

电针对控制性超排卵小鼠子宫内膜同源盒基因 A10 表达时相的影响

张磊¹, 刘杰², 张英¹, 王芳¹, 李长雷¹, 刘骥才¹, 刘小亚¹, 付艾妮¹, 游俊¹, 朱书秀¹

(1. 江汉大学医学院, 武汉 430056; 2. 湖北省妇幼保健院, 武汉 430070)

【摘要】 目的 观察电针对控制性超排卵 (COH) 小鼠子宫内膜同源盒基因 A10 (HOXA10) 表达时相的影响, 探讨电针提高体外受精-胚胎移植 (IVF-ET) 临床妊娠率的作用机制。方法 共有 150 只雌性和 80 只雄性小鼠, 取 50 只雌性鼠为自然周期组, 剩余 100 只雌鼠制备 COH 模型并随机分为 COH 组 (50 只) 和电针组 (50 只)。各组内再根据妊娠天数分为 D2、D3、D4、D5 和 D6 共 5 个小组, 每小组 10 只。取 D6 小组小鼠子宫, 观察妊娠率及平均着床位点数; 取 D2、D3、D4 和 D5 小组子宫内膜, 采用 Western blot 和 RT-PCR 技术检测 HOXA10、整合素 $\alpha v \beta 3$ 和白白血病抑制因子 (LIF) 蛋白及 mRNA 的表达。结果 COH 组妊娠率较自然周期组低, 子宫内膜 HOXA10、整合素 $\alpha v \beta 3$ 和 LIF 表达峰值前移, D3 小组高于 D2、D4、D5 小组 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。经电针治疗后, HOXA10、整合素 $\alpha v \beta 3$ 和 LIF 表达峰值恢复至受孕第 4 天, 较 COH 组推迟, 临床妊娠率有增高趋势。结论 电针调控 COH 小鼠子宫内膜 HOXA10 的表达时相, 恢复正常种植窗期, 是电针提高 IVF-ET 临床妊娠率的作用机制之一。

【关键词】 电针; 控制性超排卵; 同源盒基因 A10; 子宫内膜; 妊娠; 小鼠; 辅助生殖技术

【中图分类号】 R2-03 **【文献标志码】** A

DOI: 10.13460/j.issn.1005-0957.2021.02.0213

Effect of Electroacupuncture on the Expression Phase of Endometrial Homologous Box Gene A10 in Mice with Controlled Ovarian Hyperstimulation ZHANG Lei¹, LIU Jie², ZHANG Ying¹, WANG Fang¹, LI Chang-lei¹, LIU Ji-cai¹, LIU Xiao-ya¹, FU Ai-ni¹, YOU Jun¹, ZHU Shu-xiu¹. 1.School of medicine, Jianghan University, Wuhan 430065, China; 2.Hubei Maternal and Child Health Hospital, Wuhan 430070, China

[Abstract] Objective To investigate the effect of electroacupuncture on the expression phase of endometrial homologous box gene A10 (HOXA10) in mice with controlled ovarian hyperstimulation (COH) and explore the mechanism of action by which electroacupuncture increases the clinical pregnancy rate after in vitro fertilization-embryo transfer (IVF-ET). **Method** Of a total of 150 female and 80 male mice, 50 female mice constituted a natural cycle group and the remaining 100 female mice were used to make the COH models and randomized to a COH group (50 mice) and an electroacupuncture group (50 mice). According to the days of pregnancy, each group was again divided into 5 subgroups, D2, D3, D4, D5 and D6, 10 mice in each subgroup. In the D6 subgroup of mice, the uterus was taken to observe the average number of embryo implantation sites. In the D2, D3, D4 and D5 subgroups of mice, the endometrium was taken and the expressions of HOXA10, integrin $\alpha v \beta 3$, and leukemia inhibitory factor (LIF) protein and mRNA were determined by Western blot and RT-PCR. **Result** The pregnancy rate was lower in the COH group than that in the natural cycle group. The expression peaks of endometrial HOXA10, integrin $\alpha v \beta 3$ and LIF shifted forward in the COH group compared with the natural cycle group and were higher in the D3 subgroup than in the D2, D4 and D5 subgroups ($P < 0.05$, $P < 0.01$). After electroacupuncture treatment, the expression peaks of HOXA10, integrin $\alpha v \beta 3$ and LIF returned to the fourth day of pregnancy and delayed compared with the

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (81674060); 江汉大学省内特色学科提升项目 (03100041)

作者简介: 张磊 (1991—), 男, 助教, 硕士, Email: 872919691@qq.com

通信作者: 朱书秀 (1973—), 男, 教授, 博士, Email: 513641769@qq.com

COH group, and the clinical pregnancy rate had an increasing trend. **Conclusions** Electroacupuncture regulates the expression phase of endometrial HOXA10 and restores the normal implantation window period, which is one of the mechanisms of action of electroacupuncture for increasing the clinical pregnancy rate after IVF-ET.

[Key words] Electroacupuncture; Controlled ovarian hyperstimulation; Endometrial homologous box gene A10; Endometrium; Pregnancy; Mice; Assisted reproductive technique

正常子宫内膜仅在一个极短的时期内允许胚胎着床,即“种植窗期”,一般在排卵后6~9 d开放,持续1~2 d^[1]。在体外受精-胚胎移植(in vitro fertilization and embryo transfer, IVF-ET)治疗不孕症时,控制性超排卵(controlled ovarian hyperstimulation, COH)可获取多个卵泡,同时也出现了高雌激素和高孕激素现象^[2],导致子宫内膜提早发育成熟,卵子与子宫内膜发育不同步,出现妊娠率低。子宫内膜同源盒基因 A10(HOXA10)对子宫内膜的发育进行着精密的时空调节^[3],在细胞增殖和胚胎着床方面起着重要作用。针灸治疗不孕症历史悠久,大量临床报道也证实了针灸治疗对不孕症有理想疗效^[4-5]。近年来,国内外开展了大量研究,综合其作用机制为调节下丘脑-垂体-卵巢轴的功能^[6],改善卵巢供血及促进卵子的成熟、排出^[7-8],改善子宫内膜容受性^[9-10],调节血清雌孕激素水平^[11]。本研究通过观察不同妊娠天数小鼠子宫内膜的HOXA10、整合素 $\alpha\beta 3$ 及白血病抑制因子(LIF)蛋白及 mRNA 的表达变化,来探讨电针提高 IVF-ET 临床妊娠率的可能机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

昆明纯种性成熟小鼠,SPF级,8周龄,体质量30~35 g,其中雌鼠150只,雄鼠80只(用于交配),由武汉春玉红实验动物饲料有限公司提供(动物合格证号42000600023408)。将小鼠置于室温18℃~22℃、相对湿度60%~80%的环境中,自由摄食、饮水。取50只雌鼠为自然周期组,剩余100只雌鼠制备COH模型并随机分为COH组(50只)和电针组(50只)。各组内再根据妊娠天数分为D2、D3、D4、D5和D6小组,每小组10只。实验过程中对动物的处置符合2006年科技部发布的《关于善待实验动物的指导性意见》的规定^[12]。

1.2 主要试剂与仪器

曲普瑞林(法国益普生生物制药有限公司);孕马血清促性腺激素(宁波三生药业有限公司);绒促性素

(HCG,丽珠集团丽珠制药厂);Trizol(美国 Ambion 公司);cDNA 第一链合成试剂盒(立陶宛 Fermentas 公司);HOXA10 抗体(美国 GeneTex 公司);整合素 $\alpha\beta 3$ 抗体(美国 Abcam 公司);LIF 抗体(中国台湾 Origo 公司);Western-blot 主要试剂购自碧云天公司。PCR 仪(东胜创新生物科技有限公司,EDC-810);荧光定量 PCR 仪(美国 ABI 公司,QuantStudio 6);酶标仪(美国 Thermo 公司,mu1ISKANMK3);水平电泳仪(北京君意东方电泳设备有限公司,JY300);韩氏电针仪(HANS-100A,南京济生医疗科技有限公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 模型制备方法

采用控制性超促排方案制备 COH 小鼠模型^[13]。每天上午腹腔内注射曲普瑞林(每 100 g 体质量注射 0.4 μg),连续 9 d;第 9 天同时注射孕马血清促性腺激素(每 100 g 体质量注射 40 U)1 次,进行 Gn 启动;48 h 后注射人绒毛膜促性腺激素(HCG,每 100 g 体质量注射 100 U),与雄鼠合笼。

1.3.2 电针干预

取关元、中极和三阴交(双),采用 0.16 mm \times 7 mm 美容针灸针,进针深度 2 mm,关元和中极分别接韩氏电针仪两极。连续波,频率 2 Hz,强度 1 mA,留针 15 min。于 HCG 注射日开始治疗,至取材日停止。仅电针组行电针干预,自然周期组和 COH 组小鼠不行电针治疗。

1.3.3 胚胎着床的观察与计数

取各组 D6 小组,尾静脉注射 0.3 mL 0.5%台盼蓝,5 min 后颈椎脱臼处死。用 75%乙醇消毒腹部皮肤,打开腹腔,暴露双侧子宫,被台盼蓝染为蓝色即为小鼠胚胎的着床位点。计算小鼠妊娠率和平均着床位点数。妊娠率=(孕鼠数/总动物数) \times 100%。平均着床位点数=(总着床位点数/妊娠鼠数) \times 100%。

1.3.4 子宫内膜 HOXA10、整合素 $\alpha\beta 3$ 和 LIF 蛋白表达

取各组 D2、D3、D4、D5 小组小鼠子宫内膜组织,用 Western blot 技术检测子宫内膜 HOXA10、整合素

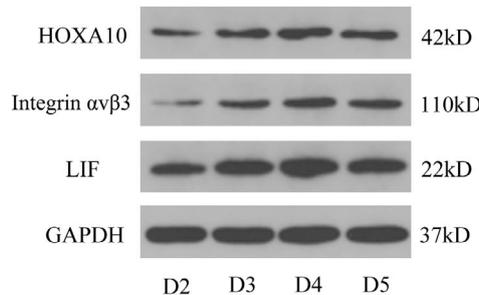
$\alpha v\beta 3$ 和 LIF 的蛋白表达。电动匀浆器匀浆,采用细胞裂解液提取总蛋白,经 SDS-PAGE 电泳分离蛋白,湿转法将目的蛋白转到 PVDF 膜上,一抗、二抗依次孵育。通过凝胶成像系统观察拍照。运用 Image-J 图像分析软件分析,采用目的蛋白与内参的比值比较各组蛋白表达水平。

1.3.5 子宫内膜 HOXA10、整合素 $\alpha v\beta 3$ 和 LIF mRNA 的表达

取各组 D2、D3、D4、D5 小组的小鼠子宫,纵行剖开子宫,剥离子宫内膜,剔除囊胚,用 RT-PCR 技术检测子宫内膜 HOXA10、整合素 $\alpha v\beta 3$ 和 LIF mRNA 的表达。采用 Trizol 提取组织内的 RNA,并根据反转录试剂盒说明书进行反转录,反应条件为 25℃ 下 5 min、50℃ 下 15 min、85℃ 下 5 min 和 4℃ 下 10 min。获得第一链 cDNA 后,以 GAPDH 为内参,实时定量 PCR 扩增反应检测 HOXA10、整合素 $\alpha v\beta 3$ 、LIF 的 mRNA 表达量变化,引物序列见表 1。反应条件为 50℃ 下 2 min、95℃ 下 10 min、95℃ 下 30 s 和 60℃ 下 30 s,40 个循环。荧光定量分析软件自动绘制扩增动力曲线和溶解曲线。基因相对表达量采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 的方法进行分析。

表 1 引物序列

基因	引物序列(5' -3')	产物长度(bp)
HOXA10	F:AAGAAACGCTGCCCTTACAC R:CGGATTCGGTTTTCTCGGTT	191
整合素 $\alpha v\beta 3$	F:CTCACCCCGATGTAACCTGA R:CTGAGGGCTGACTTGAGTGA	157
LIF	F:TGGTGGAGCTGTATCGGATG R:CACGGTACTTGTGCACAGA	177
GAPDH	F:ATGGGTGTGAACCACGAGA R:CAGGATGATGTCTGGGCA	229



注:自然周期组中各小组与 D4 小组比较 ¹⁾ $P < 0.01$

图 1 自然周期组小鼠子宫内膜 HOXA10、整合素 $\alpha v\beta 3$ 和 LIF 蛋白表达

1.4 统计学方法

实验数据采用 SPSS19.0 软件进行统计分析。计数资料比较采用卡方检验。符合正态分布的计量资料以均数±标准差表示,组内各小组之间比较采用单因素方差分析,进一步通过 Tukey 和 SNK 检测的方法分析两组之间的差异。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组小鼠妊娠率及着床位点数

经控制性超排卵后,COH 组妊娠率低于自然周期组,差异具有统计学意义($P < 0.05$),且平均着床位点数显著高于自然周期组($P < 0.01$)。电针治疗后,电针组妊娠率与 COH 组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),但呈现增长趋势;平均着床位点数比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。详见表 2。

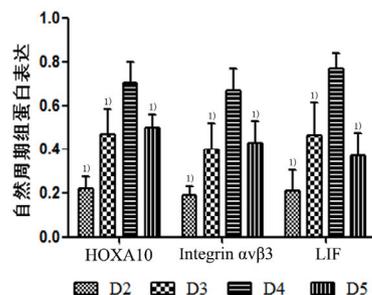
表 2 各组小鼠妊娠率及着床位点数

组别	n	妊娠率/%	平均着床位点数 ($\bar{x} \pm s$, 个)
自然周期组	10	100	8.5 ± 4.4
COH 组	10	40 ¹⁾	20.5 ± 5.7 ²⁾
电针组	10	60	18.5 ± 6.5

注:与自然周期组比较 ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$

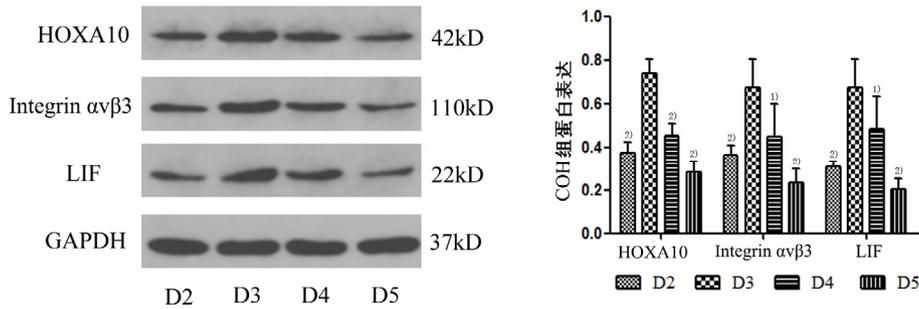
2.2 子宫内膜 HOXA10、整合素 $\alpha v\beta 3$ 和 LIF 蛋白表达

自然周期组中,D4 小组 HOXA10、整合素 $\alpha v\beta 3$ 和 LIF 蛋白表达最高,与 D2、D3、D5 小组比较,差异有统计学意义($P < 0.01$),结果见图 1。COH 组中,D3 小组表达最强,与 D2、D4、D5 小组比较,差异具有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$),结果见图 2。电针组中,D4 小组达到峰值,与 D2、D3、D5 小组比较,差异具有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$),结果见图 3。



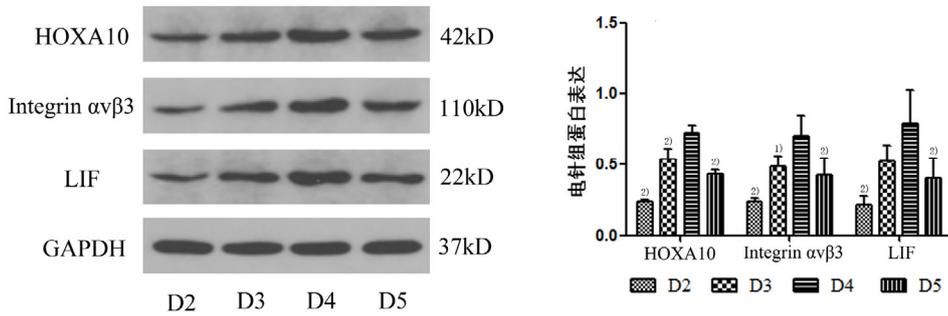
注:自然周期组中各小组与 D4 小组比较 ¹⁾ $P < 0.01$

图 1 自然周期组小鼠子宫内膜 HOXA10、整合素 $\alpha v\beta 3$ 和 LIF 蛋白表达



注:COH组中各小组与D3小组相比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$

图2 COH组小鼠子宫内膜HOXA10、整合素αβ3和LIF蛋白表达



注:COH组中各小组与D3小组相比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$

图3 电针组小鼠子宫内膜HOXA10、整合素αβ3和LIF蛋白表达

2.3 子宫内膜HOXA10、整合素αβ3和LIF mRNA表达

2.3.1 各组不同妊娠天数小鼠子宫内膜HOXA10 mRNA表达情况

自然周期组中D4小组HOXA10 mRNA表达最高,与D2、D3、D5小组比较差异具有统计学意义($P < 0.01$);

COH组中D3小组HOXA10 mRNA表达最强,与D2、D5小组比较差异具有统计学意义($P < 0.01$);电针组中D4小组HOXA10 mRNA表达最高,与D2、D5小组比较差异具有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$),与D3小组比较表达增加,但差异无统计学意义($P > 0.05$)。详见表3。

表3 各组不同妊娠天数小鼠子宫内膜HOXA10 mRNA表达情况

($\bar{x} \pm s$)

组别	D2	D3	D4	D5
自然周期组	1.000 ± 0.000 ¹⁾	1.741 ± 0.223 ¹⁾	2.248 ± 0.265	1.722 ± 0.177 ¹⁾
COH组	0.974 ± 0.454 ³⁾	2.275 ± 0.256	1.693 ± 0.222	1.212 ± 0.252 ³⁾
电针组	0.995 ± 0.217 ¹⁾	1.734 ± 0.066	1.902 ± 0.234	1.457 ± 0.109 ²⁾

注:与同组D4小组比较¹⁾ $P < 0.01$,²⁾ $P < 0.05$;与同组D3小组比较³⁾ $P < 0.01$

2.3.2 各组不同妊娠天数小鼠子宫内膜整合素αβ3 mRNA表达情况

自然周期组中D4小组整合素αβ3 mRNA表达最高,分别与D2、D3和D5小组比较差异具有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$);COH组中D3小组整合素αβ3 mRNA

表达最强,分别与D2和D5小组比较差异具有统计学意义($P < 0.05$);电针组中整合素αβ3 mRNA表达最高为D4小组,分别与D2和D5小组比较差异具有统计学意义($P < 0.05$),与D3小组比较表达增加,但差异无统计学意义($P > 0.05$)。详见表4。

表4 各组不同天数孕鼠子宫内膜整合素αβ3 mRNA表达

($\bar{x} \pm s$)

组别	D2	D3	D4	D5
自然周期组	1.000 ± 0.000 ¹⁾	1.396 ± 0.425 ¹⁾	2.154 ± 0.242	1.475 ± 0.256 ²⁾
COH组	0.965 ± 0.601 ³⁾	2.140 ± 0.658	1.608 ± 0.381	1.133 ± 0.355 ³⁾
电针组	0.957 ± 0.264 ²⁾	1.621 ± 0.347	1.937 ± 0.356	1.306 ± 0.307 ²⁾

注:与同组D4小组比较¹⁾ $P < 0.01$,²⁾ $P < 0.05$;与同组D3小组比较³⁾ $P < 0.01$

2.3.3 各组不同妊娠天数小鼠子宫内膜 LIF mRNA 表达情况

自然周期组中, D4 小组 LIF mRNA 表达最高, 分别与 D2、D3 和 D5 小组比较, 差异具有统计学意义 ($P < 0.01$); COH 组中, D3 小组 LIF mRNA 表达最强, 分别与

D2、D4 和 D5 小组比较, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); 电针组中, D4 小组 LIF mRNA 表达最高, 分别与 D2 和 D5 小组比较, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 与 D3 小组比较, 表达增加, 但差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。详见表 5。

表 5 各组不同天数孕鼠子宫内膜 LIF mRNA 表达

($\bar{x} \pm s$)

组别	D2	D3	D4	D5
自然周期组	1.000 ± 0.000 ¹⁾	1.590 ± 0.244 ¹⁾	2.470 ± 0.401	1.608 ± 0.15 ¹⁾
COH 组	0.810 ± 0.487 ³⁾	2.357 ± 0.175	1.649 ± 0.238 ⁴⁾	1.068 ± 0.156 ³⁾
电针组	0.896 ± 0.248 ¹⁾	1.839 ± 0.236	2.066 ± 0.361	1.412 ± 0.041 ²⁾

注: 与同组 D4 小组比较 ¹⁾ $P < 0.01$, ²⁾ $P < 0.05$; 与同组 D3 小组比较 ³⁾ $P < 0.01$, ⁴⁾ $P < 0.05$

3 讨论

LIF 是白细胞介素-6 家族中的细胞因子之一, 在胚胎着床中发挥重要作用。种植窗期, 子宫内膜分泌 LIF, 与囊胚表达的 LIF 受体结合, 促进囊胚植入子宫内膜^[14]。整合素 $\alpha v \beta 3$ 可参与滋养细胞的黏附, 在子宫内膜细胞和滋养层细胞上呈现周期特异性表达, 其表达高峰与“种植窗期”吻合^[15]。因此, 与 LIF、胞饮突等均为评估种植窗期的重要指标^[16]。

本研究发现, 自然周期组子宫内膜整合素 $\alpha v \beta 3$ 和 LIF 在见阴栓后第 4 天达到峰值, 说明受孕后第 4 天为小鼠种植窗期, COH 组中, 作为评估种植窗期的重要指标的整合素 $\alpha v \beta 3$ 和 LIF 在受孕后第 3 天表达最高, 表明子宫内膜发育提前, 同时观察到临床妊娠率下降, 说明超排卵药物改变子宫内膜的发育进程, 种植窗期提前开放, 受精卵与子宫内膜发育不同步, 是 IVF-ET 临床妊娠率低的原因。

中医学虽无“种植窗”的概念, 但古代文献对其相关内容进行了一定描述。如张景岳曾提出: “此言妇人经期方止。其时子宫正开, 便是布种之时, 过此佳期, 则子宫闭而不受胎矣。”中医学认为“肾藏精, 主生殖”, 《医学衷中参西录》中“男女生殖, 皆赖肾脏作强”。在 IVF-ET 中, 超排卵耗伤大量肾阴肾精, 导致精血不足, 冲任虚衰, 胞脉失养, 而难以摄精成孕。关元、中极和三阴交为临床治疗不孕症的常用穴位^[17]。三阴交为足三阴经交会穴, 可滋补肝肾、调理冲任; 关元、中极为任脉要穴。《素问》王冰注“冲为血海, 任主胞胎, 两者相资, 故能有子”。三穴相配, 共补肾精、调冲任。

同源盒基因 (HOX) 属于多基因家族的转录调节基因, 从 3' 到 5' 端分别有 HOXA1~13, 与生殖密切相关

的有 HOXA9、10、11 和 13。HOXA10 是一种多效的转录调节因子, 在胚胎着床及发育、细胞分化与增殖方面具有重要意义^[18]。子宫内膜 HOXA10 表达减少可出现着床失败和蜕膜化障碍^[19]。临床研究^[20]发现, 输卵管性不育和反复植入失败的妇女, 子宫内膜 HOXA10 和 HOXA11 启动子的甲基化水平表达异常。动物研究^[21]显示, HOXA10 突变小鼠子宫内膜不能正常植入胚胎, 而将 HOXA10 突变小鼠的胚胎移植到野生型小鼠子宫内, 着床成功, 说明母体 HOXA10 的良好表达是胚胎着床所必须的条件之一。HOXA10 的表达贯穿整个月经周期, 并随月经周期呈现周期性改变, 在种植窗期, 高水平雌激素和孕激素作用下, 子宫内膜 HOXA10 表达呈现高峰状态^[22-23]。在研究中发现, 经过电针治疗后, 子宫内膜整合素 $\alpha v \beta 3$ 和 LIF 在受孕第 4 天表达最高, 种植窗期恢复正常。HOXA10 的表达在受孕第 4 天达到峰值, 较 COH 组推迟 1 天, 临床妊娠率呈现上升趋势, 表明电针可能通过调控 HOXA10 的表达时相, 来调节种植窗期的开放与关闭。

综上所述, 针刺调控 COH 小鼠子宫内膜 HOXA10 的表达时相, 恢复正常种植窗期, 使受精卵与子宫内膜发育同步, 是电针提高 IVF-ET 临床妊娠率的作用机制之一, 但电针通过何种途径来调控 HOXA10 的表达时相, 尚需进一步研究。

参考文献

- [1] Lim HJ, Dey S. HB-EGF: a unique mediator of embryo-uterine interactions during implantation[J]. *Exp Cell Res*, 2009, 315(4): 619-626.
- [2] 李蓉, 乔杰, 武泽. 超促排卵周期中孕酮升高对胚胎植

- 入影响[J]. 生殖医学杂志, 2013, 22(4):230-235.
- [3] 陈瑞芳, 黄紫蓉, 丰有吉. 子宫内膜同源盒基因 A10 表达及调控研究[J]. 国际生殖健康/计划生育杂志, 2008, 27(5):305-309.
- [4] 王利红, 徐文婷. 针药结合治疗未破裂卵泡黄素化综合征的临床研究[J]. 南京中医药大学学报, 2016, 32(1):32-34.
- [5] 董华, 倪光夏. 浅谈“通调三焦”针刺法在妇科病中的应用[J]. 中国针灸, 2019, 39(2):193-196.
- [6] 房繁恭, 陈滢如, 杨莉, 等. 预针刺干预卵巢早衰 24 例[J]. 中国针灸, 2017, 37(3):256.
- [7] 秦张艳, 俞而慨. 针灸结合补肾方对多囊卵巢综合征患者促排卵作用和性激素水平的影响[J]. 中国妇幼保健, 2018, 33(5):1161-1163.
- [8] 张媛媛, 丁德光, 朱书秀. 针刺对超排卵小鼠胚胎质量的影响[J]. 北京中医药大学学报, 2016, 39(2):169-172.
- [9] 陶颖, 王梦. 经皮穴位电刺激对体外受精-胚胎移植反复种植失败患者子宫内膜血流的影响[J]. 河南中医, 2017, 37(4):714.
- [10] 张天华, 刘洪霞. 电针对改善黄体功能不全性不孕症患者子宫内膜容受性效果[J]. 中国计划生育学杂志, 2019, 27(12):1613-1616.
- [11] 冯玉霞, 王田平, 曾倩, 等. 补肾活血法对肾虚血瘀型大鼠雌、孕激素及其受体的影响[J]. 中国中医基础医学杂志, 2016, 22(2):191.
- [12] 史晓萍, 宗阿南, 陶钧, 等. 《关于善待实验动物的指导性意见》的研究[J]. 中国医科大学学报, 2007, 36(4):493.
- [13] 宋翠淼, 李志丽, 杨江霞, 等. 补肾调经方对控制性超排卵小鼠卵巢组织形态学、白血病抑制因子表达的影响[J]. 中成药, 2018, 40(8):1815-1818.
- [14] Charnock-Jones DS, Sharkey AM, Fenwick P, *et al.* Leukaemia inhibitory factor mRNA concentration peaks in human endometrium at the time of implantation and the blastocyst contains mRNA for the receptor at this time[J]. *J Reprod Fertil*, 1994, 101:421.
- [15] Dou Q, Williams RS, Chegini N. Expression of integrin messenger ribonucleic acid in human endometrium: a quantitative reverse transcription polymerase chain reaction study[J]. *Fertil Steril*, 1999, 71(2):347-353.
- [16] 隋晓倩, 于德钦, 张冬梅. 子宫内膜容受性各相关标志物研究进展[J]. 生殖与避孕, 2015, 35(3):185-190.
- [17] 黄琴峰. 针灸治疗不孕症临床规律探讨[J]. 辽宁中医杂志, 2010, 37(11):2233-2234.
- [18] Eun Kwon H, Taylor HS. The role of HOX genes in human implantation[J]. *Ann NY Acad Sci*, 2004, 1034(1):1-18.
- [19] Chen Q, Zhang Y, Elad D, *et al.* Navigating the site for embryo implantation: biomechanical and molecular regulation of intrauterine embryo distribution[J]. *Mol Aspects Med*, 2013, 34:1024-1042.
- [20] Nazarenko TA, Kalinina EA, Knyazeva EA, *et al.* The role of abnormal hypermethylation of the HOXA10 and HOXA11 promoters in implantation failures in IVF programs[J]. *Gynecol Endocrinol*, 2019, 35(1):31-34.
- [21] Benson GV, Lim H, Paria BC, *et al.* Mechanisms of reduced fertility in Hoxa-10 mutant mice: uterine homeosis and loss of maternal Hoxa-10 expression[J]. *Development*, 1996, 122(9):2687-2696.
- [22] 肖婷婷, 白延青. HOXA10 在子宫内膜组织周期性表达与调控机制[J]. 生殖医学杂志, 2012, 21(5):499-502.
- [23] Gui Y, Zhang J, Yuan L, *et al.* Regulation of HOXA-10 and its expression in normal and abnormal endometrial[J]. *Mol Hum Reprod*, 1999, 5(9):866-873.

收稿日期 2020-06-02