

# 放射增敏剂尼可胺对雄性大鼠生殖毒性的研究

刘晓秋 王芹 王德芝 周则卫 沈秀 韩英

**【摘要】 目的** 观察尼可胺对雄性大鼠生殖能力的影响。**方法** 将100只健康成年雄性Wistar大鼠随机分为4组:空白对照组(0.9%氯化钠注射液)、尼可胺高剂量组(300 mg/kg)、尼克胺中剂量组(200 mg/kg)和尼克胺低剂量组(100 mg/kg)。雄性大鼠连续尾静脉注射给药5周后(每日1次),与100只雌性Wistar大鼠随机1:1合笼交配,交配后处死雄性大鼠,检查尼可胺对各剂量组雄性大鼠的交配率、精子数量、精子活率、精子活力、脏器系数的影响及睾丸、附睾的组织病理学变化。**结果** 200 mg/kg以下剂量对成年雄性大鼠检测的生育指标无明显影响。**结论** 200 mg/kg以下剂量对成年雄性大鼠的生殖功能无明显毒性作用。

**【关键词】** 生殖毒性;大鼠,Wistar;尼可胺

**The reproductive toxicity of NiKeAn in male rats** LIU Xiao-qiu, WANG Qin, WANG De-zhi, ZHOU Ze-wei, SHEN Xiu, HAN Ying. *Tianjin Key Laboratory of Molecular Nuclear Medicine, Institute of Radiation Medicine, Chinese Academy of Medical Sciences, Tianjin 300192, China*  
Corresponding author: WANG Qin, Email: wangqin\_1005@yahoo.com.cn

**【Abstract】 Objective** To observe the toxic effects of NiKeAn on the ability of reproduction in male rats. **Methods** One hundred health adult Wistar rats were randomly divided into 4 groups with 25 in each group. The rats of control groups were given intravenous injections with normal saline and the experimental groups received NiKeAn at doses of 300 mg/kg, 200 mg/kg and 100 mg/kg once per day. All rats were injected for 5 weeks then mated and executed. The coefficient of testicle and epididymis, mating rate, sperm, the percentage of motile sperm, and histopathological changes of testicle and epididymis were detected. **Results** Under doses of 200 mg/kg concentration of NiKeAn used in this study have no significant influence on the aforementioned parameters. **Conclusion** Under doses of 200 mg/kg, reproductive function of male rats does not obviously impaired by NiKeAn.

**【Key words】** Preconception injuries; Rats, Wistar; NiKeAn

尼可胺是以烟酰胺为母体化合物合成的烟酰胺氨基酸类化合物,该化合物的肿瘤放射增敏作用显著,毒性低<sup>[1-3]</sup>,很有希望成为肿瘤放疗中高效、低毒且有实用前景的放射增敏剂。为了评价尼可胺的安全性,本实验按照一类新药生殖毒性的评价要求<sup>[4-5]</sup>,对尼可胺的一般生殖毒性进行了研究,以期临床安全用药提供实验依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 药品

尼可胺由中国医学科学院放射医学研究所药室提供,呈白色粉末状,纯度>98%。

### 1.2 实验动物

无特定病原体级体质量为120~140 g的健康、成年Wistar大鼠购于山东鲁抗医药股份有限公司;饲养环境:屏障环境,室温控制在21~24℃,湿度为40%~52%,12 h照明、12 h黑暗;鼠颗粒饲料由山东大学实验动物中心提供。

### 1.3 实验方法

取健康、成年雄性Wistar大鼠100只,随机分为4组,即尼可胺高剂量组(每次注射剂量为300 mg/kg)、中剂量组(每次注射剂量为200 mg/kg)、低剂量组(每次注射剂量为100 mg/kg)和空白对照组(0.9%氯化钠注射液),每组25只。雄性大鼠交配前给药5周,每天给药一次,给药体积均为1.0 ml/100 g体质量,给药持续整个交配期直至处死。给药5周后,取100只健康、成年的雌性Wistar大鼠(不做任何处理)与雄性大鼠随机1:1合笼交配,

DOI: 10.3760/ema.j.issn.1673-4114.2012.05.007

基金项目:天津市科技支撑计划重点项目(09ZCKFSH01500)

作者单位:300192 天津,中国医学科学院放射医学研究所,天津市分子核医学重点实验室

通信作者:王芹(Email: wangqin\_1005@yahoo.com.cn)

以阴栓阳性或阴道涂片精子阳性视为妊娠第0日。雄性大鼠在交配后处死,进行终末检查。

#### 1.4 观察指标

##### 1.4.1 一般症状观察

给药期间每天于给药前、后观察大鼠的外观体征、行为活动和死亡情况,每周测定一次摄食量和体质量。

##### 1.4.2 精子活力、精子总数及精子活率

处死大鼠后,分别检测各剂量组大鼠的精子活力、精子总数及精子活率。

精子活力检查:在25~28℃室温下,取1侧附睾头(每次取材的重量尽量保持一致),放入在37℃水浴中预热的装有10 ml生理盐水的平皿中,剪碎制成精子悬液。在37℃水浴中静置20 min后,立即吸取0.1 ml悬液滴于37℃预热的血细胞计数板上,在显微镜下快速观察,参照精子活力分级标准<sup>[6]</sup>:Ⅰ级为活动力良好:精子活动良好,呈直线游动;Ⅱ级为活动一般:精子活动比较活泼,但游泳方向不定,不呈直线状;Ⅲ级为活动不良:精子活动迟缓,原地打转;Ⅳ级为死精子:有精子形态,但无活动力。记录200个精子中各级活动精子的数量,计算出其百分率。

精子计数:将上述细胞计数板于4℃冷却后,按红细胞计数方法对所制备的精子悬液进行精子计数。

精子活率检查:取精子悬液1 ml,加0.4%台盼兰0.1 ml,在显微镜下观察,深染者为死精子,计数100个精子中活精子的比例。

##### 1.4.3 脏器系数

各组动物处死后取出睾丸、附睾称重,并计算脏器系数。

脏器系数=器官湿重(g)/体质量(g)×100%

##### 1.4.4 交配率

交配率=交配成功动物数/实验动物数×100%

##### 1.4.5 睾丸组织的组织病理学检查

将睾丸、附睾用10%中性福尔马林缓冲液固定,按常规方法进行包埋、切片、苏木精-伊红染色后,在光学显微镜下观察。

##### 1.4.6 统计学分析

体质量、脏器系数、精子数等计量资料均采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较用 $t$ 检验, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 给药后一般症状

高剂量组:给药过程中大鼠挣扎,给药后即刻出现呼吸急促、自主活动减少等毒性反应症状;给药第8日,个别动物出现稀便、背毛竖立;给药第10日,出现稀便、背毛竖立症状的大鼠数量略有增加;给药第14日,稀便、背毛竖立症状基本消失。

中剂量组:给药过程中大鼠挣扎,给药后即刻出现呼吸急促、自主活动减少等毒性反应症状;给药第8日,个别动物出现稀便、背毛竖立;给药第10日,出现稀便、背毛竖立症状的大鼠数量略有增加;给药第13日,稀便、背毛竖立症状基本消失。

低剂量组:给药期间,大鼠一般症状观察指标均未见明显异常。

空白对照组:给药期间,大鼠一般症状观察指标均未见明显异常。

### 2.2 尼可胺对大鼠摄食量的影响

给药期间,尼可胺各剂量组大鼠摄食量均呈增长趋势,高、中剂量组给药第7、14、21、28、35日的摄食量几乎均低于空白对照组,且呈剂量-效应关系(随剂量升高,摄食量递减)(表1)。

表1 雄性Wistar大鼠尾静脉注射不同剂量的尼可胺后摄食量的变化(g/只/d)

组别	大鼠数量	给药时间				
		7 d	14 d	21 d	28 d	35 d
高剂量组	25	14.0 <sup>a</sup>	17.6 <sup>a</sup>	18.1 <sup>a</sup>	20.7 <sup>a</sup>	21.6 <sup>a</sup>
中剂量组	25	16.7 <sup>b</sup>	18.3 <sup>b</sup>	19.0 <sup>b</sup>	21.0 <sup>b</sup>	22.5 <sup>b</sup>
低剂量组	25	19.5 <sup>c</sup>	19.4 <sup>c</sup>	20.1 <sup>c</sup>	21.5 <sup>c</sup>	22.8 <sup>c</sup>
空白对照组	25	19.1	18.7	18.8	21.2	22.6

注:表中,<sup>a</sup>表示与空白对照组相比, $t=0.052$ 、0.500、0.322、0.922、0.556, $P>0.05$ ; <sup>b</sup>表示与空白对照组相比, $t=0.050$ 、0.620、0.782、0.905、0.965, $P>0.05$ ; <sup>c</sup>表示与空白对照组相比, $t=0.653$ 、0.051、0.219、0.882、0.947, $P>0.05$ 。

### 2.3 尼可胺对大鼠体质量的影响

尼可胺各剂量组及空白对照组大鼠交配前随给药时间的增加,体质量均呈增长趋势,各剂量组与空白对照组相应时间点比较,体质量差异无统计学意义(表2)。

### 2.4 尼可胺对大鼠精子数量、精子活力及精子活率的影响

尼可胺各剂量组与空白对照组相比,大鼠精子总数、精子活力及精子活率差异无统计学意义(表3)。

表2 雄性Wistar大鼠尾静脉注射不同剂量的尼可胺前后体质量变化 $[(\bar{x}\pm s)g]$

组别	大鼠数量	给药前	给药时间				
			7 d	14 d	21 d	28 d	35 d
高剂量组	25	133.4 $\pm$ 11.8 <sup>a</sup>	161.3 $\pm$ 14.4 <sup>a</sup>	206.2 $\pm$ 23.1 <sup>a</sup>	235.0 $\pm$ 28.0 <sup>a</sup>	267.6 $\pm$ 31.9 <sup>a</sup>	296.9 $\pm$ 23.9 <sup>a</sup>
中剂量组	25	136.1 $\pm$ 11.1 <sup>b</sup>	151.6 $\pm$ 13.2 <sup>b</sup>	202.7 $\pm$ 20.6 <sup>b</sup>	233.6 $\pm$ 24.5 <sup>b</sup>	260.2 $\pm$ 28.7 <sup>b</sup>	291.9 $\pm$ 23.2 <sup>b</sup>
低剂量组	25	138.4 $\pm$ 13.1 <sup>c</sup>	175.3 $\pm$ 14.5 <sup>c</sup>	210.6 $\pm$ 17.2 <sup>c</sup>	236.2 $\pm$ 18.4 <sup>c</sup>	261.4 $\pm$ 20.7 <sup>c</sup>	293.4 $\pm$ 14.3 <sup>c</sup>
空白对照组	25	130.0 $\pm$ 12.4	175.0 $\pm$ 17.6	210.4 $\pm$ 20.7	236.3 $\pm$ 26.2	270.9 $\pm$ 29.9	300.7 $\pm$ 22.8

注：表中，<sup>a</sup>表示与空白对照组相比， $t=0.330、0.004、0.515、0.866、0.703、0.567、P>0.05$ ；<sup>b</sup>表示与空白对照组相比， $t=0.079、0.000、0.202、0.716、0.208、0.166、P>0.05$ ；<sup>c</sup>表示与空白对照组相比， $t=0.028、0.955、0.971、0.989、0.204、0.189、P>0.05$ 。

表3 尼可胺各剂量组雄性Wistar大鼠精子数、精子活率及精子活力的检查结果 $(\bar{x}\pm s)$

组别	大鼠数量	精子数( $\times 10^3$ 个/ $\mu l$ )	精子活率(%)	精子活力(%)			
				I级	II级	III级	IV级
高剂量组	25	4.3 $\pm$ 0.6 <sup>a</sup>	73.4 $\pm$ 7.5 <sup>a</sup>	4.6 $\pm$ 2.2 <sup>a</sup>	20.6 $\pm$ 6.9 <sup>a</sup>	39.4 $\pm$ 7.2 <sup>a</sup>	35.4 $\pm$ 6.7 <sup>a</sup>
中剂量组	25	4.5 $\pm$ 0.5 <sup>b</sup>	72.9 $\pm$ 7.9 <sup>b</sup>	6.5 $\pm$ 1.8 <sup>b</sup>	21.8 $\pm$ 8.6 <sup>b</sup>	33.5 $\pm$ 9.4 <sup>b</sup>	38.2 $\pm$ 12.3 <sup>b</sup>
低剂量组	25	4.2 $\pm$ 0.5 <sup>c</sup>	74.3 $\pm$ 9.3 <sup>c</sup>	5.3 $\pm$ 2.5 <sup>c</sup>	24.2 $\pm$ 10.4 <sup>c</sup>	35.6 $\pm$ 8.5 <sup>c</sup>	34.9 $\pm$ 11.8 <sup>c</sup>
空白对照组	25	4.4 $\pm$ 0.5	73.0 $\pm$ 12.0	5.6 $\pm$ 3.3	26.5 $\pm$ 10.8	34.2 $\pm$ 10.2	34.0 $\pm$ 16.3

注：表中，<sup>a</sup>表示与空白对照组相比， $t=0.618、0.878、0.325、0.028、0.043、0.615、P>0.05$ ；<sup>b</sup>表示与空白对照组相比， $t=0.471、0.967、0.147、0.097、0.824、0.537、P>0.05$ ；<sup>c</sup>表示与空白对照组相比， $t=0.200、0.679、0.941、0.465、0.599、0.753、P>0.05$ 。

2.5 尼可胺对大鼠生殖器官脏器系数的影响

尼可胺各剂量组与空白对照组相比，大鼠生殖器官脏器系数差异无统计学意义(表4)。

2.6 尼可胺对大鼠交配率的影响

尼可胺各剂量组雄性大鼠的交配率未见明显差异(表5)。

2.7 大鼠睾丸、附睾的组织病理学观察

组织病理学检查发现，尼可胺为200 mg/kg及以下剂量时对成年雄性大鼠无生殖毒性作用，在

300 mg/kg时对成年雄性大鼠的生殖能力有一定的影响：①睾丸：部分生精小管萎缩，精原细胞、精母细胞及支持细胞均明显脱落，精子细胞数减少(图1)。②附睾：部分附睾管空虚，无精子或精子数减少；间质散在炎细胞浸润，以淋巴细胞为主；间质成纤维细胞增生(图2)。

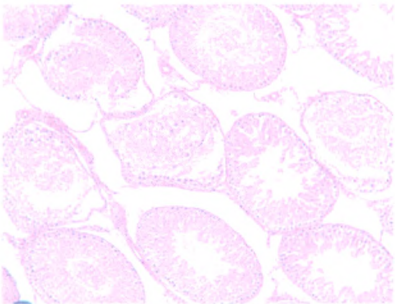


图1 尼可胺高剂量组(300 mg/kg)Wistar大鼠睾丸组织病理切片(苏木精-伊红染色， $\times 100$ )

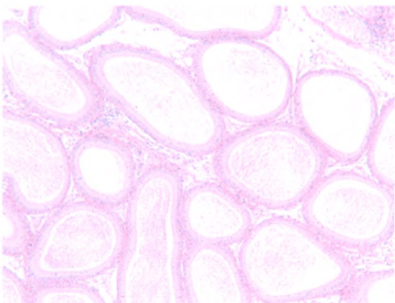


图2 尼可胺高剂量组(300 mg/kg)Wistar大鼠附睾组织病理切片(苏木精-伊红染色， $\times 100$ )

表4 雄性Wistar大鼠尾静脉注射不同剂量的尼可胺后的脏器系数 $[(\bar{x}\pm s)\%]$

组别	大鼠数量	睾丸	附睾
高剂量组	25	0.86 $\pm$ 0.12 <sup>a</sup>	0.30 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>
中剂量组	25	0.88 $\pm$ 0.12 <sup>b</sup>	0.33 $\pm$ 0.07 <sup>b</sup>
低剂量组	25	0.87 $\pm$ 0.14 <sup>c</sup>	0.30 $\pm$ 0.06 <sup>c</sup>
空白对照组	25	0.84 $\pm$ 0.15	0.29 $\pm$ 0.05

注：表中，<sup>a</sup>表示与空白对照组相比， $t=0.685、0.557、P>0.05$ ；<sup>b</sup>表示与空白对照组相比， $t=0.379、0.489、P>0.05$ ；<sup>c</sup>表示与空白对照组相比， $t=0.489、0.477、P>0.05$ 。

表5 雄性Wistar大鼠尾静脉注射不同剂量尼可胺后的生殖毒性实验交配率

组别	交配动物数	交配成功数	交配率(%)
高剂量组	25	20	80.0
中剂量组	25	21	84.0
低剂量组	25	20	83.3
空白对照组	25	21	87.5

### 3 讨论

近年来,为了与国际接轨,我国要求必须对创新药做一般生殖毒性试验。国内相关的研究在受试药品的剂量设计、动物数量、试验指标设定、观察内容和数据统计方法等方面的差异较大<sup>[7-8]</sup>。国家食品药品监督管理局参照《药品注册的国际技术要求(安全性部分)》<sup>[9]</sup>于2006年制定了我国的《药物生殖毒性研究技术指导原则》<sup>[10]</sup>,该指导原则规范了基本的试验方法。为了临床安全用药,我们按照新药审批要求,对尼可胺的一般生殖毒性进行研究,为临床应用提供理论依据。

体质量是反映动物生长发育的客观指标<sup>[11]</sup>。在本研究中,给药期间各剂量组大鼠摄食量总体呈增长趋势,体质量也呈增长趋势,与对照组比较无显著性差异,说明一定剂量的尼可胺对雄性大鼠的体质量影响不大。

睾丸和附睾的发育可反映生殖机能的发育状况,精子数量、精子活力及精子活率更是反映其生精功能的重要指标。本研究结果表明,各剂量组雄性大鼠精子数量、精子活力及精子活率各项指标与空白对照组相比无明显差异;组织病理学检查发现,尼可胺为200 mg/kg及以下剂量时,对成年雄性大鼠无生殖毒性作用,但剂量为300 mg/kg时,Wistar大鼠的睾丸、附睾有不同程度的病理改变。观察给药后的一般状况时,发现尼可胺高(300 mg/kg)、中(200 mg/kg)剂量组雄性大鼠即刻出现明显的毒性反应症状,并对给药局部血管有一定的刺激性。这些结果提示,在本实验室条件下,雄性大鼠尾静脉注射尼可胺由交配前到交配期直至胚胎着床,在200 mg/kg及以下剂量时对成年雄性大鼠无生殖毒

性作用,在300 mg/kg时可能对大鼠的生殖能力有一定的影响。

### 参 考 文 献

- [1] Fenton BM, Lord EM, Paoni SF. Enhancement of tumor perfusion and oxygenation by carbogen and nicotinamide during single- and multifraction irradiation. *Radiat Res*, 2000, 153(1): 75-83.
- [2] 顾菲,刘晓秋,韩英,等.肿瘤放疗增敏药9401号的细胞毒性和体外放射增敏作用. *中国辐射卫生*, 2006, 15(4): 392-393.
- [3] 刘晓秋,王荣先,李美佳.放射增敏剂9402号对小鼠小肠隐窝上皮细胞增敏作用的研究. *中国辐射卫生*, 2007, 16(1): 10-11.
- [4] Huynh PN, Hikim AP, Wang C, et al. Long-term effects of triptolide on spermatogenesis, epididymal sperm function, and fertility in male rats. *J Androl*, 2000, 21(5): 689-699.
- [5] Hikim AP, Lue YH, Wang C, et al. Posttesticular antifertility action of triptolide in the male rat: evidence for severe impairment of cauda epididymal sperm ultrastructure. *J Androl*, 2000, 21(3): 431-437.
- [6] 应俊,姚德鸿,尤建清,等.精浆中催乳素浓度对精子活动力的影响. *生殖与避孕*, 1998, 18(3): 183-184.
- [7] 胡利民,姜民,凌霜,等.天然冰片与合成冰片对小鼠的一般生殖毒性. *毒理学杂志*, 2006, 20(4): 275-276.
- [8] 陈波,王汉蓉,刘玉清,等.风湿平胶囊对大鼠生殖功能及胚胎发育的影响. *成都中医药大学学报*, 2007, 30(1): 35-38.
- [9] 人用药物注册技术要求国际协调会指导委员会.药品注册的国际技术要求(安全性部分).周海均,译.北京:人民卫生出版社,2007: 87-120.
- [10] 《药物生殖毒性研究技术指导原则》课题研究组. [ZH] GPT1-1 药物生殖毒性研究技术指导原则.北京:国家食品药品监督管理局,2006.
- [11] 楚宁宁,薛青光,孙旺吾,等.P450芳香化酶活性调控对小鼠睾丸和附睾发育及精子发生的影响. *安徽农业科学*, 2009, 37(29): 14204-14206.

(收稿日期:2012-05-26)

### ·消息·

### 本刊编辑部投稿网站开通通知

本刊编辑部为适应新的出版形式,实现期刊网络化,经过一段时间的筹备,投稿网站现已顺利开通。为了充分发挥网站的作用,真正达到服务于作者和读者,希望大家踊跃投稿和查看信息,并对网站建设提出宝贵意见,力争将本网站办成实用性强、学术水平高、社会声誉好的网站。

本刊编辑部网站访问地址: [www.ijrnm.com](http://www.ijrnm.com)。

《国际放射医学核医学杂志》编辑部