

[文章编号] 1000-4718(2020)07-1340-05

睾丸免疫防御机制与新冠病毒是否损伤 男性生殖力的思考

朱伟杰[△]

(暨南大学生命科学技术学院生殖免疫研究所, 广东 广州 510632)

Defence mechanisms of testicular immune and considerations of male fertility impairment associated with SARS-CoV-2

ZHU Wei-jie

(Institute of Reproductive Immunology, College of Life Science and Technology, Jinan University, Guangzhou 510632, China. E-mail: tzhuwj@jnu. edu. cn)

[**ABSTRACT**] Whether severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) infection causes male fertility impairment has been given attention recently. However, the relationship between the virus infection and male fertility is poorly understood now. The testicular normality is the basis of male fertility. The testis has multiple defence mechanisms, such as blood-testis barrier and immune regulation of Sertoli cells, testicular macrophages, peritubular cells and Leydig cells, which avoid immune damage to the testis, and protect spermatogenesis and steroidogenesis in the testis. If the testis is infected by SARS-CoV-2, immune responses against the virus in the testis should be induced. Based on the principle of testicular immunity, testicular molecular basis of the virus entry, and considerations of the author, further investigations should be focused on possible direct or indirect impairment of testicular structures associated with the virus, large sample analysis, types of testicular immune response, markers of testicular immune damage, possible vertical transmission via sperm, reversibility of testicular impairment, long-term observation on male fertility, and vaccine on male reproductive safety. These investigations would benefit a better understanding on the relationship between the virus infection and male fertility decline.

[**关键词**] 新型冠状病毒; 睾丸; 精子; 免疫; 生殖健康

[**KEY WORDS**] SARS-CoV-2; Testis; Sperm; Immune; Reproductive health

[**中图分类号**] R697; R363

[**文献标志码**] A

doi: 10. 3969/j. issn. 1000-4718. 2020. 07. 028

新型冠状病毒(severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2; 简称“新冠病毒”)感染引起的新型冠状病毒肺炎(coronavirus disease 2019, COVID-19), 已严重危害人类身体健康。该病毒是否损害男性生殖力近期受到研究重视, 但目前认识尚在初始阶段。

男性生殖的前提是睾丸具有正常结构与功能。睾丸在下丘脑-垂体-睾丸内分泌轴调控下, 产生精子和分泌雄激素, 这些生殖生理过程存在着复杂的免疫学机制, 从而保障了精子发生与雄激素合成的顺利进行。新冠病毒能否侵害睾丸功能, 以何种机制

损伤男性生殖力, 尚待深入研究。睾丸若被新冠病毒损伤, 推测其机制可能与睾丸免疫损伤有关。本文结合睾丸免疫防御机制原理和病毒可能损伤睾丸的分子基础, 阐述作者对新冠病毒感染是否损伤男性生殖力的思考和见解, 以期为充分认识新冠病毒感染与男性生殖力损伤的相互关系提供参考。

1 新冠病毒可能损伤睾丸的分子基础

新冠病毒是一种正链RNA病毒, 由4种结构蛋白组成, 包括结合基因组RNA形成核衣壳(nucleocapsid, N)的N蛋白, 参与包膜(envelope, E)形成的E蛋白和膜(membrane, M)蛋白, 以及位于包膜表

[收稿日期] 2020-04-30

[修回日期] 2020-06-09

△通讯作者 Tel: 020-85225718; E-mail: tzhuwj@jnu. edu. cn

面形成刺状突起的刺突(spike, S)蛋白。在病毒与宿主细胞相互作用的过程中, S蛋白被宿主细胞的蛋白酶裂解为S1和S2两个亚基: S1具有受体结合活性, 通过亚基内的受体结合域(receptor binding domain, RBD), 使病毒识别、结合于宿主细胞表面的特定受体; S2含有融合肽段(fusion peptide, FP), 使宿主细胞膜与病毒膜发生融合, 导致病毒基因组RNA通过细胞的内存作用进入宿主细胞^[1-3]。肺、心、肾脏内皮细胞和(或)上皮细胞等的细胞膜表达可被新冠病毒结合的功能性受体——血管紧张素转换酶2(angiotensin-converting enzyme 2, ACE2), 但宿主细胞仅有ACE2并不足以发生病毒感染, 在不同的组织还需有其他的病毒受体或“共受体”的协助, 才能介导病毒侵入细胞^[4-5]。在病毒侵袭的细胞, 是否发生感染还取决于细胞膜上是否存在跨膜丝氨酸蛋白酶2(transmembrane serine protease 2, TMPRSS2), 这种酶可活化S蛋白, 介导病毒进入宿主细胞^[6-7]。

人睾丸曲细精管内的支持细胞(Sertoli cells)和精原细胞, 以及间质区的间质细胞(Leydig cells)均表达ACE2, 表明睾丸组织普遍存在新冠病毒的受体; 支持细胞高水平表达ACE2, 而早期精母细胞、晚期精母细胞和精子细胞则表达非常低水平的ACE2^[8-9]。在睾丸的不同细胞类群, *TMPRSS2*和*ACE2*基因的表达模式不同, 支持细胞的*ACE2*基因表达最高, 而*TMPRSS2*基因表达水平很低, 间质细胞也有*TMPRSS2*基因表达^[10]。此外, 与COVID-19相关的*BSG*、*CTSL*和*CTSB*基因在不同发育阶段的生精细胞和间质细胞也有不同程度表达^[10]。因此, 人睾丸内的生精细胞和体细胞均有新冠病毒结合的物质基础, 即睾丸存在新冠病毒感染的潜在风险。但新冠病毒是否损伤睾丸, 可能以何种机制侵入睾丸细胞, 目前尚未有确切认识。

2 睾丸的免疫防御机制

睾丸是免疫豁免器官, 具有多重局部免疫防御机制, 体现在组织、细胞和分子水平的多层次免疫保护功能。睾丸组织和多种睾丸细胞类群以各自的方式参与免疫调节, 维持着睾丸的免疫豁免状态, 避免了睾丸抗原自身免疫或免疫损伤的发生^[11-13]。

2.1 睾丸血-睾屏障(blood-testis barrier)

睾丸曲细精管内相邻支持细胞之间, 在靠近基底的细胞膜, 彼此接触形成环形带状的紧密连接, 此结构称为血-睾屏障^[12-13]。血-睾屏障具有生理学的隔离效果, 将曲细精管生精上皮不同发育和分化阶段的生精细胞及精子与机体血循环分隔, 阻止了睾丸间质组织内血管渗出的免疫活性物质进入曲细精管生精上皮,

同时也限制了生精细胞特异性抗原成分从曲细精管渗出进入睾丸间质^[14]。因此, 血-睾屏障构成了免疫屏障。

睾丸曲细精管内精原细胞和支持细胞表达ACE2和TMPRSS2^[8-10], 表明曲细精管生精上皮存在新冠病毒损伤的潜在风险。但是, 睾丸曲细精管内没有血管, 新冠病毒不能借助于血循环直接到达曲细精管内与ACE2结合, 而且病毒若是曲细精管外来源, 血-睾屏障的免疫隔离及睾丸的多种局部免疫防御机制也会发挥相应作用。曾有研究报道, SARS冠状病毒(SARS-CoV)可引起睾丸炎^[15]。然而对死亡原因为SARS-CoV感染的尸检睾丸组织测试, 未检出睾丸组织存在SARS-CoV^[16]; 对新冠病毒感染者的精液和睾丸组织测试, 也没有检出新冠病毒^[17]。因此, 虽然睾丸曲细精管内存在新冠病毒结合的物质基础, 但病毒在什么条件下才可能损伤曲细精管尚需深入研究。类似地, 睾丸曲细精管有大量的生精细胞及精子, 即有丰富的精子抗原, 但一般损伤并不导致抗精子抗体产生, 例如睾丸组织活检和睾丸取精, 尽管损伤了血-睾屏障, 并没有造成抗精子抗体水平改变^[18]。

2.2 睾丸巨噬细胞(testicular macrophages)的局部免疫防御

睾丸间质含有丰富的毛细血管和毛细淋巴管, 细胞成分包括大量的间质细胞和丰富的睾丸巨噬细胞等。在正常生理状态下, 睾丸巨噬细胞行使吞噬间质内细胞降解成分的功能, 也能吞噬曲细精管漏出的抗原成分, 从功能上起着监视和加强血-睾屏障的作用^[19]。假如新冠病毒借助于血循环到达睾丸间质并渗出血管, 则会与睾丸巨噬细胞遭遇。睾丸巨噬细胞是睾丸间质防止血管渗出的病原体侵入的第一道免疫屏障, 通过引起炎症反应和抗菌反应来清除病原体。

睾丸巨噬细胞常位于间质细胞附近, 与间质细胞的比例为1:10~1:50, 通过胞质与间质细胞相接触, 以旁分泌细胞因子的方式调节间质细胞的雄激素合成^[14]。睾丸巨噬细胞是正常和炎症睾丸内主要的抗原呈递细胞, 在激活宿主免疫系统中发挥重要作用。在对抗入侵睾丸的病原体时, 活化的巨噬细胞数量迅速增多, 并分泌抗炎细胞因子(IL-10和TGF- β)和促炎细胞因子(IL-12和TNF- α), 以清除病原微生物^[19]。新冠病毒若出现在间质, 会被睾丸巨噬细胞识别并引发炎症反应。睾丸巨噬细胞在什么条件下不能充分应答炎症刺激, 无法清除新冠病毒, 以致发展为严重睾丸炎等造成睾丸结构与功能不可逆损伤, 尚需进一步研究。

2.3 支持细胞的局部免疫防御 支持细胞通过其旺盛和复杂的合成分泌功能,支持、营养各级发育阶段的生精细胞,与此同时,支持细胞除了形成血-睾屏障之外,还分泌多种细胞因子和前列腺素类分子,抑制炎症的发生,参与睾丸局部免疫调节^[20-22]。

支持细胞分泌的IL-1诱导胞内表达IL-6,参与生精细胞发育和睾丸炎症反应的调节,IL-6与IL-1两者有协同和相加的作用^[21-22]。支持细胞还分泌干扰素 α (interferon- α , IFN- α)和 α_2 -巨球蛋白,这两种细胞因子对生精细胞增殖及与间质免疫细胞的调节起作用^[21-22]。支持细胞表达可被新冠病毒结合的ACE2^[8-10],存在新冠病毒攻击的潜在靶点。支持细胞若被新冠病毒侵袭,意味着睾丸多重局部免疫防御均失败,曲细精管生精上皮会严重受损,其损伤是不可逆,这种情况在什么条件下发生,尚需深入研究。

2.4 管周细胞(peritubular cells)的局部免疫防御 管周细胞是曲细精管壁的主要细胞,分泌多种细胞因子和细胞外间质成分,对间质细胞和支持细胞的生理活动有旁分泌调节作用,而且与支持细胞共同形成细胞外基质,维护血-睾屏障的完整性^[23]。管周细胞能够分泌IL-6、IL-8、TGF- β 等参与局部免疫调节,对病毒会显示强抵抗反应^[24-25]。管周细胞是否表达ACE2,目前未有研究报道。若新冠病毒侵犯到曲细精管,则意味着管周细胞无论有无ACE2都已经受损,血-睾屏障已被破坏,后果可能会激起精子抗原介导的免疫反应。

2.5 间质细胞的局部免疫防御 对间质细胞的经典认识是产生雄激素的场所,实际上,间质细胞具有抗病毒作用^[26]。另一方面,间质细胞是睾丸间质区数量最多的细胞,假如病毒在睾丸蔓延,很可能先以间质细胞为宿主细胞。间质细胞表达ACE2^[8-9],具有新冠病毒结合的基础,而且有些病毒如腮腺病毒是以间质细胞为宿主大量复制的。因此,间质细胞若被新冠病毒感染,则雄激素合成减少,间质细胞还可能成为病毒在睾丸内复制的主要宿主细胞。

总之,睾丸的多种细胞类群存在新冠病毒结合的物质基础,但睾丸也存在抵抗病毒入侵的多重局部免疫防御机制。新冠病毒若直接损伤睾丸,笔者推测至少涉及:(1)通过血循环到达睾丸的病毒量很大;(2)病毒能在睾丸宿主细胞大量复制;(3)病毒大量、持续地刺激睾丸免疫系统;(4)睾丸免疫防御机制失衡或受到破坏。一旦存在上述方面异常,以及尚未阐明的新冠病毒侵害睾丸机制,就有可能发生病毒导致的睾丸免疫损伤。

3 加强新冠病毒感染与男性生殖力损伤的研究

新冠病毒对人类社会和身体健康将造成持久的严重影响,很有必要切实认识病毒感染与男性生殖力损伤的相互关系。结合睾丸生理与局部免疫防御特点,以及新冠病毒感染与男性生殖力损伤的研究现状,开展新冠病毒感染与男性生殖力损伤的研究,应在以下方面做深入探索。

3.1 阐明病毒对男性生殖力是直接或是间接损伤,或是两者兼有 男性生殖力降低是机体生殖生理状况的综合体现。机体内分泌、神经、免疫等多个系统,可以通过多途径、多机制直接和(或)间接损伤生殖系统,导致男性生殖力降低,甚至不育。有条件的实验室,应研究新冠病毒对睾丸结构与功能是直接或是间接损伤,或是两者兼有。睾丸曲细精管内不含有毛细血管,病毒不能借助于血循环直接到达曲细精管。曲细精管生精上皮若受损,应阐明病毒是否结合于生精细胞,或是间质区的细胞类群损伤而间接导致生精细胞损伤。须注意的是,精液或精子表面检出病毒,不能由此推论病毒一定存在于睾丸,病毒存在多种可能来源(例如,直接源于睾丸;病毒仅存在于精浆,来源于附属性腺;从生殖管道某一部位的血管进入,混入精浆,如血精症;性器官接触来源等),这些来源都有各自不同的特征。深入研究病毒出现在精液或精子的路径,有助于认识病毒对睾丸是直接或是间接损伤。

3.2 开展大标本量的分析 目前新冠病毒感染与男性生殖力损伤的有限研究,获得了有价值的结果,但尚不能形成一致的认识。类似地,睾丸存在丰富的精子抗原,检测100例甚至更多的精子标本,即使检测的抗精子抗体结果都是阴性,也不能下男性不会产生抗精子抗体的定论,在某种条件下,有些男性可检出抗精子抗体阳性^[18]。大标本量分析可能获得新冠病毒损伤睾丸的直接证据,毕竟睾丸多种细胞类群存在可与病毒结合的ACE2和TMPRSS2^[8-10]。另一方面,即使一定数量标本的检测结果为阴性,推导结论亦须慎重,毕竟病毒介导睾丸损伤的条件尚不清楚。应重视相关患者睾丸损伤条件的研究,以利于预防和治疗。

3.3 病毒可能引发的睾丸免疫反应 新冠病毒若侵犯睾丸,必定激起睾丸免疫应答,首先会发生细胞免疫反应,需充分认识新冠病毒引发睾丸细胞免疫反应的特征,谨慎评价睾丸免疫损伤(免疫病理)的证据。正常情况下,睾丸间质不存在(或极少)B淋巴细胞,但不能排除病毒通过某种途径激起了体液免疫反应,产生了抗某种睾丸抗原的抗体,导致睾丸免

疫损伤。若病毒损害了曲细精管,令精子抗原暴露于机体免疫系统,有可能产生抗精子抗体,这是睾丸损伤的直接证据之一(需排除附睾损伤)。因此,应重视病毒与睾丸细胞免疫反应的关系,并注意病毒引起体液免疫反应的可能性。

3.4 在血液和精液中筛选睾丸免疫损伤的标志物 有条件的实验室,利用睾丸组织分析新冠病毒介导免疫损伤的同时,应在血液和精液中,筛选睾丸免疫损伤的标志物。有些病毒感染睾丸后,精液中会出现一些特别产物或成分。须注意的是,精液中的标志物要分辨出是源自睾丸、附睾,还是源于附属性腺,这也是评估睾丸是被直接或是间接损伤的机制之一。

3.5 病毒对精子遗传物质的影响 男性生殖力损伤可以反映在精液和精子参数降低,以及精子功能减弱,但须深入认识新冠病毒是否介导了精子核内分子、染色质和DNA损伤,甚至造成父本基因组变化。精子遗传物质的损伤是不可逆的,能够造成男性不育、配偶流产、畸胎等异常生殖结局,这方面的研究有助于认识新冠病毒损伤男性生殖力的本质。

3.6 病毒通过精子发生垂直传播的可能性 新冠病毒是否通过母婴传播目前受到研究重视。同样地,须加强新冠病毒是否通过精子发生垂直传播的研究。精原细胞含有ACE2^[9],假如新冠病毒感染精原细胞,后续的细胞发育可能中止并导致细胞死亡,但危险的是病毒若以某种形式整合在精原细胞,而细胞仍然继续发育、分化为精子,这样就增大了病毒通过精子发生垂直传播的可能性。

3.7 病毒损伤睾丸的可逆性 有些病毒损伤睾丸结构与功能是不可逆的,例如巨细胞病毒(cytomegalovirus)、腮腺炎病毒(mumps virus)等损伤睾丸(本实验室未发表资料)。若阐明新冠病毒对睾丸结构与功能的损伤是不可逆的,应重视有病毒感染史、且有生育意愿男性的生育力保存宣教及其精子冷冻保存^[27]。

3.8 男性生殖力影响的长期观察 新冠病毒将会长期存在,病毒对男性生殖力影响也将是持久的。新冠病毒暴发、蔓延仅几个月,目前对病毒是否影响男性生殖力尚知之甚少。新冠病毒感染的治愈者,体内产生了相应的抗体,抗体若长期存在,是否与生殖系统非靶标的交叉抗原发生免疫反应,这个问题现在就要重视。有可能的话,应筛选合适病例,对有病毒感染史的育龄男性做生殖力影响的长期观察。

3.9 疫苗对男性生殖系统的安全性 新冠病毒疫苗的研制正在积极进行,目前研发的疫苗包括灭活

病毒疫苗、基因工程亚单位疫苗、重组病毒载体疫苗、核酸疫苗等,通过产生针对病毒(刺突蛋白)的特异性抗体,达到灭活病毒、病毒RNA或DNA的目的。应用疫苗防病、治病的同时,所诱发抗体是否对生殖系统结构与功能存在负效应,也是必须重视的问题^[28-29]。此外,还要考虑疫苗的可逆性,以备接受了疫苗、过后有生育需求者,能为他们提供中止疫苗效能的措施,从而提高生殖安全性。

4 结语

新冠病毒感染与男性生殖力损伤的相互关系,是一个全新的研究领域。应开展新冠病毒感染与男性生殖力相关的各方面研究,尤其要充分阐明病毒是否直接损伤睾丸。目前的研究显示了睾丸存在病毒可与之结合的分子基础,也有几项新冠病毒感染与精液、睾丸、生殖激素检测的初步报道,但形成广泛认同的定论尚需时日,也可能日后存在多种观点和见解。笔者的思考认为,新冠病毒若发生对睾丸直接损伤是有条件的,类似于睾丸发生精子免疫是在某些条件下才会产生抗精子抗体,这些条件会体现出睾丸发生感染的独特性;新冠病毒若损伤睾丸,直接证据之一在睾丸免疫损伤(免疫病理,抗睾丸细胞或精子抗体),睾丸局部免疫防御机制会受到严重破坏。更多临床标本的分析、各类试验技术的应用、有效动物模型的建立,将会揭示出新冠病毒感染与男性生殖力损伤的本质。

[参 考 文 献]

- [1] Shang J, Ye G, Shi K, et al. Structural basis of receptor recognition by SARS-CoV-2 [J]. *Nature*, 2020, 581(7807):221-224.
- [2] Yan R, Zhang Y, Li Y. Structural basis for the recognition of SARS-CoV-2 by full-length human ACE2 [J]. *Science*, 2020, 367(6485):1444-1448.
- [3] Xiao L, Sakagami H, Miwa N. ACE2: the key molecular for understanding the pathophysiology of severe and critical conditions of COVID-19: demon or angel? [J]. *Viruses*, 2020, 12(5):491.
- [4] Lan J, Ge J, Yu J, et al. Structure of the SARS-CoV-2 spike receptor-binding domain bound to the ACE2 receptor [J]. *Nature*, 2020, 581(7807):215-220.
- [5] Li W, Moore MJ, Vasilieva N, et al. Angiotensin-converting enzyme 2 is a functional receptor for the SARS coronavirus [J]. *Nature*, 2003, 426(6965):450-454.
- [6] Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, et al. SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor [J]. *Cell*, 2020, 181(2):271-280. e8.

- [7] Heurich A, Hofmann-Winkler H, Gierer S, et al. TM-PRSS2 and ADAM17 cleave ACE2 differentially and only proteolysis by TMPRSS2 augments entry driven by the severe acute respiratory syndrome coronavirus spike protein [J]. *J Virol*, 2014, 88(2):1293-307.
- [8] Douglas GC, O'Bryan MK, Hedger MP, et al. The novel angiotensin-converting enzyme (ACE) homologue, ACE2, is selectively expressed by adult Leydig cells of the testis [J]. *Endocrinology*, 2004, 145 (10) : 4703-4711.
- [9] Wang Z, Xu X. scRNA-seq profiling of human testes reveals the presence of the ACE2 receptor, a target for SARS-CoV-2 infection in spermatogonia, Leydig and Sertoli cells [J]. *Cells*, 2020, 9(4):920.
- [10] Liu X, Chen Y, Tang W, et al. Single-cell transcriptome analysis of the novel coronavirus (SARS-CoV-2) associated gene ACE2 expression in normal and non-obstructive azoospermia (NOA) human male testes [J]. *Sci China Life Sci*, 2020, 63(7):1006-1015.
- [11] Bhushan S, Schuppe HC, Fijak M, et al. Testicular infection: microorganisms, clinical implications and host-pathogen interaction [J]. *J Reprod Immunol*, 2009, 83(1/2):164-167.
- [12] Fijak M, Meinhardt A. The testis in immune privilege [J]. *Immunol Rev*, 2006, 213:66-81.
- [13] Meinhardt A, Hedger MP. Immunological, paracrine and endocrine aspects of testicular immune privilege [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2011, 335(1):60-68.
- [14] 朱伟杰. 抗精子免疫不育 [M]// 陈栋. 男科学与优生. 北京: 科学技术文献出版社, 2016:48-57.
- [15] Xu J, Oi L, Chi X, et al. Orchitis: a complication of severe acute respiratory syndrome (SARS) [J]. *Biol Reprod*, 2006, 74(2):410-416.
- [16] Ding Y, He L, Zhang Q, et al. Organ distribution of severe acute respiratory syndrome (SARS) associated coronavirus (SARS-CoV) in SARS patients: implications for pathogenesis and virus transmission pathways [J]. *J Pathol*, 2004, 203(2):622-630.
- [17] Song C, Wang Y, Li W, et al. Absence of 2019 novel coronavirus in semen and testes of COVID-19 patients [J]. *Biol Reprod*, 2020, 103(1):4-6.
- [18] 朱伟杰. 抗精子抗体介导不育的再认识 [J]. *中华生殖与避孕杂志*, 2017, 37(1):5-9.
- [19] Mossadegh-Keller N, Sieweke MH. Testicular macrophages: guardians of fertility [J]. *Cell Immunol*, 2018, 330:120-125.
- [20] 黄瑞, 朱伟杰. 睾丸支持细胞连接结构在精子发生过程的作用 [J]. *生殖与避孕*, 2013, 33(3):199-204.
- [21] 朱伟杰, 许文明, 陈卉. 睾丸的外分泌与精子发生 [M]// 陈小章, 王子栋. 外分泌生理学. 北京: 科学出版社, 2012: 614-648.
- [22] Kaur G, Thompson LA, Dufour J. Sertoli cells: immunological sentinels of spermatogenesis [J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2014, 30:36-44.
- [23] 夏艳, 朱伟杰. 管周细胞在介导睾丸功能中的作用 [J]. *生殖与避孕*, 2010, 30(5):342-346.
- [24] Mayerhofer A, Walenta L, Mayer C, et al. Human testicular peritubular cells, mast cells and testicular inflammation [J]. *Andrologia*, 2018, 50(11):e13055.
- [25] Sandner F, Welter H, Schwarzer JU, et al. Expression of the oestrogen receptor GPER by testicular peritubular cells is linked to sexual maturation and male fertility [J]. *Andrology*, 2014, 2(5):695-701.
- [26] Heinrich A, DeFalco T. Essential roles of interstitial cells in testicular development and function [J/OL]. *Andrology*, 2019 (2019-08-24) [2020-04-28]. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/andr.12703>.
- [27] 朱伟杰, 刘学高. 人类精液一步冷冻法研究 [J]. *中国病理生理杂志*, 1993, 9(2):153-156.
- [28] 朱伟杰. 抗精子疫苗 [M]// 熊承良, 商学军, 刘继红. 人类精子学. 北京: 人民卫生出版社, 2013: 398-404.
- [29] 朱伟杰. 免疫避孕 [M]// 曹泽毅. 中华妇产科学. 3版. 北京: 人民卫生出版社, 2014: 3034-3048.

(责任编辑: 宋廷君, 罗 森)