

# 蛙类促性腺激素释放激素的研究\*

李远友 林浩然

(中山大学生物系 广州 510275)

关键词 促性腺激素释放激素 特性 作用 蛙

促性腺激素释放激素(GnRH)是脊椎动物脑垂体促性激素(GtH)合成和释放的主要调节者,在生殖功能神经激素调控中起关键作用。

近年来,哺乳类和鱼类 GnRH 的研究已经比较深入,在两栖类的研究相对较少,两栖类在脊椎动物的进化中处于一个特殊的位置,对其 GnRH 的研究,无论从理论上还是对生产都具有重要意义。本文对蛙类 GnRH 的研究进展作简要介绍。

## 1 蛙类 GnRH 的研究方法

比较常用的方法有:高效液相色谱(HPLC);放射免疫分析(RIA);免疫组织(细胞)化学方法;免疫荧光法;在体注射或埋植激素方法;组织(或细胞)的离体灌流或静态培养方法。近年来,受体分析及基因表达的调控等分子生物学方法也开始应用于蛙类 GnRH 的研究。

## 2 蛙类 GnRH 种类、含量、分布及发生

GnRH/p 肽于 1971 年首先从猪的下丘脑中分离得到。到目前为止,在脊椎动物中已经发现和鉴定出了 9 种 GnRH 类型。它们在脊椎动物中组成了一个神经肽家庭。GnRH 的作用一方面可以通过生理实验确定;另一方面,它

在脑中的分布也被看作其可能功能的证据;即在视前-下丘脑区含量最高的那种 GnRH 被认为与垂体促性腺活动的控制有关,而分布与其它脑区的 GnRH 则被认为在中枢神经系统中起神经传递或神经调节的作用。在蛙类,已经报告有 3 种 GnRH 类型<sup>[1]</sup>。即哺乳类 GnRH (mGnRH), 鸡 II GnRH (cGnRH-II) 和鲑鱼 GnRH (sGnRH)。

在牛蛙(*Rana catesbeiana*)、豹蛙(*R. pipiens*)、光滑爪蟾(*Xenopus laevis*)、林蛙(*R. temporaria*)及杂色肥蛙(*Pachymedusa dacnicolor*)等蛙的脑中存在 mGnRH 和 cGnRH-II。mGnRH 主要分布在视前-下丘脑区,而 cGnRH-II 主要分布于中脑。从这些结果推测,mGnRH 可能是垂体功能的调节者。在杂色肥蛙中,Iela 等<sup>[2]</sup>还发现有第 3 种 mGnRH,推测它是第九位为羟脯氨酸的 mGnRH。

在湖蛙(*R. ridibunda*)和食用蛙(*R. esculenta*)报道的结果差异较大。Conlon 等对湖蛙的研究发现,mGnRH 主要局限于端脑、间脑、特别是下丘脑中明显缺乏 mGnRH 神经元,在

\* 受“水生经济动物繁殖营养和病害控制国家专业实验室研究经费资助”;

第一作者介绍:李远友,男,33岁,讲师,硕士;

收稿日期:1997-02-03,修回日期:1997-06-02

中脑只发现有 cGnRH-Ⅱ 神经元。这些结果提示, cGnRH-Ⅱ 很可能起促垂体功能的作用。Cariello 等和 Fasano 等在食用蛙中只发现有 cGnRH-Ⅱ 和 sGnRH, 无 mGnRH。在整个脑中, 这两种 GnRH 的含量表现出与雄蛙生殖周期(血浆激素)相关的季节性变化。他们结合受体研究认为, cGnRH-Ⅱ 很明显起着促垂体功能的作用。

Licht 等的研究发现, 湖蛙和食用蛙均含 mGnRH 和 cGnRH-Ⅱ, 无 sGnRH。mGnRH 在视前-下丘脑区含量最高; cGnRH-Ⅱ 在端脑最多, 且是小脑和延脑中唯一的 GnRH。在下丘脑区的门脉血液中, 也存在 mGnRH 和 cGnRH-Ⅱ。他们认为, 这两种 GnRH 都参与垂体促性腺活动的调节, cGnRH-Ⅱ 很可能还起神经递质和/或神经调节者的作用。Collon 等<sup>[3]</sup>对湖蛙的免疫组化研究支持了上述观点。

蛙类 GnRH 的发生有一定的规律。在光滑爪蟾<sup>[4]</sup>, 处于变态各阶段的蝌蚪中都可以检测到具有免疫反应的促黄体素释放激素(ir-LHRH), 脑中 ir-LHRH 的浓度在整个变态期是逐步增加的。在食用蛙<sup>[5]</sup>, ir-GnRH 神经元首先出现在长有后肢蝌蚪的中脑, 其中的 GnRH 为 cGnRH-Ⅱ; 在其后的发育过程中, 含有 mGnRH 的神经元出现在视前区前部及终神经。完成变态后, 含 mGnRH 的神经元还出现在端脑中隔区、嗅球、端脑中基部、丘脑腹侧部及漏斗区。在杂色肥蛙, ir-GnRH 神经元在变态高峰期出现, 且首先产生于中脑, 后来出现在外周终神经和视前区前部。

### 3 蛙类 GnRH 的生理作用

用蛙脑抽提液或合成的 LHRH 所进行的在体注射或离体孵育实验, 以及其它的一些免疫学和生理学实验已清楚证明, 蛙类 GnRH 的主要作用是刺激垂体 GnRH 的释放, 并且一种 GnRH 具有调节卵泡刺激素(FSH)和黄体生成素(LH)分泌的双重作用。

对牛蛙的在体研究发现, 年龄、性别、温度和日周期等因素影响垂体对 GnRH 的反应性。

在成蛙, 雌蛙的反应明显比雄蛙弱, 在 FSH 的产生方面尤为明显; 在变态后不久的幼蛙中, 所得的结果则与此相反。低温可压制冬眠蛙的反应性。日周期差异主要是由于垂体反应性的昼夜性改变的结果<sup>[6]</sup>。

在蛙类, GnRH 除了直接作用于垂体外, 它还可以直接作用于性腺, 调节类固醇的产生和精原细胞的有丝分裂。在食用蛙的精巢中有 cGnRH-Ⅱ 样分子; GnRH 类似物可直接作用于其精巢<sup>[7]</sup>, 促进精原细胞有丝分裂从 G1 期向 S 期的转变, 加速精原细胞增殖。

### 4 蛙类 GnRH 的调节及其基因的表达

对冬眠林蛙<sup>[8]</sup>的研究发现, 在其下丘脑中存在一种抑制作用, 抑制 GnRH 的释放。进一步的研究证明, 多巴胺起着此种抑制作用<sup>[9]</sup>。随着冬眠的进程, 抑制作用逐渐减弱。蛙类的这种多巴胺能抑制作用和鱼类的相似。

类固醇对 GnRH 的调节作用, 在蛙类的结果不太一致。在牛蛙, 垂体对 GnRH 刺激的反应性不存在象哺乳类那样的卵巢类固醇的反馈作用; 在豹蛙, 低剂量雌二醇可抑制离体培养的脑垂体对 GnRH 的反应性, 即在垂体水平抑制 FSH 和 LH 的分泌<sup>[10]</sup>; 在食用蛙, 雄激素和雌激素可促进视前区 GnRH 物质的合成和增加其神经元的数目<sup>[11]</sup>。

### 5 结语和展望

对于蛙类 GnRH 的研究尽管已经取得了一定的成绩, 但是, 由于被研究过蛙的种类不多, 一些研究结果不一致或不太深入, 所以以下研究有必要深入进行:

(1) 蛙类 GnRH 的种类、含量与分布, 以及它们与年龄、性别、生殖状态等不同生理条件的关系。

(2) 蛙类 GnRH 除了刺激 GnRH 的合成和分泌外, 是否也象鱼类一样还具有刺激生长激素分泌的作用?

(3) 在蛙类的个体发育中, 不同 GnRH 类型产生的时间、含量及分布, 同它的生理功能的

关系怎样?

(4)冬眠蛙中存在 GnRH 释放的多巴胺能抑制作用,是否具有普遍性;其作用的部位、机制,及其与性别、年龄、种类和生殖状态的关系等应进一步阐明。

(5)在蛙类,除多巴胺外,是否也象鱼类一样,去甲肾上腺素、5-羟色胺、 $\gamma$ -氨基丁酸、神经肽 Y 等神经递质对 GnRH 也有调节作用。

(6)分析 GnRH 的受体及其基因表达的调控,对于深入了解蛙类 GnRH 的作用机理将具有重要意义。

(7)目前,还没有专门适合蛙用的催产剂。通过对蛙类生殖内分泌学的深入研究,研制出蛙用催产剂,对蛙类的人工催产、促进其养殖业的发展具有重要的现实意义。

### 参 考 文 献

- 1 Licht, P., P.-S. Tsai, J. Sotowska-Brochocka. The nature and distribution of gonadotropin-releasing hormones in brains and plasma of ranid frogs. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 1994, 94: 186~198.
- 2 Iela, L., J. F. F. Powell, N. M. Sherwood *et al.* Reproduction in the Mexican leaf frog, *Pachymedusa dacnicolor*. VI. Presence and distribution of multiple GnRH forms in the brain. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 1996, 103(3): 235~243.
- 3 Collin, F., N. Chartrel, A. Fasolo *et al.* Distribution of two molecular forms of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) in the central nervous system of the frog *Rana ridibunda*. *Brain Res.*, 1995, 703(1~2): 111~128.
- 4 King, J. A., R. P. Millar. TRH, GH-RIA, and LH-RH in

- Metamorphosing *Xenopus laevis*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 1981, 44: 20~27.
- 5 D' Aniello, B., C. Pinelli, M. M. Di-Fiore *et al.* Development and distribution of gonadotropin-releasing hormone neuronal systems in the frog (*Rana esculenta*) brain: immunohistochemical analysis. *Brain Res. Dev.*, 1995, 89(2): 281~288.
  - 6 Porter, D., P. Licht. Effects of temperature and mode of delivery on responses to gonadotropin-releasing hormone by superfused frog pituitaries. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 1986, 63: 236~244.
  - 7 Minucci, S., S. Fasano, R. Pierantoni. Induction of A-phase entry by a gonadotropin-releasing hormone agonist (buserelin) in the frog, *Rana esculenta*, primary spermatogonia. *Comp. Biochem. Physiol. C. Pharmacol. Toxicol. Endocrinol.*, 1996, 113(1): 99~102.
  - 8 Sotowska-Brochocka, J., P. Licht. Effect of infundibular lesions on GnRH and LH release in the frog, *Rana temporaria*, during hibernation. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 1992, 85: 43~54.
  - 9 Soltowska-Brochocka, J., L. Martyuska, P. Licht. Dopaminergic inhibition of gonadotropic release in hibernating frogs, *Rana temporaria*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 1994, 93: 192~196.
  - 10 Pavgi, S., P. Licht. Inhibition of in vitro pituitary gonadotropin secretion by  $17\beta$ -estradiol in the frog, *Rana pipiens*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 1993, 89: 132~137.
  - 11 Iela, L., B. D' Aniello, M. Di-Meglio *et al.* Influence of gonadectomy and steroid hormone replacement on the gonadotropin-releasing hormone neuronal system in the anterior preoptic area of the frog (*Rana esculenta*) brain. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 1994, 95(3): 422~431.