

·临床研究·

控制性卵巢刺激对多囊卵巢综合征患者和正常排卵 妇女卵源性因子表达的差异

魏莉娜, 李俐琳, 方丛, 黄睿, 梁晓燕*
(中山大学附属第六医院生殖中心, 广东广州 510655)

摘要:【目的】研究控制性卵巢刺激对多囊卵巢综合征(PCOS)患者和正常排卵妇女卵母细胞和颗粒细胞中卵源性因子(生长分化因子 GDF9 和骨形成蛋白 BMP15)表达的影响及两组妇女之间的表达差异。【方法】收集 PCOS 患者和正常排卵的不孕妇女共 97 例,分为 4 组:22 例未经历卵巢刺激(未刺激-PCOS 组)和 18 例经历卵巢刺激(刺激-PCOS 组)的 PCOS 患者,28 例未经历卵巢刺激(未刺激-对照组)和 29 例经历卵巢刺激(刺激-对照组)的正常排卵妇女。收集 4 组患者的卵母细胞和颗粒细胞,采用巢式实时定量 PCR 的方法检测两种细胞中 GDF9 和 BMP15 mRNA 的表达水平。【结果】在正常排卵妇女的卵母细胞中,GDF9 和 BMP15 mRNA 的表达水平在未刺激组分别为 24.79 (2.96-109.73)和 0.93 (0.05-3.65),在卵巢刺激组分别为 149.94 (55.38-387.93)和 41.65 (6.50-96.11),两种因子在卵巢刺激组的表达水平均显著高于未刺激组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。在正常排卵妇女的颗粒细胞中,GDF9 和 BMP15 mRNA 的表达水平在未刺激组分别为 0.02 (0.009-0.21)和 0.008(0.001-0.16),在卵巢刺激组分别为 0.10 (0.06, 0.18)和 0.02(0.01-0.03),两种因子在卵巢刺激组的表达水平均显著高于未刺激组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。在 PCOS 患者的卵母细胞中,GDF9 和 BMP15 mRNA 的表达水平在未刺激组分别为 23.83 (2.29-65.72)和 0.09 (0.05-29.32),在卵巢刺激组分别为 44.81 (5.93-489.19)和 0.10 (0.05-11.44),两种因子的表达在未刺激组和卵巢刺激组均没有差异($P > 0.05$)。在 PCOS 患者的颗粒细胞中,GDF9 和 BMP15 mRNA 的表达水平在未刺激组分别为 0.11 (0.06, 0.16)和 0.000 005(0.000 004 8-0.000 009),在卵巢刺激组分别为 0.05 (0.03, 0.09)和 0.02 (0.007-0.03),GDF9 mRNA 的表达在卵巢刺激组显著低于未刺激组,而 BMP15 mRNA 的表达在卵巢刺激组显著高于未刺激组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。【结论】控制性卵巢刺激可以促进正常排卵妇女卵母细胞和颗粒细胞中 GDF9 和 BMP15 的表达,但是对 PCOS 患者卵母细胞中两种因子的表达没有促进作用,提示 PCOS 患者卵母细胞中卵源性因子的表达对卵巢刺激的反应性受到抑制,可能影响卵泡发育和卵母细胞成熟,从而导致卵母细胞质量低下。

关键词:生长分化因子 9; 骨形成蛋白 15; 多囊卵巢综合征; 控制性卵巢刺激; 卵母细胞质量
中图分类号:R715 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-3554(2013)06-0867-06

Different Effects of Controlled Ovarian Simulation on Expression of GDF9 and BMP15 from Normal Ovulatory Women and Women with PCOS

WEI Li-na, LI Li-lin, FANG Cong, HUANG Rui, LIANG Xiao-yan*

(Reproductive Medicine Research Center, The Sixth Affiliated Hospital of Sun Yat-Sen University, Guangzhou 510655, China)

Abstract: 【Objective】 To study the effects of COS on the expression of GDF9 and BMP15 in oocytes and granulosa cells from normal ovulation women and women with PCOS, and explore the differences between the two groups. 【Methods】 The study comprised four groups of patients: PCOS patients with COS (stimulated-PCOS) and without COS (unstimulated-PCOS), normal ovulatory women with COS (stimulated-control) and without COS (unstimulated-control). Oocytes and granulosa cells were collected from four groups of patients and the nest real-time quantitative PCR was used to detect the abundance of GDF9 and BMP15 mRNA. 【Results】 In oocytes from normal ovulatory women, the expression levels of GDF9 and BMP15 mRNA were 24.79 (2.96-109.73) and 0.93 (0.05-

收稿日期:2012-12-25

基金项目:国家自然科学基金(81200476);广东省自然科学基金(S2012040007770);广东省医学科研基金(B2012150);教育部博士点基金(2012017120122);广东省自然科学基金(S2011010004621)

作者简介:魏莉娜,博士,助理研究员,研究方向:卵子和胚胎发育及多囊卵巢综合征的病理机制,E-mail:weilinaly@126.com; * 通信作者:梁晓燕,博士,教授。

3.65) respectively in the unstimulated group. The results were 149.94 (55.38–387.93) and 41.65 (6.50–96.11) respectively in the stimulated group. The expression levels of the two factors in the stimulated group were significantly higher than that in the unstimulated group ($P < 0.05$). In granulosa cells from normal ovulatory women, the expression levels of GDF9 and BMP15 mRNA were 0.02 (0.009, 0.21) and 0.008 (0.001–0.16) respectively in the unstimulated group. The results were 0.10 (0.06, 0.18) and 0.02 (0.01–0.03) respectively in the stimulated group. The expression levels of the two factors in the stimulated group were also significantly higher than that in the unstimulated group ($P < 0.05$). In oocytes from PCOS patients, the expression levels of GDF9 and BMP15 mRNA were 23.83 (2.29–65.72) and 0.09 (0.05–29.32) respectively in the unstimulated group. The results were 44.81 (5.93–489.19) and 0.10 (0.05–11.44) respectively in the stimulated group. There were no significant differences between the two groups ($P > 0.05$). In granulosa cells from PCOS patients, the expression levels of GDF9 and BMP15 mRNA were 0.11 (0.06, 0.16) and 0.000 005 (0.000 004 8–0.000 009) respectively in the unstimulated group. The results were 0.05 (0.03, 0.09) and 0.02 (0.007–0.03) respectively in the stimulated group. The expression level of GDF9 mRNA was significantly lower in the stimulated group than that in the unstimulated group ($P < 0.05$), while the expression level of BMP15 mRNA was significantly higher in the stimulated group than that in the unstimulated group ($P < 0.05$).【Conclusion】 The controlled ovarian stimulation can promote the expression of GDF9 and BMP15 both in oocytes and GCs from normal ovulatory women. However, the stimulating effects may be inhibited in oocytes from PCOS patients, which subsequently impair cytoplasm maturation and lead to poor oocyte quality.

Key words: growth differentiation factor 9; bone morphogenetic protein 15; polycystic ovary syndrome; controlled ovarian stimulation; oocyte quality

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2012, 34(6): 867–872]

多囊卵巢综合征 (polycystic ovary syndrome, PCOS) 是一种常见的生殖内分泌疾病, 并且常伴随生殖系统肿瘤、代谢综合征和精神症状等远期并发症, 严重影响女性生殖健康和生活质量^[1]。然而迄今为止, 其病因和病理机制尚未完全清楚。研究发现 PCOS 患者存在卵泡发育紊乱, 并且可能与卵巢内部旁分泌和自分泌因子的异常表达有关, 其中卵源性因子 (OSF) 如生长分化因子 9 (growth differentiation factor 9, GDF9) 和骨形成蛋白 15 (bone morphogenetic protein 15, BMP15) 与 PCOS 卵泡发育紊乱的关系十分密切^[2]。GDF9 和 BMP15 同属于转化生长因子 β (transforming growth factor β , TGF β) 超家族, 在卵泡发育和卵母细胞成熟过程中都发挥重要的调节作用^[3]。但是, 之前的研究大多是针对于动物来源的标本, 对于卵源性因子在人类卵巢组织中的表达水平以及对卵泡发育的调节作用还需要更多的研究。我们前期研究发现, 经历卵巢刺激的 PCOS 卵母细胞中 GDF9 表达降低, 可能影响胞浆成熟从而导致 PCOS 卵母细胞发育潜能低下^[4]。为进一步探讨 PCOS 患者卵泡中 OSF 的表达特点以及控制性卵巢刺激 (controlled ovarian stimulation, COS) 对 PCOS 患者和正常排卵妇女卵母细胞和颗粒细胞中 GDF9 和 BMP15 表达的影响, 本研究对经历和未经历 COS 的 PCOS 患者与正常排卵妇女的卵母细胞和颗粒细胞中 GDF9 和 BMP15 的表达情况进行检测, 并

分析两组妇女之间的表达差异, 旨在为改良 PCOS 患者的卵巢刺激方案以及优化胚胎培养体系提供依据。

1 材料与方法

1.1 研究对象

本研究方案经过中山大学附属第六医院伦理委员会批准, 并且所有患者均签署知情同意书。收集从 2011 年 6 月至 2012 年 4 月在中山大学附属第六医院生殖中心就诊的 PCOS 患者和正常排卵的不孕妇女共 97 例, 分为 4 组: 22 例未经历卵巢刺激 (未刺激-PCOS 组) 和 18 例经历卵巢刺激 (刺激-PCOS 组) 的 PCOS 患者, 28 例未经历卵巢刺激 (未刺激-对照组) 和 29 例经历卵巢刺激 (刺激-对照组) 的正常排卵妇女。PCOS 的诊断依据为 2003 年鹿特丹标准^[5], 正常排卵妇女的入选标准为: 月经规律 (月经周期为 21 ~ 35 d), 基础体温测试证实有正常排卵, 超声证实卵巢形态正常, 雄激素水平正常 ($< 0.6 \mu\text{g/L}$), 且基础卵泡刺激素 (follicle-stimulating hormone, FSH) $< 10 \text{ IU/L}$, 体质量指数 (body mass index, BMI) 在 18.5 ~ 23.0 kg/cm^2 范围之内。所有病例的排除标准为: 合并卵巢早衰、子宫内膜异位症、高泌乳素血症、甲状腺功能异常者; 曾接受过卵巢手术或放化疗者; 近 3 个月内接受过促排卵治疗或服用性激素者。

1.2 控制性卵巢刺激方案

本研究中控制性卵巢刺激(COS)采用标准长方案,即在上一个月经周期的黄体中期用促性腺激素释放激素的激动剂(GnRH-a, Triptorelin; Ipsen, France)进行垂体的降调节,在本次月经周期的第2、3天用重组人促卵泡素(rhFSH, Gonal-F; Serono, Switzerland)启动,启动剂量为75~300 IU/d,可根据年龄、窦卵泡数目、基础FSH水平以及以往治疗周期的卵巢反应性进行调整。之后每3~4 d经阴道B超监测卵泡的生长情况,并同时监测血清中LH、E2和P的水平,以此调节GnRH-a的剂量。当有1个卵泡直径达18 mm或2个卵泡直径达17 mm或3个卵泡直径达16 mm时,当日停用rhFSH,单次臀肌注射人绒毛膜促性腺激素(human chorionic gonadotropin, hCG; Serono, Switzerland) 10 000 IU, 34~36 h后经阴道超声引导下取卵。

1.3 细胞的收集

收集经过COS的PCOS患者(刺激-PCOS组)和正常排卵妇女(刺激-对照组)取卵当天的卵泡液并分离其中的颗粒细胞,同时收集当天经过卵母细胞胞浆内单精子显微注射(intracytoplasmic sperm injection, ICSI)之后废弃的未成熟卵母细胞。另外,收集未经过COS的PCOS患者(未刺激-PCOS组)小卵泡穿刺术后废弃的卵母细胞和颗粒细胞,并在未经过COS的正常排卵妇女(未刺激-对照组)进行腹腔镜手术时穿刺小窦卵泡获得卵母细胞和颗粒细胞。将收集的卵母细胞在50 μ L的磷酸盐缓冲液(phosphate-buffered saline solution, PBS)液滴中反复冲洗几次,然后移入无RNA酶的EP管并加入50 μ L的Trizol (Invitrogen, USA),贮于-80 $^{\circ}$ C冰箱直到检测。

从卵泡液中分离颗粒细胞包括以下步骤:首先在卵泡液中加入肝素以达到抗凝效果,采用离心沉淀法收集卵泡液中的所有细胞(离心半径6 cm), 1 000 r/min \times 5 min;然后用肝素化的PBS洗涤2~3次, 1 000 r/min \times 5 min,并用5 mL PBS重悬沉淀物以制备细胞悬液;将上述细胞悬液缓慢加入5 mL 50% Ficoll淋巴细胞分离液并保持两种液体之间的界面清晰;离心3 000 r/min \times 20 min,可看到离心管内物质从上到下分为4层,第1层和第3层为液体,第2层和第4层为细胞,其中第2层白色云雾状的细胞团为待收集的颗粒细胞;收

集第2层细胞并用肝素化的PBS洗涤2次, 1 000 r/min \times 5 min;加入0.6 mL Trizol (Invitrogen, USA)使细胞裂解,移入无RNA酶的EP管中,贮于-80 $^{\circ}$ C冰箱直到检测。每一名患者仅检测一个卵母细胞和一例颗粒细胞。

1.4 巢式实时定量PCR

具体步骤包括:引物与探针的设计与合成,总RNA的提取,逆转录反应,第一轮PCR和第二轮PCR。所用的特异性引物序列见表1,探针序列分别为GDF9: 5'-FAM-T TCCTATTAGCCTTGCTT CTCAGG-TAMRA-3', BMP15: 5'-FAM-TGGCA TATACAGA TCCTGGGCTTT-TAMRA-3', β -actin: 5'-FAM-CACCACGGCCGAGCGGGA-TAMRA-3'。第一轮PCR反应条件为:93 $^{\circ}$ C 5 min,然后93 $^{\circ}$ C 30 s, 55 $^{\circ}$ C 45 s, 72 $^{\circ}$ C 45 s共30个循环,72 $^{\circ}$ C 7 min。第二轮PCR反应条件为:93 $^{\circ}$ C 3 min,然后93 $^{\circ}$ C 30 s, 55 $^{\circ}$ C 45 s,共40个循环。每例标本均重复检测3次,取其均值用于统计分析。数据表示为相对表达丰度,以目的基因与 β -actin吸光度的比值表示GDF9和BMP15 mRNA的相对表达水平。

表1 巢式实时定量PCR所用的引物序列

Table 1 Information of specific primers used in nested quantitative real-time PCR analysis

Gene	Primer Sequence (5'→3')	Size/bp	Accession No.
GDF9			
First Pair	Forward CGTCCCAACAAATTCCTCCTT Reverse AGGCCAGCTCTGTCTCTCAT	176	NM_005260
Second Pair	Forward CTGCTTTGCCCTGGCTGTGT Reverse CAAGGCATAGCCCCAGATTC	105	
BMP15			
First Pair	Forward ACCATGGTGAGGCTGGTGAA Reverse ACATGGCAGGAGAGATTGAAGC	179	NM_005448
Second Pair	Forward GGCAAGGCCTCACAGAGGTA Reverse CCGTAAACCACAGTGGCTCTAAC	102	
β -actin			
First Pair	Forward CTTACAGATCATGTTTGAGACCTCAA Reverse CTCAGGCCAGCGGAACC	417	NM_001101
Second Pair	Forward GCGCGGTACAGCTTCA Reverse TCTCCTTAATGTACGCAGCA T	59	

1.5 统计学方法

采用SPSS 11.5统计包(SPSS Inc., Chicago, USA)进行分析。由于部分数据为非正态分布,故采用非参数检验的统计方法(Mann-Whitney test)。

表 2 4 组患者基本信息的比较

Table 2 Comparison of general conditions among four groups

General indicators	Normal ovulatory women		PCOS patients		P value
	Unstimulated-control	Stimulated-control	Unstimulated-PCOS	Stimulated-PCOS	
No. of cases	28	29	22	18	
Age /years	30.8 ± 2.6	30.6 ± 3.0	30.6 ± 1.7	28.7 ± 2.4	> 0.05
BMI / (kg/ m ²)	21.3 ± 1.1	20.4 ± 1.5	21.0 ± 1.5	19.4 ± 1.6	> 0.05
FSH / (IU/L)	5.1 ± 1.2	5.1 ± 1.4	4.3 ± 1.1	4.7 ± 1.0	> 0.05
LH / (IU/L)	3.8 ± 2.6	3.9 ± 2.9	6.3 ± 4.2	6.8 ± 3.3	> 0.05
PRL/ (μg/L)	18.1 ± 9.4	16.5 ± 6.6	17.0 ± 5.7	21.3 ± 6.3	> 0.05
E2 / (ng/mL)	36 ± 18	38 ± 19	40 ± 21	54 ± 20	> 0.05
T / (nmol/L)	0.73 ± 0.25	0.69 ± 0.25	0.89 ± 0.34	1.11 ± 0.29	> 0.05
Gn/IU	-	2 083 ± 628	-	1 767 ± 195	> 0.05

The data were expressed as the mean ± SD, and one-way ANOVA (LSD test) was used for multiple comparisons among four groups.

设定 $P < 0.05$ 有统计学意义。

2 结 果

2.1 患者基本信息的比较

本研究中 4 组患者的基本信息没有统计学差异,见表 2。

2.2 COS 对正常排卵妇女卵母细胞和颗粒细胞中 GDF9 和 BMP15 表达的影响

对于正常排卵的妇女,卵母细胞中 GDF9 mRNA 及 BMP15 mRNA 的表达水平在经历卵巢刺激的卵母细胞中显著增加,差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。对于正常排卵的妇女, GDF9 mRNA 的表达水平在经历卵巢刺激的颗粒细胞中显著增加,差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。BMP15 mRNA 的表达水平在经历卵巢刺激的颗粒细胞中显著增加,差异有统计学意义 ($P < 0.05$; 表 3)。

2.3 COS 对 PCOS 患者卵母细胞和颗粒细胞中 GDF9 和 BMP15 表达的影响

对于 PCOS 患者,卵母细胞中 GDF9 mRNA 的表达水平在未经和经历 COS 的卵母细胞两组之间没有差异 ($P > 0.05$)。BMP15 mRNA 的表达水平在两组之间没有差异 ($P > 0.05$)。对于 PCOS 患者, GDF9 mRNA 的表达水平在经历卵巢刺激的颗粒细胞中显著降低,差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。BMP15 mRNA 的表达水平在经历卵巢刺激的颗粒细胞中显著升高,差异有统计学意义 ($P <$

0.001; 表 4)。

表 3 COS 对正常排卵妇女卵母细胞和颗粒细胞中 GDF9 和 BMP15 表达的影响

Table 3 Effects of controlled ovarian stimulation on the expression of GDF9 and BMP15 mRNA in oocytes and granulosa cells from normal ovulatory women

Samples	Genes	Unstimulated-control	Stimulated-control	P value
Oocytes	GDF9	24.79 (2.96-109.73)	149.94 (55.38-387.93)	0.002
	BMP15	0.93 (0.05-3.65)	41.65 (6.50-96.11)	0.000
GCs	GDF9	0.02 (0.009, 0.21)	0.10 (0.06, 0.18)	0.001
	BMP15	0.008(0.001-0.16)	0.02(0.01-0.03)	0.037

The data were expressed as the median with the 25th-75th percentile range in parentheses. Mann-Whitney test was used for comparisons between Unstimulated-control and Stimulated-control groups.

表 4 COS 对 PCOS 患者卵母细胞和颗粒细胞中 GDF9 和 BMP15 表达的影响

Table 4 Effects of controlled ovarian stimulation on the expression of GDF9 and BMP15 mRNA in oocytes and granulosa cells from patients with PCOS

Samples	Genes	Unstimulated-PCOS	Stimulated-PCOS	P value
Oocytes	GDF9	23.83(2.29-65.72)	44.81 (5.93-489.19)	0.109
	BMP15	0.09(0.05-29.32)	0.10 (0.05-11.44)	0.897
GCs	GDF9	0.11(0.06, 0.16)	0.05 (0.03, 0.09)	0.006
	BMP15	0.000 005(0.000 004 8-0.000 009)	0.02(0.007-0.03)	0.000

The data were expressed as the median with the 25th -75th percentile range in parentheses. Mann-Whitney test was used for comparisons between Unstimulated-PCOS and Stimulated-PCOS groups.

3 讨论

由于卵源性因子(OSF)在卵泡发育和卵母细胞成熟过程中发挥重要的调节作用,我们对正常排卵妇女和PCOS患者卵泡中OSF的表达进行研究,探讨PCOS患者卵泡中OSF的表达特点以及控制性卵巢刺激(COS)对OSF表达的影响。

本研究结果发现COS可以促进正常排卵妇女卵母细胞中GDF9和BMP15的表达,与之前的一项动物研究结果类似。该研究发现高FSH可以上调小鼠卵母细胞中GDF9的表达^[6]。并且有研究发现FSH单独作用可以降低颗粒细胞中GDF9受体如BMPRII和ALK5的表达,但是FSH与雌二醇联合作用则可以促进BMPRII和ALK5的表达^[7],提示FSH和E₂等内分泌因子对卵源性因子的调节也作用于受体水平,进一步验证了内分泌信号和旁分泌信号之间的相互作用。

然而,COS未能改变PCOS患者卵母细胞中GDF9和BMP15的表达,提示PCOS患者的卵泡对促性腺激素的反应性受到抑制。我们推测,PCOS患者过度分泌的抗苗勒管激素(AMH)可能是导致这一结果的因素之一。AMH是TGF- β 超家族的成员,主要作用是抑制始基卵泡的启动募集和生长卵泡的选择生长^[8]。研究表明,PCOS患者卵泡液中AMH水平显著增加FSH水平相对不足^[9],因此过度分泌的AMH可能抑制了FSH的刺激作用。临床实践也发现PCOS卵巢对促性腺激素的刺激存在反应不良,表现为两个方面:卵巢刺激初期对促性腺激素不敏感,反应的阈值较高;一旦开始出现反应又容易发生卵巢过度刺激。研究者们一直在探讨出现这种矛盾现象的内在原因。有研究发现FSH与GDF9协同作用促进仓鼠原始卵泡的形成,但FSH的作用可以被GDF9的反义RNA所拮抗,由此推测FSH作用的正常发挥需要有GDF9的介导^[10]。GDF9表达不足可能影响了FSH作用的正常发挥,这可以部分解释PCOS卵巢对促排卵刺激的反应低下。另一方面,在卵巢刺激的过程中,高水平的FSH逐渐突破了AMH的抑制作用,上调GDF9的表达,协同FSH发挥刺激卵泡生长的作用。由于PCOS卵巢中大量的生长卵泡同时发育,从而导致卵巢过度刺激的发生。这些临床困境提示卵源性因子可能参与PCOS的病理发展过程,为以后对PCOS患者的

治疗和优化促排卵方案提供了新的思路。

本研究还发现COS可以促进正常排卵妇女颗粒细胞中GDF9和BMP15的表达,与卵母细胞中的结果一致。众所周知,颗粒细胞和卵母细胞在结构和功能上密不可分,颗粒细胞中生物因子的表达水平可以反映卵母细胞质量和胚胎发育潜能^[11]。本研究结果提示,促性腺素可能通过促进颗粒细胞中OSF的表达而调节颗粒细胞的功能,从而间接地促进卵母细胞的发育。但是在PCOS患者的颗粒细胞中,COS下调了GDF9的表达而上调了BMP15的表达,提示经历卵巢刺激的PCOS颗粒细胞中OSF的表达水平存在异常,可能是PCOS卵泡发育异常的原因之一。

此外,本研究结果表明OSF的表达水平在卵母细胞中显著高于颗粒细胞,与OSF主要由卵母细胞产生这一传统观点一致。早期的动物研究认为卵源性因子只在卵母细胞有表达并由此得名^[12-13]。之后的研究发现GDF9和BMP15的表达存在显著的物种差异,在一些动物如小鼠和大鼠^[13-14]的卵巢组织中局限表达于卵母细胞,而在人类卵巢组织中,GDF9和BMP15也可表达于颗粒细胞和膜细胞^[15]。本研究结果也证实了在人类卵泡的颗粒细胞中存在OSF的表达这一观点。

在同一个卵母细胞和同一份颗粒细胞中,GDF9 mRNA的表达水平都显著高于BMP15,我们推测两种因子发挥最佳的生理作用需要保持合适的表达比率。之前有研究发现GDF9可以调节BMP类蛋白的抑制剂gremlin的表达,而gremlin可能介导了GDF9和BMP15信号通路之间的对话^[16],提示GDF9和BMP15之间除了协同作用还存在其他的相互联系,进一步证明卵巢局部存在复杂而精密的调控机制,动态调节局部因子的表达和作用。这项结果表明如果将GDF9/BMP15的表达比率应用于改良目前的卵巢刺激方案和胚胎培养体系,则有望提高卵母细胞和胚胎的发育潜能,并最终提高试管婴儿的成功率。

总之,本研究结果表明,控制性卵巢刺激可以促进正常排卵妇女卵母细胞和颗粒细胞中GDF9和BMP15的表达,但是对PCOS患者卵母细胞中GDF9和BMP15的表达没有促进作用,提示经历卵巢刺激的PCOS卵母细胞中OSF的表达受到抑制,但其机制还需要进行更深入的探讨。研究结果为改良卵巢刺激方案和优化胚胎培养体系提供了

新的途径。

参考文献:

- [1] Teede H, Deeks A, Moran L. Polycystic ovary syndrome: a complex condition with psychological, reproductive and metabolic manifestations that impacts on health across the lifespan [J]. *BMC Med*, 2010, 8: 41-45.
- [2] Teixeira Filho FL, Baracat EC, Lee TH, et al. Aberrant expression of growth differentiation factor-9 in oocytes of women with polycystic ovary syndrome [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2002, 87(3): 1337-1344.
- [3] Juengel JL, Mc Natty KP. The role of proteins of the transforming growth factor -beta superfamily in the intraovarian regulation of follicular development [J]. *Hum Reprod Update*, 2005, 11(2): 143-160.
- [4] Wei LN, Liang XY, Fang C, et al. Abnormal expression of growth differentiation factor 9 and bone morphogenetic protein 15 in stimulated oocytes during maturation from women with polycystic ovary syndrome [J]. *Fertil Steril*, 2011, 96(2): 464-468.
- [5] The Rotterdam ESHRE /ASRM sponsored PCOS Consensus Workshop Group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome (PCOS) [J]. *Hum Reprod*, 2004, 19(1): 41-47.
- [6] Sánchez F, Adriaenssens T, Romero S, et al. Different follicle-stimulating hormone exposure regimens during antral follicle growth alter gene expression in the cumulus-oocyte complex in mice [J]. *Biol Reprod*, 2010, 83(4): 514-524.
- [7] Jayawardana BC, Shimizu T, Nishimoto H, et al. Hormonal regulation of expression of growth differentiation factor-9 receptor type I and II genes in the bovine ovarian follicle [J]. *Reproduction*, 2006, 131(3): 545-553.
- [8] Visser JA, Themmen AP. Anti-Müllerian hormone and folliculogenesis [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2005, 234(1-2): 81-86.
- [9] Desforges-Bullet V, Gallo C, Lefebvre C, et al. Increased anti-Müllerian hormone and decreased FSH levels in follicular fluid obtained in women with polycystic ovaries at the time of follicle puncture for in vitro fertilization [J]. *Fertil Steril*, 2010, 94(1): 198-204.
- [10] Wang C, Roy SK. Expression of growth differentiation factor 9 in the oocytes is essential for the development of primordial follicles in the hamster ovary [J]. *Endocrinology*, 2006, 147(4): 1725-1734.
- [11] Assou S, Haouzi D, De Vos J, et al. Human cumulus cells as biomarkers for embryo and pregnancy outcomes [J]. *Mol Hum Reprod*, 2010 Aug; 16(8): 531-538.
- [12] McGrath SA, Esqueda AF, Lee SJ. Oocyte-specific expression of growth/differentiation factor-9 [J]. *Mol Endocrinol*, 1995, 9(1): 131-136.
- [13] Laitinen M, Vuojolainen K, Jaatinen R, et al. A novel growth differentiation factor-9 (GDF-9) related factor is co-expressed with GDF-9 in mouse oocytes during folliculogenesis [J]. *Mech Dev*, 1998, 78(1-2): 135-140.
- [14] Jaatinen R, Laitinen MP, Vuojolainen K, et al. Localization of growth differentiation factor-9 (GDF-9) mRNA and protein in rat ovaries and cDNA cloning of rat GDF-9 and its novel homolog GDF-9B [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 1999, 156(1-2): 189-193.
- [15] Yamamoto N, Christenson LK, McAllister JM, et al. Growth differentiation factor-9 inhibits 3'5'-adenosine monophosphate-stimulated steroidogenesis in human granulosa and theca cells [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2002, 87(6): 2849-2856.
- [16] Pangas SA, Jorgez CJ, Matzuk MM. Growth differentiation factor 9 regulates expression of the bone morphogenetic protein antagonist gremlin [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(31): 32281-32286.

(编辑 张恩健)