

第一篇 生殖细胞、遗传基础及细胞周期

第一章 绪 论

一、人体发生发育学研究内容

人体形成发展过程是从精卵结合(受精)开始一直到个体死亡的连续过程。这是由单个细胞即合子(受精卵),演变成一个多细胞人体的生长和分化的过程。人体发生发展的大多数变化是在胚胎期和胎儿期出现的,但也有些重要的变化是到婴儿期、儿童期、青年期乃至成年期才出现。

研究人体从胚胎发生、出生后的生长发育至衰老死亡的整个生命过程中所发生的形态、生理及心理机能变化规律的科学,在有些教科书中被称为人体发生学或人体发育学。人的一生实际上可以分为两个发展阶段,即出生前在母体内生长发育阶段和出生后生长发育至衰老死亡阶段。前者关注人体的形成与发生,即通常意义上的胚胎学所探讨的内容,研究个体生前事件,主要涉及胚胎发育的遗传物质基础及其机制,生命的启动,单细胞如何发育为成体;而后者关注个体形成后的生长与发育,侧重于个体生后事件,研究人体生后发育各阶段特点和规律,是自然科学与社会科学相互渗透、结合的学科。人体发育除了躯体器官外更重要的是运动发育、感知觉发育及智力发育等诸方面内容,从这个角度说,把研究人生前(人体发生)和生后(人体发育)生命全过程的科学称为人体发生发育学似乎更为妥当,即人体发生学与人体发育学合称人体发生发育学。

人体发生发育学是组织胚胎学、解剖学、细胞生物学、遗传学、分子生物学、儿科学、儿童保健学、儿童精神医学、老年医学、心理学等学科相互渗透而发展建立起来的一门交叉学科,应用各个学科中的先进理论和技术来探讨人体发生发育中的问题,尤其是干细胞概念及新理论的不断涌现、分子生物学技术的发展、转基因动物和“克隆”技术的诞生,为这门学科不断注入新鲜血液。在自然界中,发生发育过程尤其是人体的发生与发育过程可以说是最令人着迷的过程之一。人体发生发育学家就是对人体的形成与塑造过程中的各个方面进行研究。科学家将人一生中以时间推移所发生的事件与其所导致的形态与功能的变化联系起来。由于该学科具有动态的一面,强调了变化,因而赋予了该学科极大的魅力,同时也使其成为一门极具挑战性的学科。

由于篇幅限制,本书主要介绍出生前的人体发生,尤其是关于胚胎期的发生,同时简要介绍出生后的人体发育,并以专题形式介绍该学科相关研究热点。

二、人体发生发育的各个时期

如前所述,一般将人体的发生发育分为两个阶段:出生前期与出生后期。这里要注意

的是:人的诞生只不过是人体发生环境的明显变化,人体发生本身并不因诞生而停止。出生后,不只是身体长大,而且还有重要的发生发育上的变化,例如牙的发生,男性睾丸的发育、女性卵泡的发育等。身体结构的发育变化大多数在 25 岁左右时完成,有些结构的发育变化则贯穿人的一生。

(一) 出生前期

人胚胎在母体子宫中发育经历 38 周(约 266 天),可分为三个时期,这里要注意的是:在人体胚胎发生中,最显著的进展是出现在受精后前 8 周内。

1. 胚前期 从受精到第 2 周末二胚层出现为胚前期(pre-embryonic period)。

2. 胚期 从第 3 周至第 8 周末为胚期(embryonic period),于此期末,胚(embryo)的各器官、系统与外形发育初具雏形。

3. 胎期 从第 9 周至出生为胎期(fetal period),此期内的胎儿(fetus)逐渐长大,各器官、系统继续发育成形,部分器官出现一定的功能活动。此外,从第 26 周胎儿至出生后 4 周的新生儿发育阶段被称为围生期(perinatal stage)。此时期的母体与胎儿及新生儿的保健医学称围生医学。

(二) 出生后期

1. 婴儿期 指出生后大约 1 年内的时期。出生后头两个月常称作新生儿期。当人体由子宫内生活过渡为子宫外生活时,人体的结构功能,尤其是在心血管系统和呼吸系统需要逐渐的变化。在婴儿期,整个身体的生长是非常快的,身高约增加 50%,体重约增加 3 倍。

2. 儿童期 指从出生后大约第 15 个月到 12 至 13 岁。该期又可分为幼儿期(1~3 岁)、学龄前期(3~6 岁)、学龄期(6~青春期前)三期。在这时期,长出乳牙,尔后又换成恒牙。在儿童期的前期,骨化活跃进行。随着儿童长大,生长速度减慢。在接近青春时期,生长又显著增快,称作青春期前的猛长。

3. 青春期 这是第二性征开始发育的时期。女孩在 12~15 岁之间;男孩在 13~16 岁之间。

4. 成人期 18 岁后步入成人期,又可分为青年期(18~25 岁)、成年期(25~60 岁)、老年期(60 岁以后)。

青年期:在这期间,从出现性成熟的迹象开始到体质上的、精神上的乃至情绪上的成熟为止。这时身体生长速度减慢,但有些结构,如女性乳房的生长则增快。

成年期:骨化与身体的生长实质上已完成,以后身体的发育变为缓慢。

老年期:生理心理功能全面衰退,社会功能减弱,而后个体衰老死亡,生命终结。

三、人体发生发育学发展简史

对于人体发生发育学发展简史可以从两个方面进行介绍,即人体发生学(胚胎学)发展简史和人体发育学(生后发育)发展简史。

(一) 人体发生学发展简史

古希腊学者 Aristotle(公元前 384~322)最早对胚胎发育进行过观察,他推测人胚胎来源于血与精液的混合,并对鸡胚的发育做过一些较为正确的描述。1651 年,英国学者哈维(W. Harvey 1578~1658)发表《论动物的生殖》,记述了多种鸟类与哺乳动物胚胎的

生长发育,提出“一切生命皆来自卵”的假设。显微镜问世后,荷兰学者 Leeuwenhoek (1632~1723)与 Graaf(1641~1673)分别发现精子与卵泡,意大利学者 Malpighi(1628~1694)观察到鸡胚的体节、神经管与卵黄血管,他们主张“预成论”学说,认为在精子或卵内存在初具成体形状的幼小胚胎,它逐渐发育长大为成体。18世纪中叶,德国学者 Wolff (1733~1794)指出,早期胚胎中没有预先存在的结构,胚胎和器官是经历了由简单到复杂的渐变过程而形成的,因而提出了“渐成论”。1828年,爱沙尼亚学者 Baer(1792~1876)发表《论动物的进化》一书,报告了多种哺乳动物及人卵的发现;他观察到人和各种脊椎动物的早期胚胎极为相似,随着发育的进行才逐渐出现纲、目、科、属、种的特征(此规律被称为 Baer 定律)。他认为,不同动物胚胎的比较比成体的比较能更清晰地证明动物间的亲缘关系。Baer 的研究成果彻底否定了“预成论”,并创立了比较胚胎学。1855年,德国学者 Remark(1815~1865)根据 Wolff 与 Baer 的一些报告及自己的观察,提出胚胎发育的三胚层学说,这是描述胚胎学起始的重要标志。1859年,英国学者达尔文(C. R. Darwin, 1809~1882)在《物种起源》中对 Baer 定律给予强有力的支持,指出不同动物胚胎早期的相似表明物种起源的共同性,后期的相异则是由于各种动物所处外界环境的不同所引起。至19世纪60年代,德国学者 Müller(1821~1897)与 Haeckel(1834~1919)进一步提出“个体发生是种系发生的重演”的学说,简称“重演律”。这一学说大体上是事实,但由于胚胎发育期短暂,不可能重演全部祖先的进化过程,如哺乳动物胚中可见一类似鱼的鳃裂,但未发展为鳃。

自19世纪末,人们开始探讨胚胎发育的机制。德国学者 Spemann(1869~1941)应用显微操作技术对两栖动物胚进行了分离、切割、移植、重组等实验。如移植的视杯可导致体表外胚层形成晶状体;移植原口背唇至另一胚胎,使之产生了第二胚胎等。根据这些结果,Spemann 提出了诱导学说,认为胚胎的某些组织(诱导者)能对邻近的组织(反应者)的分化起诱导作用。这些实验与理论奠定了实验胚胎学。其他著名学说还有细胞分化决定、胚区定位、胚胎场与梯度等。为了探索诱导物的性质,一些学者应用化学与生物化学技术研究胚胎发育过程中细胞与组织内的化学物质变化、新陈代谢特点、能量消长等变化,以及它们与胚胎形态演变的关系。英国学者 Needham(又名李约瑟,1900~)总结了这方面的研究成果,于1931年发表《化学胚胎学》一书。

本世纪50年代,随着DNA结构的阐明和中心法则的确立,诞生了分子生物学。人们开始用分子生物学的观点和方法研究胚胎发生过程中遗传基因表达的时空顺序和调控机制,遂形成分子胚胎学。分子胚胎学与实验胚胎学、细胞生物学、分子遗传学等学科互相渗透发展建立了发育生物学(Developmental Biology),主要研究胚胎发育的遗传物质基础、胚胎细胞、组织的分子构成和生理生化及形态表型如何以遗传为基础进行演变,来源于亲代的基因库如何在发育过程中按一定时空顺序予以表达,基因型和表型间的因果关系等。发育生物学已成为现代生命科学的重要基础学科。

我国的胚胎学研究是于本世纪20年代开始的。朱洗(1899~1962)、童第周(1902~1979)、张汇泉(1899~1986)等学者在胚胎学的研究与教学中均卓有贡献。朱洗对受精的研究,童第周对卵质与核的关系、胚胎轴性、胚层间相互作用的研究,张汇泉对畸形学的研究,都开创和推动了我国胚胎学的发展。

(二) 人体发育学发展简史

人体发育学是在发育心理学与发育行为学的基础上发展起来的,追溯人体发育学历史,必然要涉及发育心理学与发育行为学的历史。

对人类行为的观察同样可追溯到古希腊时代,当时的人们就发现,人类的发育是一个连续的过程,但是却呈现明显的差异性。亚里士多德就曾指出“生长期长的动物,其寿命也长”。文艺复兴后的一些西方人文主义学者如 John Amos Comenius, Rousseau 等提出了尊重儿童、了解儿童的新教育思想,奠定了儿童心理学最初的思想基础。英国的 John Locke 提出的“白板学说”,法国的 Rousseau 的发育理论对于现代的学习理论均产生了重大的影响。

真正意义上的儿童发育和行为研究始于 19 世纪 70 年代,达尔文(Darwin)的进化理论直接推动了儿童发育的研究。达尔文于 1871 年发表的《一个婴儿的传记》,详细描述了他对自己孩子出生第 1 个月的行为观察,客观的记录描述了新生儿行为,对推动儿童生长发育的研究具有重要影响,因此,达尔文被誉为是发育与行为儿科学的奠基者。19 世纪后叶,德国科学家 W. Preyer 同样对自己的孩子从出生到 3 岁每天进行系统观察,以此为材料,于 1882 年整理出版了《儿童心理》,被公认为一部科学系统的儿童心理学著作。美国的 Stanley Hall 将实验法引入儿童心理学领域,他采用的研究方法以及提出的发育理论,极大地推动了美国儿童心理学的发展。

20 世纪以来,有关心理或心理社会发育的研究层出不穷,学派林立,如精神分析学派、行为主义学派、人格主义学派等。二战后,研究不断进展与创新,不仅涉及儿童早期发育,而且广泛探讨人生观过程。这些研究主要包括五个方面:①动物研究:将儿童发育与动物发育进行对比,20 世纪末该方面的研究已经拓展到描述人类的社会性行为;②儿童学习研究:如 Herbert Spencer 提出的环境决定论,巴甫洛夫的条件反射理论,Skinner 的操作性条件反射理论等;③儿童智力测试研究:Galton 最早将智力测试用于证实天才的遗传性,以后法国的 Binet、美国的 Gesell, Terman 等相继发明了一系列测试方法,用以反映儿童的智力、学习和个性等。Gesell 建立了发育诊断学,他的研究成果目前仍然被广泛用于临床工作中;④儿童精神分析的研究:代表学说有 Freud 的精神分析理论,认为人体的发育与人格的发育相关;Erikson 修正了 Freud 的理论,将该理论的性心理阶段扩展为一生的心理发育,将精神发育阶段延伸至老年,详细描述了人的一生人格发育的八个阶段;⑤儿童认知的研究:认知研究的代表人物是瑞士的皮亚杰,他提出了认知的起源、思维的结构和机制发展存在四个阶段,解释儿童认知的特点。他的理论指导着后人对儿童认知发育的理解。现代儿童心理学呈现出一派繁荣景象。

20 世纪二三十年代,儿童发育和行为研究被看做是精神学科的范畴,但儿科医生已经意识到应将这些知识和技能整合到儿科学中。20 世纪 60 年代,儿科与儿童精神科的团队服务得以迅速发展。70 年代,美国儿科住院医师继续教育中增加了儿童发育与行为的培训,培训方案中设置了发育与行为课程。80 年代以后,人体发育学的研究更为深入和广泛,世界范围内越来越多的人关注与研究人体发育学。

我国人体发育学研究最早可追溯到中国的古代,但尚未作为一门独立的学科在中国出现。20 世纪以来,越来越多的中国学者开始关注并逐渐深入研究儿童的发育与行为。20 世纪初,艾华,陈大齐开始翻译介绍西方儿童心理学著作。陈鹤琴 1919 年留学回国

后,在南京讲授儿童心理学课程,他的《儿童心理之研究》是中国第一部儿童心理学教科书。他还长期观察了自己的孩子,可谓中国较早的、比较系统的儿童心理研究工作。30年代,黄翼著有《儿童心理学》、《神仙故事与儿童心理》等著作。他还进行了儿童语言发育与儿童性格评定等研究。50年代,我国学者着重探讨了儿童心理学研究的理论方面问题。60年代,我国的实验研究工作广泛开展,实验对象多集中在幼儿和童年期,研究课题以认知发育为主。70年代,一些学者开始重视对方法学的研究。80~90年代,我国开展了发育量表的研究,成立了发育与行为研究会,举办各类培训班和各类全国性学术会议。21世纪以来,人体发育学的研究进入了一个新的阶段,在儿童心理学与康复医学领域中,积极开展研究。2004年,我国成立了中国康复医学会儿童康复专业委员会,各地纷纷开展儿童康复医疗工作,出现了前所未有的新局面。

四、人体发生发育学的主要研究方法

人体发生发育学是一门实验性很强的学科,很多重要的发育理论和发育模型都是在大量实验结果的基础上建立起来的。其中涉及各种各样的研究技术和方法,既有传统的胚胎学、细胞学、发育评定方法,又有新发展的分子生物学方法。这里仅就人体发生发育学研究中的几种常用的和主要的研究方法简介如下:

(一) 活体标本的直接观察

直接观察,特别是活体胚胎的直接观察可提供一个良好的胚胎全貌及其在发育过程中的动态变化。观察生活细胞的结构和变化需用相差显微镜。如果应用活体染料则可对某些特殊细胞和细胞群的迁移进行追踪观察。显微电镜照相术对整个胚胎或细胞群发育的研究是一有效工具。其方法是将活体标本通过显微镜摄成电影,经放映可显示发育过程的一系列变化,如卵裂和神经纤维生长的缩时电影片,胚泡从透明带里孵出的缩时电影片。

(二) 制片标本的观察

当需要研究发育过程某一阶段或某种情况时,则可将标本固定制片进行观察,胚胎切片常需制作连续切片以观察结构之间的相关性。目前,石蜡切片仍为研究胚胎的经典方法。19世纪,胚胎学家已利用整体胚胎所作的连续切片进行重建,以了解整个胚胎内部的立体结构。

扫描电子显微镜可显示整个胚胎或胚胎部分结构(细胞、组织或器官)的表面形态立体形态。近些年来透射电子显微镜已应用于观察胚胎的超微结构。

(三) 胚胎免疫组织化学技术

免疫组织化学(immunohistochemistry)是应用抗原抗体结合原理,检测组织细胞内多肽、蛋白质等大分子物质的分布。这种方法的特异性强,敏感度高,近年来发展迅速,应用广泛,成为胚胎学科的重要研究手段。尤其是单克隆抗体技术的成功以及标记技术的不断改进和灵敏度的提高,使此项技术的进展日新月异,在研究中广泛得到应用。胚胎的多肽和蛋白质种类很多,具有抗原性。从被免疫动物的血清中提出抗体,以荧光素、酶或铁蛋白等标记,再用这种标记抗体处理组织切片或细胞,标记抗体即与细胞内相应蛋白质(抗原)发生特异性结合,通过一般光学显微镜、荧光显微镜、电镜观察,即可检测蛋白质合成的部位与分布。

标记抗体与抗原结合方式有两种。一是直接法,即如上述用标记抗体与样品中的抗原直接结合。这种方法操作简便,但灵敏度不够满意。另一种是间接法,是将分离的抗体或抗血清(第一抗体)作为抗原给另一种动物,制备出该抗体(抗原)的抗体(第二抗体),再用标记物标记第二抗体,然后用第一抗体和第二抗体先后处理样品,最终形成抗原-第一抗体-标记第二抗体复合物。间接法的灵敏度比直接法更高。

(四) 胚胎原位杂交

1. 全胚原位杂交 全胚原位杂交(whole embryo in site hybridization)是广泛用于胚胎发育调控基因表达研究的一种技术。近年来该技术发展较快,不仅可以检测到较弱的杂交信号,而且可以多色杂交,检测多个基因的表达情况。

全胚原位杂交的基本原理是用各种标记物标记与体内特定 mRNA 互补的 RNA 分子(反义 RNA),以它们作为探针与动物的整体胚胎进行原位杂交,然后用相应的抗体来检测特异探针的分布情况。

全胚原位杂交有单色与双色全胚原位杂交两种,两者探针的制备、胚胎的固定杂交及洗脱方法步骤相同,只是检测方法有所不同。前者只用一种标记物标记探针,与胚胎杂交,然后对探针用相应的抗体进行检测;后者用 2 种不同的标记物(如 DIG-11-DUTP、生物素-11-dUTP 等)分别标记两个探针,同时与胚胎杂交,然后对两个探针分别用相应的抗体进行检测。

2. 胚胎组织切片原位杂交 原位杂交是研究胚胎基因表达的常用方法。虽然全胚原位杂交简单易行,但在许多情况下该方法还达不到研究的要求,因而需要在胚胎的组织切片上进行杂交,在胚胎的组织切片进行原位杂交的有利因素在于不存在探针不能渗入到胚胎内部的问题。

(五) 发育基因的启动子分析

启动子调控作用分析是研究胚胎发育基因功能的一种重要方法,特别在研究基因时空表达的分子机制方面,更是有突出的作用。通常,启动子分析包括基因特异调控序列、启动子和增强子元件的鉴别,它们都是基因转录活性的重要调控单元。启动子分析的第一步是将一系列大小不同的启动子的片段克隆到含有报告基因的载体中,然后通过比较这一缺失系列中启动子的活性,找到启动子中具有调控能力的序列。随后,将被鉴定出来的调控序列分为更小的片段,并且克隆到含有异源活性启动子和报告基因的载体中,再次比较缺失系列启动子的活性,以确定调控序列中的最关键序列。最后,可通过野生型启动子中单个碱基的点突变,进一步确定基因的关键调控元件。

有多种方法可用于体内启动子分析,如转基因动物、显微注射等,在不同的动物中可选用不同的方法,但比较而言,转基因动物法较为费时,而且需要一些特殊条件,而显微注射法较为简单。

(六) 基因表达的核糖核酸酶保护分析

核糖核酸酶保护实验是定量分析基因转录水平的常用方法之一,它对 mRNA 的分析具有灵敏度高(比 Northern 杂交和斑点杂交灵敏 8~10 倍)、特异性强的特点。另外,核糖核酸酶保护实验还可用于转录起始位点的确定、内含子/外显子边界的确定、选择性剪接分析以及确定转入到胚胎中的核酸降解率等方面的研究。

核糖核酸酶保护实验的基本原理是,将待分析的目标 DNA 序列作为模板,用反转录

的方法合成与之互补的放射性标记的探针。将此探针加入到 RNA 混合物中后,它便可与目标 RNA 杂交,形成双链 RNA。由于该双链对核糖核酸酶具有抵抗力,因此,杂交体系中未杂交的样品 RNA 及过量的探针全部被核糖核酸酶消化,只剩下杂交形成的双链 RNA。核糖核酸酶失活后,通过凝胶电泳和放射自显影检测被保护的 RNA 探针的量,即 RNA 样品中目标 RNA 的量。

(七) 抑制性差减杂交技术

抑制性差减杂交(suppression subtractive hybridization,SSH)最早见于1996年6月 Clontch 公司、加州大学旧金山分校和俄罗斯科学院合作的研究报道,是一种简便而高效的通过比较两种总 mRNA,而克隆只存在于其中一种总 mRNA 中特异表达产物的新方法。例如可以快速从不同细胞系、不同组织间或同一细胞系、同一组织在不同条件下(如发育时间的差异、病理性差异等)克隆出差别表达基因。其基本原理是以抑制 PCR 为基础的 DNA 差减杂交。抑制 PCR 是利用 DNA 链内退火优于链间退火,比链间退火更稳定的特点,使非目的系列片段两端反向重复系列在退火时产生类似于“锅——柄”的结构,无法与引物配对,选择性地抑制了非目的基因片段的扩增。同时,该方法运用了杂交二级动力学原理,即高丰度的单链 cDNA 在退火时产生同源杂交的速度要快于低丰度的单链 cDNA,从而使原来在丰度上有差别的单链 cDNA 相对含量达到基本一致。

(八) 放射自显影术

放射自显影术是将某种放射性同位素或是放射性同位素标记的物质注入生物体内或置入培养液中,使同位素或同位素标记的物质与细胞或组织内的某些物质相结合,以达到对该物质的定位研究,其精确程度往往胜于组织化学方法。

光镜观察下的放射自显影片的制作:将胚胎或胚胎的部分结构,置于含有放射性同位素标记的氨基酸或核酸(RNA, DNA)前身物的溶液中,经一定时间后,将胚胎从溶液中取出,制成石蜡切片并染色。切片表面裱贴感光底片或涂敷乳胶,与胚体内蛋白质或核酸相结合的放射性同位素在曝光期间,其射线作用于底片或乳胶使之感光,经显影、定影后,凡有同位素所在的部位,底片或乳胶上则出现细小的黑色银颗粒。从银粒的分布可对细胞或组织内标记的某种蛋白质或核酸(RNA, DNA)进行定位和定性。目前放射自显影尚可结合电镜进行观察。

过去,放射自显影术仅限于对组织中不溶性物质的定位研究。如今,对于可溶性物质(如类固醇激素等)亦可达到定位的目的。

(九) 示踪法

胚胎生长发育是一种细胞迁移即细胞位置上的变化动态过程。因而,多种类型的标记物被用来追踪胚胎中细胞移动情况。示踪法中经典研究方法之一是活体染色法,即将对活细胞无毒性或毒性很小的染料,如尼罗蓝硫酸盐(nile blue sulfate)或中性红(neutral red)注入胚体内,被体内某些细胞所摄取,对于这些细胞则可在较长时期内追踪观察其位置上的变化。这种方法曾用于观察两栖类原肠胚形成时细胞的移动。有人应用无活性的炭颗粒[如血炭(blood charcol)]作标记物,以观察鸡胚内邻近原条的细胞移动情况。

胚胎衍化过程从受精卵开始,在细胞分裂和分化过程中,细胞内可合成高度特异性蛋白质。应用荧光抗体法,可对特异性蛋白质进行定位,从而有助于证实那些细胞内含有这种特异性蛋白,达到示踪的目的。

利用放射性核素标记细胞内成分(如核糖核酸)所作的放射自显影片,对细胞的移行可做出精确的定位。其缺点是标记物可随细胞分裂而逐渐减少。因而,对于迅速分裂的细胞,借此方法进行较长时间的追踪是不够理想的。

鹤鹑——鸡标记系统是人们在鸟类胚胎研究中设计的一种自然标记系统。在鹤鹑的细胞核中,核仁总是与一团或几团异染色质相聚。这些异染色质块可用 Feulgen—Res-senbeck 染色法清楚地显示出来。用苏木素染色时,鹤鹑细胞的核仁着色深而大,当把鹤鹑胚的细胞移植到鸡胚中时,仍然保持其细胞核的上述特征,成为一种自然标记细胞,很容易与鸡胚细胞鉴别开来。取鹤鹑胚的一部分如一段神经嵴等位同步地移到鸡胚中,嵌合胚能够正常发育,在发育的不同时期取材,制片观察,就可以清楚地知道神经嵴细胞的迁移情况,这克服了上述其他示踪方法的缺点。

(十) 显微外科技术

显微外科是显微镜下进行手术操作的技术,有着很大的优越性。在基础医学方面,显微外科促进了实验胚胎学的发展。开始是部分切除术,即切除胚胎的一部分,进而观察胚胎在部分结构缺损下将会产生什么样的后果。如有的学者将二细胞时期蛙胚的两个细胞完全分开,结果每个细胞均能发育成一完整的个体,从而为反对谬误的先成论学说提供了实验依据。

在胚胎发生的最早阶段,胚胎的某一组织能显著地影响相邻的另一组织的发生,称为诱导作用,如脊索能诱导中枢神经系统的发生。关于这种诱导现象也是在应用显微外科移植手术下才取得的。

通过显微外科进行的另外一些实验,如切取小块胚胎组织置于人工培养环境内生长或植入宿主营养供应好的部位(在鸟类常移植至尿囊绒毛膜上,哺乳类则移于眼晶体或腹膜血管区域),发现有些胚胎原基在不受其他组织的影响下有着明显的自我分化能力。由此说明移植的细胞内有着足以直接向器官分化发育的信息。为了探讨核与胞质的关系,国内外胚胎学家已深入到了核移植领域。

近些年来胚胎移植技术的临床应用也取得了很大的进展,如在“试管婴儿”的研究中,采用显微注射技术,即把一个活动能力强、生命力旺盛的精子,借助于显微操作仪直接注射到围卵周隙或注入到卵细胞质内,形成受精卵并开始卵裂,再将这个胚卵移回到母体子宫继续发育,这样降生的婴儿,称为“第二代试管婴儿”。

(十一) 培养技术

研究胚胎发育的最有趣和有效方法之一为培养法,可将整个胚胎或胚胎成分置于人工环境内生长。可分为细胞培养、组织培养或器官和整个胚胎培养,每一类型的培养原理基本上是一样的,人工培养液尽可能与它在胚内所处的环境类似。理想的培养液是完全由化学物所配制的,但一般需加入生物制品(如血清或整个胚胎提取液),以供给必需的生长因子。目前的培养液中一般需要 5%~15% 的动物或人的血清。血清中的成分十分复杂,有些成分对所培养的胚胎细胞不是必需的,甚至还有抑制作用,即使所需,也不一定是最佳浓度,因而无血清培养,甚至无蛋白培养已成为亟待解决的问题。目前市场上已有各种无血清培养液出售。

要了解组织或器官本身的生长分化特点,应用离体培养法具有一定的优越性,它可免除体内各种复杂因素的影响,并可控制实验条件,进行有关因素的分析。如将甲状腺与垂

体一并培养,可观察垂体对胚胎甲状腺的形态和功能分化的影响。

近年来联合培养法已应用于动物受精卵、人受精卵的培养。如将人的受精卵与猴的肾小管上皮或牛的输卵管上皮一起体外培养,结果人受精卵卵裂球非常健壮,达到胚泡期的比率明显提高。

(十二) 生殖工程

以人工的方法进行生育的技术称为生殖工程(reproductive engineering),它是以人工授精与胚胎移植为中心,还包括低温冻贮精子、卵子、显微注射等技术。人类体外受精与胚胎移植的研究开始于20世纪60年代。英国Edwards和Stephoe两位学者经过近20年的辛勤工作,终于在1978年7月25日诞生了世界上第1例“试管婴儿”(test tube baby)。目前,“试管婴儿”已遍及全球,近几万例之多。培育“试管婴儿”,包括药物诱发超排卵、采集卵子、采精与精子体外获能、人工授精、体外培养与胚胎移植等步骤,但主要是超排卵、人工授精和体外培养、胚胎移植这三项关键性技术,又称培育试管婴儿的“三关”。

(十三) 转基因技术

转基因技术(transfer genes)是生殖工程与遗传工程相结合而产生的一种新的技术方法。

基因转移是利用物理、化学或生物学手段将外源基因导入受体细胞,并使之表达的一种技术。采用转基因技术培养的动物叫转基因动物(transgene animal)。

基因转移术为改造生物品种开辟了前景广阔的新途径,把优良性状基因通过基因转移导入原来不具备这些性能的生物体内,达到改良品种的目的。采用此技术可培育生长快或抗病动物品系,也可大量生产特种生物制剂。

转基因过程主要包括基因转移前的准备、外源基因的导入和基因导入后的表达三个阶段。具体方法有显微注射、逆转录病毒感染、精子作外源性DNA载体等。

这项技术在70年代末已兴起。我国80和90年代也开展了这项研究,已经培育出转基因鱼、转基因鸡、转基因小鼠和转基因猪,而且转基因猪已经交配产生了后代。

(十四) 人体发育评定方法

发育评定的范围很广泛,可概括为体质评定,生理机能评定、心理机能评定。常用的评定方法有评定量表及独特的检测手段。人体发育评定方法种类繁多,由于篇幅有限,现择选如下,如需深入了解,可查阅相关专业书刊:

1. 体格发育评定 包括发育水平、生长速度、和身体匀称度三个方面的评定。各项指标的测量,必须应用统一、准确的工具和方法。

2. 神经心理发育评定 是对感知、运动、语言、心理等过程中的各种能力进行评定,判断受检者神经心理发育水平。该评定需要由专门训练的专业人员根据实际需要选用,不能滥用。

(1)筛查性测验:是用简单的试验项目,于较短时间内把发育可能有问题者从人群中筛查出来,有较高的可靠性,但不能测出智商和发育商,不能做出精神发育迟滞的诊断。常见的有丹佛发育筛查测验、绘人测验、图片词汇测验等。

(2)诊断性测验:是用周密严谨的方法和测验项目测出发育商和智商,但费时多,主试人员必须经过严格训练。常见的有格塞尔发育诊断量表、贝利婴儿发育量表、斯坦福——比奈智力量表、韦氏学前及初小儿童智能量表等。

(3)适应性行为评定:该类量表种类繁多,可以表示损害的严重程度,也可表示能力的高低;有的可筛查,有的可诊断;按使用者来说,可以分为:父母用、教师用、自评用即观察者用。常见的有 Brazeton 新生儿行为评定量表、儿童人格问卷等。

(4)其他评定:根据特殊需求,目前较为多用的还有:儿童学习障碍筛查量表、艾森克个性问卷、儿童气质量表等。

3. 运动发育评定 依据受检者运动发育规律、运动与姿势发育的顺序、肌力、肌张力、关节活动度、反射发育、运动类型等特点,综合判断运动发育情况。常用的有格塞尔发育诊断量表、贝利婴儿发育量表、粗大运动功能评定量表等。

4. 功能独立性评定 日常生活活动是在独立生活中反复进行的最必要的基本活动,从实用角度来进行评定是对儿童综合活动能力的测试,包括以下方面:①个人卫生动作;②进食动作;③更衣动作;④排便动作;⑤转移动作;⑥移动动作(包括行走、上下楼梯);⑦认知交流能力。

WEEFIM 是 1983 年美国物理医学与康复学会和美国康复医学会提出的康复统一数据系统(uniform data system for medical rehabilitation,UDSMR)中的重要内容。它不仅评定了躯体功能,而且还评定了言语、认知和社会功能。已经过效度、信度的研究,在美国已大量应用于评定脑卒中、颅脑损伤、脊髓损伤、骨科和其他神经科疾病。目前加拿大、澳大利亚、德国、法国、意大利、日本等国也开始应用,我国也在逐渐应用中。

五、研究人体发生发育学的重要意义

学习人体发生发育学之所以重要,是因为这门学科告诉我们人生命的开始和人体发生和发育过程中的许多重要的变化。人体发生发育的知识,对我们了解身体各种结构之间的正常关系及其先天性畸形的形成以及个体各个发育阶段所呈现的独特性,具有重要意义。

68 年前,人们几乎不知道引起人体先天畸形的原因,我们现在则了解,有些婴儿畸形是由于染色体的异常(如先天愚型);胚胎在最初的三个月内,非常容易受到放射线、病毒、某些药物等的伤害。对医生,尤其是产科医生,掌握正常发育和先天畸形原因方面的知识,是十分重要的,这有助于胚胎在母体内得到健康的发育。

现代产科学的许多临床工作,涉及到所谓应用人体发生学。产科医生所特别感兴趣的关于胚胎学方面的问题是:排卵、卵细胞与精子的运输、受精、植入、胎儿与母体的关系、胎儿血液循环、胚胎发生的关键时期、先天性畸形形成原因等。现代的产科医生,不仅要保护孕妇的健康,还必须保护胚胎的健康,使其在一生发育的最关键期间能健康成长。

人体发生学对儿科医生的重要性是很明显的,因为许多小儿疾病是由发育异常引起的,例如:无脑儿、脊柱裂、先天性心脏病等,发育异常是婴儿十大死亡原因之一。了解身体结构功能的发育,对于了解新生儿的各种生理变化以及监护有这方面疾病(例如神经、呼吸,心血管方面的疾病)的婴儿,同样是必需的。

外科学,尤其是小儿外科学的进展,使人体发生学在临床上显得更重要了。有了关于身体结构的正常发生及其有关畸形的知识,才能理解并矫正先天性畸形(如唇裂、腭裂、室间隔缺损等)。并且,只有当医生理解了常见先天性畸形形成的原因后,才能对畸形发生的原因进行解释,这样才能消除畸形儿父母的负罪感,起到很好的人文关怀作用。

医生掌握了关于常见畸形形成的人体发生学方面的知识后,当遇到一些异常情况时,就可以理解,便不会感到惊奇。例如当了解肾动脉只是胚胎发育中许多供给肾的血管之一后,再遇见肾血管在数量上或分布上出现变异时,就不会感到意外了。许多解剖学上的问题,如:各段肠管解剖上的位置、脏器转位等,当我们了解它们的胚胎发生后,对它们为什么是这样的也就容易理解。

实验胚胎学方面的成果对病理学是非常重要的。在创伤愈合过程中,通过和胚胎发生中一样的分化过程使组织恢复正常。由于在胚胎早期发生中,各种细胞间的关系是清楚的,因此,病理学者对肿瘤进行分类时,经常要应用人体发生学知识。

侧重于人出生后研究的人体发育学同样具有十分重要的作用。掌握了人体发育学的知识,具有以下几方面的意义:①促进正常发育:可以采取科学的监测与评定方法,预防并早期发现异常,早期干预,促进正常发育,提高生命质量;②形成人体发育学的新理念:将单纯从生物学角度、心理学角度、社会学角度或不同学科需求对于人体发育相关领域的研究,变为融合相关学科研究成果,从多层面、多阶段、多领域进行研究,形成整体和全面的人体发育学观念;③提高康复治疗技术水平:人体发育学的研究为康复治疗技术提供了理论依据。学习和研究人体发育学,还有助于在治疗中正确认识患者的心理状态,使康复治疗更加人性化、个体化,因此人体发育学是康复治疗技术的一门重要基础学科,只有全面了解人体发育规律,才能更好地促进康复治疗技术的发展;④促进发育监测和评定技术的发展:几百年来发育监测与评定技术发展,主要以发育心理学为依据,很难找出全面体现人体发育特点的监测和评定方法。而对于人体发育学的学习与研究,将为监测和评定技术的发展提供更为全面、系统的理论依据,促进发育监测和评定技术的发展;⑤从容的面对人生每一阶段身心变化:面对如月经来潮、遗精、女性乳房的发育、男性外生殖器的变化等第二性征现象,智齿的出现,更年期的情绪变化,老年期的身心改变等现象,人们不再会迷茫与困惑,从而顺利度过一生;⑥更好的理解身心疾病的发病机制,才能设计出更加合理的防治措施;使教育理念更具有针对性,使教育手段更加合理性和具有人性化。

可见,人体发生发育学将从微观到整体、从形态到功能全方位地揭示生命的全过程,并从时间到形态四维的角度来描述生命的本质。医务工作者通过对人体发生发育学的学习和研究,必将对生命的秘密有更加深入的了解。未来的医学将是在对人体本质深入了解的基础上,对疾病进行根本的治疗与预防的医学。因此人体发生发育学是现代医学中重要的基础理论,它必将成为 21 世纪生命科学中的前沿学科。

应用人体发生发育学的理论人们将进一步解释生命过程中的许多生理、心理、病理和异常现象,尤其是目前尚不能解决的肿瘤、衰老、某些精神疾病和畸形等问题,寻找解决这些问题的途径和方法。随着人体发生发育学理论与技术的发展,生殖工程(如“试管婴儿”)将会得到更加广泛的应用和开展,计划生育、优生优育的方法必将有新的突破。人体发生发育学的技术,如“转基因动物”技术、“克隆”技术、胚胎培养与胚胎移植、新的更加完善的发育评定方法将广泛应用于医学实践,并给人类的生活带来深刻的影响。

从某种意义上来说,人体发生发育学不仅是现代生命科学的重要基础学科,而且已成为或正在成为与人类生活、生产密切相关的应用科学。因而人体发生发育学在医学、生命科学甚至社会科学中的重要性日益凸现。

六、人体发生发育学热点领域简介

(一) 干细胞

进入 21 世纪以来,干细胞研究突飞猛进,部分干细胞产品已开始进入临床应用,给许多疑难病症治疗带来了新的希望。最近,又有科学家把胚胎干细胞在体外定向诱导分化为精子细胞和卵细胞,这一方面显示了胚胎干细胞的极大分化潜能,同时预示着不育不孕症患者完全有希望通过该技术获得与自己遗传背景完全一致的精子细胞和卵细胞。该研究成果在 2003 年度又被评为本年度世界十大科技进展之一。2004 年初,科学家克隆出人类胚胎干细胞,这一重大技术突破使干细胞的研究与应用又向前迈进了一大步(详见第 22 章干细胞概论)。

(二) 辅助生殖技术

包括人工授精、体外授精与胚胎移植及其衍生技术。人工授精是收集丈夫或自愿者的精液,由医师注入女性生殖道以达到受孕目的的一种助孕方法。体外授精与胚胎移植是将精子和卵子取出体外,在特定的实验室条件下进行人工授精和早期胚胎发育的培养,继而选择质量良好的早期胚胎移植回人体子宫内,并使其继续生长至分娩的复杂技术(详见第 25 章辅助生殖技术的临床应用)。

(三) 克隆

20 世纪中期以来发展的分子克隆和以多利羊问世为标志的体细胞动物克隆,使克隆技术成为生命科学领域一个闪耀着创新与发展光芒的新亮点,为世人所瞩目(详见第 26 章克隆技术概论)。

(四) 衰老与死亡

衰老是一种自然规律,因此,我们不可能违背这个规律。但是,当人们采用良好的生活习惯和保健措施,就可以有效地延缓衰老,提高生活质量。死亡是机体生命活动的不可逆的终结,是生命不可避免的结局。但是,死亡涉及到除了生物学、医学领域以外,包括法律、宗教、社会、民族等诸多领域,因此死亡的概念和死亡的判断远非如此简单(详见第 20 章衰老与死亡)。

第二章 生殖细胞的发育

生殖细胞(productive cell),即雌性的卵子(ova)和雄性的精子(spermatozoa),在它们结合而发育成一个新的个体之前,称为配子(gametes)。配子及产生配子的细胞构成个体的生殖质或称种质(germ plasm),那些不直接参与配子繁殖的机体细胞称为体细胞(somatic cell),或者总称为体细胞质或体细胞原生质(somatoplasm)。从种系发生的观点看,生殖质是最具重要性的,因为它使得遗传物代代相传下去,而体细胞原生质则可以认为是保护、营养与支持生殖质的物质基础。

按性别不同,配子发生(gametogenesis)分为卵子发生(oogenesis)和精子发生(spermatogenesis),其实质是生殖质转变成高度特化的性细胞(sex cell)。从而完成受精过程产生新的个体。通常配子发生分成4个主要时相:①生殖细胞的起源及其迁徙至性腺;②性腺中生殖细胞通过有丝分裂过程进行增殖;③通过减数分裂(meiosis)将染色体数目减少一半;④配子成熟和分化成为精子或卵子的最终阶段。其中减数分裂是最具特征性的时相。

一、减数分裂

任何种属有性生殖的一个基本要求是它们的染色体数目必须代代保持不变,这是通过配子形成期间由二倍体(diploid, $2n$)转变成单倍体(haploid, $1n$)从而使染色体减半来完成的。从遗传学的观点看,无论雄性还是雌性配子,减数分裂方式基本上是一致的。

减数分裂(又称成熟分裂)的一个主要前提是每一个单倍体配子必须获得一份完整的染色体成为二倍体的细胞。在此时期遗传物质必须重新组合,也就是某些遗传物质来自母系的基因,另一些来自父系的基因。遗传重组(genetic recombination)是通过两个必须的步骤完成的:①母系或父系染色体随机分配至子细胞;②在减数分裂特定时相,同源染色体进行部分交换(crossing over)。

严格说来,减数分裂并不涉及DNA的合成。因为当减数分裂前期开始时,配子已经完成了DNA的复制,但迄今对于如何能使得一个细胞从普通的有丝分裂转变成成熟分裂的信号仍然不十分了解。因此在减数分裂刚开始时,细胞可看成是 $2n, 4c$ 的形式,换句话说,细胞含有正常的染色体数($2n$),但是由于复制,其DNA含量是正常量($2c$)的2倍($4c$)。减数分裂的目标便在于要产生其遗传物质为 $1n, 1c$ 的单倍体配子,这种遗传物质的减少涉及两次成熟分裂(maturation division),值此期间并没有新的DNA合成。第一次减数分裂产生2个遗传性质不同的子细胞($1n, 2c$),在第二次减数分裂时,前次分裂所形成的2个细胞则产生遗传性质相同的子细胞($1n, 1c$),此时可恰如其分地称之为配子(gamete)。与有丝分裂还有一点不同的是,有丝分裂的完成常以数分钟至数小时计,而减数分裂则可延续几天,甚至45~50年,如在人类即是如此。

(一) 第一次减数分裂

1. 前期 I (Prophase I) 前期 I 是一个颇为复杂的阶段,通常可分为五个亚期,即

细线期(leptotene)、偶线期(zygotene)、粗线期(pachytene)、双线期(diplotene)和终变期(diakinesis)。在第一次减数分裂期间。要发生许多在遗传与发育上都是十分重要的事件。

(1)细线期:染色体呈细线状,并且开始卷曲与螺旋化,事实上每条染色体细线由2条相同的姐妹染色单体(sister chromatids)组成,它们在一个共有的染色粒(chromomere)上相互联结在一起。其中一条染色单体是原有的DNA链,另一条是减数分裂开始之前新合成的。

(2)偶线期:此时发生同源染色体(homologous chromosome)配对,也就是来自母方的一组染色单体和来自父方的一组染色单体紧密结合在一起,这一精细的排列结合称为联会(synapsis),它构成遗传物质交换的基础。另外,在配对染色体紧密接触区域形成一种特有的结构,称为联会复合体(synaptonemal complex),该结构与染色体的配对可能与遗传物质的交换有关。

(3)粗线期:在粗线期早期联会即已完成。2条同源染色体紧密结合成对,此时称为二价体(bivalent)。此期一个明显特征是,由于它们螺旋化(coiling),使得染色体变粗。

在粗线期的后期以及双线期间,已配对染色体的某些部分发生互相重叠,这种接触的区域称为交叉(chiasmata),该结构被认为是父源和母源染色体同源部分发生断裂以及相互交换的场所,也是造成个体间遗传特性不同的主要途径之一。

(4)双线期:该期的一个主要特征是沿着联会复合体分裂。两个配对的染色体分开,但在交叉处仍相连接,此时可清楚看到单个的染色单体,另外还可看清楚每个二价体(bivalent)是由四条染色单体组成,因此这时可称为四倍体(tetrad)。在双线期间,染色单体逐渐解旋(unwinding),另外,至少在卵中解旋的区域有RNA的合成。

(5)终变期:染色体缩短,染色体对继续分开,此期一个特征性的现象是交叉向染色体端移行,该过程称为端化(terminalization)。此时核仁消失,核膜破裂,纺锤体逐渐明显。

2. 中期 I (metaphase I) 四分体沿着中期板(metaphase plate)排列,因此对每一个染色体对来说,母源染色体处于赤道面(equatorial plane)的一侧,而父源染色体位于赤道面的另一侧,染色体的这种排列调整方式是随机的。人类有23对染色体,这就意味着在单倍体细胞中有 2^{23} 种可能的组合方式,这些现象是符合孟德尔分离律和自由组合律的,正是这种现象保证了个体间遗传的不相似性。

3. 后期 I 同源染色体对分离并向相反的纺锤体两极移动。但是每一条染色体的两条姐妹染色单体仍然由着丝粒(centromere)维系在一起。随着同源染色体相互移开,已移向染色体末端的交叉也被拉开,表明已完成了交换。后期 I 中所发生的事件对于理解第一次减数分裂和一般的有丝分裂是至关重要的。在有丝分裂里,当染色体沿着中期板排列之后,每一条染色体中姐妹染色单体间的着丝粒分开,染色单体移向有丝分裂纺锤体的每一极,所产生的遗传性质相同的子细胞。相反地,在减数分裂时,整个母源染色体移向一极,而父源染色体移向另一极,所产生的遗传性质不相同的子细胞。

4. 末期 I 和间期 在末期 I,两个子细胞核相互分开,核膜重新形成。此时每一个核含有单倍数的染色体($1n$),但每条染色体仍含有2条姐妹染色单体($2c$),并且以着丝粒联结。由于单倍体子细胞的每条染色体仍处于复制状态,因此在第一次减数分裂和第二次减数分裂之间的间期没有新的染色体DNA的转录。

(二) 第二次减数分裂

除了细胞为单倍体以外,第二次减数分裂的表现绝大多数方面均与普通有丝分裂相似。在非典型的前期之后,开始形成有丝分裂纺锤体器(mitotic spindle apparatus)。在中期Ⅱ,染色体排列于赤道板。然后与第一次减数分裂相反而与有丝分裂相似,每一条染色体的姐妹染色单体间的着丝粒分开。到了后期姐妹染色单体才可以完全分开,随着末期Ⅱ的完成,减数分裂也就完成了,原为二倍体的生殖细胞产生了四个单倍体的子细胞($1n, 1c$)。在男性,所有四个单倍体的细胞将继续形成有活动性的配子,但是在女性由于分裂的不对称性,仅产生1个有活性的卵子,其余3个子细胞在体积上极小,呈现为无功能的极体(polar bodies)。

生殖细胞减数分裂的主要阶段见图 2-1。



图 2-1 生殖细胞减数分裂的各个主要阶段

(三) 减数分裂的生物学意义及异常

从上述不难看出,配子发生过程中所经历的这些变化具有重要的生物学意义,可以归结为如下几点:①通过减数分裂产生单倍体的配子。使生殖细胞的染色体数减至为

体细胞染色体数的一半。这是维持物种遗传特性的必要条件,因为到了受精时,由于精子和卵子的结合使得染色体数由单倍体恢复至二倍体;②性染色体 X、Y 在减数分裂时分别分至不同的子细胞中,形成带 X 染色体或 Y 染色体的两种类型的精子,这为以后受精时决定受精卵性别奠定了遗传基础;③减数分裂时同源染色体之间发生局部物质交换,以及在分离时彼此随机自由组合,导致基因重组,产生了与亲代遗传性质不全相同的个体,从种系发生意义上说,这是进化(evolution)的需要;④通过两次连续的成熟分裂,精、卵在形态上和生理功能上成为两种有显著区别的生殖细胞,大体积的卵子有的营养物质有利于受精卵的发育,而精子具有活跃游动能力,有利于受精过程的完成。

减数分裂是如此复杂的一个过程,因此有许多原因清楚或尚不清楚的、内在的或外在的(环境的)因素均可导致减数分裂的异常,表现为染色体数目异常,或为结构畸变,包括等臂染色体(isochromosome)、染色体内的重排,染色体间的重排等。

二、女性配子发生及调控

(一) 卵子发生

卵子发生是在卵巢中进行的,是指卵原细胞经过增殖、生长、成熟阶段最终形成卵子的过程。在该过程中,卵原细胞周围的卵泡细胞也相应地增殖、包围卵原细胞,形成卵泡。卵子发生过程也受到激素的调控,有着明显的周期性。

人类胚胎的原始生殖细胞来源于卵黄囊内胚层,它们在胚胎 6~7 周时迁移至生殖嵴,9~10 周时定驻于卵巢皮质部,3~4 月时卵巢生殖上皮细胞增生,皮质部形成许多生殖索,以后细胞索断离形成许多细胞群落,其中体积大而色淡的细胞即为卵原细胞,包围卵原细胞周围的细胞呈扁平状,分化为卵泡细胞,这种集合结构称为原始卵泡。原始卵泡位于卵巢皮质浅层,体积小,卵泡至排卵的整个过程可以划分为以下 3 个阶段。

第一阶段即在胎儿 7 个月时,所有卵原细胞增大成为初级卵母细胞,扁平的卵泡细胞包围其外组成一个球形的结构。称为原始卵泡,在胎儿期及婴儿期,这种卵泡占满卵巢的皮质部。但大多数不能达到成熟阶段即行退化,因此婴儿出生时。每侧卵巢大约仅有 100 万~200 万个原始卵泡,以后还不断消失。到了青春期开始,大约只剩 3 万~4 万个卵泡,而且在青春期前,所有的初级卵母细胞停滞在双线期,并且可长达 45~55 年之久。在女性一生中,大约只有 300~400 个卵母细胞能达到成熟和排卵阶段。卵母细胞和卵泡细胞之间有缝隙连接。这种连接使得低分子质量的物质可以由一种类型的细胞进入另一种类型的细胞。当卵母细胞被卵泡细胞完全包绕时,开始产生透明带,它是位于卵母细胞和卵泡细胞之间的一层半透明的非细胞性糖蛋白膜成分。

卵泡发育第二阶段的特点是青春期卵母细胞及其外周的颗粒细胞受垂体分泌的促性腺激素的影响而继续生长,卵泡颗粒细胞活跃地增殖,被认为是由颗粒细胞表面的 FSH 受体所介导的。在颗粒细胞的外面还有一层卵泡膜也开始在卵巢结缔组织中形成。在颗粒细胞和卵泡膜之间出现了一层称为颗粒膜层的基膜,而卵泡膜的内侧部分则逐渐管腔化。第二阶段在多层颗粒细胞层之间还有腔隙形成,其中充满了液体,该腔隙称为卵泡腔,此时的卵泡已经进入到次级卵泡阶段。在卵泡发生的第二阶段晚期,卵泡膜细胞已在其表面形成 LH 受体,卵泡膜细胞开始产生睾酮,它可以通过颗粒膜层进入颗粒细胞。颗粒细胞能合成芳香化酶,在颗粒细胞中,它能将睾酮转变为雌激素。

卵泡发育第三阶段的特点是卵泡群体体积急剧长大,但最终只有1个卵泡长得最大并且排卵。此期是从排卵前月经周期的分泌晚期开始的,可以观察到有数个卵泡对血液中的促性腺激素有强烈的反应。月经后卵泡期的早期,卵泡对FSH的敏感性最高,此时卵泡腔中液体增加,颗粒细胞数也增多。从卵泡期的后期到排卵,卵泡的直径大约从7mm增大至19mm,而颗粒细胞数也从少于5百万增加至1亿左右。LH高峰之后,颗粒细胞停止增殖,但卵泡腔的液体体积仍在增加,由卵泡产生的刺激新血管形成的血管生成因子使得卵泡内卵泡膜层的血管密度明显增加。成熟卵泡的颗粒细胞产生丰富的雌二醇,并进入血流。有证据表明卵泡可分泌某种物质,阻断促性腺激素对其他正在生长的卵泡的作用。

成熟卵泡也可称为三级卵泡或格拉夫卵泡,卵细胞位于卵泡内,被数层颗粒细胞环绕,并且突入卵泡层,这称为卵丘。在即将排卵之前,卵细胞从第一次减数分裂的双线期解脱出来并完成第一次减数分裂,释放出第一极体。此时卵泡已准备好对排卵前LH和FSH高峰作出反应,将卵细胞排出(图2-2)。

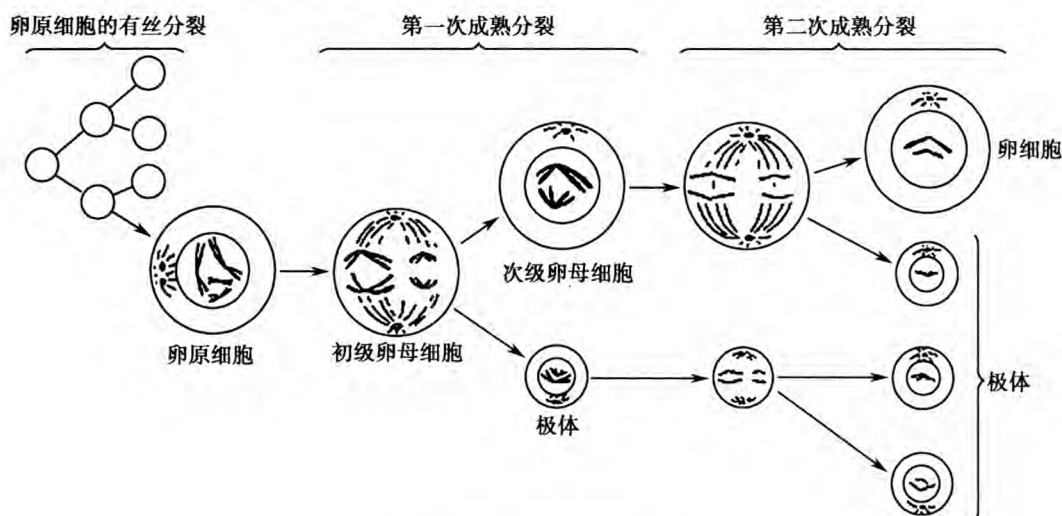


图 2-2 卵子发生过程

(二) 卵子发生的内分泌调控

卵子发生的内分泌调控涉及多个内分泌器官,下丘脑-腺垂体-性腺中心轴是调节卵子成熟和排卵的重要内分泌系统。大量研究表明,当位于下丘脑弓状核的神经内分泌细胞受到诸如光照、水温等外界环境的刺激时,分泌促性腺激素释放激素(gonadotropin-releasing hormone, GnRH); GnRH与腺垂体促性腺细胞上的特异受体结合,刺激促性腺激素(gonadotropin, GtH)的释放,在人类,有两种形式的促性腺激素,即卵泡刺激素(FSH)和黄体生成素(LH)。FSH主要促进卵泡的生长发育和成熟,并分泌雌激素,而LH主要是通过改变甾体类激素的合成来刺激卵子发生的后期阶段。由GtH刺激合成的甾体类激素包括睾酮、11-酮睾酮、17 β -雌二醇和多种孕激素。这些甾体类激素作用于卵母细胞,从而调节卵子成熟,导致排卵。当卵巢分泌的雌、孕激素达到一定的浓度时,又反馈调节下丘脑和垂体的分泌活动,维持动态平衡。