

# 哺乳动物卵巢卵泡膜细胞功能的研究进展

何 琿,姜冬梅\*,康 波\*,马 容

(四川农业大学动物科技学院,雅安 625014)

**摘 要:** 卵泡膜细胞在卵泡的发生和发育过程中起了至关重要的作用,在卵泡相关研究中,人们更多的关注颗粒细胞而忽略了膜细胞。研究表明,卵泡膜细胞可为卵泡发育提供所必需的雄激素;参与形成血管系统并为卵泡发育提供营养物质和性激素;介导卵母细胞与颗粒细胞之间的交互作用进而参与调控细胞凋亡和卵泡发育过程。因此,本文就哺乳动物卵巢卵泡膜细胞功能的研究现状进行综述,旨在引起人们对卵泡膜细胞功能研究的关注,并为卵泡膜细胞的深入研究提供参考。

**关键词:** 卵泡;膜细胞;雄激素生物合成;血管发生;颗粒细胞;卵母细胞

中图分类号:S814.1

文献标志码:A

文章编号:0366-6964(2013)09-1337-05

## Advances on the Function of Follicular Theca Cells in the Mammalian Ovary

HE Hui, JIANG Dong-mei\*, KANG Bo\*, MA Rong

(College of Animal Science and Technology, Sichuan Agricultural University,  
Ya'an 625014, China)

**Abstract:** Over the past decade, researches on follicular biology are focused on granulosa cells and their interaction with the oocyte. While, the theca cell has been somewhat forgotten as a necessary and vital part of the folliculogenesis and follicular developmental process in the mammalian ovary. Theca cells synthesize androgens required by the developing follicles, modulate angiogenesis and provide essential nutrients and steroid hormones along follicular developmental process. Their function is also enabled to contribute the process of cell apoptosis and follicular development via mediating the crosstalk with oocyte and granulosa cells. In this study, the advance in the function of theca cells in the mammalian ovary are reviewed to represent the crucial role of theca cells during follicular development and promote the research on the function of theca cells.

**Key words:** follicle; theca cell; synthesis of androgen; angiogenesis; granulosa cell; oocyte

膜细胞是卵泡的重要组成部分,在次级卵母细胞形成后,围绕在颗粒层周围的一层扁平细胞,被认为起源于卵巢基质中的成纤维细胞。通过电子显微镜观察羊的直径小于 3 mm 的卵泡,发现卵泡的膜层是由卵泡膜细胞、毛细血管及基底膜组成。膜细胞与成纤维细胞、生成固醇类细胞一样,含有大量的滑面内质网,线粒体以及脂类物质构成的小泡<sup>[1-2]</sup>。卵泡膜细胞是高度分化的细胞,含有甾类物质生物

合成途径中的第一个关键酶胆固醇侧链裂解酶 P450 (Cholesterol sidechain cleavage cytochrome P450, P450<sub>scc</sub>)由 CYP11A1 基因编码表达,能合成甾类激素的前体物质,这些前体物质通过激素合成急性调节蛋白 (Steroidogenic acute regulatory protein, STAR)转运到线粒体中,参与雄激素的合成<sup>[3-4]</sup>;哺乳动物卵母细胞发育到次级卵母细胞时期,膜细胞才逐渐被募集形成,随后卵泡血管系统才

收稿日期:2013-03-22

基金项目:国家自然科学基金资助项目(31201798);高等学校博士学科点专项科研基金项目资助(20105103120003)

作者简介:何 琿(1988-),男,四川巴中人,硕士生,主要从事动物卵泡发育机理研究,E-mail: hehuiscauyahoo@163.com

\* 通信作者:姜冬梅,实验师,E-mail: jiangdm9277@163.com;康 波,副教授,E-mail: albertkb119@163.com

开始出现。因此,膜细胞为卵泡的血管发生提供了必要的物质条件。此外,卵泡膜细胞还能参与介导颗粒细胞与卵母细胞之间的交互作用,从而维持健康卵泡发育成熟直至排卵<sup>[5]</sup>。总之,膜细胞对卵泡的生成和排卵起到至关重要的作用,但是近年来的研究者更多的关注卵泡颗粒细胞和卵母细胞,而忽略了膜细胞功能的研究。因此,本文对卵泡膜细胞的功能进行综述,旨在为揭示膜细胞在卵泡发育中所起的作用提供参考。

### 1 膜细胞合成雄激素

合成雄激素是膜细胞的主要功能,膜细胞为卵泡发育提供了所必需的内源性雄激素。膜细胞中大量的脂类物质和滑面内质网为合成雄激素提供了底物和场所。卵泡膜细胞中固醇类物质在 P450<sub>scc</sub> 的作用下合成孕烯醇酮,然后经过 17 $\alpha$ -羟化酶(17 $\alpha$ -hydroxylase, CYP17)作用合成脱氢表雄酮<sup>[6]</sup>,最后在 3 $\beta$ -羟化类固醇脱氢酶(3 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase, 3 $\beta$ -HSD)的作用下合成雄烯二酮或睾酮,雄烯二酮或睾酮被转运到颗粒细胞中转化为 17 $\beta$ -雌二醇或雌酮(图 1)。J. R. Mcneilly 等<sup>[7]</sup>研究发现,在去掉卵母细胞的卵泡中,膜细胞仍然能够合成雄激素。Y. Li 等<sup>[8]</sup>应用 RNA 干扰技术抑制小鼠卵巢 CYP17 的表达后,发现卵巢雄烯二酮的水平显著降低,提示 17 $\alpha$ -羟化酶对卵巢中雄激素生物合成具有关键的调控作用,并且可将 CYP17 作为药

物治疗某些内分泌疾病的靶基因。膜细胞分泌雄激素主要受垂体释放 LH 的调控,膜细胞能够表达 LH 受体,低浓度 LH 可通过其特异性受体的介导来促进膜细胞 CYP11A1、CYP17、HSD-3 $\beta$  以及 STAR 基因的表达,从而提高膜细胞雄激素的分泌<sup>[9]</sup>。研究发现体外培养牛的卵泡膜细胞时, BMP4/6/7 能降低 CYP17 基因的表达从而减少牛的卵泡膜细胞雄烯二酮的产生,同时也对 CYP11A1 及 3 $\beta$ -HSD 的分泌有影响<sup>[10]</sup>。过量的雌酮或 17 $\beta$ -雌二醇可抑制垂体分泌 LH,进而降低雄激素的水平<sup>[11-13]</sup>。膜细胞合成雄激素随着卵泡的生长变化而变化,当卵泡闭锁时膜细胞合成雄激素的量减少;排卵后膜细胞黄体化,雄激素合成也减少<sup>[14-15]</sup>。X. Li 等<sup>[16]</sup>研究了繁殖期和非繁殖期野生松地鼠雄激素和雌激素受体的变化时发现,繁殖期野生松地鼠的雄激素主要被转化为雌激素,进而调控卵泡发育;而在非繁殖期雄激素主要与其受体结合调控卵泡发育。另外,膜细胞合成雄激素异常时会导致卵泡发育停滞。多囊卵巢综合征患者的卵泡发育停滞在囊状卵泡时期,并且其雄激素分泌量过高,其原因可能与膜细胞对促性腺激素的过度应答有关<sup>[17]</sup>。总之,卵泡膜细胞为卵泡发育提供其所必需的雄激素,而膜细胞内雄激素生物合成关键酶的表达又受到 LH、雌酮和 17 $\beta$ -雌二醇的反馈调节,因此卵泡雄激素的合成受到机体精密的调控。

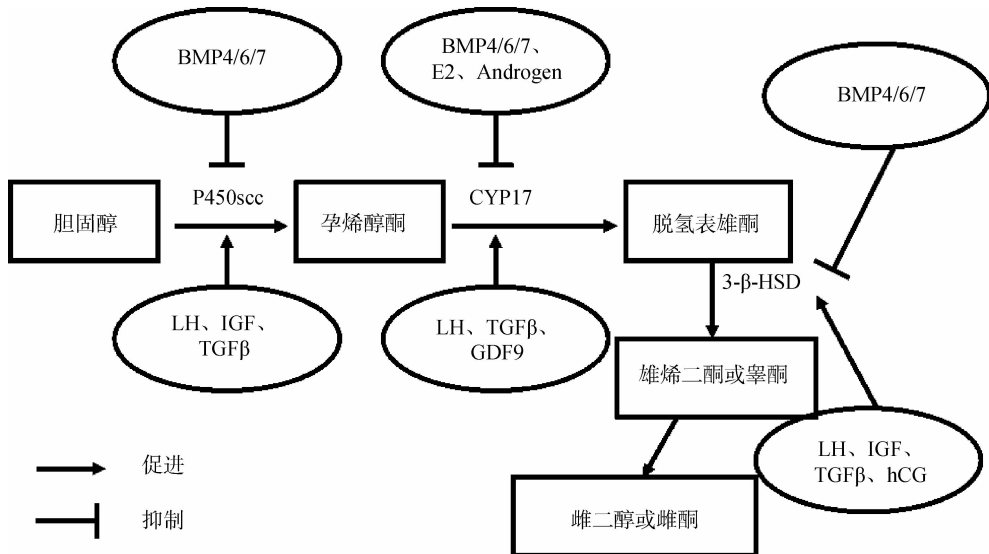


图 1 膜细胞中合成雄激素相关调控因子的作用示意图

Fig. 1 The interaction of the factors regulating androgen synthesis in theca cells

## 2 膜细胞促进卵泡的血管发生

卵泡血管系统形成于囊状卵泡时期,在次级卵泡时期膜细胞已经形成,通过染色观察没有发现内皮细胞的生成,表明膜细胞形成先于血管系统的形成<sup>[18]</sup>。血管的生成对卵泡的发育起了至关重要的作用,为卵泡的生长提供必要的营养物质、激素及 $O_2$ <sup>[19]</sup>。研究发现小的闭锁卵泡血管密度减少,且较多血管都被降解物质堵塞。血管系统形成主要受血管内皮生长因子(Vascular endothelial growth factor, VEGF)的调控<sup>[20]</sup>。VEGF 是一种强力的细胞内皮细胞分裂素,能增加血管的通透性,对卵泡膜细胞血管的发生起了重要的作用。VEGF 通过影响卵泡内膜层和基膜之间内皮细胞的生成和迁移形成血管,同时使已有的血管分支形成血管网。灵长类动物的次级卵泡时期,颗粒细胞中 VEGF 的表达量高于膜细胞<sup>[21]</sup>,而在啮齿类,猪、牛等动物中 VEGF 表达随着卵泡的发育逐渐增多。C. Wulff 等<sup>[22]</sup>和 H. M. Fraser 等<sup>[23]</sup>研究发现:在卵泡的早期发育阶段

通过药物处理抑制 VEGF 的表达,导致内皮细胞和卵泡膜细胞的生成受到抑制从而影响卵泡的健康发育。VEGF 的分泌受 GnRH 调控,抑制 GnRH 的释放能够减少膜细胞和内皮细胞的增殖,从而降低了囊状卵泡时期血管的密度影响卵泡的发育。这可能是由于减少 GnRH 的释放抑制了 VEGF 的生成所致<sup>[20]</sup>。体外培养牛的膜细胞发现,VEGF 的分泌能刺激白细胞介素-8(Interleukin-8, IL-8)及其受体 CXCR1 基因的表达,表明 VEGF 能协同白介素系统促进膜细胞血管系统的形成<sup>[24]</sup>。除此之外,膜细胞血管系统的形成也受骨形成蛋白 BMP-4 和 BMP-7 的影响,在牛的卵泡中 BMP-4 和 BMP-7 可能通过 Smad1/Smad5 通路来影响 VEGF 基因的表达,对血管系统的形成有促进作用<sup>[7]</sup>(图 2)。总之,膜细胞血管系统的形成受到多种因子的协同调控,关于膜细胞是否在卵泡血管形成时起了支撑作用,上皮细胞是如何与膜细胞相互作用促进血管系统形成的,这些具体的作用机制有待进一步的研究。

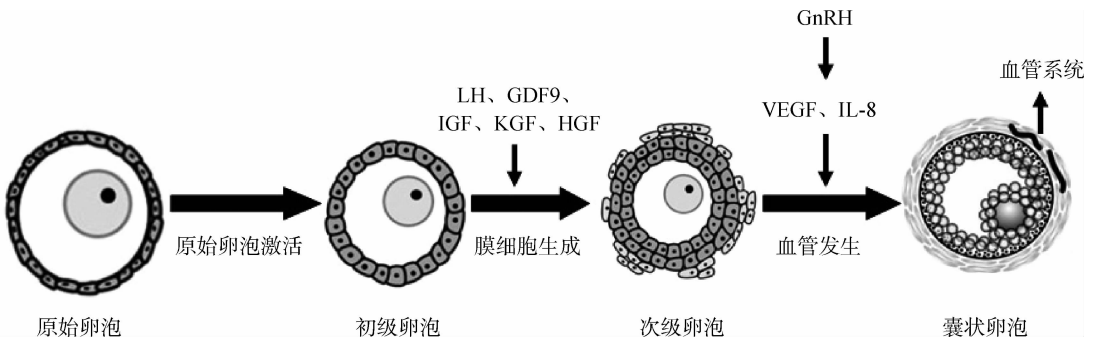


图 2 膜细胞血管发生相关调控因子的作用示意图

Fig. 2 The effect of the factors regulating angiogenesis in theca cells

## 3 膜细胞为颗粒细胞和卵母细胞提供交互联系

卵泡卵母细胞、颗粒细胞和膜细胞等各细胞之间的交互作用是一个极其复杂的过程。卵泡由初级卵泡过度到囊状卵泡前期是卵泡发育的重要时期,这段时期卵泡的发育决定了卵泡是闭锁或是排卵,而在这段时间膜细胞开始形成并增厚,卵泡这段时间的生长离不开膜细胞——颗粒细胞——卵母细胞之间的交互作用<sup>[25]</sup>。膜细胞上有大量 LH 受体的表达,而颗粒细胞上有 FSH 和雄激素受体, LH 能够促进膜细胞雄激素的分泌, FSH 促进颗粒细胞中

P450 的表达并将膜细胞中的雄激素转化成雌二醇进而调节卵泡的生长<sup>[26]</sup>。膜细胞雄激素的生成又可促进颗粒细胞中 FSH 受体基因的表达,而生成的雌二醇又能负反馈调节膜细胞雄激素的生成,同时也能调控卵泡的周期性变化使膜细胞凋亡或黄体化。膜细胞分泌的胰岛素样生长因子 2 (Insulin-like growth factor 2, IGF2) 可通过旁分泌途径进入颗粒细胞,并促进颗粒细胞的增殖,抑制凋亡。在囊状闭锁的卵泡中,颗粒细胞凋亡后,膜细胞才开始凋亡,并且卵泡液中的雄激素水平高于正常卵泡,这可能是由于颗粒细胞凋亡后, IGF 和 TGF $\beta$  超家族等因子分泌减少,卵泡中激素水平的变化所致。

除了在雄激素的生成和卵泡细胞凋亡上,膜细胞——颗粒细胞——卵母细胞之间相互作用外,卵泡各细胞的相互作用还体现在各种因子的交互作用。颗粒细胞分泌的 IGF 以及 Kit 配体 (Kit ligand, KL) 能促进膜细胞的前体细胞募集和分化形成膜细胞,使雄激素的水平升高,也能促进 LH 受体基因的表达<sup>[26]</sup>。卵母细胞分泌的生长分化因子 9 (Growth differentiation factor 9, GDF9), 通过旁分泌途径进入膜细胞影响膜细胞的增殖,同时能够促进 CYP17 基因的表达从而提高雄激素分泌,除此之外,还能提高膜细胞上 LH 与 FSH 受体基因的表达水平。相关研究表明:缺少 GDF9 的鼠卵泡会停滞在初级卵泡时期且没有膜细胞的形成。卵母细胞 GDF9 基因缺失会导致卵泡颗粒细胞的凋亡,从而使卵泡闭锁<sup>[27-28]</sup>。膜细胞分泌的表皮生长因子 (Epidermal growth factor, EGF), 角质细胞生长因子 (Keratinocyte growth factor, KGF), 肝细胞生长因子 (Hepatocyte growth factor, HGF) 能促进颗粒细胞的增殖,FSH 受体基因的表达以及抑制颗粒细胞的凋亡 (图 3)。卵泡各细胞间的交互作用决定了卵泡是排卵还是闭锁,然而关于这种交互作用是如何导致卵泡细胞凋亡的,为何在不同闭锁过程中膜细胞、颗粒细胞和卵母细胞的凋亡次序不相同,这些问题仍有待进一步研究。

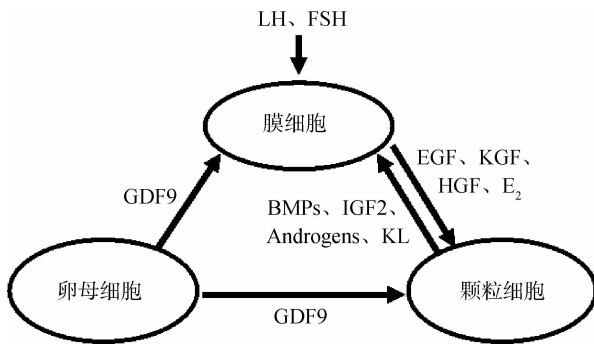


图 3 膜细胞、颗粒细胞和卵母细胞交互作用的示意图  
Fig. 3 The interaction among oocyte, granulosa and theca cells

#### 4 结 语

卵泡膜细胞作为卵泡不可分割的一部分,在卵泡生成过程中起着不可忽视的作用。然而,目前卵泡膜细胞的研究相对较少,有关调控膜细胞功能的相关因子及其调控机制仍不清楚;卵泡从次级卵泡过度到囊状卵泡时期,膜细胞形成血管系统的调控

机制及其与内皮细胞的相互作用关系也需要进一步研究;在卵泡发育和闭锁过程中,卵泡膜细胞和颗粒细胞以及卵母细胞的交互作用机制仍有待进一步研究。这些问题的研究将为阐明哺乳动物卵泡发育的分子机理具有重要理论和实际意义。

#### 参考文献:

- [1] OSHEA J D, HAY M F, CRAN D G. Ultrastructural changes in the theca interna during follicular atresia in sheep [J]. *J Reprod Fertil*, 1978, 54(1):183-187.
- [2] ERICKSON G F, MAGOFFIN D A, DYER C A, et al. The ovarian androgen producing cells: a review of structure/function relationships [J]. *Endocr Rev*, 1985, 6(3):371-399.
- [3] MANNA P R, DYSON M T, STOCOCO D M. Regulation of the steroidogenic acute regulatory protein gene expression: present and future perspectives [J]. *Mol Hum Reprod*, 2009, 15(6):321-333.
- [4] WOOD J R, STRAUSS J F. Multiple signal transduction pathways regulate ovarian steroidogenesis [J]. *Rev Endocr Metab Disord*, 2002, 3(1):33-46.
- [5] MATSUDA F, INOUE N, MANABE N, et al. Follicular growth and atresia in mammalian ovaries: regulation by survival and death of granulosa cells [J]. *J Reprod Dev*, 2012, 58(1):44-50.
- [6] AKHTAR M, WRIGHT J N, LEE-ROBICHAUD P. A review of mechanistic studies on aromatase (CYP19) and 17 $\alpha$ -hydroxylase-17, 20-lyase (CYP17) [J]. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2011, 125(1-2):2-12.
- [7] MCNEILLY J R, SAUNDERS P T, TAGGART M, et al. Loss of oocytes in Dazl knockout mice results in maintained ovarian steroidogenic function but altered gonadotropin secretion in adult animals [J]. *Endocrinology*, 2000, 141(11):4284-4294.
- [8] LI Y, LIANG X Y, WEI L N, et al. Study of RNA interference inhibiting rat ovarian androgen biosynthesis by depressing 17 $\alpha$ -hydroxylase/17, 20-lyase activity *in vivo* [J]. *Reprod Biol Endocrinol*, 2009, 7:73. Doi:10.1186/1477-7827-7-73.
- [9] LAVOIE H A, KING S R. Transcriptional regulation of steroidogenic genes: STARD1, CYP11A1 and HSD3B [J]. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2009, 234(8):880-907.
- [10] GLISTER C, RICHARDS S L, KNIGHT P G. Bone morphogenetic proteins (BMP) -4, -6, and -7 potent-

- ly suppress basal and luteinizing hormone-induced androgen production by bovine theca interna cells in primary culture: could ovarian hyper androgenic dysfunction be caused by a defect in thecal BMP signaling? [J]. *Endocrinology*, 2005, 146(4):1883-1892.
- [11] CAMPBELL B K, BAIRD D T, WEBB R. Effects of dose of LH on androgen production and luteinization of ovine theca cells cultured in a serum-free system [J]. *J Reprod Fertil*, 1998, 112(1):69-77.
- [12] PALERMO R. Differential actions of FSH and LH during folliculogenesis [J]. *Reprod Biomed Online*, 2007, 15(3):326-337.
- [13] BAIRD D T, SWANSTON I A, MCNEILLY A S. Relationship between LH, FSH, and prolactin concentration and the secretion of androgens and estrogens by the preovulatory follicle in the ewe [J]. *Biol Reprod*, 1981, 24(5):1013-1025.
- [14] CLARK L J, IRVING-RODGERS H F, DHARMA-RAJAN A M, et al. Theca interna: the other side of bovine follicular atresia [J]. *Biol Reprod*, 2004, 71(4):1071-1078.
- [15] IRVING-RODGERS H F, KRUPA M, RODGERS R J. Cholesterol side-chain cleavage cytochrome P450 and 3beta-hydroxysteroid dehydrogenase expression and the concentrations of steroid hormones in the follicular fluids of different phenotypes of healthy and atretic bovine ovarian follicles [J]. *Biol Reprod*, 2003, 69(6):2022-2028.
- [16] LI X, ZHANG H, SHENG X, et al. Immunoreactivities of androgen receptor, estrogen receptors, p450arom, p450c17 proteins in wild ground squirrels ovaries during the nonbreeding and breeding seasons [J]. *J Ovarian Res*, 2012, 5(1):26. Doi: 10.1186/1757-2215-5-26.
- [17] CHANG R J, COOK-ANDERSEN H. Disordered follicle development [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2013, 373(1-2): 51-60.
- [18] FRASER H M, DUNCAN W C. SRB reproduction, fertility and development award lecture 2008. regulation and manipulation of angiogenesis in the ovary and endometrium [J]. *Reprod Fertil Dev*, 2009, 21(3): 377-392.
- [19] MANNA P R, DYSON M T, JO Y, et al. Role of dosage-sensitive sex reversal, adrenal hypoplasia congenita, critical region on the X chromosome, gene 1 in protein kinase A- and protein kinase C-mediated regulation of the steroidogenic acute regulatory protein expression in mouse Leydig tumor cells: mechanism of action [J]. *Endocrinology*, 2009, 150(1): 187-199.
- [20] ROBINSON R S, WOAD K J, HAMMOND A J, et al. Angiogenesis and vascular function in the ovary [J]. *Reproduction*, 2009, 138(6):869-881.
- [21] TAYLOR P D, HILLIER S G, FRASER H M. Effects of GnRH antagonist treatment on follicular development and angiogenesis in the primate ovary [J]. *J Endocrinol*, 2004, 183(1):1-17.
- [22] WULFF C, WILSON H, WIEGAND S J, et al. Prevention of thecal angiogenesis, antral follicular growth, and ovulation in the primate by treatment with vascular endothelial growth factor Trap R1R2 [J]. *Endocrinology*, 2002, 143(7):2797-2807.
- [23] FRASER H M, WILSON H, MORRIS K D, et al. Vascular endothelial growth factor Trap suppresses ovarian function at all stages of the luteal phase in the macaque [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2005, 90(10):5811-5818.
- [24] YOUNG J M, HENDERSON S, SOUZA C, et al. Activin B is produced early in antral follicular development and suppresses thecal androgen production [J]. *Reproduction*, 2012, 143(5):637-650.
- [25] ORISAKA M, TAJIMA K, TSANG B K, et al. Oocyte-granulosa-theca cell interactions during preantral follicular development [J]. *J Ovarian Res*, 2009, 2(1):9. Doi: 10.1186/1757-2215-2-9.
- [26] HUANG C T, WEITSMAN S R, DYKES B N, et al. Stem cell factor and insulin-like growth factor-I stimulate luteinizing hormone-independent differentiation of rat ovarian theca cells [J]. *Biol Reprod*, 2001, 64(2):451-456.
- [27] ORISAKA M, ORISAKA S, JIANG J Y, et al. Growth differentiation factor 9 is antiapoptotic during follicular development from preantral to early antral stage [J]. *Mol Endocrinol*, 2006, 20(10):2456-2468.
- [28] WU X, CHEN L, BROWN C A, et al. Interrelationship of growth differentiation factor 9 and inhibin in early folliculogenesis and ovarian tumorigenesis in mice [J]. *Mol Endocrinol*, 2004, 18(6):1509-1519.