

# 精子顶体反应期间磷脂酶 A<sub>2</sub> 的信号转导及其调节

李 坤<sup>1,2</sup>△ 石其贤<sup>1</sup> 倪 崖<sup>1,2\*</sup><sup>1</sup>浙江省医学科学院, 杭州 310013; <sup>2</sup>温州医学院, 温州 325035)

**摘要** 磷脂酶 A<sub>2</sub> 是精子重要的脂解酶类, 包括多种不同亚型。在精子顶体反应期间磷脂酶 A<sub>2</sub> 受天然激动剂卵透明带、孕酮和  $\gamma$ -氨基丁酸激活, 引起胞外 Ca<sup>2+</sup> 内流, 使磷脂水解为花生四烯酸和溶血磷脂酰胆碱, 从而促进膜的融合即顶体反应。天然激动剂引起 PLA<sub>2</sub> 激活受 G<sub>i</sub> 蛋白、甘油二酯、蛋白激酶 A、蛋白激酶 C、促分裂原蛋白激酶和活性氧等多条信号通路的调节, 此外, 磷脂酶 A<sub>2</sub> 与特异性磷酸酯酶 C 之间可以发生信号串话。研究 PLA<sub>2</sub> 的信号通路为了解受精机制、男性不育之病因和开发男性避孕药提供依据。

**关键词** 磷脂酶 A<sub>2</sub>; 精子; 顶体反应; 信号转导

人及哺乳动物精子顶体反应(acrosome reaction, AR)是受精的前提, AR 是指精子质膜与顶体外膜多点融合和形成囊泡化过程。正常情况下, 精子穿过卵丘细胞及其胞外基质, 与透明带(zona pellucida, ZP)结合并诱发 AR。AR 将各种酶类释放出来, 促进精子穿过 ZP 和卵膜融合。与此同时, 精子内部发生一系列生理和生化变化。膜磷脂的变化就是其中重要一类, 这一过程中, 磷脂酶 A<sub>2</sub> (phospholipase A<sub>2</sub>, PLA<sub>2</sub>) 具有重要作用。

## 1 PLA<sub>2</sub> 的概述

PLA<sub>2</sub> 可以水解甘油磷脂的顺式 2 位乙酰酯键, 催化磷脂酰胆碱(phosphatidylcholine, PC)释放花生四烯酸(arachidonic acid, AA)和溶血磷脂酰胆碱(lyso-phosphatidyl choline, lysoPC)等脂类信号分子。AA 是炎症介质前列腺素、凝血酶原激酶、白三烯、脂氧素(lipoxins)等廿烷类衍生物的前体; 当磷脂在顺式 1 位有酯键时, lysoPC 可以继续形成血小板激活因子(platelet-activating factor, PAF)<sup>[1]</sup>。PLA<sub>2</sub> 由于具有代谢脂类、介导炎症等重要的生理功能, 特别是 PLA<sub>2</sub> 的信号通路阻断后则可以达到某些消炎等目的, 能作为药物的靶点进行新药开发, 已成为研究的热点。PLA<sub>2</sub> 是一个正在增长的脂解酶超家族, 按核酸和氨基酸序列不同, PLA<sub>2</sub> 有 I~XIV 个亚型; 哺乳动物 PLA<sub>2</sub> 根据对 Ca<sup>2+</sup> 的依赖与否还可分为以下几类: 需要毫摩尔浓度 Ca<sup>2+</sup> 的分泌型(secretory phospholipase A<sub>2</sub>, sPLA<sub>2</sub>: IB、IIC、IID、IIE、IIF、III、V、X、XII)、需要微摩尔浓度 Ca<sup>2+</sup> 的胞质型

(cytosolic Ca<sup>2+</sup>-dependent phospholipase A<sub>2</sub>, cPLA<sub>2</sub>: IVA、IVB、IVC 或者 cPLA<sub>2</sub> $\alpha$ 、cPLA<sub>2</sub> $\beta$ 、cPLA<sub>2</sub> $\gamma$ )、无需 Ca<sup>2+</sup> 的非 Ca<sup>2+</sup> 依赖型(cytosolic Ca<sup>2+</sup>-independent phospholipase A<sub>2</sub>, iPLA<sub>2</sub>: VIA、VIB)和有水解 PAF 能力的 PAF 酰基水解酶型(platelet-activating factor acetyl-hydrolase, PAF-AH: VIIA、VIIB、VIIC、VIID)<sup>[2]</sup>。迄今已经证明在哺乳动物至少有 19 种具有 PLA<sub>2</sub> 活性的蛋白质<sup>[1]</sup>。本文结合本实验室工作, 主要综述精子 AR 期间 PLA<sub>2</sub> 信号转导通路及其调节。

## 2 人及哺乳动物精子内的 PLA<sub>2</sub>

精子 PLA<sub>2</sub> 的功能可能不如它在体细胞中那样明显, 因而未能受到重视, 研究相对不多。从人精子中分离纯化的 PLA<sub>2</sub>, 分子量约为 16.7 kDa, 其分子序列 N 末端部分的前 19 个氨基酸序列是 YNYQ-FGLMIVITKGFAMV, 显示出进化的高度保守性<sup>[3]</sup>。抗眼镜蛇毒抗体可以识别牛精子中提取的 16 kDa 蛋白质, 而抗胰腺 PLA<sub>2</sub> 的抗体可识别仓鼠及人精子上的蛋白质, 这些抗体已用作免疫定位, 用免疫细胞化学方法发现仓鼠精子顶体上有明显的标记, 在尾部中段的线粒体上也有散在免疫金颗粒, 说明可能有 PLA<sub>2</sub> 分布。此外覆盖在顶体质膜表面上也有 PLA<sub>2</sub>, 可能与 AR 有关<sup>[4]</sup>, 抗胰腺 PLA<sub>2</sub> 的抗体能抑

收稿日期: 2005-11-10 接受日期: 2006-02-13

卫生部科学研究基金(浙江省医药卫生重大科技项目)(No. WKJ2005204701)和浙江省自然科学基金(No. Y204490)资助项目

△联合培养硕士研究生

\*通讯作者。Tel: 0571-88215476, Fax: 0571-88075447, E-mail: niya99@china.com

制仓鼠精子 AR 和体外受精, 但对精子运动和超激活运动没有影响<sup>[5]</sup>。有报道用酸来提取 PLA<sub>2</sub>, 则不能检测出大分子量胞质型同工酶<sup>[6]</sup>。

人及哺乳动物精子中 PLA<sub>2</sub> 的种类报道不多。最近用免疫印迹的方法在小鼠精子中检测到 sPLA<sub>2</sub>-IIC、sPLA<sub>2</sub>-IID、sPLA<sub>2</sub>-IIE、sPLA<sub>2</sub>-IIF、sPLA<sub>2</sub>-V、sPLA<sub>2</sub>-X 几个亚型。sPLA<sub>2</sub>-IIE、sPLA<sub>2</sub>-V、sPLA<sub>2</sub>-X 位于小鼠顶体, 同工酶在不同时期表达不同。在早期生精细胞表达 PLA<sub>2</sub>-IIC 和 PLA<sub>2</sub>-V, 在精母细胞及其后期表达 PLA<sub>2</sub>-IIE 和 PLA<sub>2</sub>-X, PLA<sub>2</sub>-IID 和 PLA<sub>2</sub>-IIF 则在精子细胞表达<sup>[7]</sup>。在检测人睾丸和附睾中 PLA<sub>2</sub> 时发现, 除了 PLA<sub>2</sub>-IIC 外, 上述其他亚型在人类均有表达, 因为 Pla2g2c 在人类是没有功能的假基因<sup>[8]</sup>。用同源重组方法破坏 PLA<sub>2</sub>-VIA (iPLA<sub>2</sub>β) 引起小鼠精子活力下降, 在体内体外受精能力也受到损伤, 此结果说明 PLA<sub>2</sub>-VIA 在精子功能中起着重要作用。但对睾丸脂类形成并未受到严重影响<sup>[9]</sup>。精子 PLA<sub>2</sub> 亚型报道较晚, 而且只限于 sPLA<sub>2</sub> 和 iPLA<sub>2</sub>, 终究有没有 cPLA<sub>2</sub>, 是由于提取方法不当, 还是精子中不存在 cPLA<sub>2</sub>, 尚需进一步的研究。PLA<sub>2</sub> 亚型不同, 其信号通路也有差异。若不了解精子 PLA<sub>2</sub> 亚型将制约其在 AR 期间信号转导方面的研究, 因而当前亟待解决精子 PLA<sub>2</sub> 的亚型问题。

在研究 PLA<sub>2</sub> 功能时常采用药理学上的策略。PLA<sub>2</sub> 常见抑制剂有 bromophenacylromide (pBPB)、arachidonyl trifluoromethylketone (AACOCF<sub>3</sub>)、methylarachidonyl fluomphosphate (MAFP)、bomoenol lactone (BEL)、diisopropytfluorophospate (DFP) 和 dristolochic acid (ATA)。pBPB 可抑制 sPLA<sub>2</sub>; AACOCF<sub>3</sub> 和 MAFP 可抑制 cPLA<sub>2</sub> 和分子量为 80 kDa 的 iPLA<sub>2</sub>; BEL 则抑制 iPLA<sub>2</sub>; DFP 抑制 PLA<sub>2</sub>-AH<sup>[10]</sup>, 而 ATA 主要抑制 Ca<sup>2+</sup> 依赖性 sPLA<sub>2</sub>。此外精子 PLA<sub>2</sub> 抑制剂还有麦帕克林、地塞米松、chloracysin、烷基胺 Ro-4493 和 Ro-4936 等。麦帕克林抑制金仓鼠、豚鼠和小鼠精子的 PLA<sub>2</sub> 活性, 但不影响羊及人的 PLA<sub>2</sub> 活性; ATA 和 pBPB 抑制人和金仓鼠、豚鼠、小鼠等动物精子的 PLA<sub>2</sub> 活性; 地塞米松、chloracysin、烷基胺 Ro-4493 和 Ro-4639 则可抑制羊精子 PLA<sub>2</sub> 活性<sup>[11]</sup>。

### 3 精子 PLA<sub>2</sub> 激活及其信号通路

早期研究虽提出了 PLA<sub>2</sub> 可能参与精子 AR, 但大多数研究用 PLA<sub>2</sub> 抑制剂阻断精子自发性及诱发性

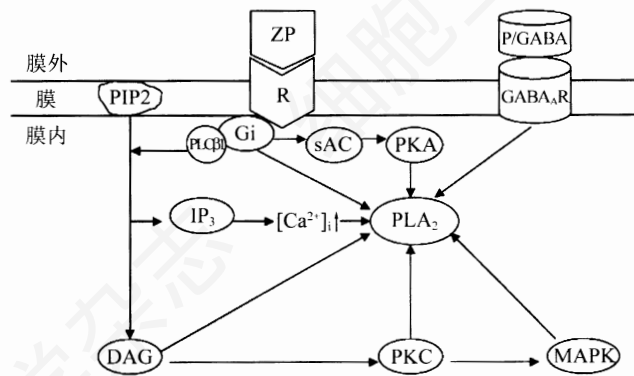


图1 精子顶体反应期间 PLA<sub>2</sub> 的信号转导通路

AR, 或加入外源性激活 PLA<sub>2</sub> 的代谢产物 AA 或 LysoPC 引起 AR<sup>[12]</sup>。但是没有一项研究标记精子脂类, 也未测量脂肪酸释放, 因为未能提供脂类变化与发生 AR 之间的直接依据<sup>[11]</sup>。直到 Roldan 等<sup>[13]</sup>采用 AR 人工激动剂 ionophoreA23187 研究 PLA<sub>2</sub> 与 AR 之关系。他们采用 <sup>14</sup>C-AA 或 <sup>3</sup>H-Pi 标记精子磷脂作为前体, 但 ionophoreA23187 激活 PLA<sub>2</sub> 并非通过正常 T-型或 L-型 Ca<sup>2+</sup> 通道而是旁路, 因此 PLA<sub>2</sub> 激活与 AR 之间的关系仍未真正解决。最近, 我们课题组采用豚鼠精子为研究对象, 以 <sup>14</sup>C-AA 和 <sup>14</sup>C-氯化胆碱作为前体标记精子, 然后用 AR 天然激动剂 ZP、孕酮(progesterone, P)和 GABA (γ-aminobutyric, GABA) 激发精子 AR。证明了①增加 AA 和 LysoPC 释放并伴随 PC 下降, 随后发生膜融合 AR 之间密切相关; ②刺激 Ca<sup>2+</sup> 内流导致 AA 或 LysoPC 呈时间和浓度依赖性增加, AA 释放之浓度与 AR 之间密切相关<sup>[14]</sup>。这些结果有力支持在天然激动剂引起 AR 中 PLA<sub>2</sub> 起关键作用<sup>[15]</sup>。但是不同天然激动剂激活 PLA<sub>2</sub> 引起精子 AR 的信号转导途径不同。根据上述研究, 我们提出了精子 AR 期间 PLA<sub>2</sub> 的信号转导通路(图 1)。

#### 3.1 Ca<sup>2+</sup> 介导 PLA<sub>2</sub> 激活

PLA<sub>2</sub> 的激活需要胞外 Ca<sup>2+</sup> 的存在。获能的精子可以导致 Ca<sup>2+</sup> 内流, 无论是精子提取物还是经过 P 刺激的精子, PLA<sub>2</sub> 活性测定都需要毫摩尔 Ca<sup>2+</sup>。在含有毫摩尔 Ca<sup>2+</sup> 的培养基中用 ZP 刺激精子 AA 和 lysoPC 浓度显著升高, 表明 PLA<sub>2</sub> 被激活, 这种结果是因为 ZP 促进胞外 Ca<sup>2+</sup> 内流, 而在含 EGTA 或 La<sup>3+</sup> 培养基中 ZP 刺激不能使精子 AA 和 lysoPC 释放增加和 AR 发生<sup>[14]</sup>, 因为 EGTA 可以螯合胞外 Ca<sup>2+</sup> 而 La<sup>3+</sup> (Ca<sup>2+</sup> 通道阻断剂) 则能阻止 Ca<sup>2+</sup> 内流。ZP 刺

激精子发生AR时,  $\text{Ca}^{2+}$ 可能通过离子通道大量进入精子内部, 可直接激活  $\text{PLA}_2$ ; 还可经过  $\text{G}_i$  蛋白结合的 ZP 受体激活  $\text{PLC}_{\beta 1}$  调节腺苷环化酶(adenylate cyclase, AC)引起环腺苷酸(cAMP)上升和蛋白激酶 A (protein kinase A, PKA)激活, PKA 激活将引起顶体外膜上电压依赖  $\text{Ca}^{2+}$  通道打开, 引起顶体内  $\text{Ca}^{2+}$  从顶体内释放到胞质, 此时可激活特异性磷脂酶 C $\gamma$  (phospholipase C $\gamma$ ),  $\text{PLC}\gamma$  催化二磷酸磷脂酰肌醇(phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate,  $\text{PIP}_2$ )生成甘油二酯(diacylglycerol, DAG)和三磷酸肌醇(inositol triphosphate,  $\text{IP}_3$ ),  $\text{IP}_3$  将导致胞内  $\text{Ca}^{2+}$  更高上升, 从而激活  $\text{PLA}_2$ 。GABA 引起精子 AR 期间  $\text{PLA}_2$  激活, 可能因为 GABA 可以与  $\text{GABA}_A$  受体/氯离子通道结合, 引起胞外  $\text{Ca}^{2+}$  内流<sup>[16]</sup>, 不同亚型  $\text{PLA}_2$  的调节与  $\text{Ca}^{2+}$  之间的关系在体细胞已有报道。i $\text{PLA}_2$  (VIA、VIB)活性尽管不需要  $\text{Ca}^{2+}$ , 但是可被胞内贮存  $\text{Ca}^{2+}$  和钙调蛋白(calmodulin, CaM)调节。细胞内贮存  $\text{Ca}^{2+}$  排空可诱导 i $\text{PLA}_2$  活性, 也与 CaM 调节 i $\text{PLA}_2$  活性相关。受到  $\text{Ca}^{2+}$  排空作用的 i $\text{PLA}_2$  结合部位负责 CaM 对 i $\text{PLA}_2$  活性调节<sup>[17]</sup>。胞内钙的增加幅度和持续时间对 c $\text{PLA}_2\alpha$  (IVA)的活性很重要, 在多数情况下,  $\text{Ca}^{2+}$  依赖的 c $\text{PLA}_2\alpha$  与磷脂作用必需从胞质转移到胞膜上。胞质内  $\text{Ca}^{2+}$  增加使 c $\text{PLA}_2\alpha$  定位于膜上, 使  $\text{Ca}^{2+}$  充分激活 c $\text{PLA}_2\alpha$ ; 当胞内  $\text{Ca}^{2+}$  浓度增加超过一定时间后又回到原来水平时, c $\text{PLA}_2$  在核周区持续数分钟, 同时被磷酸化。其磷酸化受带负电荷脂质和催化区疏水基团调节<sup>[18]</sup>。精子 AR 期间  $\text{PLA}_2$  激活需要毫摩尔  $\text{Ca}^{2+}$ , 可能是由于 s $\text{PLA}_2$  存在; 在无 ZP 刺激下,  $\text{PLA}_2$  仍有部分激活<sup>[15]</sup>, 能否说明有其他亚型的  $\text{PLA}_2$  也受  $\text{Ca}^{2+}$  调节, 尚待证明。

### 3.2 G 蛋白介导 $\text{PLA}_2$ 激活

精子细胞存在 G 蛋白, ZP 刺激  $\text{PLA}_2$  激活通过  $\text{G}_i$  蛋白介导, 从而导致 AR; 相反, 在  $\text{G}_i$  蛋白敏感抑制百日咳毒素(pertussis toxin, PTX)存在时, ZP 刺激精子则无 AR 发生, 表明精子  $\text{PLA}_2$  活性与  $\text{G}_i$  蛋白有关, 因为可阻断 AA 的释放和 AR<sup>[14]</sup>。但是,  $\text{G}_i$  蛋白是直接参与  $\text{PLA}_2$  调节, 还是通过激活  $\text{G}_i$  蛋白的其他通路激活  $\text{PLA}_2$ , 目前还不清楚。其他通路如:  $\text{G}_i$  蛋白偶联的可溶性腺苷酸环化酶(soluble AC, sAC)激活引起  $\text{Ca}^{2+}$  内流, cAMP 升高或激活磷酸肌醇酶特异磷脂酶 C (phosphoinositide-specific phospholipase C, PI-PLC)介导的 DAG 产生等。这些问题尚待研究。有报道称 P 激活 AR 可被 G 蛋白

加速, 需要同时激活  $\text{PLA}_2$  和 PLC (phospholipase C, PLC), 才能最后促进 AR<sup>[19]</sup>。在某些体细胞内  $\text{PLA}_2$  活性被 PTX 阻断是由于 PLC 和  $\text{Ca}^{2+}$  信号被抑制<sup>[20]</sup>。

### 3.3 DAG 调节 $\text{PLA}_2$ 的活性

在精子 AR 期间, DAG 可直接激活  $\text{PLA}_2$ 。内源性 DAG 可以调节  $\text{PLA}_2$  的活性, 内源性 DAG 在 DAG 激酶抑制剂 R59022 作用时增加, 同时用 ZP 和 GABA 刺激豚鼠精子可以导致  $\text{PLA}_2$  活性与 AR 率的增加<sup>[14, 21]</sup>; 此外, DAG 也可增强羊精子  $\text{PLA}_2$  的活性<sup>[22, 23]</sup>。尽管 DAG 可以直接激活精子  $\text{PLA}_2$  的活性, 但是 DAG 是否在刺激蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC) 后导致促分裂原蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)磷酸化, 再激活  $\text{PLA}_2$ , 还需要进一步证实。

### 3.4 PKA 调节 $\text{PLA}_2$ 的活性

PKA 与 AR 相关的早期证据是, 在 AR 过程中证明 AC 活性与 cAMP 产生增加相关, 用 AC 激动剂 forskolin 和二丁酰基 cAMP 诱导哺乳动物精子 AR 时呈现剂量依赖性。此外, PKA 抑制剂可以抑制 P 诱导 AR<sup>[15, 24]</sup>。 $\text{PLA}_2$  活性受 PKA 调节, 是 PKA 的抑制剂 14-22amide 和 H-89 可抑制豚鼠精子在 ZP、P 或 GABA 引起 AA 释放和 AR 增加, 其调节通路可能通过刺激 sAC 催化 ATP 生成 cAMP, 激活 PKA 途径<sup>[15]</sup>。

### 3.5 PKC 调节 $\text{PLA}_2$ 的活性

PKC 在生理性 AR 精子信号转导中起重要作用<sup>[25]</sup>。P 刺激人精子介导 PKC 的各种底物磷酸化。PKC 调节  $\text{PLA}_2$  的活性, 其原因是 PKC 抑制剂 staurosporine 和 chelerythrine chloride 抑制 ZP、P 或 GABA 刺激精子的 AA 释放<sup>[15]</sup>。PKC 的激活又受 DAG 的调节。在体细胞中, 有学者提出  $\text{PKC}\alpha$  与 i $\text{PLA}_2$  介导 AA 释放有关,  $\text{PKC}\alpha$  的下调和  $\text{PKC}\alpha$  抑制剂的作用降低了  $\text{PLA}_2$  的活性和 AA 释放。而  $\text{PKC}\epsilon$  与 i $\text{PLA}_2$  活性有关<sup>[17]</sup>。

### 3.6 MAPK 调节 $\text{PLA}_2$ 的活性

据新近报道, 精子 AR 过程中, 天然激动剂引起  $\text{PLA}_2$  激活也受 MAPK 信号转导通路的调节。ZP、P 或 GABA 诱导精子的 AA 释放和 AR 能被 ERK1/2 的抑制剂 U0126 和 PD98059 阻断, 但不能被无活性的 U0126 类似物 U0124 阻断<sup>[25]</sup>。ERK1/2 是 MAPK 家族成员 p42/p44。在多种细胞中激活剂诱导 p42/p44 (ERK1/2)磷酸化和 c $\text{PLA}_2$  活性有关。在某些体细胞中, 激动剂刺激细胞 c $\text{PLA}_2$  活性增加是由于被 MAPK 在 Ser505 位磷酸化。在中国仓鼠卵中 S505A 突变,

cPLA<sub>2</sub> 大量表达, 也不能增强激动剂诱导 AA 释放, 而野生型表达则能增强激动剂诱导的 AA 释放<sup>[26]</sup>。在另一些体细胞中, Ser505 磷酸化通过与膜的缓慢游离以提高 cPLA<sub>2</sub>α 对膜的亲合性。但是有些报道证明在刺激细胞野生型 cPLA<sub>2</sub>α 和 S505A 突变的 cPLA<sub>2</sub>α 在膜转位的方面没有区别。Ser505 的磷酸化可导致构象的改变, 因为这些残基在 C2 区和催化区的可变连接处, 但是没有直接证据<sup>[18]</sup>。大多数细胞中, MAPK 磷酸化 PLA<sub>2</sub> 是 cPLA<sub>2</sub>, 如果在 AR 期间 MAPK 途径与 PLA<sub>2</sub> 活性有关, 那么精子 PLA<sub>2</sub> 可能存在有 cPLA<sub>2</sub> 亚型。关于在 AR 期间 MAPK 调节作用, 一些研究由于找不到证据而持不同观点。

### 3.7 活性氧调节 PLA<sub>2</sub> 的活性

活性氧(reaction oxygen species, ROS)包括过氧化氢(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)、超氧阴离子、羟基等, 在刺激剂作用时在细胞内发生不同生物反应。近来发现 ROS 是一个潜在激活 iPLA<sub>2</sub> 的因素, 某些体细胞里 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 可导致 AA 大量释放, 同时 iPLA<sub>2</sub> 活性增加, 而且是不依赖胞内 Ca<sup>2+</sup> 浓度, AA 释放和 iPLA<sub>2</sub> 活性还均能被 BEL 完全抑制<sup>[17]</sup>。在牛精子中 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 也能激活 PLA<sub>2</sub><sup>[27]</sup>, 在人精子中, ROS 可以上调几种蛋白质的酪氨酸磷酸化, 可以激活 sAC 产生 cAMP, 随后激活丝/苏氨酸激酶 A<sup>[28]</sup>。最近研究表明诱导精子 AR 时 ROS 与酪氨酸磷酸化有关<sup>[24]</sup>, 但机制仍不清楚。

### 3.8 PLC 与 PLA<sub>2</sub> 信号通路间的信号串话(crosstalk)

信号串话, 指精子在 GABA、P、ZP 等天然激动剂引起的 AR 后, 激活 PLC 产生的信号分子 DAG 可将 PLA<sub>2</sub> 和 PLC 两条信号通路串联, 从而增强 AR。DAG 在 AR 中起中心作用。精子受 GABA、P 或者 ZP 刺激经历 AR, 通过受体激活 PI-PLC 和磷脂酰胆碱特异性脂酶 C (phosphatidylcholine-specific phospholipase C, PC-PLC)<sup>[29]</sup>, 在 Ca<sup>2+</sup> 的存在下, 产生不同类型 DAG 和烷酰基甘油, 对 PLA<sub>2</sub> 进行调节, 可达到增强 AR 的效果。PLC 对 PLA<sub>2</sub> 具有调节作用, 但 PLA<sub>2</sub> 能否调节 PLC 尚不清楚, 需进一步研究。

## 4 激活精子 PLA<sub>2</sub> 引起脂类释放从而导致 AR

激活 PLA<sub>2</sub> 对于 AR 是必需的。有证据表明用 PLA<sub>2</sub> 抑制剂处理精子后精子不能发生自发性或诱发性 AR, 但是用 PLA<sub>2</sub> 代谢产物溶血磷脂和脂肪酸处理精子, 可以加速 AR<sup>[11]</sup>。如果 PLA<sub>2</sub> 被抑制, 则

Ca<sup>2+</sup> 内流完全不能发生<sup>[30]</sup>。PLA<sub>2</sub> 及其代谢产物 lysoPC 有助于哺乳动物精卵融合。PLA<sub>2</sub> 位于精子发生 AR 的区域, 特异的 PLA<sub>2</sub> 抗体可以抑制精卵融合, 但不能抑制精子与卵膜的黏附<sup>[31]</sup>。由 PLA<sub>2</sub> 激活而产生的 lysoPC 可能是形成 PAF 的底物, 在 P 刺激下磷脂的形成能进一步增强 AR, 而且, 在体外用 PAF 处理人精子可增强其对去透明带仓鼠卵的穿透能力。在体外用 PAF 处理可以大大提高 ICSI 和 IVF 的受精率, 而且对胚胎的发育没有伤害<sup>[24]</sup>。

## 5 小结

精子 PLA<sub>2</sub> 是一种重要的磷脂酶类, 在 AR 期间发挥着重要的作用, 并受到各种信号通路的调节, 这些信号通路在细胞中同时存在, 甚至不同通路存在相互协调。尽管精子 PLA<sub>2</sub> 及其信号通路研究进展迅速, 但是对其亚型的确定和信号通路等方面仍存在许多问题: 精子除 sPLA<sub>2</sub> 和 iPLA<sub>2</sub> 外, 是否还有其他 PLA<sub>2</sub> 亚型? ZP 刺激 PLA<sub>2</sub> 的信号通路是通过 G<sub>i</sub> 蛋白直接还是间接激活 PLA<sub>2</sub>? 还是两者并存? DAG 对 PLA<sub>2</sub> 的激活是否通过 PKC 而起作用? ROS 激活 PLA<sub>2</sub> 的机制是什么? 等等。这些课题的深入研究将有助于人们对受精过程的更深入了解, 为男性不育症诊断和治疗及避孕药物设计拓宽新的思路, 具有重大的理论与实践意义。

### 参考文献 (References)

- [1] Balsinde J et al. *FEBS Lett*, 2002, **531**: 2
- [2] Six DA et al. *Biochim Biophys Acta*, 2000, **1488**: 1
- [3] Langlais J et al. *Biochem Biophys Res Commun*, 1992, **182**: 208
- [4] Riffo M et al. *Histochemistry*, 1992, **97**: 25
- [5] Riffo MS et al. *J Exp Zool*, 1996, **275**: 459
- [6] Mayer RJ et al. *FASEB J*, 1993, **7**: 339
- [7] Masuda S et al. *Biochim Biophys Acta*, 2004, **1686**: 61
- [8] Tischfield JA et al. *Genomics*, 1996, **32**: 328
- [9] Bao S et al. *J Biol Chem*, 2004, **279**: 38194
- [10] Roberts MF et al. *FASEB J*, 1996, **10**: 1159
- [11] Roldan ER. *Front Biosci*, 1998, **3**: D1109
- [12] Fleming AD et al. *Gamete Res*, 1981, **4**: 253
- [13] Roldan ER et al. *J Biol Chem*, 1993, **268**: 13962
- [14] Yuan YY et al. *Biol Reprod*, 2003, **68**: 904
- [15] Shi QX et al. *J Cell Physiol*, 2005, **205**: 344
- [16] 张振汉等. *生理学报*, 2000, **52**: 179
- [17] Akiba S et al. *Bio Pharm Bull*, 2004, **27**: 1174
- [18] Hirabayashi T et al. *Biol Pharm Bull*, 2004, **27**: 1168
- [19] Pietrobon EO et al. *Mol Reprod Dev*, 2005, **70**: 58
- [20] Ekokoski E et al. *J Cell Physiol*, 2000, **183**: 155
- [21] Chen WY et al. *FEBS Lett*, 2005, **579**: 4692
- [22] Roldan ER et al. *Biochem Biophys Res Commun*, 1991, **176**:

- 294
- [23] Roldan ER *et al. Biochem J*, 1994, **297**: 225
- [24] Baldi E *et al. Front Biosci*, 2000, **5**: E110
- [25] Chen WY *et al. Acta Pharmacol Sin*, 2000, **21**: 787
- [26] Leslie CC *et al. J Biol Chem*, 1997, **272**: 16709
- [27] Shit S *et al. Indian J Exp Biol*, 2004, **42**: 486
- [28] Breitbart H *et al. Rev Reprod*, 1999, **4**: 151
- [29] Yuan YY *et al. Sci China Ser C*, 2001, **44**: 345
- [30] Dominguez L *et al. Mol Reprod Dev*, 1999, **52**: 297
- [31] Riffo MS *et al. J Exp Zool*, 1997, **279**: 81

## Signal Transduction and Regulation of Phospholipase A<sub>2</sub> during Acrosomal Exocytosis in Spermatozoa

Kun Li<sup>1,2</sup>, Qi-Xian Shi<sup>1</sup>, Ya Ni<sup>1,2\*</sup>

(<sup>1</sup>Zhejiang Academy of Medical Sciences, Hangzhou 310013, China; <sup>2</sup>Wenzhou Medical College, Wenzhou 325035, China)

**Abstract** Phospholipase A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>) is an important lipolytic enzymes in spermatozoa, which be constituted by some distinct subtypes. Activation of PLA<sub>2</sub> is induced by calcium influx and subsequent membrane fusibility during acrosome reaction in spermatozoa. Activation of PLA<sub>2</sub> is regulated by many signaling pathways: G<sub>i</sub>-protein, diacylglycerol, protein kinase A, proterin kinase C, mitogen-activated protein kinase and reaction oxygen species. In addition, the crosstalk between PLA<sub>2</sub> and phospholipase C may occur by mediating of endogenous diacylglycerol. Clarifying the PLA<sub>2</sub> signaling pathways during acrosome reaction in spermatozoa could provide the basis for fertilization mechanism, possible new methods for diagnosis and treatment of male infertility and strategies for contraceptive.

**Key words** phospholipase A<sub>2</sub>; spermatozoon; acrosome reaction; signal transduction

Received: November 10, 2005 Accepted: February 13, 2006

This work was supported by the Science and Research Foundation of Ministry of Health (Medicine Health Key Science & Technology Project of Zhejiang Province, No.WKJ2005204701) and the Natural Science Foundation of Zhejiang Province (No.Y204490)

\*Corresponding author. Tel: 86-571-88215476, Fax: 86-571-88075447, E-mail: niya99@china.com