

## 抑制素 B 与人类生殖

天津医科大学总医院生殖医学中心(300052) 陶中娥综述 随笑琳审校

**摘要** 抑制素 B(INH-B)由生殖系统细胞分泌,在女性可以较直接地反映卵巢储备,而了解卵巢储备能预测辅助生殖技术过程中卵泡对垂体促性腺激素的反应及预后。近年来,有较多学者研究了抑制素 B 与卵巢储备在辅助生殖技术中的意义,估计预后,采取最佳的超促排卵(COH)方案,以提高低反应者的妊娠率。近年还发现抑制素 B 参与男性精子的发生,在男性不育患者中预测无精症患者精子获得率等方面也有重要意义。

**关键词** 抑制素 B 辅助生殖技术 卵巢储备 精子发生 隐睾

抑制素 B(INH-B)由生殖系统细胞分泌产生,与生殖力有密切联系,具有对生殖功能内分泌、旁分泌和自分泌的调节作用。其参与女性卵泡发育调控及男性精子的发生,在辅助生育治疗中对卵巢功能评估、卵泡监测、预测无精症患者精子获得率等方面有重要意义。

### INH-B 概述

#### 一、INH-B 生理

成熟的 INH 是一种 32ku 的二聚体糖蛋白激素,由  $\alpha$  亚基和  $\beta$  亚基通过二硫键连接而成。形成 INH-A( $\alpha$ -A)和 INH-B( $\alpha$ -B)后者是转化生长因子超家族的成员,由中小窦状卵泡的颗粒细胞分泌,自早卵泡期起升高,直至围排卵期达高峰,黄体期逐渐降低,反映中小卵泡的功能。INH 的主要生理作用是反馈性抑制垂体卵泡刺激素(FSH)的分泌,其对生殖的内分泌/旁分泌调节作用主要是通过改变雌二醇( $E_2$ )底物的量而调节  $E_2$  的产生。

#### 二、INH-B 的调节

INH 分泌主要受促性腺激素(Gn)调节,通过蛋白激酶 A 即 PKA 信号转导途径促进颗粒黄体细胞分泌 INH-A 和 INH-B。而后者更主要是通过蛋白激酶 C 即 PKC 信号转导途径调节,局部产生的胰岛素样生长因子(IGFs)可能是 INH 产生的重要诱导剂,激活素能上调 INH-B 分泌,而表皮生长因子、转化生长因子、卵泡抑素则抑制 INH 分泌<sup>[1]</sup>。

#### 三、INH-B 的受体

INH-B 特异性受体目前尚不清楚,以往认为 INH 可能通过与激活素竞争同一受体而产生作用。最近发现与 INH 具有高度亲和力的特异性结合蛋白,推测其可能是 INH 的受体。近年来,在垂体和卵巢上发现了高亲和力的 INH 结合位点不能与过量的激活素相竞争。因此提出了一种特异性抑制素受

体的假说。一种与抑制素具有高度亲和力的细胞表面特异性抗原 P120,可能是抑制素的特异性受体。

#### 四、INH-B 的影响因素

吸烟对卵巢储备有直接的负面效应,因为其能使血清 INH-B 水平降低<sup>[2]</sup>。有学者研究发现,INH-B 在吸烟妇女和非吸烟妇女中无明显区别。该研究表明,卵巢储备低下者,INH-B 水平低与吸烟高度相关(95%CI 为 1.1~7.6),体质指数(BMI)与卵巢储备低下无关,但是低 INH-B 和高 FSH 与年龄增长相关。

#### INH-B 与女性生殖

##### 一、INH-B 与卵巢储备

卵巢储备能力是指卵巢皮质区卵泡生长、发育、形成可受精的卵母细胞的能力,是由卵巢内存留的卵泡数量和质量决定的,反映女性生育能力。卵巢产生卵子的能力减弱,卵母细胞质量下降,导致生育能力下降,称为卵巢储备降低。目前已有一系列指标用于评价卵巢储备功能:如年龄、基础 FSH、基础  $E_2$ 、FSH/黄体生成激素(LH)比值、氯米芬刺激试验、促性腺激素释放激素激动剂(GnRHa)刺激试验、外源性刺激试验、基础卵巢体积及基础窦卵泡计数、抗苗勒管激素等。

育龄妇女 INH-B 的下降先于 INH-A,并与  $E_2$  的升高同步,而 INH 和  $E_2$  对 FSH 都具有负反馈作用,INH-B 是卵泡数目减少的早期标志物。Tinkanen 等<sup>[3]</sup>认为基础卵巢内小窦状卵泡数量与基础 INH-B 呈正相关,基础 FSH、BMI 与 INH-B 呈负相关。Dzik 等<sup>[4]</sup>在月经周期第 3 天外源性 FSH 卵巢刺激试验(EFFORT)中发现,卵巢储备功能正常的妇女,基础 INH-B 和 EFFORT 前后 24 h 的 INH-B 差值明显高于卵巢反应差的妇女,因此认为,INH-B 对 EFFORT 的反应性可作为体外受精(IVF)前断定卵巢反应性的指标。在体外受精-胚胎移植(IVF-ET)治疗中发现,月经周期第 3 天 INH-B 较低者,其促排卵所需

FSH用量较大、对 $E_2$ 的反应性低、获卵数较少、临床妊娠率低、周期取消率高,与第3天INH-B正常者相比,各项指标差异有显著性,并且第3天INH-B的下降要早于第3天FSH的上升,同时因INH由卵巢颗粒细胞产生,故可作为反映卵巢储备的直接指标。Ravhon等<sup>[5]</sup>将取卵数/重组FSH(rFSH)总量,卵泡数/rFSH总量作为卵巢反应性的指标,动态监测醋酸布舍瑞林后INH-B, $E_2$ 与IVF周期反应性的指标发现,INH-B浓度(第2天和第3天)与卵巢反应性明显呈正相关。

总之,血清INH-B水平对评价卵巢储备功能具有重要意义,如果检测费用更经济、方法更简便,则应用会更广。

## 二、INH-B与其他预测指标之间的关系

INH-B与其他卵巢储备功能预测指标之间具有相关性。卵巢内小窦状卵泡数量与基础INH-B值呈正相关,基础FSH,BMI与INH-B呈负相关。研究认为,INH是氯米芬刺激试验的生理基础,氯米芬的抗雌激素作用阻断 $E_2$ 对下丘脑-垂体轴的负反馈,此时INH成为FSH分泌的唯一抑制因素,卵巢储备下降妇女第3天和第10天INH-B下降导致FSH升高。这些都表明,INH-B已成为卵巢储备监测的一项重要指标。

## 三、INH-B与卵泡监测

Fawzy等<sup>[6]</sup>通过测定促排卵治疗第4天(即月经第5天)的血清INH-B发现,月经周期第5天血清INH-B水平与成熟卵泡( $>14$  mm)、取卵数、受精率高度相关,认为INH-B对促排卵效果具有预测价值。Eldar-Geva等<sup>[7]</sup>发现INH-B与取卵数呈正相关,推论在采用固定剂量FSH促排卵的早期测定血清INH-B,能够较早推测募集卵泡中至成熟卵泡的数目。Sonntag等<sup>[8]</sup>将46例接受IVF/胞浆内单精子注射(ICSI)的妇女随即分成两组:组1给予GnRH激动剂(GnRHa)(15例,长方案),组2给予促性腺激素释放激素拮抗剂(GnRHa)(31例)。发现组1第1天及第6天INH-B水平与人绒毛膜促性腺激素(hCG)日直径 $>17$  mm卵泡数及获卵数呈明显正相关,第6天INH-B与hCG日 $E_2$ 明显相关。组2第1天、第6天INH-B水平与总FSH及每日FSH用量呈负相关。组1则未显示该关系。而且,组2中第1天、第6天INH-B与FSH促排时间呈明显正相关,而组1只是第6天INH-B水平与促排时间呈负相关。

基础INH-B水平与成熟卵泡数目高度相关,还能够预测IVF获卵数目,与受精率高度相关。

## 四、INH-B与多囊卵巢综合征(PCOS)

有学者发现,PCOS患者INH-B水平可正常,但INH-B水平与小窦状细胞数目呈正比,正常INH-B水平说明PCOS患者早期小窦状卵泡细胞数目正常,而整体卵泡数目并未增多<sup>[9]</sup>,高龄的PCOS患者INH-B水平降低,标志着早期小窦状卵泡数目减少,意味着生育能力的降低<sup>[10]</sup>。

## 五、INH-B与胚胎质量

Dokras等<sup>[11]</sup>对20例子宫内膜异位症(EMs)不孕症患者进行研究,结果显示,其血清INH-B水平明显低于输卵管因素不孕者,且 $E_2$ 水平下降,获卵数减少,认为EMs患者卵泡颗粒细胞功能受损,卵泡补充不足或卵子成熟障碍,致使受精机会减少。卵泡液中的INH-B可能是一个了解卵泡发育和预测胚胎质量的有效标志物。

## 六、INH-B与IVF结局

年龄和获卵数是妊娠的最强预测指标,而INH-B值在妊娠组和非妊娠组有较大的重叠,只能反映卵巢的储备,不能作为预测妊娠的独立指标,只有较低的基础FSH和较高的基础INH-B结合起来,才对妊娠有预测价值。有研究表明,颗粒细胞INH-B表达强度与获卵数呈正相关,颗粒细胞INH-B表达强度与临床妊娠率不存在相关性,提示颗粒细胞INH-B的表达不能直接预测IVF临床结局。Urbancsek等<sup>[12]</sup>认为促排卵日INH-B不是一个较好的预测指标。取卵日高INH-B是独立于年龄、 $E_2$ 峰、获卵数和胚胎数的较好的预测临床妊娠的指标。另有学者研究未发现INH-B(使用Gn第3天INH-B-IVF周期第2天INH-B)与临床妊娠率之间存在直接相关性,但仍可通过INH-B的某个界值,帮助临床估计促排卵效果,预测IVF妊娠结局。该学者还发现,早在促排卵第3天INH-B即与获卵数呈线性正相关。因此,在促排早期就可根据INH-B的变化预计该周期获卵情况,及时调整Gn用量,以获得适当数量的卵子。

IVF的结局受多种因素的影响,配子发生与成熟、受精和着床的条件与过程是受孕的关键因素。IVF过程中涉及到以上任何环节和过程的因素均会对其结局产生影响。因此,作为反映卵巢功能的指标,INH-B与IVF妊娠结局的关系也不断受到关注<sup>[13]</sup>。

INH-B虽然不能直接预测IVF临床结局,但可反映卵巢对促性腺激素的反应,成为Gn启动日指导药物用量的有效参考指标之一。

## INH-B与男性不育

INH是生殖细胞分泌的糖蛋白激素,主要包括

INH-A 和 INH-B。男性 INH 的主要产物及重要生理形式是 INH-B。INH-A 尚难检出且无生物活性,在性腺发育障碍或睾丸切除者血中难以检出 INH-B,说明睾丸产生 INH-B。文献报道,INH-B 作为男性重要循环 INH 的形式,在男性不育与辅助生殖方面得到广泛应用<sup>[14-15]</sup>。其水平与精子发生或损害有良好的相关性,直接反映睾丸功能和生精上皮状态,被认为是评价精子发生最佳的内分泌标志物。产生精子是睾丸的主要功能之一,精子发生于 INH-B 合成都有赖于睾丸 Sertoli 细胞。INH-B 水平既能反映 Sertoli 细胞功能状态,也可以作为睾丸生精功能的评价指标。在输精管切除术后的男性,精浆及性腺未发育或睾丸切除男性血肿检测不到 INH-B。Kumanov 等<sup>[16]</sup>研究发现,INH-B 是优于 FSH 和 LH 的反映生精功能的标志物。其直接反映 Sertoli 细胞功能,与精子计数和睾丸体积及睾酮明显正相关,但与 FSH 和 LH 明显负相关。INH-B 可能是睾丸功能一个有用而且直接的标志物,也可能是生精功能更好的标志物,而且可能有助于在评估和治疗男性不育中规范出一系列新的治疗方法。此外,INH-B 作为睾丸生精小管 Sertoli 细胞的产物,可比 FSH 更直接地反映睾丸生精功能,可作为非梗阻性无精症患者睾丸精子抽吸(testicular sperm extraction, TESE)结局的预测指标,判定 TESE 成功与否的血 INH-B 临界值为 >40 ng/L (敏感性为 90%,特异性为 100%)<sup>[17]</sup>。然而其不能取代显微附睾精子抽吸术<sup>[18]</sup>。

隐睾是导致男性不育常见原因,de Gouveia Brazao 等<sup>[19]</sup>研究发现,INH-B 水平可作为睾丸受损的一个标志物。隐睾患者生精功能受损,其 INH-B 水平更低,而且早期(1~4 岁)行睾丸固定术者其 INH-B 和精子密度明显高于晚期行手术者(5 岁及以后),建议及早施行睾丸固定术。

### 展 望

近年来随着辅助生殖技术的迅速发展,正逐渐揭示出 INH-B 在生殖内分泌中的作用。颗粒细胞 INH-B 表达可反映卵巢的反应性及颗粒细胞自身的功能状态。血清 INH-B 水平下降是反映卵巢储备功能下降的直接指标。较 FSH 水平升高、E<sub>2</sub> 水平下降和 FSH/LH 比值改变更早期、更敏感。基础内分泌素值在正常范围内的患者也可能是卵巢储备下降<sup>[20]</sup>。INH-B 对卵巢储备功能的预测及评价男性不育患者的生精功能有较为肯定的作用,但对妊娠的预测价值尚不能肯定,需与其他指标联合应用。不过,根据促排早期血清 INH-B 的变化,可及早调整 Gn 用量

并采取干预措施,以获得适当数量的卵子,帮助临床改善妊娠结局。

### 参 考 文 献

- [1] Vanttinen T, Liu J, Hydén-granskog C. Regulation of immuno-reactive inhibin A and B secretion in cultured human granulosa luteal cells by gonadotropins, activin A and insulin-like growth factor type-1 receptor [J]. *J Endocrinol*, 2000, 167(2): 289-294.
- [2] Lambert-Messerlian GM, Harlow BL. The influence of depression, body mass index, and smoking on serum inhibin B levels in late reproductive-aged women [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2006, 91(4): 1496-1500.
- [3] Tinkanen H, Blauer I, Laippala P, et al. Correlation between serum inhibin B and other indications of the ovarian function [J]. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2001, 94(1): 103-113.
- [4] Dzik A, Lambert Messerlian C, Izzo VM, et al. Inhibin B response to Effort is associated with the outcome of oocyte retrieval in the subsequent in vitro fertilization cycle [J]. *Fertil Steril*, 2000, 74(6): 1114-1117.
- [5] Ravhon A, Lavery S, Michael S, et al. Dynamic assays of inhibin B and oestradiol following Buserelin acetate administration as predictors of ovarian response in IVF [J]. *Hum Reprod*, 2000, 15(11): 2297-2301.
- [6] Fawzy M, Lambert A, Harrison RF, et al. Day 5 inhibin B levels in a treatment cycle are predictive of IVF outcome [J]. *Hum Reprod*, 2002, 17(6): 1535-1543.
- [7] Eldar-Geva T, Robertson DM, Cahir N, et al. Relationship between serum inhibin A and B and ovarian follicle development after a daily fixed dose administration of recombinant follicle-stimulating hormone [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2000, 85(2): 607-613.
- [8] Sonntag B, Kiesel L, Nieschlag E, et al. Association of inhibin B serum levels with parameters of follicular response in a randomized controlled trial comparing GnRH agonist versus antagonist protocols for ovarian hyperstimulation [J]. *J Assist Reprod Genet*, 2004, 21(7): 249-255.
- [9] Laven JS, Imani B, Eijkemans MJ, et al. Absent biologically relevant associations between serum inhibin B concentrations and characteristics of polycystic ovary syndrome in normogonadotrophic anovulatory infertility [J]. *Hum Reprod*, 2001, 16(7): 1359-1364.
- [10] Bili H, Laven J, Imani B, et al. Age-related differences in features associated with polycystic ovary syndrome in normogonadotrophic oligo-amenorrhoeic infertile women of reproductive years [J]. *Eur J Endocrinol*, 2001, 145(6): 749-755.
- [11] Dokras A, Habana A, Giraldo J, et al. Secretion of inhibin B during ovarian stimulation is decreased in infertile women with endometriosis [J]. *Fertil Steril*, 2000, 74(1): 35-40.
- [12] Urbancsek J, Hauzman E, Klinga K, et al. Use of serum inhibin B levels at the start of ovarian stimulation and at oocyte pickup in the prediction of assisted reproduction treatment outcome [J]. *Fertil Steril*, 2005, 83(2): 341-348.
- [13] Urbancsek J, Hauzman E, Klinga K. Use of serum inhibin B levels at the start of ovarian stimulation and at oocyte pickup in the prediction of assisted reproduction treatment outcome [J]. *Fertil Steril*, 2005, 83(2): 341-348.
- [14] Pierik FH, Burdorf A, de Jong FH, et al. Inhibin B: a novel marker of spermatogenesis [J]. *Ann Med*, 2003, 35(1): 12-20.
- [15] Andersson AM, Petersen JH, Jorgensen N, et al. Serum inhibin B and follicle stimulating hormone levels as tools in the evaluation of infertile men: significance of adequate reference values from proven fertile men [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2004, 89(6): 2873-2879.
- [16] Kumanov P, Nandipati K, Tomova A, et al. Inhibin B is a better marker of spermatogenesis than other hormones in the evaluation of male factor infertility [J]. *Fertil Steril*, 2006, 86(2): 332-338.
- [17] Nowroozi MR, Radkhah K, Avati M, et al. Serum inhibin B concentration as a prognostic factor for prediction of sperm retrieval in testis biopsy of patients with azoospermia [J]. *Arch Iran Med*, 2008,

11(1): 54-56.  
 [18] Smit M, Dohle GR, Wildhagen MF, et al. Can inhibin-B predict the outcome of microsurgical epididymal sperm aspiration in patients with suspected primary obstructive azoospermia [J]. Asia J Androl, 2007, 9(3): 382-387.  
 [19] de Gouveia Brazao CA, Pierik FH, Erenpreiss Y, et al. The effect of

cryptorchidism on inhibin B in a subfertile population [J]. Clin Endocrinol, 2003, 59(1): 136-141.  
 [20] Hohmann FP, Laven JS, de Jong FH, et al. Relationship between inhibin A and B, estradiol and follicle growth dynamics during ovarian stimulation in normo-ovulatory women [J]. Eur J Endocrinol, 2005, 152(3): 395-401.

## 邻苯二甲酸二乙基己酯生殖发育毒性及其机制

上海交通大学医学院附属新华医院上海市环境与儿童健康重点实验室(200092)

曹露露综述 颜崇淮 沈晓明审校

**摘要** 邻苯二甲酸二乙基己酯(di-2-ethylhexyl phthalate, DEHP)是一种使用广泛的邻苯二甲酸酯类增塑剂,研究表明,其是一种具有生殖毒性和发育毒性的环境雌激素,可通过消化系统、呼吸系统及皮肤接触等途径进入人体,也可通过胎盘和乳汁到达下一代体内。生殖毒性机制主要有与睾丸Leydig细胞、Sertoli细胞、germ细胞等作用干扰雄激素合成,也可通过干扰芳香酶活性及与激素合成运输有关的基因及蛋白的表达影响激素的合成、分泌及运输。DEHP主要通过影响胎盘脂质及锌代谢影响胚胎发育。由于种属之间代谢差异,把动物实验结果外推到人类还有诸多问题需要考虑,但流行病学调查资料显示,DEHP对人类健康产生不利影响。

**关键词** 生殖毒性 发育毒性 毒性机制

邻苯二甲酸酯类是一种使用广泛的人工合成有机化合物,可作为农药载体、驱虫剂、化妆品、香味品、润滑剂和去泡剂等生产原料,是塑料产品生产工艺中备受欢迎的改性添加剂。在种类繁多的邻苯二甲酸酯类化合物中,市场用量最大的是邻苯二甲酸二乙基己酯(di-2-ethylhexyl phthalate, DEHP)。DEHP以非共价键与聚氯乙烯等结合,在使用塑料产品过程中可以从塑料产品中释放出来成为环境污染物。

DEHP进入人体对健康产生多方面不利影响,尤其是生殖发育毒性已得到了广泛关注。2003年10月美国加利福尼亚州将DEHP列入该州已知的能引起生殖系统或早期发育损害的七百余种化学品名单,2005年7月5日欧洲议会投票决定,在所有玩具和儿童保健用品中禁用DEHP等3种邻苯二甲酸盐增塑剂。本文将近几年研究为依据,对其生殖发育毒性及相关机制进行综述。

DEHP作为一种人类长期低剂量接触的环境污染物,可通过多种途径进入人体。普通人群接触DEHP的途径主要有:日常生活:在食品加工、包装、储存、运输过程中可能会受到污染,尤其是和油脂类物质接触时更容易释放出来,通过消化道进入人体;由于低水溶性和低蒸汽压力,在室外空气和水中含量很少,但在室内,DEHP很容易和空气中溶胶粒子结合通过呼吸道进入人体;另外,在建筑材料、固定剂和去污剂中也可能含有DEHP,在使用这

些产品过程中,可通过皮肤进入人体。医疗活动:各种医疗设备包括输液设备、血袋等,材料大多为含有DEHP的塑料,在进行医疗活动时,DEHP可能会释放到体内,与体内脂溶性物质结合。职业场所暴露:工业生产过程中,DEHP可能会泄露到环境中<sup>[1]</sup>。

### 流行病学调查资料

流行病学调查资料表明,DEHP影响人类健康,其中处于生长发育期的儿童是高危人群。Koch等<sup>[2]</sup>通过测定尿液中代谢产物含量评估人体摄入情况,结果表明,儿童摄入量高于成人,原因可能有:婴幼儿及儿童手口动作比较多。正处于生长发育期婴幼儿及儿童每千克体质量消耗的能量大,所需食物量也多,DEHP经口途径进入体内的机会也增加<sup>[1]</sup>。Swan等<sup>[3]</sup>的调查证实,尿液中邻苯二甲酸酯类增塑剂代谢产物含量与男性婴幼儿肛门与生殖器之间距离(anogenital distance, AGD)缩短相关,但统计学意义不显著,原因可能是样本量小。Pan等<sup>[4]</sup>选择职业人群进行病例对照研究,选择工作场所经常接触到DEHP等增塑剂的74例工人作为病例组,工作场所不经常接触到DEHP等增塑剂的63例工人作为对照组,分别测定尿液中DEHP、邻苯二甲酸二丁酯(di-n-butyl phthalate, DBP)代谢产物及血清游离睾酮含量,结果表明,在暴露组和非暴露组,尿液中邻苯二甲酸-单-乙基己基酯(mono-2-ethylhexyl phthalate, MEHP)含量分别为565.7和5.7 μg/g肌酐(P<0.001),血清游离睾酮含量分别为8.4和9.7 μg/g肌酐(P=