·论著·

精子高DNA可染性与精液常规参数的相关性

关小川，马明，张宁，白雪，刘星池，周静，于月新
（中国人民解放军北部战区总医院生殖医学科，沈阳 110003）

摘要 目的 探讨精子高DNA可染性（HDS）与精液常规参数的关系。**方法** 收集于我院生殖中心就诊的396例育龄男性的精液标本，分析HDS与精液常规参数及年龄的相关性。采用多元线性回归，找出对HDS影响最大的精液常规参数。进一步分析244例畸形精子症患者中精子HDS、精子DNA碎片指数（DFI）与精液常规参数及年龄的相关性。按畸形精子症严重程度，将244例患者分为极重度、重度、中度、轻度畸形精子症4组，比较各组间HDS、DFI和精液常规参数的差异。**结果** HDS与精子总数、精子浓度、前向运动精子百分率、正常形态精子百分率（NSMR）呈显著负相关（$P<0.01$）。在调整混杂因素（包括精子总数、精子浓度、前向运动精子百分率、NSMR、DFI）后，NSMR对HDS存在最显著的负性影响（$P<0.05$）。244例畸形精子症患者中，HDS与NSMR呈显著负相关（$P<0.01$），与精子头部和尾部畸形比例呈显著正相关（$P<0.05$）；DFI与精子尾部畸形比例呈显著正相关（$P<0.01$）。极重度、重度、中度、轻度畸形精子症组中，畸形程度越重，精子头部畸形比例越高（$P<0.001$）。4组间两两比较，精子头部畸形比例的差异有统计学意义（$P<0.001$），且极重度组HDS显著高于轻度组和中度组（$P<0.05$）；4组间 DFI 无统计学差异（$P>0.05$）。**结论** HDS与精液常规参数关系密切，是反映精子质量尤其是精子头部畸形程度的一项重要标志物。

关键词 高DNA可染性；DNA碎片指数；精液常规参数；精子头部畸形
中图分类号 R698 **文献标志码** A **文章编号** 0258-4646（2025）05-0414-05
网络出版地址 https://link.cnki.net/urlid/21.1227.R.20250519.1526.028
DOI：10.12007/j.issn.0258-4646.2025.05.006

Relationship between high DNA stainability of sperm and routine semen parameters

GUAN Xiaochuan，MA Ming，ZHANG Ning，BAI Xue，LIU Xingchi，ZHOU Jing，YU Yuexin
（Department of Reproductive Medicine，General Hospital of Northern Theater Command，Shenyang 110003，China）

Abstract Objective To investigate the relationship between high DNA stainability（HDS）and routine semen parameters. **Methods** Semen samples were collected from 396 men of childbearing age who were admitted to our department. Correlations of HDS with routine semen parameters and age were analyzed. Multiple linear regression analysis was performed to identify the routine semen parameters that had the greatest influence on HDS. The correlation of HDS and DNA fragmentation index（DFI）with routine semen parameters and age in 244 patients with teratozoospermia was analyzed. The 244 patients were divided into extremely severe，severe，moderate，and mild teratozoospermia groups，and differences in HDS，DFI，and routine semen parameters were compared among the four groups. **Results** HDS was negatively correlated with total sperm count，sperm concentration，sperm progressive motility，and normal sperm morphology rate（NSMR）（$P<0.01$）. After adjusting for potential confounders，including total sperm count，sperm concentration，sperm progressive motility，NSMR，and DFI，NSMR had the most significant negative effect on HDS（$P<0.05$）. In the 244 patients with teratozoospermia，HDS was negatively correlated with NSMR（$P<0.01$）and positively correlated with the percentage of sperm head and tail abnormalities（$P<0.05$），while DFI was positively correlated with the percentage of sperm tail abnormalities（$P<0.01$）. There was a significant difference in the percentage of sperm head abnormalities among the four teratozoospermia groups. The more severe the malformation，the higher the percentage of sperm head abnormalities was（$P<0.001$）. HDS in the extremely severe teratozoospermia group was significantly higher than that in the mild and moderate teratozoospermia groups（$P<0.05$）. No significant differences in DFI were found among the four groups（$P>0.05$）. **Conclusion** HDS was closely correlated with routine semen parameters and was a crucial biomarker for assessing sperm quality，particularly the extent of sperm head abnormalities.

Keywords high DNA stainability；DNA fragmentation index；routine semen parameter；sperm head abnormality

临床上男性生育力评估的基本依据是精液常规分析，但是仅根据精子的显微细胞特征评估其质量，提供的男性生育力信息有限，且不能完全解释男性不育的原因[1]。近年来，随着流式细胞术检

基金项目：辽宁省科学技术计划（2023JH2/101700091）
作者简介：关小川（1981-），男，副主任医师，本科.
通信作者：于月新，E-mail：yuyuexinpingan@163.com
收稿日期：2024-11-15
网络出版时间：2025-05-20 11:16:40

测技术的逐渐成熟，以吖啶橙（acridine orange，AO）作为染料的精子染色质结构分析（sperm chromatin structure assay，SCSA）[2-3]技术已经广泛用于不育和接受辅助生殖的患者[4]。SCSA主要用于检测精子DNA碎片指数（DNA fragmentation index，DFI）和精子高DNA可染性（high DNA stainability，HDS）。DFI已被广泛用于男性生殖领域。HDS作为检测染色质结构异常的另一项指标，人们对其临床应用价值仍存在不同意见[5-6]。本研究通过分析HDS与精液常规参数的相关性，探索其在男性生育力评估中的价值，为男性不育的进一步临床治疗提供更多的理论依据。

1　材料与方法

1.1　研究对象和分组

收集2024年9月至10月于我院生殖医学科男科门诊就诊的396例育龄男性的精液标本。396例受试者平均年龄（32.1 ± 5.2）岁；其中，精子形态学参数异常（畸形精子症）244例，精子数量参数异常68例，精子活力参数异常112例，精液各项参数均正常121例。

将244例畸形精子症患者按精子畸形程度分为极重度畸形精子症组（35例，14.3%）、重度畸形精子症组（56例，23.0%）、中度畸形精子症组（61例，25.0%）和轻度畸形精子症组（92例，37.7%）。

纳入标准：年龄<50岁；近3个月内未接受任何与生育有关的药物治疗。排除标准：无精子症患者；白细胞精子症患者；精液液化障碍及黏稠度异常患者；染色体结构异常者；隐睾症患者；有生殖系统恶性肿瘤病史者；有放疗史或化疗史者；有睾丸外伤、扭转或萎缩史者；有腮腺炎性睾丸炎史者；近期有病毒感染者；近期有发热者；患有全身和内分泌疾病者。本研究经中国人民解放军北部战区总医院伦理委员会批准。

1.2　精液参数检测和评估

精子质量评估根据世界卫生组织《人类精液检查与处理实验手册》第5版标准。

1.2.1　精液标本收集：禁欲2~7 d，手淫取精，避免污染。

1.2.2　精液常规参数检测：精液标本置于无菌容器中，放入37℃恒温箱水浴30~60 min，精液液化完全后，采用Hamilton Thorne IVOS Ⅱ全自动精子分析仪（美国Hamilton Thorne 公司）进行计算机辅助精子分析，分析精子总数、精子浓度、前向运动精子百分率。巴氏染色法制备精液涂片后，采用SAS-D6全自动精子质量分析仪［赛司医疗科技（北京）有限公司］识别每个异常形态精子，并辅助人工校对。计算正常形态精子百分率（normal sperm morphology rate，NSMR）、精子头部畸形比例、精子中段畸形比例、精子尾部畸形比例、畸形精子指数（teratozoospermia index，TZI）、多重异常指数（multiple anomalies index，MAI）和精子畸形指数（sperm deformity index，SDI）。其中，TZI=所有异常精子类型的总数/异常精子总数，MAI为每个异常精子的缺陷平均数，SDI=精子缺陷总数/精子总数。

1.2.3　精子染色质结构检测：根据文献［2］进行精液样本处理和染色，采用低pH值的活性剂溶液处理精液样本，使精子染色质变性，中和样本悬液后用含有AO的溶液染色。采用LongCyte C2060 型流式细胞仪（北京层浪生物科技有限公司）收集处理后的样本，计算HDS和DFI。

1.2.4　畸形精子症分度标准：（1）极重度畸形精子症，NSMR<1%；（2）重度畸形精子症，NSMR1%~<2%；（3）中度畸形精子症，NSMR2%~<3%；（4）轻度畸形精子症，NSMR3%~<4%。NSMR≥4%为正常。

1.3　统计学分析

采用SPSS 26.0软件对数据进行统计学分析。计量资料用$\bar{x} \pm s$表示，多组间比较采用单因素方差分析，组间两两比较采用t检验。采用Pearson相关性分析评估精液常规参数与HDS、DFI、年龄的相关性。使用前向多元线性回归分析识别与HDS显著相关的自变量。$P<0.05$为差异有统计学意义。

2　结果

2.1　典型高HDS流式细胞精子染色质结构分析图

图1为SCSA技术检测1例不育男性患者的精子染色质结构图。精子细胞核染色质经酸变性后进行AO染色，通过流式细胞仪分出3个明显不同的群：正常精子染色质结构群（G）；高HDS群（G1），HDS测值为40.43%；DNA碎片群（G2），DFI测值为5.46%。

2.2　HDS、DFI与精液常规参数、年龄的相关性

396例受试者中，HDS与精子总数、精子浓度、前向运动精子百分率、NSMR均呈显著负相关（$P<$

0.01）；DFI与前向运动精子百分率、NSMR呈显著负相关（$P<0.01$），与年龄呈显著正相关（$P<0.05$）。见表1。

2.3　影响HDS的精液常规参数的多元线性回归分析

在调整混杂因素（包括精子总数、精子浓度、前向运动精子百分率、NSMR、DFI）后，396例受试者中前向运动精子百分率、NSMR、DFI对HDS存在显著负性影响（$P<0.05$）。其中，NSMR对于HDS的影响程度最大，DFI其次。见表2。

2.4　畸形精子症患者中HDS、DFI与精液常规参数、年龄的相关性

244例畸形精子症患者中，HDS与NSMR呈显著负相关（$P<0.01$），与精子头部和尾部畸形比例呈显著正相关（$P<0.05$）；DFI与精子尾部畸形比例呈显著正相关（$P<0.01$）。见表3。

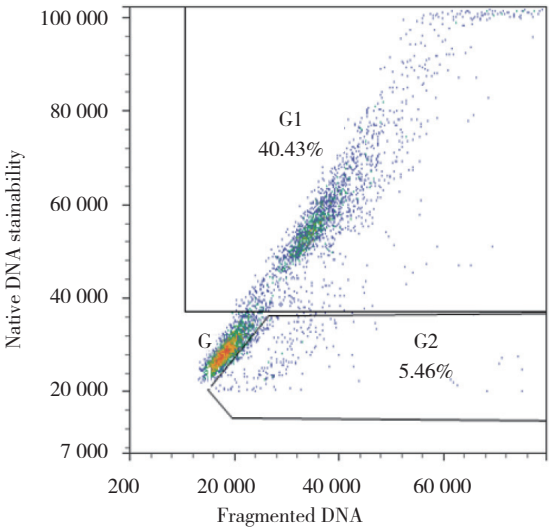


图1　典型的高HDS流式细胞精子染色质结构分析图

Fig.1　Typical flow cytometric analysis chart of sperm chromatin structure with HDS

表1　396例受试者中HDS、DFI与精液常规参数、年龄的相关性分析

Tab.1　Correlation analysis of HDS and DFI with routine semen parameters and age in 396 participants

Item	Total sperm count		Sperm concentration		PR		NSMR		Age	
	r	*P*	*r*	*P*	*r*	*P*	*r*	*P*	*r*	*P*
HDS	−0.271	<0.001	−0.326	<0.001	−0.283	<0.001	−0.226	<0.001	0.011	0.822
DFI	−0.027	0.597	0.067	0.181	−0.412	<0.001	−0.199	<0.001	0.148	<0.001

PR, progressive motility; NSMR, normal sperm morphology rate; HDS, high DNA stainability; DFI, DNA fragmentation index.

表2　396例受试者中影响HDS的精液常规参数的多元线性回归分析

Tab.2　Multiple linear regression analysis of routine semen parameters affecting HDS in 396 participants

Variate	*B*	*SE*	*β*	*t*	*P*	95%*CI*
Constant	9.714	0.932	–	10.425	<0.001	7.882 – 11.546
Total sperm count	−0.001	0.002	−0.045	−0.597	0.551	−0.004 – −0.002
Sperm concentration	−0.023	0.008	−0.231	−3.066	0.002	−0.039 – −0.008
PR	−0.019	0.829	−0.126	−2.375	0.018	−0.036 – −0.003
NSMR	−0.152	0.008	−0.119	−2.439	0.015	−0.275 – −0.030
DFI	0.072	0.026	0.142	2.789	0.006	0.021 – 0.123

PR, progressive motility; NSMR, normal sperm morphology rate; HDS, high DNA stainability; DFI, DNA fragmentation index.

表3　244例畸形精子症患者中HDS、DFI与精液常规参数、年龄的相关性分析

Tab.3　Correlation of HDS and DFI with routine semen parameters and age in 244 patients with teratozoospermia

Item	NSMR		HAR		MAR		TAR		TZI		SDI		MAI		Age	
	r	*P*	*r*	*P*	*r*	*P*	*r*	*P*	*r*	*P*	*r*	*P*	*r*	*P*	*r*	*P*
HDS	−0.218	0.001	0.218	0.001	−0.010	0.877	0.146	0.023	0.044	0.491	0.063	0.330	0.056	0.383	0.124	0.539
DFI	−0.046	0.472	0.082	0.201	−0.030	0.640	0.186	0.004	0.045	0.489	0.048	0.495	0.049	0.447	0.040	0.053

NSMR, normal sperm morphology rate; HAR, head abnormality ratio; MAR, midpiece abnormality ratio; TAR, tail abnormality ratio; TZI, teratozoospermia index; SDI, sperm deformity index; MAI, multiple anomalies index; HDS, high DNA stainability, DFI, DNA fragmentation index.

2.5　不同程度畸形精子症患者间HDS、DFI和精液常规参数的比较

极重度、重度、中度、轻度畸形精子症4组患者比较，精子头部畸形比例、精子尾部畸形比例、SDI、MAI、HDS的差异均有统计学意义（均$P<0.05$）。4组间两两比较，精子头部畸形比例的差异有统计学意义（$P<0.001$），畸形程度越重，精子头部畸形比例越高。极重度、重度组精子尾部畸形比例显著高于轻度组（$P<0.05$）。极重度、重度组SDI显著高于轻度组（$P=0.001$）。极重度组MAI显著高于轻度组（$P<0.05$）。极重度组HDS显著高于轻度组和中度组（$P<0.05$）。4组间DFI无统计学差异（$P>0.05$）。见表4。

表4　不同程度畸形精子症患者间HDS、DFI和精液常规参数的比较

Tab.4　Comparison of DFI，HDS，and routine semen parameters in patients with different degrees of teratozoospermia

NSMR	*n*	HAR(%)	MAR(%)	TAR(%)	TZI	SDI	MAI	HDS(%)	DFI(%)
Extremely severe	35	98.72±0.82	39.29±15.81	13.61±5.46	1.56±0.20	1.55±0.20	1.53±0.19	8.69±3.20	10.01±6.85
Severe	56	97.13±1.76[1)]	36.66±15.26	13.33±7.54	1.52±0.21	1.50±0.21	1.49±0.20	8.14±3.01	8.55±4.86
Moderate	61	95.46±2.66[1),2)]	38.04±14.17	11.64±7.04	1.52±0.18	1.48±0.18	1.49±0.17	7.22±2.67[1)]	8.11±4.63
Mild	92	93.92±2.36[1),2),3)]	33.97±15.48	10.38±5.46[1),2)]	1.46±0.20	1.41±0.19[1),2)]	1.43±0.18[1)]	7.35±2.31[1)]	9.30±6.94
F		51.676	1.462	3.533	2.633	5.500	2.722	3.206	0.990
P		<0.001	0.226	0.016	0.051	0.001	0.045	0.024	0.398

NSMR，normal sperm morphology rate；HAR，head abnormality ratio；MAR，midpiece abnormality ratio；TAR，tail abnormality ratio；TZI，teratozoospermia index；SDI，sperm deformity index；MAI，multiple anomalies index；HDS，high DNA stainability，DFI，DNA fragmentation index. 1）$P<0.05$ vs. extremely severe group；2）$P<0.05$ vs. severe group；3）$P<0.05$ vs. moderate group.

3　讨论

近年来，越来越多的体外和体内研究[7-8]证实了精子染色质结构在受精、早期胚胎发育、胚胎植入和妊娠中的重要性。EVENSON等[3,9]应用SCSA检测精子的染色质结构，这是基于AO分子穿透致密的精子染色质来实现的，可以作为精液常规检查的重要补充。AO与精子DNA单链或双链断裂部位结合呈现红色荧光，与无断裂的精子DNA结合呈现绿色荧光。在精子细胞逐渐成熟至精子的过程中，当精子组蛋白与鱼精蛋白转换异常时，精子组蛋白比例越高，精子染色质致密化程度越低，暴露的DNA与AO结合产生的绿色荧光越强，代表精子核成熟度越低[3]。

本研究结果显示，HDS与精子总数、精子浓度、前向运动精子百分率、NSMR呈显著负相关。近年来，刘星池等[10]通过回顾性研究发现HDS与精子运动参数相关。刘贞辉等[11]、丁旭锋等[12]的研究也得出与本研究大体一致的结果。为了进一步了解精液相关参数对HDS的影响程度，本研究在调整精子总数、精子浓度、前向运动精子百分率、NSMR、DFI、年龄这些因素后，发现NSMR对HDS存在最显著的负性影响，DFI次之。有研究[8]对1 393例不育男性的精液样本进行检查，发现畸形精子百分率增高与精子HDS增加有关，从另一个角度验证了本研究结果。

畸形精子症是导致男性不育的常见原因之一。精子按畸形部位不同，可以分为头部畸形、中段畸形以及尾部畸形。临床上精子的畸形多发生于头部，常见的畸形精子类型包括圆头精子症、大头精子症、无头精子症、无定形头、精子鞭毛多发形态异常等[13]。本研究中，为了解精子形态与HDS的关系，对精子形态异常的人群单独进行了分析。结果显示，在畸形精子症患者中，HDS与精子头部及尾部畸形比例关系密切，HDS越高，头部与尾部畸形比例越高。而DFI仅与精子尾部畸形比例有关。为了进一步验证HDS与精子头部形态的关系，本研究按精子畸形严重程度，将患者分为极重度、重度、中度、轻度畸形精子症4组。结果显示，4组间精子头部畸形比例存在统计学差异，畸形程度越严重，精子头部畸形比例越高。极重度HDS明显高于轻度组和中度组，4组间 DFI无统计学差异。上述研究结果证明，畸形精子症患者精子头部形态异常的原因更多是精子细胞核发育的成熟度异常，而不是DNA碎片增加。

HDS与男性生育能力的关系一直是研究关注

的热点问题。NI等[14]对12项关于精子染色质结构损伤和男性生育力关系的研究进行荟萃分析，结果发现，精子染色质结构损伤与鱼精蛋白缺乏症和男性生育能力下降密切相关。已有大量的人和动物研究[15-17]证实，鱼精蛋白缺乏和鱼精蛋白巯基氧化不完全都可能导致精子头部形态缺陷，这些结果提示精子染色质致密化可能是精子头部形态的重要决定因素。JERRE等[5]对1 602例行辅助生殖的男性精液进行研究，发现高HDS很可能对精液质量和辅助生殖结局产生不利影响。范烺等[18]对行体外受精的不育患者进行研究，结果发现，精子HDS可能是导致精子DFI增高、精子畸形的风险指标。精子头部承载着遗传物质，并负责与卵子结合。本研究结果证实了高HDS与精子头部畸形严重程度紧密相关，为高HDS导致男性生育力下降和辅助生殖的不良结局提供了有力的临床证据。

综上所述，HDS作为反映精子染色质结构异常的重要指标，与精子常规参数关系密切。畸形精子症患者中精子头部畸形比例与HDS关系最为密切，但与DFI无关。HDS很可能是反映精子质量尤其是精子头部畸形程度的一项重要标志物。因此，应进行进一步研究，深入探索HDS在男性生育力评估中的临床意义。

参考文献：

[1] LIU K，MAO X，PAN F，et al. Correlation analysis of sperm DNA fragmentation index with semen parameters and the effect of sperm DFI on outcomes of ART [J]. Sci Rep，2023，13 (1)：2717. DOI：10.1038/s41598-023-28765-z.

[2] 精子碎片实验室检测与临床应用专家共识编写组，张宁. 精子碎片实验室检测与临床应用专家共识——基于流式细胞精子染色质结构分析 [J]. 中华男科学杂志，2022，28 (2)：173-182. DOI：10.13263/j.cnki.nja.2022.02.013.

[3] EVENSON DP. The Sperm Chromatin Structure Assay (SCSA®) and other sperm DNA fragmentation tests for evaluation of sperm nuclear DNA integrity as related to fertility [J]. Anim Reprod Sci，2016，169：56-75. DOI：10.1016/j.anireprosci.2016.01.017.

[4] 檀畅，王喜良，张金艳，等. 精子DNA碎片指数对体外受精不同助孕方式妊娠结局的影响 [J]. 中国医科大学学报，2022，51 (9)：817-820. DOI：10.12007/j.issn.0258-4646.2022.09.009.

[5] JERRE E，BUNGUM M，EVENSON D，et al. Sperm chromatin structure assay high DNA stainability sperm as a marker of early miscarriage after intracytoplasmic sperm injection [J]. Fertil Steril，2019，112 (1)：46-53.e2. DOI：10.1016/j.fertnstert.2019.03.013.

[6] MOHAMMADI Z，TAVALAEE M，GHARAGOZLOO P，et al. Could high DNA stainability (HDS) be a valuable indicator of sperm nuclear integrity? [J]. Basic Clin Androl，2020，30：12. DOI：10.1186/s12610-020-00110-8.

[7] REX AS，WU C，AAGAARD J，et al. Implementation of an in-house flow cytometric analysis of DNA fragmentation in spermatozoa [J]. Asian J Androl，2020，22 (3)：246-251. DOI：10.4103/aja.aja_51_19.

[8] 胡嘉琪，王中伟，骆洁，等. 不育男性精子DFI、HDS与精子畸形程度及患者年龄的相关性研究 [J]. 中华男科学杂志，2022，28 (10)：881-885. DOI：10.13263/j.cnki.nja.2022.10.003.

[9] EVENSON DP. Sperm Chromatin Structure Assay (SCSA®) for fertility assessment [J]. Curr Protoc，2022，2 (8)：e508. DOI：10.1002/cpz1.508.

[10] 刘星池，李栗妍，杜超，等. 精子DNA碎片化与精子运动参数的相关性研究 [J]. 中国临床实用医学，2023，14 (3)：3-6. DOI：10.3760/cma.j.cn115570-20230411-00520.

[11] 刘贞辉，张琳，王红燕，等. 精子DNA碎片指数和高可染性指数对男性不育患者生育能力的诊断效能 [J]. 陕西医学杂志，2023，52 (9)：1159-1162. DOI：10.3969/j.issn.1000-7377.2023.09.010.

[12] 丁旭锋，汤姣，孙大林，等. 精子DFI、HDS与精子浓度及活力的相关性分析 [J]. 系统医学，2022，7 (23)：6-10. DOI：10.19368/j.cnki.2096-1782.2022.23.006.

[13] 中国医师协会生殖医学专业委员会生殖男科学组畸形精子症诊疗中国专家共识编写组. 畸形精子症诊疗中国专家共识 [J]. 中华生殖与避孕杂志，2021，41 (7)：600-609. DOI：10.3760/cma.j.cn101441-20210520-00229.

[14] NI K，SPIESS AN，SCHUPPE HC，et al. The impact of sperm protamine deficiency and sperm DNA damage on human male fertility：a systematic review and meta-analysis [J]. Andrology，2016，4 (5)：789-799. DOI：10.1111/andr.12216.

[15] MORITZ L，HAMMOUD SS. The art of packaging the sperm genome：molecular and structural basis of the histone-to-protamine exchange [J]. Front Endocrinol (Lausanne)，2022，13：895502. DOI：10.3389/fendo.2022.895502.

[16] UGUR MR，KUTCHY NA，DE MENEZES EB，et al. Retained acetylated histone four in bull sperm associated with fertility [J]. Front Vet Sci，2019，6：223. DOI：10.3389/fvets.2019.00223.

[17] PARDEDE BP，KARJA NWK，SAID S，et al. Bovine nucleoprotein transitions genes and protein abundance as valuable markers of sperm motility and the correlation with fertility [J]. Theriogenology，2024，215：86-94. DOI：10.1016/j.theriogenology.2023.11.015.

[18] 范烺，胡嘉琪，文壹，等. 不育男性精子HDS与精子DFI、精子形态的相关性及其对IVF结局的影响 [J]. 中华男科学杂志，2023，29 (4)：317-322. DOI：10.13263/j.cnki.nja.2023.04.005.

（编辑　陈　姜）