

# 部分卵母细胞浆内单精子注射的临床结局及影响受精率的相关因素分析

王艳槟 孟祥睿 付旻 陈曦 韩红敬

**【摘要】**目的 探讨在受精失败高危因素患者中采用部分卵胞浆内单精子注射 (half-ICSI) 对临床结局的影响及对体外受精 (IVF) 受精率的相关因素分析。方法 回顾性分析 2017 年 1 月至 2018 年 12 月在本院因原发不孕、不孕年限  $\geq 5$  年、不明原因不孕、3 次人工授精失败 (同时满足两条即可) half-ICSI 授精方案的 363 例患者的临床资料。比较同一患者两种受精方式之间 (IVF 和 ICSI) 的受精率、卵裂率、囊胚形成率及妊娠结局。同时采用多因素线性回归分析模型, 分析影响 IVF 受精率的相关因素。结果 363 例患者 IVF 组与 ICSI 组的受精率为 (79.87%, 2 384/2 985; 88.37%, 2 265/2 563)、早期流产率为 (12.60%, 16/127; 25%, 20/80), 两组比较, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。IVF 组与 ICSI 组平均 2PN 受精数为 [(5.54  $\pm$  1.55) 个; (5.75  $\pm$  1.28) 个]、2PN 卵裂数 [(5.41  $\pm$  1.45) 个; (5.63  $\pm$  1.31) 个]、卵裂率 (89.26%, 2 128/2 384; 91.13%, 2 064/2 265)、囊胚形成率 (40.03%, 643/1 606; 38.55%, 628/1 629), 两组比较, 差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); IVF 组与 ICSI 组平均移植胚胎数 [(1.81  $\pm$  0.37) 个; (1.82  $\pm$  0.45) 个]、胚胎种植率 (38.33%, 161/420; 42.24%, 109/258)、临床妊娠率 (54.74%, 127/232; 56.74%, 80/141)、双胎妊娠率 (26.78%, 34/127; 23.75%, 19/80)、活产率 (47.41%, 110/232; 41.13%, 58/141) 比较, 差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。多因素线性回归分析显示, 获卵数及促性腺激素 (gonadotropin, Gn) 总量与 IVF 受精率呈负相关 (回归系数: -0.158, -0.060;  $P < 0.05$ )。结论 对具有受精失败高危因素的患者, 行 half-ICSI 助孕可以提高部分患者的受精率, 其中 IVF 受精率跟获卵数以及 Gn 用量成负相关, 但对大多数患者而言并没有明显的受益。

**【关键词】** 受精失败; 高危因素; 部分卵胞浆内单精子注射; 体外受精 - 胚胎移植; 受精率

## The clinical outcome of half intracytoplasmic sperm injection and the analysis of related factors affecting the fertilization rate of in vitro fertilization

WANG Yanbin, MENG Xiangrui, FU Min, CHEN Xi, HAN Hongjing.

(Center for Reproductive Medicine, Peking University People's Hospital, Beijing 100044, China)

**【Abstract】 Objective** To investigate the effect of half intracytoplasmic sperm microinjection (half-ICSI) on clinical outcomes in patients with high-risk factors for fertilization failure and to analyze the related factors of in vitro fertilization (IVF) fertilization rate. **Methods** A retrospective analysis of 363 patients who underwent half-ICSI fertilization in our hospital from January 2017 to December 2018 due to primary infertility, infertility years  $\geq 5$ , infertility of unknown cause, artificial insemination failed for 3 cycles (two criteria should be met simultaneously). The fertilization rate, cleavage rate, blastocyst formation rate, and pregnancy outcome were compared between two fertilization methods (IVF and ICSI) in the same patient. At the same time, a multi-factor regression analysis model was used to analyze the relevant factors affecting the IVF fertilization rate. **Results** The fertilization rate of the 363 patients in the IVF group and the ICSI group (79.87%, 2 384/2 985; 88.37%, 2 265/2 563), and the early abortion rate was (12.60%, 16/127; 25%, 20/80). There was statistically significant difference between the two groups ( $P < 0.05$ ). The average number of 2PN fertilizations in the IVF and ICSI groups was (5.54  $\pm$  1.55; 5.75  $\pm$  1.28), the number of 2PN cleavages (5.41  $\pm$  1.45;

doi:10.13390/j.issn.1672-1861.2020.02.004

基金项目: 吴阶平医学基金会临床科研专项资助基金 (2017-Z-04)

作者单位: 100044 北京大学人民医院生殖医学中心 (王艳槟、付旻、陈曦、韩红敬); 清华大学公共卫生学院 (孟祥睿)

通信作者: 韩红敬 Email: han\_hhj@126.com

5.63 ± 1.31), and the rate of cleavage (89.26%, 2128/2 384; 91.13%, 2 064/2 265), blastocyst formation rate (40.03%, 643/1 606; 38.55%, 628/1 629); There was no statistically significant difference between the two groups ( $P > 0.05$ ). The average number of embryos transferred in IVF and ICSI groups (1.81 ± 0.37; 1.82 ± 0.45), embryo implantation rate (38.33%, 161/420; 42.24%, 109/258), clinical pregnancy rate (54.74%, 127/232; 56.74%, 80/141), twin pregnancy rate (26.78%, 34/127; 23.75%, 19/80), live birth rate (47.41%, 110/232; 41.13%, 58/141), There was no statistically significant difference between the two groups ( $P > 0.05$ ). Multivariate regression analysis showed that the number of retrieved oocytes obtained and the total amount of gonadotropin was negatively correlated with the IVF fertilization rate (regression coefficients were -0.1578, -0.060;  $P < 0.05$ ). **Conclusion** For patients with high-risk factors for fertilization failure, half-ICSI assisted pregnancy can increase the fertilization rate of some patients. The fertilization rate is inversely related to the number of retrieved oocytes and the amount of Gn. However, for most patients, there was no obvious benefit, and the early abortion rate of the embryos in the ICSI fertilization group was significantly increased.

**【Key words】** high-risk factors for fertilization failure; half intracytoplasmic sperm microinjection; in vitro fertilization

Chin J Clin Obstet Gynecol, 2020, 21:125-128

体外受精-胚胎移植 (in vitro fertilization-embryo transfer, IVF-ET) 是治疗不孕不育的主要方法, 包括体外受精 (in vitro fertilization, IVF) 和卵胞浆内单精子注射 (intracytoplasmic sperm injection, ICSI)。IVF 能解决很多女性因素不孕的问题, 但在临床应用中 5%~10% 患者存在受精失败风险<sup>[1]</sup>。目前临床上预防 IVF 失败的常规方法主要是 Aboulghar 等<sup>[2]</sup>提出的部分卵胞浆内单精子注射 (half-intracytoplasmic sperm injection, half-ICSI)。但近年来有文献报道 ICSI 可显著增加后代尿道下裂发生率<sup>[3]</sup>, 并且可能增加新生儿出生缺陷及携带遗传学缺陷的风险<sup>[4]</sup>。因此, 对于 half-ICSI 适应证的选择是近年来临床研究的热点问题。本研究旨在通过回顾性分析 half-ICSI 周期中两种授精方法的受精率、卵裂率、囊胚形成率及妊娠结局的关系, 探讨在受精失败高危因素患者中采用 half-ICSI 对临床结局的影响。

## 资料与方法

### 一、研究对象

回顾性分析 2017 年 1 月至 2018 年 12 月期间于北京大学人民医院生殖医学中心接受 half-ICSI 方案助孕的所有 363 患者。363 例患者取卵周期 363 个周期, 其中 261 例患者进行了 373 个移植周期。平均年龄 (32.20 ± 3.75) 岁, 不孕年限 (4.0 ± 3.09) 年, 男方年龄 (33.90 ± 4.90) 岁, 女方体质指数 (BMI) (22.98 ± 3.67) kg/m<sup>2</sup>, 平均获卵数 (17.49 ± 7.98) 枚, 精子密度 (95.3 ± 70.4) × 10<sup>6</sup> 个/ml, 精子活力 (40.9 ± 34.5) %, 精子畸形指数 (SDI) 1.40 ± 0.09,

畸形精子指数 (TZI) 1.38 ± 0.09。其中原发不孕为 279 例, 继发不孕 83 例, 所用促性腺激素 (Gn) 总量在 1 050~5 550 U。入组条件: 原发不孕、不孕年限 ≥ 5 年、不明原因不孕、3 次人工授精失败, 以上 4 个条件满足其二且既往无 IVF 授精失败或授精率低下病史。分组方法: 在行 half-ICSI 的 363 例患者中, 获卵数的一半卵母细胞行常规 IVF 受精, 作为 IVF 组; 一半卵母细胞行 ICSI 治疗, 作为 ICSI 组。患者在助孕之前, 均签署本中心常规两种受精方式知情同意书。

### 二、研究方法

1. 控制性促排卵方案: 拮抗剂方案: 在月经周期的第 2 天, 进行基础性激素和阴道 B 超, 并开始注射重组促卵泡激素 (默克-雪兰诺, 瑞士); 于周期第 6 天或主导卵泡达到 14 mm 直径后开始使用西曲瑞克 (默克-雪兰诺, 瑞士), 每天 1 次, 至双侧卵巢内有 2 个或以上的卵泡直径达 18 mm 时, 注射重组人绒毛膜促性腺激素针 (默克-雪兰诺, 瑞士) 250 μg, 36 h 后阴道超声下取卵。

2. 体外受精与评估: 常规 IVF 者行精卵共同培养; 行 ICSI 者卵母细胞去除颗粒细胞后行 ICSI 显微注射, 16~18 h 后观察受精情况。

3. 胚胎发育及妊娠的评价: 体外培养胚胎三天, 移植 1~2 个相对优质胚胎, 优先选择 IVF 受精胚胎进行移植; 若有特殊原因不能移植, 冻存可利用的胚胎。移植后第 14 d 血清 hCG 阳性为生化妊娠, 移植后第 28 d 超声见到妊娠囊和胎心搏动为临床妊娠。

4. 解冻胚胎移植: 解冻移植患者内膜准备方案

有 2 种, 激素替代周期、自然周期。移植后第 14 d 血清 hCG 阳性为生化妊娠, 移植后第 28 d 超声见到妊娠囊和胎心搏动为临床妊娠。随访截至 2019 年 11 月 30 日, 各指标计算方法见文献 [5]。

### 三、统计学处理

采用 SPSS 22.0 统计软件, 计量资料以均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 比较采用独立样本配对  $t$  检验。计数资料率的比较采用  $\chi^2$  检验。IVF 受精率相关因素进行多因素线性回归分析。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 结 果

### 一、IVF 组和 ICSI 组实验室结局指标

在 363 例患者 IVF 和 ICSI 组的平均受精率比较, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。其中 IVF 组完全受精失败者 6 例 (1.65%), IVF 受精率  $\leq 30\%$  的患者 23 例 (6.34%)。其他指标比较, 差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 见表 1。

表1 IVF组和ICSI组实验室结局指标

项目	IVF值	ICSI值	$t$ 值	$P$ 值
受精数( $\bar{x} \pm s$ )	8.38 $\pm$ 3.03	7.16 $\pm$ 2.45	1.157	0.247
受精率[%( $n/n$ )]	79.87 (2 384/2 985)	88.37 (2 265/2 563)	0.927	0.000
2PN受精数( $\bar{x} \pm s$ )	5.54 $\pm$ 1.55	5.75 $\pm$ 1.28	-0.793	0.428
卵裂率[%( $n/n$ )]	89.26 (2 128/2 384)	91.13 (2 064/2 265)	-1.379	0.168
2PN卵裂( $\bar{x} \pm s$ )	5.41 $\pm$ 1.45	5.63 $\pm$ 1.31	-0.095	0.366
囊胚形成率[%( $n/n$ )]	40.03 (643/1 606)	38.55 (628/1 629)	0.829	0.407

### 二、IVF 受精率的相关因素分析

将女性年龄、BMI、男方年龄、不孕年限、原发不孕与否、精子密度、精子活力、SDI、TZI、获卵数、Gn 起始剂量、Gn 总量、促排卵日雌二醇、孕激素、促黄体生成素等指标列入多因素回归分析模型, 结果显示 Gn 总量及获卵数与 IVF 受精率呈负相关 (回归系数 -1.578,  $P=0.001$ ; -0.060,  $P=0.007$ ), 见表 2。

### 三、IVF 组和 ICSI 组妊娠相关指标分析

在 373 个周期的胚胎移植中, IVF 组 232 周期, ICSI 组 141 周期。其中促排卵周期数 IVF 组 165 周期, ICSI 组 96 周期; 移植胚胎数 IVF 组 420 个, ICSI 组 258 个; 移植胚胎平均数 IVF 组 1.81 个, ICSI 组 1.82 个。两组流产率比较, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 见表 3。

表2 IVF受精率的相关因素分析

项目	回归系数	标准误	$t$ 值	$P$ 值
女方年龄	0.394	0.909	0.433	0.666
男方年龄	1.097	0.612	1.791	0.077
BMI	-1.049	0.762	-1.377	0.172
不孕年限	-0.647	0.900	-0.719	0.474
原发/继发不孕	-0.331	6.478	-0.051	0.959
精子密度	-0.031	0.026	-1.159	0.249
精子活力	-0.031	0.043	-0.715	0.477
SDI	57.56	81.90	0.703	0.486
TZI	-90.23	79.03	-1.142	0.259
获卵数	-1.578	0.455	-3.466	0.001
Gn起始剂量	-0.078	0.089	-0.083	0.379
Gn总量	-0.060	0.022	-2.736	0.007
hCG日E <sub>2</sub>	0.002	0.002	0.804	0.425
hCG日LH	1.106	0.986	1.122	0.265
hCG日P	3.024	3.417	0.885	0.379

表3 IVF组和ICSI组妊娠相关指标分析[% ( $n/n$ ) ]

项目	IVF组	ICSI组	$\chi^2$ 值	$P$ 值
临床妊娠率	54.74 (127/232)	56.74 (80/141)	0.04	>0.05
双胎妊娠率	26.78 (34/127)	23.75 (19/80)	0.14	>0.05
胚胎种植率	38.33 (161/420)	42.24 (109/258)	0.44	>0.05
流产率	12.60 (16/127)	25.00 (20/80)	5.25	<0.05
活产率	47.41 (110/232)	41.13 (58/141)	0.54	>0.05

## 讨 论

### 一、half-ICSI 患者 IVF 和 ICSI 实验室指标

IVF 助孕技术现成功应用 40 余年, 该技术不断的成熟和发展, 并在全世界范围内广泛的应用, 成为治疗不孕的一项重要的常规手段。在实际操作中, 常规 IVF 受精失败的发生率为 5%~15%, 受精低下 (定义为 25%) 的发生率为 20%<sup>[5]</sup>。half-ICSI 受精方式将同一患者部分卵母细胞行 ICSI, 既可以预防常规 IVF 受精失败, 也可一定程度规避了移植 ICSI 受精胚胎可能带来的遗传风险、子代安全问题。

本研究基于真实世界数据, 在对胚胎实验室指标进行分析中发现 IVF 组受精率为 79.87%, ICSI 组为 88.37%, 差异具有统计学意义。说明此类患者受精失败的发生概率相对增加, 其中 IVF 完全受精失败的患者占 1.65%, 受精率低下 ( $\leq 30\%$ ) 的患者占 6.34%, 对这部分患者实施 half-ICSI 避免了 IVF 受精失败对患者造成的损失。这与国内外的学者在相关方面的研究结果相类似。王晶等<sup>[6]</sup>研究发现, 原发不孕  $\geq 5$  年的患者受精率较原发不孕  $< 5$  年的患者显著降低。2013 年, Johnson 等<sup>[7]</sup>在一项对原因不明的不孕夫妇的系统回顾和荟萃分析中表明, 与传统授精相比, ICSI 更有利于提高单卵

受精率(总相对风险: 1.27, 95% CI:1.02~1.58)。2018 年 Li 等<sup>[8]</sup>的研究团队在了一项基于人群的队列研究中也发现, 对于非男性因素的患者, ICSI 组的受精率高于 IVF 组。除此之外, 本研究中两组间正常受精(2PN)数、卵裂率、正常卵裂(2PN 卵裂)数及囊胚形成率差异均并无统计学意义。这说明虽然实施 half-ICSI 的患者中有一部分患者存在 IVF 受精失败或受精率低下的情况, 但绝大多数患者并未因此受益。因此, 对于导致 IVF 受精率低下的影响因素需要进一步的研究。

## 二、IVF 受精率相关影响因素

本研究针对可能影响 IVF 受精率的因素进行了分析。以 IVF 受精率作为因变量建立回归方程调整可能的影响因素后, 发现获卵数、Gn 总量与 IVF 受精率有显著负相关, 提示取卵数越多, Gn 量越大受精率越低。2017 年潘家坪等<sup>[9]</sup>在了一项针对获卵数和胚胎形成率的研究中发现, 对于获卵数超过 20 个的患者, 其 IVF 受精率低于获卵数在 6~20 个的患者。另外, Gn 量的增加可能与 IVF 受精率低下具有相关性。之前的研究结果表明, 体内的超生理剂量的激素水平会影响 IVF 的成功率<sup>[10]</sup>。Baart 等<sup>[11]</sup>研究证明了胚胎非整倍体的形成与卵巢刺激具有相关性。分析可能的相关因素为卵巢的过度刺激干扰了卵母细胞发育过程中信号通路上基因的相互作用, 在卵子成熟过程中第一次减数分裂时期发生同源染色质分离异常, 从而造成卵母细胞的缺陷<sup>[12-13]</sup>。本研究结果进一步印证了这个观点。

## 三、妊娠结局分析

本研究结果显示 IVF 组和 ICSI 组的胚胎种植率、临床妊娠率、累积活产率均无显著差异。只有 ICSI 组流产率显著高于 IVF 组。在 2017 年的一篇荟萃分析中显示, ICSI 后单胎妊娠出生的婴儿与自然受孕的婴儿相比, 患先天性畸形的风险更高<sup>[14]</sup>。因此, 考虑 ICSI 周期流产率的升高可能与其操作带来的遗传风险相关。但亦不能排除患者自身情况的影响(移植 IVF 胚胎未妊娠)。因此需要进一步的研究来明确 ICSI 技术对妊娠结局的影响。

鉴于 ICSI 在世界范围内的使用越来越多, 而且常常是不必要的, 考虑其对后代的潜在的健康影响, 设计科学的前瞻性研究并加强对新生儿的长期随访对于进一步严格掌握 ICSI 的指征有着重要的意义。

## 参 考 文 献

[1] Mahutte NG, Arici A. Failed fertilization: is it predictable? [J].

- Curr Opin Obstet Gynecol, 2003, 15(3): 211-218. DOI: 10.1097/00001703-200306000-00001.
- [2] Aboulghar MA, Mansour RT, Serour GI, et al. Intracytoplasmic sperm injection and conventional in vitro fertilization for sibling oocytes in cases of unexplained infertility and borderline semen[J]. J Assist Reprod Genet, 1996, 13(1): 38-42. DOI: 10.1007/bf02068867.
- [3] Agarwal P, Loh SK, Lim SB, et al. Two-year neurodevelopmental outcome in children conceived by intracytoplasmic sperm injection: prospective cohort study[J]. BJOG, 2005, 112(10): 1376-1383. DOI: 10.1111/j.1471-0528.2005.00663.
- [4] Stuppla L, Antonucci I, Binni F, et al. Screening of mutations in the CFTR gene in 1195 couples entering assisted reproduction technique programs[J]. Eur J Hum Genet, 2005, 13(8): 959-964. DOI: 10.1038/sj.ejhg.5201437.
- [5] Guo X, Zhang J, Lin D, et al. Fertilization method for primary infertility patients without definite cause undergoing in vitro fertilization and embryo transfer[J]. Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao, 2012, 32: 218-220.
- [6] 王晶, 丛林林, 曹云霞, 等. 原发不孕患者 IVF/ICSI 方案的选择[J]. 现代妇产科进展, 2008, 17(8): 579-581. DOI: 10.3969/j.issn.1004-7379.2008.08.007.
- [7] Johnson LN, Sasson IE, Sammel MD, et al. Does intracytoplasmic sperm injection improve the fertilization rate and decrease the total fertilization failure rate in couples with well-defined unexplained infertility? A systematic review and meta-analysis[J]. Fertil Steril, 2013, 100(3): 704-711. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2013.04.038.
- [8] Li Z, Wang AY, Bowman M, et al. ICSI does not increase the cumulative live birth rate in non-male factor infertility[J]. Hum Reprod, 2018, 33(7): 1322-1330. DOI: 10.1093/humrep/dey118.
- [9] 潘家坪, 陈智勤. 获卵数目对有效胚胎形成率的影响: 2578 个体外受精周期分析[J]. 中华生殖与避孕杂志, 2017, 37(3): 175-181. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2096-2916.2017.03.001.
- [10] Joo BS, Park SH, An BM, et al. Serum estradiol levels during controlled ovarian hyperstimulation influence the pregnancy outcome of in vitro fertilization in a concentration-dependent manner[J]. Fertil Steril, 2010, 93(2): 442-446. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2009.02.066.
- [11] Baart EB, Martini E, Eijkemans MJ, et al. Milder ovarian stimulation for in-vitro fertilization reduces aneuploidy in the human preimplantation embryo: a randomized controlled trial[J]. Hum Reprod, 2007, 22(4): 980-988. DOI: 10.1093/humrep/del484.
- [12] Hodges CA, Ilagan A, Jennings D, et al. Experimental evidence that changes in oocyte growth influence meiotic chromosome segregation[J]. Hum Reprod, 2002, 17(5): 1171-1180. DOI: 10.1093/humrep/17.5.1171.
- [13] Lightfoot DA, Kouznetsova A, Mahdy E, et al. The fate of mosaic aneuploid embryos during mouse development[J]. Dev Biol, 2006, 289(2): 384-394. DOI: 10.1016/j.ydbio.2005.11.001.
- [14] Celeste L, Carolina O, Sonia V, et al. Are children born from singleton pregnancies conceived by ICSI at increased risk for congenital malformations when compared to children conceived naturally? A systematic review and meta-analysis[J]. J Assist Reprod, 2017, 21(3): 251-259. DOI: 10.5935/1518-0557.20170047.

(收稿日期: 2019-12-18)