

阴道松弛与阴道萎缩自体有核细胞的干预治疗

魏冬梅^{1,2}, 牛晓宇^{1,2*}

作者单位:610041 四川 成都,1. 四川大学华西第二医院妇产科;2. 出生缺陷与相关妇科疾病教育部重点实验室(四川大学)

作者简介:牛晓宇,毕业于四川大学,博士,教授/主任医师,四川大学华西第二医院副院长,主要研究方向为妇科盆底泌尿、妇科肿瘤。参编《妇产科学》、《妇科肿瘤手册》等多部妇产科专著。发表学术论文 40 余篇,其中 SCI 论文多篇, MEDLINE 论文 30 余篇,并多次获得优秀论文奖。主持多项国家级和省级科研课题,连续多年主持举办国家级及省级关于妇科肿瘤和盆底功能障碍性疾病的继教项目。中国整形美容协会科技创新与器官整复分会常务理事,中华医学会泌尿外科学分会女性泌尿外科学组副组长,中华预防医学会盆底功能障碍防治专业委员会常务委员,中国整形美容协会科技创新与器官整复分会阴道整复与紧致专业委员会副主任委员,中国医院协会妇产医院管理分会质量管理学组成员,中华老年医学会妇产科分会常委,中国医疗保健国际交流促进会妇产医疗保健分会盆底健康医学联盟理事。

* 通讯作者, E-mail: xiaoyuniu72@163.com

【关键词】有核细胞;阴道松弛;阴道萎缩;治疗

【中图分类号】R 711.73 【文献标志码】A 【文章编号】1674-4020(2020)12-003-04

doi:10.3969/j.issn.1674-4020.2020.12.01

阴道松弛综合征(vaginal relaxation syndrome, VRS)以阴道壁松弛为特征,尤其在分娩后、多胎妊娠和自然衰老等女性群体中尤为突出^[1]。目前,对 VRS 还没有统一明确的定义,一般是指由于各种原因引起的阴道直径增大和/或阴道收缩力下降,可能继发于压力性尿失禁(stress urinary incontinence, SUI)等盆底疾病,也会影响部分女性的性功能和生活质量^[2]。随着我国社会经济的发展和进步,人们对生活质量的要求不断提高,观念也逐步发生改变,女性对美的追求从体表、形体,逐渐转向功能和心理的需求,尤其是性生活质量。VRS 直接影响女性的性生活质量和满意度,但目前在妇产科领域重视不足。

外阴阴道萎缩(vulvo-vaginal atrophy, VVA)^[3]是指绝经后老年女性因雌激素水平下降导致的外阴阴道黏膜组织的退行性改变,其主要临床表现包括阴道灼痛、瘙痒、干涩、性交痛、阴道分泌物增多、复发性阴道炎等。中国女性平均绝经年龄在 48~50 岁,随着我国正在迅速进入老龄化社会,对于人均期望寿命 75 岁的中国老年妇女来说,在 20~30 年的时间里需要面对绝经带来的一系列问题和疾病,尤其是 VVA 正严重并持久影响其生活质量。

目前,临床上针对阴道松弛和阴道萎缩的治疗效果不尽理想。近年来,国内外创新性生物治疗技术进展迅速,在恶性肿瘤、炎症、自身免疫性疾病、代谢性疾病、再

生医学等多个领域显示出巨大的应用潜力。随着细胞治疗技术的出现,尤其是干细胞等再生医疗技术,为治疗该类疾病带来了新的曙光。其中,自体有核细胞治疗越来越受到重视,具有较大临床应用潜力,故本文特作如下述评。

1 阴道松弛和阴道萎缩的治疗现状

1.1 阴道松弛的常规临床治疗方法

1.1.1 局部用药 目前有多种改善阴道松弛症、提升性生活质量的商品化制剂如乳膏、胶状物、栓剂、阴道冲洗液等,这些制剂中所含的化学物质和中药有明矾、杏仁油等,其对阴道黏膜有收敛作用,使用后可使妇女有阴道紧致的感觉,效果可持续 24 h,然而并不会改善松弛的盆底肌及阴道周围结缔组织,这些制剂均没有通过美国食品药品监督管理局(FDA)的批准。

1.1.2 盆底功能康复锻炼 Arnold Kegel 于 20 世纪 40 年代发明了 Kegel 训练法,指导患者通过一定的收缩频率、强度及疗程有意识地主动收缩放松盆底肌。目前, Kegel 训练法治疗阴道松弛症的效果仍需临床随机对照研究证实,其在改善产后妇女性功能方面有部分研究,但确切的疗效尚无定论^[4]。

1.1.3 电磁刺激及生物反馈技术 近年来,电刺激、磁刺激、生物反馈等技术极大地拓展了盆底功能康复治疗的选择,电磁刺激疗法属于盆底肌的被动锻炼,有不少

学者对其在盆底功能障碍性疾病的治疗方面做了临床探索,治疗效果尚不确切^[5,6]。此外,患者治疗后回家自行训练,常常很难坚持系统的长期康复训练。

1.1.4 阴道治疗用的能量设备 包括激光及射频治疗技术。目前采用激光、射频等方法治疗 VRS,产生能量刺激胶原再生,收缩弹性纤维,增加新生血管,改善阴道润湿性,达到阴道年轻化的目的^[7]。但 2019 年 7 月 Ahmed Al-Badr 等^[8]报道了 3 例阴道松弛的女性接受激光阴道年轻化治疗无效后,转而进行手术治疗,手术时均发现患者阴道黏膜较硬、有瘢痕,或较薄、易破碎等症状,使手术剥离难度增加。因此,目前对于阴道能量设备应用后的长期治疗效果和安全性还需要进一步跟踪、随访和评估,再进行推广应用。

1.1.5 透明质酸(Hyaluronan, HA)及胶原蛋白注射 该方法最近主要用于阴道年轻化。主要缺点是缺乏组织再生,其填充材料可吸收,未被自体组织替代,所以效果只是暂时的。

1.1.6 手术治疗 对于非手术治疗无效、年龄偏大的患者,也可采用手术治疗,不同手术方式治疗 VRS 的区别主要在于切口的位置、大小和黏膜肌的缝合治疗,但手术属于有创治疗,且存在相应的并发症,如术后血肿、瘢痕形成、慢性盆腔疼痛等。

1.2 阴道萎缩的治疗现状

1.2.1 局部治疗 包括阴道润滑剂、抗炎性阴道栓剂,阴道局部雌激素治疗及雌激素全身治疗^[3]。这些治疗方法安全、有效,用药期症状改善明显,但停药后易复发。激素替代疗法(hormone replacement therapy, HRT)疗效肯定,但药物依从性尚存在诸多影响因素。对于静脉血栓栓塞风险、乳腺癌及其他雌激素依赖性妇科恶性肿瘤女性,应用 HRT 尚需进行个体化评价。

1.2.2 激光和射频治疗 随着用于阴道治疗的能量设备出现,激光和射频逐渐被较多地用于治疗 VVA,但在一项基于 MAUDE 数据库的横断面分析发现使用激光治疗 46 例患者中有 33 例患者出现了慢性损伤,包括长期疼痛、麻木、阴道烧伤、感染、瘢痕、性交痛、症状加重,苔藓样硬化加重等^[9]。因此 FDA 于 2018 年 7 月 30 日发表声明,对激光等能量设备促进“阴道年轻化”的营销表示关注。FDA 表示,没有足够的数据来推荐这种方式,以改善绝经后妇女的性功能和缓解与绝经相关的泌尿生殖系统综合征症状^[10]。

2 细胞治疗的分类

细胞治疗的分类方式非常多样,作用原理包括细胞免疫、再生医学等;根据供体来源分为自体细胞、同种异体细胞和异种细胞等;根据细胞来源和分化潜能分为干细胞、前体细胞和成熟体细胞等;体外操作方法包括常规培养、定向诱导分化、基因编辑、遗传修饰等^[11]。目前最常见的体细胞治疗是肿瘤免疫细胞治疗,主要包括树突状细胞/细胞因子诱导的杀伤细胞(dendritic cell-

cytokine induced killer, DC-CIK)^[12]和过继性细胞治疗(adoptive cell therapy, ACT)等,其中 ACT 包括细胞因子诱导的自然杀伤细胞(CIK)、肿瘤浸润淋巴细胞(tumor infiltrating lymphocyte, TIL)、嵌合抗原受体 T 细胞(CAR-T)以及 T 细胞受体嵌合 T 细胞(TCR-T)等^[13];干细胞治疗包括胚胎干细胞(ESC)、组织特异性前体干细胞(TSPSC)、间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSC)、脐带干细胞(umbilical cord stem cells, UCSC)、骨髓干细胞(BMSC)和诱导多潜能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPSC)等^[14]。

目前,国际上绝大多数细胞治疗临床研究是利用各种类型的干细胞或前体细胞开展的,适应证涵盖了糖尿病、脑血管病、心衰、肝硬化、器官或骨髓移植、脊髓损伤、帕金森症、骨关节炎、自身免疫性疾病、遗传代谢病等多种类型的疾病。干细胞移植治疗(stem cell transplantation therapy, SCT)是将健康的干细胞移植到患者体内,以修复或替换受损的细胞或组织,从而达到治愈的目的^[15]。SCT 已广泛应用于神经系统疾病(脑瘫、脊髓损伤、运动神经元病、帕金森病、脑损伤后遗症等)、免疫系统疾病(糖尿病、皮炎、肌无力、血管病、硬化病、白血病等)和其他医疗和外科疾病(肝病、肝硬化、股骨头坏死等)^[16]。以上研究表明, SCT 在治疗多种疾病方面具有广阔的应用前景^[17]。然而, SCT 在阴道松弛中的作用和价值尚未报道。

特别是干细胞治疗技术,干细胞被认为是一类通过自我更新、多向分化和分泌生物活性因子来改善组织修复的细胞。在受损的盆底组织诱导下,干细胞向肌细胞及成纤维细胞分化,补充受损组织细胞来源,修复受损组织。此外,干细胞还具有抗细胞凋亡、抗炎和促进新血管形成的作用,从而克服了其他治疗方法带来的不足之处。

3 目前在女性阴道松弛及萎缩中应用的细胞治疗技术

3.1 脂肪干细胞注射治疗

在过去的几年里,自体脂肪移植已成为首选治疗方法以恢复并实现结构修改。这种方法,利用患者自身的脂肪作为填充物,因其丰富性和易得性,从而避免与外源性材料有关的并发症。Kuismanen 等^[18]首次介绍了自体脂肪干细胞(adipose-derived stem cells, ADSCs)联合胶原凝胶治疗女性 SUI 患者的初步研究。通过膀胱镜经尿道将 ADSCs 与胶原凝胶的混合物注入尿道括约肌。5 例患者中有 3 例咳嗽试验呈阴性,2 例在 12 个月的随访中症状改善,该实验还证实在 1 年的观察期内 ADSCs 治疗安全、有效且患者耐受性良好。脂肪移植虽是微创手术,但也可能造成严重并发症,如失明、栓塞、皮肤坏死、脂肪坏死引发的油脂囊肿、钙化、感染等严重并发症。同时 ADSCs 的提取、分离、制备和存储均对专业医师的技术要求较高,在一定程度上限制了此治疗方法

开展,因此还需要进一步评估推进此技术的必要性。

3.2 富含血小板的血浆注射治疗

2018 年 Barbara 等^[19]报道浓缩血小板联合透明质酸钠注射治疗有乳腺癌病史的绝经后女性 VVA,疗效显示可较大改善该类患者阴道黏膜干涩及同房不适,增加阴道的湿润度及水分,但需要更大样本量的随机对照试验进一步评估该方法的效果及远期安全性。Charles 等^[20]报道富含血小板的血浆 (platelet-rich plasma, PRP) 可以有效改善女性性功能障碍,但出现不良作用:极度性唤起,包括排尿性唤起、持续性唤起、射精性高潮和自发性高潮。除了射精性高潮,这些不良作用无需做进一步治疗,只持续了 1~2 周,且发生在接受治疗的性功能障碍较轻的年轻患者身上。

3.3 肌源性干细胞

肌源性干细胞 (muscle derived stem cell, MDSCs) 来源于成人肌肉纤维的肌膜和基底层之间的卫星细胞。卫星细胞在肌肉损伤或需要肌肉生长的情况下被激活生成肌细胞。MDSCs 来源丰富,局部麻醉下容易获得,近年来较多用于治疗盆底疾病如 SUI 的研究。在以往研究中,自体 MDSCs 已成功整合到尿道组织中,并在短期内部分恢复了尿道括约肌功能^[21]。然而,MDSCs 常在移植和扩展到体内之前没有刺激的情况下就会迅速分化,影响治疗效果。另一方面,MDSCs 的取材会给患者带来痛苦,需要大的肌肉活检组织才可获得 MDSCs。如果细胞采集过程不当,会增加患者感染的风险。以上这些缺陷限制了 MDSCs 的应用。

3.4 间充质干细胞

MSCs 是干细胞家族的重要成员,来源于发育早期的中胚层,属于多能干细胞,包括骨髓间充质干细胞 (bone marrow-derived mesenchymal cells, BMSCs)、脂肪源性间充质干细胞 (adipose-derived mesenchymal stem cells, ADMSCs)、子宫内膜间充质干细胞 (endometrial mesenchymal stem cells, EMSCs) 等。MSCs 可以在保持其未分化状态的基础上自我更新,其强大的增殖能力为大规模扩增提供了基本条件。MSCs 具有多向分化的潜能,在不同的诱导条件下,可分化为脂肪、骨、软骨、肌肉、韧带、神经等多种组织细胞,这为组织修复和再生提供了新的方法。但 BMSCs 的自体骨髓提取过程常常需要经历痛苦的侵入性手术,且随着老龄化,自体骨髓干细胞数目明显减少,有报道称老年人的 BMSCs 增殖和分化潜能较年轻人差,这也限制了 BMSCs 的应用。

4 有核细胞技术的作用机制

有核细胞治疗技术是采用密度梯度离心法将人体的外周血中的红细胞、血浆物质靶向去除,分离出一组具有较强修复力、再生力的细胞团,包括干细胞 (成体干细胞、真皮干细胞)、淋巴细胞、单核细胞、浆细胞以及巨噬细胞、树突状抗原递呈细胞、自然杀伤细胞和中性粒细胞等细胞。这些细胞的行为,无论是孤立的还是共生

的一旦进入阴道黏膜,可能通过补充受损、衰老的阴道黏膜和降低分解代谢,从而减轻疾病症状和进展。它们还可以调节先天性和适应性免疫反应。有核细胞能抑制炎症反应,通过降低中性粒细胞的活性以及炎症细胞因子的产生,减少静息自然杀伤细胞的细胞毒活性,促进调节性 T 细胞的免疫反应等。另外有核细胞可分泌多种生物活性因子,包括生长因子、细胞因子、微囊和外泌体^[22]。并且通过旁分泌功能刺激成体干细胞的分裂和增殖,两者之间存在协同作用。成体干细胞具有多向分化潜能,虽然在外周血中只含有极少量,平时处于静止或缓慢分裂状态,当机体受到损伤或血小板活化时,在释放出组织生长因子的作用下,成体干细胞被激活,形成具有生理活性的细胞来修复损伤的组织,维持生理功能的稳定,包含神经干细胞、造血干细胞 (hematopoietic stem cells, HSC)、骨髓干细胞、表皮干细胞等^[23]。成体干细胞还具有多向分化潜能。在特定条件下,成体干细胞或者产生新的干细胞,或者按一定的程序分化,形成新的功能细胞,从而使组织和器官保持生长和衰退的动态平衡。成体干细胞的研究始于 20 世纪 60 年代人们对 HSC 的研究。HSC 是目前研究得最清楚、应用最成熟的成体干细胞,它在移植治疗血液系统及其他系统恶性肿瘤、自身免疫病和遗传性疾病等中均取得令人瞩目的进展,同时也为其他类型成体干细胞的研究和应用奠定了坚实的基础。目前已经在心肌疾病、神经退行性疾病、骨骼疾病、肝脏疾病中应用^[24]。

通过空针介导的自体有核细胞移植 (autologous nucleated cell transplantation, ANCT),将有核细胞注入阴道黏膜层,有核细胞含有单核细胞和淋巴细胞,可提高阴道免疫^[25]。有核细胞中的干细胞和细胞因子可以促进组织再生和修复,增加阴道弹性,提高性生活质量,缓解 SUI^[25]。与其他干细胞技术相比,有核细胞技术可以在手术室中直接分离出细胞,获取相对容易,而且不需要培养扩增,可以直接应用。这样,从分离到移植只需要一步,从而降低了成本,避免了污染,且不需要考虑伦理学方面的问题。直接将干细胞局部注射到阴道壁组织,避免了干细胞的培养扩增引起的抗原性变化和遗传基因变异以及多向分化能力导致的潜在致癌性。

5 有核细胞的临床应用探索

鉴于目前国内外尚未有 SCT 在女性阴道松弛中的研究,四川大学华西第二医院于 2019 年 1~7 月选择 10 例 VRS 已婚妇女。所有患者均采用自 ANCT 治疗,每月 1 次,连续 3 次,每次治疗后随访 1 个月,以评估 ANCT 治疗以阴道松弛为特征的 VRS 的安全性和有效性。该研究采用阴道松弛度、女性性功能指数、阴道健康指数评分、主观症状改善量表评定疗效。10 例均顺利完成 ANCT 治疗,治疗后阴道松弛程度、湿润度、空气感、敏感度、阴道分泌物均有明显改善,阴道关闭功能不全改善 50%。所有患者无明显的不良作用或并发症。研究表

明 ANCT 能有效改善 VRS 患者的阴道松弛程度、性功能和阴道健康状况,可以提高 VRS 患者的性生活质量,为其非手术治疗提供更多的选择。因研究的例数较少,需要更大样本量的随机对照试验评估该方法的效果及远期安全性。

6 展望

VRS 及 VVA 是一种多原因、多表现的结构和功能异常。早期 VRS 和 VVA 可能会引起一系列复杂的继发症状,需要根据患者的个体情况选择合适的治疗方法。有核细胞治疗技术为患者的非手术治疗提供了一种更好的选择。未来希望进行相应的随机对照研究,并于治疗后立即进行组织学评估和进一步随访,以帮助比较 ANCT 治疗后阴道结构的变化,明确该治疗 VRS 和 VVA 的安全性、有效性。

【参考文献】

- [1] M Gambacciani, S Palacios. Laser therapy for the restoration of vaginal function [J]. *Maturitas*, 2017, 99(8): 10-15.
- [2] J C Caruth. Evaluation of the safety and efficacy of a novel radiofrequency device for vaginal treatment [J]. *Surgical Technology International*, 2018, 32(5): 145-149.
- [3] Santos I, Clissold S. Urogenital disorders associated with oestrogen deficiency: the role of promestriene as topical oestrogen therapy [J]. *Gynecol Endocrinol*, 2010, 26(4): 644-651.
- [4] Ferreira CH, Dwyer PL, Davidson M, et al. Does pelvic floor muscle training improve female sexual function? A systematic review [J]. *Int Urogynecol J*, 2015, 26(12): 1735-1750.
- [5] Yang S, Sang W, Feng J, et al. The effect of rehabilitation exercises combined with direct vagina low voltage low frequency electric stimulation on pelvic nerve electrophysiology and tissue function in primiparous women: a randomised controlled trial [J]. *J Clin Nurs*, 2017, 26(1): 23-24.
- [6] Pan H, Bao Y, Cao H, et al. The effectiveness of magnetic stimulation for patients with pelvic floor dysfunction: a systematic review and meta-analysis [J]. *Neurol Urodyn*, 2018, 37(8): 2368-2381.
- [7] MS Lee. Treatment of vaginal relaxation syndrome with an erbium: YAG laser using 90 degrees and 360 degrees scanning scopes: A pilot study & short-term results [J]. *Laser therapy*, 2014, 23(4): 129-138.
- [8] Ahmed Al-Badr, Waleed H Alkhamis. Laser vaginal tightening complications: report of three cases [J]. *Lasers in Surgery and Medicine*, 2019, 51(7): 757-759.
- [9] Salvatore S, Nappi RE, Parma M, et al. Sexual function after fractional microablative CO₂ laser in women with vulvo vaginal atrophy [J]. *Climacteric*, 2015, 18(2): 219-225.
- [10] Jusleen Ahluwalia, Mathew M Avram, Arisa E Ortiz. Lasers and energy-based devices marketed for vaginal rejuvenation: A cross-sectional analysis of the MAUDE database [J]. *Lasers in Surgery*, 2019, 51(3): 757-759.
- [11] Mount NM, Ward SJ, Kefalas P, et al. Cell-based therapy technology classifications and translational challenges [J]. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 2015, 370(1680): 17.
- [12] Jäkel CE, Schmidt-Wolf IG. An update on new adoptive immunotherapy strategies for solid tumors with cytokine-induced killer cells [J]. *Expert Opin Biol Ther*, 2014, 14(7): 905-916.
- [13] Rosenberg SA, Restifo NP. Adoptive cell transfer as personalized immunotherapy for human cancer [J]. *Science*, 2015, 348(6230): 62-68.
- [14] Mahla RS. Stem cells applications in regenerative medicine and disease therapeutics [J]. *Int J Cell Biol*, 2016, 2016: 1-24.
- [15] A Trounson, C McDonald. Stem cell therapies in clinical trials: Progress and challenges [J]. *Cell Stem Cell*, 2015, 17(2): 11-22.
- [16] L Mazzini, D Ferrari, P R Andjus, et al. Advances in stem cell therapy for amyotrophic lateral sclerosis [J]. *Expert opinion on biological therapy*, 2018, 18(2): 865-881.
- [17] L Iturriaga, R Hernaez-Moya, I Erezuma, et al. Advances in stem cell therapy for cartilage regeneration in osteoarthritis [J]. *Expert Opinion on Biological Therapy*, 2018, 18(2): 883-896.
- [18] Kuismanen K, Sartoneva R, Haimi S, et al. Autologous adipose stem cells in treatment of female stress urinary incontinence: results of a pilot study [J]. *Stem Cells Translational Medicine*, 2014, 3(8): 936-941.
- [19] Hersant, Barbara, SidAhmed-Mezi, et al. Efficacy of injecting platelet concentrate combined with hyaluronic acid for the treatment of vulvovaginal atrophy in postmenopausal women with history of breast cancer: a phase 2 pilot study [J]. *The Journal of The North American Menopause Society*, 2018, 25(10): 1124-1130.
- [20] Charles Runels, Hugh Melnick, Ernest Debourbon, et al. A pilot study of the effect of localized injections of autologous platelet rich plasma (prp) for the treatment of female sexual dysfunction [J]. *J Women's Health Care*, 2014, 3(4): 1-3.
- [21] Stangel-Wojcikiewicz K, Jarocha D, Piwowa R M, et al. Autologous muscle-derived cells for the treatment of female stress urinary incontinence: a 2-year follow-up of a Polish investigation [J]. *Neurology and Urodynamics*, 2014, 33(3): 324-330.
- [22] Soltan M, Smiler D, Choi J H. Bone marrow: orchestrated cells, cytokine growth factors for bone regeneration [J]. *Implant Dent*, 2009, 18(2): 132-141.
- [23] De Vries AM, Wadhwa H, Huang J, et al. Complications of urethral bulking agents for stress urinary incontinence: an extensive review including case reports [J]. *Female Pelvic Med Reconstr Surg*, 2018, 24(6): 392-398.
- [24] Siddiqui ZA, Abboudi H, Crawford R, et al. Intraurethral bulking agents for the management of female stress urinary incontinence: a systematic review [J]. *Int Urogynecol J*, 2018, 28(9): 1275-1284.
- [25] PW Marks, CM Witten, RM Califf. Clarifying stem-cell therapy's benefits and risks [J]. *The New England Journal of Medicine*, 2017, 376(100): 1007-1009.

(收稿日期: 2020-03-15 编辑: 杨叶)