

激素替代周期冻融胚胎移植后妊娠中胎盘植入谱系的风险因素

Tomoyuki Fujita, Toshiyuki Yoshizato*, Hiroshi Mitao, Takuya Shimomura, Takeshi Kuramoto, Hitoshi Obara, Hiroshi Idee, Fumitoshi Koga, Kayoko Kojima, Mari Nomiya, Mayumi Fukagawa, Yumi Nagata, Atsushi Tanaka, Hiroyuki Yuki, Takafumi Utsunomiya, Hidehiko Matsubayashi, Chikahiro Okam, Kohji Yano, Masahide Shiotani, Masaru Fukuda, Hiromi Hirai, Tatsuyuki Kakuma, Kimio Ushijima

期刊: European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology 296 (2024) 194 - 199

关键词: 辅助生殖技术; 冻融胚胎移植; 激素替代周期; 胎盘植入谱系; 风险因素

摘要

目的:

辅助生殖技术 (ART), 尤其是激素替代周期 (HRC) 中的冻融胚胎移植 (FET), 是胎盘植入谱系 (PAS) 的一个风险因素。本研究旨在明确在 HRC 中 FET 后获得的妊娠中, 与母体背景和 ART 技术相关的 PAS 风险因素。

研究设计:

我们在日本的两个三级围产中心进行了一项病例对照研究。在 2010 年至 2021 年间于 ≥ 24 周分娩或被转运至这两个三级围产中心的 14,028 名患者中, 972 名通过 ART 受孕, 13,056 名未经 ART 受孕。PAS 的诊断基于 FIGO 的 PAS 临床诊断分类, 或在 ≥ 24 周分娩后存留胎盘组织。我们排除了接受新鲜胚胎移植、采用自发排卵周期 FET、供卵周期以及 ART 治疗细节缺失的女性。最终, 在 HRC 中 FET 后受孕的女性中, 62 名患有 PAS, 340 名未患 PAS 被纳入本研究。采用多变量逻辑回归模型进行病例对照比较, 并对分娩时年龄、产次、子宫内腺异位症或子宫腺肌病、既往子宫手术 (剖宫产、子宫肌瘤剔除术、子宫内膜息肉切除术或子宫内膜刮宫术) 次数、前置胎盘、移植胚胎的阶段以及开始使用孕激素时的子宫内膜厚度进行了调整。

结果:

PAS 与 ≥ 2 次既往子宫手术 (校正比值比 3.57; 95% 置信区间 1.60 - 7.97) 和胚胎移植阶段 (囊胚: 校正比值比 2.89; 95% 置信区间 1.15 - 7.26) 相关。在既往子宫手术 < 2 次的患者中, PAS 与子宫内膜厚度 < 7.0 mm 相关 (校正比值比 5.18; 95% 置信区间 1.10 - 24.44)。

结论:

多次子宫手术和囊胚移植是 HRC 中 FET 后妊娠发生 PAS 的危险因素。在子宫手术 < 2 次的女性中, FET 前子宫内膜薄也是这些妊娠中 PAS 的一个风险因素。

引言

胎盘植入谱系（PAS）定义为分娩后胎盘异常附着于子宫壁，原因是胎盘滋养层直接侵入子宫肌层[1]。PAS 是一种严重且危及生命的妊娠并发症，涉及产后大量出血，常需剖宫产子宫切除术[2-4]。 ≥ 24 周分娩后的胎盘组织残留大多是由局灶性胎盘植入引起的后果[5, 6]。在发达国家，过去四十年中 PAS 的患病率增加了约 10 倍[1, 7]。

PAS 的风险因素包括前置胎盘、子宫手术史、子宫操作、高龄产妇和子宫腺肌病[8-10]。最近，辅助生殖技术（ART）被报道为 PAS 的另一个风险因素[11, 12]。

激素替代周期（HRC）中的冻融胚胎移植（FET）是一种常见的 ART 操作，但该操作具有最高的 PAS 风险[13]。与新鲜胚胎移植（ET）相比，FET 的 PAS 比值比（OR）为 4.6[13]。此外，HRC 中的 FET 与自发排卵周期（SOC）中的 HRC 相比，PAS 的 OR 约为 6 倍[13]。然而，据我们所知，尚无研究专门在 HRC 中 FET 后的妊娠中调查与母体背景和 ART 技术相关的 PAS 风险因素。因此，本研究旨在通过回顾性分析母体临床参数（包括不孕治疗的细节），阐明 HRC 中 FET 后妊娠与 PAS 相关的风险因素。

材料与方法

研究对象

这项病例对照研究纳入了日本久留米大学医院或圣玛丽医院中 HRC 中 FET 后受孕且伴有或不伴有 PAS 的孕妇或产妇。这两个三级围产中心管理着几乎所有的高危妊娠（年分娩总数约 10,000 例）。在 2010 年 1 月至 2021 年 3 月期间，于 ≥ 24 周分娩或被转运至这些三级围产中心的 14,028 名女性中，972 名（6.9%）通过 ART 受孕，13,056 名未经 ART 受孕。在 972 名通过 ART 受孕的女性中，68 名（7.0%）根据 FIGO 的 PAS 临床诊断分类被诊断为 PAS。排除 6 名患者（1 名新鲜 ET，5 名 SOC 的 FET）后，剩余 62 名患者被分配到 PAS 组。PAS 组包括 49 名 1 级（异常粘连胎盘）、2 名 2 级（异常侵入性）和 11 名分娩后胎盘残留（36 - 41 周）。在本研究队列中，仅 1 名患者产前诊断为 PAS，导致在 36 周时选择性剖宫产。在 904 名未诊断为 PAS 的女性中，排除了 172 名新鲜 ET、170 名 SOC 的 FET、11 名供卵周期和 211 名 ART 治疗细节缺失者。剩余 340 名 HRC 中 FET 的女性被视为对照组（非 PAS 组）。所有患者均通过自体卵周期受孕。PAS 组中有 58 名单胎妊娠和 4 名双胎妊娠，非 PAS 组中有 308 名单胎妊娠和 32 名双胎妊娠。

参数定义

子宫手术史包括剖宫产（CS）、子宫肌瘤剔除术（开腹或腹腔镜）、子宫内膜息肉切除术（包括宫腔镜手术）以及因人工流产或自然流产后进行的子宫内膜刮宫术。每名女性既往子宫手术的次数被计数并分类为 0、1 和 ≥ 2 次。

统计方法

连续变量采用 Mann-Whitney U 检验分析。分类变量采用卡方检验，当变量数 ≤ 5 时使用 Fisher 精确检验。采用逻辑回归分析提取与 PAS 相关的因素。调整因素包括分娩时年龄、产次、子宫内膜异位症或子宫腺肌病、既往子宫手术次数、前置胎盘、移植胚胎阶段以及受孕周期中开始使用孕激素时的子宫内膜厚度 (EmT)。p 值 <0.05 表示有统计学意义。使用 STATA/MP16.0 进行分析。

结果

临床背景（表 1）

表 1 显示了患有和不患有 PAS 的女性的临床背景。在各种子宫手术类型中，PAS 组的子宫内膜刮宫率显著高于非 PAS 组 (p=0.046)。PAS 组的既往子宫手术率显著高于非 PAS 组 (p=0.015)。

表 1 PAS 组与非 PAS 组临床参数及产科并发症比较

参数	PAS (n=62)	非 PAS (n=340)	p 值	备注
年龄（胚胎移植时）	35 (25-43)	36 (25-45)	0.287	中位数(范围)
年龄（分娩时）	36 (26-43)	37 (25-45)	0.255	
BMI（孕前）	20 (16-30)	21 (15-36)	0.141	
子宫内膜异位症/腺肌病	8 (13%)	34 (10%)	0.470	
子宫手术史	32 (52%)	125 (37%)	0.029*	*
剖宫产	8 (13%)	33 (10%)	0.444	
子宫内膜息肉切除	6 (10%)	17 (5%)	0.145	
子宫内膜刮宫	19 (31%)	66 (19%)	0.046*	*
子宫肌瘤剔除	7 (11%)	29 (9%)	0.485	
前置胎盘	2 (3%)	5 (1%)	0.373	
妊娠期高血压	1 (2%)	7 (2%)	1.000	
子痫前期	6 (10%)	38 (11%)	0.728	
妊娠期糖尿病	3 (5%)	38 (11%)	0.171	
早产(<37 周)	6 (10%)	30 (9%)	0.829	

* p<0.05 为显著差异

子宫手术次数与 PAS 的关系（表 2）

表 2 显示 PAS 组的既往子宫手术次数分布。PAS 组有≥2 次子宫手术的患者比例显著高于非 PAS 组（21% vs 9%，p=0.015）。

表 2 PAS 组与非 PAS 组子宫手术次数比较

子宫手术次数	PAS (n=62)	非 PAS (n=340)	p 值
0 次	30 (48%)	215 (63%)	
1 次	19 (31%)	92 (27%)	
≥2 次	13 (21%)	32 (9%)	0.015*

ART 治疗细节（表 3）

表 3 显示了各组 ART 治疗的细节。移植胚胎的阶段在组间有显著差异（p=0.013），PAS 组中囊胚移植比例更高（89% vs 71%）。移植胚胎数量在 PAS 组也显著更高（p=0.002）。

表 3 PAS 组与非 PAS 组不孕治疗临床参数比较

参数	PAS (n=62)	非 PAS (n=340)	p 值
移植胚胎阶段-卵裂期	6 (10%)	70 (21%)	0.013*
移植胚胎阶段-囊胚	55 (89%)	242 (71%)	
移植胚胎数量	1 (1-2)	1 (1-3)	0.002*
子宫内膜厚度(mm)	9.5 (6.2-16.2)	10.0 (6.2-16.2)	—
子宫内膜厚度<7.0mm	3 (5%)	7 (2%)	0.189
雌激素给药-透皮	59 (95%)	323 (95%)	0.957
黄体酮给药-阴道	46 (74%)	279 (82%)	0.166

多变量分析结果（表 4）

表 4 显示了 PAS 与临床参数的多变量分析结果。PAS 与≥2 次既往子宫手术显著相关（校正 OR 3.57；95% CI 1.60 - 7.97；p=0.002）。囊胚移植也是 PAS 的独立风险因素（校正 OR 2.89；95% CI 1.15 - 7.26；p=0.024）。

表 4 PAS 与临床参数的关联（多变量分析）

参数	校正 OR	95% CI	p 值
分娩时年龄	0.96	0.90–1.03	0.255
产次	0.80	0.48–1.35	0.407
子宫内膜异位症/腺肌病	1.42	0.60–3.39	0.431
前置胎盘	2.78	0.48–16.15	0.284
子宫手术 0 次（参照）	1.00	—	
子宫手术 1 次	1.56	0.81–3.01	0.182
子宫手术≥2 次	3.57	1.60–7.97	0.002*
囊胚移植	2.89	1.15–7.26	0.024*
EmT<7.0mm	2.00	0.47–8.46	0.345

亚组分析：子宫手术<2 次的女性（表 5）

表 5 显示在既往子宫手术<2 次的女性中，子宫内膜厚度<7.0 mm 是 PAS 的独立风险因素（校正 OR 5.18；95% CI 1.10 – 24.44；p=0.038）。

表 5 子宫手术<2 次女性中 PAS 与临床参数的关联

参数	校正 OR	95% CI	p 值
分娩时年龄	0.96	0.89–1.05	0.431
EmT<7.0mm	5.18	1.10–24.44	0.038*
囊胚移植	2.59	0.96–7.03	0.061

讨论

子宫手术史（包括剖宫产、宫腔镜手术和子宫内膜刮宫）是普通人群 PAS 的主要风险因素。任何子宫内膜损伤都可能导致受孕后发生 PAS，特别是有子宫手术史的女性。PAS 胎盘的病理特征之一是在子宫-胎盘界面形成厚的纤维样沉积物。子宫手术造成的子宫肌层损伤（以肌纤维排列紊乱、组织水肿、炎症和弹性纤维增生为特征）可导致异常蜕膜化。这种损伤可能导致异位滋养层侵入放射状和/或弓状动脉，使高速母体血液进入绒毛间隙。据我们所知，本研究是首个定量分析四种子宫手术

（剖宫产、子宫肌瘤剔除术、刮宫术和子宫内膜息肉切除术）对 ART 后受孕女性 PAS 风险影响的研究。

本研究发现 ≥ 2 次既往子宫手术是 PAS 的独立风险因素。此外，本研究提示应尽量减少宫腔内操作，特别是针对自然流产的刮宫术。囊胚移植与 PAS 风险增加相关，这可能与囊胚期胚胎的滋养层细胞更具侵袭性有关。在子宫手术 < 2 次的女性中，子宫内膜薄（ < 7.0 mm）也是 PAS 的风险因素，这提示子宫内膜发育不良可能影响胎盘植入的深度和模式。

伦理声明

本研究经 Kurume University 医学院机构审查委员会批准（编号 20145）。

参考文献：

- [1] Jauniaux E, Ayres-de-Campos D. FIGO placenta accreta diagnosis and management expert consensus panel. FIGO consensus guidelines on placenta accreta spectrum disorders: introduction. *Int J Gynaecol Obstet* 2018;140(3):261 – 4.
- [2] Jauniaux E, Jurkovic D. Placenta accreta: pathogenesis of a 20th century iatrogenic uterine disease. *Placenta* 2012;33(4):244 – 51.
- [3] Silver RM. Abnormal placentation: placenta previa, vasa previa, and placenta accreta. *Obstet Gynecol* 2015;126:654 – 68.
- [4] Solomon CG, Silver RM, Branch DW. Placenta accreta spectrum. *N Engl J Med* 2018;378(16):1529 – 36.
- [5] Takahashi H, Tanaka H, Osuga Y, Miura K, Saito S, Sato S, et al. Retained products of conception (RPOC) following delivery without placenta previa: which patients with RPOC show postpartum hemorrhage? *Placenta* 2022;124:12 – 7.
- [6] Namazi G, Haber HR, Tavcar J, Clark NV. Minimally invasive management of retained products of conception and the adherent placenta. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2021;33:311 – 6.
- [7] Solheim KN, Esakoff TF, Little SE, Cheng YW, Sparks TN, Caughey AB. The effect of cesarean delivery rates on the future incidence of placenta previa, placenta accreta, and maternal mortality. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2011;24(11):1341 – 6.
- [8] American College of Obstetricians and Gynecologists, Society for Maternal-Fetal

Medicine. Obstetric care consensus no. 7: placenta accreta spectrum. Obstet Gynecol 2018;132.

[9] Jauniaux E, Alfirevic Z, Bhide AG, Belfort MA, Burton GJ, Collins SL, et al. Placenta praevia and placenta accreta: diagnosis and management: green-top guideline no. 27a. BJOG 2019;126(1).

[10] Baldwin HJ, Patterson JA, Nippita TA, Torvaldsen S, Ibiebele I, Simpson JM, et al. Antecedents of abnormally invasive placenta in primiparous women: risk associated with gynecologic procedures. Obstet Gynecol 2018;131(2):227 – 33.

[11] Esh-Broder E, Ariel I, Abas-Bashir N, Bdolah Y, Celnikier DH. Placenta accreta is associated with IVF pregnancies: a retrospective chart review. BJOG 2011;118:1084 – 9.

[12] Salmanian B, Fox KA, Arian SE, et al. In vitro fertilization as an independent risk factor for placenta accreta spectrum. Am J Obstet Gynecol 2020;223:568.

[13] Matsuzaki S, Nagase Y, Takiuchi T, Kakigano A, Mimura K, Lee M, et al. Antenatal diagnosis of placenta accreta spectrum after in vitro fertilization embryo transfer: a systematic review and meta-analysis. Sci Rep 2021;11(1).

[14] Jauniaux E, Ayres-de-Campos D, Langhoff-Roos J, et al. FIGO classification for the clinical diagnosis of placenta accreta spectrum disorders. Int J Gynaecol Obstet 2019;146:20 – 4.

[15] Silver RM, Landon MB, Rouse DJ, Leveno KJ, Spong CY, Thom EA, et al. Maternal morbidity associated with multiple repeat cesarean deliveries. Obstet Gynecol 2006;107(6):1226 – 32.

[16] Marshall NE, Fu R, Guise J-M. Impact of multiple cesarean deliveries on maternal morbidity: a systematic review. Am J Obstet Gynecol 2011;205(3):262.e1 – 8.

[17] Thurn L, Lindqvist PG, Jakobsson M, Colmorn LB, Klungsoyr K, Bjarnadottir ´ RI, et al. Abnormally invasive placenta-prevalence, risk factors and antenatal suspicion: results from a large population-based pregnancy cohort study in the Nordic countries. BJOG 2016;123(8):1348 – 55.

[18] Keag OE, Norman JE, Stock SJ, Myers JE. Long-term risks and benefits associated with cesarean delivery for mother, baby, and subsequent pregnancies: systematic review and meta-analysis. *PLoS Med* 2018;15(1):e1002494.

[19] Jauniaux E, Collins S, Burton GJ. Placenta accreta spectrum: pathophysiology and evidence-based anatomy for prenatal ultrasound imaging. *Am J Obstet Gynecol* 2018;218:75 – 87.

[20] Jauniaux E, Jurkovic D, Hussein AM, Burton GJ. New insights into the etiopathology of placenta accreta spectrum. *Am J Obstet Gynecol* 2022;227(3): 384 – 91.

[21] Nagase Y, Matsuzaki S, Mizuta-Odani C, Onishi H, Tanaka H, Nakagawa S, et al. *Invitro*

fertilisation-embryo-transfer complicates the antenatal diagnosis of placenta accreta spectrum using MRI: a retrospective analysis. *Clin Radiol* 2020;75(12): 927 – 33.

[22] Kaser DJ, Melamed A, Bormann CL, et al. Cryopreserved embryo transfer is an independent risk factor for placenta accreta. *Fertil Steril* 2015;103:1176 – 84.

[23] Kasius A, Smit JG, Torrance HL, Eijkemans MJC, Mol BW, Opmeer BC, et al. Endometrial thickness and pregnancy rates after IVF: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update* 2014;20(4):530 – 41.

[24] Detti L, Yelian FD, Kruger ML, Diamond MP, Rode A, Mitwally MFM, et al. Endometrial thickness is related to miscarriage rate, but not to the estradiol concentration, in cycles down-regulated with gonadotropin-releasing hormone antagonist. *Fertil Steril* 2008;89(4):998 – 1001.

[25] Gao M, Cao C, Zhang X, Tang F, Zhao L, Luo S, et al. Abnormal expression of estrogen receptor is associated with thin endometrium. *Gynecol Endocrinol* 2019; 35(6):544 – 7.

[26] Ishihara O, Araki R, Kuwahara A, Itakura A, Saito H, Adamson GD. Impact of frozen-thawed single-blastocyst transfer on maternal and neonatal outcome: an

analysis of 277,042 single-embryo transfer cycles from 2008 to 2010 in Japan.

Fertil Steril 2014;101(1):128 – 33.

[27] Chason RJ, Csokmay J, Segars JH, DeCherney AH, Armant DR. Environmental and epigenetic effects upon preimplantation embryo metabolism and development.

Trends Endocrinol Metab 2011;22(10):412 – 20.

[28] Leese HJ. Metabolism of the preimplantation embryo: 40 years on. Reproduction 2012;143:417 – 27.

[29] Harvey AJ. Mitochondria in early development: linking the microenvironment, metabolism and the epigenome. Reproduction 2019;157:159 – 79.

[30] Chen S, Zhang M, Li L, Wang M, Shi Y, Zhang H, et al. Loss of methylation of H19- imprinted gene derived from assisted reproductive technologies can be mitigated by cleavage-stage embryo transfer in mice. J Assist Reprod Genet 2019;36(11): 2259 – 69.

[31] Market-Velker BA, Fernandes AD, Mann MRW. Side-by-side comparison of five commercial media systems in a mouse model: suboptimal in vitro culture interferes with imprint maintenance. Biol Reprod 2010;83:938 – 50.

[32] Jahangiri M, Shahhoseini M, Movaghar B. The effect of vitrification on expression and histone marks of Igf2 and Oct4 in blastocysts cultured from two-cell mouse embryos. Cell J 2018;19:607 – 13.

[33] Rhon-Calderon EA, Vrooman LA, Riesche L, Bartolomei MS. The effects of assisted reproductive technologies on genomic imprinting in the placenta. Placenta 2019; 84:37 – 43.

[34] Nelissen ECM, van Montfoort APA, Dumoulin JCM, Evers JLH. Epigenetics and the placenta. Hum Reprod Update 2011;17(3):397 – 417.

[35] Strauss III JF, Barbieri BL, editors. Yen & Jaffe' s reproductive endocrinology. Physiology, pathophysiology, and clinical management. 8th ed. Philadelphia: Elsevier Press; 2019.

[36] Kanter J, Gordon SM, Mani S, et al. Hormonal stimulation reduces numbers and impairs function of human uterine natural killer cells during implantation. Hum Reprod 2023;38:1047 – 59.

[37] Wei XW, Zhang YC, Wu F, Tian FU, Lin Y. The role of extravillous trophoblasts and uterine NK cells in vascular remodeling during pregnancy. *Front Immunol* 2022; 13:951482.

[38] Hou W, Shi G, Ma Y, Liu Y, Lu M, Fan X, et al. Impact of preimplantation genetic testing on obstetric and neonatal outcomes: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril* 2021;116(4):990 - 1000.

[39] Shats M, Fenchel D, Katz G, Haas J, Machtinger R, Gat I, et al. Obstetric, neonatal and child development outcomes following assisted hatching treatment: a retrospective cohort study. *Gynecol Endocrinol* 2021;37(1):41 - 5.

体外受精周期中触发卵母细胞成熟的最佳时机因使用促性腺激素释放激素激动剂或人绒毛膜促性腺激素而异

Noritoshi Enatsu, Kohyu Furuhashi, Junko Otsuki, Kunihiro Enatsu, Eri Okamoto, Shoji Koikeguchi, Masahide Shiotani

期刊: F S Rep® Vol. 6, No. 4, December 2025 (特色文章)

摘要

目的:

通过评估从触发到取卵的间隔时间并分析后续的体外受精结局,探讨触发卵母细胞成熟的最佳时机。在体外受精周期中,使用人绒毛膜促性腺激素(hCG)或促性腺激素释放激素激动剂(GnRHa)是触发卵母细胞最终成熟的关键。触发与取卵之间的间隔通常设定为34-40小时。然而,基于触发剂类型的最佳时机仍不清楚。

设计:

单中心回顾性队列研究。

研究对象:

调查了2010年4月至2024年3月期间本诊所共59,206个取卵周期。排除了出现黄体生成素(LH)峰以及在触发后第二天进行取卵的周期。

暴露:

从触发到取卵的间隔是指从GnRHa或hCG给药到开始取卵的时间。根据使用的卵母细胞成熟触发剂类型,受试者被分为两组:GnRHa组(布舍瑞林[600 µg]鼻喷雾剂)和hCG组(hCG[3,000-10,000 IU]或绒促性素α[250 µg]皮下注射)。

主要结局指标:

主要结局指标是获得到的总成熟MII(第二次减数分裂中期)卵母细胞数量。

结果:

GnRHa触发组在较长间隔时比在较短间隔时获得更多的MII卵母细胞(7.2 ± 6.5 vs. 4.3 ± 5.3),而hCG触发组在较长间隔时获得的卵母细胞较少(4.0 ± 4.6 vs. 6.9 ± 5.8)。较短间隔与较长间隔之间的差异在年龄较大的组中更为明显。尽管每个卵母细胞的MII比率未随间隔持续时间显示出显著差异,但在GnRHa组中,当间隔超过36.5小时,囊胚形成率和总囊胚数显著更高。

结论:

最佳间隔时间在 GnRHa 触发和 hCG 触发之间存在差异，与 GnRHa 触发相比，hCG 触发与获得最大 MII 卵母细胞数量的较短间隔相关。结论：

引言

在女性自然卵母细胞发育周期中，LH 峰在恢复减数分裂（暂停于未成熟 M I 期并推进至成熟 M II 期）中起着关键作用。在体外受精（IVF）过程中，取卵前也需要类似的减数分裂进程。GnRHa 诱导内源性 LH 峰促进卵母细胞成熟，而 hCG 虽不增加 LH 水平，但具有与 LH 相似的分子结构，从而产生类似的生理效应。它诱导类似于 LH 峰的生物学反应，促进卵母细胞的最终成熟。因此，hCG 被广泛用作 IVF 程序中的成熟诱导剂。

在大多数 IVF 周期中，通常采用的间隔为 32 - 36 小时。Bjercke 等人报道，在取卵前 34 - 38 小时给予 hCG 不会影响 IVF 结局。然而，一项荟萃分析显示，延长 hCG 触发与取卵之间的间隔可以增加成熟 MII 卵母细胞的百分比。最近，在对 hCG-取卵间隔为 34 - 39 小时并进行植入前遗传学检测病例的分析中，较长的间隔导致囊胚为非整倍体的概率较低。

这些研究表明，触发与取卵之间的时间间隔是影响取卵结局的关键因素。然而，直到最近，这些分析大多集中在 hCG 触发的结果上，而关于 GnRHa 触发的大型数据仍然有限。由于 GnRHa 的作用持续时间比 hCG 短，GnRHa 被认为不太适合维持黄体功能，可能导致新鲜胚胎移植的结局不佳。然而，较短的持续时间在降低卵巢过度刺激综合征风险方面具有显著优势，特别是在卵巢储备功能良好的年轻患者中。因此，GnRHa 触发联合全胚冷冻策略在许多国家已变得普遍。然而，对 GnRHa 触发剂的全面评估仍然不足。

因此，这项回顾性分析在大量患者中仔细研究了从触发到取卵的间隔对 GnRHa 和 hCG 触发 IVF 结局的影响。

材料与amp;方法

患者人群

该回顾性分析涵盖了 2010 年 4 月至 2024 年 3 月期间在私立诊所进行的 69,819 个 IVF 周期，重点关注涉及取卵的病例。排除了患者年龄 ≥ 45 岁、卵母细胞冷冻保存或卵母细胞捐赠的周期。此外，排除了可能影受精或囊胚发育的睾丸精子提取或体外成熟周期。共有 7,182 个周期因触发当天出现 LH 峰或其他不规则情况导致取卵在触发后第二天进行而被省略。另外，排除了 3,431 个使用双重触发（GnRH 和 hCG 联合）的周期。最终，分析了 59,206 个周期。

IVF 周期管理

刺激方案没有限制，采用标准的控制性卵巢过度刺激方案。对于卵母细胞刺激，口服促排卵药物（来曲唑、克罗米芬或环芬尼）、人绝经期促性腺激素和重组卵泡刺激素被单独或联合使用。为防止

过早 LH 峰，使用了 GnRHa、GnRH 拮抗剂或口服黄体酮。当至少两个卵泡达到 17 - 18 mm 直径或主治医生确定卵泡群成熟时，给予最终卵母细胞成熟触发剂。

在控制性卵巢过度刺激期间未使用 GnRHa 进行排卵抑制的周期（如 GnRH 拮抗剂方案和孕激素 priming 卵巢刺激方案）中，使用 GnRHa 作为触发剂。在 GnRHa 用于排卵抑制的周期中（如长方案或短方案激动剂方案），使用 hCG 作为最终成熟触发剂。

触发与取卵之间的预期间隔设定为 36 小时。然而，偶尔会因各种原因出现偏差（±约 4 小时）。仔细记录了触发给药的确切时间和取卵程序开始的时间，以确保准确计算取卵前的间隔。

根据触发方法分类

我们根据使用的触发剂类型将病例分为两组：GnRHa 组和 hCG 组。在 GnRHa 组中，给予 600 μg 剂量的布舍瑞林鼻喷雾剂作为触发剂，并在首次给药后 1 小时额外给予 600 μg 以降低取卵欠佳的风险。在 hCG 组中，根据患者的体型，皮下注射 3,000 - 10,000 IU hCG 或 250 μg 绒促性素 α。

实验室处理

取卵后，进行卵丘剥离并计算 MII 比率（ $MII \text{ 比率} = \frac{MII \text{ 卵母细胞数}}{\text{总卵母细胞数}}$ ）。根据精液分析结果和先前的受精结局进行体外受精或卵胞浆内单精子注射（ICSI）。胚胎培养至卵裂期或囊胚期，然后移植或冷冻保存。囊胚根据 Gardner 分级标准进行分类。第 5 天达到 3BB 或更好级别的被定义为高质量囊胚。在计算囊胚率和高质量囊胚率时，排除了进行卵裂期胚胎移植或冷冻的胚胎，并使用计划进行囊胚培养的胚胎数量作为分母。

统计分析

主要结局指标是获得到的总成熟（MII）卵母细胞数，次要结局包括囊胚和高质量囊胚的数量。使用 Welch t 检验比较两组间连续变量的均值，分类变量使用卡方检验比较。p 值<0.01 或 99% CI 不包括 1.0 的差异被认为具有统计学意义。此外，使用 Cohen D 衡量两组间的效应量。所有统计分析使用 Excel 和 EZR（R 的图形用户界面）。

结果

基线特征（表 1）

GnRHa 组包括 40,793 个周期，hCG 组包括 18,413 个周期。两组的平均触发-取卵间隔均为 36.4±1.0 小时。在 GnRHa 组中，间隔≥36.5 小时的患者比间隔<36.5 小时的患者更年轻（38.0±4.8 vs 39.1±4.6，p<0.01）。在 hCG 组中，各变量在长短间隔之间差异极小（Cohen D 均<0.2）。

表 1 根据触发剂类型分类的患者基线特征

参数	GnRHa <36.5h	GnRHa ≥36.5h	p 值	Cohen D
----	--------------	--------------	-----	---------

年龄	39.1±4.6	38.0±4.8	<0.01	0.23
AMH (ng/mL)	2.2±2.6	2.1±2.9	<0.01	0.04
ART 尝试次数	4.6±3.9	4.9±3.2	<0.01	0.12
间隔(小时)	35.7±1.4	37.2±0.7	<0.01	0.41
基础 FSH(mIU/mL)	6.0±3.1	6.0±4.9	0.72	0.01
触发时 LH(mIU/mL)	4.7±4.9	4.3±4.3	<0.01	0.09

触发-取卵间隔与取卵结局的关系（表 2）

表 2 呈现了按间隔<36.5 vs ≥36.5 小时分类的取卵结局。在所有年龄组中，GnRHa 触发组在较长间隔时获得更多 MII 卵母细胞（7.2±6.5 vs 4.3±5.3，p<0.01），而 hCG 触发组在较长间隔时获得更少（4.0±4.6 vs 6.9±5.8，p<0.01）。根据 Cohen D，在 GnRHa 组（<35 岁：0.27；35-40 岁：0.35；>40 岁：0.41）和 hCG 组（<35 岁：0.36；35-40 岁：0.52；>40 岁：0.53）中，较短与较长间隔之间的差异在年龄较大组中更为明显。

表 2 触发-取卵间隔(<36.5 vs ≥36.5 小时)与取卵结局的关系

参数	GnRHa <36.5h	GnRHa ≥36.5h	p 值	Cohen D
每周期卵母细胞数	4.3±5.3	7.2±6.5	<0.01	0.40
每周期 MII 数	3.5±4.6	5.8±5.7	<0.01	0.37
囊胚数	1.0±1.8	2.3±2.8	<0.01	0.44
高质量囊胚数	0.3±0.8	0.8±1.7	<0.01	0.38
MI I 比率(%)	81.3	80.2	—	—
囊胚形成率(%)	50.3	59.5	<0.01	—

在 hCG 组中：

参数	hCG <36.5h	hCG ≥36.5h	p 值	Cohen D
每周期卵母细胞数	6.9±5.8	4.0±4.6	<0.01	0.55
每周期 MII 数	5.5±4.8	3.2±4.1	<0.01	0.49
囊胚数	1.7±1.9	1.2±1.9	0.11	0.27

高质量囊胚数	0.3±0.8	0.2±1.0	0.78	—
MII 比率(%)	80.4	79.8	—	—
囊胚形成率(%)	48.8	52.2	—	—

按年龄分层的亚组分析

<35 岁组：GnRHa 触发组在较长间隔时获得更多卵母细胞（10.8±7.2 vs 8.8±7.1），hCG 触发组在较短间隔时获得更多（9.5±7.7 vs 7.2±6.3）。

35 - 40 岁组：GnRHa 触发组较长间隔优势明显（7.4±6.1 vs 5.2±5.4），hCG 触发组较短间隔优势明显（7.5±5.4 vs 4.8±4.9）。

>40 岁组：差异最为显著，GnRHa 组 Cohen D=0.41，hCG 组 Cohen D=0.53。

多变量回归分析

以总 MII 卵母细胞数为因变量的多变量回归分析显示，在调整年龄、AMH 和 ART 周期次数后，间隔与 MII 卵母细胞数之间的关系仍然显著。线性、二次和指数回归模型中，线性回归的相关性最强。

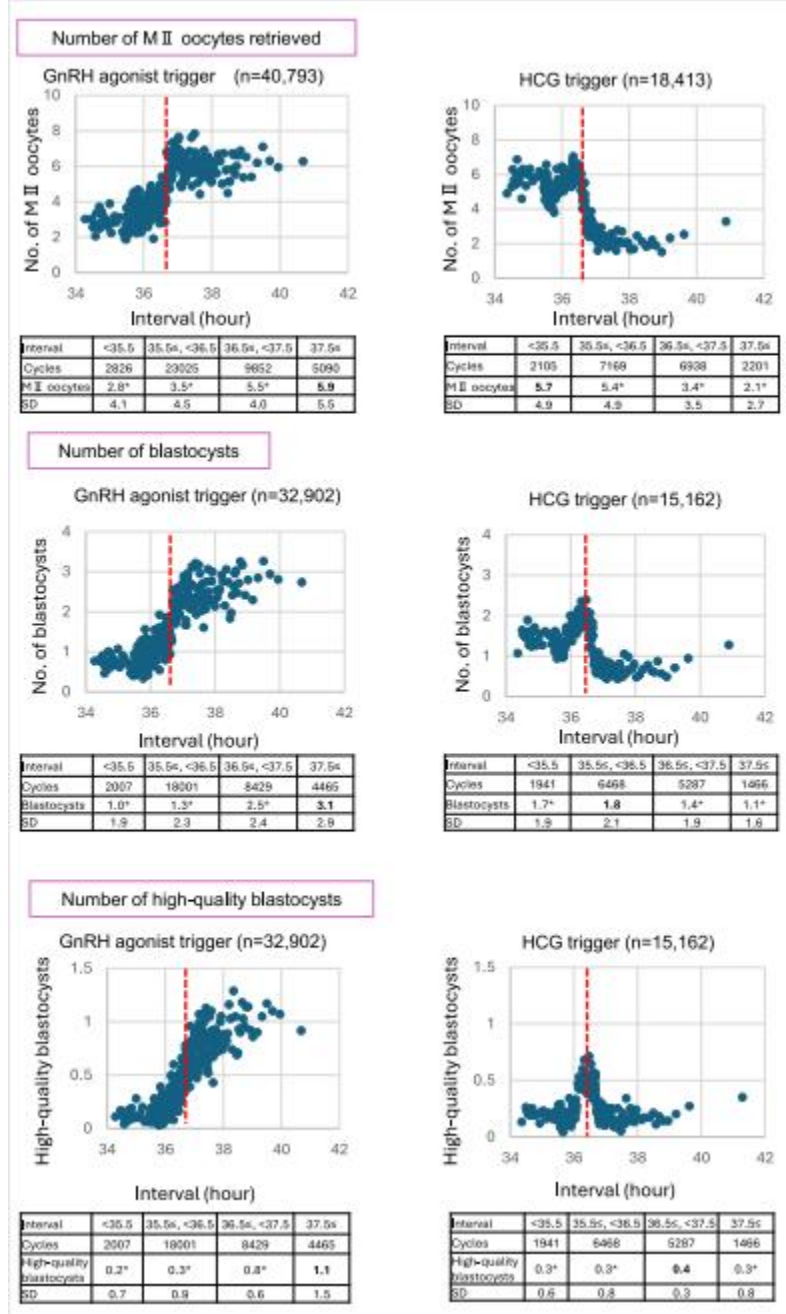


图1 触发-取卵间隔与取卵结局的关系（原文图示要点）

【图示说明】散点图显示了 GnRHa 组和 hCG 组中触发-取卵间隔与 MII 卵母细胞数、囊胚数和高质量囊胚数的关系。在 GnRHa 组中，约 36.5 小时处观察到明显趋势变化：间隔>37.5 小时的 MII 卵母细胞数（均值 5.9）和囊胚数（3.1）显著高于其他间隔（ $p<0.01$ ）。在 hCG 组中，间隔<35.5 小时的 MII 卵母细胞数最高（均值 5.7， $p<0.01$ ）。GnRHa 组的最佳间隔比 hCG 组长约 1.5-2 小时。无论 GnRHa 还是 hCG 触发，排卵导致的周期取消率在长短间隔组间无差异。

讨论

通过全面的数据分析，本研究阐明触发给药与取卵之间的间隔不仅影响获卵数量，还影响胚胎发育的后续阶段，包括囊胚形成率和高质量囊胚形成率。最近的一项荟萃分析显示，增加 hCG 给药与取卵之间的间隔可显著提高临床妊娠率。本研究首次在大样本中对 GnRHa 和 hCG 两种触发剂的取卵间隔进行了直接比较。

GnRHa 触发组在较长间隔时获得更多 MII 卵母细胞，这与 hCG 组的结果完全相反。这种差异可能与 GnRHa 和 hCG 的作用机制不同有关：GnRHa 通过诱导内源性 LH 峰发挥作用，其峰值和持续时间与自然周期更接近，而 hCG 具有更长的半衰期和更强的受体结合力。在 GnRHa 组中，间隔越长，囊胚形成率和高质量囊胚数越高，这提示充分的成熟时间对后续胚胎发育质量至关重要。

在临床实践中，这些发现提示我们应根据触发剂类型个体化设定取卵时间：GnRHa 触发后建议间隔 ≥ 36.5 小时（理想为 37-38 小时），而 hCG 触发后建议间隔 ≤ 36 小时（理想为 35-36 小时）。特别是对于高龄患者，选择合适的间隔可显著改善获卵数和胚胎质量。

伦理声明

本研究为回顾性队列分析，未对 IVF 治疗过程进行干预。Hanabusa Women's Clinic 机构审查委员会批准了本研究（批准号 2024-05）。患者在 IVF 周期前提供了知情同意。

参考文献：

1. He M, Zhang T, Yang Y, Wang C. Mechanisms of oocyte maturation and related epigenetic regulation. *Front Cell Dev Biol* 2021;9:654028.
2. Brevini TA, Cillo F, Antonini S, Gandolfi F. Cytoplasmic remodelling and the acquisition of developmental competence in pig oocytes. *Anim Reprod Sci* 2007;98:23 - 38.
3. Voronina E, Wessel GM. The regulation of oocyte maturation. *Curr Top Dev Biol* 2003;58:53 - 110.
4. Abbara A, Clarke SA, Dhillon WS. Novel concepts for inducing final oocyte maturation in in vitro fertilization treatment. *Endocr Rev* 2018;39:593 - 628.
5. Bjercke S, Tanbo T, Dale PO,
◆ Abyholm T. Comparison between two hCG-to-oocyte aspiration intervals on the outcome of in vitro fertilization. *J Assist Reprod Genet* 2000;17:319 - 22.
6. Wang W, Zhang XH, Wang WH, Liu YL, Zhao LH, Xue SL, et al. The time interval between hCG priming and oocyte retrieval in ART program: a meta-analysis. *J Assist Reprod Genet* 2011;28:901 - 10.

7. Lee CI, Chen HH, Huang CC, Chen CH, Cheng EH, Huang JY, et al. Effect of interval between human chorionic gonadotropin priming and ovum pick-up on the euploid probabilities of blastocyst. *J Clin Med* 2020;9:1685.
8. Youssef MA, Van der Veen F, Al-Inany HG, Griesinger G, Mochtar MH, Aboufoutouh I, et al. Gonadotropin-releasing hormone agonist versus HCG for oocyte triggering in antagonist assisted reproductive technology cycles. *Cochrane Database Syst Rev* 2011;CD008046.
9. Xu S, Wang X, Zhang Y, Han Y, Zhang C. Comparison the effects of progestin-primed ovarian stimulation (PPOS) protocol and GnRH-a long protocol in patients with normal ovarian reserve function. *Gynecol Endocrinol* 2023;39:2217263.
10. Zaat T, Zagers M, Mol F, Goddijn M, van Wely M, Mastenbroek S. Fresh versus frozen embryo transfers in assisted reproduction. *Cochrane Database Syst Rev* 2021;2:CD011184.
11. Pavlovic ZJ, Smotrich GE, New EP, Jahandideh S, Devine K, Imudia AN, et al. Fresh vs. frozen: pregnancy outcomes and treatment efficacy between fresh embryo transfer vs. untested freeze-all cycles. *F S Rep* 2024;5:369 – 77.
12. Humaidan P, Haahr T. GnRHa trigger-the story of the ugly duckling. *F S Rep* 2023;4:15 – 9.
13. Paulson RJ. Unexpected poor oocyte retrieval: the phenomenon of the borderline response to the gonadotropin-releasing hormone (GnRH) agonist trigger. *F S Rep* 2024;5:229 – 30.
14. Gardner DK, Lane M, Stevens J, Schlenker T, Schoolcraft WB. Blastocyst score affects implantation and pregnancy outcome: towards a single blastocyst transfer. *Fertil Steril* 2000;73:1155 – 8.
15. Gan R, Huang X, Zhao J, Zhang Q, Huang C, Li Y. Time interval between hCG administration and oocyte retrieval and ART outcomes: an up-dated systematic review and meta-analysis. *Reprod Biol Endocrinol* 2023;21:61.
16. Vandenberghe LTM, Santos-Ribeiro S, De Munck N, Desmet B, Meul W, De Vos A, et al. Expanding the time interval between ovulation triggering and oocyte injection: does it affect the embryological and clinical outcome? *Hum Reprod* 2021;36:614 – 23.
17. Kahraman PS. PGT-A in poor, normo- and hyper-responders. *Reprod Bio-med Online* 2019;38:e9 – 10.

18. Ranit H, Shmuel H, Ahlad A, Shirley G, Meny H, Tal I, et al. Is there a preferred time interval between gonadotropin-releasing hormone (GnRH) agonist trigger and oocyte retrieval in GnRH antagonist cycles? A retrospective cohort of planned fertility preservation cycles. *J Assist Reprod Genet* 2024;41:1531–8.
19. Abbara A, Hunjan T, Ho VNA, Clarke SA, Comminos AN, Izzi-Engbeaya C, et al. Endocrine requirements for oocyte maturation following hCG, GnRH agonist, and kisspeptin during IVF treatment. *Front Endocrinol (Lau-sanne)* 2020;11:537205.
20. Casarini L, Lispi M, Longobardi S, Milosa F, La Marca A, Tagliasacchi D, et al. LH and hCG action on the same receptor results in quantitatively and qualitatively different intracellular signaling. *PLoS One* 2012;7:e46682.
21. Reichman DE, Missmer SA, Berry KF, Ginsburg ES, Racowsky C. Effect of time between human chorionic gonadotropin injection and egg retrieval is age dependent. *Fertil Steril* 2011;95:1990–5.
22. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Evidence-based outcomes after oocyte cryopreservation for donor oocyte in vitro fertilization and planned oocyte cryopreservation: a guideline. *Fertil Steril* 2021;116:36–47.
23. The Eshre Guideline Group On Ovarian Stimulation, Bosch E, Broer S, Griesinger G, Grynberg M, Humaidan P, et al. ESHRE guideline: ovarian stimulation for IVF/ICSI
†
. *Hum Reprod Open* 2020;2020: hoaa009.
24. Hull MG, Fleming CF, Hughes AO, McDermott A. The age-related decline in female fecundity: a quantitative controlled study of implanting capacity and survival of individual embryos after in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1996;65: 783–90.
25. Ubaldi F, Camus M, Smitz J, Bennink HC, Van Steirteghem A, Devroey P. Premature luteinization in in vitro fertilization cycles using gonadotropin-releasing hormone agonist (GnRH-a) and recombinant follicle-stimulating hormone (FSH) and GnRH-a and urinary FSH. *Fertil Steril* 1996;66:275–80.
26. Vanni VS, Somigliana E, Reschini M, Pagliardini L, Marotta E, Faulisi S, et al. Top quality blastocyst formation rates in relation to progesterone levels on the day of oocyte maturation in GnRH antagonist IVF/ICSI cycles. *PLoS One* 2017;12:e0176482.
27. Andersen CY, Kelsey T, Mamsen LS, Vuong LN. Shortcomings of an unphysiological triggering of oocyte maturation using human chorionic gonadotropin.

Fertil Steril 2020;114:200 – 8.

反复着床失败患者宫内灌注富血小板血浆的临床结局

Yih sien Enatsu, Noritoshi Enatsu, Kohyu Furuhashi, Junko Otsuki, Eri Okamoto, Shoji Kokeguchi, Masahide Shiotani

期刊: Reproductive Medicine and Biology 2022;21:e12417

摘要

目的:

本研究旨在评估反复着床失败 (RIF) 病例中胚胎移植 (ET) 前宫内灌注富血小板血浆 (PRP) 的有效性。

方法:

作者回顾性分析了 2019 年 9 月至 2020 年 11 月期间, 在宫内 PRP 灌注后进行的 54 个冷冻-解冻高质量囊胚 ET 周期。所有患者至少有两次着床失败史。54 名患者分为两组: 薄型子宫内膜组 (39 名) 和不明原因着床失败组 (15 名)。薄型子宫内膜组在既往 ET 周期的周期第 12-14 天子宫内膜厚度 (EMT) <8.0 mm。

结果:

在 54 个 PRP 灌注后的 ET 周期中, 31 个 (57.4%) hCG 阳性, 27 个 (50%) 获得临床妊娠, 显著优于既往未使用 PRP 灌注的 ET 周期 (分别为 27.2% 和 9.6%)。在两组患者中, PRP 周期 ET 日期的 EMT 与既往 ET 周期相比未增加。此外, hCG 阳性组和 hCG 阴性组之间的 EMT 无差异。

结论:

尽管宫内 PRP 灌注在增加 EMT 方面未优于传统治疗药物, 但它在有或没有薄型子宫内膜的 RIF 患者中均获得了较高的妊娠率。

引言

反复着床失败 (RIF) 是一种罕见且定义模糊的临床疾病, 其特征是反复移植高质量胚胎后未能成功妊娠。RIF 的病因复杂, 归因于多种因素, 如薄型子宫内膜、慢性子宫内膜炎、压力、免疫因素、植入窗口不兼容和特定自身抗体。其中, 薄型子宫内膜是着床失败的重要因素, 与流产风险增加相关。其病理生理学解释包括上皮生长不良、血管内皮生长因子 (VEGF) 表达减少、血管发育差和子宫血管径向动脉血流阻抗高。

尽管延长雌激素给药、阿司匹林、维生素 E 和己酮可可碱可改善 EMT，但许多薄型子宫内膜女性对这些治疗仍无反应。PRP 是最近被提出用于治疗薄型子宫内膜的新方法。PRP 是从外周静脉采集的新鲜血液中制备的，通过分离各种血液成分来提高血小板浓度。血小板含有大量生长因子，如 VEGF、表皮生长因子、血小板衍生生长因子（PDGF）和转化生长因子，这些因子均能刺激增殖和生长。在子宫内膜中，血管生成对月经后的子宫内膜生长至关重要，而血管化的可接受子宫内膜对着床至关重要。因此，PRP 中的生长因子和其他细胞因子可能促进薄型子宫内膜患者的子宫内膜增厚。

材料与方法

这项回顾性研究纳入了 2019 年 9 月至 2020 年 11 月在 Hanabusa Women's Clinic 进行的 54 个冷冻-解冻 ET 周期（PRP 灌注后）。纳入标准为 RIF 患者（定义为至少连续两次着床失败史）且 ET 时年龄 25-45 岁。仅分析使用高质量囊胚（Gardner 分类 3BB 或更好）的 ET。排除标准为肝病、血红蛋白 <11 g/dL、血小板计数 <150 万/mm³、使用抗凝剂和先天性子宫异常。

ET 在激素替代周期中进行。从周期第 2 天开始给予透皮和口服雌二醇。在周期第 10 天（第一次）和 12-14 天（第二次）通过经阴道超声测量 EMT 并进行 PRP 灌注。ET 基本在第 20 天（黄体酮给药后 5 天）进行。PRP 使用 Acti-PRP 管从 20 mL 外周血中制备，离心后获取 1 mL PRP，使用软导管灌注至宫腔。

结果

患者基线特征（表 1）

表 1 总结了 54 名纳入患者的特征，其中 15 名属于不明原因着床失败组，39 名属于薄型子宫内膜组。两组在年龄、既往 ART 周期数、既往临床妊娠数和自然流产数方面无显著差异。这些因子在 hCG 阳性组和 hCG 阴性组之间也无差异。

表 1 患者基线特征

参数	hCG+ 均值 (SD)	hCG- 均值 (SD)	p 值	分组
不明原因组-年龄	37 (5.2)	40 (3.4)	0.07	不明原因
不明原因组-既往 ET 次数	4 (1.9)	4 (2.8)	0.19	不明原因
不明原因组-既往临床妊娠	0 (1.6)	0 (0.5)	0.16	不明原因
薄内膜组-年龄	38 (5.6)	40 (2.4)	0.45	薄内膜
薄内膜组-既往 ET 次数	4 (2.4)	2 (2.2)	0.06	薄内膜
薄内膜组-既往临床妊娠	2 (1.2)	1 (1.1)	0.20	薄内膜

子宫内膜厚度变化（表 2）

表 2 显示 PRP 周期与既往 ET 周期的 EMT 变化。自然，薄型子宫内膜组在周期第 12-14 天的 EMT 比不明原因组更薄。在两组中，PRP 灌注周期 ET 日期的 EMT 与既往 ET 周期几乎相同。在 hCG 阳性组和 hCG 阴性组之间比较 EMT，未发现差异。

指标/ Indicator	总体 Overall		p 值 ^a	HCG 阳性 HCG positive		HCG 阴性 HCG negative		p 值 ^a	p 值 ^c
	均值 Mean	SD		均值 Mean	SD	均值 Mean	SD		
不明原因着床失败 (Unexplained implantation failure), n = 15									
既往 ET 周期 月经周期第 12-14 天	8.6	1.5		8.7	1.2	8.3	1.6	0.38	
既往 ET 周期 胚胎移植日	9.1	1.7		9.1	1.4	9.3	1.7	0.27	
首次 PRP 输注时	7.5	1.1		7.6	1.3	7.2	0.8	0.31	
第二次 PRP 输注时	8	1.4	0.37	8.1	1.8	8	1	0.27	0.30/0.31
PRP 周期 胚胎移植日	9.1	0.9	0.43	9.3	0.9	9.1	0.9	0.45	0.41/0.22
薄型子宫内膜导致着床失败 (Implantation failure due to thin endometrium), n = 39									
既往 ET 周期 月经周期第 12-14 天	6.5	1		6.7	1	6.3	1	0.16	
既往 ET 周期 胚胎移植日	7.7	1		7.5	1.4	7.9	1.3	0.38	
首次 PRP 输注时	6.2	0.8		6.2	1.2	6.1	1.2	0.43	
第二次 PRP 输注时	6.4	1.2	0.25	6.5	1.3	6.3	1	0.39	0.11/0.07
PRP 周期 胚胎移植日	7.2	1.2	0.21	7.2	1	7.6	1.3	0.17	0.19/0.47

妊娠结局（表 3）

表 3 揭示了 PRP 周期与既往 ET 周期的妊娠结局比较。总体而言，PRP 周期的 hCG 阳性率和临床妊娠率显著高于既往 ET 周期（57.4% vs 27.2%；50.0% vs 9.6%）。PRP 周期的自然流产率较低（11.1% vs 55.5%），但差异无统计学意义。持续妊娠（>15 孕周）或活产率在 PRP 周期中显著更高（44.4% vs 4.3%）。这一趋势在两组中相似。

表 3 PRP 灌注后妊娠结局与既往周期比较

结局指标	PRP 周期	既往周期	OR/p 值
总体-hCG 阳性	31 (57.4%)	51 (27.2%)	OR=3.6*
总体-临床妊娠	27 (50.0%)	18 (9.6%)	OR=9.4*
总体-自然流产	3 (11.1%)	10 (55.5%)	OR=0.2

PRP 治疗子宫内膜的分子机制仍知之甚少。血小板含有多种生长因子，包括 PDGF、TGF- β 、VEGF、胰岛素样生长因子和角质细胞生长因子，以及多种细胞因子。这些生长因子和细胞因子可加速伤口愈合和软组织再生，促进子宫内膜细胞增殖和子宫内膜干细胞激活，从而改善子宫内膜反应性和胚胎着床。

本研究发现 PRP 灌注降低了自然流产率（11.1% vs 55.5%），尽管差异无统计学意义（可能因样本量小）。薄型子宫内膜患者流产风险增加，PRP 可能通过改善子宫内膜功能来维持妊娠。本研究的主要局限性在于回顾性设计、样本量较小以及选择偏倚的可能性。

伦理声明

本研究经 Hanabusa Women's Clinic 伦理委员会批准（批准号 2021-05）。所有患者均充分了解研究内容并在治疗前签署了书面知情同意书。

参考文献：

1. Bashiri A, Halper KI, Orvieto R. Recurrent Implantation Failure- update overview on etiology, diagnosis, treatment and future di-rections. *Reprod Biol Endocrinol*. 2018;16(1):1- 18.
2. Abdalla H, Brooks A, Johnson M, Kirkland A, Thomas A, Studd J. Endometrial thickness: a predictor of implantation in ovum recipi-ents? *Hum Reprod*. 1994;9(2):363- 365.
3. Hayashi N, Enatsu N, Iwasaki T, et al. Predictive factors influenc-ing pregnancy rate in frozen embryo transfer. *Reprod Med Biol*. 2020;19(2):182- 188.
4. Miwa I, Tamura H, Takasaki A, Yamagata Y, Shimamura K, Sugino N. Pathophysiologic features of “thin” endometrium. *Fertil Steril*. 2009;91(4):998- 1004.
5. Chen M-J, Yang J-H, Peng F-H, Chen S-U, Ho H-N, Yang Y-S. Extended estrogen administration for women with thin endo-metrium in frozen- thawed in- vitro fertilization programs. *J Assist Reprod Genet*. 2006;23(7):337- 342.
6. Hashemi Z, Sharifi N, Khani B, Aghadavod E, Asemi Z. The effects of vitamin E supplementation on endometrial thickness, and gene expression of vascular endothelial growth factor and inflammatory cytokines among women with implantation failure. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2019;32(1):95- 102.

7. Eftekhari M, Neghab N, Naghshineh E, Khani P. Can autologous platelet rich plasma expand endometrial thickness and improve pregnancy rate during frozen-thawed embryo transfer cycle? A randomized clinical trial. *Taiwan J Obstet Gynecol.* 2018;57(6):810- 813.
8. Kusumi M, Ihana T, Kurosawa T, Ohashi Y, Tsutsumi O. Intrauterine administration of platelet-rich plasma improves embryo implantation by increasing the endometrial thickness in women with repeated implantation failure: a single-arm self-controlled trial. *Reprod Med Biol.* 2020;19(4):350- 356.
9. Agarwal M, Mettler L, Jain S, Meshram S, Günther V, Alkatout I. Management of a thin endometrium by hysteroscopic instillation of platelet-rich plasma into the endomyometrial junction: a pilot study. *J Clin Med.* 2020;9(9):2795.
10. Amable PR, Carias RBV, Teixeira MVT, et al. Platelet-rich plasma preparation for regenerative medicine: optimization and quantification of cytokines and growth factors. *Stem Cell Res Ther.* 2013;4(3):1- 13.
11. Lee JW, Kwon OH, Kim TK, et al. Platelet-rich plasma: quantitative assessment of growth factor levels and comparative analysis of activated and inactivated groups. *Arch Plast Surg.* 2013;40(5):530.
12. Bertrand-Duchesne MP, Grenier D, Gagnon G. Epidermal growth factor released from platelet-rich plasma promotes endothelial cell proliferation in vitro. *J Periodontal Res.* 2010;45(1):87- 93.
13. Chang Y, Li J, Chen Y, et al. Autologous platelet-rich plasma promotes endometrial growth and improves pregnancy outcome during in vitro fertilization. *Int J Clin Exp Med.* 2015;8(1):1286.
14. Nazari L, Salehpour S, Hosseini MS, Hashemi Moghanjoughi P. The effects of autologous platelet-rich plasma in repeated implantation failure: a randomized controlled trial. *Hum Fertil.* 2020;23(3):209- 213.
15. Gardner DK, Schoolcraft WB. Culture and transfer of human blastocysts. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 1999;11(3):307- 311.
16. Enatsu Y, Enatsu N, Kishi K, et al. Effectiveness of high-dose transvaginal progesterone supplementation for women who are undergoing a frozen-thawed embryo transfer. *Reprod Med Biol.* 2018;17(3):242- 248.

17. Scott RT Jr, Ferry K, Su J, Tao X, Scott K, Treff NR. Comprehensive chromosome screening is highly predictive of the reproductive potential of human embryos: a prospective, blinded, nonselection study. *Fertil Steril*. 2012;97(4):870– 875.
18. Everts PA, Knape JT, Weibrich G, et al. Platelet- rich plasma and platelet gel: a review. *J Extra Corpor Technol*. 2006;38(2):174.
19. Ledee- Bataille N, Olivennes F, Lefaix J, Chaouat G, Frydman R, Delanian S. Combined treatment by pentoxifylline and tocopherol for recipient women with a thin endometrium enrolled in an oocyte donation programme. *Hum Reprod*. 2002;17(5):1249– 1253.
20. Gingold JA, Lee JA, Rodriguez- Purata J, et al. Endometrial pattern, but not endometrial thickness, affects implantation rates in euploid embryo transfers. *Fertil Steril*. 2015;104(3):620– 628. e5.
21. Järvelä I, Sladkevicius P, Kelly S, Ojha K, Campbell S, Nargund G. Evaluation of endometrial receptivity during in- vitro fertilization using three-dimensional power Doppler ultrasound. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2005;26(7):765– 769.
22. Zhao J, Zhang Q, Wang Y, Li Y. Endometrial pattern, thickness and growth in predicting pregnancy outcome following 3319 IVF cycle. *Reprod Biomed Online*. 2014;29(3):291– 298.
23. Rashidi BH, Sadeghi M, Jafarabadi M, Nejad EST. Relationships between pregnancy rates following in vitro fertilization or intracyto-plasmic sperm injection and endometrial thickness and pattern. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2005;120(2):179– 184.
24. Amable P, Carias RB, Teixeira MV, et al. Platelet- rich plasma preparation for regenerative medicine: optimization and quantification of cytokines and growth factors. *Stem Cell Res Ther*. 2013;4(3):67.
25. Na JI, Choi JW, Choi HR, et al. Rapid healing and reduced erythema after ablative fractional carbon dioxide laser resurfacing combined with the application of autologous platelet- rich plasma. *Dermatol Surg*. 2011;37(4):463– 468.
26. Mouhayar Y, Franasiak JM, Sharara FI. Obstetrical complications of thin endometrium in assisted reproductive technologies: a systematic review. *J Assist Reprod Genet*. 2019;36(4):607– 611

嵌合型与非嵌合型 Klinefelter 综合征男性的临床结局差异

Juri Tsukamoto, Noritoshi Enatsu, Eri Nakahara, Kohyu Furuhashi, Koji Chiba, Yih sien Enatsu, Yuri Mizusawa, Eri Okamoto, Shoji Koikeguchi, Masahide Shiotani

期刊: Reproductive Medicine and Biology 2024;23:e12579

摘要

目的:

本研究根据核型比较 Klinefelter 综合征 (KS) 男性的临床结局。

方法:

作者分析了 57 名在我诊所接受显微取精术 (micro-TESE) 的 KS 患者的结局。

结果:

非嵌合型和嵌合型 KS 组的平均年龄分别为 32.2 ± 4.8 岁和 45.9 ± 13.1 岁。非嵌合型和嵌合型 KS 组的精子获取率分别为 46.5% (20/43) 和 50.0% (7/14)。卵胞浆内单精子注射 (ICSI) 后的受精率在两组间无显著差异。嵌合型 KS 组的卵裂率和囊胚发育率高于非嵌合型 KS 组 (72.2% vs 96.2% 和 30.5% vs 44.7%)。使用活动精子的组比使用不动精子的组结局更好。非嵌合型和嵌合型 KS 组的胚胎移植结局无显著差异 (临床妊娠率: 28.0% vs 20.7%, 流产率: 14.3% vs 33.3%, 每移植活产率: 22.0% vs 13.8%, 每病例活产率: 58.8% vs 57.1%)。

结论:

与非嵌合型 KS 组相比, 嵌合型 KS 组因活动精子利用率更高而具有显著更好的 ICSI 结局。

引言

Klinefelter 综合征 (KS) 以额外 X 染色体为特征, 是男性无精子症的常见原因。约 90% 的 KS 染色体异常与最常见的核型 (47, XXY) 相关。其余 10% 表现为正常核型的嵌合 (46, XY/47, XXY) 或罕见的高阶非整倍体嵌合 (48, XXXY; 49, XXXXY)。除无精子症外, KS 的表型特征包括小睾丸和阴茎、青春期晚期男性乳房发育、阴毛和体毛缺失以及内脏性肥胖。丹麦新生儿横断面核型研究报道 KS 发病率约为 1/500-1000 出生男婴。然而, 被诊断为 KS 的患者数量少于预期, 部分患者被认为未被诊断。

显微取精术 (micro-TESE) 现常用于 KS 相关无精子症。多项研究报道 KS 患者 micro-TESE 的精子获取率约为 30%-70%。两项近期系统综述显示, KS 患者的精子获取率分别为 44% 和 43%, 活产率分别为 43% 和 47%。然而, 基于核型的 KS 患者 micro-TESE 临床结局仍不清楚。

材料与amp;方法

这项回顾性研究纳入了 2011 年 1 月至 2021 年 12 月期间在我诊所因 KS 导致无精子症而接受 micro-TESE 的 57 名患者。所有患者均接受了体格检查、内分泌谱评估（包括阴囊超声、睾丸体积和血清睾酮、FSH、LH 水平测定）。禁欲 2-7 天后至少两次精液分析诊断为无精子症。使用 G 显带技术诊断染色体异常。纳入非嵌合型 KS（47, XXY）或嵌合型 KS（46, XY/47, XXY）。嵌合比定义为 47, XXY 细胞数/总细胞数。排除 AZF 微缺失患者（AZFc gr/gr 缺失除外）。

Micro-TESE 技术：在白膜上做一个矢状切口以可视化睾丸实质。收集的组织在载玻片上切碎后用显微镜（×400）评估精子。部分组织送病理评估。组织冷冻保存后用于 ICSI。使用茶碱溶液刺激不动精子以选择存活精子。ET 在自然排卵周期或激素替代周期中进行。

结果

患者基线特征（表 1）

表 1 显示 KS 患者的基线特征。43 名诊断为非嵌合型 KS，14 名为嵌合型 KS。非嵌合型 KS 组比嵌合型 KS 组更年轻（ 32.2 ± 4.8 vs 45.9 ± 13.1 岁）。非嵌合型 KS 组睾丸体积更小（ 4.2 ± 1.1 vs 13.9 ± 7.7 mL），FSH 更高（ 38.0 ± 13.6 vs 17.5 ± 16.5 mIU/mL），LH 更高（ 20.5 ± 9.8 vs 8.3 ± 7.6 mIU/mL），睾酮更低（ 3.3 ± 1.9 vs 3.6 ± 1.1 pg/mL）。然而，两组的精子获取率无差异（46.5% vs 50.0%）。

表 1 非嵌合型与嵌合型 Klinefelter 综合征组基线特征

参数	非嵌合型 (n=43)	嵌合型 (n=14)
年龄	32.2 ± 4.8	$45.9 \pm 13.1^*$
睾丸体积(mL)	4.2 ± 1.1	$14.0 \pm 7.5^*$
FSH(mIU/mL)	38.0 ± 13.6	$17.5 \pm 16.5^*$
LH(mIU/mL)	20.5 ± 9.8	$8.3 \pm 7.6^*$
睾酮(pg/mL)	3.3 ± 1.9	3.6 ± 1.1
精子获取率	20/43 (46.5%)	7/14 (50.0%)

精子获取组与未获取组的比较（表 2）

在嵌合型 KS 中，精子获取组的睾丸体积显著大于未获取组（ 13.9 ± 7.7 vs 7.2 ± 4.1 mL）。精子获取组的嵌合 XXY 比例显著低于未获取组（4.3% vs 38.6%， $p < 0.001$ ）。

表 2 精子获取组与未获取组的比较

参数	非嵌合型 获取组	非嵌合型 未获取组	嵌合型 获取组	嵌合型 未获取组
睾丸体积(mL)	4.2±1.1	5.1±2.5	13.9±7.7*	7.2±4.1
FSH(mIU/mL)	38.0±13.6	40.6±10.7	17.5±16.5	25.2±6.3
睾酮(pg/mL)	3.2±1.9*	2.0±1.4	3.6±1.1	2.6±1.2
嵌合比(%)	—	—	4.3*	38.6

ICSI 临床结局（表 3）

非嵌合型 KS 组 20 对夫妇接受了 38 个 ICSI 周期，嵌合型 KS 组 7 对夫妇接受了 25 个 ICSI 周期。嵌合型 KS 组 100%使用活动精子，非嵌合型 KS 组仅 51.3%使用活动精子。受精率两组无显著差异（79.9% vs 75.7%）。然而，嵌合型 KS 组的第 2 天卵裂率（96.2% vs 72.2%）和囊胚发育率（52.6% vs 30.5%）显著更高。使用活动精子的患者比使用不动精子的患者具有更高的卵裂率（84.6% vs 58.5%）和囊胚发育率（39.0% vs 17.6%）。

表 3 非嵌合型与嵌合型 KS 组 ICSI 临床结局

参数	非嵌合型	嵌合型	p 值
女性患者年龄	33.9±4.6	41.0±5.1	<0.01
活动精子使用率	51.3%	100%	<0.001
受精率	79.9%	75.7%	0.44
第 2 天卵裂率	72.2%	96.2%	<0.001*
囊胚发育率	30.5%	52.6%	<0.05*
使用活动精子-卵裂率	84.6%	96.2%	0.03
使用活动精子-囊胚率	39.0%	52.6%	0.16
使用不动精子-卵裂率	58.5%	—	<0.001
使用不动精子-囊胚率	17.6%	—	<0.001

胚胎移植结局（表 4）

非嵌合型 KS 组 17 对夫妇（50 个周期）和嵌合型 KS 组 7 对夫妇（29 个周期）进行了 ET。两组的临床妊娠率（28.0% vs 20.7%）、流产率（14.3% vs 33.3%）、每移植活产率（22.0% vs 13.8%）和每病例累积活产率（58.8% vs 57.1%）均无显著差异。每 micro-TESE 病例的粗累积活产率也无显著差异（23.2% vs 28.6%）。

表 4 非嵌合型与嵌合型 KS 组 ET 结局

参数	非嵌合型 (n=17)	嵌合型 (n=7)	p 值
ET 周期数	50	29	
女性患者年龄	33.4±4.5	37.3±4.2	<0.01
临床妊娠/ET	14/50 (28.0%)	6/29 (20.7%)	0.47
自然流产	2/14 (14.3%)	2/6 (33.3%)	0.33
活产/ET 周期	11/50 (22.0%)	4/29 (13.8%)	0.37
累积活产/ET 病例	10/17 (58.8%)	4/7 (57.1%)	0.94
累积活产/micro-TESE	10/43 (23.2%)	4/14 (28.6%)	0.69

嵌合比与精子获取的关系

精子获取组的嵌合 XXY 比例显著低于未获取组（4.3% vs 38.6%，p<0.001）。嵌合比极低（<7%）组的精子获取率达到 63.4%（7/11），其中最年长患者 68 岁（其妻子 40 岁）。相反，嵌合比高（>50%）的组未获取到精子。这提示精子获取组的睾丸中 XY 细胞比例更高。

讨论

KS 是男性最常见的染色体性异常。典型表型为低睾酮、高促性腺激素和小睾丸，常导致无精子症。多达 20% 的 KS 男性表现为嵌合型核型，最常见为正常核型嵌合（47,XXY/46,XY）。嵌合形式的真实患病率可能被低估，因为染色体嵌合可能仅存在于睾丸中，且部分嵌合 KS 男性受影响的严重程度较低，可能未接受 KS 检测。

本研究的关键发现是嵌合型 KS 组的 ICSI 结局显著优于非嵌合型 KS 组，这可能是因为嵌合型 KS 组更可能获取到活动精子。使用不动精子会导致受精率和妊娠率降低，因为一定比例的不动精子被认为无活力。嵌合型 KS 组更可能获取到活动精子的原因可能与表型差异有关：嵌合型 KS 男性通常具有更大的睾丸体积，意味着更多的曲细精管，从而有更高的机会获取活动精子。

尽管嵌合型 KS 组女性伴侣年龄较大，但 ET 结局在两组间无显著差异。每 ET 病例的累积活产率（非嵌合型 58.8%，嵌合型 57.1%）高于先前报道的非嵌合型 KS 队列（35.9%），表明 KS 患者通过辅助生殖技术成为父亲的可能性并非极低。

伦理声明

本研究经 Hanabusa Women's Clinic 伦理委员会批准（批准号 2024-02）。所有患者均充分了解研究内容并在治疗前签署了书面知情同意书。

参考文献：

1. Ozer C, Caglar Aytac P, Goren M, Toksoz S, Gul U, Turunc T. Sperm retrieval by microdissection testicular sperm extraction and intracytoplasmic sperm injection outcomes in nonobstructive azoospermic patients with Klinefelter syndrome. *Andrologia*. 2018;50(4):e12983.
2. Simpson JL, de la Cruz F, Swerdloff RS, Samango-Sprouse C, Skakkebaek NE, Graham JM Jr, et al. Klinefelter syndrome: expanding the phenotype and identifying new research directions. *Genet Med*. 2003;5(6):460-8.
3. Samplaski MK, Lo KC, Grober ED, Millar A, Dimitromanolakis A, Jarvi KA. Phenotypic differences in mosaic Klinefelter patients as compared with non-mosaic Klinefelter patients. *Fertil Steril*. 2014;101(4):950-5.
4. Bojesen A, Juul S, Gravholt CH. Prenatal and postnatal prevalence of Klinefelter syndrome: a national registry study. *J Clin Endocrinol Metabol*. 2003;88(2):622-6.
5. Abramsky L, Chapple J. 47, XXY (Klinefelter syndrome) and 47, XYY: estimated rates of and indication for postnatal diagnosis with implications for prenatal counselling. *Prenat Diagn*. 1997;17(4):363-8.
6. Lanfranco F, Kamischke A, Zitzmann M, Nieschlag E. Klinefelter's syndrome. *Lancet*. 2004;364(9430):273-83.
7. Guo F, Fang A, Fan Y, Fu X, Lan Y, Liu M, et al. Role of treatment with human chorionic gonadotropin and clinical parameters on testicular sperm recovery with microdissection testicular sperm extraction and intracytoplasmic sperm injection outcomes in 184 Klinefelter syndrome patients. *Fertil Steril*. 2020;114(5):997-1005.

8. Ozveri H, Kayabasoglu F, Demirel C, Donmez E. Outcomes of micro-dissection TESE in patients with non-mosaic Klinefelter's syndrome without hormonal treatment. *Int J Fertil Steril*. 2015;8(4):421 - 8.
9. Enatsu N, Miyake H, Chiba K, Fujisawa M. Predictive factors of successful sperm retrieval on microdissection testicular sperm extraction in Japanese men. *Reprod Med Biol*. 2016;15(1):29 - 33.
10. Corona G, Pizzocaro A, Lanfranco F, Garolla A, Pelliccione F, Vignozzi L, et al. Sperm recovery and ICSI outcomes in Klinefelter syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update*. 2017;23(3):265 - 75.
11. Sá R, Ferraz L, Barros A, Sousa M. The Klinefelter syndrome and testicular sperm retrieval outcomes. *Genes (Basel)*. 2023;14(3):647.
12. Iijima M, Shigehara K, Igarashi H, Kyono K, Suzuki Y, Tsuji Y, et al. Y chromosome microdeletion screening using a new molecular diagnostic method in 1030 Japanese males with infertility. *Asian J Androl*. 2020;22(4):368 - 71.
13. Enatsu N, Chiba K, Fujisawa M. The development of surgical sperm extraction and new challenges to improve the outcome. *Reprod Med Biol*. 2016;15(3):137 - 44.
14. Veeck L. Preembryo grading and degree of cytoplasmic fragmentation. In: Lucinda LV, editor. *Human gametes and conceptuses*. New York: Parthenon Publishing; 1999. p. 46 - 51.
15. Gardner DK, Schoolcraft WB. Culture and transfer of human blastocysts. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 1999;11(3):307 - 11.
16. Enatsu Y, Enatsu N, Kishi K, Iwasaki T, Matsumoto Y, Koikeguchi S, et al. Effectiveness of high-dose transvaginal progesterone supplementation for women who are undergoing a frozen-thawed embryo transfer. *Reprod Med Biol*. 2018;17(3):242 - 8.
17. Bonomi M, Rochira V, Pasquali D, Balercia G, Jannini EA, Ferlin A. Klinefelter syndrome (KS): genetics, clinical phenotype and hypogonadism. *J Endocrinol Invest*. 2017;40:123 - 34.
18. Calanchini M, Aye CYL, Orchard E, Baker K, Child T, Fabbri A, et al. Fertility issues and pregnancy outcomes in Turner syndrome. *Fertil Steril*. 2020;114(1):144 - 54.
19. Papavassiliou P, Charalsawadi C, Rafferty K, Jackson-Cook C. Mosaicism for trisomy 21: a review. *Am J Med Genet A*. 2015;167(1):26 - 39.

20. Zhu JL, Hasle H, Correa A, Schendel D, Friedman JM, Olsen J, et al. Survival among people with down syndrome: a nationwide population-based study in Denmark. *Genet Med*. 2013;15(1):64 – 9.
21. Okada H, Goda K, Yamamoto Y, Sofikitis N, Miyagawa I, Mio Y, et al. Age as a limiting factor for successful sperm retrieval in patients with nonmosaic Klinefelter's syndrome. *Fertil Steril*. 2005;84(6):1662 – 4.
22. Sabbaghian M, Modarresi T, Hosseinifar H, Hosseini J, Farrahi F, Dadkhah F, et al. Comparison of sperm retrieval and intracyto-plasmic sperm injection outcome in patients with and without Klinefelter syndrome. *Urology*. 2014;83(1):107 – 10.
23. Deebel NA, Galdon G, Zarandi NP, Stogner- Underwood K, Howards S, Lovato J, et al. Age-related presence of spermatogonia in patients with Klinefelter syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update*. 2020;26(1):58 – 72.
24. Nagy Z, Liu J, Joris H, Verheyen G, Tournaye H, Camus M, et al. Andrology: the result of intracytoplasmic sperm injection is not related to any of the three basic sperm parameters. *Hum Reprod*. 1995;10(5):1123 – 9.
25. Arai Y, Ueno H, Yamamoto M, Izumi H, Takeshima K, Hayama T, et al. Outcomes of the study of intracytoplasmic sperm injection (ICSI) and sperm motility with microdissection testicular sperm ex-traction. *Asian J Androl*. 2022;24(2):221 – 2.
26. Blanco J, Egozcue J, Vidal F. Meiotic behaviour of the sex chromosomes in three patients with sex chromosome anomalies (47,XXY, mosaic 46,XY/47,XXY and 47,XYY) assessed by fluorescence in-situ hybridization. *Hum Reprod*. 2001;16(5):887 – 92.
27. Foresta C, Galeazzi C, Bettella A, Stella M, Scandellari C. High incidence of sperm sex chromosomes aneuploidies in two patients with Klinefelter's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 1998;83(1):203 – 5.
28. von Wolff M, Schwartz AK, Bitterlich N, Stute P, Fähr M. Only women's age and the duration of infertility are the prognostic factors for the success rate of natural cycle IVF. *Arch Gynecol Obstet*. 2019;299(3):883 – 9.
29. Vloeberghs V, Verheyen G, Santos-Ribeiro S, Staessen C, Verpoest W, Gies I, et al. Is genetic fatherhood within reach for all azoospermic Klinefelter men? *PLoS One*. 2018;13(7):e0200300.

基于人工智能的新型囊胚活力预测及解释可视化系统

Noritoshi Enatsu, Isao Miyatsuka, Le My An, Miki Inubushi, Kunihiro Enatsu, Junko Otsuki, Toshiroh Iwasaki,
Shoji Koikeguchi, Masahide Shiotani

期刊: Reproductive Medicine and Biology 2022;21:e12443

摘要

目的:

本研究旨在发明并评估一种名为 FiTTE (Fertility image Testing Through Embryo, 胚胎生育力影像检测) 的新型人工智能 (AI) 系统, 用于预测囊胚活力并通过基于梯度的定位实现解释可视化。

方法:

作者回顾性分析了来自 9,961 名接受 IVF 的不孕患者的 19,342 张静态囊胚图像及相关检查史。其中 17,984 个单囊胚移植周期用于训练, 1,358 个周期用于测试。

结果:

传统 Gardner 评分系统对照模型的临床妊娠预测准确率为 59.8%, AUC 为 0.62。FiTTE 使用囊胚图像将预测准确率提高至 62.7%, AUC 为 0.68。此外, 使用图像加临床数据的集成模型准确率为 65.2%, AUC 为 0.71。可视化算法显示导致临床妊娠的囊胚颜色更亮。

结论:

作者发明了新型 AI 系统 FiTTE, 与传统的 Gardner 评分相比, 它能更精确地预测单胚胎移植后囊胚的临床妊娠概率。FiTTE 还能使用彩色囊胚图像提供 AI 预测的解释。

引言

通过辅助生殖技术 (ART) 预测胚胎活力对临床医生和患者都很重要, 因为它深刻影响着胚胎移植的选择。自人类体外受精 (IVF) 诞生以来, 胚胎学家已开发出基于光学显微镜形态学特征的评分系统。Gardner 评分系统评估内细胞团和滋养外胚层质量以及胚胎发育进程, 在全球范围内被广泛使用。最近, 植入前遗传学检测 (PGT) 的临床应用日益广泛, 通过分析胚胎染色体实现更精确的胚胎选择。然而, PGT 需要胚胎活检以获取遗传物质, 增加了 IVF 成本并可能对胚胎活力造成潜在风险。此外, 一些在 PGT 中被分类为嵌合的胚胎在重新分析中被重新分类为染色体正常。

多项研究已开展关于测试非侵入性 AI 方法以帮助预测 IVF 期间胚胎活力的研究。报道的预测准确率约为 0.65，表明 AI 模型可比传统评分方法 (<50%) 提高 10%-20% 的准确率。由于影响妊娠的变量众多（包括子宫条件、激素状态和并发症），预测临床妊娠的理论准确率估计<80%。事实上，使用整倍体囊胚进行胚胎移植的临床妊娠成功率约为 70%。因此，能以 70% 准确率预测临床妊娠的非侵入性技术将具有重要价值。

本研究旨在开发一种新型 AI 系统，通过集成建模结合囊胚图像和临床数据（如年龄、激素状态和子宫条件）来预测临床妊娠。另一个目标是开发关于 AI 预测的解释功能。深度学习的黑箱机制被认为是临床应用的重大障碍。本研究开发了 FiTTE 系统，并通过 Grad-CAM 进行区域可视化以验证其有效性。

材料与方法

本研究基于回顾性分析，旨在利用 2011 年 1 月至 2019 年 8 月在 Hanabusa Women's Clinic 接受 IVF（包括 ICSI）的 9,961 名不孕患者的 19,342 张静态第 5 天囊胚图像及相关检查史发明 FiTTE 系统。纳入所有具有已知妊娠结局的单胚胎移植患者，无基于患者特征的排除标准。1,358 名患者具有完整的图像和非图像临床数据（年龄、AMH、激素谱、妊娠史、ART 史、身高、体重、BMI、月经周期、血压、子宫内膜厚度、ART 方法等）。

图像预处理：图像转换为灰度并缩放到 480×640 像素分辨率。图像根据妊娠结局标记为“有活力”或“无活力”（阳性 hCG 且有胎心搏动为“有活力”）。开发了两种算法：仅图像模型和集成模型（结合深度学习图像算法和机器学习非图像数据）。

主要终点为临床妊娠（血清 hCG 升高且经阴道超声检测到宫内胎心搏动）。次要终点为活产。使用 ROC 曲线和 AUC 评估性能。使用 Grad-CAM（梯度加权类激活映射）可视化 AI 预测的解释。

结果

预测准确率

对照模型（传统 Gardner 评分）的临床妊娠预测准确率为 59.8%。仅图像 AI 模型（FiTTE）的准确率为 62.7%。集成 AI 模型（图像+临床数据）的准确率为 65.2%，比仅图像模型提高了 2.5%，比视觉评估方法提高了 5.4%。ROC 分析显示，仅图像模型和集成模型的 AUC 分别为 0.68 和 0.71，均显著优于对照模型 ($p<0.01$)。活产预测的 AUC 为 0.78。

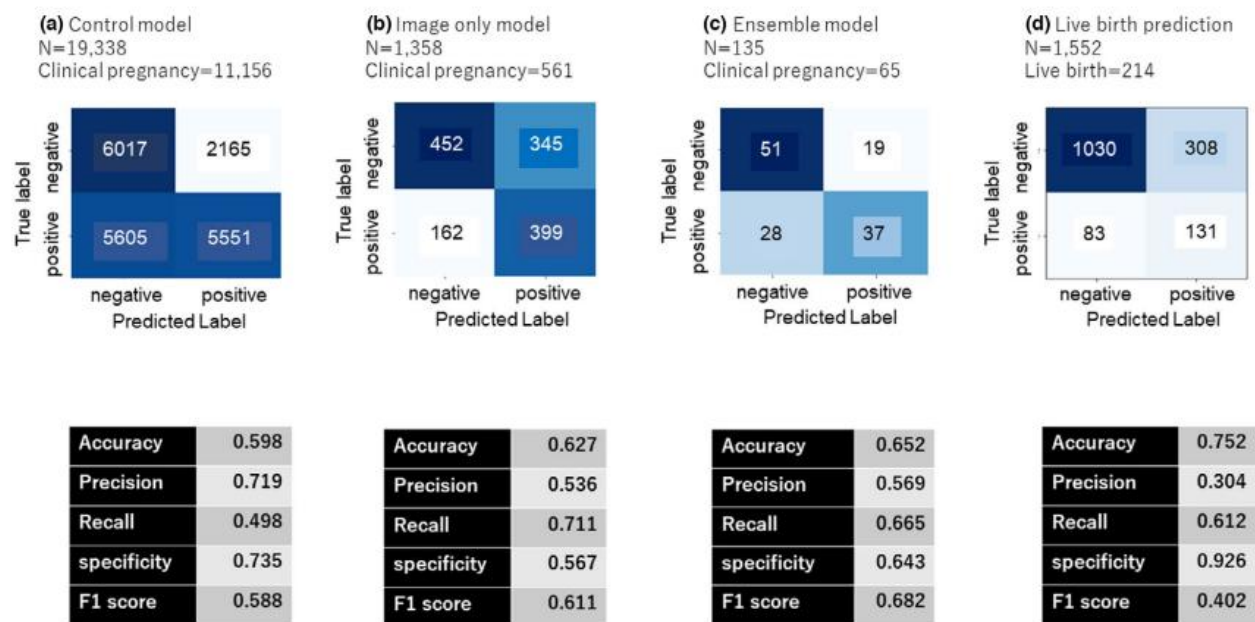


图 3 临床妊娠预测混淆矩阵（原文图示要点）

【图示说明】四个混淆矩阵分别展示了：(a)传统 Gardner 评分对照模型（准确率 59.8%，AUC=0.62），(b)仅图像 AI 模型 FiTTE（准确率 62.7%，AUC=0.68），(c)集成模型（图像+临床数据，准确率 65.2%，AUC=0.71），(d)活产预测（AUC=0.78）。随着模型复杂度增加，真阳性率逐步提高。集成模型相比仅图像模型的改善幅度（2.5%）未达统计学显著性（ $p=0.11$ ），但两者均显著优于传统 Gardner 评分系统。

变量重要性分析（图 5）

SHAP（Shapley Additive Explanations）分析显示，集成模型认为囊胚图像是预测临床妊娠的最重要因素，其次是年龄、妊娠史、血清 AMH、血清雌二醇和胚胎移植时的黄体酮水平。FiTTE 按年龄分层的预测准确率在各年龄组间无差异，表明 FiTTE 的预测可适用于所有育龄患者。

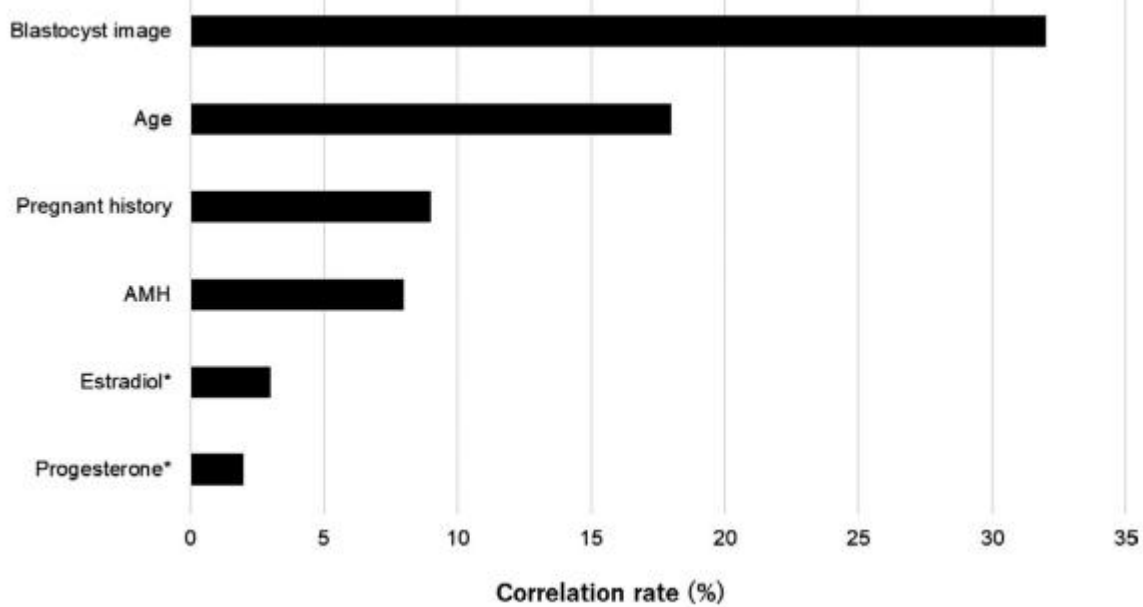


图 5 SHAP 变量重要性分析（原文图示要点）

【图示说明】SHAP 摘要图展示了前六大最重要变量对临床妊娠预测的贡献：1. 囊胚图像（最重要）— 贡献度远超其他变量；2. 年龄 — 负相关，年龄越大预测概率越低；3. 妊娠史 — 有既往妊娠史者预测概率更高；4. 血清 AMH — 中等程度的正相关；5. 血清雌二醇（移植时）— 中等程度的正相关；6. 血清黄体酮（移植时）— 较小但显著的正相关。该分析验证了 FiTTE 模型的可解释性，表明模型确实学习了具有临床意义的生物标志物。

Grad-CAM 可视化（图 6）

Grad-CAM 辅助图像识别显示：病例 1-3 为导致阳性妊娠的囊胚，病例 4-6 为阴性妊娠囊胚。阳性妊娠囊胚整体显示更亮的颜色（Grad-CAM 高亮区域更大），而阴性囊胚显示小面积亮区和大面积暗区。AI 判断囊胚 1 具有所有阳性囊胚中最高的妊娠期望值。这些特征大致与传统 Gardner 分类的评估标准相似（良好卵裂区域提示高妊娠期望，不均等卵裂和/或碎片区域提示低妊娠期望），有助于医生向患者解释 FiTTE 的结果。

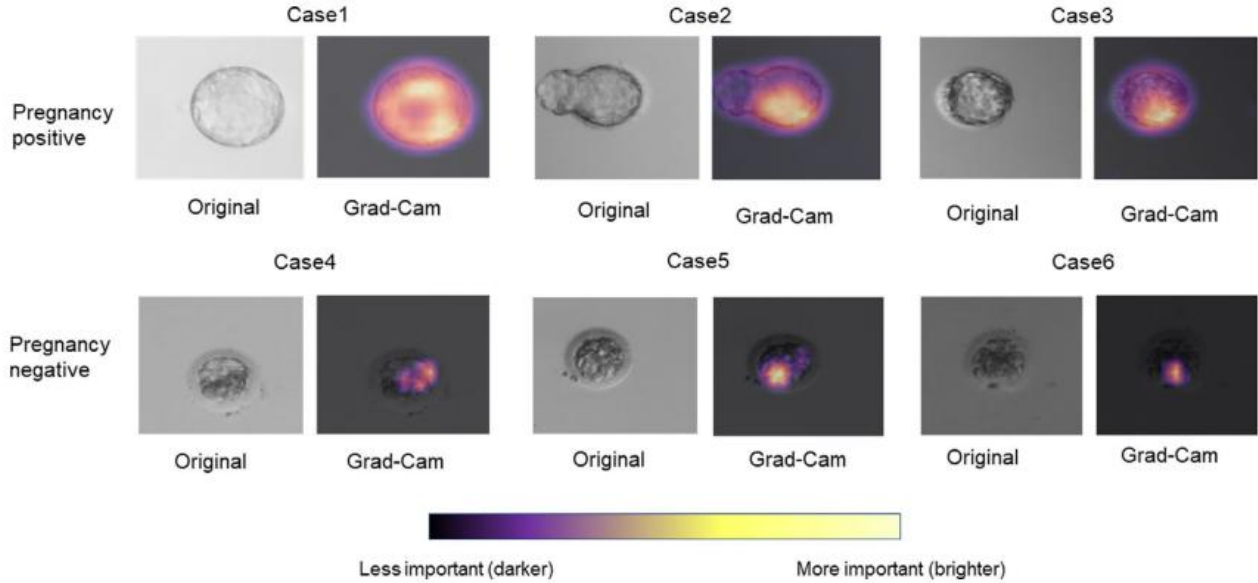


图6 Grad-CAM 囊胚图像可视化（原文图示要点）

【图示说明】六张囊胚图像（原始图+Grad-CAM 热图叠加）展示了 AI 预测的可视化解释：Cases 1-3（阳性妊娠）：原始图像显示形态良好的囊胚，Grad-CAM 热图显示大面积亮色区域（红/黄色），集中于内细胞团和滋养外胚层区域，表明这些区域对阳性预测贡献最大。Cases 4-6（阴性妊娠）：原始图像显示碎片较多或卵裂不均的囊胚，Grad-CAM 热图显示小面积亮区和大面积暗区（蓝色）。颜色越亮表示 AI 认为该区域对阳性预测的贡献越大。Case 6 在所有阴性囊胚中颜色最暗，AI 判断其妊娠期望值最低。

讨论

本研究表明 AI 系统 FiTTE 能比传统 Gardner 评分系统更精确地预测囊胚的妊娠期望值。深度学习在医学影像诊断（如骨折检测、癌症识别、糖尿病视网膜病变）中已达到>90%的准确率。然而，与这些领域不同，本领域的难点在于无人能确定哪个胚胎是有活力的——因为除胚胎质量外，子宫内膜厚度、子宫肌瘤、子宫内膜炎、自身免疫和激素条件等多种因素均会影响妊娠结局。

FiTTE 对临床妊娠的预测准确率为 62.7%（仅图像）和 65.2%（集成模型）。考虑到基于胚胎评估预测妊娠的理论最大准确率估计<80%，65.2%的整体准确率被认为是相对较高的。目前报道的最大规模的实际预测临床妊娠的 AI 研究（Life Whisperer）的准确率为 64.3%，与本研究结果相似。PGT 虽然更准确，但存在嵌合体判断、胚胎损伤和高成本等伦理问题。因此，能以 65%准确率预测临床妊娠的非侵入性 AI 模型具有重要价值。

本研究还证实了囊胚图像是临床妊娠的最佳预测因子，其次是年龄、妊娠史、AMH 和雌二醇/黄体酮水平。集成模型相比仅图像模型的改善幅度不大（2.5%），提示未来需要纳入更多类型的临床数据（如子宫超声、宫腔镜、子宫输卵管造影和 MRI 图像）以进一步提高预测精度。Grad-CAM 可视化功能使医生能够理解 AI 预测的依据，从而更好地向患者解释结果。

局限性包括：仅使用静态囊胚图像（未使用延时视频）、仅纳入亚洲人群（主要为日本人）、回顾性非随机设计以及样本量有限。未来需要进行更大规模的前瞻性研究以确立 FiTTE 在 ART 领域的真正价值。

伦理声明

本研究经 Hanabusa Women's Clinic 伦理委员会批准（批准号 2019-06）。所有患者均充分了解研究内容并在治疗前签署了书面知情同意书。

参考文献：

1. Gardner DK, Lane M. Culture and selection of viable blastocysts: a feasible proposition for human IVF? *Hum Reprod Update*. 1997;3(4):367– 382. doi:10.1093/humupd/3.4.367. Epub 1997/07/01. PubMed PMID: 9459282.
2. Hill MJ, Richter KS, Heitmann RJ, et al. Trophoctoderm grade predicts outcomes of single- blastocyst transfers. *Fertil Steril*. 2013;99(5):1283– 1289. doi:10.1016/j.fertnstert.2012.12.003. Epub 2013/01/15. PubMed PMID: 23312233.
3. Gardner DK, Balaban B. Assessment of human embryo development using morphological criteria in an era of time- lapse, algorithms and ‘OMICS’ : is looking good still important? *Mol Hum Reprod*. 2016;22(10):704– 718.
4. Leaver M, Wells D. Non- invasive preimplantation genetic testing (niPGT): the next revolution in reproductive genetics? *Hum Reprod Update*. 2020;26(1):16– 42.
5. Ou Z, Chen Z, Yin M, et al. Re- analysis of whole blastocysts after trophoctoderm biopsy indicated chromosome aneuploidy. *Hum Genomics*. 2020;14(1):1– 8.
6. Victor AR, Griffin DK, Brake AJ, et al. Assessment of aneuploidy concordance between clinical trophoctoderm biopsy and blastocyst. *Hum Reprod*. 2019;34(1):181– 192.
7. Sachdev NM, McCulloh DH, Kramer Y, Keefe D, Grifo JA. The reproducibility of trophoctoderm biopsies in euploid, aneuploid, and mosaic embryos using independently verified next-generation sequencing (NGS): a pilot study. *J Assist Reprod Genet*. 2020;37(3):559– 571.
8. Patrizio P, Shoham G, Shoham Z, Leong M, Barad DH, Gleicher N. Worldwide live births following the transfer of chromosomally “Abnormal” embryos after PGT/A: results of a worldwide web-based survey. *J Assist Reprod Genet*. 2019;36(8):1599– 1607.

9. VerMilyea M, Hall J, Diakiw S, et al. Development of an artificial intelligence-based assessment model for prediction of embryo viability using static images captured by optical light microscopy during IVF. *Hum Reprod.* 2020;35(4):770– 784.
10. Miyagi Y, Habara T, Hirata R, Hayashi N. Feasibility of artificial intelligence for predicting live birth without aneuploidy from a blastocyst image. *Reprod Med Biol.* 2019;18(2):204– 211.
11. Hill MJ, Richter KS, Heitmann RJ, et al. Trophectoderm grade predicts outcomes of single- blastocyst transfers. *Fertil Steril.* 2013;99(5):1283– 1289.
12. Annan JJK, Gudi A, Bhide P, Shah A, Homburg R. Biochemical pregnancy during assisted conception: a little bit pregnant. *J Clin Med Res.* 2013;5(4):269.
13. Simon AL, Kiehl M, Fischer E, et al. Pregnancy outcomes from more than 1,800 in vitro fertilization cycles with the use of 24- chromosome single- nucleotide polymorphism- based preimplantation genetic testing for aneuploidy. *Fertil Steril.* 2018;110(1):113– 121.
14. Selvaraju RR, Cogswell M, Das A, Vedantam R, Parikh D, Batra D, Editors. Grad- cam: Visual explanations from deep networks via gradient- based localization. *Proceedings of the IEEE international conference on computer vision*; 2017.
15. Gardner DK, Lane M, Stevens J, Schlenker T, Schoolcraft WB. Blastocyst score affects implantation and pregnancy outcome: towards a single blastocyst transfer. *Fertil Steril.* 2000;73(6):1155– 1158.
16. Simonyan K, Zisserman A. Very deep convolutional networks for large- scale image recognition. *International Conference on Learning Representations- 2015 conference paper.* 2015;1– 14.
17. Huang G, Liu Z, Van Der Maaten L, Weinberger KQ, editors. Densely Connected Convolutional Networks. *Proceedings of the IEEE conference on computer vision and pattern recognition*; 2017.
18. Chen Y, Li J, Xiao H, Jin X, Yan S, Feng J. Dual path networks. *NIPS.* 2017;1– 11.
19. Sahlsten J, Jaskari J, Kivinen J, et al. Deep learning fundus image analysis for diabetic retinopathy and macular edema grading. *Sci Rep.* 2019;9(1):1– 11.
20. Cheng CT, Ho TY, Lee TY, et al. Application of a deep learning algorithm for detection and visualization of hip fractures on plain pelvic radiographs. *Eur Radiol.* 2019;29(10):5469– 5477.

21. Bi WL, Hosny A, Schabath MB, Giger ML, Birkbak NJ, Mehrtash A, et al. Artificial intelligence in cancer imaging: clinical challenges and applications. *CA: Cancer J Clin.* 2019;69(2):127– 157. doi:10.3322/ caac.21552. Epub 2019/02/06. PubMed PMID: 30720861; PubMed Central PMCID: PMC6403009.
22. Filho ES, Noble J, Poli M, Griffiths T, Emerson G, Wells D. A method for semi-automatic grading of human blastocyst microscope images. *Hum Reprod.* 2012;27(9):2641– 2648.
23. Khosravi P, Kazemi E, Zhan Q, et al. Deep learning enables robust assessment and selection of human blastocysts after in vitro fertilization. *NPJ Digit Med.* 2019;2(1):1– 9.
24. Tran D, Cooke S, Illingworth PJ, Gardner DK. Deep learning as a predictive tool for fetal heart pregnancy following time- lapse incubation and blastocyst transfer. *Hum Reprod.* 2019;34(6):1011– 1018.
25. Burduja M, Ionescu RT, Verga N. Accurate and efficient intracranial hemorrhage detection and subtype classification in 3D CT scans with convolutional and long short-term memory neural networks. *Sensors.* 2020;20(19):5611.