

β -TrCP 和 β -连环蛋白在小鼠胚胎着床过程中子宫内膜的表达

黄静^{1,2} 何俊琳^{1,2} 刘学庆^{1,2} 丁裕斌^{1,2} 陈世知^{1,2} 陈学梅^{1,2} 王应雄^{1,2*}

(¹重庆医科大学生殖生物学研究室, 重庆 400016; ²重庆医科大学遗传优生教研室, 重庆 400016)

摘要 分别构建早孕以及假孕小鼠模型, 获取不同时期子宫内膜组织。运用 RT-PCR 法、免疫印迹法、免疫组织化学法检测 β -转导重复相容蛋白(β -transducin repeat-containing protein, β -TrCP)、 β -连环蛋白(β -catenin)的 mRNA、蛋白质分布及其表达水平, 从而探讨转导素家族成员 β -TrCP 在妊娠小鼠胚胎着床过程中的作用。结果显示 β -TrCP 和 β -连环蛋白在妊娠早期小鼠子宫内膜中表达并且存在时空差异; β -TrCP 与 β -连环蛋白在妊娠第 4 天(着床窗口期)的表达分别呈现最高和最低水平。因此推测 β -TrCP, 通过介导经典 Wnt 信号通路中关键蛋白 β -连环蛋白泛素化降解, 从而参与分子间对话与信号转导, 协同启动并保证着床的顺利进行。

关键词 β -转导重复相容蛋白; β -连环蛋白; 胚胎着床; 子宫内膜; 小鼠

β -转导重复相容蛋白(β -transducin repeat-containing protein, β -TrCP), 为真核生物中最典型的 F-盒蛋白之一, 由 *slimb* 基因编码 569 个氨基酸组成, 相对分子量为 60 kDa。 β -TrCP 是从能解除芽殖酵母细胞周期突变的 CDC15 爪蟾卵 cDNA 中分离而出, 并鉴定其为存在于芽殖酵母 CDC15 基因中的一种温度敏感突变抑制因子^[1]。研究表明 β -TrCP 在妊娠 11.5 天小鼠胚胎中表达, 并且在脑、肺、肝脏等组织中高水平表达^[2]。目前对 β -TrCP 研究集中在肿瘤动力、浸润和转移中的作用方面。由于作用底物的多样性, β -TrCP 既具备致癌性又显示出肿瘤抑制效应。然而, 诸多的证据表明 β -TrCP 在肿瘤中的作用以致癌性为主^[3]。而胚胎着床过程与肿瘤细胞浸润转移过程有一定的相似之处^[4]。此外, β -TrCP 作为蛋白酶体降解的泛素连接酶复合物的成员之一, 介导 Wnt/ β -连环蛋白(β -catenin)信号通路中的关键蛋白 β -连环蛋白降解。因此, 本研究的目的是从 mRNA 水平以及蛋白质水平的角度, 初步探索 β -TrCP 及其相关蛋白 β -连环蛋白在胚胎着床中的作用, 揭示胚胎着床的机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 早孕及假孕小鼠动物模型的建立 一级 NIH 小鼠(23~28 g)由重庆医科大学实验动物中心提供。选择动情前期的未交配雌鼠(8 周龄)晚 8:00 与雄鼠

(10 周龄)按 3:1 合笼, 次日晨发现有阴栓者记为妊娠第一天(D₁)。

输精管结扎雄鼠的制备。随机选雄鼠 6 只, 每只用 1.2% 戊巴比妥钠(0.2 ml/只)腹腔注射麻醉, 消毒后在下腹正中依次纵向剪开皮肤、腹壁肌肉和腹膜, 找出双侧输精管, 分别于靠近膀胱处用丝线结扎, 然后依次缝合腹膜、腹壁肌肉和皮肤, 常规饲养 2 周后备用。假孕组将雌鼠与已行输精管结扎的雄鼠于晚 8:00 按 3:1 合笼交配, 次日晨查见阴栓者为假孕第一天(d₁)。

1.1.2 妊娠早期小鼠子宫内膜的获取 试验组分为 7 组: 包括妊娠 D₁~D₇, 每组 6 只小鼠(其中 D₅ 12 只); 对照组: 取 6 只假孕小鼠。脱颈处死小鼠, 无菌下剖腹取出子宫, 刮取子宫内膜。取妊娠 D₅~D₇ 的小鼠 6 只剔除胚胎着床位点的胚胎组织后, 然后刮取子宫内膜备用。

1.1.3 子宫内膜胚胎黏附时着床点与着床旁组织的分离 参考潘卫等^[5]方法, 取妊娠 D₅ 小鼠 6 只于上午 6:00~7:00 从尾静脉注射 0.125 ml 台盼蓝, 10~15 min 后脱颈处死, 75% 酒精浸泡消毒, 移至超净工作台, 取出双侧子宫, 可见条状子宫呈现蓝染带(着床点)和非蓝染带(非着床点)(图 1), 用无菌 PBS 洗涤 3 次。将冲洗净的子宫置于另一消毒表面皿上, 无菌 PBS 冲

收稿日期: 2008-10-30 接受日期: 2009-03-02

重庆市自然科学基金重点资助项目(No.渝科发计字[2004-47])

* 通讯作者。Tel: 023-68485926, E-mail: wyx61221@yahoo.com.cn

洗宫腔。将冲洗宫腔后的子宫置于另一消毒表面皿上,用眼科镊夹住单侧子宫角,用处理过的4号针头从近输卵管端逐渐向子宫颈方向挤压滚动,直至子宫内膜呈长条状完全滑出。解剖镜下或肉眼用眼科剪分离着床点和着床旁组织。

1.1.4 主要试剂 Trizol 试剂盒(GIBCO), M-MLV 逆转录酶(Promega), PCR 试剂盒(TaKaRa), 琼脂糖(西班牙), 引物合成(Invitrogen), β -TrCP/HOS 多克隆抗体(Santa Cruz)、 β -连环蛋白多克隆抗体(武汉博士德), 免疫组化染色试剂盒(SP-9000)(北京中杉), DAB 显色试剂盒及羊抗兔二抗(北京中杉), Western 印迹相关试剂(碧云天)。

1.2 方法

1.2.1 RT-PCR 法测定 β -TrCP mRNA、 β -连环蛋白 mRNA 表达水平 提取小鼠子宫内膜总 RNA 按 Trizol 试剂盒操作程序进行, 取部分 RNA 进行甲醛变性琼脂糖凝胶电泳, 证实 RNA 完整性。核酸蛋白仪测定 A_{260}/A_{280} 比值及 RNA 浓度, 判断 RNA 纯度。引物序列利用 Primer 5.0 软件, 分别根据 β -TrCP/HOS、 β -连环蛋白、 β -肌动蛋白编码序列设计, 引物由 Invitrogen 公司合成。

β -TrCP/HOS (AF110396): 上游引物 5'-CGTAA-GGACCCTAAATGG-3', 下游引物 5'-AAACT-GGAGACGGAAAAC-3', 扩增片段长度为 316 bp。

β -连环蛋白(NM_007614): 上游引物 5'-TACTG-TTCTACGCCATCACGAC-3', 下游引物 5'-CCTTCC-ATCCCTTCCTGCTTA-3', 扩增片段长度为 448 bp。

内对照 β -肌动蛋白(NM_007393): 上游引物 5'-AGCCATGTACGTAGCCAT-3', 下游引物 5'-CTCTC-AGCTGTGGTGGTGAA-3', 扩增片段长度为 228 bp。

RT-PCR 采用两步法, 包括逆转录和 PCR。将提取的子宫内膜组织总 RNA 先逆转录为 cDNA, 取 5 μ g RNA 样本在 20 μ l 反应体系中进行逆转录反应。PCR 反应条件为: 预变性 94 $^{\circ}$ C 4 min, 变性 94 $^{\circ}$ C 35 s, 退火(β -TrCP 44 $^{\circ}$ C 45 s, β -连环蛋白 56 $^{\circ}$ C 45 s), 延伸(β -TrCP 72 $^{\circ}$ C 50 s, β -连环蛋白 72 $^{\circ}$ C 1 min), 共进行 32 个循环, 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min。取 5 μ l PCR 产物加 1 μ l 6 \times 上样缓冲液, 2% 琼脂糖凝胶电泳, 用 Bio-Rad 凝胶成像系统摄像, 再用 Quantity One 4.0 软件分析各条带密度值 /mm², 分别获得 β -TrCP/ β -肌动蛋白、 β -连环蛋白/ β -肌动蛋白密度比值, 即为 β -TrCP、 β -连环蛋白的相对表达值。

1.2.2 免疫组织化学检测 β -TrCP、 β -连环蛋白表达

取妊娠 D₁~D₇ 小鼠子宫, 其中妊娠 D₅ 小鼠子宫用台盼蓝注射法区分着床点和非着床点并分别收集标本。固定于 4% 多聚甲醛液中, 石蜡包埋, 制备 6 μ m 的连续组织切片。用 SP 法分别检测 β -TrCP、 β -连环蛋白的表达情况。一抗的工作浓度分别为 1:500 和 1:200。用免疫血清代替一抗作阴性对照。DAB 显色, 苏木精复染。采用 Nikon TE-2000 成像系统摄像。

1.2.3 Western 印迹检测 β -TrCP、 β -连环蛋白表达水平 小鼠子宫内膜总蛋白的提取采用 Western 及 IP 细胞裂解液(碧云天), 以牛血清白蛋白(BSA)作为标准品, 测定蛋白质浓度, 等量上样, SDS-PAGE 分离, 湿转系统转膜, 将 PAGE 分离的蛋白质转到 PVDF 膜上, β -TrCP 抗体稀释浓度为 1:600, β -连环蛋白抗体稀释浓度为 1:500, 内参照微管蛋白(tubulin) (50 kDa) 抗体稀释浓度为 1:1 000, 辣根过氧化物酶标记的羊抗兔二抗稀释浓度为 1:2 000, ECL 显影并摄像。运用 Quantity One 4.0 软件分析各条带强度的光密度值, 以 β -TrCP、 β -连环蛋白分别与微管蛋白光密度比值作为目的蛋白的相对含量。

1.3 统计学处理

数据分析采用 8.2 统计软件进行, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 统计方法采用单因素方差分析, 组间多重比较采用 Dunnett 法和 SNK 法。P<0.05 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 台盼蓝染色后的小鼠子宫

妊娠 D₅ 小鼠子宫着床点呈现蓝染带, 与非着床点区别明显(图 1)。

2.2 RT-PCR 定性与半定量分析 β -TrCP、 β -连环蛋白 mRNA 表达



Fig.1 The mouse uterus after injecting Trypan blue into pregnant mouse body through tail vein on the day 5 of pregnancy
A: implantation site; B: peri-implantation site.

β -TrCP、 β -连环蛋白以及 β -肌动蛋白基因的 RT-PCR 产物与理论长度相一致, β -TrCP、 β -连环蛋白 mRNA 在小鼠胚胎着床前后子宫内层中均有表达(图 2, 图 3)。 β -TrCP 在妊娠 D₁ 的表达水平与假孕对照(d₁)比较有所升高, 但无显著性差异($P>0.05$), 之后其表达水平逐渐增高, 到着床窗口期(妊娠 D₄)达最高水平, 并维持到妊娠 D₅, 与假孕对照(d₁)比较有显著性差异($P<0.01$), 随后其表达逐渐降低(图 2, 图 4, 表 1)。在着床前期(D₁、D₂、D₃), β -连环蛋白 mRNA 表达维持在较高水平, 与假孕对照(d₁)比较有显著性差异($P<0.05$), 而妊娠 D₄ 表达降低, 其水平显著低于假孕对照组(d₁) ($P<0.05$), 随后逐渐升高, 至妊娠 D₇ 达到了最高水平($P<0.01$)。在妊娠 D₄ 时, β -TrCP 表达水平达到最高峰, 而 β -连环蛋白表达水平降至最低谷。 β -TrCP/ β -肌动蛋白、 β -连环蛋白/ β -肌动蛋白的密度比值即为 β -TrCP 和 β -连环蛋白的相对表

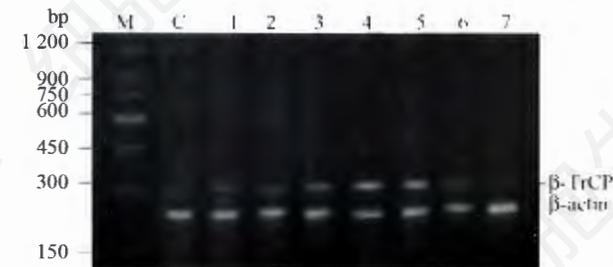


Fig.2 Electrophoresis analysis of β -TrCP mRNA expression in mice endometria from day 1 to day 7 of pregnancy and pseudopregnancy

M: DNA marker; C: RT-PCR products of mice endometria on day 1 of pseudopregnancy; 1-7: RT-PCR products of mice endometria from day 1 to day 7 of pregnancy.



Fig.3 Electrophoresis analysis of β -catenin mRNA expression in mice endometria from day 1 to day 7 of pregnancy and pseudopregnancy

M: DNA marker; C: RT-PCR products of mice endometria on day 1 of pseudopregnancy; 1-7: RT-PCR products of mice endometria from day 1 to day 7 of pregnancy.

达值(表 1, 表 2, 图 4)。

2.3 β -TrCP、 β -连环蛋白在小鼠子宫内层中的表达情况

免疫组化、Western 印迹的结果显示, β -TrCP、

Table 1 β -TrCP mRNA expression during the implantation ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

Day	β -TrCP/ β -actin	<i>P</i>
Control	0.3317 \pm 0.0063	
1	0.6700 \pm 0.0034	>0.05
2	0.6875 \pm 0.0129	<0.05
3	0.9102 \pm 0.0023	<0.05
4	1.0145 \pm 0.0048	<0.01
5	0.9727 \pm 0.0058	<0.01
6	0.6472 \pm 0.0041	<0.05
7	0.5872 \pm 0.0038	>0.05

P: compared to control group.

Table 2 β -catenin mRNA expression during the implantation ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

Day	β -catenin/ β -actin	<i>P</i>
Control	0.9699 \pm 0.0235	
1	1.5571 \pm 0.0264	<0.05
2	1.4592 \pm 0.0293	<0.05
3	1.2316 \pm 0.0295	<0.05
4	0.8604 \pm 0.0340	<0.05
5	1.2369 \pm 0.0352	<0.05
6	1.5546 \pm 0.0257	<0.05
7	1.9598 \pm 0.0301	<0.01

P: compared to control group.

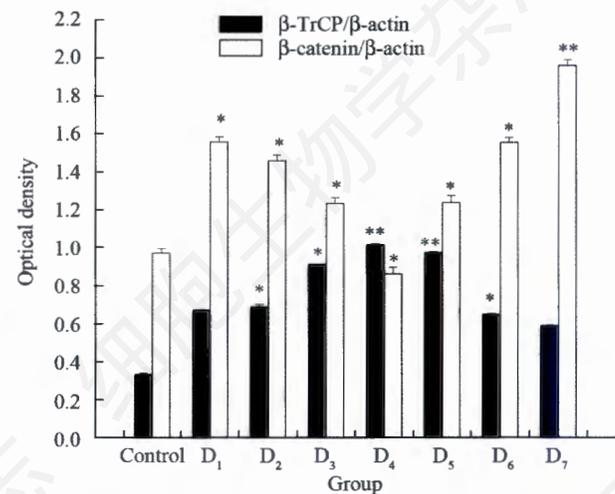


Fig.4 Optical density analysis of the RT-PCR products for β -TrCP and β -catenin

Compared to the control group, the level of β -TrCP mRNA reached a maximum on day 4 (** $P<0.01$), on the contrary, the level of β -catenin reached a minimum on day 4 (* $P<0.05$).

Table 3 β -TrCP expression during the implantation ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

Day	β -TrCP/Tubulin	<i>P</i>	<i>P'</i>
Control	0.4510 \pm 0.0038		
3	0.8295 \pm 0.0030	<0.05	
4	1.1587 \pm 0.0025	<0.01	
5	0.9063 \pm 0.0042	<0.05	
6	0.7553 \pm 0.0042	>0.05	
7	0.6172 \pm 0.0029	>0.05	
Peri-implantation site	0.8841 \pm 0.0027	<0.01	
Implantation site	1.0125 \pm 0.0034	<0.01	<0.05

P: compared with control group; *P'*: compared with peri-implantation site.

Table 4 β -catenin expression during the implantation ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

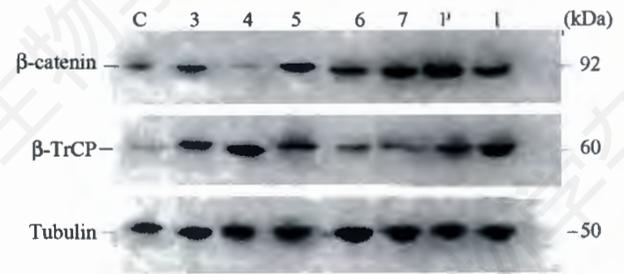
Day	β -catenin /Tubulin	<i>P</i>	<i>P'</i>
Control	0.6240 \pm 0.0021		
3	0.7887 \pm 0.0032	<0.05	
4	0.4243 \pm 0.0031	<0.05	
5	0.7860 \pm 0.0038	<0.01	
6	0.8775 \pm 0.0029	<0.01	
7	1.0472 \pm 0.0035	<0.01	
Peri-implantation site	1.2163 \pm 0.0034	<0.01	
Implantation site	0.9060 \pm 0.0028	<0.01	<0.05

P: compared with control group; *P'*: compared with peri-implantation site.

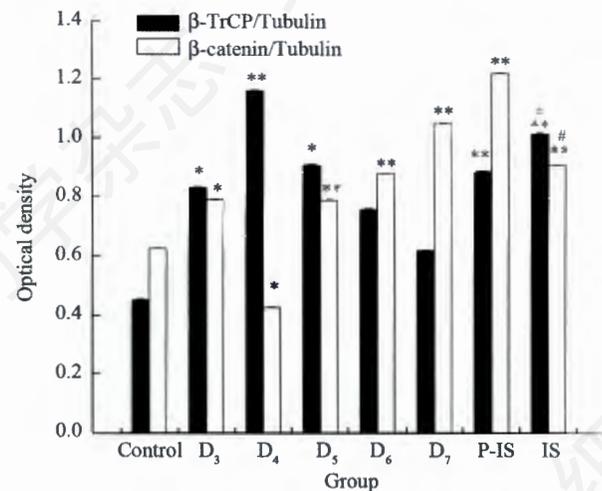
β -连环蛋白在妊娠早期以及假孕小鼠子宫内膜组织中均有表达(表3、表4、图5~图8)。从妊娠D₁开始, β -TrCP表达水平逐渐升高, 至着床窗口期(D₄)达最高水平($P<0.01$), 并维持到妊娠D₅ ($*P<0.05$), 以后其表达逐渐降低至正常水平。 β -连环蛋白在着床前期一直维持在较高水平, 与假孕对照比较有显著差异 ($*P<0.05$), 但在着床窗口期(D₄)明显降低 ($*P<0.05$), 之后又逐渐升高, 至妊娠第7天(D₇)又维持在较高水平 ($**P<0.01$)。此外, 着床旁、着床点组织中 β -TrCP、 β -连环蛋白的表达水平与对照组比较具有显著差异 ($**P<0.01$), 着床点与着床旁相比亦具有显著差异 ($*P<0.05$)。 β -TrCP主要集中在胞浆表达, 妊娠D₁至妊娠D₃主要分布于腺上皮、腔上皮, 妊娠D₄以后集中在基质表达。蛋白质在胞浆、胞核中均有表达, 但主要集中在基质表达, 腺上皮、腔上皮表达较弱。Western印迹显示各样本均于92 kDa、60 kDa、50 kDa处分别出现目的及内参蛋白。

3 讨论

胚胎着床是指胚胎经过与子宫内膜相互作用最

**Fig.5** Expression of β -TrCP and β -catenin in mice endometria during early pregnancy, implantation site and peri-implantation site respectively by Western blotting

C: control (day 1 of pseudopregnancy); 3-7: D₃-D₇ of pregnancy; P: peri-implantation site; I: implantation site.

**Fig.6** Optical density analysis of the Western blotting for β -TrCP and β -catenin

The level of β -TrCP reached a maximum on day 4, on the contrary, β -catenin reached a minimum on day 4. There is significant difference on day 4 of pregnancy compared to the control group ($*P<0.05$, $**P<0.01$, $*P'<0.05$).

终在子宫内膜植入的过程。这个过程具有特定的时空性。一方面要求胚胎活化具备植入的能力; 另一方面子宫内膜正好处于“着床窗”, 对胚胎呈现一种暂时的、特殊的生理接受状态(即子宫内膜容受性)。活化的囊胚在这种接受状态下与子宫内膜进行分子对话、信号转导, 完成定位、黏附、植入过程^[6]。参与着床过程信号转导的分子众多, 我们推测 β -TrCP 作为蛋白酶体降解的泛素连接酶复合物的成员之一, 可能通过介导着床过程中重要黏附蛋白 β -连环蛋白的泛素化降解, 从而参与分子间对话与信号转导, 并在这一过程中发挥作用。

β -TrCP、 β -连环蛋白均属于 Wnt/ β -连环蛋白信号通路中的关键分子, Araki等^[7]使用TCF/Lef-LacZ

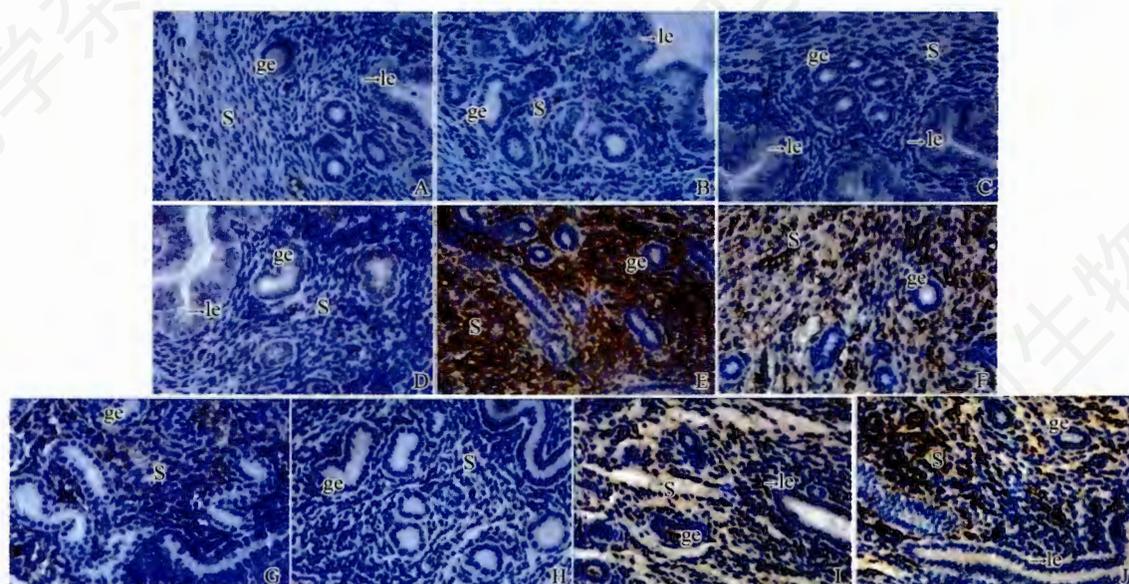


Fig.7 Immunolocalization of the β -TrCP protein in the mice uterus during early pregnancy (400 \times). Yellowish-brown staining was determined as positive

A: day 1 of pseudopregnancy; B-H: day 1, day 2, day 3, day 4, day 5, day 6, day 7 of pregnancy, respectively; I: peri-implantation site; J: implantation site; le: luminal epithelium; ge: glandular epithelium; S: stomal cell. The primary antibodies substituted with preimmune sera was used for the control group in order to avoid production of any positive immunostaining signals of β -TrCP protein.

The expression of β -TrCP protein gradually increased from day 1 to day 4 of pregnancy and reached its summit on day 4 of pregnancy. The expression of β -TrCP appeared faint on luminal epithelium, glandular epithelium of mice uterus on day 1 of pseudopregnancy and gradually increased in luminal epithelium, glandular epithelium on day 1, day 2, and day 3 and in stromal cells on day 4, and from day 5 of pregnancy, the expression in stromal cells gradually decreased. The expression of β -TrCP protein in implantation site appeared stronger than in peri-implantation site.

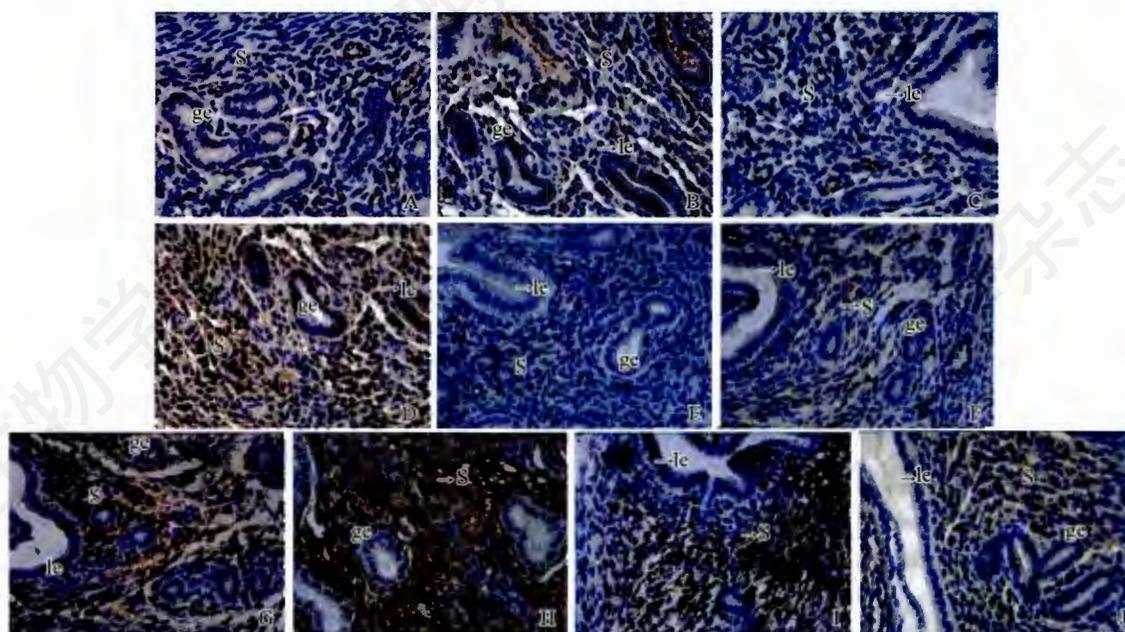


Fig.8 Immunolocalization of the β -catenin protein in the mice uterus during early pregnancy (400 \times). Yellowish-brown staining was determined as positive

A : day 1 of pseudopregnancy ; B-H: day 1, day 2, day 3, day 4, day 5, day 6, day 7 of pregnancy, respectively; I: peri-implantation site; J: implantation site; le: luminal epithelium, ge: glandular epithelium; S: stomal cell. The primary antibodies substituted with preimmune sera was used for the control group in order to avoid production of any positive immunostaining signals of β -catenin protein.

The expression of β -catenin protein appeared faint on day 1 of pseudopregnancy mice uterus, and gradually increased from day 1 to day 3 of pregnancy. However, the expression decreased on day 4 and reached a minimum on day 4 of pregnancy, and gradually increased from day 5 of pregnancy. The expression of β -catenin concentrated in stroma cells. The expression of β -catenin protein in peri-implantation site appeared stronger than in implantation site.

转基因小鼠检测了Wnt信号通路的活性,并证实Wnt/ β -连环蛋白信号通路的激活是胚胎植入过程中所必需的。 β -TrCP属于转导素家族,主要对细胞骨架装配以及细胞内的信号转导起关键作用。 β -TrCP也可能涉及细胞周期的调节,并且在肿瘤动力、浸润和转移中发挥一定的作用。 β -连环蛋白是一种多功能的胞内蛋白,对于子宫内膜蜕膜化期间的细胞黏附起着重要作用。一方面,它参与锚定细胞骨架与E-钙黏蛋白(E-cadherins),涉及细胞-细胞黏附接头的组成;另一方面, β -连环蛋白作为转录辅助激活因子,参与转录的激活^[8]。 β -连环蛋白在细胞中的水平由控制它泛素化降解的两种不同的E3连接酶复合物所调节,其中一种关键的复合物便是 β -TrCP,当其特殊残基(S33和S37)发生磷酸化时, β -TrCP便结合 β -连环蛋白,导致其经蛋白酶体的泛素化降解^[9]。本研究从探讨其mRNA、蛋白质表达水平出发,发现 β -TrCP、 β -连环蛋白在妊娠早期小鼠子宫内膜中存在不同程度的表达且表达存在时空差异。

胚胎着床是滋养细胞向子宫黏膜侵入的过程,小鼠胚胎着床发生在妊娠的第4天下午(D₄)。免疫组化定性分析结果表明:在早孕1~3天以及假孕的小鼠子宫内膜组织中, β -TrCP主要表达在子宫内膜腺上皮和腔上皮的胞浆中。从妊娠第4天起,胚胎开始着床, β -TrCP阳性颗粒便逐渐转移到基质细胞中。 β -连环蛋白在早孕以及假孕小鼠子宫内膜上皮及基质细胞的胞浆、胞核均有不同程度的表达,表明其可能参与胚泡形成以及胚泡之间的局部黏附。而在妊娠第4天(D₄)其表达明显降低,提示在着床窗口期,胚泡以及子宫内的Wnt/ β -连环蛋白信号通路处于抑制状态,这可能与植入前胚胎的发育与子宫分化的同步化有关^[10]。而此后其表达水平又逐渐升高,可能与Wnt/ β -连环蛋白信号抑制的解除有关。相反,从妊娠D₁开始, β -TrCP水平逐渐升高,至妊娠D₄达最高峰,持续到妊娠D₅,之后表达水平渐回落。我们推测有以下可能:① β -TrCP作为SCF(Skp1-Cull-F-box)复合物成员之一,参与磷酸化的 β -连环蛋白经蛋白酶体的泛素化降解。 β -TrCP的高水平表达势必造成胞浆中 β -连环蛋白的较低水平;② β -TrCP为Wnt/ β -连环蛋白信号通路的负性调节因子^[11], β -TrCP在妊娠D₄、D₅维持较高水平这一事实与胚胎着床窗口期Wnt/ β -连环蛋白信号通路被抑制相符。之后信号

抑制逐渐解除, β -TrCP水平也随之回落;③本研究揭示着床点组织中 β -TrCP表达水平明显高于着床旁组织,着床位点子宫内膜的变化有别于着床位点旁组织的变化,着床位点内膜更利于胚胎的侵入。提示 β -TrCP可能参与了胚胎着床的侵袭过程。近年来,已经相继发现 β -TrCP在胰腺癌、肝细胞癌、乳癌等上皮癌中不同程度的表达与癌症预后密切相关^[3]。Westbrook等^[12]发现 β -TrCP通过介导人类肿瘤抑制因子(REST)降解从而控制癌性转化以及神经分化。由此看来, β -TrCP作为最典型的哺乳动物F-盒蛋白之一,已经成为众多科学家研究的焦点。它在胚胎着床过程中究竟扮演着怎样的角色将引导我们更加深入的探索。

参考文献 (References)

- [1] Spevak W, Keiper BD, Stratowa C, et al. *Saccharomyces cerevisiae* cdc15 mutants arrested at a late stage in anaphase are rescued by *Xenopus* cDNAs encoding N-ras or a protein with β -transducin repeats, *Mol Cell Biol*, 1993, 13(8): 4953-4966
- [2] Winston JT, Koepf DM, Zhu C, et al. A family of mammalian F-box proteins, *Curr Biol*, 1999, 9(20): 1180-1182
- [3] Frescas D, Pagano M. Deregulated proteolysis by the F-box proteins SKP2 and β -TrCP: tipping the scales of cancer, *Nat Rev Cancer*, 2008, 8(6): 438-449
- [4] 张春雨. 胚胎植入与肿瘤浸润转移的相似性, *生命科学*, 1997, 9(3): 74
- [5] 潘卫, 王应雄, 黎刚, 等. 子宫内膜胚泡黏附时着床点与着床旁组织的分离, *贵阳医学院学报*, 2004, 29(6): 492-494
- [6] Mohamed OA, Jonnaert M, Labelle-Dumais C, et al. Uterine Wnt/ β -catenin signaling is required for implantation, *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(24): 8579-8584
- [7] Araki Y, Okamura S, Hussain SP, et al. Regulation of cyclooxygenase-2 expression by the Wnt and ras pathways, *Cancer Res*, 2003, 63(3): 728-734
- [8] Kemler R. From cadherins to catenins: cytoplasmic protein interactions action of cell adhesion, *Trends Genet*, 1993, 9(9): 317-321
- [9] Logan CY, Nusse R. The Wnt signaling pathway in development and disease, *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2004, 20: 781-810
- [10] Li J, Zhang JV, Cao YJ, et al. Inhibition of the β -catenin signaling pathway in blastocyst and uterus during the window of implantation in mice, *Boil Reprod*, 2005, 72(3): 700-706
- [11] Marikawa Y, Elinson RP. β -TrCP is a negative regulator of the Wnt/ β -catenin signaling pathway and dorsal axis formation in *Xenopus* embryos, *Mech Dev*, 1998, 77(1): 75-80
- [12] Westbrook TF, Hu G, Ang XL et al. SCF ^{β -TRCP} controls oncogenic transformation and neural differentiation through REST degradation, *Nature*, 2008, 452(7185): 370-374

Expression of β -TrCP and β -catenin in Mice Endometria during Embryo Implantation

Jing Huang^{1,2}, Jun-Lin He^{1,2}, Xue-Qing Liu^{1,2}, Yu-Bin Ding^{1,2}, Shi-Zhi Chen^{1,2},
Xue-Mei Chen^{1,2}, Ying-Xiong Wang^{1,2*}

(¹Laboratory of Reproductive Biology, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China;

²Department of Genetics, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

Abstract In order to investigate the potential role of β -transducin repeat-containing protein (β -TrCP) during early pregnancy, the mouse models of early pregnancy and pseudopregnancy were established respectively, then the endometria at different stages were collected. The distribution and expression level of β -TrCP and β -catenin of each stage were examined by RT-PCR, Western blotting, immunohistochemistry respectively. The spatio-temporal differences of expression of β -TrCP and β -catenin in mice endometria during early pregnancy were shown. The expression level of β -TrCP and β -catenin reached a maximum and minimum on the fourth day of pregnancy (the window of implantation) respectively. So we suggest that β -TrCP might participate in molecules cross-talk and signal transduction during implantation through mediating the ubiquitination and degradation of β -catenin which is a key mediator of the Wnt pathway and promote embryo implantation.

Key words β -transducin repeat-containing protein; β -catenin; embryo implantation; endometria; mice

Received: October 30, 2008 Accepted: March 2, 2009

This work was supported by the Natural Science Foundation of Chongqing City (No.2004-47)

*Corresponding author. Tel: 86-23-68485926, E-mail: wyx61221@yahoo.com.cn