生殖生理与胚胎着床 DOI:10.13406/j.cnki.cyxb.001342

γ－氨基丁酸通过其 B 受体影响小鼠植入前胚胎的发育

田 娜，曹 科，杨根岭，陈文豪，王晓杰，张 倩，谭 毅，谭冬梅
（重庆医科大学实验动物中心，重庆 400010）

【摘 要】**目的**：探讨 γ-氨基丁酸（γ- aminobutyric acid，GABA）对小鼠植入前胚胎发育的影响及其机制。**方法**：①收集不同发育阶段的小鼠植入前胚胎，通过激光共聚焦检测 GABA 及其 B 受体 B1 亚基（B receptor B1 subunit，GB1）、A 受体 pi 亚基（A receptor pi subunit，GABRP）以及 GABA 合成酶（L-glutamate decarboxylase，GAD67）的表达。②不同发育阶段的胚胎分别培养在含 10，20，30，40，50 μg/μL GABA 和 40 μmol/L B 型受体抑制剂（3-Amino-2-(4-chlorophenyl)-2-hydroxypropanesulfonic acid，2-hydroxysaclofen）的培养液中，48~72 h 时观察囊胚的形成并计算囊胚形成率。**结果**：①GABA 与其受体 GB1 蛋白在小鼠胚胎中的表达模式一致，在 2-细胞和 4-细胞阶段，主要表达在细胞膜上，而在 8-细胞至囊胚阶段，则转移到细胞核中表达；而另一受体 GABRP 在植入前胚胎的各个阶段均不表达。GAD67 在胚胎发育的各个阶段均有表达。②各发育阶段胚胎的囊胚形成率均随着 GABA 浓度的增加而下降，且呈剂量依赖性；10 μg/μL GABA 可显著降低 2-细胞胚胎的囊胚形成率（92% vs. 99%，χ^2=5.70，P=0.035）。③40 μmol/L 2-hydroxysaclofen 能够有效逆转 30 μg/μL 和 40 μg/μL GABA 对囊胚形成的抑制作用（99% vs. 45%，χ^2=72.32，P=0.000；99% vs. 4%，χ^2=180.66，P=0.000）。**结论**：GABA 通过其 B 受体抑制小鼠植入前胚胎的发育。

【关键词】γ-氨基丁酸；植入前胚胎；2-hydroxysaclofen；囊胚形成
【中图分类号】Q954.4 【文献标志码】A 【收稿日期】2017-04-11

γ-aminobutyric acid could affect the development of preimplantation embryos through its B-type receptor in mice

Tian Na，Cao Ke，Yang Genling，Chen Wenhao，Wang Xiaojie，Zhang Qian，Tan Yi，Tan Dongmei
（*Laboratory Animal Center，Chongqing Medical University*）

【Abstract】***Objective***：To investigate the effects and possible mechanisms of γ- aminobutyric acid（GABA）on preimplantation embryo development in mice. ***Methods***：①The embryos at different development stages were collected and the localization of GABA，B-type receptor protein（GB1），the π subunit of A-type receptor（GABRP），and L-glutamic acid decarboxylase 67（GAD67）was detected by immunofluorescence staining. ②The embryos at different development stages were cultured in vitro in KSOM medium containing 10，20，30，40，or 50 μg/μL GABA and 40 μmol/L 2-hydroxysaclofen（GABA B-type receptor antagonist ）for 48-72 h，respectively，and blastocyst formation rate was counted. ***Results***：①GABA and GB1 are mainly expressed in the membranes of 2-cell and 4-cell embryos，while in the 8-cell to blastocyst stages，they are localized in the nucleus. However，GABRP was not detected in preimplantation embryos at any stage. In addition，GAD67，a key GABA synthetase，was mainly localized in the cytoplasm in preimplantation embryos. ②The blastocyst formation rate of each development stage was significantly declined in a dose-dependent manner. In addition，the blastocyst formation rate of 2-cell embryos stage was remarkably inhibited by 10 μg/μL GABA（92% vs. 99%，χ^2=5.70，P=0.035）. ③40 μmol/L 2-hydroxysaclofen could effectively reverse the inhibitory effect of 30 μg/μL and 40 μg/μL GABA on blastocyst formation（99% vs. 45%，χ^2=72.32，P=0.000；99% vs. 4%，χ^2=180.66，P=0.000）. ***Conclusion***：GABA could affect the development of preimplantation embryos through its B-type receptor in mice.

【Key words】γ-aminobutyric acid；preimplantation embryo；2-hydroxysaclofen；blastocyst formation

作者介绍：田 娜，Email：632882341@qq.com，
研究方向：早期胚胎发育。
通信作者：谭冬梅，Email：dongmei_tan@yeah.net。
基金项目：国家自然科学基金面上资助项目（编号：31601206，31171436）。
优先出版：http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.r.20170626.1141.006.html
（2017-06-26）

哺乳动物授精后，受精卵经历一系列分裂和形态发生形成囊胚，参与母体子宫内膜的信息交流以启动胚胎植入[1]，任何一个影响囊胚形成和发育的有害因素均可引起胚胎植入失败，最终导致不育[2-3]。因此，胚胎的良好发育在植入中扮演着关键作用。

γ-氨基丁酸（γ- aminobutyric acid，GABA）是脊椎动物中枢神经系统主要的抑制性神经递质，是由谷氨酸通过谷氨酸脱羧酶 GAD 的脱羧作用生成[4]。GAD 有 GAD65 和 GAD67 两种亚型。研究显示，成年鼠大脑中 GABA 是由 GAD65 和 GAD67 均等合成，但在胎鼠和新生鼠大脑中，GABA 主要是由 GAD67 合成[5-6]。GABA 受体按照不同的药理作用可分为 A、B 和 C 3 种类型，其中 GABAA 受体、GABAC 受体属于离子通道型受体，而 GABAB 受体属于代谢型受体。功能性的 A 受体是由 5 个不同亚基构成的五聚体，迄今已发现至少有 21 个不同的亚基：6 种 α 亚基、4 种 β 亚基、4 种 γ 亚基、3 种 δ 亚基、1 种 ε 亚基和 π 亚基等，不同亚基组成的受体产生不同的生理学效应[7]。GABAB 受体属于 G 蛋白偶联受体，是由 GB1 和 GB2 两种亚基组成的异二聚体，GB1 比 GB2 更活跃[8]。GABAC 受体主要表达在视网膜上[9]。

在中枢神经系统，GABA 通常结合其相应的受体发挥生理作用[4]，如降血压、改善睡眠、提高记忆力[10-12]等。除此以外，GABA 还存在于多种外周组织，如小鼠子宫和胎盘[13-14]。GABA 信号通过下丘脑-垂体-性腺轴调节黄体生成素释放激素（luteinizing hormone releasing hormone，LHRH），黄体生成素（luteinizing hormone，LH）、催乳素（prolactin，PRL）、雌二醇（estradiol，E2）以及孕酮（progesterone，P4）的分泌[15-16]，本课题组前期研究证明 GABA 及其受体参与了小鼠子宫内膜的蜕膜化和胎盘形成[17-18]。

研究还发现 GABA 在大鼠输卵管中的浓度高达 4 438 nmol/g 新鲜组织，约是大脑含量的 2 倍[15,19]，此外，GABA 及其受体在小鼠妊娠 D_1~D_4 子宫组织中呈动态表达[20]，提示 GABA 可能在小鼠早期胚胎发育中扮演着重要的作用。因此，本研究以小鼠植入前胚胎为实验对象，首先通过激光共聚焦检测 GABA 及其受体、GAD67 在植入前胚胎中的表达；随后体外分别给予不同浓度 GABA 和受体抑制剂进行干预，探究 GABA 对小鼠植入前胚胎发育的影响及其可能的作用机制。

1 材料和方法

1.1 动物和试剂

25~30 g SPF 级性成熟雌性昆明小鼠（6~8 周龄）由重庆医科大学实验动物中心提供[生产许可证号：SCXK（渝）2012-0001，使用许可证号：SYXK（渝）2012-0001]。自由饮水与采食，昼夜照明为 12 h/12 h。实验所涉及的操作方案均通过重庆医科大学伦理委员会批准（伦理编号：2013039）。雌鼠于 17:00-19:00 腹腔注射 10 IU PMSG，48 h 后，腹腔注射 hCG（10 IU/只），与雄鼠按 2:1 合笼，次日上午 8:00 检查阴栓，有阴栓者记为妊娠 D1。

1.2 方法

1.2.1 免疫荧光检测 GABA、GABA 受体以及 GAD67 在植入前胚胎中的表达 分别于妊娠小鼠 D_2~D_4，收集 2-细胞至囊胚阶段的胚胎，置于 4%多聚甲醛室温固定 30 min，PBS（含 0.05%BSA）洗胚胎 3 次，每次 5 min；0.3% Triton X-100 在 37 ℃下渗透 40 min，山羊血清 37 ℃封闭 1 h；置于第一抗体 GB1（Ls-c120665，1:100 稀释）、GABRP（ab26055，1:100 稀释）、GAD67（ab80589，1:200 稀释）4 ℃孵育过夜。次日取出胚胎，PBS 洗 3 次，37 ℃下置于荧光二抗 DyLight549（A23320，1:200 稀释）液滴中避光孵育 2 h；PBS 洗 3 次，20 μg/μL DAPI 避光染核 40 min；随后甘油封片；在激光共聚焦显微镜下观察并拍照。所有的图像拍摄采用相同的设置参数，各组实验至少重复 3 次。

1.2.2 胚胎体外干预培养 通过冲小鼠输卵管和子宫，收集发育良好的不同发育阶段的胚胎于 KSOM 培养基中清洗 8~10 次，作如下处理：①GABA 处理：KSOM 培养基将 GABA（Sigma，A5835）配成浓度分别为 0、10、20、30、40、50 μg/μL 的处理液，在培养皿中制成 30 μL 的培养液滴，再覆盖一层无菌液体石蜡油，置于 37 ℃，5%CO_2 培养箱中平衡 2~4 h（n=100，即每个发育阶段每个处理浓度的胚胎数为 100 枚）。②40 μmol/L 2-hydroxysaclofen + 30/40 μg/μL GABA：40 μmol/L 2-hydroxysaclofen 预处理 2-细胞胚胎 1~2 h，再加入 30 或 40 μg/μL GABA 培养 48~72 h（n=100 枚/处理浓度）。采用微滴培养法进行胚胎体外培养，每个培养液滴放置 8~15 枚相同发育阶段的胚胎，置于 5% CO_2、37 ℃孵箱中培养 48~72 h，观察胚胎发育情况并计算囊胚形成率，囊胚形成率=（形成的囊胚数/总胚胎数）×100%。

1.3 统计学分析

实验数据采用 SPSS 17.0 软件进行统计分析，卡方检验分析不同组间囊胚形成率的差异。当率的理论频数小于 5 或总观测频数小于 40 时，采用连续性校正。检验水准 α=0.05。

2 结 果

2.1 GABA、GABA 受体以及 GAD67 在植入前胚胎中的表达

为了探究 GABA 在小鼠植入前胚胎中的表达情况，收集 2-细胞至囊胚阶段的小鼠胚胎并检测 GABA 及其受体以及 GAD67 的表达。如图 1A、B 所示：GABA 与其 B 型受体蛋白 GB1 在胚胎中的表达模式一致，在 2-细胞和 4-细胞胚胎阶段，主要表达于细胞膜；在 8-细胞至囊胚阶段，则转移到细胞核中表达。然而，GABRP 在胚胎发育的任何阶段均不表达（该图未提供）。

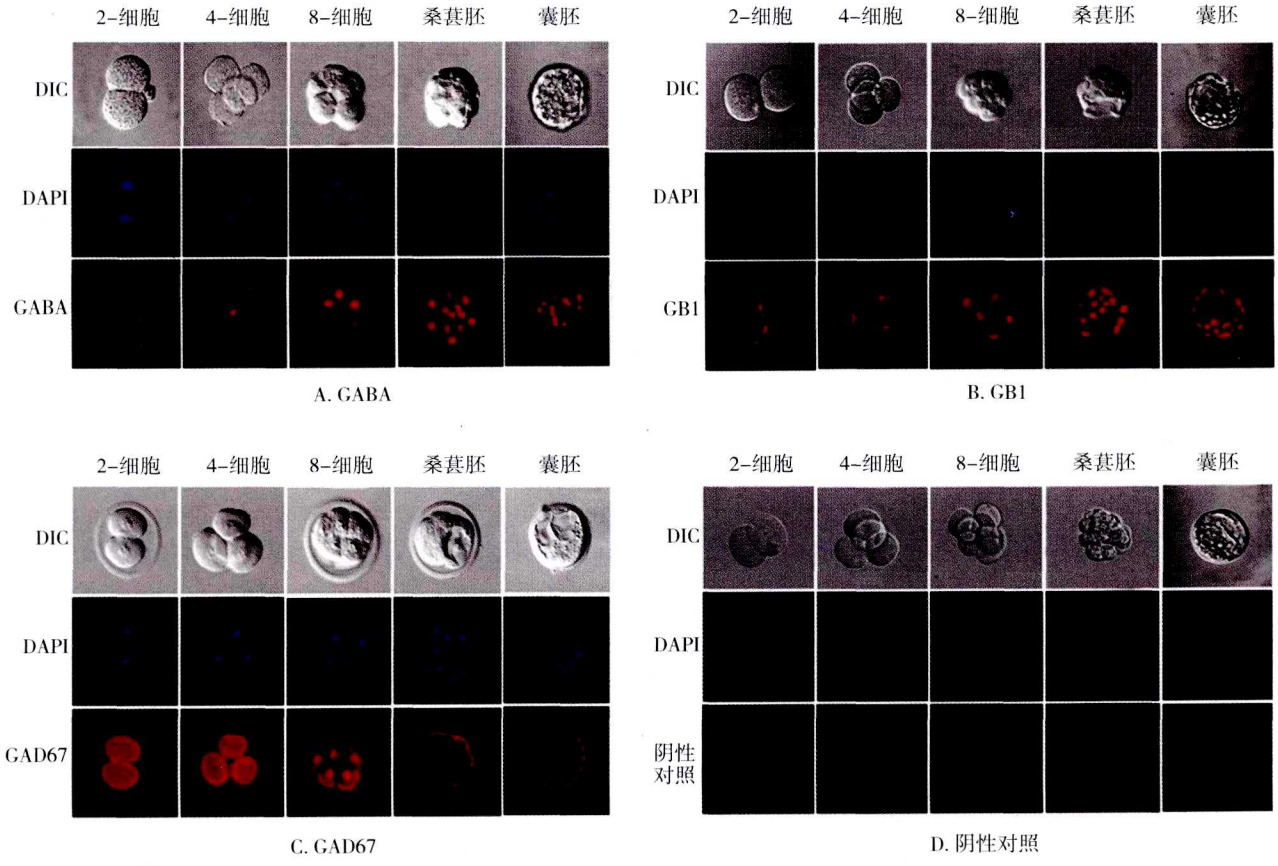
为探究胚胎中 GABA 的来源，本研究检测了胚胎中 GABA 合成酶 GAD67 的表达（如图 1C 所示）：在 2-细胞至 8-细胞胚胎阶段，GAD67 主要在细胞质和细胞核中表达，而在桑葚胚至囊胚阶段，则主要在细胞质表达。图 1D 为阴性对照，即第一抗体被同种来源的血清所替代。

2.2 GABA 抑制小鼠植入前胚胎的发育

不同发育阶段的胚胎被分别培养在含 0、10、20、30、40、50 μg/μL GABA 培养基中，观察囊胚形成情况。研究发现：囊胚形成率随着 GABA 浓度的增加而下降，呈剂量依赖性，且不同发育阶段的胚胎对 GABA 的敏感性也不同，如表 1 和图 2所示：在 2-细胞胚胎阶段，与对照组比较，10 μg/μL GABA 可导致囊胚形成率明显下降（χ^2=5.700，P=0.035），当 GABA 浓度达到 50 μg/μL 时，胚胎发育被完全抑制。在 4-细胞/8-细胞阶段，胚胎在 20 μg/μL GABA 浓度组开始出现抑制现象（χ^2=9.950，P=0.002；χ^2=8.860，P=0.005，与对照组比较）；在桑葚胚阶段，胚胎则在 30 μg/μL GABA 浓度组开始出现抑制（χ^2=7.254，P=0.021，与对照组比较），然而 10 μg/μL GABA 并不影响这 3 个阶段胚胎的正常发育。

2.3 GABA 通过其 B 型受体影响小鼠植入前胚胎的发育

结果（图 3）表明，GABA 及其 B 受体动态表达于小鼠植入前胚胎中，并且 GABA 能够明显抑制植入前胚胎发育。为了阐明 GABA 可能的作用机制，本研究用 40 μmol/L 2-hydroxysaclofen 先预处理 2-细胞胚胎 1~2 h，再分别加入 30 μg/μL 和 40 μg/μL GABA 处理，结果发现：抑制 B 受体后，GABA 对胚胎发育的抑制效应均被消除，2 组的囊胚形成率均达



DIC：微分干涉，用于观察胚胎的形态；红色荧光：目的蛋白与 DyLight549 结合后的信号表达；蓝色荧光：DAPI 核染

图 1 激光共聚焦检测 GABA、GABA 受体以及 GAD67 在小鼠植入前胚胎中的表达(600 ×)

Fig.1 Expression of GABA and its receptor in mouse preimplantation embryos by laser confocal microscopy (600 ×)

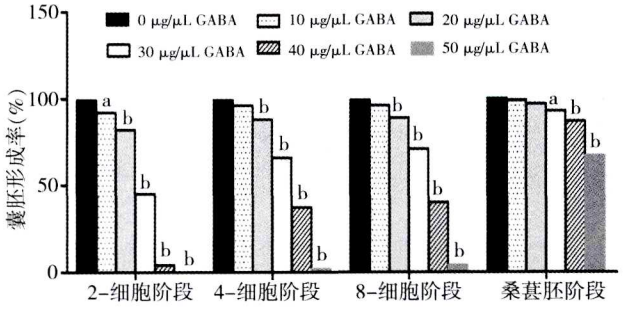
99%，较 30 和 40 μg/μL GABA 单独处理组，差异均有统计学意义（99% vs. 45%，χ^2=72.320，P=0.000；99% vs. 4%，χ^2=180.660，P=0.000）。

表 1 GABA 对不同发育阶段胚胎体外发育的影响(枚)

Tab.1 Effects of GABA on preimplantation embryos at different development stages in vitro（n）

处理组（μg/μL GABA）	各发育阶段的胚胎总数	形成的囊胚数			
		2-细胞阶段	4-细胞阶段	8-细胞阶段	桑葚胚
0	100	99	99	99	100
10	100	92	96	96	99
20	100	82	88	89	97
30	100	45	66	71	93
40	100	4	37	40	84
50	100	0	2	4	67
χ^2 值	/	99.17	32.93	28.58	13.33
P 值	/	0.000	0.000	0.000	0.001

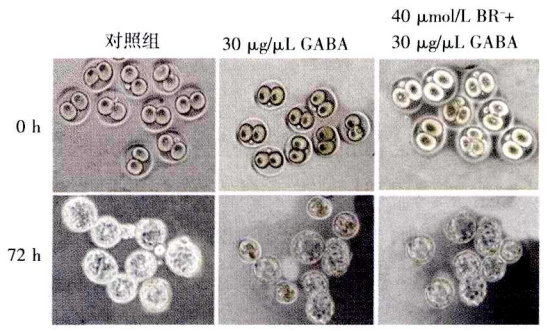
注：2-细胞阶段：10 μg/μL GABA 组 vs. 0 μg/μL GABA 组，χ^2=5.700，P=0.035；20 μg/μL GABA 组 vs. 0 μg/μL GABA 组，χ^2=16.80，P=0.000；30 μg/μL GABA 组 vs. 0 μg/μL GABA 组，χ^2=72.320，P=0.000；40 μg/μL GABA 组 vs. 0 μg/μL GABA 组，χ^2=180.660，P=0.000；50 μg/μL GABA组 vs. 0 μg/μL GABA 组，χ^2=196.04，P=0.000；4-细胞阶段：20 μg/μL GABA 组 vs. 0 μg/μL GABA 组，χ^2=9.950，P=0.002；30 μg/μL GABA 组 vs. 0 μg/μL GABA 组，χ^2=37.710，P=0.000；40 μg/μL GABA 组 vs. 0 μg/μL GABA 组，χ^2=88.330，P=0.000；50 μg/μL GABA 组 vs. 0 μg/μL GABA 组，χ^2=188.190，P=0.000；8-细胞阶段：20 μg/μL GABA 组 vs. 0 μg/μL GABA 组，χ^2=8.860，P=0.005；30 μg/μL GABA 组 vs. 0 μg/μL GABA 组，χ^2=30.740，P=0.000；40 μg/μL GABA 组 vs. 0 μg/μL GABA 组，χ^2=82.11，P=0.000；50 μg/μL GABA 组 vs. 0 μg/μL GABA 组，χ^2=180.670，P=0.000；桑葚胚阶段：30 μg/μL GABA 组 vs. 0 μg/μL GABA 组，χ^2=7.254，P=0.021；40 μg/μL GABA 组 vs. 0 μg/μL GABA 组，χ^2=17.390，P=0.000；50 μg/μL GABA 组 vs. 0 μg/μL GABA 组，χ^2=39.500，P=0.000



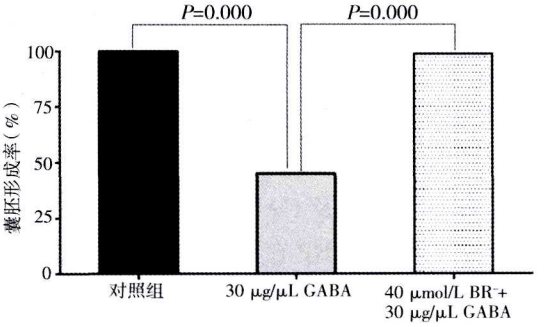
a：与对照组比较，P < 0.05；b：与对照组比较，P < 0.01

图 2 GABA 处理后小鼠囊胚形成率

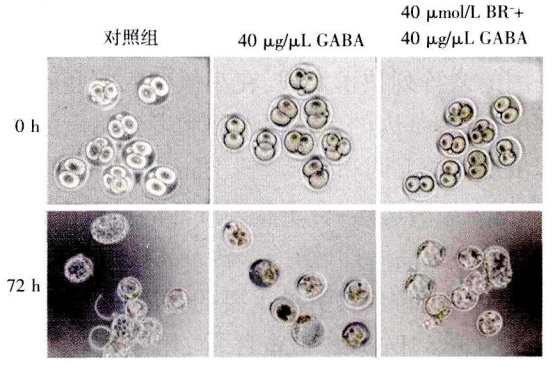
Fig.2 Bar chart illustrating the effect of GABA on blastocyst formation rate



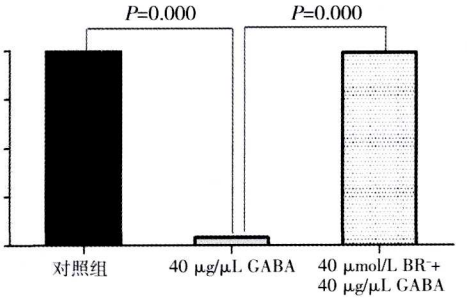
A. 30 μg/μL GABA 和 40 μmol/L 2-hydroxysaclofen 处理后的胚胎显微观察图



B. 30 μg/μL GABA 和 40 μmol/L 2-hydroxysaclofen 处理后囊胚形成率条形图



C. 40 μg/μL GABA 和 40 μmol/L 2-hydroxysaclofen 处理后的胚胎显微观察图



D. 40 μg/μL GABA 和 40 μmol/L 2-hydroxysaclofen 处理后囊胚形成率条形图

图 3 GABA 和 B 受体抑制剂 2-hydroxysaclofen 对植入前胚胎发育的影响

Fig.3 Effects of GABA and 2-hydroxysaclofen on preimplantation embryo development

3 讨 论

妊娠失败是目前临床生殖领域所面临的一个严重问题，成功的妊娠始于良好发育的胚胎并成功植入。小鼠妊娠 D_1~D_3 时，胚胎在输卵管中逐步发育，妊娠 D_4 转移到子宫，并发育为具有植入能力的囊胚，等待着床。因此，着床前的胚胎发育对胚胎的成功植入至关重要。

尽管 GABA 在小鼠输卵管液中的生理浓度目前仍然是未知的，但其在输卵管组织中的含量远远高于大脑，提示其可能在早期胚胎发育过程中至关重要。在本研究中，为了阐明 GABA 在植入前胚胎发育中的可能作用，首先通过激光共聚焦探究了 GABA、GABA 受体以及 GAD67 在植入前胚胎中的表达。结果表明 GABRP 在植入前胚胎发育的任何阶段均不表达；GABA 和 GB1 在植入前胚胎中的表达模式相同，在 2-细胞至 4-细胞阶段，主要表达在细胞膜，而 8-细胞至囊胚阶段则主要表达在细胞核中，但 GABA 信号的核易位原因目前尚不明确。应用基因的微阵列技术发现，在小鼠植入前胚胎发育过程中，某些基因的表达根据胚胎发育阶段的不同呈现出规律的上调和下调[21-23]。Hamatani 等[24]研究显示，胚泡在经历母体-合子基因激活的过程中出现 2 个主要的转录高峰期。第一个转录高峰期发生在 2-细胞期至 4-细胞期，引导重要的基因程序重组，包括 Gdf3、Cbx8、Dppa2 和 Mcl1 等；第二个高峰期被称为“植入前中期基因激活期”，发生于桑葚胚向囊胚转化之前，于 8-细胞期达到峰值。该期与分裂球极化和致密化过程中所涉及的细胞间粘附分子的表达有关。因此，推测 GABA 的核易位可能参与基因表达的转录调控。此外，检测发现 GABA 合成酶，GAD67 表达于植入前胚胎发育的任何阶段，因此，推测植入前胚胎中的 GABA 可能是由胚胎自身所合成的。

随后，本研究探讨了 GABA 在早期胚胎发育中的功能，发现一定浓度的 GABA 能显著抑制胚胎体外发育，并且呈剂量依赖性。而且较低浓度的GABA（10 μg/μL）能明显抑制 2-细胞胚胎的体外发育，但不影响其他阶段胚胎的正常发育，提示 2-细胞胚胎对 GABA 的敏感程度高于其他阶段胚胎。“2-细胞阻滞”是胚胎在体外发育过程中的常见现象[25]。在小鼠，授精启动卵母细胞内转录物的降解，并且到 2-细胞期时已完成 90%的降解[26]，此时来自受精卵基因组的转录开始启动，即所谓的合子基因组激活，将承担起胚泡持续发育所需的基因表达，这可能是 2-细胞胚胎对外界刺激更敏感的原因。

在中枢神经系统，GABA 通过结合到相应的受体发挥生理作用。本研究发现 GABA 及其 B 受体蛋白 GB1 动态表达于植入前胚胎，推测 GABA 可能通过其 B 受体发挥作用。随后，根据预实验筛选的最佳剂量，2-细胞胚胎用 40 μmol/L GABA B 受体抑制剂 2-hydroxysaclofen 预处理 1~2 h，然后再分别加入 30 μg/μL 和 40 μg/μL GABA 培养 48~72 h，结果显示，40 μmol/L 2-hydroxysaclofen 能够有效消除 GABA 对胚胎发育的抑制作用，证实 GABA 通过其 B 受体发挥作用。

综上所述，本研究首次发现了 GABA 及其受体在小鼠植入前胚胎中的表达模式，明确了 GABA 通过其 B 受体抑制植入前胚胎发育，并且呈剂量依赖效应，这些发现有利于更好地理解 GABA 在胚胎发育过程中的作用，为 GABA 在生殖领域的应用研究提供了新的基础资料。

参 考 文 献

[1] Red-Horse K, Zhou Y, Genbacev O, et al. Trophoblast differentiation during embryo implantation and formation of the maternal-fetal interface[J]. J Clin Invest, 2004, 114(6): 744-754.

[2] Nakasuji T, Saito H, Araki R, et al. Validity for assisted hatching on pregnancy rate in assisted reproductive technology: analysis based on results of Japan Assisted Reproductive Technology Registry System 2010[J]. J Obstet Gynaecol Res, 2014, 40(6): 1653-1660.

[3] Wu D, Huang SY, Wu HM, et al. Monozygotic twinning after in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection treatment is not related to advanced maternal age, intracytoplasmic sperm injection, assisted hatching, or blastocyst transfer[J]. Taiwan J Obstet Gynecol, 2014, 53(3): 324-329.

[4] Watanabe M, Maemura K, Kanbara K, et al. GABA and GABA receptors in the central nervous system and other organs[J]. Int Rev Cytol, 2002, 213: 1-47.

[5] Asada H, Kawamura Y, Maruyama K, et al. Mice lacking the 65 kDa isoform of glutamic acid decarboxylase (GAD65) maintain normal levels of GAD67 and GABA in their brains but are susceptible to seizures[J]. Biochem Biophys Res Commun, 1996, 229(3): 891-895.

[6] Asada H, Kawamura Y, Maruyama K, et al. Cleft palate and decreased brain γ-aminobutyric acid in mice lacking the 67-kDa isoform of glutamic acid decarboxylase[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1997, 94(12): 6496-6499.

[7] Neelands TR, Macdonald RL. Incorporation of the pi subunit into functional gamma-aminobutyric Acid(A) receptors[J]. Mol Pharmacol, 1999, 56(3): 598-610.

[8] Baloucoune GA, Chun L, Zhang W, et al. GABAB receptor subunit GB1 at the cell surface independently activates ERK1/2 through IGF-1R transactivation[J]. PLoS One, 2012, 7(6): e39698.

[9] Roberts SS, Mendona-Torres MC, Jensen K, et al. GABA receptor expression in benign and malignant thyroid tumors[J]. Pathol Oncol Res, 2009, 15(4): 645-650.

[10] Ezenwanne EB. Current Concepts in the neurophysiologic basis of sleep: a review[J]. Ann Med Health Sci Res, 2011, 1(2): 173-179.

[11] Gilhotra N, Dhingra D. Thymoquinone produced antianxiety-like effects in mice through modulation of GABA and NO levels[J]. Pharmacol Rep, 2011, 63(3): 660-669.

[12] Li X, Kaczanowska K, Finn MG, et al. The GABA(B) receptor positive modulator BHF177 attenuated anxiety, but not conditioned fear, in rats[J]. Neuropharmacology, 2015, 97: 357-364.

[13] Calver AR, Medhurst AD, Robbins MJ, et al. The expression of GABA(B1) and GABA(B2) receptor subunits in the cNS differs from that in peripheral tissues[J]. Neuroscience, 2000, 100(1): 155-170.

[14] Young SZ, Bordey A. GABA's control of stem and cancer cell proliferation in adult neural and peripheral niches[J]. Physiology(Bethesda), 2009, 24: 171-185.

[15] Majewska MD, Vaupel DB. Steroid control of uterine motility via gamma-aminobutyric acidA receptors in the rabbit: a novel mechanism? [J]. J Endocrinol, 1991, 131(3): 427-434.

[16] Maffucci JA, Gore AC. Chapter 2: hypothalamic neural systems controlling the female reproductive life cycle gonadotropin-releasing homone, glutamate, and GABA[J]. Int Rev Cell Mol Biol, 2009, 274: 69-127.

[17] Luo W, Liu Z, Tan D, et al. Gamma-amino butyric acid and the A-type receptor suppress decidualization of mouse uterine stromal cells by down-regulating cyclin D3[J]. Mol Reprod Dev, 2013, 80(1): 59-69.

[18] 罗文萍，谭冬梅，谭 毅，等. γ-氨基丁酸信号对小鼠胎盘早中期建立的影响[J]. 生物化学与生物物理进展，2012，39(12)：1207-1214.

[19] Erdö SL, Rosdy B, Szporny L. Higher GABA concentrations in fallopian tube than in brain of the rat[J]. J Neurochem, 1982, 38(4): 1174-1176.

[20] 刘真真. GABA 信号在妊娠小鼠子宫的表达及功能初探[D]. 重庆：重庆医科大学，2011.

[21] Hamatani T, Daikoku T, Wang H, et al. Global gene expression analysis identifies molecular pathways distinguishing blastocyst dormancy and activation[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2004, 101(28): 10326-10331.

[22] Zeng F, Baldwin DA, Schultz RM. Transcript profiling during *preimplantation mouse development*[J]. Dev Biol, 2004, 272(2): 483-496.

[23] Wang QT, Piotrowska K, Ciemerych MA, et al. A genome-wide study of gene activity reveals developmental signaling pathways in the preimplantation mouse embryo[J]. Developmental Cell, 2004, 6(1): 133-144.

[24] Hamatani T, Carter MG, Sharov AA, et al. Dynamics of global gene expression changes during mouse preimplantation development[J]. Dev Cell, 2004, 6(1): 117-131.

[25] Agca C, Agca Y. Molecular and ultrastuctural changes of rat preimplantation embryos during two-cell developmental arrest[J]. J Assist Reprod Genet, 2014, 31(6): 767-780.

[26] Kaneko KJ, Depamphilis ML. Regulation of Gene Expression at the beginning of mammalian development and the TEAD family of transcription factors[J]. Dev Genet, 1998, 22(1): 43-55.

（责任编辑：张辉洁）