

论著·临床研究

# 血清及宫颈黏液中自身抗体在女性不孕症患者中的表达及临床意义\*

钟文富, 曾 灏, 杨元伍

(广西贵港市人民医院检验科, 广西贵港 537100)

**摘 要:**目的 探讨女性不孕症患者血清及宫颈黏液中自身抗体的表达及其临床意义。方法 选取 2014 年 2 月至 2017 年 2 月该院收治的女性不孕症患者 100 例作为研究组, 同期因宫颈炎于该院接受治疗的患者 100 例作为病例对照组, 在该院体检的无自然流产史孕龄妇女 100 例为健康对照组。对所有研究对象的血清及宫颈黏液的自身抗体和外周调节性 T 细胞(Treg)水平进行检测, 并分析血清及宫颈黏液的自身抗体与 Treg 的相关性。结果 研究组患者血清/宫颈黏液中抗精子抗体、抗卵巢抗体、抗人绒毛膜促性腺激素、抗子宫内膜抗体、甲状腺自身抗体及抗- $\beta$ -2 糖蛋白 1 抗体水平均显著高于病例对照组和健康对照组, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。研究组患者外周血 Treg 水平为  $(3.28 \pm 0.39)\%$ , 显著低于病例对照组  $[(8.92 \pm 1.20)\%]$  及健康对照组  $[(9.10 \pm 1.32)\%]$ , 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。Pearson 相关性分析显示: 不孕症患者血清及宫颈黏液的抗精子抗体、抗卵巢抗体、抗人绒毛膜促性腺激素、抗子宫内膜抗体、甲状腺自身抗体及抗- $\beta$ -2 糖蛋白 1 抗体水平与外周血 Treg 水平均呈负相关( $P < 0.05$ )。结论 不孕症患者的血清及宫颈黏液中的各项自身抗体水平与外周血 Treg 有密切相关, 可作为临床上不孕症的诊断及治疗指标。

**关键词:** 不孕症; 自身抗体; 血清; 宫颈黏液; 调节性 T 细胞

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2018.13.006

**中图法分类号:**R711.6

**文章编号:**1673-4130(2018)13-1553-04

**文献标识码:**A

## Expression and clinical significance of autoantibodies in serum and cervical mucus in female patients with infertility\*

ZHONG Wenfu, ZENG Hao, YANG Yuanwu

(Department of Clinical Laboratory, People's Hospital of Guigang, Guigang, Guangxi 537100, China)

**Abstract: Objective** To study the expression and clinical significance of autoantibodies in serum and cervical mucus in female patients with infertility. **Methods** 100 cases of infertility patients (study group), 100 cases of patients (cases control group) with cervical inflammation and 100 (healthy control group) cases women without spontaneous abortion were recruited as subjects from February 2014 to February 2017. Serum and cervical mucus autoantibodies and peripheral regulatory T cells (Treg) levels were detected in all subjects, then analyzed the correlation between them. **Results** The study group patients' serum and cervical mucus anti-sperm antibody, ovarian antibody resistance, resistance to human chorionic gonadotropin, endometrial antibody and thyroid autoantibodies and anti- $\beta$ -2 glycoprotein 1 antibody levels were significantly higher than that of case control group and healthy control group, the difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ). Treg in patients with peripheral blood levels of study group was  $(3.28 \pm 0.39)\%$ , which were significantly lower than the case control group  $(8.92 \pm 1.20)\%$  and healthy control group  $(9.10 \pm 1.32)\%$ , the difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ). The Pearson correlation analysis available: infertility patients' serum and cervical mucus anti-sperm antibody, ovarian antibody resistance, resistance to human chorionic gonadotropin, endometrial antibody and thyroid autoantibodies and anti- $\beta$ -2 glycoprotein 1 antibody levels were in negative correlation with the level of peripheral blood Treg ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** The serum of sterility patients and cervical mucus of the autoantibody levels are closely related to Treg level, and can be used as an index of clinical diagnosis and treatment of infertility.

\* 基金项目: 广西壮族自治区自然科学基金项目(2014GXNSFAA019124)。

作者简介: 钟文富, 男, 主管技师, 主要从事自身抗体研究。

本文引用格式: 钟文富, 曾灏, 杨元伍. 血清及宫颈黏液中自身抗体在女性不孕症患者中的表达及临床意义[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(13):1553-1556.

**Key words:**infertility; autoantibodies; serum; cervical mucus; regulatory T cells

不孕症是指婚后 1 年内性生活正常,没有采取任何避孕措施,却没有成功妊娠,是困扰育龄妇女的常见疾病。有报道显示<sup>[1-2]</sup>,目前我国的不孕症发病率约为 5%~10%,并呈逐年上升趋势,其中女性不孕症占 70%以上,是导致不孕的主要原因。女性不孕症发病原因复杂,其中女性子宫、输卵管、卵巢等生殖器官器质性疾病、盆腔生殖器官炎症及自身免疫因素均是导致的女性不孕症的主要因素<sup>[3]</sup>,而免疫因素引发的不孕症患者占所有不孕症患者的 10%~30%,是导致女性不孕症发生的主要因素<sup>[4]</sup>。精子是一种隐蔽性的抗原,正常情况下女性血液和阴道内没有抗精子抗体,当女性免疫系统异常时,可产生自身抗体,并导致精子死亡、阻碍受孕过程,导致不孕<sup>[5-6]</sup>。为进一步分析女性不孕症患者血清及宫颈黏液中自身抗体的表达及其临床意义,笔者进行了相关研究,现报道如下。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选取 2014 年 2 月至 2017 年 2 月本院收治的女性不孕症患者 100 例作为研究组,年龄 29~39 岁,平均 $(33.2 \pm 4.1)$ 岁;月经周期 26~34 d,平均 $(28.2 \pm 2.3)$ d;不孕年限 1~5 年,平均 $(2.8 \pm 1.2)$ 年。选取同期因宫颈炎于本院接受诊治的患者 100 例作为病例对照组,年龄 28~38 岁,平均 $(34.2 \pm 5.6)$ 岁,月经周期 27~35 d,平均 $(28.4 \pm 2.5)$ d;另选取在本院体检的无自然流产史孕龄妇女 100 例为健康对照组,年龄 26~38 岁,平均 $(33.5 \pm 6.2)$ 岁;月经周期 27~34 d,平均 $(29.1 \pm 2.4)$ d。3 组在年龄、月经周期方面比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。所有受试患者对研究知情并签署同意书,本研究经医院伦理委员会批准。研究组纳入患者均符合世界卫生组织(WHO)制定的不孕症诊断标准,并经临床诊断为不孕症。排除标准:(1)男方原因引起的不孕;(2)子宫输卵管梗阻及其他器质性疾病患者;(3)血清性激素、甲状腺激素异常;(4)合并其他免疫系统疾病患者。

## 1.2 方法

**1.2.1 标本采集** 分别抽取所有受试对象的清晨空腹外周静脉血 5 mL,以 3 500 r/min 离心 10 min,取上层血清保存于 $-80^{\circ}\text{C}$ 冰箱中待检。采用窥阴器进行妇科检查,将宫颈充分暴露,使用医用无菌棉签擦拭宫颈管内 0.5 cm 范围分泌物,取宫颈黏液置入试管中送检。

**1.2.2 自身抗体的检测** 采用双抗体酶联免疫吸附法检测两组受试对象血清和宫颈黏液自身抗体,包括抗精子抗体、抗卵巢抗体、抗人绒毛膜促性腺激素、抗子宫内膜抗体、甲状腺自身抗体及抗- $\beta$ -2 糖蛋白 1 抗

体,试剂盒购自上海酶联生物科技有限公司,具体操作严格按照试剂盒说明书进行。

**1.2.3 Treg 水平检测** 于检测当天抽取受试对象外周静脉血 5 mL,加入枸橼酸钠抗凝试管抗凝试管中,按照流式细胞实验说明书要求制备单细胞悬液,然后加入 CD3、CD4 抗体,于室温条件下孵育 30 min,缓冲液洗涤,5 000 r/min 离心 3 min 弃上清液,随后加入工作液, $4^{\circ}\text{C}$ 避光孵育 30 min,缓冲液洗涤,5 000 r/min 离心 3 min 弃上清液,加入二抗,室温避光 20 min,进行流式染色,以 3 000 r/min 洗涤 5 min,除去上清液震荡均匀后使用流式细胞仪进行检测,抗体及细胞裂解液购自美国 eBioscience 公司。

**1.3 观察指标** 分别对比患者血清及宫颈黏液中的抗精子抗体、抗卵巢抗体、抗人绒毛膜促性腺激素、抗子宫内膜抗体、甲状腺自身抗体、抗- $\beta$ -2 糖蛋白 1 抗体、外周静脉血 Treg 水平并作相关性分析。

**1.4 统计学处理** 采用 SPSS25.0 统计学软件进行分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析,计量资料以百分比或率表示,组间比较采用 $\chi^2$ 检验,采用 Pearson 分析相关性, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 3 组血清各项自身抗体指标水平比较** 研究组患者血清抗精子抗体、抗卵巢抗体、抗人绒毛膜促性腺激素、抗子宫内膜抗体、甲状腺自身抗体及抗- $\beta$ -2 糖蛋白 1 抗体水平均显著高于病例对照组和健康对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );病例对照组与健康对照组各项自身抗体指标水平比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。见表 1。

**2.2 3 组宫颈黏液各项自身抗体指标水平比较** 研究组患者宫颈黏液中抗精子抗体、抗卵巢抗体、抗人绒毛膜促性腺激素、抗子宫内膜抗体、甲状腺自身抗体及抗- $\beta$ -2 糖蛋白 1 抗体水平均显著高于病例对照组和健康对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );病例对照组与健康对照组各项自身抗体指标水平比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。见表 2。

**2.3 3 组外周血 Treg 水平比较** 研究组外周血 Treg 水平为 $(3.28 \pm 0.39)\%$ ,显著低于病例对照组的 $(8.92 \pm 1.20)\%$ 和健康对照组 $(9.10 \pm 1.32)\%$ ,差异有统计学意义( $F = 985.371, P = 0.000$ )。

**2.4 不孕症患者血清及宫颈黏液自身抗体与 Treg 水平的相关性分析** 经 Pearson 相关性分析显示,不孕症患者血清及宫颈黏液的抗精子抗体、抗卵巢抗体、抗人绒毛膜促性腺激素、抗子宫内膜抗体、甲状腺自身抗体及抗- $\beta$ -2 糖蛋白 1 抗体水平与外周血 Treg

水平均呈负相关( $P<0.05$ ),见表 3。

表 1 3 组血清各项自身抗体指标水平比较( $\bar{x}\pm s$ ,ng/mL)

| 组别       | <i>n</i> | 抗精子抗体       | 抗卵巢抗体       | 抗人绒毛膜促性腺激素  | 抗子宫内<br>膜抗体 | 甲状腺自身抗体     | 抗-β-2 糖蛋白 1 抗体 |
|----------|----------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|----------------|
| 研究组      | 100      | 3.28±0.61*# | 2.70±0.71*# | 3.44±0.71*# | 3.12±0.60*# | 2.69±0.34*# | 3.13±0.45*#    |
| 病例对照组    | 100      | 0.91±0.08   | 1.06±0.14   | 1.44±0.22   | 0.94±0.10   | 1.16±0.14   | 0.91±0.12      |
| 健康对照组    | 100      | 0.88±0.12   | 0.91±0.11   | 1.37±0.17   | 0.89±0.13   | 1.04±0.18   | 0.87±0.09      |
| <i>F</i> |          | 1447.926    | 552.090     | 712.917     | 1257.147    | 1514.857    | 2230.678       |
| <i>P</i> |          | 0.000       | 0.000       | 0.000       | 0.000       | 0.180       | 0.000          |

注:与病例对照组比较,\* $P<0.05$ ;与健康对照组比较,# $P<0.05$

表 2 3 组宫颈黏液各项自身抗体指标水平比较( $\bar{x}\pm s$ ,ng/mL)

| 组别       | <i>n</i> | 抗精子抗体       | 抗卵巢抗体       | 抗人绒毛膜促性腺激素  | 抗子宫内<br>膜抗体 | 甲状腺自身抗体     | 抗-β-2 糖蛋白 1 抗体 |
|----------|----------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|----------------|
| 研究组      | 100      | 3.80±0.50*# | 1.93±0.21*# | 2.89±0.28*# | 2.17±0.28*# | 1.81±0.23*# | 2.67±0.25*#    |
| 病例对照组    | 100      | 1.13±0.13   | 0.71±0.11   | 1.13±0.22   | 0.69±0.11   | 1.03±0.20   | 1.17±0.22      |
| 健康对照组    | 100      | 1.07±0.11   | 0.73±0.14   | 1.14±0.18   | 0.70±0.11   | 0.98±0.18   | 1.14±0.18      |
| <i>F</i> |          | 2 613.871   | 1 931.926   | 1 934.736   | 2 120.565   | 518.675     | 1 602.163      |
| <i>P</i> |          | 0.000       | 0.000       | 0.000       | 0.000       | 0.000       | 0.000          |

注:与病例对照组比较,\* $P<0.05$ ;与健康对照组比较,# $P<0.05$

表 3 不孕症患者血清及宫颈黏液自身抗体与 Treg 水平的相关性分析

| 自身抗体               | <i>r</i> | <i>P</i> |
|--------------------|----------|----------|
| 血清抗精子抗体            | −0.523   | 0.000    |
| 血清抗卵巢抗体            | −0.684   | 0.005    |
| 血清抗人绒毛膜促性腺激素       | −0.692   | 0.000    |
| 血清抗子宫内<br>膜抗体      | −0.701   | 0.000    |
| 血清甲状腺自身抗体          | −0.693   | 0.003    |
| 血清抗-β-2 糖蛋白 1 抗体   | −0.687   | 0.000    |
| 宫颈黏液抗精子抗体          | −0.705   | 0.000    |
| 宫颈黏液抗卵巢抗体          | −0.714   | 0.003    |
| 宫颈黏液抗人绒毛膜促性腺激素     | −0.657   | 0.000    |
| 宫颈黏液抗子宫内<br>膜抗体    | −0.726   | 0.002    |
| 宫颈黏液甲状腺自身抗体        | −0.751   | 0.002    |
| 宫颈黏液抗-β-2 糖蛋白 1 抗体 | −0.662   | 0.000    |

3 讨 论

近年来,免疫因素在不孕症中的作用逐渐得到了重视,有研究报道,免疫因素引发的不孕症患者占有不孕症患者的 10%~30%,是导致女性不孕症发生的主要因素。正常情况下人体免疫系统的功能是对抗原产生免疫应答,从而实现免疫防御、免疫监视和免疫自稳态等<sup>[7]</sup>。而人体的血睾屏障处于稳定封闭状态,为精子成熟提供稳定的环境,精子某些作为自身抗原的物质被抑制,使其免于免疫系统的损害。当

女性免疫系统异常时,会产生自身抗体,并起到识别、诱导免疫应答和杀伤精子的作用。相关研究表明,自身抗体可以通过降低精子活力,阻碍精子穿透宫颈黏液,杀伤精子,抑制精子顶体酶活性,干扰精卵结合等导致不孕<sup>[8-9]</sup>。

本研究对女性不孕症患者血清及宫颈黏液中自身抗体进行检测,结果显示:研究组患者血清和宫颈黏液中抗精子抗体、抗卵巢抗体、抗人绒毛膜促性腺激素、抗子宫内  
膜抗体、甲状腺自身抗体及抗-β-2 糖蛋白 1 抗体水平均显著高于宫颈炎患者和健康女性,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。上述结果与 AGENOR 等<sup>[10]</sup>和蔡智慧等<sup>[11]</sup>研究报道相一致,表明血清及宫颈黏液自身抗体水平与不孕症的发生、发展可能存在着密切相关。当精子进入健康女性生殖道后,生殖道的自身屏障作用可对精子抗原的免疫应答产生抑制,从而避免抗精子抗体的生成,而当生殖道黏膜屏障被破坏时,抗精子抗体会大量产生,进一步阻碍精子活力及受精卵形成。抗卵巢抗体可与异常表达的抗原相结合,从而对卵巢造成病理损伤,同时会对雌孕激素的产生造成影响,进一步发挥较强的抗生育作用<sup>[12]</sup>。抗人绒毛膜促性腺激素则可特异性结合人绒毛膜促性腺激素,从而使得人绒毛膜促性腺激素的水平降低,影响机体人绒毛膜促性腺激素的作用,进一步导致人绒毛膜促性腺激素无法支配受精卵着床与维持妊娠<sup>[13]</sup>。抗子宫内  
膜抗体则可引发子宫内  
膜免疫性损伤,从而导致子宫内  
膜发育不良及细胞结构改变,

进一步增加了受精卵着床的难度<sup>[14]</sup>。甲状腺自身抗体是导致不孕、流产等的危险因素之一<sup>[15]</sup>。抗- $\beta$ -2 糖蛋白 1 抗体是一种带负电荷的磷脂自身抗体,正常情况下存在于细胞膜和线粒体膜上,当处于病理状态时,其水平可异常升高,并分泌到细胞膜外,导致子宫内膜、绒毛膜血管内血栓形成,影响胎盘形成和定植,是导致自然流产的重要病因<sup>[16]</sup>。抗精子抗体、抗卵巢抗体、抗人绒毛膜促性腺激素、抗子宫内膜抗体、甲状腺自身抗体及抗- $\beta$ -2 糖蛋白 1 抗体可从精子活性、精卵结合、受精卵形成、胚胎着床及胎盘定植等多个环节对女性的生理过程产生干扰,影响妊娠过程。本研究还对外周血 Treg 水平进行了比较。Treg 是一类调控机体自身免疫反应的 T 细胞,其水平与自身免疫性疾病的发生、发展均存在着密切相关<sup>[17]</sup>。当机体 Treg 降低时,导致 Treg 功能降低,自身抗体大量表达并引发组织病理学损伤<sup>[18]</sup>。而本研究结果显示了研究组患者外周血 Treg 水平显著低于宫颈炎患者和健康女性。这提示外周血 Treg 水平降低也可能是导致不孕症发生的重要因素。笔者推测,当 Treg 表达水平显著降低时,会对机体的自身抗体抑制性降低,最终导致不孕及流产的发生。另外,经 Pearson 相关性分析显示,不孕症患者血清及宫颈黏液的抗精子抗体、抗卵巢抗体、抗人绒毛膜促性腺激素、抗子宫内膜抗体、甲状腺自身抗体及抗- $\beta$ -2 糖蛋白 1 抗体水平与外周血 Treg 水平均呈负相关关系,这提示了自身抗体水平可有效反映不孕症患者的自身免疫水平情况,且与免疫紊乱程度直接相关,可作为临床上评估患者疾病严重程度及指导临床治疗的有效指标。

#### 4 结 论

不孕症患者的血清及宫颈黏液中的各项自身抗体水平显著升高,其水平与外周血 Treg 有密切相关,可作为临床上不孕症的诊断及治疗指标。

#### 参考文献

- [1] MURTO T, YNGVE A, SKOOG S A, et al. Compliance to the recommended use of folic acid supplements for women in Sweden is higher among those under treatment for infertility than among fertile controls and is also related to socioeconomic status and lifestyle[J]. Food Nutr Res, 2017, 61(1):1334483-1334484.
- [2] 刘星, 沈敏. 不孕症患者自身抗体与生殖激素水平的相关性分析[J]. 国际检验医学杂志, 2016, 37(20):2908-2910.
- [3] MALIK P, KAUR M, BEDI G K, et al. Clinical significance of nonspecificity of antiphospholipid antibodies in recurrent abortions and unexplained infertility[J]. Int J Appl Basic Med Res, 2016, 6(2):115-118.
- [4] 袁浩. 女性抗精子免疫性不孕与慢性生殖道炎症的相关

- 性研究[J]. 中国生化药物杂志, 2017, 24(5):243-245.
- [5] 帅志容, 曾玖芝, 江西琼, 等. 1428 例女性不孕症患者生殖免疫抗体检测结果分析[J]. 中国计划生育和妇产科, 2015, 7(6):26-28.
- [6] 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, 20(1):5-9.
- [7] KUMAR P, MOHAN S, TALWAR P, et al. Diagnostic Office Vaginoscopy in Evaluation of Infertility Prior to IVF: A Retrospective Analysis of 1000 Cases[J]. J Obstet Gynaecol India, 2017, 67(4):275-281.
- [8] 李娜, 荣扬, 王珍光, 等. 抗- $\beta$ 2 糖蛋白 1 抗体在女性不孕症及先兆性流产中的检测及意义[J]. 现代检验医学杂志, 2015, 30(2):42-45.
- [9] HUO Y, XU Y, WANG J. Analysis of the serum reproductive system related autoantibodies of infertility patients in Tianjin region of China[J]. Int J Clin Exp Med, 2015, 8(8):14048-14053.
- [10] AGENOR A, BHATTACHARYA S. Infertility and miscarriage: common pathways in manifestation and management[J]. Womens Health (Lond), 2015, 11(4):527-541.
- [11] 蔡智慧, 梁义娟, 李瑞, 等. 女性不孕症患者血清及宫颈黏液中自身抗体检测对病情的评估价值[J]. 中国现代医学杂志, 2016, 26(22):38-41.
- [12] 佳莉娟, 曹秀琴, 王琦, 等. 免疫性不孕症患者血清抗体及可溶性 Fc $\gamma$ RIIB 功能检测及相关机制的初步研究[J]. 河南科技大学学报(医学版), 2017, 35(1):18-21.
- [13] 张瑞芳, 楼正清, 高丽华, 等. 生殖免疫抗体检测在女性不孕不育中的应用价值[J]. 全科医学临床与教育, 2016, 14(1):84-85.
- [14] DROBNIAK A, KANECKI K, GRYMOWICZ M, et al. Serum leptin concentration in women of reproductive age with euthyroid autoimmune thyroiditis[J]. Gynecol Endocrinol, 2016, 32(2):128-131.
- [15] 姜玉娟. 不孕症患者血清免疫性抗体检测的临床价值与治疗体会[J]. 中国计划生育和妇产科, 2016, 8(5):39-41.
- [16] CHIGHIZOLA C B, DE JESUS G R, BRANCH D W, et al. The hidden world of anti-phospholipid antibodies and female infertility: A literature appraisal[J]. Autoimmun Rev, 2016, 15(6):493-500.
- [17] 马兴璇, 孙一帆, 生淑亭, 等. 免疫性不孕症患者外周血 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> 调节性 T 细胞、叉头状转录因子 3、细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原 4 的水平研究[J]. 中国医药导报, 2015, 12(4):88-89.
- [18] HUANG C, LIANG P, DIAO L, et al. Thyroid autoimmunity is associated with decreased cytotoxicity T cells in women with repeated implantation failure[J]. Int J Environ Res Public Health, 2015, 12(9):10352-10361.