

# 哺乳动物卵母细胞凋亡的研究进展\*

杨晓菁 姚红军 王玉凤\*\*

(华中师范大学生命科学学院 武汉 430079)

**摘要:** 细胞凋亡是发育过程中的基本生命现象,除各种体细胞凋亡外,生殖细胞的发生过程中也发生细胞凋亡。就雌性生殖系而言,细胞凋亡是其发育过程中的一个重要组成部分。在哺乳动物中,超过99.9%的雌性生殖细胞都会在卵子发生的不同阶段发生凋亡。有三种学说解释这一现象:1)被忽视死亡;2)因缺陷死亡;3)自我牺牲死亡。本文主要综述了哺乳动物卵母细胞凋亡的现象、卵母细胞凋亡学说、线粒体遗传与卵母细胞凋亡的关系以及凋亡的分子机理,同时还探讨了卵母细胞凋亡的生物学意义。

**关键词:** 卵母细胞;凋亡;哺乳动物;线粒体

**中图分类号:** R321, Q492 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263(2004)06-101-06

## Advances in the Research of Oocyte Apoptosis in Mammals

YANG Xiao-Jing YAO Hong-Jun WANG Yu-Feng

(College of Life Science, Central China Normal University, Wuhan 430079, China)

**Abstract:** Apoptosis is a fundamental life phenomenon during the development of various organisms. In addition to the somatic cell apoptosis, germ cell apoptosis also occurs in many kinds of animals. Apoptosis is essential to the female germ line development. In mammals, up to 99.9% of the female germ cells are lost through apoptosis during oogenesis. Three hypotheses were put forward to explain why germ cell death occurs in females: 1) death by neglect; 2) death by defect; 3) death by self-sacrifice. The present paper reviews the oocyte apoptosis phenomenon, three hypotheses, the relation of mitochondria inheritance with oocyte apoptosis, and the molecular mechanism of oocyte apoptosis in mammals. The biological significance of oocyte apoptosis in mammals is also discussed.

**Key words:** Oocyte; Apoptosis; Mammal; Mitochondrion

细胞凋亡(apoptosis)是生物体内普遍存在的一种细胞选择性死亡,它发生于不同的生理和病理过程中,包括生殖细胞的发生过程,是多细胞生物体一种重要的自我稳定机制。细胞凋亡受凋亡相关基因调控,故而又称为编程性细胞死亡(programmed cell death, PCD)<sup>[1]</sup>。在许多无脊椎动物和脊椎动物中,大量的生殖细胞在发育的不同阶段丢失<sup>[2-4]</sup>。在哺乳动物中,凋亡不仅直接与原始生殖细胞、卵原细胞、分化的卵母细胞有关,而且还与卵泡闭锁有关<sup>[5-7]</sup>。对卵母细胞凋亡机理的研究,为临床上延缓女性生理机能衰老、治疗因异常外因(如化疗、放射等)引起的不育或过早停经都有着重要的意义。本文主要对哺乳动物雌性生殖细胞凋亡的现象、学说、线粒体遗传与卵母细胞凋亡的关系以及

哺乳动物卵母细胞凋亡的分子机理等方面的研究进展进行了综述。

### 1 卵子发生过程中的细胞凋亡现象

在胚胎期以及胚后期,雌性哺乳动物所产生的大多数生殖细胞都会不断出现死亡。在大多数哺乳动物中,当原始生殖细胞迁移到还未开始分化的胚胎生殖

\* 国家自然科学基金资助项目(No. 30300035);

\*\* 通讯作者, E-mail: yfengw@public.wh.hb.cn;

第一作者介绍 杨晓菁,女,24岁,硕士研究生;研究方向:动物发育生物学;现为中科院动物所博士研究生。

收稿日期:2004-03-18,修回日期:2004-09-06

腺组织后,卵子发生(XX个体)或精子发生(XY个体)的发育程序就被启动了。雌性生殖细胞,此时应叫卵原细胞(oogonia),持续进行活跃的有丝分裂,在胚胎发育阶段不断扩大生殖系(germline)的规模,直到生殖细胞进入减数分裂的前期,这标志着雌性生殖细胞增殖终结<sup>[8]</sup>,进入卵母细胞阶段。这时候生殖细胞的数目会急剧下降,绝大多数发生死亡。在人类中,妊娠8周的女性胚胎卵原细胞就开始增殖,在第20周左右达到峰值,由1000个左右迅速分裂达到约700万个,之后开始进入减数分裂。在由有丝分裂向减数分裂过渡时,细胞数目又会急剧下降,大量丢失<sup>[9-11]</sup>。存活者经过第一次减数分裂前期的最初四个阶段,停滞于双线期,分化成初级卵母细胞(primary oocyte)。初级卵母细胞继续发育,此时它们被来自卵巢壁的一群特化细胞——前颗粒细胞所包围,形成原始卵泡(primordial follicle)<sup>[8]</sup>。初级卵母细胞将保持此停滞状态,从胚胎时期一直维持到青春期。这期间卵母细胞仍在不断死亡,有三分之二的卵母细胞在出生前或刚出生就被丢失,新生儿出生时大约还有1~2百万卵母细胞,到青春期开始时仅剩30~40万<sup>[10,12]</sup>。随着青春期的开始,一批又一批的初级卵母细胞阶段性地恢复减数分裂,每个月都会有15~20个卵母细胞重新启动发育程序,但一般只有一枚卵母细胞能成功地完成第一次减数分裂,从而成为次级卵母细胞,并停滞于第二次减数分裂的中期,等待排出受精<sup>[9,11,12]</sup>。只有当受精后,才会完成全部减数分裂。在一个女性的生育年限之内,青春期开始的30多万个卵母细胞中,只有400个左右可发育成熟并排卵,其余的都在不同时期退化掉了。女性生殖细胞从最多时的700万个左右到最终发育成熟的约400个,发生死亡的比率超过了99.9%<sup>[8-10,13]</sup>。而在其它哺乳动物中,同等比例的生殖细胞也会在卵子发生的过程中丢失<sup>[8,10]</sup>。可见每个卵母细胞都面临着连续不断的死亡威胁。

已有许多实验证明,哺乳动物生殖细胞在发生过程中的大量死亡或丢失是属于细胞凋亡。Ratts等在孕13.5d之后的鼠胚卵巢细胞中,证实了其DNA被切割为185~200bp不同倍数的片段,电泳呈梯状条带分布<sup>[14]</sup>。De Pol等采用原位末端标记技术(TUNEL),观察到了孕18~20周的人类胚胎卵巢内典型的凋亡细胞形态,并且还证实,这个时期的胚胎中只有生殖细胞发生了凋亡,发生凋亡的生殖细胞比率约为8%<sup>[6]</sup>。O'Shea等的研究表明,在绵羊卵泡闭锁的过程中,颗粒细胞与卵泡膜细胞相继是以凋亡的形式消退<sup>[15]</sup>。由于人类有些卵母细胞阻断于第一次减数分裂前期长达50年之

久,几乎可以说是体内寿命最长的细胞之一,这种特性使得卵母细胞成为一个研究细胞凋亡的独特模型<sup>[8]</sup>。

## 2 卵母细胞凋亡学说

人类女性胚胎在配子发生期间产生数量巨大的生殖细胞,但其中的三分之二或者更多在出生前就会因凋亡而丢失,而绝大部分幸免的卵母细胞紧接着又会在出生后凋亡。为什么会有如此巨大比例的雌性生殖细胞发生凋亡?对于其凋亡的原因,人们目前提出了三种学说来解释<sup>[8,16]</sup>:1)被忽视死亡;2)因缺陷死亡;3)自我牺牲死亡或利他性死亡。

**2.1 被忽视死亡(death by neglect)** 被忽视死亡,是指因不能从环境中得到足够的存活因子而导致的细胞死亡。这方面的证据多来自于对小鼠的研究。缺乏生殖细胞存活因子,如干细胞生长因子SCF或白细胞介素-1 $\alpha/\beta$ 的雌性突变小鼠,不能进行正常的配子发生<sup>[17,18]</sup>。另外,在缺乏血清或缺乏细胞因子的条件下,体外培养的胚胎期小鼠的卵巢也会迅速发生生殖细胞凋亡。而当加入外源存活因子时,这种人为急性忽视引起的生殖细胞死亡就能被阻止<sup>[19]</sup>。尽管因忽视死亡的证据在不断增多,却并无确切证据显示这是卵子发生过程中的一个正常组成步骤。

**2.2 因缺陷死亡(death by defect)** 这个理论认为,凋亡能除去减数分裂时发生配对错误或重组异常的卵母细胞,即体内存在一个监督(质量控制)机制,可发现并除去有缺陷的卵母细胞,而保留能正常进行减数分裂的卵母细胞来形成原始卵泡。基因突变造成减数分裂时染色体重组或配对异常,这类小鼠的生殖系发育就会受到严重影响。例如,Atm基因(共济失调性毛细血管扩张症突变基因)的失活,会造成两性个体中大量的生殖细胞在第一次减数分裂前期或紧随其后发生凋亡,因此缺乏Atm基因的雌鼠,生来卵巢就缺少卵母细胞<sup>[20]</sup>。然而,这种因缺陷死亡的模式,不受编码caspase-2或其上游激活子Bax基因与Atm基因同时失活的影响<sup>[18]</sup>。这表明,胚胎卵母细胞凋亡的发生有多种途径。因缺陷死亡学说的另一个证据来自于X染色体缺陷的突变小鼠,缺少一条X染色体(XO)或有一条X染色体发生了一个大的倒位(InX/X)的雌性小鼠也不能进行正常的卵子发生<sup>[21]</sup>。这很可能是由于染色体配对不成功,导致在胚胎卵巢发育的过程中有更多的生殖细胞凋亡。类似的情况也出现在人类的Ullrich-Turner(XO)综合症中<sup>[22]</sup>。但是,对人类胚胎卵巢中卵母细胞减少的研究并未清楚地表明,减数分裂缺陷到底是生殖系凋亡的原因还是结果<sup>[23,24]</sup>。因此,对于所有

在出生前正常生理条件下凋亡的卵母细胞而言,因缺陷死亡的学说还不太可靠。

**2.3 自我牺牲死亡 (death by self-sacrifice)** 在果蝇、爪蟾以及小鼠中的研究表明,许多无脊椎动物和脊椎动物的卵子发生都包括这样一个过程,即生殖系包裹 (germline cysts) 破裂<sup>[25-27]</sup>。所谓生殖系包裹,就是由相互联系的生殖细胞组成的小簇,其组成细胞是由同步分裂的先祖细胞不完全胞质分裂所形成的。生殖系包裹目前在果蝇中研究得最为透彻。在果蝇卵巢中,每一个包裹都由 16 个包裹细胞组成,外包有单层滤泡上皮细胞。包裹细胞之间有特化的胞间桥相连,称作环管 (ring canal)。在卵子发生期间,包裹中的一个细胞发育成为卵母细胞,而余下的 15 个则都发育为滋养细胞,它们将细胞器、mRNA 和蛋白质运输到卵母细胞中,支持其发育和成熟。到临近卵子发生的最终阶段,这些滋养细胞将把它们大部分的细胞质运输到卵母细胞中,然后退化,此时包裹破裂产生单个成熟的卵母细胞<sup>[28]</sup>。可见包裹中的滋养细胞是通过“自我牺牲”凋亡来实现卵母细胞的发育和成熟的。有实验证据表明, *Dcp-1* 基因 (果蝇的一个 *caspase* 基因) 突变的雌性果蝇,其包裹中的滋养细胞无法将自己的胞质组分运输至卵母细胞,从而无法牺牲它们自己来保证卵母细胞的正常发育,这样就导致了不育<sup>[29]</sup>。

生殖系包裹是一个在进化上相对保守的结构<sup>[25]</sup>。在爪蟾、小鼠的卵巢内也存在着与果蝇相类似的生殖细胞簇,即生殖系包裹,组成这些包裹的各个细胞之间同样相互联系<sup>[26,27]</sup>。据报道,用电镜在家兔、小鼠、大鼠及人的胚胎卵巢内都观察到了减数分裂之前生殖细胞间的胞间桥,类似于果蝇包裹细胞之间的环管<sup>[30]</sup>。小鼠的生殖系包裹仅存于卵子发生早期,即从卵原细胞增殖结束到停滞于第一次减数分裂前期形成原始卵泡之间这一短暂时期。所有的哺乳动物及一些低等无脊椎动物都是如此,而像果蝇这样较高等的无脊椎动物,其包裹将一直维持到卵泡形成之后,绝大部分的包裹细胞都分化为滋养细胞。不过包括小鼠在内的哺乳动物,其生殖系包裹的姐妹细胞之间功能也有分化,都有专门行使滋养功能的生殖细胞。此外,哺乳动物每个生殖系包裹内能有不止一个的卵母细胞存活下来,比如小鼠的包裹中就只有一部分细胞发生凋亡<sup>[27]</sup>。果蝇的包裹破裂是同步发生的,在一个约 30 min 的时段内就可完成;而小鼠的包裹破裂则采取一个逐步的方式,历时几天。包裹在卵泡形成时破裂,那些行使滋养功能的附属生殖细胞全部“自我牺牲”,而这一时期也是胚胎生殖细胞大量丢失的时期。基于这一事实,可以

说,至少在哺乳动物中,这个时期卵母细胞的凋亡是包裹破裂的必然结果<sup>[27]</sup>。

在像果蝇这样包裹细胞分化为滋养细胞的物种中,卵巢生殖系包裹的惟一一个可确定的功能,就是在卵子发生的后期加快卵母细胞的发育。而像小鼠这样的哺乳动物,其行使滋养功能的附属生殖细胞能通过产生激素或第二信使,调控其姐妹卵母细胞中减数分裂的速率或时间校验,并在包裹破裂前,将其特定的细胞内含物,如营养成分、mRNAs 或一些细胞器等,输入到存活下来的姐妹卵母细胞中,以确保其从脱离附属细胞到原始卵泡形成时被前颗粒细胞再次完全包围这一段时期内的存活。包裹细胞之间有方向性的胞质传输的一个明显证据就是供体细胞体积的减小<sup>[27]</sup>。

### 3 线粒体遗传与卵母细胞凋亡的关系

近年来在小鼠中观察到,生殖系包裹破裂之前,线粒体在细胞中的数量和位置都发生了显著的变化<sup>[27]</sup>,生殖细胞中的线粒体数量增加,并且在包裹细胞之间的环管中也发现有线粒体,这些现象极有可能说明此时发生的是线粒体的主动选择,而不是姐妹细胞之间的线粒体的随机分隔。若是前者则可解释雌性生殖系线粒体遗传中的瓶颈现象,即卵子发生过程中只有少量线粒体 DNA 被传递给子代细胞的现象<sup>[31]</sup>。通过比较不同种类动物产生后代的总数量和胚胎卵母细胞丢失的百分率,人们得到了主动选择学说的证据<sup>[32]</sup>。还有一项研究显示,人类受精过程中总是选择带有优质线粒体的卵母细胞<sup>[33]</sup>。这些都意味着雌性生殖系凋亡在保存线粒体基因组方面具有重要的作用。线粒体 DNA 遗传上的瓶颈现象在包裹破裂时就被事先决定了<sup>[31]</sup>,最后成熟卵子中的线粒体大都来自于开始的一小部分线粒体基因组。生殖系包裹能够确保预定形成原始卵泡的卵母细胞通过一个进化上保守的主动过程,获得足够的功能完备的线粒体,其结构也大大增加了线粒体基因组选择系统的效率。功能完备或者有缺陷的线粒体将被主动运输到不同的生殖细胞中去。已知在果蝇的生殖系包裹内,就存在一个有极性的微管网络,来协助这一运输和分选过程的完成。而每个生殖细胞所获得的线粒体的质量将决定这个细胞是生存还是凋亡。可以说,凋亡的基本功能之一就是去除带有劣等或突变线粒体基因组的卵母细胞,从而确保只有优质的线粒体才能被母体遗传给后代。线粒体通过在卵子发生过程中的细胞凋亡来进行自我选择,是一进化上相对古老的机制,这一机制可能就说明了线粒体遗传与卵母细胞凋亡之间的密切关系<sup>[27]</sup>。

## 4 卵母细胞凋亡的分子机理

目前人们对细胞凋亡的分子机理已掌握得比较清楚了,各种不同的调控蛋白,如 caspases、Bcl-2 家族、线粒体释放的促凋亡因子和 Apaf-1 等是如何决定细胞命运,分子框架都已被研究得很透彻,本文不再赘述,仅就雌性生殖细胞凋亡方面稍作补充。

在胚胎性腺中存在着死亡信号(TNF- $\alpha$ 、Fas 配体等)和存活信号(LIF、kit 配体等)。在这些信号的作用下,凋亡主要通过 caspases、Bcl-2 等蛋白质家族的相互作用来实现,敲除这些基因就会改变原始卵泡的储备量<sup>[34]</sup>。Fas 配体与卵母细胞上的 Fas 受体结合,可能激活 caspase-8 前体,因此打开了诱导卵母细胞凋亡的两个途径:一个途径是产生高水平的 caspase-8,直接启动 caspase 效应分子的级联反应;二是激活的 caspase-8 将引起 Bcl-2 家族中促凋亡成员 Bid 的裂解,从而破坏线粒体,使其释放包括细胞色素 C 在内的多种凋亡发生因子,促进凋亡体(包含有 Apaf-1 和 caspase-9 酶原)的形成,最终引发凋亡<sup>[13,35,36]</sup>。一个重要的卵巢内因子——肿瘤坏死因子(TNF- $\alpha$ )也可以通过这种方式刺激卵母细胞凋亡,从而降低卵母细胞和原始卵泡的数量<sup>[37]</sup>。

近来一项新的研究发现,有一种叫芳香烃受体(AHR)的胞质受体,其基因突变可减轻小鼠胚胎的卵母细胞凋亡,这样的小鼠在出生时,其体内原始卵泡的数量是正常小鼠的两倍。这表明 AHR 的基因水平对于胎儿卵巢发育过程中卵母细胞凋亡的数量,起着决定性作用。此外,AHR 对于多环芳香烃[PAHs, 一类在环境(如香烟)中广泛存在、已知会引起胚胎期雌性生殖细胞死亡的化学物质]也是一种很好的受体。培养于含 PAHs 培养物中的鼠胚卵巢,将会有异常多的生殖细胞发生凋亡,但这种凋亡可通过加入 AHR 的拮抗物  $\alpha$ -萘黄酮(ANF)而被阻止。免疫化学试验表明,凋亡开始之前,暴露于 PAHs 的胚胎卵巢生殖细胞中有 Bcl-2 家族促凋亡成员 Bax 蛋白的聚集;相反,与 ANF 共培养则会抑制 Bax 蛋白的表达。可见鼠胚卵巢中的卵母细胞在暴露于 PAHs 后,是通过一个 AHR 依赖的方式增加 Bax 的表达来促发凋亡的<sup>[38]</sup>。

胚胎时期生殖细胞的大量丢失与成体中发生的卵泡闭锁虽然本质上都是细胞凋亡,但它们遵循的却是不同的调控机制。人类胎儿时期,卵泡的去除是通过卵母细胞本身的凋亡机制发生的;而在成体阶段,卵泡的闭锁有两种类型:一是由于包围卵母细胞的颗粒细胞发生凋亡,这是一个由内分泌激素控制的凋亡过程<sup>[39,40]</sup>。比如,促性腺激素可诱导神经元凋亡抑制蛋

白(NAIP)的表达,NAIP 在发育卵泡的颗粒细胞中均有表达,而在那些预定要凋亡的卵泡的颗粒细胞中却没有表达或表达很弱。这说明促性腺激素可能通过诱导 NAIP 表达影响颗粒细胞的存活,从而间接影响卵母细胞的凋亡或存活<sup>[41]</sup>。在这种类型的闭锁中,可观察到颗粒细胞的 DNA 电泳呈典型的凋亡形状分布。卵泡闭锁的另一种类型是源于卵母细胞自身的凋亡,组织型纤溶酶激活因子(tPA)蛋白介导的蛋白水解作用可能参与了卵母细胞的自身瓦解和清除过程。在很多中途发生闭锁的卵泡中,卵母细胞中 tPA 活性很高,而健康卵泡的卵母细胞则 tPA 活性很低<sup>[42]</sup>。tPA 与颗粒细胞中表达的抑制素  $\alpha$  相互作用,可能对卵泡破裂、成熟卵子的释放和未成熟卵子的闭锁均起作用<sup>[43]</sup>。

## 5 推论与展望

在许多较低等的动物中,生物体为了保证其基因的延续,有足够的后代存活下去,通常采取的一个机制就是排放出大量的精子和卵子,同时也就保证了较大数量新生幼体的产生,但这些幼体中只有极少部分能在残酷的生存竞争中存活下来。而越是高等的动物,其保证后代存活率的机制就越是完备,从配子发生、受精、胚胎发育直到幼体的哺育,所有这些进化上的高等之处,都保证了其生殖的成功率能达到最大,这样也就无需产生大量的受精卵来维持种族延续。像人类及其它一些哺乳动物,每次只排放一枚或几枚卵子,而且个体一生中所排卵的总数也很少。较之低等动物新生幼体在自然环境下的生存竞争,哺乳动物将这一竞争过程移到了体内,最终能成功结合的精子和卵子都是经过了重重筛选才得以脱颖而出。雌性哺乳动物一开始产生数量巨大的生殖细胞,但又并非所有的卵母细胞都生来平等,卵母细胞凋亡可看作是遵循一种与达尔文进化论相类似的机制,这就是适者生存<sup>[6]</sup>。这样,在那些每周期为受精只排出单个或数个卵的物种中,通过凋亡对可能劣等的卵母细胞的持续淘汰,使得成功生殖的几率达到最大。

我们已知,人一生下来其卵母细胞的储备量就业已确定。一旦消耗殆尽,卵巢衰老萎缩,就会发生所谓的绝经。因此,女性的生育期限就由出生时所具备的卵母细胞储备量大小,以及出生后卵母细胞从卵巢中丢失的速率所决定了。国外有学者将这一现象称为“女性的生物钟”<sup>[10]</sup>。卵母细胞从卵巢中持续丢失,就好比是时钟的指针在不断前进。卵母细胞储备量与生俱来,无法改变,那么是否能够通过延缓卵母细胞的凋亡,来达到延长女性生育年限的目的呢?近年来,人们

对基因敲除、突变或转基因动物模型的研究表明,通过削弱出生后的生殖细胞死亡速度,从而推迟绝经的构想是有一定的理论及实验基础的,起码目前在小鼠中的研究显示这是可行的<sup>[8]</sup>(尽管雌性小鼠不像人类及某些灵长类动物那样具有真正的绝经<sup>[44]</sup>)。因此,对卵母细胞凋亡机理的研究,为临床上延缓女性生理机能衰老、治疗因异常外因(如化疗、放射等)引起的不育或过早停经等都有着重要的意义,同时也开拓了更加广阔的应用前景。

## 参 考 文 献

- [ 1 ] 汪堃仁,薛绍白,柳惠图主编.细胞生物学(第二版).北京:北京师范大学出版社,1998,517~519.
- [ 2 ] Hengartner M O. Cell death. In: Riddle D L, Blumenthal T, Meyer B J, et al. ed. *C. elegans II*. Cold Spring Harbor: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1997, 383~415.
- [ 3 ] Loredana R, Barbara D, Annamaria L, et al. Role of apoptosis and Fas/FasL system in the oogenesis of the spotted ray *Torpedo marmorata*. *Mol Reprod Dev*, 2003, **66**(1): 54~59.
- [ 4 ] Rucker E B III, Dierissau P, Wagner K U, et al. Bcl-x and Bax regulate mouse primordial germ cell survival and apoptosis during embryogenesis. *Mol Endocrinol*, 2000, **14**: 1 038 ~ 1 052.
- [ 5 ] Pesce M, De Felici M. Apoptosis in mouse primordial germ cells: a study by transmission and scanning electron microscope. *Anat Embryol*, 1994, **189**: 435~440.
- [ 6 ] De Pol A, Vaccina F, Forabosco A, et al. Apoptosis of germ cells during human prenatal oogenesis. *Hum Reprod*, 1997, **12**: 2 235 ~ 2 241.
- [ 7 ] Paster L M, Pallares J, Roca J. Histological characterization and *in situ* localization of apoptosis in the pig follicular atresia. *Ital J Anat Embryol*, 2001, **106**: 257~262.
- [ 8 ] Tilly J L. Commuting the death sentence: how oocytes strive to survive. *Nature*, 2001, **2**: 838~848.
- [ 9 ] Vaskivuo T E, Tapanainen J S. Apoptosis in the human ovary. *Reprod Biomed*, 2003, **6**(1): 24~35.
- [ 10 ] Yutaka M, Tilly J L. Oocyte apoptosis: like sand through an hourglass. *Developmental Biology*, 1999, **213**: 1~17.
- [ 11 ] 张红卫主编.发育生物学.北京:高等教育出版社,2001, 21~29.
- [ 12 ] Faddy M J, Gosden R G, Gougeon A, et al. Accelerated disappearance of ovarian follicles in mid-life: implications for forecasting menopause. *Hum Reprod*, 1992, **7**: 1 342~1 346.
- [ 13 ] Reynaud K, Driancourt M A. Oocyte attrition. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 2000, **163**: 101~108.
- [ 14 ] Ratts V S, Flaws J A, Kolp R, et al. Ablation of bcl-2 gene expression decreases the numbers of oocytes and primordial follicles established in the post-natal female mouse gonad. *Endocrinology*, 1995, **136**: 3 665~3 668.
- [ 15 ] O'Shea J D, Hay M F, Cran D G. Ultrastructural changes in the theca interna during follicular atresia in the sheep. *J Reprod Fertil*, 1978, **54**: 183~187.
- [ 16 ] Monniaux D. Oocyte apoptosis and evolution of ovarian reserve. *Gynecol Obstet Fertil*, 2002, **30**(10): 822~826.
- [ 17 ] Mints B, Russell E S. Gene-induced embryological modification of primordial germ cells in the mouse. *J Exp Zool*, 1957, **134**: 207~230.
- [ 18 ] Morita Y, Maravei D V, Bergeron L, et al. Caspase-2 deficiency rescues female germ cells from death due to cytokine insufficiency but not meiotic defects caused by ataxia telangiectasia-mutated (Atm) gene inactivation. *Cell Death Differ*, 2001, **8**: 614~620.
- [ 19 ] Morita Y, Manganaro T F, Tao X J, et al. Requirement for phosphatidylinositol-3'-kinase in cytokine-mediated germ cell survival during fetal oogenesis in the mouse. *Endocrinology*, 1999, **140**: 941~949.
- [ 20 ] Barlow C, Liyanage M, Moens P B, et al. *Atm* deficiency results in severe meiotic disruption as early as leptotema of prophase I. *Development*, 1998, **125**: 4 007~4 017.
- [ 21 ] Burgoyne P S, Baker T G. Perinatal oocyte loss in XO mice and its implications for the aetiology of gonadal dysgenesis in XO women. *J Reprod Fertil*, 1985, **75**(2): 633~645.
- [ 22 ] Zinn A R, Ross J L. Turner syndrome and haploinsufficiency. *Curr Opin Genet Dev*, 1998, **8**(3): 322~327.
- [ 23 ] Speed R M. The possible role of meiotic pairing anomalies in the atresia of human fetal oocytes. *Hum Genet*, 1988, **78**(3): 260~266.
- [ 24 ] Mittwoch U, Mahadevaiah S K. Unpaired chromosomes at meiosis: cause or effect of gametogenic insufficiency? *Cytogenet Cell Genet*, 1992, **59**(4): 274~279.
- [ 25 ] Pepling M E, de Cuevas M, Spradling A C. Germline cysts: a conserved phase of germ cell development? *Trends in Cell Biology*, 1999, **9**: 257~262.
- [ 26 ] Malgorzata K, Szczepan B, Matthew T, et al. Formation, architecture and polarity of female germline cyst in *Xenopus*. *Developmental Biology*, 2004, **266**(1): 43~61.
- [ 27 ] Pepling M E, Spradling A C. Mouse ovarian germ cell cysts undergo programmed breakdown to form primordial follicles. *Developmental Biology*, 2001, **234**: 339~351.
- [ 28 ] de Cuevas M, Lilly M A, Spradling A C. Germline cyst formation in *Drosophila*. *Annu Rev Genet*, 1997, **31**: 405~428.
- [ 29 ] McCall K, Steller H. Requirement for DCP-1 caspase during *Drosophila* oogenesis. *Science*, 1998, **279**(5 348): 230~234.
- [ 30 ] Gondos B. Intercellular bridges and mammalian germ cell

- differentiation. *Differentiation*, 1973, **1**:177 ~ 182.
- [31] Jenuth J P, Peterson A C, Fu K, *et al.* Random genetic drift in the female germline explains the rapid segregation of mammalian mitochondrial DNA. *Nature Genetics*, 1996, **14**: 146 ~ 150.
- [32] Krakauer D C, Mira A. Mitochondria and germ-cell death. *Nature*, 1999, **400**: 125 ~ 126.
- [33] Perez G I, Trbovich A M, Gosden R G, *et al.* Mitochondria and the death of oocytes. *Nature*, 2000, **403**: 500 ~ 501.
- [34] Driancourt M A, Fair T, Reynaud K. Oocyte apoptosis: when, how, why? *Contracept Fertil Sex*, 1998, **26**: 522 ~ 527.
- [35] Gross A, McDonnell J M, Korsmeyer S J. Bcl-2 family members and the mitochondria in apoptosis. *Genes Dev*, 1999, **13**: 1 899 ~ 1 911.
- [36] Budihardjo L, Oliver H, Lutter M, *et al.* Biochemical pathways of caspase activation during apoptosis. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 1999, **15**: 269 ~ 290.
- [37] Marcinkiewicz J L, Balchak S K, Morrison L J. The involvement of tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF) as an intraovarian regulator of oocyte apoptosis in the neonatal rat. *Front Biosci*, 2002, **7**: 1 997 ~ 2 005.
- [38] Matikainen T M, Moriyama T, Morita Y, *et al.* Ligand activation of the aromatic hydrocarbon receptor transcription factor drives Bax-dependent apoptosis in developing fetal ovarian germ cells. *Endocrinology*, 2002, **143**(2): 615 ~ 620.
- [39] Vaskivuo T E, Anttonen M, Herva R, *et al.* Survival of human ovarian follicles from fetal to adult life: apoptosis, apoptosis-related proteins, and transcription factor GATA-4. *J Clin Endocrinol Metab*, 2001, **86**(7): 3 421 ~ 3 429.
- [40] Markstrom E, Svensson Ech, Shao R, *et al.* Survival factors regulating ovarian apoptosis—dependence on follicle differentiation. *Reproduction*, 2002, **123**(1): 23 ~ 30.
- [41] Motsumoto K, Nakayama T, Sakai H, *et al.* Neuronal apoptosis inhibitory protein (NAIP) may enhance the survival of granulosa cells thus indirectly affecting oocyte survival. *Mol Reprod Dev*, 1999, **54**(2): 103 ~ 111.
- [42] 严军丽, 冯强, 柳海珍等. 卵泡闭锁与其 tPA, LH 受体及抑制素  $\alpha$ ,  $\beta_A$  亚基因表达的关系. *中国科学 C 辑*, 1999, **29**(6): 592 ~ 599.
- [43] 金萱, 刘以训. 卵泡生长、分化和闭锁的调控. *科学通报*, 2003, **48**(14): 1 506 ~ 1 510.
- [44] Gosden R G, Laing S C, Felicio L S, *et al.* Imminent oocyte exhaustion and reduced follicular recruitment mark the transition to acyclicity in aging C57BL/6J mice. *Biol Reprod*, 1983, **28**: 255 ~ 260.