

山药-黄精药对通过调控 HSP90/p38/NF- κ B 改善大鼠少弱精子症

王成立¹, 王子晗², 刘 嘉^{2*}

1. 淮北市中医医院 男科, 安徽 淮北 235047

2. 江苏卫生健康职业学院 江苏省中医经典名方评价与转化工程研究中心, 江苏 南京 211800

摘要: **目的** 探究山药 *Dioscoreae Rhizoma* (DR)-黄精 *Polygonati Rhizoma* (PR) 药对 (DR-PR) 改善大鼠少弱精子症 (OAS) 的药效与作用机制。**方法** SD 大鼠适应性喂养 1 周后, 随机分为 6 组: 对照组、模型组、DR-PR (1:1) 组 (2.5 g·kg⁻¹ DR+2.5 g·kg⁻¹ PR)、DR-PR (2:1) 组 (5.0 g·kg⁻¹ DR+2.5 g·kg⁻¹ PR)、DR-PR (1:2) 组 (2.5 g·kg⁻¹ DR+5.0 g·kg⁻¹ PR)、左卡尼汀 (LOS, 100 mg·kg⁻¹) 组, 除对照组外, 其余 5 组 ig 给予雷公藤多苷 35 mg·kg⁻¹ 7 d 诱导 OAS 模型, 从造模开始即给药, 于每天 9:00 时禁食, 15:00 时 ig 给药干预, 共干预 21 d。精液常规检测大鼠精子数量和活力; ELISA 测定大鼠血清中性激素含量; 苏木精-伊红 (HE) 染色检测 DR-PR 对 OAS 大鼠睾丸病理的影响。网络药理学分析 DR-PR 治疗 OAS 的主要活性成分及作用机制: 分别以山药和黄精为关键词, 在中药系统药理学数据库和分析平台 (TCMSP) 中检索主要活性成分, 于 GeneCards 数据库、DrugBank 数据库和 OMIM 数据库中进行 OAS 靶点搜集; 使用 VLOOCUP 函数将 OAS 靶点和 DR-PR 靶点进行交集处理, 得到 DR-PR 治疗 OAS 的潜在靶点。将潜在靶点导入 STRING 数据库进行蛋白质-蛋白质相互作用 (PPI) 分析; 将 DR-PR 治疗 OAS 的潜在靶点信息导入 Metascape 数据库进行基因本体 (GO) 富集和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 富集分析。TUNEL 染色测定各组大鼠睾丸细胞凋亡状况; Western blotting 检测各组大鼠睾丸组织热休克蛋白 90 α 型 1 (HSP90AA1)、半胱氨酸蛋白酶 (Caspase)-3、Caspase-9、核因子 (NF)- κ B、磷酸化 NF- κ B (p-NF- κ B)、p38 和磷酸化 p38 (p-p38) 表达。分子对接模拟探索 DR-PR 关键活性成分和关键靶点的结合能力和作用方式。**结果** 与模型组相比, DR-PR 组大鼠精子浓度、活力、存活率、直线运动速率、曲线运动速率、平均路径速度、运动平直度和运动线性显著恢复 ($P<0.05$ 、 0.01), 血清性激素睾酮和雌二醇含量显著升高 ($P<0.01$), 睾丸生精细胞和间质细胞损伤得到缓解 ($P<0.01$), DR-PR (1:2) 组效果最好。网络药理学结果表明, 检索出山药活性成分 16 种、黄精活性成分 12 种; DR-PR 治疗 OAS 的关键靶点为 MAPK14、NFKB1、TNF、IL6、HSP90AA1、CASP3 和 CASP9, 关键作用途径为 IL-17 信号通路, 关键生物学功能为对脂多糖的反应, 关键细胞组分是膜筏和囊泡管腔, 关键分子功能为蛋白丝氨酸/苏氨酸激酶活性。与模型组相比, DR-PR 组大鼠的睾丸组织细胞凋亡显著降低 ($P<0.01$), 睾丸组织 HSP90AA1、Caspase-3 和 Caspase-9 ($P<0.01$) 表达下调, NF- κ B 和 p38 磷酸化水平降低 ($P<0.01$), DR-PR (1:2) 组效果最好。分子对接结果表明, DR-PR 关键活性成分和关键靶点 HSP90AA1、Caspase-3、Caspase-9、NF- κ B 和 p38 均可形成自发结合。**结论** DR-PR 可通过调控 HSP90/p38/NF- κ B 通路减少睾丸组织细胞凋亡治疗 OAS。

关键词: 山药; 黄精; 药对; 少弱精子症; 细胞凋亡; 网络药理学; 分子对接; HSP90/p38/NF- κ B

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2025)11-3073-15

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2025.11.003

Dioscoreae Rhizoma-Polygonati Rhizoma herb pair ameliorates oligoasthenozoospermia by modulating HSP90/p38/NF- κ B signaling pathway in rats

WANG Chengli¹, WANG Zihan², LIU Jia²

1. Department of Andrology, Huaibei Hospital of Traditional Chinese Medicine, Huaibei 235047, China

2. Jiangsu Provincial Research Center for Evaluation and Transformation of Traditional Chinese Medicine Classic Formulas, Jiangsu Health Vocational College, Nanjing 211800, China

收稿日期: 2025-07-17

基金项目: 安徽中医药大学科研基金项目 (2024LC052); 江苏卫生健康职业学院“医教协同、中西并举”项目 (YIXT-HB202409YJXT-HB202401);

安徽省中医药传承创新科研项目 (2024CCCCX152); 安徽省高等学校科学研究项目 (2024AH050990)

作者简介: 王成立, 副主任中医师, 主要从事中医药治疗不育症的临床、基础研究。E-mail: jsckzx@sina.com

*通信作者: 刘 嘉, 男, 教授, 主要从事中药复方的物质基础和作用机制研究。E-mail: liujia402@163.com

Abstract: Objective To investigate the therapeutic efficacy and mechanism of the *Dioscoreae Rhizoma* (DR) and *Polygonati Rhizoma* (PR) herb pair (DR-PR) in treating oligoasthenozoospermia (OAS). **Methods** One week after SD rats were adaptively fed, they were randomly divided into six groups: the control group, the model group, the DR-PR (1 : 1) group (2.5 g·kg⁻¹ DR + 2.5 g·kg⁻¹ PR), the DR-PR (2 : 1) group (5.0 g·kg⁻¹ DR + 2.5 g·kg⁻¹ PR), the DR-PR (1 : 2) group (2.5 g·kg⁻¹ DR + 5.0 g·kg⁻¹ PR), and the *L*-carnitine (LOS, 100 mg·kg⁻¹) group. Except for the control group, the other five groups were ig administered with tripterygium glycosides 35 mg·kg⁻¹ for 7 d to induce the OAS model. Drug administration started from the beginning of modeling, and the rats were fasted at 9:00 every day and ig administered with the drug at 15:00 for a total of 21 d. Semen routine tests were conducted to detect the sperm count and motility of rats; ELISA was used to determine the content of sex hormones in rat serum; HE staining was used to detect the effect of DR-PR on the testicular pathology of OAS rats. Network pharmacology was used to analyze the main active components and mechanism of action of DR-PR in treating OAS: the keywords "*Dioscoreae Rhizoma*" and "*Polygonati Rhizoma*" were used to search for the main active components in the TCMSP database, and the OAS targets were collected from the GeneCards database, DrugBank database, and OMIM database. The VLOOCUP function was used to intersect the OAS targets and DR-PR targets to obtain the potential targets of DR-PR in treating OAS. The potential targets were imported into the STRING database for protein-protein interaction (PPI) analysis; The potential target information of DR-PR in treating OAS was imported into the Metascape database for gene ontology (GO) enrichment and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) enrichment analysis. TUNEL staining was used to determine the apoptosis status of testicular cells in each group of rats; Western blotting was used to detect the expression of heat shock protein 90 α type 1 (HSP90AA1), Caspase-3, Caspase-9, nuclear factor (NF)- κ B, phosphorylated NF- κ B (p-NF- κ B), p38, and phosphorylated p38 (p-p38) in testicular tissues of each group of rats. Molecular docking simulation was used to explore the binding ability and interaction mode of the key active components and key targets of DR-PR. **Results** Compared with the model group, the sperm concentration, motility, survival rate, straight-line movement rate, curvilinear movement rate, average path velocity, movement straightness, and movement linearity of rats in the DR-PR groups were significantly restored ($P < 0.05, 0.01$), the contents of testosterone and estradiol in rat serum were significantly increased ($P < 0.01$), and the damage to spermatogenic cells and interstitial cells in the testis was alleviated ($P < 0.01$). The DR-PR (1 : 2) group had the best effect. The network pharmacology results showed that 16 active components of *Dioscoreae Rhizoma* and 12 active components of *Polygonati Rhizoma* were retrieved; the key targets of DR-PR in treating OAS were MAPK14, NFKB1, TNF, IL6, HSP90AA1, CASP3, and CASP9, the key action pathway was the IL-17 signaling pathway, the key biological function was the response to lipopolysaccharide, the key cellular component was the membrane raft and the vesicle lumen, and the key molecular function was protein serine/threonine kinase activity. Compared with the model group, the apoptosis of testicular tissue cells in the DR-PR groups was significantly reduced ($P < 0.01$), the expression of HSP90AA1, Caspase-3, and Caspase-9 in testicular tissues was down-regulated ($P < 0.01$), and the phosphorylation levels of NF- κ B and p38 were decreased ($P < 0.01$). The DR-PR (1 : 2) group had the best effect. The molecular docking results indicated that the key active components of DR-PR and the key targets HSP90AA1, Caspase-3, Caspase-9, NF- κ B and p38 could all form spontaneous binding. **Conclusion** DR-PR can reduce testicular tissue cell apoptosis and treat OAS by regulating the HSP90/p38/NF- κ B pathway.

Key words: *Dioscoreae Rhizoma*; *Polygonati Rhizoma*; herb pair; oligoasthenozoospermia; apoptosis; network pharmacology; molecular docking; HSP90/p38/NF- κ B

据文献研究报道,目前全球不孕不育症的发病率逐年上升,已成为一个关系全球人类社会发展的健康问题^[1]。近期的流行病学调查结果显示,不孕不育影响着世界范围内 15%左右的夫妻,其中男性因素约占 30%^[2-3]。无精子症、弱精子症、少精子症和畸形精子症是特发性男性不育症的主要原因,其统称为少弱精子症(OAS)^[4]。根据世界卫生组织(WHO)发布的《人类精液手册(第五版)》中的精液检测标准,OAS的主要临床表现为精液中精子数量减少、活力衰弱、运动能力下降和畸形精子率升高^[5]。当前的主流观点认为 OAS 主要由代谢紊乱、

氧化应激和炎症引起^[6],目前国际临床上主要是通过给予左卡尼汀或促性激素加以缓解,并无足够有效的 OAS 治疗方案^[7]。

山药 *Dioscoreae Rhizoma* 首载于《神农本草经》,性平,无毒,可补肾涩精^[8];黄精 *Polygonati Rhizoma* 始载于《名医别录》,性平,无毒,可养气益肾^[9],二者均为我国传统补益类药食同源中药。山药与黄精配伍治疗 OAS,同时也是中医“脾肾同补、填精益气”理论的经典实践,其原理核心在于通过协同增效,修复脾肾功能,促进精血化生。后世医家在临床中常基于经典方剂加减化裁。古方

“黄精丸”(出自《太平圣惠方》)的基础组成是黄精、当归,功效为“补气血、益精髓”,主治虚损不足、精血亏虚之证^[10],后世医家在治疗脾肾两虚所致的精少、精弱时,常在此方基础上加山药,黄精滋补肾精,当归养血活血,加山药后可增强健脾益气之力,使“后天之本”充盛,更好地滋养“先天之精”,形成“黄精+山药”脾肾同补的组合,贴合 OAS“精亏兼脾虚”的病机^[11]。“大补元煎”出自《景岳全书》,由人参、山药、熟地、杜仲等组成,核心功效是“救本培元、大补气血”,主治气血大亏、肾精匮乏之证(如虚劳、不育等)^[12],此方以山药为重要配伍,取其健脾补肾之效;临床治疗 OAS 时,常在此方中去熟地(避免滋腻碍脾),加黄精,形成“山药+黄精”的组合。山药健脾补肾以固后天,黄精滋阴填精以补先天,二者协同增强“填精生精”之力,同时兼顾补气,避免纯补阴血的呆滞。薯蓣丸出自《金匮要略》,以山药(薯蓣)为君药,配伍人参、当归、地黄等,功效为“健脾益气、养血和营”,主治“虚劳诸不足、风气百疾”^[13];此方虽未含黄精,但体现了“以山药为核心,健脾补肾以充精血”的思路。后世医家借鉴这一理念,在治疗虚损性不育时,加黄精以增强滋补肾精之功,使山药(健脾生血)与黄精(补肾填精)形成互补,强化“先后天同补以生精”的作用。虽然该药对治疗 OAS 的疗效已在临床上得到验证,但由于中药复杂的物质基础和各组分间的协同效果,其作用机制并未明确,缺乏系统科学的解释。

本研究通过网络药理学分析山药-黄精药对(DR-PR)治疗 OAS 的关键靶点与作用机制,并应用雷公藤多苷片(TPG)诱导的 OAS 大鼠模型进行体内药效评估和机制验证,最后采用分子对接探究其关键活性成分与关键作用靶点蛋白的结合作用,以期阐明 DR-PR 治疗 OAS 的作用机制,为临床应用提供系统科学的数据支撑。

1 材料

1.1 药材及主要试剂

山药 *Dioscoreae Rhizoma* 和黄精 *Polygonati Rhizoma* 饮片购自安徽省淮北市中医医院大药房,经本院副主任药师石德坤鉴定,分别为薯蓣科植物薯蓣 *Dioscorea opposita* Thunb. 的干燥根茎、百合科植物黄精 *Polygonatum sibiricum* Red. 的干燥根茎。取山药饮片 53.42 kg,粉碎后按照料液比 1:6 加入 80%乙醇,以浸渍法提取 3 次,每次 7 d,提取液合

并后经减压浓缩至无醇味,冻干后得到山药提取物(11.346 kg,提取率 21.24%)。取黄精饮片 51.69 kg,粉碎后按照料液比 1:6 加入 80%乙醇,以浸渍法提取 3 次,每次 7 d,提取液合并后经减压浓缩至无醇味,冻干后得到黄精提取物(9.782 kg,提取率 18.94%)。

TPG(批号 Z37020344),鲁南厚普制药公司;左卡尼汀(LOS,批号 H20000522),兰陵制药有限公司;羧甲基纤维素钠(CMC-Na, CAS 号 9004-32-4),阿拉丁生化科技股份有限公司;QuicKey Pro-大鼠睾酮酶联免疫吸附测定试剂盒(货号 E-OSEL-R0003)、QuicKey Pro-大鼠雌二醇酶联免疫吸附测定试剂盒(货号 E-OSEL-R0001)、高敏型大鼠肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 酶联免疫吸附测定试剂盒(货号 E-HSEL-R0001)、高敏型大鼠白细胞介素-6 (IL-6) 酶联免疫吸附测定试剂盒(货号 E-HSEL-R0004)、高敏型大鼠白细胞介素-1 β (IL-1 β) 酶联免疫吸附测定试剂盒(货号 E-HSEL-R0002),湖北武汉 elabscience 生物科技股份有限公司;抗体:热休克蛋白 90 α 型 1 (Hsp90AA1, 货号 BF0084)、半胱氨酸蛋白酶(Caspase)-3(货号 AF6311)、Caspase-9(货号 AF6348)、p-核因子 κ B(NF- κ B)p65(Ser536)(货号 AF2006)、NF- κ B p65(货号 AF5006)、p-p38 丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)(Thr180/Tyr182)(货号 AF4001)、p38 MAPK(货号 AF6456),江苏亲科生物研究中心有限公司;蛋白酶磷酸酶抑制剂混合物(通用型, 50 $\times$, 货号 P1045)、辣根过氧化物酶标记山羊抗兔 IgG (H+L)(货号 A0352)、辣根过氧化物酶标记山羊抗小鼠 IgG (H+L)(货号 A0350)、 β -actin Mouse Monoclonal Antibody(货号 AF0003),碧云天生物技术有限公司。

1.2 主要仪器

SpectraMax iD5 多功能酶标仪,美国美谷分子仪器公司;TOX IVOS[®] II Sperm Analysis System 精子质量分析系统,美国 Hamilton Thorne 生物科技公司;SC-153 恒温水浴锅,新芝生物科技股份有限公司;TissueMaster[™] 高通量组织研磨仪,碧云天生物技术有限公司;Amersham Imager600 凝胶成像分析系统,美国通用电气集团;HistoCore Arcadia 全自动组织包埋仪、HistoCore AUTOCUT 全自动石蜡切片仪,徕卡生物系统;Leica CV5030-ST5020 染色封片工作站、LD DNA-ICM II 智能化阅片系统,德国 Leica 公司。

1.3 实验动物

60 只 8 周龄雄性 SPF 级 SD 大鼠, 购自华阜康生物制品中心(江苏南京), 实验动物生产许可证号 SCXK(苏) 2025-0009, 饲养于江苏卫生健康职业学院中心实验室大鼠房, 在 12 h 光照/12 h 黑暗循环下自由饮水和饮食, 饲养温度为 $(20 \pm 2)^\circ\text{C}$ 、相对湿度为 $(60 \pm 10)\%$ 。本研究所有动物操作均符合江苏卫生健康职业学院动物伦理委员会的批准要求, 伦理合格证号为 JHVC-IACUC-2024-B044。

2 方法

2.1 动物分组及给药

SD 雄性大鼠适应性喂养 1 周后, 随机分为 6 组: 对照组、模型组、DR-PR (1:1) 组 ($2.5\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ DR + $2.5\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ PR)、DR-PR (2:1) 组 ($5.0\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ DR + $2.5\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ PR)、DR-PR (1:2) 组 ($2.5\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ DR + $5.0\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ PR)、LOS (阳性药, $100\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 组, 每组 10 只, 除对照组外, 其余 5 组 ig 给予 TPG $35\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 7 d 诱导 OAS 模型^[14], 从造模开始即给药, 于每天 9:00 时禁食, 15:00 时 ig 给药干预, 共干预 21 d。

2.2 动物取材

实验结束后, 使用异氟烷和气体麻醉机麻醉大鼠, 使用一次性采血管进行腹主动脉取血, 血液样本室温静置 3 h 后低温 $3\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 15 min, 取上清液为血清样本。取血完成后开胸腔并使用 0.9% 氯化钠溶液由心脏灌流, 共计 100 mL。灌注完成后取右侧睾丸置于 4% 多聚甲醛中固定, 左侧睾丸经液氮速冻后置于 -80°C 冰箱保存。

2.3 精子参数检测

实验结束后, 将右侧附睾取出并清洗至组织无血色, 使用无菌注射器和 0.9% 氯化钠溶液冲出精子, 放入 37°C 水浴箱中获能 30 min 后采用精子质量检测系统检测精子参数。

2.4 苏木精-伊红(HE)染色和 TUNEL 染色

取“2.2”项中固定的睾丸组织进行 24 h 以上固定后用石蜡进行包埋, 制作 $5\mu\text{m}$ 的切片, 用 HE 染色法进行染色, 智能阅片系统扫描后观察病理学变化。

石蜡切片脱蜡后依据 TUNEL 染色试剂盒说明书进行染色, 并使用抗荧光淬灭封片液封片, 立即于智能阅片系统扫描, 使用 Image J 分析阳性面积。

2.5 ELISA 实验

取“2.2”项中采集的血清样本, 使用市场现售 ELISA 试剂盒说明书的检测方法进行血清性激素

检测, 于多功能酶标仪中进行吸光度分析。

2.6 网络药理学

分别以“山药”和“黄精”为关键词, 在中药系统药理数据库和分析平台(TCMSP)数据库(<https://old.tcmsp-e.com/tcmsp.php>)中检索主要活性成分, 以口服生物利用度(OB) $\geq 30\%$ 和类药性(DL) ≥ 0.18 为限制进行条件筛选, 并对其编号, 得到 DR-PR 的主要活性成分信息。

以“asthenospermia”“oligoasthenozoospermia”“oligoasthenospermia”和“asthenozoospermia”为关键词于 GeneCards 数据库(<https://www.genecards.org/>)、DrugBank 数据库(<https://go.drugbank.com/>)和 OMIM 数据库(<https://www.omim.org>)中进行靶点搜集, 并将得到的疾病靶点通过 UniProt 数据库的基因转换工具转化为 Official Gene Symbol, 并统一进行查重处理, 得到 OAS 的靶点信息。将 DR-PR 的主要活性成分信息导入 SwisstargetPrediction 数据库进行靶点预测, 选取可信度前 100 的靶点作为 DR-PR 的潜在靶点信息。

使用 VLOOCUP 函数将 OAS 靶点和 DR-PR 靶点进行交集处理, 得到 DR-PR 治疗 OAS 的潜在靶点。将潜在靶点导入 STRING 数据库进行蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)分析, 并将结果以 tsv 格式导入 Cytoscape v3.10.2 软件进行可视化处理。

将 DR-PR 治疗 OAS 的潜在靶点信息导入 Metascape 数据库进行基因本体(GO)富集和京都基因与基因组百科全书(KEGG)富集分析。根据富集程度和 *P* 值进行通路筛选后导入微生信网站进行可视化处理。

2.7 Western blotting 实验

睾丸组织清洗后, 加入 RIPA 裂解液于组织研磨仪研磨, 冰上裂解 30 min, BCA 定量后加入 loading buffer 并于 100°C 恒温金属浴变性 10 min, 使用 Western blotting 法检测蛋白表达情况。成像结果使用 Image J 进行灰度积分并分析。

2.8 数据处理与可视化

使用 SPSS 28.0.1.1 和 Graphpad prism 进行统计学分析和可视化处理, 多组间使用单因素方差分析进行显著性分析, 结果均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

2.9 分子对接

于 PubChem 数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)获取 DR-PR 主要活性成分的 mol2 结

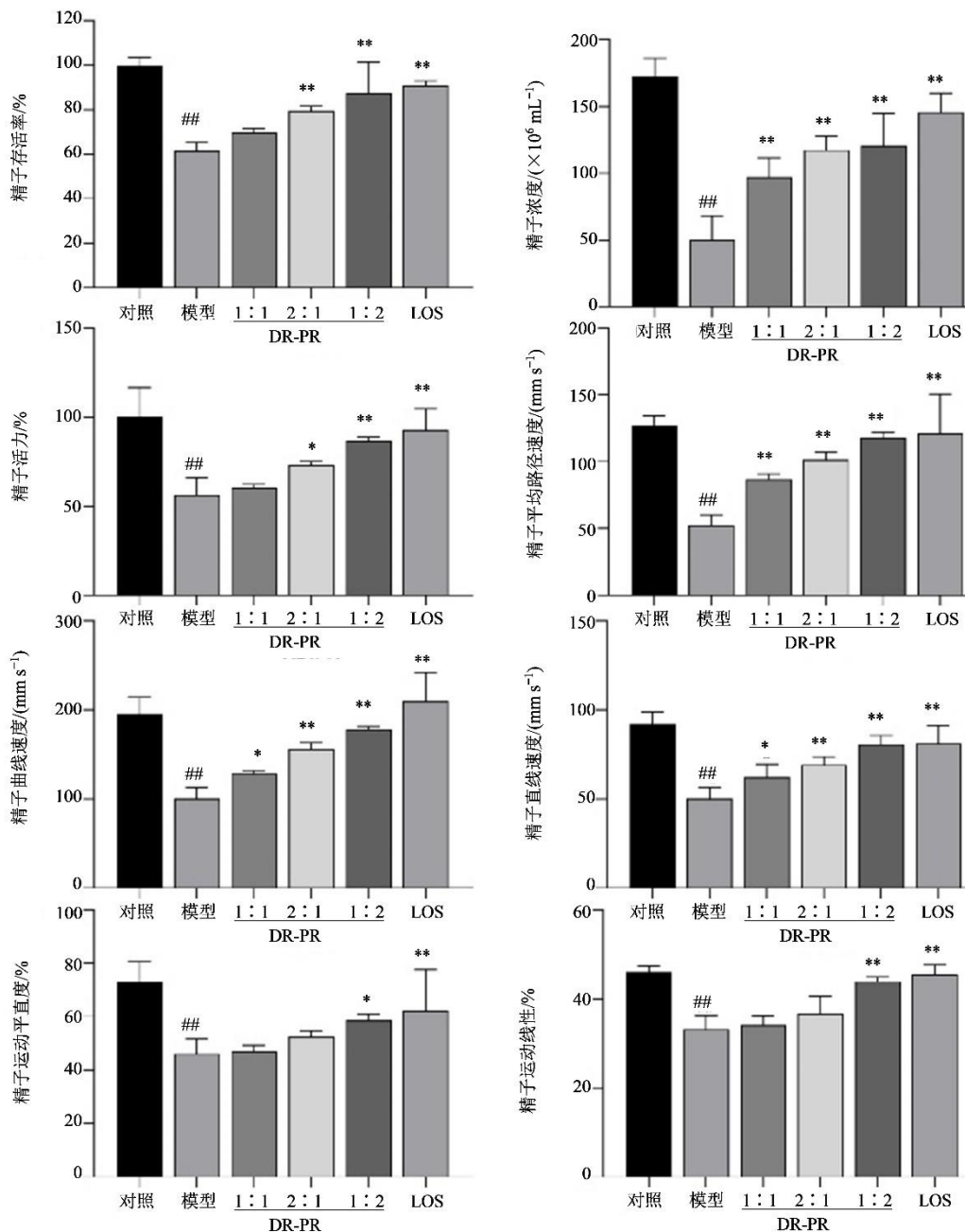
构式, Hsp90AA1 (5NJX)、Caspase-9 (2AR9)、Caspase-3 (2J31)、NF- κ B (1LB5) 和 p38 (6FSO) 的蛋白结构由 PDB 数据库 (RCSB PDB, <https://www.rcsb.org/>) 获取, 应用 SailVina 2.0 进行结构处理与分子对接。

3 结果

3.1 DR-PR 改善大鼠 OAS

3.1.1 精子参数 精液常规检测结果 (图 1) 显示,

与对照组相比, 模型组大鼠精子活力、精子浓度、精子存活率和精子运动能力显著降低 ($P < 0.01$); 与模型组相比, 1:2 的 DR-PR 干预可恢复大鼠精子浓度、活力、存活率、直线运动速率、曲线运动速率、平均路径速度、运动平直度和运动线性 ($P < 0.05, 0.01$), 表明 1:2 的 DR-PR 可改善 OAS 大鼠的精子质量和运动能力。



与对照组比较: ## $P < 0.01$; 与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ 。

$P < 0.01$ vs control group; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs model group.

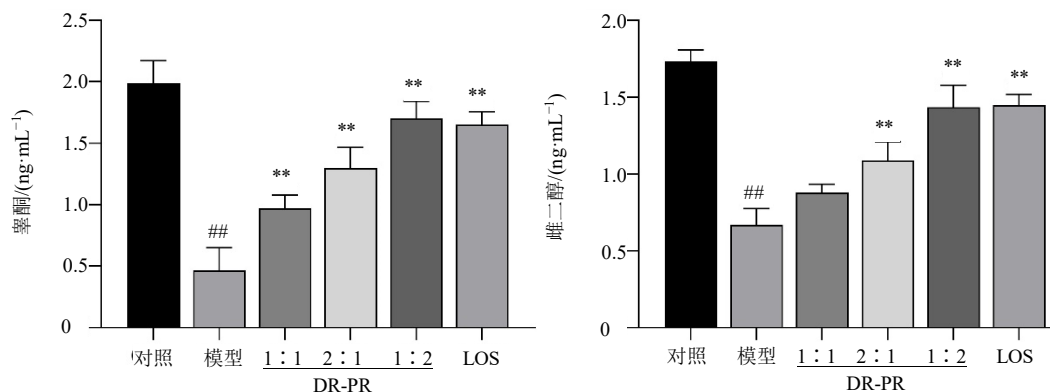
图 1 DR-PR 对 OAS 大鼠精子参数的影响 ($\bar{X} \pm s$, $n=3$)

Fig. 1 Effects of DR-PR on sperm parameters in rats with OAS ($\bar{X} \pm s$, $n=3$)

3.1.2 血清性激素 如图 2 所示,与对照组相比,模型组大鼠血清睾酮和雌二醇含量显著降低 ($P < 0.01$);与模型组相比,2:1、1:2 的 DR-PR 组大鼠血清睾酮和雌二醇显著升高 ($P < 0.01$),且 1:2 的 DR-PR 效果优于 2:1 组,表明 DR-PR 可改善 OAS 大鼠的血清性激素表达,且 1:2 的 DR-PR 效果最优。

3.1.3 HE 染色结果 图 3 结果显示,对照组大鼠睾丸组织生精小管饱满圆润,生精细胞和间质细胞排列紧密,精子细胞充沛;与对照组相比,模型组大鼠睾丸组织生精小管和间质细胞萎缩,生精细胞

排列稀松且存在细胞脱落和细胞孔隙(蓝色箭头),精子细胞稀疏,细胞脱落(红色箭头);与模型组相比,1:2 的 DR-PR 干预组大鼠睾丸组织生精小管和间质细胞有一定恢复,生精细胞排列紧密,但仍存在少量的生精细胞脱落情况。细胞计数结果(图 4)表明,与对照组相比,模型组大鼠生精细胞和间质细胞数量明显降低 ($P < 0.01$);与模型组相比,2:1、1:2 的 DR-PR 干预组大鼠睾丸组织生精细胞和间质细胞数量显著升高 ($P < 0.01$),表明 DR-PR 可显著改善 OAS 大鼠的睾丸组织损伤和细胞脱落。



与对照组比较: ## $P < 0.01$; 与模型组比较: ** $P < 0.01$ 。
$P < 0.01$ vs control group; ** $P < 0.01$ vs model group.

图 2 DR-PR 对 OAS 大鼠血清性激素的影响 ($\bar{X} \pm s$, $n=3$)

Fig. 2 Effects of DR-PR on serum sex hormones in rats with OAS ($\bar{X} \pm s$, $n=3$)

3.2 DR-PR 治疗大鼠 OAS 的网络药理学分析

从 TCMSP 中检索山药活性成分 16 种、黄精活性成分 12 种,活性成分信息如表 1 所示,活性成分分类信息如图 5 所示。共预测出 DR-PR 治疗靶点 691 个;GeneCards 数据库、OMIM 数据库和 Drugbank 数据库共搜集到 OAS 靶点共 643 个;两者交集后得 DR-PR 治疗 OAS 的潜在作用靶点 60 个,结果如图 6 所示。

PPI 分析结果如图 7 所示,图中共有 60 个靶点节点,434 条边,平均节点度值为 14.3,平均聚类系数为 0.603,表明各靶点间关系密切,靶点与靶点间相互作用较多。

DR-PR 治疗 OAS 的 KEGG 富集分析(图 8)和 GO 富集分析(图 9)结果显示,DR-PR 治疗 OAS 的关键作用途径为 IL-17 信号通路,关键生物学功能为对脂多糖的反应,关键细胞组分是膜筏和囊泡管腔,关键分子功能为蛋白丝氨酸/苏氨酸激酶活性。综合图 7 的 PPI 网络结果分析,DR-PR 治疗

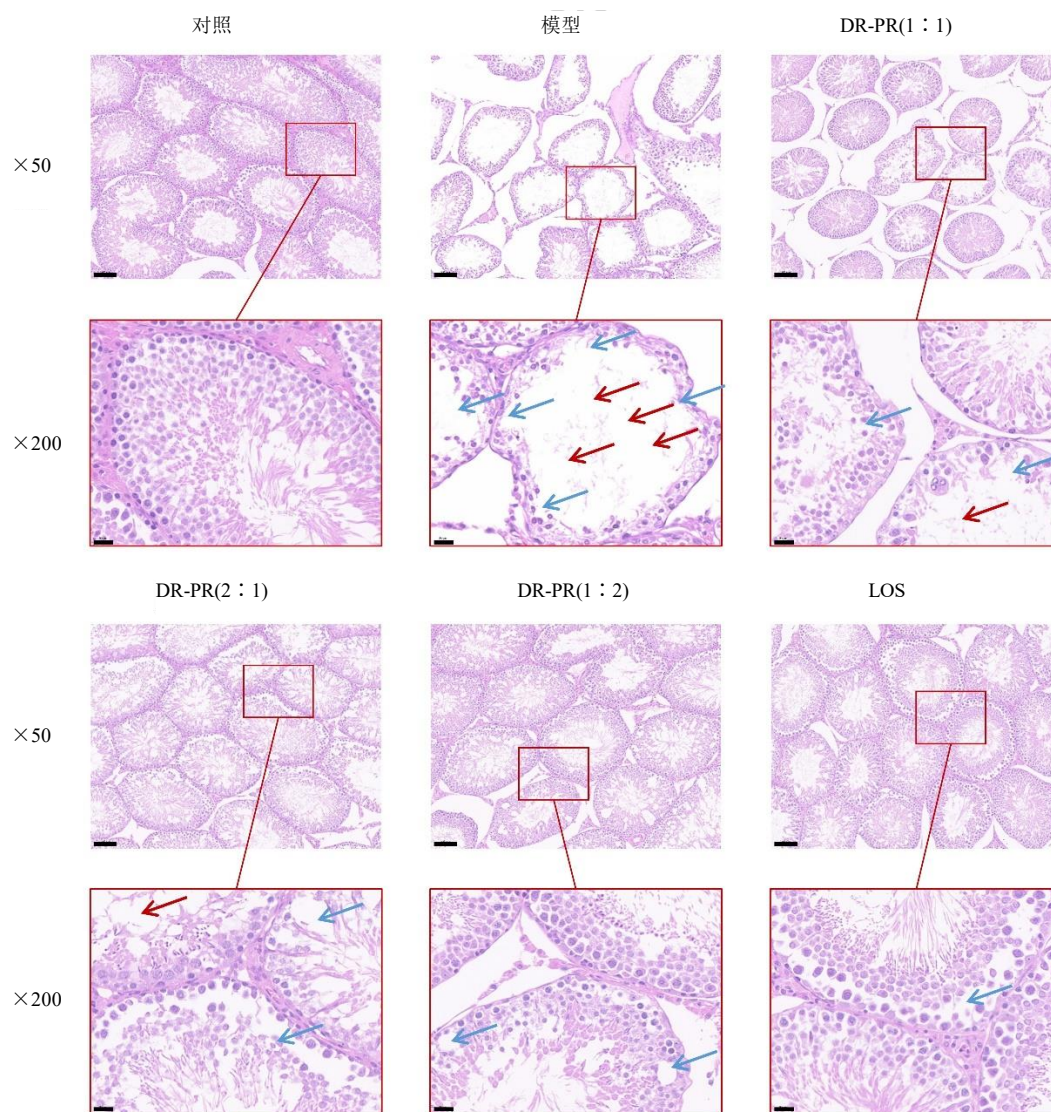
OAS 的关键作用靶点为 IL6、TNF、CASP3、CASP9、HSP90AA1、NFKB1 和 MAPK14,关键作用机制可能与 HSP90/p38/NF- κ B 介导的炎症引起细胞凋亡有关。

3.3 DR-PR 改善 OAS 大鼠的睾丸组织细胞凋亡

TUNEL 染色结果(图 10)显示,与对照组相比,OAS 模型大鼠睾丸组织生精小管中细胞凋亡面积显著升高 ($P < 0.01$),并充斥于睾丸各细胞层;DR-PR 干预组大鼠睾丸组织中细胞凋亡面积显著降低 ($P < 0.01$),DR-PR (1:2) 组效果最好,仅在生精细胞层存在少量凋亡细胞,表明 DR-PR 可改善 OAS 大鼠的睾丸组织细胞凋亡。

3.4 DR-PR 改善大鼠 OAS 的作用机制与调控 HSP90/p38/NF- κ B 通路有关

结果(图 11)显示,与对照组相比,模型组大鼠睾丸组织 Hsp90AA1、Caspase-3 和 Caspase-9 蛋白表达显著增加 ($P < 0.01$),p38 和 NF- κ B 磷酸化水平显著升高 ($P < 0.01$);与模型组相比,DR-PR

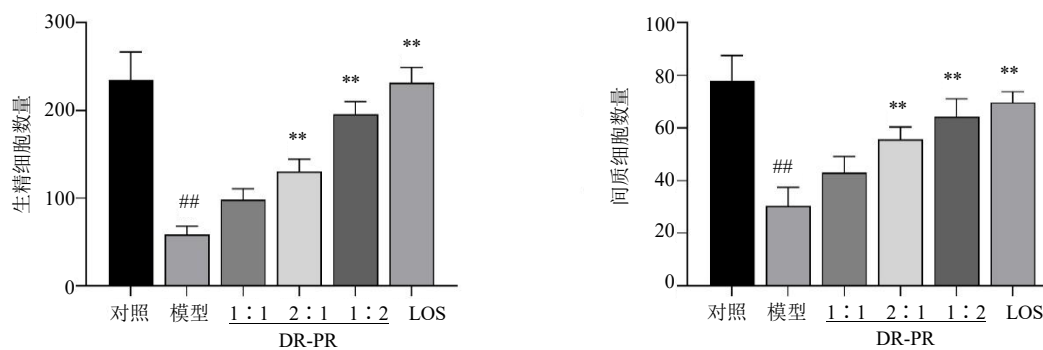


蓝色箭头-生精细胞脱落；红色箭头-精子细胞脱落与细胞孔隙。

Blue arrows-spermatogenic cells detaching; Red arrows-sperm cells detaching and cell pores.

图 3 DR-PR 对 OAS 大鼠睾丸组织形态学的影响

Fig. 3 Effect of DR-PR on morphological changes of testicular tissue in rats with OAS



与对照组比较: ^{##} $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{**} $P < 0.01$ 。

^{##} $P < 0.01$ vs control group; ^{**} $P < 0.01$ vs model group.

图 4 DR-PR 对 OAS 大鼠睾丸组织生精细胞和间质细胞数量的影响 ($\bar{X} \pm s$, $n=3$)

Fig. 4 Effects of DR-PR on number of spermatogenic cells and interstitial cells in testicular tissue of rats with OAS ($\bar{X} \pm s$, $n=3$)

表 1 DR-PR 的活性成分信息
Table 1 Information on active components of DR-PR

编号	名称	中文名称	相对分子质量	一级分类	二级分类
RD-1	diosgenin	薯蓣皂素	414.69	甾体	螺甾烷
RD-2	hancinol	仲辛醇	372.50	环烃	桥双环
RD-3	denudatin B	玉兰脂B	356.45	环烃	木脂素
RD-4	(-)-taxifolin	紫杉叶素	304.27	黄酮类化合物	二氢黄酮醇
RD-5	hancinone C	山药酮C	400.51	环烃	茴香醚
RD-6	kadsurenone	海风藤酮	356.45	环烃	木脂素
RD-7	ophiopogonin D	麦冬皂苷D	394.45	杂环化合物	咕吨
RD-8	stigmasterol	豆甾醇	412.77	甾体	植物甾醇
RD-9	isofucosterol	异岩藻甾醇	412.77	甾体	植物甾醇
RD-10	doradexanthin	皮黄素	584.96	无环烃	类胡萝卜素
RD-11	CLR	胆固醇	386.73	甾体	甾醇
RD-12	24-methylcholest-5-enyl-3β-O-glucopyranoside_qt	24-甲基胆甾-5-烯基-3β-O-葡萄糖苷苷元	400.76	甾体	植物甾醇
RD-13	campesterol	油菜素甾醇	400.76	甾体	植物甾醇
RD-14	dioscoreside C_qt	黄山药皂苷C苷元	444.72	环烃	三萜
RD-15	methylcimicifugoside_qt	甲基升麻素苷元	556.81	甾体	植物甾醇
RD-16	piperlonguminine	荜茇酰胺	273.36	杂环化合物	苯并二氧杂环戊烯
PR-1	diosgenin	薯蓣皂素	414.69	甾体	螺甾烷
PR-2	2R-7-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)chroman-4-one	2R-7-羟基-2-(4-羟基苯基)色烯-4-酮	256.27	黄酮类化合物	二氢黄酮
PR-3	3'-methoxydaidzein	7,4'-二羟基-3'-甲氧基异黄酮	284.28	黄酮类化合物	甲氧基异黄酮
PR-4	4',5-dihydroxyflavone	5,4'-二羟基黄酮	254.25	黄酮类化合物	二氢黄酮
PR-5	(+)-syringaresinol-O-β-D-glucoside	丁香脂素-4-O-β-D-葡萄糖苷	580.64	环烃	木脂素
PR-6	beta-sitosterol	β-谷甾醇	414.79	甾体	谷甾醇
PR-7	sitosterol	谷甾醇	414.79	甾体	谷甾醇
PR-8	sibiricoside A_qt	黄精碱A	432.71	甾体	植物甾醇
PR-9	methylprotodioscin_qt	甲基原薯蓣皂苷元	446.74	甾体	植物甾醇
PR-10	zhonghualiaoine 1	中华蓼皂苷元	458.75	甾体	谷甾醇
PR-11	baicalein	黄芩素	270.25	黄酮类化合物	黄烷酮
PR-12	liquiritigenin	甘草素	256.27	黄酮类化合物	黄烷酮

组大鼠睾丸组织 Hsp90AA1、Caspase-3 和 Caspase-9 表达显著下调 ($P<0.05$ 、 0.01), p38 和 NF-κB 磷酸化水平显著降低 ($P<0.01$), DR-PR (1:2) 组效果最好, 表明 DR-PR 治疗 OAS 的作用机制与调控 HSP90/p38/NF-κB 通路有关。

3.5 分子对接

分子对接结果如图 12 所示, DR-PR 中 16 种 RD 活性成分, 12 种 PR 活性成分, 5 种关键靶点蛋白 (Hsp90AA1、Caspase-3、Caspase-9、NF-κB 和 p38) 共 140 组结合的结合能均小于 $-5\text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$, 表

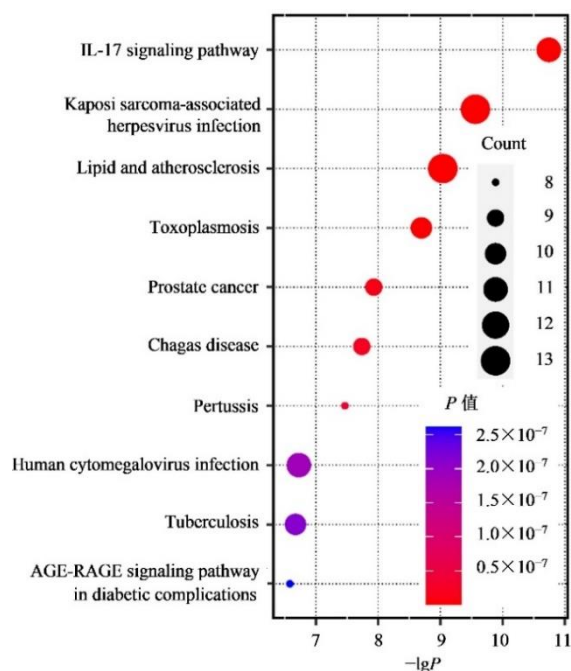


图 8 DR-PR 治疗 OAS 潜在靶点的 KEGG 富集分析
Fig. 8 KEGG enrichment analysis of potential targets of DR-PR in treatment of OAS

无形之气，二者相合，可达充盈肾精之效。本研究结果发现，DR-PR 可通过调控 Hsp90aa1/p38/NF-κB 信号通路的信号传导，下调炎症因子 TNF-α、IL-1β、IL-6、凋亡调控因子 Caspase-3 和 Caspase-9 表达，抑制睾丸组织中生精细胞、间质细胞和精子细胞凋亡，恢复睾丸生理状态和性激素分泌，改善精子活力和精子运动能力，治疗 OAS。

中医理论认为，OAS 的核心病机在于肾精亏虚，常兼夹湿热瘀毒^[14]。肾为先天之本，主生殖藏精。肾精匮乏，则生精之源枯竭；另一方面，精亏则气阴两伤，机体抵抗力下降，易受外邪（如湿热、毒邪）侵袭，或内生病理产物（如瘀血），郁而化热，形成“虚中夹瘀夹热”的复杂局面^[15]，表现为微观层面的“炎症风暴”和组织病理损伤。本研究中观察到的炎症因子（TNF-α、IL-1β、IL-6）水平升高和细胞凋亡，契合中医“精亏炎生”“肾虚血瘀”病机在现代医学中的微观体现。山药健脾益气、固肾涩精，旨在巩固“后天之本”以资化源，增强支持细胞的功能稳定性，对应于本研究中恢复睾丸生

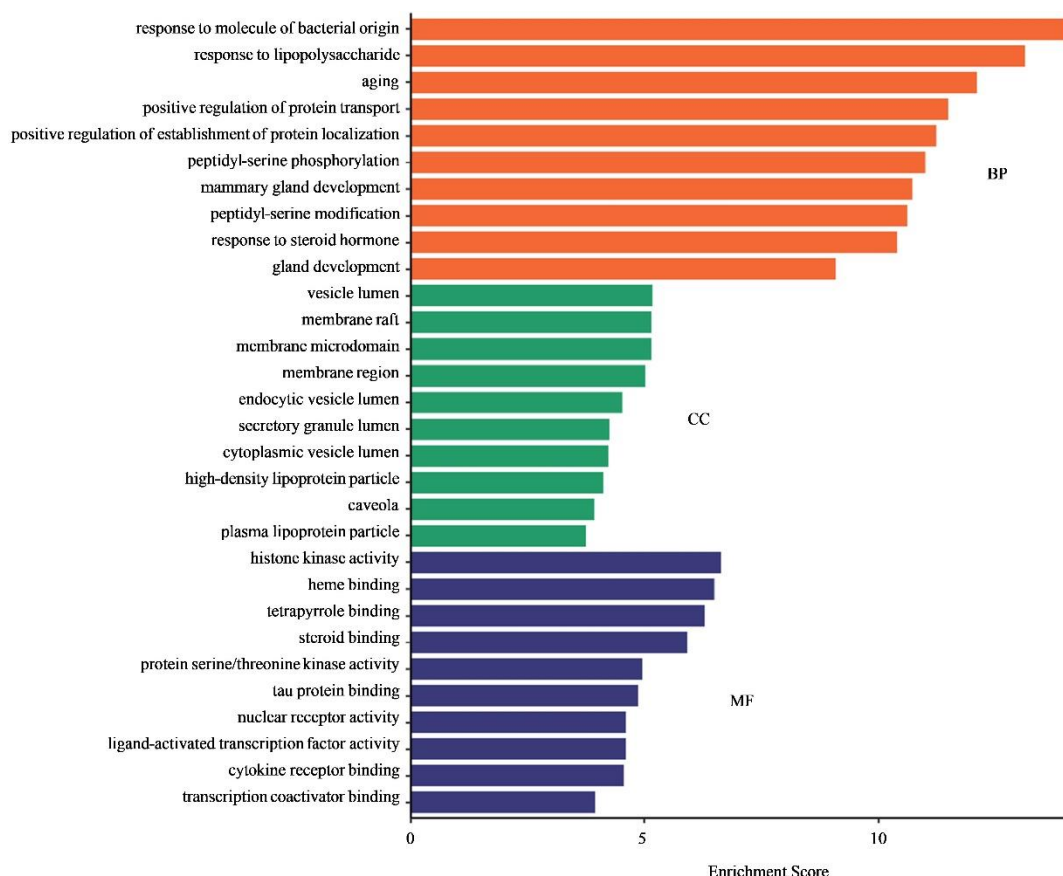


图 9 DR-PR 治疗 OAS 潜在靶点的 GO 分析
Fig. 9 GO analysis of potential targets of DR-PR in treatment of OAS

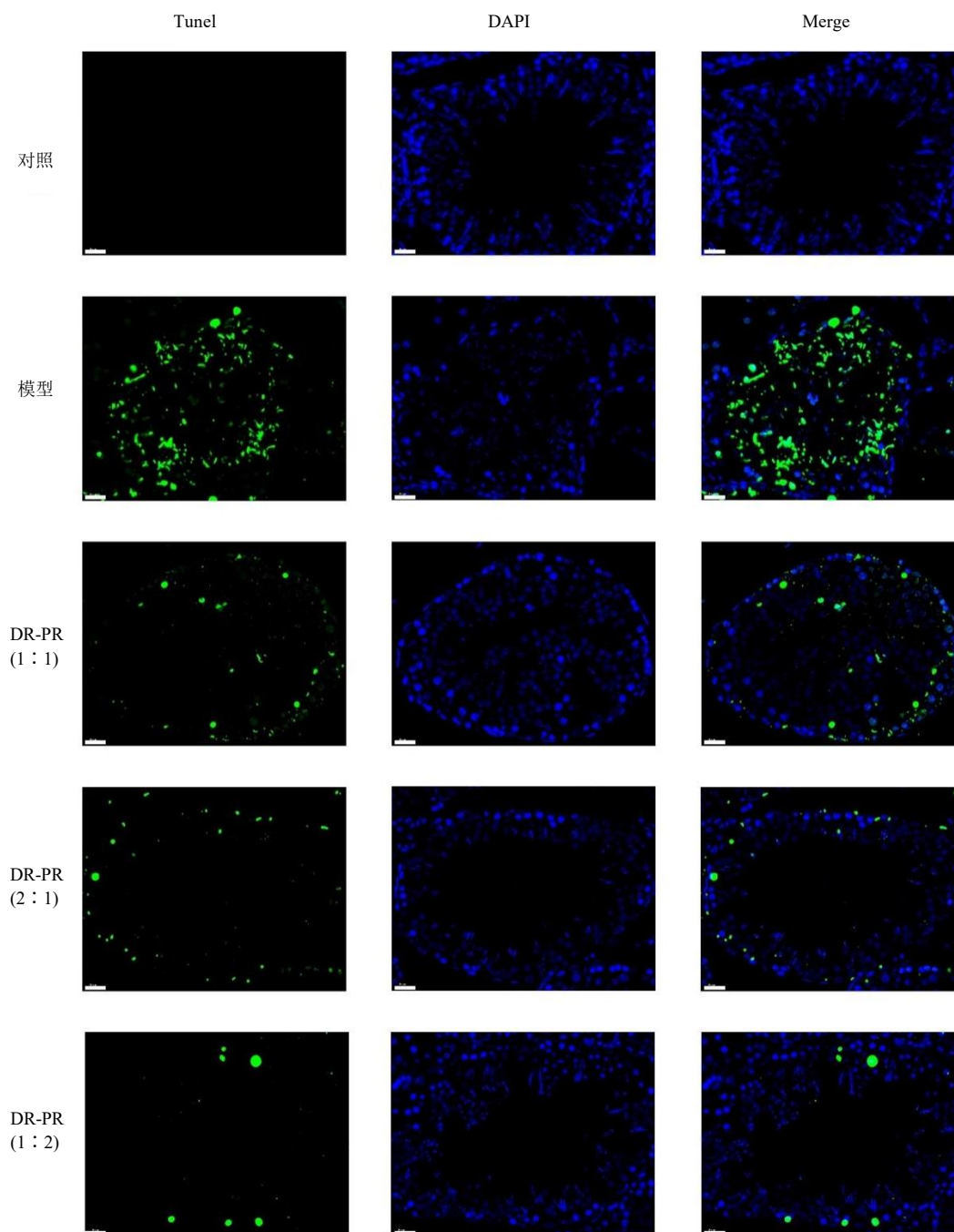


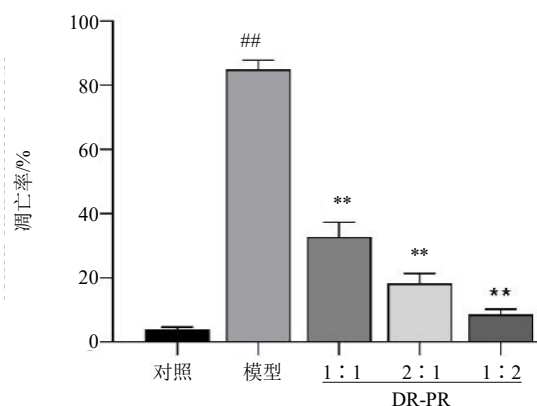
图 10 DR-PR 对 OAS 大鼠睾丸组织细胞凋亡的影响 (×200)

Fig. 10 Effect of DR-PR on cell apoptosis in testicular tissues of rats with OAS (×200)

理状态、改善激素分泌的结果；黄精补气养阴、填精益髓，直补“先天之本”，旨在滋养生殖之精的物质基础，对应于本研究中抑制生精细胞凋亡、改善精子参数的效果。山药、黄精二药相合，脾肾同治，气阴双补，填精固涩，共奏“养精”之效。本研究表明，这种“养精”作用，在微观上体现为通过抑制 Hsp90AA1/p38/NF-κB 通路，消除炎症这一“蚀精”之邪，并阻断凋亡这一“耗精”之路。这完美

诠释了中医“扶正祛邪”治法在生殖领域的科学内涵：通过补益肾精（扶正），从而增强机体清除病理因素（祛邪，即抗炎、抗凋亡）的能力，最终恢复睾丸微环境的稳态。

本研究中，Hsp90AA1/p38/NF-κB 信号轴构成了一个调控 OAS 发展的关键分子调控网络，通过多层级联反应深刻影响睾丸微环境和生精功能。该通路中，Hsp90AA1 作为上游分子伴侣，通过维

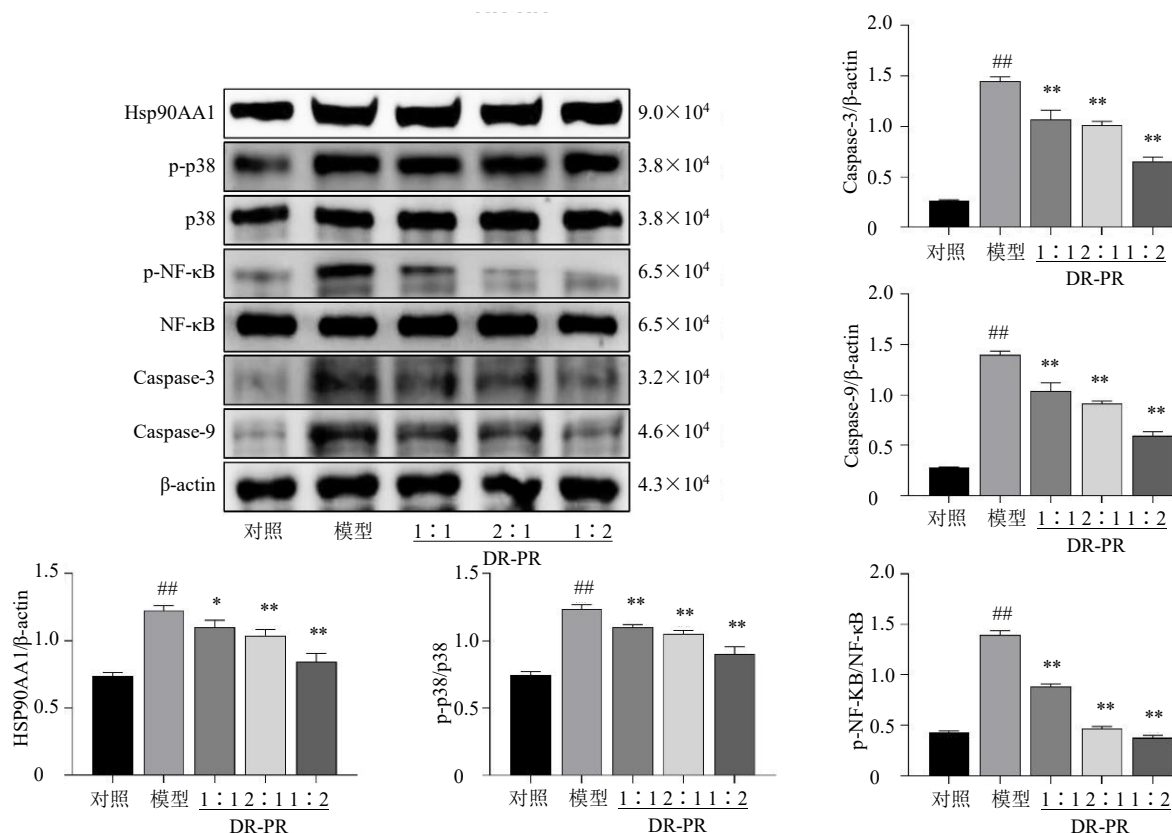


与对照组比较: ## $P < 0.01$; 与模型组比较: ** $P < 0.01$ 。

$P < 0.01$ vs control group; ** $P < 0.01$ vs model group.

图 10 DR-PR 对 OAS 大鼠睾丸组织细胞凋亡的影响 ($\bar{X} \pm s$, $n=3$)

Fig. 10 Effect of DR-PR on cell apoptosis in testicular tissues of rats with OAS ($\bar{X} \pm s$, $n=3$)



与对照组比较: ## $P < 0.01$; 与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ 。

$P < 0.01$ vs control group; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs model group.

图 11 DR-PR 对 OAS 大鼠睾丸组织 HSP90/p38/NF-κB 通路蛋白表达的影响 ($\bar{X} \pm s$, $n=3$)

Fig. 11 Effects of DR-PR on expression of HSP90/p38/NF-κB pathway proteins in testicular tissues of rats with OAS ($\bar{X} \pm s$, $n=3$)

通路可显著降低炎症因子水平, 改善精子参数^[23], 这与本研究结果相符。p38/NF-κB 通路的双重病理效应还体现在其对睾丸支持细胞功能的破坏^[24-25],

持 p38 蛋白稳定性, 为其磷酸化激活提供结构性基础^[16]。研究表明, 在睾丸氧化应激或炎症状态下, Hsp90AA1 表达显著上调, 进而促进 p38 磷酸化, 形成过度活化的 p-p38^[17-18]。这种异常活化可进一步触发下游 NF-κB 信号, 活化的 p38 使 IκB 激酶 (IKK) 复合体磷酸化, 导致 NF-κB 抑制蛋白 IκBα 降解, 促使 NF-κB p65 亚基核转位, 最终启动炎症基因转录^[19]。NF-κB 的过度激活在 OAS 中引发一系列炎症级联反应。实验证实, 活化的 NF-κB 显著提升 TNF-α、IL-1β、IL-6 等促炎因子的表达水平, 在睾丸组织内形成“炎症风暴”^[20-21]。这些炎症因子不仅直接损伤生精细胞结构和功能, 还可进一步正反馈激活 p38, 形成“炎症-应激恶性循环”^[22]。在糖尿病生殖损伤模型中, NF-κB 的活化程度与精子活力下降、畸形率升高呈显著正相关; 而抑制该

一方面, 活化的 NF-κB 可诱导支持细胞表达大量炎症介质, 破坏血睾屏障完整性^[26-28]; 另一方面, p38 信号异常磷酸化导致支持细胞骨架重组, 影响其对

	Caspase-9	Caspase-3	Hsp90aa1	NF-κB	p38
PR-1	-59.356	-49.742	-47.234	-41.382	-72.314
PR-2	-42.218	-34.276	-32.604	-28.424	-40.964
PR-3	-35.530	-34.276	-30.514	-28.842	-40.546
PR-4	-39.710	-34.276	-32.186	-29.26	-41.800
PR-5	-48.488	-36.366	-38.038	-32.186	-50.578
PR-6	-50.578	-38.874	-40.128	-33.022	-58.520
PR-7	-50.16	-39.71	-40.128	-33.022	-58.520
PR-8	-32.604	-32.186	-29.678	-27.588	-33.022
PR-9	-48.906	-41.382	-39.710	-36.784	-57.266
PR-10	-35.112	-32.186	-29.260	-27.588	-33.022
PR-11	-39.292	-35.948	-34.694	-29.260	-40.964
PR-12	-42.218	-34.276	-32.604	-28.424	-40.964
RD-1	-58.938	-49.742	-47.234	-41.382	-72.314
RD-2	-40.128	-33.022	-31.35	-27.17	-43.054
RD-3	-38.874	-32.604	-32.604	-30.932	-45.562
RD-4	-40.964	-28.424	-33.022	-29.678	-40.546
RD-5	-38.456	-29.678	-28.424	-25.08	-35.948
RD-6	-38.874	-32.604	-33.44	-30.932	-45.144
RD-7	-45.562	-36.784	-37.202	-33.858	-48.070
RD-8	-49.742	-38.874	-40.128	-33.022	-58.520
RD-9	-50.578	-38.874	-40.128	-33.022	-58.520
RD-10	-42.636	-30.514	-28.842	-24.662	-50.160
RD-11	-48.488	-39.710	-39.292	-37.202	-56.848
RD-12	-49.324	-40.546	-38.874	-38.038	-57.266
RD-13	-49.324	-40.964	-38.456	-38.038	-57.266
RD-14	-35.530	-31.768	-28.842	-25.080	-31.768
RD-15	-35.112	-32.604	-33.022	-28.424	-32.604
RD-16	-40.964	-27.588	-28.424	-24.662	-37.202

数据单位均为 $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ ；结合能小于 $-20.92\text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ 说明受体和配体可自发结合，小于 $-31.38\text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ 说明受体和配体具有自发强结合。

Data units are all $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$, A binding energy of less than $-20.92\text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ indicates that the receptor and ligand can spontaneously bind, while a value less than $-31.38\text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ suggests that the receptor and ligand have a strong spontaneous binding.

图 12 DR-PR 主要活性成分与关键靶点 (Hsp90AA1、Caspase-3、Caspase-9、NF-κB 和 p38) 的分子对接结合能热图

Fig. 12 Molecular docking binding energy heat map of main active components and key targets (Hsp90AA1, Caspase3, Caspase9, NF-κB and p38) of DR-PR

生精细胞的营养支持功能^[29-30]。

本研究的网络药理学结果发现，DR-PR 治疗 OAS 的关键作用通路为 IL-17 信号通路，关键生物学功能为对脂多糖的反应，关键细胞组分是膜筏和囊泡管腔，关键分子功能为蛋白丝氨酸/苏氨酸激酶活性，这提示 DR-PR 治疗 OAS 的作用机制可能与 MAPK 信号传导、炎症反应和细胞因子分泌密切相关。综合 PPI 网络结果分析，推测 DR-PR 对 OAS 的治疗作用可能是通过调控 Hsp90AA1 表达、改变 p38 和 NF-κB 的磷酸化稳定性从而减少睾丸组织内

的炎症反应和炎症因子分泌，继而下调由炎症因子诱导的凋亡相关蛋白 Caspase-3 和 Caspase-9 表达，阻断了睾丸细胞脱落和凋亡所形成，这与中医理论中 DR-PR 的养精涩精相吻合。分子对接结果显示，DR-PR 的大部分活性成分均可与 5 个关键治疗靶点形成强自发结合，这表明 DR-PR 对 Hsp90AA1、Caspase-3、Caspase-9、p38 和 NF-κB 的抑制效果并不是类似于单体药物的级联调控而是协同的、统一的、整体的调控作用，这在佐证本研究实验结果可靠性的同时体现了中医理念的整体性观点。

本研究通过生物信息学和动物实验验证了 DR-PR 可通过调控 Hsp90aa1/p38/NF-κB 信号通路表达，炎症因子 TNF-α、IL-1β、IL-6 分泌，凋亡调控因子 Caspase-3 和 Caspase-9 表达，抑制睾丸组织细胞凋亡，改善大鼠精子数量、精子状态、性激素分泌与睾丸组织损伤，治疗 TPG 诱导的大鼠 OAS，为 DR-PR 在中医临床的应用提供了基础数据支撑。但本研究仍存在一定的不足之处，如 DR-PR 的剂量比仅设置了 3 种剂量，且并未设置细胞回复实验以验证药物作用机制，后续将进一步研究。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Kimmins S, Anderson R A, Barratt C L R, et al. Frequency, morbidity and equity: The case for increased research on male fertility [J]. Nat Rev Urol, 2024, 21(2): 102-124.
- [2] WHO. Infecundity, infertility, and childlessness in Developing Countries - DHS Comparative reports no. 9. WHO <https://www.who.int/publications/m/item/infecundity-infertility-and-childlessness-in-developing-countries--dhs-comparative-reports-no.-9> (2004).
- [3] Levine H, Jørgensen N, Martino-Andrade A, et al. Temporal trends in sperm count: A systematic review and Meta-regression analysis of samples collected globally in the 20th and 21st centuries [J]. Hum Reprod Update, 2023, 29(2): 157-176.
- [4] Boitrelle F, Shah R, Saleh R, et al. The sixth edition of the WHO manual for human semen analysis: A critical review and SWOT analysis [J]. Life (Basel), 2021, 11(12): 1368
- [5] Björndahl L, Barratt C L R, Mortimer D, et al. Standards in Semen examination: Publishing reproducible and reliable data based on high-quality methodology [J]. Hum Reprod, 2022, 37(11): 2497-2502.
- [6] 冀小卫, 杨佳树, 剡锐, 等. 中医药防治少弱精子症的研究现状 [J]. 中国临床药理学杂志, 2024, 40(21):

- 3196-3200.
- Ji X W, Yang J S, Yan R, et al. Research status of Chinese medicine in the prevention and treatment of oligozoospermia [J]. Chin J Clin Pharmacol, 2024, 40(21): 3196-3200.
- [7] 常家庆, 鞠海超, 赵威威, 等. 氧化应激在少弱精子症中的作用及中医药调控研究进展 [J]. 中国男科学杂志, 2024, 38(6): 114-121.
- Chang J Q, Ju H C, Zhao W W, et al. Research progress on the role of oxidative stress in oligoasthenozoospermia and its traditional Chinese medicine intervention [J]. Chin J Androl, 2024, 38(6): 114-121.
- [8] 顾观光 (清). 神农本草经 (四卷) [M]. 影印本. 北京: 人民卫生出版社, 1955: 33.
- Gu G G (Qing Dynasty). *Shen Nong's Materia Medica: Four Volumes* [M]. Facsimile Edition. Beijing: People's Medical Publishing House, 1955: 33.
- [9] 陶弘景 (梁), 集; 尚志钧, 校注. 名医别录 [M]. 北京: 人民卫生出版社. 1986: 23.
- (Liang) Tao H J, Collected Works; Shang Z J, annotated. *Supplementary Records of Famous Physicians* [M]. Beijing: People's Medical Publishing House. 1986: 23.
- [10] 肖移生, 董琦, 熊浩仲, 等. 黄精丸同名异方之文献分析与关键内容考证 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2023, 25(5): 1608-1614.
- Xiao Y S, Dong Q, Xiong H Z, et al. Literature analysis and key contents textual research of Huangjing Pill with the same name and different prescriptions [J]. Mod Tradit Chin Med Mater Med World Sci Technol, 2023, 25(5): 1608-1614.
- [11] 黄鑫, 柏江峰, 李祯, 等. 高智辨治少弱精子症经验撷英 [J]. 中国男科学杂志, 2025, 39(3): 156-160.
- Huang X, Bai J F, Li Z, et al. Gao Zhi's experience in the treatment of oligoasthenozoospermia [J]. Chin J Androl, 2025, 39(3): 156-160.
- [12] 胡艺璇, 宋素花, 王钰. 经典名方大补元煎的关键信息考证 [J/OL]. 中国实验方剂学杂志, 2024: 1-17. (2024-11-25). <https://link.cnki.net/doi/10.13422/j.cnki.syfjx.20241719>.
- Hu Y X, Song S H, Wang Y. Textual research on the key information of the classic prescription Dabuyuan Decoction [J/OL]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2024: 1-17. (2024-11-25). <https://link.cnki.net/doi/10.13422/j.cnki.syfjx.20241719>
- [13] 骆小珊, 谢甦, 冯豆豆, 等. 薯蓣丸古籍文献与现代临床应用研究 [J]. 世界中医药, 2024, 19(24): 3820-3826.
- Luo X S, Xie S, Feng D D, et al. Ancient literature and modern clinical application of Shuyu Pills [J]. World Chin Med, 2024, 19(24): 3820-3826.
- [14] 刘嘉, 王春玲, 陈栢皓, 等. 麒麟丸调控 CYP11A1/testosterone/CYP19A1/E2/ESR1 通路治疗雷公藤多苷诱导的大鼠少弱精子症 [J]. 药物评价研究, 2025, 48(2): 439-447.
- Liu J, Wang C L, Chen B H, et al. Treatment of asthenozoospermia induced by Tripterygium glycosides utilizing Qilin Pill through CYP11A1/testosterone/ CYP19A1/ E2/ESR1 [J]. Drug Eval Res, 2025, 48(2): 439-447.
- [15] 王红全, 裴鲜玲, 张爱英, 等. 少弱精症中医辨治思路浅析 [J]. 新中医, 2011, 43(7): 159.
- Wang H Q, Pei X L, Zhang A Y, et al. Analysis on TCM differentiation and treatment of oligospermia and asthenozoospermia [J]. J New Chin Med, 2011, 43(7): 159.
- [16] 李彦荣, 温再博, 陈振东, 等. 基于“阴阳五行学说”探析“益火补土”是少弱精症的根本治法 [J]. 时珍国医国药, 2023, 34(7): 1684-1688.
- Li Y R, Wen Z R, Chen Z D, et al. “invigorating fire and replenishing soil” is the fundamental treatment for oligozoospermia or asthenozoospermia based on the theory of Yin and Yang and five elements [J]. Lishizhen Med Mater Med Res, 2023, 34(7): 1684-1688.
- [17] Xiao X, Wang W, Li Y Q, et al. HSP90AA1-mediated autophagy promotes drug resistance in osteosarcoma [J]. J Exp Clin Cancer Res, 2018, 37(1): 201.
- [18] Chen Q, Zhou R R, Yang C, et al. Ergothioneine attenuates varicocele-induced testicular damage by upregulating HSP90AA1 in rats [J]. J Biochem Mol Toxicol, 2023, 37(4): e23301.
- [19] Sun P B, Wang Y Y, Gao T, et al. Hsp90 modulates human sperm capacitation via the Erk1/2 and p38 MAPK signaling pathways [J]. Reprod Biol Endocrinol, 2021, 19(1): 39.
- [20] Ren Q, Guo F, Tao S B, et al. Flavonoid fisetin alleviates kidney inflammation and apoptosis via inhibiting Src-mediated NF-κB p65 and MAPK signaling pathways in septic AKI mice [J]. Biomed Pharmacother, 2020, 122: 109772.
- [21] Collins A B, Zhao L, Zhu Z W, et al. Impact of COVID-19 on male fertility [J]. Urology, 2022, 164: 33-39.
- [22] Yu J W, Li S, Wang L, et al. Pathogenesis of Brucella epididymo-orchitis-game of Brucella death [J]. Crit Rev Microbiol, 2022, 48(1): 96-120.
- [23] Khanh V C, Fukushige M, Chang Y H, et al. Wharton's jelly mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles reduce SARS-CoV2-induced inflammatory cytokines under high glucose and uremic toxin conditions [J]. Stem Cells Dev, 2021, 30(15): 758-772.

- [24] Chen Y P, Jiao N, Jiang M, et al. Loganin alleviates testicular damage and germ cell apoptosis induced by AGEs upon diabetes mellitus by suppressing the RAGE/p38MAPK/NF- κ B pathway [J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(11): 6083-6095.
- [25] Ma Q Y, You X, Zhu K L, et al. Changes in the tight junctions of the testis during aging: Role of the p38 MAPK/MMP9 pathway and autophagy in Sertoli cells [J]. *Exp Gerontol*, 2022, 161: 111729.
- [26] Zeng Y X, Yang Q, Ouyang Y J, et al. Nickel induces blood-testis barrier damage through ROS-mediated p38 MAPK pathways in mice [J]. *Redox Biol*, 2023, 67: 102886.
- [27] Chen X W, Chu J H, Li L X, et al. Protective mechanism of selenium on mercuric chloride-induced testis injury in chicken via p38 MAPK/ATF2/iNOS signaling pathway [J]. *Theriogenology*, 2022, 187: 188-194.
- [28] Kohandel Z, Farkhondeh T, Aschner M, et al. Anti-inflammatory action of astaxanthin and its use in the treatment of various diseases [J]. *Biomed Pharmacother*, 2022, 145: 112179.
- [29] Sun H, Yang Z, Teng Z H, et al. DDX58 expression promotes inflammation and growth arrest in Sertoli cells by stabilizing p65 mRNA in patients with Sertoli cell-only syndrome [J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1135753.
- [30] Luo D D, He Z, Yu C X, et al. Role of p38 MAPK signalling in testis development and male fertility [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2022, 2022: 6891897.
- [31] Lee W Y, Park H J. T-2 mycotoxin Induces male germ cell apoptosis by ROS-mediated JNK/p38 MAPK pathway [J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2023, 262: 115323.

[责任编辑 兰新新]