

基于表观遗传学调控的中医药治疗男性不育症研究进展*

陈央娣¹, 孙自学^{2**}

(1. 河南中医药大学第二临床医学院 郑州 450000; 2. 河南省中医院/河南中医药大学第二附属医院 郑州 450002)

摘要:表观遗传学是生命科学领域后基因时代的研究热点,应用表观遗传修饰研究方法是男性不育症发病机制研究的前沿领域,亦是探索中医药治疗男性不育症靶点并阐释其作用机制的新途径。目前,男性不育症的病因病机尚未完全明确,现代医学尚无较好疗法,而中医药治疗男性不育症具有独特的优势和广阔的前景。新近研究发现,中医药能参与调控异常表观遗传修饰而治疗男性不育症。本文主要从男性不育症中医理论的表观遗传学基础以及从DNA甲基化、组蛋白修饰和非编码RNA三个方面在男性不育症治疗及中医药研究中的应用入手,多学科交叉,评述中医药治疗男性不育症的表观遗传作用,以期中医药治疗该病提供新的科学依据和新思路。

关键词:表观遗传学 男性不育症 中药 DNA甲基化 组蛋白修饰 非编码RNA

doi: 10.11842/wst.20210309014 中图分类号: R2-03 文献标识码: A

男性不育症(Male Infertility, MI)是由多种因素导致男性生殖功能障碍的一种疾病。近半个世纪男性精子质量下降约50%,不孕不育已成为继心血管疾病、肿瘤之后的当今世界第三大疑难疾病,严重威胁人类的生殖健康^[1]。据世界卫生组织(WHO)统计,全世界有将近15%的育龄夫妇受不育问题困扰,在我国约为10%,且其发病率有逐年增高的趋势,而其中大约50%是由男性因素引起的^[2-3],且超过60%-75%的患者病因不明^[4]。

随着分子生物学的发展及对疾病的研究深入,人们对男性不育症的发病机制有了新的认识,认为大多数特发性男性不育是由表观遗传修饰的改变所导致的。因此,针对表观遗传的调控已成为生殖医学研究领域的热点。表观遗传学是研究在未改变DNA序列

的情况下,基因表达发生的多种可遗传改变,包括DNA甲基化、组蛋白修饰、非编码RNA等方面,并由此导致的表型变化,强调基因与环境的相互作用。相关研究表明,表观遗传修饰异常与精子生成障碍、精液质量降低有直接关系,从而导致男性不育^[5-7]。孙自学教授带领的课题组在前期研究工作中,通过高通量测序技术,发现某些miRNA、lncRNA与精子DNA损伤有关,而自拟益肾通络方在治疗男性不育症方面具有良好的临床疗效,其机制可能通过调控异常的miRNA、lncRNA而发挥治疗作用。因此,近年来表观遗传学在男性不育方面的研究日益增多。同时,中医药研究学者发现,表观遗传学与某些中医理论,如“天人相应”“证候”“体质学”等,存在高度一致性,两者都强调人体的生理、病理变化受外界环境因素的影响,故认为

收稿日期:2021-03-09

修回日期:2022-03-19

* 国家自然科学基金委员会面上项目(81974573):基于lncRNA TCONS_00092730调控MEI4基因探讨益肾通络方修复精子DNA损伤机制,负责人:孙自学;河南省卫健委/河南省中医管理局重大专项课题(2022ZYZD9):益肾通络方治疗肾虚络阻型少弱精子症不育患者的临床疗效评价及基于代谢组学的机制研究,负责人:孙自学;河南省卫生健康委员会重点项目(ZYMY201809):河南省“中原千人计划”中原名医项目,负责人:孙自学。

** 通讯作者:孙自学,生殖医学科主任,主任医师,博士研究生导师,主要研究方向:中西医结合男科和生殖医学研究。

中药在男性不育症治疗中的作用有可能是通过多靶点调控表观遗传修饰而发挥的。因此,明确这些机制可以为临床治疗男性不育症提供指导并寻找新的靶标。

1 中医药治疗男性不育症相关理论的表现遗传学基础

1.1 肾主生殖、整体观念与表观遗传学

“肾藏精,主生殖”,肾之功能正常是男子具备并维持正常生殖功能的重要生理基础。而表观遗传修饰在人类精子产生及成熟的过程中起着重要作用,其正常调控对于人类生殖功能具有重要意义^[8]。受精前精子细胞的DNA是高度甲基化的;受精后4h内,精子便发生快速、主动地去甲基化^[9]。可见,“肾主生殖”之“先天之精”的调节作用与表观遗传修饰在精子发生发育过程中的调控具有相似之处。另有研究发现,补肾中药可增加肾虚型少弱精症患者的精子印迹基因H19的表达^[10],即中药通过补肾改善生殖功能的机制从表观遗传学角度得到了较合理的解释,并揭示了“肾主生殖”理论的科学内涵。

中医又强调整体观念,注重人体与外部环境(包括自然环境和社会环境)之间的统一性。因此,人体是处于一个不断运动变化去适应环境改变的动态平衡之中,即“天人相应”。如此维持阴阳平衡,肾与其他脏腑之间功能协调,则男性生殖功能才能发挥正常。表观遗传修饰随外部环境的变化而出现可逆性改变的这一特性与之亦有相似性。表观遗传修饰的重编对环境变化十分敏感,在精子发生发育过程中,若重新编程发生错误,将导致多种表观遗传缺陷性疾病。Oakes等^[11]报道5-氮杂胞苷处理动物后,不育率明显增加,因为5-氮杂胞苷可使精子DNA甲基化程度降低,选择性地抑制DNA的甲基化能力。因此,从表观遗传学角度分析中医一直强调对外在环境因素的干预以起到预防保健和治疗病证的作用这一观点,就可以得到合理的现代医学理论解释。总之,表观遗传学所体现出来的整体观、动态观与中医藏象学说可谓不谋而合。

1.2 辨证论治与表观遗传学

辨证论治是中医的灵魂之一,有中医学者认为,证候实质与表观遗传学有着密切的内在联系,疾病的不同证候类型存在不同的表观遗传修饰,即表观遗传

学是中医证候多样性的部分物质基础。刘氏等^[12]对急性髓系白血病中医证型与ID4基因启动子区甲基化进行了相关性研究,结果发现各证型患者ID4基因启动子区甲基化阳性率由低到高依次为气阴两虚证、瘀血痰结证和毒热炽盛证,表明中医证型与表观遗传学修饰之间存在一定的联系。“肾主生殖”,故肾虚是导致男性不育症发生的根本病机,有学者发现肾虚型少弱精子症不育患者的精子DNA印迹基因H19的表达较健康对照组下调^[13]。因此,表观遗传学在探究中医证候实质方面具有十分重要的地位。而在治疗上,同样是男性不育症,若证候不同,发生的表观遗传修饰不一样,治疗就有所不同;对不同原因所致男性不育症,若证候一样,其表观遗传修饰改变位点相同则可采用同一治则治疗,这与中医学的“同病异治”、“异病同治”思想不谋而合^[14]。

1.3 中医体质与表观遗传学

男性不育症的发生、发展及预后与体质也是密切相关的。先天禀赋与后天环境的相互作用能促成体质的形成,而体质可能是表观遗传修饰而引起的外在表型^[15]。辛卫云等^[16]认为,中医药通过调理全身脏腑功能协调、阴阳平衡、改善体质的治疗作用,从微观角度来看,可能是通过调控基因转录及其表达、蛋白修饰、非编码RNA等表观遗传作用,逆转异常改变的表观遗传信息而达到治疗目的的。

由此可见,中医的肾主生殖、整体观念、辨证论治、体质学说等理论与表观遗传学变化存在一定的相关性和密切的联系,具有表观遗传学基础。基于此,中药治疗疾病表现出的多层面、多靶点、多通路的特点,可能与调控表观遗传学变化有关,能作用于表观遗传修饰中的多个环节。

2 中医药治疗男性不育症的表现遗传学靶点

2.1 DNA甲基化与男性不育症

DNA甲基化(DNA methylation),即DNA化学修饰的一种形式,是最早被发现的表观遗传机制。它通常是指在DNA甲基转移酶(DNA methyltransferases, DNMTs)的催化下,以S-腺苷甲硫氨酸(S-adenosylmethionine, SAM)为甲基供体,将甲基基团转移到DNA的胞嘧啶(C)和鸟嘌呤(G)两个核苷酸上的过程,最常见的是5'-胞嘧啶鸟嘌呤-3'(cytosine phosphate guanosine, CpG)双核苷酸中胞嘧啶环的第5

位碳原子甲基化,形成5-甲基胞嘧啶(5-methylcytosine, 5mC)。DNA甲基化能调节细胞分化与基因表达,在胚胎发育、基因印记及人类疾病的发生发展中起着重要作用。目前,越来越多研究表明,DNA甲基化的异常与男性不育之间有密切联系。

刘丹等^[17]通过对少、弱、畸精症男性不育患者精液中DNA的抗氧化基因——核因子E2相关因子2(nuclear factor erythroid-2 related factor 2, NRF2)进行甲基化分析,证实NRF2启动子上游CpG岛内408-994bp段的第7个甲基化位点的缺失与精子成熟障碍有关。这项研究排除了因NRF2单体型对精液质量的影响,从而更有力地证实NRF2甲基化的异常与男性不育有关。Kumar等^[18]通过对30例少精子症患者精液中的基因——精子生成相关蛋白(spermatogenesis associated proteins, SPATAs)中的SPATA4、SPATA5和SPATA6进行甲基化分析,发现上述基因启动子显著高甲基化,表明这三个基因的高甲基化影响生精过程,与少精子不育症相关。Fei等^[19]对非梗阻性无精子症(non-obstructive azoospermia, NOA)患者与正常男性进行DNA甲基化的全基因组对比分析,确定含Sry盒基因30(Sry-box containing gene 30, SOX30)是NOA患者睾丸组织启动子段最显著的高甲基化基因,并通过动物实验,发现SOX30缺失小鼠精子生成障碍而不育,从而证实SOX30的高甲基化使其本身失活,与NOA的发生有关。

目前有研究表明,中药能通过作用于DNA甲基化的相关靶标在精子的生成、成熟过程及DNA完整性方面发挥非常重要的调控作用。孙自学等^[20]研究发现,苯并(a)芘(benzo(a)pyrene, BaP)染毒可致雄性大鼠精子DNA甲基化改变,其中编码lncRNA的783个基因上调,同时3378个基因下调,以下调为主,予益肾通络方干预后,对62个异常甲基化上调基因和56个异常甲基化下调基因具有保护作用,说明该药通过调节异常甲基化水平,促进相关基因转录并表达,其机制可能与lncRNA途径有关,而非通过DNMTs,从而提高DNA甲基化异常大鼠的生殖能力。连方等^[10]通过临床研究发现,生精方能明显改善少弱精子症患者的精液质量,提高生育力,上调不育患者精子印迹基因H19表达是该药发挥疗效的可能机制。不同的中药复方可能通过不同的作用机制,如:调控DNMTs水平,升高或降低,避害趋利;调控特定基因的甲基化及印记基

因、整体基因组等,达到“阴阳”平衡而起效。

2.2 组蛋白修饰与男性不育症

组蛋白修饰(histone modification)是指与DNA结合存在的蛋白质——组蛋白,在相关酶的作用下,其N-末端氨基酸残基发生甲基化(methylation)、乙酰化(acetylation)、磷酸化(phosphorylation)、泛素化(ubiquitination)、ADP核糖基化(glycosylation)等修饰的过程,是染色质重塑的主要机制^[21-22]。目前研究较多的修饰方式是组蛋白的乙酰化和甲基化。这些修饰可调节组蛋白与DNA的结合程度改变染色体的结构,进而调节基因的活化或沉默影响其转录。目前,许多研究发现组蛋白修饰影响生精细胞基因的转录和翻译。组蛋白的包装修饰发生在生精细胞的有丝分裂和减数分裂的阶段,将雄性生殖细胞DNA与组蛋白结合形成核小体,以利于精子发生过程中使常染色质呈开放状态及异染色质呈凝集状态,从而对生精过程发挥重要作用^[23-24]。

Samantha等^[25]采用纳米液相色谱-串联质谱法对31例精液参数正常和异常的男性精液标本中组蛋白H3、H4上组蛋白翻译后修饰(post-translational modifications, PTMs)的相对丰度进行了分析,结果发现:弱畸形精子症患者的精液样本显示H4乙酰化减少,H4K20和H3K9甲基化改变;弱精子症患者的精液标本显示H4乙酰化降低和H3K9甲基化;孤立性异常进展者的标本主要表现为H4乙酰化降低;而畸形精子样本与正常精子样本相似,提示不同表现精子样本显示出不同改变的组蛋白PTMs特征,说明组蛋白PTMs与精子活力、形态有密切关系。Xiaoli等^[26]利用RNA-seq发现,从出生至14日龄,小鼠睾丸中组蛋白甲基转移酶(包含2甲基转移酶的SET结构域(the SET domain-containing 2 methyltransferase, SETD2)) mRNA水平显著增加,而生殖细胞特异性的SETD2基因敲除模型小鼠的组蛋白H3上的36位赖氨酸三甲基化修饰(trimethylation of lysine 36 on H3, H3K36me3)完全丢失,同时精子生成所需基因的表达下调,包括编码顶体酶结合蛋白1(acrosomal enzyme binding protein 1, Acrbp1)和精蛋白的基因,导致精子发生异常并伴有顶体畸形而发生不育,表明SETD2依赖的H3K36me3修饰在精子发生中起着非常重要的作用。Yoshiki等^[27]通过动物研究发现,在雄性生殖细胞分化过程中,组蛋白H4的各个N端位点表现出不同的修饰

模式,如根据单甲基化、双甲基化或三甲基化残基的不同而产生不同的甲基化模式,细长精子细胞显示组蛋白H4乙酰化增强,而所有的H4修饰在减数分裂前期表现显著,提示组蛋白H4修饰能调节精子发生过程中基因的表达,参与精母细胞减数分裂过程。

学者发现,组蛋白修饰能调控生精过程、影响精子质量,并能将表观遗传信息传递到受精卵,影响子代遗传信息,若其发生异常可引起不育^[28]。蔡剑等^[29]通过腹腔注射环磷酰胺建立生精功能障碍模型大鼠,后予强精片(分低、中、高剂量组)进行干预,检测相关指标,结果发现,中、高剂量组大鼠睾丸组织中G9a蛋白和G9a、Cdy1 mRNA表达明显升高,组蛋白脱乙酰酶1(histone deacetylase, HDAC1)蛋白及其mRNA表达明显降低,该药的作用机制推测是通过上调G9a、Cdy1表达和下调HDAC1表达而改善模型大鼠的精子质量。HDAC1是组蛋白的去乙酰化酶之一。有研究证实,去乙酰化酶家族与基因转录调控、染色体易位、基因抑制及细胞增殖、分化、凋亡等相关^[30]。组蛋白修饰也是研究男性不育症发生机制的一个热点,中医可以此为切入点,深入研究中药干预男性不育症组蛋白修饰的作用机理,从分子水平阐释男性不育的发病机制及中药的表观遗传作用。

2.3 非编码RNA调控与男性不育症

非编码RNA(noncoding RNAs, NcRNAs)是由基因组转录而成的不编码蛋白质的RNA分子,约占人类基因组的98%,包括核糖体RNA(rRNA)、转运RNA(tRNA)和调控RNA等,而调控性NcRNAs又分为长度小于200个核苷酸(nt)的短链非编码RNA(small noncoding RNA, sncRNA),如微小RNA(microRNA, miRNA);长度大于200nt的长链非编码RNA(lncRNA);及呈封闭环状结构、无游离5'和3'末端的环形RNA(circRNA)。NcRNAs除了能在转录及转录后水平调控基因表达外,还能以RNA形式在多个层面参与基因表达调控,如在细胞凋亡、基因印迹、肿瘤发生和表观遗传修饰等过程中发挥作用^[31]。近几年,随着对NcRNAs与男性不育之间关系的研究深入,已发现其亦能调控精原干细胞(spermatogonial stem cell, SSC)通过有丝分裂进行自我更新和细胞分化,参与初级精母细胞的减数分裂等过程^[32-34]。

Sara等^[35]应用Diff-Quick、RT-PCR方法对55名生育能力正常和异常的男性所提供的精子和睾丸组织

样本进行分析,结果显示,严重及中度少弱畸精症患者miR-383和miR-122的表达较正常精子组显著增高,非梗阻性无精子症患者miR-15b和miR-122表达高于梗阻性无精子症患者,而靶基因p53、含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶9(cysteinyI aspartate specific proteinase 9, caspase-9)和细胞周期素D(cyclinD1)的表达水平随miRNAs的表达变化发生原则性变化。表明miRNAs能调控精子发生过程,精子畸形与其表达变化有关。Meng等^[36]发现,lncRNA Gm2044和miR-202在非梗阻性无精子症患者睾丸组织中表达显著增高。通过lncRNA微阵列、加州大学圣克鲁斯分校(University of California—Santa Cruz, UCSC)基因组浏览器、生物信息学分析、核糖核酸提取、实时荧光定量(real time quantitative polymerase chain reaction, RT-qPCR)、蛋白质印迹、细胞增殖分析等,验证了lncRNA Gm2044,作为miR-202宿主基因,能抑制miR-202的靶基因——RNA结合蛋白fox-1同源物2(RNA binding protein fox-1 homolog 2, Rbfox2)及其蛋白质表达水平。并通过体外实验发现lncRNA Gm2044过表达抑制了NCCIT细胞增殖,而条件性敲低miR-202或过表达Rbfox2则减弱了上述的抑制作用,说明MiR-202-Rbfox2分子信号通路介导了lncRNA Gm2044对NCCIT增殖的抑制作用。Francesco等^[37]通过微阵列技术分析弱精子症患者和正常对照组的精子(SPZ)中差异表达的circRNA,确定了9138个转录本,其中22%是新发现的。然后通过Percoll梯度分离出两个SPZ种群(A SPZ=优质,B SPZ=低质量),再对其进行微阵列分析,A级和B级SPZ中总共鉴定出1432个差异表达的(DE)-circRNA,并发现B级中有664个上调的circRNA和768个下调的circRNA,而在正常精子来源的SPZ中有148个DE-circRNA,证明了差异circRNA有效负载。Deubiquitinase(USP)是已证明的在精子发生过程中起重要作用的去泛素化酶,circUSP54下游的某些mRNA靶标参与线粒体活性,如液泡蛋白分选相关蛋白13A(vacuolar protein sorting-associated protein 13A, VPS13A)和含三联基元4(tripartite motif containing 4, TRIM4),与精子活力有关;还有一些mRNA靶标在维持精液质量方面起着关键性的作用,如超氧化物歧化酶2抗原(superoxide-dismutase-2, SOD2)和X连锁凋亡抑制蛋白(X-linked inhibitor of apoptosis protein, XIAP)^[38-41]。

关于中药治疗男性不育症的非编码RNA调控机制的研究尚处于起步阶段,国内外鲜见报道。在其他学科的相关研究较多,如在肿瘤疾病领域发现,白藜芦醇苷能通过下调长链非编码RNA HULC的表达来抑制肝癌细胞系 SMMC-7721 和 HepG2 的增殖和侵袭^[42]。在免疫性疾病领域发现,雷公藤 F(*Tripterygium wilfordii* Hook.f., TWHF)能明显降低类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)患者体内的循环 miR-146a 水平,抑制炎症反应,改善患者症状^[43]。在心血管疾病领域发现丹皮酚能明显改善缺血性心律失常和降低心肌细胞中 miRNA-1 的表达^[44]。我们课题组初步研究发现,益肾通络方干预后与精子 DNA 损伤模型大鼠比较,共有 59 个 miRNA 发生变化,其中 39 个上调,20 个下调,其中以 miR-466c 差异最为明显,推测益肾通络方可能通过逆转 miRNA 表达紊乱,尤其是 miR-466c 调控精子 DNA 损伤修复过程;进一步研究还发现, lncRNA TCONS_00092730 调控 MEI4 基因与精子 DNA 损伤有关,而益肾通络方的作用机制可能与此存在联系,具体机制尚在深入研究当中。祖国医学博大精深,借鉴其他学科的研究思路,利用现代技术手段,相信在未来中药干预男性不育方面能很快找到其所作用的非编码 RNA 分子及其靶基因,从表观遗传学角度揭示其深层的分子机制,论证中药疗效的科学性和提供新的治疗思路。

3 问题与展望

中医遵循整体观念,首重辨证论治,重视环境、情志等因素对脏腑之间生克制化的影响以及体质的形成,而上述理论与表观遗传学存在密切的关系。既往研究表明,中药能以多靶点、多途径、多层面来进行表观遗传学干预。因此,将中医药与表观遗传学相融合

是新时代诊治男性不育症的新思路与新方法。目前,许多研究都证实表观遗传修饰异常参与了精子生成过程的多个环节,中药通过调控异常的表观遗传修饰治疗男性不育症是新的研究方向。但是,中医药诊治男性不育症表观遗传作用的研究尚不完全成熟。现有研究中,中药复方对应的表观遗传靶标是单一的,且局限于 DNA 甲基化和组蛋白修饰方面,非编码 RNA 调控的作用机制报道鲜少。

谷瑞升等^[45]在国家自然科学基金重大研究计划“细胞编程和重编程的表观遗传机制”中期进展概述中指出, DNA 甲基化和去甲基化、细胞重编程以及该过程中核染色质和非编码核酸调控是未来研究的 3 个集成方向。中医药治疗男性不育症的研究需贴近该方向,应充分依靠现代循证医学体系,利用现代科技,重视临床研究与动物实验,充分开发与挖掘中医药的独特优势,寻找中医证候诊断的表观遗传相关生物标志物,揭示中药治疗男性不育症的表观遗传作用,形成中医表观遗传学知识网络,从而更好地为中医药诊治男性不育症理论提供客观的科学依据及新的中医诊疗思路。

道长险阻,当然未来工作中存在许多难点,比如:男性不育症的发病机制尚未完全阐明,中药与表观遗传学的多层次、多靶点、多途径的相互作用应采用何种有效的方法去研究并构建。有学者认为,需要进一步完善表观遗传学的研究方法,使男性不育症的表观遗传学相关靶标系统化,使对本病的检测便捷化,这样才能使表观遗传学在男性不育症的治疗中有更好的应用^[4]。道阻且长,行则将至。相信未来我们能对中医药诊治男性不育症的表观遗传作用的研究更加深入,为男性不育症的中医诊疗提供强有力的科学支持。

参考文献

- 1 Bokmin K Y, Min J Y. Exposure to environmental noise and risk for male infertility: A population-based cohort study. *Environ Pollut*, 2017, 226(7):118-124.
- 2 Kumar N, Singh A K. Trends of male factor infertility, an important cause of infertility: A review of literature. *J Hum Reprod Sci*, 2015, 8(4):191-196.
- 3 路兴军, 李晓东, 孙立宁, 等. 男性不育症病因研究进展. *中国生育健康杂志*, 2018, 29(4):399-401.
- 4 Rana K P, Thaper D L, Prabha V J. Is there a role for Serratia marcescens in male infertility: An experimental study. *Microb Pathog*, 2017, 105(4):13-18.
- 5 Carrell D T. Epigenetics of the male gamete. *Fertil Steril*, 2012, 97(2):267-274.
- 6 Rajender S, Avery K, Agarwal A. Epigenetics, spermatogenesis, and male infertility. *Mutat Res*, 2011, 727(3):62-71.
- 7 全祺玮, 吴应积. 精子发生的表观遗传学变化及其对后代的影响. *中国优生与遗传杂志*, 2013, 21(9):3-5.
- 8 Li E. Chromatin modification and epigenetic reprogramming in

- mammalian development. *Nat Rev Genet*, 2002, 3(9):662-673.
- 9 Santos F, Hendrich B, Reik W, et al. Dynamic reprogramming of DNA methylation in the early mouse embryo. *Dev Biol*, 2002, 241(1): 172-182.
 - 10 连方, 孙金龙, 郭亮, 等. 生精方对肾虚型少弱精子症不育患者精子印记基因H19表达的影响. *中医杂志*, 2014, 24(13):1113-1116.
 - 11 Oakes C C, Kelly T L, Robaire B, et al. Adverse effects of 5-aza-2'-deoxycytidine on spermatogenesis include reduced sperm function and selective inhibition of de novo DNA methylation. *J Pharmacol Exp Ther*, 2007, 322(3):1171-1180.
 - 12 刘菲, 徐瑞荣. 急性髓系白血病中医证型与ID4基因启动子区甲基化相关性研究. *中国中西医结合杂志*, 2012, 32(4):471-473.
 - 13 郭亮. 补肾中药生精方对肾虚型不育患者精子DNA印记基因H19表达的研究. 济南: 山东中医药大学硕士研究生学位论文, 2012.
 - 14 王一同, 李娟, 卢雯平. 基于表观遗传学调控的中医药防治乳腺癌研究进展. *世界中西医结合杂志*, 2017, 12(12):1756-1760.
 - 15 姚海强. 痰湿体质DNA甲基化、miRNA及lncRNA表达谱研究. 北京: 北京中医药大学博士研究生学位论文, 2016.
 - 16 辛卫云, 白明, 苗明三. 基于表观遗传学的中医药现代研究思考. *中华中医药学刊*, 2016, 34(1):94-97.
 - 17 刘丹, 王芳, 龚炜, 等. NRF2启动子甲基化与男性不育. *中华临床医师杂志*, 2014, 8(5):839-843.
 - 18 Kumar M S, Vertika S, Sameer T, et al. Increased DNA methylation in the spermatogenesis-associated (SPATA) genes correlates with infertility. *Andrology*, 2020, 8(3):602-609.
 - 19 Han F, Jiang X, Li Z M, et al. Epigenetic inactivation of SOX30 is associated with male infertility and offers a therapy target for non-obstructive azoospermia. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2020, 19:72-83.
 - 20 孙自学, 张宸铭, 李鹏超, 等. 益肾通络方对苯并(a)芘染毒雄性大鼠精子DNA甲基化改变的防护作用. *中华男科学杂志*, 2019, 25(2): 154-159.
 - 21 Lachner M, Jenuwein T. The many faces of histone lysine methylation. *Curr Opin Cell Biol*, 2002, 14(3):286-298.
 - 22 Fuks F. DNA methylation and histone modifications: teaming up to silence genes. *Curr Opin Genet Dev*, 2005, 15(5):490-495.
 - 23 李文静, 王司清, 蓝斐. 精子中表观遗传机制及环境对父源表观遗传影响概述. *科学通报*, 2017, 62(8):770-779.
 - 24 潘晓燕, 李质馨, 王正朝, 等. 精子发生过程中的组蛋白变化与雄性不育. *中国医学科学院学报*, 2014, 36(1):108-113.
 - 25 Samantha B S, Lacey J L, Wang X S, et al. Histone modification signatures in human sperm distinguish clinical abnormalities. *J Assist Reprod Genet*, 2019, 36:267-275.
 - 26 Zuo X L, Rong B W, Li L, et al. The histone methyltransferase SETD2 is required for expression of acrosin-binding protein 1 and protamines and essential for spermiogenesis in mice. *J Biol Chem*, 2018, 293(24): 9188-9197.
 - 27 Yoshiki S, Yuuki H, Hiroki I, et al. Histone H4 modification during mouse spermatogenesis. *J Reprod Dev*, 2014, 60(5):383-387.
 - 28 Oliva R. Protamines and male infertility. *Hum Reprod Update*, 2006, 12(4):417-435.
 - 29 蔡剑, 蔡涛, 黄晓朋, 等. 强精片对生精功能障碍大鼠模型Cdy1、G9a、HDAC1表达的影响. *中国中西医结合杂志*, 2018, 38(5): 568-573.
 - 30 Pham T X, Lee J. Dietary regulation of histone acetylases and deacetylases for the prevention of metabolic diseases. *Nutrients*, 2012, 4(12):1868-1886.
 - 31 Sun M, Kraus W L. From discovery to function: the expanding roles of long noncoding RNAs in physiology and disease. *Endocr Rev*, 2015, 36(1):25-64.
 - 32 何晨, 刘强. 非编码RNA在精子发生中的功能. *国际生殖健康/计划生育杂志*, 2019, 38(3):213-216.
 - 33 Rooij D G. The nature and dynamics of spermatogonial stem cells. *Development*, 2017, 144(17):3022-3030.
 - 34 Griswold M D. Spermatogenesis: the commitment to meiosis. *Physiol Rev*, 2016, 96(1):1-17.
 - 35 Sara R, Maryam P, Maryam E, et al. MicroRNA-based regulatory circuit involved in sperm infertility. *Andrologia*, 2020, 52(1):e13453.
 - 36 Liang M, Hu K, He C F, et al. Upregulated lncRNA Gm2044 inhibits male germ cell development by acting as miR-202 host gene. *Anim Cells Syst*, 2019, 23(2):128-134.
 - 37 Francesco M, Teresa C, Gilda C, et al. CircRNA Role and circRNA-Dependent Network(ceRNET) in Asthenozoospermia. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2020, 11:e395.
 - 38 Muñoz-Braceras S, Tornero-Écija A R, Vincent O, et al. VPS13A is closely associated with mitochondria and is required for efficient lysosomal degradation. *Dis Model Mech*, 2019, 12:dmm036681.
 - 39 Tomar D, Prajapati P, Lavie J, et al. TRIM4; a novel mitochondrial interacting RING E3 ligase, sensitizes the cells to hydrogen peroxide (H₂O₂) induced cell death. *Free Radic Biol Med*, 2015, 89:1036-1048.
 - 40 Yan L, Liu J, Wu S, et al. Seminal superoxide dismutase activity and its relationship with semen quality and SOD gene polymorphism. *J Assist Reprod Genet*, 2014, 31(5):549-554.
 - 41 Kissel H, Georgescu M M, Larisch S, et al. The Sept4 septin locus is required for sperm terminal differentiation8 in mice. *Dev Cell*, 2005, 8(3):353-364.
 - 42 孙海榕, 王璐瑜, 王忠鑫. 白藜芦醇通过抑制长链非编码RNA HULC表达抑制肝癌SMMC-7721和HepG2细胞的增殖和侵袭. *中国生物化学与分子生物学报*, 2016, 32(5):561-568.
 - 43 Chen Z Z, Zhang X D, Chen Y, et al. The role of circulating miR-146a in patients with rheumatoid arthritis treated by Tripterygium wilfordii Hook F. *Medicine (Baltimore)*, 2017, 96(20):e6775.
 - 44 Zhang J, Xiong Y. Effect of paeonol on rats' ischemic arrhythmia and miRNA-1 expression. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2015, 21(5): 129-132.
 - 45 谷瑞升, 贾文文, 田艳艳, 等. 重大研究计划“细胞编程和重编程的表观遗传机制”中期进展概述. *中国基础科学*, 2013, 15(5):43-49.

Research Progress of Epigenetic Regulation Based Chinese Medicine Treatment of Male Infertility

Chen Yangdi¹, Sun Zixue²

(1.The Second Clinical Medical College, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450000, China;

2.Henan Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine/The Second Affiliated Hospital of Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450002, China)

Abstract: Epigenetics is a research hotspot in the post-gene era in the field of life science, and the application of epigenetic modification is a frontier field in the pathogenesis research of male infertility. It is also a new way to explore the target of traditional Chinese medicine in the treatment of male infertility and explain its mechanism. At present, the etiology and pathogenesis of male infertility is not completely clear, and the treatment effect of western medicine on the disease is not good, while traditional Chinese medicine has unique advantages and broad prospects for the treatment of male infertility. Recent studies have found that traditional Chinese medicine can be involved in the regulation of abnormal epigenetic modification to treat male infertility. This paper discussed the epigenetic action of traditional Chinese medicine in the treatment of male infertility, mainly from the epigenetic basis of Chinese medicine theory of male infertility and the application of DNA methylation, histone modification and non-coding RNA in the treatment of male infertility and the research of traditional Chinese medicine, in order to provide new scientific basis and new ideas for the treatment of male infertility with traditional Chinese medicine.

Keywords: Epigenetics, Male infertility, Traditional Chinese medicine, DNA methylation, Histone modification, Noncoding RNA

(责任编辑: 周阿剑、刘玥辰, 责任译审: 周阿剑, 审稿人: 王瑀、张志华)