

唾液酸对精子的作用

黎娜 王华锋 曾旭辉*

(南昌大学生命科学研究院, 南昌 330031)

摘要 唾液酸(又名神经氨酸)是一类带负电的酸性九碳单糖家族的总称。唾液酸具有多样化的分子结构, 广泛分布于生物体内, 通常与蛋白质和脂结合形成糖蛋白和糖脂, 构成细胞膜及糖萼。唾液酸介导了生物体内许多生理功能, 与人类健康和疾病息息相关, 唾液酸的糖生物学已成为近年来的研究热点。在雄性生殖系统中, 唾液酸在精子保护、附睾精子成熟和精卵识别等过程中都有重要作用, 该文将对有关研究进展作一综述。

关键词 唾液酸; 精子成熟; 精卵结合; 男性不育

Role of Sialic Acid on Sperm

Li Na, Wang Huafeng, Zeng Xuhui*

(Institute of Life Science, Nanchang University, Nanchang 330031, China)

Abstract Sialic acid (also known as neuraminic acid) is a generic term for negatively charged nine-carbon backbone amino monosaccharide which has diverse molecular structures. Combined with proteins and lipids, sialic acid forms glycoproteins and glycolipids which constitute the cell membrane and glycocalyx in multifarious organisms. Because of their involvements in various physiological processes, sialic acids are closely related with human health and diseases thus the sugar biology of sialic acids has attracted more and more attention in recent years. Particularly in the reproductive system, sialic acids play significant role in sperm protection, sperm maturation and gamete binding. Here, we summarize the research advances about the functions played by sialic acids on sperm.

Keywords sialic acid; sperm maturation; gamete binding; male infertility

唾液酸(sialic acid), 又名神经氨酸(neuraminic acid), 是一类酸性九碳单糖家族的总称, 它们都是N-乙酰神经氨酸(N-acetylneuraminic acid, Neu5Ac)、N-羟乙酰神经氨酸(N-glycolylneuraminic acid, Neu5Gc)和酮基-脱氧壬酮糖酸(ketodeoxynonulosonic acid, KDN)的衍生物^[1]。哺乳动物体内普遍存在唾液酸。大量证据表明, 唾液酸与多种生理病理过程相关^[2-4]。例如, 2013年, Nature先后刊登了2篇文章^[2-3], 证实唾液酸是流感病毒的受体^[3-4]。Tang等^[4]则发现, 唾液酸的聚合物形式参与调节胚胎发生和神经元的生长

及功能。目前, 唾液酸在生殖系统中的作用正日益受到人们的重视。这基于以下两个原因: 其一, 全球范围内不育不孕症发生率逐年升高, 迫切需要阐明有关配子发生及功能调控、精卵识别、受精卵着床、胚胎发育等生殖过程的分子机制; 其二, 越来越多的证据表明, 唾液酸参与多个生殖生理过程, 例如, 在猪卵细胞成熟过程中, 透明带糖蛋白的唾液酸化有助于卵细胞透明带(zona pellucida, ZP)获得接受精子的能力^[5]; 鱼卵细胞中的唾液酸KDN通过将Ca²⁺保留在胚胎周围而起到保护胚胎的作用^[6]。相比于

收稿日期: 2014-10-28 接受日期: 2015-02-14

国家自然科学基金(批准号: 31171116)和江西省研究生创新专项基金(批准号: YC2014-B015)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0791-83827083, E-mail: xuhuizeng@hotmail.com

Received: October 28, 2014 Accepted: February 14, 2015

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.31230034) and Graduate Student Innovation Fund of Jiangxi Province (Grant No.YC2014-B015)

*Corresponding author. Tel: +86-791-83827083, E-mail: xuhuizeng@hotmail.com

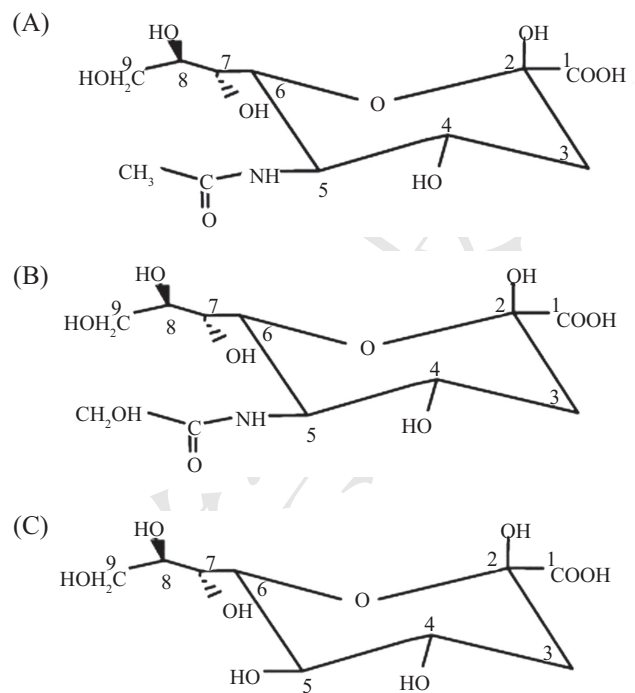
网络出版时间: 2015-04-23 14:24 URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20150423.1424.002.html>

雌性生殖细胞, 由于精子膜上含有丰富的唾液酸, 有关唾液酸之于精子功能意义的研究更加广泛。目前, 比较清晰的是, 唾液酸在精子免疫保护、精子功能成熟与精卵识别等过程中均具有重要作用。本文在介绍唾液酸的一般生物学特点及功能的基础上, 总结了唾液酸相关研究进展, 以期以唾液酸为着眼点、从糖生物学角度加深对生殖生理与病理过程的理解。

1 唾液酸概述

1957年, Blix等^[7]在温和酸性条件下水解脑糖脂和唾液腺黏蛋白得到一种主要产物, 将其命名为神经氨酸或唾液酸。唾液酸是神经氨酸中氨基酸或羟基氢被取代的一类衍生物的总称, 其结构本质是酸性九碳单糖, 目前发现有将近50个家族成员^[7]。其中, *N*-乙酰神经氨酸(Neu5Ac)、*N*-羟乙酰神经氨酸(Neu5Gc)和酮基-脱氧壬酮糖酸(KDN)是自然界中最简单和最普遍存在的唾液酸, 其它的唾液酸都是它们的衍生物, 图1分别显示了它们的结构差别。取代基团通常为乙酰基或羟乙酰基^[8], 不过甲基、硫酸酯基、磷酸酯基取代氨基的唾液酸也被发现^[9]。此外, 根据唾液酸碳链中羧基所处的位置, 又将其分为 α 和 β 两种异构体结构。唾液酸 α 异构体主要存在于聚合物中, 而 β 异构体则存在于溶液的游离态中。

在动物中, 唾液酸合成涉及多个细胞组分的参与。其合成最初发生在细胞质中, 氨基葡萄糖和乙酰辅酶A在转移酶作用下生成 *N*-乙酰氨基葡萄糖-6-磷酸, 再与磷酸烯醇式丙酮酸反应, 异构化后生成 Neu5Ac(*N*-乙酰神经氨酸)。随后, Neu5Ac进入细胞核并在胞嘧啶单磷酸-*N*-乙酰神经氨酸合成酶(CMP-Neu5Ac synthase)的催化下结合CMP(cytidine monophosphate)生成CMP-Neu5Ac。CMP-Neu5Ac在CMP-Neu5Ac羟化酶(CMP-Neu5Ac hydroxylase, CMAH)催化下转化成CMP-Neu5Gc。在大多数动物中, 唾液酸都存在CMP-Neu5Ac和CMP-Neu5Gc两种主要衍生物。但是, 正常成人CMAH(cytidine monophosphate *N*-acetylneuraminic acid hydroxylase)基因外显子缺少92个DNA碱基, 而该段序列是编码维持CMAH活性的关键序列, 从而失去CMAH活性^[8,10], 故人体不表达Neu5Gc。Neu5Gc主要分布在棘皮动物、鱼和大多数哺乳动物中。不过, 人体中仍存在识别Neu5Gc的



A: *N*-乙酰神经氨酸; B: *N*-羟乙酰神经氨酸; C: 酮基-脱氧壬酮糖酸。
A: *N*-acetylneuraminic acid (Neu5Ac); B: *N*-glycolylneuraminic acid (Neu5Gc); C: ketodeoxynonulosonic acid (KDN).

图1 唾液酸(sialic acids, Sia)的化学结构
Fig.1 Chemical structures of sialic acids

抗体; 并且, 人类肿瘤组织和胎儿组织中都可以检测到Neu5Gc^[11]。这说明, Neu5Gc在这些组织中可能存在特定功能。CMP-Neu5Ac和CMP-Neu5Gc在细胞核中合成后被运输到内质网或者高尔基体中进行加工和修饰成多聚物, 最终被转运到细胞表面^[9]。

在高尔基体或者内质网中, 唾液酸通过带负电的 α 2,8-连接Neu5Ac残基加工成唾液酸多聚体, 亦称为多聚唾液酸^[8], 这些聚合物的链长度超过60个唾液酸残基^[12]。多聚唾液酸主要通过典型的N-连接糖苷键附着在脊椎动物神经系统的神经细胞黏附分子上, 在神经发育中起关键作用^[4]。

唾液酸能以游离态、多聚糖、糖脂或者糖蛋白等形式存在^[10]。唾液酸是动物细胞膜表面的主要成分, 覆盖了细胞表面其他糖类, 它们大多数以结合的形式存在于糖蛋白和糖脂中^[13]。细胞表面糖蛋白和糖脂的唾液酸化修饰参与调节诸多生物学过程, 包括发育、炎症、病原感染、肿瘤发生发展等, 与人类健康和疾病密切相关^[13]。本文主要总结了唾液酸对精子作用的研究进展, 对唾液酸在雌性生殖系统的作用也做了简单概述, 以期较全面地了解唾液酸与生殖的相关性。

2 唾液酸在雄(男)性生殖系统中的分布

唾液酸在动物组织中主要作为糖蛋白和神经节苷酯的组分。其中,唾液酸糖蛋白和糖脂在动物生殖系统中,尤其是雄性生殖系统中分布较为广泛。唾液酸由附睾上皮细胞合成并分泌至附睾管中^[14]。目前已证实,在大鼠、小鼠、公羊、公牛等哺乳动物附睾精子的表面都有唾液酸^[14],它们多以糖蛋白或糖脂的形式存在。这些唾液酸复合物大部分来源于附睾液,定位在精子脂筏上^[1]。其中,精子顶体所含唾液酸在精子结合唾液酸中占有很大比例^[15]。在获能过程中,精子失去膜上约20%的唾液酸,其中30%是以单糖形式释放的^[16]。此外,成熟精子膜的唾液酸含量明显低于未成熟精子^[15,17]。多聚唾液酸在雄性生殖细胞中也有报道。Kitajima等^[18]在海胆精子上首先发现 α 2,8连接的多聚唾液酸,它主要以糖蛋白的形式存在,主要分布在精子的鞭毛部精子脂筏上。该部位包含丰富的神经节苷脂,是精子活化肽的受体,并与鸟苷酸环化酶有关^[1]。因此,多聚唾液酸糖蛋白与精子的运动和胞内信号途径有关。

此外,雌性生殖系统中也能检测到唾液酸。例如,唾液酸是哺乳动物卵细胞透明带的一种成分,透明带糖蛋白包含大部分的Neu5Ac(84.5%)和Neu5Gc(15.5%)^[19],提示唾液酸在精卵结合中可能具有重要作用。在虹鳟鱼、大马哈鱼和科卡尼鲑鱼的卵、卵巢液中均可以分离出唾液酸,其主要成分是KDN^[6]。在印度叶猴子宫、子宫颈、阴道内均有唾液酸的表达;并且在22天月经周期的第8天,唾液酸分泌量达到峰值^[20]。

3 唾液酸在雄(男)性生殖中的功能

精子作为雄(男)性生殖功能的最终体现者,其发生、形成以及成熟到最终与卵细胞结合完成受精涉及众多错综复杂的过程。在这些过程中,存在许多重要的调控因素。成熟精子是高度分化的细胞,转录和翻译在成熟精子中几乎都不进行,因此,翻译后修饰以及细胞膜信号转导起到重要的调控精子功能的作用。蛋白糖基化是一种重要的翻译后修饰作用,并且糖蛋白在精子中大量存在,且作为重要的膜受体参与精子的细胞膜信号转导。大量证据表明,唾液酸是精子表面结合的主要糖类,而且也是精子中糖蛋白的主要组分,提示其对精子的功能具有至关重要的作用。

3.1 唾液酸对精子的保护作用

唾液酸作为免疫保护剂对精子具有直接保护作用。作为外源细胞,精子一旦进入雌性生殖道将面临巨大挑战。尽管雌性生殖道内存在雌性免疫,但由于精子表面包被着富含唾液酸的糖萼,使精子作为异物细胞仍然能够在雌性生殖道内存活^[16];多聚唾液酸也有助于精子避开雌性免疫系统^[12]。研究表明,不育男性的精子表面唾液酸显著低于正常生育男性,说明精子表面唾液酸含量的降低可能导致男性不育^[21]。可能的机制是:精子表面唾液酸的存在,可以遮盖精子膜表面的一些抗原决定簇,从而使精子免遭阴道上皮细胞及白细胞的吞噬^[22]。反之,精子表面唾液酸的不足会增加其面临雌性免疫识别的风险,阻止精子到达受精位点,从而降低受精率。此外,由于带有大量负电荷,唾液酸还可通过使精子之间相互排斥、不致凝集而对精子起保护作用。研究发现,50 mmol/L的中性唾液酸不仅能特异地解离自动黏合细胞,也可以抑制精子之间的自动凝集现象^[23]。

唾液酸能对精子起间接保护作用。Neu5Ac是神经节苷脂的关键单体前体^[8],而神经节苷脂是包裹唾液酸的一层鞘磷脂。神经节苷脂能使精子抵御活性氧分子(reactive oxygen species, ROS)的损伤。Gavella等^[24]的结果表明,神经节苷脂能增加精子膜的疏水性,进而抑制 H_2O_2 在膜上的扩散,最终保护人精子免遭 H_2O_2 诱导的损伤。

3.2 唾液酸调控附睾精子成熟

唾液酸和 α 1,4-葡萄糖苷酶(α 1,4-glucosidase)是反映附睾合成和分泌功能的重要指标,是附睾正常功能的标志物^[25],对于精子的成熟、获能、受精具有重要作用。当附睾发炎或损伤时,附睾上皮细胞凋亡显著增加,附睾分泌唾液酸的功能受到破坏,导致唾液酸含量下降^[26]。附睾中的唾液酸浓度与精子成熟有密切关系。丁之德等^[17]用硫代巴比妥酸法对精子膜唾液酸含量依次进行测定,结果显示,大鼠附睾、体、尾各段精子膜唾液酸含量具有显著差异($P < 0.01$),其中,头>体>尾。另外,在恒河猴附睾中,从头部至尾部,精子结合唾液酸的含量逐渐降低,而附睾液中的唾液酸浓度却持续升高^[5]。这两种现象都表明,精子在附睾内移行时,其结合唾液酸被不断水解到附睾液中。

精子表面唾液酸含量是由唾液酸糖基转移酶

(sialyltransferase)和唾液酸酶(sialidase)共同调节的。其中,唾液酸糖基转移酶能将唾液酸转移到精子表面的糖复合物上,反之,唾液酸酶能将唾液酸水解下来。唾液酸水平的变化可能反映了精子表面蛋白唾液酸化的不同程度,因此可能与受精过程有关。对附睾尾部精子的去唾液酸化实际上是精子成熟和获能的开始,干扰精子在附睾中的唾液酸化和去唾液酸化可以影响精子在附睾中的成熟。

3.3 唾液酸参与精卵结合

透明带是包围哺乳动物卵细胞的一层透明包膜,是一种高度糖基化的胞外基质。当精子与卵子ZP结合时,受精作用开始。有证据表明,精子-ZP的相互作用是碳水化合物介导的事件,触发信号转导通路,致使精子质膜与顶体外膜的开窗和融合^[5]。超灵敏质谱分析表明,唾液酸化序列[NeuAca2-3Galb1-4(Fuca1-3)GlcNAc]是人类ZP上最丰富的N-和O-糖基化末端序列^[27]。末端唾液酸化序列的糖复合物或抗体能在很大程度上抑制精卵结合。因此,唾液酸化序列是人类精卵结合主要的碳水化合物配体。已有研究证实,唾液酸化路易斯寡糖-X(Sialyl Lewis-X)介导人类精卵结合^[27]。

大量研究表明,唾液酸参与调节脊椎动物受精过程中的精子和卵子的相互作用。 α 2,3-连接的唾液酸参与介导牛精子-ZP的结合^[19]。体外受精实验证实,将100 μ mol/L的唾液酸与小鼠卵子一起孵育,可有效抑制精卵结合^[28],说明溶液中的唾液酸能与精子竞争性地结合到卵子ZP,从而抑制精卵附着和结合。唾液酸酶(神经氨酸酶)能催化唾液酸与糖蛋白之间的糖苷键发生水解,产生游离的唾液酸。Velásquez等^[19]认为,唾液酸酶抑制剂的使用会增加精子结合ZP和穿卵的数量。但近期研究者发现,添加唾液酸酶特异性的抑制剂DANA(2-deoxy-2,3-didehydro-D-N-acetylneuraminic acid)后,获能精子结合ZP数量下降^[16]。皮质颗粒的唾液酸酶可能通过移除透明带上的唾液酸而阻止多精入卵^[19]。另有研究结果显示,细胞表面唾液酸残基在海胆受精过程的精卵结合中也发挥了重要作用^[1]。海胆精子表面含有唾液酸^[12],海胆精子结合蛋白(sperm-binding protein, SBP)通过唾液酸残基结合精子脂筏,启动精卵结合^[29]。

唾液酸能被凝集素识别,成为唾液酸结合凝集素或受体的配体。目前,已确定的脊椎动物体内能

够结合唾液酸的凝集素包括:选择素(selectin)、唾液酸结合免疫球蛋白超家族凝集素Siglec(Sialic acid-binding Ig super-family lectin)以及补体因子H(complement factor H)^[11]。Siglecs与细胞间的相互作用、免疫反应等生理过程都有关。大部分Siglecs可以抑制唾液酸结合^[16],这暗示了凝集素可能通过调控唾液酸的结合,从而对精子存活和精卵结合起重要作用。已经检测到大部分凝集素能识别精子的头部、胞质小体和中段,但只有蜗牛凝集素(*Helix pomatia* agglutinin, HPA)和麦胚凝集素(*Triticum vulgari* (wheat) germ agglutinin, WGA)能结合精子尾部的主段和尾段^[30]。人精子与WGA共孵育可以激活获能相关的酪氨酸磷酸化,但是,从精子表面移除Neu5Ac时,酪氨酸磷酸化将受到抑制,影响精子-ZP的结合。

3.4 唾液酸与生殖系统疾病

大量研究表明,唾液酸及其衍生物与某些生殖系统疾病有关^[16,31],而且唾液酸及其衍生物的测定已广泛运用于临床上某些生殖系统疾病的诊断^[32-33]。世界上有5%~10%的男性患有白细胞精子症,其在不育病人中的发生率更高^[34]。Sialyl Lewis-X抗原在 α 1-酸性糖蛋白上的增加可以作为生殖道内白细胞精子症引发的炎症的指标;白细胞精子症与山槐凝集素(*Maackia amurensis* agglutinin, MAA)识别的 α 2,3-连接的唾液酸表达量的增加有关^[1]。Ma等^[17]发现,哺乳动物精子上有两种唾液酸酶——Neu1和Neu3,精子获能后,两种酶的水平下降;并通过调查一些男性特发性不育病例,发现部分患者的精子上缺少一种或两种唾液酸酶,提示唾液酸酶通过影响人精子获能而使男性生育能力降低或导致不育。原位杂交显示,乙肝病毒(hepatitis B virus, HBV)的DNA在精原细胞、精母细胞、精子细胞等各级生精细胞及支持细胞中均有表达。HBV可能通过人精子表面的去唾液酸糖蛋白受体ASGPR(asialoglycoprotein receptor)进入精子,并且上调睾丸组织内ASGPR的表达,因此ASGPR可能是HBV感染生殖细胞的关键蛋白^[35]。

唾液酸也参与调节雌性生殖功能。例如,与未怀孕的女性相比,怀孕女性的血清唾液酸浓度持续性增加^[36];将印度长尾叶猴卵巢摘除后,其子宫唾液酸浓度下降,但是用卵巢激素雌二醇(estradiol, E2)或E2+孕酮(progesterone, P4)处理后,子宫唾液酸浓度升高^[20]。Ghaderi等^[13]认为,抗-Neu5Gc抗体能进

入雌性生殖道,并锚定Neu5Gc阳性的精子或胚胎组织,从而减少生殖亲和性。此外,通过测量阴道唾液酸酶活性可以测定细菌性阴道病(bacterial vaginosis, BV)^[32]。BV患者阴道液中唾液酸酶活性显著增加,细菌可利用唾液酸酶对宿主黏膜组织进行附着、侵入和损伤。阴道唾液酸酶阳性孕妇的绒毛膜羊膜炎、胎膜早破、早产及产褥感染的发生率明显高于阴道唾液酸酶阴性的孕妇^[33]。

4 展望

全世界约有10%~15%的夫妻患有不育症,其中,男性因素占50%^[37]。因此,探索精子功能的调控机制对于治疗男性不育具有重要的现实意义。如前所述,精子膜上富含的唾液酸能从多方面调节精子功能,包括免疫保护、维持精子结构稳定与完整、参与精子成熟、调节精卵识别等多个方面。

然而,唾液酸及其衍生物影响生殖的机理尚未完全阐明。有价值的研究主题包括:(1)食物中的外源唾液酸作为人体的抗原,对人类生殖的影响;(2)精子与卵子的活化与唾液酸修饰及脱落的关系;(3)唾液酸在精卵识别中的分子机理;(4)精子在雌性生殖道的运动与唾液酸及其免疫受体的关系;(5)多聚唾液酸在生殖系统中的作用等。对这些主题的深入研究,既有利于糖生殖生物学的发展,也有望揭示不孕不育的新机制,为诊断或治疗不孕不育提供新手段。

参考文献 (References)

- Miyata S, Sato C, Kitamura S, Toriyama M, Kitajima K. A major flagellum sialoglycoprotein in sea urchin sperm contains a novel polysialic acid, an α 2, 9-linked poly-N-acetylneuraminic acid chain, capped by an 8-O-sulfated sialic acid residue. *Glycobiology* 2004; 14(9): 827-40.
- Xiong X, Martin SR, Haire LF, Wharton SA, Daniels RS, Bennett MS, *et al.* Receptor binding by an H7N9 influenza virus from humans. *Nature* 2013; 499(7459): 496-99.
- Zhou J, Wang D, Gao R, Zhao B, Song J, Qi X, *et al.* Biological features of novel avian influenza A (H7N9) virus. *Nature* 2013; 499(7459): 500-3.
- Tang J, Rutishauser U, Landmesser L. Polysialic acid regulates growth cone behavior during sorting of motor axons in the plexus region. *Neuron* 1994; 13(2): 405-14.
- Lay KM, Oshiro R, Arasaki C, Ashizawa K, Tatemoto H. Role of acidification elicited by sialylation and sulfation of zona glycoproteins during oocyte maturation in porcine sperm-zona pellucida interactions. *J Reprod Dev* 2011; 57(6): 744-51.
- 王芳, 王冰. 脱氨神经氨酸及其在肿瘤中表达的研究进展. *现代生物医学进展*(Wang Fang, Wang Bing. Progress on KDN (2-Keto-3-deoxy-D-glycero-D-galacto-nononic acid) and its expression in tumor. *Progress in Modern Biomedicine*) 2011; 11(24): 5152-5.
- Blix FG, Gottschalk A, Klenk E. Proposed nomenclature in the field of neuraminic and sialic acids. *Nature* 1957; 179(4569): 1088.
- Wang B. Molecular mechanism underlying sialic acid as an essential nutrient for brain development and cognition. *Adv Nutr* 2012; 3(3): 465S-72S.
- Schauer R. Achievements and challenges of sialic acid research. *Glycoconj J* 2000; 17(7/8/9): 485-99.
- 程铖, 高春芳. 唾液酸的生物学意义及其在肝病中的研究进展. *检验医学*(Cheng Cheng, Gao Chunfang. The biological significance of sialic acid and its research progress in liver disease. *Laboratory Medicine*) 2013; 28(4): 333-6.
- 张嘉宁, 汪淑晶. 唾液酸生物学与人类健康和疾病. *生命科学*(Zhang Jianing, Wang Shujing. Sialobiology in human health and disease. *Chinese Bulletin of Life Sciences*) 2011; 23(7): 678-84.
- Simon P, Baumner S, Busch O, Rohrich R, Kaese M, Richterich P, *et al.* Polysialic acid is present in mammalian semen as a post-translational modification of the neural cell adhesion molecule NCAM and the polysialyltransferase ST8SiaII. *J Biol Chem* 2013; 288(26): 18825-33.
- Ghaderi D, Springer SA, Ma F, Cohen M, Secrest P, Taylor RE, *et al.* Sexual selection by female immunity against paternal antigens can fix loss of function alleles. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011; 108(43): 17743-8.
- Lassalle B, Testart J. Human zona pellucida recognition associated with removal of sialic acid from human sperm surface. *J Reprod Fertil* 1994; 101(3): 703-11.
- 周佩军, 周性明, 陈甸英. 唾液酸与附睾精子的成熟. *男性学杂志*(Zhou Peijun, Zhou Xingming, Chen Dianying. Sialic acid and epididymal sperm maturation. *Chin J Androl*) 1994; 8(4): 242-5.
- Ma F, Wu D, Deng L, Secrest P, Zhao J, Varki N, *et al.* Sialidases on mammalian sperm mediate deciduous sialylation during capacitation. *J Biol Chem* 2012; 287(45): 38073-9.
- 丁之德, 吴竞梅. 大鼠精子在附睾内成熟中膜唾液酸含量变化的研究. *生殖与避孕*(Ding Zhide, Wu Jingmei. The researches on the change of sialic acid content of rat sperm membrane during epididymis maturation. *Reproduction & Contraception*) 1993; 13(5): 379-82.
- Kitajima K, Inoue S, Inoue Y, Troy FA. Use of a bacteriophage-derived endo-N-acetylneuraminidase and an equine antipolysialyl antibody to characterize the polysialyl residues in salmonid fish egg polysialoglycoproteins. Substrate and immunospecificity studies. *J Biol Chem* 1988; 263(34): 18269-76.
- Velásquez JG, Canovas S, Barajas P, Marcos J, Jiménez-Movilla M, Gallego RG, *et al.* Role of sialic acid in bovine sperm-zona pellucida binding. *Mol Reprod Dev* 2007; 74(5): 617-28.
- Shandilya LN, Ramaswami LS, Shandilya N. Sialic acid concentration in the reproductive organs, pituitary gland and urine of the Indian langur monkey (*Presbytis entellus entellus*). *J Endocrinol* 1977; 73(2): 207-13.
- 陆金春, 黄宇烽, 黄年朝, 杨程德. 精浆及精子表面唾液酸的测定及其临床意义. *男性学杂志*(Lu Jinchun, Huang Yufeng, Huang Nianzhao, Yang Chengde. Determination of semen and

- sperm surface sialic acid and its clinical significance. *Chin J Androl* 1993; 7(2): 77-9.
- 22 Holt WV. Surface-bound sialic acid on ram and bull spermatozoa: Deposition during epididymal transit and stability during washing. *Biol Reprod* 1980; 23(4): 847-57.
- 23 Roy D, Dey S, Majumder GC, Bhattacharyya D. Occurrence of novel Cu²⁺-dependent sialic acid-specific lectin, on the outer surface of mature caprine spermatozoa. *Glycoconjugate J* 2014; 31(4): 281-8.
- 24 Gavella M, Garaj-Vrhovac V, Lipovac V, Antica M, Gajski G, Car N. Ganglioside GT1b protects human spermatozoa from hydrogen peroxide-induced DNA and membrane damage. *Int J Androl* 2010; 33(3): 536-44.
- 25 赵豫刚, 周吉, 张雪军, 门晓炜, 王锐, 周飞, 等. 大鼠精索静脉曲张后附睾上皮细胞凋亡及管腔 α -1,4-葡糖苷酶、唾液酸含量观察. *中华男科学杂志*(Zhao Yugang, Zhou Ji, Zhang Xuejun, Men Xiaowei, Wang Rui, Zhou Fei, *et al.* Effects of experimental varicocele on the apoptosis of epididymis epithelium and synthesizing function of the epididymis in rats. *Zhonghua Nan Ke Xue*) 2006; 12(7): 619-21.
- 26 Guan Y, Zheng XM, Yang ZW, Li SW. Apoptosis of epididymal epithelium and the content of epididymal carnitine following testicular torsion/detorsion in rats. *Zhonghua Nan Ke Xue* 2006; 12(7): 636-8.
- 27 Pang PC, Chiu PCN, Lee CL, Chang LY, Panico M, Morris HR, *et al.* Human sperm binding is mediated by the sialyl-lewisx oligosaccharide on the zona pellucida. *Science* 2011; 333(6050): 1761-4.
- 28 Lambert H. Role of sperm-surface glycoproteins in gamete recognition in two mouse species. *J Reprod Fertil* 1984; 70(1): 281-4.
- 29 Maehashi E, Sato C, Ohta K, Harada Y, Matsuda T, Hirohashi N, *et al.* Identification of the sea urchin 350-kDa sperm-binding protein as a new sialic acid-binding lectin that belongs to the heat shock protein 110 family. *J Biol Chem* 2003; 278(43): 42050-7.
- 30 Fàbrega A, Puigmulé M, Dacheux J, Bonet S, Pinart E. Glycocalyx characterisation and glycoprotein expression of *Sus domesticus* epididymal sperm surface samples. *Reprod Fertil Dev* 2012; 24(4): 619-30.
- 31 Kratz EM, Faundez R, Tnik-Prastowska IK. Fucose and sialic acid expressions in human seminal fibronectin and α 1-acid glycoprotein associated with leukocytospermia of infertile men. *Dis Markers* 2011; 31(5): 317-25.
- 32 袁江英, 李琴芳. 测定阴道液唾液酸酶活性诊断细菌性阴道病. *实用妇产科杂志*(Yuan Jiangying, Li Qinfang. Determination of vaginal fluid sialidase activity diagnosis of bacterial vaginosis. *Journal of Practical Obstetrics and Gynecology*) 2000; 17(2): 75-6.
- 33 张欣, 徐行丽, 李金凤, 李楠, 颜廷凤, 鞠秀清. 阴道唾液酸酶检测在细菌性阴道病及绒毛膜羊膜炎诊断中的价值. *中华妇产科杂志*(Zhang Xin, Xu Xingli, Li Jinfeng, Li Nan, Yan Tingfeng, Ju Xiuqing. Relationship between vaginal sialidase bacteria vaginosis and chorioamnionitis. *Chin J Obstet Gynecol*) 2002; 37(10): 588-90.
- 34 Diao R, Fok KL, Chen H, Yu MK, Duan Y, Chung CM, *et al.* Deficient human-defensin 1 underlies male infertility associated with poor sperm motility and genital tract infection. *Sci Transl Med* 2014; 6(249): 249ra108.
- 35 徐婕, 方军, 靳镭, 彭芳昕, 刘世伟. 去唾液酸糖蛋白受体在乙型肝炎病毒感染者精子中表达的初步研究. *生殖医学杂志*(Xu Jie, Fang Jun, Jin Lei, Peng Fang-xin, Liu Shi-wei. Preliminary study on the asialoglycoprotein receptor involving in the procedure of HBV invading human sperm. *J Reprod Med*) 2012; 21(1): 8-11.
- 36 Xiao S, Li R, Diao H, Zhao F, Ye X. Progesterone receptor-mediated regulation of N-acetylneuraminidase pyruvate lyase (NPL) in mouse uterine luminal epithelium and nonessential role of NPL in uterine function. *PLoS One* 2013; 8(5): e65607.
- 37 Cui W. Mother of nothing: the agony of infertility. *B World Health Organ* 2010; 88(12): 881-2.