



外源物睾丸发育毒性及其 宫内编程机制



武汉大学基础医学院 刘敏
发育源性疾病湖北省重点实验室

991418197@qq.com





提纲

1. 胎儿发育毒性远期危害的宫内编程机制
2. 咖啡因发育毒性及其宫内编程机制
3. 地塞米松睾丸发育毒性及宫内编程机制
4. 胎源性疾病研究的几个关键问题





外源物发育毒性

在化学性质上，药物与毒物、食品同源，皆为**外源物**
其暴露途径、发生机制及毒性表现常常存在共性



外源物慢性毒性：

成人：肝肾、骨骼、内分泌

胎儿：早期致畸作用

围产期发育毒性及其远期危害？





发育毒性评价体系尚不完善

发育毒性：

- 药物致子代从宫内至性成熟前的结构或功能损害
- 主要表现为畸形、功能障碍、生长迟缓甚至死亡



发育毒性评价：

- 安全性评价的重要内容之一
- 整体动物实验存在指标特异性/灵敏度低等缺点
- 体外评价系统也存在较大局限性和指标特异性问题



主要与靶标不清、评价体系局限性较大有关





发育毒性的近/远期危害



宫内发育迟缓
(IUGR)

胚胎/胎儿生长发育限制
最常见的发育毒性类型
主要表现为低出生体重
全球发病率**2.75-15.53%**

- 胎儿窘迫
- 新生儿窒息
- 围产儿死亡

出生后

发生机制
早期防治



流行病学调查



- 体格、智力发育落后
- 成年多慢性疾病易感
- 性别差异与跨代遗传





胎源性疾病的流行病学证据

I. 代谢综合征及相关疾病

代谢综合征、动脉粥样硬化、糖尿病
高血压、脂肪肝、骨质疏松、骨关节炎

II. 神经精神性疾病

精神分裂症、焦虑症、抑郁症、自闭症

III. 生殖发育相关疾病

多囊卵巢综合征、卵巢早衰
睾丸发育不全综合征

IV. 免疫相关性疾病

哮喘、类风湿关节炎

V. 肿瘤

卵巢癌、乳腺癌、肝母细胞瘤





胎源性疾病的发生机制

IUGR及其成年慢性疾病易感的宫内编程机制



机制假说:

- 宫内内分泌发育编程异常
- 发育基因表观遗传调控异常
- 氧化损伤与线粒体功能异常

.....



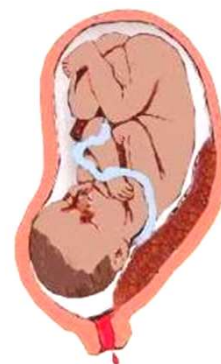


1-宫内内分泌发育编程机制

宫内编程：宫内损伤所致组织形态和功能改变延续至出生后

内分泌轴发育异常：

- 下丘脑-垂体-肾上腺轴（HPA轴）最为公认
- 生长激素-胰岛素样生长因子轴（GH-IGF轴）
- 下丘脑-垂体-性腺轴（HPG轴）
- 下丘脑-垂体-甲状腺轴（HPT轴）
- 肾素-血管紧张素系统（RAS）



编程模式假说：

- 节俭表型
- 发育可塑性
- 预知适应性反应





2-发育基因表观遗传调控异常

- **表观遗传修饰** 存在于高等真核细胞正常发育过程中，并在胎源性疾病宫内编程及多代遗传中发挥重要作用。
- **外源环境暴露**（如营养、外源物）可通过改变表观遗传修饰引起多脏器发育异常。
- **糖皮质激素机制** 母源性糖皮质激素通过调节表观遗传酶，调控下游多个发育相关重要基因表达，编程胎儿多疾病易感。

参与胎组织的直接和间接损伤机制

汪晖等, 中国药理学与毒理学杂志 2017; Wang H, et al. Toxicology 2014
Moisiadis VG, et al. Glucocorticoids and fetal programming part 1: Outcomes. Nat Rev Endocrinol. 2014
Moisiadis VG, et al. Glucocorticoids and fetal programming part 2: Mechanisms. Nat Rev Endocrinol 2014





3-氧化损伤与线粒体功能异常

- 过量的氧自由基不仅引起生物大分子物质的氧化损伤，还能通过增强一系列胞内“应激敏感通路”，诱导线粒体功能异常，导致组织损伤。
- 外源物可诱导胎儿重要组织器官（如肝脏、胰腺）中CYP同工酶（如CYP1A1、1B1和2E1）变化，加速自身活化和氧化代谢，引起原位组织氧化损伤。

参与胎组织的直接损伤机制





提纲

1. 胎儿发育毒性远期危害的宫内编程机制
2. 咖啡因发育毒性及其宫内编程机制
3. 地塞米松睾丸发育毒性及宫内编程机制
4. 胎源性疾病研究的几个关键问题





孕期咖啡因暴露



- 存在咖啡、茶、软饮料、巧克力及复方药物中
- 全球咖啡因摄取率人群85%和孕妇80%
- 预防和治疗早产儿呼吸暂停的首选药
- 孕期咖啡因摄入导致多种不良妊娠结局
如自发性流产、早产、死产、畸形、IUGR
- 美国FDA：妊娠期控制咖啡因摄入量

队
列
研
究

美国加州奥克兰凯泽医疗机构研究部 **Li DK** 研究团队

荷兰鹿特丹大学医学中心 **Gaillard R** 研究团队

分别在美国和欧洲率先开展孕期咖啡因暴露和成年子代肥胖
之间相关性的流行病学调查，并得到了一致性结论。





研究发现 (1)

孕期咖啡因暴露通过多途径/多脏器引起IUGR



甲基化上调StAR而增强母体肾上腺甾体合成功能

激活胎盘RAS而诱导胎盘滋养层细胞凋亡

激活cAMP通路而抑制胎盘滋养层细胞瘦素表达

下调11 β -HSD2而开放胎盘GC屏障

甲基化下调11 β -HSD2而激活胎海马GC活化系统

上调HMGCR和FASN表达而增强胎肝脂质合成功能

拮抗腺苷受体而抑制胎软骨基质合成功能

上调3 β -HSD而增强胎睾丸酮合成功能

.....

Ping J, et al. Chemico-Biological Interactions. 2012; Huang J, et al. Clin Exp Pharmacol Physiol 2012
Xu D, et al. PloS ONE 2012; Ping J, et al. Toxicology 2014; Wu YM, Toxicol Appl Pharmacol 2015



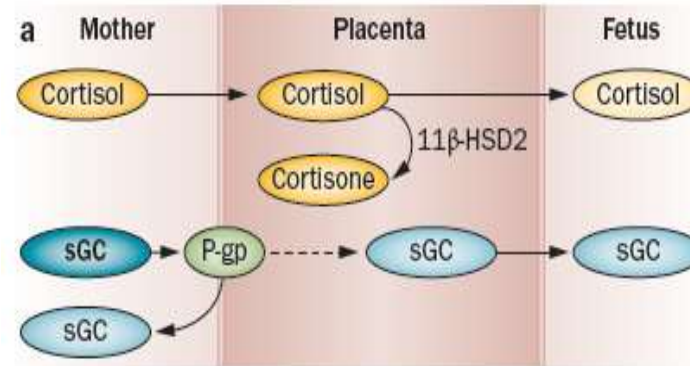


研究发现 (2)

IUGR子代存在“宫内母源性糖皮质激素过暴露”



胎盘糖皮质激素屏障系统



人群和动物实验表明：

孕期外源物暴露、营养缺乏、感染、低氧和应激存在类似现象

GCs: 糖皮质激素

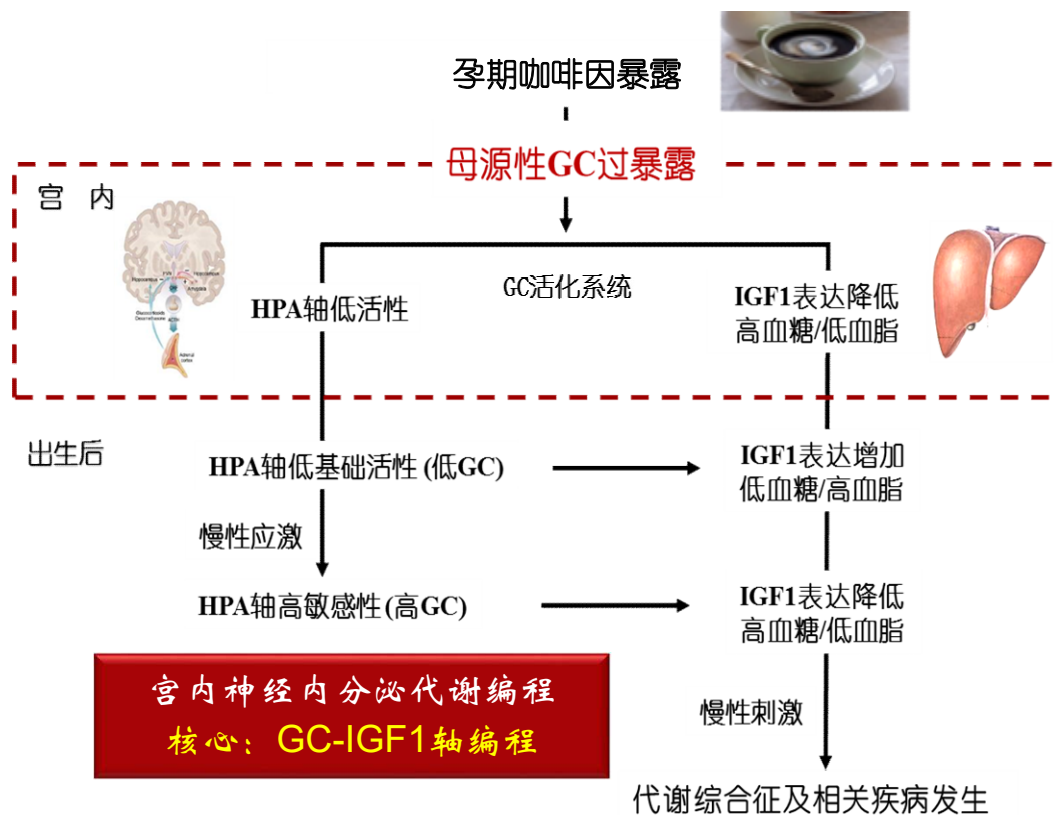
Chen M, et al. Clin Exp Pharmacol Physiol 2008; Liang G, et al. Exp Toxic Pathol 2011
 Xu D, et al. Environ Toxicol Pharmacol 2011; Xu D, et al. Toxicol Lett 2012; Xu D, et al. PloS ONE 2012





研究发现 (3)

母源性糖皮质激素“编程”胎儿代谢综合征易感



关键问题
表观遗传机制
宫内编程改变
多代遗传效应
代谢综合征易感

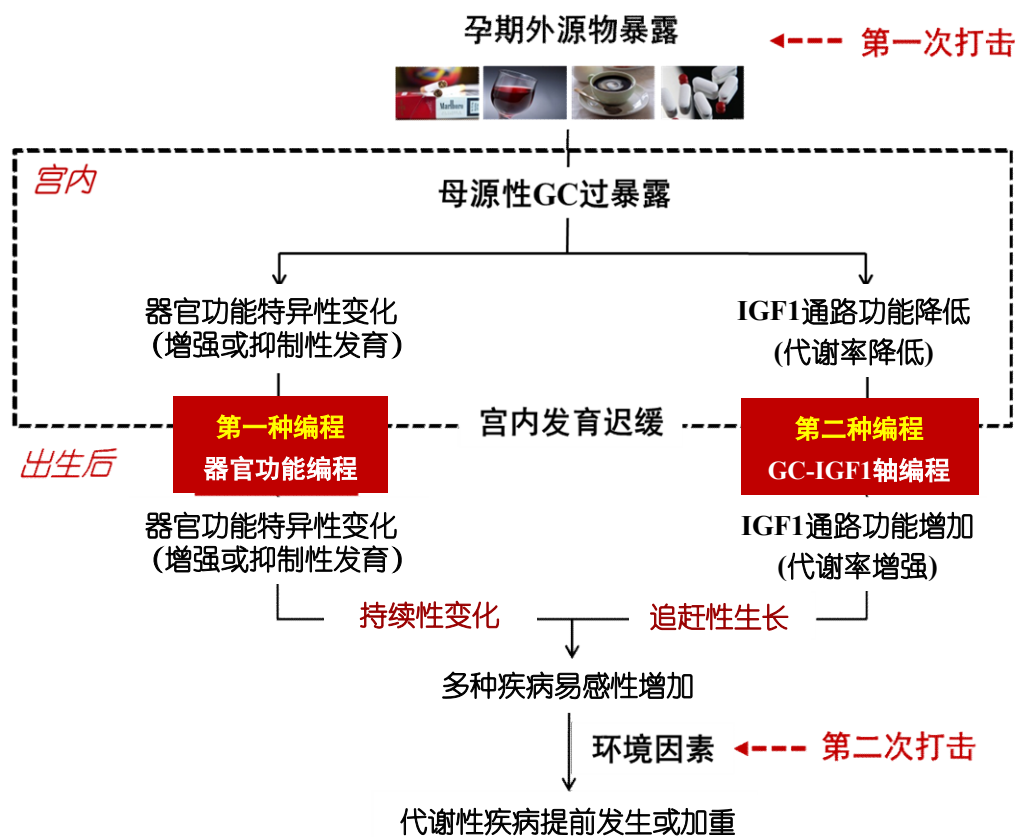
Xu D, Plos ONE 2012
Liu YS, Toxicol Appl Pharmacol 2012
Xu D, Toxicol Appl Pharmacol 2012
Luo HW, et al, Toxicol Appl Pharmacol 2014
Li J, et al, Toxicol Appl Pharmacol 2015
He, et al, Toxicol Res 2016
Pei, et al, Reproductive Toxicol 2017





研究发现 (4)

胎源性疾病存在“两种编程”和“两次打击”机制



胎源性疾病

肾上腺功能亢进
非酒精性脂肪肝
肾小球硬化症
糖尿病
骨关节炎
骨质疏松症
高胆固醇血症
睾丸发育不良
卵巢早衰

Xu D, Toxicol Appl Pharmacol 2012
Wang LL, et al. Toxicol Lett 2014
Luo HW, et al. Scientific Rep 2015
Li J, et al. Toxicol Appl Pharmacol 2015
Ao Y, et al. Toxicol Appl Pharmacol 2015
He Z, et al. Toxicol Res 2016





咖啡因具有睾丸发育毒性

流行病学与实验室研究：

- ✓ 睾丸发育不全综合征（TDS）包括隐睾、尿道下裂、低精子质量、睾丸肿瘤，IUGR患儿TDS发病风险增加2-3倍；
- ✓ 实验室研究证实，多种遗传与环境因素可引起睾丸间质细胞及支持细胞功能紊乱，从而影响胚胎睾丸发育；
- ✓ 队列研究发现，母体孕期咖啡摄入较多时，男性成年子代出生后精液体积、睾酮和抑制素B浓度降低。

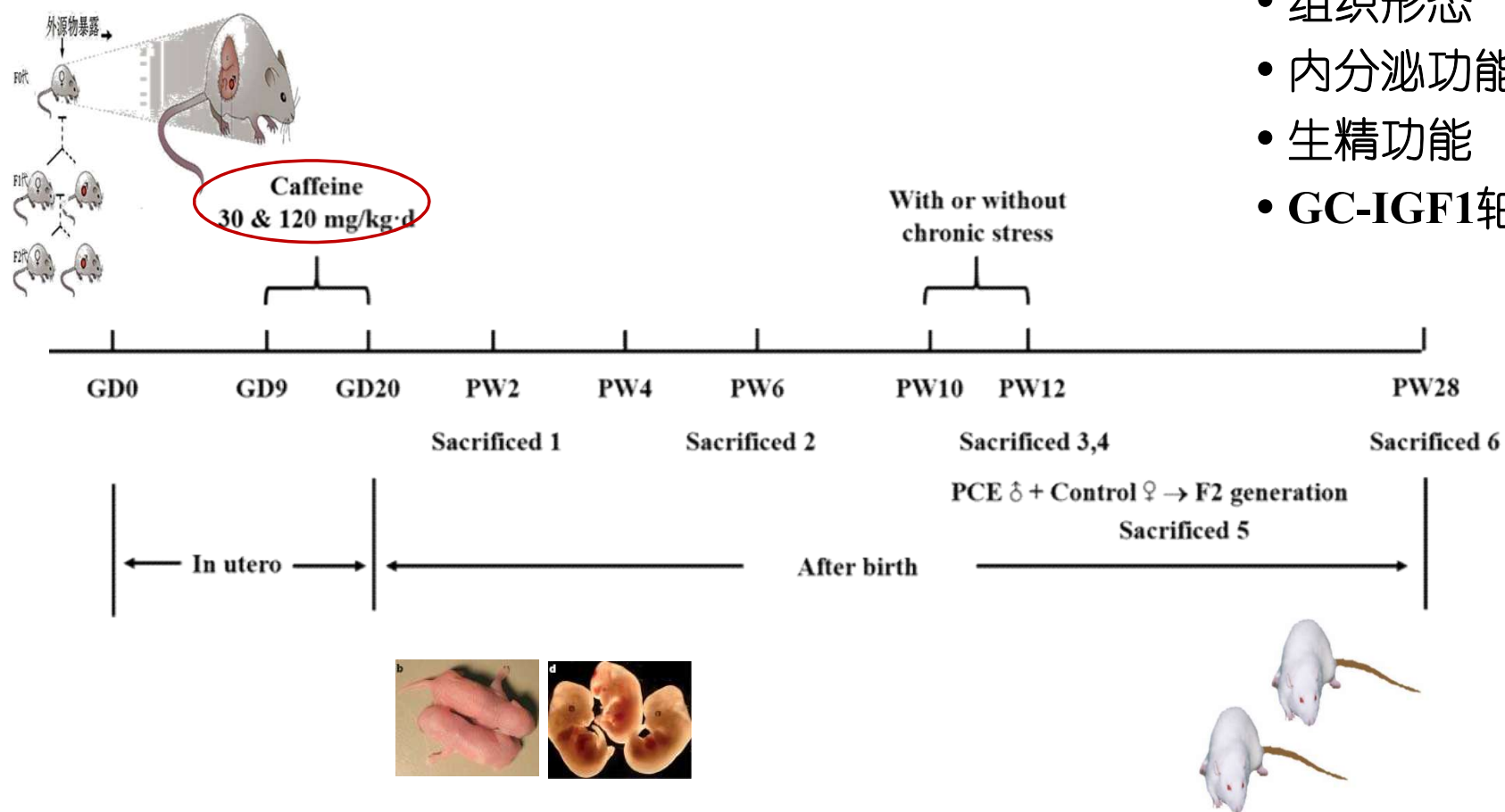




实验方法一

主要指标:

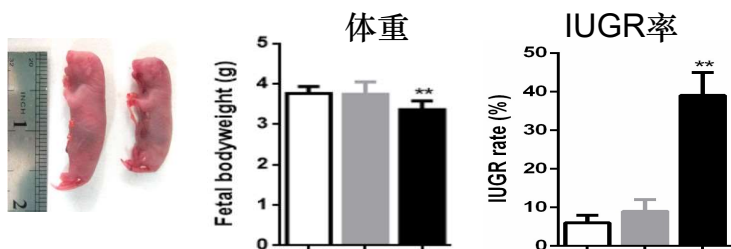
- 组织形态
- 内分泌功能
- 生精功能
- **GC-IGF1轴**



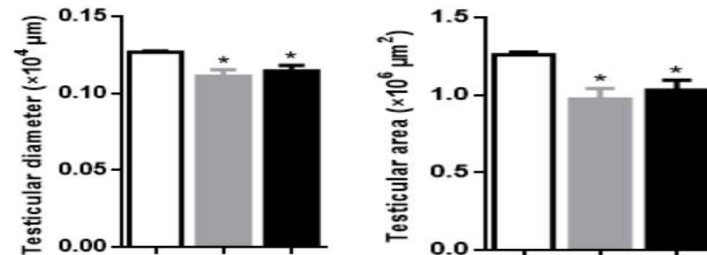


1. 雄性胎鼠出现 IUGR 并伴有睾丸发育抑制

体重减少/IUGR率增加

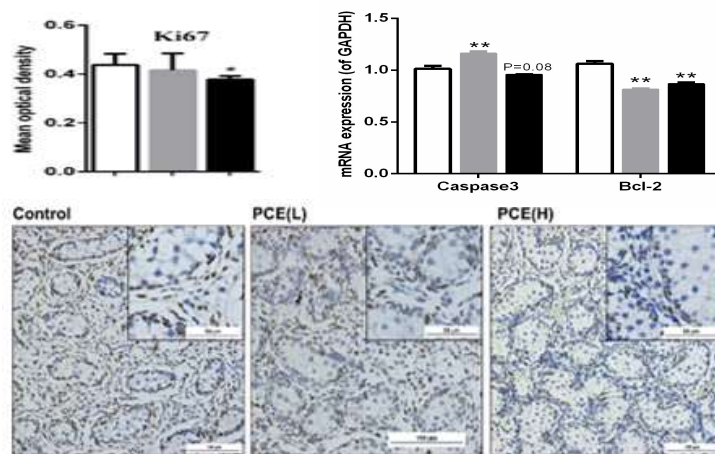


胎睾丸最大直径/面积变小

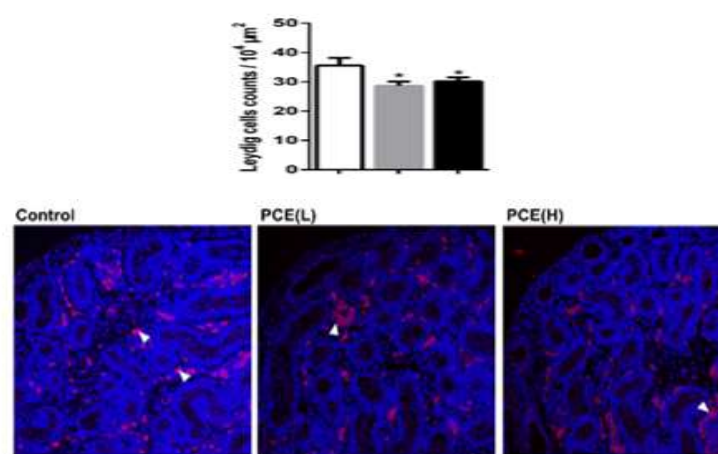


Control
PCE(L)
PCE(H)

睾丸细胞增殖减少/凋亡增加



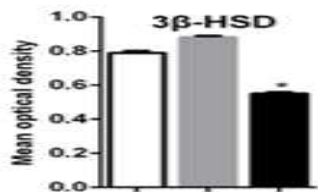
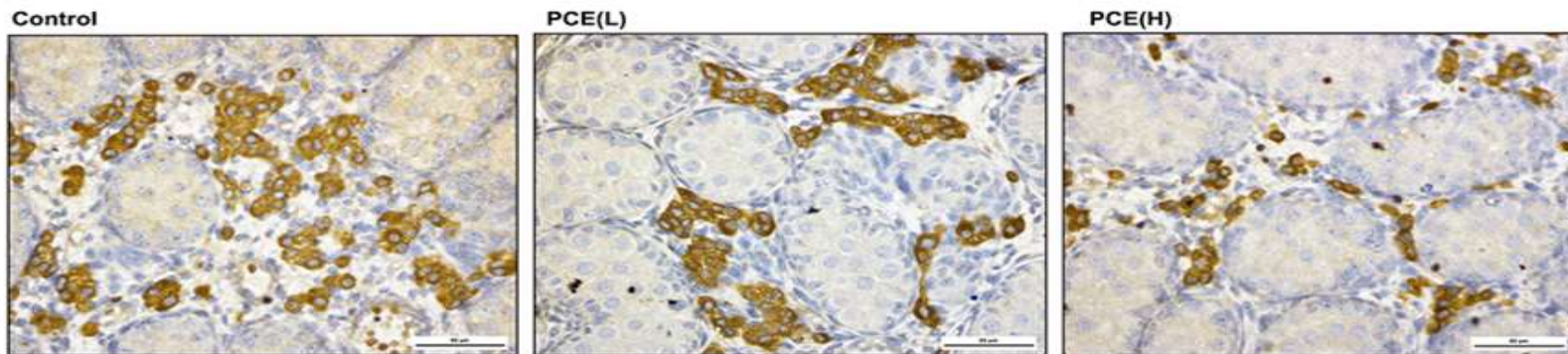
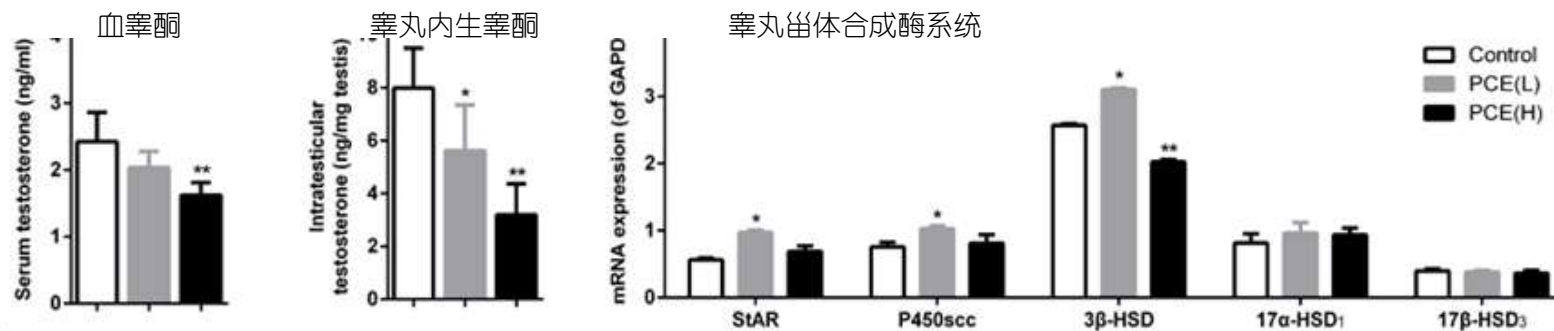
睾丸Leydig细胞数量减少





2. 胎睾丸甾体合成功能降低与GC-IGF1轴变化

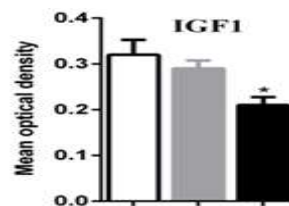
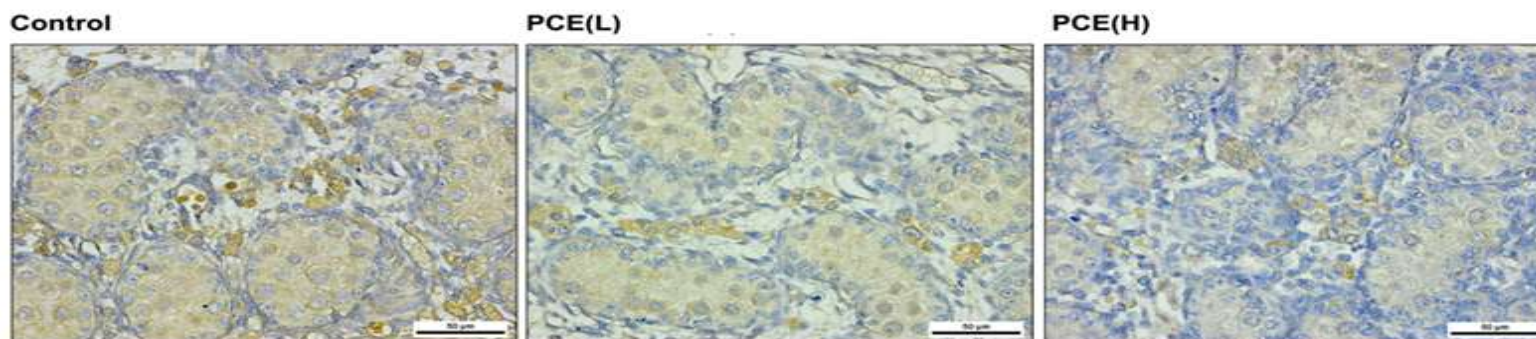
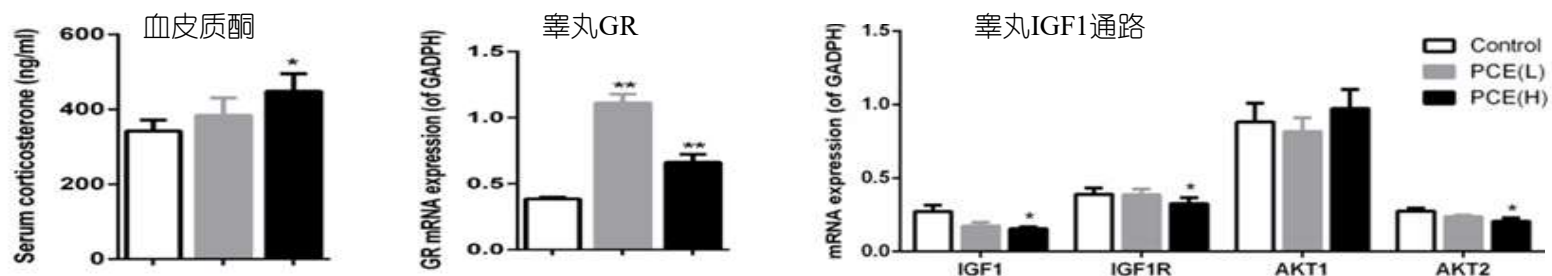
胎血睾酮和胎睾丸睾酮合成功能降低





2. 胎睾丸甾体合成功能降低与GC-IGF1轴变化

血皮质酮升高而胎睾丸IGF1通路表达降低

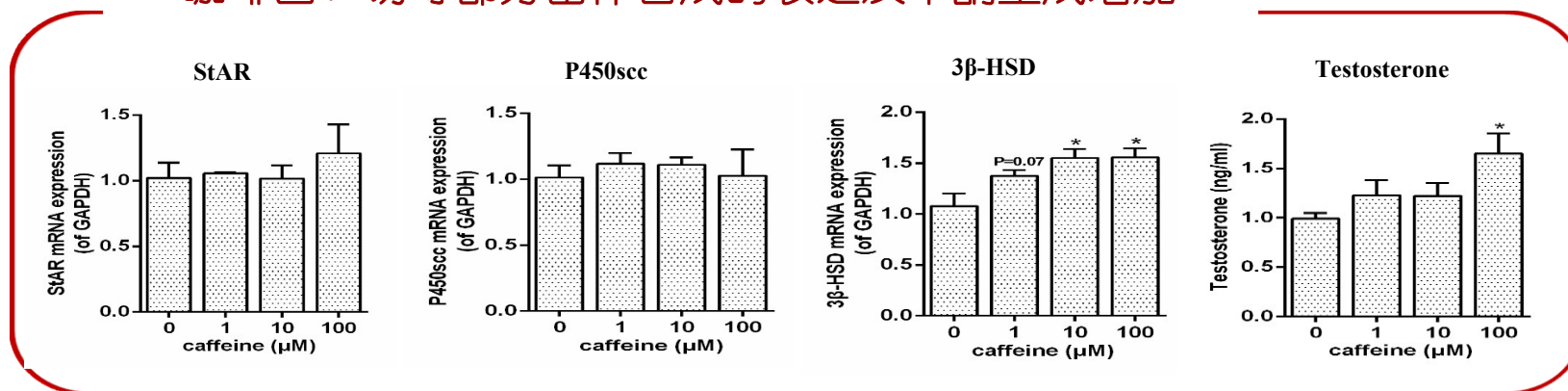




3. 皮质酮(而非咖啡因)抑制Leydig细胞睾酮合成

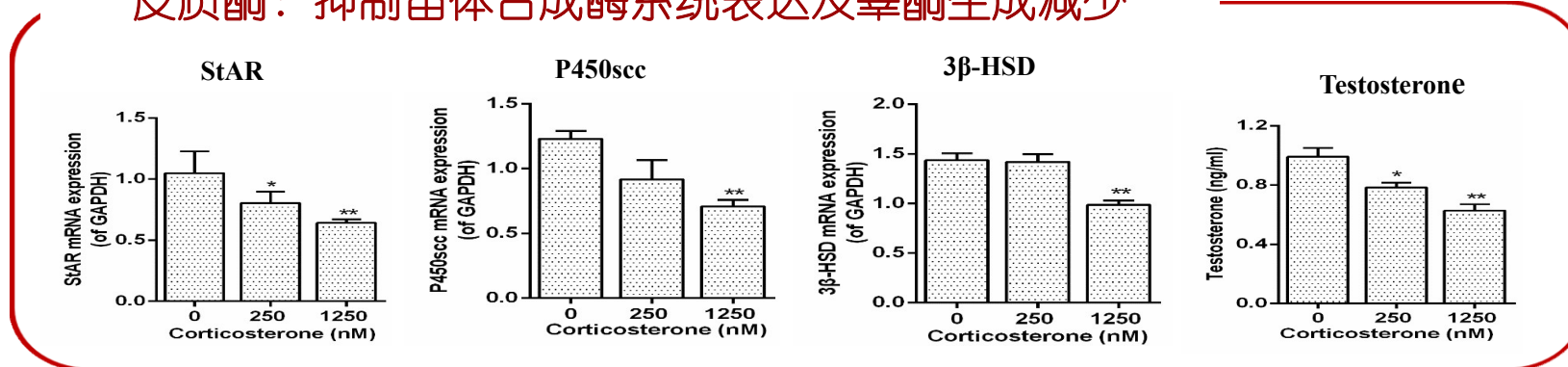
咖啡因：诱导部分甾体合成酶表达及睾酮生成增加

咖啡因 1~100 μM



皮质酮：抑制甾体合成酶系统表达及睾酮生成减少

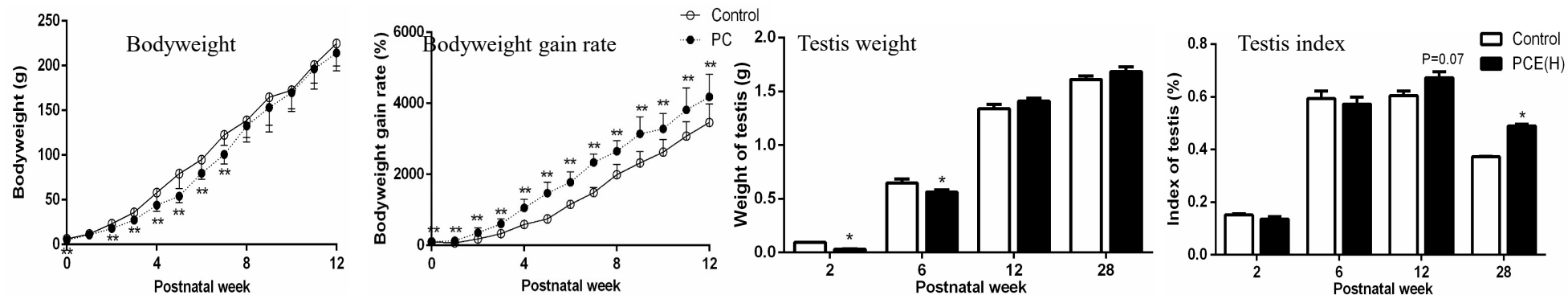
皮质酮 250、1250 nM



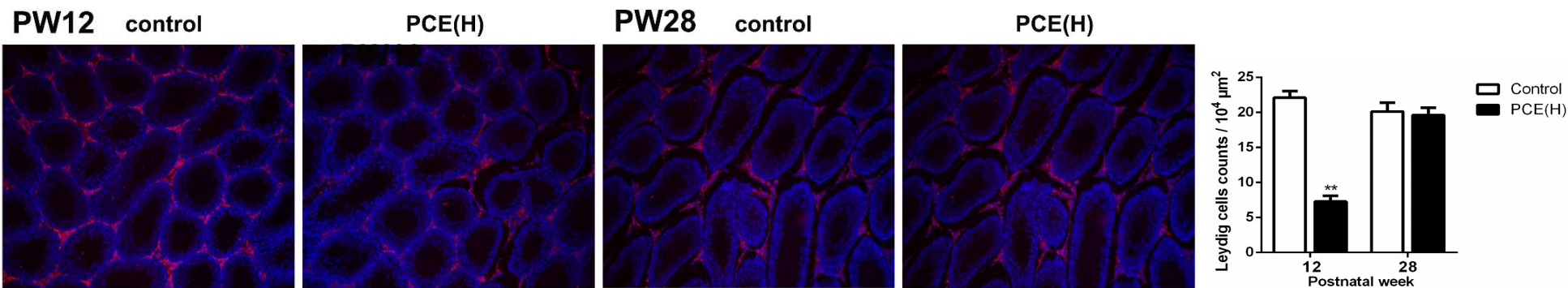


4. 出生后睾丸发育出现快速“追赶性生长”

体重增长率与睾丸指数增加



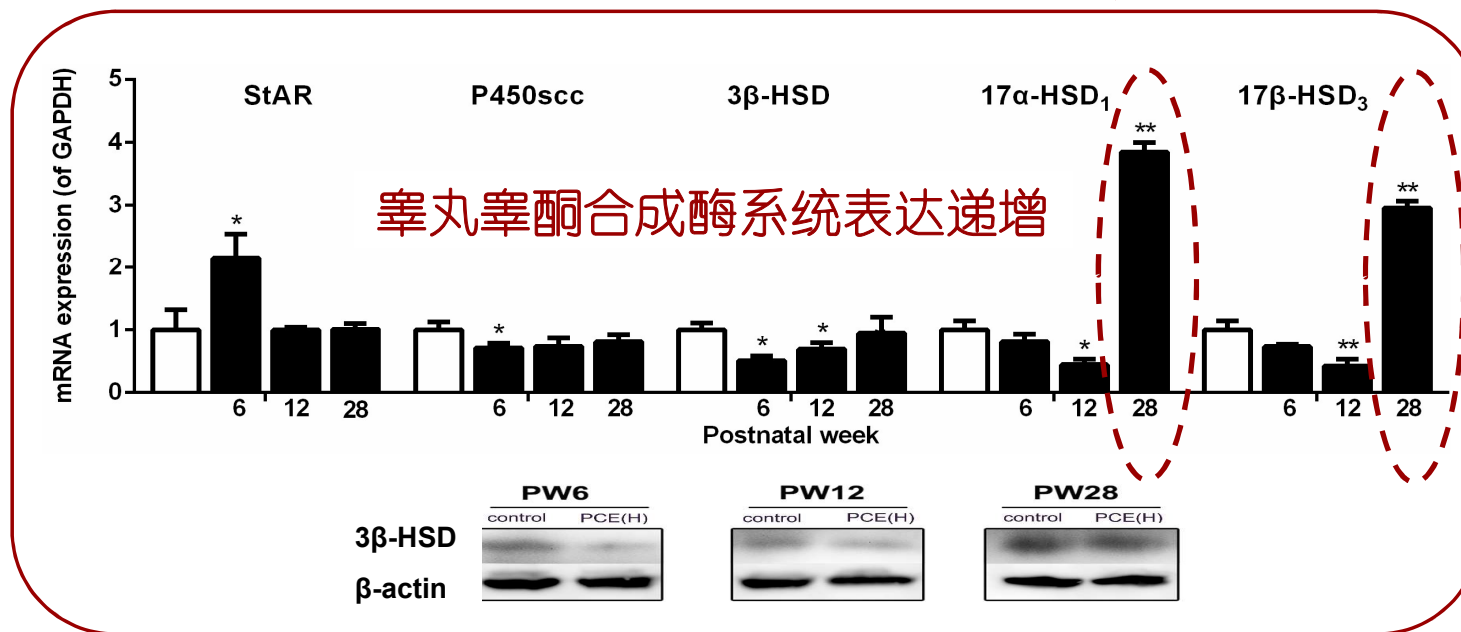
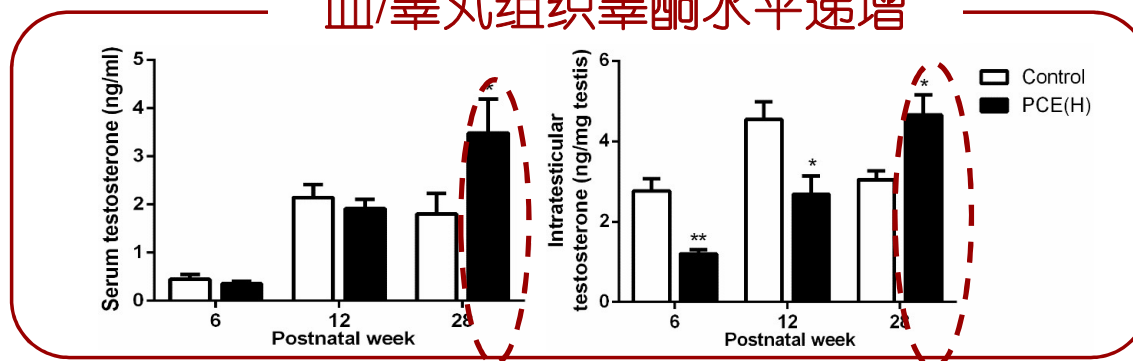
睾丸Leydig 细胞数量递增





5. 出生后睾丸睾酮合成功能增强 (内分泌功能)

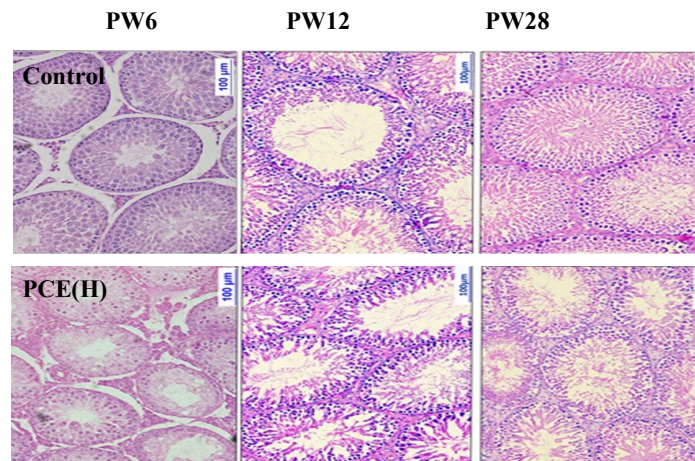
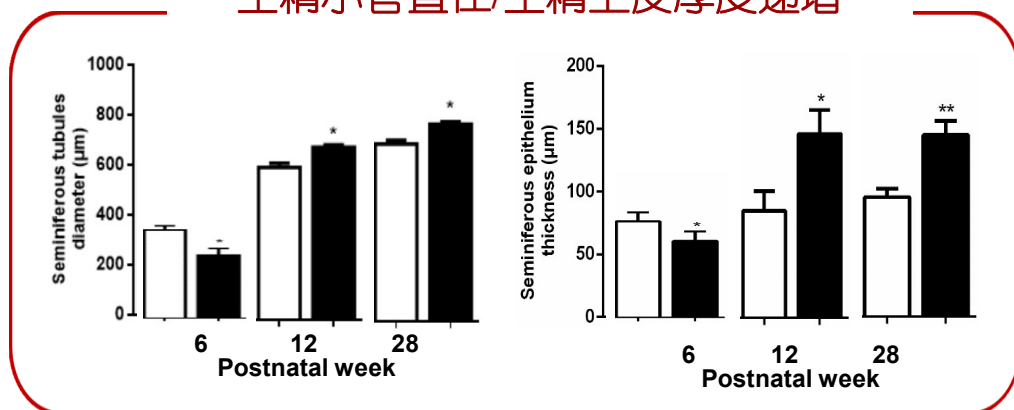
血/睾丸组织睾酮水平递增





6. 出生后睾丸精子数量与质量变化 (生殖功能)

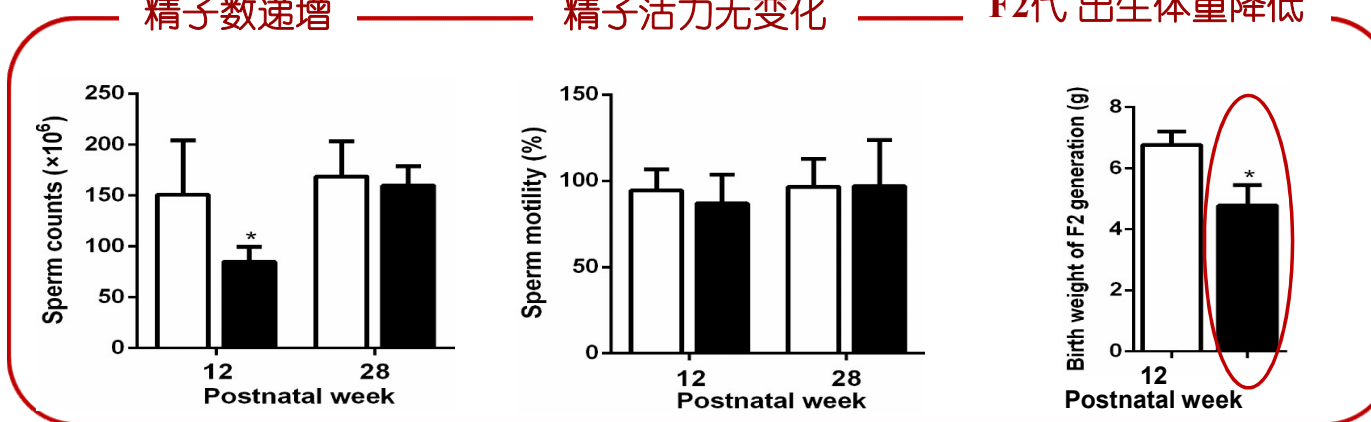
生精小管直径/生精上皮厚度递增



精子数递增

精子活力无变化

F2代 出生体重降低



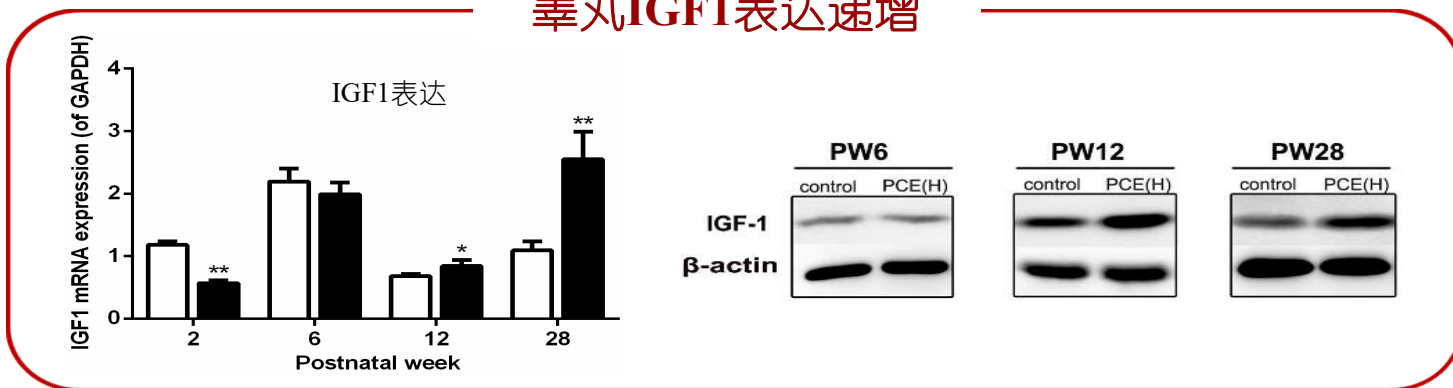
□ Control
■ PCE(H)



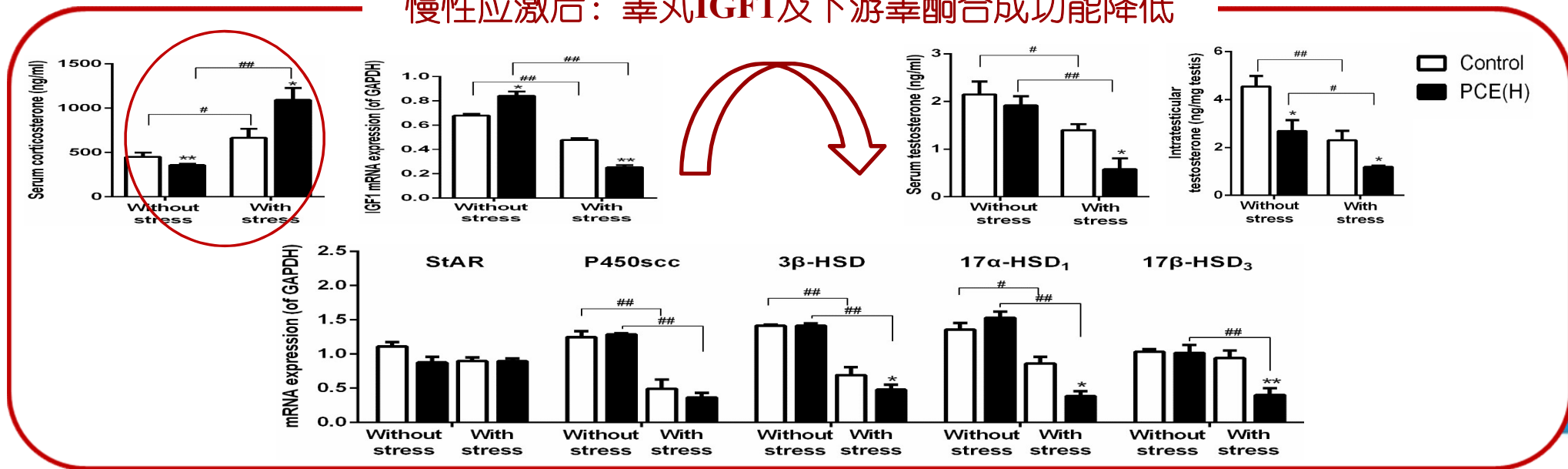


7. 出生后睾丸发育呈现GC-IGF1轴依赖性改变 (编程机制)

睾丸IGF1表达递增



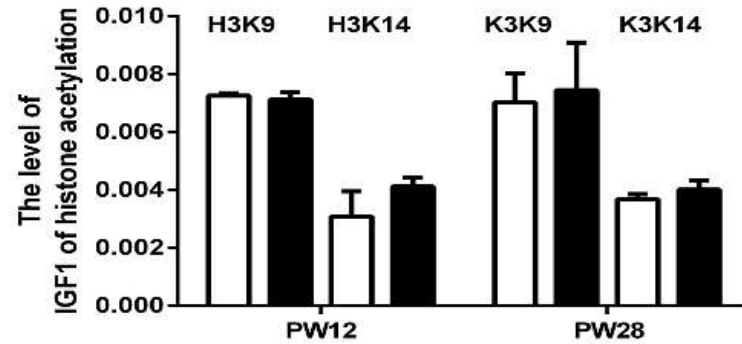
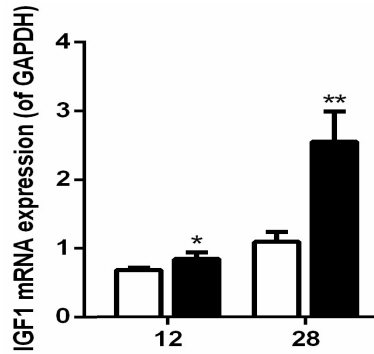
慢性应激后：睾丸IGF1及下游睾酮合成功能降低



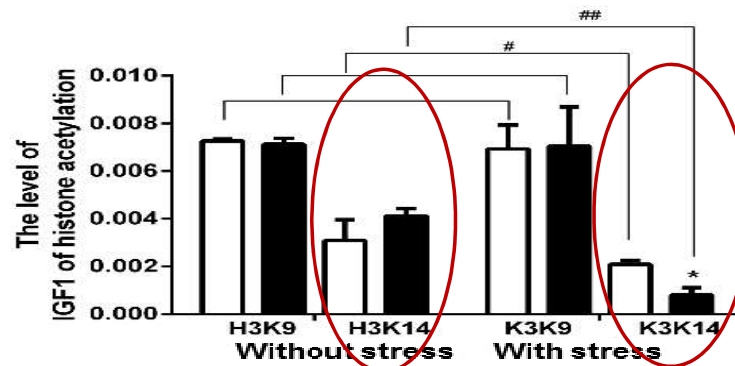
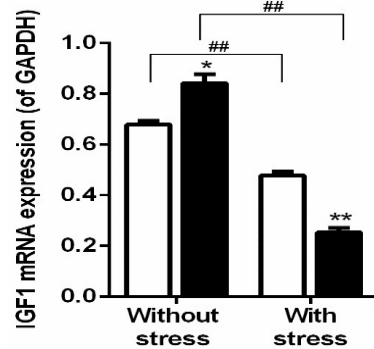


8. GC依赖性的IGF1启动子区H3K14乙酰化变化

出生后：IGF1启动子区组蛋白乙酰化与表达增加

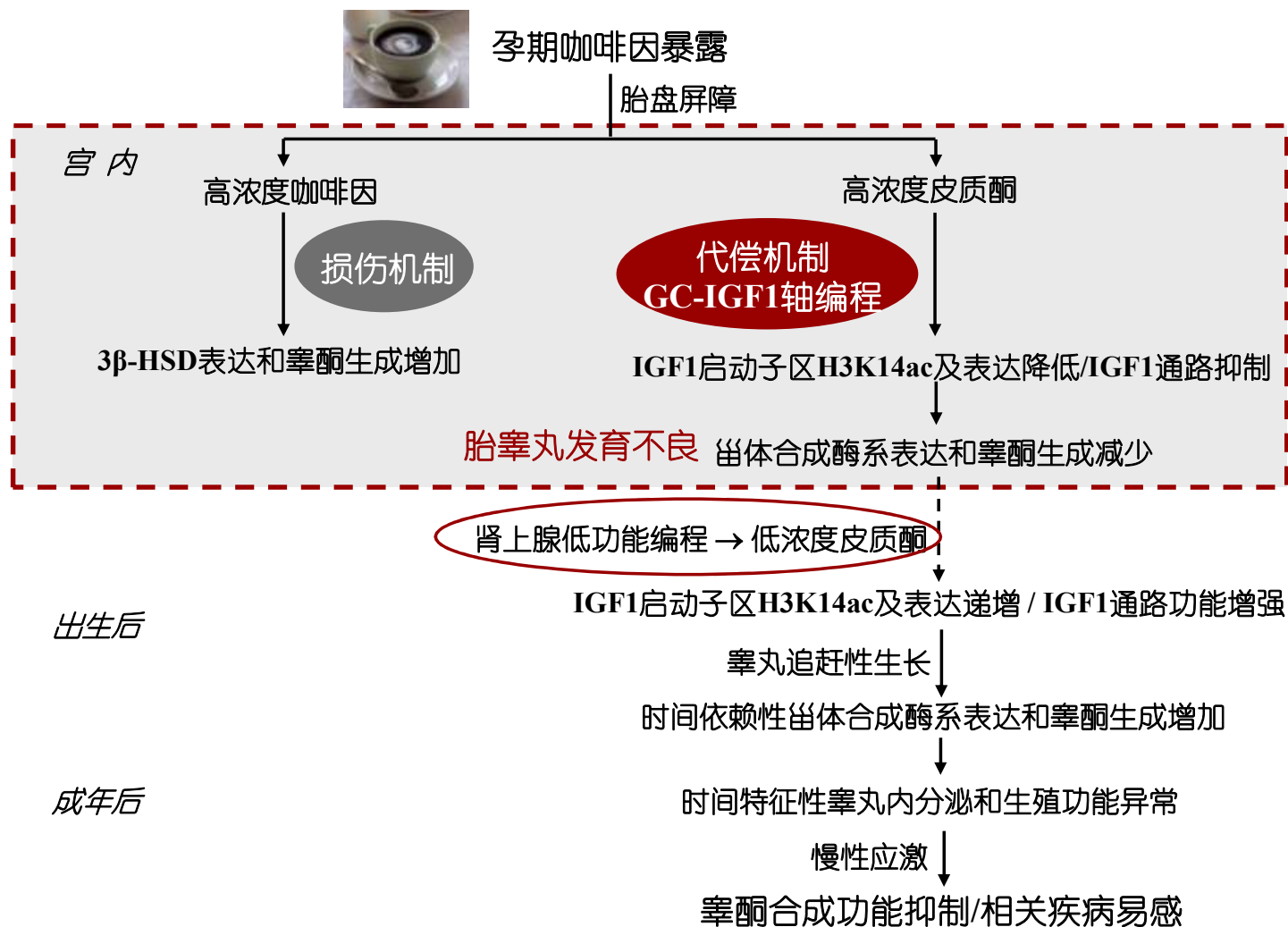


慢性应激后：IGF1启动子区H3K14ac与表达降低





咖啡因睾丸发育毒性的宫内编程机制





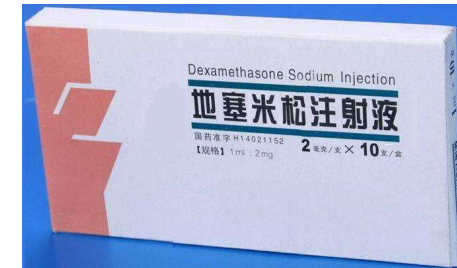
提纲

1. 胎儿发育毒性远期危害的宫内编程机制
2. 咖啡因发育毒性及其宫内编程机制
3. 地塞米松睾丸发育毒性及宫内编程机制
4. 胎源性疾病研究的几个关键问题





孕期地塞米松应用



流行病学调查与实验室研究：

- 临床广泛用于多种妊娠相关胎儿疾病，如先兆早产。
- **WHO对29个国家359个机构母婴健康调查资料表明，GCs预防性治疗率均为54%，最高达91%。**
- 出生前接受地塞米松治疗的新生儿体重降低，尤以多疗程明显。
- 临床与实验室研究证实，产前应用地塞米松可引起子代多器官发育毒性以及成年多疾病易感。

Crowther, et al., 2011; Morales WJ, et al., 1986; Stewart S, et al., 2013
Carbone, et al., 2012; Tomaszewska, et al., 2012; Crowther, et al., 2011
Vogel JP, et al., 2014; Elfayomy AK, et al., 2014; Murphy KE, et al., 2008
Godfrey, 2006; Lahti, et al., 2014; Long, et al., 2012; De Vries, et al., 2007

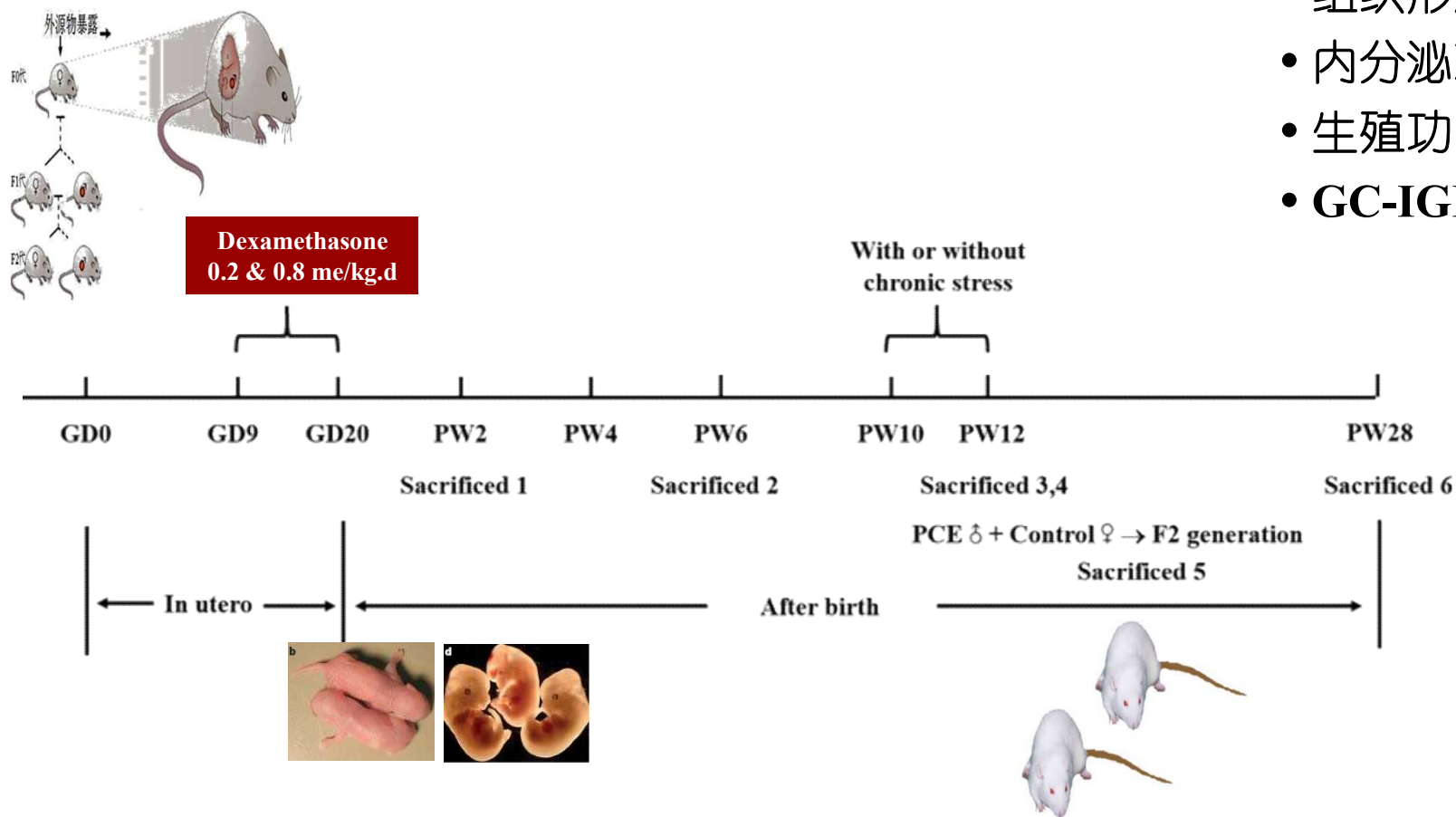




实验方法二

主要指标:

- 组织形态
- 内分泌功能
- 生殖功能
- GC-IGF1轴

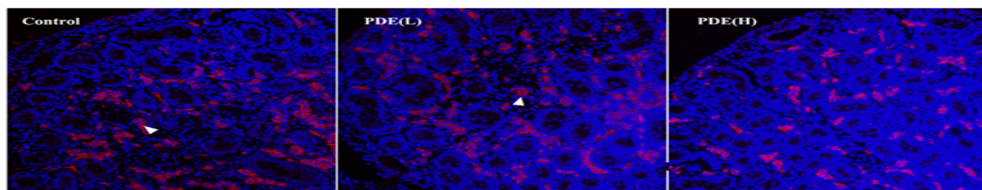
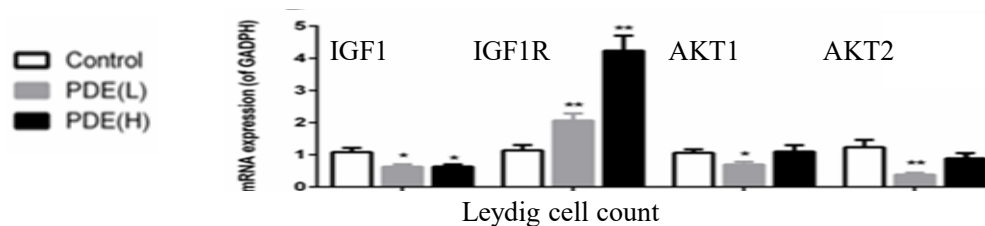
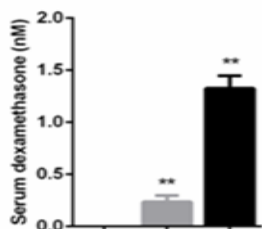




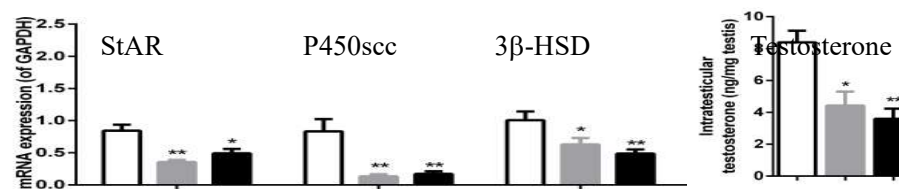
相似之处

1. 胎血高地塞米松暴露下睾丸睾酮合成功能降低

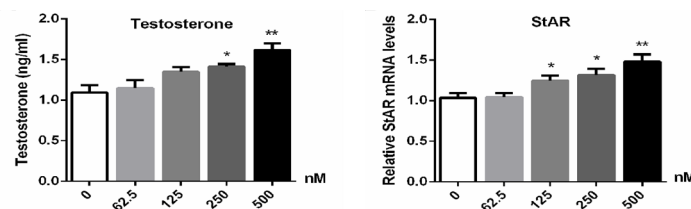
血地塞米松水平



In vivo



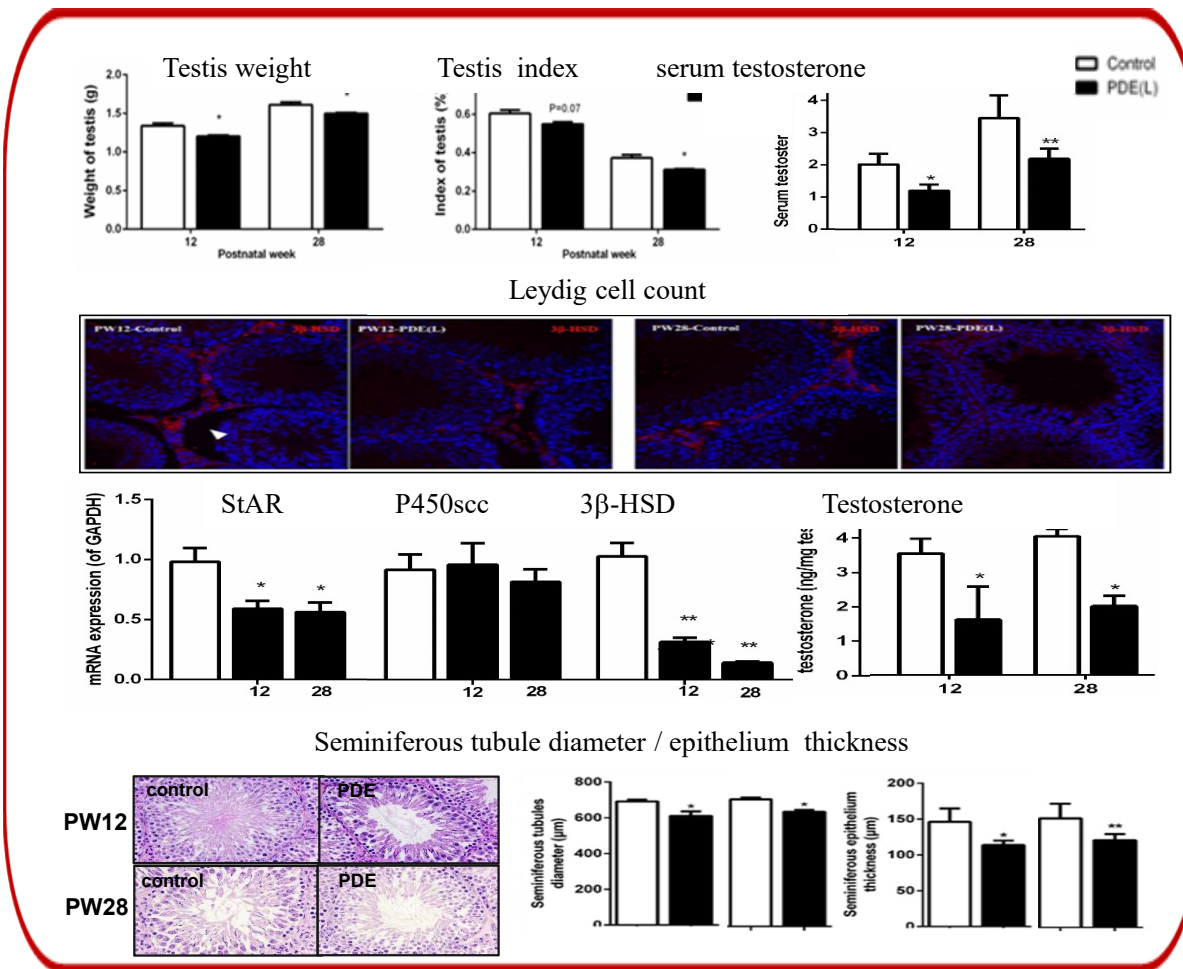
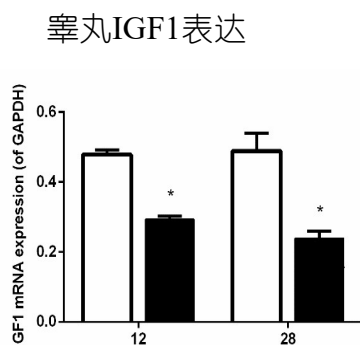
In vitro





不同之处……

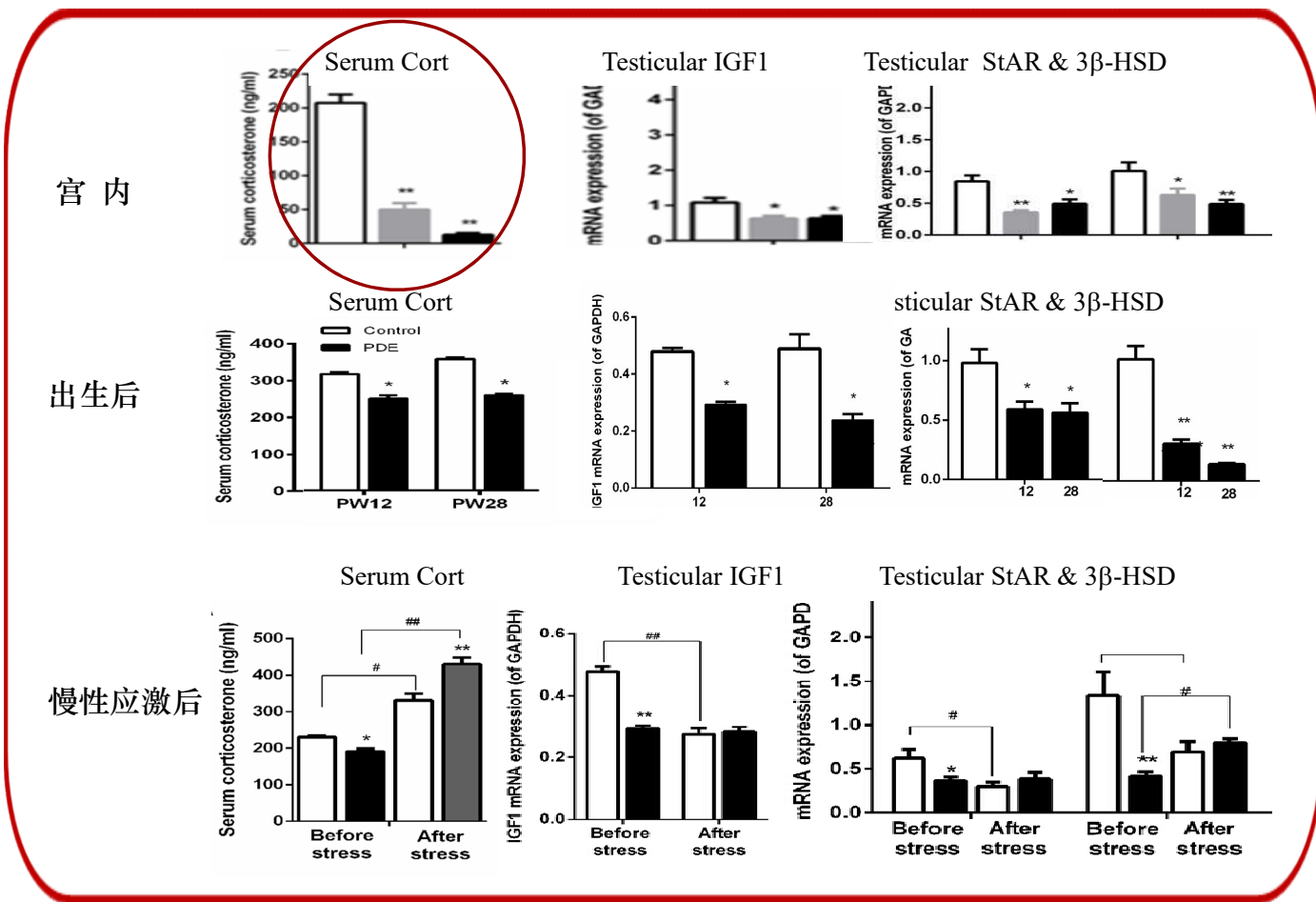
2. 成年后睾丸的睾酮合成功能持续降低





不同之处……

3. 宫内低皮质酮“同向”编程IGF1及甾体合成酶表达

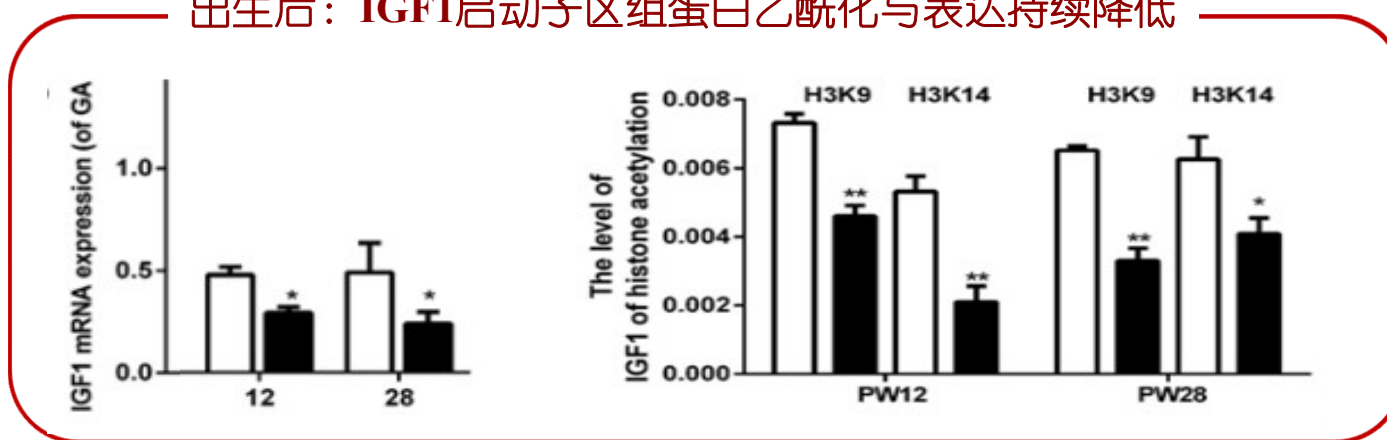




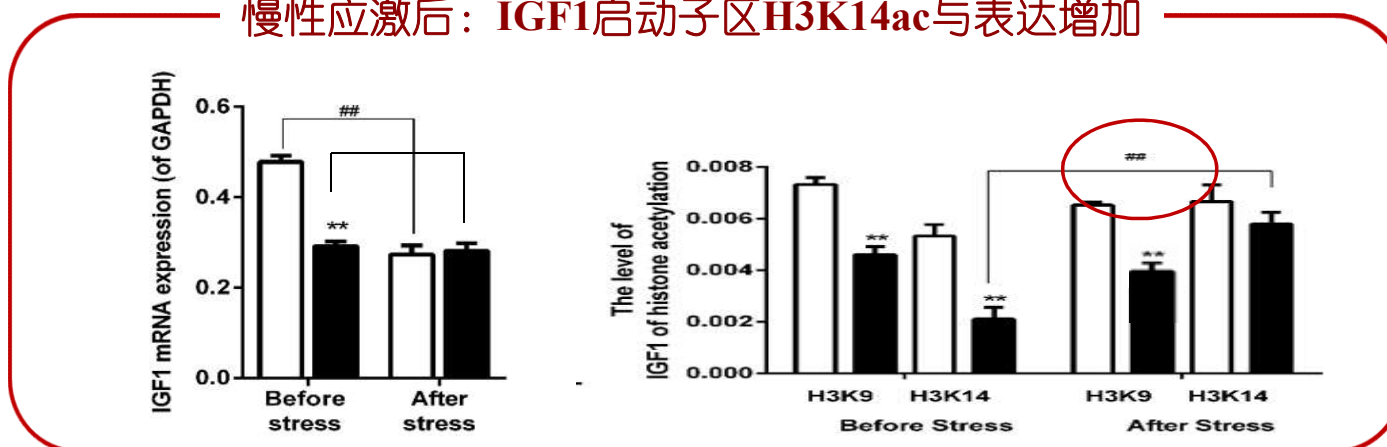
不同之处……

4. 低GC编程IGF1启动子区H3K14乙酰化变化

出生后：IGF1启动子区组蛋白乙酰化与表达持续降低

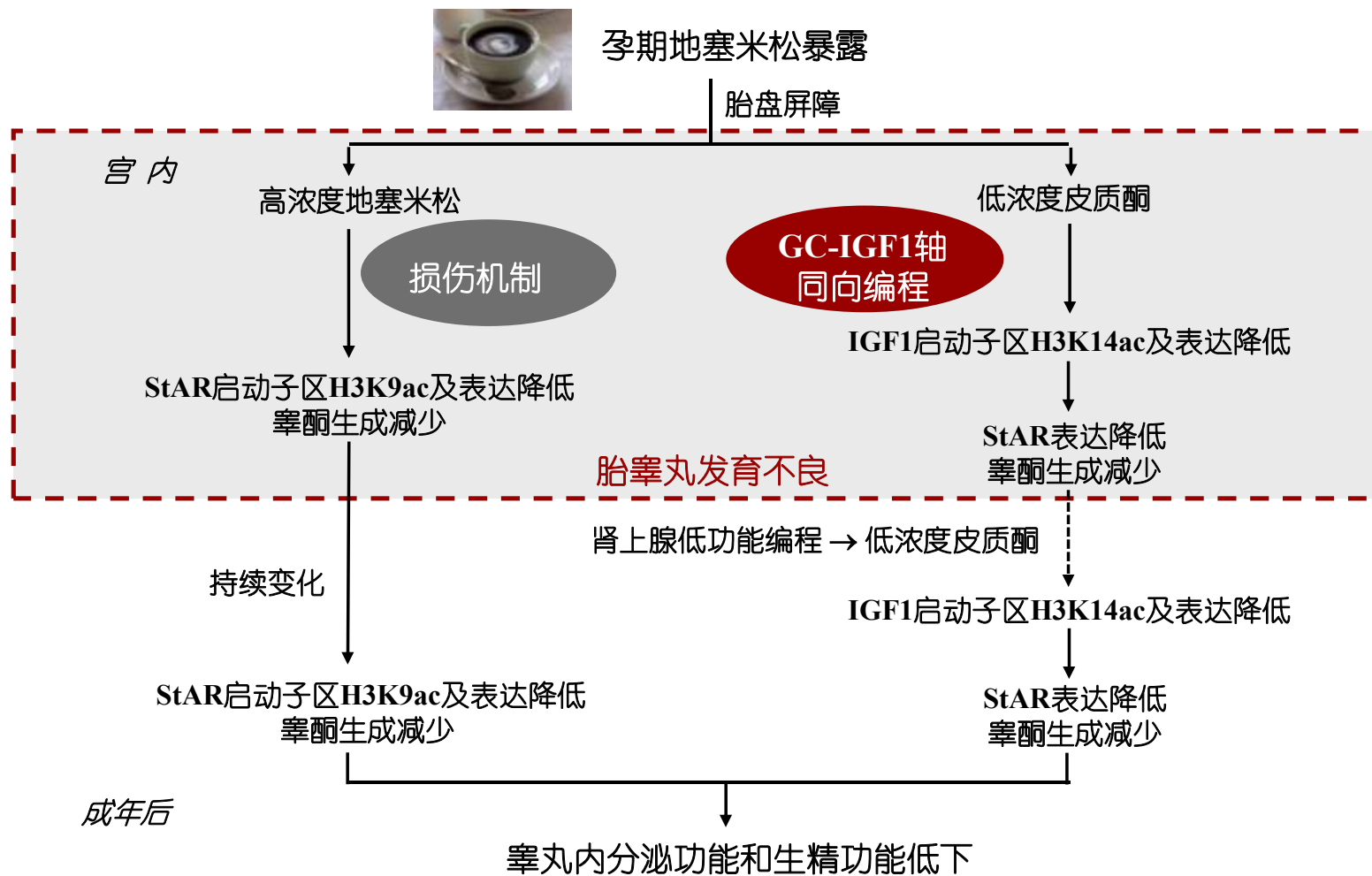


慢性应激后：IGF1启动子区H3K14ac与表达增加





地塞米松睾丸发育毒性的宫内编程机制





总结

- I. 孕期咖啡因暴露引起IUGR雄性子代睾丸宫内发育不良、出生后睾丸（内分泌和生精）功能追赶性生长、成年期睾丸内分泌功能异常相关疾病易感。
- II. 其主要发生机制与宫内母源性高糖皮质激素（非咖啡因）所致睾丸IGF1表达及睾酮合成功能抑制有关，这也是IUGR个体“节俭表型”编程在睾丸局部的表现。
- III. 孕期咖啡因暴露所致的子代GC-IGF1轴“反向编程”参与了睾丸的宫内发育抑制、出生后功能代偿性增强，成年后内分泌功能异常相关疾病易感。
- IV. 孕期地塞米松暴露（机制阳性药）所致的子代GC-IGF1轴“同向编程”参与了睾丸的宫内发育抑制、出生后功能持续低下直至成年，其远期危害大。





提纲

1. 胎儿发育毒性远期危害的宫内编程机制
2. 咖啡因发育毒性及其宫内编程机制
3. 地塞米松睾丸发育毒性及宫内编程机制
4. 胎源性疾病研究的几个关键问题





1. 发育毒理学研究领域的特点

- ❖ **毒性机制复杂**：涉及多学科、多领域的理论与技术，包括发育学、遗传学、药理学、毒理学、生殖医学、内分泌学、免疫学等，实验结果难以合理解析。
- ❖ **技术难度较大**：人群实验涉及伦理问题，主要为整体动物实验，后者存在胎儿标本难以获取、胚胎组织蛋白表达量较低、机制假说难以确证、种属差异大导致动物结果难以直接外推到人等问题，极大的限制了相关领域的研究进程。
- ❖ **研究意义较大**：发育毒性具有远期毒性，研究意义涉及优生优育、人口健康、多种慢性疾病，因此其研究成果对于环境毒理、卫生毒理、生殖医学、发育及遗传学等多学科发展具有重要的借鉴和指导作用。





2. 发育毒性中整体动物实验的重要性

- ❖ **动物实验优势**：尽管动物实验不能完全代替人体实验，动物的发育毒性实验可以很好的展现人群试验所难以开展的研究，如胎儿发育毒性、远期效应、跨代遗传及其宫内编程机制。
- ❖ **外源物模型**：与许多其他疾病的药物性模型一样，外源物（如咖啡因、尼古丁、乙醇、地塞米松）孕中、后期暴露所致大鼠IUGR是较好的研究发育与遗传毒理动物模型，能很好反映机体神经内分泌紊乱和多脏器损伤等。
- ❖ **暴露剂量/时间**：发育毒性动物模型的建立需要考虑暴露剂量与时间窗问题，其中剂量范围应涵盖安全剂量、日常暴露量、毒性剂量；时间窗主要在孕中、后期，反映胎儿功能分化时期。





3. 胎源性疾病的宫内发生机制

- ❖ **多种因素作用**：孕期外源物暴露所致的发育毒性存在外源物的直接作用和糖皮质激素的间接作用（地塞米除外）；
- ❖ **高GCs环境**：我们的大量研究证实，内源性高GCs编程胎儿多疾病易感，其发生于多种孕期不良环境诱发的胎盘GCs屏障开放（母体代偿机制）；
- ❖ **宫内编程改变**：母源性高GCs通过“节俭表型”和“GC-IGF1轴”编程帮助胎儿度过危险期，也造成出生后多种疾病易感，为胎源性疾病发生留下隐患（双刃剑）。
- ❖ **表观遗传机制**：高GCs通过激活其受体，招募共转录因子及表遗传修饰酶，表遗传调控下游多个重要基因的转录表达，是宫内编程、跨代遗传效应的物质基础。





4. 胎源性疾病的性别差异及可能机制

- ❖ **性别差异明确**：流行病学与实验室结果均提示，孕期不良环境所致的子代慢性疾病易感存在着明显的性别差异。
- ❖ **参与源于宫内**：性别差异源于宫内，以雄性损伤较为明显；出生后追赶性生长也存在明显性别差异，以雌性为主。
- ❖ **生殖循环机制**：子代生殖循环差异可能是胎源性疾病性别差异的主要物质基础，但其机制不清楚，可能与IGF1/IGF1R的性激素调控差异有关。
- ❖ **GCs相关机制**：胎盘GCs相关基因、HPA轴及其调节中枢海马功能相关基因的表达存在性别差异，可能介导了子代宫内编程的性别差异。





5. 地塞米松发育毒性及其发生机制

- ❖ **地塞米松发育毒性：**孕期地塞米松暴露可引起子代宫内发育迟缓及成年后代谢综合征易感，并存在明显性别差异。
- ❖ **发育毒性发生机制：**与地塞米松直接激活胎肾上腺GC活化系统抑制GC-IGF1轴编程，引起宫内肾上腺功能明显低下但出生后迅速追赶性生长，最终导致成年后糖/脂代谢功能紊乱。
- ❖ **内、外源GCs区别：**母源性GCs（如皮质酮）和合成类GCs（如地塞米松）所致子代代代谢综合征易感的毒性靶标—胎肾上腺GC-IGF1轴编程。其中，地塞米松抑制GCs-IGF1轴编程，为损伤作用，毒性更大，而皮质酮则增强GCs-IGF1轴编程，为代偿作用，毒性较轻。





Thank You

