

基础研究

DOI: 10.13406/j.cnki.cyxh.002165

Rictor/mTORC2 在小鼠胚胎植入中的作用

文乙先,耿艳清,张悦,翟婧玮,刘学庆

(重庆医科大学公共卫生与管理学院生殖生物学实验室、教育部生殖与发育国际合作联合实验室,重庆 400016)

【摘要】目的:通过研究 mTOR 配体之一——Rictor 基因在早孕小鼠中的表达规律,以及对胚胎植入的影响,为最终阐明其在胚胎植入中的作用和相关机制奠定基础。**方法:**构建小鼠早孕和子宫内膜条件敲除 Rictor 基因的动物模型。**结果:**免疫组化结果表明,Rictor 基因在小鼠早孕期 D1 至 D4 表达于腔和腺上皮,以及胚胎植入后着床点附近的蜕膜组织区。成功繁殖了基因型为 Rictor^{fl/fl}Cre^{+/+}的条件性敲除小鼠。免疫组化、Western blot 及 RT-qPCR 结果表明小鼠子宫中 Rictor 表达降低,提示 Rictor 子宫条件敲除小鼠模型构建成功。相比对照鼠,敲除鼠的子宫体积和重量都明显降低($P<0.01$);敲除鼠孕 5 d 子宫外观显示无可见胚胎植入位点,且腔上皮细胞中增生标志物 Ki67 和子宫内膜容受性标志物 MUC1 表达均升高。**结论:**子宫内膜条件敲除 Rictor 后,由于容受性的降低导致胚胎的植入率明显下降。

【关键词】子宫内膜;胚胎植入;Rictor;条件性基因敲除

【中图分类号】R321.3

【文献标志码】A

【收稿日期】2019-01-02

Role of Rictor/mTORC2 in mouse embryo implantation

Wen Yixian, Geng Yanqing, Zhang Yue, Zhai Jingwei, Liu Xueqing

(Laboratory of the Reproductive Biology, College of Public Health and Management, Chongqing Medical University; Joint International Research Laboratory of Reproduction & Development)

【Abstract】Objective: To investigate the expression of the Rictor gene, an ligand for mTOR, in mice in early pregnancy and its effect on embryo implantation, and to lay a foundation for further research on the role and mechanism of the Rictor gene in mouse embryo implantation. **Methods:** The mouse model of early pregnancy and uterine-specific knockout of the Rictor gene was established. **Results:** Immunohistochemistry showed that the Rictor gene was mainly expressed in the luminal and glandular epithelium on days 1–4 of pregnancy and the decidual tissue near the implantation site after embryo implantation. The conditional-knockout mice with genotype Rictor^{fl/fl}Cre^{+/+} were successfully propagated. Immunohistochemistry, Western blot, and RT-qPCR showed that the expression of the Rictor gene was reduced in mouse uterus, suggesting that a mouse model of conditional knockout of the Rictor gene in the uterus was successfully established. Compared with the control mice, the knockout mice had significantly lower volume and weight of the uterus ($P<0.01$). On day 5 of pregnancy, the knockout mice had no embryo implantation sites in the uterus and had significant increases in the expression of Ki67 (a marker for proliferation) and MUC1 (a marker for endometrial receptivity) in the luminal epithelial cells. **Conclusion:** There is a significant reduction in embryo implantation rate due to impaired receptivity after conditional knockout of the Rictor gene.

【Key words】endometrium; embryo implantation; Rictor; conditional knockout

在哺乳动物的妊娠过程中,胚胎植入是一个精细而复杂的过程,仅发生于妊娠早期的有限时间段内^[1]。获得植入能力的囊胚和处于“窗口期”的子宫

相互作用共同完成胚胎植入^[2],子宫内膜容受性建立以及基质细胞蜕膜化在其中发挥着重要作用。已有研究表明一些与细胞增殖和分化的细胞因子参与了此过程^[3-4]。

哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)是一种高度保守的丝/苏氨酸蛋白激酶,可接受并整合细胞内和细胞外各种信号通路的刺激来调节蛋白的翻译,细胞的生长、增殖、

作者介绍:文乙先, Email: 369786520@qq.com,

研究方向:胚胎植入。

通信作者:刘学庆, Email: cqmu_liuxueqing@126.com。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(编号:31801247)。

优先出版: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20190513.1504.013.html>

(2019-05-14)

存活与自噬等生理过程^[5-6]。目前已知有 2 种 mTOR 复合物,分别是雷帕霉素所抑制的 mTOR 复合物 1 (mTORC1)和不抑制的 mTOR 复合物 2(mTORC2)^[7]。已有研究表明 mTORC1 在小鼠胚胎植入过程中子宫内膜的功能调控方面发挥重要作用^[8]。相较于 mTORC1,由 mTOR、Rictor、Lst8、Sin1、Deptor 和 Protor 共同构成的 mTORC2 主要功能与细胞增殖调控有关^[9],而子宫内膜的增殖与分化对胚胎植入起着非常重要的作用。Rictor 作为 mTORC2 的核心成员,对 mTORC2 的功能起着决定性作用,近年来引起研究者的广泛关注^[10]。已有研究表明磷酸化的 Rictor 通过激活下游 Akt 信号通路,促进结肠癌细胞增殖^[5]。

课题组利用小鼠早孕模型和条件敲除子宫内膜 Rictor 基因模型进行了相关研究。以期探明 Rictor 基因对胚胎植入的影响,为进一步阐明 Rictor 基因在胚胎植入中分子机制奠定基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物 本实验中 C57BL/6 野生型小鼠购自北京维通利华实验动物技术有限公司,PR-Cre 杂合子型(Cre^{+/+})小鼠购自美国 Jackson 实验室,Rictor^{fl/fl} 纯合子型小鼠获赠于重庆医科大学附属儿童医院刘超红教授,饲养于重庆医科大学实验动物中心 SPF 代养室,自由摄食和饮水,严格控制温度、湿度和光线。本研究符合本单位实验动物伦理委员会所制定的伦理学标准。

1.1.2 主要试剂

1.1.2.1 免疫组化试剂 鼠源免疫组化试剂盒和 DAB 显色试剂均购买自北京中杉金桥生物技术公司。鼠单克隆 Rictor 抗体和兔多克隆 MUC1 抗体购买于 Sigma,兔单克隆 Ki67 抗体购买于 Cell Signaling Technology (CST)公司。

1.1.2.2 Western blot 试剂 蛋白提取相关试剂 RIPA Reagent、蛋白酶抑制剂 PMSF、BCA 蛋白定量试剂、5 × SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液均购于碧云天生物技术公司。化学发光显色液购自美国 Millipore 公司。鼠单克隆 Rictor 抗体和兔多克隆 MUC1 抗体购于 Sigma。小鼠单克隆 β-actin 抗体、山羊抗小鼠 IgG 购于中杉金桥。

1.1.2.3 RT-qPCR 试剂 RNA 提取试剂 RNAiso Plus (Takara),逆转录试剂 PrimeScript™ RT reagent Kit(Takara),荧光定量 PCR 试剂 PrimeScript™ RT reagent Kit(Takara)均购自大连宝生物公司;氯仿、异丙醇、无水乙醇均购自重庆川东化工;DEPC 购自碧云天生物技术公司。PCR 引物由上海生工生物有限公司合成,引物序列见表 1。

表 1 RT-qPCR 的引物序列

基因	序列 5'→3'
<i>Rictor</i>	正向引物 CTGGAATTTCTGGGATACAGTCTCT
	反向引物 GGGCTTCTATGAACTCATCCGT
<i>MUC1</i>	正向引物 TGCCTCTGACGTGAAGTCACAG
	反向引物 AGACGATAGCCAAAGCAACCA
<i>β-actin</i>	正向引物 TGGAAATCCTGTGGCATCCATGAAAC
	反向引物 TAAAACGCGAGCTCAGTAACAGTCCG

1.1.2.4 基因型鉴定试剂 鼠尾直接 PCR 试剂盒购自 Bi-make 公司。鉴定引物和琼脂糖凝胶粉订于上海生工生物有限公司。引物序列见表 2。

表 2 PCR 扩增的引物序列

基因	序列 5'→3'
<i>Loxp</i>	正向引物 CAAGCATCATGCAGCTCTTC
	反向引物 TCCCAGAATTTCCAGGCT TA
<i>PR-Cre</i>	正向引物 CCCTTCTCATGGAGATCTGTC
	反向引物 GCGCTAAGGATGACTCTGGTC

1.2 实验方法

1.2.1 动物模型建立与材料收集 正常妊娠模型:将正常性成熟雄鼠 10 只与雌鼠 30 只(1:2)合笼交配,次日见阴栓标记为孕 1 d(D1),分别于孕 1、4、5、6、7 d 脱颈处死,收集子宫组织。D5 胚胎着床点和着床旁的区分采用小鼠尾静脉注射台盼蓝法。Rictor 条件敲除小鼠的建立:小鼠按雄雌 1:2 比例合笼交配,将 Rictor^{fl/fl} 小鼠和 PR-Cre^{+/+} 杂交,利用 PCR 和电泳法在子代 3~4 周时进行 Rictor 基因 loxp 位点和 Cre 重组酶的鉴定,筛选获得 Rictor^{fl/-} Cre^{+/+} 小鼠,再将此类小鼠和 Rictor^{fl/fl} 小鼠交配、鉴定和筛选获得 Rictor 子宫特异性敲除小鼠(Rictor^{fl/fl} Cre^{+/+} 纯和小鼠,共计 20 只),同窝出生的 Rictor^{fl/fl} Cre^{+/+} 小鼠(共计 20 只)作为正常对照小鼠。将 Rictor 条件敲除小鼠和正常对照组的小鼠分别与生殖能力正常的未做任何处理的野生型雄鼠合笼交配,次日见阴栓标记为孕 1 d (D1),分别于孕 4 d 脱颈处死,取子宫内膜和卵巢组织,分别用于实时 RT-qPCR 和 Western blot。另外,每只小鼠子宫各取 1 段(约 1 cm),采用 4%多聚甲醛固定后,用于免疫组织化学(IHC)。

1.2.2 Western blot 分析 采用 RIPA 试剂盒从每个组小鼠的子宫内膜提取蛋白质,加入 PMSF 以防止蛋白质降解,并通过 BCA 法测定蛋白质浓度。蛋白质样品通过 10%SDS-PAGE 凝胶进行电泳,然后转移到厚度为 0.45 μm 的 PVDF 膜(Millipore)。采用 5%脱脂奶封闭后,分别用鼠单克隆 Rictor 抗体(1:1 000)和小鼠单克隆 β-actin 抗体(1:2 000),4 °C 冰箱孵育过夜。次日使用 PBST 3 min × 3 次洗涤后,分别孵育对应的二抗,采用化学发光反应法检测 Rictor 和 β-actin 的表达。

1.2.3 组织 RNA 提取及 RT-PCR 组织总 RNA 提取采用 Trizol 研磨子宫内膜,将悬液转移至 1.5 mL EP 管中;冰上静置 5 min,4 ℃离心,12 000 r/min,15 min。吸取上清转移至新的 EP 管中,记录所吸取的上清容积,加入等量异丙醇,轻轻震荡混匀,4 ℃离心,12 000 r/min,15 min。弃上清,加入用 DEPC 水配制的 75%乙醇洗涤沉淀,7 500 r/min,5 min。弃上清,晾干沉淀,加入适量 DEPC 水溶解沉淀。超微量核酸蛋白测定仪测定总 RNA 浓度和纯度。RNA 逆转录成 cDNA 采用 PrimScript™ RT Master Mix 试剂盒,在 BIO-RAD iQ5 荧光实时定量 PCR 仪上进行 PCR 反应。每组实验至少重复 3 次,β-actin 作为内参,采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算基因的表达量。

1.2.4 免疫组化 经 4%多聚甲醛固 4h,浓度为 75%、85%、95%、100%的酒精分别进行脱水 2 h,二甲苯透明 45 s 左右,60 ℃烤箱用软蜡处理 5 h,硬蜡进行最后包埋。切片机连续切片,厚度为 4 μm,贴片后经 60 ℃烤 4 h,备用。将石蜡切片放于纯净二甲苯脱蜡 2 次各 40 min;100%、90%、80%、70%的梯度酒精进行水化各 3 min,流水冲洗 10 min,馏水浸洗 10 min;PBS 浸洗 5 min × 3 次;枸橼酸盐缓冲液浸泡组织切片,于微波炉内高火至沸腾转中低火共 15 min 进行抗原热修复;自然冷却后用 PBS 浸洗 3 min × 3 次洗掉枸橼酸盐,将组织周围的水吸干,放入湿盒,去离子水室温孵育 15 min 后 PBS 洗涤 3 min × 3 次;加入免疫组化试剂盒 A 液(正常血清 5%浓度)封闭,37 ℃孵育 30 min;甩干,加入一抗(1:1 000)4 ℃过夜;次日,加入免疫组化试剂盒 B 液(生物素标记兔抗山羊 IgG),37 ℃孵育 30 min 后,PBS 浸洗 3 min × 3 次;加入免疫组化试剂盒 C 液(辣根酶标记链酶卵白素工作液),37 ℃孵育 30 min 后,PBS 浸洗 3 min × 3 次;DAB 显色(1 mL DAB

底物液+1 滴 DAB);苏木精复染 3~5 min;70%、80%、90%、100%的梯度酒精脱水各 3 min;二甲苯透明 5 min × 2 次;滴中性树脂于组织面,用干净的盖玻片封片。所有组织切片均在一抗浓度、显色时间一致的前提下进行。显微镜下观察,细胞质染为棕黄色者为阳性细胞。

1.2.5 鼠尾 DNA 提取及基因型鉴定 剪取 2 mm 小鼠尾尖,置于 1.5 mL 离心管中。将 Protease Plus 和 Buffer L 按 1:50 的比例配置组织消化液,每个样本加入 100 μL 新鲜组织消化液,55 ℃水浴/金属浴消化 30 min 后。置于 95 ℃水浴/金属浴孵育 5 min 灭活蛋白酶,12 000 r/min 离心 5 min。取上清液作为 PCR 模板。PCR 反应体系:总体系 10 μL,2 × M-PCR OPTITM Mix 5 μL,上下游引物(10 μm/L)各 0.5 μL,模板 2 μL,DEPC 水 2 μL。1.5%琼脂糖凝胶,DL1000 作为 DNA 分子量 Marker,10 V/cm 进行电泳,全自动凝胶图像系统分析成像,根据基因片段长度或产物的有无判断小鼠的基因型。

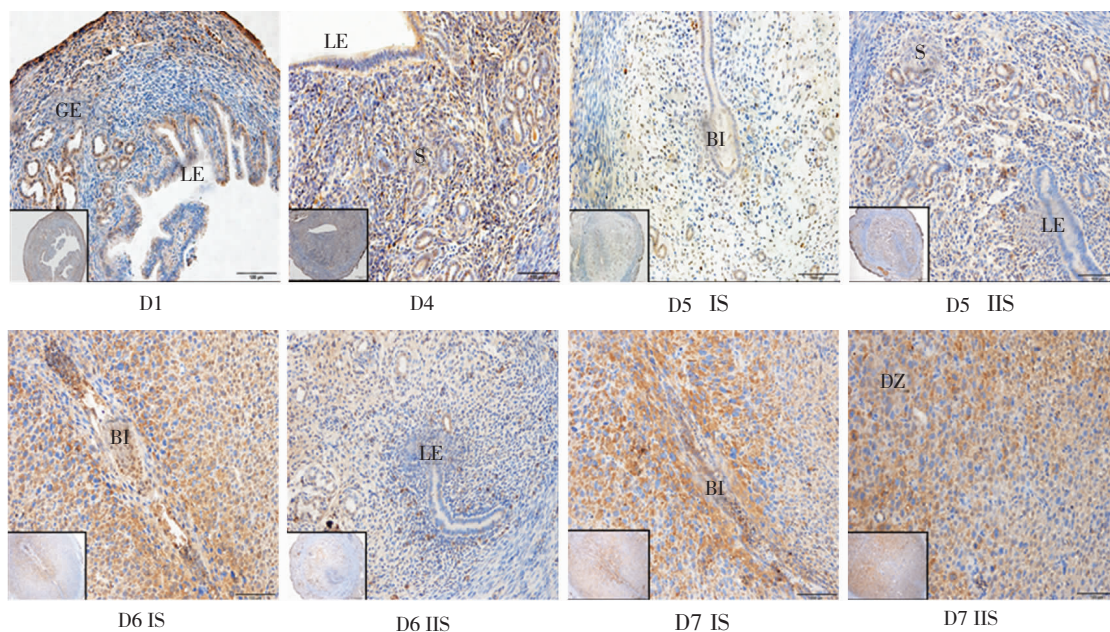
1.3 统计学处理

使用 Graphpad Prism 7.0 用于统计分析。使用 *t* 检验评估组间差异,检验水准 $\alpha=0.05$ 。每个实验包括至少 3 个独立样品,且重复 3 次。

2 结果

2.1 Rictor 在小鼠早期妊娠子宫内膜表达情况

免疫组化的结果如下,Rictor 蛋白在小鼠子宫孕 1 d 主要表达于腔上皮和腺上皮细胞,孕 4 d 则表达于上皮细胞和基质细胞,从孕 5 d 开始其蛋白水平随妊娠进程明显上调,广泛表达于着床点的蜕膜组织区(图 1)。



LE:腔上皮;CE:腺上皮;S:基质;BI:植入点;DZ:蜕膜区;棕色为阳性染色

图 1 免疫组化检测 Rictor 在小鼠子宫中的表达

2.2 Rictor^{fl/fl}Cre^{+/+}小鼠的繁殖、鉴定及筛选

基因型为 Rictor^{fl/fl} 与 Cre^{+/+} 的小鼠合笼交配后繁殖生育 F1 子代, 筛选出 F1 代 Rictor^{fl/-}Cre^{+/+} 小鼠。筛选出的 Rictor^{fl/-}Cre^{+/+} 小鼠与 Rictor^{fl/fl} 小鼠继续合笼繁殖出 F2 代小鼠, 予以基因型鉴定后筛选出 Rictor^{fl/fl}Cre^{+/+} 小鼠及 Rictor^{fl/fl}Cre^{-/-} 小鼠, 其中 Rictor^{fl/fl}Cre^{+/+} 小鼠 (3) 即为本研究实验组, Rictor^{fl/fl}Cre^{-/-} 小鼠 (4) 则为对照组 (图 2)。

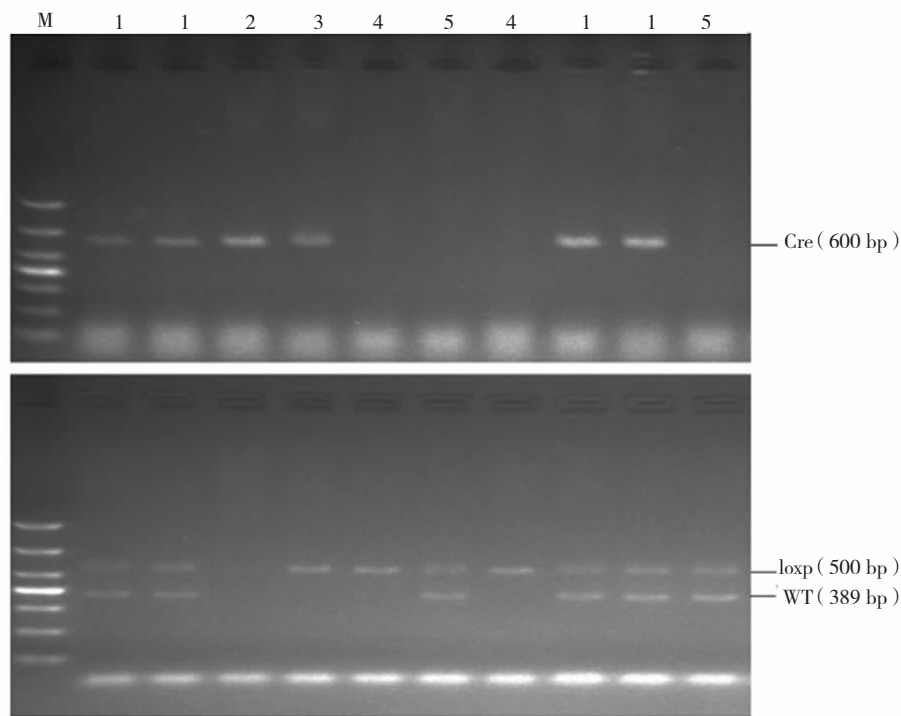
2.3 Rictor^{fl/fl}Cre^{+/+} 小鼠子宫中 Rictor 的表达水平

免疫组化结果显示, Rictor 基因子宫条件性敲除小鼠的

卵巢组织中 Rictor 的表达与对照鼠相比无明显差异, 而在子宫组织中的表达明显降低 (图 3A)。Western blot 和 RT-qPCR 结果均显示 Rictor^{fl/fl}Cre^{+/+} 小鼠子宫中蛋白水平和 mRNA 水平明显低于对照组 (图 3B、C, $t_{mRNA}=17.18$, $P_{mRNA}=0.000$)。以上结果证实 Rictor 基因子宫特异性敲除小鼠构建成功。

2.4 Rictor^{fl/fl}Cre^{+/+} 表型分析

将 Rictor^{fl/fl}Cre^{+/+} 小鼠和 Rictor^{fl/fl}Cre^{-/-} 组小鼠分别与正常生殖能力的雄鼠交配后孕 4 d 和孕 5 d 的子宫组织形态如图 4A 所示。与 Rictor^{fl/fl}Cre^{-/-} 组相比, Rictor^{fl/fl}Cre^{+/+} 小鼠孕 4 d 子



M: DNA 分子量标准 1. Rictor^{fl/fl}Cre^{+/+}; 2. Rictor^{fl/-}Cre^{+/+}; 3. Rictor^{fl/fl}Cre^{+/-}; 4. Rictor^{fl/fl}Cre^{-/-}; 5. Rictor^{fl/-}Cre^{-/-}

图 2 琼脂糖凝胶电泳检测鼠尾 DNA

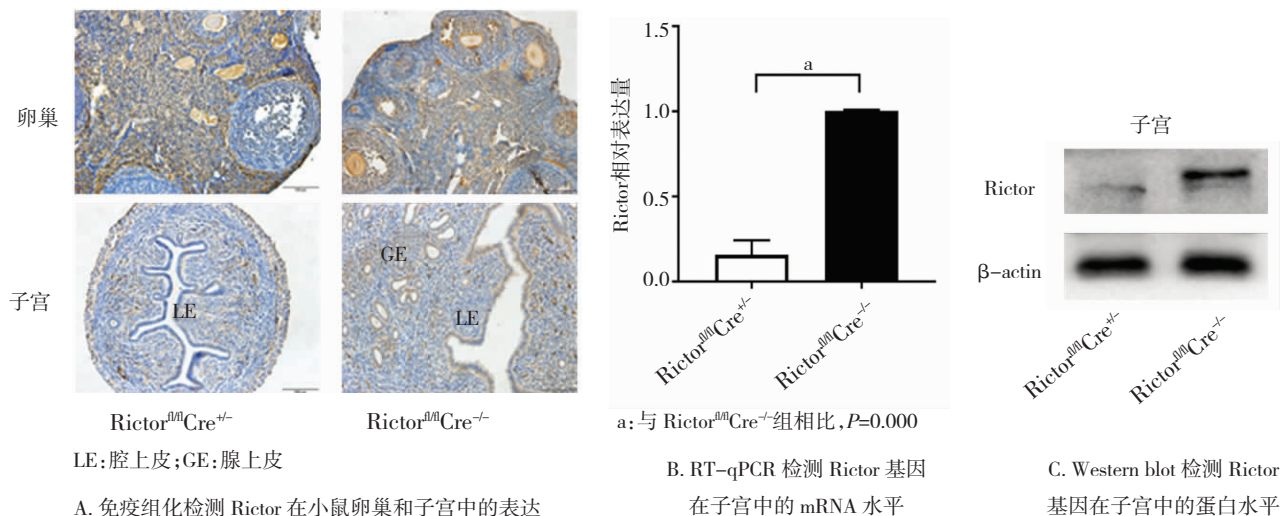
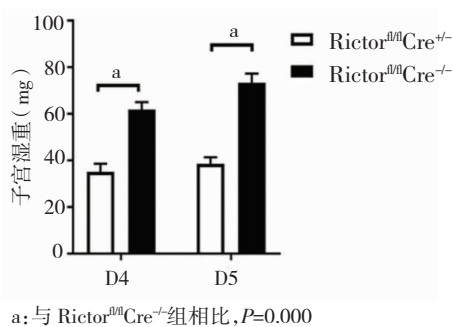


图 3 Rictor 在敲除鼠模型和对照鼠中的表达

宫形态细长,子宫内明显较细薄。孕 5 d $Rictor^{fl/fl}Cre^{+/+}$ 小鼠子宫能明显观察到台盼蓝着色的胚胎植入位点,而 $Rictor^{fl/fl}Cre^{+/+}$ 小鼠子宫中未观察到植入位点。对 2 组小鼠子宫进行称重并统计,如图 4B 所示,孕 4 d 和孕 5 d 子宫质量明显低于对照组($t_{D4}=9.78, P_{D4}=0.000; t_{D5}=12.67, P_{D5}=0.000$)。对孕 5 d 的着床点数进行统计,结果如图 4C 所示,差异具有统计学意义($t=13.87, P=0.000$)。

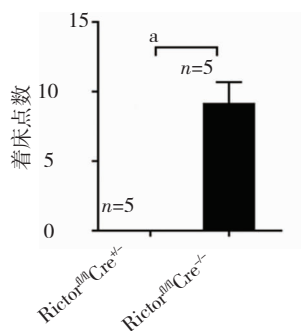


A. $Rictor^{fl/fl}Cre^{+/+}$ 小鼠和 $Rictor^{fl/fl}Cre^{-/-}$ 组小鼠子宫形态



a: 与 $Rictor^{fl/fl}Cre^{+/+}$ 组相比, $P=0.000$

B. $Rictor^{fl/fl}Cre^{+/+}$ 小鼠和 $Rictor^{fl/fl}Cre^{-/-}$ 组小鼠子宫质量统计图



a: 与 $Rictor^{fl/fl}Cre^{+/+}$ 组相比, $P=0.000$

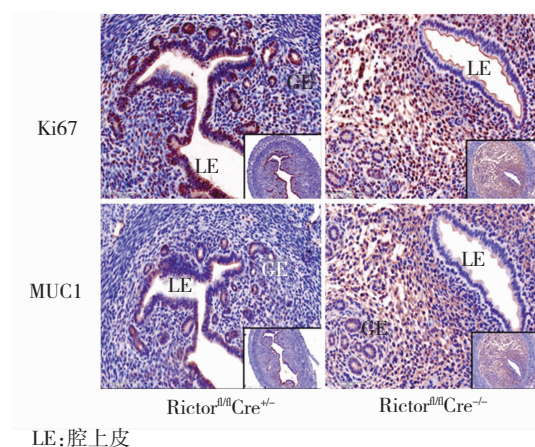
C. $Rictor^{fl/fl}Cre^{+/+}$ 小鼠和 $Rictor^{fl/fl}Cre^{-/-}$ 组小鼠孕 5 d 着床点数统计图

图 4 $Rictor$ 敲除小鼠和 $Rictor^{fl/fl}Cre^{-/-}$ 组鼠的组织形态和着床点统计

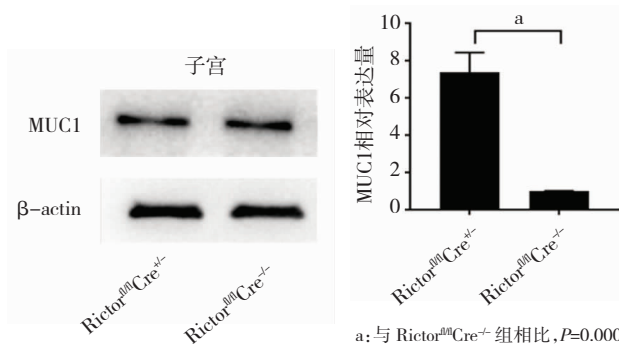
2.5 $Rictor$ 基因缺失对容受性的影响

免疫组化结果显示,与对照组相比,孕 4 d 的 $Rictor^{fl/fl}Cre^{+/+}$ 小鼠子宫腔没有正常的变窄趋向闭合而是存在大范围的褶皱,且增殖标志物 Ki67 在子宫内腔上皮细胞中的表达明显增高,而在基质细胞中的表达则明显降低;容受性标志物黏蛋白-1 糖蛋白 (mucin-1 glycoprotein, MUC1) 在上皮细胞中的表达也呈现同样的变化(图 5A)。Western blot 结果显

示, MUC1 在孕 4 d $Rictor^{fl/fl}Cre^{+/+}$ 小鼠子宫中蛋白的总体表达差异不大(图 5B)。RT-qPCR 结果显示 mRNA 水平明显升高($t_{mRNA}=10.55, P_{mRNA}=0.000$)(图 5C)。



A. 免疫组化检测 Ki67 和 MUC1 在小鼠子宫中的表达



B. Western blot 检测 MUC1 在小鼠子宫中的蛋白水平

a: 与 $Rictor^{fl/fl}Cre^{+/+}$ 组相比, $P=0.000$

C. RT-qPCR 检测 MUC1 在小鼠子宫中的 mRNA 水平

图 5 检测 Ki67 和 MUC1 在小鼠子宫中的表达

3 讨论

胚胎植入需要由激活后的囊胚和处于容受态的母体子宫相互作用,并且涉及激素、细胞因子、粘附分子、免疫系统等的协同作用^[1]。处于容受态的子宫将相继发生子宫上皮和基质细胞的增殖和分化,促使子宫进入短暂的“窗口期”。最新报道采用共聚焦成像联合 3D 图像分析技术,清晰地观察到容受态建立过程中,小鼠系膜侧腔上皮向系膜对侧发生皱褶并形成隐窝,以及胚胎植入诱导子宫腺管开口由朝向宫腔内转而朝向植入位点的动态过程^[2],并且证实人子宫内膜上皮也存在类似的变化。此前研究表明,人类中非“窗口期”的植入常导致胚胎丢失^[12]。本研究中,小鼠早孕期的动态变化结果分析表明, $Rictor$ 基因在孕 4 d 胚胎植入容受性建立的“窗口

期”子宫内腔上皮呈现高表达,且随着蜕膜化的开始,广泛表达于囊胚周围的蜕膜细胞中。说明 Rictor 基因对胚胎植入容受态的建立和维持,以及后续的蜕膜化的发生发展和维持可能具有一定的作用。

CreLoxP 重组酶系统是条件性基因敲除技术的一种,将基因敲除局限于特定组织、细胞或时间进程中,便可获得条件性基因敲除 (conditional knock-out, cKO) 小鼠。相对于传统的完全性基因敲除 (conventional knockout) 小鼠,条件性敲除能使基因在时间和空间上的靶位修饰更加明确、精准,效果更加可靠。能避免传统基因敲除动物的不足而用于具有胚胎致死性目的基因的研究,并用于研究基因在特定的组织或细胞中的生理病理功能^[13-14]。本研究将 Rictor^{fl/fl} 小鼠与子宫特异性表达的 PR-Cre 小鼠交配繁殖通过鉴定筛选,获得 Rictor^{fl/fl}Cre^{+/-}基因型小鼠。经免疫组化、Western blot 和 RT-qPCR 检测发现, Rictor 基因在卵巢组织中正常表达,而在 Rictor^{fl/fl}Cre^{+/-}基因型小鼠子宫内膜组织中表达明显降低,即 Rictor 基因子宫特异性敲除小鼠构建成功。

本研究发现条件敲除鼠的胚胎植入率明显低于对照组,小鼠子宫内孕 4 d 子宫湿重也明显低于对照组 ($t_{D4}=9.78, P_{D4}=0.000; t_{D5}=12.67, P_{D5}=0.000$)。免疫组化结果显示,增殖标志物 Ki67 在孕 4 d 子宫内腔基质细胞中的表达也明显降低,说明子宫内膜未进行正常的增殖变厚。已有研究表明敲除 Rictor 基因可抑制下游 Akt 丝氨酸 473 位点的磷酸化导致小鼠胚胎发育停滞和胎盘功能缺陷,在小鼠胚胎成纤维细胞中沉默 Rictor 的表达,可显著抑制细胞增殖和代谢^[15]。说明 Rictor 可通过影响子宫内膜的增殖过程,调控子宫内膜的功能。孕 4 d 子宫内腔管腔的正常闭合对“窗口期”胚胎的定位和植入至关重要。本研究中,条件敲除鼠孕 4 d 子宫腔没有正常的变窄趋向闭合而是存在大范围的褶皱是胚胎植入缺陷的原因之一。Ki67 在腔上皮中的表达明显高于对照组,同时容受性标志物 MUC1 在腔上皮细胞中的表达也明显升高,已有研究表明 MUC1 的异常升高预示子宫内膜容受性发生改变,这都提示 Rictor 基因在小鼠早孕期的表达下调会导致胚胎植入异常^[16]。以上研究表明, Rictor 在早孕期小鼠子宫内膜呈动态表达有利于胚胎植入,它的表达下降可能会导致胚胎植入的下降。这为今后进一步胚胎植入的机制打下了一定基础。值得注意的是,在正常小鼠孕 5 d 到孕 7 d 蜕膜化区 Rictor 高表达,预示其也

有可能通过调控基质细胞蜕膜化来影响胚胎植入后妊娠过程。

参 考 文 献

- [1] Wang H, Dey SK. Roadmap to embryo implantation: clues from mouse models[J]. Nature Reviews Genetics, 2006, 7(3): 185-199.
- [2] Arora R, Fries A, Oelerich K, et al. Insights from imaging the implanting embryo and the uterine environment in three dimensions[J]. Development (Cambridge, England), 2016, 143(24): 4749-4754.
- [3] 张颖, 吴金香, 王海滨. 胚胎植入的研究进展: 从基础到临床[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2017, 33(11): 1117-1121.
- [4] Zhang Y, Chen Q, Zhang H, et al. Aquaporin-dependent excessive intrauterine fluid accumulation is a major contributor in hyper-estrogen induced aberrant embryo implantation[J]. Cell Research, 2015, 25(1): 139-142.
- [5] Guo Z, Zhou Y, Evers BM, et al. Rictor regulates FBXW7-dependent c-Myc and cyclin E degradation in colorectal cancer cells[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2012, 418(2): 426-432.
- [6] Mok KW, Mruk DD, Lee WM, et al. Rictor/mTORC2 regulates blood-testis barrier dynamics via its effects on gap junction communications and actin filament network[J]. FASEB J, 2013, 27(3): 1137-1152.
- [7] Laplante M, Sabatini DM. mTOR signaling in growth control and disease[J]. Cell, 2012, 149(2): 274-293.
- [8] Sancak Y, Bar-Peled L, Zoncu R, et al. Ragulator-Rag complex targets mTORC1 to the lysosomal surface and is necessary for its activation by amino acids[J]. Cell, 2010, 141(2): 290-303.
- [9] Xu H, Shen L, Chen X, et al. mTOR/P70S6K promotes spermatogonia proliferation and spermatogenesis in sprague dawley rats[J]. Reproductive Biomedicine Online, 2016, 32(2): 207-217.
- [10] Saxton RA, Sabatini DM. Mtor signaling in growth, metabolism, and disease[J]. Cell, 2017, 168(6): 960-976.
- [11] Zhang S, Lin H, Kong S, et al. Physiological and molecular determinants of embryo implantation[J]. Molecular Aspects of Medicine, 2013, 34(5): 939-980.
- [12] Wilcox AJ, Baird DD, Weinberg CR. Time of implantation of the conceptus and loss of pregnancy[J]. The New England Journal of Medicine, 1999, 340(23): 1796-1799.
- [13] 胡红, 李子南, 郑珊, 等. 条件性基因敲除动物及其在毒理学研究领域的应用进展[J]. 实验动物科学, 2018, 35(2): 79-84.
- [14] Friedel RH, Wurst W, Wefers B, et al. Generating conditional knockout mice[J]. Methods in Molecular Biology, 2011, 693(693): 205-231.
- [15] Shiota C, Woo JT, Lindner J, et al. Multiallelic disruption of the rictor gene in mice reveals that mTOR complex 2 is essential for fetal growth and viability[J]. Developmental Cell, 2006, 11(4): 583-589.
- [16] Xin Q, Kong S, Yan J, et al. Polycomb subunit bmi1 determines uterine progesterone responsiveness essential for normal embryo implantation[J]. The Journal of Clinical Investigation, 2018, 128(1): 175-189.

(责任编辑:唐秋姗)