

国家重点基础研究发展规划项目

生殖健康的基础研究

关键词 生殖,健康

1 首席科学家

祝诚 中国科学院动物研究所研究员, 博士生导师。生殖生物学国家重点实验室学术委员会副主任, 中国动物学会常务理事, 中国动物学会生殖生物学会副理事长。1980—1982 年在英国爱丁堡大学妇产科系作访问学者, 1987—1989 年在美国迈阿密大学医学院分子生物学及生物化学系作访问学者。曾任中国科学院动物研究所内分泌室副主任、副所长、生殖生物学国家重点实验室主任。主要从事哺乳动物排卵及胚胎植入机理研究。1998—2001 年主持国家“攀登计划”课题并任首席科学家。在国内外核心刊物上发表论文 60 余篇, 其中 SCI 论文 20 余篇; 曾获 1985 年中国科学院科技进步奖二等奖, 1987 年中国科学院自然科学奖一等奖。

2 科学内涵及意义

生殖健康是维护和促进人类性与生殖健康、提高人口素质的一门综合性学科。它主要包括人口控制、妇幼保健卫生及性传播疾病防治等方面。当前, 围绕控制人口数量, 提高人口质量这两大目标, 生殖健康研究已成为政府和公众关注的热点问题。

人口高速增长是影响我国社会和经济快速发展的重要制约因素之一, 也是影响中华民族生存和发展的一个关键。数十年来, 世界卫生组织和我国政府曾投入巨资与人力, 致力于开发新型避孕方法和药物研究, 虽取得很大的发展, 但仍不能满足人们的要求。因此, 人为地控制生育而又奢想无任何副作用, 既是一个紧迫的现实问题, 又是一个难度极大的研究课题。这是因为除生殖过程本身的极度复杂外, 人类对其自身生殖过程中很多环节的认识尚不清楚。因此, 人类欲彻底解决自身的生殖健康问题, 必须首先认知生命的本质和生殖发育的原理,

才能按照自然规律找出解决它的最佳选择。该项目针对生殖健康的原理开展基础研究, 积累知识, 为未来理想地控制人类生殖寻找新思路和新方法。

3 研究进展与创新点

项目实施时间: 2000 年 5 月—2005 年 9 月。目前已取得的主要进展:

精子发生及其基因表达调控的研究: (1) 精子发生成熟相关新基因的分离。构建了精子发生不同阶段的 cDNA 文库 4 个, 发现新 EST 500 个以上, 获得处于精子发生成熟不同阶段的全长 cDNA 78 个, 为今后深入开展精子发生成熟的机理研究做了深厚的积淀。(2) 精子发生成熟相关新基因的功能研究。对一些精子发生成熟相关基因进行了较深入的功能研究, 取得了创新性的结果。①发现与精子成熟相关的大鼠附睾蛋白 Bin1b, 它具有显著的杀菌能力, 这是生殖系统首次发现与附睾自身防御系统相关的天然抗菌肽基因, 该成果发表在 *Science* 上。②发现人精子膜蛋白 YWK-II 蛋白胞外区中负电荷丰富区的肽段可明显降低受精率, 证实其作用环节为影响精卵质膜的融合, 且此抑制作用有明显的浓度依赖关系; 发现近膜胞外区可与穆勒管抑制物质(MIS)结合, 显著提高精子的存活力, 提出 MIS 可能为受体 YWK-II 蛋白的配体的假设。③发现了一批可能与精子减数分裂、变形等关键阶段相关的基因, 进行了功能的初步探索, 如大鼠睾丸特异表达的中心体蛋白 Centrin1, 可能与精子细胞变态分化有关, 并初步观察到其在男性不育者精子中分布异常的现象。④应用生精障碍模型、隐睾模型, 开展了细胞凋亡相关基因与生精障碍机制的研究, 分离了一种温度相关新基因 TRS1 和三种凋亡相关新基因。系统观察了凋亡相关基因与隐睾生精障碍的关系, 发现可能信号传导通路上的负调节控制导致睾

丸 TR-2 在隐睾生精细胞凋亡过程中被完全抑制。

受精机理及其分子基础研究:(1)精子顶体反应关键分子及其调控机制。①证明天然激动剂 GABA 或 P_4 刺激豚鼠精子膜 PPI 降解是引起精子顶体反应(AR)期间膜融合的基础。发现 PLA_2 的激活和 PLC 分别参与了豚鼠精子和透明带(ZP)诱发小鼠精子 AR 的信号转导通路。②确定了大鼠睾丸及精子中 GABA 受体的定位,同时鉴定出一种新型的 GABA_A 受体 β_3 亚基,定名为 β_{3t} 。发现在大鼠睾丸及精子中除 GABA_A 受体外,也存在 GABA_B 受体,并定位于精子顶体的背侧区。它们在大鼠精子顶体反应中的作用机制和相关关系,呈现一种双向效应。③筛选到一种抑制精子 AR 的新化合物——白首乌新甙,它可能是一个潜在的男性抗生育药物。(2)精子因子对卵激活的调控机理。①精子因子研究:优化了分离纯化精子因子的条件,已达到总活性回收大于 50%,纯化倍数>1 000;另一方面,基于精子因子在小鼠精子发生过程中就已表达的发现,克隆了此过程中一个新的与精子发生有关的特异 *Peat* 基因。此外,首次发现精子因子活性在进化上高度保守,表明精子因子可以跨越种间发挥生物学功能,精子因子可通过使 IP₃ 受体致敏的机制而导致钙离子从胞内钙库释放。②母源性装置的研究:首次提出在哺乳动物卵细胞中存在一种特异调控精子因子引发的钙振荡的母源性装置这一概念,发现其诱导的钙振荡反应模式与受精时卵子产生的钙振荡形式相似,它可能是卵细胞中一种热不稳定的可溶性组合。(3)精卵识别的信号转导及受精卵早期发育的调控。①受精过程中的信号通路及其调控研究:发现蛋白磷酸酶是直接调节卵子中 MAPK 活性的关键因子,MAPK 的磷酸化与去磷酸化导致 p90rsk 的完全激活和灭活;发现 PKC α 亚型还参与调节卵子激活中皮质反应的发生;发现并证明 PKC 的激活剂可通过促进 MPF 而促进受精卵的发育。通过卵母细胞生发泡交换后显微受体和胚胎移植获得了后代,证明 MII 期卵子中调节减数分裂的因子可能存在于纺锤体上和(或)其周围的胞质中。②DPF-1 的研究:获得一批天然 DPF-1 及昆虫细胞体系表达产物;初步证实重组 DPF-1 羧基端片段具有克服早胚发育阻断和提高囊胚形成率的作用。

胚胎植入的分子机理研究:(1)首次系统揭示了 2000 年发现的基质金属蛋白酶(MMP)新成员——MMP-26 和近来发现的组织型基质金属蛋白酶抑制剂(TIMP)新成员——TIMP-4 在人类细胞滋养层细胞(Cyto)和人绒癌细胞系(JEG-3)中的表达规律,证明 MMP-26 和 TIMP-4 基因和蛋白在 Cyto 和 JEG-3 中均有表达,MMP-26 的基因和蛋白在 JEG-3 的表达显著高于在 Cyto 中的表达,而 TIMP-4 在 Cyto 中的表达显著高于在 JEG-3 中的表达;说明 TIMP-4 与 MMP-26 是共表达,并且 TIMP-4 是 MMP-26 的潜在抑制剂,它们的比例高低是滋养层细胞正常侵入和异常侵入的标志之一。该成果已在国际人类生殖领域一流杂志 *Mol.Hum.Reprod.* 作为封面文章发表。(2)首次揭示了在肿瘤学研究中发现的信号分子焦点粘着激酶在胚胎植入中的作用。其作用受细胞外基质和整合素的调节,并发现在胚胎植入“窗口”启动过程中存在着细胞外基质 - 整合素 - 焦点粘着激酶 - 基质金属蛋白酶网络级联调节系统。这对揭示胚胎植入机理具有重要的科学意义,为设计新型避孕药提供了重要的理论基础。(3)通过小鼠体内外植入模型发现,白血病抑制因子(LIF)通过促进胚胎滋养层的扩展而非黏附,在胚胎植入“窗口”启动中发挥作用,检测了 LIF 对小鼠胚泡 MMP₉ 基因表达的影响,发现 LIF 对 MMP₉ mRNA 的表达具有一定的促进作用,它们共同协调胚泡的侵入能力和子宫内膜的接受能力,保证植入的准确性。此外,还首次发现血管内皮生长因子(VEGF)在胚胎植入“窗口”期显著表达,而血管内皮抑制蛋白(angiostatin)则极显著抑制小鼠胚胎植入率,降低 MMP-2 和 MMP-9 的活性,表明 angiostatin 很可能成为一种新胚胎植入阻断剂。上述研究结果对于进一步深入探讨胚胎植入的另一条网络级联途径(细胞因子-??-MMP)奠定了基础。(4)首次系统地揭示了大鼠、猕猴胚胎植入期 MMP₉ / TIMP₉ 的表达和分布,为研究灵长类胚胎着床启动奠定了基础,该成果发表在国际生殖领域一流杂志 *Biology of Reproduction* 上。

(木易)

(相关图片请见彩插一)