



雌性生殖道发育的分子基础

吴韦韦^{①②†}, 汤晓芳^{①②†}, 崔彤彤^{①②†}, 王海滨^{①②*}

① 中国科学院动物研究所, 干细胞与生殖生物学国家重点实验室, 北京 100101;

② 中国科学院大学生命科学学院, 北京 100049

† 同等贡献

* 联系人, E-mail: hbwang@ioz.ac.cn

收稿日期: 2015-07-23; 接受日期: 2015-08-20

国家自然科学基金(批准号: 81130009, 81330017, 81490744)资助

摘要 哺乳动物的雌性生殖道包括输卵管、子宫、宫颈和阴道, 是卵子受精、早期胚胎发育、胚胎着床、孕体发育和分娩等的重要路径, 对于哺乳动物的生殖非常重要. 雌性生殖器官的发育异常和病变将导致妊娠失败和胎儿死亡, 因而了解雌性生殖道的发育过程和分子调节机制有利于理解生殖相关疾病和改善雌性生殖力. 目前, 利用基因敲除小鼠等多种实验技术, 人们发现了调节雌性生殖道发育和导致生殖道疾病的部分关键基因和调节机理, 本文将总结近年来雌性生殖道的发育分子调控机制方面的研究进展, 并阐述多种信号通路在生殖道发育过程中的交叉调节网络.

关键词 雌性生殖道, 缪勒氏管, 输卵管, 子宫, 发育, 分子调节

高等脊椎动物的雌性生殖系统包括卵巢、输卵管、子宫、阴道和外生殖器. 雌性生殖道来源于胚胎期的中胚层间质细胞, 经历间质上皮转化形成早期的管状结构, 称为缪勒氏管. 随后缪勒氏管逐渐延伸分化, 形成包括输卵管、子宫、宫颈和部分阴道在内的完整雌性生殖道. 输卵管借由伞部与卵巢相通, 后部则与子宫相连, 是完成受精和早期胚胎发育的主要场所. 伞部接受卵巢排出的成熟卵子, 卵子受精之后随着输卵管纤毛的摆动和肌层的收缩, 经过壶腹部、峡部和宫管结合部最终到达子宫. 子宫有多种类型, 是胚胎着床和完成后期生长发育的关键器官, 也是雌性生殖系统最重要的器官之一. 新生小鼠(*Mus*

musculus)子宫并没有完全发育, 随后腔上皮内陷发育出具分泌功能的腺体, 同时间质细胞本身经历分化过程形成基质细胞和肌层细胞. 子宫经由宫颈和阴道与外界相通, 这是胎儿分娩的路径.

雌性生殖道作为重要的生殖器官, 也是雌性疾病多发的部位. 生殖道先天性发育不良、先天性无子宫、输卵管子宫闭锁和各类畸形, 对于雌性生殖能力有极大影响, 而生殖道炎症导致的输卵管阻塞、子宫内膜异位症、宫颈病变、多种妇科肿瘤和恶性癌变, 严重影响生育甚至危及生命. 到目前为止, 对于雌性生殖道发育的基因调控网络以及各类疾病的致病机理所知有限. 近些年来, 利用小鼠模型和基因敲除手

引用格式: 吴韦韦, 汤晓芳, 崔彤彤, 等. 雌性生殖道发育的分子基础. 中国科学: 生命科学, 2016, 46: 66–83

Wu W W, Tang X F, Cui T T, et al. Molecular mechanisms of female reproductive tract development. *Sci Sin Vitae*, 2016, 46: 66–83, doi: 10.1360/N052015-00250

段, 人们已经发现了多个发育关键基因, 同时证明了激素和生长因子对于生殖道发育的重要性, 另外生殖道本身上皮间质细胞间的互作也是其发育的关键. 本文将简要讲述小鼠雌性生殖道的发育过程, 以及已知分子和信号通路调控网络在生殖道发育过程中的重要作用.

1 早期缪勒氏管发育及相关基因

1.1 缪勒氏管发育

脊椎动物的泌尿生殖系统, 包括肾脏、性腺、泌尿尿路与生殖道, 起源于原肠胚间质中胚层. 小鼠的性别由性染色体 XY 决定, 但是早期胚胎并不具有明显的雌雄特征. 随着胚胎的发育, 一些细胞发生间质细胞-上皮细胞转化(mesenchymal-epithelial transformation, MET), 形成了包括雄性及雌性生殖系统和肾脏在内的管状结构.

沃夫氏管(Wolfian ducts, 也称中肾管)在 E9.0(Embryonic day 9, 胚胎期第 9 天; 见栓当日为 E0.5)起源于间质中胚层, 它的发育在 E10.5 完成^[1,2], 随后分化为雄性生殖器官的不同结构, 如附睾、输精管和精囊. 雌性生殖道的原基于 E11.5 开始发生, 沃夫氏管旁体腔上皮来源的细胞发生内陷, 这种内陷始终保持开口, 并且将来形成输卵管漏斗状开口, 称为伞部^[3]; 内陷的上皮管道形成与沃夫氏管(中肾管)平行的缪勒氏管(Müllerian ducts, 也称为旁中肾管). 缪勒氏管在 E13.5 天延长到泄殖腔, 与泌尿生殖窦(Urogenital Sinus, UGS)发生融合, 最终分化发育成输卵管、子宫、子宫颈和上半部分的阴道(图 1)^[4-6].

性别分化前, 哺乳动物胚胎都有两对生殖管道. 在 E13.5, 胚胎两种性别的生殖管道即沃夫氏管和缪勒氏管都随着发育过程延长^[5]. 缪勒氏管的尾端在延伸过程中与沃夫氏管保持密切接触, 因此, 最初有观点认为缪勒氏管部分甚至全部起源于沃夫氏管的细胞, 而另一种观点则认为沃夫氏管对于缪勒氏管的发育仅起着引导作用^[4,5]. 近些年, 细胞追踪实验确定了缪勒氏管的上皮与间质都起源于体腔上皮, 而非沃夫氏管^[5,7]. 尽管沃夫氏管对缪勒氏管的细胞贡献论点已经被否定, 但其对于缪勒氏管正常发育所起的重要作用毋庸置疑^[8].

最初形成的左右侧的缪勒氏管以沃夫氏管作为

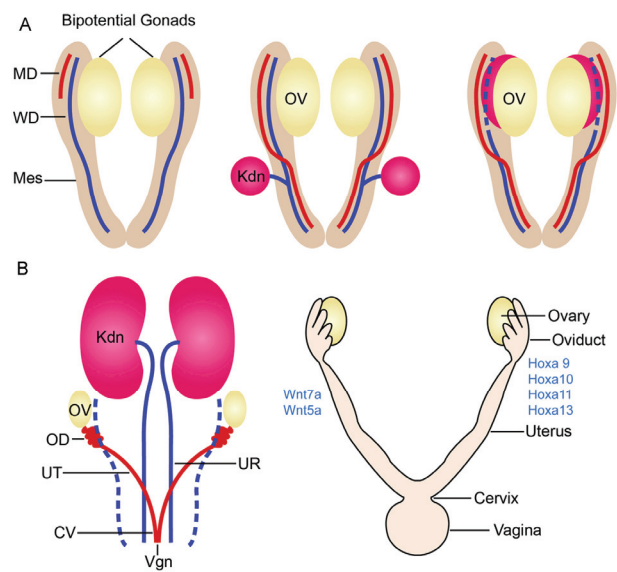


图 1 缪勒氏管发育

A: 缪勒氏管内陷及延伸; B: 成年小鼠雌性生殖道结构. MD: 缪勒氏管; WD: 沃夫氏管; Mes: 间质细胞; OV: Ovary, 卵巢; Kdn: Kidney, 肾脏; OD: oviduct, 输卵管; UT: Uterus, 子宫; CV: Cervix, 子宫颈; Vgn: Vagina, 阴道; UR: ureter, 输尿管

引导, 穿过泌尿生殖嵴基质向尾端延伸生长^[6,9], 最终从腹侧越过沃夫氏管并在中线位置彼此融合, 尾部靠中间的缪勒氏管臂退化, 继而形成一个管道. 最后, 缪勒氏管的尾尖与内胚层来源的泌尿生殖嵴融合^[10]. 与此同时, 雌性胚胎沃夫氏管的大部分由于缺失睾丸分泌的雄激素而发生退化, 仅存留一些组织残片.

雄性胚胎中, Y 染色体上的性别决定基因 *Sry* 编码一个含 HMG 框的转录因子^[11]. *SRY* 对于促进睾丸分化和随后的雄性生殖器官发育起着决定性作用^[12]. 雄性胚胎睾丸 Sertoli 细胞分泌的 MIS(Müllerian-inhibiting substance, 缪勒氏管抑制因子; 也称 anti-Müllerian hormone, AMH)促进了雄性小鼠缪勒氏管的退化. 而在雌性胚胎中, 由于雌性卵巢并不分泌 MIS, 因此缪勒氏管得以继续发育^[3,4,13].

MIS 是 TGF- β 超家族的成员. TGF- β 家族分子首先与其 II 型受体结合, 该 II 型受体与其 I 型受体形成异源二聚复合体并将其磷酸化^[14]. 随后 I 型受体磷酸化 R-Smads (Receptor-Smads), 继而这些磷酸化的 R-Smads 与 Smad4 结合, 最终整个复合体将信号转导入核并调控下游靶基因. 部分 TGF- β 家族信号

转导过程中没有 Smad4 参与^[14,15]。

雄性小鼠中促使缪勒氏管发生退化的 MIS 信号由 II 型受体 Misr2 介导, 其在 E13.5 前表达于缪勒氏管间质中(也称 Amhr2)^[16]。Misr2 开始表达的时间恰好在 E13 到 E14 间, 这是小鼠缪勒氏管退化的关键时间段。Misr2 突变雄性小鼠具有和 Mis 突变雄性小鼠相同的表型^[17]; 另外, 异位过表达人 MIS 的基因突变雌鼠缺失子宫、输卵管和卵巢, 而 Misr2 基因突变的雌鼠再异位过表达人 MIS 后又阻碍了缪勒氏管系统和卵巢的退化^[18]。以上证据都说明, Misr2 是特异转导 MIS 信号的 II 型受体。近年研究发现, MIS 信号的两个 TGF- β I 型受体——Acvr1 和 Bmpr1a, 二者功能具有冗余性; 并且 3 个 R-Smads(Smad1, Smad5 和 Smad8)都参与介导 MIS 信号, 这三者间也具有功能上的冗余性^[19]。Mmp2(matix metalloproteinase 2, 基质金属蛋白酶 2)则被认为是 MIS 信号的一个主要下游分子^[16]。

啮齿类雌性动物出生前, 生殖道的发育没有完成, 随后会沿着头尾轴依次分化为输卵管、子宫、宫颈和阴道的上半部分。这个过程伴随着每个区域特异性基因的表达并发挥重要调节功能以及上皮和间质细胞的互作。

1.2 缪勒氏管发育的调节基因

(1) Wnt 信号通路。在雌性生殖道早期发育过程中, Wnt 信号通路发挥着非常关键的调控作用, 研究结果已经证明了 Wnt4, Wnt5a, Wnt7a 和 Ctnnb1 (β -catenin)的重要功能^[20-25]。Wnt4 敲除小鼠虽然可以形成正常的沃夫氏管, 但是缺失缪勒氏管^[20]。Wnt5a 敲除雌鼠的缪勒氏管尾端伸展有缺陷, 并且内膜腺体形成受阻^[21]。而 Wnt7a 的作用则更为关键, 它最初在胚胎的整个缪勒氏管上都有表达, 而出生后其表达局限于输卵管和子宫上皮。Wnt7a 的缺失会导致阴道与子宫及子宫和输卵管间的界限缺陷, 并且导致严重的腺体和肌层异常^[22,24]。由于 Wnt7a 特异表达于缪勒氏管上皮, 而未在沃夫氏管中表达。近些年, Wnt7a-Cre 工具小鼠已经被广泛应用于条件敲除的研究中^[26]。而研究发现, Wnt7a 可能通过缪勒氏管间质中表达的 Fzd1 作用于下游因子 β -catenin。利用 Amhr2-Cre 在缪勒氏管间充质中条件敲除 Ctnnb1 的雌性小鼠在出生时输卵管不能发生正常卷曲, 上皮

与间质的细胞增殖都显著下降, 导致整个雌性生殖系统发育受阻^[23]。而缪勒氏管间质表达稳定形式的 β -catenin 的(Amhr2-Cre^{Δ+}; Ctnnb1 ex3^{f/+}小鼠模型)雌性小鼠缺失输卵管, 子宫变小、内膜腺体发育失败, 成年后不育^[25,27]。另外, 乙烯雌酚(diethylstilbestrol, DES)是一种自 1938~1971 年间被广泛应用的防流产人工合成激素。研究发现, 在出生前对雌性小鼠注射 DES 能够模拟出与 Wnt7a 突变小鼠类似的表型, 而这种处理小鼠在围出生阶段 Wnt7a 表达下调也能很好地解释这一表型^[22]。

(2) Lim1 (Lhx1)。Lim1(也称 Lhx1)编码一个含有 LIM 结构域的转录因子, 在小鼠脑和肾脏形成过程中起着重要作用^[28]。尽管大部分 Lim1 突变小鼠在妊娠中期就因为尿囊分化缺陷而死亡^[28], 对能出生的 Lim1 突变小鼠分析发现, 雌性小鼠缺失了由缪勒氏管发育而来的输卵管、子宫结构, 雄性小鼠缺失了由沃夫氏管发育而来的器官, 这证明了 Lim1 在两性生殖系统发育过程中起着举足轻重的作用^[29]。而最新的研究利用了 Wnt7a-Cre 小鼠工具将 Lim1 在缪勒氏管上皮中进行特异敲除, 结果导致缪勒氏管的延长生长受到阻滞, 并且出生雌鼠缺乏整个子宫内膜与环形肌结构, 这也使 Lim1 成为第一个被发现的对缪勒氏管祖细胞有重要调节功能的转录因子^[30]。

(3) Pax2。Paired-box gene 2 (Pax2)编码一个与果蝇(*Drosophila melanogaster*)同源的同源域转录因子, 在肾脏、缪勒氏管和沃夫氏管上皮细胞中均有表达^[31]。Pax2 敲除小鼠在胚胎发育阶段缪勒氏管和沃夫氏管发生退化, 导致其肾脏以及生殖系统的缺失, 最终在出生后很快死亡^[32]。Pax8 与 Pax2 在发育中的缪勒氏管中具有共定位, 在功能上可能与 Pax2 存在一定代偿作用^[4,33]。

(4) Emx2。小鼠 Emx2 是果蝇中 Ems(head-gap gene Empty spiracles)的同源基因^[34]。Emx2 表达于间质中胚层的上皮组分中, 并只在缪勒氏管和沃夫氏管形成的早期表达。Emx2 敲除小鼠表型严重, 缺失整个生殖系统和肾脏。在发育过程中, 雌性 Emx2 敲除小鼠的缪勒氏管不能发生; 而雄性敲除小鼠的沃夫氏管虽然在 E10.5 形成, 但随后就于 E11.5 发生退化^[35]。这证明了 Emx2 对于缪勒氏管和沃夫氏管正常发育的必要性。

(5) *AbdB* 同源框基因(*Hox*). 缪勒氏管形成后沿着头尾轴(anterior-posterior axis)分化形成输卵管、子宫、宫颈和部分阴道, 而这些结构的形态及细胞构成各不相同. 组织重构实验结果提示, 这种组织特异性最早在不同位置的间质中显现, 随后间质引导相应的上皮发生分化^[3]. 然而对于间质细胞具体通过哪些信号通路影响了上皮的分化仍然知之甚少.

AbdB(abdominal B)同源框基因位于哺乳动物 4 个 *Hox* clusters 的 5'端^[36]. 在小鼠中, 沿着缪勒氏管的头尾轴, *AbdB* 基因按照它们在 *Hox* clusters 上 3'-5' 的顺序依次表达于缪勒氏管头尾轴向间质中, 并且表达有部分重叠. 例如, *Hoxa9* 在输卵管位置表达, *Hoxa10* 在子宫中表达, *Hoxa11* 在子宫和宫颈表达, 而 *Hoxa13* 在宫颈及上部分阴道表达^[37,38]. 将小鼠的这些基因突变导致的雌性生殖道的区域特异性缺陷则证明了这些基因对于不同区域结构发育的重要功能. 例如, *Hoxa10* 突变导致子宫头端向输卵管样结构的转变发生缺陷, 并且严重影响雌性小鼠的生殖能力^[39]; *Hoxa13* 突变胚胎的缪勒氏管尾端部分缺失, 可能是由于缪勒氏管头尾轴向的内陷发生延迟或阻滞导致的^[38].

2 输卵管发育及相关基因

2.1 输卵管发育

输卵管是连接卵巢与子宫的细长管道, 也是精卵结合与合子前期发育的场所. 卵子从卵巢的成熟卵泡中释放, 进入输卵管伞部; 与此同时, 一定数量的精子经子宫进入输卵管, 在输卵管内与排出的卵相结合形成受精卵. 小鼠中, 受精卵在输卵管内经一系列的细胞分裂形成桑葚胚, 直到形成出腔囊胚才到达子宫并进一步发育.

输卵管来源于缪勒氏管的头部前端, 小鼠在出生前, 即将分化成输卵管的缪勒氏管组分虽然仍是间质包围上皮的简单管状结构, 但是此区域的上皮已经开始分化并部分形成分泌细胞, 同时间质细胞分化出肌层细胞, 因而在形态学上可以区分. 随着缪勒氏管延长, 其头部输卵管部位出现 C 形卷曲, 并且围绕卵巢不断形成卷曲. 虽然输卵管的卷曲很多, 但其直径小于子宫. 输卵管由输卵管系膜围绕并支撑, 能够分别接受来自卵巢和子宫动脉的血液; 同时输

卵管自身拥有一套淋巴系统, 峡部及宫管结合部淋巴管道分布较多.

形态学上, 输卵管包括假复层上皮细胞、一层薄的基质细胞以及包裹在最外面的内层环形和外层纵向的平滑肌(合称输卵管肌层). 输卵管上皮细胞形成纵向褶皱, 增加了表面积. 上皮包括两种类型: 纤毛细胞和分泌细胞. 根据输卵管的构造和功能, 成熟的输卵管包括 4 部分, 由前向后依次为: 伞部、壶腹部、峡部、宫管结合部. 这 4 部分可以通过上皮细胞中纤毛细胞与分泌细胞的比例划分, 也可以通过上皮细胞纵向卷曲的程度以及平滑肌细胞的厚度划分. 小鼠出生前后, 输卵管的形态发生主要包括: 输卵管的卷曲、间质细胞的分化、上皮细胞的折叠、上皮细胞的分化. 已经证实, 很多基因在成熟的输卵管中有重要作用, 包括大麻素受体 CB1(*Cnr1*)等^[40].

伞部(*infundibulum*)在输卵管的最前端, 是输卵管的开口部分, 能够接受卵泡排出的成熟卵子. 小鼠缪勒氏管的开口从开始内陷到最终形成伞部始终保持开放状态. 伞部包裹在卵巢包膜(*bursa*)内, 与壶腹部不同, 伞部的上皮细胞能够延伸到平滑肌细胞和基质细胞中. 伞部上皮细胞纤毛的摆动有利于排出的卵母细胞进入输卵管, 并移动到壶腹部. 伞部对于卵巢激素很敏感, 它在发情期能够不断延伸, 几乎能够包裹卵巢; 而发情期外不存在这种现象(图 2A)^[3].

壶腹部(*ampulla*)是整个输卵管最接近卵巢的部位, 也是女性宫外孕的多发部位. 相对峡部而言, 壶腹部平滑肌较薄, 上皮折叠, 含大量纤毛, 能够容纳经由伞部而来的卵丘卵母细胞复合体, 并接受由子宫方向上行而来的精子, 完成受精过程. 在这一部位, 胚胎运动的主要动力来自于纤毛的摆动. 连接壶腹部和峡部的部位叫做 AIJ(*ampulla-isthmus junction*), 一般在小鼠 PND6(*postnatal day 6*, 出生后第 6 天)时可见(图 2B).

峡部(*isthmus*)通过 AIJ 连接壶腹部, 在输卵管各部分中最接近子宫. 峡部含一层很厚的肌层和少部分纵向折叠的上皮, 且峡部分泌细胞在上皮细胞占的比例高于壶腹部. 受精之后, 包裹卵子的大量颗粒细胞解体, 只剩下单个的合子进入峡部^[41,42]. 由于峡部的肌层很厚, 所以胚胎在这一部位的动力主要来自于肌层收缩(图 2C).

宫管结合部(*uterotubal junction*)是输卵管和子宫的连接过渡. 宫管结合部的方向依据物种不同向内

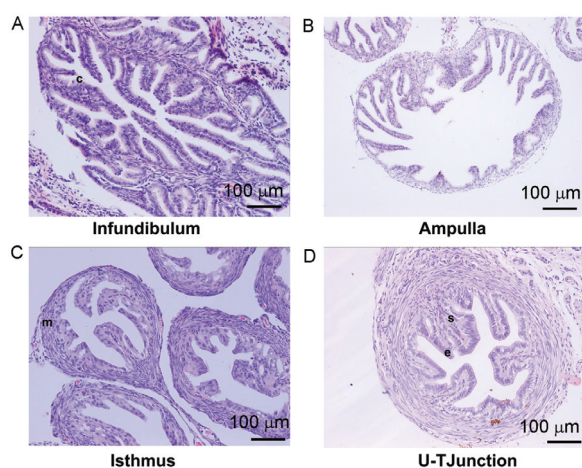


图2 成年小鼠输卵管结构

A: 输卵管伞部; B: 壶腹部; C: 峡部; D: 宫管结合部. c: 纤毛; m: 肌肉层; s: 基质细胞; e: 上皮细胞

或分散. 向内指输卵管延伸向宫角; 分散指输卵管不向宫角延伸, 宫管结合部是弥散型的. 小鼠的宫管结合部在 PND3 时已经形成^[4,5]. 宫管结合部的功能是调控精子从子宫进入输卵管, 及调控胚胎从峡部到子宫, 二者受激素调控. 通过注射蓝色染料(blue dye)可以检测宫管结合部的发育状况: 宫管结合部发育良好时, 打入子宫中的染料不能进入输卵管(图 2D)^[43,44].

输卵管发育异常会导致各种疾病. 例如, 输卵管妊娠, 即孕卵在子宫腔外着床发育的异常妊娠过程. 也称“宫外孕”. 病因常由于输卵管管腔或周围的炎症, 引起管腔通畅不佳, 阻碍孕卵正常运行, 使之在输卵管内停留、着床、发育, 导致输卵管妊娠流产或破裂. 人体发生宫外孕的原因是胚胎不能通过宫管结合部. 小鼠中只有一例关于宫外孕的报道, 即衣原体感染导致胚胎滞留在输卵管内^[45].

输卵管的卷曲. 并非所有物种的输卵管都是卷曲的. 人的输卵管并不卷曲, 而小鼠的输卵管的卷曲程度很高. 小鼠输卵管卷曲的发生是一个有序而复杂的过程. 缪勒氏管开始分化时, 上皮就已经出现明显折叠, PND15 时, 小鼠输卵管的卷曲已经形成完备^[46]. 小肠的卷曲受到胞外基质和黏附分子的调控. 值得肯定的是输卵管的卷曲必然是受一套简单的机制调控.

上皮的折叠. 输卵管上皮细胞出现纵向折叠在大多数物种中相对保守. 然而不同物种上皮细胞折叠的程度并不相同. 一般情况下输卵管的卷曲和上

皮细胞的折叠程度呈逆相关. 例如, 人的输卵管不卷曲, 但上皮细胞折叠程度相当高, 小鼠中则恰恰相反. 新生小鼠在 PND3~PND4, 壶腹部上皮开始出现折叠, 峡部上皮在 PND6 时开始折叠. 到小鼠性成熟期, 壶腹部大约有 7~8 个折叠, 峡部只有 4~6 个折叠^[46].

间质细胞的分化. 未分化的间质细胞在缪勒氏管形成一层薄的基质细胞和平滑肌细胞. 输卵管 4 个部位的间质细胞决定了各自上皮的特性^[47]. 缪勒氏管间质细胞的形态发生暗示着输卵管肌层的分化在出生后发生^[46]. 这部分的发育与子宫肌层的发育一致^[48]. 输卵管峡部的肌层比壶腹部厚, 但壶腹部纵向折叠较多, 且有较薄的输卵管肌层. 上皮的纤毛运动及输卵管的肌层收缩对于卵子和受精卵的转运非常重要^[49]. 然而抑制输卵管的肌层收缩并不影响生育^[50]. 目前已经发现了参与输卵管间质细胞分化的很多基因.

上皮细胞的分化. 缪勒氏管形态上包括简单的柱状上皮细胞以及周围的间质细胞. 伴随着出生, 输卵管上皮细胞分化形成假复层细胞, 包含分泌细胞和纤毛化细胞. 通常情况下, 伞部纤毛细胞最多; 峡部纤毛细胞最少, 含有最多的分泌细胞. 小鼠出生后的前几周内, 输卵管不同部位的间质细胞具有决定纤毛细胞或者分泌细胞数量多少的能力^[47].

分泌细胞产生的分泌物对于卵子及合子的生存很重要. 这些细胞形态学上即可区分. 例如, 顶端的细胞能够延伸到输卵管腔内正在摆动的纤毛上, 这些细胞也叫细胞簇, 在小鼠出生后一周内能被辨别^[46]. 小鼠的纤毛细胞在 PND5 时开始分化形成, 分泌细胞则在 PND23 时开始分化^[51]. 性成熟动物的分泌细胞能够响应卵巢激素.

输卵管纤毛长度约为 10 μm , 直径约 0.25 μm ^[52]. 在人及小鼠中, 纤毛的运动结合肌层的收缩对于卵子的转运以及早期的胚胎转运至关重要. 输卵管纤毛运动的缺失会导致一系列症状, 如人类中导致不孕或者生育力低下^[53]. 不同部位纤毛的摆动方向并不相同, 伞部和壶腹部的纤毛向子宫方向摆动, 而峡部纤毛运动的方向依据物种差异不同, 人类和小鼠峡部纤毛摆动朝向子宫, 而兔子的峡部纤毛摆动则具有双向性^[41,54].

伞部和壶腹部纤毛的数量很多, 而峡部的纤毛却很少. 人类输卵管伞部的上皮细胞纤毛化的细胞的比例约为 50%, 而峡部却只有 35%^[55,56]. 人中, 妊

娠约 18 周, 输卵管上皮的纤毛细胞已经出现^[57]. 小鼠 PND4 时, 壶腹部的纤毛细胞就已经可见^[58]; PND12 时, 这些未成熟的纤毛细胞在输卵管上皮上可见.

2.2 调节输卵管发育的基因

(1) Wnt 信号通路. *Wnt7a* 在缪勒氏管的上皮表达, 能够调控 *Amhr2* 在基质中的表达, 对于雄性动物缪勒氏管的退化很重要; 对于雌性生殖系统的形成也很关键^[22,59]. *Wnt7a* 突变雌鼠的生殖系统布局发生变化, 输卵管不卷曲并表现出子宫的特征, 尾端子宫表现出类似阴道的特征. 更进一步来说, *Wnt7a* 调控子宫肌层及输卵管肌层的重组^[22]. *beta-catenin* 是经典 Wnt 信号通路下游的转录因子. 它对于雄性动物缪勒氏管的退化很重要^[60]. 在缪勒氏管间质细胞中条件性敲除 *Ctnnb1* 导致输卵管不能卷曲^[23]. 有趣的是, 条件性敲除 *Ctnnb1* 还导致子宫肌层平滑肌细胞命运发生改变, 使其向脂肪细胞转化^[61]. 这些结果提示, 间质细胞中经典的 Wnt/*beta-catenin* 信号通路可能既参与了输卵管的卷曲也参与了输卵管的分化.

(2) Hedgehog(HH)信号通路. HH 信号通路参与了许多组织及器官的发育过程. 其等位基因 *Smoothered(SmoM2)* 在缪勒氏管的间质细胞中条件性过表达后, 输卵管发育滞后. 其特征是输卵管不卷曲, 辐射状的分布状态也发生改变. 这种小鼠中, *Wnt5a* 和 *Hoxa13* 在头端部分的子宫和整个输卵管的表达也增加. 这些基因都参与调控缪勒氏管尾端的结构和分布, 因此它们在输卵管内紊乱的表达可能是导致输卵管表现出子宫特征且输卵管不发生卷曲的原因^[62].

(3) *Dicer1*. *DICER1* 是一个核酸核糖酶, 对于 microRNA 的加工很重要. 小鼠缪勒氏管间质细胞中条件性敲除 *Dicer1* 影响了雌性生殖系统的发育和功能, 而在输卵管中的明显缺陷是卷曲减少, 输卵管峡部出现了有液体充斥的囊肿, 并且宫管结合部形成紊乱^[44,63,64]. 这些囊肿的形成与输卵管肌层细胞缺陷导致的输卵管壁很薄有关; 这些囊肿还阻止了胚胎进入子宫^[44,64].

(4) TGF β (transforming growth factor β). TGF β 超家族成员参与了很多系统的发育过程, 对于输卵管发育也很重要. 在小鼠缪勒氏管间质细胞中条件性敲除 *Tgfb1*(transforming growth factor beta receptor

1)导致输卵管表面出现了很多液体囊肿. 这种囊肿在 3 周大时已经出现, 这种表型与 *Dicer1* 条件性敲除的表型很相似. 同时, 敲除 *Tgfb1* 使得输卵管平滑肌细胞的标志分子表达减少, 然而 PND7 的小鼠中却没有发现这种表型, 这暗示 *Tgfb1* 对于早期输卵管肌层的分化并不必要, 但是对于肌层平滑肌细胞的重组和维持非常重要^[65].

(5) TSC(tuberous sclerosis complex)家族. 由 TSC1 和 TSC2 组成的 TSC 二聚体通过抑制 mTOR(mammalian target of rapamycin)的活性阻止肿瘤形成, 它对输卵管上皮细胞的命运决定也很重要. 在小鼠缪勒氏管间质细胞中条件敲除 *Tsc1* 导致很多输卵管缺陷, 其中最主要的是输卵管峡部堵塞, 导致小鼠不孕^[66]. 同时, *Tsc1* 对于子宫间质细胞的形成也很重要. 利用输卵管胚胎移植实验, 体外受精的野生型胚胎不能植入条件性敲除 *Tsc1* 的子宫中. 这是因为间质细胞中缺失 *Tsc1*, 导致上皮细胞中的分泌细胞凋亡, 堵塞了输卵管. 说明峡部间质细胞中的 *Tsc1* 能直接调控上皮细胞中的分泌细胞^[66]. 这种小鼠模型提示输卵管间质细胞能够直接调控上皮细胞的命运和行为.

(6) *Foxj1*(forkhead box protein j 1). *Foxj1* 是 Forkhead box 家族的一个转录因子. *Foxj1* 在输卵管上皮细胞中的纤毛细胞上表达, 参与了整个纤毛化发生过程^[67]. 在小鼠输卵管中, *Foxj1* 的表达受雌激素的调控. ER α /*Esr1*(Estrogen receptor α)的表达也只局限于输卵管伞部和壶腹部的纤毛细胞. 大鼠(*Rattus norvegicus*)中, 雌激素处理之后纤毛发生会加速. 然而, *Esr1* 突变小鼠的纤毛发生却是正常的^[68]. 因此, 推测大鼠中雌激素和 *Esr1* 对于输卵管纤毛的发生不是必需的, 但他们能够调控 *Foxj1* 的表达, 也能间接地调控纤毛化的过程.

在小鼠基因敲除模型的研究中已经发现了很多参与输卵管发育的基因. 这些基因在不同时期影响输卵管不同部位的发育. 目前发现有很多基因对于缪勒氏管的形成很重要, 例如, *Wnt4*^[20], *Lhx1*^[29], *Pax2*^[32], *Emx2*^[35], *Dach1* 和 *Dach2*^[69] 和视黄酸 A(retinoic acid RA)信号通路^[70,71]. 然而, 目前还没有直接的证据证明这些基因只影响缪勒氏管的发育. 另外, 输卵管的发育对于内分泌干扰物也是很敏感的, 如乙酚^[13,43]和双酚 A(BPA)^[72,73].

3 出生后子宫发育及相关基因

3.1 出生后子宫的发育

子宫结构由外而内包括外侧的浆膜、肌肉层和内侧的子宫内膜。性成熟小鼠的子宫内膜由腔上皮、基质细胞以及基质细胞中卷曲的腺体、散在的免疫细胞和血管等组成。啮齿类大鼠和小鼠出生时, 子宫的发育并没有完成, 整个生殖道仍是间质细胞围绕上皮形成的简单管状结构。出生后子宫的发育主要包括腔上皮的分化和腺体发生, 间质细胞分化为子宫内膜基质细胞和子宫肌层。新生小鼠的子宫腔上皮细胞分化需要基质细胞的诱导, 间质的分化也需要上皮的调节, 上皮和基质细胞的互作是子宫发育成熟非常重要的影响因素。在 PND15, 子宫形态基本建成, PND21 左右, 小鼠的子宫内膜上皮和阴道组织表达雌激素受体, 从而响应卵巢激素的作用而实现细胞的增殖分化, 直到 PND35, 小鼠达到性成熟, 进入动情周期。正常的子宫形态建成至关重要, 腔上皮复层, 腺体发生延迟, 腺体减少、增多或缺失, 基质细胞减少和肌层紊乱是最常出现的子宫异常, 这些都会导致成年小鼠的各类生育问题^[74]。

腺体发生。腺体发生是一个由多种基因调节的上皮基质互作的过程, 包括内陷、侵入和分支。人子宫腺体发育在胚胎期已经开始, 出生之后直到青春期才完成发育, 而猪、羊和啮齿类动物的腺体发生则在出生之后才开始进行^[74]。大小鼠在 PND5 或 PND6, 子宫腔上皮分化并开始向基质中内陷, 这是腺体的原基, 标志着腺体开始形成^[75-77]。随后, 腺体原基在基质细胞中不断延伸分支, 最后形成卷曲的腺体结构, PND9 小鼠的基质中已经出现管状卷曲的腺体, PND12 卷曲的腺体到达接近环形肌的位置, PND15 子宫的整体结构已发育得较为完整^[78]。在腺体发育的关键时期接触雌孕激素及类似物会抑制腺体的发育和后期子宫的功能。

间质细胞分化和肌层发生。新生大小鼠的间质细胞未发生分化, 均一的表达波形蛋白(VIMENTIN), 随后的3天内, 间质细胞在组织结构上明显分为3层: 内层的细胞起初呈现辐射状, PND1 之后则分化为子宫基质细胞, 仍然表达波形蛋白; 中间层起初表达波形蛋白, 随后波形蛋白和肌动蛋白共表达, 这期间细胞有环形的定向, 直到分化为成熟的平滑肌细胞并发育为子宫的环形肌层, 只表达肌动蛋白; 外层的间

质细胞则在 10 天后分化为纵行的平滑肌束, 构成子宫的纵行肌层, 也只表达肌动蛋白^[48,79]。PND1 时, 子宫间质细胞单独培养只有少量的平滑肌产生, 不会出现顺序排列的肌层; 而出生若干天之后再单独培养间质细胞则会分化出更多的平滑肌细胞(少量的子宫肌束); 只有和上皮共同培养的间质细胞才会发育出良好的子宫肌层。新生大鼠(PND0)的子宫间质细胞和不同来源的上皮细胞重组, 都能诱导产生子宫肌层, 而间质细胞和不同来源的上皮细胞重组, 会诱导出以间质细胞类型为主导的肌层类型, 这说明肌层的产生需要上皮和间质细胞的互作, 而间质细胞决定了肌层的类型和空间结构^[80]。

上皮分化和上皮基质互作。上皮和基质细胞增殖分化是子宫发育中必不可少的过程, 而上皮基质互作对于雄性、雌性生殖器官的发育形成至关重要^[81,82]。新生小鼠子宫的上皮在 PND5 内保持未分化状态, 上皮的分化需要来源于基质细胞的诱导因子, 而且上皮可以对不同来源的基质细胞释放的诱导信号做出不同的响应。出生后的阴道基质细胞和子宫上皮重组, 子宫上皮将分化形成鳞状分层的阴道上皮。子宫基质细胞与阴道上皮细胞进行重组, 阴道上皮发生类子宫上皮的细胞分化, 形成一层简单柱状上皮^[82,83]。子宫基质和阴道上皮细胞异种重组导致阴道上皮分化并伴随子宫上皮特异基因表达^[24]。子宫基质细胞的诱导能力仅限于 PND2-7, 而阴道基质细胞的诱导能力则持续到成年^[75,82]。上皮与间质的互作从出生前到出生后一直存在, 并且不仅局限于间质细胞对上皮细胞命运的调控, 如上段所述, 上皮也会对间质细胞向肌层的正常分化起着决定性的调控^[48,79,81]。尽管重组实验说明了上皮间质互作的存在和重要性, 这些在上皮和基质之间起传导作用的分子和其调控机理还需要更多的实验证据(图 3)^[84]。

3.2 调节子宫发育的因子

(1) 雌孕激素。雌激素(estrogen)可以促进新生小鼠子宫上皮和基质细胞的增殖, 在成年小鼠中雌激素只促进上皮细胞的增殖^[85]。孕激素(progestin)在成年鼠中则可以抑制雌激素对上皮的增殖作用, 同时促进基质细胞增殖。雌激素主要是通过雌激素受体(estrogen receptor, ER)调节基因的表达, 雌激素受体包含 ER α 和 ER β ^[86]。孕激素也有 PRA 和 PRB 两种孕激素受体。ER 双敲的小鼠和 PR 敲除小鼠早期都有

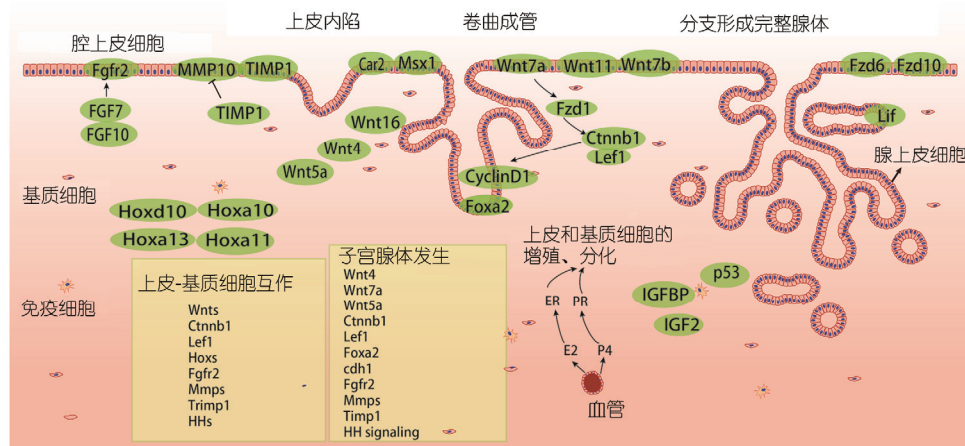


图3 新生小鼠子宫发育过程及相关调控基因

新生小鼠子宫经过腔上皮的分化、间质细胞的分化、上皮间质互作和血管改造等形成功能性的完整子宫。其中腺体的形成是出生后子宫发育的重要过程。出生后 5~6 天腔上皮内陷, 随后不断延伸并卷曲形成管状结构, 在 9~12 天以后开始分支直到形成完整的腺体

缪勒氏管, 子宫在出生后分化出各层结构, 说明这两类受体介导的信号对于早期雌性生殖道的形态建成并非不可或缺^[87-89]。ER β 小鼠的子宫发育正常也响应卵巢激素的调节, ER α 敲除和 ER α/β 双敲的小鼠子宫和阴道则发育不良, 不能响应雌激素的调节。另外, PR 敲除小鼠出现子宫增生, 说明雌孕激素对于出生后子宫的发育非常重要^[87,89-91]。

在小鼠胚胎 E15 时, ER 在缪勒氏管上皮细胞核和间质细胞中表达, 到 E17, ER 主要在间质细胞的细胞核中, 上皮细胞中只有很少的表达; 而 PND1 的小鼠子宫上皮不再表达 ER, 直到 PND4~6, 上皮又开始逐渐表达少量的 ER, 基质细胞则有明显的表达, PND10~19 子宫上皮和基质组织中都可以检测到 ER^[92]。新生小鼠子宫上皮并不表达 ER, 而基质细胞表达 ER, 但此时外源的雌激素可以引起上皮细胞的增殖, 因此推测雌激素不是直接作用于上皮, 而是经由基质的 ER, 通过旁分泌等因子间接调节上皮的增殖能力。通过 ER 敲除小鼠和野生型小鼠的上皮和基质重组实验, 以及上皮特异敲除 ER 不影响上皮增殖特性, 也充分说明了雌激素是通过基质细胞 ER 调节了上皮的增殖^[26,85,93-95]。

子宫腺体和其分泌的因子对于胚胎的植入和后续发育都至关重要。腔上皮在 PND5 内陷, 并在随后延伸弯曲形成腺体。起初腺体发育不依赖于激素的调节, 但是过早接触环境激素会影响腺体发育。在大鼠中, PND9-14 是腺体发育的关键时期, 雌激素或者

雌激素的类似物他莫昔芬(tamoxifen)在 PND1-5 和腺体发生中期都会抑制腺体发育^[77]。绵羊(*Ovis aries*)腺体发育的重要时期接触雌激素, 也会抑制或延迟腺体的发育^[96]。到 PND20, 小鼠腺体已经形成, 而 PND2-10 孕激素处理过的小鼠, 不能形成腺体, 子宫上皮也没有增殖; 孕激素的处理会影响多种形态调节相关的基因, 具体通过哪一途径尚需更多研究^[97]。这种孕激素处理的雌性小鼠成年后虽然可以交配排卵至发育到囊胚, 植入和蜕膜化却不能发生, 相关的激素受体表达正常, 但是 *Lif* 和 *Ptgs2* 的表达缺失, 即使补充 LIF 也不能发生人工诱导的蜕膜化过程^[98]。不同时间和时长的孕酮处理, 对于子宫上皮的增殖和腺体的发生有不同的影响。但是在腺体发生比较重要的时间阶段, 孕酮处理造成的腺体发生缺陷及成年后的不育是不可恢复的^[99]。另外, 环境激素对于出生后子宫其他的发育过程也影响甚广, 通常是影响了 Wnt, Hox 等信号通路分子的表达而导致子宫发育相关问题^[100]。这些基因的缺失导致腺体增生或减少, 影响了腺体的正常形成^[101]。同时, 腺体合成的分泌物参与子宫接受态的建立, 对于胚胎植入非常重要。子宫腺体合成分泌的分子 *Lif*, 受多种基因, 诸如 *p53*, *Msx1* 的调节, 其缺失或降低导致多种接受态分子表达的改变, 进而导致植入失败。Lif 敲除鼠中外源补充 LIF 可以增加植入率, 这些都充分说明了腺体在生殖过程中的重要性。有趣的是 *Lif* 缺失也会使 *Msx1* 在子宫上皮持续表达, 说明这两类分子之间有相互的调

节机制. 而 *p53* 与 *Lif* 表达位置的不同, 也说明上皮和基质之间存在互相调节^[102~104].

(2) *Foxa2*. 转录因子 *Foxa2* 只在子宫腺体上皮表达, 子宫特异敲除 *Foxa2* 后腺体不能形成, 进而影响植入和蜕膜化, 外源补充 LIF 可以部分挽救 *Foxa2* 敲除导致的蜕膜化异常, 这同时也说明腺体发生对后续生殖事件的重要性^[105]. *Fliant* 等人^[106]利用染色质免疫共沉淀测序和芯片的方法, 筛选出小鼠子宫腺体中 *Foxa2* 的靶基因并加以分析, 但是具体的机制还需更多的研究. 另外, 作为转录因子, *Foxa* 家族基因可以在多种细胞类型中结合激素受体, 介导这些受体下游基因的表达, 因而在环境激素影响早期腺体发生过程中, *Foxa2* 是否介导了 ER 的某些功能也需要更多实验证据^[106].

(3) Wnt 信号通路. 经典和非经典的 Wnt 信号通路都参与了雌性生殖道的发育调节. Wnt 信号通路包含了多种 Wnt 配体、Fzd 受体、辅助受体以及下游的转录因子. 尽管 *Wnt4*, *Wnt7a*, *Ctnnb1* 等参与了早期缪勒氏管的形成和退化过程, 这些 Wnt 信号分子对于出生后雌性生殖道的发育也至关重要, 甚至于到成年期的小鼠中, Wnt 家族分子也在每个动情周期和孕期中呈现动态的表达, 参与接受态建立和蜕膜化过程^[24,107].

Wnts 全身敲除小鼠直接影响胎儿的发育或者缪勒氏管的建成, 这些早期的缺陷不能充分说明这些分子在生殖道后期发育过程中的作用, 而条件敲除小鼠技术的建立为研究 Wnts 对雌性生殖道的作用提供了非常有利的工具. 新生小鼠子宫的上皮表达 *Wnt7a*, *Wnt7b*, *Wnt11*, *Fzd6* 和 *Fzd10*, 而基质细胞表达 *Wnt4*, *Wnt5a* 和 *Wnt16*^[21,22,24]. 利用 PR-Cre 敲除 *Wnt4*, 子宫腺体数量明显减少, *Foxa2* 的表达降低, 同时 LIF 的分泌也降低, 这直接导致了成年小鼠中胚胎植入和蜕膜化的异常^[108]. 子宫中特异敲除 *Wnt7a*, 小鼠卵巢、输卵管、宫颈和阴道的形态都没有异常, 但是子宫内膜中没有腺体, 子宫中 *Foxa2*, *Hoxa10*, *Hoxa11*, *Msx1* 和 *Wnt16* 基因都发生改变, 因而 *Wnt7a* 条件敲除小鼠成年之后交配, 子宫中正常发育的胚胎不能植入^[22,109]. *Wnt7a* 缺失导致细胞凋亡而影响了子宫的发育^[110]. *Wnt5a* 全敲小鼠也是出生致死, 将全敲的子宫移植到正常的小鼠中, 可以发现 *Wnt5a* 类似于 *Wnt7a*, 影响了 *Hoxa10* 和 *Hoxa11* 的表达而导致腺体不能形成^[21]. *Wnt11* 对子宫发育没有明显影响, 只

是出生早期腺体数量和上皮增殖稍微增多, 成年后则与对照小鼠无差别, 另外敲除 *Wnt11* 之后也不影响 *Ctnnb1* 的表达, 说明 wnt 信号通路下游并没有受到影响^[96,111]. 缪勒氏管间质缺失 *beta-catenin* 会导致整个子宫由于上皮和基质增殖减少而发育不良, 同时肌层发育异常, *beta-catenin* 可能是作为 *Wnt7a* 通过 Fzd1 受体转导通路的下游分子来调节输卵管的形态建成和子宫的正常发育^[23,61]. 子宫特异缺失 *beta-catenin* 导致腺体的减少, 腔上皮分化为多层细胞^[112]. *Lef1* 作为与 *beta-catenin* 相互作用的转录因子, 在缪勒氏管间质中高表达, *Lef1* 缺失通过影响 Cyclin D1 的表达来使子宫腺体不能形成^[113]. 另外, *beta-catenin* 过激活也会使子宫发育不良, 腺体增多, 因而 Wnt 信号通路缺失或激活对于子宫的发育都具有深远影响^[112].

Wnt 信号通路还有很多分子在雌性生殖道中表达, 可以作为雌性生殖道发育的分子指标, 其中多个相关分子的作用和调节机制对于后续子宫接受态和蜕膜化等的影响有较为仔细的研究, 而对早期生殖道发育的调节等研究内容比较缺乏.

(4) Hox 家族. *Hox* 基因可以分为 *HoxA*, *HoxB*, *HoxC* 和 *HoxD* 4 类基因簇. *Hox* 和 Wnt 是子宫发育最重要的两个信号通路, 许多其他分子的敲除或者早期类激素物质的刺激都会影响这两个信号通路, 而这两个通路之间也是互相交叉调节, 进而影响子宫发育^[100]. 类似于 Wnt 信号通路, *Hox* 家族基因众多, 其表达相当广泛, 且多个基因的时空表达有相互交叠, 对发育过程的多个阶段起到一个动态连续的调节. *Hox* 参与了包括肢体、雄性生殖管道、附属性器官等在内的多种发育过程^[114~117]. 前面已经提到, 在 E15.5-19, 缪勒氏管的各个部分还尚未区分, *Hoxa* 基因在上皮和间质的表达没有差异, 但出生后 *Hoxa9* 主要在输卵管中表达, *Hoxa10*, *Hoxa11* 主要在子宫中表达, *Hoxa13* 则集中于子宫颈, 说明这些基因可能参与了缪勒氏管相应结构的分化^[37]. 雌鼠中缺失 *Hoxa10* 并不影响卵巢排卵, 但是 80% 的小鼠因 *Hoxa10* 影响输卵管或者子宫某些分子的分泌, 进而影响着床前胚胎的发育, 导致这些小鼠不育. 正常的雌鼠中宫管结合部与子宫的直径转变非常明显, 但是 *Hoxa10* 缺失雌鼠的这一结构不能明显分辨, 而是在宫管结合部连接处长约 1/4 的子宫转变成输卵管的形态, 这部分子宫特异表达的分子 *Msx1* 降低, 而子

宫尾端的 *Msx1* 表达正常. 正常胚胎移植到 *Hoxa10* 全敲雌鼠子宫的远端, 也不能改善其生育力, 说明 *Hoxa10* 除了对生殖道发育的影响, 对后续生殖环节也有不可或缺的调节功能^[39,118]. *Hoxa11* 和 *Hoxa10* 一样, 并不影响卵巢功能, 但是 *Hoxa11* 缺失的雄鼠和雌鼠都不育, 即使 *Hoxa11* 缺失一个等位基因, 也会明显降低雌鼠的出生率. 由于 *Hoxa11* 在子宫基质细胞中表达, 它的缺失导致雌鼠不孕主要影响了子宫的功能, 具体的调节通路还需要研究^[119]. *Hoxa10* 和 *Hoxa11* 敲除鼠的表型与 *Lif* 敲除鼠表型相似, 而在 *Hoxa10* 敲除小鼠的子宫中 LIF 和 HB-EGF 正常表达, *Hoxa11* 是否会影响 *Lif* 的表达目前还有待确认. 测序发现, *Hoxd10* 也参与了出生后子宫的形态建成, 但目前并没有具体的功能研究^[78]. *Hoxa13* 单敲小鼠胚胎在孕中期死亡, 由于 *Hoxa13* 在缪勒氏管表达, 同时胚胎在死亡之前缪勒氏管尾端已经发育不良, 推测 *Hoxa13* 对出生后的子宫发育应该有很大影响^[38]. *Hox* 家族基因的组合敲除对多种小鼠发育过程有影响, 但是对雌性生殖道的调节还只停留在表型阶段, 仍需要研究其具体的调节机制.

(5) IGF(insulin-like growth factor) 信号通路. IGF 信号通路对于子宫的生长发育非常重要, 并且介导了激素的调节作用. 在成年小鼠中, 子宫产生的 IGF1(insulin-like growth factor 1) 对于腔上皮细胞的增殖非常重要^[120]. 另外, 通过大规模测序发现, IGF 家族另一个成员 IGF2 和 IGF 结合蛋白(IGF binding proteins, IGFBP) 参与了出生后小鼠子宫发育过程, 具体的功能尚不可知^[78]. 目前在出生后的绵羊子宫中检测了 IGF, IGF 受体(IGFR)和 IGFBP 的表达, 并发现其参与了激素介导的子宫生长, 以及抑制腺体发生的过程^[121,122].

(6) FGF(fibroblast growth factor) 信号通路. 成年小鼠子宫中 FGF 信号通路是上皮基质互作中非常重要的信号通路之一, 出生后子宫、宫颈和阴道的发育依赖上皮和基质的相互作用, FGF 信号通路必然参与了其发育过程. FGF 家族配体众多, 多种分子全敲或者条件敲除的小鼠都器官发育不良, 然而对于出生后缪勒氏管发育的研究较少^[123-129]. 多种配体都通过同一受体作用, 因而敲除一种受体等同多种配体的缺失. *Fgfr2* 基因可以转录出两种酪氨酸酶受体, 通过 Cre 敲除其中的 IIIb 形式并不会影响 IIIc 的表达, 这种小鼠可以出生, 但是早期发育中上皮基质互作

受影响, 导致肢体等多种器官发育异常^[130]. *Fgfr2* 全敲小鼠随着妊娠次数增加而变得不育, PR-Cre 条件敲除 *Fgfr2* 的小鼠出生后, 生殖道发育正常, 但是成年后, 子宫上皮出现复层结构, 类似于宫颈和阴道, 直接降低了胚胎的植入率^[106,131]. 这也说明 FGF 可以通过上皮中的受体调节子宫上皮的增殖, 从而抑制了上皮分化和正常接受态的建立. PND0-15, 多种 *Fgfs* 和 *Fgfr* 在子宫和阴道中表达. 其中 *Fgf7* 和 *Fgf10* 特异表达于基质, 经由阴道上皮的受体 *Fgfr2IIIb*, 通过 MAPK 信号通路促进缪勒氏管假复层上皮分化为宫颈阴道复层上皮. *Fgf9* 和其受体 *Fgfr2IIIc* 则在阴道上皮表达, 并抑制缪勒氏管上皮向阴道上皮的分化^[132]. 因此, *Fgfs* 在缪勒氏管上皮的分化过程中起到决定作用, 对于阴道的发育很重要.

Trp63(transformation related protein 63, *p63*) 是一个抑癌基因, 在未分化的缪勒氏管上皮中没有表达, 但是出生之后, 宫颈和阴道上皮在基质细胞的诱导下高表达 P63, 因而和 KRT14 一样成为宫颈和阴道多层立方上皮的标志分子. 正常的子宫上皮中没有 P63, 但是在阴道基质的诱导下, 上皮发生改变, 并且表达 P63, 说明它是决定上皮分化的重要调节分子, 同时也进一步说明上皮和基质之间的相互调节^[133,134]. *Trp63* 是直接受到 Fgf 信号通路的调节, 还是由于 Fgf 缺失导致缪勒氏管上皮的分化缺陷而表达异常, 还有待研究.

(7) HH 信号通路. Hedgehog 配体包括 *Ihh* (indian hedgehog), *Shh*(sonic hedgehog)和 *Dhh*(desert hedgehog). 3 种配体可以通过 PTCH 受体释放 SMO(Smoothed), 从而通过 Gli 等转录因子调节下游基因. 在新生小鼠缪勒氏管发育过程中, HH 信号通路的多个分子分别表达于不同部位的上皮和基质, 并且 HH 信号通路促进子宫阴道上皮的增殖而抑制基质的增殖, 但是在成年鼠中, HH 促进基质增殖, PR-Cre 敲除 *IHH* 就因影响了子宫基质的增殖而导致胚胎植入和蜕膜化异常^[135-137]. HH 信号通路对于子宫基质的调节在 PND5 是一个分水岭, PND5 后持续活化 SMO 导致成年后基质增多, 而胚胎期就活化 SMO, 成年鼠的基质则少. 这些说明 HH 在小鼠生殖道发育中的功能非常多样化, 并且在不同阶段受到严格的调控. 小鼠整个生殖道间质中 HH 信号通路过激活, 导致 *Hox13* 表达位置改变和 *Wnt5a* 表达量升高, 使得输卵管不能卷曲, 子宫腺体数量减少, 子宫上皮

呈现出宫颈和阴道上皮样的鳞状结构, PR-Cre 持续活化 SMO 同样也导致子宫腺体减少, 子宫上皮呈现多层并且表达 *Trp63*, 另外由于胞外基质的变化导致子宫肥大^[62,138]. SMO 在基质细胞中活化却能影响腺体的发育, 从另一个方面说明了 HH 信号通路参与了生殖道上皮和基质的互作用. 生殖道发育的重要分子在整个过程中维持相对的稳态, 缺失或过激活对于生殖道的发育都是不利的.

(8) 金属酶和细胞连接分子. 出生后, 小鼠的生殖器官和组织会发生比较广泛的组织重构, 从而适应生殖不同阶段的结构和功能, 这些组织构成需要基质金属蛋白酶参与调节胞外基质的重构, 同时涉及细胞连接和细胞极性的改变.

碳酸酐酶(carbonic anhydrase, CAs)是一类锌金属酶, 家族中 *car1*, *car2*, *car11*, *car13* 在 PND3-18 表达于小鼠子宫, 抑制剂注射可以明显降低小鼠中 CAs 的活性, 并严重影响了子宫腺体的发生^[139]. CA II (*Car2*)是这个家族中最重要的成员, 与碱性磷酸酶的分泌相关, 它在子宫腔上皮和腺上皮表达. *Car2* 全敲小鼠严重发育不良, 伴随全身器官的不良反应, *Car2* 对小鼠子宫发育的具体机制还需条件性敲除小鼠的研究结果^[140,141]. 值得一提的是, *Car9* 全敲小鼠可以调节胃部上皮的增殖分化而影响胃部腺体的形成和稳态, *Car9* 在子宫上皮中是否表达, 有无功能或在其他家族分子的缺失中是否有代偿, 还需要研究^[142]. *Car* 在其他哺乳动物中也有表达, 鉴于 CAs 和 MMPs, E-Cadherin 等的表达模式相似, 并且在细胞中 *Car* 调节 MMPs 等的活性, 因此 *Car* 极有可能通过这些分子调节腺体发生.

基质金属蛋白酶家族(matix metalloproteinases, MMPs)成员在生殖过程中的多个阶段均有表达, 如围植入期. MMPs 不仅能调节胞外基质的降解, 同时也影响细胞的增殖、分化和凋亡^[143,144]. 芯片分析发现, 多种 MMP 和它们的组织抑制因子(TIMPs)在新生小鼠的子宫中表达. MMP2 在子宫基质细胞和肌层细胞中表达, MMP10 在 PND3 到 PND9 的子宫上皮表达, 随后开始下降, 其他的 MMP 分子(MMP11, MMP-14, MMP23)则在除肌层外的上皮和基质中都表达, 并且在子宫早期发育的 15 天内表达量没有太多变化. 多种因子诱导体外三维培养的乳腺上皮细

胞系发生分支, 说明 MMP 参与了乳腺的分支发育, MMP 在动情周期和围植入期中也有动态表达, 参与子宫的植入过程, 由此推测 MMPs 可能参与调节早期小鼠子宫的腺体发育等过程^[144]. TIMP1, TIMP2, TIMP3 在上皮和基质中表达, TIMP1 在 PND5 表达量最高, 之后开始下降^[145]. 当 *Timp1* 缺失的时候, 部分 MMPs 的活性增高, 导致子宫腺体的形成增多, TIMP1 还会影响血清中的雌孕激素含量而影响生殖周期^[146,147]. TIMP2 和 TIMP3 在前 15 天发育期持续而恒量的表达, TIMP1 缺失时, TIMP2 和 TIMP3 的表达也降低, 这些分子也可能参与子宫腺体的发育, 而具体的调节机制还需研究.

伴随着组织重构的是细胞与细胞, 细胞与胞外基质之间的相互作用, 以及细胞本身极性的改变. 子宫上皮细胞之间需要多种连接分子, beta-catenin 不仅是信号通路的分子, 也是黏附分子, 与之相互结合调节细胞间黏附的分子还有 *Cdh1*(E-Cadherin), 新生小鼠子宫特异敲除 *Cdh1*, 会影响 *Wnt* 和 *Hox* 基因的表达而导致上皮增殖异常, 凋亡增多, 最终由于上皮结构混乱和子宫腺体缺失, 影响了生殖道的正常发育^[148].

4 展望

雌性生殖道的发育是一个连续的动态过程, 它所包含的输卵管、子宫、宫颈和阴道是生殖过程中必不可少的器官, 承载着受精、早期胚胎发育、着床、孕体发育和分娩等关键生殖事件. 对雌性生殖道的研究已经有数百年, 已经对雌性生殖道的起源和后续的发育过程有了初步的了解, 但是直到近几十年, 利用新的细胞学和分子技术才在细胞水平和分子水平揭示了生殖道发育过程中的重要分子和分子调节机制(表 1). 在雌性生殖道复杂而有序的发育过程中, 仍然有很多未知的基因和信号通路有待研究, 而这些已知的分子和信号通路是如何彼此之间, 高度协调地参与并调控了生殖道的发育, 还需要很多知识来解释. 近些年, 利用大规模的芯片测序等技术, 发现了许多雌性生殖道发育过程中差异表达的基因, 对这些基因的功能研究还在不断加深. 只有更好地掌握雌性生殖道发育过程中各个阶段和各个生理结构的分子调节机制, 才能有效而有针对性地改善生育, 治疗相关疾病.

表 1 调控小鼠雌性生殖道发育的关键基因

基因	敲除类型	表型	参考文献
<i>Wnt4</i>	全敲	没有缪勒氏管	[20]
	PR-Cre	上皮分化异常, 表现为腔上皮分层且部分细胞 P63 阳性, 腺体减少	[108]
<i>Wnt5a</i>	全敲	腺体延伸受阻, 形成缺陷	[21]
<i>Wnt7a</i>	全敲	输卵管与子宫及子宫与阴道界限缺失, 子宫无腺体, 间质分化异常	[22,59]
	PR-Cre	子宫无腺体	[109]
<i>Ctnnb1</i>	Amhr2-Cre	输卵管不能发生正常卷曲, 上皮与间充质的细胞增殖都显著下降, 平滑肌细胞向脂肪细胞转换, 导致整个雌性生殖系统发育受阻	[23,61,149]
	Amhr2-Cre 使之过表达	缺失输卵管, 子宫小、内膜腺体发育失败, 成年后不育	[25]
	PR-Cre	鳞状上皮增生, 成年不育	[112]
	PR-Cre 使之过表达	子宫内膜腺体增生, 生育力严重下降	
<i>APC</i>	Amhr2-Cre	子宫肌层严重缺陷	[150]
<i>Lef1</i>	全敲	腺体发生异常	[113]
<i>Hoxa10</i>	全敲	子宫前端向输卵管样转变发生缺陷	[36,39]
<i>Hoxa11</i>	全敲	子宫环境改变	[119]
<i>Hoxa13</i>	全敲	缪勒氏管缺失尾端部分, 妊娠中期死亡	[38]
<i>HH</i>	Amhr2-Cre 将 Smoothered (SmoM2)过表达	子宫腔上皮鳞状上皮增生, 腺体减少; 输卵管不卷曲	[62]
	PR-Cre 敲除 IHH	孕激素下游调节上皮基质互作	[135]
	抑制剂	抑制了正常的子宫阴道上皮增殖, 而促进了基质细胞增殖	[137]
	PR-Cre 将 SmoM2 过表达	子宫肥大, 腔上皮分层, 腺体减少	[136]
<i>Lim1</i>	全敲	没有缪勒氏管	[138]
	Wnt7a-Cre	缪勒氏管延长受阻, 缺失内膜和环肌	[28]
<i>Pax2</i>	全敲	没有缪勒氏管	[30]
<i>Emx2</i>	全敲	没有缪勒氏管	[32]
<i>Dicer1</i>	Amhr2-Cre	输卵管不发生卷曲, 峡部出现液体囊肿, 宫管结合部位形成紊乱, 肌层细胞缺失导致输卵管壁薄	[35]
<i>Tsc1</i>	Amhr2-Cre	输卵管峡部堵塞	[44,63,64]
<i>Foxj1</i>	全敲	伞部壶腹部没有纤毛	[66]
<i>Tgfbβ1</i>	Amhr2-Cre	输卵管表面出现液体囊肿, 平滑肌细胞减少; 子宫肌层严重缺陷	[68]
<i>Foxa2</i>	PR-cre	腺体数目减少, 植入率降低, 不完全的蜕膜化	[65,151]
<i>FGFR2</i>	PR-Cre	腔上皮分层, 生育力下降	[105,106]
<i>LGR4</i>	Keratin-5-Cre	腺体数目减少, 生育力下降	[131]
<i>TIMP1</i>	全敲	腺体增多	[152,153]
<i>Car2</i>	全敲	全身器官发育不良, 子宫尚不知	[146,147]
<i>Cdh1</i>	PR-Cre	腔上皮结构紊乱, 腺体缺失	[140,141]
			[148]

参考文献

- Jacob M, Christ B, Jacob H J, et al. The role of fibronectin and laminin in development and migration of the avian Wolffian duct with reference to somitogenesis. *Anat Embryol*, 1991, 183: 385–395
- Obara-Ishihara T, Kuhlman J, Niswander L, et al. The surface ectoderm is essential for nephric duct formation in intermediate mesoderm. *Development*, 1999, 126: 1103–1108
- Kurita T, Cooke P S, Cunha G R. Epithelial-stromal tissue interaction in paramesonephric (Mullerian) epithelial differentiation. *Dev Biol*, 2001, 240: 194–211
- Kobayashi A, Behringer R R. Developmental genetics of the female reproductive tract in mammals. *Nat Rev Genet*, 2003, 4: 969–980
- Orvis G D, Behringer R R. Cellular mechanisms of Mullerian duct formation in the mouse. *Dev Biol*, 2007, 306: 493–504
- Gruenwald P. The relation of the growing mullerian duct to the wolffian duct and its importance for the genesis of malformations. *Anatomical Record*, 1941, 81: 1–19
- Guioli S, Sekido R, Lovell-Badge R. The origin of the Mullerian duct in chick and mouse. *Dev Biol*, 2007, 302: 389–398

- 8 Kurita T. Normal and abnormal epithelial differentiation in the female reproductive tract. *Differentiation*, 2011, 82: 117–126
- 9 Kobayashi A, Kwan K M, Thomas J, et al. Distinct and sequential tissue-specific activities of the LIM-class homeobox gene *Lim1* for tubular morphogenesis during kidney development. *Development*, 2005, 132: 2809–2823
- 10 Koff A K. Development of the vagina in the human fetus. *Contrib Embryol*, 1933, 24: 59–91
- 11 Giese K, Cox J, Grosschedl R. The HMG domain of lymphoid enhancer factor 1 bends DNA and facilitates assembly of functional nucleoprotein structures. *Cell*, 1992, 69: 185–195
- 12 Koopman P, Gubbay J, Vivian N, et al. Male development of chromosomally female mice transgenic for *Sry*. *Nature*, 1991, 351: 117–121
- 13 Yin Y, Ma L. Development of the mammalian female reproductive tract. *J Biochem*, 2005, 137: 677–683
- 14 Shi Y, Massague J. Mechanisms of TGF-beta signaling from cell membrane to the nucleus. *Cell*, 2003, 113: 685–700
- 15 He W, Dorn D C, Erdjument-Bromage H, et al. Hematopoiesis controlled by distinct TIF1gamma and Smad4 branches of the TGFbeta pathway. *Cell*, 2006, 125: 929–941
- 16 Roberts L M, Visser J A, Ingraham H A. Involvement of a matrix metalloproteinase in MIS-induced cell death during urogenital development. *Development*, 2002, 129: 1487–1496
- 17 Mishina Y, Rey R, Finegold M J, et al. Genetic analysis of the Mullerian-inhibiting substance signal transduction pathway in mammalian sexual differentiation. *Genes Dev*, 1996, 10: 2577–2587
- 18 Mishina Y, Whitworth D J, Racine C, et al. High specificity of Mullerian-inhibiting substance signaling *in vivo*. *Endocrinology*, 1999, 140: 2084–2088
- 19 Orvis G D, Jamin S P, Kwan K M, et al. Functional redundancy of TGF-beta family type I receptors and receptor-Smads in mediating anti-Mullerian hormone-induced Mullerian duct regression in the mouse. *Biol Reprod*, 2008, 78: 994–1001
- 20 Vainio S, Heikkil M, Kispert A, et al. Female development in mammals is regulated by Wnt-4 signalling. *Nature*, 1999, 397: 405–409
- 21 Mericskay M, Kitajewski J, Sassoon D. Wnt5a is required for proper epithelial-mesenchymal interactions in the uterus. *Development*, 2004, 131: 2061–2072
- 22 Miller C, Sassoon D A. Wnt-7a maintains appropriate uterine patterning during the development of the mouse female reproductive tract. *Development*, 1998, 125: 3201–3211
- 23 Deutscher E, Hung-Chang Yao H. Essential roles of mesenchyme-derived beta-catenin in mouse Mullerian duct morphogenesis. *Dev Biol*, 2007, 307: 227–236
- 24 Miller C, Pavlova A, Sassoon D A. Differential expression patterns of *Wnt* genes in the murine female reproductive tract during development and the estrous cycle. *Mech Dev*, 1998, 76: 91–99
- 25 Stewart C A, Wang Y, Bonilla-Claudio M, et al. CTNNB1 in mesenchyme regulates epithelial cell differentiation during Mullerian duct and postnatal uterine development. *Mol Endocrinol*, 2013, 27: 1442–1454
- 26 Winuthayanon W, Hewitt S C, Orvis G D, et al. Uterine epithelial estrogen receptor alpha is dispensable for proliferation but essential for complete biological and biochemical responses. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107: 19272–19277
- 27 Jamin S P, Arango N A, Yuji M, et al. Requirement of *Bmpr1a* for Mullerian duct regression during male sexual development. *Nat Genet*, 2002, 32: 408–410
- 28 Shawlot W, Behringer R R. Requirement for *Lim1* in head-organizer function. *Nature*, 1995, 374: 425–430
- 29 Kobayashi A, Shawlot W, Kania A, et al. Requirement of *Lim1* for female reproductive tract development. *Development*, 2004, 131: 539–549
- 30 Huang C C, Orvis G D, Kwan K M, et al. *Lhx1* is required in Mullerian duct epithelium for uterine development. *Dev Biol*, 2014, 389: 124–136
- 31 Chi N, Epstein J A. Getting your Pax straight: Pax proteins in development and disease. *Trends Genet*, 2002, 18: 41–47
- 32 Torres M, Gómez-Pardo E, Ssler G R, et al. Pax-2 controls multiple steps of urogenital development. *Development*, 1995, 121: 4057–4065
- 33 Mansouri A, Chowdhury K, Gruss P. Follicular cells of the thyroid gland require *Pax8* gene function. *Nat Genet*, 1998, 19: 87–90
- 34 Simeone A, Gulisano M, Acampora D, et al. Two vertebrate homeobox genes related to the *Drosophila* empty spiracles gene are expressed in the embryonic cerebral cortex. *EMBO J*, 1992, 11: 2541–2550
- 35 Miyamoto N, Yoshida M, Kuratani S, et al. Defects of urogenital development in mice lacking *Emx2*. *Development*, 1997, 124: 1653–1664
- 36 Branford W W, Benson G V, Liang M, et al. Characterization of *Hoxa-10/Hoxa-11* transheterozygotes reveals functional redundancy and regulatory interactions. *Dev Biol*, 2000, 224: 373–387

- 37 Taylor H S, Vanden Heuvel G B, Igarashi P. A conserved Hox axis in the mouse and human female reproductive system: late establishment and persistent adult expression of the Hoxa cluster genes. *Biol Reprod*, 1997, 57: 1338–1345
- 38 Warot X, Fromental-Ramain C, Fraulob V, et al. Gene dosage-dependent effects of the Hoxa-13 and Hoxd-13 mutations on morphogenesis of the terminal parts of the digestive and urogenital tracts. *Development*, 1997, 124: 4781–4791
- 39 Benson G V, Lim H, Paria B C, et al. Mechanisms of reduced fertility in Hoxa-10 mutant mice: uterine homeosis and loss of maternal Hoxa-10 expression. *Development*, 1996, 122: 2687–2696
- 40 Wang H, Guo Y, Wang D, et al. Aberrant cannabinoid signaling impairs oviductal transport of embryos. *Nat Med*, 2004, 10: 1074–1080
- 41 Blandau R J. Comparative aspects of tubal anatomy and physiology as they relate to reconstructive procedures. *J Reprod Med*, 1978, 21: 7–15
- 42 Eddy C A, Pauerstein C J. Anatomy and physiology of the fallopian tube. *Clin Obstet Gynecol*, 1980, 23: 1177–1193
- 43 Newbold R R, Scott T, Haney A F, et al. Developmentally arrested oviduct: a structural and functional defect in mice following prenatal exposure to diethylstilbestrol. *Teratology*, 1983, 27: 417–426
- 44 Gonzalez G, Behringer R R. Dicer is required for female reproductive tract development and fertility in the mouse. *Mol Reprod Dev*, 2009, 76: 678–688
- 45 Morrison R P, Caldwell H D. Immunity to murine chlamydial genital infection. *Infect Immun*, 2002, 70: 2741–2751
- 46 Stewart C A, Behringer R R. Mouse oviduct development. *Results Probl Cell Differ*, 2012, 55: 247–262
- 47 Yamanouchi H, Umez T, Tomooka Y. Reconstruction of oviduct and demonstration of epithelial fate determination in mice. *Biol Reprod*, 2010, 82: 528–533
- 48 Brody J R, Cunha G R. Histologic, morphometric, and immunocytochemical analysis of myometrial development in rats and mice: I. Normal development. *Am J Anat*, 1989, 186: 1–20
- 49 Jansen R P. Endocrine response in the fallopian tube. *Endocr Rev*, 1984, 5: 525–551
- 50 Halbert S A, Becker D R, Szal S E. Ovum transport in the rat oviductal ampulla in the absence of muscle contractility. *Biol Reprod*, 1989, 40: 1131–1136
- 51 Komatsu M, Fujita H. Electron-microscopic studies on the development and aging of the oviduct epithelium of mice. *Anat Embryol (Berl)*, 1978, 152: 243–259
- 52 Satir P. Mechanisms of ciliary movement: contributions from electron microscopy. *Scanning Microsc*, 1992, 6: 573–579
- 53 Afzelius B A, Camner P, Mossberg B. On the function of cilia in the female reproductive tract. *Fertil Steril*, 1978, 29: 72–74
- 54 Shi D, Komatsu K, Uemura T, et al. Analysis of ciliary beat frequency and ovum transport ability in the mouse oviduct. *Genes Cells*, 2011, 16: 282–290
- 55 Patek E, Nilsson L, Johannisson E. Scanning electron microscopic study of the human fallopian tube. Report II. Fetal life, reproductive life, and postmenopause. *Fertil Steril*, 1972, 23: 719–733
- 56 Lyons R A, Saridogan E, Djahanbakhch O. The reproductive significance of human *Fallopian tube cilia*. *Hum Reprod Update*, 2006, 12: 363–372
- 57 Perlman S, Hertweck P, Fallat M E. Paratubal and tubal abnormalities. *Semin Pediatr Surg*, 2005, 14: 124–134
- 58 Dirksen E R. Ciliogenesis in the mouse oviduct. A scanning electron microscope study. *J Cell Biol*, 1974, 62: 899–904
- 59 Parr B A, McMahon A P. Sexually dimorphic development of the mammalian reproductive tract requires Wnt-7a. *Nature*, 1998, 395: 707–710
- 60 Akio K, C Allison S, Ying W, et al. beta-Catenin is essential for Mullerian duct regression during male sexual differentiation. *Development*, 2011, 138: 1967–1975
- 61 Arango N A, Szotek P P, Manganaro T F, et al. Conditional deletion of beta-catenin in the mesenchyme of the developing mouse uterus results in a switch to adipogenesis in the myometrium. *Dev Biol*, 2005, 288: 276–283
- 62 Migone F F, Yi R, Cowan R G, et al. Dominant activation of the hedgehog signaling pathway alters development of the female reproductive tract. *Genesis*, 2012, 50: 28–40
- 63 Xiaoman H, Luense L J, McGinnis L K, et al. Dicer1 is essential for female fertility and normal development of the female reproductive system. *Endocrinology*, 2008, 149: 6207–6212
- 64 Nagaraja A K, Claudia A V, Franco H L, et al. Deletion of Dicer in somatic cells of the female reproductive tract causes sterility. *Mol Endocrinol*, 2008, 22: 2336–2352
- 65 Li Q, Agno J E, Edson M A, et al. Transforming growth factor beta receptor type 1 is essential for female reproductive tract integrity and function. *PLoS Genet*, 2011, 7: e1002320

- 66 Yoshihiro T, Joo Hyun P, Tanwar P S, et al. Deletion of tuberous sclerosis 1 in somatic cells of the murine reproductive tract causes female infertility. *Endocrinology*, 2012, 153: 404–416
- 67 Chen J, Knowles H J, Hebert J L, et al. Mutation of the mouse hepatocyte nuclear factor/forkhead homologue 4 gene results in an absence of cilia and random left-right asymmetry. *J Clin Invest*, 1998, 102: 1077–1082
- 68 Okada A, Ohta Y, Brody S L, et al. Role of foxj1 and estrogen receptor alpha in ciliated epithelial cell differentiation of the neonatal oviduct. *J Mol Endocrinol*, 2004, 32: 615–625
- 69 Davis R J, Mark H, Yalda M, et al. Mouse Dach1 and Dach2 are redundantly required for Mullerian duct development. *Genesis*, 2008, 46: 205–213
- 70 Mendelsohn C, Lohnes D, Décimo D, et al. Function of the retinoic acid receptors (RARs) during development (II). Multiple abnormalities at various stages of organogenesis in RAR double mutants. *Development*, 1994, 120: 2749–2771
- 71 Kastner P, Mark M, Ghyselinck N, et al. Genetic evidence that the retinoid signal is transduced by heterodimeric RXR/RAR functional units during mouse development. *Development*, 1997, 124: 313–326
- 72 Suzuki A, Sugihara A, Uchida K, et al. Developmental effects of perinatal exposure to bisphenol-A and diethylstilbestrol on reproductive organs in female mice. *Reprod Toxicol*, 2002, 16: 107–116
- 73 Newbold R R, Jefferson W N, Padilla-Banks E. Prenatal exposure to bisphenol a at environmentally relevant doses adversely affects the murine female reproductive tract later in life. *Environ Health Perspect*, 2009, 117: 879–885
- 74 Gray C A, Bartol F F, Tarleton B J, et al. Developmental biology of uterine glands. *Biol Reprod*, 2001, 65: 1311–1323
- 75 Cunha G R. Alterations in the developmental properties of stroma during the development of the urogenital ridge into ductus deferens and uterus in embryonic and neonatal mice. *J Exp Zool*, 1976, 197: 375–388
- 76 Branham W S, Sheehan D M, Zehr D R, et al. The postnatal ontogeny of rat uterine glands and age-related effects of 17 beta-estradiol. *Endocrinology*, 1985, 117: 2229–2237
- 77 Branham W S, Sheehan D M, Zehr D R, et al. Inhibition of rat uterine gland genesis by tamoxifen. *Endocrinology*, 1985, 117: 2238–2248
- 78 Hu J, Gray C A, Spencer T E. Gene expression profiling of neonatal mouse uterine development. *Biol Reprod*, 2004, 70: 1870–1876
- 79 Brody J R, Cunha G R. Histologic, morphometric, and immunocytochemical analysis of myometrial development in rats and mice: II. Effects of DES on development. *Am J Anat*, 1989, 186: 21–42
- 80 Cunha G R, Young P, Brody J R. Role of uterine epithelium in the development of myometrial smooth muscle cells. *Biol Reprod*, 1989, 40: 861–871
- 81 Cunha G R, Young P. Role of stroma in oestrogen-induced epithelial proliferation. *Epithelial Cell Biol*, 1992, 1: 18–31
- 82 Cunha G R. Stromal induction and specification of morphogenesis and cytodifferentiation of the epithelia of the Mullerian ducts and urogenital sinus during development of the uterus and vagina in mice. *J Exp Zool*, 1976, 196: 361–370
- 83 Cunha G R, Shannon J M, Neubauer B L, et al. Mesenchymal-epithelial interactions in sex differentiation. *Hum Genet*, 1981, 58: 68–77
- 84 Filant J, Spencer T E. Cell-specific transcriptional profiling reveals candidate mechanisms regulating development and function of uterine epithelia in mice. *Biol Reprod*, 2013, 89: 86
- 85 Cooke P S, Buchanan D L, Young P, et al. Stromal estrogen receptors mediate mitogenic effects of estradiol on uterine epithelium. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, 94: 6535–6540
- 86 Hall J M, Couse J F, Korach K S. The multifaceted mechanisms of estradiol and estrogen receptor signaling. *J Biol Chem*, 2001, 276: 36869–36872
- 87 Couse J F, Korach K S. Contrasting phenotypes in reproductive tissues of female estrogen receptor null mice. *Ann N Y Acad Sci*, 2001, 948: 1–8
- 88 Kregge J H, Hodgin J B, Couse J F, et al. Generation and reproductive phenotypes of mice lacking estrogen receptor beta. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95: 15677–15682
- 89 Lubahn D B, Moyer J S, Golding T S, et al. Alteration of reproductive function but not prenatal sexual development after insertional disruption of the mouse estrogen receptor gene. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993, 90: 11162–11166
- 90 Couse J F, Curtis Hewitt S, Korach K S. Receptor null mice reveal contrasting roles for estrogen receptor alpha and beta in reproductive tissues. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2000, 74: 287–296
- 91 Mulac-Jericevic B, Mullinax R A, Demayo F J, et al. Subgroup of reproductive functions of progesterone mediated by progesterone receptor-B isoform. *Science*, 2000, 289: 1751–1754
- 92 Greco T L, Furlow J D, Duello T M, et al. Immunodetection of estrogen receptors in fetal and neonatal female mouse reproductive tracts. *Endocrinology*, 1991, 129: 1326–1332

- 93 Eide A. The effect of oestradiol on the DNA synthesis in neonatal mouse uterus and cervix. *Cell Tissue Res*, 1975, 156: 551–555
- 94 Eide A. The effect of estradiol on the cell kinetics in the uterine and cervical epithelium of neonatal mice. *Cell Tissue Kinet*, 1975, 8: 249–257
- 95 Bartol F F, Wiley A A, Bagnell C A. Uterine development and endometrial programming. *Soc Reprod Fertil Suppl*, 2006, 62: 113–130
- 96 Hayashi K, Spencer T E. WNT pathways in the neonatal ovine uterus: potential specification of endometrial gland morphogenesis by SFRP2. *Biol Reprod*, 2006, 74: 721–733
- 97 Filant J, Zhou H, Spencer T E. Progesterone inhibits uterine gland development in the neonatal mouse uterus. *Biol Reprod*, 2012, 86: 146, 1–9
- 98 Filant J, Spencer T E. Endometrial glands are essential for blastocyst implantation and decidualization in the mouse uterus. *Biol Reprod*, 2013, 88: 93
- 99 Cooke P S, Ekman G C, Jaspreet K, et al. Brief exposure to progesterone during a critical neonatal window prevents uterine gland formation in mice. *Biol Reprod*, 2012, 86: 63
- 100 Ma L, Benson G V, Lim H, et al. Abdominal B (AbdB) Hoxa genes: regulation in adult uterus by estrogen and progesterone and repression in mullerian duct by the synthetic estrogen diethylstilbestrol (DES). *Dev Biol*, 1998, 197: 141–154
- 101 Cooke P S, Spencer T E, Bartol F F, et al. Uterine glands: development, function and experimental model systems. *Mol Hum Reprod*, 2013, 19: 547–558
- 102 Takiko D, Haengseok S, Yong G, et al. Uterine Msx-1 and Wnt4 signaling becomes aberrant in mice with the loss of leukemia inhibitory factor or Hoxa-10: evidence for a novel cytokine-homeobox-Wnt signaling in implantation. *Mol Endocrinol*, 2004, 18: 1238–1250
- 103 Wenwei H, Zhaohui F, Teresky A K, et al. p53 regulates maternal reproduction through LIF. *Nature*, 2007, 450: 721–724
- 104 Feng Z, Zhang C, Kang H J, et al. Regulation of female reproduction by p53 and its family members. *FASEB J*, 2011, 25: 2245–2255
- 105 Jae-Wook J, Inseok K, Lee K Y, et al. Foxa2 is essential for mouse endometrial gland development and fertility. *Biol Reprod*, 2010, 83: 396–403
- 106 Filant J, Lydon J P, Spencer T E. Integrated chromatin immunoprecipitation sequencing and microarray analysis identifies FOXA2 target genes in the glands of the mouse uterus. *FASEB J*, 2014, 28: 230–243
- 107 Wang Q, Lu J H, Zhang S, et al. Wnt6 is essential for stromal cell proliferation during decidualization in mice. *Biol Reprod*, 2013, 88: 5
- 108 Franco H L, Dai D, Lee K Y, et al. WNT4 is a key regulator of normal postnatal uterine development and progesterone signaling during embryo implantation and decidualization in the mouse. *FASEB J*, 2011, 25: 1176–1187
- 109 Dunlap K A, Justyna F, Kanako H, et al. Postnatal deletion of Wnt7a inhibits uterine gland morphogenesis and compromises adult fertility in mice. *Biol Reprod*, 2011, 85: 386–396
- 110 Carta L, Sassoon D. Wnt7a is a suppressor of cell death in the female reproductive tract and is required for postnatal and estrogen-mediated growth. *Biol Reprod*, 2004, 71: 444–454
- 111 Hayashi K, Yoshioka S, Reardon S N, et al. WNTs in the neonatal mouse uterus: potential regulation of endometrial gland development. *Biol Reprod*, 2011, 84: 308–319
- 112 Jeong J, Lee H H, Broaddus R, et al. beta-catenin mediates glandular formation and dysregulation of beta-catenin induces hyperplasia formation in the murine uterus. *Oncogene*, 2009, 28: 31–40
- 113 Shelton D N, Hubert F, Traci N, et al. The role of LEF1 in endometrial gland formation and carcinogenesis. *PLoS One*, 2012, 7: e40312
- 114 Podlasek C A, Seo R M, Clemens J Q, et al. Hoxa-10 deficient male mice exhibit abnormal development of the accessory sex organs. *Dev Dyn*, 1999, 214: 1–12
- 115 Gonzalez-Martin M C, Mallo M, Ros M A. Long bone development requires a threshold of Hox function. *Dev Biol*, 2014, 392: 454–465
- 116 Davis A P, Witte D P, Hsieh-Li H M, et al. Absence of radius and ulna in mice lacking hoxa-11 and hoxd-11. *Nature*, 1995, 375: 791–795
- 117 Fromental-Ramain C, Warot X, Messadecq N, et al. Hoxa-13 and Hoxd-13 play a crucial role in the patterning of the limb autopod. *Development*, 1996, 122: 2997–3011
- 118 Satokata I, Benson G, Maas R. Sexually dimorphic sterility phenotypes in Hoxa10-deficient mice. *Nature*, 1995, 374: 460–463
- 119 Hsieh-Li H M, Witte D P, Weinstein M, et al. Hoxa 11 structure, extensive antisense transcription, and function in male and female fertility. *Development*, 1995, 121: 1373–1385
- 120 Tomomi S, Guimin W, Hardy M P, et al. Role of systemic and local IGF-I in the effects of estrogen on growth and epithelial proliferation of mouse uterus. *Endocrinology*, 2002, 143: 2673–2679
- 121 Hayashi K, Carpenter K D, Jr W T, et al. The IGF system in the neonatal ovine uterus. *Reproduction*, 2005, 129: 337–347
- 122 Hayashi K, Carpenter K D, Spencer T E. Neonatal estrogen exposure disrupts uterine development in the postnatal sheep. *Endocrinology*,

- 2004, 145: 3247–3257
- 123 Colvin J S, White A C, Pratt S J, et al. Lung hypoplasia and neonatal death in *Fgf9*-null mice identify this gene as an essential regulator of lung mesenchyme. *Development*, 2001, 128: 2095–2106
- 124 Del Moral P, De Langhe S, Sala F, et al. Differential role of FGF9 on epithelium and mesenchyme in mouse embryonic lung. *Dev Biol*, 2006, 293: 77–89
- 125 Moon A M, Boulet A M, Capecchi M R. Normal limb development in conditional mutants of *Fgf4*. *Development*, 2000, 127: 989–996
- 126 Sekine K, Ohuchi H, Fujiwara M, et al. *Fgf10* is essential for limb and lung formation. *Nat Genet*, 1999, 21: 138–141
- 127 Xu X, Weinstein M, Li C, et al. Fibroblast growth factor receptor 2 (FGFR2)-mediated reciprocal regulation loop between FGF8 and FGF10 is essential for limb induction. *Development*, 1998, 125: 753–765
- 128 Abler L L, Mansour S L, Sun X. Conditional gene inactivation reveals roles for *Fgf10* and *Fgfr2* in establishing a normal pattern of epithelial branching in the mouse lung. *Dev Dyn*, 2009, 238: 1999–2013
- 129 Liwei H, Yongbing P, Shumyle A, et al. The role of *Fgf10* signaling in branching morphogenesis and gene expression of the rat prostate gland: lobe-specific suppression by neonatal estrogens. *Dev Biol*, 2005, 278: 396–414
- 130 De Moerloose L, Spencer-Dene B, Revest J M, et al. An important role for the IIIb isoform of fibroblast growth factor receptor 2 (FGFR2) in mesenchymal-epithelial signalling during mouse organogenesis. *Development*, 2000, 127: 483–492
- 131 Justyna F, Demayo F J, Pru J K, et al. Fibroblast growth factor receptor two (FGFR2) regulates uterine epithelial integrity and fertility in mice. *Biol Reprod*, 2014, 90: 7
- 132 Nakajima T, Hayashi S, Iguchi T, et al. The role of fibroblast growth factors on the differentiation of vaginal epithelium of neonatal mice. *Differentiation*, 2011, 82: 28–37
- 133 Kurita T, Cunha G R. Roles of p63 in differentiation of Mullerian duct epithelial cells. *Ann N Y Acad Sci*, 2001, 948: 9–12
- 134 Kurita T, Mills A A, Cunha G R. Roles of p63 in the diethylstilbestrol-induced cervicovaginal adenosis. *Development*, 2004, 131: 1639–1649
- 135 Kevin L, Jaewook J, Inseok K, et al. Indian hedgehog is a major mediator of progesterone signaling in the mouse uterus. *Nat Genet*, 2006, 38: 1204–1209
- 136 Nakajima T, Iguchi T, Sato T. Hedgehog signaling plays roles in epithelial cell proliferation in neonatal mouse uterus and vagina. *Cell Tissue Res*, 2012, 348: 239–247
- 137 Franco H L, Lee KY, Broadus R R, et al. Ablation of Indian hedgehog in the murine uterus results in decreased cell cycle progression, aberrant epidermal growth factor signaling, and increased estrogen signaling. *Biol Reprod*, 2010, 82: 783–790
- 138 Franco H L, Lee K Y, Rubel C A, et al. Constitutive activation of smoothened leads to female infertility and altered uterine differentiation in the mouse. *Biol Reprod*, 2010, 82: 991–999
- 139 Hu J, Spencer T E. Carbonic anhydrase regulate endometrial gland development in the neonatal uterus. *Biol Reprod*, 2005, 73: 131–138
- 140 Lewis S E, Erickson R P, Barnett L B, et al. N-ethyl-N-nitrosourea-induced null mutation at the mouse *Car-2* locus: an animal model for human carbonic anhydrase II deficiency syndrome. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1988, 85: 1962–1966
- 141 Spicer S S, Lewis S E, Tashian R E, et al. Mice carrying a *CAR-2* null allele lack carbonic anhydrase II immunohistochemically and show vascular calcification. *Am J Pathol*, 1989, 134: 947–954
- 142 Marta Ortova G, Seppo P, Zdeňka V, et al. Gastric hyperplasia in mice with targeted disruption of the carbonic anhydrase gene *Car9*. *Gastroenterology*, 2002, 123: 1889–1903
- 143 Hulboy D L, Rudolph L A, Matrisian L M. Matrix metalloproteinases as mediators of reproductive function. *Mol Hum Reprod*, 1997, 3: 27–45
- 144 Werb Z, Chin J R. Extracellular matrix remodeling during morphogenesis. *Ann N Y Acad Sci*, 1998, 857: 110–118
- 145 Hu J, Zhang X, Nothnick W B, et al. Matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors in the developing neonatal mouse uterus. *Biol Reprod*, 2004, 71: 1598–1604
- 146 Nothnick W B. Disruption of the tissue inhibitor of metalloproteinase-1 gene results in altered reproductive cyclicity and uterine morphology in reproductive-age female mice. *Biol Reprod*, 2000, 63: 905–912
- 147 Zhou H E, Zhang X, Nothnick W B. Disruption of the *TIMP-1* gene product is associated with accelerated endometrial gland formation during early postnatal uterine development. *Biol Reprod*, 2004, 71: 534–539
- 148 Reardon S N, King M L, Maclean J A, et al. *CDH1* is essential for endometrial differentiation, gland development, and adult function in the mouse uterus. *Biol Reprod*, 2012, 86: 141, 1–10
- 149 Zhang L, Patterson Amanda L, Zhang L, et al. Endometrial stromal beta-catenin is required for steroid-dependent mesenchymal-epithelial

cross talk and decidualization. *Reprod Biol Endocrinol*, 2012, 10: 75

- 150 Wang Y, Jia Y, Franken P, et al. Loss of APC function in mesenchymal cells surrounding the Mullerian duct leads to myometrial defects in adult mice. *Mol Cell Endocrinol*, 2011, 341: 48–54
- 151 Gao Y, Bayless K J, Li Q. TGFBR1 is required for mouse myometrial development. *Mol Endocrinol*, 2014, 28: 380–394
- 152 Sone M, Oyama K, Mohri Y, et al. LGR4 expressed in uterine epithelium is necessary for uterine gland development and contributes to decidualization in mice. *FASEB J*, 2013, 27: 4917–4928
- 153 Mohri Y, Umezu T, Hidema S, et al. Reduced fertility with impairment of early-stage embryos observed in mice lacking Lgr4 in epithelial tissues. *Fertil Steril*, 2010, 94: 2878–2881

Molecular Mechanisms of Female Reproductive Tract Development

WU WeiWei^{1,2}, TANG XiaoFang^{1,2}, CUI TongTong^{1,2} & WANG HaiBin^{1,2}

1 State Key Laboratory of Stem Cell and Reproductive Biology, Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China;

2 College of Life Sciences, University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

Mammalian female reproductive tract (FRT) including the oviduct, uterus, cervix and vagina, is essential for pregnancy establishment and maintenance. Abnormal FRT development and diseases often lead to pregnancy failure and even infertility. It is convincing that a better understanding of genetic networks governing FRT development will help to elucidate the causes of reproductive diseases as well as develop novel approaches for conquering female infertility. We herein summarized recent progress on molecular mechanisms ensuring normal FRT development verified from various mouse models.

female reproductive tract, Müllerian duct, oviduct, uterus, development, molecular mechanism

doi: 10.1360/N052015-00250