



生理学

科研与教学探讨

肖爱娇 著





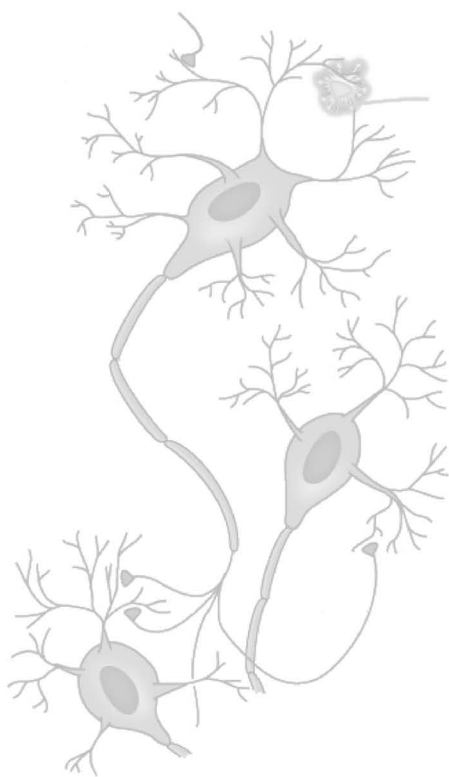
肖爱娇，江西省泰和县人。上海中医药大学医学博士，加拿大多伦多大学访问学者。现为江西中医药大学教授、硕士生导师，江西省高等学校中青年骨干教师，中国生理学会会员，江西省生理科学学会理事，兼任国家自然科学基金通讯评审专家，天津医药、江西中医药大学学报审稿专家。


从事生理学科研教学工作近20年，主要研究方向为中医药神经保护机制，主持国家级、省级等科研项目15项，参与国家、省级等科研项目10余项，荣获校级优秀教学成果奖一、二等奖各1项，在国内外发表论文近60篇，参编教材和著作5部。



生理学 科研与教学探讨

肖爱娇 著



 江西科学技术出版社

图书在版编目(CIP)数据

生理学科研究与教学探讨 / 肖爱娇著. -- 南昌 : 江西科学技术出版社, 2018. 1

ISBN 978 - 7 - 5390 - 6222 - 8

I. ①生… II. ①肖… III. ①生理学 - 教学研究
IV. ①Q4 - 4

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2018)第 001237 号

国际互联网(Internet)地址:

<http://www.jxkjcs.com>

选题序号:ZK2017127

图书代码:B17147 - 101

生理学科研究与教学探讨

肖爱娇 著

出版 江西科学技术出版社
发行
社址 南昌市蓼洲街2号附1号
邮编:330009 电话:(0791)86615241 86623461(传真)
印刷 江西新华印刷集团有限公司
经销 各地新华书店
开本 787mm × 1092mm 1/16
字数 520 千字
印张 25.25
版次 2018年1月第1版 2018年1月第1次印刷
书号 ISBN 978 - 7 - 5390 - 6222 - 8
定价 72.00 元

赣版权登字 - 03 - 2017 - 490

版权所有,侵权必究

(赣科版图书凡属印装错误,可向承印厂调换)

Preface

Physiology is the branch of life sciences pertaining to the normal function of living organisms and their constituent parts. Since the late 19th century, Physiology research has developed at an unprecedented pace. Given continually emerging threats to human health like cholera, Ebola, biological weapons, HIV, and depression, gaining a strong understanding of physiology and how it is perturbed by disease is as important as ever. As such, we continue to call on physiological researchers devote themselves to this most important work and contribute to the field.

Professor Xiao Aijiao is a rising star in physiological research, and it is easy to see how she arrived at her current position in the Department of Physiology at the School of Basic Medical Science, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine. Back in 2013, I invited her to join my research team as a visiting scholar for one year in the Department of Physiology at the University of Toronto in Canada. During her tenure in my laboratory, I had the opportunity to work closely with Aijiao and learned that she is a scrupulous, dedicated, motivated and hard – working researcher. She is curious and interested in discovery. This character served her well as she addressed timely topics in physiology research. For instance, the question of how to treat neonatal hypoxic – ischemic encephalopathy (HIE) has been a pressing challenge for both domestic and international physicians and medical researchers. While there have been no breakthroughs in this field over the years, Professor Xiao has explored whether traditional Chinese acupuncture exhibits an effect on HIE. She has investigated the mechanisms of action of heat – sensitive moxibustion therapy in ischemic stroke. She has also studied the effectiveness of Chinese medicine in the treatment of depression. Taken together, her studies contribute to a theoretical and experimental justification for the use traditional Chinese medicine in neonatal HIE, ischemic stroke and depression. Her research achievements have been published in peer – reviewed scientific journals and have been recognized by experts in these fields.

This book is a collection of the major discoveries and contributions of Professor Xiao Aijiao to physiology over the past 17 years of her research career. It explores the mechanisms of traditional Chinese medicine in preventing and treating neuropsychiatric disorders, as well as discusses various teaching methods of physiology for higher TCM colleges and universities. This work



serves as a notable reference for both research and teaching in physiology.

At the time of this book's publication, Professor XiaoAijiao invited me to write this letter as a preface to this book, which I did with joy.

Zhong – Ping Feng

November 2017

Toronto, Canada

序

几千年历史的中医中药为人类的防病治病作出了巨大贡献,并成为中华民族灿烂文化的瑰宝。如今,中医中药又提到议事日程,中共中央、国务院发布的《“健康中国 2030”规划纲要》,极其重视中医药、中西医结合事业的发展,将其作为一项永久的国家发展战略。因此,在科学技术高度发达的今天,继承与发展中医中药,使之进一步走向世界的重任已责无旁贷地落在了我们这一代人肩上。

上世纪八十年代起,“中西医结合”这门新兴学科得到了快速发展。一大批有志的医学科研人员(有“西学中”或“中学西”),他们学贯中西,满腔热情利用现代科技的手段投身于中西医结合的研究探索,从临床到基础研究取得了一大批成果。肖爱娇老师早年在江西医学院学西医,后又在上海中医药大学中西医结合专业攻读博士,毕业后在江西中医药大学从事中西医结合基础——生理学的教学与科研。多年来她先后进行了生殖内分泌、补益肝肾中药治疗更年期抑郁症、针灸治疗中风和失眠等一系列的临床和基础研究,在制备各种动物模型的基础上,从行为学、形态学、生理学、生物化学、分子生物学等不同角度和不同层次进行了探索研究。同时作为一名教师,她又将科研与教学紧密结合取得了较好的教学效果。多年的勤奋与努力换来了丰硕成果。本书是肖爱娇老师多年从事科研和教学论文的汇编,对于从事中西医结合领域的研究人员或正在学习阶段的研究生,无论从研究思路,还是实验方法等方面都具有一定的参考价值。

中西医结合学科是一门新兴学科,利用先进科技为古老中医药学的研究发展注入新的活力,这是一项十分有意义的工作,同时又是一项十分艰辛的工作,所有的研究人员一定都有这样的体会,研究的过程是寂寞的,经历一次又一次的失败,修改再继续。为取得一项研究任务的突破往往需要投入毕生的精力,甚至是几代人的努力。去掉浮躁,淡泊名利,耐得住寂寞,始终围绕目标脚踏实地勤奋工作,那么成功就会向你招手。屠呦呦的青蒿素研究获得诺贝尔生理学(或医学)奖,正是她所带领的研究团队从中医药伟大宝库中寻找创新灵感,历经四十多年坚持不懈的潜心研究,才取得了举世瞩目的成功。我们的国家正在以前所未有的速度奔向科创强国,中西医结合的研究正面临前所未有的机遇与挑战,愿每一位有志于该领域研究的科研人员、研究生都能不忘初心,为中医药事业的继承与发展添砖加瓦。

庄剑青

2017年10月于上海



目 录

Preface	(1)
序	(3)

第一篇 实验研讨

生殖内分泌

睾丸间质细胞睾酮生成的影响因素及作用机理	(2)
运动与生殖内分泌	(10)
c - myb 对 hCG 诱导的大鼠睾丸间质细胞睾酮分泌的影响	(17)
地塞米松对大鼠睾丸间质细胞睾酮分泌的影响及机理研究	(24)

抑郁症

抑郁症的研究进展	(30)
中医药在更年期抑郁症临床防治中的应用	(37)
中医药治疗更年期抑郁症的临床试验文献分析	(46)



抑郁症模型大鼠学习记忆力及海马形态结构的变化	(51)
抑郁症大鼠海马 5 - 羟色胺含量及中缝核色氨酸羟化酶 2 表达的变化	(61)
抑郁症模型大鼠血清雌激素水平与海马 5 - HT 含量之间的关系	(69)
更年期抑郁症模型大鼠空间学习记忆和海马超微结构的变化	(77)
色氨酸羟化酶 2 在更年期抑郁症模型大鼠中缝核中表达减少	(85)
补益肝肾中药对更年期抑郁症大鼠模型行为学的影响	(92)
补益肝肾中药改善更年期抑郁症大鼠模型记忆力的实验研究	(100)
热敏灸对抑郁症模型大鼠痛反应时间的影响	(108)
热敏灸对抑郁症模型大鼠行为学的影响	(115)
补益肝肾中药对更年期抑郁症大鼠模型 5 - HT 递质系统的影响	(124)
艾灸对抑郁症模型大鼠色氨酸羟化酶 2 基因表达与单胺氧化酶活性的影响	(133)
热敏灸对抑郁症模型大鼠海马 BDNF mRNA 表达的影响	(140)
热敏灸对抑郁症模型大鼠内分泌激素的调节作用	(149)

脑缺血再灌注损伤

脑缺血再灌注损伤模型大鼠大脑皮质 BDNF mRNA 表达减少	(157)
脑缺血再灌注损伤模型大鼠大脑皮质细胞色素 C 与 Bax 蛋白表达增加	(165)
热敏灸对脑缺血再灌注损伤模型大鼠甩尾潜伏期的影响	(173)
热敏灸对脑缺血再灌注损伤模型大鼠大脑皮质细胞凋亡的影响	(180)
热敏灸对脑缺血再灌注损伤模型大鼠 SOD、MDA 的影响	(188)
热敏灸减少脑缺血再灌注损伤模型大鼠大脑皮质细胞色素 C 与 Bax 蛋白的表达	(194)
艾灸对脑缺血再灌注损伤模型大鼠大脑皮质 NF - κ B p65 蛋白表达的影响	(203)
热敏灸减少脑缺血再灌注损伤模型大鼠大脑皮质 CD11b 的表达	(211)
艾灸预处理对脑缺血再灌注损伤模型大鼠大脑皮质 caspase - 3 蛋白表达的影响	(219)
Heat - sensitive moxibustion attenuates the inflammation after focal cerebral ischemia/reperfusion injury	(227)
Comparison of 35 minutes and 15 minutes suspended moxibustion on anti - apoptotic effect after	



focal cerebral ischemia/reperfusion injury in rat	(240)
---	-------

新生小鼠缺氧缺血性脑损伤

新生小鼠缺氧缺血性脑病脑组织 caspase - 3 表达的变化	(257)
缺氧缺血性脑病新生小鼠脑组织 pCaMK II α 表达和空间学习记忆的变化	(263)
缺氧预处理减少新生小鼠缺氧缺血性脑病脑组织细胞凋亡	(269)
针刺对缺氧缺血性脑病新生小鼠脑组织细胞凋亡的影响	(274)
艾灸对新生小鼠脑卒中后抑郁模型体质量和行为学的影响	(282)
Marine compound Xyloketal B reduces neonatal hypoxic - ischemic brain injury	(289)

失眠

热敏灸对失眠大鼠行为学以及甩尾反应潜伏期的影响	(310)
热敏灸对失眠大鼠 SOD 活性和 MDA 含量的影响	(318)
热敏灸对失眠大鼠血清内分泌激素水平的影响	(326)

第二篇 教学探析

热爱学习 做好教师	(334)
不同方法在生理学教学中的运用探讨	(339)
PBL 教学法运用于中医院校医学专业生理学教学的研究	(343)
双语教学应在中医药院校生理学教学中应用和推广	(348)
余运初生理学教学经验和科研成果总结	(354)

第三篇 医学杂论

鲁之俊对当代针灸学的贡献	(362)
不同年龄者事件相关电位的结果比较	(367)
年龄和性别对事件相关电位 CNV 的影响	(373)



老年护理人才培养的紧迫性与前瞻性	(379)
万杉寺对庐山养生文化的影响和作用	(386)
附图	(391)
后记	(399)

第一篇

实验研讨



生殖内分泌

睾丸间质细胞睾酮生成的影响因素及作用机理

睾丸曲细精管的生精过程和间质细胞的睾酮分泌均受到下丘脑 - 垂体的调节。下丘脑分泌的 GnRH 经垂体门脉到达腺垂体,促进腺垂体促性腺激素细胞合成和分泌精子生成素(FSH) 和间质细胞刺激素(LH)。FSH 主要作用于生精细胞和支持细胞,而 LH 主要作用于间质细胞,睾丸间质细胞上存在 LH 受体。LH 与间质细胞上的 LH 受体结合后,激活腺苷酸环化酶,促进细胞内 cAMP 的生成。cAMP 再激活依赖 cAMP 的蛋白激酶,促进蛋白质的磷酸化过程,产生磷酸蛋白,从而使胆固醇经过一系列中间过程最终生成睾酮。在胆固醇到睾酮的转化过程中,主要涉及下列几个步骤:(1) 胆固醇必须从线粒体膜外转运到膜内才能参加类固醇合成,转运过程中需要类固醇急性反应蛋白(StAR) 参加才能完成,而 StAR 还可加速胆固醇向胆固醇侧链裂解酶细胞色素 P450 的传递,这是睾酮合成的限速步骤。(2) 胆固醇转到线粒体内膜后,在胆固醇侧链裂解酶的细胞色素 P450 (P450_{scc}) 催化下变成孕烯醇酮,P450_{scc} 是类固醇合成的一个限速酶。(3) 孕烯醇酮可直接变为孕酮,两者在 17 - 羟化酶/ 17 - 20 裂解酶细胞色素 P450 (P450_{c17}) 作用下依次转变为 17 - 羟孕烯醇酮(17 - 羟孕酮) 和去氢表雄酮(雄烯二酮) ,P450_{c17} 是另一个限速酶。(4) 去氢表雄酮在 17 β - 羟甾脱氢酶(17 β - HSD) 催化下可转变为雄烯二酮。(5) 3 β - 羟甾体脱氢酶(3 β - HSD) 可催化雄烯二酮转变为睾酮,3 β - HSD 也是类固醇生物合成的限速酶。任何因素,只要可以影响睾酮生物合成的任一环节,即可最终引起睾



酮合成的变化。本文就近年来国内外有关直接影响 Leydig 细胞功能的某些因素及其作用机理的研究作一综述。

1 睾丸支持细胞分泌的物质对睾丸间质细胞分泌睾酮的影响

1.1 生长因子

Lejenué H^[1] 等将人睾丸间质细胞单独培养或与人睾丸支持细胞共同培养,发现在共同培养 48 h 后,睾酮分泌量与单独培养时睾酮分泌相比显著升高($P < 0.0001$),同时观察到 3β -HSD $\Delta^5\Delta^4$ 异构酶、细胞色素 P450_{scc}、细胞色素 P450_{c17}mRNA 水平升高,IGF-1mRNA 水平也高于单独的睾丸间质细胞和单独的支持细胞培养时产生的总量。表明成年人睾丸间质细胞与支持细胞共同培养时 IGF-1 产生增加,介导几种类固醇生成酶 mRNAs 表达增加,从而使睾酮分泌明显升高。IGF-1 能增加成年人的睾酮产生,也能增加胎儿睾丸间质细胞的睾酮产生,但它的作用低于 LH 的作用^[2]。总而言之,IGF-1 能增加睾丸间质细胞睾酮产生,除通过增加几种类固醇生成酶 mRNA 表达外^[1,3],还提高 LH/hCG 受体 mRNA 水平^[3]。但在胎鼠睾丸细胞培养液中加入 TGF β 1 后,睾酮的基础产量及 LH 诱导的产量均下降。TGF β 1 可抑制 LH 诱导的 cAMP 产生^[4],可使 P450_{c17}mRNA 及蛋白质水平下降^[3,4],降低受体 LH/hCGmRNA 水平^[3]。此外,IGF-1 增加 c-fos、junB 和 c-myc mRNA 的表达,但比 hCG 弱。

1.2 内皮素-1

Fantoni G^[5] 等对 20 d 龄鼠的研究发现,培养的支持细胞能产生和释放 ET-1 样免疫物质(ET-1-LI),这种支持细胞培养基中提取的物质与合成的 ET-1 相似,提示这种 ET-1 样免疫物质是睾丸产生的真正内皮素,而间质细胞没有发现该物质。但睾丸间质细胞上存在高浓度(13pmol/mg 蛋白)高亲和力(离解常数 = 0.6nmol)¹²⁵I-ET-1 结合位点。大鼠睾丸中存在 ETA 和 ETB 受体^[6-7]。Belloni AS^[6] 等用放射自显影方法及 Ergul A^[8] 在室温下用动力结合试验证明睾丸间质细胞上主要存在 ETA 受体。将以上研究结果综合起来提示:睾丸中 ET-1 由支持细胞产生,睾丸间质细胞上主要存在 ETA 受体。许多学者研究表明,ET 通过与靶细胞膜上的内皮素受体(ETR)结合而发挥生物效应。在睾丸中,ET-1 由支持细胞产生后,通过旁分泌方式作用于睾丸间质细胞上的 ETA 受体调节睾丸间质细胞功能^[6,9-10]。Romanelli F^[9] 等通过研究观察到 ET-1 能浓度依赖性地增加离体大鼠睾丸间质细胞睾酮分泌^[9],与 hCG 协同作用刺激睾酮产生^[9-10];扩大 LHRH 的睾酮产生作用,同时这种促分泌物也能加强 ET 刺激睾酮生成作用^[9]。ET-1 的这种刺激睾酮产生作用被 ETA 拮抗剂所阻断,而 ETB 受体阻断剂无效^[6,9],磷脂酶 A2 (PLA2) 抑制剂阿的平能阻断 ET-1 对睾酮生成的刺激作用^[9],钙离子通道阻滞剂能完全



消除 ET-1 刺激睾酮生成的作用^[10]。Ergul A^[8]将 MA-10 细胞与 ET-1 (1pM-1μM) 在 37℃ 孵育 4 h, RIA 测定 ET-1 引起孕酮量增加 6 倍。而且, ET-1 也增加原癌基因 c-jun 和 c-myc 短期表达, 分别为 3 倍和 2 倍。

综上所述, ET-1 通过与睾丸间质细胞上的 ETA 受体结合刺激睾丸间质细胞睾酮分泌, hCG 及 LHRH 能促进 ET-1 的刺激作用, 而 PLA2 代谢体系和钙离子参与 ET-1 信号传导机制。此外, 还能促进原癌基因 c-jun 和 c-myc 的表达。

1.3 抑制素和激活素

抑制素和激活素均属于转化生长因子-β(TGF-β) 蛋白质超家族的成员, 抑制素由 α 亚单位和 β 亚单位构成, 包括 αβA 和 αβB 两种类型, 即抑制素 A 和抑制素 B; 激活素是 β 亚单位的同型二聚体(ββA, ββB) 或异型二聚体(ββB)。已有越来越多的证据显示, 睾丸中的抑制素和激活素不仅可以通过反馈方式调节垂体功能, 而且可以通过旁分泌方式直接调节睾丸自身的功能。免疫组织化学方法和免疫印迹分析方法研究证实大鼠睾丸中抑制素/激活素亚单位在胎儿期和新生儿期间定位在睾丸间质细胞和支持细胞, 出生后则主要在支持细胞^[11], 且具有生物活性^[12-13]。Lejeune H^[14]等研究人类重组抑制素 A/激活素 A 对离体未成年猪睾丸间质细胞的作用, 实验观察到抑制素和激活素(0.5~200 ng/ml) 无刺激基础睾酮分泌, 而能剂量依赖性增加 hCG 诱导的睾酮分泌量(分别为 2.40 ± 0.37 倍和 2.43 ± 0.37 倍), 这些变化与 LH/hCG 结合位点轻度增加(分别为 1.37 ± 0.19 倍和 1.24 ± 0.11 倍) 有关, 抑制素 A/激活素 A 增加 LH/hCG 受体 mRNA (2.75 ± 0.40 倍和 2.53 ± 0.60 倍) 和 P450c17mRNA (6 ± 1 倍和 3.5 ± 0.6 倍), 但对 P450scc 或 P450aro mRNA 无作用。另外, 激活素 A 增加 3β-HSDmRNA 水平(3.1 ± 0.6 倍), 而抑制素 A 无此作用。综上所述, 抑制素 A 和激活素 A 对离体猪睾丸间质细胞分化功能都有刺激作用。然而这一研究结果与以前发表的研究结果不全一致, 显示出激活素 A 对大鼠睾丸间质细胞具有抑制作用。作者认为可能与种属特异性有关。

2 非睾丸支持细胞合成和分泌的因素对睾丸间质细胞生成睾酮的影响

2.1 糖皮质激素

由肾上腺皮质束状带分泌。给大鼠注射皮质酮或地塞米松引起睾丸间质细胞睾酮产生减少^[15-17], 但血清 LH 水平无明显改变, 给睾丸间质细胞 LH 刺激不能补偿已降低的类固醇生成能力^[17]。皮质酮究竟通过什么机制抑制间质细胞睾酮产生, Sankar BR^[15]等通过实验观察到: 皮质酮抑制间质细胞睾酮产生在 cAMP 之后, 明显降低类固醇生成酶如 3β-HSD 和 17β-HSD 活性。此外许多研究已表明间质细胞上存在糖皮质激素受体。将以上研究结果综合起来, 我们认为糖皮质激素(大鼠体内是皮质酮), 能经胞内受体介导, 直接抑制睾丸间质细胞睾酮的合成, 并且是一个不依赖于 LH 的过程, 而是一个经糖皮质激素



素受体介导的对睾丸间质细胞直接作用的过程,其结果是导致睾酮生物合成中 1 个或几个酶活性降低,睾酮合成量减少。众所周知,睾丸间质细胞合成、分泌睾酮的总量取决于睾丸中间质细胞的数量和单个睾丸间质细胞合成睾酮的能力。糖皮质激素除能抑制单个睾丸间质细胞的睾酮合成外,是否能够通过诱导间质细胞凋亡而影响其数目。Gao HB^[18]等研究不同发育阶段睾丸间质细胞对皮质酮的敏感性时观察到前体期睾丸间质细胞(PLC, 14~28 d 龄),皮质酮处理组与未处理组无显著差异;未成熟期睾丸间质细胞(ILC, 29~56 d 龄)和成熟期睾丸间质细胞(ALC, > 56 d 龄)经皮质酮处理后,凋亡量显著高于未处理组。上述结果表明皮质酮诱导睾丸间质细胞凋亡与它的成熟状况有关。这一现象的发现对临床上用糖皮质激素治疗青春期病人也是一种提示,因为睾丸间质细胞在青春前期具有较强的增殖能力,而到了青春期阶段睾丸内间质细胞数目已处于恒定状态。此外,存在于睾丸间质细胞中的 11 β -羟甾体脱氢酶(11 β -HSD),具有氧化和还原作用,具有相互转化皮质酮(大鼠体内的活性形式)和 11-脱氢皮质酮(生物惰性形式)的作用,在培养的大鼠睾丸间质细胞中以氧化作用占优势,它能氧化灭活皮质酮,使之成为无活性的脱氢皮质酮。该酶通过灭活糖皮质激素,控制着其对睾酮合成所行使的抑制作用,以调节睾酮的分泌量。皮质酮水平增加降低 11 β -HSD 氧化活性,由此进一步抑制间质细胞睾酮分泌。因此,11 β -HSD 被认为是减少糖皮质激素对睾酮生成的抑制作用,促进青春期出现和促生育作用。Leckie^[19]等研究发现:完整的大鼠睾丸间质细胞原代培养显示 11 β -HSD 型主要表现 11 β -还原酶活性,使 50%~70% 11-脱氢皮质酮还原成皮质酮,而 11 β -脱氢酶的脱氢作用低于 5%。放射免疫分析显示:皮质酮具有抑制 LH 刺激的睾酮产生,11 β -脱氢皮质酮也具有相似的作用,表明 11 β -还原酶在功能上是重要的,一方面增加了进入睾丸间质细胞的皮质酮,另一方面扩大了皮质酮的作用,也许有利于维持睾丸间质细胞代谢和内分泌功能。

综上所述,糖皮质激素通过降低单个睾丸间质细胞类固醇生成酶水平和促进睾丸间质细胞凋亡抑制睾丸间质细胞睾酮产生,11 β -HSD 具有调节糖皮质激素浓度的作用。

2.2 瘦素

瘦素—肥胖基因的产物,主要由脂肪组织产生,近年来作为生殖调节中的重要信号。尽管瘦素调节生殖功能认为主要在下丘脑水平,但它对性腺是否有直接作用还不清楚。为此,Tenasempere^[20]等为观察瘦素(10^{-9} ~ 10^{-7} mol)能否调节雄性 Wistar 大鼠离体睾丸基础状态下和 hCG 刺激的睾酮分泌,实验结果发现,对青春前期大鼠睾丸睾酮的基础分泌和 hCG 刺激的睾酮分泌均无影响,不管是来自禁食状态或正常喂食的大鼠;而对成年期大鼠睾丸,包括禁食状态或正常喂食状态,瘦素对睾酮的基础分泌都具有明显的抑制作用,所不同的是,对基础状态下成年期正常喂食大鼠,在孵育 90 min 时, 10^{-9} ~ 10^{-7} mol 的



瘦素都具有抑制睾酮基础分泌的作用,而在孵育 180 min 时,仅 10^{-9} mol 的瘦素有抑制睾酮分泌作用。但将瘦素(150 ng/ml)分别加入基础状态下培养的大鼠睾丸间质细胞和 hCG(1 ng/ml)刺激的培养大鼠睾丸间质细胞,实验观察到:瘦素对基础状态下睾酮的分泌无作用,但对 hCG 刺激的睾酮分泌具有明显的抑制作用(131.1 ± 0.3 ng/ml vs 27.3 ± 1.0 ng/ml, 50% ~ 60%; $P < 0.01$)。但瘦素究竟是通过什么机制作用于离体大鼠睾丸的呢? Caprio M^[21] 等用 RT-PCR 方法在培养的成年雄性 SD 大鼠睾丸间质细胞上显示:大鼠睾丸间质细胞能同时表达瘦素受体长型(OB-Rb)和短型(OB-Ra)。用同样的方法发现小鼠间质肿瘤细胞系-1 型细胞仅能表达长型瘦素受体(OB-Rb)。作者研究认为瘦素对培养的大鼠睾丸间质细胞具有直接的受体介导作用。而 Tenasempere M^[22] 等研究证明它以剂量依赖方式抑制 hCG 和 cAMP 刺激的睾酮分泌,认为这种抑制作用与 hCG 刺激的编码急性反应调节蛋白(StAR)、450scc、 3β -HSD 以及 17β -HSD 3 型的 mRNAs 水平减少有关。

2.3 原癌基因

原癌基因是细胞基因组的正常成分,在正常情况下不表达或有限表达,具有调节细胞生长分化和信息传递的功能。睾丸间质细胞的睾酮分泌也伴有某些原癌基因的表达变化,特别是即时早期基因的表达变化。通过 Northern 印迹技术研究 hCG 加入体外培养的间质 MA-10 细胞系中对即时早期基因组(immediate early genes, IEGs)影响:包括所有 fos 成员、jun 家族、c-myc 及 ref-1。研究发现 hCG 能引起 c-fos^[23-24]、fosB、c-jun、junB、junD^[23] 和 c-myc^[23-24] mRNA 快速而又短暂的表达,且高峰期为 0.5 ~ 1h,且证实占据 50% LH/hCG 受体的 hCG 浓度相当于刺激原癌基因表达的半数最大刺激浓度(ED50),也相当于刺激睾酮分泌的半数有效浓度(ED50), (BU) 2 cAMP 引起的效应类似于 hCG 引起的效应^[24]。而 fra-1 的高峰期则在第 3 小时, fra-2 mRNA 在诱导下立刻增加且高峰期在第 1 小时。Ref-1 mRNA 在刺激之前就有表达,它的水平在 hCG 诱导下至少 8 h 未改变。Hall SH^[25] 等将 10^{-9} mol hCG 加入到培养的猪睾丸间质细胞中研究 c-fos、c-jun、junB、c-myc 原癌基因表达情况,观察到:与对照组即不加 hCG 组相比, c-fos、junB 和 c-myc mRNA 水平增加 9 倍, 18 倍, 5 倍,但对 c-jun mRNA 无影响。而 Schultz^[26] 等采用原位杂交和免疫组化技术研究 hCG 在大鼠体内应用诱导核内原癌基因(c-fos、c-jun、junB) mRNA 和蛋白质的表达,实验观察到:在 hCG 处理后,睾丸间质细胞中除 c-fos、junB mRNA 和蛋白质水平显著增加,在这个实验中我们还观察到的 c-jun mRNA 和蛋白质明显增加,而 Hall SH^[25] 的观察为单 hCG 不能引起培养的猪睾丸间质细胞中 c-jun mRNA 的增加。后来他观察到当间质细胞加入 EGF 或 FGF 后, c-jun mRNA 明显增加,而且 hCG 能加强其作用。许多研究已表明 EGF, TGF, FGF 是由支持细胞分泌