

精浆免疫抑制蛋白质的研究及其意义

(综述)

计划生育基础理论研究室 曹永红
朱寿民 审校

随着生殖免疫学研究的深入,发现无论是人类或实验动物的精子和精浆都具有高度抗原活性,照理精液进入雌性体内,将接触到各种免疫活性细胞,可产生抗精液免疫反应,排斥精子及引起其它变态反应,然而正常情况下这种现象并不发生。近几年研究资料表明,除健康正常的生殖道具有制止免疫反应的功能外,另一个原因是精浆中含有免疫抑制物质。正是由于它们的免疫调节作用,才使精子免遭异物排斥,并得以发挥正常的生育功能。本文就近几年有关精浆免疫抑制功能的研究及其意义作一综述。

1 精浆的免疫抑制功能

1.1 精浆对细胞免疫的抑制作用 1975年 Stites等^[1]通过混合淋巴细胞试验(MLR)和淋巴细胞转化试验(LBT)发现,人类精子和精浆都能抑制T细胞转化,由此开始了对精浆免疫抑制功能的研究。人精浆不仅抑制T细胞转化,还抑制细胞毒T细胞(Tc)的形成及其对靶细胞的杀伤作用^[2,3]。用白细胞移动试验、淋巴因子合成和玫瑰花结形成等试验,都证实了精浆具有抑制细胞免疫的作用。1983年Mukherjee等^[4]报道了精浆成分抑制由精子引起的T细胞免疫增殖反应。可见精浆免疫抑制物质在避免雌体对精子产生的排斥反应中,起着决定性作用。

NK和巨噬细胞在机体消灭肿瘤细胞和病毒感染细胞中起着关键作用,而人精浆既

抑制自发的NK活性,又抑制经干扰素激活的NK活性^[5]。精浆还对巨噬细胞的各种功能显示明显的抑制作用^[6]。1988年朱炳法等^[7]通过小鼠静脉注射和直肠灌注等方法,对人精浆及其组分进行了体内试验,结果都显著抑制NK活性。精浆对NK、Tc和巨噬细胞活性的这种强烈抑制作用对AIDS和生殖道恶变的发生有着重要意义。

1.2 精浆对体液免疫的抑制作用 研究资料表明,T细胞依赖抗原(绵羊红细胞)和T细胞不依赖抗原(二硝基氟苯)激发的B细胞体液免疫反应能被人精浆抑制^[2]。有丝分裂原——细菌脂多糖等引起的B细胞增殖反应同样受精浆抑制^[8]。Anderson等^[8]更在体内试验中证明,精浆明显抑制牛血清白蛋白和附睾精子诱导的初级和次级体液免疫反应。

精浆对补体系统具有明显的抑制作用^[8],还抑制干扰素和白细胞介素2(IL-2)等免疫活性物质的作用^[5,9]。总之,精浆免疫抑制物质能全面地抑制整个机体免疫系统的作用,从而对机体的生理、病理过程产生一系列影响。

2 精浆免疫抑制物质的性质

精浆免疫抑制物质由多种成分组成,既有蛋白质等大分子物质,又有小分子物质如前列腺素、多胺等。有关这些抑制性物质的相互关系尚不清楚。人们发现多胺等具有毒

性而杀伤淋巴细胞，而精浆中蛋白质及多肽抑制物并不呈现细胞毒作用^[5,10]。在这些物质中，蛋白质成分在精浆免疫抑制中起着主导地位，因为，具有免疫抑制活性的精浆组分经蛋白水解酶处理后，其抑制活性消失^[9,11]。

3 精浆免疫抑制蛋白质的分离纯化及鉴定

1977年Lord等^[2]应用Sephadex G-25分离人精浆，并对各洗脱峰进行鉴定，发现第一峰（F₁）包含了几乎全部精浆蛋白质，并具有强烈的免疫抑制活性，后二峰（F₂，F₃）未见可染色的蛋白质，且几无抑制活性。用Sephadex G-150分离，F₁也呈现主要的抑制活性。1978年Marcus等^[12]应用Sephadex G-100分离人精浆获得5个峰，经鉴定F₁、F₃能抑制有丝分裂原刺激的淋转，F₂、F₄则可抑制自发性淋转。以后他们又结合超离心进一步分离人精浆^[11]。1983年Bischof等^[13]应用肝素亲和层析，1984年James等^[14]应用环氧活化的 Sepharose 亲和层析，1987年Satomi^[9]应用Sephacryl S-300对人精浆进行了分离，以期找到精浆免疫抑制组分。1985年Fahmi等^[15]应用33%饱和度硫酸铵沉淀、Sephadex G-200等手段，分离了牛精浆免疫抑制组分。最近我们通过高速离心、Sephadex G-100和快速蛋白质阳离子交换层析，成功地从人精浆中纯化到具有免疫抑制活性的蛋白质，其分子量为5万，等电点约4.9^[16]，从而为进一步研究人类精浆的免疫抑制作用提供了有利的条件。

4 精浆免疫抑制作用机理

有关精浆免疫抑制的作用机理至今尚未完全明了，可能与精浆免疫抑制蛋白质遮盖精子表面原有的强抗原性物质，阻碍免疫活性细胞对精子的识别有关^[17]。1987年Quayle等^[18]专门对人精浆作MLR和LBT的结果表明，其抑制作用呈现剂量依赖性，且

这种作用并不是通过杀伤淋巴细胞而发挥，因为精浆只有在淋巴细胞被激活以前加入才能表现有效的抑制作用。他们还测试了温度的影响，人外周血单核细胞在37℃或4℃用人精浆预处理1h，再经有丝分裂原刺激培养，37℃实验组的抑制效率比4℃强得多。这表明精浆免疫抑制作用是一个活跃的代谢过程。因T细胞激活涉及到T细胞膜上IL-2受体（IL-2R）的表达、产生及T细胞在增殖时对IL-2的反应，Quayle等又研究了人精浆对IL-2R表达的作用。人外周血单核细胞在加入或不加PHA，以及加入、或不加、或培养48h后再加精浆等各种情况下培养，结束后用抗IL-2R单抗和荧光标记的羊抗鼠IgG进行间接荧光测定，结果休止期T细胞IL-2R表达呈很低水平，精浆对加或未加PHA刺激的T细胞都强烈抑制它的IL-2R表达，而对预先已激活的T细胞则无抑制作用，从而推测精浆抑制物质的免疫抑制作用在于能结合和掩盖IL-2R的表达。

Quayle等还研究了精浆对NK活性的抑制作用。NK在0℃、18℃和37℃，加或不加入精浆预处理3h后，用⁵¹Cr释放试验测NK活性。未加精浆预处理的3组在孵育后再加精浆，测得0℃组NK活性比其它组抑制作用强得多，说明已激活的NK不易被精浆抑制。而加精浆预处理的3组，处理后直接测NK活性的结果，37℃组精浆抑制作用最强，说明精浆抑制NK活性的作用也与代谢有关。

最近，我们^[19]应用精浆组分和纯化得到的精浆免疫抑制蛋白质进行自发性淋转试验，也发现其抑制作用呈剂量依赖关系，而且有饱和现象，并在很低剂量下即呈明显的抑制活性。有关这种作用机理尚待继续研究。

5 精浆免疫抑制蛋白质研究的重要意义

5.1 精浆免疫抑制蛋白质与不育的关系及应用于免疫避孕前景 生殖免疫学研究的一个重要目的，在于找到能引发机体产生抗精

子免疫的途径，以便开展免疫避孕及探讨不育（孕）症的发病机理和临床诊治。近几年随着精子和精浆中免疫抑制蛋白质的发现及它在雌体接受或排斥精子方面免疫调节作用的了解，生殖免疫学已受到人们极大的重视。

1983年 Marcus 等^[17]测定了600~700份正常人和几名其妻子对精液过敏者的精液。结果发现其妻子对精浆过敏者的精浆中，免疫抑制蛋白质的含量比正常人低得多。他们还发现精液中抑制物质缺乏还可导致男性自身产生抗精子抗体，引起不育。最近我们也观察到某些临床不育（孕）症患者的精浆中，缺乏我们所纯化到的那种人精浆免疫抑制蛋白质。由此说明，缺乏精浆免疫抑制蛋白质可能是引起不育（孕）的一个重要原因。

精浆免疫抑制蛋白质的存在给避孕提供了新的方向。Lord等^[2]认为对男性或者女性施行适当的对抗免疫抑制蛋白质的人工免疫，可能引致机体产生抗精子免疫反应，从而达到避孕目的。1983年 Marcus等^[17]用含人精浆免疫抑制蛋白质的精浆组分免疫兔子，获得了血凝效价高达1:16385~32768的抗血清。最近我们实验室应用已纯化的人精浆免疫抑制蛋白质，也制备得高效价的兔抗血清。此项工作的继续深入研究具重大意义。

5.2 精浆免疫抑制蛋白质可助长性传播病毒感染 近年来AIDS已成为最严重地威胁人类健康的疾病之一，而且其发病率还在迅猛增长。精浆免疫抑制作用与AIDS发病的密切关系引起人们极大的关注^[3,6,7,18]。迄今已知同性恋者为AIDS的主要高危人群，其AIDS发病率高达71%，而异性性交者仅1%。给纯种雄鼠直肠灌注同种小鼠精子、人精浆或其组分，对NK活性都具有明显抑制^[7]。直肠的单层柱状上皮，精浆免疫抑制物质很容易被吸收；而阴道为复层鳞状上皮，精浆抑制物质不易被吸收而在雌性生殖道局部发挥免疫作用。因而带AIDS病毒

的同性恋者，不仅精浆中的病毒通过直肠上皮进入体内，还由于被吸收的精浆免疫抑制物质在体内抑制NK和Tc活性，促进了AIDS的发生。临床观察也发现同性恋者MLR降低，Tc/Ts<0.8~1.0，（Ts为抑制性T细胞），血清中有抗精子抗体等^[20]，与实验资料吻合。由此可见精浆免疫抑制物质在AIDS发病中起着极其重要的作用。

综上所述，精浆免疫抑制蛋白质具有抑制机体整个免疫系统的总效应。进一步深入研究这种作用，对基础理论研究及临床应用都将具有深远的意义。

参 考 文 献

1. Stites DP and Erickson RP. *Nature* 1975; 253 (5495): 727
2. Lord EM, et al. *J Immunol* 1977; 118(5): 1704
3. Hurtenbach U and Shearer GM. *J Exp Med* 1982; 155(6): 1719
4. Mukherjee DC, et al. *Science* 1983; 219(4587): 989
5. Rees RC, et al. *Clin Exp Immunol* 1986; 63(3): 687
6. James K, et al. *AIDS Res* 1983; 1(1): 45
7. 朱炳法, 等. *中国免疫学杂志* 1988; 4: 194
8. Anderson DJ and Tarter TH. *J Immunol* 1982(2); 128: 535
9. Satomi S, et al. *Nippon Hinyokika Gakkai Zasshi* 1987; 78(4): 614
10. Allen RD, et al. *Am J Reprod Immunol Microbiol* 1987; 3(1): 4
11. Marcus ZH, et al. *Int J Fertil* 1983; 28(4): 189
12. Marcus ZH, et al. *Clin Immun Immunopathol* 1978; 9(3): 318
13. Bischof P, et al. *J Clin Endocrinol Metab* 1983; 56(2): 359
14. James K and Hargreave TB. *Immunol Today* 1984; 5(12): 367
15. Fahmi HA, et al. *J Dairy Sci* 1985; 68(9): 2322
16. 曹永江, 等. 人精浆免疫抑制蛋白质的分离纯化鉴定及其功能研究. *生物化学杂志* 1990(待发表)
17. Marcus ZH, et al. *Male Reproduction and Fertility* (A Negro-Vilar Ed). New York: Raven Press 1983; 363
18. Quayle AJ, et al. *Br J Urol* 1987; 60(6): 578
19. Adams LE, et al. *Clin Immun Immunopathol* 1988; 46(3): 442
20. Maylignit GM, et al. *JAMA* 1984; 251(27): 237

(1990年2月7日收稿。同年5月31日修回。)