

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2018.23.043

中心体在配子与早期胚胎中的遗传模式及其在辅助生殖中的意义*

周秦薇¹ 徐 莉¹ 魏 丹¹ 谢 琪¹ 顾亦凡^{1,2Δ}

(1 中南大学生殖与干细胞工程研究所 湖南 长沙 410078; 2 中信湘雅生殖与遗传专科医院 湖南 长沙 410078)

摘要: 中心体由中心粒周围物质(PCM)围绕一对相互垂直的圆柱形中心粒组成,是哺乳动物细胞内主要的微管组织中心,在细胞分裂时发挥重要的作用。中心体以半保留的形式复制,在精子及卵母细胞发生时会发生减灭,精子和卵母细胞各保留部分中心体的成分,在受精后重新组成功能完整中心体。精子的中心体结构发生异常将会导致男性的不育,卵母细胞的老化也会引起中心体蛋白缺陷,从而产生纺锤体结构异常,并导致受精及早期胚胎发育异常。中心体的结构与功能,与人类受精及胚胎发育密切相关,在辅助生殖中具有重要意义。

关键词: 中心体;人类;精子;卵母细胞;胚胎

中图分类号: Q132; Q593.4; Q492 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2018)23-4587-06

Centrosome Inheritance Patterns in Human Gametes and Early Embryos and its Significance in Assisted Reproduction*

ZHOU Qin-wei¹, XU Li¹, WEI Dan¹, XIE Qi¹, GU Yi-fan^{1,2Δ}

(1 Institute of Reproductive and Stem Cell Engineering, Central South University, Changsha, Hunan, 410078, China;

2 Reproductive and Genetic Hospital of CITIC-XIANGYA, Changsha, Hunan, 410078, China)

ABSTRACT: The centrosome is composed of pericentriolar material (PCM) surrounding a pair of perpendicular cylinder centriole. Centrosome is known as major microtubule organizing center (MTOC) in mammalian cells and plays an important role in cell division. The centrosome is replicated in a semi-reserved form. The centrosome reduction occurs during the process of spermiogenesis and oogenesis. The Sperm and oocyte retain the part of the centrosome and reconstitute the functional integrity centrosome after fertilization. The defects of sperm centrosome will lead to maleinfertility, and the aging of oocyte also results in abnormal spindle structure due to the defects of centrosomal protein and causes abnormalities in fertilization and early embryonic development. The centrosome structure and function crucial in human fertilization and embryo development, and also show great significances in human assisted reproduction.

Key words: Centrosome; Human; Sperm; Oocyte; Embryo

Chinese Library Classification(CLC): Q132; Q593.4; Q492 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2018)23-4587-06

前言

目前,体外受精-胚胎移植(in-vitro fertilization and embryo transfer, IVF-ET)技术是治疗不孕症的重要手段,但并非所有胚胎都能发育到婴儿阶段,大多数胚胎都会在植入前发育停滞。胚胎发育停滞的主要原因是染色体异常。中心体是哺乳动物细胞内主要的微管组织中心,在有丝分裂的过程中发挥重要作用^[1]。中心体结构或数量异常是导致早期胚胎发育过程中有丝分裂异常和染色体异常的重要原因。本文将对中心体在配子与早期胚胎中的遗传模式及其在辅助生殖中的意义进行综述,以期通过对中心体遗传模式的了解改善患者不孕症的治疗结局。1901年,由Boveri等人首次发现了中心体的存在,在海胆胚胎中多余的中心体导致多极的细胞分裂^[2],因此也提出了中心体遗传的父系模式的假设。近年来,人们对中心体的理解不断深入。在生殖领域中,对精子中心体的了解将有利于解决与中心

体功能障碍相关的男性不育症^[3],卵母细胞内的中心体异常可能导致非整倍体的形成,并导致后续疾病的发生,如特异性中心体功能缺失导致的儿童期癌症的产生^[4]。异常的中心体遗传方式是人类辅助生殖中受精失败和胚胎发育异常的原因之一^[5]。本文综述了中心体在人类精子、卵母细胞以及早期胚胎形成过程中的遗传模式及其在辅助生殖中的意义。

1 中心体的结构、功能与复制

1.1 中心体的结构与功能

典型的体细胞中心体由中心粒周围物质(pericentriolar material, PCM)围绕中心粒组成。中心粒是一对相互垂直的圆柱形结构,长0.1-0.5 μm,直径为0.1-0.2 μm^[6]。中心粒周围物质存在着许多中心体蛋白,一类是与中心体的结构与功能一直相关的中心体蛋白,如γ-tubulin, γ-微管蛋白环状复合物(γ-tubulin ring complex, γ-TuRC)以及Centrin,其始终存在于中心体内,也被

* 基金项目:国家自然科学基金项目(31401069);湖南省自然科学基金项目(2017JJ2327)

作者简介:周秦薇(1994-),硕士研究生,主要研究方向:生殖生物学, E-mail: 739989560@qq.com

Δ 通讯作者:顾亦凡(1979-),硕士生导师,助理研究员,主要研究方向:生殖生物学, E-mail: evangoo@163.com, 电话:0731-82355305

(收稿日期:2018-03-30 接受日期:2018-04-25)

认为是中心体核心蛋白;另一类是与中心体核心功能暂时相关的中心体蛋白,如核有丝分裂元件蛋白(Nuclear Mitotic Apparatus protein, NuMA)^[7]等,其可能在细胞周期的不同阶段离开中心体或重新被中心体募集。

中心体在细胞分裂时具有主导作用。中心体是细胞内主要的微管组织中心(microtubule organizing center, MTOC)^[8]。作为MTOC,中心体在募集微管和有丝分裂纺锤体构建中起到关键作用^[9]。纺锤体构建的第一个关键步骤就是发生在MTOC的微管募集,目前存在两种已知的微管募集方式^[10],一是WD域蛋白GCP-WD/NEDD1(neural precursor cell expressed, developmentally down-regulated 1),通过与 γ -TuRC结合来聚集微管和中心体定位;二是GCP9/MOZART1蛋白(mitotic-spindle organizing protein associated with a ring of γ -tubulin),它通过募集 γ -TuRC到中心体来起作用。此外,其还可以编排细胞周期事件,如有丝分裂的进入阶段,启动后期,胞质运动以及监控DNA损伤。在受精卵中,中心体的完整性对于进入S期^[11]、原核发育、原核迁移、原核融合以及第一次卵裂^[12]等均非常重要。中心体通过促进双极纺锤体的形成,从而确保姐妹染色单体的准确进入到两个子代细胞中^[12]。

1.2 中心体的复制

中心体的复制发生在间期S期^[13],不与DNA复制完全脱离关系,但是又不依赖于DNA自我复制的能力^[14],表现在中心体复制周期与细胞有丝分裂的周期是一致的,但中心体的复制是由中心粒复制来调控的。新生的细胞拥有一对中心粒,一个中心粒与另一个以相互垂直的方式位于细胞内。在有丝分裂的间期的G1期,两个中心粒开始分离,仅通过松散的纤维相连。分开后的这两个中心粒被称为母源中心粒,在G1/S过渡期,两个子代中心粒逐渐出现并分别与母源中心粒垂直,并在随后的整个G2期开始延长,直到与母源中心粒相似的大小^[2]。这种每对新生中心粒中含有一个母源中心粒一个子代中心粒的复制方式被称为半保留复制,正常情况下,一个细胞周期仅复制一次^[15]。如果中心体过度复制,会导致中心体数目异常,是导致染色体不稳定性的最主要的原因^[16]。除了中心体过度复制之外,这种数目异常发生还可能来自于细胞融合,胞质分离的失败等。中心体数目异常也会产生多极纺锤体,从而导致异常的有丝分裂^[17]。

通过超微结构水平的电子显微镜可以观察到中心粒复制的形态学事件^[18]。在G1期,在中心粒纵剖面的车轮状区域的横截面可以观察到辐条和车轮进行组装为前中心粒提供结构,并保持与母源中心粒的结合。G1/S的过渡期中, γ -TURC会聚集九个A型小管,并与车轮相连,形成中心粒前体。这些A型小管在整个复制周期保持着被 γ -TURC覆盖,直到有丝分裂结束。S/G2的过渡期中,B型和C型小管形成并生长到与A型小管相同的长度。在G2期,有A型小管与B型小管形成结构不同的中心粒。进入M期时,中心体带有垂直排列母代中心粒和前中心粒。除了中心粒的结构发生变化,中心体蛋白的组成在细胞周期的不同阶段也会发生一定的变化^[13]。在整个细胞周期中完全位于中心体的蛋白质中有 γ -tubulin和钙离子调节蛋白,如centrin, pericentrin等;只在分裂间期定位于中心体的蛋白质,最普遍的蛋白质是有丝分裂器蛋白(NuMa)。

2 人类配子内中心体的遗传模式

2.1 中心体的减灭及重新组装

在受精过程中,配子必须要有特定的机制来控制中心体遗传。如果来自两个配子的中心体均保留并保持功能,受精卵将具有两组中心体和四个中心粒,导致产生异常的多极纺锤体,从而产生非整倍体和嵌合体^[19]。为了在受精后得到功能完全的组合中心体,在配子发生过程中有非常明确的中心体减灭的程序^[11]。中心体物质减灭的过多或过少都会导致受精失败和发育异常^[19]。在精子发生以及卵母细胞中会发生的中心体退化,其具体的机制仍然未知,但是在精卵中的发生机制可能是相似的。精子发生时中心粒保留,却丢失了大多数的PCM,而卵子发生时丢失了中心粒,保留了大多数PCM,这些储备的中心体蛋白质分散在胞质中。受精后,中心体结构和功能恢复正常,准确的分离到各个子代细胞中,以调控细胞的有丝分裂。

在人类辅助生殖中,中心体的完整性对于受精与胚胎的发育至关重要。在人类受精过程中,精子提供了中心粒,卵母细胞提供中心粒周围物质。中心粒在精子进入卵母细胞之后,会与卵母细胞的中心粒周围物质结合形成功能完整的中心体,并募集微管蛋白形成精星体^[1]。而精星体是雌雄原核迁移所必须的。在人类不孕不育的众多因素之中,越来越多的研究者认为精子的中心粒缺陷将会导致男性不育症^[20,21]。

2.2 精子与中心体

精子的主要功能就是将父源性的23条染色体以及中心粒传递到卵母细胞中,并激活卵母细胞。在初级精母细胞和次级精母细胞中,中心粒的形态与正常体细胞的形态没有什么差别。在睾丸的生精小管中,精母细胞经过减数分裂产生圆形的精子细胞,然后通过精子发生过程将精母细胞转化成细长的,活动能力强的精子,形成的精子将在附睾内进一步成熟。精子分为头部、颈部和尾部。只有颈部携带着中心粒。中心粒在精子发生的不同阶段具有不同的形态变化,在最初的圆形精子细胞中有个尾部锥形,形成一个延长的微管轴突,这是圆形精子中心粒最显着的功能。精子细胞延长阶段中,在颈部区域可以看到中心体复合体作为一个暗杆状的结构,并向后延伸细长的轴突,此时中心体看起来正常,但已经不能聚集微管,失去了基本功能^[5]。哺乳动物的中心体退化发生包括四个阶段:微管聚集功能的丧失,过渡性MTOCs的形成,中心体蛋白的丢失,中心粒的退化^[5]。大多数动物的雄性进行减数分裂时,能观察到在分裂的两极各有两个中心粒。在受精前,精子含有两个不同的中心粒结构^[22],分为远端中心粒和近端中心粒。远端中心粒与近端中心粒垂直,并与精子的轴突或尾部相齐^[23]。中心粒的退化也在成熟的精子中发生。但并不是所有哺乳动物中心粒的退化方式都是一样的。在大多数非啮齿哺乳动物的精子中,只发生中心粒的部分退化,即只有远端中心粒的退化,这个退化发生在精子进入附睾并成熟的阶段,退化后的远端中心粒将以残余体的形式出现。如在非人灵长类动物中,发现在恒河猴^[24]中与远端中心粒相关的centrin约有一半发生退化,成熟的精子具有高度退化的远端中心粒。而近端中心粒在绵羊^[25]、公牛^[26]和人类^[27]中都仍然保持完整;在少数啮齿类哺乳动物的中心粒发生完全退化,如在小鼠或者大鼠体内会中心粒发生完全的退化^[19],

故不能利用小鼠作为模式生物来研究非啮齿类哺乳动物的中心粒。总的来说,在非啮齿类哺乳动物中,所有子代的中心粒来源于精子中心粒,即发挥功能的近端中心粒以及已退化的形式存在的远端中心粒;而在大多数无脊椎动物和啮齿类动物中,精子的这两种中心粒都消失,故中心粒需从受精卵阶段开始从头合成。

人们普遍认为精子的形态能够反映男性的生殖能力。但实际上,形态学方面只能让人们片面的了解精子的功能,更多的应该集中于精子结构上的差异。精子的某些结构对于受精成功是必不可少的,如精子的细胞核、中心粒等。精子的中心粒对于受精和胚胎发育是必不可少的^[28]。Chemes等通过对10名患有不孕不育男性进行研究,发现他们带有无头精子或者精子头尾连接处异常^[29]。研究显示由于在精子发生阶段中精子异常的颈部(中心体所在位置)发育,导致这种无头精子或头中部附着异常的精子产生,然后引起不育。这是一种典型的精子结构异常导致的受精失败。而且这种病因具有家族遗传性。由于这种异常直接导致中心粒受损,中心粒不能发挥其微管组织中心的作用,也不能形成精子星状体或受精卵星状体,从而导致不育。并且这种异常使用ICSI技术也较难得到正常的胚胎。Silber等^[21]发现从有严重生精障碍的男性睾丸中提取的精子,在受精后胚胎的嵌合体发生率较高,这提示可能由于中心体结构的不成熟而导致了胚胎的嵌合体。

广为争议的使用圆形精子细胞(即未成熟的精子)直接注射进入卵母细胞(round spermatid injection, ROSI)技术虽然在小鼠中已经得到了成功^[29],但是在人类中仍需要解决一系列问题。首先由Ogura和Yanagimachi在1993年^[30]在仓鼠的卵细胞中尝试ROSI,目的是为了检测圆形精子细胞核是否能够转化为受精卵中的雄性原核。之后,也在其他哺乳动物中实行了ROSI,但是成功率却相当低下。可能的一个原因是由于圆形精子细胞的中心粒在非啮齿哺乳动物中并不完全成熟,所以不能在卵母细胞中聚集微管。圆形精子卵细胞注射的ICSI进程并没有得到充分的探索,并且这种类型的精子不能保持完整的中心体功能,从而很难在人类中通过ROSI得到可行的后代^[31]。这也说明了中心粒的成熟对于胚胎发育非常重要,但是有关中心体成熟相关的特定因子仍需要大量的研究。

针对上述的精子中心体异常的问题,可以通过异种ICSI系统来评估精子中心体的功能和星状体的形成,即将人类精子注射入兔子或者牛的卵母细胞^[32,33]。这种系统可以直接探讨精子中心体功能异常与不育的关系,但存在一定的伦理问题。Ugajin等人^[34]在2008年的研究提出选择含有精子中心粒的中间段形态正常的精子,以提高使用ICSI时的受精率。在无精子症中通过与牛卵细胞的异种ICSI评估了中心体的功能,无精子症的患者精子星状体形成率很低。因此,精子星状体的不同大小反映不同的精子受精能力和发育潜能。

2.3 卵母细胞与中心体

卵母细胞发生在胎儿的卵巢中开始进行^[35],是由原始生殖细胞(PGC)在发育的第三周通过生殖脊从原始卵黄囊迁移到性腺中,形成成千上万的原始卵原细胞。卵原细胞中心体最显著的特点是具有两个典型的似核状的中心粒和围绕在周围的致密PCM,功能等同于体细胞的中心体^[35]。一个卵原细胞经历减

数分裂后只能得到一个卵母细胞,其余均以极体的形式排出。卵细胞经历了减数第二次减数分裂(MII)中期,并排出第一极体后成熟,可以参与受精过程。在减数分裂过程中卵母细胞的中心体发生退化,其中心粒消失。

在动物的卵母细胞发生中会发生中心体减灭,卵母细胞中心体减灭的一个重大事件就是中心粒的丢失^[3],但中心体周围物质(PCM)基本还是存在的。使用电子显微镜观察小鼠卵母细胞减数分裂前和减数分裂阶段,发现在减数分裂的粗线期,卵细胞显示出正常的中心粒。但是在接下来的时期发现中心粒缺失。在减数分裂过程中,卵母细胞周围的MTOCs或者纺锤体两极均没有发现中心粒的存在^[11]。人类^[36]中也验证了同类的现象,在大多数动物的卵母细胞都存在这种中心体退化的现象。已知大部分哺乳动物MII纺锤体的长轴垂直于卵母细胞表面,而小鼠中MII纺锤体长轴平行于卵母细胞表面。在人类等大多数哺乳动物中,需要从精子中获取中心粒,依靠精子的近端中心粒形成精星体,以促进MTOC的产生。而在小鼠中,不需要从精子中获取中心粒,卵母细胞本身就具有产生模拟中心体功能以产生多个MTOC的能力^[13]。从小鼠的卵母细胞和精子的中心粒退化推测中心粒退化可能参与其他的生物学功能^[3]。人类成熟的卵母细胞没有中心粒,猜测卵母细胞的中心粒很有可能被排到第一极体当中,但Sathananthan^[37]等的研究中,却没有发现在GV期卵母细胞和几个极体中并没有发现中心粒的存在。故卵母细胞的中心粒可能以一种特殊的方式退化。在人类未受精的卵母细胞中,无中心粒的中心体是卵母细胞减数分裂纺锤体极点的特点。MI和MII纺锤体通过组织这些无中心粒的中心体(或微管组织中心)来形成双极纺锤体^[12],从而使姐妹染色单体分离。综上所述,大多数哺乳动物的MII纺锤体呈桶形,无中心粒在其中故不能形成星状体,与细胞膜表面垂直对齐,它是评估卵母细胞质量的重要标准。

由于MII纺锤体两极没有中心粒^[38],所以在卵母细胞中,如果中心体蛋白质缺陷,或者是MII纺锤体完整性丧失,都将导致不孕^[39]。已知在人类老化的卵细胞^[40]中心体蛋白会发生分散,如中心体相关蛋白质NuMA和 γ -微管蛋白从中心体核心结构中脱离而导致非整倍体的产生^[4],老化的卵母细胞MII纺锤体相对于正常卵母细胞更短,这将对染色体的分离造成严重的影响,甚至导致异常的卵裂。此外免疫细胞化学研究^[41]分析老化的卵母细胞更容易看到MII纺锤体受损,甚至四极纺锤体,这也可能是较大年龄的妇女进行辅助生殖时,胚胎容易发生异常卵裂,胚胎发育潜力低下的原因。因此可以得出中心体的稳定性对于精确的微管动力,维持减数分裂纺锤体的完整性以及染色体正常分离至关重要。染色体的错误分离会引起卵母细胞及胚胎的染色体异常并导致不孕。

3 受精卵、早期胚胎与中心体

3.1 受精卵与中心体

在精子进入到卵母细胞内不久后,精子的近端中心粒将会形成精子星状体,精子星状体对于原核迁移和雌雄原核排列合至关重要,能够引导雌雄原核并列。除此之外,精子星状体也可作为信号转导分子,从卵母细胞中募集中心体蛋白,从而形成精子中心粒-中心体复合物。精子的近端中心粒与去浓缩的精

子核密切相关,而精子核会逐渐发育成雄性原核。受精后不久,中心粒的数量和功能可能存在一些混乱,但在精子和卵母细胞中心体成分融合后会恢复正常,并形成精星状体。Manandhar^[41]等提出精子会提供两个中心粒,并从卵细胞内募集中心体蛋白质组成功能性的中心体。但实际上只有近端中心粒组织微管,远端中心粒并没有发挥作用。未受精的卵母细胞中存在r-微管蛋白复合体,它是由r-微管蛋白和辅助蛋白组成。r-微管蛋白复合体与中心体核心结构一直相连,并在整个细胞周期持续募集微管。在精子进入卵母细胞后,精子中心粒将募集卵母细胞的r-微管蛋白复合体,并继续聚集更多的微管蛋白,精星体将通过受精卵中心体形成受精卵星状体。

在体外受精技术中,将卵母细胞排出第二极体和显示出雌雄两个原核,认为是成功受精的标志。但是在IVF与ICSI中,有时候会发生在受精卵中只有一个原核(1PN),或三个原核(3PN)甚至多个原核等现象。1PN的形成机制有四种,一是卵母细胞的孤雌激活,二是雌雄原核已经发生融合,三是雌雄原核形成不同步,四是孤雄生殖^[42]。目前认为,大多数1PN都是双亲起源的^[43]。孤雌生殖(Parthenotes)胚胎的细胞核来源于卵母细胞。在除了啮齿类外的哺乳动物中,孤雌生殖的胚胎都缺乏遗传于精子的中心粒^[44]。尽管卵母细胞缺乏中心粒,但是它们具有潜在存在的MTOCs,它会在卵母细胞进行孤雌生殖的时候代替中心粒起到纺锤体的作用^[5],因此孤雌生殖的胚胎也能够进行正常的有丝分裂。3PN的形成也有四种可能性,一是来自于体外受精过程的双精受精,二是卵细胞的第二极体未排除,三是来源于二倍体卵细胞,四是极少数来源于二倍体精子^[45]。IVF过程中得到的3PN来源于第一种可能性极大,且这种胚胎存在两个雄原核和一个雌原核(三倍体)常报道直接卵裂成三个细胞。可能是由于双精受精导致受精卵中存在来自于两条精子的两个中心体或四个中心粒,形态上可能与正常胚胎没有差别,但是会形成异常的多极纺锤体,在姐妹染色单体分离的过程中出现异常。故这种直接卵裂的胚胎往往可能是染色体三倍体甚至非整倍体或者有其他缺陷。只有当多余的中心体聚集(centrosome clustering)或不发挥功能时,也会产生两极纺锤体,只是发生几率很低^[46]。但是也有最近的报道说大多数的多余中心体会发生聚集而形成正常的双极纺锤体的形式,但仍然导致染色体的不稳定^[47]。第二三种可能性都为卵母细胞异常,这样的胚胎存在两个雌原核和一个雄原核(三倍体),由于中心体数量正常,第一次卵裂后一般形成三倍体胚胎。除此之外,某些病毒蛋白的表达也可以诱导发生异常卵裂,如腺病毒,人乳头瘤病毒(HPV),乙型肝炎病毒(HBV)等^[48]。

Yoshiteru Kai^[49]等提出可以使用DNA甲基化状态(5-甲基胞嘧啶(5mC)和5-羟甲基胞嘧啶(5hmC))的差异来区分经IVF或ICSI后人类受精卵中的雌雄原核,同时对胚胎进行免疫荧光染色检测中心体的数目。由于人类卵母细胞中心粒退化,胚胎中的中心粒只来自于精子。故中心粒的数目即代表进入精子的数目。这样能够辨别出常规方法不能检测出的正常二倍体(两个原核都是雄原核)但是却含有多余中心体的胚胎。这种新技术可能在易于出现原核异常或早期细胞周期异常的病人中进行临床应用。

3.2 早期胚胎与中心体

正如前文所述,中心体的复制周期与卵裂周期将同时进行,G1期卵裂球有一个中心体,经过S期的复制,在G2期有2个中心体,并在有丝分裂期形成双极的纺锤体,确保了姐妹染色单体均等的分离到两个子代卵裂球中。在精子和卵母细胞正常受精后16-18 h左右,即可看到两个原核的出现,在20-22原核开始消失,23-25 h左右(d1)发生第一次卵裂形成2-细胞。在40-44 h(d2)进入第二个分裂间期,进行第二次卵裂,形成3-4细胞。在56-58 h(d3)发生第三次卵裂时,形成6-8细胞阶段^[29]。胚胎通常在16细胞阶段(d4)形成桑葚胚并发生紧密化,在d5桑葚胚出现囊腔形成囊胚,d6发生囊胚的孵出。

一些研究通过延时成像的连续动态观察,发现在人类植入前胚胎的发育过程中除了正常的卵裂模式(一个卵裂球分裂为2个等大的卵裂球)外,还存在8类型的异常卵裂模式,包括多极卵裂(一个卵裂球分裂为2个以上卵裂球),不对称卵裂,碎裂,大碎片,异常胞质运动,发育停滞以及发育次序混乱等。在前3次卵裂过程中,72.2%胚胎都至少会发生一次异常卵裂,只有27.8%胚胎卵裂完全正常;在上文中,我们已经简述了多极卵裂发生的可能机制。在这些异常卵裂中,多极卵裂的发生率为18.7%。最近一系列研究显示,发生多极卵裂的人类胚胎体外发育潜能极低,在移植后的植入能力也非常有限,妊娠率几乎为0^[28]。这些胚胎在形态上与正常卵裂胚胎之间难以鉴别,只能通过延时成像技术进行筛选。前文提到,精子的中心粒对于受精和胚胎发育是必不可少的。精子的中心粒缺陷或过多都可能会导致异常卵裂的以及胚胎发育潜能受损,进一步认为某些因素例如单精子胞浆内注射(ICSI)的操作可能导致精子颈部的中心粒损伤,从而引起胚胎的异常卵裂^[26]。Kalatova等^[48]对人类胚胎多极卵裂的发生率,机制及临床意义进行了更为详细的综述,作者认为各种原因引发的中心体调控蛋白缺陷,会引起中心体数量异常,这可能是导致多极卵裂发生的主要原因。

Chatzimeletiou等^[55]首次发现在人类正常发育及发育停滞的早期胚胎中各种纺锤体及中心体的异常,包括多极纺锤体。受精卵中存在多余中心体,将产生多极纺锤。多极纺锤体通常会导致染色体错分离,从而产生非整倍型胚胎。Holubcova等^[15]研究显示,在有丝分裂期人类胚胎干细胞中也存在较高比例的多余中心体及多极纺锤体,这种现象与胚胎干细胞染色体不稳定关系密切。说明中心体数目正常对于早期胚胎的发育非常重要。在Comizzoli等对哺乳动物家猫的研究在经ICSI后中心体的功能(通过评估精子星状体的形成)对受精卵的第一次卵裂时间,受精率,桑葚囊胚形成的影响。结果显示睾丸中的精子存在中心体功能障碍,将导致第一次卵裂延迟,发育潜能性低以及桑葚囊胚形成降低。若用射精精子的中心体取代睾丸精子的中心体,将会提高睾丸精子形成受精卵的发育能力。进一步说明了中心体的功能与胚胎发育的潜能性密切相关,对早期胚胎发育至关重要。

在卵裂过程中,形成双极纺锤体有利于胚胎的正常发育,而纺锤体的形成需要微管的锚定与微管聚集,一些中心体蛋白在微管锚定中起作用,如nincin和centriolin等,而另一些中心体蛋白对于微管成核起作用,如PCMT1、PCNT2和Aurora激酶等。中心体蛋白在纺锤体形成中是必不可少的。若是这些蛋白的异常的上调或下降,会阻碍纺锤体的形成,导致胚胎的异

常发育。这可能是中心体异常会影响早期胚胎发育的原因之一。由此可见,中心体数量及功能的正常是人类早期胚胎正常卵裂所必需的,发生中心体数量及功能的异常,将导致卵裂以及染色体数量的异常。

4 小结与展望

人类配子发生与早期胚胎发育的过程中,中心体虽然体积微小,但在减数分裂及有丝分裂中发挥了重要的作用。目前研究证实人类早期胚胎在发育过程中存在高频率的染色体异常,并且可能是导致其发育停滞的主要原因。已经有研究明确中心体缺陷可能导致配子或胚胎染色体异常^[9],但对于其发生机制的深入研究仍然非常有限。研究人类配子及早期胚胎内的中心体遗传规律不仅能够帮助我们更好的理解人类胚胎发育停滞的机制,而且可能帮助改善不孕症患者的治疗结局,具有重要的理论及应用价值。

参考文献(References)

- [1] Hochi S. Microtubule assembly crucial to bovine embryonic development in assisted reproductive technologies [J]. Anim Sci J, 2016, 87 (9): 1076-1083
- [2] Fu J, Hagan I M, Glover D M. The Centrosome and Its Duplication Cycle[J]. Cold Spring Harb Perspect Biol, 2015, 7(2): a15800
- [3] Manandhar G, Schatten H, Sutovsky P. Centrosome Reduction During Gametogenesis and Its Significance [J]. Biology of Reproduction, 2001, 72(1): 2-13
- [4] Schatten H, Sun Q Y. Centrosome and microtubule functions and dysfunctions in meiosis: implications for age-related infertility and developmental disorders [J]. Reproduction Fertility & Development, 2015, 27(6): 934
- [5] Manandhar G, Simerly C, Schatten G. Centrosome reduction during mammalian spermiogenesis [J]. Curr Top Dev Biol, 2000, 49: 343-363
- [6] Dong G. Building a ninefold symmetrical barrel: structural dissections of centriole assembly[J]. Open Biology, 2015, 5(8)
- [7] Kettenbach A N, Schweppe D K, Faherty B K, et al. Quantitative phosphoproteomics identifies substrates and functional modules of Aurora and Polo-like kinase activities in mitotic cells [J]. Sci Signal, 2011, 4 (179): s5
- [8] Pihan G A, Wallace J, Zhou Y, et al. Centrosome abnormalities and chromosome instability occur together in pre-invasive carcinomas[J]. Cancer Res, 2003, 63(6): 1398-1404
- [9] Hinduja I, Baliga N B, Zaveri K. Correlation of human sperm centrosomal proteins with fertility [J]. Journal of Human Reproductive Sciences, 2010, 3(2): 95-101
- [10] Petry S. Mechanisms of Mitotic Spindle Assembly [J]. Annu Rev Biochem, 2016, 85: 659-683
- [11] Manandhar G, Schatten H, Sutovsky P. Centrosome reduction during gametogenesis and its significance[J]. Biol Reprod, 2005, 72(1): 2-13
- [12] Baumann K. Development: A gradual transition[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2012, 13(9): 542
- [13] Palermo G D, Colombero L T, Rosenwaks Z. The human sperm centrosome is responsible for normal syngamy and early embryonic development[J]. Reviews of Reproduction, 1997, 2(1): 19-27
- [14] 梁前进. 细胞器不依赖于 DNA 的复制 -- 中心体自主复制解读[J]. 科学通报, 2017, (13): 1333-1345
Liang Qian-jin. Organellar replication that is independent of DNA: Unscrambling the autonomous centrosomal replication [J]. Chin Sci Bull, 2017, (13): 1333-1345
- [15] Holubcova Z, Matula P, D M S X, et al. Human Embryonic Stem Cells Suffer from Centrosomal Amplification[J]. Stem Cells, 2011, 29 (1): 46
- [16] Vitre B D, Cleveland D W. Centrosomes, chromosome instability (CIN) and aneuploidy [J]. Current Opinion in Cell Biology, 2012, 24 (6): 809
- [17] Mantzouratou A, Delhanty J D A. Aneuploidy in the Human Cleavage Stage Embryo [J]. Cytogenetic & Genome Research, 2011, 133(2-4): 141-148
- [18] Firat-Karalar E N, Stearns T. The centriole duplication cycle[J]. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci, 2014, 369(1650)
- [19] Schatten H, Sun Q Y. The role of centrosomes in mammalian fertilization and its significance for ICSI [J]. Molecular Human Reproduction, 2009, 15(9): 531
- [20] Chemes H E, Puigdomenech E T, Carizza C, et al. Acephalic spermatozoa and abnormal development of the head-neck attachment: a human syndrome of genetic origin [J]. Human Reproduction, 1999, 14 (7): 1811-1818
- [21] Silber S, Escudero T, Lenahan K, et al. Chromosomal abnormalities in embryos derived from testicular sperm extraction [J]. Fertil Steril, 2003, 79(1): 30-38
- [22] Avidor-Reiss T, Khire A, Fishman E L, et al. Atypical centrioles during sexual reproduction[J]. Front Cell Dev Biol, 2015, 3: 21
- [23] Russell L. Atlas of Human Spermatogenesis[A]. A. F. Holstein, E. C. Roosen-Runge[C]. Journal of Andrology, 1983, 4(1): 108
- [24] Manandhar G, Schatten G. Centrosome reduction during Rhesus spermiogenesis: gamma-tubulin, centrin, and centriole degeneration [J]. Molecular Reproduction & Development, 2000, 56(4): 502
- [25] Crozet N. Behavior of the sperm centriole during sheep oocyte fertilization[J]. European Journal of Cell Biology, 1990, 53(2): 326
- [26] Sutovsky P, Navara C S, Schatten G. Fate of the sperm mitochondria, and the incorporation, conversion, and disassembly of the sperm tail structures during bovine fertilization [J]. Biology of Reproduction, 1996, 55(6): 1195-1205
- [27] Sathananthan A H, Kola I, Osborne J, et al. Centrioles in the Beginning of Human Development[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1991, 88(11): 4806
- [28] Rubio I, Kuhlmann R, Agerholm I, et al. Limited implantation success of direct-cleaved human zygotes: a time-lapse study [J]. Fertil Steril, 2012, 98(6): 1458-1463
- [29] Ogura A, Matsuda J, Yanagimachi R. Birth of normal young after electrofusion of mouse oocytes with round spermatids[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1994, 91(16): 7460
- [30] Ogura A, Yanagimachi R. Round spermatid nuclei injected into hamster oocytes from pronuclei and participate in syngamy[J]. Biology of Reproduction, 1993, 48(2): 219-225
- [31] Yanagimachi R. Intracytoplasmic injection of spermatozoa and sper-

- matogenic cells: its biology and applications in humans and animals [J]. Reproductive Biomedicine Online, 2005, 10(2): 247-288
- [32] Yoshimoto-Kakoi T, Terada Y, Tachibana M, et al. Assessing centrosomal function of infertile males using heterologous ICSI[J]. Syst Biol Reprod Med, 2008, 54(3): 135-142
- [33] Terada Y, Nakamura S, Simerly C, et al. Centrosomal function assessment in human sperm using heterologous ICSI with rabbit eggs: a new male factor infertility assay [J]. Mol Reprod Dev, 2004, 67(3): 360-365
- [34] Ugajin T, Terada Y, Hasegawa H, et al. Novel strategy of ICSI - selection of sperm with morphologically normal midpiece by using IMSI [J]. Fertility & Sterility, 2008, 90(3): S202
- [35] Sathananthan A H. Ultrastructure of human gametes, fertilization and embryos in assisted reproduction: a personal survey[J]. Micron, 2013, 44: 1-20
- [36] Hertig A T, Adams E C. Studies on the human oocyte and its follicle. I. Ultrastructural and histochemical observations on the primordial follicle stage[J]. Journal of Cell Biology, 1967, 34(2): 647-675
- [37] Sathananthan A H, Selvaraj K, Girijashankar M L, et al. From oogenesis to mature oocytes: inactivation of the maternal centrosome in humans[J]. Microsc Res Tech, 2006, 69(6): 396-407
- [38] Sathananthan A, Ratnasooriya D W, Gunasheela S, et al. The human sperm : its contribution to fertilization and embryogenesis[M]. Wiley Blackwell, 2004
- [39] Miao Y L, Kikuchi K, Sun Q Y, et al. Oocyte aging: cellular and molecular changes, developmental potential and reversal possibility [J]. Hum Reprod Update, 2009, 15(5): 573-585
- [40] Terada Y, Hasegawa H, Ugajin T, et al. Microtubule organization during human parthenogenesis [J]. Fertility & Sterility, 2009, 91(4): 1271-1272
- [41] Hall V J, Compton D, Stojkovic P, et al. Developmental competence of human in vitro aged oocytes as host cells for nuclear transfer[J]. Hum Reprod, 2007, 22(1): 52-62
- [42] Balakier H, Squire J, Casper R F. Characterization of abnormal one pronuclear human oocytes by morphology, cytogenetics and in-situ hybridization[J]. Hum Reprod, 1993, 8(3): 402-408
- [43] Van der Heijden G W, van den Berg I M, Baart E B, et al. Parental origin of chromatin in human monopronuclear zygotes revealed by asymmetric histone methylation patterns, differs between IVF and ICSI [J]. Mol Reprod Dev, 2009, 76(1): 101-108
- [44] Brevini T A L, Pennarossa G, Maffei S, et al. Centrosome Amplification and Chromosomal Instability in Human and Animal Parthenogenetic Cell Lines [J]. Stem Cell Reviews & Reports, 2012, 8(4): 1076-1087
- [45] Rosenbusch B, Schneider M, Glaser B, et al. Cytogenetic analysis of giant oocytes and zygotes to assess their relevance for the development of digynic triploidy[J]. Hum Reprod, 2002, 17(9): 2388-2393
- [46] Chatzimeletiou K, Morrison E E, Prapas N, et al. Spindle abnormalities in normally developing and arrested human preimplantation embryos in vitro identified by confocal laser scanning microscopy [J]. Hum Reprod, 2005, 20(3): 672-682
- [47] Maiato H, Logarinho E. Mitotic spindle multipolarity without centrosome amplification[J]. Nat Cell Biol, 2014, 16(5): 386-394
- [48] Kalatova B, Jesenska R, Hlinka D, et al. Tripolar mitosis in human cells and embryos: occurrence, pathophysiology and medical implications[J]. Acta Histochemica, 2015, 117(1): 111-125
- [49] Kai Y, Iwata K, Iba Y, et al. Diagnosis of abnormal human fertilization status based on pronuclear origin and/or centrosome number[J]. J Assist Reprod Genet, 2015, 32(11): 1589-1595
- [50] Kalatova B, Jesenska R, Hlinka D, et al. Tripolar mitosis in human cells and embryos: occurrence, pathophysiology and medical implications[J]. Acta Histochemica, 2015, 117(1): 111-125
- [51] Kai Y, Iwata K, Iba Y, et al. Diagnosis of abnormal human fertilization status based on pronuclear origin and/or centrosome number[J]. J Assist Reprod Genet, 2015, 32(11): 1589-1595
- [52] Kalatova B, Jesenska R, Hlinka D, et al. Tripolar mitosis in human cells and embryos: occurrence, pathophysiology and medical implications[J]. Acta Histochemica, 2015, 117(1): 111-125
- (上接第 4582 页)
- [53] Smidt-Jensen S, Christensen B, Lind AM. Chorionic villus culture for prenatal diagnosis of chromosome defects: reduction of the long-term cultivation time[J]. Prenat Diagn, 1989, 9(5): 309-319
- [54] Diane Van Opstal, Malgorzata I Srebnik. Cytogenetic confirmation of a positive NIPT result: evidence-based choice between chorionic villus sampling and amniocentesis depending on chromosome aberration [J]. Expert Review of Molecular Diagnostics, 2016, 16(5): 513-520
- [55] Grati FR, Malvestiti F, Ferreira JC, et al. Fetoplacental mosaicism: Potential implications for false-positive and false-negative noninvasive prenatal screening results[J]. Genet Med, 2014, 16: 620-624
- [56] Srebnik MI, Diderich KE, Noomen P, et al. Abnormal non-invasive prenatal test results concordant with karyotype of cytotrophoblast but not reflecting abnormal fetal karyotype [J]. Ultrasound Obstet Gynecol, 2014, 44(1): 109-111
- [57] Smith K, Lowther G, Maher E, et al. The predictive value of findings of the common aneuploidies, trisomies 13, 18 and 21, and numerical sex chromosome abnormalities at CVS: experience from the ACC U. K. Collaborative Study. Association of Clinical Cytogeneticists Prenatal Diagnosis Working Party[J]. Prenat Diagn, 1999, 19(9): 817-826
- [58] Jingmei Ma, David S Cram, Jianguang Zhang, et al. Birth of a child with trisomy 9 mosaicism syndrome associated with paternal isodisomy 9: case of a positive noninvasive prenatal test result unconfirmed by invasive prenatal diagnosis[J]. Molecular Cytogenetics, 2015, 8: 44
- [59] Min Pan, Fa Tao Li, Yan Li, et al. Discordant results between fetal karyotyping and non-invasive prenatal testing by maternal plasma sequencing in a case of uniparental disomy 21 due to trisomic rescue[J]. Prenatal Diagnosis, 2013, 33: 598-601