

牛磺酸对体外培养大鼠睾丸间质细胞睾酮分泌的影响

杨建成, 冯颖, 吴高峰, 孙长勉, 胡建民*

(1. 沈阳农业大学畜牧兽医学院, 辽宁沈阳110161; 2. 中国农业大学动物科技学院, 北京100094)

摘要 通过在基础培养液(DMEM)中添加不同水平的牛磺酸和人绒毛膜促性腺激素(HCG),研究了牛磺酸(1~100 ng/L)对体外培养大鼠睾丸间质细胞睾酮分泌性能的影响。结果表明,牛磺酸(1~100 ng/L)对体外培养大鼠睾丸间质细胞睾酮的分泌有显著的促进作用($P < 0.01$);而对HCG刺激的睾丸间质细胞睾酮的分泌表现出双相作用,低剂量牛磺酸对其有明显的促进作用($P < 0.05$),高剂量则有显著的抑制作用($P < 0.05$)。

关键词 牛磺酸; 睾丸间质细胞; 体外培养; 睾酮分泌; 大鼠

中图分类号 Q956 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2007)15-04529-01

Effect of the Taurine on Testosterone Secretion of Culturing Rat Leydig Cells in Vitro

YANG Jiancheng et al (College of Animal Husbandry and Veterinary, Shenyang Agricultural University, Shenyang, Liaoning 110161)

Abstract Taurine is an abundant sulfur-containing amino acid found in all tissues involved in a variety of functions. Taurine was found with the highest concentrations in the germ and germ cell, which indicated that taurine was connected with reproduction. The effect of the taurine on testosterone secretion was studied with rat Leydig cells culturing in vitro. The results indicated that taurine could stimulate testosterone secretion of cultured rat Leydig cells in vitro significantly ($P < 0.01$). The effect of taurine on the testosterone secretion stimulated by HCG showed a biphasic pattern. In other words, testosterone secretion was increased significantly ($P < 0.05$) in low concentration of taurine, but decreased significantly ($P < 0.05$) in high concentration of taurine.

Key words Taurine; Leydig cells; Culture in vitro; Testosterone secretion; Rat

牛磺酸(2-氨基乙磺酸, Taurine)是机体内含硫氨基酸的代谢产物,对动物机体具有重要的生理、药理和营养功能,是体内不可缺少的一种生理活性物质^[1]。牛磺酸是动物生殖腺和生殖细胞内含量最丰富的游离氨基酸之一,与动物的生殖机能有着密切的关系^[2-3]。笔者先前的研究证明,牛磺酸可在大鼠睾丸组织中生物合成,并且给雄性大鼠饮用添加牛磺酸的自来水可明显影响其促卵泡生成素、促黄体生成素和睾酮的分泌水平。为了进一步探讨牛磺酸对雄性动物生殖激素分泌的作用,笔者进行了以下实验。

1 材料与方

1.1 实验动物 购自中国医科大学实验动物部8周龄健康正常Wistar雄性大鼠(200g左右),饲养管理按常规进行。

1.2 主要试剂 牛磺酸和BSA均购自SIGMA公司;人绒毛膜促性腺激素(HCG)购自宁波市激素制品有限公司;胶原酶和DMEM培养基均购自GIBCO公司;加强型小牛血清购自北京益利精细化学品有限公司;睾酮放射免疫试剂盒购自中国原子能科学研究院同位素研究所(北京)。

1.3 睾丸间质细胞的培养方法 将大鼠断头放血处死,无菌条件下取出睾丸,剥除睾丸鞘膜,放入含胶原酶的DMEM培养液中,37℃水浴振摇20 min,以分散间质细胞;然后用100目尼龙网过滤细胞悬液,滤液在1 000 r/min离心10 min,沉淀的细胞用DMEM培养液洗涤1次,低速离心除去上清液,加入DMEM培养液稀释。混匀后,用血球计数板记录间质细胞个数,并稀释至 $(3 \sim 5) \times 10^5$ 个/ml;用台盼蓝染色计算细胞存活率(不小于95%)。在24孔细胞培养板中添加1 ml细胞稀释液/孔^[4]。

细胞培养箱(34%、5%CO₂、95%空气的潮湿环境)中温育6 h后弃去旧培养液,用对应的处理培养液洗2次,然后加入对应的处理培养液继续培养并定期(24、48、72 h)收集和更

换培养液。收集的培养液贮存于-20℃冰箱中待分析。

2 结果与分析

2.1 牛磺酸对大鼠睾丸间质细胞睾酮分泌的影响 从表1可见,在培养液中添加不同浓度的牛磺酸培养睾丸间质细胞24、48、72 h后,睾酮的分泌量表现出双相变化,且各处理组睾酮分泌量比对照组显著增加($P < 0.01$)。在1~100 ng/L范围内,随着牛磺酸添加量的增加,睾酮分泌量明显增高($P < 0.01$);当添加量为100 ng/L时,睾酮的分泌量达到最高水平,分别比对照组增高约31.90 μg/L(24 h)、29.66 μg/L(48 h)、26.22 μg/L(72 h)。在100~1 000 ng/L,随着牛磺酸添加量的不断增加,睾丸间质细胞睾酮的分泌量逐渐下降。

表1 牛磺酸对睾酮分泌的影响

处理 ng/L	睾酮量 μg/L		
	24 h	48 h	72 h
0	5.96 ± 0.49 A	4.67 ± 0.69 A	3.53 ± 0.43 A
1	25.46 ± 5.89 B	24.85 ± 3.13 BE	23.49 ± 1.37 B
10	28.06 ± 7.03 BC	27.29 ± 6.12 BC	26.10 ± 3.26 BC
50	29.77 ± 7.48 C	29.00 ± 6.93 CD	27.63 ± 4.42 C
100	37.80 ± 8.57 D	34.33 ± 9.96 D	29.75 ± 4.60 C
200	35.76 ± 3.53 D	31.23 ± 8.50 D	22.40 ± 3.52 B
500	33.60 ± 5.70 CD	29.08 ± 6.74 DC	18.00 ± 0.67 D
1 000	26.36 ± 4.50 BC	22.52 ± 4.41 E	15.20 ± 0.85 D

注:表中数值为平均值±标准误(均±SD),下表同。同一竖行不同字母者表示差异极显著($P < 0.01$)。

2.2 牛磺酸与HCG共同添加对大鼠睾丸间质细胞睾酮分泌的影响 由表2可见,牛磺酸和HCG共同添加(各处理组均添加HCG 100 IU/L)对培养24、48、72 h的睾丸间质细胞睾酮的分泌表现出双相作用。低浓度的牛磺酸(1~50 ng/L)可明显与HCG协同促进睾酮的分泌($P < 0.05$);牛磺酸添加浓度为1 ng/L时,与HCG的协同作用最为明显,比单独添加HCG组睾酮分泌量分别增加43.90%(24 h)、44.69%(48 h)、44.76%(72 h)。高浓度的牛磺酸(100~1 000 ng/L)与HCG共同添加可抑制睾酮的分泌,且随着牛磺酸浓度的增大,睾酮的分泌量明显下降。

基金项目 国家自然科学基金项目(30371048)。

作者简介 杨建成(1978-),男,山西平遥人,在读博士,讲师,从事动物营养生理学与生殖生理学研究。* 通讯作者, E-mail: hujianmin59@163.com。

收稿日期 2007-01-06

(下转第4533页)

表2 牛磺酸与HCG共同添加对睾酮分泌的影响

处理 ng/L	睾酮量 $\mu\text{g/L}$		
	24 h	48 h	72 h
0	23.35 \pm 4.55 AD	21.10 \pm 1.87 A	17.00 \pm 0.75 A
1	33.60 \pm 8.90 B	30.53 \pm 9.54 B	24.61 \pm 2.83 B
10	27.35 \pm 4.82 C	25.09 \pm 3.00 C	21.20 \pm 2.64 C
50	25.87 \pm 5.84 CD	22.16 \pm 5.73 AC	18.44 \pm 2.25 AC
100	21.47 \pm 1.93 AE	19.90 \pm 1.63 AD	15.81 \pm 1.35 AD
200	20.26 \pm 2.37 AE	18.90 \pm 2.41 DE	13.96 \pm 2.18 D
500	18.32 \pm 3.10 E	17.02 \pm 1.75 DE	11.92 \pm 0.75 DE
1 000	17.68 \pm 2.85 E	15.82 \pm 1.39 E	8.71 \pm 0.29 E

注:同一竖行不同字母者表示差异显著($P < 0.05$)。

3 讨论

肖世平等报道,牛磺酸可促进公鸡睾丸和卵巢组织形态的发育,并可刺激公鸡雄激素和母鸡雌激素的分泌^[5]。笔者的研究也证明了牛磺酸可刺激雄性大鼠促黄体生成素(LH)和睾酮的分泌,对雄性动物雄激素的分泌有重要作用。睾酮的合成、分泌与睾丸组织的发育和LH的分泌水平密切相关^[6-7],牛磺酸在大鼠睾丸组织中存在表达以及牛磺酸在睾丸组织中大量存在,表明牛磺酸可能对睾丸间质细胞睾酮的合成和分泌具有一定的调节作用。该实验结果证明,牛磺酸单独使用促进体外培养睾丸间质细胞分泌睾酮,低浓度的牛磺酸可与HCG(与LH作用相同)协同促进体外培养睾丸间质细胞睾酮的分泌,而高浓度的牛磺酸可抑制HCG对睾酮分泌的刺激作用。实验结果表明,牛磺酸参与了睾丸间质细胞中睾酮的合成与分泌。

睾酮的合成包括2个基本过程,一是由胆固醇侧链断

裂开始到合成孕酮的过程;二是由孕酮经17-羟孕酮到雄烯二酮再到睾酮的转化过程。在这2个合成的基本过程中需要一些关键酶的作用。睾丸间质细胞睾酮的合成和分泌主要受LH的调节,LH的浓度、间质细胞上LH受体的数目以及LH与细胞上受体的结合能力共同决定睾丸间质细胞睾酮的分泌量^[3,8-9]。牛磺酸可能是通过改变这些酶的活性而影响睾酮的合成和分泌。该实验中低浓度的牛磺酸与HCG协同促进睾丸间质细胞睾酮分泌的机理,一方面可能是牛磺酸增强了睾酮合成过程中某些关键酶的活性;另一方面可能是牛磺酸增强了LH与细胞上LH受体的结合能力,从而促进了睾酮的生成和分泌。高浓度的牛磺酸可抑制HCG刺激睾酮分泌可能是通过与上述相反的机制抑制睾酮的生成和分泌。至于其确切的作用机理还需要进一步研究。

参考文献

- [1] JACOBSEN J G, SMITH L H. Biochemistry and physiology of taurine and taurine derivatives[J]. *Physiol Rev*, 1986, 48: 421-511.
- [2] GUERIN P. Taurine and hypotaurine in spermatozoa and epididymal fluid of cat[J]. *Anim Acids*, 1998, 15: 99-103.
- [3] OGASAWARA M, NAKAMURA T, KOYAMA T, et al. Reactivity of taurine with aldehydes and its physiological role[J]. *Chem Pharm Bull Tokyo*, 1997, 41: 2172-2175.
- [4] SUN X R. The effects of testicular macrophages and interleukin 1 on the testosterone production by purified adult rat Leydig cells cultured under in vitro maintain condition[J]. *Endocrinology*, 1993, 132: 186-192.
- [5] 肖世平, 傅伟龙, 江青艳. 饲料中添加牛磺酸对黄鸡性腺发育及其内分泌的影响[J]. *华南农业大学学报*, 1997, 18(2): 94-99.
- [6] 王建辰. 家畜生殖内分泌学[M]. 北京: 农业出版社, 1993.
- [7] SHARP R M. HCG induced decrease in availability of rat testis receptors[J]. *Nature*, 1976, 264: 644-645.