

哺乳动物卵泡发育模式及其调控机理*

吴延光 于元松 谭景和**

(山东农业大学动物科技学院 泰安 271018)

摘要:了解卵泡发育动态及其调控机理对于提高动物繁殖率和控制人类生育,都具有重要的意义。近年来随着超声波扫描技术的发展,人们对家畜卵泡发育模式及其调控机理有了更深入的认识。本文简要综述了当前在家畜卵泡发育基本模式、参与卵泡发育调节的各种因子及卵泡发育的种属特异性等方面的研究进展。

关键词:卵泡;卵泡波;募集;选择;优势化;家畜

中图分类号:Q492 **文献标识码:**A **文章编号:**0250-3263(2002)06-83-05

Follicular Dynamics and its Regulation in Mammals

WU Yan-Guang YU Yuan-Song TAN Jing-He

(College of Veterinary and Animal Sciences, Shandong Agricultural University Taian 271018, China)

Abstract: A better understanding of follicular dynamics and its regulation is of great importance both for the improvement of animal reproductive productivity and birth control in human beings. In recent years, the development of ultrasonography has contributed a great deal to our knowledge of follicular dynamics and its regulation mechanisms. This paper reviews briefly the current status of studies on follicular dynamics in domestic animals, factors involved in its regulation and differences in follicular development among species.

Key words: Follicle; Follicular wave; Recruitment; Selection; Dominance; Domestic animals

哺乳动物卵泡发育是一个高度复杂且受到精密调控的过程。近年来随着超声波扫描技术的发展,人们能够在动物正常生理状态下对很多动物卵泡发育的全过程进行细致的监测。从而对哺乳动物,尤其是家畜卵泡发育模式及其调控机理有了更深入的认识。本文仅就目前卵泡发育模式与调控机理领域的研究进展作一介绍。

1 哺乳动物卵泡发育的基本模式

超声波扫描及其它研究的结果显示,大多数哺乳动物的卵泡发育是以“卵泡波”(follicular wave)的形式进行的。其实质就是指动物每个发情周期都会有一批或几批卵泡从原始卵泡发育到成熟卵泡的波浪状的一系列连续发育过程^[1]。主要经历以下几个步骤。

1.1 原始卵泡库的建立 哺乳动物在胚胎发育时期,由内胚层迁移至生殖嵴的原始生殖细胞(PGCs)经过多

次有丝分裂增殖形成大量初级卵母细胞,被卵泡细胞包围后就构成原始卵泡库(pool of primordial follicles)。原始卵泡库存在于哺乳动物生殖机能衰退前的很长一段时间里。在多数动物的每个发情周期中,原始卵泡库中均会有部分初级卵母细胞恢复减数分裂,卵泡开始生长,成为成熟卵母细胞的来源。

1.2 卵泡的募集 在卵泡形成后,部分原始卵泡脱离原始卵泡库,开始缓慢生长。此即所谓的原始卵泡启动募集(initial recruitment)。在每个发情周期中,当内分泌环境(主要是指促性腺激素分泌情况)发生变化时,能够对这种变化发生应答的启动募集(有腔)卵泡开始

* 国家自然科学基金资助项目(No. 30170679);

** 通讯作者, E-mail: tanjh@sdau.edu.cn;

第一作者简介 吴延光,男,23岁,东北农业大学生物学专业学生。

收稿日期:2002-01-20,修回日期:2002-09-10

加快生长。这就是所谓的周期募集 (cyclic recruitment)^[2]。现将启动募集和周期募集的区别列于表 1。

表 1 启动募集和周期募集比较^[2]

	启动募集	周期募集
卵泡发育阶段	原始卵泡	有腔卵泡
起作用的激素	未定	FSH
未募集卵泡的命运	休眠	凋亡
发生时间	卵泡形成后持续终生	性成熟后周期性进行
卵母细胞的状态	开始生长但不能发生 GVBD	完成生长, 能够发生 GVBD

我们通常所说的募集,多是指周期募集。Hirshfield 认为,启动募集与周期募集之间存在一个明显的“障碍”^[4]。启动募集的卵泡能否参与周期募集的关键在于能否跨越这一障碍,而跨越障碍的决定因素是能否获得对促性腺激素的反应能力^[2]。Hirshfield 的研究发现,牛大规模卵泡闭锁多发生于颗粒细胞增殖至 10~13 层时,而牛通常具有 14~15 层颗粒细胞,小鼠的卵泡闭锁大都发生在颗粒细胞长至 8~9 层时,大致也处于倒数第二层颗粒细胞。由此看来,哺乳动物的大规模卵泡闭锁多发生于倒数第二层颗粒细胞产生时^[5]。这表明,此阶段正是两种募集的交界处,如果 FSH 升高,就有部分卵泡要参与周期募集。

1.3 卵泡的选择和优势化 参与募集的卵泡并非都能够发育排卵,大多数的卵泡要发生闭锁退化,只有少量

的(数目具有种质特异性)能发育成为优势卵泡。这一过程称为选择(selection)^[7]。在牛中,卵泡波出现的第 3 d 开始进行选择;猪的选择在发情周期的第 14~16 d,而人据推测选择发生于月经周期的第 3~10 d。羊的排卵卵泡波在黄体溶解后的 12~24 h 内进行选择^[1]。

被选择的卵泡即确立优势化地位。它们继续发育,其体积逐渐变大,激素分泌能力增强,从而抑制从属卵泡(落选的募集卵泡)的生长及下一卵泡波的出现^[4]。这一过程称为优势化(dominance)。在牛中,如果在卵泡波早期破坏优势卵泡将导致从属卵泡闭锁推迟,下一个卵泡波募集提前^[6]。

1.4 卵泡的成熟和排卵 多卵泡波动物中,并非所有优势化后的卵泡(Graafian follicles)都能够成熟排卵。因此,优势卵泡又分为排卵优势卵泡(ovulatory dominant follicles)与非排卵优势卵泡(nonovulatory dominant follicles)^[7]。排卵优势卵泡最终要排出成熟卵母细胞,而非排卵优势卵泡会发生闭锁,从而开始下一个卵泡波。决定优势卵泡是否成熟排卵的主要因素是卵泡波与黄体溶解的同步性。排卵前卵泡达到最大直径,牛排卵前卵泡直径为 13~15 mm,绵羊的为 5~7 mm,山羊的为 9~10 mm,马的为 40 mm 左右^[8]。

2 卵泡发育的调控机理

卵泡发育经历了募集,选择,优势化以及成熟排卵/闭锁等一系列连续的过程。它受包括内分泌、自分泌和旁分泌在内的调控体系的严密调控(图 1)。

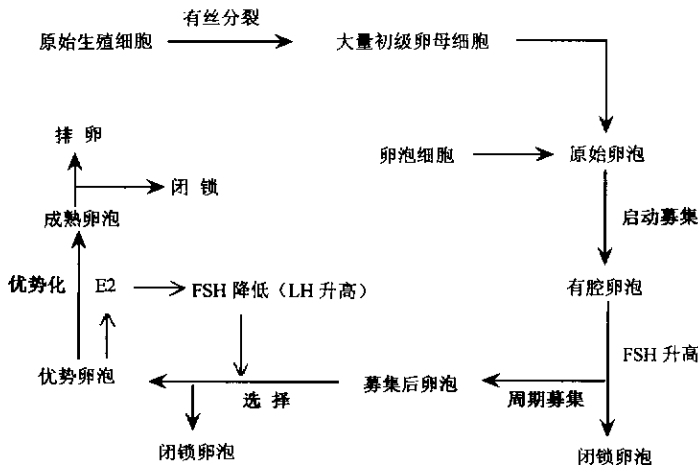


图 1 牛卵泡发育过程及调控

2.1 启动募集的调控 如表 1 所显示,卵泡周期募集与启动募集的最大区别在于起始动力的不同。周期募集要以促性腺激素峰作为启动信号;而启动募集时则没有激素的明显变化^[2]。启动募集似乎是一种体内自

发的过程。但近年来的研究发现,提高 FSH/LH 的浓度能够增加参与启动募集的原始卵泡数,缩短原始卵泡在库中的停留时间^[9]。然而,由于在启动募集期间卵泡尚无 FSH 受体表达,故 FSH 以何种方式起作用尚不

得而知。Wandji 等发现,切除垂体的动物其原始卵泡依然能够发育到周期募集前^[10]。这说明,虽然促性腺激素能促进原始卵泡的发育,但并非其主导因子,卵巢中某些未知的因子才是调节启动募集的关键^[4]。近有人证明,这种未知因子有可能是表皮生长因子(EGF)和抑制素^[7-11]。

2.2 周期募集的调控 周期募集需要启动信号的参与才能发生。现在证明,这种启动信号是血浆中的 FSH 浓度升高。对牛进行的研究中发现,每个卵泡波前都有一个 FSH 浓度上升的过程^[3]。在对其他动物的研究中,也发现了类似的现象。这说明,FSH 峰是卵泡波出现的先决条件。摘除动物垂体或破坏 FSH 在体内生理条件下的波动会导致卵泡不能进行周期募集或周期募集失控。用抑制素降低 FSH 的浓度,可以阻碍卵泡的募集并推迟下一个卵泡波的出现。同样,人为提高 FSH 浓度可使更多的卵泡参与周期募集^[12],正如超数排卵那样。但是,为什么参与了启动募集的卵泡并不能都参与周期募集呢?这可能与卵泡生长中 FSH 受体(FSH-R)表达的数量有关。表达 FSH 受体多的卵泡,在较低的 FSH 浓度下具有较高的 FSH 利用率,FSH 受体少的卵泡则正好相反。因此,参与启动募集的卵泡由于 FSH 受体表达的分化而导致两种截然不同的命运:参与周期募集或闭锁(图 1)。

2.3 卵泡选择的调控 在卵泡选择过程中,起决定作用的是 FSH 浓度下降与 LH 浓度上升这两个信号^[7]。在每个卵泡波开始后不久,FSH 都下降(图 2)^[3]。在 FSH 下降后,卵泡因缺乏足够的促性腺激素支持而趋于闭锁。而此时 LH 浓度有所升高,故能够表达较多 LH 受体(LH-R)的卵泡仍可获得 LH 的支持而继续发育。Evans 等证实,牛的每个卵泡波发生过程中都伴随有 LH 振幅的升高,这对卵泡优势化至关重要^[3]。因此,参与了周期募集的卵泡在生长速度上发生了分化:被选择的优势卵泡生长速度加快,完成了由 FSH 依赖型生长向 LH 依赖型生长的过渡;未被选择的从属卵泡生长减缓,停止并逐渐凋亡^[7]。

研究表明,导致 FSH 水平下降的原因是雌二醇(E2)。被选择的优势卵泡产生大量的 E2,通过负反馈途径抑制垂体的 FSH 分泌^[4],同时促进自身表达更多的 FSH 受体。因此,在 FSH 下降的情况下,优势卵泡能够继续接受 FSH 的作用而表达更多的 LH 受体。于是,当 FSH 降到基础水平时,它们能够转而接受 LH 刺激,继续生长。而从属卵泡则因为 FSH 受体不足,不能充分利用 FSH,故 LH 受体表达少。这样,当 FSH 降到基础水平时,它们就不能转为 LH 依赖型的,所以逐渐停

止生长。Bao 等人发现,在卵泡周期募集阶段,卵泡中有细胞色素 P450 侧链裂解酶(P450acc)和细胞色素 P450 芳香酶(P450arom)mRNA 的表达,且表达程度与卵泡直径变化呈正相关^[14]。这可能与 P450arom 和 P450acc 促进卵泡产生 E2 参与负反馈调节作用有关。

2.4 卵泡优势化的调控 完成了选择的卵泡经过优势化已经基本达到了最大直径,并维持这种状态一段时间,等待排卵。在此期间,优势卵泡是主要的性激素来源^[3]。这些性激素通过自分泌方式促进卵泡自身生长,通过旁分泌方式抑制从属卵泡的发育^[13]。现在认为,优势卵泡通过两种途径抑制从属卵泡发育^[7]。

2.4.1 直接途径 优势卵泡能够分泌某种蛋白到血液中,直接抑制从属卵泡生长,促使其闭锁。Dizerega 等在灵长类发现了一种称之为卵泡调节蛋白(follicle regulatory protein)的物质,认为其有抑制卵泡生长的作用^[4]。但后来的研究却未能证实该物质的存在。

2.4.2 间接途径 优势卵泡分泌许多调节因子,如 E2 和抑制素等,经过负反馈途径使 FSH 水平降低到不能支持从属卵泡生长的程度(图 1)。

2.5 优势卵泡成熟排卵或闭锁的调控 卵泡优势化后其命运并非已经决定,仍有排卵或闭锁两种可能。在多卵泡波的物种中,只有在与黄体溶解同步的卵泡波中,优势卵泡才有可能排卵,否则闭锁^[8]。当黄体存在时,虽然 LH 振幅较高,但高孕酮浓度致使 LH 频率较低。而只有同时具备高振幅和高频率才能使 LH 浓度升高到促进卵泡成熟和排卵的水平^[15]。因此,黄体存在时,优势卵泡无法成熟排卵。只有在黄体溶解后,E2 浓度升高,孕酮浓度降低,引起 LH 分泌频率升高,才会引起卵泡成熟排卵(图 1)。

2.6 卵巢激素及其它生长因子对卵泡发育的调节 虽然在卵泡发育(包括募集、选择、优势化和成熟排卵)过程中 FSH 和 LH 发生与卵泡波同步的周期性波动,并在卵泡发育的调控中起决定作用,但是,这两种促性腺激素还受其它多种因素的调节。

2.6.1 雌激素 以雌二醇(E2)为代表。E2 由雌性动物的卵泡细胞分泌,通过负反馈途径抑制 FSH 的分泌。许多实验都已经证明,雌性动物发情周期中,每个诱导卵泡波出现的 FSH 峰值出现时,E2 的浓度都处于最低值。而相反,E2 峰值时 FSH 均处于最低值(图 2)^[16]。人为注射 E2 可以推迟卵泡波的出现^[3]。

2.6.2 雄激素 一般认为,雄激素的作用与 E2 相似,也能够抑制 FSH 的释放^[3]。但是,雄激素的作用机理却有两条不同的途径。一种是雄激素直接在负反馈途径中抑制 FSH 分泌;另一种是雄激素转化成雌激素而

起作用。现在的观点倾向于后者,因为尚不能找到支

持雄激素在负反馈途径中直接起作用的有力证据。

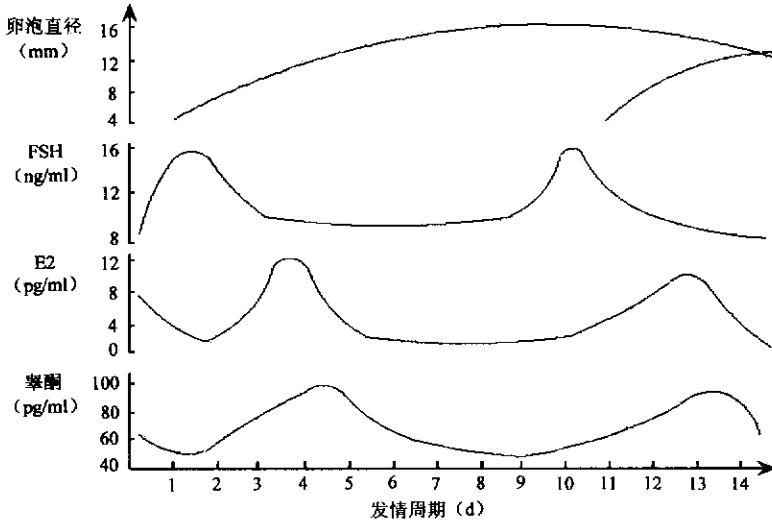


图2 牛黄体期卵泡发育波与激素分泌的关系^[3,4,12]

2.6.3 抑制素 卵巢抑制素能够抑制离体培养的垂体细胞分泌 FSH。即使培养基中加入促垂体激素释放激素(GnRH),也不能解除这种抑制。

2.6.4 生长因子和细胞因子 在体内,大量的生长因子和细胞因子,如 IGF、EGF、TGF 和 IL-1 都对卵泡发育起十分重要的调控作用。

胰岛素样生长因子(IGF):IGF 主要由卵泡颗粒细胞和内膜细胞产生。Gong 等将 IGF 加入体外培养卵泡颗粒细胞中发现,IGF 明显促进颗粒细胞的增殖和分化,增加 E2 和孕酮的分泌,有利于卵泡的发育^[17]。

表皮生长因子(EGF):柳海珍等以灵敏的增殖细胞核抗原(PCNA)为指标检验了 EGF 在大鼠卵泡启动募集中的作用,发现 EGF 在卵泡发育早期起重要的促进作用。因此,启动募集的最初动力很可能是 EGF^[7,11]。

成纤维细胞生长因子(FGF):FGF 能够刺激腔前卵

泡颗粒细胞的增殖。其作用机制可能是抑制腔前卵泡分泌 E2^[18],使 FSH 持续分泌,卵泡颗粒细胞的增殖。

白细胞介素-1(IL-1):在人和猪的卵泡液中已经查明有 IL-1 活性。IL-1 能够抑制鼠卵泡膜细胞合成雄激素,也起诱导排卵作用^[19]。

除以上几种因子外,转化生长因子(TGF),肿瘤坏死因子(TNF),内皮因子(ET-1),肝细胞生长因子(HGF)也都在卵泡的生长发育中起作用(表2)。

3 卵泡发育的种属特异性

虽然已经得到证明哺乳动物卵泡发育是以波的形式进行的,但并不表示所有哺乳动物的卵泡都是以一种方式发育。在多胎和单胎动物之间,卵泡的波式发育存在区别。

3.1 单胎动物 多数单胎动物(如牛和羊)的卵泡发育具有明显的波式特征,即在一波卵泡进行周期募集、选择和优势化,直至排卵前,下一个卵泡波不出现。只有在优势卵泡排卵或闭锁后,下一个卵泡波才开始进行周期募集。不同动物每个发情周期所具有的卵泡波数不同。如马,通常具有一个卵泡波;牛为 2~3 个卵泡波;而山羊和绵羊则多具有 4 个卵泡波。但是,即使在同种动物中,卵泡波的数目也并不是一致的。95%的牛具有 2~3 个卵泡波,但也有报道观察到一个或四个卵泡波的现象^[20]。在马中,少数个体发现有两个卵泡波。动物发情周期的卵泡波数量主要是由遗传因素决定,但与生存环境也有一定关系。营养状况、环境温度、经产与否以及黄体期长短等都对其有影响。现将几种反刍动物的卵泡波发育特征列于表 3。

表2 激素和生长/细胞因子在卵泡发育中的调控作用

激素/因子种类		对卵泡发育的作用	
激素	E2	负反馈抑制 FSH 分泌	抑制卵泡发育
	雄激素	转化成雌激素而抑制 FSH 分泌	
	抑制素	抑制 FSH 分泌	
生长/细胞因子	IGF	促进颗粒细胞增殖,分化,有利于卵泡发育	
	EGF	引起启动募集	
	FGF	抑制 E2 分泌,促进颗粒细胞增殖	
	IL-1	抑制雄激素合成,诱导排卵	
	TGF	加强 FSH 作用,促进颗粒细胞的增殖分化	
	TNF	抑制颗粒细胞分化和产生孕酮	
	ET-1	促进雄激素转化成 E2,诱导排卵	
HGF	刺激颗粒细胞增殖和卵泡成熟		

表3 反刍动物卵泡发育波及其特征^[20]

物种	波数/发情周期(个)	波持续 时间(d)	发情周期 (d)	优势卵泡直径(mm)			
				波1	波2	波3	波4
牛	2	10	20	15	15		
	3	8	23	15	12	15	
绵羊	3	3.4~3.5	9~16	5~7	4~6	4~6	5~7
	4	3.4~3.5	16~17	5~7	4~6	4~6	5~7
	>4	3.4~3.5	22~24	5~7	4~6	4~6	5~7
山羊	4	3~4	23	9	7	7	10
麝牛	3~4	5	23	10	7	6/7	10

在以上诸多影响因素中,黄体期长短似乎最为重要。三波牛的黄体存在时间明显长于两波牛,如果人为延长黄体期,会导致产生4~5个卵泡波^[21]。黄体如何控制卵泡波的发生现在还不清楚,但二波牛的卵泡发育和排卵质量与三波牛没有明显差别。

3.2 多胎动物 猪与小鼠等多胎动物与单胎动物在卵泡发育上有较大的差别。研究发现,多胎动物整个发情周期均有卵泡持续生长和退化。并且卵泡的优势化也不明显。就是说,在优势化阶段卵巢上并非只存在一个主卵泡,而是存在一群优势卵泡,而且优势卵泡对下一波卵泡发育的抑制也不明显。但是,在猪排卵后的3~7 d 优势卵泡已不存在的情况下,能够观察到卵泡数量的明显增加,生长速度加快的趋势^[22]。因此,可以认为,多胎动物的卵泡发育虽然也具有“波”的特征,但这种“卵泡波”不能与单胎动物的混为一谈,只是一种“类波式”的发育。

参 考 文 献

- [1] 秦应和. 反刍家畜卵泡发育机理的研究进展. 国外畜牧科技, 1999, 5: 30~32.
- [2] Elizabeth A, Aaron M, Hsueh J W. Initial and cyclic recruitment of ovarian follicles. *Endocr Rev*, 2000, 21: 200~214.
- [3] Evans A C O, Komar C M, Wandji S A *et al*. Changes in Androgen secretion and Luteinizing Hormone pulse amplitude are associated with the recruitment and growth of follicles during the Luteal phase of the bovine estrous cycle. *Biol Reprod*, 1997, 57: 394~401.
- [4] Fortune J E. Ovarian follicular growth and development in mammals. *Biol Reprod*, 1994, 50: 225~232.
- [5] Hirshfield A N. Development of follicles in the mammalian ovary. *Internat Rev Cytol*, 1991, 124: 43~101.
- [6] 张运海. 牛卵泡发育及其调控. 动物科学与动物医学, 2000, 17: 15~18.
- [7] Driancourt M A. Follicular dynamics in sheep and cattle. *Theorogenology*, 1991, 35: 55~79.
- [8] 钱云, 万家桐. 卵泡生长发育的动态模式及其调控. 中国畜牧杂志, 2000, 36: 38~40.
- [9] Bao B, Garverick H A. Expression of steroidogenic enzyme and gonadotropin receptor genes in bovine follicles during ovarian follicular waves. *J Anim Sci*, 1998, 76: 1903~1931.
- [10] Wandji S A. Initial *in vitro* growth of bovine primordial follicle. *Biol Reprod*, 1996, 55: 942~948.
- [11] 柳海珍, 刘以训. EGF 在新牛大鼠原始卵泡生长启动中的作用. 中国科学 C, 2000, 30: 322~329.
- [12] Driancourt M A. Regulation of ovarian follicular dynamics in farm animals. *Theorogenology*, 2001, 55: 1211~1239.
- [13] Castro T, Rubianes E. Ovarian dynamics, serum estradiol and progesterone concentrations during the interovulatory interval in goats. *Theorogenology*, 1999, 52: 399~411.
- [14] Bao B. Changes in messenger ribonucleic acid encoding luteinizing hormone receptor, cytochrome P450-side chain cleavage, and arginase are associated with recruitment and selection of bovine ovarian follicles. *Biol Reprod*, 1997, 56: 1158~1168.
- [15] Mihm M, Baguisi A, Boland W P *et al*. Association between the duration of dominance of the ovulatory follicle and pregnancy rate in beef heifers. *J Reprod Fertil*, 1994, 102: 123~130.
- [16] Ginther O J. Mini-review: Selection of the dominant follicle in cattle. *Biol Reprod*, 1996, 55: 1187~1194.
- [17] 李键, 王凤臣. EGFs 对卵泡生长发育的影响. 中国兽医学报, 1996, 16(2): 198~201.
- [18] 芮荣, 钱菊芬. 卵泡发育及其控制. 草食家畜, 1998, 8(8): 16~22.
- [19] 寇全安, 张涌. 白细胞介素 1 对生殖的影响. 黄牛杂志, 1997, 23(4): 40~42.
- [20] Adams G P. Comparative pattern of follicle development and selection in ruminant. *J Reprod Fertil*, 1999, 54(Suppl.): 17~32.
- [21] Sirois J, Fortune J E. Lengthening the bovine estrous cycle with low levels of exogenous progesterone: a model for studying ovarian follicular dominance. *Endocrinology*, 1990, 127: 916~925.
- [22] Guthrie H D, Cooper B S. Follicular atresia, follicular fluid hormones, and circulating hormones during the midluteal phase of the estrous cycle in pigs. *Biol Reprod*, 1996, 55: 543~547.