

研究简报

醋酸棉酚对幼龄大鼠睾丸间质细胞分泌活性
及细胞膜表面 LH/hCG 受体发育的影响

邱曙东 郭仁舆

(西安医科大学计划生育研究室)

醋酸棉酚有抗雄性生育作用,但对睾丸间质细胞的作用尚未取得一致意见。部分研究者观察到醋酸棉酚对睾丸间质细胞有抑制作用^(1~5)。本室也曾证明,服醋酸棉酚后,青春前期大鼠,睾丸间质细胞的生长发育及其类固醇激素合成酶的活性均受抑制⁽⁶⁾。已有报告,睾丸间质细胞表面具有分子量为20万 of LH/hCG 受体,该受体的数量及活性决定了间质细胞睾酮分泌活性及对促激素的反应。此受体在大鼠五周龄前逐步发育完善⁽⁷⁾,而在4周龄时已表现出对外源性 LH/hCG 敏感的反应性⁽⁸⁾。本实验以幼龄大鼠为对象,用放射免疫测定及放射受体分析法研究了醋酸棉酚对睾丸间质细胞的影响。

材料和方法

健康雄性15天龄大白鼠15只,母乳及饲料喂养,按同窝配对原则分为两组。实验组每日一次灌服醋酸棉酚30 mg/kg,共13天;对照组只喂等量吐温80液。至28天龄时断头处死。1.立即采血,肝素抗凝,离心制成血浆,置4°C保存备测;2.立即取一侧睾丸,冰水浴中去鞘膜及血管后称重,于Hank's液(内含1%BSA)内剪碎,等量分装两管,一管内加hCG 5 ng,另一管为对照。睾丸组织含量为0.1 g/1 ml 孵育液。35°C水浴震荡保育4 h,然后入60°C水浴10 min 中止反应。

将上述两样本用放免法测睾酮含量。药盒由上海内分泌研究所购得,^[3H]标记;测定用Backman LS-9000液闪仪,其标准曲线结合率为50~60%;3.立即取另一侧睾丸,同上法用PBS盐液制成匀浆(200 mg 睾丸组织/ml),方法见余运初的报道⁽⁹⁾。将匀浆0.5 ml与¹²⁵I-hCG 0.1 ml(15000 cpm/0.1 ml.60")混合,35°C水浴震荡保温3 h,冷PBS盐液中止反应,4°C下离心10 min(10000 r/min)。用γ计数器分别测定样品总计数及沉淀计数,算出结合率以B表示,同法测得正常成年大鼠睾丸匀浆的结合率B₀。以B₀为100%,算出实验组和对对照组的相对结合率B/B₀%。¹²⁵I-hCG由上海生物制品研究所生产。上述测试均设两个平行样管,取均值。

将所有结果作配对资料t检验。下文数值均为 $\bar{X} \pm SE$ 。

结 果

一.15天龄大鼠喂醋酸棉酚13天后,其体重及睾丸重量均低于对照组(表1)。

Tab 1. The effects of gossypol on weights of body and testis in immature rats

Weight (g)	Control (n = 7)	Gossypol (n = 8)	P
Body	49.86 ± 2.70	31.88 ± 4.38	<0.005
Testis	0.21 ± 0.03	0.17 ± 0.03	<0.05

二. 放射免疫测定表明, 服醋酸棉酚后, 28天龄大鼠血浆睾酮为 91.38 ± 13.41 ng/100 ml 血浆, 与对照组相比有下降趋势(对照组为 104.14 ± 15.28 ng/100 ml), 但经统计学处理, 差异无显著性 ($P > 0.05$)。

三. 睾丸匀浆与 hCG 一起孵育 4 h 后, 孵育液中睾酮的含量测定。结果表明: 1. 服醋酸棉酚后, 睾丸组织在体外产生睾酮的能力比对照组下降了 51%, 由 300.60 ± 10.76 ng/100 ml 孵育液下降到 147.20 ± 25.09 ng/100 ml; 2. 棉酚组的睾丸组织在 hCG 刺激下的甾体生成能力比对照组下降了 50%, 即在等量 hCG 作用下, 对照组睾酮产量为 398.40 ± 36.03 ng/100 ml 孵育液, 而棉酚组只有 198.40 ± 56.17 ng/100 ml。

四. 放射受体分析结果表明, 服棉酚 13 天后的 28 天龄大鼠睾丸匀浆内 LH/hCG 受体结合活性比对照组显著下降。即对照组睾丸匀浆与 ^{125}I -hCG 的相对结合率为成年大鼠的 $43.99 \pm 3.93\%$, 而棉酚组的相对结合率只有 $25.01 \pm 2.08\%$ 。 $P < 0.01$ 证明醋酸棉酚可影响睾丸间质细胞膜上 LH/hCG 受体的结合活性(图 1)。

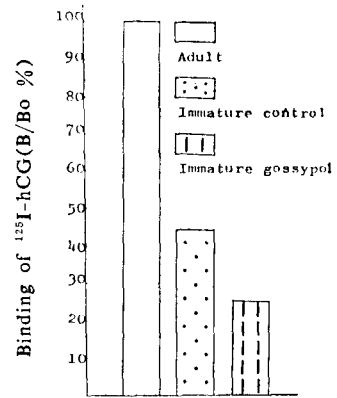


Fig 1. The effect of gossypol on the binding of ^{125}I -hCG in adult and immature rats testicular homogenate

讨 论

一. 不少作者记述了醋酸棉酚(或棉籽油)对大鼠^(1~4,6)、小鼠⁽⁵⁾及人⁽¹⁰⁾睾丸间质细胞的形态和功能的影响, 其中多为成年个体。本实验以睾丸间质细胞及其膜上 LH/hCG 受体处于发育中的青春前期大鼠为对象证明, 棉酚明显抑制了睾丸间质细胞基础的及 hCG 刺激下的甾体合成。与王迺功⁽³⁾及 Donaldson⁽⁵⁾等报道的结果基本一致; 与本室报告的棉酚影响幼龄大鼠睾丸间质细胞的数量及 3β -HSD 活性的结果⁽⁶⁾也相吻合。可以认为, 这一睾酮分泌的下降正是棉酚引起的 Leydig 细胞数目减少及其甾体合成酶活性下降的直接结果。至于体内血浆睾酮水平未见到统计学意义的下降的可能原因之一, 是服用棉酚的时间较短, 它虽对间质细胞的功能有所抑制, 但在体内下丘脑-垂体-性腺轴系的调节下, 血浆睾酮水平尚得以代偿性维持。此外, Zhuang 等⁽¹¹⁾证明, 棉酚对 Sertoli 细胞具有抑制作用, 使 ABP 分泌明显减少。可以设想, 当 ABP 分泌下降时, 被其结合后输入曲细精管的睾酮明显减少, 这在导致生精障碍的同时, 却使进入血循环的睾酮量得以维持。当然在睾丸间质细胞分泌活性下降时, 肾上腺网状带是否能代偿性地增加性激素分泌, 以维持血浆睾酮相对恒定有待进一步证明。

二. 放射受体测定证明, 大鼠睾丸间质细胞对 hCG 的敏感性始于 15 天龄时, 其睾丸匀浆对 ^{125}I -hCG 的结合力在 40 天龄时达到峰值, 此后稍有下降并持续至成年⁽⁷⁾。本结果证明, 28 天龄大鼠睾丸匀浆与 ^{125}I -hCG 的结合率为成年鼠的 44%, 略低于上述文献结果, 可能与动物种系及放射性 hCG 的生物活性的差别有关。但在同一条件下, 本文实验组结合率只有 25%, 足以证明醋酸棉酚对幼龄大鼠睾丸间质细胞 LH/hCG 受体结合活性具有明显抑制作用。受体结合活性的下降一方面可能来自棉酚所致的睾丸间质细胞数目的减少⁽⁶⁾, 另一方面可能直接来自棉酚引起部分 LH/hCG 受体的失活。Kainz 等⁽¹²⁾证明, 棉酚可明显抑制 DNA、RNA 及蛋白质的合成, 这种抑制作用可能是影响睾酮分泌活性及受体结合活性的真正原因。

关键词 醋酸棉酚; 睾丸间质细胞; 受体; 幼龄大鼠

参 考 文 献

1. Lin YC, et al. Effects of gossypol on the reproductive system of male rats. *Biol Reprod* 1980; 22 (suppl. I):95A.
2. 星合昊ウ. 男性用経口避妊薬 Gossypol の作用機序につらての検討. 日本不妊学雑誌 1980; 25:155.
3. 王迺功, 等. 醋酸棉酚在大鼠的抗卵泡激素和抗促性腺激素作用. 药理学报 1984; 19:1.
4. Tang F and Wong PY. Serum potassium and aldosterone levels in gossypol-treated rats. *Int J Androl*. 1984; 7:149.
5. Donaldson A, et al. Inhibition by gossypol of testosterone production by mouse Leydig cell. *Contraception* 1985; 31:165.
6. 邱曙东、郭仁興. 服醋酸棉酚后幼龄大鼠睾丸间质细胞对hCG的反应性. 生殖与避孕 1984; 4:34.
7. Frowein J and Engel W. Binding of human chorionic gonadotrophin by rat testis: effect of sexual maturation, cryptorchidism and hypophysectomy. *J Endocri* 1975; 64:59.
8. Shikita M and Hall PF. The action of human chorionic gonadotrophin *in vivo* upon microsomal enzymes of immature rat testis. *Biochem Biophys Acta* 1967; 136:484.
9. 余运初. hCG/LH 放射受体测定方法的建立. 生殖与避孕 1982; 2:48.
10. 王一飞, 等. 正常男性与服生棉子油后不育症患者睾丸组织的比较定量组织学观察. 生殖与避孕 1982; 2:31.
11. Zhuang LZ, et al. Effects of gossypol on rat sertoli and Leydig cells in primary culture and established cell lines. *J Androl* 1983; 4:336.
12. Kainz P, et al. Effect of gossypol on macromolecular synthesis in rat testis. An *in vitro* study. *Contraception* 1985; 31:151.

EFFECTS OF GOSSYPOL ACETIC ACID ON SECRETORY ACTIVITY OF LEYDIG CELLS AND LH/hCG RECEPTOR DEVELOPMNT IN IMMATURE RAT TESTIS

QIU Shu-Dong and GUO Ren-Yu

(Research Laboratory of Planned Parenthood, Xian Medical University, Xian)

ABSTRACT Fifteen day immature male rats were given by gastric gavage gossypol acetic acid 30 mg/kg daily for 13 days. The production of testicular testosterone *in vitro*, both basal and hCG-stimulated, was reduced by 51% and 50%, respectively, although the plasma testosterone level was not significantly reduced. The assay of LH/hCG receptors in testicular homogenate indicated that the binding of ^{125}I -hCG was reduced from $43.99 \pm 3.93\%$ in the control to $25.01 \pm 2.08\%$ in the gossypol group. It is suggested that gossypol acetic acid possesses inhibitory effects on both the secretory activity and LH/hCG receptor development of Leydig cells in immature rat testis.

Key words Gossypol acitic acid; Leydig cells; Receptors; Immature rat