

doi: 10.16118/j.1008-0392.2019.04.013

· 临床研究 ·

## 辅助生殖技术中低出生体重儿相关风险因素及 CFTR/HLA-G 相关性分析

王明雯, 王炎秋, 韦慧, 张迅轶, 纪亚忠, 童晓文

(同济大学附属同济医院生殖医学科, 上海 200065)

**【摘要】**目的 探讨辅助生殖技术中低出生体重(low birth weight, LBW)儿的相关风险因素及其影响机制。方法 回顾性分析2014年3月—2016年12月在同济大学附属同济医院生殖医学科接受辅助生殖技术助孕分娩的患者,用EXCEL软件建立数据库,计算机录入资料并整理数据后,采用 $\chi^2$ 检验及多因素Logistic回归分析等方法,探讨影响辅助生殖技术子代中LBW儿发生的危险因素及其影响机制。结果 女方免疫性不孕(OR=0.31)、男方少弱精(OR=2.843)、轻度子痫前期(OR=2.438)、妊娠期肝内胆汁淤积症(OR=0.478)、双胞胎(OR=1.728)、胎膜早破(OR=0.351)、短方案(OR=0.608)、分娩孕周(<37周,OR=5.018),均与LBW相关( $P<0.05$ )。HCG日低雌激素组( $E_2<3\ 000\text{ pg/mL}$ )的新生儿出生体重高于高雌激素组( $E_2>3\ 000\text{ pg/mL}$ );鲜胚组新生儿体质量低于冻胚组;自然妊娠组新生儿体质量高于鲜胚和冻胚组;差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。新鲜周期妊娠组卵泡液中囊性纤维化跨膜转导调节因子(cystic fibrosis transmembrane conductance regulator, CFTR)浓度和新生儿体质量呈负相关,可溶性人白细胞抗原-G(soluble human leucocyte antigen G, sHLA-G)浓度和新生儿体质量呈正相关。结论 女方免疫性不孕、男方少弱精症、轻度子痫前期、妊娠期胆汁淤积症、双胞胎、胎膜早破、短方案、分娩孕周(<37周)均与辅助生殖技术子代LBW密切相关。HCG日雌激素水平低于 $3\ 000\text{ pg/mL}$ 的新生儿体质量较高。卵泡液中适宜的CFTR和sHLA-G水平是影响ART新生儿体质量的重要因素。

**【关键词】**辅助生殖技术;低出生体重;危险因素;产科结局;鲜胚移植

**【中图分类号】**R711.6 **【文献标志码】**A **【文章编号】**1008-0392(2019)04-0469-05

### Risk factors associated with low birth weight infants in assisted reproduction

WANG Ming-wen, WANG Yan-qiu, WEI Hui, ZHANG Xun-yi, JI Ya-zhong, TONG Xiao-wen

(Center of Reproductive Medicine, Tongji Hospital, Tongji University School of Medicine, Shanghai 200065, China)

**【Abstract】 Objective** To investigate the risk factors of low birth weight infants in assisted reproduction (ART). **Methods** Clinical data of 54 patients who received assisted reproduction and had successful childbirth in Tongji Hospital affiliated Tongji University from March 2014 to December 2016 were retrospectively analyzed. multi-factor Logistic were used. The risk factors associated low birth weight infants were analyzed with multivariate Logistic regression. **Results** Female immune infertility (OR = 0.31), male oligospermia and asthenospermia (OR = 2.843), mild preeclampsia (OR = 2.438), intrahepatic cholestasis of pregnancy (OR = 0.478), twins (OR = 1.728), premature rupture of membranes (OR = 0.351), short regimen (OR = 0.608), gestational weeks of delivery (< 37 weeks, OR = 5.018) were associated with low birth weight of infants ( $P<0.05$ ). The neonatal birth

收稿日期: 2018-11-17

基金项目: 上海市科学技术委员会重点实验室项目(17DZ2273600); 同济大学“中央高校基本科研业务费专项资金”(22120170059)

作者简介: 王明雯(1991—), 女, 博士研究生. E-mail: 2069230143@qq.com

通信作者: 童晓文. E-mail: xiaowen\_tong@yahoo.com

weight of the low estrogen on HCG day group ( $E_2 < 3\ 000\ \text{pg/mL}$ ) was higher than that of the high estrogen group ( $E_2 > 3\ 000\ \text{pg/mL}$ ); the fresh embryo group had lower body weight than the frozen embryo group; the body weight of neonates in the natural pregnancy group was higher than that in the fresh embryo and frozen embryo group (All  $P < 0.05$ ). The CFTR concentration in the follicular fluid of the fresh cycle pregnancy group was negatively correlated with the body weight of the newborns, and the concentration of sHLA-G was positively correlated with the body weight of the newborns.

**Conclusion** Female immune infertility, male oligozoospermia, mild preeclampsia, intrahepatic cholestasis of pregnancy, twins pregnancy, premature rupture of membranes, gestational age less than 37 weeks and short-term protocol are closely related to low birth weight of assisted reproductive offspring. The body weight of newborns in mother with  $E_2$  level below  $3\ 000\ \text{pg/mL}$  on HCG day trends to be larger. The appropriate levels of CFTR and sHLA-G in follicular fluid are affecting the body weight of ART newborns.

**【Key words】** assisted reproductive technology; low birth weight; risk factor; obstetric outcome; fresh embryo transfer

自1988年国内首例试管婴儿诞生以来,辅助生殖技术(assisted reproductive technology, ART)不断向前发展,ART已经成为治疗不孕不育症的最主要手段。自ART诞生起,其子代安全性一直是国内外专家关注的焦点。目前的共识是相比于自然妊娠,ART子代的围产期结局不尽如人意。低出生体质量(low birth weight, LBW)是最常见的ART子代异常<sup>[1]</sup>,LBW是指出生体质量 $< 2\ 500\ \text{g}$ 的活产新生儿。新生儿体质量是衡量胚胎发育营养环境的基础参数,胚胎期发育不良会导致成年后心血管疾病和2型糖尿病发病率增高<sup>[2]</sup>。LBW不仅与儿童神经发育障碍密切相关,还是导致成年糖尿病和心血管疾病的独立风险因素,其发生机制目前尚不清楚。有学者认为受干扰的内分泌环境可能会影响胚胎的发育,进而干扰胎儿的生长,甚至导致患儿在今后的生活中诱发成人慢性疾病<sup>[3]</sup>。本研究对ART子代进行随访分析,探讨LBW儿发生的危险因素及其相关影响机制。

## 1 资料和方法

### 1.1 一般资料

收集2014年3月—2016年12月在同济大学附属同济医院生殖医学中心接受ART治疗的患者,入选标准包括患者BMI评分范围是 $18.5 \sim 25\ \text{kg/m}^2$ ,排除本身染色体异常,对符合条件的对象设为ART组,并且进一步根据新生儿出生体质量分为正常体质量儿组和LBW儿组,进行回顾性分析。

进一步根据不同年龄将ART患者分为3组,分别为低龄组( $\leq 34$ 岁),中龄组(35~39岁),高龄组( $\geq 40$ 岁)。将新鲜胚胎移植周期人绒毛膜促性腺激素(human chorionic gonadotropin, HCG)日血清 $E_2$ 水平<sup>[4]</sup>分为低雌激素(Low- $E_2$ )组( $E_2 < 3\ 000\ \text{pg/mL}$ ),高雌激素(High- $E_2$ )组( $E_2 \geq 3\ 000\ \text{pg/mL}$ )。随机选取同期在同济大学附属同济医院自然分娩单胎足月新生儿823例为对照组(自然妊娠组)。

选取2014年1月—2016年12月期间的新鲜周期移植患者194例,患者平均年龄( $33.2 \pm 2.9$ )岁,其中有10例因孕酮值过高、内膜发育不同步(6例)、全胚冷冻(60例)、卵巢过度刺激征(4例),取卵日当天发热(2例),未取到卵(2例),取消移植。成功妊娠54例,纳入研究。采用双抗体夹心ABC-ELISA法测定卵泡液中囊性纤维化跨膜转导调节因子(cystic fibrosis transmembrane conductance regulator, CFTR)、可溶性人白细胞抗原-G(soluble human leucocyte antigen G, sHLA-G)的浓度,研究新生儿出生体质量和卵泡液中的CFTR和sHLA-G浓度的相关性。

### 1.2 LBW儿的标准<sup>[5]</sup>

LBW儿标准为新生儿体质量 $< 2\ 500\ \text{g}$ 。LBW儿多由孕母的宫内环境、胎盘因素或者胎儿本身因素引起。

### 1.3 统计学处理

Excel软件建立数据库,对病例中未能明确或缺失的研究内容,再次电话询问本人并将所需数据录

入;核查数据无误后将数据导入 SPSS 23.0 统计软件进行分析;单因素分析筛选的影响因素采用  $\chi^2$  检验,检验水准  $\alpha = 0.05$ ;多因素分析采用多因素 Logistic 回归分析,以向后逐步筛选法进行自变量筛选,计算 OR 值。计量资料结果以  $\bar{x} \pm s$  或率 (%) 表示,计数资料比较采用  $\chi^2$  检验,当计量资料不服从正态分布时采用秩和检验。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。新生儿体质量与卵泡液中 CFTR 和 sHLA-G 的水平关系采用 Pearson 直线相关分析。

## 2 结 果

### 2.1 基本情况

研究共纳入 1 538 例 ART 新鲜周期新生儿,其中男 755 例(49.1%),女 783 例(50.9%),LBW 儿 379 例。(24.64%) 671 例冻胚移植周期新生儿, LBW 儿 144 例(21.46%)。823 例自然妊娠新生儿作为对照组。本研究中自然妊娠组巨大儿 35 例,其中鲜胚组 85 例,冻胚组巨大儿 41 例,剔除统计。

### 2.2 ART 新生儿体质量与自然妊娠比较

鲜胚移植周期组分别与冻胚移植周期组比较,3 个不同年龄组的新生儿体质量,冻胚新生儿体质量均大于鲜胚新生儿体质量,其中低龄组新生儿体质量差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),见表 1。低龄组和中龄组中自然妊娠组(NC)的新生儿体质量均大于鲜胚组和冻胚组,见表 2。高龄组样本较少,未进行统计学分析。

表 1 鲜胚组与冻胚组新生儿体质量的比较  
Tab.1 Comparison of body weight between fresh embryo and frozen embryo (g)

组别	鲜胚 (n=1453)	冻胚 (n=630)	P
低龄组	2 976±708	3 160±696	0.022
中龄组	3 073±729	3 342±796	0.428
高龄组	3 192±567	3 064±651	0.350

表 2 鲜胚组和冻胚组的新生儿体质量分别与自然妊娠组比较  
Tab.2 Comparison of neonatal weight between fresh embryo group and frozen embryo group and natural pregnancy group (g)

组别	冻胚组 (n=630)	鲜胚组 (n=1 453)	自然妊娠组 (n=788)	$P_1$	$P_2$
低龄组	3 032±698	3 012±368	3 370±522	0.000	0.000
中龄组	3 150±756	3 058±169	3 492±593	0.047	0.008

$P_1$ : 冻胚组 vs 自然妊娠组;  $P_2$ : 鲜胚组 vs 自然妊娠组

### 2.3 HCG 日雌激素水平对新生儿体质量的影响

中龄组(35~39 岁)ART 产妇 HCG 日  $E_2$  低于 3 000 pg/mL 时,新生儿体质量大于  $E_2 > 3 000$  pg/mL 的 ART 产妇,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。故 HCG 日 ART 女性患者的高  $E_2$  水平会影响新生儿出生体质量。

### 2.4 单因素分析

分析两组在年龄、女方不孕因素、男方不育因素、促排卵方案、妊娠合并症、胎儿数目、差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),见表 3。无论单胎或者双胎, LBW 组和正常体质量组胎膜早破的发生率差异没有统计学意义( $P > 0.05$ )。

表 3 ART 新生儿 LBW 危险因素单因素分析  
Tab.3 Single factor analysis of risk factors for low birth weight in ART neonates

变量	低体质量儿组	正常出生体质量儿组	F	P
年龄/岁				
<34	331	934	9.051	0.011
35~39	42	185		
≥40	6	38		
女方不孕因素				
盆腔炎性疾病后遗症	281	796	27.080	0.001
输卵管功能障碍				
多囊卵巢综合征	41	103		
子宫内膜异位症	13	32		
卵巢储备功能下降	29	187		
免疫性不孕症	6	4		
不明原因不孕症	8	34		
男性不育因素				
严重少弱精症	20	69		
少弱精症	79	148		
畸精症	13	24		
弱精症	33	25		
排精障碍	11	21	85.186	0.000
梗阻性无精子症	11	10		
死精症	0	1		
其他	9	6		
无	203	853		
促排卵方案				
长方案	255	662	13.178	0.01
超长方案	56	198		
拮抗剂	44	188		
短方案	24	108		
微刺激	0	1		
分娩孕周/周				
≤37	345	593	192.785	0.000
38~42	31	556		
≥43	3	8		
妊娠期合并症				
轻度子痫前期	50	26		
妊娠期肝内胆汁淤积症	33	35		
胎膜早破	32	29		

(续表 3)

变量	低体质量儿组	正常出生体质量儿组	F	P
分娩方式				
产钳	1	2		
剖宫产	276	559	69.797	0.000
自娩	102	595		
胎儿数目				
单胎	175	693		
双胎	204	461	23.385	0.000
三胎	0	3		

### 2.5 多因素分析

将单因素分析筛出的变量纳入非条件 Logistic 回归模型进一步分析,结果显示免疫性不孕、少弱精症、产时合并子痫、产时合并胎盘早剥、胎膜早破、早产可增加 LBW 儿发生的危险性,见表 4。

表 4 ART 新生儿 LBW 危险因素多因素 Logistic 回归分析结果

Tab.4 Results of multivariate logistic regression analysis of risk factors for low birth weight of ART neonates

变量	β 值	SE 值	Wald 值	OR 值(95%CI)
免疫性不孕	-1.173	0.472	6.166	0.310(0.026~0.337)
少弱精症	1.045	0.444	5.530	2.843(0.312~0.973)
短方案	-0.498	0.183	7.415	0.608(0.034~1.843)
胎儿数目(双胎)	0.547	0.142	14.888	1.587(1.225~2.006)
轻度子痫前期	0.891	0.388	5.287	2.438(0.251~0.959)
妊娠期肝内胆汁淤积症	-0.738	0.313	5.570	0.478(0.112~0.614)
胎膜早破	-1.048	0.295	12.616	0.854(0.428~1.707)
剖宫产	0.090	0.160	35.083	2.587(0.269~3.448)
孕周(<37 周)	2.395	0.412	26.233	2.018(1.044~3.066)

### 2.6 卵泡液中 CFTR、sHLA-GS 水平与新生儿体质量相关性

54 例患者卵泡液中的 CFTR 浓度为(79.64±25.05) ng/mL,与新生儿体质量相关系数为-0.274。sHLA-G 浓度为(4.49±2.67) ng/mL,相关系数为 0.192。表示新鲜周期妊娠组卵泡液中 CFTR 浓度和新生儿体质量成负相关,sHLA-G 抗原浓度和新生儿体质量呈正相关。

## 3 讨论

目前研究认为,ART 妊娠在多胎、早产、LBW、出生缺陷等多方面都与自然妊娠存在差异,可能增加子代不良健康结局的风险。如 ART 新生儿多胎

出生率为 46%<sup>[6]</sup>,明显高于自然受孕人群,且妊娠期并发症如妊娠期高血压疾病和糖尿病的发生率均高于自然受孕孕妇。

### 3.1 ART 相关的临床多因素分析

本研究通过对接受 ART 治疗并分娩的孕妇进行多因素分析。发现女性免疫性不孕、男性少弱精症、短方案、双胎妊娠、轻度子痫前期、妊娠期肝内胆汁淤积症、胎膜早破、HCG 日的 E<sub>2</sub> 水平,孕周(<37 周)均是 LBW 儿的影响因素。且 ART 新生儿体质量低于自然妊娠,而其冻胚移植周期的新生儿体质量高于鲜胚。

本研究中 ART 过程中鲜胚移植的高雌激素水平与 LBW 的显著相关。冻胚移植的子代可能拥有与自然受孕相似的产科结局。冻胚移植可以避免取卵周期导致的高雌激素内环境的不良影响,若胚胎复苏后状态良好,则有较满意的着床率和持续妊娠率<sup>[7-8]</sup>,这可能也是其胎儿出生体质量大于鲜胚周期的因素之一。

国内陈子江教授团队针对 2 157 名多囊卵巢综合征患者的多中心随机对照试验,结果发现,冻胚周期的异位妊娠率和早产率降低;临床妊娠率、生化妊娠率、种植率则无明显差异。而且,冷冻胚胎移植组的患者发生中重度卵巢过度刺激综合征的风险明显比低于新鲜胚胎移植组。本研究中,解冻胚胎移植后新生儿体质量大于鲜胚,且差异有统计学意义。故对于卵巢过度刺激综合征风险患者,推荐行冻融胚胎移植。

本研究发现,胎膜早破是造成新生儿低体质量的重要原因。可能由于妊娠期羊膜腔压力增加;不孕症患者的盆腔手术史,输卵管炎症等相关后遗症,诱发宫缩,引起早产,使 LBW 儿出生率增加。方差分析结果提示单胎或者双胎不影响胎膜早破疾病的发生率,故胎膜早破与 ART 双胎无必然联系。这与既往研究结果并不一致。

故对于 ART 孕妇,加强对其孕期的管理及监测,及早发现其可能影响子代结局的并发症,如胎膜早破、妊高症、双胎等,及早进行干预。对于盆腔手术史患者孕前进行抗炎,甚至手术等对症治疗,以降低其手术后遗症及远期并发症。

### 3.2 CFTR/HLA-G 与 LBW 相关性分析

CFTR 水平与 LBW 发生呈负相关。CFTR 是

一种重要的离子通道,在人类生殖道的上皮细胞广泛表达。作为女性子宫中的唯一  $\text{Cl}^-$  通道,调节宫颈、宫腔的液体分泌,在精子的获能、游走、卵子受精、胚胎着床等生殖活动中承担不可替代的作用。在前期的研究<sup>[9]</sup>中发现,卵泡液中的 CFTR 参与输卵管因素不孕症的发生,可能会成为预测胚胎质量的一种补充指标。

本研究对比了患者卵泡液中的 CFTR 水平和新生儿出生体质量,结果显示,CFTR 水平升高,则新生儿体质量偏低,提示合适水平的 CFTR 对胚胎的早期发育有利,高水平的 CFTR 可能影响卵母细胞的受精能力,不利于胚胎的进一步发育与种植,最终影响妊娠结局,导致 LBW 的发生。

sHLA-G 水平与 LBW 呈正相关。sHLA-G 是位于 6 号染色体短臂的一类免疫耐受分子,选择性高表达于母胎界面绒毛膜外滋养细胞,对母胎免疫耐受和维持正常妊娠有重要作用,其多态性或表达异常与胚胎早期发育、IVF 妊娠结局、多种妊娠相关疾病有关(先兆子痫、复发性流产、胚胎停育等)<sup>[10]</sup>。sHLA-G 表达于胎盘植入期,绒毛膜外滋养层通过子宫蜕膜向子宫螺旋动脉靠近的过程中,滋养层损伤动脉壁,使胎儿从母体获得足够的血流供应。sHLA-G 表达降低影响胎儿从母体获得足够血供。

本研究中发现免疫性不孕、先兆子痫是 LBW 儿的风险因素之一。先兆子痫是一种常见的产科综合征,其病理学特征是胎儿滋养层侵入母体蜕膜螺旋动脉缺乏或程度不足。既往研究发现,母体内的  $\text{E}_2$  水平可以上调滋养层细胞中的 HLA-G 的水平,HLA-G 参与胚胎发育及妊娠的整个过程。结合既往关于  $\text{E}_2$  对 HLA-G 的调节作用研究,ART 过程中的高  $\text{E}_2$  通过调节 HLA-G 表达,参与妊娠并发症及 LBW 的发生。男性不育因素,如男性少弱精症与 LBW 的关系另行讨论。

综上所述,在实施 ART 前,应对患者的具体情况进行综合评估,控制移植胚胎数目,对于低龄患者,尽量选择性单胚胎移植,以减少母儿并发症的发生。早期通过检测卵泡生长微环境中 CFTR 和 sHLA-G 水平,进行早期干预,从而改善临床结局。由于时间仓促,本研究未能追踪到 CFTR 和 HLA-G 在卵泡液中的不同水平的子代长期结局,且样本量

相对偏少,尚待进一步追踪随访,完善 LBW 儿影响机制的研究。

## 【参考文献】

- [ 1 ] SAZONOVA A, KÄLLEN K, THURIN-KJELLBERG A, et al. Obstetric outcome after *in vitro* fertilization with single or double embryo transfer [ J ]. *Hum Reprod*, 2011, 26( 2 ): 442 - 450.
- [ 2 ] LIBERMAN R F, GETZ K D, HEINKE D, et al. Assisted reproductive technology and birth defects: effects of subfertility and multiple births [ J ]. *Birth Defects Res*, 2017, 109( 14 ): 1144 - 1153.
- [ 3 ] GRIESINGER G, SCHULTZ L, BAUER T, et al. Ovarian hyperstimulation syndrome prevention by gonadotropin-releasing hormone agonist triggering of final oocyte maturation in a gonadotropin-releasing hormone antagonist protocol in combination with a "freeze-all" strategy: a prospective multicentric study [ J ]. *Fertil Steril*, 2011, 95( 6 ): 2029 - 2033, 2033.e1.
- [ 4 ] PEREIRA N, ELIAS R T, CHRISTOS P J, et al. Supraphysiologic estradiol is an independent predictor of low birth weight in full-term singletons born after fresh embryo transfer [ J ]. *Hum Reprod*, 2017, 32 ( 7 ): 1410 - 1417.
- [ 5 ] 董景五主译.北京协和医院世界卫生组织国际分类家族合作中心.疾病和有关健康问题的国际统计分类—第一卷—类目表[M].北京:人民卫生出版社,2008.
- [ 6 ] SUNDERAM S, KISSIN D M, CRAWFORD S B, et al. Assisted reproductive technology surveillance—United States, 2015 [ J ]. *MMWR Surveill Summ*, 2018, 67( 3 ): 1 - 28.
- [ 7 ] 沈智君,张迅轶,杨峰,等.冷冻胚胎复苏后发育情况与妊娠结局的关系 [ J ]. *同济大学学报(医学版)*, 2019, 40( 1 ): 77 - 81.
- [ 8 ] MAHESHWARI A, PANDEY S, AMALRAJ RAJA E, et al. Is frozen embryo transfer better for mothers and babies? Can cumulative meta-analysis provide a definitive answer? [ J ]. *Hum Reprod Update*, 2018, 24 ( 1 ): 35 - 58.
- [ 9 ] 韦慧,王炎秋,张迅轶,等.不同年龄不孕患者卵泡液中 CFTR 水平与卵子及胚胎发育结局的关系 [ J ]. *同济大学学报(医学版)*, 2018, 39( 5 ): 60 - 65.
- [ 10 ] 陈鹏,史琳,杨红梅,等.妊娠期高血压、子痫前期及子痫与孕前和孕期体质量及其他因素的相关性研究 [ J ]. *实用妇产科杂志*, 2017, 33( 11 ): 848 - 852.