

王绎盛, 冯嘉森, 朱兆轩, 等. 槲皮素对 T-2 毒素致睾丸损伤的缓解作用研究 [J]. 畜牧与兽医, 2025, 57 (9): 41-48.

WANG Y S, FENG J S, ZHU Z X, et al. Study on the alleviating effect of quercetin on T-2 toxin-induced testicular injury [J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2025, 57 (9): 41-48.

槲皮素对 T-2 毒素致睾丸损伤的缓解作用研究

王绎盛, 冯嘉森, 朱兆轩, 刘晴晴, 戴春圆, 杨平*

(南京农业大学动物医学院, 江苏 南京 210095)

摘要: 旨在探究 T-2 毒素生殖毒性及槲皮素的缓解作用。本研究以 18 只雄性 ICR 小鼠作为实验对象, 随机分为对照 (NC) 组、T-2 毒素处理 (T-2) 组、槲皮素与 T-2 毒素联合处理 (QT) 组, 连续灌胃 28 d, 通过组织学分析和免疫印迹法对睾丸组织结构进行评估, 探究 Leydig 细胞分布、雄激素受体 (AR) 表达水平、凋亡及其相关蛋白的变化。结果: 槲皮素改善了睾丸形态学损伤, 维持 Leydig 细胞稳态、AR 表达水平; 与 T-2 组相比, QT 组小鼠显著降低凋亡相关蛋白 Bcl-2 相关 X 蛋白 (BAX)、半胱氨酸蛋白酶 3 和 9 (Caspase3、Caspase9) 的表达量, 并抑制 T-2 毒素引发的睾丸细胞凋亡。提示, 槲皮素能够通过抑制睾丸细胞凋亡缓解 T-2 毒素诱导的睾丸损伤。本文为 T-2 毒素介导的雄性动物睾丸损伤机制及潜在治疗手段提供了科学依据。

关键词: 槲皮素; T-2 毒素; 睾丸损伤; 凋亡

中图分类号: S852 文献标志码: A 文章编号: 0529-5130(2025)09-0041-08

Study on the alleviating effect of quercetin on T-2 toxin-induced testicular injury

WANG Yisheng, FENG Jiasen, ZHU Zhaoxuan, LIU Qingqing, DAI Chunyua, YANG Ping*
(College of Veterinary Medicine, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: To investigate the reproductive toxicity of T-2 toxin and the mitigating effects of quercetin, this study used 18 male ICR mice as experimental subjects, which were randomly divided into three groups: the control (NC) group, the T-2 toxin-treated (T-2) group, and the quercetin and T-2 toxin co-treated (QT) group. The mice were administered with oral doses for 28 consecutive days. Histological analysis and Western blotting were used to assess testicular tissue structure, investigate Leydig cell distribution, and examine changes in androgen receptor (AR) expression levels, apoptosis, and related proteins. The results were that quercetin improved testicular morphological damage, maintained Leydig cell homeostasis, and preserved AR expression levels. Compared with the T-2 group, the QT group mice showed significantly lower expression levels of apoptosis-related proteins, Bcl-2-associated X protein (BAX), cysteinyl aspartate specific proteinases 3 and 9 (Caspase3, Caspase9), and inhibited T-2 toxin-induced testicular cell apoptosis. These findings suggest that quercetin can alleviate T-2 toxin-induced testicular damage by inhibiting testicular cell apoptosis. This study provides scientific evidence for the mechanism of T-2 toxin-mediated testicular damage in male animals and for potential therapeutic strategies.

Keywords: quercetin; T-2 toxins; testicular damage; apoptosis

槲皮素是食物中分布最广泛的黄酮类化合物之一^[1], 人体可以通过日常膳食摄取到适量的槲皮素, 其主要来源包括苹果、蓝莓、樱桃、洋葱、柑橘、浆果及绿茶等^[2-3], 其分子式是 $C_{15}H_{10}O_7$, 分子量为 302.23 Da。作为一种具有显著生物活性的天然黄酮, 槲皮素因其抗氧化、抗炎和抗凋亡等多种功能而备受

关注^[4-6]。在生理条件下, 槲皮素通过清除自由基和抑制氧化应激反应, 维持细胞和组织的稳态功能^[7], 这些特性使其成为预防和治疗多种疾病的重要候选分子。T-2 毒素是一种由镰刀菌产生的真菌毒素, 广泛存在于霉变的谷物及其制品中, 如玉米、小麦、大麦和燕麦等^[8]。人类和动物会通过食用受污染的粮食及其副产品摄入 T-2 毒素, 对健康构成潜在威胁。T-2 毒素可通过多种机制对机体造成损害, 包括抑制 DNA 的合成、诱导氧化应激、激活凋亡信号通路以及抑制免疫功能^[9-11]。在生殖系统中, T-2 毒素的毒性尤为显著^[12]。研究表明, T-2 毒素能够损伤睾丸组织结构, 破坏生精小管功能, 通过氧化应激诱导支

收稿日期: 2024-12-05; 修回日期: 2025-06-17

基金项目: 江苏省研究生科研与实践创新计划项目 (SJCX24_0242)

第一作者: 王绎盛, 男, 硕士研究生

* 通信作者: 杨平, 博士, 副教授, 研究方向: 动物功能组织学, E-mail: yangping@njau.edu.cn。

持细胞和生精细胞的凋亡^[13]。此外，它还会通过 JNK/p38 信号通路诱导 Leydig 细胞损伤，抑制 Leydig 细胞的发育和雄激素的分泌，从而干扰生殖激素的正常调节功能^[14-15]，这些毒性作用会严重削弱雄性生殖能力，影响生育功能，甚至引发睾丸萎缩和不育。

已有研究部分揭示了槲皮素对雄性生殖系统的凋亡和氧化应激具有保护作用^[16-17]，但对 T-2 毒素导致睾丸 Leydig 细胞损伤的保护机制尚未完全明确，槲皮素等黄酮类化合物对 T-2 毒素导致的雄性生殖系统损伤等治疗作用也未见有报道。本研究通过系统评估槲皮素对睾丸组织、Leydig 细胞、雄激素表达以及细胞凋亡的影响，为解决 T-2 毒素引起的生殖健康问题提供新的理论支持和实践依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

HE 试剂盒购自上海源叶生物科技有限公司；末端脱氧核苷酸转移酶介导的 dUTP 缺口末端标记 (TUNEL) 试剂盒、双辛可宁酸法 (BCA) 测定试剂盒购自上海碧云天生物技术有限公司。

一抗为 3 β -羟基类固醇脱氢异构酶 2 (HSD3B2) 购自北京博奥森生物技术有限公司。雄激素受体 (AR) 购自武汉博士德生物工程有限公司。B 细胞淋巴瘤因子-2 (Bcl-2) 相关的 X 蛋白 (BAX)、裂解型半胱氨酸蛋白水解酶 3 (Cleaved-caspase3)、半胱氨酸蛋白水解酶 3 前体 (Pro-caspase3) 和半胱氨酸蛋白水解酶 9 (Caspase9) 购自沈阳万类生物技术有限公司。

二抗为辣根过氧化物酶 (HRP) 标记的山羊抗兔/鼠 IgG 抗体购自武汉三鹰生物技术有限公司。

1.2 试验设计

选取 18 只 8 周龄雄性 ICR 小鼠 (32~35 g) 作为试验对象，小鼠购自南京青龙山动物繁殖场 (中国南京)。在标准实验动物房环境中，小鼠自由采食和饮水。预饲一周后，随机将小鼠分成对照 (NC) 组，0.2 mL 橄榄油灌胃，连续 28 d；T-2 毒素处理 (T-2) 组，T-2 毒素以 1 mg/kg 体重换算 (1/10 半数致死量^[18])，溶解于 0.2 mL 橄榄油灌胃，连续 28 d；槲皮素与 T-2 毒素联合处理 (QT) 组，T-2 毒素和槲皮素分别以 1 mg/kg 和 50 mg/kg 体重换算，溶解于 0.2 mL 橄榄油灌胃，连续 28 d。试验已获得南京农业大学动物伦理委员会批准 (批准编号: NJAU. No20230715118)，试验结束后，禁食 24 h 后处死小鼠，采集睾丸，所得样品一部分固定于 4% 多聚甲醛溶液，另一部分置于液氮随后于 -80 °C 冰箱保存。

1.3 苏木精-伊红 (HE) 染色

睾丸组织切片 (7 μ m) 经二甲苯脱蜡、梯度乙醇复水后，将切片浸于苏木素染液中染色 3 min，将组织切片放入染色缸经自来水流水冲洗 5 min，直至组织呈现蓝色，流水颜色变为澄清。清洗后的组织直接进入伊红染液染色 1 min，使用 85%、95% 梯度乙醇快速脱水并洗去残余伊红后，进行常规流程脱水、二甲苯透明，随后使用中性感胶封固，在 Ocus 40 数字扫描显微镜成像系统 (GRUNDIUM 公司) 中扫描切片，随后用 Slide Viewer 进行观察。之后根据约翰森评分 (Johnsen score) 使用 10 分评分系统，评分 1~2 表示不含任何生殖细胞，评分 3 表示仅包含精原细胞，评分 4~5 表示含有精母细胞，评分 6~7 表示含有精子细胞，评分 8~10 表示生精小管内有成熟精子^[19]，对每个切片 6 个不同视野进行组织病理学评分。此外，随机选取 6 个生精小管使用 SlideViewer 标尺工具观察其直径大小。

1.4 睾丸样本系数的评估

解剖并称量整个睾丸，记录并计算睾丸系数。睾丸系数 = 睾丸重量 / 动物体重。

1.5 免疫组化 (IHC)

各组的睾丸切片 (7 μ m) 按 1.3 步骤脱蜡和复水，随后浸入 3% 过氧化氢 10 min 以抑制内源性过氧化物酶活性，然后使用枸橼酸钠缓冲液 (0.01 mol/L, pH=6.0) 加热进行热抗原复性，以暴露被多聚甲醛封闭的抗原表位。经 5% BSA 于 37 °C 烘箱封闭 1 h 后，各组组织切片分别与一抗 HSD3B2 (1:100 稀释)、AR (1:100 稀释) 在 4 °C 条件下孵育过夜。次日，使用 PBS 洗涤切片 3 次，每次 5 min，然后用 HRP 记的山羊抗兔/鼠 IgG 抗体 (1:200 稀释) 于 37 °C 烘箱孵育 1 h，再次使用 PBS 洗涤切片 3 次，每次 5 min，去除未结合的抗体，洗涤完成后，使用 DAB 原位显色，在显微镜下观察，待视野出现明显阳性之后放入蒸馏水中终止显色。随后，用苏木精复染 8 s，流水 5 min 洗去多余染液，随后脱水封片。所有免疫组织化学图像均在 Ocus 40 数字扫描显微镜成像系统中进行扫描。

1.6 TUNEL 染色

组织切片按照 1.2 步骤脱蜡复水之后，根据试剂盒的说明书要求进行 TUNEL 染色。具体步骤如下：滴加 20 μ g/mL 不含 DNase 的蛋白酶 K，37 °C 作用 15 min，PBS 洗涤切片 3 次，每次 5 min。3% 过氧化氢溶液室温孵育 20 min，随后用 PBS 洗涤切片 3 次，每次 5 min。在样品上加 50 μ L 生物素标记液，37 °C 避光孵育 60 min。PBS 洗涤切片 5 min，滴加 20 μ L 标记反应终止液，室温孵育 10 min。用 PBS 洗涤切

片3次,每次5 min。在样品上加50 μL Streptavidin-HRP工作液,室温孵育30 min。PBS洗涤切片3次,每次5 min,滴加50 μL DAB显色液,室温孵育5 min, PBS洗涤切片3次,每次5 min。随后,用苏木精复染8 s,流水5 min洗去多余染液,随后脱水封片。所有TUNEL图像均在Ocus 40数字扫描显微镜成像系统中进行扫描。

1.7 免疫印迹

将小鼠睾丸样品从 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中取出,称取20 mg睾丸组织加入预冷好的200 μL RIPA细胞裂解液中,向裂解液中加入2 μL 蛋白酶抑制剂和2 μL 磷酸酶抑制剂,在离心管内加入钢珠后将离心管放置在研磨机内,匀浆后取出离心管,冰上静置20 min;离心机预冷至 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$,放入样品,设置12 000 r/min离心15 min,吸取组织上清液;随后使用BCA法测定蛋白浓度;各组取等量蛋白,并加入适量的5 \times Loading buffer进行混匀,100 $^{\circ}\text{C}$ 加热10 min;提前配制好10%浓度的凝胶以及所需电泳液,组装电泳槽,取样后加入上样孔;设置电压160 V,45 min,电泳结束后取出胶板;将目的条带的分离胶切下,进行转膜,恒流250 mA,转膜1 h,将PVDF膜取出,用TBST清洗;随后用快速封闭液在室温下封闭20 min,加入一抗Bcl-2 (1:2 000稀释)、BAX (1:2 000稀释)、Cleaved-caspase3 (1:2 000稀释)、Pro-caspase3 (1:2 000稀释)和Caspase9 (1:2 000稀释)4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜孵育,次日取出,用TBST振荡清洗3次,每次10 min,加入HRP标记二抗(1:4 000稀释)室温振荡孵育1 h,将膜取出,用TBST振荡清洗3次,每次10 min;在PVDF膜上加ECL化学发光试剂进行显影并拍照。蛋白条带使用Image J分析软件进行灰度分析,以NC组灰度值为基准进行归一化分析。

1.8 数据统计与分析

通过ANOVA检验进行显著性分析,以 $P<0.05$ 表示差异显著, $P<0.01$ 表示差异极显著, $P<0.001$ 表示差异极其显著,使用GraphPad Prism 8.0对数据进行可视化,结果用“平均值 \pm 标准差”表示。

2 结果

2.1 不同处理小鼠睾丸形态学评价

由图1可知,NC组小鼠睾丸组织结构正常,生

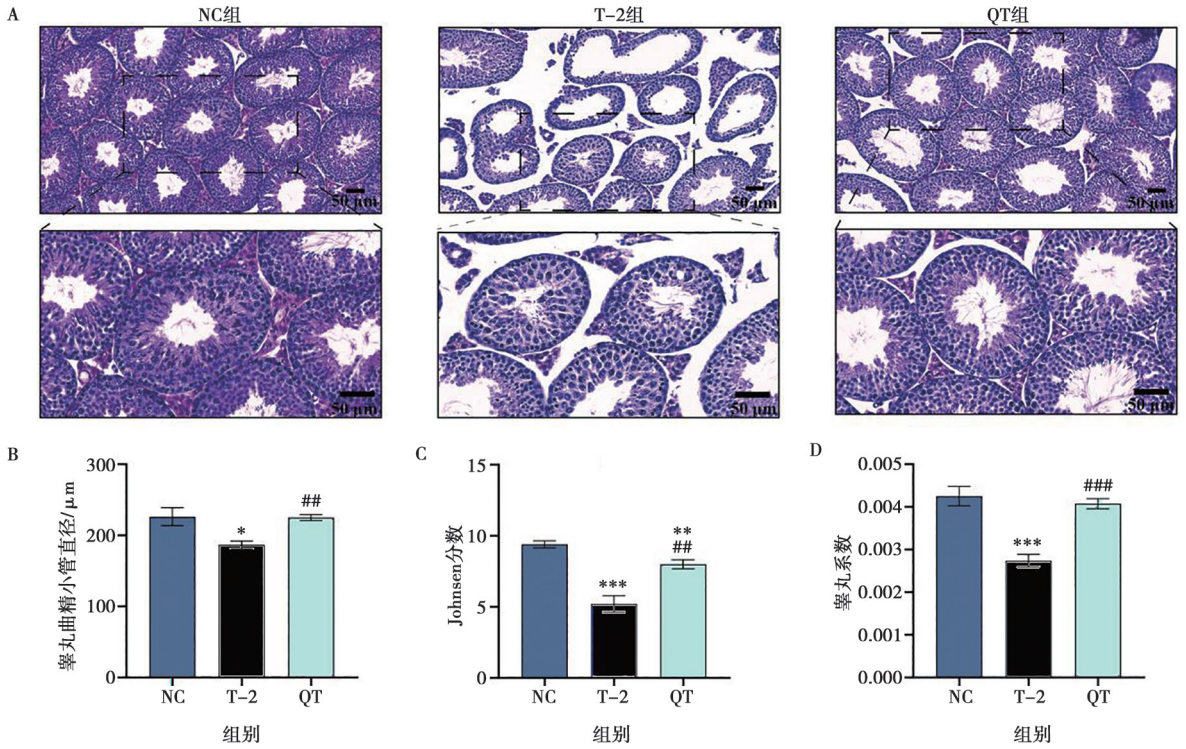
精小管呈现规则椭圆形,管腔内生精细胞分层清晰,成熟精子分布均匀。T-2组的睾丸组织显著受损,生精小管形态紊乱,部分生精小管内部出现空腔,细胞分层消失或严重减少,成熟精子显著减少甚至缺失。相比之下,QT组的小鼠睾丸损伤显著缓解,生精小管形态接近正常,细胞分层恢复,精子数量显著增加。生精小管管径测量结果提示:T-2组生精小管直径明显低于NC组和QT组($P<0.05$),QT组生精小管直径显著恢复至与NC组相近水平,提示槲皮素对T-2毒素导致的生精功能障碍具有保护作用。Johnsen评分分析中,与NC组相比T-2组的小鼠Johnsen评分极显著下降($P<0.001$),QT组评分恢复至接近NC组水平,与T-2组相比QT组Johnsen分数显著升高($P<0.01$),表明槲皮素有效改善生精小管功能和精子成熟度。在睾丸系数的比较中,与NC组相比T-2组的小鼠睾丸系数极显著下降($P<0.001$),与T-2组相比QT组极显著恢复了睾丸系数($P<0.05$),与NC组无显著统计学差异,表明槲皮素在维持睾丸器官完整性方面具有积极作用。

2.2 不同处理小鼠睾丸HSD3B2变化比较

图2显示,在NC组中,HSD3B2在Leydig细胞中呈现强阳性表达,分布均匀且信号强度高;在T-2组中,HSD3B2的表达显著减弱,染色信号明显减少且分布不均匀;QT组的HSD3B2表达水平显著提高,染色强度和分布接近NC组。T-2组的HSD3B2光密度值显著低于NC组($P<0.01$),而与T-2组相比QT组的光密度值显著升高($P<0.01$)。

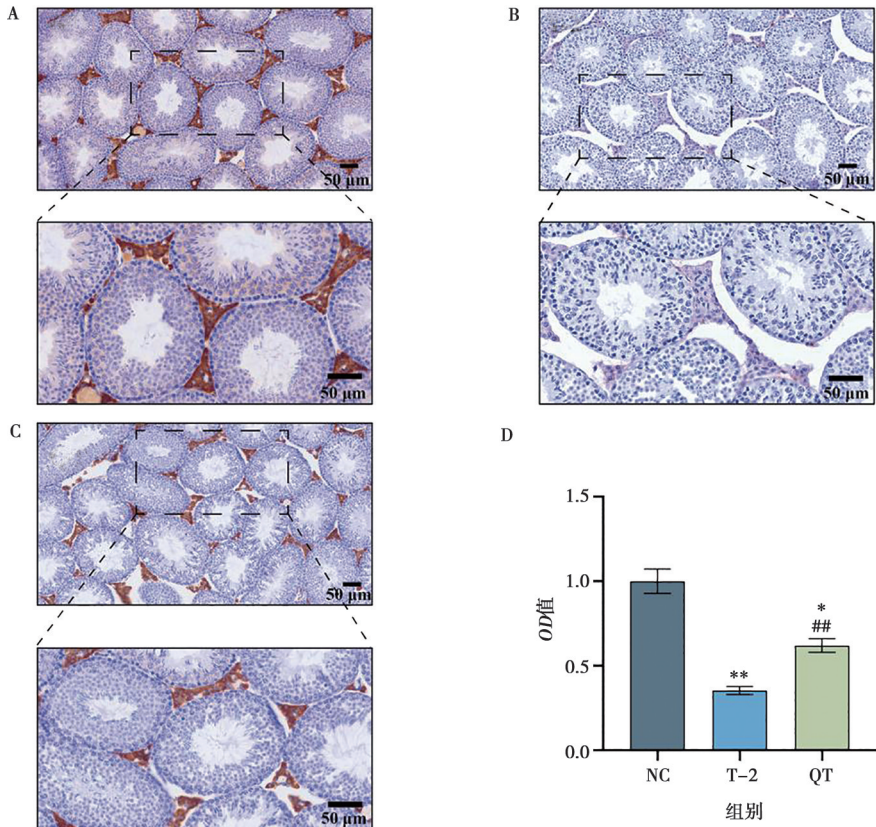
2.3 不同处理小鼠睾丸AR变化比较

图3显示,在NC组中,AR主要表达于Leydig细胞和血管周围,呈现强阳性信号,染色均匀且分布明确;T-2组中AR的表达显著减弱,染色信号减少,部分细胞出现表达丧失的现象,提示T-2毒素显著抑制了AR的表达;QT组的AR染色信号显著增强,分布趋于均匀,染色强度接近于NC组,表明槲皮素可以恢复AR的表达水平。T-2组的AR光密度值显著低于NC组($P<0.05$),而QT组的光密度值明显升高,与NC组差异无统计学意义($P>0.05$)且与T-2组有极显著差异($P<0.001$)。



A. HE 染色情况; B. 睾丸曲精小管直径; C. Johnsen 评分情况; D. 睾丸系数。与 NC 组相比, * 表示 $P < 0.05$ 、** 表示 $P < 0.01$ 、*** 表示 $P < 0.001$; 与 T-2 组相比, # 表示 $P < 0.05$ 、## 表示 $P < 0.01$ 、### 表示 $P < 0.001$ 。下同。

图 1 不同处理小鼠睾丸 HE 染色及形态学评价



A. NC 组小鼠睾丸 HSD3B2 免疫组化染色; B. T-2 组小鼠睾丸 HSD3B2 免疫组化染色; C. QT 组小鼠睾丸 HSD3B2 免疫组化染色; D. HSD3B2 阳性表达光密度值 ($n = 6$)。

图 2 不同处理小鼠睾丸 HSD3B2 免疫组化染色

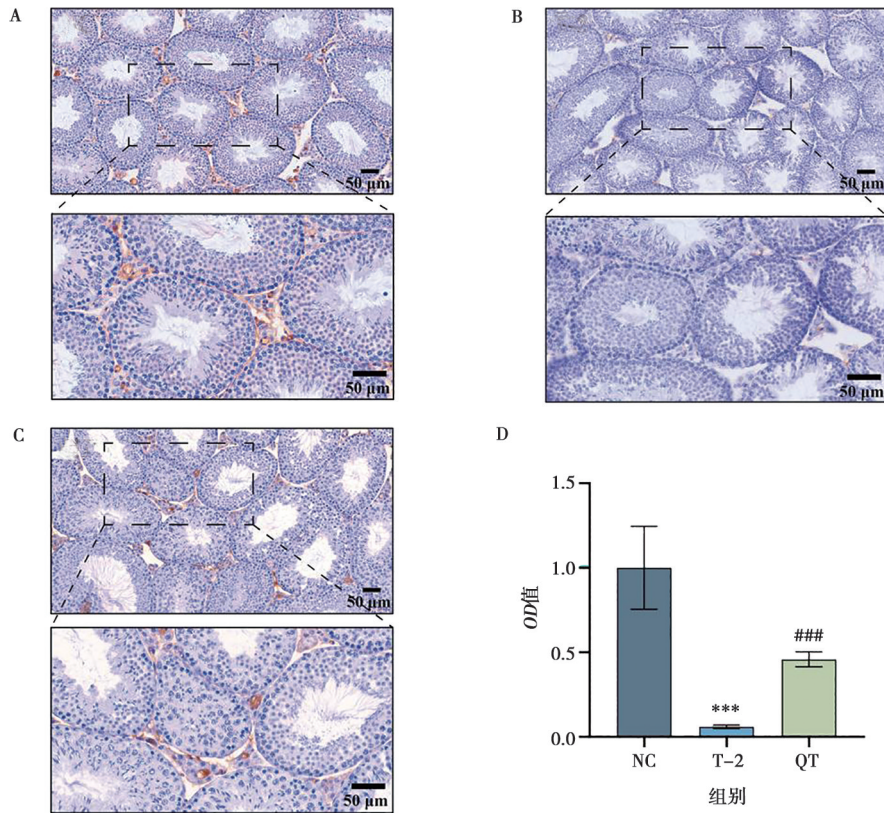


图3 不同处理小鼠睾丸AR免疫组化染色; A. NC组小鼠睾丸AR免疫组化染色; B. T-2组小鼠睾丸AR免疫组化染色; C. QT组小鼠睾丸AR免疫组化染色; D. AR阳性表达光密度值 ($n=6$)。

图3 不同处理小鼠睾丸AR免疫组化染色

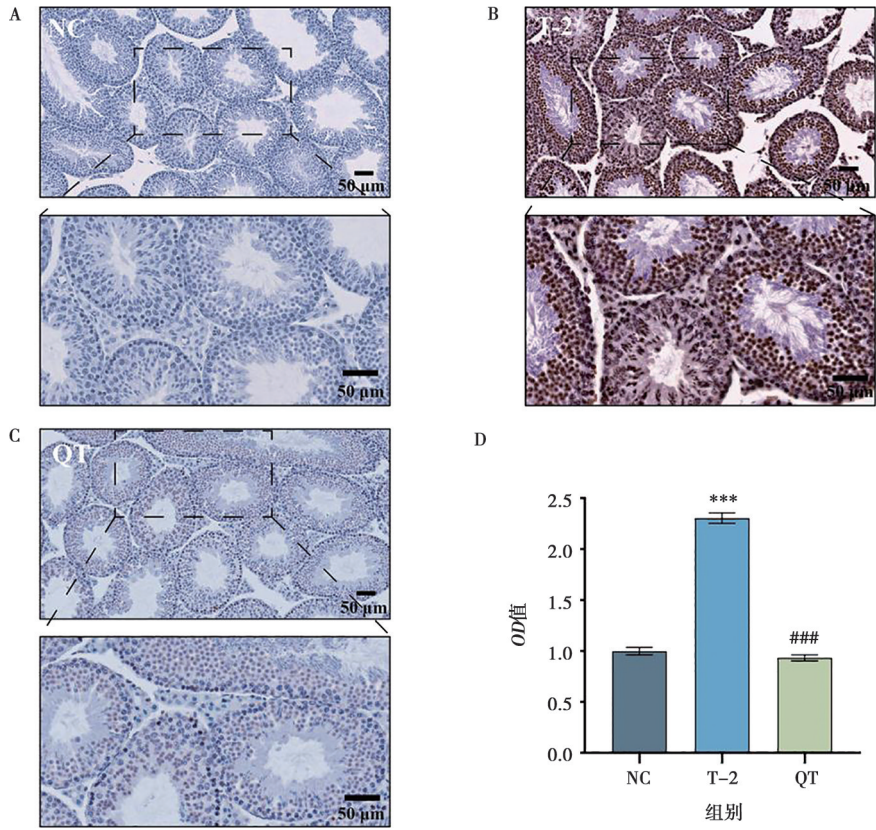
2.4 不同处理小鼠睾丸凋亡细胞变化比较

图4显示, NC组睾丸组织中凋亡细胞数量极少, 几乎无阳性信号; 在T-2组中, 生精小管和间质区域内均出现大量阳性染色细胞, 特别是在生精小管外周, 凋亡细胞呈显著聚集分布, 提示T-2毒素强烈诱导了Leydig细胞的凋亡; QT组中, TUNEL阳性细胞数量减少, 凋亡分布接近NC组。T-2组的光密度值极显著高于NC组 ($P<0.001$), QT组的凋亡指标极显著低于T-2组 ($P<0.01$), 与NC组差异无统计学意义 ($P>0.05$)。

2.5 不同处理小鼠睾丸凋亡相关蛋白表达

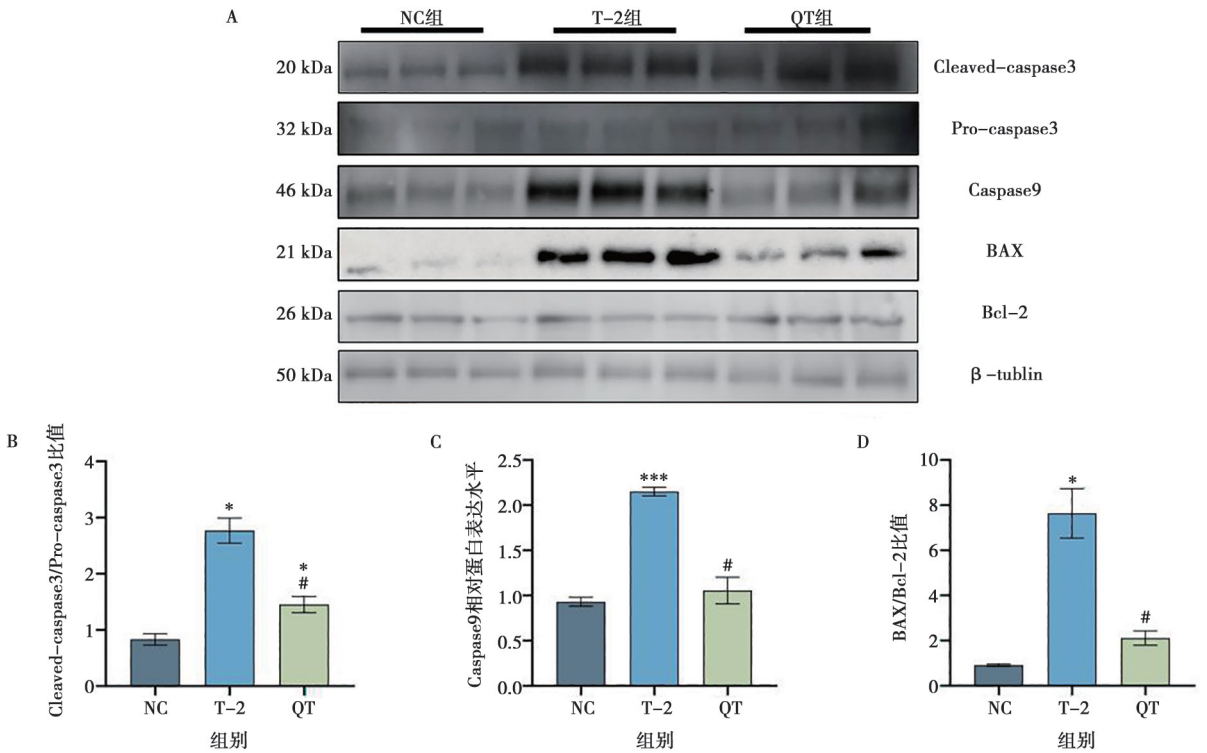
图5显示, NC组睾丸组织中, 促凋亡蛋白BAX、Cleaved-caspase3和Caspase9的表达水平较低,

而抗凋亡蛋白Bcl-2的表达水平在各组之间没有显著改变; 与NC组相比, T-2组BAX、Cleaved-caspase3和Caspase9的表达水平显著上调, BAX/Bcl-2比值显著升高 ($P<0.05$), 表明T-2毒素通过增强促凋亡信号, 强烈激活了细胞凋亡通路。相比之下, QT组中, BAX、Cleaved-caspase3和Caspase9的表达水平降低, 与NC组的表达水平接近。与T-2组相比槲皮素显著降低了BAX/Bcl-2与Cleaved-caspase3/Pro-caspase3比值 ($P<0.05$), 并抑制了Cleaved-caspase3和Caspase9的异常激活 ($P<0.05$), 提示其在抑制T-2毒素诱导的凋亡信号中发挥了关键作用。



A. NC 组小鼠睾丸 TUNEL 染色；B. T-2 组小鼠睾丸 TUNEL 染色；C. QT 组小鼠睾丸 TUNEL 染色；D. TUNEL 阳性表达光密度值 (n=6)。

图 4 不同处理小鼠睾丸 TUNEL 染色情况



A. 小鼠睾丸中凋亡反应相关蛋白的图像 (n=6)；B. Cleaved-caspase3/Pro-caspase3 比值；C. Caspase9 相对蛋白表达水平；D. BAX/ Bcl-2 比值。

图 5 不同处理小鼠睾丸凋亡相关蛋白表达水平

3 讨论

近年来, 槲皮素在保护生殖系统方面的研究引起了广泛的兴趣。已有文献表明, 环境污染物、药物毒性及生活方式因素对雄性生殖系统的损害日益严重^[20-22]。槲皮素能够通过降低氧化应激水平、抑制细胞凋亡以及调节激素平衡来改善睾丸功能和精子质量^[23-25]。此外, 槲皮素还被证明可以保护 Leydig 细胞和支持细胞的正常功能, 维持雄激素合成及精子发生过程的完整性^[25-26]。因此, 槲皮素作为一种天然黄酮类化合物, 在缓解男性生殖系统损伤和改善生殖健康方面具有重要的研究价值。

T-2 毒素具有显著的生殖毒性作用, 其毒性机制与氧化应激、细胞凋亡及激素失衡密切相关^[14,27-28]。在本研究中通过 HE 染色观察睾丸组织形态, 结合一系列睾丸功能评估指标, 系统分析了槲皮素在缓解 T-2 毒素诱发睾丸损伤中的作用。HE 染色结果表明, T-2 毒素破坏了生精小管结构并引发睾丸萎缩, 体现出其对生精细胞和 Leydig 细胞的直接毒性作用。槲皮素的干预改善了睾丸组织形态, 包括恢复生精小管完整性和精子生成功能以及其他被改变的评估指标。综合上述结果证明槲皮素可以通过改善睾丸组织形态、恢复生精小管功能及增强睾丸重量和体重稳定性, 缓解 T-2 毒素诱导的睾丸损伤。

Leydig 细胞是雄性生殖系统中重要的间质细胞类型, 位于睾丸生精小管间隙中, 其主要功能是合成和分泌雄激素, 尤其是睾酮^[25]。雄激素不仅在维持男性生殖器官发育和功能方面起关键作用, 还对精子发生、性征维持及整体代谢调节至关重要^[29-30]。睾酮的合成需要一系列酶促反应, 其中 HSD3B2 和 AR 的正常表达是证明睾丸微环境健康的重要指标之一。HSD3B2 免疫组化结果显示, T-2 毒素抑制了 Leydig 细胞的发育和功能, 这与其引发细胞凋亡的作用机制一致^[27]。槲皮素通过提高 HSD3B2 的表达水平, 恢复了 Leydig 细胞的正常功能, 证明其在维持雄激素合成方面具有重要作用。文献报道, HSD3B2 是雄激素合成的关键酶^[30-31], 而 T-2 毒素抑制了该酶的表达, 表明 T-2 毒素会对雄激素合成造成损伤。雄激素的合成与功能在维持男性生殖健康中起着至关重要的作用, 而 AR 的表达也是雄激素表达的关键环节。在 T-2 毒素诱导的睾丸损伤模型中, AR 表达也受到抑制, AR 免疫组化结果表明, T-2 毒素通过抑制 AR 表达, 干扰了雄激素的表达, 导致生殖功能的紊乱。槲皮素治疗后, AR 的表达水平恢复, 这表明槲皮素不仅可以缓解 T-2 毒素对 Leydig 细胞的直接毒性作用, 还可能通过增强 AR 的活性来改善动物的生殖功能。

TUNEL 染色结果表明, T-2 毒素可诱导睾丸组织中细胞凋亡, 特别是对生精细胞和 Leydig 细胞的损害最为严重。槲皮素处理减少了凋亡细胞的比例, 这可能与通过抑制 BAX/Bcl-2 比值和 Caspase 通路的活化实现的抗凋亡作用有关。T-2 毒素通过线粒体凋亡通路诱导睾丸细胞凋亡, 其机制涉及凋亡相关蛋白 (如 BAX、Cleaved-caspase3 和 Caspase9) 的异常表达, 这与 Zhang 等^[32]的研究结果一致。免疫印迹试验结果进一步揭示了槲皮素通过调控凋亡相关蛋白表达缓解睾丸损伤的分子机制。T-2 毒素通过上调 BAX、Cleaved-caspase3 和 Caspase9 的表达水平, 激活了线粒体凋亡通路。槲皮素作为一种抗氧化剂, 可通过清除过量 ROS 恢复线粒体膜电位, 阻断 Caspase 级联反应^[33]。槲皮素干预降低了 BAX 和 Caspase 家族蛋白的表达水平, 这表明其通过调节 BAX/Bcl-2 比值和 Caspase 级联反应, 阻断了 T-2 毒素的凋亡信号传导。这一发现进一步支持了槲皮素在抑制凋亡通路中的保护作用。综上所述, 槲皮素通过下调促凋亡蛋白 (BAX、Cleaved-caspase3 和 Caspase9) 表达水平, 抑制了 T-2 毒素诱导的凋亡信号通路异常激活。这些结果为槲皮素在预防和治疗 T-2 毒素相关睾丸损伤中的应用提供了新的分子机制依据。

在 T-2 毒素引发的睾丸凋亡过程中, Leydig 细胞的分布和数量均受到影响。T-2 毒素还抑制了 HSD3B2 和 AR 的表达, 破坏了雄激素合成的关键步骤。这些毒性效应不仅直接影响了 Leydig 细胞的稳态, 还通过扰乱生精小管内微环境, 间接损伤生精细胞, 影响睾丸的整体生殖功能。本研究中, 槲皮素作为一种天然抗氧化剂, 可以缓解 T-2 毒素引起的 Leydig 细胞损伤。一方面, 槲皮素可阻止凋亡信号的激活; 另一方面, 槲皮素通过上调 HSD3B2 和 AR 的表达水平, 维持了 Leydig 细胞的稳态, 改善雄激素的合成和分泌。但本研究局限于小鼠模型, 未来需验证槲皮素在其他动物模型及人类中的适用性。此外, 还可以进一步探索槲皮素作用的分子靶点及其与其他抗氧化剂的协同效应, 以及在复合毒素环境下的保护作用。

4 结论

本研究系统地揭示了槲皮素对 T-2 毒素引发的生殖毒性具有改善作用, 其主要表现为保护睾丸组织结构、维持 Leydig 细胞稳态、稳定 AR 表达、抑制细胞凋亡及调控凋亡相关蛋白的表达。这些研究结果不仅为阐明 T-2 毒素的毒性机制提供了新的科学视角, 同时也为槲皮素在男性生殖健康领域的潜在应用提供了理论基础。

参考文献:

- [1] ERDMANJ W, BALENTINE D, ARAB L, et al. Flavonoids and heart health; proceedings of the ILSI North America flavonoids workshop, may 31-June 1, 2005, Washington, DC^{1,2,3,4} [J]. *J Nutr*, 2007, 137 (3): 718S-737S.
- [2] PEREZ-VIZCAINO F, DUARTE J. Flavonols and cardiovascular disease [J]. *Mol Aspects Med*, 2010, 31 (6): 478-494.
- [3] DABEEK W M, MARRA M V. Dietary quercetin and kaempferol; bioavailability and potential cardiovascular-related bioactivity in humans [J]. *Nutrients*, 2019, 11 (10): 2288.
- [4] LIU S, ZHU Y, LIU N, et al. Antioxidative properties and chemical changes of quercetin in fish oil: quercetin reacts with free fatty acids to form its ester derivatives [J]. *J Agric Food Chem*, 2021, 69 (3): 1057-1067.
- [5] WU J, LV T, LIU Y, et al. The role of quercetin in NLRP3-associated inflammation [J]. *Inflammopharmacology*, 2024, 32 (6): 3585-3610.
- [6] ARSLAN A S, SEVEN I, MUTLU S I, et al. Potential ameliorative effect of dietary quercetin against lead-induced oxidative stress, biochemical changes, and apoptosis in laying Japanese quails [J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2022, 231: 113200.
- [7] MITSUZANE R, OKUBO R, NISHIKAWA M, et al. Enhancing effect of the coexisting alpha-tocopherol on quercetin absorption and metabolism [J]. *Free Radic Res*, 2024, 58 (2): 88-97.
- [8] JANIK E, NIEMCEWICZ M, PODOGROCKI M, et al. T-2 toxin—the most toxic trichothecene mycotoxin; metabolism, toxicity, and decontamination strategies [J]. *Molecules*, 2021, 26 (22): 6868.
- [9] WANG G, QIN S, ZHENG Y, et al. T-2 toxin induces ferroptosis by increasing lipid reactive oxygen species (ROS) and downregulating solute carrier family 7 member 11 (SLC7A11) [J]. *J Agric Food Chem*, 2021, 69 (51): 15716-15727.
- [10] LEE W Y, PARK H J. T-2 mycotoxin induces male germ cell apoptosis by ROS-mediated JNK/p38 MAPK pathway [J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2023, 262: 115323.
- [11] JANIK-KARPINSKA E, CEREMUGA M, NIEMCEWICZ M, et al. Mitochondrial damage induced by T-2 mycotoxin on human skin-fibroblast Hs68 cell line [J]. *Molecules*, 2023, 28 (5): 2408.
- [12] YANG X, LIU P, CUI Y, et al. Review of the reproductive toxicity of T-2 toxin [J]. *J Agric Food Chem*, 2020, 68 (3): 727-734.
- [13] YANG X, LIU P, ZHANG X, et al. T-2 toxin causes dysfunction of Sertoli cells by inducing oxidative stress [J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2021, 225: 112702.
- [14] YANG X, SONG W, ZHANG K, et al. p38 mediates T-2 toxin-induced Leydig cell testosterone synthesis disorder [J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2023, 253: 114695.
- [15] 陈凤娟. 基于 MAPK 信号通路探究番茄红素对 T-2 毒素致睾酮合成障碍的保护作用 [D]. 郑州: 河南农业大学, 2024.
- [16] ROTIMI D E, OLAOLU T D, ADEYEMI O S. Pharmacological action of quercetin against testicular dysfunction: a mini review [J]. *J Integr Med*, 2022, 20 (5): 396-401.
- [17] 丁攀, 潘建成, 封玉宏, 等. 淫羊藿苷、淫羊藿次苷 II 及槲皮素康复治疗睾丸功能障碍的研究进展 [J]. *中国中西医结合外科杂志*, 2024, 30 (6): 811-816.
- [18] LI Y, WANG Z, BEIER R C, et al. T-2 toxin, a trichothecene mycotoxin; review of toxicity, metabolism, and analytical methods [J]. *J Agric Food Chem*, 2011, 59 (8): 3441-3453.
- [19] JOHNSENS G. Testicular biopsy score count: a method for registration of spermatogenesis in human testes: normal values and results in 335 hypogonadal males [J]. *Hormones*, 1970, 1 (1): 2-25.
- [20] LEE W K, LAM T K Y, TANG H C, et al. PFOS-elicited metabolic perturbation in liver and fatty acid metabolites in testis of adult mice [J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2023, 14: 1302965.
- [21] LI H, WANG X R, HU Y F, et al. Advances in immunology of male reproductive toxicity induced by common environmental pollutants [J]. *Environ Int*, 2024, 190: 108898.
- [22] ROTIMI D E, SINGH S K. Implications of lifestyle factors on male reproductive health [J]. *JBRA Assist Reprod*, 2024, 28 (2): 320-330.
- [23] WANG J, ZHU H, WANG K, et al. Protective effect of quercetin on rat testes against cadmium toxicity by alleviating oxidative stress and autophagy [J]. *Environ Sci Pollut Res Int*, 2020, 27 (20): 25278-25286.
- [24] BOSTANCIGERI N, TAŞLIDERE A, ELBE H, et al. Protective effects of quercetin against testis damage caused by cisplatin [J]. *Biotech Histochem*, 2022, 97 (3): 180-184.
- [25] XIA L Z, LIU L L, YUE J Z, et al. Alleviative effect of quercetin against reproductive toxicity induced by chronic exposure to the mixture of phthalates in male rats [J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2024, 270: 115920.
- [26] LIU D L, LIU S J, HU S Q, et al. Probing the potential mechanism of quercetin and kaempferol against heat stress-induced Sertoli cell injury: through integrating network pharmacology and experimental validation [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23 (19): 11163.
- [27] WU J, CHEN J X, HE J H. T-2 toxin-induced DRP-1-dependent mitophagy leads to the apoptosis of mice Leydig cells (TM3) [J]. *Food Chem Toxicol*, 2020, 136: 111082.
- [28] HE J, JIN H, GUO J, et al. T-2 toxin-induced testicular impairment by triggering oxidative stress and ferroptosis [J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2024, 270: 115844.
- [29] CORMIER M, GHOULI F, ROUMAUD P, et al. Influence of flavonols and quercetin derivative compounds on MA-10 Leydig cells steroidogenic genes expressions [J]. *Toxicol Vitro*, 2017, 44: 111-121.
- [30] NAAMNEH ELZENATY R, DU TOIT T, FLÜCK C E. Basics of androgen synthesis and action [J]. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 2022, 36 (4): 101665.
- [31] YU J, LIU Y, ZHANG D, et al. Baicalin inhibits recruitment of GATA1 to the HSD3B2 promoter and reverses hyperandrogenism of PCOS [J]. *J Endocrinol*, 2019, 240 (3): 497-507.
- [32] ZHANG J, SONG M, CUI Y, et al. T-2 toxin-induced femur lesion is accompanied by autophagy and apoptosis associated with Wnt/ β -catenin signaling in mice [J]. *Environ Toxicol*, 2022, 37 (7): 1653-1661.
- [33] DING L, ZHU H, WANG K, et al. Quercetin alleviates cadmium-induced BRL-3A cell apoptosis by inhibiting oxidative stress and the PERK/IRE1 α /ATF6 signaling pathway [J]. *Environ Sci Pollut Res Int*, 2023, 30 (60): 125790-125805.