临床研究 DOI：10.13406/j.cnki.cyxb.003612

低滴度抗核抗体阳性与冻融胚胎移植妊娠结局的相关性研究

徐书凝[1]，贾　珠[1]，张　宁[2]

（1.山东中医药大学第一临床医学院，济南　250014；2.山东中医药大学附属医院生殖中心，济南　250014）

【摘　要】目的：探讨低滴度抗核抗体（anti-nuclear antibody，ANA）阳性与冻融胚胎移植（frozen embryo transfer，FET）妊娠结局的相关性。**方法：**筛选2019年1月至2022年1月于山东中医药大学附属医院生殖中心行FET患者的临床资料共1 562例，根据ANA检测结果分为低滴度阳性组155例和阴性组1 407例，将2组进行倾向性评分匹配后得到阳性组与对照组各48例，进行回顾性研究比较2组患者的妊娠结局。**结果：**阳性组较对照组年龄（*P*=0.027）更大，临床妊娠率（*P*=0.008）、活产率（*P*=0.012）更低，差异有统计学意义，2组间异位妊娠率、流产率、早产率、单胎早产率、单胎出生体质量、单胎出生身长差异无统计学意义（*P*>0.05），低滴度ANA阳性是FET临床妊娠（*P*=0.008）、活产（*P*=0.014）的独立影响因素，低滴度ANA阳性较ANA阴性患者FET更难获得临床妊娠（*OR*=0.325，95%CI=0.140~0.750）和活产（*OR*=0.342，95%CI=0.146~0.801）。**结论：**低滴度ANA阳性与FET妊娠结局有关，对临床妊娠和活产有不利影响。

【关键词】胚胎移植；抗核抗体；妊娠结局

【中图分类号】R114　　**【文献标志码】**A　　**【收稿日期】**2023-07-19

Correlation between low anti-nuclear antibody titers and pregnancy outcomes after frozen embryo transfer

Xu Shuning[1]，*Jia Zhu*[1]，*Zhang Ning*[2]

（*1. The First Clinical Medical College of Shandong University of Traditional Chinese Medicine*；

2. Reproductive Center of the Affiliated Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine）

【Abstract】*Objective*：To determine the correlation between low anti-nuclear antibody（ANA）titers and pregnancy outcomes after frozen embryo transfer（FET）. ***Methods*：**Clinical data were collected from 1 562 patients undergoing FET at the Reproductive Center of the Affiliated Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine between January 2019 and January 2022. The patients were initially divided into the low-titer ANA-positive group（*n*=155）and ANA-negative group（*n*=1 407）based on their ANA test results. After propensity score matching，there were 48 patients each in the ANA-positive and ANA-negative groups. The pregnancy outcomes of the two groups were retrospectively analyzed. ***Results*：**Patients in the ANA-positive group were older than those in the ANA-negative group（*P*=0.027），with significantly lower clinical pregnancy rate（*P*=0.008）and live birth rate（*P*=0.012）. There were no significant differences in ectopic pregnancy rate，miscarriage rate，premature birth rate，single premature birth rate，single birth weight，and single birth length between the two groups（*P*>0.05）. Low-titer ANA positivity was an independent influencing factor for clinical pregnancy（*P*=0.008）and live birth（*P*=0.014）after FET. Clinical pregnancy（*OR*=0.325，95%CI=0.140-0.750）and live birth（*OR*=0.342，95%CI=0.146-0.801）after FET were more difficult for patients with low-titer ANAs compared to those without ANAs. ***Conclusion*：**Low ANA titers are associated with FET pregnancy outcomes and have adverse effects on clinical pregnancy and live birth.

【Key words】embryo transfer；anti-nuclear antibody；pregnancy outcomes

抗核抗体（anti-nuclear antibody，ANA）是针对细胞核成分为靶抗原产生的自身抗体的总称。ANA阳性常见于自身免疫性疾病，但健康人群中也能检出，尤其是低滴度阳性。国内流行病学调查研究显示，健康人群ANA阳性率约为14%，但滴度较低，多为1∶100，且健康女性的ANA阳性率较健康男性

作者介绍：徐书凝，Email：1172465715@qq.com，
研究方向：生殖内分泌疾病、不孕不育症。

通信作者：张　宁，Email：ning_zhang1975@163.com。

优先出版：https://link.cnki.net/urlid/50.1046.R.20241114.1818.004
（2024-11-18）

更高，高达19%[1]。既往ANA阳性与妊娠结局间的相关性研究多针对不明原因复发性流产（unexplained recurrent spontaneous abortion，URSA）或体外受精/卵胞浆内显微注射-胚胎移植（in vitro fertilization/intra-cytoplasmic sperm injection-embryo transfer，IVF/ICSI-ET）进行，针对冻融胚胎移植（frozen embryo transfer，FET）的研究极少，且低滴度ANA阳性作为在健康人群中也常检出的免疫异常指标，是否对其提前筛查及干预均不明确。为探究低滴度ANA阳性与FET妊娠结局间是否存在相关性，进行了研究如下。

1 资料与方法

1.1 资料

取2019年1月至2022年1月于山东中医药大学附属医院生殖中心行FET助孕的不孕症患者，从中筛选出满足下述标准的病例：纳入标准：年龄<40岁；月经周期规律；使用自然周期制备内膜；胚胎来自夫妇本人的卵母细胞及精子；近半年内未服用免疫抑制剂。排除标准：有复发性流产病史；有反复着床失败病史；未经治疗的慢性子宫内膜炎患者；有多囊卵巢综合征、子宫内膜异位症等其他生殖系统疾病病史；ANA中、高滴度阳性；除ANA阳性外有其他自身免疫性疾病病史；生殖道解剖形态异常；有高泌乳素血症、高雄激素血症、糖尿病等其他内分泌疾病病史；夫妇染色体异常；有心、肝、肾等系统性疾病病史。

将以上筛选出的病例根据ANA检测结果进行分组，ANA低滴度阳性为低滴度阳性组，阴性为阴性组。将筛选出的2组病例以预测变量为年龄、体质指数、不孕年限、不孕类型、基础FSH、基础LH、基础E2、移植胚胎类型、移植胚胎数、移植优质胚胎数，卡钳值为0.02，比例为1∶1使用SPSS软件进行倾向性评分匹配（propensity score matching，PSM），匹配后的2组命名为阳性组与对照组，进行回顾性研究。

1.2 方法

1.2.1 胚胎评分标准 按Peter卵裂期胚胎评分系统评估卵裂期胚胎质量。Ⅰ级：卵裂球大小均匀，形状规则，透亮，碎片<10%；Ⅱ级：卵裂球稍不均匀或形状稍不规则，胞质有颗粒现象，碎片在10%~20%；Ⅲ级：卵裂球明显不均匀或形状明显不规则，胞质有颗粒现象，碎片>20%~50%；Ⅳ级：卵裂球严重不均匀或形状严重不规则，胞质有颗粒现象，碎片>50%。将Ⅰ级胚胎定义为优质胚胎，Ⅱ级胚胎定义为可用胚胎。

1.2.2 ANA检测过程 进入FET周期前采集受检者静脉血3 mL于真空采血管中，3 500 r/min离心5 min，取血清检测。ANA荧光核型分析采用间接免疫荧光法，使用人上皮HEp-2细胞系和猴肝组织细胞两种生物薄片、德国欧蒙医学实验诊断试剂公司的ANA荧光核型检测试剂盒进行检测，稀释比为1∶100、1∶320和1∶1 000。ANA滴度≥1∶100为阳性，ANA滴度≥1∶100、<1∶320为低滴度阳性。

1.2.3 FET周期过程 进入周期后，于月经周期第9日始每日超声监测卵泡发育情况，确定排卵日。卵裂期胚胎（D3）移植：于排卵日始连续给予黄体酮注射液（浙江仙琚制药股份有限公司）20 mg/d×3 d，排卵后第3天进行胚胎移植。囊胚（D5）移植：排卵日始连续给予黄体酮注射液（同上）20 mg/d×5 d，排卵后第5天进行囊胚移植。若排卵日内膜厚度<7 mm则取消移植。采用玻璃化解冻，每次最多移植两枚胚胎。

1.2.4 临床指标定义 临床妊娠定义为移植后35 d超声下见宫腔内存在胎心搏动。流产定义为在妊娠28周前失去临床妊娠。活产定义为有至少1名存活胎儿分娩。早产定义为在妊娠37周之前分娩存活胎儿。

1.3 统计学方法

使用SPSS 25.0进行统计分析。连续变量中的正态分布数据以均数±标准差（$\bar{x}\pm s$）表示，非正态分布数据以中位数（四分间距）[M_d（P_{25}，P_{75}）]表示；分类变量以例数（百分比）表示。使用t检验或Mann-Whitney U检验比较连续变量，使用卡方检验比较分类变量。以年龄<35岁赋值0，35岁≤年龄<40岁赋值1；ANA阴性赋值0，ANA低滴度阳性赋值1进行二分类logistic逐步回归分析，计算具有95%置信区间（confidence interval，CI）的优势比（odds ratio，OR）。检验水准α=0.05。

2 结 果

2.1 患者一般资料

共纳入1 562例患者，其中低滴度阳性组155例、阴性组1 407例。PSM后，共有96例患者（阳性组、对照组各48例）纳入本研究，2组患者间年龄差异存在统计学意义（Z=-2.213，P=0.027），阳性组年龄更大；余基线资料比较差异无统计学意义（P>0.05）；见表1。

2.2 2组患者的妊娠结局比较

2组患者的临床妊娠率（χ^2=7.119，P=0.008）、活产率（χ^2=6.272，P=0.012）差异有统计学意义，阳性组的临床妊娠率、活产率较对照组更低；异位妊娠率（χ^2=0.000，P=1.000）、流产率（χ^2=0.000，P=1.000）、早产率（χ^2=0.000，P=1.000）、单胎早产率（χ^2=0.044，P=0.835）、单胎出生体质量（Z=-1.341，P=0.180）、单胎出生身长（Z=-1.259，P=0.208）在2组间差异无统计学意义；阳性组双胎活产仅2例，对照组无双胎活产，故

表中数据部分缺失（用“/”表示）。见表2。

2.3 低滴度ANA阳性、年龄与FET临床妊娠的logistic回归分析

年龄未被纳入逐步回归方程，低滴度ANA阳性是FET临床妊娠的独立影响因素（*OR*=0.325，95%CI=0.140～0.750，*P*=0.008），低滴度ANA阳性较ANA阴性患者更难获得FET临床妊娠。

2.4 低滴度ANA阳性、年龄与FET活产的Logistic回归分析

年龄未被纳入逐步回归方程，低滴度ANA阳性是FET活产的独立影响因素（*OR*=0.342，95%CI=0.146~0.801，*P*=0.014），低滴度ANA阳性较ANA阴性患者更难获得FET活产。

2.5 低滴度ANA阳性对IVF/ICSI胚胎质量的影响

比较PSM后患者前次IVF/ICSI周期的Gn天数（*Z*=−0.754，*P*=0.451）、Gn总量（*Z*=−1.265，*P*=0.206）、获卵数（*Z*=−0.947，*P*=0.344）、优质胚胎率（*Z*=−1.892，*P*=0.058），阳性组的优质胚胎率存在明显下降趋势。见表3。

2.6 低滴度ANA阳性对子宫内膜容受性的影响

比较PSM后患者FET周期的排卵前内膜厚度（*t*=−0.473，*P*=0.638）、排卵前雌二醇水平（*Z*=−0.557，*P*=0.578）、排卵前孕酮水平（*t*=−0.229，*P*=0.819）、移植日雌二醇水平（*Z*=−0.524，*P*=0.600）、移植日孕酮水平（*Z*=−0.136，*P*=0.892），差异均无统计学意义。见表4。

表1 匹配前后2组患者的基线资料比较[$M_d(P_{25},P_{75})$;*n*,%]

临床资料		匹配前		匹配后	
		低滴度阳性组（*n*=155）	阴性组（*n*=1 407）	阳性组（*n*=48）	对照组（*n*=48）
年龄（岁）		32(31,35)	32(30,35)	32(30,33)[a]	31(28.3,32)
体质指数（kg/m²）		22.7(20.6,26.4)	23.4(20.8,26.0)	22.3(19.2,25.4)	23.1(20.8,26.2)
不孕年限（年）		3(2,4)	3(2,5)	3(2,4.8)	3(4,2)
不孕类型	原发	71/155(45.8)	581/1 407(41.3)	22/48(45.8)	22/48(45.8)
	继发	84/155(54.2)	826/1 407(58.7)	26/48(54.2)	26/48(54.2)
基础FSH（mIU/mL）		6.9(5.98,7.50)	6.9(6.16,7.68)	7.1(6.1,7.9)	6.8(6.0,7.5)
基础LH（mIU/mL）		4.8(4.34,5.56)	4.9(4.48,5.46)	4.7(4.3,5.7)	4.9(4.6,5.5)
基础E2（pg/mL）		28(24,35)	29(25,36)	27.5(24,32)	27(23.3,34)
移植胚胎类型（%）	D3	130(83.9)	1 171(83.2)	23(47.9)	26(54.2)
	D5	25(16.1)	236(16.8)	25(52.1)	22(45.8)
移植胚胎数（个）	单	39(25.2)	356(25.3)	35(72.9)	34(70.8)
	双	116(74.8)	1 051(74.7)	13(27.1)	14(29.2)
移植优质胚胎数（个）		1(0,1)	1(0,1)	1(0,1)	0(0,1)

注：a，与对照组比较，*P*< 0.05

表2 2组患者的妊娠结局比较[*n*/*n*;$M_d(P_{25},P_{75})$]

组别	临床妊娠率（%）	异位妊娠率（%）	流产率（%）	活产率（%）	早产率（%）	单胎早产率（%）	双胎早产率（%）	单胎出生体质量（g）	双胎出生体质量（g）	单胎出生身长（cm）	双胎出生身长（cm）
阳性组（*n*=48）	15/48 (31.3)[a]	1/48 (0.0)	2/15 (13.3)	13/48 (27.1)[a]	3/13 (23.1)	2/11 (18.2)	1/2 (50.0)	3 600 (3 500,3950)	3 000(/)	50(49,52)	49(/)
对照组（*n*=48）	28/48 (58.3)	0/48 (0.0)	3/28 (10.7)	25/48 (52.1)	7/25 (28.0)	7/25 (28.0)	/	3 350 (2 885,3 675)	/	50(48,50)	/

注：a，与对照组比较，*P*<0.05

表3 低滴度ANA阳性对IVF/ICSI胚胎质量的影响[(*n*,%);$M_d(P_{25},P_{75})$]

组别	前次取卵周期的控制性卵巢刺激方案	前次取卵周期的受精方式	Gn天数（d）	Gn总量（单位）	获卵数（个）	优质胚胎率（%）
阳性组（*n*=48）	拮抗剂方案[19(39.6)] 黄体期长方案[29(60.4)]	IVF[42(87.5)] ICSI[6(12.5)]	10(9,12)	2 250.0(1 950.0,2 475.0)	16.5(12.3,22.0)	18.2(0.0,40.0)
对照组（*n*=48）	拮抗剂方案[20(41.7)] 黄体期长方案[28(58.3)]	IVF[40(83.3)] ICSI[8(16.7)]	11(9,12)	2 400.0(2 006.3,2 743.8)	17.0(11.3,20.8)	21.6(14.5,50.0)

表 4　低滴度 ANA 阳性对子宫内膜容受性的影响[$\bar{x} \pm s$；$M_d(P_{25},P_{75})$]

组别	排卵前内膜厚度（mm）	排卵前雌二醇水平（pg/mL）	排卵前孕酮水平（ng/mL）	移植日雌二醇水平（pg/mL）	移植日孕酮水平（ng/mL）
阳性组（n=48）	10.0 ± 1.1	210.1 ± 43.1	0.85 ± 0.17	128.4（93.4，162.4）	19.1（14.1，21.8）
对照组（n=48）	9.9 ± 1.1	205.1（178.8，256.2）	0.84 ± 0.16	127.4（94.9，167.3）	18.6 ± 5.9

3　讨　论

在上述研究中，匹配前 2 组间基线资料比较差异均无统计学意义，但在匹配后两组间基线资料比较中发现阳性组年龄明显升高，ANA 阳性率在不同年龄段的健康不孕女性间是否存在差异，需后续研究论证。在匹配后 2 组间妊娠结局的比较中发现临床妊娠率、活产率在阳性组中均有明显下降，为排除这种下降与阳性组年龄偏高有关，随后又进行了纳入年龄因素的回归分析，结果显示 ANA 低滴度阳性是 FET 后临床妊娠、活产的独立影响因素，存在不利影响。研究同时发现阳性组的优质胚胎率有明显下降趋势，低滴度 ANA 阳性患者 FET 临床妊娠率、活产率的降低可能与胚胎质量下降有关。李颖等[2]同样发现 ANA 会影响胚胎质量，表现在成熟卵率、受精率、优质胚胎率等明显下降。究其原因，Ying Y 等[3]研究发现卵泡液 ANA 与血清 ANA 水平成正比，且 Li Y 等[4]在卵泡液 ANA 阳性患者的卵泡液中发现明显增多的细胞凋亡标志物。Wu SQ 等[5]同样发现 ANA 阳性抑制细胞滋养细胞增殖并加快其凋亡。除细胞凋亡增加外，González-Chávez SA 等[6]研究发现 ANA 阳性患者妊娠期间 DNA 发生过度损伤反应，这都可能引起胚胎质量下降。此外，既往研究中发现 ANA 阳性引起的免疫失调、子宫动脉血流受损也可能是影响 ANA 阳性患者妊娠结局的原因。Dei Zotti F 等[7]研究发现 ANA 阳性患者的 $CD4^+$T 细胞代谢活性增强，18 ~ 40 岁年龄范围内患者还伴有 $CD4^+$T 细胞亚群比例改变，表现为 TH2 和 $TH17CD4^+$T 细胞比例明显增加。Pietropolli A 等[8]研究发现 ANA 阳性患者在整个月经周期中的子宫动脉阻力均明显升高。本研究未发现低滴度 ANA 阳性会对子宫内膜容受性产生影响，受限于回顾性研究，未分析子宫动脉血流，仅在排卵前血清激素水平、排卵前内膜厚度、移植日血清激素水平间未发现差异存在统计学意义。

ANA 阳性对 FET 妊娠结局的研究较少，但大量研究已证实 ANA 阳性会对 IVF/ICSI-ET 妊娠结局造成不利影响，2019 年[9]及 2023 年[10]的 Meta 分析研究均显示，ANA 阳性会引起 IVF/ICSI-ET 胚胎着床率、临床妊娠率明显下降，流产率明显升高。但也有极少数研究得出相反结论，Chen X 等[11]研究发现 ANA 阳性与 IVF/ICSI-ET 妊娠结局无关，这可能与未进行抗体滴度分组有关。ANA 阳性患者的抗体滴度越高，妊娠结局可能越差，且妊娠前后 ANA 滴度的变化也可能影响妊娠结局。Li Y 等[12]研究发现 ANA 阳性患者 IVF/ICSI-ET 早期流产率随着抗体滴度的升高而增加。Sakthiswary R 等[13]研究发现 ANA 阳性 uRSA 患者的流产次数与抗体滴度明显相关。Ticconi C 等[14]研究发现 ANA 阳性 uRSA 患者在妊娠早期抗体转阴较妊娠期间抗体持续阳性患者的流产率明显下降。Sun S 等[15]研究发现 ANA 阳性 uRSA 患者妊娠后的抗体滴度变化是活产结局的独立影响因素。此外，也有极少量研究结论不支持 ANA 阳性患者的抗体滴度与妊娠结局间存在关联，Zhu Q 等[16]研究发现 ANA 阳性患者 IVF/ICSI-ET 胚胎着床率及临床妊娠率下降，早期流产率升高，但未在亚组分析中发现此种影响的不同，ANA 滴度≤1∶320 亚组的 IVF/ICSI-ET 妊娠结局与 ANA 滴度>1∶320 亚组相似。本研究选取 ANA 低滴度阳性作为阳性组，抗体滴度虽低但回归分析结果表明阳性组 FET 临床妊娠及活产的概率仅为对照组的 32.5%（OR=0.325）及 34.2%（OR=0.342），已足够引起重视，更高滴度的 ANA 对妊娠结局的影响仍需进一步研究。在临床工作中发现健康不孕女性的 ANA 中滴度（ANA≥1∶320、<1∶1 000）阳性较为少见，高滴度（≥1∶1 000）阳性更是极为少见，样本数量的局限性可能是研究较难开展的主要原因。

参 考 文 献

[1] Li XY, Liu X, Cui JJ, et al. Epidemiological survey of antinuclear antibodies in healthy population and analysis of clinical characteristics of positive population[J]. J Clin Lab Anal, 2019, 33(8): e22965.

[2] 李 颖，兰永连，梁 毓，等. 抗核抗体对胚胎发育的影响研究[J]. 中国优生与遗传杂志，2019，27(11)：1387-1389.
Li Y, Lan YL, Liang Y, et al. Study on the effect of antinuclear antibody on embryo development[J]. Chin J Birth Health Hered, 2019, 27(11): 1387-1389.

[3] Ying Y, Zhong YP, Zhou CQ, et al. A further exploration of the impact of antinuclear antibodies on *in vitro* fertilization-embryo transfer outcome[J]. Am J Reprod Immunol, 2013, 70(3): 221-229.

[4] Li Y, Wang YP, Lan YL, et al. Antinuclear antibodies in follicular fluid may reduce efficacy of *in vitro* fertilization and embryo transfer by invading endometrium and granular cells[J]. Am J Reprod Immunol, 2020, 84(4): e13289.

[5] Wu SQ, Zhang L, Liu XD, et al. Antinuclear antibodies in follicular fluid may be a risk factor *in vitro* fertilization and embryo transfer[J]. Am J Reprod Immunol, 2022, 88(1): e13560.

[6] González-Chávez SA, Burrola-De Anda JI, Mireles-Canales P, et al. Dynamics of DNA damage response markers, RAD51 and XRCC1, throughout the menstrual cycle and pregnancy in healthy women. Increment during pregnancy and relation to a low titer of antinuclear antibodies[J]. Am J Reprod Immunol, 2022, 88(4): e13597.

[7] Dei Zotti F, Moriconi C, Qiu AN, et al. Distinct $CD4^+$ T cell signature in ANA-positive young adult patients[J]. Front Immunol, 2022, 13: 972127.

[8] Pietropolli A, Bruno V, Capogna MV, et al. Uterine blood flow indices, antinuclear autoantibodies and unexplained recurrent miscarriage [J]. Obstet Gynecol Sci, 2015, 58(6): 453-460.

[9] Zeng MF, Wen P, Duan JL. Association of antinuclear antibody with clinical outcome of patients undergoing *in vitro* fertilization/intracytoplasmic sperm injection treatment: a meta-analysis[J]. Am J Reprod Immunol, 2019, 82(3): e13158.

[10] Ticconi C, Inversetti A, Logruosso E, et al. Antinuclear antibodies positivity in women in reproductive age: from infertility to adverse obstetrical outcomes-a meta-analysis[J]. J Reprod Immunol, 2023, 155: 103794.

[11] Chen X, Mo ML, Huang CY, et al. Association of serum autoantibodies with pregnancy outcome of patients undergoing first IVF/ICSI treatment: a prospective cohort study[J]. J Reprod Immunol, 2017, 122: 14-20.

[12] Li Y, Wang YP, Ma YM, et al. Investigation of the impact of antinuclear antibody on the outcome of *in vitro* fertilization/intracytoplasmic sperm injection treatment[J]. Taiwan J Obstet Gynecol, 2015, 54(6): 742-748.

[13] Sakthiswary R, Rajalingam S, Norazman MR, et al. Antinuclear Antibodies predict a higher number of Pregnancy Loss in Unexplained Recurrent Pregnancy Loss[J]. Clin Ter, 2015, 166(2): 98-101.

[14] Ticconi C, Pietropolli A, Borelli B, et al. Antinuclear autoantibodies and pregnancy outcome in women with unexplained recurrent miscarriage[J]. Am J Reprod Immunol, 2016, 76(5): 396-399.

[15] Sun S, Li CC, Kou X, et al. Association of prednisone and antinuclear antibodies with pregnancy outcomes in women with unexplained recurrent pregnancy loss[J]. Int J Gynaecol Obstet, 2021, 154(3): 492-499.

[16] Zhu Q, Wu L, Xu B, et al. A retrospective study on IVF/ICSI outcome in patients with anti-nuclear antibodies: the effects of prednisone plus low-dose aspirin adjuvant treatment[J]. Reprod Biol Endocrinol, 2013, 11: 98.

（责任编辑：曾 玲）