孕马血清促性腺激素对小鼠受孕的影响

唐 旭[1],周 姝[1],荣 晓[1],廖纪如[1],李争妍[1],蒋图良[1],何开丽[1],张亚娟[1],韩 琴[2] (1.成都医学院预防医学专业;2.成都医学院公共卫生实验室,四川 成都 610083)

[摘 要] **目的** 观察孕马血清促性腺激素(PMSG)对于小鼠受孕率的影响。**方法** 通过注射PMSG进行超数排卵处理,建立实验组和自然周期组昆明小鼠妊娠模型,比较两组小鼠的受孕率和获得的平均胚胎数。**结果** 在PMSG妊娠小鼠模型中,小鼠妊娠率为75%,平均受孕17个胚胎;自然周期小鼠妊娠率为40%,平均受孕10个胚胎。**结论** PMSG能促进小鼠排卵,增强小鼠受孕率。

[关键词] 孕马血清促性腺激素;受孕率;超数排卵

[中图分类号] R339.2;Q492.6;Q575.12 [文献标识码] A [文章编号] 1672-5042(2010)02-0117-02

The influence of pregnant mare serum gonadotrophin on ovulation and conception in mice

TANG Xu, ZHOU Shu, RONG Xiao, LIAO Ji-ru, LI Zheng-yan, JIANG Tu-liang, HE Kai-li, ZHANG Ya-juan, HAN Qin (Seciality of Phylaxiology, Chengdu Medical College, Chengdu Sichuan 610083, China)

Abstract: Objective To investigate the influence of pregnant mare serum gonadotrophin(PMSG) on ovulation and conception in mice. **Methods** Totally two groups were studied, the PSMSG group was established by injecting PMSG, and the other group also injected physiological saline as control. The difference of ovulation and conception rate was compared between the two groups. **Results** In PMSG group, the conception rate was 75%, 17 embryo averaged; meanwhile, in control group, the conception rate was only 40%, and 10 embryo averaged. There was markedly difference between two groups. **Conclusion** The PMSG can enhance the ovulation and conception in mice.

Keywords: pregnant mare serum gonadotrophin; fecundation index; superovulation

孕马血清促性腺激素(pregnant mare serum gonadotrophin, PMSG)是取自早期妊娠马血清中的糖蛋白促性腺激素,由马、驴或斑马子宫内膜杯状细胞合成分泌到血液中,其主要生理功能是刺激卵泡的生长发育,兼有黄体生成素(luteinizing hormone, LH)和促卵泡生成素(follicle stimulating hormone, FSH)的双重功效[1]。在生理状态下,促性腺激素不足以维护全部卵泡的生长发育,故最终只有少数或仅有1个卵泡得以发育成熟并最终排卵,而其他卵泡则闭锁退化。因此,通过补充外源性促性腺激素来促进卵泡发育,增加发育成熟卵泡数量,进而增加排出具有受精能力卵子数量,这也就是所谓的超数排卵[2]。本研究用昆明纯种性成熟小鼠为实验材料,对经PMSG处理和生理状态下的小鼠受孕率进行比较研究,探讨PMSG对性成熟小鼠卵泡的生长质量和数量的影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物

昆明纯种性成熟小鼠,购自四川华西医科大学实验动物中心。雌性鼠40只,年龄7~9周,体重20~36 g;雄性鼠20只,年龄9~11周,体重35~40 g。雌性鼠每笼2只群养,雄性鼠每笼1只单独饲养。饲养条件为自由摄食、饮水,12 h光照环境,环境温度保持在18~22 ℃,相对湿度保持在60%~80%。

1.2 主要试剂

孕马血清促性腺激素(PMSG)、人绒毛膜促性腺激素(HCG)均购自宁波市三生药业有限公司。

1.3 实验过程

将40只雌性实验用昆明纯种性成熟小鼠随机分配为两组,每组20只,编号实验组和对照组。在下午5时,向实验组小鼠注射剂量为10 IU的PMSG;与此同时,向对照组注射同体积的生理盐水。注射PMSG 48 h后,实验组和对照组小鼠分别注射剂量为5 IU的HCG,所有注射均为腹腔注射。雌雄合笼过夜,次日清晨7时,观察小鼠阴道栓(阴道栓为小鼠阴道分泌物与精液凝结而成的白色固体胶状物),见阴道栓日为受孕第0.5天。然后将雌鼠在自由摄食、饮水,12 h光照,温度在18~22 ℃,湿度在60%~80%的环境中单独饲养。在孕5.5 d,采用颈椎脱臼法分别处死实验组和对照组中的雌鼠,在超净工作台上,剖开小鼠腹部找出小鼠双侧子宫,自双卵巢与输卵管连接

[基金项目] 2009成都医学院大学生创新实验项目(CX200902)

[作者简介] 唐 旭(1989-),女,四川省乐山市人,主要从事天然免疫与炎症方面的研究。

[通讯作者] 韩 琴,女,硕士,助理实验师,主要从事天然免疫与炎症方面的研究。E-mail:hanqin@cmc.edu.com。

[收稿日期] 2010-01-15 [修回日期] 2010-02-25

部处切断输卵管,并向下游离输卵管和子宫直达宫颈分叉处,在分叉处稍上方避开宫颈切断双侧子宫,将其置于装有生理盐水的培养皿中,计数胚胎数量。

1.4 统计学方法

两组数据用 SPSS13.0 统计软件进行成组 t 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

两组小鼠的受孕情况见表 1。PMSG 组的受孕率为 75%,受孕小鼠的平均胚胎数为 17 只;对照组的受孕率为 40%,受孕小鼠的平均胚胎数为 10 只。经统计学分析可知,PMSG 组的受孕率和胚胎数都显著高于对照组($P<0.05$)。

表 1 PMSG 组和对照组小鼠受孕情况

组 别	小鼠数量	妊娠鼠	未妊娠鼠	受孕率(%)	平均胚胎数
PMSG 组	20	15	5	75	16.93 ± 1.71
对照组	20	8	12	40	10.00 ± 0.46

3 讨论

卵泡的发育分为两个阶段,即腔前卵泡期和有腔卵泡期。在腔前卵泡期,卵泡生长发育对促性腺激素是非依赖性的,其发育只取决于卵泡本身的内在因素,因此,PMSG 对腔前卵泡期内的各级卵泡的生长发育是不起作用的。而在有腔卵泡期内,卵泡的生长发育对促性腺激素具有依赖性,促性腺激素具有刺激颗粒细胞增殖,激活芳香化酶活性,诱导黄体生成素受体表达等作用,从而调控卵泡的生长发育和闭锁[3]。它通过一种特殊的结构来调控卵母细胞和颗粒细胞之间的联系,而这种调节发生在卵泡生长过程中,并同时与卵泡在生长过程中自身分泌的一些因子共同发挥作用[4]。但在这段时期内,垂体所分泌的 FSH 只能保证一个或小部分卵泡发育成熟,若在此期间给予大量外源性 FSH 或类似物,则可以诱发大量卵母细胞发育,排卵数可超过正常排卵数的若干倍。在本研究中使用的 PMSG,其生物学功能是刺激卵泡的生长发育及成熟排卵,提高卵泡细胞的摄氧量,促进蛋白质的合成,增强卵泡内膜细胞的分化,促进颗粒细胞增生和卵泡液的分泌。从表 1 的结果可以看出,使用了 PMSG 注射处理的小鼠受孕率高达 75%,与对照组 40% 的受孕率差异显著。这提示在性成熟小鼠的有腔卵泡期给予大量外源性 PMSG,可以达到超排卵的目的。有研究认为 PMSG 等外源性促性腺激素具有抑制卵泡闭锁以及颗粒细胞凋亡的作用,并且通过抑制颗粒细胞凋亡从而逆转早期闭锁的卵泡重新生长发育成熟[5]。哺乳动物的卵泡发育是一个卵泡内各种细胞协调作用的过程[6],有研究报道,水牛体内的 FSH 水平的暂时性升高可促进卵泡的生长发育,如果原始细胞引导卵泡移动或提供外源性 FSH,可以使卵巢中劣性卵泡发育为优性卵泡[7],这说明促性腺激素可以促进卵泡的招募和选择。

小鼠对 PMSG 的耐受性是具有一定的阈值。在一定的剂量范围内,外源 FSH 可促进卵巢中卵泡的生长发育和成熟排卵;但达到一定剂量后,反而会降低卵巢的排卵作用。导致排卵作用下降有两方面的原因:一方面由于内源性激素的分泌而影响了卵细胞的运行速度;另一方面有部分卵细胞残留在卵泡中不能排出,导致卵巢囊肿。同时高剂量的促性腺激素可能引起刺激,最终导致卵泡闭锁而减少了排卵且经 PMSG 超排处理后,会造成卵巢雄激素分泌上升,最终导致卵母细胞的退化[8]。

PMSG 对于卵泡生长发育和成熟排卵的作用是一系列复杂的生理过程,本研究仅对 PMSG 对于小鼠受孕率和平均获得胚胎数做了初步讨论,但影响小鼠受孕的 PMSG 剂量、给药方式和分子机制等还有待于更深入的研究。

[参考文献]

[1] 陈 媛,杨 菁,李 洁,等. 促性腺激素及雌二醇对小鼠卵母细胞体外成熟的影响[J]. 武汉大学学报(医学版),2007,28(5):568-567.

[2] 张果平,王金文,王德芹,等. 影响杜泊绵羊超数排卵效果的因素分析[J]. 西南农业学报,2008,21(6):1728-1732.

[3] Adriaens I, Cortvrindt R, Smitz J. Differential FSH exposure in preantral follicle culture has marked effects on folliculogenesis and oocyte developmental competence[J]. Hum Reprod, 2004,19(2): 398-408.

[4] Albertini DF, Combelles CMH, Benecchi E, et al. Cellular basis for paracrine regulation of ovarian follicle development[J]. Reproduction, 2001, 121(5): 647-653.

[5] Chun SY, Billig H, Tilly JL, et al. Gonadotrophin suppression of apoptosis in cultured preovulatory follicles: mediatory role of endogenous insulin like growth factor-I[J]. Endocrinology, 1994, 135(5):1845-1852.

[6] Thomas FH, Walters KA, Telfer EE. How to make a good oocyte: an update on in vitro models to study follicle regulation[J]. Hum Reprod Update, 2003, 9(6): 541-555.

[7] Brooke DA, Orsi NM, Ainscough JF, et al. Human menopausal and pregnant mare serum gonadotrophins in murine superovulation regimens for transgenic applications[J]. Theriogenology, 2007, 67(8): 1409-1413.

[8] 张春燕,刘丽均,狄 敏,等. 不同剂量孕马血清促性腺激素(PMSG)对未成年大鼠超数排卵效果与质量的影响[J]. 中国比较医学杂志,2007,17(6):338-340.

(编辑:文 灿)