

雌二醇对大仓鼠腭腺抑制作用的研究^{* *}

张健旭^{*} 王祖望 张知彬

(中国科学院动物研究所, 北京, 100080)

摘要: 通过研究发现雌二醇对雌性大仓鼠 (*Cricetulus triton*) 腭腺的大小和分泌活动存在明显的抑制作用。利用生理手术, 形成3组不同内分泌状况的鼠: 卵巢切除 (OF)、正常 (IF)、和卵巢切除后又置入雌二醇硅胶管 (OEF) 的雌性大仓鼠; 经过放射免疫方法测定表明由 OF、IF 到 OEF 鼠血液雌二醇的浓度显著增高 ($P < 0.01$), 腭腺的重量、长度、宽度和厚度也显著减小 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 利用气相色谱对腭腺分泌物的分析发现, 从 OF、IF 到 OEF 鼠的腭腺分泌物的种类逐渐减少, 有些成分尽管在3组不同生理状况的鼠中都存在, 但含量依次明显减少。以上结果表明雌二醇不仅能够抑制腭腺大小的增长, 而且也抑制了腭腺的分泌活动, 从而减少了腭腺分泌物或其中某些成分的分泌量。

关键词: 大仓鼠; 雌二醇; 腭腺; 形态; 化学

中图分类号: Q491.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-1050 (1999) 04-0262-05

在啮齿动物中, 许多特化的皮肤腺 (气味腺) 分泌化学物质, 是重要的化学信号源, 在化学通讯中起着重要作用。这些气味腺往往存在性别差异, 雄性的气味腺比雌性的发达, 这种差别主要是由于雄激素对皮肤腺的促进作用^[1]。据报道, 雄激素对皮肤腺的促进作用有普遍性^[2,3]; 而雌激素对不同种的鼠或同种鼠的不同气味腺的作用有差异, 有的为促进作用, 有的为抑制作用, 有的作用不明显^[3]。

大仓鼠 (*Cricetulus triton*) 主要分布于我国北方农田, 对其生态学已经进行了许多研究^[4~6], 对其化学通讯研究尚无报道。近几年我们对大仓鼠的化学通讯开展了一些研究。发现雌雄大仓鼠在腰部两侧都有一对椭圆型的皮肤隆起 (称为腭腺, Flank gland), 表面的毛基部明显比其它部位的粗且黑, 皮肤表面有黄色分泌物, 大仓鼠利用腭腺向其它物体上擦蹭, 留下气味 (腭腺标记, Flank gland marking) 具有性吸引和表明优势地位的功能, 在繁殖期, 雄性大仓鼠的腭腺明显比雌性的大, 睾酮对大仓鼠的腭腺也有促进作用 (张健旭, 1997)^{*}。为了全面探讨性激素对腭腺的调节作用和大仓鼠腭腺性别差异的生理基础, 我们进行了雌激素对腭腺调节作用的研究。

1 材料和方法

1.1 实验动物

^{*} 基金项目: 本项目得到国家自然科学基金 (39770103), 中国科学院生物特别支持项目 (STZ-1-05) 和国家农业虫鼠害综合治理重点实验室的资助

^{*} 张健旭, 1997, 大仓鼠化学通讯的研究, 博士论文, 中国科学院动物研究所

作者简介: 张健旭, 男, 1964年1月生, 博士, 助理研究员, 研究方向: 哺乳动物行为及化学通讯

收稿日期: 1998-09-21, 修回日期: 1998-11-25

实验用雌性大鼠于 1996 年 5 月上旬活捕于河北省固安县农田；选取体重大于 100 g、生殖孔正常开放、处于动情周期、非孕和非哺乳的雌鼠进行养殖驯化。养殖房 15 m²，养殖条件为光周期逆转，长光照周期（14L：10D），光照时间 17：00～9：00），室温 23 ±2℃，45 cm ×30 cm ×25 cm 的铁丝网饲养笼单只饲养，巢材为锯末和棉花，喂以充足的大白鼠料块和水，饲养笼分层放置在铁架上；亮期光强度为 40～100 Lux，暗期光强度 0.1～2 Lux。驯化 12 周，选择健康的鼠用于实验。

1.2 卵巢切除和外源激素的置入

雌鼠的 3 种生理处理方式：(1) 正常雌鼠（6 只）；(2) 卵巢切除雌鼠（6 只）；(3) 激素处理雌鼠：卵巢切除，再置入雌二醇硅胶管（5 只）。

鼠的麻醉：按每 1 kg 体重向腹腔注入 60 mg 戊巴比妥钠。

卵巢切除：将雌鼠腰背部皮肤纵切开约 1 cm，再将皮下脊柱左右两侧的肌肉分别切开约 1 cm，取出卵巢及周围脂肪体，用棉线结扎卵巢周围血管，剪除卵巢；依次消炎和缝合伤口。伤口分别用 75%酒精、2%碘酒、消炎粉（灭菌结晶磺胺）消炎。

雌二醇的置入：雌二醇用硅胶管法置入皮下，硅胶管（国产）外径 2.70 mm、内径 2.26 mm、壁厚 0.22 mm，封口用 Medical Adhesive Silicone Type A 硅胶（Dow Corning, Mildland, MI. Co.），雌二醇用 17 β -estradiol-3-benzoate（Sigma Chemical Co., St. Louis, MO.）；将硅胶管剪成长 10 mm 的小段，一端用硅胶封 2.5 mm，胶干后添入 5 mm 雌二醇结晶，再用硅胶将另一端封堵；植入大鼠皮下前，先将激素硅胶管在生理盐水中浸泡 24 h；在切除卵巢，缝合肌肉伤口后，先将一只雌激素硅胶管放入背部皮下，再缝合皮肤伤口。实验动物在手术后，经 4～8 周饲养，用于实验。

1.3 血液雌二醇含量的放射免疫测定

将每只实验鼠分别断头取血，以 4 000 r/min 将血液分离，取得每只鼠的血清，在 -20℃ 的条件下冰冻保存，以备测定雌二醇含量。

血清雌二醇浓度的测定根据曾国庆等^[7]的方法进行。³H-雌二醇为英国 Amersham 产品，标准的雌二醇系荷兰 Organon 厂产品，17 β -雌二醇抗体由中国科学院动物研究所制备，标准曲线范围为 62.5～2 000 pg/ml，雌二醇测定的批内和批间变异系数分别为 8.64%和 13.8%，放射元素用 Beckman LS 6000 液体内烁计数器测定。

1.4 肾上腺分泌物分析样品制备及气相色谱分析

样品的制备参考 Cantoni 等^[8]的方法。将大鼠肾上腺上的毛剪掉，每一腺体用一块直径 6 mm 的干净定量滤纸在肾上腺表面擦 15 次，这样由一只鼠取得 2 块着味的滤纸片。将从同一组获得的滤纸在重蒸过的分析纯二氯甲烷溶剂中浸泡 24 h，每块滤纸平均用 1 ml 二氯甲烷；然后，将上层液取出；同一组鼠的提取物密封于一个充有氮气的磨口玻璃瓶中，-20℃ 保存；分析时，先将腺体分泌物的二氯甲烷溶液用氮气吹干，再加入原溶液体积 1/16 重蒸分析纯正己烷，用于气相色谱分析。

气相色谱仪型号为 HP5890II（Hewlett Packard 5890II），色谱分析柱为 BP20 毛细管柱（Polyethylene glycol, 25 m ×0.22 mm ×25 μm），载气为氮气（流速 25 cm/s），柱前压 100 kPa，分流比 1:25，氢火焰检测器温度为 250℃，进样品温度 280℃。每次进样 1 μl，进样后 0.75 s 控制阀打开，进样后 1 min，柱程序升温。柱的程序升温分 2 个

阶段,第1阶段的初始温度为80℃,按8℃/min升温到160℃,接着第2阶段以4℃/min升温到220℃,然后保留20min。

2 结果及讨论

从卵巢切除的雌鼠(OF)、正常雌鼠(IF)和卵巢切除后再置入雌二醇的雌鼠(OEF),其血液雌二醇浓度依次显著增高($P < 0.01$)(见表1),而其肾上腺的重量、长度、宽度和厚度分别显著减小($P < 0.01$),也就是说切除卵巢使雌鼠的肾上腺增大,置入外源的雌二醇使肾上腺减小,说明雌二醇对大鼠肾上腺的大小具有抑制作用(见表2)。这与雌二醇对雌性大白鼠包皮腺的抑制作用相似^[2],但与雌二醇对其它一些鼠种的气味腺的作用特点有所不同,例如,将雌性金仓鼠(*Mesocricetus auratus*)的卵巢切除会引起肾上腺的缩小,但单独植入雌二醇不能使肾上腺增大,可能需要孕酮的协同作用;将雌性长爪沙鼠(*Meriones unguiculatus*)的卵巢切除会使腹中腺缩小,植入外源雌二醇又使腹中腺增大^[3]。

表1 不同生理状态雌性大鼠血液雌二醇的浓度

Table 1 Circulating levels of estradiol in ovariectomized, intact and ovariectomized plus estradiol treatment female ratlike hamsters ($\bar{X} \pm SD$)

	卵巢切除雌鼠 Ovariectomized females	正常雌鼠 Intact females	卵巢切除+雌二醇处理雌鼠 Ovariectomized plus estradiol treatment females
雌二醇 Estradiol (pg/ml)	242.67 \pm 279.49 **	778.33 \pm 189.41 **	1 603.80 \pm 978.20 **
体重 Body weight (g)	166.3 \pm 15.0	175.3 \pm 22.4	180.3 \pm 18.4
样本 Sample size	6	6	5

** = $P < 0.01$, 表示经 ANOVA 检验极显著 Indicates significant differences among three groups, using one way ANOVA test

表2 不同生理处理雌性大鼠肾上腺的形态差异

Table 2 Differences in sizes of flank glands of ovariectomized, intact and ovariectomized plus estradiol treatment female ratlike hamsters ($\bar{X} \pm SD$)

	样本 Sample size	肾上腺形态 Sizes of flank gland			
		重 Weight (mg)	长 Length (mm)	宽 Width (mm)	厚度 Thickness (mm)
卵巢切除雌鼠 Ovariectomized females	6	84.82 \pm 38.19 **	10.57 \pm 2.59 **	6.30 \pm 1.51 **	0.81 \pm 0.17 **
正常雌鼠 Intact females	6	56.73 \pm 15.45 *	7.87 \pm 1.39 *	5.24 \pm 0.78 **	0.63 \pm 0.06 *
卵巢切除+雌二醇处理雌鼠 Females ovariectomized plus estradiol treatment	5	10.38 \pm 5.67 **	2.95 \pm 1.15 *	1.62 \pm 0.67 **	0.22 \pm 0.05 **

* = $P < 0.05$ 和 ** = $P < 0.01$ 说明经 ANOVA 检验存在显著或极显著差异 Indicate significant differences among three groups, using one way ANOVA test

通过气相色谱的分析,发现卵巢切除雌鼠、正常雌鼠和卵巢切除后再置入雌二醇雌鼠的肾上腺分泌物的色谱分析图存在明显差异,表现为一是分泌物成分种类的依次减少(例如,滞留时间10min以后的成分);二是有些成分分泌量的减少(例如,滞留时间

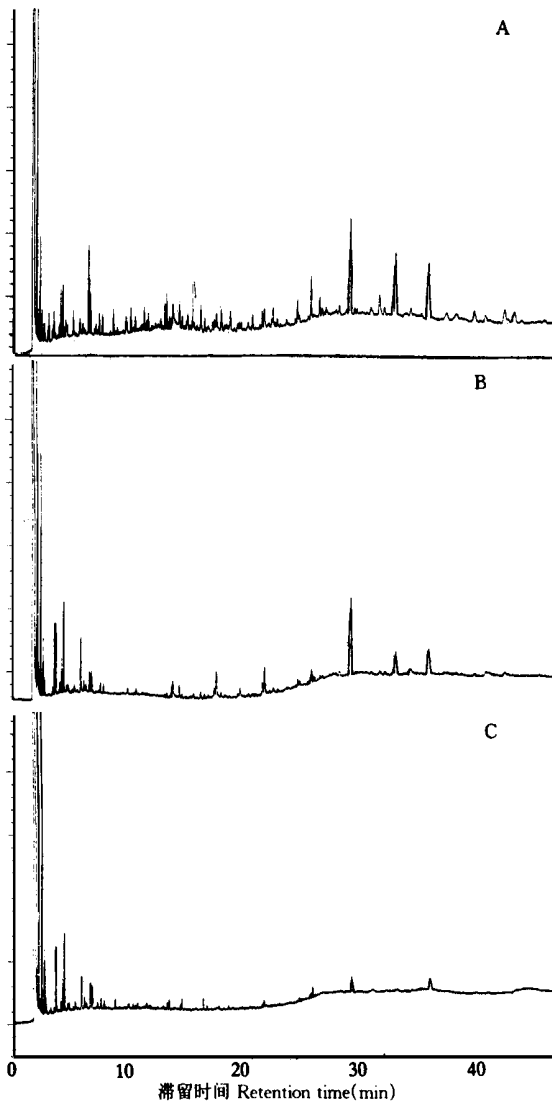


图 1 卵巢切除 (A)、正常 (B) 和卵巢切除 + 雌二醇 (C) 的腭腺分泌物气相色谱分析图的比较

Fig. 1 Comparison of gas chromatograms obtained from the flank gland secretions of ovariectomized (A) intact (B)、and ovariectomized plus estradiol treatment female ratlike hamsters (*Cricetulus triton*)

为 32.4 和 35.2 min 的两种成分) (见图 1), 说明雌二醇影响了腭腺分泌物的产量和化学成分。

哺乳动物信号外激素的作用决定于其化学成分的质与量, 分泌物中的化学成分进行不同的混合可以表达各种不同的信息, 其中往往以一种或几种成分为主^[9]。雌二醇对腭腺分泌物产量和化学成分的影响, 很可能会影响到腭腺的功能, 我们在其它研究中发现卵巢切除雌鼠的腭腺分泌物对雄鼠的吸引作用显著比正常鼠和置入雌二醇鼠的吸引作用大 (张健旭, 1997)*, 腭腺分泌物的变化与吸引雄鼠作用的变化之间的内在联系有待进一步研究。

关于性激素对鼠类物化皮肤腺分泌物化学组成影响研究的报道并不多。例如, 繁殖期大白鼠的包皮腺或阴蒂腺的乙醚抽提物对异性都具吸引力, 其中主要是中性成分在起作用, 其组成成分受雄性激素的调节, 即使幼鼠和雌鼠在注入外源的雄激素后这些成分的含量也会增加很多^[10]; 雄激素调节了雄性小白鼠尿液中的起化学通讯作用的主要化学成分^[11]。我们的研究说明雄激素不仅调节了大仓鼠腭腺的大小, 而且对分泌物化学成分也有明显的调节作用。有关雌激素在这方面的研究尚未见报道, 我们对大仓鼠的研究初步说明, 雌激素对腭腺分泌物化学成分也有明显的调节作用。

致谢 祝诚先生指导生理手术, 曾国庆和蒋广泰先生帮助测定血液激素含量, 赵成华和严福顺先生指导气相色谱测定, 特此致谢。

参 考 文 献

- [1] Muller-Schwarze D. Scent gland in mammals and their functions. In: Eisenberg J F, Kleiman D G eds. Advances in the Study of Mammalian Behavior [C]. Special Publications No. 7, The American Society of Mammologist,

1983. 147 ~ 197.
- [2] Ebling F J. Hormonal control of mammalian skin glands. In: Muller-Schwarze D, Mozell M M editors. Chemical Signals in Vertebrates [C]. New York and London: Plenum Press, 1977. 17 ~ 34.
- [3] Brown R E. The rodents. II. Suborder Myomorpha. In: Brown R E, Macdonald D W eds. Social odours in mammals [C]. Oxford: Oxford University Press, 1985. 345 ~ 457.
- [4] 张知彬. 鼠类种群数量的波动及调节. 见: 王祖望, 张知彬主编. 害鼠综合治理的理论和实践 [C]. 北京: 科学出版社, 1996. 145 ~ 165.
- [5] 杨荷芳, 王淑卿, 郝守身等. 华北平原旱作区大仓鼠种群动态, 预测预报和综合防治研究. 见: 王祖望, 张知彬主编. 害鼠综合治理的理论和实践 [C]. 北京: 科学出版社, 1996. 229 ~ 246.
- [6] 张洁. 北京地区大仓鼠种群繁殖生态研究 [J]. 兽类学报, 1987, 7 (3): 224 ~ 232.
- [7] 曾国庆, 蒋广泰, 王海云. 湖羊, 三北羊发情期外周血液中促黄体素, 雌二醇和孕酮含量的变化 [J]. 畜牧兽医学报, 1980, 11 (3): 147 ~ 154.
- [8] Cantoni D, Favre L, Tencalla F T. Intra-and Interindividual variation in flank gland secretions of free-ranging shrews (*Crocidura russula*) [J]. *J Chem Ecol*, 1996, 22 (9): 1669 ~ 1688.
- [9] Muller-Schwarze D. Molecules in mammalian communication. In: Maruani J ed Molecules, Physics, Chemistry and Biology [C]. Kluwer Academic Publishers, 1989. 4: 331 ~ 344.
- [10] Gawienowski A M. Chemical attractants of the rat preputial gland. In: Muller-Schwarze D, Mozell M M editors. Chemical Signals in Vertebrates [C]. New York and London: Plenum Press, 1997. 45 ~ 59.
- [11] Novotny M. Chemical studies of the primer mouse pheromones. In: Muller-Schwarze D, Silverstein R M eds. Chemical Signals: Vertebrates and Aquatic Invertebrates [C]. New York: Plenum Press, 1980. 377 ~ 390.

A PRELIMINARY STUDY OF EFFECTS OF ESTRADIOL ON FLANK GLANDS IN RATLIKE HAMSTERS (*CRICETULUS TRITON*)

ZHANG Jianxu WANG Zuwang ZHANG Zhibin

(*Institute of Zoology, the Chinese Academy of Sciences, Beijing, 100080, China*)

Abstract: The effects of estradiol on the size and secretion chemistry of flank glands in female ratlike hamsters (*Cricetulus triton*) were studied. By surgical procedure and hormone replacement, three groups of hamsters being different in reproductive status were formed, which were ovariectomized (OF), intact (IF) and ovariectomized plus estradiol capsules females (OEF). From OF to OEF, blood levels of estradiol determined by radioimmunoassay was getting higher ($P < 0.01$), while the weight, length, width and thickness of flank glands were getting less ($P < 0.05$ or $P < 0.01$) by groups. Gas chromatography was used to measure the differences in flank gland secretions among three groups of hamsters. It was found that there were qualitative and quantitative changes among chemical compounds of flank gland secretions of three groups. Some compounds have a decrease in quantity from OF to OEF, and less and less compounds were detected from OF to OEF. The results evidenced that estradiol can inhibit both size and secretion activity of flank glands.

Key words: Ratlike hamster (*Cricetulus triton*); Estradiol; Flank gland; Morphology; Chemistry