

# 未成熟卵母细胞的体外成熟技术研究进展



黄芷怡<sup>1,2</sup>, 邓春雷<sup>1,2</sup>

1. 十堰市太和医院/湖北医药学院附属医院生殖医学中心 (湖北十堰 442000)

2. 湖北省脐带血造血干细胞治疗临床医学研究中心 (湖北十堰 442000)

**【摘要】**随着我国人口出生率显著下降,辅助生殖技术在缓解生育力低下方面的作用日益显著。未成熟卵母细胞体外成熟技术作为辅助生殖技术的一部分,临床应用逐渐增多。本文介绍了未成熟卵母细胞体外成熟技术的发展历史,总结了双相培养体系、培养体系添加剂、3D 培养体系等未成熟卵母细胞体外成熟现有培养体系技术,并对未成熟卵母细胞体外成熟培养在多囊卵巢综合征、卵巢抵抗综合征、女性生育力保存、常规取卵过多的补救等方面的临床应用进行概述,以期在未成熟卵母细胞体外成熟培养的相关研究和临床应用提供理论依据。

**【关键词】**体外成熟;未成熟卵母细胞;辅助生殖技术;多囊卵巢综合征;卵巢抵抗综合征

**【中图分类号】**R 711.6 **【文献标识码】**A

## Research progress of immature oocyte *in vitro* maturation

HUANG Zhiyi<sup>1,2</sup>, DENG Chunlei<sup>1,2</sup>

1. Center of Reproductive Medicine, Taihe Hospital, Affiliated Hospital of Hubei University of Medicine, Shiyan 442000, Hubei Province, China

2. Hubei Province Clinical Research Center for Umbilical Cord Blood Hematopoietic Stem Cells, Shiyan 442000, Hubei Province, China

Corresponding author: DENG Chunlei, Email: dengchunlei2009@163.com

**【Abstract】**With the significant decline of China's birth rate, the role of assisted reproductive technology in alleviating low fertility is increasingly significant. Immature oocyte *in vitro* maturation technology, as a part of assisted reproductive technology, is gradually being applied in clinical practice. This article introduced the development history of immature oocyte *in vitro* maturation technology, summarized the existing culture system technologies for immature oocyte *in vitro* maturation such as biphasic culture system, culture system additives, 3D culture system, and then summarized the clinical applications of immature oocyte *in vitro* maturation culture in polycystic ovarian syndrome, resistant ovary syndrome, female fertility preservation, and remediation of excessive conventional egg retrieval, to provide theoretical basis for related research and clinical applications of immature oocyte *in vitro* maturation.

**【Keywords】***In vitro* maturation; Immature oocyte; Assisted reproductive technology; Polycystic ovary syndrome; Resistant ovary syndrome

DOI: 10.12173/j.issn.1004-5511.202407017

基金项目:湖北省教育厅重点项目(D20222102);湖北医药学院研究生教育教学项目(YJ2022007);湖北省脐带间充质干细胞治疗临床医学研究中心开放课题(2024SC0F-012)

通信作者:邓春雷,博士,副主任医师,硕士研究生导师,Email:dengchunlei2009@163.com

yxzx.whuzhmedj.com

近年来我国人口出生率显著下降,不孕人群逐渐增多,辅助生殖技术的应用也越来越多。辅助生殖技术在改善生育力方面具有重要作用,其中未成熟卵母细胞体外成熟(*in vitro* maturation, IVM)技术作为一种特殊的辅助生殖手段,越来越受到生殖及胚胎学家的重视。IVM是通过收集有腔卵泡的未成熟卵丘-卵母细胞复合体并进行体外培养成熟,以获得成熟卵母细胞的辅助生殖技术。该技术因其能提高卵母细胞利用效率,减少卵巢过度刺激综合征(ovarian hyperstimulation syndrome, OHSS)发生,为多囊卵巢综合征(polycystic ovarian syndrome, PCOS)患者提供了更多选择,也为女性肿瘤患者生育力保存提供更多机会。近年来,为提高未成熟卵母细胞的成熟率,IVM培养体系不断改进,包括培养方案改良、培养液调整及培养环境优化等。为此,本文对IVM的发展历史、培养体系的优化、临床应用进行综述,以期为IVM的相关应用与研究提供参考。

## 1 IVM的发展历史

IVM的生物学定义是将未成熟的生发泡(germinal vesicle, GV)期卵母细胞从窦卵泡中取出并在适当的培养体系中培养,使其可以在体外发育到第二次减数分裂中期(MII期)。IVM相关研究历史悠久,1935年Pincus等第一次使用兔的未成熟卵母细胞,经体外培养,最终获得了成熟的卵母细胞<sup>[1]</sup>。随后,1960年代Rock等使用人的未成熟卵母细胞进行体外培养,获得了成熟的卵母细胞<sup>[1]</sup>。1991年,Cha等报道了第一例来自卵母细胞捐赠者的未成熟卵母细胞,经体外培养成为成熟卵母细胞后,经体外受精形成胚胎,产下全球第一个活产婴儿<sup>[1]</sup>。这一里程碑事件确立了哺乳动物卵母细胞自发成熟的潜力,即从卵泡释放的卵丘-卵母细胞复合体在特定的时间间隔内显示出减数分裂和发育的能力。1990年代开始IVM得到广泛关注,IVM的临床应用也越来越广泛<sup>[1]</sup>。

## 2 IVM培养体系

卵母细胞的核成熟一般包括两个阶段:第一阶段是GV期发育至MI期,以GV破裂为标志的减数分裂恢复;第二阶段是MI发育至MII期,以第一极体排出为标志的核成熟<sup>[2]</sup>。女性卵巢中的卵母细胞常被阻滞在减数分裂的双线期,目前

研究认为该阻滞作用的原理有两点:其一是卵母细胞与其周围颗粒细胞建立了紧密联系,颗粒细胞能够给卵母细胞提供环腺苷酸(cyclic adenosine monophosphate, cAMP),使其保持在双线期;其二是卵泡液中的次黄嘌呤等因子能抑制减数分裂。基于以上原理,细胞核与细胞质的成熟才能保持同步化<sup>[3]</sup>。

在体内生理状态下,细胞核的减数分裂停滞为细胞质发育成熟提供了时间。Kirillova等<sup>[4]</sup>研究表明IVM过程中从卵泡中取出的卵母细胞会自发地恢复减数分裂,但细胞质的发育程度并不及细胞核,于是表现为核、质成熟不同步,这是IVM必须克服的障碍。体外成熟的卵母细胞虽然能够完成核成熟,但其受精和支持后续胚胎发育的能力依赖于细胞质成熟<sup>[5-6]</sup>。因此通过改良培养体系、使用培养体系添加剂等,使细胞核、质同步成熟显得尤为重要。

### 2.1 双相IVM体系

IVM过程中将未成熟卵从机体卵泡环境中取出后,需为未成熟卵提供合适的培养环境,使其进一步成熟。目前常规IVM培养基包括TCM-100、Ham's F10、Chang's等,通常添加各种促性腺激素,置于37℃、含5%CO<sub>2</sub>的细胞培养箱中培养24~48h<sup>[7]</sup>。体外卵母细胞培养通常在无促性腺激素刺激的周期进行,或在促性腺激素刺激最少的周期进行。常规IVM体系是将未成熟卵母细胞在取卵后直接培养为MII期卵母细胞,常侧重于核成熟,而忽略了细胞质的同步成熟<sup>[8]</sup>。细胞质成熟滞后于核成熟可能是常规IVM培养体系成功率不高的原因之一。

针对常规IVM培养体系的不足,研究者对其进行改良,使用双相IVM培养体系进行培养。双相IVM培养体系也称为体外获能IVM,在动物实验中得到了很好的应用<sup>[9-11]</sup>。该系统包括两个步骤,第一步是在IVM前阶段,使用减数分裂抑制剂在体外GV期阶段捕获卵母细胞,并通过间隙连接和在培养基中提供囊胚调节剂,提高卵母细胞发育支持囊胚发育的能力。也就是在IVM培养的前24h,在培养基中添加cAMP调节剂、环鸟苷酸(cyclic guanosine monophosphate, cGMP)调节剂、3-异丁基-1-甲基-黄嘌呤(3-isobutyl-1-methylxanthine, IBMX)或C型利尿钠肽(C-type natriuretic peptide, CNP)等,主要目的是让核质

同步化。已有研究发现 CNP 介导的双相 IVM 可以改善动物（小鼠、牛和山羊等）的卵母细胞体外成熟，显著提高可利用胚胎的数量和质量<sup>[12]</sup>。第二步是 IVM 阶段，使用表皮生长因子（epidermal growth factor, EGF）和促卵泡激素（follicle-stimulating hormone, FSH）使减数分裂恢复。与常规 IVM 相比，双相 IVM 培养体系的体外受精率和临床妊娠率明显提高，卵母细胞退化率明显降低，而且减少异步发育的卵母细胞比例，避免分次进行卵泡浆内单精子注射<sup>[13]</sup>。双相 IVM 培养体系也存在多种形式和条件设置，需要更进一步探索和改进，以寻找最适合未成熟卵母细胞发育的条件。

## 2.2 培养体系添加剂

### 2.2.1 CNP或cAMP水解抑制剂

卵泡颗粒细胞分泌的 CNP，与卵丘细胞表达的 CNP 受体结合，使卵母细胞内的 cGMP 水平增高，提示 CNP 控制颗粒细胞的 cGMP 合成，cGMP 反过来通过磷酸二酯酶调节卵母细胞内的 cAMP，从而调节 GV 破裂。卵母细胞在 CNP 或 cAMP 水解抑制剂作用下，减数分裂停滞，并保留卵丘-卵母细胞复合体（cumulus-oocyte complexes, COCs）结构。Sanchez 等<sup>[14]</sup>认为哺乳动物卵母细胞在减数分裂成熟期间大部分转录处于静止状态，依赖于蛋白质合成和翻译后机制来完成核成熟，并在胚胎受精卵基因组激活之前获得支持早期胚胎发育的能力，因此应尽可能在体外模拟卵母细胞的体内环境。Cadenas 等<sup>[15]</sup>通过将 CNP 和卵丘细胞 cGMP 注入卵母细胞，来提高卵母细胞内 cAMP 的水平，阻止卵母细胞减数分裂。Yang 等<sup>[16]</sup>研究证明在体外成熟前用 CNP 猪卵母细胞可增强卵母细胞线粒体功能。Lu 等<sup>[17]</sup>研究表明在 IVM 之前用 CNP 处理牛卵母细胞可以改善牛卵母细胞的线粒体功能和抗氧化防御机制。Medina-Chavez 等<sup>[18]</sup>证实在 IVM 期间使用 cAMP 调节剂能影响减数分裂和细胞质重组，减数分裂和细胞质重组是卵母细胞发育到具有受精能力及胚胎具有发育能力所必需的。但 CNP 或 cAMP 水解抑制剂的最佳浓度和剂量仍待探索。

### 2.2.2 激素和细胞因子

体内卵泡的生长依赖多种激素的相互作用，卵母细胞的体外成熟系统同样依赖于激素，因此在 IVM 培养基中常添加促性腺激素、绒毛膜促性

腺激素（human chorionic gonadotropin, HCG）、雌二醇和胰岛素等<sup>[19]</sup>。Cadenas 等<sup>[20]</sup>研究表明加入  $75 \text{ mIU} \cdot \text{mL}^{-1}$  FSH 可促进核成熟，延缓减数分裂进程，对卵母细胞细胞质成熟有积极作用。有研究通过小鼠和牛卵母细胞研究表明，在 IVM 培养液中添加  $1 \text{ IU} \cdot \text{mL}^{-1}$  生长因子可能会产生质量更高的卵母细胞，这些生长因子可改善卵母细胞的线粒体功能和糖代谢<sup>[17]</sup>。李玉杰等<sup>[21]</sup>研究发现体外向 IVM 培养液中添加 EGF 会影响 COCs 代谢，有利于提高卵母细胞成熟率。

### 2.2.3 抗氧化剂

与体内环境相比，卵母细胞的体外培养缺乏天然的抗氧化系统，可能会导致过量的活性氧自由基（reactive oxygen species, ROS）的产生，从而导致氧化应激。培养基中的抗氧化剂可能是 ROS 的清除剂。Richani 等<sup>[22]</sup>在人类卵母细胞体外成熟培养液中添加抗氧化剂，如辅酶 Q10、褪黑素、栎素、白藜芦醇，实验结果提示抗氧化剂在提高人卵母细胞体外成熟率方面具有积极作用。添加抗氧化剂的最终目的是将 ROS 保持在生理范围内，并维持氧化还原平衡。然而，培养条件的改善是一个复杂的挑战，不仅取决于抗氧化剂的选择，还取决于其浓度。Liu 等<sup>[23]</sup>研究发现 IVM 培养基中白藜芦醇的适宜浓度是  $1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ，能显著提高 IVM 体系中未成熟卵母细胞的线粒体免疫荧光强度和纺锤体、染色体的正常形态，促进未成熟卵母细胞成熟，提高其质量。Khazaei 等<sup>[24]</sup>研究揭示褪黑素作为一种广泛应用的抗氧化剂和强大的自由基清除剂，IVM 培养基中浓度为  $0.001 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  时可以补偿氧化应激损伤，促进未成熟卵母细胞细胞质成熟，提高卵裂率和着床率。Gad 等<sup>[25]</sup>在水牛卵母细胞 IVM 培养基中添加  $5 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$  的 9-顺式维甲酸，可以通过 ROS 保护机制促进水牛卵母细胞核和细胞质成熟，但高浓度的维甲酸（ $50 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$  和  $200 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ）会减慢成熟速度。Saini 等<sup>[26]</sup>发现在 IVM 培养基中添加  $50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的叶酸可显著降低卵母细胞内的 ROS 水平，并上调叶酸受体 1、5-甲基四氢叶酸-同型半胱氨酸甲基转移酶等的转录，促进未成熟卵母细胞发育成熟。

## 2.3 3D IVM培养

为了保持与体内相似的细胞形态和功能，有学者引入三维体外成熟技术，即 3D IVM 培养体系，



以防止 COCs 的扁平化, 保持其结构和功能的完整性, 提高体外成熟效率。3D 培养系统是在胶原蛋白、基质、纤维蛋白或其他生物材料中培养细胞, 这些材料可以为细胞生长提供 3D 微环境<sup>[27]</sup>。Bebbere 等<sup>[28]</sup> 研究使用 3D 胶原凝胶共培养系统培养未成熟卵母细胞, 结果表明与仅在微滴中培养的卵母细胞成熟率相似, 而该系统培养的未成熟卵母细胞显示出更高的体外成熟效率。3D 培养系统模拟了体内的生理条件, 属于一种无支架的 3D 微生物反应器, 允许维持卵母细胞的生理结构, 更好地模拟减数分裂成熟期间的卵泡环境, 研究发现该系统能最大限度地弥补传统 2D IVM 的不足之处, 即卵丘细胞变平、粘附到 2D 支持物, 在 3D 培养系统中卵母细胞在成熟培养液中的悬浮保持了细胞的生理结构, 对卵母细胞和卵丘细胞的分子、代谢和发育能力具有积极影响<sup>[28]</sup>。Mastrorocco 等<sup>[29]</sup> 在研究中将含有 COC 的微珠用于绵羊实验, 首先制备藻酸盐微珠, 然后 COC 包裹保持其完整性, 结果表明与标准 2D IVM 培养对比, 3D IVM 培养的卵母细胞染色质构型、生物能、氧化状态、线粒体活性和卵母细胞发育能力均显著提升。

### 3 IVM技术的临床应用

根据未成熟卵母细胞来源的不同大致可分为经典 IVM 和补救性 IVM 两大类。第一类经典 IVM 指自然周期内获取未成熟的卵母细胞在体外培养成熟, 不给予任何激素处理或者给予最小激素刺激, 这适用于 PCOS 患者以降低 OHSS 的风险, 也适用于恶性肿瘤患者生育力保护。第二类补救性 IVM 指 IVM 作为常规体外受精过程中获得的卵母细胞多数为未成熟的情况下的补救措施, 目的是使未成熟卵母细胞成熟, 以提高可用胚胎率。

#### 3.1 IVM技术在PCOS中的应用

PCOS 患者行常规的控制性超促排卵, 极易发生 OHSS, 而 IVM 技术为 PCOS 患者提供了一条安全有效的途径。Gong 等<sup>[30]</sup> 研究发现 PCOS 患者卵巢中存在大量窦卵泡, 对促性腺激素敏感, 常规促排卵后 OHSS 的风险较大, 而 IVM 可以有效消除 OHSS。Jie 等<sup>[31]</sup> 研究表明对 PCOS 患者, 仅在取卵前 36 h 使用小剂量 HCG, 接着采集卵巢中的未成熟卵母细胞进行 IVM, 使其成为成熟卵母细胞, 再进行体外授精, 可以得到良好的妊

娠结局。Guo 等<sup>[32]</sup> 研究表明由于 IVM 显著优势在于最小甚至无卵巢刺激, 对于激素刺激不耐受或过度反应的情况, 它是一个很好的选择。此外, 部分对激素无反应或反应低的 PCOS 患者, IVM 也是可行的<sup>[33]</sup>。

Delvigne 等<sup>[34]</sup> 通过检索与女性 OHSS 流行病学和预防相关的数据, 发现 PCOS 患者发生 OHSS 的风险远大于正常人群, 其产生的经济代价和心理代价不容忽视。而 IVM 技术激素刺激更少和刺激时间更短, 更能避免 OHSS, 减轻患者经济和心理负担, 具有成本低、安全、方便等优势。Guo 等<sup>[35]</sup> 通过小样本的初始研究发现 IVM 和传统的超促排卵周期在产科并发症、围产期结局和子代发育结果方面没有显著差异, 但仍需大样本的长期随访以评估后代的发育结果。然而, Zheng 等<sup>[36]</sup> 通过随机对照试验发现 IVM 对预防 OHSS 有显著作用, 两组产科及围产期并发症发生率无统计学差异, 但 6 个月的累积妊娠率低于常规体外受精。

#### 3.2 IVM技术在卵巢抵抗综合征中的应用

卵巢抵抗综合征 (resistant ovary syndrome, ROS) 是一种罕见的内分泌疾病, 以原发或继发闭经、月经稀发、不排卵、不孕等为临床表现<sup>[37]</sup>。其发病机制是卵泡刺激素受体基因突变, 卵泡对内源性或外源性 FSH 无反应。ROS 患者的血清促性腺激素水平升高, 尽管抗米勒管激素水平正常, 有腔卵泡计数正常<sup>[37]</sup>。Khor 等<sup>[38]</sup> 通过采集患者的卵巢组织发现, 该类患者双侧卵巢较小, 卵巢内见大量始基卵泡、原始卵泡、小腔卵泡, 未见成熟卵泡和黄体, 患者的卵泡发育和成熟受阻。供卵是既往解决该类患者唯一的办法, 但 IVM 技术成为解决 ROS 患者生育问题的又一手段, 对于 ROS 且希望获得本人生物学后代的患者具有重要意义。Kornilov 等<sup>[39]</sup> 报道了一例 23 岁的 ROS 女性, 采用 IVM 技术促进未成熟卵母细胞体外成熟, 结合卵泡浆内单精子注射得到胚胎后, 并经遗传学检测获得染色体正常胚胎后移植, 成功产下活产婴儿, 随访至今发育健康。

#### 3.3 IVM技术应用于女性生育力保存

对于寻求生育力保护、冷冻卵母细胞, 但又不愿意接受超促排卵的女性来说, 可以选择 IVM。大多数生育力保存过程中, 小腔卵泡中的卵母细胞会丢失。但 IVM 技术可以很好地捕获到

这类未成熟的卵母细胞, 保存生育潜能。此外, 对于尚未生育的年轻肿瘤女性, 生育力保存尤为重要, 可以采取的方式有两种, 一是冷冻卵巢组织, 即在进行放疗前将健康的卵巢组织在腹腔镜下取出并冷冻, 当需要生育时, 将冷冻保存的卵巢组织解冻后移回患者体内, 再采用 IVM 技术进行辅助生殖助孕<sup>[40]</sup>; 二是冷冻卵母细胞。Huang 等<sup>[41]</sup> 报告了一例交界性卵巢恶性肿瘤女性生育力保留的病例, 该患者被取出 4 个未成熟卵母细胞并进行 IVM, 3 个卵母细胞在 48 h 后成熟并冷冻保存。研究表明, 随着技术的不断更新, 新鲜卵母细胞与冷冻卵母细胞的妊娠率基本相同, IVM 可以很好地应用于生育力保存, 并提高生育力保存的效率<sup>[42]</sup>。

### 3.4 IVM作为常规取卵过多的补救措施

常规辅助生殖取卵过程中可能取到一部分未成熟的卵母细胞, 为了挽救这部分未成熟的卵母细胞而进行 IVM, 待培养成熟之后再行受精。Esbert 等<sup>[43]</sup> 研究发现补救 IVM 并不会在第一次减数分裂时对染色体分离产生不利影响, 即补救 IVM 过程中 GV 期和 MI 期的卵母细胞在成熟的过程中并不增加染色体异常改变。Gordon 等<sup>[44]</sup> 采用随机对照试验发现, 在液滴中共培养未成熟卵母细胞与玻璃化加热的卵丘细胞, 并不能改变未成熟卵母细胞的成熟度, 然而在三维基质中共培养新鲜未成熟卵母细胞与卵丘细胞时, IVM 能改善未成熟卵母细胞的成熟度, 提示 IVM 补救有效。

除了上述常见人群, IVM 的临床适应证已扩大到如下人群: ①存在失去生育风险的妇女和寻求有计划的卵母细胞冷冻的妇女<sup>[45-46]</sup>; ②对外源性促性腺激素治疗反应高/差的妇女<sup>[47]</sup>; ③卵母细胞捐献者<sup>[48]</sup>; ④有血栓倾向者<sup>[49]</sup>; ⑤既往试管受精失败/反复植入失败者<sup>[50]</sup>。

## 4 小结与展望

IVM 作为一种辅助生殖技术, 能够提高卵母细胞利用效率, 减少 OHSS 发生, 已在临床实践中实际应用, 为 PCOS、ROS 等患者提供了更多生育方案。尽管如此, IVM 仍存在许多问题需要解决, 例如如何将较小的未成熟卵取出, 以提高 IVM 过程中获卵率; 确定添加剂最佳浓度、剂量, 以提高 IVM 的胚胎质量; 如何将传统胚胎培养与 IVM 和卵巢组织冷冻保存的技术方案整合到临床

实践中, 用于更多需要生育力保护的人群; 如何将卵泡体外生长技术和 IVM 技术相结合, 以实现早期卵泡的开发利用。此外, 未来应对 IVM 技术的患者和通过该技术生育的后代进行包括代谢、心脑血管疾病监控和儿童生长指标、智力发育评估等在内的长期随访, 以评估该技术的长期影响。

### 参考文献

- 1 Krisher RL. Present state and future outlook for the application of in vitro oocyte maturation in human infertility treatment[J]. *Biol Reprod*, 2022, 106(2): 235–242. DOI: [10.1093/biolre/foac010](https://doi.org/10.1093/biolre/foac010).
- 2 Moon JH, Zhao Q, Zhang J, et al. The developmental competence of human metaphase I oocytes with delayed maturation in vitro[J]. *Fertil Steril*, 2023, 119(4): 690–696. DOI: [10.1016/j.fertnstert.2022.12.033](https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2022.12.033).
- 3 Pei Z, Deng K, Xu C, et al. The molecular regulatory mechanisms of meiotic arrest and resumption in oocyte development and maturation[J]. *Reprod Biol Endocrinol*, 2023, 21(1): 90. DOI: [10.1186/s12958-023-01143-0](https://doi.org/10.1186/s12958-023-01143-0).
- 4 Kirillova A, Smitz JEJ, Sukhikh GT, et al. The role of mitochondria in oocyte maturation[J]. *Cells*, 2021, 10(9): 2484. DOI: [10.3390/cells10092484](https://doi.org/10.3390/cells10092484).
- 5 Jia Z, Yang X, Liu K. Treatment of cattle oocytes with C-type natriuretic peptide before in vitro maturation enhances oocyte mitochondrial function[J]. *Anim Reprod Sci*, 2021, 225: 106685. DOI: [10.1016/j.anireprosci.2020.106685](https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2020.106685).
- 6 Mastroiocco A, Cacopardo L, Temerario L, et al. Investigating and modelling an engineered millifluidic in vitro oocyte maturation system reproducing the physiological ovary environment in the sheep model[J]. *Cells*, 2022, 11(22): 3611. DOI: [10.3390/cells11223611](https://doi.org/10.3390/cells11223611).
- 7 Practice Committees of the American Society for Reproductive Medicine, the Society of Reproductive Biologists and Technologists, the Society for Assisted Reproductive Technology. In vitro maturation: a committee opinion [J]. *Fertil Steril*, 2021, 115(2): 298–304. DOI: [10.1016/j.fertnstert.2020.11.018](https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2020.11.018).
- 8 De Vos M, Grynberg M, Ho TM, et al. Perspectives on the development and future of oocyte IVM in clinical practice[J]. *J Assist Reprod Gen*, 2021, 38(6): 1265–1280. DOI: [10.1007/s10815-021-02263-5](https://doi.org/10.1007/s10815-021-02263-5).
- 9 Xu R, Pan M, Yin L, et al. C-type natriuretic peptide pre-

- treatment improves maturation rate of goat oocytes by maintaining transzonal projections, spindle morphology, and mitochondrial function[J]. *Animals (Basel)*, 2023, 13(24): 3880. DOI: [10.3390/ani13243880](https://doi.org/10.3390/ani13243880).
- 10 Strączyńska P, Papis K, Morawiec E, et al. Signaling mechanisms and their regulation during in vivo or in vitro maturation of mammalian oocytes[J]. *Reprod Biol Endocrinol*, 2022, 20(1): 37. DOI: [10.1186/s12958-022-00906-5](https://doi.org/10.1186/s12958-022-00906-5).
  - 11 Jiang Y, He Y, Pan X, et al. Advances in oocyte maturation in vivo and in vitro in mammals[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(10): 9059. DOI: [10.3390/ijms24109059](https://doi.org/10.3390/ijms24109059).
  - 12 Vuong LN, Le AH, Ho NVA, et al. Live births after oocyte in vitro maturation with a prematuration step in women with polycystic ovary syndrome[J]. *J Assist Reprod Gen*, 2020, 37(2): 347–357. DOI: [10.1007/s10815-019-01677-6](https://doi.org/10.1007/s10815-019-01677-6).
  - 13 Gilchrist RB, Ho TM, De Vos M, et al. A fresh start for IVM: capacitating the oocyte for development using pre-IVM[J]. *Hum Reprod Update*, 2024, 30(1): 3–25. DOI: [10.1093/humupd/dmad023](https://doi.org/10.1093/humupd/dmad023).
  - 14 Sanchez F, Le AH, Ho VAN, et al. Biphasic in vitro maturation (CAPA-IVM) specifically improves the developmental capacity of oocytes from small antral follicles[J]. *J Assist Reprod Genet*, 2019, 36(10): 2135–2144. DOI: [10.1007/s10815-019-01551-5](https://doi.org/10.1007/s10815-019-01551-5).
  - 15 Cadenas J, Poulsen LC, Nikiforov D, et al. Regulation of human oocyte maturation in vivo during the final maturation of follicles[J]. *Hum Reprod*, 2023, 38(4): 686–700. DOI: [10.1093/humupd/dmad024](https://doi.org/10.1093/humupd/dmad024).
  - 16 Yang J, Zhang Y, Xu X, et al. Transforming growth factor- $\beta$  is involved in maintaining oocyte meiotic arrest by promoting natriuretic peptide type C expression in mouse granulosa cells[J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(8): 558. DOI: [10.1038/s41419-019-1797-5](https://doi.org/10.1038/s41419-019-1797-5).
  - 17 Lu J, Guo M, Wang X, et al. A redesigned method for CNP-synchronized in vitro maturation inhibits oxidative stress and apoptosis in cumulus-oocyte complexes and improves the developmental potential of porcine oocytes[J]. *Genes (Basel)*, 2023, 14(10): 1885. DOI: [10.3390/genes14101885](https://doi.org/10.3390/genes14101885).
  - 18 Medina-Chávez DA, Sánchez-Ajofrín I, Peris-Frau P, et al. cAMP modulators before in vitro maturation decrease dna damage and boost developmental potential of sheep oocytes[J]. *Animals (Basel)*, 2021, 11(9): 2512. DOI: [10.3390/ani11092512](https://doi.org/10.3390/ani11092512).
  - 19 Garcia Barros R, Lodde V, Franciosi F, et al. A refined culture system of oocytes from early antral follicles promotes oocyte maturation and embryo development in cattle[J]. *Reproduction*, 2023, 165(2): 221–233. DOI: [10.1530/REP-22-0277](https://doi.org/10.1530/REP-22-0277).
  - 20 Cadenas J, Nikiforov D, Pors SE, et al. A threshold concentration of FSH is needed during IVM of ex vivo collected human oocytes[J]. *J Assist Reprod Gen*, 2021, 38(6): 1341–1348. DOI: [10.1007/s10815-021-02244-8](https://doi.org/10.1007/s10815-021-02244-8).
  - 21 李玉杰, 王海波, 潘庆杰, 等. 表皮生长因子诱导性成熟前绵羊卵母细胞体外成熟的机制研究 [J]. *中国畜牧杂志*, 2021, 57(11): 163–167, 172. [Li YJ, Wang HB, Pan QJ, et al. Mechanism of in vitro maturation of sheep oocytes induced by epidermal growth factor before sexual maturation[J]. *Chinese Journal of Animal Science*, 2021, 57(11): 163–167, 172.] DOI: [10.19556/j.0258-7033.20210123-03](https://doi.org/10.19556/j.0258-7033.20210123-03).
  - 22 Richani D, Dunning KR, Thompson JG, et al. Metabolic co-dependence of the oocyte and cumulus cells: essential role in determining oocyte developmental competence[J]. *Hum Reprod Update*, 2021, 27(1): 27–47. DOI: [10.1093/humupd/dmaa043](https://doi.org/10.1093/humupd/dmaa043).
  - 23 Liu MJ, Sun AG, Zhao SG, et al. Resveratrol improves in vitro maturation of oocytes in aged mice and humans[J]. *Fertil Steril*, 2018, 109(5): 900–907. DOI: [10.1016/j.fertnstert.2018.01.020](https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2018.01.020).
  - 24 Khazaei M, Aghaz F. Reactive oxygen species generation and use of antioxidants during in vitro maturation of oocytes[J]. *Int J Fertil Steril*, 2017, 11(2): 63–70. DOI: [10.22074/ijfs.2017.4995](https://doi.org/10.22074/ijfs.2017.4995).
  - 25 Gad A, Abu Hamed S, Khalifa M, et al. Retinoic acid improves maturation rate and upregulates the expression of antioxidant-related genes in in vitro matured buffalo (*Bubalus bubalis*) oocytes[J]. *Int J Vet Sci Med*, 2018, 6(2): 279–285. DOI: [10.1016/j.ijvsm.2018.09.003](https://doi.org/10.1016/j.ijvsm.2018.09.003).
  - 26 Saini S, Sharma V, Ansari S, et al. Folate supplementation during oocyte maturation positively impacts the folate-methionine metabolism in pre-implantation embryos[J]. *Theriogenology*, 2022, 182: 63–70. DOI: [10.1016/j.theriogenology.2022.01.024](https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2022.01.024).
  - 27 Peserico A, Di Bernardino C, Capacchietti G, et al. IVM



- advances for early antral follicle–enclosed oocytes coupling reproductive tissue engineering to inductive influences of human chorionic gonadotropin and ovarian surface epithelium coculture[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(7): 6626. DOI: [10.3390/ijms24076626](https://doi.org/10.3390/ijms24076626).
- 28 Bebbere D, Nieddu SM, Ariu F, et al. 3D liquid marble microbio reactors support in vitro maturation of prepubertal ovine oocytes and affect expression of oocyte–specific factors[J]. *Biology (Basel)*, 2021, 10(11): 1101. DOI: [10.3390/biology10111101](https://doi.org/10.3390/biology10111101).
- 29 Mastroiocco A, Cacopardo L, Martino NA, et al. One–step automated bioprinting–based method for cumulus–oocyte complex microencapsulation for 3D in vitro maturation[J]. *PLoS One*, 2020, 15(9): e0238812. DOI: [10.1371/journal.pone.0238812](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0238812).
- 30 Gong X, Li H, Zhao Y. The improvement and clinical application of human oocyte in vitro maturation (IVM) [J]. *Reprod Sci*, 2022, 29(8): 2127–2135. DOI: [10.1007/s43032-021-00613-3](https://doi.org/10.1007/s43032-021-00613-3).
- 31 Jie H, Zhao M, Alqawasmeh OAM, et al. In vitro rescue immature oocytes—a literature review[J]. *Hum Fertil (Camb)*, 2022, 25(4): 640–650. DOI: [10.1080/14647273.2021.1876932](https://doi.org/10.1080/14647273.2021.1876932).
- 32 Guo W, Zheng X, Zheng D, et al. Effectiveness, flexibility and safety of switching IVF to IVM as a rescue strategy in unexpected poor ovarian response for PCOS infertility patients[J]. *J Clin Med*, 2023, 12(5): 1978. DOI: [10.3390/jcm12051978](https://doi.org/10.3390/jcm12051978).
- 33 Pham HH, Le AH, Nguyen TC, et al. Effect of single versus grouped culture of human cumulus–oocyte complexes in PCOS women treated with biphasic in vitro maturation: a sibling oocyte pilot study[J]. *Reprod Med Biol*, 2024, 23(1): e12587. DOI: [10.1002/rmb2.12587](https://doi.org/10.1002/rmb2.12587).
- 34 Delvigne A, Rozenberg S. Epidemiology and prevention of ovarian hyperstimulation syndrom (OHSS): a review[J]. *Hum Reprod Update*, 2002, 8(6): 559–577. DOI: [10.1093/humupd/8.6.559](https://doi.org/10.1093/humupd/8.6.559).
- 35 Guo W, Xu Y, Tian T, et al. Outcomes of the next in vitro fertilization cycle in women with polycystic ovary syndrome after a failed in vitro maturation attempt[J]. *J Clin Med*, 2023, 12(17): 5761. DOI: [10.3390/jcm12175761](https://doi.org/10.3390/jcm12175761).
- 36 Zheng X, Guo W, Zeng L, et al. In vitro maturation without gonadotropins versus in vitro fertilization with hyperstimulation in women with polycystic ovary syndrome: a non–inferiority randomized controlled trial[J]. *Hum Reprod*, 2022, 37(2): 242–253. DOI: [10.1093/humrep/deab243](https://doi.org/10.1093/humrep/deab243).
- 37 Mu Z, Shen S, Lei L. Resistant ovary syndrome: pathogenesis and management strategies[J]. *Front Med (Lausanne)*, 2022, 9: 1030004. DOI: [10.3389/fmed.2022.1030004](https://doi.org/10.3389/fmed.2022.1030004).
- 38 Khor S, Lyu Q, Kuang Y, et al. Novel FSH variants causing female resistant ovary syndrome[J]. *Mol Genet Genom Med*, 2020, 8(2): e1082. DOI: [10.1002/mgg3.1082](https://doi.org/10.1002/mgg3.1082).
- 39 Kornilov NV, Pavlova MN, Yakovlev PP, et al. The live birth in a woman with resistant ovary syndrome after in vitro oocyte maturation and preimplantation genetic testing for aneuploidy[J]. *J Assist Reprod Genet*, 2021, 38(6): 1303–1309. DOI: [10.1007/s10815-021-02085-5](https://doi.org/10.1007/s10815-021-02085-5).
- 40 Hončová V. Cryopreservation of ovarian tissue as a method for fertility preservation in women[J]. *Ceska Gynekol*, 2023, 88(1): 44–51. DOI: [10.48095/cecg202344](https://doi.org/10.48095/cecg202344).
- 41 Huang JY, Buckett WM, Gilbert L, et al. Retrieval of immature oocytes followed by in vitro maturation and vitrification: a case report on a new strategy of fertility preservation in women with borderline ovarian malignancy[J]. *Gynecol Oncol*, 2007, 105(2): 542–544. DOI: [10.1016/j.ygyno.2007.01.036](https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2007.01.036).
- 42 Strowitzki T, Bruckner T, Roesner S. Maternal and neonatal outcome and children's development after medically assisted reproduction with in–vitro matured oocytes—a systematic review and Meta–analysis[J]. *Hum Reprod Update*, 2021, 27(3): 460–473. DOI: [10.1093/humupd/dmaa056](https://doi.org/10.1093/humupd/dmaa056).
- 43 Esbert M, García C, Cutts G, et al. Oocyte rescue in–vitro maturation does not adversely affect chromosome segregation during the first meiotic division[J]. *Reprod Biomed Online*, 2024, 48(1): 103379. DOI: [10.1016/j.rbmo.2023.103379](https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2023.103379).
- 44 Gordon CE, Combelles CM, Lanes A, et al. Cumulus cell co–culture in media drops does not improve rescue in vitro maturation of vitrified–warmed immature oocytes[J]. *F S Sci*, 2023, 4(3): 185–192. DOI: [10.1016/j.xfss.2023.05.004](https://doi.org/10.1016/j.xfss.2023.05.004).
- 45 Gilchrist RB, Smits J. Oocyte in vitro maturation: physiological basis and application to clinical practice[J]. *Fertil Steril*, 2023, 119(4): 524–539. DOI: [10.1016/j.fertnstert.2023.02.010](https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2023.02.010).

- 46 Arecco L, Blondeaux E, Bruzzone M, et al. Safety of fertility preservation techniques before and after anticancer treatments in young women with breast cancer: a systematic review and Meta-analysis[J]. Hum Reprod, 2022, 37(5): 954–968. DOI: [10.1093/humrep/deac035](https://doi.org/10.1093/humrep/deac035).
- 47 Ender Y, Eray C, Ozcan B. In vitro maturation may prevent the cancellation of in vitro fertilization cycles in poor responder patients: a case report[J]. J Turk Ger Gynecol Assoc, 2013, 14(4): 235–237. DOI: [10.5152/jtgga.2013.68335](https://doi.org/10.5152/jtgga.2013.68335).
- 48 Nikiforov D, Grøndahl ML, Hreinsson J, et al. Human oocyte morphology and outcomes of infertility treatment: a systematic review[J]. Reprod Sci, 2022, 29(10): 2768–2785. DOI: [10.1007/s43032-021-00723-y](https://doi.org/10.1007/s43032-021-00723-y).
- 49 Qian Y, Tong Y, Zeng Y, et al. Integrated lipid metabolomics and proteomics analysis reveal the pathogenesis of polycystic ovary syndrome[J]. J Transl Med, 2024, 22(1): 364. DOI: [10.1186/s12967-024-05167-x](https://doi.org/10.1186/s12967-024-05167-x).
- 50 Ellenbogen A, Shavit T, Shalom-Paz E. IVM results are comparable and may have advantages over standard IVF[J]. Facts Views Vis Obgyn, 2014, 6(2): 77–80. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25009730/>.

收稿日期: 2024 年 07 月 07 日 修回日期: 2024 年 09 月 12 日  
本文编辑: 李绪辉 曹越

引用本文: 黄芷怡, 邓春雷. 未成熟卵母细胞的体外成熟技术研究进展[J]. 医学新知, 2024, 34(9): 1049–1056. DOI: 10.12173/j.issn.1004-5511.202407017  
Huang ZY, Deng CL. Research progress of immature oocyte *in vitro* maturation[J]. Yixue Xinzhi Zazhi, 2024, 34(9): 1049–1056. DOI: 10.12173/j.issn.1004-5511.202407017