

环境内分泌干扰物对青春前期雄性大鼠性腺发育的不良影响及益肾填精方的治疗作用

李祥婷 蔡德培

摘要 **目的** 复制 SD 雄性大鼠由环境内分泌干扰物 (environmental endocrine disruptors, EEDs) 引致的性腺发育不良 (gonadal dysgenesis, GD) 模型, 验证益肾填精方对 EEDs 抗雄激素活性的拮抗作用。**方法** 3 周龄雄性 SD 大鼠 70 只随机分为 7 组: 对照组 (喂饲玉米油)、模型 A 组 [邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯 (di-2-ethylhexylphthalate, DEHP) 500 mg/kg]、中药 A 组 (DEHP 500 mg/kg + 益肾填精方 40 mL/kg)、模型 B 组 [氯氰菊酯 (Cypermethrin, CYP) 80 mg/kg]、中药 B 组 (CYP 80 mg/kg + 益肾填精方 40 mL/kg)、模型 C 组 (DEHP 500 mg/kg + CYP 80 mg/kg) 及中药 C 组 (DEHP 500 mg/kg + CYP 80 mg/kg + 益肾填精方 40 mL/kg), 每组 10 只。每天灌胃 1 次, 共 30 天。于末次染毒 24 h 后处死动物, 测定大鼠体重、睾丸湿重, 并计算睾丸系数; 测定血清睾酮 (testosterone, T) 水平; 制备睾丸病理组织切片, 光镜观察其组织学改变, 电镜观察生殖细胞超微结构的变化。**结果** 与对照组比较, 各模型组及各中药组大鼠体重增加量差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 各模型组睾丸下降时间及包皮分离时间均明显延迟 ($P < 0.01$); 模型 A 组及模型 C 组睾丸重量减轻, 血清 T 降低; 模型 A 组睾丸系数降低 ($P < 0.01$)。与相应模型组比较, 各中药组睾丸下降时间及包皮分离时间均提前 ($P < 0.01$); 中药 A 组睾丸重量、睾丸系数及 T 水平均增加 ($P < 0.01$), 中药 B 组 T 水平明显升高 ($P < 0.05$)。**结论** 应用 DEHP 剂 CYP 成功地复制了 GD 大鼠模型, 证实 EEDs 具有显著的抗雄激素活性, 并验证了益肾填精方对其抗雄激素活性具有显著的拮抗作用。

关键词 环境内分泌干扰物; 邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯; 氯氰菊酯; 性腺发育不良; 益肾填精方

Adverse Effect of Environmental Endocrine Disruptors on Gonadal Development of Prepubertal Male Rats and Therapeutic Effect of Bushen Tianjing Recipe on It LI Xiang-ting and CAI De-pei
Department of Integrated Traditional and Western Medicine, Children's Hospital of Fudan University, Shanghai (200032), China

ABSTRACT **Objective** To verify the antagonistic effect of Bushen Tianjing Recipe (BTR) on environmental endocrine disruptors (EEDs) induced gonadal dysgenesis (GD) Sprague-Dawley (SD) male rat model. **Methods** Totally 70 3-week-old male SD rats were randomly divided into seven groups, i.e., the control group (fed with corn oil), the model A group [di-2-ethylhexylphthalate (DEHP) 500 mg/kg], the CM A group (fed with DEHP 500 mg/kg + BTR 40 mL/kg), the exposed group B (fed with CYP 80 mg/kg), the CM B group (fed with CYP 80 mg/kg + BTR 40 mL/kg), the model C group [fed with DEHP 500 mg/kg + CYP 80 mg/kg], the CM C group (DEHP 500 mg/kg + CYP 80 mg/kg + BTR 40 mL/kg), respectively, 10 in each group. All were administered with corresponding medication by gastrogavage, once daily, for total 30 days. Rats were killed 24 h after the last administration, and their body weight and wet testis weight were weighed. The coefficient of testis was calculated. The serum testosterone (T) level was measured by chemiluminescent immunoassay. The histopathologic tissue was prepared. The ultrastructural changes of genital cells were observed by electron microscope. **Results** Compared with the control group, there was no statistical difference in the body weight increase among all groups ($P >$

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (No. 30371820)

作者单位: 复旦大学附属儿科医院中西医结合科 (上海 200032)

通讯作者: 蔡德培, 021-64038640, E-mail: dp_cai@yahoo.com.cn

DOI: 10.7661/CJIM.2013.12.1690

0.05)。The time of testicular descent and preputial separation were significantly delayed in each exposed group ($P < 0.01$)。In the exposed group A and the exposed group C, the wet weight of the testes was reduced and serum T level decreased ($P < 0.01$)。The coefficient of testis significantly decreased in the exposed group A ($P < 0.01$)。Compared with corresponding model group, the time of testicular descent and preputial separation were significantly fore-laid in each corresponding CM group ($P < 0.01$)。The weight of the testes, the coefficient of testis, and the serum T level increased in the CM A group ($P < 0.01$)。The serum T level obviously increased in the CM B group ($P < 0.05$)。Conclusions The GD rat model was successfully duplicated by using DEHP. EEDs were proved to have significant anti-androgen activities. BTR was verified to have significant antagonistic to its anti-androgen effect.

KEYWORDS environmental endocrine disruptor; di-2-ethylhexylphthalate; Cypermethrin; gonadal dysgenesis; Bushen Tianjing Recipe

环境内分泌干扰物 (environmental endocrine disruptors, EEDs) 是一类外源性化学物质, 能干扰生物体内正常激素的合成、释放、转运、与受体结合、代谢和消除, 因而会干扰正常激素维持体内平衡和调节发育过程的作用^[1]。国外已有较多文献报告, 大多数种类的 EEDs 往往同时具有拟雌激素和抗雄激素的双重活性, 不仅可引起女性生殖系统的发育和功能异常, 而且也可引起男性生殖系统的发育和功能异常, 如导致睾丸和附睾萎缩, 精液量和精子数减少, 精子活动度降低, 精子畸形率升高^[2]。因此, EEDs 对男女两性均具有显著的生殖毒性。处于发育阶段的个体, 如胚胎期、新生儿及青春发育期, 对 EEDs 的敏感性很高, 摄入很低的剂量就可能导致内分泌系统和生殖器官功能的持久损害^[3]。

EEDs 可能是男性患儿原发性性腺发育不良 (gonadal dysgenesis, GD) 的直接病因, 而对于下丘脑-垂体促性腺功能低下的继发性 GD 患儿, EEDs 则可能是其发病的重要促进因素^[4,5]。我院近十余年来, 对儿童性早熟、青春期延迟及 GD 的发病规律、诊断、治疗及药物的作用机制进行了系统深入的研究, 制定了以中药为主的治疗方案, 在临床上取得了显著的疗效^[6]。本研究复制了 EEDs 引致 GD 的 SD 大鼠染毒模型, 研究 EEDs 影响性腺发育的作用环节, 并验证益肾填精方^[7,8]对 EEDs 抗雄激素活性的拮抗作用。

材料与方 法

1 实验动物 21 日龄雄性 SPF 级 SD 大鼠 70 只, 体重 (60 ± 5) g, 购自上海西普尔必凯实验动物有限公司, 许可证号: SCXK (沪) 2008-0016。动物饲养于上海复旦大学动物实验中心, SPF 级动物房, 温度为 (22 ± 3) °C, 相对湿度为 50% ~ 60%, 12 h/12 h 明暗周期, 动物食用标准颗粒饲料, 自由饮水和摄食。

2 药物、试剂及仪器 邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯 (di-2-ethylhexylphthalate, DEHP): 分析纯, 纯度 $\geq 99\%$, 上海劲马实验设备有限公司, 批号: 5549; 氯氰菊酯 (Cypermethrin, CYP): 有效成分 $> 95\%$, 南京荣诚化工有限公司, 批号: 0697。益肾填精方由熟地黄、制首乌、龟版胶、仙灵脾、巴戟天、鹿角胶、菟丝子、肉苁蓉等 10 味中药组成。由本院中药制剂室煎制成浓缩合剂, 每毫升含生药约 3 g。玉米油: 市售, 金龙鱼牌, Q/CYZLY004 中粮食品营销公司; 雄激素试剂盒: 贝克曼 (中国) 有限公司; T.G.L-16 gR 型高速台式冷冻离心机: 武汉爱斯佩科学仪器有限公司; Olympus BH2 型显微镜: Olympus Corporation, 日本; Panasonic MV-C P410 型摄像机: Panasonic 公司, 日本; IMS 细胞图像分析系统医学图像分析软件: 上海申腾信息技术有限公司。

5 GD 动物模型制备预实验 参照文献 [9, 10], 啮齿类动物青春前期 (出生后 21 ~ 48 天) 是从断乳到性发育成熟之间的过渡时期, 鉴于青春前期系动物性腺对染毒物质最为敏感的阶段, 此时接触染毒物质将对性腺发育、成熟造成严重影响。本研究选取青春前期大鼠 (21 日龄雄性 SD 大鼠) 作为研究对象。为了探索最佳染毒剂量和染毒时间, 选用 21 日龄 SD 雄性大鼠 30 只, 分为 DEHP 高 (750 mg/kg)、中 (500 mg/kg) 剂量组, CYP 高 (100 mg/kg)、中 (80 mg/kg) 剂量组, 对照组, 每组 6 只。于染毒 1、2、4 周时, 观察肛门生殖器间距、睾丸下降、包皮分离及外生殖器的发育状况。分别于 2、4 周后分 2 批 (每批 15 只) 用 10% 水合氯醛麻醉各组大鼠, 颈动脉抽血, 分离血清, 化学发光法测定其睾酮 (testosterone, T) 水平。取出睾丸, 测定睾丸湿重, 并做病理切片, 光镜观察组织学改变。确定正式实验的最佳染毒剂量为 DEHP 500 mg/kg 及 CYP 80 mg/kg, 最佳染毒时间

为 30 天。

6 实验动物分组、模型制备及干预方法 70 只 SD 雄性大鼠随机分为 7 组:对照组(喂饲玉米油)、模型 A 组(DEHP, 500 mg/kg)、中药 A 组[DEHP 500 mg/kg + 益肾填精方 40 mL/kg(相当于临床人用药量 10 倍)]、模型 B 组(CYP 80 mg/kg)、中药 B 组(CYP 80 mg/kg + 益肾填精方 40 mL/kg^[11])、模型 C 组(DEHP 500 mg/kg + CYP 80 mg/kg)及中药 C 组(DEHP 500 mg/kg + CYP 80 mg/kg + 益肾填精方 40 mL/kg), 每组 10 只。每天灌胃 1 次, 共 30 天。干预期间每天称重, 根据体重调整给药量。

7 检测指标及方法

7.1 发育指标观察及血清 T 水平测定 于实验开始(第一次灌胃)前给大鼠称重并记录为初次体重, 以后每天灌胃前称重, 并根据体重调整灌胃剂量, 处死大鼠前称重, 计算体重增长量, 体重增长量(g) = 干预后体重 - 初次体重。干预期间每天观察大鼠包皮分离(preputial separation, PPS)的情况, 记录包皮部分和全部分离时动物的日龄和体重; 每天观察睾丸下降情况, 并记录睾丸下降时的日龄和体重。末次给药 24 h 后, 10% 水合氯醛腹腔注射麻醉后, 每只大鼠颈动脉采血, 4 ℃ 10 000 r/min 离心 15 min, 分离血清。化学发光法测定 T 水平。

7.2 睾丸湿重及组织病理学检查 末次给药 24 h 后, 10% 水合氯醛腹腔注射麻醉后, 迅速剥离双侧睾丸, 立即称重。并计算睾丸系数, 睾丸系数(%) = 睾丸湿重(g)/体重(g) × 100%。取一侧睾丸于 10% 中性福尔马林固定 24 h 后, 石蜡包埋, 连续切片, 片厚 5 μm, 常规 HE 染色后镜检。另一侧睾丸迅速投入 4% 多聚甲醛—2% 戊二醛(pH7.4)混合固定缓冲液中, 预固定 5~10 min。待柔软组织稍变硬后, 用刀片快速分切成 1 mm³ 大小的组织块, 然后室温继续固定 2 h, 电镜标本常规脱水, 包埋, 切片厚度 50~70 nm, 行醋酸铀、枸橼酸铅双重染色, 透射电镜观察生殖细胞超微结构。电镜标本由复旦大学上海医学院电镜室制作。

8 统计学方法 采用 SPSS 19.0 统计分析软件, 所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较用单因素方差分析, 两两比较采用 LSD 检验, 方差不齐时用 Tamhane 检验。P < 0.05 为差异有统计学意义。

结 果

1 各组一般状态比较 各组大鼠染毒及治疗期间活动正常, 反应灵敏, 皮毛光滑整洁, 进食饮水等均

正常, 无精神萎靡及死亡等异常情况。

2 各组体重增加量、睾丸下降及包皮分离时间比较(表 1) 与对照组比较, 各模型组及各中药组大鼠体重增加量差异无统计学意义(P > 0.05), 各模型组睾丸下降时间及包皮分离时间均明显延迟(P < 0.01)。与相应模型组比较, 各中药组睾丸下降时间及包皮分离时间均提前(P < 0.01)。

表 1 各组体重增加量、睾丸下降及包皮分离时间比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	体重增加量 (g)	睾丸下降日龄 (d)	包皮分离日龄 (d)
对照	10	224.3 ± 9.4	25.9 ± 1.1	38.9 ± 0.7
模型 A	10	209.6 ± 13.8	30.1 ± 1.6*	47.5 ± 2.4*
中药 A	10	214.9 ± 10.7	27.6 ± 0.8 [△]	41.1 ± 1.2 [△]
模型 B	10	212.1 ± 9.9	29.3 ± 1.4*	44.9 ± 0.7*
中药 B	10	215.5 ± 13.3	26.9 ± 0.9 [△]	40.8 ± 1.1 [△]
模型 C	10	210.9 ± 7.6	29.1 ± 1.5*	46.3 ± 1.4*
中药 C	10	218.9 ± 6.2	26.8 ± 0.9 [△]	42.8 ± 2.1 [△]

注: 与对照组比较, *P < 0.01; 与相应模型组比较, [△]P < 0.01

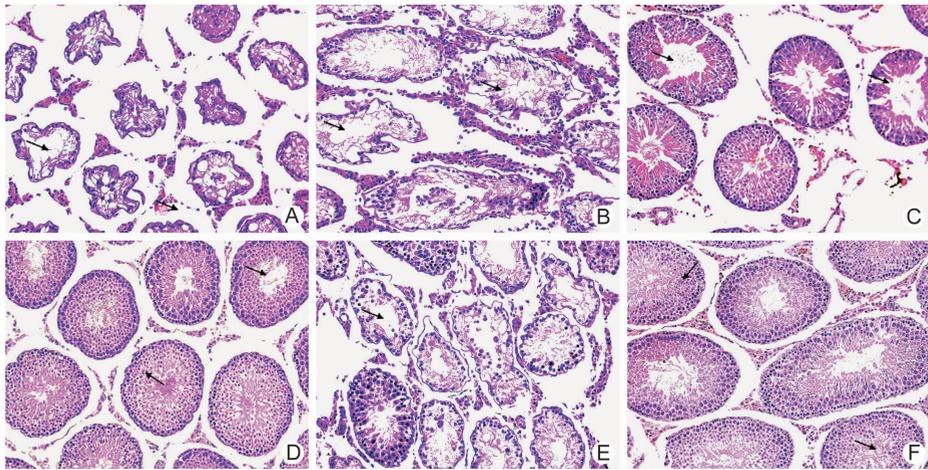
3 各组大鼠睾丸重量及血清 T 水平比较(表 2) 与对照组比较, 模型 A 组及模型 C 组睾丸重量明显减轻, 模型 A 组睾丸系数明显降低(P < 0.01), 各模型组血清 T 水平均明显降低(P < 0.01)。与相应模型组比较, 中药 A 组睾丸重量、睾丸系数及 T 水平均升高(P < 0.01, P < 0.05), 中药 B 组 T 水平升高(P < 0.05)。

表 2 各组大鼠睾丸重量、睾丸系数及血清 T 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	睾丸重量 (g)	睾丸系数 (%)	血清 T (ng/dL)
对照	10	2.3 ± 0.2	0.8 ± 0.0	12.30 ± 0.43
模型 A	10	0.7 ± 0.2*	0.2 ± 0.0*	4.59 ± 0.16*
中药 A	10	1.5 ± 0.5 ^{△△}	0.4 ± 0.1 [△]	11.47 ± 0.40 ^{△△}
模型 B	10	2.1 ± 0.5	0.7 ± 0.1	6.50 ± 0.23*
中药 B	10	2.2 ± 0.5	0.8 ± 0.1	10.96 ± 0.38 [△]
模型 C	10	1.7 ± 0.6*	0.6 ± 0.2	6.60 ± 0.23*
中药 C	10	2.1 ± 0.5	0.8 ± 0.1	9.28 ± 0.32

注: 与对照组比较, *P < 0.01; 与相应模型组比较, [△]P < 0.05, ^{△△}P < 0.01

4 各组大鼠睾丸组织病理学结果比较(图 1) 模型 A 组睾丸曲细精管外形不规则、萎缩、变性, 间质增宽, 生精上皮退化变性, 甚至消失, 生精细胞锐减, 基底部仅有少量的支持细胞, 曲细精管管腔中未见成熟精子(图 1A)。中药 A 组睾丸曲细精管外形欠规则, 生精上皮变薄, 层次排列紊乱并减少, 仅由少量的精母细胞和支持细胞组成, 且有脱落的现象, 细胞排列疏松紊乱(图 1B)。模型 B 组曲细精管排列规则, 但直径



注:A 为模型 A 组,箭头处显示生精细胞锐减,曲细精管管腔中未见成熟精子,间质增宽;B 为中药 A 组,箭头处显示生精上皮变薄,细胞排列紊乱;C 为模型 B 组,箭头处显示生精上皮层次和生精细胞数量均减少;D 为中药 B 组,箭头处显示曲细精管管壁完整,管内细胞排列较整齐,只有少数生精上皮层次减少;E 为模型 C 组,箭头处显示萎缩变形的生精上皮明显变薄,层次减少,细胞排列疏松紊乱,间质增生;F 为中药 C 组,箭头处显示曲细精管外形规则,管内细胞排列整齐,管腔内可见各级精子细胞和少量成熟的精子

图 1 各组大鼠睾丸组织病理结果 (HE, ×200)

变小,间质增宽,生精上皮层次减少,生精细胞数量减少且有部分脱落至管腔(图 1C)。中药 B 组曲细精管管壁完整,管内细胞排列较整齐,只有少数生精细胞层数减少(图 1D)。模型 C 组睾丸曲细精管萎缩,萎缩曲细精管的生精上皮明显变薄,层次减少,细胞排列疏松紊乱,间质增生,管腔内多见脱落细胞,未见成熟精子(图 1E)。中药 C 组可见曲细精管外形规则,管内细胞排列整齐,管腔内可见各级精子细胞和少量成熟的精子。只有少量曲细精管受损,变性的生精细胞少(图 1F)。

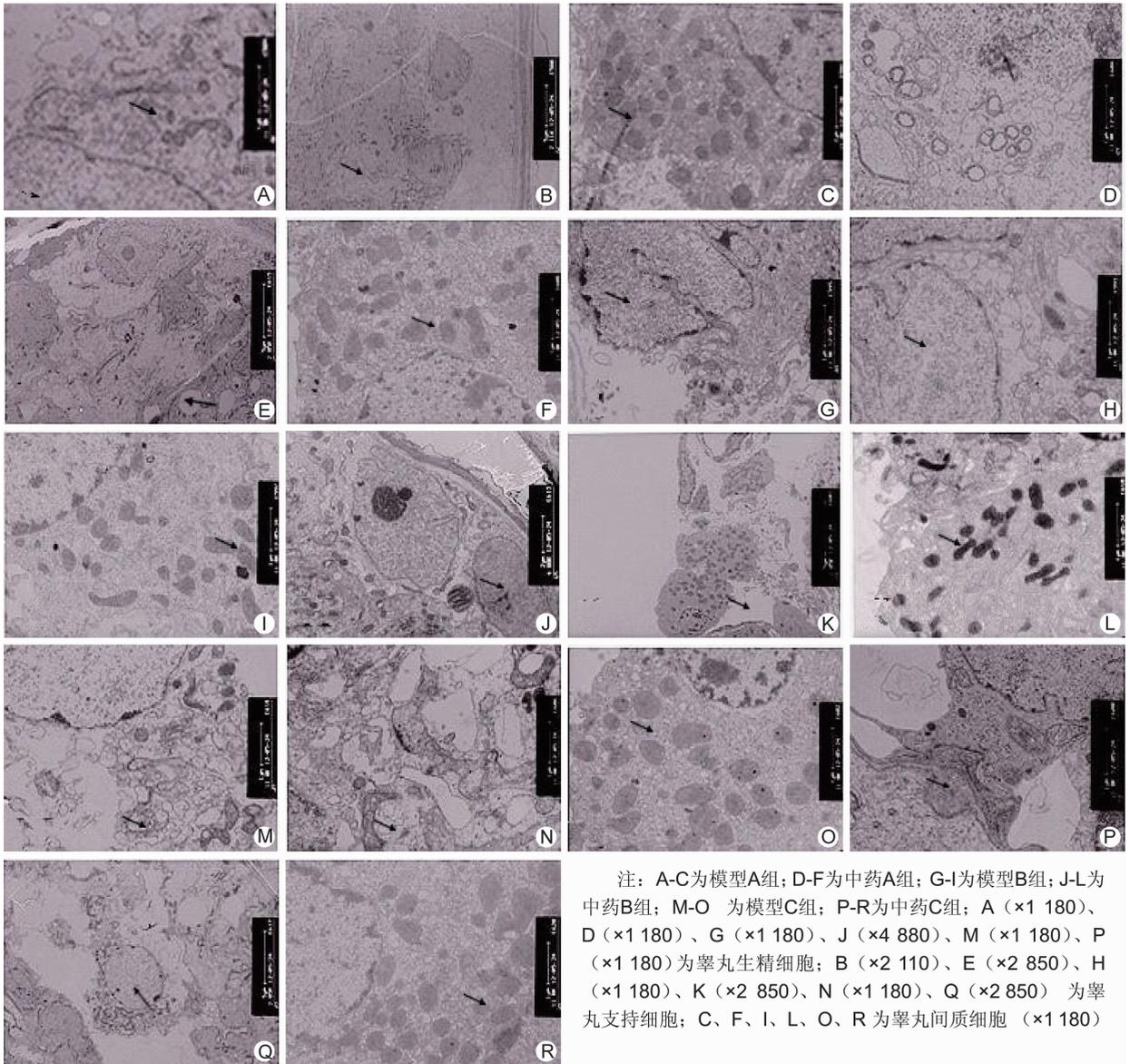
5 各组大鼠睾丸组织细胞超微结构比较(图 2) 模型 A 组可见睾丸生精细胞肿胀,空泡化,线粒体嵴消失,未见成熟的精子(图 2A);支持细胞胞浆颜色变浅,核膜、线粒体肿胀,粗面内质网扩张(图 2B);间质细胞未见明显异常(图 2C)。中药 A 组生精细胞肿胀,线粒体呈空泡化,曲细精管中可见精子细胞及少数成熟的精子(图 2D);支持细胞线粒体略微肿胀,粗面内质网扩张(图 2E);间质细胞未见明显异常(图 2F)。模型 B 组生精细胞质膜不完整,肿胀、破裂,未见成熟精子(图 2G);支持细胞肿胀,粗面内质网扩张(图 2H);间质细胞少数细胞破裂,大部分细胞未见明显异常(图 2I)。中药 B 组生精细胞略微肿胀(图 2J);支持细胞间隙增大(图 2K);间质细胞未见明显异常(图 2L)。模型 C 组生精细胞肿胀,个别生精细

胞出现破裂,线粒体肿胀,线粒体嵴模糊或消失,未见成熟精子(图 2M);支持细胞胞浆肿胀,空泡样改变(图 2N);间质细胞未见明显异常(图 2O)。中药 C 组生精细胞间隙增大,线粒体肿胀,可见少许成熟精子(图 2P);支持细胞肿胀明显(图 2Q);间质细胞未见明显异常(图 2R)。

讨 论

EEDs 是普遍存在于环境中的一类化学物质,能够引起机体内分泌系统功能的紊乱^[12]。大多数的 EEDs 具有拟雌激素和抗雄激素双重活性作用,对生殖器官产生严重的毒害作用。当前正常男童已较普遍地暴露于 EEDs,而 GD 男童暴露于 EEDs 的程度则更严重,说明 EEDs 是导致男童 GD 的一个重要致病因素。而目前尚无有效的西药来拮抗 EEDs 的生殖毒性。本项目组前期采用益肾填精的中药治疗受 EEDs 污染所致的 GD 男童,取得显著的临床疗效,证实所用中药对 EEDs 的抗雄激素活性具有明显的拮抗作用^[5]。

本研究主要观察 DEHP、CYP 单独及联合染毒对青春前期雄性大鼠睾丸发育及 T 分泌功能包括睾丸下降、包皮分离、睾丸重量和睾丸系数、血清 T 水平、睾丸组织病理学改变及超微结构的不良影响,验证益肾填精方对其生殖毒性的拮抗作用。



注：A-C为模型A组；D-F为中药A组；G-I为模型B组；J-L为中药B组；M-O为模型C组；P-R为中药C组；A（×1 180）、D（×1 180）、G（×1 180）、J（×4 880）、M（×1 180）、P（×1 180）为睾丸生精细胞；B（×2 110）、E（×2 850）、H（×1 180）、K（×2 850）、N（×1 180）、Q（×2 850）为睾丸支持细胞；C、F、I、L、O、R为睾丸间质细胞（×1 180）

图2 各组大鼠睾丸超微结构比较

睾丸下降和包皮分离是雄激素依赖的生理过程。包皮分离是雄性大鼠青春期启动的一个标志^[13]。研究结果显示,DEHP、CYP单独及联合染毒使青春前期雄性大鼠青春期启动时限明显延迟($P < 0.01$),而中药干预后,雄性大鼠青春期启动时限接近对照组。环境化合物在自然界中浓度虽低,但相互之间协同作用甚强,在真实环境中常常联合作用于生物体。国内外关于DEHP和CYP雄性生殖毒性的报道较多,但二者联合染毒还未见报道。本次研究发现,DEHP、CYP单独及联合染毒对青春前期雄性大鼠均具有明显的生殖毒性作用,可引起生精细胞、支持细胞和间质细胞的变性、水肿、坏死、脱落及功能障碍,干扰精子的发生、分化和成熟,从而导致雄性生殖系统发育和功能的显著异常。

睾丸是环境毒物最重要的蓄积部位和靶器官。睾丸光镜和电镜检查结果显示,模型组睾丸均发生了不同程度的病变和超微结构的损害,损伤部位主要在生精上皮,间质细胞和支持细胞也有不同程度的受累。而中药干预可使EEDs染毒大鼠睾丸病变程度显著减轻。

T由睾丸间质细胞分泌,血清T水平是睾丸分泌T功能的主要指标。研究结果显示,模型组血清T水平显著降低,而中药组血清T水平则显著增高。由此推测,中药可能通过拮抗EEDs的生殖毒性,对睾丸生殖细胞产生保护作用。

研究结果均证实了EEDs具有显著的抗雄激素活性,可对睾丸发育及T分泌功能产生严重的不良影响,并验证了益肾填精方对EEDs抗雄激素活性及生殖毒

性具有显著的拮抗作用,明显的改善了睾丸发育及 T 的分泌功能^[14-16]。

中医学认为,肾为先天之本,肾藏精主生殖。性腺发育不良按照中医辨证为肾精不足之证,当以益肾填精之法为治疗原则。采用熟地黄、制首乌滋肾阴、益精血;仙灵脾、巴戟天壮肾阳、益精气;菟丝子补肝肾、益精髓;肉苁蓉补肾壮阳、滋阴益髓;龟版胶、鹿角胶滋肾阴壮肾阳、峻补精血。诸药合用,起到滋阴壮阳、补肾填精益髓的功效。临床上采用益肾填精中药治疗性腺不良及青春期延迟的患儿,可使患儿的促性腺激素及 T 水平显著回升,睾丸及外生殖器的发育异常得到改善,从而进入比较正常的性发育及青春期的进程^[5]。

本研究在既往采用益肾填精方治疗 GD 男童已取得显著临床疗效的基础上^[5],进一步在 SD 雄性大鼠由 EEDs 引致的 GD 疾病模型上,采用益肾填精方进行治疗干预。结果显示中药治疗干预后,可使染毒动物睾丸形态结构和 T 分泌功能明显改善。验证了益肾填精方对 EEDs 的抗雄激素活性具有明显的拮抗作用。

本研究尚存在一些不足之处,如缺乏染毒及中药治疗前后大鼠血尿中 DEHP、CYP 的浓度及代谢情况的相关数据,今后需进行进一步研究。

参 考 文 献

- [1] Petrovic M, Eljarrat E, Alda JL, et al. Endocrine disrupting compounds and other emerging contaminants in the environment: a survey on new monitoring strategies and occurrence data[J]. *Anal Bioanal Chem*, 2004, 378: 549-562.
- [2] Nikolaropoulos SI, Nicolopoulou-Stamati P, Pitsos MA. The impact of endocrine disrupting substances on human reproduction[J]. *Endocr Disruptors Environ Health Policies*, 2001, 18: 39-68.
- [3] Den Hond E, Schoeters G. Endocrine disruptors and human puberty[J]. *Int J Androl*, 2006, 29(1): 264-270.
- [4] Sharpe R, Mahood K, Hallmark N, et al. Development of the male reproductive system: targets for phthalates and other endocrine disruptors[J]. *Horm Res*, 2006, 65(S4): 9-10.
- [5] 蔡德培. 应重视环境内分泌干扰物所致的儿童性发育异

- 常[J]. *临床儿科杂志*, 2008, 26(12): 1007-1009.
- [6] 蔡德培主编. 性早熟及青春期延迟[M]. 上海:上海科学技术文献出版社, 2005:33-40,163-171.
- [7] 李嫔,蔡德培. 补肾中药对青春期大鼠下丘脑生长抑素基因及其蛋白表达的影响[J]. *中国临床康复*, 2006, 10(7): 165-167.
- [8] 蔡德培,陈伯英,张炜,等. 中药调整性早熟儿童青春发育进程的机制研究[J]. *中西医结合学报*, 2006, 4(2): 166-174.
- [9] Joshi SC, Bansal B, Jasuja ND. Evaluation of reproductive and developmental toxicity of cypermethrin in male albino rats[J]. *Toxicol Environ Chem*, 2011, 93(3): 593-602.
- [10] Ge RS, Chen GR, Dong Q, et al. Biphasic effects of postnatal exposure to diethylhexyl phthalate on the timing of puberty in male rats[J]. *J Androl*, 2007, 28(4): 513-520.
- [11] 孔元原,蒋明玉,蔡德培. 滋肾阴泻相火中药对环境内分泌干扰物染毒大鼠生殖器官雌激素受体表达的影响[J]. *中国中西医结合杂志*, 2010, 30(3): 312-316.
- [12] Schoeters G, Den Hond E, Dhooge W, et al. Endocrine disruptors and abnormalities of pubertal development[J]. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 2008, 102(2): 168-175.
- [13] Stoker TE, Laws SC, Crofton KM, et al. Assessment of DE-71, a commercial polybrominated diphenyl ether (PBDE) mixture, in the EDSP male and female pubertal protocols[J]. *Toxicol Sci*, 2004, 78(1): 144-155.
- [14] Pant N, Pant AB, Shukla M, et al. Environmental and experimental exposure of phthalate esters: the toxicological consequence on human sperm[J]. *Hum Exp Toxicol*, 2011, 30(6): 507-514.
- [15] Kim TS, Jung KK, Kim SS, et al. Effects of in utero exposure to Di(n-Butyl) phthalate on development of male reproductive tracts in Sprague-Dawley rats[J]. *J Toxicol Environ Health A*, 2010, 73(21-22): 1544-1559.
- [16] Jie X, Yang W, Jie Y, et al. Toxic effect of gestational exposure to nonylphenol on F1 male rats[J]. *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol*, 2010, 89(5): 418-428.

(收稿:2012-08-17 修回:2013-07-08)