

当归芍药散对控制性超促排卵致小鼠胎盘微绒毛膜葡萄糖转运体表达下调的保护作用

姚琦¹, 周阁², 戴建国¹, 张璐瑶¹, 胡荣魁²

(1.南京中医药大学医学院·整合医学学院,江苏南京 210023;2.南京中医药大学附属医院/江苏省中医院,江苏南京 210029)

摘要:目的 观察当归芍药散对控制性超促排卵(COH)致小鼠胎盘微绒毛膜(MVM)葡萄糖转运体 1(GLUT1)蛋白表达下调的影响。方法 将 IVF 囊胚分别移植入自然交配假孕鼠,超促排假孕鼠。自然交配受体组以自然交配假孕鼠为囊胚受体,超促排受体组以超促排假孕鼠为囊胚受体,以超促排假孕鼠为囊胚受体并于 E3.5 d 给予当归芍药散治疗为当归芍药散治疗组。E18.5 d 检测胚胎、胎盘质量及胎盘迷路层、连接层面积。qPCR 检测胎盘 Igfbp1、Igf1、Glut1 mRNA 水平,ELISA 法检测胎盘中 IGFBP1、IGF1 蛋白水平,Western blot 检测胎盘、MVM 中 GLUT1 蛋白水平。结果 超促排受体组较自然交配受体组 E18.5 d 胚胎、胎盘质量显著降低($P < 0.01$),胎盘 Igf1、Glut1 mRNA 水平显著降低($P < 0.01$),胎盘、MVM 中 GLUT1 蛋白水平显著降低($P < 0.01$),胎盘 Igfbp1 mRNA 水平及 IGFBP1 蛋白水平显著增高($P < 0.01$)。当归芍药散组较超促排受体组 E18.5 d 胚胎、胎盘质量显著增高($P < 0.01$),胎盘 Igf1、Glut1 mRNA 水平显著增高($P < 0.05$),胎盘、MVM 中 GLUT1 蛋白水平显著增高($P < 0.05$),胎盘 Igfbp1 mRNA 水平及 IGFBP1 蛋白水平显著降低($P < 0.05$)。结论 当归芍药散改善控制性超促排卵小鼠胚胎生长,上调控制性超促排卵小鼠 MVM 中 GLUT1 蛋白表达与抑制胎盘 IGFBP1 蛋白表达,促进胎盘 IGF1 蛋白表达有关。

关键词:控制性超促排卵;当归芍药散;胎盘;葡萄糖转运体 1

中图分类号:R285.5 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-0482(2019)06-0671-05

DOI:10.14148/j.issn.1672-0482.2019.0671

引文格式:姚琦,周阁,戴建国,等.当归芍药散对控制性超促排卵致小鼠胎盘微绒毛膜葡萄糖转运体表达下调的保护作用[J].南京中医药大学学报,2019,35(6):671-675.

Protection of Danggui Shaoyao San on the Down-Regulated Glucose Transporter in Mice Placental Microvillous Membrane by Controlled Ovarian Hyperstimulation

YAO Qi¹, ZHOU Ge², DAI Jian-guo¹, ZHANG Lu-yao¹, HU Rong-kui²

(1. School of Medicine & Holistic Integrative Medicine, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing, 210023, China; 2. Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, Jiangsu Province Hospital of Chinese Medicine, Nanjing, 210029, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To assess the protection of Danggui Shaoyao San on the down-regulated glucose transporter in mouse placental microvillous membrane (MVM) by controlled ovarian hyperstimulation. **METHODS** IVF blastocysts were transferred to non-stimulated or superovulated pseudopregnant recipient mice. The non-stimulated pseudopregnant recipient mice were non-stimulated recipient mice group. The superovulated pseudopregnant recipient mice were superovulated recipient mice group. The superovulated pseudopregnant recipient mice which received Danggui Shaoyao San treatment were Danggui Shaoyao San treatment group. At E18.5 d, the fetal weight and placental weight were examined. The mRNA expressions of Igfbp1, Igf1 and Glut1 in placenta were determined by qPCR. The IGFBP1 and IGF1 protein levels in placental homogenates were determined by ELISA. The GLUT1 protein levels in placental homogenates and MVM were detected by Western blotting. **RESULTS** At E18.5 d, the mean weights of fetal and placental ($P < 0.01$), the mRNA for Igf1, Glut1 in placenta ($P < 0.01$), and GLUT1 protein levels of placental homogenates and MVM ($P < 0.01$) in superovulated recipient mice group were

收稿日期:2019-06-18

基金项目:国家自然科学基金青年基金(81704164);江苏省自然科学基金青年基金(BK20151043);江苏省“333”工程项目(2016Ⅲ-3288);江苏省六大人才高峰项目(WSN-044)

第一作者:姚琦,女,讲师,E-mail:qiqiyao@126.com

通信作者:胡荣魁,男,副主任中医师,主要从事名老中医学术传承及验方配伍机制研究,E-mail:xiangyu198110@163.com

significantly lower compared with non-stimulated recipient mice group. The mRNA for Igfbp1 in placenta of superovulated recipient mice group was significantly higher compared with non-stimulated recipient mice group ($P < 0.01$). Meanwhile, the mean weights of fetal and placenta ($P < 0.01$), the mRNA for Igf1, Glut1 in placenta ($P < 0.05$), and GLUT1 protein levels of placental homogenates and MVM ($P < 0.05$) in Danggui Shaoyao San treatment group were significantly higher compared with those in superovulated recipient mice group. The mRNA for Igfbp1 in placenta of Danggui Shaoyao San treatment group was significantly lower compared with that in superovulated recipient mice group ($P < 0.05$). **CONCLUSION** Danggui Shaoyao San plays protective effect on the down-regulated glucose transporter in mouse placental MVM by controlled ovarian hyperstimulation. The protection of Danggui Shaoyao San is associated with down-regulated IGFBP1 protein expression and up-regulated IGF1 protein expression in placenta.

KEY WORDS: controlled ovarian hyperstimulation; Danggui Shaoyao San; placenta; glucose transporter

随着我国育龄人口中不孕不育发生率的上升及二胎政策的放开,辅助生殖技术(ART)子代正逐渐成为我国新人口的一个重要组成部分。控制性超促排卵(COH)是 ART 的核心步骤,但值得注意的是,使用促性腺激素 COH 可导致母体在早孕期间多种激素处于超生理的高水平状态,包括雌激素、孕激素等^[1]。资料显示,COH 引发的母体孕早期超生理的激素水平与胎儿宫内发育迟缓(IUGR)、低出生体重密切相关^[2-3]。更为深远的影响是 COH 引发的母体孕早期超生理的激素水平可导致子代罹患心、脑血管疾病、代谢性疾病等胚胎源性成年疾病的风险显著增加^[4]。

本实验观察了当归芍药散对 COH 致小鼠胎盘微绒毛膜(MVM)葡萄糖转运体 1(GLUT1)蛋白表达下调的影响,以期为当归芍药散防治现代辅助生殖技术 COH 引发的母体孕早期高激素水平导致的胎儿生长发育迟缓提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物 昆明小鼠,雌(7~8 周)150 只,体质量 26~32 g;雄(8~10 周)40 只,体质量 32~40 g,SPF 级,许可证号:SCXK(沪)2013-0006,购自上海杰思捷实验动物技术有限公司。

1.1.2 实验用药 按《金匱要略》原方配比(当归:芍药:川芎:白术:茯苓:泽泻=3:16:8:4:4:8)加 10 倍量 50%乙醇,浸泡过夜,水浴回流 2 h,冷却后收集滤液;8 倍量 50%乙醇水浴回流 2 h,冷却后收集滤液。合并 2 次滤液,过滤,悬蒸、水浴浓缩至生药浓度为 0.4 g/mL 的全方药液。

1.1.3 主要实验试剂 HTF、KSOM 胚胎培养液(日本 ARK-Resource 公司);人绒毛膜促性腺激素(HCG)、孕马血清促性腺激素(PMSG)(宁波第二激素厂);生化检测试剂盒(南京建成生物工程研究

所有限公司);葡萄糖转运体 1(GLUT1)抗体(美国 abcam 公司); β -actin 抗体及二抗(美国 Santa cruz 公司);胰岛素样生长因子 1(IGF1)及胰岛素样生长因子结合蛋白 1(IGFBP1) ELISA 检测试剂盒(博士德生物技术有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 体外受精(IVF) 取供卵鼠每只腹腔注射 PMSG 10 U,46~48 h 后腹腔注射 HCG 10 U。注射 HCG 13 h 后取卵丘复合物,加入获能精子,置于 HTF 胚胎培养液中受精 4~6 h,将受精卵移入 KSOM 胚胎培养液中培养至囊胚。

1.2.2 假孕雌鼠制备 将性成熟雌性小鼠与输精管结扎术后的雄性小鼠合笼,次日上午检查雌鼠,见阴道栓者为假孕雌鼠,计为 E0.5 d。以此假孕雌鼠作为囊胚移植的受体鼠为自然交配假孕鼠。将每只性成熟雌性小鼠腹腔注射 PMSG 10 U,46~48 h 后腹腔注射 HCG 10 U,与输精管结扎术后的雄性小鼠合笼,次日上午检查雌鼠,见阴道栓者为假孕雌鼠,计为 E0.5 d。以此假孕鼠作为囊胚移植的受体鼠为超促排后交配假孕鼠。

1.2.3 动物分组 自然交配受体组:自然交配假孕鼠为囊胚移植的受体;超促排受体组:超促排后交配假孕鼠为囊胚移植的受体;当归芍药散治疗组:超促排后交配假孕鼠为囊胚移植的受体。以上 3 组,均在 E2.5 d 左侧子宫角移植 8~10 枚囊胚(图 1)。

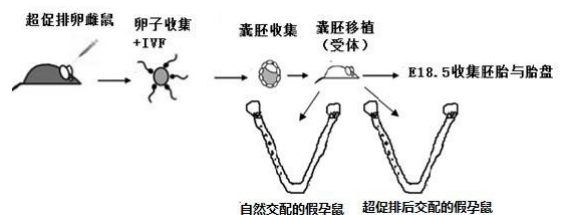


图 1 小鼠模型制备流程图

1.2.4 给药方法 当归芍药散治疗组 E3.5 d 灌胃给予当归芍药散 50 mg/d 的药液,给药体积按每只

0.5 mL,每日1次;自然交配受体组和超促排受体组分别灌胃等体积蒸馏水,至妊娠 E18.5 d。

1.2.5 胎盘组织学分析 E18.5 d 选取自然交配受体组、超促排受体组、当归芍药散治疗组每窝胎鼠中最接近平均体质量的胎鼠的相应胎盘,4%福尔马林固定,蜡块包埋,HE染色,显微镜观察胎盘组织病理学改变,辨别胎盘迷路层、连接层,cellSens software 软件测量胎盘迷路层面积、连接层面积。

1.2.6 ELISA 法检测胎盘 IGFBP1、IGF1 蛋白水平

E18.5 d 分别将自然交配受体组、超促排受体组、当归芍药散治疗组每窝胎鼠的胎盘合并、匀浆,ELISA 法检测胎盘 IGFBP1、IGF1 蛋白水平,具体操作步骤按试剂盒说明书进行。

1.2.7 qPCR 检测胎盘 Igfbp1、Igf1、Glut1 mRNA 水平

E18.5 d 选取自然交配受体组、超促排受体组、超促排受体接受当归芍药散治疗组每窝胎鼠中最接近平均体质量的胎鼠的相应胎盘,Trizol 试剂提取各组胎盘组织总 RNA,取 4 μ g RNA 用逆转录试剂盒转录为 cDNA,用 Applied Biosystems StepOnePlus™ 荧光实时定量 PCR 仪进行 PCR 扩增。反应条件:95 $^{\circ}$ C 5 min,1 个循环,95 $^{\circ}$ C 15 s,60 $^{\circ}$ C 30 s,35 个循环。检测荧光信号并分析循环阈值 (Ct), Δ Ct 为目的基因与内参照 Gapdh 循环阈值的差值, $\Delta\Delta$ Ct 为超促排受体组或超促排受体接受当归芍药散治疗组与自然交配受体组 Δ Ct 的差值,采用公式 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算目的基因的相对表达量,每组设 6 个复孔。基因序列: Igfbp1 上游 5'-CTCTCA-GAAAGCTCATCCGC-3',下游 5'-TGTGTAC-CAGAACCTGCTGC-3'; Igf1 上游 5'-AAG-GCAGTTTACCCAGGCTC-3',下游 5'-GGCCGAG-GTGAACACAAAAC-3'; Glut1 上游 5'-CCAGCT-GGGAATCGTCGTT-3',下游 5'-CAAGTCTG-CATTGCCCATGAT-3'; Gapdh 上游 5'-ACAACCTTGGCATTGTGGAA-3',下游 5'-GAT-GCAGGGATGATGTTCTG-3'。

1.2.8 提取胎盘微绒毛膜 E18.5 d 分别将自然交配受体组、超促排受体组、超促排受体接受当归芍药散治疗组每窝胎鼠的胎盘合并,于 Buffer A 中(250 mmol/L sucrose, 1 mmol/L EDTA, 10 mmol/L HEPES-Tris, proteinase inhibitor cocktail, pH 7.4) 匀浆,取上清,参照 Jones 等报道^[5]的方法通过差速离心, Mg^{2+} 沉淀法提取胎盘 MVM, 胎盘 MVM 纯度通过检测总胎盘组织悬液与提取的 MVM 碱性

磷酸酶活性的比值来确定,碱性磷酸酶活性增加 (8.4 ± 1.14) 倍 ($n=18$)。

1.2.9 Western blot 检测胎盘组织及 MVM 中 GLUT1 的蛋白水平 测定各样本蛋白浓度,蛋白煮沸变性后,10% SDS-PAGE 电泳。电泳结束后,将蛋白转移至 PVDF 膜上,含 5% BSA 的 TBST 室温封闭 2 h,加入一抗,4 $^{\circ}$ C 孵育过夜;加入 HRP 标记的二抗,室温孵育 1 h,化学发光试剂 ECL A 液和 B 液检测,IS2000R 图像工作站成像。

1.3 统计学方法

采用统计软件 SPSS16.0 对实验数据进行统计分析,所有计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,进行单因素方差分析,多组间两两比较采用 Student-Newman-Kueuls 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 E18.5 d 各组胚胎、胎盘质量比较

6 只自然交配受体获得 37 枚 E18.5 d 胚胎;6 只超促排受体获得 29 枚 E18.5 d 胚胎;6 只超促排受体接受当归芍药散治疗获得 33 枚 E18.5 d 胚胎。胚胎均在左侧子宫角获得,说明胚胎均是通过移植获得。超促排受体组较自然交配受体组 E18.5 d 胚胎质量 ($P < 0.01$)、E18.5 d 胎盘质量 ($P < 0.01$) 显著降低;当归芍药散治疗组较超促排受体组 E18.5 d 胚胎质量 ($P < 0.01$)、E18.5 d 胎盘质量 ($P < 0.01$) 显著增加。见表 1。

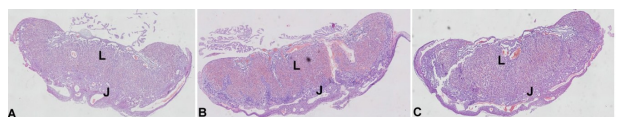
表 1 E18.5 d 各组胚胎、胎盘质量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	胚胎质量/g	胎盘质量/g
自然交配受体组	37	1.75 \pm 0.13	0.17 \pm 0.01
超促排受体组	29	1.37 \pm 0.13*	0.14 \pm 0.02*
当归芍药散治疗组	33	1.64 \pm 0.16 Δ	0.16 \pm 0.02 Δ

注:自然交配受体组比较,* $P < 0.05$;与超促排受体组比较, $\Delta P < 0.05$ 。

2.2 E18.5 d 各组胎盘迷路层面积、连接层面积比较

E18.5 d 自然交配受体组、超促排受体组、当归芍药散治疗组各组胎盘未见明显病理学改变,且 3 组间胎盘迷路层面积、连接层面积无显著性差异。见图 2,表 2。



注:A.自然交配受体组;B.超促排受体组;C.当归芍药散治疗组;L.胎盘迷路层;J.胎盘连接层

图 2 E18.5 d 胎盘组织学图片 (HE, $\times 40$)

表 2 E18.5 d 各组胎盘迷路层面积、连接层面积比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	胎盘迷路层面积/mm ²	胎盘连接层面积/mm ²
自然交配受体组	6	8.99±0.61	6.82±0.44
超促排受体组	6	8.18±0.58	6.22±0.58
当归芍药散治疗组	6	8.67±0.51	6.27±0.48

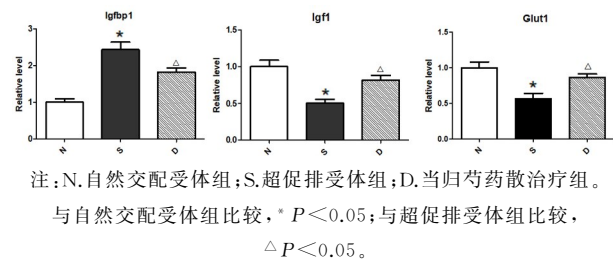
2.3 E18.5 d 各组胎盘 Igfbp1、Igf1、Glut1 mRNA 水平比较

超促排受体组较自然交配受体组 E18.5 d 小鼠胎盘 Igf1、Glut1 mRNA 水平显著降低($P < 0.01$), Igfbp1 mRNA 水平显著增高($P < 0.01$); 当归芍药散治疗组较超促排受体组 E18.5 d 小鼠胎盘 Igf1、Glut1 mRNA 水平显著提高($P < 0.05$), Igfbp1 mRNA 水平显著降低($P < 0.05$)。见图 3。

2.4 E18.5 d 各组胎盘 IGFBP1、IGF1 蛋白含量比较

超促排受体组较自然交配受体组 E18.5 d 小鼠胎盘 IGF1 蛋白水平显著降低($P < 0.01$), IGFBP1

蛋白水平显著增高($P < 0.01$); 当归芍药散治疗组较超促排受体组 E18.5 d 小鼠胎盘 IGF1 蛋白水平显著提高($P < 0.01$), IGFBP1 蛋白水平显著降低($P < 0.05$)。见表 3。



注: N. 自然交配受体组; S. 超促排受体组; D. 当归芍药散治疗组。与自然交配受体组比较, * $P < 0.05$; 与超促排受体组比较, $\Delta P < 0.05$ 。

图 3 E18.5 d 各组胎盘 Igfbp1、Igf1、Glut1 mRNA 水平比较

表 3 E18.5 d 各组胎盘 IGFBP1、IGF1 蛋白含量比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	IGFBP1/ (pg · mL ⁻¹ · mg ⁻¹)	IGF1/ (pg · mL ⁻¹ · mg ⁻¹)
自然交配受体组	6	17.05±3.53	92.83±10.68
超促排受体组	6	36.12±9.57*	58.80±8.75*
当归芍药散治疗组	6	24.11±6.06 Δ	84.09±7.57 Δ

注: 自然交配受体组比较, * $P < 0.05$; 与超促排受体组比较, $\Delta P < 0.05$ 。

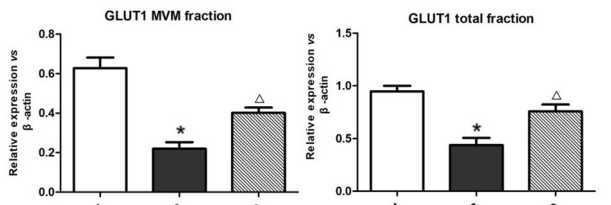
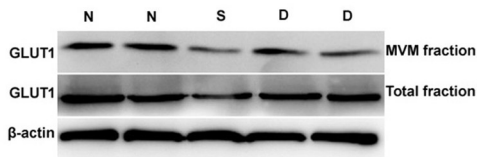
2.5 各组 E18.5 d 胎盘及胎盘微绒毛膜葡萄糖转运体 GLUT1 含量比较

超促排受体组较自然交配受体组 E18.5 d 小鼠胎盘及 MVM 葡萄糖转运体 GLUT1 蛋白含量显著降低($P < 0.01$); 当归芍药散治疗组较超促排受体组 E18.5 d 小鼠胎盘($P < 0.05$)及 MVM 葡萄糖转运体 GLUT1($P < 0.01$)显著增加。见图 4。

3 讨论

流行病学数据显示, 鲜胚移植的单胎活产胎儿发生低出生体质量的风险较冻胚移植和自然妊娠的单胎活产胎儿显著增加。而冻胚移植与自然妊娠的单胎活产胎儿发生低出生体质量的风险无显著差异。此外, 鲜胚移植的供卵周期与冻胚移植供卵周期单胎活产胎儿发生低出生体质量的风险无显著差异^[2]。说明 COH 引发的母体高激素水平主要是通过影响种植环境进而影响种植后胚胎生长。因此, 我们的小鼠动物模型, 选用自然交配受体为对照组, 超促排后交配受体为模型组。

本实验研究显示超促排受体组较自然交配受体组 E18.5 d 胚胎、胎盘质量显著降低, 但胎盘未见明显病理学改变, 且胎盘迷路层面积、连接层面积无显著性差异。妊娠期胎盘是联系母体和胎儿之间的枢纽, 胎儿在子宫内能否正常生长关键取决于营养物质能否顺利跨胎盘屏障。其中葡萄糖是胚胎生长发育必不可少的营养物质之一, 其从母体转运至胎儿, 主要依赖胎盘表面营养转运体的易化扩散能力, 因此胎盘葡萄糖转运体的数量与功能对满足胎儿生长



注: N. 自然交配受体组; S. 超促排受体组; D. 当归芍药散治疗组。与自然交配受体组比较, * $P < 0.05$; 与超促排受体组比较, $\Delta P < 0.05$ 。

图 4 E18.5 d 各组胎盘及 MVM GLUT1 蛋白水平比较

发育的能量需求极为重要。葡萄糖自母体转运至胎儿,需跨越靠近母体血液循环的MVM、靠近胚胎毛细血管的基底膜(BM)和胚胎毛细血管内皮。葡萄糖跨越胎盘MVM、BM由膜上的葡萄糖转运体介导而跨越胚胎毛细血管内皮较容易,只需通过内皮细胞的缝隙。因此,胎盘MVM是葡萄糖自母血转运至胚胎的首过限速屏障,其关键取决于MVM葡萄糖转运体的表达^[6]。葡萄糖转运体在胎盘分布的亚型主要有GLUT1、GLUT3、GLUT4和GLUT9,其中GLUT1在胎盘葡萄糖转运中起主要作用^[7]。本实验研究显示超促排受体组较自然交配受体组E18.5 d胎盘Glut1 mRNA和蛋白水平及MVM中的GLUT1蛋白水平显著降低。说明超促排受体组胚胎生长受限与胎盘、MVM中的GLUT1蛋白表达下调有关。此外,研究显示超促排受体组较自然交配受体组E18.5 d胎盘Igf1 mRNA水平及IGF1蛋白水平显著降低,Igfbp1 mRNA水平及IGFBP1蛋白水平显著增加。IGFBP1能与IGF1结合,降低游离IGF1水平,抑制IGF1生物学活性^[8]。临床研究和动物研究也显示,胎盘IGFBP1蛋白表达增加、IGF1蛋白表达降低与胚胎生长迟缓相关^[9]。此外,研究表明IGF1促进GLUT1表达^[7]。由此我们推测,超促排受体组较自然交配受体组E18.5 d胎盘及MVM中GLUT1表达下调与抑制胎盘IGF1表达,促进IGFBP1表达有密切关系。

COH引发母体早孕期高激素水平可导致母体促凝物质增加,抗凝物质降低及纤溶活性下降,易使机体处于高凝状态^[10]。此外,COH引发母体早孕期高激素水平可促进毛细血管渗透性增加,液体从血管内进入“第三间隙”,易导致血液浓缩,血容量减少,钠水潴留^[10]。血液浓缩和血容量减少易造成血液运行不畅,从而产生“瘀”的病理因素。而钠水潴留则是“湿”的病理因素产生的原因。瘀血留滞,新血难生,水湿浸淫,这些病理产物势必对母体和胎儿均造成一定的不良影响。宫内胎儿生长受限属于中医胎萎不长等范畴,正如《景岳全书·妇人规》所说:“妊娠胎气本乎血气,胎不长者,惟乎血气之不足耳。……妇人中年血气衰败者有之,泉源日涸也;妇人多脾胃病者有之,仓廩薄而化源亏而冲任穷也;妇人多讳怒者有之,肝气逆则血有不调,而胎失所养也。……”^[11]《陈素庵妇科补解》则指出:“何至瘦而不长,……盖胎瘦由于母血不足也。母血之不足也。

母血之不充由于脾胃之衰弱耳。”^[12]多种古典医籍共同指出:病因多与气血不足,脾肾亏虚、肝郁血滞等因素有关,临床治疗多以补气养血,健脾益肾方法取效。

当归芍药散,出自东汉张仲景所著《金匮要略》,针对孕妇的虚、瘀、湿三者发挥作用,养血祛瘀、健脾、除湿,扶正祛邪,立方用药对于COH引发母体早孕期高激素水平所致的病理状态具有较好的针对性,起到安胎长胎的作用。本实验研究显示当归芍药散改善控制性超促排卵小鼠胚胎生长,抑制胎盘IGFBP1蛋白表达,促进胎盘IGF1蛋白表达,上调控制性超促排卵小鼠胎盘微绒毛膜GLUT1蛋白表达。

参考文献:

- [1] YJARVELA IY, PELKONEN S, UIMARI O, et al. Controlled ovarian hyperstimulation leads to high progesterone and estradiol levels during early pregnancy[J]. Hum Reprod, 2014, 29(11):2393-2401.
- [2] ROQUE M, HAAHR T, GEBER S, et al. Fresh versus elective frozen embryo transfer in IVF/ICSI cycles; A systematic review and meta-analysis of reproductive outcomes[J]. Hum Reprod Update, 2019, 25(1):2-14.
- [3] CHEN XJ, CHEN F, LYU PP, et al. Maternal high estradiol exposure alters CDKN1C and IGF2 expression in human placenta[J]. Placenta, 2018, 61:72-79.
- [4] WANG HH, ZHOU CL, LYU M, et al. Prenatal high estradiol exposure induces sex-specific and dietarily reversible insulin resistance through decreased hypothalamic INSR[J]. Endocrinology, 2018, 159(1):465-476.
- [5] JANSSON T, YLVEN K, WENNERGREN M, et al. Glucose transport and system A activity in syncytiotrophoblast microvillous and basal plasma membranes in intrauterine growth restriction[J]. Placenta, 2002, 23(5):392-399.
- [6] ROOS S, POWELL TL, JANSSON T. Placental mTOR links maternal nutrient availability to fetal growth[J]. Biochem Soc Trans, 2009, 37(1):295-298.
- [7] BAUMANN MU, SCHNEIDER H, MALEK A, et al. Regulation of human trophoblast GLUT1 glucose transporter by insulin-like growth factor 1 (IGF-1)[J]. PLoS ONE, 2014, 9(8):e106037.
- [8] BEN LAGHA N, SEURIN D, LE BOUC Y, et al. Insulin-like growth factor binding protein (IGFBP-1) involvement in intrauterine growth retardation: study on IGFBP-1 overexpressing transgenic mice[J]. Endocrinology, 2006, 147(10):4730-4737.
- [9] OKAMOTO A, ENDO H, KALIONIS B, et al. IGFBP1 and Follistatin-like 3 genes are significantly up-regulated in expression profiles of the IUGR placenta[J]. Placenta, 2006, 27(2/3):317-321.
- [10] SANTOS-RIBEIRO S, MACKENS S, RACCA A, et al. Towards complication-free assisted reproduction technology[J]. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab, 2019, 33(1):9-19.
- [11] 张景岳.景岳全书[M].北京:中国医药科技出版社,2017:37.
- [12] 陈素庵妇科补解[M].杜惠芳,注.北京:人民军医出版社,2012:198.

(编辑:董宇)