

论 著

(临床研究)

# 无创胚胎染色体筛查技术对军队不孕不育夫妇助孕结局的影响

黄 旋, 孙 琴, 许娟娟, 李鸿儒, 于月新, 姚 兵, 陈 莉

**【摘要】 目的** 探讨无创胚胎染色体筛查技术(NICS)对军队不孕不育夫妇辅助生殖结局的影响。**方法** 选择自2017年5月至2020年10月接受辅助生殖技术治疗的455对官兵夫妇进行前瞻性观察研究,其中133对实施卵母细胞胞浆内单精子注射(ICSI)方案,根据患者夫妇意愿进行分组,愿意接受NICS治疗45例,拒绝NICS治疗88例。88例中取消鲜胚移植后行单囊胚解冻复苏移植者26例,比较该26例(ICSI组)与NICS检测后首次单囊胚解冻复苏移植39例(NICS组)的官兵夫妇取卵周期特征及复苏周期临床结局。**结果** NICS组患者男方年龄、女方年龄均较ICSI组高[男方年龄( $35.79 \pm 4.52$ )岁 *vs* ( $31.69 \pm 3.10$ )岁,女方年龄( $34.45 \pm 4.0$ )岁 *vs* ( $29.65 \pm 2.04$ )岁,均  $P < 0.001$ ],NICS组较ICSI组抗苗勒管激素(AMH) [ $(3.39 \pm 2.59)$  ng/mL *vs* ( $5.23 \pm 3.27$ ) ng/mL]、hCG 日卵泡数( $13.68 \pm 7.12$  *vs*  $17.77 \pm 8.88$ )、获卵数( $12.37 \pm 6.72$  *vs*  $17.38 \pm 10.63$ )、成熟卵子数( $10.95 \pm 6.21$  *vs*  $15.15 \pm 9.46$ )均显著降低(均  $P < 0.05$ )。NICS组与ICSI组FET临床妊娠率相当( $82.1\%$  *vs*  $80.8\%$ )。**结论** 军队不育夫妇实施ICSI治疗,胚胎植入前行NICS检测优选胚胎移植可改善临床结局。

**【关键词】** 无创胚胎染色体植入前筛查技术;胚胎植入前染色体筛查;官兵不孕不育;辅助生殖

**【中图分类号】** R714.8;R440

**【文献标志码】** A

**【文章编号】** 1672-271X(2021)04-0345-05

**【DOI】** 10.3969/j.issn.1672-271X.2021.04.002

## The effect of non-invasive embryo chromosomal screening technology (NICS) on the ART outcome of infertile couples in military

HUANG Xuan<sup>1</sup>, SUN Qin<sup>1</sup>, XU Juan-juan<sup>1</sup>, LI Hong-ru<sup>1</sup>, YU Yue-xin<sup>2</sup>, YAO Bing<sup>1</sup>, CHEN Li<sup>1</sup>

(1. Department of Reproductive Medical Center, General Hospital of Eastern Theater Command, PLA, Nanjing 210002, Jiangsu, China; 2. Department of Reproductive Medical Center, General Hospital of Northern Theater Command, Shenyang 110003, Liaoning, China)

**【Abstract】 Objective** To explore the impact of non-invasive embryo chromosome screening (NICS) on the outcome of infertile couples in the military during assisted reproductive technology (ART) treatment. **Methods** A prospective observational study of 455 couples of soldiers who received ART treatment from May 2017 to October 2020. Among them, 133 of them underwent intracytoplasmic sperm injection (ICSI) program due to the male or both factors, and grouped according to the wishes of the couple, 45 cases were willing to accept NICS testing, 88 cases refused NICS treatment. Among 88 cases, 26 cases select single blastocyst thawing and transplantation after fresh embryo transfer. Among 45 cases tested by NICS, 6 had no usable embryos, and the remaining 39 selected single embryo thawing and transplantation (NICS group). The cycle characteristics and clinical outcome of the resuscitation cycle were

compared between these 26 cases (ICSI group) and 39 cases (NICS group). **Results** The ages of the male and female in the NICS group were higher than those in the ICSI group (Male  $35.79 \pm 4.52$  *vs*  $31.69 \pm 3.10$ , Female  $34.45 \pm 4.0$  *vs*  $29.65 \pm 2.04$ , both  $P < 0.001$ ). The level of AMH ( $3.39 \pm 2.59$  *vs*  $5.23 \pm 3.27$ ), number of follicles in hCG injection day

**基金项目:**军队计生专项研究重点项目(18JS004);江苏省重点研发计划项目(BE2018714)

**作者单位:**210002 南京,东部战区总医院(原南京军区南京总医院)生殖医学科(黄旋、孙琴、许娟娟、李鸿儒、姚兵、陈莉); 110003 沈阳,北部战区总医院生殖医学科(于月新)

**通信作者:**陈莉, E-mail: yepiao chen@126.com

( $13.68 \pm 7.12$  vs  $17.77 \pm 8.88$ ), number of eggs obtained ( $12.37 \pm 6.72$  vs  $17.38 \pm 10.63$ ), and number of mature eggs ( $10.95 \pm 6.21$  vs  $15.15 \pm 9.46$ ) in the NICS group were significantly lower than those of the ICSI group (both  $P < 0.05$ ). The clinical pregnancy rate of FET in the NICS group and the ICSI group was equivalent ( $82.1\%$  vs  $80.8\%$ ). **Conclusion** Pre-implantation NICS detection and optimal euploid embryo transfer can improve the clinical outcome for infertile couples with ICSI treatment in the military.

**[Key words]** non-invasive embryo chromosome screening; preimplantation genetic screening; infertile couples in the military; assisted reproductive technology

## 0 引言

根据 WHO 定义,已婚夫妇性生活正常,未避孕未孕 1 年即可诊断为不孕症。对于部队官兵而言,由于其职业特殊性,生育问题凸出,尤其是男性不育。部队官兵普遍存在晚婚、晚育现象,更由于夫妻分居两地,容易造成生育问题发现延迟,延误治疗时机<sup>[1-2]</sup>。采用最前沿的人类辅助生殖技术提高助孕成功率,是增强部队战斗力和凝聚力的主要途径之一。胚胎植入前遗传学筛查 (preimplantation genetic screening, PGS) 通过胚胎植入前对其进行遗传学分析,筛选出遗传性状正常的胚胎植入母体子宫,可以提高临床妊娠率、降低流产率,并减少畸形儿的出生<sup>[3]</sup>。但是,目前该技术的标本采集是一种有创活检方法,对胚胎后续发育的影响尚待明确。无创胚胎染色体筛查技术 (non-invasive embryo chromosome screening, NICS), 对培养液内极微量的 DNA 进行扩增,通过游离 DNA 水平全真反映囊胚的染色体状态<sup>[4-5]</sup>。该技术完全无创,革新了样本的提取手段,弥补了 PGS 有创活检取样的缺陷,其应用是否对因男性因素需行辅助生殖助孕治疗的部队不育官兵助孕结局有改善尚未有相关报道。本研究通过比较官兵夫妇中行 NICS 检测与非检测取卵周期信息与单囊胚复苏移植临床结局,明确 NICS 技术在官兵辅助生殖治疗中的应用价值。

## 1 资料与方法

**1.1 研究对象** 选择 2017 年 5 月至 2020 年 10 月在我院生殖医学中心行辅助生殖技术治疗的 455 对不孕不育官兵夫妇 (455 个取卵周期,均为第一周期),其中 288 对接受 IVF 治疗,34 对因染色体异常进行胚胎植入前遗传学检测 (PGT),133 对接受卵母细胞胞浆内单精子注射 (ICSI) 治疗。纳入标准:① ICSI 适应证;② 子宫形态正常;③ 符合国家计划生育政策;④ 同意选择性单囊胚移植;⑤ 囊胚形态学评级认为符合移植条件 (3BC/3CB 以上);⑥ 签署

知情同意书;⑦ 愿意依从本研究方案,并能够完成本研究。排除标准:① 有辅助生殖治疗禁忌证的患者;② 宫腔形态异常或内膜损伤;③ 子宫腺肌病;④ 反复种植失败;⑤ 复发性流产;⑥ 染色体异常;⑦ 其他研究者认为不适合参加本研究的任何情况。本研究经医院伦理委员会批准通过 (批准号: 2016NZKY-028-02), 患者均签署知情同意书。

**1.2 临床分组** 针对 133 对实施 ICSI 方案的患者夫妇进行知情同意谈话,根据意愿进行分组,愿意接受 NICS 治疗 45 对,拒绝 NICS 治疗 88 对。88 对 ICSI 夫妇中 45 例取消鲜胚移植全胚胎冷冻,其中 26 例后续选择行单囊胚解冻移植 (ICSI 组);45 例进行 NICS 检测后胚胎进行分析,6 例无正常胚胎可用,剩余 39 例进行单囊胚解冻移植 (NICS 组),具体分组流程见图 1。

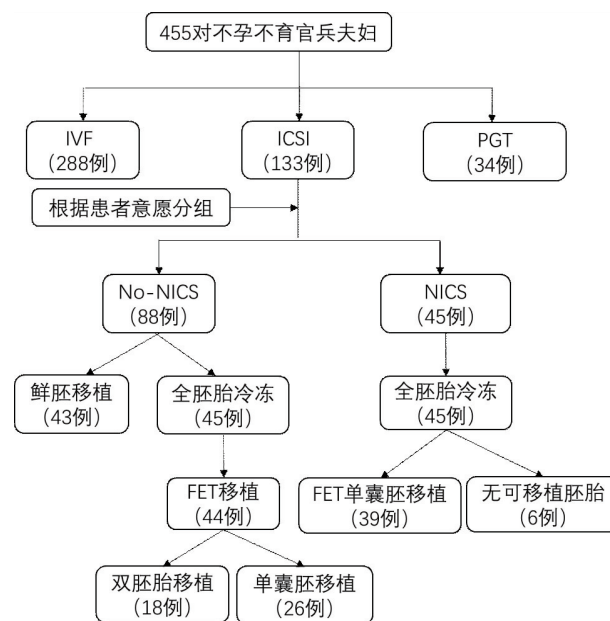


图 1 行辅助生殖技术治疗的分组流程图

**1.3 辅助生殖流程** 符合纳入标准的官兵夫妇,所有女方进行常规方案控制性促排卵,待主导卵泡群直径  $\geq 17$  mm 与  $\geq 14$  mm 卵泡数的比例达 60% ~ 70% 时进行 hCG 注射扳机。扳机后 36 h 经阴道 B

超引导下取卵术,获卵后经体外培养 4~6 h 行 ICSI,16~20 h 后评估受精情况,第 2、3 天观察胚胎发育情况,第 5~7 天观察囊胚形成情况。

**1.4 检测方法** 收集胚胎培养第 5~7 天废弃培养液,采用 NICS 技术检测囊胚培养液中的染色体整倍体性。培养液收集后通过冷链送至亿康基因公司采用 MALBAC-NGS 的方法进行扩增和测序,测序完成后进行染色体拷贝数变异 (CNV) 分析,均以 (46,XN) 为参照标准,某一条染色体的增多或减少均判断为染色体非整倍体样本。

**1.5 观察指标** 观察 NICS 组与 ICSI 组患者取卵周期中临床信息,包括年龄、BMI、腰臀比、不孕年限、基础性激素、抗苗勒管激素 (AMH)、促性腺激素 (Gn) 用量、Gn 天数、hCG 日激素、hCG 日卵泡数、获卵数、成熟卵子数、受精率、正常受精率、可利用胚胎数、D3 优良胚胎数、囊胚形成数、囊胚形成率、优质囊胚数、囊胚培养优质胚胎率。冻融胚胎移植 (FET) 周期观察 2 组内膜转化日雌二醇 (E2)、孕酮 (P) 和内膜厚度,临床结局包括临床妊娠率、流产率、持续妊娠率。

**1.6 统计学分析** 采用 SPSS 21.0 统计软件进行数据分析,计量资料用均数±标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示,组间比较采用 *t* 检验;计数资料以例数或百分比表示,组间比较采用  $\chi^2$  检验。以  $P \leq 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 基本信息和取卵周期各项指标比较** NICS 组与 ICSI 组患者基础信息比较,行 NICS 检测的患者双方年龄均增大 (均  $P < 0.001$ ),AMH 数值低于 ICSI 组 ( $P < 0.05$ ),其他指标差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ ),见表 1。比较 NICS 组和 ICSI 组患者取卵周期各项指标,其中 NICS 组 Gn 启动量、hCG 日卵泡数、获卵数、成熟卵子数均低于 ICSI 组 ( $P < 0.05$ ),其他指标差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ ),见表 2。

**2.2 NICS 组与 ICSI 组 FET 周期及临床结局比较** NICS 组和 ICSI 组 FET 周期中内膜转化日 E2 水平、P 水平、内膜厚度差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。NICS 组临床妊娠 32 例,生化妊娠 2 例,未妊娠 5 例,临床妊娠率达 82.1%。ICSI 组临床妊娠 21 例,未妊娠 5 例,临床妊娠率达 80.8%,2 组临床

妊娠率、未妊娠率、生化妊娠率、持续妊娠率、流产率差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ ),见表 3。

表 1 ICSI 组与 NICS 组患者基本信息比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

项目	ICSI 组 ( $n=26$ )	NICS 组 ( $n=39$ )
女方年龄 (岁)	29.65±2.04	34.45±4.02**
女方 BMI	22.97±3.50	22.65±3.49
男方年龄 (岁)	31.69±3.10	35.79±4.52**
男方 BMI	24.99±2.70	24.91±2.96
女方腰臀比	0.82±0.05	0.83±0.06
不孕年限	3.73±1.56	3.80±2.98
AMH (ng/mL)	5.23±3.27	3.39±2.59*
基础激素		
FSH (mIU/mL)	7.82±9.16	8.54±3.08
LH (mIU/mL)	5.59±4.36	4.75±3.41
PRL (mIU/mL)	288.29±148.24	267.85±140.86
E2 (pmol/L)	231.48±362.11	536.81±2046.37
T (nmol/L)	1.65±0.60	1.59±0.49
P (nmol/L)	1.83±1.40	1.71±1.11

与 ICSI 组比较, \*  $P < 0.05$ 、\*\*  $P < 0.001$

表 2 ICSI 组与 NICS 组患者取卵周期各项指标比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

项目	ICSI 组 ( $n=26$ )	NICS 组 ( $n=39$ )
Gn 总量 (IU)	1903.37±1000.87	2205.26±986.39
Gn 天数	9.96±2.34	9.32±2.46
Gn 启动量 (IU)	176.44±64.45	212.84±68.24*
hCG 日激素		
FSH (mIU/mL)	16.92±9.90	18.48±8.33
E2 (pmol/L)	16 476.73±8755.24	13 468.26±7323.71
LH (mIU/mL)	2.63±3.47	2.56±2.06
P (nmol/L)	5.24±9.81	6.11±9.97
hCG 日卵泡数 (个)	17.77±8.88	13.68±7.12*
获卵数 (个)	17.38±10.63	12.37±6.72*
成熟卵子数 (个)	15.15±9.46	10.95±6.21*
受精率 (%)	84.76±13.64	86.95±10.93
正常受精率 (%)	76.06±17.70	80.80±15.06
正常卵裂率 (%)	98.96±4.11	98.59±5.07
可利用胚胎数 (个)	10.73±6.15	8.32±4.97
D3 优良胚胎数 (个)	6.88±4.55	5.32±4.64
囊胚形成数 (个)	5.19±4.10	5.50±3.99
囊胚形成率 (%)	54.54±26.55	65.95±21.53
优质囊胚数 (个)	3.08±2.94	3.71±3.07
囊胚培养优质胚胎率	46.46±29.48	59.22±24.31

与 ICSI 组比较, \*  $P < 0.05$



表 3 ICSI 组与 NICS 组患者 FET 周期各项指标与临床结局比较

项目	ICSI 组 (n=26)	NICS 组 (n=39)
内膜转化日 E2( $\bar{x}\pm s$ , pmol/L)	3582.84 $\pm$ 4617.87	3959.23 $\pm$ 3599.72
内膜转化日 P( $\bar{x}\pm s$ , nmol/L)	1.86 $\pm$ 1.49	1.70 $\pm$ 1.16
内膜转化日内膜厚度( $\bar{x}\pm s$ , mm)	9.80 $\pm$ 1.80	9.75 $\pm$ 1.74
临床妊娠[n(%)]	21(80.8)	32(82.1)
未妊娠[n(%)]	5(19.2)	5(12.8)
生化妊娠[n(%)]	0	2(5.1)
持续妊娠率(%)	100	87.5
流产率(%)	0	12.5

### 3 讨 论

部队官兵群体由于其职业特殊性,结婚普遍较晚,两地分居、聚少离多是常态,因此造成不孕不育问题凸显,且随着二胎政策的开放,许多官兵夫妇再生育意愿强烈,然而却面临各种生育问题而无法完成自然受孕,促使有生育要求的官兵夫妇选择 ART 来实现生育。军队自 2013 年开始推行育龄夫妇不孕不育症集中诊治工作,为广大存在生育困难的官兵夫妇提供绿色通道。但随着全社会不孕不育发生率的增加以及二胎政策的开放,军队自 2017 年开始实施为患不孕不育症的军队育龄夫妇实施常态化诊治工作,进一步满足官兵健康生育服务需求<sup>[6-8]</sup>。

本研究中男性官兵 439 例(96.5%),女性官兵仅 16 例(3.5%),因男方因素或双方因素进行 ICSI 治疗的有 133 例,男性官兵在本研究中占绝大多数。已有研究显示部队男性官兵训练强度大、精神紧张,处于特殊工作环境如高温环境、辐射或雷达微波环境均会影响男性生殖健康,造成不育症的发生<sup>[1-2]</sup>。另外,部队官兵进入 ART 周期治疗后,男性官兵往往由于部队任务重、管控严格等问题无法多次同时至医院就诊,为了减轻官兵夫妇 ART 治疗中的精神心理压力、增加妊娠成功率,临床应采取多种策略提高官兵夫妇进行 ART 的成功率<sup>[7-8]</sup>。

本研究统计我中心接诊的常态化诊治军队不孕不育夫妇,原发性与继发性不孕症的不孕年限分别为(3.60 $\pm$ 1.99)年和(2.41 $\pm$ 1.43)年,均较 WHO 规定的不孕症诊断年限 1 年显著延长。现实中,官兵夫妇分居两地现象普遍,导致夫妻双方出现生育

问题时难以及时发现;再加上晚婚,造成夫妻双方意识到自然生育出现困难时,容易出现高龄生育、延误最佳治疗时机等问题,本研究中的不孕夫妇往往因为年龄的增加要求生育的愿望迫切而更愿意选择 NICS 治疗。

研究显示,通过 ART 方式获得的胚胎仍有 40%~60% 存在染色体异常,且随着女性年龄增大,染色体异常的风险呈上升趋势,染色体异常是造成临床助孕失败的主要原因之一。2018 年《胚胎植入前遗传学诊断/筛查技术专家共识》建议 PGS 的适应证为:女方高龄、不明原因反复自然流产、反复种植失败,以及男方严重畸精子症<sup>[3]</sup>。因此,对于因部队官兵夫妇因男方因素或高龄因素行 ART 治疗的同时选择胚胎植入前遗传学筛查对提高临床妊娠率具有一定的价值<sup>[9-10]</sup>。目前临床主要通过胚胎植入前遗传学筛查(PGS)技术可以发现胚胎染色体异常,并且很多临床研究证实了 PGS 的有效性,然而 PGS 的临床应用有一定的限制,首要的即 PGS 是有创的胚胎活检方法<sup>[11-13]</sup>。因此,NICS 技术在有效筛查胚胎整倍体性的同时减少了有创操作,现有研究已经发现 NICS 同样可以应用于高龄、复发性流产、反复种植失败人群,且可以改善临床结局<sup>[5,14-15]</sup>。

本研究行 ICSI 治疗的 133 例,39 例行 NICS 检测后首次 FET,26 例行 ICSI 后首次 FET。2 组取卵周期临床信息显示 NICS 组夫妻双方年龄均显著高于 ICSI 组,AMH、获卵数则显著低于 ICSI 组,而卵巢储备功能、年龄均是影响妊娠率以及增加胚胎非整倍体的因素。本研究中经 NICS 检测后进行正常单胚胎移植,39 例中临床妊娠数为 32 例,临床妊娠率高达 82.1%;另外有 6 例检测后无可用胚胎,其中 3 例再次进行新的周期取卵和胚胎移植后获得临床妊娠,1 例进行 4 次新的取卵周期尚未获得妊娠,2 例未进行新的取卵周期。另外,ICSI 组 26 进行单胚胎移植,临床妊娠 21 例,临床妊娠率达 80.8%。NICS 组临床妊娠率稍高于 ICSI 组,对于平均年龄均显著增高的 NICS 组患者来说,正常临床妊娠率在 50%~60%,本研究中其临床妊娠率达 82.1%,故经 NICS 筛选后移植正常囊胚可以增加临床妊娠率,NICS 可以成为不孕不育官兵增加临床成功率的

重要临床选择。

# 【参考文献】

- [1] 范玉荣, 朱丽芳. 某地区部队官兵不孕不育患病现状调查[J]. 中国计划生育学杂志, 2020, 28(4):139-140, 145.
- [2] 乔治, 韩晨光, 徐 烨, 等. 部队官兵男性不育症诊疗现状及展望[J]. 武警医学, 2019, 30(12):77-81.
- [3] 《胚胎植入前遗传学诊断/筛查专家共识》编写组. 胚胎植入前遗传学诊断/筛查技术专家共识[J]. 中华医学遗传学杂志, 2018(2):151-155.
- [4] Xu J, Fang R, Chen L, *et al.* Noninvasive chromosome screening of human embryos by genome sequencing of embryo culture medium for in vitro fertilization[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2016, 113(42):11907-11912.
- [5] Franco JG Jr. New perspectives with the use of noninvasive chromosome screening (NICS) in ART[J]. *JBRA Assist Reprod*, 2019, 23(4):321-322.
- [6] 秦 喆, 陈亚琼, 李宏伟, 等. 武警官兵家庭不孕不育症影响因素调查与分析[J]. 人民军医, 2016, 59(10):1013-1015.
- [7] 陈雨萍, 洪 毅, 杨 旭, 等. 提高军队育龄夫妇诊疗服务做法[J]. 解放军医院管理杂志, 2018, 25(5):35-36.
- [8] 尚 晶, 胡亚楠. 集中诊治护理标准化流程治疗军队育龄夫妇不孕不育 374 例[J]. 武警医学, 2018, 29(10):51-54.
- [9] 赵琼珍, 阳 娟, 于慧君, 等. PGT 在辅助生殖技术中的应用进展[J]. 新疆医学, 2019, 49(11):1066-1072.
- [10] Kane SC, Willats E, Bezerra Maia E, Holanda Moura S, *et al.* Pre-Implantation Genetic Screening Techniques: Implications for Clinical Prenatal Diagnosis[J]. *Fetal Diagn Ther*, 2016, 40(4):241-254.
- [11] 刘 群, 朱桂金. 卵裂期活检对胚胎体外发育能力的影响[J]. 中华妇产科杂志, 2002(5):21-24.
- [12] 徐艳文. 胚胎活检对其发育潜能的影响[J]. 国际生殖健康/计划生育杂志, 2012(5):348-348.
- [13] Kim MK, Park JK, Jeon Y, *et al.* Effects of paternal age on human embryo development in in vitro fertilization with preimplantation genetic screening[J]. *Clin Exp Reprod Med*, 2019, 46(1):22-29.
- [14] 王 珺, 苟兴庆, 李 丽, 等. 高龄患者行胚胎植入前遗传学筛查的有效性分析[J]. 中国优生与遗传杂志, 2018, 26(8):121-124.
- [15] 刘培昊, 李鸿昌, 朱月婷, 等. 高育龄女性行胚胎植入前遗传学筛查的妊娠结局分析[J]. 中华生殖与避孕杂志, 2019, 39(6):436-441.

(收稿日期:2020-12-07; 修回日期:2021-01-08)

(责任编辑:叶华珍; 英文编辑:吕铿烽)