

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2017.09.031  
文章编号: 1005-8982(2017)09-0141-02

临床报道

## IVF 中未见原核卵裂胚胎囊胚滋养层细胞的 CNV 检测价值研究\*

赵杰,陈秀娟,刘芳,杜琛

(内蒙古医科大学附属医院 生殖中心,内蒙古 呼和浩特 010050)

**摘要:目的** 对常规体外受精(IVF)中未见原核卵裂胚胎囊胚滋养层细胞 >10 MB 拷贝数变异进行分析。**方法** 对 IVF 受精的未见原核卵裂胚胎囊胚培养,利用全基因组测序的方法对 D5 评级 >3BC 囊胚的滋养层细胞进行 >10MB 的拷贝数变异检测,判断未见原核卵裂胚胎囊胚非整倍体变异程度。**结果** 共选择未见原核卵裂胚胎 69 例,形成囊胚 51 例(73.91%);囊胚评级 >3BC 者共 33 例,对其进行滋养层细胞活检并进行拷贝数变异检测,检测成功 23 例(70%),其中正常核型 46,XN) 17 例(73.9%),异常 6 例(26.1%)。**结论** 未见原核卵裂胚胎经囊胚培养可以获得较高比例染色体正常胚胎,结合胚胎植入前遗传学诊断及产前诊断技术,未见原核卵裂囊胚具有利用价值。

**关键词:** 未见原核卵裂胚胎;囊胚;拷贝数变异

**中图分类号:** R711.6

**文献标识码:** B

在实施体外受精 *in vitro fertilization*, IVF) 操作过程中,有一部分卵子在受精后 17~19 h 不能看到原核 *primary nucleus*, PN),但是却能够卵裂,这些胚胎一般情况下被认为是异常胚胎,不用做胚胎移植,本研究将未见原核卵裂胚胎进行囊胚培养,并利用测序技术对发育到囊胚阶段的滋养层细胞进行基因拷贝数变异(*copy number variation detection*, CNV)检测,分析其 >10 MB 的拷贝数是否存在异常,探讨未见原核卵裂胚胎经囊胚培养筛选判断其是否具有利用价值。

### 1 资料与方法

#### 1.1 患者选择、促排卵及获卵

选取 2016 年 1 月 - 2016 年 3 月在本院生殖中心行常规 IVF 助孕治疗的患者,共 35 个周期,患者年龄 24~40 岁,不孕年限 1~10 年,原发不孕 20 例,继发不孕 15 例。所有患者夫妻双方染色体检测为正常,不孕原因为输卵管因素;患者均采用常规长方案促排卵,促性腺激素释放激素激动剂降调节后适时启动 Gn,当 1 个主导卵泡直径 ≥ 18 mm 或 2 个主导

卵泡 ≥ 17 mm 时肌注人绒毛膜促性腺激素 *human chorionic gonadotropin*, HCG(上海丽珠制药有限公司) 4000~10 000 u, HCG 注射后 36~38 h 取卵。

#### 1.2 受精及胚胎选择

精液经优化处理后,在 HCG 39~40 h 进行受精,授精浓度为 1.0~1.5 万条活动精子/个卵子。受精后 4.5~5.0 h 拆卵。加精 17~19 h 观察原核情况,未见原核、见极体者作为研究对象,转移到新鲜培养基微滴中培养。培养到第 3 天,对其进行激光打孔,打孔直径 10~20 μm,继续体外培养至第 5 和 6 天,对发育到 >3BC 并有滋养层细胞渗出的囊胚活检 3~10 个滋养层细胞,送北京贝瑞和康公司进行 CNV 检测。

### 2 结果

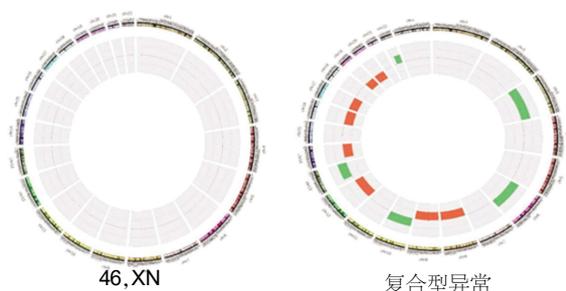
35 个周期的患者,年龄 24~40 岁,平均 30.66±3.87 岁;不孕年限 1~10 年,平均 3.99±2.45 年;共获得卵子 587 例,平均 16.77±7.27 例;受精 474 例(80.75%);正常受精 304 例(51.79%);异常受精 170 例(28.96%),其中未见原核卵裂胚胎 69 例,对其进

收稿日期:2016-09-29

\* 基金项目:内蒙古自然科学基金 No:2015BS0802;内蒙古教育厅基金 No:NJZY16118;内蒙古医科大学科技百万工程 No:YKD2014KJ BW007、YKD2015KJBW023)

[通信作者] 陈秀娟, E-mail: 90098687@sina.com

行囊胚培养,形成囊胚 51 例 (73.91%);囊胚评级 > 3BC 者 33 例,活检取滋养层细胞进行拷贝数变异检测,检测成功并得到结果 23 例,成功率为 70%; 23 例中正常核型 46,XN) 17 例 (73.9%);异常 6 例 (26.1%)。其中 1 例为 21 三体 47,XN,+21), 1 例为复合型异常, 1 例 21 号染色体缺失 33.8 MB (-21q11.2q22.3,33.8MB), 1 例在 5 号染色体重复 (Chr5:90820000-175420000-2.3), 1 例在 6 号、21 号染色体上重复 (Chr6:4260000-156860000-2.5; Chr21:15740000-42500000-2.5), 1 例 16 三体 47,XN,+16)。见附图。



红色表示该区域存在缺失,绿色表示该区域存在重复

附图 CNV 检测结果

### 3 讨论

未见原核卵裂胚胎的出现可能是由于卵子发生孤雌激活、原核形成机制或染色体分裂异常,以及卵子受到刺激使原核出现过早或过晚错过观察时间,倘若 2 个原核出现过早或晚,那么该胚胎仍可能具有正常的核型。NOYES 等<sup>[1]</sup>在对未见原核卵裂胚胎卵裂球核型进行研究,发现 <3% 的胚胎具有 2 倍体核型,所以认为,未见原核卵裂胚胎常存在染色体异常,胚胎质量及发育潜能差,无移植价值<sup>[2]</sup>。正常受精胚胎在发育到 8 细胞之前其发育主要由卵细胞决

定,在胚胎发生融合之后,胚胎的基因组被激活,并决定胚胎的进一步发育,所以认为能发育到囊胚阶段的胚胎的染色体异常比例较低<sup>[3]</sup>。如果通过延长未见原核卵裂胚胎体外培养时间,筛选出囊胚,该胚胎有可能是正常,再通过遗传学检测加以证明,无疑会增加胚胎使用率<sup>[4]</sup>。本研究对 D5 发育到 >3BC 级的 23 例未见原核卵裂囊胚行滋养层细胞活检,并进行拷贝数变异检测,发现在有检出的胚胎中,17 例胚胎的染色体核型是正常的 (73.9%),而该比例与 2 原核受精胚胎接近。

综上所述,本研究对于未见原核卵裂胚胎经囊胚培养,并进行染色体核型及 >10 MB 拷贝数变异检测,发现其正常核型的比例较高,但是否将该方法作为一种常规方式,还需要大样本的研究,但如果结合胚胎植入前遗传学诊断技术,从囊胚中筛选出正常核型的胚胎,进行移植,在妊娠后,利用产前筛查技术及早判断妊娠胎儿是否异常,避免出生缺陷,是一种切实可行的方法<sup>[5]</sup>。

### 参 考 文 献:

- [1] NOYES N, FINO ME, KREY L, et al. Embryo biopsy: the fate of abnormal pronuclear embryos[J]. *Reprod Biomed Online*, 2008, 17(6): 782-788.
- [2] REICHMAN D E, JACKSON K V, RACOWSKY C. Incidence and development of zygotes exhibiting abnormal pronuclear disposition after identification of two pronuclei at the fertilization check[J]. *Fertil Steril*, 2010, 94(3): 965-970.
- [3] GARDER D K, BALABAN B. Choosing between day 3 and day 5 transfers[J]. *Clin Obstet Gynecol*, 2006, 49(1): 85-92.
- [4] 马水英,李梅,李城,等.体外受精周期中不同原核数发育囊胚使用价值的探讨[J]. *现代妇产科进展*, 2014, 23(6): 452-454.
- [5] 戴善军.体外受精-胚胎移植周期中胚胎染色体非整倍体分析及移植价值探讨[D].郑州:郑州大学,2007:26.

(李科 编辑)