

血小板激活因子与精子获能*

石建军 肖丽娟 杨增明

(东北农业大学生命科学学院 哈尔滨 150030)

摘要: 血小板激活因子与其受体结合后,能明显促进精子的获能过程,血小板激活因子乙酰水解酶降解血小板激活因子抑制精子的获能。

关键词: 血小板激活因子;血小板激活因子乙酰水解酶;精子获能

中图分类号: Q492 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263(2002)01-89-04

Platelet-activating Factor in Sperm Capacitation

SHI Jian-Jun XIAO Li-Juan YANG Zeng-Ming

(College of Life Science, Northeast Agricultural University Harbin 150030, China)

Abstract: Platelet-activating factor (PAF) can significantly enhance capacitation of spermatozoa in receptor-mediated manner, which is inhibited by PAF acetylhydrolase.

Key words: PAF; PAF-AH; Spermatozoa; Capacitation

精子获能是指精子获得穿透卵子透明带能力的生理过程,是哺乳动物精子在受精前必须经历的一个重要阶段。贮存在附睾内的精子已逐步成熟并获得了受精能力,但附睾分泌的物质粘附于精子膜表面抑制精子的受精能力,这种物质被称为去获能因子。精子在雌性生殖道内停留一段时间以后,去获能因子的作用被解除,精子才具有真正的受精能力。

大量研究表明,血小板激活因子(platelet-activating factor, PAF)能够促进精子的获能和顶体反应,而且以前描述的去获能因子可能与血小板激活因子乙酰水解酶

(PAF acetylhydrolase, PAF-AH)有关。

1 PAF 的代谢

Benveniste 等^[1]首次发现致敏的嗜碱性细胞能释放一种激活血小板的物质,并将其命名为 PAF。后来发现

* 国家自然科学基金资助项目(No. 39700051);

第一作者介绍 石建军,男,28岁,硕士,研究方向:生殖生物学。

收稿日期:2000-12-29,修回日期:2001-06-20

PAF是一种强效的介导炎症反应和过敏反应的脂类介质,其化学结构为1-O-烷基-2-乙酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱。体内许多细胞都能合成PAF,其合成途径分从头合成途径和再生途径^[2]。从头合成途径是1-O-烷基-2-溶血-sn-甘油-3-磷酸在乙酰辅酶A参与下,由乙酰转移酶催化生成1-O-烷基-2-乙酰基-sn-甘油-3-磷酸,再经过磷酸水解酶作用脱去磷酸基生成1-O-烷基-2-乙酰基-sn-甘油,最后经胞嘧啶二磷酸-胆碱磷酸转移酶催化生成PAF;再生途径是1-O-烷基-2-乙酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱在磷脂酶A₂作用下脱去乙酰基生成溶血-PAF(lyso-PAF),然后在乙酰辅酶A参与下由乙酰转移酶乙酰化为PAF。PAF在体内的半衰期非常短,由PAF-AH专一性地从PAF分子的甘油sn-2位上去除乙酰基而形成溶血-PAF。

2 PAF的作用机制

PAF主要通过和质膜受体结合来发挥作用。PAF受体是G蛋白偶联的质膜受体超家族成员之一,拥有7个跨膜结构域、一个胞外结合配体的结构域和一个胞内结合效应物的结构域。一般认为,PAF通过与G蛋白偶联的质膜受体结合后激活磷脂酶C,后者再作用于4,5-二磷酸磷脂酰肌醇(PIP₂),使其分解为三磷酸肌醇(IP₃)和二酰甘油(DG)。IP₃诱导细胞内的Ca²⁺浓度升高,DG则激活蛋白激酶C。蛋白激酶A和蛋白激酶C可以在高Ca²⁺浓度下使一些蛋白质的丝氨酸和/或苏氨酸残基磷酸化,进而发挥特定的生理生化功能。

有丝分裂原活化的蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)在PAF的信号传导通路中起十分重要的作用。PAF以剂量和时间依赖性的方式诱导一些MAPK的酪氨酸残基磷酸化^[3]。蛋白激酶A、蛋白激酶C或酪氨酸蛋白激酶的抑制物预先与精子单独孵育可以使PAF诱导的顶体反应显著降低但不能完全抑制,当用三种抑制物共同处理则完全抑制PAF诱导的顶体反应^[4]。这些结果表明,蛋白激酶A、蛋白激酶C和酪氨酸蛋白激酶信号通路可能参与了PAF的信号传递,而且这些信号通路之间的相互作用可能调节PAF的作用效果。

3 PAF-AH与精子去获能

在小鼠、大鼠、兔、牛和人等许多哺乳动物的精子内都已检测到PAF活性。大鼠精子内存在与PAF合成相关的乙酰转移酶、磷酸水解酶和胆碱磷酸转移酶,同时也存在与PAF降解有关的PAF-AH、磷脂酶D和磷酸水解酶^[5]。这表明,大鼠精子能够合成PAF,但大鼠附

睾精子内的PAF活性较低,这可能与精子内存在高活性的PAF-AH有关。Reinhardt等^[6]发现人附睾精子的中段和近头部位存在PAF受体。体外实验发现PAF能以Ca²⁺依赖性方式显著增强人精子穿透去透明带仓鼠卵母细胞的能力,PAF受体拮抗物可显著抑制PAF的这一作用^[7]。这些结果表明,PAF可能通过受体介导的方式调节精子的代谢进而影响精子的运动活力。精子来源的PAF可能主要通过精子质膜上的PAF受体以自分泌的方式调节自身的功能。将兔精子分别用PAF和溶血-PAF处理,结果发现PAF处理过的精子在顶体反应发生率、卵母细胞受精率和胚泡形成率方面都显著高于溶血-PAF处理过的精子^[8],表明溶血PAF可能是PAF的一种低活性形式。

尽管精子能够合成PAF,但附睾液中的精子却处于去获能的低活力状态,这可能与附睾液内存在高浓度的PAF-AH有关。已发现人和牛的附睾精液中PAF-AH活性较高,它可能将精子分泌的PAF水解为溶血-PAF,从而阻止精子的激活,因此有人也把PAF-AH称为去获能因子。不过,已证实溶血-PAF和溶血-磷脂酰胆碱都能不同程度地增加精子的直线运动和曲线运动,因此溶血-PAF可能与维持附睾液内精子的低活力状态有关,这可能是最大限度地节约能量的一种需要。

4 PAF与精子获能

精子随精液射入雌性生殖道内后,雌性生殖道内液体的偏酸性pH值能使精浆PAF-AH失活和/或使PAF-AH与精子脱离^[5]。这样精子合成的PAF就有可能通过精子膜上的PAF受体发挥作用来促进精子的获能。另外,雌性生殖道内液体的PAF-AH活性变化可能参与精子获能的调节。小鼠卵泡期子宫组织的PAF-AH活性没有显著变化,而在排卵后总组织活性显著降低且一直维持到妊娠第4d。相比之下,子宫腔液体的PAF-AH总活性在卵泡期显著降低,且一直持续到着床前期^[9]。子宫腔液体PAF-AH活性的下调可以削弱母体子宫来源的PAF-AH对精子分泌的PAF的降解作用,从而为精子获能创造有利的条件。

除了PAF-AH的活性发生变化外,雌性生殖道合成和分泌的PAF也可能对精子的获能起作用。早在1986年,Yasuda等^[10]就发现正常的大鼠子宫内存在显著量的PAF。后来,Kasamo等^[11]发现体外培养的子宫内上皮细胞和基质细胞在短暂的离子通道载体A23187处理后PAF积累增加。孕酮和A23187都是两种诱导细胞发生胞吐作用的物质,两者共同处理精子导致精子内Ca²⁺浓度发生短暂升高可能引发分泌性小泡中的PAF

外排,但这还需要实验验证。子宫合成的 PAF 可能有两方面的作用:子宫合成的 PAF 可能通过与精子质膜上的 PAF 受体结合直接促进精子的获能;子宫合成的 PAF 也可能通过子宫内膜上的 PAF 受体结合来诱导子宫内膜合成和分泌一些促进精子获能的物质来间接参与精子获能,但这还有待进一步证明。

PAF 对精子获能的调节可能也受到雌性生殖道液体内的类固醇激素的调节。体外实验表明,孕酮可以诱导精子获能。孕酮对精子获能的诱导可能部分地通过 PAF 的作用来实现。Minhas 等^[12]发现孕酮和 17-羟孕酮都可诱导未获能的人精子内出现瞬间而强效的 Ca^{2+} 浓度增加,而且这一作用是通过精子质膜上的孕酮受体所介导的。Baldi 等^[13]发现孕酮和 Ca^{2+} 通道载体 A23187 共同处理精子可诱导精子合成和释放 PAF 增加。孕酮可能诱导精子内 Ca^{2+} 浓度增加引发 PAF 的合成和释放,释放的 PAF 再通过 PAF 受体作用参与精子的获能。除孕酮外,雌激素对精子获能也有诱导作用。分离的小鼠发情期或发情间期子宫与仓鼠附睾精子体外孵育实验发现,加入外源雌二醇可显著促进精子获能^[14]。这些结果暗示,精子进入雌性生殖道后,雌性生殖道内的类固醇激素可能与精子接触进而促进精子合成和释放 PAF,PAF 再通过精子质膜上的 PAF 受体起作用来促进精子的获能。

本实验室霍立军等^[15]人用氟四环素(CTC)荧光分析来监测精子的获能过程,结果发现 PAF(50 ng/ml)处理 90 min 后能够诱导 66.3% 的小鼠精子获能,显著高于溶血-PAF 处理对精子获能的诱导。两者对精子顶体反应的诱导分别为 20.3% 和 23.0%,没有显著差异。而且还发现较高浓度的 PAF 对精子获能的诱导能力下降,但对顶体反应的诱导能力增加,溶血-PAF 处理也存在类似的效果。上述结果表明,PAF 主要促进精子获能,对顶体反应的诱导似乎不需要受体的介导。

5 PAF 参与精子获能的可能机制

精子来源的 PAF 或子宫来源的 PAF 可能通过与精子质膜上与 G 蛋白偶联的质膜受体结合,激活磷脂酶 C,后者再作用于 4,5-二磷酸磷脂酰肌醇(PIP₂),使其分解为三磷酸肌醇(IP₃)和二酰甘油(DG)。IP₃ 通过内质网上的 IP₃ 受体作用促进内质网 Ca^{2+} 库释放 Ca^{2+} 。 Ca^{2+} 对于精子尾部的轴丝运动是必需的,高浓度的 Ca^{2+} 还可以直接或者通过钙调素来调节一些蛋白激酶的活性。DG 则激活蛋白激酶 C。PAF 也可能通过 G 蛋白偶联的质膜受体激活腺苷酸环化酶产生 cAMP 来激活蛋白激酶 A。精子蛋白的酪氨酸残基磷酸化也参与

精子的获能过程。Luconi 等^[16]发现孕酮和 PAF 处理可刺激精子内与获能相关的两个蛋白质发生酪氨酸残基磷酸化,这表明酪氨酸激酶参与了 PAF 促进获能的过程。目前对 PAF 如何激活酪氨酸激酶活性的认识还有待深入,PAF 有可能通过上述的 IP₃ 和 cAMP 信号通路来活化精子内的一些蛋白,这些蛋白中的一些可能本身就具有酪氨酸激酶活性,另一些可能参与调节具有酪氨酸激酶活性的细胞因子受体的作用。总之,PAF 可能通过激活蛋白激酶 C、蛋白激酶 A 和酪氨酸激酶使一些获能相关蛋白的丝氨酸、苏氨酸和酪氨酸残基磷酸化,进而影响获能过程中的能量代谢和物质代谢。

6 结语

尽管大量实验证实 PAF 可以促进精子获能,但对于 PAF 参与获能的机理还有待进一步阐明。精子来源的 PAF 主要是由精子内部产生还是由精子膜磷脂代谢产生也需要进一步证明,而且精子合成和释放 PAF 受哪些因素调节还不清楚。精子内部的 PAF-AH 和雌性生殖道液体中的 PAF-AH 在精子获能过程的活性变化受什么因素调节也需要进一步研究。我们相信随着上述问题的逐步搞清,人们对于 PAF 参与精子获能的认识将逐步深化。

参 考 文 献

- [1] Benveniste J, Henson P M, Cochrane C G. Leukocyte-dependent histamine release from rabbit platelets. The role of IgE, basophils, and a platelet-activating factor. *J Exp Med*, 1972, **136**(6): 1356 ~ 1377.
- [2] Snyder F. Platelet-activating factor and its analogs: metabolic pathways and related intracellular processes. *Biochim Biophys Acta*, 1995, **1254**: 231 ~ 249.
- [3] Matsumoto K, Hashimoto S, Gon Y *et al*. Proinflammatory cytokine-induced and chemical mediator-induced IL-8 expression in human bronchial epithelial cells through p38 mitogen-activated protein kinase-dependent pathway. *J Allergy Clin Immunol*, 1998, **101**(6Pt1): 825 ~ 831.
- [4] Sengoku K, Tamate K, Takuma N *et al*. Involvement of protein kinases in platelet activating factor-induced acrosome reaction of human spermatozoa. *Mol Hum Reprod*, 1996, **2**(6): 401 ~ 404.
- [5] Muguruma K, Johnston J M. Metabolism of platelet-activating factor in rat epididymal spermatozoa. *Biol Reprod*, 1997, **56**(2): 529 ~ 536.
- [6] Reinhardt J C, Cui X, Roudebush W E *et al*. Immunofluorescent evidence of the platelet-activating factor receptor on human spermatozoa. *Fertil Steril*, 1999, **71**(5): 941 ~ 942.

- [7] Sengoku K, Tamate K, Takaoka Y *et al.* Effects of platelet activating factor on human sperm function *in vitro*. *Hum Reprod*, 1993, **8**(9):1 443 ~ 1 447.
- [8] Fukuda A, Roudebush W E, Thatcher S S. Platelet activating factor enhances the acrosome reaction, fertilization *in vitro* by subzonal sperm injection and resulting embryonic development in the rabbit. *Hum Reprod*, 1994, **9**(1):94 ~ 99.
- [9] O'Neill C. Activity of platelet-activating factor acetylhydrolase in the mouse uterus during the estrous cycle, throughout the preimplantation phase of pregnancy, and throughout the luteal phase of pseudopregnancy. *Biol Reprod*, 1995, **52**(5):965 ~ 971.
- [10] Yasuda K, Satouchi K, Saito K. Platelet-activating factor in normal rat uterus. *Biochem Biophys Res Commun*, 1986, **138**(3):1 231 ~ 1 236.
- [11] Kasamo M, Brandt M, Ishikawa M *et al.* *In vitro* prostaglandin release from and platelet-activating factor accumulation in isolated endometrial cells from pregnant and pseudopregnant rabbits. *Biol Reprod*, 1992, **46**(5):829 ~ 845.
- [12] Minhas B S. Efficiency enhancement of manipulated male and female gametes. *Sem Reprod Endocrinol*, 1994, **12**(3):177 ~ 183.
- [13] Baldi E, Falsetti C, Krausz C *et al.* Stimulation of platelet-activating factor synthesis by progesterone and A23187 in human spermatozoa. *Biochem J*, 1993, **292** (Pt 1):209 ~ 216.
- [14] Bathla H, Guraya S S, Sangha G K. Role of estradiol in the capacitation and acrosome reaction of hamster epididymal spermatozoa in the isolated uterus of mice incubated *in vitro*. *Indian J Physiol Pharmacol*, 1999, **43**(2):211 ~ 217.
- [15] Huo L J, Yang Z M. Effects of platelet activating factor on capacitation and acrosome reaction in mouse spermatozoa. *Mol Reprod Dev*, 2000, **56**(3):436 ~ 440.
- [16] Luconi M, Bonaccorsi L, Krausz C *et al.* Stimulation of protein tyrosine phosphorylation by platelet-activating factor and progesterone in human spermatozoa. *Mol Cell Endocrinol*, 1995, **108**(1 ~ 2):35 ~ 42.