

PCOS 易感基因 *Hmga2* 在小鼠子宫蜕膜化中的表达与调节

曹永芝^{1,2}, 赵跃然², 林德贵^{1*}

(1. 中国农业大学动物医学院, 北京 100193; 2. 山东大学生殖医学研究中心, 济南 250021)

【摘要】 **目的** 研究 PCOS 易感基因 *Hmga2* 在子宫内膜容受性和蜕膜化中的表达与调节。**方法** 通过早期妊娠、延期着床与激活、人工蜕膜化、卵巢类固醇激素处理等实验, 利用 qPCR、Western blot 技术, 阐述 *Hmga2* 在子宫内膜容受性中的作用。**结果** *Hmga2* 随着妊娠表达量逐渐增加, 着床点与非着床点相比表达量显著升高, 胚胎激活组比延迟着床表达量显著增高, 人工诱导蜕膜化与非蜕膜化比较表达显著升高, *Hmga2* 的表达与雌激素和孕激素呈正相关, 体内受雌孕激素调节。**结论** 表明 *Hmga2* 的表达与小鼠早期妊娠胚胎着床过程密切相关, 参与子宫内膜蜕膜化过程, 受活化胚泡和类固醇激素的影响。

【关键词】 多囊卵巢综合征; 高迁移率族蛋白 A2; 蜕膜化; 胚胎; 小鼠

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2017) 05-0473-06

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2017.05.002

Expression and regulation of PCOS susceptible gene *Hmga2* in mouse uterine decidualization

CAO Yong-zhi^{1,2}, ZHAO Yue-ran², LIN De-gui^{1*}

(1. College of Veterinary Medicine, China Agriculture University, Beijing 100193, China;

2. Center for Reproductive Medicine, Shandong University, Jinan 250021)

【Abstract】 **Objective** To study the expression and regulation of polycystic ovary syndrome (PCOS) susceptibility gene *Hmga2* in endometrial receptivity and decidualization. **Methods** Experiments including early pregnancy, delayed implantation and activation, artificial decidualization and ovarian steroid hormone treatment were performed, and Q-PCR and Western blot analyses were applied to explain the role of *Hmga2* in endometrial receptivity. **Results** The *Hmga2* expression increased gradually with pregnancy. Its expression at the implantation site was significantly higher than that at the inter-implantation site, in the embryo activation group than in delayed implantation group, and in the artificial decidualization than the non-decidualization. The expression of *Hmga2* was positively correlated with the expression of estrogen and progesterone, and was positively regulated by estrogen and progesterone in vivo. **Conclusions** Our findings indicate that the expression of *Hmga2* is closely related to the embryo implantation process in early pregnancy in mice, is involved in the process of endometrial decidualization, and is influenced by the activated blastocyst and steroid hormones.

【Key words】 Polycystic ovary syndrome; PCOS; *Hmga2*; Decidualization; Embryos; Mouse

Corresponding author: LIN De-gui. E-mail: csama@sina.com

多囊卵巢综合征 (polycystic ovary syndrome, PCOS) 是一个表型复杂多样以及表现高度异质性的常见女性内分泌疾病。其主要的临床表现为月经不

规律 (月经稀发或闭经), 高雄激素表现 (临床高雄激素表现和/或高雄激素血症) 以及卵巢多囊性改变^[1]。研究报道, 6%~8% 的生育期女性被诊断为

【基金项目】 国家自然科学基金项目 (编号:31572578)。

【作者简介】 曹永芝 (1983 -), 男, 博士研究生, 实验师, 专业: 临床兽医。Email: yz_cao@163.com

【通讯作者】 林德贵 (1961 -), 男, 教授, 研究方向: 小动物疾病。Email: csama@sina.com

PCOS^[2]。PCOS 发病机制较复杂,至今仍未完全阐明,一般认为由遗传和环境两方面共同影响,与下丘脑-垂体-卵巢轴功能失常、肾上腺功能紊乱、遗传、代谢、环境等因素有关。妊娠过程的成功有赖于两个方面:一是优质的胚胎,二是良好的子宫内膜容受性,此二者在各种因素的严格调控下相互作用,完成胚胎着床过程。排卵后的 6~10 d,月经周期的 20~24 d 子宫有个极短的允许胚胎植入容受性最大的敏感期,妊娠期间的这个特定的时间间隔被定义为胚胎植入的窗口期(window of implantation, WOI)^[3],部分 PCOS 患者接受促排卵治疗后观察到存在高排卵率、低妊娠率的现象,受精卵植入过程发生的障碍是这种治疗后妊娠失败现象的主要原因,其发生的关键在于子宫内膜容受性降低^[4,5],子宫内膜容受性对提高 PCOS 患者妊娠率有重要作用。

囊胚粘附到子宫上皮后,围绕囊胚子宫基质细胞开始发生广泛地增殖和分化,同时伴随着蜕膜区大量的血管发生,这个过程称为子宫蜕膜化。植入位点处的子宫体积和重量迅速地增大,最终使胚泡完全包埋入子宫系膜对侧的基质床中^[6]。目前认为蜕膜的主要作用是在有功能的胎盘形成之前为胚泡的发育提供营养物质,并且早期蜕膜对发育初期的胚胎起到免疫保护作用^[6,7]。

在胚胎发育过程中细胞分化主要依赖特定基因通过特定的方式进行调控。核染色体的结构变化对于基因的启动和表达起着决定性作用。全基因组关联分析(genome wide association study, GWAS)中高迁移率族蛋白 A2(*HMG A2*)基因为 PCOS 易感基因,该基因是近年发现的染色质非组蛋白,它能通过与染色质结合而改变染色质的结构,从而调节其他基因的转录。人类的 *HMG A2* 编码基因长度约为 160 kb,其编码序列中共包含 5 个外显子^[8-10]。*Hmga2* -/- 的小鼠表现为侏儒表形,且因缺乏精子生成能力而不育,而突变型 *Hmga2* 过表达,则导致小鼠出现体型巨大、肥胖及发生淋巴瘤^[11]。研究表明 *HMG A2* 在多种恶性抑瘤组织中存在过表达现象,且与其不良预后有关^[12,13],在卵巢浆液性癌中,*HMG A2* 可作为其早期诊断的分子标志物,与 P53 联合应用提高诊断效率^[14,15]。

HMG A2 在 GWAS 验证研究中已经确定为 PCOS 易感基因,该基因在 PCOS 病人胚胎着床过程中的作用未见报道。因此,本研究拟通过体内动物模型研究 *Hmga2* 在子宫内膜容受性和蜕膜化中的作用,

评价胚胎植入窗口期子宫内膜容受性的高低,对于提高 IVF 妊娠率和寻求有效的避孕措施有一定的临床意义。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

SPF 级 KM 小鼠,6~8 周龄,体重约为 22~24 g,由山东大学实验动物中心提供【SCXK(鲁)2013-0009】,饲养于 22℃ 恒温条件下,光照周期为 14 h 光照(06:00-20:00),10 h 黑暗,自由采食和饮水。实验小鼠饲养及组织取材均于山东大学实验动物中心进行【SYXK(鲁)2010-0011】。本实验所有操作均符合中华人民共和国《实验动物管理条例》。

1.1.2 试剂

检测 RNA 提取试剂盒和 cDNA 逆转录酶试剂盒购自 TaKaRa 生物技术有限公司,mRNA 定量试剂采用 LightCycler[®] 480 SYBR green I master,仪器采用 Light Cycler[®] 96 荧光定量 PCR 仪(Roche)。Western blot 所用一抗为 anti-*HMG A2* antibody (GT763),二抗(抗鼠,Proteintech, goat anti-mouse IgG(H+L),SA00001-1),内参选用 anti- β -actin (Proteintech, 60008-1-Ig),RIPA 蛋白裂解液等其他试剂购自碧云天生物技术研究所。

1.2 方法

1.2.1 实时荧光定量 PCR 分析

采用 Trizol Reagent 抽提子宫组织 RNA,异丙醇沉淀浓缩 RNA,灭菌 DEPC 水溶解总 RNA,紫外分光光度计测总 RNA 的吸光度(absorbance, A)值,琼脂糖凝胶电泳检测其完整性。以 cDNA 为模板检测 *Hmga2* 和 *GAPDH* 的表达,以 *GAPDH* 为内参照计算 *Hmga2* 的相对表达量。*Hmga2* 的引物序列为:上游 5'-AAGGCAGCAAAAACAAGAGC-3',下游 5'-GCAG-GCTTCTTCTGAACGAC-3';*GAPDH* 的引物序列为:上游 5'-TCTGACTTCAACAGCGACAC-3',下游 5'-GCCAAATTCGTTGTCATACC-3',引物由上海英骏科技有限公司合成。PCR 循环条件为 94℃ 预变性 3 min、94℃ 变性 20 s、63℃ 退火 20 s、72℃ 延伸 30 s,共 30 个循环。PCR 反应的特异性通过产物热解离曲线进行确认逆转录为 cDNA 后,运用 qRT-PCR 检测。

1.2.2 Western Blot 分析

用细胞裂解液提取组织总蛋白,用 BCA 蛋白定量法测定总蛋白浓度。配制分离胶(14%)和浓缩

胶(5%);60 V 恒压预电泳 1 h 后上样,80 V 恒压电泳;待充分分离后将蛋白转移至 PVDF 膜上;5% 脱脂奶粉封闭 1 h 后,一抗(anti-HMGA2 antibody: Abcam, GT763, 1:1000 稀释; anti- β -actin, Proteintech, 60008 -1-Ig, 1:2000 稀释)4 $^{\circ}$ C 过夜;PBST 清洗 3 次,每次 5 min;辣根过氧化物酶标记的二抗孵育(Proteintech, goat anti-mouse IgG(H+L), SA00001-1, 1:5000 稀释)1 h 后, PBST 清洗 3 次,每次 5 min;ECL 法显色。

1.2.3 动物模型及取材

(1) 早期妊娠

将雌鼠与成年雄鼠按照 1:2 比例合笼,次日上午见栓标记为妊娠第 1 天,收集妊娠第 1~8 天的小鼠子宫,用生理盐水自输卵管或子宫中冲取胚胎为确认妊娠。取小鼠妊娠第 5~6 天的子宫时,注射 1% 芝加哥蓝 0.1 mL,5 min 后取子宫,着床位点血管通透性增加变为蓝色,分别收集着床位点及非着床位点组织。每组至少取材 3 只。

(2) 延迟着床及激活

手术切除妊娠第 4 天雌鼠的双侧卵巢,然后妊娠第 5 天和第 6 天上午皮下注射孕酮(每只 1 mg/0.1 mL)。第 7 天将小鼠分为两组:一组皮下注射 P4(每只 1 mg/0.1 mL)为延迟着床组;另一组皮下同时注射 17 β 雌二醇(E2,每只 25 ng/0.1 mL)和 P4(每只 1 mg/0.1 mL)为着床激活组,分别于第 8 天收集子宫。1% 芝加哥蓝确定着床激活组小鼠子宫着床位点。延迟着床组小鼠,冲洗一侧子宫观察是否有胚胎存在,另一侧子宫放入液氮里冷冻。每组至少 3 只。

(3) 人工蜕膜化

健康成年未交配雌鼠与成年结扎雄鼠合笼,取假孕第 4 天小鼠,一侧子宫内注射 50 μ L 芝麻油进行人工诱导蜕膜化,另一侧子宫作为对照。在假孕第 8 天上午处死,分别收集人工诱导蜕膜化和对照侧子宫组织,每组至少 3 只。

(4) 卵巢类固醇激素处理

卵巢类固醇激素处理选取性成熟雌鼠,麻醉后手术切除双侧卵巢,术后恢复两周,皮下注射类固醇激素(激素均溶于芝麻油中),剂量为:①对照组:每只 0.1 mL 芝麻油;②P4 组:每只 1 mg/0.1 mL;③E2 组:每只 100 ng/0.1 mL;④P4 + E2 组:每只 1 mg P4 + 100 ng E2/0.1 mL。每组至少 3 只,激素注射后 24 h 后分别牺牲小鼠,收集子宫取材。

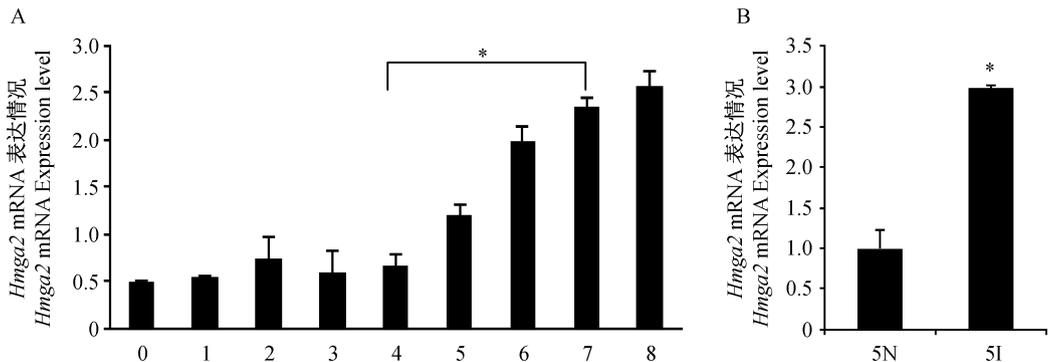
1.3 统计方法

计量资料结果以实验数据以均数 \pm 标准误($\bar{x} \pm s$)表示,采用 SPSS 13.0 统计分析软件中 χ^2 检验和 one-way ANOVA 进行数据分析。

2 结果

2.1 *Hmga2* 在小鼠早期妊娠子宫中的表达实验采用荧光定量 PCR 检测

Hmga2 mRNA 在小鼠子宫内表达量的变化。结果显示,*Hmga2* mRNA 在妊娠第 4~8 天逐渐增高,妊娠第 4 天与第 7 天比较差异有显著性(图 1A);与非着床位点比较,*Hmga2* mRNA 在妊娠第 5 天着床位点表达量显著增强(图 1B)。Western blot 与其结果一致(图 2)。



注:A: *Hmga2* mRNA 在早期妊娠第 1~8 天表达的荧光定量 PCR 结果;B: *Hmga2* mRNA 在妊娠第 5 天着床位点(5N)和非着床位点(5I)表达的荧光定量 PCR 结果。数据表示($\bar{x} \pm s$),* 表示差异有显著性($P < 0.05$)。

图 1 *Hmga2* mRNA 在小鼠早期妊娠子宫中的表达

Note. A: qPCR analysis of *Hmga2* mRNA expression on days 1-8 of pregnancy. B: qPCR analysis of *Hmga2* mRNA expression at the implantation sites (5-I) and inter-implantation sites (5-N) on day 5 of pregnancy. Data are shown as ($\bar{x} \pm s$). Asterisks denote significance ($P < 0.05$)

Fig. 1 Expression of *Hmga2* mRNA in the early pregnant uteri of mice

2.2 *Hmga2* 在小鼠延迟着床及激活子宫中的表达检测 *Hmga2* mRNA

在延迟着床及激活小鼠子宫中的表达,表明雌激素可激活胚泡着床,使 *Hmga2* 表达量显著高于延迟着床小鼠(图 3)。

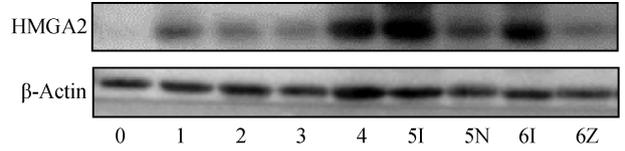
2.3 *Hmga2* 在小鼠子宫蜕膜化过程中的表达

通过人工诱导蜕膜化表明 *Hmga2* 在人工诱导蜕膜化子宫组织中高表达,人工诱导组与对照组表达差异有显著性(图 4)。妊娠第 4 天小鼠子宫分离的子宫基质细胞经雌激素和孕酮联合处理可诱导基质细胞蜕膜化。

2.4 类固醇激素对 *Hmga2* 表达的调控

在卵巢摘除小鼠子宫中当卵巢摘除小鼠皮下注射雌激素 24 h 后,皮下注射孕酮可刺激 *Hmga2* 的

表达显著增加。联合注射雌激素和孕酮,*Hmga2* 在子宫中的表达量增加。皮下注射雌激素后 *Hmga2* 表达增加,但差异无显著性(图 5)。



注:*Hmga2* 在小鼠早期妊娠第 1~6 天子宫中的表达;I:着床点, N:非着床点。

图 2 HMGA2 在小鼠早期妊娠子宫中的表达

Note. Expression of HMGA2 on days 1-6 of pregnancy; I: Implantation sites, N: Inter-implantation sites.

Fig. 2 Expression of HMGA2 in the early pregnant uteri of mice

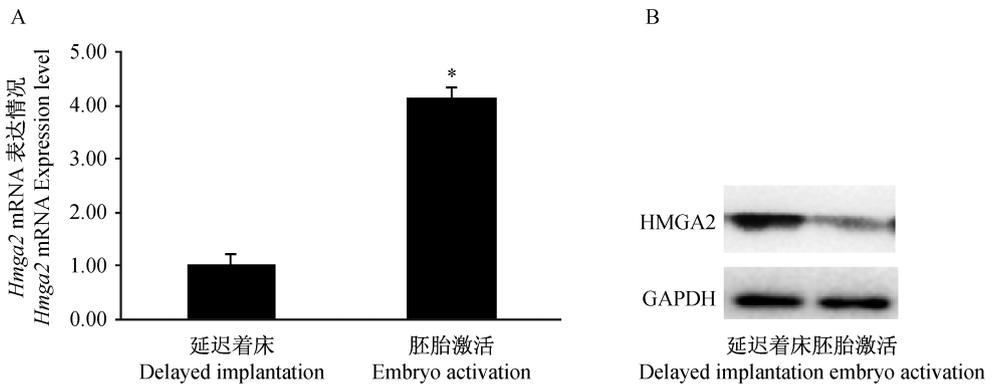


图 3 *Hmga2* 在小鼠延迟着床及激活子宫中的表达

Fig. 3 Expression of *Hmga2* in delayed implantation and activation of uteri in the mice

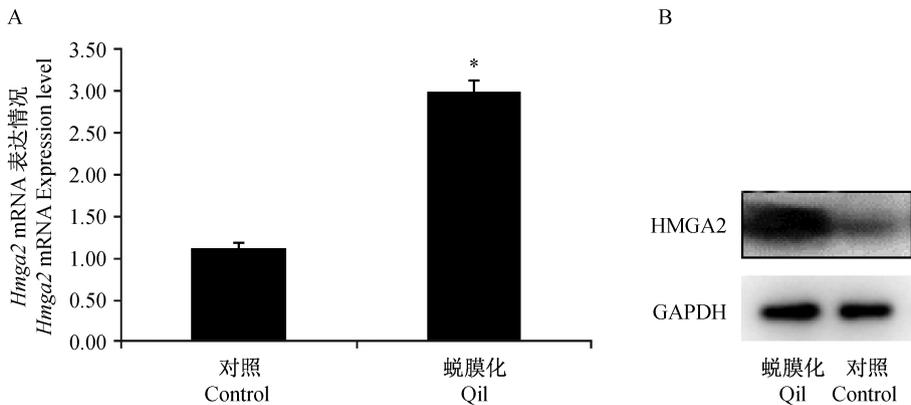


图 4 *Hmga2* 在人工诱导蜕膜化子宫中的表达

Fig. 4 Expression of *Hmga2* under artificial decidualization

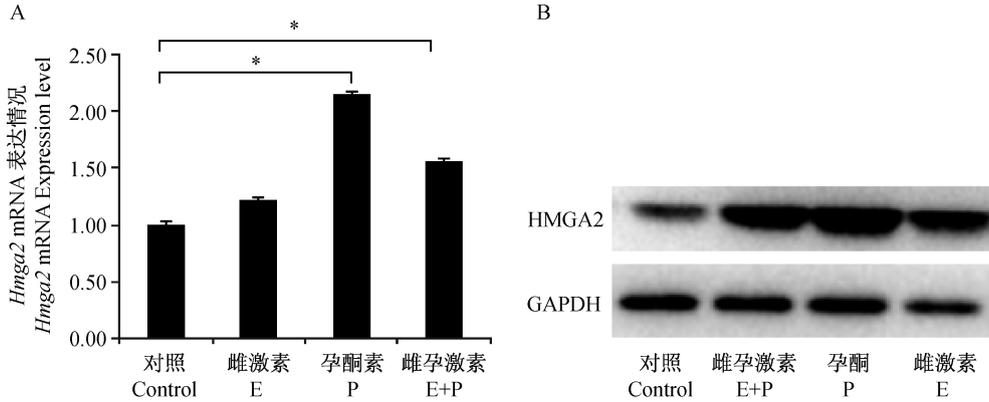


图 5 卵巢摘除小鼠类固醇激素处理 24 h 后, *Hmga2* 在子宫中的表达

Fig. 5 *Hmga2* expression in the uteri of mice after ovariectomy and treated with steroid hormones for 24 h

3 讨论

在人和小鼠妊娠过程中,蜕膜组织主要为胚胎提供营养物质,并且可形成屏障防止滋养层细胞的过度入侵^[16,17],蜕膜组织正常发育对成功妊娠起主导作用。相关的研究表明,一些信号通路和关键的调控分子参与胚胎植入后期蜕膜组织的发育^[18]。全基因组关联分析(GWAS)中 *HMGA2* 基因为 PCOS 易感基因,而 PCOS 患者又出现低妊娠率和高流产率的问题,并且 *HMGA2* 在 PCOS 子宫内膜组织中表达升高,增殖分化是子宫内膜基质细胞蜕膜化的前提条件,而 *HMGA2* 基因与生长增殖密切相关,所以研究 *HMGA2* 在子宫内膜容受性中的作用至关重要。*HMGA2* 在胚胎发育阶段各组织中均高表达,起到了促进正常心脏发育、神经干细胞自我更新、调节细胞分化等多种作用,而在正常成人组织中则基本不表达,仅少量见于 CD34 + 造血干细胞,子宫肌母细胞及睾丸细胞中^[19]。本研究表明 *Hmga2* 在妊娠第 3~8 天逐渐增高,与非着床位点比较, *Hmga2* 妊娠第 5 天着床位点表达量显著增强,提示子宫中 *Hmga2* 的表达可能与小鼠早期妊娠胚胎着床过程密切相关。*Hmga2* 在伴随着妊娠开始表达量逐渐增加。粘附反应开始于妊娠第 5 天午夜,此时伴随着子宫内膜血管局部增强的渗透力,完成粘附反应之后,穿过腔上皮到达基质细胞层,该基因在胚胎着床过程子宫中的定位如何,子宫组织不同位置是否存在表达差异有待进一步研究。

胚胎着床到子宫内膜是成功妊娠的关键,胚胎着床后子宫内膜开始发生蜕膜化,异常的蜕膜化可导致一些妊娠并发症及流产的发生^[20],人工诱导蜕膜化组与对照组表达差异极显著表明,假孕第 8 天

小鼠 *Hmga2* 在人工诱导蜕膜化子宫组织中高表达;胚胎激活和延迟着床组表达差异显著,表明该基因受活化胚胎的影响。在妊娠第 6~8 天子宫基质细胞发生大量的增殖,并分化为多倍体的蜕膜细胞^[21]。子宫基质细胞正常发生蜕膜化对成功的胚胎着床是必要的,因为蜕膜组织可为胚胎发育提供充足的营养物质,同时还具有抑制母体免疫反应发生以及调控滋养层入侵子宫内膜等功能^[18,22]。

子宫内膜容受性建立机制极其复杂,不仅受母体全身和局部的激素、免疫系统和各种因子表达水平的调控,而且与局部胚胎、子宫间复杂的信息交流、细胞分化发育状态有关^[23],特别是类固醇激素对蜕膜化的启动和维持起重要的调节作用。在正常小鼠妊娠期间,雌二醇(E2)在妊娠第 1 天(D1)的峰值会刺激子宫内膜上皮细胞的增生,而在 D2 随着水平的降低,上皮细胞则开始凋亡,在 D3 刚刚开始形成的黄体则会分泌孕酮(P4),使子宫内膜基质细胞开始增生。D4 则 E2 峰值会与高水平的相联合,刺激子宫基质细胞增生并且使子宫进入容受性,以便于胚胎着床^[24]。孕酮主要通过与其受体 PR 结合发挥作用^[25]。在本研究中孕酮和雌激素均可诱导卵巢摘除小鼠子宫 *Hmga2* 的表达,说明该基因在子宫蜕膜化反应中受雌孕激素调节并呈现正相关。当胚胎粘附在子宫腔上皮后,围绕在着床胚胎周围的子宫基质细胞经历大量增殖,随后分化为蜕膜细胞,子宫基质细胞发生蜕膜化是以高水平表达蜕膜化分化分子和典型的形态学变化为主要特征^[26]。*Hmga2* 基因在体外过表达或降调对子宫内膜容受性相关基因的表达有何影响,该基因在高雄激素状态下表达有何改变,是否伴随着体内外相关因子的变化有待进一步研究。

在子宫内膜容受窗口期中,子宫内膜上皮分泌活动最为活跃,为胚胎着床提供一个合适的宫腔内环境,子宫内膜上皮是与胚胎最先接触的子宫内膜成分,参与胚胎在子宫内膜上的定位、粘附与侵入。本研究着重研究了 *Hmga2* 对小鼠蜕膜化过程中的作用,*Hmga2* 的表达与小鼠早期妊娠胚胎着床过程密切相关,参与子宫内膜蜕膜化过程,受活化胚胎的影响和类固醇激素的调控。

参 考 文 献

- [1] Ehrmann DA. Polycystic ovary syndrome [J]. N Engl J Med, 2005, 352(12): 1223–1236.
- [2] Goodarzi MO, Azziz R. Diagnosis, epidemiology, and genetics of the polycystic ovary syndrome [J]. Best Pract Res Clin Endocrinol MeTab, 2006, 20(2): 193–205.
- [3] Chaen T, Konno T, Egashira M, et al. Estrogen-dependent uterine secretion of osteopontin activates blastocyst adhesion competence [J]. PLoS One, 2012, 7(11): 48933.
- [4] Chian RC. In-vitro maturation of immature oocytes for infertile women with PCOS [J]. Reprod Biomed Online, 2004, 8(5): 547–552.
- [5] 龚斐, 郭慧, 彭炬等. 改良超长方案改善多囊卵巢综合征(PCOS)不孕患者子宫内膜容受性的研究 [J]. 生殖与避孕, 2015, 35(5): 300–309.
- [6] Dey SK, Lim H, Das SK, et al. Molecular cues to implantation [J]. Endocr Rev, 2004, 25(3): 341–373.
- [7] Collins MK, Tay CS, Erlebacher A. Dendritic cell entrapment within the pregnant uterus inhibits immune surveillance of the maternal/fetal interface in mice [J]. J Clin Invest, 2009, 119(7): 2062–2073.
- [8] Reeves R, Nissen MS. The A. T-DNA-binding domain of mammalian high mobility group I chromosomal proteins. A novel peptide motif for recognizing DNA structure [J]. J Biol Chem, 1990, 265(15): 8573–8582.
- [9] Fusco A, Fedele M. Roles of HMGA proteins in cancer [J]. Nat Rev Cancer, 2007, 7(12): 899–910.
- [10] Young AR, Narita M. Oncogenic HMGA2: short or small? [J]. Genes Dev, 2007, 21(9): 1005–1009.
- [11] Hock R, Furusawa T, Ueda T, et al. HMG chromosomal proteins in development and disease [J]. Trends Cell Biol, 2007, 17(2): 72–79.
- [12] White A, Flores A, Ong J, et al. *Hmga2* is dispensable for cutaneous squamous cell carcinoma [J]. Exp Dermatol, 2016, 25(5): 409–419.
- [13] Eide HA, Halvorsen AR, Bjaanæs MM, et al. The *MYCN-HMGA2-CDKN2A* pathway in non-small cell lung carcinoma-differences in histological subtypes [J]. BMC Cancer, 2016, 16(1): 71.
- [14] Wu J, Wei JJ. *HMGA2* and high-grade serous ovarian carcinoma [J]. J Mol Med (Berl), 2013, 91(10): 1155–1165.
- [15] Galdiero F, Romano A, Pasquinelli R, et al. Detection of high mobility group A2 specific mRNA in the plasma of patients affected by epithelial ovarian cancer [J]. Oncotarget, 2015, 6(22): 19328–19335.
- [16] Zhang S, Lin H, Kong S, et al. Physiological and molecular determinants of embryo implantation [J]. Mol Aspects Med, 2013, 34(5): 939–980.
- [17] Wang Q, Lu J, Zhang S, et al. Wnt6 is essential for stromal cell proliferation during decidualization in mice [J]. Biol Reprod, 2013, 88(1): 5.
- [18] Cha JM, Dey SK. Reflections on rodent implantation [J]. Adv Anat Embryol Cell Biol, 2015, 216: 69–85.
- [19] Cleyne I, Van de Ven WJ. The HMGA proteins: a myriad of functions (Review) [J]. Int J Oncol, 2008, 32(2): 289–305.
- [20] Jiang Y, Liao Y, He H, et al. Fox M1 directs STAT3 expression essential for human endometrial stromal decidualization [J]. Sci Rep, 2015, 5: 13735.
- [21] Zhang S, Lin H, Kong S, et al. Physiological and molecular determinants of embryo implantation [J]. Mol Aspects Med, 2013, 34(5): 939–980.
- [22] Peng J, Monsivais D, You R, et al. Uterine activin receptor-like kinase 5 is crucial for blastocyst implantation and placental development [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2015, 112(36): 5098–5107.
- [23] Singh M, Chaudhry P, Asselin E. Bridging endometrial receptivity and implantation: network of hormones, cytokines, and growth factors [J]. Endocrinol, 2011, 210(1): 5–14.
- [24] Carson DD, Bagchi I, Dey SK, et al Embryo implantation [J]. Dev Biol, 2000, 23(2): 217–37.
- [25] Large MJ, De Mayo FJ. The regulation of embryo implantation and endometrial decidualization by progesterone receptor signaling [J]. Mol Cell Endocrinol, 2012, 358(2): 155–165.
- [26] Tawadros N, Salamonsen LA, Dimitriadis E, et al. Facilitation of decidualization by locally produced ghrelin in the human endometrium [J]. Mol Hum Reprod, 2007, 13(7): 483–489.

[收稿日期] 2017–02–27