

人类未成熟卵母细胞体外成熟（IVM）技术在临床应用中的最新进展

Updates on in vitro maturation technology in human immature oocytes for clinical application

英文原著：

Chian RC¹, Wang G¹, Zhang DM¹, Shan M¹, Wei Y¹, Zhu YQ², Xu CJ².

¹ 中国黑龙江省医院生殖医学中心

² 《生殖与发育医学》编辑部（英文）

杂志出处：

Reprod Dev Med 2025;9(4):276–280. doi: 10.1097/RD9.0000000000000145.

翻译：吕一诺；核对：千日成

美国塞班生殖医学中心

摘要

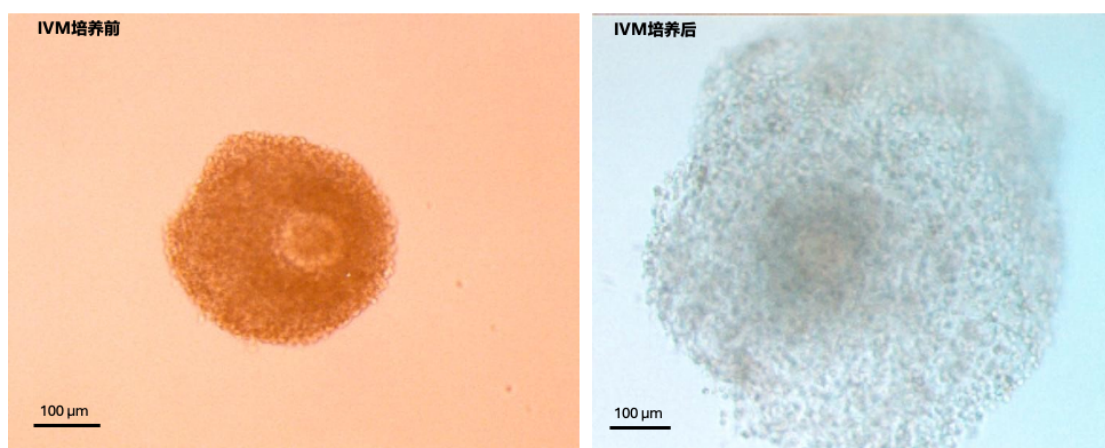
本文对人类未成熟卵母细胞体外成熟 (IVM) 技术的最新临床应用进展进行了评论。IVM 作为辅助生殖技术的一个环节, 仅涉及特定的培养过程。IVM 技术的成功与否依赖于未成熟卵母细胞的来源, 为此目前尚无一种方案能被证明优于其他方案。尝试将动物的 IVM 技术应用于人的未成熟卵母细胞的助孕方案尚未取得突破性进展。IVM 培养液中添加各种因子具有一定效果, 但是其显著性有待确认。卵丘细胞在卵母细胞成熟过程中起重要作用, 但是对使用不同类型的细胞进行共培养 IVM 的效果, 仍存在争议。温和促排卵周期的成熟和未成熟卵母细胞联合获取, 随后进行 IVM 有可能成为传统促排卵周期治疗的可行替代方案。

引言

二十世纪初,有人就发现了哺乳动物未成熟卵母细胞从卵泡中取出后可在体外成熟 [Pincus and Enzmann, 1935]。最初,这一现象开始在啮齿类和兔子卵母细胞,后来由获取的人类卵巢组织的卵母细胞得以观察 [Pincus and Saunders, 1939; Edwards, 1965]。值得一提的是人类体外受精 (IVF) 技术的建立源于人的 IVM 未成熟卵母细胞 [Edwards et al., 1966; 1969], 最终导致 1978 年首例 IVF 试管婴儿的诞生 [Steptoe and Edwards, 1978], 然而, 这个世界第一例 IVF 试管婴儿则是来源于排卵前获取的体内成熟卵。

临床 IVM 概念, 是指对不同阶段未成熟卵母细胞 (包括 GV 和 M-I 期) 在体外培养成熟过程 [Chian et al., 2022]。GV 期人类卵母细胞的 IVM 过程通常需要至少 36 小时 [Edwards et al., 1966; Cha and Chian, 1998]。尽管早期的报道认为仅需 12 小时, 这是由于部分收集的未成熟卵母细胞已处于 M-I 期所致 [Pincus and Saunders, 1939]。随着 IVF 技术的发展和伦理体系的完善, 世界首例未成熟卵母细胞 IVM 试管婴儿于 1983 年诞生 [Veeck et al., 1983]。相继有不同未成熟卵母细胞来源体外成熟后出产报道 [Cha et al., 1991]。迄今为止的数据显示, 已有成千上万名健康婴儿通过 IVM 技术出生 [Yang and Chian 2017; Chian et al., 2023; Smitz et al., 2025]。也就是大约在第一例 IVM 婴儿出生 40 年后, 在 2021 年美国生殖医学会指南 (ASRM) 指出, IVM 技术不应再被视为实验研究操作, 认可其在临床上的应用潜力, 同时强调 IVM 技术可能并不适用于所有不孕不育患者, 建议主要是针对基础卵泡数 (AFC) 较多的个体。最近的报道显示, IVM 技术可在临床上应用于不孕治疗和生育力保存 [Gilchrist et al., 2024; Chatzimeletiou et al., 2025; Chen

et al., 2025; Smitz et al., 2025; Morato et al., 2025]。为此我们认为有必要对 IVM 技术的最近临床应用进展进行相关的评论。本文旨在分享我们对 IVM 技术在临床应用和生育力保存的观点。



图一：卵丘细胞-卵子-复合体（cumulus-oocyte complex, COC）在 IVM 培养前后的形态学变化。本图显示未成熟 COC 来源于剖宫产时卵巢表面小卵泡，同一 COC 在相同放大倍数下观察在体外成熟培养 36 小时后的卵丘细胞的膨胀变化。

未成熟卵母细胞的来源

未成熟卵母细胞的来源是 IVM 技术成功应用的关键 [Chian, 2022]。在过去几十年中，已有多种 IVM 临床应用方案被开发。这些方案可按是否对患者进行促排卵与否可分为：促卵泡生成刺激（FSH）、人绒毛膜促性腺激素（HCG）或两者联合使用方案 [Chian et al., 2023]。然而，目前普遍仍认为 IVM 技术助孕方案的成功率还是低于传统的常规促排获取平均 10-15 个体内成熟卵母细胞的方案。实际上，直接比较 IVM 技术与传统 IVF 促排方案的成功率并不合理，因为使用 IVM 技术同样可以获得较高的妊娠率和活产率，这完全取决于未成熟卵母细胞的来源。IVM 作为不孕治疗和生育力保存的有价值技术，其成功率与未成熟卵母细胞的质量相关。与传统的促排 IVF 方案类似，IVM 技术的成功率也是与获得的未成熟卵母细胞数量有关 [Chian, 2022]。

近年来，CAPA-IVM 技术应用于人类 IVM 治疗不孕不育患者，并且报道已有超过 1000 名健康婴儿出生 [Smit et al., 2025]。CAPA-IVM 技术最初源于畜牧业牛的 IVM 实践，现在广泛应用于动物研究和胚胎生产 [Luciano et al., 2011]。由小鼠和牛的研究证明，CAPA-IVM 技术可通过延迟卵母细胞减数分裂（添加 cAMP 或 CNP）来改善卵母细胞质量。其核心理念是：从小卵泡获取的卵母细胞在核成熟（减数分裂）前，使其胞质成熟，也就是说，未成熟卵母细胞在开始减数分裂前需要进行只使卵母细胞质成熟的加时培养，因为卵胞质的成熟对后期的受精后的胚胎早期发育至关重要。在体内卵母细胞质成熟是在卵泡期数天内完成。为此 CAPA-IVM 技术，首先在体外培养过程中抑制未成熟卵的减数分裂只促使胞质成熟一定时间，然后再进行未成熟卵母细胞核的成熟 [Sanchez et al., 2017]。

卵泡大小及不同发育阶段是决定未成熟卵母细胞 IVM 技术成功的重要因素 [Chian et al., 2013; Yang and Chian, 2017]。动物 IVM 技术研究和应用（尤其是牛）是从屠宰场获取大量卵巢并挑选形态良好的卵丘-卵母细胞-复合体 (COCs) 进行体外成熟培养 [Chian et al., 2002]。一般认为，从直径大于 6 毫米的卵泡中获取的 COCs 已进入凋亡过程 [Smitz, et al., 2025]。因此，选择健康的 COCs 是牛 IVM 技术的一个重要步骤 [Chian et al., 2002; Chung et al., 2007]。事实上，牛未成熟卵母细胞体外成熟研究结果证明，来源于屠宰场的牛卵巢材料，吸取所有卵泡的 COCs 后进行筛选，只有 10-20% 高质量的 COCs 可以获得较高的体外成熟率。这一结论大体与有 70% 大于 6 毫米直径的卵泡 COCs 有开始出现退化现象的观察基本吻合 [Garcia Barros et al., 2023]。

如上所述，CAPA-IVM 技术是以牛的未成熟卵母细胞体外成熟为目的而开发的技术 [Luciano et al., 2011]，最近几年才用于人类未成熟卵母细胞体外成熟，开始是用于多囊卵巢综合征患者 (polycystic ovary syndrome, PCOS)，因为这些 PCOS 患者的卵泡直径一般都在 6 毫米以下 [Sanchez et al., 2017]。然而，人类的未成熟卵母细胞情况与动物，尤其是与屠宰场来源的卵巢材料有所不同。虽然改良的 CAPA-IVM 方案认为，用 FSH 促排几天可以防止或减少卵泡的退化，但是所面临的临床问题，为什么不继续促排获取体内成熟卵达到治疗目的？另外，CAPA-IVM 方案的目的是在体外进行 24 小时的核成熟抑制促使卵母细胞质成熟，那么为什么不晚取一天 COCs 达到体内抑制核成熟目的？是否体内卵泡的抑制环境要比体外添加抑制剂 CNP 的抑制环境会更要好一些？

尽管如此，最近的临床研究结果报道，CAPA-IVM 方案与常规的大剂量激素促排比较，获得了临床上有效且安全和便宜的治疗方案。并且指出，CAPA-IVM 方案已对具有正常排卵周期或月经周期以及 PCOS 患者进行了验证，强调 CAPA-IVM 方案适用于所有患者，但是所有卵泡应该小于 6 毫米直径，而且获取的 COCs 必须是处于 GV 期 [Vuong LN et al., 2025]。虽然 CAPA-IVM 在临床应用中取得了一定进展，但是在这里需要明确指出，IVM 是一种操作技术而非治疗方案，还不能说 CAPA-IVM 方案在人类未成熟卵母细胞 IVM 技术上有着飞跃式突破，而且在其有效性和安全性有待进一步验证。总而言之，人类未成熟卵母细胞 IVM 技术只是辅助生殖技术体外受精（IVF）过程中的一个环节，它的有效性仍然是依赖于未成熟卵母细胞的来源。

未成熟卵母细胞体外成熟培养液与培养系统

卵母细胞在卵泡发育过程中生长并获得一系列发育潜能，这对后期的受精及早期胚胎发育至关重要。卵母细胞质量受 IVM 培养条件影响显著，因此未成熟卵母细胞体外成熟培养液在 IVM 技术过程中起核心作用 [Chian and Tan, 2002; Chian et al., 2004; Chian et al., 2023]。最初 IVM 培养液是含大约 50% 的卵泡液或血浆 [Cha et al., 1991; Cha and Chian, 1998]。虽然已有一些研究文献报道，但是目前应用人类 IVM 培养液的成分还是主要源于动物及其他细胞的培养试验结果。然而，发现广泛用于动物 IVM 技术的组织培养液 199 (TCM-199) 的某些成分，可能对人类未成熟卵母细胞体外成熟培养并不适合 [Chian and Tan, 2002]。现在人类未成熟卵母细胞 IVM 培养液是在基础培养液的中添加多种补充物，包括能量及氮源、维生素、抗氧化剂、蛋白质、促性腺激素 (FSH、LH)、胰岛素、生长因子 (如 amphiregulin, cumulin, lysophosphatidic acid)、多胺 (腐胺) 及类固醇等等 [Chian et al., 2023]，这些成分通过调控卵胞质代谢稳态，维持卵母细胞的核及胞质成熟。

人类未成熟卵母细胞 IVM 培养液的设计理念是模拟卵泡液环境 [Chian et al., 2023]。例如，卵泡液-减数分裂激活甾醇 (FF-MAS) 在哺乳动物卵泡液中含量高，参与卵母细胞成熟调控 [Byskov et al., 1995]。动物研究结果显示，FF-MAS 是剂量依赖性诱导卵母细胞减数分裂复苏，并促进核与胞质同步成熟 [Marin et al., 2004]。但是有人报道，在人的未成熟卵母细胞 IVM 过程中，体外成熟培养液中添加 FF-MAS 并未改善卵子成熟率和早期胚胎发育率 [Lundin et al., 2007]。

抗氧化剂，如褪黑素也被提出可改善未成熟卵 IVM 培养效果，但近期在猪

的研究结果表明，褪黑素对未成熟卵母细胞的体外成熟及受精后的胚胎发育并未显示出显著效果 [Blancas-Alvarez et al., 2025]。尽管有许多研究结果表明，IVM 培养液及其添加物可影响卵母细胞质量，但具体机制仍不明确。由此可见，未成熟卵 IVM 培养液的不同成分可能是协同作用才能达到有效提高卵子质量的效果。

卵母细胞与卵丘细胞是卵泡中 COC 不可分割的整体（图 1），卵母细胞的成熟依赖其间的双向交流（搭桥联合及旁分泌信号）。卵母细胞分泌多种因子调控卵丘细胞增殖、分化及凋亡，而卵丘细胞为卵母细胞提供生长所需能量 [Chian et al., 2004a; b; Bhadarka et al., 2017; Carles et al., 2022]。近期研究结果显示，来源于人诱导多能干细胞（hiPSC）的卵巢支持细胞（OSCs）与去除卵丘细胞的未成熟卵母细胞进行共培养，可以改善卵母细胞的核成熟以及其转录组接近体内成熟卵母细胞 [Paulsen et al., 2024]。由小鼠模型显示，使用人干细胞来源的 OSC 进行未成熟卵母细胞的 IVM 可显著提高后期的囊胚形成率，并出生了成活健康后代 [Marchante et al., 2025]。然而，对使用异源的干细胞进行未成熟卵母细胞的共培养其有效性有待验证。另外，从临床安全性和伦理角度出发，我们认为使用患者自身的卵丘细胞或同源的其它类型细胞作为共培养细胞源可能更为可行和有效。

目前人类未成熟卵母细胞的 IVM 培养系统主要有两种：（1）培养皿小液滴培养法（20-50 μL ），覆盖石蜡油；（2）双孔皿培养法（内孔 1 mL，外孔 2 mL），可覆盖或不覆盖石蜡油。另外，虽然具有未成熟卵母细胞和卵泡发育的 2D 或 3D 体外成熟和发育体系报道 [Zisiade et al., 2025]，然而其效果和信息微不足道 [Bos-Mikich et al., 2025]。无论采用哪种培养系统，最好是在

使用前再向 IVM 培养液中添加促性腺激素、生长因子、类固醇及胰岛素等，因为这些活性物质在培养液中的半衰期比较短。

IVM 技术的延伸和发展

随着 IVM 技术的发展，非常具有吸引力的临床治疗方案是同时获取体内成熟卵和未成熟卵的治疗方案 [Chian et al., 2004]。如果从优势大卵泡获取成熟卵的同时，从相对较小的小卵泡获取未成熟卵母细胞再进行体外成熟，这样就可以有效提高卵子利用率和增加可移植胚胎来提高其治疗效果。非常有趣的是当优势卵泡达到 12-14 毫米直径时，注射一针人绒毛膜促性腺激素（HCG）36 小时后可以从此些卵泡获取成熟卵，同时从那些相对较小的卵泡中可以获取已经受到 HCG 峰值的影响在体内开始卵子成熟进程的 COCs [Lim et al., 2007]。临床试验数据表明，自然周期体内成熟卵和未成熟卵母细胞获取治疗方案作为首选方案时，可有 50% 以上的患者适用于这一方案，同时可以达到有效的治疗效果（妊娠率）[Lim et al., 2009]，认为这一自然周期体内成熟卵和未成熟卵母细胞获取治疗方案主要适用于具有正常月经周期的年轻女性患者 [Xu et al., 2010]。

最近国际温和辅助生殖技术学会（International Society for Mild Approaches in Assisted Reproduction, ISMAAR）采用英国牛津大学 Evidence-Based Medicine 方法实施了文献搜索研究证明，温和促排方案进行辅助生殖不孕不育治疗与常规的大剂量激素促排方案具有同样治疗效果，但是对患者来说是更安全和更便宜，建议和提倡在全世界范围内推广这种更安全更便宜谁都可以接受治疗的温和促排辅助生殖技术治疗不孕不育方案 [Nargund et al., 2022]。

随着 IVM 技术的发展，温和促排获取体内成熟卵和未成熟卵母细胞结合 IVM 技术的治疗方案，或许可以作为有效的辅助生殖技术来改良和替代现在常

规使用的大剂量激素促排方案 [Yang and Chian, 2017]。为此，现在很有必要重新考虑和审视 IVM 技术的应用和发展 [Marchante et al., 2024]。由此可见，温和促排获取体内成熟卵和未成熟卵母细胞结合 IVM 技术的治疗方案，将来也许可能最终成为辅助生殖技术治疗不孕不育切实可行的首选方案 [Yang and Chian 2017; Chian et al., 2023; Marchante et al., 2024]。

结论

临床 IVM 技术治疗不孕不育和生育力保存方案多样，但其成功率主要依赖于未成熟卵母细胞的来源，而且迄今为止尚无明确证据表明某一方案优于另外一种。IVM 培养条件及培养液中添加各种添加剂对未成熟卵母细胞成熟和质量可能具有影响，但其显著性有待确认。卵丘细胞共培养系统对 IVM 卵母细胞体外成熟具有益处，但是对于异源的干细胞 OSC 的效果和应用仍在研发中。IVM 技术的发展需要不断优化和更新，温和促排卵获取体内成熟卵和未成熟卵母细胞结合 IVM 技术的治疗策略，应该成为 IVF 治疗不孕不育的首选方案。

参考文献：

- Bhadarka HK, Patel NH, Patel NH, Patel M, Patel KB, Sodagar NR, Phatak AG, Patel JS. Impact of embryo co-culture with cumulus cells on pregnancy & implantation rate in patients undergoing *in vitro* fertilization using donor oocyte. Indian J Med Res. 2017 Sep;146(3):341-345. doi: 10.4103/ijmr.IJMR_1702_15. PMID: 29355140; PMCID: PMC5793468.
- Blancas-Alvarez LA, Alvarez-Guerrero AL, Alcantar-Rodriguez A, Medrano A. Effects of melatonin on *in vitro* oocyte maturation and embryo development in pigs. Vet World. 2025 May;18(5):1234-1241. doi: 10.14202/vetworld.2025.1234-1241. Epub 2025 May 21. PMID: 40584118; PMCID: PMC12205251.
- Bos-Mikich A, Andrade GM, Santos LALD, Frantz N. Chemically defined 3D matrix for in vitro maturation (IVM) of human oocytes. JBRA Assist Reprod. 2025 Jul 17. doi: 10.5935/1518-0557.20250020. Epub ahead of print. PMID: 40674552.
- Byskov AG, Andersen CY, Nordholm L, Thogersen H, Xia G, Wassmann O, et al. Chemical structure of sterols that activate oocyte meiosis. Nature. 1995; 374:559–62.
- Carles M, Lefranc E, Bosquet D, Capelle S, Scheffler F, Copin H, Cabry R, Benkhalifa M. In vitro maturation of oocytes from stimulated IVF-ICSI cycles using autologous cumulus cell co-culture: A preliminary study. Morphologie. 2023 Mar;107(356):28-37. doi: 10.1016/j.morpho.2022.02.002. Epub 2022 Jun 25. PMID: 35764505.
- Cha KY, Koo JJ, Ko JJ, Choi DH, Han SY, Yoon TK. Pregnancy after in vitro fertilization of human follicular oocytes collected from nonstimulated cycles, their culture in vitro and their transfer in a donor oocyte program. Fertil Steril. 1991 Jan;55(1):109-13. doi: 10.1016/s0015-0282(16)54068-0. PMID: 1986950.
- Cha KY, Chian RC. Maturation in vitro of immature human oocytes for clinical use. Hum Reprod Update. 1998 Mar-Apr;4(2):103-20. doi: 10.1093/humupd/4.2.103. PMID: 9683349.
- Chatzimeletiou K, Pappa K, Petrogiannis N, Anifandis G, Chatzovoulou K, Tsakos E, Kolibianakis E, Grimbizis G, Sioga A. In vitro maturation of oocytes (IVM): historical landmarks, current status and future perspectives. Syst Biol Reprod Med. 2025 Dec;71(1):102-115. doi: 10.1080/19396368.2025.2469574. Epub 2025 Mar 12. PMID: 40073300.
- Chen YR, Yin WW, Jin YR, Lv PP, Jin M, Feng C. Current status and hotspots of in vitro oocyte maturation: a bibliometric study of the past two decades. J Assist Reprod Genet. 2025 Feb;42(2):459-472. doi: 10.1007/s10815-024-03272-w. Epub 2024 Sep 25. PMID: 39317914; PMCID: PMC11871283.
- Chian RC, Tan SL. Maturation and developmental competence of cumulus-free immature human oocytes derived from stimulated and

- intracytoplasmic sperm injection cycles. *Reprod Biomed Online*. 2002 Sep-Oct;5(2):125-32. doi: 10.1016/s1472-6483(10)61614-8. PMID: 12419036.
- Chian RC, Chung JT, Downey BR, Tan SL. Maturation and developmental competence of immature oocytes retrieved from bovine ovaries at different phases of folliculogenesis. *Reprod Biomed Online*. 2002 Mar-Apr;4(2):127-32. doi: 10.1016/s1472-6483(10)61929-3. PMID: 12470574.
- Chian RC. In-vitro maturation of immature oocytes for infertile women with PCOS. *Reprod Biomed Online*. 2004 May;8(5):547-52. doi: 10.1016/s1472-6483(10)61101-7. PMID: 15151718.
- Chian RC, Lim JH, Tan SL. State of the art in in-vitro oocyte maturation. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2004 Jun;16(3):211-9. doi: 10.1097/00001703-200406000-00003. PMID: 15129050.
- Chian RC, Buckett WM, Tan SL. In-vitro maturation of human oocytes. *Reprod Biomed Online*. 2004 Feb;8(2):148-66. doi: 10.1016/s1472-6483(10)60511-1. PMID: 14989791.
- Chian RC, Buckett WM, Abdul Jalil AK, Son WY, Sylvestre C, Rao D, Tan SL. Natural-cycle in vitro fertilization combined with in vitro maturation of immature oocytes is a potential approach in infertility treatment. *Fertil Steril*. 2004 Dec;82(6):1675-8. doi: 10.1016/j.fertnstert.2004.04.060. PMID: 15589878.
- Chian RC, Uzelac PS, Nargund G. In vitro maturation of human immature oocytes for fertility preservation. *Fertil Steril*. 2013 Apr;99(5):1173-81. doi: 10.1016/j.fertnstert.2013.01.141. Epub 2013 Feb 20. PMID: 23433515.
- Chian RC, Cao YX. In vitro maturation of immature human oocytes for clinical application. *Methods Mol Biol*. 2014;1154:271-88. doi: 10.1007/978-1-4939-0659-8_12. PMID: 24782014.
- Chian RC, Li JH, Lim JH, Yoshida H. IVM of human immature oocytes for infertility treatment and fertility preservation. *Reprod Med Biol*. 2023 Jul 11;22(1):e12524. doi: 10.1002/rmb2.12524. PMID: 37441160; PMCID: PMC10335168.
- Chung JT, Tosca L, Huang TH, Xu L, Niwa K, Chian RC. Effect of polyvinylpyrrolidone on bovine oocyte maturation in vitro and subsequent fertilization and embryonic development. *Reprod Biomed Online*. 2007 Aug;15(2):198-207. doi: 10.1016/s1472-6483(10)60709-2. PMID: 17697497.
- Edwards RG. Maturation in vitro of mouse, sheep, cow, pig, rhesus monkey and human ovarian oocytes. *Nature* 1965;208(5008):349–351. doi: 10.1038/208349a0.
- Edwards RG, Donahue RP, Baramki TA, et al. Preliminary attempts to fertilize human oocytes matured in vitro. *AmJ Obstet Gynecol* 1966;96(2):192–200. doi: 10.1016/0002-9378(66)90315-2.
- Edwards RG, Bavister BD, Steptoe PC. Early stages of fertilization in vitro of

- human oocytes matured in vitro. *Nature* 1969;221(5181):632–635. doi: 10.1038/221632a0.
- Garcia Barros R, Lodde V, Franciosi F, Luciano AM. A refined culture system of oocytes from early antral follicles promotes oocyte maturation and embryo development in cattle. *Reproduction*. 2023;165(2):221–33.
- Gilchrist RB, Ho TM, De Vos M, Sanchez F, Romero S, Ledger WL, Anckaert E, Vuong LN, Smitz J. A fresh start for IVM: capacitating the oocyte for development using pre-IVM. *Hum Reprod Update*. 2024 Jan 3;30(1):3-25. doi: 10.1093/humupd/dmad023. PMID: 37639630.
- Lim JH, Yang SH, Chian RC. New alternative to infertility treatment for women without ovarian stimulation. *Reprod Biomed Online* 2007;14(5):547–549. doi:10.1016/s1472-6483(10)61042-5.
- Lim JH, Yang SH, Xu Y, et al. Selection of patients for natural cycle in vitro fertilization combined with in vitro maturation of immature oocytes. *Fertil Steril* 2009;91(4):1050–1055. doi:10.1016/j.fertnstert.2008.01.066.
- Luciano AM, Franciosi F, Modena SC, Lodde V. Gap junction-mediated communications regulate chromatin remodeling during bovine oocyte growth and differentiation through cAMP-dependent mechanism(s). *Biol Reprod*. 2011;85(6):1252–9.
- Lundin K, Ziebe S, Bergh C, Loft A, Selleskog U, Nilsson L, et al. Effect of rescuing donated immature human oocytes derived after FSH/hCG stimulation following in vitro culture with or without follicular fluid meiosis activating sterol (FF-MAS) – an embryo chromosomal and morphological analysis. *J Assist Reprod Genet*. 2007; 24:87–90.
- Marchante M, Barrachina F, Mestres E, Acacio M, Potts KS, Piechota S, Paulsen B, Noblett AD, Figueroa AB, Costa-Borges N, Kramme CC. Ovarian support cell in-vitro maturation results in healthy murine live births with no evidence of reprotoxicology in a multigenerational study. *Reprod Biomed Online*. 2025 Jun;50(6):104695. doi: 10.1016/j.rbmo.2024.104695. Epub 2024 Oct 26. PMID: 40279726.
- Marchante M, Barrachina F, Piechota S, Fernandez-González M, Giovannini A, Smith T, Kats S, Paulsen B, González E, Calvente V, Silvan A, Abittan B, Klein J, Klatsky P, Ordóñez D, Kramme CC. Donor side effects experienced under minimal controlled ovarian stimulation with in vitro maturation vs. conventional controlled ovarian stimulation for in vitro fertilization treatment. *F S Sci*. 2024 Aug;5(3):242-251. doi: 10.1016/j.xfss.2024.05.002. Epub 2024 Jun 3. PMID: 38838957.
- Marin BC, Grondahl C, Murray A, Blume T, Su YQ, Eppig JJ. Meiosis-activating sterol promotes the metaphase I to metaphase II transition and preimplantation developmental competence of mouse oocytes maturing in vitro. *Biol Reprod*. 2004; 70:1458–64.
- Morato ALC, Verruma CG, Furtado CLM, Dos Reis RM. In vitro maturation of oocytes: what is already known?†. *Biol Reprod*. 2025 Jan 14;112(1):18-30. doi: 10.1093/biolre/ioae147. Erratum in: *Biol Reprod*.

- 2025 Feb 14;112(2):415. doi: 10.1093/biolre/ioae177. PMID: 39423281.
- Nargund G, Datta AK, Campbell S, Patrizio P, Chian RC, Ombelet W, Von Wolff M, Lindenberg S, Frydman R, Fauser BC. The case for mild stimulation for IVF: recommendations from The International Society for Mild Approaches in Assisted Reproduction. *Reprod Biomed Online*. 2022 Dec;45(6):1133-1144. doi: 10.1016/j.rbmo.2022.07.019. Epub 2022 Aug 5. PMID: 36220713.
- Paulsen B, Piechota S, Barrachina F, Giovannini A, Kats S, Potts KS, Rockwell G, Marchante M, Estevez SL, Noblett AD, Figueroa AB, Aschenberger C, Kelk DA, Forti M, Marcinyshyn S, Wiemer K, Sanchez M, Belchin P, Lee JA, Buyuk E, Slifkin RE, Smela MP, Fortuna PRJ, Chatterjee P, McCulloh DH, Copperman AB, Ordonez-Perez D, Klein JU, Kramme CC. Rescue in vitro maturation using ovarian support cells of human oocytes from conventional stimulation cycles yields oocytes with improved nuclear maturation and transcriptomic resemblance to in vivo matured oocytes. *J Assist Reprod Genet*. 2024 Aug;41(8):2021-2036. doi: 10.1007/s10815-024-03143-4. Epub 2024 May 30. PMID: 38814543; PMCID: PMC11339229.
- Pincus G, Enzmann EV. The comparative behavior of mammalian eggs in vivo and in vitro: I. The activation of ovarian eggs. *J Exp Med* 1935;62(5):665–675. doi:10.1084
- Pincus G, Saunders B. The comparative behaviours of mammalian eggs in vitro and in vivo. VI. The maturation of human ovarian ova. *Anat Rec* 1939;75(4):537–545. doi:10.1007/s10815-024-03143-4.
- Practice Committees of the American Society for Reproductive Medicine, the Society of Reproductive Biologists and Technologists, and the Society for Assisted Reproductive Technology. Electronic address: jgoldstein@asrm.org. In vitro maturation: a committee opinion. *Fertil Steril* 2021;115(2):298–304. doi:10.1016/j.fertnstert.2020.11.018.
- Sanchez F, Lolicato F, Romero S, De Vos M, Van Ranst H, Verheyen G, et al. An improved IVM method for cumulus-oocyte complexes from small follicles in polycystic ovary syndrome patients enhances oocyte competence and embryo yield. *Hum Reprod*. 2017;32(10):2056–68.
- Smitz J, Sánchez F, Romero S, Van Ranst H, Anckaert E, Gilchrist RB, Ho TM, Vuong LN, Morimoto Y. Human oocyte capacitation culture: Essential step toward hormone-free assisted reproductive technology. *Reprod Med Biol*. 2025 Mar 12;24(1):e12640. doi: 10.1002/rmb2.12640. PMID: 40078334; PMCID: PMC11897612.
- Steptoe PC, Edwards RG. Birth after the reimplantation of a human embryo. *Lancet* 1978;2(8085):366. doi: 10.1016/s0140-6736(78)92957-4.
- Veeck LL, Wortham JW Jr, Witmyer J, et al. Maturation and fertilization of morphologically immature human oocytes in a program of in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1983;39(5):594–602. doi:10.1016/s0015-0282(16)47052-4.

- Vuong LN, Ho VNA, Le AH, Nguyen NT, Pham TD, Nguyen MHN, Le HL, Le TK, Ha AN, Le XTH, Pham HH, Tran CT, Huynh BG, Smitz JEJ, Gilchrist RB, Ho TM. Hormone-free vs. follicle-stimulating hormone-primed infertility treatment of women with polycystic ovary syndrome using biphasic in vitro maturation: a randomized controlled trial. *Fertil Steril*. 2025 Feb;123(2):253-261. doi: 10.1016/j.fertnstert.2024.09.010. Epub 2024 Sep 12. PMID: 39260537.
- Xu Y, Li J, Zhou G, et al. Clinical outcomes for various causes of infertility with natural-cycle in vitro fertilization combined with in vitro maturation of immature oocytes. *Fertil Steril* 2010;94(2):777–780. doi:10.1016/j.fertnstert.2009.09.060.
- Yang ZY, Chian RC. Development of in vitro maturation techniques for clinical applications. *Fertil Steril*. 2017 Oct;108(4):577-584. doi: 10.1016/j.fertnstert.2017.08.020. PMID: 28965552.
- Zisiadi A, Billooye K, Anckaert E. A matrix-free 3D in vitro follicle culture system in mice exhibits enhanced oocyte meiotic and developmental competence compared to hydrogel encapsulation. *Mol Hum Reprod*. 2025 Jul 3;31(3):gaaf029. doi: 10.1093/molehr/gaaf029. PMID: 40570087; PMCID: PMC12222618.