

• 论 著 •

抗核抗体联合抗心磷脂抗体、抗精子抗体和抗 β_2 糖蛋白 I 抗体检测 在女性不孕不育中的价值

黄启当¹, 李泽泳², 吴晓昀², 严 芳²

(广东省第二人民医院: 1. 风湿免疫科; 2. 检验医学部, 广东广州 510000)

摘要:目的 探讨抗核抗体(ANA)联合抗心磷脂抗体(ACA)、抗精子抗体(AsAb)和抗 β_2 糖蛋白 I 抗体(β_2 GPI)检测在女性不孕不育疾病诊断中的价值。方法 187 例不孕不育女性患者为不孕不育组用间接免疫荧光法检测血清中的 ANA、AsAb 抗体, 同时用酶联免疫吸附法检测血清中的 ACA、 β_2 GPI 抗体; 对 80 例正常生育女性作为正常组联合测定 ANA、ACA、AsAb、 β_2 GPI 抗体。结果 187 例不孕不育女性患者组中 ANA 阳性率为 18.1%(34/187), 正常组为 2.5%(2/80); ACA 阳性率为 22.3%(43/187), 正常组为 5.0%(4/80); AsAb 阳性率为 18.7%(35/187), 正常组为 3.8%(3/80); β_2 GPI 阳性率为 20.3%(38/187), 正常组为 3.8%(3/80); 两组相比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 不孕不育与体内存在的 ANA、ACA、AsAb 和 β_2 GPI 抗体有密切关系, 联合检测有助于免疫性不孕不育的病因查找和提高临床诊断率。

关键词: 不孕不育; 抗核抗体; 抗心磷脂抗体; 抗精子抗体; 抗 β_2 糖蛋白 I 抗体

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2016.07.018

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2016)07-0915-03

Value of detections of antinuclear antibody combined with anti-cardiolipin antibody, anti-sperm antibody and anti- β_2 -glycoprotein I antibody in female infertility

Huang Qidang¹, Li Zeyong², Wu Xiaoyun², Yan Fang²

(1. Department of Rheumatology; 2. Department of Clinical Laboratory, Guangdong Provincial
Second People's Hospital, Guangzhou, Guangdong 510000, China)

Abstract: Objective To investigate the value of detections of anti-nuclear antibody (ANA) combined with anti-cardiolipin antibody (ACA), anti-sperm antibody (AsAb) and anti-beta 2 glycoprotein I (β_2 GPI) antibody in the diagnosis of female infertility disease. Methods A total of 187 female cases of infertility (infertility group) were detected serum ANA and AsAb by the indirect immunofluorescence assay, and ACA and β_2 GPI antibody by the enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). ANA, ACA, AsAb and β_2 GPI antibody also were detected in 80 females cases of normal fertility (normal group). Results Among 187 cases of female infertility, ANA positive rate was 18.1%(34/187) and which in the normal group was 2.5%(2/80). The ACA positive rate was 22.3%(43/187) in the infertility group and 5.0%(4/80) in the normal group; the AsAb positive rate was 18.7%(35/187) in the infertility group and 3.8%(3/80) in the normal group; the β_2 GPI positive rate was 20.3%(38/187) in the infertility group and 3.8%(3/80) in the normal group; the differences between the two groups had statistical significance ($P < 0.05$). Conclusion Infertility is closely correlated with the in vivo existence of ANA, ACA, AsAb and β_2 GPI antibody, the joint detection is conducive to find the etiology of infertility and improve the clinical diagnosis rate.

Key words: infertility; antinuclear antibody; anti-cardiolipin antibodies; antisperm antibody; anti- β_2 -glycoprotein I antibody

不孕不育症是指正常育龄夫妇双方在同居一年以上, 有正常的性生活且没有采用任何避孕措施但未能成功怀孕。近年来, 不孕不育比例呈大幅上升趋势, 与西方国家不孕不育比例已比较接近^[1]。引起不孕不育的原因众多, 主要包括生殖器官畸形等器质性病变、微生物感染和免疫因素三大方面。随着生殖免疫学的进步, 人们逐渐认识到不孕不育和自身免疫抗体存在密切的关系^[2]。研究发现免疫因素约占不孕不育病因 10%~30% 以上, 在不孕不育的发生、发展过程中起到了重大作用, 而在众多的自身抗体中, 人们往往忽略了对抗核抗体的检测。本文对 187 例不孕不育女性患者和 80 例正常生育女性进行了抗核抗体(ANA)、抗心磷脂抗体(ACA)、抗精子抗体(AsAb)和 β_2 糖蛋白 I 抗体(β_2 GPI)抗体的联合检测, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2014 年 5 月至 2015 年 5 月期间本院收治的 187 例不孕不育女性患者, 年龄 21~44 岁, 平均 31 岁, 所有患者均行妇产科检查, 排除排卵异常、输卵管不通、外周血染色体异常、内分泌异常、生殖道畸形、男方不孕因素、感染等一系列病变状况。对照组为有正常生育史的健康女性 80 例, 年龄 18~40 岁, 平均 29 岁。

1.2 检测方法 抽取每例病例静脉血 3~5 mL 不做抗凝处理, 2 000 r/min 离心 10 min, 离心后分离出血清, 置于 -20 ℃ 冰箱保存, 测定前血清经解冻并平衡至室温。ANA 和 AsAb 抗体测定采用间接免疫荧光法(IIF), ACA、 β_2 GPI 抗体测定采用酶联免疫吸附法(ELISA), 试剂盒均由德国欧蒙医学诊断有限公司提供, 仪器采用 Berthold Mithras LB940 微孔板多功能

酶标仪以及德国 EUROStar III Plus 型荧光显微镜,操作和结果判定均按试剂盒说明书严格进行。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 10.0 统计软件对数据进行处理分析,数据采用 χ^2 检验, $P<0.05$ 时差异具有统计学意义。

2 结 果

2.1 187 例不孕不育女性患者和 80 例对照组人群 ANA、ACA、AsAb 和 β_2 GPI 抗体联合检测结果见表 1。

2.2 把 34 例 ANA 阳性设为一个组别,然后分别与 ACA、AsAb 和 β_2 GPI 抗体阳性结果联合分析见表 2。

表 2 ANA 分别与 ACA、AsAb 和 β_2 GPI 抗体联合检测结果[n(%)]

组别	n	不孕不育抗体			
		ANA 阳性	ANA + ACA	ANA + AsAb	ANA + β_2 GPI
ANA 阳性组	34	15(44.1)	6(17.6)	8(23.5)	5(14.7)
不孕不育组	187	15(8.0)	6(3.2)	8(4.3)	5(2.7)

因 ANA 与 ACA、AsAb、 β_2 GPI 3 项中的任 2 项或全部 3 项均未同时检出阳性,故上表中未做分析。

表 3 ANA 核型分析[n(%), n=34]

ANA 滴度	颗粒型	均质型	核仁型	其他
1 : 100	16(47.1)	6(17.6)	8(23.5)	2(5.9)
1 : 320	1(3.0)	1(3.0)	无	无
>1 : 320	无	无	无	无

3 讨 论

不孕不育一直是困扰着人类生殖健康的难题。随着医学的不断发展,越来越多的研究发现并证明了不孕不育的发病机制与自身免疫因素有关,自身免疫产生的自身抗体又使得机体出现了免疫反应并贯穿着生殖过程的各个环节。

目前,研究已经发现 ACA、AsAb 和 β_2 GPI 抗体对于不孕不育女性患者的病因分析和临床诊断具有重要的指导意义。ACA 是一种以血小板和内皮细胞膜上带负电荷的心磷脂作为靶抗原的自身抗体。ACA 的产生是由于免疫系统无法识别位于细胞膜脂质双层内层带负电荷的磷脂,而带负电荷的磷脂如果暴露于内层之外,就会产生抗心磷脂抗体(ACA)^[3]。而当 ACA 与磷脂结合,通过争夺胎盘血管的磷脂受体,使胎盘血管形成血栓,导致了流产、胎盘早剥、不孕不育等一系列生殖疾病的发生。ACA 还可以结合精子的磷脂部分,使精子失去活性,不能穿透入卵,引起不孕^[4]。AsAb 是最早被发现的可导致不孕不育的自身免疫性抗体。AsAb 产生是由女性在有性活动的情况下所导致,据对 AsAb 阳性患者进行临床观察,往往都存在生殖器官及经期异常出血时性交史,还有些患者患有子宫内膜、阴道以及输卵管等生殖系统炎症。当在损伤或者感染生殖道情况下进行性生活,会导致精子抗原由女性生殖道黏膜上皮屏障,渗进上皮下,接触于女性 B 淋巴细胞而产生 AsAb,而 AsAb 则直接影响受精卵着床、精卵结合以及精子正常活动等,进而导致不孕^[5]。在血清或生殖道分泌物中出现 AsAb,对于精子活动产生很强的抑制作用并干扰精子运行,导致精子穿透困难以及阻碍精卵相结合,使正常的受精过程无法完成。AsAb 可通过不同途径作用于受孕过程的多个环节,所以即使在精卵结合已经完成的情况下,仍然可以对胚胎发育产生影响,造成流产、死胎。 β_2 GPI 又称载脂蛋白 H,由肝细胞合成,相对分子质量为 50×10^3 ,是血浆中含量较丰富的一种单链糖

2.3 34 例 ANA 阳性结果核型分析见表 3。

表 1 ANA、ACA、AsAb 和 β_2 GPI 抗体联合检测结果[n(%)]

组别	n	不孕不育抗体			
		ANA	ACA	AsAb	β_2 GPI
不孕不育组	187	34(18.1)*	43(22.3)*	35(18.7)*	38(20.3)*
对照组	80	2(2.5)	4(5.0)	3(3.8)	3(3.8)

* : $P<0.05$,与对照组比较。

蛋白。Chamley 等^[6]发现抗 β_2 GPI 抗体可由胎盘能产生,该抗体能抑制内源性的凝集通路及抑制血小板上的凝血酶原酶的活性,证明了 β_2 GPI 作为血栓形成的致病因出现在免疫性不孕不育疾病中。师萍等^[7]探讨了 β_2 GPI 抗体与不孕不育的关系,在检测中发现 β_2 GPI 抗体在不孕不育中的阳性率约为 29.4%,证实了 β_2 GPI 抗体表达异常与不孕不育有一定的相关性。本文 187 例不孕不育患者中 ACA 阳性率约为 22.3%,而对照组的阳性率仅约为 5.0%;AsAb 阳性率约为 18.7%,而对照组的阳性率仅约为 3.8%; β_2 GPI 抗体阳性率约为 20.3%,而对照组的阳性率仅约为 3.8%,差异有统计学意义($P<0.05$),这之前学者们的研究相符合,也表明了本文能够对不孕不育的研究提供了一定的价值。

ANA 是人类自身抗体中最重要的部分,临床大量资料已经证实,ANA 与人体多种免疫性疾病密切相关,如系统性红斑狼疮、原发性胆汁性肝硬化、混合性结缔组织病、干燥综合征等,然而研究其对不孕不育的影响相对较少。虽然 ANA 对不孕不育不具有非常明确的特异性,它只作为自身免疫性疾病的一个总的筛查指标,但是仍然有学者在研究中报道:不育症和原发不孕者抗核抗体阳性检出率高,抗核抗体阳性妊娠者的妊娠中毒症发生率高,提示了可能是免疫学机制在影响妊娠初期而造成不孕、妨碍妊娠导致不育和引发妊娠中毒症^[8]。此外,抗核抗体还与产科并发症及不良妊娠结局(如习惯性流产、妊娠期糖尿病和胎儿生长受限等)密切相关,特别是与免疫功能异常相关的习惯性流产的关系更为密切^[9-10]。所以本文研究目的是想通过目前在自身免疫疾病领域中广泛使用的 ANA 测定,来探讨不明原因的不孕、不育(母体无临床发病)患者中与自身免疫疾病的相关性。从结果上看,187 例不孕不育患者中,ANA 阳性率约为 18.1%,而对照组的阳性率仅约为 2.5%,差异有统计学意义($P<0.05$)。在 34 例 ANA 阳性不孕不育患者中,ANA 合并 ACA 阳性约有 17.6%,ANA 合并 AsAb 阳性约有 23.5%,ANA 合并 β_2 GPI 阳性约有 14.7%,这表明了在不孕不育患者中经常有 ANA 合并其他的自身抗体的存在;另一方面,在这 34 例 ANA 阳性不孕不育患者中主要为颗粒型(约占 47.1%)、均质型(约占 17.6%)、核仁型(约占 23.5%)这 3 种低滴度(滴度为 1 : 100)的核型,这说明在不孕不育患者里可能存在着低滴度的抗核抗体(下转第 919 页)

的最主要机制,而 ESBLs 是最主要最常见的 β -内酰胺酶。近年来由于第 3 代头孢菌素等抗菌药物的过度滥用,这种选择性压力导致了大肠埃希菌产生了特殊的酶-ESBLs(产超广谱 β -内酰胺酶),ESBLs 是一种对常用治疗革兰阴性菌的抗菌药物产生较强阻力的酶,它可以通过水解切割青霉素类、头孢菌素类和单环类抗菌药物的 β -内酰胺环从而使这群药物失效。此外,产 ESBLs 的细菌不仅携带 ESBLs 质粒,还同时携带氨基糖苷类、喹诺酮类等抗菌药物的耐药基因^[12-13],这也就导致了临床上产 ESBLs 的大肠埃希菌株不仅对 β -内酰胺类抗菌药物产生耐药,而且也对其他抗菌药物同样的出现了耐药。但对头霉素类、碳青霉稀类抗菌药物敏感,可被 β -内酰胺酶抑制剂如克拉维酸、他唑巴坦、舒巴坦等所抑制。本研究结果显示,自 2010 年起,产 ESBLs 大肠埃希菌株比率迅速增加,且居高不下(42.43%~63.27%),导致部分第 3、4 代头孢菌素类药物如头孢他啶、头孢曲松、头孢噻肟、氨曲南以及头孢吡肟等敏感性迅速下降。

本次研究显示本院产 ESBLs 大肠埃希菌检出率为 57.92%,与全国监测数据 56%左右相符合^[6]。ESBLs 耐药基因种类较多,国外以 TEM 型、SHV 型或 CTX-M-15 为主^[14],但我国以 CTX-M-14 型为主^[15]。CTX-M-14 型 ESBLs 对头孢噻肟的水解活性高于头孢他啶,因此在临床工作中应密切监测我院产 ESBLs 大肠埃希菌流行情况,以便及时采取有效监控措施控制其流行甚至于暴发流行。

综上所述,大肠埃希菌的耐药情况呈明显上升趋势,应引起临床医生和感控管理部门的高度重视。同时医院行政部门应切实加强对抗菌药物应用的监管和管理,提高临床医师正确使用抗菌药物的意识,对感染性标本及时作病原微生物学检测及药敏试验。这就要求我们微生物实验室人员积极配合临床做好细菌耐药性监测,及时、准确地报告给临床,指导临床合理应用抗菌药物,减少耐药菌株产生,延长这些抗菌药物的使用寿命,有效控制感染,提高治愈率,降低治疗经济成本,保卫人类健康与生命。

参考文献

[1] Izdebski R, Baraniak A, Fiett J, et al. KPC-like carbapenemase-producing Enterobacteriaceae colonizing patients across Europe

(上接第 916 页)

但是患者没有什么临床表现,使得临床上往往忽略掉 ANA 的检测。在 187 例不孕不育患者组检出抗体阳性里,除外 ACA、AsAb 和 β_2 GPI 抗体的阳性,仍然有 15 例即约 8.0% 的患者可以单独检出 ANA 阳性,这表明 ANA 的检测可以成为不孕不育的一个筛查指标。综上所述,ANA 抗体的检测对不育不孕病因的分析有一定的指导意义,可为临床诊断提供很好的帮助。

综上所述,对女性不孕不育患者进行 ANA、ACA、AsAb 和 β_2 GPI 抗体联合检查,能够提高疾病的检出率,从而有利于从多方面多角度进行不孕不育免疫因素的考虑和分析,这对于不孕不育疾病的病因查找、临床诊断、治疗和优生优育咨询具有重要的意义。

参考文献

[1] 张丽珠. 临床生殖内分泌与不育症[M]. 2 版. 北京:科学出版社, 2005:214.
[2] 孟凡丽. 568 例不孕不育症患者血清免疫性抗体结果分析[J]. 中国保健营养, 2013, 6(1):28-30.

and Irael[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2015, 57(1):309-316.
[2] Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing[S]. M100-S23.
[3] 周艳丽. 731 株大肠埃希菌耐药性分析及产 ESBLs 酶的检测[J]. 当代医学, 2011, 7(1):42-43.
[4] 周实华, 秦克芝, 冯海艳, 等. 尿路感染病原菌的耐药性调查分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2010, 20(1):127-128.
[5] 蔡建军. 尿路感染大肠埃希菌的耐药现状调查分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2011, 21(9):1907-1908.
[6] 胡付品, 朱德妹, 汪复, 等. 2011 年中国 CHINET 细菌耐药性监测结果[J]. 中国感染与化疗杂志, 2012, 12(5):321-329.
[7] 王明贵. 我国抗菌药应用与细菌耐药的现状与变迁[N]. 中国医学论坛报, 2013-06-20.
[8] 杨山虹, 刘琪, 梁培松, 等. 2007~2010 年临床分离大肠埃希菌药物敏感性分析[J]. 中国病原生物学杂志, 2012, 7(1):167-168.
[9] 李耀军, 邓格娟. 大肠埃希菌医院感染现状及耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2012, 22(14):3156-3157.
[10] 黄红卫, 欧阳育琪, 黄强, 等. 148 株血流感染大肠埃希菌的耐药性分析[J]. 实用预防医学, 2012, 19(7):1056-1057.
[11] 于广华, 常唐喜, 孙伟, 等. 产超广谱 β 内酰胺酶菌感染治疗方案的优化[J]. 中华医院感染学杂志, 2009, 19(22):3108-3110.
[12] 林菲菲, 毛剑锋, 金晶, 等. 尿路感染病原菌分布及大肠埃希菌的耐药性变迁[J]. 中华医院感染学杂志, 2011, 21(24):5302-5304.
[13] 李六亿, 贾会学, 贾建侠, 等. 综合医院多药耐药菌医院感染控制效果的研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2011, 21(20):4306-4308.
[14] Peirano G, Gregson DB, Derde LP, et al. Molecular epidemiology over an 11-year period(2000 to 2010) of Extended-spectrum beta-lactamase-producing Escherichia coli causing bacteremia in a centralized Canadian region[J]. J Clin Microbiol, 2012, 50(2):294.
[15] 张小江, 杨启文, 孙宏莉, 等. 2005~2010 年北京协和医院耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2012, 12(5):330-339.

(收稿日期:2015-11-20)



[3] 刘鹏. 4 种免疫抗体联合检测不孕不育患者的意义[J]. 中国伤残医学, 2014, 22(2):202-203.
[4] 李松. 不孕不育患者血清中抗精子抗体与抗心磷脂抗体的检测价值[J]. 检验医学与临床, 2012, 13(9):1554-1556.
[5] 马玉兰, 王芬, 陈红霞. 不孕不育妇女 289 例血清生殖免疫抗体检测的分析[J]. 中华临床医师杂志:电子版, 2011, 5(2):164-166.
[6] Chamley LW, Allen JL, Johnson PM. Synthesis of beat2 glycoprotein 1 by the human placenta[J]. Placenta, 1997, 18(5/6):403.
[7] 师萍, 杨万浩, 周艳. 不孕不育妇女血清中抗心磷脂抗体、抗 β_2 糖蛋白 I 抗体和抗精子抗体的检测价值[J]. 吉林医学, 2013, 34(26):5320-5322.
[8] 中塚幹也. 对不孕、不育症进行抗核抗体测定的研究[J]. 日产妇会志, 1993, 45(5):431-436.
[9] 林其德, 邱丽华. 免疫型复发性流产的发病机制及诊断和治疗[J]. 上海交通大学学报:医学版, 2009, 29(12):1275-1278.
[10] Shirota K, Nagata Y, Honjou K, et al. Involvement of anticentromere antibody in interference with oocyte meiosis and embryo cleavage[J]. Fertil Steril, 2011, 95(26):2729-2731.

(收稿日期:2015-12-28)