

生殖系疾病

DOI:10.13406/j.cnki.cyx.002218

转录因子 EB 对早孕小鼠子宫内膜蜕膜化的影响

陆思宇, 苏燕, 尹鑫, 陈雪梅, 何俊琳, 刘学庆, 丁裕斌, 王应雄, 高茹菲

(重庆医科大学公共卫生与管理学院生殖生物学研究室, 重庆 400016)

【摘要】目的:探索转录因子 EB(transcription factor EB, TFEB)在围植入期小鼠子宫内膜的表达规律,初步探讨 TFEB 在早孕小鼠子宫内膜蜕膜化中的作用。**方法:**构建正常妊娠小鼠模型并分别收集早孕第 4、5、6 天(D4、D5、D6)的小鼠子宫内膜及 D5 的子宫内膜着床点组织(implantation site, IS)和着床旁组织(inter-implantation site, IIS);构建假孕小鼠模型并分别收集假孕第 4、5、6 天(PD4、PD5、PD6)的小鼠子宫内膜组织;构建体内人工诱导蜕膜化模型并分别收集对照侧(induced decidualization control, IDC)和诱导侧(induced decidualization, ID)的小鼠子宫内膜组织;构建体外人工诱导蜕膜化模型并分别收集对照组和诱导组的小鼠子宫内膜基质细胞。使用 Western blot 和 Real-time PCR 检测 TFEB 在小鼠子宫内膜中和在小鼠子宫内膜基质细胞中的 mRNA 和蛋白表达;使用免疫组化方法检测 TFEB 在小鼠 D5 子宫内膜中的分布和表达。**结果:**随着孕期天数的增加,TFEB 在 D4、D5、D6 的表达逐渐减少;TFEB 在 D5 子宫 IS 的 mRNA 和蛋白表达明显低于 D5 的子宫 IIS;TFEB 在蜕膜化诱导侧子宫内膜组织的 mRNA 和蛋白表达明显低于未诱导侧子宫内膜组织;子宫内膜基质细胞蜕膜化诱导后 TFEB mRNA 和蛋白表达明显低于未诱导组。**结论:**本研究初步揭示 TFEB 可能与小鼠妊娠早期子宫内膜蜕膜化有关,但其具体调节作用有待进一步深入探讨。

【关键词】转录因子 EB;子宫内膜蜕膜化;胚胎着床;早孕

【中图分类号】Q492.6

【文献标志码】A

【收稿日期】2019-02-25

Effect of transcription factor EB on endometrial decidualization in early pregnant mice

Lu Siyu, Su Yan, Yin Xin, Chen Xuemei, He Junlin, Liu Xueqing, Ding Yubin, Wang Yingxiong, Gao Rufe

(Laboratory of Reproductive Biology, School of Public Health and Management, Chongqing Medical University)

【Abstract】Objective: To explore the expression of transcription factor EB(TFEB) in the mouse endometrium during the peri-implantation period, and to preliminarily investigate the role of TFEB in endometrial decidualization in early pregnant mice. **Methods:** A normal pregnant mouse model was established, and the mouse endometrium on the 4th(D4), 5th(D5), and 6th(D6) days of early pregnancy and the endometrial implantation site tissue(IS) and the inter-implantation site tissue(IIS) on D5 were collected; a pseudopregnant mouse model was established and the mouse endometrium on the 4th(PD4), 5th(PD5), and 6th(PD6) days of pseudo-pregnancy was collected. An in vivo artificial decidualization model was established and mouse endometrial tissues of the control side and induced side of mice were collected. An in vitro artificial decidualization model was established, and the mouse endometrial stromal cells of the control group and the induced group were collected. Western blot and real-time PCR were used to measure the mRNA and protein expression of TFEB in the mouse endometrium and in mouse endometrial stromal cells. The distribution and expression of TFEB in the mouse endometrium of D5 were measured by immunohistochemistry. **Results:** The expression of TFEB on D4, D5, and D6 gradually decreased with increasing days of pregnancy. The mRNA and protein expression of TFEB in the endometrial IS on D5 was significantly lower than that in the IIS on D5. The mRNA and protein expression of TFEB in the endometrial tissue of the induced side was significantly lower than that in the endometrial tissue of the control side. The mRNA and protein expression of TFEB in endometrial stromal cells was significantly lower in the induced group than in the control group. **Conclusion:** TFEB may be involved in the endometrial decidualization in early pregnant mice, but its specific regulatory role needs to be further explored.

【Key words】transcription factor EB; endometrial decidualization; embryo implantation; early pregnancy

作者介绍: 陆思宇, Email: luuuuuu1026@163.com,

研究方向: 小鼠早孕期子宫内膜蜕膜化的研究。

通信作者: 高茹菲, Email: gao_ru_fei@cqmu.edu.cn。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(编号: 31571190, 31771663);

重庆市基础科学与前沿技术研究资助项目(编号: cstc2018

jcyjAX0309)。

优先出版: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20190610.1523.008.html>

(2019-06-11)

胚胎着床是指胚泡附着并侵入子宫内膜的过程,是生殖的关键环节^[1-3]。与其他生理过程相似,胚胎着床受各种因素的调节,包括激素、细胞因子、相关基因的表达和蛋白质的合成^[1]。胚胎着床会导致子宫各种组织的高度重构,子宫内膜基质细胞转化为蜕膜细胞,腔上皮细胞凋亡,随后发生胚胎着床^[4]。

小鼠胚泡植入后,子宫内膜基质细胞开始发生蜕膜化,包括子宫内膜基质细胞的增殖和分化、血管形成、免疫细胞的迁移、子宫内膜基质的重构等过程。在小鼠妊娠 D5,胚胎着床部位周围的基质细胞首先发生蜕膜化并形成初级蜕膜区(primary decidual zone,PDZ)。在小鼠妊娠 D6,PDZ 完全建立,次级蜕膜区(secondary decidual zone,SDZ)开始在 PDZ 周围形成。此时,PDZ 的基质细胞停止增殖而 SDZ 的基质细胞则继续增殖,并伴随着大量多倍体蜕膜细胞和新生血管的形成,子宫内膜基质细胞的蜕膜化在妊娠 D8 完成^[5]。

转录因子 EB (transcription factor EB,TFEB)作为细胞功能调控的重要转录因子,参与调控众多的生物学功能。已有研究表明,TFEB 对于早期的胎盘功能是必需的^[6];蜕膜化的过程中伴随着大量的增殖。有研究表明,TFEB 通过调节内皮细胞的增殖来控制血管发育^[7]。以上研究表明,TFEB 可能在胚胎着床过程中发挥作用。本研究探索 TFEB 在围植入期小鼠子宫内膜的表达规律,初步探讨其在早孕小鼠子宫内膜蜕膜化中的作用。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物与道德声明 雌雄昆明小鼠(6 周龄,体质量 25~30 g)购于重庆医科大学动物实验中心(动物许可证号[SCXK(X)2018-0003])。昆明小鼠均饲养于明暗各 12 h 和室温 25 ℃ 的重庆医科大学实验动物中心 IVC 动物室。重庆医科大学伦理委员会批准了该实验,并根据实验动物的伦理和福利标准进行了实验研究。

1.1.2 主要试剂 兔单克隆抗体 β -actin 和兔多克隆抗体 TFEB 购于美国 Sigma-Aldrich 公司;上海碧云天生物技术研究所以出的 RIPA 裂解液、SDS-PAGE 蛋白质上样缓冲液、BCA 蛋白质浓度测定试剂盒、PMSF、SDS-PAGE 凝胶配制试剂盒应用于本实验;无水乙醇、甲醇、氯仿和异丙醇由重庆锦荣化工有限公司提供;逆转录试剂盒、SYBR 定量 PCR 试剂盒和 Trizol 购于 Takara 公司;DAB 显色液和免疫组化试剂盒购于北京中杉生物技术有限公司。引物序列参照 GenBank,委托生工生物工程(上海)股份有限公司合成。

1.2 方法

1.2.1 实验动物处理 将雌性昆明小鼠和雄性昆明小鼠或结扎后的雄性昆明小鼠按 4:1 或 3:1 的比例随机合笼,以第 2 天早晨 8:00 在阴道口发现阴栓记为正常妊娠第 1 天(D1)或假孕第 1 天(PD1)。孕鼠分别于 D4、D5 和 D6 或 PD4、PD5 和 PD6 早晨 8:00 颈椎脱臼处死,收集其子宫保存于 -80 ℃,其中 D5 子宫分离着床点子宫内膜组织(implantation site,IS)和着床旁子宫内膜组织(inter-implantation site,IIS)后,一部分使用 4% 的多聚甲醛固定,另一部分保存于 -80 ℃。

1.2.2 体内人工诱导蜕膜化模型的构建 按照先前研究报道的方法构建体内人工诱导蜕膜化模型^[8]。在 PD4 的雌鼠子宫角一侧注射一滴玉米油作为诱导侧(induced decidualization, ID),另一侧不作处理作为对照侧(induced decidualization control, IDC),在 PD8 早晨 8:00 颈椎脱臼处死,收集其子宫两侧分别保存于 -80 ℃。

1.2.3 昆明鼠子宫内膜基质细胞的原代分离及诱导蜕膜化 按照先前研究报道的方法原代分离昆明鼠子宫内膜基质细胞,并进行诱导蜕膜化^[9]。将小鼠的子宫清理干净后放入 Hank 平衡盐溶液(HBSS)清洗,滴加酶 I (0.5 mL 20 $\times$ dispase+2 mL 5 $\times$ 胰蛋白酶+7.5 mL HBSS)将组织剪碎消化,吹打组织,使用 HBSS 清洗,加入酶 II (0.5 mL 20 $\times$ 胶原酶+9.5 mL HBSS)消化,使用 70 μ m 的过滤器过滤,加入 HBSS 清洗,离心 5 min,弃上清后加入培养基(10 mL 胎牛血清 + 40 mL DMEM/F12)种板,1 h 后更换培养基。在 1 mL 的培养基中分别加入 1 μ L 的 E2(10 nmol/L)和 1 μ L 的 P4(1 μ mol/L)进行诱导蜕膜化,72 h 后收集细胞。

1.2.4 Western blot 将 25~35 mg 小鼠子宫内膜组织放入匀浆器中,并向匀浆器中加入适量 RIPA 裂解液与 PMSF 混合液,将匀浆器放置于冰上并充分研磨至子宫内膜组织肉眼无可见组织后,将转移研磨后的液体静置 2 min 后离心 15 min (4 ℃ 12 000 r/min),吸取上清液 5 μ L 并稀释 20 倍,使用 BCA 法测蛋白浓度。每孔每次进行实验的蛋白总量约 50 μ g,以 β -actin 为内参蛋白,配制 10% SDS-PAGE 分离胶并进行电泳,电泳后将蛋白质转移至 PVDF 膜(Millipore 公司),经 5% BSA 封闭 65 min 后,孵育 TFEB 抗体(1:1 000)和 β -actin 抗体(1:1 000)置于 4 ℃ 过夜,次日用 PBST 洗涤,孵育对应兔二抗(1:1 000)65 min 后 PBST 洗涤,最终使用凝胶成像系统(BioRad 公司)成像,采用 Image-Pro Plus 6.0 进行灰度值分析。

1.2.5 实时荧光定量聚合酶链反应(Real-time PCR) 取出保存于 -80 ℃ 的小鼠子宫内膜组织,放入含有 1 mL 提前预冷的 Trizol 提取液中充分研磨至无肉眼可见沉淀,经过氯仿的提取、异丙醇的沉淀、75%乙醇洗涤后,测量 RNA 的浓度(D_{260}/D_{280} 为 1.8~2.0)。根据 PRimeScript™ RT Master Mix 试剂盒说明书,按对应逆转录条件将 RNA 逆转录成 cDNA。根据 SYBR® PRemix Ex Taq™ II 试剂盒说明书,按照对应的反应体系设置相应的反应条件在 Bio-Rad iQ5 荧光实时定量 PCR 仪上进行 PCR 反应。 β -actin 作为内参,相对表达量用 $2^{-\Delta\Delta C_T}$ 方法分析,各基因引物序列如下。TFEB 正义链:5'-AAGGTTCCGGGAGTATCTGTCTG-3',反义链:5'-GGGTTG

GAGCTGATATGTAGCA-3'; dtp⁺ 正义链: 5'-AGCCAGAAA TCACTGCCACT-3', 反义链: 5'-TGATCCATGCACCCATAAAA-3'; β -actin 正义链: 5'-ATATCGCTGCGCTGGTCGTC-3', 反义链: 5'-AGGATGGCGTGAGGGAGAGC-3'。

1.2.6 免疫组化 将子宫组织石蜡包埋切片, 在二甲苯中 60 °C 脱蜡 2 h, 在 100%~75% 梯度酒精中梯度水化, 自来水流水冲洗后置于蒸馏水浸泡, 使用 EDTA 抗原修复液煮沸修复后自然冷却至室温, 避光滴加过氧化物酶阻断剂, 滴加正常血清封闭液, 置于 37 °C 水浴, 滴加一抗置于 4 °C 过夜孵育, 次日复温 30 min 后, 加入生物素标记的二抗孵育, 滴加辣根酶标记链酶卵白素工作液孵育, 滴加 DAB 显色剂显色, 梯度脱水后封片, 用奥林巴斯 BX40 显微镜观察并拍照。

1.3 统计学处理

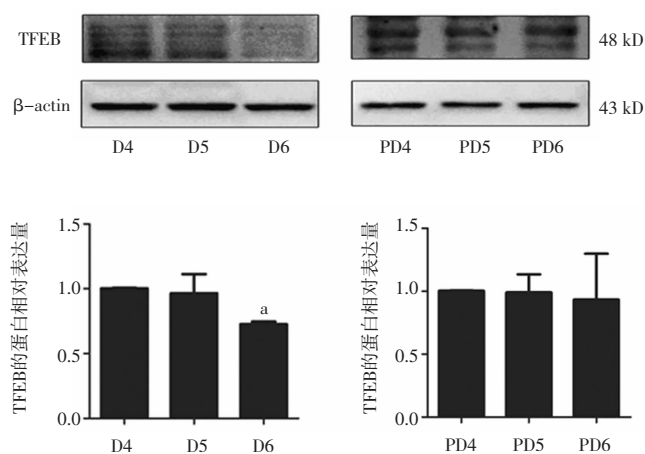
采用 SPSS 20.0 软件进行统计分析, 2 组之间和 3 组之间的数据差异分别采用独立样本 *t* 检验和单因素方差分析

评估, 数据以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

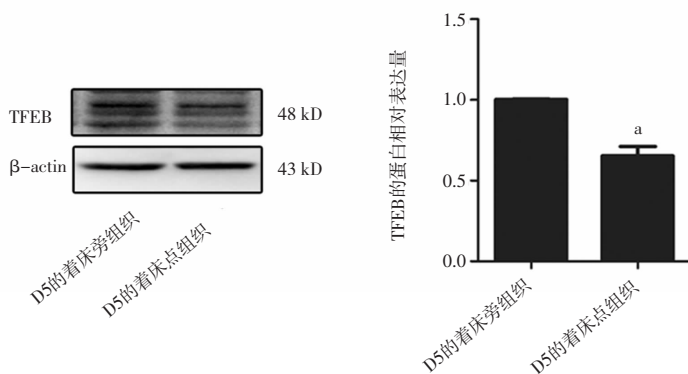
2.1 TFEB 在早孕小鼠子宫内膜的表达

为了研究 TFEB 在早孕小鼠子宫内膜中的作用, 首先检测了 TFEB 在早孕小鼠孕 D4、D5、D6 的表达情况。Western blot 结果显示, 随着孕期天数的增加, TFEB 表达逐渐减少, 且 TFEB 在孕 D6 的表达明显低于其在孕 D4、D5 的表达 ($P=0.032$, 图 1A)。假孕模型结果显示, TFEB 蛋白在假孕小鼠 PD4、PD5、PD6 的表达无统计学差异 (图 1A)。Real-time PCR、Western blot 和免疫组化进一步检测发现, 孕 D5 子宫内着床点 TFEB mRNA 和蛋白水平均明显低于着床旁 TFEB mRNA ($P=0.019$) 和蛋白表达 ($P=0.027$, 图 1B~D)。



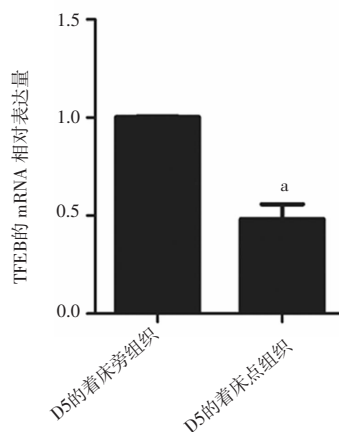
注: a, $P=0.032$; 上图为 Western blot 检测 TFEB 在早孕小鼠 D4、D5、D6 和 PD4、PD5、PD6 子宫内着床点的蛋白表达情况, 下图为上图对应统计图

A. TFEB 在正常妊娠和假孕小鼠子宫内膜中的蛋白表达情况



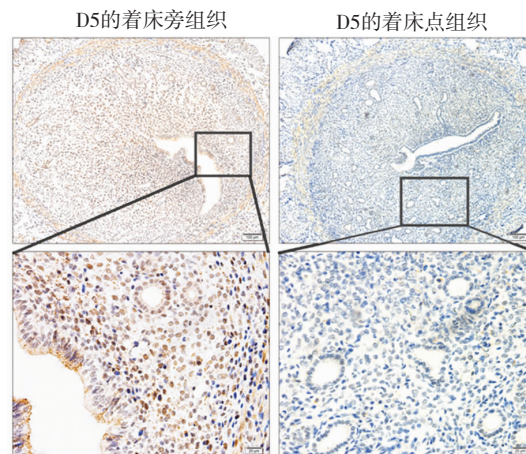
注: a, $P=0.027$; 左图为 Western blot 检测 TFEB 在早孕小鼠孕 D5 着床点和着床旁子宫内着床点的蛋白表达情况, 右图为对应统计图

C. TFEB 在正常妊娠小鼠 D5 着床点和旁子宫内着床点的蛋白表达情况



注: a, $P=0.019$; Real-time PCR 检测 TFEB 在早孕小鼠孕 D5 着床点和着床旁子宫内着床点的 mRNA 表达情况

B. TFEB 在正常妊娠小鼠 D5 着床点和旁子宫内着床点的 mRNA 表达情况



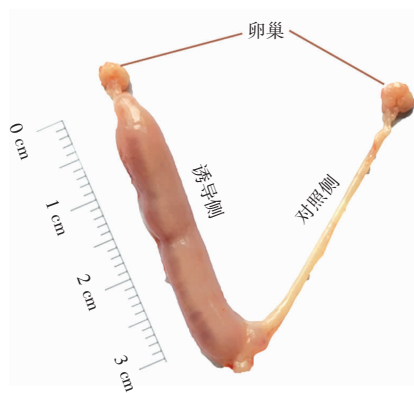
注: 免疫组化检测 TFEB 在早孕小鼠孕 D5 着床点和着床旁子宫内着床点的表达情况和位置

D. TFEB 在正常妊娠小鼠 D5 着床点和旁子宫内着床点的表达情况和位置

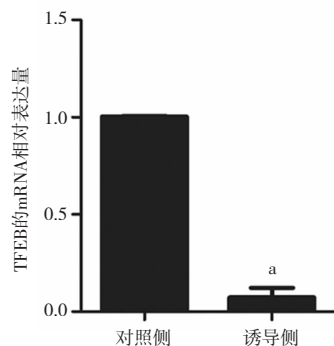
图 1 TFEB 在早孕小鼠子宫内膜的表达情况

2.2 小鼠体内人工诱导子宫内膜蜕膜化后 TFEB 表达减少

上述研究结果显示,早孕时期随着胚胎植入到小鼠子宫内膜以后,TFEB 表达逐渐减少,且着床点 TFEB 表达明显低于着床旁子宫内膜,提示 TFEB 可能参与早孕小鼠子宫内膜蜕膜化这一过程。为了进一步研究 TFEB 在蜕膜化中的可能作用,构建小鼠体内人工诱导子宫内膜蜕膜化模型(图 2A)。Real-time PCR 结果显示,蜕膜化诱导侧子宫内膜 TFEB mRNA 表达明显低于未诱导侧子宫内膜 TFEB mRNA 表达($P=0.003$,图 2B);Western blot 结果显示,蜕膜化诱导侧子宫内膜 TFEB 蛋白表达也明显低于未诱导侧($P=0.011$,图 2C)。

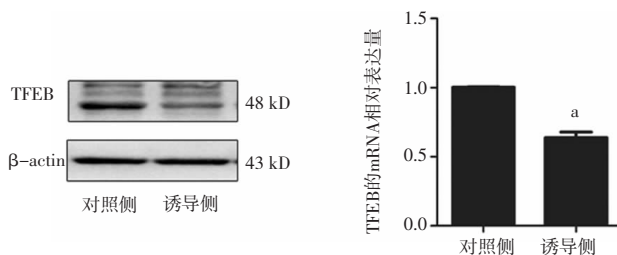


A. 小鼠体内子宫内膜人工诱导蜕膜化模型的构建



注:a, $P=0.003$

B. Real-time PCR 检测人工诱导蜕膜化后 TFEB mRNA 的表达



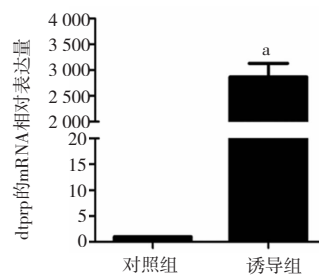
注:a, $P=0.011$

C. Western blot 检测人工诱导蜕膜化后 TFEB 的蛋白表达

图 2 小鼠体内子宫内膜人工诱导蜕膜化后 TFEB 表达减少

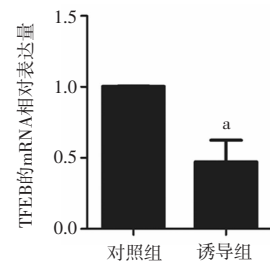
2.3 体外子宫内膜基质细胞蜕膜化诱导后 TFEB 表达减少

为了进一步研究 TFEB 在蜕膜化中的可能作用,原代分离培养了小鼠子宫内膜基质细胞,并用 E2 和 P4 进行体外蜕膜化诱导。如图 3A 所示,原代分离培养的小鼠子宫内膜基质细胞体外蜕膜化诱导后,蜕膜化标志分子 dtprp 表达明显增加,提示基质细胞体外蜕膜化诱导成功(图 3A)。进一步检测发现,与未诱导组相比较,基质细胞蜕膜化诱导后 TFEB mRNA ($P=0.044$)和蛋白表达($P=0.040$)均明显降低(图 3B、C)。



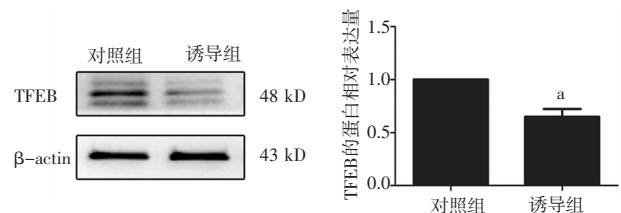
注:蜕膜化标志分子 dtprp 表达明显增加,提示小鼠子宫内膜基质细胞体外蜕膜化诱导成功;a, $P<0.001$

A. dtprp 在体外基质细胞中的表达情况



注:体外基质细胞蜕膜化诱导后,TFEB mRNA 表达明显降低;a, $P=0.044$

B. TFEB 在体外基质细胞蜕膜化诱导后的 mRNA 表达情况



注:体外基质细胞蜕膜化诱导后,TFEB 蛋白表达明显降低;a, $P=0.040$

C. TFEB 在体外基质细胞蜕膜化诱导后的蛋白表达

图 3 小鼠子宫内膜基质细胞体外蜕膜化诱导后 TFEB 表达减少

3 讨论

子宫基质细胞的蜕膜化是着床成功的前提和胚胎存活的关键步骤^[10-11]。蜕膜细胞在雌激素和孕酮的作用下发生形态、生化等一系列的变化来维持蜕膜功能^[10,12]。简言之,子宫内膜蜕膜化作为胚胎的生物传感器^[13],在胚胎着床的过程中发挥关键作用。

后期滋养细胞的侵袭程度由子宫内膜蜕膜化的程度决定,因此蜕膜化的程度对胚泡着床、胎盘的形成功及正常妊娠的维持有精准的调控作用。如果蜕膜化的发生存在缺陷,将会对滋养细胞向子宫内膜的侵入产生影响,进而导致不孕、复发性流产、胎儿宫内生长受限、子痫前期、早产等一系列疾病。

叉头蛋白 O3a(forkhead box O3a,FOXO3a)是高度保守的凋亡相关基因转录因子。本课题组前期研究发现,子宫内膜蜕膜化诱导后 FOXO3a 表达明显升高^[14]。Shin 等^[15]研究发现,饥饿状态下 AMPK 诱导 FOXO3a 磷酸化,进而抑制 SKP2/CARM1 激活 TFEB 的作用,从而诱导自噬。作为可被 FOXO3a 负调控的潜在下游因子,本研究发现妊娠早期随着胚胎植入到小鼠子宫内膜以后,子宫内膜 TFEB 表达逐渐减少,且着床点子宫内膜 TFEB 表达明显低于着床旁组织,与 FOXO3a 的表达呈相反趋势。体内外人工诱导蜕膜化模型结果同样显示,蜕膜化诱导后 TFEB 表达明显降低,同样与 FOXO3a 的表达趋势相反。这些结果提示,作为 FOXO3a 负调控的潜在下游因子,TFEB 可能与子宫内膜蜕膜化有关,且可能通过负向调节参与子宫内膜蜕膜化。在蜕膜化进程中,蜕膜细胞的增殖与退化同时并存,两者在动态平衡中协调蜕膜细胞的数量和滋养细胞的侵蚀,维持蜕膜化的正常进行^[16]。现已证实蜕膜细胞的死亡是一种典型的细胞凋亡,随着蜕膜化的进程,BAX 的表达逐渐增加而 BCL2 的表达逐渐减少。凋亡相关分子的规律性表达揭示了凋亡在蜕膜化的过程中发挥着重要的作用。研究显示,在诸多生理病理过程中 TFEB 可通过调控自噬-溶酶体途径影响细胞凋亡^[17-18]。课题组前期研究发现 FOXO3a 可能通过细胞凋亡途径参与妊娠早期子宫内膜蜕膜化^[14]。作为可被其负调控的下游分子,TFEB 参与蜕膜化进程是否与细胞凋亡有关,有待进一步深入研究。

本研究初步观察到 TFEB 随着蜕膜化进程的改变其表达呈规律变化,有待后续采取干预/过表达等措施进一步明确其在蜕膜化中的调控作用及可能调控机制。

参 考 文 献

[1] Zhang L,Zhang Z,Wang F,et al. Effects of melatonin administration on embryo implantation and offspring growth in mice under different schedules of photoperiodic exposure[J]. Reprod Biol Endocrinol,2017,15(1):78.
[2] Tu Z,Wang Q,Cui T,et al. Uterine RAC1 via Pak1-ERM signaling directs normal luminal epithelial integrity conducive to on-time em-

bryo implantation in mice[J]. Cell Death Differ,2016,23(1):169-181.
[3] Yuan J,Deng WB,Cha J,et al. Tridimensional visualization reveals direct communication between the embryo and glands critical for implantation[J]. Nat Commun,2018,9(1):603.
[4] Gao F,Bian FH,Ma XH,et al. Control of regional decidualization in implantation:role of Foxm1 downstream of Hoxa10 and cyclin D3[J]. Sci Rep,2015,5:13863.
[5] 高 玥,王雅琴,杨 菁. 子宫内膜蜕膜化的研究进展[J]. 中华生殖与避孕杂志,2018,38(12):1037-1043.
[6] Jebbink JM,Boot RG,Keijser R,et al. Increased glucocerebrosidase expression and activity in preeclamptic placenta[J]. Placenta,2015,36(2):160-169.
[7] Doronzo G,Astanina E,Corò D,et al. TFEB controls vascular development by regulating the proliferation of endothelial cells[J]. EMBO J,2019,38(3):98250.
[8] 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.
[9] 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.
[10] Whirledge SD,Oakley RH,Myers PH,et al. Uterine glucocorticoid receptors are critical for fertility in mice through control of embryo implantation and decidualization[J]. Proc Natl Acad Sci USA,2015,112(49):15166-15171.
[11] Lanekoff I,Cha E,Kyle JE,et al. Trp53 deficient mice predisposed to preterm birth display region-specific lipid alterations at the embryo implantation site[J]. Sci Rep,2016,6:33023.
[12] Liang YX,Liu L,Jin ZY,et al. The high concentration of progesterone is harmful for endometrial receptivity and decidualization[J]. Sci Rep,2018,8(1):712.
[13] Subramani E,Rameshbabu AP,Jothirajamajayam M,et al. Mycobacterial heat shock protein 65 mediated metabolic shift in decidualization of human endometrial stromal cells[J]. Sci Rep,2017,7(1):3942.
[14] 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.
[15] Shin HJ,Kim H,Oh S,et al. AMPK-SKP2-CARM1 signalling cascade in transcriptional regulation of autophagy[J]. Nature,2016,534(7608):553-557.
[16] Wu HM,Wang HS,Soong YK,et al. Gonadotrophin-releasing hormone antagonist induces apoptosis in human decidual stromal cells;effect on GADD45α and MAPK signaling[J]. Hum Reprod,2012,27(3):795-804.
[17] Zheng G,Pan Z,Zhan Y,et al. TFEB protects nucleus pulposus cells against apoptosis and senescence via restoring autophagic flux[J]. Osteoarthritis Cartilage,2019,27(2):347-357.
[18] He R,Shi X,Zhou M,et al. Alantolactone induces apoptosis and improves chemosensitivity of pancreatic cancer cells by impairment of autophagy-lysosome pathway via targeting TFEB[J]. Toxicol Appl Pharmacol,2018,356:159-171.

(责任编辑:唐秋姗)