DOI: 10.12280/gjszjk.20260261

·综 述·

序贯移植在反复着床失败中的临床价值再评估

余照娟，郭培培△

【摘 要】 辅助生殖技术的核心目标是实现健康活产，然而，反复着床失败（recurrent implantation failure，RIF）仍是制约其疗效的关键瓶颈。序贯移植是指在同一个周期内先后移植卵裂胚和囊胚，为改善RIF患者妊娠结局提供了新思路。序贯移植主要通过3条途径改善子宫内膜容受性：胚胎来源的白血病抑制因子通过Janus激酶/信号转导及转录活化因子3通路上调同源框蛋白A10表达，增强胚胎-内膜黏附；雌、孕激素经基质细胞介导，通过纤维细胞生长因子-纤维细胞生长因子受体2信号轴调控上皮分化，参与种植窗的开启与关闭；机械刺激通过肿瘤坏死因子-α-基质金属蛋白酶信号通路促进血管新生，诱导M2型巨噬细胞极化，调节局部免疫微环境。临床证据显示，序贯移植在RIF、高龄、多囊卵巢综合征等特定人群中有一定的应用前景，且不增加多胎妊娠和异位妊娠的风险，但现有研究多为回顾性研究，随机对照试验数量有限，且不同研究在RIF定义、序贯方案设计等方面存在较大异质性，限制了证据的整合与推广。总体来看，现有证据尚不支持将序贯移植列为常规推荐方案，今后还需通过更精细的人群分层和前瞻性设计加以验证。

【关键词】 序贯移植；生殖技术，辅助；反复着床失败；胚胎植入；子宫内膜容受性；妊娠结局

Reassessment of Clinical Value on Sequential Embryo Transfer in Recurrent Implantation Failure

YU Zhao-juan, GUO Pei-pei. Center for Reproductive Medicine, Department of Obstetrics and Gynecology, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Anhui Province Key Laboratory of Reproductive Health and Genetics, Anhui Medical University, Hefei 230022, China

Corresponding author: GUO Pei-pei, E-mail: guopeipei@ahmu.edu.cn

【Abstract】 The core objective of assisted reproductive technology (ART) is to achieve a healthy live birth; however, recurrent implantation failure (RIF) remains a critical bottleneck limiting the clinical efficacy of ART. Sequential embryo transfer involves the transfer of a cleavage-stage embryo followed by a blastocyst within the same cycle, which offers a novel approach to improve the pregnancy outcomes in RIF patients. Sequential transfer improves endometrial receptivity primarily through three pathways: the embryo-derived leukemia inhibitory factors upregulate HOXA10 expression via the JAK/STAT3 signaling pathway, thereby enhancing embryo-endometrial adhesion; maternal estrogen and progesterone regulate epithelial differentiation through the FGFs-FGFR2 signaling axis that mediated by stromal cells, contributing to the opening and closure of the implantation window; and mechanical stimulation promotes angiogenesis via the TNF-α-MMP pathway while inducing M2-type macrophage polarization to modulate the local immune microenvironment. Clinically, sequential transfer has shown potential in specific populations, including those patients with RIF, advanced age, or polycystic ovary syndrome, without increasing the risks of multiple pregnancies or ectopic pregnancies. However, most current evidence is derived from the retrospective studies with limited randomized controlled trials, and considerable heterogeneity exists across studies regarding the definition of RIF and protocol design, which limits the integration and generalizability of the findings. Overall, current evidence does not support sequential transfer as the routine recommendation in RIF patients, and further studies with refined patient stratification and prospective design are needed to validate its clinical value.

【Keywords】 Sequential embryo transfer; Reproductive techniques, assisted; Recurrent implantation failure; Embryo implantation; Endometrial receptivity; Pregnancy outcome

（*J Int Reprod Health/Fam Plan*，2026，45：401-406）

辅助生殖技术（assisted reproductive technology，ART）经过几十年的发展，促排卵方案和胚胎培养体系不断优化，近年来单囊胚移植的着床率在年轻患者中可达50%~70%[1]，但仍有约10%~15%的患者经历多次优质胚胎移植后未能妊娠，即反复着床失败（recurrent implantation failure，RIF）[2-3]。迄今为止，RIF的诊断标准尚未达成一致，《反复种植失败临床诊治中国专家共识》中将40岁以下成年女性在3个新鲜或冷冻周期内移植至少3枚优质胚胎后仍未能实现临床妊娠定义为RIF[4]。RIF对于接受ART治疗

作者单位：230022 合肥，安徽医科大学第一附属医院妇产科生殖中心，安徽医科大学生殖健康与遗传安徽省重点实验室

通信作者：郭培培，E-mail：guopeipei@ahmu.edu.cn

△审校者

的女性而言是一项重大挑战，其会带来经济和心理双重负担，也是当前临床难点和研究热点[5]。从理论上讲，胚胎着床的成功与否主要取决于胚胎质量和子宫内膜容受性。着床失败可能由这两个因素中的任一缺陷引起，也可能与免疫因素或多因素共同作用有关。对于存在子宫内膜容受性缺陷的RIF患者而言，序贯移植可能是一项重要的治疗措施[6]。序贯移植并非新技术，近年来随着在特定RIF人群中的研究不断深入，其展现出潜在价值，但RIF患者的胚胎移植策略目前尚缺乏国际相关指南或共识，其应用仍存在一定的争议。综述序贯移植对RIF患者妊娠结局影响的现有证据，以期进一步指导临床移植策略。

1　序贯移植的概念

序贯移植是指在同一个移植周期内，分两次将不同发育阶段的胚胎移植入宫腔，通过延长胚胎与子宫内膜“相遇”的时间窗，优化两者的同步性，进而提升着床的概率。序贯（两步法）移植技术最先由Abramovici等[7]提出，即在同一个治疗周期内移植2次，取卵后48 h先行第1次移植（移植4~8细胞胚胎），剩余胚胎继续培养24 h后行第2次移植，2次移植间隔24 h。随后Goto等[8]改进了该技术，第1次移植D2卵裂胚，第2次移植D5囊胚。目前临床多采用这种序贯移植方式，这种方法的独特优势在于：序贯移植将卵裂胚移植与囊胚移植两种策略相结合，兼顾了二者的优势，移植卵裂胚可确保有胚胎可移，避免因养囊失败致使周期取消；移植囊胚则因胚胎发育与子宫内膜同步性更好，种植率更高。

2　序贯移植改善RIF患者妊娠结局的作用机制

2.1　胚胎与子宫内膜的双向调节效应　胚胎与子宫内膜的双向信号调控是序贯移植改善妊娠结局的分子基础。研究表明，首次移植的卵裂胚会释放细胞外囊泡（extracellular vesicles，EVs），其内包含蛋白质、微RNA（microRNA，miRNA）和mRNA等生物活性分子，这些EVs通过旁分泌途径将信号分子递送至子宫内膜上皮细胞和基质细胞，调控容受性相关基因的转录与表达[9-10]。

在分子通路层面，胚胎来源的白血病抑制因子（leukemia inhibitory factor，LIF）是胚胎着床的关键调控因子之一。LIF通过与子宫内膜上皮细胞表面受体结合激活Janus激酶（Janus kinase，JAK）/信号转导及转录活化因子3（signal transducer and activator of transcription 3，STAT3）信号通路，上调同源框蛋白A10（homeobox protein A10，HOXA10）的表达[11]。HOXA10是子宫内膜容受性的关键转录因子，其表达水平与胚胎着床成功率密切相关。LIF还可通过激活磷脂酰肌醇3激酶（phosphoinositide 3-kinase，PI3K）/蛋白激酶B（protein kinase B，Akt）通路促进子宫内膜上皮细胞增殖[12]。通过上述双向分子交流，EVs促进子宫内膜蜕膜化，并建立“胚胎预先适应”的分子记忆，提高子宫内膜容受性，后续的胚胎移植通过累积的信号效应进一步优化子宫内膜微环境，促进胚胎发育和着床[9]。

值得注意的是，RIF患者子宫内膜来源的小EVs中miR-218-5p的表达水平较健康可生育女性升高，其会影响胚胎发育、抑制囊胚形成[13]；而miR-145、miR-30d、miR-223-3p及miR-125b等可影响HOXA10、LIF/STAT3、PI3K/Akt及Wnt/β-联蛋白（β-catenin）等着床相关通路的活性[14]。这些发现提示，子宫内膜来源EVs的分子异常可能是RIF的重要发病机制之一，而序贯移植中胚胎来源的正常EVs信号可能通过双向分子交流部分逆转这一异常状态。

2.2　种植窗的延长与同步化调节　在月经周期中，子宫内膜仅在特定的种植窗内具备容受性。每个女性的种植窗并非固定不变，其位置和时长存在个体差异；即使同一女性的种植窗在不同的月经周期中也可能不同。RIF患者种植窗异常的发生率显著升高。研究显示，约25%的RIF患者存在种植窗提前或延迟偏移，导致胚胎与子宫内膜发育不同步[15]。

与胚胎主动调控子宫内膜不同，子宫内膜容受性的周期性建立本质上取决于母体雌、孕激素的周期性驱动。种植窗的开启与关闭受雌、孕激素的协同调控[16]。值得注意的是，雌、孕激素并非直接作用于上皮细胞，而是先与基质细胞中的雌激素受体α（estrogen receptor α，ERα）和孕激素受体（progesterone receptor，PR）结合，再通过旁分泌信号传导至上皮细胞，基质细胞发挥“信号中转站”的作用。Liu等[17]的时空转录组学研究揭示，基质细胞通过分泌成纤维细胞生长因子2（fibroblast growth factor 2，FGF2）、FGF7作用于上皮细胞FGF受体2（FGFR2），构成基质细胞向上皮细胞传递“分化指令”的核心通路。

传统的单次移植将胚胎固定于常规预设的移植时间点（如D3或D5），当患者种植窗偏移时，胚胎

与子宫内膜难以同步，而序贯移植可潜在地提高胚胎符合种植窗的可能性，进而增加胚胎与子宫内膜同步化的概率[18]。

2.3 机械刺激与免疫微环境改善子宫内膜容受性 序贯移植中，第1次移植时导管的插入对子宫内膜造成局部微损伤，这种“微创伤预激活”效应可通过多重机制改善后续胚胎的着床环境。动物实验证实，机械损伤后子宫内膜局部肿瘤坏死因子-α（tumor necrosis factor-α，TNF-α）表达升高，诱导基质金属蛋白酶-3（matrix metalloproteinase-3，MMP-3）上调，MMP-3激活内皮细胞中的MMP-9，促进子宫内膜血管新生[19]。此外，机械性内膜损伤可导致LIF mRNA表达水平显著升高[20]。

在免疫微环境层面，CD206+M2型巨噬细胞在胚胎着床中发挥关键作用。动物实验显示，特异性清除M2型巨噬细胞后小鼠着床数显著减少，同时子宫内膜LIF表达降低、TNF-α表达升高；进一步机制研究发现，M2型巨噬细胞可能通过Wnt/β-catenin信号通路调控子宫内膜上皮细胞的增殖与分化的平衡；在RIF患者中也发现M2型巨噬细胞比例显著低于成功妊娠者，提示M2型巨噬细胞不足可能与着床失败相关[21]。此外，即使移植的卵裂胚未成功着床，也可以通过旁分泌的作用，上调子宫内膜容受性相关因子的表达（如LIF、整合素、骨桥蛋白等），改善子宫内膜的生理状态，为后续移植创造更好的着床环境。

3 序贯移植在RIF中的临床应用价值

有研究认为序贯移植可提高RIF患者的妊娠率。Teng等[22]的Meta分析纳入了16项研究共4 054例患者[均为接受体外受精-胚胎移植（in vitro fertilization-embryo transfer，IVF-ET）助孕的不孕女性]，结果显示，序贯移植组的总体临床妊娠率显著高于对照组[包含卵裂胚移植或囊胚移植患者，41.8%（495/1 185）*vs.* 31.8%（936/2 942），*OR*=1.78，95%*CI*：1.43~2.21]；亚组分析显示，与卵裂胚移植相比，序贯移植可提高临床妊娠率（*OR*=1.78，95%*CI*：1.37~2.31）；针对RIF患者的亚组分析也发现序贯移植组的临床妊娠率显著高于对照组[39.4%（261/662）*vs.* 32.4%（465/1 437），*OR*=1.65，95%*CI*：1.19~2.27]。然而，该研究也指出，纳入文献多为观察性研究，证据质量从极低到高不等，结论需谨慎解读。2022年，Arefi等[23]的一项前瞻性随机对照试验发现，与常规D5囊胚移植相比，行序贯移植（D3卵裂胚+D5囊胚）的RIF患者临床妊娠率更高（40% *vs.* 19%，*P*<0.001）。2023年北京大学第三医院Gao等[24]的回顾性队列研究显示，与双卵裂胚移植相比，序贯移植的临床妊娠率（50.7% *vs.* 40.4%，*aOR*=0.610，95%*CI*：0.432~0.861）和胚胎植入率（32.1% *vs.* 24.9%，*P*<0.05）均显著提高，多胎妊娠率降低（17.0% *vs.* 25.5%，*aOR*=1.860，95%*CI*：1.012~3.418）。此外，部分小样本或亚组研究提示，序贯移植在特定人群中可能获益更多，如高龄（>40岁）、多囊卵巢综合征合并RIF、既往有移植失败史以及可利用囊胚为D6者[25-26]。

然而，序贯移植在临床应用中也存在一定争议。Zhao等[27]将胚胎质量作为核心分层因素，认为当胚胎质量相当时，序贯移植与双囊胚移植的临床妊娠率及活产率差异无统计学意义（*aOR*=1.275，95%*CI*：0.483~3.368），提示胚胎质量比移植策略更具决定性。Tehraninejad等[28]在IVF-ET新鲜周期中对连续3次IVF-ET失败的患者进行随机对照研究，序贯移植组（D3移植1枚卵裂胚，D5移植2枚囊胚，共3枚）与单纯囊胚移植组（D5移植2枚囊胚）比较，未发现序贯移植的临床妊娠率优于单纯囊胚移植（40% *vs.* 38.3%，*aOR*=1.000，95%*CI*：0.999~1.001）。Zhang等[29]的系统评价也指出，序贯移植组的临床妊娠率（10项研究，2 474例；*RR*=1.42，95%*CI*：1.26~1.60）和活产率（2项研究，531例；*RR*=1.99，95%*CI*：1.47~2.71）高于卵裂胚移植组，但与囊胚移植组比较临床妊娠率差异无统计学意义（4项研究，513例，*RR*=1.29，95%*CI*：0.90~1.85）。

综合上述临床证据，序贯移植在RIF患者中的应用仍处于证据积累阶段。现有Meta分析及回顾性研究提示其可改善临床妊娠率及活产率，但高质量随机对照研究有限，且与囊胚移植相比未显示出一致性优势。各研究在RIF定义、序贯方案及对照设置等方面异质性较大，限制了证据的推广。因此，序贯移植宜作为探索性治疗选择，临床应用需遵循个体化原则，审慎筛选适宜患者并充分知情同意。

4 序贯移植的不足与风险

4.1 周期取消和经济成本 序贯移植在第1次卵裂胚移植后剩余胚胎继续养囊，但约10%~20%的患者可能因养囊失败而无法完成第2次囊胚移植[24]，影响预期疗效。

序贯移植在冻融胚胎移植周期中需要进行2次解冻和2次移植，费用比常规移植高；在新鲜周期中虽无需解冻环节，但仍需2次移植操作。因此，无论何种周期类型，均需与患者术前充分沟通可能增加的经济负担和时间成本，同时还需考虑胚胎的合理利用问题，对于胚胎数量有限的RIF患者，需权衡首次移植非优质胚胎可能带来的胚胎浪费。

4.2　多胎妊娠的担忧　多胎妊娠是序贯移植最受关注的并发症之一。理论上，同一周期移植2枚胚胎可能增加多胎妊娠风险，但现有证据显示，多胎妊娠率的关键决定因素是移植胚胎的数目，而非序贯流程本身。既往多数研究认为，多胎妊娠率与移植胚胎数量直接相关。Teng等[22]的Meta分析显示，序贯移植组与对照组的多胎妊娠率差异无统计学意义（9项研究，904例；*OR*=1.14，95%*CI*：0.79~1.67）。Zhang等[29]的系统综述显示，序贯移植组与卵裂胚移植组的多胎妊娠率差异无统计学意义（8项研究，642例；*RR*=1.10，95%*CI*：0.83~1.47）。Li等[30]的研究设计了4种移植方案，双囊胚移植组的多胎妊娠率最高（50.5%），序贯移植组次之（31.3%），双卵裂胚移植组再次（28.7%），单囊胚移植组最低（4.9%），4组间差异有统计学意义（$P<0.05$）。Gao等[31]的研究中，序贯移植组、双卵裂胚移植组和双囊胚移植组的双胎妊娠率及围产期结局差异无统计学意义。上述结果提示，多胎妊娠率主要与移植胚胎数量相关，而非序贯移植策略本身。

4.3　复合妊娠的风险　复合妊娠是指宫内妊娠合并异位妊娠。序贯移植因涉及两次移植操作，是否会增加复合妊娠风险？目前关于序贯移植与复合妊娠关联的文献报道极少。一项Meta分析显示，序贯移植组与囊胚移植组的异位妊娠率比较差异无统计学意义[2.07%（15/726）*vs.* 1.53%（14/917），*RR*=1.39，95%*CI*：0.66~2.94]，与卵裂胚移植组之间同样差异无统计学意义[1.64%（12/730）*vs.* 2.71%（41/1 514），*RR*=0.62，95%*CI*：0.33~1.15][32]。该Meta分析纳入的各原始研究移植胚胎数量不尽相同，该结论仍需更多高质量研究验证。由于异位妊娠是复合妊娠的核心组成部分，序贯移植未增加异位妊娠风险，间接提示其诱发复合妊娠的风险较低。尽管如此，在临床实践中仍建议在移植后4~5周常规行阴道超声检查，明确宫内妊娠囊的同时需检查双侧附件，对高危患者（如有输卵管因素、既往异位妊娠史者）应更加警惕。

4.4　证据局限　现有研究存在明显异质性，大多数研究为回顾性研究，随机对照研究数量有限，整体证据质量等级较低；不同研究在RIF的定义（失败周期数、移植胚胎数）、序贯方案（移植间隔、首次移植胚胎类型）、对照组设置（卵裂胚移植、囊胚移植或双囊胚移植）及胚胎质量评估标准等方面差异较大，限制了其临床应用。此外，部分阳性研究未充分控制移植胚胎数及胚胎质量等混杂因素。基于现有证据，暂无法将序贯移植推荐为RIF患者的常规治疗方案。

5　序贯移植的优化建议

5.1　严格筛选适应证　序贯移植并非适用于所有RIF患者。未来需结合子宫内膜容受性检测[如子宫内膜容受性阵列（endometrial receptivity array，ERA）]、胚胎非整倍体筛查、子宫内膜微生态检测等技术，建立精准的患者分层体系，明确序贯移植的最佳适用人群。基于病因分层，优先推荐给以下类型的RIF患者：不明原因性RIF、子宫内膜容受性检测提示种植窗偏移以及既往优质胚胎移植反复失败但有可利用D6囊胚的患者。排除明确的胚胎染色体异常（建议行植入前非整倍体检测）、宫腔病变（宫腔镜检查）及免疫凝血异常者。

5.2　优化移植方案　目前关于序贯移植的关键技术参数尚未达成共识，移植时间间隔（24 h *vs.* 48 h）、首次移植胚胎质量（优质胚胎 *vs.*非优质胚胎）、移植胚胎数量等均需进一步研究。现有研究大多数采用“单卵裂胚+单囊胚”的移植模式。建议2次移植时间间隔24~48 h，可根据胚胎发育速度和子宫内膜状态个体化调整。避免移植2枚囊胚或2枚卵裂胚，降低多胎妊娠风险。

5.3　规范操作与早期监测　移植操作过程应动作轻柔，避免损伤子宫内膜引发感染，并且在移植后4~5周行阴道超声检查，明确宫内妊娠囊数量及位置，仔细检查双侧附件以排除复合妊娠。

5.4　充分知情同意　必须向患者阐明序贯移植的探索性质，并与患者及时做好沟通，沟通的内容包括：现有证据提示可能提高妊娠率，但并非保证；2次移植的费用比常规移植高；多胎妊娠和复合妊娠的风险以及养囊失败的风险。

6　结语与展望

序贯移植作为ART个体化治疗框架下的重要探

索，其在RIF中的应用价值仍需更高质量的循证医学证据支持，但对于经过严格筛选的特定亚群（如优质胚胎移植反复失败、D6囊胚可用、排除明确宫腔/免疫/染色体因素者），序贯移植可作为一种探索性治疗选择。未来研究应聚焦于以下方向：①建议开展大规模、多中心、同质化RIF人群的前瞻性随机对照试验，明确序贯移植对RIF患者长期母婴结局的影响（如活产率、新生儿健康结局）；②呼吁开展更多基础研究，利用单细胞测序、类器官模型等前沿技术，深入揭示胚胎-子宫内膜“对话”的分子机制，为序贯移植与免疫治疗的联合应用提供理论基础；③结合人工智能与大数据技术，建立包含患者年龄、卵巢储备功能、子宫内膜状态等多维度的预测模型，实现序贯移植的精准个体化应用。总之，序贯移植为RIF患者提供了一种新的治疗选择，其核心价值在于通过优化胚胎-内膜“对话”以改善子宫内膜容受性，但其最终临床价值仍需更高级别的循证医学证据和更深入的机制研究来确定。

参 考 文 献

[1] Ma X, Wang J, Shi Y, et al. Effect of single blastocyst-stage versus single cleavage-stage embryo transfer on cumulative live births in women with good prognosis undergoing in vitro fertilization: Multicenter Randomized Controlled Trial[J]. Nat Commun, 2024, 15(1): 7747. doi: 10.1038/s41467-024-52008-y.

[2] Cimadomo D, Craciunas L, Vermeulen N, et al. Definition, diagnostic and therapeutic options in recurrent implantation failure: an international survey of clinicians and embryologists[J]. Hum Reprod, 2021, 36(2): 305-317. doi: 10.1093/humrep/deaa317.

[3] Salehpour S, Hosseini S, Razghandi Z, et al. Comparing the effect of sequential embryo transfer versus double blastocyst embryo transfer on pregnancy outcomes in intracytoplasmic sperm injection (ICSI) cycles in patients with repeated implantation failure: A randomized controlled trial[J]. Taiwan J Obstet Gynecol, 2023, 62(2): 264-269. doi: 10.1016/j.tjog.2022.10.009.

[4] 中国医师协会生殖医学专业委员会，中国女医师协会生殖医学专业委员会. 反复种植失败临床诊治中国专家共识[J]. 中华医学杂志，2023，103(2)：89-100. doi: 10.3760/cma.j.cn112137-20221105-02317.

[5] ESHRE Working Group on Recurrent Implantation Failure, Cimadomo D, de Los Santos MJ, et al. ESHRE good practice recommendations on recurrent implantation failure[J]. Hum Reprod Open, 2023, 2023(3): hoad023. doi: 10.1093/hropen/hoad023.

[6] 叶雅萍，李萍. 非选择性序贯移植在反复胚胎种植失败患者冻融周期中的应用[J]. 中国计划生育学杂志，2021，29(8)：1673-1676.

[7] Abramovici H, Dirnfeld M, Weisman Z, et al. Pregnancies following the interval double-transfer technique in an in vitro fertilization-embryo transfer program[J]. J In Vitro Fert Embryo Transf, 1988, 5(3): 175-176. doi: 10.1007/BF01131183.

[8] Goto S, Shiotani M, Kitagawa M, et al. Effectiveness of two-step (consecutive) embryo transfer in patients who have two embryos on day 2: comparison with cleavage-stage embryo transfer[J]. Fertil Steril, 2005, 83(3): 721-723. doi: 10.1016/j.fertnstert.2004.07.974.

[9] Ma L, Zhu H, Zhu P, et al. Possible mechanisms and clinical innovations of sequential embryo transfer in assisted reproduction [J]. Syst Biol Reprod Med, 2026, 72(1): 55-66. doi: 10.1080/19396368.2025.2599792.

[10] Ziyafati Kafi F, Eslami N, Shekari F, et al. Theranostic potential of extracellular vesicles in reproductive tracts: implications for recurrent implantation failure[J]. Mol Biol Rep, 2025, 52(1): 502. doi: 10.1007/s11033-025-10619-8.

[11] Li Q, Chen Y, Adeniran SO, et al. LIF regulates the expression of miR-27a-3p and HOXA10 in bovine endometrial epithelial cells via STAT3 pathway[J]. Theriogenology, 2023, 210: 101-109. doi: 10.1016/j.theriogenology.2023.07.013.

[12] Aguilera C, Wong YS, Gutierrez-Reinoso MA, et al. Embryo-maternal communication mediated by extracellular vesicles in the early stages of embryonic development is modified by in vitro conditions[J]. Theriogenology, 2024, 214: 43-56. doi: 10.1016/j.theriogenology.2023.10.005.

[13] Cai L, Lv M, Wei J, et al. Mir-218-5p from Extracellular Vesicles of Endometrium in Patients with Recurrent Implantation Failure Impairs Pre-Implantation Embryo Development[J]. Int J Nanomedicine, 2025, 20: 5661-5679. doi: 10.2147/IJN.S508491.

[14] Voros C, Varthaliti A, Athanasiou D, et al. MicroRNA Signatures in Endometrial Receptivity-Unlocking Their Role in Embryo Implantation and IVF Success: A Systematic Review[J]. Biomedicines, 2025, 13(5): 1189. doi: 10.3390/biomedicines13051189.

[15] Ruiz-Alonso M, Blesa D, Díaz-Gimeno P, et al. The endometrial receptivity array for diagnosis and personalized embryo transfer as a treatment for patients with repeated implantation failure[J]. Fertil Steril, 2013, 100(3): 818-824. doi: 10.1016/j.fertnstert.2013.05.004.

[16] Karimi S, Baharaghdam S, Danaii S, et al. Embryo-maternal cross-talk: key players in successful implantation and live birth rates[J]. Reprod Biol Endocrinol, 2025, 23(1): 136. doi: 10.1186/s12958-025-01477-x.

[17] Liu Y, Wang Y, Zhang L, et al. Decrypting spatiotemporal code of human endometrial receptivity[J]. Nat Commun, 2025, 17(1): 801. doi: 10.1038/s41467-025-67492-z.

[18] Haouzi D, Entezami F, Torre A, et al. Customized Frozen Embryo Transfer after Identification of the Receptivity Window with a Transcriptomic Approach Improves the Implantation and Live

Birth Rates in Patients with Repeated Implantation Failure[J]. Reprod Sci, 2021, 28(1): 69-78. doi: 10.1007/s43032-020-00252-0.

[19] Tu YA, Chou CH, Yang PK, et al. Intentional endometrial injury enhances angiogenesis through increased production and activation of MMP-9 by TNF-α and MMP-3 in a mouse model[J]. Mol Hum Reprod, 2021, 27(10): gaab055. doi: 10.1093/molehr/gaab055.

[20] Ersahin SS, Ersahin A. Endometrial injury concurrent with hysteroscopy increases the expression of Leukaemia inhibitory factor: a preliminary study[J]. Reprod Biol Endocrinol, 2022, 20(1): 11. doi: 10.1186/s12958-021-00877-z.

[21] Ono Y, Yoshino O, Hiraoka T, et al. CD206+ M2-Like Macrophages Are Essential for Successful Implantation[J]. Front Immunol, 2020, 11: 557184. doi: 10.3389/fimmu.2020.557184.

[22] Teng W, Xian H, Wang F, et al. Effect of sequential embryo transfer on in vitro fertilization and embryo transfer outcomes: a systematic review and meta-analysis[J]. Front Med (Lausanne), 2023, 10: 1303493. doi: 10.3389/fmed.2023.1303493.

[23] Arefi S, Ataei M, Maleki N, et al. Sequential (two-step) day 3/day 5 frozen-thawed embryo transfer: does it improve the pregnancy rate of patients suffering recurrent implantation failure?[J]. J Med Life, 2022, 15(11): 1365-1370. doi: 10.25122/jml-2022-0041.

[24] Gao J, Yuan Y, Li J, et al. Sequential embryo transfer versus double cleavage-stage embryo or double blastocyst transfer in patients with recurrent implantation failure with frozen-thawed embryo transfer cycles: a cohort study[J]. Front Endocrinol (Lausanne), 2023, 14: 1238251. doi: 10.3389/fendo.2023.1238251.

[25] 朱元昌, 马壮鸿, 姜薇, 等. 序贯移植改善高龄反复种植失败患者的临床结局[J]. 生殖医学杂志, 2022, 31(7): 937-942. doi: 10.3969/j.issn.1004-3845.2022.07.012.

[26] Ji M, Zhang L, Fu X, et al. The outcomes of sequential embryo transfer in patients undergoing in vitro fertilization with frozen-thawed embryos: A retrospective study[J]. J Obstet Gynaecol Res, 2022, 48(10): 2563-2570. doi: 10.1111/jog.15369.

[27] Zhao QH, Song YW, Chen J, et al. Embryo Transfer Strategies for Women with Recurrent Implantation Failure During the Frozen-thawed Embryo Transfer Cycles: Sequential Embryo Transfer or Double-blastocyst Transfer?[J]. Curr Med Sci, 2024, 44(1): 212-222. doi: 10.1007/s11596-024-2827-9.

[28] Tehraninejad ES, Raisi E, Ghaleh FB, et al. The sequential embryo transfer compared to blastocyst embryo transfer in in vitro fertilization (IVF) cycle in patients with the three repeated consecutive IVF. A randomized controlled trial[J]. Gynecol Endocrinol, 2019, 35(11): 955-959. doi: 10.1080/09513590.2019.1613639.

[29] Zhang J, Wang C, Zhang H, et al. Sequential cleavage and blastocyst embryo transfer and IVF outcomes: a systematic review [J]. Reprod Biol Endocrinol, 2021, 19(1): 142. doi: 10.1186/s12958-021-00824-y.

[30] Li Y, Zhang L, Yu P, et al. The efficacy of sequential day 3 embryo and blastocyst transfer in patients with repeated implantation failure[J]. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2023, 283: 32-36. doi: 10.1016/j.ejogrb.2023.01.005.

[31] Gao J, Li R, Liu P, et al. Live birth rate and perinatal outcomes following sequential embryo transfer in women with recurrent implantation failure undergoing frozen-thawed embryo transfer cycles[J]. BMC Pregnancy Childbirth, 2025, 25(1): 433. doi: 10.1186/s12884-025-07557-5.

[32] Shalma NM, Talaia AM, Abdelraouf MR, et al. Sequential embryo transfer efficacy in enhancing pregnancy outcomes: a systematic review and meta-analysis[J]. J Assist Reprod Genet, 2025, 42(7): 2119-2140. doi: 10.1007/s10815-025-03487-5.

（收稿日期：2026-05-18）

[本文编辑　杨晓园]