

卵母细胞人工孤雌激活研究进展

彭美莲, 黄荷凤, 金帆 综述

(浙江大学医学院 附属妇产科医院, 浙江 杭州 310006)

[摘要] 孤雌激活是指处于第二次减数分裂中期卵母细胞不经过雄性配子的作用,而在某些理化因素的刺激下恢复并完成减数分裂,进行有丝分裂发育到胚胎的过程。卵母细胞的激活是以 Ca^{2+} 为第二信使,成熟促进因子(MPF)、细胞分裂素活化蛋白激酶(MAPK)、细胞静止因子(CSF)等细胞因子灭活综合作用的结果。人工孤雌激活方法包括物理性激活和化学性激活以及联合激活方法,人卵母细胞的孤雌激活多以化学激活为主。孤雌激活的效果与激活方法、卵母细胞的卵龄、来源和培养条件等有关。

[关键词] 卵母细胞; 细胞,培养的; 减数分裂

[中图分类号] R 321.1; Q 492.3 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-9292(2007)03-0307-06

Progress in research on oocytes parthenogenetic activation

PENG Mei-lian, HUANG He-feng, JIN Fan (*The Affiliated Obstetrics and Gynecological Hospital, College of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou 310006, China*)

[Abstract] Parthenogenetic activation is a procedure that an oocyte at meiosis II stage is activated into mitosis by some chemical or physical stimulation other than a sperm and the embryo is formed in the absence of any contribution from a male gamete. The activation of oocyte is the result of calcium ion oscillations and deactivation of some cytokines such as maturation promoting factor, mitogen-activated protein kinase and cytostatic factor. Parthenogenetic activation is artificially induced by various kinds of physical and/or chemical methods. The main activation method of human oocyte is chemical methods. The rates of activation and cleavage depend on the age, origin, and culture conditions of the oocyte.

[Key words] Oocytes; Cells, cultured; Meiosis

[J Zhejiang Univ (Medical Sci), 2007, 36(3):307-312.]

孤雌激活(parthenogenetic activation)是指处于第二次减数分裂中期的成熟卵母细胞不经过精子受精作用,而在某些理化因素的刺激下继续生长发育的过程,包括恢复并完成第二次减数分裂,发生卵裂形成早期胚胎。由雌性配子经孤雌激活产生后代的生殖过程称为孤雌生殖(parthenogenesis),形成的胚胎称为孤雌胚

收稿日期: 2005-08-31 修回日期: 2006-10-27

基金项目: 国家重点基础研究发展规划项目(973)子课题(20001CB509903)。

作者简介: 彭美莲(1978—),女,硕士研究生,现工作单位浙江省立同德医院。

通讯作者: 金帆(1958—),男,教授,博士生导师,主要从事生殖遗传学研究;E-mail: jinfan@zju.edu.cn。

胎。1936年Pincus等最早通过改变温度和渗透压来激活兔卵,获得卵裂,并移植至母体产生家兔后代。随着细胞核移植技术的开展,对实验动物、家畜及人的卵母细胞孤雌激活研究已取得了较大进展。通过人工孤雌激活可把卵母细胞活化的过程,如皮质反应、恢复减数分裂和卵裂等分开研究,对阐明卵母细胞激活过程中信号偶联、细胞周期阻滞消除、卵母细胞受精机制和胚胎发育机理等具有重要意义,并有助于寻找符合生理条件的卵母细胞辅助激活途径^[1],也有利于提高精原细胞显微受精技术。本文对卵母细胞激活机制、人工孤雌激活方法及孤雌激活影响因素的研究进展进行了综述。

1 卵母细胞激活的机制

排卵后不久的未受精卵在蛋白质类细胞因子如成熟促进因子(maturation promoting factor, MPF)和细胞静止因子(cytostatic factor, CSF)的作用下,分裂停滞在第二次减数分裂中期。这些细胞因子对 Ca^{2+} 敏感,当卵胞质 Ca^{2+} 浓度升高到一定水平时,激活蛋白激酶C,引起MPF和CSF失活,使减数分裂恢复,并发生皮质反应,卵母细胞激活。

1.1 卵胞浆内 Ca^{2+} 波动 卵胞浆内 Ca^{2+} 是卵母细胞激活的中间调节物,其浓度升高是卵母细胞激活后的初始信号。卵母细胞内 Ca^{2+} 浓度增加,膜内电位增高,膜超极化反应,皮质颗粒释放至卵周隙导致染色体解聚,恢复第二次减数分裂,排出第二极体,促进原核形成、卵裂和早期胚胎发育^[2]。卵胞浆内 Ca^{2+} 浓度增高现象最先在medaka鱼的卵母细胞受精过程中观察到,随后发现这种 Ca^{2+} 波动现象在其它动物中广泛存在。由此,多数学者认为 Ca^{2+} 是卵母细胞激活的主要第二信使。但是,精子究竟是如何激发此类事件发生的迄今仍未完全阐明。目前解释的理论有3种,Jaffe将其分别称为“通道(conduct)、接触(contact)、包含(content)”模式。在通道模式中,精子起 Ca^{2+} 从细胞外进入卵胞浆的通道作用;接触模式则认为精卵相互作用后激活了卵母细胞的磷脂酶C,促发 Ca^{2+} 库释放 Ca^{2+} ;包含模式认为,精卵融合后溶解精子内各种物质包括 Ca^{2+} 释放到卵母细胞内^[3]。

1.2 成熟促进因子和细胞分裂素活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)活性下降 MPF是由接触性周期素依赖性蛋白激酶CDK1(P34^{cdk2})亚单位和细胞周期蛋白B1(cyclin B1)亚单位构成的异二聚体。其中细胞周期蛋白B1是活性亚单位。MPF在卵母细胞成熟过程的3个时期起重要作用。①生殖泡破裂时导致第一次减数分裂阻滞;②第一次减数分裂转变到第二次减数分裂时期,促进同源染色体分离;③维持第二次减数分裂中期阻滞。卵母细胞激活时, Ca^{2+} 脉冲激活钙调素依赖性蛋白激酶Ⅱ(calmodulin-dependent protein kinase Ⅱ, CaMK Ⅱ),CaMK Ⅱ磷酸化细胞周期蛋白B1(cyclin B1),使其降解,MPF失活^[4]。

MAPK为丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶家族。近10年的研究显示,MAPK与成熟促进因子、蛋白激酶A、蛋白激酶C、钙依赖性蛋白激酶Ⅱ和蛋白磷酸酶等共同作用调节细胞分裂周期。在卵母细胞生发泡破裂后,MAPK调节微管结构和纺锤体的组成。也有研究显示,MAPK失活将导致纺锤体和细胞质分裂的不均一性,由此产生极体^[4]。

1.3 细胞静止因子的作用 大部分脊椎动物卵母细胞停滞在第二次减数分裂中期,等待受精。这种停滞由细胞质中的CSF引起,其在卵母细胞成熟过程中积累,在第二次减数分裂中发挥功能,在受精或孤雌激活后失活^[5]。

2 人工孤雌激活的方法

研究表明,人工激活对卵母细胞的激活作用与受精作用所导致的改变不同。人工孤雌激活的方法可分为物理性和化学性激活两类。前者包括电激活、机械激活和温度激活等,后者包括离子或离子载体激活、蛋白质合成抑制剂或蛋白激酶抑制剂激活、乙醇及麻醉剂激活、酶激活和渗透压激活等。常用方法有电激活、乙醇激活、 Ca^{2+} 载体激活、放线菌酮激活和6-双甲基嘌呤激活等。目前,人卵母细胞孤雌激活研究多以化学性激活为主。然而,联合两种或多种激活方法可以获得较好的激活效果^[6]。

2.1 离子或离子载体激活 Sr^{2+} 可进入钙库置换 Ca^{2+} ,释出 Ca^{2+} ,使胞质内 Ca^{2+} 浓度升高,

进而介导了依赖 Ca^{2+} 的皮质反应,导致卵母细胞激活。 SrCl_2 处理引起的 Ca^{2+} 脉冲较受精引起的脉冲频率低、幅度小、持续时间长。对于小鼠, SrCl_2 是一种较有效的激活方式,优于乙醇激活和电激活。目前未见有关研究人卵母细胞 SrCl_2 激活的相关报道^[7]。

早期研究 Ca^{2+} 载体激活小鼠卵母细胞的电生理,发现经过钙离子载体 A23187 (calcium ionophore A23187, Ca-A23187) 处理的小鼠卵母细胞的细胞膜内电位增高,膜超极化反应,促发卵母细胞激活。1991年, Winston 等通过比较钙离子载体处理人与小鼠卵母细胞的激活率,并以在注射 hCG 后不同时相获取卵母细胞来划分幼龄和老龄卵母细胞,得出人和小鼠幼龄卵母细胞的激活率分别为 50% 和 90%, 老龄卵母细胞的激活率分别为 60% 和 100%。从而证实钙离子载体也能激活人卵母细胞,但小鼠卵母细胞的激活效果优于人卵母细胞,老龄卵母细胞优于幼龄卵母细胞。

2.2 蛋白质合成抑制剂或蛋白激酶抑制剂激活 蛋白质合成抑制剂可直接抑制细胞内周期蛋白 B 和 CSF 的合成,使卵母细胞内的 MPF 活性下降,从而激活卵母细胞^[8]。蛋白质合成抑制剂放线菌酮 (cycloheximide, CHX) 和嘌呤霉素最早用于小鼠卵母细胞的激活,可以得到孤雌胚胎。随后,发现联合使用乙醇和放线菌酮也可有效激活牛的幼龄卵母细胞,激活率明显高于单独使用乙醇或放线菌酮。1992年, Sutter 等报道,使用嘌呤霉素处理人卵激活率可达 91%。Santos 等于 2003 年报道,将体外受精和胞浆内精子注射受精失败的卵放于含有嘌呤霉素的 Ham F10 培养液中处理,结果得到 36% 的 1 极体 1 原核, 27.5% 的 2 极体 1 原核^[9]。

目前较常用的蛋白激酶抑制剂是 6-双甲基嘌呤 (6-dimethylaminopurine, 6-DMAP)。6-DMAP 是一种嘌呤霉素类似物,属磷酸化抑制剂,通过灭活 MPF 的活性,引起染色体去浓缩和形成核膜;也可通过抑制蛋白磷酸化,破坏肌动细丝与纺锤体末端的联系,阻止纺锤体旋转而导致卵母细胞不能排出第二极体,成为二原核类型,效果要优于 CHX^[8]。

联合使用蛋白质合成抑制剂或蛋白激酶抑

制剂激活与其他激活方法可以获得较好的效果。Liu 等于 1998 年首次报道,采用 Ca-A23187 和 6-DMAP 序贯处理,能够有效地激活牛幼龄卵母细胞。2001 年 Nakagawa 等研究发现,将人的老龄卵母细胞放入 Ca-A23187 和 6-DMAP 序贯处理后的激活率达 77%, 显著高于单用 A23187 处理的激活率 (20%)^[10]。一般认为, Ca-A23187 可能已经导致卵母细胞活化,而随后的 6-DMAP 又进一步抑制了蛋白激酶活性,使 MPF 一直处于低水平,由此进一步促进了卵母细胞的激活,但是否与激活过程中 6-DMAP 抑制染色体分离及阻碍卵母细胞第二极体的排出有关,还有待证实^[3]。

2.3 乙醇及麻醉剂激活 大多数学者认为,乙醇可改变卵母细胞膜的稳定性,使钙库的 Ca^{2+} 释放出来并增加细胞外 Ca^{2+} 的内流。应用 7% 乙醇能够成功激活小鼠卵母细胞,而且激活率较理想,但人卵的最大激活率仅为 16%, 因此这种方法并不常用。有研究发现,采用 7%~8% 乙醇处理小鼠卵母细胞,细胞内出现类似精子受精的 Ca^{2+} 浓度规律性升高,胞内 Ca^{2+} 脉冲升高的次数与正常受精激活不完全一致,波形相似,但幅度大、持续时间长,将其继续培养均可形成原核;而经孤雌激活处理未出现胞质 Ca^{2+} 升高反应的卵母细胞不能形成原核。也有研究证实,卵母细胞的激活在某些方面必须依赖于精子内的顶体、特殊受体等成分,故孤雌激活与正常受精激活形成的 Ca^{2+} 波动不完全一致^[1]。

2.4 电激活 脉冲式电刺激是一种有效的孤雌激活方法,在核转移克隆胚胎技术中应用电激活最为广泛。电激活的原理是卵母细胞在短暂高压电击下,细胞膜上形成很多可恢复的微孔, Ca^{2+} 可通过微孔进入卵胞质中,使细胞内 Ca^{2+} 脉冲式升高。控制电刺激参数,模拟正常受精过程 Ca^{2+} 的节律性脉冲升高,可有效地刺激卵母细胞完成第二次减数分裂^[3]。Ozil 等于 1990 年最早报道用电脉冲刺激兔卵母细胞可得到孤雌胚胎,得到的激活率达 100%, 并且胚胎种植存活率达到 66%。并且,随着电刺激强度的增加,卵母细胞的激活率明显上升。但是过度的电脉冲会导致染色体分解,出现核和染色体构建不正常,从而影响孤雌胚的进一步发育。

3 激活率的影响因素

3.1 激活方法 对于相同种属的动物,不同激活方法的激活效果不同,即使是相同激活方法,其化学物质浓度高低、处理时间长短、电刺激强度大小、有无联合其他激活方法等都会影响激活效果^[6]。对于兔,电激活的效果最好;小鼠用乙醇和麻醉剂激活以及氯化铯处理激活的效率较高^[11];而人卵用 A23187、6-DMAP 序贯处理可得到较理想的效果^[10]。Yi 等比较了不同浓度、不同作用时间以及与其他化学试剂联合应用的乙醇处理猪卵母细胞激活效率,发现 6%、7%、8% 浓度的乙醇处理激活率分别高于 0%、5%、9%、10% 组,并且 8% 组高于其他组;处理 8、10、12 和 15 min 的激活率高于 0 和 5 min 对照组,而 8~15 min 间无显著差异;联合应用乙醇+CHX+细胞松弛素 B+6-DMAP 高于单用和合用其中一种或几种试剂^[6]。Mizutani 等分组比较了电刺激联合 6-DMAP 组与钙离子载体联合 6-DMAP 组不同激活对大鼠卵母细胞激活的影响,发现虽然钙离子载体联合 6-DMAP 组的卵母细胞的激活率、卵裂率没有显著高于电刺激联合 6-DMAP 组,但有增高的趋势^[12]。

3.2 卵母细胞的卵龄以及来源 卵母细胞能否激活与其所处的细胞周期时相有关,同时卵母细胞的激活率与卵龄有关。在以往的研究中发现,新排的卵母细胞对各种理化刺激不敏感,随着卵龄的延长和卵母细胞质的老化,维持减数分裂阻滞的物质的降解,卵母细胞越易被激活。2004 年, Mizutani 等比较了注射 hCG 后不同时间相的 WI 大鼠卵母细胞激活率,发现注射 hCG 后 18~20 h 获取的卵母细胞激活率、卵裂率显著高于其他时相^[12]。也有研究发现,激活前体外培养的时间虽不影响卵母细胞激活发育到原核期和 2 细胞期,但立即激活发育到 4 细胞、桑椹胚和囊胚期显著高于体外培养后激活组^[12]。Bing 等认为,延长猪卵母细胞 meiosis II 期的培养时间会破坏各种细胞周期骨架成分,选择适当的猪卵母细胞体外培养时间才可以增加卵母细胞的激活率,有利于孤雌胚胎的发育^[13]。卵母细胞种类及细胞骨架的限制因子、

卵丘细胞也会影响卵母细胞的激活率、卵裂率。将相同的激活方法应用于不同种属或不同家系的动物,其激活效果也不同。基因背景可能影响孤雌激活, WI 大鼠卵裂率高于 SD 大鼠^[12]。

3.3 培养条件 不同的培养液会导致激活率的差异,培养的胚胎发育程度也有所不同^[14]。Bing 等分析了卵母细胞在不同培养基中的激活率以及胚胎分裂率和发展到囊胚的能力,显示培养基 mNCSU37 优于 mWM 培养基^[13]。低渗的培养液有利于卵母细胞发育到 2 细胞和 4 细胞期,但对发育到桑椹胚、囊胚期无显著影响^[12]。培养基无 Ca^{2+} 可抑制卵母细胞孤雌激活,但这种抑制作用是可逆的。而培养过程中氧的浓度高低也有影响^[15]。

4 人工激活形成的孤雌胚胎类型

正常受精时, meiosis II 期卵母细胞有一半的染色体以第二极体形式排出,而在孤雌激活时,由于不同刺激因子、刺激强度以及实验条件的影响,有些卵母细胞第二极体不能排出,因而孤雌激活卵或孤雌激活胚胎核型也会不一致,形成的核型有差异。孤雌胚胎主要形成 4 种类型:①纯合二倍体:第二极体排出,形成 2 个雌原核;②杂合二倍体:第二极体未排出,由 2 个混合的单倍体原核组成;③均质单倍体:第二极体排出,发育成一个单倍体原核;④嵌合单倍体:激活卵迅速分裂成 2 个均等的卵裂球,1 个含雌原核,1 个含第二极体;或者激活卵进行第 2 次成熟分裂时未排出第二极体,出现异常延迟分裂^[16]。

5 应用前景

5.1 建立胚胎干细胞系 利用孤雌胚胎体外培养发育到囊胚的内细胞团可建立孤雌胚胎干细胞,在鼠及猴子中已成功建立孤雌胚胎干细胞系。孤雌胚胎干细胞与胚胎干细胞一样具有分化潜能,若成功建立人类孤雌胚胎多能干细胞系,可在自体细胞、器官移植治疗领域开辟一条新的途径,为 Parkinson 症、脊髓损伤、肌肉萎缩、糖尿病等疾病的治疗带来新的希望^[17]。经孤雌生殖产生的单倍体和纯合双倍体细胞系在各种遗传学研究中都具有重要的价值,使治

疗某些性染色体连锁疾病成为可能,并且可避免通过人体克隆和使用完整胚胎进行研究和治疗引起的社会医学伦理问题^[17]。

5.2 揭示体外受精(IVF)和卵浆内单精子注射(ICSI)失败的原因 初步判断IVF、ICSI受精成功的是否有形成2原核2极体(2PN2PB)。但只看到2PN的形成并不能判断是成功受精,因为通过抑制孤雌激活卵母细胞第二极体的释放可以形成2PN孤雌胚胎。此时若误将孤雌胚胎移植到母体必然导致流产,由此可以解释IVF、ICSI失败的部分原因。Zhang等对104个ICSI受精失败的人卵母细胞进行分组处理,第一组用直流电激活1次,获得70%卵母细胞受精;第二组电激活3次(间隔15~20 min),获得78%的卵母细胞受精;第三组未行电激活其他处理条件同第二组,获得27%的卵母细胞受精,由此得出ICSI失败的部分原因是卵母细胞激活失败^[18]。

5.3 辅助生育技术(ART) 孤雌激活技术 可以作为一种ART。通过对ICSI受精失败的人卵母细胞进行人工激活可以获得受精卵,以此来补救ICSI受精失败。Zhang等认为孤雌激活技术可以提高ICSI的受精率和促进早期胚胎的发育,甚至提议在ICSI后立即进行人工激活以确保ICSI受精成功^[18]。

5.4 生殖的基础研究 虽然孤雌激活引起的离子活动并不与正常受精完全一致,而且卵母细胞的激活在某些方面仅依赖于精子促发的离子活动。但两者的激活机制类似,在基础研究方面孤雌激活甚至比IVF和ICSI更优越。首先,由于正常受精产生的后代具有多向发展的不确定性,而孤雌激活产生的后代都是相同的,这就更有利于研究卵母细胞激活后的最初的短暂变化。再者,通过孤雌激活技术能够阻断或介入某些化学介质,探讨卵母细胞激活机制^[1]。孤雌激活技术可以作为探讨受精和早期胚胎发育引发的一系列细胞质事件的研究工具,是了解细胞信号系统及激活动力学的重要途径^[18],也是细胞核移植成功的关键步骤之一^[1]。

6 结束语

在哺乳动物中由于孤雌胚胎缺乏父源性印

迹基因的调节,并且配子形成胚胎、孤雌激活等机制还不是很明确,通过人工孤雌激活形成的孤雌胚胎不能识别异常的印记基因,基因的表达出现差错^[19],存在各种缺陷,很难继续发育成熟为正常胚胎,目前获得的孤雌繁殖的后代,也仅是来源于两个不同供体的雌性配子融合形成的胚胎^[20],并不是完全意义上的由一个卵母细胞的孤雌激活产生的个体。再者,由于人卵母细胞来源受限,孤雌激活研究相对落后于动物。只有在熟练掌握哺乳动物孤雌生殖相关技术,并进行大量相关基础研究的基础上,才能充分利用来源有限的人卵母细胞进行深入探讨。

References:

- [1] LIU J L, SUNG L Y, DU F, et al. Differential development of rabbit embryos derived from parthenogenesis and nuclear transfer [J]. *Mol Reprod Dev*, 2004, 68(1): 58-64.
- [2] HAIM K, BEN-AHARON I, SHALQI R. Expression and immunolocalization of the calpain-calpastatin system during parthenogenetic activation and fertilization in the rat egg [J]. *Reproduction*, 2006, 131(1): 35-43.
- [3] TOSTI E, BONI R. Electrical events during gamete maturation and fertilization in animals and humans [J]. *Hum Reprod Update*, 2004, 10(1): 53-65.
- [4] FAN H Y, SUN Q Y. Involvement of mitogen-activated protein kinase cascade during oocyte maturation and fertilization in mammals [J]. *Biol Reprod*, 2004, 70(3): 535-547.
- [5] TUNQUIST B J, MALLER J L. Under arrest: cytostatic factor (CSF)-mediated metaphase arrest in vertebrate eggs [J]. *Genes Dev*, 2003, 17(6): 683-710.
- [6] YI Y J, PARK C S. Parthenogenetic development of porcine oocytes treated by ethanol, cycloheximide, cytochalasin B and 6-dimethylaminopurine [J]. *Anim Reprod Sci*, 2005, 86(3-4): 297-304.
- [7] MEO S C, LEAL C L, GARCIA J M. Activation and early parthenogenesis of bovine oocytes treated with ethanol and strontium [J]. *Anim Reprod Sci*, 2004, 81: 35-46.
- [8] ALEXANDER B, COPPOLA G, DI B D, et al. The effect of 6-dimethylaminopurine (6-DMAP) and cycloheximide (CHX) on the development

- and chromosomal complement of sheep parthenogenetic and nuclear transfer embryos [J]. **Mol Reprod Dev**, 2006, 73(1): 20-30.
- [9] SANTOS T A, DIAS C, HENNIQUES P, et al. Cytogenetic analysis of spontaneously activated noninseminated oocytes and parthenogenetically activated failed fertilized human oocytes -implications for the use of primate parthenotes for stem cell production [J]. **J Assist Reprod Genet**, 2003, 20(3): 122-130.
- [10] NAKAGAWA K, YAMANO S, NAKASAKA H, et al. A combination of calcium ionophore and puromycin effectively produces human parthenogenones with one haploid pronucleus [J]. **Zygote**, 2001, 9(1): 83-88.
- [11] LIU J L, SUNG L Y, DU F, et al. Differential development of rabbit embryos derived from parthenogenesis and nuclear transfer [J]. **Mol Reprod Dev**, 2004, 68(1): 58-64.
- [12] ZHU J, TELFER E E, FLETCHER J, et al. Improvement of an electrical activation protocol for porcine oocytes [J]. **Biol Reprod**, 2002, 66(3): 635-641.
- [13] BING Y, CHE L, HIRAO Y, et al. Parthenogenetic activation and subsequent development of porcine oocytes activated by a combined electric pulse and butyrolactone I treatment [J]. **J Reprod Dev**, 2003, 49(2): 159-166.
- [14] CHEN N, LIOW S L, YIP W Y, et al. Influence of cysteamine supplementation and culture in portable dry-incubator on the *in vitro* maturation, fertilization and subsequent development of mouse oocytes [J]. **Theriogenology**, 2005, 63(8): 2 300-2 310.
- [15] IWAMOTO M, ONISHI A, FUCHIMOTO D I, et al. Low oxygen tension during *in vitro* maturation of porcine follicular oocytes improves parthenogenetic activation and subsequent development to the blastocyst stage [J]. **Theriogenology**, 2005, 63: 1 277-1 289.
- [16] MALAN V, VEKEMANS M, TURLEAU C. Chimera and other fertilization errors [J]. **Clin Genet**, 2006, 70(5): 363-373.
- [17] CIBELLI J B, CUNNIFF K, VRANA K E. Embryonic stem cells from parthenotes [J]. **Methods Enzymol**, 2006, 418: 117-135.
- [18] ZHANG J, WANG C W, BLASZCZYK A, et al. Electrical activation and *in vitro* development of human oocytes that fail to fertilize after intracytoplasmic sperm injection [J]. **Fertil Steril**, 1999, 72(3): 509-512.
- [19] LEE H Y, CUI X S, LEE K A, et al. Annealing control primer system identifies differentially expressed genes in blastocyst-stage porcine parthenotes [J]. **Zygote**, 2006, 14(1): 71-80.
- [20] KONO T, OBATA Y, WU Q, et al. Birth of parthenogenetic mice that can develop to adulthood [J]. **Nature**, 2004, 428 (6985): 860-864.

[责任编辑 黄晓花]

组细胞在中肠背侧形成脾原质,几乎同时中肠背侧和中肾之间形成性腺原质。中肠背侧在旋转过程中,脾原质逐渐靠近性腺原质,其尾部的迁移可导致这两个原始器官部分融合。目前有两个假设:①脾原质、腺原质表面腹膜的轻微炎症导致了两个器官部分融合;②脾原质通过腹膜后通路与腺原质产生联系,导致了两个器官部分融合^[2]。

脾性腺融合症合并其他先天异常的原因更加复杂。目前认为,由于脾芽、下颌骨芽及肢体芽在中肠背侧几乎同时成长,若在这一胚胎发育阶段受损可造成脾性腺融合症及合并其他先天性异常^[4]。

References:

- [1] GARRAGHER A M. One hundred years of

splen-ogonadal fusion [J]. **Urology**, 1990, 35: 471-475.

- [2] PUTSCHAR W G, MANION W C. Splenicgonadal fusion [J]. **Am J Pathol**, 1956, 32: 15-33.
- [3] BALAJI K C, CALDAMONE A A, RABINOWITZ R, et al. Splenogonadal fusion [J]. **J Urol**, 1996, 156: 854-856.
- [4] IMPERIAL S L, SIDHU J S. Nonseminomatous germ cell tumor arising in splenogonadal fusion: a case report and review of the literature [J]. **Arch Pathol Lab Med**, 2002, 126: 1 222-1 225.
- [5] CIRILLO R L, J R, COLEY B D, BINKOVITZ L A, JAYANTHI R V. Sonographic findings in splenogonadal fusion [J]. **Pediatr Radiol**, 1999, 29: 73-75.

[责任编辑 黄晓花]