

◆经方古方◆

基于网络药理学和分子对接探讨还少丹治疗少弱精子症作用机制

宋佳怡, 周旋, 沈宏平, 刘亚华, 陈云杰, 蔡以力, 张元斌, 陈雪琴

宁波大学附属第一医院, 浙江 宁波 315010

[摘要] 目的: 基于网络药理学和分子对接探讨还少丹治疗少弱精子症的潜在作用机制。方法: 应用中药系统药理学数据库与分析平台 (TCMSP)、中医药整合药理学研究平台 (TCMIP) 获取中药有效成分, 利用 GEO 数据库检索疾病相关基因, 将中药基因与疾病基因进行交集分析, 使用 STRING 平台进行 PPI 蛋白互作网络构建, 借助 Cytoscape 软件对共同基因进行分析, 采用 R 软件对交集基因进行 GO 功能分析及 KEGG 通路分析; 采用 AutoDock Tools、QuickVina-W 等软件进行分子对接, 验证分析结果的准确性。结果: 获得中药有效成分 195 个, 作用基因 1 101 个, 药物-疾病交集靶点 108 个, 8 个核心药效分子为豆甾醇、槲皮素、黄豆黄素、玉兰脂素 B、山柰酚、车叶草苷四乙酸酯、苏齐内酯、过氧麦角甾醇, 关键靶点为 CDC25A、TOP2A、AURKA、CHEK1、PLK1、KIF11、PLK4、TTK。GO 功能结果显示还少丹治疗少弱精子症的生物过程主要富集于磷酸化、激酶活性调节、类固醇代谢、脂质代谢、激素代谢调节等。KEGG 通路主要富集于钙信号通路、Rap1、Ras、MAPK、PI3K-Akt、AMPK、FoxO 信号通路以及细胞周期、胞葬作用等。分子对接显示核心药效成分与预测作用靶点均有良好的对接活性。结论: 还少丹治疗少弱精子症的作用机制可能是通过豆甾醇、槲皮素、黄豆黄素等药效分子, 经过钙信号通路、Rap1、Ras 等信号通路, 作用于 CDC25A、TOP2A、AURKA 等关键靶点, 经过磷酸化、激酶活性调节、类固醇代谢等多个生物过程, 最终起到治疗少弱精子症的作用。

[关键词] 还少丹; 少弱精子症; 网络药理学; 分子对接; 槲皮素; 豆甾醇

[中图分类号] R289.9 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0256-7415 (2025) 04-0001-08

DOI: 10.13457/j.cnki.jncm.2025.04.001

Mechanism of Huanshao Pellets in Treating Oligonasthenospermia Based on Network Pharmacology and Molecular Docking

SONG Jiayi, ZHOU Xuan, SHEN Hongping, LIU Yahua, CHEN Yunjie,
CAI Yili, ZHANG Yuanbin, CHEN Xueqin

The First Affiliated Hospital of Ningbo University, Ningbo Zhejiang 315010, China

Abstract: **Objective:** To discuss the potential mechanism of Huanshao Pellets in treating oligonasthenospermia based on network pharmacology and molecular docking. **Methods:** The effective components of Chinese medicinals were obtained by TCMSP and TCMIP. The GEO database was used to search for disease-related genes, and the intersection analysis of Chinese medicinal genes and disease genes was carried out. The PPI protein interaction network was constructed via STRING platform. The common genes were analyzed by Cytoscape software, and the intersection genes were analyzed by GO function and KEGG pathway by R software. The molecular docking software such as

[收稿日期] 2024-06-28

[修回日期] 2025-01-05

[基金项目] 浙江省医药卫生科技计划项目 (2024KY307); 宁波市重大科技任务攻关项目 (2022Z148)

[作者简介] 宋佳怡 (1992-), 女, 博士研究生, 主治医师, E-mail: songjiayi92@163.com。

[通信作者] 陈雪琴 (1968-), 女, 主任中医师, E-mail: cxq2316@163.com。

AutoDock Tools and QuickVina-W was used to verify the accuracy of the analysis results. **Results:** The research obtained 195 active components, 1 101 active genes, 108 medicinal-disease intersection targets, and 8 core pharmacodynamic molecules, including stigmasterol, quercetin, daidzein, denudatin B, kaempferol, asperuloside tetraacetate, suchilactone, ergosterol peroxide. The key targets were CDC25A, TOP2A, AURKA, CHEK1, PLK1, KIF11, PLK4 and TTK. GO function results showed that the biological processes of the treatment of oligonasthenospermia by Huanshao Pellets were mainly concentrated in phosphorylation, regulation of kinase activity, steroid metabolism, lipid metabolism and hormone metabolism. KEGG pathway was mainly enriched in calcium signaling pathway, Rap1, Ras, MAPK, PI3K-Akt, AMPK, FoxO signaling pathway, cell cycle, exocytosis and so on. Molecular docking showed that the core pharmacodynamic components had good docking activity with the predicted action targets. **Conclusion:** The mechanism of action of Huanshao Pellets in treating oligoasthenospermia may be through the pharmacodynamic molecules such as stigmasterol, quercetin and daidzein, through the calcium signaling pathway, Rap1, Ras and other signaling pathways, acting on the key targets such as CDC25A, TOP2A, AURKA, and through multiple biological processes such as phosphorylation, kinase activity regulation, and steroid metabolism. Finally, the effect of treatment of oligoasthenospermia is achieved.

Keywords: Huanshao Pellets; Oligoasthenospermia; Network pharmacology; Molecular docking; Quercetin; Stigmasterol

少弱精子症指男性精子计数及活力下降,是导致男性不育的重要原因。世界卫生组织(WHO)数据显示,15%的育龄夫妇患有不孕不育,其中30%~50%由男性因素引起^[1],而少弱精子症导致的男性不育比例高达46%^[2]。弱精子症与精液参数正常者相较,不育风险增加2~3倍,少弱精子症患者则增加5~7倍^[3]。但是,少弱精子症病因复杂,临床很难精准干预,因此,治疗效果并不确切。

少弱精子症在中医属精少、精薄、精冷范畴,还少丹源自《洪氏集验方》,具有补肾养心、益阴壮阳的功效。多中心临床研究结果显示,还少丹可安全有效地改善少弱精子症患者精液质量,提高受孕率^[4],但其治疗少弱精子症的具体机制及靶点尚未明确,限制其临床推广应用。本研究采用网络药理学方法预测还少丹治疗少弱精子症潜在作用靶点及通路,并采用分子对接方法对靶点结合情况进行验证,为后续进行深入的机制研究提供参考依据。

1 资料与方法

1.1 中药活性成分的收集与筛选 还少丹由熟地黄、山茱萸、枸杞子、楮实子、五味子、山药、肉苁蓉、杜仲、牛膝、巴戟天、小茴香、茯苓、大枣、远志、石菖蒲组成,应用中药系统药理学数据库与分析平

台(TCMSP)、中医药整合药理研究平台(TCMIP, <http://www.tcmip.cn>)等数据库,获取中药有效成分。按照口服生物利用度(OB)≥30%且类药性(DL)≥0.18的标准筛选本药方活性成分。

1.2 潜在靶点预测及核心基因筛选 借助小分子生物活性数据库(PubChem, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)获得中药活性成分Canonical SMILES结构式,之后导入SwissTargetPrediction数据库(<http://www.swisstargetprediction.ch/>)预测活性成分作用靶基因。同时,通过GEO数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>)获取疾病相关微阵列表达谱,采用R语言limma包比较数据集中疾病样本与功能正常样本表达情况,以 $P < 0.05$ 且 $|\log_2FC| > 1.5$ 为条件进行筛选,鉴定差异表达基因(Differential expressed genes, DEGs)。将中药基因与疾病基因进行交集分析,得到二者的共同基因,使用STRING(<https://cn.string-db.org/>)进行PPI蛋白互作网络构建,之后借助Cytoscape 3.9.1软件中的CytoHubba插件对共同基因进行分析,并通过Degree、MCC、MNC 3种计算方法进行分析,每种计算结果选取排名前10的基因,进行交集分析后获得还少丹治疗少弱精子症的主要基因。

1.3 通路分析 将交集基因导入R软件(4.3.0),利

用ClusterProfiler包进行基因本体(GO)、京都基因与基因组百科全书(KEGG)数据库分析。以 $P \leq 0.01$ 为标准进行筛选,展示排名前10的生物过程(BP)、细胞成分(CC)和分子功能(MF)条目。然后分析KEGG通路,并进行可视化展示。

1.4 药物-成分-基因-信号通路网络构建与分析 使用Cytoscape 3.7.2软件进行关联分析,构建药物-成分-基因-信号通路网络。

1.5 分子对接验证 采用AutoDock Tools v1.5.7软件构建关键靶点的分子对接模型,进而与中药复方活性成分及核心靶点基因蛋白分子进行分子对接,并分析对接结果,从而验证拓扑网络分析结果的准确性。通过PubMed (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)或ChemicalBook (<https://m.chemicalbook.com/>)下载中药

复方活性成分结构,采用Chem3D v20转换为3D结构,载入AutoDock Tools 1.5.7程序,保存为pdbqt格式,作为对接配体。通过PDB(<http://www.rcsb.org/>)数据库下载获取关键靶点的蛋白结构,并与以上得到的配体结合,运用QuickVina-W进行对接。之后采用Discovery Studio Client v19软件作图。

2 结果

2.1 还少丹活性成分筛选及疾病基因获取情况 本研究共获得中药有效成分195个,作用基因1101个。通过GEO数据库GSE145467数据集进行疾病基因筛选,该数据集包含功能正常睾丸样本及生精功能受损睾丸样本各10例,以 $P < 0.05$ 且 $|\log_2 \text{FC}| > 1.5$ 进行筛选,获得生精功能受损睾丸样本2242个差异表达基因,其中781个上调,1461个下调(见图1)。

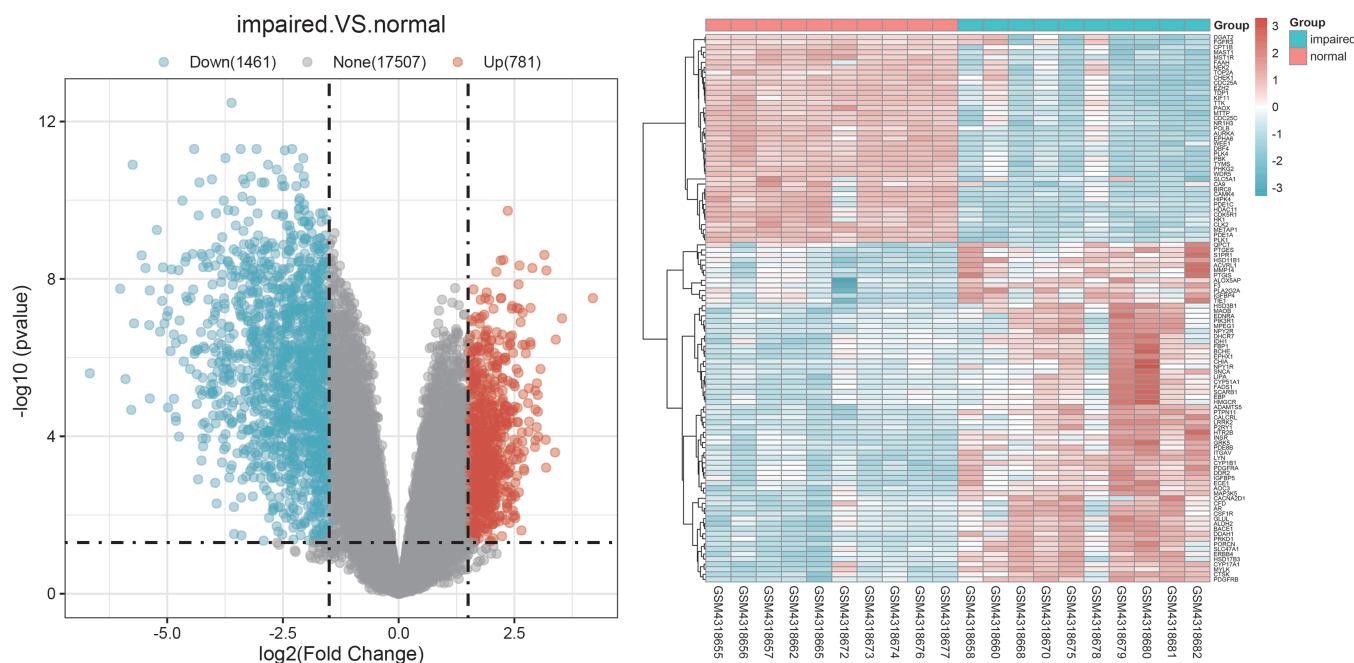


图1 疾病差异基因表达谱

将中药基因与疾病基因取交集后获得共同基因108个。借助Cytoscape 3.9.1软件的CytoHubba插件对共同基因进行分析,最终获得8个核心基因CDC25A、TOP2A、AURKA、CHEK1、PLK1、KIF11、PLK4、TTK,这些基因可能是还少丹改善少弱精子症的核心作用基因,见图2、图3。

2.2 GO富集和KEGG通路分析 GO分析得到520个生物过程(BP),19个细胞组成(CC)和64个分子功能(MF),选取排名前10的进行展示,结果表明,还

少丹治疗少弱精子症的生物过程主要富集于蛋白质自身磷酸化、酪氨酸磷酸化、激酶活性的正向调节、MAPK级联的正向调节、蛋白丝氨酸/苏氨酸激酶活性的调控、类固醇代谢、脂质代谢、激素代谢、ERK1和ERK2级联等方面,见图4。

KEGG富集分析筛选(以 $P < 0.05$ 为标准)得到信号通路49条,主要涉及的通路为:钙信号通路、Rap1信号通路、Ras信号通路、MAPK信号通路、PI3K-Akt信号通路、细胞周期、胞葬作用、AMPK

信号通路、FoxO 信号通路、脂肪消化吸收等。还少丹可能通过上述生物过程和信号通路治疗少弱精子症，见图4。

2.3 中药-有效成分-靶点基因-信号通路网络构建与分析 为阐明还少丹治疗少弱精子症的潜在机制，将15味中药、195个中药成分、108个基因和主要信号通路通过Cytoscape 3.9.1软件进行关联分析，构建中药-有效成分-靶点基因-信号通路复杂网络图，见图5，该网络图展现出还少丹各药物的协同作用，以

及全方多靶点、多途径治疗少弱精子症的作用机制。

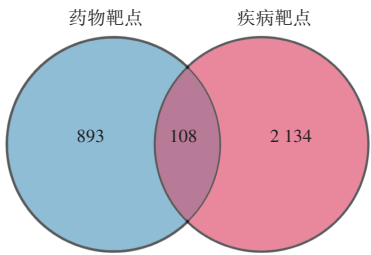


图2 药物与疾病靶点韦恩图

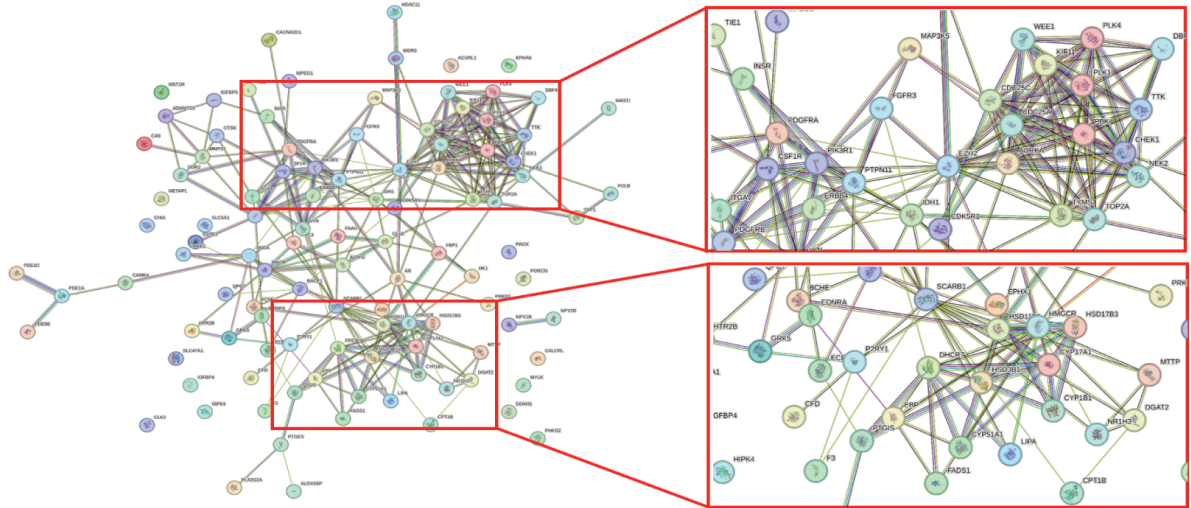


图3 还少丹治疗少弱精子症PPI网络图

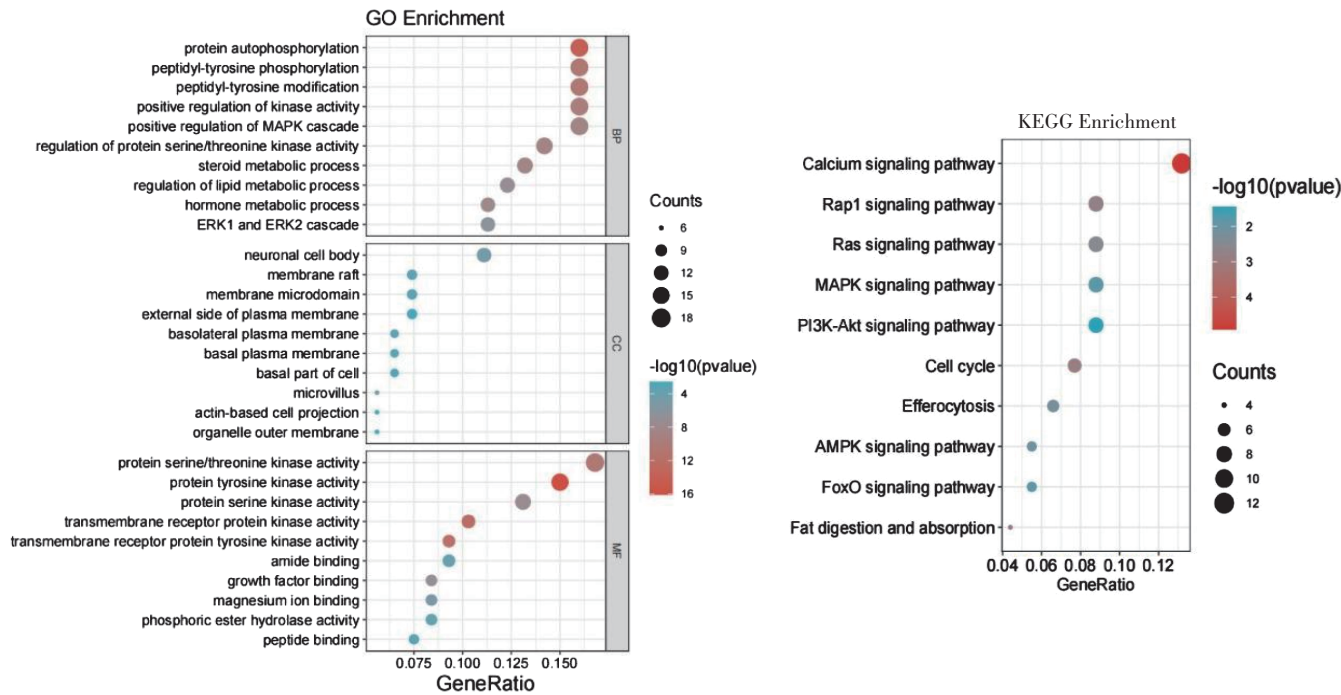


图4 GO功能和KEGG通路富集分析

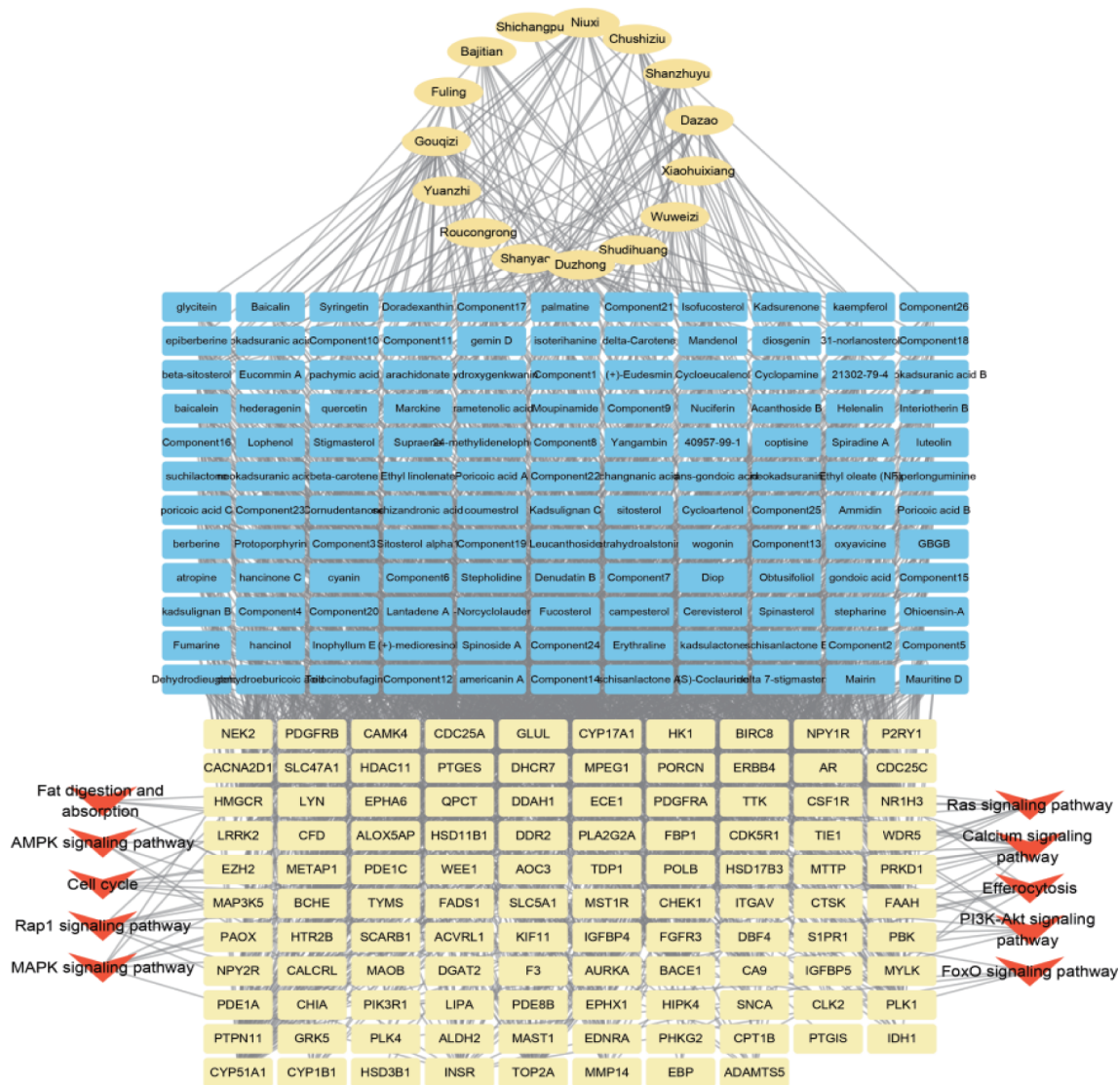


图5 中药-有效成分-靶点基因-信号通路网络图

2.4 分子对接验证 采用分子对接方法验证前文拓扑网络分析结果的准确性。对还少丹的8个核心药效分子豆甾醇、槲皮素、黄豆黄素、玉兰脂素B、山柰酚、车叶草苷四乙酸酯、苏齐内酯、过氧麦角甾醇与核心靶点(CDC25A、TOP2A、AURKA、CHEK1、PLK1、KIF11、PLK4、TTK)蛋白进行分子对接,其分子对接结合能见表1。各组合结合能均<-5 kcal/mol,表明具有良好的结合活性;多数组合结合能<-7 kcal/mol,表明具有强烈的结合活性,见图6。

3 讨论

少弱精子症是少精子症与弱精子症的并称,其病因复杂,涉及生殖道感染、精索静脉曲张、遗传因素、免疫因素、生活及环境因素等多方面^[15-6],现

表1 分子对接结合能

molecular docking	Binding energy(kcal/mol)
AURKA vs. Asperuloside tetraacetate	-8.1
CDC25A vs. Stigmasterol	-7.2
CDC25A vs. Stigmasterol	-7.2
KIF11 vs. Denudatin B	-7.4
PLK1 vs. kaempferol	-8.8
PLK4 vs. suchilactone	-6.4
TOP2A vs. quercetin	-8.0
TTK vs. Ergosterol peroxide	-9.5

代医学常对应采用抗氧化、抗感染、促性腺激素等药物进行治疗^[17-8]。《素问·上古天真论》提出肾主生殖理论,指出人的生长、发育、生殖与肾中精气密

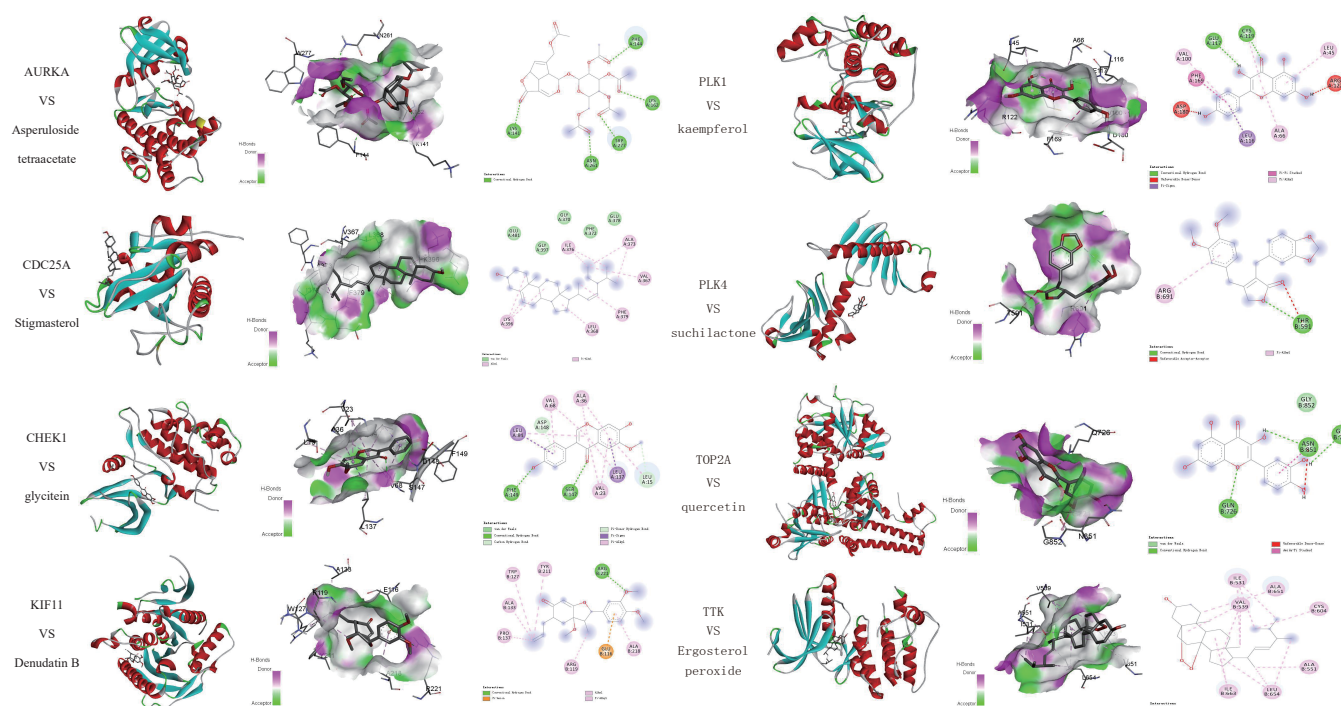


图6 还少丹中核心药效分子与核心靶蛋白的分子对接图

切相关。肾精亏虚-精室失用是少弱精子症的核心病机^[9]。后代医家对此也有阐述，明代岳甫嘉《妙一斋医学正印种子编》亦言，“生子之脉，专责于两肾”“凡人无子，多是精血清冷……不能直射子宫，故令无子”，认为男性肾精不充，导致精虚精弱，故而无子，治疗当益肾填精。

还少丹源自南宋洪遵《洪氏集验方》，方中熟地黄、枸杞子滋补肾阴，肉苁蓉、巴戟天温补肾阳，四药阴阳并补为君药；杜仲补肾强腰膝，小茴香温肾散寒，山茱萸、五味子、楮实固肾涩精共为臣药；山药、茯苓、大枣健脾益气，石菖蒲、远志交通心肾、宁心安神为佐药；牛膝补益肝肾、引药下行为使药。肾为先天之本，脾为后天之本，后天与先天相互补养、促进，本方温肾益精、安神补脾，脾肾双补，功效倍之。

还少丹治疗少弱精子症的有效成分主要包括甾醇、槲皮素、黄豆黄素、玉兰脂素B、山柰酚、车叶草苷四乙酸酯、苏齐内酯、过氧麦角甾醇等。甾醇是一种广泛存在于植物中的甾醇，植物甾醇多具有抗炎、抗氧化、降血糖、调血脂等功效，研究显示，豆甾醇可抑制氧化应激标志物产生，发挥抗氧化作用^[10]，可抑制肿瘤坏死因子- α 、白细胞介素-6等促炎细胞因子，发挥抗炎作用^[11]，可阻断

mTOR 信号通路诱导的细胞凋亡和自噬^[12]，还可调节钙离子通道，抑制前列腺间质细胞收缩^[13]；槲皮素、山柰酚均是常见的天然黄酮类化合物，具有抗炎、抗氧化、抗癌、抗病毒等功效^[14-16]，研究显示槲皮素可抑制Toll样受体4信号通路活化，发挥抗炎作用^[17]，可通过抑制细胞增殖、促进凋亡、抑制血管生成及转移进展以及影响自噬来发挥抗肿瘤作用^[18]；山柰酚可通过NF- κ B通路抑制促炎因子释放，抑制Toll样受体4通路等发挥抗炎作用，山柰酚同时可清除自由基、抑制脂质过氧化^[19-21]；黄豆黄素具有抗氧化作用，可通过MAPK/STAT3/NF- κ B通路诱导人胃癌细胞中活性氧依赖的细胞凋亡和G0/G1细胞周期阻滞^[22]；玉兰脂素B可通过血小板拮抗发挥抗炎症、抗凝血和抗纤维化作用。车叶草苷可以通过抑制NF- κ B和ERK1/2信号通路活化来抑制炎症^[23]；苏齐内酯可通过caspase-3/Bcl-2/Bax信号通路调节细胞凋亡，抑制肿瘤发展^[24]；麦角甾醇是真菌中的主要甾醇形式，过氧麦角甾醇具有抗肿瘤、抗氧化和抗菌的特性，可通过RIG-I信号传导抑制炎症和细胞凋亡^[25]。上述研究显示，还少丹主要活性成分多具有抗炎、抗氧化、抗菌、抗肿瘤特性。

KEGG通路富集分析结果显示，还少丹治疗少弱精子症主要与钙信号通路、Rap1信号通路、Ras信号

通路、MAPK 信号通路、PI3K-Akt 信号通路、细胞周期、胞葬作用、AMPK 信号通路、FoxO 信号通路、脂肪消化吸收等信号通路相关。钙信号通路对人类和啮齿动物的细胞分裂、分化、迁移和死亡具有重要作用,被认为是哺乳动物发育和繁殖过程中许多基本过程的基础,钙信号在雄性配子中受到精确的控制,以确保精子的产生、成熟和存活^[26];Rap1 信号通路参与细胞增殖、分化及凋亡,可调控哺乳动物精子发生,促进睾丸分化的生殖细胞及支持细胞释放成熟精子^[27];Ras 信号通路在细胞增殖、迁移及凋亡过程中发挥关键作用,研究显示,Ras/ERK1/2 通路可调控 ETV5 及 BCL6B 维持精原细胞自我更新^[28]。Ras 可激活 PI3K/AKT 信号通路,PI3K/AKT 信号通路是动物细胞中最重要的调控机制之一,主要调控细胞系的增殖、存活及抗凋亡。PI3K/AKT 通路参与雄性生殖的多个阶段^[29-30],包括精子发生过程中对下丘脑-垂体性腺轴的调节、精原细胞和体细胞的增殖及分化、精子自噬和睾丸内分泌功能的调节以及促进未成熟睾丸支持细胞和生精细胞的增殖和抗凋亡等,以上作用均可直接或间接地维持和促进男性睾丸中的精子发生;FoxO 信号通路是细胞应对氧化应激的关键调控通路,在精原细胞中 FoxO 是 PI3K/Akt 信号转导的关键效应因子,可控制精原细胞自我更新并启动精子发生^[31-32];MAPK 信号通路调节生殖细胞的增殖、减数分裂以及支持细胞的增殖,参与了精原细胞的自我更新和凋亡^[33]。MAPK 信号通路可被活性氧及多种炎症因子激活,进而介导促炎因子产生;AMPK 信号通路可通过其对支持细胞增殖以及对精子运动和顶体反应的作用,直接或间接地控制精子质量^[34],AMPK 通路参与脂质过氧化和配子抗氧化酶的调控^[35],维持精子膜的完整性和线粒体膜电位,还可维持睾丸微环境的稳定性,研究证实,AMPK 全敲除小鼠精子头部异常、活动能力受损^[33];上述通路一定程度上都参与调节氧化应激及炎症,胞葬作用因其可快速清除凋亡细胞,使体内死亡的细胞以一种避免炎症和非免疫原性的方式被清除,亦具有抗炎特性^[36]。因此,推测还少丹可能是通过以上通路发挥抗炎、抗氧化等作用,从多角度调节精子发生,治疗少弱精子症。

综上所述,本研究采用网络药理学及分子对接方法探究了还少丹治疗少弱精子症的潜在靶点及作

用机制,构建了中药-有效成分-靶点基因-信号通路,揭示了还少丹多成分、多途径、多靶点协同作用治疗少弱精子症的特点,为后续进行更为深入的机制研究提供思路。

[参考文献]

- [1] AGARWAL A, MULGUND A, HAMADA A, et al. A unique view on male infertility around the globe[J]. *Reprod Biol Endocrinol*, 2015, 13(1): 37.
- [2] EISENBERG M L, KIM S, CHEN Z, et al. The relationship between male BMI and waist circumference on semen quality: data from the LIFE study[J]. *Hum Reprod*, 2014, 29(2): 193-200.
- [3] 中国医师协会生殖医学专业委员会生殖男科学组弱精子症诊疗中国专家共识编写组. 弱精子症诊疗中国专家共识[J]. *中华生殖与避孕杂志*, 2021, 41(7): 593-599.
- [4] 杨长海,孙中义,王波,等. 还少胶囊治疗少弱精子症的多中心临床观察[J]. *中华男科学杂志*, 2018, 24(7): 635-639.
- [5] TOURÉ A, MARTINEZ G, KHERRAF Z E, et al. The genetic architecture of morphological abnormalities of the sperm tail[J]. *Hum Genet*, 2021, 140(1): 21-42.
- [6] SIRONEN A, SHOEMARK A, PATEL M, et al. Sperm defects in primary ciliary dyskinesia and related causes of male infertility[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2020, 77(11): 2029-2048.
- [7] IGNATIEVA E V, OSADCHUK A V, KLESHCHEV M A, et al. A Catalog of Human Genes Associated With Pathozoospermia and Functional Characteristics of These Genes[J]. *Front Genet*, 2021, 12: 662770.
- [8] DONG P, XIA L, HU L, et al. Runjing Decoction alleviated cyclophosphamide-induced oligoasthenospermia rats by inhibiting cell apoptosis via RXFP1/AKT/FOXO1 pathway[J]. *Andrologia*, 2021, 53(11): e14216.
- [9] 赵明,晏斌,高庆和,等. 基于“肾主生殖”理论探讨少弱精子症的生物学基础[J]. *中华男科学杂志*, 2022, 28(11): 1038-1043.
- [10] LIANG Q, YANG J, HE J, et al. Stigmasterol alleviates cerebral ischemia/reperfusion injury by attenuating inflammation and improving antioxidant defenses in rats[J]. *Biosci Rep*, 2020, 40(4): BSR20192133.
- [11] AHMAD KHAN M, SARWAR A H M G, RAHAT R, et al. Stigmasterol protects rats from collagen induced arthritis by inhibiting proinflammatory cytokines[J]. *Int Immunopharmacol*, 2020, 85: 106642.
- [12] ZHAO H, ZHANG X, WANG M, et al. Stigmasterol Simultaneously Induces Apoptosis and Protective Autophagy by Inhibiting Akt/mTOR Pathway in Gastric Cancer Cells[J]. *Front Oncol*, 2021, 11: 629008.
- [13] 马亚宣,吴垚铨,邵瑞,等. 豆甾醇通过抑制钙离子内流抑制大

- 鼠前列腺间质细胞收缩[J]. 天津中医药, 2022, 39(11): 1445-1451.
- [14] CHAGAS M D S S, BEHRENS M D, MORAGAS-TELLIS C J, et al. Flavonols and Flavones as Potential anti-Inflammatory, Antioxidant, and Antibacterial Compounds[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2022, 2022: 9966750.
- [15] DEEPIKA, MAURYA P K. Health Benefits of Quercetin in Age-Related Diseases[J]. *Molecules*, 2022, 27(8): 2498.
- [16] PERIFERAKIS A, PERIFERAKIS K, BADARAU I A, et al. Kaempferol: Antimicrobial Properties, Sources, Clinical, and Traditional Applications[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(23): 15054.
- [17] CHEN C Y, KAO C L, LIU C M. The Cancer Prevention, Anti-Inflammatory and Anti-Oxidation of Bioactive Phytochemicals Targeting the TLR4 Signaling Pathway[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(9): 2729.
- [18] TANG S M, DENG X T, ZHOU J, et al. Pharmacological basis and new insights of quercetin action in respect to its anti-cancer effects[J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 121: 109604.
- [19] ZHANG R, AI X, DUAN Y, et al. Kaempferol ameliorates H9N2 swine influenza virus-induced acute lung injury by inactivation of TLR4/MyD88-mediated NF- κ B and MAPK signaling pathways[J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 89: 660-672.
- [20] NAM S Y, JEONG H J, KIM H M. Kaempferol impedes IL-32-induced monocyte-macrophage differentiation[J]. *Chem Biol Interact*, 2017, 274: 107-115.
- [21] ALAM W, KHAN H, SHAH M A, et al. Kaempferol as a Dietary Anti-Inflammatory Agent: Current Therapeutic Standing[J]. *Molecules*, 2020, 25(18): 4073.
- [22] ZANG Y Q, FENG Y Y, LUO Y H, et al. Glycitein induces reactive oxygen species-dependent apoptosis and G0/G1 cell cycle arrest through the MAPK/STAT3/NF- κ B pathway in human gastric cancer cells[J]. *Drug Dev Res*, 2019, 80(5): 573-584.
- [23] WANG X, CHEN X, ZHANG Z, et al. Asperuloside Prevents Peri-Implantitis via Suppression of NF- κ B and ERK1/2 on Rats[J]. *Pharmaceuticals (Basel)*, 2022, 15(8): 1027.
- [24] WU J, DENG Y, ZHANG X, et al. Suchilactone inhibits the growth of acute myeloid leukaemia by inactivating SHP2[J]. *Pharm Biol*, 2022, 60(1): 144-153.
- [25] ZHOU B, LIANG X, FENG Q, et al. Ergosterol peroxide suppresses influenza A virus-induced pro-inflammatory response and apoptosis by blocking RIG-I signaling[J]. *Eur J Pharmacol*, 2019, 860: 172543.
- [26] STEWART T A, DAVIS F M. An element for development: Calcium signaling in mammalian reproduction and development[J]. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res*, 2019, 1866(7): 1230-1238.
- [27] KE C C, LIN Y H, WANG Y Y, et al. TBC1D21 Potentially Interacts with and Regulates Rap1 during Murine Spermatogenesis[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(11): 3292.
- [28] NIU Z, ZHENG L, WU S, et al. Ras/ERK1/2 pathway regulates the self-renewal of dairy goat spermatogonia stem cells[J]. *Reproduction*, 2015, 149(5): 445-452.
- [29] DENG C Y, LV M, LUO B H, et al. The Role of the PI3K/AKT/mTOR Signalling Pathway in Male Reproduction[J]. *Curr Mol Med*, 2021, 21(7): 539-548.
- [30] CHEN K Q, WEI B H, HAO S L, et al. The PI3K/AKT signaling pathway: How does it regulate development of Sertoli cells and spermatogenic cells?[J]. *Histol Histopathol*, 2022, 37(7): 621-636.
- [31] YANG T, YANG W X. The dynamics and regulation of microfilament during spermatogenesis[J]. *Gene*, 2020, 744: 144635.
- [32] SUN Y, LI M, CUI Z, et al. Transcriptomic Analysis Revealed Candidate Genes Involved in Pseudomale Sperm Abnormalities in Chinese Tongue Sole (*Cynoglossus semilaevis*)[J]. *Biology (Basel)*, 2022, 11(12): 1716.
- [33] NI F D, HAO S L, YANG W X. Multiple signaling pathways in Sertoli cells: recent findings in spermatogenesis[J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(8): 541.
- [34] NGUYEN T M, FROMENT P, COMBARNOUS Y, et al. AMPK, regulator of sperm energy and functions[J]. *Med Sci (Paris)*, 2016, 32(5): 491-496.
- [35] MARTIN-HIDALGO D, HURTADO DE LLERA A, CALLE-GUISADO V, et al. AMPK Function in Mammalian Spermatozoa[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(11): 3293.
- [36] MEHROTRA P, RAVICHANDRAN K S. Drugging the efferocytosis process: concepts and opportunities[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2022, 21(8): 601-620.

(责任编辑: 刘淑婷)