

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2024.11.008

# 基于 Fas/FasL 信号通路对桂药生精胶囊治疗少精子症的临床研究\*

戴芳<sup>1</sup>, 唐亚平<sup>2</sup>, 买鹏宇<sup>3</sup>, 张泽朝<sup>1</sup>, 朱 闽<sup>4△</sup>

1. 广西中医药大学附属瑞康医院检验科, 广西南宁 530011; 2. 广西中医药大学基础医学院, 广西南宁 530200; 3. 广西中医药大学附属瑞康医院科技科, 广西南宁 530011; 4 广西中医药大学附属瑞康医院男性科, 广西南宁 530011

**摘要:**目的 探讨桂药生精胶囊对少精子症(肾精亏虚型)患者的精子浓度(SC)、前向运动精子比例(PR)、PR+非前向运动精子比例(NP)、精子总数、精子脂肪酸合成酶(Fas)信使 RNA(mRNA)、脂肪酸合成酶配体(FasL) mRNA 表达水平及精浆 Fas 蛋白、FasL 蛋白表达水平的影响。方法 选取 2019 年 10 月至 2020 年 3 月就诊于广西中医药大学附属瑞康医院男性科门诊的少精子症(肾精亏虚型)患者 60 例, 随机分为对照组和治疗组, 每组 30 例。对照组采用左卡尼汀治疗, 治疗组在对照组的基础上联合桂药生精胶囊治疗, 12 周为 1 个疗程。观察治疗前后两组患者的 SC、PR、PR+NP、精子总数、精子 Fas mRNA、FasL mRNA 和精浆 Fas 蛋白、FasL 蛋白表达水平。结果 治疗组总有效率比对照组高( $P < 0.05$ )。治疗前两组患者 SC、PR、PR+NP 和精子总数比较, 差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。治疗后两组患者精子 SC、PR、PR+NP 和精子总数均比治疗前高( $P < 0.05$ ), 且治疗组患者精子 SC、PR 和精子总数高于对照组( $P < 0.05$ )。治疗前两组患者精浆 Fas 和 FasL 蛋白表达水平比较, 差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。治疗后两组精浆 Fas 蛋白表达水平低于治疗前( $P < 0.05$ ), 且治疗组 Fas 蛋白表达水平低于对照组( $P < 0.05$ )。治疗前两组患者精子 Fas mRNA 和 FasL mRNA 表达水平比较, 差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。治疗后两组患者精子 Fas mRNA 和 FasL mRNA 表达水平低于治疗前( $P < 0.05$ ), 且治疗组 Fas mRNA 表达水平低于对照组( $P < 0.05$ )。结论 桂药生精胶囊能明显提高少精子症(肾精亏虚型)患者的 SC、PR、精子总数, 降低精子 Fas mRNA 及精浆 Fas 蛋白的表达水平。

**关键词:**桂药生精胶囊; 少精子症; 肾精亏虚型; 脂肪酸合成酶; 脂肪酸合成酶配体

中图分类号: R321.2; R289.9 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2024)11-1543-05

## Clinical study of Guiyao Shengjing capsule in the treatment of oligozoospermia based on Fas/FasL signaling pathway\*

DAI Fang<sup>1</sup>, TANG Yaping<sup>2</sup>, MAI Pengyu<sup>3</sup>, ZHANG Zezhao<sup>1</sup>, ZHU Min<sup>4△</sup>

1. Department of Clinical Laboratory, Ruikang Hospital Affiliated to Guangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanning, Guangxi 530011, China; 2. College of Basic Medical Sciences, Guangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanning, Guangxi 530200, China; 3. Department of Science and Technology, Ruikang Hospital Affiliated to Guangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanning, Guangxi 530011, China; 4 Department of Andrology, Ruikang Hospital Affiliated to Guangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanning, Guangxi 530011, China

**Abstract: Objective** To investigate the effects of Guiyao Shengjing capsule on sperm concentration (SC), the proportion of progressively motile sperm (PR), PR+ non-progressively motile sperm (NP), total sperm count and sperm fatty acid synthase (Fas) messenger RNA(mRNA), fatty acid synthase ligand (FasL) mRNA expression levels and in seminal plasma Fas protein and FasL protein expression levels in the patients with oligospermia (kidney essence deficiency). **Methods** A total of 60 patients with oligozoospermia (kidney essence deficiency) in the Department of Andrology, Ruikang Hospital Affiliated to Guangxi University of Traditional Chinese Medicine from October 2019 to March 2020 were randomly divided into control group and treatment group, with 30 cases in each group. The control group was treated with L-carnitine, and the treatment group was treated with Guiyao Shengjing capsule on the basis of the control group, 12 weeks as a course

\* 基金项目: 广西壮族自治区中医药管理局科研课题(GZZC2019112)。

作者简介: 戴芳, 女, 主任技师, 主要从事临床检验方向的研究。 △ 通信作者, E-mail: hnf22@126.com。

of treatment. The SC, PR, PR+NP, total sperm count and the expression levels of sperm Fas mRNA, FasL mRNA, Fas protein, FasL protein in seminal plasma were observed before and after treatment. **Results** The total effective rate of the treatment group was higher than that of the control group ( $P < 0.05$ ). Before treatment, there were no significant differences in SC, PR, PR+NP and total sperm count between the two groups ( $P > 0.05$ ). After treatment, the sperm SC, PR, PR+NP and total sperm count in the two groups were higher than those before treatment ( $P < 0.05$ ), and the sperm SC, PR and total sperm count in the treatment group were higher than those in the control group ( $P < 0.05$ ). There was no significant difference in the expression levels of Fas protein and FasL protein in seminal plasma between the two groups before treatment ( $P > 0.05$ ). After treatment, the expression level of Fas protein in the seminal plasma of the two groups was lower than that before treatment ( $P < 0.05$ ), and the expression level of Fas protein in the treatment group was lower than that in the control group ( $P < 0.05$ ). There was no significant difference in the expression of sperm Fas mRNA and FasL mRNA between the two groups before treatment ( $P > 0.05$ ). After treatment, the expression levels of sperm Fas mRNA and FasL mRNA in the two groups were lower than those before treatment ( $P < 0.05$ ), and the expression level of sperm Fas mRNA in the treatment group was lower than that in the control group ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Guiyao Shengjing Capsule can significantly improve the SC, PR and total sperm count and reduce the expression levels of Fas mRNA and Fas protein in the seminal plasma of oligozoospermia patients.

**Key words:** Guiyao Shengjing capsule; oligospermia; kidney essence deficiency type; fatty acid synthase; fatty acid synthase ligand

当今社会工作压力大、过度劳累、熬夜及不良生活习惯等易造成男性不育,且男性不育的发生率呈逐年上升趋势。其中少精子症是一种较常见的男性不育症,其精子浓度(SC) $< 1.5 \times 10^7$ /mL或每次射精的精子总数 $< 3.9 \times 10^7$ 。较多的不孕不育的夫妇深受该病困扰,影响社会稳定与家庭和谐<sup>[1-2]</sup>。前期研究表明,少精子症的发生受多种基因调控,主要通过脂肪酸合成酶(Fas)、P53、B淋巴细胞瘤-2基因家族(Bcl-2)、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶(Caspase)基因家族控制,其中凋亡相关因子Fas/脂肪酸合成酶配体(FasL)信号通路过度表达,启动程序性细胞死亡,对精子数量和质量产生不利影响<sup>[3-4]</sup>。但是现代医学对Fas/FasL信号通路难以调控,而相关研究表明,中药对其有一定的调控作用<sup>[3,5]</sup>。本研究应用桂药生精胶囊治疗少精子症取得了良好的疗效,且发现该药对Fas/FasL信号通路有调控作用。现报道如下。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选取2019年10月至2020年3月就诊于广西中医药大学附属瑞康医院男性科门诊的少精子症(肾精亏虚型)患者60例,随机分为对照组和治疗组,每组30例。治疗组年龄为26~42岁,病程为13~17个月。对照组年龄为25~45岁,病程为13~18个月。两组患者年龄、病程比较,差异无统计学意义( $P < 0.05$ ),具有可比性。纳入标准:(1)符合西医少精子症的诊断标准。① $5.0 \times 10^6$ /mL $\leq$ SC $< 1.5 \times 10^7$ /mL且每次射精的精子总数 $< 3.9 \times 10^7$ 。②前向运动精子比例(PR) $\geq 32\%$ 或精子总活力[PR+非前向运动精子比例(NP)] $\geq 40\%$ 。③pH值为7.2~7.8。④精液量 $\geq 1.5$  mL且60 min内完全

液化成灰白色精液。(2)进行精液分析检查,确诊为少精子症。(3)符合中医肾精亏虚型辨证标准。主症为精子总数减少、腰膝酸软、性欲淡漠、婚后不育,次症为头晕、脉沉细弱、耳鸣、健忘、精神萎靡、失眠多梦、足跟疼痛、舌淡苔白、乏力。具备主症第1项和其他任意1项主症,同时具备次症2项及以上即可诊断为少精子症(肾精亏虚型)。(4)年龄为25~50岁的已婚男性。(5)入组前90 d内未服用促进生精的药物。排除标准:(1)配偶患有不孕症;(2)工作环境常接触射线或高温;(3)先天睾丸发育不良、精索静脉曲张II度及以上、精路梗阻、睾丸萎缩;(4)男性生殖系统感染;(5)实验室检查肝、肾功能和血糖异常;(6)服用抗癫痫、抗肿瘤等有碍生精及精子活力的药物;(7)近3个月内参与了其他临床试验;(8)有不良生活习惯,如酗酒、吸毒、经常洗桑拿和长期熬夜;(9)不配合治疗;(10)不配合随访;(11)治疗过程中出现不良反应。本研究通过广西中医药大学附属瑞康医院医学伦理委员会审批(KY2019-047),且所有患者均知情同意并签署知情同意书。

**1.2 仪器与试剂** ST-360酶标仪购自上海科华公司,LineGene 9600聚合酶链反应仪购自杭州 BIOER 公司,SAS-II精子质量分析仪购自北京赛司医疗科技有限公司,Fas酶联免疫吸附试验(ELISA)测定试剂盒和FasL ELISA测定试剂盒均购自武汉贝茵莱生物科技有限公司,Trizol裂解液购自美国 Invitrogen 公司,反转录试剂盒和反转录聚合酶链反应(RT-PCR)试剂盒均购自日本 Takara 公司。

## 1.3 方法

**1.3.1 治疗方法** 对照组患者口服东北制药集团沈

阳一制药有限公司生产的左卡尼汀(国药准字 H19990372),每次 1.00 g,每天 3 次,1 个疗程需治疗 12 周。治疗组在对照组的基础上口服桂药生精胶囊(广西中医药大学附属瑞康医院药物研发基地制备, Z01060147),每粒 0.35 g,每次 3 粒,每天 3 次,12 周为 1 个疗程。

**1.3.2 检测方法** 所有研究对象禁欲 2~7 d,清洗手和阴茎,戴薄膜检查手套手淫、按摩,采集 1 次射精的全部精液于无菌精液收集杯内,置于 37 °C 恒温箱中孵育,液化后用 SAS-II 精子质量分析仪进行精液常规检查。将剩余的精液样本从生物安全柜中全部转移进 5 mL 的无菌试管内,离心吸取上层精浆 1 mL 于 V 型离心管中,置于 -80 °C 环境中保存待测。采用 ELISA 检测 Fas 蛋白、FasL 蛋白表达水平,将分离的精浆以 4 000 r/min 的速度离心 10 min,取上清液按照 Fas ELISA 试剂盒和 FasL ELISA 试剂盒的操作步骤定量检测 Fas 蛋白、FasL 蛋白表达水平。

将沉淀物用磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤 1 次,用 1 mL PBS 重悬混匀,沿试管壁轻轻加入提前准备好的 80% 聚乙烯吡咯烷酮(Percoll)+40% Percoll 密度梯度液,以 3 000 r/min 的速度离心 20 min 留取 80% Percoll 分层液下离心管底部的精子转入 V 型离心管,用 PBS 洗涤后加入 200 μL PBS 重悬,加入 1 mL Trizol 裂解液振荡混匀,室温静置 5 min,然后置于 -80 °C 冰箱中保存待检,采用 RT-PCR 检测 Fas 信使 RNA(mRNA)、FasL mRNA 表达水平。采用 Trizol 法提取总 RNA,分别使用紫外分光光度计和琼脂糖凝胶电泳法检测 RNA 的纯度、浓度和完整性。纯度、浓度和完整性都符合要求的 RNA 样本立即用反转录试剂盒将 RNA 反转录为互补 DNA(cDNA),并参照 RT-PCR 试剂盒说明书和引物的检测报告进行 RT-PCR 定量检测。引物由大连宝生物工程有限公司设计、合成、验证。GAPDH 基因的正向引物序列为 5'-TGACGTGGACATCCGCAAAG-3',反向引物序列为 5'-CTGGAAGGTGGACAGCGAGG-3',引物长度为 205 bp。反应条件:95 °C 30 s,95 °C 5 s,60 °C 30 s,40 个循环,60 °C 读取荧光值。Fas 基因的正向引物序列为 5'-GGGTGGCTTTGTCTTCT-

TCTTTT-3',反向引物序列为 5'-CCTTGGTTTTCCTTTCTGTGCT-3',引物长度为 101 bp;FasL 基因的正向引物序列为 5'-GTCCTTGACACCTCAGCCTCTA-3',反向引物序列为 5'-GCACTGCTGTCACCCAGTA-3',引物长度为 134 bp。反应条件:95 °C 30 s,95 °C 5 s,62 °C 30 s,40 个循环,60 °C 读取荧光值。3 对引物的溶解条件:95 °C 5 s,60 °C 1 min,95 °C 10 s。采用 2<sup>-ΔΔCt</sup> 法计算 Fas mRNA、FasL mRNA 的表达水平。

**1.3.3 临床疗效评价** 临床疗效评价标准。治愈:治疗期间及治疗后 3 个月内,其配偶怀孕;显效:治疗后 SC≥1.5×10<sup>7</sup>/mL 或一次射精精子总数>3.9×10<sup>7</sup>/次,且精液常规检查的其他参数均在正常范围内;有效:在治疗后 SC 较治疗前提高≥30%;无效:治疗前后对比,SC 均较治疗前提高<30%或 SC 无改变或降低。总有效率=(治愈例数+显效例数+有效例数)/总例数×100%。

**1.4 统计学处理** 采用 SPSS20.0 统计软件分析数据。符合正态分布的计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,两组间比较采用独立样本 *t* 检验,两组内比较采用配对 *t* 检验。计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用  $\chi^2$  检验。以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

**2 结果**

**2.1 两组患者总有效率比较** 治疗组总有效率比对照组高(*P*<0.05)。见表 1。

表 1 两组患者总有效率比较[n(%)]

组别	<i>n</i>	治愈	显效	有效	无效	总有效
对照组	30	5(16.7)	5(16.7)	9(30.0)	11(36.7)	19(63.3)
治疗组	30	7(23.3)	8(26.7)	11(36.7)	4(13.3)	26(86.7)
$\chi^2$						4.350
<i>P</i>						0.037

**2.2 治疗前后两组患者精液常规参数比较** 治疗前两组患者 SC、PR、PR+NP 和精子总数比较,差异均无统计学意义(*P*>0.05)。治疗后两组患者精子 SC、PR、PR+NP 和精子总数均比治疗前升高(*P*<0.05),且治疗组患者精子 SC、PR 和精子总数高于对照组(*P*<0.05)。见表 2。

表 2 治疗前后两组患者精液常规参数比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	<i>n</i>	SC(×10 <sup>6</sup> /mL)		PR(%)		PR+NP(%)		精子总数(×10 <sup>6</sup> )	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
对照组	30	7.27±1.46	9.90±1.79 <sup>a</sup>	39.98±5.09	42.70±6.57 <sup>a</sup>	50.43±3.66	57.33±4.53 <sup>a</sup>	13.73±4.35	18.76±5.00 <sup>a</sup>
治疗组	30	7.36±1.21	13.80±2.32 <sup>a</sup>	40.04±4.81	45.75±6.93 <sup>a</sup>	49.00±3.39	59.48±4.50 <sup>a</sup>	13.65±4.58	23.89±4.58 <sup>a</sup>
<i>t</i>		0.379	10.357	0.288	2.977	-0.496	1.071	-1.800	4.224
<i>P</i>		0.706	<0.001	0.774	<0.001	0.593	0.289	0.858	<0.001

注:与同组治疗前比较,<sup>a</sup>*P*<0.05。

**2.3 治疗前后两组患者精浆 Fas 蛋白、FasL 蛋白表达水平比较** 治疗前两组患者精浆 Fas 和 FasL 蛋白表达水平比较,差异均无统计学意义( $P>0.05$ )。治疗后两组精浆 Fas 蛋白表达水平低于治疗前( $P<0.05$ ),且治疗组 Fas 蛋白表达水平低于对照组( $P<0.05$ )。见表 3。

表 3 治疗前后两组患者精浆 Fas 蛋白、FasL 蛋白表达水平比较( $\bar{x}\pm s$ ,pg/mL)

组别	n	Fas 蛋白		FasL 蛋白	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
对照组	30	441.76±57.14	406.05±53.22 <sup>a</sup>	169.51±30.75	168.78±29.02
治疗组	30	443.90±55.21	376.73±54.07 <sup>a</sup>	168.51±32.39	167.23±29.93
t		-0.147	2.116	0.123	0.203
P		0.884	0.039	0.902	0.840

注:与同组治疗前比较,<sup>a</sup> $P<0.05$ 。

**2.4 治疗前后两组患者精子 Fas mRNA、FasL mRNA 表达水平比较** 治疗前两组患者精子 Fas mRNA 和 FasL mRNA 表达水平比较,差异均无统计学意义( $P>0.05$ )。治疗后两组患者精子 Fas mRNA 和 FasL mRNA 表达水平低于治疗前( $P<0.05$ ),且治疗组 Fas mRNA 表达水平低于对照组( $P<0.05$ )。见表 4。

表 4 治疗前后两组患者精子 Fas mRNA、FasL mRNA 表达水平比较( $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	Fas mRNA		FasL mRNA	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
对照组	30	2.55±2.13	1.45±1.36 <sup>a</sup>	2.13±2.06	1.65±1.33 <sup>a</sup>
治疗组	30	2.58±2.08	1.15±1.09 <sup>a</sup>	2.15±2.01	1.35±1.21 <sup>a</sup>
t		-0.268	2.335	-1.367	1.766
P		0.581	0.031	0.263	0.456

注:与同组治疗前比较,<sup>a</sup> $P<0.05$ 。

### 3 讨 论

少精子症的发生是由于精子生成的微环境稳态受到破坏,导致精子生成减少或凋亡增多<sup>[6]</sup>。精子细胞的凋亡受多个基因控制,主要有 Fas、P53、Bcl-2 和 Caspase 基因家族等,其中 Fas/FasL 信号通路的传导是死亡受体信号传导途径的关键组成,在正常生理过程中,该通路维持着精子正常的密度和活力<sup>[7-9]</sup>;在病理情况下,FasL 与 Fas 抗原结合,激活 Fas 相关死亡域,向细胞内传递凋亡信号,启动程序性细胞死亡,其凋亡过度会导致精子数量、活动率下降和畸形精子产生<sup>[10]</sup>。西医在治疗少精子症方面缺乏有效药物,而中医药治疗少精子症通过辨证论治,采用填精补肾法治疗具有较好的疗效<sup>[11-12]</sup>。近期有研究表明,肾精亏虚型少精子症患者口服五子衍宗丸可下调 Caspase-3 基

因的表达水平从而提高了的精子活力和精子总数<sup>[13]</sup>。桂药生精胶囊不仅能上调不育症大鼠睾丸组织 Bcl-2 基因表达水平,而且能下调 Bax 基因、Caspase-3 基因和 Caspase-9 基因表达水平,促进睾丸组织病理损伤的修复,最终恢复精子生成的微环境,提高大鼠的精子质量<sup>[14]</sup>;还有研究发现,少精子症患者精子中的 Fas 基因和 FasL 基因的表达水平均显著升高,而关于精浆 Fas 蛋白和 FasL 蛋白表达水平的相关研究较少。本研究结果显示,治疗后两组患者精子 Fas mRNA 和 FasL mRNA 表达水平低于治疗前( $P<0.05$ ),且治疗组 Fas mRNA 表达水平低于对照组( $P<0.05$ )。治疗后两组精浆 Fas 蛋白表达水平低于治疗前( $P<0.05$ ),且治疗组 Fas 蛋白表达水平低于对照组( $P<0.05$ )。

少精子症古文无此病名,属于“精少”“精稀”“精薄”等范畴。《素问·上古天真论》认为男性的生育能力取决于肾精的盛衰,肾为先天之本,若肾精不足,脉络空虚,则生精乏源,精子不得充养,故肾精亏虚是男性不育的基础;肝功能与肾功能密切相关,肝藏血、肾藏精,精能生血,血能化精,若肝血不足,也可引起肾精亏损;此外,脾主运化为气血、生化之源,为后天之本<sup>[15]</sup>。中医总体上认为该病的发病部位主要是在肾,亦与肝、脾关系密切,临床上多从肾、肝、脾着手来辨证论治,填精补肾法是治疗男性少精子症的主要方法。桂药生精胶囊由菟丝子、覆盆子、淫羊藿、车前子、党参、金樱子、天冬、红参、黄芪、麦冬、桑椹子、女贞子、枸杞子、红花、甘草组成,诸药合用,共奏滋阴补肾、温肾壮阳、健脾养肝、养血通脉之功,适用于精液清稀、腰膝酸软、神疲肢倦、性功能减退、脉细等肾精亏虚型少精子症患者。将桂药生精胶囊进行网络药理学分析,其有效成分主要是黄酮类、多糖类、微量元素等。黄酮类化学成分可调节机体的内分泌,改善睾丸生精小管结构,促进支持细胞的增殖分化,促进精子产生,减少生殖细胞凋亡,恢复性功能和生育力,其机制可能与黄酮类化学成分抗氧化活性有关<sup>[16-19]</sup>;多糖类化学成份能抑菌、抗炎症、改善睾丸微环境、提高机体免疫力和精子质量等<sup>[20]</sup>;微量元素锌等可调节精子的生成和活力,并能有效控制前列腺炎等<sup>[21]</sup>。本课题组在前期的基础研究发现,桂药生精胶囊可干预精子相关细胞凋亡,改善睾丸生精微环境,提高大鼠精子质量,该方法从多渠道、多靶点、多种机制共同作用治疗少精子症<sup>[14]</sup>。

本研究对照组口服左卡尼汀,该药主要在抗氧化和改善细胞能量代谢方面发挥作用,能有效提高精子数量和活力,作为男性少精子症基础治疗的推荐药物<sup>[22]</sup>;治疗组在此基础上服用桂药生精胶囊。结果显示,治疗后,两组患者精子 SC、PR、PR+NP 和精子总

数均比治疗前升高 ( $P < 0.05$ ), 且治疗组患者精子 SC、PR 和精子总数均高于对照组 ( $P < 0.05$ )。分析与桂药生精胶囊的有效成分包括黄酮类、多糖类、微量元素等有关; 本研究结果显示, 治疗后两组患者精子 Fas mRNA 和 FasL mRNA 表达水平低于治疗前 ( $P < 0.05$ ), 且治疗组 Fas mRNA 表达水平低于对照组 ( $P < 0.05$ )。治疗后两组精浆 Fas 蛋白表达水平低于治疗前 ( $P < 0.05$ ), 且治疗组 Fas 蛋白表达水平低于对照组 ( $P < 0.05$ )。分析与左卡尼汀和桂药生精胶囊的抗氧化活性相关, 精子的抗氧化能力越强, 凋亡就越少; 治疗组精子 Fas mRNA 及精浆 Fas 蛋白的表达水平较对照组低, 与桂药生精胶囊经生物通路富集分析得到的对细胞凋亡信号通路的抑制作用有关。

本研究结果显示, 桂药生精胶囊能显著提高少精子症(肾精亏虚型)患者精液常规参数 SC、PR 和精子总数, 能显著降低精子 Fas mRNA 及精浆 Fas 蛋白表达水平。因此认为桂药生精胶囊治疗少精子症可能是通过抑制细胞凋亡通路, 下调精子 Fas mRNA 及精浆 Fas 蛋白的表达水平来实现的。由于本研究纳入的样本量较少, 有一定的局限性, 并且只是对桂药生精胶囊治疗少精子症的机制做了初探, 希望在以后的研究中纳入更多的样本和研究更多与精子凋亡相关的指标, 对其作用机制做进一步的探讨。

## 参考文献

- KEIHANI S, VERRILLI L E, ZHANG C, et al. Semen parameter thresholds and time-to-conception in subfertile couples: how high is high enough[J]. Hum Reprod, 2021, 36(8):2121-2133.
- LV M Q, GE P, ZHANG J, et al. Temporal trends in semen concentration and count among 327 373 Chinese healthy men from 1981 to 2019: a systematic review[J]. Hum Reprod, 2021, 36(7):1751-1775.
- 朱庆均, 肖丽, 杨军, 等. 基于 Fas/FasL 途径的金匮肾气丸对肾虚模型睾丸细胞凋亡的影响[J]. 时珍国医国药, 2017, 28(2):272-276.
- 戴芳, 林泽森, 买鹏宇, 等. Fas/FasL 基因和蛋白表达对精子浓度和活力的影响[J]. 中华男科学杂志, 2021, 27(12):1069-1074.
- 张培海, 陈帝昂, 董良, 等. 强精片对不育模型 SD 大鼠细胞凋亡通路 Fas/FasL 的影响[J]. 中华男科学杂志, 2016, 22(3):246-251.
- 努尔比亚·阿力甫, 马文静, 西尔艾力·买买提, 等. TMT 筛查与生物信息学分析少精子症患者精子差异表达蛋白质[J]. 新疆医科大学学报, 2020, 43(4):419-424.
- XIAO B, LI X, FENG X Y, et al. Restraint stress of male mice induces apoptosis in spermatozoa and spermatogenic cells: role of the FasL/Fas system<sup>+</sup> [J]. Biol Reprod, 2019, 101(1):235-247.
- GHANDEHARI-ALAVIJEH R, ZOHRABI D, TAVALLAEI M, et al. Association between expression of TNF- $\alpha$ , P53 and HIF1 $\alpha$  with asthenozoospermia[J]. Hum Fertil (Camb), 2019, 22(2):145-151.
- 武健, 李立鹏. 精子 DNA 碎片检测在辅助生殖中的研究进展[J]. 检验医学与临床, 2020, 17(21):3216-3220.
- WANG M, SU P. The role of the Fas/FasL signaling pathway in environmental toxicant-induced testicular cell apoptosis: an update[J]. Syst Biol Reprod Med, 2018, 64(2):93-102.
- 欧阳虹, 魏永进, 董春来, 等. 姚氏生精丸治疗肾精不足型少精子症临床观察[J]. 新中医, 2016, 48(1):47-49.
- 陈朋飞. 补肾益精汤联合胰激肽原酶治疗肾精亏虚证少精子症临床研究[J]. 新中医, 2020, 52(15):109-112.
- 柯明辉, 陆兴, 刘保兴, 等. 基于 Caspase-3 研究五子衍宗丸治疗少精子症的疗效及机制[J]. 中国男科学杂志, 2018, 32(5):29-34.
- 梁景辉, 胡恩宜, 朱闽, 等. 基于网络药理学和动物实验探讨桂药生精胶囊治疗不育症的作用机制[J]. 中成药, 2022, 44(7):2350-2356.
- 李波. 基于《黄帝内经》探讨精子发生原理及少弱精子症辨证规律[J]. 中国男科学杂志, 2023, 37(1):108-112.
- YU S, ZHAO Y, ZHANG F L, et al. Chestnut polysaccharides benefit spermatogenesis through improvement in the expression of important genes[J]. Aging (Albany NY), 2020, 12(12):11431-11445.
- 徐虎军, 刘巧, 郭延丽, 等. 五子衍宗丸治疗男性不育少弱精子症研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报, 2020, 22(7):149-153.
- 黄鹏, 刘小良, 冷远景, 等. 麒麟丸对少弱精子症治疗效果的临床观察[J]. 中华男科学杂志, 2019, 25(7):647-650.
- 丁劲, 张耀圣, 商建伟. 五子衍宗丸治疗男性不育症的网络药理学探讨[J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(20):25-35.
- 李宏军, 洪锴, 李铮, 等. 男性不育诊疗指南[J]. 中华男科学杂志, 2022, 28(1):66-76.
- 毛加明, 姜辉, 王传航, 等. 麒麟丸治疗特发性少弱精子症的多中心、随机双盲对照研究[J]. 中华男科学杂志, 2017, 23(3):251-255.
- 刘子毓, 何清湖, 孙贵香, 等. 两种剂型龟鹿二仙胶对于腺嘌呤诱导肾阳虚型少弱精子症大鼠的干预作用[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2021, 23(5):1384-1389.