

# 胚胎移植与囊胚移植的临床结局分析\*\*

郝桂琴, 李蓉, 耿岚, 许锦贝, 杨伟洪

## Analysis of clinical outcomes for embryo transfer and blastocyst transfer

Hao Gui-qin, Li Rong, Geng Lan, Xu Jin-bei, Yang Wei-hong

### Abstract

**BACKGROUND:** It is less reported in China about the clinical outcome of cleavage-stage embryo transfer and blastocyst transfer.

**OBJECTIVE:** To compare the clinical outcome of the cleavage stage transfer and blastocyst transfer.

**METHODS:** 1 612 IVF/ICSI cycles treated in Peking University Shenzhen Hospital between January 2008 and December 2009 were included in the study. It was compared between D2/D3 cleavage stage transfer and D5 blastocyst transfer about clinical pregnancy rate, implantation rate, abortion rate, multiples and sex ratio of neonatal.

**RESULTS AND CONCLUSION:** The cycle number of D2/D3/D5 group was 195, 1162 and 255. The clinical pregnancy rate was 33.33%, 38.04%, 44.71% respectively for three groups. The implantation rate was 21.37%, 24.70%, 31.96%. The clinical pregnancy rate and implantation rate were higher in D5 group than in D2/3 group ( $P < 0.05$ ). For ectopic pregnancy, the risk estimate was higher in D2 group than in D3 group. No statistically differences existed in regard to abortion, monozygotic twin, multiples, preterm birth and sex ratio of neonatal among three groups. It was demonstrated a higher pregnancy rate and implantation rate after blastocyst transfer than after cleavage stage transfer. At the same time, the risk of abortion, monozygotic twin, multiples, preterm birth had not increased. It had no adverse effect on the sex ratio of neonatal.

Hao GQ, Li R, Geng L, Xu JB, Yang WH. Analysis of clinical outcomes for embryo transfer and blastocyst transfer. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2011;15(31): 5739-5742. [http://www.crter.cn http://en.zglckf.com]

Reproductive  
Medicine  
Department, Peking  
University Shenzhen  
Hospital, Shenzhen  
518036, Guangdong  
Province, China

Hao Gui-qin★,  
Master, Technician in  
charge, Reproductive  
Medicine  
Department, Peking  
University Shenzhen  
Hospital, Shenzhen  
518036, Guangdong  
Province, China  
zichen\_baby@  
163.com  
mary\_china@  
tom.com

Correspondence to:  
Li Rong, Professor,  
Chief physician,  
Reproductive  
Medicine  
Department, Peking  
University Shenzhen  
Hospital, Shenzhen  
518036, Guangdong  
Province, China  
lrvf@163.com

Supported by:  
Non-funded Project  
of Shenzhen  
Municipal Science  
and Technology Plan,  
No. 201003054\*

Received: 2011-03-15  
Accepted: 2011-04-11

北京大学深圳医  
院生殖医学科, 广  
东省深圳市  
518036

郝桂琴★, 女,  
1975年生, 山西  
省榆次市人, 汉  
族, 2002年广州  
医学院毕业, 硕  
士, 主管技师, 主  
要从事生殖医学  
研究。  
zichen\_baby@  
163.com  
mary\_china@  
tom.com

通讯作者: 李蓉,  
教授, 主任医师,  
北京大学深圳医  
院生殖医学科, 广  
东省深圳市  
518036  
lrvf@163.com

中图分类号:R617  
文献标识码:A  
文章编号:1673-8225  
(2011)31-05739-04

收稿日期: 2011-03-15  
修回日期: 2011-04-11  
(20110315013/GW-W)

### 摘要

背景: 国内关于卵裂期胚胎移植与囊胚移植的临床比较与分析大样本报道较少见。

目的: 比较第2, 3天卵裂期胚胎移植与第5天囊胚移植的临床结局。

方法: 选择2008-01/2009-12北京大学深圳医院生殖医学科行体外受精/卵胞浆内单精子显微注射共1612周期, 比较第2, 3天卵裂期胚胎移植与第5天囊胚移植的临床妊娠率、胚胎种植率、流产率、多胎率、出生婴儿性别比例等差异。

结果与结论: 第2, 3, 5天移植组分别195, 1162, 255周期, 临床妊娠率分别为33.33%, 38.04%, 44.71%, 种植率分别为21.37%, 24.70%, 31.96%; 第5天移植组临床妊娠率和种植率均高于第2, 3天移植组( $P < 0.05$ ); 第2天移植组宫外孕发生率高于第3天移植组( $P < 0.05$ )。3组流产、单卵双胎、多胎、早产及出生婴儿性别比例无差异。说明囊胚移植提高了临床妊娠率和种植率的同时, 未增加流产、多胎、早产等风险, 对男女性别比例的平衡无负面影响。

关键词: 体外受精; 移植; 卵裂; 囊胚; 妊娠

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2011.31.009

郝桂琴, 李蓉, 耿岚, 许锦贝, 杨伟洪. 胚胎移植与囊胚移植的临床结局分析[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2011, 15(31):5739-5742. [http://www.crter.org http://cn.zglckf.com]

## 0 引言

1978年首例试管婴儿诞生至今已经历30余年, 胚胎体外培养系统的逐步改善使辅助生殖技术取得了一定的发展, 序贯培养系统的出现, 使囊胚形成率和优质囊胚的比例有所提高。目前多数生殖中心常规采用卵裂期胚胎移植。据报道, 囊胚移植可提高临床妊娠率和胚胎种植率, 同时通过减少移植优质囊胚的数量, 达到降低多胎发生的概率。国外文献可见关于卵裂期胚胎移植与囊胚移植的临床结局及出生婴儿情况的报道, 但国内较少见。

实验采用回顾性分析, 选择2008-01/2009-12在本院生殖医学科行体外受精/卵胞浆内单精子显微注射-胚胎移植1612个周期,

对第2, 3天卵裂期胚胎移植与第5天囊胚移植进行比较分析, 观察卵裂期胚胎移植与囊胚移植的临床结局与随访情况, 探讨囊胚移植的可行性, 为进一步在国内开展单囊胚移植提供临床数据。

## 1 对象和方法

设计: 回顾性病例分析。

时间及地点: 于2008-01/2009-12在北京大学深圳医院生殖医学科完成。

对象:

纳入标准: ①患者接受体外受精/卵胞浆内单精子显微注射-胚胎移植的主要原因是输卵管因素、子宫内膜异位症、排卵障碍及男性因素引起的不育。②为子宫因素适合移植患者。③

均选择可用胚胎进行移植, 囊胚分级标准一致。④按照《卫生部关于修订人类辅助生殖技术与人类精子库相关技术规范, 基本标准和伦理原则的通知》(卫科教发〔2003〕176号)文件进行, 所有患者接受治疗前均签署知情同意书。⑤女性患者。

**排除标准:** 染色体异常和其他不适合移植患者。

选择2008-01/2009-12本院生殖医学科行体外受精/卵胞浆内单精子显微注射-胚胎移植1 612个周期, 年龄20~47(31.87±4.30)岁。

**实验试剂及来源:** 促性腺激素释放激素激动剂、促性腺激素、人绒毛膜促性腺激素由瑞士merck serono公司提供; 受精液、卵裂培养液、囊胚培养液由美国Quinn's公司提供。

**实验方法:**

**超排卵及超声引导下取卵:** 采用促性腺激素释放激素激动剂及促性腺激素超促排卵。当主导卵泡直径≥18 mm时, 肌内注射人绒毛膜促性腺激素5 000~10 000 IU, 36 h后超声引导下经阴道取卵。

**胚胎培养及囊胚培养:**

第0天: 卵泡液中捡出的卵丘复合体洗涤后, 置于含人血清白蛋白的受精液中, 于37 °C、体积分数5%CO<sub>2</sub>培养箱中培养, 4~6 h后受精。

第1天: 受精后16~18 h转移入卵裂培养液中, 观察受精情况, 记录原核情况并对其进行评分。

第2天/第3天: 观察胚胎的发育情况, 记录胚胎的卵裂球数及分级。

第5天: 将胚胎移入预先平衡好的囊胚培养液中, 于37 °C、体积分数5%CO<sub>2</sub>培养箱中继续培养, 于第5天观察囊胚形成情况。

**胚胎分级标准和囊胚评分标准<sup>[1-2]</sup>:**

评价指标: 临床妊娠为孕5周B超下见孕囊。

临床妊娠率: 临床妊娠数/移植周期数。

种植率: 孕囊数/移植胚胎数。

活产率: 活产周期数/移植周期数。

流产率: 流产数/临床妊娠数。

多胎率: 多胎周期数/临床妊娠数。

**主要观察指标:** 观察卵裂期胚胎移植与囊胚移植的临床结局和随访情况。

**统计学分析:** 采用SPSS13.0统计软件, 计量资料采用t检验, 计数资料采用χ<sup>2</sup>检验, P < 0.05为差异有显著性意义。统计学处理由郝桂琴和许锦贝完成。

不孕年限、平均移植胚胎数差异无显著性意义(P > 0.05), 获卵数、受精率、卵裂率依次增高。

第2, 3, 5天移植组的临床妊娠率分别为33.33%, 38.04%, 44.71%, 种植率分别为21.37%, 24.70%, 31.96%, 第5天移植组的临床妊娠率和种植率高于第2, 3天移植组(P < 0.05), 第2, 3天移植组的临床妊娠率和种植率差异无显著性意义。

宫外孕发生率分别为1.13%, 6.15%, 1.75%; 第2天移植组的宫外孕发生率高于第3天移植组, 第5天移植组的宫外孕未见增高。

第2, 3, 5天移植组的流产、单卵双胞胎、多胎发生率差异均无显著性意义, 早产分别为1例、2例、1例, 因例数少未进行统计学分析, 结果显示早产发生率未见增加趋势。

出生婴儿男女性别比例分别为0.909, 1.00, 1.0, 男女比例差异无显著性意义。

表1 第2, 3天卵裂期胚胎移植组与第5天囊胚移植组的主要临床特征及临床结局比较  
Table 1 The comparison of major character and clinical outcome of D2, D3 cleavage stage embryo transfer and D5 blastocyst transfer

Item	D2	D3	D5	P
Cycle number	195	1162	255	
Age (yr)	33.30±4.29	32.16±4.39	30.99±3.88	> 0.05
Type of infertility (n)				
Primary	87	561	126	
Secondary	108	601	129	> 0.05
Infertility history (yr)	4.82±3.41	4.84±3.30	4.11±2.94	> 0.05
Oocyte number	7.06±4.61	9.11±5.58	13.45±6.07	< 0.01
Fertilized number	5.18±3.43	6.97±4.62	10.89±5.22	< 0.01
Cleavage number	4.80±3.24	6.76±4.51	10.52±5.10	< 0.01
The average number of transferred embryos (n/n)	2.02 (393/195)	2.07 (2405/1162)	2.00 (510/255)	> 0.05
Pregnancy rate [% (n/n)]	33.33 <sup>a</sup> (65/195)	38.04 <sup>a</sup> (442/1162)	44.71 (114/255)	< 0.05
Implantation rate [% (n/n)]	21.37 <sup>a</sup> (84/393)	24.70 <sup>a</sup> (594/2405)	31.96 (163/510)	< 0.01
Live birth rate [% (n/n)]	29.23 (57/195)	32.79 (381/1162)	38.04 (89/255)	> 0.05
Abortion rate [% (n/n)]	13.85 (9/65)	12.87 (57/442)	14.04 (16/114)	> 0.05
Ectopic pregnancy [% (n/n)]	6.15 <sup>b</sup> (4/65)	1.13 (5/442)	1.75 (2/114)	< 0.05
Monozygotic twins [% (n/n)]	/	0.68 (3/442)	1.75 (2/114)	> 0.05
Multiple pregnancy rate [% (n/n)]	16.92 (11/65)	24.66 (109/442)	28.95 (33/114)	> 0.05
Premature (n)	1	2	1	/
Neonatal sex (n)				
Boy	30	232	61	
Girl	33	231	61	> 0.05

<sup>a</sup>P < 0.05, vs. D5 group; <sup>b</sup>P < 0.05, vs. D3 group

## 2 结果

第2, 3天卵裂期胚胎移植组与第5天囊胚移植组的主要临床特征及临床结局比较见表1。

从表1中可以看出, 3组患者的平均年龄、不孕类型、

## 3 讨论

序贯培养在辅助生殖领域的应用, 使胚胎能够体外发育至囊胚, 发育潜能差及染色体异常的胚胎在未发育

至囊胚时即停止发育, 因此, 囊胚培养可以有效地对胚胎进行筛选, 从而提高囊胚的临床妊娠率和活产率<sup>[3-4]</sup>。目前胚胎移植多采用第2, 3天卵裂期胚胎移植和第5天囊胚移植, 本文就两种移植情况进行比较、分析。

**3.1 卵裂期胚胎移植与囊胚移植的妊娠情况比较** 在临床工作中, 对于受精和卵裂不理想的患者, 多采用第2天移植, 而对于获卵数较多或优质胚胎较多的患者则采用囊胚移植, 本文3组的平均获卵数依次增加, 受精率和卵裂率也趋于增高。关于临床妊娠率和种植率, 本文结果显示第2, 3, 5天移植组逐渐增高, 第2, 3天移植组的临床妊娠率和种植率无统计学差异, 第5天移植组的临床妊娠率和种植率优于第2, 3天移植组。

从结果中可以看到, 仅第2天移植组的宫外孕发生率高于第3天移植组, 第5天移植组的宫外孕未见增高, 可能与第2天移植胚胎后, 胚胎从宫腔游走到输卵管, 直至形成囊胚后才到达宫腔, 游走的时间较长, 发生宫外孕的机会随之增高。

**3.2 卵裂期胚胎移植与囊胚移植的妊娠随访比较** 由于囊胚培养延长了体外培养的时间, 囊胚移植可增加单卵双胞胎的风险<sup>[5]</sup>, 自然人群单卵双胞胎的发生率约0.42%, 辅助生殖技术治疗后单卵双胞胎的发生率为1.2%~8.9%<sup>[6-7]</sup>, Chang的一项Meta分析显示, 囊胚移植的单卵双胞胎发生率为1.64%, 卵裂期胚胎移植的发生率为0.41%<sup>[8]</sup>。单卵双胞胎可能与延长体外培养对胚胎的不良影响有关, 特别是葡萄糖和钙离子的失衡对内细胞团的影响。Papanikolaou等<sup>[9]</sup>的一项研究认为, 单囊胚移植不增加单卵双胞胎的风险(囊胚移植为1.8%, 卵裂期移植为2.6%)。本文对近2年来囊胚移植的情况进行统计, 仅见2例单卵双胞胎妊娠, 与第3天卵裂期移植的发生率差异无显著性意义(1.75% & 0.68%), 在今后工作中, 将继续关注单卵双胞胎的情况, 以获得更加准确的信息。

在本文中早产的发生率较低, 卵裂期胚胎移植发生4例(其中第2天移植组1例, 第3天移植组2例, 第5天移植组1例), 且4例均为双胞胎妊娠, 囊胚移植组无早产发生, 分析原因可能与卵裂期胚胎移植与囊胚移植的多胎率无统计学差异, 而早产的发生与多胎有关<sup>[10]</sup>。

**3.3 卵裂期胚胎移植与囊胚移植的出生婴儿性别比较** 自然人群男性约占51.3%, 单囊胚移植的男婴出生率为54.1%, 单卵裂胚胎移植的男婴出生率为49.9%, 囊胚移植增加了出生男婴的比例<sup>[8,11-12]</sup>; 然而有学者认为囊胚移植的男女出生比例与卵裂期胚胎移植相当<sup>[13-16]</sup>。本文卵裂期胚胎移植出生婴儿男女比例为0.909, 囊胚移植出生婴儿男女性别比例为1.0, 差异无显著性意义。

**3.4 囊胚移植提高临床妊娠率和种植率的机制**

卵裂期胚胎移植存在着以下不足: ①与正常生理情况相比胚胎过早地进入子宫腔, 胚胎的发育与子宫内膜的发育不同步, 此时宫腔内环境并不适合早期胚胎的发育。

②常规移植时间无法平衡既要提高移植妊娠率又要尽可能减低多胎妊娠发生率的矛盾。由于并不是每一个发育早期胚胎都具有继续发育并能最终导致活婴出生的潜力, 约有一半的胚胎会停滞在第2天或第3天的4~8细胞阶段。

自然生理状态下, 早期胚胎在输卵管中发育, 直到接近囊胚期才进入子宫腔<sup>[17-18]</sup>。利用囊胚培养技术, 待胚胎形成囊胚后再植入子宫腔, 使子宫内膜与胚胎发育趋于同步, 同时缩短了胚胎移植入子宫腔后进一步发育与着床之间的间隔, 且子宫收缩逐渐减少, 可减少胚胎排出体外的机会<sup>[19-20]</sup>, 因此, 囊胚移植更符合自然的生理现象。发育潜能差及染色体异常的胚胎在未发育至囊胚时即发育停止, 只有质量好的胚胎才有发育至囊胚的潜能, 因此, 囊胚培养可以有效地对胚胎进行筛选, 从而提高囊胚的着床。

卵裂期胚胎移植与囊胚移植各有其优缺点, 囊胚移植在流产、单卵双胞胎、多胎、早产儿及性别比例等方面未见风险的增加, 而临床妊娠率和种植率优于卵裂期胚胎移植, 但同时存在无多余囊胚冷冻的风险, 因此需与患者充分知情同意, 掌握移植的最佳时机, 为患者提供最大可能的妊娠率。综上所述, 囊胚培养与移植技术使胚胎的发育潜能可在体外得到进一步筛选, 且符合生理要求, 提高妊娠率的同时可减少移植胚胎数量, 从而降低多胎妊娠率。

#### 4 参考文献

- Brinsden PRA textbook of in vitro fertilization and assisted reproduction. New York: The Parthenon Publishing Group Inc. 1999:196.
- Gardner DK, Schoolcraft WB. In vitro culture of human blastocyst. In: Jansen R, Mortimer D. Towards reproductive certainty (infertility and genetics beyond 1999). Carnforth: Parthenon Press. 1999: 378-388.
- Blake DA, Farquhar CM, Johnson N, et al. Cleavage stage versus blastocyst stage embryo transfer in assisted conception. Cochrane Database Syst Rev. 2007;(4):CD002118.
- Guerif F, Lemseffer M, Bidault R, et al. Single day 2 embryo versus blastocyst-stage transfer: a prospective study integrating fresh and frozen embryo transfers. Hum Reprod. 2009;24(5):1051-1058.
- Guerif F, Lemseffer M, Bidault R, et al. Single day 2 embryo versus blastocyst-stage transfer: a prospective study integrating fresh and frozen embryo transfers. Hum Reprod. 2009;24(5):1051-1058.
- Sills ES, Moomjy M, Zaninovic N, et al. Human zona pellucida micromanipulation and monozygotic twinning frequency after IVF. Hum Reprod. 2000;15:890-895.
- Abusheikha N, Salha O, Sharma V, et al. Monozygotic twinning and IVF/ICSI treatment: a report of 11 cases and review of literature. Hum Reprod Update. 2000;6:396-403.
- Chang HJ, Lee JR, Jee BC, et al. Impact of blastocyst transfer on offspring sex ratio and the monozygotic twinning rate: a systematic review and meta-analysis. Fertil Steril. 2009;91(6): 2381-2390.
- Papanikolaou EG, Fatemi H, Venetis C, et al. Monozygotic twinning is not increased after single blastocyst transfer compared with single cleavage-stage embryo transfer. Fertil Steril. 2010;93(2): 592-597.
- Bengt K, Orvar F, Anna L, et al. Blastocyst versus cleavage stage transfer in in vitro fertilization: differences in neonatal outcome? Fertil Steril. 2010;94(5):1680-1683.
- Luna M, Duke M, Copperman A, et al. Blastocyst embryo transfer is associated with a sex-ratio imbalance in favor of male offspring. Fertil Steril. 2007;87(3):519-523.

- [12] Dean JH, Chapman MG, Sullivan EA. The effect on human sex ratio at birth by assisted reproductive technology (ART) procedures—an assessment of babies born following single embryo transfers, Australia and New Zealand, 2002-2006. *BJOG*. 2010;117(13):1628-1634.
- [13] Richter KS, Anderson M, Osborn BH. Selection for faster development does not bias sex ratios resulting from blastocyst embryo transfer. *Reprod Biomed Online*. 2006;12(4):460-465.
- [14] Csokmay JM, Hill MJ, Cioppettini FV, et al. Live birth sex ratios are not influenced by blastocyst-stage embryo transfer. *Fertil Steril*. 2009;92(3):913-917.
- [15] Weston G, Osianlis T, Catt J, et al. Blastocyst transfer does not cause a sex-ratio imbalance. *Fertil Steril*. 2009;92(4):1302-1305.
- [16] Lin PY, Huang FJ, Kung FT, et al. Comparison of the offspring sex ratio between cleavage stage embryo transfer and blastocyst transfer. *Taiwan J Obstet Gynecol*. 2010;49(1):35-39.
- [17] Thomas MR, Sparks AE, Ryan GL, et al. Clinical predictors of human blastocyst formation and pregnancy after extended embryo culture and transfer. *Fertil Steril*. 2009;94(2):543-548.
- [18] Saki G, Rahim F, Moradi L. The study of developmental capacity of vitrified mouse blastocysts in different straws after transfer to mouse pseudo pregnant. *Pak J Biol Sci*. 2008;11(14):1809-1814.
- [19] Fanchin R, Ayoubi JM, Righini CR, et al. Uterine contractility decreases at the time of blastocyst transfer. *Human Reprod*. 2001;16(6):1115-1119.
- [20] Mangalraj AM, Muthukumar K, Aleyamma T, et al. Blastocyst stage transfer vs cleavage stage embryo transfer. *J Hum Reprod Sci*. 2009;2(1):23-26.

来自本文课题的更多信息--

**基金资助:** 深圳市科技计划项目非资助项目(201003054)。

**作者贡献:** 实验由所有作者协作共同完成。

**利益冲突:** 课题未涉及任何厂家及相关雇主或其他经济组织直接或间接的经济或利益的赞助。

**本文创新性:** 以“体外受精, 移植, 卵裂, 囊胚, in vitro fertilization, transfer, cleavage, blastocyst”为关键词检索PubMed、万方数据库 2000-03/2010-01 文章, 较多文献支持囊胚移植可提高临床妊娠率和胚胎种植率, 降低多胎率。关于卵裂期胚胎移植与囊胚移植的临床结局及出生婴儿情况, 国外文献可见报道, 但国内报道较少。实验观察卵裂期胚胎移植与囊胚移植的临床结局与随访情况, 探讨囊胚移植的可行性, 发现 D5 囊胚移植提高了临床妊娠率和种植率的同时, 未增加流产、多胎、早产等风险, 对男女性别比例的平衡无负面影响。

2011-2013 年国家自然科学基金资助肝脏移植研究项目: 本刊学术部

免疫炎症因子 SNPs 与他克莫司代谢相关蛋白	2011-01至2013-12	免疫耐受的研究
调控基因在肝移植受者移植慢性失功和肾毒性损伤的作用机制研究	钙调磷酸酶抑制剂对肝移植受者外周血	李国强 南京医科大学 2011-01至2013-12
王兰兰 四川大学 2011-01至2013-12	BTLA/CD160/HVEM/LIGHT 的调节作用	氢气吸入对移植肝缺血再灌注损伤的保护作用
间充质干细胞介导 TGF-β 诱导小移植肝局部	白杨娟 四川大学 2011-01至2013-12	机制
免疫耐受的研究	肖江卫 川北医学院 2011-01至2013-12	王槐志 中国人民解放军第三军医大学
俞悦 南京医科大学 2011-01至2013-12	兼具靶向显像及溶栓功能的纳米泡对肝动脉血	2011-01至2013-12
高分辨磁共振质子波谱对巴马小型猪热缺血损伤肝脏移植过程中代谢物变化研究	王平 中山大学 2011-01至2013-12	抗原负载的 PD-1 <sup>high</sup> CD11c <sup>+</sup> DC 经由 PD-1/PD-L1 通路调控诱导大鼠肝移植免疫耐受的实验研究
董爱生 中国人民解放军第二军医大学	肝移植供体 DC 抗原特异性调节 T 细胞诱导受体	