太空环境下哺乳动物胚胎发育和生殖研究进展及展望

马驰原¹, 曹宇静¹, 段恩奎^{1*}, 雷晓华^{1,2*}

1. 中国科学院动物研究所, 干细胞与生殖生物学国家重点实验室, 北京 100101;

2. 中国科学院深圳先进技术研究院能量代谢与生殖研究中心, 深圳 518055

* 联系人, E-mail: duane@ioz.ac.cn; xh.lei@siat.ac.cn

收稿日期: 2020-06-12; 接受日期: 2020-07-31; 网络版发表日期: 2020-11-18

国家自然科学基金联合基金(批准号: U1738103)和中国科学院空间先导专项(批准号: XDA04020202-20, XDA15014000)资助

摘要 随着人类太空探索进程的加速和深入, 哺乳动物能否在太空完成生命孕育和后代繁衍成为科学界及公众关注的问题. 过往研究提示, 太空飞行会对哺乳动物胚胎发育和生殖功能造成某些潜在的危害, 这些危害的产生与太空存在的特殊环境有关, 如宇宙辐射和重力等变化. 本文首先综述了国内外利用空间飞行器搭载平台、地基微重力和辐射平台开展哺乳动物生殖和发育研究的进展, 还特别论述了本团队利用实践十号(SJ-10)返回式科学卫星开展的太空条件下哺乳动物早期胚胎体外发育研究结果, 随后展望了未来借助科学实验卫星、空间站、月球和火星探测等太空飞行实验平台进行动物生殖功能和胚胎发育研究的着重点. 未来要实现哺乳动物乃至人类在地外空间的生存繁衍, 阐明微重力、宇宙辐射或其他空间环境因素对哺乳动物胚胎发育和生殖生理的影响是至关重要的, 在此基础上方可采用各种有针对性的保护措施, 成功实现地外生命繁衍.

关键词 太空环境, 微重力, 辐射, 生殖, 胚胎发育

自1961年加加林第一次乘坐飞船进入太空以来, 目前已有超过560人具有太空飞行的经历, 但除了少数一些宇航员在太空中生活超过300天以上外, 大多数都是在低地球轨道上开展短期的飞行^[1]. 随着载人航天和深空探索技术的发展, 航行到更遥远的太空乃至在其他星球着陆, 已经不仅仅是科学幻想, 而是正在成为人类迫切希望实现的追求. 美国国家航空航天局(National Aeronautics and Space Administration, NASA)、欧洲航天局以及中国航天局等陆续宣布了对火星的探索和登陆计划, 这些飞行任务估计在未来

几十年将会实现^[2,3]. 实现载人航天并登陆其他星球的宏伟目标, 需要空间生命科学和医学研究提供支持, 需要了解太空环境对人体健康和生存产生的影响(包括对生殖的影响), 其中, 实现动物和人类在太空正常繁衍后代, 是人类未来深空探索以及星际移民必然面对的一个重要问题.

浩瀚的宇宙对生活在地球上的人类而言, 一直都是神秘的存在. 随着科学技术的发展, 目前人们已经对太空环境有了一定程度上客观的科学认识. 地球以外的太空环境, 除了没有地球大气层以外, 失重和辐

引用格式: 马驰原, 曹宇静, 段恩奎, 等. 太空环境下哺乳动物胚胎发育和生殖研究进展及展望. 中国科学: 生命科学, 2021, 51: 116–125
Ma C Y, Cao Y J, Duan E K, et al. The research progress and prospect of mammalian reproduction and embryonic development under space conditions (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2021, 51: 116–125, doi: 10.1360/SSV-2020-0136

射是其有别于地球环境的两个重要因素,也是人类太空探索过程必须面对并加以克服的问题.研究太空飞行过程对人类和其他生物各种生理机能产生了什么影响及其作用机制,一直是空间生命科学和医学研究的重点^[4,5].已有研究表明,长期太空飞行会使机体机能发生改变,导致出现多种生理不适或病理症状,例如骨流失、肌肉萎缩、神经系统紊乱和免疫功能下降等^[6-8].在2016年之前,人类曾利用空间搭载平台开展过数次哺乳动物生殖和发育的研究,但由于空间飞行条件和资源的限制、哺乳动物在太空生存和繁殖难度较大,以及空间早期胚胎体外培养技术不完善等原因,这些实验并未能获得成功的结果^[9].最近,本团队利用SJ-10返回式科学卫星开展了小鼠植入前胚胎的发育研究,在国际上首次证明了在太空微重力条件下2-细胞胚胎能够发育到囊胚,但对回收的胚胎进行分析发现,囊胚形成率和质量明显降低.尽管这项工作回答了在太空环境下能够完成哺乳动物植入前胚胎发育的问题,但太空发育的囊胚能否进一步发育形成个体并不清楚.此外,微重力、宇宙辐射或太空飞行的其他因素对哺乳动物生殖功能和早期胚胎发育过程的影响及分子作用机制仍不清楚.近年来,许多国内外科学家呼吁应该更加重视这方面研究,相关研究将增加和完善人类对太空极端环境中动物及人类生殖发育的认识.未来人类如果希望在地球以外的空间站或其他行星上完成生命孕育,就需要清楚地了解这些知识,然后提出并采取科学的保护措施.

本文首先综述了国内外利用空间飞行器搭载平台、地基微重力和辐射平台开展动物生殖和早期胚胎发育研究的进展.这些工作主要包括开展非哺乳类动物的太空繁殖和发育实验、哺乳动物的太空发育实验、哺乳动物早期胚胎的太空发育实验、太空飞行对人类生殖功能的影响以及利用地基模拟微重力和辐射平台开展的哺乳动物生殖和发育实验(表1).结合国内外航天技术和空间科学的快速发展,本文还展望了未来借助小型卫星、空间站、月球和火星探测等实验平台,开展太空特殊环境下动物生殖功能和胚胎发育研究的方向和重点.

1 非哺乳类动物太空繁殖和发育实验

关于太空环境对非哺乳动物早期发育的影响,早

期有一些在海胆、果蝇、两栖动物、鱼类和鸟类方面相对独立的研究^[10-14].其中有两项比较重要的研究是在脊椎动物上完成的.其中一项是美国NASA的Souza等人^[13]将受精的非洲爪蟾送入太空,研究发现,部分非洲爪蟾能够在太空微重力条件下排出受精卵,且这些受精卵能够在太空环境下发育成自由的个体(小蝌蚪).另一项工作是1994年日本科学家Ijiri^[15]利用STS-65号航天飞机将日本青鳞鱼送入国际微重力实验室2号(International Microgravity Laboratory, IML-2)去观察鱼在太空交配和发育情况,研究发现,雌雄鱼可以在太空完成交配,交配后的雌鱼15天后在国际空间站(International Space Station, ISS)的鱼箱中孵育出幼鱼.这些研究认为,太空环境下一些低等动物,如脊椎动物是可以完成生殖和繁殖后代的,低轨道的太空环境对非哺乳类动物的胚胎发育并未产生致命性或严重不利的影响.

2 哺乳类动物的太空繁殖和发育实验

关于搭载哺乳动物进入太空开展生殖和发育实验,早期有过一些报道(表1).美国NASA和俄罗斯科学家曾尝试过孕鼠搭载实验,研究人员将两只雄性大鼠与五只雌性大鼠送入太空进行交配实验,结果显示,母鼠未能在太空怀孕,但母鼠生育失败原因是因为宇宙环境危害所导致的,还是简单地归因于太空动物饲养条件的不完善并不清楚^[16-18].在过去25年里,美国在NASA和美国国立卫生研究院(National Institutes of Health, NIH)经费支持下,利用无人驾驶的生物实验卫星以及航天飞机开展了一系列哺乳动物在太空条件下的个体发育实验,其中包括孕鼠搭载实验的国际合作研究,其目的是为了考察空间环境对孕鼠生存和胎儿发育的影响^[16,19].研究结果表明,妊娠早期(交配后1~2天)的孕鼠被送入太空,未能成功孕育并产生后代仔鼠,而妊娠中后期的孕鼠(怀孕11~14天,大鼠的妊娠期为19~22天)在太空飞行中胎儿能够发育,着陆后可以分娩出成活的仔鼠,而且能够哺乳并表现出良好的母性行为,但是妊娠早期的孕鼠在太空中未能维持怀孕状态^[20].总之,孕早期大鼠被送入太空后胚胎在体内无法完成发育的原因并不清楚.

表1 空间飞行、地基模拟微重力和地基辐射下开展的一些代表性研究

Table 1 The effects of space flight and ground-based simulation on reproduction and embryonic development in mammals

实验条件	样品类型	实验目的及实验结果	参考文献
空间飞行			
COSMOS-1129 生物卫星	雌、雄大鼠在轨 飞行18.5天	2只雄性大鼠与5只雌性大鼠送入太空中进行交配实验。卫星返回地面后结果显示, 母鼠妊娠失败, 但解剖母鼠子宫显示2只母鼠在早期有受孕迹象。	[16]
COSMOS-1514 生物卫星	妊娠D13~D18 的孕大鼠	妊娠D13的大鼠送入太空发育, 妊娠D18返回地面的研究。卫星返回地面后孕鼠能产仔, 产仔数与对照组比较无显著差异, 但胎儿重量下降, 围产期死亡率增加。	[19]
STS-66航天飞机 亚特兰蒂斯号	妊娠D9~D20的SD 孕大鼠	妊娠D9的孕大鼠送入太空, 妊娠D20返回地面的研究。卫星返回地面后孕鼠能产仔, 产仔数与对照组比较无显著差异, 但胎儿出生重量下降, 围产期死亡率增加。	[17,48,49]
NASA航天飞机	妊娠D11~D20的 Wistar孕大鼠	将妊娠D11大鼠送入太空, 妊娠D20返回地球观察产仔研究。孕鼠在22~23天能够产仔, 但产仔时间延迟以及需要更强的子宫收缩来完成产仔。	[50,51]
STS-80哥伦比亚号 航天飞机	小鼠2-细胞胚胎	将小鼠2-细胞期胚胎加载到CMIX-5孵育箱中进行太空培养实验。返回后显微镜观察显示, 49枚胚胎都没有发育, 所有胚胎均退化。	[21]
SJ-8育种卫星留轨舱	小鼠4-细胞胚胎	搭载小鼠4-细胞胚胎进行太空培养实验, 并对培养的胚胎样品进行实时显微摄影, 获得了实时传输的太空胚胎样品图像, 但4细胞期胚胎在太空中未能发育。	[22]
STS-126航天飞机	牛1-细胞胚胎	开展了牛植入前胚胎体外发育实验。牛胚胎在太空发育停滞在4~6细胞期, 未能进一步发育。	[23]
SJ-10返回式 科学卫星	小鼠2-细胞胚胎	探索太空环境对哺乳动物植入前胚胎的影响和机制。首次证明了在太空环境下可以完成小鼠2-细胞期胚胎至囊胚期的着床前发育, 但太空环境下囊胚发育率和囊胚质量有所下降, 且胚胎存在DNA损伤和表观遗传修饰变化。	[24]
Cosmos-605 生物卫星	Wistar雄性大鼠	将雄性大鼠送入太空飞行22天, 探索空间环境下精子发生和睾丸功能。结果显示, 空间环境没有引起生精组织的形态学改变或生精过程的紊乱。	[41]
STS-128航天飞机	雄性小鼠	将6只雄性小鼠送入空间站的小鼠抽屉培养系统中在轨飞行91天。结果显示, 空间环境下小鼠睾丸生精上皮退化, 附睾中精子数减少。此外, 6只雄鼠有3只飞行过程中死亡。	[42]
Kounotori 4 送入ISS站	小鼠冷冻精子	将小鼠冷冻精子保存在ISS 9个月探讨空间辐射对冷冻精子的影响。结果显示, 返回地面后的精子发生了DNA的损伤, 尽管精子体外受精率有所下降, 但部分正常受精的胚胎经过移植到体内发育, 能够产生后代。	[43]
STS-131航天飞机	小鼠拟胚体(EB)	开展空间微重力对小鼠EB细胞生长和分化的影响。结果表明, 太空微重力环境影响了小鼠EB的分化, 抑制了谱系分化基因的表达。	[44]
TZ-1货运飞船	小鼠胚胎干细胞和 EB	在轨实时监测太空微重力下ESCs的增殖和分化。结果表明, 空间微重力有利于小鼠ESCs的三维生长并维持其干性基因表达, 但对小鼠EBs的分化存在一定的影响。	[45]
地基模拟微重力			
水平回转器	小鼠卵母细胞、 精子和1细胞	利用水平回转器研究了模拟微重力对哺乳动物体外受精和1-细胞期胚胎发育的影响。结果表明, 微重力条件下卵母细胞体外受精正常, 但受精卵在回转器中培养96 h后发育到桑椹和囊胚的比例显著下降。	[25]
3D回转器	小鼠卵母细胞、 精子和1细胞	使用3D回转器开展小鼠的体外受精和植入前胚胎发育实验。结果显示, 微重力对体外受精无显著影响, 但微重力影响了1-细胞胚胎在体内和体外的进一步发育。	[26]
RCCS旋转器	小鼠2细胞、8细胞 和桑椹时期的胚胎	使用RCCS研究了模拟微重力对植入前不同阶段小鼠胚胎发育的影响。研究显示, RCCS组中培养的胚胎桑椹和囊胚发育率极低, 模拟微重力可能对各个阶段胚胎的发育都有致命性影响。	[27]
RCCS旋转器	小鼠2-细胞期胚胎	利用RCCS模拟微重力效应开展小鼠2-细胞胚胎的体外发育研究。结果显示, RCCS组中的胚胎囊胚发育率与对照组相比没有显著差异, 大部分胚胎能够发育到囊胚。	[24]
RCCS旋转器	小鼠拟胚体	利用RCCS探讨了模拟微重力效应对拟胚体形成和分化过程的影响。研究表明, 旋转培养能够增强经典Wnt信号从而显著促进小鼠ESCs向中胚层和内胚层分化。	[52,53]
地基辐射			
γ 射线	卵泡发生	低剂量 γ 射线对卵泡发生和离体卵母细胞的影响。结果显示, γ 射线暴露后大部分原始卵泡发生丢失或耗尽。	[28,29]
带电铁粒子	卵巢和卵泡	探讨了不同剂量带电铁粒子的暴露对小鼠卵巢损伤和卵巢早衰的影响。结果表明, 照射后1周和8周, 健康卵泡数明显减少, 且呈剂量依赖性。	[30]
X射线	小鼠胚胎	采用0.5 Gy的X射线照射妊娠第6.5~7.5天之间的小鼠胚胎。结果显示, X射线对体细胞和发育晚期的胚胎没有产生太大影响, 但明显增加了胚胎原始内胚层区域细胞的凋亡。	[31]

3 哺乳动物植入前胚胎太空发育研究

对于哺乳动物早期胚胎太空发育的研究有过几次尝试性的探索(表1). 1996年, 加拿大和以色列研究人员利用哥伦比亚号航天飞机STS-80太空飞行任务, 将49枚小鼠2-细胞期胚胎加载到意大利公司生产的CMIX-5孵育箱中进行太空培养实验, 返回地面后显微镜观察显示49枚胚胎都没有发育, 所有胚胎都已退化^[21]. 因为该研究地面对照实验中的胚胎发育也不好, 所以这一研究并未能给出太空环境及其他因素是否是导致胚胎发育失败的主要原因. 2006年, 本团队利用中国实践八号(SJ-8)育种卫星留轨舱, 搭载小鼠4-细胞胚胎进行太空培养实验, 并对培养的胚胎样品进行实时显微摄影. 尽管在轨的实验获得了实时传输的太空胚胎样品图像, 但遗憾的是, 胚胎在太空中没有完成发育. 研究人员认为, 这与当时太空实验的培养条件和空间胚胎培养技术不成熟有关^[22]. 此外, 2008年美国佛罗里达大学科研人员利用航天飞机STS-126飞行任务, 开展了牛1-细胞胚胎发育研究, 结果显示, 胚胎停滞在4~6细胞期, 未能进一步发育^[23]. 因此, 已开展的3次实验均未能给出太空失重环境哺乳动物早期胚胎能否发育的结论, 也不清楚胚胎发育失败的原因是因为技术不成熟还是由于太空环境因素.

2016年, 本团队再次利用SJ-10返回式科学卫星开展了微重力条件下哺乳动物早期胚胎体外发育研究, 获得在太空条件下小鼠植入前胚胎动态发育的实时高清显微图片, 并在国际上首次证明了在太空微重力条件下2-细胞胚胎能够发育到囊胚. 对回收后的太空胚胎进行详细分析, 结果显示, 太空发育的小鼠胚胎与地面对照组相比, 囊胚发育率有所下降并且囊胚质量存在一定的缺陷, 这主要表现在空间发育的胚胎发生了较严重的DNA损伤现象(图1A)和全基因组DNA甲基化水平下降. 此外, 与地面对照胚胎相比, 太空发育的胚胎存在许多特异的差异甲基化区域(differentially methylated region, DMR), 这些DMR所对应的基因主要与组蛋白修饰、辐射响应和染色质组装相关. 为了进一步寻找引起胚胎质量下降的原因, 研究人员进一步利用地基辐射和模拟微重力平台开展了一系列实验, 发现长时间低剂量辐射会影响早期胚胎发育, 引起胚胎发育率下降以及胚胎全基因组低甲基化, 这些胚胎发育的不利表型与太空发育的胚胎类似, 而模拟微

重力培养的囊胚未出现明显发育缺陷现象^[24].

4 地基模拟微重力和辐射平台开展的哺乳动物早期胚胎发育研究

由于技术难度和空间飞行资源的限制, 研究人员还在地面开发了一些模拟微重力效应的装置来进行哺乳动物体外受精和早期胚胎发育研究(表1). 这些微重力装置主要以回转器(3D clinostat)、随机定位仪(random positioning machine, RPM)和旋转细胞培养装置(rotary cell culture system, RCCS)为主. 2000年, Kojima等人^[25]利用自制的水平回转器研究了模拟微重力对哺乳动物体外受精和1-细胞期胚胎发育的影响. 结果表明, 微重力条件下卵母细胞能够正常体外受精, 其受精率与对照组比较无统计学差异. 然而, 培养96 h后回转器组发育到桑椹胚和囊胚的发育率显著降低. 2009年, Wakayama等人^[26]使用3D回转器模拟微重力条件进行了小鼠的体外受精和植入前胚胎发育. 研究人员将小鼠精子和卵母细胞放入3D回转器中体外受精及连续孵育培养, 然后在不同时间点采集样本进行检测. 结果显示, 微重力对体外受精无显著不良影响, 但微重力影响了1-细胞胚胎在体内和体外的进一步发育. 2009年Wang等人^[27]使用RCCS研究了模拟微重力对植入前不同阶段小鼠胚胎发育的影响. 他们的研究显示, RCCS组培养的胚胎桑椹和囊胚发育率极低. 该研究认为, 模拟微重力对各个阶段胚胎的发育都有致命性影响. 有意思的是, 最近Lei等人^[24]利用RCCS模拟微重力效应开展小鼠2-细胞胚胎的体外发育研究, 结果显示, RCCS组中的胚胎囊胚发育率与对照组相比无显著差异, 大部分胚胎能够发育到囊胚. 此外, 本团队对胚胎发育64 h后形成的囊胚进行 γ H2AX检测发现, 与对照组相比, 模拟微重力组胚胎并没有明显的DNA损伤现象(图1B). 值得注意的是, 在微重力对胚胎发育影响研究方面本团队得到的结果与此前类似研究有所不同, 原因可能包括: (i) 采用的地基模拟微重力装置不同; (ii) 胚胎培养方法不同; (iii) 开始暴露于模拟微重力条件下时的胚胎发育阶段不同; (iv) 用于实验和统计胚胎的数量不同, 本团队每组实验平均统计胚胎高达800余枚. 因此, 关于地基模拟微重力对植入前胚胎发育的影响还存在一定的争议.

除了地基微重力研究, 地基电离辐射对哺乳动物

图 1 暴露在太空、地基辐射和模拟微重力下发育至囊胚的免疫荧光染色. A: 小鼠2-细胞在太空条件下发育后囊胚的 γ H2AX染色, 箭头所示为 γ H2AX阳性细胞; B: 模拟微重力对小鼠2-细胞胚胎植入前发育的影响, 发育后的囊胚未能检测到 γ H2AX阳性细胞; C: 累计剂量为2 mGy的 γ 射线连续辐照对小鼠2-细胞胚胎植入前发育的影响, 发育后的囊胚检测显示部分细胞 γ H2AX阳性(箭头所示). 标尺=50 μ m

Figure 1 Immunofluorescence of blastocysts developed under radiation or the simulated microgravity condition. A: Representative images of γ H2AX in blastocysts developed from 2-cell embryos in space for 64 h, arrows indicate the positive stains of γ H2AX; B: representative images of γ H2AX in blastocysts developed from 2-cell embryos with the exposure to simulated microgravity for 64 h that no γ H2AX foci were detected in cells of blastocyst; C: representative images of γ H2AX in blastocysts developed from 2-cell embryos with the exposure to accumulated doses of 2 mGy radiation for 64 h. Arrows indicate the positive stains of γ H2AX. Scale bars=50 μ m

生殖和发育研究也有一些报道。Pesty等人^[28]首次研究了低剂量 γ 射线对卵泡发生和离体卵母细胞的影响。将成年C57BL6/CBA F1小鼠置于总剂量为0.5 Gy的 γ 射线暴露下, 辐射暴露后第2周通过卵巢连续切片可观察到约有60%的原始卵泡发生丢失或耗尽。Mathur等人^[29]将1、3、6周龄的雌性瑞士白化小鼠暴露于亚致死剂量(0.6、1.2和2.4 Gy)的 γ 射线中。照射后不同时间行卵巢组织学检查, 计数卵泡数。大部分卵泡在放疗后第1天就已经丢失, 然后逐渐持续耗竭。照射后第35天, 1周龄受照小鼠仍可见少量卵泡, 3和6周龄受照小鼠卵泡全部消失。Mishra等人^[30]探讨了带电铁粒子的暴露对小鼠卵巢损伤和卵巢早衰的影响。使12周龄C57BL/6J雌性小鼠接受单次剂量分别为0、5、30和50 cGy的带电铁粒子照射, 结果表明, 照射后1周和8周, 小鼠健康卵泡数明显减少, 且呈剂量依赖性, 照射后8周, 5、30和50 cGy剂量组原始卵泡数分别减少57%、84%和99%。

研究表明, 小鼠发育的早期对辐射诱导的DNA损伤响应非常敏感。Heyer等人^[31]采用0.5 Gy的X射线照射妊娠第6.5~7.5天之间的小鼠胚胎, 结果显示, X射线对体细胞和发育晚期的胚胎没有产生太大影响, 但明显增加了胚胎原始内胚层区域细胞的凋亡。对妊娠3.5

天(植入前)、6.5天(器官发生早期)或11.5天(器官发生晚期)的瑞士白化小鼠进行低剂量X射线照射(~9 mGy), 并在妊娠第18天对胎儿进行检查, 发现妊娠3.5天受照射的小鼠产前死亡率显著增加, 在妊娠3.5和6.5天进行辐射暴露也增加了胎儿发育延缓的发生率, 但在妊娠11.5天进行辐射暴露主要产生的影响则是降低胎头大小和脑的重量^[32]。本团队同样发现, 极低剂量的电离辐射对植入前胚胎发育具有较大的影响, 将小鼠2-细胞期胚胎持续暴露在累积剂量分别为0.1、0.5和2 mGy的 γ 射线中连续培养, 胚胎发育64 h后发现0.5和2 mGy组中囊胚发育率均有一定程度的下降。对形成的囊胚进行DNA损伤标志分子 γ H2AX检测发现, 2 mGy的辐射能够造成胚胎明显的DNA损伤(图1C)。一些研究认为, 抗辐射和抗氧化的药物能够改善小鼠植入前胚胎体外发育率和囊胚的质量^[33,34]。本团队也尝试在培养基中添加抑制DNA损伤引起凋亡的Trp53抑制剂(Pifithrin-alpha)以及能够减少氧化应激的牛磺酸、亚牛磺酸等来观察其是否能修复辐射造成的胚胎DNA损伤以及提高囊胚质量。初步结果显示, 添加抗辐射和氧化损伤药物组与对照组相比, 囊胚发育率有所提高并且胚胎DNA的损伤程度有一定的下降, 然而添加抗辐射和氧化损伤药物并不能逆转辐射对胚胎造

成的全基因组低甲基化的表现。

遗憾的是,目前地基开展的辐射实验基本都是短时间的高剂量或低剂量实验,关于类似于太空环境下低剂量(~ 0.5 mSv/d)长时间持续辐射暴露对生殖和发育影响方面的研究未见报道。另外,地面模拟微重力和辐射的研究结果虽然对太空微重力研究起到重要参考作用,但是地面模拟装置仅仅在一定程度上模拟了其效应,并不能完全代表真实太空环境下开展的实验。因此,很多地基获得的重要结果还有待于在太空条件下进行验证。

5 太空飞行对人类生殖功能的影响

雄性和雌性生殖系统受到一系列激素调控。下丘脑-垂体-卵巢轴是一个完整而协调的神经内分泌系统。在卵泡发生和卵巢类固醇的合成时受促性腺激素黄体生成素(luteinizing hormone, LH)和卵泡刺激素(follicle-stimulating hormone, FSH)的调节,这两种激素是由垂体在下丘脑促性腺激素释放激素(gonadotropin-releasing hormone, GnRH)的作用下分泌的^[35]。在雄性中,下丘脑-垂体-睾丸轴同样构成了一个完整神经内分泌调控系统。睾丸的精子发生和性类固醇的合成是受垂体促性腺激素LH和FSH的调节,这两种激素也是通过下丘脑GnRH分泌而产生的^[36]。

目前的惯例是,在空间飞行前训练和正式航天任务时,女性是不考虑怀孕的。有研究报道,女性宇航员在空间飞行期间经常会口服雌激素和孕激素复方避孕药来抑制月经周期(闭经),尤其是在执行长时间的飞行任务时^[37,38]。此外,女性宇航员为了能够完成太空飞行任务一般会推迟生育年龄。数据显示,女宇航员首次进入太空飞行的平均年龄为38岁,这导致了女宇航员在执行完太空飞行任务后其年龄普遍偏高,很多人需要借助辅助生殖技术来实现生育,所幸女宇航员辅助生殖技术的成功率与未暴露于太空飞行的类似年龄妇女的成功率没有显著差异^[37]。此外,该研究还报道,在太空飞行后怀孕并顺利分娩的女宇航员的平均年龄为40岁,而那些发生自然流产而终止妊娠的人平均年龄为41岁^[37]。由于年龄差距太小,仍无法确定太空飞行后是否会增加自然流产的风险。

研究表明,太空飞行期间和返回地面后,男性宇航员的生殖激素会发生变化,且激素变化水平与持续在

轨时间有一定的关系。对4名男宇航员在太空飞行前、飞行中和飞行后5天进行了检测。结果显示,与飞行前相比,飞行期间血清、尿液和唾液中的睾酮浓度显著降低。相反,血清LH水平升高,这与睾丸激素负反馈减少是一致的^[39]。而有意思的是,对在ISS执行任务的男宇航员抽取不同阶段血液样本检测发现,总睾酮、游离睾酮和生物可利用睾酮在长时间航天飞行过程中没有变化,只是在着陆当天和航天飞行后短时间内有所下降,测定的其他激素没有显著变化^[40]。因此,该研究认为,长时间的太空飞行不会减少睾丸激素。总之,目前尚无关于太空飞行对人类配子发生、胚胎发育和妊娠结局影响的研究报道,而对于太空飞行对激素水平的影响也需要进一步研究和探讨。

6 太空飞行条件其他生殖和发育行为的实验

太空飞行对雄性生殖细胞的影响也是科研人员关心的一个问题。一些飞行实验主要集中在探索太空环境对精子发生的影响,并评估太空飞行后精子的功能和活力。研究表明,雄性啮齿动物在太空短时间飞行,其睾丸组织未发现有形态变化或精子发生受损,但长期的太空飞行会造成小鼠睾丸生精上皮退化,附睾中精子数减少^[41,42]。2017年,日本科学家报道了一项小鼠冷冻精子保存在ISS 9个月后返回地面可生产出健康后代的实验。该实验的目的是探讨空间辐射对冷冻精子的影响,并评估空间环境下长期保存后精子的生育能力。研究显示,精子在地面解冻进行单精子注射后,尽管解冻的精子 and 受精后胚胎的雄原核发生了DNA损伤,但后期发育过程中这些DNA损伤能够被修复,而且胚胎能够产生正常的后代^[43]。此外,有关空间飞行条件下胚胎干细胞(embryonic stem cell, ESC)的早期分化和发育研究有两项工作报道。2015年,NASA研究人员报道了在STS-131飞行任务中开展的微重力对小鼠拟胚体(embryoid body, EB)细胞生长和分化影响的实验。结果表明,太空微重力环境影响了小鼠EB的分化,抑制了谱系分化基因的表达,但有意思的是,这些从太空回收的EB在地面条件下培养其黏附力没有发生改变,能够进一步分化^[44]。2017年,Lei等人^[45]利用TZ-1货运飞船平台开展了为期15天的太空微重力下小鼠ESCs的增殖和分化实验,结果表

明, 空间微重力有利于ESCs的三维生长并维持其干性基因表达, 但空间微重力对小鼠EBs的谱系分化存在一定的影响。

7 回顾与展望

回顾近30年来国内外有关太空环境下生殖和发育的研究, 尽管人类已经实现了非哺乳类动物在太空完成生殖和繁殖后代, 但关于太空环境对哺乳动物的生殖和发育的知识还很缺乏, 许多未知的科学问题和谜团需要进一步探讨。比如, 尽管在太空条件下实现了哺乳动物植入前胚胎的发育, 小鼠胚胎能够发育到囊胚, 但这些发育后的囊胚进一步发育的潜能如何, 胚胎能否植入到子宫以及植入后的胚胎的发育情况如何并不清楚。因此, 在地球之外实现哺乳动物早期胚胎发育, 还只是人类在地球以外的太空进行生命孕育研究和未来梦想殖民其他星球迈出的“一小步”。

目前, 已进行的空间生命科学研究显示, 太空环境因素中辐射对地球生命的影响相对显著, 特别是对生命孕育早期阶段具有不利影响。除了单独考虑微重力或者辐射对生殖功能和发育造成的影响外, 还需考虑

辐射和微重力联合效应所造成的影响。因此, 有必要利用空间站、科学实验卫星等太空飞行平台, 辅助以地基模拟微重力、辐射及其联合效应研究平台, 进一步系统地开展生殖功能和发育研究, 重点包括太空环境因素对卵泡发生与卵子生成、睾丸和精子发生、受精和植入前胚胎发育和植入后胎儿发育等影响的研究(图2)。由于太空中辐射暴露的情况与地面不一样, 目前地面研制的抗氧化和辐射防护药物大都是基于短时间的高剂量辐射, 并不完全适合作为太空的辐射防护剂来使用^[46], 未来需要针对长时间低剂量或极低剂量的辐射暴露实验来开发特定的防护药物。

全基因组测序、转录组测序以及蛋白质组学、代谢组学技术的发展为空间生命科学和医学研究的深入创造了有利条件, 使科研人员能够从珍稀的太空样品中获得更多的实验数据, 更进一步揭示现象背后的科学理论。此外, 未来还有望开发出适用于在轨原位实时高通量的基因和蛋白检测技术, 对细胞中RNA转录组、蛋白质和代谢物的水平进行实时测定^[47]。总之, 将先进的“多组学”检测方法和生物信息学大数据分析方法应用到空间生命科学研究领域, 将会进一步推动哺乳动物空间生命孕育研究的发展。

图2 太空环境和地基模拟条件开展生殖功能和发育研究的平台和设施(网络版彩图)

Figure 2 The platforms and devices used for the studies of the reproductive function and development under space microgravity and ground-based simulated conditions (color online)

参考文献

- 1 Stepanek J, Blue R S, Parazynski S. Space medicine in the era of civilian spaceflight. *N Engl J Med*, 2019, 380: 1053–1060
- 2 Zhang Y Y, Zhang W. Current situation and development trend of deep space exploration abroad (in Chinese). *Aerospace China*, 2019, 11: 54–59
[张颖一, 张伟. 国外载人深空探测现状及发展趋势分析. *中国航天*, 2019, 11: 54–59]
- 3 Fairén A G, Parro V, Schulze-Makuch D, et al. Searching for life on Mars before it is too late. *Astrobiology*, 2017, 17: 962–970
- 4 Garrett-Bakelman F E, Darshi M, Green S J, et al. The NASA Twins Study: A multidimensional analysis of a year-long human spaceflight. *Science*, 2019, 364: eaau8650
- 5 Dai Z, Lei X, Yang C, et al. Systematic biomedical research of the NASA Twins Study facilitates the hazard risk assessment of long-term spaceflight missions. *Protein Cell*, 2019, 10: 628–630
- 6 Borchers A T, Keen C L, Gershwin M E. Microgravity and immune responsiveness. *Nutrition*, 2002, 18: 889–898
- 7 Ohshima H. Bone loss and bone metabolism in astronauts during long-duration space flight. *Clin Calcium*, 2006, 16: 81–85
- 8 Fitts R H, Trappe S W, Costill D L, et al. Prolonged space flight-induced alterations in the structure and function of human skeletal muscle fibres. *J Physiol*, 2010, 588: 3567–3592
- 9 Duan E, Long M. *Life Science in Space: Experiments on Board the SJ-10 Recoverable Satellite*. Singapore: Springer, 2019. 281–315
- 10 Ubbels G A, Berendsen W, Narraway J. Fertilization of frog eggs on a Sounding Rocket in space. *Adv Space Res*, 1989, 9: 187–197
- 11 Schatten H, Chakrabarti A, Taylor M, et al. Effects of spaceflight conditions on fertilization and embryogenesis in the sea urchin *Lytechinus pictus*. *Cell Biol Int*, 1999, 23: 407–415
- 12 Gualandris-Parisot L, Husson D, Bautz A, et al. Effects of space environment on embryonic growth up to hatching of salamander eggs fertilized and developed during orbital flights. *Biol Sci Space*, 2002, 16: 3–11
- 13 Souza K A, Black S D, Wassersug R J. Amphibian development in the virtual absence of gravity. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, 92: 1975–1978
- 14 Tash J S, Kim S, Schuber M, et al. Fertilization of sea urchin eggs and sperm motility are negatively impacted under low hypergravitational forces significant to space flight. *Biol Reprod*, 2001, 65: 1224–1231
- 15 Ijiri K. Development of space-fertilized eggs and formation of primordial germ cells in the embryos of Medaka fish. *Adv Space Res*, 1998, 21: 1155–1158
- 16 Serova L V, Denisova L A. The effect of weightlessness on the reproductive function of mammals. *Physiologist*, 1982, 25: S9–S12
- 17 Ronca A E, Alberts J R. Physiology of a microgravity environment selected contribution: effects of spaceflight during pregnancy on labor and birth at 1 G. *J Appl Physiol*, 2000, 89: 849–854
- 18 Ronca A E. Studies toward birth and early mammalian development in space. *Adv Space Res*, 2003, 32: 1483–1490
- 19 Alberts J R, Ronca A E. Rat pregnancy and parturition survive spaceflight challenge: new considerations of developmental consequences. *J Gravit Physiol*, 1997, 4: 55–58
- 20 Ronca A E, Fritzsche B, Bruce L L, et al. Orbital spaceflight during pregnancy shapes function of mammalian vestibular system. *Behav Neurosci*, 2008, 122: 224–232
- 21 Shenker E, Forkheim K. Mammalian mice embryo early development in weightlessness environment on STS 80 space flight. *Israel Aerospace Med Inst Rep*, 1998, 5
- 22 Ma B H, Cao Y J, Zheng W B, et al. Real-time micrography of mouse preimplantation embryos in an orbit module on SJ-8 satellite. *Microgr Sci Technol*, 2008, 20: 127–136
- 23 Fear J M. Developmental acquisition of apoptosis in the preimplantation bovine embryo: returning to the balance of life and death. Dissertation for Doctoral Degree. Florida: University of Florida, 2010
- 24 Lei X, Cao Y, Ma B, et al. Development of mouse preimplantation embryos in space. *Natl Sci Rev*, 2020, 7: 1437–1446
- 25 Kojima Y, Sasaki S, Kubota Y, et al. Effects of simulated microgravity on mammalian fertilization and preimplantation embryonic development *in vitro*. *Fertil Steril*, 2000, 74: 1142–1147
- 26 Wakayama S, Kawahara Y, Li C, et al. Detrimental effects of microgravity on mouse preimplantation development *in vitro*. *PLoS ONE*, 2009, 4: e6753
- 27 Wang Y, Xie Y, Wygle D, et al. A major effect of simulated microgravity on several stages of preimplantation mouse development is lethality associated with elevated phosphorylated SAPK/JNK. *Reprod Sci*, 2009, 16: 947–959

- 28 Pesty A, Doussau M, Lahaye J B, et al. Whole-body or isolated ovary ^{60}Co irradiation: Effects on *in vivo* and *in vitro* folliculogenesis and oocyte maturation. [Reprod Toxicol](#), 2010, 29: 93–98
- 29 Mathur S, Nandchahal K, Bhartiya H C. Radioprotection by MPG of mice ovaries exposed to sublethal gamma radiation doses at different postnatal ages. [Acta Oncol](#), 1991, 30: 981–983
- 30 Mishra B, Ortiz L, Luderer U. Charged iron particles, components of space radiation, destroy ovarian follicles. [Hum Reprod](#), 2016, 31: 1816–1826
- 31 Heyer B S, Macauley A, Behrendtsen O, et al. Hypersensitivity to DNA damage leads to increased apoptosis during early mouse development. [Genes Dev](#), 2000, 14: 2072–2084
- 32 Devi P U, Hande M P. Effect of low dose of 70 kVp X-rays on the intrauterine development of mice. [Experientia](#), 1990, 46: 511–513
- 33 Jin X L, Chandrakanthan V, Morgan H D, et al. Preimplantation embryo development in the mouse requires the latency of TRP53 expression, which is induced by a ligand-activated PI3 kinase/AKT/MDM2-mediated signaling pathway. [Biol Reprod](#), 2009, 80: 286–294
- 34 Truong T T, Soh Y M, Gardner D K. Antioxidants improve mouse preimplantation embryo development and viability. [Hum Reprod](#), 2016, 31: 1445–1454
- 35 Mikhael S, Punjala-Patel A, Gavrilova-Jordan L. Hypothalamic-pituitary-ovarian axis disorders impacting female fertility. [Biomedicines](#), 2019, 7: 5
- 36 Rivier C, Rivest S. Effect of stress on the activity of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis: peripheral and central mechanisms. [Biol Reprod](#), 1991, 45: 523–532
- 37 Jennings R T, Baker E S. Gynecological and reproductive issues for women in space: a review. [Obstet Gynecol Surv](#), 2000, 55: 109–116
- 38 Jain V, Wotring V E. Medically induced amenorrhea in female astronauts. [NPJ Microgravity](#), 2016, 2: 16008
- 39 Strollo F, Riondino G, Harris B, et al. The effect of microgravity on testicular androgen secretion. [Aviat Space Environ Med](#), 1998, 69: 133–136
- 40 Smith S M, Heer M, Wang Z, et al. Long-duration space flight and bed rest effects on testosterone and other steroids. [J Clin Endocrinol Metab](#), 2012, 97: 270–278
- 41 Plakhuta-Plakutina G I, Serova L V, Dreval A A, et al. Effect of 22-day space flight factors on the state of the sex glands and reproductive capacity of rats. [Kosm Biol Aviakosm Med](#), 1976, 10: 40–47
- 42 Masini M A, Albi E, Barmo C, et al. The impact of long-term exposure to space environment on adult mammalian organisms: a study on mouse thyroid and testis. [PLoS ONE](#), 2012, 7: e35418
- 43 Wakayama S, Kamada Y, Yamanaka K, et al. Healthy offspring from freeze-dried mouse spermatozoa held on the International Space Station for 9 months. [Proc Natl Acad Sci USA](#), 2017, 114: 5988–5993
- 44 Blaber E A, Finkelstein H, Dvorochkin N, et al. Microgravity reduces the differentiation and regenerative potential of embryonic stem cells. [Stem Cells Dev](#), 2015, 24: 2605–2621
- 45 Lei X, Cao Y, Zhang Y, et al. Effect of microgravity on proliferation and differentiation of embryonic stem cells in an automated culturing system during the TZ-1 space mission. [Cell Prolif](#), 2018, 51: e12466
- 46 Furukawa S, Nagamatsu A, Neno M, et al. Space radiation biology for “Living in Space”. [Biomed Res Int](#), 2020, 2020: 1–25
- 47 Karouia F, Peyvan K, Pohorille A. Toward biotechnology in space: High-throughput instruments for in situ biological research beyond Earth. [Biotech Adv](#), 2017, 35: 905–932
- 48 Burden H W, Zary J, Lawrence I E, et al. Effects of space flight on ovarian-hypophyseal function in postpartum rats. [Reproduction](#), 1997, 109: 193–197
- 49 Wong A M, De Santis M. Rat gestation during space flight: outcomes for dams and their offspring born after return to Earth. [Integr Physiol Behav Sci](#), 1997, 32: 322–342
- 50 Burden H W, Poole M C, Zary J, et al. The effects of space flight during gestation on rat uterine smooth muscle. [J Gravit Physiol](#), 1998, 5: 23–29
- 51 Burden H W, Zary J, Alberts J R. Effects of space flight on the immunohistochemical demonstration of connexin 26 and connexin 43 in the postpartum uterus of rats. [Reproduction](#), 1999, 116: 229–234
- 52 Lei X, Deng Z, Zhang H, et al. Rotary suspension culture enhances mesendoderm differentiation of embryonic stem cells through modulation of Wnt/ β -catenin Pathway. [Stem Cell Rev Rep](#), 2014, 10: 526–538
- 53 Lei X, Deng Z, Duan E. Uniform embryoid body production and enhanced mesendoderm differentiation with murine embryonic stem cells in a rotary suspension bioreactor. [Methods Mol Biol](#), 2016, 1502: 63–75

The research progress and prospect of mammalian reproduction and embryonic development under space conditions

MA ChiYuan¹, CAO YuJing¹, DUAN EnKui¹ & LEI XiaoHua^{1,2}

1 State Key Laboratory of Stem Cell and Reproductive Biology, Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China;

2 Center for Energy Metabolism and Reproduction, Shenzhen Institutes of Advanced Technology, Chinese Academy of Sciences, Shenzhen 518055, China

With the rapid development of human space explorations, whether human embryos can develop normally and reproduce beyond the planet of Earth has become a topic of concern for the scientific community and the general public. The long-term exposure to the space environmental factors poses potential hazards to embryonic development and reproductive health of mammals, and they are linked to the adverse effects of microgravity and cosmic radiation. In this review, we summarized the progress in the studies of the reproduction and development of mammals performed in spacecrafts, and with ground-based simulated microgravity and radiation by us and other groups. In particular, we discussed the study of the development of mouse preimplantation embryos under space conditions using the SJ-10 recoverable satellite which was recently published in *National Science Review*. The potential future studies of mammalian reproductive function and embryonic development in the space environment have also been briefly discussed and proposed. In summary, to accomplish human breeding in the outer space when other planets are colonized, further systematic evaluation of the effects of microgravity, cosmic radiation or other cosmic factors on reproductive and ontogenetic processes is required, while the protective methodology for reducing the reproductive hazards during spaceflight is also needed.

space environment, microgravity, radiation, reproduction, embryonic development

doi: [10.1360/SSV-2020-0136](https://doi.org/10.1360/SSV-2020-0136)