

DEK对人子宫内蜕膜化的调节作用

吴梦云 王应雄 刘学庆*

(重庆医科大学公共卫生与管理学院生殖生物研究室, 重庆 400016)

摘要 为探讨DNA结合蛋白果蝇Eph激酶(*Drosophila* Eph kinase, DEK)对人子宫内膜基质蜕膜化的调节作用和途径, 该研究采用qPCR(Real-time quantitative polymerase chain reaction)、免疫组化(immunohistochemical)和蛋白印迹(Western blot)分别检测人子宫内膜增生期、分泌期和蜕膜组织中DEK基因和蛋白的表达; 利用siRNA抑制基质细胞和蜕膜细胞的DEK, 再用细胞流式技术、细胞免疫荧光、qPCR、细胞碱性磷酸酶脂显色和Western blot检测DEK沉默后细胞的变化。结果显示, 蜕膜组织中DEK mRNA表达水平低于增生期和分泌期($P < 0.05$), 蜕膜组织中DEK蛋白表达水平高于增生期和分泌期($P < 0.05$); 抑制基质细胞DEK会使细胞增殖和分化能力降低, 从而抑制基质细胞蜕膜化; 抑制蜕膜细胞DEK可使细胞凋亡增加, DNA损伤情况加剧, 导致蜕膜细胞的维持和发展受到影响。综上, 该研究初步证实, DEK可能通过调控细胞蜕膜化而参与胚胎着床过程, 其可能途径与其通过调控细胞增殖、分化、凋亡和核损伤有关。

关键词 DEK; 胚胎着床; 蜕膜化; DNA损伤

The Regulation of DEK in Human Endometrial Decidualization

Wu Mengyun, Wang Yingxiong, Liu Xueqing*

(Laboratory of Reproductive Biology, School of Public Health and Management
Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

Abstract In this study, to investigate the regulation of endometrial decidualization by *Drosophila* Eph kinase (DEK) a DNA-binding protein, the expression pattern of DEK in human tissue (proliferative, secretory and decidualization) was detected by Real-time quantitative polymerase chain reaction (qPCR), immunohistochemistry (IHC) and Western blot. Human uterine stromal and decidual cells were inhibited the expression of DEK. Then the proliferation, differentiation, apoptosis and DNA damage of cells were detected. Our results revealed that the expression pattern of DEK mRNA in decidualization was significantly lower than that in proliferative and secretory groups. The expression pattern of DEK protein in decidualization was significantly higher than that in proliferative and secretory groups. DEK inhibited in stromal cells causes decrease in proliferation and differentiation ability. DEK inhibited in decidual cells causes increases apoptosis and DNA damage. Taken together, in the present study, we primarily indicated that DEK possibly through regulation of cell decidualization to participate in embryo implantation process. DEK through the regulation of cell proliferation, differentiation, apoptosis and DNA damage is involved in the regulation of decidualization.

Keywords DEK; embryo implantation; decidualization; DNA damage

收稿日期: 2016-9-21 接受日期: 2016-11-14

国家自然科学基金(批准号: 31571551)资助的课题

*通讯作者。Tel: 023-68485008, E-mail: cqmu_liuxueqing@126.com

Received: September 21, 2016 Accepted: November 14, 2016

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.31571551)

*Corresponding author. Tel: +86-23-68485008, E-mail: cqmu_liuxueqing@126.com

网络出版时间: 2016-12-19 15:38:48

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20161219.1538.004.html>

妊娠是一个复杂的系列事件,包括受精、胚胎黏附和植入、子宫内膜蜕膜化、胚胎形成和分娩等过程。在这些过程中,任何一个过程的缺陷和失败都会导致有害的妊娠结局。对于人类妊娠失败的不同阶段的研究表明,约30%发生在植入后的前几月,这种早期妊娠失败与胚胎植入时子宫内膜的异常密切相关。已有研究表明,这种异常与基质细胞蜕膜化能否正常进行有关^[1]。

胚胎植入是从胚胎黏附到子宫内膜上皮开始,接着侵袭以及基质细胞蜕膜化。子宫内膜基质细胞蜕膜化是胚胎植入和成功妊娠的必备条件,其异常会导致不育和妊娠失败等结局^[2]。研究表明,胚胎植入过程中子宫内膜的变化,除了雌孕激素的作用外,一些细胞因子也参与了此过程,如癌蛋白53(tumor protein 53, *P53*)、环氧合酶-2(epoxy synthase-2, *COX-2*)和*WNT4*基因等,参与了子宫内膜蜕膜化过程,而子宫内膜着床点基质细胞的蜕膜化发生、发展和维持对于正常早期妊娠具有重要作用^[3-5]。

本课题组前期以小鼠作为动物模型研究发现,与细胞增殖与分化密切相关的DNA结合蛋白果蝇Eph激酶(*Drosophila* Eph kinase, DEK)在着床点的表达水平却明显高于着床旁,而该基因在人生殖方面的研究却未见相关报道。

DEK作为高丰度、进化保守能与DNA结合的蛋白,受转录水平和翻译后修饰调控。DEK与DNA特异性结合能够改变与其结合的DNA的拓扑结构,而此结构影响DNA的复制、基因表达等^[6]。Wang等^[7]对肿瘤细胞株的研究发现,DEK过度表达会促进细胞增殖、抑制细胞死亡,反之则促进细胞凋亡。而在肿瘤研究中也发现,DEK可调控WNT、p53和核转录因子- κ B(nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells, NF- κ B)等的的作用,影响肿瘤细胞的增殖和凋亡^[8-10];而在相关子宫内膜基质细胞蜕膜化的研究中,亦发现这些基因与蜕膜化有关^[3-5,11]。故我们推测,胚胎植入过程中,DEK的表达对基质细胞增殖、蜕膜化和蜕膜细胞的维持具有重要意义。课题组前期运用小鼠动物模型已证实,DEK与基质细胞蜕膜化有关,而在人的基质细胞蜕膜化过程中是否具有相同作用,尚未有研究证实。本文通过研究DEK在人蜕膜组织中的表达量和DEK对基质细胞蜕膜化的影响,探讨了其在人子宫内膜蜕膜化中的作用。

1 材料与方法

1.1 材料

取在重庆医科大学附属第一医院就诊良性疾病妇女的子宫内膜组织(分泌期、增生期各20例),年龄22~35岁,月经规律。所取材料符合伦理要求。取正常妊娠6~8周但自愿终止妊娠妇女蜕膜组织20例,组织供给者年龄22~35岁。所取组织转移到含1%青霉素-链霉素(江苏碧云天生物科技公司)的HBSS(武汉博士德生物公司)溶液中,冷藏待用。

1.2 试剂及仪器

逆转录及PCR引物、Anti-HIST1H3D抗体(货号: AB55079)、Anti-FANCD2抗体(货号: AB54169)、Anti-H2AFX抗体(货号: AB55127)购自生工生物工程(上海)股份有限公司; SYBR[®] Premix Ex Taq[™] II、PrimeScript[™] RT Master Mix购自大连TaKaRa公司; SA1021-小鼠IgG SABC免疫组化染色试剂盒、Goat Anti-Mouse IgG(货号: BA1050)、Goat Anti-Rabbit IgG(货号: BA1054)、HBSS(无酚红)购自武汉博士德生物公司; ZF-0311 FITC标记山羊抗兔IgG购自北京中杉金桥公司; Rabbit Anti-DEK(货号: bs-0874R)、Rabbit Anti-PRL(货号: bs-0508R)购自北京博奥森公司。Lipofectamine[®] 2000 Transfection试剂、Trizol试剂购自美国Invitrogen公司。Certified Foetal Bovine Serum(FBS) Charcoal Stripped购自华雅干细胞公司。无酚红培养基、胶原酶、胰酶、焦碳酸二乙酯(diethyl pyrocarbonate, DEPC)购自美国Sigma公司。青霉素-链霉素溶液、RIPA裂解液、PMSF、BCA蛋白浓度测定试剂盒、SDS-PAGE蛋白上样缓冲液(5 \times)、SDS-PAGE凝胶配制试剂盒购自江苏碧云天生物科技公司。siRNA购自上海吉玛制药技术有限公司。

紫外分光光度计、凝胶成像仪、Real-time PCR仪、Western blot印迹转移电泳仪购于美国Bio-Rad公司; 6孔和24孔细胞培养板由美国Costar公司提供; CO₂细胞培养箱购自于美国Forma Scientific公司; 倒置显微镜和荧光显微镜均由Olympus公司提供。

1.3 RNA提取

通过Trizol试剂提取、异丙醇浓缩、DEPC水溶解后得到组织和细胞的RNA,采用分光光度计检测总RNA的浓度、纯度,甲醇变性琼脂糖电泳凝胶电泳检测RNA完整性。

1.4 qPCR

根据TaKaRa试剂盒说明加样,用Real-time PCR

仪检测各基因表达量,引物合成序列见表1。

1.5 石蜡包埋组织

将人子宫内膜组织先采用生理盐水清洗,再用梯度酒精脱水,二甲苯透明,最后利用软蜡置换组织内二甲苯,硬蜡包埋备用。

1.6 免疫组化

将石蜡切片置于二甲苯中脱蜡,随后用梯度酒精水化切片,3% H₂O₂灭活内源性酶,再利用枸橼酸盐缓冲液进行抗原热修复,5% BSA封闭,并按1:100比例稀释兔多克隆抗体DEK,孵一抗,4 °C过夜。次日,取出切片,清洗后重新孵育二抗和SABC,进行DAB显色,苏木素染核,梯度酒精脱水封片并置于镜下观察。

1.7 蛋白提取

将组织、细胞材料放入裂解液与PMSF(100:1)的混合液中,于匀浆器中裂解至肉眼不可见(裂解完全),4 °C,1 200 r/min离心15 min,取中间上清液,测蛋白浓度。加适量5×buffer于上清液中,样品煮沸15 min,冷却后于-20 °C保存蛋白样品。

1.8 蛋白印迹

一抗DEK稀释比例为1:100,一抗Actin稀释比例为1:2 000,一抗FANCD2、一抗PH3、一抗H2AFX稀释比例均为1:100。DEK、actin配置10%胶,FANCD2、PH3配置6%胶,H2AFX配置15%胶,备用。蛋白上样,电泳液电泳至所要条带分离清楚,电转液过夜电转,5%脱脂牛奶封闭,孵一抗、孵二抗,显色照相。

1.9 原代细胞分离与培养

酶I配置:20×中性蛋白酶0.5 mL与5×胰酶2 mL混合,加HBSS溶液至10 mL,混匀,0.22 μm滤器过滤,4 °C待用;酶II配置:20×胶原酶0.5 mL,加HBSS至10 mL,混匀,过滤,4 °C待用;完全培养液:DMEM/

F12培养液45 mL加活性炭处理血清5 mL,加青霉素-链霉素液500 μL,加两性霉素B50 μL混匀,0.22 μm滤器过滤,4 °C待用;无双抗培养液:DMEM/F12培养液45 mL,加入活性炭处理后血清5 mL,混匀,过滤,4 °C待用。新鲜人子宫内膜组织在加双抗的HBSS中洗净,加入酶I,将组织剪碎至2~3 mm,于4 °C消化1 h,室温消化1 h,37 °C消化10 min,后将组织吹打至黏稠状,500 r/min离心5 min,去上清,加入HBSS洗涤,500 r/min离心5 min,去上清,加酶II混匀,37 °C消化,过滤后1 500 r/min离心5 min,去上清,加入HBSS洗涤,1 500 r/min离心5 min,去上清。加入少量培养液,轻轻吹打沉淀的细胞使其重新悬浮于液体中,再种板。

1.10 细胞转染

细胞换无双抗培养液培养3 h,siRNA 10 μL、Lip 2000取5 μL、DMEM/F12无酚红500 μL,混匀,加入6孔板中的1个孔。转染6 h后,换成完全培养基。siRNAs序列如下。DEK-homo-657正向序列:5'-GGC AAA CCA UUG CCC GAA AUT T-3',反向序列:5'-AUU UCG GCA AUG GUU UGC CTT-3';DEK-homo-1009正向序列:5'-CAG AUG AUG AAC CUU UAA UTT-3',反向序列:5'-AUU AAA GGU CAU CAU CUG TT-3';DEK-homo-247正向序列:5'-CCG AGA AAG AAC CCG AAA UTT-3',反向序列:5'-AUU UCG GGU UCU UUC UCG GTT-3';阴性对照正向序列:5'-UUC UCC GAA CGU GUC ACG UTT-3',反向序列:5'-ACG UGA CAC GUU CGG AGA ATT-3'。

1.11 细胞免疫荧光

去掉细胞爬片中培养液,冰甲醇固定爬片15 min。5% BSA封闭爬片10 min,孵一抗4 °C过夜。避光孵二抗、PI染核,观察并照相。

表1 各引物序列

Table 1 Primer sequences

名称 Name	引物序列(5'→3') Primer sequence (5'→3')
<i>DEK</i>	Forward: AAC TGC TTT ACA ACA GGC CAG Reverse: ATG GTT TGC CAG CTT TG
<i>IGFBP1</i>	Forward: ATC AGC CCA TCC TGT GGA AC Reverse: TGC AGC TAA TCT CTC TAG CAC TT
<i>P53</i>	Forward: ACT TGT CGC TCT TGA AGC TAC Reverse: GAT GCG GAG AAT CTT TGG AAC A
<i>β-actin</i>	Forward: CTC CAT CCT GGC CTC GCT GT Reverse: GCT GTC ACC TTC ACC GTT CC

1.12 细胞碱性磷酸酶脂显色

去除细胞爬片中培养液, 加入200 μ L BCIP/NBT工作液, 避光37 $^{\circ}$ C孵育12 h后显微镜下观察照相。

1.13 细胞流式测周期、凋亡

将细胞在对数生长期转染。分别于24、48、72 h后, 将细胞以 10^6 /mL的浓度用PBS漂洗, 并固定于70%乙醇中的单细胞悬浮液, 将其悬浮于1 mL含50 mg/mL的碘化丙锭(PI), 再加入RNase A至终浓度50 μ g/mL。进行PI染色分析细胞周期分布。分析样品在FACS Calibur流式细胞仪和使用该MODFIT软件程序中的数据进行了评价。实验重复3次。

将细胞在对数生长期转染。分别于24、48、72 h后, 将细胞以 10^6 /mL的浓度用PBS漂洗, 并悬浮于V-FITC和PI中。用膜联蛋白V凋亡检测试剂盒检测混悬液。在室温下孵育15 min后, 分析样品在FACS Calibur流式细胞仪, 以确定凋亡的速率。实验重复3次。

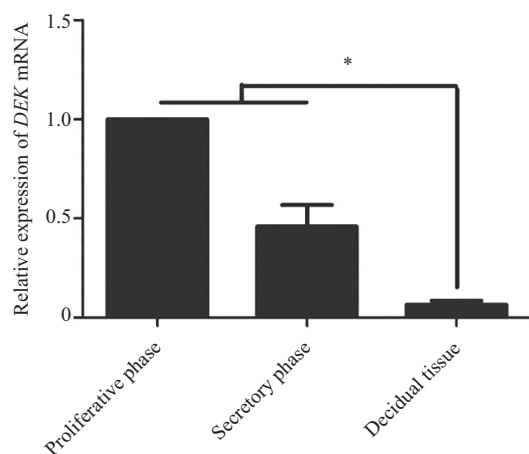
1.14 数据统计

采用SPSS 13.0统计学软件进行分析, 每组实验均重复至少3次以上, 两组间的数据比较采用 t 检验进行分析, 组间比较采用多因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 DEK mRNA在人子宫内膜的表达模式

qPCR检测子宫内膜增生期、分泌期和蜕膜组织中DEK发现, 蜕膜组织中DEK mRNA表达水平低于分泌期和增生期表达水平, 且具有统计学差异($P < 0.05$, 图1)。



* $P < 0.05$.

图1 DEK mRNA在人子宫内膜的表达模式

Fig.1 DEK mRNA in human endometrial tissues

2.2 DEK蛋白在人子宫内膜的表达模式

子宫内膜分泌期、增生期和蜕膜组织组化分析结果如下。组化结果显示, 分泌期DEK蛋白主要表达在腺上皮细胞中, 增生期DEK蛋白表达较弱, 而在蜕膜组织中, DEK蛋白阳性信号广泛表达于蜕膜细胞中(图2A); 同时, Western blot结果显示, 蜕膜组织的DEK蛋白水平明显高于分泌期和增生期组织的表达量, 且具有统计差异(图2B和图2C)。

2.3 比较DEK siRNA抑制人子宫内膜蜕膜化的效果

分离蜕膜细胞进行原代培养, siRNA干扰DEK表达。qPCR检测发现, 3个siRNA片段(DEK-homo-247、DEK-homo-657、DEK-homo-1009)干扰对DEK表达均有效果, 且具有统计学意义。其中, DEK-homo-247效果最优(图3A); DEK在原代蜕膜细胞中被抑制后, 蜕膜标志物IGFBP1 mRNA在蜕膜细胞中的表达量明显下降(图3B)。

2.4 沉默DEK后基质细胞和蜕膜细胞的变化

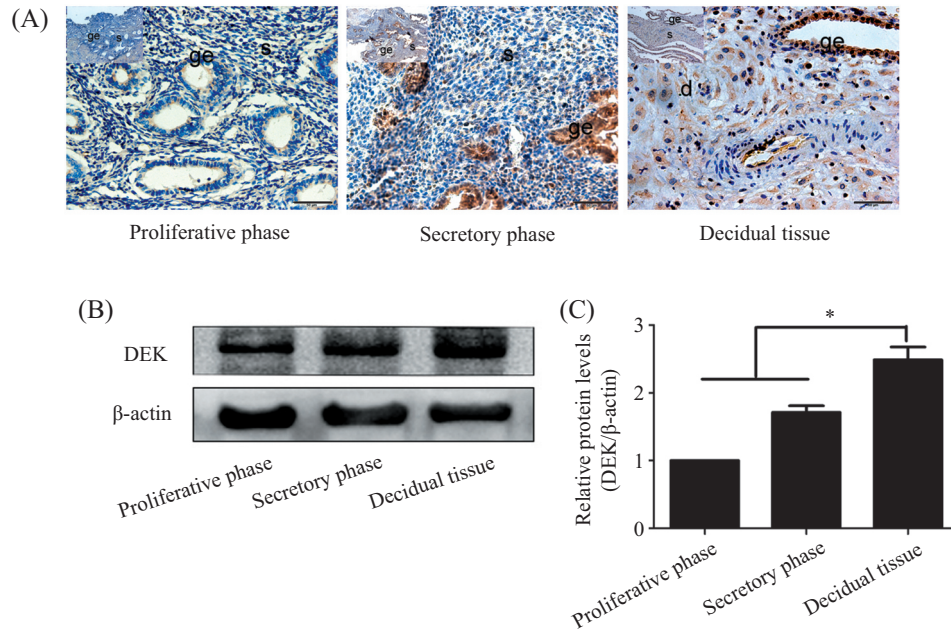
DEK-homo-247干扰DEK表达后, 检测基质细胞变化。碱性磷酸酶染色示, DEK siRNA组细胞分化受到明显抑制(图4A); 增殖标志物PH3在基质细胞中的表达减少(图4B); 同时, 流式细胞术周期结果显示, DEK siRNA可明显降低G₂期细胞数, 增加S期细胞数(图4C)。

DEK-homo-247干扰DEK表达后, 检测蜕膜细胞变化。流式细胞术凋亡结果发现, siRNA片段可增加蜕膜细胞在凋亡期细胞数和总凋亡细胞数, 且具有统计学差异(图4C); qPCR检测提示, 在DEK siRNA组中, 凋亡标志物P53明显高于对照组, 且具有统计学差异(图4D); Western blot检测DNA损伤相关因子FANCD2和 γ H2AFX发现, FANCD2和 γ H2AFX蛋白表达量在DEK siRNA组中均降低(图4E和图4F)。

3 讨论

妊娠是一个复杂的系列事件。子宫内膜的容受性对于正常妊娠起着非常重要的作用, 而子宫内膜容受性取决于基质细胞蜕膜化程度^[12-13]。不同时段子宫内膜组织蛋白分析表明, 蜕膜组织的DEK表达量高于分泌期和增生期的组织, 说明DEK对于蜕膜组织的形成或维持可能具有一定的作用。

蜕膜化是子宫内膜一种特殊的分化过程, 与月经、妊娠有着密切联系。子宫内膜蜕膜化的进行首

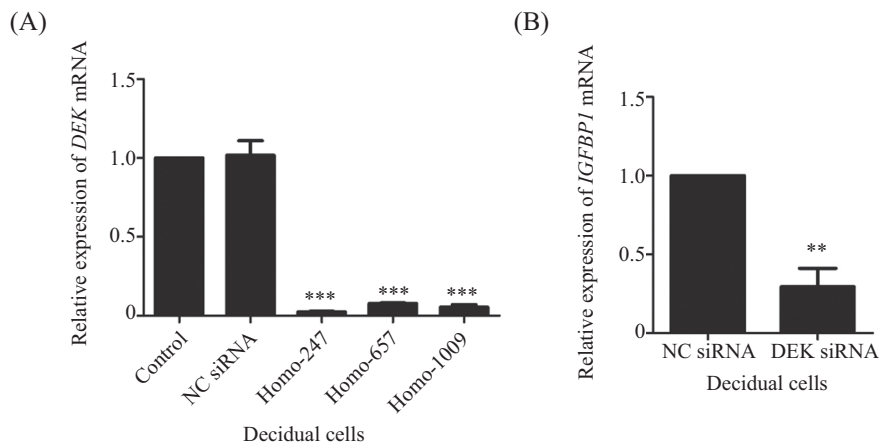


A: 用免疫组化方法检测DEK在人子宫内膜的表达部位, 黄棕色为阳性信号, 标尺=50 μm ; B: 用Western blot检测DEK在人子宫内膜组织的蛋白含量表达情况, β -actin作为对照; C: 图B灰度分析, $*P < 0.05$ 。ge: 腺上皮; s: 基质; d: 蜕膜。

A: the localization of DEK protein during phases of human endometrium determined using IHC. The yellowish-brown stain indicates a positive signal. Scale bars=50 μm . B: the level of DEK protein expression examined using Western blot analyses. β -actin was used as a control. C: quantitative presentation of data shown in B, $*P < 0.05$. ge: glandular epithelium; s: stroma; d: decidua.

图2 DEK蛋白在人子宫内膜的表达模式

Fig.2 DEK protein in human endometrial tissues



A: 用DEK siRNA(DEK-homo-247、DEK-homo-657、DEK-homo-1009)抑制DEK在蜕膜细胞中的表达, 通过qPCR验证干扰的效果, $***P < 0.001$, 与NC siRNA组比较; B: 用qPCR检测人蜕膜标志物IGFBP1 mRNA, $**P < 0.01$, 与NC siRNA组比较。

A: DEK mRNA in uterine decidual cells following transfection with NC siRNA and DEK siRNA (DEK-homo-247, DEK-homo-657, DEK-homo-1009), $***P < 0.001$ vs NC siRNA group; B: IGFBP1 mRNA in uterine decidual cells following transfection, $**P < 0.01$ vs NC siRNA group.

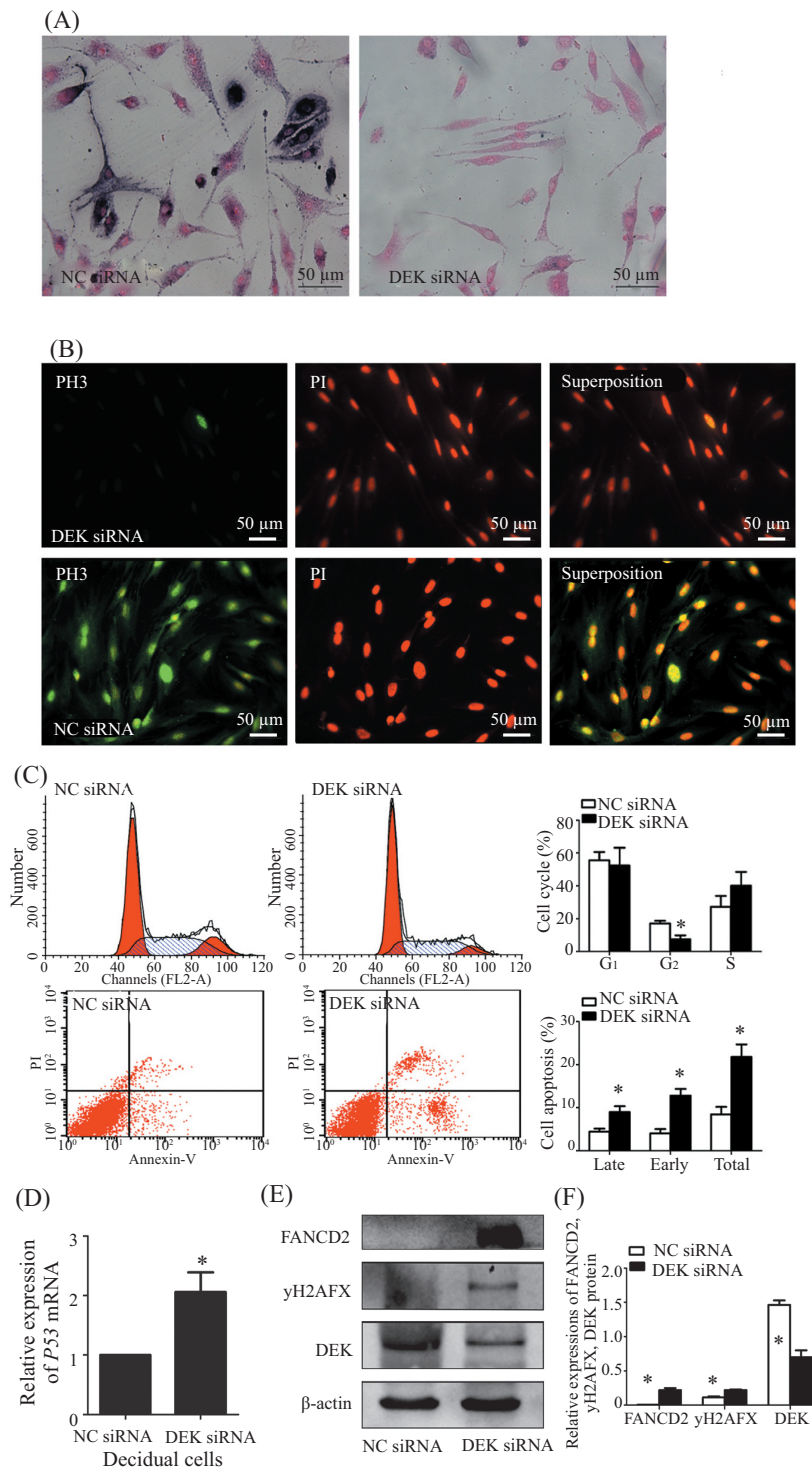
图3 比较DEK siRNA抑制人子宫内膜蜕膜化的效果

Fig.3 Compared the inhibitory effect of DEK siRNA on human endometrial decidualization

先与基质细胞的正常增殖有关^[14]。在基质细胞中沉默DEK表达, 随着其表达量的降低, 基质细胞增殖能力下降, 同时细胞蜕膜化的标志物也明显降低, 说明DEK通过调控细胞增殖影响了基质细胞蜕膜化。在蜕膜化的正常过程中, 除细胞增殖外还需进一步分

化成蜕膜细胞, 在分化完成后, 蜕膜化标志着结束^[15]。当抑制DEK基因表达后, 基质细胞分化能力明显下降, 人的蜕膜标志物IGFBP1也降低, 说明DEK通过影响细胞分化调控了基质细胞蜕膜化过程。

同时, 研究发现, 抑制DEK促进蜕膜细胞P53通



A: 碱性磷酸酶检测蜕膜化的进程, 深蓝色为阳性信号; B: 免疫荧光检测PH3的表达, PI标记细胞核, 绿色荧光为阳性信号; C: 流式细胞术方法检测细胞周期和细胞凋亡情况, * $P < 0.05$; D: qPCR检测P53 mRNA水平, * $P < 0.05$; E: Western blot检测FANCD2、 γ H2AFX和DEK的表达量, β -actin作为对照; F: 图E的灰度分析, * $P < 0.05$ 。

A: decidualization detected using alkaline phosphatase assay. The dark blue stain indicates a positive signal; B: representative micrographs showing the localization of PH3 protein as determined using immunofluorescence. Cell nuclear was identified by PI. The green stain indicates a positive signal; C: flow cytometry analyses of cell cycle were shown by the 2 micrographs on the higher left corner, * $P < 0.05$. Flow cytometry analyses of cell apoptosis were shown by the 2 micrographs on the lower left corner, * $P < 0.05$; D: expression of P53 mRNA, * $P < 0.05$; E: the levels of FANCD2, γ H2AFX and DEK proteins expression examined using WB analyses. β -actin was used as a control; F: quantitative presentation of data shown in E, * $P < 0.05$.

图4 沉默DEK后基质细胞和蜕膜细胞的变化

Fig.4 The change of cells after suppressing DEK in human uterine stromal and decidual cells

路参与的凋亡率增加和DNA损伤增加。已有文献表明, P53通路的激活抑制胚胎着床及发育^[16], 且P53为DEK下游靶基因^[17], 说明DEK确实可以通过抑制P53来影响胚胎着床或蜕膜细胞的维持; DNA完整性在蜕膜维持中起着重要作用, DNA的损伤会抑制蜕膜化进程^[18-19], 这也说明DEK可以通过抗DNA损伤来维持蜕膜细胞, 有利于胚胎植入的正常进行。

综上所述, 本研究证实了DEK参与子宫内膜细胞蜕膜化进程, 其可能机制与调节细胞增殖、分化、凋亡和DNA损伤等方面有关, 而其具体机制还有待于进一步研究。

本研究中还发现了一个有趣的现象, 即组织中DEK mRNA和蛋白质表达水平不一致, 考虑特定基因mRNA丰度不一定与其翻译产物蛋白质的表达量成线性关系, 并与修饰折叠等因素有关, 但这一猜想需要更多的实验验证。

参考文献 (References)

- Larsen EC, Christiansen OB, Kolte AM, Macklon N. New insights into mechanisms behind miscarriage. *BMC Med* 2013; 11: 154.
- Kajihara T, Brosens JJ, Ishihara O. The role of FOXO1 in the decidual transformation of the endometrium and early pregnancy. *Med Mol Morphol* 2013; 46(2): 61-8.
- Lledo B, Turienzo A, Ortiz JA, Morales R, Ten J, Llacer J, *et al.* Negative effect of P72 polymorphism on p53 gene in IVF outcome in patients with repeated implantation failure and pregnancy loss. *J Assisted Reprod Genetics* 2014; 31(2): 169-72.
- Salazar LA, Inostroza M, Jara C, Vega F, Garcia R, Ciuffardi I, *et al.* Association of -765G>C polymorphism of the COX-2 gene with recurrent embryo implantation failure in Southern Chilean women. *Clinica Chimica Acta* 2010; 411(21/22): 1822-4.
- Tepekoy F, Akkoyunlu G, Demir R. The role of Wnt signaling members in the uterus and embryo during pre-implantation and implantation. *J Assisted Reprod Genetics* 2015; 32(3): 337-46.
- Waldmann T, Baack M, Richter N, Gruss C. Structure-specific binding of the proto-oncogene protein DEK to DNA. *Nucleic Acids Res* 2003; 31(23): 7003-10.
- Wang X, Lin L, Ren X, Lin Z, Li Z, Li C, *et al.* High expression of oncoprotein DEK predicts poor prognosis of small cell lung cancer. *Int J Clin Exp Pathol* 2014; 7(8): 5016-23.
- Fang L, Cheng Q, Zhao J, Ge Y, Zhu Q, Zhao M, *et al.* A p53-independent apoptotic mechanism of adenoviral mutant E1A was involved in its selective antitumor activity for human cancer. *Oncotarget* 2016; Doi: 10.18632/oncotarget.10221.
- Arheden K, Mandahl N, Strombeck B, Isaksson M, Mitelman F. Chromosome localization of the human oncogene INT1 to 12q13 by in situ hybridization. *Cytogenet Cell Genet* 1988; 47(1/2): 86-7.
- Wong VK, Zhang MM, Zhou H, Lam KY, Chan PL, Law CK, *et al.* Saikosaponin enhances the anticancer potency of TNF-alpha via overcoming its undesirable response of activating NF-kappa B signalling in cancer cells. *Evid Based Complement Alternat Med* 2013; 2013: 745295.
- Luo L, Li DH, Li XP, Zhang SC, Yan CF, Wu JF, *et al.* Polymorphisms in the nuclear factor kappa B gene association with recurrent embryo implantation failure. *Genet Mol Res* 2016; doi: 10.4238/gmr.15027759.
- Xu J, Li M, Zhang L, Xiong H, Lai L, Guo M, *et al.* Expression and regulation of androgen receptor in the mouse uterus during early pregnancy and decidualization. *Mol Reprod Develop* 2015; 82(11): 898-906.
- Blois SM, Klapp BF, Barrientos G. Decidualization and angiogenesis in early pregnancy: Unravelling the functions of DC and NK cells. *J Reprod Immunol* 2011; 88(2): 86-92.
- Lee SY, Lee YY, Choi JS, Yoon MS, Han JS. Phosphatidic acid induces decidualization by stimulating Akt-PP2A binding in human endometrial stromal cells. *FEBS J* 2016; doi: 10.1111/febs.13914.
- Schutte SC, Taylor RN. A tissue-engineered human endometrial stroma that responds to cues for secretory differentiation, decidualization, and menstruation. *Fertil Steril* 2012; 97(4): 997-1003.
- Zhang TG, Li XD, Yu GY, Xie P, Wang YG, Liu ZY, *et al.* All-trans-retinoic acid inhibits chondrogenesis of rat embryo hindlimb bud mesenchymal cells by downregulating p53 expression. *Mol Med Rep* 2015; 12(1): 210-8.
- Wise-Draper TM, Allen HV, Jones EE, Habash KB, Matsuo H, Wells SI. Apoptosis inhibition by the human DEK oncoprotein involves interference with p53 functions. *Mol Cell Biol* 2006; 26(20): 7506-19.
- Miyashita M, Koga K, Izumi G, Makabe T, Hasegawa A, Hirota Y, *et al.* Drospirenone induces decidualization in human eutopic endometrial stromal cells and reduces DNA synthesis of human endometriotic stromal cells. *Fertil Steril* 2015; 104(1): 217-24.
- Lei W, Feng XH, Deng WB, Ni H, Zhang ZR, Jia B, *et al.* Progesterone and DNA damage encourage uterine cell proliferation and decidualization through up-regulating ribonucleotide reductase 2 expression during early pregnancy in mice. *J Biol Chem* 2012; 287(19): 15174-92.