

胚胎着床过程中的前列腺素调控网络

赵振奥¹ 杨增明^{2*}¹东北农业大学生命学院, 哈尔滨 150030; ²厦门大学生命学院, 厦门 361005)

摘要 已证实与前列腺素代谢相关的*Cox-2*、*cPLA_{2α}*或*Lpar3*基因敲除的小鼠都表现为着床延迟, 而着床前注射前列腺素可以挽救胚胎着床, 表明前列腺素在胚胎着床过程中起重要作用。越来越多的证据表明, 前列腺素可以通过cAMP/PKA和PI3K/AKT通路活化β-catenin, 又可以通过基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)活化肝素结合类表皮生长因子(heparin-binding EGF-like growth factor, HB-EGF), 还可以通过Src和IL-6活化信号传导与转录激活因子3(signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)。而这些分子活化后又可上调COX-2。此外, 前列腺素相关分子内部也存在着正反馈调节。这几个通路之间的相互作用形成了一个网络, 在胚胎着床过程中可能发挥重要作用。

关键词 着床; 前列腺素; β-catenin; HB-EGF; STAT3

1 引言

胚胎着床是指处于活化状态的胚胎与处于接受态的子宫内膜建立通讯联系的过程, 包括胚泡定位并粘附到子宫腔上皮, 围绕胚泡的腔上皮基质细胞增殖和分化, 以及最终形成蜕膜的过程。胚胎着床和蜕膜化对于妊娠的建立和维持非常重要。已证实, 前列腺素在胚胎着床过程中起重要作用。

磷脂酶A₂可从膜磷脂中将花生四烯酸(arachidonic acid, AA)释放出来, 由环氧合酶(cyclooxygenase, COX)将花生四烯酸转化为前列腺素H₂ (prostaglandin H₂, PGH₂), 而后由相应的前列腺素合酶将PGH₂转化成各种不同的前列腺素。胞质型磷脂酶A_{2α} (cytosolic phospholipase A_{2α}, cPLA_{2α})缺失的小鼠表现为胚胎着床延迟、产仔数减少以及分娩延迟。在胚胎着床前, 注射前列腺素E₂ (prostaglandin E₂, PGE₂)和carbaprostacyclin(稳定形式的前列环素(prostacyclin, PGI₂)类似物)可以使着床时间和分娩时间恢复正常, 但产仔数没有改善^[1-2]。*Cox-1*基因敲除的小鼠是可育的, 但有分娩缺陷。在*Cox-2*敲除的C57BL/6J/129雌性小鼠中, 排卵、受精、着床、蜕膜化均有缺陷^[3]。而在*Cox-2*敲除的CD1小鼠中, *Cox-1*基因的上调补偿了*Cox-2*的作用, 但部分胚胎仍表现为着床延迟^[4]。表明前列腺素对胚胎着床非常重要, 若没有*Cox-1*的补偿作用会导致着床失败, 即使有*Cox-1*的补偿, 着床延迟也会增加早期妊娠损失的风险^[5]。

近年来的研究表明, 前列腺素系统不仅具有自身调节, 与β-catenin、HB-EGF和STAT3等胚胎着床相关分子之间也存在着广泛的调节关系, 这些错综复杂的调节通路构成了胚胎着床过程的调控网络。

2 前列腺素相关分子之间的调控

前列环素既可以通过膜受体IP, 又可以通过核受体过氧化物酶体增殖物激活受体δ(peroxisome proliferator-activated receptor delta, PPARδ)起作用。而PGE₂主要通过膜受体EP₁₋₄起作用。在小鼠中, 前列环素可以通过核激素受体PPARδ调节胚胎着床^[6]。*PPARδ*敲除的小鼠胚胎着床延迟, 子宫蜕膜重量变轻, 但胚胎着床并未完全受阻。进一步研究发现, 在*PPARδ*敲除的小鼠中PGE₂可以通过前列腺素E受体EP₂/EP₄补偿*PPARδ*的作用。在小鼠妊娠第4天同时注射AH-6809 (EP_{1/2}拮抗剂)和AH-23848 (EP₄拮抗剂), 对野生型小鼠的胚胎着床没有抑制, 但对*PPARδ*敲除小鼠的胚胎着床则具有显著的抑制作用^[7], 这表明在胚胎着床过程中PGE₂和PGI₂均发挥重要作用, 二者介导的信号通路之间相互补充, 以保证胚胎着床的顺利进行。

在人胆管癌细胞(cholangiocarcinoma cell)中,

收稿日期: 2011-01-07 接受日期: 2011-02-16

*通讯作者。Tel: 0592-2186823, E-mail: zmyang@xmu.edu.cn

PGE₂可以通过 p38、ERK 和 PI3K/AKT 通路促进 cPLA_{2α} 的磷酸化, 磷酸化的 cPLA_{2α} 促进 AA 释放, AA 与核受体 PPARδ 结合使其活化, 然后 PPARδ 可能通过直接与 Cox-2 启动子相互作用促进其表达, 从而产生 PGE₂, 形成前列腺素相关分子内部正反馈通路, 促进癌细胞生长^[8]。在人肝癌细胞中也存在相似的通路, 但 PI3K/AKT 通路对 cPLA_{2α} 的磷酸化和 PPARδ 的活化没有作用^[9], 说明不同细胞中这种正反馈通路有所不同。在 cPLA_{2α} 敲除的小鼠子宫中 COX-2 的表达有所下降^[2], 表明子宫中前列腺素通路内部也存在正反馈调节。

在结直肠癌 (colorectal cancer) 细胞中, 内源性的 PGI₂ 可以活化 PPARδ^[10]。PGE₂ 也可以通过 PI3K/Akt 通路活化 PPARδ, 但对 PPARδ 的表达没有影响^[11]。在小鼠胚胎干细胞中, 高糖可以诱导 cPLA_{2α} 的磷酸化, 以及 COX-2 和 PPARδ 的上调。cPLA_{2α} 及 COX-2 上调引起的 PGE₂ 增高可能通过活化 AKT 促进 PPARδ 的表达^[12]。可见, PGE₂ 既可以上调 PPARδ 的转录因子活性, 又可以上调 PPARδ 的表达, 在不同的细胞中调控机制不同。在胚胎着床过程中, PGE₂ 能否像 PGI₂ 一样激活或上调 PPARδ 仍需要进一步研究。cPLA_{2α} 敲除鼠中 COX-2 的下调很可能是由于 AA 的减少直接影响 PPARδ 活化导致的, 也可能是由于 AA 的减少导致 PGI₂ 和 PGE₂ 降低, 使得 PPARδ 的活化受到影响, 从而导致 COX-2 的表达下调。

3 前列腺素与 Wnt 通路之间的相互作用

经典的 Wnt 通路通过 frizzled (Fzd) 和 Lrp5/Lrp6 (LRP) 受体抑制 GSK3β 的活性, 从而增加 β-catenin 的稳定性, 促进其在细胞核内的积累, 当 β-catenin 与 TCF/LEF (T-cell/lymphoid enhancer-binding factor) 结合后调节靶基因的转录。

Wnt 通路在胚胎着床过程中发挥着重要作用。Mohamed 等^[13]发现, Wnt/β-catenin 通路在第 4 天小鼠子宫系膜对侧的环形平滑肌细胞中活化, 这可能与胚胎在子宫中的均匀分布有关。而第 5 天 12 时在紧邻胚胎的腔上皮细胞中活化, 到 16 时整个腔上皮中都有 Wnt/β-catenin 通路活化。胚胎来源的 Wnt7a 对于子宫的 Wnt/β-catenin 通路活化具有重要作用。分泌型卷曲相关蛋白 (secreted frizzled-related protein, sFRP) 可以与 Wnt 相互作用, 从而抑制 Wnt 通路的活化。将胚胎与纯化的 sFRP2 蛋白同时移植到假孕小

鼠子宫中可明显降低着床率。这些结果表明, 胚胎来源的 Wnt 会调节子宫中 β-catenin 的活化, 从而影响胚胎着床, 但子宫分泌的 Wnt 是否起作用还需进一步证明。然而, 另一实验室的结果认为胚胎中的 Wnt 通路活化对胚胎着床有影响, 而子宫中的 Wnt/β-catenin 通路对着床没有影响^[14]。Wnt 来源于子宫还是胚胎仍不清楚。

DKKs (dickkopf proteins) 可以通过与 Wnt 通路的 Lrp5/6 受体结合来抑制 Wnt 通路, 并且 DKKs 可以通过与 Kremen 相互作用下调 LRP 受体。Xie 等^[14]利用包装了 *Dkk1* 基因的腺病毒 (DKK1 ADV), 通过尾静脉注射感染妊娠第 1 天的鼠来抑制 Wnt/β-catenin 的活化。与对照组小鼠相比, 注射 DKK1 ADV 的小鼠着床率明显降低。将正常雌鼠妊娠第 4 天的胚胎移植到注射 DKK1 ADV 的假孕受体中, 这些胚胎可正常着床, 而把注射过 DKK1 ADV 的雌鼠的胚胎移植到正常假孕小鼠体内后, 胚胎着床率则明显降低, 表明子宫中的 Wnt/β-catenin 通路没有作用。由于胚胎发育没有受到 DKK1 的影响, 表明 Wnt/β-catenin 通路对胚胎着床能力的获得非常重要。然而, Mohamed 等^[13]认为胚胎来源的 Wnt 影响子宫的 β-catenin 活化, 从而影响着床。但他们的移植实验并不能排除 sFRP2 蛋白对胚胎着床能力的影响, sFRP2 也许同时抑制了胚胎和子宫的 β-catenin 活化。而子宫中确实存在很强的 Wnt/β-catenin 通路的活化, 这在胚胎着床过程中可能有重要作用, 但需要进一步证实。

条件性敲除小鼠实验证明了子宫中 Wnt/β-catenin 通路的重要性。子宫中条件性敲除 β-catenin 的小鼠中, 子宫内膜发生鳞状细胞转化 (squamous cell metaplasia), 激素诱导的蜕膜化也有缺陷。由于这种小鼠的超数排卵、卵巢形态和激素产生均正常, 生殖缺陷的主要原因应该来自子宫。由于是条件敲除, 胚胎的 β-catenin 是正常的, 从子宫和胚胎两方面考虑, 子宫的 β-catenin 应该很重要。β-catenin 缺失导致的子宫形态变化和蜕膜化的缺陷可能是生殖缺陷的主要原因^[15]。这与 Xie 等^[14]的实验结果相矛盾, 可能是因为腺病毒介导的转基因是短期抑制, 而子宫中基因敲除是长期作用导致子宫缺陷, 从而不能发生着床。也许在着床前子宫中特异性敲除 β-catenin, 才能证明 β-catenin 在着床过程中的重要性。但 Xie 等^[14]的实验结果也不能排除其它通路 (如前列腺素) 对子宫中 β-catenin 的活化。

越来越多的证据表明前列腺素可以激活 β-catenin。

在结肠癌细胞(colon cancer cell)中, PGE₂通过G蛋白偶联受体EP₂, 活化PI3K/AKT通路, 活化的AKT可以磷酸化GSK3 β , 从而抑制其活性。同时G蛋白的 α s亚单位可以和Axin的RGS结构域(G protein signaling domain)相互作用, 导致GSK3 β 从降解复合物中释放并失活, 从而使 β -catenin活化^[16]。在斑马鱼的造血干细胞中, 抑制PGE₂的合成可以抑制WNT调节的造血干细胞(hematopoietic stem cells)的形成和再生。与结肠癌细胞不同, 在造血干细胞中PGE₂主要通过cAMP/PKA影响Wnt通路^[17]。在小鼠的造血干细胞和造血祖细胞(hematopoietic progenitors)中, Wnt3A和PGE₂都能使 β -catenin总蛋白增加, COX的抑制剂消炎痛可以抑制Wnt3A的作用, DKK1处理后PGE₂仍能上调 β -catenin蛋白水平, 表明这两种细胞中也存在这种PGE₂/WNT通路的相互作用, 并且这种相互作用在哺乳动物和斑马鱼中存在保守性。在小鼠肝脏再生过程中, PGE₂对 β -catenin介导的WNT通路也是必需的, 表明不同的器官中, PGE₂/WNT通路的相互作用也有保守性^[17]。Xie等的实验主要集中在WNT通路对胚胎活性的影响, 而早期妊娠期的子宫中存在PGE₂, 这种保守的PGE₂/WNT通路相互作用在子宫中是否存在仍不清楚。也许像造血祖细胞中一样, PGE₂可以在DKK1的存在下上调 β -catenin, 因此注射表达DKK1的病毒也许并不能真正抑制子宫中的 β -catenin的活化, 也就不能排除子宫中 β -catenin的作用。

在人的胆管癌细胞中过表达cPLA_{2 α} , 可以促进PPAR δ 与 β -catenin的结合, 并且可以促进它们与TCF/LEF反应元件的结合。过表达PPAR δ 或用PPAR δ 的激动剂GW501516处理同样可以促进 β -catenin活化。cPLA_{2 α} 可以直接将AA提供给PPAR δ 使其活化, 以促进 β -catenin的活化^[18]。胚胎着床点表达cPLA_{2 α} 和PPAR δ , 但二者能否活化 β -catenin仍需进一步研究。子宫中PGL₂能否通过PPAR δ 活化 β -catenin还不清楚。

因此, PGE₂和PGL₂很可能在子宫中都能激活 β -catenin, 形成前列腺素与 β -catenin之间的相互作用, 这种活化不依赖于Wnt的存在, 因此也不受DKK1的抑制。综上所述, Wnt/ β -catenin通路在子宫和胚胎中都有着重要作用, 前列腺素与Wnt/ β -catenin通路的相互作用对 β -catenin活性的发挥很关键。

前列腺素通路可以调节 β -catenin的活性, β -catenin也可以调节COX-2和PPAR δ 的表达^[19-20]。此外, β -catenin还可以调节Cox-2 mRNA的稳定性^[21-22]。前列腺素与

β -catenin通路之间的相互作用构成了一个正反馈调节的网络, 可能在胚胎着床的蜕膜化过程中发挥着重要的作用。

4 前列腺素与HB-EGF/ErbBs通路之间的相互作用

*Hbegf*敲除的小鼠中, 着床窗口发生改变, 导致胚胎着床延迟及产仔数变少。当把*Hbegf*敲除小鼠的胚胎移植到假孕的野生型小鼠体内后, 这些胚胎能正常着床。在子宫中条件性敲除*Hbegf*, 同样发生胚胎着床延迟及产仔数变少, 表明母体HB-EGF对于胚胎着床非常重要^[23]。HB-EGF蛋白既存在跨膜形式, 也存在分泌形式。有人认为跨膜形式的HB-EGF可以促进胚胎与子宫之间的粘附^[24-25]。将浸泡过HB-EGF重组蛋白的小珠子移植到假孕小鼠的子宫中, 可以引起着床样反应(implantation-like response), 并能引起Cox-2表达上调^[26]。这表明分泌形式的HB-EGF对胚胎着床也很重要。HB-EGF主要通过ErbB受体酪氨酸激酶起作用。现发现ErbB受体有四个亚型, 即ErbB1(EGFR/HER1)、ErbB2(HER2)、ErbB3(HER3)和ErbB4(HER4)。ErbB2和ErbB3不能直接结合HB-EGF, 需要通过与ErbB1或ErbB4形成异源二聚体才能与HB-EGF结合^[27]。这四个受体在小鼠早期妊娠子宫中均有表达^[28], 表明它们可能在胚胎着床过程中发挥着重要作用。

PGE₂可以活化c-Src, 从而激活MMP, 后者可剪切膜上的TGF- α 使之释放后, 结合到EGFR, 从而导致EGFR活化^[29]。越来越多的研究表明, MMP亦可以剪切HB-EGF和AR(amphiregulin)等, 从而活化EGFR^[30-32]。子宫中PGE₂能否通过MMP和HB-EGF活化EGFR仍不清楚。此外, PGE₂对EGFR的调控也能直接通过c-Src调节, 而不依赖于MMP对上皮生长因子样配体的释放^[33]。PGE₂还可以上调ErbB2的表达^[34]。这些证据表明, PGE₂对上皮生长因子受体的调控具有多样性。

AA不仅可以作为COX-2的底物用于产生PG, 也可以结合到PPAR δ 使之活化, 还可以促进Src、FAK、NF- κ B^[35]和MAPK^[36]的活化。Dulin等^[37]发现AA可能通过G蛋白偶联受体(GPCR)促进EGFR磷酸化, 从而活化MAPK。Alexander等^[38]发现AA可以活化c-Src, 而c-Src可以通过它的SH2结构域与EGFR相互作用促进其活化, 从而活化ERK。

IP受体在人月经周期的增殖期和早分泌期子宫内膜中高表达, 用iloprost(PGI₂的类似物)处理Ishikawa细胞和人子宫内膜组织块, 可导致ERK1/2通路活化和促血管发生基因的上调, 而这些变化依赖于iloprost对EGFR的活化^[39]。在人的胆管癌和肝癌细胞中, PPAR δ 激动剂也可以使EGFR磷酸化上调, 但这可能是由于PPAR δ 激动剂上调COX-2后, 促进PGE₂产生, 达到间接上调EGFR磷酸化的作用。也就是说, PGI₂的膜受体和核受体都可以促进EGFR的活化。

在LPA(lysophosphatidic acid)受体LPA3敲除的小鼠中, Cox-2表达明显降低, 导致前列腺素水平降低, 胚胎着床延迟^[40-41]。LPA可以活化Src, 从而活化MMP对HB-EGF进行剪切, 释放出来的HB-EGF促进EGFR的活化^[42]。在卵巢癌细胞中, LPA可以通过MMP上调COX-2的表达^[43]。LPA诱导的EGFR可以通过C/EBP β 上调COX-2的表达和PGE₂的产量^[44]。小鼠子宫中LPA对COX-2的调控是否经过Src/MMP/HB-EGF/EGFR通路还不清楚。在小鼠胚胎干细胞中, EGFR可以同时上调cPLA_{2 α} 和COX-2, 从而促进AA释放和提高PGE₂产量^[45]。ErbB2可以进入细胞核, 结合到Cox-2启动子上, 促进其表达^[46]。可见, 前列腺素通路各个层面与HB-EGF/ErbBs通路之间均存在相互作用, 这种对话可能在胚胎着床过程中发挥重要作用。

5 前列腺素通路与STAT3通路之间的相互作用

在白血病抑制因子(LIF)敲除的雌鼠中, 胚胎不能着床^[47]。白介素-11(IL-11)受体 α 亚单位(IL-11R α)敲除后, 蜕膜化过程发生缺陷^[48]。在白介素-6(IL-6)敲除的小鼠中, 胚胎着床位点数减少了一半^[49]。这表明, LIF、IL-11和IL-6对于胚胎着床和蜕膜化过程非常重要, 而这三个因子均主要通过活化STAT3起作用。给妊娠第3天小鼠子宫腔内注射STAT3抑制剂, 可显著抑制胚胎着床^[50]。在一些不明原因的不孕症妇女中, 着床窗口期腺上皮中磷酸化的STAT3和IL-11的水平明显降低^[51], 表明STAT3在胚胎着床过程中发挥重要作用。

在肺腺癌细胞(A549)中, PGE₂可以通过EP₃受体活化Src, 活化的Src再活化STAT3^[52]。而在心肌细胞中, PGE₂可以通过EP₄及ERK1/2活化STAT3^[53]。多柔比星(doxorubicin)可以诱导心肌细胞的凋亡, 在此过

程中加入PGE₂会明显抑制凋亡。如果用RNAi的方法下调Stat3, 可以明显抑制PGE₂的保护作用^[54]。在人的胆管癌细胞中, 过表达cPLA_{2 α} 和COX-2均能上调STAT3磷酸化, 结果表明STAT3的活化受PGE₂调控。在胆管癌细胞系SG231中, PGE₂可以通过EP₄受体上调IL-6从而活化gp130, 导致STAT3磷酸化。而胆管癌细胞系CCLP1中, PGE₂通过EP₁和Src活化STAT3。PGE₂可以促进EP₁和EGFR结合到STAT3-DNA结合复合物(Stat3-DNA binding complex), 上调STAT3的转录活性。在纯化的细胞核中, 可以检测到EP₁、EGFR和c-Src^[55]。EGFR对STAT3的这种活化可能有两种方式: 一种是细胞膜上的EGFR与STAT3相互作用使其活化, 另一种是在细胞核内相互作用^[56]。这些研究表明, 前列腺素可以通过多种通路调节STAT3的活化。

越来越多的证据表明, STAT3可以调节COX-2的表达^[57]。在人的子宫内膜癌细胞中, JAK2/STAT3通路抑制剂可以抑制瘦素(leptin)引起的COX-2上调和PGE₂产生^[58]。最近发现, 在细胞核中STAT3和EGFR可以相互作用, 并结合到COX-2启动子上的STAT3结合位点, 上调COX-2基因表达^[59]。此外, 在LIF敲除的小鼠子宫中, COX-2在子宫腔上皮的表达依然存在, 而在围绕胚胎的腔上皮基质细胞中COX-2表达下调^[60], 表明基质细胞中的COX-2受LIF调控, LIF激活的STAT3很有可能直接结合到Cox-2启动子起作用。COX-2的下调至少部分参与LIF缺失导致的着床失败。PGE₂和LIF均可以诱导延迟的胚胎发生着床。因此, 注射PGE₂和PGI₂能否挽救LIF缺失导致的着床缺陷仍未可知。由此可见, STAT3通路与前列腺素通路之间存在相互作用, 这种相互作用在胚胎着床过程中可能发挥重要作用。

6 结语和展望

前列腺素、Wnt/ β -catenin、HB-EGF/ErbBs和STAT3通路在胚胎着床过程中发挥着重要作用。最近研究表明, 这些通路之间存在着交叉相互作用, 形成一个庞大的网络(图1), 在胚胎着床过程中可能发挥着重要作用。揭示这些通路之间的调控关系对于研究哺乳动物生殖有重要意义, 有助于解决人类的不孕不育问题以及濒危动物和家畜的繁殖率问题等, 对于研究癌症机理也有重要的借鉴作用。

条件性基因敲除技术、深度测序技术、ChIP-seq技术、基因组学、蛋白质组学及表观遗传学等

- Sci USA 2000; 97(24): 13275-80.
- 11 Wang D, Wang H, Shi Q, Katkuri S, Walhi W, Desvergne B, *et al.* Prostaglandin E₂ promotes colorectal adenoma growth via transactivation of the nuclear peroxisome proliferator-activated receptor delta. *Cancer Cell* 2004; 6(3): 285-95.
 - 12 Kim YH, Han HJ. High-glucose-induced prostaglandin E₂ and peroxisome proliferator-activated receptor delta promote mouse embryonic stem cell proliferation. *Stem Cells* 2008; 26(3): 745-55.
 - 13 Mohamed OA, Jonnaert M, Labelle-Dumais C, Kuroda K, Clarke HJ, Dufort D. Uterine Wnt/beta-catenin signaling is required for implantation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102(24): 8579-84.
 - 14 Xie H, Tranguch S, Jia X, Zhang H, Das SK, Dey SK, *et al.* Inactivation of nuclear Wnt-beta-catenin signaling limits blastocyst competency for implantation. *Development* 2008; 135(4): 717-27.
 - 15 Jeong JW, Lee HS, Franco HL, Broaddus RR, Taketo MM, Tsai SY, *et al.* beta-catenin mediates glandular formation and dysregulation of beta-catenin induces hyperplasia formation in the murine uterus. *Oncogene* 2009; 28(1): 31-40.
 - 16 Castellone MD, Teramoto H, Williams BO, Druey KM, Gutkind JS. Prostaglandin E₂ promotes colon cancer cell growth through a Gs-axin-beta-catenin signaling axis. *Science* 2005; 310(5753): 1504-10.
 - 17 Goessling W, North TE, Loewer S, Lord AM, Lee S, Stoick-Cooper CL, *et al.* Genetic interaction of PGE₂ and Wnt signaling regulates developmental specification of stem cells and regeneration. *Cell* 2009; 136(6): 1136-47.
 - 18 Han C, Lim K, Xu L, Li G, Wu T. Regulation of Wnt/beta-catenin pathway by cPLA2alpha and PPARdelta. *J Cell Biochem* 2008; 105(2): 534-45.
 - 19 Araki Y, Okamura S, Hussain SP, Nagashima M, He P, Shiseki M, *et al.* Regulation of cyclooxygenase-2 expression by the Wnt and ras pathways. *Cancer Res* 2003; 63(3): 728-34.
 - 20 He TC, Chan TA, Vogelstein B, Kinzler KW. PPARdelta is an APC-regulated target of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Cell* 1999; 99(3): 335-45.
 - 21 Kawasaki T, Noshio K, Ohnishi M, Suemoto Y, Kirkner GJ, Dehari R, *et al.* Correlation of beta-catenin localization with cyclooxygenase-2 expression and CpG island methylator phenotype (CIMP) in colorectal cancer. *Neoplasia* 2007; 9(7): 569-77.
 - 22 Lee HK, Jeong S. beta-catenin stabilizes cyclooxygenase-2 mRNA by interacting with AU-rich elements of 3'-UTR. *Nucleic Acids Res* 2006; 34(19): 5705-14.
 - 23 Xie H, Wang H, Tranguch S, Iwamoto R, Mekada E, Demayo FJ, *et al.* Maternal heparin-binding-EGF deficiency limits pregnancy success in mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104(46): 18315-20.
 - 24 Das SK, Wang XN, Paria BC, Damm D, Abraham JA, Klagsbrun M, *et al.* Heparin-binding EGF-like growth factor gene is induced in the mouse uterus temporally by the blastocyst solely at the site of its apposition: A possible ligand for interaction with blastocyst EGF-receptor in implantation. *Development* 1994; 120(5): 1071-83.
 - 25 Raab G, Kover K, Paria BC, Dey SK, Ezzell RM, Klagsbrun M. Mouse preimplantation blastocysts adhere to cells expressing the transmembrane form of heparin-binding EGF-like growth factor. *Development* 1996; 122(2): 637-45.
 - 26 Paria BC, Reese J, Das SK, Dey SK. Deciphering the cross-talk of implantation: Advances and challenges. *Science* 2002; 296(5576): 2185-8.
 - 27 Jessmon P, Leach RE, Armant DR. Diverse functions of HBEGF during pregnancy. *Mol Reprod Dev* 2009; 76(12): 1116-27.
 - 28 Lim H, Das SK, Dey SK. erbB genes in the mouse uterus: Cell-specific signaling by epidermal growth factor (EGF) family of growth factors during implantation. *Dev Biol* 1998; 204(1): 97-110.
 - 29 Pai R, Soreghan B, Szabo IL, Pavelka M, Baatar D, Tarnawski AS. Prostaglandin E₂ transactivates EGF receptor: A novel mechanism for promoting colon cancer growth and gastrointestinal hypertrophy. *Nat Med* 2002; 8(3): 289-93.
 - 30 Gschwind A, Hart S, Fischer OM, Ullrich A. TACE cleavage of proamphiregulin regulates GPCR-induced proliferation and motility of cancer cells. *EMBO J* 2003; 22(10): 2411-21.
 - 31 Sloss CM, Wang F, Palladino MA, Cusack JC Jr. Activation of EGFR by proteasome inhibition requires HB-EGF in pancreatic cancer cells. *Oncogene* 2010; 29(21): 3146-52.
 - 32 Subbaramaiah K, Benezra R, Hudis C, Dannenberg AJ. Cyclooxygenase-2-derived prostaglandin E₂ stimulates Id-1 transcription. *J Biol Chem* 2008; 283(49): 33955-68.
 - 33 Buchanan FG, Wang D, Bargiacchi F, DuBois RN. Prostaglandin E₂ regulates cell migration via the intracellular activation of the epidermal growth factor receptor. *J Biol Chem* 2003; 278(37): 35451-7.
 - 34 Benoit V, Relic B, Leval Xd X, Chariot A, Merville MP, Bours V. Regulation of HER-2 oncogene expression by cyclooxygenase-2 and prostaglandin E₂. *Oncogene* 2004; 23(8): 1631-5.
 - 35 Martinez-Orozco R, Navarro-Tito N, Soto-Guzman A, Castro-Sanchez L, Perez Salazar E. Arachidonic acid promotes epithelial-to-mesenchymal-like transition in mammary epithelial cells MCF10A. *Eur J Cell Biol* 2010; 89(6): 476-88.
 - 36 Hii CS, Huang ZH, Bilney A, Costabile M, Murray AW, Rathjen DA, *et al.* Stimulation of p38 phosphorylation and activity by arachidonic acid in HeLa cells, HL60 promyelocytic leukemic cells, and human neutrophils. Evidence for cell type-specific activation of mitogen-activated protein kinases. *J Biol Chem* 1998; 273(30): 19277-82.
 - 37 Dulin NO, Sorokin A, Douglas JG. Arachidonate-induced tyrosine phosphorylation of epidermal growth factor receptor and Shc-Grb2-Sos association. *Hypertension* 1998; 32(6): 1089-93.
 - 38 Alexander LD, Ding Y, Alagarsamy S, Cui XL, Douglas JG. Arachidonic acid induces ERK activation via Src SH2 domain association with the epidermal growth factor receptor. *Kidney Int* 2006; 69(10): 1823-32.

- 39 Smith OP, Battersby S, Sales KJ, Critchley HO, Jabbour HN. Prostacyclin receptor up-regulates the expression of angiogenic genes in human endometrium via cross talk with epidermal growth factor Receptor and the extracellular signaling receptor kinase 1/2 pathway. *Endocrinology* 2006; 147(4): 1697-705.
- 40 Hama K, Aoki J, Inoue A, Endo T, Amano T, Motoki R, *et al.* Embryo spacing and implantation timing are differentially regulated by LPA3-mediated lysophosphatidic acid signaling in mice. *Biol Reprod* 2007; 77(6): 954-9.
- 41 Ye X, Hama K, Contos JJ, Anliker B, Inoue A, Skinner MK, *et al.* LPA3-mediated lysophosphatidic acid signalling in embryo implantation and spacing. *Nature* 2005; 435(7038): 104-8.
- 42 Xu KP, Yin J, Yu FS. Lysophosphatidic acid promoting corneal epithelial wound healing by transactivation of epidermal growth factor receptor. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007; 48(2): 636-43.
- 43 Symowicz J, Adley BP, Woo MM, Auersperg N, Hudson LG, Stack MS. Cyclooxygenase-2 functions as a downstream mediator of lysophosphatidic acid to promote aggressive behavior in ovarian carcinoma cells. *Cancer Res* 2005; 65(6): 2234-42.
- 44 He D, Natarajan V, Stern R, Gorshkova IA, Solway J, Spannhake EW, *et al.* Lysophosphatidic acid-induced transactivation of epidermal growth factor receptor regulates cyclo-oxygenase-2 expression and prostaglandin E₂ release via C/EBPbeta in human bronchial epithelial cells. *Biochem J* 2008; 412(1): 153-62.
- 45 Lee SH, Na SI, Heo JS, Kim MH, Kim YH, Lee MY, *et al.* Arachidonic acid release by H₂O₂ mediated proliferation of mouse embryonic stem cells: Involvement of Ca²⁺/PKC and MAPKs-induced EGFR transactivation. *J Cell Biochem* 2009; 106(5): 787-97.
- 46 Wang SC, Lien HC, Xia W, Chen IF, Lo HW, Wang Z, *et al.* Binding at and transactivation of the COX-2 promoter by nuclear tyrosine kinase receptor ErbB-2. *Cancer Cell* 2004; 6(3): 251-61.
- 47 Stewart CL, Kaspar P, Brunet LJ, Bhatt H, Gadi I, Kontgen F, *et al.* Blastocyst implantation depends on maternal expression of leukaemia inhibitory factor. *Nature* 1992; 359(6390): 76-9.
- 48 Robb L, Li R, Hartley L, Nandurkar HH, Koentgen F, Begley CG. Infertility in female mice lacking the receptor for interleukin 11 is due to a defective uterine response to implantation. *Nat Med* 1998; 4(3): 303-8.
- 49 Makrigiannakis A, Minas V. Mechanisms of implantation. *Reprod Biomed Online* 2007; 14 (1): 102-9.
- 50 Catalano RD, Johnson MH, Campbell EA, Charnock-Jones DS, Smith SK, Sharkey AM. Inhibition of Stat3 activation in the endometrium prevents implantation: a nonsteroidal approach to contraception. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102(24): 8585-90.
- 51 Dimitriadis E, Sharkey AM, Tan YL, Salamonsen LA, Sherwin JR. Immunolocalisation of phosphorylated STAT3, interleukin 11 and leukaemia inhibitory factor in endometrium of women with unexplained infertility during the implantation window. *Reprod Biol Endocrinol* 2007; 5: 44.
- 52 Yamaki T, Endoh K, Miyahara M, Nagamine I, Thi Thu Huong N, Sakurai H, *et al.* Prostaglandin E2 activates Src signaling in lung adenocarcinoma cell via EP3. *Cancer Lett* 2004; 214(1): 115-20.
- 53 Frias MA, Rebsamen MC, Gerber-Wicht C, Lang U. Prostaglandin E2 activates Stat3 in neonatal rat ventricular cardiomyocytes: A role in cardiac hypertrophy. *Cardiovasc Res* 2007; 73(1): 57-65.
- 54 Frias MA, Somers S, Gerber-Wicht C, Opie LH, Lecour S, Lang U. The PGE2-Stat3 interaction in doxorubicin-induced myocardial apoptosis. *Cardiovasc Res* 2008; 80(1): 69-77.
- 55 Han C, Demetris AJ, Stolz DB, Xu L, Lim K, Wu T. Modulation of Stat3 activation by the cytosolic phospholipase A2alpha and cyclooxygenase-2-controlled prostaglandin E2 signaling pathway. *J Biol Chem* 2006; 281(34): 24831-46.
- 56 Lo HW, Hsu SC, Ali-Seyed M, Gunduz M, Xia W, Wei Y, *et al.* Nuclear interaction of EGFR and STAT3 in the activation of the iNOS/NO pathway. *Cancer Cell* 2005; 7(6): 575-89.
- 57 Kim EJ, Raval AP, Perez-Pinzon MA. Preconditioning mediated by sublethal oxygen-glucose deprivation-induced cyclooxygenase-2 expression via the signal transducers and activators of transcription 3 phosphorylation. *J Cereb Blood Flow Metab* 2008; 28(7): 1329-40.
- 58 Gao J, Tian J, Lv Y, Shi F, Kong F, Shi H, *et al.* Leptin induces functional activation of cyclooxygenase-2 through JAK2/STAT3, MAPK/ERK, and PI3K/AKT pathways in human endometrial cancer cells. *Cancer Sci* 2009; 100(3): 389-95.
- 59 Lo HW, Cao X, Zhu H, Ali-Osman F. Cyclooxygenase-2 is a novel transcriptional target of the nuclear EGFR-STAT3 and EGFRvIII-STAT3 signaling axes. *Mol Cancer Res* 2010; 8(2): 232-45.
- 60 Song H, Lim H, Das SK, Paria BC, Dey SK. Dysregulation of EGF family of growth factors and COX-2 in the uterus during the preattachment and attachment reactions of the blastocyst with the luminal epithelium correlates with implantation failure in LIF-deficient mice. *Mol Endocrinol* 2000; 14(8): 1147-61.
- 61 Yan S, Zhou C, Zhang W, Zhang G, Zhao X, Yang S, *et al.* beta-catenin/TCF pathway upregulates STAT3 expression in human esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer Lett* 2008; 271(1): 85-97.

Network Regulation of Prostaglandin Pathway during Embryo Implantation

Zhao Zhen'ao¹, Yang Zengming^{2*}

¹College of Life Science, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China;

²College of Life Science, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

Abstract Prostaglandin (PG) could rescue delayed implantation deficiencies in *Cox-2*-, *cPLA₂ α* - or *Lpar3*-deficient mice, respectively, suggesting that prostaglandin was important for implantation. PG could activate β -catenin through cAMP/PKA and PI3K/AKT, activate heparin-binding EGF-like growth factor (HB-EGF) pathway through matrix metalloproteinase cleavage and activate signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) through Src and IL-6. At the same time, COX-2 could be up-regulated by β -catenin, HB-EGF and STAT3. The genes in prostaglandin pathway could also form a positive feedback loop. The interactions among these pathways form a network, which may play important roles during embryo implantation.

Key words implantation; prostaglandin; β -catenin; HB-EGF; STAT3

Received: January 7, 2011 Accepted: February 16, 2011

*Corresponding author. Tel: 86-592-2186823, E-mail: zmyang@xmu.edu.cn