

不孕女性维生素 D 水平与抗苗勒氏管激素的相关性及对妊娠结局的预测

孙希雅¹, 陈艺璐^{1,2}, 曾琳³, 闫丽盈¹, 乔杰¹, 李蓉¹, 智旭^{Δ1}

(1. 北京大学第三医院妇产科生殖医学中心, 国家妇产疾病临床医学研究中心(北京大学第三医院), 辅助生殖教育部重点实验室(北京大学), 生殖内分泌与辅助生殖技术北京市重点实验室, 北京 100191; 2. 青岛大学附属妇女儿童医院, 山东青岛 266000; 3. 北京大学第三医院临床流行病学研究中心, 北京 100191)

[摘要] **目的:**探讨不孕女性血清 25(OH)D 水平与抗苗勒氏管激素(anti-Müllerian hormone, AMH)间的关系及二者对体外受精和胚胎移植妊娠结局的预测作用。**方法:**纳入 2018 年 11 月至 2019 年 9 月间 756 例应用体外受精和胚胎移植助孕的不孕女性, 根据体内维生素 D 水平将入组人群分为 3 组(血清 25(OH)D ≤ 10 μg/L 为 A 组, 10 μg/L < 血清 25(OH)D < 20 μg/L 为 B 组, 血清 25(OH)D ≥ 20 μg/L 为 C 组), 检测患者血清 AMH 水平, 分析组间差异并探讨各不孕类型[输卵管/男方因素、多囊卵巢综合征(polycystic ovary syndrome, PCOS)、排卵障碍(非 PCOS 原因)、子宫内膜异位症、不明原因不孕、其他]中维生素 D 水平与血清 AMH 水平之间的相关性, 以及在全部不孕女性中血清 25(OH)D 水平和血清 AMH 水平对妊娠结局的独立/协同预测作用。**结果:**(1) 87.7% 的入组研究对象处于维生素 D 不足或缺乏的状态;(2) A、B、C 三个不同维生素 D 水平组的血清 AMH 分别为 1.960 (1.155, 3.655) μg/L、2.455 (1.370, 4.403) μg/L、2.360 (1.430, 4.780) μg/L, 组间差异无统计学意义($P > 0.05$);(3) 血清 25(OH)D 和 AMH 水平呈现季节性变化($P < 0.05$);(4) 利用多重线性回归分析, 调整潜在混杂因素后, 各不孕类型女性的血清 AMH 水平与血清 25(OH)D 水平之间无明显相关性($P > 0.05$);(5) 二元 Logistics 回归模型分析发现所有不孕女性中, 血清 AMH 水平是预测生化妊娠结局的独立影响因素($P < 0.05$), 血清 25(OH)D 无法单独预测妊娠结局($P > 0.05$), 但能够与血清 AMH 协同预测生化妊娠结局($P < 0.05$)。**结论:**按照目前诊断标准, 不孕女性维生素 D 缺乏或不足较为普遍, 但未发现血清 25(OH)D 水平与卵巢储备功能相关。血清 25(OH)D 无法独立预测不孕女性妊娠结局, 但 AMH 能够独立或与血清 25(OH)D 共同预测不孕女性的生化妊娠结局。

[关键词] 维生素 D; 抗苗勒氏管激素; 不孕女性; 妊娠结局

[中图分类号] R714.8 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1671-167X(2023)01-0167-07

doi: 10.19723/j.issn.1671-167X.2023.01.026

Correlation analysis of vitamin D level and anti-Müllerian hormone in infertile female and the role in predicting pregnancy outcome

SUN Xi-ya¹, CHEN Yi-lu^{1,2}, ZENG Lin³, YAN Li-ying¹, QIAO Jie¹, LI Rong¹, ZHI Xu^{Δ1}

[1. Center for Reproductive Medicine, Department of Obstetrics and Gynecology, Peking University Third Hospital; National Clinical Research Center for Obstetrics and Gynecology (Peking University Third Hospital); Key Laboratory of Assisted Reproduction (Peking University), Ministry of Education; Beijing Key Laboratory of Reproductive Endocrinology and Assisted Reproductive Technology, Beijing 100191, China; 2. Women and Children's Hospital, Qingdao University, Shandong, Qingdao 266000, China; 3. Clinical Epidemiology Research Center, Peking University Third Hospital, Beijing 100191, China]

ABSTRACT Objective: To investigate the relationship between serum 25(OH)D and anti-Müllerian hormone (AMH) among infertile females and their predictive impacts on *in vitro* fertilization and embryo transfer pregnancy outcome. **Methods:** Totally 756 infertile females treated with assisted reproductive technology were enrolled and divided into three groups according to their vitamin D levels (group A with serum 25(OH)D ≤ 10 μg/L, group B with serum (10 - 20) μg/L, and group C with serum ≥ 20 μg/L). The serum AMH levels were detected. The differences among the groups were analyzed, as well as the correlation between vitamin D levels and serum AMH levels in various infertility types (fallopian tube/male factor, polycystic ovary syndrome (PCOS), ovulation disorders excluded PCOS, endometriosis, unexplained infertility, and others). Also, the predictive roles of vitamin D and AMH in pregnancy outcome in all the infertile females were discussed. **Results:** (1) 87.7% of the enrolled females were in-

基金项目: 国家自然科学基金(81971440)和北京市自然科学基金(7212129) Supported by the National Natural Science Foundation of China (81971440) and the Beijing Municipal Natural Science Foundation (7212129)

Δ Corresponding author's e-mail, zhixujp@163.com

网络出版时间:2022-12-7 9:06:54 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.4691.R.20221206.1219.004.html>

sufficient or deficient in vitamin D. (2) The serum AMH levels in the three groups with different vitamin D levels were 1.960 (1.155, 3.655) $\mu\text{g/L}$, 2.455 (1.370, 4.403) $\mu\text{g/L}$, 2.360 (1.430, 4.780) $\mu\text{g/L}$ and there was no significant difference in serum AMH levels among the three groups ($P > 0.05$). (3) Serum 25(OH)D and AMH levels presented seasonal variations ($P < 0.05$). (4) There was no prominent correlation between the serum AMH level and serum 25(OH)D level in females of various infertility types after adjusting potential confounding factors [age, body mass index (BMI), antral follicle count (AFC), vitamin D blood collection season, etc.] by multiple linear regression analysis ($P > 0.05$). (5) After adjusting for confounding factors, such as age, BMI, number of transplanted embryos and AFC, the results of binary Logistics regression model showed that in all the infertile females, the serum AMH level was an independent predictor of biochemical pregnancy outcome ($P < 0.05$) while the serum 25(OH)D level might not act as a prediction factor alone ($P > 0.05$). In the meanwhile, the serum 25(OH)D level and serum AMH level were synergistic predictors of biochemical or clinical pregnancy outcome ($P < 0.05$). **Conclusion:** Based on the current diagnostic criteria, most infertile females had vitamin D insufficiency or deficiency, but there was not significant correlation between serum 25(OH)D and ovarian reserve. While vitamin D could not be used as an independent predictor of pregnancy outcome in infertile females, the serum AMH level could predict biochemical pregnancy outcome independently or jointly with vitamin D.

KEY WORDS Vitamin D; anti-Müllerian hormone (AMH); Infertile female; Pregnancy outcome

维生素 D 作为人体必需的脂溶性维生素,为固醇类衍生物,具有类固醇激素的活性。维生素 D 受体(vitamin D receptor, VDR)在人体所有细胞几乎均有表达,女性生殖系统中 VDR 主要分布于卵巢、子宫内膜和胎盘等,因此维生素 D 作用广泛,除了调节钙磷代谢和维持骨骼健康,还参与细胞增殖与分化、细胞凋亡、葡萄糖代谢等病理生理过程,发挥免疫调节、抗炎的作用等,同时对两性生殖健康也具有重要意义^[1]。人体中维生素 D 主要通过日常膳食摄入以及皮肤经紫外光照射后合成。25(OH)D 是机体内维生素 D 的主要形式,其半衰期较长,性质相对稳定,是评估人体维生素 D 水平的主要指标。25(OH)D 经过肾的羟化作用后转变为 1,25(OH)₂D₃,即有生物学活性的维生素 D 形式。1,25(OH)₂D₃ 与维生素 D 结合蛋白(vitamin D binding protein, DBP)结合,并作用于靶器官的 VDR,发挥相应的生理功能。抗苗勒氏管激素(anti-Müllerian hormone, AMH)为二聚糖蛋白,由两个相同的亚基组成,属于转化生长因子 β (Transforming growth factor beta, TGF- β)超家族。女性体内 AMH 主要由窦前卵泡和小窦卵泡的颗粒细胞合成分泌,在卵泡的生长发育和募集过程中发挥重要作用。因为 AMH 受月经周期影响较小,故其是评估女性卵巢储备功能的重要指标之一,较低的 AMH 值往往提示女性卵巢储备功能低下。多囊卵巢综合征患者 AMH 值多处于较高水平。研究证实,AMH 启动子区域存在功能性维生素 D 反应元件(vitamin D response elements, VDRE),1,25(OH)₂D₃ 能够直接通过该反应元件调节 AMH 的表达^[2]。然而目前关于维生素 D 和 AMH 相关性的临床研究仍无一致结论。本研究旨在通过一项大样本横断面研究,探讨

在应用体外受精和胚胎移植助孕的不孕女性中维生素 D 和 AMH 的相关性,以及维生素 D 和血清 AMH 对妊娠结局的预测作用。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选择 2018 年 11 月至 2019 年 9 月在北京大学第三医院生殖医学中心首次进行体外受精和胚胎移植助孕治疗的 756 名不孕症女性。

纳入标准:(1)夫妻性生活正常,未避孕未孕 ≥ 1 年;(2)年龄为 25~45 岁;(3)不孕原因为输卵管因素/男方因素、多囊卵巢综合征(polycystic ovary syndrome, PCOS)、排卵障碍[由于高龄、卵巢低反应(poor ovarian response, POR)、原发性卵巢功能不全(primary ovarian insufficiency, POI)等其他非 PCOS 引起的排卵障碍性不孕]、子宫内膜异位症、不明原因不孕、其他(多种不孕因素),多囊卵巢综合征按照 Rotterdam 标准进行诊断。

排除标准:(1)血清 AMH 测定后 180 d 内未移植胚胎者;(2)后续进行胚胎植入前遗传学检测(preimplantation genetic testing, PGT)周期或未成熟卵母细胞体外成熟(*in vitro* maturation, IVM)周期者;(3)肝肾功能障碍或合并其他全身性疾病者;(4)近 3 个月内使用过干扰维生素 D 或类固醇代谢药物者;(5)样本异常(如溶血)者;(6)未进周期者;(7)周期中未取到卵、未卵裂、未形成囊胚或无可移植胚胎者。

本研究开始前已经北京大学第三医院生殖医学中心伦理委员会审查批准(2018SZ-051),所有研究对象均签署知情同意书。

1.2 检测方法

所有研究对象于月经第 2~4 日进行血清 AMH 水平检测,进入促排卵周期后于扳机日当日采血进行血清 25(OH)D 水平测定。按照临床常规采血流程采集患者清晨空腹静脉血 4 mL,离心收集血清进行检测。

血清 AMH 水平使用化学发光免疫分析法进行测定,相关检测仪器和配套试剂由重庆科斯迈生物科技有限公司提供。血清 25(OH)D 水平采用化学发光免疫分析法进行测定,使用相应 CLIA 试剂盒(Beckman Coulter, Switzerland)。

本研究定义 3 月至 5 月为春季,6 月至 8 月为夏季,9 月至 11 月为秋季,12 月至次年 2 月为冬季。

1.3 分组标准及定义

将所有入组对象按照血清 25(OH)D 水平进行分组,血清 25(OH)D 水平划分依据美国医学研究所规定^[3],血清 25(OH)D $\leq 10 \mu\text{g/L}$ 为维生素 D 缺乏(A 组), $10 \mu\text{g/L} < \text{血清 } 25(\text{OH})\text{D} < 20 \mu\text{g/L}$ 为维生素 D 不足(B 组),血清 25(OH)D $\geq 20 \mu\text{g/L}$ 为维生素 D 充足(C 组)。

在血清 25(OH)D 水平和血清 AMH 水平相关性的探讨中,将全部研究对象按照不孕原因进行分组,包括输卵管/男方因素组、PCOS 组、排卵障碍(非 PCOS)组、子宫内膜异位症组、不明原因组及其他组。

本研究中促性腺激素(gonadotropin, Gn)用量定义为研究对象促排卵过程中 Gn 的使用量;Gn 天数定义为研究对象使用 Gn 治疗的天数;获卵数定义为取卵时所获卵母细胞总数。妊娠结局指生化妊娠或临床妊娠,其中生化妊娠为胚胎移植后 14 d 抽取静脉血检测人绒毛膜促性腺激素(human chorionic gonadotrophin, hCG)值,血清 hCG $> 25 \text{ IU/L}$;临床妊娠为胚胎移植后 30 d 超声检测发现 ≥ 1 个妊娠囊^[4]。

1.4 统计学分析

使用 SPSS 25.0 软件,应用 Kolmogorov-Smirnov 方法对连续变量行正态性检验,正态分布计量资料采用均数 \pm 标准差表示,组间比较行独立样本 t 检验或单因素 ANOVA 检验,事后分析应用 LSD;非正态分布计量资料采用 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示,组间比较行 Kruskal-Wallis H 检验;计数资料采用 $n(\%)$ 表示,组间比较行卡方检验。使用多重线性回归分析探讨 AMH 相关影响因素;使用二元 Logistics 回归模型探讨血清 AMH 水平和血清 25(OH)D 水平对生化妊娠和临床妊娠的预测能力。 $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 研究对象的基本情况

本研究共纳入病例 756 例,平均年龄为 (32.1 ± 4.2) 岁,血清 25(OH)D 平均水平为 $(14.772 \pm 4.409) \mu\text{g/L}$ 。其中 85 例(11.2%)女性维生素 D 缺乏(A 组),578 例(76.5%)女性维生素 D 不足(B 组),93 例(12.3%)女性维生素 D 充足(C 组)。血清 25(OH)D 缺乏、不足和充足的 3 组研究对象的年龄($P < 0.05$),维生素 D 血样采集季节($P < 0.001$),以及 Gn 天数($P < 0.05$)差异有统计学意义,LSD 事后检验表明,血清 25(OH)D 水平充足的 C 组应用 Gn 的天数显著少于血清 25(OH)D 缺乏的 A 组($P < 0.05$)和血清 25(OH)D 不足的 B 组($P < 0.05$)。3 组研究对象的其余临床特征[不孕年限、窦卵泡计数(antral follicle count, AFC)、AMH、基础卵泡刺激素(follicle-stimulating hormone, FSH)水平、Gn 用量、获卵数等]组间差异均无统计学意义($P > 0.05$),各组不孕类型的构成比间差异无统计学意义($P > 0.05$,表 1)。不同采血季节影响血清 25(OH)D 水平($P < 0.05$),LSD 事后检验提示夏季和秋季血清 25(OH)D 与其他三个季节相比,差异具有统计学意义($P < 0.05$),春季和冬季血清 25(OH)D 较低。血清 AMH 水平同样受季节影响($P < 0.05$),主要表现为春季和秋季血清 AMH 间差异存在统计学意义($P < 0.05$,表 2)。

2.2 血清 AMH 水平多重线性回归分析

按照不孕原因将全部研究对象分为 6 组,调整混杂因素[年龄、体重指数(body mass index, BMI)、AFC、维生素 D 血样采集季节,基础 FSH 水平]后,不孕原因为输卵管/男方因素的组别中,血清 AMH 水平与不孕女性年龄($B = -0.079, P < 0.05$)与 AFC($B = 0.144, P < 0.001$)之间存在相关性;PCOS 不孕女性中,AMH 与患者 BMI($B = -0.389, P < 0.05$)存在负相关,和 AFC($B = 0.357, P < 0.001$)存在正相关性;非 PCOS 导致的排卵障碍和其他因素导致不孕的患者中,AMH 仅与 AFC 之间存在正相关($B = 0.159, P < 0.001$; $B = 0.168, P < 0.001$)。各不孕类型的患者中血清 AMH 与血清 25(OH)D 水平之间均无相关性($P > 0.05$,表 3)。

2.3 血清 25(OH)D 水平与血清 AMH 水平对不孕女性妊娠结局的预测作用

通过二元 Logistics 回归模型分析血清 25(OH)D 和血清 AMH 水平对于不孕女性生化妊娠和临床妊

娠的预测作用。矫正混杂因素(年龄、BMI、移植胚胎数、AFC)后,血清 AMH 水平是预测生化妊娠结局的独立因素($OR = 1.503, P < 0.05$),血清 25(OH)D

并不是影响妊娠结局的独立因素($P > 0.05$),血清 25(OH)D 和血清 AMH 对生化妊娠结局可能存在负向交互作用($OR = 0.978, P < 0.05$,表 4)。

表 1 3 组不同维生素 D 水平的临床特征

Table 1 Clinical characteristics of the patients among three different vitamin D status

Characteristic	Group A	Group B	Group C	P value ^a
Total, n	85	578	93	
Age/years, $\bar{x} \pm s$	32.2 \pm 4.4	31.8 \pm 4.2	33.5 \pm 4.1	0.001
BMI/(kg/m ²), $\bar{x} \pm s$	22.70 \pm 3.60	22.73 \pm 3.21	22.09 \pm 3.26	0.211
Serum 25(OH)D/(μ g/L), $\bar{x} \pm s$	8.384 \pm 1.038	14.395 \pm 2.645	22.96 \pm 2.89	<0.001
Duration of infertility/years, $M(P_{25}, P_{75})$	3.0 (1.0, 4.0)	3.0 (2.0, 5.0)	3.0 (1.0, 6.0)	0.123
AFC, $\bar{x} \pm s$	10.4 \pm 5.8	11.3 \pm 6.2	11.9 \pm 5.9	0.267
AMH/(μ g/L), $M(P_{25}, P_{75})$	1.960 (1.155, 3.655)	2.455 (1.370, 4.403)	2.360 (1.430, 4.780)	0.242
Basal FSH levels/(IU/L), $\bar{x} \pm s$	6.845 \pm 2.202	6.801 \pm 2.753	7.282 \pm 2.065	0.321
Infertility factor, n(%)				0.069
Fallopian tube/Male factor	36 (42.4)	231 (40.0)	37(39.8)	
PCOS	8 (9.4)	107 (18.5)	18(19.4)	
Ovulation disorders excluded PCOS	18 (21.2)	90 (15.6)	19(21.3)	
Endometriosis	5 (5.9)	19 (3.3)	-	
Unexplained infertility	5 (5.9)	67 (11.6)	13(14.0)	
Others	13 (15.3)	64 (11.1)	6(6.5)	
Season of blood draw, n(%)				<0.001
Spring	60 (70.6%)	312 (54.0%)	44 (47.3%)	
Summer	9 (10.6%)	183 (31.7%)	33 (35.5%)	
Autumn	-	4 (0.7%)	4 (4.3%)	
Winter	16 (18.8%)	79 (13.7%)	12 (12.9%)	
Duration of treatment/d, $\bar{x} \pm s$	11.0 \pm 2.2	10.9 \pm 2.5	10.2 \pm 2.9	0.015
Total dose of Gn used/IU, $M(P_{25}, P_{75})$	2 700.0 (2 012.5, 3 375.0)	2 475.0 (1 743.8, 3 375.0)	2 400.0 (1 828.1, 3 150.0)	0.258
Number of oocytes retrieved, $M(P_{25}, P_{75})$	10.0 (7.5, 16.5)	12.0 (8.0, 18.0)	12.0 (7.0, 17.5)	0.343

a, P value was calculated by ANOVA, Kruskal-Wallis H test and chi-square test for suitable. BMI, body mass index; AFC, antral follicle count; AMH, anti-Müllerian hormone; FSH, follicle-stimulating hormone; PCOS, polycystic ovary syndrome; Gn, gonadotropin. Spring, March to May; Summer, June to August; Autumn, September to November; Winter, December to February.

表 2 采血季节对血清 25(OH)D 和血清 AMH 的影响

Table 2 Effect of blood sampling season on serum 25(OH)D and AMH

Items	Season of blood draw				P value ^a
	Spring	Summer	Autumn	Winter	
Serum 25(OH)D/(μ g/L), $\bar{x} \pm s$	14.317 \pm 4.167	15.711 \pm 4.008	20.320 \pm 5.474	14.153 \pm 5.400	<0.001
AMH/(μ g/L), $M(P_{25}, P_{75})$	2.245 (1.360, 3.958)	2.540 (1.315, 4.805)	3.430 (2.900, 5.060)	2.590 (1.310, 5.230)	0.046

a: P value was calculated by ANOVA and Kruskal-Wallis H test for suitable. AMH, anti-Müllerian hormone. Spring, March to May; Summer, June to August; Autumn, September to November; Winter, December to February.

3 讨论

AMH 作为评估卵巢储备功能的首选标志物,同

时在推断女性绝经年龄、预测卵巢反应性、预防促排卵治疗中卵巢过度刺激综合征的发生中发挥重要作用^[5]。女性 AMH 水平受到多种因素的影响,

包括年龄、BMI、生活习惯、种族、外源性药物使用等^[6],目前尚无统一的国际标准评定 AMH 水平界值。

越来越多的研究表明,维生素 D 作为人体必需的微量元素之一,同样能够影响 AMH 水平。维生素 D 水平由于受到紫外线照射的影响,呈现季节性变化,夏季高于冬季^[7]。女性体内血清 AMH 水平同样具有季节差异^[8]:冬季血清 AMH 水平较夏季下降 18%,补充骨化三醇即 1,25(OH)₂D₃ 能够调节 AMH 水平的季节性变化,提示 AMH 的季节性变

化与机体维生素 D 水平相关。研究表明,人前列腺癌细胞的 AMH 启动子区域存在维生素 D 反应元件,维生素 D 能够通过该反应元件上调 AMH mRNA 的表达^[2,9]。同时有学者在对恒河猴的研究中发现,低剂量的维生素 D3 (<25 ng/L) 能够提高恒河猴窦前卵泡体外培养的存活率,通过增加颗粒细胞的数量而非上调 AMH mRNA,引起 AMH 水平显著升高^[10-11]。而体外培养的人颗粒细胞经维生素 D 处理后,AMH mRNA 水平未发生明显改变,AMH 受体-II(AMH receptor II, AMHR-II)的基因表达则受到抑制^[12]。

表 3 不同不孕类型的 AMH 相关性分析

Table 3 Correlation analysis of AMH in different types of infertility

Infertility factor	Items	<i>B</i>	<i>SE</i>	<i>P</i> value
Fallopian tube/Male factor (<i>n</i> = 304)	Serum 25(OH)D	-0.039	0.029	0.186
	Age	-0.079	0.035	0.024
	BMI	-0.013	0.042	0.767
	AFC	0.144	0.027	<0.001
	Constant	5.326	1.580	0.001
PCOS (<i>n</i> = 133)	Serum 25(OH)D	0.122	0.095	0.201
	Age	-0.008	0.120	0.947
	BMI	-0.389	0.111	0.001
	AFC	0.357	0.057	<0.001
	Constant	9.012	4.771	0.061
Ovulation disorders excluded PCOS (<i>n</i> = 127)	Serum 25(OH)D	-0.005	0.014	0.734
	Age	0.025	0.014	0.088
	BMI	-0.010	0.021	0.621
	AFC	0.159	0.022	<0.001
	Constant	-0.100	0.778	0.898
Endometriosis (<i>n</i> = 24)	Serum 25(OH)D	0.106	0.107	0.336
	Age	-0.050	0.101	0.624
	BMI	-0.122	0.106	0.263
	AFC	0.081	0.074	0.289
	Constant	5.249	4.111	0.218
Unexplained infertility (<i>n</i> = 85)	Serum 25(OH)D	0.049	0.056	0.391
	Age	0.017	0.068	0.799
	BMI	-0.172	0.089	0.057
	AFC	0.105	0.057	0.071
	Constant	4.608	2.886	0.114
Others (<i>n</i> = 83)	Serum 25(OH)D	-0.007	0.046	0.885
	Age	0.006	0.048	0.904
	BMI	-0.031	0.061	0.619
	AFC	0.168	0.038	<0.001
	Constant	2.009	2.241	0.373

AMH, anti-Müllerian hormone; PCOS, polycystic ovary syndrome; BMI, body mass index; AFC, antral follicle count.

表 4 血清 25(OH)D 水平与血清 AMH 水平对不孕女性妊娠结局的预测作用

Table 4 The role of serum 25(OH)D and AMH in predicting pregnancy outcome in the infertility female

Items	Biochemical pregnancy			Clinical pregnancy		
	OR	95% CI	P value	OR	95% CI	P value
AMH	1.503	1.083 - 2.086	0.015	1.310	0.957 - 1.791	0.092
Serum 25(OH)D	1.044	0.974 - 1.119	0.223	1.039	0.970 - 1.114	0.276
25(OH)D * AMH	0.978	0.958 - 0.997	0.027	0.982	0.962 - 1.002	0.071
Age	0.948	0.905 - 0.992	0.022	0.949	0.907 - 0.993	0.024
BMI	1.018	0.962 - 1.078	0.531	1.019	0.963 - 1.079	0.515
AFC	1.024	0.979 - 1.070	0.302	1.019	0.975 - 1.064	0.403
Number of embryos transferred	1.052	0.670 - 1.652	0.827	1.051	0.674 - 1.641	0.826
Constant	1.122	-	0.924	1.242	-	0.857

* represents interaction items. 25(OH)D * AMH was the synergistic predictive effect of serum 25(OH)D and serum AMH on pregnancy outcome. AMH, anti-Müllerian hormone; BMI, body mass index; AFC, antral follicle count.

目前全球关于女性维生素 D 水平与 AMH 相关性的人群研究较多。Drakopoulos 等^[13]在丹麦不孕女性中开展了一项横断面研究,将不孕女性以维生素 D 水平 20 μg/L 分为两组,比较维生素 D 和卵巢储备标志物之间的关系,研究结果表明维生素 D 与 AMH 水平和 AFC 均无关。西班牙的一项人群研究根据 851 名赠卵者的维生素 D 水平比较研究对象的卵巢储备情况及赠卵的妊娠结局,同样显示维生素 D 水平与 AMH 之间不存在相关性^[14]。然而,美国的一项横断面研究则提示在年龄大于 40 岁的女性中,维生素 D 水平和血清 AMH 水平呈正相关^[15];而 Bednarska-Czerwińska 等^[16]研究认为不孕女性中维生素 D 和血清 AMH 水平存在一定程度的负相关性。

由于针对维生素 D 和 AMH 相关性的人群研究结论存在较大差异,且我国相关研究较少见,本课题组开展了一项大规模的横断面研究,旨在进一步探讨维生素 D 和 AMH 在不同类型不孕女性中的关系,以及这两项指标对妊娠结局的协同预测作用。

本研究入组的 756 例不孕女性大多来自我国北方地区,血清 25(OH)D 平均水平为 (14.772 ± 4.409) μg/L,按照目前诊断标准,仅 12.3% 不孕女性的维生素 D 水平充足。中国疾病预防控制中心营养与健康所公布的数据显示^[17],2015 年我国 18~49 岁的育龄女性中仅 31.28% 为维生素 D 充足 (血清 25(OH)D ≥ 20 μg/L),北方地区维生素 D 水平正常率仅达 11.39%,可能是由于北方地区纬度较高,日照不充足所致。本研究结果与该数据基本相符,提示我国育龄期女性特别是北方地区的女性维生素 D 不足及缺乏的情况十分普遍。与既往研究相似^[7-8],本研究血清 25(OH)D 和 AMH 均呈现

季节性变化,秋季和夏季血清 25(OH)D 的水平显著高于春季和冬季,血清 AMH 以春季和秋季之间存在显著差异为主。夏季因紫外线较强,并且暴露于紫外线照射下的皮肤面积大,血清 25(OH)D 水平显著高于春季和冬季,但由于本研究秋季患者样本量较小,需要扩大样本量进一步观测血清 AMH 的季节性变化以及其与血清 25(OH)D 之间的关系。

本研究对 A、B、C 三组 AMH 水平进行分析,发现不同维生素 D 水平之间的血清 AMH 水平差异无统计学意义 (P > 0.05)。而 AMH 的多重线性回归分析的结果进一步证明,在各种不孕类型中,血清 AMH 水平不受血清 25(OH)D 的影响,不孕女性维生素 D 缺乏并不会对血清 AMH 水平产生负面影响,这与孙丽君等^[18]的研究结果相一致。女性体内 AMH 主要由卵泡颗粒细胞分泌产生,能够与 AFC 共同反映卵巢储备功能,因此血清 AMH 水平在除子宫内膜异位症和不明原因性不孕以外的各种不孕类型中都与 AFC 成正相关 (P < 0.001)。关于子宫内膜异位症对卵巢储备功能影响的研究目前仍较为缺乏,且存在争议,后续可以通过扩大子宫内膜异位症患者样本量进行进一步研究。卵巢储备随着年龄的增长而下降^[19],在输卵管因素或男方因素导致不孕的女性中,血清 AMH 水平与年龄密切相关 (P < 0.05),年龄越大,血清 AMH 水平越低,提示卵巢储备功能衰退。Moslehi 等^[20]通过对 26 个相关研究进行 meta 分析,认为在 PCOS 患者中,BMI 与血清 AMH 水平存在负相关关系,这与本研究结果一致,其可能的作用机制是瘦素通过 JAK2/STAT3 信号通路下调 AMH mRNA 的表达^[21]。

有研究表明,血清 AMH 水平和卵泡液 AMH 水

平对辅助生殖技术结局具有预测作用^[22-23]。一项探讨人群 AMH 基因单核苷酸多态性 (single-nucleotide polymorphisms, SNPs) 对体外受精结局影响的前瞻性队列研究显示,女性 AMH 146T > G GG 基因型能够独立预测临床妊娠结局^[24]。而关于女性维生素 D 水平对妊娠结局的影响国内外研究众多,但仍无一致结论^[25]。本研究结果显示,血清 AMH 水平能够单独预测生化妊娠结局,但同时维生素 D 水平的提高并不能有效改善不孕女性的妊娠结局。研究结果未提示血清 AMH 与血清 25(OH)D 对不孕女性的妊娠结局存在积极的相互作用,甚至可能存在拮抗作用,由于目前尚无研究报道二者对于妊娠结局的共同影响,具体作用机制仍待进一步探讨。

本研究样本量较大,涵盖较多不孕类型,但仍存在一定的局限性,应设计一项更大样本多中心的随机对照临床研究,通过向维生素 D 缺乏或不足的不孕女性补充维生素 D 的方式,观察血清 25(OH)D 水平对 AMH 以及妊娠结局的影响,以便进一步明确二者关系及可能的潜在作用机制。

综上所述,我国不孕女性大多数处于维生素 D 缺乏或不足的状态,但维生素 D 水平对血清 AMH 水平并未见有不利影响,并且未发现血清 25(OH)D 水平与卵巢储备功能相关。血清 AMH 水平对不孕女性生化妊娠结局具有保护作用,虽然有可能与维生素 D 协同预测生化妊娠结局,但具体作用机制仍待阐明。

参考文献

- [1] Rizzo G, Garzon S, Fichera M, et al. Vitamin D and gestational diabetes mellitus: Is there a link [J]. *Antioxidants (Basel)*, 2019, 8(11): 511.
- [2] Malloy PJ, Peng L, Wang J, et al. Interaction of the vitamin D receptor with a vitamin D response element in the mullerian-inhibiting substance (mis) promoter: Regulation of mis expression by calcitriol in prostate cancer cells [J]. *Endocrinology*, 2009, 150(4): 1580 - 1587.
- [3] Rosen CJ, Abrams SA, Aloia JF, et al. Iom committee members respond to endocrine society vitamin D guideline [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2012, 97(4): 1146 - 1152.
- [4] Bouillon R, Carmeliet G, Verlinden L, et al. Vitamin D and human health: Lessons from vitamin D receptor null mice [J]. *Endocr Rev*, 2008, 29(6): 726 - 776.
- [5] Moolhuijsen LME, Visser JA. Anti-Müllerian hormone and ovarian reserve: Update on assessing ovarian function [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2020, 105(11): 3361 - 3373.
- [6] Dewailly D, Andersen CY, Balen A, et al. The physiology and clinical utility of anti-Müllerian hormone in women [J]. *Hum Reprod Update*, 2014, 20(3): 370 - 385.
- [7] Dixon KM, Mason RS. Vitamin D [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2009, 41(5): 982 - 985.
- [8] Dennis NA, Houghton LA, Jones GT, et al. The level of serum anti-Müllerian hormone correlates with vitamin D status in men and

- women but not in boys [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2012, 97(7): 2450 - 2455.
- [9] Krishnan AV, Moreno J, Nonn L, et al. Novel pathways that contribute to the anti-proliferative and chemopreventive activities of calcitriol in prostate cancer [J]. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2007, 103(3/4/5): 694 - 702.
- [10] Xu J, Hennebold JD, Seifer DB. Direct vitamin D3 actions on rhesus macaque follicles in three-dimensional culture: Assessment of follicle survival, growth, steroid, and anti-Müllerian hormone production [J]. *Fertil Steril*, 2016, 106(7): 1815e1811 - 1820e1811.
- [11] Xu J, Lawson MS, Xu F, et al. Vitamin D3 regulates follicular development and intrafollicular vitamin D biosynthesis and signaling in the primate ovary [J/OL]. *Front Physiol*, 2018, 9: 1600 (2018-11-14) [2021-11-01]. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphys.2018.01600/full>.
- [12] Merhi Z, Doswell A, Krebs K, et al. Vitamin D alters genes involved in follicular development and steroidogenesis in human cumulus granulosa cells [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2014, 99(6): E1137 - E1145.
- [13] Drakopoulos P, van de Vijver A, Schutysse V, et al. The effect of serum vitamin D levels on ovarian reserve markers: A prospective cross-sectional study [J]. *Hum Reprod*, 2017, 32(1): 208 - 214.
- [14] Fabris AM, Cruz M, Iglesias C, et al. Impact of vitamin D levels on ovarian reserve and ovarian response to ovarian stimulation in oocyte donors [J]. *Reprod Biomed Online*, 2017, 35(2): 139 - 144.
- [15] Merhi ZO, Seifer DB, Weedon J, et al. Circulating vitamin D correlates with serum antimüllerian hormone levels in late-reproductive-aged women: Women's interagency HIV study [J]. *Fertil Steril*, 2012, 98(1): 228 - 234.
- [16] Bednarska-Czerwińska A, Olszak-Wąsik K, Olejek A, et al. Vitamin D and anti-müllerian hormone levels in infertility treatment: The change-point problem [J]. *Nutrients*, 2019, 11(5): 1053.
- [17] 胡貽椿, 陈竞, 王睿, 等. 我国育龄女性维生素 D 营养状况分析 [J]. *营养学报*, 2020, 42(6): 537 - 541.
- [18] 孙丽君, 冯营营, 胡继君, 等. 维生素 D 与不孕女性卵巢储备标志物的相关性分析 [J]. *中华生殖与避孕杂志*, 2017, 37(9): 706 - 710.
- [19] Visser JA, Themmen APN. Anti-müllerian hormone and folliculogenesis [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2005, 234(1/2): 81 - 86.
- [20] Moslehi N, Shab-Bidar S, Ramezani Tehrani F, et al. Is ovarian reserve associated with body mass index and obesity in reproductive aged women? A meta-analysis [J]. *Menopause*, 2018, 25(9): 1046 - 1055.
- [21] Merhi Z, Buyuk E, Berger DS, et al. Leptin suppresses anti-müllerian hormone gene expression through the JAK2/STAT3 pathway in luteinized granulosa cells of women undergoing IVF [J]. *Hum Reprod*, 2013, 28(6): 1661 - 1669.
- [22] Ligon S, Lustik M, Levy G, et al. Low antimüllerian hormone (AMH) is associated with decreased live birth after in vitro fertilization when follicle-stimulating hormone and AMH are discordant [J]. *Fertil Steril*, 2019, 112(1): 73e71 - 81e71.
- [23] Ciepiela P, Dulęba AJ, Kario A, et al. Oocyte matched follicular fluid anti-müllerian hormone is an excellent predictor of live birth after fresh single embryo transfer [J]. *Hum Reprod*, 2019, 34(11): 2244 - 2253.
- [24] Wu CH, Yang SF, Tsao HM, et al. anti-Müllerian hormone gene polymorphism is associated with clinical pregnancy of fresh IVF cycles [J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2019, 16(5): 841.
- [25] Chen Y, Zhi X. Roles of vitamin D in reproductive systems and assisted reproductive technology [J/OL]. *Endocrinology*, 2020, 161(4): bqaa023(2020-02-18) [2021-11-01]. <https://academic.oup.com/endo/article/161/4/bqaa023/5739616?login=true>.

(2021-11-16 收稿)

(本文编辑:王 蕾)