

淺談精子DNA碎片 (SDF) 哪些人建議進行檢測？



文·圖／生殖醫學中心 胚胎技術員 吳承芳

男性因素是導致不孕的重要原因之一，精液分析 (semen analysis) 為目前常規的檢測，根據世界衛生組織 (WHO) 於2021年發布的第六版精液分析參考標準，包含以下數據：精液體積 $\geq 1.4\text{mL}$ 、精子濃度 $\geq 16\text{M/mL}$ 、總活動力 $\geq 42\%$ 、前進活動力 $\geq 30\%$ 、正常精子型態 $\geq 4\%$ 等。

然而，部分患者儘管精液分析結果正常，仍存在生育困難的情形。近年研究發現精子染色體的完整性與生育能力密切相關，精子內部DNA的損傷 (sperm DNA damage) 會降低受精率、影響胚胎發育品質、減少自然受孕或人工生殖 (assisted reproductive technology, ART) 的成功率、增加流產風險。

傳統精液分析無法偵測精子內部DNA的損傷程度，精子DNA碎片檢測能評估染色體的完整性，透過計算DNA碎片指數 (DNA fragmentation index, DFI)，能追蹤男性生殖健康及治療成效。

什麼原因會導致精子DNA碎片？

人體體細胞的DNA主要以組織蛋白 (histone) 包裹，但成熟精子的染色體結構則不同，有約85%被精蛋白 (protamine) 取代，僅15%仍為組織蛋白，使得精子染色體高度濃縮。當精子受到內在或外在因素的影響，可能產生DNA損傷，包括鹼基錯配 (base mismatch)、鹼基脫落 (abasic site)、鹼基修飾 (base modifications)、單股斷裂 (single-strand break, SSB)、雙股斷裂 (double-strand break, DSB) 等，最終導致精子DNA碎片 (sperm DNA fragmentation, SDF)。

一 內在因素 (intrinsic factors)

1 精子分化異常 defective maturation

精子生成 (spermiogenesis) 是精細胞分化為精蟲的過程，歷經圓形精子細胞 (round spermatids)、長型精子細胞 (elongating spermatids)，最終形成具有頭部、頸部與尾部的完整精蟲。

在此過程中，表觀遺傳修飾 (epigenetic modifications) 使染色質暫時鬆散，並依賴第

二型拓樸異構酶（topoisomerase II）在DNA上製造可逆性切口以促進摺疊與濃縮。當第二型拓樸異構酶活性異常或是缺乏抑制因子，則可能導致DNA斷裂無法修復，影響染色體摺疊與精子成熟，產生DNA碎片。

2 精子不完全凋亡 abortive apoptosis

細胞凋亡（apoptosis）是移除受損或多餘細胞的正常生理機制，分為內在路徑（mitochondrial pathway）與外在路徑（death receptor pathway）。若異常或損傷的精子於發育過程中未能完全凋亡，可能觀察到排出的精子細胞膜表現Fas受體、粒線體出現凋亡特徵（apoptotic mitochondria），進一步導致精子DNA結構受損。

3 氧化壓力 oxidative stress, OS

活性氧化物（reactive oxygen species, ROS）如超氧陰離子（superoxide anion, O₂⁻）、氫氧自由基（hydroxyl radical, OH⁻）、過氧化氫（hydrogen peroxide, H₂O₂）等，為細胞正常代謝的副產物。當體內抗氧化機制失衡，即活性氧化物過多或抗氧化劑不足，會造成氧化壓力。

精蟲細胞膜上脂肪酸組成有別於體細胞富含多不飽和脂肪酸（polyunsaturated fatty acid, PUFA），能增加細胞膜的流動性，有助於精子獲能（capacitation）與頂體反應（acrosome reaction）。然而，精蟲細胞膜具雙鍵的特性，易與活性氧化物反應，且細胞質內抗氧化物有限，使精蟲對氧化壓力非常敏感。氧化壓力會導致脂質過氧化（lipid per-

oxidation）損傷細胞膜，影響受精能力；蛋白質氧化影響細胞骨架與活動力；DNA單股或雙股斷裂產生碎片。

二 外在因素（extrinsic factors）

- 1 臨床疾病：如泌尿生殖道感染、慢性發炎、接受化療、精索靜脈曲張（varicocele）等。其中，精索靜脈曲張會導致睪丸周圍溫度升高，造成高溫及缺氧環境，促使活性氧化物產生增加，損傷精子DNA。
- 2 生活型態：如肥胖、抽菸、過度飲酒，以及年齡增長等，這些因素可能透過促進氧化壓力或影響睪丸功能，進一步影響精子品質與DNA穩定性。
- 3 環境暴露：重金屬、環境荷爾蒙干擾物，如雙酚A（bisphenol A, BPA）、鄰苯二甲酸酯（Phthalates），以及長時間處於高溫環境，這些因素會增加氧化壓力，導致精子DNA受損。

精子DNA碎片檢測方式

檢測原理包含偵測DNA與蛋白質的結合狀態，可知染色體濃縮程度，或是偵測DNA碎片等，目前臨床上常見的檢測方式包括以下幾種：

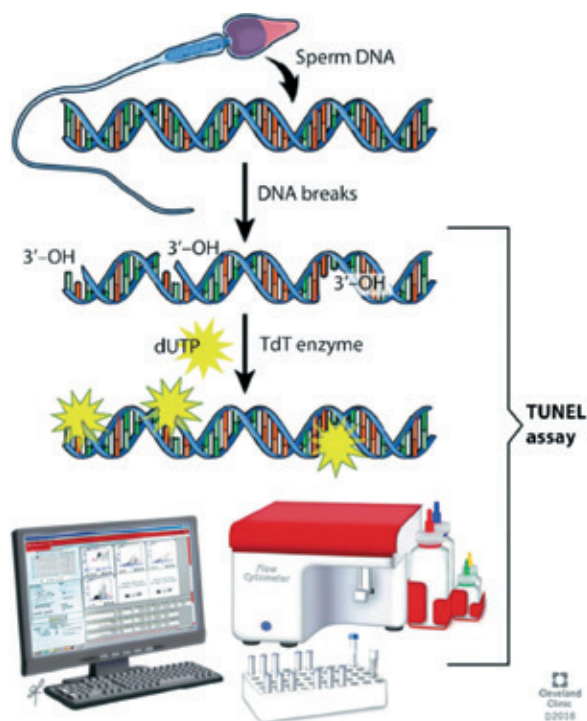
1 SCSA檢測 sperm chromatin structure assay

屬於間接檢測法，原理為評估DNA對酸性環境或熱變性之敏感性（susceptibility）。將精液檢體加入酸性試劑或加熱使DNA變性，再以acridine orange染色，透過流式細胞儀（flow cytometer）激發特定波長雷射光，

DNA有受損的精蟲會散射紅光；具完整DNA的精蟲則會散射綠光，根據紅光比例計算DNA碎片指數。

2 TUNEL檢測 terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick-end labeling

TUNEL為直接檢測DNA碎片的方法，利用末端去氧核糖核苷酸轉移酶（terminal deoxynucleotidyl transferase, TdT），這是一種特殊的DNA聚合酶（polymerase），能在無模板（template）的條件下，於DNA斷裂的3'-OH端接上螢光標記的dUTP（如圖1）。經螢光染色後，以顯微鏡或流式細胞儀計算出具螢光訊號的精蟲比例，即可得知DNA碎片的嚴重程度。



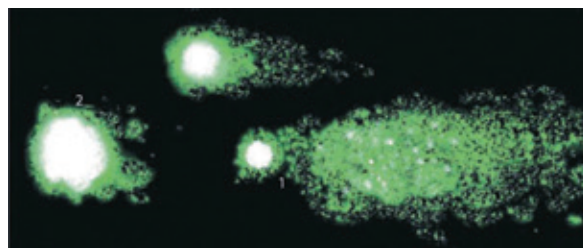
(David K. Gardner, Ariel Weissman, Colin M. Howles, Zeev Shoham. Textbook of Assisted Reproductive Techniques 6th Edition. 2024)

圖1：TUNEL檢測原理示意圖

3 彗星檢測 comet assay

又稱單細胞凝膠電泳（single cell gel electrophoresis, SCGE），亦屬於直接檢測法。將精液檢體、瓊脂糖（agarose）混合，加入裂解液破壞精蟲細胞膜與核膜以釋放DNA，使用中性（neutral）或鹼性（alkaline）緩衝液進行電泳分析；中性條件能偵測雙股DNA斷裂、鹼性條件可偵測單股與雙股DNA斷裂。

在電場（electric field）作用下，完整DNA留在細胞核附近（圖2：左2），而受損的DNA會移動至細胞核外，經螢光染色呈現如彗星拖尾的型態（圖2：右1）。拖尾的長度和密度與DNA損傷程度成正比，亦會計算尾距（tail moment）為細胞核遺傳物質（彗星頭）及所產生尾巴之位移距離，作為量化指標。

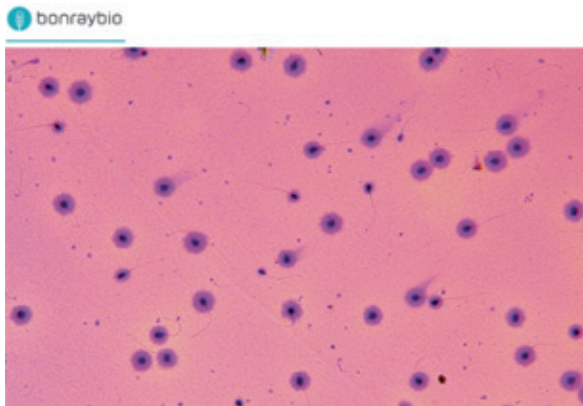


(David K. Gardner, Ariel Weissman, Colin M. Howles, Zeev Shoham. Textbook of Assisted Reproductive Techniques 6th Edition. 2024)

圖2：彗星檢測圖示－拖尾（右1）VS.正常細胞核（左2）

4 精子染色質分散檢測 sperm chromatin dispersion, SCD


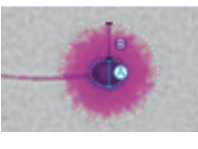
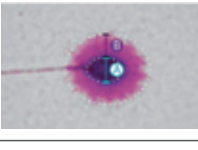

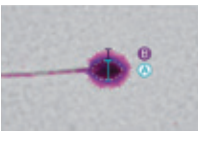


SCD屬於間接檢測法，又稱Halo Assay。將精液檢體、瓊脂糖、酸性變性劑混合，以凝膠內變性破壞DNA鹼基間的氫鍵，使雙股DNA轉變為單股，正常DNA的精子經裂解去核蛋白染色後，可形成中心密度高向外擴散的光暈（halo）；有DNA碎片的精子則為小光暈或無光暈。



(Bonraybio Corporation. 2023)

圖3：SCD染色結果

精子分類

類型	圖片	說明
無碎片化 		大光暈： 光暈寬度與精子核的較小直徑相似或更高。 $\text{H} \geq \text{A}$
		中光暈： 光暈大小介於大光暈和小光暈之間。 $\frac{\text{A}}{3} < \text{H} < \text{A}$
碎片化 		小光暈： 光暈寬度近似等於或小於精子核心較小直徑的1/3。 $\text{H} \leq \frac{\text{A}}{3}$
		無光暈
		劣化： 未發現光暈，並且顯示出不規則微弱染色的核心。

(Bonraybio Corporation. 2023)

圖4：判讀標準示意圖

本中心使用LensHooke試劑套組，採用SCD方式檢測精子DNA碎片。染色後於顯微鏡視野下（圖3）計數約1000隻精蟲，並依據光暈大小與核心直徑（圖4）判定是否有DNA

損傷。目前WHO尚未明確定義DNA碎片指數臨界值（cut-off value），不同檢測方式其標準也有所不同，一般認為DNA碎片指數 < 20% 為正常範圍。

哪些人建議進行精子DNA碎片檢查？

- 不明原因不孕（unexplained infertility）
- 反覆性流產（recurrent pregnancy loss, RPL）
- 精索靜脈曲張
- 不良生活習慣（如吸菸、酗酒）
- 長期暴露於環境污染
- 高齡男性

如何改善精子DNA碎片？

- 適量補充抗氧化劑（antioxidant）：如維生素C、維生素E、輔酶Q10等，有助於降低氧化壓力。
- 治療潛在疾病：如使用抗生素治療感染、進行精索靜脈曲張手術等。
- 改善生活型態：包括均衡飲食、減少菸酒攝取、充足睡眠與規律運動等。

參考資料：

1. Agarwal A, Majzoub A, Baskaran S, Panner Selvam MK, Cho CL, Henkel R, Finelli R, Leisegang K, Sengupta P, Barbarosie C, Parekh N, Alves MG, Ko E, Arafa M, Tadros N, Ramasamy R, Kavoussi P, Ambar R, Kuchakulla M, Robert KA, Iovine C, Durairajanayagam D, Jindal S, Shah R. Sperm DNA Fragmentation: A New Guideline for Clinicians. World J Mens Health. 2020 Oct;38 (4) :412-471. doi: 10.5534/wjmh.200128. Epub 2020 Aug 6. PMID: 32777871; PMCID: PMC7502318.
2. David K. Gardner, Ariel Weissman, Colin M. Howles, Zeev Shoham. Textbook of Assisted Reproductive Techniques 6th Edition. 2024
3. Mohamed Arafa, Haitham Elbardisi, Ahmad Majzoub, Ashok Agarwal. Genetics of Male Infertility: A Case-Based Guide for Clinicians. 2021