

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2026.04.005
文章编号: 1005-8982 (2026) 04-0026-09

实验研究·论著

自噬对小鼠围着床期子宫内膜容受性的影响*

梁嘉玲¹, 刘雁峰², 姜娜¹, 曹振东¹, 李朝军¹, 唐人彦¹

(1.上海交通大学医学院附属第九人民医院 中医科,上海 200011; 2.北京中医药大学东直门医院 妇科,北京 100700)

摘要: **目的** 探究自噬对小鼠围着床期子宫内膜容受性的影响。**方法** 将36只ICR妊娠雌鼠随机分为空白组与自噬抑制剂组,每组18只。自噬抑制剂组自妊娠第1天(PD1)起,每日腹腔注射自噬抑制剂3-MA直至处死,空白组每日腹腔注射等量磷酸盐缓冲液(PBS)作为对照,各组分别于PD4、PD5、PD6以颈椎脱臼法处死6只小鼠。观察各组小鼠子宫形态,计数胚胎着床位点数,分别采用实时荧光定量聚合酶链反应、Western blotting检测子宫内膜组织中自噬相关因子Beclin-1、微管相关蛋白轻链3-I(LC3-I)、LC3-II及子宫内膜容受性相关标志物雌激素受体 α (ER α)、孕激素受体(PR)、同源框基因A10(HOXA10)mRNA与蛋白表达量,采用扫描电镜观察各组小鼠子宫内膜胞饮突形态,采用透射电镜观察子宫内膜细胞自噬体结构。**结果** 空白组PD4子宫无明显串珠状改变,PD5、PD6着床部位宫体膨大,形成串珠状,均匀分布,色泽红润;自噬抑制剂组PD4子宫色淡白、较细,无明显串珠状改变;PD5、PD6胚胎着床部位宫体轻度膨大,着床数目较少,分布不均匀,色淡红。自噬抑制剂组PD5、PD6胚胎着床位数较空白组减少($P<0.05$)。与空白组PD4、PD5、PD6比较,自噬抑制剂组PD4、PD5、PD6 LC3-II mRNA相对表达量均降低($P<0.05$)。与空白组PD4、PD5、PD6比较,自噬抑制剂组LC3-II蛋白相对表达量、LC3-II/LC3-I比值均降低($P<0.05$),LC3-I蛋白相对表达量升高($P<0.05$)。与空白组PD4、PD5、PD6比较,自噬抑制剂组PR mRNA相对表达量降低($P<0.05$);与空白组PD4、PD5比较,自噬抑制剂组HOXA10 mRNA相对表达量降低($P<0.05$)。与空白组PD4、PD5、PD6比较,自噬抑制剂组ER α 蛋白相对表达量升高($P<0.05$);与空白组PD5、PD6比较,自噬抑制剂组PD5、PD6 PR、HOXA10蛋白相对表达量均降低($P<0.05$)。扫描电镜下,空白组PD4子宫内膜表面可见少量胞饮突,PD5、PD6胞饮突数目多,大小均一;自噬抑制剂组PD4子宫内膜表面胞饮突结构不明显且皱缩,PD5、PD6胞饮突数目少,大小不均。透射电镜下,空白组PD4子宫内膜细胞中自噬溶酶体数量较多,PD5、PD6数量减少;自噬抑制剂组PD4可见少量自噬溶酶体,PD5、PD6未见明显自噬溶酶体,较空白组明显减少。**结论** 自噬可能影响围着床期子宫内膜容受性的建立与调节,参与胚胎着床过程。

关键词: 子宫内膜容受性;自噬;胚胎着床;小鼠

中图分类号: R714.8

文献标识码: A

Effects of autophagy on endometrial receptivity during the peri-implantation period in mice*

Liang Jia-ling¹, Liu Yan-feng², Jiang Na¹, Cao Zhen-dong¹, Li Chao-jun¹, Tang Ren-yan¹

(1. Department of Traditional Chinese Medicine, Shanghai Ninth People's Hospital Affiliated to Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200011, China; 2. Department of Gynecology, Dongzhimen Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100700, China)

Abstract: Objective To explore the effects of autophagy on endometrial receptivity during the peri-

收稿日期: 2025-09-12

* 基金项目: 国家自然科学基金(No: 82305285); 上海市卫生健康委员会中医药科研项目(No: 2022QN024)。

[通信作者] 刘雁峰, E-mail: liuyaf8888@sina.com

implantation period in mice. **Methods** Thirty-six pregnant ICR female mice were randomly divided into a blank group and an autophagy inhibitor group, with eighteen mice in each group. The autophagy inhibitor group received daily intraperitoneal injections of the autophagy inhibitor 3-MA starting from the 1st day of pregnancy (PD1) until sacrifice. The blank group received daily intraperitoneal injections of an equal volume of PBS as a control. Six mice in each group were sacrificed by cervical dislocation on PD4, PD5, and PD6. The uterine morphology of the mice in each group was observed, and the number of embryo implantation sites was counted. The mRNA and protein expression levels of the autophagy-related factors Beclin-1, LC3-I, and LC3-II, as well as the endometrial receptivity markers ER α , PR, and HOXA10 in the endometrial tissues were detected by qRT-PCR and Western blotting. The morphology of pinopodes on the endometrial surface was observed by scanning electron microscopy, and the autophagic structures in the endometrial cells were observed by transmission electron microscopy. **Results** In the blank group, the uterus on PD4 showed no obvious bead-like changes, while the implantation sites were enlarged on PD5 and PD6, exhibiting a bead-like appearance with uniform distribution and a pinkish coloration. In the autophagy inhibitor group, the uterus on PD4 appeared pale and thin, with no obvious bead-like changes. The implantation sites in the uterine body were slightly enlarged, with fewer embryos, uneven distribution, and a pale red coloration. Compared to the blank group, the implantation site numbers in the autophagy-inhibitor groups PD5 and PD6 were reduced ($P < 0.05$). Compared with the blank group, the expression of LC3-II mRNA was decreased in the autophagy inhibitor group on PD4, PD5, and PD6 ($P < 0.05$). The expression of LC3-II protein and the LC3-II/LC3-I ratio were decreased ($P < 0.05$), while the expression of LC3-I protein was increased on PD4, PD5, and PD6 in the autophagy inhibitor group ($P < 0.05$). Compared with the blank group, the expression of PR mRNA was decreased on PD4, PD5, and PD6 ($P < 0.05$), and the expression of HOXA10 mRNA was decreased on PD4 and PD5 in the autophagy inhibitor group ($P < 0.05$). The expression of ER α protein was increased on PD4, PD5, and PD6 ($P < 0.05$), while the expressions of PR and HOXA10 protein were decreased on PD5 and PD6 in the autophagy inhibitory group ($P < 0.05$). Scanning electron microscopy showed a small number of pinopodes on the endometrial surface on PD4 in the blank group, while numerous pinopodes homogeneous in size presented on PD5 and PD6. In the autophagy inhibitor group, pinopodes on the endometrial surface were unobvious and wrinkled on PD4, and a few of pinopodes heterogenous in size were observed on PD5 and PD6. Transmission electron microscopy demonstrated abundant autolysosomes in endometrial cells of the blank group on PD4, with a decline on PD5 and PD6. In the autophagy inhibitor group, only a small number of autolysosomes were observed on PD4, and none were evident on PD5 and PD6, indicating a significant reduction compared with the control group. **Conclusions** Autophagy may participate in the establishment and regulation of endometrial receptivity during the peri-implantation period and is involved in the process of embryo implantation.

Keywords: endometrial receptivity; autophagy; embryo implantation; mouse

近年来,随着我国生育政策的调整,生育需求显著上升,寻求辅助生殖技术(assisted reproductive technology, ART)帮助的不孕女性越来越多,但ART的临床妊娠率仍然较低^[1]。部分患者在多次移植优质胚胎后均着床失败或未获得临床妊娠,浪费了大量的优质胚胎资源,也承受了巨大的经济损失和精神压力。在导致胚胎种植失败的原因中,胚胎质量不良者约占1/3,剩余约2/3主要是子宫内膜容受性降低及胚胎与子宫内膜同步发育异常^[2]。随着当前胚胎体外培养技术、胚胎植入前遗传学诊断、非整倍体筛查等技术的成熟与发展,胚胎质量得以优化^[3],因而改善子宫内膜容受性成为影响ART成功率的关键,也是目前国内

外生殖领域研究的焦点和难点。

自噬是机体应对“压力”时的一种生存防御机制,当细胞处于缺血、缺氧状态或胞浆中变性蛋白、衰老损伤的细胞器、活性氧等累积时,代谢废物被包裹后传递至溶酶体进行消化吸收,以实现细胞的自我调节和胞内物质的循环利用^[4]。目前关于自噬的研究多集中在肿瘤、心血管疾病、代谢性疾病、神经退行性疾病等领域。有研究显示,自噬参与了子宫内膜的周期性变化过程,并主要发生在分泌期,尤其是分泌晚期的子宫内膜腺体细胞中^[5],且可能在子宫内膜蜕膜化与胚胎侵入过程中发挥了重要作用^[6]。但目前关于自噬与子宫内膜容受性、胚胎着床的相关性研究仍相对较

少,具体调控机制尚不明确。本研究旨在探究自噬在围着床期子宫内膜中的表达水平,及其对围着床期子宫内膜容受性的影响,为子宫内膜容受性的调控提供新分子靶点。

1 材料与方法

1.1 实验动物

选用6~8周龄SPF级ICR雌性小鼠36只,未交配过,体重(22±2)g,有生育能力的同周龄雄鼠18只,体重(25±2)g。所有小鼠购自北京维通利华实验动物技术有限公司[实验动物生产许可证号:SCXK(京)2021-0011,实验动物使用许可证号:SYXK(沪)2025-0025],饲养于洁净实验室,饲养环境温度(22±2)℃,湿度5%~10%,昼夜光照周期12h/12h。适应性饲养2周,期间可以自由获取食物和饮水。本实验经上海交通大学医学院附属第九人民医院伦理委员会批准(No:SH9H-2025-A1636-1)。

1.2 主要试剂与仪器

1.2.1 主要试剂 总RNA提取试剂盒(北京索莱宝科技有限公司,批号:R1200),逆转录试剂盒(上海翊圣生物科技有限公司,批号:11141ES60),逆转录和实时荧光定量聚合酶链反应(quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR)试剂盒(上海翊圣生物科技有限公司,批号:11201ES08),重组人自噬效应蛋白Beclin-1抗体(江苏亲科生物研究中心有限公司,批号:AF5128),微管相关蛋白轻链3(microtubule-associated protein 1-light chain 3, LC3) B抗体(江苏亲科生物研究中心有限公司,批号:AF5402),同源框基因A10(homeobox gene A10, HOXA10)抗体(杭州华安生物技术有限公司,批号:ER65878),雌激素受体 α (estrogen receptor α , ER α)抗体(江苏亲科生物研究中心有限公司,批号:BF8047),孕激素受体(progesterone receptor, PR)抗体(江苏亲科生物研究中心有限公司,批号:AF6106),甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)抗体(美国Proteintech公司,批号:10494-1-AP)。

1.2.2 主要仪器 实时荧光定量PCR仪(苏州雅睿生物技术有限公司,型号:MA-6000),电泳仪

(美国Bio-rad公司,批号:1645070),酶标仪(美国Biotek公司,批号:800TS),切片机(德国Leica公司,型号:UC7),扫描电子显微镜(国仪量子技术股份有限公司,型号:SEM4000X),透射电子显微镜(日本JEM公司,型号:1400)。

1.3 实验方法

1.3.1 动物分组及给药 将所有小鼠适应性饲养2周,同时观察所有雌鼠的动情周期,在第3个动情期于每日16:00以3:1的雌雄比例合笼进行交配,以次日清晨观察到雌鼠阴道口有阴道栓脱落记为妊娠第1天(the first day of pregnancy, PD1)。将妊娠雌鼠随机分为空白组、自噬抑制剂组,每组各18只。

使用磷酸盐缓冲溶液(phosphate-buffered saline, PBS)溶解甲基腺嘌呤(3-methyladenine, 3-MA),配制成15 mmol/L浓度的溶液。自噬抑制剂组小鼠自PD1起,每天腹腔注射15 mg/(kg·d)的3-MA溶液,直至处死;空白组小鼠自PD1起,每天在相同时间腹腔注射等量PBS作为对照,直至处死。

1.3.2 标本采集 各组分别于PD4、PD5、PD6早上8:00~10:00以颈椎脱臼法处死6只小鼠,无菌条件下快速取全子宫。观察子宫形态,摄片并记录胚胎着床位点数。将小鼠一角子宫纵向剖开,迅速置于2.5%戊二醛固定液中固定5h以上,温度0~4℃,备扫描电镜和透射电镜观察胞饮突表达情况、自噬体结构。另一角子宫立即装入冻存管放入液氮中冷冻,再放入-80℃冰箱保存,以备qRT-PCR、Western blotting检测。

1.3.3 观察子宫形态与胚胎着床数目 肉眼观察各组小鼠PD4~PD6子宫形态,记录胚胎着床数目,计算各组小鼠平均胚胎着床位点数。

1.3.4 qRT-PCR检测子宫内膜组织中自噬相关因子及子宫内膜容受性相关标志物mRNA的表达 用TRIzol试剂提取各组小鼠PD4~PD6子宫组织中总RNA,将其逆转录为cDNA,分别使用目的基因引物和内参基因引物,以mRNA/lncRNA qPCR Kit进行扩增。反应条件:95℃预变性5min,95℃变性10s,60℃退火20s,72℃延伸20s,共40个循环。扩增反应结束后,进行熔解曲线分析,每个样品重复3次取均值。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算Beclin-1、LC3-I、LC3-II、ER α 、PR、HOXA10 mRNA相对表达量。本研究所使用的引物序列见表1。

表1 引物序列

基因	引物序列	长度/bp
Beclin-1	正向:5'-TGGACGTGGAGAAAGGCAAG-3'	20
	反向:5'-CAGGCAAGACCCCACTTGAG-3'	20
LC3-I	正向:5'-CTGCTGTCTCTGGATAAGACC-3'	21
	反向:5'-AAGTTTCTTGGAGGCGTAG-3'	21
LC3-II	正向:5'-GACCCTAACCCCATAGGAGC-3'	20
	反向:5'-TCTCCCCCTTGTATCGCTCT-3'	20
ER α	正向:5'-ACAGCCGAACGGTATGAAG-3'	20
	反向:5'-GCATCTCCAGCCCTTTGAT-3'	20
PR	正向:5'-CCCTTGACGGTGTGCTCTC-3'	20
	反向:5'-TCATGCCCTGCATAGACCAC-3'	20
HOXA10	正向:5'-CAAAGGCCAAAATGCAGCCA-3'	20
	反向:5'-ACTTGTCTGTCCGTGAGGTG-3'	20
GAPDH	正向:5'-GTGAAGGTCGGTGTGAACGGATT-3'	23
	反向:5'-CGTGAGTGGAGTCATACTGGAACAT-3'	25

1.3.5 Western blotting检测子宫内膜组织中自噬相关因子及子宫内膜容受性相关标志物蛋白的表达 提取各组小鼠PD4~PD6子宫组织,加入裂解液,充分研磨后以4℃、12 000 r/min离心20 min,取上清液,采用BCA测定蛋白浓度,将各组样品总蛋白浓度调整一致,99℃煮10 min变性。制胶,上样电泳,转膜,封闭,加入一抗4℃孵育过夜,GAPDH按1:5 000稀释,Beclin-1、LC3-I、LC3-II、ER α 、PR、HOXA10按1:2 000稀释,加二抗按1:10 000稀释,室温孵育1 h,ECL显色,使用Image J软件分析灰度值。

1.3.6 扫描电镜下观察子宫内膜胞饮突的形态、数目 将小鼠子宫组织从戊二醛固定液中取出后,使用0.1 mmol/L PBS (pH 7.4) 冲洗3次,10 min/次;在4℃条件下,用锇酸固定2 h,再用0.1 mmol/L PBS (pH 7.4) 冲洗3次,10 min/次。将组织依次放入30%~50%~75%~80%~95%~100% (2次) 浓度梯度的乙醇溶液中进行逐级脱水,15 min/次,再置于100%乙酸异戊酯中15 min。将组织转入临界点干燥仪,运行临界点干燥程序,取出后干燥保存。使用液体导电胶固定组织,用离子溅射仪对样本进行镀膜。使用扫描电子显微镜观察小鼠子宫内膜胞饮突的形态,并采集图像。

1.3.7 透射电镜下观察子宫内膜细胞自噬体结构 从戊二醛固定液中取出小鼠子宫组织,使用

0.1 mmol/L PBS (pH 7.4) 冲洗3次,10 min/次;在4℃条件下,用锇酸固定3 h,再用0.1 mmol/L PBS (pH 7.4) 冲洗3次,10 min/次。将组织依次放入50%~75%~80%~95%~100% (2次) 浓度梯度的乙醇溶液中进行逐级脱水,15 min/次,再置于100%丙酮溶液2次,15 min/次。使用树脂浸透包埋,70℃聚合48 h。使用超薄切片机切60~80 nm超薄切片。使用2%醋酸双氧铀溶液、柠檬酸铅进行铀铅双染色,各染色15 min,将切片置于室温下干燥。使用透射电子显微镜观察样本中自噬体结构,并采集图像。

1.4 统计学方法

数据分析采用SPSS 26.0和Graphpad Prism 10统计软件。计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)或中位数(下四分位数,上四分位数)[M(P₂₅,P₇₅)]表示,比较用 t 检验、秩和检验、方差分析或 H 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组小鼠子宫形态与胚胎着床位点数

空白组小鼠PD4子宫无明显“串珠状”改变;PD5胚胎着床数目较多,着床部位宫体膨大,形成“串珠状”,均匀分布,色泽红润;PD6“串珠状”改变较PD5明显增大,均匀分布,色泽红润。自噬抑制剂组小鼠PD4子宫色淡白,较细,无明显“串珠状”改变;PD5胚胎着床部位宫体轻度膨大,着床数目较少,分布不均匀,色淡红;PD6“串珠状”改变较PD5增大,分布不均匀,色淡红。见图1。

空白组小鼠PD4、PD5、PD6胚胎着床位点数比较,经 H 检验,差异有统计学意义($H=13.470$, $P=0.001$);PD5、PD6胚胎着床位点数均多于PD4($P<0.05$)。自噬抑制剂组小鼠PD4、PD5、PD6胚胎着床位点数比较,经 H 检验,差异有统计学意义($H=7.132$, $P=0.028$);PD6胚胎着床位点数多于PD4($P<0.05$)。空白组与自噬抑制剂组PD4胚胎着床位点数的比较,经 Z 检验,差异无统计学意义($P>0.05$)。空白组与自噬抑制剂组PD5、PD6胚胎着床位点数比较,经 Z 检验,差异有统计学意义($P<0.05$),空白组均高于自噬抑制剂组($P<0.05$)。见表2。

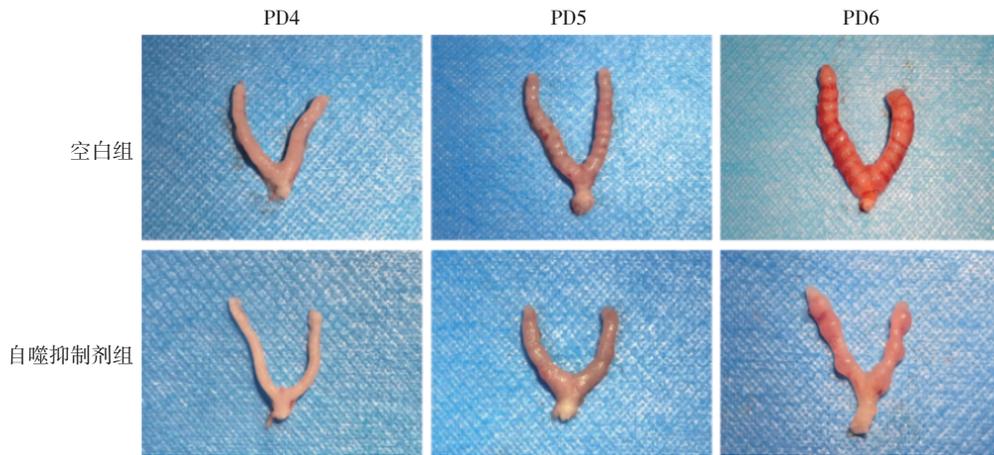


图 1 各组小鼠PD4、PD5、PD6子宫形态

表 2 各组小鼠PD4、PD5、PD6胚胎着床位点数

$M(P_{25}, P_{75})$

组别	PD4	PD5	PD6
空白组	0(0.00, 2.50)	9.0(5.50, 9.50)	12.5(11.75, 14.25)
自噬抑制剂组	0(0.00, 1.25)	3.5(1.50, 6.50)	6.5(3.75, 10)
Z值	-0.123	-2.266	-2.330
P值	0.937	0.026	0.015

2.2 各组小鼠子宫内膜中 Beclin-1、LC3- I、LC3- II mRNA 相对表达量比较

各组小鼠 Beclin-1 mRNA 相对表达量比较，经方差分析，差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。各组小鼠 LC3- I、LC3- II mRNA 相对表达量比较，经方差分析，差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。与空白组 PD4、PD5、PD6 比较，自噬抑制剂组 PD4、PD5、PD6 LC3- II mRNA 相对表达量均降低 ($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 各组小鼠 Beclin-1、LC3- I、LC3- II mRNA 相对表达量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	Beclin-1 mRNA	LC3- I mRNA	LC3- II mRNA
空白组 PD4	1.01 ± 0.20	0.97 ± 0.06	1.03 ± 0.27
空白组 PD5	0.94 ± 0.09	1.03 ± 0.11	1.16 ± 0.11
空白组 PD6	0.92 ± 0.15	1.19 ± 0.36	1.18 ± 0.06
自噬抑制剂组 PD4	0.96 ± 0.07	1.00 ± 0.01	0.70 ± 0.09
自噬抑制剂组 PD5	0.95 ± 0.04	1.07 ± 0.08	0.66 ± 0.07
自噬抑制剂组 PD6	0.96 ± 0.07	1.67 ± 0.07	0.52 ± 0.03
F值	0.210	34.453	14.139
P值	0.952	0.000	0.000

2.3 各组小鼠子宫内膜中 Beclin-1、LC3- I、LC3- II 蛋白相对表达量比较

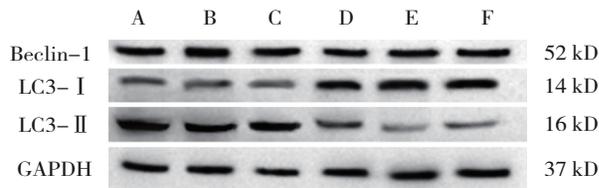
各组小鼠 Beclin-1、LC3- I、LC3- II 蛋白相对表达量及 LC3- II/LC3- I 比值比较，经方差分析，差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)；与空白组 PD4、PD5、PD6 比较，自噬抑制剂组 PD4、PD5、PD6 LC3- II 蛋白相对表达量、LC3- II/LC3- I 比值均降低 ($P < 0.05$)，LC3- I 蛋白相对表达量升高 ($P < 0.05$)。见表 4、图 2。

表 4 各组小鼠 Beclin-1、LC3- I、LC3- II 蛋白相对表达量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	Beclin-1 蛋白	LC3- I 蛋白	LC3- II 蛋白	LC3- II / LC3- I
空白组 PD4	1.16 ± 0.23	0.62 ± 0.17	1.15 ± 0.09	1.92 ± 0.40
空白组 PD5	1.14 ± 0.03	0.71 ± 0.09	1.08 ± 0.18	1.52 ± 0.08
空白组 PD6	0.99 ± 0.02	0.69 ± 0.14	1.05 ± 0.07	1.55 ± 0.27
自噬抑制剂组 PD4	1.00 ± 0.19	1.14 ± 0.20	0.73 ± 0.10	0.65 ± 0.08
自噬抑制剂组 PD5	0.90 ± 0.01	1.16 ± 0.05	0.66 ± 0.16	0.58 ± 0.15
自噬抑制剂组 PD6	0.99 ± 0.13	1.08 ± 0.22	0.67 ± 0.16	0.62 ± 0.16
F值	27.933	7.883	8.609	21.495
P值	0.000	0.002	0.001	0.000

2.4 各组小鼠 ERα、PR、HOXA10 mRNA 相对表达量比较

各组小鼠 ERα、PR、HOXA10 mRNA 相对表达量比较，经方差分析，差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。与空白组 PD4、PD5、PD6 比较，自噬抑制剂组 PD4、PD5、PD6 PR mRNA 相对表达量均降低 ($P < 0.05$)；与空白组 PD4、PD5 比较，自噬抑制剂



A: 空白组PD4; B: 空白组PD5; C: 空白组PD6; D: 自噬抑制剂组PD4; E: 自噬抑制剂组PD5; F: 自噬抑制剂组PD6。

图2 各组小鼠子宫内膜Beclin-1、LC3-I、LC3-II蛋白条带图

组PD4、PD5 HOXA10 mRNA 相对表达量均降低 ($P < 0.05$)。见表5。

表5 各组小鼠ER α 、PR、HOXA10 mRNA相对表达量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	ER α mRNA	PR mRNA	HOXA10 mRNA
空白组PD4	1.01 \pm 0.14	1.01 \pm 0.16	1.00 \pm 0.05
空白组PD5	1.26 \pm 0.04	0.88 \pm 0.13	0.96 \pm 0.02
空白组PD6	1.63 \pm 0.03	0.92 \pm 0.03	0.91 \pm 0.07
自噬抑制剂组PD4	1.37 \pm 0.02	0.72 \pm 0.30	0.64 \pm 0.27
自噬抑制剂组PD5	1.58 \pm 0.11	0.57 \pm 0.05	0.57 \pm 0.16
自噬抑制剂组PD6	3.55 \pm 0.21	0.54 \pm 0.05	0.71 \pm 0.03
F值	5.338	4.963	5.659
P值	0.008	0.011	0.007

2.5 各组小鼠ER α 、PR、HOXA10蛋白相对表达量比较

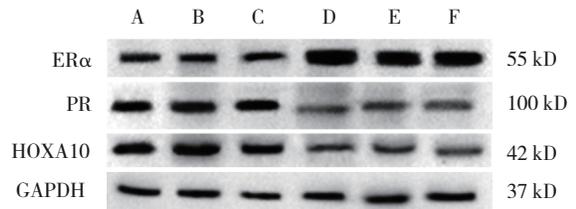
各组小鼠ER α 、PR、HOXA10蛋白相对表达量比较, 经方差分析, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。与空白组PD4、PD5、PD6比较, 自噬抑制剂组PD4、PD5、PD6 ER α 蛋白相对表达量均升高 ($P < 0.05$); 与空白组PD5、PD6比较, 自噬抑制剂组PD5、PD6 PR、HOXA10蛋白相对表达量均降低 ($P < 0.05$)。见表6、图3。

2.6 扫描电镜下观察各组小鼠子宫内膜胞饮突结构

扫描电镜下观察空白组、自噬抑制剂组小鼠PD4、PD5、PD6子宫内膜胞饮突结构。空白组PD4子宫内膜表面绒毛短, 表面可见少量胞饮突, 形态较饱满, 体积尚小, 大小较均一; PD5、PD6子宫内膜表面微绒毛丰富, 胞饮突数目多, 形态饱满, 大小均一。自噬抑制剂组PD4子宫内膜表面绒毛短, 表面胞饮突结构不明显, 且呈皱缩状态; PD5、PD6子宫内膜表面微绒毛排列不规则, 胞饮突数目少, 形态较饱满, 大小不均。见图4。

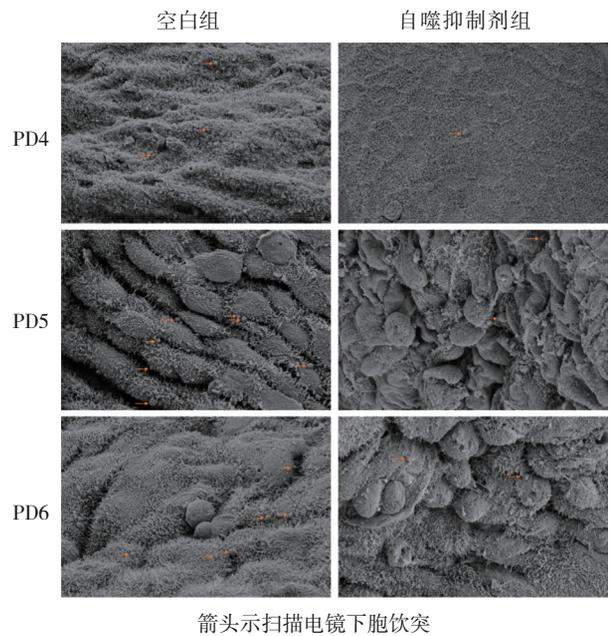
表6 各组小鼠ER α 、PR、HOXA10蛋白相对表达量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	ER α 蛋白	PR 蛋白	HOXA10 蛋白
空白组PD4	0.66 \pm 0.04	1.43 \pm 0.15	1.27 \pm 0.21
空白组PD5	0.80 \pm 0.05	1.43 \pm 0.09	1.28 \pm 0.08
空白组PD6	0.82 \pm 0.16	1.39 \pm 0.05	1.28 \pm 0.18
自噬抑制剂组PD4	1.36 \pm 0.15	0.64 \pm 0.09	1.00 \pm 0.16
自噬抑制剂组PD5	1.11 \pm 0.08	0.55 \pm 0.03	0.86 \pm 0.13
自噬抑制剂组PD6	1.24 \pm 0.20	0.59 \pm 0.03	0.90 \pm 0.16
F值	13.983	124.483	4.760
P值	0.000	0.000	0.013



A: 空白组PD4; B: 空白组PD5; C: 空白组PD6; D: 自噬抑制剂组PD4; E: 自噬抑制剂组PD5; F: 自噬抑制剂组PD6。

图3 各组小鼠子宫内膜ER α 、PR、HOXA10蛋白条带图



箭头示扫描电镜下胞饮突

图4 扫描电镜下各组小鼠子宫内膜胞饮突 ($\times 3000$)

2.7 透射电镜下观察各组小鼠子宫内膜自噬溶酶体结构

透射电镜下观察空白组、自噬抑制剂组小鼠PD4、PD5、PD6子宫内膜自噬体结构。空白组PD4、PD5、PD6子宫内膜细胞中均可见自噬溶酶

体, 其中 PD4 自噬溶酶体数量较多, PD5、PD6 数量减少。自噬抑制剂组 PD4 子宫内膜细胞中可见少

量自噬溶酶体, PD5、PD6 未见明显自噬溶酶体, 较空白组明显减少。见图 5。

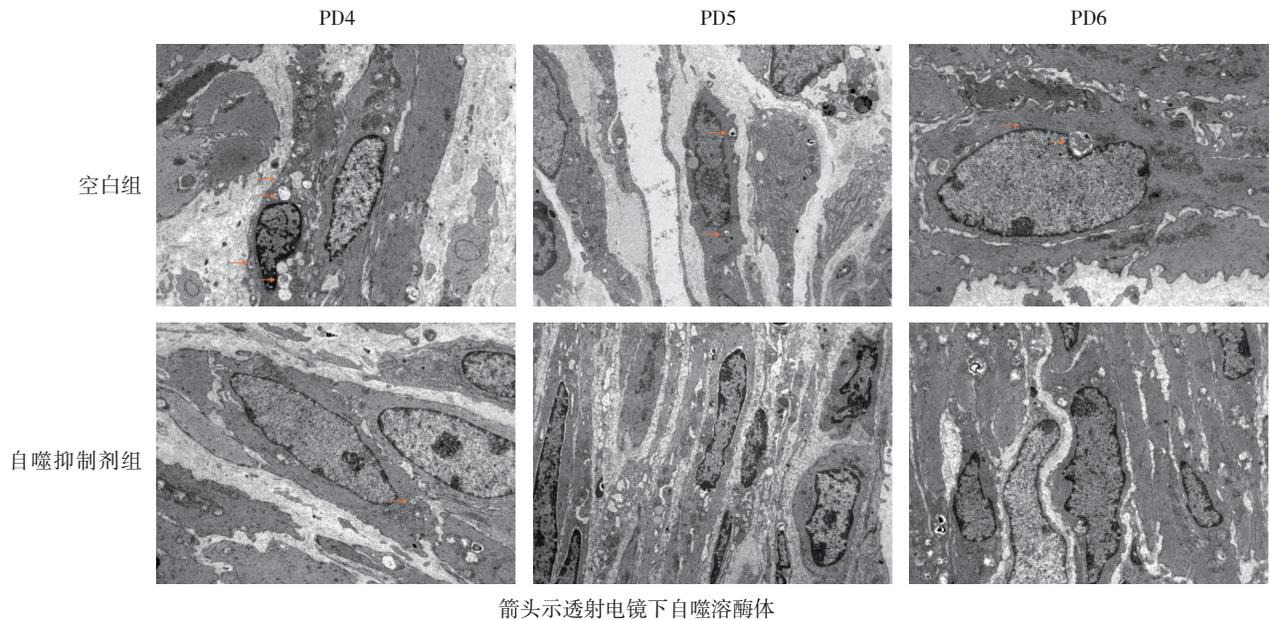


图 5 透射电镜下各组小鼠子宫内膜自噬溶酶体比较 ($\times 2\ 500$)

3 讨论

子宫内膜容受性是指子宫内膜在特定阶段接受胚胎定位、黏附和植入的能力, 这一特定阶段称为“种植窗口期”, 通常为女性排卵后的第 6~10 天, 对应于女性正常月经周期的第 20~24 天^[7]。这种容受状态的建立与维持, 依赖于多种分子构成的网络级联系统的协同作用, 其影响因素与调控机制涉及多个方面^[8-9]。在性激素的作用下, 子宫内膜发生周期性的动态变化, 而细胞自噬作为子宫内膜自我清理与更新的一种途径, 在这一周期性变化过程中发挥重要作用^[10]。自噬是细胞维持动态平衡状态的一种自我保护机制, 根据细胞底物进入溶酶体的方式差异, 自噬常分为巨自噬、微自噬与分子伴侣介导的自噬 3 类^[11]。通常所说的自噬是指巨自噬, 该过程将待降解的底物包裹入双层膜结构中形成自噬体, 与溶酶体结合后利用其中的酸性水解酶将底物降解; 微自噬是指溶酶体膜或液泡膜直接内陷, 包裹底物并进行降解; 分子伴侣介导的自噬则具有高度选择性, 其是指分子伴侣与底物表面特定序列识别后, 将底物靶向至溶酶体表面并与膜蛋白结合进入溶酶体内进行降解的过程^[12]。LIU 等^[13]使用二硫化碳抑制小鼠

种植窗口期的自噬水平后, 发现胚胎着床数目明显减少, 但补充 N-氨基甲酰谷氨酸后减轻了二硫化碳对自噬的抑制作用, 且增加了胚胎着床数目, 改善胚胎着床障碍。YAMANAKA-TATEMATSU 等^[14]认为, 在常氧条件下只有少量的自噬发生, 而在低氧条件下会诱导大量自噬的发生, 从能量需求的角度来看, 胚胎着床过程中母胎界面存在短暂的生理性低氧、低营养状态, 因此激活了细胞自噬, 促进蜕膜细胞存活, 并为胚胎侵入与血管重构等过程提供能量。

Beclin-1、LC3-II、LC3-I 是常见的自噬相关因子。Beclin-1 为酵母 Atg6 在哺乳动物中的同源蛋白, 作为自噬启动的标志性蛋白, 可通过与 PI3K III 和 Atg14 的结合组成 III 型 PI3K 复合物, 参与自噬小体的形成^[15]。Beclin-1 通常被认为是自噬流激活的标志, 通过检测 Beclin-1 的表达水平可反映自噬的激活程度^[16]。LC3 是细胞自噬的标志性蛋白, 也是自噬相关基因 Atg8 在哺乳动物中的同源物。细胞自噬启动后, 胞浆形式的 LC3-I 转化为膜结合形式的 LC3-II, 当自噬泡闭合时, 只有膜结合形式的 LC3-II 定位于自噬体膜上, 且 LC3-II 的含量与自噬体数量成正比, 因而可反映自噬水平并被

广泛用于自噬研究中^[17]。本研究使用腹腔注射自噬抑制剂3-MA的方法,构建自噬抑制模型,观察自噬相关因子的表达是否异常。通过qRT-PCR、Western blotting检测自噬相关因子mRNA与蛋白表达水平,使用透射电镜检测自噬体结构,并统计各组胚胎着床位点数,结果发现,在使用自噬抑制剂干预后,小鼠子宫内膜LC3-II mRNA及蛋白表达量均降低,LC3-I蛋白表达量升高,透射电镜下子宫内膜细胞中的自噬溶酶体数量明显减少,且PD5、PD6着床位点数较空白组明显减少,提示自噬抑制剂组小鼠围着床期子宫内膜细胞自噬水平受到抑制,且可能影响小鼠胚胎着床。

为进一步探究自噬对子宫内膜容受性的影响,本研究对比空白组与自噬抑制剂组小鼠围着床期子宫内膜容受性相关因子ER α 、PR、HOXA10表达水平。小鼠的胚胎着床窗口期多发生于PD4夜间至PD5下午^[18],故本研究选择PD4、PD5、PD6 3个时间点检测小鼠围着床期子宫内膜容受性相关因子。ER α 和PR是调节子宫内膜周期性变化的关键受体,分别通过与雌二醇、孕酮结合,参与子宫内膜的增殖、分化与成熟^[19-20]。在增殖期雌二醇主要通过活化ER α 使子宫内膜增生,并增加PR表达,从而介导孕酮对子宫内膜的影响,触发分泌期;孕酮与PR结合后移动到核内作为转录因子调控基因的表达,孕酮和PR水平升高可以促进子宫内膜胞饮突数量增加、结构成熟,调节着床前子宫微环境,从而有利于胚胎着床^[21-22]。而ER α 在种植窗口期受孕酮影响而下调,这一阶段低表达的ER α 意味着较好的子宫内膜容受性^[23]。HOXA10是一类调控胚胎发育、细胞分化的同源框基因,主要在子宫内膜上表达,其表达水平随着月经周期而发生周期性改变,并在种植窗口期显著增加,影响子宫内膜的增殖分化、种植窗口期的开放、子宫容受性的建立及蜕膜化等过程^[24-25]。本研究通过qRT-PCR、Western blotting检测内膜容受性相关因子mRNA与蛋白表达水平,并通过扫描电镜观察胞饮突结构,结果发现,自噬抑制剂组小鼠围着床期子宫内膜PR、HOXA10 mRNA及蛋白表达量降低,ER α 蛋白表达量升高,胞饮突数量减少且大小不均,提示抑制自噬后小鼠围着床期子宫内膜容受性下降。

综上所述,自噬可能影响围着床期子宫内膜容受性的建立与调节,参与胚胎着床过程。这为临床上调控子宫内膜容受性提供了新靶点与实验依据,也为提高胚胎种植率与临床妊娠率、改善妊娠结局提供了新思路与方法,其具体机制有待进一步研究。

参 考 文 献 :

- [1] de GEYTER C, CALHAZ-JORGE C, KUPKA M S, et al. ART in Europe, 2014: results generated from European registries by ESHRE: The European IVF-Monitoring Consortium (EIM) for the European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE)[J]. Hum Reprod, 2018, 33(9): 1586-1601.
- [2] CRACIUNAS L, GALLOS I, CHU J, et al. Conventional and modern markers of endometrial receptivity: a systematic review and meta-analysis[J]. Hum Reprod Update, 2019, 25(2): 202-223.
- [3] 钟晓盈,贾雪敏,刘海元. 子宫内膜容受性的研究进展[J]. 生殖医学杂志, 2024, 33(9): 1250-1257.
- [4] 张云,罗萍. 自噬在干细胞衰老过程中的研究进展[J]. 广东医学, 2016, 37(12): 1892-1894.
- [5] CHOI J Y, JO M W, LEE E Y, et al. The role of autophagy in human endometrium[J]. Biol Reprod, 2012, 86(3): 70.
- [6] MESTRE CITRINOVITZ A C, STROWITZKI T, GERMEYER A. Decreased autophagy impairs decidualization of human endometrial stromal cells: a role for ATG proteins in endometrial physiology[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(12): 3066.
- [7] AZHARI F, PENCE S, HOSSEINI M K, et al. The role of the serum exosomal and endometrial microRNAs in recurrent implantation failure[J]. J Matern Fetal Neonatal Med, 2022, 35(5): 815-825.
- [8] 虞银凤, 王宝, 王清仪, 等. 昼夜节律紊乱与胚胎着床失败关系的研究进展[J]. 中国现代医学杂志, 2024, 34(15): 58-64.
- [9] 张心, 刘朝晖. 子宫内膜容受性的评估及影响因素[J]. 中国计划生育学杂志, 2024, 32(8): 1963-1967.
- [10] 杨亚玲, 王婉润, 张作良, 等. 加味少腹逐瘀汤调控EGFR/PI3K/AKT信号通路诱导子宫内膜细胞自噬的作用机制[J]. 北京中医药大学学报, 2024, 47(9): 1191-1202.
- [11] YAMAMOTO H, MATSUI T. Molecular mechanisms of macroautophagy, microautophagy, and chaperone-mediated autophagy[J]. J Nippon Med Sch, 2024, 91(1): 2-9.
- [12] YAMAMOTO H, ZHANG S D, MIZUSHIMA N. Autophagy genes in biology and disease[J]. Nat Rev Genet, 2023, 24(6): 382-400.
- [13] LIU X J, WANG S T, SUN Y, et al. The suppressed autophagy induced by carbon disulfide could be rescued by N-carbamoyl glutamate during the window of embryo implantation in mice[J]. Chem Biol Interact, 2019, 312: 108751.
- [14] YAMANAKA-TATEMATSU M, NAKASHIMA A, FUJITA N, et al. Autophagy induced by HIF1 α overexpression supports

- trophoblast invasion by supplying cellular energy[J]. PLoS One, 2013, 8(10): e76605.
- [15] 王新, 王凯, 毛天智, 等. Beclin 1 调控细胞自噬在骨代谢中的研究进展[J]. 中国骨质疏松杂志, 2025, 31(8): 1185-1188.
- [16] DEBNATH J, GAMMOH N, RYAN K M. Autophagy and autophagy-related pathways in cancer[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2023, 24(8): 560-575.
- [17] 章龙玉, 魏兆莲, 徐福霞. 自噬基因 LC3 在子宫内膜异位症中的表达及其意义[J]. 临床与实验病理学杂志, 2017, 33(7): 732-736.
- [18] MATSUMOTO H. Molecular and cellular events during blastocyst implantation in the receptive uterus: clues from mouse models[J]. J Reprod Dev, 2017, 63(5): 445-454.
- [19] RICHTER K S, BUGGE K R, BROMER J G, et al. Relationship between endometrial thickness and embryo implantation, based on 1,294 cycles of in vitro fertilization with transfer of two blastocyst-stage embryos[J]. Fertil Steril, 2007, 87(1): 53-59.
- [20] CONNEELY O M, MULAC-JERICEVIC B, LYDON J P, et al. Reproductive functions of the progesterone receptor isoforms: lessons from knock-out mice[J]. Mol Cell Endocrinol, 2001, 179(1/2): 97-103.
- [21] 朱希亭. 补肾活血法改善子宫内膜容受性的作用机制研究概况[J]. 中医药临床杂志, 2023, 35(5): 1036-1041.
- [22] WETENDORF M, DEMAYO F J. The progesterone receptor regulates implantation, decidualization, and glandular development via a complex paracrine signaling network[J]. Mol Cell Endocrinol, 2012, 357(1/2): 108-118.
- [23] 周雨玫, 刘雁峰, 金凡惠, 等. 二补助育改良方对高龄小鼠子宫内膜腺体、微绒毛及 ER α 、LIF 表达的影响[J]. 北京中医药大学学报, 2022, 45(4): 398-406.
- [24] 严红莲, 马天仲. 子宫内膜异位症影响子宫内膜容受性生物标志物的研究进展[J]. 生殖医学杂志, 2022, 31(12): 1757-1761.
- [25] 牛凯迪, 王春雪, 于月新. 低分子肝素对子宫内膜容受性的作用及其机制研究[J]. 中国现代医学杂志, 2021, 31(18): 39-43.

(李科 编辑)

本文引用格式: 梁嘉玲, 刘雁峰, 姜娜, 等. 自噬对小鼠围着床期子宫内膜容受性的影响[J]. 中国现代医学杂志, 2026, 36(4): 26-34.

Cite this article as: LIANG J L, LIU Y F, JIANG N, et al. Effects of autophagy on endometrial receptivity during the peri-implantation period in mice[J]. China Journal of Modern Medicine, 2026, 36(4): 26-34.