

综述

环磷酸腺苷参与哺乳动物卵泡发育的研究进展

郑文影¹, 王超^{1,2,*}

¹中国农业大学生物学院农业生物技术国家重点实验室, 北京 100094; ²宁夏大学生命科学学院西部特色生物资源保护与利用教育部重点实验室, 银川 750021

摘要: 环磷酸腺苷(cyclic adenosine monophosphate, cAMP)是哺乳动物体内重要且保守的第二信使之一, 可通过转导细胞外信号参与调节多种器官和组织的发育及生理功能。已有研究显示, 雌性哺乳动物卵母细胞减数分裂进程与cAMP的水平变化密切相关且受到严格调控。卵母细胞中cAMP主要由腺苷酸环化酶3 (adenylate cyclase 3, AC3)合成, 其降解则受磷酸二酯酶3A (phosphodiesterase 3A, PDE3A)调控, 这两者共同协调卵母细胞cAMP水平, 从而使其在雌性卵巢的卵泡发育和卵子发生过程中发挥关键性作用。研究证明, 处于生长卵泡中的卵母细胞胞质内高水平的cAMP可维持卵母细胞第一次减数分裂长期处于阻滞状态, 只有当cAMP的合成被下调或其被PDE3A降解时, 卵母细胞才能恢复减数分裂并成熟。而新近的研究显示, cAMP在卵子发生的其他阶段也发挥着重要的生理功能。为了能更全面地了解cAMP参与哺乳动物配子发生的调节作用及机制, 本文综述了近年来国内外cAMP调节哺乳动物卵泡发育的相关研究成果, 以期为深入理解cAMP与生殖细胞发生、发育的关系提供参考。

关键词: 环磷酸腺苷; 卵泡形成与发育; 卵母细胞; 颗粒细胞

中图分类号: Q492.5

Research progress of cyclic adenosine monophosphate in mammalian follicular development

ZHENG Wen-Ying¹, WANG Chao^{1,2,*}

¹State Key Laboratory for Agrobiotechnology, College of Biological Sciences, China Agricultural University, Beijing 100094, China;
²Key Laboratory of Ministry of Education for Conservation and Utilization of Special Biological Resources in the Western China, College of Life Science, Ningxia University, Yinchuan 750021, China

Abstract: Cyclic adenosine monophosphate (cAMP) is one of the significant and conserved second messengers in mammals, and it participates in regulating the developmental and physiological functions of various organs and tissues through transducing extracellular signals. Studies have shown that the process of meiosis in female mammalian oocytes is closely related to the level of cAMP and strictly regulated. In oocytes, cAMP is mainly synthesized by adenylate cyclase 3 (AC3) and degraded by phosphodiesterase 3A (PDE3A), both of which jointly regulate the level of cAMP in oocytes and play important roles in the follicular development and oogenesis of female ovaries. It has been well illuminated that high level of cAMP in the cytoplasm of oocytes in growing follicles could maintain the arrest of the first meiotic of oocytes for a long time. The oocytes will resume meiosis and mature either when the synthesis of cAMP is down-regulated, or when cAMP is degraded by PDE3A. In recent years, the novo physiological functions of cAMP in oogenesis have been reported. To better understand the regulatory role and mechanism of cAMP in mammalian gametogenesis, this paper reviews the relevant research regarding the relationship between cAMP and germ cell development.

Key words: cAMP; folliculogenesis and follicular development; oocyte; granulosa cell

Received 2020-08-08 Accepted 2021-02-08

Research from the corresponding author's laboratory was supported by the National Key Research and Development Program of China (No. 20018YFC1003700, 2018YFC1003801).

*Corresponding author. Tel: +86-10-62733435; E-mail: wangcam@cau.edu.cn

环磷酸腺苷 (cyclic adenosine monophosphate, cAMP) 作为细胞内普遍存在的第二信使, 可以作为信号转导器接受胞外信号, 并进一步作用于胞内效应分子调控胞内其它信号通路, 从而参与基因转录、物质代谢、细胞生长和分化等多种生理过程, 在器官和机体发育中起着至关重要的作用^[1]。关于 cAMP 在雌性生殖系统, 尤其是卵泡发育中的作用, 早在二十世纪中后期就已发现高浓度 cAMP 可以维持小鼠卵母细胞减数分裂的阻滞, 进而抑制卵母细胞成熟^[2]。经过几十年的研究, 目前对 cAMP 在卵母细胞成熟中的作用已研究得较为广泛和透彻, 学者们对卵泡形成、发育和成熟的过程和机制有了更深入的了解。鉴于此, 本文就 cAMP 调节雌性哺乳动物卵泡发育的主要进展做简要综述。

1 cAMP及其功能简介

cAMP 是第一个被识别的第二信使, 它在物种间高度保守, 在哺乳动物体内以 ATP 作为底物由腺苷酸环化酶 (adenylyl cyclase, AC) 催化合成。一般来讲, 通过膜受体发挥生理效应的激素或神经递质等信号分子不能直接进入细胞, 而是与细胞膜上的受体结合后, 通过受体启动胞内信号转导, 例如 G 蛋白耦联受体 (G protein-coupled receptor, GPCR)、肾上腺素能受体 (adrenergic receptor, AR)、促肾上腺皮质激素释放激素受体 (corticotropin releasing hormone receptor, CRHR) 等。胞外刺激通过激活膜上的受体使 G 蛋白活化, 从而在胞内控制 cAMP 的合成。伴随第二信使 cAMP 的产生, 进一步激活下游效应分子, 主要有蛋白激酶 A (protein kinase A, PKA)、cAMP 直接激活的交换蛋白 (exchange proteins directly activated by cAMP, EPAC) 和环核苷酸门控离子通道 (cyclic nucleotide-gated ion channels, CNG)。随后介导胞内其他信号途径发生级联反应, 并允许细胞对外界信号做出应答和发生调整, 在哺乳动物多种生理活动中发挥关键作用^[3]。

1.1 cAMP的合成和降解

细胞内第二信使的合成离不开 G 蛋白参与的信号转导途径, 其由细胞膜表面受体、异源三聚体 G 蛋白和效应器组成^[4]。G 蛋白即 GTP 结合蛋白, 是多种信号转导的中心环节, 细胞膜表面的 GPCR 等受体接受胞外信号的刺激后, GTP 可结合到 α 亚基上激活 G 蛋白, 进而作用于下游效应器参与信号转导过程, 主要涉及第二信使 cAMP 和磷脂酰肌醇等

信号通路^[5]。由于 G 蛋白结构的复杂性, 已在生物体中发现多种不同类型的 G 蛋白, 它们可与不同效应器作用在信号传导中发挥着多种作用^[6]。其中, Gs 蛋白 (stimulatory G proteins) 可以耦联多种细胞表面受体, 结合 ATP 激活 AC 进而合成 cAMP, 相反 Gi 蛋白 (inhibitory G proteins) 则发挥抑制 AC 活性的功能^[7]。Gt 蛋白 (transducin G proteins) 可以介导视紫红质激活磷酸二酯酶 (phosphodiesterase, PDE) 活性, 将环磷酸鸟苷 cGMP 水解为 GMP^[8]。而细胞膜上 Gq 蛋白主要是通过磷脂酰肌醇信号通路将胞外信号在胞内进一步级联放大^[9]。

因此, 细胞膜表面受体接受胞外信号的刺激后活化了 G 蛋白, 随后控制细胞中 AC 和 PDE 的活性, 从而实现调节胞内第二信使 cAMP 的目的, 通过级联反应将信号传导给胞内其他重要的信号通路, 以进一步调控各种组织和器官的发育 (图 1)。在哺乳动物中已鉴别出 10 种 AC 和 11 种 PDE, 它们分布于不同细胞中且表达水平和生理功能均存在差异。在卵母细胞中, Horner 等指出 AC3 可通过调控细胞中 cAMP 的合成, 进一步参与第一次减数分裂进程^[10]。PDE3 主要负责血管平滑肌细胞和卵母细胞中 cAMP 的降解, 因此敲除 *Pde3a* 后小鼠的血管平滑肌细胞和卵母细胞的细胞周期都会受到阻滞, 最终造成心血管疾病和雌性小鼠不育^[11]。

1.2 cAMP介导的信号转导途径

cAMP 作为哺乳动物中既保守又普遍的一种第二信使, 介导了细胞内复杂的信号转导, 具有调节细胞增殖、分化、代谢和凋亡等作用, 进而控制细胞内特定的生理和病理反应。胞外信号分子与膜上的受体结合后活化 G 蛋白, 可调节胞内 cAMP 的浓度, cAMP 可以识别并放大这些信号, 作用于依赖 cAMP 的酶或蛋白质, 调节多种生理效应。

cAMP-PKA 途径是真核细胞中最常见、用途最广泛的信号转导途径之一, 参与哺乳动物几乎所有组织和细胞的功能调节。PKA 是由两个调节亚基和两个催化亚基组成的四聚体, 其中每个调节亚基包含两个能够结合 cAMP 的结构域, 一旦调节亚基与 cAMP 结合, 催化亚基即被释放, 可磷酸化下游效应蛋白^[12]。已有大量文献指出 cAMP 通过 PKA 调控转录因子直接或间接诱导靶基因的表达^[13], 例如 cAMP 反应单元结合蛋白 (cAMP-response element binding protein, CREB) 可直接调控基因的转录。此外, 依赖 cAMP 的 PKA 调节途径还参与多种细胞

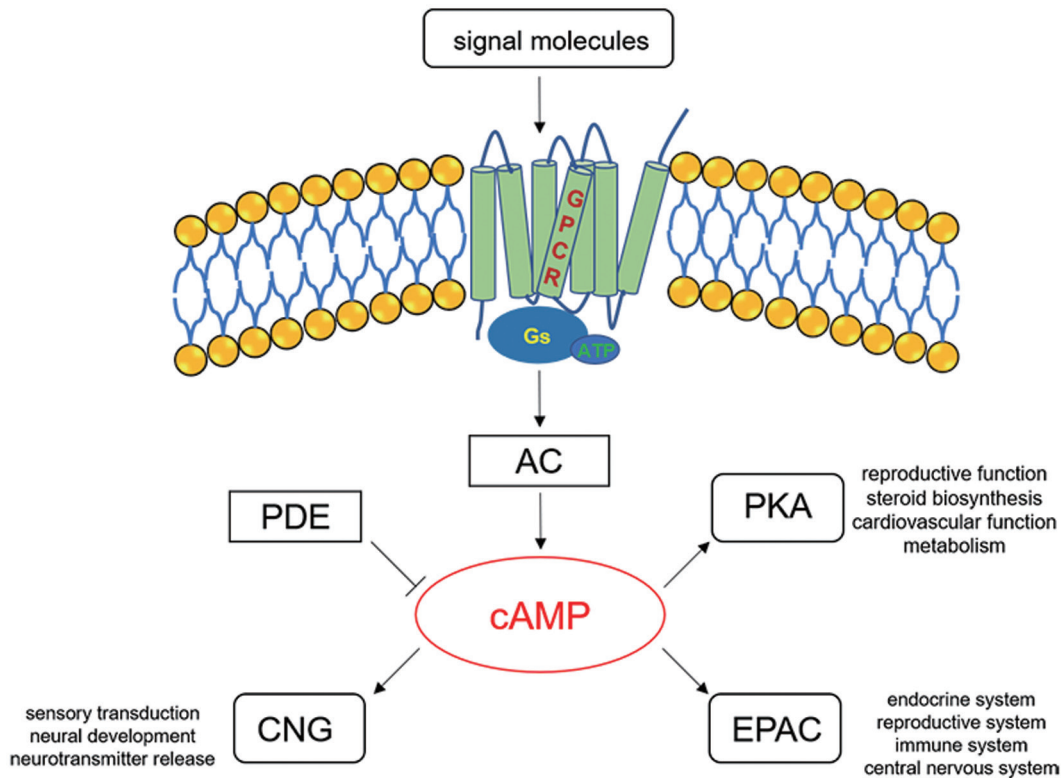


图 1. 环磷酸腺苷(cAMP)介导的信号转导途径

Fig. 1. Cyclic adenosine monophosphate (cAMP) mediated signal transduction pathway. cAMP interacts with multiple signal transduction pathways to control specific physiological and pathological reactions in cells. GPCR: G protein-coupled receptor. AC: adenylyl cyclase. PDE: phosphodiesterase. PKA: protein kinase A. EPAC: exchange proteins directly activated by cAMP. CNG: cyclic nucleotide-gated ion channels.

反应和生理过程。在哺乳动物精子的获能和受精中 PKA 是必需的^[14]。cAMP 作为促性腺激素的第二信使在卵母细胞成熟过程中的作用也是通过 PKA 介导的^[15]。ERK 是丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 家族的一员, 是信号传导级联反应的关键, 研究表明, cAMP 可以与 RAS/RAF/MEK/ERK 等多条信号通路相互作用, 调节细胞增殖^[16]。

新近发现 cAMP 的另一主要受体是 EPAC, 这就为进一步认识 cAMP 介导的信号级联的复杂性奠定了基础。EPAC 是一种鸟嘌呤核苷酸交换因子, 参与细胞黏附、细胞间连接、细胞增殖和分化等 cAMP 相关的细胞功能^[3]。EPAC 在配子发生和受精过程中也起着重要作用。在卵泡期的后期, 促黄体素 (luteinizing hormone, LH) 诱导颗粒细胞黄体化, 从而获得产生孕酮的能力。在人原代颗粒细胞中, cAMP 诱导孕酮的分泌同时受 PKA 和 EPAC 的调节, PKA 在孕酮分泌时起主导作用, 而 EPAC1

可能参与了孕酮的持续分泌和慢性调节^[17]。酪氨酸激酶 KIT 广泛参与到雌性生殖细胞发育的各个阶段, Yao 等在体外培养斑马鱼卵泡时发现, PKA 刺激 KITLG 的表达, 而 EPAC 会抑制 KITLG 的表达^[18]。Rap1 是一种 GTP 蛋白酶, cAMP-Epac-Rap1 通路参与调节生精细胞的增殖和分化, 在精子发生中起重要作用^[19]。

CNG 离子通道作为 cAMP 的效应分子, 其存在于多种类型的细胞和组织中, 受细胞内环核苷酸 cAMP 或 cGMP 的调控激活, 可非选择性透过 Na^+ 、 K^+ 和 Ca^{2+} 等阳离子, 最终导致细胞膜电位的变化, 进而参与视觉、嗅觉及中枢神经系统的发育^[20]。在雄性精子运动过程中 CatSper 作为 CNG 家族一员发挥关键作用, 雄性小鼠敲除 *CatSper* 后精子胞内 Ca^{2+} 水平异常, 导致精子活力显著降低, 无法让雌性小鼠受精^[21]。

1.3 胞内cAMP水平影响哺乳动物生殖功能

哺乳动物细胞中 cAMP 通过不同信号转导可参

与调节器官发育和多种生理活动。卵巢作为雌性哺乳动物的生殖器官，其主要功能是排出健康的卵母细胞和调节内分泌。在性成熟后，卵巢中处于有腔卵泡阶段的卵母细胞在促性腺激素诱导作用下恢复减数分裂是其最终成熟排卵的必要条件。人们很早就发现卵母细胞中 cAMP 作为促性腺激素的第二信使调控减数分裂的阻滞和恢复，在卵母细胞成熟中发挥作用^[2]，小鼠卵母细胞中的 cAMP 的合成或降解受阻会引起卵巢早衰或受精异常，进而影响雌性生育能力^[10,22]。除此之外，早在 1975 年 Hoskins 等人就观察到添加 PDE 抑制剂可诱导牛未成熟精子运动，说明 cAMP 水平升高是精子运动的重要前提之一^[23]。缺乏可溶性 AC 的雄性小鼠生殖细胞中 cAMP 减少，可导致精子运动能力丧失，造成小鼠不育^[24]。可见，无论在雌性还是雄性哺乳动物生殖过程中 cAMP 均可通过其在生殖细胞内含量的变化发挥着举足轻重的调控作用。

2 cAMP在卵子发生中的作用

2.1 cAMP促进原始生殖细胞(primordial germ cell, PGC)的增殖和分化

PGC 是产生精原细胞和卵母细胞的前体细胞。在雌性小鼠中，PGC 于胚胎 8.5 天左右开始迁移到生殖嵴，随后进行高速的有丝分裂，并在 13.5 天左右开始进入减数分裂，形成卵母细胞合胞体。PGC 的有丝分裂对于合胞体卵母细胞的初始数量至关重要。研究显示，在体外培养小鼠胚胎期 8.5 天、10.5 天和 11.5 天的 PGC 时加入 cAMP 的类似物，可导致细胞数量显著增加^[25]，表明 cAMP 在 PGC 有丝分裂增殖中起重要作用。Bahmanpour 等用 AC 激活剂 Forskolin 处理胚胎干细胞，发现其在与颗粒细胞共培养的情况下，生殖细胞的特异性标记基因表达显著上调^[26]，说明 cAMP 有促进胚胎干细胞分化为生殖细胞的作用。由此可见，在雌性哺乳动物卵巢中，cAMP 不仅调控卵母细胞核网期的阻滞及第一次减数分裂的恢复，还参与 PGC 有丝分裂的增殖和分化，但是，目前未见其在生殖细胞有丝分裂向减数分裂转变中作用的相关报道。

2.2 cAMP影响原始卵泡的形成和激活

机体对于减数分裂进程的调节不但影响成年动物性成熟后卵母细胞的成熟，其对于胚胎期原始卵泡形成阶段卵母细胞的发育以及与体细胞的互作等也有重要作用。以小鼠为例，在大约胚胎 13.5 天时，

生殖细胞便开始进入减数分裂，随后阻滞在第一次减数分裂的核网期阶段，此时生殖细胞合胞体破裂形成卵母细胞，并由前体颗粒细胞包裹组装成为原始卵泡^[27]。新近研究显示，胚胎期卵巢中 cAMP 合成受到抑制时，卵母细胞不能进入核网期，合胞体破裂受抑制从而导致原始卵泡无法形成^[28]。而添加间隙连接抑制剂以阻断卵母细胞和颗粒细胞间对话，并不影响原始卵泡形成，这表明调控减数分裂前期进程的 cAMP 是由卵母细胞自身合成的^[28]。因此，cAMP 在卵母细胞第一次减数分裂早期进程中也是至关重要的，参与原始卵泡库的建立，但是相关机制还需深入研究。

众所周知，促性腺激素——卵泡刺激素 (follicle-stimulating hormone, FSH) 和 LH 对于雌性卵泡发育和排卵至关重要，而这二者在卵巢中的作用均离不开第二信使参与的信号转导机制^[15]。有意思的是，FSH 除了调节卵母细胞的发育和成熟外，还可以诱导围产期原始卵泡的产生，然而具体作用机制并不清楚^[29]。LH 可以阻止由顺铂诱导的卵母细胞凋亡，作用机制是通过 cAMP/PKA 途径使卵巢体细胞产生抗凋亡信号，有利于卵母细胞的 DNA 损伤修复，从而起到保护原始卵泡库的作用^[30]。那么，cAMP 在原始卵泡库形成和维持中的作用是否与促性腺激素作用相关值得进一步探究。

自原始卵泡库建立完成后，卵巢中原始卵泡即作为储存卵母细胞的基本功能单位继续发育直至排卵。卵泡发育的起点是原始卵泡向初级卵泡的转化，这一过程被称为原始卵泡的激活。当原始卵泡的激活发生异常时，会导致包括卵巢早衰在内的一系列卵巢疾病。鉴于已经发现 cAMP 可以促进人类卵巢皮质片段中卵泡的激活与存活^[31]，新近的研究发现 MAPK3/1 促进原始卵泡的激活作用是由前体颗粒细胞中 CREB 诱导的^[32]。所以，cAMP 在原始卵泡激活中可能也发挥着一定作用。为了解决卵巢早衰患者的生育问题，近年研发出原始卵泡体外激活技术 (primordial follicle *in vitro* activation, IVA)，该技术利用患者体内的原始卵泡资源，通过体外激活原始卵泡，进一步让其发育至成熟后，再进行胚胎移植^[33]。因此未来的研究可关注 cAMP 在卵泡激活中的生理作用及机制，以选择更安全有效的 IVA 药物靶点。

2.3 cAMP调控卵母细胞成熟

上个世纪七十年代 Cho 等首次报道了生理情况

下 cAMP 在卵母细胞中的作用, 体外培养无卵丘细胞包裹的卵母细胞时, 若在培养基中添加 cAMP 的类似物 (db-cAMP) 则会使卵母细胞一直维持第一次减数分裂阻滞的状态^[2]。近四十年来人们围绕其参与促性腺激素诱导卵母细胞成熟的分子调控机制进行了系统研究, 并证明卵母细胞中 cAMP 的合成或降解发生缺陷都会影响减数分裂进程, 从而影响雌性生殖。

目前已明确维持小鼠和大鼠卵母细胞减数分裂阻滞所需的 cAMP 水平分别取决于 *Gpr3* 或 *Gpr12* 的表达^[34]。敲除 *Gpr3* 后雌鼠卵母细胞减数分裂提前恢复引起卵巢早衰^[22]。同样, 卵母细胞中缺乏 AC3 的小鼠有部分卵母细胞会提前恢复减数分裂造成生育力低下^[10]。*Gpr3* 和 *Ac3* 敲除的小鼠生育力均没有完全丧失, 可能是因为除卵母细胞自身的 GPCR-Gs-AC 级联反应外, 还有其它产生 cAMP 的途径以维持减数分裂的阻滞。现已证明人类卵母细胞减数分裂维持的途径与小鼠类似, 是通过 GPR3-AC3-cAMP 发挥作用^[35]。卵母细胞中 PDE3A 主要负责 cAMP 的降解, 敲除 *Pde3a* 的雌性小鼠卵巢结构、卵泡形成及排卵和交配行为正常, 但会发生不育, 这是由于 PDE3A 的缺乏使 cAMP 升高影响了减数分裂进程和卵母细胞成熟, 进一步破坏卵母细胞的受精能力所致^[36, 37]。

目前学者们认为, 除内源性合成外, 卵丘细胞中的 cAMP 也可通过间隙连接转运至卵母细胞中。Hubbard 等人在 1982 年发现 cGMP 也可抑制卵母细胞的成熟, 且该效应可以被 LH 的作用抵消^[38], Hubbard 等人认为这可能是由于卵母细胞中 PDE3A 既可降解 cAMP 也可降解 cGMP, 而高浓度的 cGMP 竞争性结合了卵母细胞中 PDE3A, 使 cAMP 降解受阻所致。随后的研究显示, 体细胞中的 cGMP 通过间隙连接进入卵母细胞, 抑制了卵母细胞中 PDE3A 的活性, 从而使 cAMP 得以积累并维持第一次减数分裂的阻滞^[39]。为了研究体细胞中 cGMP 的来源, Zhang 等人分析了小鼠卵丘细胞中编码鸟嘌呤环化酶的 mRNA, 发现 2 型钠肽受体 (natriuretic peptide receptor 2, NPR2) mRNA 大量表达, 确定了颗粒细胞中 C 型钠肽 (natriuretic peptide precursor type C, NPPC)/NPR2 系统通过维持卵母细胞中 cGMP 的含量, 进而抑制了卵母细胞的成熟^[40]。

至此, 关于 cAMP 维持卵母细胞减数分裂的阻滞可总结为: 壁层颗粒细胞产生的 NPPC 通过与

卵丘细胞上的 NPR2 受体结合, 促进了 GTP 合成 cGMP, 卵丘细胞中的 cGMP 通过间隙连接进入卵母细胞, 抑制了 PDE3A 的活性并导致 cAMP 不能被降解而在卵母细胞内大量积累, 从而维持了卵母细胞减数分裂的阻滞; 当 LH 峰到来时, 间隙连接被关闭, 卵母细胞中 cAMP 浓度降低, 引起减数分裂的恢复, 卵母细胞才得以发育成熟。

那么, cAMP 是通过调节哪些信号通路调控卵母细胞成熟的呢? 充分的证据表明, 卵母细胞中高水平的 cAMP 主要通过 PKA 维持减数分裂的阻滞。PKA 可以磷酸化蛋白激酶 Wee1B, 增加 Wee1B 的活性, 从而抑制卵母细胞在减数分裂停滞期间促成成熟因子 (maturation promoting factor, MPF) 的激活。当 cAMP 水平降低从而使卵母细胞中的 PKA 失活时, 细胞分裂周期蛋白 25B 易位至细胞核, 磷酸酶在细胞核中的积累促进了 MPF 的活化。MPF 作为卵母细胞成熟过程中的关键因子, 参与调控卵母细胞减数分裂恢复和卵母细胞的成熟^[15, 41, 42]。因此, 卵母细胞减数分裂阻滞的维持是由 cAMP 介导的 PKA 激活从而抑制 MPF 活性调节的, 进而抑制卵母细胞成熟。

综上, 卵母细胞的成熟是一个十分复杂的过程, 不仅需要卵母细胞和颗粒细胞的共同调节, 还有多条信号通路参与, 其中 cAMP 作为关键一环, 在卵母细胞减数分裂的阻滞和成熟过程中起着至关重要的作用。

3 cAMP促进颗粒细胞的增殖和分化

卵泡作为卵巢的基本功能单位, 由单个卵母细胞和其周围颗粒细胞及膜细胞所构成。在每个动情周期, 颗粒细胞响应促性腺激素而分化和增殖并调节卵母细胞生长和发育, 这对于卵泡发育和排卵至关重要。为了确定激素信号转导对颗粒细胞的作用, Grieshaber 等在体外培养大鼠卵巢原代颗粒细胞时添加 FSH, 发现可促进其分化, 用 AC 激活剂处理也有此效果, 而 AC 的抑制剂会阻断这种细胞分化, 表明 AC/cAMP 信号对于依赖 FSH 的颗粒细胞分化是必要的^[43]。这表明颗粒细胞的增殖和分化依赖于 cAMP 的水平。

卵母细胞分泌因子可以通过调节卵泡微环境调控卵泡发育, 其中骨形成蛋白 (bone morphogenetic protein, BMP) 的经典作用方式是激活 SMAD1/5/8 通路以调节颗粒细胞增殖, 最近 Bertoldo 等发现 cAMP

也可激活人类颗粒细胞中的 SMAD 通路及其下游靶标从而促进卵泡发育，为卵母细胞内分泌和旁分泌因子共同调节卵泡发育提供了新证据^[44]。可见，cAMP 除了在卵母细胞中发挥重要作用外，也可通过调节颗粒细胞的增殖、分化及信号转导参与到卵泡发育过程中。

此外，研究显示，随着卵泡的发育，颗粒细胞中的神经肽 Phoenixin 及其受体 GPR173 表达增加，可以进一步激活 cAMP/PKA 信号途径。Phoenixin 处理可诱导颗粒细胞增殖并提高 CYP19A1、FSHR、LHR 和 KITL 的表达水平，但同时降低 NPPC 的表达，最终引起排卵数和卵母细胞成熟率的提高^[45]。该研究进一步表明卵巢中 NPPC 与 cAMP 紧密作用，共同协调颗粒细胞的增殖和卵母细胞的成熟。新近的研究显示，NPPC 可以增加颗粒细胞活力，从而促进腔前卵泡的发育，进一步保证了卵母细胞良好的发育能力^[46,47]。可见，颗粒细胞中的 NPPC/NPR2 系统与卵母细胞协同在卵泡发育多个阶段发挥重要作用，值得进一步研究。

4 cAMP调节卵巢的内分泌功能

哺乳动物的卵巢是一个兼具生殖和内分泌功能的复杂器官，卵泡发育过程中会释放大量内分泌激素，反过来这些激素也会调节卵泡发育。cAMP 作为促性腺激素的第二信使，在卵泡对促性腺激素的响应过程中发挥关键作用，目前在辅助生殖 (assisted

reproductive technology, ART) 中可用来评估商业促性腺激素释放激素的效率^[48]。

除了已知的 cAMP 作为促性腺激素第二信使调控卵泡发育和排卵外，其还与卵巢中其它激素共同作用以实现生殖功能。上个世纪学者们就已发现用 AC 激活剂 Forskolin 培养大鼠卵巢，除了合成大量 cAMP 外还可刺激类固醇激素的产生^[49]。Lu 等研究丁酸在猪卵巢生殖功能中的作用，发现其通过刺激颗粒细胞中孕酮 (P4) 和雌二醇 (E2) 分泌实现，而 cAMP 激活剂 Forskolin 可逆转这些作用^[50]，表明丁酸可以通过 cAMP 信号通路调节猪颗粒细胞中 P4 和 E2 激素的合成影响生殖。排卵前卵泡的颗粒细胞可响应 FSH 而发生分化，这种分化作用需功能性雌二醇受体 β (ER β) 的表达，Deroo 等用促性腺激素诱导小鼠颗粒细胞，发现缺乏 ER β 会导致 cAMP 水平降到对照组的一半，并引起颗粒细胞中基因转录水平的降低^[51]。P4 在生理条件下会抑制原始卵泡的形成，为了了解其中的具体机制，Guo 等用孕酮受体膜成分 1 (progesterone receptor membrane component 1, PGRMC1) 的干扰 RNA 消除了 P4 的作用，发现 P4 是通过破坏围产期卵巢中卵母细胞的减数分裂进程并降低卵母细胞 cAMP 的水平发挥抑制卵泡形成作用的^[52]。此外，Shrestha 等在牛颗粒细胞中发现前列腺素 E2 受体 2 (prostaglandin E2 receptor 2, PTGER2) 的激动剂可提高 cAMP 及 FGF2 的水平以维持颗粒细胞的存活，且该作用是

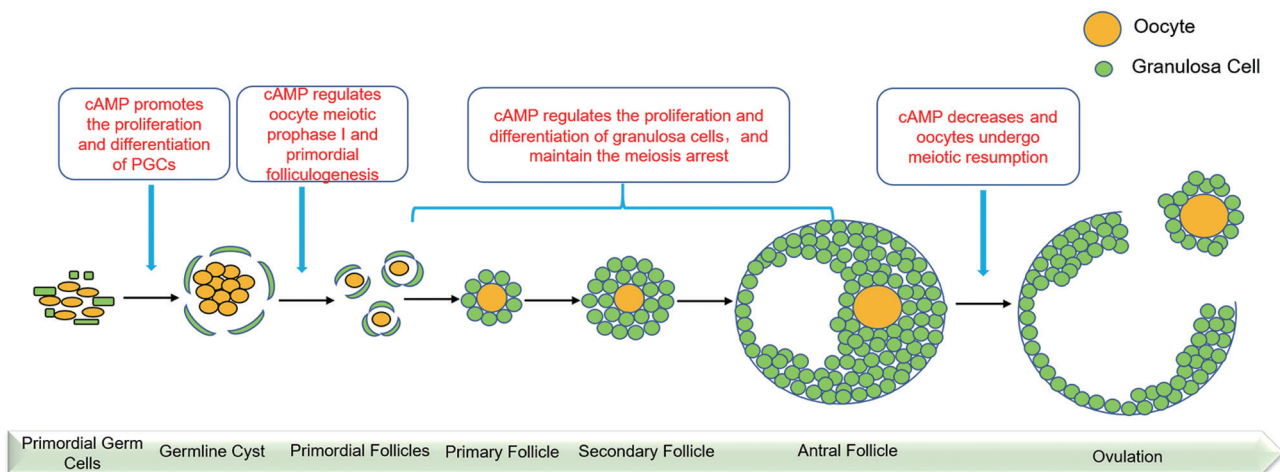


图 2. 环磷酸腺苷(cAMP)在卵泡发育过程中的作用

Fig. 2. The role of cyclic adenosine monophosphate (cAMP) in folliculogenesis. cAMP is widely expressed in mammal ovaries and participates in follicular development, oocytes meiotic arrest and resumption progression in a variety of ways. PGCs: Primordial germ cells.

通过 EPAC 介导的^[53]。上述研究表明, cAMP 作为卵巢中广泛表达的第二信使, 还参与到各种激素对卵巢功能的调节作用中。

5 小结与展望

综上所述, 哺乳动物体内广泛表达的第二信使 cAMP 通过多种方式参与到卵泡发生和发育过程中(图 2)。在生长卵泡中, 其一方面是通过作用于卵母细胞减数分裂进程参与调控卵母细胞成熟, 另一方面也通过调节颗粒细胞增殖和分化影响卵泡发育和卵巢内分泌等功能。此外, cAMP 在卵泡发生的早期和排卵等生理过程中也具有重要作用。

尽管 cAMP 在卵子发生的多个环节必不可少, 但关于其在原始卵泡激活中的作用仍需进一步研究。cAMP 作为一个中间信号分子, 其在卵泡发育的过程中究竟是如何被调控的, 及其调控信号的来源都是有待深入探究。细胞内的 cAMP 又是通过介导哪些信号通路调控卵泡发育, 都值得我们进一步研究。总体来讲, 对 cAMP 在哺乳动物卵泡发生和发育中的更多生理功能及机制的研究将极大地深化人们对配子发生和成熟的认识, 并为找到可促进人类生殖健康的更多药物靶点奠定基础。

参考文献

- Hernandez-Ramirez LC, Trivellin G, Stratakis CA. Cyclic 3',5'-adenosine monophosphate (cAMP) signaling in the anterior pituitary gland in health and disease. *Mol Cell Endocrinol* 2018; 463: 72–86.
- Cho WK, Stern S, Biggers JD. Inhibitory effect of dibutyryl cAMP on mouse oocyte maturation *in vitro*. *J Exp Zool* 1974; 187(3): 383–386.
- Robichaux WG, Cheng XD. Intracellular cAMP Sensor EPAC: Physiology, pathophysiology, and therapeutics development. *Physiol Rev* 2018; 98(2): 919–1053.
- Neer EJ. Heterotrimeric G proteins: organizers of transmembrane signals. *Cell* 1995; 80(2): 249–257.
- Hamm HE. The many faces of G protein signaling. *J Biol Chem* 1998; 273(2): 669–672.
- Wettschureck N, Offermanns S. Mammalian G proteins and their cell type specific functions. *Physiol Rev* 2005; 85(4): 1159–1204.
- Sunahara RK, Dessauer CW, Gilman AG. Complexity and diversity of mammalian adenylyl cyclases. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1996; 36: 461–480.
- Arshavsky VY, Lamb TD, Pugh EN Jr. G proteins and phototransduction. *Annu Rev Physiol* 2002; 64: 153–187.
- Rhee SG. Regulation of phosphoinositide-specific phospholipase C. *Annu Rev Biochem* 2001; 70: 281–312.
- Horner K, Livera G, Hinckley M, Trinh K, Storm D, Conti M. Rodent oocytes express an active adenylyl cyclase required for meiotic arrest. *Dev Biol* 2003; 258(2): 385–396.
- Begum N, Shen W, Manganiello V. Role of PDE3A in regulation of cell cycle progression in mouse vascular smooth muscle cells and oocytes: implications in cardiovascular diseases and infertility. *Curr Opin Pharmacol* 2011; 11(6): 725–729.
- Skalhegg BS, Tasken K. Specificity in the cAMP/PKA signaling pathway. Differential expression, regulation, and subcellular localization of subunits of PKA. *Front Biosci* 2000; 5: D678–D693.
- Montminy M. Transcriptional regulation by cyclic AMP. *Annu Rev Biochem* 1997; 66: 807–822.
- Dey S, Brothag C, Vijayaraghavan S. Signaling enzymes required for sperm maturation and fertilization in mammals. *Front Cell Dev Biol* 2019; 7: 341.
- Conti M, Hsieh M, Zamah AM, Oh JS. Novel signaling mechanisms in the ovary during oocyte maturation and ovulation. *Mol Cell Endocrinol* 2012; 356(1–2): 65–73.
- Dumaz N, Marais R. Integrating signals between cAMP and the RAS/RAF/MEK/ERK signalling pathways - Based on the Anniversary Prize of the Gesellschaft für Biochemie und Molekularbiologie Lecture delivered on 5 July 2003 at the special FEBS meeting in Brussels. *FEBS J* 2005; 272(14): 3491–3504.
- Chin EC, Abayasekara DR. Progesterone secretion by luteinizing human granulosa cells: a possible cAMP-dependent but PKA-independent mechanism involved in its regulation. *J Endocrinol* 2004; 183(1): 51–60.
- Yao K, Ge W. Differential regulation of kit ligand A (kitlga) expression in the zebrafish ovarian follicle cells--evidence for the existence of a cyclic adenosine 3', 5' monophosphate-mediated binary regulatory system during folliculogenesis. *Mol Cell Endocrinol* 2015; 402: 21–31.
- Aivatiadou E, Ripolone M, Brunetti F, Berruti G. cAMP-Epac2-mediated activation of Rap1 in developing male germ cells: RA-RhoGAP as a possible direct down-stream effector. *Mol Reprod Dev* 2009; 76(4): 407–416.
- Zufall F, Shepherd GM, Barnstable CJ. Cyclic nucleotide gated channels as regulators of CNS development and plasticity. *Curr Opin Neurobiol* 1997; 7(3): 404–412.
- Ren D, Navarro B, Perez G, Jackson AC, Hsu S, Shi Q, Tilly JL, Clapham DE. A sperm ion channel required for sperm motility and male fertility. *Nature* 2001; 413(6856): 603–609.
- Ledent C, Demeestere I, Blum D, Petermans J, Hamalainen T,

- Smits G, Vassart G. Premature ovarian aging in mice deficient for Gpr3. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102(25): 8922–8926.
- 23 Hoskins DD, Hall ML, Munsterman D. Induction of motility in immature bovine spermatozoa by cyclic AMP phosphodiesterase inhibitors and seminal plasma. *Biol Reprod* 1975; 13(2): 168–176.
- 24 Hess KC, Jones BH, Marquez B, Chen Y, Ord TS, Kamenetsky M, Miyamoto C, Zippin JH, Kopf GS, Suarez SS, Levin LR, Williams CJ, Buck J, Moss SB. The “soluble” adenylyl cyclase in sperm mediates multiple signaling events required for fertilization. *Dev Cell* 2005; 9(2): 249–259.
- 25 De Felici M, Dolci S, Pesce M. Proliferation of mouse primordial germ cells *in vitro*: a key role for cAMP. *Dev Biol* 1993; 157(1): 277–280.
- 26 Bahmanpour S, Keshavarz A, Fard NZ. Effect of different concentrations of forskolin along with mature granulosa cell co-culturing on mouse embryonic stem cell differentiation into germ-like cells. *Iran Biomed J* 2020; 24(1): 30–38.
- 27 Pepling ME. From primordial germ cell to primordial follicle: mammalian female germ cell development. *Genesis* 2006; 44(12): 622–632.
- 28 Wang Y, Teng Z, Li G, Mu X, Wang Z, Feng L, Niu W, Huang K, Xiang X, Wang C, Zhang H, Xia G. Cyclic AMP in oocytes controls meiotic prophase I and primordial folliculogenesis in the perinatal mouse ovary. *Development* 2015; 142(2): 343–351.
- 29 Roy SK, Albee L. Requirement for follicle-stimulating hormone action in the formation of primordial follicles during perinatal ovarian development in the hamster. *Endocrinology* 2000; 141(12): 4449–4456.
- 30 Rossi V, Lispi M, Longobardi S, Mattei M, Di Rella F, Salustri A, De Felici M, Klinger FG. LH prevents cisplatin-induced apoptosis in oocytes and preserves female fertility in mouse. *Cell Death Differ* 2017; 24(1): 72–82.
- 31 Zhang P, Louhio H, Tuuri T, Sjoberg J, Hreinsson J, Telfer EE, Hovatta O. *In vitro* effect of cyclic adenosine 3', 5'-monophosphate (cAMP) on early human ovarian follicles. *J Assist Reprod Genet* 2004; 21(8): 301–306.
- 32 Li J, Zhang Y, Zheng N, Li B, Yang J, Zhang C, Xia G, Zhang M. CREB activity is required for mTORC1 signaling-induced primordial follicle activation in mice. *Histochem Cell Biol* 2020; 154(3): 287–299.
- 33 Kawamura K, Kawamura N, Hsueh AJ. Activation of dormant follicles: a new treatment for premature ovarian failure? *Curr Opin Obstet Gynecol* 2016; 28(3): 217–222.
- 34 Hinckley M, Vaccari S, Horner K, Chen R, Conti M. The G-protein-coupled receptors GPR3 and GPR12 are involved in cAMP signaling and maintenance of meiotic arrest in rodent oocytes. *Dev Biol* 2005; 287(2): 249–261.
- 35 DiLuigi A, Weitzman VN, Pace MC, Siano LJ, Maier D, Mehlmann LM. Meiotic arrest in human oocytes is maintained by a G(s) signaling pathway. *Biol Reprod* 2008; 78(4): 667–672.
- 36 Vaccari S, Horner K, Mehlmann LM, Conti M. Generation of mouse oocytes defective in cAMP synthesis and degradation: Endogenous cyclic AMP is essential for meiotic arrest. *Dev Biol* 2008; 316(1): 124–134.
- 37 Masciarelli S, Horner K, Liu CY, Park SH, Hinckley M, Hockman S, Nedachi T, Jin C, Conti M, Manganiello V. Cyclic nucleotide phosphodiesterase 3A-deficient mice as a model of female infertility. *J Clin Invest* 2004; 114(2): 196–205.
- 38 Hubbard CJ, Terranova PF. Inhibitory action of cyclic guanosine 5'-phosphoric acid (GMP) on oocyte maturation: dependence on an intact cumulus. *Biol Reprod* 1982; 26(4): 628–632.
- 39 Norris RP, Ratzan WJ, Freudzon M, Mehlmann LM, Krall J, Movsesian MA, Wang H, Ke H, Nikolaev VO, Jaffe LA. Cyclic GMP from the surrounding somatic cells regulates cyclic AMP and meiosis in the mouse oocyte. *Development* 2009; 136(11): 1869–1878.
- 40 Zhang M, Su YQ, Sugiura K, Xia G, Eppig JJ. Granulosa cell ligand NPPC and its receptor NPR2 maintain meiotic arrest in mouse oocytes. *Science* 2010; 330(6002): 366–369.
- 41 Jones KT. Turning it on and off: M-phase promoting factor during meiotic maturation and fertilization. *Mol Human Reprod* 2004; 10(1): 1–5.
- 42 Han SJ, Conti M. New pathways from PKA to the Cdc2/cyclin B complex in oocytes - Wee1B as a potential PKA substrate. *Cell Cycle* 2006; 5(3): 227–231.
- 43 Grieshaber NA, Boitano S, Ji IH, Mather JP, Ji TH. Differentiation of granulosa cell line: Follicle-stimulating hormone induces formation of lamellipodia and filopodia via the adenylyl cyclase/cyclic adenosine monophosphate signal. *Endocrinology* 2000; 141(9): 3461–3470.
- 44 Bertoldo MJ, Cheung MY, Sia ZK, Agapiou D, Corley SM, Wilkins MR, Richani D, Harrison CA, Gilchrist RB. Non-canonical cyclic AMP SMAD1/5/8 signalling in human granulosa cells. *Mol Cell Endocrinol* 2019; 490: 37–46.
- 45 Xuan Phuoc N, Nakamura T, Osuka S, Bayasula B, Nakanishi N, Kasahara Y, Muraoka A, Hayashi S, Nagai T, Murase T, Goto M, Iwase A, Kikkawa F. Effect of the neuropeptide phoenixin and its receptor GPR173 during folliculogenesis. *Reproduction* 2019; 158(1): 25–34.
- 46 Xi G, Wang W, Fazlani SA, Yao F, Yang M, Hao J, An L, Tian J. C-type natriuretic peptide enhances mouse preantral follicle growth. *Reproduction* 2019; 157(5): 445–455.

- 47 Ang L, Haixia C, Hongxia L, Ruijiao L, Xingping G, Huaixiu W. Supplementation of c-type natriuretic peptide during *in vitro* growth period benefits the development of murine preantral follicles. *Zygote* 2021; 29(2): 150–154.
- 48 Sperduti S, Limoncella S, Lazzaretti C, Paradiso E, Riccetti L, Turchi S, Ferrigno I, Bertacchini J, Palumbo C, Poti F, Longobardi S, Millar RP, Simoni M, Newton CL, Casarini L. GnRH antagonists produce differential modulation of the signaling pathways mediated by GnRH receptors. *Int J Mol Sci* 2019; 20(22): 5548.
- 49 Hedin L, Rosberg S. Forskolin effects on the cAMP system and steroidogenesis in the immature rat ovary. *Mol Cell Endocrinol* 1983; 33(1): 69–80.
- 50 Lu N, Li M, Lei H, Jiang X, Tu W, Lu Y, Xia D. Butyric acid regulates progesterone and estradiol secretion via cAMP signaling pathway in porcine granulosa cells. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2017; 172: 89–97.
- 51 Deroo BJ, Rodriguez KF, Couse JF, Hamilton KJ, Collins JB, Grissom SF, Korach KS. Estrogen receptor beta is required for optimal cAMP production in mouse granulosa cells. *Mol Endocrinol* 2009; 23(7): 955–965.
- 52 Guo M, Zhang C, Wang Y, Feng L, Wang Z, Niu W, Du X, Tang W, Li Y, Wang C, Chen Z. Progesterone receptor membrane component 1 mediates progesterone-induced suppression of oocyte meiotic prophase I and primordial folliculogenesis. *Sci Rep* 2016; 6: 36869.
- 53 Shrestha K, Meidan R. The cAMP-EPAC pathway mediates PGE2-induced FGF2 in bovine granulosa cells. *Endocrinology* 2018; 159(10): 3482–3491.