

硫代脯氨酸对未成年小鼠的抗排卵作用

吴忠华、徐斯凡、方廉、肖伟文、孙周¹、辛华

(江西医学院生理教研室, 药理教研室¹, 南昌 330006)

提要 未成年♀小鼠用 PMSG-hCG 诱发排卵, ip 硫代脯氨酸 30 或 40 mg/kg 显著减少排卵数和血浆孕酮含量, 卵巢 LH/hCG 受体亲和力下降, 但受体数目减少不明显。im 外源性孕酮 2 mg/鼠可解除 ip 40 mg/kg 硫代脯氨酸的抗排卵作用。结果提示硫代脯氨酸通过抑制卵巢 LH/hCG 受体功能和孕酮生成而发生抗排卵作用。

关键词 硫代脯氨酸; 排卵; 促黄体激素; 黄体酮

硫代脯氨酸(thioprolin)是一种细胞膜表面离子螯合剂, 有抗肿瘤⁽¹⁾, 抗实验性心律失常⁽²⁾等作用。硫代脯氨酸的抗生育作用尚未见有报道。本文对硫代脯氨酸在小鼠的抗排卵作用进行了研究。

1986年1月7日收稿 1986年12月8日修回
本文在中国生理学会1985年学术会议(成都)宣读

药 品

硫代脯氨酸为无色针形结晶, 由本院化学教研室合成。孕马血清(PMSG), 长春生物制品研究所提供。人绒毛膜促性腺激素(hCG), 上海生物化学制药厂产品。孕酮(progesterone), 上海第九制药厂产品。橄榄油, 北京化工厂产品。孕酮放免药盒, 上海内分泌研究所提供。

方法和结果

硫代脯氨酸抗排卵试验 ♀小鼠 58 只, 鼠龄 $24 \pm SD 2$ d, 体重 15 ± 2 g, 按体重分成 7 组, 每组 8-9 只, 分笼饲养。光照: 黑暗为 14:10 h, 室温 $21 \pm 1^\circ\text{C}$ 。1-3 组试验 硫代脯氨酸抗 PMSG 诱发的排卵作用, 在 sc PMSG

500 IU/kg 后 36 h 分别 ip 硫代脯氨酸 0, 20 或 40 mg/kg, 在 48, 56 h 重复给药。4-7 组试验硫代脯氨酸抗 PMSG-hCG 诱发的排卵作用, 按 1-3 组方法, 其中增加 30 mg/kg 剂量组, 各组在 56 h 加 ip hCG 500 IU/kg。

全部小鼠在 sc PMSG 后的 76-79 h 断头处死, 迅速取出双侧输卵管, 在解剖显微镜下小心剔除周围组织, 分离并拉直, 用压片法计算双侧输卵管内的卵子数⁽³⁾。在 4-7 组, 取躯干血, 按 RIA 法用 Beckman LS 1081/3801 型液体闪烁仪测血浆孕酮含量。

结果 1. ip 硫代脯氨酸 20 或 40 mg/kg, 对于 PMSG 诱发的排卵作用没有明显影响 ($p > 0.05$)。2. ip 硫代脯氨酸 20 mg/kg, 虽使 PMSG-hCG 诱发的排卵数减少, 但无显著性 ($p > 0.05$); 当剂量增加到 30 或 40 mg/kg 时, 显著抑制 PMSG-hCG 诱发的排卵数 ($p < 0.05$ 和 $p < 0.01$), 同时伴有血浆孕酮含量下降。孕酮含量下降似与排卵数目减少平行。硫代脯氨酸使 PMSG 和 PMSG-hCG 诱发的排卵鼠数都有减少的倾向 (表 1)。

Tab 1. Ovulations in the mice induced by sc PMSG 500 IU/kg (A) or by ip hCG 500 IU/kg at 56 h after sc PMSG 500 IU/kg (B) were inhibited by ip thioproline 3 times at 36, 48, 56 h after sc PMSG. $\bar{x} \pm SD$ * $p > 0.05$, ** $p < 0.05$, *** $p < 0.01$ vs saline (NS)。

Thio-proline (mg/kg)	Ovulated		Progesterone in plasma (ng/ml)
	Mice	Ova/mouse	
NS	7/8	3.5 ± 1.9	
(A) 20	5/8	2.8 ± 2.0*	
40	4/8	2.6 ± 3.0*	
NS	8/8	37 ± 26	9.2 ± 1.8
(B) 20	9/9	24 ± 10*	6.7 ± 2.4*
30	8/8	16 ± 8**	5.9 ± 1.4**
40	7/9	13 ± 8***	3.9 ± 0.4***

硫代脯氨酸对 ip hCG 后 6 h 内血浆孕酮水平和 LH/hCG 受体功能的影响 ♀小鼠 20 只, 分成 2 组: 实验组按上述 4-7 组方法给药, 硫代脯氨酸的用量为 40 mg/kg; 对照组以等容量生理盐水代替硫代脯氨酸。在 ip hCG 后 5-5.5

h 断头处死小鼠, 取血测血浆孕酮含量。同时, 迅速取出卵巢, 称重, 按放射受体法 (RRA) 用 FT-613 型自动计算 ¹²⁵I 放免测量仪测卵巢 LH/hCG 受体的数目和亲和力⁽⁴⁾。

结果硫代脯氨酸使 ip hCG 后 6 h 内的血浆孕酮含量显著下降 ($p < 0.05$); 卵巢 LH/hCG 受体的亲和力 (K_d 值) 下降, 但受体数目 (R_0) 减少不明显。本实验室测得的 30 d 龄小鼠卵巢重量的正常值约为 100 mg/kg 体重 (方廉、徐斯凡, 待发表资料), 应用 PMSG-hCG 后的卵巢重量明显增加。在实验组和对照组之间, 卵巢的增重数没有明显差异 ($p > 0.05$) (表 2, 图 1)。

Tab 2. Effect of thioproline (40 mg/kg) on plasma progesterone level and ovarian LH/hCG receptors during preovulatory period 5-5.5 h after hCG in mice. $n = 10$, $\bar{x} \pm SD$. * $p > 0.05$, ** $p < 0.05$

Drug	Ovary wt /body wt (mg/kg)	Proges-terone (ng/ml)	$R_0 \times$ fmol/mg ovary	$K_d \times 0.1$ nmol/L
Saline	730 ± 20	13.8 ± 2.9	1.2	5.5
Thioproline	870 ± 16*	11.3 ± 2.1**	1.1	6.1

R_0 : number of binding sites in ovarian LH/hCG receptors. K_d : dissociation constant of ovarian LH/hCG receptors.

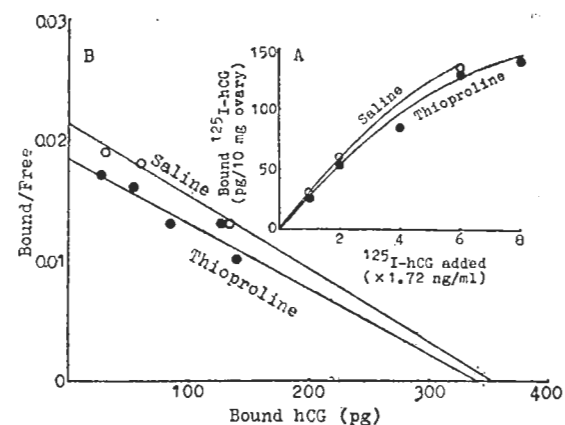


Fig 1. Specific binding of ovarian homogenates to ¹²⁵I-hCG in the immature mice treated with PMSG-hCG + normal saline or thioproline (A) and Scatchard plots of specific binding data (B).

外源性孕酮对硫代脯氨酸抗排卵作用的影响 ♀小鼠 29 只, 分成 4 组, 按前 4-7 组方法给药, 硫代脯氨酸的用量为 40 mg/kg。实验组在用 PMSG 后 36, 48 和 56 h 加 im 孕酮, 各组的剂量分别为 0.05, 0.1, 0.2 mg/鼠; 对照组用等容量橄榄油代替孕酮。结果 im 外源性孕酮 2 mg 使每只小鼠的平均排卵数显著增加 ($p < 0.05$), 排卵的鼠数也恢复(表 3)。

Tab 3. Influence of im progesterone on anti-ovulatory effect of thioproline. $\bar{x} \pm SD$. * $p > 0.05$, ** $p < 0.05$ vs control.

Thioproline +	Mice	Ovulated Ova	Ova/Mouse
Olive oil	5/7	82	12 ± 9
Progesterone			
0.05 mg/mouse	8/8	150	18 ± 12*
0.1 mg/mouse	7/7	117	17 ± 8*
0.2 mg/mouse	7/7	147	22 ± 9**

讨 论

本文用 PMSG 和 PMSG-hCG 诱发未成年小鼠排卵, 发现硫代脯氨酸有明显的抗 PMSG-hCG 诱发的排卵作用。排卵的生理机制尚未完全阐明, 一般认为是多因素的。PMSG-hCG 诱发排卵的可能机制^(5,6)是: 在 PMSG 促进卵巢卵泡发育的基础上, hCG 与卵泡的 LH/hCG 受体结合, 通过环一磷酸腺苷(cAMP)使排卵前卵泡中前列腺素(PGF_{2α})和孕酮的合成急剧增加。在 PGF_{2α} 和孕酮的共同作用下, 溶酶体趋向不稳定, 释放出蛋白分解酶, 促使卵泡破裂而排卵。Kohda 等⁽⁶⁾强调孕酮是 PMSG-hCG 诱发排卵的介质, 特别指出给 hCG 后 6 h 内, 即排卵前的早期是孕酮依赖性的。在本实验中, ip 硫代脯氨酸 30 或 40 mg/kg 显著抑制 PMSG-hCG 诱发排卵后的血浆孕酮水平, 显然可以用因排卵数减少, 黄体生成数减少, 孕酮分泌量也就减少来解释。但是, 硫代脯氨酸使 hCG 后 6 h 内的血浆孕酮含量显著下降和卵巢 LH/hCG 受体的亲和力下降, 表明硫代脯氨酸破坏了介导 hCG 排卵作用所必需的卵巢内的微环

境而使排卵数减少。补充适量的外源性孕酮, 可明显解除硫代脯氨酸的抗排卵作用。实验结果支持孕酮在 PMSG-hCG 诱发排卵的排卵前早期有重要作用的论点。

受体的数目和亲和力是靶细胞识别激素信号和触发作用的基础。硫代脯氨酸使 LH/hCG 受体的亲和力下降, 提示卵泡细胞的膜受体可能是硫代脯氨酸降低孕酮水平而抑制排卵反应的一个作用点。本文对照组结果比文献报道⁽⁷⁾的 31 d 龄正常大鼠卵巢 LH/hCG 受体的数目要低, 亲和力则要高, 这可能是 hCG 使 LH/hCG 受体迅速向下调节⁽⁸⁾和动物种族之间存在的差异。PMSG 诱发排卵的机制是直接促进卵泡发育, 并使垂体释放 LH 增加的结果^(9,10)。本文中硫代脯氨酸对 PMSG 诱发的排卵作用没有明显影响, 原因何在, 有待进一步研究。

支配卵巢的肾上腺素能神经参与孕酮生成和卵泡破裂过程^(11,12); 硫代脯氨酸抑制交感神经而使其神经冲动释放减少⁽²⁾, 因此推测交感神经受抑制也可能是硫代脯氨酸抑制孕酮生成和抗排卵作用的原因之一。

致谢 本院化学教研室陈葆仁副教授赠送硫代脯氨酸

参 考 文 献

- 1 Brugarolas A, Gosalvez M. Treatment of cancer by an inducer of reverse transformation. *Lancet* 1980; 1: 68
- 2 赵惠萍、冯高阔。硫代脯氨酸对实验性心律失常的作用。中国药理学报 1984; 5: 30
- 3 Sairam MR. Inhibition of LH-induced ovulation in the rat by a hormonal antagonist. *Contraception* 1980; 21: 651
- 4 周楚华、葛仁勇、余运初。酪氨酸对大鼠生殖内分泌功能的影响。生理学报 1982; 34: 434
- 5 Briggs M. Lysosomal enzyme activation by steroid hormones in vivo. *J Steroid Biochem* 1973; 4: 341
- 6 Kohda H, Mori T, Nishimura T, Kambegawa A. Co-operation of progesterone and prostaglandins in ovulation induced by human chorionic gonadotrophin in immature rats primed with pregnant mare serum gonadotrophin.

- J Endocrinol* 1983; 96 : 387
- 7 Siebers JW, Peters F, Zenzes MT, Schmidtke J, Engel W. Binding of human chorionic gonadotrophin to rat ovary during development. *Ibid* 1977; 73 : 491
 - 8 Harwood JP, Clayton RN, Chen TT, Knox G, Catt K. Ovarian gonadotropin-releasing hormone receptors. II. Regulation and effects on ovarian development. *Endocrinology* 1980; 107 : 414
 - 9 Callantine MR, Humphrey RR. Effect of progesterone on pituitary and ovarian responsiveness to placental gonadotrophin. *Ibid* 1965; 77 : 921
 - 10 Evans G, Armstrong DT. Reduction in fertilization rate *in vitro* of oocytes from immature rats induced to superovulate. *J Reprod Fertil* 1984; 70 : 131
 - 11 Burden HW. Adrenergic innervation in ovaries of rat and guinea pig. *Am J Anat* 1972; 133 : 455
 - 12 Jordan AW III, Caffrey JL, Niswender GD. Catecholamine-induced stimulation of progesterone and adenosine 3',5'-monophosphate production by dispersed ovine luteal cells. *Endocrinology* 1978; 103 : 385

Acta Pharmacologica Sinica 1987 Sep, 8 (5) : 453-456

Inhibition of ovulation in immature mice by thioproline

WU Zhong-Hua, XU Si-Fan, Fang Lian, XIAO Wei-Wen, SUN Zhou¹, XIN Hua
(Departments of Physiology, Pharmacology¹, Jiangxi Medical College, Nanchang 330006)

ABSTRACT Thioproline 30 or 40 mg/kg ip to the immature mice after sc PMSG 36, 48, 56 h inhibited significantly the ovulation induced by hCG. During the early stage of preovulatory period (5-5.5 h after hCG), the plasma progesterone concentration and the affinity of LH/hCG receptors were reduced, but the number of receptors were not significantly decreased. When thioproline was ip simultaneously with a proper dosage

of progesterone, the inhibition of ovulation would be released markedly. These results suggest that the antioviulatory effect of thioproline in immature mice is its inhibition of the ovarian LH/hCG receptor function and progesterone production during the course of preovulatory period.

KEY WORDS thioproline; ovulation; LH; progesterone