学科进展

生殖免疫学和免疫避孕研究的进展

王 亚 辉

(上海实验生物研究所)

生殖免疫学是新近发展起来的，介于生殖生物学和免疫学之间的一门边缘学科. 研究高等动物和人类生殖中的免疫学问题，以求达到利用免疫学方法控制人类生育的目的. 从本世纪初梅契尼可夫发现将人或动物精子注射到实验动物产生的抗血清，能使精子制动或凝集的现象，并提出用精子免疫来控制生育的设想以来，许多实验室进行了大量的实验研究. 然而直到近十年前，仍然进展缓慢，成效甚微. 这可能主要是受到免疫学理论和技术发展程度的限制.

六十年代初期以来，免疫学无论在细胞和分子水平都有了飞跃的进步，对免疫现象本质更深刻的认识，在理论上为发展免疫避孕准备了条件. 在长期进化过程中形成的免疫系统的基本特征是免疫活性细胞对"自我"和"非我"抗原有高度的专一识别能力，并对"非我"抗原专一地反应，而起增生、分化，产生体液免疫(抗体)和细胞免疫，以抵抗和消除"非我"抗原对机体的危害. 有机体免疫自稳和监管机制正常时，免疫活性细胞只对"非我"抗原起反应，从而表现为对抗感染和对突变细胞的排斥等有利的防御作用. 另一方面，这些机制失调时，便失去对"自我"抗原的识别能力，对自身组织成分起免疫反应，从而造成各种自身免疫病. 机体的免疫自稳机制又是通过两类在功能上对立的细胞和抗体，一类起杀伤、排斥作用，一类起保护作用，互相制约而维持常态的. 理论上，免疫避孕的任务就是要认识和利用免疫系统的这种对立统一的特殊规律. 打破机体免疫耐受性，使对一定的自身抗原（如精子或胎盘抗原）发生专一的免疫反应，阻断生殖过程的一定环节，从而达到控制生育的目的. 简言之，就是要人工地造成一种"似病非病"的不育状态. 这当然是很困难的，然而在理论上却不是不可能的.

五十年代以来，口服避孕药的推广使用，大大促进了计划生育工作的发展. 但是，甾体避孕药物干扰体内激素平衡，因而产生种种副作用. 此外，甾体或其它化学药物用于男性避孕至今未见成功. 这些情况鼓励了从免疫学方面探索控制生育的新途径.

"社会一旦有技术上的需要，则这种需要就会比十所大学更能把科学推向前进." 正是由于社会对计划生育日益增长的需要，大大地推动了生殖免疫学和免疫避孕研究，六十年代后期在国际上迅速发展. 研究工作和国际性专题学术会议逐年增加. 根据世界卫生组织 1974 年提出的研究规划[1]，预期在今后 8—15 年内可望研究成功商品出售的"避孕疫苗". 为了达到这一目标，正通过国际合作，组织许多国家的免疫学、生化和生殖生物学实验室，大力开展广泛深入的研究工作. 研究的重点主要在以下两个方面：(1) 利用胎盘激素或专一蛋白免疫，阻止或破坏着床；(2) 利用精子或卵透明带抗原免疫，干扰受精或胚囊的孵化. 此外，对精子的抗原结构、免疫和不育，以及生殖道局部免疫等基本问题也给予相当大的注意. 目前胎盘激素免疫方面处于领先地位，并已取得重大的突破. 现将目前国际上的进展情况简单地介绍如下.

一、人类不育和自身免疫

临床上日益注意到不育和自身免疫的关系，五十年代中期，就有人观察到少数不育男人的精子有自发的凝集现象. 同时，这些病人的精子和血清还能使正常人的精子凝集. 因此推想这些病人的不育可能是由于自身免疫引起的. 后来，广泛地调查初步证实了不育男人血清中精子凝集抗体的效价可能和不育有一定的关联. 但是，也有一些工作不能肯定这一结论. 对不育妇女血清的早期研究结果，同样存在含混和不一致的地方. 这主要应归因于当时方法学上的缺陷.

理论上，要确证不育和自身免疫间的因果关系，首先应判明抗原的性质、产生抗体的类型和专一性、抗体的效价和不育程度的关联，以及免疫反应的类型和作用环节. 其次，抑制免疫反应是否能治疗或改善不育症状. 因此，应尽可能采用多种测定方法(包括体液免疫和细胞免疫)，互相印证，才能得出可靠的结论. 此外，对不育病人调查，不仅应根据临床检查前的病史资料，还应注意检查后长期的随访观察.

近几年来，随着免疫学方法日臻完善，这方面的研究亦有进步. 对目前临床常用的血清精子抗体检测方法比较鉴别的结果表明，精子微量凝集法是不专一的，容易受血清非专一因子(β-球蛋白)的干扰[2]. 精子大量凝集法和精子制动法都能测定出抗精子抗体(IgG 和 IgM)，但后一种方法能对不育提供更有意义的资料. 此外，经改进的免疫荧光法能显示精子存在四种不同的抗原，其中两种抗原(前顶体和尾部抗原)与血清和宫颈粘液中精子制动抗体的效价有关联. 因此，配合使用这两种方法可望得到较为可靠的结果.

对于不育病人在作血清学检查后数年内的生育状况调查表明，抗精子抗体阳性病人和阴性病人相比，前者的生育率较低而流产率则明显地较高. 不过抗精子抗体和继续不育的关连，只有在那些有原因不明、不育至少三年以上病史的妇女，才有统计意义.

不育病人的细胞免疫状态的检查也开始受到注意. 对 126 名非损伤性无精或严重少精的男性病人检查，发现其中 21 名(16.6%)对精子抗原淋巴细胞转化呈阳性反应. 对其中 18 名病人采用皮质激素治疗，结果 8 名病人症状改善，1 名病人恢复了生育能力[4]. 这一观察有力的支持了某些男性不育症确实和自身免疫有密切关系.

"……在表面上是偶然性在起作用的地方，这种偶然性始终是受内部的隐藏着的规律支配的. 而问题只是在于发现这些规律." 临床上观察到的这些自身免疫不育的似乎偶然的例子，揭示了利用免疫学方法去控制人类生育的可能性，全部问题同样在于通过实验研究去发现和运用这些规律. 对于引起天然不育状态的精子专一抗原的确定，就可能应用它作为避孕疫苗的基础. 这也许会比其他抗原更合乎自然.

二、精子免疫和精子抗原

从梅契尼柯夫(1900)开始精子免疫的实验研究以来，至少已有上百篇文献. 早期工作虽然证实了精子有抗原性，但在造成不育方面的成就却是很有限的. 直到五十年代，Freund 完全佐剂在实验免疫中广泛采用，以造成各种实验性自身免疫病后，才有人用豚鼠睾丸匀浆或精子(以及它们的提取物)，加 Freund 完全佐剂注射到自体或同种其他个体，都能引起精细管生殖上皮不同程度的损伤，甚至完全退化消失，以致不能产生成熟的精子. 这一现象称为"实验自身免疫性无精子发生". 当精细管内还有精原细胞残留时，这一现象是可逆的. 无精子状态

持续6—8个月后，仍然能够恢复产生精子的能力．并且免疫损伤限于生殖上皮间质细胞不受影响，因而能继续产生雄激素维持副性征．以后，许多学者在大鼠、小鼠、猕猴和人（前列腺癌病人）上证实了这些结果．实验自身免疫无精子发生提供了一个研究精子专一抗原和免疫学发病机制的很好的动物模型．

目前从豚鼠精子分离出四种自身免疫抗原（S,P,T,Z）具有不同的化学和免疫学性质，但都能诱发无精子发生状态．“T”抗原和精子膜结合能诱导精子制动和毒性抗体．当用来免疫雄性和雌性动物时，都能产生抗生育效果，因而认为作为“避孕疫苗”是颇有价值的[5]．

对雌性动物精子免疫方面，近年来着重于精子参与受精过程的几种酶，如透明质酸酶、顶体类胰蛋白酶和乳酸脱氢酶-X．这些酶产生的抗体和其他组织没有明显的交叉反应，虽然顶体的类胰蛋白酶和胰蛋白酶很相似．用它们主动免疫时，也能降低生育力，但结果还不够满意．很有趣的是，乳酸脱氢酶-X的抗体引起不育是由于能使卵裂和着床时期的早期胚胎死亡．

对精子同种异体抗原的研究取得了有重要生物学意义的发现．已证明人和小鼠精子表面有移植抗原（HL-A，H-2）存在[6]．并且有关的等位基因还可能呈单倍性表现[7]．离体精子的毒性实验，还发现略超过半数的精子表面存在H-Y抗原[8]．这些新发现使有可能借助免疫学方法选择一定性别的精子，从而开辟了在高等动物，甚至人类控制性别的可能性．

三、干扰受精

实验胚胎学的早期研究发现，无脊椎动物如海胆卵的受精存在类似抗原抗体反应．受精的物种专一性是与卵膜的受精素和精子表面的抗受精素的结合专一性有关的．由于这一现象的启发，有人用蛙的卵胶免疫家兔得到的抗卵胶免疫血清再来处理未受精的蛙卵，就能够抑制受精．近来，把这一实验推广到哺乳动物，同样得到成功．用专一的抗卵巢血清处理离体培养的田鼠卵，就能抑制精子的附着和穿入．这可能是由于抗体和卵的透明带结合而起沉淀作用的结果[9]．另一方面，用麦芽凝集素（WGA）处理田鼠未受精卵．同样可以造成附着到透明带上的精子数目减少和阻止精子入卵[10]．这两种处理都能引起卵透明带表层光散射性增加，同时不再能被胰蛋白酶溶解．这说明卵膜和抗体或麦芽凝集素结合时大分子构造发生了改变，妨碍了精子的附着．同时透明带不能被精子的卵膜溶解酶分解，从而阻碍了精子的穿入．1975年还有人报告注射抗卵巢抗体到田鼠体内，也能有效地抑制受精，并能保持相当长的时间（28天，即相当于7个动情周期）．这可能是由于进入体内的抗体能和卵巢内达到一定成熟阶段的卵母细胞的透明带结合，只有当这一批卵成熟和排出后，才又能恢复正常受精，因而抗体诱发的不育现象将持续到新的一批卵母细胞成熟和排出这样长的一段时期[11]．目前国外还打算进行粗的透明带抗原对小鼠和田鼠主动免疫以证实这些实验．在这一基础上再进一步分离和纯化透明带抗原，看来，这方面的研究可能有希望打开一条通过干扰体内受精控制生育的途径．

四、胎盘免疫

1. 人绒毛膜促性腺激素免疫

目前免疫避孕研究领域中，胎盘激素免疫处于领先地位，并已有所突破．

人绒毛膜促性腺激素（HCG）是胎盘滋养层细胞的产物．在妊娠很早时期（卵受精后约6—8天）就已开始合成，对于早期妊娠的维持有决定性意义，因而成为控制生育的适当环节．用

免疫学方法阻断血流中的 HCG，就可能阻止或破坏着床而达到避孕的目的.

HCG 作为一个“自身”蛋白质，人体通常对它是有免疫耐受性的. 用 HCG 对人主动免疫时，必须在激素分子上连结半抗原或和载体结合才能获得免疫原性. 初期研究表明，和半抗原(氨基苯磺酸)结合的 HCG 免疫妇女能产生抗 HCG 抗体. 可是，这种抗体不仅抑制 HCG 的作用，而且也抑制 LH 的作用，结果造成月经失调. 近年来，对 HCG 亚基结构的研究表明，分子是由 α 和 β 两个亚基组成的. 其 α-亚基和垂体的 LH，FSH 的 α-亚基相似，彼此之间有交叉反应. β-亚基为激素专一的，和其他激素没有交叉反应[12]. 这就提供了用 HCG-β 亚基免疫来产生专一抗体的可能性. 用高度纯化的 HCG-β 亚基免疫绵羊、家兔和狒狒都能产生专一的抗体. 不过，这些抗体在离体也能和人 LH-β 亚基交叉反应. 用羊抗 HCG-β 免疫血清注射到未经过免疫的怀孕狒狒，立即就能引起流产. 用 HCG-β 亚基主动免疫狒狒时，发现所产生的抗 HCG-β 抗体和狒狒本身的绒毛膜促性腺激素有很强的交叉反应，而和狒狒的 LH 没有交叉反应. 结果，经 HCG-β 亚基免疫的狒狒月经周期继续正常进行，但和成熟的雄狒狒交配时，却不能受孕. 这些结果表明，在灵长类用 HCG-β 亚基免疫避孕是可能有效的[13]. 然而鉴于抗 HCG-β 血清和人 LH 有交叉反应，该实验室便放弃了用完整的 HCG-β 亚基作免疫原的工作，而试图改用 HCG-β 亚基的酶解断片或合成的结构类似的多肽作为抗原. 已知 HCG-β 亚基C末端 30-35 个氨基酸是人 LH-β 亚基所缺少的. 因此，正致力于合成结构上类似 HCG-β 亚基C末端的多肽. 据初步报道，用合成的 HCG-β 亚基C末端 35 肽加蛋白质载体免疫时能产生和天然激素起反应的抗体，并且没有观察到和人 LH 交叉反应[14]. 此外，还证实了这种合成多肽-蛋白质结合物的抗体能够中和 HCG 的激素活性[15].

另一方面，印度全印医学研究所 Talwar 实验室，遵循另一条途径，正接近成功[16]. 他们利用繁复的化学和免疫化学（异种 LH 免疫吸附）方法，得到了和人 LH 没有或几乎没有交叉反应的 HCG-β 亚基. 当用这种高度纯化的 HCG-β 和蛋白质载体——破伤风类毒素的结合物作为疫苗（简称为 Pr-HCG-β-TT）来免疫猴子和少数几名妇女时，都得到很好的结果. 在妇女上的结果表明，产生的抗 HCG 抗体经历短暂的迟滞期后就能达到很高的水平，并能继续维持一年以上. 对其中一名妇女的详细观察表明这种免疫反应是可逆的. 当抗体效价降低时，再次免疫又可使它迅速上升到原有的高水平. 对这名妇女的体格检查未发现任何副作用. 观察期中，月经周期继续正常运行. 子宫内膜活检以及分泌期孕酮含量测定都表明还在继续排卵. 利用放射免疫法，对抗体专一性的详细研究证明，Pr-HCG-β-TT 结合物诱导的抗体，不但能和 HCG-β 亚基有免疫学反应，而且和完整的天然激素分子也有反应. 但是和人的多种激素，如生长素、FSH、LH、TSH 和 HPL，无论在这些激素的常值和峰值水平，均无交叉反应. 经过 4 种实验系统检定，抗血清能有效地阻止 HCG 和黄体的激素受体结合，以及抑制黄体酮的靶器官的效应（子宫和腹前列腺增重）. 这些实验证明，抗体在体内和体外都能中和 HCG 的激素活性. 在小动物和猕猴上的急性和慢性毒性实验也证明符合安全要求. 在猕猴上的慢性毒性实验表明，在一年多的观察期间，抗体效价维持在高水平，免疫的猴子仍保持良好的健康状态，体重增加. 代谢、内分泌和其他器官功能未表现异常. 对 4 只经高度免疫的猴子病理组织学检查表明，内分泌和生殖器官均无免疫病理或毒性损伤，也未发现免疫复合物引起的肾炎. 临床对三名免疫妇女作免疫病理学检查，在她们的血清中未发现抗细胞核、抗微粒体抗体和类风湿性因子. 免疫荧光技术检查，这些血清和人甲状腺、甲状旁腺、肾上腺、睾

丸、卵巢和脑垂体均无反应. 免疫妇女和猕猴，皮内注射 HCG 时，都不出现速发型和迟发型超敏反应. 总之，经过周密的病理和免疫病理检查，人和猕猴经 Pr-HCG-β-TT 疫苗免疫后，所有检查过的器官系统均没有发现任何形态和功能上的不正常.

2. 滋养层非激素抗原

除蛋白质激素外，人胎盘滋养层细胞还存在多种抗原物质，已分离纯化. 其中两种（SP1、PP5），已证明和人及胎儿的其他组织无交叉反应，为胎盘专一抗原[17]. 据初步报道，人 SP1 免疫家兔得到的抗血清，证明和猕猴、食蟹猴胎盘的类似成分有明显的交叉反应. 被动免疫时，能使怀孕的食蟹猴流产. 此外，用人 SP1 对少数食蟹猴主动免疫的初步实验表明能产生抗生育的效果. 鉴于这些初步结果，也颇有成功的希望，在世界卫生组织的推动下，欧洲几个实验室正在合作，在灵长动物上加紧进行这方面的研究.

五、结　　语

由于全世界对计划生育迫切的需要，生殖免疫学和免疫避孕研究最近几年正取得迅速的进展，并且在胎盘激素（HCG-β 亚基）免疫方面已有重大的突破. 长期以来，发展一种简便、长效、安全的避孕疫苗的科学设想，正在从理论转化成现实. 在世界卫生组织“用免疫学方法控制生育”研究规划的组织推动下，许多国家的实验室通过国际合作，在胎盘激素和专一抗原免疫、精子抗原免疫、干扰受精等几个有希望的方面正开展广泛深入的研究，可望在最近一、两年内取得更大的成果. 研制一种“避孕疫苗”的计划正在顺利地实行，可望在今后十年内外，推广到临床应用.

目前看来 HCG-β 亚基疫苗（Pr-HCG-β-TT）是最有成功的希望. 在长效、安全、可逆和副作用等方面通过对少数人的试用，看来已初步解决. 然而，要肯定这种“避孕疫苗”的实用价值，还要经受在临床上更长期和更大规模试用验证，才能做出评价. 即使这些问题都解决了，在推广应用之前，还需要解决原料来源问题. 从人胎盘分离、纯化决无可能满足大量需要，必须人工合成有效的分子断片. 这就要求对 HCG 分子的抗原结构和激素活性的关系进行深入的研究，找出抗生育有效的抗原决定簇，再加以合成. 其次，对于大多数抗原，都需要使用佐剂. 现在常用的 Freund 完全佐剂在注射地点引起严重的反应. 发展一种对人体安全而效力又强的佐剂，各方面都是迫切需要的.

“事物都是一分为二的.” 避孕疫苗可能具有简便、长效（打一针避孕一年）、不扰乱内分泌等优点. 但是，也必然存在其他方面的缺点. 最显而易见的，避孕疫苗和其他任何疫苗一样，对过敏体质、患有慢性疾病的人是禁用或慎用的. 对同一种避孕疫苗，个别人的免疫反应也可能在量上或质上不同. 虽然所用的抗原已尽量纯化或人工合成，理论上仍然不能完全排除通过细胞协同作用，对某一半抗原决定簇的反应扩展到其他组织抗原，而引起不利的交叉反应的可能性. 除对个体影响外，在大规模推广后，还应考虑经过接种避孕疫苗的免疫学选择在种群遗传上可能造成的后果，如此等等. 所有这些问题都还有待将来的使用过程中逐步去发现、解决.

人类控制生育的最终目标，不会满足于节制生育，还希望能控制后代的性别. 也只有当我们能做到后一点时，人类在生育问题上才能够宣称已从必然王国进入到自由王国. 两性精子表面抗原差别的发现，提示有可能用免疫学方法达到性别控制的目的. 总之，这些都说明从免疫学方面研究控制生育问题是有广阔前景的. 目前国外在生殖免疫学和免疫避孕方面已取得很大的进展，在我国的计划生育科研中是一个值得重视的新发展方向，要求我们急起直追，迎

头赶上!

参 考 资 料

[1] *Acta Endocrinol*, **78** (1975), Suppl. 194, 447.
[2] Boettcher, B. *et al.*, *Int. J. Fertil*, **15** (1970), 143.
[3] Jones, W. R., *Acta Endocrinol*, **78** (1975), Suppl. 194, 376.
[4] El-Alfi, O. S. & Bassili, F., *J. Reprod. Fertil.*, **21** (1970), 23.
[5] Voisin, G. A., Toullet, F. & Almeida, M. D., *Acta Endocrinol*, **78** (1975), Suppl. 194, 173.
[6] Goldberg, E. *et al.*, *Nature*, **228** (1970), 570.
[7] Fellous, M. & Dousset, J., *Nature*, **225** (1970), 191.
[8] Goldberg, E. *et al.*, *Nature*, **232** (1971), 478.
[9] Shivers, C. A. & Dudkiewicz, A. B., In *Physiology and genetics of Reproduction*, **4** (1973), Part B, 81.
[10] Oikawa, T. *et al.*, *Nature*, **241** (1973), 256.
[11] Oikawa, T. & Yanagimachi, R., *J. Reprod. Fertil.*, **45** (1975), 487.
[12] Bahl, O. P., In *Hormonal Proteins and Peptides*, 1973, 171.
[13] Stevens, V. C., *Acta Endocrinol*, **78** (1975), Suppl. 194, 357.
[14] Stevens, V. C., *Reseasch in Reprod*, **7** (1975), 1.
[15] Stevens, V. C., In *Immunization with Hormones in Reproduction Research* (ed. E. Nieschlag), North-Holland Publ. Co., 1975, 217.
[16] Talwar, G. P. *et al.*, *Proc. Nat. Acad. Sci.* (U. S.), **73** (1976), 218; *Contraception*, **13** (1976), 2, 125—268.
[17] Bohn, H., *Arch. Gynak*, **210** (1971), 440.
[18] Bohn, H., *Blut.*, **24** (1972), 292.

[上接 290 页]

参 考 资 料

[1] 上海昆虫研究所引诱剂组. 昆虫知识, 1974, 11, 8.
[2] Jacobson, M., *Insect Sex Pheromones*, Academic press, New York and London, 1972.
[3] 周维善, 化学通报, 1975, 1, 31.
[4] Hummel, H. E., *et al.*, *Science*, **181** (1973), 873.
[5] Beroza, M., *Toxicol. Environ. Chem. Rev.*, 1972, 1, 134.
[6] Roelofs, W. L. & Comeau, A., *Proc. 2nd International Cong. of Pesticide Chem. IUPAC*, 1971, 91.
[7] Beroza, M., *J. Chromatog. Sci.*, **13** (1975), 314.
[8] Toscano, N. C., *et al.*, *J. Econ. Entomol.*, **67** (1974), 522.
[9] Roelofs, W. L., *et al.*, *J. Econ. Entomol.*, **63** (1970), 1162.
[10] Granett, J. & Doane, C. C., *J. Econ. Entomol.*, **68** (1975), 435.