

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2023.22.027

精浆中 IL-6、IL-17 水平与精子形态及精子 DNA 碎片指数的关系^{*}

赵莹, 谢芳梅, 何琨仪, 梁紫甄, 何金花[△]

广东省广州市番禺区中心医院中心实验室, 广东广州 511480

摘要:目的 探讨精浆中白细胞介素(IL)-6、IL-17 水平与精子形态及精子 DNA 碎片指数(DFI)的相关性,并评价其在男性生育力评估中的应用价值。**方法** 选取 2021 年 10 月至 2022 年 10 月该院就诊的男性不育患者 212 例为研究对象。按 DFI 值分为 3 个组,A 组($DFI \leq 15\%$),B 组($15\% < DFI < 30\%$),C 组($DFI \geq 30\%$)。根据《世界卫生组织人类精液检查与处理实验室手册》第 5 版精子形态判断标准,将所有研究对象分为正常组(正常形态精子率 $\geq 4\%$)和异常组($< 4\%$)。检测各组精浆中 IL-6、IL-17 水平及精液常规参数,并分析其相关性。**结果** 与 A 组比较,B 组和 C 组前向运动精子百分比(PR)、总活力、正常形态精子率明显降低,精子 DFI、精浆中 IL-6 及 IL-17 水平明显升高,差异有统计学意义($P < 0.05$);与 B 组比较,C 组 PR、精子总活力、正常形态精子率明显降低,精子 DFI、精浆中 IL-6 及 IL-17 水平明显升高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。与正常组比较,异常组精浆中 IL-6、IL-17 水平明显升高,PR 及总活力明显降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。精浆中 IL-6 及 IL-17 水平与 PR、总活力及正常形态精子率均呈负相关($P < 0.05$),与精子 DFI 均呈正相关($P < 0.05$),与年龄、禁欲时间、精液体积、精子浓度、精子总数均无相关性($P > 0.05$)。**结论** 男性精浆中 IL-6、IL-17 水平升高可引起精子畸形的发生、DFI 的升高及精子活力的下降,导致精子形态和功能受损,精浆中细胞因子 IL-6、IL-17 检测可作为男性生育力评估的重要辅助指标。

关键词:白细胞介素-6; 白细胞介素-17; 精子 DNA 碎片指数; 精子形态

中图法分类号:R446.9

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2023)22-3379-04

Relationships of IL-6, IL-17 levels in seminal plasma with sperm morphology and sperm DNA fragmentation^{*}

ZHAO Ying, XIE Fangmei, HE Kunyi, LIANG Zizhen, HE Jinhua[△]

Central Laboratory, Panyu District Central Hospital of Guangzhou,
Guangzhou, Guangdong 511480, China

Abstract: **Objective** To investigate the correlations of interleukin (IL)-6 and IL-17 levels in seminal plasma with sperm morphology and sperm DNA fragmentation index (DFI), and to evaluate its application value in male fertility assessment. **Methods** A total of 212 male infertility patients from October 2021 to October 2022 were selected as the study objects. They were divided into 3 groups according to DFI value, including group A ($DFI \leq 15\%$), group B ($15\% < DFI < 30\%$) and group C ($DFI \geq 30\%$). All subjects were divided into normal group (normal sperm rate $\geq 4\%$) and abnormal group ($< 4\%$) according to the sperm morphological criteria of the 5th edition of the WHO Human Semen Examination and Processing Laboratory Manual. The levels of IL-6 and IL-17 in seminal plasma and routine parameters of semen were detected in each group, and their correlations were analyzed. **Results** Compared with group A, the percentage of forward motility sperm (PR), total sperm motility and normal sperm form rate in group B and group C decreased significantly, while the DFI and levels of IL-6 and IL-17 in seminal plasma increased significantly, with statistical significance ($P < 0.05$). Compared with group B, PR, total sperm motility and normal sperm rate in group C decreased significantly, while the DFI and the levels of IL-6 and IL-17 in seminal plasma increased significantly in group C, with statistical significance ($P < 0.05$). Compared with normal group, the levels of IL-6 and IL-17 in seminal plasma of abnormal group increased significantly, PR and total sperm motility decreased significantly, with statistical significance ($P < 0.05$). The levels of IL-6 and IL-17 in seminal plasma correlated negatively with sperm PR, total sperm motility and normal sperm form rate ($P < 0.05$), and correlated positively with

^{*} 基金项目:广东省广州市卫生健康一般引导项目(20231A011118);广东省广州市番禺区科技计划医疗卫生项目(2021-Z04-084)。

作者简介:赵莹,女,副主任技师,主要从事临床检验研究。 [△] 通信作者, E-mail:332518579@qq.com。

网络首发 [http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1167.R.20231101.1013.008.html\(2023-11-01\)](http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1167.R.20231101.1013.008.html(2023-11-01))

sperm DFI ($P < 0.05$), but didn't correlate with age, abstinence time, semen volume, sperm concentration and total sperm ($P > 0.05$). **Conclusion** The increase of IL-6 and IL-17 levels in seminal plasma can lead to the occurrence of sperm malformation, the increase of DFI and the decrease of sperm motility, leading to the impairment of sperm morphology and function. The detection of IL-6 and IL-17 in seminal plasma can be used as an important adjunct index for the evaluation of male fertility.

Key words: interleukin-6; interleukin-17; sperm DNA fragmentation index; sperm morphology

不孕不育症影响着全球约 15% 的夫妇, 其中三分之一是由男性不育导致。男性不育的发生与多种因素相关^[1], 导致男性不育的众多因素之一为精浆免疫环境失衡, 精浆中细胞因子可通过介导免疫失衡影响睾丸的功能和精子的生成。有研究显示, 生殖道感染患者精浆中高水平白细胞介素 (IL)-6 可能对精子的活力产生负面影响, 解脲支原体 (UU) 感染者精浆中高水平 IL-17 在男性生殖功能中也起到重要作用^[2-3]。目前, 在男性不育症患者中, 罕见精浆细胞因子与精子形态、精子 DNA 损伤之间的报道。本研究以此为出发点, 拟探讨男性不育症患者精浆中 IL-6 及 IL-17 水平与精子 DNA 损伤、精子形态间的关系, 评价其在男性生育力评估中的应用价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2021 年 10 月至 2022 年 10 月本院男性科就诊的 212 例不育症患者为研究对象, 年龄 23~50 岁, 平均 (32.48 ± 5.71) 岁。纳入标准: 均符合男性不育症诊断标准^[4], 育龄期夫妇同居 1 年以上, 性生活正常, 未采取任何避孕措施, 排除女方不孕因素, 因男方因素导致女方不能怀孕; 患者体格检查显示外生殖器发育正常, 无泌尿系统及生殖系统外伤。排除标准: 精液分析显示为白细胞精子症; 睾丸、附睾等发育异常; 精索静脉曲张; 梗阻性无精子症; 重度少、弱精子症; 生殖激素异常; 存在泌尿系统感染; 患有全身慢性疾病或有长期服药史。本研究经本院医学伦理委员会审批通过。

1.2 方法

1.2.1 精液常规参数及精子形态分析 所有研究对象禁欲 2~7 d 后, 采用手淫法将全部精液采集于一次性专用无菌广口塑料杯中并立刻送检, 置于 37℃ 恒温水浴箱保温, 待精液液化后采用计算机辅助精液分析系统进行精液常规分析, 包括精子浓度、精子总数、前向运动精子百分比 (PR) 等。精子形态分析采用 Diff-Quick 染色法, 严格参照《世界卫生组织人类精液检查与处理实验室手册》第 5 版标准^[5], 在光学显微镜下分析至少 200 个精子, 评估精子形态。根据《世界卫生组织人类精液检查与处理实验室手册》第 5 版精子形态判断标准, 将所有研究对象分为正常组 (正常形态精子率 $\geq 4\%$) 和异常组 ($< 4\%$)。

1.2.2 精子 DNA 碎片指数 (DFI) 检测 采用精子染色质扩散法 (SCD) 检测 DFI, 试剂盒购自深圳市博锐德生物科技有限公司。精子 DNA 完整性判断标

准: 400 倍光学显微镜下观察精子头部光晕的有无及大小, 根据精子头部单侧光晕与精子头部最小直径比较, 当精子头部仅产生较小光晕或无光晕, 单侧光晕厚度不超过精子头部最小直径的 1/3 时, 判定精子存在 DNA 碎片。计数至少 500 个精子并计算 DFI。根据临床实验室参考值分组, A 组: $DFI \leq 15\%$, 精子 DNA 完整性好; B 组: $15\% < DFI < 30\%$, 精子 DNA 完整性一般; C 组: $DFI \geq 30\%$, 精子 DNA 完整性较差^[6]。

1.2.3 精浆细胞因子检测 精液标本以 $3\,000 \times g$ 离心 15 min, 吸取上层精浆, 一次性离心管分装, 置于 -80°C 冰箱保存待测。精浆中 IL-6 和 IL-17 水平检测均采用酶联免疫吸附试验, 试剂盒购自广州满睿生物科技有限公司, 所有操作步骤参照试剂盒说明书。

1.3 统计学处理 采用 SPSS25.0 统计软件进行数据处理及统计分析。符合正态分布和方差齐性的数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间比较采用独立样本 t 检验, 多组间比较采用单因素方差分析; 呈非正态分布的计量资料以 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示, 组间比较采用秩和检验; 符合正态分布的两连续变量间的关系采用 Pearson 直线相关分析, 非正态分布的两连续变量间关系采用 Spearman 相关分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同精子 DFI 组间精液质量及精浆 IL-6、IL-17 水平比较 根据精子 DFI, 所有研究对象分为 A、B、C 组, 分别为 82、75、55 例。与 A 组比较, B 组和 C 组 PR、总活力、正常形态精子率明显降低, 精子 DFI、精浆中 IL-6 及 IL-17 水平明显升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 与 B 组比较, C 组 PR、总活力、正常形态精子率明显降低, 精子 DFI、精浆中 IL-6 及 IL-17 水平明显升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。各组间精子浓度、精子总数比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 1。

2.2 不同精子形态学组间相关精液参数及精浆 IL-6、IL-17 水平比较 根据精子形态学分组, 所有研究对象分为正常组、异常组, 分别为 188、24 例。与正常组比较, 异常组精浆中 IL-6 及 IL-17 水平明显升高, PR 及总活力明显降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。两组间年龄、pH 值、DFI、精子浓度及精子总数比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 2。

2.3 精浆中 IL-6、IL-17 水平与精子 DFI 及精液各参

数间的相关性 精浆中 IL-6 水平与 pH 值、PR、总活力及正常形态精子率呈负相关($P<0.05$),与精子 DFI 呈正相关($P<0.05$)。精浆中 IL-17 水平与 PR、总活力及正常形态精子率呈负相关($P<0.05$),与 DFI 呈正相关($P<0.05$)。见表 3。

表 1 不同精子 DFI 组间精液质量及精浆 IL-6、IL-17 水平比较[$M(P_{25},P_{75})$ 或 $\bar{x}\pm s$]

组别	<i>n</i>	精子浓度($\times 10^6$ /mL)	精子总数($\times 10^6$)	PR(%)	总活力(%)
A 组	82	50.50(13.10,71.10)	149.26(63.44,229.6)	42.10(33.30,56.00)	49.20(40.20,62.60)
B 组	75	26.75(12.37,49.82)	111.28(40.98,223.5)	24.85(19.75,40.63) ^a	36.15(26.40,46.08) ^a
C 组	55	14.90(12.60,103.0)	84.83(40.08,299.9)	11.85(7.83,22.63) ^{ab}	17.10(15.90,29.13) ^{ab}
<i>H/F</i>		1.555	0.988	35.029	35.508
<i>P</i>		0.120	0.323	<0.001	<0.001

组别	<i>n</i>	正常形态精子率(%)	DFI(%)	IL-6(pg/mL)	IL-17(ng/mL)
A 组	82	7.60(5.70,8.80)	9.89 $\pm$ 2.89	18.09 $\pm$ 5.87	304.48 $\pm$ 93.09
B 组	75	6.10(3.65,8.35) ^a	20.83 $\pm$ 3.65 ^a	31.72 $\pm$ 7.63 ^a	518.51 $\pm$ 122.48 ^a
C 组	55	4.25(1.93,5.38) ^{ab}	36.94 $\pm$ 8.30 ^{ab}	45.32 $\pm$ 8.93 ^{ab}	781.91 $\pm$ 107.48 ^{ab}
<i>H/F</i>		15.042	211.195	88.260	114.409
<i>P</i>		0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与 A 组比较,^a $P<0.05$;与 B 组比较,^b $P<0.05$ 。

表 2 不同精子形态学组间相关精液参数及精浆 IL-6、IL-17 水平比较[$\bar{x}\pm s$ 或 $M(P_{25},P_{75})$]

组别	<i>n</i>	IL-6(pg/mL)	IL-17(ng/mL)	pH 值	年龄(岁)	DFI(%)
正常组	188	26.39 $\pm$ 8.69	438.03 $\pm$ 144.16	7.33 $\pm$ 0.17	31.75 $\pm$ 4.94	16.00(10.00,23.50)
异常组	24	37.88 $\pm$ 9.38	591.37 $\pm$ 147.58	7.31 $\pm$ 0.15	35.00 $\pm$ 7.37	19.85(16.48,32.50)
<i>t/Z</i>		-5.360	-4.364	0.329	1.947	-0.408
<i>P</i>		<0.001	<0.001	0.743	0.062	0.514

组别	<i>n</i>	精子浓度($\times 10^6$ /mL)	精子总数($\times 10^6$ /一次射精)	PR(%)	总活力(%)
正常组	188	39.80(13.10,70.90)	141.60(58.88,248.15)	34.80(22.10,45.90)	42.40(30.00,52.50)
异常组	24	14.80(12.38,53.93)	66.21(37.59,223.58)	17.00(9.78,25.45)	24.05(15.90,36.50)
<i>t/Z</i>		0.853	1.512	4.019	3.726
<i>P</i>		0.394	0.131	<0.001	<0.001

表 3 精浆中 IL-6 和 IL-17 水平与精子 DFI 及精液各参数间的相关性

指标	pH 值		精液体积		精子浓度		精子总数	
	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>
IL-6	-0.277	0.006	0.120	0.241	-0.104	0.313	-0.054	0.596
IL-17	-0.162	0.112	0.152	0.138	-0.105	0.308	-0.022	0.932

指标	PR		总活力		正常形态精子率		DFI	
	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>
IL-6	-0.659	<0.001	-0.651	<0.001	-0.381	<0.001	0.775	<0.001
IL-17	-0.626	<0.001	-0.630	<0.001	-0.205	<0.001	0.770	<0.001

3 讨 论

在男性生殖生理中,精浆中的细胞因子水平不仅可以反映男性生殖系统的免疫状况,且对精子活力、精子功能等发挥重要的生物学作用^[7]。生理状态下,低浓度的细胞因子参与调节睾丸功能、维持内环境稳

定,具有促进生殖细胞生长成熟、维持精子的正常功能的作用,而过量分泌的细胞因子则可能加重机体的炎症反应,导致精子细胞损伤^[8-9]。IL-6 作为重要的炎症因子,介导机体的炎症反应。既往研究发现精索静脉曲张患者、白细胞精子症患者、沙眼衣原体感染

者、免疫性不育患者等人群精浆中存在高水平的 IL-6,对精子活力产生负面影响,但这些研究所选取的人群,如存在精索静脉曲张、生殖道感染等疾病本身可能导致精浆 IL-6 水平的升高及精子活力的下降^[10-11]。

本研究入选病例,通过问询、查阅病历及核查其他实验室检验结果,尽可能排除罹患泌尿系统感染等疾病患者。结果显示,A 组、B 组、C 组间精浆中 IL-6 水平比较,差异有统计学意义($P<0.05$),其水平与 PR、总活力及正常形态精子率呈负相关($P<0.05$),与以上论文研究结果类似^[10-11]。IL-17 是炎症反应早期的启动因子,具有较强促炎症反应的同时,亦能进一步诱导促炎症因子 IL-6 的表达,增强局部炎症。有报道显示,IL-17、IL-6 水平升高还可能破坏免疫抑制环境,引起自身免疫性疾病,导致精子活力降低和血-睾屏障的破坏^[12-13]。本研究中,精浆中 IL-17 水平与 PR、总活力及正常形态精子率呈负相关($P<0.05$)。

然而,既往研究者多着重于探讨精浆中细胞因子水平与精子活力的关联,却鲜有报道细胞因子是否可能引起精子 DNA 损伤。DFI 表示精子 DNA 的完整性,DFI 能独立于精液常规参数外,从分子水平反映精子 DNA 完整性,从而评估男性精液质量^[14-15]。各种原因造成的精子 DNA 的损伤,可引起 DFI 水平升高,导致精子细胞凋亡^[16]。本研究发现,随着 DFI 的升高,精浆中 IL-6、IL-17 水平明显升高,总活力、正常形态精子率明显降低,提示高水平的 IL-6、IL-17 一方面加重了精子 DNA 损伤,另一方面导致更多畸形精子的产生、精子活力的下降,引发精子形态和功能障碍。男性生殖系统受到某些抗原刺激或存在隐形炎症反应时,机体巨噬细胞、单核细胞、活化的 T 细胞等受到刺激,可介导促炎细胞因子如 IL-6、IL-17 大量分泌,高水平的 IL-6、IL-17 引发精子 DNA 损伤,而精子 DNA 的损伤进一步引起精子细胞的凋亡,导致精子活力的下降、精子形态的改变^[17],同时细胞因子介导活性氧、一氧化氮分泌增加,进一步导致精子线粒体损伤,进而引起精子活力下降^[18]。

综上所述,男性不育症患者存在精浆免疫失衡,细胞因子 IL-6、IL-17 的过度分泌诱发的免疫失衡导致精子活力降低、畸形精子产生、精子 DNA 损伤加重,最终引起精子形态和功能受损,精浆中 IL-6、IL-17 水平可作为男性生育力评估的重要辅助指标。

参考文献

- [1] 李兰芳,葛青,陆文昊.男性不育的相关影响因素流行病学调查分析[J].中国优生与遗传杂志,2020,28(4):515-517.
- [2] ELDAMNHOURY E M,ELATRASH G A,RASHWAN H M,et al. Association between leukocytospermia and semen interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha in in-

- fertile men[J]. Andrology,2018,6(5):775-780.
- [3] 杨玉林,甄中峰.解脲支原体感染精浆 NO 及 IL-17 水平与男性不育的关系[J].基层医学论坛,2020,24(35):5106-5107.
- [4] 彭靖.男性不育症诊断和治疗的热点问题[J].临床外科杂志,2023,31(2):102-105.
- [5] 谷翔群,陈振文,卢文红,等.世界卫生组织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,2011:20-35.
- [6] SYRIOU V,PAPANIKOLAOU D,KOZYRAKI A,et al. Cytokines and male infertility[J]. Eur Cytokine Netw, 2018,29(3):73-82.
- [7] BUKHARIN O V,PERUNOVA N B,IVANOVA E V, et al. Semen microbiota and cytokines of healthy and infertile men[J]. Asian J Androl,2021,24(4):353-358.
- [8] SAXENA P,SONI R,RANDHAWA V S,et al. Can seminal IL-8 level be used as a marker of leukocytospermia and does it have any correlation with semen parameters in infertile couples? [J]. J Obstet Gynaecol India,2019,69(5):451-456.
- [9] 周明连,张帅,何乃雨,等.白细胞精子症与精浆白介素-6、肿瘤坏死因子- α 水平的相关性研究[J].中国性科学,2021,30(12):36-39.
- [10] 华斌,王书斌,陈妍妍.精索静脉曲张患者精浆 TGF- β 、IL-2 及 IL-6 水平与精液质量的关系研究[J].现代检验医学杂志,2020,35(4):50-52.
- [11] 刘双宁,罗成,赵波,等.不育男性白细胞精液症与精浆 IL-6 及 TNF- α 表达水平的相关性分析[J].现代医学,2019,47(10):1202-1206.
- [12] 屈志义,张伟.生殖道感染与不育男性精液 NO、IL-17、IL-18 浓度的相关性分析[J].国际泌尿系统杂志,2018,38(6):993-996.
- [13] 滕士阶,胡娟.细胞因子 NF- κ B、IL-17、IL-6 在男性不育症中的临床意义[J].中国实用医刊,2021,48(13):8-11.
- [14] 高庆和,晏斌,刘煜,等.转化医学学会《男性不育症精子 DNA 碎片检测临床实践指南》解读[J].生殖医学杂志,2020,29(3):416-421.
- [15] 王淑林,张长平,翁崇双.男性不育症患者 Caspase-3、Bcl-2 表达水平及其与精液常规参数、精子 DNA 完整性的关系[J].中国医学创新,2022,19(33):126-130.
- [16] 李红林,傅广波,吕述彦.精子线粒体功能检测与男性不育相关性的研究进展[J].临床检验杂志,2021,39(4):287-290.
- [17] 王荣,陆金春,梁元姣.精浆细胞因子的检测及其对精子质量的影响机制研究进展[J].中国男科学杂志,2022,36(2):103-107.
- [18] LUO Y X,ZHU Y B,BASANG W,et al. Roles of nitric oxide in the regulation of reproduction:a review[J]. Front Endocrinol,2021,12:752410.