

AR 基因突变雄激素不敏感综合征相关因素在性别分配中的作用分析

吴德华¹ 田红娟¹ 唐达星¹ 傅君芬² 董关萍² 吴鼎文³ 袁金娜² 杨荣旺⁴ 孙莉颖⁵

【摘要】目的 分析与青春期后 AR 基因突变雄激素不敏感综合征患儿的临床结局及外生殖器发育相关因素在性别分配中的作用,探讨 AR 基因突变雄激素不敏感综合征的最佳性别分配方案。**方法** 以 2015 年 11 月至 2018 年 10 月浙江大学医学院附属儿童医院收治的 21 例出现 AR 基因突变的雄激素不敏感综合征 (androgen insensitivity syndrome, AIS) 患儿为研究对象,年龄 3 个月至 13 岁 5 个月,中位数为 49.7 个月。初诊性别女 14 例,男 7 例。外生殖器均表现为不同程度的雄性化不全,其中 8 例表型为完全女性化、10 例为外生殖器模糊、3 例为小阴茎。在分子诊断结果的基础上,将外生殖器雄性化评分 (external masculinisation score, EMS)、性心理评估结果、外生殖器对雄激素刺激反应情况作为青春期后临床结局和外生殖器发育程度的预测因素,结合社会文化因素、性腺发育特点、患儿及其父母主观层面认知等因素,由本院多学科团队 (multidisciplinary team, MDT) 作出性别分配。**结果** 8 例 (38.1%) 诊断为完全性雄激素不敏感综合征 (complete androgen insensitivity syndrome, CAIS) 患儿的 Prader 评分均为 0 分,EMS 评分为 1~2 分,性心理量表评估结果均表现为女性优势,雄激素治疗外生殖器无明显反应,性别分配均为女性。10 例 (42.9%) Prader 评分为 1~3 分的部分性雄激素不敏感综合征 (partial androgen insensitivity syndrome, PAIS) 患儿 EMS 评分为 2~9 分,性心理量表评估结果除 1 例表现为女性优势外,其余均表现为男性优势,雄激素治疗后阴茎增长明显,性别分配均为男性。3 例 (14%) 小阴茎患儿性心理量表评估结果均表现为男性优势,雄激素治疗后阴茎明显增长,性别分配均为男性。男性性别分配者的 Prader 评分和 EMS 评分高于女性性别分配者,且差异有统计学意义 ($P < 0.05$),雄激素治疗有效性、性心理评估结果与性别分配结果间均具有良好的关联性 ($P < 0.05$)。**结论** 分析 AR 基因突变情况、EMS 评分、性心理评估结果和外生殖器雄激素治疗反应结局等因素对 AIS 患儿未来性别认同、外生殖器发育程度等青春期后临床结局进行预测具有一定的可行性,在充分考虑社会文化因素、患儿及其父母主观层面认知情况下,由 MDT 进行性别分配是目前较为适宜的 AIS 性别分配方法。

【关键词】 雄激素迟钝综合征/诊断; 雄激素迟钝综合征/治疗; 预测/方法; 预后

【中图分类号】 R726.9 R393 R588

Preliminary study on gender assignments and related predictors of androgen insensitivity syndrome with AR gene mutation.

Wu Dehua¹, Tian Hongjuan¹, Tang Daxing¹, Fu Junfen², Dong Guanping², Wu Dingwen³, Yuan Jinna², Yang Rongwang⁴, Sun Liying⁵. 1. Department of Urology; 2. Department of Endocrinology; 3. Laboratory of Molecular Diagnostics; 4. Department of Psychiatry; 5. Department of Pediatrics, Affiliated Children's Hospital, Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou 310003, China. Corresponding author: Tang Daxing, Email: tangdx0206@zju.edu.cn

【Abstract】Objective To explore the gender assignments of androgen insensitivity syndrome (AIS) pa-

DOI:10.3969/j.issn.1671-6353.2019.05.010

基金项目:国家重点研发计划“开展出生缺陷综合防治技术的应用示范和评价研究”(编号 2018YFC002700)

作者单位:1. 浙江大学医学院附属儿童医院泌尿外科(浙江省杭州市, 310003); 2. 浙江大学医学院附属儿童医院内分泌科(浙江省杭州市, 310003); 3. 浙江大学医学院附属儿童医院分子诊断实验室(浙江省杭州市, 310003); 4. 浙江大学医学院附属儿童医院心理科(浙江省杭州市, 310003); 5. 浙江大学医学院附属儿童医院少儿妇科(浙江省杭州市, 310003)

通信作者:唐达星, Email: tangdx0206@zju.edu.cn

tients and analyze the role of predictors related to clinical outcomes after puberty and external genital development in gender assignments. **Methods** Methods From November 2015 to October 2018, a total of 21 AIS in-patients with androgen receptor (*AR*) gene mutation were retrospectively analyzed. The average age was 49.7 (3 - 161) months. The primary diagnosis was female ($n = 14$) and male ($n = 7$). Their phenotypes varied with different severity of external undermasculinisation. There were complete feminization ($n = 8$), ambiguous external genitalia ($n = 10$) and micropenis ($n = 3$). Based on molecular diagnostics, external masculinisation score (EMS), psychological evaluations and reaction of external genitalia to androgen stimulation were used as the predictors for clinical outcomes after puberty and external genital development, considering sociocultural factors, gonadal characteristics and opinions from parents or children. Our multidisciplinary team (MDT) made final gender assignments. **Results** Eight cases (38.1%) were diagnosed as complete androgen insensitivity syndrome (CAIS) with Prader stage 0, EMS 1 - 2, female dominant and no response to androgen treatment of external genitalia. Ten cases (42.9%) were diagnosed as PAIS with Prader stage I - III and EMS 2 - 9 according to their sex role inventory. One case presented to be female dominant while another 8 cases were male dominant and their penises grew up significantly after androgen treatment, whose gender assignments came out to be male. All 3 micropenile cases (14%) were evaluated as male dominant by psychosexual assessment. After androgen treatment, their penises expanded markedly and all gender assignments were male. Prader stage and EMS of patients assigned male were both higher than female's, the difference was statistically significant ($P < 0.05$) and gender assignments are related with the efficacy of androgen therapy and psychosexual assessment. **Conclusion** Comprehensive analysis of *AR* gene mutations, EMS score, psychosexual assessments and response of genitals to androgen treatment may help to predict the clinical outcome, gender identity and external genital development after puberty. Meanwhile, fully considering the sociocultural factors and the viewpoint of children with parents or children, is a quite reliable method for MDT to make decision in gender assignment for AIS patients at present.

[Key words] Androgen-Insensitivity Syndrome/DI; Androgen-Insensitivity Syndrome/TH; Forecasting/MT; Prognosis

雄激素不敏感综合征 (androgen insensitivity syndrome, AIS) 是由于雄激素受体 (androgen receptor, *AR*) 基因发生突变引起的 X 染色体相关的隐性遗传病, 该病以靶组织对雄激素的抵抗为主要特征; AIS 是最常见的 46, XY 性别发育异常 (disorders of sex development, DSD), 发病率为 1 : 100 000 ~ 90 000^[1], 可根据临床表现严重程度分为 3 类: 完全性雄激素不敏感综合征 (complete androgen insensitivity syndrome, CAIS)、部分性雄激素不敏感综合征 (partial androgen insensitivity syndrome, PAIS) 和轻度雄激素不敏感综合征 (mild androgen insensitivity syndrome, MAIS)。

性别分配是 AIS 治疗的难点。虽然 CAIS 性别分配通常为女性, 并得到 2006 年芝加哥 DSD 共识的推荐^[2], 但也不断出现患儿成年后对分配性别不满意的报道^[3]。而 PAIS 无论性别分配为男性还是女性, 性别分配结果不满意者均占比较高, 部分患儿甚至因性别焦虑 (gender dysphoria, GD) 而要求重新进行性别分配^[4]。因此, 筛选出成年后性别认同和青春期后外生殖器发育程度的预测因素对合理化性别分配具有重要意义。浙江大学医学院附属

儿童医院近 3 年共对 440 例疑似 DSD 患儿进行分子生物学诊断, 发现 46, XX DSD 63 例, 46, XY DSD 342 例, 性染色体 DSD 35 例, 其中 21 例存在 *AR* 基因突变, 我们在分子诊断结果的基础上结合外生殖器雄性化评分 (external masculinisation score, EMS)^[5]、性心理评估结果、外生殖器对雄激素反应程度等作为预测因素对 AIS 患儿进行性别分配, 现总结报告如下。

材料与方法

一、研究对象

21 例 *AR* 基因突变 AIS 患儿年龄 3 个月到 13 岁 5 个月, 中位数为 49.7 个月。外生殖器均表现为不同程度的雄性化不全, 其中 8 例外生殖器表型完全女性化, 就诊原因包括: 双侧腹股沟斜疝 (3 例)、腹股沟肿物 (3 例)、体重快速增加 (1 例)、青春期无月经 (1 例); 10 例表型为外生殖器模糊, 包括轻度阴蒂肥大 (6 例)、III 度尿道下裂 (4 例); 3 例外生殖器表型为小阴茎。初诊性别女 14 例, 男 7 例。

二、研究方法

在详细的病史(包括家族史)询问及体格检查同时,进行以下评估:

1. 外生殖器评估:采用 EMS 评分系统对男性化程度进行分级(表 1)^[5],采用 Prader 评分系统对外生殖器表型进行分级^[6]。Prader 0 级特征为正常女性外观(计 0 分);Prader I 级特征为轻度阴蒂肥大(计 1 分);Prader II 级特征为阴蒂肥大,但可见尿道和阴道分别开口(计 2 分);Prader III 级特征为阴蒂肥大伴单一尿生殖道开口(计 3 分);Prader IV 级特征为阴蒂肥大及尿道下裂(计 4 分);Prader V 级特征为“正常”(仍为小阴茎)男性外观(计 5 分)。

表 1 外生殖器男性化评分细则

Table 1 Detailed criteria of EMS

部位	特征	评分
阴茎阴囊融合	否	0
	是	3
小阴茎	否	3
	是	0
尿道口位置	近端	0
	中间	1
	远端	2
	正常	3
左侧性腺位置	缺如	0
	腹腔内	0.5
	腹股沟	1
	大阴唇/阴囊	1.5
右侧性腺位置	缺如	0
	腹腔内	0.5
	腹股沟	1
	大阴唇/阴囊	1.5

2. 影像学和内镜检查:通过超声和腹腔镜检查评估性腺的位置和发育情况。当性腺出现结构、形态异常或不能明确为睾丸或卵巢时,取性腺组织进行组织病理学检查,同时了解苗勒氏管残余(包括子宫、输卵管、阴道及输精管、附睾的发育情况);通过膀胱镜检查阴道是否存在、是否高位与尿道汇合等情况。

3. 实验室检查:测定血清卵泡刺激素(follicle stimulating hormone, FSH)、黄体生成素(luteinizing hormone, LH)、睾酮(testosterone, T)、双氢睾酮(dihydrotestosterone, DHT)、抗苗勒氏管激素(anti-mullerian's hormone, AMH)等激素水平,并分析 HCG 激发后血清 T 及 DHT 水平的变化情况。

4. 性心理评估:5 岁以下患儿的性别角色行为采用学龄前活动量表^[7](pre-school activities invento-

ry, PSAI)进行评估,该量表包括 24 项内容,其中有关玩具的条目 7 项、有关活动的条目 11 项、有关性格特征的条目 6 项,男性化和女性化内容各占 50%,每个条目的评级分为“没有、很少、有时有、常有和很常见”5 个等级,得分分别对应 1~5 分。量表完成后,12 项女性化条目得分之和为女性化积分,12 项男性化条目得分之和为男性化积分,最后按公式计算量表总得分,总得分 = 48.25 + 1.1 × (男性化积分 - 女性化积分)。5 岁以上采用儿童性别角色量表^[8](children's sex role inventory, CSRI)进行评估,该量表共包括 60 个条目,男性化、女性化、中性化相关条目各 20 条,具有良好的可靠性和正确性,患儿根据自身真实情况作出独立回答,答案选项分为“不符合、部分符合、大部分符合和非常符合”4 个等级,得分分别为 1~4 分。男性化项目得分相加除以条目数得到的平均分为男性化得分,女性化项目得分相加除以条目数得到的平均分为女性化得分,二者的差值即为 CSRI 得分。结合心理科沙盘心理测试和艾森克个性问卷调查(eysenck personality questionnaire, EPQ)分析性别优势,结果评估:PSAI > 51.10 或 CSRI > 0 为男性优势,PSAI ≤ 51.10 或 CSRI ≤ 0 女性优势。

5. 外生殖器对雄激素的治疗反应:采用阴茎背侧根部外用睾酮霜、双氢睾酮霜或肌肉注射 HCG (500~1 000 IU,每周 2 次)的方法进行治疗,治疗时间为 4 周,测量使用前阴茎牵伸长度,根据阴茎增长程度了解雄激素治疗反应是否有效。

6. 基因芯片:采用第二代测序法测定性别发育相关基因。经患儿家长知情同意,用乙二胺四乙酸抗凝管抽取患儿及其父母外周静脉血各 2 mL,使用血液基因组 DNA 提取试剂盒提取样本 DNA。使用标准文库构建试剂盒进行基因组文库构建,采用目标序列捕获探针针对 163 个已知的遗传性 DSD 候选基因进行捕获,借助 NextSeq500 测序仪对捕获的 163 个基因相应的外显子区进行高通量测序。利用 BWA 软件将过滤后的序列比对到 NCBI 数据库人类基因组参考序列(hg19)上。利用 GATK 软件分析得出单核苷酸变异和插入缺失突变的相关信息,然后通过 ANNOVAR 软件对所有的 SNP 和 INDEL 进行注释。筛选正常人数据库中突变频率 < 0.05 的位点,正常人数据库包括千人基因组计划、Exome Variant Server 和 EXAC。错义突变使用 REVEL、SIFT、PolyPhen-2、MutationTaster 和 GERP 等软件进行致病性和保守性预测,剪切位点的改变用 SPIDEX

等软件分析其致病性。结合疾病遗传模式和患儿临床表征进行综合分析,筛选出可疑候选变异。利用 PCR 和 Sanger 测序验证经分析筛选后得到的候选变异位点,同时利用 Primer 3.0 在线软件(<http://primer3.ut.ee/>)设计 PCR 引物。PCR 扩增产物使用 3130XL 测序仪进行毛细管电泳测序并在 ABI 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems) 上进行分析,后在家系成员中进行共分离验证。

诊断明确后,由本院 MDT(内分泌科、泌尿外科、少儿妇科、心理科、遗传代谢科、肿瘤科、影像学等专家组成)综合分析病因、性心理评估结果、EMS 评分、性腺发育情况、性腺肿瘤风险、潜在生育机会、社会文化环境因素等,与患儿父母及(或)本人进行充分沟通后,作出合适的性别分配并制定相应的治疗方案。

三、统计学分析

采用 SPSS 20.0 进行统计学分析。由于本研究中 Prader 得分和 EMS 得分基本不服从正态分布,因此得分采用中位数进行描述,两组间比较采用独立

样本秩和检验。雄激素治疗结局、性心理评估定性的结果与性别分配间的关联性分析采用 Fisher 精确概率法。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

21 例 EMS 得分区间为 1~9 分,中位值为 2 分。7 例 EMS 得分 ≥ 5 分,其余 14 例得分为 1~3 分。AR 基因突变情况:①突变位点:8 例(38%)位于 1 号外显子,6 例(28.6%)位于 4 号外显子,4 例位于 5 号外显子(19.1%),2 例(9.5%)位于 8 号外显子,1 例(4.8%)位于 7 号外显子。②突变类型:2 例为缺失突变,1 例为缺失移码突变,1 例移码突变,其他 17 例为错义突变。2 例缺失突变位置相同,缺失位置目前还未见报道,但已知位于染色体 chrX-66766356-667663681,1 号外显子的 1369_1380 核苷酸缺失,导致氨基酸 457_460 缺失。③基因突变类型和位点与外生殖器表型相关性:8 例 CAIS 除 1 例位于 1 号外显子外,余 7 例位于雄激素结合域(即 4

表 2 21 例 AR 基因突变的 AIS 患儿 Prader 评级、EMS 评分、性心理评估、激素水平和性别分配

Table 2 Prader stage, EMS, psychosexual assessment, hormone level and gender assignment of 21 AIS patients with AR gene mutation

序号	初诊年龄	初诊性别	Prader 评分	突变外显子位点	氨基酸改变	EMS 评分	基础睾酮 (nmol/dL)	HCG 激发后睾酮 (nmol/dL)	雄激素治疗情况	性心理评估结果	诊断	性别分配	睾丸处理
1	3 个月	女	0	4	N692K	2	7.62	未做	未应用	未做	CAIS	女	保留在大阴唇
2	118 个月	女	0	5	A766T	1	13.64	未做	未应用	-0.36**	CAIS	女	睾丸切除
3	52 个月	女	0	4	A753L	1	<0.69	1.58	无明显阴茎增长	-2.0**	CAIS	女	保留内环口处
4	132 个月	女	0	7	L839V	2	6.78	未做	未应用	-0.50**	CAIS	女	保留在腹股沟
5	162 个月	女	0	1	Y504Tfs * 6	2	15	未做	未应用	-0.35**	CAIS	女	睾丸切除
6	67 个月	女	0	4	D696N	2	0.53	8.23	无明显阴茎增长	28.45*	CAIS	女	保留在腹股沟
7	30 个月	女	0	8	D891fs	2	0.58	1.92	无明显阴茎增长	23.58*	CAIS	女	睾丸切除
8	24 个月	女	0	5	L769M	2	<0.69	3.39	未应用	31.66*	CAIS	女	睾丸切除
9	10 个月	女	II	4	A691G	2	<0.69	18.42	阴茎增长 55.8%	48.5*	PAIS	男	固定到阴囊
10	9 个月	女	II	5	A856H	3	<0.35	1.96	阴茎增长 46.8%	56.3*	PAIS	男	固定到阴囊
11	16 个月	女	I	4	N692K	2	0.56	3.11	阴茎增长不明显 5%	64.32*	PAIS	男	固定到阴囊
12	10 个月	女	II	1	Q360R	2	<0.69	2.81	阴茎增长 41.3%	63.3*	PAIS	男	固定到阴囊
13	4 个月	女	II	1	457_460del	3	<0.35	5.3	阴茎增长 46.5%	56.88*	PAIS	男	固定到阴囊
14	36 个月	女	II	8	H886Y	2.5	<0.35	6.37	阴茎增长 48%	68.17*	PAIS	男	固定到阴囊
15	4 个月	男	III	1	457_460del	9	5.72	未做	未应用	未做	PAIS	男	保留阴囊
16	6 个月	男	III	4	A630V	6	1.24	未做	未应用	未做	PAIS	男	保留阴囊
17	19 个月	男	III	1	S176R	8.5	<0.35	1.98	阴茎增长	63.49**	PAIS	男	固定到阴囊
18	33 个月	男	III	5	N757S	9	<0.35	19.7	阴茎增长 61.7%	71.3**	PAIS	男	保留阴囊
19	156 个月	男	V(小阴茎)	1	A403V	8	0	12.99	阴茎增长 86.3%	2.1*	PAIS	男	保留阴囊
20	144 个月	男	V(小阴茎)	1	S176R	9	<0.69	3.58	阴茎增长 64.2%	0.76*	PAIS	男	保留阴囊
21	8 个月	男	V(小阴茎)	1	R511G	9	<0.69	14.7	阴茎增长 59.3%	67.73**	PAIS	男	保留阴囊

注 * 为 PSAI 评分: >51.10 为男性优势, ≤51.10 为女性优势; ** 为 CSRI 评分: >0 为男性优势, ≤0 为女性优势。睾酮单位为 nmol/dL。

~8号外显子区);而13例PAIS有7例均位于1号外显子,其中3例表现为小阴茎。

激素水平:基础睾酮水平明显升高者为3例小青春期(小于6月龄,睾酮范围1.24~7.62 nmmol/dL,中位值为5.72 nmmol/dL)和3例青春期(睾酮范围6.78~15 nmmol/dL,中位值为13.64 nmmol/dL)儿童,15例行HCG激发试验,睾酮均明显升高(睾酮范围1.58~19.7 nmmol/dL,中位值为3.58 nmmol/dL,较基础睾酮水平升高2~19倍),提示睾丸间质细胞有良好的睾酮分泌功能。2例CAIS青春期患儿FSH和LH水平出现异常升高,余19例无明显异常。21例DHT和AMH水平均无明显异常。

雄激素使用后阴茎增长情况:8例外生殖器完全女性化患儿中3例曾使用雄激素,阴茎未见增大;11例外生殖器模糊或小阴茎患儿采用雄激素治疗后,除1例阴茎增大不明显外,余10例阴茎出现较为明显的增长(增长41.3%~86.3%,中位值为55.8%),提示雄激素治疗效果理想。

性心理量表评估:6例超过5岁儿童采用CSRI调查结合沙盘游戏进行评估,12例小于5岁以下的儿童则采用PSAI问卷进行评估。外生殖器完全女性的7例评估结果均表现为女性优势,而11例Prader评分为1~5分的患儿中仅有1例表现为女性优势,提示CAIS患儿以女性优势为主(100%),而PAIS则大多存在男性优势(90.9%)。

21例患儿中8例诊断为CAIS,Prader评分为0分,EMS评分为1~2分,性心理量表评估结果均为女性优势,且外生殖器对雄激素治疗无反应,性别分配均为女性。10例Prader评分为1~3分的PAIS患儿EMS评分为2~9分,性心理量表评估除1例为女性优势外,其他均为男性优势,接受雄激素治疗后阴茎增长明显,性别分配均为男性。3例小阴茎患儿性心理量表评估结果均表现为男性优势,雄激素治疗后阴茎明显增长,性别分配均为男性。

性别分配为女性者Prader评分均为0分,性别分配为男性者中位Prader评分为3分(范围1~5分),两组间Prader评分差异有统计学意义($Z=3.919, P<0.01$)。性别分配为女性者中位EMS评分为2分(范围1~2分),性别分配为男性者中位EMS评分为6分(范围2~9分),两组间EMS评分差异有统计学意义($Z=3.257, P<0.01$)。雄激素治疗结局、性心理评估定性的结果与性别分配间均存在关联($P<0.05$)。各预测因素与性别分配结果间的关联性分析见表3。

表3 各预测因素与性别分配结果间的关联性分析

Table 3 Single factor analysis between various predictors and the gender assignment

预测因素	分配为女性	分配为男性	统计量	P值
中位Prader评分	0	3(1~5)	3.919	<0.01
中位EMS评分	2(1~2)	6(2~9)	3.257	<0.01
雄激素治疗	有效	0	11	<0.01
	无效	8	2	
性心理评估	男性	0	10	<0.01
	女性	7	1	

注 性心理评估有效样本量为18例,3例因评估时不足6月龄,无法完成评估。

讨论

AIS性别分配的时机存在争议^[9]。通常认为性别分配应在患儿心理初步成熟后由其自行决定,但模糊的外生殖器、长期不明确的社会性别会导致患儿出现心理障碍,其父母也不知应采用何种方式与孩子进行互动;有研究认为外生殖器的模糊程度和母亲焦虑程度密切相关^[10],而母亲的焦虑又会间接影响儿童的心理社会功能和自身性别认同的后续发展^[11]。一项针对成年AIS患儿性别认同的研究发现,抚养性别可能是影响PAIS患儿成年后性别认同的重要因素^[12]。因此我们认为,AIS一旦明确诊断应尽早进行性别分配。本组21例患儿,确诊后均进行明确的性别分配,获得了患儿及其家长的认可。

AIS性别分配的目标是尽量使得分配的性别和未来的性别认同一致,帮助患儿较好地融入社会,并保证其日后的生活质量。由于残留的AR基因行使其生物学功能,雄激素对PAIS群体的男性化作用往往高于正常女性,但低于正常男性^[12],这导致PAIS患儿的性别认同存在很大的可变性^[13]。因此,PAIS的性别分配非常困难,迄今为止临床上仍没有标准的PAIS性别分配推荐方案,临床医师大多根据外生殖器雄性化不全的程度来进行性别分配,而对未来性别认同和青春期后外生殖器发育程度的预测仍不够精确,导致较高的性别分配不满意度^[3]。Mazur报道了99例PAIS患儿中高达10%患儿成年后要求性别转换^[14]。因此,准确判断成年后性别认同和外生殖器发育程度是性别分配的关键。

AR基因突变是引起AIS的分子生物学因素之一,但只有28%~50%的PAIS可以检测到AR基因突变^[15,16]。目前研究发现,AR基因正常但与其相关的辅助活化因子、下游通路或邻近的非编码区的

分子发生异常突变也可引起 AIS^[17]。Lucas-Herald 等^[17]对青春期后 AIS 患儿进行研究,存在 AR 基因突变的男性青春期后临床结局比无 AR 基因突变者差,所有出现 AR 基因突变的患儿青春期后均出现乳房发育,无 AR 基因突变者这一比例仅 9%。此外,AR 基因突变与尿道下裂手术结果之间也存在明确的相关性,存在 AR 基因突变者需要接受的手术次数更多。O'Hara 等^[18]研究发现雄激素需要通过 AR 基因在精子发生过程中发挥作用,尤其是在维持精原细胞数量、血睾屏障、精子细胞数量、精细胞的粘附及精子形成等方面,AR 基因突变患儿通常存在无精症或少精症,生育机率更低。本组 21 例患儿,除 3 例因小阴茎就诊外,其他 18 例(85.7%)均存在重度外生殖器雄性化不全,其中 8 例表现为完全女性化,6 例表现为外生殖器模糊,4 例表现为重度尿道下裂。虽然在接受雄激素治疗后阴茎有不同程度的增长,但仍低于其他类型的 46,XY DSD (如 5a 还原酶缺乏症等)。我们的研究结果也认为,存在 AR 基因突变者青春期后结局可能不如其他类型 46,XY DSD,因此 AR 基因不仅为 AIS 的性别分配提供了分子诊断依据,而且可以作为性别分配时远期预后的预测指标。

Ngee 等^[19]对存在 AR 基因突变的 PAIS 患儿进行出生时 EMS 与青春期结局关系的研究,发现 EMS <5 分的群体中只有 67% 经历了自发性青春期,17% 外生殖器达到 Tanner 4~5 期;而 EMS ≥5 分的群体这两项指标分别为 100% 和 85% 左右,因此可以认为 EMS 是预测 AIS 患儿自发性青春期和成年后外生殖器发育简单、有效的指标。本组 PAIS 患儿 7 例 EMS ≥5 分,其中 3 例接受外用雄激素治疗后阴茎均有明显增大,提示青春期后外生殖器可能会有较好的发育。而 EMS <5 分的 6 例患儿接受雄激素治疗后增长比例低于 EMS ≥5 分的患儿。

外生殖器表型及其对雄激素的反应能力是决定性别分配的重要因素^[20]。大剂量的睾酮或双氢睾酮可以帮助 PAIS 患儿增加阴茎的长度,并改善男性第二性征,使用 6 个月后可以观察到非常明显的雄性化改善^[21],因此近几十年来,越来越多的 PAIS 患儿性别分配为男性^[22]。本组 11 例 PAIS 患儿接受雄激素治疗后仅 1 例患儿外生殖器没有明显增大,但青春期后发育情况还需要进一步随访,这也提示对 PAIS 患儿进行男性性别分配时,应考虑外生殖器对雄激素反应的程度。此外,10 例重度雄性化不全的 PAIS 患儿性心理量表评估结果均为男性优

势,提示成年后为男性性别认同可能较大;虽然存在 AR 基因突变,青春期后外生殖器可能发育不佳,但采用雄激素治疗后阴茎也出现明显增大。虽然 PAIS 患儿通常没有生育能力,但也有研究发现,通过长期大剂量睾酮治疗,改善了精子数量和活力,通过卵细胞内精子注射技术仍可获得生育能力^[23],因此男性性别分配保留了生育可能性。虽然保留睾丸 GCT 发生率可达 15%^[24],但通过定期体格检查、超声和 MRI 检查可以早期发现性腺肿瘤改变,也可通过检测血液定向 microRNA 肿瘤标记早期发现原位生殖细胞肿瘤^[25]。

虽然有文献报道女性性别分配的小阴茎患儿成年后也可获得女性性别认同,没有明显的性别焦虑^[14],但我们认为男性性别分配可能更为合适(不需要手术干预)。Becker 等^[26]曾选择外用双氢睾酮霜对青春期前和青春期 PAIS 小阴茎者进行治疗,发现治疗后阴茎可增大 40%~63%。虽然成年后可能出现性腺机能减退,但一般不需要通过雄激素治疗就可出现自发性青春期^[14]。本组有 3 例小阴茎患儿虽然存在 AR 基因突变,但 EMS 评分为 8~9 分,雄激素治疗后阴茎明显增长,性心理评估为男性优势,因此性别分配均为男性。

CAIS 患儿在胎儿期,大脑缺乏雄激素印记,性别认同通常为女性,扮演女性性别角色,但性趋向多为男性^[27];外生殖器和女性性别一致,成年后通过适当的阴道扩张,90% 以上的病例可获得阴道功能^[1],很少需要外科手术。而且 CAIS 性腺恶变机率非常低,青春期后只有 1.5%,且发生恶变的年龄均大于 20 岁^[28],青春期前恶性肿瘤更罕见,到目前为止文献报道仅 1 例,为一 17 月龄患儿腹腔内卵黄囊瘤^[29];作女性性别分配的患儿可以保留睾丸,无需激素替代治疗即可出现自发性青春期。因此,CAIS 患儿通常被推荐女性性别分配。最近的一项研究发现,与正常女性相比,女性性别的 CAIS 患儿成年后自信心、性唤醒能力、性欲望及性快感等水平均较低^[30,31];但主流观点均认为女性性别分配的 CAIS 患儿在成年后可获得女性性别认同^[27]。本组 8 例 CAIS 患儿性心理评估结果均为女性优势,其中 3 例年龄 12 岁以上的青春期 CAIS 患儿本人表示明确女性性别认同,不存在性别不安的情况;8 例患儿均存在 AR 基因突变,EMS 评分低于 2 分,其中 3 例青春期和 1 例 3 月龄患儿基础睾酮水平很高(6.78~15 nmol/dL),另 3 例基础睾酮水平较低者予以雄激素治疗,阴茎均无明显增大,提示按男性分配

外生殖器发育不佳,因此本组 CAIS 患儿性别分配均为女性。2 例青春期患儿在自己和家人的要求下接受了性腺切除术,病理结果提示“生精小管发育不良、纤维组织增生、间质细胞增生”,提示生精障碍,进一步支持 AR 基因突变患儿青春期后结果不良的观点。因此,综合 CAIS 患儿未来的性别认同、第二性征发育和激素替代、性腺肿瘤风险和生育能力等,将其性别分配为女性是适当的。

综上所述,我们认为通过分析 AR 基因突变情况、EMS 评分、性心理评估和外生殖器雄激素治疗反应等指标可对 AIS 未来性别认同、外生殖器发育程度等青春期后临床结局进行较为合理的预测,在充分考虑社会文化因素、患儿及其父母主观层面认知的情况下,由 MDT 进行性别分配是目前 AIS 性别分配较为合适的方法。但考虑到本组病例随访时间较短,因此更加严谨的结果还需要通过长期追踪,到青春发育期后(或成年后)才能确定。

参 考 文 献

- Mendoza N, Motos MA. Androgen insensitivity syndrome [J]. *Gynecol Endocrinol*, 2013, 29(1): 1-5. DOI: 10.3109/09513590.2012.705378.
- Lee PA, Houk CP, Ahmed SF, et al. International consensus conference on intersex organized by the Lawson Wilkins Pediatric Endocrine Society and the European Society for Paediatric Endocrinology. Consensus statement on management of intersex disorders. International consensus conference on intersex [J]. *Pediatrics*, 2006, 118(2): 488-500. DOI: 10.1542/peds.2006-0738.
- Ercan O, Kutlug S, Uysal O, et al. Gender identity and gender role in DSD patients raised as females: a preliminary outcome study [J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2013, 4(1): 86. DOI: 10.3389/fendo.2013.00086.
- Fliegner M, Krupp K, Brunner F, et al. Sexual life and sexual wellness in individuals with complete androgen insensitivity syndrome (CAIS) and Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser Syndrome (MRKHS) [J]. *J Sex Med*, 2014, 11(3): 729-742. DOI: 10.1111/jsm.12321.
- Ahmed SF, Khwaja O, Hughes IA. Clinical features and gender assignment in cases of male undermasculinisation: the role for a masculinization score [J]. *BJ. Uro Int*, 2000, 85(2): 120-124.
- Prader A, Gurtner HP. The syndrome of male pseudohermaphroditism in congenital adrenocortical hyperplasia without overproduction of androgens (adrenal male pseudohermaphroditism) [J]. *Helv Paediatr Acta*, 1955, 10(4): 397-412.
- Golombok S, Rust J. The Pre-School Activities Inventory: A standardized assessment of gender role in children [J]. *Psychological Assessment*, 1993, 5(5): 131-136.
- Boldizar JP. Assessing sex typing and androgyny in children: The Children's Sex Role Inventory [J]. *Developmental Psychology*, 1991, 27(3): 505-515.
- Mouriquand PD, Gorduza DB, Gay CL, et al. Surgery in disorders of sex development (DSD) with a gender issue: If (why), when, and how? [J]. *J Pediatr Urol*, 2016, 12(3): 139-149. DOI: 10.1016/j.jpuro.2016.04.001.
- Wolfe-Christensen C, Fedele DA, Kirk K, et al. Caregivers of children with a disorder of sex development: associations between parenting capacities and psychological distress [J]. *J Pediatr Urol*, 2014, 10(3): 538-543. DOI: 10.1016/j.jpuro.2013.11.016.
- Goodman SH, Rouse MH, Connell AM, et al. Maternal depression and child psychopathology: a meta-analytic review [J]. *Clin Child Fam Psychol Rev*, 2011, 14(1): 1-27. DOI: 10.1007/s10567-010-0080-1.
- Bakula DM, Mullins AJ, Sharkey CM, et al. Gender identity outcomes in children with disorders/differences of sex development: Predictive factors [J]. *Semin Perinatol*, 2017, 41(4): 214-217. DOI: 10.1053/j.semper.2017.03.010.
- Joseph AA, Shabir I, Marumadi E, et al. Psychosexual outcomes in three siblings with partial androgen insensitivity syndrome: impact of nature versus nurture [J]. *J Pediatr Endocrinol Metab*, 2013, 26(9): 915-920. DOI: 10.1515/jpem-2013-0154.
- Mazur T. Gender dysphoria and gender changes in androgen insensitivity or micropenis [J]. *Arch Sex Behav*, 2005, 34(4): 411-421. DOI: 10.1007/s10508-005-4341-x.
- Audi L, Fernandez-Cancio M, Carrascosa A, et al. Novel (60%) and recurrent (40%) androgen receptor gene mutations in a series of 59 patients with a 46,XY disorder of sex development [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2010, 95(4): 1876-1888. DOI: 10.1210/jc.2009-2146.
- Hughes IA, Deeb A. Androgen resistance [J]. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 2006, 20(5): 577-598.
- Lucas-Herald A, Bertelloni S, Juul A, et al. The Long-Term Outcome of Boys With Partial Androgen Insensitivity Syndrome and a Mutation in the Androgen Receptor Gene [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2016, 101(11): 3959-3967.
- O'Hara L, Smith LB. Androgen receptor roles in spermatogenesis and infertility [J]. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 2015, 29(4): 595-605. DOI: 10.1016/j.beem.2015.04.006.
- Lek N, Tadokoro-Cuccaro R, Whitchurch JB, et al. Predic-

- ting puberty in partial androgen insensitivity syndrome: Use of clinical and functional androgen receptor indices [J]. *EBioMedicine*, 2018, 36(4):401-409. DOI: 10.1016/j.ebiom.2018.09.047.
- 20 Wisniewski AB, Migeon CJ, Meyer-Bahlburg HFL, et al. Complete androgen insensitivity syndrome: long-term medical, surgical, and psychosexual outcome [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2000, 85(8):2664-2669.
- 21 Mongan NP, Tadokoro-Cuccaro R, Bunch T, et al. Androgen insensitivity syndrome [J]. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 2015, 29(4):569-580. DOI: 10.1016/j.beem.2015.04.005.
- 22 Kolesinska Z, Ahmed SF, Niedziela M, et al. Changes over time in sex assignment for disorders of sex development [J]. *Pediatrics*, 2014, 134(3):710-715. DOI: 10.1542/peds.2014-1088.
- 23 Tordjman KM, Yaron M, Berkovitz A, et al. Fertility after high-dose testosterone and intracytoplasmic sperm injection in a patient with androgen insensitivity syndrome with a previously unreported androgen receptor mutation [J]. *Andrologia*, 2014, 46(6):703-706. DOI: 10.1111/and.12126.
- 24 Batista RL, Costa EMF, Rodrigues AS, et al. Androgen insensitivity syndrome: a review [J]. *Arch Endocrinol Metab*, 2018, 62(2):227-235. DOI: 10.20945/2359-399700000031.
- 25 Rajpert-De Meyts E, Nielsen JE, Skakkebaek NE, et al. Diagnostic markers for germ cell neoplasms: from placental-like alkaline phosphatase to micro-RNAs [J]. *Folia Histochem Cytobiol*, 2015, 53(3):177-188. DOI: 10.5603/FHC.a2015.0020.
- 26 Becker D, Wain LM, Chong YH, et al. Topical dihydrotestosterone to treat micropenis secondary to partial androgen insensitivity syndrome (PAIS) before, during, and after puberty—a case series [J]. *J Pediatr Endocrinol Metab*, 2016, 29(2):173-177. DOI: 10.1515/jpem-2015-0175.
- 27 Fisher AD, Ristori J, Fanni E, et al. Gender identity, gender assignment and reassignment in individuals with disorders of sex development: a major of dilemma [J]. *J Endocrinol Invest*, 2016, 39(11):1207-1224. DOI: 10.1007/s40618-016-0482-0.
- 28 Chaudhry S, Tadokoro-Cuccaro R, Hannema SE, et al. Frequency of gonadal tumours in complete androgen insensitivity syndrome (CAIS): A retrospective case-series analysis [J]. *J Pediatr Urol*, 2017, 13(5):498. e1-498. e6. DOI: 10.1016/j.jpuro.2017.02.013.
- 29 Hurt WG, Bodurtha JN, McCall JB, et al. Seminoma in pubertal patient with androgen insensitivity syndrome [J]. *Am J Obstet Gynecol*, 1989, 161(4):530-531.
- 30 Bermúdez de la Vega JA, Fernández-Cancio M, Bernal S, et al. Complete androgen insensitivity syndrome associated with male gender identity or female precocious puberty in the same family [J]. *Sex Dev*, 2015, 9(2):75-79. DOI: 10.1159/000371617.
- 31 Kohler B, Kleinemeier E, Lux A, et al. Satisfaction with genital surgery and sexual life of adults with XY disorders of sex development: results from the German clinical evaluation study [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2012, 97(2):577-588. DOI: 10.1210/jc.2011-1441.

(收稿日期:2019-02-02)

本文引用格式:吴德华,田红娟,唐达星,等. AR 基因突变雄激素不敏感综合征相关因素在性别分配中的作用分析 [J]. 临床小儿外科杂志, 2019, 18(5):387-394. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6353.2019.05.010.

Citing this article as: Wu DH, Tian HJ, Tang DX, et al. Preliminary study on gender assignments and related predictors of androgen insensitivity syndrome with AR gene mutation [J]. *J Clin Ped Sur*, 2019, 18(5):387-394. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6353.2019.05.010.

回顾性临床研究的特点

回顾性临床研究可以说是小儿外科临床研究的始祖,直至目前小儿外科临床研究仍无法完全脱离对病历资料的回顾性分析。但也有许多研究者指出,查阅病历总结临床经验的回顾性临床研究存在许多问题(如数据质量差、数据不完整、对照组不知如何设置等)。但回顾性临床研究并不是一无是处,有一个被人们忽视的优点,就是“以不变应万变”。即任何一位医生遇到临床问题后都可以通过回顾临床病历资料进行总结,撰写论文,临床工作中自然形成的病例资料可以满足不同临床研究的需要。总结回顾性临床研究的优点,归纳多目标多任务研究方案设计的要点,推演其变形能力和应用范围,将有助于临床注册研究方案的顶层设计和后期开发应用。