

· 基础研究 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2024.02.004

网络首发 [https://link.cnki.net/urlid/50.1097.r.20240111.1723.004\(2024-01-12\)](https://link.cnki.net/urlid/50.1097.r.20240111.1723.004(2024-01-12))

利勃隆促进雄性少精症斑马鱼性行为 and 性腺发育及精子数量产生*

赵成瑞¹, 郑新越², 常明亮¹, 康志云²

(1. 山西医科大学汾阳学院, 山西汾阳 032200; 2. 北京第一生物化学药业有限公司, 北京 101400)

[摘要] **目的** 探索利勃隆对性行为、性腺发育及精子数量产生的影响。**方法** 56 尾受精后 10 月龄 AB 品系雄性斑马鱼分 7 缸设为正常组, 模型组, 2 个阳性对照组(枸橼酸氯米芬组, 五子衍宗丸组), 利勃隆低、中、高浓度组, 每组 8 尾。除正常组外, 分别水溶给予环磷酰胺建立斑马鱼少精症模型。模型建立第 9 天, 阳性对照组按照枸橼酸氯米芬组 0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度、五子衍宗丸组 6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度分别给予相应药物; 利勃隆低、中、高浓度组按 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、300 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、900 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度给予相应药物。模型建立第 16 天, 捞取正常雌性斑马鱼按 1:1 置于各组培养缸, 观察并记录雄雌鱼追尾频数后捞取雄性斑马鱼, 测量并统计体长、体重、精巢重量及精子数量。对用药前、后和各组间差异(one-way ANOVA)进行统计学分析。**结果** 与正常组比较, 模型组斑马鱼追尾频数、体长、体重、精巢重量、精子数量均明显减少($P < 0.05$); 与模型组比较, 利勃隆低、中、高浓度组斑马鱼追尾频数、体长、体重、精巢重量、精子数量均明显增加($P < 0.05$)。其中, 利勃隆中浓度组斑马鱼性行为活跃度改变最明显, 精子数量增加最明显($P < 0.01$)。**结论** 一定剂量利勃隆能有效促进雄性少精症斑马鱼性行为、性腺发育及精子数量产生。利勃隆可提升男性性功能和治疗少、弱精症方面的功效值得研究。

[关键词] 利勃隆; 斑马鱼; 少精症; 弱精症; 睾酮

[中图分类号] R698+.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2024)02-0176-04

Spermary promotes sexual behavior, gonadal development and sperm count production in male zebrafish*

ZHAO Chengrui¹, ZHENG Xinyue², CHANG Mingliang¹, KANG Zhiyun²

(1. Fenyang College of Shanxi Medical University, Fenyang, Shanxi 032200, China;

2. Beijing No.1 Biochemical Pharmaceutical Co., Ltd., Beijing 101400, China)

[Abstract] **Objective** To explore the effects of spermary on sexual behavior, gonadal development and sperm count production. **Methods** Fifty-six male zebrafishes of 10-month-old AB strain after fertilization were randomly divided into 7 tanks and set up as the normal group, model group, positive control group (clomiphene citrate group, Wuzi Yanzong Pills group), and Spermary low, medium and high concentration groups, 8 fishes in each group. Except for the normal group, cyclophosphamide was given in water solution to establish the zebrafish oligospermia model, respectively. On 9 d of modeling, the positive control group was administered at a concentration of 0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ in the clomiphene citrate group and 6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ in the Wuzi Yanzong Pill group; the spermary low, medium and high concentration groups were administered at 200, 300, 900 $\mu\text{g}/\text{mL}$, respectively. On 16 d of modeling, the normal female zebrafishes were placed in the culture tank of each group in a 1:1 ratio, and the frequency of tail-chasing was observed and recorded in male and female fishes. The body length, weight, testis weight and sperm count were measured and the statistical analysis was performed by comparing the differences among the groups before and after drug administration (one-way ANOVA). **Results** Compared with the normal group, the frequency of tail-chasing of zebrafishes, body length, body weight, testis weight and sperm count in the model group were significantly decreased ($P < 0.05$). Compared with the model group, the frequency of tail-chasing of zebrafishes, body length, body weight, testis weight and sperm count in the spermary low, medium and high concentration groups all were significantly increased ($P < 0.05$), in which the vitality change of sexual behavior in the spermary medium concentration group was most obvious, and the increase of sperms count was most obvious. **Conclusion** A certain dose of spermary could effectively promote

* 基金项目: 山西省吕梁市重点研发项目(2021SHFZ-2-100)。

the sexual behavior, gonadal development and sperm count production in male zebrafish with oligospermia. The efficacy of spermary in enhancing the male sexual function and treating oligozoospermia and infertility deserves to be studied.

[Key words] spermary; zebrafish; oligospermia; asthenozoospermia; testosterone

全球约 50% 不孕不育由男性不育引起^[1-3], 男性不育目前已成为全球社会性疾病。研究报道, 男性精液质量和浓度均呈下降趋势, 少、弱精症占男性不育症的 75%^[4-7]。目前针对少、弱精子症, 临床多用雌激素受体阻滞剂(如枸橼酸氯米芬)进行治疗, 但存在潜在风险及用药局限性, 效果尚存争议。睾酮替代疗法也是普遍使用的治疗方案, 但其安全性仍是医患担忧的主要问题^[8-9]。中医药(如五子衍宗丸)干预及治疗效果呈散在性, 缺乏大样本、多中心的临床试验研究及临床诊治标准和依据, 同时自拟方的安全性及重复性无法得到有效验证^[10-11]。虽然辅助生殖技术满足绝大多数少、弱精症的生育需求, 但操作要求高、费用高^[12]。利勃隆是一种生物提取雄性激素类药, 主要成分为睾丸粉, 由健康未变质的新鲜或冷冻的牛、羊睾丸制成, 临床上主要用于治疗神经衰弱、发育迟缓、阳痿、男子更年期障碍等。目前尚无有关利勃隆治疗少、弱精症的研究。本实验通过研究利勃隆对少精症斑马鱼追尾行为、性腺发育和精子数量的影响, 旨在为利勃隆提升男性性功能和治疗少、弱精症的应用提供依据。

1 材料与方法

1.1 主要试剂

利勃隆(批号 H11022468)购自北京第一生物化学药业有限公司, 根据人用剂量换算^[13], 用养鱼水配制成 20.0 mg/mL 母液, 现配现用; 环磷酰胺(批号 A2112310)购自阿拉丁试剂(上海)有限公司, 用养鱼水配制; 枸橼酸氯米芬(批号 L0807)购自上海塞浦路斯高特制药有限公司, 用二甲基亚砜(DMSO)配制成 10.0 mg/mL 母液, -20 °C 储存备用; 五子衍宗丸(批号 18035166)购自中国北京同仁堂(集团)有限公司, 超纯水配制成 6.00 mg/mL 母液, -20 °C 储存备用; DMSO(批号 BCCD8942)购自德国 Sigma 公司; GENMED 精子活力荧光染色试剂盒(批号 H2MT0003)购自上海杰美基因医药科技有限公司。

1.2 主要仪器

网络硬盘录像机(DH-HCVR4104HC-V4)购自浙江大华技术股份有限公司, 解剖显微镜(SZX7)购自日本 Olympus 公司, CCD 相机(VertA1)购自上海土森视觉科技有限公司, 电动聚焦连续变倍荧光显微镜(AZ100)购自日本 Nikon 公司, 电子天平(CP214)购自奥豪斯国际贸易(上海)有限公司、高速冷冻离心机(PICO17/21)购自美国 Thermo Fisher 公司、高速组织研磨器(MY-10)购自拓赫机电科技(上海)有限公司, 另有解剖镊、弹簧剪等。

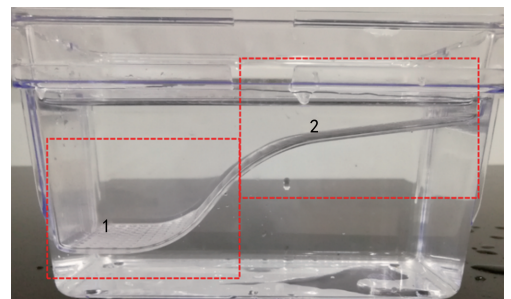
1.3 实验动物与分组

实验前, 受精后 10 月龄(10 mpf)自然成对交配繁殖 AB 品系雄性斑马鱼(由杭州环特生物养鱼中心提供)饲养于 28 °C 的养鱼水中, 智能开关控制光照昼夜时间比为 14 h : 10 h。每升反渗透水中加入 200 mg 速溶海盐, 电导率为 450 ~ 550 μ S/cm, pH 为 6.5 ~ 8.5, 硬度为 50 ~ 100 mg/L CaCO₃。每天常规饲料喂养。饲养管理符合国际实验动物饲养管理评估认证委员会(AAALAC)认证的要求(认证编号 001458)。取 56 尾雄性斑马鱼分为 7 组, 分别为正常组, 模型组, 2 个阳性对照组(枸橼酸氯米芬组、五子衍宗丸组), 利勃隆低、中、高浓度组, 各组斑马鱼均置于 1.2 L “爬坡”交配培养缸(图 1)。除正常组外, 各组均给予 200 μ g/mL 环磷酰胺配液, 每天 1 次, 连续染毒 8 d, 建立斑马鱼少精症模型。建模第 9 天开始, 按照枸橼酸氯米芬组 0.1 μ g/mL 浓度, 五子衍宗丸组 6 μ g/mL 浓度, 利勃隆低、中、高浓度组 200、300、900 μ g/mL 浓度给予相应药物, 每天 1 次, 持续 8 d。期间各组正常喂食。

1.4 检测方法

1.4.1 追尾频数

模型建立第 16 天后, 捞取正常雌性斑马鱼按 1 : 1 比例置于各组培养缸, 镂空隔板隔开雄雌鱼 12 h 后, 拔掉隔板, 录像机记录各组雄雌鱼追尾情况: 雄鱼频繁将雌鱼由 1 区经“爬坡”追逐至 2 区, 雌鱼在 2 区被迫转弯回游, 速度下降, 雄雌鱼追尾。雄鱼追到雌鱼后头部紧顶着雌鱼腹部的行为即为斑马鱼追尾, 追尾频数可反应性行为活跃度, 见图 1。



1:1 区; 2:2 区。

图 1 雄雌鱼追尾“爬坡”交配培养缸示意图

1.4.2 体长、体重和精巢重量测量

斑马鱼追尾频数统计后, 捞取雄性斑马鱼, 按组用 MS-222 麻醉, 吸水纸吸去斑马鱼体表水, 分别用 CCD 相机拍照测量体长, 电子天平称量体重; 在解剖显微镜下, 剪开腹腔, 取出精巢, 放入离心管称重量。

1.4.3 精子数量测定

精巢称重量后, 研磨、离心取上清液, 按照

GENMED 精子活力荧光染色试剂盒说明书步骤进行精子染色,染色结束后置于荧光显微镜下拍照,每尾斑马鱼观察 2 个视野。用 Image J 高级图像处理软件分析并采集数据,统计精子数量。

1.5 统计学处理

采用 SPSS26.0 软件进行数据统计分析,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析(one-way ANOVA),以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

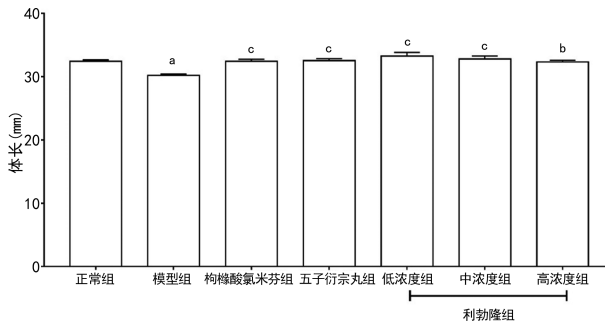
2.1 利勃隆对斑马鱼追尾的影响

与正常组 [25.33 ± 2.50] 次/min] 比较,模型组 [2.93 ± 1.28] 次/min] 斑马鱼追尾频数明显降低 ($P < 0.001$);与模型组比较,枸橼酸氯米芬组 [15.67 ± 2.31] 次/min, $P < 0.001$] 和五子衍宗丸组 [20.87 ± 3.07] 次/min, $P < 0.001$], 以及利勃隆低 [16.20 ± 1.97] 次/min]、中 [21.07 ± 3.06] 次/min]、高 [17.00 ± 1.31] 次/min] 浓度组 (均 $P < 0.001$) 斑马鱼追尾频数均明显升高,其中利勃隆低、中、高浓度组中,以利勃隆中浓度组斑马鱼追尾频数最高,斑马鱼性行为活跃度最明显。

2.2 利勃隆对斑马鱼体长、体重、精巢重量、精子数量的影响

2.2.1 利勃隆对斑马鱼体长的影响

与正常组比较,模型组斑马鱼体长明显变短 ($P < 0.001$);与模型组比较,枸橼酸氯米芬组 ($P < 0.001$) 和五子衍宗丸组 ($P < 0.001$), 以及利勃隆低、中、高浓度组 ($P < 0.001$, $P < 0.001$, $P = 0.002$) 斑马鱼体长均明显增加 ($P < 0.01$), 见图 2。



^a: $P < 0.001$, 与正常组比较; ^b: $P < 0.01$, ^c: $P < 0.001$, 与模型组比较。

图 2 各组斑马鱼体长变化

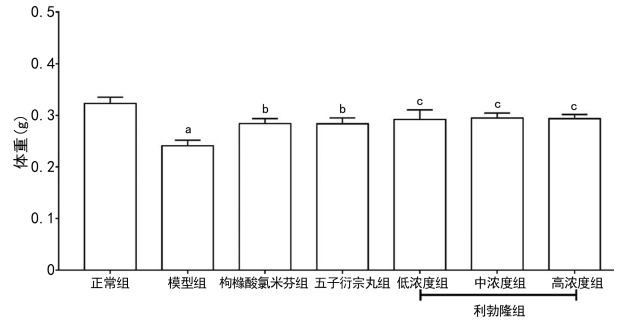
2.2.2 利勃隆对斑马鱼体重的影响

与正常组比较,模型组斑马鱼体重明显减轻 ($P < 0.001$);与模型组比较,枸橼酸氯米芬组 ($P = 0.013$) 和五子衍宗丸组 ($P = 0.014$), 以及利勃隆低、中、高浓度组 ($P = 0.004$, 0.002 , 0.003) 斑马鱼体重均明显增加, 见图 3。

2.2.3 利勃隆对斑马鱼精巢重量的影响

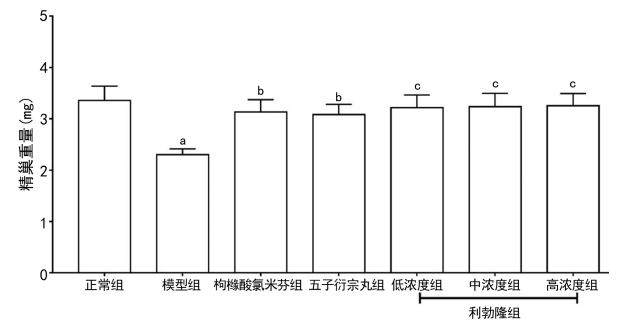
与正常组比较,模型组斑马鱼精巢重量明显减轻 ($P < 0.01$);与模型组比较,枸橼酸氯米芬组 ($P =$

0.013) 和五子衍宗丸组 ($P = 0.021$), 以及利勃隆低、中、高浓度组 ($P = 0.007$, 0.006 , 0.005) 斑马鱼精巢重量均明显增加, 见图 4。



^a: $P < 0.001$, 与正常组比较; ^b: $P < 0.01$, ^c: $P < 0.001$, 与模型组比较。

图 3 各组斑马鱼体重

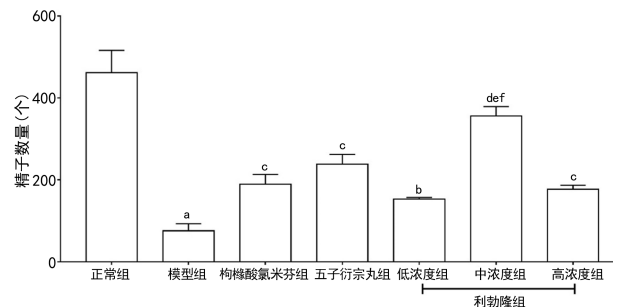


^a: $P < 0.001$, 与正常组比较; ^b: $P < 0.01$, ^c: $P < 0.001$, 与模型组比较。

图 4 各组斑马鱼精巢重量

2.2.4 利勃隆对斑马鱼精子数量的影响

与正常组比较,模型组斑马鱼精子数量明显减少 ($P < 0.001$);与模型组比较,枸橼酸氯米芬组 ($P = 0.040$) 和五子衍宗丸组 ($P < 0.001$), 以及利勃隆低、中、高浓度组 ($P = 0.048$, $P < 0.001$, $P = 0.010$) 斑马鱼精子数量明显增加;利勃隆中浓度组与阳性对照组(枸橼酸氯米芬组和五子衍宗丸组)及利勃隆低、高浓度组间比较,差异也有统计学意义 ($P < 0.001$, $P = 0.003$, $P < 0.001$, $P < 0.001$), 见图 5。



^a: $P < 0.001$, 与正常组比较; ^b: $P < 0.05$, ^c: $P < 0.01$, ^d: $P < 0.001$, 与模型组比较; ^e: $P < 0.01$, 与阳性对照组(枸橼酸氯米芬组和五子衍宗丸组)比较; ^f: $P < 0.001$, 与利勃隆低、高浓度组比较。

图 5 各组斑马鱼精子数量

3 讨论

本实验采用环磷酰胺处理雄性斑马鱼,建立斑马鱼少精症模型。环磷酰胺是目前已明确可损害生精

功能的化学药物之一,它可杀伤分化中的精原细胞,导致长期无精或少精,是实验采用较多的诱导少、弱精或生殖系统损伤模型的技术。斑马鱼易养殖、性成熟快、易给药、易建模,其基因与人类基因的相似度达 87%^[14-15],其信号传导通路、生理结构及功能与哺乳动物高度相似^[16-17],适合用于人类生殖功能发育和损伤修复研究。利勃隆是一款上市多年的雄性激素类药物,用于治疗神经衰弱、发育迟缓、男子更年期障碍等疾病,其富含丰富的蛋白偶联睾酮、精氨酸及各类生化因子和无机元素,起效成分和作用机制目前暂不明确。本研究各项检测指标提示,利勃隆对雄性少精症斑马鱼身体发育(体长、体重)有促进作用,对性行为活跃度(追尾频次)、生殖系统功能(精巢重量、精子数量)有提升作用。与阳性对照组枸橼酸氯米芬和五子衍宗丸相比,精子数量的提升有明显优势。

临床上,大多不育症男性被检查出睾酮水平异常。本课题组前期通过小鼠模型实验证实,利勃隆作为一款纯生物提取生化药品,具有成分复杂、多靶点特点,其所含睾酮成分是与雄激素结合蛋白结合及游离方式存在,用药后具有快速提升血清睾酮作用。关于内源性睾酮与男性不孕的关系,张枫^[3]回顾性分析 100 例已婚不育男性的临床资料发现,血清中促卵泡生成素和睾酮水平与精子质量密切相关,是导致男性不育的独立风险因素。陈创奇等^[18]报道,男性不育症患者血清游离睾酮和生物活性睾酮水平越高,则正常形态精子百分率越高。钟汇等^[19]研究发现,检测血清生殖激素水平有利于指导少、弱精症患者的临床诊疗。经对利勃隆活性成分及营养成分定性检测,其还含有大量雄激素结合蛋白及精氨酸等活性成分,且存在许多营养因子和促进睾丸间质细胞活性的成分。作者认为,雄激素结合蛋白能与睾酮结合并有效提高精曲小管内睾酮水平,保证精子生成需要;精氨酸为精子合成的主要原料,对于生精及精子质量提升具有明显效果。睾丸间质细胞是合成与分泌睾酮的主要场所,人体 95% 的睾酮由睾丸间质细胞合成与分泌^[20]。利勃隆中存在的许多营养因子及促进睾丸间质细胞活性的成分,能够促进睾丸间质细胞分泌睾酮,全面改善和提升性腺功能,提升男性的睾丸储备功能和生育能力,改善精子质量和数量^[21]。

本研究对利勃隆在促进性行为、性腺发育及精子数量产生的功效及相关成分作用机制进行了初步探索与分析,并利用科学的动物学实验加以证实,但在对该药物中起效成分的定性定量分析、药效评价及其作用机制的研究上,尚未开展实验研究,以上方面将是课题组后续研究的内容。本研究结果为利勃隆老药新用的开发提出了新的研究方向和思路。

参考文献

[1] 荆淮侨. 研究揭示男性不育症的发病机理[EB/

OL]. 中国科学报. [2022-07-25]. https://kns.cnki.net/kcms2/article/abstract?v=jd-zW4OcutwX2_-cWkvoiHkIvdAYpK-JUaNweOQF19vSS37u8NjQ6MZmWF7NcCTdFnCn5C4IdBAEmw4U_XkO0QpHxroGEEwi4IU00NCzW90K135idXOszHCdFxFzIJfGmSJuJHtBad-M=&.uniplatform=NZKPT&.language=CHS.

- [2] 靳化,赵勇,钟建容,等. 550 例男性不育症患者染色体核型和 Y 染色体微缺失情况分析[J]. 解放军医学杂志,2021,46(11):1123-1128.
- [3] 张枫. 血清中卵泡生成素水平和睾酮水平及患者精子质量与男性不育的关系[J]. 中国卫生检验杂志,2018,28(21):2616-2618.
- [4] ZHOU Z,ZHENG D,WU H,et al. Epidemiology of infertility in China: a population-based study[J]. BJOG,2018,125(4):432-441.
- [5] 张芳,孙自学,邱荃,等. 益肾通络方治疗少弱精子型男性不育症肾虚瘀阻证的临床疗效[J]. 中国实验方剂学杂志,2021,27(11):112-116.
- [6] 曹德宏,关慧元,李金泽,等. 高温导致男性不育的研究进展[J]. 中国男科学杂志,2021,35(5):87-89.
- [7] 李昕,李豫,邵骏,等. 中国有生育力男性精子浓度 35 年变化趋势分析[J]. 中华男科学杂志,2021,35(7):645-648.
- [8] 肖家超,李雪,胡春弟. 睾酮与身体健康[J]. 湖北科技学院学报(医学版),2018,32(1):86-89.
- [9] 饶志方,王婉钢,程振玲,等. 长期睾酮替代疗法的风险概述[J]. 药物流行病学杂志,2015,24(9):558-561.
- [10] 虞颖绿,陈胜辉,周玉良,等. 中医外治法在治疗弱精子症不育的研究进展[J]. 现代诊断与治疗,2021,32(17):2724-2726,2754.
- [11] 中国医师协会生殖医学专业委员会生殖男科学组少精子症诊疗中国专家共识编写组. 少精子症诊疗中国专家共识[J]. 中华生殖与避孕杂志,2021,41(7):586-592.
- [12] 萧闵,王威,魏巍,等. 疏肝补肾毓麟汤调节 VDAC2 基因甲基化影响弱精症大鼠精子线粒体功能改善精子质量[J]. 中国实验方剂学杂志,2021,27(23):72-79.
- [13] 戴明珠,郭胜亚,徐懿乔,等. 用于功效评价的斑马鱼转换人用剂量的换算方法[EB/OL]. [2022-07-25]. [https://kns.cnki.net/kcms2/article/abstract?v=jd-zW4OcutyqSaISLAIiD-pUajGMCPEDfJRmCZRA4xQYR88_80ca_WZaCkmaRtHvQzM8b2hDRIS2WKKKOF0Ndctk0VSKLHz5YsY17IaZlPr_Bevoh3ye3LPGVzsaL092NDVNTTr23xgWdkEEOWo\(下转第 187 页\)](https://kns.cnki.net/kcms2/article/abstract?v=jd-zW4OcutyqSaISLAIiD-pUajGMCPEDfJRmCZRA4xQYR88_80ca_WZaCkmaRtHvQzM8b2hDRIS2WKKKOF0Ndctk0VSKLHz5YsY17IaZlPr_Bevoh3ye3LPGVzsaL092NDVNTTr23xgWdkEEOWo(下转第 187 页))

- preoperative urinary tract infection[J]. *Biomed Res Int*, 2020, 2020:1354672.
- [19] BANSAL S S, PAWAR P W, SAWANT A S, et al. Predictive factors for fever and sepsis following percutaneous nephrolithotomy: a review of 580 patients[J]. *Urol Ann*, 2017, 9(3): 230-233.
- [20] ALSYOUF M, ABOURBIH S, WEST B, et al. Elevated renal pelvic pressures during percutaneous nephrolithotomy risk higher postoperative pain and longer hospital stay[J]. *J Urol*, 2018, 199(1): 193-199.
- [21] HUANG Y S, ZHU X S, WAN G Y, et al. Application of simulated puncture in percutaneous nephrolithotomy[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2021, 25(1): 190-197.
- [22] 申智勇, 钟渠梁, 石家齐, 等. 逆行上尿路腔内碎石术后并发急性尿源性感染的相关危险因素分析[J]. *国际泌尿系统杂志*, 2020, 40(3): 440-444.
- [23] GIANNAKOPOULOS K, HOFFMANN U, ANSARI U, et al. The use of biomarkers in sepsis: a systematic review[J]. *Curr Pharm Biotechnol*, 2017, 18: 499-507.
- [24] 谭乐明, 杨成, 杨旭凯, 等. 尿源性脓毒血症严重程度
- 的相关因素分析[J]. *南方医科大学学报*, 2019, 39(1): 93-99.
- [25] GANESAN V, BROWN R D, JIMENEZ J A, et al. C-Reactive protein and erythrocyte sedimentation rate predict systemic inflammatory response syndrome after percutaneous nephrolithotomy[J]. *J Endourol*, 2017, 31(7): 638-644.
- [26] MEMAR M Y, ALIZADEH N, VARSHOCHI M, et al. Immunologic biomarkers for diagnostic of early-onset neonatal sepsis[J]. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 2019, 32(1): 143-153.
- [27] 李贵忠, 满立波, 王海, 等. 比较降钙素原、C 反应蛋白和血白细胞计数在经皮肾镜取石术后脓毒症诊断中的价值[J]. *中华泌尿外科杂志*, 2017, 38(1): 42-46.
- [28] SEN V, BOZKURT I H, AYDOGDU O, et al. Significance of preoperative neutrophil-lymphocyte count ratio on predicting postoperative sepsis after percutaneous nephrolithotomy[J]. *Kaohsiung J Med Sci*, 2016, 32(10): 507-513.
- (收稿日期: 2023-08-20 修回日期: 2023-11-16)
(编辑: 姚 雪)
- (上接第 179 页)
- jhETXA == &. uniplatform = NZKPT &. language = CHS.
- [14] TSANG M. Zebrafish: a tool for chemical screens[J]. *Birth Defects Res C Embryo Today*, 2010, 90(3): 185-192.
- [15] 黄春念, 张晶晶. 模式动物斑马鱼在中枢神经系统疾病研究中的应用[J]. *中国实验动物学报*, 2018, 26(3): 392-397.
- [16] POSTLETHWAIT J H, WOODS I G, NGO-HAZELETT P, et al. Zebrafish comparative genomics and the origins of vertebrate chromosomes[J]. *Genome Res*, 2000, 10(12): 1890-1902.
- [17] 刘可春, 孙晨, 王希敏, 等. 斑马鱼模型在药物早期安全性评价中的应用[J]. *山东科学*, 2014, 27(5): 1-8, 13.
- [18] 陈创奇, 史哲, 黄志承, 等. 生殖激素与男性不育症患者精子形态的相关性分析[J]. *中国性科学*, 2013, 22(7): 71-74.
- [19] 钟汇, 成玲, 吴志辉. 男性少精、无精症患者血清生殖激素水平检测意义探讨[J]. *福建医药杂志*, 2013, 35(6): 67-68.
- [20] 农淄心, 潘志强. 温补肾阳中药促进睾丸间质细胞睾酮分泌研究进展[J]. *陕西中医药大学学报*, 2021, 44(5): 135-140.
- [21] 马玉聪, 杨爱敏, 张拴成, 等. 核因子 E2 相关因子 2/抗氧化反应元件信号通路在生殖系统中的研究进展[J]. *中华生殖与避孕杂志*, 2021, 41(12): 1154-1159.
- (收稿日期: 2023-07-20 修回日期: 2023-11-22)
(编辑: 姚 雪)