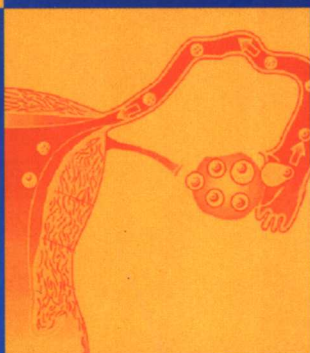




朱正美 主编



糖链与生殖

CARBOHYDRATES IN REPRODUCTION



科学出版社
www.sciencep.com

国家科学技术学术著作出版基金资助出版

糖链与生殖

朱正美 主编

科学出版社

北京

内 容 简 介

糖生物学是一门新兴的学科,近二十年来发展迅速,目前已渗透到肿瘤、免疫、发育分化及生殖生物学等诸多学科中。本书从糖生物学和生殖生物学学科交叉的角度,介绍聚糖在生殖过程中的作用及其研究进展。其中以编者所在实验室的研究结果为主,重点介绍聚糖在胚胎着床中的作用,精子、卵子、受精、早期胚胎发生等基本过程,以及聚糖在这些过程中的作用。本书还介绍了聚糖研究对生殖医学的临床意义和应用前景。此外,对聚糖的基本结构及其分析方法也进行了简要阐述,以供对糖生物学感兴趣的读者参考。

本书可供从事生殖、发育和生命科学研究的相关工作人员、研究生以及生殖医学工作者和转基因动物工作者参考,也可供相关专业临床医师阅读。

图书在版编目(CIP)数据

糖链与生殖/朱正美主编. —北京:科学出版社,2007

ISBN 978-7-03-019281-3

I. 糖… II. 朱… III. 聚糖-作用-生殖-研究 IV. Q418

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2007)第 097239 号

责任编辑:李悦 刘晶/责任校对:鲁素

责任印制:钱玉芬/封面设计:

科学出版社出版

北京东黄城根北街16号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

双青印刷厂印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2007年7月第一版 开本: B5 (720 × 1000)

2007年7月第一次印刷 印张: 13 1/4

印数: 1—1 500 字数: 256 000

定价: 55.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换〈双青〉)

序

糖生物学，亦被称为糖组学 (glycomics)，是继基因组学和蛋白质组学后在 20 世纪末发展起来的新兴研究领域。人类基因组序列的破译为阐明基因功能开辟了新天地，极大地鼓舞了人们对蛋白质组学的研究。大量研究证实，人类约有 3 万多条基因，但人类蛋白质组却可能有上百万种蛋白质，而且约有 50% 以上的天然蛋白质都是糖基化的。糖组学的研究内容包括生物体中全部聚糖的表达、调控及其生理功能。聚糖因其结构的多样性和复杂性而成为细胞的信息传导大分子，是生物体基因组信息的延续。由此，糖组学研究成为后基因组时代阐明基因功能的必经之路。

近年来的研究表明，无论是在基本的生命过程中，如受精、发生发育、分化、神经系统和免疫系统，还是在疾病的发生和发展中，都涉及聚糖的参与。在一些生命和疾病过程中，聚糖有着特异性的识别和介导作用，它的这些作用是通过聚糖对蛋白质功能的修饰和与蛋白质的黏附识别来实现的。聚糖的功能既与蛋白质密不可分，本身也具有特异性。因此，从基因、蛋白质和糖组的水平阐明聚糖的组成、生物合成途径及其功能，将从理论上揭示聚糖参与生物过程和疾病发生、发展的机制，为疾病诊断防治提供理论基础。

大连医科大学糖生物学研究组是我国在糖组学研究领域起步较早的一个团队。多年来这个团队结合国外有关研究的新进展，从糖生物学和生殖生物学交叉学科的角度，重点研究聚糖在生殖中的作用，目前已在这一研究领域多有建树。本书的内容除重点介绍聚糖在着床中的作用外，还简要地介绍了生殖生物学和糖组结构及其分析方面的基础知识，以期对糖生物学有兴趣的读者能从中获益。

很高兴看到朱正美教授等人的研究成果结集出版。衷心寄语大连医科大学从事糖生物学研究的同行，希望你们以坚定的步伐，再接再厉，踏实进取，不断创新，在糖生物学研究领域取得更大成绩。

张树政

2006 年 11 月

前 言

糖生物学是近二十年蓬勃发展的一门新兴学科。复合聚糖在细胞的增殖和分化、细胞间的相互识别和黏附，以及在机体免疫功能中的作用已受到广泛的重视。继“基因组学”和“蛋白质组学”之后人们又提出了“糖组学”。“糖”作为细胞结构和功能的微调物，对其功能的探讨已渗入到不同的研究领域，尤其是对存在于细胞表面的糖与细胞的社会行为的相关研究，引起了细胞生物学、肿瘤学、发育和生殖生物学、遗传学以及免疫学等诸多学科研究者的兴趣。

20世纪80年代中期，在我们开始有关糖生物学研究后不久，与一位从事试管婴儿研究的美国临床医生的谈话，激发了我对探讨胚胎着床机制的兴趣，并设想存在于细胞表面的糖链可能参与着床。80年代末，我有幸得到当时中国科学院动物研究所生殖生物学重点实验室张致一主任的鼓励，申请与该室合作的研究课题，向生殖界前辈和研究者学习了生殖基本知识和技术，才真正开始进入糖生物学和生殖生物学学科交叉的研究领域。80年代中期至今，美国华盛顿大学S-i, Hakomori教授长期慷慨赠予聚糖特异性的单克隆抗体，为我们提供了必需的研究工具。90年代中期我们与美国同事胚胎学家BA Fenderson博士合作，促使聚糖与着床研究逐渐深入。近年，在对单个胚胎分泌的聚糖以及有关着床因子的研究中，我们发现其分泌水平的测定可能为胚胎质量判断提供新的指标。经过漫长的探索，终于开始展示有关研究可能为IVF临床服务的前景。本书主要是对我们这些年工作的总结，并介绍生殖生物学和糖生物学有关的基础知识，以便读者查阅。

近二十多年来，多项国家自然科学基金以及国家重点基础研究基金的资助为我们的研究工作提供根本保证。糖生物学前辈张树政院士、沈昭文先生和导师顾天爵教授的提携与指导，以及糖生物界同仁的帮助是促进我们研究的动力。多年来是同事们以及研究生们的努力实践和积累，才可能有我们的研究结果和发展。对此我心中满怀感激，拟以本书作为汇报，也为今后的有关研究提供参考。尽管我和参编者们都希望尽力写好这本书，但因其内容涉及面广，我们的水平有限，难免有失误和缺陷，诚恳希望读者提出批评和指正。

朱正美

2007年1月

目 录

序

前言

第一章 糖链在生殖中的中介作用	1
第一节 聚糖是精-卵结合的“牵线人”	2
第二节 聚糖是胚泡着床的“媒介物”	4
第三节 聚糖在生殖医学中的应用前景与展望	8
参考文献	9
第二章 精子发生与 N-聚糖	11
第一节 精子发生	11
第二节 N-聚糖的合成	13
第三节 精子发生与 N-聚糖	16
参考文献	18
第三章 卵细胞发育与 ZP 糖蛋白	19
第一节 卵泡生长和卵细胞发育	19
第二节 卵母细胞特异基因的表达	24
第三节 卵细胞发育与 ZP 糖蛋白	25
参考文献	32
第四章 糖链与受精	33
第一节 受精概述	33
第二节 生殖细胞表面聚糖分子的结构特点	37
第三节 受精过程中细胞表面聚糖的变化	44
第四节 其他哺乳动物的受精研究	52
第五节 小结和展望	54
参考文献	55
第五章 阶段表达的聚糖抗原在着床中的作用	58
第一节 胚胎着床的基本过程	58
第二节 聚糖与胚胎着床	63
第三节 细胞表面聚糖参与着床调节网络	75
第四节 聚糖参与着床的免疫调节	77
第五节 聚糖的表达和分泌与胚胎发育及着床相关	81
第六节 聚糖在着床中作用研究的新进展	82

第七节	聚糖在着床中作用的研究前景和意义	83
参考文献	84
第六章	糖链与胚胎发生	89
第一节	糖链与胚胎早期发育	90
第二节	糖链与着床后胚胎发育	93
第三节	糖链与细胞激活和信号转导	100
第四节	未来展望	105
参考文献	105
第七章	卵巢激素对聚糖合成及岩藻糖基转移酶表达的调控	107
第一节	卵巢激素的合成、功能及调节	107
第二节	卵巢激素对糖复合物聚糖的调节	111
第三节	卵巢激素对岩藻糖基转移酶表达的调控	118
参考文献	124
第八章	聚糖可能作为信息分子参与着床调节网络	126
第一节	胚胎着床的调节机制	127
第二节	着床调节因子调控胚胎发育及胚胎着床	128
第三节	Le ^Y 聚糖可作为信息分子通过着床调节网络调控胚胎着床	142
第四节	Le ^Y 聚糖对着床调节网络各因子调节作用信号转导途径的探讨	153
参考文献	158
第九章	胚胎聚糖抗原及基质金属蛋白酶的分泌与其发育和着床潜能	162
第一节	目前辅助生殖中对胚胎质量评价的方法和问题	163
第二节	单个胚泡蛋白质因子分泌及其相关基因表达的测定	168
第三节	蛋白质因子分泌的差异与胚胎发育质量和着床功能相关	175
第四节	单个胚胎培养液中分泌因子测定方法的特点和应用前景	179
参考文献	180
第十章	糖缀合物的糖链结构及其分析概略	183
第一节	糖缀合物的分类及其糖链结构的基本特点	184
第二节	聚糖结构分析的概略	192
参考文献	202

第一章 糖链在生殖中的中介作用

第一节 聚糖是精-卵结合的“牵线人”

- 一、卵子受精是一个新生命的开始
- 二、透明带糖蛋白 ZP3 决定了卵子与精子的结合
- 三、ZP3 糖蛋白中的糖链对精子结合起关键作用
- 四、其他可参与受精的糖

第二节 聚糖是胚泡着床的“媒介物”

- 一、着床是生殖的关键环节
- 二、胚胎发育中聚糖的阶段变化
- 三、聚糖对胚胎着床起中介作用
- 四、聚糖参与母-胎间的信息传递
- 五、聚糖还具有免疫保护作用

第三节 聚糖在生殖医学中的应用前景与展望

参考文献

20 世纪 60 年代初,生物学家曾对生命发生的瞬间做过生动地描述:“我们每个人的生命,在一个不知不觉、没有感到荣幸的时刻,在一个纤小的游动着的精子闯入成熟的卵子时就开始了”。卵子受精,尤其是受精后早期发生的一系列迅速而复杂的事件,数十年来一直是生命科学中最吸引人、最神秘的部分。

自然受精往往在卵子进入输卵管后几小时内发生。数以亿计的精子从阴道经子宫进入输卵管,在输卵管中部与卵子迎面相遇。卵子在大群精子的冲击下,被其中的一个精子闯入,即受精。卵受精后,把其他的精子拒于卵外,这些精子最终都分散死去。这时,在受精卵的内部开始了一系列不寻常的事件:首先,精子脱去尾部,其头部中来自父体的 23 个染色体,与卵子核内来自母体的 23 个染色体合并,形成了单细胞的胚胎,大约经过 36h,新细胞分裂成两个。此后分裂加速,由 2 个细胞分裂为 4 个,4 个分裂为 8 个……待到受精后一周它进入子宫时,受精卵已经发育成为有 64~128 个细胞的细胞团,形成了一个空心的胚囊,称为胚泡(图 1-1)。随后胚泡在子宫腔内定位,黏附于子宫内壁上皮细胞的表面,再逐渐种植到子宫内壁上,即着床。此后,胚泡在子宫中发育成胎儿。

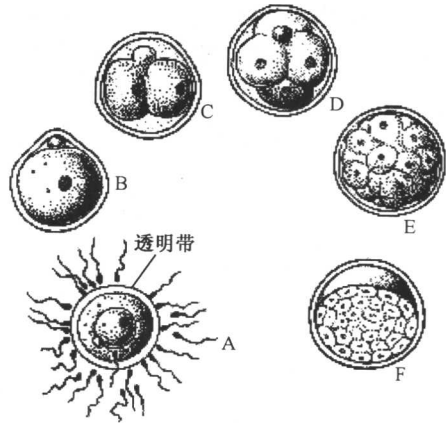


图 1-1 卵子受精和胚胎发育

- A. 卵子受精 (只有一个精子穿过透明带进入卵子);
- B. 受精卵; C. 二细胞胚胎; D. 四细胞胚胎;
- E. 桑葚胚; F. 胚泡 (有中空的胚囊)

糖生物学是 20 世纪才开始蓬勃发展的、备受关注的学科。这门新的学科既有深远的理论意义，又与人类健康有着密切的联系。近年越来越多的证据说明，细胞表面的糖类分子（指与蛋白质或脂类分子连接的糖链部分，这是由多个糖分子连成的短糖链，称为聚糖*）在细胞与细胞、细胞与细胞周围的基质之间的相互识别和黏附中起中介作用。在受精（精子与卵子识别、黏着）和着床（胚胎与子宫识别、黏附）中聚糖也体现了这种功能。本书从糖生物学和生殖生物学交差的角度来探讨聚糖在生殖早期的作用。我们首先概括地介绍一下聚糖与生殖间的关联，以便读者大致了解本书的主要内容。

第一节 聚糖是精-卵结合的“牵线人”

一、卵子受精是一个新生命的开始

卵子是动物体内最大的细胞。成熟的卵子有卵丘细胞包绕，卵细胞膜外还有一层胶冻状的“卵壳”，在显微镜下这层卵壳是透明的，因此称为透明带。当卵在卵巢中发育成熟后，就突破卵巢壁落入输卵管的伞状的入口“输卵管伞”中，再通过输卵管表面绒毛的摆动和管壁肌肉的蠕动，把卵子向子宫方向推进。在输卵管的中段，卵子和迎面游动而来的精子群相遇。精子进入雌性生殖道以后，经过修饰获得能量，最后被卵子吸引，穿过卵丘细胞到达透明带表面。通常其中只有一个强壮的、幸运的捷足先登者，首先与透明带黏附，开始精子与卵子结合的复杂过程。此过程包括精子与透明带结合、顶体反应、穿入透明带、与卵细胞膜融合等多步反应。精子与卵细胞的膜结合后，卵被激活，精子进入卵细胞，形成受精卵，一个新的生命就这样开始了。

二、透明带糖蛋白 ZP3 决定了卵子与精子的结合

精子与卵子结合是有物种特异性的。是什么成分决定了同种的精子和卵子相识，然后进入卵子而使之受精呢？一系列的实验逐步揭示了这个生命最早期的谜：不论海胆、海鞘，还是两栖类、小鼠或人类，都是通过其卵子透明带糖蛋白中的聚糖和精子表面蛋白质的相互作用使精子与卵子识别、黏附，这是决定受精种族特异性的分子基础。人们通过基因突变使小鼠产生没有透明带的卵，突变卵要么不能受精，要么就是即使受了精，受精卵也很快死亡。这个实验结果充分说明了透明带的重要性，即透明带不仅是决定受精种属特异性的物质，也是卵子正

* 传统习惯上，一般将糖链的长度少于十多个糖单位的称为寡糖，而将含糖单位更多的称为多糖，但其间并没有明确的区分。《糖生物学基础》（2003，科学出版社）一书中提出将寡糖和多糖统称为聚糖。

常受精和受精卵正常发育所必需的成分。透明带主要由少数几种糖蛋白组成。例如，小鼠的透明带中含有三种糖蛋白成分，分别为 ZP1、ZP2 和 ZP3。应用对这三种糖蛋白特异反应的不同抗体试验发现，只有糖蛋白 ZP3 才能与精子结合，并可诱发精子顶体反应。当一个精子进入卵子后，ZP3 立即发生变化，使透明带固缩，迟到的精子就不能再和它反应，从而被拒之卵外，这就保证了卵子受精的正常进行。如在体外的精子和卵子中加入纯化的 ZP3，它也会与精子反应，从而阻止精子与卵子的结合。实验还证明，在人卵及猪卵的透明带中，也是 ZP3 成分对精子和卵子的结合起主要作用。因而，人们把 ZP3 叫做卵子与精子结合的受体，即 ZP3 是卵子接受精子并最先和它结合的分子。人们以带有同位素标记的 ZP3 糖蛋白为探针，根据同位素的示踪找到了小鼠精子和 ZP3 结合的成分，这是精子顶体表面一种蛋白质 SP56（目前，已观察到兔精子可能是 SP17，人精子则可能是甘露糖-结合蛋白与 ZP3 结合）。其后，应用荧光标记的 SP56 蛋白直接观察到这种蛋白质和透明带结合，因此也将 SP56 蛋白叫做 ZP3 结合蛋白。也就是说，精子的 SP56 蛋白和 ZP3 糖蛋白之间的结合是精-卵结合的桥梁。最近，已发现 SP56 单体通过分子内的双硫键连接形成八聚体，此八聚体的一端连着精子头部的表面膜，另一端和 ZP3 的聚糖结合，结合后精子发生顶体反应，释放顶体蛋白酶，在其作用下精子穿过透明带，使卵受精（朱正美 2002）。

三、ZP3 糖蛋白中的糖链对精子结合起关键作用

20 世纪 80 年代中期，哈佛医学院的 Wassarman 教授等对 ZP3 糖蛋白分子的结构和组分进行了多方面的深入研究，证明 ZP3 糖蛋白分子中大约一半是糖链。已知糖蛋白分子由肽链和糖链两部分组成，实验证明如果把 ZP3 糖蛋白中的肽链切断，但保留完整的糖链，所得到的小分子糖肽仍然和 ZP3 糖蛋白一样能与精子结合；但如果通过化学方法除去分子中的糖链，ZP3 就失去了与精子结合的能力。这些结果第一次让人们认识到是 ZP3 分子中的糖链部分起着与精子结合的受体作用。

一个糖蛋白分子中可能含有多个不同的糖链，而且每条糖链又可由多个糖基构成。糖蛋白中究竟是什么糖链起作用、糖链中是否每个糖基都同样重要呢？一些实验可以说明问题：经温和的碱水解，选择性地除去 ZP3 分子中多种糖链与靠近该糖蛋白多肽链羧基末段的两个 Ser 残基相连的 O-糖链，ZP3 就失去与精子结合的能力；用特异的糖苷酶处理小鼠卵子，发现除去糖链末端的一个特定的糖基如半乳糖基或岩藻糖基可明显地降低卵子和精子的结合能力。如果改变 ZP3 糖蛋白中的半乳糖基的结构也能够消除它对精子的结合能力，而恢复半乳糖的结构则结合能力又可恢复。近年来，人们还观察到精子的 SP56 蛋白还可直接与固相化的半乳糖结合。实验结果表明 ZP3 分子糖链中的 O-糖链末端半乳糖基在卵

子与精子结合中起着关键作用。不同动物的 ZP 糖蛋白其 O-糖基化的模式虽可有所差异,但可确定哺乳动物的受精是糖介导的事件 (Snowatz F et al. 1998; Wassarman PM 1998, 1999; Wassarman PM and Litscher ES 2001)。

四、其他可参与受精的糖

人们发现在精子中还有其他可能与卵子结合的与糖有关的成分,如精子表面的一种 β -1, 4-半乳糖基转移酶,它与透明带 ZP3 的糖蛋白糖链末端的 N-乙酰葡萄糖胺结合,介导了精卵的识别,但对 ZP1 或 ZP2 不起作用。最近人们对不同的聚糖作用进行分析比较后发现,无论是从体内提取的还是由人工合成的,都是一些具有分支结构的聚糖才表现出对精卵结合很强的抑制作用,所以在体内的聚糖可能主要是通过多个糖基共同起作用的。这使人们开始重视对体内某些复杂的聚糖的研究,发现了一些新的、更复杂的成分,也进一步表明糖参与受精分子机制的复杂性。

由于取材的困难和伦理问题,人们对人卵 ZP3 与精子结合有关的糖结构的了解很少。通过糖对人精卵结合的抑制作用,初步观察到多聚岩藻糖与高浓度的甘露糖可防止 ZP3 与精子的结合。对人卵的透明带分析发现,其中有四糖抗原 Le^a (Fuca1-2Gal β 1-3 [Fuca1-4] GlcNAc),这种抗原中有岩藻糖,它的抗体可抑制精子与透明带的结合,此现象受到人们的重视。精子与 ZP3 结合的糖(称之为糖配体)的性质及结构究竟如何,还期待着更多的研究和进一步的证实。

此外,新近发现在人精浆中含有大量的游离聚糖,经生物物理分析证明这种游离聚糖是人精浆中糖缀合物的主要组成成分,其中富含岩藻糖化的乳糖链,带有 Lewis^x (Le^x) 和 Lewis^y (Le^y) 抗原决定簇。认为这些岩藻糖化乳糖可能对精子有免疫保护作用,从而促进受精。聚糖在生殖免疫中的作用也是有待深入探讨的问题。

第二节 聚糖是胚泡着床的“媒介物”

一、着床是生殖的关键环节

胚泡着床是生殖过程中的关键环节和限速步骤。在畜牧业和生殖医学的实践中,人们观察到受精率明显高于生育率,这主要是由于受精卵没能成功着床造成的。1978年,第一例试管婴儿路易斯·布朗在英国诞生,这是医学史上的一大奇迹,是经过各国胚胎学家和妇产科专家多年共同努力,应用体外受精-胚胎移植技术所取得的成果。其研究基础是华裔生物学家张明觉 1959 年成功

地完成了兔的体外受精，并在 1969 年完成人卵体外受精。尽管当时的体外受精率可高达 90%，但着床率却低于 20%。又经过二十多年的努力，试管婴儿相关技术不断提高，但着床率还徘徊在 30% 左右，仍然是亟待解决的关键问题。

卵受精后逐渐从输卵管移向子宫，移动同时进行着细胞分裂和增殖，形成致密的、实心的细胞团，叫做桑葚胚。桑葚胚进入子宫后继续分裂、分化，形成中间有空腔的胚泡。胚泡的外层细胞叫做滋养层细胞，内部成团的细胞则叫做内细胞团（这部分以后发育成胎儿）。经过一定的时间后，胚泡从透明带中孵化脱出。孵化了的胚泡即在子宫内膜表面一定的部位黏着、向子宫壁植入，开始着床。小鼠的卵子从受精到开始着床大约要经过 100h。着床包括胚泡与子宫内膜上皮细胞的靠近、定位、接触，进而穿过基底膜植入到子宫内膜的变化过程。在胚泡与内膜上皮接触后的 24h，它就牢固地植入子宫壁中了。

胚泡着床这一复杂的过程，需要卵巢激素、细胞因子和生长因子等许多因素的共同调节，使胚泡（子体）与子宫（母体）双方发生一系列同步的变化，以达到相互协调、相互适应才能完成。人们通过体外和体内着床模型，分别对胚泡和子宫进行观察，分析各种因素对着床的影响，来窥视在生命的早期母-子双方如何相互接受、相互容纳的现象，以探讨着床的机制（Aplin JD and Kimber J 2004）。

二、胚胎发育中聚糖的阶段变化

20 世纪 80 年代初期，应用专门与特定聚糖反应的单克隆抗体作为探针，通过荧光技术观察到一些很有趣的现象，即在不同发育阶段胚卵的表面有不同的聚糖抗原出现。例如，从胚胎的 1 细胞开始就有阶段特异抗原 SSEA-3 和 SSEA-4 的表达，这些抗原到桑葚胚形成时下降；8 细胞到 32 细胞期表面主要为含岩藻糖的聚糖 Le^x ，又称为阶段特异抗原 SSEA-1，这种抗原出现时，正是胚卵分裂形成桑葚胚的时期。实验还发现 Le^x 聚糖抗原可促使胚卵分裂时各个单个细胞间的相互粘连，对桑葚胚的形成有重要作用。然而，随着胚胎发育到胚泡形成时， Le^x 骤然下降，出现了另一种聚糖—— Le^y ，它的结构仅比 Le^x 多一个岩藻糖基，而且它一直到胚泡着床时都保持着高水平。 Le^y 聚糖的功能有待阐明。

三、聚糖对胚胎着床起中介作用

在母体子宫内膜表面的聚糖抗原与胚泡表面一样，具有阶段特异性变化（Fenderson BA et al. 1986），表 1-1 列举了子宫内膜不同功能期间某些聚糖抗原表达的阶段性改变。

表 1-1 不同功能期小鼠子宫内膜的糖抗原表达

抗体名称	抗原命名	糖链结构	表达强度		
			动情前期	动情期	着床前
FE-J1	GlcNAc	GlcNAc β -6Gal	—	—	—
FE-A5	Lacto [II 型]	Gal β -4GlcNAc β -3Gal	—	—	—
MNH-1	H [I 型]	Fuca-2 Gal β -3GlcNAc β -3Gal	+++	++	+*
BE-2	H [II 型]	Fuca-2 Gal β -4GlcNAc β -3Gal	—	—	—
MC-480	Le ^x	Gal β -4GlcNAc β -3Gal 3 Fuca	+	+	+
AH-6	Le ^y	Fuca-2 Gal β -4GlcNAc β -3Gal 3 Fuca	+++	+++**	+++

* 抗原成簇分布；** 在子宫腔中也见到有抗原分布。

在着床这个复杂的过程中，还有其他聚糖和粘连分子参与。在此，我们集中介绍对聚糖抗原 Le^y 的研究。此外，H1 也和 Le^x 聚糖的结构相似，只是其分子中的岩藻糖基的连接方式不同。H1 和 Le^y 这两种聚糖在小鼠子宫内膜的不同时期都有表达，并在交配前和胚泡着床前表达增强。它们在胚泡着床中所起的作用是人们注意的问题。

目前人们一般是通过模型来观察研究胚胎是如何着床的。

1. 胚胎移植模型

该模型是先从一个母体（供体）中取出受精卵，将其移入另一母体（受体）子宫内着床、发育。在胚泡移植之前，如先经不同因子或条件处理，然后观察着床率的变化，可分析各种因素通过胚泡对着床的影响。

2. 体外共培养模型

将胚泡和子宫内壁上皮细胞在体外一起培养，通过胚泡在上皮表面发生黏附及随后在其表面扩展生长的现象，来模拟胚泡着床。此模型可以用不同因素处理胚泡或上皮，分别研究它们对着床的影响，并分析影响因素是通过胚泡或子宫，还是母胎双方面发挥作用。

3. 体内模型

利用具有双子宫的小鼠，通过两侧子宫角分别注射不同糖特异性单克隆抗体或其他试剂，以对照观察聚糖对胚胎着床的影响。

自 20 世纪 80 年代后期以来，英国曼彻斯特大学生命科学院 Kimber 教授

的研究组，对子宫内膜表面的 H1 聚糖在胚泡着床中的作用进行了大量研究 (Poirier F and Kimber S 1997)。他们用荧光标记实验观察到在小鼠子宫内膜表面不论受孕与否，在相应着床前都有 H1 抗原存在；体外加入含有 H1 结构的聚糖或加入对 H1 特异反应的抗体后，都可明显地抑制胚泡与内膜的黏着，结果说明 H1 聚糖在胚泡着床中非常重要。他们还观察到胚泡可以和 H1 聚糖结合，而且这些结合位点的出现与胚泡孵化的时间一致。由此提出了一种假说，认为这些位点是胚泡滋养层细胞表面与 H1 聚糖结合的“受体”。通过胚泡表面的“受体”与内膜表面的 H1（配体）结合，从而介导着床时胚泡和内膜上皮细胞之间粘连。

近十年来，我们实验室与美国华盛顿大学病理和微生物系 Hakomori 教授、杰佛逊大学病理系 Fendreson 博士以及中国科学院动物研究所生殖生物学开放实验室段恩奎博士等、微生物所生物资源重点实验室金城博士等合作，对 Le^Y聚糖在着床中作用的研究也取得令人兴奋的结果。我们应用体内模型将对 Le^Y聚糖特异反应的抗体注射到小鼠子宫腔内（小鼠具有双侧子宫，实验时可以用另侧子宫为对照，对同一个体进行比较），结果发现，当子宫内膜表面的 Le^Y聚糖被其抗体遮盖后，胚泡的着床明显被抑制。这种抑制作用不仅与抗体的用量有关，而且还有明确的时间性和糖特异性，说明 Le^Y聚糖是在胚泡着床的起始阶段起介导作用。其后，我们还应用小鼠胚泡移植模型观察到，如果将胚泡先和 Le^Y聚糖的抗体孵育后再植入到子宫内，着床也被明显抑制，说明胚泡表面的 Le^Y聚糖对正常着床也非常重要 (Zhu ZM et al. 1995, 1996)。此外，在体外分别用抗体单独处理胚泡或是内膜上皮，当抗体与细胞表面的 Le^Y聚糖反应后，胚泡在上皮细胞表面发生黏附及扩展生长的体外“着床”现象都明显延迟。可见在胚泡和内膜上皮细胞表面的 Le^Y聚糖对着床都很重要。推测可能是两面的 Le^Y聚糖同时与对应的受体反应，从而对着床起中介作用。母-胎两方面的 Le^Y聚糖如何相互作用以体现对着床的介导？什么是与 Le^Y结合的受体成分？这些问题还待进一步研究。

20 世纪 90 年代末，我们和印度全印医学科学院生理系 Sengupta 教授合作，通过对灵长类动物恒河猴（和人类一样也有月经）的观察发现恒河猴的子宫内膜表面 Le^Y的表达在月经周期中也有阶段性变化；应用抗着床的紧急避孕药咪啡斯酮（使早孕时的胚泡不能着床）后可见到 Le^Y的表达明显下降。说明 Le^Y聚糖可能在灵长类动物的正常胚泡着床中也起重要作用 (Ghosh D et al. 1998)。最近，通过人子宫手术样品，也初步观察到类似的结果，这进一步说明了最古老、最保守的、关系着生物繁衍命脉的生殖过程中糖的作用具有一定的共性。

2003 年初，*Science* 杂志报道了聚糖在着床中作用研究的最新进展，结果证明人胚胎着床时的母-胎识别和黏附是胚胎滋养层细胞的选凝素和子宫内膜的聚糖配基相互作用介导的，并提出胚胎着床与白细胞从血管内皮表面的滚动和渗出是通过相同体系的作用。这是聚糖功能研究一个令人振奋的进展，首次从母-胎

双方、糖结合蛋白及其聚糖配体两方面提出令人信服的证明 (Genbacev OJ et al. 2003)。这不仅将推动胚胎着床机制和调控等研究的深入, 并且通过对滋养层植入生理过程的研究和阐明, 对恶性细胞增殖和转移的深入了解有所促进, 也可能对防止肿瘤细胞的转移有所促进。

四、聚糖参与母-胎间的信息传递

胚胎着床是个复杂的发育过程, 子宫和胚胎必须同步、协调地发育才能完成。这个过程是在激素的调控下, 众多的着床相关因子(如细胞因子、生长因子、水解细胞基质的酶类等)参与, 沟通母-胎双方, 交流信息、共同协调的结果。在着床的研究中, 根据作者实验室的结果, 发现胚胎或子宫表面的聚糖抗原被其抗体阻断后, 不仅着床受抑制, 而且还明显影响许多着床相关因子的表达, 从而影响胚胎与子宫黏附后的整个着床过程。说明细胞表面的聚糖可能作为信息分子, 参与着床的调节作用, 成为着床调节网络中的一员 (Zhu ZM and Wang X Q 1998)。

五、聚糖还具有免疫保护作用

我们知道, 受精卵的一半来自母体, 一半来自父体。胚泡植入子宫后如何不被母体的免疫系统排斥, 并在其中正常生长、发育, 一直是有待探讨的问题。近年发现, 在生殖系统中存在的某些具有分支的聚糖链糖蛋白, 如由妊娠的子宫蜕膜分泌的 Glycodelin A 及甲胎蛋白等, 具有明显的免疫抑制作用。这些糖蛋白(包括精浆中的 Glycodelin S)在不同的妊娠期间出现, 因而有人提出它们可对受精和不同发育时期的胚胎起免疫保护作用。这个新的发现和假说, 受到人们的高度重视, 已成为目前研究的热点 (Chalabi S et al. 2002; Clark GF et al. 1997; Seppala M et al. 1998)。

第三节 聚糖在生殖医学中的应用前景与展望

如前所述, 聚糖对精-卵和胎-母之间的识别与黏附起中介作用, 保证了受精和着床的正常进行。此外, 一些聚糖对胚胎有免疫学保护作用, 这对胚泡的着床成功和胚胎在母体中能正常发育而不受侵害都十分重要。糖在生殖过程中的作用的研究, 不仅使人们对细胞的识别、黏附和信号传导的一般过程有了新的深入认识, 而且使人们对糖在生殖医学中的应用前景充满希望。

鉴于 21 世纪的人口、经济、社会和文化相对于过去都会有很大的变化, 避孕节育已经不是单纯为了减少人口的临时办法, 它已成为世世代代生活所必需的

长远措施。现用的避孕方法已经不能满足各类人群的要求，除改进现有方法外，还迫切需要开辟新的途径。目前多应用激素或以激素为靶标的药物进行避孕，这些药物除了达到避孕目的外，还可能由于对人体内分泌系统的干扰而产生副作用，如月经推迟、恶心、呕吐、头晕等。聚糖类与这些避孕药不同，它可能仅阻断精子和卵子的相互识别及黏附，并在受精的起始阶段即发挥作用。就是在精子和卵子都能正常发育，性生活也正常进行的情况下，仅在精子和卵子相遇时，使它们互不相识、擦肩而过，从而失去受精的机会，达到避孕的目的。此外，聚糖对于激素的合成和分泌也无影响，由于其性质温和、稳定，用量很小，无副作用等突出的优点，不仅显示出其在避孕方面很强的实用前景，而且还可能由此引导出一种新型治疗不孕症的方法。目前的问题是这类聚糖的提取及合成困难，价格昂贵，无法实际应用。通过改进合成方法以降低成本费用，将其推向实际应用，是糖化学家和糖生物学家们正在共同努力奋斗的目标。可喜的是，最近糖化学家在聚糖的合成上已取得多方突破，展示了美好的前景。

糖基转移酶是聚糖合成的关键酶。1995年，澳大利亚和美国科学家联合将 α 1-2岩藻糖基转移酶转入猪肾细胞，使之表达人的H抗原，减少其原有的、能引起人免疫排斥的Gal- α 1-3-Gal抗原的表达，从而显著降低了人体对植入猪肾的排斥，显示了糖基转移酶在器官移植临床应用的前景。近年对糖基转移酶类的研究有了长足的进展，近300种糖基转移酶已被克隆及测序。这对研究糖基转移酶的表达、调控及其与结构功能的关系具有重要意义，有助于对正常生殖生理过程及生殖医学中的病理机制的了解。该酶还可作为着床期子宫内膜接受态的一个标记物，成为助孕和避孕研究的靶点。

此外，聚糖所具有的促进着床和免疫保护的作用，可保证受精卵的正常植入，保护胚胎在母体中正常生长发育。最近，作者实验室还发现胚胎的聚糖抗原合成和分泌水平可能与其发育以及着床功能有关。这一发现不仅有望用于受精卵发育不良和由免疫排斥引起的不孕症的治疗，而且可以使受精卵在体外通过某些特殊的聚糖的孵育，促进着床，以提高“试管婴儿”和转基因动物的成功率。相信随着糖生物学研究的深入、糖工程技术的进一步发展，糖在生殖医学中会展示出更广泛的应用前景，不断为人类生活造福，为社会创造财富。

(朱正美)

参 考 文 献

- 朱正美. 2002. 生殖过程中的中介——糖链. 糖生物学与糖生物工程. 张树政主编. 北京: 清华大学出版社. 37~50
- Aplin JD, Kimber SJ. 2004. Trophoblast-uterine interaction at implantation. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 2: 48~60
- Chalabi S, Easton RL, Patankars MS et al. 2002. The expression of free oligosaccharides in human seminal

- plasma. *J Biol Chem*, 277 (36): 32562~32570
- Clark GF, Anne D, Morris HR et al. 1997. Viewing AIDS from a glycobiological perspective: potential linkages to the human fetoembryonic defence system hypothesis. *Mol Hum Reprod*, 3 (1): 5~13
- Fenderson BA, Holmes EH, Fukushi Y et al. 1986. Coordinate expression of X and Y heptants during murine embryogenesis. *Dev Biol*, 114 (1): 12~21
- Genbacev OJ, Prakobphol A, Foulk RA et al. 2003. Trophoblast L-selectin-mediated adhesion at the maternal-fetal Interface. *Science*, 299 (5605): 405~407
- Ghosh D, Liu N, Zhu ZM et al. 1998. Immunolocalization of Le^Y oligosaccharide in endometrium during menstrual cycle and effect on its expression in implantation stage endometrium of the chesus monkey. *Hum Reprod*, 13 (5): 1374~1379
- Poirier F, Kimber S. 1997. Cell surface carbohydrates and lectins in early development. *Mol Hum Reprod*, 3 (10): 907~918
- Seppala M, Koistinen H, Koistinen R et al. 1998. Glycodelins: role in regulation of reproduction, potential for contraceptive development and diagnosis of male infertility. *Hum Reprod*, 13 (S3): 262~270
- Sinowatz F, Plendl J, Kolle S. 1998. Protein-carbohydrate interactions during fertilization. *Acta Anat*, 161 (1-4): 196~205
- Wassarman PM. 1988. Zona pellucida glycoproteins. *Ann Rev Biochem*, 57: 415~442
- Wassarman PM. 1999. Mammalian fertilization: molecular aspects of gamete adhesion, exocytosis and Fusion. *Cell*, 96 (2): 175~183
- Wassarman PM, Litscher ES. 2001. Towards the molecular basis of sperm and egg interaction during mammalian fertilization. *Cell Tissue Organ*, 168 (1-2): 36~45
- Zhu ZM, Hakomori S, Fenderson BA. 1996. Role of carbohydrate (particularly Le^Y) in the implantation process. In: Sengupta J, Ghosh D. *Cellular and Signaling in Reproduction*. New Delhi; New Age International Publisher. 129~144
- Zhu ZM, Kojima N, Stroud MR et al. 1995. Monoclonal antibody directed to Le^Y oligosaccharide inhibits implantation in the mouse. *Biol Reprod*, 52 (4): 903~912
- Zhu ZM, Wang XQ. 1998. Role for cell surface oligosaccharide in cell recognition during implantation. *Molecular Human Reproduction*, 4 (8): 735~738