

抗精子抗体与精液常规参数的相关性调查^{*}

吕俊霞, 杨大千[△], 姚冬英, 沈乃仙(浙江大学医学院附属第一医院检验科, 杭州 310003)

【摘要】 目的 调查抗精子抗体(AsAb)对精液常规参数的影响。**方法** 选取 AsAb 阳性组 51 例、AsAb 阴性组 40 例和健康对照组 47 例, 采用计算机辅助精子分析仪检测精液参数, 用 SPSS 15.0 软件进行统计学分析。**结果** AsAb 阳性组的精子活率(%)、a+b 级活力(%)和畸形率(%)分别为 $(62.62 \pm 10.49)\%$ 、 $(30.81 \pm 9.00)\%$ 、 $(63.04 \pm 7.55)\%$; AsAb 阴性组 3 项分别为 $(66.44 \pm 8.25)\%$ 、 $(31.40 \pm 9.08)\%$ 、 $(65.77 \pm 8.76)\%$; 健康对照组 3 项分别为 $(68.73 \pm 4.76)\%$ 、 $(35.99 \pm 6.44)\%$ 、 $(60.85 \pm 5.96)\%$ 。上述各指标在 3 组间差异均有统计学意义($P < 0.05$)。AsAb 主要结合于精子的尾部。**结论** AsAb 阳性可能是患者的精子活率和 a+b 级活力降低的原因之一。

【关键词】 抗精子抗体; 精子活率; 男性不育

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2012.24.001 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2012)24-3041-02

An investigation of the correlation of anti-sperm antibodies and semen parameters LV Jun-xia, YANG Da-gan, YAO Dong-ying, SHEN Nai-xian (Department of Clinical Laboratory, The First Affiliated Hospital, College of Medicine Zhejiang University, Hangzhou 310003, China)

【Abstract】 Objective To investigate the influence of anti-sperm antibodies (AsAb) on sperm parameters. **Methods** The subjects consisted of 51 AsAb positive patients, 40 diseased control and 47 healthy control cases. The semen parameters were detected by computer-assisted sperm analyzer, and SPSS 15.0 was used for statistical analysis. **Results** The sperm motility(%), a+b-level activity(%), and malformation rate(%) were 62.62 ± 10.49 , 31.81 ± 9.00 , and 63.04 ± 7.55 respectively in the AsAb positive group; these were 66.44 ± 8.25 , 31.40 ± 9.08 , and 65.77 ± 8.76 respectively in the diseased control group and 68.73 ± 4.76 , 35.99 ± 6.44 , and 60.85 ± 5.96 respectively in the healthy control group. There were significant differences between 3 groups as to the above mentioned parameters (F values were 6.490, 4.979, and 4.140 respectively, $P < 0.05$). The AsAb mainly adhered to the tails of sperms. **Conclusion** AsAb positive may be one of the reasons for decreased sperm motility and vitality of a+b level.

【Key words】 anti-sperm antibodies; sperm motility; male infertility

免疫性的不孕不育是由于自身生殖道抗原的自身免疫或同种免疫而导致的不孕不育, 是目前不孕不育的重要因素之一。根据世界卫生组织(WHO)估计, 免疫性的不孕不育占 10%~20%, 其中最常见的是由抗精子抗体(AsAb)所导致的生殖障碍, 并且已被列为人类诊断免疫性不孕不育的确定性指标之一^[1-2]。国外有报道 AsAb 阳性组精子活力及形态与对照组差异无统计学意义^[3-4]。而国内报道认为, 男性 AsAb 阳性组患者的精子密度、活率、活力明显低于 AsAb 阴性组^[5-7]。通过调查浙江省 AsAb 阳性、疾病患者和健康对照者的精液常规参数, 进一步探讨 AsAb 对精液常规参数的影响。

1 资料与方法

1.1 一般资料 将研究对象分为 3 组, 即 AsAb 阳性组、AsAb 阴性组及健康对照组。(1)AsAb 阳性组: 来医院就诊的男性不孕不育患者 51 例, 混合抗球蛋白凝集法(MAR 法)检测 AsAb 阳性, 年龄 23~41 岁, 平均 31 岁。(2)AsAb 阴性组: 来医院就诊的男性不孕不育患者 40 例, MAR 法检测 AsAb 阴性, 年龄 19~42 岁, 平均 29 岁。(3)健康对照组: 来医院健康体检的男性 47 例, MAR 法检测 AsAb 阴性, 年龄 23~44 岁, 平均 31 岁。经统计学分析, 3 组间年龄差异无统计学意义($F=1.830$, $P>0.05$)。

1.2 标本采集 受试者禁欲 2~7 d, 手淫法将精液全部收集

于干燥消毒的一次性量杯内, 放置于 37℃ 孵箱内待其液化后进行检测。

1.3 精液 AsAb 测定 采用 WHO 推荐的 MAR 法进行 AsAb 测定。MAR 法 AsAb 试剂盒购自安徽安科生物工程(集团)股份有限公司。取液化后新鲜精液 20 μ L 于载玻片上, 加 20 μ L A 液, 混匀后置于室温 15 s; 再加 20 μ L B 液, 混匀加盖玻片, 3 min 后于光学显微镜(40 $\times$ 10)下镜检, 至少计数 100 个活动精子, 计数其中附着有绵羊红细胞的异常精子数目(%), 小于或等于 10% 判为阴性, 大于 10% 判为阳性。对于 AsAb 阳性的标本按抗体结合部位(头、体、尾)再进行分类并记录。

1.4 精液常规分析 采用计算机辅助精子分析仪检测精液主要参数, 包括精液量、精子密度、精子活率、a+b 级活力和畸形率。

1.5 统计学处理 采用 SPSS15.0 统计软件包进行统计学分析, 检测数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示。多组间均数比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用 SNK(q)检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 AsAb 与精液常规参数的关系 见表 1。精子活率(%), a+b 级活力(%)和畸形率(%)在 AsAb 阳性组、AsAb 阴性组和健康对照组 3 组间的差异均有统计学意义($P < 0.05$)。

表 1 3 组精液参数的检测结果(±s)

组别	n	精液量(mL)	精子密度(×10 ⁶ /mL)	精子活率(%)	a+b 级活力(%)	精子畸形率(%)
AsAb 阳性组	51	4.16±1.80	92.85±39.14	62.62±10.49 ^{ab}	30.81±9.00 ^c	63.04±7.55
AsAb 阴性组	40	3.98±1.57	80.43±30.49	66.44±8.25	31.40±9.08 ^c	65.77±8.76 ^b
健康对照组	47	4.04±1.54	95.47±42.52	68.73±4.76	35.99±6.44	60.85±5.96
F	—	0.212	1.807	6.490	4.979	4.140
P	—	>0.05	>0.05	<0.01	<0.05	<0.01

注:与 AsAb 阴性组比较,^aP<0.05;与健康对照组比较,^bP<0.01,^cP<0.05;—:表示无数据。

2.2 AsAb 阳性组抗体结合部位分类 在 51 例 AsAb 阳性组中,阳性黏附率为 11.78%,MAR 黏附运动精子以尾部为主,其中尾部黏附率为 6.33%;其次是头部,黏附率为 2.89%;最后是颈部,黏附率为 2.56%。

3 讨 论

精子作为一种机体自身隐匿性的抗原,正常情况下,由于血-睾屏障、血-附睾屏障和精液中一些免疫抑制物的存在,男性体内不会产生 AsAb。但当生殖道创伤、手术、感染、隐睾症和精索静脉曲张等情况下,血-睾屏障被破坏,精子作为抗原接触到免疫系统而刺激男性机体产生 AsAb^[8]。据报道,在不育男子中有 6%~10%可查到 AsAb,而体内存在 AsAb 而致不育患者占总不育的 20%~30%^[9]。

首先,AsAb 会影响到精液的常规检测参数,降低精子的活率、精子 a+b 级活力等,从而影响生育能力。本研究结果显示,精子活率、a+b 级活力 3 组间差异均有统计学意义(P<0.05),AsAb 阳性组的结果低于 AsAb 阴性组,而 AsAb 阴性组的结果均低于健康对照组,这些结果与现有的报道基本一致。如刘睿智等^[10]研究表明,随着精子活率、a+b 级活力的降低,AsAb 阳性率均明显增加;刘雅峰等^[6]也报道 AsAb 阳性组患者的精液主要参数精子活率及精子 a+b 级活力均低于 AsAb 阴性组患者,精浆 AsAb 对精液主要参数有明显的影响。但是精子畸形率 3 组结果都明显高于以往的报道^[9-11],这与参照 2011 年版的 WHO 人类精液检查与处理实验室手册中的正常精子形态标准判断有关,只有头、颈和尾部(中段和主段)都正常的精子判断为正常,处于临界形态的精子均认为异常^[2]。

其次,精液量、精子密度在 AsAb 阳性组、疾病对照组和健康对照组 3 组间差异无统计学意义(P>0.05)。国内、外有作者^[9,11]报道与本结果类似,说明 AsAb 对精液量、精子密度的影响不大,而其他导致不育的疾病对精液量及精子密度可能影响较大。如朱江等^[12]研究表明,在不育疾病中,精子密度会有一些的异常,与本文 AsAb 阴性组结果相符。而芦志华等^[13]的研究表明,精浆 AsAb 阳性组的精液量、精子密度等精液参数较精浆 AsAb 阴性组有显著差异,这可能是由于病例来源的不同而造成的。

最后,AsAb 结合于精子的部位不同,其对精子的影响也不同,对于生育的影响也有很大的差别。在 51 例 AsAb 阳性组中,根据黏附部位进行分类,以尾部和头部为主,此结果与 Shibahara 等^[14]和 Kipersztok 等^[15]通过对不育男性精液进行免疫珠结合试验(IBT)检测 AsAb 结果相符,其结果表明,AsAb 主要结合于精子尾部及头部。精子的尾部是其运动器官,结合于精子尾部的 AsAb 可影响其运动,降低精子的活力及穿透宫颈黏液的能力;而精子头部是精子最重要的部分,由核物质、顶体、质膜和核膜构成,其中顶体酶及结合卵子透明带的精

子膜受体在精卵结合中起着重要作用,结合于头部的 AsAb 既可影响头部的核 DNA,导致精子凋亡,同时也可影响顶体酶的活性,干扰精卵结合和影响胚胎发育^[16]。此外,AsAb 结合于精子颈中段,可影响位于精子的颈中段的线粒体 DNA,也导致精子的凋亡,对精子的形态也有一定的影响。

总之,AsAb 主要结合于精子的尾部和头部,影响到精子的运动性能,降低了精子活率和 a+b 级活力,增加了精子的畸形率,从而增加患者不育的概率。

参考文献

[1] Marshburn PB, Kuttteh WH. The role of antisperm antibodies in infertility[J]. Fertil Steril, 1994, 61(5): 799-811.

[2] 世界卫生组织. WHO 人类精液检查与处理实验室手册[M]. 5 版. 北京:人民卫生出版社,2011:78-80.

[3] Rossato M, Galeazzi C, Fefigo M, et al. Antisperm antibodies modify plasma membrane functional integrity and inhibit osmosensitive calcium influx in human sperm[J]. Hum Reprod, 2004, 19(8): 1816-1820.

[4] Adeghe AJ, Zhang J, Cuthbert J, et al. Antisperm antibodies and sperm motility: a study using timed exposure photomicrography[J]. Int J Androl, 1989, 12(4): 281-285.

[5] 李芳文, 钟兰军, 丁进芳. 抗精子抗体对精子活率及活力的影响[J]. 甘肃中医学院学报, 2004, 21(2): 33.

[6] 刘雅峰, 郑克立, 戴宇平, 等. 精浆抗精子抗体对男性不育症患者精液参数的影响分析[J]. 中国优生与遗传杂志, 2005, 13(1): 104-105.

[7] 幸楠, 徐野, 王丽梅, 等. 280 例不育症男性精浆抗精子抗体 IgA 与精子参数的研究[J]. 中国优生与遗传杂志, 2009, 17(6): 105-106.

[8] 农建宏, 苏国生. 不孕不育患者抗精子抗体检测及临床意义[J]. 右江医学, 2007, 35(6): 674-675.

[9] 黄婷婷, 周志健, 王维, 等. 精子抗体对精液参数的影响[J]. 现代医院, 2010, 10(2): 37-38.

[10] 刘睿智, 李付彪, 沙艳伟, 等. 精浆抗精子抗体与精液主要参数关系分析[J]. 中国实验诊断学, 2003, 7(3): 256-258.

[11] 张青松, 陈敏, 陈俊霞, 等. 抗精子抗体与男性精液参数的临床分析[J]. 菏泽医学专科学校学报, 2006, 18(3): 26-27.

[12] 朱江, 钟春俐, 李蔚, 等. 193 对不孕不育夫妇男性精液分析[J]. 中国妇幼保健, 2007, 22(27): 3854-3855.

[13] 芦志华, 胡敬海, 张宝刚, 等. 精浆抗精子抗体对男性不育者精液参数和精子顶体酶活性的影响[J]. 吉林医学, 2006, 27(1): 14-15.

(下转第 3044 页)

灭活前,但差异无统计学意义($P>0.05$),Fib 的含量在病毒灭活前后有差异,即灭活后的含量显著低于灭活前含量,差异有统计学意义($P<0.05$)。同时还发现,FⅡ:C、FV:C、FⅦ:C 和 FX:C 的含量在冻存期间当月、6 个月、8 个月、10 个月和 12 个月呈缓慢下降趋势,在冻存 12 个月时含量还能维持在

70%以上(表 1)。而 FⅧ:C 和 FIX:C 在冻存后含量迅速下降,在保存 3 个月时就已发生明显下降,约为正常值的 75%,在冻存 12 个月时含量仅维持在 30%~50%。Fib 在冻存期间的含量也呈逐渐下降趋势,在冻存 12 个月时含量约维持在 60%。

表 1 血浆相关指标在病毒灭活前后及保存过程中的含量变化

项目	病毒	当月	6 个月	8 个月	10 个月	12 个月
FⅡ:C(U)	灭活前	92.25±14.68	86.07±12.48	80.52±9.52	75.27±10.79	70.51±10.91
	灭活后	90.55±13.26	87.46±13.71	80.38±11.69	76.35±12.14	71.63±11.97
FV:C(U)	灭活前	85.22±19.45	80.82±7.88	78.17±10.58	72.71±9.47	69.47±9.18
	灭活后	83.73±16.18	74.12±5.86	72.86±9.31	66.75±8.78	64.34±8.47
FⅦ:C(U)	灭活前	86.12±8.12	83.29±13.92	76.84±13.27	73.55±14.03	72.72±16.62
	灭活后	86.58±8.28	83.53±18.45	79.58±12.39	76.27±14.94	70.5±14.95
FⅧ:C(U)	灭活前	58.93±15.69	45.53±10.29	41.4±10.68	34.97±7.88	28.82±8.33
	灭活后	53.57±12.95	44.31±11.35	40.52±13.83	32.34±9.61	28.35±6.68
FIX:C(U)	灭活前	87.43±6.58	66.22±8.07	57.69±9.23	55.70±5.44	51.55±8.88
	灭活后	84.37±16.65	61.49±5.4	55.76±7.87	52.21±9.34	49.04±6.61
FX:C(U)	灭活前	106.31±19.05	93.00±16.80	88.14±20.08	85.53±10.61	82.82±10.18
	灭活后	102.82±15.62	90.97±17.25	86.68±19.09	85.72±12.27	80.78±10.02
Fib(mg/dL)	灭活前	265.59±29.34	249.27±36.64	230.18±36.33	203.64±15.13	177.86±14.41
	灭活后	238.37±25.61	211.75±26.39	200.45±35.78	168.63±27.68	158.9±9.15

3 讨 论

MBP 对血浆中正常成分活性确有破坏作用,受影响最多的为 FⅧ和 Fib^[2],损失分别可达到 13%~33% 和 24%~39%,但是这种程度的损失在临床应用中可以接受的。因一般以血液保存期间各种血液成分活力和功能降低的允许范围作为参考^[3-4]。在本研究中,血浆经亚甲蓝灭活处理后 6 种凝血因子(FⅡ:C、FV:C、FⅦ:C、FⅧ:C、FIX:C、FX:C)的含量稍低于灭活前,差异无统计学意义($P>0.05$),但 Fib 的含量在病毒灭活前后有差异,说明了在病毒灭活处理的过程中,对 6 种凝血因子的损伤比较小,而对 Fib 的影响较大。同时还发现,凝血因子 FⅡ:C、FV:C、FⅦ:C 和 FX:C 的含量在冻存期间呈缓慢下降趋势,在冻存 12 个月时含量还能维持在 70%以上。而 FⅧ:C 和 FIX:C 在冻存后含量迅速下降,在冻存 12 个月时含量仅维持在 30%~50%,这些结果说明凝血因子 FⅧ:C 和 FIX:C 在冻存过程中容易丢失,而其他几种凝血因子在冻存过程中维持得比较好。另外,Fib 在冻存期间的含量也呈逐渐下降趋势,在冻存 12 个月时含量约维持在 60%。

作者认为应加强对病毒灭活血浆质量标准及血制品冻存等操作规程的研究,这样在保证输血安全的同时还确保了输注

血浆成分的疗效^[5]。

参考文献

[1] Politis L, Kavallierou S, Hantziara P, et al. Quality and safety of fresh-frozen plasma inactivated andleucoreduced with the Theraflex methylene blue system including the Blueflex filter;5 years' experience[J]. Vox Sang,2007,92 (4):319-326.

[2] Mohr H, Knuver-Hopf J, Gravemann U, et al. West Nile virus in plasma is highly sensitive to methylene blue-light treatment[J]. Transfusion,2004,44(6):886-890.

[3] 张文福,袁庆霞,王宏霞. 亚甲蓝光敏法对血浆中病毒的灭活研究[J]. 中国消毒学杂志,1999,16(8):65.

[4] 安万新. 输血技术学[M]. 北京:科学技术文献出版社. 2006:277-278.

[5] 李忠平. 临床输用血浆病毒灭活的研究进展[J]. 国外医学:输血及血液学分册,2001,24(2):157-159.

(收稿日期:2012-08-28)

(上接第 3042 页)

[14] Shibahara H, Hirano Y, Takamizawa S, et al. Effect of sperm immbillizing antibodies bound to the surface of ejaculated human spermatozoa on sperm motility in immunologically infertile men[J]. Fertil Steril,2003,79(3):641-642.

[15] Kipersztok S, Kim BD, Morris L, et al. Validity of arapid

assay for antisFerm antibodies in semen[J]. Fertil Steril, 2003,79(3):522-528.

[16] Kallen CB, Ariel A. Immune testing in fertility practice: truth or deocption[J]. Curr Opin Obstet Gynecol,2003, 15(3):225-231.

(收稿日期:2012-06-03)