

自体颗粒细胞线粒体移植

侯煜 15301050212

一、技术简介



技术名称	自体颗粒细胞线粒体移植
英文名称	self-mitochondria transfer
技术实质	吸取自体颗粒细胞线粒体，注入到卵子内
技术目的	旨在改善卵子质量，提高妊娠率

二、发展背景

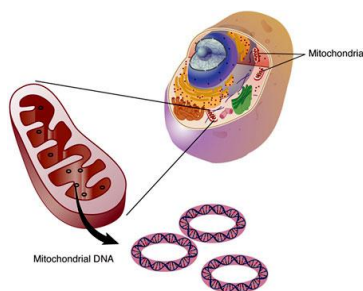
随着社会经济高速发展、“二胎”政策全面执行，晚婚晚育的浪潮致使高龄产妇不断增多，“卵子质量差、妊娠率低”也成为了困扰着千千万万家庭的一大难题。让卵子“返老还童”的诉求，一度激发了“卵巢控制性超促排卵（COH）”、“卵子体外成熟（IVM）”技术的全面盛行。它们虽然使妊娠率得到了明显的提高，却依然不完美。



“卵巢控制性超促排卵（COH）”技术的主角——外源性促性腺激素（Gn）可能导致卵巢过度刺激综合征（OHSS）。随之应运而生的“卵子体外成熟（IVM）”技术在一定程度上解答了难题，却又发现：相比于体内成熟卵子，IVM 卵子的发育潜能较为低下。科学家们经研究发现，其中的关键在于：IVM 极度缩短的成熟时间使得细胞质中的“动力车间”——线粒体 DNA 的数量锐减，干扰了卵子细胞质成熟进程，从而导致了 IVM 卵子具有较低的发育潜能。[1]

在上述种种问题的推动下，“自体颗粒细胞线粒体移植”技术出现，在一定程度上缓解了上述难题，为众多“求子”家庭带来了新的希望。

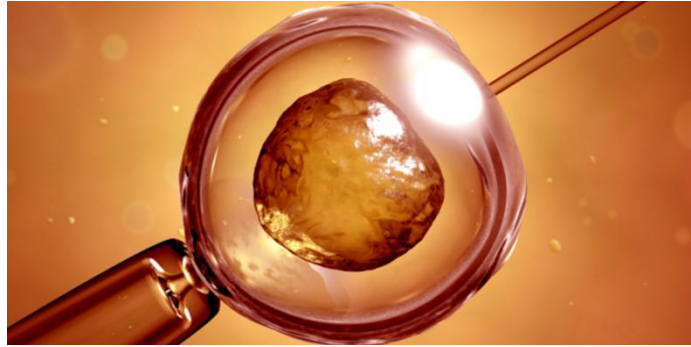
三、技术原理



线粒体是细胞的“动力车间”，其产生的 ATP 是细胞生长发育主要的能量来源。如果线粒体数目减少、产生 ATP 的能力降低，就很难维持细胞正常的染色体分离、生物合成、有丝分裂及胚胎细胞的各种生理功能，由此可导致种植期胚胎细胞发育异常、停滞或凋亡。因此，如果解决了老化、弱小卵细胞的“线粒体”问题，就为卵子“返老还童”带来了可能。

另一方面，包围在卵母细胞周围的一层菱形或扁平状的颗粒细胞，在卵子发育过程中可提供营养物质和调节因子，其线粒体的功能形态与卵子有着极大的相似度。

“自体颗粒细胞线粒体移植”技术即通过抽取自体颗粒细胞的线粒体，与精子一同注入老化卵细胞的胞浆内。这样一来，原本“不振”的卵细胞依靠外源补充增加了胞浆线粒体数目，增加 ATP 产量、提供继续发育的能量、重振卵子活力、保障了细胞内一系列生化反应及各种生理功能的有序进行，同时补充受精，明显改善了胚胎的质量、提高了妊娠率。[2]



四、技术应用

1. 操作

①超促排卵:

全部患者采用促性腺激素释放激素激动剂 (GnRH-a) 长周期超促排卵方案; 即于黄体中期肌内注射曲普瑞林 (商品名达菲林) 1.875g, 14d 左右垂体功能受到抑制后, 给予促卵泡激素 (商品名果纳芬) 促排卵。于出现直径达到 18mm 的 2 个卵泡的当晚, 肌内注射人绒毛膜促性腺激素 (hCG) 1000IU, 34h 后在阴道 B 超导引下取卵。将卵丘复合体放入含有 5% 人血白蛋白 (HAS) 的人输卵管培养液 (HTF) 内, 在 37℃ 二氧化碳培养箱中培养。

②颗粒细胞线粒体提取:

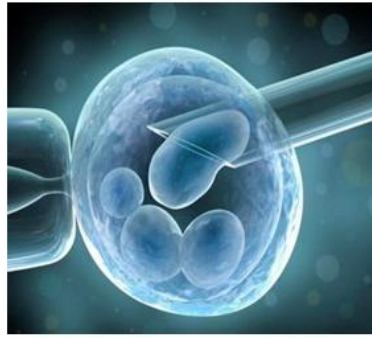
卵丘复合体经 80 μ /ml 透明质酸酶消化后, 拆除卵子周围的颗粒细胞。颗粒细胞用 HTF 培养液离心、洗涤后, 记数并调整浓度为 10^6 /ml。卵丘颗粒细胞数量少的, 从卵泡液中收集颗粒细胞。取 1ml 冰浴后的细胞匀浆器将颗粒细胞匀浆 4~6 次, 采用 4℃ 的冷冻离心机, 200g 离心 20min; 弃上清液, 沉淀物即为线粒体。用 0.5 μ l 平衡后, 经人输卵管培养液悬浮, 并放入 4℃ 冰箱保存备用。

③线粒体移植:

移植的准备工作同行卵细胞浆内单精子注射 (ICSI)。将制动的精子吸入直径为 7 μ m 的显微注射针, 并移入线粒体微滴即吸入相当于约 1~1.5 个卵子直径长度的液体。然后将线粒体与精子一同注入卵细胞胞浆内。反复吸吐 1~2 次, 使线粒体与卵细胞浆混匀, 防止精子处在线粒体的液泡中不利受精。用这种方法移植到每个卵子的液体约是卵子体积的 1%, 线粒体约 3000 个左右。

④卵子受精和胚胎质量的观察:

在受精后的第 16~20h, 观察卵子的受精情况, 计数卵子的受精率 (即出现的 2 个原核占所有卵子的比例)。在第 2 天和第 3 天观察胚胎的发育情况, 包括发育速度、细胞形态和碎片, 计数良好胚胎 (即在第 3 天胚胎移植时, 每个胚胎内的细胞数目不少于 6 个, 细胞碎片不超过胚胎总体积的 20%) 的形成率 (即良好胚胎占正常受精卵子的比例)。



2.案例

实验：选自 2002 年 7 月至 2003 年 10 月，进行体外受精-胚胎移植（IVF-ET）治疗的患者 18 例。患者年龄 33~46 岁，因胚胎发育质量差，进行 3 次以上 IVF-ET 均未妊娠，或患者年龄大于 37 岁。经超促排卵治疗，取出的成熟卵子少于 4 个者仅行线粒体移植；多于 4 个者随机行线粒体移植及 ICSI。

结果：18 例患者经过超促排卵后，获得成熟卵子 168 个，其中行线粒体移植卵子 86 个，正常受精 64 个，受精率为 74.4%；行 ICSI 卵子 82 个，正常受精 63 个，受精率为 76.8%。两种方法的受精率比较，差异无显著意义。行线粒体移植的胚胎发育速度正常，细胞碎片较少；移植日良好胚胎形成率为 59.4%。行 ICSI 的胚胎质量较差，移植日良好胚胎形成率为 34.9%。两种方法良好胚胎形成率比较，差异有显著意义。移植的胚胎全部选择线粒体移植，行 ICSI 的胚胎进行冷冻保存。每个患者移植的胚胎数目为 1~3 个。18 例中 7 例获临床妊娠，4 例为双胞胎，妊娠率为 38.9%，与同期行 ICSI 的平均妊娠率 41.7%接近。其中 1 例香港患者年龄 46 岁，在 3 个卵泡中获得卵子 2 个，行线粒体移植后 1 个卵子正常受精，胚胎发育良好，移植后获临床妊娠。[2]

3.应用

迪拜的医生对经历过多次体外受精的 40 岁女性进行卵子“返老还童”试验时，发现该技术可使受孕几率提高 5 倍。世界首个体外受精门诊创始人之一，英国最大的生育连锁中心主席 Simon Fishel 教授曾向人类受精与胚胎管理局申请将该技术用于治疗 20 位女性。通过微创手术切除健康的年轻女性的卵巢组织边缘的一片组织，将不成熟的卵子去除，捕获线粒体，并在体外受精时将线粒体注入到女性患者的“正常”卵子中，以调动卵子的活性，增加受孕的几率。Fishel 教授说，“这可能为不孕女性拥有自己基因的孩子提供革命性的选项。” [3]

五、技术优缺点

1.优点：

就现有的实验结果来看，线粒体移植技术已经为改善老龄生育期妇女以及反复妊娠失败患者的胚胎质量提供了比较有效和安全的方法；突出解决了以往“卵巢控制性超促排卵（COH）”、“卵子体外成熟（IVM）”等技术带来的副作用，在解决高龄生育问题的过程中做出了极大贡献；为人类生殖、遗传等科学技术领域带来了新的灵感。

2.缺点：

①费用高昂：“自体颗粒细胞线粒体移植”技术成本并不便宜，大概为 14000 英镑。高

昂的费用使得不少“卵子不振”的女士望而却步，导致技术应用进程受阻，人们也难享受到此项新科技带来的福音。

②伦理问题：该技术中取、种卵子的步骤可引发对卵子来源、质量高低的筛选，从而实现人工设计“完美婴儿”，跨越了医学伦理界线。

③科学问题：具有活力的卵子，应该从自体获取，还是应该寻找另一母体获取？若从自体获取，则各个卵子品质相近，仍然难以解决卵子随年龄而发生的遗传问题；而从另一母体获取，不仅可能产生免疫排斥反应，外源卵子的细胞质遗传及相关疾病仍然会引发医学伦理问题的讨论[3]。

3.展望：

目前，此项技术还没有广泛投入临床使用，科学家们将共同探讨基因带来的伦理等问题，并就移植线粒体在卵子内迁移和功能发挥方面，开展进一步研究。[2]

附：参考文献：

[1]卵子体外成熟对胞质线粒体 DNA 拷贝和功能的影响

[2]自体颗粒细胞线粒体移植对胚胎发育的影响

[3] <http://www.biodiscover.com/news/research/172469.html> 不是神话!新技术让卵子“返老还童”，再获生殖突破