

DHEA 对小鼠超排卵和卵母细胞质量的影响*

何岩 于洋 董婉维 周生来 王惟 杨葳 郑志红

(中国医科大学实验动物部, 沈阳 110000)

摘要:目的 研究脱氢表雄酮(DHEA)对 C57BL/6J 雌鼠超排卵效果和卵母细胞质量的影响及其机制。方法 3 周龄 C57BL/6J 雌鼠 30 只随机分为 3 组, 分别为对照组、低剂量处理组(2 mg/kg·d⁻¹)和高剂量处理组(5 mg/kg·d⁻¹)。用 DHEA 灌胃 1 周, 再经超排卵后分别进行体外受精和收集卵丘细胞。提取卵丘细胞 RNA 进行 qRT-PCR 检测与胚胎质量相关基因 *Grem1*、*Has2*、*Ptgs1*、*Ptgs2* 和 *Vcan* 的 mRNA 水平以及凋亡相关基因 *Caspase3* 和 *Bcl2l10* 的 mRNA 水平。结果 经过 DHEA 处理的雌鼠超排卵后, 体外受精(IVF)显示实验组异型卵比例下降。实验组卵丘细胞中与胚胎质量相关基因 *Has2*、*Ptgs1* 和 *Vcan* 转录水平与对照组相比上调, 而 *Grem1* 和 *Ptgs2* 的 mRNA 水平下调。*Caspase3* 的 mRNA 水平下调, *Bcl2l10* 的 mRNA 水平上调。结论 经过 DHEA 处理后可以通过抑制卵丘细胞凋亡, 提高卵母细胞的质量。

关键词:脱氢表雄酮; 卵母细胞质量; 超排卵

中图分类号: Q956 文献标识码: A 文章编号: 1006-6179(2019)04-0022-06

DOI: 10.3969/j.issn.1006-6179.2019.04.006

脱氢表雄酮(DHEA)及其硫酸盐(DHEAS)是一种 C19 类固醇激素, 由肾上腺与性腺(睾丸和卵巢)分泌, 是外周血睾酮和雌二醇的前体^[1]。DHEA 在体内大部分以硫酸盐的形式存在, 并对生殖系统有重要的作用。已有研究证明, DHEA 可以显著改善临床妊娠率^[2], 出生率, 子宫内膜的厚度和恢复卵巢功能^[3]。对于卵巢功能减退(diminished ovarian reserve, DOR)的患者, 体外补充 DHEA 可以改善体外受精的效果。有研究人员比较 DOR 患者使用 DHEA 治疗前后, 试管婴儿的胚胎数和分级显著升高^[4]。因此, DHEA 可以提高怀孕率, 降低流产率^[3]。此外, 对于生理性或者病理性卵巢功能减弱的女性, 体外补充 DHEA 可以恢复卵巢功能^[4]。用 4-乙烯基环己烯二氧化二甲苯诱导大鼠的 DOR 模型中, 经过 DHEA 处理后, 卵巢组织中闭锁卵泡的数量明显减少^[5]。在绵羊的 DOR 模型中, DHEA 可能通过调节 AMH 的表达促进卵泡的发育^[6]。但是 DHEA 作用机制仍不清楚, 基于 DHEA 可以减少闭锁卵泡的数量, 恢复卵巢功能, 那么它是否可以作为一种辅助用药提升超排卵的效果, 目前尚无报道。

由于使用激素进行超排卵本身对于卵母细胞的质量有不良影响^[7], 本研究旨在以 C57BL/6J 雌鼠为研究对象, 探索 DHEA 是否能够提高 C57BL/6J 雌鼠的超排卵效果以及卵母细胞的质量, 以进一步探讨 DHEA 改善超排卵的机制。

卵母细胞的质量直接影响后续的实验效率以及实验结果, 过去对于卵母细胞的质量评价多通过形态学的方法, 现在越来越多的研究认为, 卵丘细胞可以作为一项指标来评价卵母细胞甚至是胚胎的质量。卵丘细胞是颗粒细胞包围卵母细胞形成的, 累积卵母细胞周围形成卵丘复合体(COC), 其在卵泡发育中起到促进卵母细胞发育和成熟的作用。卵丘复合物与卵母细胞通过特殊的连接间隙, 进行双向的传递信号。若除去卵丘复合物与卵母细胞之间的连接, 会导致卵母细胞质量降低, 胚胎发育不良, 妊娠失败^[8]。因此, 可以通过鉴定卵丘细胞中某些基因的表达来评价卵母细胞的质量和体外受精的结果。许多相关研究报道, 卵丘细胞中 *Grem1*、*Has2*、*Ptgs1*、*Ptgs2* 和 *Vcan* 等基因的表达标志着卵母细胞的成熟能力^[9]、胚胎质量及发育、妊娠的结果和活

收稿日期: 2019-01-11

* 基金项目: 辽宁省教育厅重点实验室项目(No.LS201616)

作者简介: 何岩(1988—), 女, 助理实验师, 研究方向: 生殖学. E-mail: 814056800@qq.com

通信作者: 杨葳(1980—), 女, 讲师, 研究方向: 实验动物转基因与基因敲除研究. E-mail: yangwei5255@sina.com

产率的高低^[10]。本研究试图用 DHEA 处理 C57BL/6J 雌鼠,然后诱导超排卵,检测 DHEA 作用后超排卵效果以及卵丘细胞中标志卵母细胞质量的基因表达水平,从而鉴定卵母细胞质量,并初步探索 DHEA 的作用机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物:近交系 3 周龄 C57BL/6J 雌鼠 30 只,雄鼠 5 只,所有 SPF 级小鼠均购自北京维通利华实验动物技术有限公司,合格证号 SCXK(京)2016-0006。所有实验小鼠均饲养于中国医科大学实验动物部 SPF 级动物房,饲养条件:温度控制在(22±3)℃,自动光控(12 h/12 h)。

1.1.2 试剂:孕马血清促性腺激素(PMSG,C151214,宁波市激素制品有限公司),绒毛膜促性腺激素(HCG,S160113,宁波市激素制品有限公司),M16 培养液、HTF 培养液、KMSO 培养液、矿物油和透明质酸酶(Sigma 美国),单细胞 RNA 提取试剂盒(sigma 美国)。

1.1.3 仪器设备:体视显微镜(OLYMPUS 日本),胚胎移植管(自制),热台(OLYMPUS 日本),常规手术器械(瑞沃德 中国),电子天平(梅特勒 美国),发光仪 Roche LightCycler® 96(Roche 瑞士),电热恒温培养箱(Eppendorf 德国)。

1.2 方法

1.2.1 超排与取卵:C57BL/6J 雌鼠 30 只,腹腔注射 PMSG 5 IU/只,间隔 48 h 后再次腹腔注射相同剂量的 HCG,于腹腔注射 HCG 15 h 后取卵,动物经颈椎脱位法处死,取出壶腹膨大部显微镜下取卵。将每组的 10 只随机选取 5 只进行体外受精,另 5 只进行卵丘细胞的分离收集。

1.2.2 体外受精:按 Nakagata^[11]的方法,取 3 月龄的 C57BL/6J 雄鼠 2 只,颈椎脱位法处死,分别取其附睾尾,沿与曲细精管垂直方向剪口,用灭菌的解剖针从附睾尾部挑取一滴浓密的精液,放入已预培养的 HTF 培养液中,于 CO₂ 培养箱 37 ℃ 条件下进行培养获能 1.5 h,并以血球计数板计数该精子悬浊液的浓度。将适量获能后的精子分别放入含未受精卵的培养液中,使其精子终浓度为 200 个/μL,然后放入 CO₂ 培养箱中受精 6 h。体外受精 6 h 后在实体显微镜下观察受精情况,将有二极体和双原核的卵判定为受精卵。计算受精率,次日纪录 2 细胞胚胎数、未受精卵数、异常卵数和卵总数,统计受精率和异常卵比例。

1.2.3 Real-time PCR:检测卵丘细胞中基因转录水平:通过 1.2.1 中的方法超排卵,经过透明质酸酶消化分离卵丘细胞和卵母细胞,收集卵丘细胞,按单细胞 RNA 提取试剂盒说明书步骤提取卵丘细胞总 RNA,采用 TAKARA 反转录试剂盒进行反转录,应用 Roche LightCycler® 96 进行 Real-time PCR(SYBR Green 荧光染料购自 TAKARA 公司)。表 1 为 qRT-PCR 引物序列。目的基因和内参基因 β -actin 分别在同一批次的 96 孔板上、不同的 PCR 管中扩增。PCR 总反应体系为 20 μL,上、下游引物各 1 μL,1:100 稀释后的 cDNA 模版 1 μL,ddH₂O 7 μL,SYBR 10 μL。95 ℃ 预变性 30 s 后,再进行如下 40 个循环:95 ℃ 5 s,60 ℃ 30 s。每一份标本进行复管检测。得到各管标本的扩增曲线和目的序列的 Ct 值,以及检测该管标本内参基因 β -actin 的 Ct 值,计算各管标本的待测序列的 $\Delta\Delta$ Ct 值[$\Delta\Delta$ Ct=(待测目的基因 Ct 值-待测组内基因 Ct 值)-(对照组目的基因 Ct 值-对照组内参基因 Ct 值)],则该基因的 mRNA 相对表达为 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 。

表 1 qRT-PCR 引物序列 5'-3'
Table 1 qRT-PCR primer sequence 5'-3'

Gene symbol	Forward primer	Reversed primer	Amplicon length
<i>Grem1</i>	GAAAGGTTCCCAAGGAGCCA	TCGCTTCAGATACTTGCGCT	196 bp
<i>Has2</i>	TCAGCGAAGTTATGGGCAGG	GATGAGGCAGGGTCAAGCAT	265 bp
<i>Vcan</i>	AGCCACCTGTTTAAAGGCTC	CCACCAAGACAGTCGTCTCC	172 bp
<i>Ptgs1</i>	AGTCTCTCGCTCTGTTTCC	TAGCCCGTGCGAGTACAATC	185 bp
<i>Ptgs2</i>	GGGACTCTGGAACATTGTGAA	GCACATTGTAAGTAGGTGGACTGT	110 bp
<i>Bcl2l10</i>	AGTGACCCGAGACTGCT	AGAAGCCGAGCGGTAAA	140 bp
<i>Caspase3</i>	AGCTTCTTCAGAGGCGACT	GGACACAATACACGGGATCT	381 bp
<i>β-actin</i>	GATGGTGGGAATGGGTCAGA	TCCATGTCGTCCCAGTTGGT	120 bp

1.3 统计方法

采用 SPSS 19.0 统计软件包进行统计分析,采用独立样本 *t* 检验和卡方 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 超排卵和受精情况

3 周龄 C57BL/6J 雌鼠经过低剂量 (2 mg/kg·

d⁻¹) 和高剂量 (5 mg/kg·d⁻¹) DHEA 灌胃一周,经激素超排卵后,表 2 统计结果显示,总卵数:低剂量处理组与高剂量处理组排卵数量与对照组比较略升高。异形卵数及比率:实验组与对照组相比明显降低,差异有统计学意义, $P<0.05$ 。受精率:实验组与对照组比较没有明显差异。说明 DHEA 可以显著降低经过激素超排卵后异形卵比例,但对于超排卵总数量和受精率影响不大。

表 2 超排卵后卵母细胞形态以及受精率的变化

Table 2 Changes of oocyte morphology and fertilization rate after superovulation						
组别 Group (每组 <i>n</i> = 5)	2-cell 数/枚 No. of 2-cell embryos	未受精卵数/枚 No. of unfertilized oocytes	异常卵数/枚 No. of abnormal oocytes	总卵数/枚 Total number of oocytes	受精率/% Fertiliza-tion rate/%	异形卵比率/% abnormal oocytes rate/%
对照组	132	9	12	153	86.27	7.84
低剂量组	136	13	7	156	87.17	4.48 *
高剂量组	142	18	5	164	86.58	3.05 *

注:受精率=2-cell 数/总卵数,异常卵比率=异常卵数/总卵数.* $P<0.05$
Note:Fertilization rate=No. of 2-cell embryos / total number of oocytes, abnormal oocytes rate=No. of abnormal oocytes / Total number of oocytes.
* $P<0.05$

2.2 卵丘细胞中胚胎质量相关基因转录水平

图 1 中卵丘细胞中 mRNA 表达水平显示,DHEA 处理组 *Grem1* 表达水平与对照组相比降低,且高剂量组比低剂量组降低的倍数更大。DHEA 对于 *Ptgs2* 的 mRNA 水平与其对 *Grem1* 的表达水平有

相似的结果,即实验组 mRNA 水平比对照组降低。而另外的胚胎质量相关标记物 *Has2*、*Vcan* 和 *Ptgs1* 的 mRNA 水平如图 2 显示,实验组与对照组比较显著上调。*Has2* 上调最明显。以上差异均有统计学意义。

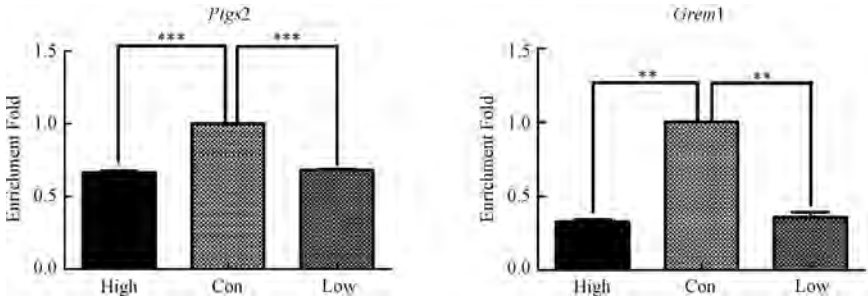


图 1 卵丘细胞中胚胎质量相关基因下调基因表达情况

注:横坐标中,High:高剂量处理组;Low:低剂量处理组;Con:对照组
纵坐标表示基因 mRNA 表达水平的倍数.** $P<0.01$,*** $P<0.001$

Fig.1 Downregulation of genes related to embryo quality in cumulus cells

Note:In abscissa, High: high dose group; Low: low dose group; Con: control group. Longitudinal coordinates represent multiple levels of gene expression. ** $P<0.01$, *** $P<0.001$

2.3 卵丘细胞中凋亡相关基因转录水平

图 3 中卵丘细胞中凋亡相关基因 *Caspase3* 表达水平显示,DHEA 处理组与对照组相比显著下调,高剂量组下调倍数比低剂量组更明显,即低剂量组下

调 0.8 倍,高剂量组下调 0.3 倍。*Bcl2*/10 的 mRNA 表达水平显示,实验组 mRNA 表达水平高于对照组。以上差异均有统计学意义。

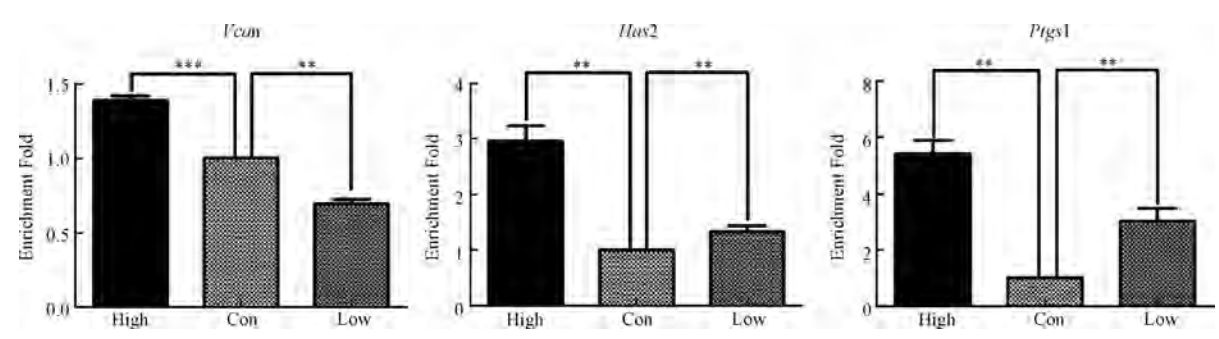


图 2 卵丘细胞中胚胎质量基因表达上调基因表达情况

注:横坐标中,High:高剂量处理组;Low:低剂量处理组;Con:对照组。纵坐标表示基因 mRNA 表达水平的倍数。** $P<0.01$, *** $P<0.001$

Fig.2 Upregulation of genes related to embryo quality in cumulus cells

Note:In abscissa, High: high dose group; Low: low dose group; Con: control group. Longitudinal coordinates represent multiple levels of gene expression. ** $P<0.01$, *** $P<0.001$

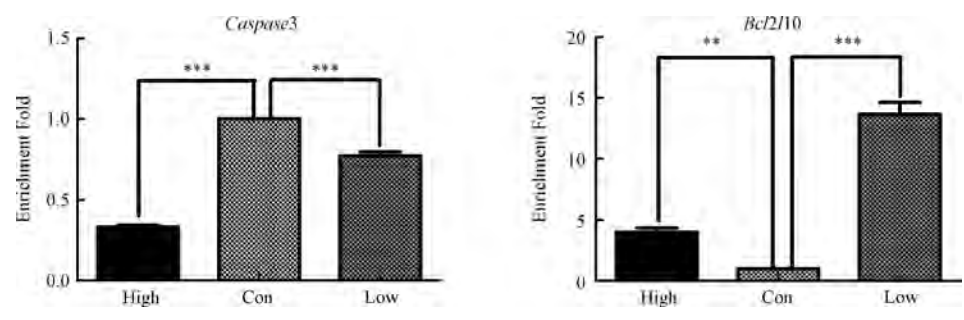


图 3 卵丘细胞中凋亡相关基因表达情况

注:横坐标中,High:高剂量处理组;Low:低剂量处理组;Con:对照组。纵坐标表示基因 mRNA 表达水平的倍数。** $P<0.01$, *** $P<0.001$

Fig.3 Expression of apoptosis-related genes in cumulus cells

Note:In abscissa, High: high dose group; Low: low dose group; Con: control group. Longitudinal coordinates represent multiple levels of gene expression. ** $P<0.01$, *** $P<0.001$

3 讨论

Has2 是透明质酸合成酶,是卵丘细胞扩张的重要因素,能够促进卵母细胞成熟和排卵^[12]。*Ptgs1*、*Ptgs2* 是前列腺素内过氧化物合酶 1 和 2,二者在排卵反应中参与细胞外基质的形成与信号传导,其表达水平的高低预示着卵母细胞的质量。*Vcan* 是多功能蛋白聚糖,是经过排卵刺激后产生的蛋白多糖,其 N' 端可以与蛋白质功能结构域结合,C' 端与 ERF 受体、整合素等细胞表面蛋白相互作用。其表达在卵母细胞成熟、排卵和受精过程中起重要作用^[13]。*Grem1* 基因编码的蛋白属于分泌性蛋白,且具有高度保守性,是骨形态形成蛋白(BMP)拮抗剂家族成员,在胚胎发育的早期表达量高,并发挥重要作用^[14]。有研究报道颗粒细胞中 *Has2*、*Ptgs1*、*Ptgs2* 以及 *Vcan* 的转录水平与卵丘的扩增有关,其表达水

平越高卵母细胞的质量越好^[15]。

本研究发现,C57BL/6J 雌鼠经过 DHEA 灌胃一周,超排卵后,与对照组相比,排卵数量没有明显提升,但是异常卵比率明显下降。DHEA 可以提高颗粒细胞中 *Has2*、*Ptgs1* 和 *Vcan* 基因的转录水平,优化了卵母细胞的质量。因此,DHEA 可以作为一种辅助用药促进 C57BL/6J 青春期前雌鼠的超排卵质量。本研究中用 DHEA 处理后,卵丘细胞中 *Ptgs1* 的转录水平上调而 *Ptgs2* 的转录水平下调,这可能与 *Ptgs1* 与 *Ptgs2* 出现表达的时间有关,*Ptgs1* 的表达出现在超排卵后的 12 h,相当于排出第一级体后开始表达,而 *Ptgs2* 的表达出现较早,发生在超排卵后 4~8 h,排卵后表达随之降低。两种同源基因表达存在时空差可能是 *Ptgs1* 与 *Ptgs2* 存在功能互补的原因^[13]。*Grem1* 也是较多研究者认为可以标志着卵母细胞和胚胎质量的基因^[15],但是 Myers 等人报道了 *Grem1* 在原始卵泡形成前起到重要的作用,

出生后 *Grem1* 的表达并不能代表胚胎质量和受精能力,本研究中 DHEA 使 *Grem1* 下调的机制可能是由于 *Grem1* 是 BMP4 信号通路的拮抗剂,应用 DHEA 处理时,激活 BMP4 信号通路,因此降低了 *Grem1* 的表达^[14]。综上,DHEA 可以优化青春期前卵母细胞的质量,DHEA 对于成年 C57BL/6J 小鼠的作用效果还有待于进一步研究。

对于 DHEA 作用机制的研究,一方面的关注 DHEA 对相关激素的调节,例如 DHEA 可以通过增强抗缪勒管激素 (AMH)、抑制素 B,增加有腔卵泡的数量,改善 DOR 患者的卵巢功能^[16]。但是也有研究者发现 DHEA 对于血清 AMH 和 FSH 并没有明显改变^[17]。另一方面,DHEA 可能通过增加对胰岛素样生长因子-1 (insulin-like growth factor-1, IGF-1) 的表达从而增加卵巢的反应性^[18]。此外,雌鼠缺乏雄激素受体 (AR) 表现出较长的发情周期和较低的生育能力^[19],因此有研究报道 DHEA 可通过诱导颗粒细胞中雄激素受体 (AR) 和 FSH 受体的表达增加,恢复卵巢的功能^[20]。但是,也有文献报道,DHEA 可以增加 DOR 患者 AR 的表达,但并没有增加 FSH 受体的表达,相反 DHEA 可以降低 DOR 患者中高表达的 FSH 受体水平,表明 DHEA 调节 FSH 受体的机制可能存在其他方式^[21]。近年还有研究报道,对于卵巢反应性低下的女性,DHEA 可以通过减少其卵丘细胞的凋亡,增加线粒体的功能,提高卵母细胞的质量和体外受精的结果^[22]。在本研究用 DHEA 处理 C57BL/6J 小鼠并超排卵后,卵丘细胞中凋亡相关基因 *Bcl2l10* 与对照组相比表达上调,*Caspase3* 表达与对照组相比表达下调,与 Lin 等人的研究结果一致。本研究发现 DHEA 可以提高卵母细胞的质量,降低经过激素超排卵后异形卵的比例,并对 DHEA 影响卵丘细胞发育的机制做了初步探索,为后续 DHEA 的功能研究提供基础理论。

参考文献

- [1] Burger H G. Androgen production in women [J]. Fertil Steril, 2002, **77**(Suppl 4):S3-S5.
- [2] Kara M, Aydin T, Aran T, *et al.* Does dehydroepiandrosterone supplementation really affect IVF-ICSI outcome in women with poor ovarian reserve? [J]. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 2014, **173**:63-65.
- [3] Wiser A, Gonen O, Ghetler Y, *et al.* Addition of dehydroepiandrosterone (DHEA) for poor-responder patients before and during IVF treatment improves the pregnancy rate; a randomized prospective study[J]. Hum Reprod, 2010, **25**(10): 2496-2500.
- [4] Barad D, Gleicher N. Effect of dehydroepiandrosterone on oocyte and embryo yields, embryo grade and cell number in IVF [J]. Hum Reprod, 2006, **21**(1): 2845-2849.
- [5] Hassa H, Aydin Y, Ozatik O, *et al.* Effects of dehydroepiandrosterone (DHEA) on follicular dynamics in a diminished ovarian reserve in vivo model [J]. Syst Biol Reprod Med, 2015, **61**(3):117-121.
- [6] Narkwichean A, Jayaprakasan K, Maalouf W E, *et al.* Effects of dehydroepiandrosterone on in vivo ovine follicular development [J]. Hum Reprod, 2014, **29**(1):146-154.
- [7] Lee M, Ahn J I, Lee A R, *et al.* Adverse Effect of Superovulation Treatment on Maturation, Function and Ultrastructural Integrity of Murine Oocytes [J]. Mol Cells, 2017, **40**(8):558-566.
- [8] Barrett S L, Albertini D F. Cumulus cell contact during oocyte maturation in mice regulates meiotic spindle positioning, enhances developmental competence [J]. J Assist Reprod Genet, 2010, **27**(1):29-39.
- [9] Shepel E A, Voznesenskaya T Y, Blashkiv T V, *et al.* Cumulus Cell Genes As Potential Biomarkers of Oocyte and Embryo Developmental Competence [J]. Fiziol Zh, 2016, **62**(1): 107-113.
- [10] Wathlet S, Adriaenssens T, Segers I, *et al.* New candidate genes to predict pregnancy outcome in single embryo transfer cycles when using cumulus cell gene expression [J]. Fertil Steril, 2012, **98**(2):432.e4-439.e4.
- [11] Nakagata N. Production of normal young following transfer of mouse embryos obtained by in vitro fertilization between cryopreserved gametes [J]. J Reprod Fertil, 1993, **99**(1): 77-80.
- [12] Ezzati M, Roshangar L, Soleimani Rad J, *et al.* Evaluating The Effect of Melatonin on HAS2, and PGR Expression, as Well as Cumulus Expansion, and Fertility Potential in Mice [J]. Cell Journa, 2018, **20**(1):108-112.
- [13] Adriaenssens T, Segers I, Wathlet S, *et al.* cumulus cell gene expression profile of oocytes with different nuclear maturity and potential for blastocyst formation [J]. Assist Reprod Genet, 2011, **28**(1):31-40.
- [14] Myers M, Tripurani S K, Middlebrook B, *et al.* Loss of Gremlin Delays Primordial Follicle Assembly but Does Not Affect Female Fertility in Mice [J]. Biology OF Reproduction, 2011, **85**(6): 1175-1182.
- [15] Wigglesworth K, Lee K B, Emori C, *et al.* Transcriptomic Diversification of Developing Cumulus and Mural Granulosa Cells in Mouse Ovarian Follicles [J]. Biology of Reproduction, 2015, **92**(1):23, 1-14.
- [16] Zhang H H, Xu P Y, Wu J, *et al.* Dehydroepiandrosterone improves follicular fluid bone morphogenetic protein-15 and accumulated embryo score of infertility patients with diminished

- ovarian reserve undergoing in vitro fertilization: a randomized controlled trial[J]. *Journal of Ovarian Research*, 2014, **7**:93.
- [17] Yeung T W, Chai J, Li R H, *et al.* A randomized, controlled, pilot trial on the effect of dehydroepiandrosterone on ovarian response markers, ovarian response, and in vitro fertilization outcomes in poor responders[J]. *Fertil Steril*, 2014, **102**(1): 108-15e101.
- [18] Sudo N, Shimizu T, Kawashima C, *et al.* Insulin-like growth factor-I(IGF-I) system during follicle development in the bovine ovary: relationship among IGF-I, type 1 IGF receptor (IGFR-1) and pregnancy-associated plasma protein-A (PAPP-A)[J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2007, **264**(1-2):197-203.
- [19] Sen A, Hammes R. Granulosa cell-specific androgen receptors are critical regulators of ovarian development and function[J]. *Mol Endocrinol*, 2010, **24**(7):1393-1403.
- [20] Hu Q, Hong L, Nie M, *et al.* The effect of dehydroepiandrosterone supplementation on ovarian response is associated with androgen receptor in diminished ovarian reserve women[J]. *J Ovarian Res*, 2017, **10**(1): 32.
- [21] Lin X F, Du J, Du Y, *et al.* Effects of dehydroepiandrosterone supplementation on mice with diminished ovarian Reserve[J]. *Gynecological Endocrinology*, 2018, **34**(4):357-359.
- [22] Lin L T, Wang P H, Wen Z H, *et al.* The Application of Dehydroepiandrosterone on Improving Mitochondrial Function and Reducing Apoptosis of Cumulus Cells in Poor Ovarian Responders[J]. *Int J Med Sci*, 2017, **14**(6):585-594.

Effects of DHEA on Superovulation and Oocyte Quality of C57BL/6J Mice.

HE Yan, YU Yang, DONG Wanwei, ZHOU Shenglai, WANG Wei, YANG Wei, ZHENG Zhihong

(*Department of Laboratory Animal Science, China Medical University, Shenyang 110000, China*)

Abstract: Objective To investigate the effect and mechanism of DHEA on the quality of oocytes of C57BL/6J mice after superovulation. **Method** Thirty C57BL/6J mice at the age of 3 weeks were randomly divided into 3 groups, which were control group, low dose group ($2 \text{ mg/kg} \cdot \text{d}^{-1}$) and high dose group ($5 \text{ mg/kg} \cdot \text{d}^{-1}$), respectively. DHEA was administered via the gastrointestinal tract for one week. Oocytes were collected after superovulation and underwent IVF. qRT-PCR was used to detect gene expression of *Grem1*, *Has2*, *Ptgs1*, *Ptgs2* and *Vcan*, the makers of cumulus cells collected after superovulation. Gene expression of *Caspase3* and *Bcl2l10* were also detected by qRT-PCR. **Result** After DHEA treated, IVF showed that the proportion of heterotypic eggs decreased in the experimental group. The transcription levels of *Has2*, *Ptgs1* and *Vcan* in cumulus cells of experimental group were up-regulated compared with those of control group, while the mRNA levels of *Germ1* and *Ptgs2* were down-regulated. The mRNA level of *Caspase3* was down regulated and the *Bcl2l10* mRNA level was unregulated. **Conclusion** After DHEA treatment, the apoptosis of cumulus cells can be inhibited, and the quality of oocytes can be improved.

Key words: DHEA; Quality of oocytes; Superovulation