

PGI₂-PPAR δ 信号传导途径与哺乳动物的胚胎着床*

霍立军 杨增明**

(东北农业大学生命学院, 哈尔滨 150030)

摘要 前列腺素 (PGs) 在胚泡着床和子宫的蜕膜化过程中起着重要的调节作用, 前列环素 (PGI₂) 是着床位点表达量最高的 PGs. 前列环素受体 (IP) 和过氧化物酶体增殖因子活化受体 (PPARs) 分别是 PGI₂ 的细胞表面 G 蛋白偶联的受体和细胞核内受体, IP 在胚泡着床位点不表达或检测不到, 而 PPAR δ 表达丰富, RXRs (PPARs 的异二聚体伴侣) 及相应的 PPAR δ -RXR α 复合物、PGI₂ 合成酶 (COX-2/PGIS) 也在着床位点表达丰富, 因此推测 PGI₂ 在胚泡着床中的作用可能是通过 PPAR δ 受体介导的. 利用 PGI₂ 类似物 (cPGI₂) 和 PPAR δ 特异性类似物能够恢复 COX-2 基因敲除小鼠的胚泡着床和蜕膜化. 总之, PGI₂ 通过 PPAR δ 在胚泡着床和蜕膜化过程中起着重要的调节作用.

关键词 胚胎着床, 环氧合酶-2, 前列环素合成酶, 前列环素, 过氧化物酶体增殖因子活化受体, 信号传导

学科分类号 Q26

胚胎发育到胚泡阶段与子宫分化到可接受状态, 这两个过程的紧密协调作用是胚胎着床成功的必要保证. 在 小鼠 中, 卵巢分泌的雌激素 (estrogen, E₂) 和孕酮 (progesterone, P₄) 在子宫接受态的建立过程中起着最基本的作用. 着床过程起始阶段的特征是子宫胚泡着床位点的血管通透性增加, 这与粘附反应的起始过程一致^[1,2]. 环氧合酶-2 (cyclo-oxygenase-2, COX-2) 及前列腺素 (prostaglandins, PGs) 家族成员等分子相继在着床位点的子宫上皮和/或基质细胞中特异性表达^[3]. 但处于活化状态的胚泡诱导子宫中这些基因表达的分子机制仍不清楚. 随着粘附反应的进行, 滋养层细胞粘附并穿透基膜, 导致基质细胞增殖并分化成蜕膜细胞.

过氧化物酶体增殖因子活化受体 (peroxisome proliferator-activated receptor, PPARs), 是细胞核激素受体超家族成员参与慢性疾病如糖尿病、动脉粥样硬化和癌症等疾病的形成过程, 在各种病理及生理过程中起着重要的调节作用^[4,5]. 如 PPAR α 和 PPAR γ 在脂类代谢和体内平衡过程中起重要作用, 但对 PPAR δ 的生理作用则所知甚少. 最近在小鼠中发现, COX-2 来源的前列环素 (PGI₂) 是着床位点表达最丰富的 PGs, 通过 PPAR δ 的介导在胚泡着床和蜕膜化过程中起重要作用^[6]. 本文旨在介绍 PGI₂-PPAR δ 对胚泡着床的作用及可能的作用机制.

1 PGs 与胚泡着床和蜕膜化

PGs 介导从排卵到分娩等一系列雌性生殖功能, 具有促进血管增殖、促有丝分裂及促分化特性. PGs 广泛参与了着床过程中子宫上皮细胞分化、与胚泡滋养层的相互作用、着床位点基质细胞的增殖和分化、子宫血管通透性的增加以及胎盘形成必需的血管发生等过程^[7].

COX-1 基因敲除的小鼠除有一些分娩缺陷外, 其他生殖过程均正常. 而 COX-2 敲除后的雌鼠则具有多种生殖缺陷, 包括排卵、受精、着床和蜕膜化^[8]. 在胚胎着床时, COX-1 在着床位点不表达或检测不到, 而 COX-2 的表达则具有着床特异性, 这说明子宫中由 COX-2 (而不是 COX-1) 合成的 PGs 在着床和蜕膜化过程中起重要作用^[9]. 在着床期子宫的着床位点处, PGs 分泌水平的强弱依次为: PGI₂ > 前列腺素 E₂ (PGE₂) > 前列腺素 F_{2 α} (PGF_{2 α}) > 凝血噁烷 B₂ (TXB₂), 而且 PGI₂ 在着床位点的水平显著高于非着床位点. 可以推测 COX-2 来源的 PGI₂ 是在胚泡着床和蜕膜化过程中起主要作用的 PGs^[6]. 此外, PGI₂ 还可能参与胎盘形成过程中的血管发生.

* 国家杰出青年科学基金资助项目 (39825120) 和国家重点基础研究发展规划项目 (973) (G1999055903).

** 通讯联系人.

Tel: 0451-5191416, E-mail: zmyang@mail.neau.edu.cn

收稿日期: 2003-02-08, 接受日期: 2003-03-25

COX-2 负责由花生四烯酸向前列腺素 H_2 (PGH_2) 的转化, 前列环素合成酶 (PGIS) 则将 PGH_2 异构化合成 PGI_2 . 原位杂交结果表明 PGIS mRNA 在妊娠第 5 天胚泡周围的子宫基质细胞中大量聚集, 且随着床过程的进行而不断增加. 而 PGIS 蛋白质定位在着床胚泡周围的子宫基质细胞的细胞质和细胞核中, 这与 COX-2 在着床期子宫中的定位一致^[6]. 这说明 PGI_2 可能是由 COX-2/PGIS 合成的. 此外, 着床时活化的胚泡也能够诱导 COX-2 和 PGIS 基因的表达, 而且假孕小鼠子宫腔内注射诱导人工蜕膜化时也能刺激其基因表达^[5]. 这说明 COX-2/PGIS 在蜕膜化过程中也有重要作用.

2 PPARs 家族及其生物学功能

PPARs 与其他细胞核激素受体的作用方式类似. 首先, PPARs 在靶基因的启动子区域结合一个特异性元件 (配体), 然后又与其他细胞核激素受体一同结合到启动子上, 如 PPARs 与 9-顺-视黄酸受体 (retinoid X receptor, RXR) 形成异源二聚体. 接着, 异源二聚体激活转录过程, 作为对配体结合的应答. PPARs-RXR 异源二聚体无论结合两者中哪一个受体的配体, 都能被激活, 如同时结合两个配体则效应更强^[4]. 在 mice 中, 已发现 3 种 PPAR 亚型: α 、 β (亦称 δ 和 NUC1) 和 γ . PPAR α 多在棕色脂肪组织和肝脏中表达, 已证实 PPAR α 缺陷小鼠没有明显的发育缺陷. PPAR γ 主要是在脂肪组织中表达, 对胎盘发育是非常关键的. 而且, PPAR γ 和 RXR α 形成的异源二聚体在调节人的滋养层细胞侵入过程中起重要作用^[10]. PPAR δ 表达于胚胎和成体的各种组织中, 在肠、肾和心脏中表达最高. 但是对 PPAR δ 在生理和发育过程中的作用则所知甚少. 总之, PPARs 在脂类代谢、动脉硬化、炎症反应和体内稳态中起作用^[4,9,11].

能够与 PPARs 结合的配体非常广泛, 包括自然的和合成的二十烷酸类 (eicosanoids)、脂肪酸和某些降血糖药噻唑二酮 (thiazolidinediones, TZD) 和降血脂药物苯氧乙酸酯 (fibrates) 等^[4]. PPARs 的异二聚体伴侣 RXRs 亚族包括 3 个亚型 (α , β 和 γ), 是几种核激素受体 (包括 PPARs、维生素 D 受体、视黄酸受体和胸腺激素受体) 所必需的异源二聚体伴侣, 对于转录的活性激活是必需的. PPARs 或 RXRs 的配体都能够促进 PPARs-

RXR 的异源二聚体化及随后的转录活性^[4,6]. 脂肪酸、白三烯 B₄ 和 PGI_2 类似物能够激活 PPAR α . PPAR γ 受噻唑二酮等治疗糖尿病药物和前列腺素 J_2 (PGJ_2) 代谢物 15-脱氧- $\delta^{12,14}$ - PGJ_2 的激活^[12].

3 PGs 双受体信号与着床和蜕膜化

PGs 的受体包括细胞表面 G 蛋白偶联的受体和细胞核内受体. 根据 PGs 的类型, 其细胞表面受体可以分为前列腺素 E 受体 (EP) (分 EP1、EP2、EP3 及 EP4)、前列腺素 F 受体 (FP)、前列腺素 D 受体 (DP)、IP 和 TX 受体 (TP), 而其细胞核内受体是细胞核激素受体超家族成员 PPARs^[2]. PGI_2 为着床过程中子宫产生量最大的 PGs, 但它的细胞表面受体 IP 的表达在着床期子宫中非常低甚至检测不到, 而 PPAR δ 的表达则非常丰富^[6]. 此外, IP 基因敲除的小鼠没有表现出任何生殖方面的缺陷, 这说明 IP 可能对于 PGI_2 在着床和蜕膜化过程中的作用不是关键的^[13].

近年来, 已证实细胞核上的 PGs 能够通过 PPARs 传导信号. PPAR δ 在 mice 着床前子宫中检测不到, 而在着床期胚泡周围的子宫基质细胞中特异表达, 着床启动后则定位在蜕膜上. PPAR δ 基因 (但不是 PPAR α 和 γ) 在 mice 子宫基质细胞中以着床特异性方式被活化的胚泡诱导表达, 其表达模式与 COX-2、PGIS 以及 PGI_2 的表达模式非常相似. 这些结果说明 PPAR δ 与胚泡着床和蜕膜化过程密切相关^[6]. 在大鼠的胚胎着床位点处, PPAR δ mRNA 和蛋白质均在胚泡周围的腔上皮皮下基质中特异性表达. 在延迟着床的大鼠子宫中, 未检测到 PPAR δ 的表达. 但用雌激素处理诱导胚胎着床后, 在胚泡周围的腔上皮皮下基质中可检测到 PPAR δ 的表达^[14].

PPARs 必须与 RXRs 结合形成异源二聚体后才能够激活基因转录. 着床期子宫中不但表达丰富的 RXR α 和 β , 蜕膜化细胞的细胞核抽提物中也存在 PPAR δ -RXR α 异源二聚体^[6]. 在大鼠胚胎着床后, 在 PPAR δ 特异性表达的腔上皮皮下基质中也可检测到 RXR α 的表达^[14]. 在子宫瘤细胞系转染实验中, 这个异源二聚体对包含 PPAR 反应元件序列的基因具有转录激活的特性^[5]. 总之, 这些结果表明子宫中的 PPAR δ 可能介导了 PGI_2 在着床和蜕膜化过程中的作用.

4 PGI₂ 和 PPAR δ 类似物与着床和蜕膜化

利用 COX-2 基因敲除小鼠模型作为一种体内系统,可很好地研究 PGI₂-PPAR δ 信号系统在着床和蜕膜化过程中的作用. PGI₂ 的几种类似物(如 cPGI 和伊洛前列素 iloprost)都能够与 PPAR α 或 PPAR δ 结合并使其活化,但是西卡前列素(cicaprost)只能激活 IP 受体,却不能激活 PPARs. cPGI 能够增强蜕膜细胞中 PPAR δ 和 RXR α 的异二聚体化. 在表达 PPAR δ 的前提下, cPGI 能诱导子宫内膜细胞系中具有 PPAR 反应元件的报告基因转录^[4]. 如果着床过程中 COX-2/PGIS 的主要产物 PGI₂ 通过 PPAR δ 传导信号,则注射 PGI₂ 类似物或 PPAR δ 特异性类似物,就能够恢复 COX-2 基因缺陷小鼠中的着床和蜕膜化过程. 实验表明,利用 PGI₂、PGI₂ 类似物(cPGI 和伊洛前列素)或 PPAR δ 特异性类似物,的确能够恢复 COX-2 基因缺陷小鼠的胚泡着床过程,而注射只能激活 IP 但不能激活 PPARs 的 cicaprost,却不能恢复 COX-2 基因缺陷小鼠的胚泡着床. 这也说明 PPARs 介导的 PGI₂ 在胚泡着床中起重要作用,而 IP 则不起关键性的作用^[6]. 此外,PGI₂ 类似物(cPGI)也能够恢复 COX-2 缺陷小鼠 70% 的蜕膜化过程,而 PGE₂ 的效果则不太明显(30%). 这些结果说明,PGI₂ 对于随后的蜕膜化过程也非常重要.

在 COX-2 基因缺陷小鼠子宫中,PPAR δ 和 RXR α 的表达只集中在着床期围绕胚泡的子宫基质细胞中^[6]. 向 COX-2 缺陷的受体小鼠中分别注射 PPAR δ 配体(cPGI)或 PPAR δ 特异性的类似物(L-165041),不但能够增加胚泡着床率(40%),而且能够增加着床位点的质量. 如同时注射 L-165041 和 9-顺式-RA(RXR 的一种类似物)能够显著提高 COX-2 基因缺陷小鼠的胚泡着床率(62%). 这些结果暗示 PPAR δ 类似物能够有效地恢复 COX-2 基因缺陷小鼠的胚泡着床,而 RXRs 类似物能够进一步加强这种作用.

注射 cPGI 能够促进 COX-2 缺陷小鼠的胚胎和蜕膜生长,但这些胚胎的生存质量比野生型小鼠中胚胎的生存质量差. 用 PGE₂ 单独处理不能够恢复 COX-2 缺陷小鼠的胚胎缺陷,但 PGE₂ 与 cPGI 共同处理则能够显著促进胚胎和蜕膜的生长,着床前的胚胎也可以致密化,而且胎盘预形成位点的血管发育以及蜕膜的大小都与野生型小鼠中的情况类

似,但与 cPGI 单独处理的效果不同. L-165041 或 PGE₂ 结合 L-165041 处理后,诱导的胚泡着床位点的蜕膜和胚胎生长也都比对照组中的情况好^[6]. 这些结果说明, PGE₂ 能够在 PGI₂ 存在的前提下作为胚胎和蜕膜生长的补充因子,而 PGI₂ 是胚泡着床和蜕膜化过程的主要介导者.

COX-2 缺陷小鼠中,妊娠第 8 天着床位点处血管内皮生长因子受体 *Flk-1* 的表达不正常,当注射 cPGI 和 PGE₂ 后能够部分恢复 *Flk-1* 的表达. 因为 *Flk-1* 是血管发生的标记分子,而 PGI₂ 又活跃地参与血管形成及调节血管功能,所以 PGI₂ 和 PGE₂ 可能参与着床和胎盘形成过程中的血管发生调控^[7].

5 PGI₂-PPAR δ 与着床和蜕膜化的关系

PPAR δ 能够与多种配体结合,如 PGs 及其生物合成的统一前体分子花生四烯酸,所以 PPAR δ 能够与 COX-2 的底物和产物反应. 由此可以对着床过程起始阶段的分子机制提出一个假设. PPAR δ 能与花生四烯酸结合,因此可能为其积累提供条件,而 COX-2 基因的启动子上具有 PPAR 反应元件,所以也是 PPAR 的下游靶基因. 因此 PPAR δ 能够激活 COX-2 基因表达,从而促进 PGs 合成. 当子宫中着床位点 COX-2/PGIS 合成的 PGI₂ 产生后,PPAR δ 便趋向于与 PGI₂ 结合(有更强的亲和力),从而在着床和蜕膜化过程中发挥作用. 但 PPAR δ 诱导 COX-2 以及不同的 PPARs 配体,能够诱导不同的靶基因激活和不同的细胞反应等,仍需要进一步验证.

目前有两个问题仍有待于解决. a. 着床起始阶段 PPAR δ 基因表达的诱导者是什么? 肝素结合性表皮生长因子是可能的一个候选分子,但还没有直接的证据. 此外,在结肠直肠癌细胞中,PPAR δ 的表达由 PPAR δ 启动子区的 β -连接蛋白/Tcf-4 反应元件所介导^[12]. 但子宫中是否存在这种机制仍有待于进一步研究. 对 PPAR δ 启动子的序列分析有助于鉴定其他调节分子. P₃₈ 抑制剂能够抑制 COX-2 和 PPAR δ 的表达,还能够显著抑制蜕膜化. 这说明蜕膜化过程中 P₃₈ 的激活对于 COX-2 和 PPAR δ 的表达是必需的^[15]. b. PPAR δ -PGI₂ 的下游靶基因是什么呢? 已知具有 PPAR 反应元件的基因只局限于那些受 PPAR α 和 PPAR γ 影响参与脂类运输和代谢的基因^[16]. 而 PPAR δ 似乎能够介导 PGI₂ 在着床过程中对细胞增殖和分化以及对

血管发生的作用. 有两个证据支持这个假设^[6]. a. cPGI 能够恢复 COX-2 基因缺陷小鼠中的蜕膜化. b. cPGI 能够逆转 *Flk1* 在 COX-2 缺陷小鼠子宫中表达的减少. 因此, PPAR δ 可能在胎盘形成时的血管发生过程中, 诱导某些细胞周期分子或因子的表达中起作用.

6 结语与展望

胚胎着床的成功起始及随后的蜕膜化过程需要胚胎和子宫之间协调的相互作用, 是一系列分子和复杂的信号网络共同参与的结果. COX-2、PGIS、PPAR δ 和 RXR α 在着床期胚泡周围的子宫基质细胞中都表达, 说明着床期可能在这些分子间启动了一系列的信号传导级联反应. 虽然, PPAR δ 在胚胎着床过程中起着十分重要的作用^[6], 但最近发现在 PPAR δ 基因敲除的小鼠中, 胚胎着床和蜕膜化过程均正常, 只是有一些胎盘发育方面的缺陷^[17]. 这也暗示在动物的胚胎着床过程中可能存在很多补偿途径. 在 PPAR δ 基因敲除后, 其他与胚胎着床相关的基因可能对 PPAR δ 的功能具有一定的代偿作用. 最近还发现, PGE₂ 合成的关键酶——PGE 合成酶在小鼠胚胎着床位点处也特异性表达^[18]. 胚胎着床处所产生的 PGE₂ 很可能对 PGI₂ 的作用具有代偿作用. 此外, 很多因素对子宫中 PGI₂ 的产生也都具有调节作用. 雌激素和孕酮为子宫接受态的建立过程中起关键作用的激素^[1], 二者对子宫中产生 PGI₂ 的几种关键酶也都有明显的调节作用^[19]. 因此, 对胚胎着床过程中 PPAR δ 途径的调控机制以及与其他信号通路间的相互关系仍需进一步研究.

参 考 文 献

- 1 Paria B C, Reese J, Das S K, *et al.* Deciphering the cross-talk of implantation: Advances and challenges. *Science*, 2002, **296** (5576): 2185~2188
- 2 Lim H, Dey S K. PPAR delta functions as a prostacyclin receptor in blastocyst implantation. *Trends Endocrinol Metab*, 2000, **11** (4): 137~142
- 3 Chakraborty I, Das S K, Wang J, *et al.* Developmental expression of the cyclo-oxygenase-1 and cyclo-oxygenase-2 genes in the peri-implantation mouse uterus and their differential regulation by the blastocyst and ovarian steroids. *J Mol Endocrinol*, 1996, **16** (2): 107~122
- 4 Sporn M B, Suh N, Mangelsdorf D J. Prospects for prevention and treatment of cancer with selective PPARgamma modulators (SPARMs). *Trends Mol Med*, 2001, **7** (9): 395~400
- 5 Fajas L, Debril M B, Auwerx J. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma: from adipogenesis to carcinogenesis. *J Mol Endocrinol*, 2001, **27** (1): 1~9
- 6 Lim H, Gupta R A, Ma W G, *et al.* Cyclo-oxygenase-2-derived prostacyclin mediates embryo implantation in the mouse via PPARdelta. *Genes Dev*, 1999, **13** (12): 1561~1574
- 7 Song H, Lim H, Das S K, *et al.* Dysregulation of EGF family of growth factors and COX-2 in the uterus during the preattachment and attachment reactions of the blastocyst with the luminal epithelium correlates with implantation failure in LIF-deficient mice. *Mol Endocrinol*, 2000, **14** (8): 1147~1161
- 8 Lim H, Paria B C, Das S K, *et al.* Multiple female reproductive failures in cyclooxygenase 2-deficient mice. *Cell*, 1997, **91** (2): 197~208
- 9 Reese J, Brown N, Paria B C, *et al.* COX-2 compensation in the uterus of COX-1 deficient mice during the pre-implantation period. *Mol Cell Endocrinol*, 1999, **150** (1~2): 23~31
- 10 Tarrade A, Schoonjans K, Pavan L, *et al.* PPARgamma/RXRalpha heterodimers control human trophoblast invasion. *J Clin Endocrinol Metab*, 2001, **86** (10): 5017~5024
- 11 Barak Y, Nelson M C, Ong E S, *et al.* PPAR is required for placental, cardiac, and adipose tissue development. *Mol Cell*, 1999, **4** (4): 585~595
- 12 He T C, Chan T A, Vogelstein B, *et al.* PPAR is an APC-regulated target of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Cell*, 1999, **99** (3): 335~345
- 13 Murata T, Ushikubi F, Matsuoka T, *et al.* Altered pain perception and inflammatory response in mice lacking prostacyclin receptor. *Nature*, 1997, **388** (6643): 678~682
- 14 Ding N Z, Ma X H, Diao H L, *et al.* Differential expression of peroxisome proliferator-activated receptor delta at implantation sites and in decidual cells of rat uterus. *Reproduction*, 2003, **125** (6): 1~9
- 15 Scherle P A, Ma W, Lim H, *et al.* Regulation of cyclooxygenase-2 induction in the mouse uterus during decidualization: An event of early pregnancy. *J Biol Chem*, 2000, **275** (47): 37086~37092
- 16 Desvergne B, Wahli W. Peroxisome proliferator-activated receptors: nuclear control of metabolism. *Endocr Rev*, 1999, **20** (5): 649~688
- 17 Barak Y, Liao D, He W, *et al.* Effects of peroxisome proliferator-activated receptor delta on placentation, adiposity, and colorectal cancer. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, **99** (1): 303~308
- 18 Ni H, Sun T, Ma X H, *et al.* Expression and regulation of cytosolic prostaglandin E synthase in mouse uterus during the peri-implantation period. *Biol Reprod*, 2003, **68** (3): 744~750
- 19 Rupnow H L, Phernetton T M, Modrick M L, *et al.* Endothelial vasodilator production by uterine and systemic arteries. VIII. Estrogen and progesterone effects on cPLA2, COX-1, and PGIS protein expression. *Biol Reprod*, 2002, **66** (2): 468~474

PGI₂-PPAR δ Signal Transduction Pathway in Mammalian Embryo Implantation*

HUO Li-Jun YANG Zeng-Ming**

(College of Life Sciences, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

Abstract Prostaglandins (PGs) are important in blastocyst implantation and decidualization. The level of PGI₂ was the highest followed by PGE₂ in the site of blastocyst implantation. In addition, PGI₂ level was significantly higher at the implantation sites than inter-implantation sites. IP and PPARs are the G protein-coupled cell surface receptors that are linked to different cytoplasmic signaling pathways and the nuclear hormone receptors, respectively. IP is not expressed or undetectable at implantation sites, but PPAR δ expression is very abundant. RXRs (the partner receptor for PPARs), PPAR δ -RXR α heterodimer and PGI₂ synthase (COX-2/PGIS) are also abundant at implantation sites. Both PGI₂ agonist (cPGI) and PPAR δ specific agonist can restore blastocyst implantation and decidualization in COX-2^{-/-} mice. These data suggested that PGI₂ may play important roles in blastocyst implantation and decidualization by PPAR δ activation.

Key words embryo implantation, COX-2, PGIS, PGI₂, PPARs,

* This work was supported by The Youth Fund of National Science Foundation of China (39825120) and The Special Funds for Major State Basic Research of China (G1999055903).

** Corresponding author. Tel: 86-451-5191416, E-mail: znyang@mail.neau.edu.cn

Received: February 8, 2003 Accepted: March 25, 2003