERA 评估结果与 LH 峰的一致性较病理学方法更高, 且重复性好, 是极具潜力的子宫内膜容受性评估方法。

### 三、展望

胚胎着床是一种受多方面因素精确调节的复杂过程。人们目前对于子宫内膜容受性形成的具体机制了解还很少, 在临床工作中依旧倚靠传统方法和常规标志物进行子宫内膜容受性诊断, 寻找更精确的子宫内膜容受性标志物和更简便的诊断方法迫在眉睫, 相信随着国内外学者对子宫内膜容受性机制研究的不断深入, 医学检测技术的不断进步, 更多合适的子宫内膜容受性标志物和无创快速廉价的诊断方法会越来越的涌现, 给不孕治疗和辅助生殖的患者带来更高的妊娠率和更好的生育质量。

## 参考文献

- [1] Gleicher N, Weghofer A, Barad D. Update on the comparison of assisted reproduction outcomes between Europe and the USA: the 2002 data [J]. *Fertil Steril*, 2007, 87, 1301-5. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2006.11.024
- [2] Gerris J M. Single embryo transfer and IVF/ICSI outcome: a balanced appraisal [J]. *Hum Reprod Update*, 2005, 11, 105-21. DOI: 10.1093/humupd/dmh049
- [3] Lopata A. Implantation of the human embryo [J]. *Hum Reprod*, 1996, 11 Suppl 1, 175-84; discussion 193-5.
- [4] Navot D, Scott R T, Droesch K, et al. The window of embryo transfer and the efficiency of human conception in vitro [J]. *Fertil Steril*, 1991, 55, 114-8. DOI: 10.1016/S0015-0282(16)54069-2
- [5] Cavagna M, Mantese J C. Biomarkers of endometrial receptivity--a review [J]. *Placenta*, 2003, 24 Suppl B, S39-47. DOI: 10.1016/S0143-4004(03)00184-X
- [6] Kao L C, Tulac S, Lobo S, et al. Global gene profiling in human endometrium during the window of implantation [J]. *Endocrinology*, 2002, 143, 2119-38. DOI: 10.1210/endo.143.6.8885
- [7] Giudice L C. Microarray expression profiling reveals candidate genes for human uterine receptivity [J]. *Am J Pharmacogenomics*, 2004, 4, 299-312. DOI: 10.2165/00129785-200404050-00003
- [8] Nilsson O. Ultrastructure of mouse uterine surface epithelium under different estrogenic influence. 4. Uterine secretion [J]. *J Ultrastruct Res*, 1959, 2, 331-41. DOI: 10.1016/S0022-5320(59)80005-8
- [9] Nikas G, Aghajanova L. Endometrial pinopodes: some more understanding on human implantation? [J]. *Reprod Biomed Online*, 2002, 4 Suppl 3, 18-23. DOI: 10.1016/S1472-6483(12)60111-4

- [10] Martel D, Frydman R, Glissant M, et al. Scanning electron microscopy of postovulatory human endometrium in spontaneous cycles and cycles stimulated by hormone treatment [J]. *J Endocrinol*, 1987, 114, 319-24. DOI: 10.1677/joe.0.1140319
- [11] Johannisson E, Nilsson L. Scanning electron microscopic study of the human endometrium [J]. *Fertil Steril*, 1972, 23, 613-25. DOI: 10.1016/S0015-0282(16)39188-9
- [12] 肖帆, 黄筱金. 胞饮突与雌、孕激素 [J]. *实用临床医学*, 2007, 131-133. DOI: 10.3969/j.issn.1009-8194.2007.02.063  
Xiao F, Huang XJ. 胞饮突与雌、孕激素 [J]. *PRACTICAL CLINICAL MEDICINE*, 2007, 131-133. DOI: 10.3969/j.issn.1009-8194.2007.02.063
- [13] Aghajanova L, Stavreus-Evers A, Nikas Y, et al. Coexpression of pinopodes and leukemia inhibitory factor, as well as its receptor, in human endometrium [J]. *Fertil Steril*, 2003, 79 Suppl 1, 808-14. DOI: 10.1016/S0015-0282(02)04830-6
- [14] Song H, Lim H. Evidence for heterodimeric association of leukemia inhibitory factor (LIF) receptor and gp130 in the mouse uterus for LIF signaling during blastocyst implantation [J]. *Reproduction*, 2006, 131, 341-9. DOI: 10.1530/rep.1.00956
- [15] Xu B, Sun X, Li L, et al. Pinopodes, leukemia inhibitory factor, integrin-beta3, and mucin-1 expression in the peri-implantation endometrium of women with unexplained recurrent pregnancy loss [J]. *Fertil Steril*, 2012, 98, 389-95. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2012.04.032
- [16] Chen C, Yan Q, Liu K, et al. Endometrial Receptivity Markers in Mice Stimulated With Raloxifene Versus Clomiphene Citrate and Natural Cycles [J]. *Reprod Sci*, 2016, 23, 748-55. DOI: 10.1177/1933719115616496
- [17] Choi H J, Chung T W, Park M J, et al. Benzoic acid enhances embryo implantation through LIF-dependent expression of integrin alphaVbeta3 and alphaVbeta5 [J]. *J Microbiol Biotechnol*, 2017, DOI: 10.4014/jmb.1609.09028
- [18] Stavreus-Evers A, Nikas G, Sahlin L, et al. Formation of pinopodes in human endometrium is associated with the concentrations of progesterone and progesterone receptors [J]. *Fertil Steril*, 2001, 76, 782-91. DOI: 10.1016/S0015-0282(01)01993-8
- [19] Martel D, Monier M N, Roche D, et al. Hormonal dependence of pinopode formation at the uterine luminal surface [J]. *Hum Reprod*, 1991, 6, 597-603. DOI: 10.1093/oxfordjournals.humrep.a137386
- [20] Cai H, Li H, He Y. Interceed and Estrogen Reduce Uterine Adhesions and Fibrosis and Improve Endometrial Receptivity in a Rabbit Model of Intrauterine Adhesions [J]. *Reprod Sci*, 2016, 23, 1208-16. DOI: 10.1177/1933719116632923
- [21] Tavaniotou A, Smitz J, Bourgain C, et al. Ovulation induction disrupts luteal phase function [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2001, 943, 55-63. DOI: 10.1111/j.1749-6632.2001.tb03790.x
- [22] Rashidi B, Rad J S, Roshangar L, et al. Progesterone and ovarian stimulation control endometrial pinopode expression before implantation in mice [J]. *Pathophysiology*, 2012, 19, 131-5. DOI: 10.1016/j.pathophys.2012.03.005
- [23] Liu S, Hua T, Xin X, et al. Altered expression of hormone receptor, integrin beta3 and pinopode in the endometrium of luteal phase defect women [J]. *Gynecol Endocrinol*, 2017, 33, 315-319. DOI: 10.1080/09513590.2016.1259405
- [24] Bentin-Ley U, Sjogren A, Nilsson L, et al. Presence of uterine pinopodes at the embryo-endometrial interface during human implantation in vitro [J]. *Hum Reprod*, 1999, 14, 515-20. DOI: 10.1093/humrep/14.2.515

- [25] Bentin-Ley U. Relevance of endometrial pinopodes for human blastocyst implantation [J]. *Hum Reprod*, 2000, 15 Suppl 6, 67-73.
- [26] Psychoyos A. Hormonal control of ovoimplantation [J]. *Vitam Horm*, 1973, 31, 201-56.
- [27] Nilsson O. Ultrastructure of the process of secretion in the rat uterine epithelium at preimplantation [J]. *J Ultrastruct Res*, 1972, 40, 572-80. DOI: 10.1016/S0022-5320(72)80044-3
- [28] Sudoma I, Goncharova Y, Zukin V. Optimization of cryocycles by using pinopode detection in patients with multiple implantation failure: preliminary report [J]. *Reprod Biomed Online*, 2011, 22, 590-6. DOI: 10.1016/j.rbmo.2011.02.004
- [29] Quinn C, Ryan E, Claessens E A, et al. The presence of pinopodes in the human endometrium does not delineate the implantation window [J]. *Fertil Steril*, 2007, 87, 1015-21. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2006.08.101
- [30] 王静, 王凤伟, 徐键. 基于蛋白组学的子宫内膜容受性研究进展 [J]. *生殖与避孕*, 2015, 121-125+136. DOI: 10.7669/j.issn.0253-357X.2015.02.0121  
Wang J, Wang FW, Xu J. Current progress in receptivity of endometrium based on proteomics [J]. *Reproduction and Contraception*, 2015, 121-125+136. DOI: 10.7669/j.issn.0253-357X.2015.02.0121
- [31] Diaz-Gimeno P, Horcajadas J A, Martinez-Conejero J A, et al. A genomic diagnostic tool for human endometrial receptivity based on the transcriptomic signature [J]. *Fertil Steril*, 2011, 95, 50-60, 60 e1-15. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2010.04.063
- [32] Diaz-Gimeno P, Ruiz-Alonso M, Blesa D, et al. The accuracy and reproducibility of the endometrial receptivity array is superior to histology as a diagnostic method for endometrial receptivity [J]. *Fertil Steril*, 2013, 99, 508-17. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2012.09.046