

# 磷酸二酯酶在卵母细胞成熟中的作用

曹文 潘玲梅<sup>1</sup> 田谷一善<sup>1</sup> 石放雄\*

(南京农业大学动物科技学院动物繁殖研究室, 南京 210095; <sup>1</sup>日本国东京农工大学兽医学系

家畜生理学教室, 东京 183-8509)

**摘要** 卵母细胞成熟是一个包括内分泌、旁分泌以及自分泌的复杂过程, 所涉及的信号通路最终都要转化为对环核苷酸的调控。磷酸二酯酶(phosphodiesterase, PDE)是一类降解 cAMP 并使之失活的酶, 在卵巢中存在区域化分布。其中 PDE3 主要分布于卵母细胞, 而 PDE4 分布于颗粒细胞。体内外研究证实, 抑制哺乳动物卵母细胞 PDE3 活性能阻断减数分裂, 活性 PDE3 在两栖动物中的表达能诱导减数分裂重启, 程度与孕酮/胰岛素诱导的相近。PI-3K/Akt 信号通路参与 IGF1/胰岛素诱导的爪蟾卵母细胞成熟, 而在孕酮诱导的成熟中不起作用。PDE3 作为 PKB/Akt 激酶的下游因子, 通过调节胞内 cAMP 水平达到对卵母细胞成熟的调控。此外, 哺乳动物卵母细胞中也可能存在类似的信号通路。因此, PDE3 在调控两栖类和哺乳动物减数分裂信号通路中扮演重要角色。掌握 PDE3 的调控方式便于人们更好的了解诱导卵母细胞成熟的信号通路。

**关键词** 环腺苷酸; 卵母细胞成熟; 减数分裂重启; 磷酸二酯酶

哺乳动物卵母细胞的发育包括减数分裂休止期(meiotic arrest)与减数分裂重启(meiotic resumption)。在生长期的大部分时间里, 卵母细胞滞留于前期 I, 并且不能进行减数分裂。当卵母细胞发育到最大时, 需要促黄体素(luteinizing hormone, LH)刺激才能继续减数分裂。LH 峰导致颗粒细胞环腺苷酸(cyclic adenosine monophosphate, cAMP)含量上升, 卵母细胞 cAMP 含量下降, 减数分裂重启, 以及排卵的顺利进行<sup>[1]</sup>。随着第一极体的排出, 卵母细胞完成第一次减数分裂, 随后进入第二次分裂, 并再次滞留于中期, 这一过程称作卵母细胞成熟。减数分裂重启伴随着染色质凝聚, 核膜解聚, 纺锤体形成以及同源染色体分离。它是受精前必不可少的环节, 这是因为精子不能穿透并激活未成熟的卵母细胞。

早期研究发现, 从卵泡中分离的哺乳动物卵母细胞能自发进行减数分裂。这说明卵泡细胞可能向卵母细胞释放抑制信号以维持减数分裂休止期。现已确认, 卵母细胞内高浓度的 cAMP 能够抑制减数分裂, 维持自身停留于减数分裂休止期, 以防止卵母细胞过早成熟。体细胞内 cAMP 水平受腺苷酸环化酶(adenylyl cyclase, AC)合成与磷酸二酯酶(phosphodiesterase, PDE)水解的双重调控。因此卵母细胞也可能通过这两条途径来调控胞内 cAMP 水平。近些年研究表明 PDE, 主要是 PDE3, 参与卵母细胞减数分裂, 是卵母细胞成熟的重要调控因子。

## 1 cAMP 在减数分裂中的作用

正常排卵周期中, 减数分裂的生理刺激是 LH 峰。由于 LH 受体定位于壁颗粒细胞, 而在卵丘与卵母细胞上没有分布, 因此 LH 信号必须要从与壁颗粒细胞的作用中转化为对卵母细胞信号分子的影响。这就意味外层细胞为促进卵母细胞成熟需要释放某些因子。目前固醇、类固醇、生长因子被认为是参与诱导卵母细胞成熟的主要胞内因子。

最近的研究一定程度上解释了 LH 信号如何从卵泡外层向内层的转化。LH 受体受到刺激后, 壁颗粒细胞表达 RNA 编码的表皮生长因子样蛋白(epidermal growth factor-like proteins)<sup>[2]</sup>。尽管这一过程很快, 但是这些蛋白质, 尤其是 amphiregulin 和 epi-regulin, 能诱导体外减数分裂重启, 效果不亚于 LH 峰。此外, Jamnongjit 等<sup>[3]</sup>发现 EGF 信号通路是通过与 EGFR 结合来促进类固醇的合成。早期研究发现 LH 能诱导青蛙卵泡卵母细胞产生刺激卵母细胞成熟的类固醇激素。然而类固醇激素的这种刺激作用对于哺乳动物卵母细胞的成熟收效甚微<sup>[4]</sup>, 在有些实例中还起到轻微的抑制作用。因而, 类固醇是否参与诱导卵母细胞成熟还有待研究。卵泡液促减数分裂甾醇

收稿日期: 2008-11-26 接受日期: 2009-05-18

国家自然科学基金资助项目(No.30771553)

\* 通讯作者。Tel/Fax: 025-84395701, E-mail: fxshi@njau.edu.cn

(follicular fluid-meiosis-activating sterol, FF-MAS), 是胆固醇合成的中间产物, 被认为是诱导卵母细胞成熟的候选物。研究发现, 小鼠体内注入具有激活 LH 受体功能的 hCG 导致 FF-MAS 含量上升<sup>[5]</sup>。无论是纯化的还是合成的 FF-MAS 都能诱导小鼠、大鼠以及人等哺乳动物卵泡中分离出的卵母细胞减数分裂重启<sup>[6]</sup>。然而, 一些研究发现 FF-MAS 诱导卵母细胞成熟的时间与情形同自发或促性腺激素诱导的成熟不同, 这说明固醇很可能不是主要的调节体内卵母细胞成熟的因子<sup>[7]</sup>。

尽管对于 LH 诱发排卵的机制还不是很了解, 但是 LH 峰会导致卵母细胞内 cAMP 含量的下降已毋庸置疑, cAMP 在减数分裂中的重要作用已得到人们的公认。在对海星、爪蟾、哺乳动物等不同物种的研究中发现, 温育过程中添加 cAMP 类似物、刺激 cAMP 产生的药理学物质或是降解 cAMP 的抑制剂后, 都能导致高浓度的 cAMP 产生, 减数分裂受阻<sup>[8,9]</sup>。例如, dibutyryl cAMP<sup>[10]</sup>、forskolin<sup>[11]</sup>、PDE 抑制剂<sup>[12]</sup>都能有效地抑制自然条件下减数分裂的发生。另外, 生发泡破裂(germinal vesicle breakdown, GVBD)前卵母细胞中 cAMP 有降低的趋势。因此高浓度的 cAMP 能维持卵母细胞处于减数分裂休止期, 环核苷酸(cyclic nucleotide monophosphate, cNMP)浓度的下降是减数分裂重启的先决条件。

小鼠的研究发现, 排卵前期卵母细胞 cAMP 维持

在高浓度与孤雌受体(orphan receptor) GPR3 (Gs-linked G-protein-coupled receptor 3)有关<sup>[13]</sup>。GPR3 是一种 Gs 蛋白偶联受体, 能刺激 AC3 产生 cAMP。在大鼠中也发现了类似的孤雌受体 GPR12。虽然尚未找到 GPR3 的配体, 但是一系列的试验都支持这一观点<sup>[14,15]</sup>, 因而为大多数人所接受。其次, 卵丘和卵母细胞能通过间隙连接(gap junction)进行物质交换, 卵泡细胞又是 cAMP 库, 因此人们猜测: cAMP 可能借助间隙连接从卵丘细胞扩散进入卵母细胞(图 1)。一些实验发现间隙连接确实能够调节 cAMP 水平<sup>[16,17]</sup>。然而, 卵母细胞间隙连接特异性抑制剂的缺乏为证明其可能参与维持减数分裂休止期带来了巨大困难。此外, 卵泡液含有天然的 PDE 抑制剂次黄嘌呤, 它也可能参与维持高浓度的 cAMP。

LH 峰导致卵母细胞 cAMP 浓度下降可能通过以下方式(图 1)。(1)GPR3/Gs/AC3 通路受阻。虽然很多实验支持这一假设<sup>[13,18]</sup>, 但 LH 具体通过什么方式来抑制这条通路尚未定论。(2)卵母细胞 PDE3A 活性升高。有研究发现, 无论是自然条件下, 还是 LH 诱导的体外成熟中, PDE3 活性均有升高<sup>[19]</sup>。这可能是因为 LH 峰降低了 cGMP 含量。cGMP 被认为是 PDE3 的竞争性抑制剂<sup>[20]</sup>。(3)卵丘与卵母细胞上的间隙连接通透性下降或彻底受阻。早期研究发现间隙连接通透性的降低滞后于减数分裂重启数小时。因此, 有关间隙连接对 cAMP 的影响还需进一步研究。

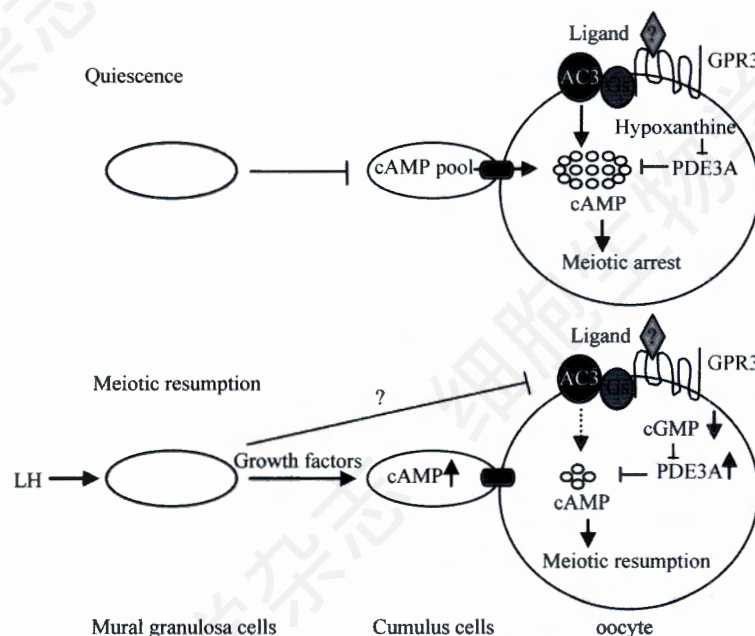


Fig.1 Signal pathways involved in modulation of mammalian oocyte development

## 2 PDE 超家族

PDE 是一种专门负责降解第二信使 cAMP 和环鸟苷酸(cyclic guanosine monophosphate, cGMP)的酶。根据理化特性、与底物亲和力,以及对抑制剂的敏感程度,共分为 11 个 PDE 家族。目前已鉴定出至少 16 种不同的负责编码 PDEs 的基因,编码超过 50 种 PDE<sup>[21]</sup>。PDE3 家族分为 PDE3A 和 PDE3B 两个亚型,受胰岛素/IGF1 正相调控,强心剂 cilostamide 抑制,对 cAMP 和 cGMP 都具有亲和性,并以一种相互竞争的方式水解 cNMP<sup>[22]</sup>。PDE4 同工酶特异性水解 cAMP,受抗抑郁药物 rolipram 的抑制,是目前为止最大的 PDE 家族,由 4 个不同的基因编码(PDE4A~PDE4D),通过不同的启动子与拼接方式产生超过 20 种异构体<sup>[21]</sup>。PDE3 和 PDE4 共同调节胞内 cAMP 的平衡,同时激素也参与对 cAMP 的复杂调控。

## 3 卵巢卵泡中 PDE 基因的表达

为了证明 PDE 基因是否在卵泡不同部位存在差异性表达,Tsafriri 等<sup>[12]</sup>通过原位杂交方法,利用特异性标记的 PDE3、PDE4 异构体探针,对大鼠卵巢不同部位进行了检测。结果发现:特异性标记的 PDE3A 探针仅与卵母细胞杂交,整个卵巢都没有检测到 PDE3B 特异信号,壁颗粒细胞(mural granulosa cell, MGC)标记有 PDE4D 探针,大的有腔卵泡比小的未成熟卵泡存在更强的 PDE4D 信号,PDE4B 探针在膜细胞和间质细胞中大量分布,任何一种 PDE4 探针都没有在卵母细胞中发现。以上结果说明 PDE3 主要在卵母细胞中表达,而 PDE4 更多的分布于颗粒细胞。PDEs 在卵巢中存在区域化分布已被其他实验方法所证实。Shitsukawa 等<sup>[23]</sup>从小鼠卵母细胞基因库中找到了含有完整 PDE3A 开放阅读框的 cDNA,并利用谷胱甘肽 S-转移酶(glutathione s-transferase, GST)标记 PDE3A 的方法得到了 PDE3A 多克隆抗体,此抗体可以免疫沉淀小鼠和大鼠卵母细胞中 90% 的 PDE 活性,这说明 PDE3A 是卵母细胞中 PDE 表达的主要形式。

## 4 PDE 的体外抑制与卵母细胞成熟

在研究 PDE3 特异性抑制剂 org 9935 对猕猴卵母细胞的影响中发现,处理组中 83% 的卵母细胞都滞留于 GV 期,所有卵母细胞均不能受精,而对照组都顺利地进入了 GVBD,受精率(fertilization rate)达 67%<sup>[24]</sup>。由此得出 PDE3 与卵母细胞的体外成熟有

关。在人上的研究得到同样的结果,近 98% 的经 org 9935 处理的人卵母细胞滞留于 GV 期,卵丘包裹的卵母细胞从含有 org 9935 的培养基中取出后剥离卵丘,经体外培养与受精处理,发现处理组与对照组的受精率及胚胎发育情况没有明显差异<sup>[25]</sup>。这说明 PDE3 抑制剂对卵母细胞的作用是可逆的,由此排除了它对卵母细胞有毒副作用的可能。

PDE4 特异性抑制剂 rolipram 即使达到很高浓度也不能抑制减数分裂重启<sup>[6]</sup>,这表明 PDE4 可能在卵母细胞成熟中不表达,或者即便表达也不参与减数分裂重启。然而有趣的是,rolipram 能诱导减数分裂重启,效果不亚于 LH,且与 LH 的作用方式类似,都导致颗粒细胞 cAMP 浓度上升<sup>[12]</sup>。Bilodeau-Goeseels<sup>[26]</sup>的实验结果也发现,rolipram 处理的体外培养的牛颗粒细胞 cAMP 水平较对照组高,而 PDE3 抑制剂 milrinone 对颗粒细胞 cAMP 没有影响。以上结果不但进一步证实 PDEs 在卵泡中存在细胞特异性分布,而且解决了“LH 导致胞内 cAMP 浓度上升,却能诱导减数分裂”这一长期困扰人类的难题。然而,PDE4 是否参与减数分裂,LH 峰是否通过抑制 PDE4 以升高颗粒细胞 cAMP 浓度,以及颗粒细胞 cAMP 浓度的上升与卵母细胞 cAMP 浓度的下降二者之间是否存在因果联系尚待研究。

## 5 PDE3 的体内抑制与卵母细胞成熟

鉴于 PDE3 参与体外减数分裂重启,因此将 PDE3 特异性抑制剂用于体内卵母细胞成熟模型中。Cilostamide 和 org 9935 两种特异性 PDE3 抑制剂注入未成熟大鼠,结果发现它们对于卵母细胞成熟的抑制作用具有剂量依赖性<sup>[27]</sup>。此外,排卵数量没有明显变化,这表明减数分裂重启与排卵没有必然联系。同样条件处理下,PDE3 抑制剂能够完全阻断成年大鼠卵泡的形成和受孕<sup>[27]</sup>。另外,长期口服 org 9935 的雌性大鼠仍维持正常的发情周期规律<sup>[27]</sup>。这些结果表明 PDE3 的活性对于卵母细胞的体内成熟至关重要,同时也为一种新型的通过抑制卵母细胞成熟的避孕方法提供了理论依据。它的特殊之处在于不影响排卵与正常的发情周期,可是由于 PDE3 抑制剂在避孕的同时,加速了心跳频率,因此在人身上的研究仍处于体外水平。

为进一步说明 PDE3 在体内卵母细胞成熟中的作用,利用遗传手段敲除小鼠 Pde3a 基因。分析发现:Pde3a 敲除小鼠的卵巢结构、卵泡排卵以及交配

行为都正常,但就是不能生育。这很可能是因为排出的卵母细胞滞留于GV期,不能受精的缘故。对Pde3a敲除小鼠卵母细胞进行体外培养,由于缺少PDE3活性,胞内cAMP水平明显升高,即使培育48h也不能自发成熟<sup>[28]</sup>。上述试验说明PDE3A在卵母细胞中有着特殊功能,不能被其他PDE家族成员所取代,甚至是PDE3B,并且第一次从遗传角度证明了体内外减数分裂重启都需要PDE3A的参与。

## 6 可能涉及的卵母细胞PDE减数分裂信号通路(以爪蟾卵母细胞为模型)

PDE3参与减数分裂不仅在哺乳动物中得到证实,而且在两栖动物(如非洲爪蟾)的卵母细胞中也有发现。爪蟾卵母细胞从卵泡中分离后便不能自发进行减数分裂,因此,爪蟾成为研究卵母细胞成熟最理想的动物模型。爪蟾卵母细胞的减数分裂受类固醇激素孕酮或生长因子IGF1的调控(图2)。小鼠卵母细胞活性PDE3A在爪蟾卵母细胞中的表达能诱导减数分裂重启,Mos翻译以及细胞外调节蛋白激酶(extracellular signal-regulated kinase, ERK)磷酸化,程度与孕酮/胰岛素诱导的相近<sup>[29]</sup>。由此得出PDE3活性的升高能诱导卵母细胞重新进入细胞周期(re-entry into the cell cycle)。尽管有报道显示孕酮信号通路不受PDE3调控,但是此通路仍需要某种PDE活性的参与。这是因为PDE非特异性抑制剂IBMX能抑制孕酮信号通路。

最近研究发现卵母细胞中也存在胰岛素诱导的信号通路,并且与体细胞中的相似。胰岛素诱导的减数分裂受wortmannin(一种PI3K抑制剂)抑制,而孕酮诱导的减数分裂却不受其影响<sup>[30]</sup>。在没有生长因子刺激条件下,组成性活性PI3K基因的插入诱导减数分裂发生。脂肪细胞中PI3K位于PDE3B的上游,PI3K的活化导致PDE3B磷酸化及其活性的产生<sup>[22]</sup>。Akt是PI3K的下游激酶,与激活大鼠脂肪细胞PDE3B的激酶一起提取出来。爪蟾卵母细胞注入组成性活性PKB/Akt mRNA能够诱导GVBD,同时使内源PDE活性升高两倍<sup>[31]</sup>。抑制Akt活性的抗体阻断了胰岛素诱导的卵母细胞成熟。此外,PDE3抑制剂也能抑制Akt诱导的减数分裂的发生。以上试验说明PKB/Akt具有调控爪蟾卵母细胞减数分裂的能力,并且PDE3位于PKB/Akt激酶的下游。然而Akt通过什么方式激活卵母细胞PDE3尚待研究。有趣的是,将myr-Akt显微注入体外培养的小鼠卵母细胞,

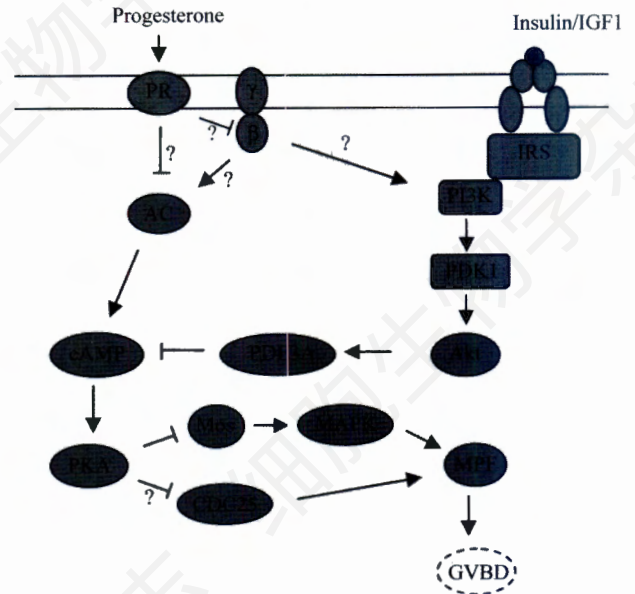


Fig. 2 Putative signaling pathways in regulation of meiosis in *Xenopus* oocyte

同样能诱导卵母细胞成熟<sup>[32]</sup>。这表明PI3K/Akt/PDE3通路也可能是调节哺乳动物卵母细胞减数分裂过程中的重要组成部分。

虽然高浓度的cAMP能活化PKA,但是到目前为止精确的cAMP下游因子还没有确定下来。最新研究表明PKA可能通过Mos、Cdc25两条途径来调控MPF通路<sup>[33]</sup>(图2)。爪蟾卵母细胞中,Mos能激活MAPK,从而介导MPF活性产生。PKA不仅能抑制Mos翻译,还能磷酸化CDC25,使其活性丧失,不能使CDK1去磷酸化,最终导致MPF处于失活状态。然而也有研究表明:PKA对减数分裂的抑制作用可能与激酶活性无关,而是通过与重要调控因子的互作来实现其调控作用。

孕酮通过与一种类固醇非核受体的互作来抑制AC,其中是否涉及PDE活性还不清楚<sup>[8]</sup>。孕酮对于AC的抑制不同于经典的Gi机制,很可能与游离的Gβγ水平有关<sup>[34]</sup>。在IGF1诱导卵母细胞成熟的信号通路中,受PI3K/Akt调控的PDE3扮演重要角色。因此,为了降低cAMP,诱导卵母细胞成熟,这两种刺激似乎协同作用于爪蟾卵母细胞。然而一些研究表明孕酮和IGF1介导的信号通路可能比预计的复杂。类固醇核受体可能与PI3K形成复合体,这样类固醇激素就能激活PI3K/Akt/PDE3信号通路。孕酮核受体在爪蟾卵母细胞中表达无疑支持上述观点<sup>[35]</sup>。

## 7 小结

哺乳动物卵母细胞处于多层细胞包围之中, 不便操作与观察, 并且为了保证卵泡的正常功能, 卵泡还必须保持完整, 加之可用于哺乳动物卵母细胞生化研究的药物较少, 这就给研究哺乳动物卵母细胞减数分裂带来很大困难。但随着基因敲除以及显微注射等一系列方法的完善, 为研究工作带来了新的曙光。目前PDE3对于减数分裂重启的重要性已经得到公认, 但是不排除PDE3只是参与卵子成熟的必要条件之一, PI3K/PKB与PDE3之间是否存在相关性, 还值得探讨。

### 参考文献(References)

- [1] Conti M, Andersen CB, Richard FJ, *et al.* Role of cyclic nucleotide phosphodiesterases in resumption of meiosis, *Mol Cell Endocrinol*, 1998, 145(1-2): 9-14
- [2] Park JY, Su YQ, Ariga M, *et al.* EGF-like growth factors as mediators of LH action in the ovulatory follicle, *Science*, 2004, 303(5658): 682-684
- [3] Jamnongjit M, Gill A, Hammes SR, *et al.* Epidermal growth factor receptor signaling is required for normal ovarian steroidogenesis and oocyte maturation, *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(45): 16257-16262
- [4] Gill A, Jamnongjit M, Hammes SR. Androgens promote maturation and signaling in mouse oocytes independent of transcription: a release of inhibition model for mammalian oocyte meiosis, *Mol Endocrinol*, 2004, 18(1): 97-104
- [5] Baltzen M. Gonadotropin-induced accumulation of 4,4-dimethylsterols in mouse ovaries and its temporal relation to meiosis, *Biol Reprod*, 2001, 65(6): 1743-1750
- [6] Hegele-Hartung C, Grütznier M, Lessl M, *et al.* Activation of meiotic maturation in rat oocytes after treatment with follicular fluid meiosis-activating sterol *in vitro* and *ex vivo*, *Biol Reprod*, 2001, 64(2): 418-424
- [7] Tsafirri A, Cao X, Vaknin KM, *et al.* Is meiosis activating sterol (MAS) an obligatory mediator of meiotic resumption in mammals, *Mol Cell Endocrinol*, 2002, 187(1-2): 197-204
- [8] Ferrell JE Jr. *Xenopus* oocyte maturation: new lessons from a good egg, *Bioessays*, 1999, 21(10): 833-842
- [9] Taieb F, Thibier C, Jessus C. On cyclins, oocytes, and eggs, *Mol Reprod Dev*, 1997, 48(3): 397-411
- [10] Kim JS, Cho YS, Song BS, *et al.* Exogenous dibutyl cAMP affects meiotic maturation via protein kinase A activation; it stimulates further embryonic development including blastocyst quality in pigs, *Theriogenology*, 2008, 69(3): 290-301
- [11] Shu YM, Zeng HT, Ren Z, *et al.* Effects of cilostamide and forskolin on the meiotic resumption and embryonic development of immature human oocyte, *Hum Reprod*, 2008, 23(3): 504-513
- [12] Tsafirri A, Chun S Y, Zhang R, *et al.* Oocyte maturation involves compartmentalization and opposing changes of cAMP levels in follicular somatic and germ cells: studies using selective phosphodiesterase inhibitors, *Dev Biol*, 1996, 78(2): 393-402
- [13] Hinckley M, Vaccari S, Horner K, *et al.* The G-protein-coupled receptors GPR3 and GPR12 are involved in cAMP signaling and maintenance of meiotic arrest in rodent oocytes, *Dev Biol*, 2005, 287(2): 249-261
- [14] Horner K, Livera G, Hinckley M, *et al.* Rodent oocytes express an active adenylyl cyclase required for meiotic arrest, *Dev Biol*, 2003, 258(2): 385-396
- [15] Kalinowski RR, Berlot CH, Jones TL, *et al.* Maintenance of meiotic prophase arrest in vertebrate oocytes by a Gs protein-mediated pathway, *Dev Biol*, 2004, 267(1): 1-13
- [16] Furger C, Cronier L, Poirot C, *et al.* Human granulosa cells in culture exhibit functional cyclic AMP-regulated gap junctions, *Mol Hum Reprod*, 1996, 2(8): 541-548
- [17] Bedner P, Niessen H, Odermatt B, *et al.* Selective permeability of different connexin channels to the second messenger cyclic AMP, *J Biol Chem*, 2006, 281(10): 6673-6681
- [18] Ledent C, Demeestere I, Blum D, *et al.* Premature ovarian aging in mice deficient for Gpr3, *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(25): 8922-8926
- [19] Richard FJ, Tsafirri A, Conti M. Role of phosphodiesterase type 3A in rat oocyte maturation, *Biol Reprod*, 2001, 65(5): 1444-1451
- [20] Hambleton R, Krall J, Tikishvili E, *et al.* Isoforms of cyclic nucleotide phosphodiesterase PDE3 and their contribution to cAMP hydrolytic activity in subcellular fractions of human myocardium, *J Biol Chem*, 2005, 280(47): 39168-39174
- [21] 王正朝, 石放雄. PDE4与cAMP信号区域化, *科学通报*, 2006, 51(22): 2577-2586
- [22] 曹文, 石放雄. PI-3K/Akt通路的下游因子磷酸二酯酶3B及其临床研究, *细胞生物学杂志*, 2007, 29(6): 800-804
- [23] Shitsukawa K, Andersen C B, Richard F J, *et al.* Cloning and characterization of the cGMP-inhibited phosphodiesterase PDE3A expressed in mouse oocyte, *Biol Reprod*, 2001, 65(1): 188-196
- [24] Jensen JT, Zelinski MB, Stanley JE, *et al.* The phosphodiesterase 3 inhibitor ORG 9935 inhibits oocyte maturation in the naturally selected dominant follicle in rhesus macaques, *Contraception*, 2008, 77(4): 303-307
- [25] Nogueira D, Ron-El R, Friedler S, *et al.* Meiotic arrest *in vitro* by phosphodiesterase 3-inhibitor enhances maturation capacity of human oocytes and allows subsequent embryonic development, *Biol Reprod*, 2006, 74(1): 177-184
- [26] Bilodeau-Goeseels S. Effects of phosphodiesterase inhibitors on spontaneous nuclear maturation and cAMP concentrations in bovine oocytes, *Theriogenology*, 2003, 60(9): 1679-1690
- [27] Wiersma A, Hirsch B, Tsafirri A, *et al.* Phosphodiesterase 3 inhibitors suppress oocyte maturation and consequent pregnancy without affecting ovulation and cyclicity in rodents, *J Clin Invest*, 1998, 102(3): 532-537
- [28] Masciarelli S, Horner K, Liu C, *et al.* Cyclic nucleotide phosphodiesterase 3A-deficient mice as a model of female infertility, *J Clin Invest*, 2004, 114(2): 196-205
- [29] Conti M, Andersen CB, Richard F, *et al.* Role of cyclic nucleotide signaling in oocyte maturation, *Mol Cell Endocrinol*, 2002, 187(1-2): 153-159
- [30] Liu XJ, Sorisky A, Zhu L, *et al.* Molecular cloning of an amphibian insulin receptor substrate 1-like cDNA and involvement of

- phosphatidylinositol 3-kinase in insulin-induced *Xenopus* oocyte maturation, *Mol Cell Biol*, 1995, 15(7): 3563-3570
- [31] Andersen CB, Roth RA, Conti M. Protein kinase B/Akt induces resumption of meiosis in *Xenopus* oocytes, *J Biol Chem*, 1998, 273(30): 18705-18708
- [32] Han SJ, Vaccari S, Nedachi T, et al. Protein kinase B/Akt phosphorylation of PDE3A and its role in mammalian oocyte maturation, *EMBO J*, 2006, 25(24): 5716-5725
- [33] Duckworth BC, Weaver JS, Ruderman JV. G<sub>2</sub> arrest in *Xenopus* oocytes depends on phosphorylation of cdc25 by protein kinase A, *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99(26): 16794-16799
- [34] Sheng Y, Tiberi M, Booth RA, et al. Regulation of *Xenopus* oocyte meiosis arrest by G protein  $\beta\gamma$  subunits, *Curr Biol*, 2001, 11(6): 405-146
- [35] Bayaa M, Booth RA, Sheng Y, et al. The classical progesterone receptor mediates *Xenopus* oocyte maturation through a nongenomic mechanism, *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97(23): 12607-12612

## Role of Cyclic Nucleotide Phosphodiesterases in Oocyte Maturation

Wen Cao, Ling-Mei Pan<sup>1</sup>, Kazuyoshi Taya<sup>1</sup>, Fang-Xiong Shi\*

(Laboratory of Animal Reproduction, College of Animal Science and Technology, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; <sup>1</sup>Laboratory of Veterinary Physiology, Department of Veterinary Medicine, Tokyo University of Agriculture and Technology, Tokyo 183-8509, Japan)

**Abstract** Oocyte maturation is a complex set of endocrine, paracrine, and autocrine inputs that are translated into the regulation of cyclic nucleotide levels. Phosphodiesterases (PDEs), the enzymes that degrade and inactivate cAMP, show compartmentalized expression in ovary. The PDE3 is mainly expressed in the oocytes while PDE4s are expressed in granulosa cells. Inhibition of the mammalian oocyte PDE3 completely blocked meiosis *in vitro* and *in vivo*, expression of an active PDE3A in *Xenopus* oocyte causes resumption of meiosis to the same extent as progesterone or insulin. PI-3K/Akt pathway mediates IGF-1/insulin but not progesterone-induced oocyte maturation. PDE3, as downstream factor of PKB/Akt, mediates oocyte maturation by controlling cAMP level. Furthermore, a similar regulatory module may exist in mammalian oocytes. Thus, PDE3 plays an essential role in the signaling pathway that controls resumption of meiosis in amphibians and mammals. Understanding the regulation of this enzyme may shed some light on the signals that trigger oocyte maturation.

**Key words** cAMP; oocyte maturation; meiotic resumption; phosphodiesterase

Received: November 26, 2008 Accepted: May 18, 2009

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No.30771553)

\* Corresponding author. Tel/Fax: 86-25-84395701, E-mail: fxshi@njau.edu.cn