

血睾屏障在精子发生中的作用

张婷婷 李悦 郭健

摘要 血睾屏障(blood-testis barrier, BTB)广泛存在于哺乳动物的睾丸组织中,支持细胞是曲细精管中与生精细胞相接触的唯一细胞,其参与形成血睾屏障,可分泌多种生精细胞分化成熟所需的物质。BTB的动态开合可调控精子发生所需的营养物质、重要分子以及危害精子发生的有害毒物进入减数分裂期和分裂后期生殖细胞形态变化的近腔室,为哺乳动物的精子发生提供一个适宜的微环境。BTB还可赋予生精上皮细胞极性,参与生精细胞迁移,为生精细胞的迁移提供导向,保证了生精细胞在曲细精管内迁移方向的正确性,同时还能阻止自身对精子抗原产生的自体免疫反应。因而血睾屏障对于精子发生具有极为重要的作用,本文就血睾屏障在精子发生中的作用及机制做一综述,为今后从血睾屏障方面调控男性不育的预防及控制提供线索。

关键词 支持细胞 血睾屏障 精子发生

中图分类号 Q492.6

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2016.10.040

精子发生是一个由精原干细胞通过系列形态学变化最后形成高度分化和特异性精子的过程,整个过程包括精原干细胞增殖、精母细胞减数分裂、精子形成及精子获能4个主要阶段。在精子的发生过程中,由支持细胞与周围结构相互作用构成的血睾屏障为其顺利进行提供了保障。血睾屏障广泛存在与哺乳动物的睾丸组织中,并定位于雄性动物的生精小管上皮。广义的血睾屏障由血管内皮细胞、支持细胞、生精细胞、基膜及细胞外基质通过紧密连接、黏附连接、缝隙连接等连接复合体间相互作用而形成。狭义的血睾屏障是由相邻的支持细胞紧密连接构成的。血睾屏障可调控精子发生所需的营养物质(例如糖类和氨基酸)、重要分子(例如激素)以及阻碍精子发生的有害毒物(例如环境毒物和化学品)进入曲细精管腔,调节曲细精管内生物活性物质的浓度,为精子发生提供适宜的微环境,同时还能阻止自身对精子抗原产生的自体免疫反应,因而对于精子发生的顺利进行具有极为重要的作用。而支持细胞作为曲细精管中唯一与生精细胞相接触的体细胞,参与形成血睾屏障,为精子发生提供能量及营养支持^[1,2]。

一、支持细胞分泌功能对于精子发生作用

支持细胞作为曲细精管中唯一与生精细胞相接触的体细胞,参与形成血睾屏障,被称为生精细胞的保姆细胞,可分泌如调节蛋白类、转运蛋白类、生长因

子类等,参与生精细胞的分化成熟,保证精子发生的顺利进行^[1,2]。

1. 调节蛋白类:调节蛋白类主要有苗勒管抑制物质(MIS)、内皮素(ET)等。哺乳动物在胚胎早期,雌、雄两性都有1对中肾管和1对苗勒管两套原始生殖管道。在雄性,MIS可使苗勒管退化,而中肾管通过雄激素作用分化为睾丸、输精管和附睾等雄性生殖系统。通过检测隐睾患者血清中的MIS变化,发现MIS水平与睾丸的发育水平呈正比^[3]。而支持细胞分泌的另一调节蛋白内皮素可通过旁分泌的方式调节睾丸的功能。

2. 转运蛋白类:支持细胞分泌的转运蛋白类主要有雄激素结合蛋白(ABP)、转铁蛋白(TF)等。其中雄激素结合蛋白是支持细胞的功能标志,它可与雄激素结合,从而缓冲曲细精管内雄激素的波动,使雄激素恒定释放,促进精子的生成^[4,5]。研究发现,如果大鼠睾丸支持细胞分泌的ABP缺乏,会降低大鼠生育能力,严重者最终不育^[6]。转铁蛋白(TF)是支持细胞分泌的另一个重要的转运蛋白,它是由血中的铁离子与 β_1 球蛋白结合的一种复合体^[7]。TF能够将血液中的铁离子转至细胞膜上,通过支持细胞膜上的TF受体,将支持细胞内的铁离子传送给不同发育时期曲细精管的生精细胞,从而促进生精细胞的生长发育、分化、成熟及释放^[8]。

3. 生长因子类:支持细胞分泌的生长因子类主要有抑制素(INH)、转化生长因子- α 和- β (TGF- α 、TGF- β)、干细胞因子(SCF)、胰岛素样生长因子-1(IGF-1)等。INH是男性精子发生的血清标志物,

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81273610)

作者单位:100029 北京中医药大学

通讯作者:郭健,教授,电子信箱:guojian323@sina.com

其中 INHB 发挥主要的生理作用。INHB 能够特异性地调控垂体分泌促卵泡生成激素 (FSH), 而当 FSH 水平升高时, 又能通过刺激支持细胞分泌 INH 来反馈抑制 FSH 的合成和分泌, 从而使 FSH 维持在一定的稳定水平^[9]。另有研究发现, INHB 的血清水平与精子的密度及精子的数量呈正相关, 说明 INHB 水平可反映睾丸的生精功能^[10]。

TGF- α 可通过自分泌和旁分泌的方式, 提高支持细胞对 FSH 的应答, 并刺激间质细胞合成雄激素, 以调控精子发生。TGF- β 包括 TGF- β_1 、TGF- β_2 以及 TGF- β_3 3 种亚型, 其中 TGF- β_1 可通过促进缝隙连接蛋白 Cx43 的磷酸化水平, 抑制睾丸间质细胞间的缝隙连接细胞间通讯 (GJIC), 以调节睾丸间质细胞的功能^[11]。胶质细胞源性神经营养因子 (GDNF) 是 TGF- β 超家族的成员, 能通过介导 Ret 信号通路, 促进精原细胞 DNA 的合成和调节精原细胞的终末分化, 从而调控精原干细胞自我增殖和分化。研究发现, 如果小鼠 GDNF 过度表达, 就会导致未分化精原细胞聚集增多, 而敲除 GDNF 基因会使小鼠睾丸中精原细胞的储存减少, 从而证明正常的精子发生需要适量水平的 GDNF 表达^[12,13]。

SCF 可通过与精原细胞膜上的受体 c-kit 相互作用诱导其磷酸化, 激活多种蛋白激酶和细胞转导途径, 诱发原始生殖细胞的增殖和分化^[14]。另有研究发现 SCF/c-kit 信号通路可调节生精细胞增殖与迁徙, 并且在减数分裂后期精母细胞的存活、分化过程中有重要调控作用^[15]。研究发现, SCF/c-kit 信号转导系统紊乱, 可导致 FasL/FasR 的表达上调, Bax/Bcl-2 的比率增大, caspase-3 的活动度增强, 从而减少生精细胞增殖、增加生精细胞凋亡^[16]。以往研究证实, IGF-1 可增强 LH 与间质细胞的结合, 增加 LH 诱导的睾酮的含量, 编码 IGF-1 的 Igfl 基因缺失时, 睾丸间质细胞分化增殖减少, 使睾丸体积小于正常体积, 精子发生也仅为正常的 18%^[17]。

二、血睾屏障的“门户”和“栅栏”功能对精子发生中的作用

正常情况下, 血睾屏障 (BTB) 依赖于紧密连接、黏附连接和缝隙连接等结构的维持和不断更新变化协调有序的开放和闭合, 不仅有效调控各级生精细胞不断地由曲细精管基底部向曲细精管管腔的迁移, 推动精子的发育和成熟; 还能通过调控一些高分子物质透过曲细精管上皮细胞间隙进入管腔, 从而调节曲细精管内生物活性物质的浓度, 为精子发生提供适宜的

微环境; 同时 BTB 还能隔离许多生精细胞的特异性抗原, 为精子发生提供免疫屏障。

1. 调控生物高分子物质的转运: 精子发生所需的营养物质 (例如糖类和氨基酸)、重要分子 (例如激素和电解质) 以及危害精子发生的有害毒物 (例如环境毒物、药物和化学品) 都位于曲细精管之间的间质。BTB 的动态开合可调控这些物质进入减数分裂期和分裂后期生殖细胞形态变化的近腔室, 为精子发生创建了一个适宜的微环境^[18]。

2. 为精子发生的细胞周期活动提供不同的环境: 血睾屏障的紧密连接将曲细精管的上皮分隔为基底室和近腔室, 基底室靠近曲细精管上皮基膜, 近腔室则是与曲细精管管腔相连, 这为精子发生提供了两种不同的环境^[19]。在基底室内的生精细胞较为幼稚, 有 A 型精原干细胞 (包括 As、Apr 和 Aal)、B 型精原细胞以及初级精母细胞 (前细线期精母细胞)。As 型精原干细胞以单个形态存在, 其经过有丝分裂不断增殖, 逐渐将基底室填满, 然后分化为以胞质桥连接成对或成行存在的 Apr 型和 Aal 型精原干细胞, 后再经过一系列分化形成 B 型精原细胞, 之后 B 型精原细胞经过数次分裂便发育为前细线期精母细胞。前细线期精母细胞通过血睾屏障连接复合体的快速解聚、重装形成的暂时性开放进入近腔室。近腔室内, 精母细胞接连发生两次减数分裂以发育成精子细胞, 最终经过形态学的变化形成结构正常的蝌蚪状精子, 进入曲细精管管腔。

3. 为精子发生提供免疫屏障: 为了避免近腔室内发育中的初级及次级精母细胞、精子细胞及精子的自身抗原与机体的免疫系统相接触, 诱发免疫应答, 血睾屏障可隔离许多生殖细胞的特异性抗原, 为精子发生提供了一个免疫屏障^[20]。Gores 等^[21]将异体胰岛移植入隐睾狗的睾丸中, 100 天后免疫组织化学方法检测发现, 睾丸内充满丰富的胰岛组织, 并且没有观察到淋巴细胞浸润或炎性反应, 各项肝功能指标也逐渐正常, 说明睾丸的免疫豁免功可对抗异体组织移植的排斥反应。研究发现, 睾丸的免疫豁免功能与 FasL 有关, 同种异体移植时, FasL 阳性睾丸细胞通过 FasL/Fas 免疫系统诱导局部免疫豁免与全身免疫保护作用介导淋巴细胞凋亡, 从而保护移植的大鼠胰岛细胞, 以提高睾丸细胞与胰岛细胞共移植后, 胰岛细胞的存活率^[22]。

三、血睾屏障赋予生精上皮细胞极性

在睾丸组织中能检测到 Crumbs (Crumbs、Palsl、

PatJ)、PAR (PAR3、PAR6、Cdc42、atypical PKC) 和 Scribble(Scribble、L91、Dig)3 个极性复合物的许多组分,血睾屏障通过这 3 个极性复合物赋予生精上皮细胞极性,参与生精细胞迁移,在生精细胞迁移过程中起导向作用,从而保证生精细胞在曲细精管内迁移方向的正确性^[23-25]。研究表明 Cdc42 通过调控血睾屏障中细胞因子 TGF- β_3 的内吞作用,以调节血睾屏障的功能,加速紧密连接纤维丝结构解体,以促进前细线期精母细胞的转运^[24]。Wong 等研究发现,极性蛋白质 PAR3 和 PAR6,可调节紧密连接的渗透性,以调控部分蛋白质在血睾屏障中的分布。

综上所述,血睾屏障结构与功能的维持对精子发生具有至关重要的作用。参与构成血睾屏障的支持细胞分泌功能破坏,可导致参与生精细胞的分化成熟的物质缺乏,从而导致生精障碍。构成血睾屏障的各连接结构破坏必定会导致 BTB 破坏,从而致使精子发生所需内环境的变化及生精细胞的损害。探讨血睾屏障在精子发生中的作用及机制已成为近年来的热点问题,可为今后血睾屏障调控男性不育的预防和控制提供线索。

参考文献

- Vogl AW, Young JS, Du M. New insights into roles of tubulobulbar complexes in sperm release and turnover of blood-testis barrier[J]. *Int Rev Cell Mol Biol*, 2013,303:319-355
- Pfaff T, Rhodes J, Bergmann M, *et al*. Inhibin B as a marker of sertoli cell damage and spermatogenic disturbance in the rat[J]. *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol*, 2013,98(1):91-103
- 姜忠,吴嗣,杨传民,等. 隐睾患儿血清苗勒管抑制物质、性激素水平的检测及临床意义[J]. *山东医药*,2010,50(29):62-63
- Zhou X, Wei Y, Xie F, *et al*. A novel defensive mechanism against acetaminophen toxicity in the mouse lateral nasal gland: role of CYP2A5-mediated regulation of testosterone homeostasis and salivary androgen-binding protein expression[J]. *Mol Pharmacol*,2011,79(4):71
- Yin D, Zhu Y, Liu L, *et al*. Potential detrimental effect of soy isoflavones on testis sertoli cells[J]. *J Cent South Univ: Med Sci*, 2014, 39(6):598-604
- 王程强,陈筠,欧超燕,等. 铝对大鼠睾丸支持细胞雄激素结合蛋白 mRNA 表达的影响[J]. *武汉大学学报:医学版*,2015,36(4):517-519
- Grinspon RP, Loreti N, Braslavsky D, *et al*. Sertoli cell Markers in the diagnosis of paediatric male hypogonadism[J]. *J Pediatr Endocrinol Metab*,2012,25(1/2):3
- Rato L, Socorro S, Cavaco JE, *et al*. Tubular fluid secretion in the seminiferous epithelium: ion transporters and aquaporins in Sertoli cells[J]. *J Membr Biol*,2010,236(2):215-224
- Thackray VG, Mellon PL, Coss D. Hormones in synergy: regulation of

the Pituitary gonadotropin genes[J]. *Mol Cell Endocrinol*,2010,314(2):192-203

- 黄茜,史秋雯,黄承强,等. 不育男性血清抑制素 B 水平检测及临床应用[J]. *中国医药导报*,2014,19(2):35-36
- 刘钺利,张志红,王宗仁,等. TGF- β_1 对大鼠睾丸 Leydig 细胞间连接蛋白 43 介导缝隙连接通讯功能的影响[J]. *中华男科学杂志*,2012,18(2):99-104
- 李霞云,刘英杰,侯玲玲,等. 胶质细胞源性神经营养因子对哺乳动物精原干细胞增殖及分化的影响[J]. *中华男科学杂志*,2011,17(7):628-633
- Ebata KT, Yeh JR, Zhang X, *et al*. Soluble growth factors stimulate spermatogonial stem cell divisions that maintain a stem cell pool and produce progenitors in vitro [J]. *Exp Cell Res*, 2011, 317(10):1319-1329
- Weise JM, Günes C. Differential regulation of human and mouse telomerase reverse transcriptase (TERT) promoter activity during testis development [J]. *Mol Reprod Dev*,2009,76(3):309-317
- Sá R, Neves R, Fernandes S, *et al*. Cytological and expression studies and quantitative analysis of the temporal and stage-specific effects of follicle-stimulating hormone and testosterone during cocultures of the normal human seminiferous epithelium [J]. *Biol Reprod*,2008,79(5):962-975
- Correia S, Alves MR, Cavaco JE, *et al*. Estrogenic regulation of testicular expression of stem cell factor and c-kit: implications in germ cell survival and male fertility [J]. *Fertil Steril*, 2014, 102(1):299-306
- Hu GX, Lin H, Chen GR, *et al*. Deletion of the Igfl gene: suppressive effects on adult Leydig cell development [J]. *J Andro*,2010,31(4):379-387
- Cheng CY, Mruk DD. The blood-testis barrier and its implications for male contraception[J]. *Pharmacol Rev*, 2012, 64(1):16-64
- Yan HH, Mruk DD, Cheng CY. Junction restructuring and spermatogenesis: the biology, regulation, and implication in male contraceptive development[J]. *Curr Top Dev Biol*,2008,80:57-92
- Kaur G, Mital P, Dufour JM. Testisimmune privilege - Assumptions versus facts [J]. *Anim Reprod*, 2013, 10(1):3-15
- Gores PF, Hayes DH, Copeland MJ, *et al*. Long-term survival of intratesticular porcine islets in nonimmunosuppressed beagles [J]. *Transplantation*,2003,75(5):613-618
- 陈创奇,董文广,彭俊生,等. Fas 配体阳性睾丸细胞对共移植的胰岛细胞存活起全身和/或局部的免疫豁免作用[J]. *岭南现代临床外科*,2007,7(1):3-6
- Wong EW, Cheng CY. Polarity proteins and cell-cell interactions in the testis[J]. *Int Rev Cell Mol Biol*,2009,278:309-353
- Wong EW, Mruk DD, Lee WM, *et al*. Regulation of blood-testis barrier dynamics by TGF-beta3 is a Cdc42-dependent protein trafficking event[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*,2010,107(25):11399-11404

(收稿日期:2016-01-20)

(修回日期:2016-03-18)