doi:10.11659/jjssx.05E019041

·临床研究·

sFlt-1、IGFBP-3、PAPP-A 在稽留流产中的表达及意义

谢素娟[1],肖 迪[2],罗 欣[2],张 华[2],李俊男[2],漆洪波[2],周 勤[1] (1.重庆两江新区第一人民医院妇科,重庆 401121;2.重庆医科大学附属第一医院妇产科,重庆 400042)

[摘 要] **目的** 研究可溶性 FMS 样酪氨酸激酶-1(sFlt-1)、胰岛素样生长因子结合蛋白 3(IGFBP-3)、妊娠相关血浆蛋白 A(PAPP-A)在稽留流产中的表达及意义。**方法** 选取 2015 年 6 月至 2017 年 6 月在重庆市两江新区第一人民医院接受治疗的稽留流产患者 40 例纳入稽留流产组;早期流产患者 40 例纳入早期流产组;另外选取进行体检的健康妊娠期产妇 20 例作为正常组。收集 3 组研究对象的绒毛组织,采用免疫组化染色处理,酶联免疫吸附测定 sFlt-1、IGFBP-3、PAPP-A 表达,并在显微镜下观察其阳性表达情况。**结果** 正常组 sFlt-1 表达水平显著低于早期流产组和稽留流产组($P<0.05$);稽留流产组 sFlt-1 表达水平低于早期流产组($P<0.05$)。正常组 IGFBP-3、PAPP-A 表达水平显著高于早期流产组和稽留流产组($P<0.05$);稽留流产组患者 IGFBP-3、PAPP-A 表达水平高于早期流产患者($P<0.05$)。sFlt-1、IGFBP-3、PAPP-A 三项联合检测敏感度、准确度高于 sFlt-1、IGFBP-3、PAPP-A 单一检测,特异度低于 sFlt-1、IGFBP-3、PAPP-A 单一检测($P<0.05$)。**结论** sFlt-1、IGFBP-3、PAPP-A 联合检测对稽留流产的诊断价值较高,sFlt-1、IGFBP-3、PAPP-A 的异常表达参与了稽留流产的发展,为稽留流产的治疗提供一定的理论基础。

[关键词] 可溶性 FMS 样酪氨酸激酶-1;胰岛素样生长因子结合蛋白 3;妊娠相关血浆蛋白 A;稽留流产;早期流产

[中图分类号] R714.21 [文献标识码] A [收稿日期] 2019-05-10

Expression and significance of sFlt-1, IGFBP-3 and PAPP-A in missed abortion

XIE Su-juan[1], XIAO Di[2], LUO Xin[2], ZHANG Hua[2], LI Jun-nan[2], QI Hong-bo[2], ZHOU Qin[1] (1. Department of Gynaecology, First People's Hospital of Chongqing Liangjiang New District, Chongqing 401121, China; 2. Department of Gynecology and Obstetrics, First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400042, China)

Abstract: Objective To study the expression and significance of soluble FMS-like tyrosine kinase-1 (sFlt-1), insulin-like growth factor binding protein 3 (IGFBP-3) and pregnancy-related plasma protein A (PAPP-A) in missed abortion. **Methods** Totally 40 patients with missed abortion treated in first people's hospital of Chongqing Liangjiang new district from June 2015 to June 2017 were selected as the missed abortion group, another 40 patients with early abortion in our hospital were as the early abortion group, and 20 healthy pregnant women undergoing physical examination in our hospital were selected as the normal group. The villi tissues of the three groups were collected and immunohistochemical staining was used. The expressions of sFlt-1, IGFBP-3 and PAPP-A were determined by ELISA, and the positive expressions were observed under the microscope. **Results** The expression level of sFlt-1 in the normal group was significantly lower than those in the early abortion group and the missed abortion group ($P<0.05$). The expression level of sFlt-1 in the missed abortion group was lower than that in the early abortion group($P<0.05$). The expression levels of IGFBP-3 and PAPP-A in the normal group were significantly higher than those in the early abortion group and the missed abortion group ($P<0.05$). The expression levels of IGFBP-3 and PAPP-A in the missed abortion group were higher than those in the early abortion group ($P<0.05$). The sensitivity and accuracy of sFlt-1, IGFBP-3 and PAPP-A combined detection were higher than that of sFlt-1, IGFBP-3 and PAPP-A single detection, and the specificity was lower than those of sFlt-1 IGFBP-3 and PAPP-A single detection ($P<0.05$). **Conclusion** The combined detection of sFlt-1, IGFBP-3 and PAPP-A is of high diagnostic value for missed abortion. Abnormal expressions of sFlt-1, IGFBP-3 and PAPP-A are involved in the development of missed abortion, which provides a certain theoretical basis for the treatment of missed abortion.

Keywords: soluble FMS-like tyrosine kinase-1; IGF-binding protein 3; pregnancy-associated plasma protein A; missed abortion; early abortion

稽留流产具有一定的特殊性,也称过期性流产,患者主要临床表现是妊娠 20 周以前胚胎已经死亡,但仍然滞留在宫腔内不能自然排出[1]。相关数据显示,稽留流产患者人数在逐年上升,其主要和遗传、感染性疾病、免疫功能、内分泌失调以及孕妇年龄有关[2-3]。可溶性 FMS 样酪氨酸激酶-1(soluble FMS-like tyrosine kinase-1, sFlt-1)是一种血管形成抑制因子,在滋养细胞中高表达,尤其是在滋养细胞的浸润和分化中sFlt-1 表达显著增强,sFlt-1 异常表达会导致妊娠异常。目

[基金项目] 国家自然基金面上项目(81771614)

[通信作者] 周 勤,E-mail:1733638008@qq.com

前在异位妊娠、稽留流产、早期异常孕育过程中是否存在 sFlt-1 的异常表达有待研究[4]。胰岛素样生长因子结合蛋白3(IGF-binding protein 3,IGFBP-3)是胰岛素样生长因子的结合蛋白,在胎儿的正常发育过程中起着重要的调节作用[5]。妊娠相关血浆蛋白 A(pregnancy-associated plasma protein A,PAPP-A)具有激活补体的特点,起到免疫抑制作用,避免胎儿遭受母体的排斥,在流产、胚胎发育迟缓以及伴有其他妊娠早期并发症的患者血清中 PAPP-A 水平显著降低[6]。目前临床关于稽留流产的发病机制尚未明确。本研究通过分析sFlt-1、IGFBP-3、PAPP-A 在稽留流产中的表达及意义,探讨稽留流产的原因,以期为其防治提供理论依据。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选取 2015 年 6 月至 2017 年 6 月在重庆市两江新区第一人民医院院接受治疗的稽留流产患者 40 例纳入稽留流产组;选取早期流产患者 40 例纳入早期流产组;另外选取进行体检的健康妊娠期产妇 20 例作为正常组。3 组研究对象临床资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性(表 1)。

表 1 3 组患者临床资料比较

组别	n	年龄(岁)	孕次(次)	孕周(周)	流产次数(次)	携带乙肝病毒[例(%)]	贫血[例(%)]
正常组	20	28.5±5.1	2.5±0.5	46.3±4.4	2.5±0.6	8(40.0)	7(35.0)
早期流产组	40	28.3±5.0	2.4±0.8	45.6±4.2	2.6±0.5	10(25.0)	10(25.0)
稽留流产组	40	28.8±5.2	2.5±0.6	46.2±4.5	2.6±0.4	9(22.5)	8(20.0)

纳入标准:所有患者均自然受孕;正常组超声检查显示孕囊、胎芽或胎心与孕期相符;稽留流产组患者均符合稽留流产的诊断标准[7],超声检查显示胎囊无胎芽和胎心,胚胎发育与孕期不相符,胚胎停止发育后 2 个月不能自然排出;早期流产组患者符合早期流产的诊断标准,即妊娠不足 12 周,胎儿体质量不足 1 000 g。排除标准:染色体、生殖器官、免疫功能异常患者;感染性疾病患者;恶性肿瘤患者;慢性妇科炎症患者。本研究经过我院伦理委员会批准,所有研究对象及其家属均知情,并签署同意书。

1.2 方法

1.2.1 标本采集 收集 3 组研究对象的绒毛组织。在无菌环境下采用负压吸引术将绒毛组织吸出,负压设置为 400~500 mmHg。当孕囊吸出后,马上将绒毛组织进行分离,使用无菌生理盐水清洗表面血液,冲洗干净之后使用滤纸将组织上的水分吸干,在冻存管内保存,15 min 之内将标本组织在 -80 ℃环境下保存,待测。

1.2.2 酶联免疫吸附测定 sFlt-1、IGFBP-3、PAPP-A 表达 采用 50 mmol/L 碳酸盐包被缓冲液将抗原进行溶解,浓度为 10~20 μg/mL,加入至 96 孔酶标板中,每孔 100 μL,4 ℃过夜保存。第 2 天舍弃包被液,采用 PBST 洗涤 3 次,每孔中加入 1% 的 BSA 150 μL,在37 ℃环境中封闭 1 h。之后采用 PBST 洗涤 3 次,在每孔中加入 100 μL 不同倍比稀释度的血清,加入对照样品,37 ℃孵育 2 h。采用 PBST 洗涤 5 次,加入 100 μL,稀释后的 HRP 标记的二抗,37 ℃孵育 1 h。PBST 洗涤 5 次,使用显色剂显色 20 min 后在酶标仪上读取 A405 吸收值,从而测定 sFlt-1、IGFBP-3、PAPP-A的阳性表达情况。

1.2.3 免疫组化染色处理 将石蜡切片样本放在二甲苯中脱蜡处理 10 min,将二甲苯更换后再放置 10 min,然后梯度酒精水化;加入蛋白酶修复液,在 37 ℃的恒温冰箱中孵化 30 min,弃抗原修复液;切片移入湿盒中加入浓度为 3% 的 H_2O_2,去过氧化物酶封闭,恒温冰箱孵育 10 min 后采用 PBS 冲洗;加入适量的山羊血清,在室温环境下封闭 30 min;用滤纸将封闭液吸取,加入一抗,放入湿盒,然后再加入二抗,室温孵育 1 h,采用 PBS 冲洗;经过 DAB 显色处理10 min,能够在显微镜下观察到棕黄色阳性反应,则采用 PBS 冲洗 1 min;使用苏木精复染 3 min,然后用浓度为 1% 的盐酸乙醇分化处理,自来水冲洗 1 min 后,脱水并封片处理。

1.3 结果判定

每个样本在镜头下随机选择 5 个视野,视野中 IGFBP-3 蛋白阳性细胞数及 sFlt-1 蛋白阳性细胞数小于 20% 的样本定义为阴性样本,阳性细胞数为 20% 及以上定义为阳性样本。PAPP-A 在胞浆和细胞核中显示为棕黄色颗粒的为阳性细胞,样本中阳性细胞数小于 5% 为阴性样本,阳性细胞数 5% 及以上定义为阳性样本。所有病理切片均由 2 位以上的经验丰富的医师进行确诊。

1.4 统计学处理

采用 SPSS 20.0 统计软件进行分析,计量资料采用均数±标准差($\bar{x}\pm s$)进行描述,3 组间比较采用 F 值检验,2 组间比较采用实施独立样本 t 检验,$P<0.05$ 为差异具有统计学意义。灵敏度 = 真阳性例数/(真阳性例数 + 假阴性例数)×100%。特异度 = 真阴性例数/(真阴性例数 + 假阳性例数)×100%。准确度 =(真阳性例数 + 假阳性例数)/总例数×100%。

2 结果

2.1 各组 sFlt-1、IGFBP-3、PAPP-A 表达

各组免疫组化染色情况见图 1。正常组 sFlt-1 表达水平为(0.50±0.08),显著低于早期流产组(1.32±0.22)和稽留流产组(1.02±0.10),差异具有统计学意义($P<0.05$);而稽留流产组患者 sFlt-1 表达水平也低于早期流产患者,差异具有统计学意义($P<0.05$)。正常组 IGFBP-3 表达水平为(1.48±0.30),显著高于早期流产组(0.36±0.06)和稽留流产组(1.06±0.12),差异具有统计学意义($P<0.05$);稽留流产组患者 IGFBP-3 表达水平高于早期流产患者,差异具有统计学意义($P<0.05$)。正常组 PAPP-A 表达水平为(1.45±0.26),显著高于早期流产组(0.32±0.04)和稽留流产组(1.25±0.20),差异具有统计学意义($P<0.05$);稽留流产组患者 PAPP-A 表达水平高于早期流产患者,差异具有统计学意义($P<0.05$),见图 2。

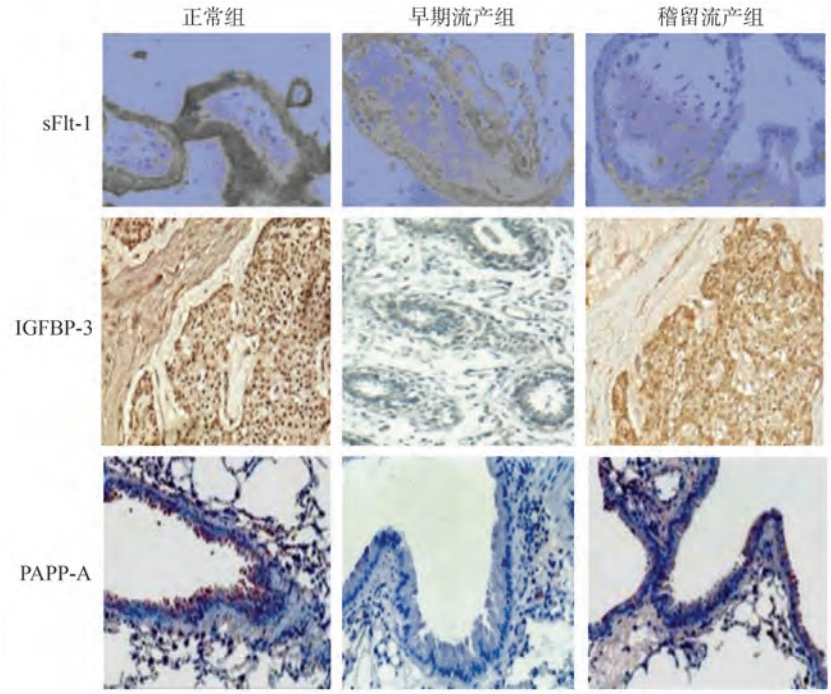
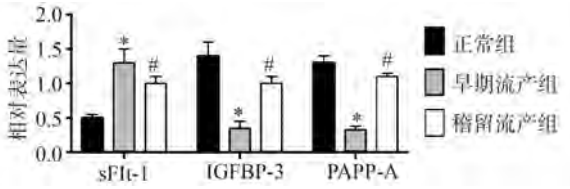


图 1 各组 sFlt-1、IGFBP-3、PAPP-A 表达水平比较(免疫组化 ×200)



*:与正常组比较,$P<0.05$;#:与早期流产组比较,$P<0.05$

图 2 各组样本 sFlt-1、IGFBP-3、PAPP-A 相对表达量

2.2 sFlt-1、IGFBP-3、PAPP-A 在稽留流产中联合检测

sFlt-1、IGFBP-3、PAPP-A 三项联合检测的敏感度、准确度高于 sFlt-1、IGFBP-3、PAPP-A 单一检测,特异度低于 sFlt-1、IGFBP-3、PAPP-A 单一检测,差异具有统计学意义($P<0.05$),见表 2。

表 2 sFlt-1、IGFBP-3、PAPP-A 在稽留流产中联合检测(%)

项目	敏感度(%)	特异度(%)	准确度(%)
sFlt-1	70.00(28/40)	85.00(17/20)	75.00(45/60)
IGFBP-3	72.50(29/40)	75.00(15/20)	73.33(44/60)
PAPP-A	75.00(30/40)	70.00(14/20)	71.67(43/60)
联合检测	94.87(37/39)	63.16(12/19)	84.48(49/58)

3 讨论

稽留流产形成是因为胚胎在子宫内停止发育,稽留过久会导致凝血功能障碍、胚胎在子宫内壁粘连,增加清宫难度,进而引发患者子宫穿孔等并发症[8-11]。通过有效的方式对稽留流产进行诊断,对患者来说具有重要意义。及时发现胚胎停育可提前终止妊娠,降低并发症发生率[12]。

sFlt-1 是一种血管内皮生长因子的特异性受体,通过与 VEGF 竞争性结合,对信号传递有阻断作用,从而抑制血管形成[13]。sFlt-1 在人体中异常表达主要与拮抗血管生成有关。妊娠期 sFlt-1 主要在胎盘的滋养细胞以及内皮细胞中表达,在滋养细胞植入子宫蜕膜组织过程中起到协助作用[14-15]。有研究指出,正常妊娠时,随着绒毛滋养细胞数量和胎盘体积的增加,sFlt-1 表达逐渐升高[16]。在早期妊娠中,sFlt-1 表达异常会抑制滋养细胞数量增加,阻碍胎盘形成,导致子宫螺旋

小动脉循环出现障碍,胚胎停止发育。本研究显示,稽留流产组患者的 sFlt-1 表达水平高于正常孕妇,其原因是 sFlt-1 异常表达,加快了 VEGF 灭活,导致滋养细胞与蜕膜间的血管形成障碍,最终胚胎停止发育[17]。本研究中早期流产患者 sFlt-1 表达水平高于稽留流产患者,说明早期流产 sFlt-1 对 VEGF 血管的形成抑制作用显著。Martínez-Ruiz 等[18]认为,sFlt-1 异常升高会对胚胎着床部位的血管形成产生障碍,引发不良妊娠结局,在早期的稽留流产中具有重要的意义。

IGFBP-3 主要以复合体的形式参与血液循环,大分子三聚体通过毛细血管屏障具有一定的障碍,在 IGFBP-3 蛋白分解作用下,会促进复合体释放 IGF,有助于 IGF 通过血管内皮屏障,作用于组织血管[19-20]。IGFBP-3 的生成受到促生长素的影响,其水平变化主要和患者的年龄有关。研究显示,在青少年时期,IGFBP-3 会达到最大值,女性患者 IGFBP-3 水平显著高于同龄男性患者,而在肥胖、糖尿病、肝功能异常患者中,IGFBP-3 水平较低[21-22]。本研究结果显示,稽留流产组患者的 IGFBP-3 表达水平高于早期流产患者,低于正常组,说明 IGFBP-3 在稽留流产过程中具有一定的诊断价值。

PAPP-A 是一种大分子糖蛋白,主要由胎盘和蜕膜产生,在妊娠期过程中 PAPP-A 大量产生,被释放到母体血液中,参与血液循环[23-25]。研究显示,PAPP-A 浓度的变化与孕周有关,孕妇的孕期增加,PAPP-A 水平不断升高,一直到产后,PAPP-A 水平下降,在产后 6 周血清中基本检测不到 PAPP-A[26-27]。Smith 等[28]指出,PAPP-A 和胎盘的功能以及胎盘的成熟程度有关,在正常妊娠孕妇中 PAPP-A 水平与胎盘的质量、胎儿的体质量具有正相关性,血清中 PAPP-A 水平直接反映胚胎的成熟程度,显示胎儿的生长发育情况。本研究显示,稽留流产组患者的 PAPP-A 表达水平高于早期流产患者,低于正常组。分析其原因为当胎盘绒毛发育出现异常时,滋养细胞功能会降低,PAPP-A 水平也逐渐下降,导致患者流产。有学者指出,孕妇血清中的 PAPP-A 浓度高低在胎儿畸形、高危妊娠诊断中发挥着重要作用[29-30]。

此外,本研究结果发现 sFlt-1、IGFBP-3、PAPP-A 单一检测对于稽留流产诊断的敏感度为 70% ~75%,而 sFlt-1、IGFBP-3、PAPP-A 三项联合检测敏感度达到 94.87%,明显高于任何单一检测的诊断效果。同时,sFlt-1、IGFBP-3、PAPP-A 单一检测对于稽留流产诊断的准确度为 71% ~75%,也明显低于 sFlt-1、IGFBP-3、PAPP-A 三项联合检测的准确度(84.48%),说明 sFlt-1、IGFBP-3、PAPP-A 三项联合检测在稽留流产中具有较高的诊断价值。

综上所述,sFlt-1、IGFBP-3、PAPP-A 联合检测对稽留流产的诊断价值较高,sFlt-1、IGFBP-3、PAPP-A 的异常表达参与了稽留流产的发展,为稽留流产的治疗提供一定的借鉴。

[参考文献]

[1] Fang J, Xie B, Chen B, et al. Biochemical clinical factors associated with missed abortion independent of maternal age: a retrospective study of 795 cases with missed abortion and 694 cases with normal pregnancy [J]. Medicine (Baltimore), 2018, 97(50): e13573. doi: 10.1097/MD.0000000000013573.

[2] Tsutsui M, Gotoh A, Komatsu N. Successful pregnancy and delivery achieved with eculizumab administration initiated after a preceding missed abortion in a patient with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria [J]. Rinsho Ketsueki, 2019, 60(4): 281 - 285. doi: 10.11406/rinketsu.60.281.

[3] Wu HL, Marwah S, Wang P, et al. Misoprostol for medical treatment of missed abortion: a systematic review and network meta-analysis[J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 1664. doi: 10.1038/s41598 - 017 - 01892 - 0.

[4] Visan V, Scripcariu IS, Socolov D, et al. Better prediction for FGR (fetal growth restriction) with the sFlt-1/PIGF ratio: a case-control study [J]. Medicine (Baltimore), 2019, 98(26): e16069. doi: 10.1097/MD.0000000000016069.

[5] Saleh AA, Rashad AMA, Hassanine NNAM, et al. Comparative analysis of IGFBP-3 gene sequence in Egyptian sheep, cattle, and buffalo[J]. BMC Res Notes, 2019, 12(1): 623. doi: 10.1186/s13104 - 019 - 4657 - 6.

[6] Livrinova V, Petrov I, Samardziski I, et al. Clinical importance of low level of PAPP-A in first trimester of pregnancy-an obstetrical dilemma in chromosomally normal fetus[J]. Open Access Maced J Med Sci, 2019, 7(9): 1475 - 1479. doi: 10.3889/oamjms.2019.384.

[7] Li Y, Liu X, Sun Y, et al. The expression of PDCD4 in patients with missed abortion and its clinical significance[J]. Reprod Sci, 2017, 24(11): 1512 - 1519. doi: 10.1177/1933719117692044.

[8] Zhi Z, Yang W, Liu L, et al. Early missed abortion is associated with villous angiogenesis via the HIF-1α/VEGF signaling pathway[J]. Arch Gynecol Obstet, 2018, 298(3): 537 - 543. doi: 10.1007/s00404 - 018 - 4802 - 9.

[9] Fu M, Mu S, Wen C, et al. Whole-exome sequencing analysis of products of conception identifies novel mutations associated with missed abortion [J]. Mol Med Rep, 2018, 18(2): 2027 - 2032. doi: 10.3892/mmr.2018.9201.

[10] Xiao Q, Zeng FL, Tang GY, et al. Expression of galectin-3 and apoptosis in placental villi from patients with missed abortion during early pregnancy[J]. Exp Ther Med, 2019, 17(4): 2623 - 2631. doi: 10.3892/etm.2019.7227.

[11] Li ZY, Liu XY, Peng P, et al. Role of BoBs technology in early missed

abortion chorionic villi[J]. Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi, 2018, 53(5):308 - 312. doi: 10.3760/cma.j.issn.0529 - 567x.2018.05.005.

[12] Abdelshafy A, Awwad H, Abo-Gamra A, et al. Sublingual *vs.* vaginal misoprostol for completion of first trimester missed abortion: a randomised controlled trial[J]. Eur J Contracept Reprod Health Care, 2019, 24(2):134 - 139. doi: 10.1080/13625187.

[13] Perales A, Delgado JL, de la Calle M, et al. sFlt-1/PlGF for prediction of early-onset pre-eclampsia: STEPS (Study of Early Pre-eclampsia in Spain)[J]. Ultrasound Obstet Gynecol, 2017, 50(3):373 - 382. doi: 10.1002/uog.17373.

[14] Chalova KI, Pehlivanov BK, Amaliev IG, et al. Maternal serum concentrations of corin, endoglin, PP13, and sFlt-1 and their changes with advancement of pregnancy and correlation with doppler of uterine arteries [J]. Folia Med (Plovdiv), 2018, 60(4):558 - 564. doi: 10.2478/folmed-2018 - 0025.

[15] Bian X, Biswas A, Huang X, et al. Short-term prediction of adverse outcomes using the sFlt-1 (soluble FMS-like tyrosine kinase 1)/PlGF (placental growth factor) ratio in Asian women with suspected pre-eclampsia[J]. Hypertension, 2019, 74(1):164 - 172. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.119.12760.

[16] Ng QJ, Han JY, Saffari SE, et al. Longitudinal circulating placental growth factor (PlGF) and soluble FMS-like tyrosine kinase-1 (sFlt-1) concentrations during pregnancy in Asian women: a prospective cohort study[J]. BMJ Open, 2019, 9(5):e028321. doi: 10.1136/bmjopen-2018 - 028321.

[17] Iloki-Assanga S, McCarty MF. Nutraceutical targeting of placental synthesis of soluble FMS-like tyrosine kinase- 1 (sFlt-1) as strategy for preventing and controlling pre-eclampsia[J]. Curr Pharm Des, 2018, 24(20):2255 - 2263. doi: 10.2174/1381612824666180723162327.

[18] Martínez-Ruiz A, Sarabia-Meseguer MD, Pérez-Fornieles J, et al. Placental growth factor, soluble FMS-like tyrosine kinase-1 and progesterone as diagnostic biomarkers for ectopic pregnancy and missed abortion [J]. Clin Biochem, 2014, 47(9):844 - 847. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2014.03.013.

[19] Eguchi K, Akiba Y, Akiba N, et al. Insulin-like growth factor binding protein-3 suppresses osteoblast differentiation via bone morphogenetic protein-2[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2018, 507(1 - 4): 465 - 470. doi: 10.1016/j.bbrc.2018.11.065.

[20] Yang L, Li J, Fu S, et al. Up-regulation of insulin-like growth factor binding protein-3 is associated with brain metastasis in lung adenocarcinoma[J]. Mol Cells, 2019, 42(4):321 - 332. doi: 10.14348/molcells.2019.2441.

[21] Ranke MB. Insulin-like growth factor binding-protein-3 (IGFBP-3) [J]. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab, 2015, 29(5):701 - 711. doi: 10.1016/j.beem.2015.06.003.

[22] Wiley AS, Joshi SM, Lubree HG, et al. IGF-I and IGFBP-3 concentrations at 2 years: associations with anthropometry and milk consumption in an Indian cohort[J]. Eur J Clin Nutr, 2018, 72(4):564 - 571. doi: 10.1038/s41430 - 018 - 0108 - z.

[23] Switkowski KM, Jacques PF, Must A, et al. Higher maternal protein intake during pregnancy is associated with lower cord blood concentrations of insulin-like growth factor (IGF)-II, IGF binding protein 3, and insulin, but not IGF-I, in a cohort of women with high protein intake [J]. J Nutr, 2017, 147(7): 1392 - 1400. doi: 10.3945/jn.117.250589.

[24] Akhtar S, Meeran SM, Katiyar N, et al. Editor's Note: grape seed proanthocyanidins inhibit the growth of human non-small cell lung cancer xenografts by targeting insulin-like growth factor binding protein-3, tumor cell proliferation, and angiogenic factors[J]. Clin Cancer Res, 2018, 24(23):6101. doi: 10.1158/1078 - 0432.CCR - 18 - 3197.

[25] Caballero Sanz S, Nozaleda Pastor G, Garcia-Tizon Larroca S. First-trimester biochemical screening for low birth weight: clinical effectiveness of low pregnancy-associated plasma protein-a and high thyroid-stimulating hormone[J]. Clin Lab, 2018, 64(9):1501 - 1508. doi: 10.7754/Clin.Lab.2018.180336.

[26] Cechova M, Chocholaty M, Zima T, et al. The Significance of pregnancy-associated plasma protein a serum concentration in clear cell renal cell carcinoma[J]. Anticancer Res, 2019, 39(6):3249 - 3253. doi: 10.21873/anticanres.13466.

[27] Hjortebjerg R, Thomsen KL, Agnholt J, et al. The IGF system in patients with inflammatory bowel disease treated with prednisolone or infliximab: potential role of the stanniocalcin-2/PAPP-A/IGFBP-4 axis [J]. BMC Gastroenterol, 2019, 19(1):83. doi: 10.1186/s12876 - 019 - 1000 - 6.

[28] Smith YE, Toomey S, Napoletano S, et al. Recombinant PAPP-A resistant insulin-like growth factor binding protein 4 (dBP4) inhibits angiogenesis and metastasis in a murine model of breast cancer[J]. BMC Cancer, 2018, 18(1):1016. doi: 10.1186/s12885 - 018 - 4950 - 0.

[29] Slocum E, Craig A, Villanueva A, et al. Parity predisposes breasts to the oncogenic action of PAPP-A and activation of the collagen receptor DDR2[J]. Breast Cancer Res, 2019, 21(1):56. doi: 10.1186/s13058 - 019 - 1142 - z.

[30] Taheripanah R, Talayeh M, Zamaniyan M, et al. Comparison of first trimester screening for down's syndrome using free beta-human chorionic gonadotropin and pregnancy-associated plasma protein-a levels between spontaneous and IVF pregnancies at 12 Weeks of Gestation[J]. Int J Fertil Steril, 2019, 13(2):93 - 96. doi: 10.22074/ijfs.2019.5295.

(编辑:魏 源)