

# 人胚胎培养液中 MMP-9 及其抑制剂 TIMP-1 与胚胎质量及 IVF-ET 结局关系

罗希, 周从容, 周桦

贵州医科大学附属医院生殖医学中心, 贵州 贵阳 550000

**摘要:** **目的** 研究不同质量人胚胎培养液中基质金属蛋白酶-9 (MMP-9) 及金属蛋白酶组织抑制因子 (TIMP)-1 中的水平, 并探讨 MMP-9 及 TIMP-1 间的相关性, 分析 MMP-9 及 TIMP-1 的分泌与胚胎质量的关系及其对体外受精胚胎移植 (IVF-ET) 结局的影响。 **方法** 选择 2016 年 6 月至 9 月在贵州医科大学附属医院生殖中心接受体外受精/卵胞浆内单精子显微注射-胚胎移植 (IVF/ICSI-ET) 且第 3 天胚胎有 2~3 个 8cell I 级可供移植的胚胎 42 例患者, 根据移植后患者妊娠与否分为妊娠组和未妊娠组, 比较两组间移植胚胎培养液中 MMP-9 及 TIMP-1 的水平。根据患者的剩余胚胎发育情况分为优质胚胎组、中等胚胎组和劣质胚胎组, 比较各组胚胎培养液中 MMP-9 及 TIMP-1 分泌水平, 并分析两者间的相关性。 **结果** 42 例患者中, 妊娠 22 例, 未妊娠 20 例。妊娠组胚胎培养液中 MMP-9 及 TIMP-1 分泌水平显著高于未妊娠组, 差异有统计学意义 ( $P$  均  $< 0.05$ )。随着胚胎质量的提高 (劣质胚胎→中等胚胎→优质胚胎), 胎培养液中 MMP-9 及 TIMP-1 的分泌水平逐渐增加, 差异统计学意义 ( $P$  均  $< 0.05$ )。MMP-9 的分泌水平与 TIMP-1 的分泌水平呈正相关 ( $r = 0.827, P < 0.05$ )。 **结论** 胚胎培养液中 MMP-9 及 TIMP-1 的分泌水平可预示胚胎的发育, 对胚胎培养液中 MMP-9 及 TIMP-1 的定量检测可作为评估胚胎质量的一项指标。 **关键词:** 基质金属蛋白酶-9; 金属蛋白酶组织抑制因子-1; 胚胎培养液; 胚胎质量; 体外受精-胚胎移植; 辅助生殖技术; 胚胎着床; 妊娠

中图分类号: R 711.6 文献标识码: A 文章编号: 1674-8182(2018)08-1020-05

## Associations of MMP-9 and its inhibitor TIMP-1 in human embryo culture medium with embryo quality and IVF-ET outcome

LUO Xi, ZHOU Cong-rong, ZHOU Hua

Reproductive Medicine Center, The Affiliated Hospital of Guizhou Medical University, Guiyang, Guizhou 550000, China

Corresponding author: ZHOU Cong-rong, E-mail: Zhcr1234@126.com

**Abstract: Objective** To investigate the levels of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) and tissue inhibitor of metalloproteinase (TIMP)-1 in human embryo culture medium for different quality embryos, explore the correlation between MMP-9 and TIMP-1, analyze the relationship between secretions of MMP-9, TIMP-1 and embryo quality and their influence on in vitro fertilization-embryo transfer (IVF-ET) outcome. **Methods** A total of 42 patients who received in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection-embryo transfer (IVF/ICSI-ET) in Reproductive Medicine Center of Affiliated Hospital of Guizhou Medical University from June 2016 to September 2016 and had 2 or 3 embryos of 8cell grade I at the day 3 for embryo transfer were selected. The patients were divided into pregnancy group and non-pregnancy group according to pregnancy or not. Secretion levels of MMP-9 and TIMP-1 in culture medium of transferred embryos were compared between two groups. According to the development situation of residual embryos, the embryos were divided into high quality embryo group, medium quality embryo group and inferior quality embryo group, and the contents of MMP-9 and TIMP-1 in embryo culture medium were compared between two groups, and the correlation of MMP-9 and TIMP-1 was analyzed. **Results** Twenty-two out of 42 patients had got pregnancy. The concentrations of MMP-9 and TIMP-1 in embryo culture medium in pregnancy group were significantly higher than those in non-pregnancy group ( $P < 0.05$ ). The concentrations of MMP-9 and TIMP-1 in embryo culture medium gradually increased with the increase of embryo quality (inferior embryo, medium embryo, high quality embryo) ( $P < 0.05$ ). The secretion level of MMP-9 was positively correlated with secretion

level of TIMP-1 ( $r = 0.827, P < 0.05$ ). **Conclusions** The secretion levels of MMP-9 and TIMP-1 in embryo culture medium can predict the development situation of the embryo. The quantitative detection of MMP-9 and TIMP-1 in embryo culture medium can be used as the indexes to evaluate embryo quality.

**Key words:** Matrix metalloproteinase-9; Tissue inhibitor of metalloproteinase-1; Embryo culture medium; Embryo quality; In vitro fertilization-embryo transfer; Assisted reproductive technology; Embryo implantation; Pregnancy

目前,体外受精-胚胎移植(in vitro fertilization and embryo transfer, IVF-ET)已成为治疗不孕症的主要技术之一,随着近年来临床促排卵方案的日趋成熟以及实验室环境的不断改善,其临床妊娠率有明显的提高。但研究表明,约 40% 的患者虽然有优质胚胎植入,种植率依然徘徊在 25% ~ 35%<sup>[1]</sup>,成为制约 IVF-ET 妊娠成功的重要因素之一。选择一种能评估胚胎发育潜能的指标一直是辅助生殖工作者重视的热点难点问题,目前国际上大多根据胚胎形态学指标来评估胚胎质量<sup>[2]</sup>,但这种方法重复性低、不能准确反映胚胎的质量,形态学正常的胚胎并不能绝对表明胚胎具有正常的核型,可能存在遗传或表观遗传缺陷<sup>[3]</sup>。而胚胎培养液中一些相关的着床因子可以评价胚胎的发育潜能<sup>[4]</sup>。基质金属蛋白酶-9(MMP-9)作为基质金属蛋白酶(MMPs)家族中的一员,除具有水解细胞外基质的功能外,还参与胚胎的发育与着床,其表达和分泌被认为是决定胚泡着床的重要条件之一<sup>[5]</sup>。MMP-9 及其特异性抑制因子金属蛋白酶组织抑制因子(TIMP)-1 间的协调表达,在一定的时间和部位发挥水解子宫内基质的生物学功能,从而为胚泡顺利侵入子宫内膜提供条件。但目前鲜有研究证明,人胚胎培养液中是否有 MMP-9 及 TIMP-1 的表达,且两者的关系如何,是否与胚胎发育和 IVF-ET 结局有关系。本研究的目的是采用 ELISA 法测定胚胎培养液中 MMP-9 及其抑制因子 TIMP-1 的水平,评价其与胚胎发育和种植的关系,初步探讨胚胎分泌的 MMP-9 及 TIMP-1 对 IVF-ET 妊娠结局的影响。

## 1 对象与方法

1.1 研究对象 选择 2016 年 6 月至 9 月在贵州医科大学附属医院生殖中心接受体外受精/卵胞浆内单精子显微注射-胚胎移植(IVF/ICSI-ET)治疗的 42 例患者,年龄 25 ~ 39 岁,基础性激素正常,仅因输卵管因素、男性因素进行第一周期治疗,无其他免疫性疾病、多囊卵巢综合征(PCOS)、盆腔子宫内膜异位症(EMS)、卵巢或输卵管手术史,且至少有两个 8cell I 级胚胎可移植的患者。

### 1.2 研究方法

1.2.1 控制性超促排卵(COH)方案的选择 所有

患者均采用常规长方案,即从上一个月经周期的黄体中期(月经第 21 天左右)开始采用促性腺激素释放激素激动剂(GnRH-a)进行调节,直至注射人绒毛膜促性腺激素(HCG)日。从月经第 2 ~ 3 天起给予促性腺激素[卵泡刺激素(FSH)和/或人绝经期促性腺激素(HMG)]促排卵,药物剂量根据患者卵泡生长及相关激素水平情况予以调节,当优势卵泡中有 1 个直径达 18 mm 或 2 个达 17 mm 或 3 个达 16 mm 时,可于当天停用促性腺激素,并于当晚 9 时予重组 HCG 10 000 IU 肌肉注射诱导卵母细胞最后成熟,36 h 后行阴道超声介导下穿刺回收卵母细胞。

1.2.2 胚胎的评估 按 Wetzels 胚胎评分法<sup>[6]</sup>对受精后第 3 天的胚胎行形态评估,根据胚胎发育情况进行分级和分组。I 级:细胞大小均匀,形态规则,透明带完整,胞质均匀、清晰没有颗粒现象,碎片在 0% ~ 5%; II 级:细胞大小略不均匀,形态略不规则,胞质可有颗粒现象,碎片在 10% ~ 20%; III 级:细胞大小明显不均匀,形态明显不规则,胞质可有明显的颗粒现象,碎片在 21% ~ 50%; IV 级:细胞大小严重不均匀,胞质可有严重的颗粒现象,碎片在 50% 以上。优质胚胎:由原核构型为 2 原核(2 PN)卵裂来,受精后第 3 天卵细胞分裂  $\geq 7$  个,形态学评级为 I 级或 II 级的胚胎,或卵细胞分裂为 6 个,形态学评级为 I 级的胚胎;中等胚胎:由 2 PN 卵裂来,受精后第 3 天卵细胞分裂为 6 个,形态学评级为 II 级的胚胎,或卵细胞分裂为 5 个,形态学评级为 I 级或 II 级的胚胎,或卵细胞分裂为 4 个,形态学评级为 I 级的胚胎;劣质胚胎:由 2 PN 卵裂来,受精后第 3 天卵细胞分裂  $\leq 3$  个,形态学评级为 III 级或 IV 级的胚胎,或卵细胞分裂为 4 个,形态学评级为 II 级的胚胎。

1.2.3 胚胎培养液的收集 受精后第 3 天,选择 8cell I 级的优质胚胎进行新鲜胚胎移植。移植后即收集移植胚胎培养液于 1 支微型离心管(EPP)内;另收集未移植剩余胚胎的胚胎培养液,其中包括优质胚胎、中等胚胎和劣质胚胎,各装于 1 支 EPP 管内,于 -20 °C 冰箱保存,备用。一个患者最多可收集到 4 份标本(移植胚胎、优质胚胎、中等胚胎、劣质胚胎),最少可收集到一份标本(移植胚胎)。因每支 EPP 管内收集的标本均为融合胚胎培养液,故检测结

果应为融合胚胎培养液中所有胚胎的平均浓度。

1.2.4 黄体支持 按本中心常规黄体支持法,予 HCG/黄体酮/地屈孕酮行黄体支持。

1.2.5 妊娠结局的判断和分组 移植 14 d 后检测尿 HCG,若阳性进一步检测血清 HCG,如妊娠试验阳性,于胚胎移植后 28 d 行阴道超声检查以确定妊娠。对移植 8cell I 级胚胎后患者妊娠与否进行分组,妊娠组:妊娠试验阳性且阴道超声检查见孕囊,其内可见胚芽及原始心管搏动;未妊娠组:移植 14 d 后妊娠试验阴性。

1.3 MMP-9 及 TIMP-1 的 ELISA 检测 胚胎培养液中 MMP-9 及 TIMP-1 浓度采用 ELISA 法测定,测定所用试剂为美国 CUSABIO 公司提供,所有操作严格按照说明书的操作进行,试验结果判定以酶标仪读数为准,并做预试验以调整稀释比例。

1.4 统计学方法 应用 SPSS 16.0 软件进行统计分析,计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,多组间比较采用方差分析及两两比较的 LSD-*t* 检验,两组比较采用独立样本 *t* 检验;计数资料以 % 表示,比较采用  $\chi^2$  检验;两变量间的相关分析用 Pearson 相关分析, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 妊娠组与未妊娠组的一般资料比较 42 例患者中,妊娠患者 22 例(妊娠组),未妊娠患者 20 例(未妊娠组)。两组年龄、不孕年限、基础 FSH、Gn 天数及剂量、受精率、卵裂率、优胚率比较差异无统计学意义( $P$  均  $> 0.05$ )。见表 1。

2.2 妊娠组与未妊娠组移植胚胎培养液中 MMP-9 及 TIMP-1 分泌水平比较 妊娠组胚胎培养液中 MMP-9 及 TIMP-1 分泌水平显著高于未妊娠组,差异有统计学意义( $P$  均  $< 0.05$ )。见表 2。

2.3 不同质量胚胎对应胚胎培养液中 MMP-9 及 TIMP-1 分泌水平比较 随着胚胎质量的提高(劣质

表 2 妊娠组和未妊娠组胚胎培养液中 MMP-9 及 TIMP-1 分泌水平比较 (ng/ml,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	MMP-9	TIMP-1
妊娠组	22	0.499 ± 0.064	0.439 ± 0.056
未妊娠组	20	0.356 ± 0.069	0.388 ± 0.095
<i>t</i> 值		6.968	2.143
<i>P</i> 值		0.000	0.038

表 3 不同质量胚胎对应胚胎培养液中 MMP-9 和 TIMP-1 分泌水平比较 (ng/ml,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	MMP-9	TIMP-1
优质胚胎组	18	0.416 ± 0.102	0.425 ± 0.096
中等胚胎组	21	0.313 ± 0.081 *	0.316 ± 0.069 *
劣质胚胎组	12	0.159 ± 0.046 **	0.154 ± 0.049 **
<i>F</i> 值		34.443	45.600
<i>P</i> 值		0.000	0.000

注:与优质胚胎组比较,\* $P < 0.05$ ;与中等胚胎组比较,# $P < 0.05$ 。

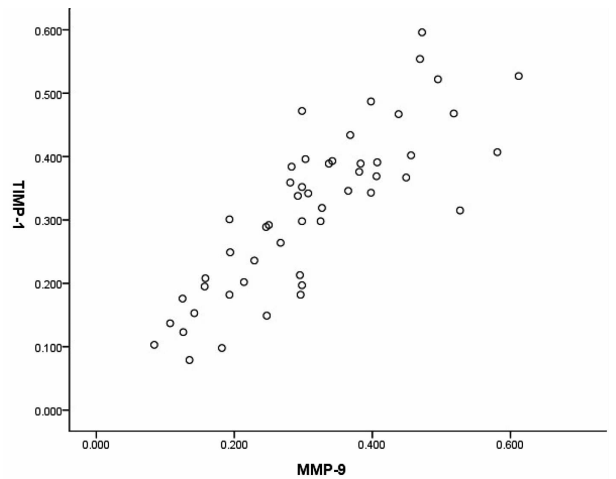


图 1 MMP-9 与 TIMP-1 分泌水平的散点图

胚胎→中等胚胎→优质胚胎),胎培养液中 MMP-9 及 TIMP-1 的分泌水平逐渐增加,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 3。将 MMP-9 的分泌水平与 TIMP-1 的分泌水平进行相关分析,发现两者呈正相关( $r = 0.827, P < 0.05$ )。散点图见图 1。

## 3 讨论

胚胎着床是建立妊娠的关键环节,这一过程包括胚胎的早期发育,子宫内膜接受态的建立,胚胎与子宫内膜上皮细胞的相互识别、定位及黏附,进而穿透子宫内膜表面,植入子宫内膜基质中<sup>[7]</sup>。这是一个胚胎与子宫内膜在时空上相互适应、同步协调变化的过程。成功的着床取决于在这一时期母体接受态和胚胎侵入态的高度协调,这一阶段除受到雌、孕激素及一些细胞因子的精细调节外,还依赖于 MMPs 和基质金属蛋白酶抑制剂(tissue inhibitor of metalloproteinases, TIMPs)对细胞外基质的广泛降解和重建,两

表 1 妊娠组和未妊娠组的一般资料比较

项目	妊娠组( $n=22$ )	未妊娠组( $n=20$ )	$\chi^2/t$ 值	<i>P</i> 值
年龄(岁, $\bar{x} \pm s$ )	31.73 ± 3.48	30.05 ± 3.66	1.524	0.136
不孕年限(年, $\bar{x} \pm s$ )	5.23 ± 3.53	5.30 ± 2.75	0.071	0.943
基础 FSH(IU/L, $\bar{x} \pm s$ )	7.60 ± 3.00	6.89 ± 1.66	0.935	0.355
Gn 天数(d, $\bar{x} \pm s$ )	11.32 ± 1.86	11.15 ± 1.69	0.308	0.759
Gn 剂量(IU/L, $\bar{x} \pm s$ )	2360 ± 1141.16	2180 ± 683.93	0.612	0.522
卵裂率(%)	97.93(236/241)	98.02(248/253)	0.006	0.938
受精率(%)	88.28(241/273)	88.15(253/287)	0.002	0.963
优胚率(%)	59.75(141/236)	59.27(147/248)	0.011	0.916

注:卵裂率=卵裂胚胎数/受精卵子数 100%;受精率=(2PN 卵子数+1PN 卵子数+多 PN 卵子数+0PN 卵子数)/IVF 加精卵子数 100%;优胚率=优质胚胎数/正常受精卵裂胚胎数 100%。

者间的协调作用使得妊娠得以顺利进行。MMPs 促使绒毛侵入子宫内膜,若 MMPs 表达降低,则滋养细胞对母体子宫内膜侵入不足会导致胚胎着床失败、胎盘血管重塑障碍,引发胎儿宫内发育迟缓、流产、死胎等不良妊娠结局以及孕妇妊娠期子痫前期/子痫等疾病<sup>[8]</sup>。TIMPs 则抑制绒毛侵入子宫内膜,若 MMPs 表达增高或 TIMPs 表达降低,则绒毛滋养层细胞侵入子宫内膜过度,是胎盘植入、葡萄胎以及绒毛膜癌等滋养细胞疾病的病理特征,并且由于蜕膜的过度降解亦可造成流产<sup>[9]</sup>。两者间相互调控,形成一种动态平衡,使胚泡能够侵入子宫内膜,完成着床。

在众多的 MMPs 和 TIMPs 中,MMP-9 和 TIMP-1 是参与和调节人滋养细胞侵入子宫内膜的主要蛋白质<sup>[10]</sup>。MMP-9 作为 MMPs 家族中分子量最大的明胶酶,能够水解细胞外基质成分,广泛参与生殖过程的很多阶段。大量研究表明,MMP-9 广泛参与胚胎的发育与着床,其表达和分泌被认为是决定胚泡着床的重要条件之一<sup>[5]</sup>。TIMP-1 是 MMP-9 的特异性抑制因子,可与活化的 MMP-9 的锌离子位点结合以调节其活性,两者之间形成动态平衡,有利于胚泡植入,使妊娠得以顺利进行<sup>[11]</sup>。Wang 等<sup>[12]</sup>通过 RT-PCR 检测了植入前胚胎的不同阶段,发现在临近植入期,表达 TIMP-1 mRNA 的胚胎数量明显增加,提示在这个时期是以 MMP-9 为代表的 MMPs 开始水解 ECM 帮助胚泡浸润的时期,而 TIMP-1 在同时同位置表达增强,形成对 MMP-9 的抑制,保证了胚胎浸润的适度性。这与桂文武等<sup>[13]</sup>研究结果一致,认为 MMP-9/TIMP-1 在种植窗期子宫内膜高表达可能参与了胚泡的着床,调节胚胎的植入过程。胚胎滋养层细胞和蜕膜细胞同时合成 MMPs 和 TIMPs,说明它们相互调控和平衡对于重建基质和控制侵入很关键<sup>[14]</sup>,如果打破这种平衡,MMP-9 表达过高或 TIMP-1 表达降低,将导致两者比例失调,都可能造成细胞外基质的过度降解,滋养层细胞对子宫内膜的过度侵入,从而影响胚泡植入。

早在 2001 年,Whiteside 等<sup>[15]</sup>用 ELISA 法检测了小鼠胚胎培养液中 MMP-9 及 TIMP-1 的分泌水平,发现在体外 TIMP-1 能通过抑制胚泡来源的 MMP-9,来抑制围植入期的细胞外基质降解,认为 MMP-9/TIMP-1 是胚胎滋养细胞侵入子宫内膜的一对关键着床因子。随后有研究通过 Western blot 首次检测出了 MMP-9 在促超排卵过程中卵泡液中的存在,发现 MMP-9 可通过降解基质膜的主要成分来参与排卵和卵泡的生长这样组织重建的过程<sup>[16]</sup>。随后研究发现胚胎培养液中 MMP-9 的分泌可预示着胚胎的发育,

分泌水平高的胚胎质量好,其种植率和妊娠率较分泌水平低的胚胎高<sup>[17]</sup>。Shibahara 等<sup>[18]</sup>研究发现,胚胎移植后 14 d 的血清 TIMP-1 水平在妊娠组显著高于未妊娠组,与陈莉萍等<sup>[19]</sup>研究一致,这是因为在早孕期 TIMP-1 的表达增高可拮抗 MMP-9 对细胞外基质的过度降解作用,限制绒毛滋养细胞过度侵入子宫内膜,避免因过度侵袭对组织造成的损伤,使妊娠得以顺利进行。相反,非妊娠组中 TIMP-1 的表达水平低,提示低水平的 TIMP-1 不足以拮抗 MMP-9 对细胞外基质的降解作用,从而不能有效的保护细胞外基质,导致妊娠失败。Horka 等<sup>[20]</sup>报道,IVF-ET 助孕后妊娠妇女的血清和卵泡液 MMP-9 浓度明显高于经 IVF-ET 治疗未妊娠者,提示血清或卵泡液中 MMP-9 水平与 IVF-ET 助孕的妊娠结局相关。

本研究发现,MMP-9 及 TIMP-1 在妊娠组的水平比未妊娠组高,可能是由于在妊娠组中胚胎植入过程主要受到高表达的 MMP-9 对子宫内膜细胞外基质的降解破坏,使绒毛滋养细胞较易植入子宫内膜,当 MMP-9 的表达量达到一定程度时,即会触发 TIMP-1 的分泌,拮抗 MMP-9 对子宫内膜的过度降解破坏,维持胚胎适度浸润,导致胚胎成功着床。在本研究中我们发现,不同质量胚胎分泌 MMP-9 及 TIMP-1 的水平是不同的,从劣质胚胎、中等胚胎到优质胚胎,所对应的胚胎培养液中 MMP-9 及 TIMP-1 的分泌水平逐渐升高,分泌水平高的胚胎较分泌水平低的胚胎质量好,预示着 MMP-9 及 TIMP-1 在调节胚胎的发育方面起着一定作用。

随着辅助生殖技术的不断发展,多胎妊娠带来的母婴危害是有目共睹的,有数据显示辅助生育技术多胎妊娠率升高明显,故辅助生殖领域都提倡单胚胎移植<sup>[21-22]</sup>。更增加了对胚胎选择的要求。本研究应用的 ELISA 方法简单无创,为 IVF-ET 技术中胚胎质量的评估提供了一个新的途径,但是本研究仅是一个初步探讨,需要不断扩大样本量及规范实验操作来进行更深入地研究,寻求检测 MMP-9 及 TIMP-1 更简单而灵敏的方法,最终应用于临床,以提高 IVF-ET 的种植率和妊娠率。

#### 参考文献

- [1] Andersen AN, Goossens V, Gianaroli L, et al. Assisted reproductive technology in Europe, 2003. Results generated from European registers by ESHRE[J]. Hum Reprod, 2007, 22(6): 1513-1525.
- [2] Lasiene K, Vitkus A, Valanciute A, et al. Morphological criteria of oocyte quality[J]. Medicina (Kaunas), 2009, 45(7): 509-515.
- [3] Aydiner F, Yetkin CE, Seli E. Perspectives on emerging biomarkers for non-invasive assessment of embryo viability in assisted reproduc-

- tion[J]. *Curr Mol Med*, 2010, 10(2): 206 - 215.
- [4] Xu P, Alfaidy N, Challis JR. Expression of matrix metalloproteinase (MMP)-2 and MMP-9 in human placenta and fetal membranes in relation to preterm and term labor[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2002, 87(3): 1353 - 1361.
- [5] Ingersoll EP, Pendharkar NC. Characterization and expression of two matrix metalloproteinase genes during sea urchin development[J]. *Gene Expr Patterns*, 2005, 5(6): 727 - 732.
- [6] Wetzels AM, Bastiaans BA, Hendriks JC, et al. The effects of co-culture with human fibroblasts on human embryo development in vitro and implantation[J]. *Hum Reprod*, 1998, 13(5): 1325 - 1330.
- [7] 万玉婷, 周灿权. 高龄妇女冻融胚胎移植激素替代周期移植日黄体生成素与妊娠结局的关系[J]. *热带医学杂志*, 2017, 17(6): 701 - 704.
- [8] Xie L, Sadovsky Y. The function of miR-519d in cell migration, invasion, and proliferation suggests a role in early placentation[J]. *Placenta*, 2016, 48: 34 - 37.
- [9] 秦喆, 侯海燕, 史海霞, 等. MMP-2 和 MMP-9 参与多种因素对胎盘滋养细胞侵袭力的调控[J]. *国际妇产科学杂志*, 2017, 44(3): 350 - 355.
- [10] Matrisian LM. Metalloproteinases and their inhibitors in matrix remodeling[J]. *Trends Genet*, 1990, 6(4): 121 - 125.
- [11] 盛敏, 任春娥, 韩海艳, 等. 种植窗口期子宫内膜中 MMP-9、TIMP-1 及 ICAM-1 的表达与体外受精-胚胎移植妊娠结局的关系[J]. *中国卫生检验杂志*, 2012, 22(8): 1827 - 1830.
- [12] Wang H, Wen Y, Mooney S, et al. Matrix metalloproteinase and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase expression in human preimplantation embryos[J]. *Fertil Steril*, 2003, 80 Suppl 2: 736 - 742.
- [13] 桂文武, 丘彦, 曾品鸿, 等. 排卵正常妇女子宫内膜种植窗期基质金属蛋白酶-9 及其抑制物-1 的表达特点及作用[J]. *重庆医科大学学报*, 2004, 29(1): 1 - 4.
- [14] 孙光娟, 周惠芳. 基质金属蛋白酶-9 及其抑制因子-1 在胚胎着床中的作用及中医药研究进展[J]. *吉林中医药*, 2013, 33(1): 100 - 102.
- [15] Whiteside EJ, Jackson MM, Herington AC, et al. Matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-3 are key regulators of extracellular matrix degradation by mouse embryos[J]. *Biol Reprod*, 2001, 64(5): 1331 - 1337.
- [16] Shimokawa KI, Katayama M, Matsuda Y, et al. Identification of complexes of gelatinase A and tissue inhibitor of metalloproteinase-2 in human follicular fluid [J]. *Reprod Med Biol*, 2003, 2(3): 115 - 119.
- [17] Gialeli C, Theocharis AD, Karamanos NK. Roles of matrix metalloproteinases in cancer progression and their pharmacological targeting [J]. *FEBS J*, 2011, 278(1): 16 - 27.
- [18] Shibahara H, Suzuki T, Kikuchi K, et al. Serum matrix metalloproteinase and tissue inhibitor of metalloproteinase concentrations in infertile women achieved pregnancy following IVF-ET[J]. *Am J Reprod Immunol*, 2005, 54(4): 186 - 192.
- [19] 陈莉萍, 刘嘉茵. 血清基质金属蛋白酶-9 和基质金属蛋白酶抑制剂-1 在接受 IVF-ET 患者中的测定[J]. *实用临床医药杂志*, 2008, 12(9): 110 - 111.
- [20] Horka P, Malickova K, Jarosova R, et al. Matrix metalloproteinases in serum and the follicular fluid of women treated by in vitro fertilization[J]. *J Assist Reprod Genet*, 2012, 29(11): 1207 - 1212.
- [21] 邵一丹, 梁元姣, 陈莉, 等. 抗苗勒氏管激素下降率对多囊卵巢患者促排卵疗效的预测价值[J]. *医学研究生学报*, 2016, 29(6): 616 - 620.
- [22] 曹文丽, 夏邦世, 张艳普, 等. 卵丘颗粒细胞的端粒长度与体外受精-胚胎移植妊娠结局的关系[J]. *中华全科医学*, 2017, 15(12): 2096 - 2098.

收稿日期: 2018 - 03 - 15 修回日期: 2018 - 04 - 02 编辑: 王国品