

# 不育症患者 Y 染色体微缺失检测的临床分析

周红丽<sup>1</sup> 杨建林<sup>2</sup> 通讯作者

1 文山州麻栗坡县人民医院 云南文山 653000 2 昆明医科大学第一附属医院 云南昆明 650000

**〔摘要〕**目的 检查不育症患者、无精子症、少精子症患者 Y 染色体上无精子症因子 (AZF) 缺失, 探讨临床应用价值。方法 选择 2019 年 7 月至 2020 年 7 月间昆明医科大学第一附属医院检查的男性不育症、无精子症、少精子症患者 254 例, 依据临床诊断分为男性不育症组 115 例, 无精子症 102 例, 少精子症 37 例。均采用多重荧光 PCR 检测 Y 染色体微缺失, 统计其发生情况, 分析其检验结果与临床诊断的一致性。**结果** 本组 254 例患者中, 共检出 Y 染色体微缺失 19 例, 缺失率为 7.5%。115 例临床诊断为男性不育症患者中, 未发现 AZF 区缺失。在 102 例无精子症患者中, 12 例 AZF 区缺失, 缺失率 11.8%, 其中 AZFa 缺失 1 例, AZFb+c+d 缺失 6 例, AZFc+d 缺失 4 例, AZFd 缺失 1 例。在 37 例少精子症患者中, 7 例 AZF 区缺失, 缺失率 18.9%, 其中检出 AZFc+d 缺失 6 例, AZFd 缺失 1 例。**结论** Y 染色体 AZF 区域与生精功能相关, 无精子症、少精子症患者进行 Y 染色体微缺失检测对临床明确诊断是有必要的。

**〔关键词〕** 男性不育症; 无精子症; 少精子症; Y 染色体微缺失

**〔中图分类号〕** R698.2 **〔文献标识码〕** A **〔文章编号〕** 2095-7165 (2020) 10-111-02

据世界卫生组织 (WHO) 的统计, 全世界约有 15% 的夫妇遭受不育的困扰<sup>[1]</sup>。由男性不育导致的不孕从 10 年前 35% 增加到 50%, 遗传因素 (染色体异常和基因突变) 所引起的不育可达 50%<sup>[2]</sup>, 在精子发生障碍引起不育的男性患者中, Y 染色体微缺失的发生率仅次于 Klinefelter 综合征 (克氏综合征), 居于第二位的遗传因素。根据欧洲男科学会数据, 约 4000 名男性中就有一例染色体微缺失患者, 全球不育男性中比例可以达到 2-10%<sup>[3]</sup>。Y 染色体长臂上 (Yq11) 存在与精子生长发育相关的基因位点, 命名无精子症因子 (Azoospermia factor, AZF), 主要包括 AZFa、AZFb、AZFc 三个区域, AZFd 的存在仍然有争议。AZF 区存在多个与精子生成的多个基因, 任何一个区域的缺失都会导致男性精子生成障碍, 影响男性正常生育。故本文对在昆明医科大学第一附属医院 2019 年 7 月至 2020 年 7 月间男性不育患者多重荧光 PCR 检测, 分析其在 Y 染色体微缺失缺失情况。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选择 2019 年 7 月至 2020 年 7 月在昆明医科大学第一附属医院检查的男性不育患者 254 例, 平均年龄 33.02±2.17 岁, 最小年龄 24 岁, 最大年龄 42 岁。无精子症、少精子症患者诊疗符合 2013 年《中国男科疾病诊断治疗指南-男性不育诊疗指南》的诊断要求<sup>[4]</sup>。临床诊断分为不育症组 115 例, 无精子症组 102 例, 少精子症组 37 例。

### 1.2 检测方法

核酸提取仪与核酸提取试剂盒购自西安天隆, 扩增试剂盒购

自北京爱普益, S1ap-96P 全自动医用 PCR 分析系统购自上海宏石。用含有 EDTA-K2 抗凝剂的试管采集外周血 3-5ml, 使用天隆磁珠法提取全基因组 DNA, 多重荧光 PCR 三通道、四体系扩增检测 Y 染色体微缺失, FAM 通道检测位点: SY86、SY127、SY254、SY145, VIC 通道检测位点: SY84、SY152、SY134、SY255, CY5 通道检测 Y 染色体短臂 (P) 基因位点 SRY 与内参基因。检测 Y 染色体 AZF 区域包括 AZFa (检测位点: sY84、sY86)、AZFb (检测位点: sY127、sY134)、AZFc (检测位点: sY254、sY255)、AZFd (检测位点: sY145、sY152) 8 个位点。

### 1.3 结果判读

扩增曲线有典型的 S 型曲线, CT 值小于 40, 则说明检测区域不存在基因的缺失, 扩增曲线没有典型的 S 型曲线, CT 大于 40, 则说明检测区域存在基因缺失。

## 2 结果

本组 254 例患者中, 经检测发现 Y 染色体微缺失例数 19 例, 缺失率是 7.5%, 包括 AZFa 区缺失 1 例, AZFc+d 区缺失 10 例, AZFb+c+d 区缺失 6 例, AZFd 区缺失 2 例。在 102 例无精子症患者中, 12 例 AZF 区缺失, 发生率 11.8%, 共检出 AZFa 缺失 1 例, 缺失率 0.98%, AZFb+c+d 缺失 6 例, 缺失率 5.88%, AZFc+d 缺失 4 例, 缺失率 3.92%, AZFd 缺失 1 例, 缺失率 0.98%。在 37 例少精子症患者中, 有 7 例 AZF 缺失, 发生率 18.9%, 共检出 AZFc+d 缺失 6 例, 缺失率 16.21%, AZFd 缺失 1 例, 缺失率 2.7%。115 例临床诊断为不育症患者中, 并未发现 AZF 区缺失。

表 1: 检测位点 (STS) 缺失率统计 (%)

检测位点	AZFa		AZFb		AZFc		AZFd	
	sY84	sY86	sY127	sY134	sY254	sY255	sY145	sY152
缺失率	0.5	0.5	2.7	2.7	7.1	7.1	8.0	8.0
未缺失率	99.5	99.5	97.3	97.3	92.9	92.9	92	92

表 2: AZF 缺失类型

ZFX/SRY	AZFa	AZFb	AZFc	AZFd	例数
+	-	+	+	+	1
+	+	-	-	-	6
+	+	+	-	-	10
+	+	+	+	-	2

## 3 讨论

Y 染色体是男性独有的染色体, 决定男女性别的关键染色体。X、Y 为同源染色体, 存在同源与非同源区段, 同源区段称为拟常

染色体区 (PAR) (约 5%), 非同源区段成为男性特异区 (MSY) (约 95%)。1976 年, Tieplolo 和 Zuffardi 发现男性不育患者 Y 染色体长臂 1 区 1 带 (Yq11) 存在断裂现象, 提出 Y 染色体长臂存在与精子发生相关基因, 并命名为无精子因子 (Azoospermia factor, AZF)<sup>[5]</sup>。现已明确至少有 3 个精子生成部位 AZFa、AZFb、AZFc, 分别位于 Yq11 的近端、中间和远端<sup>[6]</sup>。1999 年 Kent 等的研究显示, 还存在 AZFd, 这个区段是介于 AZFb 和 AZFc 之间<sup>[7]</sup>。AZF 存在于染色体长臂远端, 其微缺失可以导致精子发生阻滞, 微缺失发生在同一亚区时, 精子阻滞发生在同一时相,

反之在阻滞在不同时相。

研究表明,患者中不同类型的 AZF 微缺失反映了不同的临床表现, AZFa 缺失精子阻滞在青春前期,表现为唯支持细胞综合征 (sertoli cell only syndrome, SCOS) 和小睾丸,为绝对的无精子症; AZFb 区缺失的患者,精子阻滞在减数分裂前期或减速分裂中,主要停留在精母细胞阶段,睾丸中可见精原细胞和初级精母细胞,但没有精子生成<sup>[8]</sup>; AZFc 区缺失情况比较复杂,对于同一患者,一些生精小管内仅见支持细胞,而另一些生精小管内可见精原细胞,精母细胞,精子细胞甚至精子,精液检查为严重少精,有时可见少量活动精子,但畸形精子数量明显增多<sup>[9]</sup>; AZFd 区缺失者精子数量与年龄之间关系密切,一般年龄越大,其精子数量越少。AZFd 区缺失的临床意义尚存争议。有报道 SY145 及 SY152 可能与精子形态异常相关,其缺失可能导致少精子症或者精子形态异常<sup>[10]</sup>,另外还发现了其他与精子发生有关基因,如 Y 染色体长臂的 SMCY 基因、短臂上的 SRY、ZFY 和 TSPY 基因<sup>[11]</sup>。

对于无精子症和严重少精子症患者进行 Y 染色体微缺失的检测是很有必要的,如果患者是 AZFc 区或部分 AZFb 区缺失,则有 50% 的几率可以检出精子,但如果是整个 AZFb 缺失,则检测出成熟精子的可能性几乎为零<sup>[12]</sup>。如果患者缺失的部位是在 AZFa 区,则没有精子形成的可能<sup>[13]</sup>,因此对于没有可能形成精子的患者就不需要进行辅助生殖,可使患者身体和精神伤害降到最低,减少经济负担。AZFa 区域缺失,可说明患者无法应用睾丸精子卵胞浆内单精子注射技术加以辅助生殖,而对于 AZFc 区域缺失患者,临床可采用睾丸精子穿刺方法进行精子获取,然后采用睾丸精子卵胞浆内单精子注射技术进行后代繁殖,但这种缺失会遗传给男性后代<sup>[13]</sup>,故该类患者可行(孕前诊断 PGD)辅助生殖,选择生育女性后代。综上所述, Y 染色体 AZF 基因微缺失对于男性不育有重大意义,通过检测可以帮助临床尽快明确部分男性不育的根本原因,从而指导临床制定出更加合理的辅助生殖诊疗方案,更好的造福于患者。

[参考文献]

[1] Naasse Y, haroute H, et al. Chromosomal abnormalities and Y chromosome microdeletions in infertile men from Morocco [J]. BMC

Urol, 2015, 15:95.

[2] 陈文杨, 沈丽霞, 张葵荣. 男性不育的遗传因素研究进展 [J]. 神经药理学报, 2016, 6(5):53-64.

[3] Krausz C, Hoefsloot L, Simoni M, et al. EAA/EMQN best practice guidelines for molecular diagnosis of Y-chromosomal microdeletions: state-of-the-art 2013 [J]. Andrology, 2014, 2(1):5-19.

[4] 王晓峰, 朱积川, 邓春华. 中国男科疾病诊断治疗指南(2013 版) [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2013.

[5] Tiepolo L, Zuffardi O. Localization of factors controlling spermatogenesis in the nonfluorescent portion of the human Y chromosome long arm [J]. Hum Genet, 1976, 34(2):119-124.

[6] Vogt PH, Edelmann A, Kirsch S, et al. Human Y chromosome azoospermia factors(AZF) mapped to different subregions in Yq 11 [J]. Hum Mol Genet, 1996, 5(7):933-943.

[7] Kent M, Muallem A, Shultz J, et al. Defining regions of the Y chromosome responsible for male infertility and identification of a fourth AZF region (AZFd) by Y chromosome microdeletion detection [J]. Mol Reprod Dev, 1999(53):27-41.

[8] Hopps CV, et al. Detection of sperm in men with Y chromosome microdeletions of the AZFa, AZFb and AZFc regions [J]. Human Reproduction, 2003, 18(8):1660-1665.

[9] Reijo R, et al. Severe oligozoospermia resulting from deletions of azoospermia factor gene on Y chromosome [J]. Lancet, 1996, 347(9011):1290-1293.

[10] Müşlümanoğlu MH, Turgut M, Cilingir O, et al. Role of the AZFd locus in spermatogenesis [J]. Fertil Steril, 2005, 84(2):519-522.

[11] 石之麟, 王沙燕, 李启运. Y 染色体基因微缺失与男性不育症 [J]. 中国生育健康杂志, 2004, 15(6):342-345.

[12] Krausz C, Quintana-Murci L, McElreavey K. Prognostic value of Y deletion analysis: What is the clinical prognostic value of Y chromosome microdeletion analysis? [J]. Human Reproduction, 2000, 15(7):1431-1434.

[13] 刘锋, 邓志华, 邹彦. Y 染色体微缺失与男性不育的关系 [J]. 第三军医大学学报, 2004, 26(20):1885-1886.

表 3: 不同组别 Y 染色体缺失结果统计

组别	缺失类型	缺失例数	缺失位点	缺失率 (%)
无精子症组 (n=102)	AZFa	1	sY84、sY86	11.8 (12/102)
	AZFb+c+d	6	sY127、sY134、sY254、sY255、sY145、sY152	
	AZFc+d	4	sY254、sY255、sY145、sY152	
	AZFd	1	sY145、sY152	
少精子症组 (n=37)	AZFc+d	6	sY254、sY255、sY145、sY152	18.9 (7/37)
	AZFd	1	sY145、sY152	
不育症组	--	115	--	0
合计: 254		19		7.5 (19/254)

(上接第 110 页)

法亦存在一定缺陷, 如对检验人员素质要求高、检验试验结果可能存在假阴性、假阳性现象, 且检验对设备投入要求较高, 检测花费成本高, 不适用于普遍使用。

综上所述, 腹泻粪便应用 RT-PCR 法检验准确率高。

[参考文献]

[1] 徐石秀. 不同方法检验腹泻患者粪便中小肠结肠炎耶尔森菌的价值 [J]. 医疗装备, 2018, 31(9):70-71.

[2] 周东梅. RT-PCR 法应用于 50 例小肠结肠炎耶尔森菌(腹泻粪便中)检验的临床价值 [J]. 延边大学医学学报, 2018, 41(2):142-143.

[3] 潘凌子, 伦永志. 粪便标本小肠结肠炎耶尔森菌菌检方法的比较 [J]. 中国微生态学杂志, 2018, 30(3):340-343.

[4] 满玉霞, 臧慧平, 庞瑞昌. 小肠结肠炎腹泻不同检验方法对粪便中耶尔森菌检查结果比较 [J]. 临床检验杂志(电子版), 2019, 8(3):14-16.

[5] 李晓蕾, 张连涛, 梁贤栋, 等. RT-PCR 法检验腹泻患者小肠结肠炎耶尔森菌的应用效果 [J]. 深圳中西医结合杂志, 2019, 29(17):55-56.

[6] 姜灿祥, 李文, 刘墨言. 新生儿坏死性小肠结肠炎的影响因素分析 [J]. 全科护理, 2020, 18(16):2033-2036.

[7] 张艳丽. 两种方法检验腹泻粪便中小肠结肠炎耶尔森菌的结果观察 [J]. 医学食疗与健康, 2020, 18(2):183-184.

[8] 王美娥, 胡朝军, 李萍, 等. 血清 ANCA 和 GAB 不同类型抗体检测在溃疡性结肠炎中的临床应用 [J]. 临床检验杂志, 2020, 38(1):73-75.