

# 鲮鱼卵母细胞成熟机理的探讨

洪 万 树

(厦门大学海洋系)

**关键词** 鲮鱼 离体培养 激素 卵母细胞

## 前 言

为了探讨鱼类性腺发育成熟规律和卵母细胞成熟过程中激素的调节问题,过去进行了许多性腺发育组织学、细胞学以及组织化学等方面的研究,最近几十年来,应用电镜、免疫、质谱和分子生物学等先进技术对上述问题进行了更深入的研究,并获得了迅速进展<sup>[1~2]</sup>。Nagahama<sup>[3]</sup>首先采用离体方法研究硬骨鱼类性腺类固醇激素的来源,这一技术已被广泛应用于探讨鱼类卵母细胞成熟和排卵过程中激素的作用问题,而且已被认为是一种可靠和有效的方法。

鲮鱼 (*Mugil cephalus*) 是一种世界性的养殖鱼类,有关人工诱导鲮鱼性腺发育成熟和产卵的研究已有一些报道。Shehadeh<sup>[4]</sup>和kuo<sup>[5]</sup>分别用鱼类促性腺激素和人绒毛膜促性腺激素诱导鲮鱼产卵获得成功。但鲮鱼卵母细胞成熟过程的激素调节作用问题至今尚不明确。Azoury等(1980)<sup>[6]</sup>曾报道过鲮鱼性腺发育过程中,其卵巢中主要的类固醇激素是 $11\beta$ -羟雄烯二酮和 $11$ -酮基睾丸酮。本研究系利用离体培养方法,以9种类固醇激素、人绒毛膜促性腺激素(HCG)和氰化钾铜(羟类固醇脱氢酶的抑制剂)培养鲮鱼卵母细胞,借此探讨鲮鱼生殖过程中激素对其卵母细胞成熟的作用机理,为鱼类生殖内分泌的研究提供参考资料。

## 1 材料与方 法

本研究在美国德州大学海洋研究所进行。试验用鱼用流刺网捕自附近水域,其体重范围为600~650g。以采卵器插入生殖孔吸出少量卵子,镜检其发育成熟度。选择卵母细胞已发育至第4时相的雌鱼,剖腹取出卵巢,将其切成小块,每小块约含有100~200粒卵子,置于含有不同激素的培养液中进行培养。培养期间水温控制在21°C,连续充气。培养30h后,随机取样镜检卵母细胞的成熟情况,计算成熟率。类固醇激素和HCG系美国Sigma化学公司产品,氰化钾铜由Albert Soria博士提供。

## 2 结果

### 2.1 类固醇激素对鳙鱼卵母细胞成熟的诱导作用

每种类固醇激素均用生理盐水配制成浓度为 $1 \times 10^{-3} \text{g/dm}^3$ 的培养液。在这些类固醇激素中,  $17\alpha$ - $20\beta$ -双羟孕酮和脱氧皮质酮是诱导鳙鱼卵母细胞成熟的最有效类固醇激素, 经30h培养, 分别有43.1%和46.4%的卵母细胞从第4时相发育至第5时相; 其次是孕酮和孕烯醇酮, 卵母细胞的成熟率分别为17.1%和16.3%; 效果最差的类固醇激素是 $11\beta$ -羟雄烯二酮。睾酮、 $11$ -酮基睾酮、皮质醇和 $17\beta$ -雌二醇, 用这些激素培养的卵母细胞, 其成熟率均不超过6%, 与对照组的成熟率相比, 没有显著的差异(表1)。

表1 类固醇激素诱导鳙鱼卵母细胞成熟的结果

类固醇种类	培养液浓度 ( $10^{-3} \text{g/dm}^3$ )	培养时间 (h)	镜检卵细胞数	成熟卵细胞数	成熟率 (%)
$17\beta$ -雌二醇	1	30	87	5	5.7
睾酮	1	30	90	4	4.4
$11\beta$ -羟雄烯二酮	1	30	154	2	1.3
$11$ -酮基睾酮	1	30	82	4	4.9
皮质醇	1	30	110	3	2.7
脱氧皮质酮	1	30	110	51	46.4
孕酮	1	30	105	18	17.1
孕烯醇酮	1	30	86	14	16.3
$17\alpha$ - $20\beta$ -双羟孕酮	1	30	116	50	43.1
对照组	0	30	152	2	1.3

### 2.2 HCG诱导鳙鱼卵母细胞成熟的结果和氰化钾铜的抑制作用

HCG分别配制成5、10和50 I.U./ $\text{cm}^3$  3种不同浓度的培养液。结果表明, HCG能诱导部分卵母细胞成熟, 且卵母细胞的成熟率随培养液中HCG的浓度增加而提高。氰化钾铜对HCG诱导卵母细胞成熟有一定的抑制作用, 在含有5 I.U./ $\text{cm}^3$ 的HCG培养液中加入浓度为 $1 \times 10^{-3} \text{g/dm}^3$ 的氰化钾铜后, 卵母细胞的成熟率显著下降(表2)。

## 3 讨论

研究结果表明, 孕激素是诱导鳙鱼卵母细胞成熟的有效激素。在这类激素中, 以 $17\alpha$ - $20\beta$ -双羟孕酮的效果最好, 其次是孕酮和孕烯醇酮。许多研究已证明了在鱼类卵巢发育成熟过程中,  $17\alpha$ - $20\beta$ -双羟孕酮是诱导卵母细胞成熟的主要类固醇激素<sup>[1]</sup>。大麻哈鱼和赤鳞离体的卵母细胞, 用 $17\alpha$ - $20\beta$ -双羟孕酮培养, 可使之成熟。 $17\alpha$ - $20\beta$ -双羟孕酮还被认为是香鱼和虹鳟卵母细胞成熟的最有效类固醇激素。关于 $17\alpha$ - $20\beta$ -双羟孕酮诱导卵母细胞成熟的机理问

表2 HCG诱导鲮鱼卵母细胞成熟的结果和氰化钾铜的抑制作用

激素药物	浓度 (I.U./cm <sup>3</sup> )	培养时间 (h)	镜检卵细胞数	成熟卵细胞数	成熟率 (%)
HCG	5	30	108	19	17.6
HCG	10	30	106	20	18.9
HCG	50	30	109	28	21.1
HCG+氰化钾铜	$5+1 \times 10^{-3}$ g/dm <sup>3</sup>	30	105	11	10.5
对照组	0	30	152	2	1.3

题, 赵维信推测可能是直接作用于卵母细胞, 致使细胞核消失<sup>[7]</sup>. Young<sup>[8]</sup>报道了孕酮和孕烯醇酮是促使大麻哈鱼卵母细胞胚泡破裂的有效类固醇激素, 这和本文的结果相似. 有关孕酮的作用机理已见过报道, Theofan等<sup>[9]</sup>发现孕酮在离体培养条件下被鳟鱼的卵巢组织转换成5种其他类固醇激素, 从而诱导卵母细胞最后成熟. 除了上述3种孕激素外, 脱氧皮质酮也是诱导鲮鱼卵母细胞成熟的主要类固醇之一, 其诱导卵母细胞成熟的效力与17 $\alpha$ -20 $\beta$ -双羟孕酮相似. 脱氧皮质酮能够促使卵母细胞成熟已在斑马鱼和鲮鱼等其他鱼类中报道过. Kuo<sup>[10]</sup>发现脱氧皮质酮主要是结合在鲮鱼的卵母细胞膜上. 因此, 可推测脱氧皮质酮是直接诱导鲮鱼卵母细胞成熟的类固醇激素. Goetz<sup>[11]</sup>认为雌激素和雄激素对于诱导某些鱼类卵母细胞成熟没有多大的作用. 本研究结果证实了这一观点. Lambert等<sup>[12]</sup>认为鱼类的雌激素主要是参与卵黄的积累, 而不参与卵母细胞的最后成熟. Dindo等<sup>[13]</sup>证实了17 $\beta$ -雌二醇与鲮鱼卵黄的发生有关. 关于雄激素在鱼类生殖中的作用问题也有一些报道, Fostier等<sup>[2]</sup>认为某些雄激素, 如雄烯二酮和睾丸酮可能是雌激素的前体. 美洲拟鲮和虹鳟血浆中睾丸酮的含量在卵黄发生后期达到最高峰. 由此可推测雄激素可能与鲮鱼卵母细胞卵黄的发生有关, 而不参与卵母细胞的最后成熟.

促性腺激素作用于性腺并促使性腺分泌甾类激素, 以促使性腺发育成熟. 鲮鱼卵巢组织在HCG的诱导下产生哪些能促使卵母细胞成熟的类固醇激素, 目前尚不清楚, 但从研究结果推测可能是17 $\alpha$ -20 $\beta$ -双羟孕酮或脱氧皮质酮. 因为这两者都具有诱导卵母细胞成熟的效力. 氰化钾铜通过抑制3 $\beta$ -羟类固醇脱氢酶的活性, 阻止卵巢组织在促性腺激素的诱导下分泌类固醇激素, 从而抑制了卵母细胞的最后成熟.

## 参考文献

- 1 施稼芳. 鱼类性腺发育研究新进展. 水生生物学报, 1988, 12(3): 248~258
- 2 Fostier A *et al.* Fish physiology. New York, London, Tokyo, 1983, 9(A): 227~346
- 3 Nagahama Y *et al.* Cellular sources of sex steroids in teleost gonads. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 1982, 39, 56~64
- 4 Shehadeh Z H *et al.* Induced spawning of grey mullet (*Mugil cephalus*) with fractionated salmon pituitary extract. J. Fish. Biol., 1973, 5, 471~478
- 5 Kuo C M *et al.* Induced spawning of captive grey mullet (*Mugil cephalus* L.) female by injection of human chorionic gonadotropin (HCG). Aquaculture, 1973, 1, 429~432
- 6 Azoury R and B Eckstein. Steroid production in the ovary of the grey mullet (*Mugil*

- cephalus*) during stage of egg ripening. Gen. Comp. Endocrinol., 1980, 42, 244~250
- 7 赵维信. 虹鳟排卵前后血清中类固醇激素浓度变化的研究. 水产学报, 1987, 11(3): 205~213
  - 8 Young G *et al.* Oocyte maturation in the amago salmon (*Oncorhynchus rhodurus*), In vitro effects of salmon gonadotropin steroids and cyanoketone (an inhibitor of 3 $\beta$ -hydroxy- $\Delta$ 5-steroid dehydrogenase). J. Exp. Zool., 1982, 224, 265~275
  - 9 Theofan G and F W Goetz. The in vitro synthesis of final maturation steroids by ovaries of brook trout (*Salvelinus fontinalis*) and yellow perch (*Perca flavescens*). Gen. Comp. Endocrinol., 1983, 51, 84~95
  - 10 Kuo C M. Induced breeding of grey mullet, *Mugil cephalus*. Proceeding of the International Symposium on Reproductive Physiology of Fish. 1982, 181~184
  - 11 Goetz F.W. Fish physiology, New York, London, Tokyo, 1983, 9(B): 122
  - 12 Lambert J G D *et al.* Ovarian hormones in teleosts. Fortschr. Zool., 1974, 22, 340~349
  - 13 Dindo J J and R Macgregor. Annual cycle of serum gonadal steroids and serum lipids in striped mullet. Trans Am. Fish Soc., 1981, 110, 403~409