

# 玉米赤霉烯酮对小鼠睾丸间质细胞内 StAR 蛋白及类固醇合成关键酶表达的影响

郑玉龙<sup>1,2</sup>, 刘青<sup>1,3</sup>, 王亚军<sup>1</sup>, 黄沁怡<sup>1</sup>, 徐辉<sup>1</sup>, 王宜安<sup>1</sup>, 顾建红<sup>1</sup>,  
袁燕<sup>1</sup>, 刘学忠<sup>1</sup>, 刘宗平<sup>1,2</sup>, 卞建春<sup>1,2\*</sup>

(1. 扬州大学兽医学院, 扬州 225009; 2. 江苏省动物重要疫病与人兽共患病防控协同创新中心, 扬州 225009;  
3. 焦作出入境检验检疫局, 焦作 454001)

**摘要:** 为了探讨玉米赤霉烯酮(Zearalenone, ZEA)抑制睾丸间质细胞分泌雄激素的毒性机理, 本研究以体外培养的原代小鼠睾丸间质细胞为材料, 分别以 0 (对照组)、1、5、10、20  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  的 ZEA 进行染毒, 染毒 12 h 后, 利用 Western-blot 和 QRT-PCR 技术, 检测了细胞内类固醇合成快速调节蛋白(StAR)和类固醇合成关键酶(P450<sub>scc</sub>、3 $\beta$ -HSD、P450c17a1 和 17 $\beta$ -HSD)在转录和蛋白水平的表达。结果显示, 与对照组相比, 随着 ZEA 染毒浓度的升高, StAR 转录水平及蛋白水平的相对表达量都呈上升趋势( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ); 而类固醇关键酶 P450<sub>scc</sub>、3 $\beta$ -HSD、P450c17a1、17 $\beta$ -HSD 的转录水平及蛋白水平的相对表达量都呈下降趋势( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。结果表明: ZEA 抑制睾丸间质细胞分泌睾酮的一个重要原因是其抑制了睾酮合成通路中类固醇合成关键酶的分泌。

**关键词:** 玉米赤霉烯酮; 小鼠; 睾丸间质细胞; 类固醇合成快速调节蛋白(StAR); 类固醇合成酶

中图分类号: S865.1<sup>+</sup>3.3

文献标志码: A

文章编号: 0366-6964(2014)07-1091-06

## Effects of Zearalenone on the Expression of Steroidogenic Acute Regulatory Protein and Key Enzymes in Primary Leydig Cells

ZHENG Wang-long<sup>1,2</sup>, LIU Qing<sup>1,3</sup>, WANG Ya-jun<sup>1</sup>, HUANG Qin-yi<sup>1</sup>, XU Hui<sup>1</sup>, WANG Yi-an<sup>1</sup>,  
GU Jian-hong<sup>1</sup>, YUAN Yan<sup>1</sup>, LIU Xue-zhong<sup>1</sup>, LIU Zong-ping<sup>1,2</sup>, BIAN Jian-chun<sup>1,2\*</sup>

(1. College of Veterinary Medicine, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China; 2. Jiangsu Co-innovation Center for Prevention and Control of Important Animal Infectious Diseases and Zoonoses, Yangzhou 225009, China; 3. Jiaozuo Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Jiaozuo 454001, China)

**Abstract:** In order to investigate the toxic mechanism of the inhibition of androgen secretion induced by ZEA (Zearalenone) in leydig cells, the primary leydig cells, isolated *in vitro*, were exposed to 0 (control group), 1, 5, 10, 20  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  ZEA for 12 h, respectively. Western-blot and QRT-PCR were used to measure the expressions of Steroidogenic acute regulatory protein (StAR), P450<sub>scc</sub>, 3 $\beta$ -HSD, P450c17a1 and 17 $\beta$ -HSD mRNA and the related proteins. The results showed that the transcription of the mRNA of StAR and the expression of the related proteins were increased dramatically ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ) depended on the concentration of ZEA. In contrast, the transcription of the mRNA of P450<sub>scc</sub>, 3 $\beta$ -HSD, P450c17a1 and 17 $\beta$ -HSD and the expression of the related proteins were decreased significantly ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). In conclusion, the key enzymes of steroid secretion in the pathway of testosterone synthesis played an important

收稿日期: 2014-01-22

基金项目: 江苏高校优势学科建设工程资助项目(PAPD); 江苏省普通高校自然科学基金项目(08KJD230002); 江苏省研究生培养创新工程项目(CXLX13\_921)

作者简介: 郑玉龙(1988-), 男, 江西上饶人, 硕士生, 主要从事动物营养代谢病与中毒病研究, E-mail: keepporkeep@163.com

\* 通信作者: 卞建春, 教授, E-mail: jcbian@yzu.edu.cn

role in the inhibition of androgen secretion induced by ZEA (Zearalenone) in leydig cells.

**Key words:** zearalenone(ZEA); mice; leydig cell; steroidogenic acute regulatory protein(StAR); steroid synthetase

玉米赤霉烯酮(Zearalenone, ZEA)是由镰刀菌产生的一种类雌激素样真菌毒素,其化学名为 6-(10-羟基-6-氧基碳烯基)- $\beta$ -雷锁酸- $\mu$ -内酯<sup>[1]</sup>。产生 ZEA 最常见的是禾谷镰刀菌,此外还有三线镰刀菌、木贼镰刀菌、雪腐镰刀菌、粉红镰刀菌等,广泛存在于霉变的玉米、高粱、小麦等谷类作物和奶中,具有很强的生殖毒害和致癌性<sup>[2]</sup>。目前研究表明,ZEA 主要是作用于生殖系统,对雌性动物和雄性动物都能产生危害。在 ZEA 中毒时,雄性动物生殖系统主要表现为睾丸萎缩、乳头肿大、包皮水肿、精液浓度降低、质量下降等症状以及精原细胞和精母细胞都有不同程度的损伤<sup>[3-4]</sup>。J. Y. Yang 等<sup>[5]</sup>持续 7 d 在成年雄性小鼠腹腔内注入 0、25、50、75 mg·kg 体重<sup>-1</sup>的玉米赤霉烯酮,结果发现精子的生产效率和血清睾酮浓度显著降低,且与 ZEA 所用剂量存在正相关。J. Yang 等<sup>[6]</sup>的研究中采用了 hCG 刺激 Leydig 细胞分泌睾酮,结果显示,睾酮的分泌量与 ZEA 的暴露浓度呈现负相关。但是目前人们对 ZEA 抑制睾丸间质细胞分泌睾酮的分子机理尚不完全清楚。

睾酮是一种类固醇激素,以胆固醇为原料在睾丸间质细胞内经过一系列酶催化反应而合成的,胆固醇进入细胞后,首先在类固醇激素合成快速调节蛋白(StAR)作用下,由线粒体外膜转运进内膜,然后在细胞色素 P450 胆固醇侧链裂解酶(P450scc)的催化下裂解成孕烯醇酮,孕烯醇酮再由  $3\beta$ -羟类固醇脱氢酶( $3\beta$ -HSD)催化成孕酮,细胞色素 P450 $17\alpha$ -羟化酶(P450c17a1)又催化孕酮生成雄烯二酮,它作为雄激素的前体物质在  $17\beta$ -羟类固醇脱氢酶( $17\beta$ -HSD)的作用下,最终生成睾酮<sup>[7-9]</sup>。本研究在建立小鼠原代睾丸间质细胞体外毒性模型的基础上,通过测定 ZEA 对 StAR、P450scc、 $3\beta$ -HSD、P450c17a1、 $17\beta$ -HSD 在转录水平和翻译水平表达的影响,旨在从分子水平揭示 ZEA 抑制睾酮分泌的机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要试剂及材料

5~8 周龄雄性 ICR 小鼠(扬州大学比较医学中心提供),试验动物生产许可证编号:SCXK2012-

0004。ZEA 标准品(Sigma, USA),蛋白浓度测定试剂盒(碧云天,中国),总 RNA 提取试剂盒(Axygen, USA),StAR 抗体、P450scc 抗体、 $3\beta$ -HSD 抗体、P450c17a1 抗体、 $17\beta$ -HSD 抗体(Santa Cruz, USA),所有的 PCR 引物由英潍捷基上海有限公司合成,其他试剂均为国产分析纯。

### 1.2 主要仪器

电泳仪 PROTEAH、电泳槽、转膜仪均为 BIO-RAD(USA)公司出品,超声波细胞破碎仪 JY92-2D(宁波新芝生物科技服务有限公司),AB7500 荧光定量 PCR 仪(Applied Biosystems, USA),二氧化碳培养箱(Thermo, USA),5810 R 台式高速冷冻离心机(Eppendorf, Germany)。

### 1.3 睾丸间质细胞的分离与培养

分离及培养方法参照文献<sup>[10]</sup>,采用酶消化法和连续密度梯度 Percoll 离心法将间质细胞进行分离,收集细胞后并用 D-MEM/F-12 在 5% CO<sub>2</sub>、37 °C 条件下培养。

### 1.4 分离小鼠睾丸间质细胞的计数与活率鉴定

将获得的睾丸间质细胞悬液吹打均匀,取细胞悬液与 0.4% 台盼蓝溶液按 9:1 的比例充分混匀,显微镜下观察细胞活率。

### 1.5 离体小鼠睾丸间质细胞的纯度鉴定

采用改进 J. P. Wiebe 的方法<sup>[11]</sup>,将每孔中的培养液吸去 1.6 mL,留 0.4 mL,每孔加入新配制的  $3\beta$ -HSD 底物作用液 0.8 mL 之后摇匀,将培养板放在 37 °C 环境下作用 2 h 后,在倒置显微镜下观察各孔细胞,根据染成蓝色的细胞个数决定细胞的纯度。

### 1.6 建立体外中毒模型

原代取材的小鼠睾丸间质细胞在 5% CO<sub>2</sub>、37 °C 条件下,培养 24 h 后,状态稳定的情况下开始 ZEA 暴露,根据暴露浓度的不同设为 0、1、5、10、20  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  5 组,暴露时间为 12 h。

### 1.7 ZEA 对小鼠睾丸间质细胞内 StAR、P450scc、 $3\beta$ -HSD、P450c17a1、 $17\beta$ -HSD 转录水平表达影响的测定

1.7.1 间质细胞总 RNA 的提取 RNA 的提取由细胞总 RNA 小量制备试剂盒(Axyprep, USA)来完成,具体操作根据试剂盒内提供的说明书进行。

用细胞刮刮取附着在六孔板底面的细胞,将细胞与培养上清一同收集至离心管离心,弃上清,收集细胞。向收集得到的细胞内加入 Buffer R-I, Buffer R-II, 漩涡振荡后离心,取上清,加入异丙醇颠倒混和均匀,离心弃滤液,加入 Buffer W1A,离心弃滤液,加入 Buffer W2 离心,以同样的方法再用 Buffer W2 洗涤 1 次。加 Buffer TE 或 RNase-free 水,洗脱得 RNA。制备后的 RNA 分装后, -80 °C 保存。

表 1 物序列

Table 1 Primer sequences

基因名称 Gene name	引物序列(5'-3') Primer sequence	产物大小/bp Product size
<i>StAR</i>	F:GCCTTCCAGAGTATTCCAAC R:TAGTAGGGAAGTCGGACAAT	69
<i>P450scc</i>	F:CGTGACCAGAAAAGACAACA R:AGGATGAAGGAGAGGAGAGC	152
<i>3<math>\beta</math>-HSD</i>	F:TAGTATTGCTTTTATTTCCCCCT R:ATTTATTGCTGTTTTTGTGTTTGC	91
<i>P450c17a1</i>	F:CATCCCACACAAGGCTAACAT R:CTCCGAAGGGCAAATAACTG	200
<i>17<math>\beta</math>-HSD</i>	F:TGGGGCTGGAGGGAGAGT F:TATTTGGGGGGAGGGGTTC'	228
<i><math>\beta</math>Actin</i>	F:CGTTGACATCCGTAAAGAC R:TGGAAGGTGGACAGTGAG	201
<i>GAPDH</i> <sup>[12]</sup>	F:AAATGGTGAAGGTCGGTGTG R:TGAAGGGGTCGTTGATGG	108

1.7.4 Real-time PCR 本试验采用 SYBR® Premix Ex Taq™ (TaKaRa, Japan) 试剂盒,并按照说明书的要求配成 20  $\mu$ L PCR 体系。将 Real-time PCR 体系所需各种试剂加入 96 孔微量反应板中,再装入预热过的 AB7500 荧光定量 PCR 仪中,反应条件:95 °C 30 s;95 °C 5 s,59 °C 34 s,共 40 个循环。60~95 °C 熔解曲线分析。

### 1.8 ZEA 对小鼠睾丸间质细胞内 StAR、P450scc、3 $\beta$ -HSD、P450c17a1、17 $\beta$ -HSD 蛋白表达影响的测定

将直径 100 mm 细胞培养皿从 CO<sub>2</sub> 培养箱中取出,用细胞刮刮取附着在培养皿底部的细胞,将细胞与培养上清同时转移至 50 mL EP 管中。每个培养皿用 5 mL PBS 液冲洗并将冲洗液回收至相应的 50 mL EP 管中,4 °C 500 g 离心 10 min,弃上清,将聚集在管底的细胞用 1 mL PBS 重悬并转移至 1.5 mL EP 管中,重复离心与重悬 2~3 次,以清洗培养基中的血清干扰。根据细胞数量加入 100~150  $\mu$ L

1.7.2 RNA 去基因组及反转录 基因组 DNA 去除及反转录反应由 PrimeScript® RT reagent Kit with gDNA Eraser (TaKaRa, Japan) 完成。反转录的 cDNA 利用 T043NanoDrop (Thermo, USA) 测定浓度后,适当分装, -20 °C 保存。

1.7.3 引物的设计 所用引物见表 1 所示,除 GAPDH 内参为引用文献 [12] 外,其余的均用 Primer5 软件设计引物。

含蛋白酶抑制剂的细胞裂解液。4 °C 裂解 30 min 后,超声波细胞破碎仪裂解 30 s,4 °C、12 000 g 离心 10 min,去上清,即为蛋白样品。以上所有操作在冰上或 4 °C 条件下进行,蛋白样品浓度的测定采用 BCA 试剂盒(碧云天)测定,用 5 $\times$ SDS PAGE loading buffer 与样品蛋白 6:1 的比例混合,在 100 °C 的沸水中,煮沸 10 min 后, -20 °C 保存。

每个样品的蛋白取 30~50  $\mu$ g,加到浓缩胶分离胶进行电泳,电泳后进行转膜,用 TBST 包含 5% 的脱脂奶粉在室温下进行封闭 2 h,按说明书的比例将一抗用 5% 的 TNST 稀释,在 4 °C 环境下过夜,用 TBST 洗脱 5 次后,加入 1:2 000 的二抗室温孵育 2 h,在暗室中,加入发光液进行显影。

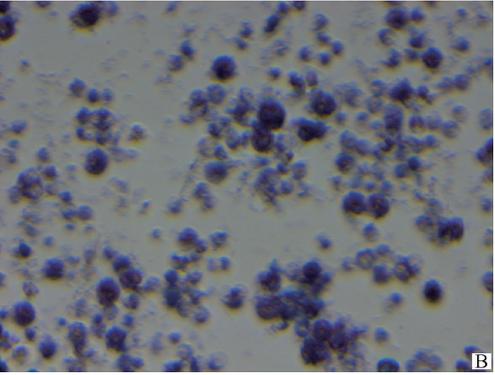
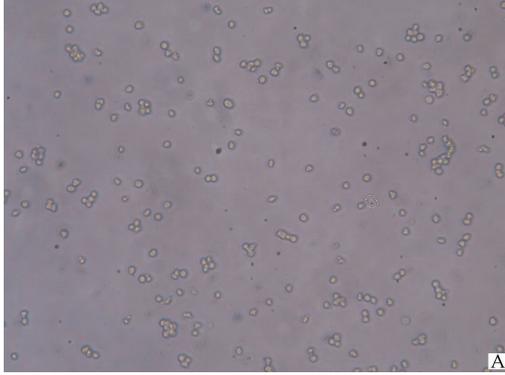
### 1.9 数据分析

Real-time PCR 的数据处理采用 2<sup>- $\Delta\Delta$ CT</sup> 法,由 SPSS 软件的 One-way ANOVA 分析数据,并对分析结果作图。

## 2 结果

### 2.1 小鼠睾丸间质原代细胞的纯度鉴定

原代取材得到的小鼠睾丸间质细胞活率和细胞纯度都为 90%，台盼蓝拒染法测定细胞活率见图 1A，其中晶莹剔透的没有着色的细胞为活细胞，染成暗蓝色的细胞为死细胞。Wiebe 法  $3\beta$ -HSD 底物



A. 台盼蓝染色 100 $\times$ ; B. Wiebe 染色 200 $\times$   
A. Trypan blue staining; B. Wiebe staining 200 $\times$

图 1 小鼠睾丸间质细胞

Fig. 1 Mouse Leydig cells

的增加呈上升趋势，与对照组比较，10  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  剂量组和 20  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  剂量组分别呈现显著 ( $P < 0.05$ ) 和极显著差异 ( $P < 0.01$ )。P450scc、 $3\beta$ -HSD、P450c17a1 和  $17\beta$ -HSD 的 mRNA 水平各染毒组均较对照组下降，P450scc 和  $3\beta$ -HSD 在 ZEA 浓度为 1  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  时就急剧下降 ( $P < 0.01$ )，而染毒浓度为 5 和 10  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  时，反而出现升高趋势 ( $P < 0.05$ )，至 20  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  时，再次下降 ( $P < 0.01$ )；P450c17a1 和  $17\beta$ -HSD 则随着染毒浓度的增加呈下降趋势，且与对照组相比差异均显著或极显著 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。

### 2.3 ZEA 对小鼠睾丸间质细胞内 StAR、P450scc、 $3\beta$ -HSD、P450c17a1、 $17\beta$ -HSD 蛋白水平表达的影响

由图 3 可见，随着染毒浓度的增加，StAR 蛋白的表达量呈现上升趋势，与对照组比较，均存在显著 ( $P < 0.05$ ) 或极显著 ( $P < 0.01$ ) 差异。而 P450scc、 $3\beta$ -HSD、P450c17a1、 $17\beta$ -HSD 的蛋白水平表达量随染毒浓度的增加均呈现明显的下降趋势 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。

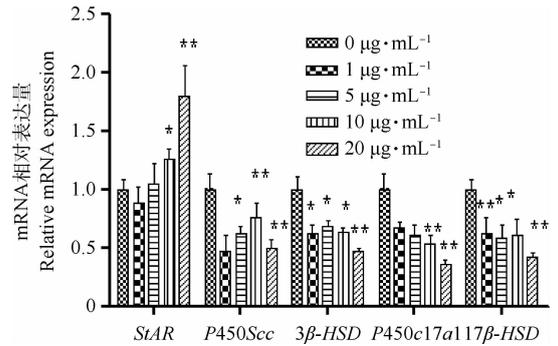
## 3 讨论

研究表明，ZEA 具有抑制小鼠睾丸间质细胞活性作用，随着 ZEA 剂量的增加，细胞相对存活率逐

作用液染色的原代睾丸间质细胞见图 1B，其中被染成深蓝色的细胞为睾丸间质细胞。

### 2.2 ZEA 对小鼠睾丸间质细胞内 StAR、P450scc、 $3\beta$ -HSD、P450c17a1、 $17\beta$ -HSD 等 mRNA 水平表达的影响

如图 2 所示，随着染毒浓度的增加，各基因的表达趋势有所不同。StAR 的转录水平随着染毒浓度



\*. 差异显著,  $P < 0.05$ ; \*. 差异极显著,  $P < 0.01$ . 下同  
\*.  $P < 0.05$ ; \*.  $P < 0.01$ . The same as below

图 2 不同浓度玉米赤霉烯酮对小鼠 Leydig 细胞 StAR、P450scc、 $3\beta$ -HSD、P450c17a1 和  $17\beta$ -HSD 转录水平表达的影响

Fig. 2 Effect of different concentration ZEA to StAR, P450scc,  $3\beta$ -HSD, P450c17a1 and  $17\beta$ -HSD mRNA expression of Leydig cells

渐降低，当 ZEA 浓度为 10  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  时，细胞相对存活率为 54.49%，接近半数致死浓度，当 ZEA 浓度为 40  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  时，细胞相对存活率仅为 12.03%，染毒 24 h 后，显微镜下观察细胞几乎死亡<sup>[10]</sup>。研究表明，ZEA 具有雌激素活性，通过与雌激素受体结合而作用于动物的生殖系统，引起各种雌激素样作用<sup>[13-14]</sup>。J. Y. Yang 等<sup>[5]</sup> 持续 7 d 在成

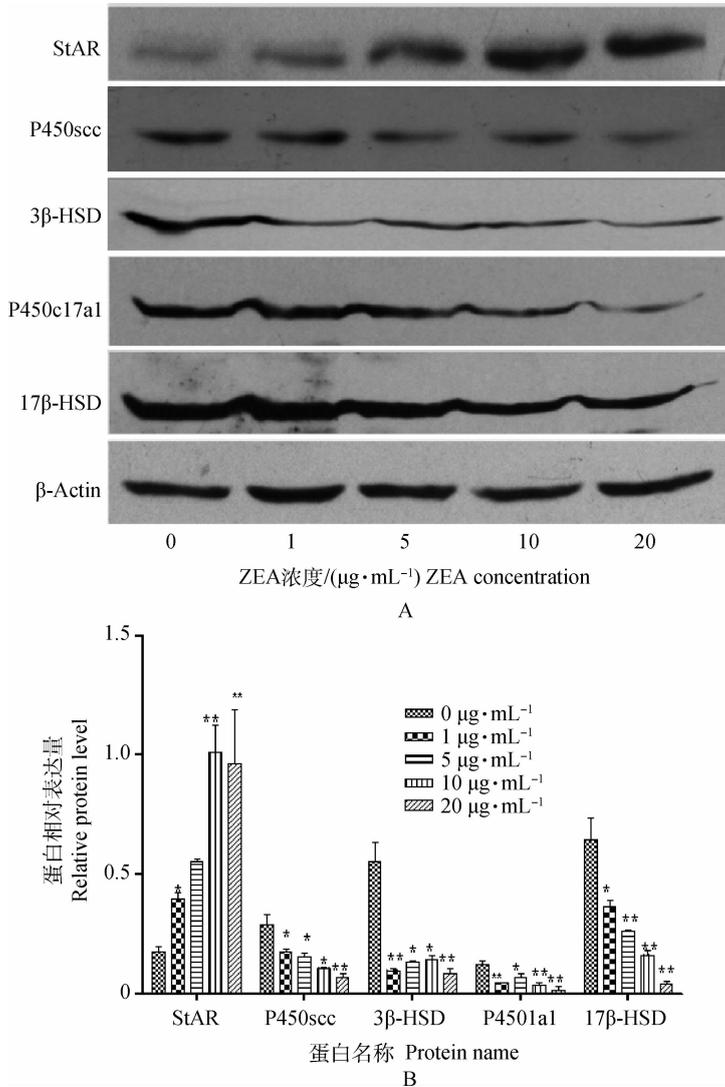


图3 不同浓度 ZEA 对小鼠 Leydig 细胞 StAR、P450scc、3β-HSD、P450c17a1、17β-HSD 在蛋白水平表达的影响

Fig. 3 Effect of different concentration ZEA to StAR, P450scc, 3β-HSD, P450c17a1, 17β-HSD protein expression of Leydig cells

年雄性小鼠腹腔内注入 0、25、50、75 mg·kg 体重<sup>-1</sup>的 ZEA,结果精子的生产效率和血清睾酮浓度显著降低,且与 ZEA 所用剂量存在正相关。J. Yang 等<sup>[6]</sup>的研究中采用了 hCG 刺激 Leydig 细胞分泌睾酮,结果显示,睾酮的分泌量与 ZEA 的暴露浓度呈现负相关。刘青等<sup>[15]</sup>研究表明,无论在 LH 还是 hCG 环境下 ZEA 都可通过 cAMP 途径使小鼠睾丸间质细胞分泌睾酮的量显著降低。

睾酮的合成主要由 LH 诱导,当 LH 与 LHR 结合后使腺苷酸环化酶或 G 蛋白系统产生 cAMP,从而激活蛋白激酶,促使类固醇激素合成调节蛋白和酶的表达,进而刺激睾酮的合成<sup>[16]</sup>。睾酮合成的原材料是存在于线粒体外的胆固醇,胆固醇从线粒

体外膜转运至内膜参加类固醇激素合成,该过程需要 StAR 作用于线粒体外膜,介导并促进胆固醇的转运,该过程是睾酮合成起始限速步骤<sup>[17]</sup>,StAR 主要参与类固醇合成的早期调节<sup>[18]</sup>。而类固醇合成的晚期调节,是通过调控类固醇合成相关酶的表达实现的<sup>[19]</sup>。P450scc 位于线粒体内,其主要作用是将转入线粒体内的胆固醇侧链裂解转化为孕烯醇酮<sup>[20]</sup>,孕烯醇酮是所有类固醇激素合成的前体,经羟化和侧链裂解形成睾酮。3β-HSD 的作用是将孕烯醇酮转化为孕酮,后者再经 P450c17a1 催化孕酮生成雄烯二酮,它作为雄激素的前体物质在 17β-HSD 的作用下,最终生成睾酮<sup>[7-9]</sup>。

本研究结果显示,Leydig 细胞暴露在不同浓度

的 ZEA 环境中,StAR 在转录水平和翻译水平的表达量均升高,并与 ZEA 的浓度成正比例关系。StAR 表达的增加可以促进原材料胆固醇从线粒体外膜向线粒体内膜的转移,进而加快睾酮的合成。但大量的体内外研究证实<sup>[5-6]</sup>,ZEA 具有抑制睾酮合成的作用,这说明 ZEA 抑制睾酮合成并不是通过抑制调节蛋白 StAR 所引起的,而是通过其他途径导致的。在 ZEA 的作用下,StAR 表达的增加可能与睾酮对细胞的反馈调节有关。

本研究测定的 ZEA 对类固醇合成关键酶影响的结果显示,睾丸间质细胞内类固醇合成关键酶 P450scc、 $3\beta$ -HSD、P450c17a1、 $17\beta$ -HSD 的转录水平和翻译水平表达量,随着 ZEA 的浓度升高都呈下降趋势。这些结果提示,ZEA 抑制睾酮的分泌一个重要原因,可能是其抑制了睾丸间质细胞类固醇合成关键酶 P450scc、 $3\beta$ -HSD、P450c17a1、 $17\beta$ -HSD 的表达,从而抑制睾酮的合成,其抑制关键酶合成的机制有待进一步研究。

#### 4 结 论

ZEA 对睾丸类固醇合成早期调节蛋白 StAR 没有抑制作用,但可以在转录水平和翻译水平显著抑制睾丸类固醇合成晚期调节酶 P450scc、 $3\beta$ -HSD、P450c17a1 和  $17\beta$ -HSD 等的表达,这可能是 ZEA 抑制睾丸间质细胞分泌睾酮的一个重要原因。

#### 参考文献:

- [1] RYU D, HANNA M A, BULLERMAN L B. Stability of Zearalenone during extrusion of corngrit[J]. *J Food Prot*, 1999, 62(12):1482-1484.
- [2] 邓友田, 袁 慧. 玉米赤霉烯酮毒性机理研究进展[J]. *动物医学进展*, 2007, 28(2):89-92.
- [3] MINERVINIA F, MARITATOB F, MMOIAB P, et al. Toxic effects of the mycotoxin zearalenone and its derivatives on *in vitro* maturation of bovine oocytes and  $17\beta$ -estradiol levels in mural granulosa cell cultures [J]. *Toxicol in vitro*, 2001, 15(4-5):489-495.
- [4] KIM I H, HWA SON H Y, CHO S W, et al. Zearalenone induces male germ cell apoptosis in rats [J]. *Toxicol Letters*, 2001, 15(3):185-192.
- [5] YANG J Y, WANG G X, LIU J L, et al. Toxic effects of zearalenone and its derivatives alpha zearalenol on male reproductive system in mice [J]. *Reprod Toxicol*, 2007, 24(3-4):381-387.
- [6] YANG J, ZHANG Y, WANG Y, et al. Toxic effects of zearalenone and alpha-zearalenol on the regulation of steroidogenesis and testosterone production in

mouse leydig cells [J]. *Toxicol in vitro*, 2007, 21(4):558-565.

- [7] CHRISTENSON L K, STRAUSS J F. Steroidogenic acute regulatory protein (StAR) and the intramitochondrial translocation of cholesterol [J]. *Biolchim Biophys Acta*, 2000, 1529(1-3):175-187.
- [8] STOCCO D M. Recent advances in the role of StAR [J]. *Rev Reprod*, 1998, 3(2):82-85.
- [9] STOCCO D M. Starting to understand cholesterol transfer [J]. *Nat Struct Biol*, 2000, 7(6):445-447.
- [10] ZHEN J W, LIU Q, GU J H, et al. Single cell gel electrophoresis assay of porcine leydig cell DNA damage induced by zearalenone [J]. *Agr Sci Technol*, 2012, 13(7):1587-1590.
- [11] WIEBE J P. Seroidogenesis in rat leydig cells; changes in activity of 5-ane and 5-ene-3-beta-hydroxysteroid dehydrogenase during sexual maturation [J]. *Endocrinology*, 1976, 98(2):505-513.
- [12] TSAI H Y, LIN H Y, FONG Y C, et al. Paeonol inhibits RANKL-induced osteoclastogenesis by inhibiting ERK, p38 and NF-kappa B pathway [J]. *Eur J Pharmacol*, 2008, 588(1):124-133.
- [13] KIANG D T, KENNEDY B J, PATHRE S V, et al. Binding characteristics of zearalenone analogs to estrogen receptors [J]. *Cancer Res*, 1978, 38(11):3611-3615.
- [14] KATZENLLENBOGEN B S, KATZENLLENBOGEN J A, MORDECAI D. Zearalenones; characterization of the estrogenic potencies and receptor interactions of a series of fungal beta-resorcylic acid lactones [J]. *Endocrinology*, 1979, 105:33-40.
- [15] 刘 青, 王亚军, 徐 辉, 等. LH/HCG 受体与 cAMP 在玉米赤霉烯酮抑制小鼠 Leydig 细胞分泌睾酮中作用的研究 [J]. *畜牧兽医学报*, 2013, 44(7):1147-1154.
- [16] MANNA P R, DYSON M T, STOCCO D M. Regulation of the steroidogenic acute regulatory protein gene expression; present and future perspectives [J]. *Mol Hum Reproduct*, 2009, 15(6):321-333.
- [17] STOCCO D M. Intramitochondrial cholesterol transfer [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2000, 1486(1):184-197.
- [18] CLARK B, STOCCO D M. Steroidogenic acute regulatory protein; the StAR still shines brightly [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 1997, 134(1):1-8.
- [19] HUM D W, MILLERW L. Transcriptional regulation of human genes for steroidogenic enzymes [J]. *Clin Chem*, 1993, 39(2):333-340.
- [20] STOCCO D M. StAR protein and the regulation of steroid hormone biosynthesis [J]. *Annu Rev Physiol*, 2001, 63:193-213.