

精子胞浆小滴的发现及研究进展

刘 杰 李建远 王海燕

(山东省烟台毓璜顶医院中心实验室 山东 烟台 264000)

摘要 精子成熟是一个复杂的过程,精子从睾丸向附睾运行过程当中,精子表面的胞浆逐渐脱落,最终精子成熟。各种原因引起的精子表面胞浆滞留最终形成胞浆小滴。胞浆小滴在多种物种中均有发现,与男性不育相关。

关键词 精子 胞浆小滴 不育

中图分类号: R697 R335.5 **文献标识码**: A **文章编号**: 1673-6273 (2011) 05-976-02

The study of sperm cytoplasmic droplets

LIU Jie, LI Jian-yuan, Wang Hai-yan

(Shandong Research Center of Stem Cell Engineering, Yantai Yuhuangding Hospital, Yantai, 264000, China)

ABSTRACT: The maturation of sperm is a multiple progress. During transit through the epididymis, sperm released cytoplasm and mature. Retention of 'residual cytoplasm' on human spermatozoa form droplets. Droplets have been found in many domestic species and may be associated with infertility.

Key words: Sperm; Cytoplasmic droplets; Infertility

Chinese Library Classification: R697 R335.5 **Document code**: A

Article ID: 1673-6273(2011)05-976-02

胞浆小滴早在 1909 年就被 Retzius 发现,但精子胞浆小滴仍然是一个谜。曾被命名为细胞浆中的珠子^[1],原生质小滴^[2,3,4,5],胞浆小滴^[6]和等离子小滴^[7]等。目前统一命名为胞浆小滴,它是精子胞浆的残余体,黏附在精子细胞的颈部区域,大多数精子胞浆小滴被 Sertoli 细胞吞噬掉。

1 胞浆小滴的形成及脱落

附睾是促进精子成熟、储存的重要器官。附睾管在附睾进化过程中不同区域出现功能差异。精子在附睾转运过程中,不成熟的,活力低的及形态学异常的精子百分数逐渐降低,尾部异常的精子逐渐升高,精子射出体外后精子体积变小,含水量减少,最明显的改变是未成熟精子体部的胞浆小滴向后移动,并最终脱落。正常情况下,射出体外精子没有胞浆小滴,但来源于附睾头部的精子,胞浆小滴位于精子的主段靠近头部;来源于附睾尾部和输精管的精子,胞浆小滴位于精子主段后区。这些结果提示,胞浆小滴来源于睾丸精子形成过程,而附睾促进胞浆小滴从精子颈部向尾部转运,直至丢失。

2 不同物种中发现胞浆小滴

猪、羊、牛射出的精液中没有胞浆小滴表明胞浆小滴,可能在射精过程中被去除^[8]。从交配后的小鼠子宫内收集到的精子没有胞浆小滴^[9],牛壶腹部收集到的精子也没有胞浆小滴^[10]。精囊腺液体能促进睾丸精子、未成熟的附睾精子释放胞浆小滴。PBP 是从牛壶腹和精囊腺中鉴定到的蛋白,因此认为 PBP 能释放胞浆小滴,促进精子成熟的作用。而在猪的附睾和壶腹腺中缺失 PBP 蛋白,射出的精液中则含有胞浆小滴^[11]。

3 胞浆小滴与不育症

早在 1981 Bozek 等^[12]人发现,大鼠给药棉酚,其精子胞浆小滴沿着中段滞留在不同的部位;1985 年 Shi 等^[13]人在豚鼠研究中发现同样的现象,豚鼠给药棉酚后,有 31.5%精子胞浆小滴滞留在颈部。这种带有胞浆小滴的精子通常不能与卵结合受精,胞浆小滴位于中段与男性不育相关。

Peña 等人曾经对一只不能生育的 4 岁雄性狗进行研究,发现该狗的生殖系统发育正常,精液常规精子计数 80%的精子具有前向运动的能力,96%的精子形态学异常,其中 84%的精子近端含有胞浆小滴,12%的精子近端不但含有胞浆小滴还有其它方面的异常。在卵透明带结合试验,冷冻的狗卵细胞解冻并放在含 0.4%小牛血清的磷酸盐缓冲液中,与近端含有胞浆小滴的精子进行结合,受精前精子在 38.5℃, 5%CO₂ 培养基中获能 2h,结果发现,近端含有胞浆小滴的精子缺乏正常的获能力,从而导致卵透明带结合能力降低^[14]。

大多数近端胞浆小滴滞留的报告表明,精子胞浆小滴的形成与附睾成熟障碍有关。如发生这种情况的牛,其 IVF 成功率低于正常,猪怀孕率及产仔数降低,不育症的老鼠也发现子宫内的精子胞浆小滴滞留^[15]。人的精子与其他动物的精子一样也有胞浆小滴,但是在射出的精子表面滞留的位置不一样。研究表明,在子宫黏膜和体内输卵管收集到的精子含有胞浆小滴,但这种胞浆小滴小于精子头部 1/2 到 1/3 且精子功能正常,一般认为是精子的正常结构;如胞浆小滴滞留在精子颈部和中段,与不育症密切相关,这是由于小滴在沿着尾部主段转运的过程中成熟障碍所致。在一些不育症病人的精液中,我们可见大量未脱落胞浆小滴的未成熟精子。可能是精子在附睾近端转运过程中,胞浆小滴沿着中段从颈部向中段和主段迁移过程发生障碍,仍然黏附在精子表面所致。这种转运机制仍然不是很清楚,也有研究表明它可能参与精子体积调控,研究精子体积调控机制将为避开开辟一条新的途径。许多报告表明精子胞浆过度残留与精子功能失调有关。如人精子上胞浆小滴的出现

作者简介 刘杰,女,硕士,检验师. E-mail:liulocus@126.com

(收稿日期 2010-08-17 接受日期 2010-09-20)

与男性不育症有关,包括吸烟、男性静脉曲张致使胞浆小滴滞留,运动能力降低,头部及中段形态异常,与透明带结合能力降低,染色质断裂,DNA 损伤,染色体数目增加,受精能力降低。含有胞浆小滴的精子功能降低与膜重构失调及过度脂质过氧化有关。分别取生育和不育男子精液标本进行研究,结果发现精子胞浆小滴的滞留与精子 DNA 变性呈正相关,不能生育的人精子胞浆小滴和变性 DNA 的含量明显高于能生育男子^[16]。俞等人研究表明不育症组精子残留胞浆小滴的比例明显高于生育组,Keating 的研究也表明胞浆小滴的存在与体外受精(IVF)的成功率明显负相关,与精子膜的完整性及精子密度也成负相关,认为胞浆小滴是不育的原因之一,并把胞浆小滴的百分比作为 IVF 之前的预测试验^[17]。

15-LOX 是脂氧化酶家族的一个成员,能够过氧化磷脂,参与红细胞和网织红细胞内线粒体和其他细胞器的降解,生化和免疫细胞化学实验发现精子胞浆小滴内也存在 15-LOX,Western blot 分析在猪精子中也检测到这一条带,但猪精浆中不含有这条带。猪体外射出的精子易于在 45/90%的 Percoll 梯度下分离,15-LOX 随着不能运动的精子,细胞碎片,胞浆小滴碎片一起迁移,而不随着运动的精子,包含形态学正常不含胞浆小滴的精子一起移动,免疫荧光定位发现,15-LOX 主要存在于睾丸,附睾及射出的精子胞浆小滴中,15-LOX 主要存在哺乳动物精子胞浆小滴中,促进精子发生^[18]。

总之,精子胞浆小滴是精子成熟度的标志之一,正常成熟的精子胞浆小滴会自行脱落,不超过头部的 1/2,不育精子普遍存在胞浆滴过大,胞浆小滴的残留,由于胞浆小滴不脱落,顶部的质膜不能暴露,而质膜上拥有与卵子结合的特异性抗原决定簇,从而影响受精。精子胞浆小滴存在的意义及形成机制有待于进一步的探讨和研究。

参考文献(References)

- [1] Hancock JL. The cytoplasmic beads of boar spermatozoa [J]. J Endocr, 1956,14:38-39
- [2] Branton C, Salisbury GW. Morphology of spermatozoa from different levels of the reproductive tract of the bull [J]. J Anim Sci, 1947,6: 154-160
- [3] Rao CK, Hart GH. Morphology of bovine spermatozoa [J]. Am J Vet Res IX, 1948,5: 117-124
- [4] Bialy G, Smith VR. Influence of seminal vesicular fluid on morphology of bull spermatozoa [J]. J Dairy Sci, 1958, 41:422-428
- [5] Amann RP, Almquist JO. Reproductive capacity of dairy bulls. VII. Morphology of epididymal sperm [J]. J Dairy Sci, 1962, 45:1516-1526
- [6] Matousek J, Kysilka C. The phospholipid-binding protein of the

reproductive tract of the bull-effect on the removal of spermatozoal cytoplasm droplets in other species and influence of antibodies on its reactivity [J]. Anim Reprod Sci, 1984, 7:433-440

- [7] Waberski D, Meding S, Dirksen G, et al. Fertility of long-term-stored boar semen: influence of extender (Androhep and Kiev), storage time and plasma droplets in the semen [J]. Anim Reprod Sci, 1994,36, 145-151
- [8] Kato S, Shibukawa T, Harayama H, et al. Timing of shedding and disintegration of cytoplasmic droplets from boar and goat spermatozoa [J]. J Reprod Develop (Tokyo), 1996, 42:237-241
- [9] Merton H. Studies on reproduction in the albino mouse. II. Contributions on the maturation of the sperm cells [J]. Proc Roy Soc (Edinburgh), 1939, 59:145-152
- [10] Matousek J, Kysilka C. The haemolytic factor (phospholipid-binding protein) of the bull reproductive tract-its synthesis and effect on spermatozoal cytoplasm droplets [J]. Anim Reprod Sci, 1980, 3: 195-205
- [11] Matousek J, Kysilka C. The phospholipid-binding protein of the reproductive tract of the bull-effect on the removal of spermatozoal cytoplasm droplets in other species and influence of antibodies on its reactivity [J]. Anim Reprod Sci, 1984, 7:433-440
- [12] Bozek SA, Jensen DR. Scanning electron microscopic study of spermatozoa from gossypol-treated rats [J]. Cell Tissue Res, 1981, 219:659-663
- [13] Shi QX, Friend DS. Effect of gossypol acetate on guinea pig epididymal spermatozoa in vivo and their susceptibility to capacitation in vitro [J]. J Androl, 1985, 6(1):45-52
- [14] Peña AI, Barrio M, Becerra JJ, et al. Infertility in a dog due to proximal cytoplasmic droplets in the ejaculate: investigation of the significance for sperm functionality in vitro [J]. Reprod Domest Anim, 2007,42:471-478
- [15] Amann RP, Seidel GE, Mortimer RG. Fertilizing potential in vitro of semen from young beef bulls containing a high or low percentage of sperm with a proximal droplet [J]. Theriogenology, 2000, 54: 1499-1515
- [16] Fischer MA, Willis J, Zini A. Human sperm DNA integrity: correlation with sperm cytoplasmic droplets [J]. Urology. 2003, 61:207-211
- [17] Keating J, Grundy CE, Fivey PS, et al. Investigation of the association between the presence of cytoplasmic residues on the human sperm midpiece and defective sperm function [J]. J Reprod Fertil, 1997,110:71-77
- [18] Fischer KA, Van Leyen K, Lover camp KW, et al. 15-Lipoxygenase is a component of the mammalian sperm cytoplasmic droplet [J]. Reproduction, 2005, 130:213-222