

综述

卵母细胞在哺乳动物卵巢排卵过程中的决定性作用

罗倩萍¹ 吴艳青¹ 吴荔香² 张正红¹ 王正朝^{1*}¹福建师范大学生命科学学院, 福建省发育与神经生物学重点实验室, 福州 350007;²福建省妇幼保健院, 福州 350001)

摘要 哺乳动物卵巢排卵是一个复杂的调控过程。卵泡成熟破裂后, 卵母细胞从卵巢中排出。卵泡细胞感受排卵刺激, 并诱导卵母细胞减数分裂的恢复及其随后的释放。卵母细胞及其周围颗粒细胞的旁分泌在对此起关键性作用, 其中卵母细胞对其释放具有决定性作用。作者先前已经阐述过颗粒细胞在哺乳动物卵巢排卵过程中的调控作用, 该文将从卵母细胞的发育及其调控角度重点阐明其在排卵过程中的决定作用, 旨在进一步理解哺乳动物卵巢的排卵过程, 同时为不孕不育等卵巢疾病的治疗提供重要的研究方向和理论基础。

关键词 卵母细胞; 排卵; 卵巢; 哺乳动物

Decisive Effects of Oocytes on the Ovulatory Process in the Mammalian Ovary

Luo Qianping¹, Wu Yanqing¹, Wu Lixiang², Zhang Zhenghong¹, Wang Zhengchao^{1*}¹Provincial Key Laboratory for Developmental Biology and Neurosciences, College of Life Sciences, Fujian Normal University, Fuzhou 350007, China; ²Fujian Provincial Maternity and Child Care Center, Fuzhou 350001, China)

Abstract Ovulation is a complex regulating process in the mammalian ovary. This important physiological process includes oocytes released from the ovary with follicle ruptures after the oocyte maturation. Follicular cells sense the ovulatory stimulus and induce the resumption of meiosis and subsequent release of oocytes. Paracrine between the oocyte and its surrounding granulosa cells plays a critical role in this process, and the oocyte has the decisive effect on its release. Previously, we have described the regulatory effect of granulosa cells on ovarian ovulation in mammals. In the present paper, we clarify the decisive effects of oocytes on the ovulatory process in mammalian ovaries from the perspective of the oocyte development and its regulation, in order to further understand ovulation and provide the important research direction and theoretical basis for the treatment of ovarian diseases, such as infertility.

Key words oocyte; ovulation; ovary; mammalian

收稿日期: 2013-07-31 接受日期: 2013-09-22

国家自然科学基金(批准号: 31101032、31271255)、教育部新世纪人才支持计划(批准号: NCET120614)、教育部博士点基金(批准号: 20113503120002)和福建省高校杰青项目(批准号: AJ11041)资助的课题

*通讯作者。Tel/Fax: 0591-22868203, E-mail: zcwang@fjnu.edu.cn

Received: July 31, 2013 Accepted: September 22, 2013

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.31101032, 31271255), the Program for New Century Excellent Talents by the Ministry of Education (Grant No.NCET-120614), the Doctoral Foundation of Ministry of Education (Grant No.20113503120002) and Fujian Outstanding Youth Foundation of Provincial Education Department (Grant No.AJ11041)

*Corresponding author. Tel/Fax: +86-591-22868203, E-mail: zcwang@fjnu.edu.cn

网络出版时间: 2013-11-22 10:56 URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20131122.1056.004.html>

在哺乳动物卵巢中, 排卵是一个复杂的调控过程, 从生长卵泡到成熟卵泡均伴随着卵母细胞的生长与成熟, 且呈促性腺激素(gonadotropic hormone, GTH)依赖性^[1-4]。这一过程以卵泡刺激素(follicle-stimulating hormone, FSH)和促黄体生成素(luteinizing hormone, LH)调节为主, 同时伴有卵巢细胞的自分泌与旁分泌的辅助调节。在卵泡生长过程中, 卵母细胞与颗粒细胞之间的双向反馈信号在卵母细胞成熟中具有重要的调节作用^[5]; 在排卵前成熟卵母细胞停滞于第二次减数分裂中期(metaphase of second meiosis, MII), 其中卵母细胞的自分泌信号具有决定性作用^[6]。在排卵前期, 成熟卵母细胞一直处于转录沉默状态; 直到受精后, 胚胎基因组激活^[7]。在哺乳动物中, 卵母细胞脱离卵泡环境后会自发地恢复减数分裂^[8], 由此可见, 卵母细胞与卵丘细胞之间的物质交换是维持卵母细胞减数分裂停滞的重要因素。卵母细胞与颗粒细胞之间存在着复杂的信号传导网络; 卵泡与卵母细胞之间的交流可以激活卵母细胞的生长与发育, 同时促进其释放^[1-4]。我们先前已经阐述了颗粒细胞在哺乳动物卵巢排卵过程中的调控作用^[5], 本文将从卵母细胞的发育及其调控角度重点阐明其在排卵过程中的决定作用, 旨在进一步理解哺乳动物卵巢的排卵过程, 同时为不孕不育等卵巢疾病的治疗提供重要的研究方向和理论基础。

1 卵母细胞对卵丘细胞的作用

在哺乳动物中, 排卵前卵母细胞由多层颗粒细胞包围, 即卵丘细胞; 它们通过缝隙连接与卵母细胞之间彼此紧密连接, 形成卵丘-卵母细胞复合体(cumulus-oocyte complex, COC), 从而促进葡萄糖代谢产物、小信号分子和离子的交换^[2-3]。在有腔卵泡期, 卵丘细胞为卵母细胞发育提供必需的营养, 而卵母细胞分泌的信号也可调控着卵丘细胞的增殖与分化^[4]。在小鼠体内, 转录上不活跃的成熟卵母细胞所分泌的信号, 对于排卵期卵丘细胞基因的表达起到一个关键的调控作用^[9]。卵丘细胞中特定基因的表达需要卵母细胞衍生的信号, 因此, 卵母细胞中合成的因子也要通过细胞间的缝隙连接输送到卵丘细胞。一系列小鼠实验已经表明, 生长分化因子-9(growth differentiation factor-9, GDF-9)以及骨形态发生蛋白-15(bone morphogenetic protein-15, BMP-

15)能维持卵丘细胞外基质(extracellular matrix, ECM)基因表达^[2,10]。GDF-9和BMP-15是由卵母细胞特定合成的, 通过卵泡生成来影响卵泡颗粒细胞的增殖^[2-3]。在人黄体化颗粒细胞中, 激活素受体样激酶5(activin receptor-like kinase 5, ALK5)使转录因子SMAD2/3磷酸化, SMAD2/3与SMAD4形成二聚体并移至核内, 与基因启动子上SMAD反应元素结合, 参与特定基因的转录, 如抑制素-B启动子^[11]。敲除SMAD3基因将导致无排卵性不孕症^[12]。由此可见, 这些转录因子促进卵丘细胞中关键基因的表达, 且这些基因是卵丘细胞对排卵的特定反应所必需的^[2]。因此, 卵母细胞是通过产生GDF-9和BMP-15调控其周围微环境, 从而控制排卵过程。

2 卵母细胞的发育及其调控

LH峰后, 环腺苷酸(cyclic adenosine monophosphate, cAMP)水平递减, 卵母细胞进入一个关键的发育阶段^[13]。这个过程使得卵母细胞的减数分裂恢复, 细胞核和胞质成熟, 从而获得完整的发育能力。

2.1 卵母细胞的发育

卵母细胞减数分裂的恢复是一个由大量输入信号调节的复杂过程。在卵泡发育期, FSH刺激卵丘细胞合成cAMP, 并通过缝隙连接将cAMP传递至卵母细胞中^[14]。因此, cAMP被认为是减数分裂抑制因子。卵母细胞内cAMP水平的降低会促进减数分裂恢复, 但卵母细胞内cAMP水平是由一系列因子的共同作用来维持平衡的。目前的研究表明, 卵母细胞内cAMP水平的下降是由于缝隙连接蛋白的磷酸化而阻断卵母细胞与颗粒细胞之间的缝隙连接导致的^[15], 且磷酸二酯酶3(phosphodiesterase 3, PDE3)也能够代谢卵母细胞内cAMP水平^[14]。大鼠试验表明, PDE3选择性药物抑制剂能够阻断卵母细胞减数分裂的恢复, 但并不影响卵巢的排卵过程^[16]。

2.2 旁分泌的调控作用

卵母细胞可以通过旁分泌作用于卵丘细胞, 且卵泡细胞也可以通过旁分泌调控卵母细胞成熟。LH峰可以通过内膜细胞产生胰岛素样因子-3(insulin-like factor-3, Insl-3)发挥作用^[17]; 且通过Insl-3受体抑制腺苷酸环化酶活性将导致卵母细胞内cAMP减少, 从而引导减数分裂恢复和胚泡破裂^[17]。敲除Insl-3基因导致雌性小鼠生育率降低以及发情周期紊乱^[18]。卵巢组织中脑源性神经营养因子(brain-

derived neurotrophic factor, BDNF)及其高亲和力受体TrkB(tropomyosin receptor kinase B, 酪氨酸激酶受体B)的表达水平与卵母细胞的发育密切相关^[19];在人绒毛膜促性腺激素(human chorionic gonadotropin, hCG)作用后,颗粒细胞和卵丘细胞表达BDNF,而TrkB表达于卵母细胞中^[19]。进一步研究发现,敲除*TrkB*基因的大鼠卵泡发育不良^[19]。在排卵前,LH分泌量上升能刺激小鼠和人卵泡颗粒细胞产生大量BDNF,从而促使卵母细胞第一极体的释放,并进一步诱导其胞质成熟^[19]。表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)是哺乳动物卵母细胞减数分裂的一种有效的诱导物,通过卵丘细胞促进卵母细胞的发育潜能^[20];卵巢颗粒细胞通过产生生长因子样配体(epidermal growth factor-like ligands, EGF-L)来诱导减数分裂的恢复和提高卵母细胞的发育能力^[21]。EGF-L、双调蛋白(amphiregulin, AR)、细胞调节素(betacellulin, BC)和外调蛋白(epiregulin, ER)均可以进一步促进LH对减数分裂的恢复^[21]。由此可见,这一系列对卵母细胞的旁分泌作用对卵母细胞的成熟和排卵的发生起着非常重要的调节作用,进一步表明哺乳动物卵巢排卵进程是一个复杂的精细调控的生理过程。

3 卵母细胞对排卵的调控作用

目前的研究已经表明,来自于卵母细胞的信号能够调节排卵量;在大多数物种中,卵母细胞特异性表达的GDF-9和BMP-15可以通过调节卵泡细胞反应来影响排卵^[22-24]。GDF-9和BMP-15通过不同的信号通路调节卵母细胞的健康、卵泡的生长与发育、以及排卵进程;但在不同物种中,GDF-9和BMP-15对排卵率的调节有所不同^[22-24]。在卵巢卵泡发育的早期阶段,敲除*GDF-9*基因的小鼠卵泡发育被阻断,不出现排卵前卵泡^[22]。敲除*BMP-15*基因的羊不能排卵,但含单拷贝突变基因的母羊排卵率会增加^[23],因此,BMP-15对羊卵泡发育以及排卵是非常重要的;且可以通过短期免疫中和GDF-9或BMP-15来提高羊的排卵率。在人中,*BMP-15*突变后不排卵导致不孕,而*GDF-9*的突变则能增加排卵率^[24]。此外,卵母细胞与卵泡细胞之间的信号调节能诱导卵泡的生长,并限定排卵量。卵丘细胞汇集卵泡和卵母细胞信号,传输到卵母细胞上,起促成熟作用。那些不成熟的或无发育潜能的卵母细胞不能在这种反馈交流中发

生相互作用,也不能达到自身释放的目的^[24]。然而,只有那些成熟卵母细胞才能促进排卵期卵丘细胞的基因表达^[24],同时与成熟卵泡颗粒细胞之间发生相互作用^[5]。由此可见,卵母细胞与卵泡细胞之间的反馈交流对减数分裂的恢复和排卵的控制起非常重要的调控作用。

4 卵泡破裂与卵泡闭锁

在哺乳动物卵巢中,除了少量卵泡可以发育、成熟并排卵外,其余大部分卵泡都将闭锁。其中,孕酮受体(progesterone receptor, PR)对卵泡破裂起决定性作用^[5],如PR拮抗剂RU486都显著减少或完全阻断哺乳动物的排卵反应;敲除PR基因(PRKO)的小鼠,卵泡生长和黄体化正常,但排卵受到阻断^[5]。我们的研究还表明,缺氧诱导因子-1 α (hypoxia inducible factor-1 α)介导内皮素-2(endothelin-2, ET-2)的表达同样参与了卵巢卵泡的排卵过程^[1]。有趣的是,PR和ET-2主要在卵巢颗粒细胞中表达,并调控卵巢卵泡的破裂及排卵过程^[1,5]。另一方面,卵泡发育受到内分泌、自分泌和旁分泌等多种因素的复杂调控,这些激素或细胞因子均在不同程度上与卵泡闭锁有关,如表皮细胞生长因子(epidermal growth factor, EGF)、转化生长因子- α (transforming growth factor- α , TGF- α)、GTH和FSH等^[25]。目前主要认为,原始卵泡与初级卵泡的闭锁主要是由卵母细胞的凋亡引起的,而卵泡发育后期的有腔卵泡及排卵前的成熟卵泡的闭锁是由卵泡颗粒细胞的凋亡引起的^[25]。最近的研究还发现,microRNAs同样参与卵巢的排卵过程^[26-28],如牛卵巢卵泡体外成熟实验发现454个microRNAs中有31个表达下调,28个表达上调^[26],同时在成熟的小鼠卵母细胞中检测到了miR-30、miR-16和miR-17等的microRNAs表达^[27],越来越多证据表明microRNAs主要是通过颗粒细胞来调节卵巢功能的。

5 总结与展望

在哺乳动物中,卵巢排卵是一个复杂的生理调控过程,一直备受人们的广泛关注,具有重要的理论意义与临床价值,因为卵母细胞的质量直接影响了受精效果及受精卵发育成健康胚囊的进程。在排卵过程中,健康的且能减数分裂的卵母细胞决定了它们自己的释放;相反,不健康卵泡或卵母细胞的信号会导致劣质卵母细胞的产生。此外,卵母细

胞支持卵丘细胞的基因表达, 这与卵母细胞的发育潜能密切相关; 而减数分裂异常是卵母细胞退化的一种显著特征。低质量的卵母细胞影响减数分裂中染色体的分离, 导致胚胎在附植前后丢失或产生三倍体, 进而影响人及其他哺乳动物的生育。这些均表明在哺乳动物排卵过程中, 卵母细胞分泌信号具有至关重要的作用, 决定了卵母细胞的释放。尽管如此, 仍有许多问题有待解决, 如在卵巢排卵过程中, 这些复杂的信号通路之间是如何进行对话的, 以及是否还存在其他未知的调控因子参与这一过程。因此, 研究哺乳动物中卵母细胞中信号分子的表达及其传递, 有助于进一步了解人类卵巢卵泡的发育过程, 也能为不孕不育等疾病提供理论基础和治疗方向。

参考文献 (References)

- 1 Wang Z, Zhang Z, Wu Y, Chen L, Luo Q, Zhang J, *et al.* Effects of echinomycin on endothelin-2 expression and ovulation in immature rats primed with gonadotropins. *Exp Mol Med* 2012; 44(10): 615-21.
- 2 吴艳青, 陈丽云, 张正红, 王正朝. 磷脂酰肌醇-3激酶/蛋白激酶B/骨形态发生蛋白-15通路与哺乳动物卵巢卵泡发育. *中国医学科学院学报(Wu Yanqing, Chen Liyun, Zhang Zhenghong, Wang Zhengchao. Effects of phosphatidylinositol-3 kinase/protein kinase B/bone morphogenetic protein-15 pathway on the follicular development in the mammalian ovary. ACTA Academiae Medivinae Sinicae)* 2013; 35(3): 224-8.
- 3 王凡, 肖开转, 林超奇, 王正朝. PI3K信号通路对哺乳动物HPG轴的调控作用. *中国细胞生物学学报(Wang Fan, Xiao Kaizhuan, Lin Chaoqi, Wang Zhengchao. Regulatory effects of PI3K signaling on HPG axis in mammals. Chinese Journal of Cell Biology)* 2013; 35(7): 1068-72.
- 4 吴艳青, 陈丽云, 黄晓红, 王正朝. HIF-NOS信号通路对哺乳动物卵巢NO依赖性功能的调控作用. *中国生物化学与分子生物学报(Wu Yanqing, Chen Liyun, Huang Xiaohong, Wang Zhengchao. Regulatory effects of HIF-NOS signaling pathway on NO-dependent functions in mammalian ovary. Chin J Biochem Mol Biol)* 2012; 28(4): 297-303.
- 5 罗倩萍, 吴艳青, 张正红, 王正朝. 颗粒细胞在哺乳动物卵巢排卵过程中的调控作用. *生命科学(Luo Qianping, Wu Yanqing, Zhang Zhenghong, Wang Zhengchao. Regulatory effects of granulosa cells on ovarian ovulation in mammals. Chin Bull Life Sci)* 2013; 25(6): 621-5.
- 6 de La Fuente R, Eppig JJ. Transcriptional activity of the mouse oocyte genome: companion granulosa cells modulate transcription and chromatin remodeling. *Dev Biol* 2001; 229(1): 224-36.
- 7 王正朝, 王锋, 周冬仁, 潘晓燕. 哺乳动物早期胚胎的基因表达及其调控. *四川动物(Wang Zhengchao, Wang Feng, Zhou Dongren, Pan Xiaoyan. Gene expression and its control of early embryo in mammals. Sichuan J Zool)* 2005; 24(1): 110-3.
- 8 潘晓燕, 杨梅, 王正朝, 汪立琴, 陈童, 赵雪萍, 等. 绵羊卵母细胞孤雌发育的研究. *西北农业学报(Pan Xiaoyan, Yang Mei, Wang Zhengchao, Wang Liqin, Chen Tong, Zhao Xueping, et al. Study on parthenogenetic development of ovine oocytes. Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica)* 2007; 16(3): 7-10.
- 9 Eppig JJ, Wigglesworth K, Pendola FL. The mammalian oocyte orchestrates the rate of ovarian follicular development. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99(5): 2890-4.
- 10 Dragovic RA, Ritter LJ, Schulz SJ, Amato F, Armstrong DT, Gilchrist RB. Role of oocyte-secreted growth differentiation factor 9 in the regulation of mouse cumulus expansion. *Endocrinology* 2005; 146(6): 2798-806.
- 11 Kaivo-Oja N, Mottershead DG, Mazerbourg S, Myllymaa S, Duprat S, Gilchrist RB, *et al.* Adenoviral gene transfer allows Smad-responsive gene promoter analyses and delineation of type I receptor usage of transforming growth factor-beta family ligands in cultured human granulosa luteal cells. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90(1): 271-8.
- 12 Tomic D, Miller KP, Kenny HA, Woodruff TK, Hoyer P, Flaws JA. Ovarian follicle development requires Smad3. *Mol Endocrinol* 2004; 18(9): 2224-40.
- 13 Wang ZC, Shi FX, Jiang YQ, Lu LZ, Wang H, Watanabe G, Taya K. Changes of cyclic AMP levels and phosphodiesterase activities in the rat ovary. *J Reprod Dev* 2007; 53(4): 717-25.
- 14 Wang ZC, Shi FX. Phosphodiesterase 4 and compartmentalization of cyclic AMP signaling. *Chinese Science Bulletin* 2007; 52(1): 34-46.
- 15 Sela-Abramovich S, Chorev E, Galiani D, Dekel N. Mitogen-activated protein kinase mediates luteinizing hormone-induced breakdown of communication and oocyte maturation in rat ovarian follicles. *Endocrinology* 2005; 146(3): 1236-44.
- 16 Wiersma A, Hirsch B, Tsafiriri A, Hanssen RG, van de Kant M, Kloosterboer HJ, *et al.* Phosphodiesterase 3 inhibitors suppress oocyte maturation and consequent pregnancy without affecting ovulation and cyclicity in rodents. *J Clin Invest* 1998; 102(3): 532-7.
- 17 Kawamura K, Kumagai J, Sudo S, Chun SY, Pisarska M, Morita H, *et al.* Paracrine regulation of mammalian oocyte maturation and male germ cell survival. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101(19): 7323-8.
- 18 Nef S, Parada LF. Cryptorchidism in mice mutant for InsI3. *Nat Genet* 1999; 22(3): 295-9.
- 19 Kawamura K, Kawamura N, Mulders SM, Sollewijn Gelpke MD, Hsueh AJ. Ovarian brain-derived neurotrophic factor (BDNF) promotes the development of oocytes into preimplantation embryos. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102(26): 9206-11.
- 20 Jammongjit M, Gill A, Hammes SR. Epidermal growth factor receptor signaling is required for normal ovarian steroidogenesis and oocyte maturation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102(45): 16257-62.
- 21 Ashkenazi H, Cao X, Motola S, Popliker M, Conti M, Tsafiriri A. Epidermal growth factor family members: Endogenous mediators of the ovulatory response. *Endocrinology* 2005; 146(1): 77-84.
- 22 Dong J, Albertini DF, Nishimori K, Kumar TR, Lu N, Matzuk MM. Growth differentiation factor-9 is required during early ovarian folliculogenesis. *Nature* 1996; 383(6600): 531-5.
- 23 Galloway SM, McNatty KP, Cambridge LM, Laitinen MP, Juengel JL, Jokiranta TS, *et al.* Mutations in an oocyte-derived growth factor gene (BMP15) cause increased ovulation rate and infertility

- in a dosage-sensitive manner. *Nat Genet* 2000; 25(3): 279-83.
- 24 Chaffin CL, Vandervoort CA. Follicle growth, ovulation, and luteal formation in primates and rodents: A comparative perspective. *Exp Biol Med (Maywood)* 2013; 238(5): 539-48.
- 25 Evans AC. Characteristics of ovarian follicle development in domestic animals. *Reprod Domest Anim* 2003; 38(4): 240-6.
- 26 Tesfaye D, Worku D, Rings F, Phatsara C, Tholen E, Schellander K, *et al.* Identification and expression profiling of microRNAs during bovine oocyte maturation using heterologous approach. *Mol Reprod Dev* 2009; 76(7): 665-77.
- 27 Tang F, Kaneda M, O'Carroll D, Hajkova P, Barton SC, Sun YA, *et al.* Maternal microRNAs are essential for mouse zygotic development. *Genes Dev* 2007; 21(6): 644-8.
- 28 Lei L, Jin S, Gonzalez G, Behringer RR, Woodruff TK. The regulatory role of Dicer in folliculogenesis in mice. *Mol Cell Endocrinol* 2010; 315(1/2): 63-73.