

微粒化羊膜的研究进展及其在宫腔粘连领域的应用展望

甘露,段华*

基金项目:国家自然科学基金(项目编号:81801403)

作者单位:100006 北京,首都医科大学附属北京妇产医院妇科微创中心

作者简介:甘露,毕业于首都医科大学,博士研究生,主治医师,主要研究方向为妇科疾病的微创诊疗

* 通讯作者, E-mail: duanhua@ccmu.edu.cn

【关键词】微粒化羊膜;宫腔粘连;临床应用

【中图分类号】R 711.74 【文献标志码】A 【文章编号】1674-4020(2020)11-024-03

doi:10.3969/j.issn.1674-4020.2020.11.07

微粒化羊膜(micronized dehydrated human amniotic membrane, dHACM)是新型粉状剂型羊膜制品,保留羊膜的生物学活性,同时可混悬于生理盐水,以无创注射方式治疗疾病,临床应用前景广阔。宫腔粘连术后应用羊膜辅助治疗已取得一定疗效,但尚无定论。本综述总结dHACM现阶段临床应用情况及作用机制和效果,阐述羊膜在宫腔粘连领域应用的疗效与安全性,探讨dHACM在宫腔粘连领域应用的可行性及前景,以期为临床治疗宫腔粘连提供有效可行的新辅助治疗手段。

1 微粒化羊膜概述

dHACM是将羊膜通过物理方法制作成微粒化粉状制品,保留完整的羊膜基底膜结构,并且表达羊膜上皮的多细胞因子,如血小板衍生生长因子(platelet derived growth factor, PDGF)、成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor, FGF)、转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)、表皮细胞生长因子(epidermal growth factor, EGF)和白介素类(interleukins, ILs)、组织金属蛋白酶抑制剂(tissue inhibitor of matrix metalloproteinases, TIMPs)等^[1],维持羊膜的生物学特性及活性。羊膜能促进细胞黏附、增殖,调控细胞迁移、分化及功能;抑制炎症反应;抗纤维化、抑制瘢痕形成;免疫源性低,组织相容性好;不具有致癌性^[2],广泛使用于眼科、烧伤、骨科、神经外科等领域,促进组织无痕修复^[3]。

2 微粒化羊膜的临床应用情况

微粒化羊膜 AmnioFix Injectable(MiMedx Group Inc,

Marietta, GA, USA)可混悬于生理盐水溶液,提供临床医生无创注射的治疗手段^[4],dHACM临床应用具有良好的安全性,且有推广应用范围前景。

dHACM目前主要应用于临床骨科领域,治疗肩袖撕裂、肌腱撕裂、肌腱炎、慢性肌肉损伤、软组织炎症如滑囊炎、筋膜炎等。1项前瞻性随机双盲临床研究评价其治疗足底筋膜炎的疗效,54例患者随机分为对照组(生理盐水)和治疗组(dHACM),随访8周,结果治疗组患者治疗1~8周症状较对照组明显缓解,显示dHACM治疗足底筋膜炎可行有效^[5]。另1项多中心前瞻性随机单盲临床试验,评价了dHACM治疗足底筋膜炎3个月的安全性和有效性,表明dHACM能明显减轻疼痛和改善功能结局,可作为治疗足底筋膜炎的安全有效治疗方法^[6]。另外,1项回顾性研究对100例经dHACM治疗的有症状膝关节骨性关节炎患者进行了6个月的随访,总体膝关节损伤和骨关节炎评分增长、生活质量和运动/娱乐领域评分提高,认为dHACM是治疗骨性关节炎潜在有用的治疗选择^[7]。而对于退行性关节炎和肌腱损伤,目前几乎没有有效的保守治疗方法,Gellhorn等^[8]将dHACM通过超声引导注射到病变部位,可有效减轻患者的疼痛程度,并改善日常生活活动和运动功能,表明dHACM可能是一种新兴的再生疗法,旨在促进受损组织的固有愈合能力。

近年来,dHACM在临床创伤愈合应用上也取得很好疗效,具有良好的安全性。Hawkins等^[9]将dHACM用于治疗糖尿病足溃疡,发现其易于应用,无论是粉末剂型敷于创面或者注射入伤口隧道或边缘,临床均有效且耐受性好,可有效促进伤口愈合,且无不良事件发生。

除外糖尿病足溃疡外, dHACM 还可显著加快不同病因的难治性伤口的愈合。Garoufalos 等^[10] 回顾性研究了 2 年内门诊接受 dHACM 同种异体移植治疗的 117 例难治性伤口患者, 34% 为糖尿病性足溃疡, 25% 患有静脉曲张性溃疡, 20% 为手术伤口, 14% 为压疮, 6% 为缺血性伤口, 还有 2% 为外伤性伤口, 结果发现 91.1% 接受治疗的患者实现了完全愈合。

3 羊膜在宫腔粘连领域的临床应用现状

宫腔粘连是由于各种原因导致的子宫内膜基底层损伤, 引起子宫肌壁的相互粘连, 以致宫颈管、子宫腔部分或全部闭塞, 临床上主要表现为月经异常(常见为月经减少或继发性闭经)、继发不孕、周期性腹痛、反复流产及早产等^[11-12]。其发病率逐年上升, 尤其在流产、分娩后行刮宫术患者中, 宫腔粘连发生率可高达 25% ~ 30%^[13-14], 且临床治疗效果有限, 术后复发率为 3.1% ~ 23.5%, 重度宫腔粘连者高达 20% ~ 62.5%^[15], 已成为临床亟待解决的难题。目前宫腔镜直视下粘连松解术(transcervical resection of adhesions, TCRA) 术后预防再粘连多为综合治疗, 主要包括宫内节育器、球囊导管、玻璃质酸、羟甲基壳聚糖、透明质酸、雌孕激素等^[16-17], 主要集中于创面的机械屏障、抑制炎症、抑制纤维化形成等方面, 人工周期虽然可促进子宫内膜增殖修复, 但临床应用制剂种类、剂量、用药时间、治疗时间仍存在争议, 尚未达成治疗共识^[18], 临床缺乏有效确切的治疗手段^[11]。

羊膜作为 TCRA 术后预防宫腔再粘连的治疗方法, 目前临床有小样本临床研究。Amer 等^[19] 2006 年研究显示新鲜羊膜治疗中重度宫腔粘连, 可降低粘连发生率, 改善月经情况, 增加宫腔深度, 有一定的可行性和安全性。但研究并未进行生育结局探讨, 且仅为队列研究, 样本量 25 例较少。2010 年 Amer 等^[20] 改进研究方案, 通过前瞻性随机队列研究, 评价新鲜羊膜和冻干羊膜治疗宫腔粘连的疗效, 结果显示两种羊膜均可以减少再粘连形成, 改善月经情况, 并提高患者妊娠率, 考虑羊膜对宫腔内膜的修复可能是改善生殖预后的原因。但冻干羊膜相对新鲜羊膜更易临床推广应用, 容易贴合宫腔, 柔韧性好, 操作可控性强。国内早期开展 TCRA 术后羊膜治疗研究, 同样显示出羊膜预防宫腔再粘连形成的疗效^[21-22]。我们团队前期研究发现羊膜制品可改善宫腔粘连患者 AFS 评分, 提高其月经量, 并且在一定程度上减少粘连分离术后再粘连的形成^[23-24]。Peng 等^[25] 研究发现, 使用新鲜羊膜具有类似的效果, 可增加宫腔粘连患者月经量, 并能减少术后再粘连形成。但不论哪项研究, 尚未发现羊膜及其制品在改善宫腔粘连患者的妊娠结局中具有促进作用^[26], 也没有确切促进损伤子宫内膜修复的临床疗效; 且不同研究所用羊膜为新鲜羊膜或冻干羊膜, 均通过覆盖包裹 Foly 球囊表面作用于宫腔, 临床操作相对可控性差, 容易随拔除球囊影响, 且不能完全适型宫腔特殊的倒三角梨形腔隙, 有效分离创面, 发挥羊膜的生物学特性和活性。

4 微粒化羊膜用于宫腔粘连子宫内膜损伤后修复的理论基础

子宫内膜基底层受损后, 与其他组织创伤修复过程类似, 修复过程同样包括炎症期、组织形成期、组织重建期 3 个时期^[11]。子宫内膜上皮和间质细胞再生修复障碍, 血管形成受阻; 损伤刺激细胞释放多种细胞因子, 其中趋化因子及炎性细胞因子形成复杂网络, 促进局部损伤、炎症反应, 间质细胞被成纤维细胞替代, 最终细胞外基质形成与降解失衡, 纤溶与抗纤溶失调, 导致纤维化结缔组织形成, 残留少量内膜和腺体, 致使宫腔失去正常形态及功能。dHACM 可均匀分离子宫内膜损伤创面, 并作为生物支架作用促进内膜细胞上皮化, 参与局部炎症反应, 促进细胞增殖, 加速血管形成, 减少纤维化形成, 从而作用于子宫内膜损伤后修复的过程, 降低再粘连发生率。但需要注意的是, 由于子宫内膜组织结构的特殊性, 其修复涉及环节颇多, dHACM 具体通过哪些机制来促进内膜修复尚不明确, 可能与以下生物学活性相关。

4.1 提供生物支架

子宫腔生理状态下为潜在腔隙, 内膜损伤后裸露的创面直接接触, 从而触发一系列上皮间质转化、肌成纤维细胞转化等过程, 导致纤维结缔组织瘢痕形成。dHACM 作为一种生物学材料, 可避免宫腔粘连分离术后子宫腔创面间的直接贴附; 同时 dHACM 包含细胞外基质的胶原蛋白 I 和 IV、透明质酸、硫酸肝素蛋白聚糖、纤连蛋白和层粘连蛋白^[1], 可有效促进残留子宫内膜的上皮细胞黏附, 从而作为支架促进上皮细胞的增殖、移行; 另外 dHACM 以微载体形式提供细胞黏附和生长空间, 支架作用持续持久, 可延长至 21 d^[4]。

4.2 加速细胞增殖迁移

子宫内膜损伤后, 脱落创面重新上皮化是子宫内膜修复的启动环节, 随后间质在各种细胞因子的精密调控下合成细胞外基质, 实现修复的过程^[27]。研究表明 dHACM 参与细胞增殖、迁移、维持细胞因子活性等生理过程^[4]。dHACM 富含创伤愈合过程中发挥作用的生长因子, 如 ILs、TIMPs 等, 可以促进成纤维细胞增殖及间充质干细胞迁移, 趋化间充质干祖细胞募集^[28]。

4.3 促进血管再生

新生血管形成障碍同样是子宫内膜损伤瘢痕修复的关键因素。研究发现 dHACM 富含血管生成因子^[29], 包括血管生成素、血管生成素 2、EGF、碱性成纤维细胞因子、肝细胞生长因子、PDGF、血管内皮生长因子等, 其在体外通过促进内皮细胞增殖迁移及内皮细胞分泌内源性血管生成因子来促进血管增生, 体内可促进微血管形成。

4.4 减少炎症反应

子宫内膜基底层损伤后, 子宫内膜上皮和间质细胞再生修复障碍, 局部释放多种细胞因子, 其中趋化因子及炎性细胞因子形成复杂网络, 促进局部损伤、炎症反应。dHACM 可分泌已知在创伤愈合过程中发挥作用的生长因子, 如趋化因子、蛋白酶抑制剂^[1], 其中蛋白酶抑制剂, 其作用机理主要是通过抑制相应的蛋白酶活化, 从而发挥抗炎作用, 减少内膜损伤局部的过度炎症反应。

4.5 免疫源性低

羊膜可被视为免疫豁免组织,低表达甚至不表达人类白细胞抗原,因此宫腔粘连患者异体移植后组织相容性好,可避免发生免疫排斥反应^[30]。

5 展望

dHACM 可保留羊膜的生物学特性,作为微载体,提供细胞黏附和生长空间,促进细胞增殖、迁移、血管形成等,临床应用于骨科等领域具有良好安全性、可行性和疗效。羊膜作为宫腔粘连术后辅助治疗,目前临床应用的鲜羊膜或冻干羊膜不能有效发挥生物学效应。dHACM 在宫腔粘连领域有一定的应用前景,在实现注射方式成型宫腔特殊形态同时,可充分发挥羊膜基底膜结构的支架作用及羊膜生长因子的活性。但考虑到 dHACM 与羊膜的不同生物性状,具体临床应用治疗方法、剂量及治疗时间等方案尚需进一步探索。

【参考文献】

- [1] Lei J, Priddy LB, Lim JJ, et al. Identification of extracellular matrix components and biological factors in micronized dehydrated human amnion/chorion membrane [J]. *Adv Wound Care (New Rochelle)*, 2017,6(2):43-53.
- [2] 张冉,段华.羊膜移植在预防宫腔粘连中的应用[J].*中华妇产科杂志*,2012,47(6):470-472.
- [3] Ji SZ, Xiao SC, Luo PF, et al. An epidermal stem cells niche microenvironment created by engineered human amniotic membrane [J]. *Biomaterials*,2011,32(31):7801-7811.
- [4] Willett NJ, Thote T, Lin SP, et al. Intra-articular injection of micronized dehydrated human amnion/chorion membrane attenuates osteoarthritis development [J]. *Arthritis Research & Therapy*, 2014,16(1):R 47.
- [5] Zelen CM, Poka A, Andrews J. Prospective, randomized, blinded, comparative study of injectable micronized dehydrated amniotic/chorionic membrane allograft for plantar fasciitis? A feasibility study[J]. *Foot & Ankle International*,2013,34(10):1332-1339.
- [6] Cazzell S, Stewart J, Agnew PS, et al. Randomized controlled trial of micronized dehydrated human amnion/chorion membrane (dHACM) injection compared to placebo for the treatment of plantar fasciitis [J]. *Foot Ankle Int*,2018,39(10):1151-1161.
- [7] Alden KJ, Harris S, Hubbs B, et al. Micronized dehydrated human amnion chorion membrane injection in the treatment of knee osteoarthritis-a large retrospective case series [J]. *J Knee Surg*, 2019-11-28. doi:10.1055/s-0039-3400951. [Epub ahead of print]
- [8] Gellhorn AC, Han A. The use of dehydrated human amnion/chorion membrane allograft injection for the treatment of tendinopathy or arthritis: a case series involving 40 patients [J]. *PM R*, 2017, 9(12):1236-1243.
- [9] Hawkins B. The use of micronized dehydrated human amnion/chorion membrane allograft for the treatment of diabetic foot ulcers: a case series [J]. *Wounds*,2016,28(5):152-157.
- [10] Garoufalos M, Nagesh D, Sanchez PJ, et al. Use of dehydrated human amnion/chorion membrane allografts in more than 100 patients with six major types of refractory nonhealing wounds [J]. *J Am Podiatr Med Assoc*,2018,108(2):84-89.
- [11] 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.
- [12] Di SpiezioSardo A, Calagna G, Scognamiglio M, et al. Prevention of intrauterine post-surgical adhesions in hysteroscopy. A systematic

- review [J]. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2016, 203: 182-192.
- [13] Gilman AR, Dewar KM, Rhone SA, et al. Intrauterine adhesions following miscarriage: look and learn [J]. *J Obstet Gynaecol Canada*, 2016, 38(5):453-457.
- [14] Hooker AB, Lemmers M, Thurkow AL, et al. Systematic review and meta-analysis of intrauterine adhesions after miscarriage: Prevalence, risk factors and long-term reproductive outcome [J]. *Hum Reprod Update*, 2014, 20(2):262-278.
- [15] Yu D, Wong YM, Cheong Y, et al. Asherman syndrome—one century later [J]. *Fertility and Sterility*,2008,89(4):759-779.
- [16] Healy MW, Schexnayder B, Connell MT, et al. Intrauterine adhesion prevention after hysteroscopy: a systematic review and meta-analysis [J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2016, 215(3):267-275. e 7.
- [17] Lin XN, Zhou F, Wei ML, et al. Randomized, controlled trial comparing the efficacy of intrauterine balloon and intrauterine contraceptive device in the prevention of adhesion reformation after hysteroscopic adhesiolysis [J]. *Fertil Steril*, 2015, 104(1):235-240.
- [18] Johary J, Xue M, Zhu X, et al. Efficacy of estrogen therapy in patients with intrauterine adhesions: systematic review [J]. *J Minim Invasive Gynecol*,2014,21(1):44-54.
- [19] Amer MI, Abd-El-Maeboud KH. Amnion graft following hysteroscopic lysis of intrauterine adhesions [J]. *J Obstet Gynaecol Res*,2006,32(6):559-566.
- [20] Amer MI, Abd-El-Maeboud KH, Abdelfatah I, et al. Human amnion as a temporary biologic barrier after hysteroscopic lysis of severe intrauterine adhesions: pilot study [J]. *J Minim Invasive Gynecol*,2010,17(5):605-611.
- [21] 彭雪冰,夏恩兰.羊膜宫腔内植入+人工周期治疗中、重度宫腔粘连的安全性及有效性[J].*生殖与避孕*,2012,32(12):857-861.
- [22] 何全中.羊膜移植对预防宫腔粘连电切术后宫腔再粘连的研究[J].*中国妇幼保健*,2013,28(17):2799-2801.
- [23] 王欣,段华.羊膜制品在重度宫腔粘连治疗中的应用及疗效分析[J].*中华妇产科杂志*, 2016,51(1):27-30.
- [24] Gan L, Duan H, Sun FQ, et al. Efficacy of freeze-dried amnion graft following hysteroscopic adhesiolysis of severe intrauterine adhesions [J]. *Int J Gynecol Obstet*,2017,137(2):116-122.
- [25] Peng X, Li T, Zhao Y, et al. Safety and efficacy of amnion graft in preventing reformation of intrauterine adhesions [J]. *Journal of Minimally Invasive Gynecology*,2017,24(7):1204-1210.
- [26] Zheng F, Zhu B, Liu Y, et al. Meta-analysis of the use of amniotic membrane to prevent recurrence of intrauterine adhesion after hysteroscopic adhesiolysis [J]. *Int J Gynaecol Obstet*,2018, 143(2):145-149.
- [27] Garry R, Hart R, Karthigasu KA, et al. Structural changes in endometrial basal glands during menstruation [J]. *BJOG*,2010, 117(10):1175-1185.
- [28] Koob TJ, Rennert R, Zabek N, et al. Biological properties of dehydrated human amnion/chorion composite graft: implications for chronic wound healing [J]. *Int Wound J*, 2013, 10(5):493-500.
- [29] Koob TJ, Lim JJ, Massee M, et al. Angiogenic properties of dehydrated human amnion/chorion allografts: therapeutic potential for soft tissue repair and regeneration [J]. *Vasc Cell*,2014,6:10.
- [30] Kubo M, Sonoda Y, Muramatsu R, et al. Immunogenicity of human amniotic membrane in experimental xenotransplantation [J]. *Intest Ophthalmol Vis Sci*, 2001,42(7):1539-1546.