

大脑性分化前外源雄激素对雌鼠下丘脑性别二型神经元及前腹侧室旁核结构的影响

黄满丽, 魏宁, 胡健波, 许毅

(浙江大学医学院附属第一医院, 浙江 杭州 310003)

[摘要] 目的: 观察大脑性分化前雄激素对下丘脑视前区性别二型神经元(SDN-POA)和前腹侧室旁核(AVPV)的影响。方法: 12只新生雌鼠随机分成两组: 雄激素处理组(雄激素组); 在雌鼠出生后第1天腹腔内注射丙酸睾酮素50 μL (TP, 10.0 g/L); 对照组: 用相同方式注射相同体积的无菌油50 μL 。60 d后取鼠脑, 经尼氏染色, LEICA Q Win系统标记SDN-POA和AVPV边界并计算其体积。结果: 雄激素处理的雌鼠组SDN-POA体积明显大于对照雌鼠组[(16.77 $\pm$ 2.68) vs (8.99 $\pm$ 1.42) $\text{mm}^3 \times 10^{-3}$, $P < 0.01$], 而AVPV体积明显小于对照雌鼠组[(9.14 $\pm$ 1.16) vs (14.62 $\pm$ 2.80) $\text{mm}^3 \times 10^{-3}$, $P < 0.01$]。结论: 在雌鼠大脑性分化前给予外源雄激素可导致下丘脑SDN-POA体积增大, 而AVPV体积减小。

[关键词] 雄激素类/药理学; 下丘脑; 下丘脑室旁核; 神经元; 注射, 腹腔内; 脑/病理学; 睾酮/药理学

[中图分类号] Q 427 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-9292(2008)05-0483-04

Effect of exogenous androgen on structures of sexually dimorphism nucleus in preoptic area and anteroventral periventricular nucleus before sexual differentiation in female rats

HUANG Man-li, WEI Ning, HU Jian-bo, XU Yi (The First Affiliated Hospital, College of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou 310003, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effects of androgen on sexually dimorphism nucleus in preoptic area (SDN-POA) and anteroventral periventricular nucleus (AVPV) before sexual differentiation of the brain in female rats. **Methods:** Neonatal female SD rats ($n = 12$) were randomly divided into two groups: androgen group and control group. Twenty-four hours after birth animals were subjected to intraperitoneal injection of 50 μL of testosterone propionate (TP, 10.0 g/L) or aseptic oil as control. The rats were sacrificed 60 days after the injection and the brains were collected for crystal violet staining. LEICA Q Win system was applied in detecting the boundaries of SDN-POA and AVPV, then the volumes of SDN-POA and AVPV were calculated. **Results:** The volumes of SDN-POA in androgen group were significantly larger than those in control group [(16.77 $\pm$ 2.68) vs (8.99 $\pm$ 1.42) $\text{mm}^3 \times 10^{-3}$, $P < 0.01$], while the volumes

收稿日期: 2007-12-29 修回日期: 2008-03-27

基金项目: 浙江省自然科学基金项目(399139)。

作者简介: 黄满丽(1977—), 医学硕士, 主要研究同性恋的神经生物学。

通讯作者: 许毅(1961—), 硕士生导师, 主要研究同性恋的神经生物学; E-mail: xuyi1961@yahoo.com.cn.

of AVPV in androgen group were significantly smaller than those in control group $[(9.14 \pm 1.16) \text{ vs } (14.62 \pm 2.80) \text{ mm}^3 \times 10^{-3}, P < 0.01]$. **Conclusion:** Exogenous androgen rendered before sexual differentiation in female rats results in enlargement of SDN-POA volumes and reduction of AVPV.

[Key words] Androgens/pharmacol; Hypothalamu; Paraventricular hypothalamic nucleus; Neurons; Injections, intraperitoneal; Brain/pathol; Testosterone/pharmacol

[J Zhejiang Univ (Medical Sci), 2008,37(5):483-486.]

下丘脑视前区是大鼠大脑结构中具有明显性别差异的区域^[1]。研究表明该区域对大鼠的雄性性行为有明显的影[1-2]。其中有一组神经元在成年大鼠中有明显的性别差异,故称下丘脑视前区性别两性神经元(SDN-POA),成年雄鼠的SDN-POA 体积数倍于成年雌鼠^[3]。另一个具有两性区别的神经元是下丘脑的前腹侧室旁核(anteroventral periventricular nucleus, AVPV),成年雄鼠的 AVPV 体积小于成年雌鼠^[4]。我们前期的研究发现,雄激素有促雌鼠性行为雄性化和去雌性化的作用,并使其表现为同性性偏爱^[5]。本实验在既往研究的基础上,在雌鼠大脑性分化前给予雄激素,观察其对成年雌鼠下丘脑SDN-POA 与 AVPV 体积的变化,为进一步探讨雌鼠性行为雄性化的神经解剖基础提供参考。

1 材料和方法

1.1 材料 实验动物为新生清洁级 Sprague-Dawley雌鼠 12 只,随机分为两组,雄激素处理组:在雌鼠出生后第 1 天腹腔内注射 10.0 g/L 丙酸睾酮 50 μl (testosterone propionate, TP, 500 μg ,由上海第九制药厂提供),对照组:用相同方式注射相同体积的无菌油 50 μl (aseptic oil,浙江大学附属第一医院药剂科消毒去除杂质的食用油)。实验动物均由浙江省实验动物中心提供。实验动物由母鼠喂养至 21 d 断奶,笼养,每笼 4~6 只,室温 20 C~23 C,湿度 50%~60%,昼夜明暗交替(12 h:12 h),全价颗粒饲料和清洁水充足供应。

1.2 方法 雌鼠饲养到 60 d 后,在 10%水合氯醛(5 ml/kg)腹腔麻醉下,开胸经升主动脉快速灌注灭菌生理盐水,然后,用 4%多聚甲醛(pH 7.2)灌注 40~50 min,快速开颅取脑,并将鼠脑

浸泡于 4%多聚甲醛溶液,2 d 后进行石蜡包埋。取冠状位,每隔 50 μm 连续切片。取得的石蜡切片脱水后,用焦油紫对切片染色(Nissl 染色法)。

1.3 下丘脑SDN-POA 和 AVPV 体积的测定

用Leica DBML 型显微镜观察LEICA Q Win 系统成像,用LEICA Q Win 软件分别标记大鼠右脑SDN-POA 和 AVPV 的边界,边界界定参照第三版大鼠脑立体定位图谱及神经元着色密度(尼氏小体),由 2 名独立的、不被告知所观察大鼠性别及分组的观察者分别对每一切片边界进行界定,由 LEICA Q Win 系统计算其面积,每一张切片的核团面积为 2 位观察者的算术平均数,所得连续各切面面积总和乘以切面间隔厚度得到SDN-POA 和 AVPV 的体积。

1.4 统计方法 运用SPSS 10.0 for Windows 统计软件包,实验数据以均数士标准差表示,两组间比较采取成组 t 检验, $P < 0.05$ 具有统计学意义。

2 结 果

经雄激素处理的雌鼠SDN-POA 体积明显大于对照雌鼠组,而 AVPV 体积明显小于对照雌鼠组(表 1,图 1、图 2)。

表 1 两组雌鼠SDN-POA 和 AVPV 体积比较
Table 1 The SDN-POA and AVPV volumes of androgen group compare to control group ($n=6, \text{mm}^3 \times 10^{-3}$)

组 别	SDN-POA	AVPV
对照组	8.99 $\pm$ 1.42	14.62 $\pm$ 2.80
雄激素组	16.77 $\pm$ 2.68	9.14 $\pm$ 1.16
	$t=-6.284$	$t=-4.422$
	$P=0.000$	$P=0.003$

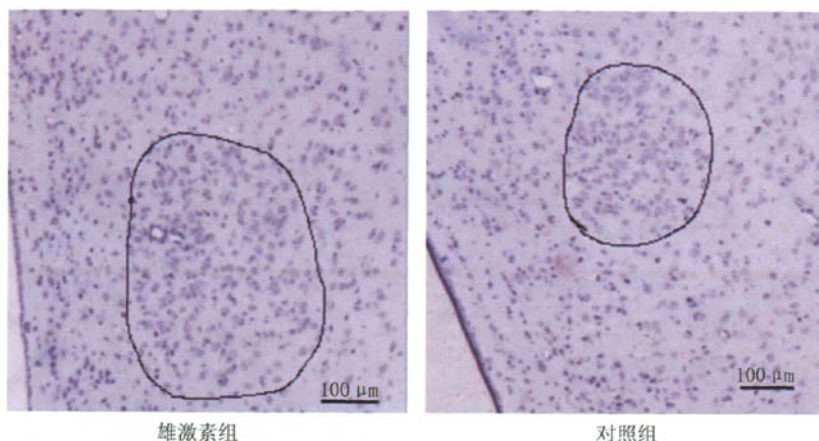


图1 雄激素组和对照组雌鼠SDN-POA核团

Fig. 1 The SDN-POA volumes in androgen group and in control group

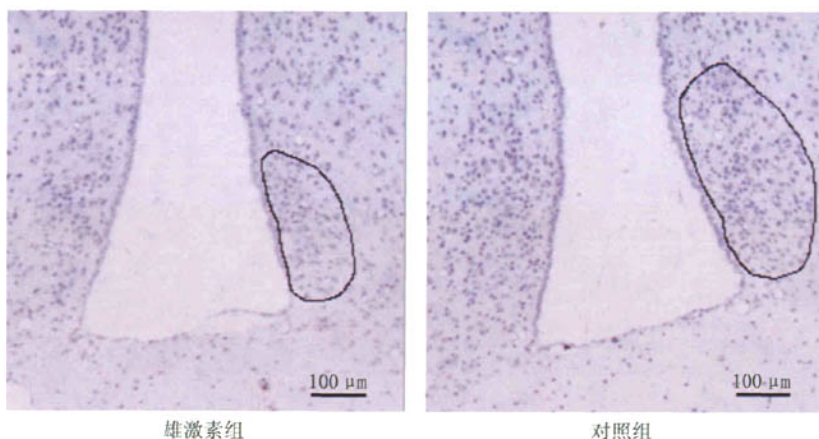


图2 雄激素组和对照组雌鼠AVPV核团

Fig. 2 The AVPV volumes in androgen group and control group

3 讨论

性分化是一个渐进发展的过程,期间受到许多因素的影响,其中以基因和性激素的影响最为重要。研究发现,大脑性分化前的性激素水平,对雌鼠成年后性行为具有重要作用,雄激素在其中可能起着关键作用^[6],而这种作用主要发生在大脑性分化关键期。对大鼠来说,大约在怀孕后期至出生初期是大脑性分化关键期^[7]。本实验结果显示,雌鼠在大脑性分化前期给予雄激素,其SDN-POA体积较对照组增大,而

AVPV的体积则较对照组减小。

国外研究已经发现,雄激素具有促大脑雄性化作用,而且影响成年期的性定向。其中大脑雄性化包括两方面,一是压制雌性行为及雌性神经内分泌功能(去雌性化),二是提高展示雄性行为能力(雄性化)^[8]。

正常成年雄鼠的SDN-POA体积3~8倍于成年雌鼠^[3]。该核团形成于分娩晚期,在出生后早期进一步发展。在出生前18 d至出生后5 d,该核团最易受性激素的影响^[9]。在本实验中,出生后第1天给予TP干预的雌鼠,其SDN-POA

体积近2倍于对照组,提示其体积介于正常雌鼠与雄鼠之间,有向雄性化发展的趋势。

AVPV受到出生前性激素的影响,至青春开始明显发育^[10],成年雄鼠的AVPV体积小于成年雌鼠^[11]。本实验给予TP干预的雌鼠AVPV明显小于对照组,有雄性化的趋势。

我们前期的研究发现,高剂量的雄激素(TP 50 μ l, 10.0 g/L)有促雌鼠性行为雄性化和去雌性化的作用,并使其表现为同性性偏爱^[5]。在本实验中,给予同样剂量的雄激素干预的雌鼠其SDN-POA体积增大、AVPV减小,下丘脑神经结构有雄性化的趋势。这提示在雌鼠中,SDN-POA和AVPV的体积变化与性行为雄性化存在着一定的关系。但是由于我们的实验受动物数量及实验条件的限制没有进行雄性行为与SDN-POA、AVPV核团体积的相关性分析,有待今后做进一步的研究。

到目前为止,雄激素如何影响SDN-POA和AVPV的分化的具体机制尚未完全阐明,可能与雄激素影响大脑发育关键期的钙结合蛋白,进一步影响细胞内的钙浓度,从而调节神经元的存活和发育有关^[12]。有报道称围产期的雄激素干预可抑制雌鼠SDN-POA内神经元凋亡过程^[3],这也部分印证了上述假说。

综上所述,本研究结果提示大脑性分化前期给雌鼠用雄激素,会导致SDN-POA体积增大,而AVPV体积减小,这种变化可能与雌鼠成年后的性行为发生改变有关。

References:

- [1] BLOCH G J, MILLS R. Prepubertal testosterone treatment of neonatally gonadectomized male rats; defeminization or masculinization of behavioral and endocrine function in adulthood [J]. *Neurosci Biobehav Rev*, 1995, 19: 187-200.
- [2] MATUSZCZYK J V, APPA R S, LARSSON K. Postnatal testicular secretions partially restore the disturbances in reproductive activity caused by prenatal hormonal manipulation [J]. *Physiology Behavior*, 1997, 62: 137-143.
- [3] YANG S L, CHEN Y Y, HSIEH Y L, et al. Perinatal androgenization prevents age-related neuron loss in the sexually dimorphic nucleus of the preoptic area in female rats [J]. *Dev Neurosci*, 2004, 26(1): 54-60.
- [4] LAURYN R Z, ERICA M B, ANN S C. Paced mating behavior in the naturally cycling and the hormone-treated female rat [J]. *Physiology Behav*, 2000, 70: 205-209.
- [5] XU Yi, HUANG Man-li, WEI Ning, et al (许毅, 黄满丽, 魏宁, 等). Effect of exogenous androgen before sexual differentiation on sexual orientation in adult female rats [J]. *Chinese Journal of Psychiatry (中华精神病学杂志)*, 2005, 38(1): 34-37. (in Chinese)
- [6] LYND A U P. Female gonadal hormones, serotonin, and sexual receptivity [J]. *Brain Research Reviews*, 2000, 3: 242-257.
- [7] LUND T D, SALYER D L, FLEMING D E, et al. Pre- or postnatal testosterone and flutamide effects on sexually dimorphic nuclei of the rat hypothalamus [J]. *Brain Res Dev Brain Res*, 2000, 120(2): 261-266.
- [8] MACLUSKY N J, NAFTOLIN F. Sexual differentiation of the central nervous system [J]. *Science*, 1981, 211: 1294-1303.
- [9] RHEES R W, SHRYNE J E, GORSKI R A. Onset of the hormonesensitive perinatal period for sexual differentiation of the sexually dimorphic nucleus of the preoptic area in female rats [J]. *J Neurobiology*, 1990, 21: 781-786.
- [10] DAVIS C D, SHRYNE J E, GORSKI R A. Structural sexual dimorphisms in the anteroventral periventricular nucleus of the rat hypothalamus are sensitive to gonadal steroids perinatally, but develop peripubertally [J]. *Neuroendocrinology*, 1996, 63: 142-148.
- [11] AHMED I I, NICHOLS S A, SHRYNE J E, et al. Effects of age and sex on the volume of the anteroventral periventricular nucleus of the rat brain [J]. *Endocr Soc Abstr*, 1990, 72: 385.
- [12] LRPART E D, WATSON M A, MATHIAS L, et al. Co-localization of aromatase cytochrome P450 and calbindin-D28k and androgen regulation of calbindin-D28k during perinatal development Soc [J]. *Neurosci Abstr*, 1997, 23: 342.