

文章编号: 1000-0615(2001)02-0107-05

雄烯二酮和甲基睾酮对日本鳗鲡血清睾酮和 17β -雌二醇含量的影响

张利红, 张为民, 林浩然

(中山大学生命科学院, 广东 广州 510275)

摘要: 探讨了间隔 15d 多次埋植雄烯二酮(4-androstene-3, 17-dione, ADSD) 或甲基睾酮(17 α -methyl-testosterone, MT)诱导日本鳗鲡性腺发育过程中, 血清睾酮(testosterone, T)和 17β -雌二醇(17β -estradiol, 17β -E₂)含量的变化。在雌鳗中, 埋植 ADSD 后血清 T 和 17β -E₂含量显著升高, 随后缓慢下降; 埋植后第 15d 的血清 T 含量随埋植次数的增加呈下降趋势, 而血清 17β -E₂含量随埋植次数的增加而逐渐增加。埋植 MT 则使雌鳗血清中 T 含量显著降低; 而雌鳗血清 17β -E₂含量在埋植 MT 2次后显著升高。在雄鳗中, 埋植 ADSD 后第 15 天的血清 T 和 17β -E₂水平均显著升高, 并随埋植次数的增加而增加; 而埋植 MT 后第 15 天的血清 T 含量也显著升高, 并随埋植次数的增加而增加, 但血清 17β -E₂水平仅在埋植第 3 次后显著高于对照组。研究结果表明: 埋植 ADSD 和 MT 对日本鳗鲡血清 T 和 17β -E₂的影响存在明显的性别差异。

关键词: 日本鳗鲡; 雄烯二酮; 甲基睾酮; 睾酮; 17β -雌二醇

中图分类号: Q57; S917.4 文献标识码: A

Effects of 4-androstene-3, 17-dione and 17 α -methyl-testosterone on testosterone and 17β -estradiol levels in the serum of *Anguilla japonica*

ZHANG Li-hong, ZHANG Wei-min, LIN Hao-ran

(School of Life Sciences, Zhongshan University, Guangzhou 510275, China)

Abstract: The effects of ADSD and MT via implantation on testosterone (T) and 17β -estradiol (17β -E₂) levels in the serum of Japanese eel, *Anguilla japonica* were examined. In the female eel, serum T and 17β -E₂ levels were significantly increased after implantation of ADSD, and then decreased gradually. With increasing times of implantation of ADSD, serum T levels on the 15th day after implantation decreased, whereas serum 17β -E₂ levels rose. Implantation of MT decreased the serum T levels and increased serum 17β -E₂ levels of female eels as compared to the controls. In the male eel, serum T and 17β -E₂ levels on the 15th day after implantation of ADSD rose gradually with increasing times of implantation. Serum T levels on the 15th day after implantation of MT also rose with increasing times of implantation, however, significantly higher serum 17β -E₂ level was observed only on the 15th day after third implantation of MT. The result suggested that the effects of ADSD or MT via implantation on T and 17β -E₂ level in the serum of Japanese eel were sex dependent.

收稿日期: 2000-08-14

基金项目: 国家自然科学基金资助(39770101), 1996 年度高校博士点专项科研基金资助项目

第一作者: 张利红(1968—), 女, 陕西人, 博士, 讲师, 从事神经内分泌学研究。Tel: 020-84110828, E-mail: js65@zsu.edu.cn

©1997-2001 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

Key words: *Anguilla japonica*; 4-androstene-3, 17-dione; 17α -methyl-testosterone; testosterone; 17β -estradiol

性类固醇激素在鱼类性腺发育成熟过程中起着重要作用, 促性腺激素(GtH)促进生殖细胞发育成熟主要是通过性类固醇激素来实现的^[1,2]。在日本鳗鲡(*Anguilla japonica*)中, 雌二醇(17β -E₂)、睾酮(T)、甲基睾酮(MT)和雄烯二酮(ADSD)对性未成熟鳗鲡的性腺发育存在正反馈调节作用, 可作用于脑和垂体水平促进 GtH 的合成和分泌, 诱导性腺发育; 而且, 多次埋植 ADSD 或 MT 可有效促进性腺发育成熟^[3-9], 但是 ADSD 和 MT 诱导鳗鲡性腺发育过程中, 有关其血清中性类固醇激素含量变化的报道很少。本文采用间隔 15d 多次埋植 ADSD 或 MT 的方法, 测定鳗鲡性腺发育过程中血清 T 和 17β -E₂ 水平的变化, 来进一步探讨埋植外源性类固醇激素对日本鳗鲡脑-垂体-性腺轴的调节作用。

1 材料和方法

实验用鱼是每年 10 月 ~ 12 月从广东省番禺市附近的珠江口选购的下海日本鳗鲡。雌性体重为 320 ~ 460g, 雄性的体重为 120 ~ 250g。蓄养在室内人工海水循环系统中。人工海水采用中国科学院南海海洋研究所研制的海水晶配制而成, 盐度为 30 ~ 34, 自然光照, 实验期间水温变化范围是 15 ~ 23 °C。

雄烯二酮和甲基睾酮为美国 Sigma 公司产品, 和硅塑料混合后制成 1.5mm × 1.5mm × 30mm 药条, 以 50 μg · g⁻¹ 体重的剂量, 间隔 15d 埋植在鳗鲡腹腔内, 对照组埋植不含激素的硅塑料条。从尾静脉取血, 血样在 4 °C 静置 2h 后离心分离血清, 存放在 -20 °C 以备 T 和 17β -E₂ 的测定。血清 T 和 17β -E₂ 含量的测定参照 Van Der Kraak 等^[7] 建立的方法。T 抗血清由英国 Sheffield 大学 Kime 博士惠赠, 与 T、 17β -E₂、 17α 、20 β -二羟黄体酮、11-酮基睾酮、4-雄烯-3, 17-二酮、5 α -双氢睾酮、 5β -双氢睾酮和 17α -甲基睾酮的免疫交叉反应分别为 100%、0.54%、0.18%、0.85%、0.47%、46.30%、19.14% 和 0.1%; 17β -E₂ 抗血清由以色列 Tel-Aviv 大学 Yaron 博士惠赠, 与 17β -E₂、雌酮、雌三醇、T 和 17α 、20 β -二羟黄体酮的免疫交叉反应分别为 100%、0.97%、0.34%、0.001% 和 0.001%。显著性分析采用 Student's T 检验。

2 结果

2.1 埋植 ADSD 或 MT 对雌性日本鳗鲡血清 T 和 17β -E₂ 的影响

间隔 15d 多次埋植 ADSD 或 MT 诱导雌鳗性腺发育成熟的过程中, 埋植后第 15 天雌鳗血清 T 和 17β -E₂ 的含量变化如图 1 所示。埋植 ADSD 显著提高雌鳗血清 T 含量(图 1-A), 在埋植 2、4、6、7 次后雌鳗血清 T 含量极显著高于对照组和 MT 处理组, 但血清 T 含量随埋植次数的增加而逐渐降低; 埋植 ADSD 也显著提高雌鳗血清 17β -E₂ 含量(图 1-B), 在埋植 2、4、6、7 次后雌鳗血清 17β -E₂ 含量极显著高

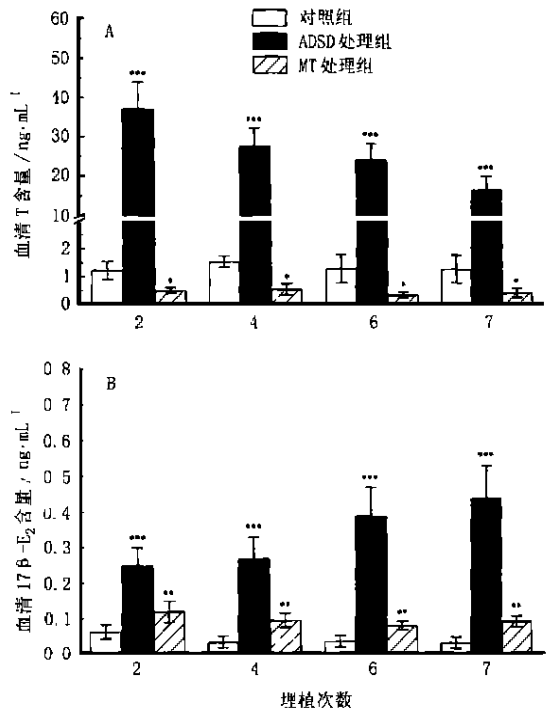


图 1 埋植 ADSD 或 MT 后第 15 天雌性日本鳗鲡血清 T 和 17β -E₂ 含量的变化

Fig. 1 Changes of serum T and 17β -E₂ level on the 15th day after the implantation of ADSD or MT in female *A. japonica*

A. 血清 T 含量; B. 血清 17β -E₂ 含量。各值表示为平均值 ± 标准差 (n=6~8)。*** 显著高于对照组和 MT 处理组 ($P < 0.01$); ** 显著高于对照组 ($P < 0.01$); * 显著低于对照组 ($P < 0.01$)。

于对照组和 MT 处理组, 而且, 血清 17β -E₂ 含量随埋植次数的增加而逐渐增加。在 MT 处理组, 雌鳊血清中 T 含量显著低于对照组(图 1-A), 但雌鳊血清 17β -E₂ 含量则显著高于对照组(图 1-B)。

埋植 ADSD 或 MT 1 次和 7 次后 1、3、5、7、15d 取血, 测得雌鳊血清 T 和 17β -E₂ 含量的动态变化如图 2 所示。1 次埋植 ADSD 后第 1 天的雌鳊血清 T 含量已明显高于对照组, 随后缓慢下降, 到第 15 天取样时血清 T 含量虽有所降低, 仍显著高于对照组(图 2-A), 而血清 17β -E₂ 含量在埋植后第 5 天和第 7 天显著高于对照组, 第 15 天取样时血清 17β -E₂ 含量与对照组无明显差异(图 2-B)。7 次埋植 ADSD 后, 雌鳊血清 T 含量的变化与 1 次埋植后相似, 但血清 T 含量升高的幅度增加(图 2-C), 而血清 17β -E₂ 含量在埋植后第 1 天就迅速升高, 极显著高于对照组, 随后各取样点的 17β -E₂ 含量虽缓慢降低, 但仍显著高于对照组(图 2-D)。1 次埋植 MT 后各取样点的雌鳊血清 T 含量均显著低于对照组(图 2-A), 但 17β -E₂ 含量和对照组无明显差别(图 2-B)。7 次埋植 MT 后, 雌鳊血清 T 含量仍显著低于对照组(图 2-C), 但血清 17β -E₂ 含量在埋植后 1d 就显著高于对照组, 随后各取样点 17β -E₂ 含量虽有所降低, 但都显著高于对照组(图 2-D)。

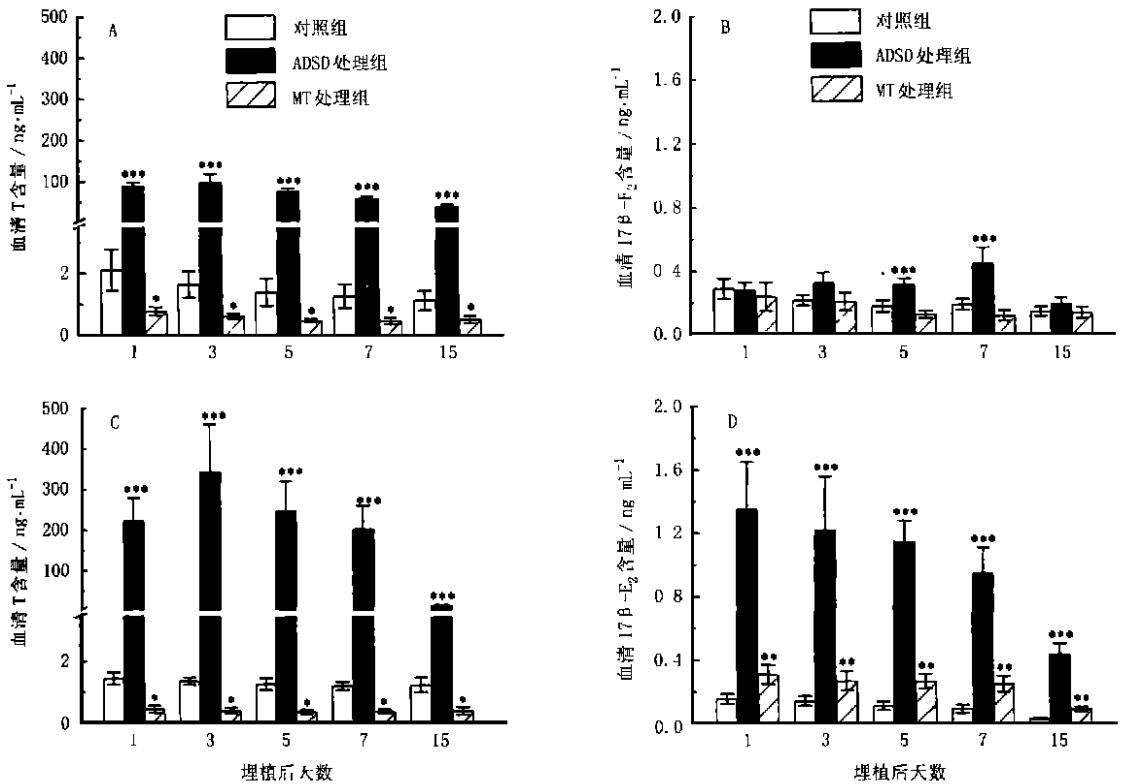


图 2 埋植 ADSD 或 MT 后雌性日本鳊血清 T 和 17β -E₂ 含量的动态变化

Fig. 2 Dynamic changes of serum T and 17β -E₂ level after the implantation of ADSD or MT in female *A. japonica*

A. 1 次埋植后血清 T 含量的变化; B. 1 次埋植后血清 17β -E₂ 含量的变化; C. 7 次埋植后血清 T 含量的变化; D. 7 次埋植后血清 17β -E₂ 含量的变化。各值表示为平均值±标准差(n=6)。***显著高于对照组和 MT 处理组(P < 0.001); **显著高于对照组(P < 0.01); *显著低于对照组(P < 0.05)

2.2 埋植 ADSD 或 MT 对雄性日本鳊血清 T 和 17β -E₂ 水平的影响

间隔 15d 埋植 ADSD 或 MT 1、3、5 次后第 15 天雄性日本鳊血清 T 和 17β -E₂ 含量的变化如图 3 所示。埋植 ADSD 组, 血清中 T 含量显著高于对照组和 MT 处理组, 并且, 血清 T 含量随埋植次数的增加而增加(图 3-A); 血清 17β -E₂ 含量亦显著高于对照组和 MT 处理组, 并随埋植次数的增加而逐渐增加(图 3-B)。

在 MT 处理组, 雄鳊血清中 T 含量在第 1、3、5 次埋植后的第 15 天都显著高于对照组, 并且, 血清 T

含量随埋植次数的增加而增加(图 3-A), 而血清 17β -E₂ 含量仅在第 3 次埋植后明显高于对照组, 第 1、5 次埋植后和对照组无明显差别(图 3-B)。

3 讨论

鱼类性腺发育成熟是 GtH 缓慢而稳定增加的结果, 无论外源、还是内源的 GtH 促进生殖细胞发育成熟的作用, 主要是通过性类固醇激素来实现的^[1, 2]。在雌鱼的卵黄形成期, 垂体分泌的 GtH 作用于卵巢滤泡, 在滤泡膜细胞层合成 ASD, ASD 再转化为可芳香化的雄激素, 尤其是 T; T 扩散到滤泡颗粒细胞层, 在芳香化酶的作用下转化为 17β -E₂。从卵巢释放出的 17β -E₂ 刺激肝脏合成和释放卵黄蛋白原; 在 GtH 作用下卵黄蛋白原进入发育的卵母细胞, 形成卵黄颗粒, 从而促进卵细胞的发育^[3]。在多种硬骨鱼中, 雌鱼血液 17β -E₂ 含量在卵黄形成阶段明显升高^[8-10]。本研究中, 在埋植 ASD 或 MT 诱导雌鳊性腺发育的过程中, 血清 17β -E₂ 含量明显升高, 这和其他鱼的性腺发育过程中观察到的 17β -E₂ 含量的变化是一致的。

埋植 ASD 后, 雌性日本鳊血清 T 含量极显著增加, 这可能是因为 ASD 是 T 生物合成的前体, 埋植的 ASD 在日本鳊体内转化为 T; 另外, 埋植 ASD 可促进雌鳊 GnRH 和 GtH 的合成与分泌^[3-5], 因此, ASD 也可能通过 GtH 促进性腺合成和分泌 T^[11, 12]。埋植 ASD 后第 15 天的血清 T 含量随埋植次数的增加呈下降趋势, 而血清 17β -E₂ 含量随埋植次数的增加而逐渐增加, 这可能是由于随着 ASD 埋植次数的增加, 雌鳊 GtH 的合成和分泌逐渐增加, 性腺逐渐发育^[3-5], 其芳香化酶活性也不不断增强^[13], 从而加快了 T 向 17β -E₂ 的转化, 造成血清 T 含量降低, 而血清 17β -E₂ 含量逐渐增加。

MT 是人工合成的 T 的类似物。MT 和 T 都能促进性未发育成熟的虹鳟和鲑鱼垂体合成和释放 GtH^[14, 15]。埋植 MT 可促进日本鳊垂体 GtH 的合成和分泌, 进而促进鳊的性腺发育^[3-5]。埋植 MT 后雌鳊血清 17β -E₂ 含量上升, 但血清 T 水平一直显著低于对照组, 提示本实验所用剂量的 MT 抑制了鱼体 T 的合成。在雌性鳊鱼中也观察到类似的现象, MT 使血清 T 含量降低^[16]。虽然性腺未发育成熟的雌性日本鳊在埋植 MT 后, 血清中 T 含量很低, 但其血清 17β -E₂ 水平显著高于对照组, 这可能是由于埋植的 MT 反馈作用于脑和垂体, 促进了 GtH 的合成和释放^[3-5], GtH 作用于卵母细胞促进了 17β -E₂ 的产生^[11, 12]; 另一方面, 埋植的 MT 也可能被芳香化为 17β -E₂。

埋植 ASD 或 MT 均可有效的促进雌性日本鳊性腺发育成熟, 两组间的性腺成熟系数没有明显的差异^[3-5]。但本实验结果表明: ASD 处理组和 MT 处理组间的 17β -E₂ 含量差异较大, MT 组血清 17β -E₂ 水平显著低于 ASD 组, 提示在雌性日本鳊的性腺发育中并不需要很高的 17β -E₂ 水平, 这与 Mommsen 和 Walsh^[17] 所提出的硬骨鱼类卵黄的积累主要是 GtH 调节的结果, 并不要求很高水平的 17β -E₂ 的观点一致。在欧洲鳊^[18] 和日本鳊^[19], 注射或埋植 17β -E₂ 明显促进了肝脏卵黄蛋白原的合

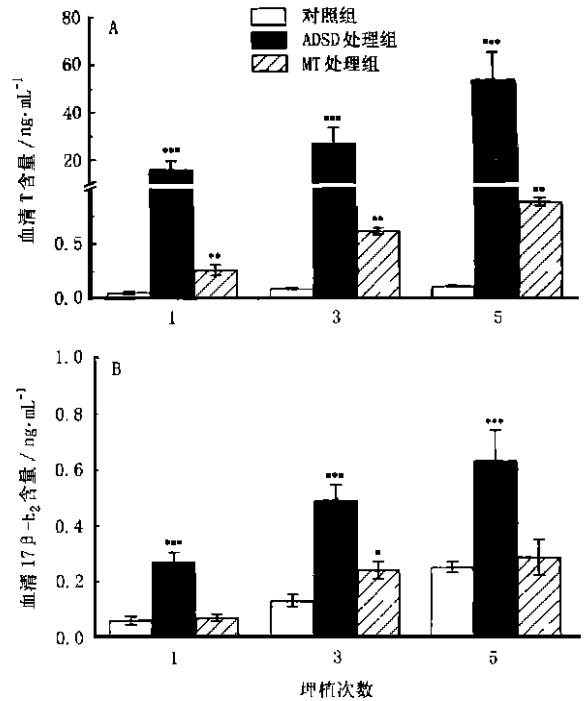


图 3 埋植 ASD 或 MT 后第 15 天雄性日本鳊血清 T 和 17β -E₂ 含量的变化

Fig. 3 Changes of serum T and 17β -E₂ level on the 15th day after the implantation of ASD or MT in male *A. japonica*

A. 血清 T 含量; B. 血清 17β -E₂ 含量。各值表示为平均值 ± 标准差 (n=6)。*** 显著高于对照组和 MT 处理组 ($P < 0.01$); ** 显著高于对照组 ($P < 0.01$); * 显著高于对照组 ($P < 0.05$)

成和分泌,但由于GtH分泌少,不能诱导鳗鲡的卵巢发育。

在雄性日本鳗鲡中,埋植MT后血清T含量显著高于对照组,而血清 17β -E₂含量仅在第3次埋植后显著高于对照组,这和雌鱼中的变化不同。而埋植ADSD后,雄性日本鳗鲡血清T含量随埋植次数的增加而增加,和雌鱼中T含量随埋植次数的增加而降低的变化不同。因此,埋植ADSD和MT对日本鳗鲡血清T和 17β -E₂的影响存在明显的性别差异,其内在原因还有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 林浩然. 鱼类生理学[M]. 广州: 广东省高教出版社, 1999. 181—196.
- [2] Nagahama Y. Role of steroid hormones in gonadal growth and maturation in teleosts[A]. Fish Physiology, Fish Toxicology, and Fisheries management: Proceedings of an International Symposium[C], Guangzhou P. R. China, September, 1988. 46—61.
- [3] Lin H R, Xie G, Zhang L H, et al. Artificial induction of gonadal maturation and ovulation in the Japanese eel (*Anguilla japonica* T. et S.) [J]. Bull Fr Peche Piscic, 1998, 349: 163—176.
- [4] 林浩然, 谢刚, 张利红, 等. 激素诱导鳗鲡性腺发育成熟和排卵的作用机理[A]. 中国动物科学研究[C], 北京: 中国林业出版社, 1999. 42—47.
- [5] 张利红, 张为民, 林浩然. 雄烯二酮和甲基睾酮诱导雌性日本鳗鲡性腺发育的反馈调节作用[J]. 水产学报, 2000, 24(5): 407—411.
- [6] 林浩然, 张梅丽, 张素敏, 等. 鳗鲡繁殖生物学研究 V. 性类固醇激素诱导雌鳗促性腺激素(GtH)分泌和卵巢发育的作用[J]. 水生生物学报, 1994, 18(3): 272—279.
- [7] Van Der Kraak G J, Dye H M, Donaldson E M. Effects of LHRH and Dey-Gly10(D-ALA6) LHRH-ethylamine on plasma sex steroid profiles in adult female coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*)[J]. Gen Comp Endocrinol, 1984, 85: 217—229.
- [8] Fostier A, Jalabert B, Billard R, et al. The gonadal steroids[A]. Fish Physiology[M], Vol. IXA. Academic Press, New York, 1983, 277—372.
- [9] Kagawa H, Young G, Nagahama Y. Changes in plasma steroid hormone levels during gonadal maturation in female goldfish[J]. Bull Jap Soc Sci Fish, 1983, 49: 1783—1787.
- [10] Pankhurst N M, Carragher J F. Seasonal endocrine cycles in marine teleosts[A]. Reproductive Physiology of Fish[M], 1991. Fish Symp 91, Sheffield, 131—135.
- [11] Suzuki K, Nagahama Y, Kawachi H. Steroidogenic activities of two distinct salmon gonadotropins[J]. Gen Comp Endocrinol, 1988, 71: 452—458.
- [12] Van Der Kraak G, Suzuki K, Peter R E, et al. Properties of common carp gonadotropin I and gonadotropin II[J]. Gen Comp Endocrinol, 1992, 85: 217—229.
- [13] Ijiri S, Kazeto Y, Takeda N, et al. Changes in serum steroid hormones and steroidogenic ability of ovarian follicles during artificial maturation of cultivated Japanese eel, *Anguilla japonica*[J]. Aquac, 1995, 135: 3—16.
- [14] Crim L W, Peter R E, Billard R. Onset of gonadotropic hormone accumulation in the immature trout pituitary gland in response to estrogen or aromatizable androgen steroid hormones[J]. Aquac, 1995, 135: 3—16.
- [15] Ikuta K, Aida K, Okumoto N, et al. Effects of steroids on the smoltification of masu salmon, *Oncorhynchus masou*[J]. Gen Comp Endocrinol, 1987, 65: 99—110.
- [16] Tamam C S, Kelley C D, Lee C S, et al. Effects of chronic LHRH-A+ 17 α -methyltestosterone or LHRH-A+ testosterone therapy on oocyte growth in the striped mullet (*Mugil cephalus*)[J]. Gen Comp Endocrinol, 1989, 76: 114—127.
- [17] Mommsen T P, Le Belle N, King J A, et al. Vitellogenesis and oocyte assembly[A]. Fish Physiology[M], Vol. XIA. Academic Press, New York, 1988. 348—395.
- [18] Dufour S, Delerue-Le Belle N, Fontaine Y A. Effects of steroid hormones on pituitary immunoreactive gonadotropin in European freshwater eel, *Anguilla anguilla* L[J]. Gen Comp Endocrinol, 1983, 52: 190—197.
- [19] 林浩然, 张梅丽, 张素敏, 等. 鳗鲡繁殖生物学研究 IV. 人工催熟过程中下海鳗鲡的GtH分泌活动、性腺发育状况和脑垂体GtH细胞的超显微结构[J]. 水生生物学报, 1987, 11(4): 320—330.