

网络出版时间: 2019-5-9 10:21 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.r.20190506.1438.032.html>

严重少弱精子症 ICSI 失败后 改行供精人工授精的妊娠结局分析

李君^{1,2,3}, 李彩华^{1,2,3}, 郭培培^{1,2,3}, 王影^{1,2,3}, 魏兆莲^{1,2,3}

摘要 目的 分析严重少弱精子症患者卵泡浆内单精子注射(ICSI)失败后改行供精人工授精(AID)的临床妊娠率(CPR)。方法 回顾性分析因男方严重少弱精子症行ICSI助孕失败后改行AID助孕共114周期为研究组,同期选取因男方无精子症直接行AID助孕的416周期为对照组,比较两组妊娠结局并探究其影响因素。结果 研究组的每周期CPR低于对照组(12.3% vs 24.8%),差异有统计学意义($P < 0.05$);研究组中的双次授精及促排卵周期每周期CPR均高于单次授精及自然周期治疗,差异有统计学意义($P < 0.05$);体质指数(BMI)、不孕类型对CPR均无影响,差异无统计学意义。结论 男方严重少弱精子症行ICSI助孕失败后改行AID助孕的每周期CPR低于对照组,促排卵能提高CPR。

关键词 卵泡浆内单精子注射; 供精人工授精; 临床妊娠率
中图分类号 R 711.6

2019-01-04 接收

基金项目: 安徽省自然科学基金(编号: 1708085MH214)

作者单位: ¹安徽医科大学第一附属医院妇产科生殖医学中心, 合肥 230022²安徽医科大学生殖健康与遗传安徽省重点实验室, 合肥 230022³安徽省生命资源保存与人工器官工程技术研究中心, 合肥 230022

作者简介: 李君, 男, 硕士研究生;

魏兆莲, 女, 教授, 主任医师, 博士生导师, 责任作者, E-mail: weizhaolian_1@126.com

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2019)05-0809-04
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2019.05.032

近年来不孕不育的人数呈增长趋势。文献^[1]表明,在生育年龄的人群中有10%~15%患有不孕或不育,这其中男性不育者占比近40%,10%~20%不育因素为严重少弱、畸精子症或无精子症。随着卵泡浆内单精子注射(intracytoplasmic sperm injection, ICSI)技术的出现,为严重少弱、畸精子症患者提供了一个新的助孕方式,相对于常规体外受精,ICSI极大程度上降低了对精子数量、活力及形态的要求,但是一部分患者经过ICSI仍然失败,此时可以选择供精人工授精(artificial insemination with donor semen, AID)助孕。而目前对此类患者选择AID助孕的妊娠结局关注甚少。该研究通过分析此类患者AID助孕的妊娠结局探究其相关影响因素。

1 材料与方法

1.1 病例资料 选取2011年1月~2017年10月在安徽医科大学第一附属医院生殖中心因严重少弱精子症行ICSI助孕取卵2周期(每周期取卵 ≥ 5 枚)移植后均未孕,患者要求改行AID助孕,且经过本中心伦理委员会批准的共114个周期为研究组。对照组选取同期因男方非梗阻性无精子症行

receptor associated-coactivator 3 (RAC3) in colorectal cancer(CRC). **Methods** Forty-eight paired clinical samples and clinicopathologic characteristics were analyzed. Quantitative real-time PCR (qRT-PCR) analysis was used to evaluate expression levels of RAC3 in colorectal cancer tissues. Immunohistochemical method was used to explore the expression of RAC3 protein in 125 cases of exploratory biopsies. **Results** RAC3 was up-regulated in CRC tissues compared with adjacent mucosa ($P < 0.01$), and its expression level was significantly correlated with TNM stage, vascular invasion and lymph node metastasis ($P < 0.05$). The Kaplan-Meier plot in TCGA database showed that the median survival period in the CRC patients with high RAC3 expression level was shorter than the low expression subgroup. Positive expression of RAC3 protein CRC patients had lower sensitivity to FOLFOX regimen than negative expression of RAC3 protein (Folic acid-5-fluorouracil and oxaliplatin). **Conclusion** RAC3 is up-regulated in CRC tissues and its expression level is significantly correlated with unfavorable prognosis. In addition, RAC3 possesses the potential to be a predictive marker for CRC prognosis and chemotherapeutic response.

Key words receptor associated-coactivator 3; colorectal cancer; chemosensitivity

AID 助孕的患者共 416 个周期。严格掌握适应证并遵守有关供精助孕的各项法律法规和伦理原则。所有夫妇自愿要求接受供精助孕治疗,术前签署了相应的 AID 助孕手术知情同意书。严重少弱精子症定义为精子浓度 $\leq 5 \times 10^6 / \text{ml}$ 或者无 a 级前向活动精子,且 b 级活动精子 $\leq 5\%$ 。精液检测参照 WHO 第五版标准。

1.2 AID 方法

1.2.1 供精来源 供精来源于人类精子库,遵守有关 AID 的各项法规和伦理原则。精液置于常温下 5~7 min 后,在 37℃ 电热恒温水浴箱中复苏 3~5 min。

1.2.2 治疗方案 根据患者情况选择自然周期或促排卵周期 (controlled ovarian stimulation, COS)。

①自然周期:月经规律,于月经周期第 10~12 d 行阴道超声监测卵泡,根据卵泡发育情况决定监测时间。当优势卵泡平均直径 $\geq 18 \text{ mm}$ 时,测尿促黄体生成激素 (luteinizing hormone, LH),当出现排卵峰时 24 h 内监测卵泡,如未排卵则行排卵前 AID 助孕治疗,若已排卵则仅行单次排卵后 AID 助孕治疗 24 h 后监测卵泡如已排卵,则再次行 AID 助孕治疗。②促排卵周期:对于月经不规律患者,于月经或黄体酮撤退出血第 3~5 天开始,口服来曲唑(连云港恒瑞医药公司) 2.5~5.0 mg, 1 次/d,共 5 d,第 10~12 天开始卵泡监测,当优势卵泡平均直径 $\geq 18 \text{ mm}$ 时,肌肉注射人绒毛膜促性腺激素 (human chorionic gonadotropin, HCG) 5 000~10 000 U, 24 h 内监测卵泡,如未排卵则行排卵前 AID 助孕治疗,若已排卵则仅行单次排卵后 AID 助孕治疗,24 h 后监测卵泡如已排卵,则再次行 AID 助孕治疗。

1.2.3 授精方式 排卵前采用宫颈管内人工授精 (intracervical insemination, ICI),排卵后采用宫腔内人工授精 (intrauterine insemination, IUI),具体授精方式参见 Kop et al^[2] 的报道。术后均给予口服地屈

孕酮(雅培) 10 mg 2 次/d。

1.2.4 妊娠诊断 AID 助孕治疗后 14 d 测血 HCG,如提示妊娠,则术后 35 d 行阴道超声检查,宫腔内见孕囊、胚芽及心管搏动可确诊为临床妊娠。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 19.0 软件进行统计分析,计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,正态分布采用 *t* 检验,非正态分布采用秩和检验,计数资料用率 (%) 表示,采用 χ^2 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组治疗情况 研究组 114 例,年龄 22~42 (30.7 ± 4.3) 岁,不孕年限 1~15 (4.2 ± 3.2) 年。对照组 416 例,年龄 25~39 (30.2 ± 3.5) 岁,不孕年限 0~19 (5.2 ± 3.3) 年。研究组年龄、体质量指数 (body mass index, BMI)、精子冻融复苏后前向运动精子总数与对照组比较差异无统计学意义。研究组的临床妊娠率 (clinical pregnancy rate, CPR) 低于对照组,差异有统计学意义 (12.3% vs 24.8%, $P = 0.004$),流产率也较对照组高,但差异无统计学意义 (28.6% vs 23.0%, $P > 0.05$),分娩率低于对照组,差异有统计学意义 (8.8% vs 19.0%, $P = 0.005$)。见表 1。

2.2 研究组妊娠率影响因素分析 ①年龄与 CPR 的关系:以 35 岁为界比较,随年龄的增加,每周期 CPR 下降,但差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。②不孕年限与 CPR 的关系:以 10 年为界比较,随不孕年限的增加,每周期 CPR 下降,但差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。③BMI 与 CPR 的关系:按照中国 BMI 标准分为:体重过低组 ($< 18.5 \text{ kg/m}^2$),正常组 ($18.5 \sim 24 \text{ kg/m}^2$),超重组 ($> 24 \text{ kg/m}^2$)。体重过低组、正常组和超重组的每周期 CPR 之间相比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。④不孕类型与

表 1 严重少弱畸精子症组与非梗阻性无精子症患者基本情况

项目	对照组 (n = 416)	研究组 (n = 114)	Z/ χ^2 值	P 值
年龄(岁)	30.7 ± 4.3	30.2 ± 3.5	0.872 ^a	0.383
不孕年限(年)	4.2 ± 3.2	5.2 ± 3.3	3.099 ^a	0.002
BMI (kg/m ²)	21.6 ± 3.4	21.4 ± 2.8	0.541 ^a	0.588
原发性不孕症数占比	87.0% (362/416)	76.3% (87/114)	7.918 ^b	0.005
双次授精周期占比	83.0% (345/416)	85.0% (97/114)	1.425 ^b	0.233
精子冻融复苏后前向运动精子总数(百万/ml)	20.0 (11.9, 27.5)	19.3 (12.5, 27.1)	0.149 ^a	0.973
临床妊娠数	24.8% (103/416)	12.3% (14/114)	8.100 ^b	0.004
流产例数	23.0% (24/103)	28.6% (4/14)	0.182 ^c	0.670
临床分娩例数	19.0% (79/416)	8.8% (10/114)	6.687 ^b	0.010

a: 秩和检验; b: χ^2 检验; c: Fisher 确切概率法

CPR 的关系:原发性不孕症组每周期 CPR 与继发性不孕症组相比稍低,但差异无统计学意义($P > 0.05$)。⑤ 治疗方案与 CPR 的关系:促排周期的每周期 CPR 明显高于自然周期,差异有统计学意义($P = 0.026$)。⑥ 授精次数与 CPR 的关系:单次授精每周期 CPR 显著低于双次授精 CPR,差异有统计学意义($P = 0.008$)。见表 2。

表 2 各研究因素对研究组 CPR 的影响

研究因素	周期数 ($n = 114$)	临床妊娠数 ($n = 14$)	CPR (%)	P 值
年龄(岁)				
<35	96	13	13.5	0.303
≥35	18	1	5	
不孕年限(年)				
<10	99	13	13.1	0.446
≥10	15	1	6.7	
BMI(kg/m^2)				
≤19	19	2	10.5	0.920
19~24	76	10	13.3	
≥24	19	2	10.5	
不孕类型				
原发性不孕	90	11	12.2	0.557
继发性不孕	24	3	12.5	
授精次数				
单次	17	1	5.9	0.008
双次	97	13	13.4	
治疗方案				
自然周期	64	4	6.7	0.026
促排周期	50	10	20.0	

2.3 对照组妊娠率影响因素分析 对照组按照治疗方案与授精次数分组,不同治疗方案及授精次数不影响 CPR,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 3。

表 3 对照组治疗方案及授精次数对妊娠结局的影响

研究因素	周期数	临床妊娠数	CPR (%)	χ^2 值	P 值
治疗方案					
自然周期	249	67	26.4	1.536	0.215
促排周期	167	36	20.4		
授精次数					
单次	71	14	19.7	1.168	0.280
双次	345	89	25.8		

3 讨论

AID 是指通过非性交方法,于适宜的时间将供精者的精子置入女性生殖道内,以达到受孕目的的一种治疗方法^[3]。对于严重少弱精子症行 ICSI 助

孕失败的患者来说,在其知情同意的情况下经伦理委员会批准,输卵管一侧或双侧通畅的患者可以改行 AID 助孕。目前报道^[4-5] AID 临床妊娠率在 15%~25%。而本研究的 CPR 仅为 12.8%,远低于国内外文献^[4-5] 报道的 CPR 及对照组的 CPR (22.3%)。

随年龄及不孕年限的增加,卵巢功能下降,心理压力增加,大量研究证实 AID 临床妊娠率随着年龄^[6-7] 及不孕年限^[8] 的增加而逐渐下降。本研究显示,年龄 > 35 岁,不孕年限 > 10 年的患者, CPR 降低,差异无统计学意义,可能因为样本量少。此外,研究组的患者多年的受孕尝试,并且在经过 ICSI 后,未获得优质胚胎,说明其不育的原因,不仅仅是单一的男方因素,有可能在女方卵子发育、卵子授精的过程中存在影响因素,导致每周期 CPR 降低。

研究^[9] 显示 BMI 数值高低不影响 AID 的临床结局,本研究结果与此一致,可能是随着生活水平的提高,人们更加注重体育锻炼,而这会增加肌纤维含量,体质量增加,从而导致 BMI 数值改变。因此 BMI 不能很好地反映肥胖程度^[10],而皮脂下厚度或者利用生物电阻测量体脂率,更加合适。

不同治疗方案对 AID 临床妊娠率的影响尚无定论。Thijssen et al^[11] 研究表明促排周期能够增加 CPR。而 De Brucker et al^[12] 指出促排周期与自然周期相比,不增加 CPR。本研究显示:对照组自然周期妊娠率稍高于促排周期,但差异无统计学意义。研究组促排周期的 CPR 显著高于自然周期,这与 Huang et al^[13] 的应用促排卵药物能够增加 IUI 不明原因不孕患者的 CPR 一致。促排卵改善妊娠率的机制目前仍不明确,促排卵治疗可能增加卵母细胞数量及改善卵母细胞质量;采用 HCG 诱发排卵,能准确把握排卵时机进行 AID 治疗,增加了妊娠机会,从而能够提高 CPR。

Zahiri et al^[14] 研究表明单次授精不影响 CPR,本资料对照组单次授精也不降低 CPR。而研究组单次授精与双次授精相比, CPR 显著降低。本研究选择单次授精或者双次授精,由排卵时间决定,出现 LH 峰或者注射 HCG 后,排卵时间 < 24 h,则行单次排卵后 AID 助孕。故对于研究组类患者,应着重把握行人工授精的时机,使尽量接近排卵时间,从而提高 AID 助孕的成功率,不建议行单次排卵后 AID 助孕。

参考文献

[1] Barratt C L R, Bjorndahl L, De Jonge C J, et al. The diagnosis of

- male infertility: an analysis of the evidence to support the development of global WHO guidance-challenges and future research opportunities[J]. *Hum Reprod Update*, 2017, 23(6): 660–80.
- [2] Kop P A, Mochtar M H, OBrien P A, et al. Intrauterine insemination versus intracervical insemination in donor sperm treatment [J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2018, 1: CD000317.
- [3] Chen L, Zhu L, Cai C, et al. Clinical and neonatal outcomes of intrauterine insemination with frozen donor sperm [J]. *Syst Biol Reprod Med*, 2018, 64(4): 240–5.
- [4] Huang D, Song S, Liao A. Short-term safety evaluation of the offspring conceived by 7272 artificial insemination cycles with donor spermatozoon [J]. *Andrologia*, 2016, 48(7): 817–23.
- [5] Guan H T, Zheng Y, Wang J J, et al. Relationship between donor sperm parameters and pregnancy outcome after intrauterine insemination: analysis of 2821 cycles in 1355 couples [J]. *Andrologia*, 2016, 48(1): 29–36.
- [6] Osaikhuwuomwan J, Osemwenkha A, Iribhogbe O, et al. The effect of female age on the outcome of intrauterine insemination treatment in a public hospital-assisted reproduction technology unit [J]. *Niger J Clin Pract*, 2018, 21(8): 988–92.
- [7] Merviel P, Heraud M H, Grenier N, et al. Predictive factors for pregnancy after intrauterine insemination (IUI): an analysis of 1038 cycles and a review of the literature [J]. *Fertil Steril*, 2010, 93(1): 79–88.
- [8] 刘莹, 刘新宇, 王冰松, 等. 供精人工授精妊娠结局的影响因素及子代安全性分析 [J]. *中华男科学杂志*, 2016, 22(3): 229–32.
- [9] Huyghe S, Verest A, Thijssen A, et al. Influence of BMI and smoking on IUI outcome with partner and donor sperm [J]. *Facts Views Vis Obgyn*, 2017, 9(2): 93–100.
- [10] McCormack G R, Blackstaffe A, Nettel-Aguirre A, et al. The independent associations between Walk Score (R) and neighborhood socioeconomic status, waist circumference, Waist-To-Hip ratio and body mass index among urban adults [J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2018, 15(6): E1226.
- [11] Thijssen A, Creemers A, Van der Elst W, et al. Predictive factors influencing pregnancy rates after intrauterine insemination with frozen donor semen: a prospective cohort study [J]. *Reprod Biomed Online*, 2017, 34(6): 590–7.
- [12] De Brucker M, Haentjens P, Evenepoel J, et al. Cumulative delivery rates in different age groups after artificial insemination with donor sperm [J]. *Hum Reprod*, 2009, 24(8): 1891–9.
- [13] Huang S, Wang R, Li R, et al. Ovarian stimulation in infertile women treated with the use of intrauterine insemination: a cohort study from China [J]. *Fertil Steril*, 2018, 109(5): 872–8.
- [14] Zahir S Z, Rashid S R, Pourmarzi D. Single versus double intrauterine insemination in controlled ovarian hyperstimulation cycles: a randomized trial [J]. *Arch Iran Med*, 2016, 19(7): 465–9.

Pregnancy outcome analysis of artificial insemination with donor sperm after ICSI failure in severe oligozoospermia

Li Jun^{1 2 3}, Li Caihua^{1 2 3}, Guo Peipei^{1 2 3}, et al

(¹Reproductive Medicine Center, Dept of Obstetrics and Gynecology, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022; ²Anhui Province Key Laboratory of Reproductive Health and Genetics, Hefei 230022; ³Biopreservation and Artificial Organs, Anhui Provincial Engineering Research Center, Anhui Medical University, Hefei 230022)

Abstract Objective To investigate the clinical pregnancy rate (CPR) of artificial insemination with donor sperm (AID) after failure of intracytoplasmic sperm injection (ICSI) in patients with severe oligoasthenospermia. **Methods**

The CPR of AID treatment (research group, $n = 114$) after failure of ICSI in patients with severe oligoasthenospermia was retrospectively analysed, who was directly undergoing AID due to non-obstructive azoospermia during the same period as control group (control group $n = 416$), comparing the two groups of pregnancy outcomes and evaluating its influencing factors. **Results** The CPR per cycle of research group was significantly lower than control group ($P < 0.05$). The CPR per cycle with double insemination and the ovulation induction cycle were significantly higher than that with single insemination and the natural cycle in the research group. The body mass index (BMI) and type of infertility in research group did not affect the CPR. **Conclusion** The CPR of AID after failure of ICSI in patients with severe oligoasthenospermia is lower than control group, ovulation induction can increase the CPR of AID.

Key words intracytoplasmic sperm injection; artificial insemination with donor semen; clinical pregnancy rate