

基于 Nrf2 信号通路改善少弱精子症的中药及其复方研究进展

李泉洋¹, 许佳艺¹, 蒲筱斌¹, 王 露¹, 杨子牧¹, 杨苗苗¹, 邵 晶^{1,2,3,4*}

1. 甘肃中医药大学药学院, 甘肃 兰州 730000

2. 西北中藏药省部共建协同创新中心, 甘肃 兰州 730000

3. 甘肃省中药监管科学研究中心, 甘肃 兰州 730000

4. 国家中医药管理局三级实验室(中药化学重点实验室), 甘肃 兰州 730000

摘 要: 男性精子数量少或活力不足是当前不孕症的重要原因之一, 核因子 E2 相关因子 2 (nuclear factor E2 related factor 2, Nrf2) 信号通路在精子发生和成熟过程中具有关键作用。临床研究发现 Nrf2 在少弱精子症 (oligoasthenospermia, OAS) 患者精液中的表达量较健康男性显著下调, 调控 Nrf2 通路可能成为改善 OAS 的重要途径之一。中药多组分、多靶点、多途径的作用特点在治疗 OAS 方面具有显著优势, 研究显示, 人参、枸杞子、菟丝子、淫羊藿等中药及其复方所含淫羊藿苷、人参皂苷 Rg₁、黄芪甲苷等有效成分可通过调控 Nrf2 信号通路, 进而达到提高睾丸生精功能, 增加精子密度与活动率的治疗作用。通过阐述 Nrf2 信号通路关键靶点与 OAS 的联系, 归纳总结近年来关于中药通过调控 Nrf2 信号通路治疗 OAS 的研究现状, 为中药及其复方治疗 OAS 的临床用药与研究思路提供指导和方向。

关键词: 少弱精子症; Nrf2 信号通路; 枸杞子; 菟丝子; 人参

中图分类号: R285 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2025)18-6809-14

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.18.029

Research progress on traditional Chinese medicine and its compound in improving oligoasthenospermia based on Nrf2 signaling pathway

LI Quanyang¹, XU Jiayi¹, PU Xiaobin¹, WANG Lu¹, YANG Zimu¹, YANG Miaomiao¹, SHAO Jing^{1,2,3,4}

1. College of Pharmacy, Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China

2. Collaborative Innovation Center for Traditional Chinese and Tibetan Medicine Construction by Provincial Department, Lanzhou 730000, China

3. Gansu Province Research Center for Regulatory Science of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China

4. National Administration of Traditional Chinese Medicine Third-Level Laboratory (Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Chemistry), Lanzhou 730000, China

Abstract: Low sperm count or lack of viability is one of the most important causes of infertility in men, and nuclear factor E2-related factor 2 (Nrf2) signalling pathway plays a key role in spermatogenesis and sperm maturation. Clinical studies have found that the expression level of Nrf2 in the semen of patients with oligoasthenospermia (OAS) is significantly downregulated compared with that of healthy men. The regulation of Nrf2 pathway may be one of the important ways to improve OAS. The multi-component, multi-target, and multi-pathway effects of traditional Chinese medicines (TCMs) have significant advantages in treatment of OAS. Studies have shown that some TCMs and their compound prescriptions, such as Renshen (*Ginseng Radix et Rhizoma*), Gouqizi (*Lycii Fructus*), Tusizi (*Cuscutae Semen*), Yinyanghuo (*Epimedii Folium*), and other active ingredients such as icariin, ginsenoside Rg₁, and astragaloside IV, can improve the spermatogenic function of testes, and increase sperm density and motility through the modulation of the Nrf2 signalling pathway. In this paper, the key targets of the Nrf2 signalling pathway and OAS are described, and the current status of research on treatment of OAS by TCMs through the modulation of the Nrf2 signalling pathway is summarized, with the aim of

收稿日期: 2025-05-28

基金项目: 2024 年兰州市第三批科技计划项目科技撑专项 (2024-3-35); 甘肃省药品检验研究院国家药监局中药材及饮片质量控制重点实验室项目 (2024GSMMPA-KL14); 甘肃省科技计划东西协作专项 (鲁甘科技协作项目) (22CX8NA068)

作者简介: 李泉洋, 男, 博士研究生, 研究方向为中药药效物质基础及质量控制。E-mail: 2628458688@qq.com

*通信作者: 邵 晶, 女, 教授, 从事中药药效物质基础及质量控制与产品开发。E-mail: cn221@163.com

providing guidance and direction for the clinical use of TCMs and their compound prescriptions in treatment of OAS.

Key words: oligoasthenospermia; nuclear factor E2 related factor 2 signaling pathway; *Lycii Fructus*; *Cuscutae Semen*; *Ginseng Radix et Rhizoma*

近年来,由于环境、生活方式等多重复杂因素导致不孕不育症发生率显著提高,影响全球近 15% 育龄夫妇的生育健康,其中男性不育占 50% 以上。在男性不育症的众多原因中,精子数量减少和精子活力降低是最常见的原因。据统计,在过去的 45 年,全球成年男性平均精子数量下降了 62.3%,精子活力亦迅速降低,趋势仍未扭转^[1]。临床上将少精即精子浓度 $<1.5 \times 10^7$ 个/mL 或精子总数 $<3.9 \times 10^7$ 个/mL 和弱精即前向运动率 (progressive, PR) $<32\%$ 或前向运动精子和精子总活动力 (progressive + non-progressive, PR + NP) $<40\%$ 总称为少弱精子症 (oligoasthenospermia, OAS) ^[2]。目前, OAS 的病因和发病机制尚不明确,遗传与免疫因素、内分泌紊乱、精神心理异常、泌尿生殖系统感染、性功能障碍、精索静脉曲张、慢性前列腺炎等基础疾病或经受高温、辐射、化学药物等诱导,都可导致其发生。OAS 的发生与睾丸组织氧化应激产生的过量活性氧密切相关,活性氧可通过诱发线粒体膜电位异常、DNA 碎片、核自凝等降低精子活力^[3]。

核因子 E2 相关因子 2 (nuclear factor E2 related factor 2, Nrf2) 是氧化应激的重要调节因子,研究显示 Nrf2 信号通路与男性生殖密切相关,其在精子发生和成熟过程的生物合成中扮演着重要角色, Nrf2 在 OAS 患者精液中表达量较正常男性显著下调^[4]。中医药治疗 OAS 疗效确切,具有独特优势,其作用机制可能与调控 Nrf2 信号通路关系密切。本文对 Nrf2 信号通路调控 OAS 及中药基于该通路治疗 OAS 的国内外相关研究进行归纳总结,为中药及复方治疗 OAS 的临床用药与研究思路提供指导和方向。

1 Nrf2 信号通路构成及调控

Nrf2 属于碱性亮氨酸拉链转录因子的 CNC 亚家族中的一种可应对各种细胞应激的转录因子,在调节机体抗氧化应答的过程中具有重要作用,其具有 7 个保守的 Nrf2-ECH 同源结构域,其中 Neh1 结构的 CNC-bZIP 域能够识别抗氧化反应元件 (antioxidant response element, ARE),与细胞核内小肌腱膜纤维肉瘤 (small musculoaponeurotic fibrosarcoma, sMAF) 蛋白结合和二聚化,形成异

二聚体并激活基因转录, Neh2 结构域与 Kelch 样 ECH 相关蛋白 1 (Kelch-like ECH-associated protein 1, Keap1) 的 Kelch 结构域特异性相互作用,并介导 Nrf2 泛素化。在正常稳态条件下, Nrf2 与 Keap1 结合,存在于细胞质中,不断被 Cul3 E3 泛素连接酶泛素化,后被蛋白酶体降解。当活性氧大量蓄积引起机体发生氧化应激时, Keap1 可以直接检测到细胞内环境中的氧化变化,进一步发生共价修饰,使 Nrf2 与 Keap1 解离并转入细胞核,核中游离的 Nrf2 与 sMAF 蛋白二聚化,并与 ARE 结合,进一步调节抗氧化酶和编码抗氧化基因的表达^[5],如血红素加氧酶-1 (heme oxygenase-1, HO-1)、烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸 (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH)、NADPH 醌氧化还原酶 1 (NADPH quinoneoxidoreductase 1, NQO1)、谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathione peroxidase, GSH-Px)、超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)、谷氨酸-半胱氨酸连接酶 (glutamate-cysteine ligase, GCL) 等,从而减轻细胞氧化应激,恢复氧化还原稳态^[6]。Nrf2 信号通路调控机制见图 1。

2 Nrf2 信号通路在 OAS 中的作用

2.1 调控氧化应激

氧化应激参与 OAS 发病及病理过程,由于精子膜富含多不饱和脂肪酸,过量的活性氧会导致精子膜脂质过氧化、DNA 损伤和蛋白质降解。活性氧引起的氧化损伤使睾丸组织中抗氧化酶活性降低,进而导致丙二醛含量增加,从而损害睾丸中生精细胞排列与精子膜的流动性和通透性,破坏睾丸组织中细胞的结构,严重影响精子的运动能力和受精能力^[7]。Nakamura 等^[8]对雄性 Nrf2^{-/-}小鼠与野生型小鼠的生育能力研究发现,与野生型雄鼠相比,6 月龄敲除鼠的睾丸与附睾精子数目分别降低 44%、65%,附睾精子活力降低 66%。深入研究发现 2~4 月龄的敲除鼠较野生雄鼠睾丸和附睾的脂质过氧化和睾丸生殖细胞凋亡水平升高,谷氨酰半胱氨酸合成酶催化亚基 (glutamate-cysteine ligase catalytic subunit, GCLC)、谷胱甘肽 S-转移酶 $\alpha 3$ 、超氧化物歧化酶 2 (superoxide dismutase 2, SOD2)、HO-1 水平降低,同时 Nrf2^{-/-}雄鼠的生精小管表现出中度至

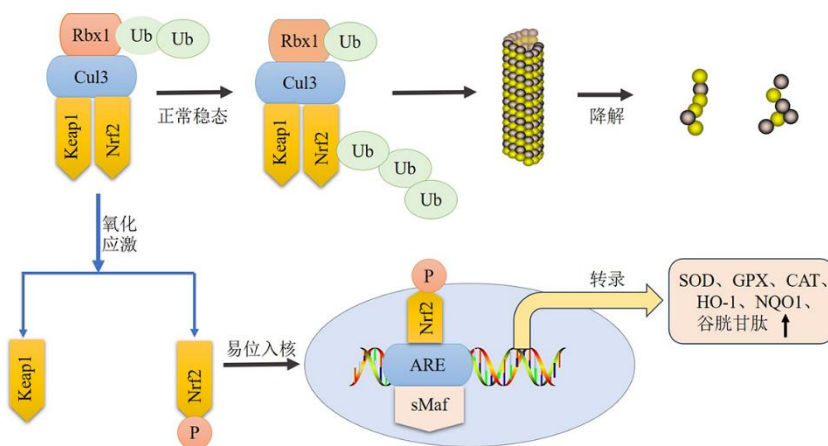


图 1 Nrf2 信号通路的调控机制

Fig. 1 Regulatory mechanism of Nrf2 signaling pathway

重度空泡化,提示 *Nrf2* 基因对精子活性与数量具有直接影响,其机制可能与 Nrf2 介导的氧化应激有关。临床研究发现, *Nrf2* mRNA 水平与精子功能参数(浓度、前向运动能力、不动性、活力和形态学)、精液中 SOD 活性及过氧化氢酶(catalase, *CAT*)、*SOD2* mRNA 水平之间存在显著相关性^[9]。OAS 患者精浆中 Nrf2 的 2 种单倍型 GCC 和 TCT 转录能力显著降低,提示 Nrf2 启动子中的功能多态性与人类精子发生缺陷密切相关^[10]。同时大样本临床研究证实^[11], OAS 患者精子中 HOX 转录反义 RNA 的表达较低,导致 Nrf2 启动子和 Nrf2 表达中的组蛋白 H4 乙酰化减少,从而使 Nrf2 表达的下调。

Nrf2/Keap1 抗氧化反应元件通路是抵抗氧化应激的重要防御系统, Keap1 抑制剂(甲基巴多索隆)与 Keap1 结合破坏半胱氨酸残基,进而上调生精小管中 Nrf2 的核转位,激活 NQO1 和 HO-1,增加生精小管中增殖标志物 Ki-67 阳性细胞的数量并改善精子生成,表明通过抑制生精小管的 Keap1 活性,可间接改善 Nrf2/Keap1 调控的氧化应激状态^[12]。Otasevic 等^[13]使用抗氧化剂 SOD 模拟物(M40403)干预在 Tyrode 培养基中孵育 3 h 的精子细胞,发现 M40403 能够降低 $O_2^{\cdot -}$ 水平,增加一氧化氮水平,恢复线粒体膜电位及一氧化氮合酶的表达,引发显著的 Nrf2 核转位,上调 SOD、CAT 和 GSH-Px,并增加精子活力,提示 M40403 可能通过一氧化氮/Nrf2 信号传导改善精子状态。此外,血糖升高会激活睾丸中活性氧的过度产生,在链脲佐菌素(streptozotocin, STZ)诱导的 1 型糖尿病引起的 OAS 并发症大鼠模型中发现,大鼠睾丸中沉默信息调节因子 1(silent information regulator 1, SIRT1)表达

显著下调,而 Keap1 蛋白水平及 p38 丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)和 c-Jun 氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)的磷酸化水平上调, Keap1 蛋白水平的上调使 Nrf2 与 Keap1 的结合更多,与 DNA 的结合较少,导致抗氧化酶的转录水平降低,进而无法激活细胞抗氧化防御^[14]。

2.2 调控细胞凋亡

细胞凋亡是生精细胞降解的主要机制,生精细胞通过凋亡清除多余或异常细胞,以维持生精细胞的数量和质量,保证睾丸发挥正常的生理功能,研究发现 Nrf2 的过表达可促进 HO-1 和 NQO1 的活性,并抑制核因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)表达以抑制细胞凋亡^[15]。此外,Janus 激酶 2(Janus kinase 2, JAK2)抑制剂(AG490)可显著抑制 JAK2 的表达,维持精子发生和支持细胞连接的完整性,同时使 Keap1/Nrf2 通路及其抗氧化酶的表达正常化,减轻睾丸氧化应激状态,防止生殖细胞凋亡^[16]。

2.3 调控铁死亡

铁死亡由铁依赖性脂质过氧化通过芬顿反应和谷胱甘肽过氧化物酶 4(glutathione peroxidase 4, GPX4)/Nrf2/溶质载体家族 7 成员 11(solute carrier family 7 member 11, SLC7A11)轴失活驱动,在氧化应激、环境毒素暴露或代谢紊乱的条件下影响精子生成^[17]。Nrf2 通过上调铁代谢相关基因,如铁调素和铁转运蛋白表达,调控细胞内铁离子含量,防止铁过载和铁依赖的脂质过氧化反应,抑制铁死亡发生^[18]。研究发现 Nrf2^{-/-}小鼠的 GPX4 mRNA 水平显著低于野生型小鼠,推测 GPX4 可能是 Nrf2 转录靶点。Nrf2^{-/-}小鼠睾丸中丙二醛和前列腺素-内过氧

化物合酶 2 mRNA 表达增加, 但 NADPH 含量降低, 在使用铁死亡抑制剂治疗后, 可逆转精子浓度和活力的下降, 提示 Nrf2 敲除可使下游 GPX4 下调, 导致生精细胞发生铁死亡, 进而引发 OAS^[19]。

2.4 调控 DNA 修复

氧化应激产生的活性氧可直接攻击精子 DNA, 导致 DNA 损伤。Nrf2 信号通路通过调控抗氧化酶和 DNA 修复酶的表达, 发挥对精子 DNA 的保护作

用, DNA 修复酶如 8-羟基鸟嘌呤糖苷酶 1 (8-oxoguanine DNA glycosylase 1, OGG1) 等在 Nrf2 的调控下表达增加, 能够及时识别并修复受损的 DNA, 维持精子 DNA 的完整性^[20]。

综上, Nrf2 通路下游的关键效应分子在 OAS 中发挥着重要作用, 可以通过调控睾丸组织氧化应激、铁死亡、凋亡及精子 DNA 修复等多途径参与 OAS 的发展, 作用机制见图 2。

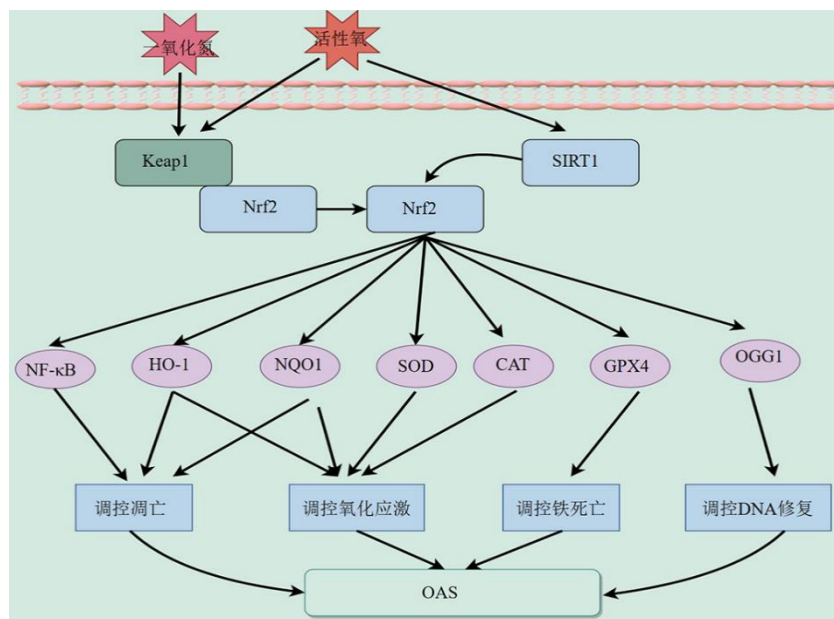


图 2 Nrf2 信号通路在 OAS 中的作用机制

Fig. 2 Mechanism of action of Nrf2 signaling pathway in OAS

3 中药调控 Nrf2 信号通路治疗 OAS

3.1 中医学对 OAS 的认识

OAS 在中医学中属于“不育”“精少”“精冷”等范畴。《素问·上古天真论篇》^[21]曰:“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”, 指出肾气充足是男性具有生育能力的前提。汉代张仲景《金匮要略·血痹虚劳脉病证治》^[22]曰:“男子脉浮弱而澹, 为无子, 精气清冷。”指出本病属虚劳之证, 肾阳虚衰, 无力温养精气, 导致无子。隋代《诸病源候论》^[23]中记载:“丈夫无子者, 其精清如水, 冷如冰铁, 皆为无子之候, 男子脉得微弱而涩, 为无子, 精气清冷也。”可知精血衰少而脉涩, 肾阳不足而脉弱, 虚阳上浮, 精气不敛而脉浮。阴阳亏损, 肾气不足, 精血清冷, 则难以有子。综上, 古代医家认为本病多为虚证, 病位在肾, 肾中阴阳亏虚, 肾精不足而致本病, 故治疗多以补阳填精为主。

近年来, 现代医家对 OAS 病因病机的研究日益增多, 关注点不仅局限于肾, 出于中医整体观的特点, 更加关注脏器间的联动协同及疾病互累效应。如肾精亏虚不能温煦脾脏, 脾失健运, 则气血化生乏源, 先天之精不得滋养, 导致精子数量下降。又如肝肾同源, 精血互化, 肝气条达, 则肾精充足。阴虚多生内热, 灼伤津液, 使营血被耗, 血液黏滞成瘀; 肾阳温煦无力, 致血行无力, 血停留滞最终成瘀, 血得温而行, 得寒而凝, 遇寒易凝而成瘀。故从肝、脾、瘀血论治男性不育亦未尝不可^[24]。本病的病因病机复杂, 现代名老中医对其认识尚有不同, 未形成统一的标准, 具体见表 1。综上, OAS 病位在肾、脾、肝, 病因包括先天不足、房劳过度、饮食不节、内伤七情等, 病机则以肾虚为本, 又与湿热、血瘀、肝郁等关系密切, 涉及脏腑、气血、外邪, 虚实夹杂是当下医家对 OAS 的普遍认识。

表 1 名老中医对 OAS 的病机分析及治则

Table 1 Analysis of pathogenesis and treatment principles of OAS by renowned traditional Chinese medicine experts		
病机	治则	文献
“阳化气”不足，“阴成形”失衡	补阳益精、祛痰化瘀	25
脾肾两虚	益肾健脾、扶阳生精	26
肾虚肝郁	肝肾同补、疏肝补肾、滋肾清肝	27
脾肾不足	补肾益精、温脾益气、种嗣衍宗	28
肾虚夹湿热瘀毒虫	补肾益精、阴阳双补、清利活血解毒	29
脾肾两虚、湿热瘀毒	补肾健脾、清热利湿、化瘀解毒	30
脾肾亏虚，兼夹湿热、血瘀、痰浊等	补肾健脾生精、疏肝理气、清热利湿、活血化瘀	31
脾肾两虚、气血亏虚、阴阳失衡	补肾填精、温阳健脾、养血益气	32
脾肾阳虚、肝肾阴虚、肺肾阴虚、夹湿兼瘀	滋补肝肾、健脾益肾、润肺补肾、清热祛湿、活血化瘀	33
肾精亏损、脑心肾失调、精室失用	补肾填精益脑、补中寓泻、兼利精室	34
肾虚精浊	调肾清精	35
痰湿瘀阻	祛湿化痰、活血通络	36
气血失和	补气生血、补肾生精、理气活血	37
肾虚，兼以脾虚、肝郁、湿热、血瘀	补肾生精为本，兼顾健脾祛湿、疏肝化瘀	38

3.2 中药活性成分研究

3.2.1 萜类化合物 萜类化合物包括单萜、倍半萜、二萜等。车叶草苷是从杜仲提取得到的一种环烯醚萜类化合物，具有良好的抗炎和抗氧化药理活性，研究发现^[39]车叶草苷能够上调 OAS 大鼠睾丸组织中 Keap1、Nrf2、HO-1 蛋白水平，改善精子活力、精子浓度，联用 Nrf2 抑制剂（鸦胆苦醇）后 Keap1、Nrf2、HO-1 表达水平显著降低，提示车叶草苷可能通过激活 Keap1/Nrf2 信号通路，提高睾丸组织的抗氧化能力，从而改善 OAS。桦木酸是一种天然的羽扇豆烷型五环三萜，具有抗氧化和抗炎特性，研究发现桦木酸 0.5 mg/kg 能够显著上调睾丸组织中 Nrf2 和 HO-1 的蛋白表达，增加谷胱甘肽、CAT、SOD 活性，降低活性氧和丙二醛水平，提示桦木酸可能通过激活 Nrf2 通路降低玉米赤霉烯酮引起的睾丸氧化应激^[40]。综上，萜类化合物通过激活 Nrf2 通路，上调 HO-1 表达，提高睾丸组织的抗氧化能力，进而改善精子活力与浓度。

3.2.2 皂苷类化合物 皂苷类化合物包括甾族皂苷和三萜皂苷 2 大类别，在自然界中广泛分布。人参皂苷 Rg₁ 是人参重要的活性成分之一，具有显著的抗氧化活性，研究发现^[41]人参皂苷 Rg₁ 可阻止热应激所致的睾丸质量和睾丸指数下降，减轻睾丸组织结构损伤，改善精子浓度和活力下降，同时能够上调小鼠精母 GC2 细胞中 Nrf2 与 HO-1 蛋白表达及 Nrf2 蛋白靶基因 *GCLC*、*GCLM* 和 *NQO1* 相对表达。由此可知，激活 Nrf2/HO-1 信号通路可能是

人参皂苷 Rg₁ 改善 OAS 的重要途径之一。

3.2.3 多酚类化合物 姜黄素是姜科植物姜黄根茎中的一种天然多酚类化合物，具有抗氧化、抗炎、清除自由基等作用。Zhou 等^[42]以弱精子症患者射精的精子为模型，发现姜黄素 100 nmol/L 处理后，其活性氧、丙二醛水平显著下调，顶体反应增加。而姜黄素和鸦胆苦醇联合干预后，Nrf2 蛋白水平下调，精子的 PR 与（PR+NP）值显著低于姜黄素组，提示姜黄素可能诱导 Nrf2 上调，减少活性氧的产生，保护 OAS 患者的精子。花青素是水溶性类黄酮色素，在植物药中广泛存在。Dong 等^[43]研究发现花青素 500 mg/kg 可有效改善 CdCl₂ 建立的睾丸损伤小鼠模型，与模型组小鼠相比，花青素组小鼠精子密度、活力、（PR+NP）值、睾丸 Nrf2、SIRT1 基因与蛋白表达显著上调，畸形精子指数、Keap1 和 NADPH 氧化酶 4 基因与蛋白表达显著下调，提示花青素能够降低 Keap1 的表达，减轻其对 Nrf2 的抑制作用，促进 Nrf2 向细胞核的易位，调控下游靶点的表达，改善模型小鼠的睾丸损伤。飞燕草素是花青素的一种单体，具有独有的糖苷配基形式，表现出较高的抗氧化活性，研究发现^[44]其能够激活 Cd 中毒雄性大鼠睾丸组织中的 Nrf2/HO-1 信号通路，降低丙二醛水平，增加 SOD、GSH-Px、CAT、谷胱甘肽、T-AOC 等抗氧化剂水平，减轻氧化应激反应，增加精子数量，改善生殖激素水平。鞣花酸是一种来源于没食子酸代谢的常见多酚，ALTamimi 等^[45]研究发现鞣花酸能够显著提高 STZ 诱导的糖尿病

模型大鼠血清中睾酮水平,降低卵泡刺激素和促黄体生成素的水平,并显著上调睾丸组织中 B 淋巴细胞瘤-2 (B-cell lymphoma-2, Bcl-2)、类固醇急性调节蛋白、3 β -羟基类固醇脱氢酶 1 (3 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1, 3 β -HSD1)、11 β -HSD1、Nrf2 转录及蛋白表达水平,保护生精小管的形态,防止精子数量、活力和存活率降低,减少精子异常。然而在联用鸦胆苦醇后,上述指标发生了回调,提示鞣花酸可能通过激活 Nrf2 通路,增强睾丸组织的抗氧化能力,进而改善 STZ 诱发的 OAS。芥子酸又称 4-羟基-3,5-二甲氧基肉桂酸,是芥子有效成分之一,Tuncer 等^[46]研究发现其能有效改善精子活力下降、精子密度降低及死精子和畸形精子比例,以剂量相关性增加 Nrf2、HO-1、NQO1 mRNA 转录水平,上调 GSH-Px、SOD、CAT 及谷胱甘肽含量,抑制睾丸氧化应激,提高精子质量。综上,多酚类化合物在抗氧化和精子保护方面展示出显著的潜力,能够减轻氧化应激反应,增加精子数量,改善生殖激素水平,为 OAS 治疗提供了新的治疗策略。

3.2.4 其他化合物 萝卜硫素是一种由硫代葡萄糖苷水解衍生的异硫氰酸酯,存在于大量十字花科植物中,Yang 等^[47]发现其能显著增强 CdCl₂ 诱导的 OAS 大鼠睾丸组织中 Nrf2、HO-1、 γ -谷氨酰半胱氨酸合成酶 (γ -glutamylcysteine synthetase, γ -GCS)、GSH-Px、NQO1 mRNA 及蛋白表达,增强体内 T-SOD、谷胱甘肽等抗氧化应激分子的浓度,改善精子质量,提示萝卜硫素可能通过激活 Nrf2/ARE 信号传导来防止 CdCl₂ 诱导的睾丸损伤。灵芝多糖肽是从灵芝提取的多糖肽的混合物,Zhang 等^[48]研究发现其能显著增加睾丸组织中 SOD、谷胱甘肽、CAT、Nrf2、HO-1 的表达,下调丙二醛和 Keap1 表达,降低氧化应激,减少化疗损伤,在精子生成中发挥保护作用。黄精多糖是黄精的主要活性成分,研究发现黄精多糖能调节 H₂O₂ 诱导的小鼠睾丸 TM4 细胞 Nrf2 核转位,上调 Nrf2、HO-1、GPX4、NQO1 等靶基因,在联合鸦胆苦醇干预下,GPX4 蛋白下调,抗氧化酶活力显著回调^[49],提示其可能通过激活 Nrf2 通路,减轻 TM4 细胞的氧化应激状态。

此外,大量中药有效成分展现出治疗 OAS 的潜在价值,具有调控 Nrf2 信号通路治疗 OAS 的成分有茶黄素-3'-没食子酸酯、银松素、金丝桃苷、白桦脂酸等,其主要通过上调 Nrf2、NQO1、HO-1,下调 Keap1 等靶点发挥减轻氧化应激反应,减轻铁

死亡与细胞凋亡等作用。其具体代表性成分及作用机制见表 2。

3.3 单味中药及药对研究

单味中药及药对在 OAS 治疗中广泛应用,尤其是补益类中药通过调控 Nrf2/HO-1 通路发挥生殖保护作用。黄精是补脾益肾的代表性中药,研究发现^[72]黄精可显著促进衰老大鼠睾丸组织中 Nrf2 核移位,显著上调 Nrf2、HO-1、NQO1 蛋白表达,改善睾丸组织形态,增加生精上皮厚度及生精细胞数目,提高睾丸组织抗氧化能力,减轻衰老大鼠睾丸生精功能衰退。肉苁蓉是临床常用的扶阳固精之品,研究发现^[73]肉苁蓉水提物可显著抑制环磷酰胺对小鼠睾丸组织的损伤,其能显著上调睾丸组织 Nrf2、HO-1、NQO1 mRNA 表达水平,增加睾丸组织抗氧化酶活性。菟丝子-枸杞子药对是临床常用的改善睾丸生精功能药对,具有益肾生精的功效。研究发现^[74]经菟丝子-枸杞子颗粒、总黄酮干预后,OAS 大鼠睾丸组织中 SIRT1、Nrf2 mRNA 及蛋白表达显著升高,支持细胞紧密连接、线粒体微结构得到不同程度的修复,且闭合蛋白、闭锁小带蛋白-1、间隙蛋白 43、 β -连环蛋白 (β -catenin) mRNA 及蛋白表达水平显著上调,提示该药对通过调控睾丸组织 SIRT1/Nrf2 表达,增强抗氧化应激能力,上调血睾屏障相关蛋白表达水平,修复血睾屏障损伤,进而改善 OAS 大鼠的生精功能,且其所含总黄酮可能为发挥药物治疗作用的物质基础。

此外,山楂^[75]、桑寄生^[76]、迷迭香^[77]、银杏叶标准化提取物 (24%黄酮苷和 6%萜烯内酯)^[78]均能够上调非酒精性脂肪肝模型、STZ 诱导的糖尿病模型及甲氨蝶呤、重铬酸钾诱导的生殖损伤模型鼠睾丸组织中 Nrf2 表达水平及其调控的抗氧化酶水平 (NQO1、HO-1、SOD 等),进而改善睾丸的病理状态,促进有害外源性化学物质及其代谢物的清除。综上,黄精、肉苁蓉、菟丝子-枸杞子药对等通过调控 Nrf2/HO-1 通路,改善氧化应激、修复血睾屏障损伤、减轻铁死亡,展现出显著的生殖保护作用。

3.4 中药复方研究

临床对 OAS 的治疗,多以经典名方或名老中医经验方加减配伍使用,多味中药的协同使用能够对 OAS 动物体内的 Nrf2 信号传导通路产生多方面立体调控作用,临床根据 OAS 患者所属的中医证候不同进行辨证论治,常单独或联合用补肾益精、补脾益肾、补肾泻火等方剂,常用方剂类型见图 3。

表 2 基于 Nrf2 信号通路中药有效成分干预 OAS 的研究

Table 2 Research on active components of traditional Chinese medicine in intervention of OAS based on Nrf2 signaling pathway

有效成分	动物模型或造模剂	作用对象	作用机制	文献
茶黄素-3'-没食子酸酯	D-半乳糖	ICR 小鼠	上调 <i>Nrf2</i> 、过氧化物酶 2、抗氧化基因 1 的 mRNA 表达, 减轻氧化应激	50
银松素	<i>Nrf2</i> ^{-/-} 小鼠	<i>Nrf2</i> ^{-/-} 小鼠	下调 Bax、p53 蛋白, 抑制凋亡	51
苦参素	STZ	SD 大鼠	上调 <i>Nrf2</i> 、 <i>HO-1</i> 的 mRNA 表达; 上调 <i>Nrf2</i> 、p- <i>Nrf2</i> 、 <i>HO-1</i> 蛋白表达, 减轻氧化应激	52
金丝桃苷	H ₂ O ₂	GC2 细胞	下调 Keap1 的 mRNA 及蛋白表达; 上调 NEs- <i>Nrf2</i> 、 <i>HO-1</i> 等蛋白表达, 减轻氧化应激	53
黄芪甲苷	环磷酰胺	SD 大鼠	下调 Fe ²⁺ 、转铁蛋白受体 1 表达; 上调 SLC7A11、GPX4、铁蛋白重链 1、 <i>Nrf2</i> 表达, 抑制铁死亡	54
石榴多酚	醋酸铅	ICR 小鼠	上调 <i>Nrf2</i> 、 <i>HO-1</i> 、GCL 蛋白表达, 减轻氧化应激	55
百里香酚	STZ	Wistar 大鼠	下调 Bax、环氧合酶-2、NF-κB 蛋白表达; 上调 Bcl-2、 <i>Nrf2</i> 、 <i>HO-1</i> 蛋白表达	56
桃叶珊瑚苷	雷公藤内酯醇	ICR 小鼠	上调 <i>Nrf2</i> 、NQO1、 <i>HO-1</i> 的 mRNA 及蛋白表达, 下调 Keap1 的 mRNA 及蛋白表达, 减轻氧化应激	57
番茄红素	DEHP	ICR 小鼠	下调 GPX1、NQO1、GPX4、 <i>HO-1</i> 、SOD2、 <i>Nrf2</i> 的蛋白表达, 减轻氧化应激	58
槲皮素	左乙拉西坦	Wistar 大鼠	上调 <i>Nrf2</i> 、 <i>HO-1</i> 蛋白表达, 减轻氧化应激	59
淫羊藿苷	STZ	C57BL/6J (<i>Nrf2</i> 敲除) 小鼠	上调 <i>Nrf2</i> 、 <i>HO-1</i> 、NQO1 蛋白表达, 减轻氧化应激	60
咖啡酸	STZ	Wistar 大鼠	上调 <i>Nrf2</i> 蛋白表达, 减轻氧化应激	61
七叶皂苷 A	STZ	Wistar 大鼠	上调 <i>Nrf2</i> 的 mRNA 及蛋白表达, 下调 Keap1 mRNA 及蛋白表达, 减轻氧化应激	62
去甲二氢愈创木酸内酯	睾丸移位	SD 大鼠	上调 <i>Nrf2</i> 、 <i>HO-1</i> 的 mRNA 及蛋白表达, 减轻氧化应激	63
白藜芦醇	PD-1 抑制剂	B16 黑色素瘤 C57BL/6J	上调 <i>Nrf2</i> 蛋白、 <i>Nrf2</i> 、 <i>HO-1</i> 、Keap1、NQO1 的 mRNA 及蛋白表达, 减轻氧化应激	64
绿原酸	NaAsO ₂	ICR 小鼠	下调脂质过氧化物、一氧化氮水平; 上调谷胱甘肽、SOD、CAT 等水平, 减轻氧化应激	65
金丝桃苷	雷公藤内酯	ICR 小鼠	上调 <i>Nrf2</i> 蛋白及 <i>CAT</i> 、 <i>Mn-SOD</i> 、 <i>HO-1</i> 、 <i>NQO1</i> 的 mRNA 表达; 下调 Keap1 的蛋白表达, 减轻氧化应激	66
芒果苷	DEHP	白化大鼠	上调 <i>Nrf2</i> 、 <i>HO-1</i> 的 mRNA 表达, 减轻氧化应激	67
靛红	白消安	ICR 小鼠	上调 <i>Nrf2</i> 、SLC7A11、GPX4 蛋白表达; 下调 p53、Keap1、 <i>HO-1</i> 蛋白表达, 减轻氧化应激与铁死亡	68
肉豆蔻酸	STZ	SD 大鼠	上调 <i>Nrf2</i> 、NQO1、 <i>HO-1</i> 的 mRNA 及蛋白, 下调 Keap1 的 mRNA 表达, 减轻氧化应激	69
香豆酸	双酚 A	SD 大鼠	上调 <i>Nrf2</i> 、 <i>HO-1</i> 蛋白表达, 减轻氧化应激	70
芫花素	黄曲霉毒素 B	SD 大鼠	上调 <i>Nrf2</i> 、CAT、SOD、GPX; 下调 <i>HO-1</i> 蛋白, 减轻氧化应激	71

PD-1-程序性细胞死亡蛋白-1; Bax-Bcl-2 关联 X 蛋白; DEHP-邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯。

PD-1-programmed cell death protein 1; Bax-Bcl-2 associated X protein; DEHP-di-2-ethylhexyl phthalate.

3.4.1 补脾益肾类方剂 参苓白术散功效以健脾祛湿助运为主, 补先天以养后天。男子睾丸生精功能障碍多为脾肾两虚, 不能相滋相生, 与参苓白术散的功效益治高度吻合。研究发现^[79]高尿酸生精功能障碍模型小鼠睾丸组织 Keap1、细胞质 *Nrf2* 蛋白表达量明显上调, 细胞核 *Nrf2*、*HO-1*、GPX4、SLC7A11 蛋白表达量及精子密度和活动率均明显

下调, 给予参苓白术散和铁死亡抑制剂干预后, 上述指标均被逆转, 提示参苓白术散可通过 *Nrf2* 调控 *HO-1*、GPX4、SLC7A11 蛋白表达, 抑制活性氧升高, 进而抑制睾丸细胞铁死亡。续断种子方具有补脾益肾, 和营生精之功效, 郑翼驰等^[80]研究发现续断种子方能够有效提升精子质量, 大幅度增加精子数量。给药组大鼠睾丸组织中 *Nrf2*、*HO-1* 基因表

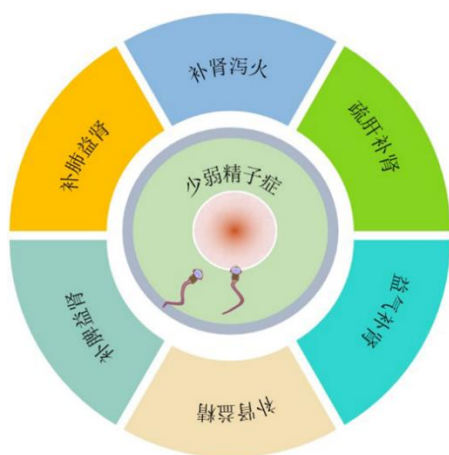


图3 中药复方基于 Nrf2 信号通路治疗 OAS 的方剂分类

Fig. 3 Classification of traditional Chinese medicine compound prescriptions for treating OAS based on Nrf2 signaling pathway

达含量与棕黄色阳性表达的细胞数量较模型组明显上调,提示其可能通过调控 Nrf2/HO-1 通路修复 OAS 大鼠睾丸组织氧化应激损伤,保护睾丸组织结构。加味天雄散是经典名方天雄散的化裁方,研究发现^[81]加味天雄散能够上调睾丸组织中 Nrf2 mRNA 与 Nrf2、 γ -GCS、HO-1 等蛋白表达及 SOD 水平,下调 Keap1 mRNA 及蛋白表达、丙二醛水平,提示加味天雄散能够通过调节弱精子症大鼠精子 Keap1/Nrf2 通路及下游 γ -GCS、HO-1 等蛋白表达,调控氧化应激反应,从而改善精子活力。强精煎是经过长期临床实践总结出来的治疗 OAS 的有效验方,研究发现^[82]强精煎可以明显改善 OAS 大鼠附睾组织中 SOD、GSH-Px、丙二醛、乳酸脱氢酶、 α -葡萄糖苷酶、果糖的含量,上调 Nrf2、SDH mRNA 表达,提示强精煎可能通过激活 Nrf2 通路及调控睾丸组织能量代谢,进一步改善 OAS 大鼠的氧化应激状态。

3.4.2 补肺益肾类方剂 百合育子方是名老中医治疗 OAS 的经验方,毕佳杰等^[83]研究发现百合育子方可以提高 OAS 大鼠的精子质量,上调睾丸组织中 Nrf2、Keap1、HO-1 和组蛋白去乙酰化酶 2 蛋白的表达,下调丙二醛,上调 SOD、GSH-Px 水平,提示其可以通过激活 Keap1/Nrf2/HO-1 信号通路,改善 OAS 大鼠睾丸的氧化应激状态,进而恢复精液参数。

3.4.3 补肾泻火类方剂 二仙汤是针对肾精不足,相火偏旺而创立的名方,研究发现^[84]二仙汤可上调 OAS 小鼠睾丸组织 Nrf2、HO-1 表达,下调 Keap1 表达,下调睾丸组织过量的活性氧、丙二醛,减轻

睾丸组织氧化损伤,提升精子密度和活动率,改善睾丸曲细精管与生殖细胞的病变,提示二仙汤改善睾丸组织氧化应激的机制可能为调控 Keap1/Nrf2/HO-1 通路。

3.4.4 疏肝补肾类方剂 疏肝补肾毓麟汤具有肝肾并补,气血同调的作用,能有效改善精子质量,提升精子活力。江晓翠等^[85]发现经疏肝补肾毓麟汤及铁死亡抑制剂干预后,OAS 小鼠睾丸组织铁沉积与 Keap1 表达显著下调,Nrf2、SLC7A11、GPX4 表达显著上调,提示疏肝补肾毓麟汤可能通过上调 Nrf2 蛋白表达,激活 Nrf2 调控的抗氧化应激通路,清除睾丸组织过量活性氧,抑制睾丸细胞铁死亡,来发挥改善睾丸生精功能和精子质量的作用。

3.4.5 益气补肾类方剂 强精片具有益气、补肾、强精功效,Li 等^[86]研究发现与 OAS 模型组相比,强精片组大鼠睾丸组织中 HO-1、Keap1 和 p-Nrf2 蛋白水平显著上调。鸦胆苦醇与强精片联合干预后,大鼠睾丸 p-Nrf2 水平显著降低,提示激活 Keap1/Nrf2/HO-1 通路是强精片改善 OAS 大鼠精子质量和生殖功能的重要途径。三才连梅颗粒是根据《温病条辨》之名方“三才汤”及“连梅汤”加减化裁而得,具有养阴清热、益气补肾的作用。研究发现糖尿病患者体内的糖基化终末产物等代谢产物易诱发机体过度的氧化应激反应,氧化应激产生的活性氧、丙二醛等物质损伤睾丸生精细胞线粒体,激活 Nrf2 信号通路可明显减轻睾丸的氧化应激损伤,三才连梅颗粒能上调糖尿病小鼠睾丸 Nrf2 的表达,激活下游抗氧化反应元件 HO-1 的表达,减轻睾丸氧化应激损伤,下调 p62、 β -微管相关蛋白 1 轻链 3 (microtubule-associated protein1 light chain 3, LC3) -II/I 等自噬相关蛋白的表达,同时增加 Bcl-2 的表达和 Bcl-2-Bec1in1-Vps34 复合物的形成,抑制 Bec1in1 介导的细胞自噬,从而抑制生精细胞过度自噬,减轻生精细胞凋亡,提高糖尿病小鼠的生精功能^[87]。

3.4.6 补肾益精类方剂 龟鹿二仙胶具有滋补肝肾、益精养血、强壮筋骨等功效,研究发现^[88-89]龟鹿二仙胶能够上调 OAS 大鼠睾丸组织中 HO-1 和核内 Nrf2 的蛋白表达,下调 Keap1 和细胞质 Nrf2 蛋白表达,提示龟鹿二仙胶可能通过 Keap1/Nrf2/HO-1 通路改善 OAS 大鼠模型的精子质量与睾丸组织损伤。金匱肾气丸具有补益肾阳的功效,蒋平等^[90]研究发现金匱肾气丸能上调 Nrf2、HO-1 基因的表

达,下调凋亡基因半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3 (cystein-aspartate protease-3, Caspase-3) 的表达。表明金匱肾气丸通过上调 Nrf2 的表达,促进 Nrf2 入核,上调 Nrf2 介导的多种抗氧化酶 NQO1、HO-1、SOD 等的表达,修复环磷酰胺导致小鼠睪丸的氧化损伤,恢复睪丸的生精功能。补肾活血方由金保方教養精胶囊加減化裁而成,有补肾填精、益气活血之功。刘建国等^[91]发现补肾活血方可显著上调小鼠精子浓度和活力,睪丸组织 SOD、CAT 活性及丙二

醛水平显著降低,Nrf2 mRNA 和蛋白表达均显著升高,能够有效改善环磷酰胺诱导的生精障碍,减轻睪丸氧化应激损伤。

进一步对基于 Nrf2 信号通路治疗 OAS 的中药复方进行处方挖掘分析,结果显示枸杞子、菟丝子、当归、人参、山药、五味子使用频数>3,菟丝子-枸杞子-五味子、当归-淫羊藿组合关联度较高(支持度>25%),证实补益类中药在调控 Nrf2 通路治疗 OAS 中占据核心地位,见图 4。

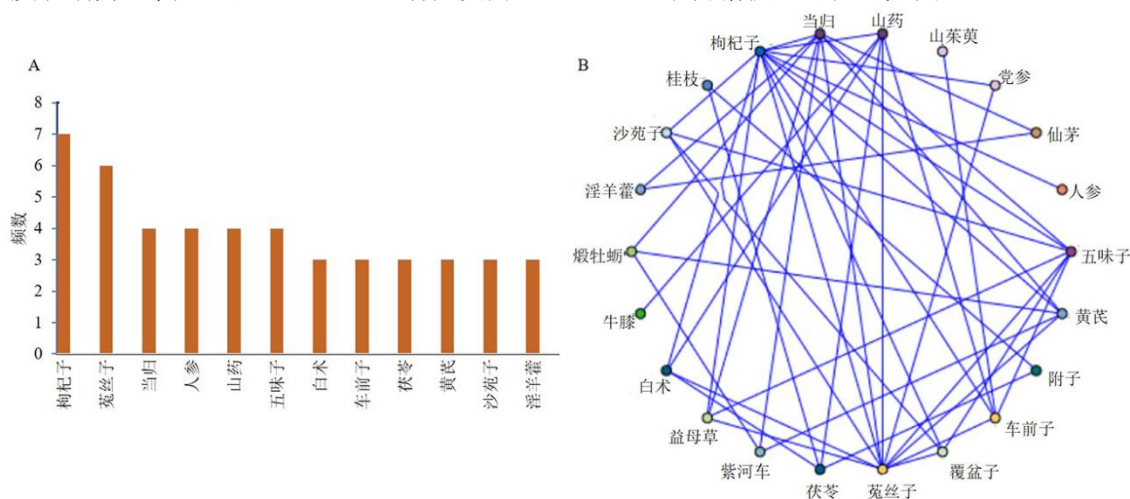


图 4 基于 Nrf2 信号通路治疗 OAS 的方剂药物频数 (A) 与关联规则网络图 (B)

Fig. 4 Frequency of prescription drugs based on Nrf2 signaling pathway for OAS treatment (A) and association rule network diagram (B)

综上,基于 Nrf2 信号通路治疗 OAS 的单味中药、药对及复方制剂研究主要集中于补脾益肾与补肾益精 2 类功效为主,这与中医治疗 OAS 所遵从的主流治法相吻合。枸杞、菟丝子、肉苁蓉、杜仲等单味中药,菟丝子-枸杞子等药对,金匱肾气丸、补肾活血方、百合育子方等复方可激活 Nrf2 信号通路,上调 HO-1、GPX4、NQO1、SOD 等表达,下调 Keap1、丙二醛、Caspase-3 等表达,通过抑制氧化应激、凋亡及铁死亡等方式,改善精子活力与状态,提高睪丸生精功能,增加精子密度,修复血睪屏障损伤,从而改善 OAS。

4 结语与展望

男性生殖系统中活性氧过量产生则造成氧化应激损伤,引起精子损伤、睪酮合成障碍及生精细胞凋亡等,从而导致男性不育。Nrf2 信号通路作为一条与抗氧化应激相关的经典信号通路,在改善精子状态、防止生殖细胞凋亡、维持精子 DNA 的完整性等诸多病理生理过程中发挥重要作用。本文通过对 Nrf2 信号通路与 OAS 相关的抗氧化酶活性降

低、生殖细胞凋亡、DNA 损伤加剧等之间的串联关系进行探讨,Nrf2 信号通路的抑制会促进 OAS 发生与发展。舒布硫胺^[92]、维生素 D₃^[93]、虾青素^[94]、酰化生长素释放肽^[95]、褪黑素^[96]、N-乙酰-L-半胱氨酸^[97]、锌/阿格列汀^[98]、罗氟司特^[99]及植物组合制剂 MOTILIPERM (巴戟天、洋葱、菟丝子)^[100]皆可通过调控 Nrf2 信号通路治疗 OAS,故以该通路为出发点研究药物治疗 OAS 的作用机制理论上是可行的,具备一定的研究基础。目前西医临床常用他莫昔芬联合左卡尼汀^[101]、腹腔镜精索静脉曲张结扎^[102]、精囊镜下钬激光烧灼术^[103]等一些辅助生殖技术,仍然存在应用窗口狭窄及恶心、呕吐等药物不良反应。中医在整体观念和以辨证为基础的治疗指导下,为 OAS 的治疗提供了新的思路与方法,如五子衍宗丸^[104]、麒麟丸^[105]等经典名方在临床中广泛应用,且效果显著。中医学从肾虚、脾虚、肝郁、湿热、血瘀等方面对 OAS 进行辨证论治,以人参、淫羊藿、枸杞、菟丝子、肉苁蓉、杜仲等补益肝肾、补肾益精功效的中药为核心用药,配伍形成金匱肾

气丸、补肾活血方、百合育子方等复方进行临床应用,并开展基础实验研究,结果证实以上药物能够通过调控 Nrf2 通路对 OAS 发挥良好的治疗作用。结合 Nrf2 信号通路在 OAS 发生发展中的推动作用,提示激活 Nrf2 信号通路或许能够作为 OAS 治疗的药物靶向目标。但现阶段的研究尚存在一定的共性问题:(1) 缺乏对药物干预通路调控的直接证据,研究者需要借助转基因和基因敲除细胞或动物模型,或使用通路抑制或激活剂,在体内药效和体外机制相结合的基础上,以进一步验证药物对 Nrf2 的激活作用;(2) 当前研究多关注于单味药中某个化学成分或天然“明星”分子,忽视了中药功效与疾病证型之间的联系,缺乏中医理论指导的复方协同作用的物质基础及机制研究,OAS 病机以“脾肾阳虚”“肾精不足”为主,在未来研究中对治疗药物的选择应多偏向于补肾、补脾类中药及其复方的多成分、多靶点作用特点的全面解析。

靶向激活 Nrf2 靶点为主的天然产物在预防和治疗 OAS 方面具有巨大的潜力,随着中药提取、纯化、分离技术的提高,相信越来越多的中药药物质基础逐步明确,有助于进一步阐明中药靶向 Nrf2 信号通路治疗 OAS 的分子调控机制。未来的研究应整合多种技术从代谢物、基因、蛋白等水平阐释中药及复方多成分、多靶点、多通路的协同作用治疗 OAS 的药理机制,在 OAS 病证结合模型构建与评价、Nrf2 与其他信号通路的交互作用、中药治疗 OAS 药效评价指标优化、中药治疗 OAS 的毒理学研究这些薄弱的方向做出更多有益的探索,为 OAS 药物研究提供参考。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 莫金桦, 赵瑰丽, 李思慧, 等. 2005—2014 年不孕不育门诊男性人群精液质量的单中心研究 [J]. 生殖医学杂志, 2018, 27(4): 368-371.
- [2] 《中成药治疗优势病种临床应用指南》标准化项目组. 中成药治疗特发性少、弱精子男性不育症临床应用指南 (2021 年) [J]. 中国中西医结合杂志, 2022, 42(6): 645-652.
- [3] 陈莉莎, 张宁, 刘星池, 等. 精浆氧化还原电位和精子 DNA 碎片指数与精子运动参数的相关性分析及对少弱精子患者的临床价值分析 [J]. 中华男科学杂志, 2025, 31(1): 11-18.
- [4] Rehman B, Rahim A, Afzal M, *et al.* Association of Nrf2 gene polymorphism (rs6721961) with Semen parameters in primary male infertility cases in Pakistani population [J]. *Pak Armed Forces Med J*, 2022, 72(2): 398-402.
- [5] 胡修忠, 向敏, 余婕, 等. siRNA 抑制牛睾丸细胞 Nrf2 基因表达的研究 [J]. 中国奶牛, 2022(3): 11-15.
- [6] Tonelli C, Chio I I C, Tuveson D A. Transcriptional regulation by Nrf2 [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2018, 29(17): 1727-1745.
- [7] Dasgupta M, Kumaresan A, Saraf K K, *et al.* Deep metabolomic profiling reveals alterations in fatty acid synthesis and ketone body degradations in spermatozoa and seminal plasma of astheno-oligozoospermic bulls [J]. *Front Vet Sci*, 2022, 8: 755560.
- [8] Nakamura B N, Lawson G, Chan J Y, *et al.* Knockout of the transcription factor Nrf2 disrupts spermatogenesis in an age-dependent manner [J]. *Free Radic Biol Med*, 2010, 49(9): 1368-1379.
- [9] Chen K, Mai Z X, Zhou Y L, *et al.* Low Nrf2 mRNA expression in spermatozoa from men with low sperm motility [J]. *Tohoku J Exp Med*, 2012, 228(3): 259-266.
- [10] Yu B L, Lin H L, Yang L X, *et al.* Genetic variation in the Nrf2 promoter associates with defective spermatogenesis in humans [J]. *J Mol Med*, 2012, 90(11): 1333-1342.
- [11] Zhang L X, Liu Z N, Li X K, *et al.* Low long non-coding RNA HOTAIR expression is associated with down-regulation of Nrf2 in the spermatozoa of patients with asthenozoospermia or oligoasthenozoospermia [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(11): 14198-14205.
- [12] Kuribayashi S, Fukuhara S, Kitakaze H, *et al.* Keap1-Nrf2 system regulates age-related spermatogenesis dysfunction [J]. *Reprod Med Biol*, 2024, 23(1): e12595.
- [13] Otasevic V, Macanovic B, Garalejic E, *et al.* P 104 SOD mimic M40403 improves sperm fertilizing potential through activating NO/Nrf2 signaling pathway [J]. *Free Radic Biol Med*, 2017, 108: S53.
- [14] Zhou J, Xi Y L, Zhang J, *et al.* Protective effect of *Dioscorea zingiberensis* ethanol extract on the disruption of blood-testes barrier in high-fat diet/streptozotocin-induced diabetic mice by upregulating ZO-1 and Nrf2 [J]. *Andrologia*, 2020, 52(3): e13508.
- [15] Feng J, He Y X, Shen Y L, *et al.* Protective effects of nuclear factor erythroid 2-related factor on oxidative stress and apoptosis in the testis of mice before adulthood [J]. *Theriogenology*, 2020, 148: 112-121.
- [16] Alnajem A, Al-Maghrebi M. The regulatory effects of JAK2/STAT3 on spermatogenesis and the redox Keap1/Nrf2 axis in an animal model of testicular ischemia reperfusion injury [J]. *Cells*, 2023, 12(18): 2292.
- [17] Cai D F, Li J D, Peng Z K, *et al.* Interplay of ferroptosis,

- cuproptosis, autophagy and pyroptosis in male infertility: Molecular crossroads and therapeutic opportunities [J]. *Int J Mol Sci*, 2025, 26(8): 3496.
- [18] Yan R H, Lin B Y, Jin W W, *et al*. Nrf2, a superstar of ferroptosis [J]. *Antioxidants*, 2023, 12(9): 1739.
- [19] Han P, Wang X, Zhou T Q, *et al*. Inhibition of ferroptosis attenuates oligospermia in male Nrf2 knockout mice [J]. *Free Radic Biol Med*, 2022, 193(Pt 1): 421-429.
- [20] Zhao H X, Song L X, Ma N, *et al*. The dynamic changes of Nrf2 mediated oxidative stress, DNA damage and base excision repair in testis of rats during aging [J]. *Exp Gerontol*, 2021, 152: 111460.
- [21] 任廷革点校. 黄帝内经素问: 新校版 [M]. 北京: 人民军医出版社, 2005.
- [22] 李克光. 金匱要略讲义 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1985.
- [23] 巢元方. 诸病源候论: 新校版 [M]. 刘晓峰点校. 北京: 人民军医出版社, 2006.
- [24] 王文, 耿立果, 何超拔, 等. 中医辨证少弱精子症理论体系浅析 [J]. 中国性科学, 2024, 33(11): 113-116.
- [25] 高梦洁, 朱洋洋, 陈思易, 等. 基于象思维及“阳化气, 阴成形”浅析少弱精子症的证治思路 [J]. 湖北中医药大学学报, 2025, 27(1): 54-57.
- [26] 张帅, 苏军豪, 陈诚, 等. 卞廷松从脾肾论治少弱精子症经验 [J]. 山西中医药大学学报, 2024, 25(11): 1263-1267.
- [27] 江大为, 崔云. 崔云基于肝肾同源理论辨治少弱精子症经验介绍 [J]. 新中医, 2024, 56(18): 223-226.
- [28] 王定国, 王立春, 邢益涛, 等. 国医大师林天东基于“肾主生殖, 脾主运化”理论治疗少弱精子症经验 [J]. 湖南中医药大学学报, 2024, 44(9): 1563-1567.
- [29] 吴伟璇, 韦芳宁, 王济. 基于数据挖掘分析王琦教授治疗少弱精子症的用药规律 [J]. 湖南中医药大学学报, 2020, 40(10): 1276-1279.
- [30] 金鑫, 阮登统, 陆海旺. 宾彬教授治疗男性少弱精子症经验介绍 [J]. 新中医, 2011, 43(6): 165-166.
- [31] 李宪锐, 商建伟, 王景尚, 等. 李曰庆教授治疗特发性少弱精子症药对浅析 [J]. 环球中医药, 2020, 13(7): 1257-1260.
- [32] 郭袁梅, 刘小菲, 韩美仙, 等. 喜棣治疗少弱精子症经验 [J]. 河北中医, 2021, 43(11): 1777-1780.
- [33] 陆良喜, 王文杰, 陆杰, 等. 史宏中医辨治少弱精子症经验 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2016, 22(10): 1412-1413.
- [34] 吴秀全, 郭军, 晏斌, 等. 基于“脑-心-肾-精室”轴探讨填精育嗣方治疗肾精亏损型少弱精子症 [J]. 中国性科学, 2024, 33(6): 123-126.
- [35] 崔良浩, 徐新宇, 戴宁. 戴宁基于“肾虚精浊”辨治男
性不育少弱精子症经验 [J]. 浙江中医药大学学报, 2024, 48(4): 479-482.
- [36] 黄鑫, 刘筱茂, 高思宇, 等. 高氏流派从痰湿瘀阻论治少弱精子症 [J]. 中国性科学, 2024, 33(1): 128-131.
- [37] 王耀武, 杨荣超, 张春和, 等. 基于气血理论辨治少弱精症的思路与实践 [J]. 云南中医药大学学报, 2023, 46(6): 38-42.
- [38] 解亚鑫, 安立文. 安立文辨证论治少弱精子症经验介绍 [J]. 山西中医, 2023, 39(10): 7-9.
- [39] 张敏, 颜峰, 张泰宁, 等. 车叶草苷对少弱精症大鼠抗氧化应激及抗细胞凋亡的作用机制研究 [J]. 世界中医药, 2024, 19(17): 2584-2589.
- [40] Lin X, Zhu L J, Gao X Y, *et al*. Ameliorative effect of betulinic acid against Zearalenone exposure triggers testicular dysfunction and oxidative stress in mice via p38/ERK MAPK inhibition and Nrf2-mediated antioxidant defense activation [J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2022, 238: 113561.
- [41] 黄寅虎, 汪子铃, 杜坤航, 等. 人参皂苷 Rg₁ 减轻热应激致小鼠睾丸损伤的机制研究 [J]. 陆军军医大学学报, 2024, 46(10): 1123-1131.
- [42] Zhou Q, Wu X, Liu Y M, *et al*. Curcumin improves asthenozoospermia by inhibiting reactive oxygen species reproduction through nuclear factor erythroid 2-related factor 2 activation [J]. *Andrologia*, 2020, 52(2): e13491.
- [43] Dong M R, Lu J, Xue H W, *et al*. Anthocyanins from *Lycium ruthenicum* Murray mitigate cadmium-induced oxidative stress and testicular toxicity by activating the Keap1/Nrf2 signaling pathway [J]. *Pharmaceuticals*, 2024, 17(3): 322.
- [44] 刘好, 彭晓莉, 韩彬, 等. 飞燕草素通过 Nrf2/HO-1 信号通路改善镉致雄性大鼠生殖损伤 [J]. 成都医学院学报, 2024, 19(3): 390-394.
- [45] ALTamimi J Z, AlFaris N A, Aljabryn D H, *et al*. Ellagic acid improved diabetes mellitus-induced testicular damage and sperm abnormalities by activation of Nrf2 [J]. *Saudi J Biol Sci*, 2021, 28(8): 4300-4310.
- [46] Tuncer S Ç, Akarsu S A, Küçükler S, *et al*. Effects of sinapic acid on lead acetate-induced oxidative stress, apoptosis and inflammation in testicular tissue [J]. *Environ Toxicol*, 2023, 38(11): 2656-2667.
- [47] Yang S H, Long M, Yu L H, *et al*. Sulforaphane prevents testicular damage in Kunming mice exposed to cadmium via activation of Nrf2/ARE signaling pathways [J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(10): 1703.
- [48] Zhang H, Li N N, Zhang Y K, *et al*. *Ganoderma lucidum* polysaccharide peptide alleviates cyclophosphamide-induced male reproductive injury by reducing oxidative

- stress and apoptosis [J]. *Biomedicines*, 2024, 12(8): 1632.
- [49] Qin Y X, Zhao G, Wang Z, *et al.* Polygonatum sibiricum polysaccharide attenuates cyclophosphamide-induced testicular damages and sperm defects in male mice via Nrf2 mediating antioxidant protective mechanisms [J]. *Int J Biol Macromol*, 2025, 307(Pt 3): 141968.
- [50] 贾泽涵, 宇文斌, 张芸怡, 等. 茶黄素-3,3'-双没食子酸酯对衰老小鼠睾丸生精功能的改善作用 [J]. 营养学报, 2024, 46(5): 492-497.
- [51] 董进, 叶韬雯, 李小冉, 等. 银松素治疗 Nrf2^{-/-}小鼠少弱精症作用机制研究 [J]. 交通医学, 2023, 37(6): 551-555.
- [52] 杨芳, 马静芬, 郑聪聪, 等. 苦参素对 2 型糖尿病雄性大鼠生殖损伤及 Nrf2/HO-1 信号通路的影响 [J]. 天津中医药, 2023, 40(9): 1175-1182.
- [53] 朱妍妍, 王桐生, 戴宁, 等. 金丝桃苷通过激活 Keap1/Nrf2/HO-1 通路保护小鼠 GC-2 细胞的氧化损伤 [J]. 南方医科大学学报, 2022, 42(5): 673-680.
- [54] Cai J Y, Song L X, Hu Z B, *et al.* Astragaloside alleviates oligoasthenospermia via promoting nuclear translocation of Nrf2 and reducing ferroptosis of testis [J]. *Heliyon*, 2024, 10(19): e38778.
- [55] Rao F, Zhai Y W, Sun F. Punicalagin mollifies lead acetate-induced oxidative imbalance in male reproductive system [J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(8): 1269.
- [56] Arkali G, Aksakal M, Kaya Ş Ö. Protective effects of carvacrol against diabetes-induced reproductive damage in male rats: Modulation of Nrf2/HO-1 signalling pathway and inhibition of NF-κB-mediated testicular apoptosis and inflammation [J]. *Andrologia*, 2021, 53(2): e13899.
- [57] Ma B, Zhang J, Zhu Z M, *et al.* Aucubin, a natural iridoid glucoside, attenuates oxidative stress-induced testis injury by inhibiting JNK and CHOP activation via Nrf2 up-regulation [J]. *Phytomedicine*, 2019, 64: 153057.
- [58] Zhao Y, Li M Z, Shen Y, *et al.* Lycopene prevents DEHP-induced leydig cell damage with the Nrf2 antioxidant signaling pathway in mice [J]. *J Agric Food Chem*, 2020, 68(7): 2031-2040.
- [59] Oyovwi M O, Oghenetega O B, Victor E, *et al.* Quercetin protects against levetiracetam induced gonadotoxicity in rats [J]. *Toxicology*, 2023, 491: 153518.
- [60] Lu C S, Wu C Y, Wang Y H, *et al.* The protective effects of icariin against testicular dysfunction in type 1 diabetic mice via AMPK-mediated Nrf2 activation and NF-κB p65 inhibition [J]. *Phytomedicine*, 2024, 123: 155217.
- [61] Ukwenya V O, Aderemi A S, Alese O M, *et al.* Caffeic acid abrogates amyloidosis, hypospermatogenesis and cell membrane alterations in the testes and epididymis of fructose-diabetic rats by upregulating steroidogenesis, PCNA and Nrf2 expression [J]. *Tissue Cell*, 2022, 79: 101912.
- [62] AlTamimi J Z, AlFaris N A, Alshammari G M, *et al.* Esculetin A alleviates reproductive toxicity in streptozotocin-diabetic rats's model by activating Nrf2 signaling [J]. *Saudi J Biol Sci*, 2023, 30(9): 103780.
- [63] Bae W J, Ha U S, Choi J B, *et al.* Protective effect of decursin extracted from *Angelica gigas* in male infertility via Nrf2/HO-1 signaling pathway [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2016, 2016: 5901098.
- [64] Tuerxun H, Zhao Y X, Li Y W, *et al.* Resveratrol alleviates testicular toxicity induced by anti-PD-1 through regulating the Nrf2-SLC7A11-GPX4 pathway [J]. *Front Immunol*, 2025, 16: 1529991.
- [65] El-Khadragy M F, Al-Megrin W A, Alomar S, *et al.* Chlorogenic acid abates male reproductive dysfunction in arsenic-exposed mice via attenuation of testicular oxidative-inflammatory stress and apoptotic responses [J]. *Chem Biol Interact*, 2021, 333: 109333.
- [66] Wang Y C, Li J Q, Gu J Y, *et al.* Hyperoside, a natural flavonoid compound, attenuates Triptolide-induced testicular damage by activating the Keap1-Nrf2 and SIRT1-PGC1α signalling pathway [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2022, 74(7): 985-995.
- [67] Awany M M, Al-Mokaddem A K, Ali B M. Mangiferin mitigates di-(2-ethylhexyl) phthalate-induced testicular injury in rats by modulating oxidative stress-mediated signals, inflammatory cascades, apoptotic pathways, and steroidogenesis [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2021, 711: 108982.
- [68] Wang C N, Wang W Z, Dong J, *et al.* Isatin improves oligoasthenospermia caused by busulfan by regulating GSH/GPX4 axis to inhibit ferroptosis [J]. *Front Pharmacol*, 2024, 15: 1489956.
- [69] Khalil A S M, Giribabu N, Yelumalai S, *et al.* Myristic acid defends against testicular oxidative stress, inflammation, apoptosis: Restoration of spermatogenesis, steroidogenesis in diabetic rats [J]. *Life Sci*, 2021, 278: 119605.
- [70] Tekin S, Sengul E, Yildirim S, *et al.* Molecular insights into the antioxidative and anti-inflammatory effects of P-coumaric acid against bisphenol A-induced testicular injury: *in vivo* and *in silico* studies [J]. *Reprod Toxicol*, 2024, 125: 108579.
- [71] Ijaz M U, Ishtiaq A, Tahir A, *et al.* Antioxidant, anti-inflammatory, and anti-apoptotic effects of genkwanin against aflatoxin B₁-induced testicular toxicity [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2023, 481: 116750.

- [72] 赵海霞, 叶勇, 张长城, 等. 基于 Nrf2 信号通路探讨黄精对自然衰老大鼠睾丸生精功能衰退的保护作用 [J]. 中药材, 2023, 46(2): 454-461.
- [73] 夏伦斌, 蒋平, 何燕飞, 等. 肉苁蓉水提物对环磷酰胺致小鼠睾丸损伤的保护作用及其机制初探 [J]. 中华男科学杂志, 2022, 28(9): 771-778.
- [74] 段雯, 张小静, 丁文捷, 等. 菟丝子-枸杞子调控 SIRT1/Nrf2 信号通路抑制氧化应激后血睾屏障损伤改善少弱精子症大鼠生精功能 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2025, 31(17): 29-38.
- [75] Ebokaiwe A P, Osawe S, Griffin S, *et al.* *Loranthus micranthus* nanoparticles abates streptozotocin-instigated testicular dysfunction in Wistar rats: Involvement of glucose metabolism enzymes, oxido-inflammatory stress, steroidogenic enzymes/protein and Nrf2 pathway [J]. *Andrologia*, 2020, 52(10): e13749.
- [76] Nagy A M, Abdelhameed M F, Rihan S, *et al.* *Rosemary officinalis* extract mitigates potassium dichromate-induced testicular degeneration in male rats: Insights from the Nrf2 and its target genes signaling pathway [J]. *Toxicol Rep*, 2024, 13: 101700.
- [77] Mansour D F, Saleh D O, Ahmed-Farid O A, *et al.* *Ginkgo biloba* extract (EGB 761) mitigates methotrexate-induced testicular insult in rats: Targeting oxidative stress, energy deficit and spermatogenesis [J]. *Biomed Pharmacother*, 2021, 143: 112201.
- [78] Abdelmonem M, Ali S O, Al-Mokaddem A K, *et al.* Ameliorating diabetes-induced testicular dysfunction by modulating PKC/Nrf2/Bcl-2 signaling: Protective role of sulbutiamine [J]. *Biofactors*, 2024, 50(4): 845-862.
- [79] 江晓翠, 萧闵, 吕银娟, 等. 基于铁死亡探讨参苓白术散对高尿酸血症小鼠睾丸生精功能的改善作用 [J]. 北京中医药大学学报, 2024, 47(8): 1100-1110.
- [80] 郑翼驰, 黄子彦, 王权胜, 等. 基于 Nrf2/HO-1 通路研究续断种子方对少精子症模型大鼠睾丸氧化应激的效应 [J]. 时珍国医国药, 2022, 33(7): 1582-1586.
- [81] 耿强, 陈少峰, 李重, 等. 基于 Keap1-Nrf2-ARE 通路探讨加味天雄散调节弱精症大鼠精子活力的作用机制 [J]. 中国中西医结合杂志, 2021, 41(1): 86-90.
- [82] 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.
- [83] 毕佳杰, 马婧, 李波, 等. 百合育子方对少弱精子症大鼠睾丸锌稳态、CFTR 和 Keap1/Nrf2/HO-1 信号通路影响 [J]. 中国中西医结合杂志, 2024, 44(2): 193-201.
- [84] 江晓翠, 萧闵, 刘祺, 等. 二仙汤对少弱精子症小鼠 Keap1/Nrf2/HO-1 通路的影响 [J]. 中国医院药学杂志, 2024, 44(6): 641-647.
- [85] 江晓翠, 萧闵, 赵敏, 等. 疏肝补肾毓麟汤通过 Keap1/Nrf2/GPX4 通路抑制睾丸细胞铁死亡改善肝郁肾虚型少弱精子症小鼠的精子质量 [J]. 中华中医药学刊, 2024, 42(5): 46-51.
- [86] Li G S, Zhang P H, You Y D, *et al.* Qiangjing Tablets regulate apoptosis and oxidative stress via Keap/Nrf2 pathway to improve the reproductive function in asthenospermia rats [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 714892.
- [87] 夏雨果, 陈秋, 高坪, 等. 三才连梅颗粒通过 Nrf2/HO-1 信号通路对糖尿病小鼠生精功能的影响 [J]. 陕西中医, 2023, 44(4): 421-426.
- [88] Ding J, Lu B W, Liu L M, *et al.* Guilu-Erxian-Gluc alleviates *Tripterygium wilfordii* polyglycoside-induced oligoasthenospermia in rats by resisting ferroptosis via the Keap1/Nrf2/GPX4 signaling pathway [J]. *Pharm Biol*, 2023, 61(1): 213-227.
- [89] 李玲, 黄家望, 冯芷莹, 等. 基于铁死亡途径探讨龟鹿二仙胶治疗少弱精子症的作用及机制 [J]. 中草药, 2023, 54(20): 6722-6733.
- [90] 蒋平, 徐青洪, 陈存武, 等. 金匱肾气丸对环磷酰胺所致睾丸损伤小鼠睾丸组织 Nrf2 信号通路基因表达的影响 [J]. 中华男科学杂志, 2020, 26(2): 160-166.
- [91] 刘建国, 赵红乐, 赵宇涛, 等. 补肾活血方对环磷酰胺所致小鼠睾丸氧化应激损伤及生精损伤的影响 [J]. 中国中医药信息杂志, 2020, 27(8): 68-72.
- [92] Dallak M. *Crataegus aronia* enhances sperm parameters and preserves testicular architecture in both control and non-alcoholic fatty liver disease-induced rats [J]. *Pharm Biol*, 2018, 56(1): 535-547.
- [93] Abbaszadeh S, Yadegari P, Imani A, *et al.* Vitamin D₃ protects against lead-induced testicular toxicity by modulating Nrf2 and NF- κ B genes expression in rat [J]. *Reprod Toxicol*, 2021, 103: 36-45.
- [94] Wang L, Zhuang L L. Astaxanthin ameliorates the lipopolysaccharides-induced subfertility in mouse via Nrf2/HO-1 antioxidant pathway [J]. *Dose Response*, 2019, 17(3): 1559325819878537.
- [95] Shati A A, Khalil M A. Acylated ghrelin suppresses doxorubicin-induced testicular damage and improves sperm parameters in rats via activation of Nrf2 and mammalian target of rapamycin [J]. *J Cancer Res Ther*, 2023, 19(5): 1194-1205.
- [96] Habiba E S, Harby S A, El-Sayed N S, *et al.* Sericin and melatonin mitigate diethylnitrosamine-instigated testicular impairment in mice: Implications of oxidative stress, spermatogenesis, steroidogenesis, and modulation of Nrf2/WT1/SF-1 signaling pathways [J]. *Life Sci*, 2023,

- 334: 122220.
- [97] Jannatifar R, Parivar K, Hayati Roodbari N, *et al.* The effect of *N*-acetyl-cysteine on Nrf2 antioxidant gene expression in asthenoteratozoospermia men: A clinical trial study [J]. *Int J Fertil Steril*, 2020, 14(3): 171-175.
- [98] Kabel A M. Zinc/alogliptin combination attenuates testicular toxicity induced by doxorubicin in rats: Role of oxidative stress, apoptosis and TGF- β 1/NF- κ B signaling [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 97: 439-449.
- [99] Abdel-Wahab B A, Walbi I A, Albarqi H A, *et al.* Roflumilast protects from cisplatin-induced testicular toxicity in male rats and enhances its cytotoxicity in prostate cancer cell line. Role of NF- κ B-p65, cAMP/PKA and Nrf2/HO-1, NQO1 signaling [J]. *Food Chem Toxicol*, 2021, 151: 112133.
- [100] Karna K K, Soni K K, You J H, *et al.* MOTILIPERM ameliorates immobilization stress-induced testicular dysfunction via inhibition of oxidative stress and modulation of the Nrf2/HO-1 pathway in SD rats [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(13): 4750.
- [101] 余柯达, 师帅, 毛佳婷, 等. 他莫昔芬联合左卡尼汀对特发性少弱精子症患者体外受精结局的疗效观察 [J]. 中国男科学杂志, 2025, 39(1): 105-110.
- [102] 张金丰, 杨礼斌, 邵翀飞, 等. 腹腔镜精索静脉结扎联合中药治疗精索静脉曲张伴少、弱精子症的临床研究 [J]. 浙江临床医学, 2024(2): 200-202.
- [103] 张晓磊, 秦超, 夏佳东. 精囊镜下钺激光治疗射精管梗阻的临床结局分析 [J]. 中华男科学杂志, 2023, 29(3): 244-248.
- [104] 毛静, 张立新, 王文凯, 等. 五子衍宗丸通过下调 IL-17 通路减少细胞凋亡治疗少弱精子症 [J]. 药物评价研究, 2024, 47(7): 1540-1555.
- [105] 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.

[责任编辑 赵慧亮]