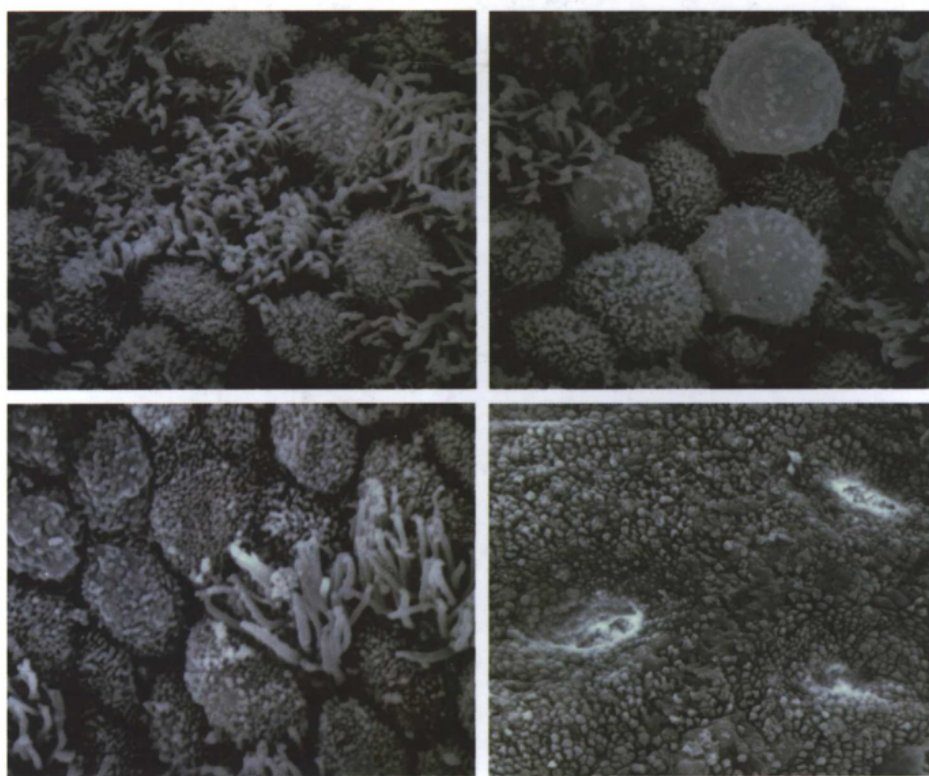


New Development of Assisted Reproductive Technology

生殖生理理论与 与技术新进展

主编 马艳华

主审 糜若然 邢福祺



天津科学技术出版社

责任编辑 袁向远



生殖生理理论与 与技术新进展

ISBN 978-7-5308-4227-0



9 787530 842270 >

定价:46.00 元

生殖生理理论与 与技术新进展

主 编 马艳华

主 审 糜若然 邢福祺



天津科学技术出版社

内 容 简 介

本书收录了目前国内外关于生殖生理医学研究的最新进展,共分为五部分,分别介绍了人类生殖医学基础研究;生殖医学技术与临床;男科学实验室诊断技术;生殖医学实验方法与技术;生殖医学中心的管理等。书中理论联系实际论述了生殖医学在临床方面的新技术和新观点,包括卵子成熟、卵母细胞纺锤体的观察、受精、子宫内膜对胚胎的容受性及玻璃化冷冻新进展等;对于男科学相关问题进行论述;以及如何运用超声学技术对卵巢功能进行评估;对生殖医学中热点研究方法同时进行阐述,并探讨了目前生殖医学中心的管理问题。本书对于提高辅助生殖技术基础研究及在其临床应用上有一定的帮助。

图书在版编目(CIP)数据

生殖生理理论与技术新进展/马艳华主编. —天津:
天津科学技术出版社, 2007

ISBN 978-7-5308-4227-0

I. 生... II. 马... III. 人体生理学: 生殖生理学
IV. R339.2

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2006)第 126889 号

责任编辑:袁向远

版式设计:邱 芳

责任印刷:王 莹

天津科学技术出版社出版

出版人:胡振泰

天津市西康路 35 号 邮编 300051

电话(022)23332393(发行部) 23332390(市场部) 27217980(邮购部)

网址:www.tjkjbs.com.cn

新华书店经销

天津市中天印刷有限公司印刷

开本 787×1092 1/16 印张 9 字数 206 000

2007 年 1 月第 1 版第 1 次印刷

定价:46.00 元

编写人员名单

主 编 马艳华

副 主 编 陈士岭 杉冈美智代(日本)

主 审 糜若然 邢福祺

编写人员 (按姓氏笔画排序)

马艳华 王海芳 付志红 白晓红

朱 亮 孙 玲 李 红 杨晓华

吴凤宇 宋学茹 张曦倩 随笑琳

葛明晓 陈士岭 杉冈美智代

前 言

我国对于生殖与优生方面的研究有着悠久的历史,早在三千多年前我国古代《周易》即有关于这方面的论述。我国自 20 世纪 80 年代在张丽珠教授带领下我国第一例试管婴儿诞生以来,生殖医学技术发生了质的飞跃。到目前为止,现代生殖医学理论兴起有 20 余年的时间,随着世界各领域科学技术的发展,我国的生殖医学领域呈现勃勃生机。

作者自涉足生殖医学领域以来,通过经验的积累,非常希望出版一本关于生殖生理理论与临床、实验室技术相结合的书籍。主要就生殖生理理论基础研究作一粗浅论述,包括卵子成熟的相关性研究、子宫内膜容受性的超微结构变化、卵母细胞纺锤体观察与展望及胚胎着床等基础研究,并结合临床实践,阐述目前国内最新进展以及生殖医学与肿瘤的关系。写作本书并非奢望能够对同道有很大帮助,而是希望借此与大家共同分享学习的收获。

在本书即将出版之际我的心情非常激动,在此我要衷心地感谢我的恩师:邢福祺教授、糜若然教授、陈士岭教授多年以来给予我的教诲,感谢对本书出版倾注心血的张丽珠教授的指导,感谢为此付出辛勤劳动和汗水的各位老师和同学。同时我仅此作为厚礼感谢我人生、事业之启蒙老师:我的父亲母亲,感谢所有给予关心和帮助我的亲人和朋友们。

由于科学技术日新月异,书中可能有不足之处,望同道和读者提出宝贵意见。

马艳华

2006 年 8 月 5 日

主编简介

马艳华,天津市人,生殖医学博士,解放军第 254 医院妇产科,从事妇产科临床工作 15 年,研究方向辅助生殖技术的研究及临床应用。



目 录

第一部分 生殖医学基础研究

第一章 人类卵子成熟的相关性研究	3
第二章 黄素化未破卵泡综合征的研究进展	7
第三章 子宫内膜对胚胎的容受性	11
第一节 子宫内膜上皮超微结构与胚胎着床	11
第二节 控制性超促排卵治疗与子宫内膜容受性	12
第三节 超促排卵对人类子宫内膜相关激素受体的影响	15
第四章 卵母细胞纺锤体的观察及在人类生殖医学的应用	17
第五章 Hoxa-10 基因与生殖	22
第六章 细胞因子与生殖	25
第一节 白血病抑制因子与生殖	25
第二节 活性氧与生殖	28
第三节 降钙素是孕激素调节的子宫内膜容受性标志	31
第七章 人类早期胚胎玻璃化冷冻研究进展	35

第二部分 生殖医学技术与临床处理

第一章 卵巢功能的影像学评估	55
第二章 卵巢刺激过程中临床问题及处理	59
第一节 卵巢囊肿形成	59
第二节 卵巢过度刺激综合征	60
第三节 取卵手术操作中的并发症	62
第四节 异位妊娠	63
第三章 生殖医学与多胎妊娠	64
第一节 辅助生殖技术与多胎妊娠	64
第二节 选择性囊胚移植预防多胎发生	68
第四章 生殖医学与肿瘤	70

第三部分 男科实验诊断技术

第一章 人类精液分析检测	81
第一节 精液初步检查	81
第二节 计算机辅助精子分析	83

第三节 精子复检分析	84
第四节 精液免疫学检查	84
第二章 不育症的血清学检查	86
第一节 内分泌激素测定	86
第三章 抑制素 B(Inhibin B)与睾丸生精功能	89
第四章 不育症遗传学检查	91
第一节 遗传学概论	91
第二节 遗传学疾病咨询	91

第四部分 生殖医学相关实验研究与技术

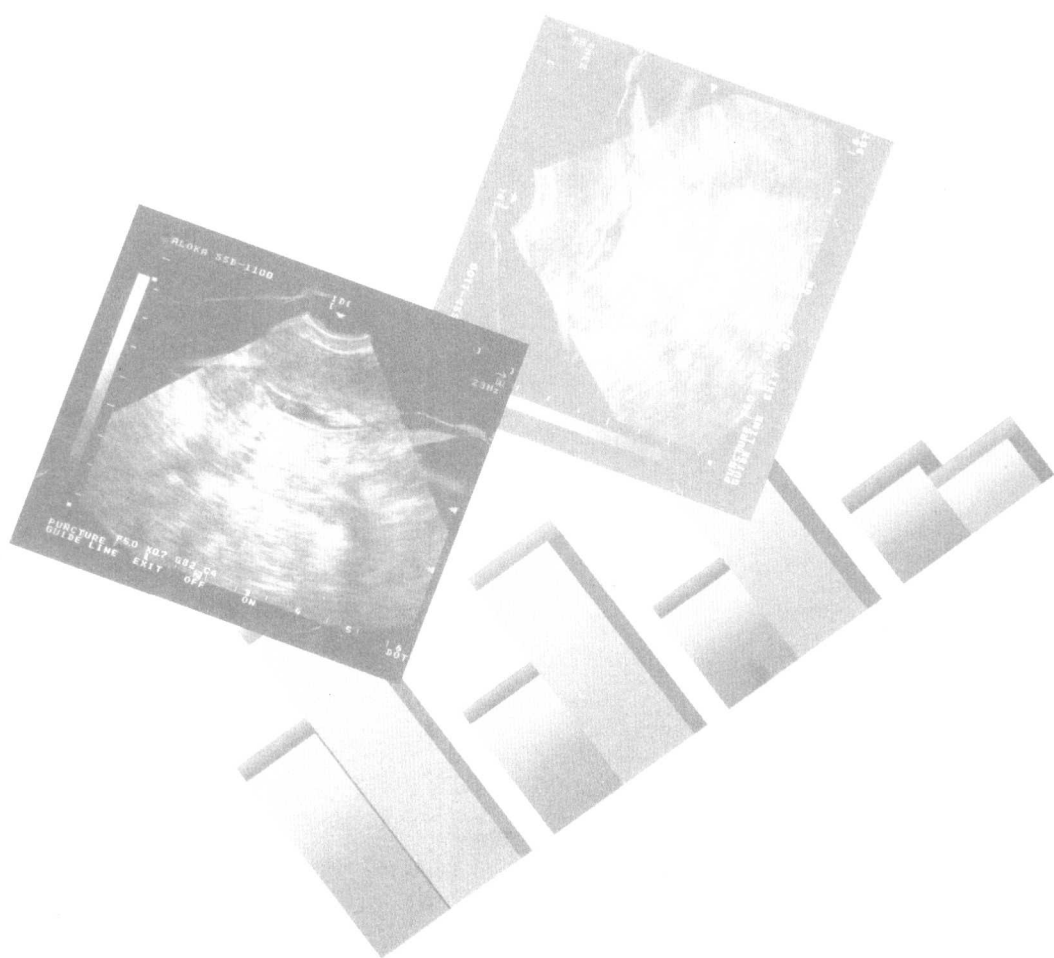
第一章 实验仪器与试剂	97
第二章 子宫内膜组织切片的制备及免疫组织化学技术	98
第三章 子宫内膜上皮细胞扫描电镜标本的技术	100
第一节 子宫内膜扫描电子显微镜标本制备	100
第二节 子宫内膜透射电子显微镜标本制备	100
第四章 人类精子扫描电子显微镜标本制备	101
第一节 人类精子扫描电子显微镜标本制备	101
第二节 人类精子透射电子显微镜标本制备	102
第五章 Y染色体微缺失的检测	103

第五部分 生殖医学中心的管理

第一章 生殖中心的科学管理模式概述	111
第二章 生殖医学中心临床路径设计实施	112
英汉缩略语词对照表	115
附彩图	117
附主编学习及工作照	127

第一部分

生殖医学基础研究



第一章 人类卵子成熟的相关性研究

在人类胚胎时期大约有 200 万个卵原细胞,500 万个初级卵母细胞,它们中的大多数逐渐闭锁,至新生儿期两侧卵巢有 70 万~200 万个原始卵泡。青春期在促性腺激素作用下,每月大约有 15~20 个卵泡生长发育,一般只有一个卵泡发育成熟,并排出一个卵。成熟卵泡是卵泡发育的最后阶段,初级卵母细胞在排卵前 36~48h 完成第一次成熟分裂,次级卵母细胞进入第二次成熟分裂并停止于分裂中期,受精时才完成第二次成熟分裂。人类从始基卵泡开始到形成窦前卵泡阶段约需要 9 个月以上,从窦前卵泡发育到成熟卵子排卵约需要 85d。

辅助生殖技术 (assisted reproductive technology, ART) 包括卵巢刺激、体外受精—胚胎移植和未成熟卵体外培养 (in vitro maturation, IVM) 等一系列人工干预措施,这些措施有可能使卵子的新陈代谢发生改变,卵子成熟情况参差不齐从而使卵子质量下降影响早期胚胎的生存和胚胎的发育障碍及妊娠的维持,增加异常胚胎的发生,并有可能与新生儿今后是否患病等情况相关。

关于卵子的发育与成熟机制目前人类尚处在探索阶段,明确卵子发育、成熟的相关因素可使 ART 更好地服务于人类。

一、卵子成熟与卵子周围细胞的关系

卵母细胞的发育、成熟与其周围细胞有密切联系,目前卵丘扩展与卵母细胞成熟的

关系引起了人们极大兴趣,两者关系的研究主要集中于两种现象发生前后构成卵泡的几种细胞的变化:包括卵丘细胞、颗粒细胞、卵母细胞的形态结构及合成分泌某种物质的能力等,以及在体外不同培养条件下和体内正常生理下发生的时间顺序。

窦前卵泡阶段颗粒细胞增殖并分泌卵泡液,卵母细胞及周围的颗粒细胞被挤到卵泡之一侧,称为窦状卵泡。窦状卵泡继续生长,在排卵前卵母细胞及周围的卵丘细胞称为卵丘冠复合体 (oocyte-cumulus corona complexes, OCCC)。

卵丘细胞及其扩散现象对卵母细胞成熟及其以后的生长发育是必须的,卵丘细胞可为卵母细胞的成熟提供必需的营养物质,卵丘细胞的扩散是伴随着细胞质的成熟同时发生的。而扩散的卵丘可调节物质的通透性,诱捕卵子排出的有害因子,从而有效地抑制卵子的退化。目前这方面研究的许多结果尚有争议,动物实验表明,在小鼠体内卵母细胞成熟并不需要卵丘扩展,方法是激素处理小鼠卵泡中分离出卵丘—卵母细胞复合体直接观察。也有学者认为,卵母细胞与卵丘细胞间间隙连接的中断或减少是卵母细胞成熟的前提,卵丘扩展可以使卵丘卵母细胞间间隙连接中断或减少,认为卵丘扩展可能是卵母细胞成熟的必要条件。

Yang 等对 35 例多囊卵巢 (polycystic ovarian, PCO) 或多囊卵巢综合征 (polycystic ovarian syndrome, PCOS) 妇女进行研究,平均

年龄 33.3 ± 2.7 岁, PCOS 6 例, PCO 29 例, 于无排卵月经周期给予黄体酮 10d, 撤退性出血第 3d 开始监测, 据月经周期长短和内膜厚度给予 hCG10000IU 注射, 36h 取卵。依照卵丘复合体形态分类(畸形及成熟卵子除外), 对卵丘细胞(CCs)促卵泡激素(FSH)、促黄体生成激素(LH)受体 mRNA 表达情况进行测定。分为 3 组: ①分散型: 卵细胞外有 1~2 层细胞包绕 GV 期卵细胞。②紧密型: 卵细胞外有 4~5 层细胞包绕 GV 期卵细胞。③稀疏型: 卵细胞外仅有少数细胞包绕。共取得 787 个卵子, 平均 18.3 ± 11.8 , 3 组中 GV 数量无明显差异, 对于未成熟卵体外培养(IVM), 24h 后成熟率: ①组 $72.0 \pm 19.6\%$ 。②组 $30.6 \pm 16.8\%$ 。③组 $48.0 \pm 31.5\%$, 48h 后成熟率: ①组 $83.4 \pm 12.8\%$ 。②组 $58.3 \pm 11.9\%$ 。③组 $58.0 \pm 21.9\%$, 由此认为①组成熟较②、③组快; 囊胚形成率在①组明显高于②组和③组; ①组 LH 受体 mRNA 表达明显高于②组和③组, 认为取卵时分散的卵丘复合体与卵子成熟和囊胚形成呈正相关, 并与 LH 受体高表达有关。

Son 等学者对卵子成熟与胚胎关系进行研究, 将 PCOS 或 PCO 患者卵子进行 IVM, 发现在 hCG 注射后 36h 取得的卵子受精得到的胚胎从形态学角度看胚胎质量与取卵时卵子是否 M-II 无关。但他们对 47 例囊胚移植病例的最新研究发现, 将卵子分为三组: 组①取卵时即成熟的卵子, 组②IVM 第一天成熟的卵子, 组③第二天成熟的卵子, 三组卵裂率与囊胚率比较: 组①、②(100%, 58.3%; 91.5%, 50.4%) 明显高于组③(72.2%, 19.0%), 可冻融囊胚组①(52.4%) 明显好于组②、③(35.4%, 6.7%)。

二、卵子成熟与卵泡液的关系

卵子成熟包括细胞核、细胞质及基因的成熟。一个始基卵泡由一个初级卵母细胞、

一层颗粒细胞和一层基底膜组成, 卵子发育成熟期间颗粒细胞变为复层立方状, 出现卵泡刺激素(follicle stimulating hormone, FSH)、雌激素、孕激素、雄激素、黄体生成激素(luteinizing hormone, LH)等受体, 具备对激素的反应性。卵泡液(follicular fluid, FF)由颗粒细胞分泌, 由血浆渗出物和卵巢局部分泌物如氨基多糖和类固醇激素等组成。在卵泡成熟中甾体激素由颗粒细胞合成并积聚在卵泡液中, OCCC 与 FF 紧密相连, 颗粒细胞间及颗粒细胞与卵母细胞间出现缝隙连接(gap junction)成为细胞间营养物质和小分子物质的通道。

卵母细胞核成熟形态上表现为生发泡破裂(germinal vesicle breakdown, GVBD), 第一极体排出。促性腺激素刺激颗粒细胞分泌, 从而控制卵子核成熟, 在培养液中添加高浓度 cAMP 和次黄嘌呤能阻止卵母细胞 GVBD, 适当浓度可诱导 GVBD。

现在人们逐渐认识到细胞质的成熟对卵子发育、受精和胚胎生长的重要性。排卵前卵泡中存在大量甾体激素, 卵母细胞内能够检测到雌激素受体(estrogen receptors, ER)存在, 推测雌激素可能通过特异性与 ER 结合发生作用参与卵母细胞质成熟。研究表明, 雌激素可能通过改变 Ca^{2+} 释放系统作用于卵母细胞表面, 促进卵母细胞膜的成熟。IVM 时细胞内 Ca^{2+} 大幅度波动, 而获得全能 Ca^{2+} 信号系统。因此卵母细胞应答雌激素以释放 Ca^{2+} 的能力是成熟过程中关键的一步。

排卵前卵泡液中含有一定浓度的孕酮, 其表达受到雌激素和它的同源配位体的调节, 适当的孕酮与雌激素之比可能是卵母细胞成熟的标记。

Costa 等对 FF 中甾体激素浓度和卵子成熟和受精率之间的关系进行研究, 对 17 例不孕症行超促排卵, 对 107 个卵子进行分析, 81 个卵子进行孵育和体外受精, 对卵泡液中孕

酮(progesterone, P)、雌二醇(estradiol, E_2)、雌酮、雄烯二酮、睾酮(testosterone, T)浓度进行测定,研究发现在未成熟卵的FF中 E_2 和T浓度(中位数=618.2和16ng/mL)明显高于成熟卵FF(中位数=368和5.7ng/mL, $P<0.05$),其标准 E_2 505.8ng/mL(敏感性:81.0%,特异性81.8%),T10.4ng/mL(敏感性:90.9%,特异性82.4%)。卵泡直径与FF中的 E_2 和T的浓度负相关。在成熟卵FF中P/T、P/ E_2 和 E_2 /T的比率明显增加。 E_2 和T浓度可以作为预测卵子成熟的指标,但尚不能预测受精率。

有学者认为孕酮与雌激素水平可以作为区分成熟卵和未成熟卵的标志性参数,由于在排卵前孕酮、雌激素和睾酮明显减少,尤其是在LH峰后。Conneely等认为孕酮在生殖过程中通过激素和细胞内的特殊蛋白——孕激素受体(progesterone receptors, PR)相互作用,调整靶基因转录,又由LH和FSH通过环腺苷酶(cAMP)途径在卵泡期进行调控PRmRNA的表达,帮助妊娠建立和维持,它的作用非常重要,但目前该结论尚有争议。

Okazaki等报道在IVF周期卵丘细胞分泌的高浓度P有促进减数分裂恢复和提高早期胚胎发展到囊胚的比例,另外孕酮与颗粒细胞PR受体结合与颗粒细胞增殖降低和颗粒细胞卵子复合体(cumulus-oocyte complexes, COCs)突出有关,并使卵丘细胞间的连接关闭。

Hasegawa通过对IVF周期患者取卵日卵丘细胞PR的研究发现,PR表达的减少与好的胚胎(第3天胚胎, ≥ 7 细胞,碎片 $\leq 5\%$)有关。他们在取卵日对每个卵泡直径进行测量,收集每一个成熟卵泡的卵泡液,将颗粒细胞分离,运用组织化学和逆转录聚合酶链反应(reverse transcript polymerase chain reaction, RT-PCR)技术,检测PR和PRmRNA。结果:PR-A主要在胞浆中,PR-B主要在细胞核中,在卵泡直径和PR表达间没有

明显关系,与甾体激素浓度和LH也没有明显关系。PRs的表达与受精和卵裂率没有明显关系,但发现在形态好的胚胎PR表达较低($P<0.05$)。在过去的10年里,促性腺激素释放激素激动剂(gonadotropin-releasing hormone-agonist, GnRHa)一直作为促排卵常规用药,该药经研究发现它能够使体内或体外的颗粒细胞减少从而降低在FF中甾体激素。

Juan等则发现芳香化酶抑制剂来曲唑(letrozole)对于IVF低反应人群(既往由于卵巢低反应有IVF取消周期)可以明显提高其卵泡液中睾酮和雄烯二酮浓度(80.3pg/mL比43.8pg/mL和57.9mg/mL比37.4mg/mL),并有较高取卵数(6.1比4.3)和较高的种植率(25%比9.4%)。

三、卵子成熟与卵泡液中细胞因子的关系

细胞因子(cytokine)是由机体各种细胞分泌的具有调控细胞生长分化、调节免疫功能和生理活性并参与病理反应的小分子蛋白质。

由于卵巢血管未穿过卵泡基膜,故卵泡液直接提供了颗粒细胞和卵子的生存环境,由于卵母细胞和卵丘颗粒细胞通过裂隙连接(gap-junction)耦合,许多调节分子如:类固醇、 Ca^{2+} 、肌醇、肌醇三磷酸(IP3)、cAMP和嘌呤等通过裂隙连接可自由地在卵母细胞和卵丘细胞间流动,该信号交流受促性腺激素的调节。同样促性腺激素对GVBD的诱导也受IP3/ Ca^{2+} 通路影响。研究表明 Ca^{2+} 瞬间波动的激素信号可能对生发泡破裂的时机很重要。同时卵泡液的成分反映卵泡激素合成的情况以及卵子成熟、排卵和黄体化等过程。卵泡的生长主要靠促性腺激素的刺激,近年来,愈来愈多的证据表明,除促性腺激素以外,卵巢局部产生的其他诸多因子也参与调节卵泡的

发育过程。

动物实验表明,干细胞因子(stem cell factor,SCF)属多肽类物质,是酪氨酸激酶受体的配体,具有促进细胞增殖和分化的作用。动物实验表明,SCF能够促进卵泡发育,对优势卵泡生长有积极的影响,与其受体c-Kit结合在卵母细胞生长中起一定作用。关于SCF与人卵泡发育之间关系的研究很少,对诱导原始卵泡发育和启动原始卵泡增殖是必要的,从卵泡发育初始SCF就发挥积极的促进作用,并伴随着卵泡发育整个过程。Kang等学者运用免疫组化方法对小鼠的不同时期的卵泡发育情况进行研究发现,在卵泡的发育中c-Kit/SCF在卵子的表达逐渐减弱,在颗粒细胞和卵泡膜细胞弱表达,抑制素- α (inhibin- α)主要在颗粒细胞、前窦状卵泡和窦状卵泡早期表达,研究表明c-Kit/SCF蛋白表达的特殊性,在卵泡开始发育后表达降低,而抑制素- α 的表达与上述蛋白表达呈负相关。提示SCF存在于卵泡液中并可能调节人类卵母细胞生长或卵泡细胞发育。较高水平的SCF能够诱导多个原始卵泡增殖发育,促使含有卵母细胞的窦前卵泡发育的数目增多,说明SCF在启动人原始卵泡及促进其生长发育方面也有积极作用。有研究表明SCF在胚胎移植后获得成功妊娠IVF-ET患者的卵泡液中浓度高于未妊娠者。

有研究发现减数分裂的恢复有赖于上皮

生长因子(epidermal growth factor,EGF),在体外动物实验发现它与COCs的膨出有关。细胞质蛋白、MPF、有丝分裂原激活蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase,MAPK)和细胞静止因子(cytological factor,CSF)均调节卵母细胞的核成熟。

卵母细胞的成熟依赖于一个特定时段特殊基因表达,基因表达在RNA和蛋白质水平的产物可能诱导卵母细胞成熟。Mckenzie等的研究发现IVF周期卵丘颗粒细胞上基因表达是预测受精和选择胚胎的指标之一,发现颗粒细胞上HAS2、COX2、GREM1高表达预示着好的胚胎,指导移植前选择,减少多胎的发生。

综上所述,ART给人类带来福音,同时卵子质量问题、未成熟卵子、鉴别优良卵子和早期胚胎的问题等一直是当今学者关注的焦点,为提高ART的成功率和降低PCO患者的卵巢过度刺激(ovarian hyperstimulation syndrome,OHSS)风险,减少患者痛苦,降低治疗费用,有学者提出设想,免去促排卵而直接将卵子取出在体外成熟、受精,那么卵子的生存环境和成熟所需的条件对我们来说非常重要。探讨卵子的发育成熟机制,提高胚胎质量,从而达到减少移植数量和增加妊娠率,使ART更好地为人类服务。

(马艳华)

第二章 黄素化未破卵泡综合征的研究进展

黄素化未破卵泡综合征 (luteinized unruptured follicle syndrome, LUFS), 是无排卵性月经的一种特殊类型。它是指由于中枢性或局部性异常致使卵泡不能排卵, 但卵泡中的颗粒细胞受黄体生成素的刺激发生黄素化而分泌孕激素, 因而出现酷似正常排卵周期的一些临床表现, 如月经周期正常, 基础体温呈双相变化, 经期子宫内膜呈分泌期改变等。其发病机制尚不完全清楚。

LUFS 自 1975 年 Jewelewicz 首次报道后, 日益引起重视, 其发生率在有生育能力的妇女中约为 5%~10%, 在不孕症妇女中约为 9%~55%。近年来对 LUFS 的发病机制、诊断及治疗的研究不断深入, 现对此进行综述。

一、LUFS 的发病机制

(一) 中枢性激素分泌紊乱

早期学者通过动物模型观察到 LUFS 组动物: ① LH、免疫学测定的 LH 及卵泡刺激素 (FSH) 上升缓慢。② GnRH 出现高峰时, 可行性生物测定 LH 与免疫法测定的 LH 相比缺乏差异。③ 在 GnRH 出现高峰时, 缺乏孕激素和 17- α 羟孕酮的分泌。④ 在 GnRH 高峰过后, 孕激素和 17- α 羟孕酮的上升延迟和缓慢; 认为 LH 峰的减弱是发生 LUFS 的一个原因进而导致月经中期孕激素分泌的不足。LUFS 周期的 LH 峰值较正常月经周期明显低下。LH 分泌不足影响到卵巢内环磷酸腺苷的增加, 使孕酮的分泌减少, 局部纤维蛋白溶解酶激活剂活性低下, 降低纤维蛋

白的溶解和卵泡壁自身消化作用, 使卵泡的成熟、破裂及卵子排出障碍。Acosta 等通过对母马的研究发现卵泡成熟而未排出的母马与正常排卵的母马相比存在 LH 分泌的不足, LH 的不足又导致卵泡周围血流的减少及卵泡内 E_2 、抑制素-1、VEGF 等浓度的降低, 雌二醇 (E_2)、抑制素-1 等 FSH 抑制物的减少又导致血浆 FSH 浓度的升高。由此可见, LUFS 发生的原因与卵泡期和 (或) 黄体期的内分泌变化有关。然而也有学者报道, 对 28 例患者用克罗米芬 (clomifene, CC)/人绝经期促性腺激素 (human pausal gonadotropin, HMG)/hCG 促排卵治疗 31 个周期后出现的 LUFS 组与对照组相比, 在注射 hCG 前 12h 卵泡的生长、 E_2 、P、LH、FSH 水平无差别, 但黄体中期 P 水平在 LUFS 组更低。因此提示除了中枢性促性腺激素改变外, 可能卵巢组织存在某种缺陷特别是 LH 受体的缺乏也是 LUFS 的原因之一。

(二) 卵巢局部组织学及分泌功能紊乱

前列腺素酶抑制剂可以使 LUFS 发生率增加。Peters 等通过牛的卵泡观察发现, 卵泡液内 PGE_2 的浓度在注射 GnRH 后增加, 并于 24h 达到高峰, 注射环氧化酶-2 抑制剂后 90% 发生 LUFS。Gaytan 等观察到用孕激素受体拮抗剂 (米非司酮) 和前列腺素抑制剂影响卵泡的破裂, 认为孕激素和前列腺素是卵泡破裂所必需的。前列腺素合成抑制剂使排卵前卵泡液中 PGE_2 、 $PGF_{2\alpha}$ 及白三烯水平皆显著降低, 使卵巢合成的雌激素下降而发生

LUFs。但前列腺素酶抑制剂影响卵泡破裂的机制尚不完全清楚。Westfahl 的动物模型研究表明,hCG 注射后不同时期卵巢组织学与血甾体激素检测显示,抽吸的 LUF 与黄体(CL)组织中孕酮含量相同,LUF 与黄体细胞体外培养中受 hCG 刺激后孕激素分泌增多,且以 LUF 细胞为甚;PGE₂ 可抑制 LUF 及中期黄体细胞对 hCG 的反应,但对早期黄体细胞无效,LUFs 周期中的黄体期孕激素分泌不足是由于 LUF 中颗粒细胞量少且提前对 PGE₂ 发生反应的缘故。LUFs 的发生也可能是因为颗粒细胞缺乏,从而导致早期的卵泡生长缓慢,LH 峰后早期的孕激素的分泌缺乏。对 1 例患者的 LUFs 周期追踪观察发现,卵泡周围动脉的收缩期血流峰值(PVS)在 LH 峰后迅速下降,血流减少,其变化与外周静脉血性激素的变化相关。在采用阴道多普勒估计黄体功能时发现,对照组优势卵泡侧卵巢阻力指数(RI)在卵泡期及黄体期皆低于对侧,而在 LUFs 患者两侧 RI 无区别。在 PCOS 患者中发现,无排卵患者卵巢间质血流的 RI 无周期性变化。Merce 等观察 36 例不孕患者的 6 个 FSH 刺激周期,其中 9 个 LUFs 周期的卵巢间质血流 RI、PI 无周期性变化。关于 LUFs 患者卵巢间质动脉的血流动力学变化有待进一步研究。

近年来,有研究表明凝血酶及其受体(PAR1)在黄素化颗粒细胞培养液中能促进单核细胞趋化因子和 IL-8 的产生,从而有助于卵泡排卵。基质金属蛋白酶 2(MMP-2)单克隆抗体或肿瘤坏死因子(TNF- α)抗血清在注射 GnRH 后 8h 注入小鼠卵泡内,第 8d 卵巢切除发现发生黄素化的卵泡,这与 MMP-2 抗血清抑制了对上皮细胞和内皮细胞起支持作用的基底膜的 IV 胶原的降解有关。未能排卵的卵泡液中雌激素、游离的胰岛素样生长因子-1(IGF-1)、抑制素-A 和血管内皮生长因子(VEGF)明显低于正常卵泡液。Ginther

等认为卵泡液中可利用的细胞因子特别 IGF-1 在优势卵泡是否排卵方面的作用是不容忽视的,游离的 IGF-1 能促进抑制素-A 和 VEGF 的产生。White 等给雌鼠应用核受体相关蛋白的辅抑制物后,在排卵期发生成熟的卵母细胞排出障碍,出现 LUFs 的相关变化,提示 LUFs 的发生可能与抑制了核受体的功能有关。Loffler 等发现卵泡壁缺乏神经激肽 1 受体的小鼠未破裂黄素化卵泡的数目比正常小鼠明显增多,认为排卵前卵泡壁的肌肉组织对排卵起重要作用,未排出卵母细胞的黄体缺乏卵泡壁肌肉的收缩。

(三)局部机械因素

在不孕患者中子宫内膜异位症(endometriosis, EMs)占 30%,特别是在异位症的早期阶段,不孕主要与黄体功能不全和 LUFs 的发生有关,但何为因果尚不清楚。EMs 患者 LUFs 的发生率明显高于无 EMs 者。在 EMs 模型中有学者发现子宫内膜异位于卵巢上的小白鼠 LUFs 的发生率是对照组的 10 倍,而异位于单侧卵巢 LUFs 的发生率是双侧的 4 倍。Kaya 等观察 126 例不孕妇女发现,轻、中、重度 EMs 患者 LUFs 的发生率分别为 13.3%、41.2%、72.7%,异位于卵巢者 LUFs 发生率为 45.9%,异位于其他组织,但卵巢正常者的发病率为 9.5%,无异位症者 LUFs 发生率为 5.9%。LUFs 是 EMs 患者不孕的一个原因。EMs 患者卵泡发育不良,前列腺素分泌发生变化以及盆腔的粘连使 LUFs 的发生率增加。Cahill 等通过对颗粒细胞培养发现中度 EMs 患者与输卵管因素患者相比卵母细胞的颗粒细胞对 LH 反应不敏感,可能是 EMs 患者排卵障碍的一个原因。盆腔炎、盆腔手术患者也易发生 LUFs。LUFs 患者盆腔因素占 63.3%,复发率 52.6%,卵巢粘连使局部组织发生形态学变化,卵巢表面增厚是造成排卵障碍的原因。