

非同步胚胎移植对子宫着床窗口开放的影响

王同松

指导教师
杨增明
教授

厦门大学

学校编码: 10384

分类号_____密级_____

学 号: 21720081152595

UDC_____

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

非同步胚胎移植 对子宫着床窗口开放的影响

Effects of Asynchronous Embryo Transfer on Uterine Implantation Window

王 同 松

指导教师姓名: 杨 增 明 教 授

专 业 名 称: 细 胞 生 物 学

论文提交日期: 2 0 1 1 年 4 月

论文答辩时间: 2 0 1 1 年 月

学位授予日期: 2 0 1 1 年 月

答辩委员会主席: _____

评 阅 人: _____

2011 年 月

厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下，独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果，均在文中以适当方式明确标明，并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范（试行）》。

另外，该学位论文为（ ）课题（组）的研究成果，获得（ ）课题（组）经费或实验室的资助，在（ ）实验室完成。（请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称，未有此项声明内容的，可以不作特别声明。）

声明人（签名）：

年 月 日

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

1. 经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，
于 年 月 日解密，解密后适用上述授权。

2. 不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

年 月 日

目 录

摘 要	I
Abstract.....	II
1.前言	1
1.1. 胚胎着床与子宫蜕膜化的研究进展	1
1.2. 胚胎着床及其分子调控的研究进展	3
1.2.1. 类固醇激素.....	3
1.2.2. 与着床相关的其它分子.....	5
1.3. 胚胎移植	10
1.4. 非同步胚胎移植	11
1.5. 胚胎的分泌作用	12
1.6. 本研究的目的是与意义	12
2.材料与amp;方法	14
2.1. 实验动物	14
2.2. 胚胎移植	14
2.2.1. 供体胚胎的获取.....	14
2.2.2. 受体鼠的准备.....	14
2.2.3. 胚胎移植.....	14
2.2.4. 胚胎迁移速度的观察.....	15
2.3. 移植胚胎着床检测及取材	15
2.4. 免疫组织化学 Cox-2 检测.....	16
2.5. 原位杂交	16
2.5.1. 探针引物设计.....	16
2.5.2. 总 RNA 的提取	17
2.5.3. DNA 消化.....	18
2.5.4. 反转录.....	18
2.5.5. PCR 扩增.....	19
2.5.6. 扩增产物的回收.....	20

2.5.7.	产物与载体连接.....	20
2.5.8.	感受态细胞的制备.....	21
2.5.9.	连接产物的转化及鉴定.....	21
2.5.10.	阳性克隆质粒的回收及 PCR 扩增.....	22
2.5.11.	地高辛标记探针.....	22
2.5.12.	冰冻切片的制备.....	23
2.5.13.	原位杂交相关试剂的配制.....	23
2.5.14.	原位杂交的操作流程.....	24
3.	实验结果	26
3.1.	非同步发育的胚胎移植后的着床情况	26
3.2.	非同步移植中胚泡和受精卵的迁移速度	28
3.3.	COX-2 免疫染色	31
3.4.	原位杂交结果	32
3.4.1.	Cox-2.....	32
3.4.2.	Areg.....	33
3.4.3.	Msx-1	35
4.	讨论	38
4.1.	非同步移植后胚胎在子宫中的分布	38
4.2.	非同步胚胎移植后着床位点的 COX-2 表达	39
4.3.	非同步胚胎移植后胚胎着床位点的 AREG 表达.....	40
4.4.	非同步胚胎移植后 MSX-1 的表达	40
4.5.	非同步胚胎移植后胚胎的不同步着床	41
5.	结论	43
	参考文献	44
	致 谢	59

CONTENTS

Abstract in Chinese	I
Abstract in English	II
1.Introduction	1
1.1. Recent progress on implantation and decidualization	1
1.2. Molecular regulation of implantation	3
1.2.1. Steroid hormones	3
1.2.2. Implantation-related molecules	5
1.3. Embryo transfer	10
1.4. Asynchronous embryo transfer	11
1.5. Secretory activity of embryo	12
1.6. Aim and significance of this study	12
2.Materials and methods	14
2.1. Experimental animals	14
2.2. Embryo transfer	14
2.2.1. Embryo donor	14
2.2.2. Recipient mouse.....	14
2.2.3. Embryo transfer	14
2.2.4. Migration speed of embryo	15
2.3. Examination of implantation and sample collections	15
2.4. Cox-2 immunohistochemistry	16
2.5. In situ hybridization	16
2.5.1. Primer design	16
2.5.2. Extraction of total RNAs	17
2.5.3. DNA digestion	18
2.5.4. Reverse transcription	18
2.5.5. PCR.....	19
2.5.6. Collection and ligation of PCR products	20
2.5.7. Ligation of PCR product and plasmids.....	20

2.5.8.	Preparation of competent cells.....	21
2.5.9.	Transformation and verification.....	21
2.5.10.	Confirmation of positive cloning plasmid and PCR.....	22
2.5.11.	Probe labeling with Digoxigenin.....	22
2.5.12.	Preparation of frozen sections.....	23
2.5.13.	Reagents and solutions.....	23
2.5.14.	Protocol of in situ hybridization.....	24
3.	Results.....	26
3.1.	The implantation after asynchronous transfer.....	26
3.2.	Migration speed of zygotes and blastocysts after transfer.....	28
3.3.	Cox-2 protein expression.....	31
3.4.	Result of in situ hybridization.....	32
3.4.1.	Cox-2.....	32
3.4.2.	Areg.....	33
3.4.3.	Msx-1.....	35
4.	Discussion.....	38
4.1.	Uterine distribution of embryo after asynchronous transfer.....	38
4.2.	Cox-2 expression after asynchronous transfer.....	39
4.3.	Areg expression after asynchronous transfer.....	40
4.4.	Msx-1 expression after asynchronous transfer.....	40
4.5.	Asynchronous implantation after asynchronous transfer.....	41
5.	Conclusion.....	43
	References.....	44
	Acknowledgments.....	59

摘 要

胚胎着床是指处于活化状态的胚泡与处于接受态的子宫相互作用,最后导致胚胎滋养层与处于接受态的子宫内膜建立紧密联系的过程。胚胎着床是哺乳动物生殖过程中妊娠建立与维持的重要环节。胚胎能否着床依赖于胚胎和母体子宫之间的相互协调,它既要求具有活性的胚泡,同时又要求处于“接受态”子宫内膜。在之前胚胎着床的研究中,对于非同步移植引起的着床窗口的开放时间改变以及这个过程中涉及的分子表达还没有系统的论述。

为了阐明在非同步移植过程中不同时期的胚胎对子宫着床窗口开放的影响,我们将受精卵和胚泡分别移植到假孕第 1 天受体小鼠的两侧输卵管中,并在移植后第 4 天上午 8:00、中午 12:00、下午 16:00,以及第 5 天上午 8:00 经尾静脉注射 1%芝加哥蓝后处死受体小鼠,通过剖检以确定胚胎着床情况,并对着床位点的切片进行免疫组织化学染色和原位杂交,以阐明着床相关分子的表达,并解释胚胎对子宫的影响。我们的研究表明:(1)不同步移植的胚胎均可着床;(2)第 5 天上午观察,着床胚胎在形态差异较大,从粘附期的胚泡到卵柱期的胚胎都有存在;(3)Msx-1、Cox-2 及 Areg 等着床相关分子在非同步移植的胚胎周围表达情况不同。我们的结果表明,着床时超前发育的胚胎可以诱导子宫着床窗口的提前开放,相应的着床相关分子表达也会有所提前。

关键词: 非同步移植; 子宫; 胚胎

Abstract

Embryo implantation refers to the interaction of activated blastocysts with the receptive uterus and leads to eventually a close contact between embryo trophoblast and receptive endometrium. Blastocyst implantation is a key step for successful establishment of pregnancy during mammalian reproduction. Successful implantation is dependent upon the interaction between the blastocyst and the uterus. The most fundamental feature of this process is the synchronized development of the embryo to the blastocyst stage and differentiation of the uterus to the receptive state. The expression of implantation-related molecules has not been examined after asynchronous embryo transfer.

To investigate effects of embryos of different periods on uterine implantation window during asynchronous transplantation, zygotes and blastocysts were transferred into the oviducts of the recipients on day 1 of pseudopregnancy, respectively. Embryo implantation was examined at 8:00, 12:00 and 16:00 on day 4, and at 8:00 on day 5 by intravenous injection of Chicago blue dye. The expression of Msx-1, Cox-2 and Areg at implantation sites was examined by immunohistochemistry and in situ hybridization. Our results showed that the embryos asynchronously transferred could implant in all groups. On day 5 post transfer, the morphology of implanted embryos was different between each group, ranging from attached blastocysts to egg cylinder. The immunostaining of Msx-1, Cox-2 and Areg was also different in each group. These results suggest that the embryos transferred at advanced stage could implant prior to younger embryos, and implantation-related molecules were also expressed at implantation sites of mouse uterus when the advanced embryos were implanted.

Key words: asynchronous embryo transfer; embryo; uterus

1. 前言

1.1. 胚胎着床与子宫蜕膜化的研究进展

胚胎着床(embryo implantation) 也称着床, 是指处于活性状态的胚泡和处于接受态的子宫之间相互作用, 最后导致胚胎滋养层与子宫内膜建立紧密联系的过程。简单地说, 胚胎能否成功着床依赖于以下两个重要因素: (1) 胚泡是否处于活性状态; (2) 子宫是否处于接受态。这两个事件是独立进行的, 但要同步进行。子宫对胚胎着床的敏感性可分为接受前期(pre-receptive)、接受期(receptive)和非接受期(refractory)。子宫处于接受态的时期称为“着床窗口(implantation window)”, 此时子宫环境有利于胚泡着床, 但持续时间有限。胚泡的活化状态对着床窗口有很大影响, 一般着床窗口对正常胚泡开放的时间比休眠胚泡要长。着床窗口的子宫接受性与胚泡活化状态是两个独立的事件, 只有胚胎发育到胚泡阶段和子宫分化到接受态同步进行, 胚胎才能正常着床^[1]。一般将胚胎着床分为定位期(apposition)、黏附期(attachment)和侵入期(invasion)^[2,3]。

在小鼠的定位期之前, 子宫内膜基质细胞发生广泛的水肿, 子宫腔闭合, 使胚胎滋养外胚层上的微绒毛与子宫腔上皮交错结合, 并形成紧密接触点, 最终使胚胎与子宫腔上皮发生粘附。小鼠胚胎的粘附反应发生在妊娠第4天(以见阴道栓为第一天)的夜里22:00-24:00^[4]。随着粘附反应的发生, 着床位点处的腔上皮细胞发生凋亡, 从而为滋养层细胞顺利穿过基底膜进入基质作准备^[5]。滋养层侵入是大多数哺乳动物发育中的一个关键过程, 涉及子宫和胚胎的形态和生化方面的大量变化以及多种细胞之间的复杂相互作用^[6], 与肿瘤细胞的侵入行为具有相似性^[7]。

胚胎着床不仅要求胚胎发育到具有黏附能力的胚泡并且还同时要求子宫内膜建立接受性。子宫内膜与胚胎之间相互作用的同时, 子宫内膜基质中的成纤维细胞发生广泛的增殖和分化, 这个过程称为基质的分化, 即蜕膜化(decidualization)^[8]。子宫内膜的蜕膜化过程对于成功的着床和妊娠的维持是必需的。蜕膜化过程涉及到子宫内膜基质细胞的增殖分化和细胞外基质的重建。另外, 子宫中的白细胞在数量和分布上也有一个较大的变化。蜕膜化的基质细胞在其形态上, 从成纤维细胞变成

较大的多核细胞^[9, 10]。在小鼠中，胚泡与子宫腔上皮上的黏附发生在第四天晚上。随着着床过程的进行，位于系膜对侧胚泡黏附位点的腔上皮逐步发生凋亡。相反，紧紧围绕着床胚泡的基质细胞进入广泛的增殖，随后分化成一种特殊的细胞类型，同时获得了多倍性。在第五天下午和第六天早晨，系膜对侧紧紧围绕着床胚泡的基质细胞停止增殖并进行分化，形成初级蜕膜区（primary decidual zone, PDZ）。初级蜕膜区没有血管，细胞形态呈上皮样细胞。初级蜕膜区的细胞随后发生凋亡，到第八天之前这种细胞基本消失。然而，邻近初级蜕膜区的基质细胞继续增殖并分化成多倍性的蜕膜细胞，形成次级蜕膜区（secondary decidual zone, SDZ）。这种方式在第七和第八天一直持续进行。最后，次级蜕膜区细胞也发生凋亡，使着床位点的腔隙增大以便容纳生长的胚胎^[11]。

着床的第一步就是胚泡与接受性子宫内膜对话的开始，这主要是由激素和生长因子介导^[12]。下一步是定位（apposition），滋养层细胞与子宫内膜腔上皮通过内膜上的微小凸起“胞饮突”（pinopod）建立联系的过程^[13]。因而胚泡稳固地黏附在内膜基底层和间质细胞外基质。胚胎与内膜之间的局部旁分泌信号使这种黏附更加牢固。黏附的第一信号发生在小鼠或大鼠第4天晚上，或者人类的第20~21天，此时胚泡黏附点基质血管渗透性增强^[14]。最后一步是侵入过程，包括胚胎通过腔上皮穿透到基质，从而建立起与母体的血管联系。该过程主要由滋养层细胞进行调控。然而蜕膜也会限制侵入的程度^[15]。侵入在孕酮的刺激下，内膜基质细胞和细胞外基质开始蜕膜化。在蜕膜化过程中，内膜组织开始重新调整，这包括子宫腺的分泌转型、特异的子宫自然杀伤细胞的汇入和血管重构^[16]。蜕膜通过两种方式阻止侵入的滋养层继续运动，一是建立起细胞渗透的物理性屏障，二是产生大量促进滋养层黏附而不是侵入的细胞因子^[17]。对于胚胎的生存来说，及时完成黏附和蜕膜过程是至关重要的。

成功的着床取决于胚胎发育到胚泡和子宫内膜接受态的同步性。内膜接受态最早是在大鼠身上发现，并随后在其他物种上得到证实^[18]。在啮齿类动物和人类身上，内膜接受态只有很短的时间。只有在这个时期胚胎才能与内膜成功建立起联系。因此，胚胎及时到达接收态内膜对着床来说是至关重要的^[19]。人们把子宫环境有利于胚泡的这个时期叫做“着床窗口”。毫无疑问，除了胚胎与子宫细胞的物理性

作用之外，旁分泌途径的类脂类激素、生长因子和细胞因子在胚胎信号中起着非常重要的作用^[20, 21]。

在人类中，低着床率依旧是一个亟待克服的科学难题。虽然人口数量在迅速增长，但是全球 15% 的夫妇由于不孕而没有孩子，人类不孕的潜在的因素很多，虽然通过体外受精和胚胎移植的技术有所改善，但成功率仍然令人失望，最可能的原因就是辅助生殖的过程中胚胎被移入到一个没有接受能力的子宫中。研究表明，大约有 30% 自发受孕的胚胎会在窗口期不能正常着床，人工受精的过程中有超过 50% 不能正常着床^[22]。

1.2. 胚胎着床及其分子调控的研究进展

成功的着床一般取决于胚泡的质量、子宫内膜的接受性及胚胎发育的同步性。着床和妊娠建立的关键就是分子和细胞水平动态而精确的调控。这个动态过程涉及到分泌、旁分泌和内分泌的协调作用。但目前还不清楚在胚泡粘附和侵入过程中，滋养层细胞是如何与接受态的子宫内膜进行“对话”（cross-talk）的。这是因为目前由于伦理和技术方面的原因还不能直接在妇女身上进行相关研究，大多数的实验数据均从动物身上获得。动物模型使我们更深一步理解了胚胎着床过程的分子机制^[23]。尽管相关研究已经很多，但是大多数的流产还是在着床期发生。在欧洲和美国，1/9 夫妇会发生着床紊乱和流产^[24]。胚胎着床是个复杂的过程，需要很多局部活化的因子来参与早期胚胎与子宫的相互作用。

在这里我们主要讨论一下在着床过程中起重要作用的激素、细胞因子和生长因子^[25]。我们在众多因子中选取了在着床位点特异表达地因子，特别是在调控滋养层分化和侵入中起重要作用的激素、生长因子和细胞因子。

1.2.1. 类固醇激素

大部分哺乳动物，着床发生在排卵后黄体形成时期。在人类，着床窗口大约在排卵后六天开放，并维持四到五天^[26]。对于小鼠和大鼠，它发生在发情周期的间期。我们主要以小鼠为研究对象。在小鼠中着床过程中激素分泌包括 3 个主要过程：(1)

在发情期前，有一个雌激素峰，现在被称为发情间期的雌激素；（2）在排卵后，妊娠第二天雌激素和孕酮是非常低的；（3）在妊娠第三天，刚形成的黄体分泌孕酮，在第四天早上，第二波雌激素峰分泌，它被称为黄体期雌激素。胚胎着床在第四天午夜发生，这些激素的分泌对胚胎着床的正常发生是必需的^[27]。

卵巢类固醇、孕酮和雌激素可以调控很多种调控分子，对胚胎着床有重要的调控作用^[6, 28]。在着床阶段，内膜在卵巢类固醇影响下经历了一系列转变，从而达到合适的形态功能状态，以便胚泡的黏附。除此之外，孕酮和雌激素是子宫内膜发育的主要调控激素。孕酮对于所有哺乳动物着床和妊娠维持都是至关重要的，而雌激素是物种特异性的^[5]。对于小鼠胚胎着床来说，需要雌激素在着床前大量分泌，而灵长类则不需要^[29]。孕酮和雌激素受体存在于基质和上皮上，受体的水平与激素的浓度对于着床是非常重要的^[19, 30]。整合素在胚泡着床时起着重要作用，该蛋白表达是由雌激素、孕酮激素比例所调控。因此，深入了解类固醇类激素信号通路的分子机制有利于提高内膜接受态或者胚胎质量，从而提高着床率。

除孕酮和雌激素外，着床同样需要其他重要因子的参与^[31]。研究表明前列腺素（prostaglandins, PGs）参与了各种生殖相关过程，比如排卵、着床和月经^[32, 33]。环氧合酶（Cyclooxygenase, COX）COX-1 和COX-2是合成PGs过程中至关重要的酶。COX-1 和COX-2特异表达在小鼠着床前期子宫上，表明PGs在胚胎着床过程中有重要作用。并且，COX-2表达对于黏附阶段有关键作用^[34]。最近有报道，COX-2受类固醇类激素调控，并通过合成PGs 参与调控胚胎着床和蜕膜化^[35]。近些年来越来越多的研究表明PGs在着床过程中起重要作用。

Achache等 (2010)报道经常流产的病人体内cPLA2 α 和COX-2水平很低，可能导致了PG 合成减少，从而引起着床失败。PGs有利于增加啮齿类动物着床期血管的渗透性^[36]。前列腺素D合成酶（prostaglandin-D synthase , PGDS）和环前列腺素合成酶（prostacyclin synthase, PGIS）存在于怀孕大鼠的子宫中，并在怀孕早期高水平表达。类固醇调控各种PG的合成，并调控在子宫内膜上在怀孕的特定时间PGD2和PGI2的产生^[37]。在着床前或者着床期间阻断PG 合成会造成完全抑制胚胎着床、导致着床延迟或者着床位点蜕膜组织数量的减少。然而，补充PG可以部分恢复到正常表型。非类固醇抗炎药物（nonsteroidal anti-inflammatory drugs, NSAID）是COX-2

和前列腺素合成的抑制剂，使用后可以导致异常的着床，子宫蜕膜化降低，从而使胚胎容易在着床期间流失^[38]。基因敲除实验表明COX-1缺失雌鼠可育但有分娩缺陷，而COX-2缺失雌鼠却因排卵、受精、着床和蜕膜化异常而导致不育^[39,40]。因此针对COX-2的靶向基因治疗可能会对怀孕有很好的作用。

1.2.2. 与着床相关的其它分子

细胞因子

细胞因子是小分子多功能的糖蛋白，由特异表面受体介导发挥生物作用，主要功能是作为细胞内信号途径调控子宫内膜细胞和胚胎-母体相互作用。胚泡进入接受态子宫后，滋养层细胞和子宫内膜产生细胞因子，调节各种粘附因子的表达从而调整内膜接受态^[20]。对于哺乳动物来说，细胞因子表达和信号异常会导致完全或者部分着床失败、胎盘形成异常^[41]。细胞因子家族中存在很多细胞因子，经常有几种不同的细胞因子在特定细胞上发挥相同的作用。本文主要着重点在于总结几种对于胚胎着床至关重要的细胞因子。

白血病抑制因子 (LIF)

白血病抑制因子 (Leukemia inhibitory factor, LIF) 是IL-6细胞因子家族中的一员^[42]。LIF是由子宫分泌的，对于胚胎着床非常重要。它主要是通过结合到LIF受体上来发挥多效性作用。LIF受体是由两个跨膜蛋白构成：LIFR 和 gp130。LIFR 可以活化不同细胞的多个信号通路，比如Jak/STAT、MAPK、和PI3-激酶途径 (PIPK)^[43]。最早发现LIF缺失小鼠不能着床，表明LIF在着床中发挥重要作用。然而，在重新加入LIF后小鼠就恢复了正常着床^[44]。更进一步的研究表明，LIF和突变体gp130缺失小鼠由于STAT3信号通路下调，子宫内膜细胞不能对胚胎做出反应。尽管LIF敲除胚胎发育正常，移植到野生型受体时可以着床^[23, 45, 46]。虽然LIF和gp130缺失胚胎可以正常着床，但是却在围产期死亡^[47]。LIF对着床期胚胎和子宫细胞均有信号作用^[48]。研究发现LIF受体表达在紧靠胚泡的蜕膜化的基质细胞，这表明LIF对于小鼠蜕膜化有重要作用。最近研究表明LIF在黏附和侵入期也发挥重要作用，因为它对

滋养层细胞有锚定作用^[49]。这些发现证实LIF在啮齿类和灵长类着床有重要作用。对正常孕妇进行子宫内膜活组织检查，发现LIF mRNA和蛋白表达在分泌中期和分泌晚期有显著性表达，而该时期正是着床发生的时期^[50, 51]。LIF基因缺失的妇女不能受孕和反复着床失败（repeated implantation failures, RIFs），这进一步证实了LIF在人类胚胎着床中的重要作用^[52]。已有实验表明在着床窗口的女性，如果LIF免疫反应性强，受孕率就越大^[53]。对临床前和临床试验RIF病人给予重组人类LIF（recombinant human LIF, r-hLIF），可以提高子宫内膜接受性。按照以上结果推断，如果使用低剂量LIF补偿，应该可以提高RIF病人的IVF成功率。但事实证明并非如此。Brinsden等对胚胎着床的黄体时期给RIF病人补充r-hLIF后并不能提高着床率^[54]。

IL-6

目前关于IL-6在怀孕中所起作用的研究甚少。IL-6可以通过gp130发挥促炎症反应或抗炎症反应的双向作用。IL-6表达在月经周期分泌中期，主要位于腺上皮细胞^[12]。IL-6缺失鼠着床位点减少，生育力也降低，这表明IL-6在着床中起着重要作用。并且，在子宫内膜和胚泡上均有IL-6受体的存在，更加表明IL-6在小鼠着床期间发挥旁分泌或自分泌的作用。另一研究发现，IL-6缺失小鼠的胚泡着床是正常的，虽然与以上结果略有差异，但胚胎不能发育^[55, 56]。这表明IL-6可以作为胚泡质量的指示剂。反复流产的孕妇IL-6在分泌中期表达也异常^[57, 58]。IL-6主要表达在分泌中期和分泌晚期的子宫内膜上，而此时孕酮和雌激素水平也变高，这说明类固醇可能调控IL-6表达。

IL-11

IL-11与LIF和IL-6一样，都属于gp130细胞因子（均含有gp130附属信号转录亚基的细胞因子）。最近研究发现在人类子宫内膜上存在IL-11和它的受体。内膜上的所有主要的细胞类型均周期性表达IL-11。在月经周期中蜕膜基质细胞中含有的IL-11免疫反应性最强，mRNA表达量最多^[59-61]。尽管如此，由于不同研究中免疫组化方案的差异，因而还不能确定IL-11在上皮细胞表达量达到最大的时间。在基质

细胞和腺上皮细胞中均有IL-11和 gp130 mRNA 的表达,这说明IL-11在基质细胞蜕膜化过程中起着重要作用^[60]。缺失IL-11R α 的小鼠具有生殖缺陷,而正常小鼠蜕膜化时IL-11含量达到最高水平^[62]。值得一提的是,最近研究表明,IL-11信号对于NK细胞蜕膜特异性成熟是必需的。而且,与正常小鼠比较,IL-11R α 突变的子宫中出现缺陷蜕膜血管。对于人类来说,越来越多证据表明IL-11对于着床有重要功能^[63]。对正常怀孕妇女和习惯性流产妇女子宫内膜上皮细胞上的IL-11和IL-11R α 表达进行了研究,结果发现后者子宫内膜上皮细胞IL-11表达较低。这表明给予IL-11治疗也许可以降低流产率。总之,这些证据都表明IL-11在妊娠初期建立中起着重要作用。然而,关于IL-11在人类着床过程中作用还需要做更深一步的研究。

转化生长因子

转化生长因子(Transforming growth factor β , TGF- β)存在三种不同的亚型:TGF- β 1、TGF- β 2和TGF- β 3,对细胞外基质产生和降解具有显著性影响。除此之外,在母体和胎儿交界处也发现了TGF- β 亚型的存在,这表明TGF- β 对于着床也有重要作用。TGF- β 超家族成员在子宫内膜也有表达,并且参与调控增殖、蜕膜化及着床过程^[64]。在怀孕大鼠子宫内发现了TGF- β 亚型表达具有差异性^[65]。TGF- β 1和TGF- β 2在着床和蜕膜发生时具有较高表达,而TGF- β 3只表达在蜕膜和分娩时期。最近研究发现TGF- β 可以调控PI3-K/Akt通路,使子宫内膜重构,又可以抑制抗凋亡蛋白表达水平来诱导蜕膜细胞的凋亡^[66]。另外,在HRP-1和RCHO-1大鼠实验研究发现,TGF- β 亚型活化Smad p38 MAPK信号通路,从而抑制滋养层增殖,并增加滋养层细胞的侵入性^[67]。

TGF- β 蛋白和mRNA表达在人类子宫内膜基质细胞、上皮细胞和蜕膜细胞上^[68]。早期研究表明,TGF- β 2在基质细胞上表达较多,而TGF- β 1和TGF- β 3在基质细胞和上皮细胞中均等表达^[69]。在月经周期,只有TGF- β 3表达发生改变,在分泌晚期的腺上皮细胞表达明显增多。因此,在分泌期上皮细胞分泌TGF- β ,从而使子宫内膜处于适合着床的状态。并且,TGF- β 可能刺激纤连蛋白或血管生长因子^[70,71],或者促进滋养层向细胞外基质黏附^[72],来参与人类胚胎着床的过程。另一TGF- β 超家族成

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.

厦门大学博硕士学位论文摘要库