

序贯移植在反复种植失败中的研究进展

魏家静,张亚南,熊东升,侯明霞,叶飞*

基金项目:四川省卫生和计划生育委员会课题(项目编号:16PJ386)

作者单位:610041 四川 成都,四川省妇幼保健院生殖医学中心

作者简介:魏家静,毕业于华中科技大学,硕士研究生,实习研究员,主要研究方向为人类辅助生殖技术

* 通信作者,E-mail:619517878@qq.com

【关键词】辅助生殖技术;反复种植失败;序贯移植

【中图分类号】Q 813.7 【文献标志码】A 【文章编号】1674-4020(2021)09-061-03

doi:10.3969/j.issn.1674-4020.2021.09.15

近年来,辅助生殖技术(assisted reproductive technology, ART)的迅速发展使众多不孕不育症患者借助体外受精-胚胎移植(in vitro fertilization and embryo transfer, IVF-ET)及其衍生技术获得了后代。但目前临床妊娠率仍存在难以突破的瓶颈,相当一部分患者经历多次种植失败,是影响 ART 发展的一大重要难题。反复种植失败(repeated implantation failure, RIF)的发生会给患者带来巨大的经济负担及精神压力,具体的发病机制尚不明确。我们急需一种有效可靠的治疗方案解决这一难题,近年来序贯移植方面的研究越来越受到人们的重视,认为其有助于提高子宫内膜敏感性,诱导胚胎着床,提高妊娠率,改善妊娠结局,但在 RIF 患者中的研究有限且存在争议,其是否是治疗 RIF 的有效方法仍待考证。本文就序贯移植策略在 RIF 患者中的应用、带来的多胎妊娠可能及可能机制等方面进行综述。

1 反复种植失败的定义及发生率

关于 RIF,目前还没有统一的定义,RIF 是指不孕患者经多次体外受精,并移植多个胚胎而未发生胚胎着床或临床妊娠,就具体试管周期数以及移植胚胎个数方面仍存在争议。Polanski LT 等^[1]评估了各文献中使用的关于 RIF 的定义,搜索分析了在 MEDLINE、Embase 和 Cochrane 库中对 RIF 的研究,指出 RIF 定义缺乏统一性,然后根据现有文献和专家意见将 RIF 定义为在连续两个 IVF、卵泡浆内单精子显微注射技术或冻融胚胎移植周期后没有植入的情况,其中移植卵裂期胚胎累计数量不少于 4 个,囊胚累计数量不少于 2 个,所有胚胎均为优质胚胎。但目前国内外采用最多的定义为“年龄 < 40 岁,移植周期超过 3 个(包括新鲜胚胎移植周期和冻融胚胎移植周期),移植胚胎数 ≥ 4 枚,优质卵裂期胚胎或 ≥ 2 枚囊胚,或者多次胚胎移植累积移植胚胎 10 枚以上仍未获得妊娠的不孕女性”^[2]。

国内的研究表明在 IVF 治疗过程中,除外高龄、生殖系统畸形、遗传及内分泌等异常因素后,RIF 发生率高达 10% ~ 15% 不等^[3-5],在 Busnelli A 等^[6]最新研究中,将计算模型应用于实际数据,回顾性选择了 1 221 对夫妇,并评估了直到第三个周期的妊娠率,分析结果表明,RIF 的患病率为 15%。对于这部分患者,我们迫切需要一种有效的治疗方案来改善其临床结局,提高妊娠率。

2 序贯移植的策略来源

序贯移植,亦称二步法胚胎移植,是指在同一个周期内胚胎分为先后 2 次移植,先移植 D2 或者 D3 卵裂期胚胎,随后再移植囊胚期胚胎(D5/D6),即 D2/D3-D5/D6 序贯移植^[7]。关于序贯移植策略,早在 1988 年就被采用,Abramovici 等^[8]将可用胚胎 > 4 个的 16 例患者分为序贯移植组,同时将可用胚胎 < 4 个的 16 例患者分为卵裂期胚胎移植组,分析结果显示序贯移植可显著提高 IVF-ET 的妊娠率(其中序贯移植组妊娠率为 25%,卵裂期胚胎移植组妊娠率 6.2%)。此后关于序贯移植深入的研究越来越多,本文就序贯移植是否适合 RIF 患者进行探讨。

2.1 反复种植失败中序贯移植的应用

关于序贯移植法是否可以提高 RIF 患者妊娠率在国内外有着较多的研究,Machtinger 等^[9]和 Almog 等^[10]分别证明,与常规的 2 ~ 3 天胚胎移植方案相比,接受序贯移植治疗的 RIF 患者的周期成功率有所提高。Yazbeck 等^[11]的研究结果也提示与单纯卵裂期胚胎或单纯囊胚移植相比,解冻周期序贯移植可明显改善 RIF 患者的临床妊娠结局。Fang C 等^[12]对 213 例 RIF 患者进行分析,结果指出第 2 天和第 3 天连续胚胎移植可能会改善 RIF 患者的临床结局。2015 年,在 Ismail MA 等^[13]进行的一项随机对照试验中,将 RIF 患者随机分配至 D3/D5 胚胎序贯移植组(74 例)或常规的 D3 胚胎移

植组(73例),研究结果发现序贯移植组的临床妊娠率显著高于第3天移植组(37.8%和21.9%, $P<0.05$);张玲等^[14]回顾性分析252例接受冻融胚胎移植(FET)的RIF患者,结果表明序贯移植组的临床妊娠率(62.50%)显著高于卵裂期胚胎移植组和囊胚移植组(45.09%和57.69%, $P<0.05$),同样在王俊超等^[15]和张印峰等^[16]的回顾性研究中也表明序贯移植法较常规移植法能够显著提高RIF患者的临床妊娠率、持续妊娠率及活产率,显著改善了妊娠结局。

然而在Al-Hasani等^[17]的研究中,进行序贯移植组(38例)与常规移植组(68例)之间的妊娠率分别为42%和35%,没有观察到统计学差异。在Ashkenazi等^[18]的研究中,对136例患者进行序贯移植,对139例患者进行卵裂期胚胎移植,结果表明两组妊娠率(36.8%和37.4%)也无差异,认为采用序贯移植并没有显著优势。同样的在2019年,Tehranejad ES等^[19]的研究中指出序贯移植组的临床妊娠率(40%)与囊胚移植组(38.3%)相似,这些文献均表明RIF患者中序贯移植与单纯的囊胚移植或单纯的卵裂期胚胎移植相比,似乎没有增加妊娠率。可以看出,对于RIF患者使用序贯移植是否可以提高临床妊娠率的研究结论并不一致,但大部分研究认为对于RIF患者采用序贯移植方案获益较为显著,该方案可能成为RIF患者的一种有效治疗手段,但仍需要更大样本量的研究加以验证。

2.2 反复种植失败中序贯移植与多胎妊娠

由于序贯移植较常规移植增加了移植的胚胎数目,因此多胎妊娠的风险备受关注。2006年,美国生殖年会明确报道,移植多个囊胚将导致较高的多胎妊娠率^[20]。Machtinger等^[9]的研究中表明在序贯移植组的妇女中,多胎妊娠(多数为双胞胎)更为常见(多胎妊娠率为50%及10%, $P<0.02$)。然而Yazbeck等^[11]认为,二步法移植仅有一个囊胚移植,这将在一定程度上降低多胎率。2015年,Ismail MA等^[13]的研究指出当移植数目相同时,序贯移植组与常规移植组之间的多胎妊娠率相似(均为25%),差异无统计学意义,Fang C等^[12]的研究结果也支持这个观点。在最新的张印峰等^[16]的研究中发现序贯移植组、卵裂期胚胎移植组和囊胚移植组的多胎妊娠率分别为32.4%、14.3%和21.2%,差异无统计学意义($P>0.05$)。我们可以看出对于RIF患者,使用序贯移植时必须准确控制移植的胚胎数量,在提高临床妊娠率和活产率的同时不能增加多胎妊娠率,才能使序贯移植成为RIF患者的一种有效的治疗手段。

2.3 序贯移植的可能机制

关于RIF患者失败的影响因素众多,在Simon等^[21]的研究中指出RIF患者失败因素中2/3是子宫内膜容受性因素,1/3是胚胎质量因素。因此,提高胚胎质量和优化胚胎培养环境的同时,提高子宫内膜容受性也很关键。大多数研究认为序贯移植是改善RIF患者ART临床结局的有效技术,我们推测序贯移植处理取得较好种植率的效果可能是因为:①提高子宫内膜容受性与胚胎发育同步化的概率。先移植1枚卵裂期胚胎,这个移植后的胚胎会产生胚源性因子(如IL-1、转化生长因子、表皮生长因子、粒细胞巨噬细胞刺激因子等),这种因子有

助于诱使内膜进入“种植窗”状态,提高子宫内膜接受或者诱导胚胎着床的能力。在2天后继续移植1枚囊胚,此时通过筛选得到较好的囊胚与子宫内膜发育能够较好地保持一致,这些都为胚胎种植创造了更加有利的条件^[10,22]。②对于IVF-ET失败的患者,序贯移植中第一次移植对子宫内膜产生机械刺激引起子宫内膜的局部损伤,诱导子宫内膜容受性相关细胞因子(如IL-11,GF等)、着床相关因子(白血病抑制因子、骨桥蛋白等)分泌增加及巨噬细胞、树突状细胞、子宫自然杀伤性细胞聚集活化。其中,巨噬细胞及树突状细胞能够促进上述相关因子的分泌表达,子宫自然杀伤性细胞可以促进血管新生,增加子宫内膜和内膜下血流,利于滋养细胞侵入^[23],促进胚胎植入并提高妊娠率^[8]。同时关于序贯移植还存在着一些争议:Ashkenazi等^[18]报道序贯移植中第二次移植可能会增加感染或创伤风险,对胚胎植入产生不良影响。在Tur-Kaspa等^[24]的研究中,序贯移植并没有增加感染风险,表明第二次移植对植入过程没有不良影响。虽然存在争议,但我们也应该注意在序贯移植中可能存在的感染风险。

3 结语与展望

序贯移植这种移植策略在RIF患者中有着重要的意义,很可能为治疗RIF找到有效的方式,是改善RIF患者ART临床结局的有效技术。在将来,我们可以将序贯移植策略用于RIF患者,但必须严格准确控制移植的胚胎数量,避免二次移植增加感染或创伤的风险,这样才能在提高临床妊娠率和活产率的同时不增加多胎妊娠率,达到理想的妊娠结局。但仍需要更大样本量和更加严格的随机对照研究来进行验证,并对其具体机制进行深入的研究。

【参考文献】

- [1] Polanski LT, Baumgarten MN, Quenby S, et al. What exactly do we mean by recurrent implantation failure? A systematic review and opinion [J]. Reproductive BioMedicine Online, 2014, 28(4): 409-423.
- [2] Coughlan C, Ledger W, Wang Q, et al. Recurrent implantation failure: definition and management [J]. Reproductive BioMedicine Online, 2014, 28(1): 14-38.
- [3] 张玲, 黄开淑, 张文权. 两次移植提高反复种植失败患者临床妊娠率的研究进展 [J]. 中国保健营养, 2016, 26(10): 120.
- [4] 曾勇, 黄春宇, 陈现, 等. 反复种植失败患者周围血树突状细胞数量和功能分析 [J]. 中国免疫学杂志, 2016, 32(2): 239-243.
- [5] 陈全, 杨晓葵. 反复种植失败的体外受精-胚胎移植免疫学因素研究进展 [J]. 中国计划生育和妇产科, 2020, 12(1): 16-19.
- [6] Busnelli A, Reschini M, Cardellicchio L, et al. How common is real repeated implantation failure? An indirect estimate of the prevalence [J]. Reproductive BioMedicine Online, 2020, 40(1): 91-97.
- [7] Kaur P, Swarankar ML, Maheshwari M, et al. A comparative study between cleavage stage embryo transfer at day 3 and blastocyst stage transfer at day 5 in in-vitro fertilization/intra-cytoplasmic sperm injection on clinical pregnancy rates [J]. Journal of Human Reproductive Sciences, 2014, 7(3): 194-197.
- [8] Abramovici H, Dirmfeld M, Weisman Z, et al. Pregnancies following the interval double-transfer technique in an in vitro fertilization-embryo transfer program [J]. Journal of In Vitro Fertilization and Embryo Transfer: IVF, 1988, 5(3): 175-176. (下转第67页)

- 全科医学,2020,23(14):1760-1764.
- [3] 宋艳丽,卫爱武,孙自学,等. 寿胎丸合芍药甘草汤加味对复发性流产患者的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志,2019,25(7):36-42.
 - [4] 贾金平,汪莎. 补肾健脾方对同种免疫型复发性自然流产患者的疗效分析 [J]. 中国计划生育和妇产科,2020,12(7):55-56,61.
 - [5] 塔拉,张琰,王晓彩,等. 地屈孕酮片联合绒毛膜促性腺素治疗原因不明复发性流产及对 T 淋巴细胞和炎症因子影响 [J]. 中国计划生育学杂志,2020,28(1):32-35.
 - [6] 中华医学会妇产科学分会产科学组. 复发性流产诊治的专家共识 [J]. 中华妇产科杂志,2016,51(1):3-9.
 - [7] 欧阳惠卿. 中医妇科学 [M]. 北京:人民卫生出版社,2002:150.
 - [8] 段泉泉,胜利. 焦虑及抑郁自评量表的临床效度 [J]. 中国心理卫生杂志,2012,26(9):676-679.
 - [9] 郑筱萸. 中药新药临床研究指导原则(试行) [M]. 北京:中国医药科技出版社,2002:216-218.
 - [10] 王卫平,李廷玉. 儿科学 [M]. 第 8 版. 北京:人民卫生电子音像出版社,2013:93-94.
 - [11] 牛明明,郝霞. 益肾壮母汤联合地屈孕酮对不明原因复发性流产患者免疫调节失衡的调节作用 [J]. 中华中医药学刊,2020,38(5):224-228.
 - [12] 冯晓玲,贾丹,李杨,等. 补肾活血方对不明原因复发性流产患者外周血中辅助性 T 细胞 17/调节性 T 细胞平衡的影响 [J]. 中国医药,2019,14(11):1699-1702.
 - [13] 华彩虹,郝尚辉,赵淑珍,等. 滋肾育胎丸联合烯丙雌醇治疗复发性流产的疗效及其对患者性激素水平的影响 [J]. 新乡医学院学报,2019,36(2):139-142.
 - [14] Hosseini S, Shokri F, Pour SA, et al. Diminished frequency of menstrual and peripheral blood NKT-Like cells in patients with unexplained recurrent spontaneous abortion and infertile women [J]. Reproductive Sciences,2019,26(1):97-108.
 - [15] Motedayyen H, Rezaei A, Zamani A. Human amniotic epithelial cells inhibit activation and pro-inflammatory cytokines production of naive CD4 + T cells from women with unexplained recurrent spontaneous abortion [J]. Reproductive Biology, 2018, 18(2):182-188.
 - [16] Raghupathy R, Al Mutawa E, Makhseed M, et al. Modulation of cytokine production by dydrogesterone in lymphocytes from women with recurrent miscarriage [J]. BJOG-An International Journal of Obstetrics and Gynaecology,2005,112(8):1096-1101.
 - [17] 田秦杰. 流产免疫机制与孕激素保胎机制新进展 [J]. 生殖医学杂志,2020,29(9):1125-1131.
 - [18] 马春燕,张晓勇,丁桂凤. 主动免疫联合地屈孕酮治疗复发性自然流产的疗效及对患者血清 LP、ADPN 水平的影响 [J]. 中国药房,2018,29(20):2836-2839.
 - [19] 贺钱钱. 地屈孕酮片联合滋肾育胎丸治疗先兆流产的疗效观察 [J]. 中国医药科学,2019,9(22):94.
 - [20] 钟美华. 低分子肝素联合阿司匹林. 滋肾育胎丸治疗复发性流产的疗效观察 [J]. 中国现代药物应用, 2020, 14(15):174-176.
 - [21] 马丹丽,习元堂,蒋凯林,等. 滋肾育胎丸联合孕激素治疗先兆流产的 Meta 分析和间接比较 [J]. 广州中医药大学学报, 2018,35(4):751-757.

(收稿日期:2020-12-09 编辑:吕永胜)

(上接第 62 页)

- [9] Machtinger R, Dor J, Margolin M, et al. Sequential transfer of day 3 embryos and blastocysts after previous IVF failures despite adequate ovarian response [J]. Reproductive BioMedicine Online, 2006, 13(3):376-379.
- [10] Almog B, Levin I, Wagman I, et al. Interval double transfer improves treatment success in patients with repeated IVF/ET failures [J]. Journal of Assisted Reproduction and Genetics,2008, 25(8):353-357.
- [11] Yazbeck C, Ben Jamaa N, Hazout A, et al. Advantages of the two-step embryo transfer strategy in human IVF/ICSI cycles [J]. Zygote (Cambridge, England), 2013, 21(1):77-83.
- [12] Fang C, Huang R, Li TT, et al. Day-2 and day-3 sequential transfer improves pregnancy rate in patients with repeated IVF-embryo transfer failure: a retrospective case-control study [J]. Reproductive BioMedicine Online,2013,26(1):30-35.
- [13] Ismail MA, Noah B, Zaheer H, et al. Does sequential embryo transfer improve pregnancy rate in patients with repeated implantation failure? A randomized control study [J]. Middle East Fertility Society Journal,2015,20(4):255-261.
- [14] 张玲,黄开淑,张文权,等. 反复种植失败患者复苏周期不同移植方案的临床结局比较 [J]. 中国医师杂志,2018,20(3):382-385,390.
- [15] 王俊超,马俊芳,耿颖,等. 解冻周期序贯移植在反复种植失败患者中的应用 [J]. 天津医药,2017,45(5):514-517.
- [16] 张印峰,罗海宁,史蕊,等. 解冻周期序贯移植治疗反复种植失败的临床研究 [J]. 中华生殖与避孕杂志,2020,40(11):893-898.
- [17] Al-Hasani S, van der Ven H, Diedrich K, et al. Effect of sequential embryo transfer on pregnancy following in vitro fertilization [J]. Geburtshilfe Frauenheilkd,1990,50(8):640-643.
- [18] Ashkenazi J, Yoeli R, Orvieto R, et al. Double (consecutive) transfer of early embryos and blastocysts: aims and results [J]. Fertility and Sterility,2000,74(5):936-940.
- [19] Tehraninejad ES, Raisi E, Ghaleh FB, et al. The sequential embryo transfer compared to blastocyst embryo transfer in in vitro fertilization (IVF) cycle in patients with the three repeated consecutive IVF. A randomized controlled trial [J]. Gynecological Endocrinology:the Official Journal of the International Society of Gynecological Endocrinology,2019,35(11):955-959.
- [20] The Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine and the Practice Committee of the Society for Assisted Reproductive Technology. Blastocyst culture and transfer in clinical-assisted reproduction [J]. Fertil Steril,2006,86(5 Suppl 1):S89-S92.
- [21] Simon A, Laufer N. Assessment and treatment of repeated implantation failure. (RIF) [J]. Journal of Assisted Reproduction and Genetics,2012,29(11):1227-1239.
- [22] Wakuda K, Takakura K, Nakanishi K, et al. Embryo-dependent induction of embryo receptivity in the mouse endometrium [J]. Journal of Reproduction and Fertility,1999,115(2):315-324.
- [23] Blois SM, Klapp BF, Barrientos G. Decidualization and angiogenesis in early pregnancy: unravelling the functions of DC and NK cells [J]. Journal of Reproductive Immunology, 2011, 88(2):86-92.
- [24] Tur-Kaspa I, Yuval Y, Bider D, et al. Difficult or repeated sequential embryo transfers do not adversely affect in-vitro fertilization pregnancy rates or outcome [J]. Human Reproduction, 1998,13(9):2452-2455.

(收稿日期:2021-03-22 编辑:吕永胜)