

益精方对腺嘌呤法大鼠睾丸组织中TGF- β 3 mRNA及蛋白表达影响的实验研究*

吕世军¹ 陈东² 丛萃² 王家辉^{2**}

1. 辽宁中医药大学 (沈阳 110847); 2. 海南医学院

摘要 **目的** 观察益精方对腺嘌呤法不育症大鼠睾丸组织中TGF- β 3 mRNA及蛋白表达水平的影响。 **方法** 选用48只健康的SPF级Wistar雄性大鼠, 2月龄, 体质量(180±20)g, 随机分为空白组、模型组、复方玄驹组和益精方组, 每组12只。除空白组外, 其余各组均以腺嘌呤1 mL/(100g·d)的剂量连续灌胃12d; 从第13天开始, 空白组及模型组用等量生理盐水灌胃, 复方玄驹组以复方玄驹胶囊水溶液灌胃, 益精方组以益精方汤剂灌胃, 每天一次, 连续20d。实验结束后处死大鼠, 摘取睾丸, 采用免疫组化技术测定大鼠睾丸组织中TGF- β 3的表达; 采用RT-PCR技术测定TGF- β 3 mRNA的表达。 **结果** 与空白组比较, 模型组中TGF- β 3及TGF- β 3 mRNA的表达均升高, 差异均具有统计学意义($P < 0.01$)。与模型组比较, 复方玄驹组和益精方组中TGF- β 3及TGF- β 3 mRNA的表达均

验表明,腺嘌呤有通过影响睾丸间质细胞中TGF- β 3的表达来抑制生精过程的作用^[4,5],因此本实验采用腺嘌呤模型。根据王家辉等^[3,6,7]的研究,确定以1mL/100 g·d剂量腺嘌呤连续灌胃12d,这是进行实验的最佳模型。模型动物从腺嘌呤灌胃开始逐渐出现发育迟缓,体质量减轻,体毛稀疏脱落且无光泽、反应迟钝、抱团取暖、少动萎靡等肾虚现象并伴有精子浓度、活力、T、LH水平等客观指标的明显下降,临床常用促生育的“益精方”有明显的调整作用。

精子发生需要在生精上皮的特殊微环境中进行,其中最为熟悉的是血-睾屏障(the blood-testis barrier, BTB),它主要由睾丸支持细胞之间的紧密连接所构成。一旦睾丸支持细胞的紧密连接受到损害就会阻碍睾丸的生精过程^[8]。目前,在睾丸支持细胞紧密连接内已经发现了三类结构膜蛋白: claudins、闭锁蛋白(occludins)和连接黏附分子JAMs,并鉴定了一些其他的周围膜蛋白,如闭合小环蛋白-1(zonula occludens-1, ZO-1)和ZO-2等^[9]。研究证实,

上皮,同时提高精子的活力和浓度。

本实验结果表明,益精方对腺嘌呤法不育症大鼠睾丸组织中TGF- β 3及TGF- β 3mRNA的表达升高具有明显的抑制作用,进而使模型大鼠睾丸支持细胞的紧密连接状态得到一定程度的恢复,其疗效与行业内公认的治疗男性不育症疗效突出的复方玄驹胶囊无显著性差异。今后将就益精方对腺嘌呤法肾虚不育症大鼠支持细胞紧密连接相关蛋白表达的影响进行研究,进而阐明该动物模型睾丸生精障碍的机制及益精方的药理作用。

参 考 文 献

- 1 王旭初,潘天明.中医治疗男性不育研究进展.河北中医 2012; 34(1): 148-149, 156
- 2 彭页,程义成,梅盛林,等.电磁脉冲辐照对小鼠血-睾屏障早期影响及TGF- β 3表达意义.中国体视学与图像分析 2007; 12(1): 11-15

TGF- β 3可以上调在睾丸支持细胞和生精细胞中的表达,进而影响生精过程。王宗辉等在研究腺嘌呤对雄性小鼠的影响时,发现腺嘌呤灌胃12d后,小鼠睾丸组织中TGF- β 3 mRNA表达明显升高,且与精子浓度、活力呈负相关。本研究在此基础上,探讨了益精方对腺嘌呤法不育症大鼠睾丸组织中TGF- β 3 mRNA表达的影响,发现益精方能显著降低腺嘌呤法不育症大鼠睾丸组织中TGF- β 3 mRNA的表达,从而改善睾丸支持细胞的紧密连接,提高精子的活力和浓度。

- barrier dynamics are regulated by testosterone and cytokines via their differential effects on the kinetics of protein endocytosis and re-cycling in Sertoli cells. *FASEB J* 2008; 22(6): 1945-1959
- 12 Lui WY, Lee WM, Cheng CY. Transforming growth factor-beta3 perturbs the inter-Sertoli tight junction permeability barrier in vitro possibly mediated via its effects on occludin, zonula occludens-1, and claudin-11. *Endocrinology* 2001; 142(5): 1865-1877
- 13 Setchell BP. Blood-testis barrier, functional and transport proteins and Spermatogenesis. *Adv Exp Med Biol* 2008; 636: 212-233
- 14 秦茂, 张秀平, 刘保兴. 细胞因子调控睾丸支持细胞紧密连接的研究进展. *中国男科学杂志* 2014; 28(10): 65-67
- 15 李柱, 罗少波, 贾金铭, 等. 益精方对小鼠精子线粒体功能的影响. *中国男科学杂志* 2014; 28(10): 10-14
- 16 王力, 陈东, 闵泽, 等. 益精方对不育症大鼠睾丸生精细胞凋亡及Bcl-2、Bax蛋白表达的影响. *中国中西医结合杂志* 2014; 34(5): 602-605
- 17 王家辉, 陈东, 贾金铭, 等. 益精方治疗腺嘌呤法大鼠不育症动物模型的药效学研究. *中华男科学杂志* 2013; 19(9): 820-825

(2015-03-01收稿)

(上接第7页)

- 15 Zhou LJ, Tedder TF. Human blood dendritic cells selectively express CD83, a member of the immunoglobulin superfamily. *J Immunol* 1995; 154(8): 3821-3835
- 16 Ohman J, Magnusson B, Telemo E, *et al.* Langerhans cells and T cells sense cell dysplasia in oral leukoplakias and oral squamous cell carcinomas--evidence for immunosurveillance. *Scand J Immunol* 2012; 76(1): 39-48

(2015-07-01收稿)