

[3] 张晓梅. 肿瘤标志物联合检测诊断胃癌的临床价值研究[J]. 当代医学, 2017, 23(1): 53-54.

[4] 郭启靖, 骆玉霜, 赵君慧, 等. 幽门螺旋杆菌感染与胃癌相关性的研究[J]. 大家健康, 2017, 11(1): 297-298.

[5] 李茂林, 臧嘉, 蒋瑶丽, 等. 幽门螺旋杆菌及 CA724、CEA 联检对胃癌早期筛查的价值[J]. 实用临床医药杂志, 2014, 21(18): 101-103.

[6] 王燕. 健康体检人群中幽门螺杆菌感染状况及其管理分析[J]. 医药卫生管理 2016, 18(6): 160-162.

[7] 孙仕强, 黄海蓉, 温生福, 等. 深圳地区某体检中心幽门螺杆菌感染状况分析[J]. 中华健康管理学杂志, 2016, 10(1): 61-62.

[8] BILGI C I, TEZ M. Serum VEGF levels in gastric cancer patients: correlation with clinicopathological parameters [J]. Tur J Med Sci, 2015, 45(1): 112-117.

[9] 孙洁, 孟祥军. 血清 CA199、CEA、CA125、CA724 联合检测在胃癌诊断中的价值[J]. 中国实验诊断学, 2014, 18(12): 1936-1939.

[10] XIAO J, HE X, WANG Z, et al. Serum carbohydrate antigen 19-9 and prognosis of patients with gastric cancer [J]. Tumour Biol, 2014, 35(2): 1331-1334.

(收稿日期: 2017-09-21 修回日期: 2017-12-05)

• 短篇论著 •

Y 染色体 AZF 基因微缺失在诊断男性不育中的意义*

李美珠, 朱嫦琳, 吴智刚, 陈斌鸿, 李炜焯[△]

(佛山市第一人民医院检验科, 广东佛山 528000)

摘要:目的 探讨佛山地区男性不育症患者 Y 染色体无精症因子(AZF)微缺失检测的临床意义。方法 应用荧光定量 PCR 技术对 212 例无精症或严重少精症患者(观察组)和 120 例健康体检者(对照组)的 AZF 区微缺失分析。结果 共 14 例出现 Y 染色体 AZF 基因微缺失, 总缺失率为 6.6%, 其中严重少精症患者缺失率为 5.6%, 无精子症患者缺失率为 7.3%, AZF a 区缺失 1 例, AZF b 区缺失 2 例, AZF c 区缺失 8 例, AZFb+c 缺失 2 例, AZFa+b+c 区缺失 1 例, c 区发生率最高, 其次为 b 区, a 区发生率最低, 对照组 120 例未发现微缺失, 两组微缺失发生率比较, 差异具有统计学意义($P < 0.05$)。结论 Y 染色体 AZF 微缺失的检测对原发性男性不育患者的诊断有重要的指导价值。

关键词:无精症因子; 原发性无精症; 原发性严重少精症; 微缺失

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2018.08.025

中图法分类号:R446.9

文章编号:1673-4130(2018)08-0984-03

文献标识码:B

男性不育症是引起育龄夫妇不育的主要原因之一, 约占 50%^[1]。男性不育可由多种因素引起, 其中约 30% 为遗传因素^[2]。Y 染色体无精症因子(AZF)与精子的生成和调控密切相关, AZF 区域微缺失是引起男性原发性不育的重要遗传病因之一, 可引起男性原发性无精症或少精症。据世界卫生组织统计, 在世界范围内, 原发性不育症患者占不育男性的 11.2%, 应引起重视。本研究通过观察佛山地区原发性男性不育症患者 AZF 微缺失的发生率的缺失特征, 为男性不育症的诊疗提供实验室依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 观察组 212 例患者均来自于 2015 年 2 月至 2017 年 2 月于佛山市第一人民医院生殖中心就诊的原发性男性不育症患者, 均为男性, 年龄 24~43 岁, 平均年龄(31.26±5.77)岁, 其中包括无精

症患者 123 例, 严重少精子症 89 例。对照组 120 例来自于同期该院健康体检者, 年龄 25~39 岁, 平均年龄(30.89±4.91)岁。两组研究对象在年龄等一般资料上比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$), 所有研究对象均签署知情同意书。

1.2 纳入标准及排除标准 根据世界卫生组织发布的《男性实验室检测手册》, 无精子症患者符合连续 2 次精液分析并离心后在沉淀中均未发现精子; 严重少精子症患者符合连续 2 次精液分析结果为精子密度 $< 5 \times 10^6 / \text{mL}$; 所有患者均排除生殖道梗阻、精索静脉曲张、输精管缺损及感染性疾病等其他泌尿生殖系统疾病。AZF 分为 AZFa、AZFb、AZFc 3 个相互独立的区域。AZFa、AZFb、AZFc 3 个区域对应 5 种缺失模式: AZFa、AZFb、AZFc、AZFb+c、AZFa+b+c。

1.3 方法 所有研究对象采用 EDTA-K₂ 抗凝管采

* 基金项目: 佛山市卫计局医学科研课立项(20180044)。

[△] 通信作者, E-mail: Lwxuan@fsyyy.com。

本文引用格式: 李美珠, 朱嫦琳, 吴智刚, 等. Y 染色体 AZF 基因微缺失在诊断男性不育中的意义[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(8):

集周静脉血 2 mL 用于 Y 染色体 AZF 基因微缺失检测, 仪器: ABI 7500 实时荧光扩增仪。试剂批号: 17A001, 由上海透景生命科技股份有限公司提供, 所有操作严格按照说明书进行。采用两管多重 PCR 扩增技术, 4 个通道 (FAM/VIC/ROX/Cy5) 荧光检测两组 Y 染色体 AZF 基因 6 个序列标签位点 (STS) 的微缺失, 包括 AZFa 区的 SY84、SY86, AZFb 区的 SY127、SY134, AZFc 区的 SY254、SY255。3 个主要操作步骤: 核酸提取, PCR 反应体系配制, PCR 扩增。首先抽提标本 DNA, 然后, 以抽提标本为模板, 每个标本做两管 PCR 反应, 分为组别 A (包括位点 sY84、sY127、sY255) 和组别 B (包括位点 sY86、sY134、sY254) 两个 PCR 反应体系, 进行多重 PCR 扩增, 当存在靶标序列时, 引物退火, 并在 Taq DNA 聚合酶作用下进行延伸, Taq 酶水解荧光探针, 使得荧光探针上的荧光报告基团远离淬灭基团而发出荧光信号, 游离的报告基团数目与对应 PCR 扩增产物正相关。通过监测荧光信号, 来判断是否存在相应检测指标。

1.4 统计学处理 所有数据采用统计学软件 SPSS19.0 进行处理。计数资料采用率 (%) 表示, 组间比较采用 χ^2 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 AZF 基因微缺失特征分析 在 212 例原发性男性不育症患者中, 共发现 14 例出现 Y 染色体 AZF 基因微缺失, 其中 AZFa 区缺失 1 例, AZFb 区缺失 2 例, AZFc 区缺失 8 例, AZFb+c 缺失 2 例, AZFa+b+c 区缺失 1 例, 总缺失率为 6.6%。严重少精症患者缺失率为 5.6%, 无精子症患者缺失率为 7.3%。

2.2 观察组 AZF 3 个区微缺失率比较 分别将观察组不同区域 AZF 微缺失的发生率进行比较, 其中 c 区发生率最高, 其次为 b 区, a 区发生率最低, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 AZF 区域微缺失类型及发生率 (%)

微缺失类型	n	构成比	微缺失率
a 区 (sY84+sY86)	2	11.1	0.9
b 区 (sY127+sY134)	5	27.8	2.4
c 区 (sY254+sY255)	11	61.1	5.2

2.3 观察组与对照组 AZF 微缺失率的比较 观察组 212 例共 14 例 (6.6%) 发生 Y 染色体 AZF 基因微缺失, 对照组 120 例未发现微缺失。

3 讨论

原发性男性无精子症及严重少精症是引起男性不育的主要原因之一, 越来越受到临床重视。但由于精子的产生及成熟过程极其复杂, 受到多种内部及外部因素的调控, 长期以来, 对精子发生的病理机制尚未完全清楚, 研究表明, 无精症及少精症与遗传因素

密切相关^[3]。AZF 最早在 20 世纪 70 年代被发现与精子的生成密切相关, 1996 年, AZF 根据各位点的作用及其对应的组织学特征被划分不同区域, 被证实与男性原发性无精症和严重少精症密切相关。目前, AZF 基因微缺失筛查已成为欧洲男性科学会推荐的无精子症及严重少精症患者的常规筛查项目, 但在我国开展尚未普及。本研究对 212 例在本院就诊的无精症及严重少精症患者进行 AZF 微缺失筛查, 观察本地区男性不育患者 AZF 微缺失发生率的缺失特征, 为男性不育症的诊疗提供实验室依据。结果显示, AZF 总缺失率为 6.6%, 其中严重少精症患者缺失率为 5.6%, 无精子症患者缺失率为 7.3%, 低于 ZHANG 等^[4]、杨会林等^[5]的报道, 与 ALIMARDA-NIAN^[6]、孙思等^[7]的报道相符, 可能与各人群的种族差异、遗传多态性及研究对象的选取有关。

AZF 包含 AZF a 区、AZF b 区和 AZF c 区 3 个区域, 其中, AZF a 区缺失可导致精子在青春期前发生阻滞, AZF b 区缺失可导致精子在减数分裂前期或中期发生阻滞, AZF c 区缺失则与无精、少精或弱精密切相关。研究认为, 由 AZF 基因区域 6 个序列 sY84、sY86、sY127、sY134、sY254 和 sY255 缺失而导致的男性不育, 占有 AZF 微缺失约 95%^[8-9]。因此, 本研究选择这 6 个特异位点作为检测点, 采用荧光定量 PCR 技术进行检测, 对观察组不同区域 AZF 微缺失的发生率进行比较, 结果显示, AZF c 区微缺失发生率为 5.2%, 占本次检测的所有微缺失的 61.1%。无论是无精症患者还是严重少精症患者, AZF c 区微缺失均在所有 AZF 微缺失中发生率最高, 其次为 AZF b 区, AZF a 区发生率最低, 与文献报道一致^[10-11], 表明 AZF c 区可作为无精症及严重少精症患者的重点筛查区域。此外, 无精症患者的缺失率高于严重少精症患者, 且无精症患者多个区域同时缺失的概率也大于严重少精症患者, 提示 AZF 微缺失的程度可能与生精障碍程度具有相关性。

综上所述, 部分具有生精障碍的男性不育患者存在 Y 染色体 AZF 基因微缺失, AZF 微缺失的检测对原发性男性不育患者的诊断和治疗有重要的指导价值。在对照组 120 例健康男性中, AZF 微缺失的发生率为 0, 证实男性原发性无精或少精与 AZF 微缺失密切相关, 其特异性达 100%, 与文献报道结果类似。然而, 在男性原发性不育患者中, 排除了由于生殖道梗阻及缺损等因素后, AZF 微缺失仅为 6.6%, 国内外各文献报道也在 2%~10%, 提示可能有其他 Y 染色体缺失机制或其他遗传因素, 应在后续的研究中进一步探索。

参考文献

[1] LIRA NETO F T, PHIL V B, NAJARI B B, et al. Genetics of male infertility[J]. Curr Urol Rep, 2016, 17(10):

70.

[2] WALSH T J, PERA R R, TUREK P J. The genetics of male infertility[J]. *Semin Reprod Med*, 2009, 27(2): 124-136.

[3] FERNANDEZ-ENCINAS A, GARCIA-PEIRO A, RIBAS-MAYNOU J, et al. Characterization of nuclease activity in human seminal plasma and its relationship to semen parameters, sperm DNA fragmentation and male infertility[J]. *J Urol*, 2016, 195(1): 213-219.

[4] ZHANG Y S, DAI R L, WANG R X, et al. Analysis of Y chromosome microdeletion in 1738 infertile men from northeastern China[J]. *Urology*, 2013, 82(3): 584-588.

[5] 杨会林, 董晶. 严重少精子症及无精子症的遗传学分析[J]. *中国实验诊断学*, 2014, 18(4): 561-564.

[6] ALIMARDANIAN L, SALIMINEJAD K, RAZI S, et al. Analysis of partial azoospermia factor c deletion and DAZ copy number in azoospermia and severe oligozoospermia[J]. *Andrologia*, 2016, 48(9): 890-894.

[7] 孙思, 李艳, 吴薇. 生精功能障碍患者 Y 染色体 AZF 基因微缺失观察[J]. *山东医药*, 2016, 56(7): 71-72.

[8] 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.

[9] ZHENG H Y, LI Y, SHEN F J, et al. A novel Universal multiplex PCR improves detection of AZFc Y-chromosomal microdeletions[J]. *J Assist Reprod Genet*, 2014, 31(5): 613-620.

[10] ASERO P, CALOGERO A E, CONDORELLI R A, et al. Relevance of genetic investigation in male infertility[J]. *J Endocrinol Invest*, 2014, 37(5): 415-427.

[11] 王燕, 林元, 黄海龙, 等. 特发性不育患者 Y 染色体 AZF 微缺失筛查及表型分析[J]. *中国计划生育学杂志*, 2015, 23(12): 819-821.

(收稿日期: 2017-10-03 修回日期: 2017-12-21)

• 短篇论著 •

渝东北地区 7 401 例女性 HPV 感染与基因分型分析*

孟凡萍¹, 郝 坡^{2△}

(1. 重庆三峡中心医院检验科, 重庆 404000; 2. 重庆三峡医药高等专科学校医学技术系, 重庆 404020)

摘要:目的 探讨渝东北地区女性宫颈人乳头瘤病毒(HPV)感染的基因型分布情况, 为预防 HPV 感染和宫颈疾病防治提供理论依据。方法 使用原位杂交技术, 对 7 401 例女性宫颈脱落细胞进行 HPV 亚型检测。结果 2 191 例患者感染 HPV, 总感染率为 29.60%(2 191/7 401)。高危型 HPV 感染率为 82.26%, 居前 5 位的 HPV 基因亚型依次为 HPV-52、16、53、58 和 51 型。低危型 HPV 感染率为 17.74%, 主要基因亚型为 HPV-81、6 和 11 型。单一感染 1 468(66.98%)例, 双重感染 531(24.23%)例, 多重感染 196(8.79%)例。HPV 感染以≤45 岁的年轻女性为主(68.49%), 25~45 岁患者 HPV 感染率最高(65.07%), 45 岁以上感染率为 31.51%。结论 HPV-52、16、53、58 和 51 型感染在渝东北地区最为常见, 总体符合亚洲人群分布规律, 同时又具有独特的地域分布特点。

关键词:人乳头瘤病毒; 宫颈癌; 渝东北地区

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2018.08.026

文章编号:1673-4130(2018)08-0986-03

中图法分类号:446.5

文献标识码:B

宫颈癌是常见的妇科恶性肿瘤之一, 其发病率在女性恶性肿瘤中, 居第二位, 仅次于乳腺癌^[1]。据统计, 80% 的宫颈癌发生在发展中国家, 其中中国新发病例约占世界宫颈癌新发病例的 24.53%, 宫颈癌已成为中国妇女恶性肿瘤发病率第一位^[2]。研究已证明持续性人乳头瘤病毒(HPV)感染是宫颈癌发病的主要原因。

目前已知 HPV 有一百多种型别, 其中可以感染生殖道黏膜的有 54 种。根据 HPV 致病的差异性, 将

其分为高危型和低危型两大类^[3]。鉴于 HPV 基因型分布具有地域性、种族性及多样性的特点, 本文研究了渝东北地区女性宫颈细胞中 23 种 HPV 的感染率及基因型分布情况, 以期能对渝东北地区宫颈癌的防控以及女性对疫苗的选择起到一定的指导意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2016 年 1—12 月于重庆三峡中心医院妇产科门诊就诊的 7 401 例女性患者, 年龄 20~80 岁, 平均年龄 42.25 岁。其中 <25 岁患者 253

* 基金项目: 重庆市卫生局科技计划项目(2011-2-411), 重庆市万州区科研项目(201302002), 重庆三峡医药高等专科学校课题(2014mpxz18)。

△ 通信作者, E-mail: hpo1979@126.com。

本文引用格式: 孟凡萍, 郝坡. 渝东北地区 7 401 例女性 HPV 感染与基因分型分析[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(8): 986-988.