

· 论 著 ·

新疆地区男性不育患者人乳头瘤病毒感染和抗精子抗体的回顾性研究

杨晓芳, 张 英, 王 欣
(新疆昌吉州人民医院, 新疆 831100)

摘要:目的 探讨新疆地区男性不育患者人乳头瘤病毒(HPV)感染与抗精子抗体(AsAb)的关系。方法 选取 127 例男性不育患者作为试验组, 130 例正常生育男性作为对照组。采用反向斑点杂交方法检测 HPV 精液感染, 采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测精液中 AsAb 水平。结果 男性不育患者 HPV 感染率(67.7%)高于正常生育男性 HPV 感染率(16.2%), 差异有统计学意义($P < 0.05$); HPV 精液感染的男性不育患者, AsAb 阳性率(38.4%)高于无 HPV 感染的男性不育患者(17.1%), 差异具有统计学意义。与 HPV 感染阴性男性不育患者比较, HPV 感染男性不育患者精子活率及(a+b)级活力均降低, 精子畸形率升高, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。结论 该地区男性不育患者 HPV 感染率较高, HPV 感染与 AsAb 阳性有关, 可进一步导致男性不育。

关键词:人乳头瘤病毒; 抗精子抗体; 不育

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2015.13.045

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2015)13-1910-03

Retrospective analysis of association between human papilloma virus infection and antisperm antibodies in male infertile patients in Xinjiang area

Yang Xiaofang, Zhang Ying, Wang Xin

(People's Hospital of Changji Hui Autonomous Prefecture, Changji, Xinjiang 831100, China)

Abstract: Objective To explore the association between human papilloma virus(HPV) infection and antisperm antibodies(AsAb) in male infertile patients in Xinjiang area. **Methods** A total of 127 cases of infertile male patients were selected as experimental group, other 130 cases of normal male were enrolled in the control group. HPV sperm infection was detected by using reverse dot blot hybridization kit. The levels of AsAbs in semen specimen were measured by using the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). **Results** The infection rate of male infertile patients(67.7%) was higher than that of normal male(16.2%), with significant differences($P < 0.05$). The positive rate of AsAb of male infertile patients with HPV infection(38.4%) was higher than that of male infertile patients without HPV infection(17.1%), with significant differences($P < 0.05$). Compared with male infertile patients without HPV infection, the percentages of sperm motility and grade (a+b) sperm motility were decreased in male infertile patients with HPV infection, while the sperm malformation rate was increased in male infertile patients with HPV infection, with significant differences($P < 0.05$). **Conclusion** The HPV infection rate of male infertile patients is relatively high in this area. HPV sperm infection could be associated with AsAb that may further reduce male fertility.

Key words: human papilloma virus; anti-sperm antibodies; infertile

临床医生和研究人员普遍认为, 各种病原体造成的精囊感染是男性不育症的重要病因之一。研究发现, 精囊炎即使没有明显症状, 也常常与精液质量差有关^[1]。人乳头瘤病毒(HPV)是最常见的性传播病毒之一, 全球不同区域的男性和女性普遍易感。目前, 已经发现超过 120 个 HPV 基因型, 这种病毒主要侵犯皮肤和黏膜, 包括耻骨区、口腔和肛周区域, 并且可以通过皮肤接触或生殖器区域皮肤黏膜接触传染^[2]。HPV 感染导致常见的生殖器和非生殖器疣或相关宫颈癌^[3]。近年来, 多项研究发现, 在精液中检测到 HPV DNA 存在^[4-5]。Foresta 等^[6]研究提示, HPV 感染与精子活动能力下降有关。以往认为, 男性 HPV 感染是短暂性的, 没有严重的临床后果, 其对精子参数和男性生育能力的影响尚少见报道。本研究旨在调查新疆地区男性不育患者 HPV 感染情况, 分析其与男性不育及抗精子抗体(AsAb)阳性之间的关系, 为不育症的治疗提供新的资料。

1 资料与方法

1.1 一般资料 本研究经本院伦理委员会审查通过, 并且所有受试者均签署书面知情同意书。本研究分试验组和对照组 2 组, 试验组包括男性不育患者 127 例, 并根据 HPV 检测结

果, 将 127 例男性不育患者分为 HPV 阳性组和 HPV 阴性组; 对照组包括正常生育男性 130 例。精液参数异常, 或婚后同居 2 年以上未采取任何避孕措施而女方未怀孕, 并且排除女方生殖系统疾病者, 定义为男性不育。正常生育者至少有 1 名孩子。所有受试者均经睾丸多普勒超声检查和精液微生物培养, 精索静脉曲张和精液感染被排除在外。

1.2 仪器与试剂 HPV 反向斑点杂交分型检测试剂盒、DA7600 基因扩增仪和 AsAb 酶联免疫诊断试剂盒均购自中山大学达安基因股份有限公司, 分子杂交箱购自上海精宏实验设备有限公司, WLJY-9000 型全自动精液分析仪购自北京伟力新世纪科技发展有限公司。

1.3 方法

1.3.1 HPV 分型检测 禁欲 5~7 d 后以手淫法采集精液标本, 并收集在无菌器皿内。精液 12 000 r/min 离心 5 min, 弃上清, 沉淀加入 50 μ L DNA 提取液充分混匀, 100 $^{\circ}$ C 恒温处理 10 min, 12 000 r/min 离心 10 min, 取上清作为聚合酶链反应(PCR)模板。PCR 扩增、杂交及结果分析参照 HPV 反向斑点杂交分型检测试剂盒说明书进行。

1.3.2 精液分析 精液于 37 $^{\circ}$ C 冰箱放置 30 min, 待完全液化

后,采用 WLJY-9000 型全自动精液分析仪进行精液参数分析,包括精子形态、密度和精子运动特征分析,以(a+b)级精子百分率为精子活力。精子形态采用分析仪检测结合人工修正的方法进行检测。

1.3.3 AsAb 检测 所有受试者均于清晨空腹抽取静脉血 2 mL,3 000 r/min 离心 5 min,分离血清,采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测血清 AsAb IgG 浓度,具体操作和结果判断参照由中山大学达安基因股份有限公司 AsAb 酶联免疫诊断试剂盒使用说明书,由有资质的检验技师完成。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 19.0 统计软件进行数据处理与统计学分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验;计数资料以百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 HPV 感染与男性不育的关系 经分子生物学检测,127 份男性不育患者精液标本中,HPV DNA 阳性 86 份(67.7%)、阴性 41 份(32.3%);130 份正常生育男性精液标本中,HPV DNA 阳性 21 份(16.2%)、阴性 109 份(83.8%)。不育患者 HPV 感染率高于正常生育男性,差异有统计学意义($\chi^2 = 70.287 2, P < 0.05$)。

2.2 HPV 亚型分布 107 份 HPV DNA 阳性标本中,共检测到 HPV 亚型 123 份(10 份 2 种基因型 HPV 病毒感染,6 份 3 种基因型 HPV 病毒感染)。其中,对照组检出 27 种 HPV 基因型感染,试验组检出 96 种 HPV 基因型感染。HPV-16 是精

液感染最常见的 HPV 亚型,感染率为 21.1%;其次为 HPV-18 亚型,感染率为 20.3%。此外,HPV-52 和 HPV-33 亚型感染率也较高,感染率均为 19.5%。对照组最常见 HPV 亚型为 HPV-16、HPV-18 和 HPV-52,试验组最常见 HPV 亚型为 HPV-16。见表 1。

表 1 HPV 亚型分布

HPV 亚型	对照组(n)	试验组(n)	合计[n(%)]
HPV-6	1	5	6(4.8)
HPV-11	1	5	6(4.8)
HPV-16	6	20	26(21.1)
HPV-18	6	19	25(20.3)
HPV-31	1	3	4(3.3)
HPV-33	5	19	24(19.5)
HPV-45	0	2	2(1.6)
HPV-52	6	18	24(19.5)
HPV-56	0	2	2(1.6)
HPV-58	1	3	4(3.3)
合计	27	96	123(100.0)

2.3 HPV 感染与精液参数的关系 HPV 阴性组与 HPV 阳性组精液量及精子密度比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)。而与 HPV 阴性组比较,HPV 阳性组精子活率和(a+b)级活力均降低,精子畸形率升高,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 HPV 感染与精液参数的关系

组别	n	精液量(mL)	精子密度($\times 10^6$)	精子活率(%)	(a+b)级活力(%)	精子畸形率(%)
HPV 阴性组	41	4.06 \pm 1.15	92.37 \pm 41.22	53.83 \pm 24.12	33.26 \pm 10.05	15.89 \pm 7.99
HPV 阳性组	86	3.98 \pm 1.08	91.98 \pm 40.83	48.21 \pm 23.85	29.13 \pm 9.87	19.38 \pm 8.13
P		0.7086	0.9601	0.2179	0.0294	0.0221

2.4 HPV 感染与 AsAb 的关系 41 例 HPV 阴性男性不育患者中,AsAb IgG 阳性 7 例(17.1%)、阴性 34 例(82.9%);86 例 HPV 阳性男性不育患者中,AsAb IgG 阳性 33 例(38.4%)、阴性 53 例(61.6%)。HPV 阳性男性不育患者 AsAb IgG 阳性率高于 HPV 阴性男性不育患者,差异有统计学意义($\chi^2 = 5.837 4, P < 0.05$)。

3 讨 论

近年来,多项研究提示病毒感染可能是男性不育的原因之一。如泌尿生殖道慢性病毒感染,特别是艾滋病毒感染,可造成下尿道炎和生育能力下降^[7-8]。最近研究还表明,乙型肝炎病毒(HBV)和丙型肝炎病毒(HCV)感染能够改变精液的正常参数^[9-10]。在这些感染中,能观察到精液质量下降,特别是精子活动能力下降。此外,已有研究发现,精液病毒感染与精子非整倍体和 DNA 片段频率增加有关^[11-12]。本研究发现,不育患者 HPV 感染率明显高于正常生育男性,差异有统计学意义($P < 0.05$),提示 HPV 感染可能与男性不育相关。Yang 等^[13]的研究数据表明,HPV 感染可降低精液质量,尤其是精子的活动度和精子形态方面。因此,HPV 感染可以降低男性的生育能力,甚至导致不孕。国外一些研究也推测,HPV 感染会降低精子的活力。研究表明,HPV 感染可能与其他病毒拥有相似的机制,HPV 定位在精子头部或尾部的中间位置,减弱顶体的功能和活性,从而影响精子与卵子的融合^[14-15]。体外研究表明,在使用 HPV 感染的精子时,精子渗透到卵子的能力下降,同时胚胎发生阶段特异性成熟阻滞^[16]。此外,Perino

等^[17]报道,当精液存在 HPV 感染,可导致辅助生殖受精率下降和流产率增加。本研究也观察到,HPV 阳性患者精子活率和(a+b)级活力低于 HPV 阴性患者,精子畸形率高于 HPV 阴性患者,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。上述研究表明,HPV 在男性不育中发挥重要作用,检测 HPV 感染对于预防和治疗男性不育具有实际意义。

HPV 拥有超过 120 个基因型,本研究检测了最常见的 19 种基因型,在精液中检测到 10 种基因型。本研究发现,HPV-16、18、52、33 是精液最常见的 HPV 感染亚型。值得注意的是,这 4 型 HPV 属于高危型 HPV,与宫颈癌发生有关,临床在女性患者中检测较为普遍,在男性患者检测较少,需要引起临床医生的关注。

由于存在特殊的血睾屏障,精子虽然具有独特分化抗原,但在正常情况下男性免疫系统并不产生 AsAb。而当睾丸、附睾、前列腺、输精管因手术外伤受损伤,或发生副睾炎、前列腺炎、尿道炎、睾丸炎等生殖道感染,血睾屏障受到一过性或永久性破坏,导致精子与免疫系统接触产生 AsAb,导致生育能力低下或不育^[18]。本研究表明,感染 HPV 的不育症男性患者 AsAb IgG 阳性率较未感染的不育症男性患者升高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。AsAb 阳性率升高可能与 HPV 感染时局部黏膜产生针对 HPV 外膜糖类的抗体,而此抗体与精子膜表面糖蛋白存在交叉反应有关。有研究发现,HPV 外膜糖类与精子膜表面糖蛋白在结构上具有一定的同源性,可能含有相同或相似的抗原决定簇,从而导致交叉免疫反应。Garolla

等^[18]研究也发现,感染 HPV 的不育症男性患者 AsAb 阳性率明显高于 HPV 阴性的不育症男性患者。上述研究表明,不育症男性患者 AsAb 阳性与 HPV 感染有关。

综上所述,该地区男性不育患者 HPV 感染率较高,HPV 感染影响精液参数,并且导致 AsAb 阳性率升高,值得临床医生关注。

参考文献

- [1] Rusz A, Pilatz A, Wagenlehner F, et al. Influence of urogenital infections and inflammation on semen quality and male fertility[J]. World J Urol, 2012, 30(1): 23-30.
- [2] Giuliano AR, Lee JH, Fulp W, et al. Incidence and clearance of genital human papillomavirus infection in men (HIM): a cohort study[J]. Lancet, 2011, 377(9769): 932-940.
- [3] Robinson D, Coupland V, Moller H. An analysis of temporal and generational trends in the incidence of anal and other HPV-related cancers in Southeast England[J]. Br J Cancer, 2009, 100(3): 527-531.
- [4] Flores R, Lu B, Nielson C, et al. Correlates of human papillomavirus viral load with infection site in asymptomatic men[J]. Cancer Epidemiol, Biomarkers Prev, 2008, 17(12): 3573-3576.
- [5] Czeglédy J, Szarka K. Detection of high-risk HPV DNA in semen and its association with the quality of semen[J]. Int J STD AIDS, 2006, 17(3): 211-212.
- [6] Foresta C, Garolla A, Zuccarello D, et al. Human papillomavirus found in sperm head of young adult males affects the progressive motility[J]. Ferti Steri, 2010, 93(3): 802-806.
- [7] Kehl S, Weigel M, Muller D, et al. HIV-infection and modern antiretroviral therapy impair sperm quality[J]. Arch Gynecol Obstet, 2011, 284(1): 229-233.
- [8] Bujan L, Sergerie M, Moinard N, et al. Decreased semen volume and spermatozoa motility in HIV-1-infected patients under antiretroviral treatment[J]. J Androl, 2007, 28(3): 444-452.
- [9] Safarinejad MR, Kolahi AA, Irvani S. Evaluation of semen variables, sperm chromosomal abnormalities and reproductive endo-

crine profile in patients with chronic hepatitis C[J]. BJU Int, 2010, 105(1): 79-86.

- [10] Zhou XL, Sun PN, Huang TH, et al. Effects of hepatitis B virus S protein on human sperm function[J]. Hum Reprod, 2009, 24(7): 1575-1583.
- [11] Huang JM, Huang TH, Qiu HY, et al. Effects of hepatitis B virus infection on human sperm chromosomes[J]. World J Gastroenterol, 2003, 9(4): 736-740.
- [12] Goldberg-Bittman L, Kitay-Cohen Y, Hadari R, et al. Random aneuploidy in chronic hepatitis C patients[J]. Cancer Genet Cytogenet, 2008, 180(1): 20-23.
- [13] Yang Y, Jia CW, Ma YM, et al. Correlation between HPV sperm infection and male infertility[J]. Asian J Androl, 2013, 15(4): 529-532.
- [14] Foresta C, Patassini C, Bertoldo A, et al. Mechanism of human papillomavirus binding to human spermatozoa and fertilizing ability of infected spermatozoa[J]. PLoS One, 2011, 6(3): e15036.
- [15] Foresta C, Pizzol D, Moretti A, et al. Clinical and prognostic significance of human papillomavirus DNA in the sperm or exfoliated cells of infertile patients and subjects with risk factors[J]. Fertil Steril, 2010, 94(5): 1723-1727.
- [16] Henneberg AA, Patton WC, Jacobson JD, et al. Human papilloma virus DNA exposure and embryo survival is stage-specific[J]. J Assist Reprod Genet, 2006, 23(6): 255-259.
- [17] Perino A, Giovannelli L, Schillaci R, et al. Human papillomavirus infection in couples undergoing in vitro fertilization procedures: impact on reproductive outcomes[J]. Fertil Steril, 2011, 95(5): 1845-1848.
- [18] Garolla A, Pizzol D, Bertoldo A, et al. Association, prevalence, and clearance of human papillomavirus and antisperm antibodies in infected semen samples from infertile patients[J]. Fertil Steril, 2013, 99(1): 125-131.

(收稿日期: 2015-05-22)

罗氏诊断 cobas[®] 4800 CT/NG 检测尿液样本收集盒获 CFDA 批准

日前,在厦门召开的第十一次全国妇产科学术会议上,中国医学科学院中国协和医科大学皮肤病研究所、中国疾病预防控制中心性病控制中心陈祥生教授和中华医学会妇产科学分会感染协作组副组长、中国性学会生殖道感染组组长、北京大学第一医院妇产科刘朝晖教授等与会专家,深入探讨我国沙眼衣原体(Chlamydia Trachomatis,简称 CT)和淋球菌(Neisseria Gonorrhoeae,简称 NG)感染现状和诊断筛查方法,强调防控 CT/NG 感染的紧迫性及尽早筛查、明确诊断重要性。

CT 感染无过多症状,医务人员认知度低,导致 CT 感染确诊率低。而 99% 的淋病来自于性传播,其潜伏期较长,以致疾病进一步传播。因此医务人员应提高对 CT/NG 的认识,促进患者及早就医;除高危人群外,婚前检查、人流前,或有白带异常、尿道感染症状的人群都应进行检测,优先考虑筛查年轻女性,减少、消灭 CT 和 NT 感染。

传统的 CT 检测在操作性、敏感性、特异性存在局限性。而镜检、标本培养等淋病检查不能完全满足临床需求,传统检测方法不能及时发现 NG,患者无法尽早获得治疗。在 CT/NG 检测中,核酸扩增检测(NAAT)具有敏感性高、特异性高、周期短、操作简便、省时等优点,已成为临床筛查、诊断和流行病学调查的重要检测手段。

《美国疾病预防控制中心国家性病防治指南》首选 NAAT 方法用于有症状或无症状的 CT/NG 高危人群筛查,且在国家 CT 筛查规划中规定使用 NAAT 检测;在加拿大、英国、澳大利亚等国也在逐步推广应用 NAAT 方法。

当前,我国多数还是采用传统的 CT/NG 检测手段,NAAT 尚未普及,在 CT/NG 筛查方面我国仍与欧美国家存在一定的差距。《性传播疾病临床诊疗与防治指南(2014)》与即将出台的《女性生殖道沙眼衣原体感染诊治共识》可推动 CT 和 NG 感染诊治规范。

已获 CFDA 批准在华上市的 cobas[®] 4800 CT/NG 在常规筛查和诊断中表现出优秀、稳定的临床敏感性和特异性,帮助发现有症状和无症状 CT/NG 感染者,为临床检测提供可靠依据,是唯一同时获中国国家食品药品监督管理局(CFDA)和美国食品药品监督管理局(FDA)认证的 CT/NG 检测项目。