

医学参考报

生殖健康专刊

Reproductive Health

第三期 NO.03

推翻前论，PIWI/piRNA 通路同样影响哺乳动物雌性生殖

【据《Nature Cell Biology》2021年9月报道】题：金仓鼠功能性卵母细胞的产生需要母体表达的 *PIWI* 基因和 piRNA (日本九州大学 作者 Hidetoshi Hasuwa 等)

许多动物都有一个保守的适应性基因组防御系统，称为 PIWI 相互作用 RNA (piRNA) 途径，这对生殖细胞的发育和功能至关重要。piRNA 是一类与 PIWI 蛋白相互作用的非编码小 RNA，主要存在于动物的生殖细胞中。piRNA 与 PIWI 蛋白结合形成 PIWI/piRNA 分子复合物，主要作

用是指导目标的识别和沉默，这些目标主要是转座子——一种可以在基因中自我复制并插入到其他位置的外源性遗传片段。在转录后基因沉默中，piRNA 通过碱基互补配对寻找靶标，PIWI 蛋白负责切割靶标，将这些 RNA 降解。在 piRNA 的引导下，大量转座子 RNA 被沉默，使得基因的完整性得以维持。此外 PIWI/piRNA 复合物还可以招募其他蛋白质通过表观遗传的方式调控基因表达。以往对于 PIWI-piRNA 通路的研究主要以小鼠为模型，小鼠表达

3 种 PIWI 蛋白 (PIWI 1,2,4)，PIWI 缺乏仅会导致雄性不育，雌性是正常的。由此，piRNA 研究领域内产生了一种被广泛接受的理论：piRNA 通路对哺乳动物雌性生殖不是必需的。然而，大多数哺乳动物物种，包括人类，除了上述 3 个 *PIWI* 基因之外，还拥有一个额外的 *PIWI* 基因，称为 *PIWIL3*。目前关于哺乳动

物物种中具有 4 个 *PIWI* 基因的 piRNA 途径知之甚少，特别是它们在功能性卵母细胞产生中的潜在作用。因此，piRNA 介导的沉默在小鼠和其他具有 4 个 *PIWI* 基因的哺乳动物之间可能有所不同。

日本九州大学 Haruhiko Siomi 研究团队，利用表达 4 种 PIWI 的金仓鼠模型，探究 piRNA 通路在雌性生殖中的功

能。金仓鼠又称叙利亚仓鼠，属于啮齿目仓鼠科，具有 4 个不同的 *PIWI* 基因，*PIWIL1* 和 *PIWIL2* 在睾丸和卵巢中均表达，而 *PIWIL3* 和 *PIWIL4* 分别仅在卵巢和睾丸中表达。研究人员使用 CRISPR-Cas9 系统构建了 *PIWIL1* 和 *PIWIL3* 缺失突变体，结果显示 *PIWIL1* 缺失的雄性仓鼠的精子发生异常，表现出小睾丸和附睾尾部缺乏成熟的精子，DDX4 和顶体染色显示在 *PIWIL1* 缺失的小鼠睾丸中完全缺乏顶体阳性 S2 精子细胞。此外，在 *PIWIL1* 突变体睾丸中，长度为 29~31 个核苷酸 (nt) 的小 RNA 数量显著减少 (图 1)。 *PIWIL3* 在睾丸中没有表达并且 *PIWIL3* 缺失的雄性仓鼠没有表现出明显的表型。 *PIWIL1* 和 *PIWIL3* 的

下转第 2 版 ▶

导读

加速康复外科在深部浸润性子官内膜异位症患者中的应用研究：一项全国性研究

2 版

GnRH 拮抗剂通过降低 c-kit 受体的表达来削弱子官内膜间质细胞的生长能力

3 版

科学家揭示人卵母细胞纺锤极不稳定性的机制

4 版

TrkB 激活型抗体——改善女性生育力的潜在新药

5 版

促性腺激素释放激素类似物 (GnRHa) 对中国绝经前乳腺癌患者卵巢功能的影响：一项随机临床试验

6 版

父系表观遗传新发现

7 版

男性维生素 D 缺乏与男性不育

8 版

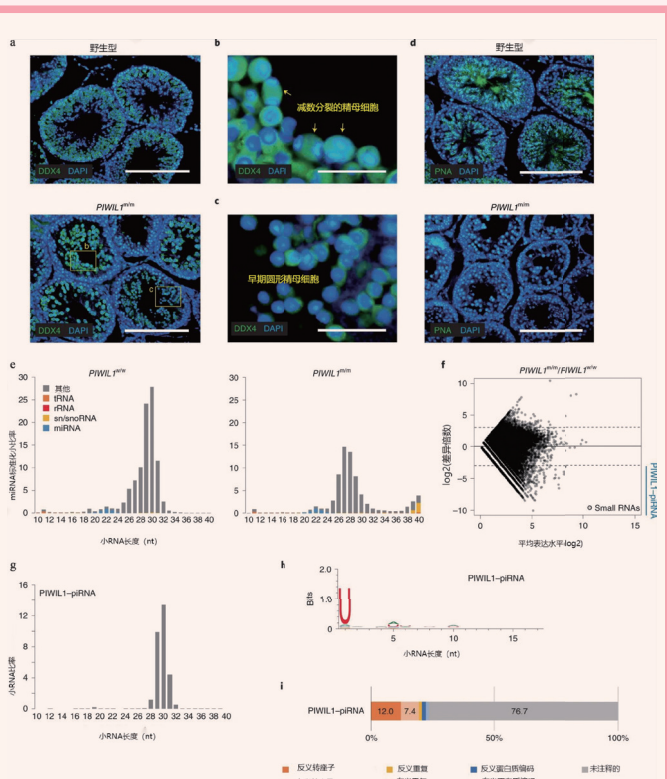


图 1 *PIWIL1* 缺失金仓鼠睾丸的雄性表型和 piRNA 变化

a-d. 抗 DDX4 抗体 (a-c) 和 PNA (d) 染色 15 周龄野生型和纯合突变体 (*PIWIL1*tm) 雄性仓鼠的睾丸切片。在 *PIWIL1* 缺失雄鼠的睾丸中几乎没有观察到减数分裂后的精子细胞。a 图中方框的放大图显示减数分裂精母细胞 (箭头, b) 和早期圆形精细胞 (c)。在 3 个独立样本中观察到类似的结果。比例尺, 100 μ m (a 和 d) 或 10 μ m (b 和 c)。e. 根据野生型 (*PIWIL1*^{w/w}; 左) 和 *PIWIL1* 缺陷 (右) 金仓鼠睾丸中长度分布的小 RNA 类别的组成。已知 ncRNA (tRNA、rRNA、sn/snoRNA 和 miRNA) 的小 RNA 读数由所述颜色表示。将读数标准化为映射到 miRNA 的读数和获得的读数的总数。f. 显示每个独立小 RNA 序列表达水平的 MA 图。计算 \log_2 (倍数变化) 和表达水平, 每个值加 1 以计算任一样本中 0 的小 RNA 序列水平。纯合突变体中小 RNA 减少了 8 倍以上被定义为 *PIWIL1*-piRNA (由蓝线表示)。 *PIWIL1*^{w/w}, 杂合突变体。g. *PIWIL1*-piRNA 的大小分布。将获得的小 RNA 数标准化为基因组映射的小 RNA 读数的总数。h. *PIWIL1*-piRNA 的 WebLogo 分析。i. 基因组映射的 *PIWIL1*-piRNA 的注释。使用三个独立的库进行 Small RNA-seq, 并使用汇总数据。

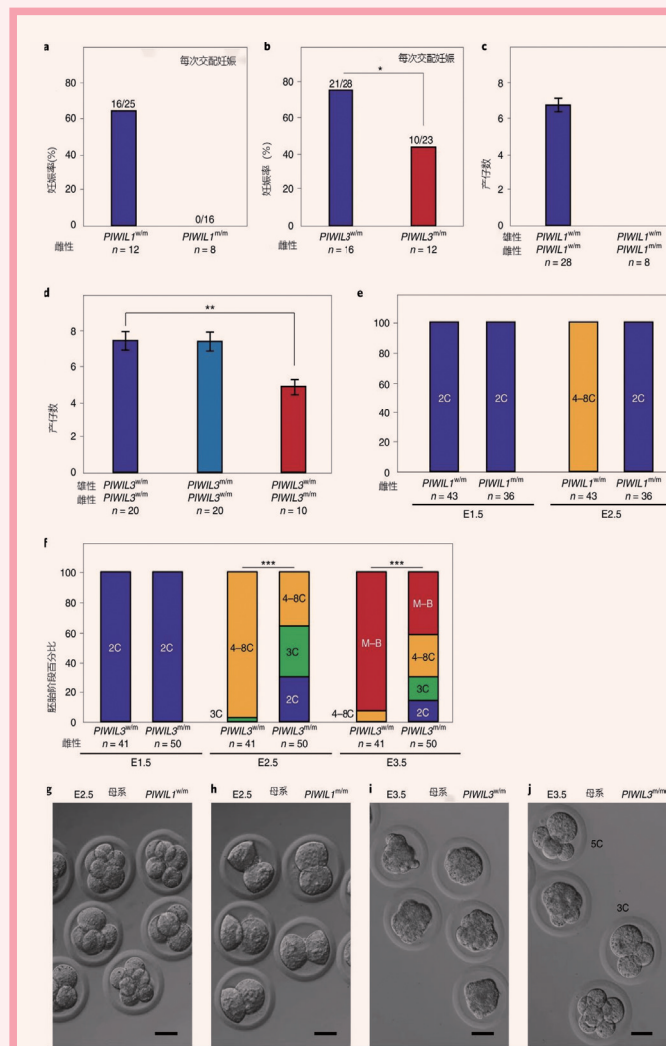


图 2 *PIWIL1* 和 *PIWIL3* 突变型金仓鼠的雌性生育表型

a-b. 通过自然交配分析 *PIWIL1* (a) 或 *PIWIL3* (b) 缺陷雌性金仓鼠的繁殖力; n 表示用于每种基因型的雌性仓鼠数量。条形图上的数字表示每次性交的怀孕情况。* $P=0.0424$, 通过双边 Fisher 精确检验。c-d. 来自交配的 *PIWIL1* 突变体 (c) 和 *PIWIL3* 突变体 (d) 雌性的产仔数; n 显示分析的交配雌性数量, 误差条表示 \pm s.e.m (** $P=0.0069$ 通过双边 t 检验)。e-f. 体外培养早期胚胎发生率。与野生型雄性交配后的 *PIWIL1* 杂合和纯合突变雌性仓鼠的 2C 胚胎 (E1.5) 在体外培养 1 天 (e)。与野生型雄性交配的 *PIWIL3* 杂合和纯合突变雌性仓鼠的 2C 胚胎 (E1.5) 在体外培养 1~2 天 (f)。 (E2.5: *** $P=4.3 \times 10^{-13}$, E3.5: *** $P=2.19 \times 10^{-10}$, 通过 χ^2 检验)。M-B, 桑椹胚和胚泡。g-j. 来自 *PIWIL1* 缺陷卵母细胞 (g, h) 的 E2.5 胚胎和来自 *PIWIL3* 缺陷卵母细胞 (i, j) 的 E3.5 胚胎的代表性图像。使用了从 3~4 只雌性身上采集的胚胎, 类似的结果被证实了 3 次以上。注意在 *PIWIL3* 缺陷胚胎培养中停滞的 3C 和 5C 胚胎。比例尺, 50 μ m。

加速康复外科在深部浸润性子宫内膜异位症患者中的应用研究：一项全国性研究

【据《Fertility and sterility》2022年2月报道】题：加速康复外科在深部浸润性子宫内膜异位症患者中的应用研究：一项全国性研究（法国艾克斯-马赛大学 作者 Audrey Pivano 等）

子宫内膜异位症是育龄期妇女常见的妇科疾病，其病灶可浸润并累及盆腔其他脏器。超过90%的深部浸润性子宫内膜异位症（DIE）病灶位于后盆腔，如宫骶韧带（约占DIE病例的50%）、阴道后穹窿（20%~25%），多毗邻于直-乙结肠交界处的肠道前壁。近年来，加速康复（ERAS）是以患者围术期路径为中心的多模式多学科方法，旨在改善患者管理，同时缩短住院时间，已被广泛应用于外科领域。然而，ERAS对DIE手术的影响缺乏全面评估。早在2016年，法国

国家健康机构（HAS）已针对手术相关ERAS计划制定了相关的指南。Pivano等于2022年2月在《Fertility and Sterility》杂志发表文章“Enhanced recovery after posterior deep infiltrating endometriosis surgery: a national study”，在全国范围内评估了实施ERAS计划DIE手术对住院时间、术后并发症发生率及术后30天内因并发症再入院率的影响。

该研究是基于法国国家医疗经济信息数据库（PMSI）的一项观察性对照研究。拟接受手术治疗的DIE患者，并排除合并肿瘤及既往肿瘤史后可纳入本研究。接受ERAS与未接受ERAS的患者按1:3比例入组，并对年龄（±3岁）、就诊医疗机构等级（大学附属医院/非大学附属的公立医院/私立医院）、手术类型（是否

表1 因并发症术后30d内二次入院病例

并发症类型	ERAS组 (n=191) n (%)	非ERAS组 (n=573) n (%)	P值
泌尿系统并发症	1 (0.52)	2 (0.35)	0.74
消化系统并发症	1 (0.52)	9 (1.57)	0.29
出血性疾病	2 (1.05)	8 (1.40)	0.71
血栓性疾病	0	0	NA
感染	2 (1.05)	4 (0.70)	0.63
瘘	0	1 (0.17)	0.99
腹壁并发症	1 (0.52)	6 (1.05)	0.52
需二次手术	2 (1.05)	6 (1.05)	0.99

接受肠段切除的保守/彻底手术)、手术入路（开腹/腹腔镜）进行匹配。收集如下信息：初次住院时长、初次住院时术后并发症发生率、因术后30d内因并发症再入院率。采用GEE模型统计分析。

经纳排标准筛选后共纳

入ERAS组患者243例，非ERAS组患者3998例，经匹配后，共有191例ERAS组患者及573例非ERAS组患者纳入分析。ERAS组住院时间为（4.28±3.80）d，明显少于非ERAS组[(5.42±4.04)d, P=0.008]。针对初次住院后的

术后并发症，ERAS组患者与非ERAS组基本一致。但在初次住院时发生术后盆腔痛的比例ERAS组明显低于非ERAS组[2.62% (5/191)比8.38% (48/573), RR=0.31 (95%CI 0.125~0.7969), P=0.01]。因并发症二次入院比例，两组也基本相同[7.33% (14/191)比5.93% (34/573), OR=1.25 (95%CI 0.66~2.40), P=0.49]。其中，二次入院后需要手术干预的患者共8例(2/191例接受ERAS计划, 6/573例为非ERAS组患者, P=0.99)(表1)。

ERAS计划在DIE患者手术中可明显缩短住院时间，且并不增加术后并发症的比例及术后30d内因并发症再次入院的比例。

(复旦大学附属妇产科医院 郑韵熹 编译)

上接第1版

成年雌性纯合突变体的卵巢组织学检查未发现明显异常。但PIWIL1和PIWIL3突变型雌性仓鼠分别表现出完全不育和生育力降低，当PIWIL1纯合缺失的雌性与杂合雄性杂交，表现为完全不孕。PIWIL3纯合缺失雌性与杂合雄性交配后表现为生育率降低，妊娠率降低，产仔数减少。为了验证PIWIL1或PIWIL3突变小鼠的卵母细胞受精后胚胎发育的情况，研究人员将PIWIL1和PIWIL3突变的雌性与野生型雄性交配并将2-细胞胚胎在体外培养1~2d。所有母体PIWIL1纯合缺失雌鼠的2-细胞胚胎都阻滞在2-细胞阶段，并且在体外培养1d后崩解死亡，而从杂合雌性分离的2-细胞胚胎在相同培养下可发

育成4-细胞到8-细胞胚胎。相反，PIWIL3纯合突变雌鼠胚胎发育显著延迟，并且在体外培养1d后70%仍处于2-或3-细胞阶段。即使在培养的第2d，也有30%停留在2-或3-细胞阶段，还有许多在4-到8-细胞阶段停滞。这些结果表明PIWIL1和PIWIL3缺失雌鼠卵母细胞可以受精并进行第一次细胞分裂，但胚胎在随后的发育阶段不能继续发育或发育延迟(图2)。

为了深入了解突变体异常表型的分子缺陷，研究人员对PIWIL1和PIWIL3突变体的卵母细胞进行了小RNA测序，小RNA测序显示，PIWIL1在卵母细胞中结合23-nt和29-nt两种不同长度的piRNA，而PIWIL3与卵母细

胞中的19-nt piRNA结合。在PIWIL1和PIWIL3突变体的小鼠卵母细胞中相应piRNA的数量显著减少，这表明PIWI蛋白的缺失消耗了与它们结合的piRNA。RNA-seq结果表明PIWIL1的缺乏显著影响了卵母细胞转录组，GO富集分析显示差异基因主要与核小体组装和转录及表观遗传调控相关，这表明PIWIL1丢失可能导致染色质和(或)基因组完整性网络的缺陷。相反，在PIWIL3缺陷型卵母细胞中，大多数基因的水平保持不变。这些结果表明许多基因受PIWIL1调节，但不受PIWIL3调节。PIWI/piRNA复合体的目标主要是转座子，进一步对转座子表达水平的分析表明，PIWIL1缺失导致29个转座子家族的表达增加。与此

形成鲜明对比的是，PIWIL3的缺失对转座子的表达水平几乎没有影响。总之，这些结果表明，PIWIL1可以通过piRNA途径来调节卵母细胞中转座子的表达。

小鼠卵母细胞和精子中DNA甲基化的建立主要是依靠DNMT3A及其辅助因子DNMT3L的活性。DNMT3A缺陷和DNMT3L缺陷小鼠卵母细胞可以正常受精，但源自这些卵母细胞的胚胎在胚胎第10.5d(E10.5)死亡，主要是由于母体印记区域缺乏DNA甲基化。那么PIWIL1和PIWIL3突变的雌性胚胎的异常是否与甲基化异常相关呢？进一步对突变鼠卵母细胞DNA甲基化研究显示，在PIWIL1缺失型和对照组GV期卵母细胞中DNA甲基化水

平大致相同。然而，与对照卵母细胞相比，PIWIL3缺失型卵母细胞的DNA甲基化水平发生较大改变。这表明PIWIL3参与了卵母细胞发育过程中的DNA甲基化。总的结果表明PIWI/piRNA途径在金仓鼠中产生功能性卵母细胞中的重要作用。PIWIL1调节包括转座子在内的基因表达，而PIWIL3具有不同的功能，例如DNA甲基化，对卵母细胞中转座子和基因的表达影响很小。

综上，该研究结果提示piRNA通路在哺乳动物雌性生殖中同样具有重要功能，为研究piRNA通路异常与女性生殖相关疾病的诊治提供了重要理论基础和动物模型。

(复旦大学附属妇产科医院 邓珂 编译)

医学参考报

理事长兼总编辑：巴德年 社长：魏海明
副理事长兼副总编辑：曹雪涛等 副社长：吕春雷
理事会秘书长：周赞 副社长：周赞

社址：北京市西城区红莲南路30号红莲大厦B0403
邮编：100055
总机：010-63265066
网址：www.yxckb.com

生殖健康专刊

名誉顾问：乔杰 黄荷凤 陈子江
主编：徐丛剑
副主编：(按姓氏笔画排序)
千日成 孙赞 李蓉 杨冬梓 张硕 金丽 曹云霞 梁波

常务编委：(按姓氏笔画排序)
马学工 王晓红 卢美松 吕群 伍琼芳 刘睿智 孙晓溪
李君 杨菁 连方 宋学茹 张锋 张翠莲 陈秀娟
邵小光 武泽 武学清 林戈 周从容 郑备红 郝桂敏
胡蓉 曹韵东 倪亚莉 黄元华 黄国宁 黄学锋 梁晓燕
覃爱平 腊晓琳

编委：(按姓氏笔画排序)

马燕琳 王志强 王芳芳 王媛媛 邓华丽 卢伟英 田海清
史艳彬 白晓红 毕星宇 伏静 刘西茹 汤小晗 杜琛
李友筑 李昆明 李晶洁 肖卓妮 吴海萃 宋梦玲 张婷
张红国 张梦宇 张琬琳 张潇潇 陈慧 陈向锋 孟庆霞
赵志明 赵晓苗 侯振 胥琴 贺小进 倪昊花 黄品秀
曾湘晖 谭俊 潘洁雪 戴灿 魏玉保

编辑部主任：朱永青

编辑：(按姓氏笔画排序)

王霄 邓珂 孙敏 张萌 张雯碧 陈敏欣 范登轩
郑韵熹 赵玲颖 郜意 胥婧 郭婷

GnRH 拮抗剂通过降低 c-kit 受体的表达来削弱子宫内膜间质细胞的生长能力

【据《Reproductive Biology and Endocrinology》2022年2月报道】题：GnRH 拮抗剂通过降低 c-kit 受体的表达来削弱子宫内膜间质细胞的生长能力（中国江西妇幼保健院 作者 Ding-Fei Xu 等）

在体外受精新鲜胚胎移植过程中，与 GnRH 激动剂（GnRH-a）相比，使用促性腺激素释放激素拮抗剂（GnRH-ant）治疗的患者的着床率和临床妊娠率显著降低，推测是由于 GnRH-ant 对子宫内膜接受性的负面影响造成的。然而其相关的分子作用机制目前尚不完全清楚。

c-kit 受体由 c-kit 原癌基因编码，属于 III 型酪氨酸激酶家族成员之一。其配体干细胞因子（SCF）可特异性结合并激活 c-kit 受体，进而对细胞的增殖、凋亡、迁移、分化等多个重要生物学事件进行调控。基于其对多种细胞增殖的调节功能，c-kit 受体可能通过调控 hESC 增殖能力从而影响子宫内膜容受性，而 GnRH-ant 对子宫内膜容受性的影响是否会涉及 c-kit 受体呢？江西省妇幼保健院生殖医学中心伍琼芳团队 2022 年 2 月 4 日在 *Reproductive Biology and Endocrinology* 杂志发表文章“GnRH antagonist weakens endometrial stromal cells growth ability by decreasing c-kit receptor expression”，探讨了 GnRH-ant 对子宫内膜容受性的分子调控机制。

该研究回顾性分析了 2016 年 1 月至 2020 年 12 月期间在江西省妇幼保健院生殖医学中心接受新鲜胚胎移植的 2 815 例患者的临床资料。根据不同的促排方案分为 GnRH-ant 组（563 例）和 GnRH-a 组（2 252 例），比较两组之间的妊娠结局以及实验室指标。纳入标准：①不孕的原因为输卵管疾病和（或）男性因素；②年龄 ≤ 37 岁，体质指数（BMI）为 15~25 kg/m²，1.1 < 抗苗勒管激素（AMH）< 5.0，≤ 窦卵泡计数（AFC）≤ 20；③体外受精-胚胎移植（IVF-ET）史 ≤ 2 次。排除标准：子宫畸形、卵巢手术、放疗或化疗、卵巢早衰、卵巢功能障碍、子宫腺肌症、多囊卵巢综合征、甲状腺功能障碍、反复着床失败（3 次以上未成功妊娠）、黏膜下肌瘤、宫内粘连、输卵管积水及染色体异常的患者。

两组患者的一般资料差异无统计学意义。临床结局方面，与 GnRH-a 方案相比，经 GnRH-ant 组患者的子宫内膜厚度明显降低 [(9.11 ± 1.47) mm 比 (11.19 ± 1.92) mm, $P < 0.001$]。两组间获卵率、优质胚胎率差异无统计学意义，但 GnRH-ant 组中人绒毛膜促性腺激素（hCG）阳性率（62.95%）、胚胎移植率（40.00%）和临床妊娠率（55.41%）低于 GnRH-a 组（71.72%、47.62%、64.04%），差异均有统计学意义（均

$P < 0.001$ ），提示 GnRH-ant 方案很可能对子宫内膜容受性有负面影响。

随后，作者用不同浓度的 GnRH-a、GnRH-ant 或伊马替尼（c-kit 受体抑制剂）处理健康妇女在妊娠 8~10 周时选择性终止妊娠的子宫内膜基质细胞（hESCs）。利用 CCK8 和流式细胞仪分别检测 hESCs 的增殖水平以及凋亡情况，并使用免疫荧光染色和 Western blot 检测相关蛋白的表达水平。结果表明，GnRH-ant 显著降低 ESCs 增殖，诱导 ESCs 凋亡。此外，GnRH-ant 显著降低了在胚胎着床过程中发挥关键作用的 c-kit 受体的表达和激活。伊马替尼抑制 c-kit 的活化，从而可显著抑制 ESCs 的增殖，促进 ESCs 的凋亡。此外，与细胞生长密切相关的 AKT 的磷酸化和 Cyclin D1 的表达在伊马替尼作用后明显减少。

CCK8 和流式细胞术分析 GnRH-ant 对原代 hESCs 增殖及凋亡水平的影响。结果显示，GnRH-ant 和 GnRH-a 的浓度在 10⁻⁸ mol/L 和 10⁻⁵ mol/L 时，对细胞增殖能力无明显影响。当浓度升高到 2 × 10⁻⁵ mol/L 时，GnRH-ant 明显抑制 hESCs 增殖并诱导其凋亡。

免疫荧光结果提示 GnRH 受体与 c-kit 受体在 hESCs 中共定位，提示该两种受体之间可能存在潜在的调控关系。用 2 × 10⁻⁵ mol/L 浓度的 GnRH-ant 和 GnRH-a 分别处理 hESCs 后，与 GnRH-a 组相比，GnRH-ant 组中 c-kit 受体的表达水平及其磷酸化水平明显减弱。表明，GnRH-ant 显著降低了在胚胎着床过程中发挥关键作用的 c-kit 受体的表达和激活。

用不同浓度的伊马替尼（0 μmol/L、4 μmol/L、8 μmol/L、16 μmol/L、24 μmol/L、32 μmol/L）处理 hESCs，以确认抑制 c-kit 受体磷酸化所需的理想剂量。结果显示，随着伊马替尼浓度的增加，hESCs 增殖抑制程度和凋亡程度越来越明显。同时，伊马替尼在 32 μmol/L 时，对 hESC 细胞毒性较大。进一步选择 24 μmol/L 伊马替尼处理 hESC，结果显示，在抑制 hESC 中 c-kit 受体活化后，其下游信号分子 AKT 的磷酸化水平和 cyclin D1 的表达水平亦明显降低。表明，伊马替尼抑制 c-kit 的活化，显著抑制 ESCs 的增殖，促进 ESCs 的凋亡。

综上所述，本文研究表明，GnRH-ant 可通过抑制人子宫内膜间质细胞中 c-kit 受体的表达，削弱 c-kit 受体下游信号 AKT 活化水平，下调 Cyclin D1 的表达，进而使得 hESCs 增殖能力下降，最终影响子宫内膜容受性，导致胚胎植入失败。该研究为 GnRH-ant 对子宫内膜容受性的影响提供了新的理论基础和实验依据。

（上海市生物医药技术研究院 孙敏 编译）



依伴依® 依托孕烯植入剂

单根植入的单纯孕激素皮下埋植避孕剂

◆ 新生育时代下的友好避孕选择

- ♥ 一次植入三年有效
- ♥ 单根植入的皮下埋植剂，无需宫腔操作
- ♥ 不含雌激素，有雌激素禁忌的妇女可使用
- ♥ 可逆，取出后依托孕烯血清水平迅速下降，生育能力即可恢复
- ♥ 简便，可单手操作
- ♥ 不透射线，可通过成像技术准确定位

非实物大小
实际植入剂长4cm

依伴依® 简明处方信息

【药品名称】
通用名：依托孕烯植入剂。

【适应症】
避孕。本品是一种长效避孕药，皮下植入1支植入剂，提供长达三年的避孕效果。

【用法用量】
可在线观看本品植入及取出的视频（www.ImplanonNXTvideos.com）。如有问题请联系当地欧加隆（Organon）办事处（电话：021-80500100）。

• 本品推荐植入非惯用侧上臂内侧皮下避开大血管和神经的位置。
• 植入本品前需排除妊娠。常规情况（上个月没有使用过激素类避孕药的女性）推荐在自然月经的第1-5天植入本品，早孕流产或人工流产人群在流产后5天内植入本品，产后哺乳人群在第四个哺乳周后植入本品，产后非哺乳人群在产后21-28天植入本品。

• 使用者可在任何时候取出植入剂，但同一支植入剂不可持续埋植超过3年。取出前应明确定位。

• 强烈建议医疗专业人士在实施本品植入或取出操作前参加有关操作的培训，以熟悉本品给药器的使用以及本品的植入和取出技术。

【禁忌】在服用本品期间，如第一次出现以下任何一种情况，应立即停止使用：已知或可疑妊娠；活动性静脉血栓栓塞性疾病；现有或曾患有严重肝病，肝功能未恢复正常；已知或可疑的对性激素敏感的恶性肿瘤；现患肿瘤或有肿瘤病史（良性或恶性）；不明原因阴道出血；对本品任一成份过敏。

【注意事项】警告：如果有以下任何情况/危险因素，要个体化权衡使用孕激素的利弊，在决定使用本品前要与使用者讨论。一旦以下任何情况首次出现或情况加重、恶化，应与医生联系，由医生决定是否停止使用本品：乳腺癌；肝脏疾病；血栓和其他血管事件；高血压；对糖类和脂类代谢的影响；黄褐斑；体重；卵巢囊肿；异位妊娠；植入的并发症；体格检查/咨询；合并用药降低效果；月经出血模式的变化；植入剂断裂或弯曲。

【不良反应】使用本品期间，妇女的月经出血模式很可能有所改变。这些可能包括出血频率（无月经、月经频发、更频繁或持续），出血量（减少或增多）或出血时间改变。在临床试验中，出血情况的改变是停止使用本品最常见的原因（约11%）。前3个月的出血模式可以基本预测以后的出血模式。其他很常见（发生率>1/10）不良反应包括：阴道感染、头痛、痤疮、乳房胀痛、体重增加；其他常见不良反应（发生率<1/10，≥1/100）包括食欲增加、情绪不稳、情绪抑郁、神经质、性欲减退、头晕、潮热、腹痛、恶心、肠胃气胀、脱发、痛经、卵巢囊肿、植入部位反应、疲劳、流感样症状、疼痛、体重降低。

使用本品可能会改善痛经。
【批准文号】进口药品注册证号：H20130884
【生产企业】企业名称：N.V. Organon

*其他情况和少见不良反应参见中国大陆地区说明书

© 2024 CN-NPL 118020
本广告仅供医学专业人士参阅
沪广文广证字 231217-33844 号，有效期截至 2023 年 12 月 17 日

科学家揭示人卵母细胞纺锤极不稳定性的机制

【据《Science》2022年2月报道】题：人卵母细胞纺锤极组织和不稳定性的机制（德国马克斯·普朗克研究所 作者 Chun So 等）

人类卵子中的非整倍性是导致胚胎发育异常的主要原因，非整倍体卵会导致流产和遗传疾病，如唐氏综合征等。25%~50%的人类卵子是非整倍体，并且非整倍体率随着母亲年龄的增长而增加。目前仍不清楚为什么人类卵子如此容易发生非整倍体。非整倍体卵子的主要成因是卵母细胞发育成卵子过程中出现染色体分离错误。双极纺锤体驱动有丝分裂和减数分裂中的染色体分离，它们的正确组装是准确染色体分离的先决条件。正常有丝分裂细胞中纺锤体不稳定性极为罕见，其非整倍体率要低得多。有丝分裂细胞和卵母细胞以不同的方式组装纺锤体。在有丝分裂中，两个中心体充当主要的微管组织中心（MTOCs）并稳定两个纺锤极。跟体细胞不同的是，包括哺乳动物在内的大多数物种的卵母细胞在缺失中心体的情况下组装双极纺锤体来分离染色体。在人类卵母细胞中，两个纺锤极经常变宽和破碎，形成无极和多极纺锤体中间体。这些不稳定的纺锤体经常错位和错误分离染色体。然而，人类卵母细胞纺锤体不稳定的原因仍然未知。

目前主要在非哺乳动物卵母细胞和小鼠卵母细胞中研究了在没有中心体的情况下纺锤体是如何组织的。在非哺乳动物卵母细胞中，纺锤体的两极由交联微管的运动蛋白和非运动蛋白聚焦。在小鼠卵母细胞中，典型的中心体在功能上被无中心 MTOCs (aMTOCs) 取代。aMTOCs 缺乏中心粒，但含有许多其他的中心体成分。它们在两个纺锤极处形成环状簇，代表小鼠卵母细胞中微管成核和锚定的主要部位。包括人类、牛和猪在内的非啮齿类哺乳动物卵母

细胞中纺锤极组织的机制仍不清楚。与小鼠卵母细胞不同，来自这些物种的卵母细胞在其纺锤体两极缺乏明显的 aMTOC 病灶。尽管对这些卵母细胞的研究报告了一些蛋白质如 γ -微管蛋白和核有丝分裂器蛋白 (NUMA) 在纺锤体两极的定位，但这些卵母细胞如何组装它们的纺锤体极并控制它们的纺锤体极性而不依靠中心体和 aMTOCs 仍然知之甚少。

来自德国马克斯·普朗克研究所 Melina Schuh 团队发现人类卵母细胞缺乏分子马达蛋白 KIFC1 (驱动蛋白超家族蛋白 C1)，导致纺锤体不稳定 (图 1)。

首先，作者研究人类卵母细胞如何在缺失中心体的情况下组装形成纺锤极。纺锤

极组装需要通过微管交联蛋白捆绑平行微管，以及通过负端结合蛋白稳定和 (或) 锚定纺锤极区域中的微管负端。通过分析 4 种负端结合蛋白和四种微管交叉蛋白的定位，作者发现 NUMA 蛋白特异地标记纺锤体上的微管负端。NUMA 在减数分裂的所有阶段都位于两极。它在纺锤体双极化之前很早就被检测到，这表明一旦人类卵母细胞中形成两极，就会招募 NUMA。拯救实验进一步发现，在微管末端 NUMA 蛋白招募动力蛋白用于主轴极聚焦。随后，作者通过 Trim-Away 蛋白去除技术和显性失活突变体证明 NUMA 蛋白和动力蛋白在人类卵母细胞里组装纺锤极。

作者进一步研究了其他

哺乳类动物的纺锤极，发现 NUMA 在自然缺乏中心体的牛和猪卵母细胞的纺锤体极以及人为地去除中心体微管组织中心的小鼠卵母细胞中同样富集。因此，NUMA 以微管依赖的方式在无 aMTOC 的纺锤体极处形成稳定的支架。这个结果驱使作者研究纺锤体不稳定性是否是哺乳类动物卵母细胞利用 NUMA 蛋白组装纺锤极的一个共同结果。通过活细胞成像发现除了人类以外，牛、猪和无 aMTOC 的小鼠卵母细胞没有组装不稳定的纺锤体，这表明其他机制可以稳定这些卵母细胞中的纺锤体。

为此作者进行了 RNA 干扰筛选，配合转录组和蛋白分析，他们将分子马达 KIFC1 鉴定为存在于其他哺乳动物卵

母细胞中但在人类卵母细胞中存在的纺锤体稳定因子。其他哺乳动物卵母细胞中 KIFC1 的消耗概括了人类卵母细胞的纺锤体不稳定性，导致纺锤体极不稳定和非整倍性增加。为了进一步研究人卵母细胞中的纺锤体不稳定性是否是 KIFC1 缺乏的结果，作者将重组 KIFC1 蛋白注入人卵母细胞并进行纺锤体组装的实时成像。外源性 KIFC1 的引入稳定了纺锤体并减少了染色体分离错误，证实 KIFC1 缺乏会导致人类卵母细胞中的纺锤体不稳定 (图 2)。

本研究揭示了不同系统中主轴极组织的显著差异。在体细胞中，两个中心体充当主要的 MTOC 并促进双极纺锤体组装。在小鼠卵母细胞中，中心体在功能上被 aMTOC 取代。在包括人类在内的其他哺乳动物卵母细胞中，NUMA 在微管负端富集。NUMA 主要参与动力蛋白的运动活动，但也可以交联微管本身。这些活动允许 NUMA 聚集微管负端，从而在没有中心体或 aMTOCs 的情况下组织纺锤极。

作者还阐明了人类卵母细胞纺锤体不稳定的原因：人类卵母细胞缺乏 KIFC1，这是其他哺乳动物卵母细胞和癌细胞中的一种关键的纺锤体稳定蛋白。KIFC1 稳定纺锤极并防止其碎裂。这可能是通过在两极处沿平行微管形成静态交联以及在纺锤体中心区域排列反平行微管来实现的。因为人类卵母细胞缺乏 KIFC1，作者提出这些蛋白的缺乏会导致它们的纺锤体不稳定。

通过将确定量的 KIFC1 蛋白输送到人类卵母细胞中，能够降低纺锤体不稳定性 and 人类卵母细胞中非整倍体的风险。因此，本研究还揭示了一种提高人类卵母细胞中纺锤体组装和染色体分离保真度的潜在方法。

(复旦大学附属妇产科医院
邓珂 编译)

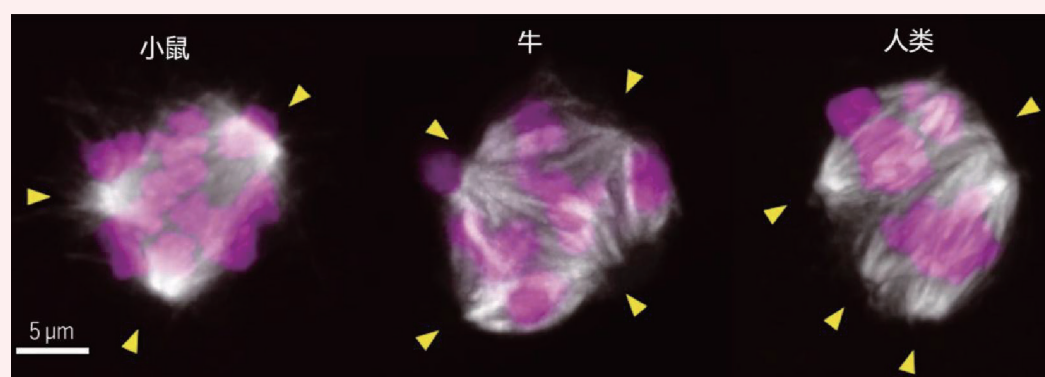


图 1 哺乳动物中的纺锤体不稳定性

如这些免疫荧光图像所示，在无 aMTOC 的小鼠卵母细胞 (左) 和牛卵母细胞 (中) 中，分子运动蛋白 KIFC1 的缺失导致多极纺锤体 (灰色) 和染色体 (品红色) 分离错误，再现了人类卵母细胞的纺锤体不稳定性 (右)。相反，外源性 KIFC1 的引入稳定了人类卵母细胞中的纺锤体。黄色的箭头突出显示多个纺锤极

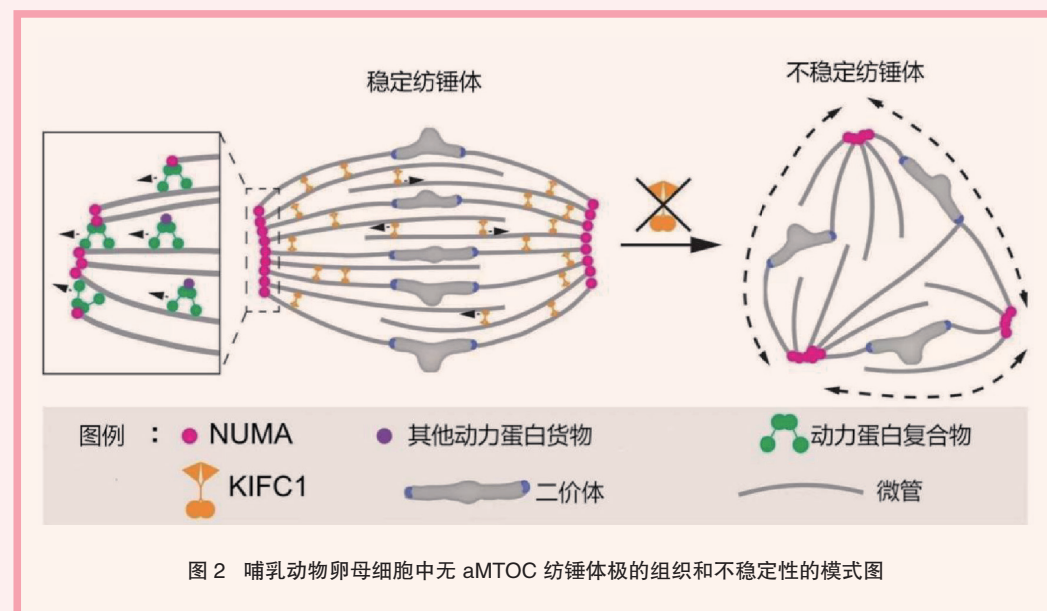
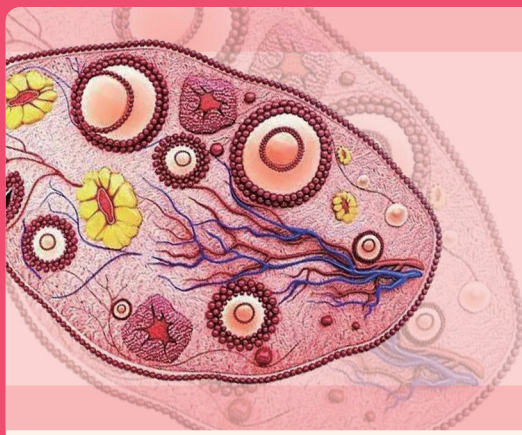


图 2 哺乳动物卵母细胞中无 aMTOC 纺锤体极的组织和不稳定性的模式图



TrkB 激活型抗体 ——改善女性生育力的潜在新药

【据《Nature Communications》2022年2月报道】题：TrkB 激活型抗体改善衰老小鼠模型以及环磷酸胺诱导卵巢早衰小鼠模型的生育力缺陷（中国清华大学 作者秦训思等）

卵巢早衰（POF）是一种发生在40岁以下女性卵巢功能减退的现象并导致不孕。随着现代社会生活节奏加快、精神压力增大、环境污染、饮食结构改变等影响，不孕不育现状堪忧，发病率日趋升高。然而目前并没有有效治疗 POF 的药物。

脑源性神经营养因子（BDNF）是一种被广泛研究的神经营养因子，现在也被称为卵巢内分泌因子。大量证据表明 BDNF 在卵泡发育中发挥作用。在小鼠中，BDNF 由颗粒细胞（GCs）和卵丘细胞（CCs）表达和分泌。同样，BDNF 和 TrkB 也分别可以在人类 GCs/CCs 和卵母细胞中检测到。有研究表明，BDNF 促进小鼠和其他动物卵母细胞在体外成熟。在人类中，POF 患者血浆 BDNF 水平降低。全基因组关联研究（GWAS）分析揭示了 Bdnf（11p14.1）和 POF 之间的遗传关联。BDNF 处理也促进了培养的未成熟卵母细胞的减数分裂成熟。尽管 BDNF-TrkB 信号传导失调与 POF 之间存在关联，但临床前和临床研究表明，BDNF 因其不良的药代动力学、有限的扩散性，以及其受体激活的非特异性，不能作为药物使用。同时，在以前的研究中，TrkB 从未被视为治疗 POF 的药物靶点。迄今为止，公布的所有 TrkB 激动剂或抗体专利中，POF 从未被列为疾病指征。

2022年，清华大学药学院鲁白教授团队在《Nature Communications》杂志发表文章“TrkB agonist antibody ameliorates fertility deficits in aged and cyclophosphamide-induced premature ovarian failure model mice”，展示了一种新开发的 TrkB 激动性抗体（Ab4B19），其理化性质优于 BDNF，可用

于治疗 POF。Ab4B19 通过小鼠尾静脉注射成功在卵巢中结合 TrkB。在两种不同的小鼠 POF 模型中，Ab4B19 具有逆转 POF 病理、挽救卵巢损伤和（或）恢复卵母细胞数量和质量的潜力。单细胞转录组分析表明，Ab4B19 可能在人类细胞中引发类似的效应。此项研究结果为 TrkB 可能作为 POF 药物靶点提供实验依据，并证明 TrkB 激动性抗体 Ab4B19 可能在治疗 POF，尤其是逆转不孕方面具有重要作用。

研究者通过免疫荧光染色，检测成年小鼠尾静脉注射后不同时间点内卵泡中的兔单克隆抗体 Ab4B19 水平，结果显示 Ab4B19 能够以时间依赖性的方式穿透卵泡，24 h 时存在于卵泡，到 48 h 更多聚集于颗粒细胞与卵母细胞中，并激活 TrkB 信号通路下游激酶 Akt1 和 ERK1/2。这些结果表明 Ab4B19 在卵巢中能与其靶标 TrkB 结合，为其在卵巢疾病中的潜在用途铺平了道路。

研究者通过体外培养的卵母细胞进行剂量反应实验，显

示 Ab4B19 有效增加了第一极体挤出；用 Ab4B19 处理的发情前期成年小鼠的卵巢组织中有更多的黄体，表明 Ab4B19 促进卵母细胞成熟。对 15 d 的青春前期小鼠进行 Ab4B19 处理，促进了窦性卵泡的发育而非原始卵泡和窦前卵泡的发育。同时，Ab4B19 提高了 AMH 及卵泡发育所需的 FSHR 的表达。因此 Ab4B19 有助于卵母细胞成熟和卵泡发育，但对原始卵泡的影响最小。

目前卵巢早衰的动物模型主要有两种：“自然衰老”模型（NA-POF）和“环磷酸胺化疗诱导”模型（Cy-POF）。研究者在这两种模型中继续验证 Ab4B19 能否减缓卵巢退化/减轻卵巢损伤，并挽救不孕症。

将 Ab4B19 注射到 NA-POF 中后，小鼠排卵显著增加，同时 TrkB 下游信号 Akt1 和 Erk1/2 的磷酸化也增加。进一步的机制研究显示，Ab4B19 阻止了卵巢退化的多个层面，包括纠正中断的发情周期；改善卵巢的形态并增加了卵泡数，减少闭锁卵泡，增加黄体的数

量，恢复窦前卵泡和窦前卵泡的发育，而不影响原始卵泡；逆转血液雌激素的异常；上调 AMH 和 FSHR 的表达等（图 1）。在交配实验中，经 Ab4B19 处理的 NA-POF 小鼠拥有更多胚胎，显示出更强的怀孕能力。同时 Ab4B19 治疗组平均每只小鼠产仔 3.6 只（范围为 0~6 只），而对照组的新生幼崽平均数量仅为 1.1 只（范围为 0~3 只）。来自 Ab4B19 治疗组母亲的新生幼崽（2 日龄）体质量正常，没有出现畸形；第二代后代小鼠中的一系列安全性评估实验也并未发现异常。

研究者也在 Cy-POF 中评估了 Ab4B19 保存原始卵泡的疗效。卵巢 H&E 染色显示，Ab4B19 显著减轻了 Cy 诱导的卵巢卵泡损伤（原始卵泡、早期生长卵泡、窦状卵泡数量减少）。虽然化疗诱导卵巢损伤的机制尚不完全清楚，但其通过凋亡对生长中的卵泡的直接毒性是显而易见的（图 2）。Ab4B19 处理增加了 BCL2 与 BAX 蛋白水平的比率，并降低了凋亡标志蛋白 cleaved-caspase-3 的表达，表明其抑制了 Cy 诱导的细胞凋亡。对不同发育阶段的卵泡进行量化表明，与对照处理的卵巢相比，Ab4B19 处理的卵巢在窦前和窦前早期的凋亡指数（caspase-3 阳性卵泡/总卵泡）得到挽救。接着，研究者探究了 Ab4B19 对 Cy-POF 小鼠生育能力的影响。结果显示，Ab4B19 治疗逆转了 Cy 诱导的卵巢损伤伴随的排卵卵母细胞数量减少、AMH 表达降低、FSH 升高、血

清雌二醇激素降低这些现象。交配试验表明，Ab4B19 治疗不仅增加了 Cy-POF 小鼠第一轮及第二轮交配的产仔数，还增加了小鼠成年期的分娩次数。以上结果表明，Ab4B19 治疗可以很好地修复 Cy-POF 模型中生长卵泡的促性腺毒性损伤，以及短期和长期的生育缺陷。

最后研究人员探究了 Ab4B19 对卵巢细胞的影响。CCK-8 实验表明 Ab4B19（0.2 nmol/L）促进了人类颗粒细胞系（KGN 细胞）的存活并刺激了 CREB 的磷酸化，为 Ab4B19 对人类卵巢细胞具有疗效提供了初步证据。研究者重新分析了单细胞 RNA-seq 数据，他们发现 BDNF 转录物在所有五个卵泡期的颗粒细胞中都有表达，在次级卵泡到窦状卵泡的卵母细胞中表达水平增加。更重要的是，两种 TrkB 亚型在人类卵母细胞和颗粒细胞中的表达模式与小鼠相似，表明人卵巢中存在与小鼠卵巢类似的功能机制。研究者还对年轻（高生育率组）和老年女性（低生育率组）的卵巢切片进行了 BDNF 免疫染色，发现老年女性卵泡中的 BDNF 表达明显低于年轻女性卵泡，提示 BDNF 与人卵巢衰老相关。为了进一步研究 Ab4B19 是否能激活人体组织中 TrkB 的信号，研究者从捐赠者身上解剖出具有可见卵泡的人类卵巢组织，将其分割成小块，用 BDNF、正常 IgG、Ab4B19 作用后提取蛋白进行 Western blotting 分析。与 BDNF 类似，用 Ab4B19 处理后 Erk 磷酸化显著增加。这些结果揭示了本研究的转化潜力：Ab4B19 对人类的治疗效果可能与小鼠模型相似。

尽管存在大量临床需求，但目前还没有 FDA 认证的 POF 药物。本项研究证明了靶向卵巢卵泡中 BDNF 受体 TrkB 的激动性抗体（Ab4B19）可能是 POF 治疗的潜在新药，在不久的将来也许能为 POI 患者带来福音。

（复旦大学附属妇产科医院 邵意 编译）

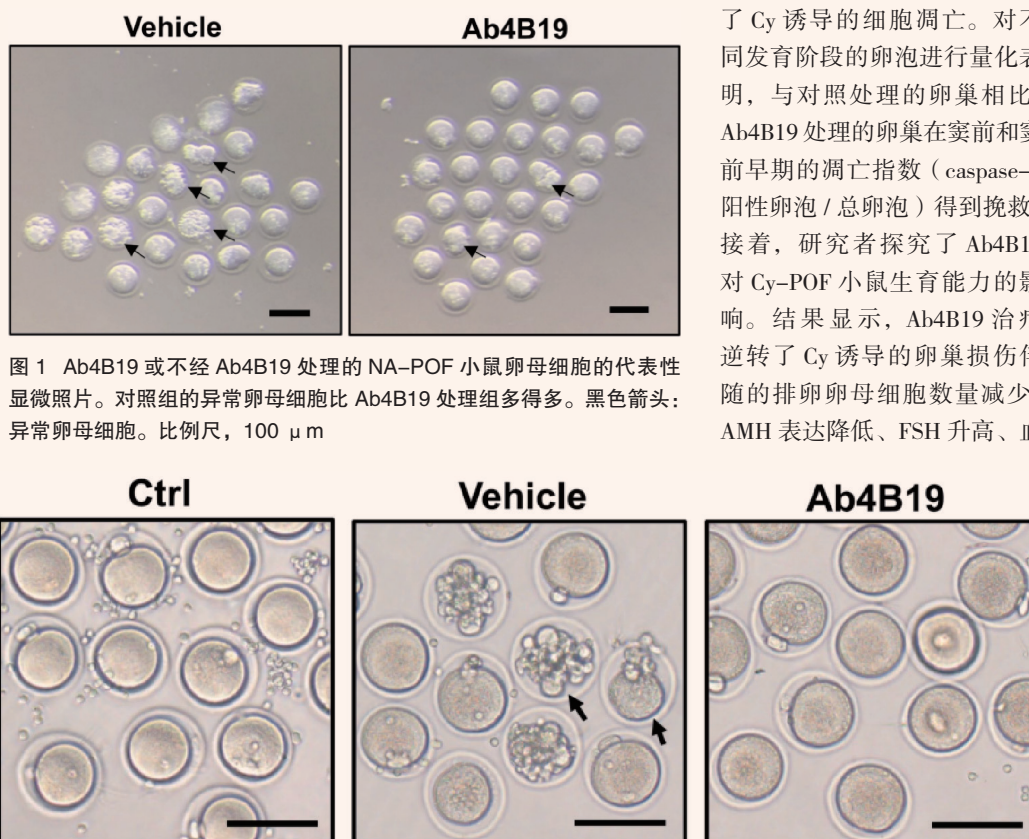


图 1 Ab4B19 或不经 Ab4B19 处理的 NA-POF 小鼠卵母细胞的代表性显微照片。对照组的异常卵母细胞比 Ab4B19 处理组多得多。黑色箭头：异常卵母细胞。比例尺，100 μ m

图 2 正常组、Ab4B19 或不经 Ab4B19 处理的 NA-POF 小鼠卵母细胞的代表性显微照片。Cy-POF 对照组的异常卵母细胞比对照组多，Ab4B19 治疗挽救了缺陷。黑色箭头：异常卵母细胞。比例尺，150 μ m

促性腺激素释放激素类似物（GnRHa）对中国绝经前乳腺癌患者卵巢功能的影响：一项随机临床试验

【据《JAMA Oncology》2022年2月报道】题：促性腺激素释放激素类似物对中国绝经前乳腺癌患者卵巢功能的影响：一项随机临床试验（中国上海交通大学附属第六人民医院 作者宗祥云等）

促性腺激素释放激素类似物（GnRHa）在绝经前乳腺癌患者的辅助治疗中发挥了重要作用。有研究表明，GnRHa可以抑制乳腺癌的进展，提高绝经前乳腺癌患者的生存率。此外，使用GnRHa治疗似乎可以预防卵巢功能衰竭，降低卵巢早衰（POI）的发生率和绝经早期的风险，并提高化疗后月经恢复和妊娠率。因此，欧洲医学肿瘤学会指南和欧洲人类生殖与胚胎学学会指南建议使用GnRHa保护卵巢功能。然而，关于GnRHa在肿瘤化疗期间保护卵巢功能的作用，仍有相互矛盾的证据；卵巢功能的评价标准也不一致，机制也不清楚。

上海交通大学附属第六人民医院宗祥云团队和中国科学院大学附属肿瘤医院合作开展了一项随机临床试验，期望确定绝经前乳腺癌女性化疗期间给予GnRHa是否可以减少卵巢功能的损害。该项研究为开放标签试验，试验对象为18~49岁可手术的I至III期绝经前妇女，计划在其含辅助或新辅助环磷酰胺的化疗时进行两个平行组治疗：使用或不使用GnRHa。研究结果表明，绝经前乳腺癌患者环磷酰胺化疗同时给予GnRHa可降低卵巢功能过早减退风险，从而促进卵巢功能恢复，并且可能提高年龄小于35岁患者的生存率。

研究者首先确定了评价卵巢功能的指标。以往关于卵巢功能保护的研究多以月经状况结合生殖激素（如卵泡刺激素、促黄体生成素、抑制素B）水平作为评价指标，评价结果的稳定性和可重复性较差。抗苗勒管激素（AMH）从妊娠36周开始分泌，在儿童期达到高峰，在成年早期保持稳定，然后随着年龄的增长而减少，直到绝经。研究者之前的研究还表明，AMH是预测化疗后卵巢功能的有效标志物，仅适用于35岁以上绝经前女性乳腺癌患者。此外，动物实验表明，大剂量环磷酰胺（CTX）显著减少了小鼠原始卵泡的数量，并降低了血清AMH水平。因此与前面提到的传统指标相比，AMH作为卵巢功能指标敏感、稳定、可靠。最新的欧洲医学肿瘤学会临床实践指南和欧洲人类生殖与胚胎学学会指南也建议将AMH作为卵巢储备的评估指标。在本研究中，低于0.5 ng/ml的AMH水平被视为POI。

在实验组（使用GnRHa）和对照组（不使用GnRHa）的分配上，研究者选择随机分配，分配比例为1:1。进入实验组的患者从第一个化疗周期前的

表1 POI和卵巢功能恢复率

POI (n=330) ^{a,b}	No. (%)			P值 ^c
	GnRHa组	对照组	总数	
基线				
否	146 (88.5)	155 (93.9)	301 (91.2)	0.12
是	19 (11.5)	10 (6.1)	29 (8.8)	
6个月				0.02
否	131 (79.4)	112 (67.9)	243 (73.6)	
是	34 (20.6)	53 (32.1)	87 (26.4)	
12个月				<.001
否	139 (84.2)	87 (52.7)	226 (68.5)	
是	26 (15.8)	78 (47.3)	104 (31.5)	
POI (n=301) ^d				
基线				
否	146 (100)	155 (100)	301 (100)	
是	0	0	0	
6个月				0.03
否	121 (82.9)	111 (71.6)	232 (77.1)	
是	25 (17.1)	44 (28.4)	69 (22.9)	
12个月				<.001
否	131 (89.7)	86 (55.5)	217 (72.1)	
是	15 (10.3)	69 (44.5)	84 (27.9)	
AMH恢复				<.001
否	10 (40.0)	38 (86.4)	48 (69.6)	
是	15 (60.0)	6 (13.6)	21 (30.4)	

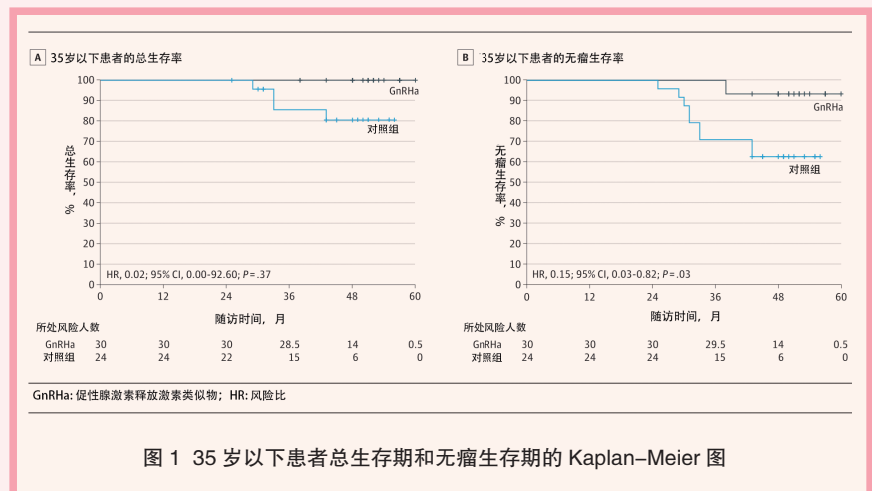
缩写：AMH：抗苗勒氏激素；GnRHa：促性腺激素释放激素类似物；POI：卵巢早衰。

a. 在接受最后一次化疗后6个月和12个月（基线AMH水平低于0.5 ng/ml的29例患者也包括在分析中），GnRHa组和对照组的POI发生率显著不同。GnRHa组和对照组POI发病率的趋势也不受纳入或排除这29例患者的影响；

b. 包括29例基线AMH水平低于0.5 ng/ml的POI患者；

c. Fisher精确 χ^2 检验，双侧；

d. 排除29例基线AMH低于0.5 ng/ml的POI患者



1~2周至最后一个化疗周期后的4周，每28 d皮下注射3.6 mg 戈舍雷林或3.75 mg 亮丙瑞林。对照组患者在接受化疗的同时不使用GnRHa。同时，为了尽量减少不同化疗方案对研究结果造成的偏差，研究者特意为每位患者选择含有CTX的化疗方案，共有4种化疗方案可选择：①TEC（多西紫杉醇+表阿霉素+环磷酰胺）；②EC-T（H）（表阿霉素+环磷酰胺4个周期，然后再进行4个额外周期的多西紫杉醇±曲妥珠单抗）；③TC（H）（多西紫杉醇+环磷酰胺±曲妥珠单抗）；④FEC（5-氟尿嘧啶+表阿霉素+环磷酰胺）。本研究中所有患者的化疗的效果与CTX的总剂量平衡[术前和术后化疗的总和为(2667±298) mg比(2655±297) mg, P=0.71]。

本项试验的主要终点是比较化疗结束后12个月时实验组和对照组化疗诱导POI的发生率。本研究将AMH小于0.5 ng/ml定义为卵巢功能不全。AMH恢复定义为在接受化疗后，最初的正常AMH值降低到小于0.5 ng/ml，但后来AMH水平恢复到大于0.5 ng/ml。主要终点的截止日期为2018年12月31日。次要终点是总生存期（OS）和无瘤生存期（TFS）。OS分析中的事件包括任何原因的死亡。TFS事件由以下1项的发生来定义：局部复发、远处转移、对侧或同侧乳腺肿瘤，或乳腺癌死亡。计划进行年度随访，以记录复发和死亡情况（上一次年度随访，2020年12月31日）。

研究者在2015年9月1日至2017年8月31日期间，共纳入了405例患者[中位年龄41岁（范围，25~49岁）]。在知情同意后，27例患者（6.7%）在仔细考虑后自愿退出，33名不符合纳入标准的患者（8.1%）被排除在外，因此345名患者（85.2%）被随机分配到实验组（171例）或对照组（174例）。共有15例患者（4.35%）失访，其中实验组有6例失访（3.51%），对照组有9例失访（5.17%）。最终，330例患者（两组均为165例）被纳入初步分析。根据登记时患者的基线数据，实验组有19例患者和对照组有10例患者被定义为POI（11.5%比6.1%；P=0.12）。因此，剩余301例[91.2%；实验组：平均（SD）年龄，40.6（6.7）岁；对照组：平均（SD）年龄，40.2（5.9）岁]有资格进行主要终点分析。

化疗结束后6个月时，实验组和对照组的平均（SD）AMH水平分别为1.55（1.23）ng/ml和1.17（1.08）ng/ml。实验组的POI率为17.1%（25/146），对照组为28.4%（44/155）（优势比为0.603，95%CI 0.390~0.933，P=0.03）（表1）。

化疗结束后12个月时，实验组和对照组的平均（SD）AMH水平分别为1.68（1.29）ng/ml和1.04（1.24）ng/ml。实验组的POI率为10.3%（15/146），对照组为44.5%（69/155），优势比为0.231，95%CI 0.139~0.385，P<0.001。实验组AMH恢复率显著优于对照组[60%（15/25）比13.6%（6/44），优势比为4.400，95%CI 1.958~9.886，P<0.001]（表1）。

中位随访49个月（范围，25~60个月）后，两组4年OS和TFS的差异不显著。但在年龄小于35岁的患者中，实验组的OS和TFS明显优于对照组（OS，100%比81%，P=0.01；TFS，93%比62%，P=0.004）（图1）。

本项随机临床试验首次针对中国或亚洲人群与乳腺癌相关的卵巢功能进行前瞻性研究且有效样本量高于之前所有关于卵巢功能的类似研究。研究结果发现绝经前乳腺癌患者服用GnRHa联合化疗可降低POI风险，促进卵巢功能恢复，为年轻乳腺癌患者的化疗期间生育力保存提供了临床依据；同时本研究还提示GnRHa的使用可能提高年龄小于35岁患者的生存率，故有必要进一步开展多中心大样本随机对照研究进行验证。

（复旦大学附属妇产科医院 邵意 编译）

父系表观遗传新发现

【据《Nature Cell Biology》2022年2月报道】题：携带 Argonaute 蛋白 WAGO-3 的膜相关细胞质颗粒使秀丽隐杆线虫的父系表观遗传成为可能（德国美因茨分子生物学研究所 作者 Jan Schreier 等）

表观遗传可使基因调控信息在不改变 DNA 序列的情况下跨代传递，使后代能够适应环境条件。小 RNA，尤其是短干扰 RNA (siRNA) 和 Piwi 相互作用 RNA (piRNA) 与表观遗传密切相关。这些分子作为 Argonaute 蛋白的序列特异性指导，进而调节目标基因表达。在线虫秀丽隐杆线虫中，22G-RNAs 是在表观遗传中具有确定作用的 siRNA。这些是在由 Mutator 蛋白 MUT-16 和 MUT-7 驱动的过程中产生的，并被蠕虫特异性 Argonaute (WAGO) 家族的成员结合，例如细胞质 WAGO-4 和核 HRDE-1 蛋白，这两者都被证实与母体表观遗传有关。Piwi 蛋白 PRG-1 通过卵母细胞遗传，母体 piRNA 可以启动 WAGO 依赖性沉默，这种沉默可以遗传数代，称为 RNA 诱导的表观遗传沉默 (RNAe)。

有趣的是，也存在第二类不依赖于 Mutator 的 22G-RNA。由 Argonaute 蛋白 CSR-1 结合，并且主要来源于在生殖系中表达和需要的基因。CSR-1 22G-RNAs 和突变体 22G-RNAs 不应该混合在一起，这样重要的基因就不会被不恰当地沉默。当胚胎具有功能性 Mutator 系统，但其父母同时缺乏 Mutator 22G-RNA 和 piRNAs 时，Mutator 系统开始产生通常仅限于 CSR-1 的 22G-RNA。因此，诸如 HRDE-1 之类的 WAGO 蛋白装载有 CSR-1 型 22G-RNA，导致 CSR-1 靶基因沉默，进而导致不育。这种称为 Mutator 诱导的不育 (Mis) 的表型有效地揭示了突变体 22G-RNA 的显著自我靶向潜力，并表明亲本 22G-RNA 和 piRNA 在抑制突变体系统这种危险的自身免疫样特性方面发挥着重要作用。

凝聚体是对亚细胞组织很重要的无膜细胞器。在秀丽隐杆线虫中，不同的凝聚物与小 RNA 途径和表观遗传有关——P 颗粒、Z 颗粒和 Mutator 点状信号，分别由 PGL-1、ZNF-1 和 MUT-16 组织架构。有趣的是，到目前为止，在成熟精子中还未发现这种凝聚体的证据。事实上，人们认为 P 颗粒

在精子发生过程中消失了，这可能与精子发生过程中大量细胞质减少有关。在秀丽隐杆线虫中，在减数分裂 II 期间，精子中例如内质网、高尔基体、游离核糖体和 Argonaute 蛋白 ALG-3 被丢弃形成一个残余体。因此，父系表观遗传是否可以通过细胞质导是值得怀疑的。

来自德国美因茨分子生物学研究所的 Falk Butter 研究团队确定了一种精子特异性胚芽颗粒，称为父系表观遗传 (PEI) 颗粒，它通过在秀丽隐杆线虫的精子发生过程中保留细胞质 Argonaute 蛋白 WAGO-3 来介导父系表观遗传，另外作者们在人类中发现了类似结构的蛋白，说明该表观遗传机制可能是保守的。

表观遗传缺陷的突变体

生殖细胞存活能力降低，作者发现 WAGO-3 突变体表现致命的生殖表型，进一步研究显示 WAGO-3 在 RNAe 相关的表观遗传沉默中具有特异性作用。通过免疫沉淀实验结果显示 WAGO-3 靶标和先前确定的由精子衍生的 22G-RNA 靶标之间存在大量重叠，表明 WAGO-3 是存在于精子中的。

通过构建绿色荧光蛋白标记的 GFP::3FLAG::WAGO-3 线虫品系进行共聚焦显微镜分析观察 WAGO-3 在生殖细胞发生的所有阶段的表达定位情况，在有丝分裂、减数分裂和原始生殖细胞中 WAGO-3 均定位于 P 颗粒 (图 1)。

那么 WAGO-3 所形成的凝聚物中包含了什么成分呢？

作者通过免疫沉淀及无标记定量质谱分析显示，除了已知的 P 颗粒成分，作者还鉴定出一种新的颗粒蛋白 PEI-1。那么，PEI-1 和 WAGO-2 与 P 颗粒的关系是怎样的呢？研究表明，从初级精母细胞开始，WAGO-3 在胞质中开始积累，远离核周范围，P 颗粒开始消失，PEI-1 开始表达，并与 WAGO-3 共定位；但是在 PEI-1 突变体中，WAGO-3 仍然与 PGL-1 共定位，在精子中表达缺失，反而累积在残余体中，作者认为，PEI-1 定义了一种精子发生特异性胚芽颗粒——PEI 颗粒，它可以募集 WAGO-3，这一过程促进精子成熟并分离。进一步通过杂交实验发现 PEI-1 和 WAGO-3 在

男性中是特别需要的，但在女性中并不是必需的。因此得出结论，PEI-1 和 WAGO-3 在父系表观遗传中具有关键作用。

PEI 颗粒右能是如何发挥自身功能呢？PEI-1 的 N 端区域预计采用 BTB 折叠，然后是 BACK 结构域，而 PEI-1 的 C 端部分预计为固有无序区域 (IDR)。根据这些预测，作者编辑了五种不同的 PEI-1 变体，并分析了它们对初级精母细胞中 PEI-1 和 WAGO-3 表达的影响，发现 PEI-1 颗粒的 IDR 对于募集和稳定 WAGO-3 至关重要。另外 BTB、BACK 以及其内在无序序列对于在精子发生过程中 PEI 颗粒的形成以及稳定也非常关键。同时，通过液-液相分离检测方式，作者对 PEI 颗粒的液态特征进行了进一步的确认。另外，研究团队还鉴定发现了 PEI-1 的相互作用蛋白 PEI-2。作者们发现 PEI 颗粒分离与精子特异性分泌囊膜需要 PEI-2 以棕榈酰化依赖的方式进行运输，从而确保精子发生过程中的正常运行 (图 2)。

总的来说，该研究确定了一种精子特异性胚芽颗粒，称为父系表观遗传 (PEI) 颗粒，它通过在秀丽隐杆线虫的精子发生过程中保留细胞质 Argonaute 蛋白 WAGO-3 来介导父系表观遗传。同时作者们鉴定了 PEI 颗粒蛋白 PEI-1 和 PEI-2，它们在此过程中具有不同的功能：颗粒形成、Argonaute 选择性和亚细胞定位。并且其 PEI 颗粒形成过程涉及棕榈酰化翻译后修饰，该工作为液-液相分离活性调节的生物学过程提供了新的见解。并且，在人类中发现了类似 PEI 的蛋白质，这表明所确定的机制可能是保守的。

(复旦大学附属妇产科医院 邓珂 编译)

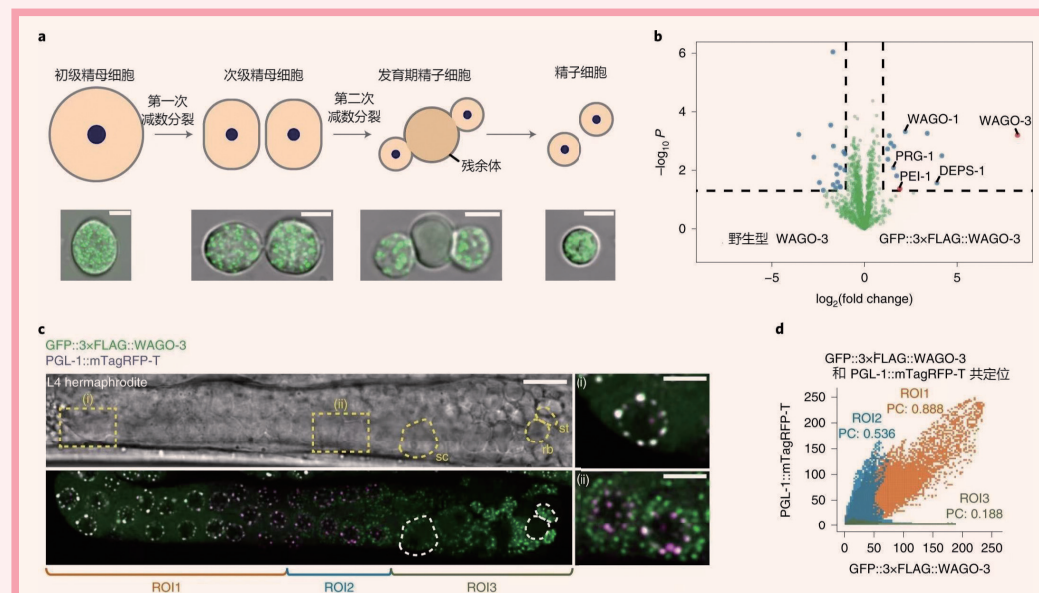


图 1 WAGO-3 在线虫生殖细胞系不同发育阶段均形成凝聚体颗粒

a. 秀丽隐杆线虫精子发生示意图。表达 GFP::3xFLAG::WAGO-3 的雄性细胞的相应共聚焦图像如下所示。比例尺，4 μm 。b. 来自 L4 晚期雌雄同体提取物的四份 GFP::3xFLAG::WAGO-3 IP 实验的无标记蛋白质组学定量。x 轴表示对照与基因组编辑菌株中单个蛋白质的平均富集倍数。y 轴表示观察到的富集的 $-\log_{10} P$ 。虚线显示 P 处的阈值=0.05 和双重富集。蓝色和绿色数据点分别代表高于和低于阈值。WAGO-3 和 PEI-1 以红色数据点突出显示。c. 共聚焦显微镜照片显示了表达指定蛋白质的 L4 晚期雌雄同体的精子发生。PGL-1::mTagRFP-T 用作 P 颗粒标记。生殖细胞发育从左到右进行。黄色虚线框 (i 和 ii) 指示的区域在右侧放大。ROI1: PGL-1::mTagRFP-T 和 GFP::3xFLAG::WAGO-3 共定位; ROI2: GFP::3xFLAG::WAGO-3 留下 P 颗粒; ROI3: PGL-1::mTagRFP-T 信号不再检测到。rb, 残余体; sc, 精母细胞; st, 精子细胞。比例尺，10 μm (近端性腺) 和 4 μm (放大图像)。d. GFP::3xFLAG::WAGO-3 和 PGL-1::mTagRFP-T 之间的共定位分析基于 c 中显示的图像。来自 ROI1-ROI3 的信号分别以橙色、蓝色和绿色绘制。x 和 y 轴表示荧光强度。PC, 皮尔逊相关系数

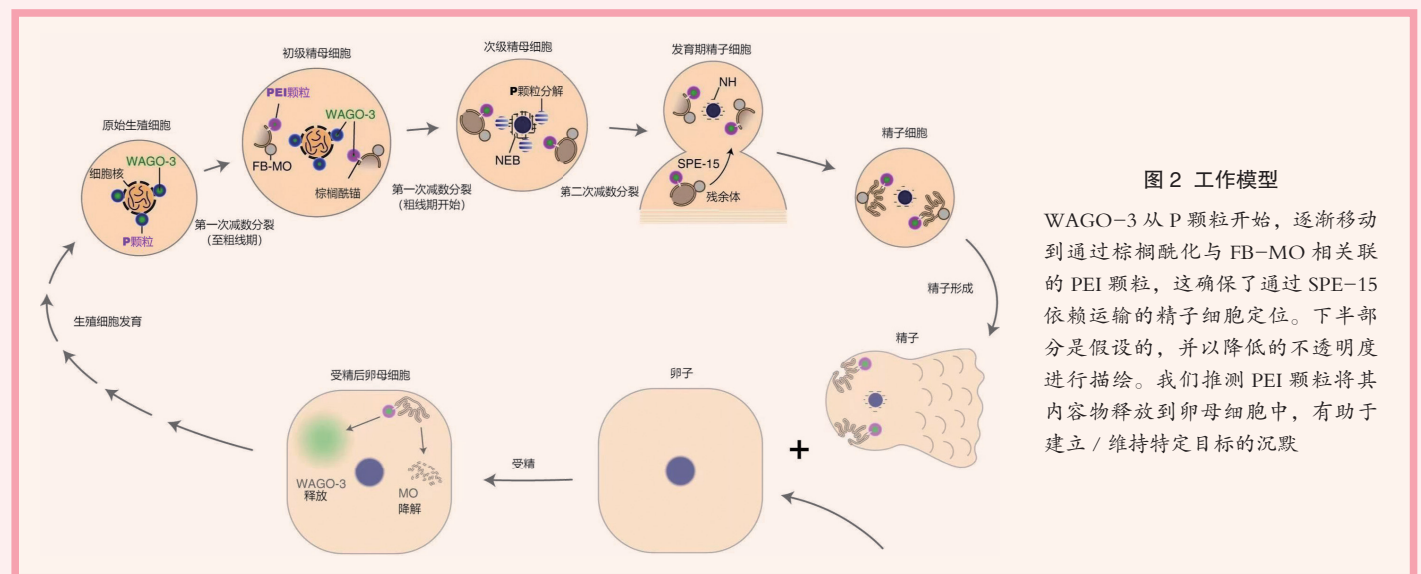


图 2 工作模型

WAGO-3 从 P 颗粒开始，逐渐移动到通过棕榈酰化与 FB-MO 相关联的 PEI 颗粒，这确保了通过 SPE-15 依赖运输的精子细胞定位。下半部分是假设的，并以降低的不透明度进行描绘。我们推测 PEI 颗粒将其内容物释放到卵母细胞中，有助于建立/维持特定目标的沉默

男性维生素 D 缺乏与男性不育

【据《Fertility and Sterility》2021年7月报道】题:男性维生素D水平与男性因素不育(美国弗吉尼亚联邦大学 作者 Nicole Banks 等)

维生素D缺乏症是一种常见的病症,一般定义为25-羟基维生素D[25(OH)D]水平小于20 ng/ml (< 50 nmol/L)。维生素D在骨骼健康和代谢中具有重要作用,但关于其在男性生殖中的重要性尚未达成共识。目前,维生素D受体和维生素

表1 维生素D水平筛查中男性受试者及其女性伴侣的基线人口统计特征

特征	男性维生素D水平 < 20 ng/ml (n=128)	男性维生素D水平 ≥ 20 ng/ml (n=128)	P 值
年龄, 中位数(四分位), 岁	37.0 (32.0 ~ 40.0)	33.0 (30.0 ~ 36.0)	0.029
体质量指数(BMI)中位数(四分位), kg/m ²	29.1 (25.2 ~ 31.6), n=24	27.6 (24.2 ~ 31.0), n=128	0.400
肥胖(BMI ≥ 30 kg/m ²), n (%)	9/24 (37.5%)	38/128 (29.7%)	0.447
种族, n (%)			
西班牙裔或拉丁裔	2/26 (7.7%)	7/128 (5.5%)	0.418
非西班牙裔	22/26 (84.6%)	116/128 (90.6%)	
未知	2/26 (7.7%)	5/128 (3.9%)	
人种, n (%)			<0.001
白种人	12/26 (46.2%)	107/128 (83.6%)	
黑种人	8/26 (30.8%)	5/128 (3.9%)	
亚洲人	2/26 (7.7%)	7/128 (5.5%)	
美洲印第安人或阿拉斯加土著	0/26 (0.0)	1/128 (0.8%)	
未知	3/26 (11.5%)	7/128 (5.5%)	
混血	1/26 (3.8%)	1/128 (0.8%)	
不孕时长, 中位数(四分位), 月	24.0 (16.0 ~ 36.0)	24.0 (16.0 ~ 36.0)	0.973
吸烟史, n (%)			
从未吸	13/26 (50.0%)	75/128 (58.6%)	0.406
目前吸	5/26 (19.2%)	13/128 (10.2%)	
以前吸	8/26 (30.8%)	40/128 (31.3%)	
抽血季, n (%)			
春季	2/6 (33.3%)	12/45 (26.7%)	0.876
夏季	0/6 (0.0)	7/45 (15.6%)	
秋季	1/6 (16.7%)	10/45 (22.2%)	
冬季	3/6 (50.0%)	16/4 (35.6%)	
日照时长, 中位数(四分位), 分值	3.5 (3.0 ~ 5.0)	3.0 (3.0 ~ 4.0)	0.553
女性年龄, 中位数(四分位), 岁	32.0 (29.0 ~ 36.0)	32.0 (29.0 ~ 34.5)	0.563
女性体质量指数(BMI), 中位数(四分位), kg/m ²	26.2 (21.9 ~ 28.3), n=25	24.0 (22.3 ~ 27.3), n=126	0.622
女性肥胖(BMI ≥ 30 kg/m ²), n (%)	5/25 (20.0%)	17/126 (13.5%)	0.399
女性种族, n (%)			
西班牙裔或拉丁裔	3/26 (11.5%)	6/128 (4.7%)	0.023
非西班牙裔	20/26 (76.9%)	119/128 (93.0%)	
未知	3/26 (11.5%)	3/128 (2.3%)	
女性人种, n (%)			<0.001
白种人	14/26 (53.8%)	106/128 (82.8%)	
黑种人	10/26 (38.5%)	3/128 (2.3%)	
亚洲人	2/26 (7.7%)	11/128 (8.6%)	
美洲印第安人或阿拉斯加土著	0/26 (0.0)	0/128 (0.0)	
未知	0/26 (0.0)	2/128 (1.6%)	
混血	0/26 (0.0)	5/128 (3.9%)	

表2 维生素D是否缺乏情况下的基线精子分析参数和DNA断裂

参数	维生素D < 20 ng/ml	维生素D ≥ 20 ng/ml	P 值
精子浓度(百万/ml)	19.0 (11.0 ~ 52.0)	19.0 (10.2 ~ 38.2)	0.504
精子浓度 ≤ 1500 万/ml	11/26 (42.3%)	52/128 (40.6%)	0.874
正常形态(%)	6.5 (4.0 ~ 10.0), n=22	5.0 (2.0 ~ 8.0), n=94	0.133
正常形态 ≤ 4%	7/22 (31.8%)	41/94 (43.6%)	0.312
总运动性(%)	44.7 ± 20.2	43.8 ± 16.1	0.908
总运动性 ≤ 40%	14/26 (53.8%)	58/128 (45.3%)	0.427
DNA断裂(SCSA, DNA断裂指数)(%)	20.4 (13.6 ~ 35.1), n=23	19.7 (14.2 ~ 27.9), n=112	0.518
DNA断裂 > 25%	9/23 (39.1%)	35/112 (31.3%)	0.463

注: SCSA: 精子染色体结构分析

素D代谢酶已在睾丸、男性生殖道和精子中被发现, 这为维生素D缺乏或不足在男性因素不育中的潜在作用提供了生物学上的合理性。此外, 还有研究表明, 缺乏维生素D受体的小鼠精子数量和活动力下降, 补充钙剂后情况得到改善。

目前, 维生素D水平和精液参数之间的相关性研究结果不一致, 且较少有研究涉及妊娠结局。美国杜克大学的 Banks 等发表了题为“Male vitamin D status and male factor infertility”的文章, 探讨了轻度男性因素不孕夫妇的男性维生素D缺乏与生育结局之间的关联。

该研究数据来源于从一项针对男性、抗氧化剂和不孕症(MOXI)的多中心、随机临床试验数据, 作者对此数据进行了二次分析。主要指标是基线检测时的精子浓度、运动性、形态和DNA断裂。次要指标包括妊娠、活产和根据MOXI方案尝试妊娠6个月后的流产率。参与研究的男性患有不育症, 6个月内至少有一次精液参数出现异常。他们被随机分配接受安慰剂或每日服用市售含有维生素D的抗氧化剂。该研究中维生素D缺乏被定义为25(OH)D水平<20 ng/ml, 维生素D不足被定义为25(OH)D水平在20~29 ng/ml之间。维生素D充足被定义为大于等于30 ng/ml。此外, 男性种族、体质量指数(BMI)、抽血季节和总日照量(通过日光暴露和行为量表问卷测量)作为对维生素D水平具有生物学上合理影响的协变量。由于25(OH)D水平<20 ng/ml和≥20 ng/ml的二分类组之间存在显著差异, 精液参数的回归分析中包括了男性年龄和人种。女性种族和人种与男性种族和人种高度相关, 因此没有包含在妊娠结局的回归分析中。

研究纳入了154对夫妇, 其中男性25(OH)D水平<20 ng/ml组有26例, 25(OH)D水平≥20 ng/ml组有128例。两组患者在种族、年龄差异有统计学意义(P=0.029, P<0.001)(表1), 精液参数和精子DNA断裂率差异无统计学意义(P均>0.05)(表2)。用含有2000 IU维生素D的抗氧化剂治疗3个月后维生素D水平与基线水平差异无统计学意义(变化了0.8 U, 95% CI -2.4~7.3, P=0.47)。

在这154对夫妇中, 39对(25%)在研究期间妊娠。不同维生素D水平下, 在治疗组和安慰组的妊娠率和活产率差异均无统计学意义(P均>0.05), 而在整个队列中25(OH)D水平<20 ng/ml组流产率[62.5%(5/8)]高于25(OH)D水平≥20 ng/ml组[12.9%(4/31)], 差异有统计学意义(P=0.009), 且所有9例流产均发生在男性25(OH)D水平<30 ng/ml的夫妇中。

综上, 本文结果显示, 维生素D缺乏似乎不会对精液参数或精子DNA断裂产生负面影响。男性缺乏维生素D不影响女性妊娠率和活产率, 但可能会提高妊娠丢失率。由于本研究中样本量较少, 这一结果还需增加样本量进一步研究验证。

(复旦大学附属妇产科医院 赵玲颖 编译)

Reproductive and Developmental Medicine

Reproductive & Developmental Medicine (RDM), now published by Lippincott®, is an international, peer-reviewed, open access journal, and covers a broad range of topics, including reproductive endocrinology, reproductive immunology, gametogenesis, fertilization, embryo development and implantation, birth defect, reproductive genetics, biology of reproduction, fertility preservation, andrology, genetic diagnosis, preimplantation genetic testing, germline stem cell research, and new techniques and methods in reproductive medicine and developmental biology.

Article types published:

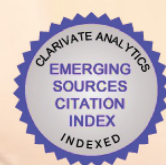
- Original research (basic, clinical, and translational)
- Reviews
- Meta-analyses
- Guideline articles
- Methodology articles
- Letters to the Editor
- Editorial
- Perspectives
- Correspondence

Benefits to Authors:

- International, peer-reviewed journal
- No Article Publishing Charges (APCs)
- Professional editorial process and rapid review
- Indexed with, or included in:
 - Web of Science
 - SCOPUS
 - Emerging Sources Citation Index (ESCI)
 - Directory of Open Access Journals (DOAJ)

Wolters Kluwer

Editor-in-Chief:
Prof. Cong-Jian Xu
Obstetrics and Gynecology
Hospital of Fudan University,
Shanghai, China



Authors: Visit RDM to learn more----

Journal website: <https://journals.lww.com/rdm>
Submission site: <https://www.editorialmanager.com/rdm/>

生殖健康专刊长期合作伙伴

Abbott 雅培

ORGANON
Here for her health

BASECARE
贝康医疗
股票代码 2170HK

GenSci
金赛药业