

# 小鼠着床前胚胎细胞发育命运

谢婷婷 王子玉\* 孟春花 王 锋

(南京农业大学动物科技学院, 南京 210095)

**摘要** 哺乳动物早期胚胎的发育机制一直是动物胚胎学和发育生物学领域中存在广泛争议的研究热点, 近年来, 争议的焦点主要集中在早期胚胎细胞的不同发育命运决定出现的阶段以及是否存在某种起关键作用的形态发生决定子等问题上。综述了近年来有关精子入卵位点、第二极体、胚胎形状、第二次卵裂的方向、细胞极性等因素对小鼠着床前胚胎细胞发育命运的影响。

**关键词** 胚胎; 极性; 发育命运; 小鼠

哺乳动物早期胚胎的发育机制一直是动物胚胎学和发育生物学领域中存在广泛争议的研究热点, 这一领域的深入研究不仅有助于深入了解细胞分化机制, 而且对畜牧业中的多项繁殖技术(如胚胎分割、嵌合体、早期胚胎性别鉴定)和人类生殖医学领域(如着床前胚胎的遗传学检测)将产生深刻的影响, 具有重大的理论研究意义和应用价值。

在低等动物早期胚胎发育过程中, 第一次卵裂就决定了胚胎细胞将来的发育命运和胚胎的极性。由于卵母细胞中形态发生决定子的区域特异性分布, 使得卵裂后的不同胚胎细胞含有了不同的形态发生决定子, 因而具有了不同的发育命运。但传统观点认为, 哺乳动物并非如此, 只有到囊胚阶段才分化为具有不同发育命运的滋养层细胞和内细胞团细胞。近年来, 部分胚胎学家对这一传统观点提出异议, 认为早在二细胞阶段卵裂球就具有了发育成胚胎的某一特定部分的趋势或命运<sup>[1,2]</sup>。本文综述了近年来在小鼠着床前胚胎细胞的发育命运方面的研究进展。

## 1 精子入卵位点

在果蝇、线虫、爪蟾等动物, 精子入卵位点(sperm entry position, SEP)对胚胎的非对称性发育有影响, 而在小鼠上是否有同样作用尚存在争议。Piotrowska 等<sup>[3]</sup>研究认为, 第一次卵裂面是由 SEP 参与决定的。通过标记 SEP 发现第一次卵裂面通常经过或接近第二极体以及 SEP 所在平面并与胚胎轴(Em-Ab 轴)垂直, 而且在二细胞期胚胎中, SEP 所在的那个卵裂球将比另一个先一步进行第二次卵裂, 并最终发育成内细胞团部分(图 1)。孤雌激活胚胎第一次卵裂以后所得的两个卵裂球并不像正常受精胚胎那样具有不同的发育命运, 而两类胚胎的差别仅在于有无精子的进入, 据此推测精子及 SEP 影响了二细

胞期的卵裂球的发育命运<sup>[3,4]</sup>。然而, Hiiragi 等<sup>[5]</sup>则认为, 精子在此过程中不起任何作用。将雄原核置换为雌原核的核移植试验表明, 雄原核和雌原核在此过程中所起作用没有任何不同, 也就意味着精子组分对于第一次卵裂面的形成是没有特殊作用的。孤雌激活所得的二倍体胚胎的第一次卵裂面是由两个原核的相对位置决定的, 而单倍体胚胎的第一次卵裂面则是完全随机的, 表明 SEP 或精子组分在决定第一次卵裂面的过程中并不起着决定性的作用。Motosugi 等<sup>[6]</sup>也发现, SEP 所在的那个卵裂球并不具有先进行第二次卵裂的优先性, 分离二细胞胚胎的卵裂球后放入空透明带中培养, 最后发育到囊胚的比例与正常体外培养的胚胎相比也没有显著差异。

## 2 第二极体与胚胎形状

传统观点认为, 小鼠卵母细胞具有动物极-植物极(A-V)轴, 带极体的一侧称动物半球, 其对侧称植物

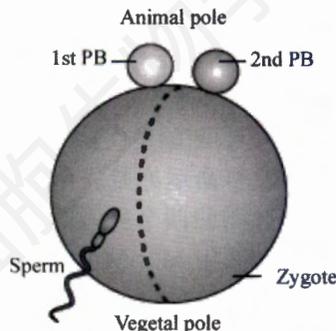


图 1 受精后胚胎示意图<sup>[7]</sup>

收稿日期: 2007-11-14 接受日期: 2008-01-22

南京农业大学青年科技创新基金资助项目(No.KJ06013)

\* 通讯作者。Tel: 025-84395381, Fax: 025-84395314, E-mail:

wangziyu@njau.edu.cn

半球,含有丰富的卵黄物质。第二极体的位置很少移动,可作为动物极的标志。而近年来有观点认为,小鼠卵母细胞中并不存在极性,第二极体所在位置也并非一定是动物极。在第一次卵裂时,多数第二极体会朝第一次卵裂面移动,第一次卵裂面是由两个原核的位置所决定的,通过对原核中的中心体的追踪观察,发现第一次卵裂面将两个原核分开<sup>[5]</sup>。而 Plusa 等<sup>[8]</sup>将早期胚胎的形状用细管改变为椭球形后发现,绝大多数(86%)胚胎的第一次卵裂面与胚胎的短轴所成角度在 $0\sim 30^\circ$ 之间,而与极体及原核所在位置无关,荧光标记椭球形二细胞期胚胎的卵裂球并跟踪观察其发育命运,发现其子代细胞仍有分别发育成胚体和胚外组织的趋势,据此 Plusa 等认为是第一次卵裂面决定了未来的胚胎轴,而与第二极体或 SEP 无关。Alarcón 等<sup>[9]</sup>观察了两种不同基因型胚胎的第一次卵裂面与 Em-Ab 轴之间的角度关系,发现均只是在少数(25%)胚胎中出现第一次卵裂面与 Em-Ab 轴之间呈垂直关系的现象,且是否存在垂直关系对于胚胎的发育没有显著影响。

### 3 第二次卵裂的方向

第二次卵裂有两种方向:一种是与 A-N 轴平行,卵裂后第二极体位于新形成的两个卵裂球中间,称为经裂(meridional division, M 卵裂);另一种是卵裂面与 A-N 轴垂直或成一定角度,且卵裂后第二极体位于新形成的某个卵裂球一侧,称为纬裂(equatorial division, E 卵裂)。由于哺乳动物第二次卵裂的不同步性,二细胞胚胎可以有 4 种卵裂组合方式:ME 卵裂(即先进行第二次卵裂的卵裂球发生 M 卵裂,后进行卵裂的卵裂球发生 E 卵裂);EM 卵裂;MM 卵裂;EE 卵裂。当胚胎发生 ME 卵裂时,先进行第二次卵裂的卵裂球最终将发育为内细胞团,而另一个将发育为滋养层;而当胚胎发生 EM 卵裂时则无规律可循,也就是说先进行第二次卵裂的卵裂球既有可能发育为内细胞团,又可能发育为滋养层;当胚胎发生 MM 或 EE 卵裂时,各个卵裂球最后的发育命运亦是完全随机的。将 ME 卵裂后的四细胞胚胎的四个卵裂球分别标记为 M、M、A、V(图 2),其中 M、M 为 M 卵裂后所得的

卵裂球,它们既含有动物极物质又含有植物极物质;A、V 为 E 卵裂后所得的两个卵裂球,A 只含有动物极物质,V 只含有植物极物质。当把这四个卵裂球分开培养时,大部分 M 都能正常发育,部分 A 能正常发育,而绝大多数 V 都不能正常发育而死亡<sup>[7,10,11]</sup>。

为了解四细胞期的各个卵裂球究竟有几个最终发育成了胚体本身,Tarkowski 等<sup>[12]</sup>将毛色分别为正常和白化两种基因型的小鼠四细胞胚胎的卵裂球重新按 1:3、3:1 或 2:2 组合。其中 1:3 或 3:1 所得的 28 个后代中,有 13 个为嵌合体,15 个为非嵌合体,而毛色正常的非嵌合体总是出现在 3:1 的实验组中。由此推断小鼠胚体不太可能是由四个卵裂球中的某一个卵裂球或是由所有四个卵裂球发育而来,而很可能是由两到三个卵裂球发育而来,且两个的可能性更大。2:2 组合所得的七个后代中,有五个是非嵌合体,进一步证实了这一推断。

### 4 细胞极性

小鼠早期胚胎发育的一个重要特点是位于胚胎中央的卵裂球发育为内细胞团,外周的卵裂球发育为滋养层,其主要原因可能是八细胞阶段的细胞极性和不对称卵裂,有可能受 PAR 蛋白控制,但内在分子机制还不清楚。目前已经发现,PAR3、aPKC、JAM1 等蛋白质在八细胞期胚胎的卵裂球中分布不均匀,使它们重新分布能改变卵裂球原有的发育命运。卵裂的方向与卵裂球的极性有关,极性较强将促进不对称卵裂,子代细胞向外周发育成为滋养层;极性中等也可能进行不对称卵裂,其后代发育为有极性的外周细胞和没有极性的内细胞团细胞;而极性较弱将不足以让细胞维持在外周。因此,ME 胚胎的 V 卵裂球倾向发育为滋养层的原因可能是它的子代细胞比邻近的细胞有更强的极性。如果这种假设成立的话,那么细胞极性的不同应该是由基因表达的不同而影响了细胞的命运。四细胞和八细胞卵裂球在分子水平有微小差异,但这些差异是否引起了卵裂方式的不同尚不确定。不同的卵裂方式影响卵裂球的发育命运的机制目前尚不清楚,而且哺乳动物胚胎细胞的发育是可调节的,因此任何在此过程中起作用的因子都无

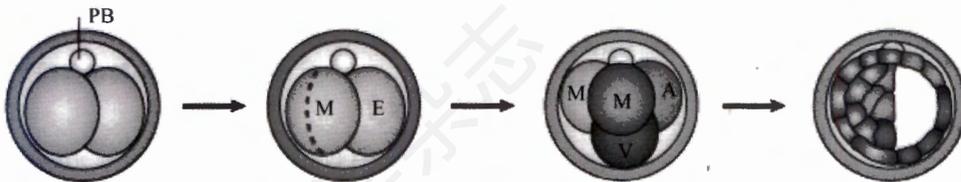


图 2 ME 胚胎各卵裂球发育命运示意图<sup>[7]</sup>

法被确定为是决定性因子<sup>[7,13,14]</sup>。

## 5 小结和展望

尽管某些非哺乳类动物早期胚胎的发育模式已经基本阐明,例如果蝇的卵母细胞在不同区域含有不同的形态发生决定子,最终决定其所在区域的发育命运。但是在哺乳动物上,这个问题就复杂的多。首先哺乳动物的卵母细胞非常小,其体积比爪蟾的卵母细胞的千分之一还小,而且是体内发育,使得直接观察胚胎极其困难;另外,哺乳动物胚胎的可调节性比两栖类以及昆虫类都要高的多。将二细胞、四细胞甚至八细胞的小鼠胚胎的各个卵裂球分开,再与其他胚胎的卵裂球嵌合可以得到健康的小鼠,而在两栖类或鱼类上,这样做得到的动物往往会出现畸形发育。

目前,关于小鼠早期胚胎的发育模式主要有两种观点。一种是既定型发育(*prepatterning model*),认为小鼠胚胎轴早在卵母细胞时期就已经确定。与非哺乳类动物类似,小鼠胚胎中很可能也存在形态发生决定子,起着决定卵裂球发育命运的关键性作用。另一种是调整型发育(*regulative model*),认为小鼠胚胎在附植前具有高度的调节性,会随着自身条件或者外界环境的变化,通过细胞间的诱导作用来调节自身发育命运<sup>[1,15-17]</sup>。

由于小鼠早期胚胎卵裂球极强的自我调节能力,目前对其发育命运的研究结果尚存在很大的争议。

越来越多的研究者认为胚胎细胞的发育命运和胚胎发育模式似乎并不是由一种既定的模式所引导,所有的细胞在其发育过程中根据它们所接收的信号在不停的调节各自的发育方向。但是目前仍然无法确定这些细胞之间到底是如何进行交流从而确保整个发育过程有条不紊的进行的。相信不久的将来,这一发育生物学上的重要问题将会得到更好的解决。

## 参考文献(References)

- [1] Vogel G. *Science*, 2005, **308**: 782
- [2] 杨增明等. *生殖生物学*. 北京: 科学出版社, 2005, 182
- [3] Piotrowska K *et al. Nature*, 2001, **409**: 517
- [4] Piotrowska K *et al. Development*, 2002, **129**: 5803
- [5] Hiiragi T *et al. Nature*, 2004, **430**: 360
- [6] Motosugi N *et al. Genes Dev*, 2005, **19**: 1081
- [7] Zernicka-Goetz M. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2005, **6**: 919
- [8] Plusa B *et al. Nature*, 2005, **434**: 391
- [9] Alarcón VB *et al. Biol Reprod*, 2003, **69**: 1208
- [10] Piotrowska-Nitsche K *et al. Development*, 2005, **132**: 479
- [11] Piotrowska-Nitsche K *et al. Mech Dev*, 2005, **122**: 487
- [12] Tarkowski AK *et al. Int J Dev Biol*, 2001, **45**: 811
- [13] Thomas FC *et al. J Cell Sci*, 2004, **117**: 5599
- [14] Plusa B *et al. J Cell Sci*, 2005, **118**: 505
- [15] Hiiragi T *et al. Nature*, 2006, **442**: E3
- [16] Hiiragi T *et al. Int J Dev Biol*, 2006, **50**: 581
- [17] Gilbert SF. *Developmental Biology*, 8th ed., Sunderland: Sinauer Associates Inc., 2006

# Cell Fate Determination of Mouse Preimplantation Embryo

Ting-Ting Xie, Zi-Yu Wang\*, Chun-Hua Meng, Feng Wang

(College of Animal Science and Technology, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

**Abstract** The first cleavage is important for cell fate determination and polarity in embryogenesis of many kinds of animals. However, it has been thought to be an exception in mammals. For decades, many embryologists assume that blastomeres of an early mouse embryo are uniform and embryonic polarity does not appear until blastocyst. Recently, the cell fate determination of mouse preimplantation embryo arouse controversies among embryologists. The debate is mainly on when the embryonic polarity appears and whether any morphogenetic determinants in mammalian preimplantation embryo exist. Factors influencing cell fate determination of mouse preimplantation embryo, such as sperm entry position (SEP), the second polar body, embryo shape, the second cleavage pattern and cellular polarity are summarized in this review.

**Key words** embryo; polarity; cell fate; mouse

Received: November 14, 2007 Accepted: January 22, 2008

This work was supported by the NAU Youth Sci-Tech Innovation Fund (No.KJ06013)

\*Corresponding author. Tel: 86-25-84395381, Fax: 86-25-84395314, E-mail: wangziyu@njau.edu.cn