

# 白细胞介素-1 $\alpha$ 对睾酮合成酶 $P_{450}17\alpha$ 活性的抑制

吕忠显, 张家骅, 李跃民, 孙新民

(西南农业大学动物养殖学院, 重庆 400716)

## *Interleukin-1 $\alpha$ (IL-1 $\alpha$ ) Inhibits the Activity of 17 $\alpha$ -hydroxylase/C<sub>17-20</sub> Lyase Cytochrome P<sub>450</sub> Enzyme*

Lü Zhongxian, Zhang Jiahua, Li Yuem in, Sun Xinm in

(Animal Breeding College, Southwestern Agricultural University, Chongqing 400716)

**Abstract:** This study characterizes the effects of IL-1 $\alpha$  on Leydig cells steroidogenic activity and delineates further the potential biochemical mechanism underlying the cytokine action. IL-1 $\alpha$  causes a dose-dependent inhibition of hCG-induced testosterone production. hCG enhances the conversion of progesterone to testosterone, but IL-1 $\alpha$  inhibits the conversion of progesterone; However, IL-1 $\alpha$  also inhibits the effect of hCG on the conversion of progesterone to testosterone. The effect of hCG and (or) IL-1 $\alpha$  was not observed on the conversion of other three intermediates. The finding indicates that the activity of 17 $\alpha$ -hydroxylase/C<sub>17-20</sub> lyase cytochrome (P<sub>450</sub>17 $\alpha$ ) is regulated by hCG and IL-1 $\alpha$ , and IL-1 $\alpha$  can inhibit hCG-induced activity of P<sub>450</sub>17 $\alpha$ .

**Key words:** IL-1 $\alpha$ ; Leydig cell; P<sub>450</sub>17 $\alpha$ ; Piglet

关键词: IL-1 $\alpha$ ; 睾丸间质细胞; P<sub>450</sub>17 $\alpha$ 酶; 仔猪

中图分类号: Q 492.4 文献标识码: A 文章编号: 0578-1752(2000)04-0106-03

白细胞介素-1 (Interleukin-1, IL-1) 是体内广泛分布的免疫细胞因子, 与生殖功能密切相关, 影响着生殖的多个环节。睾丸中巨噬细胞占间质组织的 20%, 能产生大量的 IL-1, 睾丸细胞也可能产生少量 IL-1<sup>[1,3]</sup>。一些体外实验相继证明, IL-1 影响间质细胞的功能, 能抑制人绒毛膜促性腺激素(hCG)刺激的睾酮分泌<sup>[4,5,7]</sup>。但这些结果主要来自于鼠类等实验动物, 人和家畜研究较少。而且, 上述研究未能对 IL-1 调节睾酮分泌的途径和机理进行系统的研究, 仅得出一些阶段性的结论, 从而给准确了解细胞因子在睾丸中的调节造成障碍。为此, 本实验利用体外培养的仔猪睾丸间质细胞, 通过睾酮前体物向睾酮转化的实验, 系统研究了 IL-1 $\alpha$ 对睾酮合成的影响及作用机理。

收稿日期: 1999-07-14

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(39570527)

作者简介: 吕忠显(1970-), 男, 河南宁陵人, 博士, 主要从事动物生殖内分泌方面研究。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

睾丸采自重庆本地 2~3 周龄长白仔猪, 于培养液中用保温瓶在 2h 内送至实验室。

### 1.2 仔猪睾丸间质细胞的制备和培养

睾丸分离培养参照文献[4]的方法进行处理: 将睾丸在新鲜的 D'PBS 液中清洗 3~4 次, 剪除其他组织, 剥离被膜; 在盛有 10ml 胶原酶消化液 (0.5mg/ml) 的平皿, 用镊子将睾丸组织拨散。在 32℃ 下先后消化 30min 和 25min; 消化液用 4 层铜网筛过滤后离心 (1500r/min, 5min), 沉淀物用 DMEM: Ham'F-12(1:1) 培养液稀释到一定浓度 (10<sup>6</sup> 个细胞/ml), 苔盼兰染色计算细胞存活率 (>95%)。间质细胞接种于 40ml 培养瓶中, 在 32℃、饱和湿度下, 每瓶加入 5ml DMEM: Ham'F-12(1:1) 培养液 (内含维生素 E 10 $\mu$ g/ml, 胰岛素-转铁蛋白 5 $\mu$ g/ml, 抗生素 100u/ml) 培养, 52h 后结束培养。培养液离心 (1500r/min, 5min), 上清液贮于 -20℃, 备测睾酮。

### 1.3 睾酮测定和数据分析

睾酮含量用放射免疫分析法 (RIA) 测定, 实验中每个处理重复 3 次, 结果以平均数  $\pm$  标准误差表示。均数差异显著性检验采用 t-检验统计分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 IL-1 $\alpha$ 抑制 hCG 刺激的睾丸间质细胞睾酮的分泌

仔猪睾丸间质细胞与逐渐增高的 IL-1 $\alpha$  剂量 (0~100u/ml) 共同培养 48h 后, 用 hCG (50u/ml) 刺激 4h, 间质细胞分泌的睾酮, 随 IL-1 $\alpha$  剂量的增大而降低 (图)。20u/ml 的 IL-1 $\alpha$  可抑制 60% 的睾酮产生 (P < 0.01), 50u/ml 的 IL-1 $\alpha$  抑制性最强 (约 65%, P < 0.01)。

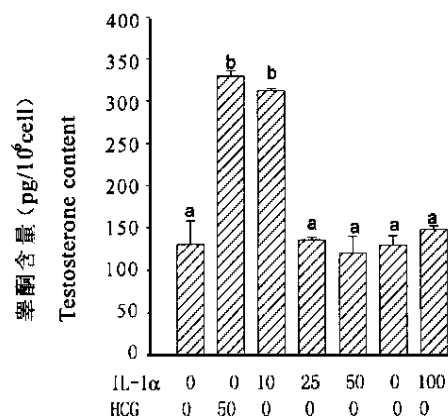


图 IL-1 $\alpha$  对 hCG 诱导的睾丸间质细胞睾酮分泌的影响 (a: b < 0.01)

Fig. The inhibitory effects of IL-1 $\alpha$  on hCG-induced testosterone production in Leydig cells

### 2.2 IL-1 $\alpha$ 对睾丸间质细胞中睾酮合成酶的影响

睾丸间质细胞在分别含有 4 种睾酮合成前体物: 胆固醇 (5mg/ml)、孕烯醇酮 (500ng/ml)、脱氢表雄酮 (500ng/ml) 和雄烯二酮 (500ng/ml) 的培养液中, 用或不用 IL-1 $\alpha$  (50u/ml) 刺激培养 48h 后, 用 hCG (50 u/ml) 刺激 4h, 雄烯二酮组生成的睾酮量最大, 远高于其他组, 但不受 hCG 单独或与 IL-1 $\alpha$  协同的影响 (P > 0.05); 脱氢表雄酮组仅受 IL-1 $\alpha$  的抑制 (P <

0.05); 孕烯醇酮组受 hCG 或 IL-1 $\alpha$  的影响较大, hCG 显著增加其睾酮产生量, 而 IL-1 $\alpha$  则明显降低其睾酮的产生量( $P < 0.05$ ), 两者协同 IL-1 $\alpha$  则抑制 hCG 的促进作用( $P < 0.05$ ); 胆固醇组也不受 hCG 单独或与 IL-1 $\alpha$  协同的影响( $P > 0.05$ )。

### 3 讨论

本实验用剂量逐渐增高的 IL-1 $\alpha$  刺激体外培养的仔猪睾丸间质细胞, 发现 IL-1 $\alpha$  对 hCG 诱导的间质细胞睾酮的分泌有剂量依赖性抑制, 50u/ml 的 IL-1 $\alpha$  产生的抑制效应最大(约 65%), 这个结果基本印证了前人在小鼠<sup>[6]</sup>及猪<sup>[4]</sup>上得出的结论。

关于 IL-1 抑制 hCG 效应的机理, 目前多依据 hCG 的作用途径进行研究。Mauduit 等(1992)研究了 IL-1 $\alpha$  对 hCG 与间质细胞膜上受体的结合及其第二信使 cAMP 的影响, 发现它的作用位点不在 cAMP 产生之前的环节。为此, 本实验研究了 IL-1 $\alpha$  对睾酮 4 种合成前体物转化为睾酮的影响, 进一步揭示 IL-1 $\alpha$  对睾酮合成酶的影响。根据猪睾丸中睾酮的合成途径: 胆固醇—孕烯醇酮—脱氢表雄酮—雄烯二酮—睾酮, hCG 可促进孕烯醇酮组睾酮的产生, 而 IL-1 $\alpha$  抑制 hCG 的促进作用, 但脱氢表雄酮和雄烯二酮的转化不受影响, 说明 IL-1 $\alpha$  抑制 hCG 的效应, 可能在于抑制 hCG 诱导催化孕烯醇酮转化为脱氢表雄酮的酶——17 $\alpha$ -羟化酶/C<sub>17,20</sub>裂解酶(P<sub>450</sub>17 $\alpha$ )的活性; IL-1 $\alpha$  可抑制基础状态下孕烯醇酮组和脱氢表雄酮组睾酮的产生, 而不影响雄烯二酮组基础睾酮的产生, 表明 IL-1 $\alpha$  抑制催化脱氢表雄酮的酶, 也可能影响催化孕烯醇酮的酶, 但 hCG 单独或与 IL-1 $\alpha$  协同皆对脱氢表雄酮组无影响, 说明 P<sub>450</sub>17 $\alpha$  的活性很可能是 IL-1 $\alpha$  的调节点。这个结果与小鼠上的实验结果基本相同<sup>[3,5]</sup>, 它们在分子水平上证实, IL-1 $\alpha$  几乎 100% 的抑制幼鼠间质细胞中 P<sub>450</sub>17 $\alpha$  mRNA 的表达。无论怎样, 本试验未发现 IL-1 $\alpha$  和 hCG 对胆固醇组的影响, 其原因尚不清楚, 可能与胆固醇转入线粒体的过程中所受的复杂调控有关。

#### 参考文献:

- [1] Griswold M D. Interactions between germ cells and Sertoli cells in the testis [J]. Biol. Reprod. 1995, 52: 211~216.
- [2] Hale D B. Interleukin-1 inhibits Leydig cell steroidogenesis primarily by decreasing 17 $\alpha$ -hydroxylase/C<sub>17-20</sub>lyase cytochrome P<sub>450</sub> expression [J]. Endocrinology. 1992, 131: 2165~2172.
- [3] Kern S, Robertson S A, Mau V J. Cytokine secretion by macrophages in the rat testis [J]. Biol. Reprod. 1995, 53: 1407~1416.
- [4] Mauduit M, Chauvin M A, Hartmann D J, et al. Interleukin-1 $\alpha$  as a potent inhibitor of gonadotropin action in porcine Leydig cells [J]. Biol. Reprod. 1992, 46: 1119~1126.
- [5] Payne A H, Youngblood G L. Regulation of expression of steroidogenic enzymes in Leydig cells [J]. Biol. Reprod. 1995, 52: 217~225.
- [6] Sun X R. The effect of testicular macrophages and interleukin-1 on the testosterone production by purified adult rat Leydig cells cultured under *in vitro* maintains condition [J]. Endocrinology. 1993, 132: 186~192.