

醋酸棉酚对褐家鼠抗生育作用的研究^{*}

林统先 曾绍祥

(天津师范大学生物学系)

摘 要

1. 用30毫克/公斤·日和50毫克/公斤·日棉酚饲喂褐家鼠6周, 合笼交配结果表明, 不仅雄性产生不育, 雌性也产生不孕。

2. 形态学观察, 与对照组相比, 棉酚主要损伤曲细精小管内精子、精子细胞和精母细胞, 同时管壁萎缩、变形并明显变薄。雌性卵巢重量有所下降, 形态基本正常, 但子宫粘膜萎缩变薄, 腺体数目显著减少。

3. 由器官系数测定可知, 50毫克组的雄雌褐家鼠与对照组相比, 除雄性肾上腺外, 其它器官都有明显的差异。

关键词 (Key Words): 醋酸棉酚(Gossypol acetic acid), 抗生育 (Anti-fertility), 褐家鼠 (*Rattus norvegicus*), 冷库 (Cold Storage)。

冷库鼠害一向为人们关注, 因冷库为存放肉类、蛋类、水果等食品的场所, 与人民生活密切相关, 而褐家鼠繁殖能力很强, 在冷库中, 对食物和冷库建筑物危害很大, 但防治时既不能使用有损于上述食物的灭鼠方法, 又不能采用具有毒性的化学杀鼠剂 (Meechan等, 1979; Ericsson 1970); 因此在灭鼠方法上受到一定限制。

鉴于上述情况, 我们选择不影响人类健康和不污染食物的药物—醋酸棉酚 (以下简称棉酚) 作为防治冷库鼠害的抗生育药物。棉酚为淡黄色。棉花的籽、茎、根中均含有, 以籽含量最高, 是棉籽油中含有的唯一抗生育成分。

棉酚的抗生育作用是我国科学工作者所发现, 在医学上作为男性不育剂研究, 大白鼠实验已证明棉酚具有抑制精子发生的作用, 实验鼠口服15-40毫克/公斤·日, 4周后即产生不育效应 (戴荣禧等, 1980), 临床试验也证明人日服20毫克, 6个月即产生不育效应 (Chang等, 1980), 但用棉酚作为冷库或仓库鼠害防治研究, 尚未见系统报道。

材 料 与 方 法

本研究进行于1985-1987年, 试验鼠自天津市禽蛋公司养鸡场捕获, 经室内一个月饲养后, 选取健康的褐家鼠 (包括幼鼠) 进行试验。棉酚由南京药物研究所提供, 纯度为98.90%。将棉酚制备为悬浮液并加添芝麻油增加引诱作用, 为便于实际防治鼠害时操作应用, 不采用口服法, 而是将定量的棉酚悬浮液用注射器注入具有空隙的饵料块中, 每日清晨将其放入食盒内, 鼠可自由取食, 待全部吃光后, 再加添普通的饲料。

^{*}本研究系中国科学院科学基金资助课题“冷库鼠害防治研究”的第一部分。孙易、赵虹、孙金生、宋晓戴参加部分工作, 特此致谢。

本文于1987年7月19日收到。

试验分为两个阶段进行。鼠分为30毫克/公斤·日和50毫克/公斤·日两组（以下简称30毫克组和50毫克组），雄雌分笼单独饲养，连续6周。第一阶段在停药后第2天将其部分鼠和对照鼠处死，对其有关内脏器官进行测定，并作组织切片观察，用Bouin氏液固定，H·E染色。第二阶段停药后，将雌雄合笼进行交配试验，观察其繁殖情况。对照组只饲喂加添等量芝麻油的料块，其他条件均同试验组。

结果与讨论

1. 不同剂量棉酚对鼠体重及死亡率的影响

随着棉酚剂量的增大，试验鼠的体重逐渐下降，而同一剂量的棉酚对幼体的影响大于成体。对照组试验前、后其体重增加非常显著，30毫克组试验后体重有所增加，但无显著性差异，5周后出现死亡，50毫克组的成体自饲喂后体重开始下降（雄性鼠显著性很高），其中部分鼠出现活动减少和厌食现象，4周初即开始出现死亡，50毫克组的幼体鼠不但体重下降非常显著，而且毛色转褐色，体毛蓬乱，四肢无力，卧缩躯体不动，有时还出现阵发性颤动和极为明显的拒食现象，2周内即全部死亡（表1）。

表1 鼠体重和死亡率的变化
Table 1 Change of body weight and mortality of rats

组别 Group	性别 Sex	动物数(只) No. of animals	试验前体重(克) Body weight before the test(g)	试验后体重(克) Body weight after the test(g)	t 测验 t test	死亡率 Mortality (%)
对照 Control	♂	20	163.40±11.04	191.85±11.72	t = 3.9013 > t _{0.01}	0
	♀	17	153.29±9.35	178.46±11.87	t = 7.2761 > t _{0.01}	0
30毫克 (mg)	♂	7	172.81±16.61	183.15±14.95	t = 1.5509 < t _{0.01}	30
	♀	7	164.00±30.35	171.78±32.54	t = 0.5494 < t _{0.05}	30
50毫克 (mg) (成体) (Adults)	♂	10	123.75±21.46	113.69±19.45	t = 2.3180 > t _{0.05}	60
	♀	10	107.35±19.86	97.90±16.34	t = 1.1558 < t _{0.05}	50
50毫克 (mg) (幼体) (Juveniles)	♂ ♀ (5)(5)	10	51.18±4.96	37.20±4.92	t = 6.6002 > t ₄₁₀₁	100

另一方面也说明饲喂6周后褐家鼠的死亡率随棉酚剂量增加而增高。我们将死亡鼠进行剖检时，发现消化道呈深红色并有斑点，棉酚剂量越高斑点加多，颜色加深，胃容量也减小，且有明显的充气现象。就肝脏而言，30毫克组肝表面有局部瘀血瘀，50毫克组瘀血瘀遍布整个肝脏表面，肝也肿大。这些都说明棉酚由消化道被吸收后，可运至身体各器官组织，尤其是解毒的肝脏。随棉酚剂量增加，在这些器官的积累也相应地增加，其毒性和损伤作用也相应地加剧，因此，褐家鼠死亡率明显升高。用大白鼠试验也得到证实（柯保一等，1979；李幼兰等1982）。

2. 棉酚的抗生育作用

1. 棉酚对褐家鼠妊娠的影响（表2）从表2可知，各试验组的褐家鼠不育率与对照组相比都有显著性差异。

2. 棉酚对雄性睾丸的作用 通过观察组织切片，用显微镜目微尺测量各试验组和对照组的睾丸曲细精小管的直径（取其垂直的长径与短径的平均值）、生精细胞层的厚度和精子层的厚度（表3），结果表明棉酚剂量越大，对睾丸的损伤与破坏作用越严

表2 不同剂量棉酚对褐家鼠妊娠的影响

Table 2 Effect of different dosages of gossypol acetic acid on pregnancy of *R. n.*

组别 Group	配对方式 The type of mate	动物数(对) No. of animals (pair)	受孕数(只) No. of pregnancy	不育百分比 The ratio of infertility (%)
对 照 Control	♀ × ♂	10	10	0
30毫克 (mg)	♀ (给药) (Medicined)	7	3	57.15
	× ♀ (对照) (control)			
	♀ (对照) (Control)	7	2	71.43
	× ♂ (给药) (Medicined)			
50毫克 (mg)	♀ (给药) (Medicined)	10	0	100
	♂ (对照) (Control)	8	0	100
	♀ (对照) (Control)			
	× ♂ (给药) (Medicined)			

重,以至造成精子发生的不可逆性损伤,睾丸的生精机能很难恢复。这由我们停止饲喂棉酚后,使雄性鼠(50毫克组)与正常的雌鼠合笼一年而未见雌鼠受孕的观察结果得以证实。

表3 睾丸曲细精小管各部的测定(微米)

Table 3 The measurement of the different parts in seminiferous tubules of testes μm

组 别 Group	动物数(只) No. of animals	曲细精小管各部 The different parts of seminiferous tubules		
		曲细精小管直径 Diameter of seminiferous tubules	生精细胞层厚度 Thickness of spermatogenic cell layers	精子层厚度 Thickness of spermatozoa layers
对 照 组 Control	5	12.56 ± 0.15	2.75 ± 0.89	6.69 ± 0.11
30 毫 克 (mg)	11	12.20 ± 0.97	2.98 ± 0.99	6.13 ± 0.11
t 测 检 t test		$t = 0.8964 < t_{0.05}$	$t = 0.5921 < t_{0.05}$	$t = 0.0916 < t_{0.05}$
50 毫 克 (mg)	5	6.67 ± 0.47	0.61 ± 0.17	
t 测 检 t test		$t = 26.3014 < t_{0.01}$	$t = 6.497 > t_{0.01}$	

对照组睾丸曲细精小管的生精上皮细胞层次整齐清楚,外观饱满,腔内充满着精子和各级精母细胞(图1)。30毫克组从睾丸重量和切片组织形态变化上观察,基本上与对照组没有区别,只引起了精子层的损伤、解体和消失,而50毫克组(图2),不但引起睾丸曲细精子管内各类精细胞脱落聚积解体,造成生精上皮严重退化,而且睾丸重量发生显著性降低,其体积也出现极为明显的萎缩。

上术结果进一步表明,棉酚具有明显的抑制精子发生的作用,其作用的主要部位先是对棉酚较敏感的精子 and 晚期精子细胞,其次是各级精母细胞,随着棉酚剂量的增加,对睾丸的损伤与破坏作用相应地加剧,可进一步使曲细精小管内各类精细胞脱落殆尽,以至完全消失,使管腔空虚,多数管腔只见管壁基部的一层支持细胞和残留少量的精原

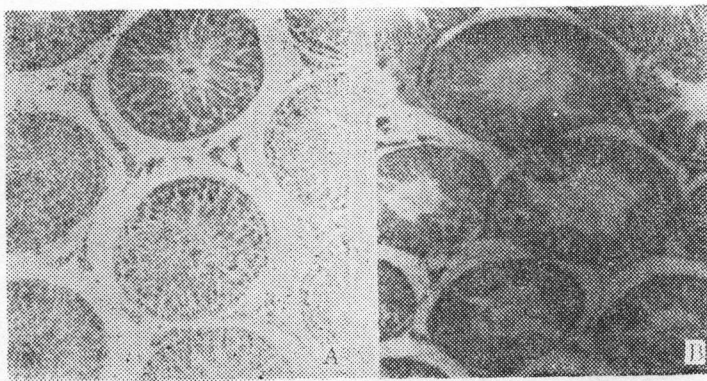


图 1 6 周后的睾丸曲细精小管 (褐家鼠)

A. 对照组X100; B. 30毫克组X100

Fig.1 Seminiferous tubules of testes after 6 weeks

A. Control group, $\times 100$; B. 30mg group, $\times 100$

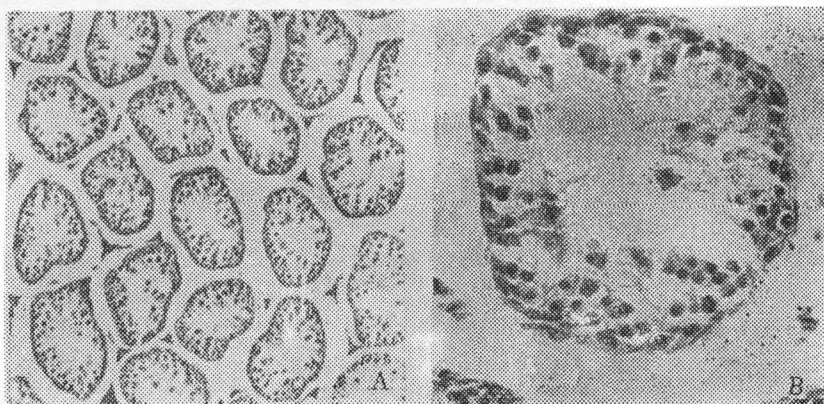


图 2 饲喂50毫克/公斤·日6周后, 睾丸曲细精小管的变化

A. $\times 100$; B. $\times 300$.

Fig.2 Changes of seminiferous tubules fed the gossypol acetic acid at a dosage of 50mg/kg.day for 6 weeks (*Rattus norvegicus*)

A. $\times 100$; B. $\times 300$.

细胞, 而且排列不整, 剥落明显, 在有些曲细精小管内还可见一些成簇的团块和巨核细胞存在, 曲细精小管自身也明显的萎缩。变形和变薄, 管径显著缩短, 管壁呈不规则状, 睾丸间质面积相对增大, 其原因可能是由于间质内纤维增生, 曲细精小管闭塞萎缩造成的。吴亭等 (1986) 也证明了棉酚损伤线粒体的功能, 中断精子的发生过程。

3. 棉酚对雌性卵巢的影响 棉酚对雌性动物生殖器官的影响以及对雌性动物的抗生育作用的观察研究表明, 饲喂棉酚6周后, 卵巢的重量随棉酚剂量增加有下降现象, 与对照组相比较, 30毫克组卵巢的重量无明显变化, 50毫克组则差异非常显著, 但两个试验组卵巢的形态结构未见明显变化, 卵巢内各级发育着的卵泡基本属正常 (图3)。

因此, 棉酚致使雌性鼠不孕主要不是卵巢本身机能受到了损伤与毒副作用, 而是由于血浆孕酮水平的降低, 子宫内膜的萎缩变薄, 血管变窄, 腺体数目明显减少 (图4), 抑制子宫内膜的蜕膜化, 棉酚对雌性褐家鼠的明显抗生育作用即抗着床作用, 我们的试验结果与袁其晓等 (1983), 高德伟等 (1985), 杨勿姝等 (1986) 的报道相一致。

此外, 我们对50毫克组成体死鼠进行剖检时, 与对照组相比较发现其输卵管和子宫都有色泽加深和红肿现象, 这可能是雌性鼠不孕的另一原因, 即棉酚在子宫和输卵管内累积较高, 而造成其损伤和毒副作用, 使受精卵不能着床, 对此有待进一步观察和探讨)。



图3 6周后卵巢的变化(褐家鼠)
A.对照组, ×100; B.50毫克组, ×100
Fig. 3 Changes of ovaries after 6 weeks
A. Control group, X100; B. 50mg group, X100.

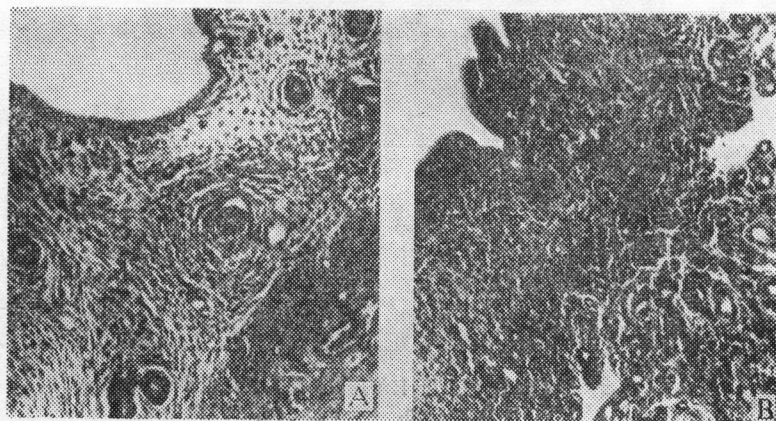


图4 6周后的子宫粘膜层(褐家鼠)
A.对照组, X300; B.50毫克组, X300
Fig.4 Mucous layers of the uterus after 6 weeks
A. Control group, X300; B. 50mg group, X300

3. 各器官系数的测定

$$\text{器官系数} = \frac{\text{器官重}}{\text{体重}} \times 100\%$$

结果见表4和表5。饲喂棉酚6周后, 50毫克组雄性褐家鼠的睾丸、肝脏、垂体和脾与对照组的器官系数比较, 差异非常显著, 而肾上腺虽有影响但未达显著水平; 30毫克组的肝脏、垂体和脾差异非常明显, 其它无统计学意义。

50毫克组雌性褐家鼠与对照组相比, 各器官均有明显的差异, 而30毫克组各器官的差异都不明显。

对肾上腺皮质各带相对皮质宽度变化进行测量, 各带变化的结果见表6。

表6说明, 棉酚对肾上腺皮质球状带、束状带和网状带的形态变化影响不大, 但重量普遍减轻, 这说明棉酚对球状带分泌醛固酮的机能有一定刺激作用, 但影响不明显, 这一结果与叶世隽(1982)研究的结果相一致。

我们发现, 随棉酚剂量的增加, 褐家鼠肾上腺皮质球状带和束状带有逐渐变窄, 网状带有逐渐加宽的趋势, 而且各带细胞间和细胞内的空泡数量也随之增加, 束状带尤为

表4 雄性器官系数的测定(%)
Table 4 The measurement of the male organ coefficients (%) .

组 别 Group	动物数 (只) No. of animals	器 官 organs				
		睾 丸 Testes	肝 Livers	肾 上 腺 Adrenal glands	垂 体 Pituitary glands	脾 Spleens
对 照 Control	6	1.5836 ± 0.0071	2.2137 ± 0.0157	0.1719 ± 0.0004	0.0018 ± 0.00001	0.1950 ± 0.00032
30毫克 (mg)	5	1.5396 ± 0.0100	3.9270 ± 0.0220	0.0348 ± 0.0002	0.0024 ± 0.00004	0.0574 ± 0.00058
t 测 验 t test		t = 0.5384 < t _{0.05}	t = 9.4464 > t _{0.01}	t = 0.0593 < t _{0.05}	t = 7.2215 > t _{0.01}	t = 5.8567 > t _{0.01}
50毫克 (mg)	6	0.2296 ± 0.0038	3.8539 ± 0.0158	0.2216 ± 0.0003	0.0047 ± 0.00004	0.2357 ± 0.0040
t 测 验 t test		t = 10.6738 > t _{0.01}	t = 5.9956 > t _{0.01}	t = 0.3710 < t _{0.05}	t = 4.0962 > t _{0.01}	t = 37.3574 > t _{0.01}

表 5 雌性器官系数的测定(%)
Table 5 The measurement of the female organ coefficients (%)

组 别 Group	动物数 (只) No. of animals	器 官 Organs				
		卵 巢 Ovaries	肝 Livers	肾 上 腺 Adrenal glands	垂 体 Pituitary glands	脾 Spleens
对 照 Control	5	0.2116 ± 0.0002	3.7146 ± 0.0389	0.0550 ± 0.0061	0.0013 ± 0.00001	0.2521 ± 0.0018
30毫克 (mg)	5	0.0802 ± 0.0002	4.5964 ± 0.0407	0.0352 ± 0.0035	0.0023 ± 0.00005	0.5680 ± 0.0124
t 测 验 t test		t = 2.2780 < t _{0.05}	t = 1.4299 < t _{0.05}	t = 2.4444 < t _{0.05}	t = 1.7087 < t _{0.05}	t = 1.6478 < t _{0.05}
50毫克 (mg)	6	0.0335 ± 0.0002	4.2691 ± 0.0520	0.2883 ± 0.0075	0.0026 ± 0.00001	0.1517 ± 0.0021
t 测 验 t test		t = 3.9843 > t _{0.01}	t = 14.2152 < t _{0.0}	t = 2.5343 > t _{0.05}	t = 6.7169 > t _{0.01}	t = 4.8980 > t _{0.01}

表6 肾上腺皮质各带的测定
Table 6 The measurement of the different zones in adrenal cortex.

组 别 Group	动物数(只) No. of animals	皮 质 各 带 Different zones in adrenal cortex		
		球状带 Zona glomerulosa	束状带 Zona faciculata	网状带 Zona reticularis
对 照 (微米) Control(μ)	5	42.22 ± 14.31	520.03 ± 107.68	453.53 ± 64.88
占皮质百分比 (%) The ratio in the adrenal cortex (%)		4.24	49.82	43.62
30毫克 (微米) (mg)(μ)	5	35.83 ± 6.39	440.23 ± 94.45	482.79 ± 89.92
占皮质的百分比 (%) The ratio in the adrenal cortex(%)		3.80	45.10	49.84
t 测 验 t test		t = 1.4745 < + 0.05	t = 1.7619 < t _{0.05}	t = 0.8468 < t _{0.05}
50毫克 (微米) (mg) (μ)	5	34.58 ± 2.97	439.57 ± 44.39	582.54 ± 154.29
占皮质的百分比 (%) The ratio in the adrenal cortex(%)		3.36	42.08	54.54
t 测 验 t test		t = 1.8696 < t _{0.05}	t = 0.4710 < t _{0.05}	t = 2.4374 > t _{0.05}

明显,空泡实为不着色的分泌物,这说明肾上腺皮质束状带分泌糖皮质激素和网状带分泌性激素增加了,这可能是由于棉酚对褐家鼠的毒副作用的增加有关。

另外也发现皮质网状带的血窦相应增多的现象,这可能是因为棉酚引起睾丸上皮退化,生精作用发生障碍后,睾丸间质细胞分泌睾丸酮在血液中水平显著下降时,肾上腺皮质网状带分泌性激素的功能活动相应活跃,可能与其机能代谢作用有关。

参考文献

- 叶世隽、游美梅、薛社普 1982 醋酸棉酚对大鼠肾上腺皮质超微结构的影响。解剖学报17(3):321—326
李幼兰、严绍颐、党连凯 1984 睾丸内注射醋酸棉酚对小鼠精子发生的影响。辽宁动物学会会刊5(1):9—5
吴亭、史以庆、杨武、姜尼昭、王士炳 1986 醋酸棉酚对大鼠生殖器官腺苷酸环化酶的影响。科学通报15:1192—1194
柯保一、林心楷、林秀媛、章月华、马玉珍、郁素娥、丁溶 1979 棉酚抗生育作用的研究Ⅱ大白鼠灌服棉酚后血液和有关脏器中棉酚含量的测定。实验生物学报12(1):69—78。
袁其晓、高德伟、李春忠 1983 醋酸棉酚在雌性大鼠的抗着床作用及其机理分析。生殖与避孕3(2):25—3。
高德伟、张孜孜、李春忠、袁其晓 1985 醋酸棉酚对妊娠鼠毒理作用的研究。药学通报20(8):464。
杨纫姝、张艳红、瞿阿香 1986 宫内一次给予醋酸棉酚对雌性大白鼠的抗着床作用及其机理分析。生殖与避孕9(4):27。
戴荣禧、庞诗宜 1980 棉酚抗生育作用的研究。I V。大白鼠长期服棉酚睾丸退化的观察。实验生物学报13(2):193—198。
Chang M.C., Zhiping Gu and S.K. Saksena 1980 Effect of gossypol on the fertility of male rats, Hamsters and Rabbits, Contraception 21(5):461-469。
Ericsson R.J. 1970 Male anti-fertility compounds-U-5897 as a rat chemosterilant. J. Reprod. Fert. 22:213-222。
Meehan A.P. and M.C. Hum 1979 The rodenticidal and chemosterilant effect of U-5897 (alphachlorohydrin against rats. International pest control 3/4:39-41。

外文摘要 (Abstract)

STUDIES ON THE ANTI-FERTILITY EFFECT OF GOSSYPOL FOR RATS

LIN Tongxian ZENG Jinxiang

(Department of Biology, Tianjin Normal University)

1. The healthy male and female rats were selected for this experiment. The fed doses of gossypol acetic acid were 30mg/kg·day and 50mg/kg·dy for 6 weeks. The results of cage cross showed that the males were infertility and the females were not pregnancy (anti-implantation).

2. The morphological examinations indicated that gossypol caused testicular lesion in contrast with that of the control group. Spermatozoa, spermatid and spermatocytes in seminiferous tubules were mainly damaged. At the same time, the walls of seminiferous tubules became atrophy, deformities and thin obviously.

The morphological changes were not noticed in females while the weight of ovaries decreased, but mucous layers of the uterus became atrophy and thin, numbers of the glands decreased obviously.

3. The measurement of organ coefficients of the male and the female rats indicated that organs in 50mg groups made a great difference in contrast with those of control groups except adrenal glands of the male rats. Only the livers, pituitary glands and spleens of the male rats in 30mg groups made significant difference.

4. The results described above showed that gossypol acted on male and female rats as anti-fertile and had an obvious effect on pest control of the cold storage.