

雌二醇和孕酮对山羊子宫雌二醇受体的调节*

张家骅 黄群山 吕忠显** 王建辰

(西北农业大学动物医学系, 陕西杨陵·712100)

摘要 将12只卵巢摘除山羊随机分为4组,用孕酮(P_4)和雌二醇(E_2)按 2×2 因子实验进行发情周期的人工模拟,然后测定子宫内浆膜中的 E_2 受体(RE_2)。P4组、空白组、 $P_4 + E_2$ 组和 E_2 组的 RE_2 水平分别为8.9, 18.3, 33.8和67.9 $\text{fmol} \cdot \text{mg}^{-1}$ 。除空白组与 $P_4 + E_2$ 组之间 RE_2 水平的差异显著外($P < 0.05$),其余组之间均为极显著($P < 0.01$)。结果表明,山羊子宫内浆膜 RE_2 水平处于 P_4 和 E_2 的共同调节之中, P_4 具有极显著的降调节作用,而 E_2 则具有极显著的升调节作用。

关键词 雌二醇受体,雌二醇,孕酮,山羊

中图分类号 S814.1, S827.1, S827.3

在动物的发情周期中,不仅血浆中的雌二醇(E_2)和孕酮(P_4)水平发生变化,而且子宫内浆膜中的雌二醇受体(RE_2)水平也随之变化^[1~3]。关于山羊子宫 RE_2 的报道很少^[4]。本实验的目的在于揭示 E_2 和 P_4 对 RE_2 的调节作用,并阐明 RE_2 水平变化对山羊黄体溶解的生理意义。

1 材料和方法

试剂配制 用少量乙醚将1750.0 mg P_4 溶解,再向其中加入350 mL精制玉米油,搅拌均匀后进行加热搅拌($50 \sim 60^\circ\text{C}$),直到乙醚挥发干净。至此,溶液的浓度为 $5 \text{mg} \cdot \text{mL}^{-1} P_4$,用小瓶分装备用。用同样方法配制 $10 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1} E_2$ 溶液,用安瓿分装备用。

动物实验 将12只成年山羊摘除卵巢,6~7周后开始处理。将实验羊随机分为4组,按 2×2 因子方案用 P_4 和 E_2 进行发情周期的人工模拟。① P_4 组。在第1~5d,每天每只羊肌肉注射10mg P_4 ,在第6~12d,每天每只羊注射20mg P_4 ;② E_2 组。在第13d每只羊注射20 $\mu\text{g} E_2$,在第14d每只羊注射40 $\mu\text{g} E_2$;③ $P_4 + E_2$ 组。接受 P_4 和 E_2 两种处理;④空白组。仅注射相应体积的玉米油。将每天注射的激素剂量分为2次,分别在09:00和21:00注射。在第15d的上午将羊宰杀,随即小心摘取子宫。将子宫放在冰上迅速冷却,然后剪取子宫内膜,将子宫内膜样品置 -70°C 冰箱保存。

受体测定 将子宫内膜样品取出,加入液氮冷冻后研磨成浆,用Tris-HCl缓冲液(pH7.4)把样品洗出。先用 $800 \text{g} \cdot 4^\circ\text{C}$ 离心10min,取上清液再以 $105000 \text{g} \cdot 4^\circ\text{C}$ 离心1h。此上清液即子宫内浆膜浆液,分装保存于 -70°C 冰箱。用lowry法测定每个样品中的蛋白质含量^[5]。子宫内浆膜浆液样品 RE_2 测定,按本实验室方法^[6]并参考邹继超等所报道的方法^[7]进行。 4°C 平衡过夜(16h以上)。非特异管中加入相当于标记品用量500倍的非标记 E_2 ,用作

收稿日期:1994-01-07.

* 国家自然科学基金和国家教委“资助优秀年轻教师基金”项目; ** 本校兽医系93届毕业生。

特异性竞争剂。RE₂测定的质量控制数据见图1和图2,说明胞浆样品对标记E₂的结合具有特异性和饱和性。将图2数据经过 Scatchard 转变分析(图3),得出 RE₂结合标记 E₂的 Kd = 1.4 nmol·L⁻¹,最大结合容量为 67.3 fmol·mg⁻¹。

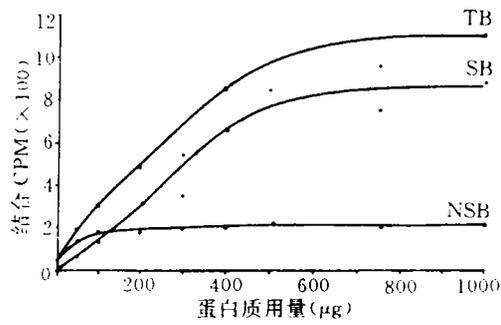


图1 样品用量与³H-E₂结合量的关系

TB. 总结合; NSB. 非特异性结合; SB. 特异性结合

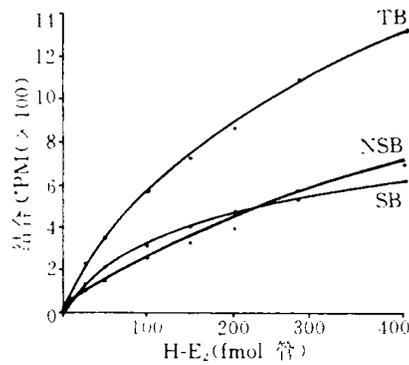


图2 ³H-E₂用量与样品结合量的关系

统计分析 用2×2因子有重复实验的方差分析法^[6]对各实验组之间的子宫内膜 RE₂水平进行差异显著性检验。

2 结果与讨论

空白组 山羊子宫内膜的 RE₂水平为 18.25 ± 0.95 fmol·mg⁻¹。这组动物的子宫内膜至少有8周没有受到 E₂的作用,而 RE₂仍然维持在一定水平,说明子宫内膜仍然保持着对 E₂的反应能力。因此,可以将其视为子宫内膜 RE₂的基础水平。山羊是季节性繁殖家畜。在非繁殖季节,卵巢停止周期性的活动,性腺类固醇激素处于基础水平。子宫内膜在基础类固醇激素水平条件下,仍将 RE₂维持在基础水平,这无疑对下个繁殖季节来临时子宫能对卵巢 E₂作出反应是至关重要的。

P₄组 山羊子宫内膜 RE₂水平为 8.91 ± 2.91 mol·mg⁻¹,极显著低于空白组 (P < 0.01),说明 P₄对 RE₂起降调节作用。由此看出,P₄可以抑制 E₂对子宫的作用,使子宫保持对 P₄的反应性。

E₂组 山羊子宫内膜 RE₂水平为 67.93 ± 10.38 fml·mg⁻¹,极显著高于空白组 (P < 0.01),说明 E₂对自身受体起升调节作用。由此,E₂可以增加子宫对 E₂的敏感性。

P₄+E₂组 山羊子宫内膜 RE₂水平为 33.75 ± 4.07 fmol·mg⁻¹,显著高于空白组 (P < 0.05),极显著低于 E₂组 (P < 0.01),说明山羊子宫内膜 RE₂水平处于 P₄和 E₂两者共同调节的动态平衡之中。黄体期 P₄占有优势,P₄抑制 RE₂的合成,RE₂水平低下,子宫对 E₂

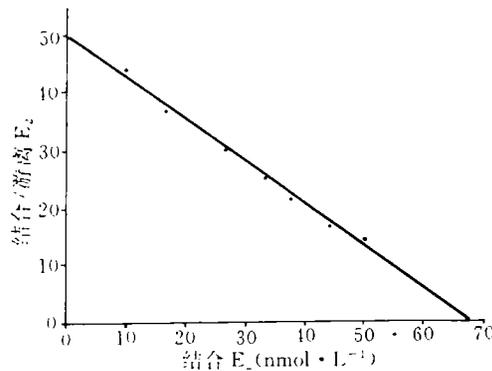


图3 Scatchard 分析

的反应也低;到了卵泡期,随着卵泡增大, E_2 分泌增加,在 E_2 升调节的作用下 RE_2 水平提高,子宫对 E_2 的反应性也增强。 E_2 可以增加绵羊子宫催产素(OT)的受体水平^[9];另外,给山羊注射 OT 可以引起前列腺素 $F_{2\alpha}$ 的合成与分泌^[10];山羊发情时 E_2 水平也升高^[4]。从而认为,在山羊的发情周期中, P_4 和 E_2 水平的变化可能会通过对 RE_2 的调节作用来影响黄体溶解的发生。

参 考 文 献

- 1 Vesanen M, Isomaa V, Alanko M, *et al.* Cytosol estrogen and progesterone receptors in bovine endometrium after uterine involution postpartum and in the estrous cycle. *Anim Reprod*, 1988, 17(1~2):9~20
- 2 Stanchev P, Rodriguez-Martinez H, Edqvist LE, *et al.* Characterization of uterine sex steroid receptors in the pig and their variation during the oestrous cycle. *Animal Breeding Abstract*, 1990, 58(9):864
- 3 Okulioz WC, Balsamo M, Tast J. Progesterone regulation of endometrial estrogen receptor and cell proliferation during the late proliferative and secretory phase in artificial menstrual cycles in the Rhesus Monkey. *Biol Reprod*, 1993, 49(1):24~32
- 4 丁家桐,鞠积光,毛九德.海门山羊发情周期血浆和发情后子宫内膜 17β -雌二醇、孕酮及其受体水平的变化.江苏农学院学报,1990,11(3):7~12
- 5 蔡武城,袁厚积主编.福林-酚试剂法 生物物质常用化学分析法.北京:科学出版社,1982.93~95
- 6 张家骅.放射受体测定.家畜生殖内分泌学研究方法及原理.陕西:天刚出版社,1993
- 7 邹继超,刘兰英,范植明等.IUD对兔子官胞液雌二醇受体和孕酮受体的影响.生殖与避孕,1990,10(1):13~17
- 8 贵州农学院主编.方差分析.生物统计附试验设计.北京:农业出版社,1980.76~113
- 9 Hixon JE, Flint APF. Effects of a luteolytic dose of oestradiol benzoate on uterine oxytocin receptor concentrations, phosphoinositide turnover and prostaglandin $F_{2\alpha}$ secretion in sheep. *J Reprod Fert*, 1987, 79:457~467
- 10 Cooke RG, Homeida AM. Prevention of the luteolytic action of oxytocin in the goat by inhibition of prostaglandin synthesis. *Theriogenology*, 1982,18(4):453~460

The Regulation of Endometrial Estradiol Receptor by Estradiol and Progesterone in Goats

Zhang Jiahua Huang Qunshan Lü Zhongxian Wang Jianchen

(Department of Veterinary Science, Northwestern Agricultural University, Yangling, Shaanxi 712100)

Abstract A 2×2 factorially-designed experiment was conducted. P_4 and E_2 were used to imitate estrous cycle in 12 OVX goats divided in 4 groups at random artificially. And then, E_2 receptor (RE_2) was determined in the cytoplasm of the endometrium of these goats. The concentration of RE_2 was 8.9, 18.3, 33.8 and 67.9 $\text{fmol} \cdot \text{mg}^{-1}$ protein in P_4 , the control, $P_4 + E_2$ and E_2 groups respectively. Apart from the significant difference in RE_2 concentration between the control and $P_4 + E_2$ groups ($P < 0.05$), there was an extremely significant difference in RE_2 concentration in all the rest groups ($P < 0.01$). The results indicate that RE_2 concentration in the cytoplasm of endometrium of these goats is in co-extence between P_4 and E_2 , and that P_4 has an extremely significant function to decrease regulation while E_2 has an extremely significant function to increase regulation.

Key words estradiol receptor, estradiol, progesterone, goat