

控制性卵巢刺激的相关问题专题讨论

卵泡发生与发育的调控	乔竞谊,徐轲,孙青原
卵巢储备功能的评估与控制性卵巢刺激方案的选择	廖漪欣,全松
如何做到个体化控制性卵巢刺激	张少娣,张翠莲
控制性卵巢刺激方案中扳机与取卵时机	黄孙兴,徐艳文
控制性卵巢刺激方案中卵子与胚胎质量的评估	韩树标,黄国宁
控制性卵巢刺激对子宫内膜容受性的影响	马俊颖,官文征,王秀霞
控制性卵巢刺激与凝血功能	郭艺红,孙莹璞
控制性卵巢刺激与妇科肿瘤发生	周建军,孙海翔

文章编号:1003-6946(2019)05- -

卵泡发生与发育的调控

乔竞谊,徐轲,孙青原

(中国科学院动物研究所,北京 100101)

请仔细核对作者,单位及通讯作者名!

中图分类号:

文献标志码:

雌性生殖细胞(卵母细胞)中所含有的遗传信息在受精时全部转移给后代个体,而卵巢是所有卵母细胞的“储存库”。卵泡特殊的微环境,可保护卵母细胞,直到他们被选择而开始生长和发生排卵,这一过程在女性中可长达 50 年。出生时卵巢中所含的卵母细胞数量是一生之中最多的,人们把由原始卵泡所构成的卵泡池称作卵巢储备。原始的卵泡池或卵巢储备随年龄的增长而减小,其原因有二:大部分的原始卵泡,一则通过闭锁而亡,二则被选择继续生长并进入生长卵泡池,但随后大部分闭锁,仅有少部分卵泡被选择发生排卵。出生阶段卵巢中所含的卵母细胞数量及其减少的快慢决定了其育龄期的长短。初始的卵泡池一旦形成后,目前尚无有力的证据支持在生理环境下,新生个体或成年个体还会再生成新的卵母细胞。

1 卵泡的发育

卵泡是卵巢的基本功能单位。成体卵巢中有处于不同发育阶段的卵泡,大多数是体积非常小的原始卵泡,直径只有 50 μm 左右。原始卵泡是由卵母细胞和包围在其周围的一层扁平状的颗粒细胞构成的,约 15 个颗粒细胞环绕在卵母细胞周围,其外侧以基膜为界。原始卵泡位于卵巢皮质的边缘。每日均有少数

卵泡起始生长,但对导致卵泡初始募集而进入生长期的机制了解很少。

这些原始卵泡发育形成直径约 100 μm 的初级卵泡,这是卵母细胞体积略微增加以及颗粒层生长的结果。虽然初级卵泡的颗粒层仍是单细胞层,但颗粒细胞形状变为立方形。在该阶段卵母细胞和颗粒细胞之间开始形成透明带。随着卵泡继续生长,颗粒细胞经历有丝分裂,在卵母细胞周围形成多层颗粒细胞,转化为次级卵泡。次级卵泡的颗粒层变为 2~6 层细胞。在该阶段来自周围基质的成纤维细胞样前体细胞被募集到外围层,即卵泡膜中。血管侵入卵泡膜层,将血液中的营养成分和其他物质输送到卵泡,而颗粒层是完全无血管分布的。卵泡在这个阶段的生长是相对缓慢,将持续约四个月。

一些次级卵泡没有发生闭锁而继续发育 2~3 月到达更高级阶段,成为三级卵泡(直径约 200 μm)。首先,颗粒细胞分泌的液体在细胞间积聚,然后这些充满液体的腔隙合并,形成卵泡腔,其中的液体称为卵泡液。卵泡壁具有一定可渗透性,卵泡膜血管血浆中约 80% 的蛋白质能从血管通过卵泡壁扩散到卵泡腔中。卵泡液含有类固醇和蛋白质类激素、抗凝血剂、酶和电解质(带有正电荷或负电荷的离子)。

三级卵泡具有多层颗粒细胞,卵泡膜分化出卵泡膜内膜和外膜:内膜有参与激素生成的腺细胞并许多小血管,外膜含致密的结缔组织和较大的血管。卵母细胞及其周围的颗粒细胞,形成卵丘,向卵泡腔隆起突入。在排卵时,由靠近卵母细胞的卵丘细胞组成的放射冠会留在卵母细胞周围,并将伴随卵母细胞一起进入输卵管。

在大约三个月经周期(约三个月)中,三级卵泡持

续生长,并可根据卵泡大小和发育阶段进一步细分。早期三级卵泡已开始积聚卵泡液,但多个腔隙尚未合并成单个卵泡腔。在此阶段,卵泡的直径从小于 1 mm 增长到 5 mm。晚期三级卵泡具有单个卵泡腔,并继续扩大至直径 10~14 mm。而体积较大的三级卵泡也被称为格拉夫卵泡,直径 15~25 mm,卵泡膜血管密集。在每个月经周期中,这种大卵泡中仅有一个将被优势化“选择”发育为成熟卵泡。这种排卵前卵泡体积很大,以致于其排卵前在卵巢表面形成泡状突出。当一个卵泡以竞争方式成为优势卵泡,大卵泡会抑制卵泡群中其余卵泡的生长发育,而使之“从属化”,从属三级卵泡的生长速度将会变慢,随后发生闭锁而凋亡退化。

在卵泡发育早期,颗粒细胞将细胞质桥延伸至卵母细胞,这两种细胞之间形成间隙连接,能够使细胞间化学分子进行双向信号传递,一方面卵母细胞分泌的生长因子可以促进相应的卵丘细胞和壁层颗粒细胞增殖;另一方面颗粒细胞也向卵母细胞输送其生长所需的信息和营养物质。相邻的颗粒细胞之间也存在类似的连接。在促性腺激素峰的作用下,排卵前成熟卵泡中卵母细胞与周围的卵丘细胞之间联系终止,卵母细胞恢复并完成第一次减数分裂后排卵。

2 卵泡闭锁

每个卵巢都含有很多卵泡,但卵泡的数量在女性不同生命阶段会发生变化。在妊娠中期的胎儿卵泡数量达到顶峰,约有 700 万,然后随胎儿发育,数量开始下降,卵泡的减少持续到围绝经期。出生时女婴的两个卵巢中都含有约 100 万卵泡,因为出生后没有新的卵泡形成(尽管最近有证据质疑这一观点),这也是一生拥有的所有卵泡。事实上,在接下来的 50 余年,卵泡数量将持续下降。青春期时只有约 20 万个卵泡,35 岁时有不到 10 万个卵泡,而围绝经期时卵泡供应将濒临耗竭,绝经期开始时仅剩余约 1000 个。一般情况下女性每月排出 1 个卵母细胞,一生中约有 400~500 个卵泡排卵,而绝大多数卵泡(99.9%)发生闭锁而退化死亡,这种细胞死亡实际上是细胞凋亡或程序性细胞死亡。卵泡的闭锁可能发生在卵泡生长的任何阶段,是卵泡最为常见的命运归宿。

3 卵泡发育的激素调控

卵泡发育和类固醇激素分泌受两种垂体促性腺激素的控制:卵泡刺激素(FSH)和黄体生成素(LH)。诱导原始卵泡初始募集而启动生长发育的刺激因素尚不清楚,是目前研究的关注点。卵巢储备中被激活的原始卵泡,是什么位置和性质决定其被选择的呢?这是目前尚不清楚的问题。卵巢自身可能以局部旁

分泌因子(如生长因子)的形式产生刺激信号,目前已发现原始卵泡颗粒细胞和卵母细胞的某些信号分子变化可导致初始募集。例如在小鼠的研究中显示,PI3K/PTEN-Akt-FOXO3 可级联控制与原始卵泡激活,但什么因素导致这些变化还了解不多。到底是什么途径引起了部分卵泡的激活,而其他卵泡不激活呢?提出了“生产线”假说,以解释卵泡激活的差异性选择。该理论认为,在卵巢储备建立之时,第一批进入减数分裂前期的那些卵母细胞,就是最先被激活并随后发生排卵的卵母细胞。有人认为,卵巢微环境中产生的生长因子是卵泡激活的关键调控因子,当某一原始卵泡附近存在其他的原始卵泡时,则该原始卵泡不大可能生长,表明了原始卵泡与生长卵泡一样,也能分泌某些可扩散的因子,从而抑制临近的原始卵泡的激活。也有人认为,在卵巢储备建立后,可能存在两个原始卵泡池,位于卵巢髓质区中央的卵泡将最先激活。原始卵泡激活的数量与年龄有关,对于围绝经期平均年龄为 49 岁的女性来说,在她们 14 岁时,每月至多有 900 个原始卵泡发生募集,而在 40 岁时,每月便只募集 100 个原始卵泡。

通常认为在腔前卵泡的早期以及从腔前卵泡到早期有腔卵泡转变的期间,卵泡的发育可以不依赖于卵泡外部的促性腺激素。在小鼠的研究中,当遗传性缺失促性腺激素时,卵巢中存在早期发育阶段的卵泡;若是敲除了 β -FSH 或 FSH 受体(FSHR)基因,卵泡的发育将停滞于腔前卵泡阶段;当敲除了 LH 受体(LHR)后,会停滞于有腔卵泡阶段。尽管卵泡向有腔阶段的发育与促性腺激素无关,但有证据表明,FSH 和 LH 在促性腺激素非依赖性阶段对卵泡发育是具有一定益处:在早期的腔前卵泡中,FSHR 出现在颗粒细胞表面,从而推断 FSH 发挥了某些直接的功能,基础水平的 FSH 可通过刺激颗粒细胞的分裂,促进初级和次级卵泡的生长。也有报道,LHR 表达于腔前卵泡和有腔卵泡中的膜细胞表面,LH 能够在 FSH 存在的条件下促进卵母细胞发育。

在有腔卵泡发育阶段,随着 FSH 浓度升高,有一群能够应答促性腺激素的卵泡最先出现,形成促性腺激素依赖性卵泡池,三级卵泡的快速生长是 FSH 依赖性的。直径 2~5 mm 的一群有腔卵泡,在促性腺激素尤其是 FSH 作用下,卵泡体细胞增殖,卵泡继续发育。黄体期末,FSH 水平升高。从理论上讲,每个有腔生长卵泡都可以接受 FSH 作用而完成成熟。实际上,FSH 水平达到阈值后,仅有那些发育晚期的有腔生长卵泡对 FSH 发生反应而继续生长。这就是 FSH 依赖性卵泡周期募集(cyclic recruitment)。高龄妇女在黄体期晚期 FSH 水平提前升高,导致周期募集提前发

生,月经周期时间缩短。FSH 还可以通过诱导产生芳香化酶(一种能将睾酮转化为雌激素的酶)来刺激三级卵泡的颗粒细胞合成雌激素。雌二醇促进颗粒细胞增殖,从而促进卵泡生长。体循环中雌二醇和抑制素的水平持续上升,负反馈作用于垂体,降低 FSH 产生,从而使 FSH 对于生长卵泡池的作用逐渐减小;另一方面,逐渐增多的雌二醇,可作用于下丘脑,使得 GnRH 的分泌增多,还可作用于垂体,使得垂体对 GnRH 的敏感性增强,从而形成排卵所需的 LH 峰。因此,雌二醇对于促性腺激素分泌量的直接调节具有很多关键作用,在卵泡发育后期它通过负反馈作用抑制 FSH 分泌,而在卵泡发育的最后阶段,转变为正反馈机制,发挥促进作用,提高 FSH 水平。

卵泡膜细胞有 LHR, LH 促进晚期二级和三级卵泡中雄烯二酮的产生。在大的生长卵泡中,卵泡膜细胞和颗粒细胞分别依赖于 LH 和 FSH 来产生类固醇。随着三级卵泡的生长,它们释放出更多的类固醇激素。事实上,在女性血液循环中的大部分雌激素是由处于优势的单个三级卵泡产生的。然而,就在排卵前,卵巢的激素合成发生了变化。此时,优势卵泡的颗粒细胞产生 LHR, LH 使这些颗粒细胞合成一组新的甾体酶,催化黄体酮的分泌,这种转变称为黄体化。

4 卵母细胞成熟和排卵

在人体月经周期中,在排卵前两个卵巢中形成约 20 个大的三级卵泡。然而,在这些卵泡中,通常只有一侧卵巢中的一个卵泡将发生排卵。剩余的三级卵泡将闭锁,导致这种闭锁的原因尚不清楚。但有一种理论认为,发生排卵的卵泡,是能获得最多 FSH 来刺激其生长的卵泡;与其他竞争的卵泡相比,它可能体积略大,血管更丰富,颗粒细胞和 FSHR 也更多。同时,优势卵泡分泌的雌激素通过负反馈调节,抑制垂体分泌 FSH,这使其他三级卵泡缺少 FSH,导致了其退化。而优势卵泡 LHR 和 FSHR 的高表达,使得优势卵泡对促性腺激素的敏感性增加,在 FSH 刺激减少的情况下得以存活。而辅助生殖临床超数排卵就是通过持续补充外源性 FSH,使这一批大的周期募集的三级卵泡都发育为成熟卵泡。最近有人提出了一个新的卵泡募集模式的观点:即在一个月经周期中,可出两个或两个以上的卵泡波,分为主卵泡波和次卵泡波,这可能对卵巢刺激低反应患者具有重要临床意义,例如对这样的患者可在卵泡期和黄体期两次取卵。

在讨论排卵过程之前,我们回顾卵子发生过程。出生时,女婴的卵巢中原始卵泡内的初级卵母细胞,阻滞在第一次减数分裂前期。在月经周期中,每月只有一个卵泡会发育成大的格拉夫卵泡。排卵前,来自腺垂体的 LH 分泌量激增, LH 作用于卵泡细胞,激发

卵母细胞恢复并完成第一次减数分裂,产生一个较大的次级卵母细胞和较小的第一极体。第一极体可能会再次分裂或保持不变,但无论如何,它均将退化。次级卵母细胞再次阻滞在第二次减数分裂中期,直到精子穿透卵子时,第二次减数分裂才会完成,这一过程发生在输卵管中。

在人类月经周期中 LH 激增开始后约 9~12 小时,发生第一次减数分裂恢复,即生发泡破裂(GVBD)。关于 LH 峰刺激第一次减数分裂的机制,已在人类和其他哺乳动物上进行了大量研究。由于卵母细胞缺乏 LHR,刺激恢复减数分裂的信号必然从颗粒细胞而来,并以某种方式传递给卵母细胞。卵母细胞可能会产生重新启动卵母细胞减数分裂的活跃信号,或者会关闭减数分裂抑制信号的产生。卵泡微环境抑制卵母细胞减数分裂恢复的观点,得到了以下观察结果的支持:从卵泡中取出的卵母细胞会自发地重新开始减数分裂。减数分裂抑制信号可能是细胞内信使分子——环磷酸腺苷(cAMP)。维持减数分裂阻滞,需要在卵母细胞细胞质中 cAMP 达到一定的阈值水平。因此,高水平 cAMP 可抑制减数分裂,使卵母细胞长期停滞在第一次减数分裂。然而,卵母细胞自身合成 cAMP 的能力非常有限,卵母细胞中 cAMP 的主要来源可能是在颗粒细胞中合成,并通过颗粒细胞-卵母细胞间隙连接,转运到卵母细胞。此外,颗粒细胞中产生的环磷酸鸟苷(cGMP)也通过间隙链接进入卵母细胞,参与维持高水平的 cAMP。LH 峰作用的结果之一是这种间隙连接丢失,中断 cAMP 和 cGMP 向卵母细胞的转运,激活成熟促进因子(MPF),引起 GVBD 发生。

成熟卵母细胞如何从卵泡中“逃脱”出来的?通常认为,在排卵前,卵泡表面会出现一个小的苍白(无血管)区域——排卵柱头。在该区域中,卵巢表面上皮和卵泡膜层变得更薄且疏松,卵泡壁的弹性强度的降低。此外,颗粒层在这一区域退化。这种在排卵柱头上出现的卵泡壁变薄和稳定性减弱,可能是由在雌激素诱导下柱头区结缔组织细胞中酶(胶原酶)产物的刺激引起的。结缔组织破坏后的分解产物,通过这一区域中的白细胞迁移和前列腺素(PG)分泌,诱发炎症反应,而 PG 可能通过收缩血管和减少退化组织的血液供应来促进排卵。在卵泡壁变薄后,卵泡腔内的压力导致柱头形成“锥形”,进而破裂。在卵泡壁中发现了具有收缩性的平滑肌样细胞,但尚不清楚它们在排卵中的作用。卵母细胞,从颗粒层上分离出来后,与其卵丘一同在卵泡液中游离,然后随着从卵泡壁的破裂口渗出的卵泡液一同排出,发生了排卵。

(收稿日期:2019-02-03)