

Ca²⁺ 与哺乳动物卵母细胞成熟分裂的关系

李朝军

(南京师范大学生物系 210097)

范必勤

(江苏农业科学院 南京 210014)

哺乳动物在胎儿期或出生后不久, 初级卵母细胞进入并停滞于第一次成熟分裂前期的双线期, 直到排卵。在促性腺激素的作用下, 第一次成熟分裂重新启动, 但完成第一次成熟分裂后又停滞在第二次成熟分裂的中期, 必须在精子或化学信号的作用下, 才完成第二次成熟分裂。当第一次成熟分裂重新启动后, 卵母细胞发生明显的形态变化: 生发泡破裂 (GVBD), 核仁消失, 排出第一极体等。

哺乳类卵母细胞卵泡释放后, 会发生体外自发成熟现象。Downs 已对影响哺乳类卵母细胞体外成熟分裂的各种因素如 cAMP、嘌呤、MPF 等作了综述^[1]。本文主要就 Ca²⁺ 对卵母细胞体外成熟分裂的影响及其可能的作用机制作一综述, 以使对此有个比较全面的认识。

一、在哺乳类卵母细胞体外成熟分裂过程中存在自发的 Ca²⁺ 波动现象

近年来由于技术的改进, 特别是一些细胞内游离 Ca²⁺ 水平测定方法的建立, 在哺乳动物卵母细胞的成熟分裂过程中发现许多有趣的现象。1992 年, Carroll 和 Swann 首次报道在小鼠卵母细胞体外成熟分裂过程中存在自发的 Ca²⁺ 波动 (Ca²⁺ oscillation), 周期约 1—3 min, 持续 1—2 h^[2], 这些 Ca²⁺ 波动的产生是由于卵母细胞内三磷酸肌醇 (IP₃) 信号传递的结果。Fujiwara 等也发现在仓鼠精子作用于未成熟 GV 期的卵母细胞时同正常受精一样, 都存在 Ca²⁺ 的波动现象, 但是前者中的 Ca²⁺ 的波动幅度仅相当于成熟的卵母细胞的一半, 且可为

卵母细胞内注射 IP₃ 受体 (18 A 10) 的单抗所抑制^[3], 说明 IP₃ 可能与诱发哺乳类卵母细胞体外成熟分裂过程的 Ca²⁺ 波动相关联。如海胆卵受精后的有丝分裂过程中, 随着 Ca²⁺ 的变化, 也伴随着细胞内 IP₃ 水平的变化^[4]。当外界的信号 (激素、生长因子) 与 G 蛋白结合的受体或结合酪蛋白激酶的受体作用, 使细胞内磷脂酶 C (PLC) 水解 4, 5-二磷酸磷脂酰肌醇 (PIP₂), 产生 IP₃, IP₃ 与细胞内 Ca²⁺ 库的受体结合, 激动贮存的 Ca²⁺ 的释放或引起外 Ca²⁺ 的流入^[5,6]。当细胞内游离 Ca²⁺ 的水平超过一定的阈值, 细胞内钙库又吸收胞质中的 Ca²⁺, 引起细胞内 Ca²⁺ 的波动^[7]。Kline 和 Kline 认为小鼠卵母细胞内的 Ca²⁺ 波动是来源于 IP₃ 引起的 Ca²⁺ 的释放, 而不是由 Ca²⁺ 诱导的 Ca²⁺ 释放引起的^[8]。

而 Carroll 和 Swann 认为在小鼠卵母细胞中存在两种独立 Ca²⁺ 释放机制: 一种对 IP₃ 敏感, 一种对 thimerosal 敏感^[2], 它们均可导致 GVBD 前卵母细胞内 Ca²⁺ 波动的产生。但是抑制这些 Ca²⁺ 波动的发生对卵母细胞的 GVBD 没有影响, 可能仅与卵母细胞质的成熟有关。Li 等在小鼠卵母细胞成熟分裂过程中观察到另外一种形式的 Ca²⁺ 的波动现象, 其周期约 10 min, 持续 1 h, 这种形式的 Ca²⁺ 波动与 GVBD 的发生相关联, 不发生 GVBD 的卵母细胞不出现这种形式的 Ca²⁺ 波动^[9]。

另外, 细胞内出现的游离 Ca²⁺ 波动本身也可以作为细胞内的信号控制各种生理功能。叶永辉等认为 Ca²⁺ 波动的形式也可以作为一种编码信息的方式, 即为频率编码系统而非幅度编码系统, 细胞内的信号可以数字化为幅度衡定的波动频率。因为维持细胞内 Ca²⁺ 浓度

改变后的水平需要能量消耗,而且难以控制,而细胞内的 Ca^{2+} 波动是一个无过量能量消耗的过程,且易于控制,保真性高^[10]。因此,在哺乳类卵母细胞的体外成熟分裂过程中出现的 Ca^{2+} 波动的频率也可能传递了相应的与成熟分裂启动有关的信息。

二、 Ca^{2+} 与 MPF (促成熟因子)

哺乳类未成熟卵母细胞被抑制于成熟分裂的入口处(ENTRY),而成熟的卵母细胞被抑制于相当于有丝分裂的出口处(EXIT)(图1),在这些控制点的控制均与细胞内游离 Ca^{2+} 的变化有关^[11]。未成熟卵母细胞在长期的静止期(相当于 G_2 期)经充分的生长,贮存大量与成熟分裂有关的蛋白质,如与构成 MPF 有关的蛋白质等。成熟前 MPF 以无活性的形式存在。当卵母细胞处于 ENTRY 抑制时,MPF 以磷酸化状态的 cyclin B-p34^{cdc2} 复合物的形式存在,在某些信号的作用下,MPF 的催化亚基 p34^{cdc2} 的酪氨酸去磷酸化,MPF 处于被激活状态,促进卵母细胞的成熟分裂^[12]。p34^{cdc2} 的去磷酸化与 Ca^{2+} 的变化相关联,降低细胞外的 Ca^{2+} 浓度能够阻碍 p34^{cdc2} 的去磷

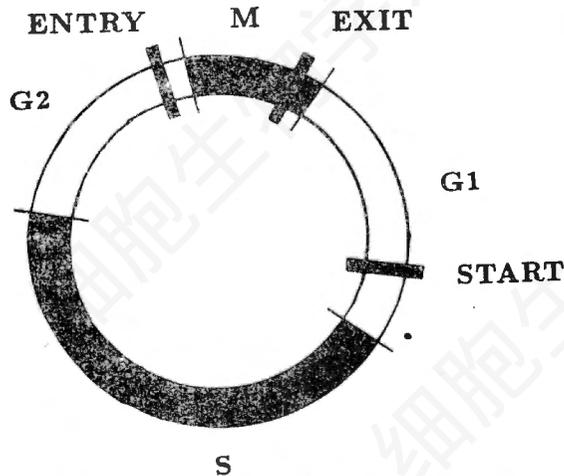


图1 哺乳动物成熟分裂与有丝分裂的控制点(Whitaker和Patel, 1990^[11])

酸化^[13]。细胞周期蛋白(cyclins)是一类随细胞周期变化而复始出现和消失的蛋白质,其中的 cyclin B 是 $\text{G}_2 \rightarrow \text{M}$ 期(ENTRY)过渡的一个限速因素^[14]。在浪蛤卵母细胞成熟分裂的 ENTRY,细胞内游离 Ca^{2+} 的变化可使结合于其它蛋白质上的隐蔽 cyclin B 释放^[15],而在 EXIT,细胞内游离 Ca^{2+} 的变化可引起周期蛋白的降解^[16]。

三、 Ca^{2+} 影响卵母细胞 成熟分裂的机制

细胞内 Ca^{2+} 的释放对卵母细胞 GVBD 的发生是必需的,显微注射 IP_3 可使牛卵母细胞突破 GVBD 的抑制^[17]。显微注射 CaCl_2 升高细胞内游离 Ca^{2+} 水平可使处于减数分裂抑制状态的卵母细胞发生 GVBD,而注射 EGTA 则可抑制 GVBD 的发生^[18]。可以肯定细胞内游离 Ca^{2+} 可以作为一种内在的第二信使信号参与调节哺乳类卵母细胞的减数分裂成熟,尤其是在激素 LH 启动卵母细胞成熟的过程中, Ca^{2+} 的作用已十分明确^[19]。

在哺乳类卵母细胞的成熟分裂过程中 Ca^{2+} 和 cAMP 可能是相互作用的两套系统,它们控制了哺乳类卵母细胞的成熟分裂^[1]。例如 PIP_2 的水解产生 IP_3 的过程中往往伴随着细胞内 cAMP 水平的下降,而 cAMP 水平生理性的升高,也使 PIP_2 的水解也受到抑制^[20],表明两者之间存在一定的协调作用。cAMP 在动物细胞中的作用是通过活化专一性的依赖 cAMP 的蛋白激酶而产生效应,例如磷酸化酶激酶的三个调节亚单位中, α 、 β 亚单位为 cAMP 介导的调节亚基,而 δ 亚基是能结合 Ca^{2+} 的钙调蛋白,只有在 Ca^{2+} 与 δ 亚基结合引起磷酸化酶激酶的构象发生变化时, γ 催化亚基才能为依赖 cAMP 的 α 、 β 亚单位激活,因此, Ca^{2+} 与 cAMP 共同调节了磷酸化酶激酶的活性^[21]。在卵母细胞中这两套系统相互拮抗,控制了卵母细胞的成熟分裂的启动。

Ca^{2+} 影响哺乳动物细胞的生理功能可通过与钙调蛋白(CaM)结合产生效应。CaM调控了许多酶如环核苷酸二酯酶、腺苷酸环化酶、膜结合 Ca^{2+} -ATP 酶、磷酸化酶激酶等等,是真核生物非肌性细胞中 Ca^{2+} 依赖性信息的主要介体。降低细胞内 CaM 水平可阻止 p 34^{cdc2} 酪氨酸去磷酸化,与 G₂/M 期相关的 NIMA 激酶活性的升高也需要 CaM 的存在^[18]。细胞内 Ca^{2+} 与 CaM 是协同作用的,可能是细胞外 Ca^{2+} 进入细胞,结合并活化 CaM,形成 Ca^{2+} /CaM 复合物参与调节与卵母细胞成熟分裂启动有关的酶的活性。

纺锤体上微管蛋白的聚合对成熟分裂的完成也是至关重要的,如极体的释放等。去除培养液中的 Ca^{2+} 和加入 Ca^{2+} 通道的阻断剂 verapamil 均可抑制猪卵母细胞极体的形成^[22]。这个过程的调节也是由 Ca^{2+} /CaM 复合物共同完成的。

四、在某些生长因子调节卵母细胞成熟分裂过程中 Ca^{2+} 的作用

胰岛素、胰岛素样生长因子(IGF)、白血病抑制因子(LIF)、转化生长因子(TGF- α)以及表皮生长因子(EGF)可影响动物胚胎的生长和发育^[23]。在卵母细胞的生长、成熟过程中,这些生长因子也起调节作用。其中研究最多的是 EGF,EGF 对卵母细胞的成熟分裂的启动,极体排出以及受精后的卵裂均具有促进作用。

EGF 等生长因子对卵母细胞体外成熟分裂的作用往往依赖卵母细胞外卵丘细胞的存在^[24]。卵丘细胞通过与卵母细胞之间存在的异源细胞连接传递各种信号,对卵母细胞的生长、成熟等起调节作用。已证明多种生长因子均可影响哺乳类卵巢颗粒细胞的生理功能,如 IGF-I, FGF, EGF, 白细胞介素 I 等。Interleukin-6 可促进牛颗粒细胞的增殖,并调节 FSH 诱导颗粒细胞产生雌激素的作用^[25]。EGF

对培养卵巢颗粒细胞的孕酮的产生起促进作用^[26],而孕酮已证明可促进卵母细胞的减数分裂成熟,所以 EGF 等可能是间接通过孕酮对卵母细胞起促进作用的。EGF 可通过与细胞表面的受体结合,升高 IP₃ 水平,引起细胞内 Ca^{2+} 的释放^[6],因此,EGF 引起卵丘细胞内 Ca^{2+} 水平的变化可能影响到卵母细胞成熟分裂的启动。血管紧张素 II 与爪蟾卵母细胞表面的受体结合引起细胞内 Ca^{2+} 的变化,且这种 Ca^{2+} 信号可通过与卵母细胞之间的间隙连接传递入卵母细胞,影响卵母细胞的成熟分裂^[27],我们实验室的研究也表明 EGF 促进小鼠卵母细胞成熟分裂的作用受孕酮的调节,EGF 可诱导培养卵巢颗粒细胞产生孕酮,孕酮再通过旁分泌的方式作用于卵母细胞,促进成熟分裂的启动。在这个过程中 Ca^{2+} 参与调节 EGF 和孕酮的作用。EGF 和孕酮均可引起单个培养的小鼠卵丘细胞和卵丘细胞-卵母细胞复合体上卵丘细胞与卵母细胞内游离 Ca^{2+} 水平的变化^[28]。其可能的途径如图 2 所示。

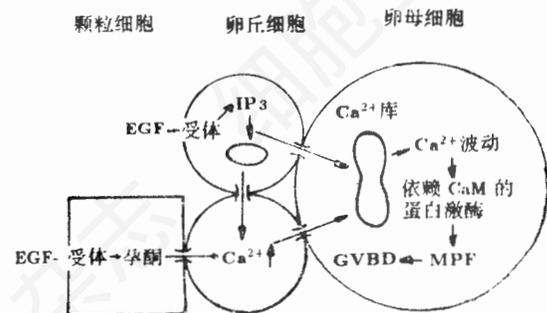


图 2 EGF 和孕酮影响小鼠卵母细胞成熟分裂的作用机制,各细胞间通过间隙连接进行信息和物质交换。

EGF、TGF- β 和 IGF-I 均可影响大鼠卵巢颗粒细胞内 DNA 的合成,因而可能使卵巢颗粒细胞产生一些正信号影响卵母细胞的成熟分裂。进一步的研究证实,EGF 在无细胞体系的反应中可激活一些 DNA 结合蛋白的活性,因而也可通过这条途径影响细胞内相应的生理功能^[29]。

参 考 文 献

- [1] Downs, S. M., 1993, *Theriogenology*, 39: 65—79.
- [2] Carroll, J and Swann, K., 1992, *J. Biol. Chem.*, 267: 11196—11201.
- [3] Fujiwara, T. et al., 1993, *Dev. Biol.*, 156: 69—79.
- [4] Clape, B. et al., 1994, *Nature*, 368: 875—878.
- [5] Berridge, M., 1993, *Nature*, 361: 315—325.
- [6] Yamamoto, H and Kanaide, H., 1990, *Gen. Pharmac.*, 21: 387—398.
- [7] 陈松海、韩启德, 1993, 生理科学进展, 24: 10—13.
- [8] Kline, J. T. and Kline, D., 1994, *Biol. Reprod.*, 50: 193—201.
- [9] Li, C. J. et al., 1994, *Metal Ions in Biol. Med.*, 3: 417—422.
- [10] 叶永辉、叶庆林, 1993, 生命的化学, 13: 23—24.
- [11] Whitaker, M and Patel, R., 1990, *Development*, 108: 525—542.
- [12] Parrish, J. J. et al., 1992, *Theriogenology*, 38: 277—296.
- [13] Lu, K. P. and Means, A. R., 1993, *Endocrine Reviews*, 14(1): 40—47
- [14] 陈寒柏、左嘉客, 1993, 细胞生物学杂志, 15: 61—65.
- [15] Westendorf, J. M. et al., 1989, *J. Cell Biol.*, 108: 1431—1444.
- [16] Murray, A. W. et al., 1989, *Nature*, 339: 280—286.
- [17] Homa, S. T. et al., 1991, *Dev. Biol.*, 146: 461—472.
- [18] Li, C. J. et al., 1994, *Metal Ions in Biol. Med.*, 3: 411—415.
- [19] Mattioli, M., 1991, *Endocrinology*, 129: 2640—2745.
- [20] Brown, J. H. and Brown, S. L., 1984, *J. Biol. Chem.*, 259: 3777—3781.
- [21] 赵寿元译, 艾伯森 B 等著, 细胞分子生物学, 科学出版社, 1990, 北京. p 693—737.
- [22] Kaufman, M. L. and Homa, S. T., 1993, *J. Exp. Zool.*, 265: 69—76
- [23] Heyner, S. et al., 1993, *Theriogenology*, 39: 151—161.
- [24] Singh, B. et al., 1993, *Mol. Reprod. Dev.*, 36: 113—119.
- [25] Alpizer, E. and Spicer, L. J., 1994, *Biol. Reprod.*, 50: 38—43.
- [26] 赵明、方芳、王会信、周廷冲. 1993, 生理学报, 45(3): 207—214.
- [27] Sandberg, K. et al., 1990, *Science*, 249: 298—301.
- [28] 李朝军等, 1995, 实验生物学报, 28(2): 131—136.
- [29] Sadowiski, H. B. and Gilman, M. Z., 1993, *Nature*, 362: 79—83.

血管内皮细胞的抗凝和纤溶系统及与肿瘤转移的关系

朱涵能 盛民立

(上海医科大学放射医学研究所 200032)

血管内皮细胞呈扁平状态覆盖于整个血管内壁, 由其组成的内皮是介于血液、淋巴液与组织之间的屏障, 与血液有相容性, 有隔开血液和组织的作用, 其主要特点有: (1) 抗凝性; (2) 纤溶性; (3) 选择性通透性; (4) 血管紧张调节; (5) 能分泌多种因子, 等等, 在维持血液循环正常功能过程中有着重要作用。本文着重讨论内皮细胞的抗凝系统和纤溶系统及其与肿瘤转移的关系^[1,2]。

一、血管内皮细胞的抗凝系统

内皮细胞的抗凝特性包括主动和被动两个方面, 首先内皮细胞可分泌糖蛋白肝素硫酸盐, 在胞体上形成保护面, 在血管内表面被动性阻止血栓的形成; 主动性抗血栓形成特性包括: (1) 合成、分泌内源性 NO(一氧化氮, 又称血管舒张因子)和前列腺环素(PGI₂); (2) 分泌纤维蛋白原激活剂; (3) 利用膜表面ADP