DOI:10.16016/j.2097-0927.202110069

宫腔环境精准评估对反复移植失败助孕结局的影响

韩抒洁[1,2],舒明明[2],宋春兰[2],陈 甫[2],王 路[2],姚 顺[1,2],翟鑫宇[1,2],肖 霞[2],王伟周[2,3],商 微[1,2,3]
230032 合肥,安徽医科大学海军临床学院[1];100048 北京,中国人民解放军总医院第六医学中心辅助生殖医学中心[2];
100700 北京,中国人民解放军总医院第七医学中心妇产医学部[3]

[**摘要**] **目的** 通过对反复移植失败(repeated implantation failure, RIF)患者宫腔微生态和子宫内膜容受性进行检测,并应用其结果指导移植,评估宫腔环境精准检测对反复移植失败患者助孕结局的影响。**方法** 选取2019年9月至2021年1月在中国人民解放军总医院第六医学中心辅助生殖医学中心行体外受精/卵细胞细胞质内单精子显微注射(*in vitro* fertilization/intracytoplasmic sperm injection, IVF/ICSI)助孕的223例反复移植失败患者为研究对象,根据是否接受宫腔微生态及容受性检测分为试验A组($n=70$)、试验B组($n=80$)和对照组($n=73$)。试验A组仅接受宫腔微生态检测,试验B组接受宫腔微生态与子宫内膜容受性检测,两组均根据结果调整移植方案;对照组移植周期前不做干预,应用常规移植方案。比较患者基本资料、胚胎移植情况和妊娠结局,分析宫腔微生物联合子宫内膜容受性检测调整移植用药方案与反复移植失败患者妊娠结局的关系。**结果** 16SrRNA测序结果显示,反复移植失败患者宫腔内检出细菌占58.57%(41/70),非乳杆菌为主导的患者占81.43%(57/70)。在基线资料比较中,患者的年龄、体质指数(BMI)、促卵泡激素(follicle-srimulating hormore, FSH)、转化日子宫内膜厚度、移植胚胎个数差异在试验A、B组和对照组的两两比较中差异均无统计学意义。在妊娠结局比较中,试验A组和对照组的胚胎种植率分别为21.57%和9.09%,试验A组胚胎种植率显著高于对照组($P<0.05$),两组的临床妊娠率分别为34.43%和13.92%,试验A组临床妊娠率显著高于对照组($P<0.05$),试验B组患者的胚胎种植率为24.78%,临床妊娠率为39.39%,两者均显著高于对照组($P<0.05$),但同试验A组相比,试验B组患者的胚胎种植率和临床妊娠率未显著增加。**结论** 宫腔微生态联合子宫内膜容受性结果指导移植,对反复移植失败患者有明确意义,其中根据宫腔微生态检测结果指导阴道用乳杆菌等药物的预处理可以显著改善反复移植失败患者妊娠结局。

[**关键词**] 宫腔环境;微生物;乳杆菌;子宫内膜容受性;反复移植失败;移植方案;妊娠结局
[**中图法分类号**] R322.65;R372;R711.6 [**文献标志码**] A

Effect of accurate assessment for uterine cavity environment on outcome of repeated transplantation failures

HAN Shujie[1,2], SHU Mingming[2], SONG Chunlan[2], CHEN Fu[2], WANG Lu[2], YAO Shun[1,2], ZHAI Xinyu[1,2], XIAO Xia[2], WANG Weizhou[2,3], SHANG Wei[1,2,3] [1]Naval Clinical College, Anhui Medical University, Hefei, Anhui Province, 230032; [2]Center of Assisted Reproductive Medicine, the Sixth Medical Center of Chinese PLA General Hospital, Beijing, 100048; [3]Section of Obstetrics and Gynecology, the Seventh Medical Center of Chinese PLA General Hospital, Beijing, 100700, China

[**Abstract**] **Objective** To evaluate the impact of accurate detection of the uterine cavity environment on the outcome of assisted pregnancy in patients with repeated transplantation failures by detecting the uterine

[**通信作者**] 商 微,E-mail: shang.wei@163.com

2097-0927/Copyright © 2022, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循 CC BY 许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

cavity micro-ecology and endometrial receptivity after using the results to guide transplantation. **Methods** A total of 223 patients with repeated transplantation failure who underwent *in vitro* fertilization/intracytoplasmic sperm injection (IVF/ICSI) in the Assisted Reproductive Center of the Sixth Medical Center of Chinese PLA General Hospital from September 2019 to January 2021 were recruited as the research subjects. According to whether they received the uterine cavity micro-ecology and receptivity test, they were divided into experimental group A ($n=70$), experimental group B ($n=80$) and control group ($n=73$). Experimental group A only received uterine cavity micro-ecology test, and experimental group B received uterine cavity micro-ecology and endometrial receptivity test. These 2 groups adjusted the transplantation plan according to the results of tests. The control group had no intervention before the transplantation cycle and received conventional transplantation plan. The basic data of patients, embryo transfer status and pregnancy outcome were compared, and the relationship of uterine cavity microbes combined with endometrial receptivity test and adjustment of transplantation medication regimen with pregnancy outcome was analyzed in the patients with repeated transplantation failures. **Results** The 16SrRNA sequencing results showed that 58.57% (41/70) of patients with repeated transplantation failure had bacteria detected in the uterine cavity, and 81.43% (57/70) of patients were non-lactobacillus-dominated. With the comparison of basic data, the differences in the patient's age, body mass index (BMI), follicle-stimulating hormone (FSH), endometrial thickness on the day of transformation, and number of embryos transferred were not statistically different in the pairwise comparisons among groups A and B and the control group ($P>0.05$). In pregnancy outcomes, the embryo implantation rates were 21.57% and 9.09% in the experimental group A and control group, respectively, with that of experimental group A significantly higher than that of the control group ($P<0.05$). While, the pregnancy rates were 34.43% and 13.92%, respectively, and that of the experimental group A was notably higher than that of the control group ($P<0.05$). The embryo implantation rate was 24.78%, and the clinical pregnancy rate was 39.39% in the experimental group B, both of which were obviously higher than those of the control group ($P<0.05$), but no such differences were seen in the rates between the experimental group A and group B ($P>0.05$). **Conclusion** Uterine cavity micro-ecology combined with endometrial receptivity results to guide transplantation shows clear significance for patients with repeated transplantation failures. Among them, guiding vaginal pretreatment with Lactobacillus and other drugs based on uterine cavity micro-ecology test results can significantly improve clinical outcome of pregnancy.

[**Key words**] uterine environment; microorganisms; Lactobacillus; endometrium receptivity; repeated transplantation failure; transplantation plan; pregnancy outcome

Corresponding author: SHANG Wei, E-mail: shang.wei@163.com

反复移植失败(repeated implantation failure,RIF)是指至少3次连续的胚胎移植周期或累计移植超过4枚优质胚胎均未能获得临床妊娠[1]。引起RIF的原因主要包括胚胎染色体缺陷所致的胚胎植入潜能障碍、母体因素引起的子宫内膜容受条件异常以及胚胎与子宫内膜间的交互作用紊乱[2]。有研究表明,胚胎植入前基因筛查未见异常的整倍体胚胎种植率仅为40%[3]。子宫内膜及可能影响其容受性与交互作用的宫腔微生态环境日益成为目前备受关注的主要因素。如何结合植入窗检测结果更好地改善子宫内膜容受性(endometrial receptivity,ER),进一步提高RIF患者临床妊娠率是目前亟需解决的问题。基因组测序技术的出现和持续发展为全面了解和研究微生物群提供了有力的支撑,迄今为止的研究不再认为健康的子宫腔是无菌的[4],揭示了子宫内膜微生物群的存在,并且宫腔微生物组的异常改变可能会影响子宫内膜容受性,从而对着床造成不利影响[5-6]。

临床上通过评价胚胎移植前宫腔微生态状况,可及时发现生殖道疾病的危险因素、提高移植成功率。生殖道微生物群影响胚胎着床成功率的机制可能与宫腔定植菌改变引起炎症及免疫反应、进而影响子宫内膜容受性有关。因此,本研究针对RIF患者,通过

16SrRNA 测序技术对接受辅助生殖技术(assisted reproductive technology,ART)助孕治疗的 RIF 女性宫腔菌群进行鉴定,利用 RNA 转录组测序技术对患者内膜容受性进行判断,结合二者结果指导移植前用药方案,旨在精准评估 RIF 患者宫腔微生态状况,探讨宫腔微生态联合容受性检测指导移植用药方案在 RIF 患者助孕治疗中的效果,为个体化治疗提供更多依据。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取 2019 年 9 月至 2021 年 1 月在中国人民解放军总医院第六医学中心辅助生殖医学中心行体外受精/卵细胞细胞质单精子显微注射(*in vitro* fertilization/intracytoplasmic sperm injection,IVF/ICSI)治疗并有反复移植失败史的不孕患者为研究对象。纳入标准:① 3 次及 3 次以上胚胎移植或累计移植超过 4 枚优质胚胎(7~8 细胞Ⅰ级、Ⅱ级 Day 3 胚胎或 3BB 及以上的 Day 5 囊胚)均未能成功受孕;②移植胚胎中至少包括 1 枚形态学评分优质胚胎。排除标准:①重度子宫内膜异位症、子宫腺肌病;②抗心磷脂综合征等免疫性疾病;③胚胎移植术前 7 d 内查阴道分泌物提示分泌物异常者;④黏膜下巨大肌瘤或内膜多发息肉等严重宫腔占位性病变者;⑤现患盆腔炎、阴道炎的临床表现;⑥其他严重系统性疾病。

本研究共纳入 223 例患者,根据冻融胚胎移植前是否接受宫腔微生态、容受性检测与针对性治疗分为试验 A 组($n=70$)、试验 B 组($n=80$)和对照组($n=73$)。本研究已获中国人民解放军总医院第六医学中心伦理委员会批准(HZKY2021-47)。

1.2 样本采集与 RNA 提取

试验 A 组、试验 B 组患者模拟移植周期内膜准备方案:用药 5~6 天后于门诊就诊,清洁外阴,采用一次性取样刷通过宫颈口 4~5 cm 旋转至少 2 次,充分刷取子宫内膜基底液及脱落细胞样本,置于含有保存液的无菌管中。取出过程中尽量避免接触阴道壁。将样本冻存于含有保存液的无菌管中。择期将样本从冰箱中取出,涡旋混匀,取 500 μL 的混匀样本加入 1.5 mL 离心管中,低温离心机 4 ℃、12 000 r/min 离心 5 min,弃掉上清液,向菌体沉淀中加入 200 μL 裂解液,吹打混匀重悬后转移到已加入直径为 0.1 mm 的 Zirconia Beads 的 2 mL bead beater 专用管中,采用机械破碎的方法提取每例患者的样本 DNA,最后收集 60 μL 的 RNA 样本放入-20 ℃冰箱保存备用。

1.3 子宫内膜容受性检测与结果分析

RNA-seq 分析子宫内膜样本进行全转录组测序,通过下机数据构建样本的表达谱信息,根据容受前期、容受期、容受后期的子宫内膜组织进行转录组分析,用既往数据库内已成功妊娠患者的样本构建 AI 分析模型。通过生物信息学分析结合人工智能模型,比较同一个体不同时期基因表达量差异,差异显著的标记为表达差异基因。找到同一样本容受前期、容受期、容受后期的表达差异最显著的基因。然后用多个个体的不同时期来优化“表达差异基因”,通过机器学习构建 3 个时期的特征库,对于新来某个待测样本,进行表达量标准化后,根据机器对特征的判别,进行自动归类,确定子宫内膜容受性状态,判断子宫内膜着床的窗口期,实现个体化精准判断。

1.4 16SrRNA 测序与结果分析

将符合实验要求的 DNA 样本采用卡尤迪医学检验实验室的生殖道微生物试剂进行微生物检测,对乳杆菌、4 种细菌性阴道病致病菌(细菌性阴道病相关细菌 1/2、阴道阿托波氏菌、阴道加德纳菌和巨型球菌)、3 种引起外阴念珠菌病的细菌(念珠菌、光滑念珠菌和克柔念珠菌)、3 种引起需氧型阴道炎的细菌(大肠杆菌、粪肠球菌和 B 族链球菌)、3 种衣原体/支原体(沙眼支原体、解脲支原体和沙眼衣原体)以及 5 种性传播感染的细菌或病毒(阴道毛滴虫、梅毒螺旋体、淋病奈瑟氏菌、单纯性疱疹病毒 1 和单纯性疱疹病毒 2)进行鉴定与分析。

1.5 调整宫腔菌群

接受宫腔微生态检测的 RIF 患者中以非乳杆菌为主导者,自计划移植的前 1 个月经周期起,于月经干净时使用阴道用乳杆菌活菌胶囊,睡前清洁外阴后,经阴道给药,每次 2 粒,至少连用 10 d;致病菌阳性者,根据致病菌类型选择口服抗生素,用药 7~10 d。

1.6 子宫内膜准备方案

月经第 10~12 天行阴道超声,根据内膜分型、厚度以及排卵情况,调整内膜转化用药的时间与剂量:口服芬吗通(雌二醇片/雌二醇地屈孕酮片复合包装,雅培,美国),阴道给药琪宁(黄体酮软胶囊,爱生,浙江)或阴道给药雪诺同(黄体酮阴道缓释凝胶),皮下注射速碧林(那屈肝素钙注射液,葛兰素史克,中国),口服醋酸泼尼松片(力生,天津)。

1.7 冻融胚胎移植

所有胚胎采用玻璃化法进行冷冻和复苏,于移植日前 1 d 复苏,复苏后的胚胎在培养 1~3 h 后,进行

Gardner 评分。在实时 B 超监测下,将移植外导管沿宫颈外口位置轻轻置入到宫颈内口水平;当外管置入困难,可考虑使用金属内芯协助。将装载有胚胎的内芯导管通过外套导管植入宫腔内,距宫底 0.5~1.0 cm 推注射器注入胚胎。

1.8 黄体支持和妊娠结局判定

子宫内膜转化用药方案维持至移植后 1 周,1 周后依据患者激素水平调整黄体支持方案至移植后 8~10 周。移植胚胎后 1~2 周检测血 HCG (>30 U/L 为妊娠阳性),但经阴道 B 超未见孕囊,则确定为生化妊娠;移植胚胎 5~6 周后行阴道 B 超检查,可见宫内妊娠囊,则确定为临床妊娠。

1.9 观察指标

1.9.1 患者的一般情况 年龄、体质指数(BMI)、促卵泡激素(follicle-srimulating hormore, FSH)、移植失败史、移植胚胎数、转化日内膜厚度。

1.9.2 妊娠结局 生化妊娠率、胚胎种植率(着床胚胎数/移植胚胎数×100%)、临床妊娠率(获得临床妊娠的移植周期数/促排卵总移植周期数×100%)。

1.10 统计学分析

使用 SPSS 24.0 统计软件对数据进行分析。计量资料进行正态检验和方差齐性检验,正态分布数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用两样本等方差 t 检验;计数资料用频次(%)表示,组间分析采用 χ^2 检验,检验水准 $\alpha=0.05$。

2 结果

2.1 患者基本资料

试验 A 组共纳入 70 例患者,其中有可随访移植结局的患者 55 例,移植周期数为 61;试验 B 组共纳入 80 例患者,有可随访移植结局的患者为 60 例,移植周期数为 66;对照组纳入 73 例患者,有可随访移植结局的患者 73 例,移植周期数为 79。试验 A 组、试验 B 组、对照组患者的年龄、BMI、FSH 比较,差异均无统计学意义(表 1)。

表 1 两组患者的基线资料比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	年龄	BMI/kg·m^{-2}	FSH
试验 A 组	70	39.01±5.12	22.40±3.09	11.14±7.14
试验 B 组	80	38.63±5.50	22.11±2.75	11.44±7.03
对照组	73	37.97±4.20	22.72±2.84	9.66±3.54

2.2 内膜准备和移植情况

三组患者移植前内膜准备方案一致;试验 A 组、试验 B 组患者分别同对照组相比,两组患者移植日平均子宫内膜厚度及平均移植胚胎数比较差异均无统计学意义(表 2)。

表 2 三组患者移植日内膜厚度及移植胚胎数比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	移植周期数	内膜厚度/mm	移植胚胎数
试验 A 组	70	61	9.32±1.54	1.67±0.53
试验 B 组	80	66	9.11±1.86	1.67±0.54
对照组	73	79	9.06±1.67	1.67±0.54

2.3 妊娠结局比较

试验 A 组的 70 例 RIF 患者均根据宫腔微生态检测结果指导用药,其中 55 例患者在用药后进入新的移植周期并随访到妊娠结局,移植周期数为 61。统计结果显示,试验 A 组患者的生化妊娠率、胚胎种植率、临床妊娠率均显著高于对照组($P<0.05$,表 3)。

试验 B 组的 80 例 RIF 患者除宫腔微生态检测外,另行 ERT 检测判断子宫内膜容受性,其中 60 例患者在宫腔微生态及内膜容受性联合检测后进入新的移植周期并随访到妊娠结局,共 66 个移植周期。统计结果显示,试验 B 组患者的生化妊娠率、胚胎种植率、临床妊娠率均显著高于对照组($P<0.05$,表 3)。

虽然试验 B 组患者的生化妊娠率、胚胎着床率和临床妊娠率均高于试验 A 组,但差异均无统计学意义(表 3)。

表 3 试验 A 组、试验 B 组和对照组的妊娠结局比较 [例(%)]

组别	例数	移植周期数	移植胚胎数	生化妊娠率	胚胎着床率	临床妊娠率
试验 A 组	70	61	102	57.38(35/61)[a]	21.57(22/102)[a]	34.43(21/61)[a]
试验 B 组	80	66	113	66.67(44/66)[a]	24.78(28/113)[a]	39.39(26/66)[a]
对照组	73	79	132	27.85(22/79)	9.09(12/132)	13.92(11/79)

a:$P<0.05$,与对照组比较

2.4 RIF 患者宫腔微生态检测结果

试验 A 组 RIF 患者检出致病菌阳性(即宫腔内至少存在 1 个菌属)检出率为 58.57%(41/70),阳性菌群主要集中在阴道阿托波氏菌、阴道加德纳菌、巨球型菌 1(菌群具体丰度如图 1)。单一细菌性阴道病致病菌属阳性的患者有 16 例,仅阴道阿托波氏菌阳性的患者 2 例,仅阴道加德纳菌阳性的患者有 14 例,未见单一表现为巨型球菌 1 阳性的患者;余下 8 例为非单一细菌性阴道致病菌属阳性者。

RIF 患者宫腔乳杆菌平均含量为 51.81%。乳杆菌含量≥90%(即宫腔菌属以乳杆菌为主)的患者有 13 例,乳杆菌含量<90%(即宫腔菌属以非乳杆菌为主)的患者有 57 例。在乳杆菌≥90%患者中,有 8 例(61.54%)存在低丰度的致病菌属;在乳杆菌含量<90%患者中,有 34 例(59.65%)存在不同丰度的致病菌属。两组的致病菌阳性率差异无统计学意义。

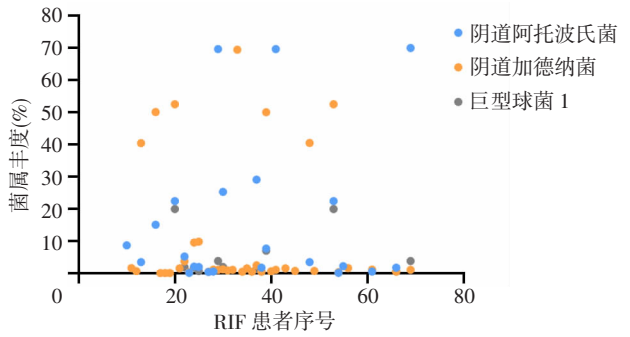


图 1 RIF 患者宫腔细菌性阴道病致病菌群的组成

3 讨论

ART 各个环节技术的不断优化及其个体化发展趋势,使得体外受精-胚胎移植(*in vitro* fertilization and embryo transfer, IVF-ET)的临床妊娠结局日益改善,但是胚胎的反复着床失败仍然是 IVF-ET 最大的难题之一。引起胚胎着床失败的原因是多方面的,但主要取决于患者年龄、胚胎质量和子宫内膜容受状态。随着实验室技术的发展,获得优质胚胎的概率已大幅度提升,子宫内膜状态亦成为提高辅助生殖结局的新突破口。通过改善内膜容受性、加强内膜与胚胎同步化以及降低内膜的免疫排斥反应,可以有效提高胚胎的着床率,而女性生殖道微生物群可能会影响全身及局部的免疫[7],从而影响内膜容受性等其他着床条件[8]。

早期由于微生物鉴定及取样方面的局限性,人们认为健康的宫腔内是无菌的。但近年来,利用 16SrRNA 测序技术对子宫内膜的检测结果已经证实在同一个体内阴道-子宫微生物群的存在及连续性,并明确了子宫腺肌病和子宫内膜异位症的潜在细菌标志物[9]。在现有的子宫内膜微生物取样途径中,经子宫颈取样适用人群最为广泛,常用方法包括子宫内膜钳取、导管吸取子宫内膜液[10]、子宫内膜拭子[11]或直接利用移植后导管顶端部分[12]进行取样,上述方法所获样本无可避免地混杂有较多的子宫内膜组织,也难以充分获取子宫内膜胚胎植入区域样本,对微生物群的分类与精准鉴定造成干扰。本研究将一次性宫颈取样刷应用于宫腔微生态检测中,该取样刷可以更高效地获取靠近子宫内膜胚胎植入区域的微生物群及其脱落细胞或代谢产物。并且在取样刷进入或退出宫腔的过程中,刷头处保护鞘覆盖,以避免宫颈或阴道污染,操作简单,患者接受度高,更能满足临床的需求。虽然关于子宫微生物群的研究越来越多,但现有研究主要集中在子宫内的微生物群对后代和新生儿免疫的影响等方面,子宫内膜菌群对生殖健康的重要性往往被忽视。

目前,病原菌影响胚胎着床的机制尚不清楚,可以认为子宫微生物菌群和局部免疫系统之间存在交叉调节。肠道微生物组学的研究经验表明[13],子宫微生物群可能潜在地调节着床所需的免疫细胞亚群。局部微生物群的变化可能会导致不同程度的子宫腔内病理事件发生[14],包括胚胎着床失败、妊娠并发症以及其他妇科疾病[15]。人类子宫内膜含有大量的免疫细胞,近年的研究表明[16],免疫细胞的表型和功能明显受到微生物菌群的影响,它可以通过其模式识别受体感知微生物的存在,从而建立宿主与微生物的相互作用。宿主和微生物菌群之间的动态平衡保障了子宫内膜对病原体定植的抵抗力[17],此外,它还在生殖过程中发挥关键作用[14],确保了对胎儿/父亲抗原、滋养层细胞侵入和血管重塑的局部免疫耐受。也有学者认为以非乳杆菌为主的微生物群可能会引发子宫内膜炎,从而降低胚胎植入的成功率[18]。另外,微生物的代谢物和相关酶产生的复合物可以通过影响滋养层细胞的迁移与血管重构,进而干扰子宫内膜与胚胎间相互作用的协同性[19]。也就是说,如果微生物及其代谢物在复杂的子宫环境中,干扰了任何一种生理作用,都可能影响胚胎着床。

乳杆菌是育龄期女性阴道微生物群落中的优势及关键菌属,其产生的乳酸及其他生物活性物质可抑制病原体生长、有助于维持生殖道局部稳态。而阴道用乳杆菌被认为是目前可以有效辅助恢复黏膜免疫的新

型、实用治疗策略[20]。已有研究通过16SrRNA基因测序技术确定了5种阴道微生物群落类型。有团队对胚胎移植导管尖端的微生物进行测序后发现[12],容受期子宫内膜以非乳杆菌占优势[21](乳杆菌丰度<90%或其他细菌丰度>10%),可能与不良妊娠结局相关,包括流产和早产。因而提出以乳杆菌为主的子宫内膜更易于接受胚胎植入。此外,有研究[22-23]推测肠杆菌、链球菌、葡萄球菌等潜在致病菌群的存在与胚胎种植率下降以及不良妊娠结局(如植入失败、自然流产及早产等)有一定相关性。本研究测序结果与分析显示,RIF患者检出致病菌阳性(即宫腔内至少存在1个菌属)检出率为58.57%(41/70),阳性菌群主要集中在阴道阿托波氏菌、阴道加德纳菌和巨球型菌1,这与既往针对不孕妇女的回顾性临床研究[24-25]的结果相符。本研究针对RIF患者,利用16SrRNA测序技术判断宫腔主要菌群以及宫腔内有无细菌性阴道病等致病菌,在移植前针对性用药,配合阴道用乳杆菌调整宫腔环境,与未评估宫腔环境用药预处理的RIF患者相比,其生化妊娠率(57.38% *vs* 27.85%,$P<0.05$)、胚胎着床率(21.57% *vs* 9.09%,$P<0.05$)、临床妊娠率(34.43% *vs* 13.92%,$P<0.05$)均显著提高。因此子宫内膜微生物检测对反复移植失败的患者具有重要意义。

子宫内膜容受性(endometrial receptivity,ER)是指子宫内膜允许囊胚定位、黏附、穿透、植入,并使胚胎在着床后继续发育的能力,其建立主要由雌、孕激素协调,通过直接和/或间接地转录和翻译调节,致子宫内膜细胞表型与功能变化。已有研究证实,对于不明原因的RIF患者,活检子宫内膜进行高通量测序,对比与容受性内膜特异性基因间有无表达差异,寻找个体化植入窗,对改善其妊娠结局具有重要意义。本研究试图联合宫腔微生态及子宫内膜容受性检测,实现对宫腔环境的精准评估,结合两者结果调整移植方案的RIF患者较对照组患者,生化妊娠率(66.67% *vs* 27.85%,$P<0.05$)、胚胎着床率(24.78% *vs* 9.09%,$P<0.05$)、临床妊娠率(39.39% *vs* 13.92%,$P<0.05$)均显著提高。此外,联合检测的试验B组其妊娠结局较仅行宫腔微生态检测的试验A组有所改善,但差异并无统计学意义,可能因为目前研究的样本数量仍较少,两者的关联性仍需深入探讨,尤其阴道-子宫微生物菌群与女性生育能力的相关性需要在大规模队列和数据模型研究中进一步深入分析。

综上所述,宫腔微生态联合子宫内膜容受期结果指导移植,对反复移植失败患者有明确意义,其中根据宫腔微生态检测结果指导阴道用乳杆菌等药物的预处理可以显著改善反复移植失败患者妊娠结局。ART结局受诸多因素影响,宫腔异常菌群的存在可能影响妊娠结局,其机制尚需深入研究,可为今后不孕症的临床决策提供依据和新思路。

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. DOI: 10.1007/s10815-012-9861-4.

[2] SIMON A, LAUFER N. Repeated implantation failure: clinical approach[J]. Fertil Steril, 2012, 97(5): 1039-1043. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2012.03.010.

[3] HARTON G L, MUNNÉ S, SURREY M, *et al*. Diminished effect of maternal age on implantation after preimplantation genetic diagnosis with array comparative genomic hybridization [J]. Fertil Steril, 2013, 100(6): 1695-1703. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2013.07.2002.

[4] YOUNES J A, LIEVENS E, HUMMELEN R, *et al*. Women and their micro bes: the unexpected friendship[J]. Trends Microbiol, 2018, 26(1): 16-32. DOI: 10.1016/j.tim.2017.07.008.

[5] FOX C, MORIN S, JEONG J W, *et al*. Local and systemic factors and implantation: what is the evidence? [J]. Fertil Steril, 2016, 105(4): 873-884. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2016.02.018.

[6] MOLINA N, SOLA-LEYVA A, SAEZ-LARA M, *et al*. New opportunities for endometrial health by modifying uterine microbial composition: present or future? [J]. Biomolecules, 2020, 10(4): 593. DOI: 10.3390/biom10040593.

[7] ZHOU J Z, WAY S S, CHEN K. Immunology of the uterine and vaginal mucosae[J]. Trends Immunol, 2018, 39(4): 302-314. DOI: 10.1016/j.it.2018.01.007.

[8] BENNER M, FERWERDA G, JOOSTEN I, *et al*. How uterine microbiota might be responsible for a receptive, fertile endometrium[J]. Hum Reprod Update, 2018, 24(4): 393-415. DOI: 10.1093/humupd/dmy012.

[9] CHEN C, SONG X, WEI W, *et al*. The microbiota continuum along the female reproductive tract and its relation to uterine-related diseases[J]. Nat Commun, 2017, 8(1): 875. DOI: 10.1038/s41467-017-00901-0.

[10] KYONO K, HASHIMOTO T, NAGAI Y, *et al*. Analysis of endometrial microbiota by 16S ribosomal RNA gene sequencing among infertile patients: a single-center pilot study[J]. Reprod Med Biol, 2018, 17(3): 297-306. DOI: 10.1002/rmb2.12105.

[11] FANG R L, CHEN L X, SHU W S, *et al*. Barcoded sequencing reveals diverse intrauterine microbiomes in patients suffering with endometrial polyps[J]. Am J Transl Res, 2016, 8(3): 1581-1592.

[12] FRANASIAK J M, WERNER M D, JUNEAU C R, *et al*. Endometrial microbiome at the time of embryo transfer: next-generation sequencing of the 16S ribosomal subunit[J]. J Assist Reprod Genet, 2016, 33(1): 129-136. DOI: 10.1007/s10815-015-0614-z.

[13] MCGUCKIN M A, LINDÉN S K, SUTTON P, *et al*. Mucin dynamics and enteric pathogens[J]. Nat Rev Microbiol, 2011, 9(4): 265-278. DOI: 10.1038/nrmicro2538.

[14] AGOSTINIS C, MANGOGNA A, BOSSI F, *et al*. Uterine immunity and microbiota: a shifting paradigm[J]. Front Immunol, 2019, 10: 2387. DOI: 10.3389/fimmu.2019.02387.

[15] MORENO I, SIMON C. Relevance of assessing the uterine-microbiota in infertility[J]. Fertil Steril, 2018, 110(3): 337-343. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2018.04.041.

[16] MONIN L, WHETTLOCK E M, MALE V. Immune responses in the human female reproductive tract[J]. Immunology, 2020, 160(2): 106-115. DOI: 10.1111/imm.13136.

[17] SCHNUPF P, GABORIAU-ROUTHIAU V, CERF-BENSUSSAN N. Modulation of the gut microbiota to improve innate resistance[J]. Curr Opin Immunol, 2018, 54: 137-144. DOI: 10.1016/j.coi.2018.08.003.

[18] CICINELLI E, MATTEO M, TINELLI R, *et al*. Prevalence of chronic endometritis in repeated unexplained implantation failure and the IVF success rate after antibiotic therapy[J]. Hum Reprod, 2015, 30(2): 323-330. DOI: 10.1093/humrep/deu292.

[19] BAKER J M, CHASE D M, HERBST-KRALOVETZ M M. Uterine microbiota: residents, tourists, or invaders? [J]. Front Immunol, 2018, 9: 208. DOI: 10.3389/fimmu.2018.00208.

[20] VALENTI P, ROSA L, CAPOBIANCO D, *et al*. Role of lactobacilli and lactoferrin in the mucosal cervicovaginal defense[J]. Front Immunol, 2018, 9: 376. DOI: 10.3389/fimmu.2018.00376.

[21] MORENO I, CODOÑER F M, 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. DOI: 10.1016/j.ajog.2016.09.075.

[22] HAAHR T, JENSEN J S, THOMSEN L, *et al*. Abnormal vaginal microbiota may be associated with poor reproductive outcomes: a prospective study in IVF patients[J]. Hum Reprod, 2016, 31(4): 795-803. DOI: 10.1093/humrep/dew026.

[23] HAAHR T, ZACHO J, BRÄUNER M, *et al*. Reproductive outcome of patients undergoing *in vitro* fertilisation treatment and diagnosed with bacterial vaginosis or abnormal vaginal microbiota: a systematic PRISMA review and meta-analysis[J]. BJOG, 2019, 126(2): 200-207. DOI: 10.1111/1471-0528.15178.

[24] WEE B A, THOMAS M, SWEENEY E L, *et al*. A retrospective pilot study to determine whether the reproductive tract microbiota differs between women with a history of infertility and fertile women[J]. Aust N Z J Obstet Gynaecol, 2018, 58(3): 341-348. DOI: 10.1111/ajo.12754.

[25] VERSTRAELEN H, VILCHEZ-VARGAS R, DESIMPEL F, *et al*. Characterisation of the human uterine microbiome in non-pregnant women through deep sequencing of the V1-2 region of the 16S rRNA gene[J]. PeerJ, 2016, 4: e1602. DOI: 10.7717/peerj.1602.

(**收稿**:2021-10-13;**修回**:2021-11-17)

(编辑 王 红)