



时空解析免疫特征的蜕膜基质细胞介导妊娠早期子宫内膜微环境的建立和稳态维持

杨敏¹, 翁建莉^{1,2}, 杜鹏^{1,2*}

¹ 北京大学生命科学学院, 细胞增殖与分化教育部重点实验室, 北京 100871;

² 北京大学前沿交叉学科研究院, 生命科学联合中心, 北京 100871

* 联系人, E-mail: pengdu@pku.edu.cn

Spatiotemporal insight into early pregnancy governed by immune-featured stromal cells

Min Yang¹, Jennie Ong^{1,2} & Peng Du^{1,2*}

¹ MOE Key Laboratory of Cell Proliferation and Differentiation, School of Life Sciences, Peking University, Beijing 100871, China;

² Peking-Tsinghua Center for Life Sciences, Academy for Advanced Interdisciplinary Studies, Peking University, Beijing 100871, China

* Corresponding author, E-mail: pengdu@pku.edu.cn

doi: 10.1360/TB-2023-0992

哺乳动物中, 完整的妊娠过程包括雌雄配子融合形成受精卵、经历多次卵裂、胚胎着床、子宫内膜蜕膜化、胎儿和胎盘发育最后成功生产^[1]。妊娠初期, 胚胎发育至成熟囊胚后发生着床的过程, 是胚胎和母体的第一次接触。在着床的同时, 母体子宫内膜细胞发生蜕膜化产生子宫内膜蜕膜细胞, 与子宫内的免疫细胞、血管内皮细胞等一起组成子宫内膜蜕膜组织。该蜕膜组织为早期胚胎生长的物质交换、能量传递提供场所, 同时也为胎盘发育建立基础^[2-5]。研究表明, 异常的子宫内膜蜕膜化与子宫内膜异位症、子痫、反复胚胎种植失败、复发性流产和早产等疾病密切相关^[6,7]。因此, 全面了解妊娠过程中子宫内膜中细胞的组成、分子动态变化和稳态建立对理解此类疾病发生发展至关重要。

随着近10年单细胞技术的发展, 已有研究利用单细胞转录组和空间转录组技术构建了人妊娠6~20周龄的母胎界面图谱, 包括细胞组成、细胞间相互作用、胎盘发育等各种生物学活动^[8-10]。但是, 由于伦理和技术的壁垒, 我们无法取得人围产床时期的子宫内膜组织样本, 对胚胎刚着床时期子宫内膜微环境的建立过程知之甚少。小鼠是我们目前常用的哺乳动物模式生物, 是研究妊娠初期子宫内膜变化的最好模型。小鼠子宫内膜蜕膜化发生于胚胎着床的瞬间约为E4.5~E5.5时期^[11]。已有研究表明, 子宫内膜蜕膜过程是间充质/基质细胞向上皮细胞转变(mesenchymal-epithelial transition, MET)的过程^[12]。蜕膜过程受多种信号调节, 包括雌激素, 孕激素, C/EBP β (CCAAT/enhancer-binding protein β), cAMP、HOX家

族、FOX家族等转录因子, WNT等信号通路, LIF等细胞因子^[1,13]。为全面系统地了解妊娠过程子宫内膜稳态建立和维持过程, 我们运用10 $\times$ 单细胞转录组和华大时空组学技术Stereo-seq^[14]首次对小鼠妊娠早期(E5.5~E9.5)的着床位点蜕膜微环境进行了详尽分析, 揭示了着床位点功能中心的特化过程, 以及各功能中心涉及的复杂生物学事件。与此同时, 通过对健康和流产小鼠着床位点蜕膜组织细胞的差异比较, 我们揭示了异常的细胞定位与疾病发生发展之间的关联。该项研究成果发表在Cell上^[15]。

首先, 我们收取小鼠妊娠E5.5~E10.5着床位点的蜕膜组织和胚外组织并进行单细胞转录组测序, 定义了5个母体和8个胚胎来源的主要细胞类型, 随后对母体来源的蜕膜基质细胞、免疫细胞、血管内皮细胞和胚胎来源的滋养层细胞进行了细胞亚型定义, 系统研究了小鼠妊娠早期子宫微环境建立过程中蜕膜基质细胞各亚群的功能, 以及转录因子调控网络所介导的蜕膜基质细胞的蜕膜化过程。该过程主要为: 未分化的蜕膜基质细胞亚群D1首先发生MET转变为D2中间态细胞, 随后开始增殖(D3), 再分化为两支不同的功能性蜕膜细胞亚群, 即系膜侧的血管形成相关蜕膜基质细胞亚群(D6)以及系膜对侧的营养供给相关的蜕膜基质细胞亚群(D5)和凋亡状态的亚群(D7)。同时, 我们将单细胞转录组数据与空间转录组数据整合, 鉴定了着床位点中以蜕膜基质细胞、免疫细胞、血管内皮细胞亚型为主组成的8个功能中心(图1(a)), 其中包括由各蜕膜基质细胞亚群为主组

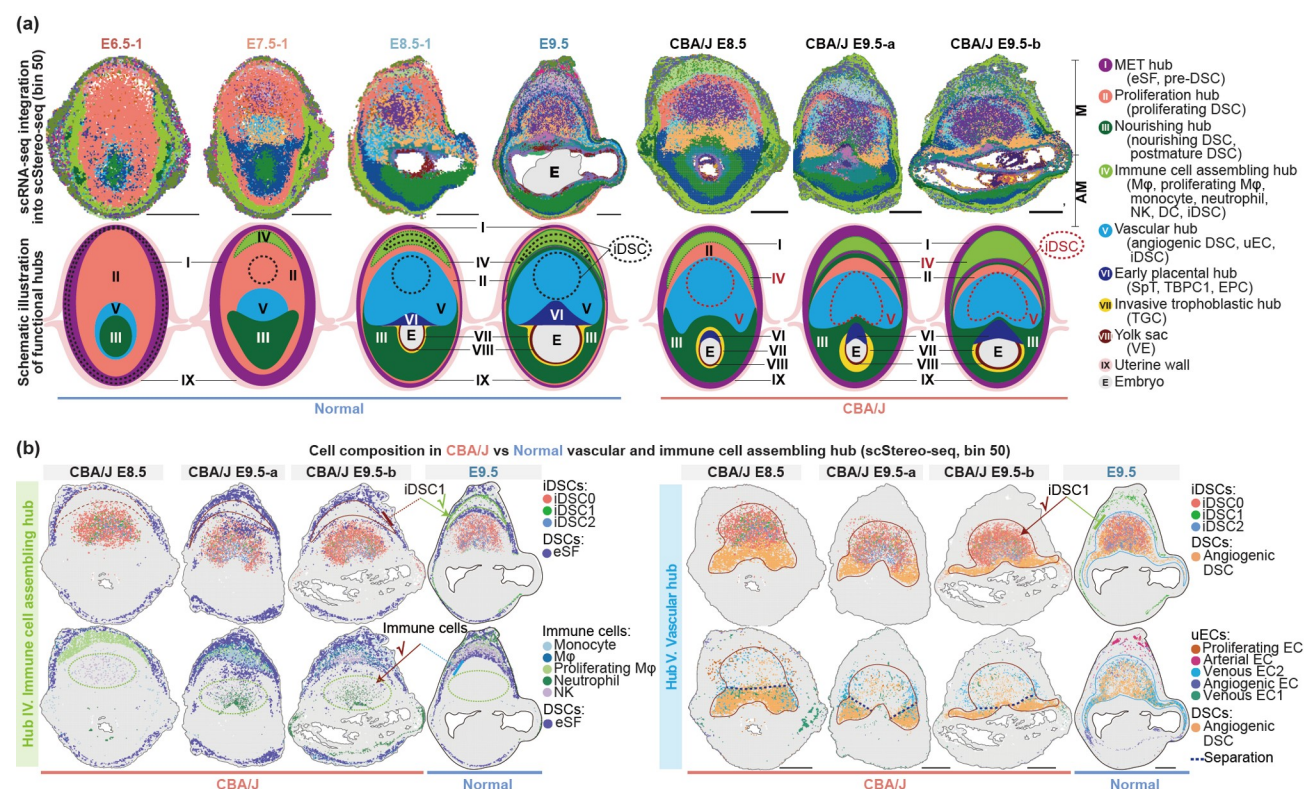


图1 (网络版彩色)健康和复发性流产小鼠妊娠早期着床位点图谱^[15]。(a) 小鼠妊娠早期着床位点的单细胞空间转录组图谱构建和功能中心定义。标尺示1 mm。(b) 单细胞空间转录组Stereo-seq结果展示主要由eSF、iDSCs亚群和免疫细胞动态形成的免疫招募中心IV, 由血管生成相关的蜕膜基质细胞亚群(D6)、iDSCs和血管内皮细胞亚群组成的功能中心V

Figure 1 (Color online) Spatiotemporal atlas of normal and abortion-prone mouse early implantation sites^[15]。(a) Spatial visualization of all cell distributions in the scStereo-seq data, and schematic illustrations showing the defined “functional” hubs in the implantation sites. Scale bars, 1 mm。(b) scStereo-seq spot overlay of eSFs with iDSC subclusters and immune cells (hub IV), and angiogenic DSCs with iDSC and uEC subclusters (hub V)

成的功能中心I~III(此3个中心主要是蜕膜化过程的活动区域)、E8.5之后免疫细胞亚群逐渐向系膜侧聚集形成环状结构的功能中心IV(免疫招募中心)、血管内皮细胞富集在系膜侧区域形成的功能中心V(血管生成中心)。物理结构上, 功能中心IV和V在E9.5之后由未分化的蜕膜基质细胞亚群(eSF)分开(图1(b))。

随后, 从单细胞转录组亚群分析结果中, 我们发现一群特殊的蜕膜基质细胞亚群, 并将其命名为免疫特征的蜕膜基质细胞亚群(immune-featured decidual stromal cells, iDSCs)。与其他D1~D7蜕膜基质细胞亚群相比, iDSCs高表达与免疫活动相关的基因, 在分子水平上与D6群血管生成的蜕膜基质细胞亚群更相似, 空间上位于功能中心IV和V。进一步的亚群分析显示, iDSC具有3个亚群: iDSC0位于功能中心V, 高表达与血管发育相关的基因, 如*Angpt2*、*Runx1*、*Jcad*和*Adam12*, 与D6亚群一起帮助血管生成过程; iDSC1位于功能中心IV, 高表达CXCL和CCL等趋化因子配体基因, 与D1亚群协同作用, 招募免疫细胞最终形成免疫招募中心; iDSC2也同样定

位于功能中心V, 高表达细胞溶解和凋亡相关的基因, 如*Prf1*、*Gzma1e*、*Tnfrsf9*和*Spp1*(图1(b))。体外的细胞毒性实验和细胞迁移实验也均证明了iDSCs的各种功能。以上结果提示, iDSCs和其他各蜕膜基质细胞亚群共同实现着床位点功能中心的特化, 帮助妊娠初期蜕膜微环境的建立。

最后, 我们通过比较复发性流产小鼠模型和健康小鼠模型的子宫内膜组织的数据结果发现, 与其他蜕膜基质细胞亚群相比, iDSCs细胞亚型显示出最为明显的分子水平的功能失调, 并且iDSC1异常定位于功能中心V, 因此招募免疫细胞在功能中心V异常富集、干扰血管生成过程、着床位点的功能中心特化失败, 最终妊娠失败(图1(b))。除此之外, 研究发现, iDSCs蜕膜基质细胞亚群在人中可能保守存在, 并且也与复发性流产疾病密切相关。

总之, 本项研究首次对小鼠妊娠早期E5.5~E9.5的子宫微环境的细胞组成、功能中心特化过程以及各种生物学活动进行了系统刻画, 尤其发现iDSC蜕膜基质细胞亚群在妊娠早期稳态建立过程的关键作用。同时本项研究中的所有单细胞

转录组学和空间组学数据均可通过交互式网站MEISSTA (<https://meissta.com/>)进行查看。最后,该工作也揭示了细胞的

异常空间定位与疾病发生发展间的可能关系,为后续的医学基础研究提供新的研究方向。

致谢 感谢国家重点研发计划(2021YFA1100100, 2019YFA0110000)和国家自然科学基金(32225017, 32050214, 32090012)资助。

推荐阅读文献

- 1 Wang H, Dey S K. Roadmap to embryo implantation: Clues from mouse models. *Nat Rev Genet*, 2006, 7: 185–199
- 2 Yuan J, Aikawa S, Deng W, et al. Primary decidual zone formation requires scribble for pregnancy success in mice. *Nat Commun*, 2019, 10: 5425
- 3 Ander S E, Diamond M S, Coyne C B. Immune responses at the maternal-fetal interface. *Sci Immunol*, 2019, 4: eaat6114
- 4 Ramathal C, Bagchi I, Taylor R, et al. Endometrial decidualization: Of mice and men. *Semin Reprod Med*, 2010, 28: 17–26
- 5 Ng S W, Norwitz G A, Pavlicev M, et al. Endometrial decidualization: The primary driver of pregnancy health. *Int J Mol Sci*, 2020, 21: 4092
- 6 Sang Y, Li Y, Xu L, et al. Regulatory mechanisms of endometrial decidualization and pregnancy-related diseases. *Acta Biochim Biophys Sin*, 2020, 52: 105–115
- 7 Cha J, Sun X, Dey S K. Mechanisms of implantation: Strategies for successful pregnancy. *Nat Med*, 2012, 18: 1754–1767
- 8 Vento-Tormo R, Efremova M, Botting R A, et al. Single-cell reconstruction of the early maternal–fetal interface in humans. *Nature*, 2018, 563: 347–353
- 9 Suryawanshi H, Morozov P, Straus A, et al. A single-cell survey of the human first-trimester placenta and decidua. *Sci Adv*, 2018, 4: eaau4788
- 10 Greenbaum S, Averbukh I, Soon E, et al. A spatially resolved timeline of the human maternal–fetal interface. *Nature*, 2023, 619: 595–605
- 11 Das S K. Cell cycle regulatory control for uterine stromal cell decidualization in implantation. *Reproduction*, 2009, 137: 889–899
- 12 Owusu-Akyaw A, Krishnamoorthy K, Goldsmith L T, et al. The role of mesenchymal–epithelial transition in endometrial function. *Hum Reprod Update*, 2019, 25: 114–133
- 13 Dey S K, Lim H, Das S K, et al. Molecular cues to implantation. *Endocrine Rev*, 2004, 25: 341–373
- 14 Chen A, Liao S, Cheng M, et al. Spatiotemporal transcriptomic atlas of mouse organogenesis using DNA nanoball-patterned arrays. *Cell*, 2022, 185: 1777–1792.e21
- 15 Yang M, Ong J, Meng F, et al. Spatiotemporal insight into early pregnancy governed by immune-featured stromal cells. *Cell*, 2023, doi: 10.1016/j.cell.2023.08.020