

哺乳动物早期胚胎滋养外胚层发育的研究进展

张艳艳, 彭 辉, 肖天放*

(福建农林大学动物科学学院, 福州 350002)

摘 要: 囊胚形成过程中, 胚胎卵裂球分化为滋养外胚层和内细胞团细胞。囊胚孵出后, 滋养外胚层又分化为极滋养层和壁滋养层。滋养外胚层的分化对哺乳动物早期胚胎发育至关重要。研究表明, 影响滋养外胚层发育的关键基因主要为 *Tead 4*、*Cdx 2* 和 *Eomes*, 敲除或突变这些基因将导致滋养外胚层细胞分化错误, 而滋养外胚层的完整性、渗透性和液体转运功能受损也将导致囊胚形成失败。本文主要综述了哺乳动物滋养外胚层的发育、滋养外胚层发育需要的关键基因、调控滋养外胚层完整性和功能相关的蛋白, 以及这些蛋白与滋养外胚层发育关键基因之间可能存在的关系, 为进一步研究哺乳动物早期胚胎滋养外胚层的调控机制提供参考。

关键词: 滋养外胚层; 完整性; 功能; 早期胚胎发育; 哺乳动物

中图分类号: S814

文献标志码: A

文章编号: 0366-6964(2018)10-2080-06

Research Progress of Trophectoderm Development of Early Embryo in Mammals

ZHANG Yan-yan, PENG Hui, XIAO Tian-fang*

(College of Animal Science, Fujian Agriculture and Forestry
University, Fuzhou 350002, China)

Abstract: During the blastocyst development, embryonic blastomeres were differentiated into trophectoderm and inner cell mass. After the blastocyst hatching, trophectoderm was differentiated into polar trophoblast and mural trophoblast. The differentiation of trophectoderm was very important for early embryonic development in mammals. *Tead 4*, *Cdx 2* and *Eomes* are primary genes affecting trophectoderm development and knockout or mutation of these genes result in incorrect differentiation of trophectoderm. While the integrality, permeability and fluid transport function of trophectoderm were disfigured, which further led to the failure of blastocyst formation. We comprehensively discussed the development process of trophectoderm, pivotal genes for its formation, key proteins related to its integrality and function as well as underlying potential relationship between these key proteins and pivotal genes, which may provide information for further understanding the molecular mechanisms regulating embryonic trophectoderm development in mammals.

Key words: trophectoderm; integrality; function; early embryonic development; mammals

滋养外胚层的形成对早期胚胎的发育至关重要。滋养外胚层完整性受损将导致囊胚形成失败甚至死亡, 同时滋养外胚层的渗透性和液体转运功能受阻也将导致囊胚形成失败; 滋养外胚层不能正确

地分化将造成胚胎不能附植或附植后形成的胎盘畸形, 进而增加胎儿的流产率和死亡率, 因此, 研究调控滋养外胚层完整性和功能的分子机制具有重要的理论和实践意义。

收稿日期: 2018-01-17

基金项目: 国家自然科学基金(31672415)

作者简介: 张艳艳(1981-), 女, 河南巩义人, 硕士, 主要从事动物生殖生理与胚胎工程研究, E-mail: 563751066@qq.com

* 通信作者: 肖天放, 教授, E-mail: tfxiao@163.com

1 哺乳动物滋养外胚层的发育

哺乳动物早期胚胎发育到一定时期发生胚胎致密化,致密化是以相邻卵裂球界限不清、细胞变扁和 E-cadherin 依赖细胞间黏附的确立为特征的形态变化过程。卵裂球获得以微绒毛顶端定位为特征的细胞极性和获得胞质极性,之后随着细胞分裂,外部细胞保持极性并产生滋养外胚层上皮。在囊胚形成的过程中,滋养外胚层细胞形成有黏附连接和紧密连接功能的转运上皮^[1]。钠泵(Na^+/K^+ -ATPase)的活性导致穿过滋养外胚层离子梯度的确立和囊胚腔形成过程中的液体积聚^[2]。此外,水通道有助于穿过滋养外胚层的水运动并导致囊胚腔扩张^[3]。囊胚从透明带中孵出以后,滋养外胚层又分化为 2 种滋养层细胞:覆盖内细胞团的细胞,称极滋养层(polar trophoblast);围绕囊胚腔的细胞,称壁滋养层(mural trophoblast)。极滋养层增殖活跃,刺激极滋养层增殖的信号起源于内细胞团,并且在局部起作用^[4]。壁滋养层细胞围绕囊胚腔,不能与内细胞团紧密连接。附植以后,覆盖在内细胞团外面的极滋养层细胞继续增殖,形成包含滋养层干细胞的胚外外胚层(extra-embryonic ectoderm, ExE)和二倍体的绒毛膜锥(ectoplacental cone, EPC),同时壁滋养层细胞停止分裂形成滋养层巨细胞^[5]。

2 哺乳动物滋养外胚层发育需要的关键基因及其相互关系

2.1 哺乳动物滋养外胚层发育需要的关键基因

在附植前胚胎发育过程中,调节滋养外胚层发育的基因主要有含 TEA 结构域的家族成员 4 (TEA domain family member 4, *Tea* 4)、尾型同源盒转录因子 2 (caudal type homeobox 2, *Cdx* 2)和 *Eomes* (eomesodermin),且这 3 个基因都是滋养外胚层发育所必需的^[6-8]。*Cdx* 2 在滋养外胚层和内细胞团谱系分化中起作用,*Eomes* 参与极滋养层和壁滋养层细胞命运的控制,*Ets* 家族成员 E74 样转录因子 5 (E74-like factor 5, *Elf* 5)在极滋养层细胞谱系分化过程中,参与控制胚外外胚层和绒毛膜锥的细胞决定^[9]。此外,SRY 盒转录因子 2 (SRY-box 2, *Sox* 2)和叉头框转录因子 D3 (forkhead box D3, *Foxd* 3)对滋养层和外胚层的发育也非常重要^[10],母源性的 *Sox* 2 调控滋养层的分化命运^[11],

而敲除 *Foxd* 3 将影响早期胚胎外胚层的形成^[12]。

在小鼠未受精卵母细胞和受精卵中几乎检测不到 *Tea* 4 mRNA,但从 2-细胞期开始,*Tea* 4 表达增加一直贯穿整个胚泡期,在 8-细胞和桑椹胚期 *Tea* 4 的表达达到峰值^[6],此时,正是滋养外胚层形成和分化的关键时期。*Tea* 4 在滋养层干细胞中表达极显著高于在胚胎干细胞中表达,而在滋养层干细胞分化成滋养层巨细胞的过程中,这种高水平表达一直维持着。然而,*Tea* 4 在胚胎干细胞分化成胚状体的过程中一直低水平表达,说明 *Tea* 4 主要在滋养外胚层中起作用^[6]。敲除 *Tea* 4 基因后,*Tea* 4^{-/-} 胚胎桑椹胚以前的发育与 *Tea* 4^{+/+} 和 *Tea* 4^{+/-} 胚胎没有差异,之后,*Tea* 4^{-/-} 胚胎不能形成囊胚腔,维持着桑椹胚样的形态^[13]。细胞数量与 *Tea* 4^{+/+} 和 *Tea* 4^{+/-} 胚胎的细胞数量没有显著差异^[13],说明尽管 *Tea* 4^{-/-} 胚胎的细胞增殖没有阻断或延迟,但却不能形成滋养外胚层。在 *Tea* 4^{-/-} 胚胎中所有测定的滋养外胚层特异基因 *Cdx* 2、整合蛋白 α 7 (integrin alpha 7, *Itga* 7)和钙黏蛋白 3 (cadherin 3, *Cdh* 3)均没有表达,而 *Eomes* 和成纤维细胞生长因子受体 2 (fibroblast growth factor receptor 2, *Fgfr* 2)的表达显著降低,表明,滋养外胚层发育失败^[13],从而说明了滋养外胚层的发育离不开 *Tea* 4 的表达^[14]。

Cdx 2 在滋养外胚层中的表达是所知道的谱系分化的早期事件之一^[15],免疫荧光定位分析表明,*Cdx* 2 从 8-细胞开始表达,从 8~32-细胞,*Cdx* 2 的表达水平明显增加^[16]。在囊胚阶段早期,*Cdx* 2 的表达更多的限制在胚胎外部细胞;在扩张囊胚阶段,*Cdx* 2 蛋白只定位在滋养外胚层的细胞核。敲除 *Cdx* 2 基因后,*Cdx* 2^{-/-} 胚胎能够形成囊胚腔,但囊胚腔却不能维持,并伴随着滋养外胚层细胞形态学上的改变,而 *Cdx* 2^{+/+} 和 *Cdx* 2^{+/-} 胚胎能够形成扩张囊胚,并从透明带中孵出^[7],说明敲除 *Cdx* 2 基因后滋养外胚层的发育不完全或发育失败。分析滋养层特异的标志基因表明,*Cdx* 2^{-/-} 胚胎能够表达滋养外胚层标志基因 *Eomes* 和 *Fgfr* 2,但 *Eomes* 的表达显著降低,分化的滋养层巨细胞标志基因 *Hand* 1 和 *Pl* 1 的表达在 *Cdx* 2^{-/-} 胚胎中检测不到,而它们在 *Cdx* 2^{+/+} 和 *Cdx* 2^{+/-} 胚胎中能够检测到^[7]。进一步的研究表明,*Cdx* 2^{-/-} 胚胎在体外不能形成滋养层巨细胞或滋养层干细胞,说明胚胎早期滋养外胚层的发育需要 *Cdx* 2 表达。

Eomes 转录物首次在囊胚滋养层细胞中被检测到,之后在胚外外胚层持续表达^[8]。小鼠早期胚胎缺乏 *Eomes*,将导致胚胎阻滞在囊胚期,究其原因发现,突变的滋养外胚层不能分化为滋养层,也不能进一步分化为极滋养层和壁滋养层细胞^[8]。因此,滋养外胚层的发育需要 *Eomes* 参与。

2.2 哺乳动物滋养外胚层特异性基因 *Tead 4*、*Cdx 2* 和 *Eomes* 之间的关系

在鼠胚早期发育过程中,*Tead 4* 首先在 2-细胞开始表达,在 8-细胞和桑椹胚 *Tead 4* 的表达达到峰值。在 *Tead 4*^{-/-} 胚胎中 *Cdx 2* 的表达剧烈下调,表明 *Tead 4* 在 *Cdx 2* 上游调节滋养外胚层的发育^[13]。因为在 8~18-细胞 *Cdx 2* 微弱表达,同时 *Cdx 2* 表达的维持或上调需要 *Tead 4*。然而,在 *Tead 4*^{-/-} 胚胎中,*Eomes* 不表达或微弱表达^[6,13],出现这种情况的原因可能为检测的方法不同而导致检测的灵敏度不同,总之,*Eomes* 高水平表达需要 *Tead 4* 的存在,说明 *Tead 4* 在 *Eomes* 的上游起调节作用。*Cdx 2* 从 8-细胞开始表达,从 8~32-细胞,*Cdx 2* 的表达水平明显增加。在 *Cdx 2*^{-/-} 胚胎中 *Eomes* 表达显著降低和在胚胎干细胞中通过 *Cdx 2* 能够快速诱导 *Eomes* 表达,说明 *Eomes* 在 *Cdx 2* 下游区,但在 *Cdx 2*^{-/-} 胚胎中,*Eomes* 持续表达也表明,存在 *Eomes* 表达不依赖 *Cdx 2* 机制^[7]。在 *Tead 4*^{-/-} 胚胎中 *Eomes* 不表达,暗示 *Tead 4* 调节 *Eomes* 不依赖 *Cdx 2*。*Tead 4*^{-/-} 胚胎不能形成囊胚,*Cdx 2*^{-/-} 胚胎能够形成暂时的囊胚,之后囊胚腔很快塌陷,而 *Eomes*^{-/-} 胚胎能够形成扩张囊胚,表明在 *Eomes*^{-/-} 胚胎中,*Tead 4* 和 *Cdx 2* 能够正常表达。

Tead 4、*Cdx 2* 和 *Eomes* 可能通过 3 种不同的途径调节滋养外胚层的发育和囊胚腔形成。第 1 种是 *Cdx 2* 依赖途径,*Tead 4* 在外部细胞中激活 *Cdx 2*,*Cdx 2* 促进滋养外胚层的发育。第 2 种是 *Eomes* 依赖途径,*Tead 4* 激活 *Eomes* 的表达,*Eomes* 再调节滋养外胚层的发育。同时,*Cdx 2* 也能激活 *Eomes*。第 3 种是 *Tead 4* 依赖途径,*Tead 4* 不依赖 *Cdx 2* 和 *Eomes* 而直接调节滋养外胚层特异基因的表达。总之,*Tead 4*、*Cdx 2* 和 *Eomes* 相互协作促进滋养外胚层的发育。

3 调控哺乳动物滋养外胚层完整性和功能相关的蛋白

滋养外胚层的完整性和功能维持对附植前胚胎

发育至关重要。滋养外胚层的完整性和功能受到损坏将导致胚胎发育停止、不能形成囊胚腔或胚胎致死。影响滋养外胚层完整性和功能蛋白主要有粘附连接蛋白、紧密连接蛋白、 Na^+/K^+ -ATPase 和水通道蛋白等。

在胚胎致密化过程中,粘附连接蛋白 E-cadherin 与 catenin 形成粘附复合体,一方面,有利于外部卵裂球的极化,另一方面,有利于紧密连接的形成和滋养外胚层的分化。Catenin 包括 α -catenin、 β -catenin 和 γ -catenin。研究表明, β -catenin 敲除胚胎和 γ -catenin 敲除胚胎能够发育到囊胚阶段^[17-18],说明滋养外胚层的发育正常,其完整性和功能能够继续维持。然而,*E-cad*^{-/-} 胚胎不能形成滋养外胚层上皮和囊胚腔^[19],而 α -catenin 敲除胚胎的滋养外胚层上皮也是异常的^[20],表明在滋养外胚层的发育中 E-cadherin 和 α -catenin 起着非常重要的作用。

在囊胚的形成过程中,滋养外胚层细胞间由紧密连接形成所产生的渗透性封闭十分重要,是囊胚形成的必要条件。如果紧密连接封闭不充分,转运的物质很可能通过细胞间的缝隙而渗漏,致使不能形成扩张囊胚。研究表明,在胚胎的早期发育过程中完全敲除或沉默 *ZO-2*^[21]、*ZO-3*^[22]、*Cingulin*^[23] 和 *Occludin*^[24] 并不影响紧密连接的形成,而使 *ZO-1* 沉默将导致胚胎不能发育到囊胚^[25]。敲除组织中特异表达的 *Claudin* 基因显示紧密连接的形成和屏障功能被破坏^[26-28],说明紧密连接的形成需要 *ZO-1* 和 *Claudin* 蛋白的表达与正确组装。

在囊胚形成之前, Na^+/K^+ -ATPase 极化分布在滋养外胚层基底外侧膜^[29]。在桑椹胚~囊胚的形成过程中, Na^+/K^+ -ATPase 亚基因表达上调,且 Na^+/K^+ -ATPase 的活性显著增加,用 Na^+/K^+ -ATPase 的特异性抑制剂 Ouabain 处理之后影响囊胚形成^[30],说明 Na^+/K^+ -ATPase 在囊胚的形成过程中发挥作用。此外, Na^+/K^+ -ATPase β 亚基本具有细胞间黏附分子的功能^[31],在早期胚胎的发育过程中,紧密连接的组装需要 Na^+/K^+ -ATPase 的活性^[32],因此, Na^+/K^+ -ATPase 还能够调节滋养外胚层细胞间紧密连接的形成和功能^[30]。

在囊胚形成过程中,水通道蛋白(AQPs)在促进水运动方面可能起着重要的作用^[33]。目前,在哺乳动物上已经鉴别出 11 个水通道蛋白,根据该家族蛋白对水和小分子的选择性通透作用,该家族蛋白又可分为 2 个亚群。AQP 0、AQP 1、AQP 2、AQP 4、

AQP 5、AQP 6、AQP 8 和 AQP 10 对水分子具有高度选择性,而 AQP 3、AQP 7 和 AQP 9 的选择性相对较差,允许小分子通过^[34]。

Na^+/K^+ -ATPase 和 AQPs 介导的穿过滋养外胚层的水运动,加上紧密连接封闭以阻断水的渗漏是促进囊胚形成的主要机制。由此可知,在胚胎的早期发育过程中,粘附连接蛋白、紧密连接蛋白、 Na^+/K^+ -ATPase 和水通道蛋白对滋养外胚层的发育和囊胚形成起着至关重要的作用。

4 维持滋养外胚层完整性和功能的蛋白与 *Tead 4* 和 *Cdx 2* 之间的关系

由上述可知,在胚胎的早期发育过程中,粘附连接蛋白(E-cadherin 和 α -catenin)、紧密连接蛋白(ZO-1)、 Na^+/K^+ -ATPase 和 AQPs 在滋养外胚层的发育和囊胚形成方面起重要作用。E-cad^{-/-}胚胎和 α -cat^{-/-}胚胎发育异常,ZO-1 和 Na^+/K^+ -ATPase $\beta 1$ 亚型沉默都将导致胚胎不能发育到囊胚,而 *Tead 4*^{-/-}胚胎和 *Cdx 2*^{-/-}胚胎的滋养外胚层谱系发育失败,胚胎不能形成囊胚腔或形成的囊胚腔不能维持,因此推测,粘附连接蛋白(E-cadherin 和 α -catenin)、紧密连接蛋白(ZO-1)、 Na^+/K^+ -ATPase 和 AQPs 与 *Tead 4* 及 *Cdx 2* 之间可能存在某种关系。E-cadherin、 α -catenin、ZO-1 α^- 、 Na^+/K^+ -ATPase 和关键的 AQPs 在胚胎附植前发育的所有阶段都表达,*Tead 4* 和 *Cdx 2* 可能直接或间接调控 E-cadherin、 α -catenin 和 ZO-1 α 在粘附连接复合体和紧密连接上的组装、 Na^+/K^+ -ATPase 在滋养外胚层膜区的定位或插入到膜区以及关键 AQPs 的表达与功能。ZO-1 α 和 Na^+/K^+ -ATPase $\beta 1$ 亚型在桑椹胚~囊胚的转换过程中表达,推测 *Tead 4* 和 *Cdx 2* 很可能直接或间接调控 ZO-1 和 Na^+/K^+ -ATPase $\beta 1$ 基因表达。

5 展 望

利用基因敲除方法分别制作 *Tead 4*^{-/-} 和 *Cdx 2*^{-/-} 胚胎,对滋养外胚层特异基因的表达以及滋养外胚层的分化机理进行研究。*Tead 4*^{-/-} 和 *Cdx 2*^{-/-} 胚胎不能形成囊胚腔或形成的囊胚腔不能维持,暗示滋养外胚层的完整性和功能受到损坏。对粘附连接成分 E-cadherin 和 β -catenin 以及紧密连接成分 ZO-1 的定位进行研究,同时研究细胞极化

成分、JNK 底物蛋白 c-Jun 以及 p38 MAPK 信号,结果只有 E-cadherin 和 ZO-1 的定位有些异常,其它的均正常^[13,15],说明 *Tead 4* 或 *Cdx 2* 与滋养外胚层连接的形成有一定关系,但二者之间有什么因果关系仍不清楚。*Tead 4* 或 *Cdx 2* 应该还存在调控滋养外胚层完整性和功能的其它机制^[35-36]。 Na^+/K^+ -ATPase 和 AQPs 在囊胚的形成过程中起着重要作用,*Tead 4*^{-/-} 和 *Cdx 2*^{-/-} 胚胎的囊胚腔形成失败可能与 Na^+/K^+ -ATPase 和 AQPs 相关的机制没有进行深入研究。通过 RNA 干扰与基因敲除技术建立 *Tead 4* 或 *Cdx 2* 沉默与敲除的胚胎,*Tead 4* 和 *Cdx 2* 的表达与粘附连接蛋白(E-cadherin 和 α -catenin)、紧密连接蛋白(ZO-1 α^- 和 ZO-1 α^+)、 Na^+/K^+ -ATPase 和关键 AQPs 的表达与定位之间的关系,阐明 *Tead 4* 和 *Cdx 2* 维持滋养外胚层完整性和功能的分子机制有待进一步研究和证实。

参考文献(References):

- [1] FLEMING T P, SHETH B, FESENKO I. Cell adhesion in the preimplantation mammalian embryo and its role in trophoctoderm differentiation and blastocyst morphogenesis [J]. *Front Biosci*, 2001, 6: D1000-1007.
- [2] CÂMARA D R, KASTELIC J P, THUNDATHIL J C. Role of the Na^+/K^+ -ATPase ion pump in male reproduction and embryo development[J]. *Reprod Fertil Dev*, 2017, 29(8): 1457-1467.
- [3] ZHANG Y, CHEN Q, ZHANG H, et al. Aquaporin-dependent excessive intrauterine fluid accumulation is a major contributor in hyper-estrogen induced aberrant embryo implantation[J]. *Cell Res*, 2015, 25(1): 139-142.
- [4] SABA-EL-LEIL M K, VELLA F D J, VERNAY B, et al. An essential function of the mitogen-activated protein kinase Erk2 in mouse trophoblast development[J]. *EMBO Rep*, 2003, 4(10): 964-968.
- [5] DEGRELLE S A, CAMPION E, CABAU C, et al. Molecular evidence for a critical period in mural trophoblast development in bovine blastocysts [J]. *Dev Biol*, 2005, 288(2): 448-460.
- [6] YAGI R, KOHN M J, KARAVANOVA I, et al. Transcription factor TEAD4 specifies the trophoctoderm lineage at the beginning of mammalian development[J]. *Development*, 2007, 134(21): 3827-3836.

- [7] STRUMPF D, MAO C A, YAMANAKA Y, et al. Cdx2 is required for correct cell fate specification and differentiation of trophoctoderm in the mouse blastocyst[J]. *Development*, 2005, 132(9): 2093-2102.
- [8] RUSS A P, WATTLER S, COLLEDGE W H, et al. *Eomesodermin* is required for mouse trophoblast development and mesoderm formation [J]. *Nature*, 2000, 404(6773): 95-99.
- [9] DONNISON M, BROADHURST R, PFEFFER P L. Elf5 and Ets2 maintain the mouse extraembryonic ectoderm in a dosage dependent synergistic manner[J]. *Dev Biol*, 2015, 397(1): 77-88.
- [10] RIELAND M, HUE I, RENARD J P, et al. Trophoblast stem cell derivation, cross-species comparison and use of nuclear transfer; new tools to study trophoblast growth and differentiation[J]. *Dev Biol*, 2008, 322(1): 1-10.
- [11] AVILION A A, NICOLIS S K, PEVNY L H, et al. Multipotent cell lineages in early mouse development depend on SOX2 function [J]. *Genes Dev*, 2003, 17(1): 126-140.
- [12] HANNA L A, FOREMAN R K, TARASENKO I A, et al. Requirement for *Foxd3* in maintaining pluripotent cells of the early mouse embryo[J]. *Genes Dev*, 2002, 16(20): 2650-2661.
- [13] NISHIOKA N, YAMAMOTO S, KIYONARI H, et al. *Tead4* is required for specification of trophoctoderm in pre-implantation mouse embryos[J]. *Mech Dev*, 2008, 125(3-4): 270-283.
- [14] SAKURAI N, TAKAHASHI K, EMURA N, et al. Effects of downregulating TEAD4 transcripts by RNA interference on early development of bovine embryos[J]. *J Reprod Dev*, 2017, 63(2): 135-142.
- [15] JEDRUSIK A, COX A, WICHER K B, et al. Maternal-zygotic knockout reveals a critical role of Cdx2 in the morula to blastocyst transition [J]. *Dev Biol*, 2015, 398(2): 147-152.
- [16] RALSTON A, ROSSANT J. Cdx2 acts downstream of cell polarization to cell-autonomously promote trophoctoderm fate in the early mouse embryo[J]. *Dev Biol*, 2008, 313: 614-629.
- [17] HAEGEL H, LARUE L, OHSUGI M, et al. Lack of β -catenin affects mouse development at gastrulation [J]. *Development*, 1995, 121(11): 3529-3537.
- [18] BIERKAMP C, MCLAUGHLIN K J, SCHWARZ H, et al. Embryonic heart and skin defects in mice lacking plakoglobin[J]. *Dev Biol*, 1996, 180(2): 780-785.
- [19] LARUE L, OHSUGI M, HIRCHENHAIN J, et al. Ecadherin null mutant embryos fail to form a trophoctoderm epithelium[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1994, 91(17): 8263-8267.
- [20] TORRES M, STOYKOVA A, HUBER O, et al. An α -*E-catenin* gene trap mutation defines its function in preimplantation development[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1997, 94(3): 901-906.
- [21] XU J L, KAUSALYA P J, PHUA D C Y, et al. Early embryonic lethality of mice lacking ZO-2, but Not ZO-3, reveals critical and nonredundant roles for individual zonula occludens proteins in mammalian development [J]. *Mol Cell Biol*, 2008, 28(5): 1669-1678.
- [22] BALDA M S, MATTER K. Tight junctions as regulators of tissue remodelling[J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2016, 42: 94-101.
- [23] GUILLEMOT L, HAMMAR E, KAISTER C, et al. Disruption of the cingulin gene does not prevent tight junction formation but alters gene expression[J]. *J Cell Sci*, 2004, 117(22): 5245-5256.
- [24] SAITOU M, FURUSE M, SASAKI H, et al. Complex phenotype of mice lacking occludin, a component of tight junction strands [J]. *Mol Biol Cell*, 2000, 11(12): 4131-4142.
- [25] WANG H H, DING T B, BROWN N, et al. Zonula occludens-1 (ZO-1) is involved in morula to blastocyst transformation in the mouse[J]. *Dev Biol*, 2008, 318(1): 112-125.
- [26] GÜNZEL D. Claudins: vital partners in transcellular and paracellular transport coupling [J]. *Pflugers Arch*, 2017, 469(1): 35-44.
- [27] STEINEMANN A, GALM I, CHIP S, et al. Claudin-1, -2 and -3 are selectively expressed in the epithelia of the choroid plexus of the mouse from early development and into adulthood While Claudin-5 is restricted to endothelial cells [J]. *Front Neuroanat*, 2016, 10: 16.
- [28] BAUMHOLTZ A I, SIMARD A, NIKOLOPOULOU E, et al. Claudins are essential for cell shape changes and convergent extension movements during neural tube closure[J]. *Dev Biol*, 2017, 428(1): 25-38.
- [29] WATSON A J, KIDDER G M. Immunofluorescence assessment of the timing of appearance and cellular distribution of Na/K-ATPase during mouse embryogenesis[J]. *Dev Biol*, 1988, 126(1): 80-90.
- [30] VIOLETTE M I, MADAN P, WATSON A J. Na^+ / K^+ -ATPase regulates tight junction formation and

function during mouse preimplantation development [J]. *Dev Biol*, 2006, 289(2): 406-419.

[31] VAGIN O, TOKHTAEVA E, SACHS G. The role of the β_1 subunit of the Na, K-ATPase and its glycosylation in cell-cell adhesion [J]. *J Biol Chem*, 2006, 281(51): 39573-39587.

[32] NADERI M M, BORJIAN BOROUJENI S, SARVARI A, et al. The effect of angiotensin on the quality of *in vitro* produced (IVP) sheep embryos and expression of $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{ATPase}$ [J]. *Avicenna J Med Biotechnol*, 2016, 8(1): 9-15.

[33] CHEN P, PAN Y, CUI Y, et al. Insulin-like growth factor I enhances the developmental competence of yak embryos by modulating aquaporin 3 [J]. *Reprod Domest Anim*, 2017, 52(5): 825-835.

[34] EDASHIGE K, SAKAMOTO M, KASAI M. Expression of mRNAs of the aquaporin family in mouse oocytes and embryos [J]. *Cryobiology*, 2000, 40(2): 171-175.

[35] SAKURAI N, TAKAHASHI K, EMURA N, et al. The necessity of OCT-4 and CDX2 for early development and gene expression involved in differentiation of inner cell mass and trophectoderm lineages in bovine embryos [J]. *Cell Reprogram*, 2016, 18(5): 309-318.

[36] WATANABE Y, MIYASAKA K Y, KUBO A, et al. Notch and Hippo signaling converge on Strawberry Notch 1 (Sbno1) to synergistically activate *Cdx2* during specification of the trophectoderm [J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 46135.

(编辑 程金华)