

# 叶酸对妊娠母猪胚胎早期发育的影响及其机理

刘小莉, 贾刚<sup>\*</sup> (四川农业大学动物营养研究所, 动物抗病营养教育部工程研究中心, 四川雅安 625014)

**摘要** 胚胎的植入是在激素、细胞因子、免疫、基因等复杂网络调控下进行的, 是一个精确的、有严格时空性的生理过程。综述了叶酸对胚胎的附植及附植成功后胚胎正常形态发育 2 个方面影响的研究进展及其作用机理, 为提高母猪的繁殖力提供一些新的认识。

**关键词** 叶酸; 胚胎发育; 胚胎畸形

**中图分类号** S828 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2009)18-08493-03

## Effect and Mechanism of Folic Acid on Embryo Developing during Early Pregnancy in Pigs

LIU Xiao-li et al (Animal Nutrition Institute, Sichuan Agriculture University, Yaan, Sichuan 625014)

**Abstract** Embryo implantation is a precise and severe space-time physiological process which is going in the control of hormone, cytokine, immunization and gene. The research progress and its effect mechanism about influences of folic acid on embryo implantation and embryo development were summarized, which could provide some new cognition for improving fecundity of pigs.

**Key words** Folic acid; Embryo developing; Embryo malformation

早期研究表明, 叶酸会影响胚胎的附植。而到 20 世纪 90 年代初, 人们对叶酸又有新的认识, 认为母体叶酸水平低下与多种胚胎缺陷有关<sup>[1]</sup>。有报道称, 添加叶酸可以防止发生或再次发生如神经管缺陷、无脑畸形等胚胎或胎儿畸形。在胚胎发育早期, 胚胎经历着剧烈的生理和形态学的变化, 首先应在子宫内着床, 然后进一步发育。胚胎的植入是在激素、细胞因子、免疫、基因等复杂网络调控下进行的, 叶酸不仅影响了胚胎着床过程, 还对附植成功后胚胎形态学的正常发育有非常重要的影响。

## 1 叶酸的功能及代谢

**1.1 叶酸的生物学功能** 传统观点认为, 叶酸的主要功能就是参与一碳基团的代谢。而目前发现, 叶酸还可调节发育中相关基因的表达。

**1.2 叶酸参与体内的主要代谢** 叶酸与繁殖有如此的联系, 部分原因可归功于其参与的一系列反应。叶酸参与了 DNA 的合成; 与同型半胱氨酸(HCY)结合生成蛋氨酸, 这一过程需要 VB<sub>12</sub> 的参与。而由 HCY 合成蛋氨酸还有一条途径, 即由甜菜碱同型半胱氨酸甲基转移酶(BHMT)催化的反应。这一反应是由日粮中的胆碱、甜菜碱提供甲基, 不需要 MTHF 和 VB<sub>12</sub> 的参与。但 BHMT 只存在于外周神经组织, 中央神经(CNS)组织无此酶, 因此, 在 CNS 组织中 MTHF 是唯一能提供甲基给 HCY 用于合成蛋氨酸的物质; 而蛋氨酸在酶的催化下生成 S-腺苷甲硫氨酸(SAM), SAM 为所有的甲基化反应提供甲基, 如用于 DNA、蛋白、磷脂、神经递质等的甲基化。SAM 交出甲基后还原为 S-腺苷同型半胱氨酸(SAH)。正常情况下, 体内的 SAH 水解酶快速地催化 SAH 转化为 HCY<sup>[2]</sup>, HCY 再转化为蛋氨酸或谷胱甘肽, 而叶酸缺乏会使 HCY 转化为蛋氨酸的代谢途径受阻。

## 2 叶酸影响胚胎早期发育的研究概况

1984 年, Matte 发现母猪在配种后和妊娠前期, 血清叶酸浓度明显下降, 推测妊娠期叶酸需要量增加, 且注射或口服给予叶酸能防止血清叶酸的下降<sup>[3]</sup>。随后, Matte 发现给母猪注射叶酸可以提高母猪的产仔数(10.9 VS 12.0)<sup>[4]</sup>。Lin-

demann 通过日粮给予也得到类似的结果(10.23 VS 11.17)。而 Tremblay 发现, 通过日粮添加叶酸, 对母猪的排卵数没有显著影响, 但增加了妊娠 30 d 时可能存活的胚胎数量及胎儿的总蛋白含量, 这种效果在高数排卵时更加明显<sup>[5]</sup>。可见, 叶酸对排卵数没有影响, 而是影响了合子以后的发育, 包括胚胎的附植及附植后的形态学发育。

### 2.1 叶酸促进胚胎附植

**2.1.1 叶酸动态调节子宫内雌激素的水平。** 日粮中添加叶酸可使胚胎附植期母猪子宫内 E<sub>2</sub> 的水平下降。Matte 等研究发现: 在妊娠 12 d 时, 添加叶酸使胚胎合成 E<sub>2</sub> 的量较对照组下降; 但在妊娠 15 d 时, 添加组则有所上升<sup>[6]</sup>。检测初产母猪妊娠 12 d 时子宫液中 E<sub>2</sub> 的水平, 发现日粮添加叶酸组比未添加组下降了 40%<sup>[7]</sup>。

由此可知, 添加叶酸可使胚胎附植期母猪子宫内 E<sub>2</sub> 浓度降低, 可使子宫肌收缩减弱, 有利于胚胎的附植成功。

**2.1.2 叶酸调节子宫内 PGE<sub>2</sub> 的分泌。** 日粮添加叶酸可以提高胚胎附植期子宫内 PGE<sub>2</sub> 的含量。在初产和经产母猪胚胎附植期, 子宫内 PGE<sub>2</sub> 的水平显著增加<sup>[8-9]</sup>。还有报道认为, 日粮中添加叶酸有增加初产母猪妊娠 30 d 时尿囊液中 PGE<sub>2</sub> 浓度的趋势<sup>[10]</sup>。

由此可知, 给母猪日粮中添加叶酸, 可以提高子宫内 PGE<sub>2</sub> 的水平, 而 PGE<sub>2</sub> 可改变水盐代谢和血管的通透性及降低母猪的免疫排外反应, 从而更有利于胚胎的附植。

**2.1.3 叶酸对细胞因子的影响。** 转化生长因子-β<sub>2</sub>(TGF-β<sub>2</sub>) 是由子宫和孕体细胞产生的, 它与组织的改型、生长因子的产生、细胞表面分子的表达、血管发生等有关。日粮中添加叶酸可增加猪胚胎附植时(妊娠 15 d)子宫内 TGF-β<sub>2</sub> 的浓度<sup>[11]</sup>。TGF-β<sub>2</sub> 还可抑制外周血淋巴细胞增殖和 NK 细胞的溶解活性。白介素-2(IL-2) 是 NK 细胞强的激活因子, 可刺激 NK 细胞增殖并使其溶解滋养层细胞的能力增强。因此细胞因子 IL-2 被认为对附植不利。Guay 首次报道, 日粮中添加叶酸有使母猪子宫内 IL-2 mRNA 表达量下降的趋势<sup>[12]</sup>。日粮中添加叶酸有可能是通过降低血同型半胱氨酸浓度, 从而间接下调了 IL-2 的表达量<sup>[13]</sup>。

总的来说, 添加叶酸使子宫内环境更有利于胚胎的附

作者简介 刘小莉(1984-), 女, 四川达州人, 硕士研究生, 研究方向: 饲料开发与高效利用技术。\* 通讯作者, 副教授。

收稿日期 2009-03-18

植:叶酸降低了母体对孕体的排外反应(降低了 IL-2 的表达和增加了 PGE<sub>2</sub> 的分泌)和动态调节子宫内激素、细胞因子的量。

**2.2 添加叶酸能防治胚胎发生多种畸形** 1991年, Medical Research Council 进行的一项调查发现,在围妊娠期(妊娠前和妊娠的前期)给母体添加叶酸,能显著降低新生儿发生神经管缺陷(NTD)的机率。NTD,包括无脑畸形、脊裂、脑突等一组先天缺陷。妊娠妇女服用有叶酸拮抗作用的药物(二氢叶酸还原酶抑制剂)后发现,患心血管缺陷和口面裂的胎儿显著高于对照组;而在服用有叶酸拮抗作用药物的同时也服用含有叶酸的多维,结果发现:服用含叶酸的多维能降低叶酸拮抗剂的不利影响。给孕妇每天补充 5 mg 的叶酸,防治神经管畸形发生的效率达 85%<sup>[14]</sup>。还发现,叶酸也可以降低热诱导 NTD 发生机率<sup>[15]</sup>。添加叶酸可防止糖尿病诱导 NTD 的发生<sup>[16]</sup>。由此可见,叶酸缺乏会诱导包括 NTD 在内的多种畸形的发生,从而使胚胎死亡率增加。

### 3 叶酸防治胚胎发生畸形的可能途径

**3.1 添加叶酸能防止体内 HCY 代谢紊乱** 同型半胱氨酸(HCY)是一种含硫氨酸,不能从食物中获得,是代谢过程中产生的,若代谢紊乱可导致血 HCY 浓度升高。高 HCY 能诱导鸡胚发生神经管缺陷和心室间隔缺陷;而添加叶酸可降低 HCY 升高的幅度;添加叶酸可减少或防止畸形发生<sup>[17]</sup>。有学者在小鼠上也得出同样的结果<sup>[18]</sup>。中高剂量 HCY 可使小鼠心肌细胞凋亡和坏死<sup>[19]</sup>。

HCY 导致胚胎畸形的可能原因:影响胚胎发育中某些基因表达、改变了神经细胞的增殖与迁移。有学者用基因芯片技术研究发现,HCY 能诱导胚胎细胞基因表达异常,下调表达 3 倍以上的基因有多条<sup>[20]</sup>。HCY 可使胚胎心脏内同型半胱氨酸诱导基因(HCY-2)表达增强<sup>[21]</sup>。HCY 还可降低 eNOS 基因表达<sup>[22]</sup>;HCY 作为 NMDA 受体的抑制剂,影响神经管细胞迁移和闭锁<sup>[23]</sup>。NMDA 受体与细胞内和细胞间发生的事件有关,这些事件对神经管闭锁和神经嵴的迁移有重要意义<sup>[24-25]</sup>。体外培养鸡胚神经管和心脏区的细胞发现,叶酸能刺激神经上皮细胞的增殖及促进神经嵴细胞的分化;叶酸和 HCY 同时添加能显著降低神经嵴细胞向外生长<sup>[26]</sup>。

由此可见,高 HCY 会导致神经管缺陷等胚胎畸形。神经管闭锁缺陷可能是因为神经上皮细胞向神经嵴细胞转化增加,导致神经管中神经上皮细胞的数量减少而不能闭锁成管状;而口面和心室间隔缺陷可能是因为神经嵴细胞分化紊乱所致。而添加叶酸可以防止 HCY 升高超过正常水平,从而保护胚胎的发育。

**3.2 叶酸影响胚胎发育相关基因的表达** 叶酸缺乏下调心脏特异转录因子的表达。心脏特异转录因子能够调控基因的组织特异性和表达量,在心脏发育过程中起了关键的作用。而目前有报道认为,叶酸缺乏会影响一些心脏特异转录因子的表达,如同源域结构蛋白转录因子(NKx2.5)、锌指蛋白转录因子家族中的 GATA4 及转化生长因子家族中的 BMP2b 成员。用叶酸拮抗剂(甲氨喋呤)处理斑马鱼发现,叶酸缺乏可导致斑马鱼心脏发育延迟及心脏形态异常,并下调了斑马鱼心脏发育相关基因 BMP2b 和透明质烷合酶

(HAS2)的表达<sup>[27]</sup>。BMP2b 对于前中内胚层的早期发育和心肌祖细胞的分化及一些心脏发育相关基因如透明质烷合酶(HAS2)等的表达十分重要,会影响房室管及心脏的分隔和瓣膜的形成。也有研究发现,孕鼠叶酸缺乏可致转录因子 GATA4、NKx2.5 基因表达显著下调<sup>[28-29]</sup>。叶酸缺乏会阻碍 WNT 信号途径。在胚胎发育过程中,WNT 信号途径不仅参与了胚胎背腹轴的形成,而且与细胞极性建立、细胞命运决定等多个发育事件有关<sup>[30]</sup>。而  $\beta$ -环形蛋白( $\beta$ -catenin)是其功能的执行者,而糖原合成酶激酶(GSK-3 $\beta$ )在 WNT 信号转导途径中拮抗  $\beta$ -环形蛋白降解是其功能调节开关。叶酸缺乏可导致叶酸结合蛋白(Folbp1)基因、Wnt 和  $\beta$ -环形蛋白( $\beta$ -catenin)基因表达量极显著下降<sup>[31]</sup>,而 GSK-3 $\beta$  基因表达量明显增强<sup>[32]</sup>。这就引起叶酸受体功能低下和 WNT 信号转导途径障碍,从而导致心脏发育中形态异常,造成心脏功能缺陷。

由此可见,叶酸缺乏会使 Folbp1 表达量下降,降低了细胞摄取叶酸的能力,叶酸缺乏又会影响心脏发育相关基因的表达,进而影响转录因子和相关基因的表达,最终导致子代心脏形态发育出现异常。

### 4 妊娠母猪叶酸的需要量

Matte 等以叶酸的代谢利用率为标识确定妊娠母猪的叶酸需要量为:妊娠第 1 周内为 15 mg/kg,以后为 10 mg/kg,每天的采食量为 2.5 kg<sup>[33]</sup>,这远高于中国猪饲养标准和 NRC 的推荐量。

### 5 结语

在配种前 2 周左右和整个妊娠期添加叶酸能显著降低胚胎发育过程中的死亡率。这是因为叶酸除参与合成机体所需的物质外,还可以促进妊娠早期子宫内分泌,有利于胚胎的附植;也通过维持代谢平衡降低了体内 HCY 的浓度,从而降低了其对胚胎的毒害作用;并影响了叶酸结合蛋白(Folbp1)基因及 WNT 信号途径中的 Wnt、 $\beta$ -catenin 和 GSK-3 $\beta$  的基因表达,从而保护胚胎正常发育。因此,在配种前 2 周左右和整个妊娠期添加叶酸可以降低胚胎死亡率,增加产仔数。

虽然叶酸在降低胚胎畸形方面的资料主要来源于人和试验动物,而目前实际生产中母猪死胎的现象越来越严重,因此需引起人们的关注及进一步的研究。

### 参考文献

- [1] MRC. Prevention of neural tube defects; results of the medical research council vitamin study[M]. MRC Vitamin Study Research Group Lancet, 1991,338:131-137.
- [2] TEODORO,BOTTIGLIERI. Homocysteine and folate metabolism in depression. Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry, 2005,29:1103-1112.
- [3] MATTE J J,GIRARD C L,BRISSON G J. Folic acid and reproductive performances of sows[J]. J Anim Sci,1984,59:1020-1025.
- [4] MATTE J J,GIRARD C L,BRISSON G J. Serum folates during the reproductive cycle of sows[J]. J Anim Sci,1984,59:158-163.
- [5] TREMBLAY G F,MATTE J J, DUFOR J J, et al. Survival rate and development of fetuses during the first 30 days of gestation after folic acid addition to a swine diet[J]. J Anim Sci,1989,67:724-732.
- [6] MATTE J J,FARMER C,GIRARD C L, et al. Dietary folic acid, uterine function and early embryonic development in sows[J]. Can J Anim Sci, 1996,76:427-433.
- [7] DUQUETTE J,MATTE J J,FARMER C. Pre-and post-mating dietary supplements of folic acid and uterine secretory activity in gilts[J]. Can J

- Anim Sci, 1997, 77: 415 - 420.
- [8] GEISERT R D, ZAVY M T, MAFFAT R J. Embryonic steroids and the establishment of pregnancy in pigs[J]. J Reprod Fertil, 1990, 40: 293 - 305.
- [9] MATTE J J, FARMER C, GIRARD C L, et al. Dietary folic acid, uterine function and early embryonic development in sows[J]. Can J Anim Sci, 1996, 76: 427 - 433.
- [10] GIGUERE A, GIRARD C L, LAMBERT R D, et al. Reproductive performance and uterine prostaglandin secretion in gilts conditioned with dead semen and receiving dietary supplements of folic acid[J]. Can J Anim Sci, 2000, 80: 467 - 72.
- [11] GUAY F, MATTE J J, GIRARD C L. Effects of folic acid supplement on uterine prostaglandin metabolism and interleukin-2 expression on day 15 of gestation in white breed and crossbred Meishan sows[J]. Can J Anim Sci, 2004, 84: 63 - 72.
- [12] GUAY F, MATTE J J, GIRARD C L. Effects of folic acid supplement on uterine prostaglandin metabolism and interleukin-2 expression on day 15 of gestation in white breed and crossbred Meishan sows[J]. Can J Anim Sci, 2004, 84: 63 - 72.
- [13] BUEMI M, MARINO D, DI PASQUALE G. Effects of homocysteine on proliferation, necrosis, and apoptosis of vascular smooth muscle cells in culture and influence of folic acid[J]. Thromb Res, 2001, 104: 207 - 213.
- [14] HERNANDEZ-DIAZ S, WERLER M M, WALKER A M. Folic acid antagonists during pregnancy and the risk of birth defects[J]. N Engl J Med, 2000, 343: 1608 - 1614.
- [15] JAE-HO SHIN, KOHEI SHIOTA. Folic acid supplementation of pregnant mice suppresses heat-induced neural tube defects in the offspring[J]. J Nutr, 1999, 129: 2070 - 2073.
- [16] JIA D Y, LIU H J, WANG F W. Folic acid supplementation affects apoptosis and differentiation of embryonic neural stem cells exposed to high glucose[J]. Neuroscience Letters, 2008, 440: 27 - 31.
- [17] ROSENQUIST T H, RATASHAK S A, SELHUB J. Homocysteine induces congenital defects of the heart and neural tube; effect of folic acid[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1996, 93: 15227 - 15232.
- [18] 吴俊, 李英, 吕丹瑜, 等. 同型半胱氨酸对大鼠胚胎发育的毒性作用[J]. 解剖学报, 2003, 34(5): 532 - 536.
- [19] 刘虹, 李勇, 叶鸿瑁, 等. 同型半胱氨酸体内诱导鼠胚胎心肌细胞凋亡的研究[J]. 中国生育健康杂志, 2002, 13(4): 173 - 176.
- [10] 李勇, 李松, 曲梅, 等. 同型半胱氨酸诱导胚胎基因差异表达的基因芯片研究[J]. 中国优生优育, 2001, 12(1): 1 - 4.
- [21] 王光明, 张淑惠, 李英, 等. 同型半胱氨酸诱导基因在正常和畸形人胚心脏中的表达[J]. 解剖学报, 2004, 35(1): 96 - 99.
- [22] 张敬各, 王丽珍, 韩晓群, 等. 同型半胱氨酸对内皮细胞一氧化氮合酶系统的损伤机制及叶酸的拮抗效应[J]. 分子细胞生物学报, 2007, 40(1): 17 - 22.
- [23] LIPTON S A, WON-KI KIM, YUN-BEOM CHOI. Neurotoxicity associated with dual actions of homocysteine at the N-methyl-D-aspartate receptor[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1997, 94: 5923 - 5928.
- [24] ROSENQUIST T H, FINNELL R H. Genes, folate and homocysteine in embryonic development[J]. Proc Nutr Soc, 2001, 60: 53 - 61.
- [25] ROSENQUIST T H, SCHNEIDER A, MONAGHAN D T. NMDA receptor agonists modulate homocysteine-induced developmental abnormalities[J]. FASEB Journal, 1999, 13: 1523 - 1531.
- [26] ANTONY A C, HANSEN D K. Hypothesis: folate-responsive neural tube defects and neurocristopathies[J]. Teratology, 2000, 62: 42 - 50.
- [27] 孙淑娜, 桂永浩, 宋后燕. 叶酸拮抗剂甲氨喋呤导致斑马鱼心脏发育异常及 BMP2b HAS2 表达下调[J]. 中国当代儿科杂志, 2007, 9(2): 159 - 163.
- [28] 李静, 刘石. 叶酸缺乏对孕鼠子代心脏中 NKx2.5 基因表达的影响[J]. 实用儿科临床杂志, 2006, 21(1): 20 - 22.
- [29] 李静, 刘石. 叶酸缺乏对孕鼠子代心脏中 GATA-4 基因表达的影响[J]. 南京医科大学学报: 自然科学版, 2006, 26(2): 90 - 92.
- [30] NAKAMURA T, SANO M. A Wnt and  $\beta$ -catenin dependent pathway for mammalian cardiac myogenesis[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2003, 100(10): 5834 - 5839.
- [31] 刘茹, 彭宇竹. 孕鼠叶酸缺乏对子代心脏叶酸结合蛋白 1 基因及 WNT 信号转导途径的影响[J]. 实用儿科临床杂志, 2006, 21(13): 820 - 822.
- [32] 张锦文, 韩树萍. 叶酸缺乏对孕鼠子代心脏发育中糖元合成酶- $\beta$  表达影响[J]. 实用儿科临床杂志, 2007, 22(13): 969 - 970.
- [33] MATTE J J, GIRARD C L. An estimation of the requirement for folic acid in gestating sows: the metabolic utilization of folates as a criterion of measurement[J]. J Anim Sci, 1999, 77: 159 - 165.

(上接第 8471 页)

**3.2.3 在研究的基础上扩大繁育, 促进规模化生产。**在研究的基础上, 大力进行林木育种和良种繁育。在收集、保存的基础上, 针对各观赏树种的生物学、生态学特性, 分别选育抗性强、观赏性好的树种, 用于规模化繁育生产, 多方建立扩繁基地, 采用人工繁殖尤其是组织培养等手段, 大面积繁殖绿化苗木, 发展种苗业, 以产生良好的经济效益, 增强投资者的积极性。同时, 对目前在园林上应用较少的秤锤树、山麻杆、扁担杆、胡颓子、红瑞木等优良观赏树木, 必须考虑在扩大这些树种资源数量的同时, 着力培育出部分大苗, 积极争取相关园林绿化部门的支持, 使其尽快应用于绿化工程, 以展示其独特的观赏效果, 起示范、推广作用。

**3.2.4 建立南京地区乡土观赏树种种质资源保存的组织体系, 切实加大推广应用的宣传力度。**

由政府相关部门牵头建立由科研、教学和生产部门相配合的保护组织, 对乡土观赏树种种质资源的收集、保存、特性评价、资源分配和情报交流等实行科学有序的管理, 同时在优良观赏树种规模化大生产的基础上可以通过报章、杂志、电视、广播等各种媒体广泛宣传, 以提高全社会对本市乡土观赏树种的认识, 促进生产产品的推广应用。

#### 4 结语

笔者在对南京丘陵山区原生植被林经过多年调研并观察比较的基础上, 重点推荐榔榆、黄连木、茶条槭、盐肤木、山胡椒等 5 个观赏性状十分优良的乔灌木品种。这些品种在观察生长地均立地条件较差, 且管理粗放, 但其生长均十分良好, 且具有极好的观赏价值, 然而这些品种在南京园林绿化中无论种类还是数量, 其实际应用均相当少。研究推荐的这 5 个乔灌木品种, 在进一步试验观测之后, 可广泛应用于南京城市各类绿地中, 具有很好的推广应用前景。

#### 参考文献

- [1] 谢碧霞, 张美琼. 野生植物资源开发与利用[M]. 北京: 中国林业出版社, 1985.
- [2] 江苏省植物研究所. 江苏植物志[M]. 南京: 江苏科学技术出版社, 1982.
- [3] 陈有民. 园林树木学[M]. 北京: 中国林业出版社, 1990.
- [4] 冷平生. 城乡植物生态学[M]. 北京: 中国建筑工业出版社, 1995.
- [5] 陈植. 观赏树木学[M]. 北京: 中国林业出版社, 1990.
- [6] 中国植被编委会. 中国植被[M]. 北京: 科学出版社, 1980.
- [7] 唐红军. 乡土树种在城市绿化中缺少利用的原因[J]. 中国园林, 2004(7): 73 - 74.
- [8] 唐东芹, 傅德亮. 景观生态学与城市园林绿化关系探讨[J]. 中国园林, 1999, 15(3): 40 - 43.