

表皮生长因子与哺乳动物生殖的关系*

岳占碰 杨增明

(东北农业大学生物工程系 哈尔滨 150030)

关键词 表皮生长因子 哺乳动物 生殖

表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)是一种多肽类生长因子,该因子在人和动物各种组织器官生长发育过程中是一种重要的调节因子。对其进行研究,不仅有助于了解有机体正常细胞生长发育的一般规律,而且有助于揭示内分泌调节失控及其它疾病发生的内在机理。

EGF的研究是当前生命科学的前沿课题之一。该生长因子最早是在1962年从小鼠颌下腺萃取物中提取出的一种热稳定物质,由于其具有诱导小鼠眼睑提早张开和较早长出牙齿的作用而被命名为表皮生长因子。EGF具有多方面的生理功能,它不仅与细胞增殖、机体的物质转运和糖代谢、离子交换、细胞外基质的合成及成纤维细胞的游走^[1]有关,而且在哺乳动物的生殖过程中具有很重要的作用。本文仅将EGF对哺乳动物生殖功能的影响作一综述。

1 EGF的理化特性、组织来源及分布

1.1 EGF的理化特性 EGF来源于分子量较大的糖基化的跨膜前体蛋白,成熟的分子均由胞膜外区经蛋白酶裂解而释放出来。EGF是由53个氨基酸残基构成的多肽,不含丙氨酸、苯丙氨酸和赖氨酸,分子量为6 040 Da,等电点为4.6,沉淀系数为1.25s,含3个链内二硫键。二硫键对维持EGF的构象是必须的,当链内二硫键丧失时,EGF的活力就丧失。

1.2 EGF的组织来源 EGF的组织来源主要是唾液腺,唾液腺中的EGF和EGF mRNA都很高,说明这些组织既是合成EGF的场所,又是贮存EGF的场所。性激素对EGF的合成具有

调节作用,雄性小鼠颌下腺EGF及EGF mRNA前体水平明显高于雌性小鼠。在睾丸内,间质细胞是最主要的EGF分泌细胞,它们产生的EGF可对睾丸的生长发育进行局部性调节,尤其是性成熟以后,部分睾丸精原细胞和精母细胞也产生EGF,对生精过程起着促进作用^[2]。在卵巢内,产生EGF的细胞种类比较多,位于三级卵泡的间质细胞、卵巢皮质细胞、膜细胞和黄体等均有EGF的表达^[3]。EGF有人的卵子和胚胎内的表达不同于其它动物,人卵及着床前胚胎内均有EGF的表达,在囊胚期,滋养层和内细胞团内都有EGF的表达,但随着胚胎发育,除了滋养层的极端和内细胞团外,在滋养层其它部位的表达逐渐减少^[4]。而在小鼠、猪、牛和羊着床前的胚胎均未发现EGF表达。此外,肾远端小管细胞、垂体前叶糖肽分泌细胞、前列腺、胃底腺和幽门腺细胞内也有EGF的表达^[5]。

1.3 EGF在机体内的分布 EGF几乎在所有体液及分泌物中都存在,其中在唾液、乳汁、尿液、卵泡液及输卵管液中含量较高,在人的前列腺液和精液中的EGF含量也很高,血液中EGF浓度较低,主要存在于血小板内,并在凝血过程中释放出来。成年动物体液中EGF水平比较稳定,受生理或病理状态变化影响较小。

2 EGF的作用机理

EGF是通过与细胞膜上的EGF受体(EGFR)结合而发挥作用的。EGFR是一种存

* 美国 CONRAD 项目资助,批文号为 CIG-96-07;

第一作者介绍:岳占碰,男,32岁,讲师,博士;

收稿日期:1997-03-03,修回日期:1997-08-18

在于细胞表面多功能的跨膜蛋白分子,分布很广,其分子量为 170kDa,由 1 186 个氨基酸残基构成,为原癌基因 *c-ErbB₁* 所编码,该基因位于小鼠的第 11 条染色体及人的第 7 条染色体上^[6]。其结构为三个区域:伸向膜外与 EGF 识别并结合的氨基端区域;位于细胞膜中间的跨膜区以及具有酪氨酸激酶活性的细胞质内的羧基端区域。细胞外的区域与细胞外配基相结合后,使受体本身的激酶发生自身磷酸化,使细胞内三磷酸肌醇和二酰基甘油增多,作为第二信使引起细胞内游离 Ca^{2+} 增多,激活蛋白激酶 C,使细胞增殖、迁移和分化等发生改变^[6]。

EGF 是以自分泌和旁分泌的形式进行细胞间通讯的。EGFR 可以与肌动蛋白特异性结合,而又可以使肌动蛋白发生磷酸化。在着床前胚胎发育过程中,肌动蛋白分布的改变,可以引起细胞形态、粘着性以及胚胎卵裂球的分化等发生改变^[7],EGF 可能通过对肌动蛋白的作用而间接的对胚胎发育产生影响。EGF 与 EGFR 的结合可导致靶细胞上 EGFR 对 EGF 亲合敏感性的降低,这是由于 EGF 与 EGFR 结合后,以有被小泡的形式吞噬到细胞质中,使得细胞表面的 EGFR 减少。

EGFR 在胚胎发育及分化等方面起着很重要的作用。有些学者用基因突变技术使 EGFR 基因失活后发现,EGFR 缺失的 CF-1 系小鼠胚胎在着床前由于内细胞团的退化而死亡;129/Sv 系小鼠突变体胚胎在妊娠中期由于胎盘缺损而死亡;CD-1 系突变体小鼠可以存活 3 周以上,表现为皮肤、肾、脑、肝、和胃肠道等异常^[8]。小鼠胚胎中,至少从 4-细胞期开始就可测到 EGF mRNA 和相应的蛋白质,并且随着发育的进行而进一步增加,在囊胚中 EGFR 主要存在于滋养层中,但也有关于在内细胞团中检测到 EGFR 存在的报道^[9]。这些结果表明,虽然许多动物胚胎自身不能合成 EGF,但 EGFR 的存在可以使外源的 EGF 或者转化生长因子- α (TGF- α)、肝素结合性 EGF 样生长因子(HB-EGF)等与 EGFR 结合而作用于胚胎,影响胚胎的早期发育。在小鼠胚胎中虽无

EGF 的表达,但在同期子宫上皮细胞的顶部区域表达 EGF^[10]。EGF 可以通过旁分泌的方式对小鼠胚胎的早期发育产生影响。

3 EGF 对雄性动物生殖功能的影响

EGF 对雄性动物生殖功能的影响是多方面的,对雄性动物性激素的分泌和精子发生过程等都具有重要的调节作用。

3.1 EGF 对雄性动物性激素分泌的调节

EGF 可以促进黄体生成素(LH)的合成。经免疫组织化学方法证明,人和大鼠的垂体前叶组织内存在着 EGF 受体。这表明 EGF 可通过受体直接作用于垂体前叶,促进 LH 的分泌。EGF 对 LH 分泌的刺激作用可能与 EGF 同受体结合后磷脂酶 A_2 活性增加及花生四烯酸的释放有关。

有人在培养金黄地鼠睾丸碎片的过程中发现,EGF 在体外虽不能直接影响睾丸类固醇的生成,但它能显著增加经 hCG 刺激所生成的睾酮及 17-羟孕酮的积累,现已证实,钙离子可影响间质细胞合成和分泌甾体类激素,而 EGF 可诱导细胞内钙离子浓度的增加,从而对胆固醇向线粒体的转运产生影响,导致胆固醇侧链的裂解及环腺苷酸(cAMP)浓度的升高,可使间质细胞合成和分泌睾酮等甾体类激素的能力增强。通过对成年大鼠曲精小管的离体培养发现,EGF 能显著增加曲精小管内抑制素的含量,适当浓度的促卵泡激素(FSH)和 cAMP 可以增强 EGF 对抑制素合成的刺激作用。EGF 刺激曲精小管中抑制素合成的作用可被胰岛素、磷脂及蛋白激酶等所抑制。

3.2 EGF 对精子发生过程的影响

EGF 对精子发生过程具有调节作用。Tsutsumi 等对雄性小鼠做唾液腺切开引流术后发现,血浆 EGF 水平显著降低,附睾中精子数减少 50% 以上;如果每天给这些小鼠注射一定量的 EGF 则可阻止精子数目的减少,并使精子数上升。通过进一步实验发现,切除唾液腺的小鼠精子细胞数比未处理的小鼠少,而精母细胞数量比正常小鼠明显增加。用一定量的 EGF 处理切除唾

液腺的小鼠后,各级生精细胞数量与正常小鼠的大致相同。EGF 主要是在精子发生过程中刺激生精细胞的有丝分裂和减数分裂^[11]。EGF 对精子发生的调节作用是通过控制转铁蛋白(transferrin)的分泌来实现的。转铁蛋白是由两个在结构和功能上类似的结构域组成的,分子量约为 80 kDa 的单一肽链糖蛋白,既是最重要的铁转运蛋白,又是细胞生长的专一性因子。支持细胞可以合成和分泌转铁蛋白。Onoda 等在培养未成年小鼠的支持细胞时发现,单独使用 EGF 或 FSH,或者 EGF 和 FSH 联合使用都可增加转铁蛋白的分泌,这说明支持细胞分泌转铁蛋白的作用受到 FSH 和 EGF 的调控,EGF 可能是通过调控转铁蛋白的分泌来发挥其在生精过程中的重要作用^[12]。

4 EGF 对雌性动物生殖功能的影响

EGF 在卵泡发育、卵母细胞成熟、胚胎早期发育、胚胎着床及子宫蜕膜化等过程中都起着重要作用。

4.1 EGF 对卵泡发育及卵母细胞成熟的影响

EGF 在卵巢内产生并调节卵巢的功能活动,如细胞增殖、分化和类固醇的产生等。EGF 的结合位点位于次级和三级卵泡的颗粒细胞和间质腺细胞细胞上,卵丘颗粒细胞的 EGF 结合能力强于卵泡壁上的颗粒细胞,而闭锁卵泡颗粒细胞对 EGF 的结合能力弱或没有亲和力^[3]。有证据表明,EGF 通过刺激 FSH 受体表达和孕酮产生来调节颗粒细胞的活动^[3]。

EGF 是一种很强的促细胞分裂因子,具有促进卵细胞成熟的功能。虽然卵子在体外可自发地完成第一极体的排出,但这些体外成熟的卵子缺少使雄性染色体形成雄原核的能力。EGF 可以刺激卵母细胞胞质成熟和核成熟^[13]。现已证明,EGF 可以促进多种动物如兔、牛、猪、鼠以及人等的卵子在体外成熟。有人在无血清培养液中添加 EGF 后,检测卵子使精子穿入后形成雄原核的能力。实验结果表明,EGF 确有使卵子胞质成熟的功能^[14]。EGF 可以刺激卵丘扩展和加快卵母细胞进入 MII

期,还可使卵母细胞成熟过程中蛋白质合成增加。EGF 对裸卵的成熟也有一定的促进作用,这说明 EGF 可能直接作用于卵母细胞^[15]。在正常生理条件下,卵泡液内 EGF 的含量很高,内含的 EGF 参与卵子的成熟过程。有人认为,EGF 能够加速卵丘细胞之间缝隙连接的消失,从而促进卵子的成熟^[14]。

4.2 EGF 对受精及胚胎发育的影响 EGF 具有促进卵子受精和受精卵发育的能力。EGF 可提高体外成熟卵子的精子穿透率,使体外培养的小鼠胚胎 mRNA 转录加快,蛋白质合成增加,加速细胞的分裂,从而使得在相同的时间内,经 EGF 处理胚胎的细胞数多于未处理胚胎的细胞数^[10]。EGF 可使卵裂率提高,胚胎发育到囊胚的比例显著升高^[16]。一些动物在一定时期,胚胎细胞虽然不能产生 EGF,但在培养液中加入 EGF 后,仍然可以促进卵裂过程及囊胚的形成,并可促进内细胞团结构的蛋白质合成。

4.3 EGF 在囊胚腔扩展中的作用 囊胚由两种类型的细胞所构成,即滋养层和内细胞团,内细胞团是由一群未分化的多潜能细胞所构成,将来发育为胚体结构;滋养层存在于外围,是最先分化的胚胎细胞类型,滋养层分化后的功能之一是液体转运,通过液体转运导致囊胚腔的形成和扩展^[17],囊胚腔的扩展对内细胞团的进一步发育是必需的。当 EGF 与 EGFR 结合后,EGFR 被激活,从而使细胞内 cAMP 水平升高,进而使 Na^+/K^+ ATP 酶活化,离子泵的活化改变了滋养层的离子交换率,导致渗透压发生变化,使水分子易于进入囊胚腔,从而加快了囊胚腔内液体的积聚,促进囊胚腔的形成^[18]。EGF 还可以刺激囊胚内氨基酸的摄入和结合,增加分泌到囊胚腔内的蛋白质量,通过影响进入囊胚腔的蛋白质种类来调节胚胎的发育和分化^[16]。

4.4 EGF 对胚胎着床和子宫蜕膜化的影响

胚胎着床过程首先是脱掉透明带囊胚的滋养层附着在子宫内壁上,接着子宫内壁上发生蜕膜化。蜕膜化的结果使得滋养层细胞粘着并

侵入下面的基质,且将胚胎固定在子宫内。

EGF 可以诱导胚胎着床及子宫蜕膜化。Tamada 等用一定量的 EGF 使切除卵巢后用孕酮处理发生着床延迟的大鼠胚胎着床^[6]。EGF 对着床的促进作用可能是通过下列途径实现的:EGF 使子宫或胚胎合成的前列腺素增加^[19~20],而前列腺素的增加可以起动着床过程^[6]。

子宫内膜发生区域性的蜕膜化,对于胚胎着床是必须的,将 EGF 注入假孕大鼠的子宫腔内,子宫内膜发生明显的蜕膜反应^[6]。EGF 处理后子宫发生蜕膜反应,一方面可能是由 EGF 对子宫的直接作用而产生的,另一方面可能是通过前列腺素介导而产生的。蜕膜反应受卵巢分泌的类固醇激素和前列腺素等的影响^[20],EGF 通过增加前列腺素的合成而间接地对子宫内膜发生蜕膜反应产生影响。

总之,EGF 是一种非常重要的多肽类生长因子,在哺乳动物的生殖过程中起着很重要的作用。利用 EGF 可以改善体外操作卵和胚胎的质量,提高胚胎的发育率,促进胚胎的着床,增加雄性动物的产精量以及提高动物的繁殖效率。开展这方面的研究具有极其重要的理论意义和应用价值。

参 考 文 献

- 1 Chen, P., H. Xie, C. Sekar, K. Gupta, A. Wells. Epidermal growth factor receptor-mediated cell motility: Phospholipase C activity is required but mitogenactivated protein kinase activity is not sufficient for induced cell movement. *J. Cell Biol.*, 1994, **127**: 847~857.
- 2 Radhakrishnan, B., O. Banlale, P. Vassilios, P. Richard. Characterization of epidermal growth factor in mouse testis. *Endocrinology*, 1992, **131**: 3091.
- 3 Goritz, F., K. Jewgenow, H. H. Meyer. Epidermal Growth Factor and Epidermal Growth Factor Receptor in the Ovary of the Domestic Cat. *J. Reprod. Fert.*, 1996, **106**: 117~124.
- 4 Chian, C. M., R. M. Winston, A. H. Handyside. EGF, TGF- α and EGFR Expression in Human Preimplantation Embryos. *Development*, 1995, **121**: 299~307.
- 5 Kasselbery, A. G., N. O. David, G. Marye. Immunocytochemical localization of human epidermal growth factor; Urogastone in several human tissues. *J. Histochem. Cytochem.*,

- 1985, **33**: 315.
- 6 Wiley, L. M., E. D. Adamson, E. C. Tsark. Epidermal Growth Factor Receptor Function in Early Mammalian Development. *BioEssays*, 1995, **17**: 839~846.
- 7 Johnson, M. H., B. Maro. A Dissection of the Mechanisms Generating and Stabilizing Polarity in Mouse 8-and 16-cell Blastomeres: The Role of Cytoskeletal Elements. *J. Embryol. Exp. Morph.*, 1986, **90**: 311~334.
- 8 Threadgill, D. W., A. A. Dlugosz, L. A. Hansen, T. Tennenbaum, U. Lichti, D. Yee, C. LaMantia, T. Mourtton, K. Herrup, R. C. Harns, J. A. Barnard, S. H. Yuspa, R. J. Coffey, T. Magnuson. Targeted disruption of mouse EGF receptor: Effect of genetic background on mutant phenotype. *Science*, 1995, **269**: 230~234.
- 9 Wiley, L. M., J. X. Wu, I. Harari, E. D. Adamson. Epidermal growth factor receptor mRNA and protein increase after the four-cell preimplantation stage in murine development. *Dev. Biol.*, 1992, **149**: 247~260.
- 10 Werb, Z. Expression of EGF and TGF- α Genes in Early Mammalian Development. *Mol. Reprod. Dev.*, 1990, **27**: 10~15.
- 11 Tsutsumi, O., H. Kurachi, T. Oka. A Physiological Role of Epidermal Growth Factor in Male Reproductive Function. *Science*, 1986, **233**: 975.
- 12 Onoda, M., Q. C. Suarez. Modulation of Transferrin Secretion by Epidermal Growth Factor in Immature Rat Sertoli Cells *In Vitro*. *J. Reprod. Fert.*, 1994, **100**: 541~550.
- 13 Lorenzo, P. L., P. G. Rebolgar, M. J. Illera, J. C. Illera, M. Illera, J. M. R. Alvarino. Stimulatory effect of insulin-like growth factor I and epidermal growth factor on the maturation of rabbit oocytes in vitro. *J. Reprod. Fert.*, 1996, **107**: 109~117.
- 14 Ding, J., G. R. Foxcroft. Epidermal Growth Factor Enhances Oocyte Maturation in Pig. *Mol. Reprod. Dev.*, 1994, **39**: 30~40.
- 15 Lonergan, P., C. Carolan, A. V. Langendonck, I. Donnay, H. Hhatir, P. Mermillod. Role of epidermal growth factor in bovine oocyte maturation and preimplantation embryo development in vitro. *Biol. Reprod.*, 1996, **54**: 1420~1429.
- 16 Wood, S. A., P. L. Kaye. Effects of Epidermal Growth Factor on Preimplantation Mouse Embryos. *J. Reprod. Fert.*, 1989, **85**: 575~582.
- 17 Biggers J. D., J. E. Bell, D. J. Benos. Mammalian blastocyst: Transport functions in a developing epithelium. *Am. J. Physiol.*, 1988, **255**: C419~C432.
- 18 Manejwala, F., E. J. Cragoe, R. M. Schultz. Blastocoel Expansion in the Preimplantation Mouse Embryo: Role of Ex-

- tracellular Sodium and Chloride and Possible Apical Routes of Their Entry. *Dev. Biol.*, 1989 133:210~220.
- 19 Zhang, Z., M. Krause, D. L. Davis. Epidermal Growth Factor Receptors in Porcine Endometrium; Binding Characteristics and the Regulation of Prostaglandin E and F_{2α} Production. *Bio. Reprod.*, 1992, 46:932.
- 20 Tawfik, O., W. S. K. Dey. Further Evidence for Role of Leukotriene as Mediators of Decidualization in the Rat. *Prostaglandins*, 1988, 35:379.