

男子不育症诊断和治疗进展

上海第二医科大学附属仁济医院泌尿外科 (上海 200001) 江 鱼

大约每 10 对夫妇中就会有一对因为不能生育而就诊。根据世界卫生组织一项 1982~1985 年的多中心研究报告显示: 20% 的不育病例其问题症结在男方, 原因在女方的占 38%, 夫妇双方同时存有问题的占 27%, 另外剩下的 15% 是不明原因的不育症(即所谓的原发性或特发性不育)^[1]。随着各种诊断技术的进步, 原发性不育所占的比例愈来愈小。同时, 人们还认识到: 现有的技术水平还不能象诊断妊娠那样, 通过一个简单的试验就可以诊断该男子是否患有不育症。一般而言, 不育的持续时间是评估预后的有意义指标之一。患有原发性不育史超过三年的不育夫妇, 想不通过辅助技术而自然怀孕的机会大为减少^[2]。下面对有关男子不育的诊断和治疗的主要进展作一综述。

一、男子不育的主要原因

一个男子要具有生育能力, 必须具备以下几个条件: 睾丸产生正常的精子; 附睾使精子得到成熟; 有正常的精子运输和正常的附属性腺功能; 另外, 还要安排适宜的性生活时间。引起男子不育的原因可以按病变所在部位不同, 分为睾丸前、睾丸和睾丸后三个部位(见表 1)^[3]。

据最近的文献报道, 约 40% 以上的不育男子有精子生成异常, 但却常找不到其特殊的病原。然而, 最近在这方面的研究工作还是取得了一些进展, 尤其是下述的两个学说已被公认为重要的潜在病因。

1. Y 染色体的微缺失 有时候一个无精症的病人, 在某一个染色体中, 可能具有可见的遗传物质缺损, 据现有对 Y 染色体遗传序列的研究证实, Y 染色体上的微缺失是引起男子不育的主要原因之一^[4]。这些缺失出现在染色体长臂的 Yq6(Yq 11.23)带上。10~20% 原发性无精症或严重少精症的男子可能存在 Y 染色体长臂远端的隐匿性缺失。Reijo 等对 89 例无精症 Y 染色体的详细分析研究发现一种称为“无精症缺失”(DAZ delete Y in azoospermia)的基因, 并认为是缺损的 Y 染色体上的

主要缺失基因, 而 DAZ 这个基因在正常睾丸功能的人中是必须存在的。其他基因, 如 YRRM (Y Chromosome RNA recognition motif) 也与此有关。但另外的一项大型研究, 除了发现有 DAZ 基因缺失外, 还发现有些病人为 Y 染色体长臂的近端缺失, 而不是表现为 DAZ 基因缺失。

通过睾丸活检出现 Yq6 缺失变化的, 还包括唯支持细胞综合征、生殖细胞阻滞症和严重的精子生成低下症病人。1996 年, Reijo 等证实在 35 个严重少精症(40 000~1 000 000/mL)病人中有两个也表现为包括 DAZ 基因在内的 Yq6 缺失。这些缺失看来会增加基因重组的机会。具有这种缺损的病人其精子出生的男性后代, 无论是自然生育的还是辅助受孕的, 都会携带这种同样的缺损。DAZ 可能和编码 RNA 连接蛋白有关, 但它的精子生成中的作用还不清楚。

2. 先天性输精管缺如 有关男子不育的遗传学方面另一个主要进展在于: 人们发现约 1~2% 的不育男子患有双侧输精管缺如(CBAVD, congenital bilateral absence of vas deferens)。因为一个家族中常有多个男子出现这种情况, 人们便怀疑其有遗传基础存在。目前已知 95% 有肺囊泡纤维症的男子会出现输精管缺如, 并发现在肺囊泡纤维症中有很多肺囊泡纤维症跨膜介导的调节基因(CFTR, cystic fibrosis transmembrane conductance regulation gene)的变化, 这种基因有编码由 cAMP 调控的氯离子通道^[6]。一些有输精管缺如的不育症病人将在一次或两次复制 CFTR 时出现一种常见的突变^[13~14], 然而这些人中绝大多数并没有呼吸道成分的胞囊纤维化。1995 年 Chillon 等证实在一个 CFTR 的非编码区(5T 等位基因)中的变异体可能会导致正常 CFTR 蛋白的还原化。他们还同时证明: 当 CFTR 的突变和 5T 等位基因同时出现时, 就可代表输精管缺如的最常见原因。

先天性输精管缺如遗传学基础的确认, 向人们

提出了这样的问题:即如果一对夫妇中的男方患有输精管缺如,那么在对他们实行人工辅助生殖技术前必须做一下筛选工作(详见下述)。

3. 精子计数方面的变化

近 20 年来人类的精子数量可能平均每年以 2% 的速度在下降,人们对此已经有过很多的讨论^[16~18]。然而要对资料进行回顾性的比较往往是很困难的。有一个理论认为人类精子数量减少的原因在于:男婴在妊娠时或新生儿期处于雌激素的环境中,如那些为防止自然流产而在妊娠头三个月服用大剂量己烯雌酚的妇女,孩子会出现较多的生殖管腔的异常。然而,即使现在已经肯定有些人的精子数目确实减少了,还是不能反映出为什么男子不育症的数量有所增加,因为人类还有那么多产生精子的能力得到了保存。一项多中心的研究证明:正常男性精子数目一定要低于 $10^6/\text{mL}$ 才可以达到有效避孕的目的。另外,我们应该记住还有其它可能的牵涉因素会影响生育。

二、临床评估

现在除了愈来愈多应用超声来测定睾丸的体积以外,临床上对男子不育症的主要检查步骤(详见表 2)并没有多大的改变。但不管怎么样,这里需要重点强调的是对男子不育症一定要详细询问病史(要记住引起不育的病因,见表 1),还要进行包括能准确测量睾丸体积在内的临床各项检查。自从卵细胞内精子注射(ICSI, intracytoplasmic sperm injection)受孕成功以来(详见下述),临床上出现了一种忽视上述检查的倾向。可是,如果对于原因可逆的不育症如不进行临床检查,那么可能某些以不育症为表现而患有睾丸癌的临床病人就会被遗漏,失去良好的治疗机会。

任何不育夫妇,男方都应该进行精液分析。如果精液分析的结果有异常,那么在随后的 4~6 周应该进一步进行检查。此时的精液分析应该包括抗精子抗体的检查。对于精子计数低下的患者还应该测定卵泡刺激素和雄激素。如果临床评估或基本检查提示有必要的话,还应该进一步进行其他的一切必要的检查。一般临床应用的常规检测,步骤见于表 2。另外有一些特殊的检查或近来运用较多的诊断试验将在下面进行讨论。

1. 遗传学试验 一旦临床检查发现输精管缺如,如同时伴有精液 pH 值低下(6.8~7.0)或伴有低精浆果糖,就应该考虑进行 CFTR 突变的检查。

如果准备用输精管缺如病人的精子进行 ICSI 的话,也应该考虑做上述检查。一旦筛选到存在大量潜在突变的可能,那么就可以进行比其更有效的检查步骤,就是检查女方 CFTR 基因中三个最常见突变中的一个。如果女方的结果为阴性,那么通过 ICSI 使其孩子患胞囊纤维化或输精管缺如的危险性低于 1/1500。

现在还没有可供筛选 Y 染色体缺失的方法。但是聚合酶链反应(PCR)的方法已成为有效的,并且将被常规用来对原发性无精症或严重少精症进行筛选。目前,其测定的结果尚不宜简单地给予解释,因为人们寻找的是缺失的片段,而且有很多原因可以引起 PCR 产物扩增的失败。

2. 精子功能试验的新方法 在常规的精液分析中,抗精子抗体常常是省略不做的。但是男子不育症中有高达 6% 的病人存在精子的自我免疫,因此我们应该在常规分析中包括抗精子抗体的测定。常用的是免疫珠试验:把表面包被有 IgA 或 IgG 抗体的微乳滴和样本精子混和培养,抗体就会和精子表面的 IgA 或 IgG 结合。这个试验成功的关键是精子应该是能运动的。免疫珠如果和超过 50% 的活动精子结合就可以认为是结果阳性,可在结果阳性的病例,其 75% 的精子常显示含有 IgA 或 IgG。在抗球蛋白混和反应试验中微乳滴和活动精子结合的百分比应该小于 10%。这些抗体试验的结果解释应该十分小心,因为在有些病人中含有抗体但并不影响其生育。另外,要对精子功能受损的精子进行测定,可采用精子对排卵中期宫颈粘液的穿透力试验来进行评价。

对于体外授精(in vitro fertilisation, IVF) 技术的研究促使人们对精子是如何与卵子结合有了进一步的认识。通过对卵细胞的研究和对精子穿卵步骤(包括顶体反应、获能、和卵细胞膜融合以及随后在卵细胞内的细胞核系列解聚过程)的认识,人们已经开始对精子的认识达到了分子水平。研究人员正在设计一些可以评价这些步骤的新试验方法,并且有些方法已经愈来愈有效。其中之一就是:人类卵细胞透明带反应试验。这个试验是用无盐或含盐的透明带和已经用不同荧光素标记的精子结合的透明带和透明带结合的程度可以和正常人精子的结合程度进行比较^[7]。结合的精子可以不必再进行,顶体状态的测定和精子穿透透明带能力的试验。IVF 中最成功,最有力的预测指标是精子/透明带的结合率和

精子穿透透明带的比例。目前, 这些试验要被更广泛运用的主要限制是没有那么多的供试验用的透明带物质。但是人们又发现了一种叫 ZP3 的物质, 是一个存在于精子表面的蛋白质, 也称透明带受体激酶 ZRK(zanareceptor kimase), 即 ZP3 受体, 它是精子/透明带结合的最先决定物质, 这就为人们运用再结合物—ZP3 而不是用透明带本身来进行精子/透明带反应试验增加了可能。

三、治疗

临床上治疗男子不育症的主要困难是可供选择的治疗方法很有限, 尤其是其中的 40% 病人并不能找到其不育的原因。在进行临床诊断时, 要证实表 1 中的不育症原因, 一般应该把精液分析、测定卵泡刺激素和雄激素等一些基础检查联合应用, 这样可以提示进一步的、合理地应用其他更昂贵、更复杂的检查。各种合理的检查手段足以提示哪些引起不育的原因可以治好, 并还可以鉴别出那些通过治疗并不能产生精子的不育男子, 这些病人想要生育将只能通过辅助受孕来实现。到目前为止, 除了可以用激素替代治疗促性腺激素低下症(较少见)、大剂量肾上腺皮质激素治疗精子自身免疫以外, 还没有被临床证明很好的、有效的治疗少精症和无精症的药物。如果精子抗体试验结果是阳性, 临床医生不应该马上就考虑运用糖皮质激素治疗, 除非有较长的不育症病史(超过 2 年)并有精子穿透宫颈粘液功能的受损存在。这是因为运用大剂量糖皮质激素而引起股骨头无菌性坏死的可能至少是 1/300。自从有报道对精子自身免疫者通过 ICSI 成功受孕以来, 一些医生更认为应用糖皮质激素有无法保证安全之虞。

ICSI 被认为是男子不育症治疗上的一次革命, 受到各界的普遍欢迎。人们早已知道, 体外授精(IVF)可以为男子不育症的治疗提供有价值的治疗, 但即使运用微量精液人工授精技术或进行透明带内精子注射技术, 有时候可供用来受孕的精子数还是太少。世界上第一例用不育症患者的精子进行 ICSI 的报道是在 1993 年。复习最近 2 年多有关 ICSI 进展的文献: Tournaye 等报道的受精率为 68%, 在 90% 的排卵周期中移植了胚胎, 临床怀孕率为 28.4%。还有一个对 486 例 ICSI 的资料统计显示, 其中有 23% 以流产告终, 30% 毫无结果, 39% 生下了婴儿。从每个排卵周期的开始计算, Tournaye 组报告的较为稳定的怀孕率仅 28.8%。所以

一旦实现怀孕成功的机会失去了, 医生就会引用上述比率, 而且, 还会说, 就是正常夫妇在女方的一个排卵周期中通过自然交配而怀孕的比率也只有 30%, 可病人听到这个引证的结果时, 都会十分失望。

现在, 人们已开始关注通过 ICSI 出生的婴儿其性染色体可能出现异常的机率。可以查证的主要先天性畸形率是 3.9% (通过自然怀孕的期望比率是 3.7%)。98.6% 胎儿在出生前染色体核型检查(检测 371 例孕妇)是正常的, 而剩下的那些核型不正常者(1.4%)中都可以测到性染色体存在异常。

把精子直接注入卵细胞的技术已扩展应用到了有 CBAVD 或其他有梗阻性疾病的患者身上, 甚至在今年, 美国达拉斯召开的 94 届 AUA 上报告将顽固性不射精病人也列入 ICSI 指征中。对于这些病人, 可以通过从他们的附睾抽取来获得精子, 并可以冷冻保存留作 ICSI 用, 也可以在睾丸活检时分离或针吸精子来进行 ICSI。对那些患有无精症和高 FSH 水平的病人、原先被认为是不可逆性的输精管损伤的病人, 过去的做法是做输精管储精囊来获取精子, 而现在则有可能用睾丸活检的精子进行 ICSI 治疗。

表 1 男子不育症的病原因素

睾丸前因素	睾丸性因素	睾丸后因素
内分泌性	遗传性	性交功能异常
促性腺激素分泌不足	克氏综合症	勃起功能障碍
性腺机能低下症	Y 染色体缺失	性心理
	纤毛不动综合症	内分泌/神经/血管性
	先天性异常	射精异常
	感染性(睾丸炎)	性心理
	抗精子生成物质	泌尿、生殖器手术后
	发热	神经性
	化疗	相关药物
	药物	梗阻性
	放疗	附睾因素
	血管	先天性
	扭转	感染
	精索静脉曲张	管腔因素
免疫性		遗传性: 肺泡囊纤维化
原发性不育		获得性: 输精管结扎
		感染性
		附睾的病变
		附睾性精子活力低下症
		附属性腺感染
		免疫性
		原发性

ICSI 确实是对男子不育症治疗的一次革命。对于那些高达 15% 的在 Y 染色体上有缺损的不育男子确实有可能从 ICSI 技术上获益, 然而这个技术却同时增加了这些患者的后代患有一样的染色体缺

损的可能性。另外,对那些证实存在 CFIR 基因突变可能的输精管缺如的病人,也增加了对其进行 ICSI 前要做遗传筛选的必要性。

最后,需要再一次强调的是对不育男子做一些基本检查并不应被已有的先进技术所取代,临床医生需要记住的是 ICSI 技术涉及到要对女方进行一些检查和治疗,而且还牵涉到现在为止还不是绝对安全的一种治疗方法。

表 2 男子不育症的主要临床检查步骤

详细的病史(鉴别原因已在表 1 中列出)
临床检查
外生殖器检查
尿道下裂,阴茎硬结
睾丸的位置、大小及软硬度
附睾检查
输精管道是否存在
有无精索静脉曲张(平卧及直立位)
男性体征,有无男子乳房女性化,其他情况
精液分析(至少两次)
抗精子抗体试验
对有关抗精子抗体的病人进行精子-宫颈粘液接触试验
对精子计数低下的病人进行 FSH 测定
根据临床评估结果选择其他试验(如:睾丸活检,染色体核型分析)

关键词 男性不育症 诊断 治疗

中图法分类号 R 698.2

参 考 文 献

- 1 World Health Organization. Towards more objectivity in diagnosis and management of male infertility. *INT J Androl* 1987; 7(suppl): 1
- 2 Baker HWG. Male infertility. In: de Groot LJ, ed. *Endocrinology*. Philadelphia: Saunders 1994; 2404-33
- 3 Rock JA, Rosenwaks ZEA. Reproductive endocrinology, surgery and technology. Philadelphia: Lippincott - Raven 1996; 2030-61
- 4 Foote S, et al. The human an Y chromosome: overlapping DNA clones spanning the euchromatic region. *Science* 1992; 258: 60
- 5 Inglis JD, et al. A y chromosome gene family with RNA-binding protein homology: candidate for the azoospermia factor AZF controlling human spermatogenesis. *Cell* 1993; 73: 1287
- 6 Riordan JR, et al. Identification of the cystic fibrosis gene: cloning and characterization of complementary DNA. *Science* 1989; 245: 1066-73
- 7 Liu DY, Baker HWG. Tests of human sperm function and fertilization in vitro. *Fertil Steril* 1992; 58: 465

(1999-08-17 收稿)

综 述

睾丸内抑制素与激活素的表达、分泌及其生物学作用

汕头大学医学院生理教研室 (汕头 515031) 秦达念 综述

抑制素(inhibin)和激活素(activin)及其受体均属于转移生长因子- β (TGF- β)蛋白质及其受体超家族的成员,抑制素由 α 和 β 两个亚单位构成,包括 $\alpha\beta\alpha$ 和 $\alpha\beta\beta$ 两种类型,激活素是其 β 亚单位的同型二聚体(即 $\beta\alpha\beta\alpha$, $\beta\beta\beta\beta$)或异型二聚体($\beta\alpha\beta\beta$)。近年来又发现有两种新的抑制素 β 亚单位,即 βC 和 βD 亚单位, βC 亚单位有51%的氨基酸与 $\beta\alpha$ 亚单位相同,有53%的氨基酸与 $\beta\beta$ 亚单位相同。 βD 亚单位有63%的氨基酸与 βC 亚单位相同^[1~2]。

已有愈来愈多的证据显示,睾丸中的抑制素和激活素不仅可以通过反馈方式调节垂体功能,而且

可以通过旁分泌方式直接调节睾丸自身的功能。为了进一步揭示抑制素和激活素在睾丸内的局部调节作用,本文就近年来关于抑制素和激活素在睾丸内表达、分泌及其生物学作用研究取得的新进展作一综述。

一、抑制素和激活素在未成年动物睾丸中的表达和分泌

在许多动物发育早期,其睾丸中即可检测到抑制素亚单位的mRNA,例如,在胎鼠睾丸曲细精管上皮可观察到免疫反应性 α 和 βB 亚单位,在15天的胚鼠睾丸内就有 $\beta\alpha$ 和 βBm mRNA存在。在小鼠胚