

生殖医学

DOI: 10.13406/j.cnki.cyx.000377

626例严重生精障碍男性染色体和无精子因子的研究分析

何海洪¹, 周后钢², 陈艳清¹, 姚万有¹, 杨秀珠¹

(1. 广东省东莞市塘厦医院检验科, 东莞 523721; 2. 湖南省妇幼保健院检验科, 长沙 410008)

【摘要】目的:分析严重生精障碍男性的染色体异常和无精子因子(azoospermia factor, AZF)的特点。**方法:**采用 G 显带技术分析染色体核型,应用多重 PCR 技术检测 AZF 微缺失。**结果:**在 443 例无精症与 183 例严重少精症患者中,79 例染色体出现异常(12.62%),其中无精子组 68 例(15.35%),严重少精组 11 例(6.01%)。同时,在严重少精组中发现 1 个未经报道的易位核型 46,XY,t(4;8)(q35;q22)。Y 染色体 AZF 微缺失 68 例(10.86%),其中无精子组和严重少精子组发生率分别为 11.51%和 9.29%。在 AZF 微缺失中,以 AZFc 缺失最为常见,其次是 AZFb 和 AZFd 缺失,构成比分别为 41.18%、20.59%与 10.29%。在 68 例 Y 染色体微缺失中,14 例合并染色体异常,无精子组和严重少精子组分别为 10 例和 4 例。**结论:**遗传异常是严重生精障碍患者的重要病因,在行辅助生殖技术(assisted reproductive technology, ART)前,需要进行染色体和 Y 染色体的微缺失检测,以减低父代异常基因遗传给后代的风险。

【关键词】男性;染色体异常;无精子因子;辅助生殖技术

【中图分类号】R698.2;R394

【文献标志码】A

【收稿日期】2014-14-01

Chromosome and azoospermia factor in 626 males with severely impaired spermatogenesis

He Haihong¹, Zhou Hougang², Chen Yanqing¹, Yao Wanyou¹, Yang Xiuzhu¹

(1. Department of Clinical Laboratory, Tangxia Hospital of Dongguan; 2. Department of Clinical Laboratory, Maternal and Child Health Hospital of Hunan)

【Abstract】Objective: To analyze the features of chromosomal abnormalities and azoospermia factor (AZF) of males with severely impaired spermatogenesis. **Methods:** G-banding and multi-PCR method were used to analyze the karyotypes of chromosome and AZF microdeletions respectively. **Results:** In 443 cases of azoospermia and 183 cases of severe oligozoospermia, 79 cases (12.62%) of chromosomal abnormalities were found; 68 cases (15.35%) in azoospermia group and 11 cases (6.01%) in severe oligozoospermia group. Meanwhile, the translocation karyotype 46,XY,t(4;8)(q35;q22) in severe oligozoospermia group was firstly reported. There were 68 cases (10.86%) of Y chromosome AZF microdeletions, accounting for 11.51% and 9.29% in azoospermia group and severe oligozoospermia group respectively. The deletion type AZFc was the most common, followed by AZFb and AZFd; the constituent ratio of the three types were 41.18%, 20.59%, 10.29%, respectively. In 68 cases of Y chromosome microdeletions, 14 cases complicated with chromosomal abnormalities (10 cases in azoospermia group and 4 cases in severe oligozoospermia group). **Conclusion:** Genetic abnormality is important for patients with severely impaired spermatogenesis. Detection chromosome abnormality and Y chromosome microdeletions is necessary before applying assisted reproductive technology in order to decrease the risk of abnormal gene inherited from the father.

作者简介:何海洪, Email: hehaihong@163.com

研究方向: 临床遗传学和血液学。

优先出版: <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.13406/j.cnki.cyx.000377.html>

【Key words】 male; chromosomal abnormalities; azoospermia factor; assisted reproductive technology

- [4] 徐叔云, 卞如濂, 陈修. 药理学实验设计及统计学分析[M]. 3版. 北京: 人民卫生出版社, 2003: 198-201.
- [5] Stephan H, Polzar B, Rauch, et al. Distribution of deoxyribonuclease I (DNase I) and p53 in rat testis and their correlation with apoptosis[J]. Histochem Cell Biol, 1996(106): 383-393.
- [6] 龚永光, 李旭良, 魏光辉, 等. 长春新碱、更生霉素对发育未成熟睾丸影响的实验研究[J]. 中华小儿外科杂志, 2002, 23(5): 454-456.
- [7] Hu PP, Shen X, Huang D, et al. The MEK pathway is required for stimulation of p21WAF1/CIP1 by transforming growth factor-beta[J]. J Biol Chem, 1999, 274(50): 35381-35387.

- [8] Henguttner MO. The biochemistry of apoptosis[J]. Nature, 2000, 407(6805): 770-776.
- [9] Lisa Kenney, Laufer MR, Grant FD, et al. High risk of infertility and long term gonadal damage in males treated with high dose cyclophosphamide for sarcoma during childhood[J]. Cancer, 2001(91): 613-621.
- [10] 岳丽琴, 李旭良, 魏光辉, 等. 环磷酰胺对不同发育时期睾丸生精细胞毒性损伤的动物实验研究[J]. 中华小儿外科杂志, 2006, 27(1): 38-41.

(责任编辑: 冉明会)

全球大约有 10%~15% 的夫妇不育,约 50% 是男性因素导致的,其中遗传因素是重要且原因明确的因素^[1-2]。遗传因素主要包括染色体病和 Y 染色体的微缺失,其中染色体病,包括平衡易位、罗伯逊易位、倒位以及性染色体异常等,在无精子患者中可达 20%,严重少精子患者中可达 8%^[3]。精子的生成和 Yq11.23 区域的微缺失相关,并称为无精子因子 (azoospermia factor, AZF),其存在 4 个不重叠的亚区 (AZFa, AZFb, AZFc, AZFd)。这些生精障碍男性,可以通过辅助生殖技术,例如体外受精术 (in vitro fertilization, IVF)/ 卵泡浆内单精子显微注射术 (intracytoplasmic sperm injection, ICSI)/ 植入前基因诊断 (preimplantation genetic diagnosis, PGD) 等生育后代,尽管辅助生殖技术可减低后代基因变异的风险^[4],但应提供全面而准确的遗传信息。本研究主要分析生精障碍男性的染色体异常和无精子因子的特点,为胚胎移植提供更全面的信息,并有利于减少婴幼儿的出生缺陷,提高人口素质。

1 对象和方法

1.1 对象来源

2010 年 12 月至 2013 年 10 月期间,收集东莞市塘厦医院、湖南省妇幼保健院的遗传和生殖门诊的精液标本 8319 例,按 WHO 推荐的标准^[5],并排除因激素和梗阻原因的患者,纳入研究原发无精 443 例,严重少精 183 例,同时进行染色体核型分析和 Y 染色体 AZF 微缺失检测,年龄 19~56 岁。对照组为无生育障碍的男性共 114 人,年龄 22~53 岁。纳入研究的对象均知情同意。

1.2 细胞遗传学检查

取肝素钠抗凝外周血进行淋巴细胞培养,染色体制备,G 显带。每例计数 20 个中期分裂相,分析 5 个核型,如染色体数目异常,计数 60 个中期分裂相,嵌合体患者计数 100 个中期分裂相;次缢痕或异染色质异常时,加做 C 显带;双随体异常加做 N 显带。

1.3 Y 染色体 AZF 微缺失筛查

抽枸橼酸抗凝外周血 3 ml,多重 PCR 扩增,Y 染色体上 AZF 区域的 15 个非多态性序列标签位点(sequence tag site,

STS)(亚能生物技术深圳有限公司提供试剂盒)分为 I、II、III、IV 组扩增(表 1)。PCR 反应条件为 50 ℃ 10 min,95 ℃ 10 min,94 ℃ 30 s,58 ℃ 60 s 72 ℃ 60 s,34 cycles,72 ℃ 延伸 10 min。取 10 μl PCR 产物加 2 μl 6× 上样缓冲液混合后,2% 琼脂糖电泳,紫外灯下观察结果。

1.4 结果的判断

无缺失的标准为待检标本所有位点均有扩增条带;缺失的标准为待检标本部分位点在多重 PCR 与单独扩增中均无产物条带出现。每组扩增 SRY 基因均为阳性质控条带。

1.5 统计学方法

运用 SPSS 19.0 软件,采用卡方检验对染色体异常率和 Y 染色体微缺失率进行比较分析,检验水平为 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 染色体核型分析结果

正常对照组 114 例中未发现染色体异常。严重生精障碍组 626 例,79 例染色体出现异常(12.62%),其中无精子组和严重少精症组之间 15.35%(68/443) vs. 6.01%(11/183) 比较 ($\chi^2=10.243, P=0.001$),差异有统计学意义。染色体数目异常发生率为 73.42%(58/79),其中 47,XXY 核型最为常见 81.03%(47/58),并可见 45,X/46,XY、46,XY/47,XXY 和 46,XY,Yqh+/45,X 3 种类型的嵌合体。染色体结构异常发生率为 26.58%(21/79),以 Yq- 最为常见 52.38%(11/21)。无精子组和严重少精子组的染色体数目异常发生率之间 11.96%(53/443) vs. 2.73%(5/183) 比较 ($\chi^2=13.128, P=0.000$),差异有统计学意义;结构异常发生率之间 3.39%(15/443) vs. 3.27%(6/183) 比较 ($\chi^2=0.005, P=0.946$),差异无统计学意义(表 2)所示。并在严重少精组中发现 1 例,经医学遗传学国家重点实验室鉴定,被中国人类染色体异常核型数据库收录,国内外均未见报道的平衡易位核型 46,XY,t(4;8)(q35;q22)(图 1)。

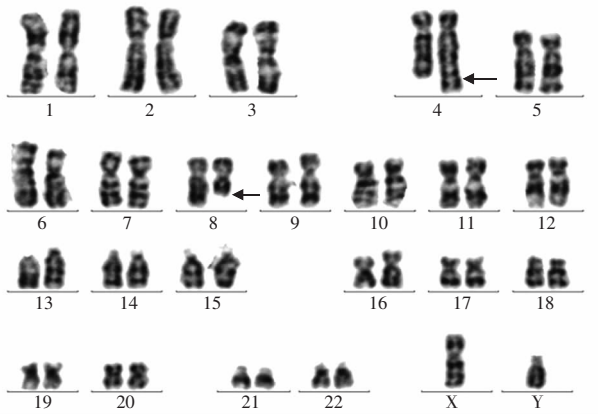
2.2 Y 染色体 AZF 微缺失分析结果

114 例对照组,未发现 AZF 异常,626 例不育男性中,68 例检出 Y 染色体微缺失(10.86%)无精子组和严重少精子组缺失率 11.51%(51/443) vs. 9.29%(17/183) 比较 ($\chi^2=0.661, P=0.416$),差异无统计学意义。Y 染色体微缺失的类型有:AZFa、AZFb、AZFc、AZFd、AZFa+b、AZFa+c、AZFb+c、AZFc+d、AZFb+c+d、AZFa+b+c+d(表 3)。其中 AZFa、AZFb 缺失只出现在无精子组中,比率分别 9.80%(5/51) 和 27.45%(14/51),而严重少精子组中,以 AZFc、AZFd 缺失为主,比率分别是

表 1 AZF 的 15 个 STSs 位点
Tab.1 The 15 sequence tagged sites (STSs) used for screening AZF

I	片段大小 (bp)	STSs	II	片段大小 (bp)	STSs	III	片段大小 (bp)	STSs	IV	片段大小 (bp)	STSs
质控	470		质控	470		质控	470		质控	470	
sY254	380	AZFc	sY84	326	AZFa	sY86	320	AZFa	sY134	301	AZFb
sY143	310	AZFb	sY239	200	AZFc	sY127	270	AZFb	sY82	264	AZFa
sY242	230	AZFc	sY152	125	AZFd	sY145	140	AZFd	sY128	228	AZFb
sY255	126	AZFc				sY124	109	AZFb	sY123	177	AZFb

58.83%(10/17)和 41.17%(7/17)。所有 Y 染色体缺失类型中,最常见的是 AZFc,其次是 AZFb 和 AZFd,构成比率分别为 41.18%(28/68),20.59%(14/68)和 10.29%(7/68)。



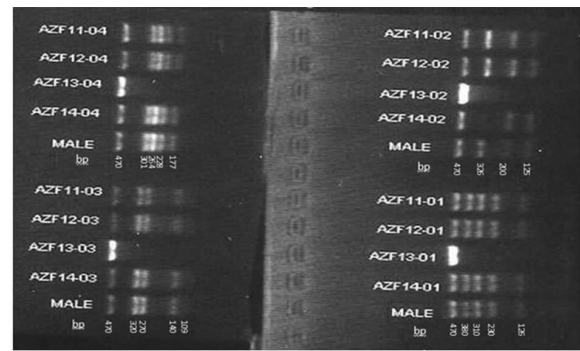
4号染色体长臂 3 区 5 带 (4 号箭头标记);
8 号染色体长臂 2 区 2 带 (8 号箭头标记)

图 1 染色体核型平衡易位 46,XY,t(4;8)(q35;q22)

Fig.1 Balanced translocation 46,XY,t(4;8)
(q35;q22) of karyotypes

2.3 Y 染色体 AZF 微缺失合并染色体异常核型

在 68 例 Y 染色体微缺失中,发现 14 例染色体异常,合并异常比例为 20.59%,14 例染色体核型异常中出现了 4 种异常核型,包括 46,XY,Yq-,46,XY,Yqh+,46,XY,del(Y)、46,XY,inv(9),其中 1 例为常染色体异常,其余均为性染色体异常如(表 4)所示。无精子组出现染色体异常 10 例,严重少精子组有 4 例。所有合并染色体异常核型中,AZFc 和 AZFb 缺失的比例均为 28.57%(4/14),其次是 AZFd 缺失的比例 21.43%(3/14)且发现 1 例罕见 AZF 全缺失并染色体异常患者(图 2)。



MALE n-01: SRY,sY254,sY143,sY242,sY255; MALE n-02: SRY,sY84,sY239,sY152; MALE n-03: SRY,sY86,sY127,sY145,sY124; MALE n-04: SRY,sY134,sY82,sY128,sY123 (n 为 11、12、13 或 14 顺序均从左至右)。AZF13: 见 SRY 基因条带而无任何产物条带,表明 15 个位点全缺失

图 2 AZF13 全缺失电泳结果

Fig.2 Locking all sites electrophoresis results of AZF13

3 讨论

在先前报道中,生精障碍男性的染色体异常率在 2.2%~19.6%之间^[6-7],国内东北地区 Dai 等^[8]为 10.21%,四川地区 Li 等^[9]为 11.55%,本次研究报道中染色体异常率为 12.62%,高于上述 2 个地区的发生率,而低于广州地区宋革等^[10]的 27.10%,其中无精子症和严重少精子症染色体异常率分别为 15.35%和 6.01%,均高于 Li 等^[9]的 14.71%和 3.87%而低于宋革等^[10]的 26.26%和 27.63%。最常见的染色体异常为 Klinefelter's 综合征,占 59.49%(47/79),其次是 Yq 结构异常 13.92%(11/79),符合之前的报道^[11]且发现 1 例染色体平衡易位合并严重少精子症

表 2 无精子症和严重少精子症患者的异常核型

Tab.2 Abnormal karyotypes in azoospermia and severe oligozoospermia

异常模型	对照组 (n=114)	无精子症 (n=443) (%)	严重少精子症 (n=183) (%)	合计 (n=626) (%)
数目异常		53	5	58
47,XXY		44 (9.93)	3 (1.64)	47 (7.51)
45,X/46,XY		3 (0.68)		3 (0.48)
46,XY/47,XXY		3 (0.68)	1 (0.55)	4 (0.64)
47,XXYY		1 (0.23)	1 (0.55)	2 (0.32)
46,XY,Yqh+[87]/45,X[13]		1 (0.23)		1 (0.16)
46,XX		1 (0.23)		1 (0.16)
结构异常		15	6	21
46,XY,del(Y)(q11.21)		1 (0.23)		1 (0.16)
46,XY,Yq-		9 (2.03)	2 (1.09)	11 (1.76)
46,XY,Yqh+		4 (0.91)	2 (1.09)	6 (0.96)
46,XY,Ypss		1 (0.23)		1 (0.16)
46,XY,inv(9)(p12q13)			1 (0.55)	1 (0.16)
46,XY,t(4;8)(q35;q22)			1 (0.55)	1 (0.16)
合计	0	68 (15.35)	11 (6.01)	79 (12.62)

表 3 染色体微缺失的类型
Tab.3 Types of Y chromosome microdeletion

AZF区	无精子症 (n=443) (number)	严重少精子症 (n=183) (number)	对照组 (n=114)	合计 (n=626) (%)
AZFa	sY84 (3)			3
	sY86 (2)			2
AZFb	sY134 (3)			3
	sY123 (2)			2
	sY127,sY133 (4)			4
	sY134,sY127 (3)			3
	sY123,sY124,sY127 (2)			2
AZFc	sY242 (6)	sY242 (2)		8
	sY254,sY255 (8)	sY254,sY255 (4)		12
	sY242,sY254,sY255 (2)	sY242,sY254,sY255 (3)		5
	sY242,sY254,sY255,sY239 (1)	sY242,sY254,sY255,sY239 (1)		2
AZFd		sY152 (4)		4
		sY145,sY152 (3)		3
AZFa+b	sY86,sY127 (3)			3
AZFa+c	sY86,sY242,sY254,sY255 (2)			2
AZFb+c	sY134,sY127,sY254,sY255 (3)			3
AZFc+d	sY239,sY242,sY254,sY255,sY152 (5)			5
AZFb+c+d	sY82,sY123,sY124,sY127,sY128,sY134, sY143,sY239,sY242,sY254,sY255,sY152, sY145 (1)			1
AZFa+b+c+d	sY82,sY84,sY86,sY143,sY134,sY133, sY128,sY127,sY124,sY254,sY242,sY255, sY239,sY145,sY152 (1)			1
合计	51 (11.51%)	17 (9.29%)	0	68 (10.86%)

表 4 Y 染色体微缺失合并染色体核型异常结果
Tab.4 Results of Y chromosome microdeletion combined with chromosome karyotype abnormalities

核型	STSs (AZF 区)	临床表型	合计 (n)
46,XY,Yq-	sY254,sY255(AZFc);	无精子症	3
	sY254,sY255(AZFc);	严重少精子症	1
	sY86,sY127(AZFa+b);	无精子症	1
	sY145,sY152(AZFd);	严重少精子症	1
	sY127,sY133(AZFb);	无精子症	2
	sY134(AZFb);	无精子症	1
	sY123,sY124,sY127(AZFb);	无精子症	1
46,XY,Yqh+	sY152(AZFd);	严重少精子症	1
	sY84(AZFa);	无精子症	1
46,XY,del (Y)	sY82,sY84,sY86,sY143,sY134,sY133, sY128,sY127,sY124,sY254,sY242,sY255, sY239,sY145,sY152(AZFa+b+c+d);		
	sY145,sY152(AZFd)	无精子症	1
46,XY,inv (9)		严重少精子症	1

患者,其核型 46,XY,t(4;8)(q35;q22)国内外均未见报道的平衡易位。目前还没有文献表明生精障碍男性是否和染色体平行易位的位点有关。

AZF 缺失不同区域报道范围在 0.7%~34.5%,平均为 8.2%^[12],本研究 AZF 的缺乏率为 10.86%,低于东北地区 Dai 等^[8]的 11.37%和云南地区叶俊杰等^[13]的 16.95%,高于广州地区宋革等^[10]的 5.40%,与四

川地区 Li 等^[9]及付莉等^[14]报道的 11.80%和 10.48%的一致,这些数据显示,可能不同民族、不同地域环境、纳入研究的标准以及样本量差异,均可导致数据结果不一致。近年,已经明确了染色体AZF 部分亚区在影响整个精子生成的过程中表现出不同的功能,AZFa 区的缺失会导致唯细胞支持综合征和无精子症^[15],AZFb 区的缺失可能造成减数分裂中期的

染色体不配对,最终造成生精障碍^[16],因为在 X 和 Y 染色体配对过程中需要 AZFb 区的基因。AZFc 和 AZFd 区主要表现为减数分裂后的精子细胞成熟阻滞,他们的缺失在严重少精子症或者无精子症患者中均可出现^[13]。本研究结果与上述结论相符,最常见的是 AZFc 区缺失率为 41.18%,其次是 AZFb 的缺失率为 20.59%,然后是 AZFd 区的缺失率为 10.29%,且 AZFa 和 AZFb 区的缺失只出现于无精子组,而 AZFd 区的缺失只出现在严重少精子组。AZFc 区缺失在无精子组和严重少精子组均可出现。最为常见多亚区缺失是 AZFc+d,其缺失率为 7.35%,而多亚区的 AZF 联合缺失未出现在严重少精子组中,综上所述, Y 染色体 AZF 微缺失的 4 个亚区可作为生精障碍男性的重点筛查项目。

本研究 Y 染色体 AZF 微缺失,包括 6 个欧洲推荐位点及 2 个日本推荐的 sY145 和 sY152 位点等中国人最常见^[17]的 15 个位点,结果显示,STS 位点中最常见的是 sY254 和 sY255 的共同缺失,其缺失率为 17.64%(12/68),其次是 sY242 位点,缺失率为 11.76%(8/68),它们在无精子症组和严重少精子症组缺失率分别是 15.69%(8/51)、11.76%(6/51)和 23.53%(4/17)、11.76%(2/17)。本研究数据显示, sY242、sY254 和 sY255 这 3 个位点的缺失率最高,和先前报道一致^[8],表明这 3 个位点为缺失热点位置,应作为重点筛查区域。

68 例 Y 染色体 AZF 微缺失中 14 例出现染色体异常,20.59%的 Y 染色体微缺失合并了染色体异常,与 Li 等^[9]研究的 23.61%数据相近。染色体核型异常合并 Y 染色体微缺失的患者在无精子组发现 10 例,而在严重少精子组发现 4 例,2 组数据相差 2.5 倍,是否表明染色体核型异常合并 Y 染色体微缺失的患者临床表现更严重,但有待更多的研究数据支持。并在无精子症的患者发现 1 例罕见 15 个位点全缺失合并 46,XY,del(Y)(q11.21)的罕见病例,该患者能否应用辅助生殖技术生育后代,有待进一步的研究。

近年来,携带遗传缺陷的患者通常选择 ART 技术生育后代,例如 ICSI/IVF,也有可能把父代的缺陷基因遗传给后代^[9],而 PGD 技术已经在染色体病或者 Y 染色体微缺失的患者中得到广泛应用,通过 PGD 技术,部分有遗传缺陷的患者可以生育正常的后代。综合本研究数据,严重生精障碍的患者,行 ART 之前,必须检测染色体和 Y 染色体 AZF 微缺失,以便严重生精障碍患者选择不同的技术降低父代的缺陷基因遗传给后代的危险。

参 考 文 献

- [1] Wong WY, Thomas CM, Merkus JM, et al. Male factor subfertility: possible causes and the impact of nutritional factors[J]. *Fertil Steril*, 2000, 73(3): 435-442.
- [2] Ali H, Saad AH, Muhammed AI, et al. Y chromosome microdeletions in infertile men with idiopathic olig- or azoospermia[J]. *J Exp Clin Assist Reprod*, 2006(3): 1.
- [3] Elghezal H, Hidar S, Braham R, et al. Chromosome abnormalities in one thousand infertile males with nonobstructive sperm disorders[J]. *Fertil Steril*, 2006, 86(6): 1792-1795.
- [4] Carrell D, De JC, Lamb DJ. The genetics of male infertility: a field of study whose time is now[J]. *Arch Androl*, 2006, 52(4): 269-274.
- [5] Organization WH. WHO laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction. 4th ed[M]. London: London Cambridge University Press, 2002: 4-33.
- [6] Vutyavanich T, Piromlertamorn W, Sirirungsri W, et al. Frequency of Y chromosome microdeletions and chromosomal abnormalities in infertile Thai men with oligozoospermia and azoospermia[J]. *Asian J Androl*, 2007, 9(1): 68-75.
- [7] Poonthongthai J, Gopenath TS, Manonayaki S. Genetics of human male infertility[J]. *Singapore Med J*, 2009, 50(4): 336-347.
- [8] Dai RL, Wang RX, Jin JL, et al. Correlation of Y-chromosome multiple segmental deletions and chromosomal anomalies in non-obstructive azoospermic males from northeastern China[J]. *Genet Mol Res*, 2012, 11(3): 2422-2431.
- [9] Li F, Da KX, Xian PD, et al. Genetic screening for chromosomal abnormalities and Y chromosome microdeletions in Chinese infertile men[J]. *J Assist Reprod Genet*, 2012, 29(6): 521-527.
- [10] 宋 革, 王奇玲, 刘兴章, 等. 男性不育患者 2406 例染色体异常分析[J]. *中国计划生育学杂志*, 2012, 20(4): 257-259.
- [11] Hossein SN, Farhat F. Genetics of azoospermia: current knowledge, clinical implications, and future directions. Part II Y Chromosome Microdeletions[J]. *Urol J*, 2007, 4(4): 192-206.
- [12] Krausz C, Forti G. Clinical aspects of male infertility[J]. *Results Probl Cell Differ*, 2000(28): 1-21.
- [13] 叶俊杰, 李宗芳, 陈燕祥, 等. 男性不育人群 17 个 Y 染色体短串联重复基因座无效等位基因分析[J]. *中华医学遗传学杂志*, 2013, 30(3): 330-334.
- [14] 付 莉, 丁显平, 沈梦婕, 等. 1011 例男性不育患者 Y 染色体无精子症因子微缺失的筛查与临床表型分析[J]. *中华医学遗传学杂志*, 2012, 29(2): 184-187.
- [15] Carlo F, Enrico M, Alberto F. Y Chromosome microdeletions and alterations of spermatogenesis[J]. *Endocr Rev*, 2001, 22(2): 226-239.
- [16] Yorgev L, Segal S, Zeharia E, et al. Sex chromosome alignment at meiosis of azoospermic men with azoospermia factor microdeletion[J]. *J Androl*, 2004, 25(1): 110-116.
- [17] 于丛一, 庄广伦, 周灿权, 等. 男性不育患者 Y 染色体微缺失筛查方法的建立和初步应用[J]. *中华医学遗传学杂志*, 2003, 20(4): 357-359.

(责任编辑: 关蕴良)