

基于非靶向代谢组学探讨不同类型不育男性精浆代谢的差异

肖育红¹, 刘传宏², 邹鹏书¹, 王博伦¹, 杜超¹, 张倩¹, 于月新¹

(1. 中国人民解放军北部战区总医院生殖医学科, 沈阳 110003; 2. 辽宁省军区第一干休所门诊部, 沈阳 110016)

摘要 目的 基于非靶向代谢组学检测技术探讨不同类型不育男性的精浆差异代谢物,以挖掘新的男性不育生物标志物。方法 收集85例男性的精液样本,分为少精子症组($n=20$)、无精子症组($n=20$)、弱精子症组($n=10$)、高精子DNA碎片指数组($n=15$)和健康对照组($n=20$)。采用液相色谱-质谱联用技术检测精浆代谢物,通过差异分析筛选组间差异代谢物,使用京都基因和基因组数据库(KEGG)富集分析寻找关键代谢途径,采用曲线下面积(AUC)评估差异代谢物的诊断效能。结果 组间差异分析共筛选出1 431种差异代谢物。KEGG富集分析结果显示,差异代谢物主要参与氨基酸生物合成、蛋白质消化吸收、核苷酸代谢等途径。各组排名前10位的上调和下调代谢物的AUC均 >0.7 ,说明其具有良好的诊断效能。结论 精浆非靶向代谢组学能够检测并筛选出不同类型不育男性与健康男性精浆的差异代谢物,能够为探索男性不育生物标志物和代谢组学相关机制研究提供新的思路。

关键词 代谢组学; 少精子症; 无精子症; 弱精子症; 精子DNA碎片指数; 男性不育

中图分类号 R698.2 文献标志码 A 文章编号 0258-4646(2024)12-1099-08

网络出版地址 <https://link.cnki.net/urlid/21.1227.R.20241206.1530.016>

DOI: 10.12007/j.issn.0258-4646.2024.12.007

Differences in seminal plasma metabolites analyzed by untargeted metabolomics in different types of male infertility

XIAO Yuhong¹, LIU Chuanhong², ZOU Pengshu¹, WANG Bolun¹, DU Chao¹, ZHANG Qian¹, YU Yuexin¹

(1. Department of Reproductive Medicine, General Hospital of Northern Theater Command, Shenyang 110003, China; 2. Department of Outpatient, The First Cadre's Sanitarium of Liaoning Military Command, Shenyang 110016, China)

Abstract Objective To analyze the differential metabolites in the seminal plasma of different types of male infertility based on untargeted metabolomics and explore new biomarkers. **Methods** Seminal plasma samples were collected from 85 men, and divided into oligospermia ($n=20$), azoospermia ($n=20$), asthenozoospermia ($n=10$), high sperm DNA fragmentation index ($n=15$), and healthy control ($n=20$) groups. Seminal plasma metabolites were detected using liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS). Differential metabolites were identified after data processing and statistical analyses. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) enrichment analysis was used to identify key metabolic pathways. Area under the curve (AUC) was used to evaluate the diagnostic efficacy of differential metabolites. **Results** We identified 1 431 differential metabolites. KEGG enrichment analysis showed that differential metabolites mainly participated in pathways, such as amino acid biosynthesis, protein digestion and absorption, and nucleotide metabolism. The AUC of the top 10 upregulated and downregulated metabolites in each group were > 0.7 , indicating good diagnostic efficacy. **Conclusion** Untargeted metabolomics of seminal plasma can detect differential metabolites between different types of male infertility and healthy men, providing new ideas for exploring biomarkers and metabolomics-related mechanisms of male infertility.

Keywords metabolomics; oligospermia; azoospermia; asthenozoospermia; sperm DNA fragmentation index; male infertility

近年来, 不孕不育已成为一项全球性健康问题, 困扰着约15%的育龄夫妇, 其中男性因素约占不孕原因的50%^[1]。精浆是精液的重要组成部分, 由前列腺液、精囊液、附睾液和尿道球腺分泌液组成, 含

有氨基酸和肉碱等重要营养物质, 对精子的活力和功能有重要影响^[2]。有研究^[3]通过全外显子组测序, 鉴定X连锁CFAP47中的有害变异诱导弱精子症; 还有研究^[4]指出, 转录组学研究显示少精子症患者中miRNA-34、miRNA-122和miRNA-509下调; 蛋白质组学研究^[5]发现, DJ-1、SEMG1等多种精浆蛋白与男性生殖系统氧化应激相关。

随着高通量技术的发展, 代谢组学技术逐渐兴起, 该技术主要用于研究在受到干扰(如基因变异

基金项目: 军委后勤保障部卫生局应用基础研究项目(21JSZ11)

作者简介: 肖育红(1975-), 女, 副主任医师, 硕士。

通信作者: 于月新, E-mail: yuyuexinpingan@163.com

收稿日期: 2024-09-23

网络出版时间: 2024-12-09 12:15:53

或环境变化)后,生物体内代谢物的种类和数量及其变化趋势^[6]。目前,液相色谱-质谱(liquid chromatograph mass spectrometer, LC-MS)联用技术为精浆代谢组学研究的新兴手段,已经用于测定精浆中各种代谢物,包括游离肉碱、酰基肉碱、多糖、氨基酸、生物胺和脂质等^[7],具有分辨率高、代谢物覆盖面广等优点。本研究应用LC-MS对少精子症、无精子症、弱精子症、高精子DNA碎片指数患者精浆中的代谢物进行非靶向代谢组学检测,通过与健康男性精浆代谢物进行比较,探讨不同类型不育男性精浆代谢的差异,挖掘男性不育潜在的生物标志物,为未来男性不育的病因分析、机制研究和诊断治疗提供重要参考。

1 材料与方法

1.1 研究对象和精液样本收集

本研究以2024年2月至5月于中国人民解放军北部战区总医院生殖医学科就诊的男性为研究对象,所有研究对象均无糖尿病等代谢性疾病。共收集85例男性的精液样本,参照第5版《世界卫生组织人类精液检查与处理实验室手册》^[8]标准,分为少精子症组($n=20$)、无精子症组($n=20$)、弱精子症组($n=10$)、高精子DNA碎片指数组($n=15$)和健康对照组($n=20$)。收集5组研究对象的临床资料,包括年龄、体重指数(body mass index, BMI)、禁欲时间和精液体积等。

精子异常诊断标准:(1)少精子症,指精子浓度 $<15 \times 10^6/\text{mL}$,或一次射精精子总数 $<39 \times 10^6$;(2)无精子症,指连续3次精液及射精后的尿液以 $>3\,000\text{ g}$ 离心15 min后,沉渣镜检均未发现精子;(3)弱精子症,指精液参数中前向精子率 $<32\%$ 或精子总存活率 $<40\%$;(4)高精子DNA碎片指数:指发生DNA链断裂的精子占全部精子的百分比 $\geq 15\%$ 。

本研究经中国人民解放军北部战区总医院医学伦理委员会批准,所有患者知情同意。

1.2 精浆代谢物提取和LC-MS检测

精液液化后,600 g离心10 min分离精浆。将100 μL 精浆样品移至EP管中,加入400 μL 含同位素标记内标的提取液(甲醇:乙腈=1:1),涡旋混匀30 s,冰水浴条件下超声10 min;将样品在 $-40\text{ }^\circ\text{C}$ 静置1 h。静置完成后,将样品在 $4\text{ }^\circ\text{C}$ 、12 000 r/min离心15 min。

取上清,上机检测。另取所有样品等量上清混合成质控样品,上机检测。

使用超高效液相色谱仪(美国ThermoFisher Scientific公司)、色谱柱(美国Waters公司,规格为50 mm \times 2.1 mm, 1.7 μm)将样品进行色相分离。液相色谱A相为水相,含25 mmol/L乙酸铵和25 mmol/L氨水,B相为乙腈。样品盘温度 $4\text{ }^\circ\text{C}$,进样体积2 μL 。使用Xcalibur 4.4软件(美国ThermoFisher Scientific公司)控制Orbitrap Exploris 120质谱仪(美国ThermoFisher Scientific公司)进行一级和二级质谱数据采集。

1.3 原始数据转换和预处理

将各组精浆样本经LC-MS检测得到的图和数据导入Compound discoverer 3.1软件(美国ThermoFisher Scientific公司)进行预处理,以获取匹配和对齐的峰值数据。将得到的峰值数据导入Excel中做峰面积归一化。经过偏离值过滤、缺失值过滤、缺失值填补、数据标准化处理,最终得到有效数据。

1.4 组间精浆样本差异代谢物分析

将预处理后的数据导入SIMCA 18.0.1软件(瑞典Sartorius Stedim Data Analytics AB)进行多元统计分析和单变量分析,多元统计分析包括建立主成分分析(principle component analysis, PCA)和正交偏最小二乘法判别分析(orthogonal partial least squares discriminant analysis, OPLS-DA)2种数学模型,计算其相应主成分的变量重要性(variable importance in the projection, VIP)。单变量分析采用方差分析比较5组间精浆样本代谢物含量的差异,并分别将健康对照组与其他4组进行两两比较。最终,差异代谢物需同时满足VIP值 >1 且 $P < 0.05$ 。

1.5 精浆样本差异代谢物的通路富集分析

采用京都基因和基因组数据库(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG)对精浆样本差异代谢物进行注释并匹配代谢通路,使用自主编写的R语言软件对分析结果进行可视化。

1.6 精浆样本差异代谢物的诊断效能检验

采用受试者操作特征曲线的曲线下面积(area under the curve, AUC)评估各组排名前10位的上调和下调差异代谢物的诊断效能,AUC >0.7 代表其具有良好的诊断效能。

1.7 统计学分析

采用 SPSS 24.0 进行数据统计和分析, 计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较采用方差分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 研究对象的临床特征

5组比较, 研究对象的年龄、BMI、禁欲时间和精液体积均无统计学差异 ($P > 0.05$), 见表1。

2.2 精浆样本代谢组学总体分析

LC-MS检测后得到各组精浆样本的原始数据, 将数据预处理后得到3 386种精浆样本代谢物, 分类后所有代谢物主要聚集到生物碱类、苯环型化合物和有机酸及其衍生物等25个二级分类。饼状图显示不同分类精浆代谢物的占比, 结果如图1所示, 占比最高的前3类化合物依次为有机杂环化合物 (20.851%)、脂类及类脂分子 (14.885%)、有机酸及其衍生物 (12.286%)。

2.3 精浆样本差异代谢物的筛选

表1 5组研究对象临床特征的比较

Tab.1 Comparison of clinical characteristics of participants between the five groups

Group	n	Age (year)	BMI (kg/m ²)	Abstinence days (d)	Semen volume (mL)
Oligospermia	20	32.50 ± 6.52	24.65 ± 5.33	4.55 ± 3.66	4.71 ± 1.99
Azoospermia	20	31.60 ± 5.72	26.01 ± 4.71	4.95 ± 3.53	3.78 ± 1.95
Asthenozoospermia	20	29.70 ± 5.19	25.48 ± 6.21	5.30 ± 3.44	4.15 ± 2.01
High sperm DFI	15	34.67 ± 4.62	26.29 ± 5.82	4.53 ± 4.02	4.35 ± 1.70
Healthy control	20	30.65 ± 5.20	24.37 ± 6.03	5.25 ± 2.51	4.19 ± 1.44
F		1.64	0.41	0.54	0.68
P		0.17	0.20	0.29	0.39

BMI, body mass index; DFI, DNA fragmentation index.

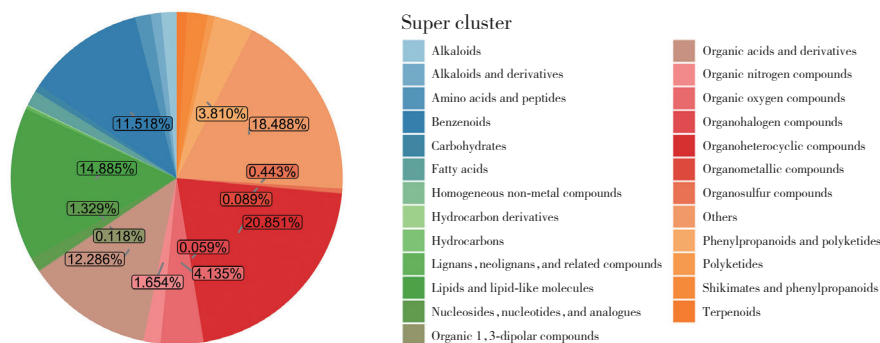
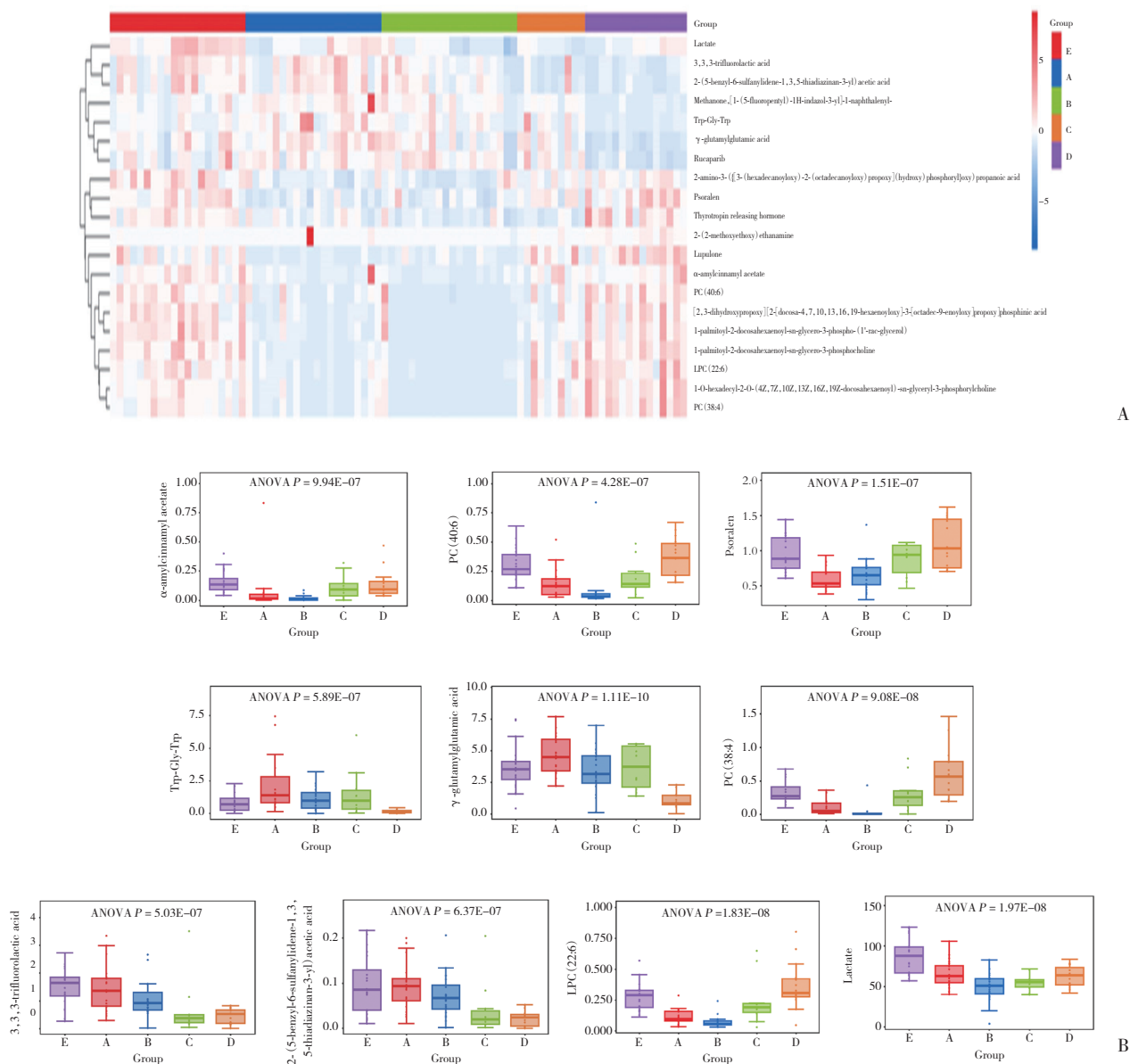


图1 精浆样本的化合物分类

Fig.1 Compound classification and proportion of seminal plasma samples

经过PCA和OPLS-DA, 组间差异代谢物筛选条件为VIP值 > 1且 $P < 0.05$, 去除未知化合物, 得到对苯二甲酸、L-谷氨酸和γ-谷氨酰缬氨酸等1 431个差异代谢物。通过计算Z值, 对不同样本中的差异代谢物进行归一化处理, 并采用层次聚类将有相同特征的代谢物归为一类。差异代谢物的层次聚类分析热图(图2A)中, 横轴代表各组精浆样本, 纵轴代表不同的差异代谢物, 红色表示某差异代谢物在该组精浆样本中含量较高, 蓝色代表含量较低。其中, 乳酸在健康对照组中含量较高, 在其他组中含量均

较低; 磷脂酰胆碱(40 : 6)、α-肉桂酸戊酯等在少精子症组和无精子症组中含量较低; 溶血磷脂酰胆碱(22 : 6)、磷脂酰胆碱(38 : 4)等在高精子DNA碎片指数组中含量较高。层次聚类箱式图(图2B)显示了前10位的差异代谢物及其在各组中的含量, 结果显示, 溶血磷脂酰胆碱(22 : 6)和磷脂酰胆碱(40 : 6)在无精子症组中含量最低, 在高精子DNA碎片指数组中含量最高; 此外, Trp-Gly-Trp和γ-谷氨酰谷氨酸等均存在显著组间差异, 此结果与聚类分析热图结果一致, 进一步验证了分析结果的可靠性。



A, hierarchical clustering analysis heatmap of differential metabolites; B, hierarchical clustering boxplot of the top 10 differential metabolites. Group A, oligospermia group; group B, azospermia group; group C, asthenozoospermia group; group D, high sperm DNA fragmentation index group; group E, healthy control group.

图2 精浆样本差异代谢物的筛选

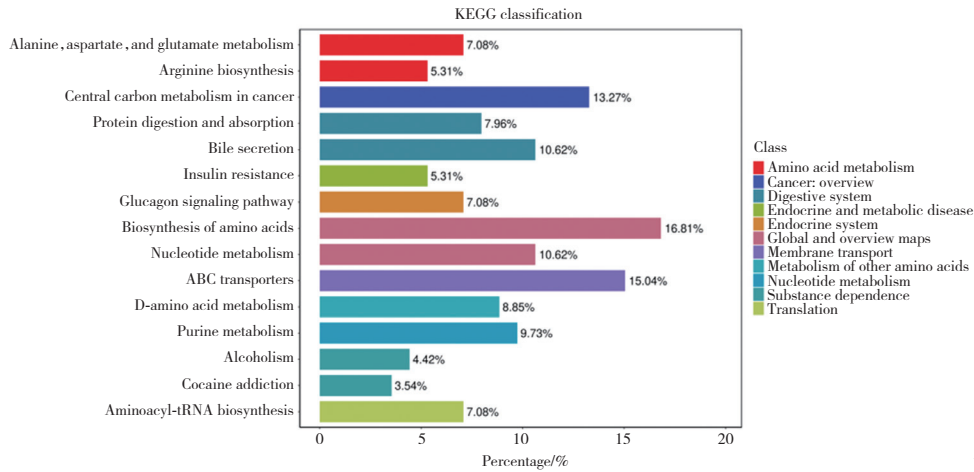
Fig.2 Screening of differential metabolites in seminal plasma samples

2.4 精浆样本差异代谢物的KEGG富集分析

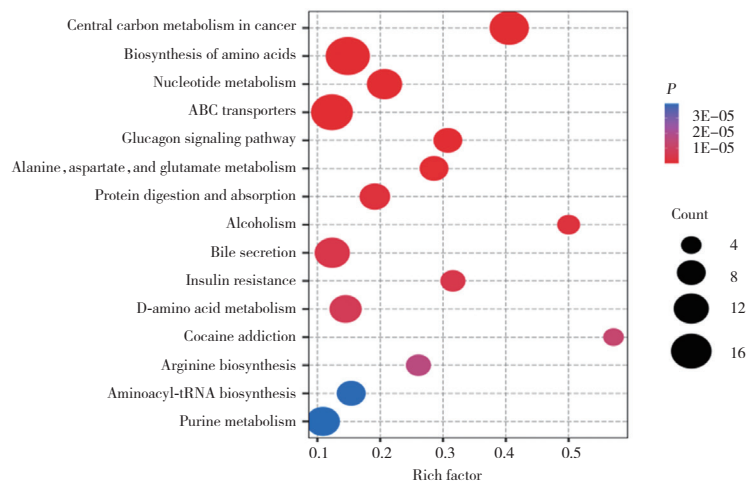
根据KEGG通路注释的结果,对精浆样本差异代谢物进行分类和富集。分类结果(图3A)显示,这些差异代谢物参与了氨基酸生物合成、蛋白质消化吸收、核苷酸代谢等多种途径。富集气泡图(图3B)中点的大小表示途径中富集的差异表达代谢物的数量,点的颜色代表P值,P值越小则富集程度越高。结果显示,氨基酸生物合成途径和ABC转运蛋白途径富集程度最大,表明这些差异代谢物在氨基酸代

谢、合成和转运中起到关键作用。

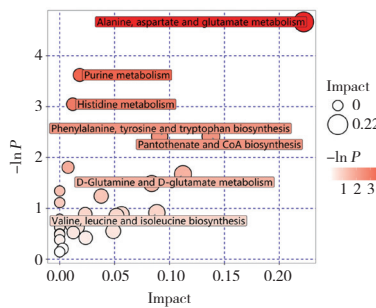
分别将健康对照组与其他4组的代谢物进行两两比较,KEGG富集分析发现,与健康对照组相比,少精子症组丙氨酸、天冬氨酸和戊二酸代谢途径富集更显著(图3C),无精子症组氨酰-tRNA生物合成途径富集更显著(图3D),弱精子症组甘油磷脂代谢途径富集更显著(图3E),高精子DNA碎片指数组氨酰-tRNA生物合成途径和三羧酸循环途径富集更显著(图3F)。



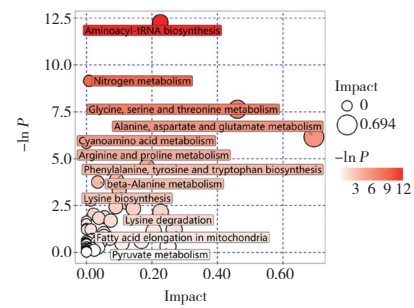
A



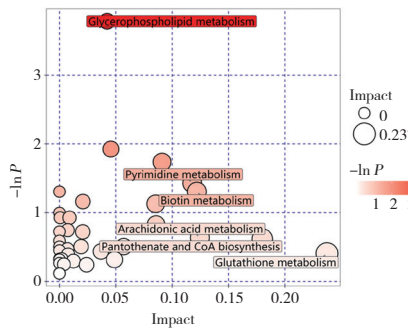
B



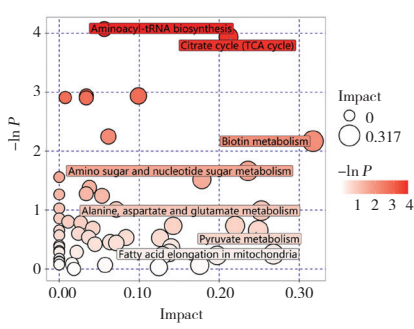
C



D



E



F

A, proportion of differential metabolites according to KEGG classification; B, bubble chart of differential metabolites between the five groups. Bubble charts of the healthy control group vs. oligospermia (C), azoospermia (D), asthenozoospermia (E), and high sperm DNA fragmentation index (F) groups.

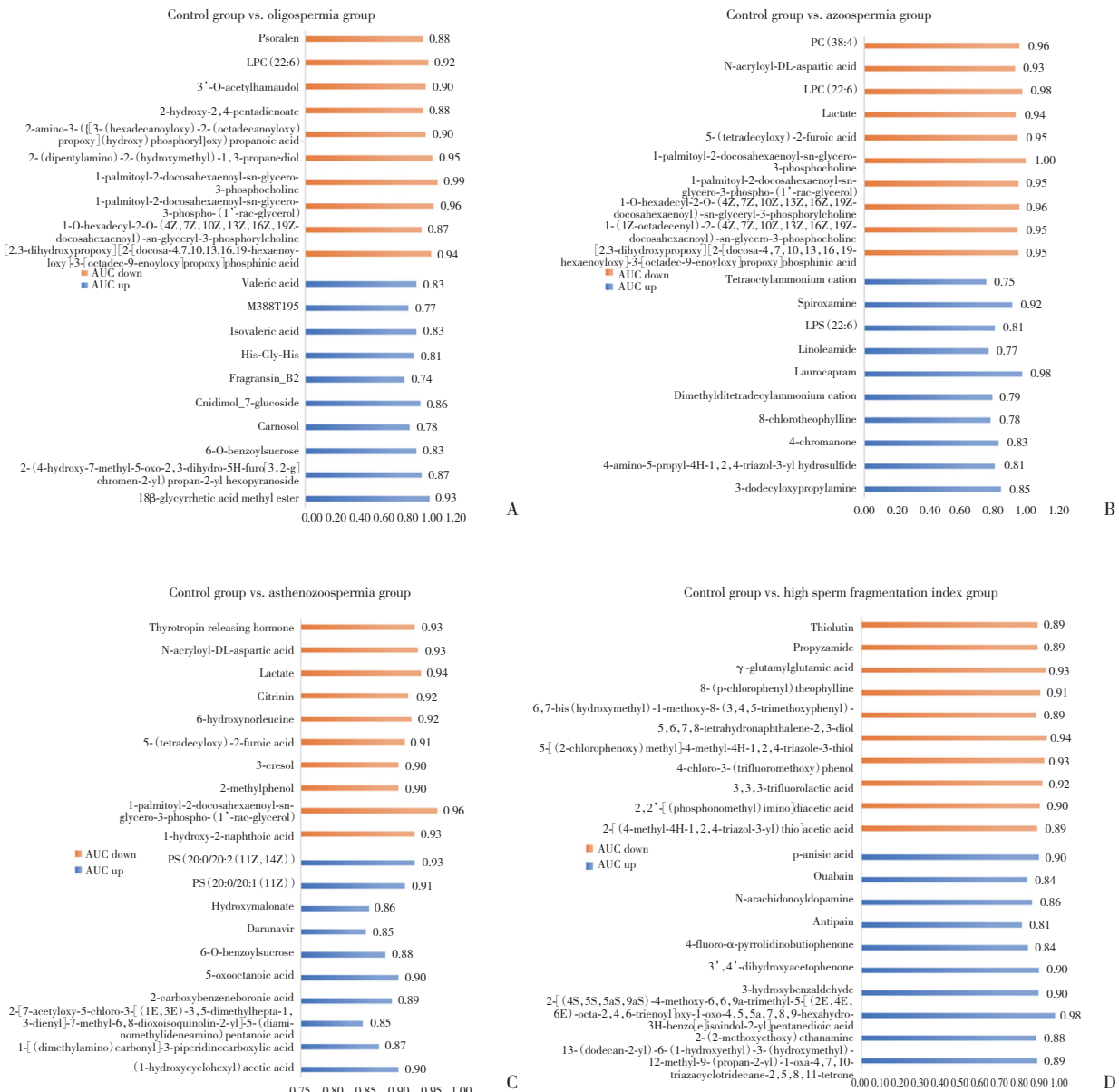
图3 精浆样本差异代谢物的KEGG富集分析

Fig.3 KEGG enrichment analysis of seminal plasma samples

2.5 精浆样本差异代谢物的诊断效能

分别将健康对照组与其他4组进行两两比较,筛选精浆样本差异代谢物,根据 AUC 值评估排名前10位的上调和下调代谢物对不同类型不育男性的诊断价值。结果显示,本研究纳入的所有差异代谢物的AUC值均>0.7,说明其诊断效能良好。与健康对照组相比,少精子症组精浆中缬草酸、异戊酸等的含量显著升高,2-羟基-2,4-戊二烯酸酯、溶血磷脂酰胆碱(22:6)、补骨脂素等的含量显著降低(图4A);无精子症组精浆中脂多糖(22:6)、月桂氮卓酮、亚油酸等的含量显著升高,乳酸、溶血

磷脂酰胆碱(22:6)、磷脂酰胆碱(38:4)等的含量显著降低(图4B);弱精子症组精浆中5-氧代辛酸-6-O-苯甲酰基蔗糖等的含量显著升高,N-丙烯酰基-DL-天冬氨酸、6-羟基正亮氨酸等的含量显著降低(图4C);高精子DNA碎片指数组中哇巴因、对甲氧基苯甲酸等的含量显著升高, γ -谷氨酰谷氨酸、3,3,3-三氟乳酸等的含量显著降低(图4D)。不同组间代谢物少有交叉,说明上述差异代谢物对不同类型男性不育的诊断有较高的特异度,具有构建评估精子数量、精子活性代谢标志物模型的潜在价值。



Control group vs. oligospermia (A), azoospermia (B), asthenozoospermia (C), and high sperm DNA fragmentation index (D) groups.

图4 5组中排名前10位的上调和下调精浆样本差异代谢物的AUC值

Fig.4 AUC of the top 10 significantly upregulated and downregulated substances in the five groups

3 讨论

男性不育的主要原因为精子浓度不足、活力下降和形态不佳,而且研究^[9]发现,精子DNA碎片指数升高可导致女性流产的风险增加。近年来,精浆代谢物的相关研究逐渐增多。有研究^[7]对武汉市551名志愿者的精浆代谢物进行分析,结果发现环境金属暴露与精浆中22种代谢物(甘油磷脂、酰基肉碱和氨基酸衍生物等)显著相关。还有研究^[10]通过精浆代谢组学分析鉴定出8种代谢物,以区分精索静脉曲张患者和正常受试者。本研究利用LC-MS技术对不同类型不育男性的精浆代谢物进行检测、比较,为筛选新的男性不育生物标志物提供参考。

本研究发现,5组精浆样本中代谢物成分和含量均存在明显差异。与健康对照组相比,少精子症组、无精子症组和弱精子症组磷脂酰胆碱(40 : 6)、溶血磷脂酰胆碱(22 : 6)等脂质类物质的含量均明显降低,其中无精子症组最低。说明上述代谢物可能参与了精子的发生和成熟等多个环节,这与既往研究^[11]结果相符。与其他组相比,高精子DNA碎片指数组患者精浆中Trp-Gly-Trp和 γ -谷氨酰谷氨酸等肽类代谢物的含量也明显低于其他组。已有研究^[12]表明, γ -谷氨酰谷氨酸不仅参与体内细胞生长、凋亡和抗氧化等,还参与氨基酸代谢、葡萄糖代谢等过程。这也在一定程度上预示着精子DNA碎片指数升高与氧化应激造成DNA损伤、氨基酸代谢等途径有关。值得注意的是,高精子DNA碎片指数组患者精浆中磷脂酰胆碱(40 : 6)和溶血磷脂酰胆碱(22 : 6)等的含量明显增加。

为了进一步研究导致男性不育的可能代谢途径,本研究利用KEGG对差异代谢物进行了分类和通路富集分析。所有差异代谢物被分成氨基酸代谢、糖代谢、脂代谢和核苷酸代谢等多种类别。富集分析结果显示,氨基酸生物合成途径和ABC转运蛋白途径富集程度最大,表明上述通路在精子的发生和成熟过程中发挥重要作用。与健康对照组相比,少精子症组的差异代谢物在丙氨酸、天冬氨酸和戊二酸代谢途径富集程度较为显著。既往研究^[13]表明,氨基酸在精子发生过程中扮演重要作用,如D-天冬氨酸在睾丸和垂体中浓度高,可促进垂体释放黄体生成素,激活Leydig细胞中睾酮产生,间接促进精子

发生。此外,D-天冬氨酸可以增强StAR和类固醇生成酶的表达,通过GluR/ERK1/2通路促进睾丸细胞增殖^[14]。弱精子症组的差异代谢物以甘油磷脂代谢途径富集程度最为显著。甘油磷脂是细胞膜的重要组成部分,其代谢途径可能影响精子膜的功能和流动性,造成精子活力下降^[15]。无精子症组和高精子DNA碎片指数组中氨酰-tRNA生物合成途径富集程度最为显著。氨酰-tRNA是一种与对应的氨基酸相结合的tRNA,能将氨基酸传递到核糖体中,与正在延伸中的多肽链合并将氨基酸加入其中,其生物合成受到氨酰-tRNA合成酶的催化^[16]。因此,对于因无精子症和高精子DNA碎片指数的不育男性,应针对氨酰-tRNA合成酶进行更深入的研究。

本研究通过AUC评估了不同类型不育男性精浆中前10位的上调和下调差异代谢物的诊断价值,发现其具有良好的诊断效能,未来有待进行多种标志物联合检测以辅助评估睾丸生精功能,开创男性不育无创诊断的新领域。

综上所述,LC-MS非靶向代谢组学技术能够筛选出不同类型不育男性精浆的差异代谢物,能够从代谢途径探索男性不育的潜在机制和新的生物标志物,并为提高男性不育的临床诊疗质量提供帮助。

参考文献:

- [1] MINHAS S, BETTOCCHI C, BOERI L, et al. European Association of Urology Guidelines on male sexual and reproductive health: 2021 update on male infertility [J]. *Eur Urol*, 2021, 80 (5) : 603-620. DOI: 10.1016/j.eururo.2021.08.014.
- [2] VASHISHT A, GAHLAY GK. Understanding seminal plasma in male infertility: emerging markers and their implications [J]. *Andrology*, 2024, 12 (5) : 1058-1077. DOI: 10.1111/andr.13563.
- [3] LIU C, TU C, WANG L, et al. Deleterious variants in X-linked *CFAP47* induce asthenoteratozoospermia and primary male infertility [J]. *Am J Hum Genet*, 2021, 108 (2) : 309-323. DOI: 10.1016/j.ajhg.2021.01.002.
- [4] CANNARELLA R, BARBAGALLO F, CRAFA A, et al. Seminal plasma transcriptome and proteome: towards a molecular approach in the diagnosis of idiopathic male infertility [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21 (19) : 7308. DOI: 10.3390/ijms21197308.
- [5] CANNARELLA R, CRAFA A, BARBAGALLO F, et al. Seminal plasma proteomic biomarkers of oxidative stress [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21 (23) : 9113. DOI: 10.3390/ijms21239113.
- [6] 朱紫薇, 崔振泽, 单玉霞, 等. 定喘汤治疗呼吸道合胞病毒感染毛细支气管炎的代谢组学研究 [J]. *中国医科大学学报*, 2023, 52 (9) : 775-780. DOI: 10.12007/j.issn.0258-4646.2023.09.002.
- [7] XU S, WU Y, CHEN Y, et al. Environmental metal exposure, seminal plasma metabolome and semen quality: evidence from Chinese repro-

- ductive-aged men [J]. *Sci Total Environ*, 2022, 838 (Pt 2) : 155860. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2022.155860.
- [8] 陈振文, 谷龙杰. 精液分析标准化和精液质量评估——WHO《人类精液检查与处理实验室手册》(第5版) 出版[J]. *中国计划生育学杂志*, 2012, 20 (1): 58-62. DOI: 10.3969/j.issn.1004-8189.2012.01.019.
- [9] YUAN M, HUANG L, LEUNG WT, et al. Sperm DNA fragmentation valued by SCSA and its correlation with conventional sperm parameters in male partner of recurrent spontaneous abortion couple [J]. *Biosci Trends*, 2019, 13 (2) : 152-159. DOI: 10.5582/bst.2018.01292.
- [10] ZHANG X, DENG C, LIU W, et al. Effects of varicocele and microsurgical varicocelectomy on the metabolites in semen [J]. *Sci Rep*, 2022, 12 (1) : 5179. DOI: 10.1038/s41598-022-08954-y.
- [11] BOGUENET M, BOCCA C, BOUET PE, et al. Metabolomic signature of the seminal plasma in men with severe oligoasthenospermia [J]. *Andrology*, 2020, 8 (6) : 1859-1866. DOI: 10.1111/andr.12882.
- [12] KIM H, YU B, LI X, et al. Serum metabolomic signatures of plant-based diets and incident chronic kidney disease [J]. *Am J Clin Nutr*, 2022, 116 (1) : 151-164. DOI: 10.1093/ajcn/nqac054.
- [13] TALEVI R, BARBATO V, FIORENTINO I, et al. Protective effects of in vitro treatment with zinc, d-aspartate and coenzyme q10 on human sperm motility, lipid peroxidation and DNA fragmentation [J]. *Reprod Biol Endocrinol*, 2013, 11 : 81. DOI: 10.1186/1477-7827-11-81.
- [14] FALVO S, SANTILLO A, DI FIORE MM, et al. New insights into D-aspartate signaling in testicular activity [J]. *Cells*, 2024, 13 (16) : 1400. DOI: 10.3390/cells13161400.
- [15] CHEN S, WANG M, LI L, et al. High-coverage targeted lipidomics revealed dramatic lipid compositional changes in asthenozoospermic spermatozoa and inverse correlation of ganglioside GM3 with sperm motility [J]. *Reprod Biol Endocrinol*, 2021, 19 (1) : 105. DOI: 10.1186/s12958-021-00792-3.
- [16] GUPTA S, JANI J, VIJAYASURYA, et al. Aminoacyl-tRNA synthetase - a molecular multitasker [J]. *FASEB J*, 2023, 37 (11) : e23219. DOI: 10.1096/fj.202202024RR.

(编辑 陈 姜)

(上接第1098页)

- [6] 陈博, 汪玲果, 蔺鹏桢. KLF2介导自噬对颅内动脉瘤血管平滑肌细胞表型调节的影响 [J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2022, 20 (4) : 643-648. DOI: 10.12102/j.issn.1672-1349.2022.04.011.
- [7] SUN L, ZOU LX, HAN YC, et al. Role of A20/TNFAIP3 deficiency in lupus nephritis in MRL/lpr mice [J]. *Clin Exp Nephrol*, 2020, 24 (2) : 107-118. DOI: 10.1007/s10157-019-01826-2.
- [8] 王佳, 彭蒙娜, 高洁, 等. 血管平滑肌细胞表型转换与动脉粥样硬化血管重塑 [J/OL]. *中国动脉硬化杂志*, 1-10. (2024-03-19) [2024-10-11]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/43.1262.r.20240318.1817.004.html>.
- [9] FAN WJ, LIU YZ, LI CY, et al. MicroRNA-331-3p maintains the contractile type of vascular smooth muscle cells by regulating TNF- α and CD14 in intracranial aneurysm [J]. *Neuropharmacology*, 2020, 164 : 107858. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2019.107858.
- [10] HARA T, MATSUSHIGE T, YOSHIYAMA M, et al. Association of circumferential aneurysm wall enhancement with recurrence after coiling of unruptured intracranial aneurysms: a preliminary vessel wall imaging study [J]. *J Neurosurg*, 2022, 138 (1) : 147-153. DOI: 10.3171/2022.4.JNS22421.
- [11] BAHAR A, KOHAR RC, GUNAWAN A, et al. Single versus multiple coverage of pipeline embolization device for treatment of intracranial aneurysms: a systematic review [J]. *Egypt J Neurol Psychiatry Neurosurg*, 2023, 59 (1) : 130. DOI: 10.1186/s41983-023-00713-8.
- [12] GAN Q, LIU Q, HU X, et al. Collagen type I alpha 2 (COL1A2) polymorphism contributes to intracranial aneurysm susceptibility: a meta-analysis [J]. *Med Sci Monit*, 2017, 23 : 3240-3246. DOI: 10.12659/msm.902327.
- [13] ALG V S, KE X, GRIEVE J, et al. Association of functional MMP-2 gene variant with intracranial aneurysms: case-control genetic association study and meta-analysis [J]. *Br J Neurosurg*, 2018, 32 (3) : 255-259. DOI: 10.1080/02688697.2018.1427213.
- [14] HAGEMAN SHJ, MCKAY AJ, UEDA P, et al. Estimation of recurrent atherosclerotic cardiovascular event risk in patients with established cardiovascular disease: the updated SMART2 algorithm [J]. *Eur Heart J*, 2022, 43 (18) : 1715-1727. DOI: 10.1093/eurheartj/ehac056.
- [15] 聂涵, 周晓煦, 赵越, 等. 泛素特异性蛋白酶22通过调控雌激素受体 α 的转录活性抑制磷诱导的人动脉平滑肌细胞钙化 [J]. *中国医科大学学报*, 2021, 50 (10) : 930-934, 939. DOI: 10.12007/j.issn.0258-4646.2021.10.013.
- [16] MAEKAWA H, TADA Y, YAGI K, et al. Bazedoxifene, a selective estrogen receptor modulator, reduces cerebral aneurysm rupture in Ovariectomized rats [J]. *J Neuroinflamm*, 2017, 14 (1) : 197. DOI: 10.1186/s12974-017-0966-7.
- [17] 吴焕成, 涂悦. 雌激素缺乏促进颅内动脉瘤形成的可能机制 [J]. *江苏医药*, 2020, 46 (2): 109-112. DOI: 10.19460/j.cnki.0253-3685.2020.02.001.
- [18] ZHU L, LITTS B, AN JL, et al. Abstract 13763: reducing cardiovascular disease risk by estrogen treatment after surgical menopause in combination with the suppression of interferon gamma pathway in Ldlr null mice [J]. *Circulation*, 2023, 148 (Suppl_1) : A13763-A13763. DOI: 10.1161/circ.148.suppl_1.13763.
- [19] CHRISTOU H, HUDALLA H, MICHAEL Z, et al. Impaired pulmonary arterial vasoconstriction and nitric oxide-mediated relaxation underlie severe pulmonary hypertension in the sugen-hypoxia rat model [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2018, 364 (2) : 258-274. DOI: 10.1124/jpet.117.244798.

(编辑 王又冬)