

· 综述 ·

PARP-1对精子生成影响的研究进展*

1. 广东医科大学研究生院泌尿外科 (广东 湛江 524000)

2. 佛山市第一人民医院生殖医学中心 (广东 佛山 528000)

李金重¹ 黄永汉²

【关键词】PARP-1; 精子发生; 氧化应激; 基因完整性

【中图分类号】R446.1; R588.1

【文献标识码】A

【基金项目】广东省医学科研基金项目(编号: A2017162)

DOI: 10.3969/j.issn.1009-3257.2020.05.042

男性的生育能力受到多种因素的影响,行为和遗传因素均可以在不同水平上影响精子的形成,其中男性生殖细胞受多种内源性和外源性遗传毒性影响^[1]。内源性包括活性氧和代谢活动中产生的NO等物质,而外源性因素包括各种可能对基因组DNA造成损害的环境因素。这些遗传毒性剂可使DNA单链和双链断裂、碱基缺失、碱基损伤、链间和链内交联以及DNA蛋白质交联,从而可导致DNA的损伤,最终影响精子的生成^[2]。近年来,临床上对男性生殖细胞DNA质量的研究逐渐增加,尤其是在辅助生殖技术(ART)时代^[3]。由于精子问题关于其先天性的异常可能也已被提出,尤其许多评论都谈到精子的存活及好坏起源于DNA的完整性,通过相应技术评估精子DNA的完整性有利于评估ART的结果^[4]。在本文中,我们将讨论PARP家族成员之一PARP-1对精子生成及生殖细胞DNA损伤的影响。

1 PARP-1结构和功能

PARP是由18不同基因编码组成的酶族,他们具有相同的高度保守的催化域序列,主要参与细胞过程中的染色体重塑、调控细胞凋亡、细胞分裂。PARP-1是PARP酶家族的公认成员之一,主要存在于真核生物中。曾有研究报道^[5],PARP-1在染色质结构和转录调控中影响特定信号通路的过程,且有三个主要结构领域:DNA结合片段,其中包含两个锌指基序参与的DNA链断裂识别和核定位信号;中央自动修改域,包括一个BRAC1的羧基端(DNA修复和细胞信号转导)并有Capase-3酶切功能;C端催化域,包括一个富含色氨

酸-甘氨酸-精氨酸域(WGR)、 α 螺旋结构域(HD)和ADP核糖转移酶结构域(ART)。该酶与DNA的修复和维护有关基因组完整性的调控有关,并在转录水平上调节各种蛋白质的表达以及在复制和分化中起着一定的作用。PARP酶是1960年代首次定义的以NAD为底物的蛋白质修饰酶,PAR聚合物对靶蛋白谷氨酸残基有着一定作用^[6]。因此,PARP能使蛋白质形成PAR聚合物分子,而其中PARP-1活性约占PARP总活性的90%^[7]。

2 PARP-1与精子发生

既往多项研究^[8]已在大脑、心脏、肾脏和睾丸等多种组织的细胞核中检测到PARP-1的存在。曾有实验^[9]显示:PARP-1在发育中小鼠生精小管的基底区域具有高水平的表达,但在生精小管的管腔区域几乎没有显示,从此提示了PARP-1在减数分裂过程中逐渐减少,这也解释了为什么PARP-1在精子发生的早期阶段其表达水平会较高。另有研究表明^[10]:在小鼠实验中,在初级精母细胞中观察到的PARP-1浓度最高,随后在精子成熟过程中表达下降,精子中的数量更少。而在最近开展的一项研究中^[11],发现了最强的PARP-1表达在精原细胞中,PAR化最强的是人类的精子和圆形精子以及亚群的精子细胞,相比之下,成熟的精子没有PARP表达或聚(ADP-核糖基)化。这是一项在大鼠生殖细胞中的研究。ADP-核糖和NAD水平从初级精母细胞到次级精母细胞再到较大的精子细胞逐渐下降。PARP-1水平在男性生殖过程和活动中的下降可能与染色质结构的变化有关,同时也可能与精子的发生有关。精子发生时的染色质重塑步骤包括替换鱼精蛋白

的组蛋白和从DNA的超螺旋形式到非超螺旋形式,在这些染色质重塑步骤中DNA链的断裂均可影响生精。

寻找射精精子中PARP的存在一直是临床上的研究重点,但是直到近几年才真正取得成功。在没有发现精液中的凋亡标记物时,人类射精后的精子中是否存在PARP-1也是一个疑问。然而,在后续的最新研究中^[12],在射精后的精子中发现了几种PARP亚型,其中包括PARP-1, PARP-2和PARP-9,而免疫定位表明,PARP主要被发现存在于精子顶体区域附近。此外,精子成熟度与PARP的存在也有直接的联系,即精子越成熟,PARP-1的存在显著增加,而与未成熟精子相比,在成熟精子中PARP-2和PARP-9的数量更多。另外,与PARP-9在可育男性与不育男性之间的差异相比,PARP-1、PARP-2的差异明显更高,由此表明PARP与男性不育之间可能存在关系。且PARP的调节活动可能影响精子氧化和化学损伤的反应。在相关报告中,PARP抑制剂3-氨基苯甲酰胺在化学和氧化应激诱导的细胞凋亡中的表达增加了两倍。这个新颖的发现提示PARP在保护精子免受氧化和化学作用中可能起重要作用。

3 PARP-1和精子DNA

最近精子DNA损伤对不育男性的重要性逐渐受到关注。有实验报告^[13]显示:DNA损伤指数更高可能会导致精液质量更大程度的降低。且有数据证实^[14]:当DNA片段损伤指数超过15%时,进行卵泡浆内单精子注射后,移植失败和流产的发生率显著增加。这些研究表明评估精子质量可能需要分析影响基因组完整性的那些因素,尤其是在非手术取精的精子中。而在不少实验证明中显示^[15]:PARP-1修复DNA损伤后在生殖细胞中仍旧存在一定的活性。辐射和一些可以产生活性氧的环境会引起大鼠体内精原细胞和精母细胞的广泛DNA损伤,而PARP-1抑制剂会导致DNA损坏修复的延迟。精子细胞与初级精母细胞的主要区别是精子只有在遗传毒性的损伤后才显示出可检测的PAR产生。

4 PARP-1在男性生殖中的生物学作用

PARP-1在各类细胞中维持基因组完整性的方面起着至关重要的作用,也许也表明了保证基因的完整性在生殖细胞中也很重要。既往也有报道表明^[12],精子染色质和DNA结构的异常与男性不育有着密切联系。破坏精子基因组的完整性可来源于多方面,比如精子

发生缺陷、细胞凋亡、精子成熟障碍和氧化应激等。精子发生缺陷问题可能包括双链断裂,之后无法解决在减数分裂过程中的交叉,而且精子成熟会涉及染色质重塑步骤,涉及必要的DNA链断裂,都可能会导致精子生成障碍。最后,氧化应激已经对男性不育症的影响进行了广泛的研究,并且鉴于氧化应激条件下PARP-1诱导的细胞凋亡途径的激活等都为PARP-1在男性生育中的作用提供了一定的解释。PARP-1在生殖细胞中的研究大多为动物实验,其对人类男性的生育能力的影响研究尚不详细。但是也有报道证实在人类睾丸和射精后的精子中检测到PARP-1,由此证明PARP-1在男性精子生成过程中起着一定的重要作用。

5 结 论

综上所述,PARP-1在精子生成过程中存在多方面的影响,在可育男性的睾丸组织中PARP-1可显著表达。且PARP-1作为一种重要的DNA修复酶可以通过维持基因组完整性来减少生殖细胞分化过程中出现的失误。同样,PARP-1通过细胞凋亡途径对消除异常生殖细胞也具有重要的意义。总之,在精子的发生过程中,PARP-1可能是深入了解这些修复机制的关键,而PARP-1与精子的生成和维持基因完整性密不可分,故PARP-1表达水平有望成为评估男性生育能力的一个指标,可帮助人们健康地怀孕。

参考文献

- [1]Celik-Ozenci C,Tasatargil A.Role of poly(ADP-ribose) polymerases in male reproduction[J]. Spermatogenesis, 2013,3(2):24194.
- [2]Zhen Y, Yu Y. Proteomic Analysis of the Downstream Signaling Network of PARP1[J]. Biochemistry, 2018, 57(4):429-440.
- [3]Saba S, Pal S S, Mohini C C. 2.45 GHz microwave radiation induced oxidative and nitrosative stress mediated testicular apoptosis: Involvement of a p53 dependent bax-caspase-3 mediated pathway[J]. Environ Toxicol, 2018,14(3):348-350.
- [4]Akarsu S,B ü ke B,G ü rgen SG,et al.Differences in Poly(ADP-ribose) Polymerase1- (PARP1-) and Proliferative Cell Nuclear Antigen (PCNA) Immunoreactivity in Patients Who Experienced Successful and Unsuccessful Microdissection Testicular Sperm Extraction Procedures.[J]. Urol J, 2017,14(5):5018-5022.
- [5]Martin-Hernandez K,Rodriguez-Vargas J-M,Schreiber V,et al. Expanding functions of ADP-ribosylation in the maintenance of genome integrity[J]. Semin Cell Dev Biol.
- [6]Meglio S D,Tramontano F,Cimmino G,et al.Dual role for poly(ADP-ribose) polymerase-1 and -2 and poly(ADP-ribose)glycohydrolase as DNA-repair and pro-apoptotic factors in rat germinal cells exposed to nitric

- oxide donors[J].BBA-MOL CELL RES,2004,1692(1):35-44.
- [7]Maymon B S,Cohen-Armon M,Yavetz H,et al.Role of poly(ADP-ribosyl)ation during human spermatogenesis[J]. Fertil Steril,2006,86(5):0-1407.
- [8]Agarwal A,Mahfouz R Z,Sharma R K,et al.Potential biological role of poly (ADP-ribose) polymerase (PARP) in male gametes[J].Reprod Biol Endocrinol,2009,7(1):143.
- [9]Ke Y,Zhang J,Lv X,et al.Novel insights into PARPs in gene expression: regulation of RNA metabolism[J]. Cell Mol Life Sci,2019,76(1):1-17.
- [10]Julita P, Spickett C M, Tomasz P, et al. PARP1 promoter links cell cycle progression with adaptation to oxidative environment[J].Redox Biol, 2018, 18:1-5.
- [11]Heged S C,Vir á g,L á szl ó .Inputs and outputs of poly(ADP-ribosyl)ation: Relevance to oxidative stress[J]. Redox Biol, 2014, 2:978-982.
- [12]Visochek L, Grigoryan G, Kalal A, et al. A PARP1-ERK2 synergism is required for the induction of LTP[J]. Scientific Reports, 2016, 6(1):24950.
- [13]Dewar G, Marsh E J. The Comings and Goings of Sheep and Pottery in the Coastal Desert of Namaqualand, South Africa[J]. The Journal of Island and Coastal Archaeology, 2018, 20(181):1-29.
- [14]Bock F J, Chang P. New directions in poly(ADP-ribose) polymerase biology[J]. The FEBS Journal,2016,283(22):4017-4031.
- [15]De K I,Pines A, Luijsterburg M S, et al. PARP1 Links CHD2-Mediated Chromatin Expansion and H3.3 Deposition to DNA Repair by Non-homologous End-Joining[J]. Mol Cell, 2016, 61(4):547-562.