

# 抗苗勒管激素在辅助生殖技术中预测卵巢反应性的价值

张 芳, 李艳萍\*

(中南大学湘雅医院生殖中心, 长沙 410001)

**【摘要】** 目的: 探讨抗苗勒管激素 (anti-Müllerian hormone, AMH/MIS) 在辅助生殖技术中预测卵巢反应性的价值。方法: 按纳入标准选择 80 例第一次接受 IVF-ET 治疗的患者, 于启动周期月经第 2 天用酶联免疫吸附法 (ELISA) 测定血清 AMH 水平; 电化学免疫发光法测定基础血清 FSH、LH、E<sub>2</sub>、T、PRL。同时用超声诊断仪为卵巢窦卵泡计数。记录促性腺激素总量、获卵数等。结果: (1) 卵巢低反应组 ( $n = 14$ ) 与正常反应组 ( $n = 66$ ) 基础 AMH 水平分别为  $0.38 \pm 0.27 \text{ ng/ml}$ 、 $2.10 \pm 1.25 \text{ ng/ml}$  差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); (2) 获卵数与基础血清 AMH、窦状卵泡数 (AFC) 呈正相关, 相关系数分别为  $0.776$ 、 $0.577$  与 FSH、FSH/LH 呈负相关, 相关系数分别为  $-0.405$ 、 $-0.528$ 。多元线性回归分析各项指标对获卵数的影响按序依次为基础血清 AMH、AFC、FSH、FSH/LH、年龄; (3) 基础血清 AMH ROC<sub>AUC</sub> 为  $0.961$ 。卵巢低反应的基础血清 AMH Cut-off 值为  $0.562 \text{ ng/ml}$  时, 其灵敏度可达  $96\%$ 、特异性  $86\%$ 、阳性预测值  $92.3\%$ 、阴性预测值  $97\%$ 。结论: 辅助生殖技术中基础血清 AMH 水平与目前临床常用指标相比, 预测卵巢反应性的诊断价值最高, 且灵敏、简便、经济。

**【关键词】** 抗苗勒管激素; 卵巢反应性; 控制性超排卵; 辅助生殖技术

中图分类号: R713.7 文献标识码: A 文章编号: 1004-7379(2009)11-0819-04

**The prediction study of ovarian response by anti-Müllerian hormone in ART.** Zhang Fang, Li Yanping. Reproductive Medicine Center, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410001

**【Abstract】 Objective** To explore the value of anti-Müllerian hormone (AMH/MIS) to predict ovarian response in IVF women. **Methods** Eighty infertile women who had underwent the first cycle IVF-ET were recruited. Serum levels of AMH, E<sub>2</sub>, FSH, LH, T and PRL were tested at cycle day 2, and antral follicle count (AFC) was estimated by ultrasound scanning. The information of retrieved oocytes number, mature oocytes and high quality embryos were also collected. **Results** (1) Median serum AMH levels in the low and normal response group were ( $0.38 \pm 0.27 \text{ ng/ml}$  vs  $2.10 \pm 1.25 \text{ ng/ml}$ ), and the mean AMH levels had statistical significant difference in each group. (2) Linear correlation analysis showed that the oocytes retrieved was positively correlated to basal AMH level and AFC ( $r = 0.776$ ,  $r = 0.577$ ), however it had negative correlation to basal FSH level and FSH/LH ( $r = -0.405$ ,  $r = -0.528$ ). (3) Multivariate regression analysis demonstrated that the contribution of number of retrieved oocytes was mainly contributed by day 2 serum AMH, then was AFC, FSH, FSH/LH and age. (4) The AMH  $\leq$  ROC<sub>AUC</sub> was  $0.961$ . When  $0.562 \text{ ng/ml}$  was selected as the AMH cut-off value, the sensitivity was  $96\%$  and specificity was  $86\%$ , the positive predictive value was  $92.3\%$  and negative predictive value  $97\%$ . **Conclusions** Cycle day 2 serum AMH/MIS level is a better predictor of ovarian response in comparison with other currently available markers in ART.

**【key words】** Anti-Müllerian hormone; Ovarian response; Controlled ovarian hyperstimulation; Assisted reproductive Techniques

\* 通讯作者 Email: lisayanping@sina.com

随着 ART 技术的日益成熟, IVF-ET 现已广泛用于治疗不孕症。卵巢对外源性促性腺激素 (Gn) 刺激的反应性对 ART 成功与否起着重要作用。卵巢低反应发生率约 10%<sup>[1]</sup>。因此, 在开始这项费用昂贵, 技术复杂的侵入性操作前, 预测卵巢反应性十分重要。既有利于从疗效角度筛选患者, 以制定个体化治疗方案; 又可作为病因诊断, 部分解释不明原因不孕患者的病因。抗苗勒管激素 (antiMüllerian hormone AMH) 仅由卵巢内窦前及小窦卵泡的颗粒细胞分泌, 它可间接反映卵巢储备——卵泡池内始基卵泡数量。本研究采用回顾性分析, 探讨 ART 中血清 AMH 作为卵巢反应性新的预测指标的可能性及其应用价值。

### 1 资料与方法

#### 1.1 研究对象及分组

1.1.1 一般临床资料 2006年 8月~11月, 湘雅医院生殖中心第一次接受 IVF-ET 治疗的 80对不孕夫妇。平均年龄 32.1±3.8岁 (23~43岁), 平均不孕 6.1±3.2年 (1~15年)。纳入标准: (1)有正常月经周期 (25~35天); (2)双侧卵巢存在。排除标准: (1)近 3个月内曾服用甾体类激素药物治疗; (2)患有影响卵巢排卵, 促性腺激素及甾体类性激素分泌、清除及代谢类疾病。

1.1.2 分组标准及促排卵方案 周期获卵数 ≤ 5枚, 用药后发育卵泡 < 3枚或因对 rFSH 无反应而放弃治疗为“取消”, 均为卵巢低反应组; 周期获卵数 > 5枚为卵巢反应正常, 周期获卵数 > 15枚为卵巢高反应。为便于统计卵巢高反应归为卵巢正常反应组。采用本中心常规改良短方案进行控制性超排卵治疗。

#### 1.2 方法

1.2.1 标本采集 于月经次日 9时空腹抽取肘静脉血 4ml 离心吸取上清保存待测。

1.2.2 血清激素检测及窦卵泡计数 用酶联免疫吸附法 (ELISA) 检测血清 AMH (试剂盒由美国 DSL 公司提供)。化学免疫发光法检测血清 FSH、LH、E<sub>2</sub>、T、PRL (E170全自动化学免疫发光仪及相应试剂盒由瑞士 ROCHE 公司提供), 严格按试剂盒说明操作。用超声诊断仪频率 50Hz 于月经第 2 天对所有患者行消毒阴道超声检查。二维超声计数窦卵泡 (直径 > 2mm 卵泡)。

1.3 统计学处理 用 SPSS11.5 软件。数值以  $\bar{x} \pm s$  表示, 卵巢低反应组与正常反应组组间均数用独立样本 *t* 检验。各项预测指标与卵巢反应性行相关性及多元线性回归分析, 相关性用 Spearman 相关系数表示。血清 AMH 及其他预测指标作受试者工作特征曲线 (ROC 曲线)。依据 ROC 曲线确定 AMH Cutoff 值, 评价其预测价值。检验水准  $\alpha = 0.05$ 。

### 2 结果

低反应组 14 例, 其中取消 2 例; 正常反应组 66 例。两组不孕年限、体重指数 (body mass index BMI)、基础血清 E<sub>2</sub>、LH、T、PRL 均无显著差异 ( $P > 0.05$ ), 表明两组有可比性, 见表 1。

2.1 两组基础血清 AMH 及各项指标的水平比较 卵巢低反应与正常反应组的基础血清 FSH、AMH、AFC、FSH/LH 及年龄、成熟卵子数、Gn 总量、优质胚胎数均有显著差异 ( $P < 0.05$ )。两组基础血清 AMH 水平分别为 0.38±0.27ng/ml 及 2.10±1.25ng/ml。低反应组 AMH 水平明显低于正常反应组。年龄、Gn 总量、成熟卵子数、优质胚胎数组间差异, 见表 2 表 3。

表 1 两组一般情况及基础 T、PRL、E<sub>2</sub>、LH 水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	不孕年限 (t/年)	BMI (kg/m <sup>2</sup> )	E <sub>2</sub> (p/pg·mL <sup>-1</sup> )	LH (U/L)	T (c/nmol·L <sup>-1</sup> )	PRL (p/mg·L <sup>-1</sup> )
低反应组	14	6.1±3.8	21.28±2.87	48.09±1.93	4.68±1.93	26.56±17.43	20.50±7.89
正常反应组	66	5.6±2.9	22.81±3.98	57.82±4.57	4.70±2.67	31.11±17.42	15.85±8.38

表 2 两组各预测指标比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	AMH (p/ng·mL <sup>-1</sup> )	FSH (U/L)	FSH/LH	AFC (n)
低反应组	14	0.38±0.27	11.57±5.42	2.50±0.74	4.64±2.10
正常反应组	66	2.10±1.25	6.54±1.88	1.79±1.22	6.82±2.10
P		0	0.004	0.041	0.001

表 3 两组各观察指标比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	年龄 (岁)	Gn 总量 (n)	成熟卵子 (n)	优质胚胎 (n)
低反应组	14	34.2±4.1	44.9±19.6	2.4±1.5	1.6±1.2
正常反应组	66	31.7±3.7	29.7±9.5	10.9±4.6	5.8±2.7
P		0.022	0.022	0	0

2.2 基础血清 AMH 与获卵数、Gn用量相关性分析  
基础血清 AMH 及各预测指标与获卵数、Gn用量密切相关。以 AMH 与获卵数、Gn总量相关性最高, 见表 4。

表 4 各项预测指标与获卵数、Gn总量相关性分析

项目	与获卵数相关性		与 Gn用量相关性	
	r	P	r	P
AMH	0.776	< 0.05	-0.422	< 0.05
FSH	-0.405	< 0.05	0.299	< 0.05
FSH/LH	-0.528	< 0.05	0.350	< 0.05
AFC	0.577	< 0.05	-0.394	< 0.05

2.3 各预测指标与获卵数多元线性回归分析 各相关因素引入多元线性回归方程, 复相关系数  $r = 0.793$  决定系数  $r^2 = 0.630$  方程经  $F$  检验  $P = 0.000$  所拟合的多元线性回归方程有统计学意义。基础血清 AMH、FSH、FSH/LH、AFC、年龄的标准回归系数  $\beta$  分别为 0.483、-0.098、-0.065、0.292、-0.035。对获卵数影响最大的为 AMH。

2.4 基础血清 AMH 预测卵巢低反应的价值 各项预测指标作 ROC 曲线: 基础血清 AMH、FSH、FSH/LH 及 AFC 的曲线下面积 (ROC<sub>AUC</sub>) 分别为 0.961、0.184、0.192、0.781。AMH 预测诊断卵巢低反应的价值最大。获卵数 < 5 枚的 AMH Cut-off 值取 0.562 ng/ml 其灵敏度达 96%, 特异性 86%。以 AMH ≤ 0.562 ng/ml 作为阳性标准, AMH (+) 13 例, 其中发生卵巢低反应 12 例, 其阳性预测值 92.3% (12/13)。AMH (-) 67 例, 卵巢正常反应 65 例, 其阴性预测值 97% (65/67)。

### 3 讨论

3.1 AMH 结构与功能 抗苗勒管激素又称苗勒管抑制物 (Müllerian inhibiting substance, MIS), 属于转化生长因子- $\beta$  (transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ ) 超家族。出生后 AMH 由卵巢颗粒细胞分泌<sup>[2]</sup>, 在卵泡发育过程中有特异性表达模式。血清 AMH 直接由卵巢窦前及小窦卵泡的颗粒细胞分泌。Kevenaar 等<sup>[3]</sup>动物实验发现, 小鼠血清 AMH 水平与始基卵泡数量密切相关, 其水平可间接反映卵巢内始基卵泡数量。放化疗对女性卵巢毒性主要是使始基卵泡大量丧失。Lie 等<sup>[4]</sup>研究了接受过化疗的 25 例肿瘤患者, 分别测定其化疗前后 AMH 水平, 发现治疗后 AMH 明显低于治疗前, 表明 AMH 可以灵敏地反映始基卵泡数量。

3.2 AMH 与卵巢反应性 ART 中卵巢对 Gn 反应

性降低的最主要原因是卵巢储备降低—卵巢内始基卵泡数量减少。ART 成功的关键因素之一是采取最佳控制性超排卵 (COH) 方案, 以获得数量适中的优质卵子及胚胎。本研究显示, 卵巢低反应组的年龄较正常组大, COH 后成熟卵子数及优质胚胎数显著减少。卵巢储备虽随年龄增长逐渐降低, 但其下降速度有明显的个体差异。2005 年 van Rooij 等<sup>[5]</sup>对正常排卵的 81 位妇女随访 4 年后检测血清 AMH、FSH、E<sub>2</sub>、NH、AFC 水平, 血清 AMH 水平明显下降, 而其他指标无明显改变。不仅表明血清 AMH 随年龄增加而下降, 而且表明 AMH 较其他指标灵敏。实际年龄不等于卵巢生物年龄, 因此, 女性年龄不能成为评价卵巢储备的绝对指标。本研究中年龄超过 38 岁 4 例, COH 后都取了卵。而 2 例取消的病例年龄分别为 27 岁和 35 岁。

目前临床常用预测卵巢反应性的传统指标有基础 FSH、FSH/LH 及 AFC。本研究显示, 其对预测卵巢反应性有一定意义。随年龄增长, 卵巢内窦卵泡数量减少, 基础血清 FSH 水平升高。因垂体对卵巢反应不良的适应性反应——促性腺激素释放激素 (gonadotropin releasing hormone, GnRH) 代偿性增高, 继而引起 FSH 水平增高。Abdalla 等<sup>[6]</sup>在 2 057 例 IVF/ICSI 周期中行基础 FSH 检测发现, 基础 FSH 水平增高组获卵数及获胚数明显减少。本研究显示, 卵巢低反应组基础 FSH 水平明显高于正常反应组。

生理状态下随着卵巢储备功能降低, 基础 FSH 和 LH 均上升, 而 FSH 水平升高更显著。因此, 卵巢储备能力降低首先表现为基础 FSH/LH 比值升高, 且比基础 FSH 升高出现得更早。Mukher 等<sup>[7]</sup>认为, 基础血清 FSH/LH > 3.6 作为预测卵巢功能降低的指标, 灵敏度 85%, 特异性 95%。基础血清 FSH/LH 比值是评价卵巢功能的良好指标之一。本研究也显示, 两组间基础血清 FSH/LH 比值有统计学差异。但血清 FSH/LH 由垂体分泌, 它仅是反映卵巢储备的间接指标, 且受下丘脑-垂体-卵巢性腺轴调节, 其水平呈周期性波动, 仅早期卵泡水平才能较准确地反映卵巢储备状态, 标本采集需特定时间。患者和临床医生都会感到很不方便。

卵巢储备取决于处在静止期的剩余始基卵泡池的大小, 来源于生长阶段的窦卵泡数能反映剩余始基卵泡的数量即卵巢储备。我们用此原理评估卵巢储备功能。窦卵泡数量是指在卵泡早期阴道超声观测到 < 10mm 的卵泡数量<sup>[8]</sup>。Bancsi 等<sup>[9]</sup>认为, 卵巢窦卵泡数量是预测卵巢反应不良的最好指标。本

研究也认为, 卵巢窦卵泡数量能够预测卵巢反应性。AFC 虽能直接反映卵巢窦卵泡数量, 但需要额外的超声设备。超声仅能显示 > 2mm 的窦卵泡, 无法显示大剂量 Gn 刺激下可继续发育的窦卵泡; 而且对检测医生的经验有一定要求, 结果易受医生主观因素影响, 因此, 在一定程度上降低了其预测的灵敏度。

ART 中卵巢低反应一方面反映 COH 后获卵数少, 另一方面, COH 中使用 Gn 总量相应增加。本研究显示, 卵巢低反应与正常反应组, 基础血清 FSH、FSH /LH、AFC、AMH 及 Gn 总量在组间均有统计学差异。直线相关分析显示各预测指标与获卵数、Gn 总量均显著相关 ( $P < 0.05$ )。其中 AMH 的相关性最高 ( $r = 0.776$ ,  $r = -0.422$ )。同时多元线性回归分析显示, AMH 对获卵数影响最大 ( $\beta = 0.483$ )。意味着检测基础 AMH 可更灵敏地反映卵巢储备情况, 预测卵巢反应性。有研究表明, ART 中基础 AMH 较 FSH、FSH /LH、AFC 更能预测卵巢的反应性<sup>[10-12]</sup>。与本研究结论相同。

研究报道<sup>[13,14]</sup>, 整个月经周期中血清 AMH 水平无明显波动, 且不受外源性激素影响。检测时标本采集不受时间限制, 临床中医生和患者都方便。

3.3 基础血清 AMH 对卵巢低反应的预测价值 本研究绘制 ROC 曲线显示, 基础血清 AMH 曲线下面积最大,  $ROC_{AUC}$  为 0.961。表明 4 项指标预测卵巢反应性, 基础血清 AMH 的诊断价值最高。据 ROC 曲线图卵巢低反应的 AMH Cut-off 值为 0.562 ng/ml, 其灵敏度 96%, 特异性 86%。本研究中 13 例患者基础血清 AMH  $\leq 0.562$  ng/ml, 其中 12 例 COH 后获卵数 < 5 枚, 其阳性预测值 92.3%, 阴性预测值 97%。这意味着基础 AMH  $\leq 0.562$  ng/ml 者 92.3% 属于卵巢反应不良。这为临床从疗效角度筛选患者提供了有利的参考依据。

总之, 本研究显示, 基础血清 AMH 水平与 COH 治疗后的卵巢反应性密切相关, 相关性高于目前其他临床常用指标, 且对预测卵巢低反应的诊断价值最高。在 COH 前检测基础血清 AMH 具有灵敏、简便、经济的优势。尤其对年轻、有盆腔手术史的患者预测价值更大。卵巢过度刺激综合征 (OHSS) 是控制性超排卵过程中最常见也是最严重的并发症, 其发病机制尚未完全阐明。研究显示<sup>[15]</sup> PCOS 患者 AMH 水平明显高于正常育龄妇女。在 COH 前能否通过 AMH 筛选高危人群以预防 OHSS 发生, 还需进一步临床研究。本研究为 ART 控制性超排卵过程中预防 OHSS 提供了新思路。

## 参 考 文 献

- [1] Luis S, Fbrio P, Reis FM, et al. Inhibins in female and male reproductive physiology role in gametogenesis conception in plantation and early pregnancy [J]. Hum Reprod 2005; 11: 123-135
- [2] Weenen C, Laven JS, Von Bergh AR, et al. Anti-Müllerian hormone expression pattern in the human ovary: potential implications for initial and cyclic follicle recruitment [J]. Mol Hum Reprod 2004; 10: 77-83
- [3] Kevenaar ME, Meerasah BMF, Kramer P, et al. Serum anti-Müllerian hormone levels reflect the size of the primordial follicle pool in mice [J]. Endocrinology 2006; 147: 3228-3234
- [4] Lie Fong S, Lugtenburg PJ, Schipper J, et al. Anti-Müllerian hormone as a marker of ovarian function in women after chemotherapy and radiotherapy for haematological malignancies [J]. Hum Reprod 2008; 23: 674-678
- [5] Van Rooij JA, Broekmans FJ, Scheffer GJ, et al. Serum anti-Müllerian hormone levels best reflect the reproductive decline with age in normal women with proven fertility: a longitudinal study [J]. Fertil Steril 2005; 83: 979-987
- [6] Abdalla H, Thum MY. An elevated basal FSH reflects a quantitative rather than qualitative decline of the ovarian reserve [J]. Hum Reprod 2004; 19: 893-898
- [7] Mukher JJ, Coppelman AB, Lapinski R, et al. An elevated day 3 follicles stimulating hormone Luteinizing hormone ratio (FSH: LH) in the presence of a normal day 3 FSH predicts a poor response to controlled ovarian hyperstimulation [J]. Fertil Steril 1996; 65: 588-593
- [8] Gabrielle J, Scheffer M. Antral follicle counts by transvaginal ultrasonography are related to age in women with proven natural fertility [J]. Fertil Steril 1999; 72: 845-885
- [9] Bancsi LE, Broekmans FJ, Eijkens MJ, et al. Predictor of poor ovarian response in vitro fertilization: a prospective technology cycles [J]. Fertil Steril 2000; 74: 518-524
- [10] Baird DH, Weghofer A, Geicher N, et al. Comparing anti-Müllerian hormone (AMH) and follicle stimulating hormone (FSH) as predictors of ovarian function [J]. Fertil Steril 2009; 91: 1553-1555
- [11] Gnath C, Schuring AN, Friol K, et al. Relevance of anti-Müllerian hormone measurement in a routine IVF program [J]. Hum Reprod 2008; 23: 1359-1365
- [12] Elgindy EA, El-Haieg DO, El-Sebaey A. Anti-Müllerian hormone correlation of early follicular ovulatory and midluteal levels with ovarian response and cycle outcome in intracytoplasmic sperm injection patients [J]. Fertil Steril 2008; 89: 1670-1676
- [13] Streuli J, Fraïsse T, Pilet C, et al. Serum anti-Müllerian hormone levels remain stable throughout the menstrual cycle and after oral or vaginal administration of synthetic sex steroids [J]. Fertil Steril 2008; 90: 395-400
- [14] Tsepelidis S, Devreker F, Demestere I, et al. Stable serum levels of anti-Müllerian hormone during the menstrual cycle: a prospective study in normal ovulatory women [J]. Hum Reprod 2007; 22: 1837-1840
- [15] Broekmans FJ, Visser JA, Laven JS, et al. Anti-Müllerian hormone and ovarian dysfunction [J]. Trends Endocrinol Metab 2008; 19: 340-347

(收稿日期 2009-05-01)

第一作者简介: 张芳 (1973-), 女, 中南大学湘雅医院生殖中心硕士研究生, 现为湖南省妇幼保健院主治医师。主要研究方向: 辅助生殖。