

# Familjeplanering genom vaccination mot befruktningen

## Immunologisk infertilitet ger ledtråd



**OVE NILSSON**, professor emeritus, institutionen för medicinsk cellbiologi, Biomedicinskt centrum, Uppsala  
ove.nilsson@medcellbiol.uu.se

Ett vaccin mot fertilitet skulle vara ett bra hjälpmedel för att er hålla en antikonception som är billig, lätt att distribuera och lätt att utföra. Önskvärt är att det kommer att finnas metoder som ger en tidsbegränsad infertilitet och som är lämpade för både kvinnor och män, samt att antikonceptionen verkar före eller i samband med äggets befruktning. Det finns två huvudlinjer inom forskningen. Den ena använder sig av immunologiskt infertila patienter och kan därför bedriva forskningen med mänskligt material. Den andra utnyttjar djurförsök för att finna någon kritisk befruktningsprocess, som kan blockeras med antikroppar och som dessutom skulle kunna vara lämplig för mänskligt bruk [1].

### Immunologiskt infertila patienter kan ha lösningen

Naturen har lyckats med vad forskarna ännu inte har åstadkommit, nämligen att framställa antikroppar som gör kvinnor eller män infertila. Oftast är orsaken en förekomst av antispermieautoantikroppar. Beroende på vilka spermieantigener som givit upphov till autoantikropparna detekteras den immunologiska infertiliteten som en spermieagglutination, en oförmåga för spermier att fästa på äggets yta, en utebliven spermie-äggfusion eller dylikt. Eftersom patienterna har utvecklat en effektiv immunologisk antikonception, vill vi naturligtvis lära känna de immunogener som åstadkommit infertiliteten [2].

### Sökande efter immunogener

Ett vanligt sätt att söka de antigener som motsvarar autoantikropparna i patientserum är att låta antiserum reagera med elektroforeser av till exempel spermier. Sedan använder man någon lämplig teknik för att karakterisera de antigener som detekterats av antikropparna. En sådan analys har bland annat gjorts på kvinnor med spermieagglutinerande autoantikroppar [3]. Bland övriga tekniker som har utnyttjats kan nämnas så kallade cDNA-expressionsbibliotek [4] och bakteriofagbibliotek [5]. Mycket arbete återstår emellertid för att bekräfta att dessa och andra aktiva spermieantigener är lämpliga för utveckling av ett antikonceptionsvaccin.

### Prostasomer – nytt immunogen vid immunologisk infertilitet

En ibland använd undersökning vid utredning av infertilitet är att pröva om patientens blodserum agglutinerar spermier. Detta visar nämligen att det bland övriga antikroppar även finns sådana som detekterar ytantigener på spermerna. Den dominerande ytkomponenten på ejakulerade och varsam renade spermier är prostasomer. Dessa är små sekretgranula från prostata, som finns i riklig mängd i sädesvätskan, där de binder till spermieytan. De har en stark antigenitet, och nästan alla infertila

män med spermieagglutinerande antikroppar har visat sig ha autoantikroppar mot prostasomer [6]. Intressant nog finns det även kvinnor som har utvecklat antiprostasomaautoantikroppar – rimligen som en följd av en immunisering med prostasomklädda spermier. En analys av patientsera har redan kunnat påvisa några prostasomantigener som är vanligt förekommande bland de infertila patienterna [7]. Därför kan kanske en fortsatt forskning om prostasomerna ge dem en roll även inom immunologisk antikonception.

### Det började med möss

Den andra stora forskningslinjen inom immunologisk antikonception grundar sig på analyser av befruktningsprocessen hos olika försöksdjur. Avsikten är att finna någon mekanism som kan blockeras med antikroppar och som dessutom har potential att kunna utnyttjas för en vaccination av människor.

Arbetet med att finna en verksam antikonception fick på 1980-talet ett genombrott. Då visades att musäggets »skal«, zona pellucida, vars ytskikt binder spermier, var ett starkt immunogen. Man fann också att zonan var uppbyggd av tre komponenter av glykoproteiner. Detta startade en intensiv forskning med målet att definiera de aktiva komponenterna i spermie-zonabindningen. Zona pellucida hos människa och hos olika djurslag visade som väntat olikheter med varandra. Emellertid var grunduppbyggnaden med tre komponenter gemensam. Så småningom blev det klarlagt både hur komponenterna är uppbyggda och hur de samverkar med spermerna [8].

Spermerna häftar fast vid zonan genom olika mekanismer, först ganska löst men sedan med en stark bindning mellan spermernas receptorer och zonans ligander hos till exempel musägget. Denna bindning aktiverar dessutom akrosomreaktionen, det vill säga frisättningen av de lytiska enzymer som

### SAMMANFATTAT

**Familjeplanering** genom vaccination är ett forskningsområde, där olika mekanismer inom befruktningsprocessen prövas på sin lämplighet. Av många skäl vill man att vaccinationsmetoderna skall ha en tidsbegränsad effekt och verka genom att hindra befruktningen av ägget. Helst skall det också finnas metoder som riktar sig till både kvinnor och män.

**Detta borde kunna bli** verklighet med tanke på att det finns immunologiskt infertila kvinnor och män. Dessa bildar autoantikroppar, som ger en effekt liknande den som en vaccination mot fertilisering skul-

le kunna ge. Dessa patienter gör det möjligt att analysera sådana mekanismer som har anknytning till en immunologisk antikonception hos människor. Den djurexperimentella forskningen inriktas huvudsakligen på att framställa antikroppar som blockerar spermernas bindning till äggets yttre skal (zona pellucida) eller hindrar spermernas fusion till äggets cellmembran. **Vissa forskargrupper** har nu nått så långt att de kan vaccinera en del djurarter mot fertilisering, men ännu dröjer det innan även kvinnor och män får tillgång till vaccination mot befruktning.

finns i en hätta på spermiehuvudet. Detta gör att spermier kan ta sig vidare genom zonan för att nå in till äggets cellmembran. Forskningsintresset är koncentrerat till den ytliga zonakomponenten, där spermier först binder. Eftersom zonamaterial från människa kan erhållas från överblivna ägg vid in vitro-fertilisering (IVF) och eftersom även människospermier är lätt tillgängliga, är förutsättningarna goda för forskning om spermireceptorerna och zonans ligander hos människa.

Även prövningen av effekten av de antikroppar som man framställt mot någon zonakomponent har goda förutsättningar till funktionella prövningar. Från överblivna människoägg kan man nämligen fripreparera zonan och i experiment studera om en viss antikropp hindrar spermier att fästa på zonan (hemizonatest).

### Antikroppar mot zonaligander och spermireceptor

Tillgången till rekombinanta peptider från olika zonakomponenter har gjort att forskningen om ligandernas byggnad har utvecklats snabbt under senare år. Det finns nu god kunskap om zonaligander både från människa och från försöksdjur. Man har även visat att vaccination med olika ligandkonstruktioner kan hindra en fertilisering inom en del djurslag. Detta inger naturligtvis förhoppningen att man skall kunna utnyttja dessa erfarenheter till utveckling av en antikonception för människor.

Ligander som binder spermier finns således i zonan, och de har sin motsvarighet i receptorer på ytan av spermier. Antikroppar mot dessa receptorer (spermieantigen) kan också blockera spermiebindningen till zonan [9]. En stor del av forskningen ägnas därför även åt spermiers ytantigen [10].

Olika tekniker kan användas för att karakterisera tänkbara immunogener. Som exempel kan nämnas analysen av ett antigen som inhiberade spermie-zonabindningen i hemizonatest och som dessutom fanns hos immuninfertila män [11].

### Men antizonaantikroppar kan skada ovariet

Ett problem är emellertid att zonan börjar syntetiseras redan när ägget finns i ovariet. Därför sker ofta skadliga immunologiska reaktioner inte enbart i de ovulerade oocyterna utan även i de omogna äggen i ovariet. Nu finns det emellertid flera rekombinanta konstruktioner av immunogener som inte tycks ge några reaktioner i ovarier hos bland annat apor [12]. Dock finns det för människa ännu inte något immunogen som med säkerhet skulle kunna utnyttjas till ett antikonceptionsvaccin [13].

### Husdjur vaccineras redan mot fertilitet

Flera av de rekombinanta konstruktionerna av zonaimmunogener som ger lindriga reaktioner i ovarier hos försöksdjur kan emellertid användas för att kontrollera fertiliteten hos både husdjur och vilda djur [14]. När det gäller kontroll av husdjurs och skadedjurs fortplantning kan dessutom ovarialförändringar som ger en livslång sterilitet i många fall vara lämpliga.

### Spermiers och äggets sammansmältning

Efter passagen genom zona pellucida hamnar spermier i spacet mellan zonan och äggets cellmembran. För att nå in till äggets cytoplasma måste spermier först fastna på äggets cellmembran. Sedan skall äggets cellmembran fusera med spermie-membranet så att hela spermien kan glida in i ägget [15]. Från antikonceptiv synpunkt förefaller den mekanismen ha en fördel. De verksamma komponenterna i cellmembranet tycks nämligen finnas exponerade endast hos ovulerade, ofertiliserade ägg. De försvinner sedan efter hand, vare sig en befruktning har ägt rum eller ej. Äggen i ovariet skulle därför inte kunna bli angripna av »antifusionsantikroppar«. Emellertid är äggets cellmembran inte lika lättåtkomligt som äggets zona för experimentella studier. Därför är också forskningsresultaten mer sparsamma.

Fusionsprocessen tycks ske med hjälp av speciella molekyler i äggcellsmembranet [16], men mekanismer liknande fusionen av retrovirus med celler har också bedömts som tänkbara. Ett stöd för detta skulle kunna vara att även människoägg uttrycker komponenter som har med cell-virusfusionen att göra och att detta är mest uttalat bland ofertiliserade ägg [17].

### Kommersiella intresset svagt

Trots att det snart är tre decennier sedan en mer aktiv forskning efter ett antifertiliseringsvaccin började, har ännu ingen metod bland alla de som prövats givit tillräckligt gott utfall vid test [18]. Bristen på lovande resultat beror framför allt på att de biologiska problem som forskningen möter är mycket stora.

Bidragande orsaker kan vara att det kommersiella intresset för forskningsområdet är svagt. Detta gör att bland annat läkemedelsindustrins deltagande är begränsat. I vissa fall kan anslagsgivare också hindras av forskningspolitiska begränsningar av etisk natur. För att exempelvis få statligt stöd från USA måste organisationer som vill stödja forskning om familjeplanering först ta avstånd från abort – något som illa rimmar med deras program. En bestämmelse som har blivit kallad »the global gag rule« (munkavlerregeln).

Forskningsarbetet med att vaccinera mot befruktning fortsätter emellertid på många håll i världen, och med många olika infallsvinklar [19]. Det arbete som hittills blivit utfört har givit en avsevärt ökad kunskap om mekanismerna för de funktionella steg som omfattas av befruktningens processen. En sådan kunskapsbas är naturligtvis mycket viktig för det fortsatta arbetet.

Det anses kräva åtminstone 20 års arbete och stora penningsummor för att utveckla ett lovande koncept – vilket vi ännu inte har – till en för människobruk godtagbar vaccinationsmetod mot befruktning. Då förstår vi också att forskningen ännu har lång väg kvar till målet. Under tiden beräknas utvecklingsländernas befolkning växa med 1–2 miljarder, något som riskerar att skapa stora svårigheter i många länder. Därför måste vi räkna med att det även framöver endast är de nuvarande antikonceptiva metoderna som kommer att finnas tillgängliga som »hårdvara« för befolkningen [20].

### Välfärden och familjeplaneringen

Emellertid behöver detta kanske inte bli så bekymmersamt under förutsättning att de metoderna får stöd av en god samhällsutveckling. Födelsehalten i flera utvecklingsländer har sjunkit under de senaste decennierna, och detta har skett enbart med tillgång till nuvarande antikonceptiv »hårdvara«. Denna minskning av antalet nyfödda förklaras med att det i de länderna tillkommit en politisk »mjukvara« i form av beslut som gynnar välfärdsutvecklingen. Erfarenheten visar att när ett lands befolkning ges möjligheter till utbildning, sjukvård, mödravård och liknande sociala väsentligheter sjunker oftast födelsehalten. Folkets välfärd ger den bästa grunden för god familjeplanering.

■ *Potentiella bindningar eller jävsförhållanden: Inga uppgivna.*

#### REFERENSER

- McLaughlin EA, Holland MK, Aitken RJ. Contraceptive vaccines. *Expert Opin Biol Ther* 2003;3: 829-41.
- Domagala A, Turpiz M. Identification of sperm immunoreactive antigens for immunocontraceptive purposes: a review. *Reprod Biol Endocrinol* 2004;18:11-20.
- Shibahara H, Sato I, Shetty J, Naby-Hansen S, Herr JC, Wakimoto E, Koyama K. J Two-dimensional electrophoretic analysis of sperm antigens recognized by sperm immobilizing antibodies detected in infertile women. *Reprod Immunol* 2002;53:1-12.
- Liang ZG, O'Hern PA, Yavets B, Yavets H, Goldberg E. Human testis cDNA identified by sera from infertile patients: a molecular biological approach to immunocontraceptive development. *Reprod Fert Dev* 1994;6:297-305.
- Clayton R, Cooke ID, Partridge LJ,

- Moore HDM. A combinatory phage display library for the generation of specific Fab fragments recognizing human spermatozoa and inhibiting fertilizing capacity in vitro. *Biol Reprod* 1998;59:1180-6.
6. Allegrucci C, Ronquist G, Nilsson BO, Carlsson L, Lundquist M, Minelli A, Larsson A. Circulating human antisperm antibodies recognize prostasomes. *Am J Reprod Immunol* 2001;46:211-9.
  7. Carlsson L, Ronquist G, Nilsson BO, Larsson A. Dominant prostatic immunogens for sperm-agglutinating autantisperm antibodies of infertile men. *J Androl* 2004;25:699-705.
  8. Spargo SC, Hope RM. Evolution and nomenclature of the zona pellucida gene family. *Biol Reprod* 2003;68:358-62.
  9. Suri A. Contraceptive vaccines targeting sperm. *Expert Opin Biol Ther* 2005;5:381-92.
  10. Frayne J, Hall L. The potential use of sperm antigens as targets for immunocontraception; past, present and future. *J Reprod Immunol* 1999;41:1-33.
  11. Naz RK. Molecular and immunological characteristics of sperm antigens involved in egg binding. *J Reprod Immunol* 2002;53:13-23.
  12. Sivapurapu N, Hasegawa A, Gahlay GK, Koyama K, Gupta SK. Efficacy of antibodies against a chimeric synthetic peptide encompassing epitopes of bonnet monkey (*Macaca radiata*) zona pellucida-1 and zona pellucida-3 glykoproteins to inhibit in vitro human sperm-egg binding. *Mol Reprod Dev* 2005;70:247-54.
  13. Gupta SK, Srivastava N, Choudhury S, Rath A, Sivapurapu N, Gahlay GK, Batra D. Update on zona pellucida glycoproteins based contraceptive vaccine. *J Reprod Immunol* 2004;62:79-89.
  14. Seaman RF. Biotech prospects for the control of introduced mammals in Australia. *Reprod Fertil Dev* 2001;13:705-11.
  15. Kaji K. The mechanism of sperm-oocyte fusion in mammals. *Reproduction* 2004;127:423-9.
  16. Stein KK, Primakoff P, Myles D. Sperm-egg fusion: events at the plasma membrane. *J Cell Sci* 2004;117:6269-74.
  17. Nilsson BO, Jin M, Andersson AC, Sundstrom P, Larsson E. Expression of envelope proteins of endogenous C-type retrovirus on the surface of mouse and human oocytes at fertilization. *Virus Genes* 1999;18:115-20.
  18. Ferro VA, Mordini E. Peptide vaccines in immunocontraception. *Curr Opin Mol Ther* 2004;6:83-9.
  19. Nass SJ, Strauss JF III, editors. *New frontiers in contraceptive research: A blueprint for action*. Washington DC: The National Academies Press.;2005.
  20. Holden C. Research on contraception still in the doldrums. *Science* 2002;296:2172-6.