

选择性单胚胎移植研究进展

李先乐, 腊晓琳*

新疆医科大学第一附属医院生殖助孕中心, 新疆 乌鲁木齐

收稿日期: 2023年11月13日; 录用日期: 2023年12月7日; 发布日期: 2023年12月14日

摘要

辅助生殖技术在全国广泛应用, 其研发和应用, 应以安全为前提, 不断提高该技术的有效性。胚胎选择技术的迅速发展, 在促进临床单胚胎成功移植方面取得了重要的成就。选择性单胚胎移植在保证妊娠率的同时, 可降低妊娠并发症, 近年来成为生殖领域关注的重点内容。综述选择性单胚胎移植形态学评估、延时监测技术、植入前遗传学检测、代谢组学等评价方法, 分析其研究进展。

关键词

单胚胎移植, 研究进展

Research Progress of Selective Single Embryo Transfer

Xianle Li, Xiaolin La*

Reproductive Pregnancy Center of the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi Xinjiang

Received: Nov. 13th, 2023; accepted: Dec. 7th, 2023; published: Dec. 14th, 2023

Abstract

Assisted reproductive technology is widely used in the country, and its research and application should be based on safety and continuously improve the effectiveness of the technology. The rapid development of embryo selection technology has made important achievements in promoting the successful transfer of clinical embryos. Selective single embryo transfer can not only ensure the pregnancy rate, but also reduce pregnancy complications, which has become the focus of attention in the field of reproduction in recent years. The evaluation methods of selective single embryo transfer, such as morphological evaluation, delayed monitoring technique, pre-implantation genetic detection and metabonomics, were reviewed, and their research progress was analyzed.

*通讯作者。

Keywords

Single Embryo Transfer, Research Progress

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

1978年当今世界首例“试管婴儿”在英国出生, 1983年首例人类冷冻胚胎着床妊娠获得成功, 从此以后体外受精-胚胎移植(*in vitro* fertilization-embryo transfer, IVF-ET)在世界各地飞速推进并广泛运用于医学领域, 作为辅助生殖技术(Assisted Reproductive Technology, ART)的重要组成部分, 给广大不孕不育家庭创造新的希望。近年来, 不孕症发病率有增加的趋势, 全球范围的不孕症患病率约为8%~12% [1]。我国不孕患病率从2007年的11.9%攀升至2010年的15.5% [2]。辅助生殖技术得以飞速发展, 其成功率从上个世纪90年代的26%上升至现在的40%~60% [3] [4]。2016年我国ART周期数远超100万次, 2017年高达115万次。截至2019年底, 我国大陆总计有517个辅助生殖中心和27个人类精子库[5]。在早期阶段, 胚胎移植是在卵裂阶段进行的, 最多移植了两个胚胎, 多胎妊娠的比例很高, 导致产妇和胎儿发病率增加[6]。与此同时大大增加了患病者的心理负担和家庭、医院、社会的经济费用。单囊胚移植是辅助生殖技术(ART)周期中避免多胎妊娠的有效方法[7]。随着对多胎妊娠不利影响认识的不断加深, 减少移植胚胎数目能大幅降低多胎妊娠的发生率已成广泛共识[8]。

2. 选择性单胚胎移植(Selective Single Embryo Transfer, eSET)现状

一些欧洲国家已经采取立法措施, 限制每个周期移植的胚胎数量。北欧国家的单胚胎移植比率很高, 尤其是瑞典, 荷兰、澳大利亚、新西兰和日本, 导致这些国家的多胎出生率低至2%至3% [9]。然而, 在欧洲、亚洲、拉丁美洲和非洲等许多其他国家, 多胎生育率仍然很高[10]。2018年中华医学会专家共识明确提出, 减少植入胚胎数量是减低辅助妊娠助孕过程中多胎妊娠的有效措施, 同时指出对没有显著影响妊娠因素的患病者专家建议均行单胚移植。提议借助选择性单胚胎移植(eSET)策略, 持续高度关注降低多胎妊娠[11]。2018年的一份研究显示, 一次移植2个胚胎的病例与两次单独移植1个胚胎病例的临床妊娠率相似(双胚胎移植: 46.6% vs 单胚胎移植: 45.9%, $P = 0.898$), 然而, 多胎妊娠率明显更高(双胚胎移植: 32.2% vs. 单胚胎移植: 6.7%; $P < 0.01$) [12]。

3. eSET 胚胎选择

为进一步提高单胚移植的着床率, 优化胚胎选择相当关键。一些但不是所有发达国家使用延时形态学评估(有时借助于算法和人工智能)、植入前非整倍体基因检测(PGT-A), 以及培养基代谢物评估胚胎质量[13]。

3.1. 胚胎形态学评分

3.1.1. 卵裂期胚胎评价

现阶段临床工作中主要借助胚胎形态学对卵裂期胚胎进行评分, 而卵裂期胚胎形态上的评估主要包含卵裂球数目、对称性及碎片率[14]。按照形态学参数对D₃胚胎进行评估[15], 将早期胚胎分为4级。I

级: 细胞大小均匀, 形状规则, 透明带完整; 胞质均匀清晰, 无颗粒现象; 碎片 < 10%。II 级: 细胞大小略不均匀, 形状略不规则; 胞质有少许颗粒; 碎片 10%~20%。III 级: 细胞大小明显不均匀, 且有明显的形状不规则; 胞质有明显颗粒; 碎片 21%~50%。IV 级: 细胞大小严重不均匀; 胞质有严重颗粒; 碎片在 50% 以上。

3.1.2. Gardner 囊胚分级法

目前应用最广泛的 Gardner 囊胚评分, 从囊胚的扩张状态、内细胞团和滋养层细胞的发育这三个方面对囊胚质量进行评估, 将囊胚发育分为 1~6 期, 3 期及以上的囊胚, 则再进一步对囊胚内细胞团(inner cell mass, ICM)和滋养外胚层(trophectoderm, TE)进行评级。与卵裂期胚胎移植相比较, 囊胚移植有更高的植入率, 能够选择更具有良好发育潜能的胚胎, 减少着床失败的风险, 同时在移植时与子宫内膜有更好的同步性。

事实证明, 即使在经验丰富的胚胎学家手中, 基于不客观评估的分级系统也会导致观察者内部和观察者之间的高度变异性[16]。形态学评分是评价卵子和胚胎发育潜能最常用的方法, 但其有单一时间点观察、主观因素影响大、对着床结局的预测不准确等缺点[17]。因胚胎发育是一个连续的不断逐渐变化的过程, 不可能通过某一时间点的单个参数有效评估胚胎的发育潜能, 各不同发育阶段的多重选择相结合才最有可能分辨出具有种植潜能的胚胎。

3.2. 延迟监测技术

延时监测技术通过连续观察胚胎的成长过程, 与计算机的分析功能相结合, 可为将来自动筛选胚胎提供可能[18]。这一动态评估胚胎发育过程, 主要评估胚胎发育的原核期、卵裂期、囊胚期 3 个时期。将延时监测技术与临床实践紧密结合, 使胚胎学家能够在胚胎未受干扰的情况下, 深入细致的研究观察胚胎发育。对 5 个随机对照试验的荟萃分析表明[19], 体外受精周期中延迟监测(time-lapse monitoring, TLM)的应用与单个时间点的形态评估相比, 持续累积妊娠率(51.0% vs. 39.9%)和活产率(44.2% vs. 31.3%)更高。延时监测可能对年龄偏大患者的选择更有效, 因为高龄产妇(≥ 35 岁)在妊娠期间染色体减数分裂错误的风险更高。近些年来, TLM 在临床医学中的应用更加广泛。与传统的静态形态评价相比, TLM 为胚胎学家提供了更准确的未受干扰环境下胚胎的参数信息[20]。

该项技术可通过每 5~20 分钟自动图像收集对初期胚胎发育情况进行连续性评估, 因而不依赖于静态观察来界定一个高度动态的过程。此外, 胚胎评分无需脱离培养箱, 因此胚胎不会暴露在光线、湿度、温度、pH 值和气相的变化中, 这是一系列形态分级所必需的。这样, 就减少了样本处理, 减少了人为错误的风险。TLM 系统价格昂贵, 尚无法作为常规技术大规模使用。

3.3. 植入前遗传学检测

植入前遗传学检测(preimplantation genetic testing, PGT)是指分析卵母细胞或胚胎 DNA 以确定染色体数目畸变的方法。目前 PGT 主要包括染色体结构重排胚胎筛选(PGT-structural rearrangements, PGT-SR)、单基因遗传病胚胎筛选(PGT-for monogenic disorder, PGT-M)和非整倍体胚胎筛选(PGT-aneuploidy screening, PGT-A), 多数应用于高龄、复发性流产、反复着床失败和罹患染色体疾病、单基因遗传疾病的患病者等[21]。PGT 核心技术, 特别是针对非整倍体的遗传学筛查, 可为减低流产率、进一步提高妊娠率及有效精准阻断致病基因的垂直传播提供更多参考[22]。2019 年的一项随机对照试验得出结论, PGT-A 作为单次冻融胚胎移植的选择标准可以提高 35~40 岁女性的持续妊娠率; 在 PGT-A 周期中, 每次胚胎移植的持续妊娠率约为 50%。郝永秀等[23]发现, 基于囊胚期活检的 PGT-A 可显著提高 ≥ 38 岁助孕女性在

单囊胚解冻移植周期中的生化妊娠率、临床妊娠率及活产率, 并显著降低流产率。两项前瞻性随机临床试验表明, 囊胚滋养外胚层染色体(PGT-A)的植入前遗传学检测有可能识别具有较高植入潜力的胚胎, 并尽量避免非整倍体引起的流产[24]。滋养外胚层(TE)细胞活检现在是 PGT 的标准方法[25]。随着越来越多的证据支持 PGT-A 的更高成功率, PGT-A 在常规体外受精实践中的使用正在全球范围内增加[21]。

PGT 活检技术不断完善, 从先前的卵裂球期胚胎活检改为如今的囊胚滋养层细胞活检或极体活检, 后者可以活检多个细胞, 具有重复性高、遗传信息更多等优点[26]。尽管滋养外胚层活检在 PGT-A 中已经变得非常流行, 但对于滋养外胚层活检的时间(冷冻前和冷冻后)还没有达成共识[27]。

3.4. 代谢组学

人类胚胎在培养基中发育时, 会消耗可利用的营养物质并释放代谢物, 从而改变培养基上清液。因此, 对胚胎培养基上清液进行详细的化学分析可以提供反映细胞代谢活动和胚胎整体发育状况的信息。代谢组学被认为是一种评估卵母细胞质量、胚胎活力和子宫内膜受体的无创技术[28]。能够更全面地观察发育中的卵母细胞和胚胎的营养状况, 这对今后的诊断和明显改善生育治疗的结果有着潜在的现实意义。非侵入性的代谢组学评估能充分反映细胞的基本功能正常与否, 为甄选潜能胚胎提供新的“窗口”[28]。

4. eSET 优缺点

4.1. 优点

对于卵巢反应正常的患者, 单囊胚移植是降低多胎妊娠率、明显改善围产结局并能长期维持整体临床妊娠率的最佳选择。刘丽等研究发现[29], 单胚胎移植组的临床妊娠率(50.77% vs. 53.83%)和早期流产率(18.18 vs. 9.48)与双胚胎移植组并无显著性差异($P > 0.05$), 而多胎妊娠率显著低于双胚胎移植组(0% vs. 29.86, $P < 0.001$)。由于我国放开“二孩”、“三孩”政策, 单胚移植有助于避免多胎妊娠所致的母儿并发症。

4.2. 缺点

在推行 eSET 的过程中, 由于部分患者对单胚移植的了解程度不够, 对双胞胎的偏好甚至超过安全妊娠。患者认为双胚胎移植比 eSET 有更高更快的成功机会, 而且, 他们通常认为双胎妊娠是一个理想的治疗结果, 可以同时获得两个孩子, 更适合他们的家庭计划[30]。迄今为止仍缺少行之有效的评估指标预测卵裂期胚胎发育成囊胚的潜能, 所以即便卵裂期胚胎形态发育良好, 也无法避免无囊胚移植的潜在风险, 尤其是对于高龄、卵巢低反应者、获卵数较少者。在这些患者看来 eSET 是一次无谓且成本高昂的尝试, 而且可能推迟其成功妊娠时间[31]。

5. 展望

全球范围内双胎率呈现逐步下降的趋势, 中华医学会 2016 年统计数据结果显示, 中国 IVF-ICSI 治疗周期双胎率约 27.2%~27.9% [32], 远超过美国及欧洲的许多国家, 并且和现阶段国际广泛认可的 ART 多胎率控制标准(10%)存在差距[33]。2017 年数据报告 eSET 策略实施占比不到 40%, 较发达国家尚有一定差距[34]。避免多胎妊娠的一个好策略是选择性单胚胎移植, 采用这一策略的重要因素是患者的良好咨询和选择具有高植入潜力的胚胎。因此, 应当积极提倡鼓励单胚胎移植。然而, SET 还需要更一致的方法来识别最适合移植的胚胎, 以及改进预测活产的方法。IFV-ET 治疗的理想结局是获得单胎、足月、健康的胎儿, 尽量减少多胎妊娠风险及相关的产科并发症, 因此选择性单胚胎移植是实现此目标的有效措施[11]。

参考文献

- [1] Vander Borgh, M. and Wyns, C. (2018) Fertility and Infertility: Definition and Epidemiology. *Clinical Biochemistry*, **62**, 2-10. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2018.03.012>
- [2] Zhou, Z., Zheng, D., Wu, H., et al. (2018) Epidemiology of Infertility in China: A Population-Based Study. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology*, **125**, 432-441. <https://doi.org/10.1111/1471-0528.14966>
- [3] 张燕, 言懿. 辅助生殖第一大国[J]. 中国经济周刊, 2021(11): 32-35.
- [4] 黄国宁. 2019年辅助生殖技术学科新进展[J]. 中华医学信息导报, 2020, 35(2): 17.
- [5] Qiao, J., Wang, Y., Li, X., et al. (2021) A Lancet Commission on 70 Years of Women's Reproductive, Maternal, Newborn, Child, and Adolescent Health in China. *The Lancet*, **397**, 2497-2536. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)32708-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)32708-2)
- [6] Shi, Y., Sun, Y., Hao, C., et al. (2018) Transfer of Fresh versus Frozen Embryos in Ovulatory Women. *The New England Journal of Medicine*, **378**, 126-136. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1705334>
- [7] Kim, H.J., et al. (2021) Embryo Selection Based on Morphological Parameters in a Single Vitrified-Warmed Blastocyst Transfer Cycle. *Reproductive Sciences*, **28**, 1060-1068. <https://doi.org/10.1007/s43032-020-00349-6>
- [8] Kamath, M.S., Mascarenhas, M., Kirubakaran, R. and Bhattacharya, S. (2020) Number of Embryos for Transfer Following *in vitro* Fertilisation Or Intra-Cytoplasmic Sperm Injection. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, **8**, 102-108. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD003416.pub5>
- [9] Ishihara, O., Jwa, S.C., Kuwahara, A., et al. (2020) Assisted Reproductive Technology in Japan: A Summary Report for 2017 by the Ethics Committee of the Japan Society of Obstetrics and Gynecology. *Reproductive Medicine and Biology*, **19**, 3-12. <https://doi.org/10.1002/rmb2.12307>
- [10] Bergh, C., Kamath, M.S., Wang, R., et al. (2020) Strategies to Reduce Multiple Pregnancies during Medically Assisted Reproduction. *Fertility and Sterility*, **114**, 673-679. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2020.07.022>
- [11] 孙贻娟, 黄国宁, 孙海翔, 等. 关于胚胎移植数目的中国专家共识[J]. 生殖医学杂志, 2018, 27(10): 940-945.
- [12] Monteleone, P.A.A., Peregrino, P.F.M., Baracat, E.C. and Serafini, P.C. (2018) Transfer of 2 Embryos Using a Double-Embryo Transfer Protocol versus 2 Sequential Single-Embryo Transfers: The Impact on Multiple Pregnancy. *Reproductive Sciences*, **25**, 1501-1508. <https://doi.org/10.1177/1933719118756750>
- [13] Practice Committees of the American Society for Reproductive Medicine and the Society for Assisted Reproductive Technology (2018) The Use of Preimplantation Genetic Testing for Aneuploidy (PGT-A): A Committee Opinion. *Fertility and Sterility*, **109**, 429-436.
- [14] Sun, Y., Li, E.S., Feng, G.F., et al. (2020) Influence of Cleavage-Stage Embryo Quality on the *in-vitro* Fertilization Outcome after Single Embryo Transfer in Fresh Cycles. *Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology*, **59**, 872-876. <https://doi.org/10.1016/j.tjog.2020.08.003>
- [15] Youssef, M.M., Mantikou, E., van Wely, M., et al. (2015) Culture Media for Human Pre-Implantation Embryos in Assisted Reproductive Technology Cycles. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, **20**, CD007876. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD007876.pub2>
- [16] Cimadomo, D., Fernandez, L.S., et al. (2022) Inter-Centre Reliability in Embryo Grading across Several IVF Clinics Is Limited: Implications for Embryo Selection. *Reproductive BioMedicine Online*, **44**, 39-48. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2021.09.022>
- [17] 肖亚玲, 孙正怡. 胚胎形态学评估的临床应用价值[J]. 中华生殖与避孕杂志, 2020, 40(1): 60-64.
- [18] 张臻, 胡艳秋, 余宏, 等. 延时摄像系统对胚胎发育及妊娠结局的影响[J]. 中华妇幼临床医学杂志(电子版), 2018, 14(6): 675-682.
- [19] Pribenszky, C., Nilssid, A.M. and Montag, M. (2017) Time-Lapse Culture with Morphokinetic Embryo Selection Improves Pregnancy and Live Birth Chances and Reduces Early Pregnancy Loss: A Meta-Analysis. *Reproductive BioMedicine Online*, **5**, 511-520. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2017.06.022>
- [20] Paulson, R.J. (2018) Time-Lapse Imaging. *Fertility and Sterility*, **109**, 583. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2018.02.013>
- [21] Greco, E., Litwicka, K., Minasi, M.G., et al. (2020) Preimplantation Genetic Testing: Where We Are Today. *International Journal of Molecular Sciences*, **21**, Article 4381. <https://doi.org/10.3390/ijms21124381>
- [22] 庞敏, 刘静文, 赵琼珍, 等. 胚胎植入前遗传学检测在染色体结构异常不孕夫妇治疗中的应用[J]. 中华生殖与避孕杂志, 2020, 40(7): 573-578.
- [23] 郝永秀, 陈伟, 严智强, 等. 基于囊胚期活检的胚胎植入前非整倍体遗传学监测对高龄女性母婴结局的影响[J]. 中华生殖与避孕杂志, 2022, 42(11): 1098-1106.

-
- [24] Tiegs, A.W., Tao, X., Zhan, Y., *et al.* (2021) A Multicenter, Prospective, Blinded, Nonselection Study Evaluating the Predictive Value of an Aneuploid Diagnosis Using a Targeted Next-Generation Sequencing-Based Preimplantation Genetic Testing for Aneuploidy Assay and Impact of Biopsy. *Fertility and Sterility*, **115**, 627-637. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2020.07.052>
- [25] van Montfoort, A., De Rycke, M., Carvalho, F., Rubio, C., Bronet, F., Spinella, F. and Goossens, V. (2022) 0-041 Data from the ESHRE PGT Consortium-Year 2020. *Human Reproduction*, **37**, deac104.047. <https://doi.org/10.1093/humrep/deac104.047>
- [26] 应瑛, 刘见桥. 以辅助生殖技术为基础的临床新技术的发展[J]. 实用妇产科杂志, 2020, 36(4): 251-253.
- [27] Aoyama, N. and Kato, K. (2020) Trophectoderm Biopsy for Preimplantation Genetic Test and Technical Tips: A Review. *Reproductive Medicine and Biology*, **19**, 222-231. <https://doi.org/10.1002/rmb2.12318>
- [28] Siristatidis, C.S., Sertedaki, E., Vaidakis, D., *et al.* (2018) Metabolomics for Improving Pregnancy Outcomes in Women Undergoing Assisted Reproductive Technologies. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, **16**, CD011872. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD011872.pub3>
- [29] 刘丽, 曹晓敏, 张暄琳, 等. 选择性单胚胎移植策略探讨与临床结局分析[J]. 中华生殖与避孕杂志, 2020, 40(2): 101-108.
- [30] Mendoza, R., Jáuregui, T., Diaz-Nuñez, M., *et al.* (2018) Infertile Couples Prefer Twins: Analysis of Their Reasons and Clinical Characteristics Related to This Preference. *Journal of Reproduction and Fertility*, **19**, 167-173.
- [31] Meldrum, D.R., Adashi, E.Y., Garzo, V.G., *et al.* (2018) Prevention of *in vitro* Fertilization Twins Should Focus on Maximizing Single Embryo Transfer versus Twins Are an Acceptable Complication of *in vitro* Fertilization. *Fertility and Sterility*, **109**, 223-229. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2017.12.005>
- [32] Bai, F., Wang, D.Y., Fan, Y.J., *et al.* (2020) Erratum: Assisted Reproductive Technology Service Availability, Efficacy and Safety in Mainland China: 2016. *Human Reproduction*, **35**, 1477. <https://doi.org/10.1093/humrep/deaa076>
- [33] Adamson, G.D. and Norman, R.J. (2020) Why Are Multiple Pregnancy Rates and Single Embryo Transfer Rates so Different Globally, and What Do We Do About It? *Fertility and Sterility*, **114**, 680-689. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2020.09.003>
- [34] 杨静薇, 邓成艳, 黄学锋, 等. 中华医学会生殖医学分会年度报告: 2017年辅助生殖技术数据分析[J]. 生殖医学杂志, 2020, 29(2): 143-148.