

自咬症水貂神经系统病理组织学研究

孙得发^{1a}, 王建华^{1b}, 徐秀容^{1a}, 张志民², 曹达江^{1a}

(1 西北农林科技大学 a 动物科技学院, b 动物医学院, 陕西 杨凌 712100; 2 辽宁大连金州珍贵毛皮动物公司, 辽宁 大连 116100)

【摘要】 **【目的】**通过对自咬症水貂神经系统病理组织学变化的观察,探讨水貂自咬症与神经系统病变的关系,为水貂自咬症发病机制的研究提供参考。**【方法】**采集 20 只临床健康水貂和 20 只自咬症水貂的大脑、小脑、延脑和脊髓等神经系统组织,用体积分数 4% 多聚甲醛固定后经选样、脱水、透明、石蜡包埋、切片和 HE 染色后,在 200~400 倍光学显微镜下观察,并对比病理变化。**【结果】**与临床健康水貂相比,自咬症水貂大脑中普遍存在神经细胞肿胀、溶解以及神经细胞卫星现象;部分神经锥体细胞固缩变形,细胞膜周边出现空泡化,神经纤维溶解消失,神经细胞核固缩浓染;部分自咬症水貂大脑的髓质出现空泡化,神经胶质细胞膜内侧浓染;小脑中的浦肯野氏细胞普遍存在肿胀、融解以及神经髓鞘溶解现象。延脑神经细胞肿胀,大胶质细胞膜溶解消失,神经锥体细胞周边出现严重的卫星现象;脊髓神经细胞明显肿胀,细胞膜消失,神经细胞核固化萎缩。**【结论】**水貂自咬症与神经细胞膜结构损伤、神经传导细胞以及神经髓鞘的病变有关。

【关键词】 水貂;自咬症;神经系统;病理变化

【中图分类号】 S865.2⁺2

【文献标识码】 A

【文章编号】 1671-9387(2010)09-0025-07

Histopathological study on nervous system in self-injurious mink

SUN De-fa^{1a}, WANG Jian-hua^{1b}, XU Xiu-rong^{1a}, ZHANG Zhi-min², CAO Da-jiang^{1a}

(1 a College of Animal Science; b College of Veterinary Medicine, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China;

2 Liaoning Dalian Jinzhou Rare Fur Animal Feeding Company, Dalian, Liaoning 116100, China)

Abstract: **【Objective】** This study aimed to investigate nervous system pathological changes in mink with self-injurious behavior and to research the relationship between nervous system pathological changes and this abnormal behavior in order to provide reference for pathological mechanism research of self-injurious behavior. **【Method】** The cerebrum, cerebellum, medulla oblongata and medulla marrow from each of 20 healthy minks and 20 self-injurious minks were collected in current study. All samples were fixed in 4% paraformaldehyde, followed by dewatering, hyalining, paraffin embedding, slicing and hematoxylin eosin staining. All sections were observed at 200—400 times light microscope. **【Result】** Compared with clinical healthy minks, histopathological changes were found in nervous system of minks with self-injurious behavior. Swelling, lysing and microsatellite phenomenon of nerve cells were observed in the cerebrum. Many nuclei in nerve cells became pyknotic (shrunken and dark). Vacuolizations were observed in cerebrum of some minks with self-injurious behavior. Intracellular membrane of neuroglia cell was deeply stained. Swollen and lysed Purkinje cells were investigated in cerebellum, and some of the myelin sheaths were lysed in this region. Neurocyte swelling, membrane ablation of macroglia and serious microsatellite phenomenon were observed in medulla oblongata of SIB mink. Nerve cells pyknotic and membrane lysed were also found in spi-

* [收稿日期] 2010-05-17

[基金项目] 西北农林科技大学青年(专项)基金项目(08080261)

[作者简介] 孙得发(1969—),男,甘肃景泰人,讲师,在读博士,主要从事经济动物研究。E-mail: sun_brn@yahoo.com

[通信作者] 徐秀容(1969—),女,湖北英山人,副教授,主要从事经济动物遗传研究。E-mail: xiurong_xu@yahoo.com

nal marrow. 【Conclusion】 Self-injurious behavior of minks has correlation with pathological changes of membrane of nerve cell and nerve myelin sheath.

Key words: mink; self-injurious behavior; nervous system; pathological change

毛皮动物自咬症 (Self-biting or self-injurious behavior, SIB) 是水貂、狐等肉食性毛皮动物的一种以间歇性反复自咬身体后躯和尾部为主要症状的慢性疾病^[1]。自咬症是水貂和北极狐养殖业中最为严重的疾病之一, 世界上主要的毛皮动物饲养大国均有报道。该病全年均可发生, 但主要集中在 9—11 月份的换毛时期。水貂自咬症的发病率在 5%~20%, 丹麦报道的发病率为 20%^[2-3], 我国水貂自咬症的发病率在 5%~10%。自咬症导致水貂、北极狐皮张损坏, 毛皮等级下降, 全世界每年仅水貂皮的生产量在 3 000~3 500 万张, 由于自咬症导致等级下降的皮张在 200~300 万张, 给世界毛皮动物饲养业带来严重的损失。严重的自咬症还可以导致动物死亡。此外, 自咬症动物的繁殖力明显下降, 雌性动物几乎没有抚育后代的能力。

关于水貂等肉食性毛皮动物自咬症的发病机理目前还没有定论, 有研究者认为与营养缺乏或某种微生物有关, 但是这些假说都没有找到直接的证据^[4]。欧美国家的动物福利研究者认为, 水貂等肉食性毛皮动物自咬症与动物福利有关, 因为在野生水貂中很少发现有自咬症的个体; 此外他们的研究还发现, 养殖笼舍规格太小、断奶分窝应激、生活环境太差、捕捉方法不正确等均可导致自咬症的发生^[5-7]。Mason^[8]研究认为, 水貂自咬症与仔貂的断奶年龄有关, 过早离开母貂的仔貂自咬症发生率高。但动物福利研究者并没有解释自咬症产生的内在机制。

我国是世界上最大的毛皮动物生产国, 水貂皮和狐皮的产量均为世界第一, 仅水貂皮每年的产量在 1 000 万张以上, 因此自咬症给我国毛皮动物饲养业带来的损失是巨大的。由于我国大部分科研工作者对肉食性毛皮动物养殖行业比较陌生, 再加上国家在该领域投入的研究资金极其有限, 因此国内有关毛皮动物相关疾病的深入研究报告很少。深入研究水貂等毛皮动物自咬症发病的生理机制既是治疗和预防该病发生的前提, 也是提高我国毛皮动物养殖业在国际上的竞争地位所面临的迫切任务。

临床观察发现, 水貂自咬症表现出明显的神经异常行为。动物的神经异常行为一般与神经系统的病变有关, 但目前国内外还没有关于水貂等毛皮动

物自咬症神经系统病理组织学的系统研究报道。本研究通过观察和分析自咬症水貂中枢神经系统的组织学变化, 研究水貂自咬症与中枢神经系统组织病变的相关性, 以为深入研究水貂等肉食性毛皮动物自咬症的致病机制提供依据。

1 材料与方法

1.1 自咬症和临床健康水貂的判定

自咬症水貂: 有间歇性自咬行为, 并且在尾部有明显自咬伤口且没有愈合的水貂个体, 除发病期间, 其他时间采食正常。

临床健康水貂: 无任何间歇性自咬行为, 尾部和后躯部被毛完整, 无伤痕、健康的水貂个体。

1.2 动物样品采样及处理

随机选择当年繁殖的自咬症和临床健康水貂各 20 只, 用戊巴比妥酸钠溶液腹腔注射致死, 快速去皮并用骨钳快速打开脑盖, 分离脑膜, 取出完整的大脑、小脑和延脑, 在颈椎位置采取脊髓样品。从中隔用手术刀切开大脑和小脑一侧样品以及延脑和脊髓样品, 用生理盐水冲洗后再用体积分数 4% 的多聚甲醛固定 72 h。其他部分样品用液氮快速冷冻, 用于其他指标的测定分析。

1.3 试验方法

分别取自咬症水貂、临床健康水貂大脑、小脑、延脑和脊髓的固定样品, 大脑样品从前到后横切为 5 块, 小脑从中部切开, 延脑和脊髓均从中部取样, 用蒸馏水清洗。将分离的样品按照病理组织学常规试验方法, 依次进行脱水、石蜡包埋、切片 (厚度为 6 μm) 和 HE 染色。用普通光学显微镜 (200~400 倍) 观察自咬症和临床健康水貂完整的大脑半球横切片, 以及大脑前部、大脑中部 (穹隆)、小脑、延脑的组织切片。特征病变组织部位用 400 倍显微镜数码照相。

2 结果与分析

2.1 自咬症水貂大脑皮层的病理变化

显微病理组织学观察发现, 自咬症水貂大脑皮层中锥体细胞呈椭圆形, 细胞膜结构不完整, 细胞固缩变形, 而且有肿胀和消失现象, 神经细胞周边出现空泡化, 几乎看不到神经髓鞘的延伸 (图 1-A、B); 大

脑皮层区域出现普遍的卫星现象(图 1-C);神经胶质细胞膜内侧有浓染现象出现(图 1-D)。神经细胞、大神经胶质细胞膜结构破坏和消失的现象,在自咬症水貂大脑皮层组织切片中广泛存在。星形神经

细胞的神经突和神经纤维结构不清楚,偶见胶质细胞有浸润现象。以上现象在健康水貂的大脑中均未观察到。

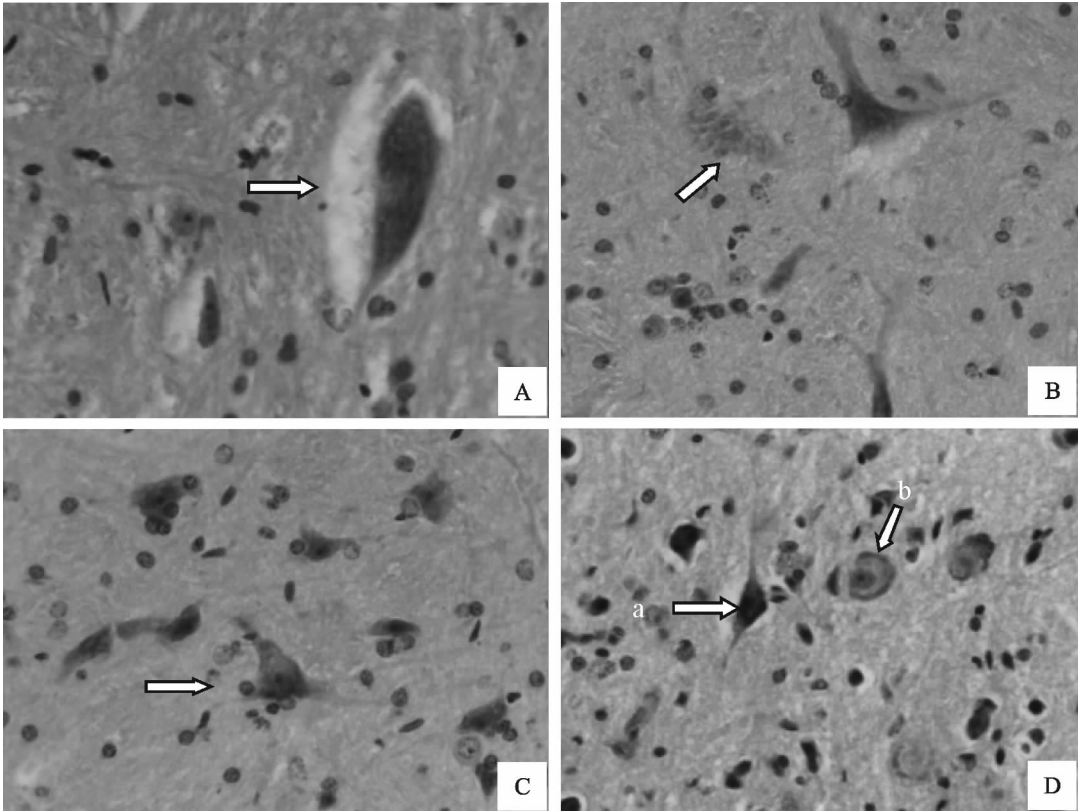


图 1 自咬症水貂大脑皮层的病理变化显微观察(×400)
A. 核固缩变型的神经细胞;B. 溶解消失的神经细胞;C. 卫星现象;D. 神经胶质细胞;a. 核固缩的小锥体细胞;
b. 细胞膜内侧浓染的大胶质细胞

Fig. 1 Pathological changes of the cerebral cortex in self-injurious behavior mink(×400)
A. Pyknotic and transmutative neurocyte;B. Dissolved neurocyte;C. Microsatellite phenomenon of nerve cell;
D. Neurogliocyte;a. Shrinkage of small proton cell;b. Stain in inner membrane of microglia

2.2 自咬症水貂大脑髓质病理组织学变化

与临床健康水貂相比,自咬症水貂大脑髓质部可见到星形神经细胞发生肿胀和变形以及细胞核淡染和细胞质浓染现象,部分星形神经细胞溶解消失(图 2-A)。有 8 只自咬症水貂的髓质部位出现空泡样变性现象,而且这些水貂的小神经胶质细胞固缩,细胞周边出现空泡化现象(图 2-B)。自咬症水貂大脑髓质区域同样存在广泛的卫星现象(图 2-C),部分胶质细胞的细胞膜消失(图 2-D)。

2.3 自咬症水貂小脑病理组织学变化

小脑是与神经传导有关的神经中枢。本研究中,与临床健康水貂相比,所有自咬症水貂的小脑切片中均能见到浦肯野氏细胞发生了病理变化,其主要变化为:细胞核淡染或消失,神经髓鞘延伸缩短或

者消失,髓鞘外膜消失(图 3-A);细胞变形或溶解,周边出现空泡化(图 3-B)。小脑其他区域未见异常变化。

2.4 自咬症水貂延脑组织病理学变化

与临床健康水貂相比,自咬症水貂延脑的神经细胞出现了病变现象。从图 4-A 可以看出,自咬症水貂的延脑部部分神经细胞肿胀消融,大胶质细胞膜结构不清。在该区域均可以观察到严重的卫星现象(图 4-B),并导致神经锥体细胞变形。

2.5 自咬症水貂脊髓组织病理学变化

脊髓是动物神经传导的重要神经中枢。从本研究的病理切片中观察到,自咬症水貂脊髓神经细胞和周边淡染,细胞膜结构不清。细胞萎缩导致神经细胞周边空泡化,个别水貂脊髓有出血现象(图 5-

A),神经纤维消失(图 5-B)。

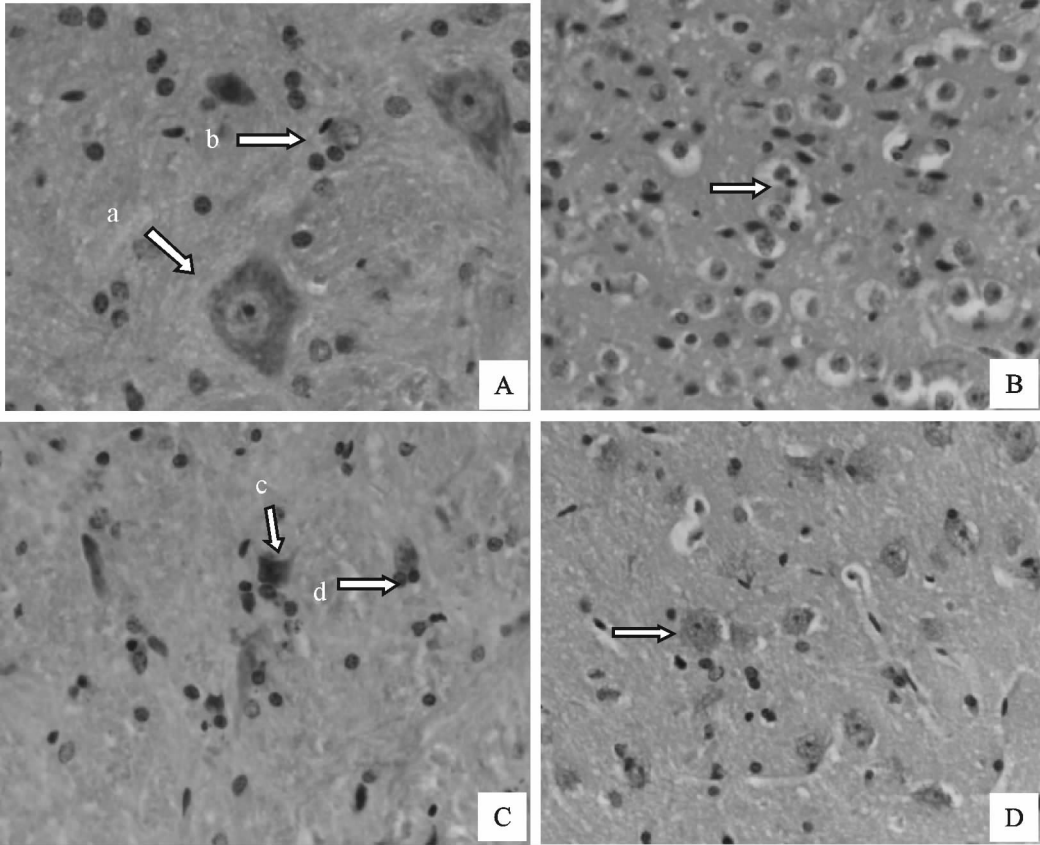


图 2 自咬症水貂大脑髓质病理组织变化显微观察(×400)

A. 髓质神经细胞;B. 小胶质细胞空泡化现象;C. 病变的神经细胞;D. 膜消失和空泡化的神经胶质细胞;
a. 膨大的神经细胞;b. 溶解的神经细胞;c. 膜变形的神经细胞;d. 卫星现象

Fig. 2 Pathological changes of the cerebral medulla in self-injurious behavior mink(×400)

A. Neurocyte of cerebral medulla;B. Vacuolization of microglia;C. Pathological changes of nerve cell;D. Membrane dissolved and vacuolization of neuroglia cell;a. Swollen nerve cell;b. Liquefaction of neurocyte;c. Transmutative neurocyte;
d. Microsatellite phenomenon of nerve cell

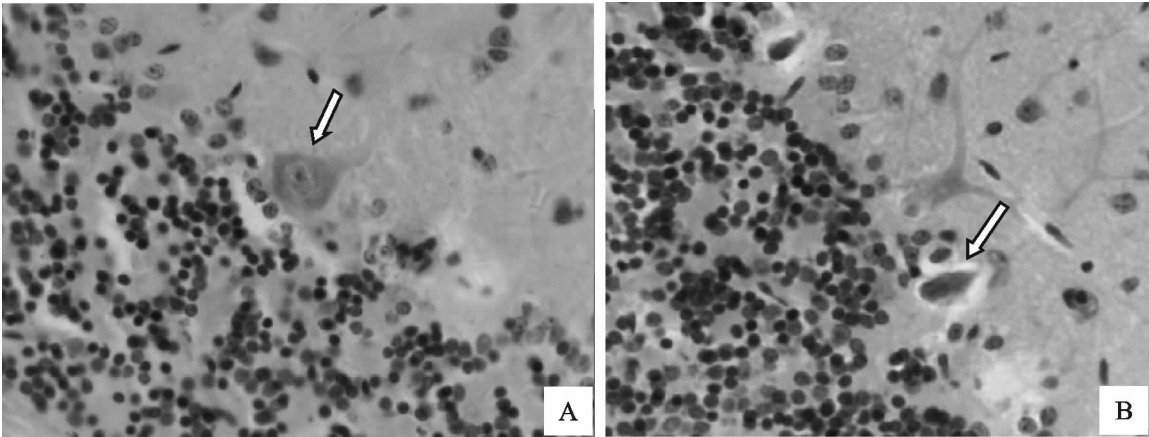


图 3 自咬症水貂小脑病理组织学变化显微观察(×400)

A. 神经显微消失和细胞核淡染的浦肯野氏细胞;B. 溶解的浦肯野氏细胞溶解及空泡化现象

Fig. 3 Pathological changes of the cerebellum in self-injurious behavior mink(×400)

A. Myelin ablation and tint in nucleus of Purkinje cell;B. Dissolution and vacuolization of Purkinje cell

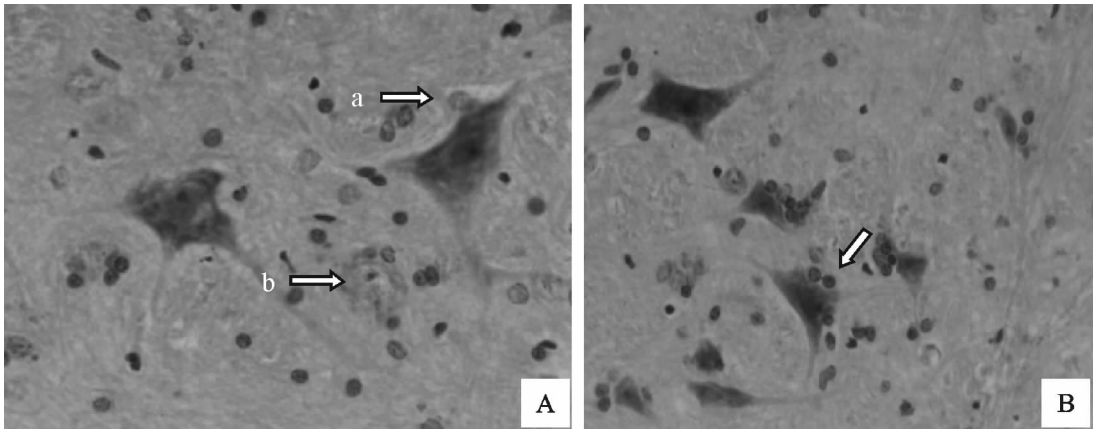


图 4 自咬症水貂延脑组织病理学变化显微观察(×400)
A. 延脑神经细胞;B. 延脑神经细胞的卫星现象;a. 肿胀溶解的神经细胞;b. 细胞膜消融的大胶质细胞
Fig. 4 Pathological changes of medulla oblongata in self-injurious behavior mink(×400)
A. Neurocyte in medulla oblongata;B. Microsatellite phenomenon in medulla oblongata;
a. Neurocyte swelling and ablation in medulla oblongata;b. Membrane ablation of macroglia

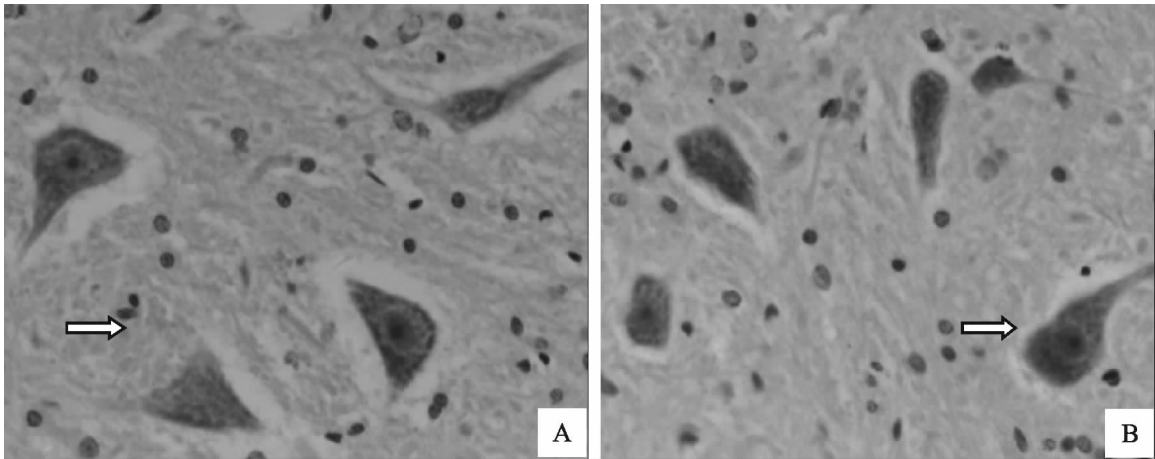


图 5 自咬症水貂脊髓组织病理变化显微观察(×400)
A. 有出血现象的脊髓;B. 细胞膜溶解和细胞核固缩的神经细胞
Fig. 5 Pathological changes of spinal marrow in self-injurious behavior mink(×400)
A. Haemorrhage in spinal marrow;B. Pyknotic and membrane lysed of nerve cell

3 讨 论

肉食性毛皮动物水貂的自咬症是一种以自身伤害为特征的行为,自咬症存在明显的间歇性。突然发作、嘶叫和追咬自体尾部是本病的典型特征。从临床发病的特点来判断,有明显的神经异常现象,包括对外界环境的敏感、大口吞咽食物等异常行为。而在发病间歇期并未看到自咬症水貂有任何不正常的行为,这些特征与人类的癫痫有相似之处。目前尚未见水貂自咬症和神经细胞功能异常相关的研究报道,在以往报道中,未见关于水貂等肉食性毛皮动物自咬症模型的研究。因此,研究自咬症神经系

统的病理变化,对揭示自咬症的发病机理具有重要意义。本研究观察到自咬症水貂大脑、小脑、延脑和脊髓神经细胞均存在不同程度的病变,这些病变大多是以神经细胞膜和神经髓鞘损伤为特征的病变,包括神经细胞膨胀、溶解、卫星现象等。神经细胞、神经纤维是动物产生和传导神经冲动的结构单位,当这些结构单位发生病变后,神经传导和神经细胞的正常功能受到影响。细胞兴奋的极化和去极化过程与胞质、细胞内膜的离子浓度变化有关,当神经细胞膜结构受到损伤后,这种正常的细胞兴奋过程就会受到影响。

由于在人类的一些精神性疾病中出现自咬行

为,因此近年来有不少关于自咬症模型的研究。Kasim 等^[9]使用 L-型钙离子通道激活剂士 Bay K8644 诱导试验小鼠,使其出现了反复的自咬行为。这一结果为研究毛皮动物自咬症产生的机制提供了重要的理论依据。钙离子通道广泛存在于神经系统和和其他一些组织中,并在刺激耦联反应中发挥重要的作用,在人和动物机体中有几种钙离子通道,其中 L-型钙离子通道是电压型阀门,在细胞去极化的时候允许钙离子内流,这种钙离子通道在纹状体、皮质层、海马层都有很高的表达水平^[10]。L-型钙离子通道激活剂士 Bay K8644 能够使细胞内流钙显著增加,这种非正常的细胞内外电压引起神经细胞产生异常兴奋,导致小鼠出现自咬行为,而一些钙离子通道的阻断剂可以减少自咬行为的发生。此后许多研究发现,应用其他兴奋性物质,如苯异妥英、安非他明、咖啡因等都可诱导小鼠产生自咬行为^[11-12],这些模型提示,自咬症可能与大脑神经细胞钙离子异常内流有关,而大脑神经细胞钙离子异常内流与神经细胞膜结构的病变有直接的关系。本研究结果表明,自咬症水貂的大脑皮质神经细胞出现了不同程度的肿胀、变形、消失及卫星现象。这些病变引起的膜结构变化可能会导致细胞外钙离子异常内流。正常生理状态下,钙离子和钠钾离子内流使神经细胞产生兴奋性电位,引起正常的神经兴奋性过程。正常的神经细胞能够通过钙泵,将胞浆内的钙重新转运到细胞间质,使兴奋冲动结束。但当细胞膜功能受到损伤后,这种转运功能就会下降,钙离子就会在胞浆内大量滞留,并导致产生长时间的兴奋性电位,这种异常兴奋可能引起水貂自咬现象的发生^[6]。

导致神经细胞肿胀、溶解的因素很多,如神经系统脂质过氧化和重金属中毒等。高宏伟等^[13]曾经报道,自咬症水貂体内的金属汞含量很高,汞特别是甲基汞对周围神经系统有明显的损害作用^[14]。病理组织观察表明,汞中毒可导致大脑中的小胶质细胞增多,并出现噬神经现象^[15]。氧化应激是导致细胞膜脂质过氧化的重要原因^[16],神经系统脂质含量很高,容易受到自由基的攻击而发生病变,在甲基苯丙胺诱导的自咬症小鼠机体中就存在严重的脂质氧化现象^[17]。

本研究发现,自咬症水貂神经细胞的固缩可能是细胞凋亡的外在表现,凋亡细胞在形态学上表现为细胞体积变小,细胞质浓缩,细胞核染色质浓缩并聚集核膜周围,胞浆中形成凋亡小体,细胞周围无炎症反应等^[18]。本研究中,自咬症水貂大脑和其他神

经系统中未出现淋巴细胞浸润,说明自咬症与微生物对大脑的感染无关。关于自咬症水貂神经细胞是否存在细胞凋亡,以及神经细胞凋亡和自咬症是否存在相关性还需要进一步研究。

小脑皮质内浦肯野氏细胞是惟一的传出神经元。在自咬症水貂小脑中可以明显观察到浦肯野细胞肿大、溶解以及神经髓鞘溶解。这种病理学变化导致了小脑中的惟一传出神经元功能的丧失,使得神经传导受到障碍,神经传导短路或者延迟,这可能与自咬症的间歇发生有关。

延髓和脊髓是大脑神经传递的重要通道,神经信号的传递必须通过延髓和脊髓,如果延髓和脊髓中神经细胞损伤,有可能导致传导延迟及其他不正常传导现象发生。本研究结果表明,自咬症水貂延脑有明显的神经细胞卫星现象,细胞肿胀消融;脊髓中神经细胞膜结构不清,神经髓鞘消失。这些病理变化说明自咬症水貂神经传导存在着严重的障碍,这些病理变化与自咬症之间的关系还需要进一步研究。

水貂等肉食性毛皮动物自咬症的具体病因目前还不清楚,本研究的神经系统病理组织学观察结果表明,水貂自咬症与大脑、小脑、延脑、脊髓等中枢神经系统中神经细胞的肿胀、溶解和神经传导纤维的损伤有关。

[参考文献]

- [1] Simeon D, Stanley B, Frances A, et al. Self-mutilation in personality disorders: psychological and biological correlates [J]. *Am J Psychiatry*, 1992, 149(2): 221-226.
- [2] 高宏伟,陈维岩,马振凯. 水貂自咬症研究概况 [J]. 毛皮动物饲养, 1995(3): 41-43.
Gao H W, Chen W Y, Ma Z K. Research survey of self-biting behavior in mink [J]. *Fur Animal*, 1995(3): 41-43. (in Chinese)
- [3] Bildsoe M, Heller K E, Jeppesen L L. Stereotypies in adult ranch mink [J]. *Scientifur*, 1990(14): 169-177.
- [4] 孙得发,贾康胜,王建华,等. 毛皮动物自咬症与大脑神经细胞脂质过氧化关系初步分析 [J]. *经济动物学报*, 2006(4): 242-247.
Sun D F, Jia K S, Wang J H, et al. The first discussion on the relationship of self-biting behavior with lipid peroxidation of nerve cell in brain in fur carnivore [J]. *Journal of Economic Animal*, 2006(4): 242-247. (in Chinese)
- [5] Mason G J. Stereotypy and welfare in mink [J]. *J Anim Sci*, 1992, 70(Suppl.): 1, 158(Abstract).
- [6] Mason G J. Age and context affect the stereotypies of caged mink [J]. *Behaviour*, 1993(127): 191-229.

[7]

Mason G J, Cooper C, Clarebrough C. The welfare of fur-farmed mink [J]. *Nature*,2001(410):35-36.

[8]

Mason G J. Tail-biting in mink (*Mustela vison*) is influenced by age at removal from the mother [J]. *Animal Welfare*,1995(3):305-311.

[9]

Kasim S,Jinnah H A. Self-Biting induced by activation of L-type calcium channels in mice; dopaminergic influences [J]. *Developmental Neuroscience*,2003(25):20-25.

[10]

Hirota K,Lambert D G. A comparative study of L-type voltage sensitive Ca²⁺ channels in rat brain regions and cultured neuronal cells [J]. *Neurosci Lett*,1997(223):169-172.

[11]

Mueller K,Saboda S,Palmour R,et al. Self-injurious behavior produced in rats by daily caffeine and continuous amphetamine [J]. *Dev Neurosci*,1998,20(2/3):180-187.

[12]

Mueller K, Hollingsworth E, Pettit H. Repeated pemoline produces self-injurious behavior in adult and weanling rats [J]. *Pharmacol Biochem Behav*,1986,25(5):933-938.

[13]

高宏伟,陈维岩. 自咬症水貂脑、肝、肾和毛中汞残留量的分析 [J]. *毛皮动物饲养*,1994(2):1-3.
Gao H W,Chen W Y. Analysis of mercury residues in brain, liver and fur in self-biting mink [J]. *Fur Animal*,1994(2):1-3. (in Chinese)

[14]

江 勇. 汞对内耳及神经系统的毒性作用 [J]. *黑龙江畜牧兽医*,1998(2):161-163.
Jiang Y. Toxic action in internal ear and nervous system of mercury [J]. *Heilongjiang Journal of Animal Husbandry & Veterinary Medicine*,1998(2):161-163. (in Chinese)

[15]

Söderström S,Fredriksson A,Dencker L,et al. The effect of mercury vapour on cholinergic neurons in the fetal brain; studies on the expression of nerve growth factor and its low- and high-affinity receptors [J]. *Developmental Brain Research*,1995,85(1):96-108.

[16]

Jirasak,Wong-ekkabut J,Xu Z,et al. Effect of lipid peroxidation on the properties of lipid bilayers: a molecular dynamics study [J]. *Biophys J*,2007,93(12):4225-4236.

[17]

Mori T,Ito S,Kita T,et al. Oxidative stress in methamphetamine-induced self-injurious behavior in mice [J]. *Behav Pharmacol*,2007,18(3):239-249.

[18]

王胜军,迟兆富. 癫痫持续状态与神经细胞程序性死亡 [J]. *临床神经病学杂志*,2007,20(4):318-319.
Wang S J,Chi Z F. Status epilepsy and programmed cell death of neurocyte [J]. *Journal of Clin Neuro*,2007,20(4):318-319. (in Chinese)

(上接第 24 页)

[14]

Kluqe M,Uhr M,Bleninqer P,et al. Ghrelin suppresses secretion of follicle stimulating hormone (FSH) in males [J]. *Clin Endocrinol (Oxf)*,2008,70:920-923.

[15]

Zmeili S M,Papavasiliou S S,Thorner M O,et al. Alpha and luteinizing hormone beta subunit messenger ribonucleic acids during the rat estrous cycle [J]. *Endocrinology*,1986,119:1867-1869.

[16]

Ortolano G A,Haisenleder D J,Dalkin A C,et al. Follicle-stimulating hormone beta subunit messenger ribonucleic acid concentrations during the rat estrous cycle [J]. *Endocrinology*,1988,123:2946-2948.

[17]

Leung K, Kim K E, Maurer R A,et al. Divergent changes in the concentrations of gonadotropin beta-subunit messenger ribonucleic acid during the estrous cycle of sheep [J]. *Molecular Endocrinology*,1988,2(3):272-276.

[18]

Laura L,Burger,Daniel J,et al. Regulation of luteinzing hormone-β and Follicle-Stimulating hormone (FSH)-β gene transcription by androgens; Testosterone directly stimulates FSH-β transcription independent from its role on follistatin gene expression [J]. *Endocrinology*,2004,145:171-178.

[19]

Varykina G,Thackray,Jennifer L,et al. Progesterone inhibits basal and gonadotropin-releasing hormone induction of luteinizing hormone β-Subunit gene expression [J]. *Endocrinology*,2009,150:2395-2403.

[20]

Shupnik M A. Effects of gonadotropin-releasing hormone on rat gonadotropin gene transcription *in vitro*; requirement for pulsatile administration for luteinizing hormone-beta gene stimulation [J]. *Mol Endocrinol*,1990,4(10):1444-1450.