

· 专题笔谈 ·

子宫内膜异位症免疫微环境形成机制及
中药干预作用

俞超芹

子宫内膜异位症(endometriosis, EM)是子宫内膜腺体和间质种植于子宫被覆黏膜及子宫肌层以外的雌激素依赖性疾病。EM 的发病率在生殖年龄的妇女中为 10%~15%^[1]。EM 发病机制较为复杂,目前广为接受的是 Sampson 的经血逆流学说,但此学说尚不能解释盆腔外的 EM,也无法解释为什么 80%~90% 存在经血逆流的妇女中只有 10%~15% 发展为 EM^[2]。健康妇女逆流的内膜组织作为一种异物,可触发腹腔液中的免疫细胞,激发免疫反应,从而清除随经血逆流的内膜组织或细胞;而 EM 患者存在免疫耐受,逆流的内膜组织或内膜细胞从免疫清除中逃逸,在盆腹腔中种植、生长,形成异位病灶。同时,盆腔微环境呈现慢性炎症的改变,促进了 EM 的发展。

1 EM 存在免疫耐受与非可控性炎症

先天免疫系统和获得性免疫系统是机体抵御外来感染两个重要防御系统。先天性免疫系统涵盖了宿主抵御病原微生物的许多领域,主要有自然杀伤(natural killer, NK)细胞、巨噬细胞、树突状细胞等组成。巨噬细胞、淋巴细胞、NK 细胞等在免疫防御、免疫监视和免疫清除中发挥重要作用。

1.1 免疫耐受 作为腹腔液中关键免疫细胞,巨噬细胞在对周围微环境的信号做出反应的过程中,会经历不同的活化过程,其活化主要有两条途径,即经典激活(classical activation, M1)途径以及替代激活(alternative activation, M2)途径。M1 型巨噬细胞可促进 Th1 型细胞因子相关的反应;M2 型巨噬细胞除吞噬能力减弱外,还可促进 Th2 型细胞因子相关的反应,表现免疫耐受。EM 患者腹腔液中巨噬细胞吞噬能力下降、巨噬细胞亚型以 M2 型为主,表明 EM 患者巨噬细胞存在免疫耐受^[3,4]。

细胞毒性 T 细胞(cytotoxic T lymphocyte, CTL)也称杀伤性 T 细胞,在免疫防御、免疫监视和免

疫清除中发挥重要作用。研究发现 EM 患者腹腔液中对在位内膜细胞发生反应的 CTL 细胞数量明显减少,且活化的 CTL 对异位内膜细胞的杀伤能力也明显降低;黄体期 CTL 细胞数量未能与健康女性相似出现相应升高,导致 CTL 无法有效清除逆流的内膜细胞^[5]。研究还发现 EM 患者腹腔液可溶性 FasL 的浓度升高,其中中、重度 EM 患者增高的更为明显,可溶性 FasL 与 CTL 表面 Fas 结合,诱导 CTL 细胞凋亡,使得异位子宫内膜细胞进一步逃避免疫监视^[6]。因此,CTL 细胞功能异常也与 EM 的发生发展密切相关。

NK 细胞在体内免疫系统中有重要的免疫监视作用,通过 Bright 亚群分泌细胞因子或通过 Dim 亚群的细胞毒性作用对下游免疫细胞起到调节作用。NK 细胞可以分泌 IFN- γ 使 Th0 细胞向 Th1 细胞极化,也可以分泌 IL-10、TGF- β 使 Th0 细胞向 Th2 细胞极化^[7]。研究发现 EM 患者外周血及腹腔液 NK 细胞活性降低, NK 活性下降与 EM 分期相关,Ⅲ/Ⅳ EM 患者腹腔液中 NK 细胞活性下降更加显著^[8]。EM 患者 NK 细胞功能下降与 EM 腹腔液内环境有一定相关性, Yang HL 等^[9]将 NK 细胞与 EM 异位内膜基质细胞和单核细胞来源的巨噬细胞共培养,发现 NK 细胞 CD16、NK 细胞表面活化性受体 D(natural killer cell group 2 member D, NKG2D)、穿孔素、IFN- γ 表达以及 NK 细胞的细胞毒作用显著降低,共培养体系中的 IL-1 β 、IL-10、TGF- β 水平显著升高,提示巨噬细胞与异位内膜基质细胞之间的交互作用,可能通过刺激 IL-10 和 TGF- β 的分泌抑制 NK 细胞的细胞毒性,从而进一步触发异位内膜细胞的免疫逃逸,促进 EM 的发生和发展。

EM 患者由于巨噬细胞吞噬能力下降, CTL 及 NK 细胞杀伤作用降低,不能清除逆流的内膜细胞,导致异位的内膜细胞免疫逃逸,出现免疫耐受。

1.2 非可控性炎症

非可控性炎症(nonresolving inflammation, NRI)是指存在持续低强度刺激,使受侵组织处于长期的不适度反应状态,无法从抗感染和组织损伤模式下

解脱,导致炎症反应的持续进行或潜伏状态。NRI 在许多难治性疾病中普遍存在,如风湿免疫性疾病、肿瘤等。NRI 中的免疫细胞所分泌的细胞因子和炎症介质不仅可使基因发生突变,还可使某些关键信号调控通路激活,促进相关细胞的存活、增殖、血管新生、浸润等过程。

有研究发现,EM 患者巨噬细胞吞噬能力下降、对在位内膜细胞发生反应的 CTL 细胞数量明显减少, NK 细胞功能受损、其细胞毒性下降,导致免疫监视功能下降,不能清除随经血逆流的内膜组织或内膜细胞,在黏附分子的诱导下内膜细胞定居于腹腔,此时免疫系统调节作用进一步失控,由免疫耐受转化为免疫促进,表现为众多激活的免疫细胞分泌 IL-1、IL-2、IL-6、IL-8、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 以及血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 等一系列炎症介质、细胞因子,腹腔呈现以 Th2 型为优势的 NRI 免疫微环境改变,促进了 EM 的发展和盆腔粘连的形成^[10,11]。

1.3 盆腔纤维化

EM 的病理过程就是在雌、孕激素作用下的一个反复出血过程,而血液中含有的红细胞、血小板对于 EM 盆腔 NRI 及粘连的形成发挥了促进作用。

1.3.1 红细胞与氧化应激 EM 的发展过程中铁代谢的改变受到了人们的关注。在 EM 患者的腹腔内,存在大量的铁过载现象。如 EM 患者腹腔液中的铁、铁蛋白和血红蛋白的含量显著高于对照组;异位内膜及腹膜组织存在铁聚集^[12]。腹膜铁超负荷可能是异位病灶出血、红细胞降解,大量铁涌入所致。过量的铁可以作为一种催化剂通过 Fenton 反应 ($\text{Fe}^{2+} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{Fe}^{3+} + \text{OH}^- + \text{OH} \cdot$) 间接促进一系列自由基成分的生成,介导对细胞的氧化损伤。氧化应激引起局部的腹膜间皮损伤,促进异位子宫内膜细胞的黏附以及粘连的形成。逆流经血中的主要成分血红蛋白也可能损害腹膜间皮,导致粘连形成^[13]。

1.3.2 血小板与 EM 盆腔粘连 近年来,研究发现血小板在炎症和组织损伤修复过程中也发挥着重要作用^[14]。血小板被二磷酸腺苷 (adenosine diphosphate, ADP) 激活时,其形态发生改变,钙通道开放,血小板由盘状变成棒状或不规则状;同时激活胞内多种蛋白激酶,并释放大量转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)。腹膜组织中重要的细胞群是腹膜间皮细胞。大量研究发现,盆腔粘连形成的早期,腹膜间皮细胞上皮-间质转分化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) 是导致盆腔

纤维化的重要始动因素和关键环节。活化的血小板分泌大量的 TGF- β 。通过经典的 TGF- β /Smad 通路和一些非 Smad 通路促进上皮-间质转分化、成纤维细胞-成肌纤维细胞转分化,最终导致平滑肌化生和组织纤维化^[15,16]。

2 负性免疫调控与免疫逃逸

2.1 负性免疫调控 随着肿瘤的进展,肿瘤组织可通过营造抑制免疫反应的微环境来逃避免疫系统的识别,增强自身增殖、转移等恶性生物学行为。肿瘤免疫反应的负性调控机制最重要的是通过招募或诱导负性免疫调控细胞来逃避适应性免疫反应,包括调节性 T 细胞 (T regulator cell, Treg)、髓源性抑制细胞 (myeloid-derived suppressor cell, MDSC)、M2 型巨噬细胞等。MDSC 细胞是机体重要的免疫调节细胞之一,其可通过多种机制发挥免疫负性调节作用。

由 MDSC 分泌的细胞因子 TNF- α 可以诱导 NO、活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 等分子的产生,激活 MDSC 本身的免疫抑制活性并下调或阻断胞受体 (TcR) CD3 ζ 链合成,使 T 细胞功能受损。同时,MDSC 与抗原提呈细胞竞争摄取 T 细胞活化和增殖必需的胞外半胱氨酸,抑制 T 细胞激活。MDSC 分泌的 IL-10 可以通过诱导调节性 T 细胞的活性进一步导致免疫耐受。MDSC 对 NK 细胞功能也有抑制作用,MDSC 通过下调 NK 细胞表面受体 NKG2D 抑制其活性。巨噬细胞在免疫清除方面发挥重要作用。MDSC 通过下调巨噬细胞分泌的 IL-12 水平发挥抑制作用,IL-12 是最重要的 Th1 型细胞因子之一,是活化的 NK 细胞和 T 细胞的生长因子,并能诱导 NK 细胞和 T 细胞分泌干扰素 (IFN- γ)。

2.2 负性免疫调控与 EM 免疫缺陷

研究发现 CD4⁺ CD25⁺ Foxp3⁺ Treg 细胞在不同类型 EM 患者病灶部位,如卵巢子宫内膜异位囊肿以及 EM 患者子宫在位内膜组织中的表达显著升高;EM 患者外周血及 EM 动物模型的腹腔液中 MDSC 数量均显著增加,且大部分 MDSC 呈现粒细胞型,产生 ROS 和精氨酸酶,抑制 T 细胞增殖。用抗 Gr-1 抗体杀伤 MDSC,可显著抑制小鼠 EM 异位病灶的生长^[17]。Chen HW 等^[18]比较了 EM 与对照组的单核细胞型-MDSC (monocytic MDSC, M-MDSC) (HLA-DR/lowCD33⁺ CD11b⁺ CD14⁺) 水平,结果显示,EM 患者外周血及腹腔液中 M-MDSC 反常扩增,且来自 EM 患者的 M-MDSC 可显著抑制 T 淋巴细胞反应,释放高水平的 ROS;EM 患者增多的 Foxp3⁺ Treg 细胞及 MDSC 可通过抑制 T 细胞、树突细胞以

及 NK 细胞等免疫杀伤作用,促进巨噬细胞向 M2 表型转化,降低这些免疫细胞的免疫监视能力,导致免疫耐受,从而促进了 EM 病灶形成和发展。

3 肠道菌群与负性免疫调节

3.1 肠道菌群与负性免疫调节

肠道菌群是存在于人体胃肠道内的正常微生物。肠道菌群之间存在共生或拮抗关系,形成独特的肠道微生态系统,参与人体免疫等多种重要生理活动。益生菌如双歧杆菌、拟杆菌属可增强(cytotoxic T lymphocyte associated antigen 4,CTI A-4)、程序性死亡因子-1(programmed death-1,PD-1)抗体的抗肿瘤活性;产肠毒素脆弱拟杆菌及具核梭杆菌等有害菌群增加 Treg、MDSC 细胞数量,诱导 MDSC 分化,促进 MDSC 向肿瘤组织聚集,抑制 T 细胞抗肿瘤免疫反应,提高 IL-17 等细胞因子分泌水平,促进恶性肿瘤进展^[19,20]。由此可见,肠道菌群通过多种方式影响机体肿瘤免疫负性调控。

LPS 是革兰氏阴性细菌分泌的一种内毒素。LPS 通过 TLR4/MyD88 信号通路诱导 M-MDSC 的增殖;用 TLR-4 激动剂处理人单核细胞,可通过 STAT-3 使单核细胞转化为 M-MDSC,因此,TLR4/MyD88 信号通路与 JAK-STAT 信号通路,在 MDSC 产生过程中,两者之间可能存在交叉对话^[21]。某些病原微生物还可通过激活 TLR-2/PI3K/AKT/STAT3 信号通路,产生 IL-10、TNF- α ,促进单核细胞分化为 MDSC。

3.2 EM 与肠道菌群

EM 病变部位主要在盆腔,而盆腔也是肠道所在场所。含有大量肠道菌群的肠道作为盆腔中的重要脏器在盆腔内环境的稳定上发挥重要的作用。

笔者前期的研究发现,EM 模型小鼠肠道菌群与正常小鼠比较有显著不同,其肠道菌群多样性明显减少。EM 模型小鼠肠道菌种结构组成在 PC1 和 PC2 维度上与正常小鼠有明显的差异,厚壁菌门显著减少,变形菌门、疣微菌门增加。EM 模型小鼠肠道菌群在 genus 水平,与正常小鼠比较有 15 个菌属存在显著差异。在这些显著变化的菌群中,乳杆菌属、Turicibacter、普雷沃氏菌、瘤胃球菌属、毛螺菌属、Blautia、冻球菌属、粪球菌属、Tyzzerella 等 10 个菌属明显下降。Allobaculum、Parasutterella、理研菌属、Erysipelotrichaceae、双歧杆菌属则显著增加。

EM 腹腔液 MDSC 水平显著升高,而 EM 肠道菌群又出现显著的改变,呈现肠道菌群失调。肠道菌群的改变可导致 MDSC 的募集。由此,笔者提出假说:EM 肠道菌群失调可能是导致 EM 患者 MDSC 聚集

及 NRI 产生的重要原因。

5 化瘀解毒方治疗 EM

EM 异位内膜组织在雌、孕激素的作用下周期性脱落、出血,产生局部异位病灶的出血与坏死,中医学称为“离经之血”,“离经之血”则为瘀,因此血瘀是贯穿 EM 发生发展过程中的中心环节,也是 EM 最基本的病理基础。中医学的毒有内毒和外毒之分。内毒是脏腑功能和气血运行失调,使机体内的生理或病理产物不能及时排出体外,蕴积体内,败坏形体而转化为毒。现代医学中的氧自由基、凝血及纤溶产物、炎性介质和血管活性物质的过度释放,均被认为内生毒邪。EM 有巨噬细胞、异位内膜组织产生的大量炎性物质、氧自由基的蓄积。因此,EM 的毒主要为内毒。EM 的瘀和毒在 EM 发生发展过程中交互错杂,相互促进,形成瘀毒内蕴格局,导致 EM 病情的进一步发展。瘀毒内蕴是 EM 的病理状态。笔者采用活血化瘀、清热解毒组成的化瘀解毒方(虻虫 9 g 莪术 12 g 生蒲黄 9 g 五灵脂 9 g 乳香 9 g 没药 9 g 大血藤 30 g 牡丹皮 15 g 赤芍 15 g 土茯苓 30 g 等)治疗 EM,根据中国中西医结合学会妇产科专业委员会制订的 EM 疗效标准,化瘀解毒方临床疗效总有效率为 82.8%。患者治疗前后痛经及盆腔痛评分均明显降低($P < 0.01$);患者治疗前后除月经量外,其他中医症状评分均明显降低($P < 0.01$);治疗后卵巢内膜样囊肿明显缩小($P < 0.05$)^[22]。动物实验显示:化瘀解毒方显著降低 EM 腹腔液炎性因子水平,重塑甚至逆转部分变化的 EM 小鼠肠道菌群,粪球菌属、Tyzzerella、冻球菌属、毛螺菌属、Blautia 显著增多,肠道菌群多样性得到明显恢复。因此推测化瘀解毒方通过重建 EM 肠道菌群,干预 MDSC 的负性免疫调控作用,有效治疗 EM。

EM 是妇科的疑难病,其本质是雌激素依赖,其病理过程是 NRI 和粘连形成。由于 EM 病因不清、无法根治、容易复发,需要长期管理。中医药可根据其病理过程切入,按照临床症状,进行个体化治疗,且不良反应较小、可以长期服用。因此,中医药在 EM 的长期管理中有较好的应用前景。

参 考 文 献

- [1] Augoulea A, Alexandrou A, Creatsa M, et al. Pathogenesis of endometriosis: the role of genetics, inflammation and oxidative stress[J]. Arch Gynecol Obstetr, 2012, 286(1): 99-103.
- [2] Cramer DW, Missmer SA. The epidemiology of

- endometriosis[J]. Ann NY Acad Sci USA, 2002, 955: 11–22.
- [3] Mei J, Xie XX, Li MQ, et al. Indoleamine 2, 3-dioxygenase-1 (IDO1) in human endometrial stromal cells induces macrophage tolerance through interleukin-33 in the progression of endometriosis[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2014, 7(6): 2743–2757.
 - [4] Fawaz A, Sebastian G, Cecilia G. Mesenchymal stromal cells are more immunosuppressive *in vitro* if they are derived from endometriotic lesions than from eutopic endometrium[J]. Stem Cells Int, 2017: 3215962.
 - [5] Slabe N, Meden-Vrtovec H, verdenik I, et al. Cytotoxic T cells in peripheral blood in women with endometriosis [J]. Geburtshilfe Frauenheilkd, 2013, 73(10): 1042–1048.
 - [6] 侯新新, 王晓秋, 李大金. 不同 T 细胞亚群及与其他免疫细胞协同作用参与子宫内膜异位病灶的形成和发展[J]. 现代免疫学, 2016, 36(4): 333–336.
 - [7] Shi FD, Van Kaer L. Eciprocal regulation between natural killer cells and autoreactive T cells[J]. Nat Rev Immunol, 2006, 6(10): 751–760.
 - [8] Jeung IC, Chung YJ, Chae B, et al. Effect of helixor A on natural killer cell activity in endometriosis[J]. Int J Med Sci, 2015, 12(1): 42–47.
 - [9] 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.
 - [10] Lousse JC, Van Langendonck A, Defrere S, et al. Peritoneal endometriosis is an inflammatory disease[J]. Front Biosci (Elite Ed), 2012, 4: 23–40.
 - [11] Gonzalez-Ramos R, Defrere S, Devoto L. Nuclear factor-kappaB: a main regulator of inflammation and cell survival in endometriosis pathophysiology[J]. Fertil Steril, 2012, 98(3): 520–528.
 - [12] Wolfier MM, Meinhold-Heerlein IM, Henkel C, et al. Reduced hemopexin levels in peritoneal fluid of patients with endometriosis [J]. Fertil Steril, 2013, 100(3): 777–781.
 - [13] 张阳, 王莉. 氧化应激和子宫内膜异位症[J]. 中国妇幼保健, 2016, 31(3): 663–665.
 - [14] Barragan F, Irwin JC, Balayan S, et al. Human endometrial fibroblasts derived from mesenchymal progenitors inherit progesterone resistance and acquire an inflammatory phenotype in the endometrial Niche in endometriosis [J]. Biol Reprod, 2016, 94(5): 118–121.
 - [15] 彭翔, 刘伏友, 孙林, 等. PI3K/Akt 信号调节腹膜间皮细胞上皮-间充质转分化[J]. 中华肾脏病杂志, 2014, 30(5): 363–369.
 - [16] Lindsey S, Langhans SA. Crosstalk of oncogenic signaling pathways during epithelial-mesenchymal transition[J]. Front Oncol, 2014, 4: 358.
 - [17] Zhang T, Zhou J, Man GCW, et al. MDSCs drive the process of endometriosis by enhancing angiogenesis and are a new potential therapeutic target [J]. Eur J Immunol, 2018, 48(6): 1059–1073.
 - [18] Chen HW, Qin S, Lei AH, et al. Expansion of monocytic myeloid-derived suppressor cells in endometriosis patients: A pilot study[J]. Int Immunopharmacol, 2017, 47: 150–158.
 - [19] 徐兴伟, 范朝刚, 李秋荣. 肠道菌群对免疫功能的影响和疾病研究的新进展[J]. 肠外与肠内营养, 2017, 24(3): 118–121.
 - [20] Thiele Orberg E, Fan H, Tam AJ, et al. The myeloid immune signature of enterotoxigenic *Bacteroides fragilis*-induced murine colon tumorigenesis [J]. Mucosal Immunol, 2017, 10(2): 421–433.
 - [21] Dorhoi A, Du Plessis N. Monocytic myeloid-derived suppressor cells in chronic infections [J]. Front Endocrinol, 2018, 8: 1895.
 - [22] 孙帅, 沈慰, 翟东霞, 等. 化瘀解毒组方治疗子宫内膜异位症 58 例疗效观察[J]. 中医杂志, 2014, 55(19): 1668–1671.

(收稿: 2018–10–05 在线: 2019–01–24)

责任编辑: 段碧芳

英文责编: 张晶晶