

钙信号在卵母细胞激活中的作用

胡军和*

(榆林学院生命科学学院, 榆林 719000)

摘要 钙信号是胞内主要的第二信使之一, 发挥广泛的作用如细胞分裂、细胞凋亡等, 对细胞的生命活动起着非常重要的作用。在精子和卵母细胞中, 钙信号对精子获能、顶体反应、卵母细胞成熟、受精及卵裂等一系列复杂的过程有非常重要的影响。现就 Ca^{2+} 在卵母细胞中的释放机制、信号转导途径、调控功能作一综述。

关键词 钙信号; 卵母细胞; 信号转导; NAADP

哺乳动物排卵后的卵母细胞, 停留在第二次减数分裂中期(MII)。在精子或其他人为因素的刺激下激活, 减数分裂恢复, 排出第二极体, 完成整个减数分裂过程。在精子引起卵母细胞激活的过程中, 精子不仅提供遗传物质, 也为卵母细胞提供激活信号, 引起胞内 Ca^{2+} 升高^[1]。各种人工激活方法之所以能激活卵母细胞, 关键在于能够引起卵母细胞内 Ca^{2+} 的升高。常用方法有以下几类: Ca^{2+} 载体、乙醇、thimerosal、G 蛋白激活剂、蛋白质合成抑制剂和蛋白激酶抑制剂等, 虽然其激活方法不同, 但最终都是因为引起胞内 Ca^{2+} 升高, 导致卵母细胞的激活。

1 胞内 Ca^{2+} 的释放机制

胞内 Ca^{2+} 变化主要由 Ca^{2+} 内流和胞内 Ca^{2+} 释放引起的。 Ca^{2+} 内流是由 Ca^{2+} 电压门控通道(voltage-operated calcium channels, VOCCs)引起, 而胞内 Ca^{2+} 释放却比较复杂, 涉及的离子通道和作用机制比较多, 如三磷酸肌醇受体(inositol 1,4,5-triphosphate receptor, IP_3R)通道、ryanodine 受体(RyRs)通道及烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(nicotinic acid adenine dinucleotide phosphate, NAADP)等。

1.1 IP_3R 通道机制

在胞内, IP_3 与内质网膜上 IP_3R 结合, 引起内质网中 Ca^{2+} 的释放, 进而引起相应的与钙信号有关的生理反应。 IP_3R 介导的胞内 Ca^{2+} 释放依赖于一定浓度的胞内 Ca^{2+} , 呈现钟型应答性反应(bell-shaped response): 胞浆内 Ca^{2+} 浓度很低时, IP_3R 对 IP_3 不敏感; Ca^{2+} 浓度上升到一定程度, IP_3R 最敏感; 当胞浆内 Ca^{2+} 浓度进一步升高时, IP_3R 对 IP_3 又不敏感^[2]。

同样, 内质网本身也能调节胞内 Ca^{2+} 的变化, 内质网内膜中存在一种蛋白质(ERp44), 含有硫氧还原蛋白同源区结构, 能够与 IP_3R 结合, 进行负调控, 这种情况在内质网中 Ca^{2+} 浓度相对较低时, 表现得更加明显, 这些说明内质网的微环境也能影响 IP_3R ^[3]。 IP_3R 通道的开放与关闭, 通过胞内分子相互作用控制, 并发现配体结构域与 IP_3R 通道结构域存在相似性和互补性^[4]。其中关键分子是钙调蛋白(calmodulin, CaM)发挥作用, CaM 不仅是 IP_3R 通道的调控物, 而且也是 IP_3R 通道门控系统必须的组成物^[4]。在动物卵母细胞中 IP_3R 大量存在, 作用于内质网引起胞内 Ca^{2+} 的释放, 导致卵母细胞激活^[5]。通过利用特异性抗体和 Western 杂交技术研究发现, 在牛 MII 卵母细胞和卵巢上存在大量的 IP_3R , 主要调节 Ca^{2+} 的释放^[6]。由此可见, 卵母细胞的激活主要是由于 IP_3R 通道开放, 引起胞内钙库的释放, 导致卵母细胞一系列激活过程如核膜破裂、皮质颗粒释放及原核形成等。

1.2 RyRs 机制

RyRs 机制, 指通过与 RyRs 结合, 引起胞内 Ca^{2+} 释放。由于它和一种植物碱阿诺碱(ryanodine)具有很高的亲和力与特异性, 故得此名。研究发现, 与 IP_3R 一样, RyRs 在哺乳动物卵母细胞大量存在, 在牛^[7]、猪^[8]及人^[9]上已经证实 RyRs 能调节其卵母细胞内 Ca^{2+} 释放。但在仓鼠卵母细胞受精时, Ca^{2+} 升高是由 IP_3R 通道控制的^[10]。而且研究证实, 由仓鼠精子介导的胞内 Ca^{2+} 升高, 会因注射 IP_3R 的抗体而被阻滞^[11]。同样, 注射了 IP_3R 的抗

收稿日期: 2006-02-06 接受日期: 2006-07-21

* 通讯作者。Tel/Fax: 0912-3891342, E-mail: hjh797813@126.com

体的小鼠卵母细胞不会出现早期或后期的受精时的变化^[12]。由此可见,在卵母细胞内最初引起 Ca^{2+} 升高是由 IP_3R 通道控制的,但是 RyRs 也能引起 Ca^{2+} 升高。

1.3 NAADP 机制

NAADP 是 NADP 的磷酸化产物,首先在海胆卵母细胞内发现,能介导胞内 Ca^{2+} 的释放^[13]。NAADP 主要由 ADP 核糖环化酶和 CD38 催化底物进行合成^[14]。但是,有关 NAADP 介导 Ca^{2+} 的释放是不是一种全新的信号通道途径,一直讨论不息。有研究发现,NAADP 不会被 IP_3 和 cADPR 的阻断剂影响,说明 NAADP 机制不同这些途径,认为是一种全新的 Ca^{2+} 通道^[15]。在海胆卵母细胞中研究发现,通过 NAADP 机制能够引起胞内 Ca^{2+} 释放,但不是作用于内质网,而是作用于溶菌酶膜上,由此认为 NAADP 是一种全新的机制^[16]。但研究发现,不同的酸性类溶菌酶细胞器对 NAADP 释放钙离子的敏感性不一样,而且在这些酸性类溶菌酶细胞器或临近存在 RyRs ,由此认为 NAADP 可能是通过 RyRs 调节 Ca^{2+} 释放^[17,18]。针对目前的各种观点,虽然 NAADP 能调节卵母细胞内 Ca^{2+} 的变化,但是有关 NAADP 机制是一种全新的离子通道还是通过 RyRs 发挥作用,有待于进一步的研究^[19]。

1.4 其他的胞内 Ca^{2+} 释放机制

除了上述胞内 Ca^{2+} 调节通路,还有环腺苷二磷酸核糖机制、 Ca^{2+} 诱导 Ca^{2+} 释放机制(calcium induced calcium release, CICR)等能引起 Ca^{2+} 的浓度变化。其中,cADPR 机制通过 RyRs 调节 Ca^{2+} 释放^[20]。虽然其明确的调控机制没有搞清楚,但 CaM 能加强 cADPR 的亲和力,同时提高 RyRs 的敏感性^[21]。CICR 主要调节胞内 Ca^{2+} 回复性升高,由 Ca^{2+} 诱导 Ca^{2+} 释放,会不断引起 Ca^{2+} 的变化。尽管有关的胞内 Ca^{2+} 释放机制,对于一些通道或调控分子有了清楚的认识,但是其具体的调控网络及胞内不同部位的 Ca^{2+} 释放等还不是很清楚。

2 Ca^{2+} 信号转导途径

正常受精时,精子与卵母细胞膜结合在一起,然后与卵母细胞融合在一起。在两种膜结合的过程中激活了在卵母细胞内特殊的生物信号途径,引发了 Ca^{2+} 的升高。因此,是精子与卵母细胞膜受体的结合,还是精子与卵母细胞融合带入特有的物质引起了卵母细胞激活,就成为研究讨论的热点。现就

卵母细胞激活信号的转导存在两种途径:受体介导信号与精子介导信号途径进行介绍。

2.1 受体介导信号途径

受体信号介导途径,在于强调精子与卵母细胞膜受体结合后,引起系列的联级反应,导致卵母细胞的激活。目前有两种机制:G 蛋白信号转导和酪氨酸激酶信号转导。G 蛋白通过激活磷脂酶 C (phospholipase C, PLC)的同源物 PLC- β 把胞外的信号导入细胞内,这个过程需要以 GTP 形式分解为 GDP 提供的能量^[22]。有关 G 蛋白介导信号转导的假设是通过向卵母细胞内注射 G 蛋白受体的激活剂和抑制剂进行研究发现的。在兔^[23]、大鼠^[24]的卵母细胞中注射 GDP 类似物 guanosine-5'-O-(2-thiodisphosphate) (GDP- β -S), 研究发现抑制了胞内 Ca^{2+} 的升高。相反,如果向兔的卵母细胞中注射 GTP- β -S 则引起了胞内的 Ca^{2+} 升高^[23]。同时,在正常受精后才出现的原核形成、胚胎向囊胚发育等现象,也可以通过向卵母细胞内注射 GTP- β -S 引起^[25]。如果向小鼠的卵母细胞内注射 G 蛋白抑制剂,能够阻止原核形成及胚胎向 2 细胞胚胎发育^[26]。这些实验研究表明,卵母细胞内钙离子的变化与 G 蛋白有着密切的联系,说明 G 蛋白信号转导调节着胞内钙离子的变化。

蛋白酪氨酸激酶(protein tyrosine kinase, PTK) 机制也能够引起胞内 Ca^{2+} 的变化,主要在 ATP 作用下通过激活 PLC- γ 1 来产生 IP_3 ,从而引起 Ca^{2+} 的变化^[22]。在海胆卵母细胞中在受精时的 Ca^{2+} 升高,是由 PTK 信号机制调节的^[27]。在海星卵母细胞中,注入表皮生长因子受体的 mRNA,发现在卵母细胞中引起了一类蛋白质的磷酸化,而且发生了类似受精时的变化^[28]。通过用 PLC- γ 1 单抗进行免疫反应来呈现由磷酸化而产生的 PLC- γ 1,结果发现在小鼠的卵母细胞和精子中大量存在^[29]。在猪卵母细胞中,PTK 的激活能够引起类似受精时胞质内的系列变化^[30]。由此可见,PTK 机制参与了卵母细胞内 Ca^{2+} 变化的调节。

2.2 精子介导信号途径

当精子一进入卵母细胞,精子含有的一些因子就有可能间接或直接引起的 Ca^{2+} 升高。目前认为,由精子介导的信号转导是由一种精子胞质因子(sperm cytosolic factor, SCF)引起的。注射 SCF 后能够诱导卵母细胞激活,并启动胚胎的体外发育,能够发育至囊胚^[31]。同时,在精子与卵子融合后的 1~3 min,引起胞内 Ca^{2+} 很大变化^[22]。如果把 SCF 注入仓鼠卵母细胞中,引起了如同正常受精时的 Ca^{2+} 升

高等类似的变化^[31]。研究发现,用马的 SCF 注射进入小鼠卵母细胞中,能够引起激活;同样,注射进入马卵母细胞中,发现 Ca^{2+} 的振荡持续了 60 min 以上,但是用把单个的精子注入却没有引起的 Ca^{2+} 持续振荡^[32]。这说明,目前胞质内精子注射(intracytoplasmic sperm injection, ICSI)注射的效率不高的原因,可能在于不能充分激活卵母细胞。把 SCF 注入小鼠卵母细胞中发现,能够引起类似正常受精时的 Ca^{2+} 振荡现象^[33]。这种 SCF 主要是精子特异性磷脂酶 $\text{C}\zeta$ (phospholipase C, $\text{PLC}\zeta$)引起的,从而通过 IP_3R 通道引起 Ca^{2+} 的释放^[34]。为了更加确切说明问题,把 $\text{PLC}\zeta$ 的 mRNA 注入卵母细胞中,能够引起 Ca^{2+} 的升高和早期的发育^[34]。

研究证实受体介导信号途径与精子介导信号途径能够有效转导 Ca^{2+} 信号,引起卵母细胞的激活。但是,还有许多的问题值得研究和探讨如两者的相互作用机制及具体的调控信号网络等。这些问题的解决,提高核移植重构胚重新编程能力,恢复其全能性,有效提高体细胞核移植的效率。

3 Ca^{2+} 在卵母细胞中的调控作用

在受精时,胞质中 Ca^{2+} 升高是胚胎开始发育的起始信号。有研究证实,如果抑制受精时 Ca^{2+} 的升高,则抑制了随后的卵母细胞激活;如果增加卵母细胞内 Ca^{2+} 的浓度则刺激卵母细胞的激活^[35]。

其中,钙调蛋白依赖性蛋白激酶(calmodulin-dependent protein kinase, CaMK)对于卵母细胞的激活有着非常重要的影响。CaMK 属于丝氨酸/苏氨酸一族,有三种类型。其中主要是 CaMKII 在卵母细胞激活中发挥作用,正常情况下通过与 CaMKII 抑制区域的结合保持失活状态,在有 Ca^{2+} 和 CaM 存在条件下,苏氨酸的 286 位点发生自身磷酸化而激活^[36]。在非洲爪蛙卵母细胞孤雌激活后,出现了大量的 CaMKII,当添加 Ca^{2+} 后, CaMKII 迅速升高,而且发生在成熟促进因子(maturation promoting factor, MPF)活性降低之前;如果向 MII 期非洲爪蛙卵母细胞中注入活性 CaMKII,能够引起 MPF 失活和导致 Moloney 肉瘤病毒癌基因(Moloney sarcoma virus oncogene) MOS 的降解;相反,向为激活的卵母细胞中注入 CaMKII 的抑制性多肽,能够使得由电刺激引起的细胞静止因子(cytostatic factor, CSF)和 cdc 的失活^[37]。这说明,在卵母细胞激活过程中, CaMKII 参与了 MPF 和 CSF 的失活过程。同时, Ca^{2+}

涉及到在早期和后期的激活事件中与 PKC、CaMKII 等发生作用^[38],而这些因子有与胚胎的发育有很重要的作用。因此, Ca^{2+} 在卵母细胞激活及激活后胚胎的后续发育有很大的关系。

总之,虽然钙信号的研究取得了很大进展,但是有关在卵母细胞其他广泛的作用如诱导卵母细胞的成熟,促使卵母细胞的激活及维持重构胚胎的继续发育等还不是很清楚。因此深入研究钙信号的具体作用机制必会推动核移植技术的发展,提高核移植的效率。同时,由于核移植技术的广泛交叉应用,也会推动相关学科的不断发展与进步。

参考文献 (References)

- [1] Stricker SA. *Dev Biol*, 1999, **211**: 157
- [2] Bezprozvanny I et al. *Nature*, 1991, **351**: 751
- [3] Tateishi Y et al. *J Biol Chem*, 2005, **280**: 6816
- [4] Taylor CW et al. *Trends Biochem Sci*, 2004, **29**: 210
- [5] Mehlman LM et al. *Dev Biol*, 1996, **180**: 489
- [6] He CL et al. *Biol Reprod*, 1999, **61**: 935
- [7] Yue C et al. *Biol Reprod*, 1998, **58**: 608
- [8] Macháty Z et al. *Biol Reprod*, 1999, **60**: 1384
- [9] Sousa M et al. *Mol Hum Reprod*, 1996, **2**: 265
- [10] Balakier H et al. *Hum Reprod*, 2002, **17**: 2938
- [11] Miyazaki S et al. *Science*, 1992, **257**: 251
- [12] Xu Z et al. *Development*, 1994, **120**: 1851
- [13] He CL et al. *Biol Reprod*, 1997, **57**: 1245
- [14] Lim D et al. *FASEB J*, 2001, **15**: 2257
- [15] Lee HC. *J Biol Chem*, 2005, **280**: 33693
- [16] Lee HC et al. *J Biol Chem*, 1995, **270**: 2152
- [17] Churchill GC et al. *Cell*, 2002, **111**: 703
- [18] Gerasimenko JV et al. *J Cell Biol*, 2003, **163**: 271
- [19] Hohenegger M et al. *Biochem J*, 2002, **367**: 423
- [20] Dammermann W et al. *J Biol Chem*, 2005, **280**: 21394
- [21] Galione A et al. *Cell Biochem Biophys*, 1998, **28**: 19
- [22] Thomas JM et al. *Biochem J*, 2001, **359**: 451
- [23] Tang W et al. *J Biol Chem*, 2006, **281**: 4746
- [24] Fissore RA et al. *Dev Biol*, 1994, **166**: 634
- [25] Machaty Z et al. *Biol Reprod*, 1997, **57**: 85
- [26] Machaty Z et al. *Biol Reprod*, 1995, **52**: 753
- [27] Moore GD et al. *Development*, 1994, **120**: 3313
- [28] Moore KL et al. *Dev Biol*, 1994, **164**: 444
- [29] Swann K et al. *Reproduction*, 2001, **122**: 839
- [30] Kim JH et al. *Biol Reprod*, 1999, **61**: 900
- [31] Wu H et al. *Mol Reprod Dev*, 1998, **49**: 37
- [32] Bedford SJ et al. *Reproduction*, 2003, **126**: 489
- [33] Gordo AC et al. *Biol Reprod*, 2002, **66**: 1828
- [34] Saunders CM et al. *Development*, 2002, **129**: 3533
- [35] Ben-Xosef D et al. *Rev Reprod*, 1998, **3**: 96
- [36] 范衡宇等. *生物化学与生物物理进展*, 2003, **30**: 171
- [37] Lorca T et al. *Nature*, 1993, **366**: 270
- [38] Ducibella T. *Therigenology*, 1998, **49**: 53

The Role of Calcium Signaling during Oocyte Activation

Jun-He Hu*

(Department of Life Science, Yulin College, Yulin 719000, China)

Abstract Calcium signaling is one of the most important second messenger, which has extensive roles in cell life activities: cytoplasm, cell division and cell apoptosis etc. In sperm and oocyte, it is proved that the calcium signals have great roles in series of complicated processes: capacitation, acrosome reaction, oocyte maturation, fertilization, embryo cleavage etc. The article summarizes the Ca^{2+} release mechanism, Ca^{2+} signaling transduction ways and Ca^{2+} functions in oocyte activation.

Key words calcium signaling; oocyte; signaling transduction; NAADP

Received: February 6, 2006 Accepted: July 21, 2006

*Corresponding author. Tel/Fax: 86-912-3891342, E-mail: hjh797813@126.com