

维生素D与男性不育关系的研究进展

王家雄 史轶超

215002 南京医科大学附属苏州医院生殖与遗传中心

通信作者: 史轶超, Tel: +86-13814896279, Fax: +86-512-62362179, Email: sina365@163.com

DOI: 10.3760/cma.j.issn.2096-2916.2017.08.018

【摘要】 维生素D(vitamin D, VD)作为一类常见的营养元素,不仅在调节钙稳态和骨骼健康方面具有明确的作用,近年来有研究表明其与男性生殖可能存在密切关系。本文通过阐述VD的代谢、VD与男性性激素、精子质量以及妊娠结局的关系,以进一步说明VD对男性生育力的重要影响。了解VD对男性生殖的影响及其机制可为临床诊疗提供新的思路和方法。

【关键词】 维生素D(VD); 男性生殖; 性激素; 精子

基金项目: 江苏省自然科学基金(BK2012601); 江苏省遗传医学重点学科基金(FXK201305); 苏州市临床重点病种诊疗技术专项(lczx201411); 苏州市临床医学中心(szzx201505)

Vitamin D and male infertility: advances in studies Wang Jiaxiong, Shi Yichao

Center for Reproduction and Genetics, Suzhou Municipal Hospital Affiliated to Nanjing Medical University, Suzhou 215002, China (Wang JX, Shi YC)

Corresponding author: Shi Yichao, Tel: +86-13814896279, Fax: +86-512-62362179, Email: sina365@163.com

【Abstract】 Vitamin D (VD) has a definite effect on the regulation of calcium homeostasis and bone health. As the research progresses, the relationship between VD and male reproduction has been gradually revealed. This article describes the important effects of VD on male fertility by expounding the relationship between VD metabolism, VD and male sex hormones, sperm quality and pregnancy outcomes. Understanding the effect of VD on male reproduction and its mechanism will provide new ideas and methods to the clinical diagnosis and treatment of male infertility.

【Key words】 Vitamin D (VD); Male reproduction; Sex hormones; Sperm

Fund program: National Natural Science Foundation of China (81170611); Natural Science Foundation of Jiangsu Province (BK2012601); Key Discipline Foundation for Medical Genetics of Jiangsu Province (FXK201305); Specialized Fund for Diagnosis and Treatment of Key Diseases of Suzhou (lczx201411); Suzhou Center of Clinical Medicine (szzx201505)

近年来,随着城市化进程的加速和生活方式的改变,使得人们户外活动的日趋减少,导致维生素D(vitamin D, VD)缺乏逐渐成为一种高度流行的全球疾病,影响着所有年龄段的人。VD最主要的作用是调节钙吸收和钙磷代谢,维持肌肉和骨稳态,在其他疾病中的作用也越来越引起人们的重视。VD在女性生殖中的作用得到了广泛的证实,而对男性生育的影响也逐渐为大家所探究^[1]。虽然已有研究表明,在男性的生殖系统广泛存在VD受体(vitamin D receptor, VDR)和VD相关代谢酶^[2],动物实验也证实了VD缺乏的小鼠,其精子质量和繁殖能力下降^[3],但目前VD对男性生育影响的机制仍不清楚。最近,有研究认为补充VD可能对需要行辅助生殖技术(assisted reproductive technology, ART)的夫妇有益,而且利用VDR与VD代谢酶可以作为ART治疗的阳性预测标记^[4]。但是VD对男性生育力的影响仍存在不少争议。本文就VD与男性生殖有关的研究进展进行综述。

1 VD缺乏的流行病学

流行病学调查显示,VD缺乏的发生率为30%~50%,全球有近10亿人VD缺乏或不足^[5]。由于VD的营养状态与日照和饮食摄取密切相关,所以不同季节、不同地区、不同饮食习惯的人群体内VD水平差异很大,如Manios等^[6]对欧洲7个国家人群VD水平统计分析之后发现欧洲成年人VD缺乏的差异很大,最高发病率出现在英国,而荷兰最低,女性发病率高于男性,冬季高于夏季,年轻人高于老人。

2 VD的代谢、VDR与相关代谢酶

2.1 VD代谢 VD的主要来源是紫外照射后皮肤合成与食物摄取,食物中的VD经小肠吸收后,循环进入肝脏进行下一步激活。而通过紫外线照射后,无活性的VD可以在皮肤中合成,之后经历肝内与肾内2次羟基化形成具有活性的形式:1 α ,25(OH)₂VD。在合成后,1 α ,25(OH)₂VD结合并激活VDR,并与类视黄醇X受体形成异源二聚体。这种复合物

可以识别靶基因启动子区域的VD应答元件(vitamin D response element, VDRE)并调节其转录,从而发挥VD的作用^[7]。

2.2 VDR 研究显示^[2], VDR除在肠、骨、肾等经典靶器官表达外,也广泛表达于男性生殖系统,如:睾丸、附睾、精囊和前列腺。对于成熟精子, Aquila等^[8]通过免疫电子显微镜技术观察到, VDR大部分定位于精子细胞核内,精子颈部也有少量分布,细胞质、细胞膜以及被线粒体和外部致密纤维覆盖的轴丝和精子尾部未见表达。

2.3 VD相关代谢酶 VD的分子反应很复杂,不仅依赖于VDR的表达,而且有赖于细胞对于循环形式的VD摄入和VD代谢酶的存在及活力大小。Blomberg等^[2]观察到CYP2R1、CYP27A1和CYP27B1在一部分精母细胞、所有精子细胞、大多数间质(Leydig)细胞和一部分射出精子中表达,而在精原细胞中仅表达CYP27B1和CYP24A1。除了CYP24A1在精子颈环上明显表达,其余VD代谢酶定位于成熟的精子头部和后颈部区域^[9]。

3 VD与性激素

VD对男性生育的一个重要影响就是参与了性激素生物合成的调控,主要的报道集中在对睾酮、雌二醇(E₂)和抗苗勒管激素(anti-Müllerian hormone, AMH)产生的影响上。

3.1 VD与睾酮 睾酮对男性生殖起着至关重要的作用,VD与睾酮的关系也备受关注。临床数据统计结果对于睾酮与VD的关系存在争议, Wehr等^[10]观察到VD缺乏的男性其血清睾酮浓度、游离睾酮指数较健康对照组低,而性激素结合球蛋白较健康对照组高,而且雄激素与VD显示出一致的季节性变化。Pilz等^[11]将200名非糖尿病男性受试者分成VD补充组与安慰剂支持组,1年之后观察到VD补充组的总睾酮水平、生物活性睾酮与游离睾酮水平显著升高,相比之下,安慰剂组中所有的睾酮测量没有显著变化。然而也有研究显示^[12],VD补充与循环睾酮浓度的增加不相关。VD对睾酮的影响机制目前尚不清楚, Hofer等^[13]通过微阵列芯片显示63个关于睾酮合成和VD代谢的基因受VD水平调控,这种调控主要由VDR/类视黄醇X受体激活引发,调控睾酮合成相关基因或许是VD对睾酮影响的一个机制。

3.2 VD与E₂ 对于VD与E₂的关系,已经有大量的报道,然而因为方法学的不同以及各项研究中记录参数的不统一,不同研究中关于VD与E₂的关系无法横向比较。一项对1427位不育男性病例的统计研究表明,血清25(OH)₂VD浓度>75 nmol/L的男性,其血清游离睾酮与E₂都较VD浓度<25 nmol/L的男性高^[14]。类似的, Wang等^[15]在对中国男性的研究表明,25(OH)₂VD水平与总睾酮、E₂、性激素结合球蛋白、黄体生成素(LH)和卵泡刺激素(FSH)水平呈显著正相关。但是与睾酮的研究类似,也有关于VD与E₂并无关系的报道^[16]。

3.3 VD与AMH AMH和VD的关系很早就被关注,但是主要研究集中在女性,有研究者观察到成年男性AMH和VD呈正相关,但这个关系不适用于幼年男孩,该研究还揭示了AMH水平的季节变化,建议可以通过补充VD来预防AMH不足^[17]。

3.4 VD与泌乳素(prolactin, PRL) 有文献报道了VD对PRL

的影响, Zhu等^[18]将男性按精子质量分组,结果少精子症、弱精子症、少弱精子症以及无精子症患者较健康对照,其1 α , 25(OH)₂VD显著低,且伴随着PRL水平升高。

VD对性激素的影响很大程度反映了VD对性腺功能的影响,VD敲除小鼠,无论雌、雄,均出现芳香酶活性降低的现象,性腺发育不良及严重的原发性性腺功能低下^[19]。然而,关于VD对性腺功能与性激素的关系上,研究结果出现了分歧,即线性相关和反U形相关。线性相关结果认为随着VD血清浓度升高,性腺功能好且雄性激素分泌增加,建议对性腺功能不佳的男性患者补充VD^[11,15],但是反U形相关研究表明^[20-21],高剂量的VD补充反而会导致性腺功能减退,而且很多性腺功能减退患者伴随着雄激素低的同时血清VD水平却很高。这两种结果的明显冲突也可能是源自于研究设计、基线25(OH)₂VD浓度设定、测定方法、膳食VD摄入量和季节变化的差异^[1]。

4 VD与精子质量

VD对男性生育另一大影响就是影响精子质量,最显而易见的就是影响精子活力。VD缺乏会导致精子活动力的下降,这个结论已经被很多研究证实,包括动物实验^[19]与临床病例的统计分析^[22]。VD对精子质量影响的具体机制尚不明确,目前有下列几种推测。

4.1 VD与精子细胞内钙、锌 VD与钙的关系在很多人体其他部位已被验证,VD与其相关的钙结合蛋白的作用也被研究者探究^[23]。对于男性生殖, Blomberg等^[3]观察到,VD与精子活动力以及精子细胞内的钙浓度呈正相关。如之前所说,成熟精子的颈部存在着VD代谢酶和VDR,而有研究表明精子颈部具有存储钙的功能,钙信号在精子生理学中发挥关键作用,参与了精子顶体反应、趋化性和超活化的调节,而且这些钙的激活动员可以调节鞭毛的运动^[24], Aquila等^[25]通过分子生物学研究表明,VD作用于VDR后,通过ATP结合盒转运蛋白A1(ATP-binding cassette protein A1, ABCA1)介导胆固醇从细胞内转运到细胞外,激活蛋白磷酸化,提升细胞内Ca²⁺水平,增加脂肪酶活性,消耗甘油三酯,加快精子运动,增加顶体酶活性,促进精子成熟和获能,这或许是VD对精子活动力影响的一个机制。高水平的VD水平还可以诱导全身或局部锌的改变水平^[21],而锌在精子发生中起着重要作用^[26],这或许是VD影响精子质量的另一个原因。虽然VD对钙的影响已被公认,但是对于VD调节精子的Ca²⁺浓度,从而影响精子质量这点,也有不同观点。Yang等^[27]认为钙对精子的影响是复杂的,而成熟精子细胞质中Ca²⁺浓度与其存活率呈负相关,VD虽然在不同细胞中通过几种第二信使发挥作用,然而精子中VD的下游调控仍需要进一步研究。

4.2 VD与睾丸形态学变化 VD缺乏不仅会引起精子细胞内Ca²⁺的缺乏,还会导致睾丸形态学发生变化,从而影响精子质量, Sun等^[28]将小鼠的25(OH)₂VD-1 α -羟化酶表达基因敲除,观察VD对男性不育及睾丸形态的影响,结果实验组小鼠出现性腺功能严重低下,睾丸钙通道下调,细胞内钙水平降低以及睾丸组织形态学异常,睾丸重相对量、睾丸相对量/体质量比例下降,生精上皮异常,精原细胞排列紊乱,从而导致精子计数和运动性下降。Hirai等^[29]对隐睾和行睾丸固定

术的模型小鼠进行VD治疗后观察其睾丸形态学指标的变化,结果治疗后小鼠睾丸的相对量和形态学评分增加了,并且促进了精子发生,作者认为这应该归功于VD对支持(Sertoli)细胞中某些特定基因的表达与调控。VD对支持细胞膜上的 γ -谷氨酰转氨酶活性进行刺激,VD缺乏可以影响其活性,进而影响睾丸内葡萄糖摄取、乳酸生成,导致睾丸内组织细胞不成熟,使睾丸偏小。

4.3 VD与生殖相关基因调控 男性生殖一些特定基因的表达调控可能是VD对精子质量影响的一个重要原因,VD在转化成活性代谢物1,25-二羟胆钙化醇后,结合VDR,再结合VD应答元件对特定基因进行调节转录^[31]。有研究表明^[29],VD处理后小鼠睾丸中的2 483个睾丸特异性基因中有19个显示上调表达。在所有特异性基因中,最被关注的是调节细胞胆固醇稳态的ABCA1基因,其主要表达在睾丸支持细胞中,而且可能影响男性生育力。有研究表明,与野生型相比,ABCA1基因敲除小鼠睾丸内睾酮水平以及精子数目显著降低,ABCA1的缺失不仅导致支持细胞内脂质的消耗,甚至影响来自Leydig细胞的高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein-cholesterol, HDL-C),HDL-C是用于生成胆固醇的主要来源,因此在ABCA1基因缺失的情况下,间质细胞和支持细胞功能部分受损,导致敲除小鼠中睾酮和精子都较少产生^[32]。Zanatta等^[33]通过VD处理小鼠未成熟的支持细胞,结果上调了芳香化酶基因的表达,芳香化酶是许多雌激素合成的限速酶,其产生的量会直接导致激素平衡的变化从而影响精子质量。有趣的是,不仅男性自身VD缺乏可能导致精子质量下降,Xue等^[34]通过动物实验显示母体VD缺乏会导致子代精子DNA甲基化水平变化,影响部分基因表达从而影响精子质量,而且这种影响可以持续很多代。

5 VD与妊娠结局

5.1 VD与自然妊娠 VD与生殖结局的研究主要集中在女性VD水平与生殖结局方面,妊娠夫妇中男性伴侣的VD状态与妊娠结局关系的研究较少,多数进行的是动物实验研究,如Kwiecinski等^[35]早在1989年就观察到雌性小鼠与VD缺乏雄性小鼠即使成功交配,其阴道中存在的精子也较正常组减少了45%,而且其妊娠率较正常对照减少了73%。Tartagni等^[36]将不孕夫妇分成VD正常组与缺乏组,检测男性精液常规数据,记录排卵期阴道性交后女方的临床妊娠率、分娩率以及3个月期间结束评估时组间流产率的差异,结果显示虽然精子浓度和活动力没有明显差异,但是妊娠率和分娩率VD正常组明显更高。

5.2 VD与ART妊娠 VD不仅影响自然妊娠的结局,与ART结局也密切相关,卵泡液中适当浓度的VD可以增加精子细胞内的 Ca^{2+} 浓度并且诱导精-卵细胞体外结合^[37]。但是有研究者观察到如果女性血清和卵泡液VD水平过高且伴随卵泡液葡萄糖水平降低,会对体外受精(in vitro fertilization, IVF)结果具有不利的影响^[38]。不过,Neville等^[39]对行IVF与胞质内单精子注射(intracytoplasmic sperm injection, ICSI)的夫妇双方血清VD水平与妊娠结局进行了统计,结果妊娠结局与男女双方的VD状态之间没有相关性。成本效益分析表明,在ART之前筛选和补充VD可能具有成本效益,但需要

进一步的研究证据,由于缺乏关于VD状态和ART结果的直接证据,在ART之前完全支持常规VD筛选和补充尚不成熟的^[40]。对于男性VD水平与辅助生殖结局的研究数据仍然十

分有限,需要进一步的研究证据,由于缺乏关于VD状态和ART结果的直接证据,在ART之前完全支持常规VD筛选和补充尚不成熟的^[40]。对于男性VD水平与辅助生殖结局的研究数据仍然十

- and low ionized calcium are linked with semen quality and sex steroid levels in infertile men[J]. *Hum Reprod*, 2016, 31(8):1875-1885. DOI: 10.1093/humrep/dew152.
- [15] Wang N, Han B, Li Q, et al. Vitamin D is associated with testosterone and hypogonadism in Chinese men: results from a cross-sectional SPECT-China study[J]. *Reprod Biol Endocrinol*, 2015, 13(74):1-7. DOI: 10.1186/s12958-015-0068-2.
- [16] Rafiq R, van Schoor NM, Sohl E, et al. Associations of vitamin D status and vitamin D-related polymorphisms with sex hormones in older men [J]. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2016, 164:11-17. DOI: 10.1016/j.jsmb.2015.11.013.
- [17] Osório J. Reproductive endocrinology: vitamin D and AMH levels are correlated in human adults[J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2012, 8(7):380. DOI: 10.1038/nrendo.2012.72.
- [18] Zhu CL, Xu QF, Li SX, et al. Investigation of serum vitamin D levels in Chinese infertile men[J]. *Andrologia*, 2016, 48(10):1261-1266. DOI: 10.1111/and.12570.
- [19] Kinuta K, Tanaka H, Moriwake T, et al. Vitamin D is an important factor in estrogen biosynthesis of both female and male gonads[J]. *Endocrinology*, 2000, 141(4):1317-1324. DOI: 10.1210/endo.141.4.7403.
- [20] Lerchbaum E, Pilz S, Trummer C, et al. Serum vitamin D levels and hypogonadism in men[J]. *Andrology*, 2014, 2(5):748-754. DOI: 10.1111/j.2047-2927.2014.00247.x.
- [21] Hammoud AO, Meikle AW, Peterson CM, et al. Association of 25-hydroxy-vitamin D levels with semen and hormonal parameters[J]. *Asian J Androl*, 2012, 14(6):855-859. DOI: 10.1038/aja.2012.77.
- [22] Abbasihormozi S, Kouhkan A, Alizadeh AR, et al. Association of vitamin D status with semen quality and reproductive hormones in Iranian subfertile men[J]. *Andrology*, 2017, 5(1):113-118. DOI: 10.1111/andr.12280.
- [23] 许多, 朱伟杰, 王自能. 钙结合蛋白Calbindin-d28k在雌(女)性生殖中的作用[J]. *生殖与避孕*, 2005, 25(11):686-689. DOI: 10.3969/j.issn.0253-357X.2005.11.010.
- [24] Bedu-Addo K, Costello S, Harper C, et al. Mobilisation of stored calcium in the neck region of human sperm—a mechanism for regulation of flagellar activity[J]. *Int J Dev Biol*, 2008, 52(5-6):615-626. DOI: 10.1387/ijdb.072535kb.
- [25] Aquila S, Guido C, Middea E, et al. Human male gamete endocrinology: 1 α , 25-dihydroxyvitamin D₃ (1,25(OH)₂D₃) regulates different aspects of human sperm biology and metabolism[J]. *Reprod Biol Endocrinol*, 2009, 7:140. DOI: 10.1186/1477-7827-7-140.
- [26] Ebisch IM, Pierik FH, DE JFH, et al. Does folic acid and zinc sulphate intervention affect endocrine parameters and sperm characteristics in men[J]. *Int J Androl*, 2006, 29(2):339-345. DOI: 10.1111/j.1365-2605.2005.00598.x.
- [27] Yang B, Sun H, Wang H. The downstream effects of vitamin D in spermatozoa needs further study[J]. *Hum Reprod*, 2010, 25(8):2152-2153. DOI: 10.1093/humrep/deq114.
- [28] Sun W, Chen L, Zhang W, et al. Active vitamin D deficiency mediated by extracellular calcium and phosphorus results in male infertility in young mice[J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2015, 308(1):E51-62. DOI: 10.1152/ajpendo.00076.2014.
- [29] Hirai T, Tsujimura A, Ueda T, et al. Effect of 1,25-dihydroxyvitamin D on testicular morphology and gene expression in experimental cryptorchid mouse: testis specific cDNA microarray analysis and potential implication in male infertility[J]. *J Urol*, 2009, 181(3):1487-1492. DOI: 10.1016/j.juro.2008.11.007.
- [30] Gonçalves R, Zamoner A, Zanatta L, et al. 1,25(OH)₂ vitamin D₃ signalling in immature rat Sertoli cells: gamma-glutamyl transpeptidase and glucose metabolism[J]. *J Cell Commun Signal*, 2017. DOI: 10.1007/s12079-016-0367-1.
- [31] 朱丽红, 朱瑾. HOXA10在胚胎着床过程中的调控机制[J]. *生殖与避孕*, 2010, 30(11):769-774.
- [32] Selva DM, Hirsch-Reinshagen V, Burgess B, et al. The ATP-binding cassette transporter 1 mediates lipid efflux from Sertoli cells and influences male fertility[J]. *J Lipid Res*, 2004, 45(6):1040-1050. DOI: 10.1194/jlr.M400007-JLR200.
- [33] Zanatta L, Bourai ma-Lelong H, DeLalande C, et al. Regulation of aromatase expression by 1 α ,25(OH)₂ vitamin D₃ in rat testicular cells[J]. *Reprod Fertil Dev*, 2011, 23(5):725-735. DOI: 10.1071/RD10163.
- [34] Xue J, Schoenrock SA, Valdar W, et al. Maternal vitamin D depletion alters DNA methylation at imprinted loci in multiple generations[J]. *Cl in Epigenetics*, 2016, 8:107. DOI: 10.1186/s13148-016-0276-4.
- [35] Kwiecinski GG, Petrie GI, DeLuca HF. Vitamin D is necessary for reproductive functions of the male rat[J]. *J Nutr*, 1989, 119(5):741-744.
- [36] Tartagni M, Matteo M, Baldini D, et al. Males with low serum levels of vitamin D have lower pregnancy rates when ovulation induction and timed intercourse are used as a treatment for infertile couples: results from a pilot study[J]. *Reprod Biol Endocrinol*, 2015, 13:127. DOI: 10.1186/s12958-015-0126-9.
- [37] Bøllehuus HL, Rehfeld A, de Neergaard R, et al. Selection of high quality spermatozoa may be promoted by activated vitamin D in the woman[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2017, 102(3):950-961. DOI: 10.1210/jc.2016-3008.
- [38] Anifandis GM, Dafopoulos K, Messini CI, et al. Prognostic value of follicular fluid 25-OH vitamin D and glucose levels in the IVF outcome[J]. *Reprod Biol Endocrinol*, 2010, 8:91. DOI: 10.1186/1477-7827-8-91.
- [39] Neville G, Martyn F, Kilbane M, et al. Vitamin D status and fertility outcomes during winter among couples undergoing in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection[J]. *Int J Gynaecol Obstet*, 2016, 135(2):172-176. DOI: 10.1016/j.ijgo.2016.04.018.
- [40] Pacis MM, Fortin CN, Zarek SM, et al. Vitamin D and assisted reproduction: should vitamin D be routinely screened and repleted prior to ART? A systematic review[J]. *J Assist Reprod Genet*, 2015, 32(3):323-335. DOI: 10.1007/s10815-014-0407-9.

(收稿日期: 2017-03-27)

(本文编辑: 王李艳)