

小鼠无精症模型的研究进展

徐源鸿 邵明广 王天阳 李思强* 李恩中*

(黄淮学院生物与食品工程学院 463000)

摘要: 无精症动物模型的构建与获得对其无精症发病机制研究、保健品和治疗药物筛选及其作用机理研究等具有重要意义。本文系统回顾小鼠无精症模型的构建方法,包括化学法、物理法及生物法等,并分析各种方法的优势与缺点,以期对相关研究提供一定的参考。

关键词: 小鼠;无精症模型;化学法;物理法;生物法

精子发生 (Spermatogenesis) 是由精原干细胞 (Spermatogonial Stem Cells, SSCs) 经过严格调控的自我更新和分化成为成熟精子的过程^[1]。同时,精子发生是一个复杂、精密调控的过程,一旦发生异常将会导致无精症、弱精症和少精症等症状,引起雄性不育^[1]。雄性不育不仅制约畜牧业的发展,还危及人类健康,世界卫生组织数据显示,全球有 10%~15% 的育龄夫妇存在不孕不育问题,而男性不育占 50%,已成为影响人类健康的第三大疾病^[2]。目前,雄性不育的发病机制还不清楚,治疗效果不理想,尚需对其原因、机制及治疗手段等进行更加深入的研究。但雄性不育动物模型的构建与获得是开展该类研究的基础与前提。小鼠无精症模型在研究雄性不育发病机制及相关保健或治疗性药物筛选方面发挥重要作用,是研究雄性不育的重要模型^[3]。由于不同的构建方法显著影响小鼠无精症模型的建立,如稳定性差异较大、对其他器官的影响不同等^[4-8],甚至同一建模方法也会产生较大的个体差异^[9-11],显著影响后续研究的准确性。因此,本文从化学方法(化疗药物)、物理方法(放射性射线、隐睾手术)及生物方法(转基因动物)建立小鼠无精症模型的研究进展进行综述,并分析具体方法的特点,以期对无精症动物模型研究、产生机理及药物筛选等方面的研究提供一定的参考。

1 化学方法

由于精子发生易受某些化疗药物(如抗癌剂)的抑制,所以以化疗药物构建无精症动物模型的方法有效可行^[10]。此外,注射化疗药物简单易行,对实验人员的操作熟练度要求相对较低。因此,以化疗药物构建无精症模型已成为现在最主流的方法之一。

1.1 白消安

白消安 (Busulfan, BU) 又称马利兰,为氮芥类烷化剂甲基磺酸酯类的代表药物。临床上主要用于治疗慢性粒细胞白血病及造血干细胞移植预处理和抗肿瘤等^[4,12]。由于白消安可以使 DNA 单链和双链交联,精原干细胞在 G0/G1 期发生阻断,可用于无精模型的构建。

常用的白消安建模浓度为 10、20、30、40、50mg/kg^[5,13-18],通过试验证实,单次腹腔注射 50mg/kg 剂量为致死剂量^[17]。Zhao 等单次腹腔注射 30mg/kg 浓度的白消安后发现一重要糖酵解酶 (PGAM1) 的表达量下调^[14];由于 P53、Caspase 3、

Caspase 6 和 Caspase 9 与细胞凋亡相关,并且当 PGAM1 表达量下降后,上述细胞凋亡信号被激活放大,故推测 PGAM1 通过上述凋亡途径来引起生精细胞凋亡。Olfati 等通过使用 30mg/kg 白消安成功构建了小鼠无精症模型,并使用促卵泡生成激素 (Follicle-stimulating Hormone, FSH) 和雌二醇 (Estradiol, E2) 处理模型小鼠后发现,其在一定程度上使试验小鼠恢复了精子发生的能力,表明促卵泡生成激素 (FSH) 和雌二醇 (E2) 可能具有降低白消安效应的能力^[15]。王得志优化了白消安的最适浓度,通过构建 5 个浓度梯度的无精症模型发现,注射 30mg/kg 白消安后第 4 周末绝大多数睾丸单倍体细胞被排除,少部分生精细胞仍留在体内,且在该浓度下小鼠的死亡率 (6.5%) 在接受范围内,因而确定了 30mg/kg 白消安浓度为最佳的小鼠无精症建模浓度^[17]。参见表 1。后有关学者更改了 40mg/kg 浓度白消安的注射方式,将单次腹腔注射改为 3h 内分两次腹腔注射,且考虑到溶剂二甲基亚砜 (Dimethyl Sulfoxide, DMSO) 的毒理性质,将 DMSO 浓度降为 5% 后,小鼠存活率显著提升 (存活率为 100%)^[19]。

由于白消安具有骨髓抑制作用,会导致血液中红细胞、白细胞、血小板等数量减少,从而导致小鼠因缺血死亡^[5]。为此,研究报道,在腹腔注射白消安时,同时注射同源骨髓细胞的方法可以显著降低小鼠死亡率^[20]。张茨等报道了在停药 4 周后小鼠体内血象趋于正常,这表明小鼠造血功能已趋于正常^[5];基于此种现象,张茨后又提出睾丸内注射白消安的方法,发现该方法可降低白消安在血液循环中的浓度,显著提高小鼠给药后的存活率。

此外,利用白消安来构建小鼠无精子症模型还面临着模型差异性的问题,相同剂量的白消安得到最终的死亡率结果也会出现差异^[5,15,17,21]。造成这一显著差异的原因在于部分白消安经腹腔注射进入血液循环后被消耗或被代谢掉,使得白消安浓度低于理论浓度^[11]。此外,小鼠个体差异及生长环境的影响也会使模型具有差异性^[6]。

1.2 环磷酰胺

环磷酰胺 (Cyclophosphamide, CP) 是一种光谱抗肿瘤药,属周期非特异性药,与白消安所代表的氮芥的作用机制相同。临床发现,环磷酰胺会导致男性性腺功能衰退,睾丸缩小及精子减少^[22]。伍欢等采用腹腔注射 40mg/kg 的环磷酰胺的方法来

基金项目:河南省重大科技专项(创新示范专项)(191110110600);河南省自然科学基金(212300410203);黄淮学院高级人才引进项目(1000.12.01.167)和黄淮学院国家级项目培育基金(1000.11.07.1678.1002)。

*通信作者:李思强(1985-),男,博士,副教授,研究方向:动物遗传育种与繁育。

李恩中(1974-),男,博士,教授,研究方向:动物遗传育种与繁育。

构建小鼠无精模型，环磷酸胺处理后小鼠睾丸重量显著降低，睾丸标志酶 γ -谷氨酰转肽酶 (γ -glutamyl transpeptidase, γ -GT, 调节生精细胞周期) 表达量显著上升，同时乳酸脱氢酶 (Lactic Dehydrogenase, LDH, 睾丸生精细胞成熟的标志酶之一) 表达量较对照组显著下降 [7]。不难发现，小鼠经环磷酸胺处理后其睾丸内大部分生精细胞的成熟过程被阻断。

1.3 联合应用博来霉素、依托泊苷及顺铂

BEP (Bleomycin, Etoposide and Cis-platin, BEP) 治疗，即联合博来霉素、依托泊苷及顺铂进行治疗恶性卵巢生殖细胞及性索间质肿瘤 [23]。临床发现，该方法可以在一定程度上对这两种疾病起到一定的治疗作用，但患者在治疗后短时间内会出现少精子症或无精子症，这对青少年，尤其是对生育有一定需求的患者来说不利 [24]。有研究表明，亚性和慢亚性 BEP 治疗虽然会导致模型鼠生精功能衰退，但这也只是一定程度上的衰退，未能使其精子发生的功能完全中断 [24]。Marcon 等将试验鼠长期置于 BEP 环境中来验证该方法是否会对精原干细胞的形成产生影响，调整体重及表面积使其所使用的 BEP 剂量等同于临床上人体所需剂量，结果发现，BEP 处理后其睾丸重量较正常试验鼠偏低 [25]。虽然 BEP 处理会降低试验鼠精原干细胞群落的大小及功能，但这种效应是短暂的，甚至是可以完全恢复 [26]。与前两种方法相比，这种方法稳定性较低，不为大多数学者所重视。

对试验小鼠施以化疗药物处理后模型效果显著。腹腔注射 30mg/kg 白消安模型最为稳定试验动物在该浓度下的致死率在伦理上是可以接受的。但为了最大程度上利用试验动物，尽可能减少浪费，睾丸注射白消安不失为一个比较明智的做法，但该方法较腹腔注射而言较为烦琐。环磷酸胺作用机制与白消安一致，这里不再赘述。联合应用博来霉素、依托泊苷及顺铂 (BEP) 模型稳定性未达到可接受范围，不被推荐。

2 物理方法

2.1 放射性射线

放射性射线可导致生精细胞凋亡，引起精子衰退，甚至引发无精症。射线照射后睾丸内部精原干细胞迅速凋亡，而少数精原干细胞则活跃旺盛，以修补损伤系统 [27]。辐射对生殖系统的损伤主要是通过产生活性氧 (Reactive Oxygen Species, ROS) 引起细胞膜脂质过氧化，从而损伤未成熟生殖细胞的 DNA 这一途径来介导的 [28]。低剂量照射睾丸即可诱导精原细胞数量减少 (0.03Gy) 和精原细胞与精母细胞染色体损伤 (0.05Gy)。

2.1.1 X 射线

X 射线照射会引起睾丸生精上皮坏死、各级生精细胞排列混乱，组织分析发现有空腔出现及生精小管腔内精子数量急剧下降等现象 [29]。徐锐利用 8GyX 射线 (照射速率 2.28Gy/min) 对小鼠进行全身照射，照射后小鼠食欲下降，体重减轻，活动

减少但并未出现死亡现象 [30]。研究表明，西罗莫司靶蛋白 (Mammalian Target of Rapamycin, mTOR 蛋白) 参与细胞生长、增殖、分化与细胞凋亡自噬，mTORC1 作为其重要组成蛋白，是信号转导重要靶点 [31]。徐锐通过研究证实，X 射线可过度激活 mTORC1 信号通路，进而导致生精细胞产生凋亡 [30]。刘凤华等 [29] 采用不同浓度 X 射线局部照射睾丸 10min。其结果显示，当 X 射线照射剂量达到 1400cGy (14Gy) 和 1600cGy (16Gy) 时可使小鼠不育。射线剂量过高则会导致小鼠死亡，过低会导致相应的模型构建失败。Rowley 等报道，当人体接受 200~300cGy 剂量的射线后将导致生精障碍，需 30 个月才可以恢复；在 400~600cGy 时需要长达 5 年的时间才可以恢复；当剂量超过 800cGy 时将导致终身不育 [32]。

2.1.2 ^{60}Co - γ 射线

^{60}Co - γ 射线多用于肿瘤的放射性治疗，但由于其常会引起性腺生精功能损伤甚至丧失，亦会导致下丘脑、垂体的损伤，引起体内激素分泌异常。同时，由于 ^{60}Co - γ 射线的温和性，多有学者采用 ^{60}Co - γ 射线来构建无精症 [33,34]。王磊等对小鼠进行全身放射性照射，剂量为 4Gy，剂量率为 0.55/min，辐射完成后第 14 天发现精子活力下降、畸形率升高、生精细胞坏死、生精上皮退化、结构改变、生精小管出现萎缩等现象，且这一症状随时间延长而加重 [35]。

2.2 隐睾手术

隐睾症 (Cryptorchidism) 是指一侧或两侧睾丸未能下降到阴囊而滞留在体内腹腔中，是目前临床上常见的男性不育症状 [36]。绝大多数小鼠睾丸处于阴囊中，阴囊中温度较腹腔低 3~8℃ 不等，为精子发生提供了良好的温度环境，有助于精子生成 [37]。精子对所处环境要求极其苛刻，不当的发育温度会导致生精细胞凋亡及精子发生障碍 [38]。隐睾症不仅会影响男性生精，同时还增加男性罹患睾丸癌的危险 [38]。构建隐睾模型时需在小鼠腹腔外皮开一个约 1cm 的切口，而后将肌肉层打开，找到两侧脂肪头后将其拉出小鼠体内，断开睾丸引带后将脂肪头捆绑在一起，最后依次缝合肌肉层和外皮 [39]。此时小鼠睾丸存在于腹腔中，利用这一方法可以构建出隐睾无精模型。隐睾试验时，睾丸越在腹腔上方，模型构建的越成功。Li 等发现，精子形成在初级精母细胞阶段即被阻断，并验证了抗氧化药物白藜芦醇对恢复精子生成起到了一定的促进作用 [4]。Yi 等通过构建隐睾模型发现，隐睾诱导生精细胞发生凋亡与自噬，且凋亡发生在隐睾手术完成后的第 3 天 [40]，这一研究提示我们是否可以将精子减少机制的研究转移到细胞自噬与凋亡的相互作用中。探索如何抑制生精细胞的自噬与凋亡或许会为治愈隐睾症带来希望。

放射性射线虽然简单，但高昂的成本使得众多实验室无法

表 1 不同浓度白消安处理后小鼠的行为状态 [17]

白消安浓度/mg/kg	小鼠死亡率/%	恢复生精上皮所需时间/周	24 周雄性行为发生率/%
10	0	8	NA
20	0	24	55.6
30	6.5	48	45.5
40	86.7	NA	NA
50	100	NA	NA

注：“NA”表示没有检测。

利用该方法构建模型,而且不当的操作方法可能会导致辐射泄漏而伤害实验人员,甚至导致男性生殖障碍。成本低廉且简单易行的隐睾手术不失为一种好的方法,不少实验室通过构建隐睾模型而获取了一些重要的实验成果,发现了几个重要的与精子发生有关的基因^[41-43]。

3 生物方法

将外源基因在体外进行转染及整合,并将其移植到受体动物细胞中进行表达,此时受体动物称之为转基因动物。制作转基因动物的方法有显微注射法、反转录病毒法、胚胎干细胞法、电脉冲法、精子载体导入法等,其中显微注射法是制作转基因动物最成功也是最常用的方法^[44]。无精症实验中常用的转基因小鼠是W/W^v和SL/SL^d突变鼠。W/W^v和SL/SL^d小鼠是通过使W和SL基因出现等位突变,进而影响基因表达的效果^[45]。生精细胞受此影响而出现不育现象。二者无精机制不同,其中W/W^v突变小鼠是因为精原干细胞的清除,而SL/SL^d突变鼠则是由于支持细胞缺陷导致的^[46]。已知哺乳动物西罗莫司靶蛋白(mTOR)与精子发生有千丝万缕的联系,而Rictor是其重要组分。因而,董合玲等构建了cKO敲除鼠(特异性敲除睾丸内支持细胞Rictor基因),敲除鼠较正常小鼠的睾丸质量与睾丸内生精细胞数量均降低^[47]。

由于转基因小鼠培养条件苛刻,基因表达水平难以预料,而且绝大多数的模型转基因表达率低,但个别基因又过表达,使得该方法成本昂贵,不为大家所重视。但近几年发展起来的CRISPR-Cas9系统使基因编辑(2020年诺贝尔化学奖颁给了Emmanuelle Charpentier和Jennifer A,以表彰她们在开发基因组编辑技术中发挥的重要作用)得到了空前关注^[48],该技术可对靶基因进行特定修饰,有望促进转基因小鼠技术的研究进展。

4 展望

小鼠无精症模型在雄性哺乳动物生育障碍研究中扮演重要角色。现虽已证明无精症的发生与多种因素有关,如药物、温度、射线等,但具体机制尚不明确。在构建模型过程中,寻找最佳的实验条件显得尤为重要(即使其睾丸内生精细胞完全消失、完全耗尽内源性精子)。近年来,以无精症模型为基础开展精子发生机制的研究日益受到人们青睐。同时,通过此模型

已帮助研究者筛选到益精效果显著的药物,如白藜芦醇^[9]、番茄素^[49]等。总体而言(表2),使用化疗药物及隐睾手术构建的无精症模型稳定性最佳;放射性射线虽简单但高昂的仪器成本使该方法难以普及;利用精子对温度的不耐受性虽也可以构建合适的模型,但其不稳定性仍需研究者考虑;转基因动物方法初显成效,虽成本昂贵,伴随着各种新兴基因编辑方法,转基因动物模型必将在模型构建方面前景广阔。

参考文献:

- [1] Cannarella R, Condorelli RA, Duca Y, et al. New insights into the genetics of spermatogenic failure: a review of the literature [J]. Hum Genet, 2019, 138(2): 125-140.
- [2] Dada R, Gupta NP, Kucheria K. Molecular screening for Yq microdeletion in men with idiopathic oligozoospermia and azoospermia [J]. J Biosci, 2003, 28(2): 163-168.
- [3] Li E, Guo Y, Wang G, et al. Effect of resveratrol on restoring spermatogenesis in experimental cryptorchid mice and analysis of related differentially expressed proteins [J]. Cell Biol Int, 2015, 39(6): 733-740.
- [4] 李程程, 管博文, 苏路, 等. 白消安对小鼠造血干细胞功能的损伤作用 [J]. 中国比较医学杂志, 2018, 28(2): 26-32.
- [5] 张茨, 王玲瓏, 金化民, 等. 白消安诱导小鼠无精子症模型 [J]. 医学新知杂志, 2003(4): 201-202.
- [6] 暴国, 王尚明, 张长勇, 等. 三个品系小鼠白消安无精子症模型比较 [J]. 生殖医学杂志, 2015, 24(8): 661-667.
- [7] 伍欢, 李其闯, 贾欣, 等. 环磷酸胺对小鼠精子质量及相关酶的影响 [J]. 科教文汇, 2018(9): 181-183.
- [8] 马珂, 田稼, 裴承斌, 等. 高温热应激构建小鼠精原干细胞移植受体模型 [J]. 中华男科学杂志, 2019, 25(9): 771-779.
- [9] 吴崇洋. 白藜芦醇对小鼠精原干细胞生物学特性的影响 [D]. 西北农林科技大学, 2016.
- [10] 李学银, 张卫星, 张天标, 等. 两种方式注射白消安对SD大鼠生精功能的影响 [J]. 郑州大学学报(医学版), 2015, 50(5): 665-668.
- [11] 秦玉圣. 睾丸注射白消安制备小鼠精原干细胞移植受体及精原干细胞移植 [D]. 2014.

表2 常用模型制备方法的优缺点比较

模型制备方法	优点	缺点	
化学方法	腹腔注射白消安	白消安较其他化疗药物而言更为稳定, 研究也最为透彻	目前暂未发现一个合适的浓度来构建一永久稳定的模型, 且药物会导致小鼠出现死亡现象
	腹腔注射环磷酸胺	作用机制与白消安相同, 故也有学者采用该药物来探索无精模型	由于白消安的作用机制和环磷酸胺相同, 且白消安作为构建无精模型的药物已被研究透彻, 因而使用该方法构建模型的相关研究不是很多
	联合应用博来霉素、依托泊苷及顺铂) BEP	对小鼠而言较为安全, 不会出现过高死亡率	模型稳定性较前两种而言不稳定, 不推荐利用该方法构建模型
物理方法	放射性射线	模型稳定, 简单易行	实验成本高昂, 且存在对实验人员造成辐射的风险
	隐睾手术	模型稳定, 对试剂和仪器没有过高要求	睾丸与腹腔粘连且增加其被脂肪垫包裹的概率, 对后续分析时摘取睾丸等步骤造成困难
生物方法	转基因动物	由于是敲除或敲低了小鼠精子发生的相关基因, 因此在所有构建模型方法中稳定性最佳	培养条件苛刻, 基因表达不稳定, 实验成本高

- [12] 张建华,张微利,董春霞,等.应用改良 BU/CY 方案预处理联合自体外周血造血干细胞移植治疗青年中、低危急性髓系白血病疗效观察[J].中国实验血液学杂志,2019,27(2):360-364.
- [13] Dehghani F,Sotoude N,Bordbar H,et al.The use of platelet-rich plasma (PRP) to improve structural impairment of rat testis induced by busulfan.[J].Platelets,2019,30(4):513-520.
- [14] Zhao Y,Zhang S.16PGAM1 knockdown is associated with busulfan-induced hypospermatogenesis and spermatogenic cell apoptosis [J].Mol Med Rep,2019,19(4):2497-2502.
- [15] Ali Olfati GMBB.17FSH and estradiol benzoate administration recover spermatogenesis and sexual hormone levels in a busulfan-injured rat model[J].Comparative Clinical Pathology,2020,29(1):53-59.
- [16] Azadeh Vafaei SMAF.Effects of Carob (Ceratonia siliqua) on Sperm Quality, Testicular Structure, Testosterone Level and Oxidative Stress in Busulfan-Induced Infertile Mice[J].Pharmaceutical Sciences,2018,24(2):104-111.
- [17] 王得志.白消安对雄性小鼠睾丸生精、性行为和不育影响的研究[D].武汉大学,2010.
- [18] 李慧赞,宋春英,赵均,等.生精障碍 BALB/c 小鼠睾丸组织的体外培养研究.中华男科学杂志[J].2019,25(8):681-689.
- [19] Qin Y,Liu L,He Y,et al.Testicular Busulfan Injection in Mice to Prepare Recipients for Spermatogonial Stem Cell Transplantation Is Safe and Non-Toxic[J].PLoS One,2016,11(2):e0148388.
- [20] Kanatsu-Shinohara M,Ogonuki N,Inoue K,et al.Allogeneic offspring produced by male germ line stem cell transplantation into infertile mouse testis[J].Biol Reprod,2003,68(1):167-173.
- [21] Xie Y,Deng CC,Ouyang B,et al.Establishing a nonlethal and efficient mouse model of male gonadotoxicity by intraperitoneal busulfan injection[J].Asian J Androl,2020, 22(2):184-191.
- [22] Smart E,Lopes F,Rice S,et al.Chemotherapy drugs cyclophosphamide, cisplatin and doxorubicin induce germ cell loss in an in vitro model of the prepubertal testis[J].Sci Rep,2018,8(1):1773.
- [23] Martin AK,Jackson EG,Edwards HD,et al.Dedifferentiated endometrioid adenocarcinoma with trophoblastic components: Prolonged remission after treatment with bleomycin, etoposide, and cisplatin[J].Gynecol Oncol Rep,2020,32:100562.
- [24] Marcon L,Hales BF,Robaire B. Reversibility of the effects of subchronic exposure to the cancer chemotherapeutics bleomycin,etoposide,and cisplatin on spermatogenesis, fertility,and progeny outcome in the male rat [J].J Androl,2008,29(4):408-417.
- [25] Bieber AM,Marcon L,Hales BF,et al.Effects of chemotherapeutic agents for testicular cancer on the male rat reproductive system,spermatozoa, and fertility[J].J Androl,2006,27(2):189-200.
- [26] Marcon L,Zhang X,Hales BF,et al.Effects of chemotherapeutic agents for testicular cancer on rat spermatogonial stem/progenitor cells [J].J Androl,2011,32(4):432-443.
- [27] van Beek ME,Meistrich ML,de Rooij DG.Probability of self-renewing divisions of spermatogonial stem cells in colonies,formed after fission neutron irradiation[J].Cell Tissue Kinet,1990,23(1):1-16.
- [28] Qu N,Itoh M,Sakabe K.Effects of Chemotherapy and Radiotherapy on Spermatogenesis:The Role of Testicular Immunology [J].Int J Mol Sci, 2019,20(4).
- [29] 刘风华,杨冬梓,王沂峰,等.睾丸性不育动物模型的建立[J].中华男科学杂志,2007(2):125-129.
- [30] 徐锐,邵立健,曾慧红.抑制 mTORC1 信号通路对 X 射线照射小鼠睾丸损伤的保护作用[A].中国体视学学会 第十六届中国体视学与图像分析学术会议论文集——交叉、融合、创新[C].中国体视学学会:中国体视学学会,2019:1.
- [31] 王子龙.精原干细胞 mTORC1 信号通路在精子发生中的作用和调节机制[D].南方医科大学,2017.
- [32] Rowley MJ,Leach DR,Warner GA,et al.Effect of graded doses of ionizing radiation on the human testis[J].Radiat Res,1974,59(3):665-678.
- [33] Li X,Luo L,Karhi S,et al.44Effects of 200 Gy (60Co-gamma Radiation on the Regulation of Antioxidant Enzymes, Hsp70 Genes,and Serum Molecules of Plutella xylostella (Linnaeus)[J].Molecules,2018,23(5):1011.
- [34] Cui F,Ma N,Han X,et al.43Effects of (60Co gamma Irradiation on the Reproductive Function of Caenorhabditis elegans [J].Dose Response, 2019,17(1):1559325818820981.
- [35] 王磊,石中玉,王安,等.4Gy~(60Co)γ射线对 Balb/c 小鼠睾丸辐射损伤效应的研究[J].湖南中医药大学学报,2019,39(4):470-474.
- [36] Fawzy F,Hussein A,Eid MM,et al.45Cryptorchidism and Fertility[J].Clin Med Insights Reprod Health,2015,9:39-43.
- [37] Rocha DR,Martins JA,van Tilburg MF,et al.46Effect of increased testicular temperature on seminal plasma proteome of the ram [J].Theriogenology,2015,84(8):1291-1305.
- [38] Martin OV,Shialis T,Lester JN,et al.47Testicular dysgenesis syndrome and the estrogen hypothesis:a quantitative meta-analysis [J].Environ Health Perspect,2008,116(2):149-157.
- [39] Shinohara T,Avarbock MR,Brinster RL.48Functional analysis of spermatogonial stem cells in Steel and cryptorchid infertile mouse models [J].Dev Biol,2000,220(2):401-411.
- [40] Zheng Y,Zhang P,Zhang C,et al.Surgery-induced cryptorchidism induces apoptosis and autophagy of spermatogenic cells in mice [J].Zygote,2019,27(2):101-110.
- [41] 贾苗苗,石林,施文浩,等.Dnajb13 在隐睾小鼠睾丸中的表达及其与生精细胞凋亡的关系[J].中华男科学杂志,2020,26(3):228-236.
- [42] 程鹏,黄振宇,窦贤明,等.miR-101 和 RanBP9 在隐睾睾丸组织中的表达及其意义[J].安徽医科大学学报,2019,54(9):1343-1348.
- [43] 谢丽,赖琼,孙国璞,等.L-NAME 对实验性隐睾生精细胞凋亡与 p38MAPK 表达的影响[J].湖南师范大学学报(医学版),2020,17(3):10-14.
- [44] 高晗,钟蓓.转基因技术和转基因动物的发展与应用[J].现代畜牧科技,2020(6):1-4,18.
- [45] 刘淑华,李志旺,朱壬葆.W/W-v 和 SL/SL-d 鼠造血功能的特征及其辐射效应[J].国外医学(放射医学分册),1983(4):205-208.
- [46] Ohta H,Tohda A,Nishimune Y.Proliferation and differentiation of spermatogonial stem cells in the w/wv mutant mouse testis [J].Biol Reprod, 2003,69(6):1815-21.
- [47] 董合玲,吴洪渊,傅友,等.Rictor/mTORC2 调节小鼠睾丸血睾屏障与精子发生[J].南方医科大学学报,2017,37(10):1322-1329.
- [48] 邵梦瑶,路福平,朱欣娜,等.优化大肠杆菌 CRISPR/Cas9 基因编辑系统及应用[J].生物学杂志,2020,37(4):106-110,114.
- [49] Antonuccio P,Micali A,Puzzolo D,et al.Nutraceutical Effects of Lycopene in Experimental Varicocele:An "In Vivo" Model to Study Male Infertility[J].Nutrients,2020,12(5):1536.