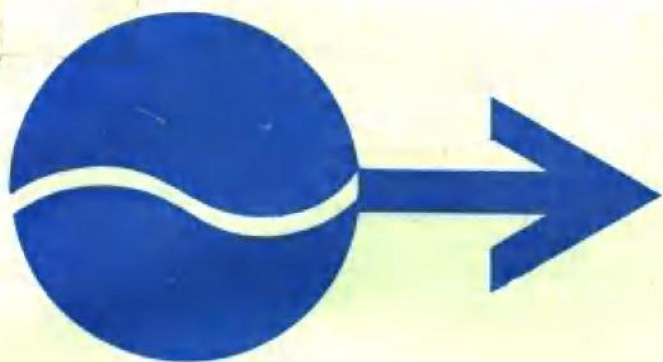


——理论与方法——



江泉观 于永强 主 编

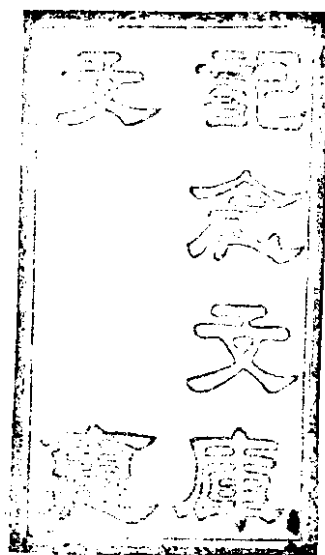
# 雄(男)性 ● 生殖毒理学

北京医科大学 联合出版社  
中国协和医科大学

# 雄(男)性生殖毒理学

—理论与方法—

江泉观 于永强 主编



A0278095

北京医科大学  
中国协和医科大学联合出版社

**(京) 新登字147号**

**图书在版编目 (CIP) 数据**

雄 (男) 性生殖毒理学理论与方法/江泉观 主编. —北京: 北京医科大学、中国协和医科大学联合出版社, 1994  
ISBN 7-81034-374-2

I. 雄… II. 江… III. 雄性-生殖-毒理学-概论  
IV. R339.2:R99

北京医科大学  
中国协和医科大学 联合出版社出版发行

(100083 北京学院路38号 北京医科大学院内)

北京密云华都印刷厂印刷 新华书店经销

\* \* \*

开本 850×1168 1/32 印张9.3125 字数240千字

1994年10月第1版 1994年10月北京第1次印刷 印数1—3000册

定价: 10.80元

## 内 容 提 要

本书首先从解剖组织学与生物化学介绍雄性生殖系统的基本知识,然后从生化毒理与毒性病理学介绍化学物质对雄(男)性生殖系统的影响,简要回顾了外推和危险度评定在雄性生殖毒理学中的应用,在理论的最后部分,介绍了几种常见的金属与有机物对雄性生殖系统的影响。在方法方面,从整体动物实验的实验设计、实验程序,乃至几种睾丸细胞的离体试验皆有全面介绍。对国内、外目前应用较多的方法,予以重点介绍。本书是职业病、计划生育和毒理学方面的参考书。

## 本书编委名单（按撰写篇章顺序）

- |     |                               |
|-----|-------------------------------|
| 于永强 | 化工部劳动保护研究所副研究员                |
| 张兰芬 | 北京医科大学组织胚胎学教研室教授              |
| 杜国光 | 北京医科大学生物化学教研室教授               |
| 江泉观 | 北京医科大学劳动卫生学教研室教授              |
| 张秀蓝 | 化工部劳动保护研究所副研究员                |
| 刘秀德 | 山东省中医药研究所副研究员                 |
| 黄天华 | 汕头大学医学院教授                     |
| 郭建民 | 陕西省动物研究所副研究员                  |
| 常元勋 | 北京医科大学劳动卫生学教研室副教授             |
| 沈惠麒 | 北京医科大学劳动卫生学教研室教授              |
| 马晓年 | 中国计划生育委员会计划生育技术研究所副研究员        |
| 吴燕婉 | 中国计划生育委员会计划生育技术研究所副研究员        |
| 蔡世雄 | 中国预防医学科学院劳动卫生学与职业病学研究所<br>研究员 |

**本书为**

**国家自然科学基金**

**教委博士点基金**

**化工部资助科研项目**

# 序

近年来，本书主编所在单位（化工部劳动保护研究所与北京医科大学劳动卫生学教研室）都在从事雄（男）性生殖毒理学的研究工作，深深感到国内缺乏本领域的入门书籍，而使我们花费大量时间收集基本文献。因此，自不量力地组织、撰写了本书，并希望它能成为进入本领域的入门砖。

雄性生殖毒理学是近年来发展迅速的毒理学分支学科。由于篇幅所限，本书对国外新近建立的而国内一时还不能引进的方法未加介绍。这或许是件憾事，但撰书本身就是件憾事，完稿时往往发现某些新进展而未能纳入书内，只能在再版时再行补充与修改。这样的感受我们在本书完稿时也再次领略，但这也反映了我们水平有限，而需要读者的帮助。

江泉观于北京医科大学，1993.8.

# 目 录

|      |                                |
|------|--------------------------------|
| 第一章  | 绪论.....( 1 )                   |
| 第二章  | 雄性生殖系统的解剖组织学与精子分期.....( 6 )    |
| 第三章  | 睾丸的生物化学.....( 24 )             |
| 第四章  | 睾丸及附属性器官的生化毒理学.....( 34 )      |
| 第五章  | 雄性生殖系统的毒性病理学.....( 57 )        |
| 第六章  | 化学毒物对性激素的影响.....( 78 )         |
| 第七章  | 外推与危险度评定.....(102)             |
| 第八章  | 重金属的雄性生殖毒理学.....(112)          |
| 第九章  | 有机毒物的雄性生殖毒理学.....(130)         |
| 第十章  | 雄性生殖毒性的实验设计与实验程序.....(164)     |
| 第十一章 | 果蝇性连锁性致死试验.....(187)           |
| 第十二章 | 各种生殖细胞遗传毒性的检测法.....(191)       |
| 第十三章 | 精子运动特性的客观检测法.....(207)         |
| 第十四章 | 人精子穿透去透明带地鼠卵试验.....(215)       |
| 第十五章 | 大鼠睾丸间质细胞与支持细胞的分离法.....(219)    |
| 第十六章 | 睾丸酶活性的检测法.....(225)            |
| 第十七章 | 睾丸与精液铜锌含量的检测法.....(245)        |
| 第十八章 | 雄激素结合蛋白的检测法.....(248)          |
| 第十九章 | 人血清三种性激素的检测法.....(253)         |
| 第二十章 | 接触毒物致男性生殖损伤的流行病学调查方法.....(261) |

# 第一章 绪 论

雄(男)性生殖毒理学是研究外源化学物质或其它环境因素对机体雄性生殖系统及其功能并通过雄性对子代影响的一门科学。随着进入环境化学毒物的增加和对雄性生殖毒理学研究方法的进步,雄性生殖毒理学越来越引起重视。Whorton等(1977)首次报道接触二溴氯丙烷(DBCP)的男性工人有精子缺乏和不育以来,迄今已发现不少化学物质能引起男性生殖功能障碍。据美国统计,在6对夫妻中就有一对是不孕的。其中40%属于男性的问题,滥用药物、吸毒、接触化学毒物,可能是导致男性不育的主要原因。

外源性有害因素作用于生殖系统,不仅引起机体生殖腺及其附属器官、组织、细胞等的病理性损伤,而且还会导致生理功能的改变或通过雄性造成其配偶生育异常,如不育、早产、死胎、胎儿畸形等。总之,任何物质作用于生殖系统均可引起两种主要效应:①精子数目和(或)受孕力的改变②胚胎死亡或存活胎儿畸形。因此,研究外源性有害因素对雄性生殖系统及其功能与子代影响的特点、规律、机理、方法,不仅对当代,而且对后代,特别是对优生都具有重要意义。

雄性生殖毒理学研究的主要内容和方法有:

## 1. 器官检查

包括确定睾丸与附睾重量(g)与体重(100g)的比值,睾丸体积测量和含水量测定。

## 2. 组织学和细胞学检查

病理解剖学、组织学和细胞学检查是最常使用的方法,如生精细胞的精子发生周期变化,细胞变性、坏死、脱落、曲细精管

萎缩等，还可计数某种细胞的数目，测量细胞的高度、曲细精管的直径、细胞内核酸的扫描定量等图像分析。

### 3. 精液分析

包括观察精子形态、精子运动能力(其中包括精子运动特性的客观检测)、精子计数、精子死活比、精子畸形以及精液中酶、蛋白质、脂质、微量元素锌、铜的测定。

### 4. 精子穿卵试验

Tsunodo等用氯乙醇处理小鼠和大鼠的精子，观察其试管内的穿透能力和体外人工授精的能力(指正常精子具有穿透卵并与卵结合的能力)。Yanagimachi等(1976)首先证实去透明带的田鼠卵子被人精子穿透这一实验方法可作为预测男性生育力的有效模型。近几年来，大量文献报道用去透明带金黄地鼠卵子的穿透试验检测人类的不孕症，也可用于毒物的检测。

### 5. 睾丸生化标记酶活性测定

睾丸是具有生殖毒性的化学物质的靶器官。在形态学尚无明显改变时，睾丸组织中一些特征酶的活性可能已经受到影响，如透明质酸酶(H)、山梨醇脱氢酶(SDH)、乳酸脱氢酶同工酶(LDH-x)、酸性磷酸酶(ACP)、 $\delta$ -氨基乙酰丙酸脱水酶(ALAD)、芳基酯酶(ARE)、芳香基硫酸酯酶(ARS)等。

### 6. 性激素测定

性激素不但可促进雄性性器官的发育和第二性征的出现，还可促进精子的生成和成熟，对全身代谢也有影响。其中调节和维持睾丸活动的主要激素有三种，即睾酮(T)、卵泡刺激素(FSH)、促黄体生成素(LH)。通过放射免疫测定血清中这三种激素水平的改变，对于评价雄性生殖功能具有一定意义。

### 7. 诱变试验

包括睾丸细胞染色体畸变、姊妹染色单体交换、睾丸细胞DNA合成抑制及程序外DNA合成、精细胞微核、受精卵中雄性、雌性染色体畸变、人精子染色体畸变等试验。

## 8. 男性生殖毒性的人群调查

对男性生殖毒性的调查一般是通过精液检查和调查男工妻子生育史及子代发育情况进行评价。

## 9. 其它试验

除上述的几个方面外，为了缩短实验周期，有人用果蝇探索简便的观察雄性果蝇生殖细胞突变的方法。另外，体外检测越来越受到重视。如附睾、阴囊、前列腺、阴茎、射精管等附属性器官的离体培养，(Leydig细胞、Sertoli细胞的离体培养)，在体外与受精过程有关的精子获能、顶体反应、同种体外受精、异种体外受精等，与子代发育有关的鼠类受精卵中雄性染色体分析及通过雄性影响胚胎发育的受精卵体外培养和全胚胎培养，直接观察和判断受外界因素损伤的雄性配子所造成的遗传后果。

关于雄性生殖系统中毒的机理问题，由于睾丸不同细胞间复杂的相互作用，很难测出特异细胞的毒性，因此在阐述毒性机理时还有不少困难，现在就几个比较清楚的问题简述如下：

### 1. 对特异细胞的毒性

#### (1) 间质细胞 (Leydig Cells)

对间质细胞的毒性通常表现为对其原发功能如睾酮产生的抑制。这种抑制可能是通过抑制细胞色素P-450而实现的。如乙醇的抑制作用表现为乙醇脱氢酶特异地定位在间质细胞中，间质细胞中这种酶除可代谢乙醇外，还可代谢像维生素A醛等生理物质，这种酶的抑制还可导致类固醇结构的改变。有的毒物如磺胺酯等可直接作用于间质细胞，使间质细胞减少。

#### (2) 支持细胞 (Sertoli Cells)

作用支持细胞的最好例子是2,2-乙基苯二甲酸盐(DEHP)和二硝基苯。尽管两者产生睾丸损伤的病理变化不同，但二者均能导致支持细胞空泡的形成。

#### (3) 精原细胞

很多抗肿瘤的化学物除具有抗肿瘤作用(即抗有丝分裂)外，

同时还对精原细胞产生毒作用，使精原细胞分裂发生停止和死亡。还可作用于正在分化的精原细胞或干细胞群乃至其它成熟的细胞。

#### (4) 精母细胞

如乙烯甘油烷醚可直接作用于精母细胞。另外，作用于各种动物(包括鸡、狗等)睾丸的毒物还有单甲基醚(EGME)和单乙基醚(EGEE)。实验证明，经口或吸入给大鼠或其它动物EGME或EGEE，主要损伤粗线期的精母细胞。

#### (5) 精子

化学毒物对精子的影响主要是通过干扰能量的代谢。如6-氯脱氧葡萄糖等可降低精子的ATP水平，并通过抑制糖酵解而导致精子运动停滞，不能授精。

### 2. 对附睾的毒性

附睾在精子的生理成熟中起着重要作用，同时也是毒物的靶器官。如给动物吸入甲基氯化物，可见除作用于睾丸外，还可以通过产生白细胞三烯损伤附睾上皮；另外附睾内肉芽肿的形成可使精子通道发生梗阻引起不孕。同时还可产生一些睾丸效应而导致生殖功能缺陷。镉还可作用于附睾的血管系统，造成坏死，使精子无法呼吸和运动。

### 3. 间接毒性

毒物对雄性生殖系统及其功能的作用，在许多方面是通过间接效应实现的。

#### (1) 血管系统

供给睾丸的血管相对来说是比较少的，因此任何损伤血管的外界因子，都能引起睾丸、附睾组织和细胞的毒性反应，如重金属中镉的生殖毒性是最明显的例子。

#### (2) 营养缺乏

某些营养缺乏会引起雄性生殖系统的衰竭，如锌和维生素A缺乏时将会导致精子发生障碍。

### (3) 激素

某些毒物对下丘脑、垂体具有毒作用，而影响有关性激素的生产水平。类固醇的循环水平也受肝内代谢的影响，因此肝损伤也间接影响生殖功能的改变。此外，某些动物如地鼠，睾丸的功能对光照极其敏感。光照每日少于14小时，睾丸就会退化，而使生殖功能发生衰竭。

与一般化学毒物比较，男(雄)性生殖毒物往往更能引起社会反应，但加强管理完全能有效地控制其危害，如我国一经发现DBCP能使接触的男工发生不育，便立即停止生产，即为突出的一例。

(于永强)

### 参 考 文 献

1. Creasy DM, Foster PMD. Male reproductive system. In: Haschek M, Rousseaux CG, eds. Handbook of toxicologic pathology. San Diego: Academic Press, 1991: 829.
2. Harold Z, et al. Assessment of male reproductive toxicology: A risk assessment approach. In: Hayes AW, eds. Principles and methods of toxicology, New York, Raven Press, 1989: 275.

## 第二章 雄性生殖系统的解剖 组织学与精子分期

雄性生殖系统由下列器官组成<sup>[1]</sup>：睾丸、附睾、输精管、阴茎、副性腺及阴囊(图2-1)。

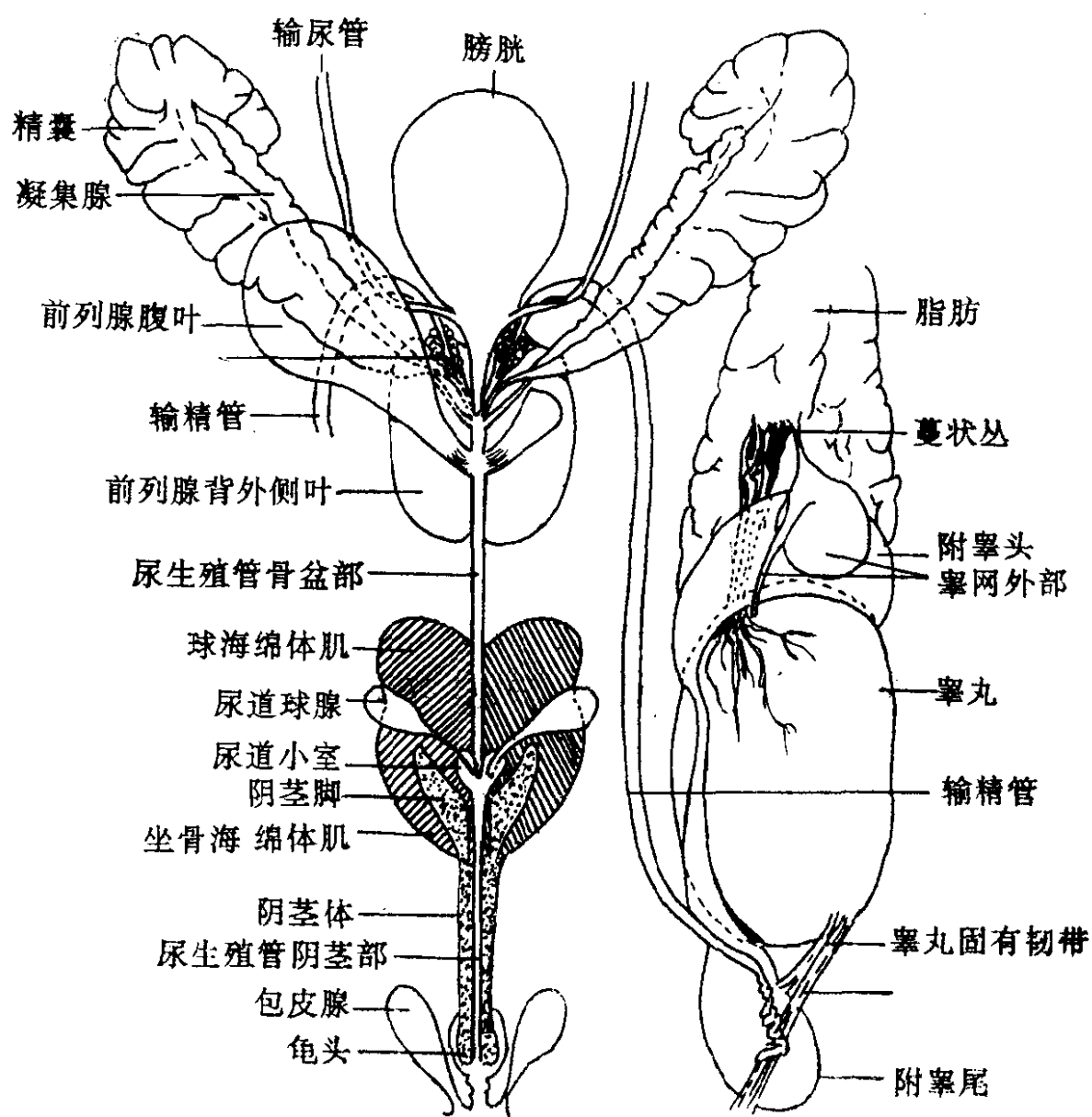


图2-1 雄性生殖系统 (引自Hebel)

## 一、阴囊

大鼠的阴囊是由肛门腹侧会阴部皮肤下垂所形成的囊袋。阴囊隔将阴囊分为左、右两半。性成熟的大鼠由于睾丸和附睾下降、进入阴囊，使表面凸出并突向后方。囊壁的结构与腹壁相似，可分为如下数层：

### （一）阴囊的皮肤

位于阴囊最外层。其真皮层和皮下层有连接肉膜的平滑肌束。

### （二）肉膜

肉膜与阴囊皮肤牢固地连接在一起，由平滑肌束与弹力纤维构成。肉膜下面为薄层疏松结缔组织，其下方还有阴囊浅筋膜和阴囊深筋膜。这些筋膜向前与阴茎筋膜相连。

### （三）睾外提肌

睾外提肌包括两层紧贴的肌肉层。外层是由腹内斜肌延伸而来的环形肌纤维；内层是来自腹横肌的纵肌纤维。睾外提肌包围在鞘膜的外面，可将睾丸上提入腹腔。大鼠的腹股沟终生开放。

### （四）鞘膜

鞘膜位于阴囊的最内层，是腹横筋膜和腹膜体壁层向外的延续部分，严格讲它不属于阴囊部。

## 二、睾丸

睾丸位于阴囊内，左、右各一。外观呈椭圆形。成年大鼠的睾丸长约20毫米，直径14毫米，重约2.0~3.5克。靠近尾端发出长10~15毫米、宽2~4毫米的睾丸引带(图2-1)。此引带在睾丸和附睾尾之间分出睾丸固有韧带后，再向后内侧辐射入睾外提肌。

睾丸的表面包有一层透明的致密结缔组织，即睾丸白膜。睾丸实质由大量曲精小管组成。白膜深面的薄层疏松结缔组织与小管间的结缔组织相连续。在小管间的结缔组织中有间质细胞。曲精小管是极度弯曲的小管，多数小管形成“发卡”状环<sup>[2]</sup>。两端变成直管，称为直精小管。直精小管由短的小管彼此相连，形成

睾丸网。

### (一) 曲精小管

曲精小管是产生精子的管道。直径均匀一致，约250微米，长约32厘米<sup>[1]</sup>。管壁主要由生精上皮构成。生精上皮是一种特殊的复层上皮，由支持细胞和生精细胞组成。支持细胞为单层排列的高柱状细胞，对生精细胞起支持、营养等作用。生精细胞处于不同发育阶段。生精细胞镶嵌在相邻支持细胞之间或其表面，从基部到腔面大约有5~8层。生精上皮的外面有较厚的基膜。胶原纤维和数层类平滑肌细胞围绕在基膜外，形成界膜。类平滑肌细胞有收缩功能，可帮助曲精小管内的精子和液体排出。

i、生精细胞与精子发生：大鼠由性成熟开始，在脑垂体促性腺激素的作用下，生精细胞增殖、分化、形成精子。在曲精小管上皮中可见不同发育阶段的生精细胞，从上皮基部至腔面，依次为精原细胞、初级精母细胞、次级精母细胞、精子细胞和精子。从精原细胞到形成精子的过程，称为精子发生，该过程可分为三个时期。

(1) 精原细胞增殖时期：精原细胞是最幼稚的生精细胞。细胞紧贴基膜，圆形，较小，直径约12微米。细胞核圆，染色质细密。在性成熟前，它是曲精小管内唯一可见的生精细胞。性成熟以后，精原细胞不断地分裂、增殖。精原细胞有A、B两型<sup>[3]</sup>。A型细胞的核染色质细小，核仁常靠近核膜；B型细胞的核膜上附有较粗的染色质块，核仁位于中央。大鼠的A型精原细胞可分为5型<sup>(3)</sup>。A型精原细胞连续进行四次有丝分裂，依次生成A<sub>1</sub>、A<sub>2</sub>、A<sub>3</sub>、A<sub>4</sub>型精原细胞(图2-2)。A<sub>4</sub>型精原细胞进行分裂，变成中间型精原细胞，由中间型精原细胞再分裂，生成B型精原细胞。中间型和B型精原细胞已经开始分化，不再继续繁殖增生，而是进一步发育成为初级精母细胞。A<sub>4</sub>型精原细胞分裂产生一部分中间型精原细胞和一部分新A<sub>1</sub>型精原细胞。中间型精原细胞继续分化，而新A<sub>1</sub>型精原细胞继续分裂产生新A<sub>2</sub>、A<sub>3</sub>、A<sub>4</sub>型

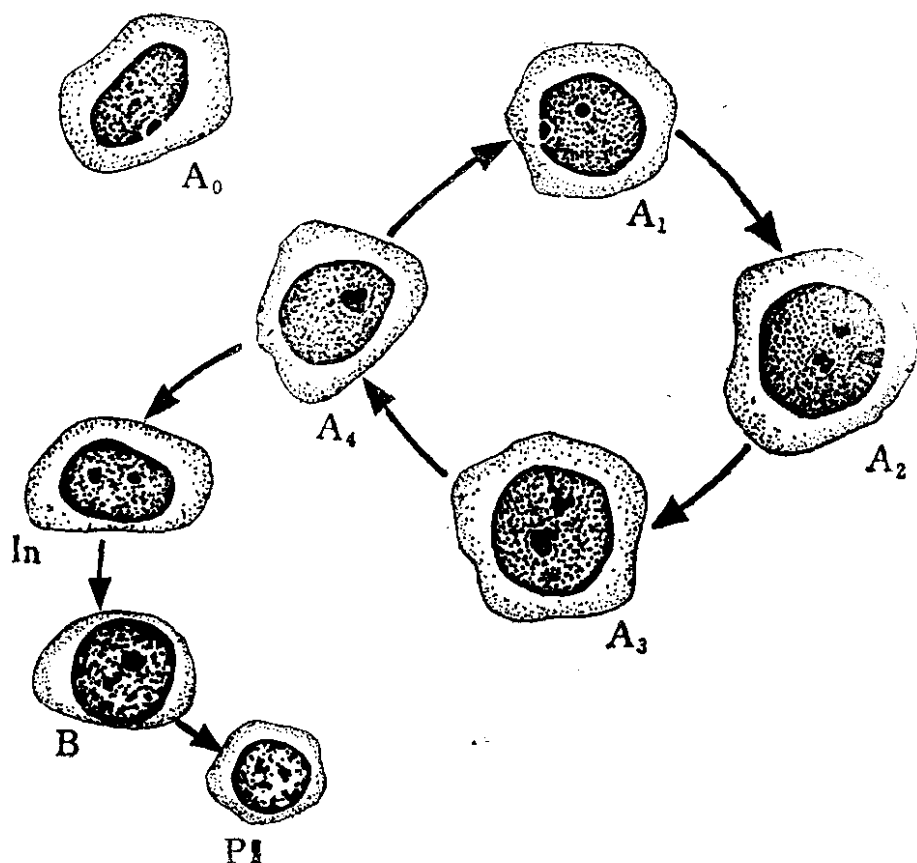


图2-2 大鼠精原干细胞示意图 (引自Clerment)

A: A型精原细胞    In: 中间型精原细胞  
B: B型精原细胞    Pl: 前细线期精母细胞

精原细胞。A<sub>1</sub>~A<sub>4</sub>称为更新干细胞。另有一型称为A<sub>0</sub>型<sup>[4]</sup>，是贮备干细胞，其细胞周期很长、分裂很慢。分裂产生新的A<sub>0</sub>型精原细胞，一部分继续分裂为A<sub>1</sub>型，另一部分不再继续分裂，而是保留下来成为新的长细胞周期的干细胞，而使生精干细胞保持一定数目，并使干细胞不断得到更新。这就是生精过程持续进行而不耗尽干细胞的原因所在。

(2) 精母细胞成熟分裂时期：此时，二倍体(38,xy)的初级精母细胞经过两次成熟分裂形成4个单倍体(19,x或19,y)的精子细胞。初级精母细胞体积较大，直径约18微米，位居精原细胞的浅层，核染色质呈粗网状。初级精母细胞迅速进入第一次成熟分裂，但在分裂前期停留时间较长，故在切片中容易见到。初级精