



评述

生育力与生殖健康: 生殖医学的挑战与对策 ——第170期“双清论坛”学术综述

吕群燕¹, 王雁玲², 田婵³, 张弘¹, 程京⁴, 乔杰³, 沙家豪⁵, 张学⁶, 周琪², 董尔丹^{1*}

1. 国家自然科学基金委员会医学科学部, 北京 100085;

2. 中国科学院动物研究所, 北京 100101;

3. 北京大学附属第三医院, 北京 100191;

4. 清华大学医学院, 北京 100084;

5. 南京医科大学基础医学院, 南京 211166;

6. 中国医学科学院基础医学研究所, 北京 100730

* 联系人, E-mail: donged@nsfc.gov.cn

收稿日期: 2017-05-26; 接受日期: 2017-06-12; 网络版发表日期: 2017-07-16

摘要 生殖健康是人口与健康领域的重要议题之一, 对世界人口与经济社会发展具有深远的影响, 受到国际社会的普遍关注. 当前, 全球生育年龄普遍增高, 环境污染、社会压力、生活方式改变等问题凸显, 严重影响了人类的生育力和生殖健康. 在我国, “全面二孩”政策的实施也给生殖健康领域带来新的挑战. 为了应对挑战, 2016年12月1日至2日国家自然科学基金委医学科学部、信息科学部、化学科学部、生命科学部和政策局联合举办了主题为“生育力与生殖健康”的第170期双清论坛, 来自全国生殖生物学、生殖医学、生殖工程、遗传学、妇产科学、儿科学、化学、影像学、流行病学等学科领域的40余位专家学者应邀参加. 通过充分而深入的研讨, 与会专家围绕“生殖工程与干细胞”、“生殖细胞发育与成熟”、“胚胎着床与妊娠维持”、“胎儿发育与子代健康”、“生殖医学新技术”这五大议题, 凝练了该领域的重要研究方向和关键科学问题. 本文将对相关的研讨内容和科学问题进行综述, 以期对相关领域的发展起到推动作用.

关键词 生育力, 生殖健康, 双清论坛

生殖健康是我国人口健康战略的核心内容之一, 关系到我国经济与社会的可持续发展. 在2005年世界首脑会议和第60届联合国大会上, 我国政府承诺: 到2015年, 将人人享有基本的生殖健康服务. 《国家中长期科学和技术发展规划纲要(2006~2020年)》已将“发育与生殖研究”列为4项重大科学研究计划之一, 体现了当前我国在人口健康战略上面临的迫切需求.

当前, 人类生殖健康面临全新的挑战, 我国在实行“全面二孩”政策的新形势下, 高龄孕产妇的生育障碍和生殖健康问题更加凸显. 30多年来我国社会经济巨变, 不孕不育人群的比例也有明显的增长. 据世界卫生组织(World Health Organization, WHO)统计, 不孕不育将成为仅次于肿瘤和心脑血管病等严重危害人类健康的第三大疾病. 与此同时, 各种生殖相关疾病

引用格式: 吕群燕, 王雁玲, 田婵, 等. 生育力与生殖健康: 生殖医学的挑战与对策——第170期“双清论坛”学术综述. 中国科学: 生命科学, 2017, 47: 689–701
Lyu Q Y, Wang Y L, Tian C, et al. Fertility and reproductive health: the challenges and strategies in reproductive medicine—A summary of the 170th “Shuangqing Forum” (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2017, 47: 689–701, doi: [10.1360/N052017-00144](https://doi.org/10.1360/N052017-00144)

也给育龄人群乃至胎儿健康造成了严重危害。越来越多的证据表明,多种重大成年疾病(如糖尿病、高血压和心血管疾病等)的发生均与配子发育及胚胎在子宫内遭受的不良环境密切相关。这些生殖系统障碍和疾病是导致出生人口素质下降的关键环节,也给家庭和社会带来了沉重的精神压力和经济负担,影响了国家的稳定和发展。

生物体繁衍后代、维系物种延续有赖于生殖过程,配子发育、成熟、受精、早期胚胎发育、胚胎植入、妊娠维持等是生殖过程中的关键环节,受到来源于机体内分泌系统的精细调控和诸多环境因素的影响,这一过程的失调和干扰是不孕不育、出生缺陷以及多种妊娠疾病的根本原因。生育力与生殖健康研究既涉及上述生殖及发育过程各个环节的生理调控机制,又涉及生殖发育过程障碍所导致的各种疾病、出生缺陷以及子代近远期健康的编程机制。在科技飞速发展的时代,如何将生物工程、干细胞、物理、化学等领域的新技术整合应用于生殖健康的研究,发展崭新的生育力维持策略,也是当前的研究热点。

“双清论坛”围绕生殖工程与干细胞、生殖细胞发育与成熟、胚胎着床与妊娠维持、胎儿发育与子代健康、生殖医学新技术等5个议题展开研讨,将“生育力”这一概念的内涵进行了拓展,并全面讨论了现代生殖工程、干细胞、影像学等领域的新技术在生育力维持研究中的应用前景。综合上述5个议题的研讨情况,以下分别从“生殖细胞发育、成熟与不孕不育”、“胚胎发育及妊娠维持与母婴健康”、“胎儿发育与子代健康”、“用于提高生育力的生殖工程与干细胞新技术”等4个方面,对其研究意义以及研究现状与前沿进行概述和分析。

1 生殖细胞发育、成熟与不孕不育

1.1 研究意义

2009年公布的《中国不孕不育现状调研报告》^[1]显示:近10年来,我国育龄人群的不孕不育率已由3%~5%上升至10%~15%,每8对夫妻就有1对不孕不育,总数超过4000万人,每年递增220万,并且呈年轻化趋势,以25~30岁人数最多。除可明确诊断的病因外,有超过30%的生育障碍原因不明。尽管当前辅

助生殖技术已经在临床应用上有了长足的发展,但这些方法的治疗效果仍有待进一步提高。

不孕不育可受多基因与环境因素的调控,因而其具体的发病机制十分复杂,至今绝大部分的病因仍完全不清楚,对于不孕不育的防治缺乏重要的理论基础。生殖细胞发育与成熟是有性生殖的根本,是生育力维持的关键。原始生殖细胞经增殖、减数分裂、成熟形成精子或卵子,整个过程不仅受到本身遗传和表观遗传程序的调控,还受到邻近的细胞或组织及微环境的影响。对于人类生殖细胞发育与成熟的分子机制研究、不孕不育分子遗传学发病机制的探讨以及相关新技术的探索,是深入阐释不孕不育机制、制定新型预防、诊断和治疗措施、切实提高生育力的必经之路。

1.2 研究现状与前沿

(1) 男性生育力的研究。在男性不育症的主要表现形式中,精子发生障碍对于患者的影响最为严重,精子发生障碍可以导致男性的无精子症、少精子症、弱精子症和畸形精子症。目前,临床对于男性因精子发生障碍应用药物治疗的治愈率较低,若采用最常用单精子卵胞浆内注射的方法治疗少弱畸形精子症,将给因遗传突变所致的患者后代带来极大的出生缺陷风险,而对于无精症患者除借用精子库的精子外无其他选择。

基因的变异与突变是人类精子发生障碍的重要遗传因素,是男性不育研究的热点之一。近年来,我国研究人员应用大量临床样本群的组学筛查手段,发掘出了一批与人类精子发生和成熟障碍相关的SNPs、基因突变、蛋白修饰位点,系统构建了精子发生相关的蛋白功能网络,并围绕其部分蛋白功能深入开展了分子机制研究^[2-4]。由于精子发生是一个在体内受时空紧密调控的精细过程,很难利用人体标本对这些关联作用的SNPs、基因突变和蛋白修饰位点进行直接的功能分析,但靶向基因编辑技术的成熟及其在非人灵长类模式动物中的广泛运用,为研究精子发生障碍提供了良好的动物模型。

除遗传因素影响人类精子发生外,环境因素特别是环境内分泌干扰物(endocrine disrupting chemicals, EDCs)对精子发生的影响也日趋严重。我国科研人员率先建立并优化了EDCs筛选体系、EDCs内暴露水平

分析方法和代谢组学研究平台,并通过长期积累对其中600余种环境化学物的雄性生殖毒性进行系统筛选,发现其中30余种的暴露对人类精子生成具有显著影响,并在此基础上逐一开展分子机制的研究^[5,6].相关成果为提供环境因素致生殖危害的风险评估和防治策略提供了重要证据.

精原干细胞是雄性生殖细胞的“种子”,利用精原干细胞来保存雄性生育能力是目前研究热点,而诱导精原干细胞分化形成功能精子是本领域的重要研究方向之一.早在20年前,通过异体移植实验已经证实,精原干细胞在体内具有再生能力.10年前,小鼠(*Mus musculus*)精原干细胞的分选富集和体外长期增殖获得成功.通过生精小管的体外培养已能够获得由精原干细胞分化形成的功能精子,但这方面工作还仅限于小鼠.猕猴(*Macaca mulatta*)的精原干细胞自体或者异体移植,发现SSCs可分化为有功能的精子,能够与卵子结合形成胚胎,向临床转化迈进了一大步^[7].由于对精原干细胞的对称和不对称分裂、自我更新和分化之间的动态平衡是如何维持的,以及精原干细胞的基质微环境和干细胞之间的互作机制等还了解不多,因而通过进一步的研究改善睾丸微环境,达到激活、促进、恢复精原干细胞的功能,也将成为维护或恢复男性生育力的新途径.

在男性不育治疗新技术的探索方面,我国的科研人员也取得了一系列可喜的进展.例如,应用生精阻滞患者睾丸组织中分离得到的精原干细胞在体外培养出单倍体精子细胞^[8];应用c-Kit突变的小鼠尾尖成纤维细胞经核移植后建立胚胎干细胞,先行基因突变修复后体外诱导分化为类原始生殖细胞,再回输到小鼠睾丸交配后出生健康的子代^[9];从胚胎干细胞体外分化获得功能性精子,这一重大突破使配子发生障碍研究手段更丰富,也为治疗方法的开发提供新的载体^[10].应当指出的是,上述这些理论和技术的重大突破在实现临床转化和应用之前,还需要更多更深的探索,尤其是建立灵长类生殖细胞分化的技术平台,并细致评估这些技术对出生子代的安全性.

(2) 女性生育力的研究.女性生育力是指女性能够产生卵母细胞、受精并孕育胎儿的能力.育龄女性生育力低下的主要表现为女性不孕症,其中卵子发生和排卵异常对于患者影响最为严重.多囊卵巢综合征(polycystic ovarian syndrome, PCOS)和原发性卵巢功

能不全(primary ovarian insufficiency, POI)是导致卵子发生和排卵障碍的重要疾病,不仅导致患者生育能力明显降低或丧失,其合并症和中远期并发症严重危害女性的身心健康和生活质量,甚至危及家庭稳定及社会和谐. PCOS在育龄期女性中的发病率为6%~10%,是月经不调女性最常见的疾病,约占60%; POI表现为卵泡异常性减少或缺乏,发病率为1%~5%,是一种临床高度异质、病因混杂性疾病,无有效治疗方法,并发病有提前衰老、骨质疏松和冠心病等.

PCOS和POI具有明显的家族性遗传的特点.我国研究人员已率先发现了PCOS的全基因组SNP关联位点,以及中国特发性POI的CNV位点及候选易感基因^[11~13],近期还发现了TUBB8基因突变致人类卵子成熟障碍及其致病机制^[14].目前对关键候选基因在不同表型疾病中的单一/联合作用缺乏认识,相关疾病的致病基因作用机制有待深入研究,亟待开展基因型-表型的细化分析,阐明关联基因参与排卵障碍的分子机制,使遗传信息与临床表型成功对接,实现遗传病因学研究的重大突破.通过建立风险预测模型,为相关不孕症早期预防及新型药物的筛选提供理论依据和生物靶标,将既往对卵巢功能衰竭的终末状态的维持治疗转变为风险预测和早期预警.

当前,对卵泡正常发育和排卵过程的神经内分泌、卵巢局部因子信号通路等已进行了系统深入的探索,我国科研人员利用正向和反向遗传学技术、超高分辨率激光共聚焦技术和微量样品组学技术等,发现和鉴定了一系列控制卵母细胞减数分裂恢复和成熟、染色体分离、精卵识别、精卵融合及早期胚胎发育的关键分子^[15~17],其与排卵障碍疾病的关联也正在被揭示.研究人员绘制了人类卵母细胞和植入前胚胎发育过程转录组全景图^[18,19],全面解析卵母细胞成熟和胚胎发育的调控机制,获得了调控卵母细胞成熟和胚胎发育的关键基因及各阶段胚胎的分子生物学特征.这对于加强对人类早期胚胎发育调控机制有了更直接可靠的认识,对临床上疑难病例的诊治具有非常重要的意义.

雌性生殖干细胞的研究也成为女性生育力维持的新领域.目前已有多项研究显示,可从大鼠(*Rattus norvegicus*)、小鼠、猪(*Sus scrofa domestica*)等多种哺乳动物和人卵巢中,分离、纯化和特征化雌性生殖干细胞系^[20,21],并开展雌性生殖干细胞体外分化及其向

多能干细胞转化的研究, 而雌性生殖干细胞也成为构建转基因动物的策略之一。雌性生殖干细胞体外增殖与分化调控机制, 及其在卵巢功能障碍疾病的治疗及生育力保存中的应用, 仍是有待深入探索的问题。

(3) 生殖细胞发育与成熟过程中表观遗传的调控机制。配子发生及早期胚胎发育过程中发生了许多表观遗传重塑现象, 这些过程是研究表观遗传调控方式和机制的理想体系。表观遗传机制主要包括DNA甲基化、组蛋白修饰、非编码RNA以及RNA修饰等。近年来, 我国科学家在该领域获得了一系列突破性研究进展。例如, 我国科学家揭示了人类原始生殖细胞-精子/卵母细胞-受早期胚胎发育等连续的生物事件的详尽的转录及表观遗传网络, 从而加深了对人类胚胎发育过程表观遗传学调控的认识, 并提供了直接依据^[18,19,22], 解释了5-甲基胞嘧啶的去甲基化机制, 发现子代继承亲代DNA甲基化图谱的新规律^[23], 揭示了精子发生过程中单倍体基因组中大量的组蛋白降解依赖于乙酰化介导的特异性蛋白酶体通路, 发现粗线期piRNA在指导精子形成后期mRNA的大规模清除中发挥关键作用。表明长度小于50 bp的非编码RNA(如microRNA和piRNA)以及数以万计的长链非编码RNA(lncRNA), 可能是有待挖掘的生物宝库^[24]。lncRNA在各物种睾丸组织中高度富集, 且在精子发生中呈阶段特异性变化, 提示其在精子发生过程中可能发挥重要作用。新近的研究还发现了DNA甲基化、RNA m6A修饰等对精原干细胞状态维持、减数分裂、精子发生等环节的调节^[18,25]。建立配子发生过程中的RNA甲基化建立和擦除谱, 并探讨其在配子发生障碍中作用, 将成为不孕不育分子机制研究的崭新切入点。

2 胚胎发育及妊娠维持

2.1 研究意义

除不孕不育之外, 妊娠期发生的多种重大疾病也使家庭成员蒙受无子之苦(妊娠失败), 或在巨大期望下承受丧子之痛(流产、死胎及致残), 更使罹患疾病(如妊娠高血压疾病、妊娠糖尿病、早产等)的妊娠妇女遭受巨大的身体和精神痛苦。

根据《中国统计年鉴2010》的相关数据, 2009年中国出生人口数为1618万, 按自发流产率占全部妊娠的

10%~15%进行保守估计^[26], 仅2009年1年即有180~285万女性忍受着自发流产的折磨; 而且出生后代的近期和远期健康也受到威胁, 已有科学证据表明, 多种重大成年疾病(如糖尿病、高血压和心血管疾病等)的发生, 均与妊娠期胚胎在子宫内遭遇的不良环境密切相关。近年来, 随着国际上生殖健康问题的凸显, 妊娠疾病也逐渐吸引了更多研究者和临床工作者的目光, 其有效诊疗措施的研发对于家庭和社会的稳定、提高出生人口素质具有积极意义。我国现在正处在一个历史的新的转折点, 提高出生人口素质是我国从人口大国转变成为人力资本强国的基础之一。妊娠疾病的科学干预不仅对女性生殖健康具有重要意义, 也是从源头上预防诸多重大成年疾病与提高出生人口素质的核心环节, 体现了当前我国在人口健康战略上面临的迫切需求。

对母儿健康造成重大危害的妊娠相关疾病主要包括早产(发病率5%~15%)、子痫前期(发病率7%~10%)、妊娠糖尿病(发病率10%~15%)、自发流产(发病率15%)等。近年来, 在我国由于剖宫产率居高不下和二孩政策的全面实施, 前置胎盘、胎盘植入等凶险妊娠的发生率逐渐攀高, 使凶险性分娩和产后大出血等临床问题愈发凸显。目前, 人们对这些疾病的发生机制认识还相当有限, 因而缺乏对疾病进行科学有效的早期预测和干预策略, 与临床基础相结合的相关深入研究亟待加强。

2.2 研究现状与前沿

成功妊娠是一个系统的生理进程: 胚胎种植到母体子宫之前, 子宫内膜细胞发生分化, 使子宫处于可以接纳胚胎的状态; 胚胎植入后, 胎儿与母体之间需形成一个由多种不同细胞类型组成的临时性内分泌器官——胎盘来维持胎儿的生长发育; 胚胎及胎儿携有遗传自父系的同种异体抗原, 母胎界面上来自胎儿的滋养层细胞和来自母体的蜕膜细胞、多种免疫细胞等发生复杂互作, 建立免疫耐受环境, 保障胚胎不被母体排斥和妊娠的维持。此外, 母体多系统多脏器与快速发育的胎儿/胎盘进行系统的协调, 发生适应性的生理变化, 称之为母体的妊娠适应性。这种母胎多层次对话的精细调节是妊娠建立和维持的重要基础, 而多种妊娠疾病的发生往往源于胚胎着床、胎盘发

育以及妊娠适应性调节障碍。

有关胚胎着床关键调控分子的认识多来自小鼠等动物模型的研究,“胚胎质量及其宫内发育微环境决定妊娠结局”这一理念是该领域近10年来的一个概念性突破,表明在妊娠建立和维持进程中的所有关键事件是相互关联而非独立的发育过程。只有将整个妊娠过程所有事件有机地统为一体,系统研究各个事件的发生机制以及级联递呈机制,才有可能真正认识整个生命的孕育过程,实现在源头上揭示不良妊娠结局的诱发机制。

近年来,国际上本领域一些重要的研究进展包括:植入过程中,囊胚的内细胞团与滋养外胚层、囊胚与子宫上皮细胞等不同细胞之间可通过外泌体传递信号^[27];对植入后胚胎的体外培养条件日渐成熟,尤其是近期英国科学家将人的囊胚在体外培养到13天,实时观测胚胎植入后的发育进程,克服了正常体内发育无法实时监测的难题^[28];对母体炎症或自身免疫缺陷导致不良妊娠结局和胎儿发育不良的系统研究,为预测和干预子痫前期等妊娠疾病提供了新的靶点^[29,30]。最近的研究显示,母体释放的细胞外小泡可通过激活血小板介导的炎症反应导致胎盘发育障碍和妊娠失败^[31]。此外,机体/器官的整体透明化-成像技术以及3D成像技术的快速发展,使得对体内精密的细胞间联系认识得以推进。

我国在该领域的研究取得了很多阶段性成果,主要包括以下几个方面:

(1) 在胚胎发育调节研究方面: (i) 构建了人类早期胚胎表达谱与DNA甲基化全景图谱^[18,19,22]。(ii) 揭示了组蛋白修饰重编程重塑表观记忆,首次报道了哺乳动物组蛋白修饰是如何从亲代传递到子代的,以及早期胚胎发育中组蛋白修饰遗传和重编程的模式和分子机制,证明小鼠早期胚胎具有非常独特的表观调控机制和模式^[32]。(iii) 开发了STAR ChIP-seq技术,对于研发研究人类配子、胚胎的组蛋白修饰的技术具有很大的借鉴意义^[32]。(iv) 发现内源性大麻素anandamide信号通路参与调节早期胚胎发育和囊胚激活过程^[33], Wnt信号通路是调节囊胚激活的一个关键因素^[34],高通量分析绘制了囊胚激活调节的信号网络图谱^[35]。

(2) 在妊娠维持的基础研究方面: (i) 揭示了子宫内膜上皮细胞钠通道在调控胚胎植入所需的PGE2生成和释放中作用^[36]。这些发现不仅解开了长期以来关于胚胎植入子宫的启动过程的谜团,亦阐述了流产或试管婴儿成功率低下的一个重要原因,同时也为诊断不孕及进行避孕提供了新的方法。(ii) 阐释了子宫蜕膜化反应的关键调节基因——肝受体类似物Lrh-1在调节蜕膜细胞-滋养层细胞对话中的作用^[37]。(iii) 发现妊娠早期母体子宫 $\beta 2$ 肾上腺素受体的异常激活会导致子宫平滑肌异常收缩导致胚胎宫内定位紊乱,水道蛋白介导的宫腔液体异常可导致植入定位和时间错误^[38,39],而Rbpj缺失造成宫腔闭合异常,进而导致子宫-胚胎定向失常^[40]。这些胚胎定位和定向的异常都可以导致妊娠失败,有望成为预防妊娠流产和/或妊娠综合症的潜在的靶点。(iv) 阐明人滋养层细胞通过分泌胸腺基质淋巴细胞生成素(recombinant thymic stromal lymphopoietin, TSLP)诱导蜕膜DC细胞(decidual DCs, dDCs),诱导dCD4⁺T细胞形成有利于妊娠的母-胎界面免疫耐受微环境^[41,42]。(v) 证明妊娠过程中,蜕膜CD56^{bright}CD27⁺NK细胞通过分泌IFN- γ 等细胞因子抑制炎症Th17细胞^[43],进而维系母胎界面免疫耐受和成功妊娠,这一研究结果对于深入理解免疫耐受的机制和复发流产的病因有重要意义。(vi) 揭示了Wnt信号通路受体Fzd5与Gcm1之间的正反馈调节是胎儿血管发育和胎盘滋养层细胞分化所必需的^[44],为进一步阐释胎盘发育过程中血管发生和重建的机制及其在妊娠疾病中的作用机制提供了新的实验证据。(vii) 发现妊娠期胎膜是体内再生糖皮质激素能力最强的组织,胎膜皮质醇正反馈再生通过重构基质和诱导凋亡参与胎膜破裂和分娩启动^[45,46],为阐释早产发生机制提供了新的视角。

(3) 在临床基础与队列研究方面: 我国的一些基础研究单位与多中心临床机构建立了良好的合作机制,有针对性的规范队列研究已经开始。在子痫前期、早产、妊娠糖尿病的临床基础研究方面有很好的基础,通过前瞻性队列的大样本研究,鉴定到多个特异而准确地预测子痫前期的标志分子,并阐释了相关标志分子的表达失调导致胎盘发育障碍和妊娠适应性调节失衡的机制^[47-49]。

3 胎儿发育与子代健康

3.1 研究意义

我国是世界上出生缺陷高发国家之一. 据《中国出生缺陷防治报告(2012)》估算, 目前中国出生缺陷发生率在5.6‰左右, 每年新增出生缺陷数约90万例. 我国最常见的出生缺陷为先天性心脏病、多指(趾)、唇腭裂、神经管缺陷、先天性脑积水、以及唐氏综合征. 出生缺陷不仅是一个公共卫生问题, 而且已成为影响人口素质和国家发展的重大问题. 我国每年因神经管畸形死亡造成的经济负担超过2亿元, 先天愚型的治疗费用则超过20亿元. 大多数胎儿的缺陷是由于早期胚胎的异常发育导致的, 与环境、遗传、表观遗传和行为等因素密切相关.

3.2 研究现状与前沿

鉴于多数严重出生缺陷胎儿均存在基因缺陷, 而且很多出生缺陷属于罕见遗传病, 因此如何通过基础研究与临床研究的结合, 建立基于致病基因的分子诊断策略和基于发病机制的精准治疗策略, 实现相关缺陷的早期检测、提高预测准确率等, 是出生缺陷预防领域的重要问题.

近年来, 基于全基因组和全外显子组的二代测序技术已成为遗传病致病基因研究的主导技术, 而单细胞测序技术为出生缺陷的预测提供了新的思路, 该技术不仅能够直接测定卵母细胞内的基因表达, 还可通过检测极体基因组序列推测卵细胞中与遗传疾病有关的DNA序列变异. 单细胞测序技术的发展应用不仅可对IVF婴儿的潜在的基因缺陷进行预测, 极大地提高活产成功率, 也为正常妊娠妇女出生缺陷的预测提供了新的思路. 因此, 进一步发掘单细胞测序技术的应用潜力, 使之能够成为妊娠妇女产前检测的常规手段, 是出生缺陷防治领域的前沿问题.

此外, 既往对出生缺陷致病基因的寻找长期以来侧重基因编码区, 而近年来的研究也揭示了一些非基因编码区致病的机制, 例如, 发现FGF和FGFR非编码区的55个新发突变与非综合征性唇腭裂相关^[50]、叶酸代谢通路关键酶的非编码区突变与先天性心脏病关联^[51]、C9orf72非编码区异常扩增的六核苷酸重复序列与侧索硬化症关联^[52]、GJB15非编码区点突变与遗传性神经性肌萎缩关联^[53]、GAA非编码区突变关

联糖原贮积症^[54]等. 当前亟待建立我国生殖发育相关疾病突变谱数据库并实时注释更新. 同时, 通过基因编辑技术在小鼠模拟出人源性基因突变类似的疾病表型, 将为致病基因研究提供较细胞水平研究更有力的证据.

另外, 人们逐渐认识到多种重大成年疾病(如糖尿病、高血压和心血管疾病等)的发生均与配子或早期胚胎发育阶段不良因素的干扰(尤其是不良宫内环境)密切相关, 即“配子/胚胎源性成人疾病”. 例如, 早产儿远期具有较高的神经、智力发育缺陷风险; 子痫前期妊娠而出生的后代在远期不仅罹患心血管疾病、高血压、糖尿病的风险显著升高. 妊娠进程中动态变化的宫内微环境不仅体现了受孕母体的健康程度, 同时也决定了胎儿能否正常发育. 母体的宫内环境不仅受遗传因素的影响, 还受如饮食、生活方式、以及环境内分泌干扰物等许多非遗传因素的调节. 宫内环境的变化可通过干扰胎儿的早期发育影响儿童及成人期疾病的发生, 如哮喘、神经发育障碍、智力发育迟缓、自闭症、多动症、以及肥胖症等儿童期疾病的发生均与环境因素相关; 成人的心血管病、糖尿病、肿瘤、精神性疾病、骨质疏松等疾病也能追溯到胎儿时期. 然而, 造成这种现象的病理机制尚不清楚. 从配子/胚胎起源研究不良环境影响胚胎发育进程及其对子代近远期健康的效应, 已经成为发育与生殖研究领域的前沿科学问题, 对于从源头上预防和干预诸多重大成年疾病具有重要的科学意义.

近年来, 有关配子/胚胎源性成人疾病的机制研究取得了诸多突破, 大多关注跨代/隔代遗传效应的表观遗传机制. 2014年, 在*Cell*创刊40周年之际, 相关前沿综述强调了DNA甲基化及组蛋白修饰在生殖细胞重编程中的重要性^[55]. 多个研究证实, 父亲或母亲的营养环境都会影响子代的代谢, 如母体营养环境影响子一代精子甲基化, 可能是导致子二代发生糖脂代谢异常的机制; 同时营养环境改变还可能引起内分泌因子改变, 使得子代发生线粒体受损或表观遗传修饰改变, 引发基因异常沉默或激活, 关键代谢组织重编程导致成人疾病^[56,57]. 已有研究发现, 环境表观遗传信息可以通过生殖细胞进行传递, 传递方式可能主要包括DNA甲基化、非编码RNA、染色质蛋白等. 精子发育过程中, 干扰组蛋白甲基化可使精子中RNA含量改变, 胚胎中基因表达异常, 从而影响子代健康^[58-60]. 近年来

对人类原始生殖细胞转录组及甲基化组动态过程也有了越来越深入的认识,发现了原始生殖细胞发育不同阶段的基因表达差异及甲基化差异^[23,61],同时对人类植入前胚胎及生殖细胞系的动态重编程也有了整体的认识.这些都为进一步研究配子/胚胎源性疾病的机制提供了理论基础和技术手段.

我国科研人员在这一领域也取得了诸多重要的进展,包括以辅助生殖技术(assisted reproductive technology, ART)作为配子和胚胎环境暴露因素和研究模型,探索配子/胚胎源性疾病的发病风险及发病机制^[62,63];选择与胎儿发育密切相关且发病率高、危害重大的糖尿病、心血管病等作为主要候选疾病,利用ART对配子和胚胎干扰因素清晰及作用时段明确的特性,结合ART出生子代健康追踪研究,将成年期疾病起源的机制研究前移到配子发生和胚胎发育阶段,发现高糖环境致配子/胚胎源性糖尿病的风险机制,证明孕期高雄环境对子代出生体重、脂代谢、心血管及甲状腺功能;系统研究孕期不良环境因素(高糖/高盐、尼古丁、咖啡因、缺氧等)对胎儿生长发育及子代胎源性血管疾病影响及其机制,证明孕期有害环境因素可通过母体-胎盘-胎儿生物学单位,诱导胎儿多途径、多脏器、多靶点损伤,导致胎儿发育毒性并增加出生后多种慢性疾病易感,诱导或加重出生后环境变化因素相关的多种疾病发生;发现母源性高糖皮质激素可通过表观遗传修饰酶调控关键基因表达,发挥宫内编程和跨代遗传效应^[64,65].此外,人群妊娠糖尿病和动物模型的研究证明,轻中度的宫内高血糖环境即可使子一代及子二代在出生时和出生后远期发生体重增加、脂肪蓄积,并出现不同程度糖脂代谢异常及胰岛素分泌功能受损;宫内高血糖暴露可改变胎盘和脐血中与胎儿生长发育相关的*IFG2/H19*基因的表达水平和甲基化水平,可能是宫内高血糖暴露导致巨大儿发生的机制.

特别值得注意的是,我国科学家近期在哺乳动物成熟精子中发现了一类进化上保守、来源于tRNA 5'端序列、且高度富集的新型小RNA,即tsRNAs(tRNA-derived small RNAs).这些tsRNAs可通过序列上的核酸修饰维持其稳定性,且在机体应激等情况下发生敏感变化.父本高脂饮食可影响tsRNA的特异修饰状态,通过影响胚胎发育早期关键基因的表达实现获得性代谢紊乱的跨代遗传.鉴于tsRNAs在精子中高度富集

并可在受精时进入卵子,以及非编码小RNA广泛的调控功能,tsRNAs及其RNA修饰作为一种表观遗传信息的载体,将环境诱导的表观遗传经配子传递到子代^[66].这一突破性的研究为阐释配子/胚胎源性成人疾病的机制开辟了崭新视角,已经成为本领域研究的热点.

4 生殖工程与干细胞等新技术在改善生育力中的应用展望

近年来,多学科技术和方法的革新在生殖生物学研究中得到成功应用,产生了一系列重大成果.如单倍体干细胞技术、单细胞测序技术、基因修饰技术、医学影像技术等.

我国科学家利用单细胞测序技术对小鼠及人的卵细胞和早期胚胎的转录组、基因组进行了精细的解析,利用单细胞基因组扩增和测序技术,成功地培育出世界首例单基因遗传病筛查的试管婴儿.进一步发展的下一代单细胞转录组测序技术、下一代单细胞DNA甲基化组测序技术、下一代单细胞ChIP-seq技术、下一代单细胞基因组测序技术、多组学平行测序技术等,有望实现人类生殖细胞发育、病变过程中的细胞类型异质性、DNA甲基化异质性、表观遗传组异质性的精准分析,点突变和拷贝数变异的谱系追踪,以及基因组、表观遗传组、转录组、蛋白质组之间的互动关系分析等.

CRISPR/Cas9基因组编辑技术以其简便高效的特点,迅速成为国际生命科学研究领域的热点.我国科学家成功运用这一技术率先构建了基于CRISPR/Cas9技术的基因工程大鼠、猪、猴(*Primates*)等动物模型^[67-69],特别是建立了基于新的基因打靶技术的灵长类动物模型,这一模型的建立将成为研究人类生殖疾病、回答人群生殖中的重大基础问题的关键性平台.将下一代单细胞测序技术与基因编辑技术相结合,对模式动物生殖细胞进行遗传操作,再对这些生殖细胞直接进行谱系追踪,将在单细胞分辨率水平上研究生殖细胞发育过程中基因表达调控的分子机制.利用CRISPR/Cas9技术,我国科学家成功建立了生精细胞特异敲除研究系统,在小鼠精原干细胞中修复了遗传缺陷,获得了健康的后代^[70].

干细胞是理解生殖与发育问题的重要工具.有研究利用ES和iPS分化为Epiblast样的细胞,再分化得到

的PGC样的细胞,注射到无生精能力的小鼠睾丸中可以成功得到功能性圆形精子,并且通过ICSI能产生成活个体.2016年,日本科学家利用小鼠模型,分离原始生殖细胞进行体外培养获得成熟卵母细胞,并经此产生健康子鼠^[71];同年,我国科学家从多能干细胞分化获得了体外培养类精子细胞,并产生成活健康子代^[10].这些成果是体外诱导获得成熟配子研究的重大技术突破.利用多能性干细胞重建性腺功能有望成为解决生殖衰老及早衰的崭新手段.

近年来,单倍体干细胞技术已经成为生命科学的研究热点,单倍体胚胎干细胞的研究成果为生殖发育领域研究带来了的重大突破.2011年,国外科学家成功地利用小鼠孤雌发育的囊胚建立了单倍体胚胎干细胞系.2012年,我国科学家通过卵母细胞去核和注入精子,产生孤雄单倍体囊胚;将孤雄单倍体胚胎干细胞注入卵子中,证明这些细胞能使卵母细胞“受精”并产生健康小鼠——该项技术被称为半克隆技术^[72].随后,我国科学家又相继建立了食蟹猴(*Macaca fascicularis*)、大鼠和人的单倍体胚胎干细胞,证明孤雌单倍体干细胞可以替代卵细胞核,孤雄单倍体干细胞可以替代精子,利用它们替代精、卵跨越受精阶段获得后代,进一步利用单倍体干细胞实现同性生殖^[73,74].这些研究结果颠覆了传统的生殖理论,我国在单倍体干细胞技术方面占据了国际领先地位.哺乳动物单倍体干细胞的建立将为生殖生物学研究带来新的研究工具和手段,例如,将大鼠单倍体胚胎干细胞和小鼠孤雌单倍体胚胎干细胞融合成大小鼠杂合异源二倍体胚胎干细胞^[75],成为鉴定胚胎发育过程中X染色体逃逸机制研究的优势工具.

此外,我国在干细胞和智能材料用于黏膜损伤的修复方面也获得重大突破,发现结合bFGF的智能生物材料可促进子宫壁再生,利用临床级干细胞获得子宫内膜再生的婴儿,为子宫内膜损伤修复重塑生育力的研究和临床应用带来曙光^[76].

针对因化疗等原因导致的生育力丢失问题,性腺的冷冻保存后移植问题一直受到领域的重视.完整卵巢或睾丸冷冻保存后移植可最大限度保存生育力,同时可完全恢复性腺内分泌功能,特别是针对青春前期人群意义重大.目前,大鼠、小鼠完整卵巢冷冻保存后移植可实现成功受孕^[77],可相关技术在非人类灵长类动物和人类尚未成功,而卵巢/睾丸组织冷冻保存技

术难度相对小,易于临床转化,但不同冷冻方案对生殖细胞发育的影响以及冷冻对生殖细胞遗传稳定等方面还有待深入研究.睾丸精原干细胞冷冻技术比较成熟,重点需要探讨精原干细胞体外诱导分化.

原始卵泡体外激活技术(*in vitro* activation of primordial follicles, IVA)建立于2010年^[78],是通过强而有效的激活剂将在正常生理条件下休眠的原始卵泡唤醒,适用于卵巢早衰症患者、医源性卵巢储备下降患者或生理性卵巢储备下降的高龄妇女.结合卵巢皮质冷冻复苏技术也可用于肿瘤患者的生育力保存,提高原始卵泡的利用率.世界首例IVA婴儿2013年于日本出生,同年被美国《纽约时报》评选为年度10大医疗突破进展,2015年中国首例IVA婴儿出生,这一技术将成为辅助生殖领域一种革命性的技术^[79].目前,IVA技术仍然处于临床试验阶段,面临的最主要问题就是该技术是否适合在临床上推广和普及,而实现这一目的还需要大量的基础和临床研究加以证明.

植入前胚胎遗传学检测(pre-implantation genetic diagnosis, PGT)、植入前胚胎遗传学诊断(pre-implantation genetic diagnosis, PGD)、植入前胚胎遗传学筛查(pre-implantation genetic diagnosis, PGS)等技术平台的建立,为挑选具有着床和生育潜能的胚胎或挑选无遗传物质异常的胚胎,提高辅助生殖成功率,降低出生缺陷提供了重要技术方案.我国临床科研人员已经建立了基于培养液DNA检测的无创PGD、基于囊腔液DNA检测的无创PGD、基于母亲外周血胎儿游离DNA分析的CNV-Seq等技术平台.在遗传性线粒体疾病方面,我国科学家发现由第一极体置换产生的子一代小鼠及其产生的子二代小鼠体内仅含卵细胞浆供体小鼠的线粒体^[80],借此可在最大程度上避免母源线粒体DNA遗传病的发生,该成果的临床应用有望实现主动和彻底地预防母源性线粒体遗传疾病的发生.而新近的卵细胞胞浆置换技术(或称第四代试管婴儿技术、三人试管婴儿技术),通过在老化卵子和年轻卵子之间做卵核置换,应对老化卵子问题,提高大龄女性的妊娠可能性^[81];新型IVF技术Augment则利用卵巢干细胞的线粒体提高卵细胞质量^[82],2015年,籍此技术诞生于加拿大的Zain Rajani被称为世界上首例“干细胞婴儿”,预示着IVF治疗不孕症的巨大突破.

医学影像学的进步可使生殖医学实现可视化,如无创精准操控的辅助生育技术、微纳米颗粒操控技

术指导的生殖细胞筛选等. 当前, 需要针对精准生殖医学及生殖系统可视化需求, 发展生殖系统高分辨、动态、内窥成像等先进成像技术; 围绕生殖系统检查和手术需求, 发展4D内窥成像、造影成像、分子影像及影像引导手术技术; 发展多模态无创精准操控与分析技术在生殖医学领域中的应用研究, 促进医、工交叉的学科发展, 研发生殖医学影像与操控技术平台和设备.

5 主要研究方向和关键科学问题

近年来, 我国生殖健康领域研究快速发展, 生殖工程、干细胞等研究方向获得多项重要突破, 达到国际领跑水平, 为改善和提高人民生育力和生殖健康水平提供难得的历史机遇. 未来, 我国在生育力和生殖健康领域需要深入开展基础与临床密切结合的研究, 并且需要面向不孕不育、出生缺陷、妊娠疾病、子代健康等生殖健康问题, 切实加强多学科交叉合作.

5.1 生殖细胞发育与成熟

研究主线为“生殖细胞质量与生育力”. 关键科学问题包括: (i) 生殖细胞发生和成熟的调控; (ii) 配子源性因子对生育力的影响; (iii) 配子发生障碍的遗传/表观遗传基础; (iv) 体内外各种因素对生育力的影响; (v) 生殖干细胞维持和分化的调控.

5.2 妊娠建立与维持

研究主线为“母胎界面稳态维持、失衡与妊娠结

局”. 关键科学问题包括: (i) 胚胎与子宫协同起始着床的机制; (ii) 母胎识别异常诱发妊娠失败的分子机制; (iii) 胎盘发育和功能调控与妊娠结局; (iv) 母胎界面免疫耐受的多细胞、多分子调控网络; (v) 妊娠适应性及妊娠维持的机制; (vi) 分娩启动与早产发生机制.

5.3 胎儿发育与子代健康

研究主线为“遗传因素及宫内环境与胎儿发育和子代健康”. 关键科学问题包括: (i) 胎儿发育致病性突变检测、数据库建设及遗传机制; (ii) 环境因素影响配子/胚胎发育过程中细胞编程与重编程的机制; (iii) 宫内环境印记对子代近远期健康的影响机制及干预策略; (iv) 代间/跨代遗传效应影响子代健康的作用通路; (v) 宫内环境和子代健康的评价指标.

5.4 生殖工程/生殖医学新技术

研究主线为“利用前沿工程技术和干细胞平台实现生育力维持和再生”. 关键科学问题包括: (i) 应用干细胞构建功能性生殖细胞并阐释生殖发育的主要调控机制; (ii) 利用干细胞、生物材料等新技术和新方法防控妊娠障碍的策略; (iii) 建立高分辨、动态监测生殖进程的生物影像可视化技术; (iv) 构建基于微纳米技术的生殖仿生微系统; (v) 生育力保存和恢复的前瞻性技术研究生育力保存的前瞻性技术研发; (vi) 生殖细胞质量及生育力的评估和改善策略; (vii) 中医中药体质调理对生育力的调节.

参考文献

- 1 中国不孕不育现状调研报告. 2009中国国际不孕不育高峰论坛. 2009
- 2 Hu Z, Li Z, Yu J, et al. Association analysis identifies new risk loci for non-obstructive azoospermia in Chinese men. *Nat Commun*, 2014, 5: 3857
- 3 Jiang M, Gao M, Wu C, et al. Lack of testicular seipin causes teratozoospermia syndrome in men. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111: 7054–7059
- 4 Ni B, Lin Y, Sun L, et al. Low-frequency germline variants across 6p22.2–6p21.33 are associated with non-obstructive azoospermia in Han Chinese men. *Hum Mol Genet*, 2015, 24: 5628–5636
- 5 Xu B, Chen M, Ji X, et al. Metabolomic profiles delineate the potential role of glycine in gold nanorod-induced disruption of mitochondria and blood-testis barrier factors in TM-4 cells. *Nanoscale*, 2014, 6: 8265–8273
- 6 Mao Z, Xu B, Ji X, et al. Titanium dioxide nanoparticles alter cellular morphology via disturbing the microtubule dynamics. *Nanoscale*, 2015, 7: 8466–8475
- 7 Hermann B P, Sukhwani M, Winkler F, et al. Spermatogonial stem cell transplantation into rhesus testes regenerates spermatogenesis producing functional sperm. *Cell Stem Cell*, 2012, 11: 715–726
- 8 Yang S, Ping P, Ma M, et al. Generation of haploid spermatids with fertilization and development capacity from human spermatogonial stem cells of cryptorchid patients. *Stem Cell Rep*, 2014, 3: 663–675

- 9 Yuan Y, Zhou Q, Wan H, et al. Generation of fertile offspring from *Kit^w/Kit^{wv}* mice through differentiation of gene corrected nuclear transfer embryonic stem cells. *Cell Res*, 2015, 25: 851–863
- 10 Zhou Q, Wang M, Yuan Y, et al. Complete meiosis from embryonic stem cell-derived germ cells *in vitro*. *Cell Stem Cell*, 2016, 18: 330–340
- 11 Shi Y, Zhao H, Shi Y, et al. Genome-wide association study identifies eight new risk loci for polycystic ovary syndrome. *Nat Genet*, 2012, 44: 1020–1025
- 12 Chen Z J, Zhao H, He L, et al. Genome-wide association study identifies susceptibility loci for polycystic ovary syndrome on chromosome 2p16.3, 2p21 and 9q33.3. *Nat Genet*, 2011, 43: 55–59
- 13 Zhen X M, Sun Y M, Qiao J, et al. Genome-wide copy number scan in Chinese patients with premature ovarian failure. *J Peking Univ*, 2013, 45: 841–847
- 14 Feng R, Sang Q, Kuang Y, et al. Mutations in *TUBB8* and human oocyte meiotic arrest. *N Engl J Med*, 2016, 374: 223–232
- 15 Hu M W, Wang Z B, Teng Y, et al. Loss of protein phosphatase 6 in oocytes causes failure of meiosis II exit and impaired female fertility. *J Cell Sci*, 2015, 128: 3769–3780
- 16 Qi S T, Wang Z B, Ouyang Y C, et al. Overexpression of SETbeta, a protein localizing to centromeres, causes precocious separation of chromatids during the first meiosis of mouse oocytes. *J Cell Sci*, 2013, 126: 1595–1603
- 17 Wang Z B, Jiang Z Z, Zhang Q H, et al. Specific deletion of Cdc42 does not affect meiotic spindle organization/migration and homologous chromosome segregation but disrupts polarity establishment and cytokinesis in mouse oocytes. *Mol Biol Cell*, 2013, 24: 3832–3841
- 18 Guo F, Yan L, Guo H, et al. The transcriptome and DNA methylome landscapes of human primordial germ cells. *Cell*, 2015, 161: 1437–1452
- 19 Hou Y, Fan W, Yan L, et al. Genome analyses of single human oocytes. *Cell*, 2013, 155: 1492–1506
- 20 Ding X, Liu G, Xu B, et al. Human GV oocytes generated by mitotically active germ cells obtained from follicular aspirates. *Sci Rep*, 2016, 6: 28218
- 21 Zou K, Yuan Z, Yang Z, et al. Production of offspring from a germline stem cell line derived from neonatal ovaries. *Nat Cell Biol*, 2009, 11: 631–636
- 22 Yan L, Yang M, Guo H, et al. Single-cell RNA-Seq profiling of human preimplantation embryos and embryonic stem cells. *Nat Struct Mol Biol*, 2013, 20: 1131–1139
- 23 Wang L, Zhang J, Duan J, et al. Programming and inheritance of parental DNA methylomes in mammals. *Cell*, 2014, 157: 979–991
- 24 Xing Z, Lin A, Li C, et al. lncRNA directs cooperative epigenetic regulation downstream of chemokine signals. *Cell*, 2014, 159: 1110–1125
- 25 Zheng G, Dahl J A, Niu Y, et al. ALKBH5 is a mammalian RNA demethylase that impacts RNA metabolism and mouse fertility. *Mol Cell*, 2013, 49: 18–29
- 26 国家自然科学基金委员会, 中国科学院. 未来10年中国学科发展战略: 生物学. 北京: 科学出版社, 2011
- 27 Machtinger R, Laurent L C, Baccarelli A A. Extracellular vesicles: roles in gamete maturation, fertilization and embryo implantation. *Hum Reprod Update*, 2016, 22: 182–193
- 28 Deglincerti A, Croft G F, Pietila L N, et al. Self-organization of the *in vitro* attached human embryo. *Nature*, 2016, 533: 251–254
- 29 Zhou C C, Irani R A, Zhang Y, et al. Angiotensin receptor agonistic autoantibody-mediated tumor necrosis factor-alpha induction contributes to increased soluble endoglin production in preeclampsia. *Circulation*, 2010, 121: 436–444
- 30 Zhou C C, Zhang Y, Irani R A, et al. Angiotensin receptor agonistic autoantibodies induce pre-eclampsia in pregnant mice. *Nat Med*, 2008, 14: 855–862
- 31 Kohli S, Ranjan S, Hoffmann J, et al. Maternal extracellular vesicles and platelets promote preeclampsia via inflammasome activation in trophoblasts. *Blood*, 2016, 128: 2153–2164
- 32 Shen J, Jiang D, Fu Y, et al. H3K4me3 epigenomic landscape derived from ChIP-Seq of 1000 mouse early embryonic cells. *Cell Res*, 2015, 25: 143–147
- 33 Wang H, Xie H, Guo Y, et al. Fatty acid amide hydrolase deficiency limits early pregnancy events. *J Clin Investig*, 2006, 116: 2122–2131
- 34 Wang Q, Lu J, Zhang S, et al. Wnt6 is essential for stromal cell proliferation during decidualization in mice. *Biol Reprod*, 2013, 88: 5
- 35 Fu Z, Wang B, Wang S, et al. Integral proteomic analysis of blastocysts reveals key molecular machinery governing embryonic diapause and reactivation for implantation in mice. *Biol Reprod*, 2014, 90: 52
- 36 Ruan Y C, Guo J H, Liu X, et al. Activation of the epithelial Na⁺ channel triggers prostaglandin E2 release and production required for embryo implantation. *Nat Med*, 2012, 18: 1112–1117
- 37 Zhang C, Large M J, Duggavathi R, et al. Liver receptor homolog-1 is essential for pregnancy. *Nat Med*, 2013, 19: 1061–1066
- 38 Zhang Y, Chen Q, Zhang H, et al. Aquaporin-dependent excessive intrauterine fluid accumulation is a major contributor in hyper-estrogen induced aberrant embryo implantation. *Cell Res*, 2015, 25: 139–142

- 39 Chen Q, Zhang Y, Peng H, et al. Transient β_2 -adrenoceptor activation confers pregnancy loss by disrupting embryo spacing at implantation. *J Biol Chem*, 2011, 286: 4349–4356
- 40 Zhang S, Kong S, Wang B, et al. Uterine Rbpj is required for embryonic-uterine orientation and decidual remodeling via Notch pathway-independent and -dependent mechanisms. *Cell Res*, 2014, 24: 925–942
- 41 Guo P F, Du M R, Wu H X, et al. Thymic stromal lymphopoietin from trophoblasts induces dendritic cell-mediated regulatory TH2 bias in the decidua during early gestation in humans. *Blood*, 2010, 116: 2061–2069
- 42 Du M R, Guo P F, Piao H L, et al. Embryonic trophoblasts induce decidual regulatory T cell differentiation and maternal-fetal tolerance through thymic stromal lymphopoietin instructing dendritic cells. *J Immunol*, 2014, 192: 1502–1511
- 43 Fu B, Li X, Sun R, et al. Natural killer cells promote immune tolerance by regulating inflammatory TH17 cells at the human maternal-fetal interface. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110: E231–E240
- 44 Lu J, Zhang S, Nakano H, et al. A positive feedback loop involving Gcm1 and Fzd5 directs chorionic branching morphogenesis in the placenta. *PLoS Biol*, 2013, 11: e1001536
- 45 Li J, Wang W, Liu C, et al. Critical role of histone acetylation by p300 in human placental 11 β -HSD2 expression. *J Clin Endocrinol Metab*, 2013, 98: E1189–E1197
- 46 Wang W, Guo C, Zhu P, et al. Phosphorylation of STAT3 mediates the induction of cyclooxygenase-2 by cortisol in the human amnion at parturition. *Sci Signal*, 2015, 8: ra106
- 47 Xu P, Zhao Y, Liu M, et al. Variations of MicroRNAs in human placentas and plasma from preeclamptic pregnancy. *Hypertension*, 2014, 63: 1276–1284
- 48 Luo R, Shao X, Xu P, et al. MicroRNA-210 contributes to preeclampsia by downregulating potassium channel modulatory factor 1. *Hypertension*, 2014, 64: 839–845
- 49 Yang Y, Wang Y, Zeng X, et al. Self-control of HGF regulation on human trophoblast cell invasion via enhancing c-met receptor shedding by ADAM10 and ADAM17. *J Clin Endocrinol Metab*, 2012, 97: E1390–E1401
- 50 Riley B M, Murray J C. Sequence evaluation of FGF and FGFR gene conserved non-coding elements in non-syndromic cleft lip and palate cases. *Am J Med Genet A*, 2007, 143A: 3228–3234
- 51 Zhao J Y, Qiao B, Duan W Y, et al. Genetic variants reducing MTR gene expression increase the risk of congenital heart disease in Han Chinese populations. *Eur Heart J*, 2014, 35: 733–742
- 52 Wen X, Westergard T, Pasinelli P, et al. Pathogenic determinants and mechanisms of ALS/FTD linked to hexanucleotide repeat expansions in the C9orf72 gene. *Neurosci Lett*, 2017, 636: 16–26
- 53 Tsai P C, Chen C H, Liu A B, et al. Mutational analysis of the 5' non-coding region of GJB1 in a Taiwanese cohort with Charcot-Marie-Tooth neuropathy. *J Neurol Sci*, 2013, 332: 51–55
- 54 Turaça L T, de Faria D O, Kyosen S O, et al. Novel GAA mutations in patients with Pompe disease. *Gene*, 2015, 561: 124–131
- 55 Heard E, Martienssen R A. Transgenerational epigenetic inheritance: myths and mechanisms. *Cell*, 2014, 157: 95–109
- 56 Daxinger L, Whitelaw E. Understanding transgenerational epigenetic inheritance via the gametes in mammals. *Nat Rev Genet*, 2012, 13: 153–162
- 57 Lim J P, Brunet A. Bridging the transgenerational gap with epigenetic memory. *Trends Genet*, 2013, 29: 176–186
- 58 Rando O J, Simmons R A. I'm eating for two: parental dietary effects on offspring metabolism. *Cell*, 2015, 161: 93–105
- 59 Skinner M K. Metabolic disorders: fathers' nutritional legacy. *Nature*, 2010, 467: 922–923
- 60 Dabelea D, Crume T. Maternal environment and the transgenerational cycle of obesity and diabetes. *Diabetes*, 2011, 60: 1849–1855
- 61 Wei Y, Schatten H, Sun Q Y. Environmental epigenetic inheritance through gametes and implications for human reproduction. *Hum Reprod Update*, 2015, 21: 194–208
- 62 Ding G L, Wang F F, Shu J, et al. Transgenerational glucose intolerance with *Igf2/H19* epigenetic alterations in mouse islet induced by intrauterine hyperglycemia. *Diabetes*, 2012, 61: 1133–1142
- 63 Xu G F, Zhang J Y, Pan H T, et al. Cardiovascular dysfunction in offspring of ovarian-hyperstimulated women and effects of estradiol and progesterone: a retrospective cohort study and proteomics analysis. *J Clin Endocrinol Metab*, 2014, 99: E2494–E2503
- 64 Yan Y E, Liu L, Wang J F, et al. Prenatal nicotinic exposure suppresses fetal adrenal steroidogenesis via steroidogenic factor 1 (SF-1) deacetylation. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2014, 277: 231–241
- 65 Kou H, Liu Y, Liang G, et al. Maternal glucocorticoid elevation and associated blood metabolome changes might be involved in metabolic programming of intrauterine growth retardation in rats exposed to caffeine prenatally. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2014, 275: 79–87
- 66 Chen Q, Yan M, Cao Z, et al. Sperm tsRNAs contribute to intergenerational inheritance of an acquired metabolic disorder. *Science*, 2016, 351: 397–400

- 67 Hai T, Teng F, Guo R, et al. One-step generation of knockout pigs by zygote injection of CRISPR/Cas system. [Cell Res](#), 2014, 24: 372–375
- 68 Wan H, Feng C, Teng F, et al. One-step generation of *p53* gene biallelic mutant Cynomolgus monkey via the CRISPR/Cas system. [Cell Res](#), 2015, 25: 258–261
- 69 Chen Y, Cui Y, Shen B, et al. Germline acquisition of Cas9/RNA-mediated gene modifications in monkeys. [Cell Res](#), 2015, 25: 262–265
- 70 Wu Y, Zhou H, Fan X, et al. Correction of a genetic disease by CRISPR-Cas9-mediated gene editing in mouse spermatogonial stem cells. [Cell Res](#), 2015, 25: 67–79
- 71 Hikabe O, Hamazaki N, Nagamatsu G, et al. Reconstitution *in vitro* of the entire cycle of the mouse female germ line. [Nature](#), 2016, 539: 299–303
- 72 Yang H, Shi L, Wang B A, et al. Generation of genetically modified mice by oocyte injection of androgenetic haploid embryonic stem cells. [Cell](#), 2012, 149: 605–617
- 73 Li Z, Wan H, Feng G, et al. Birth of fertile bimaternal offspring following intracytoplasmic injection of parthenogenetic haploid embryonic stem cells. [Cell Res](#), 2016, 26: 135–138
- 74 Wan H, He Z, Dong M, et al. Parthenogenetic haploid embryonic stem cells produce fertile mice. [Cell Res](#), 2013, 23: 1330–1333
- 75 Li X, Cui X L, Wang J Q, et al. Generation and application of mouse-rat allodiploid embryonic stem cells. [Cell](#), 2016, 164: 279–292
- 76 Li Q, Tao L, Chen B, et al. Extrahepatic bile duct regeneration in pigs using collagen scaffolds loaded with human collagen-binding bFGF. [Biomaterials](#), 2012, 33: 4298–4308
- 77 Donnez J, Dolmans M M, Pellicer A, et al. Restoration of ovarian activity and pregnancy after transplantation of cryopreserved ovarian tissue: a review of 60 cases of reimplantation. [Fertil Steril](#), 2013, 99: 1503–1513
- 78 Li J, Kawamura K, Cheng Y, et al. Activation of dormant ovarian follicles to generate mature eggs. [Proc Natl Acad Sci USA](#), 2010, 107: 10280–10284
- 79 Yin O, Cayton K, Segars J H. *In vitro* activation: a dip into the primordial follicle pool? [J Clin Endocrinol Metab](#), 2016, 101: 3568–3570
- 80 Wang T, Sha H, Ji D, et al. Polar body genome transfer for preventing the transmission of inherited mitochondrial diseases. [Cell](#), 2014, 157: 1591–1604
- 81 Tachibana M, Amato P, Sparman M, et al. Towards germline gene therapy of inherited mitochondrial diseases. [Nature](#), 2013, 493: 627–631
- 82 Oktay K, Baltaci V, Sonmezer M, et al. Oogonial precursor cell-derived autologous mitochondria injection to improve outcomes in women with multiple IVF failures due to low oocyte quality. [Reprod Sci](#), 2015, 22: 1612–1617

Fertility and reproductive health: the challenges and strategies in reproductive medicine—A summary of the 170th “Shuangqing Forum”

Lyu QunYan, WANG Yan-Ling, TIAN Chan, ZHANG Hong, CHENG Jing, QIAO Jie,
SHA JiaHao, ZHANG Xue, ZHOU Qi & DONG ErDan

1 Department of Medical Sciences, National Natural Science Foundation of China, Beijing 100085, China;

2 Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China;

3 Peking University Third Hospital, Beijing 100191, China;

4 Tsinghua University School of Medicine, Beijing 100084, China;

5 School of Basic Medical Sciences, Nanjing Medical University, Nanjing 211166, China;

6 Institute of Basic Medicine Sciences, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100730, China

Reproductive health has been one of the most important topics in the area of population and health, which deeply affects the economic and social development around the world and therefore is of universal concern. Currently, the fertility and reproductive health of human beings is seriously affected by gradually increased childbearing age, environment pollution, social stress, life style alteration, etc. In China, the “Second-Child” policy is also bringing new challenge for human reproductive health. To meet the challenge, the Department of Medical Science, Department of Information Science, Department of Chemical Science, Department of Life science, and Department of Policy in National Natural Science Foundation of China jointly hosted the 170th “Shuangqing Forum” focusing on “Fertility and reproductive health” on Dec 1–2, 2016. More than 40 experts in the fields of reproductive biology, reproductive medicine, reproductive engineering, genetics, obstetrics and gynecology, pediatrics, chemistry, imaging, and epidemiology were invited to attend the forum. The participants conducted full and in-depth discussion on five topics including “reproductive engineering and stem cells”, “germcell development and maturation”, “embryonic implantation and pregnancy maintain”, “fetal development and offspring health”, and “new technology in reproductive medicine”. The key scientific questions and major research directions in the field were subsequently summarized. This article reports the contents and scientific questions discussed in the forum, aiming to promote the development of the related areas.

fertility, reproductive health, Shuangqing Forum

doi: [10.1360/N052017-00144](https://doi.org/10.1360/N052017-00144)