

辅助生殖助孕中反复种植失败的研究进展

陈巧莉, 叶虹, 刘卫卫

(重庆市妇幼保健院生殖与遗传研究所, 重庆 400013)

【摘要】在辅助生殖技术不断发展、妊娠率显著提高的今天, 一个新的挑战已经出现: 反复种植失败 (repeated/recurrent implantation failure, RIF), 它给患者夫妇身心及经济均带来极大负担, 但 RIF 病因复杂性, 目前尚无 RIF 的诊治共识, 诊断标准的不统一也影响对临床治疗措施有效性的观察和研究, 本文就近年来反复种植失败的研究进展进行探讨和归纳总结, 以期为基础研究和临床治疗提供参考。

【关键词】反复种植失败; 体外受精-胚胎移植

【中图分类号】R698.2

【文献标志码】A

【收稿日期】2018-12-09

Advances of repeated/recurrent implantation failure in reproductive medicine

Chen Qiaoli, Ye Hong, Liu Weiwei

(Reproductive and Genetic Research Institute, Chongqing Health Center for Women and Children)

【Abstract】Advances in reproductive medicine have significantly increased the success of fertility treatments. Nevertheless, a new challenge has emerged: recurrent implantation failure (RIF). RIF brings mental stress and heavy economic burden to patients. There is no uniform definition of RIF, and it is a complex problem with several variables. The exact prevalence rate of RIF was difficult to determine because of the varied definitions used to describe the disease. This paper aims to present the history of RIF and focuses on the application.

【Key words】recurrent/repeated implantation failure; *in vitro* fertilization and embryo transfer

1 反复种植失败的定义

反复种植失败 (repeated/recurrent implantation failure, RIF) 仅适用于辅助生殖助孕患者, 指多次将胚胎移植入子宫后无 B 超可检测到的孕囊形成, 可以是胚胎不能粘附或侵入子宫内膜, 也可以是胚胎有着床但无孕囊形成, 部分患者可通过检查血清/尿 HCG 水平发现, 称为生化妊娠。2003 年, Stern 等^[1]将累积植入胚胎数 10 枚以上且未获临床妊娠定义为 RIF, 这与当时较低的体外受精-胚胎移植 (*in vitro* fertilization and embryo transfer, IVF) 妊娠率有关, 有部分学者提出 FET

种植率明显低于鲜胚周期, 不应计入 RIF 周期数, 这一观点也随着 FET 成功率提高而淘汰^[2]。总之, 随着 IVF-ET 技术的发展, RIF 在移植周期总数和累计植入胚胎数的规定也相应变化, 目前临床上较为公认的 RIF 定义为 2012 年 Simon 和 Laufer^[3]提出的: 接受 3 次及以上胚胎移植周期 (包括新鲜及冷冻移植周期), 每次植入 1、2 枚优质胚胎而未获临床妊娠以及 2014 年 Coughlan 等^[4]提出的: 40 岁以下的妇女, 接受 3 次及以上胚胎移植周期 (包括新鲜及冷冻移植周期), 累积移植至少 4 枚卵裂期优质胚胎而未能获得临床妊娠。2018 年 Somiqliana 等^[5]通过数学模型推断出: 基于不高的 IVF 成功率, 在一个预后良好的标准人群中, 3 个助孕周期后 RIF 的假阳性诊断率仍 >50%, 经过 6 个助孕周期后诊断才变得可靠, 认为用“3 次助孕失败”定义 RIF 会导致过度诊断, 并有可能导致过度治疗。总的来说, 现有建议的定义均来源于文献及专家意见, 缺乏坚实的科学依据。

根据 RIF 的定义, 还可以区分 RIF 与反复 IVF 失败: 后一种情况指几次体外受精助孕后未能妊娠, 常见原因是: 卵巢刺激反应不良, 次级胚胎质量、高龄和子宫因素等, RIF 是反

作者介绍: 陈巧莉, Email: wy_cql@163.com,

研究方向: 辅助生殖。

通信作者: 叶虹, Email: yehong1210@163.com。

基金项目: 重庆市科卫联合医学科研项目 (编号: 2018MSXM030、2018MSXM034)。

优先出版: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20190510.1501.034.html>
(2019-03-18)

复 IVF 失败的一个亚组^[6]。

2 反复种植失败的相关因素及处理措施

RIF 的发生与胚胎质量、子宫因素、免疫功能异常、血栓前状态、内分泌因素及精神状态等诸多因素有关,其病因主要归纳为 3 类:胚胎异常或发育缺陷;子宫内膜容受性低下;其他多因素影响(如输卵管积液、精神因素、胚胎移植技巧等)。在病因诊断过程中需要进行一系列针对性的筛查,再根据具体原因进行相应处理,主要治疗策略则是提高移植胚胎的质量,改善子宫内膜的容受性。

2.1 影响胚胎质量的因素及对策

2.1.1 卵子/精子质量 2017 年美国疾病控制和预防中心公布的数据显示:2015 年美国<35 岁的妇女新鲜周期和冷冻周期胚胎种植率分别为:41.3%和 47.1%,明显高于>44 岁组(1.9%和 16.2%),差异有统计学意义;但接受供卵助孕的患者新鲜周期和冷冻周期胚胎种植率分别为:53.6%和 40.2%,各年龄组间均无显著性差异^[7],提示妊娠率与妇女的年龄关系密切^[8],年龄是影响胚胎着床的重要因素。也有研究发现:女性 26 岁以后卵子染色体异常的比例就开始增加,年龄越大,卵子染色体异常的概率越大^[9],进一步证实:胚胎质量随母亲年龄的增加而下降。此外甲状腺疾病、肥胖、糖尿病、多囊卵巢综合征(polycystic ovarian syndrome,PCOS)等内分泌代谢疾病,同样会影响卵母细胞质量,使胚胎发育潜能受损,导致种植失败。已有研究发现,与 IVF 成功妊娠的妇女相比,RIF 妇女能量代谢、脂质代谢和精氨酸代谢的有关代谢物均有显著变化^[9],PCOS 患者获卵数较多但卵母细胞质量下降,表现为受精率及卵裂率低,流产率高,其原因可能与高雄激素导致卵母细胞内线粒体 DNA 拷贝数、线粒体膜功能受损等有关^[10]。而抗核抗体、抗磷脂抗体、抗甲状腺抗体等自身抗体升高或阳性的患者卵母细胞成熟率、胚胎卵裂率也较正常患者低,提示自身抗体也可能影响卵母细胞和胚胎的发育潜能^[11]。因此,不孕症应早诊断,积极规范治疗,避免因患者治疗不及时导致年龄增大而影响卵子质量,而助孕前内分泌疾病的治疗有利于改善助孕结局,此外个体化的超排卵方案,也有助于获得高质量的卵子^[6]。

精子质量也会影响胚胎质量:在 1 项大样本量研究中发现:RIF 组中,男性不育比例占 48%^[12]。当精子 DNA 损伤程度超过卵细胞的修复能力时可能诱发凋亡,或因需激活更多的修复途径而使卵裂延迟出现、胚胎发育异常或形成外观正常但有内在缺陷的胚胎^[13]。精子 DNA 碎片过高者可先行抗氧化治疗、精液优化治疗以及中药治疗等,Bradley 等^[14]发现:曲细精管内精子 DNA 损伤低于附睾尾和射精精子,精子 DNA 损伤程度高的男性采用睾丸精子受精后妊娠率和流产率均有显著改善,对男方畸精症的 RIF 患者则建议采用卵浆内形态选择后单精子注射技术选择形态上较为正常的精子^[15],慢

性生殖器感染男性助孕前抗感染治疗有助于改善精子质量。

2.1.2 胚胎遗传物质异常或发育缺陷 胚胎遗传物质异常是复发性流产最常见的原因,流产发生越早,其胚胎染色体异常的发生率越高^[16]。Sutter 等^[17]发现:RIF 患者染色体易位、倒置和缺失等异常比例比一般人群更常见,发病率为 2%左右,其中以染色体易位最常见。2017 年 Kort 等^[18]采用胚胎种植前遗传学检查(preimplantation genetic diagnosis,PGD)检测了 18 387 个胚胎,结果也显示:既往有 IVF 失败的患者中,胚胎非整倍体率明显增高。因此,筛选出正常的胚胎实施移植,是提高 RIF 患者妊娠率的关键之一,但目前主要采用胚胎形态学评分来评估胚胎质量,这些形态学指标不能准确反映胚胎遗传物质是否正常,有一定局限性。PGD 能弥补这一不足,该技术能选择出遗传物质正常的胚胎实施移植,可有效改善 RIF 患者胚胎种植率、降低流产率^[19]。2018 年我国《胚胎植入前遗传学诊断与筛查实验室技术指南的种植前遗传学筛查技术指南》已将反复助孕失败患者列入该技术的适应证^[20]。近年来,胚胎学家还开始尝试检测胚胎发育过程中释放到培养液中的游离基因组 DNA 和线粒体 DNA,这一技术很可能成为无创胚胎选择的一个发展方向,一定程度上解决因为胚胎数量少,无法行 PGD 的困扰,但该技术尚不成熟。新开展的胚胎实时成像系统培养则是根据基因表达对胚胎各阶段发育的调控关系,选择出最具发育潜能的胚胎,目前实验室数据尚在积累中。现阶段,临床上推荐对 RIF 患者实施囊胚移植,有研究显示^[21]:发育潜能差及染色体异常的胚胎大多表现为由卵裂期向囊胚期发育缓慢或阻滞,囊胚染色体整倍体率(42%)明显高于卵裂期胚胎(24%),囊胚的形成反映胚胎具有良好的发育潜能。RIF 患者行囊胚移植后着床率显著提高^[22]。此外,透明带的异常导致胚胎不能孵出,也是植入失败的原因,因此,2014 年美国生殖医学协会建议两次以上失败的 IVF 患者实施辅助孵化技术^[23]。

2.2 导致子宫内膜容受性低下的因素及对策

2.2.1 子宫结构异常 胚胎种植需要良好的子宫环境,研究显示 RIF 患者宫腔异常发生率可达 25%~50%^[24],影响妊娠的子宫结构异常主要包括:子宫纵膈(无论大小)、子宫内膜息肉、宫腔粘连、子宫粘膜下肌瘤、子宫腺肌症、子宫肌瘤(造成宫腔压迫)等,估计与其破坏了宫腔内结构环境,造成胚胎转运障碍,影响内膜血流有关。宫腔镜是检查和处理宫腔因素的金标准,能够发现其他检查可能遗漏的宫内病变,多数研究建议:RIF 患者在接受下一个助孕周期前先行宫腔镜检查,排除/治疗宫腔病变后再助孕,妊娠率可显著提高^[25-26]。2018 年 1 项纳入 4 143 例 RIF 患者的宫腔镜手术荟萃分析也显示:宫腔镜检查可以潜在地提高 RIF 患者的妊娠结局^[27]。英国 Bourn Hall 诊所已将反复胚胎移植失败(≥ 3 次)列入宫腔镜检查的适应证^[28]。

2.2.2 种植窗个体差异 子宫内膜只有在周期特殊时期具备对胚胎的接受能力,也就是种植窗,通常是排卵后 7~10 d,

正常月经周期第 22~24 天^[29],种植窗具有个体差异,70%的可能在促黄体生成素峰的第 7 天或孕酮升高的第 5 天;另 30%在促黄体生成素峰的第 5~9 天或孕酮升高的第 3~7 天,而统一的胚胎移植时间可能导致少部分患者因种植窗的差异,在子宫内膜形态及组织学完全正常的情况下植入优质胚胎而不能着床^[30]。为精准判断种植窗,目前临床上推荐“个体化胚胎移植策略”:根据子宫内膜容受状态和种植窗进行胚胎移植,主要方法包括:子宫内膜容受性芯片检测^[31]、容受因子检测(主要包括:整合素、血小板抑制因子、HOX10 等)^[32]、胞饮突电镜检测、子宫内膜分泌组学、子宫内膜组织学检查等方法,以准确分析内膜的不同阶段,选择最佳的胚胎植入时机。也有研究尝试对 RIF 患者实施序贯胚胎移植(同一周期,将卵裂期胚胎和囊胚按顺序先后进行移植)或混合胚胎移植法(同时植入卵裂期及囊胚期胚胎各 1 枚)^[33],以解决种植窗判断不精准导致的种植失败。

2.2.3 薄型子宫内膜 薄型子宫内膜也是导致子宫内膜容受性下降的原因,已有大量研究证实:子宫内膜厚度直接影响妊娠率,超声检查评估子宫内膜厚度、形态和血流仍是体外受精中预测妊娠率的有效方法^[34],虽然目前对影响妊娠率的内膜厚度阈值还没有共识,但 7 mm 的子宫内膜厚度似乎是大多数研究定义的临界值,但也有建议 6 mm、8 mm 为 cut-off 值,多数研究发现:子宫内膜 $\leq 7\sim 8\text{cm}$,妊娠率会出现下降趋势^[35-36]。薄型子宫内膜可由多种因素引起,最常见的是炎症和医源性,子宫内膜血管密度低和血清低雌二醇值也会导致子宫内膜生长不良,一些女性的子宫内膜也可能先天性较薄。许多治疗方法都试图改善难治性薄型子宫内膜,但效果有限。目前,循证医学还没有对任何特定的治疗方法进行验证,临床上最常用的治疗方法有:延长或增加雌激素补充,使用增加子宫内膜血流量的药物(西地那非、阿司匹林等),粒细胞集落因子(G-CSF)/自体血小板血浆宫腔内输注等,但这些疗法都没有取得多大成功^[35]。

2.2.4 感染因素 多项研究表明 RIF 还与慢性子宫内膜炎(chronic endometritis, CE)和子宫内膜细菌定植有关。Kitaya 等^[37]研究发现,宫腔镜检查的 421 例 RIF 患者中,142 例(33.7%)子宫内膜活检病理检查诊断为慢性子宫内膜炎。Cicinelli 等^[38]报道:CE 治愈后再次 IVF 助孕活产率高达 61%,未能治愈者仅 13%。宫腔镜是诊断 CE 的一个有效工具,但需结合免疫组织化学和病理诊断以提高其诊断的准确性。2018 年 Moreno 等^[39]报道利用荧光实时定量酶联聚合反应技术对 CE 进行诊断,敏感性达 75%、特异性达 100%且能明确微生物类型,检测到的细菌以 B 群链球菌、大肠杆菌,粪肠球菌等常见菌为主,支原体和解脲脲原体是文献中报道的最常见的导致 CE 的病原体,CE 的治疗根据微生物类型使用不同抗生素,主要通过口服,但临床上除了抗生素种类不同外,每种抗生素的剂量、用法及所建议的方案也有很大的差异,目前缺乏设计良好的前瞻性研究来证实有效的 CE 治疗方案^[40]。

2.2.5 免疫因素 种植过程中,绒毛外滋养层细胞侵入子宫内膜并与子宫内膜免疫细胞直接接触,进行免疫对话,良好的母胎对话是种植成功的关键步骤之一。大量的证据显示子宫内膜免疫功能紊乱可能降低子宫内膜容受性,导致 RIF^[41],周围血或子宫内膜免疫细胞的异常也可能导致 RIF,其中以自然杀伤细胞、巨噬细胞、T 细胞和树突状细胞作用最为重要。此外,自身抗体中抗核抗体、抗磷脂抗体、抗甲状腺抗体等升高与早期自发性流产、反复种植失败等相关最密切,但其导致着床失败的机制尚不明确^[42]。RIF 患者的免疫治疗多属经验性治疗,实行免疫治疗的必要及能否获益,仍存在一定争议,目前尚缺乏有力的循证医学研究来明确该治疗的利弊。理论上,导致反复自然流产与 RIF 的免疫因素有一定相似之处,因此临床上常将 RSA 的免疫治疗方案应用于 RIF 患者^[43]。黄春宇和曾勇^[43]建议根据患者是免疫反应过度活跃还是免疫反应不活跃,给予不同的治疗方案:免疫过度活跃的患者应接受如糖皮质激素和环孢素 A 等免疫抑制剂,免疫不活跃的患者给予子宫内膜搔刮术和粒细胞集落刺激因子宫腔灌注等免疫激活方案。免疫调节剂:低分子肝素、阿司匹林、静脉注射免疫球蛋白等,也在 RIF 患者中应用。

2.2.6 血栓前状态 临床上的血栓前状态包括先天性和获得性 2 种类型。(1)先天性血栓前状态是由于与凝血和纤溶有关的基因突变所造成;(2)获得性血栓前状态主要是抗磷脂综合征、获得性高半胱氨酸血症以及其他各种引起血液高凝状态的疾病。RIF 患者自身可能存在遗传性血栓或获得性血栓的危险因素^[44],血栓前状态的妇女血液处于异常的极易凝结的病理状态且在促排卵过程中,高雌激素状态、大剂量孕激素的使用,进一步加重其病理性高凝状态,易促发微血栓的形成,胎盘血管过量血栓形成可引起绒毛间隙血液灌注不良,胚胎组织获得营养物质和氧气受阻,导致胚胎着床失败和早期流产。低分子肝素、阿司匹林等抗凝药物治疗纠正血液高凝状态、预防血栓形成,可以促进母胎界面的微循环,提高滋养细胞的侵袭能力,改善 RIF 患者的助孕结局,目前对血栓前状态的 RIF 患者具体治疗方案参照 2016 年《复发性流产诊治的专家共识》^[45]。

2.2.7 其他提高内膜容受性的对策 目前,许多研究都提出“全胚冷冻策略”,即冷冻所有胚胎,随后再行冻融胚胎移植,以期给胚胎移植提供一个更生理的环境,最近的 1 项前瞻性队列研究发现,在对 RIF 患者实施全冷冻治疗后,持续妊娠率和着床率有统计学意义的改善^[46],而辅助性药物的添加(如:G-CSF、生长激素等)^[46-47]和子宫内膜搔刮等,也推荐用于改善 RIF 患者内膜容受性,但 1 项最新的、大规模的由 5 个国家,共计 1 364 名 IVF 患者进行的随机对照试验结果却显示:胚胎移植前行子宫内膜搔刮不能提高活产率,亚组分析显示:搔刮对以往有失败 IVF 的女性也没有效果^[48]。但由于研究人群和用于诱发局部子宫内膜损伤的方法的差异,仍需要进一步大型前瞻性随机研究,以证实或驳斥 RIF 患者子宫内

膜局部损伤的临床价值。

3 其他多因素影响及对策

精神心理因素: Pasch 等^[49]发现: 患者助孕失败后其焦虑和抑郁的发生率将显著提高, 而这些不良心理和压力都可以影响神经内分泌系统, 使皮质醇水平升高, 早孕期皮质醇水平升高, 得机体内环境改变身体状况, 影响胚胎的正常发育, 导致流产率增加 2.7 倍, 因此有必要对 RIF 患者实施心理疏导。输卵管积液: 大量的研究证实输卵管积液返流宫腔会降低种植率、妊娠率和活产率, 增加流产率, 治疗输卵管积液可以有效提高妊娠率^[50], 行输卵管切除术时, 谨慎的做法是在尽可能靠近输卵管和尽可能远离卵巢的地方进行切割, 以避免卵巢血供受影响, 如果输卵管切除术因粘连而在技术上存在困难, 可能会对卵巢血液供应产生不利影响, 那么可以行近端输卵管结扎或输卵管栓塞术; 胚胎移植技巧: 轻柔无损伤的移植技术、移植管的选择、胚胎放置部位等诸多因素都可能影响着床效果, 其重要性不言而喻。

总之, RIF 是一个复杂的问题, 其病因、机制和治疗方案多样化, 这使得 RIF 的处理较为困难, 且部分治疗措施尚存在争议, 只有在严密的临床随访下, 才能考虑经验性治疗。

参 考 文 献

- [1] Stern C, Chamley L, Norris H, et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of heparin and aspirin for women with in vitro fertilization implantation failure and antinuclear antibodies[J]. *Fertil Steril*, 2003, 80(2): 376–383.
- [2] Rinehart J. Recurrent implantation failure: definition[J]. *Assist Reprod enet*, 2007, 24(7): 284–287.
- [3] Simon A, Laufer N. Assessment and treatment of repeated implantation failure(RIF)[J]. *Assist Reprod Genet*, 2012, 29(11): 1227–1239.
- [4] Coughlan C, Ledger W, Wang Q, et al. Recurrent implantation failure: definition and management[J]. *Reproductive BioMedicine Online*, 2014, 28(1): 14–38.
- [5] Somigliana E, Viqamo P, Busnelli A, et al. Repeated implantation failure at the crossroad between statistics, clinics and over-diagnosis[J]. *Reprod Biomed Online*, 2018, 36(1): 32–38.
- [6] Coughlan C. What to do when good-quality embryos repeatedly fail to implant[J]. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*, 2018, 53(10): 48–59.
- [7] Centers for Disease Control and Prevention, American Society for Reproductive Medicine, Society for Assisted Reproductive Technology. 2015 Assisted Reproductive Technology National Summary Report. Atlanta(GA): US Dept of Health and Human Services; 2017.
- [8] Franasiak JM, Forman EJ, Hong KH, et al. The nature of aneuploidy with increasing age of the female partner: a review of 15,169 consecutive trophectoderm biopsies evaluated with comprehensive chromosomal screening[J]. *Fertil Steril*, 2014, 101(3): 656–663.
- [9] RoyChoudhury S, Singh A, Gupta NJ, et al. Repeated implantation failure versus repeated implantation success: discrimination at a metabolic level[J]. *Hum Reprod*, 2016, 31(6): 1265–1274.
- [10] Huang Y, Yu Y, Gao J, et al. Impaired oocyte quality induced by dehydroepiandrosterone is partially rescued by metformin treatment[J]. *PLoS One*, 2015, 10(3): e0122370.
- [11] Luo L, Li DH, Li XP, et al. Polymorphisms in the nuclear factor kappa B gene association with recurrent embryo implantation failure[J]. *Genet Mol Res*, 2016, 15(2): 7759.
- [12] Barrive PN, Coroleu B, Clua E, et al. Investigations into implantation failure in oocyte-donation recipients[J]. *Reprod Biomed Online*, 2014, 28(1): 99–105.
- [13] Bazrgar M, Gourabi H, Yazdi P E, et al. DNA repair signalling pathway genes are overexpressed in poor-quality pre-implantation human embryos with complex aneuploidy[J]. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, 2014, 175: 152–156.
- [14] Bradley CK, McArthur SJ, Gee AJ, et al. Intervention improves assisted conception intracytoplasmic sperm injection outcomes for patients with high levels of sperm DNA fragmentation: a retrospective analysis[J]. *Andrology*, 2016, 4(5): 903–910.
- [15] Luna D, Hilario R, Dueas-Chacón J, et al. The IMSI procedure improves laboratory and clinical outcomes without compromising the aneuploidy rate when compared to the classical ICSI procedure[J]. *Clin Med Insights Reprod Health*, 2015, 9: 29–37.
- [16] 《复发性流产诊治的专家共识》中华医学会妇产科学分会产科学组[J]. *中华妇产科杂志*, 2016, 51(1): 3–9.
- [17] Sutter PD, Stadhouders R, Dutré M, et al. Prevalence of chromosomal abnormalities and timing of karyotype analysis in patients with recurrent implantation failure (RIF) following assisted reproduction[J]. *Facts Views Vis Obgyn*, 2012, 4(1): 59–65.
- [18] Kort JD, McCoy RC, Demko Z, et al. Are blastocyst aneuploidy rates different between fertile and infertile populations?[J]. *Assist Reprod Genet*, 2018, 35(3): 403–408.
- [19] Maxwell SM, Grifo JA. Should every embryo undergo preimplantation genetic testing for aneuploidy? A review of the modern approach to in vitro fertilization[J]. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*, 2018, 53: 38–47.
- [20] 张宁媛, 黄国宁, 范立青. 胚胎植入前遗传学诊断与筛查实验室技术指南[J]. *生殖医学杂志*, 2018, 29(9): 819–827.
- [21] Adler A, Lee HL, McCulloh DH, et al. Blastocyst culture selects for euploid embryos: comparison of blastomere and trophectoderm biopsies[J]. *Reprod Biomed Online*, 2014, 28(4): 485–491.
- [22] Levitas E, Lunenfeld E, Har-Vardi I, et al. Blastocyst-stage embryo transfer in patients who failed to conceive in three or more day 2–3 embryo transfer cycles: a prospective, randomized study[J]. *Fertil Steril*, 2004, 81(3): 567–571.
- [23] American Society Reproductive Medicine. The role of assisted

- hatching in in vitro fertilization; a guideline[J]. *Fertil Steril*, 2014, 102(2):348e51.
- [24] Ilia B, Bord B, Belle T, Amir A, Avraham H, et al. Recurrent implantation failure in IVF; features of cycles that eventually ended in conception[J]. *Arch Gynecol Obstet*, 2016, 293(4):893–900.
- [25] Al-Turki HA. Hysteroscopy as an investigation tool in recurrent implantation failure in vitro fertilization[J]. *Saudi Med J*, 2018, 39(3):243–246.
- [26] Toukhy T, Campo R, Khalaf Y, et al. Hysteroscopy in recurrent in-vitro fertilisation failure (TROPHY): a multi-centre, randomised controlled trial[J]. *Lancet*, 2016, 387(10038):2614–2621.
- [27] Cao HY, You D, Yuan MW, et al. Hysteroscopy after repeated implantation failure of assisted reproductive technology: A meta-analysis[J]. *Obstet Gynaecol Res*, 2018, 44(3):365–373.
- [28] 全松, 陈雷宇. 体外受精与辅助生殖 Bourn Hall 诊所临床实践与实验室操作指南[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2009.
- [29] Casper RF, Yanushpolsky EH. Optimal endometrial preparation for frozen embryo transfer cycles; window of implantation and progesterone support[J]. *Fertil Steril*, 2016, 105(4):867–872.
- [30] Valdes CT, Schutt A, Simon C. Implantation failure of endometrial origin; it is not pathology, but our failure to synchronize the developing embryo with a receptive endometrium[J]. *Fertility & Sterility*, 2017, 108(1):15–18.
- [31] 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, 16:290–296.
- [32] Fox C, Morin S, Jeong JW, et al. Local and systemic factors and implantation; what is the evidence[J]. *Fertil Steril*, 2016, 105:873–884.
- [33] Stamenov SG, Angelov PD, Angelov CT. Successful pregnancy following mixed double embryo transfer in a patient with variable window of implantation[J]. *Case Reports in Obstetrics and Gynecology*, 2018, 2018:1–4.
- [34] Bu Z, Wang K, Dai W, et al. Endometrial thickness significantly affects clinical pregnancy and live birth rates in frozen-thawed embryo transfer cycles[J]. *Gynecol Endocrinol*, 2016, 32(7):524–528.
- [35] Kasius A, Smit JG, Torrance HL, et al. Endometrial thickness and pregnancy rates after IVF; a systematic review and meta-analysis[J]. *Hum Reprod Update*, 2014, 20(4):530–541.
- [36] Mahajan N, Sharma S. The endometrium in assisted reproductive technology: How thin is thin?[J]. *Hum Reprod Sci*, 2016, 9(1):3–8.
- [37] Kitaya K, Matsubayashi H, Takaya Y, et al. Live birth rate following oral antibiotic treatment for chronic endometritis in infertile women with repeated implantation failure[J]. *Am J Reprod Immunol*, 2017, 78(5):e12719.
- [38] 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]. *Human Reproduction*, 2015, 30(2):323–330.
- [39] Moreno I, Cicinelli E, Garcia-Grau I, et al. The diagnosis of chronic endometritis in infertile asymptomatic women; a comparative study of histology, microbial cultures, hysteroscopy, and molecular microbiology[J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2018, 218(6):602.
- [40] Sfakianoudis K, Simopoulou M, Nikas Y, et al. Efficient treatment of chronic endometritis through a novel approach of intrauterine antibiotic infusion; a case series[J]. *BMC Womens Health*, 2018, 18(1):197.
- [41] Evans J, Salamonsen LA, Winship A, et al. Fertile ground; human endometrial programming and lessons in health and disease[J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2016, 12(11):654–667.
- [42] Motak-Pochrzest H, Malinowski A. Does autoimmunity play a role in the risk of implantation failures[J]. *Neuro Endocrinol Lett*, 2018, 38(8):575–578.
- [43] 黄春宇, 曾勇. 反复种植失败的免疫因素及对策[J]. *实用妇产科杂志*, 2018, 5(34):329–331.
- [44] Lattova V, Dostal J, Peskova M, et al. Recurrent implantation failure and thrombophilia[J]. *Ceska Gynekol*, 2015, 80(1):5–10.
- [45] Magdi Y, Damen A, Fathi A, et al. Revisiting the management of recurrent implantation failure through freeze-all policy[J]. *Fertil Steril*, 2017, 108(1):72–77.
- [46] Altmäe S, Mendoza-Tesarik R, Mendoza C. Effect of growth hormone on uterine receptivity in women with repeated implantation failure in an oocyte donation program; a randomized controlled trial[J]. *Endocr Soc*, 2017, 2(1):96–105.
- [47] Zhang L, Xu W H, Fu X H, et al. Therapeutic role of granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) for infertile women under in vitro fertilization and embryo transfer (IVF-ET) treatment; a meta-analysis[J]. *Archives of Gynecology and Obstetrics*, 2018, 298(5):861–871.
- [48] Lensen S, Osavlyuk D, Armstrong S, et al. A randomized trial of endometrial scratching before in vitro fertilization[J]. *N Engl J Med*, 2019, 380(4):325–334.
- [49] Pasch LA, Gregorich SE, Katz PK, et al. Psychological distress and in-vitro fertilization outcome[J]. *Fertility and Sterility*, 2012, 98(2):459–464.
- [50] 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.

(责任编辑:唐秋姗)