

· 临床医学 ·

染色体核型分析和 AZF 检测在男性不育中的应用

张 凤¹, 林 敏¹, 高 皋², 杨晓玉^{3*}¹南京医科大学康本医学检验所, 江苏 南京 210029; ²南京医科大学康达学院, 江苏 连云港 222000; ³南京医科大学第一附属医院生殖医学科, 江苏 南京 210029

[摘要] 目的: 探讨染色体核型分析和无精子因子(azoospermia factor, AZF)微缺失检测在男性不育中的应用。方法: 对2017年1月—2020年6月在南京医科大学第一附属医院生殖医学科就诊的1 899例中重度少精子症和非梗阻性无精子症男性不育症患者, 进行外周血染色体核型分析和AZF微缺失检测。结果: 1 899例男性不育症患者检出225例染色体核型异常, 染色体核型异常率为11.85%, 最常见核型为47, XXY, 占41.78%(94/225); AZF微缺失215例, 异常率为11.32%, 最常见类型为AZFc区缺失, 占69.30%(149/215)。结论: 将染色体核型分析和AZF微缺失检测二者结合应用于临床寻找男性不育症的病因, 可以提供更加明确的遗传学诊断。

[关键词] 染色体核型; AZF微缺失; 男性不育症

[中图分类号] R698.2

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2021)10-1536-06

doi: 10.7655/NYDXBNS20211022

男性不育症是引起育龄夫妇不育的主要原因之一, 有10%~15%的育龄夫妇不能生育, 其中男性因素占30%~50%^[1]。遗传学异常是男性不育的重要病因之一, 约占男性不育病因的30%^[2]。非梗阻性无精子症(non-obstructive azoospermia, NOA)和重度少精子症占男性不育患者总数的10%~20%。其中, 染色体核型异常和无精子因子(azoospermia factor, AZF)微缺失可解释15%~20%的NOA及少精子症。

染色体核型异常包括染色体数目和结构异常, 染色体数目异常主要是47, XXY、47, XYY; 结构异常包括染色体缺失、易位、倒位、插入、重复和环状染色体等^[3]。染色体数目异常和结构异常都可能会导致精子发生异常。Y染色体长臂上存在控制睾丸发育, 精子发生及维持的区域, 称为AZF, AZF由AZFa、AZFb和AZFc 3个区域构成, AZF微缺失可导致NOA和重度少精子症, 继而引起男性不育。重度少精子症中7%~10%因AZF微缺失所致, 而在NOA中这一比例上升至15%~20%^[4]。本文对1 899例患者进行染色体核型和AZF微缺失的分析, 报告如下。

[基金项目] 国家自然科学基金(81971374)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: yxy1921@163.com

1 对象和方法

1.1 对象

2017年1月—2020年6月在南京医科大学第一附属医院生殖中心就诊的中重度少精子症和非梗阻性无精子症患者。入组标准: 非梗阻性无精子症(精液量正常, 3次离心沉淀后镜检未发现精子, 睾丸体积缩小, 双侧输精管存在, 促卵泡刺激素>7.6 U/L); 中重度少精子症(2次以上精液分析精子浓度均低于 5×10^6 个/mL为重度少精子症, 精子浓度位于 $5 \times 10^6 \sim 10 \times 10^6$ 个/mL为中度少精子症)^[5]。共入组1 899例患者, 其中非梗阻性无精子症894例, 重度少精子症641例, 中度少精子症364例。所有患者均进行染色体核型分析和AZF微缺失检查。

1.2 方法

1.2.1 精液常规分析

按照《世界卫生组织人类精液检查与处理实验室手册(5版)》^[6]的精液分析标准进行, 计算机辅助精液技术分析(江苏瑞祺CFT-9202精子质量检测分析系统)。受检者常规进行精液分析, 无精子症需进行离心沉渣确认。

1.2.2 外周血染色体核型分析

采集患者外周血2~3 mL, 肝素抗凝。无菌方式接种28~30滴抗凝血于人体外周血淋巴细胞培养基

(广州达晖生物技术股份有限公司)中,置于37℃饱和湿度培养箱中培养68~72 h。培养终止前在培养基中加入浓度为20 μg/mL的秋水仙素2~3滴(1 mL针头垂直滴加),使最终浓度为0.04~0.08 μg/mL,37℃培养箱继续培养2.5 h后收获细胞。正常进行染色体制片及G显带进行染色体核型分析,每例样本计数30个中期分裂相,分析计数5个细胞核型,对于异常染色体核型分析计数100个中期分裂相。

1.2.3 AZF微缺失检测

DNA的提取按照血液基因柱式小量提取试剂盒说明书进行,-20℃保存。AZF微缺失检测试剂盒由上海透景生命科技股份有限公司提供。采用两管多重PCR扩增,4个通道荧光检测的方法,判断AZFa区(sY84、sY86)、AZFb区(sY127、sY134)和AZFc区(sY254、sY255)的3个区域6个序列标签位点(STS)的微缺失,同时设置2个内对照基因:男性性别决定基因(SRY)和编码锌指蛋白基因(ZFY)。

PCR扩增反应条件:第一阶段50℃ 2 min;第二阶段95℃ 5 min;第三阶段95℃ 15 s,60℃ 30 s,72℃ 30 s,38个循环;第四阶段72℃ 5 min。在第三阶段的60℃时收集FAM/VIC/ROX/Cy5信号,并保存相关文件。当FAM通道结果为典型的S型扩增曲线且 $C_r < 32$,进行结果判读。否则实验失败。

2 结果

2.1 染色体核型分析

1 899例检出225例异常染色体核型,异常率为11.85%。其中数目异常100例(44.44%),结构异常76例(33.78%),嵌合体10例(4.44%),多态性18例(8.00%);46,XX性发育异常21例(9.33%)。异常染色体核型具体分布见表1。225例异常染色体核型病例临床表现为无精子症的有156例(69.33%),少精子症的有69例(30.67%)。异常核型占比最多的是47,XXY,共检出94例,占41.78%;其次为46,XX核型,检出21例,占9.33%。

表1 异常染色体核型分布

染色体异常核型类型	例数	临床表现(n)		异常核型构成比(%)
		NOA	少精子症	
数目异常(合计)	100	91	9	44.44
47,XXY	92	89	3	40.89
47,XXY,inv(9)(p12q21)	1	1	0	0.44
47,XXY,inv(6)(p21q25)	1	1	0	0.44
47,XYY	4	0	4	1.78
47,XY,+mar	2	0	2	0.89
结构异常(合计)	76	26	50	33.78
45,XY,rob(13;14)	14	1	13	6.22
45,XY,rob(13;15)	1	0	1	0.44
45,XY,rob(13;22)	1	0	1	0.44
45,XY,rob(14;21)	1	0	1	0.44
46,XY,inv(9)(p12q13)	16	6	10	7.11
46,X,i(Yq)	1	1	0	0.44
46,XY,t(6;15;21)(q15;q11;p11)	1	0	1	0.44
46,XY,t(1;10)(q22;p14)	1	1	0	0.44
46,X,der(Y)(q10q10)	1	1	0	0.44
46,XY,t(4;15)(q31;q13)	1	1	0	0.44
46,XY,t(14;19)(p10;p10)	1	0	1	0.44
46,XY,t(2;15)(p11;q26)	1	0	1	0.44
46,XY,t(9;16)(p10;q10)	1	1	0	0.44
46,XY,t(14;17)(q32;q21)	1	1	0	0.44
46,XY,t(1;19)(q21;p13)	1	0	1	0.44
46,XY,t(1;21)(p31;q22),inv(1)(p13q21)	1	1	0	0.44
46,XY,t(4;17)(q27;q23)	1	0	1	0.44
46,XY,inv(5)(p15q13)	1	0	1	0.44

(续表1)

染色体异常核型类型	临床表现		例数	异常核型 构成比(%)
	NOA	少精子症		
46,X,inv(Y)(q11q12)	1	0	1	0.44
46,XY,t(1;15)(q25;q15)	0	1	1	0.44
46,XY,t(8;12)(q22;p13)	1	0	1	0.44
46,XY,t(2;5)(q35;q15)	0	1	1	0.44
46,XY,t(6;19)(q22;p13),inv(6)(q22q23)	0	1	1	0.44
46,XY,t(15;20)(p11;q11)	0	1	1	0.44
46,XY,inv(1)(p12q21)	1	0	1	0.44
46,X,dup(Y)(q11q12)	0	1	1	0.44
46,XY,inv(1)(p13q42)	0	1	1	0.44
46,XY,t(1;12)(q21;q24)	1	0	1	0.44
46,XY,t(1;3)(p13;p25)	1	0	1	0.44
46,XY,t(14;19)(p10;p10)	0	1	1	0.44
46,XY,t(13;14)(q14;q24)	0	1	1	0.44
46,XY,t(6;13)(q26;q13)	0	1	1	0.44
46,XY,t(1;9)(q41;q22)	0	1	1	0.44
46,XY,ins(9;3)(q32;p26p13)	1	0	1	0.44
46,XY,t(1;4;7)(q25;q31;p22)	0	1	1	0.44
46,XY,t(17;21)(q25;q11)	0	1	1	0.44
46,XY,t(3;5)(p13;q29)	0	1	1	0.44
46,XY,t(3;16)(p14;p12)	0	1	1	0.44
46,Y,t(X;12)(q24;p13)	1	0	1	0.44
46,XY,t(1;15)(p10;q10)	0	1	1	0.44
46,X,del(Y)(q12)	5	3	8	3.56
多态性(合计)	10	8	18	8.00
46,X,Yqh+	2	2	4	1.78
46,XY,1qh+	3	1	4	1.78
46,X,Yp+	3	0	3	1.33
46,XY,15ps+	0	4	4	1.78
46,XY,22ps-	1	0	1	0.44
46,XY,21pstk+	0	1	1	0.44
46,XY,22pstk+	1	0	1	0.44
嵌合体	8	2	10	4.44
45,X(40%)/46,XY(60%)	1	0	1	0.44
45,X(5%)/46,XY(95%)	0	1	1	0.44
45,X(4%)/46,X,del(Y)(q12)(96%)	1	0	1	0.44
45,X(10%)/46,X,del(Y)(q12)(90%)	2	0	2	0.89
45,X(20%)/46,X,del(Y)(q12)(80%)	2	0	2	0.89
45,X(85%)/46,X,inv(Y)(q11;q12)(15%)	1	0	1	0.44
45,X(35%)/47,XY(65%)	0	1	1	0.44
46,XX(55%)/47,XXY(45%)	1	0	1	0.44
性发育异常	21	0	21	9.33
46,XX	21	0	21	9.33
合计	156	69	225	100.00

2.2 AZF微缺失分析

1 899例进行AZF微缺失分析,检出215例存在

AZF微缺失,缺失率为11.32%。发生缺失区域最高为AZFc区149例,缺失率为69.30%;其次为AZFb+c

区缺失25例,缺失率为11.63%;AZFa+b+c区缺失21例,缺失率为9.77%,但其染色体核型均为46,XX。215例AZF微缺失病例临床表现为NOA病例143例,少精子症的病例为72例(表2)。进一步将全部病例分为3组观察,NOA组894例,发生AZF微缺失143例(15.99%,143/894);重度少精子症组641例,发生AZF微缺失63例(9.83%,63/641);中度少精子症组364例,发生AZF微缺失9例(2.47%,9/364)。

2.3 染色体核型异常合并AZF微缺失的分析

1 899例患者中共检出染色体核型异常合并AZF微缺失的病例36例,36例患者均为NOA。21例为染色体核型46,XX合并AZFa+b+c缺失;12例为AZFb+c缺失合并染色体异常,主要是出现del(Y)和inv(Y);AZFb缺失1例,染色体核型为45,X(85%)/46,X,inv(Y)(q11q12)(15%);AZFc缺失2例,染色体核型为46,XY,inv(9)(p12q13)和45,X(40%)/46,XY(60%)(表3)。

表2 AZF微缺失分布

(n)

组别	例数	AZFa	AZFb	AZFc	AZFb+c	AZFa+b+c	
						SRY阳性	SRY阴性
NOA	143	10	9	78	25	15	6
重度少精子症	63	0	0	63	0	0	0
中度少精子症	9	1	0	8	0	0	0
合计	215	11	9	149	25	15	6

表3 染色体核型异常合并AZF微缺失异常分布

染色体异常类型	例数	基因缺失类型	临床表现
46,XX	21	AZFa+b+c	无精子症
46,X,del(Y)(q12)	6	AZFb+c	无精子症
45,X(10%)/46,X,del(Y)(q12)(90%)	2	AZFb+c	无精子症
45,X(20%)/46,X,del(Y)(q12)(80%)	2	AZFb+c	无精子症
46,X,inv(Y)(q11q12)	1	AZFb+c	无精子症
45,XY,rob(13;14)	1	AZFb+c	无精子症
46,XY,inv(9)(p12q13)	1	AZFc	无精子症
45,X(40%)/46,XY(60%)	1	AZFc	无精子症
45,X(85%)/46,X,inv(Y)(q11q12)(15%)	1	AZFb	无精子症

AZFa+b+c缺失是指AZFa、AZFb和AZFc全部缺失,AZFb+c缺失是指AZFb和AZFc全部缺失。

3 讨论

染色体核型异常和AZF微缺失是导致男性不育的常见遗传因素。本文对1 899例男性不育症患者同时进行染色体核型分析和AZF微缺失检测,其中异常染色体核型者225例,占11.85%,这与其他学者研究基本一致^[7-8]。染色体核型异常中,无精子症156例,占69.33%,少精子症69例,占30.67%。Klinefelter综合征(47,XXY)是男性不育症患者中最常见的染色体核型异常^[8-9,14],本文检出47,XXY患者94例,比例最高,占染色体异常核型的41.78%。47,XXY又称为Klinefelter综合征,与正常男性染色体核型相比多了1条X染色体。在男性不育症中发生率为1/10,这类患者多因不育就诊,实验室检查常表现为无精子症或重度少精子症,血清

睾酮明显降低,促卵泡刺激素和促黄体生成素分泌增高^[9]。染色体核型异常除Klinefelter综合征最为常见外,还有相对常见的1号染色体核型异常15例,异常率6.67%(15/225);15号染色体核型异常11例,异常率4.89%(11/225),这与其他学者报道基本一致^[11-12]。

染色体结构异常为69例,罗伯逊易位和9号臂间倒位占较大比例。罗伯逊易位在总的人群中发病率为1.23%,在不孕人群中占1%^[13]。人类罗伯逊易位发生在D、G组染色体之间,涉及13、14、15、21、22号染色体,这5条染色体均为近端着丝粒染色体。其各号染色体之间发生罗伯逊易位在人群中是有明显差异的,本研究中罗伯逊易位病例有17例,占受检人数的0.89%(17/1899),der(13;14)就占了14例,也是最为常见的罗伯逊易位。由于短臂上遗传基因

不多,遗传效应不太明显,因此罗伯逊易位携带者的表型和智力发育一般都正常。男性不育患者通常因为少精子症和无精子症而就诊,其产生原因是由于罗伯逊易位在减数分裂时染色体交叉和联会时异常导致减数分裂异常,从而各种基因组产生不平衡导致配子死亡^[14]。

男性不育的遗传学病因包括染色体畸变、Y染色体微缺失和单基因突变等。其中以Klinefelter综合征、囊性纤维化跨膜介导的调节子基因和Y染色体微缺失最为常见^[15]。Y染色体上有大量的回文序列,其内部的非等位同源重组是Y染色体微缺失的主要原因^[16]。有些Y染色体同源序列在X染色体或常染色体,因此同源重组都可能导致Y染色体微缺失的产生^[15,17-18]。Y染色体长臂的AZF区是微缺失的好发区域,一般认为AZFa的缺失与唯支持细胞综合征或早期的生精阻滞具有明显的相关性,引起严重生精障碍;AZFb的缺失表现为生精阻滞、无精子症或少精子症;AZFc的缺失临床表现多样,从重度少精子症到无精子症都可观察到,也是Y染色体微缺失的热点区域。本文对1 899例患者进行AZF微缺失检测,无精子症894例,占47.08%,少精子症1 005例,占52.92%。总共检测出215例AZF微缺失,异常率为11.32%,与多数学者报道相近^[4,19]。发生AZF微缺失区域由高到低依次为AZFc缺失149例(69.3%),临床表现为无精子症或重度少精子症;AZFb+c缺失25例(11.63%),临床表现均为无精子症;AZFa+b+c缺失21例(9.77%),染色体核型均为46,XX,临床表现为无精子症;AZFa缺失11例(5.11%)和AZFb缺失9例(4.19%),除1例AZFa部分缺失(sY86缺失)表现为重度少精子症外,其余表现为无精子症。

本研究中有21例AZFa+b+c缺失的病例,染色体核型均为46,XX,根据性别决定基因(sex determining region, SRY)是否缺失,又分为SRY阳性和SRY阴性。既往称之为46,XX男性或男性性反转综合征,在男性新生儿中发病率约为1/20 000,患者染色体核型为46,XX,但表型为男性^[20]。绝大多数SRY阳性患者青春期前无异常,婚后因不育和无精子症进行染色体检查而被发现。大多数SRY阴性患者外生殖器异常,青春期前多以尿道下裂、两性畸形等发育问题就诊^[19]。本研究显示21例46,XX患者中有15例SRY呈阳性,6例SRY呈阴性,临床表现都为无精子症。有研究证明提示性别的决定和分化并不完全由SRY基因决定,可能有位于常染色

体和X染色体上的基因参与性别表型的调控^[21]。临床上对于该类患者可以适当进行雄激素补充治疗,同时辅以心理治疗。对于有生育诉求的患者,建议考虑借助供精人工授精或供精体外受精。

一般建议精子浓度少于 5×10^6 个/mL以及NOA需要检测AZF微缺失,本研究中无精子症病例AZF微缺失率最高为15.99%,精子浓度低于 5×10^6 个/mL的重度少精子症病例AZF微缺失率为9.83%,而精子浓度在 $5 \times 10^6 \sim 10 \times 10^6$ 个/mL的中度少精子症病例中也发现2.47% AZF微缺失率值得引起临床关注。染色体核型异常中,Klinefelter综合征94例,均没有发现AZF微缺失。临床上出现无精子症,小睾丸的Klinefelter综合征(染色体核型为47,XXY),可以考虑不做AZF微缺失的检查。

染色体核型检查主要是对染色体的畸变进行诊断,包括数目和结构的畸变,但该技术的精确性有限,不能检测出微小基因组片段的缺失、重复或重排。Y染色体长臂上存在与精子发生相关的候选基因,因此,开展Y染色体的AZF微缺失的检测具有重要的临床意义。将染色体核型分析和基因位点的检测结合,对男性不育的治疗及辅助生殖技术的临床开展,具有重要的理论和实践意义。胞浆内单精子注射助孕则会将AZFc缺失垂直遗传给男性子代,遗传咨询后可以考虑PGT性别选择^[22-23]。随着近些年分子遗传学的快速进展,越来越多的非梗阻无精子症和重度少弱精子症被证实为单基因的致病性变异所致^[24]。应用高通量的测序技术,比如全外显子组测序(whole-exome sequencing, WES)或基因panel已经成功鉴定了多个致病基因,将来在临床可能会得到广泛应用^[25-26]。

[参考文献]

- [1] AGARWAL A, BASKARAN S, PAREKH N, et al. Male infertility[J]. *Lancet*, 2021, 397(10271):319-333
- [2] MARTIN R H. Cytogenetic determinations of male fertility [J]. *Hum Reprod Update*, 2008, 14(4):379-390
- [3] 程 烽,张宝珍. 507例男性不育症患者细胞遗传学分析[J]. *中国优生与遗传杂志*, 2001, 9(3):38-39
- [4] PATRAT C, BIENVENU T, JANNY L, et al. Clinical data and parenthood of 63 infertile and Y-microdeleted men [J]. *Fertil Steril*, 2010, 93(3):822-832
- [5] 陈子江,刘嘉茵,黄荷凤,等. 不孕症诊断指南[J]. *中华妇产科杂志*, 2019, 54(8):505-510
- [6] WORLD HEALTH ORGANIZATION. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen[R]. Geneva: World Health Organization, 2010

- [7] 蔡靖,朱元昌,吴彤华,等.深圳地区无精子症和少精子症患者的分子和细胞遗传学分析[J].中国优生与遗传杂志,2015,23(7):128-131
- [8] 曹颖,王亚男,臧伟伟,等.洛阳地区415例男性不育患者染色体核型及Y染色体微缺失分析[J].中国优生与遗传杂志,2019,27(6):676-678
- [9] 高佃军,陈韵,高逸文,等.伴及不伴精索静脉曲张的无精子、严重少精子症患者Y染色体微缺失对比研究[J].中华男科学杂志,2016,22(4):325-329
- [10] 韩瑞钰,马婧,周敬华,等.河北地区2373例遗传咨询患者遗传检测结果回顾性分析[J].中国优生与遗传杂志,2017,25(8):64-67
- [11] 宋旭梅,王贵杰,随瑞芝,等.男性生育异常与染色体多态相关性分析[J].生殖医学杂志,2020,28(5):457-461
- [12] 刘敬,韩婷婷,孟祥黔,等.1号染色体平衡异位及其断裂点位置与人精液质量的相关性分析[J].癌变.畸变.突变,2020,32(5):391-394
- [13] MUNNÉ S, ESCUDEROT, SANDALINAS M, et al. Gamete segregation in female carriers of Robertsonian translocations [J]. *Cytogenet Cell Genet*, 2000, 90(4): 303-308
- [14] 冯亮,姜丽民,袁海燕.罗伯逊异位携带者引起生殖异常的临床分析[J].中国妇幼保健,2016,31(17):3577-3578
- [15] 蔡志明.Y染色体及其微缺失与男性不育:过去、现在与将来[J].中华男科学杂志,2010,16(5):387-394
- [16] ROSSER Z H, BALARESQUE P, JOBLING M A. Gene conversion between the X chromosome and the male-specific region of the Y chromosome at a translocation hotspot [J]. *Am J Hum Genet*, 2009, 85(1): 130-134
- [17] 吴畏,周作民,林敏,等.Y染色体微缺失患者与无精子或严重少弱精子症患者ICSI治疗结局比较[J].中华男科学杂志,2011,17(9):771-774
- [18] 史轶超,崔英霞,魏莉,等.不育男性无精子症因子微缺失的分子与临床特征:5年研究回顾[J].中华男科学杂志,2010,16(4):314-319
- [19] 朱晓斌,郭安亮,曹小蓉,等.改良多重聚合酶链反应检测Y染色体AZF微缺失[J].中华男科学杂志,2006,12(3):199-201
- [20] 刘兴章,刘晃,郑立新,等.46,XX男性性反转综合征遗传学诊断及临床分析[J].中国男科学杂志,2019,33(2):55-57
- [21] 张兰雪,赵向宇,李琳.SRY阴性46,XX男性性反转综合征研究进展[J].中国优生与遗传杂志,2019,27(1):125-127
- [22] KRAUSZ C, HOEFSLOOT L, SIMONI M, et al. EAA/EMQN best practice guidelines for molecular diagnosis of Y-chromosomal microdeletions: state-of-the-art 2013 [J]. *Andrology*, 2014, 14(2): 5-19
- [23] RIVES N. Y chromosome microdeletions and alterations of spermatogenesis, patient approach and genetic counseling [J]. *Ann Endocrinol*, 2014, 75(2): 112-114
- [24] CHEN S, WANG G, ZHENG X, et al. Whole-exome sequencing of a large Chinese azoospermia and severe oligospermia cohort identifies novel infertility causative variants and genes [J]. *Hum Mol Genet*, 2020, 29(14): 2451-2459
- [25] THIRUMAVALAVAN N, GABRIELSEN J S, LAMB D J. Where are we going with gene screening for male infertility? [J]. *Fertil Steril*, 2019, 111(5): 842-850
- [26] 杨晓玉,刘贵华,安森.男性生殖相关基因检测专家共识[J].中华男科学杂志,2020,26(9):844-851

[收稿日期] 2020-11-25

(上接第1535页)

- 值[J].肿瘤影像学,2015,24(4):259-263
- [12] 王超君,秦勇,程颢,等.超声造影联合 BRAF V600E 基因在甲状腺细针穿刺意义不明确类型结节中的应用[J].中华超声影像学杂志,2019,28(1):49-54
- [13] 蔡赞,陈欢欢,王知笑,等. Bethesda 细胞病理报告系统在甲状腺细针穿刺中的应用[J].南京医科大学学报(自然科学版),2015,35(12):1718-1721
- [14] ESPIRITU G A M, MALANA J T, DUMASIS A J G V, et al. High preponderance of BRAF V600E mutation in papillary thyroid carcinoma among filipinos: a clinicopathologic study [J]. *J Glob Oncol*, 2019, 5: 1-6
- [15] 汝琦,王清,王丽华,等.甲状腺影像报告及数据系统与 BRAF V600E 基因突变检测在甲状腺结节良恶性诊断中的应用[J].中国超声医学杂志,2018,34(5):388-391

[收稿日期] 2020-12-24