

· 基础研究 ·

补肺益肾方对肾精亏虚证大鼠睾丸支持细胞和生精功能的影响

崔天薇^{1,2} 刘保兴² 张秀平² 秦 茂² 高云霄² 马文静² 柯正浩² 潘振坤²

摘要 目的 观察补肺益肾方对肾精亏虚证大鼠睾丸支持细胞和生精功能的影响。**方法** 25 只 SD 大鼠随机分为 5 组:正常组、模型组、五子衍宗方组、补肺益肾方低剂量组、补肺益肾方高剂量组,每组 5 只。正常组每天早晚给予 5% 羧甲基纤维素钠 [CMC-Na, 100 mg/(kg·d)],其余各组每早给予雷公藤多甙 [GTW, 20 mg/(kg·d)],模型组每晚给予 5% CMC-Na, 50 mg/(kg·d),五子衍宗方组每晚给予五子衍宗汤 [15.8 g/(kg·d)],补肺益肾方低、高剂量组每晚给予补肺益肾方 [6.6 g/(kg·d)、26.6 g/(kg·d)],均灌胃 30 天。计算脏器指数;采用 Western Blot 检测睾丸支持细胞波形蛋白(vimentin)、紧密连接蛋白 11 (claudin-11)和转铁蛋白(TF)表达;ELISA 法测定血清抑制素 B (INHB)水平;HE 染色法和 Johnsen 评分观察并评价睾丸组织病理学变化。**结果** 与正常组比较,模型组附睾指数、睾丸支持细胞 vimentin、claudin-11、TF 表达、INHB 水平和 Johnsen 评分下降 ($P<0.05$, $P<0.01$)。与模型组比较,五子衍宗方组和补肺益肾方高剂量组睾丸支持细胞 vimentin、claudin-11、TF 表达升高 ($P<0.05$, $P<0.01$),各给药组 INHB 水平和 Johnsen 评分均升高 ($P<0.01$)。与五子衍宗方组比较,补肺益肾方高剂量组睾丸支持细胞 vimentin 表达、INHB 水平和 Johnsen 评分升高 ($P<0.05$, $P<0.01$)。**结论** 补肺益肾方高剂量可显著改善肾精亏虚证大鼠睾丸支持细胞和生精功能,其疗效优于五子衍宗方。

关键词 补肺益肾方;五子衍宗方;肾精亏虚证;支持细胞;生精功能

Effect of Bufei Yishen Recipe on the Function of Sertoli Cells and Spermatogenesis of Testis in Rats with Deficiency of Shen Essence Syndrome CUI Tian-wei^{1,2}, LIU Bao-xing², ZHANG Xiu-ping², QIN Mao², GAO Yun-xiao², MA Wen-jing², KE Zheng-hao², and PAN Zhen-kun² 1 *Institute of Basic Medical Sciences, Xiyuan Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing (100091)*; 2 *Department of Andrology, China-Japan Friendship Hospital, Beijing (100029)*

ABSTRACT Objective To observe the effect of Bufei Yishen Recipe (BYR) on the function of sertoli cells and spermatogenesis in rats with deficiency of Shen essence syndrome. **Methods** Totally 25 SD rats were randomly divided into 5 groups, i. e., normal group, model group, Wuzi Yanzong Recipe (WYR) group, low-dose BYR group, and high-dose BYR group. The normal group was given 5% CMC-Na (100 mg/kg per day) every morning and evening, the other four groups were given tripterygium wilfordii (GTW, 20 mg/kg per day) every morning, the model group was given 5% CMC-Na (50 mg/kg per day), WYR group were given WYR (15.8 g/kg per day), low-dose BYR group and high-dose BYR group were given BYR (6.6 g/kg per day and 26.6 g/kg per day respectively) every night. All the treatment courses were 30 days. The organ index was calculated. Western Blot was used to detect the expression of vimentin, claudin-11 and transferrin (TF) in testis. The serum levels of inhibin B (INHB) were determined by ELISA. Histopathological changes in testis were observed by light microscope after HE staining and evaluated by Johnsen score. **Results** Compared with normal group, epididymis index, the expression of vimentin,

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81273767, No.81473690)

作者单位:1. 中国中医科学院西苑医院基础医学研究所(北京 100091); 2. 中日友好医院男科(北京 100029)

通讯作者:刘保兴, Tel: 010-84205368, E-mail: liubx66@163.com

DOI: 10. 7661/j. cjim. 20200202. 106

claudin-11 and TF in testis, the level of INHB and Johnsen score significantly decreased in model group ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Compared with model group, the expression of vimentin, claudin-11 and TF in testis increased in WYR group and high-dose BYR group ($P < 0.05$, $P < 0.01$), the level of INHB and Johnsen score significantly increased in all treated groups ($P < 0.01$). Compared with WYR group, the expression of vimentin in testis, the level of INHB and Johnsen score significantly increased in high-dose BYR group ($P < 0.05$, $P < 0.01$). **Conclusion** The high-dose BYR significantly improved the function of sertoli cells and spermatogenesis of rats with deficiency of Shen essence, and its curative effect was better than WYR.

KEYWORDS Bufei Yishen Recipe; Wuzi Yanzong Recipe; deficiency of Shen essence syndrome; sertoli cells; spermatogenic function

支持细胞与生精细胞共同构成睾丸的生精上皮,支持细胞为生精细胞提供独特的微环境,保证精子正常有序发生^[1]。支持细胞不仅为生精细胞提供免疫屏障,而且通过合成和分泌各种生长因子/细胞因子、酶和其他调控蛋白为生精细胞起到骨架支撑、营养及调节的作用^[2]。补肺益肾方由黄芪、党参、麦冬、菟丝子、枸杞子、覆盆子、五味子、车前子 8 味药组成,具有补肺益肾之功效^[3]。肾主生殖与肺之功能密切相关^[4,5],精藏于肾,气主于肺,精乃气之子,精气充足,自能生精,补肺益肾法可有效改善男性精液质量^[6]。本研究观察补肺益肾方对雷公藤多甙(glycosides of tripterygium wilfordii, GTW)诱导的肾精亏虚证大鼠生精功能和支持细胞波形蛋白(vimentin)、紧密连接蛋白 11(claudin-11)、转铁蛋白(transferrin, TF)表达和抑制素 B(inhibin B, INHB)水平的影响,进一步探讨其作用机制。

材料与方法

1 动物 SPF 级雄性 SD 大鼠,8 周龄,体重 300~350 g;北京维通利华实验动物技术有限公司提供,合格证号:SCXK(京)2012-0001。本实验通过中日友好医院医学实验动物伦理委员会审查(No. 120308)。

2 药品和试剂 0.5% 的羧甲基纤维素钠(carboxymethyl cellulose, CMC-Na),中国天根生化科技有限公司,批号:BC0047;GTW,飞云制药公司(中国湖北黄石),每片 10 mg,批号:Z42021212;五子衍宗方(菟丝子 30 g 枸杞子 30 g 覆盆子 15 g 五味子 10 g 车前子 10 g),补肺益肾方(黄芪 30 g 党参 20 g 麦冬 15 g 菟丝子 30 g 枸杞子 30 g 覆盆子 15 g 五味子 10 g 车前子 10 g),均由中日友好医院中药房提供,经浸泡、煎熬、过滤、浓缩,装入已消毒的容器中,密封后再高温灭菌,置 4℃ 冰箱内保存备用。

BCA 蛋白定量分析试剂盒,北京康为世纪生物科技有限公司,批号:02912E;聚偏二氟乙烯膜(PVDF),美国 Merck Millipore 公司,批号:28471;蛋白酶抑制剂混合物,美国 Roche 公司,批号:04693132001;山羊抗兔 IgG-HRP 和山羊抗鼠 IgG-HRP 购于美国 Amyjet Scientific 公司,批号均为:111-035-003;vimentin 一抗,英国 Abcam 公司,批号:ab8797;claudin-11 一抗,美国 Sant Cruz Biotechnology 公司,批号:Sc-25711;TF 一抗,英国 Abcam 公司,批号:AB82411;血清 INHB 试剂盒,美国 DSL 公司,批号:CSB-E08150r。

3 仪器 台式高速冷冻离心机(TGL-16,中国湘仪离心机厂),电泳仪(DYY-7C,北京六一仪器厂),水平式电泳槽(DYCP-31D,北京宾达英创科技有限公司),凝胶成像系统(上海韵涵生物科技有限公司),全自动多功能酶标仪(MULTISKAN MK3, Thermo, USA),电热恒温培养箱(DH4000A,天津市泰斯特仪器有限公司),微型振荡器(MH-1,江苏海门其林贝尔仪器制造有限公司)。

4 分组及给药 采用随机数字表将 25 只 SD 大鼠分为 5 组,分别为正常组、模型组、五子衍宗方组、补肺益肾方低剂量组、补肺益肾方高剂量组,每组 5 只。正常组早晚给予 0.5% CMC-Na 100 mg/(kg·d);模型组及给药组每早给予 GTW 20 mg/(kg·d)^[9];模型组每晚给予 0.5% CMC-Na 50 mg/(kg·d);根据药理试验中动物与人体间的等效剂量换算关系(体表面积折算法)^[8],五子衍宗方组每晚给予五子衍宗方 15.8 g/(kg·d),相当于临床用药量 10 倍的中药煎汤灌胃;补肺益肾方低、高剂量组每晚分别给予补肺益肾方 6.6、26.6 g/(kg·d),分别相当于临床用药量 2.5、10 倍的中药煎汤灌胃,各组均灌胃 30 天。第 31 天,腹腔注射水合氯醛(350 mg/kg)麻醉下取血及睾丸、附睾。

5 大鼠一般形态及脏器指数观察 大鼠麻醉前,观察其精神状态、体型、毛发颜色和光泽度、活动状况,

称量并记录大鼠体重;大鼠麻醉后迅速解剖取出双侧睾丸和附睾,去除多余脂肪组织,生理盐水冲洗干净,用滤纸吸干表面液体,用精密天平称重并记录,计算相应的脏器指数。计算公式:睾丸/附睾指数=睾丸/附睾质量(mg)/大鼠体质量(g)。

6 睾丸组织中 claudin-11、vimentin、TF 表达检测 采用蛋白免疫印迹法, -80 °C 预冷 RIPA 蛋白抽提试剂,加入蛋白酶抑制剂,睾丸组织提取蛋白。细胞沉淀加入 50 μL 裂解液,冰上孵育 20 min, 4 °C 13 000 r/min 离心 20 min,取上清,分装, -80 °C 保存。BCA 蛋白定量试剂盒测定蛋白浓度。每个样品包含 3 g/L 蛋白, 10 % SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳,转 PVDF 膜(孔径 0.45 μm)。5 % 脱脂奶 TBST 室温封闭 1 h。一抗(vimentin、TF、β-actin 均为 1:1 000, claudin-11 为 1:200)4 °C 过夜。TBST 洗膜 3 次,二抗(山羊抗兔 IgG-HRP 和山羊抗鼠 IgG-HRP 1:20 000)室温孵育 40 min。TBST 洗膜 3 次。ECL 反应 3~5 min,显影 2 min,定影。化学发光准备,将膜置于凝胶成像仪中检测,根据凝胶图像,将所得图片使用 Image J 软件分析,检测各条带的灰度值。

7 ELISA 法测定血清 INHB 含量 采用 ELISA 法测定血清 INHB 含量,严格按试剂盒说明操作。

8 HE 染色法观察大鼠睾丸组织病理学变化 取大鼠左侧睾丸,用 Bouin 氏液固定 24 h,梯度乙醇脱水,石蜡包埋,将石蜡切片 64 °C 烘烤 2 h,脱蜡至水洗,苏木精染色 8 min, 1 % 盐酸乙醇分色,自来水充分冲洗返蓝后,再用 0.1 % 伊红复染 5 min,梯度乙醇脱水,二甲苯透明,封片。200 倍光镜下观察睾丸组织切片病理形态的改变。

9 Johnsen 评分评价睾丸组织病理学变化 根据 Johnsen 评分标准^[9]对睾丸组织生精小管发育进行评分。

10 统计学方法 采用 SPSS 20.0 统计软件进行分析,所有数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 One-Way ANOVA,两两比较方差齐者采用 LSD 检验,方差不齐者采用 Dunnett's T3 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 一般形态观察 与正常组比较,模型组大鼠发育迟缓,体型偏瘦小,体毛枯黄,反应迟钝、动作迟缓,蜷缩萎靡。与模型组比较,五子衍宗方组和补肺益肾方低、高剂量组大鼠发育良好,营养均衡,毛发光泽,反应灵敏,动作敏捷,精神活跃。

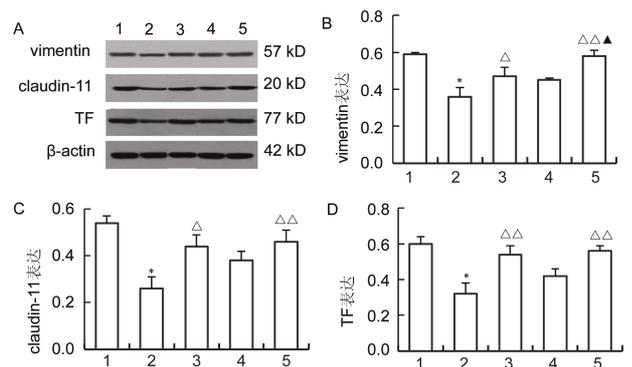
2 各组大鼠末次体重和脏器指数比较(表 1) 与正常组比较,模型组附睾指数降低($P < 0.05$),其余各指标比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。

表 1 各组大鼠末次体重及睾丸、附睾指数比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	末次体重 (g)	睾丸指数 (mg/g)	附睾指数 (mg/g)
正常	5	444.20±7.77	7.66±0.86	2.80±0.17
模型	5	441.00±7.44	7.82±0.45	2.52±0.19*
五子衍宗方	5	434.00±6.67	7.59±0.44	2.41±0.14
补肺益肾方低剂量	5	450.20±7.54	7.57±0.24	2.32±0.13
补肺益肾方高剂量	5	449.20±9.65	7.37±0.61	2.34±0.17

注:与正常组比较,* $P < 0.05$

3 各组大鼠睾丸 vimentin、claudin-11 及 TF 表达比较(图 1) 与正常组比较,模型组大鼠 vimentin、claudin-11、TF 表达降低($P < 0.01$)。与模型组比较,五子衍宗方组和补肺益肾方高剂量组 vimentin、claudin-11、TF 表达升高($P < 0.05$, $P < 0.01$)。与五子衍宗方组比较,补肺益肾方高剂量组 vimentin 表达升高($P < 0.05$)。

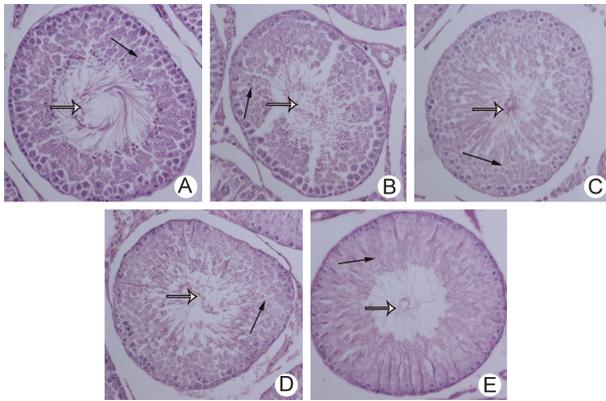


注:A 为各组蛋白表达; B 为 vimentin 蛋白表达; C 为 claudin-11 蛋白表达; D 为 TF 蛋白表达; 1 为正常组; 2 为模型组; 3 为五子衍宗方组; 4 为补肺益肾方低剂量组; 5 为补肺益肾方高剂量组; 与正常组比较,* $P < 0.01$; 与模型组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$; 与五子衍宗方组比较, $\blacktriangle P < 0.05$

图 1 各组大鼠睾丸支持细胞 vimentin、claudin-11 和 TF 蛋白表达比较

4 各组大鼠睾丸组织病理学变化(图 2) 正常组睾丸各级生精细胞排列规则,细胞增殖旺盛,可见较多的分裂期细胞,管腔内可见大量成熟精子。模型组睾丸生精小管大部分退化变性、萎缩,生精上皮(管壁)明显变薄,细胞层次减少,各级生精细胞排列紊乱甚至缺失,数量明显减少,管腔内仅有较少的成熟精子。五子衍宗方组各级生精细胞排列较规则,细胞增殖较旺盛,管腔内可见较多成熟精子。补肺益肾方低剂量组生精小管管壁较薄,细胞层次较少,

各级生精细胞增殖稍减少。补肺益肾方高剂量组各级生精细胞排列规则,细胞增殖旺盛,腔内可见大量成熟精子。



注:A 为正常组;B 为模型组;C 为五子衍宗方组;D 为补肺益肾方低剂量组;E 为补肺益肾方高剂量组;黑色箭头所指为排列的各级生精细胞,空心箭头所指为管腔内精子

图 2 各组大鼠睾丸组织病理形态 (HE, ×200)

5 各组大鼠血清 INHB 水平和睾丸组织 Johnsen 评分比较(表 2) 与正常组比较,模型组大鼠血清 INHB 水平和睾丸组织 Johnsen 评分降低 ($P < 0.01$)。与模型组比较,给药组大鼠血清 INHB 水平和睾丸组织的 Johnsen 评分升高 ($P < 0.01$)。与五子衍宗方组比较,补肺益肾方高剂量组的 INHB 水平和 Johnsen 评分升高 ($P < 0.01$)。

表 2 各组大鼠血清 INHB 水平和 Johnsen 评分比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	INHB (ng/L)	Johnsen 评分 (分)
正常	5	14.24 ± 0.60	9.28 ± 0.05
模型	5	5.32 ± 0.89 [*]	7.56 ± 0.18 [*]
五子衍宗方	5	10.57 ± 0.55 [△]	8.54 ± 0.14 [△]
补肺益肾方低剂量	5	8.77 ± 0.50 [△]	8.78 ± 0.20 [△]
补肺益肾方高剂量	5	11.81 ± 0.67 ^{△▲}	9.18 ± 0.10 ^{△▲}

注:与正常组比较,^{*} $P < 0.01$;与模型组比较,[△] $P < 0.01$;与五子衍宗方组比较,[▲] $P < 0.01$

讨 论

睾丸支持细胞是曲细精管内唯一与生精细胞直接接触的体细胞,被称为生精细胞的“保姆细胞”,为精子发生提供营养、骨架和免疫屏障。成熟支持细胞的数量与总的精子数量呈正比,而且在形态和功能上保持同步性,其数量多少及功能状态决定精子发生是否正常进行^[10]。GTW 具有生殖毒性,是诱导肾精亏虚证生精障碍大鼠模型的重要药物^[7],其在睾丸组织中

作用的靶细胞包括支持细胞和生精细胞。

支持细胞有多种分泌产物:转运蛋白类,调节蛋白类,生长因子类,其中 INHB、TF 是反映支持细胞分泌功能的标志物^[11-13],监测睾丸支持细胞的分泌产物浓度变化可以反映雄性的生精功能^[14]。支持细胞的功能与细胞骨架密切相关,支持细胞骨架由微丝、微管和中间纤维构成,vimentin 作为支持细胞骨架中间纤维的重要成分,把生精细胞锚定在生精上皮上,对维持生精上皮的完整性十分重要。相邻支持细胞、支持细胞与生精细胞之间通过紧密连接、锚定连接和缝隙连接等连接结构相互作用,参与精子发生过程。在支持细胞紧密连接中有多种紧密连接蛋白,其中 claudin-11 作为经典的跨膜蛋白,是构成睾丸支持细胞紧密连接的关键因子^[15,16],在血睾屏障的重建及生精上皮空间构象的维持中发挥重要作用。vimentin 和 claudin-11 均是支持细胞骨架蛋白标记物^[17]。研究证实,睾丸生精功能受损时,INHB、TF 水平下降,而五子衍宗丸可显著提高肾精亏虚证生精障碍大鼠支持细胞分泌物水平^[18,19],并通过修复 GTW 诱导的支持细胞骨架破坏而改善生精功能^[20,21]。

中医学认为,肺属金,主治节,主气司呼吸,朝百脉。肾属水,肾藏精,主生殖,肺肾为母子之脏,金水相生,肾病必先求之于肺。在生理条件下,肺主治节的功能正常,气血津液运行全身,则外肾亦得以濡润。肺病则导致气血津液输布障碍,外肾失于濡养,可发生各种病理改变。肺气亏虚,不能宣发气血津液,且母病每多及子,肾脏受累,则影响肾之气化;或肺肾阴虚,肾精化源不足,生殖之精亦匮乏,导致不育等疾病^[6]。

肺为肾之母,而支持细胞是生精细胞的“保姆细胞”,两者的相似性提示对于肾虚精亏证男性不育患者在常规补肾益精的基础上加入益肺气、养肺阴之品可提高临床疗效。本研究中采用的补肺益肾方,是在五子衍宗方基础上,增加益肺气、养肺阴之中药。五子衍宗方本有滋补肝肾、添精益髓之功,是治疗肾精亏虚证男性不育症的常用方药^[22,23]。补肺益肾方在此基础上加入甘温之生黄芪,补气生津,入脾、肺经,为君药;再加入甘平之党参,甘寒之麦冬,党参益肺生津,麦冬滋阴润燥,二者与黄芪相配,既能补益肺气,又能养阴生津,肺气充,肺阴复,气阴双补,共为臣药。诸药合用,以金水相生理论为指导,补气以生精,生精以化气,肺肾同治,体现了治病求本之意。临床研究显示,补肺益肾汤能明显提高快速直线前向运动精子百分率和精子直线速度^[3],而采用补肺壮精方可以明显提高精子活力和精浆 α 中性糖苷酶、果糖并改善精子形态,其效

果优于五子衍宗汤^[6]。

本研究结果显示:五子衍宗方和补肺益肾方均可拮抗 GTW 诱导大鼠支持细胞 vimentin、claudin-11、TF 和 INHB 水平下降,通过调节支持细胞骨架蛋白表达、改善支持细胞分泌功能进而改善生精功能,补肺益肾方对支持细胞和生精功能的调节显著优于五子衍宗方,这提示在临床实践中对于合并支持细胞功能减退的肾虚精亏证患者,联合采用补肺益肾的治法可进一步提高临床疗效。

利益冲突:所有作者共同认可文章无相关利益冲突。

参 考 文 献

- [1] 李丹婷,白利鹏,蔡欣,等.支持细胞功能状态调控精子发生的研究进展[J].中华男科学杂志,2018,24(9):829-833.
- [2] 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.
- [3] 高艳君,张秀梅,秦桂英.补肺益肾汤对精子参数的干预作用[J].世界中医药,2013,8(6):631-633.
- [4] 班光国,杜惠兰.试论肺与女性生殖的关系[J].中国中医基础医学杂志,2016,22(9):1176-1177,1222.
- [5] 贾雪雷,吴承玉,杨涛.肾主生殖与他脏的相关性探讨[J].中国中医基础医学杂志,2018,24(7):875-876,887.
- [6] 李波,陈广辉,申玉行,等.补肺壮精方对精子形态、精浆生化及精液参数的影响[J].河北中医药学报,2018,33(2):7-9.
- [7] 毛鹏鸣,李海松,王彬,等.雷公藤多甙所致不育症动物模型制备方法的研究进展[J].中国中西医结合杂志,2015,35(2):254-256.
- [8] 徐叔云,卞如濂,陈修主编.药理实验方法学[M].北京:人民卫生出版社,2003:1861.
- [9] Johnsen SG. Testicular biopsy score count—a method for registration of spermatogenesis in human testes: normal values and results of 335 hypogonadal males[J]. Hormones, 1970, 1(1): 2-25.
- [10] 胡素芹,郭健,简郭血骄,等.菟丝子黄酮对幼年大鼠睾丸支持细胞增殖和分化的影响及机制[J].北京中医药大学学报,2019,42(2):131-137.
- [11] 胡晓鹏,杨凡,吕忠显,等.小鼠睾丸支持细胞标志蛋白表达的研究[J].生殖与避孕,2015,35(8):509-516.
- [12] Gelain DP, Casali EA, de Oliveira RB, et al. Effects of follicle stimulating hormone and vitamin A upon purinergic secretion by rat sertoli cells[J]. Mol Cell Biochem, 2005, 278(122): 185-194.
- [13] Raychoudhury SS, Kubinski D. Polycyclic aromatic hydrocarbon induced cytotoxicity in cultured rat sertoli cells involves differential apoptotic response[J]. Environ Health Perspect, 2003, 111(1): 33-38.
- [14] 崔天薇,刘保兴,秦茂,等.五子衍宗丸含药血清对小鼠睾丸支持细胞分泌功能及自噬的影响[J].中华中医药杂志,2017,32(2):549-552.
- [15] Yang Q, Hao J, Chen M, et al. Dermatopontin is a novel regulator of the CdCl₂-induced decrease in claudin-11 expression[J]. Toxicol In Vitro, 2014, 28(6): 1158-1164.
- [16] Lee NP, Cheng CY. Adaptors, junction dynamics, and spermatogenesis[J]. Biol Reprod, 2004, 71(2): 392-404.
- [17] 杨险峰,付聪,刘杨青,等.紧密连接蛋白 11 在非梗阻性无精子症患者睾丸组织中的表达[J].中华男科学杂志,2018,24(3):221-225.
- [18] 张圣强,刘保兴,王鑫,等.五子衍宗丸含药血清对大鼠睾丸支持细胞分泌产物的影响[J].中华中医药杂志,2013,28(3):631-634.
- [19] 杨阿民,刘保兴,张圣强,等.五子衍宗丸改善肾精亏虚大鼠支持细胞功能的机理研究[J].北京中医药大学学报,2010,33(6):378-380,384.
- [20] Xu YP, Liu BX, Zhang XP, et al. A Chinese herbal formula, wuzi yanzong pill, improves spermatogenesis by modulating the secretory function of sertoli cells[J]. Chin J Integr Med, 2014, 20(3): 194-199.
- [21] 柯明辉,刘保兴,王传航,等.五子衍宗丸改善肾精亏虚证大鼠精液质量及机制研究[J].中国男科学杂志,2016,30(9):30-33.
- [22] Wang TS, Huang JL, Wu DL, et al. Effect of Wuziyanzong Pill on sperm quality and calcium ion content in oligoasthenospermia rats[J]. J Tradit Chin Med, 2012, 32(4): 631-635.
- [23] 王秋萍,王桐生,龙子江,等.五子衍宗丸对少弱精症模型大鼠精子质量及睾丸组织的影响[J].中成药,2011,33(10):1796-1797.

(收稿:2019-04-28 在线:2020-02-25)

责任编辑:邱禹