

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2020.06.005  
文章编号: 1005-8982(2020)06-0024-05

## 雌激素对纵隔子宫电切术后宫腔纤维化的影响\*

高丽<sup>1</sup>, 池余刚<sup>1</sup>, 何萍<sup>1</sup>, 雷丽<sup>1</sup>, 任春燕<sup>1</sup>, 孟莹<sup>2</sup>

(1. 重庆市妇幼保健院 妇科, 重庆 401147; 2. 重庆医科大学附属第二医院  
妇科, 重庆 400010)

**摘要: 目的** 探讨雌激素对纵隔子宫电切术后宫腔纤维化的影响。**方法** 选取2016年1月—2017年6月重庆市妇幼保健院收治的110例经宫腔镜检查证实后行纵隔子宫电切术的纵隔子宫患者(包括完全纵隔子宫和不完全纵隔子宫),分为实验组58例(雌激素治疗:补佳乐2mg/次,2次/d,共21d;最后10d加用地屈孕酮10mg/次,2次/d)和对照组52例(不使用雌激素治疗)。治疗1个月后再行宫腔镜检查,评估宫腔情况,记录宫腔粘连发生情况;同时取子宫内膜组织。通过免疫组织化学染色检测转化生长因子- $\beta$ (TGF- $\beta$ )及结缔组织生长因子(CTGF)蛋白表达的差异,进一步通过RT-PCR检测TGF- $\beta$ 及CTGF mRNA的表达。**结果** 对照组和实验组纵隔子宫电切术后粘连发生率分别为1.9%和5.1%,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。两组子宫内膜组织中TGF- $\beta$ 及CTGF表达比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。**结论** 雌激素不能改变纵隔子宫电切术后宫腔纤维化进程,可能是因为雌激素不能改变纤维化因子TGF- $\beta$ 及CTGF的表达所致。

**关键词:** 子宫疾病;组织粘连;纵隔子宫电切术;雌激素类;转化生长因子 $\beta$ ;结缔组织生长因子  
**中图分类号:** R711.1 **文献标识码:** A

## Effect of estrogen on uterine fibrosis following transcervical resection of septum\*

Li Gao<sup>1</sup>, Yu-gang Chi<sup>1</sup>, Ping He<sup>1</sup>, Li Lei<sup>1</sup>, Chun-yan Ren<sup>1</sup>, Ying Meng<sup>2</sup>

(1. Department of Gynaecology, Chongqing Health Center for Women and Children, Chongqing 401147, China; 2. Department of Gynaecology, the Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400010, China)

**Abstract: Objective** To probe the effect of estrogen on uterine fibrosis following transcervical resection of septum (TCRS). **Methods** Totally 110 patients who underwent hysteroscopic septum resection in our hospital from January 2016 to May 2017 were allocated into two groups. In experimental group (58 patients), women received postoperative estrogen therapy, No medication was received in control group (52 patients). Further hysteroscopy was performed to assess the uterine cavity in one month later of the initial surgery. Endometrium was collected to detect the expressions of TGF- $\beta$  and CTGF through immunohistochemistry and PCR. **Results** The postoperative adhesion rates between the two groups at one month were 1.9% (control group) and 5.1% (experimental group), respectively ( $P>0.05$ ). The expression levels of TGF- $\beta$  and CTGF through immunohistochemistry and PCR in endometrium were no significant difference between the two groups ( $P>0.05$ ). **Conclusions** Estrogen cannot change the process of uterine fibrosis following TCRS, which is related to that estrogen cannot change the expressions of TGF- $\beta$  and CTGF.

**Keywords:** uterine diseases; tissue adhesions; hysteroscopy; estrogens; transforming growth factor beta; connective tissue growth factor

收稿日期: 2019-09-08

\*基金项目: 重庆市卫计委面上项目(No: 2016MSXM092)

[通信作者]池余刚, E-mail: chiyugang@163.com

纵隔子宫系两侧副中肾管融合后纵隔吸收受阻所致,是最常见的先天性子宫畸形,约40%纵隔子宫患者合并有不孕、产科相关并发症及复发性流产等不良妊娠史<sup>[1]</sup>。宫腔镜下纵隔子宫电切除术是目前最安全、有效的手术方式。有研究证实,宫腔镜下纵隔子宫电切除术术后可提高妊娠结局<sup>[1-2]</sup>。然而纵隔子宫电切除术术后有发生宫腔粘连的可能,宫腔粘连可导致不孕、流产等并发症。ROY等<sup>[3]</sup>认为,纵隔子宫电切除术术后给予雌激素并不能有效预防宫腔粘连的形成<sup>[3]</sup>。本文通过研究转化生长因子- $\beta$  (transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ )及结缔组织生长因子(connective tissue growth factor, CTGF)的表达,探讨雌激素对纵隔子宫电切除术术后宫腔纤维化的影响。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取2016年1月—2017年6月重庆市妇幼保健院收治的110例行纵隔子宫电切除术的纵隔子宫患者(包括完全纵隔子宫和不完全纵隔子宫),分为实验组58例(雌激素治疗:补佳乐2 mg/次,2次/d,共21 d;最后10 d加用地屈孕酮10 mg/次,2次/d)<sup>[4]</sup>和对照组52例(不使用雌激素治疗)。纳入标准:①术前性激素6项检查正常;②术前半年未使用激素类药物;③术前常规检查及症状提示无感染征象;④乳腺检查无激素用药禁忌证;⑤无子宫内原发或继发性疾病;⑥无内分泌、高血压、肾脏疾病、糖尿病、甲状腺功能亢进症及导致血管病变的其他合并症;⑦宫腔镜术中证实术前无宫腔粘连。排除标准:①既往有宫腔镜手术操作史;②宫腔镜证实术前有宫腔粘连;③术后未按规定服药及定期复查;④年龄>40岁。本研究通过医院伦理委员会批准,患者签署知情同意书。

### 1.2 方法

手术采用超声监测下宫腔镜下纵隔子宫电切除术,均为静脉麻醉。纵隔子宫电切除术术后1个月复查宫腔镜,经患者同意术中取少许子宫内膜组织,采用美国生育学会(American Fertility Society, AFS)评分标准<sup>[5]</sup>,对宫颈情况进行AFS评分。评分内容包括粘连范围、粘连类型及月经情况:0分为痊愈;1~4分为预后良好;5~8分为预后欠佳;9~12分为预后不良。

### 1.3 免疫组织化学染色

具体操作步骤按照免疫组织化学试剂盒(北京

中杉金桥生物技术有限公司)说明书进行,一抗浓度TGF- $\beta$ 及CTGF均为1:100。采用Image J软件处理图片,采用染色强度与阳性细胞百分率积分(积分等于2项评分相加除以2)评价TGF- $\beta$ 和CTGF的表达。染色强度评分:染色弱评为1分;染色强度中等评为2分;染色强(深棕色)评为3分。阳性细胞百分率评分:阳性率1%~10%计1分;阳性率11%~25%计2分;阳性率26%~50%计3分;阳性率51%~75%计4分;阳性率76%~100%计5分<sup>[6]</sup>。

### 1.4 RT-PCR

组织处理完成后,用Trizol提取总RNA,按照PrimeScript<sup>®</sup> RT reagent Kit with gDNA Eraser说明书将总RNA(1  $\mu$ g)逆转录成互补DNA。TGF- $\beta$ 引物序列,正向引物:5'-CTTCATGGTGGCTTTCTCAA-3';反向引物:5'-CACTCCCCCTCACAGTAGTAG-3',长度为264 bp<sup>[6]</sup>。CTGF引物序列,正向引物:5'-GCTCCCTGCATCTTCGGTGGTAC-3';反向引物:5'-GGCAGTTGGCTCTAATCATAGTTGGG-3',长度为298 bp<sup>[7]</sup>。PCR操作参照SYBR<sup>®</sup> Premix Ex Taq TM II说明书。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算TGF- $\beta$ 及CTGF mRNA的相对表达量。

### 1.5 统计学方法

数据分析采用GraphPad Prism 7.0统计软件。计量资料以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示,比较用 $t$ 检验;计数资料以率(%)表示,比较用 $\chi^2$ 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组临床资料比较

两组年龄、BMI、不孕率、不完全纵隔率、完全纵隔率、合并阴道纵隔率及宫腔粘连发生率比较,经 $t$ 或 $\chi^2$ 检验,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。见表1。

### 2.2 纵隔子宫电切除术术后1个月子宫状况

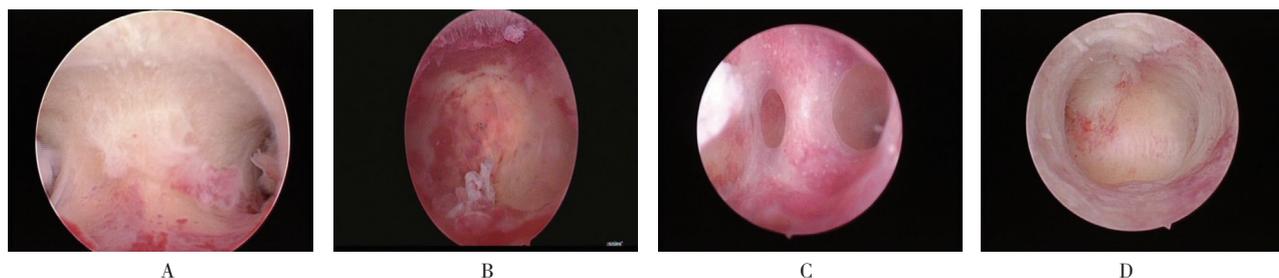
纵隔子宫电切除术术后1个月宫腔镜检查显示子宫不完全纵隔患者术后宫腔形态恢复满意;子宫完全纵隔患者术后形成宫底粘连。见图1。

### 2.3 两组纵隔子宫电切除术术后宫腔粘连的AFS评分比较

实验组发生宫腔粘连3例(5.2%),AFS评分(3.3 $\pm$ 1.3)分。其中,2例AFS评分2分(预后良好),

表 1 两组临床资料比较

组别	<i>n</i>	年龄 / (岁, $\bar{x} \pm s$ )	BMI / (kg/m <sup>2</sup> , $\bar{x} \pm s$ )	不孕 例 (%)	不完全纵隔 例 (%)	完全纵隔 例 (%)	合并阴道纵隔 例 (%)	宫腔粘连 例 (%)
对照组	52	26.48 ± 0.49	20.50 ± 0.18	25 (48.07)	32 (61.54)	18 (34.62)	5 (9.62)	1 (1.9)
实验组	58	27.10 ± 0.44	20.52 ± 0.19	24 (41.38)	36 (62.07)	22 (37.93)	6 (10.34)	3 (5.2)
<i>t</i> / $\chi^2$ 值		0.949	0.085	0.498	0.003	0.130	0.016	0.159
<i>P</i> 值		0.344	0.932	0.480	0.954	0.718	0.899	0.690



A: 不完全纵隔子宫术前; B: 不完全纵隔子宫术后; C: 完全纵隔子宫术前; D: 完全纵隔子宫术后。

图 1 宫腔镜下纵隔子宫电切除术前后对比

1 例评分 6 分(预后欠佳)。对照组发生宫腔粘连 1 例, AFS 评分 2 分。对照组和实验组 TCRS 术后宫腔粘连发生率分别为 1.9% 和 5.2%, 经  $\chi^2$  检验, 差异无统计学意义 ( $\chi^2=0.159, P=0.690$ )。两组 AFS 评分比较, 经 *t* 检验, 差异无统计学意义 ( $t=1.070, P=0.285$ )。

### 2.4 两组子宫内膜组织中 TGF- $\beta$ 及 CTGF 蛋白的表达

两组 TGF- $\beta$  及 CTGF 蛋白在子宫内膜腺上皮的细胞浆和细胞核上均有表达, 且在子宫内膜间质细胞上也有表达。实验组与对照组 TGF- $\beta$  蛋白相对表达量分别为 (2.81 ± 0.13) 和 (2.85 ± 0.14), 经 *t* 检验, 差异无统计学意义 ( $t=0.237, P=0.812$ )。实验组与对照组 CTGF 蛋白相对表达量分别为 (2.56 ± 0.12) 和 (2.73 ± 0.12), 经 *t* 检验, 差异无统计学意义 ( $t=0.933, P=0.352$ )。见图 2、3。

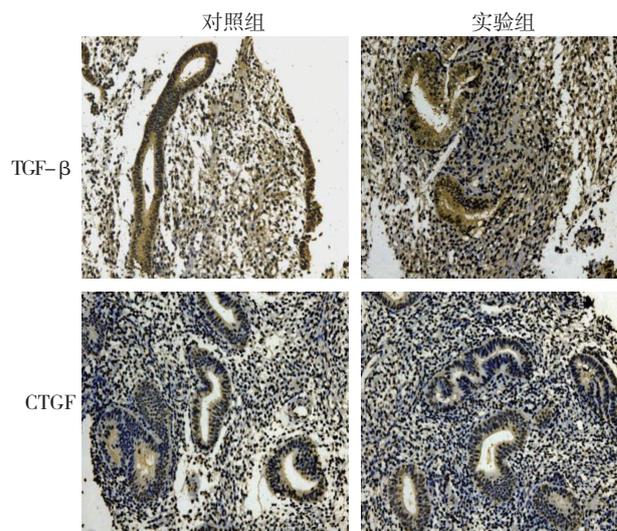


图 2 两组 TGF- $\beta$  和 CTGF 蛋白的表达 (免疫组织化学染色 × 200)

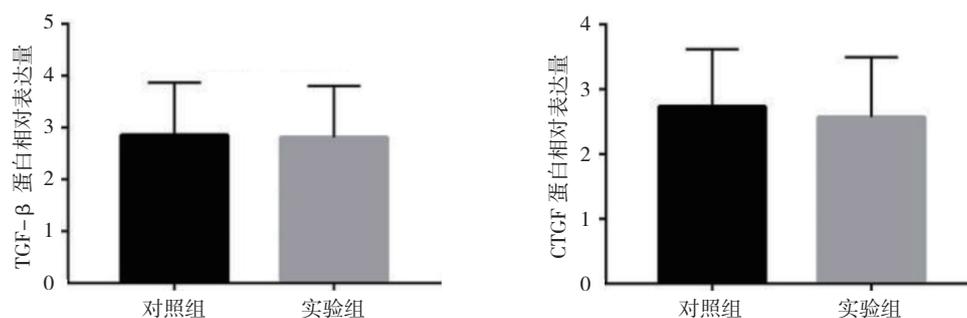


图 3 两组 TGF- $\beta$  和 CTGF 蛋白相对表达量比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

## 2.5 两组 TGF- $\beta$ 及 CTGF mRNA 的表达

RT-PCR 结果显示, 实验组与对照组 TGF- $\beta$  mRNA 相对表达量分别为  $(3.59 \pm 0.10)$  和  $(3.41 \pm 0.07)$ , 经  $t$  检验, 差异无统计学意义 ( $t = 1.446$ ,

$P = 0.151$ )。实验组与对照组 CTGF mRNA 相对表达量分别为  $(2.79 \pm 0.05)$  和  $(2.86 \pm 0.058)$ , 经  $t$  检验, 差异无统计学意义 ( $t = 0.938$ ,  $P = 0.350$ )。见图 4。

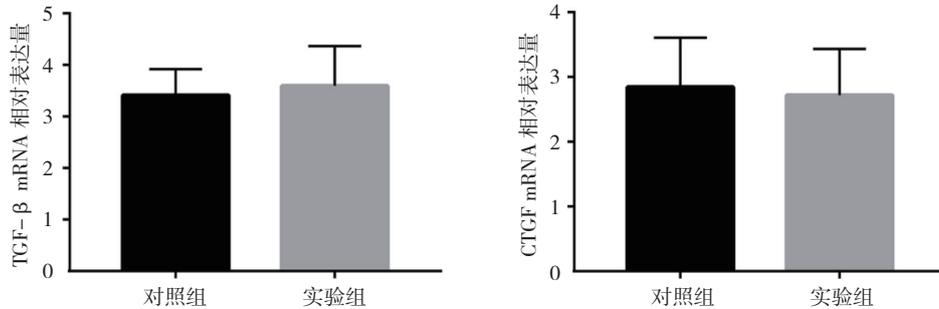


图 4 两组 TGF- $\beta$  及 CTGF mRNA 相对表达量比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

## 3 讨论

宫腔镜下纵隔子宫电切除术是纵隔子宫治疗的金标准, 是目前可以单纯经宫腔镜手术矫正子宫畸形的唯一方法<sup>[8]</sup>。宫腔镜纵隔子宫电切除术术后宫腔粘连发生率为 5.3% ~ 12.0%<sup>[9]</sup>, 是较常见的并发症。术后宫腔粘连的预防是不可忽视的问题, XIAO 等<sup>[10]</sup>将纵隔子宫电切除术患者随机分为 4 组: 第 1 组术后使用雌激素; 第 2 组术中安置宫内节育器; 第 3 组术中安置 4 ml 宫腔水囊, 术后宫腔水囊保留 5 d; 第 4 组不使用以上 3 种辅助治疗方式。分别于术后第 1 和 3 个月再次分别行宫腔镜检查, 评估宫腔情况, 最后统计结果提示术后使用雌激素、安置宫内节育器及宫腔水囊对降低纵隔子宫电切除术术后粘连发生率并无作用<sup>[10]</sup>。

宫腔粘连是指各种因素引起的子宫内膜损伤导致宫腔部分或全部封闭而发生的一系列综合征, 以月经量减少、闭经、流产及不孕等为主要表现。各类刮宫手术是引起宫腔粘连的主要原因, 占宫腔粘连危险因素的 75%, 其中以人工流产术和自然流产后刮宫为主, 各类宫腔镜检查引起宫腔粘连占各类危险因素的 9%<sup>[11]</sup>。宫腔镜下宫腔粘连分离术后粘连的总体复发率为 3.1% ~ 23.5%, 而重度粘连复发率为 20.0% ~ 62.5%<sup>[11]</sup>。现研究表明, 粘连分离术后使用雌激素可降低粘连复发率, 提高妊娠率<sup>[12]</sup>。本研究中粘连发生率低于以上文献报道的发生率。使用雌激素与否的粘连发生率比较无差异, 提示雌激素并不能降低纵隔子宫电切除术术后粘连的发生率, 进而检测 TGF- $\beta$  及 CTGF 的表达情况以探讨相关发生机制。

TGF- $\beta$  是目前公认的且研究最深入的促纤维化

因子, 现发现哺乳动物 TGF- $\beta$  有 TGF- $\beta_1$ 、TGF- $\beta_2$  及 TGF- $\beta_3$ , 其中 TGF- $\beta_1$  活性最强。TGF- $\beta$  主要是通过与特异性受体结合后, 激活 Smad、丝裂原活化蛋白激酶、肿瘤坏死因子受体相关因子-4 等多条信号途径产生效应, 以 TGF- $\beta_1$ /Smad 信号通路的作用最显著<sup>[13]</sup>。目前认为, CTGF 是 TGF- $\beta$  在调节纤维组织形成中的下游调节因子<sup>[14]</sup>, TGF- $\beta$  的致纤维化功能通过 CTGF 实现。有学者通过测定宫腔粘连患者子宫内膜中 TGF- $\beta_1$  和 CTGF 的表达, 发现宫腔粘连患者子宫内膜中 TGF- $\beta_1$  和 CTGF 的表达较正常子宫内膜高, 预测 TGF- $\beta$  和 CTGF 通过 NF- $\kappa$ B 信号通路在宫腔粘连中扮演重要角色<sup>[7]</sup>。LI 等<sup>[15]</sup>通过建立宫腔粘连动物模型发现, 抑制 Sp1-TGF- $\beta_1$ /Smad-CTGF 信号途径可达到抑制子宫内膜纤维化目的, 降低宫腔粘连形成率。也有学者发现, 通过应用雌激素可降低 TGF- $\beta$  的表达, 减少粘连形成, 所以宫腔粘连术后应用雌激素可减低粘连的复发率<sup>[16]</sup>。赵刚等<sup>[17]</sup>研究发现, 纵隔子宫电切除术术后预后不良组中 TGF- $\beta_1$  表达增强, 推测 TGF- $\beta$  参与纵隔子宫电切除术术后不良结局的发生。本文对比纵隔子宫电切除术术后雌激素使用与否的宫腔粘连发生率、TGF- $\beta$  及 CTGF 的表达, 发现对照组与实验组术后宫腔粘连的发生率比较无差异, 这与 XIAO 等<sup>[10]</sup>研究结果一致, 且 TGF- $\beta$  及 CTGF 的表达比较无差异。

综上所述, 通过实验推测雌激素不能改变纵隔子宫电切除术术后纤维化发生, 可能是因为雌激素不能改变纵隔子宫电切除术术后致纤维化因子 (TGF- $\beta$ /CTGF) 的表达所致, 这为研究纵隔子宫电切除术术后

粘连的发生机制提供新的思路。但仍需要扩大样本量和加强长期随访工作以进一步验证。

#### 参 考 文 献:

- [1] SELVARAJ P, SELVARAJ K. Reproductive outcome of septate uterus following hysteroscopic septum resection[J]. *J Hum Reprod Sci*, 2010, DOI: 10.4103/0974-1208.74157.
- [2] 段华, 赵艳, 于丹, 等. 子宫中隔及宫腔镜子宫中隔切除术对妊娠及其结局的影响 [J]. *中华妇产科杂志*, 2005, 40(11): 735-738.
- [3] ROY K K, NEGI N, SUBBAIAH M, et al. Effectiveness of estrogen in the prevention of intrauterine adhesions after hysteroscopic septal resection: a prospective, randomized study[J]. *J. Obstet. Gynaecol. Res*, 2014, 40(4): 1085-1088.
- [4] 中华医学会妇产科学分会. 宫腔粘连临床诊疗中国专家共识 [J]. *中华妇产科杂志*, 2015, 50(12): 881-887.
- [5] THE AMERICAN FERTILITY SOCIETY. The American fertility society classifications of adnexal adhesions, distal tubal occlusion, tubal occlusion secondary to tubal ligation, tubal pregnancies, Müllerian anomalies and intrauterine adhesions[J]. *Fertil Steril*, 1988, 49(6): 944-955.
- [6] 成九梅, 靳琳, 夏恩兰, 等. 雌孕激素受体及转化生长因子  $\beta 1$  在宫腔粘连发病机制中的作用 [J]. *中国实用妇科与产科杂志*, 2005, 21(9): 539-541.
- [7] XUE X, CHEN Q, ZHAO G, et al. The overexpression of TGF- $\beta$  and CCN2 in intrauterine adhesions involves the NF- $\kappa$ B signaling pathway[J]. *PLoS ONE*, 2015, DOI: 10.1371/journal.pone.0146159.
- [8] 赵雪燕, 冯力民. 子宫纵隔手术的近期、远期并发症及生殖预后 [J]. *国际妇产科学杂志*, 2017, 44(3): 252-256.
- [9] TONGUC E A, VAR T, BATIOGLU S, et al. Intrauterine device or estrogen treatment after hysteroscopic uterine septum resection[J]. *International Journal of Gynecology and Obstetrics*, 2010, DOI: 10.1016/j.ijgo.2009.12.015.
- [10] XIAO Y, LIU Y H, SONG D M, et al. The incidence of post-operative adhesion following transection of uterine septum: a cohort study comparing three different adjuvant therapies[J]. *European Journal of Obstetrics Gynecology and Reproductive Biology*, 2016(201): 61-64.
- [11] 贺斯黎, 肖松舒, 邓新粮, 等. 重度宫腔粘连危险因素分析 [J]. *中华妇产科杂志*, 2015, 50(1): 54-56.
- [12] 徐金焕, 李如建. 宫腔粘连分离术联合雌激素治疗宫腔粘连的疗效和安全性 [J]. *实用妇科内分泌杂志*, 2017, 23: 132.
- [13] 蔡慧华, 何援利. 宫腔粘连发病机制的研究进展 [J]. *重庆医科大学学报*, 2017, 42(4): 455-459.
- [14] HU J G, ZENG B, JIANG X W, et al. The expression of marker for endometrial stem cell and fibrosis was increased in intrauterine adhesions[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(2): 1525-1534.
- [15] LI J X, DU S H, SHENG X J, et al. MicroRNA-29b inhibits endometrial fibrosis by regulating the Sp1-TGF- $\beta 1$ /Smad-CTGF axis in a rat model[J]. *Reproductive Sciences*, 2016, 23(3): 386-394.
- [16] 何英新, 唐彩霞, 刘珏, 等. 人工周期对宫腔粘连患者子宫内膜中 MMP-9 和 TGF- $\beta 1$  表达的影响 [J]. *重庆医学*, 2017, 43(2): 167-169.
- [17] 赵刚, 谢秀英, 薛翔. 宫腔粘连和子宫纵隔的宫腔镜手术预后与 TGF- $\beta 1$  的关系 [J]. *重庆医科大学学报*, 2017, 42(4): 389-393.

(唐勇 编辑)

本文引用格式: 高丽, 池余刚, 何萍, 等. 雌激素对纵隔子宫电切术后宫腔纤维化的影响 [J]. *中国现代医学杂志*, 2020, 30(6): 24-28.