

家畜附植过程中的局部免疫保护机理

张富春

(北京农业大学动物科学技术学院 北京 100094)

关键词 家畜 附植 局部免疫保护

家畜繁殖直接关系到畜牧业生产力的高低,母畜的繁殖障碍如胚胎的早期死亡和流产严重地影响着畜群的增殖和改良。已确定妊娠会因胚胎突然死亡而中断,尤其种畜妊娠的失败将给畜牧业生产造成极大损失,严重地制约了家畜优良品种的繁育和改良。

附植是家畜胚胎与子宫内膜相互作用而附

着于子宫的过程,是家畜繁殖的关键环节。附植实现了胚胎和母体的接触和结合,保证了生殖的顺利进行,但胚胎与母体子宫内膜的接触将激活母体的免疫系统,造成对胚胎的免疫伤害。因为哺乳动物妊娠母体子宫具有主动有效

收稿日期:1994-06-21、修回日期:1995-05-08

的免疫系统,当抗原侵入后能够产生免疫排斥反应。精卵结合后,经过一定时期的发育,胚胎由输卵管进入子宫内游离定位并完成附植。发育的胚胎宛如一个同种异体移植物,其表现出的抗原性,能够刺激妊娠母体的免疫系统,产生对胚胎的排斥反应。研究表明母体这种针对胚胎的免疫排斥反应,对胚胎的生长和发育是有害的,它极大地影响着附植的进行。哺乳动物尤其是反刍类家畜妊娠早期胚胎死亡率极高^[1,2],绵羊、牛和猪的胚胎早期死亡率达25%以上,马的胚胎早期死亡率更高。然而大多数情况下,胚胎进入母体子宫后并不会因母体的免疫反应而停止生长发育,恰恰相反,胚胎不仅迅速生长发育,而且还能顺利地着床直至分娩。这就说明哺乳动物能够通过特定的免疫调节机制协调母体和胎儿之间的免疫反应关系,保护发育的胚胎^[3]。即附植过程中胚胎未受到母体的免疫伤害的原因在于,妊娠的母体子宫内膜和发育的胚胎通过释放免疫抑制因子,达到抑制淋巴细胞的活性,降低妊娠母体子宫免疫排斥性,创造一个局部免疫保护环境,保护胚胎的附植。目前的研究表明,不同家畜附植过程中母体子宫内膜和胚胎释放的免疫抑制因子是不同的,但都具有局部抑制母体免疫反应的作用。本文就家畜附植过程中的局部免疫保护机理的研究简介如下。

1 猪

偶蹄类家畜像猪和羊的胚胎附植前在子宫腔内游离的时间较长,在粘附前的阶段,胚胎迅速生长和发育。将这一时期的猪胚胎进行体外培养,其不但能够存活24h以上,而且还具有很强的分泌能力。Masters^[4]通过对妊娠16d粘附变长时期猪胚胎30h的培养证实猪胚胎分泌高分子量的糖蛋白。Murray^[5]的研究表明猪胚胎在附植前释放分子量大于660KD(千道尔顿)并且能够抵抗蛋白质水解的酸性糖蛋白,其能抑制植物血凝素(PHA)刺激的淋巴细胞转化率,降低³H-甲基胸腺嘧啶脱氧核苷的掺入量,并且抑制作用呈现为剂量依赖性。这

种免疫抑制作用通过台盼兰排除实验证明并不是细胞毒素的作用。为此他认为附植前猪胚胎分泌的高分子量糖蛋白在体外对植物血凝素刺激和混合淋巴细胞培养中淋巴细胞转化的强烈抑制作用,在体内也许是通过抑制母体的细胞免疫反应,提供子宫内的局部免疫保护环境,防止胚胎被排斥,从而在妊娠早期起着免疫调节的作用。Segerson^[6]通过对妊娠早期猪子宫液蛋白质的研究证实免疫调节是哺乳动物胚胎存活的先决条件之一。用猪来研究内在免疫机制也许能够为解释妊娠早期出现的胚胎高死亡率提供有用的证据。妊娠9—28d孕猪子宫内膜中NK(自然杀伤)细胞活性急剧增加,其对于免疫抑制机制的建立是必需的。从妊娠早期第9d,第10d和第15d收集到的孕猪子宫液中有两种分子量的蛋白质:>230KD和29KD的成分,其中>230KD的成分具有免疫抑制性,并且第9d的抑制活性最大。而过去认为具有免疫刺激性的29KD的成分则间断性的出现,并未呈现出显著的刺激淋巴细胞增殖的效应,因此关于妊娠早期猪子宫液中的免疫刺激因子与生殖免疫相关的生物学意义仍不明确,有待于进一步研究。但可推测胚胎存活的免疫保护环境首先是通过胚胎这一同种异体移植物适当的免疫刺激作用,调动了母体的免疫系统,随之免疫抑制因子发挥作用,抑制了母体的免疫排斥作用,保护着附植的胚胎。

2 绵羊

Segerson^[7]发现绵羊子宫液中的蛋白质对体外淋巴细胞具有免疫抑制作用,并且妊娠14d子宫液蛋白比发情周期4、9、14d和妊娠4、9d的免疫抑制性强。羊滋养层蛋白质-1(oTP-1)是母羊妊娠早期胚胎分泌的一种酸性蛋白质,oTP-1于妊娠第13—23d分泌,高峰在妊娠的第14—16d之间。1982年Godkin^[8]等首先从羊胚胎体外培养的培液中鉴定并分离纯化了oTP-1。在妊娠第14—24d的绵羊的子宫冲洗液中含有oTP-1,而在妊娠更早期的子宫液中没有发现oTP-1,单侧妊娠的未孕侧

子宫角亦检查不到 α TP-1。因此说, α TP-1 是妊娠特异性蛋白, 特定时期分泌至子宫腔起局部作用^[9]。免疫组织化学和原位杂交研究表明, α TP-1 只出现于滋养层外胚层不存在于胚外内胚层、卵黄囊和胚盘, 可见 α TP-1 由胚胎滋养层细胞分泌。 α TP-1 的氨基酸顺序表明, α TP-1 与干扰素有高度的同源性, 因此又称胚胎干扰素。干扰素是一类与免疫功能有密切关系的糖蛋白, 具有改变细胞表面抗原结构、降低细胞介导的免疫反应、调节免疫系统的功能等作用。 α TP-1 作为胚胎干扰素对早期妊娠起着重要的作用。除影响黄体功能外, 它能够通过诱导妊娠特异蛋白调节子宫的功能、增加子宫内膜蛋白质的分泌、降低 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 的合成。同时还能抑制淋巴细胞的增殖, 形成对母体免疫系统的局部调节。 10^{-7}M 的 α TP-1 即能抑制 ^3H -甲基胸腺嘧啶脱氧核苷掺入羊淋巴细胞。 α TP-1 对母体免疫抑制功能的调节可能在母体对胚胎的保护中起重要作用。Masters^[4]通过对妊娠 13—21d 绵羊胚胎进行体外培养, 这一时期是妊娠识别的关键时刻。证实培养液内胚胎释放两种特殊的蛋白: 一种低分子量酸性蛋白和另一种高分子量糖蛋白。随后 Murray^[5]证实妊娠 16—17d 的绵羊胚胎释放出分子量大于 660KD 的酸性糖蛋白。该糖蛋白和猪胚胎释放出的糖蛋白一样, 能够抑制体外淋巴细胞的转化。Segerson^[10]利用妊娠 14d 绵羊子宫腔蛋白研究了 IL-2 介导的 T-淋巴细胞增殖的抑制作用, 揭示绵羊子宫腔蛋白具抑制作用的组份为 > 248KD 70KD 和 14KD。结果表明这些组份对 PHA 处理的淋巴细胞产生的免疫抑制作用与 IL-2 系统的改变密切相关。Scopets^[11]研究认为妊娠绵羊子宫液的免疫抑制活性在于子宫乳蛋白, 子宫乳蛋白可能在介导孕酮对子宫的免疫抑制作用方面起主导作用。

3 牛

Fisher^[12]通过对妊娠第 18d 牛胚胎 48h 体外培养, 发现胚胎的体外培养液具有免疫抑制

性。并提出胎儿逃避母体免疫排斥的两种机制: 1) 孕酮诱导子宫免疫抑制物的分泌, 2) 牛胚胎产生低分子量的免疫抑制物。Segerson^[13]在妊娠后期收集到的牛子宫乳中发现有碱性和酸性蛋白质, 它们都能够抑制体外的淋巴细胞增殖反应, 其中高分子量的碱性蛋白质 (> 400KD) 的免疫抑制性最大。牛滋养层蛋白-1 (bTP-1) 是妊娠早期牛胚胎分泌的一种糖蛋白^[14], 分子量为 21KD, 等电点为 5.8—6.7, 分泌高峰在妊娠第 17—22d, 是此期胚胎主要分泌的蛋白质之一, 与 α TP-1 一样, 它也是滋养层细胞的产物 bTP-1 和 α TP-1 呈免疫交叉反应, 可见它们有结构和功能的同源性和相似性。因此 bTP-1 又称为牛胚胎干扰素, 其对牛妊娠的作用与 α TP-1 对羊妊娠的作用相似, 参与母体的妊娠识别、胚胎的免疫保护等过程。Segerson^[15]从妊娠第 17d 牛子宫液中, 发现了能够抑制 ^3H -甲基胸腺嘧啶脱氧核苷掺入 PHA 和 IL-2 刺激的牛淋巴细胞的高分子量组分 (> 248KD) 和低分子量组分 (7KD, 21KD 和 > 72KD), 并认为这些免疫抑制组分也许通过改变 IL-2 激活系统局部影响 T-淋巴细胞的功能。随后, Segerson^[16]又研究了妊娠早期牛子宫液蛋白质与 IL-2 和 IL-2 受体的关系, 表明高分子量组分的免疫抑制通过封闭 IL-2 受体的识别以及与 IL-2 的结合实现的。而低分子量组分则主要通过封闭 IL-2 受体, 起着免疫抑制的作用。即妊娠早期牛子宫液蛋白质改变了母体的细胞免疫反应, 保护着发育的胚胎。

4 马

许多研究已经表明抗原介入后, 母马的子宫会产生相应的免疫排斥反应。妊娠早期胚胎表达的主要组织相容性复合体 (MHC) CLASS I 抗原说明了母体免疫反应和胚胎被排斥之间的相互关系。马胚胎存在的外被并没有掩盖住胚胎所具有的抗原性, 因为胚胎进入子宫仍能刺激母体的免疫系统, 过去认为胚胎免遭母体的排斥, 与母马子宫内膜杯的出现有关,

子宫内膜杯的大量抑制细胞能够抑制母体的免疫反应^[17]。而有关妊娠的母体虽然能够识别胚胎的抗原但仍能接受胚胎和母马免疫系统中效应器淋巴细胞正常功能的受阻却没有深入的研究。直到1990年, Watson^[18]的研究表明母马子宫内膜和胚胎在妊娠早期能够分泌免疫调节因子, 其对体外淋巴细胞的增殖具有抑制作用, 胰酶和热处理后, 抑制作用下降, 未孕子宫内膜培养液不影响淋巴细胞的转化。这表明免疫调节因子干扰了母体子宫内免疫系统中淋巴细胞的正常功能, 为胚胎的附植创造了一个局部免疫保护的小环境。但由于马胚胎的附植期很长, 这种局部小环境极易受母体免疫系统的干扰和破坏, 导致马在妊娠早期有极高的胚胎死亡率。

家畜正常的妊娠有赖于母体对胚胎抗原的适度免疫反应, 发育胚胎的抗原信号, 导致母体免疫系统出现相应的变化。家畜附植过程中, 胚胎的抗原性对妊娠母体的刺激有两方面的作用, 一则提高了母体的免疫功能, 使妊娠母体能够抵抗外源不利的影响因素, 同时母体免疫系统的激活又会造成对胚胎的排斥反应, 影响胚胎的附植。家畜通过附植前母体子宫内膜和胚胎分泌免疫抑制因子, 创造了子宫的局部免疫环境, 保护胚胎免遭免疫排斥, 维持妊娠的正常进行。生化研究表明, 这些免疫抑制因子是不同分子量和不同等电点的蛋白质, 分泌量在附植的前后发生变化, 它们通过在母体子宫内局部降低母体的免疫反应性, 保护胚胎免遭免疫排斥, 维持妊娠的正常进行, 同时不影响母体的整体免疫反应。对附植前后家畜的局部免疫保护机理的研究, 近几年来取得了一定的进展, 但其作用机理仍未完全阐明。继续深入开展家畜局部免疫保护机理的研究, 将有助于减少家畜胚胎的早期死亡率, 为提高家畜的繁殖率提供科学的理论依据。

致谢 本文经中国科学院动物研究所曹咏清研究员审阅, 特此致谢。

参 考 文 献

- 1 Diskin, M.G., JM Sreenan Fertilization and embryonic mortality rates in beef heifers after artificial insemination. *J. Reprod. Fertil.*, 1980, **59**: 463—468.
- 2 Pomeroy RW Infertility and neonatal mortality in the sow IV Further observations and conclusions. *J. Agrn. Sci.*, 1960, **54**: 57—66.
- 3 Chaoual G Immunoregulatory placental function in normal and pathological pregnancy. *Am J Reprod Immunol Microbiol.*, 1988, **17**: 18—21
- 4 Masters, RA, RA Masters, RM Roberts, GS Lewis, et al. High molecular weight glycoproteins released by expanding pre-attachment sheep, pig and cow blastocysts in culture. *J. Reprod Fert.*, 1982, **66**: 571—583.
- 5 Murray MK, MK Murray, EC Segerson, PJ, Hansen, et al. Suppression of lymphocyte activation by a high-molecular-weight glycoprotein released from preimplantation Ovine and porcine conceptuses. *Am J. Reprod Immunol. Microbiol.*, 1987, **14**: 38—14
- 6 Segerson EC, FC Gunsett. Temporal patterns of secretion of porcine uterine suppressor and stimulatory macromolecules. *Theriogenology*, 1993, **40**: 669—678.
- 7 Segerson EC Immunosuppressive effect of Ovine uterine secretory protein upon lymphocytes in vitro. *Biol Reprod.*, 1981, **25**: 77—84.
- 8 Godkin JD., FW Bazer, J. Moffatt, et al. Purification and properties of a major, low molecular weight protein released by the trophoblast of sheep blastocysts at day 13—21. *J. Reprod Fert.*, 1982, **65**: 141—150.
- 9 Kazemi M, PV Malathy, DH, Keisler, et al. Ovine trophoblast protein-1 and bovine trophoblast protein-1 are present as specific components of uterine flushings of pregnant ewes and cows. *Biol Reprod.*, 1988, **39**: 457—463.
- 10 Segerson EC Suppression of interleukin-2mediated T-lymphocyte blastogenesis by ovine uterine luminal protein. *Biol Reprod.*, 1988, **38**: 256—263.
- 11 Scopets B., PJ., Hansen. Identification of the predominant proteins in uterine fluids of unilaterally pregnant Ewes that inhibit lymphocyte proliferation. *Biol Reprod.*, 1993, **49**: 997—1007.
- 12 Fisber SJ., T. Gimenez, DM, Henricks. Immunosuppressive activity associated with early pregnancy in the bovine. *Biol Reprod.*, 1985, **32**: 894—904.
- 13 Segerson EC., FW Bazer High molecular weight basic and acidic immunosuppressive protein components in uterine secretions of pregnant cows. *Biol Reprod.*, 1989, **41**: 1014—1023
- 14 Lifsey BJ., GA, Baumbach, JD, Godkin. Isolation, characterization and immunocytochemical localization (下转第 48 页)

* * * * *

(上接第 57 页)

- of bovine trophoblast protein-1. *Biol. Reprod.* 1989, **40**: 343—352.
- 15 Segerson EC., FC Gunsett. Suppression of interleukin-2 mediated T-lymphocyte blastogenesis by Bovine uterine secretions *Am J Biol Immunol.* 1990, **22**: 117—123.
- 16 Segerson EC., DW Libby. Interaction of bovine uterine luminal protein with interleukin-2 and the interleukin-2 receptor T-lymphocytes. *Biol Reprod.* 1990, **43**: 619—628.
- 17 Crighton DB. Immunological aspects of reproduction in mammals Butterworths. 1984. 183—193
- 18 Watson ED. Suppression of lymphocyte reactivity by culture supernatant from horse embryos and endometrium. *Biol Reprod.* 1990, **42**: 294—300