

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2018.13.003

不同移植部位对成年大鼠睾丸间质细胞雄激素分泌功能的影响*

王彤 崔江波 王芳 宋雅娟 马显杰 苏映军[△] 彭湃 余州[△]

(第四军医大学西京医院整形外科 陕西 西安 710032)

摘要 目的:探索不同移植部位对移植的成年 SD 大鼠睾丸中睾丸间质细胞存活及雄激素分泌功能的影响。**方法:**将健康成年雄性 SD 大鼠随机分为对照组、假手术组、皮下组和肾包膜组。对照组大鼠不去势,其余大鼠于睾丸移植前 1 周行去势手术。对照组和假手术组去势后仅行背部皮肤切开,不进行睾丸移植;皮下组背部两侧各移植 1/3 个成年 SD 大鼠睾丸组织;肾包膜组每侧肾包膜下移植 1/3 个成年 SD 大鼠睾丸组织。4 周后取材行 HE 和免疫组化染色,分析移植睾丸组织中睾丸间质细胞存活情况,ELISA 法检测受体大鼠血清睾酮水平。**结果:**皮下组和肾包膜组移植植物中难于见到完整的睾丸间质组织,但免疫组化染色发现大量 HSD-17 β 1 阳性细胞,对照组、皮下组和肾包膜组的 HSD-17 β 1 阳性细胞数分别为(24.33 $\pm$ 4.30)、(9.83 $\pm$ 4.05)和(12.67 $\pm$ 2.81)个,对照组与皮下组相比差异具有统计学意义($p < 0.05$);ELISA 分析发现对照组、假手术组、皮下组和肾包膜组的血清睾酮浓度分别为(3.81 $\pm$ 1.32)、(0.28 $\pm$ 0.08)、(0.44 $\pm$ 0.13)和(0.90 $\pm$ 0.31)ng/mL,肾包膜组血清睾酮浓度高于假手术组($p < 0.01$)和皮下组($p < 0.05$),而皮下组血清睾酮水平高于假手术组,但两者差异无统计学意义($p > 0.05$)。**结论:**移植的成年大鼠睾丸组织中的睾丸间质细胞可在受体肾包膜下或皮下存活,但肾包膜下移植可能更加有利于睾丸间质细胞存活和雄激素分泌。

关键词: 睾丸移植;移植部位;睾丸间质细胞;雄激素;分泌

中图分类号: R-33; R622.9; R697.22 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2018)13-2414-05

The Effects of Different Transplant Sites on Androgen Secretion of Adult Rat Leydig Cells*

WANG Tong, CUI Jiang-bo, WANG Fang, SONG Ya-juan, MA Xian-jie, SU Ying-jun[△], PENG Pai, YU Zhou[△]

(Institute of Plastic Surgery, Xijing Hospital, The Fourth Military Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710032, China)

ABSTRACT Objective: To explore the effects of different transplant sites on survival and androgen secretion of Leydig cell of adult rat testis. **Methods:** Healthy adult rats were randomly divided into control group, sham group, subcutaneous group, and kidney capsule group. Rats in control group kept intact, the remaining rats underwent castration 1 week before testis transplantation. The dorsal skin of rats in control group and sham group were cut, but no testis was transplanted subcutaneously; 1/3 testis was transplanted subcutaneously at each side of dorsal skin of rats in subcutaneous group, while testis of the same volume was transplanted under the kidney capsule of rats in the kidney capsule group. The grafts were obtained 4 weeks later. Then the Leydig cell were examined by using HE staining and immunohistochemistry staining. And the testosterone concentration of recipient serum was analyzed by ELISA. **Results:** Interstitial tissues intact were not found in grafts in subcutaneous group and kidney capsule group. But numerous HSD-17 β 1-positive cells were observed in samples of both groups. And the number of HSD-17 β 1-positive cell of control group, subcutaneous group, and kidney capsule were (3.81 $\pm$ 1.32), (9.83 $\pm$ 4.05), and (12.67 $\pm$ 2.81) separately. The testosterone concentration of rat serum of control group, sham group, subcutaneous group, and kidney capsule group were (3.81 $\pm$ 1.32), (0.28 $\pm$ 0.08), (0.44 $\pm$ 0.13), and (0.90 $\pm$ 0.31) ng/mL separately. The testosterone concentration of kidney capsule group was higher than that in sham group ($p < 0.01$) and subcutaneous group ($p < 0.05$), while the testosterone concentration of serum in subcutaneous group was higher than that in sham group, but the difference between the two groups was not statistically significant ($p > 0.05$). **Conclusions:** Leydig cells in testis grafts could survive under the kidney capsule or back skin of recipients. However, the microenvironment of under kidney capsule might be more suitable for Leydig cell survival and androgen secretion.

Key words: Testis transplantation; Transplant site; Leydig cell; Androgen; Secretion

Chinese Library Classification (CLC): R-33; R622.9; R697.22 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2018)13-2414-05

* 基金项目: 国家自然科学基金项目(30973752, 81272118); 西京医院学科助推计划项目(XJZT15M23)

作者简介: 王彤(1990-), 研究实习员, 主要研究方向: 异体复合组织移植, 电话: 18647991707, E-mail: wangtong900415@163.com

[△] 通讯作者: 苏映军, 电话: 18729971166, E-mail: xjzx2011@fmmu.edu.cn;

余州, 电话: 18049217099, E-mail: yz20080512@163.com

(收稿日期: 2018-01-05 接受日期: 2018-02-08)

前言

睾丸肿瘤切除致睾丸缺失和中老年男性雄激素部分缺乏综合征 (partial androgen deficiency of the aging male, PADAM) 患者在临床较为常见,他们均存在雄激素供给不足问题^[1-4]。直接补充外源性雄激素是最为常见的雄激素缺乏征治疗方法,但该方法亦存在首过效应等问题^[5]。因此,探寻更加适宜的雄激素缺乏征治疗方案就显得尤为迫切。移植具有雄激素分泌功能的睾丸组织是较为理想的方案之一。肾包膜下和皮下是较为常见的移植受区^[6,7],但哪个部位更加有利于移植睾丸组织存活和雄激素分泌却有待探讨。为解决上述问题,课题组开展了成年 SD 大鼠睾丸组织移植研究,探索了肾包膜下和皮下微环境对移植睾丸组织中睾丸间质细胞存活和雄激素分泌功能的影响,为雄激素缺乏症患者睾丸移植部位的选择提供实验参考。

1 材料与方法

1.1 实验动物及试剂

8 周龄健康雄性 SD 大鼠 48 只,体重 250-300 g,购自第四军医大学实验动物中心;血清睾酮检测 ELISA 试剂盒 (ab108666) 购自美国 Abcam 公司;兔抗大鼠 HSD-17 β 1 抗体 (BA3399) 购自中国武汉博士德生物工程有限公司;免疫组化二抗 (Dako REALTME nVisionTM kit, K5007) 购自美国 DAKO 公司;HE 染色试剂和其他实验用试剂耗材均购自西安依科生物技术有限公司。

1.2 实验分组及术前准备

将上述成年 SD 大鼠随机分为对照组、假手术组、皮下组和肾包膜组。睾丸移植前 1 周对假手术组、皮下组和肾包膜组大鼠行去势手术,对照组不做任何处理。具体如下:按 50 mg/Kg 的剂量腹腔注射戊巴比妥钠溶液,麻醉受体大鼠,备皮后对大鼠行去势手术:沿阴囊正中线切开双侧皮肤及白膜,暴露睾丸,小心分离睾丸和附睾,电凝止血并凝结附睾头和附睾尾,切除睾丸,分层缝合白膜及阴囊皮肤,消毒后放回鼠笼饲养,单笼饲养。实验大鼠均饲养于含屏障系统的动物房中,其环境温度为 20-25 °C,通风良好。自然昼夜更替。实验符合第四军医大学第一附属医院实验动物伦理标准并获得了第四军医大学第一附属医院伦理委员会批准。

1.3 睾丸移植

受体去势 1 周后行睾丸移植手术。移植睾丸组织亦来源于 8 周龄 SD 大鼠 (购自第四军医大学实验动物中心)。具体移植过程如下:常规麻醉后备皮,离断供体睾丸,将单个睾丸切成大小相近的三等分,每个部位移植 1/3 个睾丸。对照组和假手术组仅在受体背部两侧各做一纵形切口,分离皮肤及皮下组织至肉膜暴露,使之形成一腔隙,但不进行睾丸移植,止血后逐层缝合皮肤。皮下组在脊柱两侧腔隙中各移植 1/3 个睾丸组织。肾包膜组在背部脊柱两侧切口,通透至腹腔,小心将肾脏牵引至体外,在手术显微镜下 (8 $\times$) 用显微手术剪将肾包膜剪开,使其形成一个小的切口,玻璃剥离针分离肾脏和外膜,取 1/3 个睾丸移植至肾包膜下,将肾脏回置腹腔,缝合肌肉和皮肤,碘酒消毒。待受体大鼠苏醒后放入鼠笼,单笼饲养。移植 1/3 睾丸组织的原因:文献回顾发现,受体只要拥有正常睾丸组织 1/10 的睾

丸间质细胞即可满足受体雄激素需要^[8];同时肾包膜下容积有限,单侧肾包膜下最多只能容纳 1/3 个睾丸组织,移植过多组织易导致肾包膜破裂,且不利于移植睾丸存活。

1.4 标本采集

术后第 4 周测量各组大鼠体重,按 50 mg/Kg 腹腔注射绒毛膜促性腺激素 (hCG),3 小时后内眦采血,4 °C、4000 $\times$ g 离心 20 分钟后,收集上清,以备睾酮浓度测定 (ELISA 法)。采血后立即脱臼处死受体大鼠,对移植睾丸组织进行取材,10%甲醛溶液固定 24-48 h,常规脱水、透明、浸蜡和包埋,以备 HE 染色和免疫组化分析用。

1.5 免疫组化

对包埋移植物行 4 μ m 厚切片,常规脱蜡水化后,采用柠檬酸盐缓冲液 (pH6.0) 高压修复 3 min,待其冷却至室温后,用含 3% H₂O₂ 的甲醇溶液处理切片 10 min,以灭活内源性过氧化物酶,用含 0.1% Tween 20 (v/v) 的 PBS 溶液洗涤切片 3 次,再用含 10% 山羊血清的 PBS 溶液室温封闭切片 1 h,按 1:200 稀释兔抗大鼠 HSD-17 β 1 抗体,4 °C 孵育过夜,次日用含 0.1% Tween 20 (v/v) 的 PBS 溶液洗涤切片 3 次,免疫组化用二抗 (Dako REALTME nVisionTM kit) 室温孵育切片 1 h,洗涤后采用 DAB 显色,苏木素复染细胞核 2 min,分化 20 s,返蓝、脱水、透明和封片。每组选择 6 个热点视野,采用 Nikon 50i 显微镜进行拍照,并对照片中 HSD-17 β 1 阳性细胞进行计数,以备统计分析用。图片亮度和对比度调整采用 Photoshop CC 软件进行。

1.6 ELISA 检测血清睾酮水平

血清睾酮检测严格按照 Abcam 公司试剂盒说明书进行 (ab108666)。简要介绍如下:冰上放置,解冻待测血清;同时室温平衡试剂盒 30 min,使试剂充分溶解。实验包含标准品、对照品和实验品。待血清解冻和试剂平衡至室温后,按 25 μ L/孔分别向 ELISA 板中加入标准品、对照品和待测血清,再按 100 μ L/孔加入 Testosterone-HRP Conjugate 溶液,37 °C 恒温箱中孵育 1 h,洗涤缓冲液洗涤 ELISA 板 5 次,每次务必控干残留液体,再按照 100 μ L/孔加入 TMB 底物显色,室温反应 15 min,再按 100 μ L/孔加入反应终止液,15 min 后在 TECAN 200Pro 酶标仪上测定各孔吸光度值。

1.7 统计学处理

所有数据均采用 SPSS 18.0 软件进行分析。实验结果采用表示,满足正态分布、方差齐性,采用单因素方差分析,不满足正态分布或方差不齐,采用非参数检验,以 $P < 0.05$ 表述差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 移植物大体外观

移植 4 周后取材,对照组睾丸形态完好,睾丸外膜和血管清晰可见 (图 1 A);皮下组移植睾丸组织尚存,生精小管完整,但色泽苍白,被一层致密且血供丰富的纤维包膜包裹 (图 1 B);肾包膜下移植睾丸组织生精小管清晰可见,紧密贴附于肾脏 (图 1 C),但色泽与正常睾丸生精小管亦存在一定区别。

2.2 HE 染色结果

形态学分析发现,对照组睾丸组织发育良好,睾丸间质明显,成团分布,与周围生精小管界限清楚,睾丸间质细胞形态完

好,呈嗜伊红性(图 2 A);皮下组炎性细胞浸润较多,生精小管破坏严重,生精小管间隙依然可见,但未见成团分布的睾丸间质和睾丸间质细胞(图 2 B);肾包膜组炎性浸润更为严重,生精

小管保存较皮下组好。但皮下组和肾包膜组睾丸间质及睾丸间质细胞难于通过光镜直接观察,有待免疫组化染色进一步分析(图 2 C)。

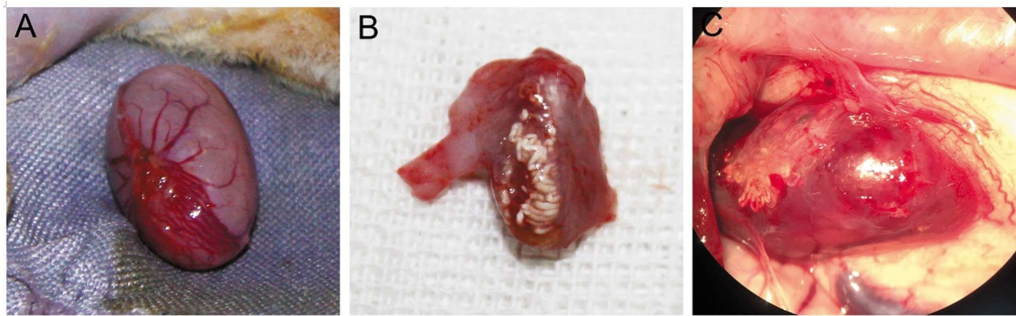


图 1 移植外观

Fig.1 The appearance of grafts

注:A:对照组;B:皮下组;C:肾包膜组

Note: A: Control group; B: Subcutaneous group; C: Kidney capsule group

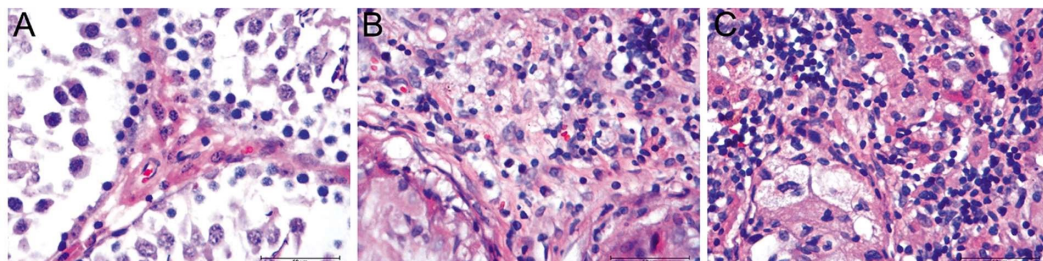


图 2 移植 HE 染色

Fig.2 HE staining for grafts

注:A:对照组;B:皮下组;C:肾包膜组(400×)

Note: A: Control group; B: Subcutaneous group; C: Kidney capsule group

2.3 免疫组化染色结果

免疫组化染色分析发现,对照组(12 周龄 SD 大鼠)睾丸间质细胞 HSD-17 β 1 染色呈强阳性,成团分布,特异性地定位于生精小管间隙(图 3 A);皮下组移植中亦可见散在或成团分布的 HSD-17 β 1 阳性细胞,部分分布于残存的生精小管间隙,部分散在分布于生精小管周围(图 3 B);肾包膜组中的 HSD-17 β 1 阳性细胞大多成团分布于生精小管间隙,散在分布细胞较少(图 3 C)。对照组、皮下组和肾包膜组的 HSD-17 β 1 阳性细胞数分别为(24.33 $\pm$ 4.30)、(9.83 $\pm$ 4.05)和(12.67 $\pm$ 2.81)个,对照组与皮下组的 HSD-17 β 1 阳性细胞数相比差异具有统计学意义($P<0.05$,图 3D),肾包膜组的 HSD-17 β 1 阳性细胞数虽然较皮下组多,但两者差异无统计学意义($P>0.05$,图 3D)。

2.4 ELISA 分析结果

睾丸移植 4 周后,给予 hCG 刺激 3h,采集血清行 ELISA 分析,发现对照组、假手术组、皮下组和肾包膜组的血清睾酮浓度分别为(3.81 $\pm$ 1.32)、(0.28 $\pm$ 0.08)、(0.44 $\pm$ 0.13)和(0.90 $\pm$ 0.31)ng/mL,对照组与假手术组、皮下组和肾包膜组相比差异均具有统计学意义($P<0.01$);肾包膜组血清睾酮浓度高于皮下组和假手术组,与皮下组相比差异具有统计学意义($P<0.05$),而与假手术组相比差异极显著($P<0.01$);皮下组睾酮浓度虽高于假手术组,但两者差异无统计学意义($P>0.05$);假手术组血清睾酮浓度最低。具体结果详见图 4。

3 讨论

睾丸移植是有效解决雄激素缺乏征的手段之一。而睾丸是一个对血氧要求较高的组织^[9-12]。因此,移植受区的选择至关重要。课题组研究发现,移植于受体肾包膜下或皮下的睾丸组织生精小管均存在不同程度的破坏,睾丸间质细胞难于通过 HE 染色直接分辨,而免疫组化染色却在移植物中发现了一定数量的 HSD-17 β 1 阳性细胞,表明睾丸间质细胞依然存在,但肾包膜组移植物中的 HSD-17 β 1 阳性细胞更为集中。课题组也发现,存活的成年睾丸组织中睾丸间质细胞形态学特征不及 CD TURNER 等报道的睾丸内移植的胚胎睾丸间质细胞明显,因为睾丸内移植的睾丸组织中间质细胞成团分布,且表现出明显的嗜伊红性^[13],提示睾丸内可能是更加适宜的移植受区,因为睾丸具有免疫豁免功能^[14-16];同时,新生大鼠睾丸组织分化程度较低^[17],免疫原性较弱,且耐缺血缺氧能力强,有利于移植后存活。课题组还发现,肾包膜组和皮下组大鼠血清睾酮水平平均高于去势的假手术组,进一步证明存活的睾丸间质细胞具有雄激素分泌功能。肾包膜组大鼠雄激素水平较皮下组高,表明肾包膜下微环境可能更加有利于移植物中睾丸间质细胞的存活和雄激素合成及分泌。T KUOPIO 等的研究结果与本研究相似,他们将新生大鼠睾丸移植到成年大鼠皮下或肾包膜下,发现移植物中睾丸间质细胞存活良好,但肾包膜组血清睾酮浓度

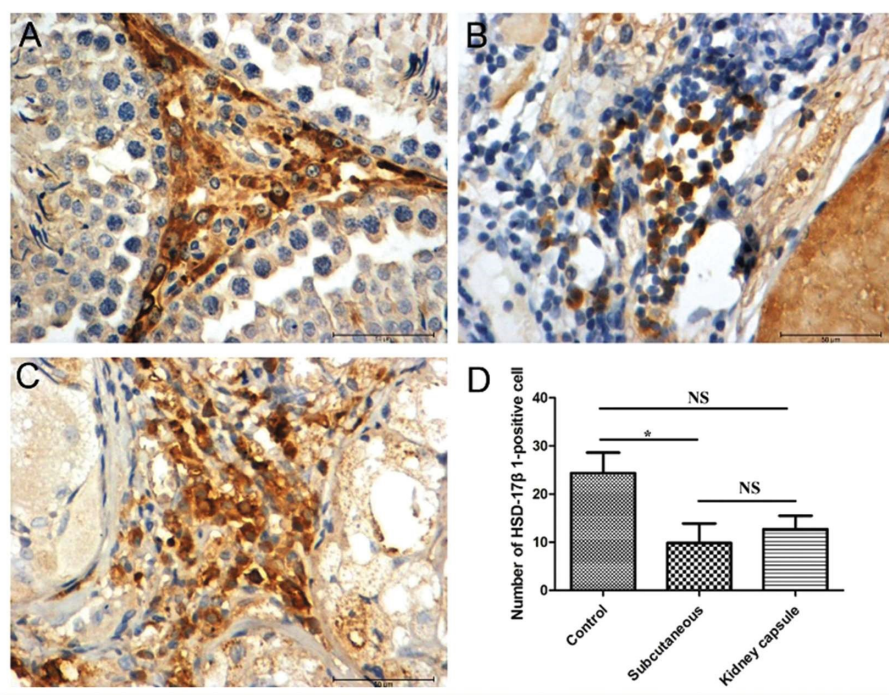


图3 HSD-17β1 免疫组化染色

Fig.3 Immunohistochemistry staining for HSD-17β1

注:A:对照组;B:皮下组;C:肾包膜组(400×)

* 表示两组差异具有统计学意义($P<0.05$);NS表示两组相比差异无统计学意义($P>0.05$)。

Note: A: Control group; B: Subcutaneous group; C: Kidney capsule group

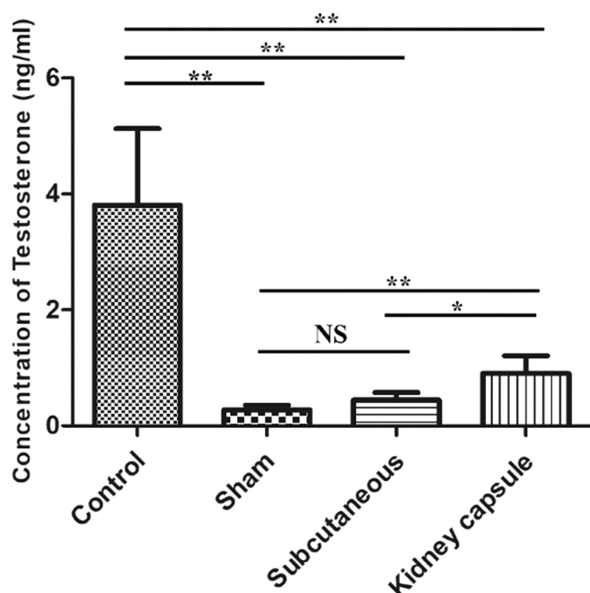
* indicates the difference between the two groups was statistically significant ($P<0.05$); NS indicates the difference between the two groups was not statistically significant ($P>0.05$).

图4 ELISA 检测受体血清睾酮浓度

Fig.4 Testosterone concentration of recipient serum analyzed by using ELISA

注:**表示两组差异具有统计学意义($P<0.01$);*表示两组差异具有统计学意义($P<0.05$);NS表示两组相比差异无统计学意义($P>0.05$)。Note: ** indicates the difference between the two groups was statistically significant ($P<0.01$); * indicates the difference between the two groups was statistically significant ($P<0.05$); NS indicates the difference between the two groups was not statistically significant ($P>0.05$).

高于皮下组^[6]。Antonio Miragem 等通过成年 Wistar 大鼠睾丸皮下移植发现,单个睾丸移植即可有效提高受体睾酮水平和交配次数^[17],表明存活的睾丸间质细胞有效改善了受体的雄激素缺乏征症状。Kai Yi 等通过基于血管吻合的成年大鼠睾丸移植研究发现,移植睾丸中的间质细胞存活良好,但此模型为带血管蒂的睾丸移植模型,血流重建迅速,缺血时间短,对移植组织中睾丸间质细胞存活影响较小^[18]。但大多数受体缺乏适宜的受区血管,临床应用受到较大限制。而肾脏血流丰富,且包膜较薄,易于重建血流,且有利于移植睾丸组织分泌的雄激素进入血液,改善受体雄激素缺乏征症状。综上发现,肾包膜下可能是更加适应的睾丸移植受区。

睾丸间质细胞移植亦是解决雄激素缺乏征的方案之一,但该方法存在较多局限性。Lee 等开展了大鼠睾丸间质细胞自体移植研究,但发现移植细胞雄激素分泌难于长期维持^[8]。Sun 等将分离的睾丸间质细胞移植到去势受体的阴囊白膜内,但移植细胞雄激素分泌功能恢复较为缓慢,且持续时间有限^[19]。Deng 等将睾丸间质细胞悬液注射到去势大鼠阴囊皮下,发现在 4 周内可有效提高受体雄激素水平、促进精囊腺生长和性能力的维持,但其雄激素水平却远远低于正常大鼠^[20]。更为重要的是,移植的睾丸间质细胞很快就会丧失雄激素分泌功能。究其原因,主要是因为睾丸间质细胞为终末分化细胞,增殖能力有限,且移植后细胞内内质网会受到不同程度破坏,最终导致其雄激素合成和分泌功能丧失,甚至移植睾丸间质细胞完全死亡。

为克服睾丸间质细胞死亡问题,干细胞或睾丸间质样细胞

移植就成为了新的探索对象^[21]。Yazawa 等将骨髓间充质干细胞移植到未成年大鼠睾丸,发现移植细胞主要定位于睾丸间质,且分化成为了具有一定雄激素合成和分泌功能的睾丸间质样细胞,但该细胞在分泌雄激素的同时还具有更强的糖皮质激素分泌能力,可能会对受体产生较多不利影响^[22]。Yang 等将小鼠胚胎干细胞或过表达 SF-1 的小鼠胚胎干细胞移植到经二甲基磺酸乙烷(ethylene dimethanesulfonate,EDS)处理的大鼠睾丸,发现经 8-溴-环腺苷酸(8-bromo-cyclic 3,5-adenosine monophosphat,8-Br-cAMP)和佛司可林(forskolin)处理后可分化为睾丸间质样细胞,并能表达较多雄激素合成相关基因,且其雄激素水平高于二甲基磺酸乙烷处理大鼠^[23]。Jiang 等将 Nestin 阳性的睾丸间质干细胞移植到经二甲基磺酸乙烷处理的大鼠睾丸或老年大鼠睾丸,发现 Nestin 阳性细胞主要定位于睾丸间质,并且在一定程度提高了雄激素水平,表明睾丸间质干细胞移植治疗雄激素缺乏征具有一定可行性^[24]。Yang 等将小鼠成纤维细胞重编程为睾丸间质样细胞,并移植到剔除睾丸间质细胞的大鼠或小鼠睾丸,发现诱导的睾丸间质样细胞主要定位于睾丸间质,并能使受体大鼠或小鼠的血清睾酮恢复到正常水平^[25]。上述睾丸内细胞移植虽在短时间内改善了受体雄激素水平,但是否能够长期维持还有待探索。更为重要的是,因肿瘤所致睾丸摘除或外伤致睾丸缺失患者并无睾丸存在,干细胞移植缺乏适宜受区。而其他部位并无睾丸内微环境,即使移植干细胞亦无法使其维持睾丸间质细胞特性、发挥雄激素分泌功能。Chen 等的研究证实了睾丸微环境对睾丸间质细胞再生和雄激素分泌功能的重要性。他们发现,体外培养的生精小管可再生睾丸间质细胞,表明生精小管含有睾丸间质干细胞;体外培养的经二甲基磺酸乙烷处理后的睾丸间质不能再生睾丸间质细胞;但如果将生精小管和经二甲基磺酸乙烷处理后的睾丸间质共培养,可促进经二甲基磺酸乙烷处理的睾丸间质中睾丸间质细胞再生。说明生精小管可通过旁分泌调节睾丸间质细胞的再生和雄激素的分泌^[26]。上述结果进一步表明,若没有睾丸微环境的存在,干细胞移植治疗雄激素缺乏征将受到极大限制。同时,睾丸间质干或祖细胞分离程序繁杂,且体外扩增易影响其雄激素分泌功能^[27,28],其应用亦受到极大限制。因此,睾丸移植不仅可提供睾丸间质细胞,还能为干细胞的分化和睾丸间质细胞的形成提供适宜微环境,促进雄激素分泌及睾丸间质细胞再生,缓解雄激素缺乏征症状。而肾包膜下微环境血供丰富,新生血管易于长入,有利于血供恢复和分泌的雄激素进入循环血液,满足受体雄激素供给需要,可能是更为适宜的睾丸移植部位。

本研究虽然证明了移植成年大鼠睾丸组织可在一定程度恢复雄激素供给,但雄激素分泌是否能够长期维持却还有待探索。同时,SD 大鼠虽为封闭群,但其 MHC 抗原并不完全一致,免疫排斥在所难免,导致部分移植睾丸组织坏死甚至被完全吸收。因此,睾丸移植的免疫抑制剂用药方案亦值得深入研究。尽管如此,本研究仍可为睾丸移植受区的选择提供有益参考。

参考文献(References)

- [1] Pang C, Guan Y, Li H, et al. Urologic cancer in China [J]. *Jpn J Clin Oncol*, 2016, 46(6): 497-501
- [2] Bandak M, Jorgensen N, Juul AV, et al. Testosterone deficiency in testicular cancer survivors - a systematic review and meta-analysis[J]. *Andrology*, 2016, 4(3): 382-388
- [3] Foresta C, Calogero AE, Lombardo F, et al. Late-onset hypogonadism: beyond testosterone[J]. *Asian J Androl*, 2015, 17(2): 236-238
- [4] Rey RA, Grinspon RP, Gottlieb S, et al. Male hypogonadism: an extended classification based on a developmental, endocrine physiology-based approach[J]. *Andrology*, 2013, 1(1): 3-16
- [5] Basaria S, Coviello AD, Travison TG, et al. Adverse events associated with testosterone administration [J]. *N Engl J Med*, 2010, 363 (2): 109-122
- [6] Kuopio T, Savouras PO, Pelliniemi LJ, et al. Transplantation of newborn rat testis under the kidney capsule of adult host as a model to study the structure and function of Leydig cells[J]. *J Androl*, 1989, 10 (5): 335-345
- [7] Miragem A, Neto BS, Reche M, et al. Subcutaneous autologous testicle transplantation in Wistar rats[J]. *IntUrolNephrol*, 2009, 41(2): 313-318
- [8] Lee MS, Hong SJ, Choi HR, et al. Testosterone productivity and histostructural changes of autotransplanted rat Leydig cells[J]. *Yonsei Med J*, 1994, 35(3): 260-270
- [9] Tremblay JJ. Molecular regulation of steroidogenesis in endocrine Leydig cells[J]. *Steroids*, 2015, 103: 3-10
- [10] Hemadi M, Shokri S, Moramezi F, et al. Potential use of melatonin supplementation to protect vitrified testicular grafts from hypoxic-ischaemic damage[J]. *Andrologia*, 2014, 46(5): 513-521
- [11] Zepeda AB, Figueroa CA, Calaf GM, et al. Male reproductive system and antioxidants in oxidative stress induced by hypobaric hypoxia[J]. *Andrologia*, 2014, 46(1): 1-8
- [12] Habert R, Muczynski V, Grisin T, et al. Concerns about the widespread use of rodent models for human risk assessments of endocrine disruptors[J]. *Reproduction*, 2014, 147(4): R119-129
- [13] Turner CD, Asakawa H. Complete spermatogenesis in intratesticularhomotransplants of fetal and neonatal testes in the rat [J]. *Proc SocExpBiol Med*, 1963, 112: 132-135
- [14] Chen Q, Deng T, Han D. Testicular immunoregulation and spermatogenesis[J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2016, 59: 157-165
- [15] Loveland KL, Klein B, Pueschl D, et al. Cytokines in Male Fertility and Reproductive Pathologies: Immunoregulation and Beyond [J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2017, 8: 307
- [16] Zhao S, Zhu W, Xue S, et al. Testicular defense systems: immune privilege and innate immunity [J]. *Cell Mol Immunol*, 2014, 11(5): 428-437
- [17] Zhang M, Wang J, Deng C, et al. Transplanted human p75-positive stem Leydig cells replace disrupted Leydig cells for testosterone production[J]. *Cell Death Dis*, 2017, 8(10): e3123
- [18] Yi K, Hatayama N, Hirai S, et al. Development of heterotopic transplantation of the testis with the epididymis to evaluate an aspect of testicular immunology in rats [J]. *PLoS One*, 2017, 12 (5): e0177067
- [19] Sun J, Xi YB, Zhang ZD, et al. Leydig cell transplantation restores androgen production in surgically castrated prepubertal rats[J]. *Asian J Androl*, 2009, 11(4): 405-409

- Mesenchymal Stem Cells in the Field of Tissue-engineering Scientific Research [J]. Progress in Modern Biomedicine, 2017, 17 (5): 982-984, 992
- [12] Vodyanik MA, Yu J, Zhang X, et al. A mesoderm-derived precursor for mesenchymal stem and endothelial cells[J]. Cell Stem Cell, 2010, 7(6): 718-729
- [13] Crisan M, Yap S, Casteilla L, et al. A perivascular origin for mesenchymal stem cells in multiple human organs[J]. Cell Stem Cell, 2008, 3(3): 301-313
- [14] Engin A. Endothelial Dysfunction in Obesity [J]. Adv Exp Med Biol, 2017, 960: 345-379
- [15] Sun RL, Huang CX, Bao JL, et al. CC-Chemokine Ligand 2 (CCL2) Suppresses High Density Lipoprotein (HDL) Internalization and Cholesterol Efflux via CC-Chemokine Receptor 2 (CCR2) Induction and p42/44 Mitogen-activated Protein Kinase (MAPK) Activation in Human Endothelial Cells[J]. J Biol Chem, 2016, 291(37): 19532-19544
- [16] Sanders TA. Reappraisal of SFA and cardiovascular risk [J]. Proc Nutr Soc, 2013, 72(4): 390-398
- [17] Sampath H, Ntambi JM. Role of stearoyl-CoA desaturase-1 in skin integrity and whole body energy balance [J]. J Biol Chem, 2014, 289 (5): 2482-2488
- [18] Yoon DS, Choi Y, Cha DS, et al. Triclosan Disrupts SKN-1/Nrf2-Mediated Oxidative Stress Response in *C. elegans* and Human Mesenchymal Stem Cells[J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 12592
- [19] Park YH, Kim SU, Lee BK, et al. Prx I suppresses K-ras-driven lung tumorigenesis by opposing redox-sensitive ERK/cyclin D1 pathway [J]. Antioxid Redox Signal, 2013, 19(5): 482-496
- [20] Ooi BK, Goh BH, Yap WH. Oxidative Stress in Cardiovascular Diseases: Involvement of Nrf2 Antioxidant Redox Signaling in Macrophage Foam Cells Formation[J]. Int J Mol Sci, 2017, 18(11)
- [21] Briggs MA, Petersen KS, Kris-Etherton PM. Saturated Fatty Acids and Cardiovascular Disease: Replacements for Saturated Fat to Reduce Cardiovascular Risk[J]. Healthcare (Basel), 2017, 5(2)
- [22] Chen X, Liu L, Palacios G, et al. Plasma metabolomics reveals biomarkers of the atherosclerosis[J]. J Sep Sci, 2010, 33(17-18): 2776-2783
- [23] Sokolova M, Vinge LE, Alfsnes K, et al. Palmitate promotes inflammatory responses and cellular senescence in cardiac fibroblasts [J]. Biochim Biophys Acta, 2017, 1862(2): 234-245
- [24] Hashimoto K, Ishida E, Miura A, et al. Human stearoyl-CoA desaturase 1 (SCD-1) gene expression is negatively regulated by thyroid hormone without direct binding of thyroid hormone receptor to the gene promoter[J]. Endocrinology, 2013, 154(1): 537-549
- [25] Southam AD, Khanim FL, Hayden RE, et al. Drug Redeployment to Kill Leukemia and Lymphoma Cells by Disrupting SCD1-Mediated Synthesis of Monounsaturated Fatty Acids [J]. Cancer Res, 2015, 75 (12): 2530-2540
- [26] Hess D, Chisholm JW, Igal RA. Inhibition of stearoylCoA desaturase activity blocks cell cycle progression and induces programmed cell death in lung cancer cells[J]. PLoS One, 2010, 5(6): e11394
- [27] Malumbres M, Barbacid M. Cell cycle, CDKs and cancer: a changing paradigm[J]. Nat Rev Cancer, 2009, 9(3): 153-166

(上接第 2418 页)

- [20] Deng B, Bondarenko T, Pakhomov O. Changes in Sexual Behavior of Orchiectomized Rats Under Influence of Allotransplantation of Testicular Interstitial Cell Suspension [J]. Cell Transplant, 2017, 26: 795-803
- [21] Peak TC, Haney NM, Wang W, et al. Stem cell therapy for the treatment of Leydig cell dysfunction in primary hypogonadism[J]. World J Stem Cells, 2016, 8: 306-315
- [22] Yazawa T, Mizutani T, Yamada K, et al. Differentiation of adult stem cells derived from bone marrow stroma into Leydig or adrenocortical cells[J]. Endocrinology, 2006, 147: 4104-4111
- [23] Yang Y, Su Z, Xu W, et al. Directed mouse embryonic stem cells into leydig-like cells rescue testosterone-deficient male rats in vivo [J]. Stem Cells Dev, 2015, 24: 459-470
- [24] Jiang MH, Cai B, Tuo Y, et al. Characterization of Nestin-positive stem Leydig cells as a potential source for the treatment of testicular Leydig cell dysfunction[J]. Cell Res, 2014, 24: 1466-1485
- [25] Yang Y, Li Z, Wu X, et al. Direct Reprogramming of Mouse Fibroblasts toward Leydig-like Cells by Defined Factors [J]. Stem Cell Reports, 2017, 8: 39-53
- [26] Chen H, Jin S, Huang S, et al. Transplantation of alginate-encapsulated seminiferous tubules and interstitial tissue into adult rats: Leydig stem cell differentiation in vivo? [J]. Mol Cell Endocrinol, 2016, 436: 250-258
- [27] Inoue M, Shima Y, Miyabayashi K, et al. Isolation and Characterization of Fetal Leydig Progenitor Cells of Male Mice[J]. Endocrinology, 2016, 157(3): 1222-1233
- [28] Carney CM, Muszynski JL, Strotman LN, et al. Cellular microenvironment dictates androgen production by murine fetal Leydig cells in primary culture[J]. BiolReprod, 2014, 91(4): 85