

DOI:10.16781/j.0258-879x.2017.07.0832

· 专题报道 ·

中国优生及辅助生殖的挑战与出路

孙方臻^{1,2*}, 孙鹿希³, 黄秀英¹, 张慧琴², 印惠荣², 颜宏利², 刘燕敏², 孙颖浩²

- 1. 中国科学院遗传与发育生物学研究所, 北京 100101
- 2. 第二军医大学长海医院生殖医学中心, 上海 200433
- 3. 清华大学医学院, 北京 100084

[摘要] 人类辅助生殖技术给我国日益增长的不孕不育患者带来了希望,但同时也增加了后代出生缺陷甚至成人疾病的发生风险。本文阐述了影响优生的配子、胚胎、母源因素以及辅助生殖安全性,旨在强调提升下一代健康水平应以配子/胚胎健康为本,可借助基因组学新技术降低遗传性出生缺陷发生率,防控胚胎发育源性成年病风险。

[关键词] 辅助生殖技术;先天畸形;基因组学;表观遗传

[中图分类号] R 321-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2017)07-0832-04

Challenge and solution of eugenics and assisted reproduction in China

SUN Fang-zhen^{1,2*}, SUN Lu-xi³, HUANG Xiu-ying¹, ZHANG Hui-qin², YIN Hui-rong², YAN Hong-li², LIU Yan-min², SUN Ying-hao²

- 1. Institute of Genetics and Developmental Biology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China
- 2. Reproductive Medicine Center, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China
- 3. School of Medicine, Tsinghua University, Beijing 100084, China

[Abstract] Human assisted reproductive technology has brought hope to the growing infertility population, but also has increased the risk of birth defects and even adult disease incidence. Here we discussed the gametes, embryos and maternal factors which affect eugenics and assisted reproductive safety. With the help of the new genomics technology such as the next generation sequencing, we can greatly reduce the incidence of hereditary birth defects, and prevent and control embryonic developmental risk of adult diseases.

[Key words] assisted reproductive techniques; congenital abnormalities; genomics; epigenetics

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2017, 38(7): 832-835]

优生与健康长寿是人类永恒的追求。在优生领域,我国正面临巨大挑战:一是出生缺陷发生率高;二是育龄人群不孕不育发生率高;三是符合国家二胎生育政策的高龄妇女人群巨大,令优生风险加大。而健康领域另一突出问题,即我国成年人慢性病高发,也与优生风险密切关联。本文通过阐述影响优生的配子、胚胎、母源因素以及辅助生殖技术的安全性,旨在强调提升下一代健康水平应以配子、胚胎健康为本,借助基因组学新技术降低遗传性出生缺陷发生率,依靠辅助生殖技术解决不孕不育问题,难

点在于如何防控胚胎发育源性成年病风险。

1 影响优生的配子及胚胎源性因素

人的生命始于受精,终于死亡。受精时,父亲的精子与母亲的卵子相互识别融合,分别贡献了一套单倍体的遗传物质,合二为一,构成了新生命的二倍体基因组;精子不仅向卵子输入遗传物质,而且通过触发卵子长时间钙振荡激活卵子的发育^[1]。由受精卵发育成新生命的过程中,每个细胞周期及每次细胞分裂,细胞都需精准完成其基因组 DNA 复制,并

[收稿日期] 2017-06-29 **[接受日期]** 2017-07-14

[基金项目] 国家科技部重大研究计划(2007CB948101, 2012CB944903, 2014CB964903)。Supported by Major Research Program of Ministry of Science and Technology of China (2007CB948101, 2012CB944903, 2014CB964903)。

[作者简介] 孙方臻, 博士, 教授, 博士生导师。

* 通信作者 (Corresponding author). Tel: 010-64807677, E-mail: fzsun@genetics.ac.cn

将其遗传信息完整地传递给子代细胞。这保证了人体所有正常体细胞都拥有与受精卵相同的DNA组成。受精卵具备正常的遗传构成是保障优生的遗传基础和必要前提。

受精卵发育成健康胚胎是优生的必要条件。受精卵的发育命运取决于卵子与精子的质量。决定卵子质量及其发育潜能的重要因素包括:(1)染色体构成;(2)用于完成精子染色质重塑、原核形成及早期发育事件各类母源因子是否足量;(3)各类细胞器(如线粒体)的结构、功能及数目是否正常;(4)表观遗传编程(例如母源印迹)是否正常;(5)精子是否在合适的时间窗口与卵子融合并正常启动卵子的发育。

卵子质量最突出的影响因素是妇女的生殖年龄。随着年龄增长,妊娠率下降、染色体异常率及流产率升高,高龄妇女胚胎出现多条染色体异常的发生率也升高。研究表明,随着年龄增长婴儿活产率从≤35岁组的37%降为38~40岁组的20%、41~42岁年龄组的10%,及43~44岁年龄组的4%;高龄导致低活产率的主要原因在卵子质量,研究表明利用年轻妇女供卵受孕,高龄妇女的试管婴儿活产率与年轻妇女相似^[2]。提示为保证优生,应提倡妇女在合适年龄受孕;如果不能年轻时生育,妇女在30岁前后冷冻保存卵子也是保护其生育力,防范高龄生育卵子质量差、活产率低这一瓶颈问题的有效路径。

影响受精卵发育命运的重要精子源性因素包括:(1)精子染色体组成;(2)精子基因组完整性;(3)精子DNA损伤程度;(4)精子是否具备完成穿卵及精卵质膜融合所需的各类因子;(5)精子是否拥有足量的启动卵子激活的蛋白因子;(6)精子染色质的分子组成是否正常;(7)精子DNA是否具有正常的表观遗传印迹。

由受精卵发育成健康胚胎高度依赖上述父母源因素的完备,任何一个关键因素的缺乏或异常都可能导致胚胎败育或发育异常。配子或受精卵染色体异常或发生重要基因突变,不仅可致败育、流产及死胎,也是遗传性出生缺陷的主因。据估计我国出生缺陷发生率约为5.6%^[3],有效降低育龄人群配子及胚胎源性遗传性出生缺陷发生率,依然是我国优生领域面临的重要挑战。随着基因组学技术的发展、基因测序成本的持续下降及技术的普惠应用,我

国应有望大幅度降低遗传性出生缺陷发生率。

2 影响优生的母源因素及其作用机制

胚胎发育命运与母体环境密切相关。健康的母体生理环境是胚胎植入、胎盘及胎儿正常发育的必要条件。胎儿发育过程中,已知许多母源因素可影响胎儿发育编程,造成胎儿宫内发育受限、出生低体质量及神经系统异常。这些因素包括营养不良、吸烟、酗酒、高血压、糖尿病、母源压力、使用药物不当,以及环境有害物暴露等^[4]。

流行病学研究表明,出生低体质量是婴儿成年时发生心脑血管疾病、高血压、2型糖尿病及肿瘤的高风险因素^[5]。因此,孕期避免不良母源因素对胎儿发育编程的影响,降低胎儿宫内发育受限及出生低体质量风险,也是优生需要关注的重要内容。

利用动物模型,科学家们已系统深入地研究了母源因素对胎儿发育编程的影响及其作用机制。概括而言,母源因素可通过2种方式影响胎儿发育编程:(1)通过影响胎盘发育及其功能致胎盘效率异常,进而导致胎儿宫内发育及出生体质量等异常;(2)母源因素通过引起胎儿表观遗传编程紊乱,致胎儿基因表达及生长发育或器官功能异常,进而造成胎儿宫内发育/出生体质量异常及神经等系统永久性伤害^[6]。在胎儿发育过程中,母源因素引起的表观遗传变异是否会导致基因组的不稳定或基因突变,进而致胎儿器官结构或功能缺陷,目前尚不清楚。

3 辅助生殖及其安全性

不孕不育症已成为全球性影响公众健康的常见病。目前,发达国家的不孕不育发病率约为10%~15%;我国育龄人群发病率约为10%^[7]。辅助生殖技术是临床治疗不孕不育症的有效疗法;自1978年世界首例试管婴儿在英国诞生以来,全球试管婴儿总数已超过500万^[8]。

针对不同病因发展了不同的技术方法,如针对女性不孕症的常规体外受精(*in vitro* fertilization, IVF)技术;针对男性不育症的卵胞质内精子注射(*intracytoplasmic sperm injection*, ICSI)技术;针对遗传疾病及染色体异常筛查的植入前胚胎遗传检测技术(*preimplantation genetic test*, PGT),包括植入

前遗传学筛查 (preimplantation genetic screening, PGS) 和移植前基因诊断 (preimplantation genetic diagnosis, PGD); 以及针对线粒体病的线粒体置换技术。这些技术的共性步骤包括: (1) 通过超排或自然周期制备卵子; (2) 体外受精及胚胎体外培养; (3) 胚胎移植; (4) 多余的胚胎则普遍性冷冻保存, 以便失败后再次移植, 或再生育。华裔生物学家张明觉博士率先在哺乳动物体外受精研究领域取得突破^[9]。剑桥大学胚胎学家 Edwards 教授因建立人类体外受精技术治疗不孕症, 荣获 2010 年诺贝尔医学奖。

辅助生殖技术是转化医学的成功典范, 是科学家与临床专家紧密合作解决重大临床问题的样板。科学发现驱动辅助生殖技术不断发展, 新方法不断涌现, 使数百万家庭由不可能生育实现了生儿育女梦想。因辅助生殖医疗的特殊性, 尤其是它直接关系到试管婴儿及其后代的健康, 技术安全性一直是政府与公众普遍关心的重要问题。针对辅助生殖技术的安全性, 本文作者所在机构中国科学院遗传与发育生物学研究所牵头组织我国多中心、多研究机构医学家与科学家, 完成了我国“973 计划”项目“胚胎操作安全性评估研究”。

流行病学研究结果表明, 源于辅助生殖技术的试管婴儿绝大多数正常, 但存在一个较为突出的问题, 即试管婴儿出生低体质量现象很普遍^[10]。造成此问题的主因在于试管婴儿多胎率高。但是, 单胎试管婴儿出现新生儿低体质量的风险仍比自然生育的新生儿高 2.6 倍^[11]。已知新生儿低体质量是成年病的高风险因素, 因此有必要重视试管婴儿出生低体质量的现象。临床上, 移植单枚囊胚可将多胎率由 19%~27% 降低到 3%~6%, 进而降低出生低体质量风险^[12]。辅助生殖技术操作也需高度重视, 通过动物模型研究我们发现, 辅助生殖可影响胎盘发育及其功能, 致胎盘效率下降, 进而影响胎儿宫内发育及出生体质量; 进一步分析还发现, 辅助生殖操作可通过干扰早期胚胎表观印迹影响胎盘发育及功能, 进而影响胎儿发育及出生体质量^[13]。

试管婴儿另一较突出问题是表观遗传病风险显著增高。突出例子是 Beckwith-Wiedemann 综合征 (BWS) 和 Churg-trauss 综合征 (AG)。尽管发病率极低, 试管婴儿人群的 BWS 风险仍增高了 9 倍^[14]。

关于试管婴儿人群为什么会出现表观遗传病高风险, 目前有 2 种完全不同的解释: (1) 这源于不孕不育患者自身的健康原因; (2) 不良的辅助生殖技术操作可造成此类异常。现有证据表明这两种可能性都存在, 因为不育症患者精子 DNA 可检测到表观遗传异常^[15]; 体外培养则伴随着表观印迹丢失^[16]。动物模型研究发现, 超促排卵用药、ICSI、体外培养、胚胎移植操作均可导致胚胎表观遗传异常^[17]。

表观遗传是调控发育与健康的重要机制。已知众多疾病与表观遗传异常相关^[18]。辅助生殖所涉及的发育阶段正是配子及胚胎表观遗传重编程的重要时期。这包括受精过程中精子基因组 DNA 去甲基化以及囊胚期父母源 DNA 甲基化修饰的重新建立^[19]。因此, 源于患者自身配子表观遗传印迹的异常以及不良的辅助生殖技术步骤, 均有可能造成胚胎表观遗传紊乱, 进而影响胎盘及胎儿发育, 致出生低体质量及表观遗传疾病风险。提升辅助生殖技术安全性的出路在于: (1) 使用温和的促排卵用药方法; (2) 研发、应用更安全的配子/胚胎制备及其保存技术体系与先进设备; (3) 研发与应用无创的优选胚胎的技术体系; (4) 提升胚胎实验室技术人员的技术水准。

4 展 望

优生不仅是健康长寿的基础, 更是降低成年病风险的关键一环。优生如何实现? 一靠配子及胚胎健康; 二靠母体健康生理环境; 三靠健康生活环境与生活方式。为此, 有必要做到如下几点: (1) 通过科普让全民更关注优生; (2) 建立普惠的优生技术服务体系, 利用基因组学新技术降低遗传性出生缺陷发生率; (3) 强化生殖医学转化医学研究, 为公众提供更安全有效的辅助生殖及优生医疗服务。

优生的难点之一在于防控胚胎发育源性的表观遗传疾病。表观遗传易受环境因素影响, 因此不良的自然环境及生活方式均有可能造成配子、胚胎及胎儿发育编程异常, 进而致表观遗传病风险。为了实现优生, 有必要对因工作需要不得不经常性暴露在极端自然环境、有辐射或不良工作环境的人群, 及时开展生育力保护。已知出生低体质量是多种成年病发生的高风险因素, 因此预防胎儿宫内发育受限、早产及出生低体质量也应成为优生的重要关注。

辅助生殖技术作为治疗不孕不育的关键技术, 依然在不断完善、创新发展中。生殖转化医学研究亟待解决如下难点: (1)如何进一步提高辅助生殖的治疗成功率及技术安全性? (2)如何无创地精准筛选出健康胚胎? (3)如何有效提升高龄妇女的生育力尤其自体卵子质量? (4)如何更精准地帮助有复杂遗传病风险的夫妇实现优生? (5)体外如何由干细胞制备出健康精子和卵子? (6)如何修复无精子症、卵巢早衰患者的生育力? (7)如何有效防控配子及胚胎源性表观遗传病风险? (8)如何有效修复配子及胚胎源性表观遗传突变? (9)如何让试管婴儿生得更健康?

[参考文献]

- [1] SUN F Z, HOYLAND J, HUANG X Y, MASON W, MOOR R M. A comparison of intracellular changes in porcine eggs after fertilization and electroactivation[J]. *Development*, 1992, 115: 947-956.
- [2] SUNDERAM S, CHANG J, FLOWERS L, KULKAMI A, SENTALLE G, JENG G, et al; Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Assisted reproductive technology surveillance—United States, 2006[J]. *MMWR Surveill Summ*, 2009, 58: 1-25.
- [3] 何燕娟. 出生缺陷发生的原因及预防[J]. *养生保健指南*, 2016(50):219,226.
- [4] FAA G, MANCHIA M, PINTUS R, GEROSA C, MARCIALIS M, FANOS V. Fetal programming of neuropsychiatric disorders [J]. *Birth Defects Res C Embryo Today*, 2016, 108: 207-223.
- [5] RASYID H, BAKRI S. Intra-uterine growth retardation and development of hypertension[J]. *Acta Med Indones*, 2016, 48: 320-324.
- [6] YU Y, WU J, FAN Y, LÜ Z, GUO X, ZHAO C, et al. Evaluation of blastomere biopsy using a mouse model indicates the potential high risk of neurodegenerative disorders in the offspring[J]. *Mol Cell Proteomics*, 2009, 8: 1490-1500.
- [7] MATTEO M, GRECO P, LEVI SETTI P E, MORENGHI E, DE ROSARIO F, MASSENZIO F, et al. Preliminary evidence for high anti-PLAC1 antibody levels in infertile patients with repeated unexplained implantation failure[J]. *Placenta*, 2013, 34: 335-339.
- [8] 李秋月, 华子瑜. 辅助生殖技术母儿预后的研究进展 [J]. *儿科药理学杂志*, 2016, 22: 58-61.
- [9] 张明觉, 郭志勤. 我在哺乳动物卵子移植方面的研究 [J]. *国外畜牧学(草食家畜)*, 1984(05): 54-56
- [10] SUNDERAM S, KISSIN D M, FLOWERS L, ANDERSON J E, FOLGER S G, JAMIESON D J, et al; Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Assisted reproductive technology surveillance—United States, 2009[J]. *MMWR Surveill Summ*, 2012, 61: 1-23.
- [11] SCHIEVE L A, MEIKLE S F, FERRE C, PETERSON H B, JENG G, WILCOX L S. Low and very low birth weight in infants conceived with use of assisted reproductive technology[J]. *N Engl J Med*, 2002, 346: 731-737.
- [12] GRAFODATSKAYA D, CYTRYNBAUM C, WEKSBERG R. The health risks of ART[J]. *EMBO Rep*, 2013, 14: 129-135.
- [13] CHEN S, SUN F Z, HUANG X, WANG X, TANG N, ZHU B, et al. Assisted reproduction causes placental maldevelopment and dysfunction linked to reduced fetal weight in mice[J/OL]. *Sci Rep*, 2015, 5: 10596. doi: 10.1038/srep10596.
- [14] MUSSA A, MOLINATTO C, CERRATO F, PALUMBO O, CARELLA M, BALDASSARRE G, et al. Assisted reproductive techniques and risk of Beckwith-Wiedemann syndrome [J/OL]. *Pediatrics*, 2017: e20164311. doi: 10.1542/peds.2016-4311.
- [15] DEBAUN M R, NIEMITZ E L, FEINBERG A P. Association of *in vitro* fertilization with Beckwith-Wiedemann syndrome and epigenetic alterations of LIT1 and H19[J]. *Am J Hum Genet*, 2003, 72: 156-160.
- [16] WHITE C R, DENOMME M M, TEKPETEY F R, FEYLES V, POWER S G, MANN M R. High frequency of imprinted methylation errors in human preimplantation embryos[J/OL]. *Sci Rep*, 2009, 5: 17311. doi: 10.1038/srep17311.
- [17] LANGLEY-EVANS S C. Developmental programming of health and disease[J]. *Proc Nutr Soc*, 2006, 65: 97-105.
- [18] PETERS J. The role of genomic imprinting in biology and disease: an expanding view[J]. *Nat Rev Genet*, 2014, 15: 517-530.
- [19] REIK W, DEAN W, WALTER J. Epigenetic reprogramming in mammalian development [J]. *Science*, 2001, 293: 1089-1093.