生殖生理与胚胎着床 DOI:10.13406/j.cnki.cyxb.001069

SLP-2调控人子宫内膜基质细胞细胞系 T-HESC 的增殖和分化

冯 倩,刘学庆,张 雪,兰 曦,耿艳清,陈雪梅,高茹菲,何俊琳,王应雄,丁裕斌
(重庆医科大学公共卫生与管理学院、生殖生物学实验室,重庆 400016)

【摘 要】**目的**:研究 stomatin 样蛋白 2(stomatin-like protein 2,SLP-2)对人子宫内膜基质细胞系 T-HESC 的增殖和分化的调控作用。**方法**:培养子宫内膜基质细胞系 T-HESC,体外诱导蜕膜化,RT-qPCR、Western blot 和免疫荧光方法检测 SLP-2 在体外诱导蜕膜化模型中的表达变化以及蜕膜化标志分子催乳素(prolactin,PRL)、胰岛素样生长因子结合蛋白 1(insulin like growth factor binding protein 1,IGFBP1)和 Desmin 的表达。转染特异性 SLP-2 干扰小 RNA(siRNA),敲低 SLP-2 的表达,分析敲低 SLP-2 表达对基质细胞增殖和分化(蜕膜化)的影响。**结果**:体外诱导蜕膜化条件下,诱导蜕膜化标志物 IGFBP1 和 PRL 的表达明显增加;Desmin 显著表达于在体外诱导蜕膜化的细胞中;SLP-2 表达明显升高。在蜕膜化细胞中转染 SLP-2 siRNA 敲低 SLP-2 表达,蜕膜化行为受到显著抑制;细胞增殖标志分子 CCND3 表达明显下降,细胞增殖降低。**结论**:SLP-2 的表达可影响人子宫内膜基质细胞细胞系 T-HESC 的增殖和分化。

【关键词】Stomatin 样蛋白 2;胚胎植入;蜕膜化;子宫内膜基质细胞
【中图分类号】R394.2 【文献标志码】A 【收稿日期】2016-09-05

Stomatin-like protein 2(SLP-2) regulates cell proliferation and differenation in endometrial stromal cell line T-HESC

Feng Qian, Liu Xueqing, Zhang Xue, Lan Xi, GengYanqing, Chen Xuemei, Gao Rufei, He Junlin, Wang Yingxiong, Ding Yubin
(*Laboratory of Reproductive Biology, School of Public Health and Management, Chongqing Medical University*)

【Abstract】***Objective***: To study the role of stomatin-like protein 2(SLP-2) in regulating proliferation and differentiation in humans endometrial stromal cell line T-HESC. ***Methods***: The cultured human endometrial stromal cell line T-HESC was used an in vitro model to test the expression of SLP-2 and decidualization marker molecules insulin like growth factor binding protein 1(IGFBP1), prolactin(PRL) and Desmin in induced decidualized T-HESC by RT-qPCR, Western blot and Immunofluorescence. Small interference RNA(siRNA) was used to knock down of SLP-2 and study the role of SLP-2 in T-HESC cell proliferation and differentiation under decidualization induction. ***Results***: The expression of decidualization marker IGFBP1, PRL and Desmin was significantly increased under induced decidualization *in vitro*. SLP-2 expression was stimulated in decidualized T-HESC. Knocking down SLP-2 by siRNA in decidualized T-HESC critically decreased T-HESC cell proliferation and downregulated proliferation makers EdU and CCND3. The expression of IGFBP1 and PRL was also significantly reduced following SLP-2 siRNA transfection in decidulized T-HESC. ***Conclusion***: SLP-2 is involved in regulating T-HESC cell proliferation and differentiation.

【Key words】stomatin-like protein 2(SLP-2); embryo implantation; decidualization; endothelial stromal cell

世界范围内不孕不育患者比例逐年递增,成为影响人类健康的重要因素之一[1]。尽管近年来试管婴儿等人工助孕技术蓬勃发展,移植的高质量胚胎依然存在低植入率和妊娠高失败率等问题。其中的一个重要因素是子宫内膜的生长发育障碍或与移植胚胎发育的不同步[1]。

研究已知,胚胎植入的成功与否,一方面取决于早期胚胎发育形成具有着床能力的囊胚,另一方面则取决于子宫内膜协同性进入接受状态,即胚胎

作者介绍:冯 倩,Email:469280497@qq.com,
研究方向:胚胎植入。
通信作者:丁裕斌,Email:dingyb@gmail.com。
基金项目:国家自然科学基金资助项目(编号:81671493)。
优先出版:http://www.cnki.net/kcms/detail/50.1046.r.20161215.1056.004.html (2016-12-15)

植入的“窗口期”[2]。胚胎植入后，囊胚与子宫内膜上皮发生粘附反应，在甾体激素作用下，围绕囊胚的子宫基质细胞开始大量增殖和分化（即子宫内膜蜕膜化）。蜕膜化的作用目前被认为是为胚泡的发育提供营养，且对发育初期的胚胎起免疫性保护作用[2-4]。人类女性的蜕膜化发生于分泌晚期的子宫内膜，围绕螺旋动脉展开[3]。子宫内膜基质细胞的增殖和蜕膜化对正常妊娠的建立和维持起着至关重要的作用[5-6]，该过程被一系列起源于胚胎和母体的调节因素所控制[3,7]。然而，子宫内膜蜕膜化的潜在分子机制目前尚不完全明确。

Stomatin 样蛋白 2（stomatin-like protein 2，SLP-2）是哺乳动物 Stomatin 家族高度保守的成员，首次发现于成熟红细胞中[8]，并相继在一些组织和细胞中发现大量 SLP-2 蛋白存在[9]。在细胞质，SLP-2 可形成高阶低聚体并和外周膜骨架蛋白反应[8-10]。线粒体蛋白质组学研究发现 SLP-2 是线粒体蛋白，在诸多细胞中可调节线粒体生物学功能[11-13]。SLP-2 在人体中发挥重要而广泛的生物学作用[14]。研究发现，一些癌细胞中过表达 SLP-2 会调节细胞生长、细胞粘附和肿瘤发展[15-16]。在人体内下调 SLP-2 会抑制肿瘤细胞的迁移和增殖[14,16-17]。由此可知，SLP-2 对癌症的发生起潜在的预报作用。亦有研究表明，SLP-2 在子宫内膜腺癌中呈过表达趋势并且参与其中的细胞增殖和细胞粘附过程[15]。在子宫内膜异位症中，SLP-2 亦扮演重要角色[18]。我们的前期表达谱研究数据显示 SLP-2 在小鼠蜕膜细胞中高表达，但是 SLP-2 对子宫内膜细胞的增殖和分化诱导作用目前不清楚。本研究拟初步分析 SLP-2 对人子宫内膜基质细胞系 T-HESC 的增殖和分化调控作用。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 子宫内膜基质细胞系 人子宫内膜基质细胞系 T-HESC 购于 American Type Culture Collection（ATCC® CRL-4003™）。

1.1.2 实验试剂 Vimentin（#5741）、Cytokeratin7（#4465）和 β 肌动蛋白（#4970）抗体购于 Cell Signaling Technology 公司；Desmin（16520-1-AP）和 SLP-2（10348-1-AP）抗体购于 Proteintech 公司；胰岛素样生长因子结合蛋白 1（insulin like growth factor binding protein 1，IGFBP1；sc-6072）抗体购于 Santa Cruze 公司；山羊抗兔-HRP 二抗购于武汉博士德。RNA 逆转录试剂盒 PrimeScript™ RT Master Mix 和 RT-qPCR 试剂盒 SYBR® Premix Ex Taq™ Ⅱ购于大连 TaKaRa 公司。EdU 细胞增殖检测试剂盒购于广州锐博生物。碳吸附血清购于 Biolo-gical Industries。DMEM/F-12 培养基购于 Sigma 公司。青、链霉素购于碧云天。

1.2 方法

1.2.1 细胞系培养 细胞在含有 10%碳吸附血清、100 IU/mL 青霉素和 100 μg/mL 链霉素的 DMEM/F-12 培养基中培养，每 2~3 d 进行分瓶传代。

1.2.2 RNA 提取 弃培养基，加 1 mL RNAiso Plus 于培养瓶中，冰上静置 5 min，反复吹打细胞贴壁面，将悬液转移至 1.5 mL EP 管中，4 ℃离心，12 000 g，5 min。收集上清转移到新的 EP 管中。加入 200 μL 氯仿，震荡混匀，静置 5 min，4 ℃离心，12 000 g，15 min。吸取上清转移至新的 EP 管中，记录所吸取的上清容积，加入等量异丙醇，轻轻震荡混匀，4 ℃离心，12 000 g，10 min。弃上清，加入用 DEPC 水现配的75%乙醇洗涤沉淀，7 500 g，5 min。弃上清，晾干沉淀，加入适量 DEPC 水溶解沉淀。超微量核酸蛋白测定仪测定总 RNA 浓度和纯度。

1.2.3 qRT-PCR 参考 PrimeScript™ RT Master Mix 试剂盒将 RNA 逆转录成 cDNA，按照 SYBR® Premix Ex Taq™ Ⅱ试剂盒说明书，在 BIO-RAD iQ5 荧光实时定量 PCR 仪上进行 PCR 反应。反应体系如下：预变性（95 ℃ 3 min）；PCR 反应（39 个循环；95 ℃ 10 s；63 ℃ 30 s）；溶解曲线[65~95 ℃（0.5℃）5 s]。每组实验重复 3 次，ACTB 作为内参，采用 $2^{-\Delta\Delta Q}$ 法计算基因的表达量。在公共引物数据库 PrimerBank 中查询所需引物序列，见表 1。

表 1 引物序列

Tab.1 Primers for qRT-PCR

基因		引物序列
SLP-2	正向序列	5’-tatcctactgccctccaacc-3’
	反向序列	5’-acatctctgctgctcccact-3’
IGFBP1	正向序列	5’-tatgatggctcgaaggctct-3’
	反向序列	5’-ccattcttgttgcagtttgg-3’
ACTB	正向序列	5’-ctgggacgacatggagaaaa-3’
	反向序列	5’-aaggaaggctggaagagtgc-3’

1.2.4 Western blot 用每孔 200 μl 蛋白缓冲上样液收集 24 孔板细胞后 100 ℃煮沸 10 min 使蛋白变性，等体积的蛋白样品上样于 10%聚丙烯酰氨凝胶上进行电泳。蛋白条带电转在聚乙二烯纤维素膜上。5%脱脂奶粉封闭 1 h，孵一抗 4 ℃过夜。用 TBST 洗膜 3 次，孵二抗置于 37 ℃ 1 h，用 ECL 试剂进行发光检测。Quantity One 图像软件分析。

1.2.5 细胞转染 人 SLP-2 siRNA 由吉玛公司（表 2）设计合成。以 Lipofectamine 2000（Invitrogen）为载体在子宫内膜基质细胞系 T-HESC 中进行 SLP-2 siRNA（50 nmol/L）和对照 siRNA（50 nmol/L）转染，48 h 后收集细胞，可用于提取 RNA 和蛋白质。

表 2 siRNA 序列

Tab.2 Small interference oligonucleotides

Gene		小干扰 RNA 序列
SLP-2	正义序列	5'-CUGUGACUCUCGACAAUGUTT-3'
	反义序列	5'-ACAUUGUCGAGAGUCACAGTT-3'
Non-specific 对照	正义序列	5'-UUCUCCGAACGUGUCACGUTT-3'
	反义序列	5'-ACGUGACACGUUCGGAGAATT-3'

1.2.6 体外诱导蜕膜化 在含有 10%的碳吸附胎牛血清的 DMEM/F-12 培养基中加入 10 nmol/L 雌二醇(estradiol,E2),1 μmol/L 孕酮(progesterone,P4)和 0.5 mmol/L 8-溴-环磷酸腺苷(8-Br-cAMP)诱导蜕膜化 13 d。

1.2.7 免疫荧光 细胞用 4%多聚甲醛溶液固定 25 min,PBS 洗涤 3 次,用 1%的 BSA 溶液封闭 1 h,孵育一抗 4 ℃过夜。第 2 天 PBS 洗涤 3 次后,荧光二抗室温孵育 1 h,DAPI 染核 10 min,在奥林巴斯 BX43 显微成像系统下荧光成像。

1.2.8 细胞增殖检测 EdU 试剂盒检测增殖的子宫内膜基质细胞。依照说明书加入 10 μmol/L 5-乙炔基-20-脱氧尿苷孵育细胞 4 h,然后进行固定、渗透和 EdU 染色。用 5 μg/mL Hoechst 33342 染核 10 min。最后成像。

1.3 统计分析

使用 SPSS 17.0 统计软件及 Graphpad 5.0 软件进行数据分析及作图,采用 t 检验进行两两比较统计分析;采用单因素方差分析对多组数据统计分析,同时采用 LSD-t 进行组间多重比较,定量数据以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)。检验水准 α=0.05。

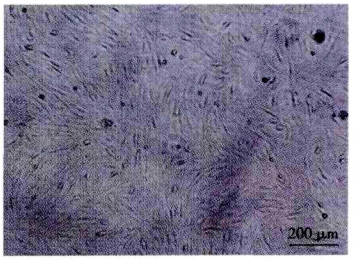
2 结 果

2.1 子宫内膜基质细胞系培养的形态学特点及鉴定

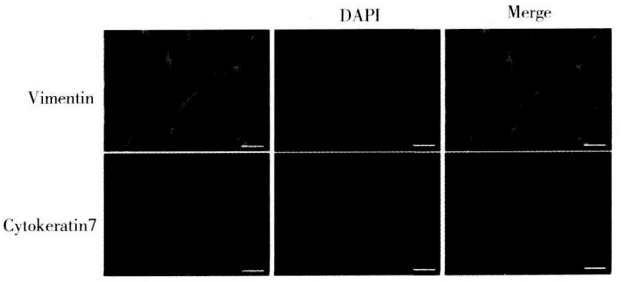
T-HESC 子宫内膜基质细胞系呈纤维样生长,呈现出长梭形和多角形 2 种形态,放射状排列(图 1A)。波形蛋白 Vimentin 与角蛋白 Cytokeratin7 免疫荧光染色显示,子宫内膜基质细胞呈现 Vimentin 染色阳性,Cytokeratin7 染色阴性(图 1B)。显微镜下随机选取 4 个不同区域,计数阳性细胞数同细胞总数比值,结果显示子宫内膜基质细胞系的纯度为(96.63 ± 2.10)%。

2.2 体外诱导蜕膜化促进人子宫内膜基质细胞系 SLP-2 的表达增加

为了探讨 SLP-2 在体外诱导蜕膜化的人子宫内膜基质细胞系中的表达,采用子宫 E2、P4 和环磷酸腺苷(cAMP)联合处理细胞系 13 d 后,分析基质细胞发生蜕膜化改变是否与 SLP-2 表达升高相关。Western blot 和 qRT-PCR 分析检测显示,蜕膜化的标志分子催乳素(prolactin,PRL)和 IGFBP1 mRNA 水平均明显增加,增加倍数分别为(223.700 ± 5.696)倍(t=39.090,P=0.000)和(418.300 ± 3.528)倍(t=118.300,P=0.000)(图 2)。免疫荧光结果显示,蜕膜化标志分子 Desmin 在体外诱导蜕膜化模型中的荧光强度显著增加(图 3)。以上结果表明,子宫内膜基质细胞系体外诱导蜕膜化成功。同时,SLP-2 蛋白表达水平和 mRNA 表达水平在体外诱导蜕膜化模型中增加 4.3 倍,具有统计学差异,mRNA 水平经统计分析增加(2.541 ± 0.107)倍(t=19.560,P=0.000)(图 4)。由此可知,SLP-2 可能参与了子宫内膜基质细胞蜕膜化过程。



A. 人子宫内膜基质细胞形态学图片

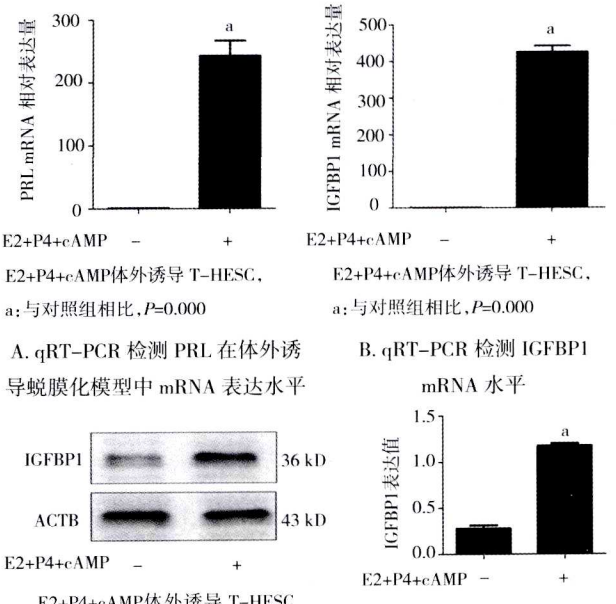


绿色荧光表示 Vimentin 及 Cytokeratin7 阳性信号,蓝色荧光表示 DAPI 染色细胞核,标尺表示 50 μm

B. 免疫荧光检测波形蛋白和角蛋白的表达

图 1 人子宫内膜基质细胞系形态及鉴定

Fig.1 Morphological feature and identification of human endometrial stromal cell line T-HESC



E2+P4+cAMP体外诱导 T-HESC,a:与对照组相比,P=0.000

A. qRT-PCR 检测 PRL 在体外诱导蜕膜化模型中 mRNA 表达水平

E2+P4+cAMP体外诱导 T-HESC,a:与对照组相比,P=0.000

B. qRT-PCR 检测 IGFBP1 mRNA 水平

E2+P4+cAMP体外诱导 T-HESC 13 d,ACTB 为内参

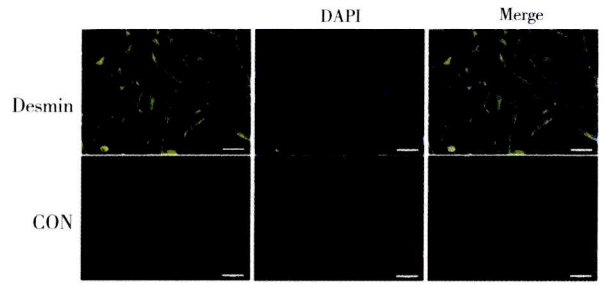
C. Western blot 检测 IGFBP1 蛋白水平

a:与对照组相比,P=0.000

D. Western blot 结果定量分析,IGFBP1 相对表达量

图 2 子宫内膜基质细胞体外诱导蜕膜化

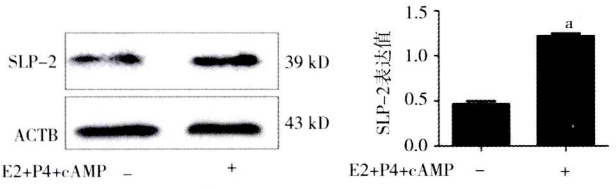
Fig.2 *In vitro* decidualization of human endometrial stromal cell line T-HESC



绿色表示 Desmin 及 CON 阳性信号，蓝色表示 DAPI 染色细胞核，标尺表示 50 μm

图 3 检测 Desmin 的免疫荧光强度

Fig.3 Detection of Desmin immunostaining under *in vitro* decidualization and control in the T-HESC cell line by immunofluorescence



a：与对照组相比，P=0.000

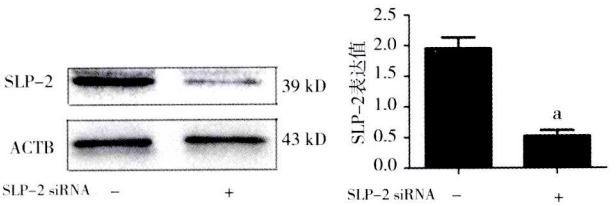
A. Western blot 检测 SLP-2 在体外诱导蜕膜化模型中的表达　B. SLP-2 在体外诱导蜕膜化模型中表达水平定量分析

图 4 SLP-2 在体外诱导蜕膜化模型中的表达

Fig.4 SLP-2 protein expression in T-HESC under *in vitro* decidualization

2.3 SLP-2 在子宫基质细胞蜕膜化中的作用

为进一步论证 SLP-2 在子宫内膜基质细胞蜕膜化中所起的作用，研究采用转染特异性 SLP-2 siRNA 至细胞，敲低 SLP-2 基因表达。Western blot 和 qRT-PCR 结果检测显示，在诱导蜕膜化条件下，细胞培养至第 10 天时，加入 SLP-2 siRNA，体外诱导培养 72 h。结果显示，与对照组相比，干扰组明显敲低 SLP-2，其表达量降低约 3/4（t=23.640，P=0.000）（图 5），具有统计学差异。证明 SLP-2 siRNA 特异性抑制了 SLP-2 的表达。在 SLP-2 下调的同时，蜕膜化标志分子IGFBP1 与 PRL 的mRNA 水平亦分别明显降低 2/3（F=1 646，P=0.000）和 4/5（F=23.640，P=0.000），如图 6 所示。本研究揭示敲低 SLP-2 表达可以抑制 T-HESC 细胞系蜕膜化反应的进行。

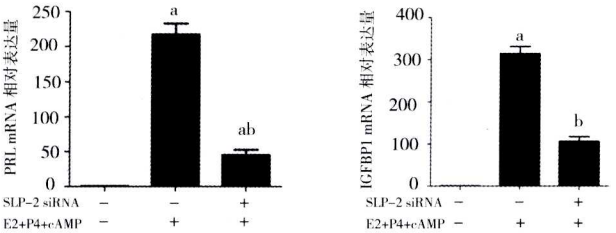


a：与对照组相比，P<0.01

A. Western blot 检测 SLP-2 在转染 SLP-2 siRNA 细胞中的表达　B. SLP-2 在转染 SLP-2 siRNA 细胞中的表达定量分析

图 5 转染 SLP-2 siRNA 在人子宫内膜基质细胞的表达

Fig.5 Knock-down of SLP-2 protein expression level using SLP-2 target siRNA



a：与对照组相比，P=0.000；
b：与未干扰组相比，P=0.000

A. qRT-PCR 检测 IGFBP1 转染 SLP-2 siRNA 后在体外蜕膜化模型中的表达

a：与对照组相比，P=0.000；
b：与未干扰组相比，P=0.000

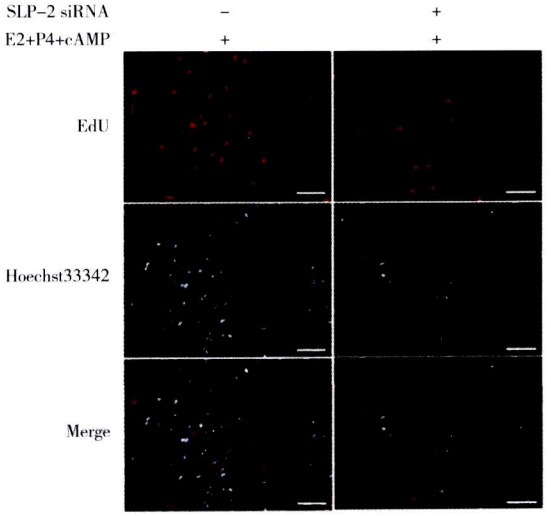
B. qRT-PCR 检测 PRL 转染 SLP-2 siRNA 后在体外蜕膜化模型中的表达

图 6 敲除 SLP-2 对蜕膜化标志物表达的影响

Fig.6 Effect of human SLP-2 knock-down on PRL

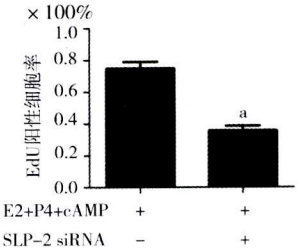
2.4 SLP-2 参与调控子宫内膜基质细胞的增殖

细胞增殖是细胞蜕膜化过程中的重要特征之一，故本研究进一步检测了诱导蜕膜化条件下 siRNA 敲低 SLP-2 表达对 T-HESC 细胞增殖的影响。结果显示转染 SLP-2 siRNA 的细胞，EdU 阳性细胞率下降 1/2（t=10.050，P=0.001），证明细胞增殖能力明显下调（图 7），细胞增殖标志基因细胞周期蛋白 D3（CCND3）表达亦明显下调 2/3（t=28.440，P=0.000）（图 8）。这些结果表明 SLP-2 可能参与调控 T-HESC 蜕膜化过程中子宫内膜基质细胞的增殖。



红色表示 EDU 阳性细胞，蓝色表达 Hoechest33342 染色细胞核，标尺表示 50 μm

A. 体外诱导蜕膜化且转染了 siRNA 后细胞增殖率的变化

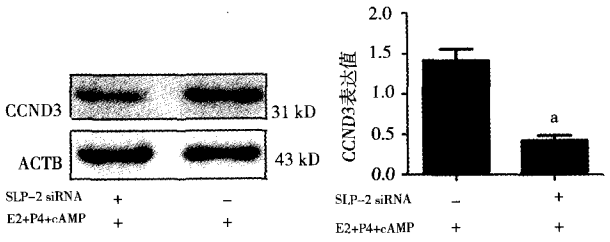


a：与对照组相比，P=0.000

B. 统计分析 EDU 阳性细胞数

图 7 敲除 SLP-2 对体外诱导蜕膜化过程的 T-HESC 增殖的影响

Fig.7 Effect of SLP-2 knock-down on T-HESC proliferation under *in vitro* decidualization



A. Western blot 检测 CCND3 的表达　　B. 定量计算 A 图 Western blot 结果

图 8　敲除 SLP-2 对体外诱导蜕膜化过程的 T-HESC 细胞周期蛋白 D3（CCND3）表达的影响

Fig.8　Knock-down of SLP-2 inhibited cell proliferation marker Cyclin D3 expression under in vitro decidualization in T-HESC

3　讨　论

子宫内膜蜕膜化的发生对于成功妊娠的建立至关重要[19]。在人类子宫中，蜕膜化过程自发形成，伴随着排卵的发生，子宫进入分泌期，在这个时期孕激素水平的增加诱导雌激素致敏，使基质细胞重塑且分化为蜕膜细胞，为胚胎植入做好铺垫。因此，子宫内膜蜕膜化这个过程是胚泡植入和维持妊娠的必要条件[3]。目前，利用体外培养的人类子宫内膜基质细胞进行体外诱导蜕膜化是研究子宫内膜增殖和分化相关功能基因的重要手段之一。本研究采用 T-HESC 细胞系作为体外诱导蜕膜化模型，其鉴定结果显示，Vimentin 免疫荧光染色阳性率达99%，而 Cytokeratin7 免疫荧光为阴性，显示该细胞的特基质细胞属性[20]。进而，在 E2、P4 和 cAMP 的联合作用下蜕膜化标志物 IGFBP1 和 PRL 的表达均明显增加，同时另外一种标志物 Desmin 的荧光强度亦明显增强，提示 T-HESC 可作为体外人工诱导蜕膜化的细胞模型。这也进一步证实了永生化细胞系虽经多代培养，依然具有正常子宫内膜基质细胞的体外蜕膜化反应特征，能可靠地用于子宫内膜基质细胞的蜕膜化调控研究[21-22]。

SLP-2 是哺乳动物 Stomatin 家族高度保守的成员，首次发现于成熟红细胞中[8]，是一种外周膜蛋白。人类的 SLP-2 染色体定位于 9p13，由 3 个主要的结构域组成：N 端 α 螺旋区、由 α 螺旋和 β 折叠交替组成的结构域和 C 端结构域。除表达于红细胞外，心脏、脑、肝脏和胰腺中均有表达，但其特性和功能未知[23]。近年来，线粒体蛋白质组学研究发现 SLP-2 是线粒体蛋白，在众多细胞中可调节线粒体生物学功能[11-13]。目前，关于 SLP-2 基因的生物学功能研究依然偏少，在子宫内膜发育和着床中的研究暂无报道。有研究表明，SLP-2 在子宫内膜腺癌中呈现过表达趋势并且参与其中的细胞增殖和细胞粘附过程[15]。在子宫内膜异位症中，SLP-2 也扮演重要角色[18]。这提示 SLP-2 与子宫内膜的发育分化存在一定的关系。本研究利用 E2、P4 和 cAMP 对人子宫内膜基质细胞永久细胞系进行体外诱导蜕膜化后，发现 SLP-2 表达大幅上调，暗示 SLP-2 参与调控该细胞的蜕膜化进程。

现已知蜕膜化过程主要特征包括细胞的显著增殖和分化。利用 siRNA 敲低 SLP-2 的表达后发现，基质细胞增殖过程的标志蛋白 CCND3[24]的表达显著下调，EdU 染色阳性细胞显著减少，提示SLP-2与T-HESC 细胞蜕膜化过程中的细胞增殖密切相关。Zhang 等[16]发现 SLP-2 过表达可促进鳞状细胞癌的生长和粘附。此外，SLP-2 的表达亦与小鼠的 T 细胞增殖相关[13]，下调 SLP-2 表达则抑制细胞的增殖并改变细胞周期的进程[17]。这些进一步印证了我们的发现，即 SLP-2 的表达与 T-HESC 细胞的增殖相关。

进而本研究还发现 SLP-2 敲低后，蜕膜化标志物 IGFBP1 和 PRL 表达明显下调，显示 SLP-2 与T-HESC 细胞的分化相关。目前，关于 SLP-2 与细胞分化相关性的研究仅在 T 细胞的激活中有报道[25]，SLP-2 对其他细胞分化的影响有待进一步探索。此外，SLP-2 是目前已发现的线粒体中的重要功能基因[13]，该基因是否通过线粒体途径及相关信号通路而影响子宫内膜基质细胞的增殖和分化，都有待进一步研究。

参　考　文　献

[1] Gurunath S, Pandian Z, Anderson RA, et al. Defining infertility--a systematic review of prevalence studies[J]. Hum Reprod Update, 2011, 17(5): 575-588.

[2] Dey SK, Lim H, Das SK, et al. Molecular cues to implantation[J]. Endocr Rev, 2004, 25(3): 341-373.

[3] Ramathal CY, Bagchi IC, Taylor RN, et al. Endometrial decidual-

ization:of mice and men[J]. Seminars Reprod Med,2010,28(1):17-26.

[4] 韩丙辰,杨增明. 子宫内膜蜕膜化的特征及其调节因素[J]. 中国细胞生物学学报,2007,29(5):666-670.

[5] Bany BM,Cross JC. Post-implantation mouse conceptuses produce paracrine signals that regulate the uterine endometrium undergoing decidualization[J]. Dev Biol,2006,294(2):445-456.

[6] Wang Q,Lu J,Zhang S,et al. Wnt6 is essential for stromal cell proliferation during decidualization in mice[J]. Biol Reprod,2013,88(1):5.

[7] Reese J,Binart N,Brown N,et al. Implantation and decidualization defects in prolactin receptor (PRLR)-deficient mice are mediated by ovarian but not uterine PRLR[J]. Endocrinology,2000,141(5):1872-1881.

[8] Wang Y,Morrow JS. Identification and characterization of human SLP-2,a novel homologue of stomatin (band 7.2b) present in erythrocytes and other tissues[J]. J Biol Chem,2000,275(11):8062-8071.

[9] Li T,Liang Z,Singanallur JV,et al. Reconstruction for proton computed tomography by tracing proton trajectories:a Monte Carlo study[J]. Med Phy,2006,33(3):699-706.

[10] Owczarek CM,Treutlein HR,Portbury KJ,et al. A novel member of the STOMATIN/EPB72/mec-2 family,stomatin-like 2(STOML2),is ubiquitously expressed and localizes to HSA chromosome 9p13.1[J]. Cytogenet Cell Genet,2001,92(3-4):196-203.

[11] Christie DA,Kirchhof MG,Vardhana S,et al. Mitochondrial and plasma membrane pools of stomatin-like protein 2 coalesce at the immunological synapse during T cell activation[J]. PLoS One,2012,7(5):e37144.

[12] Christie DA,Mitsopoulos P,Blagih J,et al. Stomatin-like protein 2 deficiency in T cells is associated with altered mitochondrial respiration and defective CD4$^+$ T cell responses[J]. J Immunol,2012,189(9):4349-4360.

[13] Mitsopoulos P,Chang YH,Wai T,et al. Stomatin-like protein 2 is required for in vivo mitochondrial respiratory chain supercomplex formation and optimal cell function[J]. Mol Cell Biol,2015,35(10):1838-1847.

[14] Feng WQ,Cui ZM,Feng FZ,et al. Expression of SLP-2 mRNA in endometrial cancer and its significance[J]. Chinese Journal of Obstetrics and Gynecology,2005,40(8):553-557.

[15] Cao WF,Zhang LY,Liu MB,et al. Prognostic significance of stomatin-like protein 2 overexpression in laryngeal squamous cell carcinoma:clinical,histologic,and immunohistochemistry analyses with tissue microarray[J]. Hum Pathol,2007,38(5):747-752.

[16] Zhang L,Ding F,Cao W,et al. Stomatin-like protein 2 is overexpressed in cancer and involved in regulating cell growth and cell adhesion in human esophageal squamous cell carcinoma[J]. Clin Cancer Res,2006,12(5):1639-1646.

[17] Wang Y,Cao W,Yu Z,et al. Downregulation of a mitochondria associated protein SLP-2 inhibits tumor cell motility,proliferation and enhances cell sensitivity to chemotherapeutic reagents[J]. Cancer Biol Ther,2009,8(17):1651-1658.

[18] Gajbhiye R,Sonawani A,Khan S,et al. Identification and validation of novel serum markers for early diagnosis of endometriosis[J].Hum Reprod,2012,27(2):408-417.

[19] Tan Y,Li M,Cox S,et al.HB-EGF directs stromal cell polyploidy and decidualization via cyclin D3 during implantation[J]. Dev Biol,2004,265(1):181-195.

[20] 张芳婷,宋天保,王介东. 人子宫内膜基质细胞和腺体细胞的分离培养及鉴定[J]. 解剖学报,2001,23(3):238-240.

[21] Tang L,Zhang Y,Pan H,et al. Involvement of cyclin B1 in progesterone-mediated cell growth inhibition,G2/M cell cycle arrest,and apoptosis in human endometrial cell[J]. Reprod Biol Endocrinol,2009,7:144.

[22] Ono YJ,Terai Y,Tanabe A,et al. Decorin induced by progesterone plays a crucial role in suppressing endometriosis[J]. J Endocrinol,2014,223(2):203-216.

[23] Stewart GW,Hepworth-Jones BE,Keen JN,et al. Isolation of cD NA coding for an ubiquitous membrane protein deficient in high Na^+,low K^+ stomatocytic erythrocytes[J]. Blood,1992,79(6):1593-1601.

[24] Sroga JM,Gao F,Ma X,et al. Overexpression of cyclin D3 improves decidualization defects in Hoxa-10(-/-) mice[J]. Endocrinology,2012,153(11):5575-5586.

[25] Kirchhof MG,Chau LA,Lemke CD,et al. Modulation of T cell activation by stomatin-like protein 2[J]. J Immunol,2008,181(3):1927-1936.

（责任编辑:张辉洁）