

## 中心體在受精及顯微注射扮演的角色

奇美醫院蔡永杰；國立台南大學鄧燕妮

中心體 (Centrosome) 在細胞是無膜的半保留胞器 (subcellular non-membrane semi-conserved organelle)，直徑約 1 微米 ( $\mu\text{m}$ )，是細胞主要的微管組成中心 (primary microtubule organizing center, MTOC)，此微管中心在細胞中扮演著紡錘絲 (mitotic spindle) 的形成、細胞移動 (cell motility)、極化 (polarity)、維持細胞型態 (maintenance of cell shape)、細胞分裂 (cell division)、液泡運輸 (transport of vesicles) 及許多訊息傳遞等重要的角色 (Selvapandiyar *et al.*, 2007)。典型的脊椎動物的中心體是由蛋白組成的鷹架構造，gamma-tubulin ( $\gamma$ -tubulin)、gamma-tubulin complex ( $\gamma$ -TuRC) 等圍繞中心粒 (centrioles) 組成，稱為 pericentriolar material (PCM)，因為中心體缺乏外圍的膜狀構造圍繞，因此其三級結構組成的力量主要是藉由蛋白和蛋白間的相互作用 (protein-protein interaction) 達成 (Bomens 2002)。典型的中心粒是由九組三元微管 (Triplet microtubules) 所組成的圓柱狀物質，成對的中心粒是以垂直的方式位於中心體中，中心粒的周圍由中心粒周圍蛋白基 (pericentriolar material) 的雲霧狀物質所環繞，在此結構中可發現許多蛋白，如  $\gamma$ -tubulin、centrin 及 pericentrin 所構成的網狀結構，其功能為儲存中心體蛋白和參與微管成核 (Kimble M & Kuriyama R. 1992; Rao *et al.*, 1989)。在中心體 (centrosome) 及外圍有許多的蛋白質結合及交互作用，進而維持中心體的穩定性；並且，中心體在細胞週期的間期 (Interphase) 與紡錘體極體分離時所扮演重要的角色為組成細胞質微管。當細胞進行細胞分裂時，每組中心粒在細胞分裂前會轉變成雙組，每組分別向細胞相對的兩極移動。在核膜消失後，有絲分裂紡錘體也就出現在兩中心體之間。因此中心粒在細胞分裂中扮演了一個很重要的角色，可作為紡錘體的組成中心 (Manandhar *et al.*, 2000)。

動物細胞中，centrioles 在細胞分裂前進行複製使遺傳至子細胞 (daughter cell)，因此在成熟的精子仍保留著 centrioles，典型的 centrioles 經由繼承父系遺傳而來 (Manandhar *et al.*, 2005)。在哺乳類動物，中心體是以複雜的調控網絡，如鷹架蛋白 (scaffold proteins) 可集合其它的蛋白，其功能類似酵母菌的 Nud1p/Cdc11p，為一種萌芽/裂殖的訊號分子，位於酵母菌的紡錘體極體，其功能為控制胞質分裂與有絲分裂停止 (Hannak *et al.*, 2002)。另外，許多 coiled-coil 中心體蛋白功能角色為 Protein 激酶 A、B 與 C 的支架 (Elliott *et al.*, 1999)。在人類細胞中，中心體扮演相當重要的角色，如確保染色體正常的分離及維持其穩定性，故中心體的結構異常可能會導致紡錘絲形成異常，導致染色體分離產生錯誤，使遺傳不穩定性 (Doxsey *et al.*, 2005)。

在中心體的 proximal centriole 視為精子活動力的運動中心；distal centriole 在造精過程中則是提升 sperm axoneme，此構造在中心體低於 proximal centriole，並且在成熟的精子為去聚合化

(Nagy ZP. 2000)。不健全的中心體或許會使精蟲活動力受損或缺乏，可做為 sperm infertility 的參考。不同的動物的中心體的蛻變的模式不同，以老鼠為例， $\gamma$ -tubulin 位於精子頭部與頸部連接的位置，並且在 spermiation 時期會隨著 residual bodies 丟棄。在 round spermatids 時期，中心體含有一對垂直的中心粒且  $\gamma$ -tubulin 位於其中，此時期的微管組織似乎不存在。在 Elongating spermatids 時期， $\gamma$ -tubulin 產生亮點並存在於精細胞的頸部位置，此時微管從 perinuclear ring 所形成，類似於 manchette (Manandhar *et al.*, 1998)。在老鼠的造精過程中，distal centriole 從造精時期的睪丸時期產生退化，而 proximal centriole 從副睪時期喪失。而人類及其他非齧齒動物的 centriole 則一直保留到成熟的精蟲中 (Manandhar *et al.*, 2005)。

受精卵的 centrosome 是由精蟲提供，當精蟲進入卵後，立即形成 sperm aster，sperm aster 是精卵基因組結合的基本構造。人類受精過程中，當精蟲進入卵子後，microtubulin 結合 sperm head 的蛋白，形成精蟲星芒體 (sperm aster)，並完成第二次減數分裂及產生第二極體。因此精蟲提供的中心體 (centrosome) 是移動及結合雄性及雌性 pronuclei 的重要構造 (Terada *et al.*, 2010) (圖一)。為了證實 sperm centrosome 的功能及 sperm aster 的角色，將人類的精蟲以顯微注射技術 (Intracytoplasmic Sperm Injection, ICSI) 導入兔子 (Terada *et al.*, 2000, 2004, Tachibana *et al.*, 2009) 或牛 (Nakamura *et al.*, 2002; Yashimoto-Kakoi *et al.*, 2008, Terada *et al.*, 2009) 的卵子中，證實雄性不孕與 sperm 功能異常的關連性。Ugajin 等人研究顯示，顯微注射過程中 (ICSI) 篩選中節 (midpiece) 型態正常 (morphologically normal) 的精蟲，可提高 ICSI 的成功率 (Ugajin *et al.*, 2008)。以圓頭頭部 (round heads) 或頂體 (acrosome) 異常的精蟲以異體顯微注射 (heterologous ICSI) 導入牛 (bovine) 的卵子發現，sperm aster 的形成率大幅將低，顯示精蟲型態的與 ICSI 的成功具有極重要的關連性 (Dam *et al.*, 2007)。Rawe 等人的研究顯示，20% 以形成原核 (pronuclear formation) 的卵子因為精蟲無法形成 sperm aster，因而無法成功受精 (Rawe *et al.*, 2002a, b; Rawe and Chemes. 2009)。除此之外，合子時期的中心體 (Zygotic centrosome) 是驅動胚胎適當時機發育的重要構造。近幾有關 centrosome 的研究越來越受重視，藉由 RNA 干擾 (RNA-mediated interference) 及質譜儀-蛋白質體學 (mass-spectrometry-based proteomics) 等技術的運用，希望對於中心體有更深入的了解。

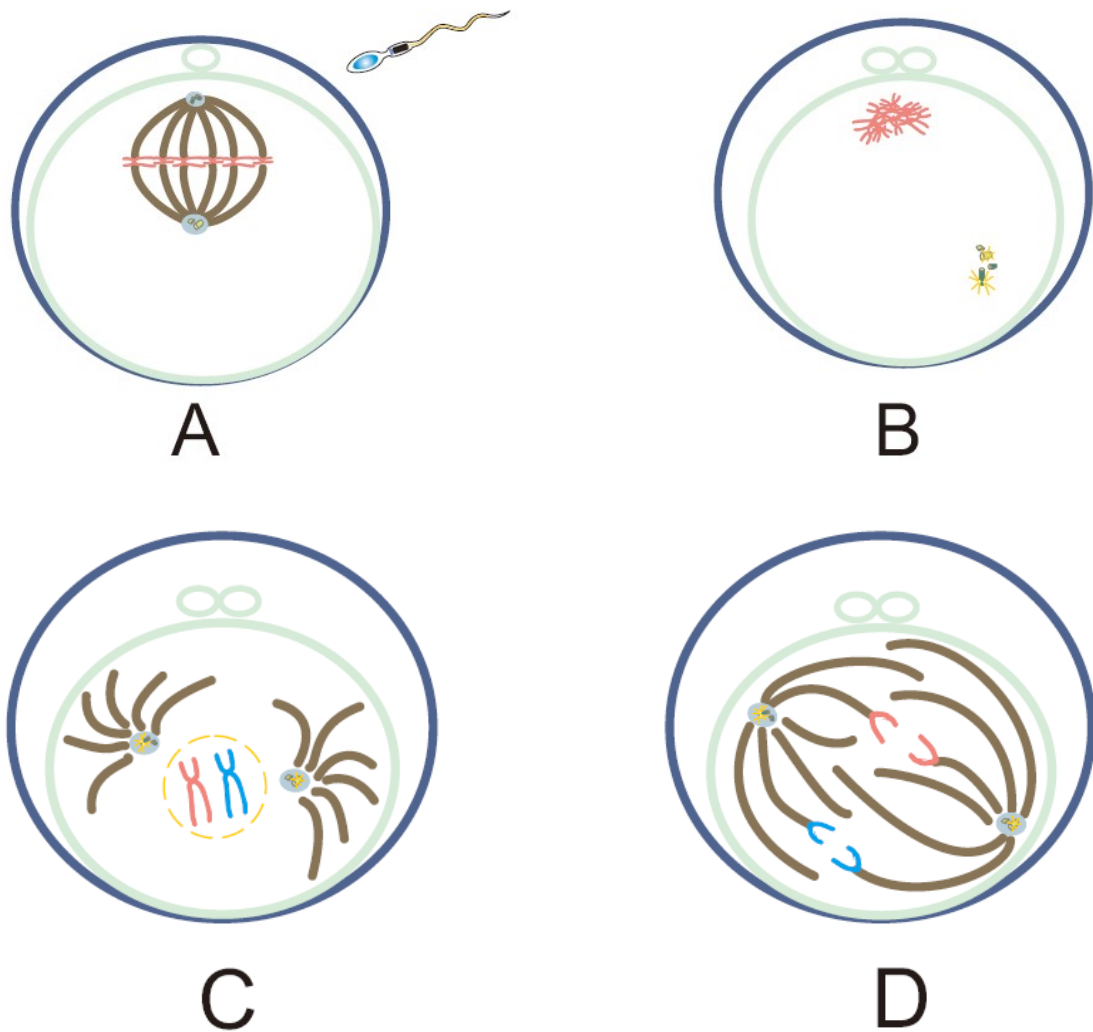
綜合以上，卵子的中心體異常將造成染色體數目異常 (aneuploidy)；精子的中心體雄性不孕 (male infertility)，合子時期的中心體 (Zygotic centrosome) 的異常將無法使胚胎正常發育 (Schatten & Sun. 2009a)。將具有不正常的 microtubule 組成 (organization) 的精蟲進入卵子後，將導致無法受精 (unfertilized) (Schatten & Sun. 2009b)，中心體的功能，是無法成功完成懷孕的重要因素，至於哪些中心體因子才是決定的關鍵，目前還在研究階段。因此精蟲中心體的功能 (sperm centrosomal function) 對於人類生殖具有重要影響且為必須的基本構造。然而中心體運用的人工生殖的檢測與運用，尚還在實驗室研究階段 (Nakamura *et al.*, 2002, 2005)，期許未來能對

人工生殖上有實質的幫助。因此，檢查中心體遺傳（centrosomal inheritance）及功能將有益於人工生殖的進行。

## 參考文獻

- Bornens M. Centrosome composition and microtubule anchoring mechanisms. *Curr Opin Cell Biol.* 2002;14:25–34
- Dam AHD, Feenstra I, Westphal JR, Ramos L, van Golde RJT, Kremer JAM. Globozoospermia revisited. *Hum Reprod Update* 2007;13:63–75.
- [Doxsey S](#), [Zimmerman W](#), [Mikule K](#). Centrosome control of the cell cycle. *Trends Cell Biol.* 2005;15:303-311.
- [Elliott S](#), [Knop M](#), [Schlenstedt G](#), [Schiebel E](#). Spc29p is a component of the Spc110p subcomplex and is essential for spindle pole body duplication. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1999;96:6205-6210.
- [Hannak E](#), [Oegema K](#), [Kirkham M](#), [Gönczy P](#), [Habermann B](#), [Hyman AA](#). The kinetically dominant assembly pathway for centrosomal asters in *Caenorhabditis elegans* is gamma-tubulin dependent. *J Cell Biol.* 2002;157:591-602.
- Kimble M, Kuriyama R. Functional components of microtubule organizing centers. *Int Rev Cytol.* 1992;163:1-50
- Manandhar G, Schatten G. Centrosome reduction during Rhesus spermiogenesis: gamma-tubulin, centrin, and centriole degeneration. *Mol Reprod Dev.* 2000;56:502-511.
- Manandhar G, Schatten H, Sutovsky P. Centrosome reduction during gametogenesis and its significance. *Biol Reprod.* 2005;72:2–13.
- Manandhar G, Sutovsky P, Joshi HC, Stearns T, Schatten G. Centrosome Reduction during mouse Spermiogenesis. *Dev Biol.* 1998;203:424-434.
- Nagy ZP. Sperm centriole dysfunction and sperm immotility. *Mol Cell Endocrinol.* 2000;166:59-62.
- Nakamura S, Terada Y, Horiuchi T, Emu'a C, Murakami T, Yaegashi N, Okamura K. Analysis of the human sperm centrosomal function and the oocyte activation ability in a case of globozoospermia by ICSI into bovine oocytes. *Hum Reprod.* 2002;17:2930-2934.
- Nakamura S, Terada Y, Rawe V, Uehara S, Monto Y, Yoshimoto T, Tachibana M, Murakami T, Yaegashi N, Okamura K. A trial to restore defective human sperm centrosomal function. *Hum Reprod* 2005; 20:1933-1937.
- [Rao PN](#), [Zhao JY](#), [Ganju RK](#), [Ashorn CL](#). Monoclonal antibody against the centrosome. *J Cell Sci.* 1989;93:63-69
- Rawe VY, Brugo Olmedo S, Nodar FN, Vitullo AD. Microtubules and parental genome organisation during abnormal fertilisation in humans. *Zygote* 2002a;10:223-228.

- Rawe V, Terada Y, Nakamura S, Chillik CF, Brugo Olmedo S, Chemes HE. A pathology of the sperm centriole responsible for defective sperm aster formation, syngamy and cleavage. *Hum Reprod* 2002b; 17:2344-2349.
- Rawe VY & Chemes H. Exploring the cytoskeleton during intracytoplasmic sperm injection in humans. *Methods Mol. Biol.* 2009; 518: 189-206.
- Schatten H, Sun QY. The functional significance of centrosomes in mammalian meiosis, fertilization, development, nuclear transfer, and stem cell differentiation. *Environ Mol Mutagen.* 2009a ;50(8):620-36.
- Schatten H, Sun QY. The role of centrosomes in mammalian fertilization and its significance for ICSI. *Mol Hum Reprod.* 2009b Sep;15(9):531-8.
- [Selvapandiyan A](#), [Kumar P](#), [Morris JC](#), [Salisbury JL](#), [Wang CC](#), [Nakhasi HL](#). Centrin1 is required for organelle segregation and cytokinesis in *Trypanosoma brucei*. *Mol Biol Cell.* 2007;18:3290- 3301.
- Tachibana M, Terada Y, Ogonuki N, Ugajin T, Ogura A, Murakami T, Yaegashi N, Okamura K. Functional assessment of centrosomes of spermatozoa and spermatids microinjected into rabbit oocytes. *Mol Reprod Dev.* 2009 Mar;76(3):270-7.
- Terada Y, Hasegawa H, Takahashi A, Ugajin T, Yaegashi N, Okamura K. Successful pregnancy after oocyte activation by a calcium ionophore for a patient with recurrent intracytoplasmic sperm injection failure, with an assessment of oocyte activation and sperm centrosomal function using bovine eggs. *Fertil Steril.* 2009 Mar;91(3):935.e11-4.
- Terada Y, Nakamura S, Simerly C, Hewitson L, Murakami T, Yaegashi N, Okamura K, Schatten G. Centrosomal function assessment in human sperm using heterologous ICSI with rabbit egg ; a new male factor infertility assay. *Mol Reprod Dev* 2004;67:360-365.
- Terada Y, Schatten G, Hasegawa H, Yaegashi N. Essential roles of the sperm centrosome in human fertilization: developing the therapy for fertilization failure due to sperm centrosomal dysfunction. *Tohoku J Exp Med.* 2010;220(4):247-58.
- Terada Y, Simerly CR, Hewitson L, Schatten G. Sperm aster formation and pronuclear decondensation during rabbit fertilization and development of a functional assay for human sperm. *Biol Reprod* 2000;62: 557-563.
- Yoshimoto-Kaka T, Terada Y, Tachibana M, Murakami T, Yaegashi N, Okamura K. Assessing centrosomal function of infertile males using heterologous ICSI. *Syst Biol Reprod Med* 2008;54:135-142.



圖一 精蟲星芒體 (sperm aster) 形成與中心體 (centrosome) 的複製  
 A. 精蟲進入卵子後, B. 中心體中的中心粒複製, 形成成對中心粒, 精蟲星芒體 (sperm aster) 開始形成 C. 精蟲星芒體 (sperm aster) 完成, 紡錘絲開始形成 D. 染色體排列在紡錘絲中央。