

雌性动物生殖系统中的一氧化氮

沈政^{1,2} 铁国栋¹ 赵兴绪² 段恩奎^{1*}

(¹中国科学院动物研究所生殖生物学国家重点实验室, 北京 100080;

²甘肃农业大学动物医学院, 兰州 730070)

摘要 一氧化氮(nitric oxide, NO)属于无机自由基气体, 作为一种特殊的生物传递信号分子, 日益受到生命科学各领域的普遍重视。机体内的NO是由三种一氧化氮合酶(nitric oxide synthase, NOS)合成的。NOS在体内的分布极为广泛, 几乎遍布机体的每一个系统。研究表明, 生殖系统中的NO参与了卵泡的发育和成熟、胚胎的植入、妊娠的维持、分娩等许多生理过程。现就NO在雌性生殖系统中的作用进行阐述。

关键词 一氧化氮; 一氧化氮合酶; 雌性生殖

1 一氧化氮与一氧化氮合酶

1980年, Furchgott等^[1]在研究血管舒张作用时, 发现血管内皮产生一种物质, 可使血管舒张, 命名为内皮衍生血管舒张因子(endothelium-derived relaxing factor, EDRF)。接着Ignarro等^[2]和Murad等^[3]几乎同时报道EDRF的本质是一氧化氮(nitric oxide, NO)。1998年, Furchgott、Ignarro和Murad三位科学家由于发现NO是心血管系统中的一种信号分子而获得诺贝尔生理、医学奖。

一氧化氮合酶(nitric oxide synthase, NOS)是产生NO的限速酶, 根据不同的组织来源、结构和功能, 可以分为3类: 神经型(或I型, nNOS)、诱生型(或II型, iNOS)和内皮型(或III型, eNOS)。神经型与内皮型又称为组成型合酶(constitutive NOS, cNOS), 均属钙依赖型酶; 而诱生型属于钙非依赖型合酶。cNOS的表达无明显种间特异性, 而iNOS有种间特异性^[4]。

NO的生物学效应之一是细胞间的信息交换, NO代表一种新型的信号传递分子, 可以迅速弥散过膜, 直接调控靶目标; 它的另一效应是毒副作用, NO作为自由基气体, 带有不配对电子, 可形成许多新的自由基, 这些自由基可引发连锁反应, 造成细胞损伤^[5]。

2 NO与下丘脑-垂体-性腺轴的关系

下丘脑、垂体对于生殖功能具有重要的调节作用。越来越多的证据表明, NO在下丘脑、垂体

中作为一种新型信号递质而发挥重要作用。从解剖定位来看, 下丘脑中产生NO的神经元与促性腺激素释放激素(gonadotropin releasing hormone, GnRH)神经元的位置相近, 表明NO可能是GnRH分泌的重要调控器; 同时NO通过激活含有亚铁血红素的鸟苷酸环化酶(GC)来促进GnRH的分泌。除了直接对GnRH神经元作用, NO也可以刺激分泌神经肽Y(neuropeptide, NPY)的神经元, 通过级联放大作用为GnRH神经元提供增强兴奋的信号^[6]。

用纳洛酮处理可以促进视交叉前区细胞间的NO/cGMP的作用, 而该区域集中分布有GnRH、NOS和 β -END(β -endorphin)神经元^[7]。Ceccatelli等^[8]报道, 在分散培养的垂体细胞中, NO供体能抑制GnRH对LH释放的刺激作用; 在体内NOS抑制剂促进大鼠垂体释放LH。

卵巢激素与NO关系密切, 雌二醇调节子宫产生NO, 而产生的NO具有介导雌二醇对子宫的多方面作用, 如NO可以介导雌激素的舒血管作用; 摘除卵巢可以降低NO的基础分泌^[9]。正常月经周期的妇女, 在卵泡期, 血循环中NO₂和NO₃水平增高, 这与雌二醇有关。雌二醇对血管的保护作用是通过引起血管内皮NO释放的增加而起作用的; 同时, 孕酮可能降低雌二醇产生NO的水平, 其机制

收稿日期: 2003-10-28 接受日期: 2004-01-07

中国科学院知识创新工程领域前沿项目(No.KSCX3-IOZ-07)和生殖生物学国家重点实验室客座研究经费资助

*通讯作者。Tel: 010-62558112, E-mail: duane@ioz.ac.cn

是经过受体操纵 NOS 进行的；而在蜕膜中，孕酮可以诱导 NOS 激活，进而促使 NO 产生，促进周围血管扩张^[10]。以上研究表明，NO 与下丘脑-垂体-性腺轴之间的联系密不可分。

3 NO 对主要生殖过程的影响

NO 在生殖过程中具有重要意义，许多参与生殖过程的物质或是直接与 NO 作用而调节生殖过程或是通过改变 NO 水平起作用，如细胞因子、前列腺素，组胺、基质金属蛋白酶及激素等^[11]。又如利用基因剔除技术，剔除小鼠 NOS 基因能导致生殖紊乱而使发育率下降^[12]。下面重点阐述 NO 对生殖过程中关键环节的影响。

3.1 卵子成熟、排卵、受精和胚胎发育

在体外实验中发现，低浓度(10^{-7} M)的 NO 供体硝普钠(SNP)对于卵母细胞减数分裂分裂具有显著促进作用；而 NOS 抑制剂 L-NAME(10^{-3} M 和 10^{-5} M)，对卵母细胞成熟有显著的抑制作用，并且这种抑制作用可以通过 SNP 改变^[13]。这可能是由于 NO 供体 SNP 使 cGMP 增加，激活环核苷酸磷酸二酯酶而降低 cAMP，从而促进卵子成熟。NO/NOS 对卵子成熟的详细机制目前尚不清楚。绝大多数卵泡的颗粒细胞中都含 NOS；在颗粒细胞中，NO 可能通过自分泌/旁分泌机制发挥抗凋亡作用，因而阻止发育卵泡在成熟前发生闭锁^[14]。

排卵是由促性腺激素、类固醇激素及一些与引起炎症反应类似的介质如细胞因子、前列腺素、白三烯及组胺参与的复杂过程^[6]。有人认为卵巢 NO/NOS 系统参与排卵，其主要原因是引起血管扩张及增加前列腺素(PG₂)的产生，NO 控制排卵的途径之一可能是通过 PG₂ 进行，即 NO 通过直接激活环氧合酶(COX)而刺激 PG₂ 的合成^[15]。Kuo 等^[16]证实，在卵母细胞受精时，NO 能够诱导产生 Ca²⁺ 波，诱使卵母细胞活化，进而提出 NO 是受精的充分必要条件的假说。许多实验证明，NO 作为扩散性分子，在细胞增殖和分化过程中起到重要作用，如大鼠胚胎从 2-细胞发育到 4-细胞，NO 是必须的^[17]。有些研究表明，不同浓度的 NO 对不同发育阶段的胚胎有不同作用，用适当方式增加 NO，会对发育调节产生重要影响^[13]。

3.2 围植入期

胚胎植入是一个母体和胚胎都主动参与的生理过程，它的成功与否不仅需要胚胎的正常发育和适宜

的子宫环境，而且要求它们的同步。胚胎发育不良、子宫环境不适应以及二者发育的不同步都会导致植入失败。胚胎植入过程主要是子宫内膜细胞外基质(ECM)的降解和重建过程，伴随滋养层细胞侵入组织，改变了细胞与细胞、ECM 之间的作用。ECM 的降解主要通过基质金属蛋白酶(MMP₉)完成；而 ECM 重建的研究集中在细胞因子的调节和血管的发生过程。有研究认为 NO 对 MMP₉ 调节属于正向调节^[18]。

Ahmed 等^[19]进行的体外实验表明，来自胎盘组织的滋养层细胞表面存在 VEGF 受体 Flt-1，VEGF 与受体 Flt-1 结合，介导 NO 的释放，且 VEGF 介导 NO 的释放呈浓度依赖性。其机制为 VEGF 具有介导钙离子内流的作用，可激活滋养层细胞内的钙依赖型 NOS，由此增加了 VEGF 介导血管活性因子 NO 释放进入局部组织，进而发挥 NO 的作用。Gagiotti 等^[20]对鼠的研究表明，在植入前 48 h，胚胎的 NADPH 活性很弱，而在一些滋养层巨细胞中活性很强；植入后，处于植入小室的滋养层细胞 NADPH 活性更强；同时植入后期的滋养层细胞通过体外和体内实验都可以检测到 iNOS 和 eNOS；在出现外胎盘椎(EPC)时，利用 SDS-PAGE，也可以证明二者的存在。这些结果提示，iNOS、eNOS 的增加可能与组织重构、抑制免疫反应、血管生成调节有关。

在胚泡侵入阶段，有研究表明 NO/孕酮共同激活 p38，诱导子宫内膜细胞(EEC)凋亡，有利于胚泡的植入^[21]；有些研究认为诱导凋亡并非是 NO 直接作用，可能是通过 P53/Bax 途径间接进行^[22]。有人研究 NO 在大鼠围植入期的作用，在不加或加低剂量的抗孕药物条件下，观察到 NOS 抑制剂与抗孕剂具有协调作用，可以阻断妊娠^[23]，因此，iNOS 及其抑制剂作为促进或抑制妊娠的药物具有广阔的前景。

3.3 妊娠及分娩

Ramsay 等^[24]研究表明，子宫肌层的 NOS 活性明显低于胎盘滋养细胞的 NOS 活性；非妊娠、妊娠及临产后的子宫肌层中，钙依赖性 cNOS 活性无明显差异，而钙非依赖性的诱导型 NOS(iNOS)活性则有所不同，有些研究表明，子宫的 NO 合成在妊娠期无明显变化，而其静态的维持主要依靠胎盘合成的 NO 的旁分泌作用。

在妊娠期和子宫颈成熟过程中，NO 对于它们

的调节具有重要意义^[25]。有证据表明, 子宫肌层组织存在 L-精氨酸/NO/cGMP 系统, 而且 NO 对妊娠子宫有较强松弛作用。研究者认为, 血管壁中 L-精氨酸及组织细胞内 cGMP 的含量受孕酮调节。分娩前孕酮水平增高, NO 的合成与释放增加、抑制了子宫收缩; 而分娩时孕酮水平降低, 使 NO 减少, 导致子宫收缩增强, 触发和维持分娩; 分娩后 NO 进一步减少, 有利于子宫复旧^[26]。

所以, 在哺乳动物不同生殖发育阶段的生殖相关组织中, 均有 NOS 不同程度的表达; 提示 NO 在卵子成熟、排卵、受精、胚泡发育、妊娠和分娩过程中具有关键作用。

4 小结

NO 自由基是雌性生殖机能的重要调节因素, 在生理或病理情况下, 下丘脑、垂体、性腺分泌的许多刺激性及抑制性因子对 NO 具有调控作用且有一定的协同性。具体地说, 在范围很窄的低浓度范围内, 可以促进或刺激生殖的早期事件。但是 NO 浓度太低或太高, 则不利于该生理过程的完成。在雌性生殖过程中, 使用 NO 供体、抑制剂具有安全、有效的特性, 对从避孕到防止疾病发生具有许多作用。NO 也可通过不同的信号通路影响雌性生殖功能。对 NO 进一步的深入研究, 有望为

探讨生殖生理、生殖病理的机制拓宽思路, 同时也可能对生育调控及相关药物的研制提供理论基础。

参考文献 (References)

- [1] Furchgott RF *et al. Nature*, 1980, **288**: 373
- [2] Ignarro LJ *et al. Proc Natl Acad Sci USA*, 1987, **84**: 9265
- [3] Murad F *et al. Prog Clin Biol Res*, 1987, **249**: 65
- [4] Clancy RM *et al. Proc Soc Exp Biol Med*, 1995, **210**: 93
- [5] Radi R *et al. J Biol Chem*, 1991, **266**: 4244
- [6] Dixit VD *et al. Anim Reprod Sci*, 2001, **65**: 1
- [7] Pu S *et al. Endocrinology*, 1997, **138**: 1537
- [8] Ceccatelli S *et al. Proc Natl Acad Sci USA*, 1993, **90**: 11292
- [9] Hayashi T *et al. Proc Natl Acad Sci USA*, 1992, **89**: 11259
- [10] Sunder S *et al. Baillieres Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*, 2000, **14**: 789
- [11] Shi L *et al. Steroids*, 2003, **68**: 1077
- [12] Tranguch S *et al. Mol Reprod Dev*, 2003, **65**: 175
- [13] Sengoku K *et al. Mol Reprod Dev*, 2001, **58**: 262
- [14] Matsumi H *et al. Endocr J*, 1998, **45**: 745
- [15] Fox SB *et al. Placenta*, 1990, **11**: 59
- [16] Kuo RC *et al. Nature*, 2000, **406**: 633
- [17] Nishikimi A *et al. Reproduction*, 2001, **122**: 957
- [18] Novaro V *et al. Reprod Fertil Dev*, 2001, **13**: 411
- [19] Ahmed A *et al. Lab Invest*, 1997, **76**: 779
- [20] Gagiotti S *et al. Biol Reprod*, 2000, **62**: 260
- [21] Li HY *et al. Mol Hum Reprod*, 2001, **7**: 755
- [22] Chen HW *et al. Fertil Steril*, 2001, **75**: 1163
- [23] Chwalisz K *et al. Hum Reprod*, 1999, **14**: 542
- [24] Ramsay B *et al. Obstet Gynecol*, 1996, **87**: 249
- [25] Shi L *et al. Mol Hum Reprod*, 2000, **6**: 382
- [26] Yallanpalli C *et al. Am J Obstet Gynecol*, 1994, **170**: 175

The Role of Nitric Oxide in Female Reproduction

Zheng Shen^{1,2}, Guo-Dong Tie¹, Xing-Xu Zhao², En-Kui Duan^{1*}

(¹State Key Laboratory of Reproductive Biology, Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080, China;

²College of Vet Medicine, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China)

Abstract Nitric oxide (NO) is produced by a group of enzymes called nitric oxide synthases (NOS), which has three isoforms: endothelial (eNOS), neural (nNOS) and inducible (iNOS). NO acts as an important intracellular messenger in a variety of systems including reproduction. In mammals, NO is known to be a major paracrine mediator and important regulatory agent in various female reproductive processes, such as ovulation, implantation, pregnancy maintenance, labor and delivery. Its benefits reach from contraception to preventing possibly lethal pregnancy complications. NO-donors may contribute to a reduction of fetal and maternal perinatal morbidity and mortality. NO-donors and NOS-inhibitors may provide novel, effective, safe and inexpensive drugs to regulate and steer various functions in female reproductive life.

Key words nitric oxide; nitric oxide synthase; female reproduction

Received: October 28, 2003 Accepted: January 7, 2004

This work was supported by the knowledge Innovation Program of the Chinese Academy of Sciences (No. KSCX3-IOZ-07) and the SKLRB grants

*Corresponding author. Tel: 86-10-62558112, E-mail: duane@ioz.ac.cn