

# 补充维生素 D 对中年雄性小鼠精子活力的影响

刘国强 魏蕊 杨进 洪天配

北京大学第三医院内分泌科 100191

通信作者:魏蕊,Email:weirui@bjmu.edu.cn

**【摘要】 目的** 探讨补充维生素 D (vitamin D, VD) 对中年雄性小鼠精子活力的影响。**方法** 采用 VD 常规含量饲料喂养的 7 周龄雄性 ICR 小鼠随机分为 4 组:中年 VD 缺乏组、中年常规 VD 组、中年补充 VD 组、年轻常规 VD 组(每组 7 只),前 3 组小鼠 8~28 周龄分别给予 VD 缺乏、常规含量、高于常规含量的饲料(VD 含量分别为 <100、1 000 及 1 500 U/kg 饲料)喂养,后一组小鼠持续采用 VD 常规含量的饲料喂养至 8 周龄。利用酶联免疫吸附测定(ELISA)法测定血清 25-羟维生素 D(25OHD)水平,采用计算机辅助精液分析系统检测精液各项参数。**结果** 中年补充 VD 组小鼠的血清 25OHD 水平显著高于其他 3 组小鼠,中年常规 VD 组和年轻常规 VD 组的血清 25OHD 水平显著高于中年 VD 缺乏组。各组间小鼠的睾丸和附睾的平均重量未见显著性差异。与中年常规 VD 组、中年 VD 缺乏组相比,中年补充 VD 组小鼠的精子活动率和前向运动速度显著升高,达到接近年轻常规 VD 组小鼠的水平。**结论** 补充 VD 有助于维持中年雄性小鼠的精子活力。

**【关键词】** 维生素 D;精子活力;增龄

**基金项目:**国家自然科学基金(81970617)

DOI:10.3760/cma.j.cn121383-20210206-02014

**Effects of vitamin D supplementation on sperm motility in middle aged male mice** Liu Guoqiang, Wei Rui, Yang Jin, Hong Tianpei. Department of Endocrinology and Metabolism, Peking University Third Hospital, Beijing 100191, China

Corresponding author: Wei Rui, Email: weirui@bjmu.edu.cn

**【Abstract】 Objective** To investigate the effect of vitamin D (VD) supplement on sperm motility in middle aged male mice. **Methods** Twenty-eight male ICR mice fed with regular VD diet aged 7 weeks, were randomized into four groups: middle aged VD-deficiency group, middle aged VD-regular group, middle aged VD-supplement group, and younger VD-regular group ( $n=7$  in each group). Mice in the first three groups were fed with very low VD diet <100 U/kg, regular VD diet 1 000 U/kg, and high VD diet 1 500 U/kg, respectively from week 8th to week 28th, and the mice in younger VD-regular group were fed with regular VD diet up to week 8th. The level of 25-hydroxyvitamin D (25OHD) was determined by ELISA, and the semen parameters were determined by computer aided semen analysis system. **Results** The serum 25OHD level in the middle aged VD-supplement group was higher than that in the other three groups, and the levels of serum 25OHD in the middle aged and younger VD-regular groups were higher than that in the middle aged VD-deficiency group. There were no significant differences in the average weight of testis and epididymis among all groups. Compared with the middle aged VD-regular group and the middle aged VD-deficiency group, the sperm motility rate and straight-line velocity in the middle aged VD-supplement group were significantly elevated, approximate to the levels in younger VD-regular group. **Conclusion** VD supplement is helpful to maintain the sperm motility in middle aged male mice.

**【Keywords】** Vitamin D; Sperm motility; Aging

**Fund program:** National Natural Science Foundation of China(81970617)

DOI:10.3760/cma.j.cn121383-20210206-02014

近年来,不育症的发病率不断增加,已经成为困扰育龄夫妇的一个重要问题。男性因素占不育症的比例高达 50%,其中 60%~75% 的男性不育症患者找不到明确的病因,此为特发性男性不育症,其治疗往往也较为困难<sup>[1]</sup>。生精障碍与男性不育症密切相关,可表现为少精、弱精、无精、精子畸形等。维生素 D(vitamin D, VD)是一种维生素,也是一种激素。已有大量研究显示 VD 在骨质疏松症的发病和治疗中具有重要作用。此外,VD 的骨骼外效应近年来日益受到关注。业已证实,VD 不足或缺乏与阿尔茨海默病<sup>[2]</sup>、肌肉减少症<sup>[3]</sup>、高血压病等衰老相关性疾病的发生风险密切相关<sup>[4]</sup>,且补充 VD 有助于对上述疾病的治疗<sup>[5-6]</sup>。雄性生殖系统可表达 VD 受体和 VD 代谢酶<sup>[7]</sup>,VD 参与了雄性生殖功能的多个环节,研究显示血清 25-羟维生素 D(25-hydroxyvitamin D, 25OHD) > 35 ng/ml 可减少勃起障碍的风险<sup>[8]</sup>,25OHD 水平与血清总睾酮及游离睾酮均呈正相关<sup>[9]</sup>。然而 VD 对雄性生殖功能的影响目前尚未完全阐明。本研究目的即分析不同 VD 水平对中年雄性小鼠的垂体-性腺激素水平和精液常规参数的影响。

## 1 材料和方法

1.1 实验动物 本研究得到北京大学第三医院实验动物伦理委员会批准。雄性 ICR 小鼠由上海西普尔-必凯实验动物有限公司提供,SPF 级,动物房的饲养温度(22±5)℃,相对湿度(50±10)%,明暗周期 12 h/12 h。每笼 3~4 只,自由饮食和饮水。

1.2 实验分组 小鼠寿命通常为 1.5~2 年,6~9 月龄小鼠一般相当于人的中年,故本研究选取 28 周龄(7 月龄)小鼠作为中年小鼠模型。采用 VD 常规含量(1 000 U/kg 饲料)的饲料喂养的 7 周龄雄性 ICR 小鼠 28 只,随机分为 4 组(每组 7 只),即中年 VD 缺乏组、中年常规 VD 组、中年补充 VD 组、年轻常规 VD 组,适应性喂养 1 周后,前 3 组小鼠自 8 周龄至 28 周龄分别给予 VD 缺乏(<100 U/kg 饲料)的饲料、VD 常规含量(1 000 U/kg 饲料)的饲料、VD 高于常规含量(1 500 U/kg 饲料)的饲料喂养,后一组小鼠于 8 周龄直接处死。本研究选取常规饲料的 VD 含量(1 000 U/kg 饲料)作为常规 VD 剂量,选取剂量小于常规剂量十分之一的饲料(<100 U/kg)

作为 VD 缺乏的饲料。考虑到过高剂量 VD 有中毒的风险,因此采用普通饲料 VD 含量 1.5 倍的剂量即 1 500 U/kg 作为 VD 补充的饲料。在干预时长方面,既往 VD 缺乏对雄性小鼠生殖功能的研究,干预时长为 7 周至 3 个月<sup>[10-11]</sup>,本研究选取干预时长 20 周。

1.3 检测指标和方法 观察小鼠的饮食、饮水、毛发等情况。眼眶后静脉丛采血,留取血清,分光光度比色法测定钙浓度,化学发光法检测 25OHD,酶联免疫吸附测定(ELISA)法测定卵泡刺激素(follicle-stimulating hormone, FSH)、黄体生成素(luteinizing hormone, LH)、睾酮(testosterone)等指标。ELISA 试剂盒来自上海优选生物科技有限公司。

颈椎脱臼法处死小鼠,置于冰台,显微镜下无菌状态分离睾丸,剥离睾丸周围脂肪组织,将附睾与睾丸分离,分别称重后将附睾剪开并放入 3 ml 的生理盐水中,在 37℃ 下孵育 10 min 使精子游离出来,取 10 μl 悬浮液用于分析。采用计算机辅助精液分析系统检测精液各项参数,该分析系统使用 WLJY-9000 型精子质量分析软件,在 37℃ 下将精子混悬液涂于计数板上,在计数板上随机选取 10 个视野,每个视野检测约 10 s。分析指标包括精子密度、活动精子数、静止精子数、前向运动速度(straight line velocity, VSL)、曲线运动速度(curvilinear velocity, VCL)、精子头侧摆幅度(amplitude of lateral head displacement, ALH)、平均路径速度(average path velocity, VAP)、鞭打频率(beat cross frequency, BCF)、精子头长宽比(elongation, ELON)等。精子活动率=活动精子数/(活动精子数+静止精子数)×100%。

1.4 统计学分析 采用 SPSS 20.0 统计学软件对数据进行分析,数据以中位数(四分位数)表示,两组间的差异比较采用非参数检验的 Mann-Whitney U 检验,多组间的差异比较采用非参数检验的 Kruskal-Wallis H 检验,  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

2.1 小鼠基本情况、血清钙及 25OHD 水平 各组小鼠均可正常进食和饮水,肉眼观察各组间小鼠毛发的色泽和浓密程度未见明显差异。各组间血清钙水平无显著性差异(表 1)。中年补充 VD 组小鼠的血清 25OHD 水平显著高于其他 3 组小鼠,中年常规

VD 组和年轻常规 VD 组小鼠的血清 25OHD 水平显著高于中年 VD 缺乏组小鼠 (表 1)。上述结果提示,VD 营养状态分组的干预成功。

2.2 垂体-性腺激素水平及睾丸、附睾重量 各组间小鼠的血清 FSH、LH 及睾酮水平均无显著性差异 (表 2)。各组间小鼠的两侧睾丸和双侧附睾的平均重量也均未见显著性差异 (表 3)。

2.3 精液常规参数 如表 4 所示,中年常规 VD 组与年轻常规 VD 组比较,小鼠的精子活动率有下降趋势,但未达到统计学显著性水平 ( $P > 0.05$ );与中年常规 VD 组相比,中年补充 VD 组小鼠的精子活动率显著升高 ( $P < 0.05$ ),达到年轻常规 VD 组小鼠的水平;中年补充 VD 组小鼠的精子活动率高于中年 VD 缺乏组,分别为 82.0% 和 62.0%,但统计学无显著性差异 ( $P$  值为 0.053)。中年常规 VD 组与年轻常规 VD 组比较,小鼠精子 VSL 显著下降 ( $P < 0.05$ );与中年常规 VD 组、中年 VD 缺乏组相

比,中年补充 VD 组小鼠精子 VSL 显著升高 ( $P < 0.05$ ),达到接近年轻常规 VD 组小鼠的水平。此外,不同组间小鼠的精子密度、VCL、ALH、VAP、BCF、ELON 等指标均未见显著性差异 ( $P$  均  $> 0.05$ )。

### 3 讨论

VD 不足或缺乏与阿尔茨海默病和肌肉减少症等增龄相关性疾病的发生风险密切相关,且补充 VD 有助于对上述疾病的治疗<sup>[2-3,5]</sup>。增龄可以导致雄性生殖功能减退。本研究显示,在常规 VD 营养状态下,与年轻小鼠相比,中年小鼠的精子活动率有下降趋势,VSL 显著下降,提示精子活力降低可能与增龄相关,甚至在血清睾酮等性激素水平变化之前即出现精子活力的降低。本研究还发现,与中年常规 VD 组、中年 VD 缺乏组小鼠相比,中年补充 VD 组小鼠的精子活动率和 VSL 显著升高,达到接近年轻常规 VD 组小鼠的水平,提示补充 VD 有助于改善中年雄性小鼠的精子活力。

表 1 血清钙和 25-羟维生素 D 水平 [ $M(IQR)$ ]

组别	中年 VD 缺乏组	中年常规 VD 组	中年补充 VD 组	年轻常规 VD 组
血清钙 (mmol/L)	2.35 (0.28)	2.46 (0.34)	2.51 (0.26)	2.43 (0.38)
25OHD (ng/ml)	8.69 (1.00)	41.28 (21.31) <sup>a</sup>	78.30 (14.93) <sup>abc</sup>	57.81 (19.49) <sup>a</sup>

注:<sup>a</sup> 与中年 VD 缺乏组比较,  $P < 0.001$ ; <sup>b</sup> 与中年常规 VD 组比较,  $P < 0.001$ ; <sup>c</sup> 与年轻常规 VD 组比较,  $P < 0.001$ ; VD: 维生素 D; 25OHD: 25-羟维生素 D; IQR: 四分位距

表 2 垂体-性腺激素水平 [ $M(IQR)$ ]

组别	中年 VD 缺乏组	中年常规 VD 组	中年补充 VD 组	年轻常规 VD 组
FSH (U/L)	27.5 (9.6)	20.6 (13.9)	21.6 (9.6)	24.4 (13.5)
LH (U/L)	29.2 (15.9)	24.0 (19.0)	33.8 (15.9)	24.6 (13.0)
T (U/L)	53.9 (9.0)	54.0 (16.0)	60.9 (11.9)	59.8 (17.3)

注: VD: 维生素 D; FSH: 卵泡刺激素; LH: 黄体生成素; T: 睾酮; IQR: 四分位距

表 3 睾丸和附睾重量 [ $M(IQR)$ ]

组别	中年 VD 缺乏组	中年常规 VD 组	中年补充 VD 组	年轻常规 VD 组
双侧睾丸重量 (mg)	130.0 (10.0)	130.0 (40.0)	140.0 (20.0)	130.0 (17.5)
双侧附睾重量 (mg)	70.0 (10.0)	70.0 (15.0)	70.0 (10.0)	65.0 (15.0)

注: VD: 维生素 D; IQR: 四分位距

表 4 精液参数分析 [ $M(IQR)$ ]

组别	中年 VD 缺乏组	中年常规 VD 组	中年补充 VD 组	年轻常规 VD 组
精子密度 ( $\times 10^6/\text{ml}$ )	29.00 (16.00)	26.00 (12.00)	31.00 (20.00)	32.50 (12.00)
精子活动率 (%)	62.00 (9.00)	54.90 (32.10)	82.00 (25.00) <sup>b</sup>	77.38 (25.33)
VSL ( $\mu\text{m}/\text{s}$ )	115.70 (17.20)	112.20 (21.00)	134.40 (10.90) <sup>ab</sup>	138.50 (30.20) <sup>ab</sup>
VCL ( $\mu\text{m}/\text{s}$ )	331.20 (59.50)	313.00 (42.80)	351.00 (51.60)	399.95 (55.48)
ALH ( $\mu\text{m}$ )	17.00 (2.00)	16.10 (3.00)	16.80 (1.40)	16.45 (3.13)
VAP ( $\mu\text{m}/\text{s}$ )	153.70 (20.20)	163.10 (53.30)	169.40 (15.40)	168.15 (33.57)
BCF (Hz)	34.80 (3.10)	33.80 (4.10)	32.70 (3.30)	35.75 (5.27)
ELON (%)	35.00 (7.00)	30.00 (13.0)	35.00 (2.00)	34.50 (2.75)

注:<sup>a</sup> 与中年 VD 缺乏组比较,  $P < 0.05$ ; <sup>b</sup> 与中年常规 VD 组比较,  $P < 0.05$ ; VD: 维生素 D; VSL: 前向运动速度; VCL: 曲线运动速度; ALH: 精子头侧摆幅度; VAP: 平均路径速度; BCF: 鞭打频率; ELON: 精子头长宽比; IQR: 四分位距

由于生活方式改变等原因,目前 VD 不足或缺乏非常普遍。流行病学研究显示,在北京某社区 24 ~ 97 岁男性人群中,VD 不足 (25OHD 介于 20 ~ 30 ng/ml 之间) 或缺乏 (25OHD < 20 ng/ml) 的比例为 88%<sup>[12]</sup>。在上海地区 20 ~ 89 岁男性人群中,VD 不足或缺乏的比例为 84%<sup>[13]</sup>。上述结果提示,男性 VD 不足或缺乏是一个未得到足够重视的常见临床问题。基础研究显示,VD 缺乏会影响雄性生殖系统发育。自出生后即暴露于 VD 缺乏营养状态的小鼠,其睾丸重量较暴露于常规 VD 营养状态的对照组小鼠显著降低,精子数量和活动精子的比例也较对照组显著降低,提示 VD 缺乏可导致小鼠睾丸发育障碍和精子发生异常,此外,VD 缺乏的雄性小鼠交配成功的概率较对照组小鼠亦显著降低<sup>[10]</sup>。本研究起始干预周龄为 8 周,小鼠已经性成熟,睾丸发育已相对完善,故各组之间睾丸和附睾重量无显著差异。VD 缺乏可能影响雄性生殖功能。一项观察性临床试验显示,与 25OHD > 75 nmol/L (30 ng/ml) 男性相比,25OHD < 25 nmol/L (10 ng/ml) 男性的精子活动力和活动精子总量均显著下降,提示男性 VD 缺乏与精子活动能力下降存在相关性<sup>[14]</sup>。另一项横断面临床研究显示,精液参数正常男性组的血清 25OHD 均值为 (80.90 ± 23.33) nmol/L [(32.41 ± 9.35) ng/ml], 显著高于精液参数异常男性组的 25OHD 水平 (64.68 ± 24.21) nmol/L [(25.87 ± 9.70) ng/ml]; 血清睾酮水平与 25OHD 水平呈正相关,血清 LH 水平与 25OHD 水平呈负相关,而血清 FSH 水平则与 25OHD 水平未见显著相关性<sup>[15]</sup>。

补充 VD 是否有利于维持雄性生殖功能? 已有研究显示,补充 VD 可改善 VD 不足或缺乏男性不育症患者的精子数量和精子活力<sup>[16-17]</sup>。然而,在 VD 充足 (25OHD 介于 30 ~ 100 ng/ml) 范围内的男性人群中,额外补充 VD 对精子数量和精子活力究竟是否具有获益,目前尚不清楚,在常规 VD 喂养的基础上额外补充 VD 并干预长达 20 周为本项研究的创新之处。结果显示,与中年常规 VD 组、中年 VD 缺乏组小鼠相比,中年补充 VD 组小鼠的精子活动率和 VSL 显著升高,达到接近年轻常规 VD 组小鼠的水平。上述结果提示,在 VD 充足的中年雄性小鼠中,额外补充 VD 可提高精子活力。本项研究的局限性在于未测定高活性的 1,25-双羟维生素 D

[1,25-dihydroxyvitamin D, 1,25(OH)<sub>2</sub>D]、甲状旁腺激素和血磷等,未能进行与精液各项参数相关的分析。

补充 VD 如何改善雄性生殖功能? VD 在肝脏中经过 25-羟化酶的催化转变为 25OHD,随后在肾脏中经过 1 $\alpha$ -羟化酶的催化转变为 1,25(OH)<sub>2</sub>D,从而发挥重要的生物学效应。近期的研究显示,精浆 1,25(OH)<sub>2</sub>D 可通过环磷酸腺苷/蛋白激酶 A (cAMP/PKA) 信号通路促进三磷酸腺苷 (ATP) 合成和增加细胞内钙离子,从而提高精子活动力<sup>[18]</sup>。在今后的研究中,应进一步明确额外补充 VD 是否可以影响血液中抗缪勒管激素和双氢睾酮等激素的水平,以及通过对 VD 作用相关的抗衰老和抗氧化应激的信号通路、自噬和凋亡等方面进行探索,以阐明 VD 改善雄性小鼠精子活力的确切作用机制。

本项研究显示额外补充 VD 有助于维持中年雄性小鼠的精子活力,为男性生殖功能的保护性治疗提供了思路 and 基础研究依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

## 参 考 文 献

- [1] Esteves SC, Hamada A, Kondray V, et al. What every gynecologist should know about male infertility: an update [J]. Arch Gynecol Obstet, 2012, 286 (1): 217-229. DOI: 10.1007/s00404-012-2274-x.
- [2] Annweiler C. Vitamin D in dementia prevention [J]. Ann N Y Acad Sci, 2016, 1367 (1): 57-63. DOI: 10.1111/nyas.13058.
- [3] Remelli F, Vitali A, Zurlo A, et al. Vitamin D deficiency and sarcopenia in older persons [J]. Nutrients, 2019, 11 (12): 2861. DOI: 10.3390/nu11122861.
- [4] Weng S, Sprague JE, Oh J, et al. Vitamin D deficiency induces high blood pressure and accelerates atherosclerosis in mice [J]. PLoS One, 2013, 8 (1): e54625. DOI: 10.1371/journal.pone.0054625.
- [5] Grimm MO, Lehmann J, Mett J, et al. Impact of vitamin D on amyloid precursor protein processing and amyloid- $\beta$  peptide degradation in Alzheimer's disease [J]. Neurodegener Dis, 2014, 13 (2-3): 75-81. DOI: 10.1159/000355462.
- [6] Mozaffari-Khosravi H, Loloei S, Mirjalili MR, et al. The effect of vitamin D supplementation on blood pressure in patients with elevated blood pressure and vitamin D deficiency: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial [J]. Blood Press Monit, 2015, 20 (2): 83-91. DOI: 10.1097/MBP.0000000000000091.
- [7] Blomberg Jensen M. Vitamin D and male reproduction [J]. Nat Rev Endocrinol, 2014, 10 (3): 175-186. DOI: 10.1038/nrendo.2013.262.

(下转第 183 页)

- regulation of PD-L1 [J]. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 2022, 395(4):487-494. DOI:10.1007/s00210-022-02210-w.
- [17] Levi M, van der Poll T. Coagulation and sepsis [J]. *Thromb Res*, 2017, 149:38-44. DOI:10.1016/j.thromres.2016.11.007.
- [18] Grant WB, Lahore H, McDonnell SL, et al. Evidence that Vitamin D supplementation could reduce risk of influenza and COVID-19 infections and deaths [J]. *Nutrients*, 2020, 12(4):988. DOI:10.3390/nu12040988.
- [19] Xu J, Yang J, Chen J, et al. Vitamin D alleviates lipopolysaccharide induced acute lung injury via regulation of the renin angiotensin system [J]. *Mol Med Rep*, 2017, 16(5):7432-7438. DOI:10.3892/mmr.2017.7546.
- [20] Annweiler G, Corvaisier M, Gautier J, et al. Vitamin D supplementation associated to better survival in hospitalized frail elderly COVID-19 patients; the GERIA-COVID Quasi-Experimental study [J]. *Nutrients*, 2020, 12(11):3377. DOI:10.3390/nu12113377.
- [21] Annweiler C, Hanotte B, Grandin de l'Eprevier C, et al. Vitamin D and survival in COVID-19 patients; a quasi-experimental study [J]. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2020, 204:105771. DOI:10.1016/j.jsbmb.2020.105771.
- [22] Vanegas-Cedillo PE, Bello-Chavolla OY, Ramírez-Pedraza N, et al. Serum vitamin D levels are associated with increased COVID-19 severity and mortality independent of Whole-Body and visceral adiposity [J]. *Front Nutr*, 2022, 9:813485. DOI:10.3389/fnut.2022.813485.
- [23] Ling SF, Broad E, Murphy R, et al. High-Dose cholecalciferol booster therapy is associated with a reduced risk of mortality in patients with COVID-19; a Cross-Sectional Multi-Centre observational study [J]. *Nutrients*, 2020, 12(12):3799. DOI:10.3390/nu12123799.
- [24] Ohaegbulam KC, Swalih M, Patel P, et al. Vitamin D supplementation in COVID-19 patients; a clinical case series [J]. *Am J Ther*, 2020, 27(5):e485-e490. DOI:10.1097/MJT.0000000000001222.
- [25] Sabico S, Enani MA, Sheshah E, et al. Effects of a 2-Week 5 000 IU versus 1 000 IU Vitamin D<sub>3</sub> supplementation on recovery of symptoms in patients with mild to moderate Covid-19; a randomized clinical trial [J]. *Nutrients*, 2021, 13(7):2170. DOI:10.3390/nu13072170.
- [26] Laviano E, Sanchez Rubio M, González-Nicolás MT, et al. Association between preoperative levels of 25-hydroxyvitamin D and hospital-acquired infections after hepatobiliary surgery: A prospective study in a third-level hospital [J]. *PLoS One*, 2020, 15(3):e0230336. DOI:10.1371/journal.pone.0230336.
- [27] Kow CS, Hadi MA, Hasan SS. Vitamin D Supplementation in influenza and COVID-19 infections comment on: "Evidence that Vitamin D supplementation could reduce risk of influenza and COVID-19 infections and deaths" *Nutrients* 2020, 12(4):988 [J]. *Nutrients*, 2020, 12(6):1626. DOI:10.3390/nu12061626.

(收稿日期:2021-03-29)

(上接第 173 页)

- [8] Farag YMK, Guallar E, Zhao D, et al. Vitamin D deficiency is independently associated with greater prevalence of erectile dysfunction: The National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 2001-2004 [J]. *Atherosclerosis*, 2016, 252:61-67. DOI:10.1016/j.atherosclerosis.2016.07.921.
- [9] Tak YJ, Lee JG, Kim YJ, et al. Serum 25-hydroxyvitamin D levels and testosterone deficiency in middle-aged Korean men; a cross-sectional study [J]. *Asian J Androl*, 2015, 17(2):324-328. DOI:10.4103/1008-682X.142137.
- [10] Fu L, Chen YH, Xu S, et al. Vitamin D deficiency impairs testicular development and spermatogenesis in mice [J]. *Reprod Toxicol*, 2017, 73:241-249. DOI:10.1016/j.reprotox.2017.06.047.
- [11] Merino O, Sánchez R, Gregorio MB, et al. Effect of high-fat and vitamin D deficient diet on rat sperm quality and fertility [J]. *Theriogenology*, 2019, 125:6-11. DOI:10.1016/j.theriogenology.2018.09.030.
- [12] 裴育, 刘敏燕, 卢艳慧, 等. 北京市某社区汉族男性维生素 D 营养状态及骨转换指标的关系 [J]. *中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志*, 2013, 6(4):308-313. DOI:10.3969/j.issn.1674-2591.2013.04.006.
- [13] Lu HK, Zhang Z, Ke YH, et al. High prevalence of vitamin D insufficiency in China; relationship with the levels of parathyroid hormone and markers of bone turnover [J]. *PLoS One*, 2012, 7(11):e47264. DOI:10.1371/journal.pone.0047264.
- [14] Blomberg Jensen M, Gerner Lawaetz J, Andersson AM, et al. Vitamin D deficiency 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] Rehman F, Lalani S, Baig M, et al. Association between vitamin D, reproductive hormones and sperm parameters in infertile male subjects [J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2018, 9:607. DOI:10.3389/fendo.2018.00607.
- [16] Wadhwa L, Priyadarshini S, Fauzdar A, et al. Impact of vitamin D supplementation on semen quality in vitamin D-deficient infertile males with oligoasthenozoospermia [J]. *J Obstet Gynaecol India*, 2020, 70(1):44-49. DOI:10.1007/s13224-019-01251-1.
- [17] Alzoubi A, Mahdi H, Al Bashir S, et al. Normalization of serum vitamin D improve semen motility parameters in patients with idiopathic male infertility [J]. *Acta Endocrinol (Buchar)*, 2017, 13(2):180-187. DOI:10.4183/aeb.2017.180.
- [18] Jueraitetibaike K, Ding Z, Wang DD, et al. The effect of vitamin D on sperm motility and the underlying mechanism [J]. *Asian J Androl*, 2019, 21(4):400-407. DOI:10.4103/aja.aja\_105\_18.

(收稿日期:2021-02-06)