

促性腺激素与动情家兔卵巢中卵子成熟分裂的关系

吴丛愿 池芝盛

(首都医院内分泌科)

各种动物在配子形成过程中、性细胞成熟时,均有成熟分裂发生。人工授精的研究表明,卵子必须在完成第一次成熟分裂之后方能受精。因此,成熟分裂的机制确是生殖生理学中一个值得加以深入研究的课题。虽然早在20世纪五十年代,莫里卡德和池氏(Moricard and Chi)¹⁾曾对促性腺激素与卵子第一次成熟分裂的关系进行了研究,但此问题至今仍然悬而未决,因而有进一步加以探讨的必要。

我们在本研究中,用组织学的方法,系统地观察了动情雌兔于交配后以及静脉或卵泡内注射各种促性腺激素后,卵巢中卵子核的分裂相以及卵泡细胞和卵子中高尔基物质的动态改变,试图了解,促性腺激素对卵子第一次成熟分裂是否有刺激作用及其可能的机制,同时顺便观察卵泡内注入微量促黄体生成激素(LH)能否诱发排卵。

一、材料和方法

(一) 动物分组及实验处理

43只分笼饲养3周以上、未生育过的青紫蓝杂种动情雌兔(体重2—2.8公斤),其中4只作为对照,6只与有生育力的雄兔交配,余33只分别于卵泡或静脉内注射各种促性腺激素及其他物质,以观察和比较交配及各种促性腺激素与卵子第一次成熟分裂的关系。

(二) 注射物质的来源及注射液的制备

本实验所用的LH、促卵泡成熟激素(FSH)和孕马血清促性腺激素(PMS)系瑞典(Ferring AB, Malmö)出品的,人绒毛膜促性腺激素(HCG)为法国(巴黎 Roussel)出品的,而糖蛋白及白蛋白则系从公牛血清中提取的。

上述各种物质分别于临用前制成不同浓度的生理盐水溶液,以供注射用。静脉及卵泡内的注射量分别为1毫升和0.2微升。

(三) 卵泡内注射法

先将动物用乙醚麻醉,在左侧腹壁作长约4厘米的切口,暴露卵巢,选2—5个大而透亮的卵泡,将0.2微升注射液经由自制的微量注射装置注入卵泡内,缝合切口。整个手术约需30分钟,在手术过程中尽量保持卵巢在生理状态。右侧卵巢留作对照。手术后对动物细心加以护理。

(四) 取材及染色方法

于预定的时间,耳静脉注入空气将动物处死,取出两侧卵巢,如果是行卵泡内注射的,应在注射卵泡的表面涂上一薄层墨汁借以辨认。为了观察卵子核的状态及卵泡高尔基物质的形态,将交配后、静脉注射及正常组左右两侧卵巢分别进行胭脂红染色和银浸染(Da Fano-Cajal法 麦兆煌)²⁾,而卵泡内注射的则将注射侧及对侧同时进行胭脂红染色或银浸染。用石蜡包埋,作10(胭脂红染色的)或5(银浸染的)微米(μ)厚的连续切片。按常规处理,经香胶封固后进行镜下观察,并用校准的目微尺分别测量成熟卵泡(包括卵泡膜)及其卵子的大小。

二、结 果

在胭脂红染色的切片上观察到,未经任何处理的正常动情雌兔(对照组),直径在700 μ 以

1) Moricard R and Chi CS 1951 *CR. Soc. Biol.* 145: 40.

2) 麦兆煌 1963 病理组织标本制作技术第163页 人民卫生出版社。

上的正常成熟卵泡中的卵子,核膜完整,核仁清晰可见(图1,见封2,下同)。

卵泡内注射0.2国际单位(IU)或静脉注射45IU的LH后2、4、6和8小时,直径700 μ 以上的正常成熟卵泡中卵子核的改变,与交配后相应时间的相似。于2小时,卵子核膜较为模糊;4小时,卵子的核膜及核仁均已消失,染色体呈中期I的排列;6小时,第一次成熟分裂有的已进展到后期,有的介于中期I和后期I之间;8小时,卵子均有第一极体形成(图2)。

静脉注射45IU的HCG、PMS或者卵泡内注射0.01和0.2IU的HCG、0.2IU的PMS以及0.05IU的LH后8小时,直径在700 μ 以上的正常卵泡,其卵子也有第一极体形成。而卵泡内注射0.2IU或静脉注射45IU的FSH后8小时,在45个同样大小的正常卵泡中,其卵子第一次成熟分裂大多数(41个)只进展到中期或后期,只有极少数(4个)有第一极体形成。未经任何处理的动情雌兔,卵泡内注射非促性腺激素物质(0.2微升生理盐水或8微克糖蛋白,5微克白蛋白)及卵泡内注射促性腺激素的对侧卵巢,其正常成熟卵泡中的卵子,核膜完整,核仁清楚,从未见到有第一极体或纺垂体I形成(图3)。

在银浸染的切片上观察到,正常成熟卵泡颗粒细胞中的高尔基物质主要集中在核的一侧,而胞浆其他部分则很少(图4)。正常成熟卵泡卵子胞浆中的高尔基物质也有一定的排列形式,在胞浆的周围,有许多较大的嗜银颗粒聚集成堆并围绕透明膜内侧作环形分布(简称POGZ);在胞浆的中央,有许多较小的嗜银颗粒聚集成堆,称为第二Balbiani体(简称B₂)。

交配及静脉注射45IU的LH后2、4、6和8小时,与卵子第一次成熟分裂动态改变的同时,正常成熟卵泡中高尔基物质的形态也有相应的明显改变。颗粒细胞中的高尔基物质逐渐增多,放射冠细胞中高尔基物质的线条状分化及其树根状分布越来越明显,透明膜上的嗜银颗粒和细纹也随着时间的推移而增加。卵子胞浆中POGZ及B₂嗜银颗粒的排列,于处理后2

小时开始松散;4小时,已看不到POGZ和B₂,嗜银颗粒在卵子胞浆中均匀布散,使胞浆显得暗淡;至8小时,卵子胞浆中均匀散布的嗜银颗粒更为丰富,使整个胞浆显得极为暗黑(图5)。

卵泡内注入0.2IU的LH后2、4、6和8小时,高尔基物质的改变基本上与交配及静脉注射LH后相应时间的类似,但改变的程度更为明显。而注射侧及对侧卵巢未注射LH的正常成熟卵泡中,其高尔基物质的形态未见有任何明显的改变。卵泡内注入生理盐水或非促性腺激素物质的正常成熟卵泡,其高尔基物质亦未见有任何改变。

静脉及卵泡内注射HCG、PMS或FSH后8小时,直径在700 μ 以上的正常卵泡中的高尔基物质,亦出现类似于交配或注射LH后8小时的改变,但注射FSH的,改变较不显著。

此外,我们还观察到动情雌兔于交配或耳静脉注射45IU的LH后24小时,卵巢中均有卵泡破裂并形成黄体。6个卵泡内注射LH0.2IU的卵泡,于注射后24小时,3个卵泡的卵子业已排出,内膜及颗粒细胞呈黄体化的改变,颗粒细胞层中可见有血管生长;余3个卵泡未有排卵,内膜及颗粒细胞亦出现明显的黄体化改变,卵子的第一极体及胞浆中的染色体碎裂并散开(图6)。

三、小结和讨论

我们在本研究中观察到:

(一)动情雌兔于交配、卵泡内或静脉注射LH后2、4、6和8小时,正常成熟卵泡中的卵子出现典型的成熟分裂的动态改变,至8小时,均有第一极体形成。静脉或卵泡内注射FSH、HCG或PMS后8小时,正常成熟卵泡中的卵子也有第一极体形成,但注射FSH的,第一极体形成的百分率较低(8%)。

(二)与卵子第一次成熟分裂动态改变的同时,其颗粒细胞及卵子中高尔基物质的数量及分化程度也有相应的改变。两者不仅在时间上是相呼应的,而且在数量上也有一定的关系,高尔基物质的改变越显著者,第一极体也越易

于形成。

(三) 未经任何处理的动情雌兔的卵巢、卵泡内注射非促性腺激素物质后 8 小时及卵泡内注射促性腺激素后 8 小时对侧卵巢中的正常成熟卵泡, 卵子核膜完整、核仁清楚, 从未见到有第一极体形成, 高尔基物质亦无任何明显的改变。

在另一项研究中我们还观察到, 动情雌兔于交配后 1 小时, 垂体释放出大量 LH, 使循环血中 LH 的水平明显升高; 8 小时, 正常成熟卵泡中的卵子有第一极体形成, 高尔基物质的改变也很明显。如果在交配前口服醋酸氯脱氢孕酮, 由于抑制交配后垂体 LH 的冲击性释放, 交配后 1 小时循环血中 LH 不升高; 8 小时, 正常成熟卵泡中的高尔基物质及卵子核的分裂相均未见有明显的改变¹⁾。

上述结果表明: 1. 正常成熟卵泡中一定浓度的促性腺激素, 与卵子第一次成熟分裂有密切的关系。2. 在诱发第一极体形成方面, LH

可能比 FSH 更有效。3. 卵泡中高尔基物质的改变, 对卵子第一次成熟分裂可能有重要的意义。

初步推想, 动情雌兔于交配后, 血中 LH 的含量迅速升高, 很快引起卵泡液中 LH 浓度升高, 继而出现许多生化改变, 如环磷酸腺苷 (cAMP) 和前列腺素 E₂ 的升高 (McNatty; Thorneycroft 等)^{2), 3)} 及催乳素的下降 (Linder 等)⁴⁾, 并诱发颗粒细胞和卵子中高尔基物质出现前述的改变。此改变可能有利于卵子与颗粒细胞及卵泡液之间进行物质交换, 使卵细胞内的代谢过程出现新的平衡, 从而诱发卵子形成第一极体并获得必要的物质储备。但其确切机制, 尚有待进一步研究方能阐明。

- 1) 吴从愿、池芝盛 1980 动物学杂志 4: 7。
- 2) McNatty KP, et al., 1975 *J. Endocrinol.* 64: 555.
- 3) Thorneycroft IH, et al., 1974 *J. Clin. Endocr. Metab.* 39: 754.
- 4) Linder HR, et al., 1974 *Recent Progr. Horm. Res* 30: 79.

《促性腺激素与动情家兔卵巢中卵子成熟分裂的关系》一文之附图 (正文见 18 页)

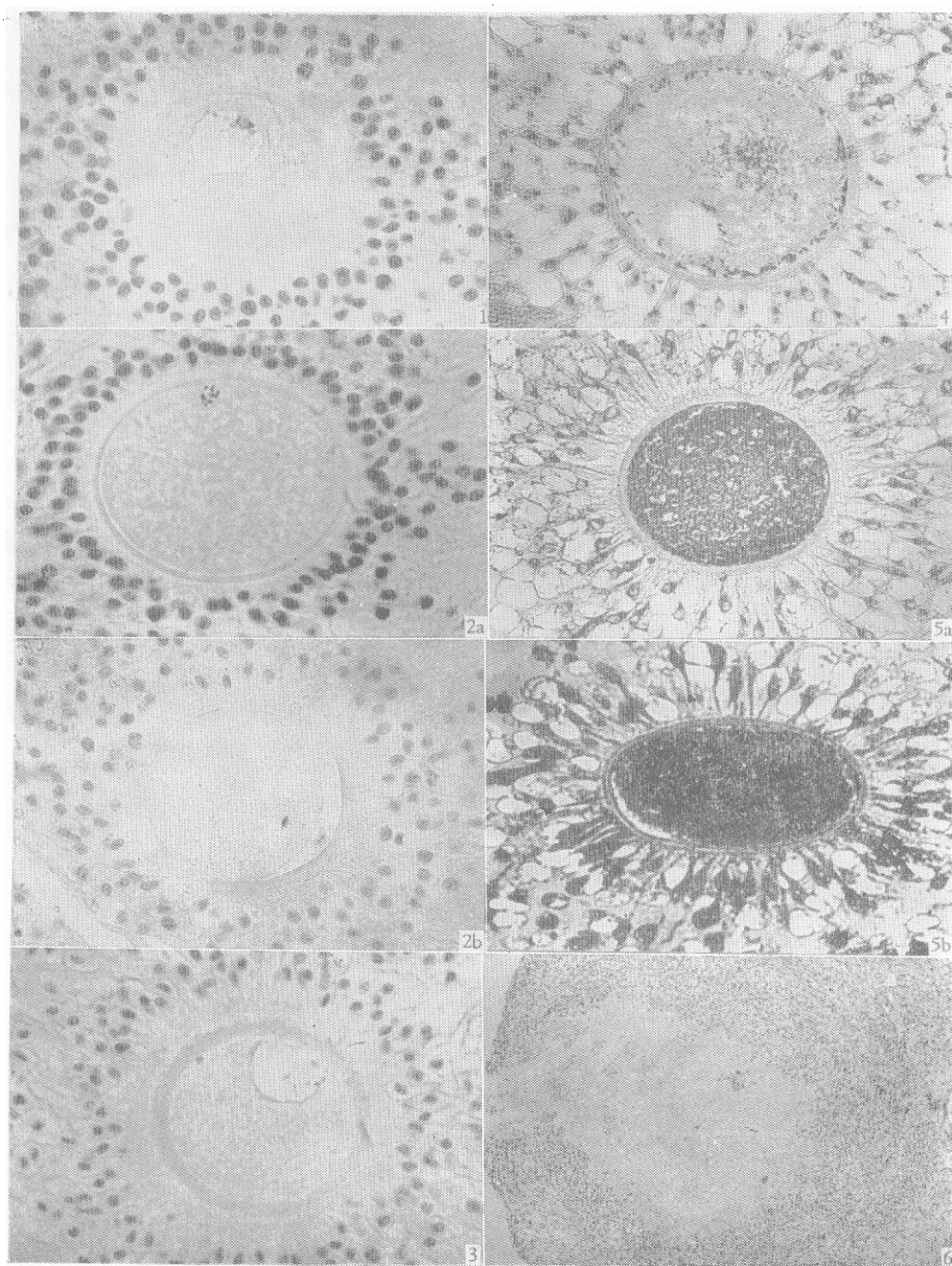


图1 正常成熟卵中的卵子。胭脂红染色， $\times 400$ 。(71027—25)。

图2 卵泡或静脉内注射 LH 后，卵子第一次成熟分裂过程，与交配后相应时间相似。胭脂红染色， $\times 400$ 。

a. 4 小时，核膜消失，染色体呈中期 I 的排列。(71027—13)。

b. 8 小时，形成第一极体 (69765—7)。

图3 卵泡内注射促性腺激素后 8 小时，对侧卵巢的正常成熟卵泡中的卵子核膜完整 (71027—23)。

图4 正常成熟卵泡中的高尔基物质，POG2 和 B₂ 的结构。银浸染， $\times 350$ 。(69765—8)。

图5 卵泡或静脉内注射 LH 后，正常成熟卵泡中高尔基物质的改变与交配后相应时间的类似。银浸染， $\times 350$ 。

a. 4 小时 (69765—14)。

b. 8 小时 (69765—17)。

图6 卵泡内注射 LH 后 24 小时，卵子业已排出，残留的内膜及颗粒细胞变为黄体细胞，并有血管长入其中。胭脂红染色， $\times 70$ 。(70353—4)。