

线粒体功能在卵母细胞成熟中的作用综述

王元芬, 郝建秀, 王 辉, 姚元庆

解放军总医院 妇产科, 北京 100853

摘要: 线粒体为真核细胞的重要细胞器之一, 作为细胞的“能量工厂”合成三磷酸腺苷, 参与细胞生长、分化、增殖、凋亡、信号传导等细胞活动。在人体中, 卵母细胞中线粒体数量最多, 为卵母细胞成熟、受精及早期胚胎正常发育提供所需的能量。线粒体功能受损会导致卵母细胞老化、妊娠失败或人类辅助生殖成功率下降。本文将线粒体分布、线粒体膜电位、线粒体 DNA 拷贝或突变对卵母细胞成熟的影响进行综述。

关键词: 线粒体; 卵母细胞; 胚胎发育; 线粒体 DNA; 线粒体膜电位; 活性氧

中图分类号: R 715 **文献标志码:** A **文章编号:** 2095-5227(2017)10-0987-03 **DOI:** 10.3969/j.issn.2095-5227.2017.10.021

网络出版时间: 2017-05-25 09:47

网络出版地址: http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3275.R.20170525.0947.006.html

Advances in role of mitochondria in maturation of oocyte

WANG Yuanfen, HAO Jianxiu, WANG Hui, YAO Yuanqing

Department of Obstetrics and Gynecology, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China

Corresponding author: YAO Yuanqing. Email: yqyao@126.com

Abstract: As one of the important organelles in cells, mitochondria is referred as "energy factory" and it generates adenosine triphosphate (ATP), which is involved in cell growth, differentiation, proliferation, apoptosis, signal transduction, cell activity, etc. In human body, mitochondria can be found most abundant in oocyte, and it provides energies for the maturation of human oocyte, fertilization and development of early embryo. While, if the mitochondrial function is impaired, it will lead to aging of oocyte, pregnancy failure and decrease of human assisted reproductive success rate. The distribution and ultrastructure of mitochondria, mitochondrial membrane potential and mitochondrial DNA mutations or copy are summarized in this article, which has great significance in improving the assisted reproductive success in older women.

Keywords: mitochondria; oocytes; embryogenesis; mitochondria DNA; mitochondrial membrane potential; active oxygen

随着女性年龄的增长, 其生育能力下降, 不孕概率增加, 辅助生殖技术成功率下降。大量的临床数据显示, 30岁时女性1年内的自然受孕率为75%, 35岁时女性1年内自然受孕率为66%, 40岁时女性1年内自然受孕率为44%^[1-2]。同时, 高龄女性妊娠后的流产率及出生缺陷发生率也显著增高, 并且体外受精-胚胎移植(in vitro fertilization, IVF)的临床结局明显较年轻女性差。高龄女性生育能力下降, 辅助生殖技术失败的主要原因之一为胚胎非整倍体。Fransiak等^[3]检测了15 169个IVF囊胚的染色体数目, 发现6 168个胚胎为非整倍体(40.7%), 女性年龄35岁以上时胚胎非整倍体的比例为35%, 37岁以上超过40%, 40岁以上高达50%以上。导致胚胎非整倍体的重要原因是卵母细胞线粒体功能不全或受损^[4-5]。因此, 分析研究线粒体在卵母细胞成熟过程中的影响, 对改善卵母细胞中线粒体功能具有重要的意义。

收稿日期: 2017-05-02

基金项目: 国家高技术研究发展计划(863计划)课题(SS2015AA020402)

Supported by the National High Technology Research and Development Program of China(SS2015AA020402)

作者简介: 王元芬, 女, 博士。研究方向: 生殖医学。Email: wyf1988119@163.com

通信作者: 姚元庆, 男, 博士, 主任医师, 博士生导师。Email: yqyao@126.com

1 线粒体及代谢方式

线粒体是真核细胞的重要细胞器之一, 作为细胞“能量工厂”合成三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP), 参与细胞生长、分化、增殖、凋亡、信号传导等细胞活动。线粒体为一种半自主细胞器, 拥有独立的遗传物质和遗传体系。人类线粒体DNA(mtDNA)呈双链环状, 长度为16 569 bp, 含有37个基因, 编码22种rRNA、2种rRNA(12S rRNA和16S rRNA)以及13种多肽。线粒体由内外两层膜包被, 内含基质、嵴。线粒体嵴的形态反映细胞氧化代谢的能力。线粒体的数量、空间分布、形态、代谢方式均具有特异性。不同细胞类型中, 线粒体生成ATP方式不同: 在成体细胞中, ATP的生成主要通过氧化磷酸化途径, 而在卵母细胞中, ATP的生成主要通过糖酵解和磷酸戊糖途径。根据能量代谢方式不同, 相对应的线粒体结构亦不同: 通过糖酵解和磷酸戊糖途径生成ATP的线粒体, 呈圆形, 含有少量的嵴; 而通过氧化磷酸化途径生成ATP的线粒体, 呈长形, 含有较多的嵴^[4-5]。根据细胞活动所需能量不同, 细胞所包含的线粒体数量差异巨大, 细胞代谢活动越旺盛的细胞线粒体数量越多。人的成熟卵母细胞中含有超过10万个线粒体, 是人体含有线粒体最多的细胞。在受精卵形成及早期胚胎发育过程中, 线粒体绝大多数来自于卵母细胞^[6], 故线粒体功能正常对于卵母细胞成熟、受精及胚胎发育潜能等十分重要。

2 线粒体的空间分布与卵母细胞成熟

线粒体通过微管动力蛋白及驱动蛋白在细胞内移位至功能区^[7]。线粒体空间分布的改变依赖于细胞活动。在卵母细胞成熟过程中,线粒体的空间分布十分重要并且可作为评估卵母细胞质量的一项可靠指标。在生发泡(germinal vesicle, GV)期,线粒体呈幼稚型,为圆形、少嵴或呈管泡状嵴,分布在细胞质中。当进行减数分裂时,即在生发泡破裂(germinal vesicle breakdown, GVBD)期,线粒体增多、浓集,成簇聚集于细胞核周围,线粒体呈成熟型,长梭形,基质加深,嵴呈板层状。线粒体空间分布的变化,可能是由于卵母细胞发育成熟过程中中心体形成、纺锤体的微管运动、蛋白分子水平的磷酸化及去磷酸化等活动均需要线粒体提供大量的ATP。减数分裂(meiosis, M I /M II)期纺锤体的形成对染色体精准分离十分重要,故在M II期纺锤体周围具有较多线粒体时,提示该卵母细胞具有较好的发育潜能。研究显示, M II期卵母细胞中线粒体沿纺锤体分布,表示线粒体对于纺锤体的形成及完整性的维护十分重要^[8]。刘珊等^[9]研究发现未成熟卵母细胞中线粒体分布于细胞周边,成熟卵母细胞中线粒体均匀分布于核周围。线粒体空间分布的变化在其他哺乳动物卵母细胞同样存在。大多数哺乳类动物,线粒体主要分布于M II期卵母细胞纺锤体周围^[10-15],显示线粒体的分布对于纺锤体的形成及稳定性具有很大的作用。因此线粒体在细胞核周围聚集是优质卵母细胞的一个标志。

3 线粒体膜电位与卵母细胞成熟

线粒体膜电位正常对卵母细胞成熟十分重要,卵母细胞中线粒体膜电位降低会造成异常胚胎发育。线粒体膜电位(Ψ_m)即线粒体的极性,其产生来自于线粒体的活动。线粒体内膜上存在有质子泵,线粒体呼吸运动中电子的传递为质子移动的过程,质子跨膜转运使得线粒体膜间隙积累大量质子,形成质子梯度,即跨线粒体内膜的跨膜电位。正常线粒体膜电位是维持线粒体进行呼吸运动、产生ATP的前提,是维持线粒体功能所必需。目前有多重探针检测线粒体膜电位,如罗丹明123、JC-1试剂盒^[16-17]。当线粒体功能受损或下降时,线粒体膜电位下降,检测时荧光试剂JC-1在细胞中以单体的形式存在,在荧光显微镜下呈绿色荧光;当线粒体膜电位正常时,处于高极化,检测时荧光试剂JC-1形成多聚体,荧光显微镜下呈红色。因此,可以通过检测荧光强度及红/绿荧光的比值反映细胞中线粒体功能。Van Blerkom等^[18]研究发现, M II卵母细胞中线粒体膜电位随着年龄的增加而降低,进而影响胚胎发育。

4 活性氧与卵母细胞成熟

线粒体生成ATP的过程中同时产生活性氧(reactive oxygen species, ROS),后者造成线粒体DNA氧化损伤、mtDNA突变或缺失。卵母细胞的老化、损伤伴随着线粒体DNA突变、缺失。线粒体是活性氧自由基的主要产生场所,机体大部分的活性氧自由基来自线粒体。当线粒体功能下降时,清除ROS能力下降。研究发现,高龄妇女卵泡中ROS含量较年轻女性显著增高,从多方面影响卵母细胞及

受精^[19-20]。当细胞内ROS含量增高时,破坏细胞内膜上离子转换孔道(mPT),使钙离子外流,线粒体膜电位消失,进而启动细胞凋亡程序。在胚胎发育过程中则表现为卵裂球溶解,出现细胞碎片。Van Blerkom等^[18]研究发现,出现碎片的胚胎的ROS水平明显高于正常胚胎。同样,高浓度的ROS也会对mtDNA造成损害。由于线粒体DNA没有组蛋白保护且线粒体自身无有效的DNA损伤修复系统^[21],线粒体DNA容易受损或突变,影响线粒体氧化磷酸化能力,致其供能不足,造成卵母细胞发育不成熟、受精率低下、胚胎发育潜能差或胚胎停育、辅助生殖成功率降低。

5 线粒体DNA与卵母细胞成熟

M II期获取的卵母细胞是卵母细胞成熟的最终产物。成熟的M II卵母细胞中含有100 000 ~ 200 000线粒体拷贝数。卵母细胞中mtDNA拷贝数与受精、胚胎发育潜能呈正相关^[22]。Chan等^[23]研究发现高龄女性(> 35岁)M II卵母细胞中mtDNA拷贝数较年轻女性也显著下降,提示mtDNA拷贝数减少与卵母细胞老化相关。Santos等^[24]比较受精卵、受精失败卵及退化的卵母细胞中mtDNA拷贝数,结果表明受精失败、退化的卵母细胞中mtDNA拷贝数较受精后的卵母细胞显著下降,发育正常的受精卵中mtDNA拷贝数较发育停止的受精卵显著增高,提示mtDNA拷贝数减少,导致卵母细胞成熟及胚胎发育受阻。

6 结语

线粒体是细胞活动中最重要的细胞器之一,随着研究的深入,线粒体的空间分布、线粒体膜电位、活性氧、mtDNA拷贝数及完整性对卵母细胞成熟的影响逐渐清晰。然而对于线粒体影响卵母细胞成熟机制的认知仍不完善,进一步研究线粒体功能及卵母细胞成熟的机制,对改善高龄女性卵母细胞质量、提高辅助生殖成功率具有重要意义。

参考文献

- Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion, Division of Reproductive Health, Women's Health and Fertility Branch. 2013 Assisted Reproductive Technology national summary report [R/OL]. [http : //www.cdc.gov/art/ART2013](http://www.cdc.gov/art/ART2013).
- Human Fertilisation and Embryology Authority. Fertility treatment in 2013 : trends and figures [R/OL]. [http : //www.hfea.gov.uk](http://www.hfea.gov.uk).
- Franasiak JM, Forman EJ, Hong KH, et al. The nature of aneuploidy with increasing age of the female partner : a review of 15, 169 consecutive trophoctoderm biopsies evaluated with comprehensive chromosomal screening [J]. *Fertil Steril*, 2014, 101 (3) : 656-663.e1.
- Wakefield SL, Lane M, Mitchell M. Impaired mitochondrial function in the preimplantation embryo perturbs fetal and placental development in the mouse [J]. *Biol Reprod*, 2011, 84 (3) : 572-580.
- Chappel S. The role of mitochondria from mature oocyte to viable blastocyst [J/OL]. [https : //www.hindawi.com/journals/ogi/2013/183024](https://www.hindawi.com/journals/ogi/2013/183024).
- Cree LM, Samuels DC, de Sousa Lopes SC, et al. A reduction of mitochondrial DNA molecules during embryogenesis explains the rapid segregation of genotypes [J]. *Nat Genet*, 2008, 40 (2) : 249-254.
- Songsasen N, Henson LH, Tipkantha W, et al. Dynamic changes in

- mitochondrial DNA, distribution and activity within cat oocytes during folliculogenesis [J]. *Zuchthygiene*, 2017, 52 (Suppl 2): 71–76.
- 8 Sun QY, Wu GM, Lai L, et al. Translocation of active mitochondria during pig oocyte maturation, fertilization and early embryo development in vitro [J]. *Reproduction*, 2001, 122 (1): 155–163.
 - 9 刘姗, 李媛, 高选, 等. 人卵母细胞体外成熟前后线粒体分布的变化 [J]. *解剖学报*, 2007, 38 (5): 593–596.
 - 10 Schatten H, Sun QY. New insights into the role of centrosomes in mammalian fertilization and implications for ART [J]. *Reproduction*, 2011, 142 (6): 793–801.
 - 11 Schatten H, Sun QY. Centrosome dynamics during mammalian oocyte maturation with a focus on meiotic spindle formation [J]. *Mol Reprod Dev*, 2011, 78 (10–11): 757–768.
 - 12 Ai JS, Li M, Heide S, et al. Regulatory mechanism of spindle movements during oocyte meiotic division [J]. *Asian-Australas J Anim Sci*, 2009, 22 (11): 1477–1486.
 - 13 Swain JE, Pool TB. ART failure: oocyte contributions to unsuccessful fertilization [J]. *Hum Reprod Update*, 2008, 14 (5): 431–446.
 - 14 Fan HY, Liu Z, Shimada M, et al. MAPK3/1 (ERK1/2) in ovarian granulosa cells are essential for female fertility [J]. *Science*, 2009, 324 (5929): 938–941.
 - 15 Gosden R, Lee B. Portrait of an oocyte: our obscure origin [J]. *J Clin Invest*, 2010, 120 (4): 973–983.
 - 16 Ou XH, Li S, Wang ZB, et al. Maternal insulin resistance causes oxidative stress and mitochondrial dysfunction in mouse oocytes [J]. *Hum Reprod*, 2012, 27 (7): 2130–2145.
 - 17 Zhang YZ, Ouyang YC, Hou Y, et al. Mitochondrial behavior during oogenesis in zebrafish: a confocal microscopy analysis [J]. *Dev Growth Differ*, 2008, 50 (3): 189–201.
 - 18 Van Blerkom J, Davis P, Mathwig V, et al. Domains of high-polarized and low-polarized mitochondria may occur in mouse and human oocytes and early embryos [J]. *Hum Reprod*, 2002, 17 (2): 393–406.
 - 19 Plessis S, Makker K, Desai NR, et al. Impact of oxidative stress on IVF [J]. *Expert Rev Obstet*, 2008, 3 (4): 539–544.
 - 20 Otsuki J, Okada A, Morimoto K, et al. The relationship between pregnancy outcome and smooth endoplasmic reticulum clusters in MII human oocytes [J]. *Hum Reprod*, 2004, 19 (7): 1591–1597.
 - 21 Fu X, Cheng J, Hou Y, et al. The association between the oocyte pool and aneuploidy: a comparative study of the reproductive potential of young and aged mice [J]. *J Assist Reprod Genet*, 2014, 31 (3): 323–331.
 - 22 Ge H, Tollner TL, Hu Z, et al. The importance of mitochondrial metabolic activity and mitochondrial DNA replication during oocyte maturation in vitro on oocyte quality and subsequent embryo developmental competence [J]. *Mol Reprod Dev*, 2012, 79 (6): 392–401.
 - 23 Chan CC, Liu VW, Lau EY, et al. Mitochondrial DNA content and 4977 bp deletion in unfertilized oocytes [J]. *Mol Hum Reprod*, 2005, 11 (12): 843–846.
 - 24 Santos TA, El Shourbagy S, St John JC. Mitochondrial content reflects oocyte variability and fertilization outcome [J]. *Fertil Steril*, 2006, 85 (3): 584–591.