

# 大鼠孕/哺乳期暴露于雷公藤甲素对雄性子鼠生殖系统的影响<sup>△</sup>

张晓敏<sup>1\*</sup>, 荆嘉慧<sup>2</sup>, 康玉军<sup>3</sup>(1. 兰州大学第二医院老年病科, 兰州 730030; 2. 兰州大学第二临床医学院, 兰州 730030; 3. 甘肃农业大学动物科学技术学院, 兰州 730070)

中图分类号 R965;R285 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2025)05-0558-05  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2025.05.09



**摘要** 目的 探讨雌性大鼠孕期及哺乳期暴露于雷公藤甲素(TP)对雄性子鼠生殖系统发育及功能的影响,为孕期和哺乳期的安全用药提供参考。**方法** 将孕鼠随机分为对照组(12只,生理盐水)和T1~T4组[分别有12、13、14、17只,给药剂量分别为200、400、600、800 μg/(kg·d)]。每日灌胃相应药物/生理盐水1次,直至子鼠出生并断乳,灌胃体积均为2 mL/只。哺乳喂养60 d后,称定雄性子鼠生殖系统脏器质量,计算脏器系数,观察其睾丸和附睾以及精子形态,测定其附睾组织中精子活力、精子数量以及血清中促性腺激素释放激素(GnRH)、卵泡刺激素(FSH)、黄体生成素(LH)、睾酮(T)水平和精子中糖原合酶激酶3α(GSK3α)、磷酸化GSK3α(p-GSK3α)、蛋白磷酸酶1γ2(PP1γ2)蛋白的表达情况。**结果** 与对照组比较,T1~T4组子鼠的睾丸质量、附睾质量和血清中GnRH、T水平以及精子中PP1γ2蛋白的相对表达量,T2~T4组子鼠的精囊腺质量、精囊腺系数、精子总数、精子浓度、精子活动力以及精子中GSKα、p-GSK3α蛋白的相对表达量,T3、T4组子鼠的附睾系数,T4组子鼠的睾丸系数、精子平均路径速度、精子曲线速度均显著降低或减小( $P<0.05$ );T1~T4组子鼠的畸形精子数、精子畸形率和血清中FSH、LH水平均显著增多或升高( $P<0.05$ );T1~T4组子鼠的睾丸生精小管上皮细胞数量均减少,附睾组织内可见上皮细胞变性坏死、间质内伴少量炎症细胞浸润等现象。**结论** 雌性大鼠孕期及哺乳期暴露于TP可导致雄性子鼠生殖器官发育异常、精子生成减少、精子活性降低、雄激素合成减少,从而对子鼠生殖系统发育产生负面影响;其机制可能与下调GSK3α、p-GSK3α和PP1γ2蛋白表达有关。

**关键词** 雷公藤甲素;孕期;哺乳期;雄性子鼠;生殖毒性

## Effects of triptolide exposure during pregnancy/lactation on the reproductive system of male offspring in rats

ZHANG Xiaomin<sup>1</sup>, JING Jiahui<sup>2</sup>, KANG Yujun<sup>3</sup> (1. Dept. of Geriatrics, the Second Hospital of Lanzhou University, Lanzhou 730030, China; 2. Second Clinical College of Lanzhou University, Lanzhou 730030, China; 3. College of Animal Science and Technology, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China)

**ABSTRACT** **OBJECTIVE** To investigate the effects of triptolide (TP) exposure during pregnancy and lactation on the reproductive system development and function in male offspring of rats, providing a reference for medication safety during pregnancy and lactation. **METHODS** Pregnant rats were randomly divided into control group (12 rats, normal saline) and T1-T4 groups [12, 13, 14, 17 rats that received TP at 200, 400, 600, and 800 μg/(kg·d) respectively]. They were given relevant medicine/normal saline intragastrically, once a day, until the offspring were born and naturally weaned, the intragastric administration volume of each rat was consistently 2 mL. After 60 days of feeding, reproductive organ weights and coefficients were measured in male offspring, testicular and epididymal histology and sperm morphology were observed. Sperm motility, sperm count, and serum levels of gonadotropin-releasing hormone (GnRH), follicle stimulating hormone (FSH), luteinizing hormone (LH), and testosterone (T) in the epididymides were analyzed. Protein expressions of glycogen synthase kinase 3α (GSK3α), phosphorylated GSK3α (p-GSK3α), and phosphatase 1γ2 (PP1γ2) in sperm were also determined. **RESULTS** Compared with the control group, the testicular and epididymal weights, serum levels of GnRH and T, the relative protein expression of PP1γ2 were significantly decreased in T1-T4 groups. Additionally, in the T2 to T4 groups, there were significant reductions in the weight and coefficient of the seminal vesicle, total number of sperm, sperm concentration, sperm motility as well as relative protein expressions of GSKα, p-GSK3α in the offspring rats. Furthermore, the epididymal coefficient in the T3 and T4 groups, the testicular coefficient, mean sperm track velocity and sperm curvature velocity in the T4 group were significantly decreased ( $P<0.05$ ); the number of abnormal sperm, rate of sperm abnormality, and levels of FSH and LH in the offspring rats of the T1 to T4 groups were all significantly increased ( $P<0.05$ ); in the offspring rats of the T1 to T4 groups, there was a decrease in the number of epithelial cells in the seminiferous tubules of the testes. Within the epididymal tissue, degenerative and necrotic changes in the epithelial cells were visible, accompanied by mild infiltration of inflammatory cells in the stroma. **CONCLUSIONS** TP exposure

during pregnancy and lactation disrupts reproductive organ development, impairs spermatogenesis and sperm motility, as well as suppresses androgen synthesis in male offspring, thereby having a negative impact on the development of the reproductive system. These effects may be mechanistically

<sup>△</sup> 基金项目 甘肃省自然科学基金(青年科技基金)项目(No.22JR-5RA1015);兰州大学学生创新创业行动计划立项(No.20240050002)

\* 第一作者 副主任医师,硕士。研究方向:内分泌与代谢性疾病的临床与基础研究。E-mail:ery\_zhangxmery@lzu.edu.cn

linked to regulation of GSK3 $\alpha$ , p-GSK3 $\alpha$  and PP1 $\gamma$ 2 protein expressions.

**KEYWORDS** triptolide; pregnancy; lactation; male offspring rat; reproductive toxicity

现代医学中,孕期和哺乳期的药物安全性一直是临床关注的重点。随着药物种类的增多和使用范围的扩展,药物暴露对生殖系统及子代健康的潜在影响引起了广泛关注。尽管许多药物已完成针对孕期和哺乳期的毒理学评估,明确其对胎儿及新生儿的毒性作用,但仍有大量常用药物缺乏充分的毒理学研究。已有证据表明,妊娠期使用某些药物可能增加子代的出生缺陷及其他健康风险<sup>[1-2]</sup>。因此,评估孕期和哺乳期用药对子代生长发育的影响具有重要临床意义。

雷公藤甲素(triptolide, TP)是一种从雷公藤中提取的环氧二萜内酯化合物,具有抗白血病、调节免疫、抗炎、抗肿瘤等多重生物活性<sup>[3]</sup>,常被当作免疫抑制剂用于类风湿性关节炎、系统性红斑狼疮、肾病综合征、强直性脊柱炎等自身免疫性疾病的治疗<sup>[4]</sup>。此外,大量研究证明,TP还对多种恶性肿瘤(如白血病、乳腺癌、肺癌、胰腺癌等)具有良好的抗肿瘤活性<sup>[5-7]</sup>。但相关研究指出,TP对心脏、肝脏、肾脏等脏器以及生殖系统均有一定的毒性作用,尤其对雄性生殖系统影响较大<sup>[4,8-9]</sup>。目前关于TP在母体孕期及哺乳期暴露对雄性子代生殖系统的发育是否有影响仍不明确,相关研究较为缺乏。因此,本研究旨在通过动物实验模型,观察雌性大鼠孕期及哺乳期暴露于TP对雄性子鼠生殖系统的影响,为这一特殊时期的安全用药提供科学依据。

## 1 材料

### 1.1 主要仪器

本研究所用的主要仪器包括SpectraMAX Plus384型酶标仪[美谷分子仪器(上海)有限公司]、HH-6型恒温水浴锅(上海力辰邦西仪器科技有限公司)、UV752N型分光光度计(上海佑科仪器仪表有限公司)、BA210Digital型数码三目摄像显微镜(麦克奥迪实业集团有限公司)、JT-12S型自动组织脱水机(武汉俊杰电子有限公司)、H2050R型台式高速冷冻离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司)、5200 Multi型荧光图像分析系统(上海天能科技有限公司)等。

### 1.2 主要药品与试剂

TP原料药(批号C14852118,纯度98%)购自上海麦克林生化科技股份有限公司;血清促性腺激素释放激素(gonadotropin-releasing hormone, GnRH)、卵泡刺激素(follicle stimulating hormone, FSH)、黄体生成素(luteinizing hormone, LH)、睾酮(testosterone, T)酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒(批号分别为ZC-36486、ZC036477、ZC-36719、ZC-36635)均购自上海苗彩生物科技有限公司;BCA蛋白浓度测定试剂盒(批号P0009)购自上海碧云天生物技术股份有限公司;鼠源 $\beta$ -微管蛋白( $\beta$ -tubulin)单克隆抗体、辣根过氧化物酶(HRP)标记的山羊抗兔免疫球蛋白G(IgG)二抗(批号分别为

T0023、S0001)均购自江苏亲科生物研究中心有限公司;兔源糖原合酶激酶3 $\alpha$ (glycogen synthase kinase 3 $\alpha$ , GSK3 $\alpha$ )单克隆抗体、兔源磷酸化GSK3 $\alpha$ (p-GSK3 $\alpha$ )单克隆抗体、HRP标记的山羊抗小鼠IgG二抗(批号分别为A19060、AP0582、AS003)均购自武汉爱博泰克生物科技有限公司;兔源蛋白磷酸酶1 $\gamma$ 2(protein phosphatase 1 $\gamma$ 2, PP1 $\gamma$ 2)单克隆抗体(批号ab134947)购自英国Abcam公司;巴氏染色试剂盒(批号G1614)购自北京索莱宝科技有限公司。

### 1.3 动物

本研究所用动物为SPF级SD大鼠,6月龄,体重300~450 g,共100只(雄性25只,雌性75只),购自成都达硕实验动物有限公司,动物使用许可证号为SYXK(川)2021-246。购入后,所有大鼠均饲养于屏障环境中,饲养环境温度为(23 $\pm$ 3) $^{\circ}$ C,相对湿度为(50 $\pm$ 10)%,12 h日/12 h夜光照循环,通风良好。实验期间大鼠均采用普通饲料喂养,自由摄食、饮水。本动物实验已通过兰州大学第二医院实验动物福利伦理委员会审批(受理编号为D2022-261)。

## 2 方法

### 2.1 造模、分组与给药

将雌、雄大鼠分笼适应性喂养1周,然后按照雌雄3:1的比例在每日22:00合笼,次日若肉眼观察到阴栓或雌性大鼠阴道涂片发现精子则视为受孕<sup>[10]</sup>,记为孕期的第0天。受孕10 d左右观察大鼠腹部是否有明显隆起,若没有则视为假孕而剔除。经检查,共有68只雌鼠成功受孕。采用随机数字表法将孕鼠分为对照组(12只,灌胃生理盐水)和T1~T4组[分别有12、13、14、17只,给药剂量分别为200、400、600、800  $\mu$ g/(kg $\cdot$ d)]<sup>[4,11]</sup>。各组大鼠每日灌胃给药/生理盐水1次,直至子鼠出生并断乳,平均给药时间约为41 d,灌胃体积均为2 mL/只。实验期间,对照组孕鼠无死亡和流产;TP各组孕鼠共死亡11只、流产13只,最终32只完成妊娠。每组随机选取3只孕鼠进行哺乳。子鼠出生后通过测量其肛门生殖器距离(anogenital distance, AGD)判断雌雄——雄性AGD明显更长,雌性更短<sup>[12]</sup>。将雌、雄子鼠分笼饲养。每组选取3只雄性子鼠接受母乳喂养,母乳喂养期间母鼠仍然用TP干预,断乳后以普通饲料喂养,用于后续实验。自子鼠出生起共喂养60 d,并每日称定其体重。

### 2.2 样本取材及处理

喂养60 d后,取雄性子鼠进行腹主动脉采血,将血样静置1 h,然后以3 000 r/min离心10 min,收集血清并置于-80 $^{\circ}$ C冰箱中保存备用。采血后用50 mg/kg戊巴比妥钠麻醉子鼠后处死,取睾丸、附睾、精囊腺并称定质量,然后将睾丸和附睾置于4%多聚甲醛中固定24 h。

### 2.3 子鼠睾丸和附睾脏器系数计算

根据子鼠体重(处死前称定)和生殖系统各脏器质量计算脏器系数:脏器系数=脏器质量(g)/体重(g)×100%。

### 2.4 子鼠睾丸和附睾形态学观察

采用苏木精-伊红(HE)染色法观察。将4%多聚甲醛固定的睾丸和附睾依次进行梯度乙醇脱水、二甲苯透明、石蜡包埋及切片(厚度3 μm)处理,随后进行HE染色和中性树脂封片,在光学显微镜下观察各组雄性子鼠睾丸和附睾的形态与结构。

### 2.5 子鼠附睾组织中精子形态观察

采用巴氏染色法观察。取雄性子鼠的左侧附睾,剪断球状部位,将断面涂于滴有生理盐水的洁净玻片上,拉薄片,置于室温下空气干燥后按照试剂盒说明书方法操作,在巴氏染色、封片后镜检。每个切片随机选取3个不同视野进行观察,每只子鼠共观察200个精子,计算各组子鼠的精子畸形率。精子畸形率=畸形精子数/精子总数×100%。

### 2.6 子鼠附睾组织中精子活力测定

取雄性子鼠的右侧附睾,用针刺破,置于37℃生理盐水中浸泡10 min,使精游出。将精子悬浮液在磷酸盐缓冲液(PBS)中洗涤2次,然后在4℃下以1 000 r/min离心10 min,收集精子沉淀并重悬于含有1%苯甲基磺酰氟的80 mL RIPA缓冲液中,超声处理(超声功率200 W,间断超声3次,每次10 s,间隔10 s)。随后,将精子悬浮液在4℃下以12 000 r/min离心10 min,弃上清。取精子沉淀,加入RIPA裂解液[精子沉淀与裂解液配比为1:10(m/m)],于碎冰上裂解10 min;收集裂解液,在4℃下以12 000 r/min离心10 min,收集上清液。取20 μL上清液涂于载玻片上,盖上盖玻片,用计算机辅助精子分析系统检测精子活力。精子活力参数包括精子浓度、精子前向运动率(progressive motility rate, PR)、精子非前向运动率(non-progressive motility rate, NP)、精子活动力(用PR+NP表示)、精子平均路径速度(average path velocity, VAP)、精子直线速度(straight-line velocity, VSL)、精子曲线速度(curvilinear velocity, VCL)。剩余上清液置于-80℃冰箱中保存,用于Western blot实验。

### 2.7 子鼠附睾组织中精子数量测定

取“2.6”项下精子悬浮液0.1 mL,加PBS稀释10倍后用细胞计数板计数悬浮液中的精子数。精子总数以单侧附睾组织中悬浮液精子数×10(稀释倍数)表示<sup>[13]</sup>。

### 2.8 子鼠血清中性激素水平测定

采用ELISA法检测。将子鼠血清从-80℃冰箱中取出,室温下解冻,用酶标仪在450 nm波长下测定血清中GnRH、LH、FSH、T水平,具体操作按试剂盒说明书进行。

### 2.9 子鼠精子中GSK3α、p-GSK3α、PP1γ2蛋白表达测定

采用Western blot法测定。取“2.6”项下-80℃保存的精子液适量,采用BCA法检测上清液中总蛋

白浓度,并通过高温(95℃、15 min)裂解变性。取变性蛋白进行电泳(先在80 V电压下电泳约25 min,然后在120 V电压下电泳约1.5 h)分离、转膜(恒流200 mA下转膜1~2 h),然后用5%脱脂牛奶常温下封闭2 h;加入β-tubulin、GSK3α、p-GSK3α、PP1γ2一抗(稀释比例分别为1:50 000、1:1 000、1:2 000、1:2 000),4℃摇床孵育过夜;洗膜3次,加入相应二抗(稀释比例1:5 000),室温下孵育2 h;洗膜后采用ECL法染色,然后将膜放入凝胶图像分析仪中曝光成像。采用Image J图像分析软件进行定量分析,以目的蛋白与内参蛋白(β-tubulin)条带的灰度值比值表示目的蛋白的相对表达量。

### 2.10 统计学方法

使用GraphPad Prism 9.5软件作图,采用SPSS 26.0软件对数据进行统计学分析。实验数据均符合正态分布,均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。多组间比较采用单因素方差分析,方差齐时组间两两比较采用LSD检验,方差不齐时组间两两比较采用Dunnnett检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

## 3 结果

### 3.1 TP对雄性子鼠生殖器官质量及脏器系数的影响

与对照组比较,T1~T4组子鼠的睾丸质量、附睾质量,T2~T4组子鼠的精囊腺质量、精囊腺系数,T3、T4组子鼠的附睾系数及T4组子鼠的睾丸系数均显著降低或减小( $P<0.05$ )。结果见表1。

表1 各组雄性子鼠生殖器官质量及脏器系数比较( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

分组	睾丸质量/g	睾丸系数/%	附睾质量/g	附睾系数/%	精囊腺质量/g	精囊腺系数/%
对照组	3.38±0.15	0.94±0.05	1.00±0.06	0.28±0.01	0.95±0.12	0.26±0.03
T1组	3.02±0.13 <sup>a</sup>	0.88±0.02	0.97±0.02 <sup>a</sup>	0.28±0.00	0.84±0.05	0.24±0.01
T2组	2.95±0.22 <sup>a</sup>	0.88±0.07	0.89±0.02 <sup>a</sup>	0.26±0.00	0.70±0.05 <sup>a</sup>	0.21±0.17 <sup>a</sup>
T3组	2.80±0.04 <sup>a</sup>	0.91±0.01	0.79±0.00 <sup>a</sup>	0.26±0.00 <sup>a</sup>	0.65±0.02 <sup>a</sup>	0.21±0.00 <sup>a</sup>
T4组	2.35±0.09 <sup>a</sup>	0.83±0.03 <sup>a</sup>	0.68±0.03 <sup>a</sup>	0.24±0.01 <sup>a</sup>	0.52±0.06 <sup>a</sup>	0.18±0.02 <sup>a</sup>

注:T2、T3组附睾系数分别按平均值0.264 8%、0.256 5%进行统计学分析,表中展示的是取2位小数后的约值,其与对照组附睾系数比较的P值分别为0.082、0.010。a:与对照组比较, $P<0.05$ 。

### 3.2 TP对雄性子鼠睾丸、附睾组织形态学的影响

与对照组比较,T1~T4组子鼠的睾丸生精小管上皮细胞数量均减少,且随着TP暴露剂量的增大上述病理变化越明显;T1~T4组子鼠的附睾组织内可见上皮细胞变性坏死、细胞质溶解、精子不同程度坏死、精子数量减少、间质内伴少量炎症细胞浸润,且随着TP暴露剂量的增大上述病理改变有加重趋势。结果见图1、图2。

### 3.3 TP对雄性子鼠精子形态的影响

T1~T4组子鼠均出现精子形态异常的情况,主要表现为折叠、无钩、香蕉型、无定型、胖头、双头和双尾。对照组和T1~T4组子鼠的畸形精子数分别为3、21、31、44、60个,精子畸形率分别为(0.50±0.00)%、(3.50±1.32)%、(5.17±0.29)%、(7.33±0.76)%、(10.00±2.00)%;与对照组比较,T1~T4组子鼠畸形精子数和精子畸形率均显著升高( $P<0.05$ ),且具有一定的剂量依赖性趋势。结果见图3。

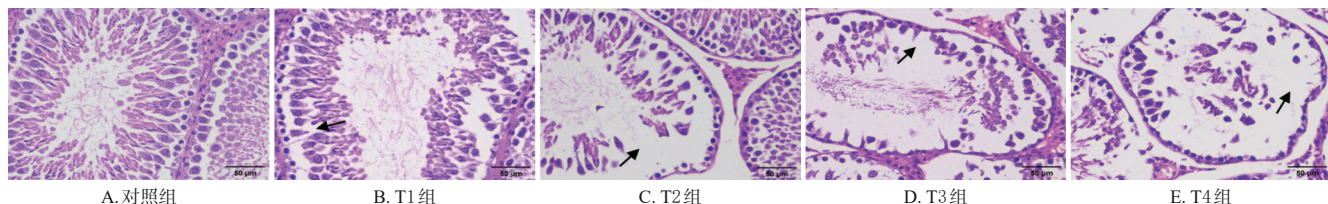


图1 各组雄性子鼠睾丸组织形态学观察的显微图(HE染色,标尺=50 μm)

→:生精小管上皮细胞数量减少。

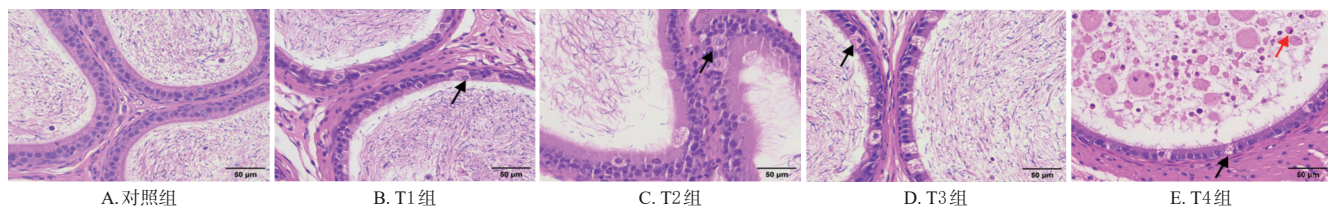


图2 各组雄性子鼠附睾组织形态学观察的显微图(HE染色,标尺=50 μm)

→:上皮细胞变性坏死;↗:精子变性坏死。

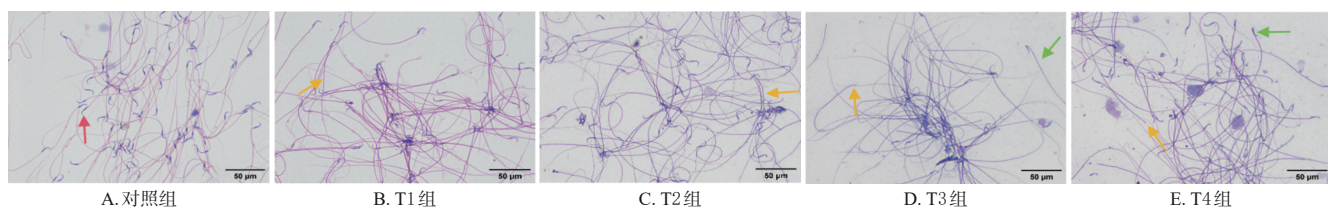


图3 各组雄性子鼠精子形态观察的显微图(巴氏染色,标尺=50 μm)

↗:正常精子;↘:无钩畸形精子;→:折叠畸形精子。

### 3.4 TP对雄性子鼠精子数量和活力的影响

与对照组比较,T2~T4组子鼠的精子总数、精子浓度、精子活动力以及T4组子鼠的VAP、VCL均显著减少或降低( $P < 0.05$ )。结果见表2。

表2 各组雄性子鼠精子数量和活力比较( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

分组	精子总数/ ( $\times 10^6$ 个/附睾)	精子浓度/ ( $\times 10^6$ 个/mL)	精子活动力/%	VAP/( $\mu\text{m/s}$ )	VSL/( $\mu\text{m/s}$ )	VCL/( $\mu\text{m/s}$ )
对照组	293.98 ± 63.57	146.99 ± 31.78	37.31 ± 3.77	5.88 ± 1.19	4.80 ± 1.16	7.12 ± 1.33
T1组	257.28 ± 105.54	128.64 ± 52.77	32.16 ± 4.62	5.00 ± 1.73	3.96 ± 1.56	6.48 ± 2.10
T2组	177.79 ± 67.44 <sup>a</sup>	88.90 ± 33.72 <sup>a</sup>	27.13 ± 10.07 <sup>a</sup>	4.57 ± 1.79	3.61 ± 1.65	5.71 ± 2.05
T3组	145.31 ± 47.52 <sup>a</sup>	70.65 ± 23.76 <sup>a</sup>	28.70 ± 3.35 <sup>a</sup>	4.71 ± 0.75	4.08 ± 0.71	5.48 ± 0.89
T4组	122.09 ± 30.38 <sup>a</sup>	61.04 ± 15.19 <sup>a</sup>	20.24 ± 4.76 <sup>a</sup>	3.88 ± 1.05 <sup>a</sup>	3.41 ± 0.98	4.44 ± 1.03 <sup>a</sup>

a:与对照组比较, $P < 0.05$ 。

### 3.5 TP对雄性子鼠性激素水平的影响

与对照组比较,T1~T4组子鼠血清中GnRH、T水平均显著降低( $P < 0.05$ ),LH、FSH水平均显著升高( $P < 0.05$ ),且具有一定的剂量依赖性趋势。结果见表3。

表3 各组雄性子鼠血清中性激素水平比较( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

分组	GnRH/(mIU/mL)	LH/(mIU/mL)	FSH/(IU/L)	T/(pg/mL)
对照组	21.273 ± 1.600	2.360 ± 0.329	1.392 ± 0.118	42.676 ± 2.673
T1组	17.927 ± 1.511 <sup>a</sup>	3.430 ± 0.594 <sup>a</sup>	1.678 ± 0.124 <sup>a</sup>	37.775 ± 2.088 <sup>a</sup>
T2组	15.065 ± 1.918 <sup>a</sup>	4.688 ± 0.535 <sup>a</sup>	1.958 ± 0.127 <sup>a</sup>	30.333 ± 2.464 <sup>a</sup>
T3组	12.192 ± 1.912 <sup>a</sup>	5.981 ± 0.576 <sup>a</sup>	2.213 ± 0.083 <sup>a</sup>	25.681 ± 2.486 <sup>a</sup>
T4组	9.179 ± 1.958 <sup>a</sup>	7.392 ± 0.665 <sup>a</sup>	2.475 ± 0.198 <sup>a</sup>	20.941 ± 2.532 <sup>a</sup>

a:与对照组比较, $P < 0.05$ 。

### 3.6 TP对雄性子鼠精子中GSKα、p-GSK3α、PP1γ2蛋白表达的影响

与对照组比较,T2~T4组子鼠精子中GSKα、p-

GSK3α蛋白的相对表达量以及T1~T4组子鼠精子中PP1γ2蛋白的相对表达量均显著降低( $P < 0.05$ )。结果见图4、表4。

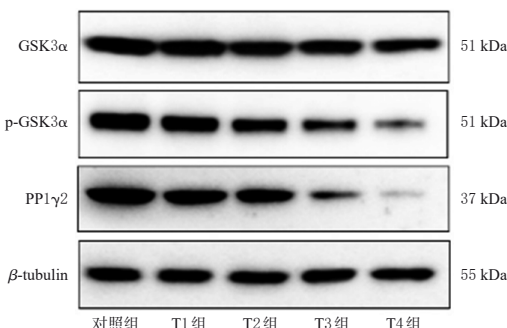


图4 各组雄性子鼠精子中GSK3α、p-GSK3α、PP1γ2蛋白表达的电泳图

表4 各组雄性子鼠精子中GSK3α、p-GSK3α、PP1γ2蛋白的相对表达量比较( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

分组	GSK3α/β-tubulin	p-GSK3α/β-tubulin	PP1γ2/β-tubulin
对照组	1.003 6 ± 0.135 6	0.995 7 ± 0.145 1	0.998 5 ± 0.051 8
T1组	0.973 1 ± 0.099 6	0.875 3 ± 0.116 6	0.826 7 ± 0.078 5 <sup>a</sup>
T2组	0.771 9 ± 0.118 4 <sup>a</sup>	0.628 9 ± 0.040 4 <sup>a</sup>	0.547 1 ± 0.061 8 <sup>a</sup>
T3组	0.647 7 ± 0.047 0 <sup>a</sup>	0.377 8 ± 0.068 8 <sup>a</sup>	0.260 4 ± 0.114 6 <sup>a</sup>
T4组	0.519 3 ± 0.041 6 <sup>a</sup>	0.110 5 ± 0.075 4 <sup>a</sup>	0.024 9 ± 0.012 2 <sup>a</sup>

a:与对照组比较, $P < 0.05$ 。

## 4 讨论

本研究通过动物实验模型探讨了雌性大鼠孕期及哺乳期暴露于TP对雄性子鼠生殖健康的影响。结果显示,TP暴露后会导致雄性子鼠生殖器官质量减轻、脏器

系数降低、睾丸和附睾组织形态学异常,提示TP可能对雄性子鼠的生殖细胞产生损伤;此外,TP暴露还显著影响了雄性子鼠的精子质量,包括导致精子形态异常、畸形率升高、活力下降。根据相关文献可知,这可能与TP破坏了睾丸间质细胞活性并诱导其发生了凋亡等有关<sup>[14-15]</sup>。本研究结果还显示,雌性大鼠孕期200 μg/(kg·d)的TP暴露量对雄性子鼠生殖器官形态学的影响较轻,而600、800 μg/(kg·d)的TP暴露量的影响较大。

在雄性子鼠生殖系统发育过程中,下丘脑-垂体-性腺轴(hypothalamic-pituitary-gonadal axis, HPG)发挥了关键作用。下丘脑通过分泌GnRH刺激垂体释放LH和FSH,进而作用于性腺,调节睾酮分泌和精子生成。本研究发现,雌性大鼠孕期及哺乳期暴露于TP可引起雄性子鼠血清中T水平降低,LH、FSH水平升高,而LH、FSH水平升高又可抑制下丘脑分泌GnRH,且这一效应具有一定的剂量依赖性趋势。这提示TP可能通过干扰HPG功能,影响性激素的合成和分泌。此外,TP对精子功能相关蛋白也产生了重要影响。GSK3α与p-GSK3α在精子成熟及活动中起着至关重要的作用<sup>[16]</sup>;PP1γ2则广泛存在于哺乳动物睾丸和精子中,是精子生成和雄性生育能力维持不可或缺的物质<sup>[17]</sup>。本研究发现,雌性大鼠孕期及哺乳期暴露于TP可引起雄性子鼠精子中GSK3α、p-GSK3α和PP1γ2蛋白表达下调。这表明TP可能通过抑制精子功能相关蛋白的表达,从而导致精子活力下降和生殖功能受损。

综上所述,雌性大鼠孕期及哺乳期暴露于TP可导致雄性子鼠生殖器官发育异常、精子生成减少、精子活性降低、雄激素合成减少,从而对子鼠生殖系统发育产生负面影响;其机制可能与下调GSK3α、p-GSK3α和PP1γ2蛋白表达有关。但本研究仅基于动物模型展开,未测定孕鼠乳汁、胎盘中TP含量以及雄性子鼠体内的TP血药浓度,且样本量相对较小,后续还需开展更多实验进一步证实本研究结论。

## 参考文献

[1] SARECKA-HUJAR B, SZULC-MUSIOŁ B. Herbal medicines-are they effective and safe during pregnancy[J]. *Pharmaceutics*, 2022, 14(1):171.

[2] BENEVENT J, ARAUJO M, HURAUULT-DELARUE C, et al. Pharmacoeconomics in pregnancy[J]. *Therapie*, 2019, 74(2):289-300.

[3] GAO J, ZHANG Y F, LIU X H, et al. Triptolide: pharmacological spectrum, biosynthesis, chemical synthesis and derivatives[J]. *Theranostics*, 2021, 11(15):7199-7221.

[4] NI B, JIANG Z Z, HUANG X, et al. Male reproductive toxicity and toxicokinetics of triptolide in rats[J]. *Arzneimittelforschung*, 2008, 58(12):673-680.

[5] LI H, LI L P, MEI H F, et al. Antitumor properties of triptolide: phenotype regulation of macrophage differentiation[J]. *Cancer Biol Ther*, 2020, 21(2):178-188.

[6] XIONG J, SU T F, QU Z L, et al. Triptolide has anticancer and chemosensitization effects by down-regulating Akt

activation through the MDM2/REST pathway in human breast cancer[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(17):23933-23946.

[7] 李佳鑫,石金凤,吴亿晗,等.雷公藤甲素抗乳腺癌的机制及应用进展[J]. *中国中药杂志*, 2021, 46(13):3249-3256.

LI J X, SHI J F, WU Y H, et al. Mechanisms and application of triptolide against breast cancer[J]. *China J Chin Mater Med*, 2021, 46(13):3249-3256.

[8] 严银银,张振强,曾华辉,等.雷公藤甲素的不良反应及减毒研究进展[J]. *中华中医药学刊*, 2021, 39(11):139-143.

YAN Y Y, ZHANG Z Q, ZENG H H, et al. Research progress on toxicity and attenuation of triptolide[J]. *Chin Arch Tradit Chin Med*, 2021, 39(11):139-143.

[9] FAN Y F, SU X H, XU Y, et al. Effect of triptolide on reproductive toxicity in female rats with II type collagen induced arthritis[J]. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*, 2024, 49(11):3061-3069.

[10] AJAYI A F, AKHIGBE R E. Staging of the estrous cycle and induction of estrus in experimental rodents: an update[J]. *Fertil Res Pract*, 2020, 6:5.

[11] SINGLA N, CHALLANA S. Reproductive toxicity of triptolide in male house rat, *Rattus rattus*[J]. *Sci World J*, 2014, 2014:879405.

[12] THANKAMONY A, ONG K K, DUNGER D B, et al. Anogenital distance from birth to 2 years: a population study[J]. *Environ Health Perspect*, 2009, 117(11):1786-1790.

[13] DE G KEMPINAS W, SUAREZ J D, ROBERTS N L, et al. Rat epididymal sperm quantity, quality, and transit time after guanethidine-induced sympathectomy[J]. *Biol Reprod*, 1998, 59(4):890-896.

[14] 王昊,陈亮,叶小云.雷公藤甲素对TM4细胞氧化应激及PI3K/AKT通路的影响[J]. *北京大学学报(医学版)*, 2018, 50(4):607-612.

WANG H, CHEN L, YE X Y. Triptolide induces oxidative stress and apoptosis and activates PIK3/Akt signaling pathway in TM4 cells[J]. *J Peking Univ Health Sci*, 2018, 50(4):607-612.

[15] 叶小云,陈亮.雷公藤甲素介导AMPK/Akt/mTOR通路对小鼠TM3睾丸间质细胞活性的影响[J]. *中华男科学杂志*, 2019, 25(9):787-791.

YE X Y, CHEN L. Effects of triptolide on the activity of TM3 Leydig cells and AMPK/Akt/mTOR pathway[J]. *Natl J Androl*, 2019, 25(9):787-791.

[16] PARK S H, KIM Y P, LEE J M, et al. Regulation of phosphorylation of glycogen synthase kinase 3α and the correlation with sperm motility in human[J]. *World J Mens Health*, 2024, 42(2):373-383.

[17] DUDIKA T, JOUDEH N, SINHA N, et al. The protein phosphatase isoform PP1γ1 substitutes for PP1γ2 to support spermatogenesis but not normal sperm function and fertility[J]. *Biol Reprod*, 2019, 100(3):721-736.

(收稿日期:2024-10-30 修回日期:2025-02-17)

(编辑:林静)