

雄性猕猴血清中促黄体素的分泌水平

王训立 李志雄 卢孔英

(福建省计划生育科学技术研究所 福州 350011)

摘要 本文采用促黄体素(LH)体外生物测定法,对不同年龄组雄性猴血清中促黄体素分泌水平进行了分析。结果表明:幼年组为 $5.4 \pm 1.7\text{ng/ml}$ 、成年组为 $45.6 \pm 12.8\text{ng/ml}$ 、老年组为 $69.2 \pm 21.5\text{ng/ml}$ 。提示雄性猕猴 LH 分泌模式与人很相似。

关键词 猕猴 促黄体素 生物测定法

非人灵长类动物猕猴(*Macaca mulatta*, 又名恒河猴)在进化、生长、发育、生殖生理等方面与人类极为相似^[1]。因此,对其生殖生物学等方面的研究工作越来越引起人们的重视。促黄体素是一种重要的生殖内分泌激素,它对雄性动物具有促进睾丸间质细胞增殖并合成雄激素;促进间质细胞分泌睾酮;协同促滤泡素促进精子成熟有密切关系。我们对雄性猕猴血清中的 LH 分泌水平进行了测定,旨在用其作为高等实验动物、提供可靠的实验数据^[2]。

1 材料和方法

1.1 实验动物 选择健康单笼人工饲养的猕猴 42 只,其中幼年猴 12 只,成年猴 20 只,老年猴 10 只。每只猴置于一个有活动空间的饲养笼中,保持充足的食物和饮水,自然光照。

1.2 样品收集 自雄猴前臂静脉采血,每只均采血 3ml,血样在 37℃ 温育 1h 后,离心分

离血清置-20℃冰箱保存.待所有样品收集后,集中测定,以避免测定时引起批间误差.

1.3 间质细胞的制备 将18—20日龄的雄性SD大鼠断颈处死后,取其睾丸,剥除白膜,在三角烧瓶中用0.1%BSA(牛族血清蛋白)-HEPES(N-2-羟乙基哌嗪-N'-2-乙基磺酸)溶液混合睾丸组织,加入胶原酶(酶的最终浓度为0.01%),于37℃水浴振荡消化,并不时地用加样器吹打睾丸组织,以利于分离细胞,15min后,加入同体积的McCoy's培养液终止反应,吸取上清液过滤离心(1000rpm,5min),将上清液倒去,再加入新鲜培养液,与细胞混匀后再离心,如此反复三次.最后一次离心后,弃去上清液,再加入新鲜培养液,混匀后从中用微量加样器取出细胞悬浮液20μl加入同体积台盼蓝溶液进行镜下观察,此时可看到经过滤的细胞基本上都是单个的间质细胞,只有少量的呈多个细胞团为杂细胞.

1.4 LH体外生物测定法的建立 将得到的间质细胞悬浮在含有0.1%BSA的McCoy's培养液中,37℃二氧化碳培养箱中预孵1h,1000rpm离心10min二次,弃去上清液,按 10×10^5 个细胞/ml浓度悬浮于0.1%BSA-McCoy's培养液中,得到间质细胞悬浮液,在24孔培养板中,每孔加入间质细胞悬浮液同时加入一定量的标准样品和待测定的样品,每个培养孔的体积为1ml,细胞数为 5×10^5 个,置在37℃CO₂培养箱中培养5h,收集培养液待测.

1.5 LH体外生物测定 采用放射免疫测定法^[3]测定培养液中的睾酮含量,进而计算出血清中LH的含量.

2 结果

2.1 用LH生物测定法对不同年龄阶段的雄性猕猴外周血中LH分泌水平的测定 幼年组为 $5.4 \pm 1.7\text{ng/ml}$,成年组 $45.6 \pm 12.8\text{ng/ml}$,老年组为 $69.2 \pm 21.5\text{ng/ml}$,结果(见图1).

2.2 体外培养时间,对雄猴血清中LH测定的影响 结果发现:经过处理的血清样品,随着培

养时间的变化,LH的含量的变化趋势,结果(见图2).

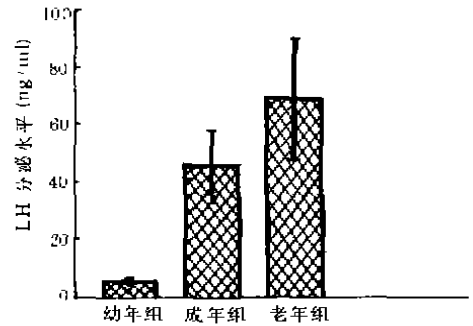


图1 不同年龄阶段的雄性猕猴外周血中LH的分泌水平

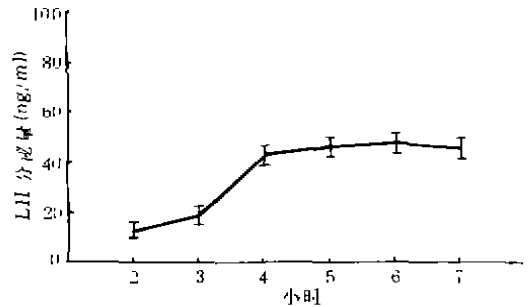


图2 培养时间变化与雄性猕猴外周血中LH的含量变化

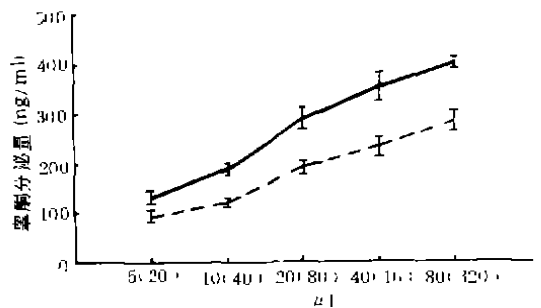


图3 oLH的剂量反应曲线和猕猴血清的剂量反应曲线,——oLH,---猴血清

2.3 猕猴的血清样品与羊促黄体素(oLH)标准样品的相关性剂量反应曲线 结果表明:oLH标准剂量反应曲线与雄猴的血清样品的剂量反应曲线相平行($p < 0.05$),证实了本实验

采用的生物测定法稳定性好、可靠性强,结果(见图3)。

3 讨 论

与前人报到的方法相比^[4],本研究对雄性猕猴血清中 LH 分泌水平采用体外生物测定法,采用胶原酶消化睾丸组织制备间质细胞,减少了间质细胞的损伤及对生理功能的影响,分离后的细胞存活率高;为了克服外界因素的干扰,用二氧化碳培养箱进行细胞培养,同时,1h 的预孵消除大鼠睾丸内源性的因素(如激素等)交叉反应的干扰,提高了测定的稳定性和灵敏性。提示本方法对雄猴促黄体素的测定,不失为一种准确、可靠的方法。

本研究表明:猕猴的 LH 分泌模式与人相似,且与有关报道的结果一致^[5]。LH 对雄性动物具有促进睾丸间质细胞增值并合成雄激素,促进间质细胞分泌睾酮,协同 FSH 促进精子成熟。摘除垂体的雄性动物导致睾丸退化,睾酮分泌下降,注射 LH 或 hCG 就可恢复睾丸的正常功能,说明 LH 对雄性动物的发育起着重要的影响。在摘除睾丸的猕猴血液中发现睾酮下降,而 LH、FSH 升高,可见睾酮抑制了促性腺激素的释放。从实验结果的动态分析可知:猕猴的成熟过程中,下丘脑-垂体的活动是一个逐渐形成的过程,处于幼年时期的雄猴,由于其生殖内分泌尚未建立正常的反馈系统,所以此时期的 LH 的分泌水平比较低。随着猴龄的增大,一般在 5 岁龄之后^[1,6],下丘脑-垂体-性腺系统的完善,LH 的分泌达到高的水平并趋于稳定,雄猴性功能的发育已成熟,且具有了

生殖能力。这与 Dubey 等^[7]报到的情况相类似。同时与人在青春期的 LH 和 FSH 的分泌水平升高,成年期 LH 分泌达到高峰相一致。而进入老年期的雄猴,因睾丸功能的衰退,对下丘脑-垂体轴产生巨大影响,原有形成的正常反馈系统的动态失去了平衡,造成正、负反馈失调,引起 LH 的分泌水平的升高,并超过了成年期的分泌水平。

总之,猕猴的年龄变化与 LH 的生理作用有着密切的联系。

参 考 文 献

- 1 王训立,林光,李志雄等. 雄性恒河猴外周血中睾酮分泌水平. 生殖与避孕, 1994, 14(1): 25—28.
- 2 Wang S.F. and X.L. Wang. An overview the center for family planning research non-human primate from Fujian (abstracts). The 2nd International Conference on Advances in Reproduction Research in Man and Animals. Nairobi, Kenya, 1992, 73.
- 3 刘以训. 一种快速可靠的性甾体激素放射免疫测定法. 动物学杂志, 1982, 17(3): 42.
- 4 Van Damme M.P., D.M. Robertson, R. Marana et al. An improved in vitro bioassay method for luteinizing hormone (LH) activity using mouse leydig cell preparation. Acta. Endocrinol. 1974, 77: 655—671.
- 5 Sundaram K., R.B. Thau, M. Goldstein et al. Effect of an LHRH agonist on pituitary and testicular function in rhesus monkey. J. Repr Fert. 1984, 72: 365.
- 6 Hayashi K.T. and G.P. Moberg. Influence of stress and adrenal axis on regulation of LH and testosterone in the male rhesus monkey (*Macaca mulatta*). Am. J. Primatol. 1987, 12: 263—273.
- 7 Dubey A.K. and T.M. Plant A. suppression of gonadotropin secretion by cortisol in castrated male rhesus monkey (*Macaca mulatta*) mediated by the interruption of hypothalamic gonadotropin-releasing hormone release. Biol. Reprod 1985, 33: 423—431.

SERUM LH LEVELS IN MALE RHESUS MONKEY

WANG Xunli LI Zhixiong LU Kongying

(Fujian Reserach Institute for Family Planning Fuzhou 350011)

ABSTRACT Peripheral serum luteinizing hormone (LH) levels in rhesus monkey were estimated by *in vitro* bioassay. The results showed peripheral serum LH levels of juvenile, adule and old male rhesus monkey were $5.4 \pm 1.7\text{ng} / \text{ml}$, $45.6 \pm 12.8\text{ng} / \text{ml}$ and $69.2 \pm 21.5\text{ng} / \text{ml}$ respectively. The studys suggested that the levels of plasma LH in both man and monkey weve similar.

Key words Rhesus monkey Luteinizing hormone

* * * * *