

禽类卵泡生殖内分泌机能及其调控*

刘 林

(江西农业大学兽医系动物生理生化室)

雌禽只有左侧卵巢和输卵管，而右侧卵巢和输卵管在胚胎发育过程中已逐步退化，在生殖功能上也出现了与哺乳动物不同的特征。近年来随着研究的不断深入，发现禽类卵巢卵泡内分泌有许多不同于哺乳动物的活动规律。本文主要以鸡卵泡内分泌活动方面的研究进展，对禽类卵泡在生殖内分泌活动中的作用进行探讨性的概述，并与哺乳动物作一简单比较。

一、卵泡发育过程中的形态学变化

雌禽卵巢位于身体左侧，左肾的前方，通过卵巢系膜韧带悬于腹腔的背壁上，外观象一串葡萄，含有发育不同阶段的许多卵泡。性成熟后，排卵周期中的卵巢体积非常大，卵巢皮质常含有4—6个伸向腹腔的体积依次递减的大型卵泡(分别用 F_1 、 F_2 、 F_3 、……表示)和无数小卵泡，前者最大直径可达40 mm，呈黄色；后者

直径约为1—2 mm，呈珠白色。

未成熟卵泡 包括初级卵泡和次级卵泡。初级卵泡中央为卵母细胞，外面为一层立方形细胞和基膜。当中央卵细胞储积的卵黄不断增多时，卵泡体积增大，颗粒层细胞开始增殖，基膜外结缔组织逐渐形成卵泡膜，这时就成了次级卵泡。

成熟卵泡 Nalbandov^[16] 指出鸟类卵泡可能是高等脊椎动物中生长最快的结构。小卵泡在几天内可增长150—200倍，很快从未成熟卵泡变为成熟卵泡。成熟卵泡一般组织学结构由内向外有下列几层：初级卵母细胞、卵黄膜和放射带、卵黄膜周围层、颗粒细胞层、基膜、卵泡膜内层、卵泡膜外层、结缔组织层及生殖上皮。电镜下，颗粒层细胞具有一个明显的核以及线

* 本文承蒙向者教授审阅并作了部分修改；陈鹭江、张建安副教授提出宝贵意见。特表感谢！

粒体、浓密的颗粒、脂滴和内质网等其它一些亚细胞器。卵泡膜内层由内膜腺细胞、成纤维细胞和一些胶原纤维组成，内膜腺细胞（简称膜细胞）呈多边形，具有球形细胞核和清亮而多空泡的细胞质。它与卵巢基质中的卵泡外腺细胞极为相似。卵泡膜内层细胞之间普遍存在小间隙，由一些细胞分泌的脂类小滴形成^[26]。

萎缩卵泡 大多数次级卵泡不能发育为成熟卵泡而萎缩，卵泡壁破裂，卵黄被吞噬、清除，卵泡膜内层可能转变成基质中的卵泡外腺细胞，分泌极少量的雌激素。

二、排卵周期中卵泡类固醇激素和前列腺素的分泌活动

排卵后卵泡（POF）的分泌功能 禽类没有真正的黄体，POF在一星期内退化。在POF存在的最初1至2天内有生理功能。如移去POF会干扰下一个卵泡排卵，影响有关抱窝行为。POF有丰富的神经分布，但在控制抱窝方面，神经机制并无作用。注射POF混悬液会影响鸡产卵。70年代中期就有人报道了POF中孕酮和雌激素的含量。Armstrong等^[27]用组织化学和生物化学方法已证明POF的颗粒细胞和膜细胞中存在 $\Delta^2-3\beta$ -羟类固醇脱氢酶（ 3β -HSD）。该酶是性腺组织类固醇生成的好指标。它存在于内质网中，是催化孕烯醇酮转变成孕酮、脱氢表雄酮转变成雄烯二酮的关键酶。Dick等^[28]发现在排卵后27小时内的不同时间，POF的颗粒层和膜层中孕酮和雌激素含量发生变化。因而可认为在禽类新排卵后卵泡是性激素的来源之一。

Huang和Nalbandov^[29]将鸡POF颗粒细胞和膜细胞取出在体外培养，结果它们均能分泌孕酮和少量睾酮，且颗粒细胞分泌更为突出，但未测出雌激素。体外培养的颗粒细胞能生成大量孕酮，这并不是由于细胞的黄体化，因为禽类排卵后卵泡不发生黄体化。且在显微镜下观察到，这些细胞培养前和培养一段时间后形态结构相似。显然，至少在鸡中，颗粒细胞中孕酮的合成早在排卵前就发生了，排卵后一定

时间内仍保持其分泌功能，而与黄体化无关。

还发现POF中存在前列腺素（PGS），它可能参与产卵的调控。PGS可引起鸡卵泡早熟排卵。Day和Nalbandov^[30]报道在产卵前1—2小时，鸡POF中PGS水平增高100倍。有人认为，孕酮的下降、雌激素的升高通过某种方式引起POF中PGS生成增多。这种机制在母羊中已得到证实。然而，Tanaka从鸡POF中得到一种可引起早熟排卵的因子，既不是PGS又不是类固醇激素，且与它们之间毫无联系。尽管目前对于POF的分泌活动了解不多，可以认为POF虽然在形态上不变成黄体，但仍具有黄体样功能，即是一个活跃的内分泌组织。

哺乳动物排卵后卵泡发生一系列剧烈变化，其颗粒细胞或泡膜细胞转变为黄体细胞的过程称为卵泡黄体化。黄体化结果在卵巢皮质内形成真正内分泌腺，即黄体。绝大多数动物黄体主要由颗粒细胞构成，但灵长类和大鼠泡膜细胞也是黄体组成成分。黄体主要分泌孕酮及少量雌激素。

排卵前卵泡（PRF）类固醇激素的分泌活动 禽类卵泡类固醇生成系统相对地比哺乳动物简单些。其中颗粒细胞合成孕酮，膜细胞是雌激素和雄激素的主要来源。一种类型卵泡细胞特异地产生类固醇的能力取决于卵泡的成熟状态。对鸡F₁、F₂、F₃两种类型分泌细胞的体外研究表明，F₁卵泡颗粒细胞合成孕酮最为显著；F₁卵泡颗粒细胞和F₂、F₃卵泡膜细胞睾酮生成明显；F₃卵泡膜细胞主要合成雌激素^[12,14]。卵泡接近成熟以致近排卵时，类固醇生成活动在膜细胞中减弱，在颗粒细胞中增强。

哺乳动物中，卵泡颗粒细胞是雌激素的主要来源。雌禽中雌激素主要来源则是次成熟卵泡膜细胞。已知道雌激素影响黄体形成，但因动物种类不同而异，或是促黄体作用，或是黄体溶解作用。禽类与哺乳动物雌激素主要来源之明显差异或许可以从禽类不存在黄体而得到解释。McNatty等^[31]指出颗粒细胞可能是卵泡内类固醇的主要来源，而从高度空泡化的膜细

胞分泌的类固醇不进入卵泡腔而进入血流,对其它组织发生作用。禽类没有黄体,因此成熟卵泡中雌激素的积累就没有必要。有实验表明,卵泡膜细胞越成熟,就越易失去芳香化酶活性,雌激素生成明显减少。对于该结果,一种假说认为孕酮在卵巢水平上调节膜细胞雌激素的生物合成;另一假说认为类固醇生成途径中,睾酮转变为 5 α -还原雄酮,它可抑制芳香化酶的活性^[21]。

在正常生理状态下,两种类型卵泡细胞具有同等的生物学重要性。将鸡两种卵泡细胞在体外共同培养时,孕酮生成明显减少,而睾酮和雌激素生成相对增多^[14]。Stoklosowa 等^[22]对猪的研究发现类似结果,并认为孕酮生成减少是由于雌激素对孕酮生成的抑制作用。但在禽类尚未发现这种抑制作用。看来,颗粒细胞和膜细胞之间一定存在某种相互影响,引起膜细胞合成较多雌激素。将两种细胞分开单独培养,这种相互影响消失。共同培养时培养液中孕酮浓度下降,可能是类固醇合成途径中孕酮转变成了其它产物。膜细胞能将外源性孕酮转变成睾酮^[23]。似乎孕酮很可能被膜细胞转变成雄酮,因而导致孕酮浓度下降;而睾酮浓度的升高又刺激膜细胞内芳香化酶系统,从而使雌激素合成增加。Llewelyn^[23]将鸡卵泡膜细胞和孕酮一起培养后,发现产生了 17-羟孕酮、雄烯二酮和睾酮,以及孕酮的另一代谢产物。Marrone 和 Hertelendy^[19]观察到两种细胞共同培养时能生成一种大量的非极性代谢物,其含量比上述产物高得多。但该代谢物的本质仍不清楚。

综上所述,雌禽卵泡中,颗粒细胞合成孕酮,膜细胞主要合成睾酮和雌激素。但膜细胞合成睾酮或雌激素需要提供前体物质孕酮等或可芳香化的雄激素。即雌激素和睾酮的合成需两种类型细胞参与(见图 1)。因而提出了禽类雌激素分泌的“双重细胞学说”。这个模型表明,卵泡颗粒细胞合成的孕酮通过基膜扩散进入膜细胞;在膜细胞中转变为雄激素和雌激素。少量孕酮在颗粒细胞中也可转变成睾酮。膜细胞分泌雌激素的作用对卵泡来说,就是促进其

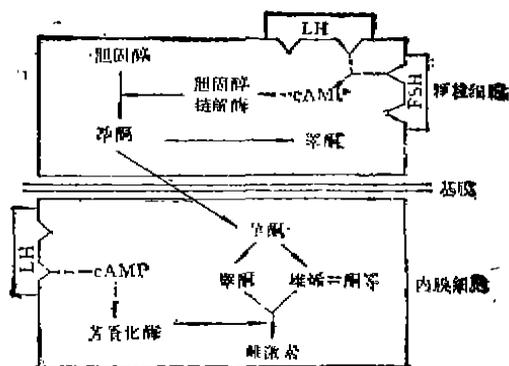


图 1 禽类卵泡两种类型细胞合成雄激素与雌激素模型示意图

成熟。随着卵泡的成熟,膜细胞中类固醇生成酶活性降低,而颗粒细胞中酶活性增高,因而膜细胞不能再将孕酮转变成雄激素和雌激素,而颗粒细胞中孕酮合成和释放增多,同时转变成睾酮也相应增多。

此外,在禽类种间卵泡内分泌机能亦有差异。火鸡和家鸡颗粒细胞孕酮基础分泌及促黄体生成激素(LH)刺激后孕酮分泌的变化相似,但火鸡孕酮基础分泌值比家鸡要高,而家鸡孕酮分泌在基础水平时,颗粒细胞对 LH 或环腺苷酸(cAMP)刺激的反应性则比火鸡高得多。这些分泌机能差异反映了它们种间繁殖性能强度的差异^[2]。鹌鹑颗粒细胞类固醇生成与已描述的家鸡和火鸡的大概模式相似,尽管在鹌鹑生长卵泡与成熟卵泡之间类固醇生成能力有量的不同^[4]。

卵泡激素的周期分泌与卵泡成熟及排卵
Shahabi 等^[19]将鸡排卵周期中的 F₁、F₂、F₃ 卵泡取出,测定其中类固醇浓度。结果卵泡壁类固醇激素含量出现明显相似的变化趋势,但三种大型卵泡合成类固醇比率不一致。与 Huang 等^[24]的结果基本一致。所有卵泡中,三种性激素合成大约在排卵前 4—6 小时达到峰值,峰值后至下次排卵前或排卵时,卵泡中性激素浓度明显降低至基础水平。需要指出的是 Shahabi 等所测得的 PRF 中激素的含量主要反映膜层中的浓度变化^[19]。

Bahr 等^[9]分别测定了鸡排卵周期不同时间 5 种大型 PRF (F₁—F₅) 膜层中和颗粒层中类固醇含量。结果表明, 颗粒层中类固醇浓度高于膜细胞层。随着卵泡的成熟 (F₅ 向着 F₁ 转变), 颗粒层中类固醇生成增强而膜细胞层中则降低。在连续五个排卵周期中(见图 2), 5 种卵

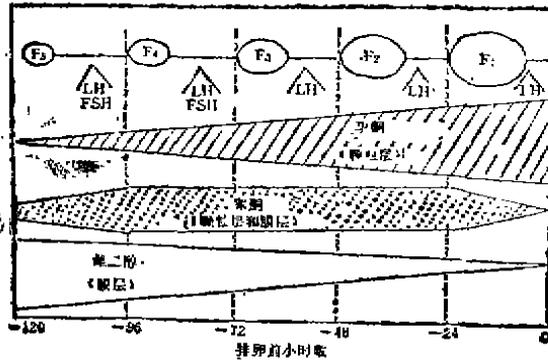


图 2 鸡卵泡成熟过程中颗粒层小膜层中类固醇激素浓度的变化

泡的雌二醇、睾酮和孕酮的变化不大相同。卵泡越大, 颗粒层中孕酮浓度增高, 而卵泡膜层中雌激素浓度明显减少; 颗粒层和膜层中睾酮浓度和变化趋势相似, 在 F₁ 卵泡两层中睾酮显著减少。这些结果进一步支持了前面提到的“双重细胞学说”。实验还表明 F₁、F₃ 卵泡膜层中雌二醇含量在排卵前 6 小时显著增高, 在排卵前 2 小时显著减少。雌二醇的直接底物睾酮也有类似现象。

鸡卵泡壁中性激素含量的变化与血浆中的变化基本相似。外周血浆中性激素变化基本可反映卵泡内分泌活动规律。外周血浆中孕酮和 LH 几乎同时在排卵前 4—7 小时增高, 这个升高与排卵前 4—6 小时血浆中雌激素的升高相关联。睾酮在排卵前 6—8 小时升高。似乎很难确定主要是何种激素引起排卵前 LH 峰的出现。有证据表明, 主要是孕酮参与这个机制, 孕酮是鸟类下丘脑—垂体—卵巢轴的一种重要调控物质^[20]。由于卵泡成熟的最后归宿是排卵, 卵泡内性激素的变化显然有利于这种生理过程。卵泡生长早期, 需要较多雌激素, 一方面是促进卵泡成熟, 另一方面使促性腺激素受体

增多; 而在卵泡临近成熟时, 孕酮生成不断增多, 促使 LH 达到峰值, 最终排卵。

在禽类已表明 PGS 特别是前列腺素的一种 (PGE) 具有催产作用。有人的研究表明血浆中前列腺素的一种 (PGF) 和 PGE 浓度恰好在产蛋或排卵时明显增高, 产蛋后 2 小时急剧下降。血浆中 PGE 在排卵前 4—6 小时出现第二个峰值。大约在排卵前 4—6 小时, 卵泡中 PGE 含量迅速升高, 而在排卵周期其它时间相对较低, 从而认为血浆中较高的 PGE 来源于卵泡。在排卵前 20—24 小时 PRF₁ 中 PGF 浓度明显升高, 两个最大排卵后卵泡中 PGS 浓度相似, 但在排卵周期中变化较大。Hammond 等还认为排卵前血浆中 PGE 的升高与排卵前 LH 峰值的出现有关。卵泡中 PGS 的生成与鸡卵泡成熟有关^[26]。卵泡中 PGS 含量的变化在卵泡优先等级形成中可能起了一定的作用。

三、垂体促性腺激素 (FSH 和 LH) 对卵泡激素分泌的调控

雌禽排卵前不同成熟状态的卵泡对于促性腺激素作用的敏感性不同。促性腺激素对不同类型卵泡细胞的促激素作用也不同。LH 促进禽类卵泡类固醇激素的合成是通过使 cAMP 的增加而实现的^[6]。然而, 这个过程需要 Ca²⁺ 的参与。PRF 接近排卵时颗粒细胞 cAMP 合成能力增强。cAMP 激活颗粒细胞中的胆固醇链裂解酶使胆固醇转变成孕烯醇酮增多而促进孕酮的合成^[24] (图 1)。在 LH 作用下膜细胞雌激素生成增多。LH 可能是作用于孕烯醇酮合成前的步骤上, 使雌激素生成增强, 因为孕酮转变成雄激素或雄激素转变成雌激素没有增多。

LH 促进颗粒细胞合成孕酮的能力在鸡成熟卵泡中比次成熟卵泡中强得多^[10, 12]。相反, 次成熟卵泡颗粒细胞对 FSH 作用的反应性比对 LH 的反应性强。卵泡成熟过程中, 颗粒细胞腺苷酸环化酶 (AC) 系统对 LH 作用的反应性显著增强^[6]。除了可能象哺乳动物一样由

于受体增多以及 AC1 cAMP 系统活性增强外, 还需关键酶(主要是胆固醇-20, 22-碳链酶)起重要作用^[3]。

Calvo 和 Bahr^[7] 发现, FSH 主要作用于排卵前次成熟卵泡(图 2 中 F_3 , F_4); 随着卵泡的成熟, 卵泡对 FSH 的反应性降低, 而对 LH 的反应性升高。这个转折点大约在 F_3 卵泡。Hammond 等^[10]认为 FSH 促进卵泡颗粒细胞分泌孕酮完全是由于其中混杂有 LH; Wells 等^[22]指出, 体内 F_1 - F_3 卵泡颗粒细胞孕酮的生成主要受 LH 调控, 而不是 FSH, 然而, Ogawa 等^[27]的结果表明, FSH 可以促进成熟卵泡颗粒细胞生成孕酮; Scanes 和 Faglioli^[28]也证明了提纯的哺乳类 FSH 可引起鸡卵泡分泌孕酮。成熟卵泡与次成熟卵泡相比, 膜细胞对 LH 作用生成雌激素的反应性较低。随着 PRF 的成熟, 膜细胞中 C-17, 20 分解酶活性下降, 或芳香化酶失去活性, 以及对 LH 的敏感性降低。

FSH 主要结合在卵巢间质组织和未成熟卵泡上, 可能与这些未成熟卵泡产生大量雌激素有关。当卵泡不断增大至成熟卵泡时, 其结合的 FSH 数量呈进行性减少。在 F_1 、 F_2 卵泡中, FSH 结合力在排卵前 12—16 小时明显增高, 其意义可能是促使 LH 特异受体的形成。 F_1 卵泡在前一排卵后 10—11 小时对 LH 发生反应, 而此时 FSH 结合力最大。

总之, FSH 主要作用于次成熟卵泡, 特别是颗粒细胞, 促进其合成孕酮; 作用于小卵泡促进雌激素大量生成。LH 主要作用于排卵前成熟卵泡颗粒细胞, 促进孕酮的生成; 作用于次成熟卵泡膜细胞, 促进雌激素的合成。对于禽类卵泡分泌功能来说, FSH 和 LH 的协同作用是必需的。促性腺激素浓度和结合力的变化调控着雌禽等级卵泡的建立及类固醇生成的启动。

有关禽类卵泡内分泌问题, 过去几乎都是根据对哺乳动物及人类的研究资料来说明。现在的资料表明禽类与哺乳动物卵泡内分泌活动有明显不同之处。本文讨论了禽类卵泡分泌功能及其调节的有关实验发现及一些基本规律。

如, 禽类性激素合成的细胞部位, 雌激素分泌的“双重细胞学说”促性腺激素对不同成熟状态的卵泡及其不同类型细胞作用不同, POF 在一定时间内仍具有分泌功能等。当然, 与哺乳动物相比, 还了解甚少。但这些事实和观点对了解和进一步研究禽类卵泡生殖内分泌功能将起重要作用。还有许多问题, 诸如, “双重细胞学说”中的代谢中间物; LH 促进膜细胞类固醇合成位点; 下丘脑与卵泡分泌功能的关系, 以及禽类卵泡内分泌种间差异等等, 尚需做大量研究工作。

参 考 文 献

- [1] Armstrong D. T. et al. 1977 Activity of 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase in the postovulatory follicle of the domestic fowl *J. Reprod. Fert.* 49: 253—259.
- [2] Asem E. K. et al. 1983 Comparison of turkey LH and ovine LH-induced progesterone production in granulosa cells of the turkey and of the domestic fowl. *Gen. Comp. Endocrinol.* 52: 445—451.
- [3] Asem E. K. and F. Hertelendy 1985 Influence of follicular maturation on LH, cAMP, Forskolin and cholesterol stimulated progesterone production in hen granulosa cells. *Biol. Reprod.* 32: 257—268.
- [4] Asem E. K. et al. 1985 Steroidogenesis in ovarian cells of the Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) *Gen. Comp. Endocrinol.* 60: 353—360.
- [5] Bahr J. M. et al. 1983 steroid concentrations in isolated theca and granulosa layers of preovulatory follicles during the ovulatory cycle of the domestic hen. *Biol. Reprod.* 29: 326—334.
- [6] Calvo F. O. et al. 1981 LH stimutable adenylyl cyclase activity during the ovulatory cycle in granulosa cells of the three largest follicle of the domestic hen. *Biol. Reprod.* 25: 805—812.
- [7] Calvo F. O. and J. M. Bahr 1983 Adenylyl cyclase system of the small preovulatory follicles of the domestic hen: responsiveness to FSH and LH. *Biol. Reprod.* 29: 542.
- [8] Day S. L. and A. V. Nalbandov 1977 Presence of PGF in hen follicles and its physiological role in ovulation and oviposition. *Biol. Reprod.* 16: 486—494.
- [9] Dick H. R. et al. 1978 Steroid hormones in the postovulatory follicles of the domestic fowl. *J. Reprod. Fert.* 53: 103—107.
- [10] Hammond R. W. et al. 1981 Influence of follicular maturation on progesterone release in chicken granulosa cells in response to turkey and ovine gonadotropins. *Biol. Reprod.* 24: 1048—1055.
- [11] Huang E. S. R. and A. V. Nalbandov 1979 Steroidogenesis of chicken granulosa and theca cells: *In vi-*

- tro incubation system. *Biol. Reprod.* 20: 442—453.
- [12] Huang E. S. R. et al. 1979 Synthesis of sex steroids in cellular components of chicken follicles. *Biol. Reprod.* 20: 454—461.
- [13] Llewellyn C. A. 1981 Conversion of [4-¹⁴C] Progesterone to androstenedione in vitro by thecal tissue from the ovary of the domestic fowl. (*Gallus domesticus*) *J. Endocrinol.* 89: 283—288.
- [14] Mazzo B. L. and F. Hertelendy 1983 Steroidogenesis by avian ovarian cells; effects of LH and substrate availability. *Am. J. Physiol.* 244: E 487—493.
- [15] McNatty K. P. et al. 1979 the production of progesterone, androgens, and estrogens by granulosa cells, thecal tissue, and stromal tissue from human ovaries in vitro. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 49: 697—699.
- [16] Nalbandov A. V. 1976 In: Reproductive Physiology of Mammals and Birds (Third Edition) W. H. Freeman company Press, San Francisco, 26—27.
- [17] Ogawa L. et al. 1985 Effects of gonadotrophins on progesterone production by isolated granulosa cells of the adenohipophysiotomized domestic fowl. (*Gallus domesticus*). *J. Reprod. Fert.* 73: 79—84.
- [18] Scanes C. G. and J. F. Faglioli 1980 Effects of mammalian and avian gonadotrophins on in vitro progesterone production by avian granulosa cells. *Gen. Comp. Endocrinol.* 41: 1—7.
- [19] Shababi N. A. et al. 1975 Steroid levels in follicles and the plasma of hens during the ovulatory cycles. *Endocrinol.* 96: 962—968.
- [20] Sharp P. J. 1980 Female reproduction In: Avian Endocrinol. (A. Epple and M. H. Stetson, Eds.) Academic Press, New York, 435—454.
- [21] Shimada K. et al. 1986 The effect of Indomethacin on Ovarian Prostaglandin Release in hens. *Biol. Reprod.* 35: 1147—1153.
- [22] Stoklosowa S. et al. 1982 Estrogen and progesterone secretion by isolated cultured porcine thecal and granulosa cells *Biol. Reprod.* 26: 943—952.
- [23] Wang S. C. and J. M. Bahr 1983 E secretion by thecal cells of the domestic hen during the ovulatory cycle. *Biol. Reprod.* 28: 618—624.
- [24] Wells J. W. et al. 1981 The biosynthesis of progesterone by fowl granulosa cells in vitro from ¹⁴C-labelled Substrates. *J. Steroid Biochem.* 14: 651—656.
- [25] ————— 1985 Comparison of the Response in Vivo to LH and FSH of the Granulosa of six Follicles from the Ovaria Hierarchy in the chicken. (*Gallus domesticus*). *Gen. Comp. Endocrinol.* 59: 369—374.
- [26] Yoshimura Y. and O. Koga 1983 In: Avian Endocrinol.: Environmental and Ecological Perspectives (Mikami S et al. Eds.) Japan Sci. Soc. Press, Tokyo/Springer-Verlag, Berlin, 107—105.