

团队介绍

DOI: 10.13406/j.cnki.cyxh.002883

教育部“生殖与发育国际合作联合实验室” ——基础研究团队(生殖生物医学研究室)介绍

丁裕斌, 刘学庆, 陈雪梅, 高茹菲, 耿艳清, 穆欣艺, 刘太行, 王美娇, 唐 静, 李 娜, 李方方, 何俊琳, 王应雄
(重庆医科大学公共卫生与管理学院、生殖与发育教育部国际合作联合实验室, 重庆 400016)

An introduction to The Joint Laboratory of International Cooperation in Reproduction and Development of Ministry of Education: the Basic Research Team (Reproductive Biology Laboratory)

Ding Yubin, Liu Xueqing, Chen Xuemei, Gao Rufe, Geng Yanqing, Mu Xinyi, Liu Taihang, Wang Meijiao,
Tang Jing, Li Na, Li Fangfang, He Junlin, Wang Yingxiong

(The Joint Laboratory of International Cooperation in Reproduction and Development of Ministry of Education,
School of Public Health and Management, Chongqing Medical University)

【中图分类号】R715.5

【文献标志码】A

【收稿日期】2021-07-01

1 团队介绍

生殖生物医学研究室依托重庆医科大学公共卫生学院,于2004年建立,2016年成为教育部“生殖与发育国际合作联合实验室”核心组成部分,2019年进入重庆市教委“高水平科研创新平台培育计划”。

团队带头人王应雄教授。现有教授5人(博士生导师3人),副教授9人,讲师1人,实验师1人,博士比例为85%;研究室现拥有从事分子细胞生物学、生物信息学、遗传流行病学和转基因动物等研究平台;先后获得国家科技部重大专项子课题、国家自然科学基金、联合国儿童基金会以及各类省部级项目90项;在中华医学遗传学杂志、遗传、Hum Reprod、Nucleic Acid Res、J Hazard Mater、BBA-rev Cancer、Biosens Bioelectron、Arch Toxicol、Environ Pollut 等高水平期刊发表论文400余篇,其中SCI论文233篇(IF>10分6篇,IF>8分6篇,IF>5分26篇);获得省部级科技进步二等奖2项、三等奖1项、自然科学三等奖1项、厅局级科技进步一等

奖1项;主编规划教材5部:《遗传与优生学》《生殖医学》《分子与细胞》《公共卫生实验教程》《医学整合课程基础实验(分子与细胞分册)》,获省部级教学成果二等奖2项;主编专著1部;专利3项。培养博士后9名、博士生43名(留学生6名)、硕士生156名(留学生3名)。

2 团队探索历程

20世纪80年代末,依托重庆医科大学计划生育医学系组建“遗传优生研究团队”,主要从遗传学的角度,探索临床习惯性流产胚胎非整倍性畸变的发生机制及不孕不育的病因所在,并在该领域开展了广泛而深入的研究。观察到一些新的细胞遗传学改变可能是细胞非整倍性畸变的潜在根源,对此提出了全新的见解,并发表了一系列重要成果。王应雄教授以此系列成果为基础,在1990年参加全国遗传学研究进展大赛,获得“李汝其动物遗传学奖”(全国共10名)。特别是在重庆市出生缺陷防控中,借助在研究上所取得的成果,为重庆市制定出生缺陷防控指南,并协助重庆市在各区县开展出生缺陷预防,取得了突出成效,王应雄教授因此而获得“重庆市首届巴渝人口奖”。

2004年组建“生殖生物医学研究团队”,并拓展了新的研究方向,将妊娠重要环节“胚胎植入”融入已有的研究中,拟探索临床不孕症及自然流产等的病因及其机制,对胚胎植入期子宫内膜基因及蛋白质组学进行了全面综合分析,筛选到一系列与胚胎植入相关的重要基因与蛋白分子,并对胚胎植

作者介绍:丁裕斌,Email:dingyb@gmail.com,

研究方向:女性生殖、围产相关疾病的发生机制和分子流行病学。

通信作者:王应雄,Email:1600347366@qq.com。

何俊琳,Email:Hejunlin@cqmu.edu.cn。

优先出版:https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.r.20210915.1721.002.html
(2021-09-16)

入机制进行了更加深入的研究,发现了一些与胚胎植入相关的关键分子,取得了一系列重要成果发表于高水的 SCI 期刊上,为阐明胚胎植入的机制提供新的线索,也为解决人类生殖所面临的一些疑难问题(如不孕、自然流产、胚胎移植等)提供借鉴。

3 研究成果系统回顾

3.1 临床生殖相关疾病的细胞遗传学研究

20 世纪 80 年代中期,团队重点关注临床诸多生殖相关疾病的病因以及智力障碍患儿的细胞遗传学改变。因此,首先在方法上建立和改良了诸多新技术,并对正常人群、高危人群及临床病例开展广泛而深入的细胞遗传学研究,观察到许多新的细胞遗传学现象,并提出了全新的见解,一系列成果发表在中国权威期刊上,在这一领域奠定了较高的学术地位。

3.1.1 人类非整倍性畸变探索 在临床妇产科、泌尿科、儿科及自然流产和习惯性流产胚胎中,非整倍性畸变最为常见,但这些非整倍性畸变发生的诱因一直不清。面对这一临床困惑问题,团队开展了一系列深入的研究。

(1)意外建立染色体着丝粒点新技术,并发现新的结构

20 世纪 80 年代,团队在改良染色体核仁组织区(nucleolus organizer region, NOR)染色技术时,由于先用强碱处理染色体标本,导致染色体着丝粒区膨胀,意外观察到着丝粒区存在 2 个非常清晰的深染黑色圆形结构,这一结构当时在国内外从未见报道,在教科书中也未见描述。团队推测这一结构一定与染色体分离相关。后来的研究证实这一结构由 DNA 和着丝粒点(centromeric dots, Cd)蛋白共同构成,是中期染色体分离时纺锤丝微管蛋白的结合点,与染色体分离直接相关。通过查阅文献,1976 年 *Science* 有人报道,用高温处理染色体标本,用 Giemsa 染色,可见染色体着丝粒区存在一个圆形结构,但这个圆形结构非常不清晰。1985 年,有学者利用在硬皮病综合征患者血清中提取的抗着丝粒点抗体,并采用免疫荧光技术,在人类染色体标本上也非常清晰地观察到了这一结构,并在 *PANS* 报道了他们的发现。团队建立的这一全新技术与高温处理 Giemsa 染色相比, Cd 结构非常清晰地显现出来,与后来建立的抗着丝粒点抗体免疫荧光技术相比, Cd 染色可以永久性保存,而且成本非常低廉。由于 80 年代初期团队几乎还没有 SCI 的概念,因而错失了在国际期刊上报道团队建立的这一新方法和所观察到的这一新结构^[1]。但这一新技术为团队后来探索临床相关疾病非整倍性畸变奠定了重要的技术支撑。

(2)对人类染色体非整倍性畸变原因提出全新的解释

团队借助自己建立的全新“Cd-NOR 同步银染技术”,对临床涉及非整倍性畸变的相关疾病患者和胚胎组织染色体 Cd 结构进行了广泛而深入的分析,观察到了一些在国内外从未报道过的新的细胞遗传学现象(如染色体 Cd 丢失、小 Cd、Cd-NOR 融合、Cd 迟滞复制、多重 Cd),并对非整倍性畸变发

生原因提出了全新解释^[2-5]:①Cd 丢失:提出当细胞处于分裂中期时,如果聚集在赤道板中央的染色体发生 Cd 丢失,将导致纺锤丝微管蛋白不能与 Cd 结合而引起染色体不分离;②单测小 Cd:如果分裂中期染色体着丝粒区 2 个 Cd 大小差别很大,较小的 Cd 结构只能与少量纺锤丝微管发生联系,其结果在细胞分裂后期姊妹染色单体走向两极时,纺锤丝微管对 2 条姊妹染色单体的牵引会出现相对不平衡而诱发染色体不分离;③Cd-NOR:即人类近端着丝粒染色体核仁组织区蛋白(NOR)与 Cd 蛋白融合在一起可能影响纺锤丝微管与 Cd 结构之间的联系而使染色体不分离风险相对增大。在人类中,最容易发生不分离的染色体就是 D 组和 G 组的近端着丝粒染色体(存在特异的 NOR 结构), Cd-NOR 融合可能是这类染色体不易分离的重要原因;④Cd 迟滞复制:由于一条中期染色体的 2 条姊妹染色单体仅有一个单一的 Cd 结构,因而纺锤丝微管仅能附着于一个 Cd 上,在分裂后期不能将 2 条姊妹染色单体正常分开而形成非整倍性畸变。

(3)恶性肿瘤细胞染色体多重 Cd 是其结构畸变的潜在根源

恶性肿瘤细胞 2 个最显著的细胞遗传学特点是染色体结构畸变和非整倍性畸变,而且这些畸变存在不停的变化,特别是双着丝粒和多着丝粒染色体结构畸变较为常见。通常,染色体一旦形成双着丝粒染色体后,其中一个着丝粒即刻失活(即 Cd 消失),这可保证在细胞分裂时双着丝粒染色体能够正常分离到 2 个子细胞中。在团队对恶性肿瘤细胞染色体 Cd 研究中发现,多着丝粒染色体(3 个或 4 个)的每一个着丝粒均有 Cd 结构存在(表明着丝粒均有活性),这种现象在正常细胞中是不存在的。因此,团队提出恶性肿瘤细胞染色体结构畸变全新的起源机制,即在细胞中,由于附着在多个着丝粒 Cd 上的纺锤丝微管在分裂后期时走向不一致而将染色体拉断,形成新的染色体结构畸变^[6]。

上述这些研究成果参加了 1990 年全国遗传学研究进展大赛,经过初赛,团队进入全国举行的现场答辩决赛(50 篇),在答辩中提出 Cd 丢失、单测小 Cd、Cd 迟滞复制及 Cd-NOR 融合是人类细胞非整倍性畸变产生的根源所在,并建议在教科书中补充染色体 Cd 结构内容,王应雄教授因此而荣获“李汝其动物遗传学奖”(评出 10 篇),并获得四川省科技进步三等奖(1991 年)和重庆市科技进步二等奖(1998 年)。

3.1.2 出生缺陷防控成绩显著 20 世纪 90 年代末,重庆市出生缺陷发生率位居我国中上水平,面对这一严峻形势,重庆市政府对重庆市出生缺陷防控工作做出了一系列重要部署。团队作为重庆市出生缺陷防控技术总负责,在出生缺陷防控指南制定、全市相关人员理论培训以及各区县现场技术指导等方面做了大量工作,并将团队在研究上所取得的成果应用于防控实践之中,在降低重庆市出生缺陷发生率上取得显著成效,重庆市北碚区也因此而成为全国出生缺陷防控先进单位和示范点,该项工程获得重庆市北碚区科技进步一等奖。鉴于王应雄教授在重庆市出生缺陷防控中所做出的重要贡献,因此获得“重庆市首届巴渝人口奖”。

3.1.3 其他相关研究 团队在临床相关疾患的细胞遗传学研究中,发现一个尚未见报道的特殊双随体双着丝粒额外小染色体。运用多种染色体显带技术对其进行分析,并提出了新的见解:在家族中,特别是产前诊断中发现该类染色体畸变,一定要应用 Cd 带和 C 带加以分析,以确认其畸变是否导致临床症状,这样才能对家族中其他成员的生育做出正确的指导,并在产前诊断中做出正确的选择,这具有重要的实践价值。此外,团队还对这类双随体双着丝粒额外小染色体的起源做出了全新的解释,即在减数分裂时,同源近端着丝粒染色体配对时发生了错误的 U 型交换^[7]。

21 三体综合征是临床上比较常见的一种染色体病,但目前仍然没有一个较为特异和更有效的指标用于 21 三体产前风险评估。对此,团队将染色体 Cd 技术应用于患者及家族成员的染色体分析,提出了对 G 组染色体的 Cd-NOR 融合频率进行分析,以提高 21 三体产前风险评估的有效性。此外,团队还对 21 三体患者 CpG 岛 DNA 甲基化状态进行了探索,从分子水平上拟寻求更有效、更特异的用于 21 三体产前风险评估的表观遗传学分子靶点的可能性^[8]。但团队却意外发现 21qCpG 岛 DNA 甲基化状态在同一种族内高度一致,并提出 21qCpG 岛 DNA 甲基化状态可作为种族间识别的表观遗传学标记^[9]。团队还提出了 21 号染色体上 CENP-B 框和 α -卫星 DNA 变异可作为 21 三体产前风险评估的指标^[10]。

Klinefelter 综合征(47,XXY)是一种较常见的性染色体非整倍性畸变所致的男性不育疾患,但该染色体不分离的原因尚不清楚。团队发现 Klinefelter 患者 X 染色体着丝粒区域的 α -卫星 DNA 串联重复序列结构变异与染色体不分离有密切关系,进而发现 Klinefelter 患者及双亲的 X 染色体着丝粒区 α -卫星 DNA 表现出较正常人更多的变异。对此提出孕前或产前对双亲外周血 X 染色体着丝粒区域的 α -卫星 DNA 变异分析,有助于预防 Klinefelter 综合征的发生^[11]。

上述临床相关疾病的细胞遗传学研究,为临床生殖相关疾病的诊治、异常患儿出生的预防提供了有价值的手段。

3.2 胚胎植入领域

在对临床不孕、自然流产和习惯性流产的细胞遗传学研究中,团队认识到还有许多病因与染色体畸变无关,可能涉及分子水平上的改变。因此,从 2004 年开始,团队将研究方向拓展到妊娠的重要环节——胚胎植入,拟探索不孕、自然流产和习惯性流产发生的分子基础,为人类生殖领域面临的相关问题提供借鉴。

3.2.1 胚胎植入相关因子的筛选 团队以转录组学为先导,探寻胚胎植入相关分子基础。利用新技术 LongSAGE 方法成功构建小鼠胚胎植入期期子宫内膜基因表达文库,成功筛选到 156 个上下调标签(1 个标签代表 1 个基因),经生物信息学分析,86 个标签与妊娠期间子宫内膜的形态改变密切相关,同时,团队采用基因延长扩增技术,对一些不能被检索到的新的标签进行了进一步鉴定,并有重要发现。这些发现将有助于进一步了解小鼠胚胎植入期的分子事件^[12]。

团队利用蛋白质组学技术对小鼠胚胎植入期子宫内膜

着床点和着床旁蛋白质差异表达进行分析,结果发现至少 90 个蛋白质分子在着床点和着床点旁存在 2 倍以上的量变,经生物信息学分析,确定 36 个蛋白分子与胚胎植入密切相关^[13]。

通过组学的先导分析,团队确定了某些靶基因和靶蛋白分子,为后续研究胚胎植入相关的分子事件奠定了重要基础。

3.2.2 胚胎植入相关因子的鉴定和机制研究 团队在组学分析的基础上,靶定某些基因、蛋白分子以及 circRNA 和 miRNA,首先在临床上确认与妊娠相关,然后在细胞模型、动物模型及基因敲除模型上加以验证,并探索其作用机制。

团队揭示了:①孕激素水平是启动白血病抑制因子(leukemia inhibitory factor, LIF)基因表达的必要条件,并通过与 LIF 受体及 gp130 蛋白相互作用而在胚胎植入中发挥重要作用;此外,团队还发现在复发性流产胚胎绒毛组织中 20% 的病例无 LIF 表达,并在临床上验证了部分原发不孕患者不孕原因以及部分流产的原因是由于胚胎植入期子宫内膜 LIF 表达缺失所致^[14-16]。②揭示了 NM23 在 PI3K-Akt-mTOR 信号通路介导下,通过调控子宫内膜基质细胞增殖和分化而影响子宫内膜蜕膜化进程,导致妊娠失败^[17]。③通过条件性敲除子宫内膜 DNA 甲基化转移酶(DNMT1、DNMT3A 和 DNMT3B)后,出现子宫内膜蜕膜化缺损和基质细胞过度增殖,首次揭示了 DNA 甲基化表观遗传修饰参与胚胎植入过程中子宫内膜蜕膜化的调控^[18-19]。④首次揭示叶酸缺乏可导致 *Esr1*、*Cdh1* 和 *Pgr* 等容受性基因的启动子区甲基化异常,进而影响子宫内膜容受性建立,造成子宫蜕膜细胞线粒体肿胀,血管生成相关因子表达降低,阐明了子宫蜕膜化的受损作用机制与基因组甲基化模式改变以及胚胎发育过程中 PCP 信号通路的抑制密切相关,并意外发现叶酸缺乏可导致孕鼠早期胎盘发生结构和功能异常,分化能力受到影响,并证实细胞自噬参与并调控了由于叶酸缺乏导致的胎盘功能发育障碍^[20-24]。⑤发现高水平胰岛素在 PI3K/Akt 信号通路介导下可打破子宫内膜细胞凋亡平衡进而影响子宫内膜蜕膜化,导致早孕小鼠子宫内膜基质细胞蜕膜化受损和胚胎植入异常。而妊娠早期卵巢功能受损是高水平胰岛素干扰子宫内膜细胞凋亡平衡的重要原因之一^[25-27]。⑥首次揭示了糖基化修饰的整合素 $\beta 1$ 、*THBS1* 等基因参与滋养层细胞功能的调节而影响妊娠结局^[28-29]。⑦对组学中筛选到的其他差异表达基因、蛋白功能进行了广泛而深入的研究,并发现如钙网蛋白、IK、KRAS、SLP-2、FOXO3a、CD28、PI3K/Akt、mTOR 在子宫内膜容受性建立以及蜕膜化进程中起着非常重要的作用^[30-37]。

3.2.3 miRNA 和 circRNA 在胚胎植入中的调节作用 团队利用芯片杂交技术对早孕小鼠子宫内膜胚胎植入点和植入旁差异表达 miRNA 和 circRNA 进行了分析,发现某些重要的 miRNA 和 circRNA^[38-39],同时还建立了临床复发性流产患者的 circRNA 表达谱^[40],并进一步证实了:miR-200a 过表达通过靶向小鼠子宫磷酸酶和肌球蛋白同源物导致着床失败^[41];miR-141 在胚胎着床后早期妊娠中发挥重要作用^[42];miR-193 通过调节 GRB7 基因表达参与小鼠子宫胚胎着

床^[43];miR-21a 通过靶向 Pdc4 抑制蜕膜细胞凋亡^[44]。

3.3 不良环境因素对生殖发育的损伤机制研究

环境污染物对不孕不育、自然流产、出生缺陷和发育畸形的影响受到广泛关注。近十年,团队开展了一系列环境有害因素对妊娠及生殖发育影响的研究,成绩显著。

团队的研究揭示:①首次发现孕鼠增塑剂 DBP 暴露造成同源重组位点上升,DNA 损伤积累而抑制卵母细胞第一次减数分裂前期进程^[45];还揭示了孕鼠或胚胎卵巢暴露于 DEHP 使原始卵泡比例显著减少,合胞体比例增多,原始卵泡形成过程受到抑制,并进一步阐明了 DEHP 通过 AMPK-SKP2-CARM1 信号通路激活自噬的分子机制,并存在跨越代际的潜在危害,阻碍子代青春期后生殖系统的正常发育,从而对雌性生殖功能产生长期的不良影响^[46]。②发现小鼠早孕期暴露于纳米材料 CeO₂NPs 可导致小鼠宫腔内出血、胚胎吸收、胎盘发育及功能障碍,产仔数减少、胎鼠体质量减轻等不良妊娠结局。由 CeO₂NPs 暴露引发的胎盘异常与子宫内 NK(uNK)细胞分化、滋养细胞侵袭失衡密切相关^[47]。③结果证实孕早期暴露于苯并(a)芘(BaP)可干扰胚胎植入窗口期子宫内膜容受性的建立及其后的蜕膜化过程,同时会影响滋养细胞的迁移和侵袭能力,导致胚胎着床率下降及植入后胚胎发育不良^[48]。团队进一步追踪了 BaP 对孕早期卵巢黄体功能的影响,并发现 BaP 影响围着床期的卵巢黄体发育,通过干扰 Notch 信号通路,损害黄体血管网络的构建以及影响卵巢褪黑素水平及其受体 MT₁/MT₂ 的表达,增强氧化应激,诱导卵巢颗粒细胞凋亡,从而影响孕期黄体的内分泌功能^[49-52]。④氟化钠通过诱导氧化应激激活 ERK 和 JNK,促进细胞凋亡,损害大鼠卵巢功能^[53]。⑤证实了孕早期乙炔利(ETH)暴露可导致小鼠子宫内膜脂肪酸代谢紊乱、蜕膜化受损,出现不良妊娠结局,GPR120 参与介导了 ETH 暴露引起的蜕膜化受损过程^[54]。⑥证实了孕早期对羟基苯甲酸酯暴露后,小鼠子宫内膜蜕膜化受损、胚胎着床受阻、子代数量明显减少,血清 E₂/P₄ 紊乱和激素受体信号的下调可能是蜕膜化受损的原因^[55]。上述研究揭示了某些环境致畸物对生殖及发育的影响,为预防环境带来的生殖危害奠定了重要基础。

3.4 有害环境因子检测新技术研究

团队针对重金属离子、霉菌毒素等环境污染物的痕量检测进行了一些新的探索,构建了多种性能优异的新型电化学生物传感器,实现了:①对环境水样中痕量 Pb²⁺和 Hg²⁺的高灵敏、特异性检测,特别是在构建双信号输出传感器检测 Hg²⁺中引入智能手机的比色分析,更增强了该方法的便携性和精准性,可实现环境中 Hg²⁺的即时现场初筛分析^[56-59];②利用新型纳米材料、纳米传感技术及适配体成功构建了 2 种新型超灵敏电化学适配体传感器,分别用于 ZEN 和 T-2 毒素的特异性检测,为探索霉菌毒素快速、便携、高灵敏的检测技术创新提供了实验依据^[60-61]。上述研究为环境中有害物质的痕量检测提供了新的技术策略。

4 今后的研究方向及展望

在未来的研究中,团队将重点聚焦人类生殖、生命早期发育及妊娠结局关键分子事件和规律研究,主要研究方向包括:

4.1 妊娠建立的标记分子及早期妊娠失败的病理机制

整合模式动物平台和人类生殖相关疾病的临床资源,研究引导胚胎-子宫识别的分子媒介,探究妊娠建立过程,如容受性和蜕膜化的标记分子及早期妊娠失败的病理机制;阐明妊娠维持过程中胚胎-胚外组织-子宫蜕膜协同分化和互作的调控路径及其与相关重要妊娠并发症的关联机制,揭示早期妊娠失败及妊娠并发症发生的分子基础,提出不孕不育和妊娠相关疾病的精确诊治和干预靶标。

4.2 胎盘形成的分子机制

综合人类胎盘和模式哺乳动物模型,重点开展胎盘形成和功能调节的机制研究。挖掘胎盘滋养层细胞谱系分化的编程机制,研究胎盘细胞亚型分化和互作在胎盘功能单元构建中的作用及相应的分子标记,探究胎盘发育和功能障碍影响妊娠结局的分子基础,从而提出以胎盘为靶标的监测和干预妊娠进程的新策略。

4.3 环境因素对生殖发育的影响

通过临床分子流行病学调查,探讨环境、心理、行为及环境和遗传交互作用对胚胎发育及妊娠的影响,阐明导致胚胎发育及妊娠相关疾病发生的高危因素,为相关疾病的早期预防提供科学依据,探索有效的预防干预措施。

感谢前行路上给予团队大力支持的学校领导及相关部门;感谢曾经指导过团队的老师;感谢一起工作过的同事;特别感谢团队所有研究生的贡献。

参 考 文 献

- [1] 翁亚光,王应雄,张湘蜀,等. 人类染色体着丝粒点(Cd)染色方法探讨[J]. 重庆医科大学学报,1990,15(3):246-247.
- [2] 王应雄,翁亚光,张湘蜀,等. 非整倍体患者染色体 Cd 结构初步研究[J]. 中华医学遗传学杂志,1992,9(3):146-149.
- [3] 王应雄,翁亚光,张湘蜀,等. 正常人染色体 Cd 结构的研究[J]. 遗传,1991,13(4):27-29.
- [4] 翁亚光,王应雄,张湘蜀,等. 自然流产夫妇染色体着丝粒点的研究[J]. 中华妇产科杂志,1995,30(3):142-144.
- [5] 王应雄,翁亚光,刘学庆,等. 正常人胚胎绒毛细胞染色体着丝粒点(Cd)变异的研究[J]. 遗传,1995,17(2):1-3.
- [6] 龙春兰,谭 彬,王应雄,等. HEP-2 细胞染色体不稳定性与 Kinetochore 变异[J]. 中国细胞生物学学报,2011,33(2):136-141.
- [7] 王应雄,马梅荪,郑增浮. 人类额外小染色体[J]. 重庆医药,1987,16(6):44-45.
- [8] Xia YY,Ding YB,Liu XQ,et al. Allelic methylation status of CpG islands on chromosome 21q in patients with Trisomy 21[J]. Mol Med Rep,

- 2014,9(5):1681-1688.
- [9] Xia YY,Ding YB,Liu XQ,et al. Racial/ethnic disparities in human DNA methylation[J]. *Biochim Biophys Acta*,2014,1846(1):258-262.
- [10] Chen Q,Tan B,He JL,et al. Mutational spectrum of CENP-B box and α -satellite DNA on chromosome 21 in Down syndrome children[J]. *Mol Med Rep*,2017,15(4):2313-2317.
- [11] 李 恬,翁亚光,王应雄,等. Klinefelter 综合征 X 染色体着丝粒区 α -卫星 DNA 变异[J]. 第三军医大学学报,2005,27(16):1678-1680
- [12] Ding YB,He JL,Chen XM,et al. Novel differential transcript expression identified by longSAGE in the mouse endometrium during the implantation window[J]. *Mol Biol Rep*,2013,40(1):651-663.
- [13] 潘 卫,王应雄,黎 刚,等. 双向凝胶电泳分析小鼠子宫内膜胚泡着床点和着床旁组织蛋白质组[J]. 中国生物工程杂志,2004,24(4):54-58.
- [14] 翁亚光,王应雄,刘学庆,等. 小鼠子宫内膜 LIF 基因表达与雌、孕激素的关系[J]. 遗传,2003,25(1):37-39.
- [15] 王应雄,何俊琳,翁亚光,等. 习惯性流产胚胎绒毛细胞 LIF 基因的表达[J]. 遗传,2001,23(2):111-113.
- [16] 黎 刚,王应雄,刘学庆,等. 因不明性习惯性流产患者子宫蜕膜白血病抑制因子基因表达研究[J]. 遗传,2002,24(3):251-253.
- [17] Zhang X,Fu LJ,Liu XQ,et al. nm23 regulates decidualization through the PI3K-Akt-mTOR signaling pathways in mice and humans [J]. *Hum Reprod*,2016,31(10):2339-2351.
- [18] Ding YB,Long CL,Liu XQ,et al. Expression of DNA methyltransferases in the mouse uterus during early pregnancy and susceptibility to dietary folate deficiency[J]. *Reprod*,2012,144(1):91-100.
- [19] Ding YB,Long CL,Liu XQ,et al. 5-aza-2'-deoxycytidine leads to reduced embryo implantation and reduced expression of DNA methyltransferases and essential endometrial genes[J]. *PLoS One*,2012,7(9):e45364.
- [20] Gao R,Ding Y,Liu X,et al. Effect of folate deficiency on promoter methylation and gene expression of Esr1,Cdh1 and Pgr,and its influence on endometrial receptivity and embryo implantation[J]. *Hum Reprod*,2012,27(9):2756-2765.
- [21] Long C,He J,Liu X,et al. Dietary folate deficiency in pseudo-pregnant mice has no effect on homeobox A10 promoter methylation or expression[J]. *Reprod Sci*,2012,19(12):1268-1275.
- [22] Geng Y,Gao R,Chen X,et al. Folate deficiency impairs decidualization and alters methylation patterns of the genome in mice[J]. *Mol Hum Reprod*,2015,21(11):844-856.
- [23] Geng Y,Gao R,Liu X,et al. Folate deficiency inhibits the PCP pathway and alters genomic methylation levels during embryonic development[J]. *J Cell Physiol*,2018,233(9):7333-7342.
- [24] Zhang Y,Gao R,Zhang L,et al. AMPK/mTOR downregulated autophagy enhances aberrant endometrial decidualization in folate-deficient pregnant mice[J]. *J Cell Physiol*,2021[Epub ahead of print]. DOI: 10.1002/jcp.30408.
- [25] Zhang C,Wu J,He J,et al. The regulation of high insulin levels on ovary apoptosis in early pregnant mice[J]. *Biochem Biophys Res Commun*,2017,483(1):786-792.
- [26] Zhang C,Yang C,Li N,et al. Elevated insulin levels compromise endometrial decidualization in mice with decrease in uterine apoptosis in early-stage pregnancy[J]. *Arch Toxicol*,2019,93(12):3601-3615.
- [27] Chen W,Lu S,Yang C,et al. Hyperinsulinemia restrains endometrial angiogenesis during decidualization in early pregnancy[J]. *J Endocrinol*,2019,243(2):137-148.
- [28] Zhang M,Wang M,Gao R,et al. Altered beta1,6-GlcNAc and bisecting GlcNAc-branched N-glycan on integrin beta1 are associated with early spontaneous miscarriage in humans[J]. *Hum Reprod*,2015,30(9):2064-2075.
- [29] Duan FM,Fu LJ,Wang YH,et al. THBS1 regulates trophoblast fusion through a CD36-dependent inhibition of cAMP,and its upregulation participates in preeclampsia[J]. *Genes Dis*,2021,8(3):353-363.
- [30] Zhang X,Li BY,Fu LJ,et al. Stomatin-like protein 2(SLP2) regulates the proliferation and invasion of trophoblast cells by modulating mitochondrial functions[J]. *Placenta*,2020,100:13-23.
- [31] Cheng SQ,He JL,Dong YL,et al. Characterization of calreticulin expression in mouse endometrium during embryo implantation[J]. *Biol Res*,2009,42(4):505-516.
- [32] Shao R,Liu X,Ding Y,et al. Characterization of IK cytokine expression in mouse endometrium during early pregnancy and its significance on implantation[J]. *Int J Mol Med*,2012,30(3):615-621.
- [33] Long X,Zhang M,Chen X,et al. Expression of KRAS in the endometrium of early pregnant mice and its effect during embryo implantation[J]. *Reprod Biomed*,2015,31(1):51-61.
- [34] Feng Q,Hu ZY,Liu XQ,et al. Stomatin-like protein 2 is involved in endometrial stromal cell proliferation and differentiation during decidualization in mice and humans[J]. *Reprod Biomed Online*,2017,34(2):191-202.
- [35] Long J,Yang CS,He JL,et al. FOXO3a is essential for murine endometrial decidualization through cell apoptosis during early pregnancy[J]. *J Cell Physiol*,2019,234(4):4154-4166.
- [36] Liu S,He J,Chen X,et al. Costimulatory molecule CD28 participates in the process of embryo implantation in mice[J]. *Reprod Sci*,2014,21(6):686-695.
- [37] Chen X,He J,Ding Y,et al. The role of MTOR in mouse uterus during embryo implantation[J]. *Reprod*,2009,138(2):351-356.
- [38] Zhang S,Ding Y,He J,et al. Altered expression patterns of circular RNAs between implantation sites and interimplantation sites in early pregnant mice[J]. *J Cell Physiol*,2019,234(6):9862-9872.
- [39] Geng Y,He J,Ding Y,et al. The differential expression of microRNAs between implantation sites and interimplantation sites in early pregnancy in mice and their potential functions[J]. *Reprod Sci*,2014,21(10):1296-1306.
- [40] Li C,Chen X,Liu X,et al. CircRNA expression profiles in decidual tissue of patients with early recurrent miscarriage[J]. *Genes Dis*,2019,7(3):414-423.
- [41] Shen LJ,He JL,Yang DH,et al. Mmu-microRNA-200a overexpression leads to implantation defect by targeting phosphatase and tensin homolog in mouse uterus[J]. *Reprod Sci*,2013,20(12):1518-

1528.

[42] Liu X, Gao R, Chen X, et al. Possible roles of mmu-miR-141 in the endometrium of mice in early pregnancy following embryo implantation[J]. *PLoS One*, 2013, 8(6):e67382.

[43] Li R, He J, Chen X, et al. Mmu-miR-193 is involved in embryo implantation in mouse uterus by regulating GRB7 gene expression[J]. *Reprod Sci*, 2014, 21(6):733-742.

[44] Li R, Wen YX, Geng YQ, et al. miR-21a inhibits decidual cell apoptosis by targeting Pdcd4[J]. *Genes Dis*, 2019, 8(2):171-180.

[45] Tu Z, Mu X, Chen X, et al. Dibutyl phthalate exposure disrupts the progression of meiotic prophase I by interfering with homologous recombination in fetal mouse oocytes[J]. *Environ Pollut*, 2019, 252:388-398.

[46] Zhang Y, Mu X, Gao R, et al. Foetal-neonatal exposure of Di(2-ethylhexyl) phthalate disrupts ovarian development in mice by inducing autophagy[J]. *J Hazard Mater*, 2018, 358:101-112.

[47] Zhong H, Geng Y, Chen J, et al. Maternal exposure to CeO₂NPs during early pregnancy impairs pregnancy by inducing placental abnormalities[J]. *J Hazard Mater*, 2020, 389:121830.

[48] Zhao Y, Chen XM, Liu XQ, et al. Exposure of mice to benzo(a)pyrene impairs endometrial receptivity and reduces the number of implantation sites during early pregnancy[J]. *Food and Chem Toxicol*, 2014, 69:244-251.

[49] Li XY, Shen C, Liu XQ, et al. Exposure to benzo(a)pyrene impairs decidualization and decidual angiogenesis in mice during early pregnancy[J]. *Environmental Pollut*, 2017, 222:523-531.

[50] Yi T, Liu M, Li XY, et al. Benzo(a)pyrene inhibits endometrial cell apoptosis in early pregnant mice via the WNT5A pathway[J]. *J cell physiol*, 2019, 234:11119-11129.

[51] Liu M, Deng T, He JL, et al. Exposure to benzo(a)pyrene impairs the corpus luteum vascular network in rats during early pregnancy[J]. *Environ Pollut*, 2020, 259:113915.

[52] Xu HT, Mu XY, Ding YB, et al. Melatonin alleviates benzo(a)

pyrene-induced ovarian corpus luteum dysfunction by suppressing excessive oxidative stress and apoptosis[J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2021, 207:111561.

[53] Geng Y, Qiu Y, Liu X, et al. Sodium fluoride activates ERK and JNK via induction of oxidative stress to promote apoptosis and impairs ovarian function in rats[J]. *J Hazard Mater*, 2014, 272:75-82.

[54] Huang C, Wang D, Li N, et al. Exposure to ethephon compromises endometrial decidualization in mice during early pregnancy via GPR120[J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2021, 220:112361.

[55] Wang D, Li W, Yang C, et al. Exposure to ethylparaben and propylparaben interfere with embryo implantation by compromising endometrial decidualization in early pregnant mice[J]. *J Appl Toxicol*, 2021[Epub ahead of print]. DOI: 10.1002/jat.4208.

[56] Yu Y, Yu C, Niu Y, et al. Target triggered cleavage effect of DNAzyme: relying on Pd-Pt alloys functionalized Fe-MOFs for amplified detection of Pb²⁺[J]. *Biosens Bioelectron*, 2018, 101:297-303.

[57] Yu Y, Yu C, Gao R, et al. Dandelion-like CuO microspheres decorated with Au nanoparticle modified biosensor for Hg²⁺ detection using a T-Hg²⁺-T triggered hybridization chain reaction amplification strategy[J]. *Biosens Bioelectron*, 2019, 131:207-213.

[58] 向俊琳, 于超. 一种用于重金属铅污染检测的电化学传感器制备方法: 中国, ZL201710803693.1[P]. 2019-09-06.

[59] Ma Y, Yu Y, Mu X, et al. Enzyme-induced multicolor colorimetric and electrochemiluminescence sensor with a smartphone for visual and selective detection of Hg²⁺[J]. *J Hazard Mater*, 2021, 415:125538.

[60] Ji X, Yu C, Wen Y, et al. Fabrication of pioneering 3D sakura-shaped metal-organic coordination polymers Cu^{II}-L-Glu phenomenal for signal amplification in highly sensitive detection of zearalenone[J]. *Biosens Bioelectron*, 2019, 129:139-146.

[61] Zhong H, Yu C, Gao R, et al. A novel sandwich aptasensor for detecting T-2 toxin based on rGO-TEPAu^{II} Pt nanorods with a dual signal amplification strategy[J]. *Biosens Bioelectron*, 2019, 144:111635.

(责任编辑:周一青)

