

doi:10.3969/j.issn.1674-4616.2023.05.011

体外受精-胚胎移植反复种植失败诊断及影响因素研究进展*

邓超 章红[△] 周艳平 罗文 吴晴 宋俊琦

华中科技大学医院中医科, 武汉 430074

关键词 体外受精-胚胎移植; 反复种植失败; 诊断标准; 致病因素**中图分类号** R711.6 **文献标志码** A

近年来,体外受精-胚胎移植(in vitro fertilization-embryo transfer, IVF-ET)技术得到了快速的发展。IVF-ET 给许多不孕不育患者家庭带来福音,但有一部分患者即使多次尝试 IVF-ET,仍无法成功受孕,即所谓的反复种植失败(repeated implantation failure, RIF)。目前,关于 RIF 尚无统一定义及明确的诊断标准,这极大地影响了进一步研究其发生原因及寻找潜在的治疗手段,并对本研究领域的发展造成一定阻碍。此外,RIF 的具体原因亦不完全清楚。已有研究表明,RIF 的发生可能与卵细胞、精子、胚胎、免疫等众多因素相关。本文通过总结相关文献对 RIF 的诊断及影响因素作一综述,以期对 RIF 临床诊疗提供指导。

1 RIF 的定义及诊断

关于 RIF 的诊断目前尚无共识,文献中也提出了不同的标准。Simon 和 Laufer 首次对 RIF 作出了定义说明,即至少连续 3 次 IVF-ET 植入 1~2 个高质量的胚胎并种植失败^[1]。Zeyneloglu 等^[2]将 RIF 的诊断认定为经过 3 次辅助生殖技术(assisted reproductive technology, ART)周期并种植失败。Bashiri 等^[3]建议将 RIF 称作失败的体外受精胚胎种植周期,并将其诊断标准认定为经历 3 次高质量胚胎种植周期失败。Coughlan 等^[4]将 RIF 的诊断标准认定为 40 岁以下患者经过至少 3 个新鲜或冷冻周期,并种植了至少 4 个优质胚胎,仍未能获得临床妊娠。目前,国内外大多学者也采用了 Coughlan 等提出的这个标准。但 Polanski 等学者检索了近年 MEDLINE、Embase 和 Cochrane 等数据库中的相关文献并结合自身临床观

察认为,不该将年龄限制在 <40 岁,并指出当连续经历 2 个种植周期失败即可认为是 RIF,最终提出 RIF 的诊断标准为连续经历 2 个符合卵裂期胚胎累计数量不少于 4 个,囊胚累计数量不少于 2 个,所有胚胎均为优质的卵裂期胚胎等条件的 IVF-ET 周期后仍未成功着床(以采集卵子后 14 天血清人绒毛膜促性腺激素阴性为标准)^[5]。根据经验,笔者也认为 Polanski 等学者提出的诊断标准更加符合实际情况。

2 RIF 的影响因素

卵细胞和精子对于健康胚胎的形成是必不可少的,胚胎需要植入良好的子宫环境中才能实现活产。在卵泡发育的第一阶段,卵细胞的数量和质量是重要的决定因素^[6]。随着年龄的增长,线粒体脱氧核糖核酸(deoxyribonucleic acid, DNA)的不稳定性可能会导致卵细胞中的基因突变,使得卵细胞质量下降,从而影响种植结果^[7]。此外,子宫、输卵管、内分泌、免疫、血栓形成倾向等众多因素也被报道与 RIF 息息相关。

2.1 卵细胞因素

卵巢储备的卵细胞减少主要与以下 2 个因素有关:①线粒体功能障碍,导致卵巢储备的卵细胞数量减少;②端粒缩短,黏蛋白功能障碍等导致卵母细胞质量下降,进而造成胚胎质量下降,影响种植成功率^[8]。

2.2 精子因素

传统的精子分析检查可以提供精子的数量和形态信息,但无法提供进一步评估 RIF 病例中精子质量的详细信息。Simon 等^[9]在系统评价和荟萃分析研究中发现精子 DNA 损伤对 IVF-ET 的临床妊娠率有显著的负面影响。此外,研究表明,精子 DNA 损伤可能在氧化应激的情况下发生,不良的生活方式,如吸烟,

* 针灸治未病湖北省协同创新中心项目(No. HBPCIC-2020-03)

[△] 通信作者, Corresponding author, E-mail: 498689521@qq.com

既往手术史,放疗,性传播疾病,鱼精蛋白缺乏或 DNA 修复缺陷等,都会造成精子 DNA 损伤^[10]。

2.3 胚胎因素

往常根据胚胎评分系统评估体外受精(in vitro fertilization, IVF)或卵胞浆内单精子注射后的受精胚胎质量。但是, Rienzi 等^[11]发现,对于种植成功率低、预后不良的患者,胚胎的形态动力学特性对整倍体胚胎(正确数量染色体)的选择无益。因此,如果 RIF 病例已经进行了胚胎的遗传评估,进一步回顾该患者的胚胎遗传学因素将是不可或缺的。

2.3.1 父母染色体异常 据报道,在 RIF 病例的父母中,染色体畸形、易位、镶嵌、倒位、缺失及增色性染色体的发生率较高。此外,据文献报道,大约 2.5% 的 RIF 患者是由于父母的染色体异常导致的^[12]。

2.3.2 胚胎在受精后表现出的遗传异常 从遗传上正常的母亲获得的卵母细胞和遗传上正常的父亲获得的精子受精后发育的胚胎在理论上应该是整倍体胚胎。但是,受精后的分子机制异常可能导致出现遗传异常的胚胎。这可能与 2 个阶段有关:①减数分裂过程中整个染色体不分离;②平衡或不平衡的姐妹染色单体的过早分离^[13]。

2.3.3 胚胎种植前遗传信息筛查 胚胎种植前非整倍体遗传学检测(preimplantation genetic testing for aneuploidy, PGT-A)系对 IVF 产生的胚胎进行遗传信息的测试,以提供有关胚胎遗传信息,并帮助医生选择最佳胚胎进行种植并提高临床妊娠率的技术。PGT-A 通过观察 IVF 胚胎内的遗传物质数量对胚胎进行评估。人类染色体对正常的生长和发育非常重要,染色体数量不正确(也称为非整倍体胚胎)的胚胎通常会种植失败,还可能导致具有遗传病的儿童出生。整倍体胚胎更有可能成功受孕。PGT-A 适合绝大多数接受 IVF 治疗的患者。所有女性都有生成染色体异常胚胎的风险,且随着女性年龄的增长,无论胚胎数量多少,染色体异常胚胎出现的可能性都会显著增加。PGT-A 可以帮助所有年龄段的女性增加成功怀孕的几率^[14]。

2.4 子宫因素

2.4.1 子宫内膜疾病 研究表明,例如子宫息肉、黏膜下子宫肌瘤、宫腔粘连、慢性子宫内膜炎、子宫内膜菌群紊乱、无法解释的子宫内膜薄层和子宫内膜腔积液等疾病可能在 RIF 的发病中起到重要作用^[15]。尽管,有关子宫内膜息肉与 RIF 的关系研究结果存在争议,但据报道,切除子宫息肉可提高自发妊娠率^[16]。此外,有研究证实,存在黏膜下或子宫壁内肌瘤时,怀

孕和着床的几率均会显著降低^[17]。因此,无论黏膜子宫肌瘤大小如何,均建议手术切除,其可提高 RIF 妇女的妊娠率。宫腔粘连是刮宫手术或宫腔感染后的常见现象,有证据表明,宫腔镜清除子宫内粘连可显著改善患者的妊娠结局^[18]。此外,慢性子宫内膜炎是另一可能对 RIF 产生影响的子宫内膜疾病^[19]。由于许多患有慢性子宫内膜炎的妇女并没有或几乎没有任何临床感染的迹象,因此,这个问题常被忽视。研究显示,抗生素已被证明是治疗大多数感染并在诊断为慢性子宫内膜炎的患者未来 IVF 周期中提高种植率的有效干预措施^[20]。子宫内膜薄层对 RIF 具有显著影响,尽管目前对于子宫内膜厚度的阈值尚无共识,但多项研究显示应该以子宫内膜厚度 8 mm 作为 IVF-ET 的下限^[21]。Gupta 等^[22]研究还表明,宫腔粘连和子宫峡部膨出等原因造成的子宫内膜腔积液可能会对胚胎着床和妊娠产生不利影响。健康人群阴道的微生物基本菌种是乳杆菌属^[23],但是,月经周期、激素、免疫反应、药物、性生活及营养等诸多因素可能会影响阴道内的正常微生物菌群。Moreno 等^[24]通过对子宫内膜液进行采样,证明非乳杆菌为主的微生物群会导致着床、妊娠和持续妊娠失败以及活产率下降。

2.4.2 子宫肌层疾病 文献中尚不明确不累及腔的壁内肌瘤对 IVF-ET 的妊娠结局是否有不利影响^[25]。目前,多数研究认为当子宫壁内肌瘤超过 4 cm,即使没有子宫畸形,也可能对女性生育能力产生负面影响^[26]。然而,子宫肌瘤切除术尚未显示能显著提高临床妊娠率和活产率^[27]。有报道显示,与未进行子宫成形术的女性相比,行宫腔镜子宫成形术的女性在 IVF 治疗后的妊娠率更高^[28]。子宫峡部膨出被定义为子宫下段子宫肌层内的低回声区域,反映了先前剖宫产的子宫瘢痕部位子宫肌层的中断^[29]。类似于输卵管输注原理,积聚在袋状缺损中的积液回流到子宫腔可能会对 IVF-ET 的妊娠结局产生不利影响。此外,研究显示,腺肌病对 RIF 患者妊娠结局的影响作用较为明显^[30]。

2.4.3 子宫内膜损伤 在无法解释的 RIF 病例中,研究人员提出这可能与既往机械刺激或子宫内膜局部损伤造成糖蛋白 A、层粘连蛋白 $\alpha 4$ 、整联蛋白 $\alpha 6$ 和基质金属蛋白酶 1 基因的过表达有关^[31]。但是, Mao 等^[32]通过荟萃分析研究发现,对 RIF 进行宫腔镜检查排除患者既往可能的子宫内膜损伤并不能提高患者的活产率。

2.4.4 子宫内膜容受性 子宫内膜在每个月经周期

存在一段特殊“窗口”时期,当着床窗打开时,内膜才具有接受胚胎着床的能力。大约 70% 的女性着床窗在月经第 18~20 天开启,而大约有 30% 的女性不在此范围内。子宫内膜容受性分析(endometrial receptivity array, ERA)指子宫内膜在外源性黄体药物浸润下,经采样后利用次世代基因测序分析多种与子宫内膜容受性相关的基因,进而检测出最适合植入的时间。Ruiz-Alonso 等^[33]研究显示,采用 ERA 明确合适的种植时间,能显著提高 RIF 患者的着床率。Hashimoto 等^[34]也报道了相似的研究结果。但是,就目前的研究而言,还不能确定 ERA 在 RIF 患者 IVF-ET 中的正面作用。

2.5 输卵管因素

研究表明,在接受 IVF 的患者中,存在输卵管积液的女性活产率仅为没有输卵管积液女性的一半。当存在输卵管积液问题时,采用输卵管切除术或输卵管阻塞已被证明可增加患者 IVF 的妊娠成功率^[35]。

2.6 内分泌因素

目前,不育夫妇的促甲状腺激素(thyroid stimulating hormone, TSH)上限值建议低于 2.5 mIU/L^[36]。研究表明,左甲状腺素可改善被诊断患有亚临床甲状腺功能减退症且血清 TSH 高于 2.5 mIU/L 不育夫妇的胚胎质量和妊娠结局。在 8%~14% 的育龄妇女中发现了抗甲状腺抗体(anti-thyroid antibody, ATA)^[37]。Busnelli 等^[38]报道显示,ATA 阳性可能对活产率产生不利影响。在多囊卵巢综合征中,高浓度卵泡期促黄体生成激素、胰岛素抵抗和高瘦素水平均可能会对卵母细胞质量、子宫内膜成熟度和子宫内膜容受性产生负面影响,从而增加流产并降低着床率^[39]。此外,在糖尿病未得到控制的情况下,自然流产的可能性也会增加;而在妊娠早期,糖化血红蛋白水平升高,胎儿死亡率和自然流产的可能性同样会增加。

2.7 免疫因素

近年来,免疫因素对 RIF 的影响逐渐受到重视^[40]。尽管免疫系统在 RIF 中的作用是有争议的,但自然杀伤(natural kill, NK)细胞、杀伤性免疫球蛋白样受体、人白细胞抗原分子、T 辅助(T helper, Th)细胞和白血病抑制因子对 RIF 的影响正在被深入研究^[41]。外周 NK 细胞占外周细胞的 5~10%,而子宫 NK 细胞占 NK 细胞的 70~90%。与健康对照组相比,在 RIF 患者中检测到更高比例的 NK 细胞^[42]。有研究^[43]发现 RIF 患者的外周和子宫 NK 细胞均高于健康对照组。Th1 细胞分泌诸如肿瘤坏死因子等细

胞因子,从而抑制滋养细胞的发育并促进炎症的发生,导致胚胎受到排斥。Th2 细胞分泌白介素(interleukin, IL)-4, IL-6 和 IL-10, 并抑制 Th1 细胞因子的分泌。通过这种方式, Th2 细胞在胚胎着床和妊娠期间发挥良性作用。Kwak-Kim 等^[44]发现,在多次试管婴儿失败的女性中存在较高的 Th1/Th2 比率。根据这些结果可以推测,异常免疫危险因素可能会造成 RIF^[45]。

2.8 血栓形成倾向因素

有研究^[46]显示,与健康对照组相比,在 90 名 RIF 女性中检测到更多的凝血因子 V 基因 Leiden、亚甲基四氢叶酸还原酶和抗磷脂抗体(antiphospholipid antibody, APA)。在 68.9% 的 RIF 病例中,发现至少存在 1 个遗传或获得性血栓形成倾向因素,而在自然怀孕的对照组中,这一结果仅 25%,二者相比差异具有统计学意义。Lodigiani 等^[47]研究了低分子量肝素给药对 RIF 的影响,结果显示使用低分子量肝素治疗的 RIF 患者妊娠率更高。关于抗磷脂综合征与 RIF 的关系尚不明确^[48]。在 2008 年发表的一项声明提出,尽管在某些回顾性研究中表明 APA 与 IVF 失败之间可能存在关联性,但是,目前没有前瞻性研究确定两者之间的相关性,因此,接受 IVF 治疗的夫妇尚不需要常规进行 APA 测定^[49]。

2.9 无法解释的 RIF

尽管进行了所有详细的检查和评估,但在某些情况下仍然可能找不到明确的种植失败原因,这被定义为无法解释的 RIF。既往文献^[49-50]中提出了许多用于 RIF 的“辅助”疗法。这些治疗方式包括使用阿司匹林、皮质类固醇、免疫球蛋白、粒细胞集落刺激因子、他克莫司和富血小板血浆等,但是,目前为止这些治疗方案都缺乏令人信服的研究数据。

3 总结与展望

尽管 IVF-ET 技术已经取得了长足的进步,但 RIF 仍然是亟待解决的问题与挑战。关于 RIF 的诊断标准,本文建议采用 Polanski 等提出的标准,即连续经历 2 个符合卵裂期胚胎累计数量不少于 4 个,囊胚累计数量不少于 2 个,所有胚胎均为优质的卵裂期胚胎等条件的 IVF-ET 周期后仍未成功着床。目前研究显示,除了胚胎或子宫内膜因素,还有很多其他因素会导致 RIF,因此,应根据每对夫妇的具体情况进行个性化分析并制定详细的诊疗方案,这将更有针对性地解决患者反复种植失败的问题。另外,鉴于辅助生殖技术仍在不断发展中,导致 RIF 的原因也尚不清

楚,因此,对符合条件的患者可以尝试性地使用一些最新的研究成果,这可能会收获意想不到的结果。

参 考 文 献

- [1] Simon A, Laufer N. Assessment and treatment of repeated implantation failure(RIF)[J]. *J Assist Reprod Genet*, 2012, 29(11):1227-1239.
- [2] Zeyneloglu HB, Onalan G. Remedies for recurrent implantation failure [J]. *Semin Reprod Med*, 2014, 32 (4): 297-305.
- [3] Bashiri A, Halper KI, Orvieto R. Recurrent implantation failure-update overview on etiology, diagnosis, treatment and future directions[J]. *Reprod Biol Endocrinol*, 2018, 16 (1):121.
- [4] Coughlan C, Ledger W, Wang Q, et al. Recurrent implantation failure: definition and management[J]. *Reprod Biomed Online*, 2014, 28(1):14-38.
- [5] Polanski LT, Baumgarten MN, Quenby S, et al. What exactly do we mean by 'recurrent implantation failure'? A systematic review and opinion[J]. *Reprod Biomed Online*, 2014, 28(4):409-423.
- [6] Magnusson Å, Källén K, Thurin-Kjellberg A, et al. The number of oocytes retrieved during IVF: a balance between efficacy and safety[J]. *Hum Reprod*, 2018, 33(1): 58-64.
- [7] May-Panloup P, Boucrot L, Chao de la Barca JM, et al. Ovarian ageing: the role of mitochondria in oocytes and follicles[J]. *Hum Reprod Update*, 2016, 22(6):725-743.
- [8] Cimadomo D, Fabozzi G, Vaiarelli A, et al. Impact of maternal age on oocyte and embryo competence[J]. *Front Endocrinol(Lausanne)*, 2018, 9:327.
- [9] Simon L, Zini A, Dyachenko A, et al. A systematic review and meta-analysis to determine the effect of sperm DNA damage on in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection outcome[J]. *Asian J Androl*, 2017, 19(1): 80-90.
- [10] Agarwal A, Cho CL, Esteves SC. Should we evaluate and treat sperm DNA fragmentation? [J]. *Curr Opin Obstet Gynecol*, 2016, 28(3):164-171.
- [11] Rienzi L, Capalbo A, Stoppa M, et al. No evidence of association between blastocyst aneuploidy and morphokinetic assessment in a selected population of poor-prognosis patients; a longitudinal cohort study[J]. *Reprod Biomed Online*, 2015, 30(1):57-66.
- [12] Stern C, Pertile M, Norris H, et al. Chromosome translocations in couples with in-vitro fertilization implantation failure[J]. *Hum Reprod*, 1999, 14(8):2097-2101.
- [13] Vialard F, Lombroso R, Bergere M, et al. Oocyte aneuploidy mechanisms are different in two situations of increased chromosomal risk: older patients and patients with recurrent implantation failure after in vitro fertilization[J]. *Fertil Steril*, 2007, 87(6):1333-1339.
- [14] Practice Committees of the American Society for Reproductive Medicine and the Society for Assisted Reproductive Technology. The use of preimplantation genetic testing for aneuploidy (PGT-A): a committee opinion [J]. *Fertil Steril*, 2018, 109(3):429-436.
- [15] Greco E, Bono S, Ruberti A, et al. Comparative genomic hybridization selection of blastocysts for repeated implantation failure treatment; a pilot study[J]. *Biomed Res Int*, 2014, 2014:457913.
- [16] Spiewankiewicz B, Stelmachów J, Sawicki W, et al. The effectiveness of hysteroscopic polypectomy in cases of female infertility [J]. *Clin Exp Obstet Gynecol*, 2003, 30 (1):23-25.
- [17] Whynott RM, Vaught KCC, Segars JH. The effect of uterine fibroids on infertility: a systematic review[J]. *Semin Reprod Med*, 2017, 35(6):523-532.
- [18] Dreisler E, Kjer JJ. Asherman's syndrome: current perspectives on diagnosis and management[J]. *Int J Womens Health*, 2019, 11(5):191-198.
- [19] Kitaya K, Takeuchi T, Mizuta S, et al. Endometritis: new time, new concepts [J]. *Fertil Steril*, 2018, 110 (3): 344-350.
- [20] Cicinelli E, Matteo M, Trojano G, et al. Chronic endometritis in patients with unexplained infertility: prevalence and effects of antibiotic treatment on spontaneous conception[J]. *Am J Reprod Immunol*, 2018, 79(1):101-103.
- [21] Lebovitz O, Orvieto R. Treating patients with "thin" endometrium-an ongoing challenge[J]. *Gynecol Endocrinol*, 2014, 30(6):409-414.
- [22] Gupta N, Bhandari S, Agrawal P, et al. Effect of endometrial cavity fluid on pregnancy rate of fresh versus frozen in vitro fertilization cycle[J]. *J Hum Reprod Sci*, 2017, 10 (4):288-292.
- [23] Moreno I, Simon C. Relevance of assessing the uterine microbiota in infertility [J]. *Fertil Steril*, 2018, 110 (3): 337-343.
- [24] Moreno I, Codoner FM, Vilella F, et al. Evidence that the endometrial microbiota has an effect on implantation success or failure[J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2016, 215(6): 684-703.
- [25] Donnez J, Dolmans MM. Uterine fibroid management: from the present to the future[J]. *Hum Reprod Update*, 2016, 22(6):665-686.
- [26] Zepiridis LI, Grimbizis GF, Tarlatzis BC. Infertility and u-

- terine fibroids[J]. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*, 2016, 34:66-73.
- [27] Pritts EA, Parker WH, Olive DL. Fibroids and infertility: an updated systematic review of the evidence[J]. *Fertil Steril*, 2009, 91(4):1215-1223.
- [28] Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Uterine septum: a guideline[J]. *Fertil Steril*, 2016, 106(3):530-540.
- [29] Setubal A, Alves J, Osório F, et al. Treatment for uterine isthmocele, a pouchlike defect at the site of a cesarean section scar[J]. *J Minim Invasive Gynecol*, 2018, 25(1):38-46.
- [30] Tremellen K, Russell P. Adenomyosis is a potential cause of recurrent implantation failure during IVF treatment [J]. *Aust N Z J Obstet Gynaecol*, 2011, 51(3):280-283.
- [31] Potdar N, Gelbaya T, Nardo LG. Endometrial injury to overcome recurrent embryo implantation failure: a systematic review and meta-analysis[J]. *Reprod Biomed Online*, 2012, 25(6):561-571.
- [32] Mao X, Wu L, Chen Q, et al. Effect of hysteroscopy before starting in-vitro fertilization for women with recurrent implantation failure: a meta-analysis and systematic review[J]. *Medicine(Baltimore)*, 2019, 98(7):e14075.
- [33] Ruiz-Alonso M, Blesa D, Diaz-Gimeno P, et al. The endometrial receptivity array for diagnosis and personalized embryo transfer as a treatment for patients with repeated implantation failure [J]. *Fertil Steril*, 2013, 100(3):818-824.
- [34] Hashimoto T, Koizumi M, Doshida M, et al. Efficacy of the endometrial receptivity array for repeated implantation failure in Japan: a retrospective, two-centers study [J]. *Reprod Med Biol*, 2017, 16(3):290-296.
- [35] Tsiami A, Chaimani A, Mavridis D, et al. Surgical treatment for hydrosalpinx prior to in-vitro fertilization embryo transfer: a network meta-analysis [J]. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2016, 48(4):434-445.
- [36] Penzias AS. Recurrent IVF failure: other factors[J]. *Fertil Steril*, 2012, 97(5):1033-1038.
- [37] 马明霞, 田葱, 李娟, 等. 自身免疫性甲状腺疾病与女性不孕[J]. *实用临床医学*, 2017, 18(4):102-105.
- [38] Busnelli A, Paffoni A, Fedele L, et al. The impact of thyroid autoimmunity on IVF/ICSI outcome: a systematic review and meta-analysis[J]. *Hum Reprod Update*, 2016, 22(6):775-790.
- [39] Christiansen OB, Nielsen HS, Kolte AM. Future directions of failed implantation and recurrent miscarriage research[J]. *Reprod Biomed Online*, 2006, 13(1):71-83.
- [40] Franasiak JM, Scott RT. Contribution of immunology to implantation failure of euploid embryos[J]. *Fertil Steril*, 2017, 107(6):1279-1283.
- [41] 张建平. NK 细胞与复发性自然流产母胎免疫紊乱[J]. *中山大学学报(医学科学版)*, 2010, 31(4):451-456, 481.
- [42] Kolanska K, Suner L, Cohen J, et al. Proportion of cytotoxic peripheral blood natural killer cells and T-cell large granular lymphocytes in recurrent miscarriage and repeated implantation failure: case-control study and meta-analysis[J]. *Arch Immunol Ther Exp(Warsz)*, 2019, 67(4):225-236.
- [43] Santillán I, Lozano I, Illán J, et al. Where and when should natural killer cells be tested in women with repeated implantation failure? [J]. *J Reprod Immunol*, 2015, 108:142-148.
- [44] Kwak-Kim JY, Chung-Bang HS, Ng SC, et al. Increased T helper 1 cytokine responses by circulating T cells are present in women with recurrent pregnancy losses and in infertile women with multiple implantation failures after IVF[J]. *Hum Reprod*, 2003, 18(4):767-773.
- [45] Coulam CB, Acacio B. Does immunotherapy for treatment of reproductive failure enhance live births? [J]. *Am J Reprod Immunol*, 2012, 67(4):296-304.
- [46] Qublan HS, Eid SS, Ababneh HA, et al. Acquired and inherited thrombophilia: implication in recurrent IVF and embryo transfer failure[J]. *Hum Reprod*, 2006, 21(10):2694-2698.
- [47] Lodigiani C, Di Micco P, Ferrazzi P, et al. Low-molecular-weight heparin in women with repeated implantation failure[J]. *Womens Health(Lond)*, 2011, 7(4):425-431.
- [48] Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS) [J]. *J Thromb Haemost*, 2006, 4(2):295-306.
- [49] Practice Committee of American Society for Reproductive Medicine. Anti-phospholipid antibodies do not affect IVF success[J]. *Fertil Steril*, 2008, 90(5 Suppl):S172-S173.
- [50] 茹慧波, 王树松, 张亦心, 等. 粒细胞集落刺激因子在生殖领域应用的研究现状[J] *中国临床药理学杂志*, 2020, 36(7):887-889.

(收稿日期:2023-06-30)