

精原干细胞更新分化的影响因素^{*}

李莲军^{1,2}, 卢晟盛², 黎宗强², 杨小淦², 卢克焕²

(1. 云南农业大学动物科学技术学院, 云南 昆明 650201;
2. 广西大学动物繁殖研究所, 广西 南宁 530005)

摘要: 精原干细胞可以体外培养、冷冻保存、遗传操作及移植, 因而在医学、生物学及动物科学方面均有广泛应用前景。根据现有资料阐述一些因素, 包括 c-Kit 受体及其配体 SCF、白血病抑制因子(LIF)、维生素 A(V_A)、表皮生长因子(EGF)、胶质细胞源神经营养因子(GDNF)、激素和温度, 对精原干细胞更新分化的影响。

关键词: 精原干细胞; 干细胞因子; 白血病抑制因子; V_A; 表皮生长因子; 胶质细胞源神经营养因子

中图分类号: Q 954.43; R 321.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004 - 390X(2005)01 - 0077 - 06

Factors Affecting Renewal and Differentiation of Spermatogonial Stem Cells

LI Lian-jun¹, LU Cheng-sheng², LI Zong-qiang², YANG Xiao-gan², LU Ke-huan²

(1. College of Animal Science and Technology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China;
2. Institute of Animal Reproduction, Guangxi University, Nanning 530004, China)

Abstract: Spermatogonial stem cells can be cultured in vitro, cryopreserved, manipulated genetically, and transplanted. They show a great perspective in biological science, medicine and animal science. The article focuses on some factors and their effects on renewal and differentiation of spermatogonial stem cells, including c-kit receptor and its ligand (stem cell factor), leukaemia inhibitory factor, vitamin A, epithelial growth factor, glial cell line-derived neurotrophic factor, hormone and temperature.

Key words: spermatogonial stem cell; stem cell factor; leukaemia inhibitory factor; V_A; epithelial growth factor; glial cell line-derived neurotrophic factor

1999 年 12 月, 美国著名杂志《Science》公布了世界十大科学成果, 干细胞研究名列榜首。干细胞研究已成为 21 世纪现代生命科学研究的最最终汇集点之一。精原干细胞可进行体外培养、冷冻保存、遗传操作及移植, 因而在医学、生物学及动物科学方面均有广泛应用前景。哺乳动物每一类型细胞的存活、分裂、增殖等活动都依赖于一种或多种生长因子, 这些生长因子的减少或缺乏将导致细胞凋亡性死亡。本文根据现有资料阐述与精原干细胞更新分化相关的一些因素及其影响。

1 精原干细胞更新和分化

精原干细胞(spermatogonial stem cell)是指位于睾丸生精小管(semiferous tubule, 也称曲细精管、精曲小管、等)基膜上既能自我更新维持自身群体数量恒定, 又能定向分化形成精母细胞, 最终形成精子的一类原始 A 型精原细胞。精原干细胞是生精上皮中唯一一类没有胞质间桥(细胞间桥)相连的单个精原细胞(single type A spermatogonia, A_s型)。与其他任何成体组织干细胞一样, 精原干

收稿日期: 2004 - 05 - 08

^{*} 基金项目: 云南省自然科学基金(2003C0046M); 广西科学基金(桂科自 0339005)。

作者简介: 李莲军(1963 -), 女, 湖南永州市人, 副教授, 博士, 主要从事动物细胞学、组织学及胚胎学研究。

胞的数量非常少。精原干细胞更新性增殖产生 2 个 A_s 精原干细胞,或者分化性增殖产生 2 个由胞质间桥相连的、成对的 A_{pr} 型 (paired type A spermatogonia) 精原细胞,这 2 个精原细胞形成合胞体。 A_{pr} 精原细胞进一步分化,依次形成 4, 8, 16, 甚至 32 个细胞相连并常排列成串状的 A_{al} 型 (aligned type A spermatogonia) 精原细胞合胞体 (也称精原细胞克隆)。 A_{al} 型进一步分化依次形成 A_1 型、 A_2 型、 A_3 型、 A_4 型、B 型精原细胞合胞体。B 型精原细胞合胞体分化则形成初级精母细胞合胞体。根据精原细胞增殖行为特性和功能可被划分为 3 个类群:干细胞型精原细胞,即 A_s 型;定向增殖型精原细胞,包括 A_{pr} 型和 A_{al} 型;分化型精原细胞,包括从 A_1 型至 B 型间的各类型精原细胞。根据龛位 (niche) 学说, A_s 精原干细胞更新性增殖产生两个 A_s 精原干细胞,其中一个占据原有的干细胞龛位,保持其干细胞特性。另一个只能进入分化性增殖,产生 A_{pr} 精原细胞,除非它能找到支持细胞提供的另一个干细胞龛位。哺乳动物生精上皮受到不利因素影响导致精原细胞大量丢失时,当不利因素消失后,生精上皮的恢复过程包括两步:首先是精原干细胞开始增殖以恢复自身群体数量,在这一过程中,精原干细胞更新性增殖占主导地位,分化性增殖占次要地位;当精原干细胞自身群体数量基本恢复后,精原干细胞更新性增殖退为次要地位,而分化性增殖变得占主导地位^[1]。因此,机体必然存在一个调控机制以调节精原干细胞的增殖。根据目前的研究,胶质细胞源神经营养因子 (GDNF) 很有可能是精原干细胞更新与分化的旁分泌调节物。

2 c-Kit 及其配体 SCF

原癌基因 *c-kit* 位于小鼠第 5 号染色体上,与小鼠白斑位点 (W 位点) 相关,W 位点编码 *c-Kit* 受体,其配体 (KL), 也称青灰因子 (steel factor, SF)、干细胞因子 (SCF) 等,由青灰位点 (SL 位点) 编码。*c-Kit* 是酪氨酸激酶的一个受体,该受体结构与集落刺激因子-1 及血小板源生长因子 (PDGF) 的受体结构相似。W 位点或 SL 位点突变引起生殖细胞、黑色素细胞及血细胞发育缺陷。睾丸中 *c-Kit* mRNA 至少有两种形式,一种编码 *c-Kit* 受体,主要表达于精原细胞及初级精母细胞,另一种编码截短的 *c-Kit* 产物——*tr-Kit* 受体,主要表达于减数分裂后的生殖细胞^[2]。

c-Kit 是数种享有某些相同结构域蛋白质的总称。*c-Kit* 表达于性原细胞、精原细胞、前细线期精母细胞,随着减数分裂的开始,*c-Kit* 表达停止,但 *tr-Kit* 又特异性地表达于减数分裂期以后的生殖细胞中^[2-4]。成年小鼠 *c-Kit* 的表达具有生精上皮时期特异性,这种特异性表达正好与 A_{al} 型向 A_1 型转变相吻合。给小鼠体内注射 ACK-2 抗体 (一种阻断 SCF 与 *c-Kit* 相结合的抗体),引起专一地阻断 $A_1 \sim A_4$ 精原细胞的分化性增殖^[5]。

SCF mRNA 通常也有两种形式,分别编码可溶性 SCF 及膜结合 SCF,两种 SCF 均具有生物活性。两种 SCF 均由支持细胞产生,均能与精原细胞上的 *c-Kit* 受体作用,而可溶性 SCF 有可能到达较远的靶细胞 (如睾丸间质细胞,其也表达 *c-Kit* 受体)。正常的精子发生与膜结合 SCF 表达相关,而可溶性 SCF 的表达则与睾丸萎缩相关^[6]。老龄大鼠睾丸中的可溶性 SCF 比例明显较高^[7]。使用促性腺激素释放激素 (GnRH) 类似物治疗睾丸受损时,精子发生恢复过程伴随膜结合 SCF 的表达恢复正常^[6]。

移植研究发现,正常生殖细胞移植到 SL 位点有缺陷的小鼠睾丸中,精原干细胞可以增殖产生 A_s 型精原干细胞及 A_{pr} 型、 A_{al} 型精原细胞克隆 (合胞体),但不能进一步分化。这些细胞不表达 *c-Kit* 受体。再将正常的 A_s 型及 A_{pr} 型、 A_{al} 型精原细胞移植到 W 位点突变小鼠的睾丸中,这些细胞又开始了既定的分化进程。这表明,SCF 与 *c-Kit* 结合对于维持 A 型精原细胞的分化是必需的,而对于 A_s 型及 A_{pr} 型、 A_{al} 型精原细胞的增殖却是非必需的^[3-5]。研究已证实,膜结合 SCF 是生殖细胞的一种重要促存活因子,它通过抑制细胞凋亡而促进其存活^[8]。体内 *c-Kit* 表达量下降伴随生殖细胞凋亡增加^[9]。由于雄性哺乳动物的前精原细胞 (也称性原细胞) 和精原细胞都不是均一的细胞群体,其中的干细胞数量都非常少,目前也没有合适及方便的方法对其中的干细胞进行鉴别。因此,尽管前精原细胞和精原细胞在群体水平都表达 *c-Kit* 受体,但其中的干细胞是否表达 *c-Kit* 受体,SCF 对这些干细胞的确切作用如何,这两个关键问题仍存在许多疑点,还有待阐明。以 BRL 细胞 (主要产生 SCF) 为饲养层对小鼠精原细胞进行体外培养的结果显示,经大约 5~7 d 的培养筛选后,体系中保留下来的精原细胞 (A_s 型及 A_{pr} 型、 A_{al} 型精原细胞) 并没有明

显的增殖活动,而是随培养时间的推移缓慢丢失^[10]。体外试验结果也表明 SCF 对精原干细胞的更新性增殖没有明显作用。

3 白血病抑制因子(LIF)

LIF 属于 gp 130 超家族一员,由多种细胞合成,具有广泛生物学作用。LIF 通过与细胞膜上受体结合而发挥作用。LIF 最初是因其能维持小鼠胚胎干细胞处于未分化的全能状态,并促进它们的增殖而受到关注。LIF 具有两种形式,一种与细胞外基质(ECM)相连,称基质 LIF,另一种为可溶性 LIF。它们来自对 LIF mRNA 的不同剪切。两种形式的 LIF 在体外时具有相同生物学功能。基质受体能将具有生物活性的 LIF 储存于其中,这种储备可能是调节 LIF 影响生精小管细胞组分的一种方式。

睾丸中的 LIF 主要由管周细胞(peritubular cell)产生^[11]。LIF 及其 mRNA 在啮齿动物的支持细胞、管周细胞、间质细胞以及精原细胞、精母细胞和精子细胞等均有表达。而 LIF 受体 mRNA 表达于小鼠各类型生殖细胞。由此可见,LIF 在精子发生中可能有多方面的作用。在小鼠精原细胞与支持细胞共培养时,以 STO 细胞(分泌 LIF)作为饲养层,培养体系中有少量精原干细胞存活至 4 个月以上,但这些精原干细胞没有明显的增殖活动^[12]。一些研究者在培养液中添加不同浓度的 LIF,最终都没有得到更多的精原干细胞。因此,LIF 对维持精原干细胞的未分化状态及其存活可能有重要作用,但对其更新性增殖和分化性增殖均没有明显作用。

4 胶质细胞源神经营养因子(GDNF)

GDNF 是转化生长因子- β 超家族的一个远房相关成员,它的信号转导受体复合物包括酪氨酸激酶 Ret 受体和 GDNF 家族受体- $\alpha 1$ (GFR- $\alpha 1$)。GDNF 被认为是一个调节多种细胞系发育和分化的多功能信号分子,而不仅仅是一个对特定神经元起作用的营养因子。睾丸中支持细胞表达 GDNF,作为精子发生的旁分泌调节因子。GDNF 受体表达于 A_s 型及 A_{pr} 型、 A_{al} 型精原细胞^[13]。老龄 GDNF^{+/-} 小鼠,由于精原细胞的增殖下降,生殖细胞常出现耗尽,导致生精小管仅有支持细胞而没有精原细胞。GDNF 超量表达的转基因小鼠有精原细胞但不能形成精子。这类小鼠出生 2~3 周后,精原细胞在生精小管中积累,它们不能进一步分化,而是形成

团块阻塞生精小管,随后又凋亡而消散,精子发生被阻断。在此期间,生精小管断面上不仅有正常的精子发生,还有大的细胞团块,这些团块中的细胞没有太多的核异染色质,并表达精原细胞标志 EE_2 ,但不表达 c-Kit 受体,因此属于发育至 A_1 型之前的精原细胞类型。青春期后,这些细胞逐渐退化,导致生精小管萎缩。10 周龄后,尽管生精小管萎缩,但基膜上仍有一层精原细胞。老龄 GDNF 超量表达小鼠常出现生殖细胞肿瘤。对 GDNF 超量表达小鼠注射 V_A (细胞促分化剂),这些细胞不能对此正确地作出反应,它们并不分化,而是凋亡^[14]。这表明 GDNF 在高浓度时促进精原细胞增殖,抑制精原细胞分化^[14]。GDNF 超量表达转基因小鼠生精小管中的精原细胞虽然从形态上被证明是 A 型精原细胞,但它们究竟是精原干细胞,还是增殖性 A 型精原细胞,尚未能证实。

采用精原干细胞移植检测法发现,在对精原细胞进行体外培养时,高浓度 GDNF 的培养体系中有较多的精原干细胞^[15]。采用碱性磷酸酶方法检测体外培养的精原细胞^[16]时发现,在小鼠精原细胞体外培养体系中添加 100 ng/mL GDNF 培养 25 d 后, A_s 型、 A_{pr} 型精原细胞及一些形态异常的精原细胞合胞体数量比对照组增加数倍^[17]。根据以上试验结果,GDNF 很可能是精原干细胞更新分化的旁分泌调节物,高浓度时能促进精原干细胞的更新性增殖。

5 维生素A(V_A)

V_A 是一种强有力的细胞促分化剂。 V_A 对机体的调节功能主要来自于视黄酸(RA),RA 是 V_A 中生物活性最强的形式,被认为是外胚层、中胚层及内胚层来源的组织细胞增殖和分化的调节物。现在,RA 被认为是一个重要的信号分子,作为其核受体的一个配体,能在转录水平调节基因的表达。

在 V_A 缺乏时,动物生精上皮退化,除有支持细胞外,生殖细胞中仅留有精原细胞和少量精母细胞。更进一步的研究表明,在小鼠、大鼠生精上皮中主要有 A_s 型、 A_{pr} 型及 A_{al} 型精原细胞随机分布,这些细胞虽然分裂增殖,但同时也不断凋亡,它们中仅有少量能够进一步分化至精母细胞,而绝大部分则静止于 A_1 型精原细胞的 S 期之前。重新给予 V_A 后,A 型精原细胞能同期化地开始连续 6 次细

胞分裂,形成精母细胞,最终发育为成熟的精子^[1,18,19]。因此, V_A 主要维持和促进精原干细胞的分化。

6 表皮生长因子(EGF)

小鼠生精小管内精原细胞及支持细胞均表达 EGF 受体,因而,精原细胞和支持细胞是 EGF 的靶细胞。下颌腺是表皮生长因子的主要合成之处,切除下颌腺,造成单位支持细胞所支持的精原细胞和精母细胞数量下降^[20]。对 V_A 缺乏动物模型的研究发现,在重新给予 V_A 后,生精上皮中的精原细胞几乎同时启动精子发生,随着精子发生的开始,EGF 浓度渐增,在Ⅸ期至Ⅱ期浓度比其他时期高,正好与 A 型精原细胞分化增殖相吻合^[21]。生精小管段体外培养结果显示,高浓度 EGF(100~200 ng/mL)能诱导 A 型精原细胞分化。而在有促卵泡激素(FSH)存在时,1~100 ng/mL 浓度的 EGF 却显著抑制 FSH 对 A 型精原细胞的促分化作用及 A 型精原细胞的分化^[22]。因而 EGF 对 A 型精原细胞的分化既有促进作用,也有抑制作用,其抑制作用可能是通过阻断 FSH 对 A 型精原细胞的促分化作用而实现^[22]。

7 激素

哺乳动物精子发生过程离不开激素,精原细胞的分化至少部分地依赖于它们。尽管激素(特别是生殖激素)对精子发生的作用已有较多文献报道,但人们对这些激素的作用机理却了解甚少。精原细胞不表达 GnRH 受体^[6],也不表达 FSH 受体及雄激素受体^[23],因此激素是通过睾丸体细胞而间接影响精子发生。正常大鼠短期免疫抑制试验显示,FSH 急速减少会导致精子发生受阻,受影响的精原细胞主要是 A_3 型和 A_4 型(XⅣ期-I期)^[24,25]。当免疫抑制消除后,精子发生恢复的初期需要给予 FSH^[24]。以上结果表明 FSH 变化可能改变了睾丸体细胞的功能状态及其旁分泌活动,从而间接影响精原细胞分化。

精子发生被认为需要有由促性腺激素诱导的睾丸内高浓度睾酮。但对促黄体激素(LH)受体敲除小鼠的研究发现,尽管这种小鼠没有 LH 的作用,且仅有约 2% 正常浓度的睾酮,其精原干细胞能正常地分化到长形精子细胞阶段^[26]。精原干细胞移植研究显示,雄激素受体无功能小鼠的精原干

细胞可以完成精子发生并获得正常的精子^[27]。此外,睾丸萎缩时常伴随有血液中 LH 及 FSH 升高^[28]。采用 GnRH 拮抗剂、GnRH 促进剂、抗雄激素物以及体循环雄激素等方法,抑制体循环 LH 和 FSH,能促进 A 型精原细胞分化,恢复精子发生,从而使由多种因素引起的睾丸可逆和不可逆萎缩得以恢复^[6,28~31]。对老龄大鼠进行 GnRH 促进剂治疗,也能促进 A 型精原细胞分化,使精子发生得到部分恢复^[7]。长时间给予 GnRH 类似物,或采用 GnRH 促进剂缓释包埋等,均造成血液中 LH,FSH 及睾酮浓度先短暂升高,随后是持续抑制,表现为血液中 LH,FSH 及睾丸内睾酮浓度均降低。而此时体循环中的 LH,FSH 抑制状态及伴随的睾丸内低睾酮浓度却有利于 A 型精原细胞的分化^[32,33]。对小鼠的精原干细胞移植试验结果同样显示,给予 GnRH 促进剂,降低睾丸内睾酮,能够促进受体睾丸中精原干细胞的存活和分化,提高精原细胞克隆形成效率^[34,35]。抑制垂体-性腺轴促进精子发生,这种作用不可能仅仅由降低睾丸内睾酮浓度介导,应该还包含有睾丸体细胞的许多旁分泌调节因子的参与。因此,激素对精原细胞的作用及其作用机制是一个十分复杂的过程,还有待于进一步的研究和阐明。

8 温度

将睾丸人为地移入腹腔或盆腔,称为实验性隐睾。隐睾中生殖细胞发生退化,退化表现为细胞凋亡,通过 p53 依赖途径和 p53 非依赖途径两条途径介导^[36]。不同品系小鼠睾丸对温度的耐受不一样。研究显示,小鼠 A 型精原细胞 DNA 合成不受体温的影响,而其他分化型生殖细胞,如 In 型、B 型以及静止的初级精母细胞等,其 DNA 合成受体温的影响,其中晚期精母细胞对热更为敏感;睾丸非生殖细胞 DNA 合成不受体温的影响。隐睾中的精原干细胞仍保持其生物学特性,在适宜的环境条件下,仍能自我更新和分化,最终产生精子^[37]。

在细胞水平上,精原干细胞在形态及行为方面是体内各种干细胞系统中认识得较为清楚的一种,然而在精原干细胞更新分化及调控机制的分子生物学方面,人们了解的仍非常有限,仍有很长的路要走,随着新的实验技术和方法在精原干细胞研究领域的应用,将加快人们对这一领域的进一步认识以及人们对精原干细胞的利用。

[参 考 文 献]

- [1] VAN BEEK ME, MEISTRICH ML. A method for quantifying synchrony in testes of rats treated with vitamin A deprivation and readministration[J]. *Biol Reprod.*, 1990, 42(3): 424 - 431.
- [2] VINCENT S, SEGRETAI D, NISHIKAWA S, et al.. Stage-specific expression of the Kit receptor and its ligand (KL) during male gametogenesis in the mouse: a Kit - KL interaction critical for meiosis[J]. *Development*, 1998, 125(22): 4 585 - 4 593.
- [3] ROSSI P, SETTE C, DOLCI S, et al.. Role of c-kit in mammalian spermatogenesis [J]. *J Endocrinol Invest*, 2000, 23(9): 609 - 715.
- [4] DE ROOIJ DG, OKABE M, NISHIMUNE Y. Arrest of spermatogonial differentiation in *jsd/jsd*, *Sl17H/Sl17H*, and cryptorchid mice[J]. *Biol Reprod.*, 1999, 61(3): 842 - 847.
- [5] YOSHINAGA K, NISHIKAWA S, OGAWA M, et al.. Role of c-kit in mouse spermatogenesis: identification of spermatogonia as a specific site of c-kit expression and function[J]. *Development*, 1991, 113(2): 689 - 699.
- [6] BLANCHARD KT, LEE J, BOEKELHEIDE K. Leuprolide, a gonadotropin-releasing hormone agonist, reestablishes spermatogenesis after 2, 5 - hexanedione - induced irreversible testicular injury in the rat, resulting in normalized stem cell factor expression[J]. *Endocrinology*, 1998, 139(1): 236 - 244.
- [7] HEIDI A. SCHOENFELD, SUSAN J, et al.. Continuously Proliferative Stem Germ Cells Partially Repopulate the Aged, Atrophic Rat Testis after Gonadotropin-Releasing Hormone Agonist Therapy [J]. *Biol Reprod.*, 2001, 64: 1 273 - 1 282.
- [8] FENG HL, SANDLOW JI, SPARKS AE, et al.. Decreased expression of the c-kit receptor is associated with increased apoptosis in subfertile human testes[J]. *Fertil Steril.*, 1999, 71(1): 85 - 89.
- [9] YAN W, SUOMINEN J, TOPPARI J. Stem cell factor protects germ cells from apoptosis in vitro[J]. *J Cell Sci.*, 2000, 113: 161 - 168.
- [10] 李莲军, 李德雪, 张学明, 等. 小鼠精原干细胞冻存后体外培养[J]. *中国应用生理学杂志*, 2004, 20(2): 103 - 104.
- [11] PIQUET - PELLORCE C, DORVAL I, JEGOU B. Paracrine control of spermatogenic stem cells: example of the leukemia inhibitory factor [J]. *Contracept Fertil Sex*, 1997, 25(7 - 8): 565 - 568.
- [12] NAGANO M, AVARBOCK MR, LEONIDA EB, et al.. Culture of mouse spermatogonial stem cells [J]. *Tissue Cell*, 1998, 30: 389 - 397.
- [13] MENG X, DE ROOIJ DG, WESTERDAHL K, et al.. Promotion of seminomatous tumors by targeted overexpression of glial cell line-derived neurotrophic factor in mouse testis[J]. *Cancer Res*, 2001, 61(8): 3 267 - 3 271.
- [14] MENG X, LINDAHL M, HYVONEN ME, et al.. Regulation of cell fate decision of undifferentiated spermatogonia by GDNF[J]. *Science*, 2000, 287(5457): 1 489 - 1 493.
- [15] NAGANO M, RYU BY, BRINSTER CJ, et al.. Maintenance of mouse male germ line stem cells in vitro[J]. *Biol Reprod*, 2003, 68(4): 2 207 - 2 214.
- [16] 李莲军, 陆峻波, 施江滨, 等. 碱性磷酸酶细胞化学法检测体外培养精原细胞[J]. *云南农业大学学报*, 2004, 19(3): 318 - 321.
- [17] 李莲军. 小鼠精原细胞体外长期存活及增殖研究 [M]. 解放军军需大学博士学位论文, 2002, 60 - 65.
- [18] WANG Z, KIM KH. Vitamin A-deficient testis germ cells are arrested at the end of S phase of the cell cycle: a molecular study of the origin of synchronous spermatogenesis in regenerated seminiferous tubules[J]. *Biol Reprod.*, 1993, 48(5): 1 157 - 1 165.
- [19] VAN PELT AM, VAN DISSEL - EMILIANI FM, et al.. Characteristics of A spermatogonia and preleptotene spermatocytes in the Vitamin A - deficient rat testis[J]. 1995, 53(3): 570 - 578.
- [20] REYES AB, WAKASUGI N. Long-term influence of sialoadenectomy on reproductive performance of male mice[J]. *J Reprod Fertil.*, 1995, 105(2): 279 - 285.
- [21] BARTLETT JM, SPITERI-GRECH J, NIESCHLAG E. Regulation of insulin-like growth factor I and stage-specific levels of epidermal growth factor instage synchronized rat testes[J]. *Endocrinology*, 1990, 127(2): 747 - 758.
- [22] HANEJI T, KOIDE SS, TAJIMA Y, et al.. Differential effects of epidermal growth factor on the differentiation of type A spermatogonia in adult mouse cryptorchid testes in vitro[J]. *J Endocrinol*, 1991, 128(3): 383 - 388.
- [23] STAUB C. A century of research on mammalian male germ cell meiotic differentiation in vitro[J]. *J Androl*, 2001, 22(6): 911 - 926.
- [24] MEACHEM SJ, WREFORD NG, STANTON PG, et al.. Follicle-stimulating hormone is required for the initial phase of spermatogenic restoration in adult rats following gonadotropin suppression[J]. *J Androl*, 1998, 19(6): 725 - 735.

- [25] MEACHEM SJ, MCLACHLAN RI, STANTON PG, et al. . FSH immunoneutralization acutely impairs spermatogonial development in normal adult rats[J]. J Androl. , 1999, 20(6): 756 – 762.
- [26] ZHANG FP, PAKARAINEN T, POUTANEN M, et al. . The low gonadotropin – independent constitutive production of testicular testosterone is sufficient to maintain spermatogenesis[J]. Proc Natl Acad Sci. U S A, 2003,100(23): 13 692 – 13 697.
- [27] JOHNSTON DS, RUSSELL LD, FRIEL PJ, et al. . Murine germ cells do not require functional antrogon receptors to complete spermatogenesis following spermatogonial stem cell transplantation[J]. Endocrinology,2001, 142(6): 2 405 – 2 408.
- [28] BOEKELHEIDE K, HALL SJ. 2,5 – Hexanedione exposure in the rat results in long-term testicular atrophy despite the presence of residual spermatogonia[J]. J. Androl. , 1991, 12:18 – 26.
- [29] OKADA H, DOKEN Y, OGAWA Y, TOGUCHI H. Sustained suppression of the pituitary-gonadal axis by leupron three-month depot microspheres in rats and dogs[J]. Pharmacology/Res, 1994, 11: 1 199 – 1 203.
- [30] KANGASNIEMI M, WILSON G, PARCHURI N, et al. . Rapid protection of rat spermatogenic stem cells against procarbazine by treatment with a gonadotropin-releasing hormone antagonist (Nal – Glu) and an antiandrogen (flutamide)[J]. Endocrinology,1995,136:2 881 – 2 888.
- [31] KANGASNIEMI M, WILSON G, HUHTANIEMI I, et al. . Protection against procarbazine-induced testicular damage by GnRH-agonist and antiandrogen treatment in the rat [J]. Endocrinology,1995,136:3 677 – 3 680
- [32] MEISTRICH M L. Hormonal stimulation of the recovery of spermatogenesis following chemo – or radiotherapy [J]. APMIS,1998,106:37 – 45.
- [33] MEISTRICH M L, SHETTY G. Suppression of testosterone stimulates recovery of spermatogenesis after cancer treatment[J]. Int. J. Androl. , 2003,26(3): 141 – 146.
- [34] OGAWA T, DOBRINSKI I, AVARBOCK MR, BRINSTER RL. Leuprolide, a gonadotropin-releasing hormone agonist, enhances colonization after spermatogonial transplantation into mouse testes [J]. Tissue Cell, 1998, 30 (5):583 – 588.
- [35] DOBRINSKI I, OGAWA T, AVARBOCK M R, et al. . Effect of the GnRH-agonist leuprolide on colonization of recipient testes by donor spermatogonial stem cells after transplantation in mice[J]. Tissue Cell, 2001,33(2):200 – 207.
- [36] YIN Y, HAWKINS KL, DEWOLF WC, et al. . Heat stress causes testicular germ cell apoptosis in adult mice [J]. J Androl. , 1997,18(2): 159 – 165.
- [37] SHINOHARA T, AVARBOCK M R, BRINSTER R L. Functional analysis of spermatogonial stem cells in Steel and cryptorchid infertile mouse models [J]. Dev Bio. , 2000,220(2): 401 – 411.

广义氧化还原理论通过专家评审

由云南农业大学科技处组织,邀请省内有关专家,对云南农业大学基础信息学院龚兆胜副教授主持完成的“广义氧化还原理论”进行了成果评审。这一研究结果是研究者经过 20 余年不断学习,努力探索,积累和完善而取得的成果。

评审专家认为:广义氧化还原概念,把各类化学反应系统化,归一化,在此基础上,有望建立一个关于无机化学(分析化学)的更完整的理论体系,且有一定的创新性。该理论已开始渗透到生命科学

中,在土壤化学里,土壤养分的广义电极电势更胜于“养分位”;对生物化学中的某些酸碱反应实现了定量化描述。并且一致认为该理论有利于化学教学和提高教学质量。

评审专家们对该理论中尚存在的问题也提出了看法,如何看待化学键的极性问题等,这些都是需要进一步研讨的问题。

(云南农业大学科技处)