

体外受精与胚胎移植

刘 斌 主编



人 民 卫 生 出 版 社

体外受精与胚胎移植

主编 刘 斌

编写人员（按章节先后顺序排列）

刘 斌	李 英	贺 播
陈忠新	贾建文	张 武
万焕忠	戴兆亨	李美芝
孟繁菁	王燕蓉	

人 民 卫 生 出 版 社

内 容 提 要

本书在介绍精子与卵子发生、受精机制与性机能神经-内分泌调控的基础上,着重讲述了“体外受精与胚胎移植”的适应证、技术方法及其由此派生出来的配子输卵管内移植术、体外受精-阴道培养等新技术。另外,对人工授精、精子库的建立、低温冻存胚胎等也做了介绍,并对人胚早期发育做了进一步探讨。本书可供基础医学研究工作者和广大医务人员在工作中参考,也适于大学生和有兴趣的读者们阅读。

“体外受精-胚胎移植”研究工作是国家自然科学基金委员会资助,并列为国家“七五”攻关课题。

体外受精与胚胎移植

刘 斌 主编

人民卫生出版社出版

(北京市崇文区天坛西里10号)

人民卫生出版社印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行

787×1092毫米 32开本 15 $\frac{1}{2}$ 印张 5插页 336千字

1990年9月第1版 1990年9月第1版第1次印刷

印数: 00,001-1,500

ISBN 7-117-01352-4/R·1353 定价:10.00元

〔科技新书目219-169〕



首例试管婴儿已1.5岁



1988年3月10日诞生的中国首例试管婴儿

前 言

人类“体外受精与胚胎移植”(即IVF-ET)的研究开始于60年代,英国的Edwards和Steptoe两位学者经过近20年的潜心研究,世界上第一例“试管婴儿”终于在1978年7月25日诞生了。这是继心脏移植成功后医学上的又一大奇迹,给不育者带来了福音,而且进一步揭示了人类的生殖过程,充实了发育生物学的内容,还必将对优生优育工作带来深远影响。近10年来,国际上掀起了“试管婴儿”的研究热潮,至1987年11月全世界已出生了6 000多例“试管婴儿”,技术方法也不断改进与提高。

我国这个课题的研究工作起步于80年代初,但由于有关部门领导的大力支持,基础医学与临床学科密切合作,研究者克服了技术和设备上的种种困难,工作进展较快。北京医科大学生殖工程实验室1985年9月首先获得“人工受精和体外培养成功”,这就为“试管婴儿”的出生奠定了基础,1987年已有4例患者妊娠(其中2例是配子输卵管内移植术妊娠),1988年春天我国大陆首批“试管婴儿”在北京诞生。这是我国生殖医学研究上的重大突破。

本书系统地介绍了IVF-ET的适应证、技术方法和由此派生出来的新技术,各国的先进经验和我们实际工作中的体会。另外,对人工体内授精、精子库的建立、低温冻存胚胎及有关的动物实验也作了较详细地阐述。希望本书对基础医学研究者和广大医务人员的工作能有所裨益。

在编写过程中,曾蒙组织胚胎学老前辈李肇特教授的指

导和审阅，在此表示谢意。此外，万焕忠教授和李美芝教授也参加了编写工作或给予了协助，顺致谢意。由于水平有限，书中错误和缺点在所难免，敬请读者指正。

北京医科大学组织胚胎教研室

刘 斌 1988年9月

目 录

第 1 章	试管婴儿的由来与新进展	刘 斌 (1)
第 2 章	卵泡的发育、调控及卵细胞的形态结构	刘 斌 (5)
第 1 节	卵泡的发育和调控	5
第 2 节	卵细胞成熟的调控	12
第 3 节	卵细胞的形态结构及变化规律	17
第 4 节	排卵过程及其机理	28
第 3 章	精子的发生、结构及精液组成	刘 斌 (38)
第 1 节	精子的发生	38
第 2 节	精子运动的结构基础	44
第 3 节	精液的组成及其特性	48
第 4 章	受精过程和机理的近代概念	刘 斌 (53)
第 1 节	精子的运行	53
第 2 节	子宫颈粘液的选择性屏障作用	56
第 3 节	精子获能	60
第 4 节	顶体反应	62
第 5 节	精卵融合	68
第 6 节	受精理论在实践中的应用	72
第 5 章	生殖机能的内分泌调控	刘 斌 (78)
第 1 节	丘脑下部-腺垂体-性腺轴心	78
第 2 节	睾丸的内分泌作用及其功能调节	84
第 3 节	女性生殖机能及其调控	88
第 4 节	妊娠的维持及激素的调节	97
第 5 节	激素的性质和作用原理	103
第 6 章	家兔体外受精与胚胎移植	李 英 (108)

第1节	家兔体外受精的历史与背景	108
第2节	家兔卵子发生	113
第3节	家兔卵母细胞的超微结构	116
第4节	家兔受精卵的超微结构	123
第5节	家兔体外受精	134
第6节	家兔胚胎移植	148
第7章	精液常规与特殊检查及精子细胞形态学检验	
	刘斌 (158)	
第1节	精液的常规检查	158
第2节	精液的生化分析	167
第3节	细胞形态学检验	170
第4节	精子交叉穿透试验	183
第5节	性交试验	186
第8章	人精子穿透脱透明带的地鼠卵试验	
	贺播 (192)	
第1节	精子穿透试验的步骤方法	193
第2节	精子穿透试验中涉及到的几个问题	198
第3节	精子穿透试验的应用	200
第9章	人工授精	陈忠新 (204)
第1节	人工授精的分类和历史	204
第2节	人工授精的适应证和供精者的选择	206
第3节	授精时间的选择	207
第4节	人工授精的实施方法	210
第10章	实时超声在“试管婴儿”研究中的应用	
	贾建文 张武 (212)	
第1节	超声检查的适应证	212
第2节	仪器选择与检查方法	213
第3节	正常盆腔声像图	214
第4节	超声监测卵泡发育	217

第5节	正常妊娠·····	225
第6节	盆腔肿物合并妊娠·····	240
第7节	病理妊娠·····	241
第8节	介入性超声·····	254
第11章	排卵的监测····· 万焕忠 (257)	
第1节	排卵的生物学·····	257
第2节	监测的方法·····	259
第3节	临床应用·····	271
第12章	腹腔镜直视下采集卵母细胞 ····· 万焕忠 戴兆亨 (275)	
第1节	采卵前的准备·····	276
第2节	腹腔镜器械装置与保养·····	278
第3节	腹腔镜下采卵的适应证和步骤·····	284
第13章	阴道B型超声下经阴道取卵··· 李美芝 (294)	
第1节	阴道B型超声下经阴道取卵的由来·····	294
第2节	阴道B型超声下经阴道取卵的步骤·····	295
第3节	阴道B型超声下取卵的利弊·····	298
第14章	培养液种类与配制及其质控··· 刘 斌 (302)	
第1节	培养液的种类·····	303
第2节	T ₀ 培养液的配制方法·····	306
第3节	Ham's F ₁₀ 培养液的配制方法·····	308
第4节	血清的制备·····	314
第5节	测试渗透压·····	315
第6节	超纯水及其制备·····	316
第7节	培养液的质控·····	318
第15章	体外受精与胚胎移植····· 刘 斌 (321)	
第1节	IVF-ET的准备工作·····	323
第2节	诱发超排卵·····	328
第3节	卵细胞的获取及其成熟度的评估·····	332

第4节	精子在体外获能·····	337
第5节	人工受精与体外培养·····	340
第6节	胚胎移植·····	349
第7节	有关IVF-ET技术的几个问题·····	358
第16章	配子输卵管内移植术····· 刘 斌 (365)	
第1节	GIFT的适应证·····	365
第2节	我们的工作经验·····	368
第3节	GIFT的新进展·····	370
第17章	体外受精-阴道培养法····· 刘 斌 (374)	
第1节	IVC的适应证与实验步骤·····	374
第2节	IVC与IVF的比较·····	377
第18章	人类精液冷冻贮存····· 孟繁菁 (380)	
第1节	人类精液冷冻贮存的历史及其目的·····	380
第2节	精液冷冻的基本原理·····	382
第3节	人类精液冷冻贮存的方法·····	383
第4节	人精子冷冻损伤机制·····	392
第5节	影响人精液冷冻的因素·····	393
第6节	人冷冻精液的应用·····	402
第19章	哺乳动物胚胎和人胚的低温冷冻 ····· 王燕蓉 (406)	
第1节	胚胎低温保存的机理·····	407
第2节	复温后胚卵活力的判断及冷冻复温效果的观察·····	419
第3节	胚卵的选择及冷冻装置·····	423
第4节	家兔胚胎的低温冻存技术·····	425
第5节	小鼠胚卵的冻存方法·····	446
第6节	人类胚卵的冻存·····	448
第20章	对人胚早期发育的探讨····· 刘 斌 (455)	
第1节	人卵子的受精过程及其异常·····	456
第2节	卵裂的规律和影响卵裂的因素·····	462
第3节	植入的过程与机制·····	469

第1章 试管婴儿的由来 与新进展

人卵体外受精与胚胎移植后出生的婴儿俗称为试管婴儿。近年来我国学者把“人工受精”与“人工授精”两名词区别开来：前者指人工体外受精而言，后者是指把精液注入到妇女的阴道或宫颈管、宫腔内，使精、卵在体内相遇。

哺乳动物体外受精与胚胎移植经验为试管婴儿培养成功打下基础。早在1878年 Schenk 就对家兔和豚鼠进行体外受精试验，直到1951年以前，所有哺乳动物的试验均未获得成功。1951年 Austin 曾推测，精子似乎需要在雌性生殖管道度过一些时间，才能穿入卵子的透明带。1952年 Austin 又进一步明确地指出，精子在具备穿入卵子的能力之前，必定要经过形式的变化，亦可是形态的改变或是生理性的改变，即精子获能。这一理论的提出就推动了体外受精的试验。1954年 Thibault 首先使家兔体外受精成功，受精卵分裂了。

人卵的体外受精试验开始于本世纪。1944年 Rock 和 Menkin 等从卵巢取出卵子，培养24小时再加入精液，经过45小时的培养，133个卵子中仅有4个卵受精，并卵裂到2~3分裂球时期。1955年 Shettles 从卵巢取出卵子与精液一起培养，在培养液中加入输卵管液后，有一些受精卵发育到桑椹胚期。由此可见到50年代初，哺乳动物和人的体外受精已初步获得成功。体外受精的成功标志应包括：精子穿入到卵内、形成精原核和卵原核、精、卵原核融合及受精

卵的分裂等四个方面。但是这些变化不是用肉眼所能见到的，因此当时的生理学家还否认体外受精的成功。

美籍华人张民觉教授于1959年第一个将体外受精的36只兔胚移植到6只假孕兔的输卵管中，并娩出15只健康仔兔。家兔体外受精与胚胎移植成功打开了“试管动物”的新篇章。

人卵的试验更复杂、要求的条件更高。英国的Edwards和Stephoe两位学者从60年代起密切合作，克服种种困难，反复探索，经过近20年的工作，终于在1978年诞生了第一例试管婴儿——路易丝·布朗。这两位研究试管婴儿的先驱者建立了一整套的技术方法。整个实验过程包括药物诱发超排卵、采集卵子、精子获能、人工受精、体外培养、胚胎移植等步骤，主要是超排卵、人工受精和胚胎移植这三个关键性技术，又称培养试管婴儿的“三关”。必须闯过“三关”，才能成功。

试管婴儿的研究工作带动了内分泌学、B型超声波仪的应用、人体胚胎学、生殖生理等学科的发展。过去对人卵的结构、受精以及人胚胎早期发育的解释往往是以哺乳动物的实验资料为基础，现在这些过程在体外完全可以显现出来，看得见摸得着，所得的结果大大地充实了发育生物学的内容。对于妇产科的促进作用更大，使腹腔镜更加广泛地应用。70年代末~80年代初采集卵子主要是使用腹腔镜，但近几年又改用“一根针”B超监视下从阴道穿刺取卵，使病人的痛苦大大减轻。不育症过去是妇科老大难的问题，现在输卵管堵塞、子宫内膜异位症、原发不孕及人工授精失败者等都是做试管婴儿的适应症。另外，冷冻精子库和冷冻胚胎库也随着试管婴儿的研究工作而建立和发展了。

从1978年第一例“试管婴儿”诞生至今的10年，国际上掀起了试管婴儿研究的热潮，现全世界已出生了7 000多

试管婴儿，欧洲、美洲、大洋洲、亚洲都可见试管婴儿，可以说试管婴儿已遍及全球，预计到1990年可突破10 000例。

1978年7月 第一例试管婴儿诞生

1984年5月 1 407例

1985年11月 2 207例

1987年11月 6 000例

1990年年底（预计） 10 000例

另外，培养试管婴儿的技术方法不断地改进与提高，使其成功率已达到25%~30%。在经典的“体外受精与胚胎移植”基础上又衍生出几种新技术，而且第二代试管婴儿的研究已有突破性进展。

我国大陆首例试管女婴郑萌珠现已一岁半了，身体健壮，语言表达能力强，已会表演一些小节目，十分令人喜爱。紧接着诞生的第二例试管女婴及配子输卵管男婴也都在茁壮成长。1988年上半年又有3例妊娠，其中1例是双胞胎，近来三胞胎试管婴儿又在北京医科大学第三医院诞生。

试管婴儿的诞生标志着我国生殖医学已接近国际的先进水平，也说明我国的科学家、医务人员有能力，依靠自己的力量，把生殖医学的研究工作推向一个新的阶段。

依我所见，在我国开展试管婴儿研究的重要意义还在于为我国的计划生育和优生优育工作服务。目前实行一对夫妇只生一个孩子的政策遇到很大阻力，其原因是多方面的，除了人们的文化水平、认识程度之外，也有一个具体问题，就是有所谓的后顾之忧。人们担心他们的独生子女一旦出现夭折，就再没有生育的可能了。而现在掌握了试管婴儿这项新技术，在人们做绝育手术前取出其精子与卵子，予以冷冻贮存，一旦需要，随时可以取出，做体外受精——胚胎移植，

同样可以生出孩子，即试管婴儿。这就解除了人们的顾虑，促进计划生育工作的开展。

纵观目前各国出生的试管婴儿，包括我国出生的在内，他们的身体都很健康，智力属于上等。这无疑表明：试管婴儿这项新技术具有优生学的意义，但是这种优生意义目前只是潜在的。待到第二代试管婴儿乃至真正的试管婴儿，可以成为优生的一个重要手段。

1. 关于“第二代试管婴儿” 到目前为止出生的婴儿尚属第一代试管婴儿，他们的优生意义尚不明显。而现在开始研究的显微注入精子技术属于第二代试管婴儿。预先选择一个健壮的精子，用显微操纵仪把它注到卵细胞与透明带形成的围卵周隙或者注入到卵细胞内，这样精卵很快结合形成受精卵并卵裂，再移入母体子宫内继续发育直至降生。这样出生的婴儿就是第二代试管婴儿。

为了防止某些伴性遗传病的出现，需要人工控制性别。可以把X、Y精子分离技术与第二代试管婴儿技术结合起来，按人们的愿望生男或生女，控制遗传病的发生。

第二代试管婴儿还可以与遗传工程结合起来，即把某些优秀基因注入受精卵内，来塑造健康、聪颖的新一代。

2. 真正的试管婴儿 迄今为止出生的试管婴儿，并不是完全在试管内生长发育的婴儿，只是在试管内精卵相遇，受精和卵裂，经历一个短暂的时期。但试管婴儿给人以启迪。可以设计一个适宜的容器——“人造子宫”，让它来代替母亲怀胎。这个“人造子宫”必须具备足够的营养、适度的空间、自动化的调节系统等，而这个装置又必须无毒性。这个新装置的问世必将把试管婴儿技术提高到一个新水平，为改善人类的素质做出新贡献。

第2章 卵泡的发育、调控及 卵细胞的形态结构

早在本世纪40年代，Beams 就开始研究人卵细胞的发生与结构，后来Zamboni、Baca 和 Baker 等着重研究了卵细胞的超微结构。近10年来，在“试管婴儿”的工作中，Edwards 和 Lopata 等更进一步对人卵细胞发育成熟的调控机制和监测进行了深入的研究，而且取得新进展。

第1节 卵泡的发育和调控

女性的卵巢既产生卵子，同时又是内分泌器官。卵巢是一对略扁的椭圆形器官，在卵巢门处借卵巢系膜附着在子宫阔韧带上。卵巢系膜内含经卵巢门出入的卵巢血管、淋巴管和神经。

卵巢的表面覆盖着一层上皮，与腹膜的上皮连续，幼年时此层上皮呈立方或柱形，以后逐渐变扁平。上皮之下有一薄层致密结缔组织，叫做白膜。

卵巢的切面可分为皮质和髓质两部分，两者之间无明显界线。髓质范围窄小，为富含血管的疏松结缔组织，并有多量的弹性纤维、淋巴管和神经纤维，接近卵巢门处还有少量平滑肌。皮质是周围较宽阔的部分，由大量卵泡和结缔组织构成，此处的结缔组织中，有网状纤维和大量梭形细胞，后者能分化为卵巢的间质细胞并参与组成卵泡膜。卵泡数目很多，出生时两卵巢约有30万~40万个。在一生中，只有

约 400~500 个能够发育成熟，其余早晚均逐渐退化。从青春期起，卵巢每月有一些卵泡发育，但通常只有一个卵泡成熟并排出（排卵），其他的一些生长卵泡退化成为闭锁卵泡。排卵后的卵泡发育成为黄体。黄体退化后由结缔组织代替，成为白体。到绝经期，卵泡不再成熟，排卵和月经停止，结缔组织增生，最后卵巢组织几乎全部由结缔组织代替。

卵巢也有内分泌功能，分泌的激素主要是雌激素和孕酮，此外还有少量雄激素。

卵泡发育经过初级卵泡、生长卵泡、成熟卵泡三个阶段。卵泡在发育的各个阶段的调控机制和生化方面的变化都不相同（图 2-1）。

一、初级卵泡

卵巢皮质内含有大量初级卵泡。每个初级卵泡是由一个大的初级卵母细胞及包围它的单层扁平的卵泡细胞组成。初级卵母细胞较大，核染色质细小分散，呈空泡状，核仁大而明显。初级卵母细胞在胚胎时期已进入第一次成熟分裂的前期，出生后仍休止在这个时期。这一阶段，卵泡细胞中未发现受体。

二、生长卵泡

卵泡开始生长时，扁平的卵泡细胞变为立方形并且迅速增殖，结果由单层变为多层。在这些卵泡细胞胞质内，线粒体、粗面内质网和游离核糖体增多。卵泡细胞与周围结缔组织之间，有一薄层明显的基膜。与此同时，初级卵母细胞亦增大。在卵泡细胞与卵母细胞之间出现一层折光性强、染色深的厚膜，即透明带。透明带是一种凝胶状的中性糖蛋白，它可能是由卵泡细胞及卵母细胞共同分泌形成的。紧靠透明带的一层卵泡细胞呈柱形，作辐射状排列，称为放射冠。电

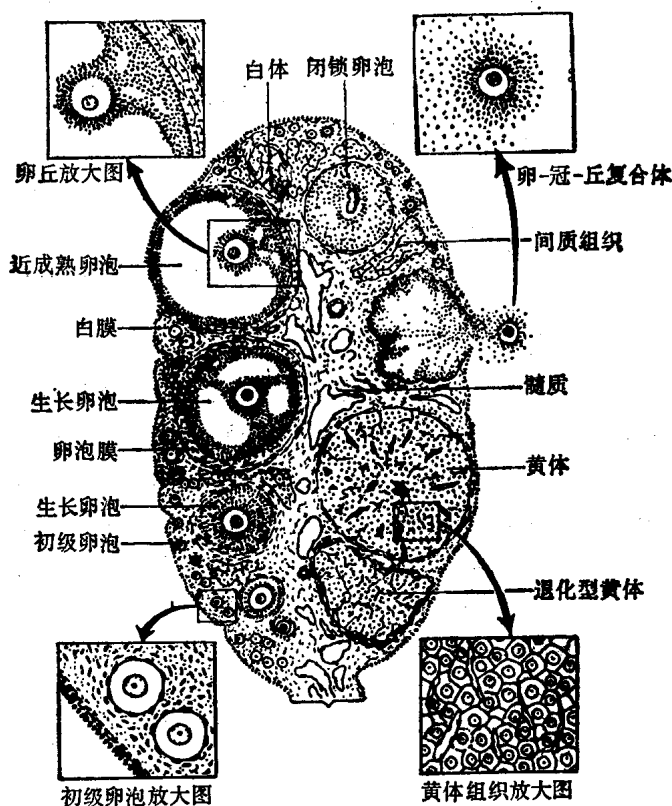


图 2-1 卵巢内卵泡发展阶段, 以及黄体、白体和闭锁卵泡

镜下见到放射冠细胞有突起穿过透明带与卵母细胞接触, 而卵母细胞表面亦有不规则的微绒毛伸入透明带内。卵泡细胞可借其突起把营养物质输送给卵母细胞, 在卵母细胞表面胞质中常可见到含蛋白质的膜性囊泡。

随着卵泡的生长, 在卵泡细胞之间出现一些含液体的小空隙, 它们逐渐合并成为一个较大的卵泡腔, 腔内充满透明