

补肾法治疗男性不育症相关动物实验

王继升¹, 孟繁超¹, 李海松¹, 王彬¹, 冯隽龙¹, 邓省¹, 李曰庆^{1*}, 张霄潇^{2*}

(1. 北京中医药大学东直门医院, 北京 100700; 2. 中华中医药学会, 北京 100029)

[摘要] 男性不育症的实验研究是研究男性不育症发病机制和评价药物治疗的关键。该文回顾了近年来关于男性不育症的动物实验研究。有关男性不育症实验模型主要包括少弱精子症、畸形精子症、无精子症及精索静脉曲张动物模型等。少弱精子症动物模型的构建最常见的包括雷公藤多苷模型、腺嘌呤模型、氢化可的松模型、辐射模型4种类型,多以化学手段为主。无精子症动物模型的构建多采用腹腔注射双磺酸基烷化剂白消安和将小鼠阴囊浸泡在43℃的水中的方法。关于畸形精子症动物模型的研究相对较少,灌胃雷公藤多苷(GTW)和甲基磺酸甲酯(MMS)的方法较为常见。精索静脉曲张不育症动物模型多采用手术的方式进行,结扎下腔静脉外侧和精索静脉内侧间的左肾静脉中分对睾丸形态学及附睾精子质量有明显影响。相关动物实验研究表明,以五子衍宗丸为代表的补肾生精经典方和现代研究的临床验方对男性不育症都起到了显著的治疗作用。补肾法治疗男性不育症的机制多集中于抑制生精细胞凋亡的研究方向。补肾法调控生精细胞凋亡,为中医药在男性生殖领域开辟了新的治疗思路、提供了可靠的科学依据。

[关键词] 男性不育症; 动物实验; 补肾法; 五子衍宗丸

[中图分类号] R242; R2-0; R2-031; R256.56; R698+.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2023)05-0229-07

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20230593

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20220816.1124.008.html>

[网络出版日期] 2022-08-16 13:35:02

Animal Experiments on Male Infertility Treated by Tonifying Kidney

WANG Jisheng¹, MENG Fanchao¹, LI Haisong¹, WANG Bin¹, FENG Junlong¹,
DENG Sheng¹, LI Yueqing^{1*}, ZHANG Xiaoxiao^{2*}

(1. Dongzhimen Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100700, China;

2. China Association of Chinese Medicine, Beijing 100029, China)

[Abstract] Experimental research on male infertility is critical to the study of the pathogenesis of male infertility and the evaluation of drug therapy. This paper reviewed animal experiments on male infertility in recent years. The experimental models of male infertility mainly include oligoasthenozoospermia (OA), teratozoospermia, azoospermia, and varicocele animal models. The OA animal models are mostly induced by glycosides of *Tripterygium wilfordii* (GTW), adenine, hydrocortisone, and radiation, which are mainly chemical means. The animal models of azoospermia were usually constructed by intraperitoneal injection of bisulfonfyl alkylating agent busulfan and immersion of scrotum in 43℃ water. There are few studies on animal models of teratozoospermia, and the induction methods by GTW and methyl methanesulfonate (MMS) are

[收稿日期] 2022-04-27

[基金项目] 中国博士后创新人才支持计划(BX20220047);国家自然科学基金项目(81774320);中国博士后科学基金面上项目(2022M720528);北京市科学技术协会青年人才托举工程(BYESS2022182);中华中医药学会青年人才托举工程项目(CACM-2021-QNRC2-B04)

[第一作者] 王继升, 博士后, 从事中西医结合治疗男科疾病研究, E-mail: houdejisheng@sina.com

[通信作者] * 李曰庆, 主任医师, 教授, 博士生导师, 从事中医药标准化与产业发展研究, E-mail: qingnwyh2018@163.com

* 张霄潇, 博士, 从事中医药标准化与产业发展研究, Tel: 010-64205923, E-mail: qingnwyh2018@163.com

common. The animal models of varicocele-caused infertility are usually induced by operation. The ligation of the middle division of the left renal vein between the lateral inferior vena cava and the medial spermatic vein has a significant influence on testicular morphology and epididymal sperm quality. Animal experimental studies have shown that classic prescriptions for tonifying the kidney and promoting spermatogenesis represented by Wuzi Yanzongwan and clinical empirical prescriptions by modern research have played a significant role in the treatment of male infertility. The mechanism of tonifying the kidney in the treatment of male infertility mainly focuses on inhibiting spermatogenic cell apoptosis. The kidney-tonifying method can regulate the apoptosis of spermatogenic cells, which provides a new treatment idea and a reliable scientific basis for traditional Chinese medicine in the field of male reproduction.

[Keywords] male infertility; animal experiment; kidney-tonifying and spermatogenic method; Wuzi Yanzongwan

世界卫生组织规定,夫妇同居1年以上,未采取避孕措施且性生活正常,因男性因素造成正常女方不能自然受孕的称为男性不育症^[1]。在不孕不育的夫妇中,男方因素约占50%^[2]。据报道全世界约有15%的夫妇受到影响,某些地区的患病率更高^[3]。男性不育症的很多病因仍不清楚,多数病例为特发性男性不育症,可以明确的病因包括药物治疗、化疗、放疗、感染、手术中的医源性损伤、隐睾、性功能障碍和遗传性疾病,如先天性双侧输精管缺失、Y染色体微缺失,以及核型异常^[4-5]。

男性不育症中最常见的为少弱精子症,而最严重的是无精子症,即射精中没有精子,可分为阻塞性无精子症(OA)和非阻塞性无精子症(NOA)^[6]。NOA发生在精子生成障碍时,而OA则是由于睾丸和生殖器导管闭塞引起的^[7]。畸形精子症包括广泛的异常精子表型,单独或同时影响头部、颈部、上腹部和尾部^[8-9]。此外,精索静脉曲张也是导致男性不育的常见因素之一^[10]。

《黄帝内经·上古天真论》有云:“丈夫八岁,肾气实,发长齿更。二八,肾气盛,天癸至,精气溢泻,阴阳和,故能有子……七八肝气衰,筋不能动,天癸竭,精少,肾脏衰,形体皆极;八八,则齿发去形体皆极”。文中所说的精气溢泻、精少、肾脏衰等都与男性得生殖功能息息相关,可见男性的生育能力与肾中所藏之精气密不可分^[11]。

通过回顾研究发现,补肾法在男性不育症的治疗方面,经验丰富,并取得了良好的疗效,但其作用机制尚不完全清楚,需要后人不断探索。近年来,中医药通过建立多个不育症动物模型,并在此基础上开展了大量的动物实验,进行中药疗效机制的研究,并取得了可喜的成果。本文将回顾关于男性不育症的相关动物实验,并对未来相关研究提出思考

与展望。

1 男性不育症动物模型的构建

根据目前文献报道的有关男性不育症实验模型主要包括少弱精子症、畸形精子症、无精子症及精索静脉曲张动物模型等。在实验研究中,因鼠类生长发育较快,繁殖能力强,故多选用鼠类为研究对。小鼠对疾病抵抗力差,对环境变化敏感。大鼠的抗病能力及对环境的适应性强,最常用的是SD大鼠和Wistar大鼠。灵长类动物更接近人体的情况,但因其价格昂贵,故较少选用。现有男性不育症动物模型对比分析见表1。

1.1 少弱精子症动物模型构建 少弱精子症动物模型的构建最常见的包括以下4种类型:雷公藤多苷(GTW)模型、腺嘌呤模型、氢化可的松模型、辐射模型^[12]。GTW是一种常用的治疗风湿病的中药提取物,但其不良反应是生殖毒性,会对生殖功能造成损害。正是这一药物特性来构建少弱精子症的动物模型。据文献报道,灌胃GTW 8周后,可引起大鼠精子密度和活力显著降低。王世平等^[13]在造弱精症大鼠模型使用GTW剂量为 $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 。JIAO等^[14]按照 $40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 的剂量给成年雌性SD大鼠灌胃GTW 28 d后,发现大鼠的睾丸重量和睾丸脏器指数下降,精子浓度和活力显著降低,生精细胞和间质细胞明显减少,支持细胞的胞浆空泡化,睾丸组织氧化应激活性氧(ROS)和丙二醛(MDA)升高。使用40 mg剂量的文献居多^[15-18]。虽然不同文献报道的剂量不完全一致,但最终都会导致精子数量及活力下降。

腺嘌呤导致生精功能下降是通过促使睾丸组织萎缩实现的。灌胃给予大鼠腺嘌呤的剂量一般为 $50 \sim 200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,周期为10~30 d。造模成功后,会导致精子总数和活力下降,并且会抑制相关激素

表1 男性不育症动物模型对比分析

Table 1 Comparative analysis of male infertility animal models

模型类型	造模方法	造模对象	优点	缺点
少弱精子症动物模型	GTW	大鼠	可致精子数量及活力下降	无
	腺嘌呤模型	大鼠	通过促使睾丸组织萎缩使生精功能下降	会引起严重的肾功能衰竭,剂量不稳定
	氢化可的松	大鼠	可制备肾阳虚模型	不同的剂量和时间会导致模型的类型不同,难以掌握
	电离辐射	大鼠	会诱发氧化应激,使睾丸组织损伤	会对多个系统造成损害
无精子症动物模型	双磺酸基烷化剂白消安	小鼠、猕猴	诱导DNA损伤和对细胞生长的抑制作用,还可以阻止精原干细胞的分裂和分化,并导致睾丸细胞凋亡	无
	43℃水	小鼠	操作简单、成模时间短	无
畸形精子症动物模型	GTW	大鼠	可使精子质量显著下降、畸形率升高	特异性不高
	MMS	大鼠	利用生殖毒性,针对性更强	无
精索静脉曲张不育症动物模型	左肾静脉部分阻断法	大鼠、小鼠	直接干预肾静脉,针对性强	易感染,死亡率高

的合成,其机制可能与肝肾损害有关^[19]。然而其明显的不良反应,可能会引起严重的肾功能衰竭。因此,不能排除肾衰直接对生精功能的影响。此外,该药物不易溶于水,一般制成混悬液灌胃,更容易引起使用剂量的不稳定。

氢化可的松是一种肾上腺皮质激素。每天给药的剂量为25~50 mg·kg⁻¹,连续10~12 d后,即可形成肾阳虚模型^[20]。GUO等^[21]对小鼠腹腔注射氢化可的松25 mg·kg⁻¹·d⁻¹连续8 d后,发现小鼠的睾丸、附睾指数、精子密度和活力均有显著降低。这种方法虽然可以造成少弱精子症模型,但不同的剂量和时间会导致模型的类型不同,难以掌握。此外,这种模型为肾阳虚少弱精子症模型,局限性在于其他证型的少弱精子模型不适用。

电离辐射和非电离辐射是辐射的两种类型。医疗检查中的X射线、放射治疗等是最常见电离辐射^[22];非电离辐射存在于Wi-Fi、手机、笔记本电脑及微波炉所产生的辐射等。持续的电离辐射会诱发氧化应激,使睾丸组织损伤,精子质量下降^[23-24],更甚者睾丸放疗会引发无精子症^[25]。SAID等^[26]将雄性SD大鼠暴露于10 Gy的全身γ辐射4 d后解剖发现,精子的数量和活力显著降低,生精小管生发上皮发生萎缩、空泡化等形态学改变。虽然这种建模方法可能会对多个系统造成损害,不能排除其他系统对生精功能的间接影响,但是其建模时间短,易操作。

在少弱精子症动物模型方面的文献和方法较多,以化学手段为主,但随着技术的更新和探索的深入,环境化合物和基因造模为很大可能性替代化

学手段^[27-30]。

1.2 无精子症动物模型构建 双磺酸基烷化剂白消安(1,4-丁二醇二甲磺酸酯)可用于造血干细胞移植患者移植前调理,也是慢性粒细胞白血病慢性期治疗药物,但服用白消安会损伤患者睾丸,甚至导致不育^[31],因此,有学者利用白消安的不良反应来构建无精子症动物模型。

ZICKRI等^[32]分两次给成年雄性大鼠腹腔注射白消安15 mg·kg⁻¹/次(间隔2周)后睾丸切片发现多个萎缩的生精小管,基底膜局灶性增厚,睾丸质量、精子浓度和精子活力均显著降低。此外,有学者研究采用给猕猴静脉注射白消安(6 mg·kg⁻¹)的方法,从4周起猕猴的精子数量逐渐减少为零,成功构建非人灵长类非梗阻性无精子症动物模型^[33]。此外,有学者提出将小鼠阴囊浸泡在43℃水中的方法构建无精子症模型的方法,其机制是利用高温破坏生殖细胞,进而阻滞生殖细胞周期、促进凋亡来抑制生精过程^[34]。

无精子症动物模型应该是完全杀死所有生精细胞,尤其是具有分裂能力的精原细胞。白消安注射和热疗是文献中最常见和最简单的方法。白消安可以诱导DNA损伤和对细胞生长的抑制作用,还可以阻止精原干细胞的分裂和分化,并导致睾丸细胞凋亡。因此,白消安会对具有高增殖和分化活性的器官(例如睾丸)造成有害的不良反应。另外,由于,睾丸温度的升高会影响到细胞凋亡和DNA损伤,进而影响生精上皮和精子的产生。

1.3 畸形精子症动物模型构建 关于畸形精子症动物模型的研究相对较少,用GTW较为常见。有

学者研究表明用GTW 25 mg·kg⁻¹·d⁻¹灌胃30 d,精子质量显著下降、畸形率升高^[35]。此外,也有报道用GTW 30 mg·kg⁻¹·d⁻¹灌胃3周,可见畸形精子增多,主要表现为头尾分离,6周后畸形率逐步升高^[36]。但GTW对精液的精子数量、活力影响的文献较多,仅有少数文献报告有对精子形态的影响。

甲基磺酸甲酯(MMS)是一种烷化剂,因其遗传毒性可致大鼠、小鼠等动物生殖细胞的DNA损伤,导致精原细胞分化异常,进而使精子形态发生异常。章茂森等^[37]采用给大鼠灌胃MMS 40 mg·kg⁻¹·d⁻¹的方法,连续7 d后,精子浓度和活力显著下降,畸形精子百分率显著升高,成功建立大鼠畸形精子症模型。引起精子畸形的机制很复杂,仍未完全阐明,但是由环境恶化导致的精子畸形症发病率逐年提高。基因突变或基因的表达受外界干扰可引起精子畸形。因此,有待进一步研究更具特异性的造模方法。

1.4 精索静脉曲张不育症动物模型构建 左肾静脉部分阻断法构建精索静脉曲张模型是最常用的方法^[38-39]。廖波等^[40]通过结扎下腔静脉外侧和精索静脉内侧间的左肾静脉中分,左肾静脉结扎对照组结扎精索静脉外侧和左肾门间的左肾静脉中分,实验结果表明结扎下腔静脉外侧和精索静脉内侧间的左肾静脉中分对睾丸形态学及附睾精子质量有明显影响。精索静脉曲张不育症动物模型多采用手术的方式进行,但其具有易感染,死亡率高等特点。此外,也有选择左腰睾丸干静脉造模的方法,由于该静脉较细,难度较大,故较少选用。

制备精索静脉曲张动物模型的原理是通过手术方法使精索静脉内血液增多,造成精索静脉回流不畅,导致局部静脉扩张、迂曲和伸长,从而引起睾丸、附睾等一系列病理变化。制备模型过程中需注意动物与人类精索静脉解剖结构的吻合度。男性不育症动物模型对比分析见表1。

2 补肾法治疗不育症相关体内实验研究

2.1 补肾经典名方的相关研究 五子衍宗丸具有补肾生精之功,最早见于《摄生众妙方》。近年来,关于五子衍宗丸治疗男性不育症的研究颇多。五子衍宗丸能通过降低环磷酰胺来引起生殖细胞凋亡。其作用机制与B细胞淋巴瘤-2(Bcl-2)的过表达和降低Bcl-2相关X蛋白(BAX)与胱天蛋白酶-3(Caspase-3)的表达有关^[41]。五子衍宗丸能够使小鼠的血清8-羟基脱氧鸟苷酸(8-OHdG)水平下降,降低睾丸组织中磷酸化(p)-p53和γ-H2AX蛋白的

表达,提升精子的数量和活率^[42]。五子衍宗丸可以调节支持细胞的自噬水平,进而提高精液质量^[43]。五子衍宗丸改善大鼠的精液质量可以通过调节支持细胞骨架蛋白来实现^[44]。邹贇等^[45]研究发现其可能通过提升性激素水平,来改善因AT1基因敲除所致的雄性不育小鼠的生精功能。五子衍宗丸治疗少弱精子症的机制是通过电压依赖性阴离子通道蛋白1(VDAC1)蛋白作用于靶点线粒体上的^[46]。在临床常规治疗精索静脉曲张性不育肾虚血瘀证的基础上,给予五子衍宗丸加味治疗3个月后,发现精液质量显著改善,曲张静脉管径改善,使配偶妊娠率升高^[47]。

左归丸是众所周知的补肾经典方剂之一,出自《景岳全书》。左归丸能通过调节干细胞因子(SCF)/c-kit通路相关蛋白的表达改善GTW所致的少弱精子症大鼠的精液质量及睾丸的组织结构和超微结构^[48]。

右归丸,与左归丸都属经典的补肾方剂,能够温肾壮阳、补精益髓,出自《景岳全书》。王旭昉等^[49-50]在研究中用右归丸治疗肾阳虚证的少弱精子症大鼠模型,发现右归丸不仅能提高其激素水平,还能调节睾丸组织结构。郭伟等^[51]在临床研究发现,右归丸加味联合益气活血法治疗左侧精索静脉曲张可显著改善精液质量与精子形态,配偶妊娠率大幅增加。

2.2 补肾临床验方的相关研究 广嗣育麟汤能有效改善大鼠的生精功能,同时睾丸超微结构中受损的线粒体、高尔基体等细胞器都得到不同程度的修复,其机制与调节睾丸组织中Bax、Bcl-2、c-kit的蛋白及mRNA的表达有关^[52]。

强精煎可通过修复奥硝唑(ORN)引起的组织损伤,来治疗奥硝唑引起的少弱精子症^[53]。强精煎可以通过提升Na⁺-K⁺-ATP酶和Ca²⁺-ATP酶的活性来修复生精细胞上皮的损伤,从而提高精子活力和浓度^[54]。此外,强精煎和黄精赞育胶囊能够促进精原细胞GC1-spg发育成为成熟精子,其机制是调节c-kit和囊性纤维化跨膜转导调节因子(CFTR)蛋白促进GC1-spg的分化^[55]。

益肾健脾汤治疗少弱精子症的机制是通过影响线粒体通透性转换孔(MMP),进而改善能量代谢,以促进精子的生长和成熟^[56]。古宇能等^[57]研究证实,Caspase-3和Bcl-2/Bax蛋白的表达是生髓育麟汤对少弱精子症的调节作用机制之一。用参杞强精胶囊干预不育大鼠模型,发现可以显著改善

精液质量,其机制与能量代谢相关因素 Fas、FasL 蛋白有关^[58]。巴戟口服液可改善睾丸组织结构和生精功能,其机制与调节碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)蛋白的表达有关^[59]。

另外,还有很多动物实验来探索单一药物或药对的药效和机制。WANG 等^[60]和管斯琪等^[61]对药对“菟丝子-枸杞子”治疗少弱精子症进行了一系列研究,通过体内和体外实验证实该药对是通过调控增殖和凋亡发挥作用的。

对于无精子症,研究表明养精胶囊对年龄较轻、睾丸体积较大及血清卵泡刺激素(FSH)不是很高的因 DAZ 基因缺失导致的无精子症患者,其机制可能是通过调节下丘脑-垂体-性腺轴功能,从而促进精子的生成。养精胶囊还能促进附睾、精囊及前列腺的分泌功能^[62]。此外也有研究表明,聚精丸枸橼颗粒治疗男性继发性梗阻性无精子症,治疗3个月后总有效率达41.94%^[63]。

对于畸形精子症,研究发现补肾活血方可以提高男性不育畸形精子症患者精子的正常形态精子百分率,降低精子头部、尾部缺陷百分率,使精子DNA碎片指数(DFI)下降,显著提高患者配偶的妊娠率。其潜在机制可能与Janus 酪氨酸蛋白激酶2(JAK2)/信号转导及转录激活因子3(STAT3)信号通路表达增强有关^[64]。也有研究表明,聚精颗粒能够改善畸形精子症患者的精子密度、A级精子活力,提高正常精子形态率和精子头部畸形率,其机制是通过提高SPEM1基因表达水平实现的^[65]。此外,补肾活血方也可改善精索静脉曲张模型大鼠生精功能损伤,其机制可能与抑制生精细胞凋亡及减少一氧化氮对睾丸组织的损伤有关^[66]。

3 结语

补肾法虽然在治疗男性不育症方面疗效显著,但其作用机制尚不完全清楚,亟待更进一步深入研究。在动物实验建模方面,化学方法是主体,但随着技术的进步和探索的深入,环境化合物和遗传建模很有可能取代化学方法^[67]。

此外,目前常用的建模方法不能很好地反映中医证候,只能建立疾病模型,忽略了“辨证论治”的精髓,与临床患者的实际情况存在差异^[68]。建议以整体动物实验为基础,根据药物的功用主治,结合临床证候与疾病的特点,根据不同证候模型,选择具有代表性的评价指标来揭示药物的作用机制。同时,尽管造模方法很多,但没有动物模型的中医症状评分和分级标准,干扰了结果的一致性。为了

规范造模方法,需要在中医学科内形成标准和共识。

中医药治疗男性不育症优势突出。如目前西医无循证医学证据支持的口服药物治疗的特发性少、弱、畸精子症,精液不液化;手术指征不明显的精索静脉曲张性不育症;在辅助生殖技术治疗的不育症患者等等。在整体观念的指导下,进行辨证治疗,不仅可以改善精液质量,还可以缓解患者的伴随症状、减少西药用量和可能发生的不良反应,起到提高疗效、身心同治的作用,大幅提升妊娠率^[30]。因此,在临床治疗男性不育症中应充分发挥中医药的优势。

近年来,许多研究人员将补肾法治疗男性不育症的重点放在抑制生精细胞凋亡方向,如调节细胞凋亡及通路、清除氧自由基、促进精子能量代谢、调节血清性激素水平等。中医药干预生精细胞凋亡治疗男性不育症,为中医药在男性生殖领域开辟了新的治疗思路、提供了可靠的科学依据。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] VANDERHOUT S M, RASTEGAR PANAH M, GARCIA-BAILO B, et al. Nutrition, genetic variation and male fertility[J]. *Transl Androl Urol*, 2021, 10(3): 1410-1431.
- [2] 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.
- [3] CARDONA BARBERÁN A, BOEL A, VANDEN MEERSCHAUT F, et al. Diagnosis and treatment of male infertility-related fertilization failure [J]. *J Clin Med*, 2020, 9(12): 3899.
- [4] MURSHIDI M M, CHOY J T, EISENBERG M L. Male Infertility and somatic health[J]. *Urol Clin North Am*, 2020, 47(2): 211-217.
- [5] MILLER D, VUKINA J. Recent advances in clinical diagnosis and treatment of male factor infertility [J]. *Postgrad Med*, 2020, 132(sup 4): 28-34.
- [6] PUNJANI N, KANG C, LAMB D J, et al. Current updates and future perspectives in the evaluation of azoospermia: A systematic review [J]. *Arab J Urol*, 2021, 19(3): 206-214.
- [7] THARAKAN T, LUO R, JAYASENA C N, et al. Non-obstructive azoospermia: Current and future perspectives[J]. *Fac Rev*, 2021, 10: 7.
- [8] HAN B, WANG L, YU S, et al. One potential

- biomarker for teratozoospermia identified by in-depth integrative analysis of multiple microarray data [J]. *Aging (Albany NY)*, 2021, 13(7):10208-10224.
- [9] COUTTON C, ESCOFFIER J, MARTINEZ G, et al. Teratozoospermia: Spotlight on the main genetic actors in the human [J]. *Hum Reprod Update*, 2015, 21(4): 455-485.
- [10] JENSEN C F S, ØSTERGREN P, DUPREE J M, et al. Varicocele and male infertility [J]. *Nat Rev Urol*, 2017, 14(9):523-533.
- [11] 黄佳妮. 基于“肾主生殖”理论的补肾生精中药治疗男性不育作用机制研究[D]. 南京:南京中医药大学, 2020.
- [12] 陈小均, 王思师, 贾玉森, 等. 男性不育症实验动物模型在中医药领域的应用概况[J]. *北京中医药*, 2018, 37(3):282-287. ,
- [13] 王世平, 李倩云, 崔言秀, 等. 补肾益精汤对弱精症大鼠精子线粒体功能的影响及其相关机制研究[J]. *中国中西医结合外科杂志*, 2020, 26(6): 1042-1046.
- [14] JIAO W, SUN J, ZHANG X, et al. Improvement of Qilin pills on male reproductive function in tripterygium glycoside-induced oligoasthenospermia in rats [J]. *Andrologia*, 2021, 53(4): e13923.
- [15] 王彬, 马健雄, 马凰富, 等. 左归丸对少弱精子症大鼠模型生殖内分泌激素的作用研究[J]. *中国性科学*, 2017, 26(11): 78-81.
- [16] 张开舒, 周芳, 安琪, 等. 麒麟丸对少弱精子症模型雄性大鼠生殖功能的保护作用研究[J]. *中华男科学杂志*, 2017, 23(9): 821-827.
- [17] 王彬, 李霄, 马凰富, 等. 左归丸对少弱精子症模型大鼠睾丸组织干细胞因子及其mRNA表达的影响研究[J]. *中国全科医学*, 2018, 21(3): 334-337.
- [18] 王继升, 李海松, 鲍丙豪, 等. 左归丸对生精障碍大鼠模型生殖激素水平及精子质量的影响[J]. *湖北中医药大学学报*, 2020, 22(4): 14-18.
- [19] 王家辉, 陈东, 王力, 等. 益精方治疗腺嘌呤法大鼠不育症动物模型的药效学研究[J]. *中华男科学杂志*, 2013, 19(9): 820-825.
- [20] 尹西拳. 地黄丸类方对肾阳虚大鼠HPAT轴的影响及配伍理论研究[D]. 广州:广州中医药大学, 2014.
- [21] GUO Y, WANG L, LI Q, et al. Enhancement of kidney invigorating function in mouse model by cistanches herba dried rapidly at a medium high temperature [J]. *J Med Food*, 2019, 22(12): 1246-1253.
- [22] 周晓松. 认识身边的电离辐射——基于理论和实践的研究性学习案例[J]. *物理教师*, 2017, 38(1): 67-70, 80.
- [23] LUO Y, WANG X, CHEN Y, et al. Effects of electromagnetic radiation on morphology and TGF- β_3 expression in mouse testicular tissue [J]. *Toxicology*, 2013, 310: 8-14.
- [24] SHAHIN S, MISHRA V, SINGH S P, et al. 45-GHz microwave irradiation adversely affects reproductive function in male mouse, *mus musculus* by inducing oxidative and nitrosative stress [J]. *Free Radic Res*, 2014, 48(5): 511-525.
- [25] VAKALOPOULOS I, DIMOU P, ANAGNOSTOU I, et al. Impact of cancer and cancer treatment on male fertility [J]. *Hormones (Athens)*, 2015, 14(4): 579-589.
- [26] SAID R S, MOHAMED H A, KASSEM D H. Alpha-lipoic acid effectively attenuates ionizing radiation-mediated testicular dysfunction in rats: Crosstalk of NF- κ B, TGF- β , and PPAR- γ pathways [J]. *Toxicology*, 2020, 442: 152536.
- [27] 赵玉, 欧阳斌, 耿强. 男性不育症动物模型的研究进展[J]. *中国计划生育学杂志*, 2014, 22(11): 781-785.
- [28] 陈鹏典, 黎杰运, 杨卓欣, 等. 中医药对生精细胞凋亡干预机制研究进展[J]. *辽宁中医药大学学报*, 2017, 19(3): 110-113.
- [29] 郭军华, 何清湖. 滋阴补肾法防治男性不育症的实验研究进展[J]. *湖南中医药大学学报*, 2014, 34(6): 57-60.
- [30] 李曰庆, 李海松, 孙永章, 等. 中医药治疗男科领域临床优势病种的探讨[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2021, 27(12): 182-188.
- [31] 李茹意, 赵俊金, 赵羚均, 等. 白消安对小鼠睾丸损伤机理的研究[J]. *畜牧兽医学报*, 2021, 52(7): 1903-1911.
- [32] ZICKRI M B, MOUSTAFA M H, FASSEH A E, et al. Antioxidant and antiapoptotic paracrine effects of mesenchymal stem cells on spermatogenic arrest in oligospermia rat model [J]. *Ann Anat*, 2021, 237: 151750.
- [33] 赵前. HUMSCs及其外泌体恢复非人灵长类NOA模型动物的生精功能[D]. 武汉:华中科技大学, 2019.
- [34] KHOSRAVI A, HASANI A, BEHNAM P, et al. An effective method for establishing animal models of azoospermia and oligospermia [J]. *Andrologia*, 2021, 53(7): e14095.
- [35] 张建国, 冷会勇, 石炳娟, 等. 十八味中药组方对恢复生殖系统损害雄性大鼠模型的作用研究[J]. *中国男科学杂志*, 2007, 21(11): 6-10.
- [36] ZHANG X X, HUANG D, LIU N N, et al. GTW-induced abnormal expressions of testicular reproduction-related genes and intervention with kidney-tonifying Chinese herbs [J]. *Nat J Androl*, 2012, 18(5): 466-471.
- [37] 章茂森, 滕凤猛, 安晓飞, 等. 聚精枸橼颗粒对畸形精子症模型大鼠生殖功能干预的实验研究[J]. *中华男科学杂志*, 2020, 26(11): 1015-1019.
- [38] DOLATKHAH M A, SHOKOOHI M,

- CHARVANDEH S, et al. Fumaria parviflora regulates oxidative stress and apoptosis gene expression in the rat model of varicocele induction [J]. *Andrologia*, 2020, 52(11):e13826.
- [39] SIREGAR S, NOEGROHO B S, ADRIANSJAH R, et al. The effect of intratesticular injection of human adipose-derived mesenchymal cell on testicular oxidative stress and spermatogenesis process in the varicocele rat model [J]. *Res Rep Urol*, 2021, 13: 759-765.
- [40] 廖波, 邓显忠, 李雨根, 等. 实验性精索静脉曲张大鼠睾丸、肾脏的组织形态改变及附睾内精子质量影响[J]. *四川医学*, 2018, 39(9): 1019-1023.
- [41] 黄威峰, 张长城, 刘静, 等. 五子衍宗方对环磷酰胺致成年雄性小鼠睾丸生殖细胞凋亡的保护作用[J]. *中草药*, 2016, 39(5): 1143-1147.
- [42] 赵海霞, 黄威峰, 宋来新, 等. 五子衍宗方对环磷酰胺致小鼠睾丸细胞DNA损伤的影响[J]. *中成药*, 2017, 39(3): 466-470.
- [43] 高云霄, 刘保兴, 秦茂, 等. 五子衍宗丸通过增强支持细胞自噬改善生精功能[J]. *中华中医药杂志*, 2019, 34(3): 961-964.
- [44] 秦茂, 柯明辉, 刘保兴, 等. 五子衍宗丸对肾精亏虚证大鼠睾丸支持细胞骨架蛋白表达及生精功能的影响[J]. *北京中医药大学学报*, 2019, 42(6): 490-495.
- [45] 邹贇, 赵方方, 李慧, 等. 五子衍宗丸对AT1KO雄性小鼠生殖功能的干预作用[J]. *上海中医药杂志*, 2020, 54(6): 97-100.
- [46] 刘红娟, 吴德玲, 童小慧, 等. 五子衍宗丸干预线粒体通透性转换孔抑制精子凋亡的机制[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2020, 26(21): 34-39.
- [47] 俞保柱, 曹莉, 王健, 等. 五子衍宗丸加味治疗精索静脉曲张性不育肾虚血瘀证的临床研究[J]. *中国性科学*, 2019, 28(6): 23-26.
- [48] 马凰富. 左归丸治疗少弱精子型男性不育症的临床和实验研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2016.
- [49] 王旭昀, 李曰庆, 张宏, 等. 右归胶囊对腺嘌呤致肾阳虚不育模型大鼠精液质量的影响[J]. *北京中医药大学学报*, 2014, 37(8): 529-532.
- [50] 王旭昀, 李海松, 张宏, 等. 右归胶囊对肾阳虚不育模型大鼠生殖功能影响的实验研究[J]. *环球中医药*, 2014, 7(9): 669-672.
- [51] 郭伟, 牛天力. 右归丸加味联合益气活血法治疗左侧精索静脉曲张疗效及对精液质量的影响[J]. *现代中西医结合杂志*, 2018, 27(30): 3370-3373.
- [52] 管斯琪, 祝雨田, 王彬, 等. 广嗣育麟汤对雷公藤多苷诱导的生精障碍大鼠模型生精功能改善的研究[J]. *中国性科学*, 2019, 28(5): 126-131.
- [53] 唐乾利, 何清湖, 代波, 等. 强精煎对少弱精子症抗氧化作用及其调控能量代谢的实验研究[J]. *中华男科学杂志*, 2016, 22(2): 153-159.
- [54] 宾彬, 陆海旺, 谭育能, 等. 强精煎对生精障碍大鼠睾丸、精子Na⁺-K⁺-ATPase/Ca²⁺-ATPase的影响[J]. *辽宁中医杂志*, 2018, 45(5): 1092-1094, 1122.
- [55] 王德胜, 宾彬, 陆海旺, 等. 强精煎对实验性大鼠睾丸c-kit蛋白和CFTR蛋白表达的影响[J]. *时珍国医国药*, 2019, 30(3): 524-526.
- [56] 盛文, 何清湖, 商建伟. 基于线粒体通透性转换孔探讨益肾健脾方对少弱精子症小鼠的作用机制[J]. *时珍国医国药*, 2019, 30(5): 1076-1078.
- [57] 古宇能, 陈慰填, 周文彬, 等. 生髓育麟汤对Caspase-3以及Bcl-2/Bax在实验性少、弱精子大鼠生精细胞中表达的干预[J]. *世界中西医结合杂志*, 2017, 12(1): 48-52.
- [58] 刘倩, 梁晓乐, 田元春, 等. 参杞强精胶囊对弱精症大鼠能量代谢及Fas、FasL蛋白表达的影响[J]. *中医药导报*, 2018, 24(2): 16-19.
- [59] 曾贵荣, 吴莉峰, 谯志文, 等. 巴戟口服液对环磷酰胺致少、弱精症模型小鼠的生精作用和精子活力的影响及机制研究[J]. *中国药房*, 2018, 29(19): 2631-2635.
- [60] WANG J, BAO B, MENG F, et al. To study the mechanism of *Cuscuta chinensis* Lam. and *Lycium barbarum* L. in the treatment of asthenospermia based on network pharmacology [J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 270: 113790.
- [61] 管斯琪, 祝雨田, 董雷, 等. “菟丝子-枸杞子”药对修复生精功能障碍大鼠血睾屏障的机制研究[J]. *中国性科学*, 2020, 29(2): 100-107.
- [62] 张华俊. 养精胶囊治疗DAZ基因缺失所致无精子症的临床价值[D]. 南京: 南京中医药大学, 2010.
- [63] 景涛, 唐志安, 刘叶兰, 等. 聚精丸枸橼颗粒干预继发性梗阻性无精子症[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2013, 19(5): 303-308.
- [64] 张淑婷. 补肾活血方对男性不育畸形精子症精子JAK2/STAT3信号通路的影响及机制研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2018.
- [65] 柴琦琦. 聚精颗粒治疗畸形精子症的临床和实验研究[D]. 南京: 南京中医药大学, 2018.
- [66] 刘建国, 赵红乐, 李姣姣, 等. 补肾活血方对精索静脉曲张模型大鼠生精功能的影响[J]. *中国中医药信息杂志*, 2020, 27(10): 54-58.
- [67] 刘雷. 无精症动物模型的研究进展[J]. *临床医学工程*, 2018, 25(10): 1422-1424.
- [68] 陈鹏典, 黎杰运, 杨卓欣, 等. 中医药对生精细胞凋亡干预机制研究进展[J]. *辽宁中医药大学学报*, 2017, 19(3): 110-113.

[责任编辑 王鑫]