

论著·临床研究

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2021.09.018

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.r.20201204.1516.012.html\(2020-12-04\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.r.20201204.1516.012.html(2020-12-04))

反复种植失败患者种植期子宫内膜 FST、Activin B 表达水平*

李伟伟¹, 刘聪¹, 闫娅妮¹, 殷秀荣^{1△}, 史凤颖², 李丽玮¹

(河北省秦皇岛市妇幼保健院:1. 生殖医学科;2. 产科 066000)

[摘要] **目的** 探讨卵泡抑素(FST)、活化素 B(Activin B)在反复种植失败患者种植期子宫内膜的表达情况及其影响。**方法** 选取 2018 年 5 月至 2019 年 12 月在该院生殖医学科进行体外受精与胚胎移植(IVF-ET)或卵泡浆内单精子显微注射(ICSI)治疗的不孕患者,由于男方因素或者输卵管因素于该院首次进行辅助生殖技术(ART)助孕,其中成功妊娠的患者作为对照组;至少进行 3 次移植(新鲜或者解冻的胚胎,每次至少有 1 枚优质胚胎,移植优质胚胎数大于或等于 4)均未妊娠的患者作为反复植入失败(RIF)组;每组 15 例。采用免疫发光化学法检测两组患者血中性激素和抗缪勒管激素(AMH)的水平;采用超声监测移植日内膜的厚度;采用 Western blot 检测两组患者内膜组织中 FST、Activin B、骨形态蛋白 4(BMP4)、Smad3 蛋白的表达情况。**结果** 两组患者性激素、AMH 及移植日内膜厚度比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。RIF 组患者 FST 的表达水平明显低于对照组,而 Activin B 的表达水平明显高于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。RIF 组患者内膜中 BMP4 的表达明显低于对照组,而 Smad3 水平明显高于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。**结论** FST 和 Activin B 在反复种植失败患者的种植窗期的子宫内膜中起重要的调节作用。

[关键词] 反复植入失败;卵泡抑素;活化素;子宫内膜;辅助生殖技术**[中图分类号]** R711.6**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2021)09-1518-04

Endometrial Follistatin and Activin expression levels during implantation period in patients with repeated implant failure*

LI Weiwei¹, LIU Cong¹, YAN Yani¹, YIN Xiurong^{1△}, SHI Fengying², LI Liwei¹

(1. Department of Reproductive Medicine; 2. Department of Obstetrics, Qinhuangdao Municipal Maternal and Child Health Care Hospital, Qinhuangdao, Hebei 066000, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the expression situation of follistatin(FST) and Activin B in the endometrium of the patients with repeated implantation failure during implantation. **Methods** The infertile patients treated by IVF-ET or ICSI in the hospital from May 2018 to December 2019 were selected. Among them, the patients with successful pregnancy after the first assisted reproductive technology (ART) in this hospital due to the male factors or fallopian tube factors served as the control group; the patients without pregnancy by conducting at least 3 times of transfers (fresh or thawed embryos, at least one high-quality embryo each time, and the number of high-quality embryos transferred ≥ 4) served as the repeated implantation failure(RIF)group; there were 15 cases in each group. The levels of blood hormones and antimullerian hormone (AMH) were detected by adopting the immunoluminescence chemical method; the thickness of the endometrium on the day of transplantation was monitored by ultrasound; the expression of FST, Activin B, bone morphogenetic protein 4 (BMP4) and Smad3 protein in the two groups were detected by Western blot. **Results** The sex hormones, AMH and thickness of the endometrium on the day of transplantation had no statistical difference between the two groups ($P>0.05$). The expression level of FST in the RIF group was significantly lower than that of the control group, while the expression level of Activin B was significantly higher than that of the control group, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). The expression of BMP4 in the RIF group was significantly lower than that in the control group, while the Smad3 level was significantly higher than that in the control group, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). **Conclusion** FST and Activin B play an important regulatory role in the endometrium during the implantation window period in the patients with repeated implantation failure.

* 基金项目:河北省科技攻关计划(182777165);2019 年度河北省医学科学研究课题计划(20191390)。 作者简介:李伟伟(1981—),副主任技师,硕士,主要从事辅助生殖实验室技术研究。 △ 通信作者, E-mail: qhdfyyxr@126.com。

[Key words] repeated implantation fails; follicle inhibition; activin; endometriosis; assisted reproductive technology

目前,随着女性生育年龄的延迟和生育能力的降低,不孕症已经成为全社会关注的热点。辅助生殖技术(ART)近年来成为不孕不育患者有效的治疗方法。随着 ART 技术的优化,胚胎质量有了较大的提高和改善,但胚胎的着床率仍然不高,所以 ART 中胚胎的着床问题已成为提高妊娠率的限制性问题。胚胎植入成功与否不仅取决于胚胎发育成囊胚的潜能,更决定于内膜的容受性状态^[1-2]。胚胎反复植入失败(RIF)降低了体外受精(IVF)的妊娠率,近年来成为辅助生殖领域的研究热点。胚胎 RIF 目前尚未有统一的定义,主要观点认为移植大于或等于 3 个周期,且均有优质胚胎移植,但是未获得妊娠^[3]。内膜的容受性是指内膜对胚胎的接受能力,子宫内膜种植窗持续时间较短,种植窗期内膜对胚胎的接受能力决定移植成功的关键因素。

激活素(Activin)和卵泡抑素(FST)是细胞转化生长因子- β (TGF- β)超家族的成员,主要由垂体细胞和卵巢颗粒细胞分泌^[4]。通过内分泌及自(旁)分泌调节作用参与了女性体内众多的生殖生理活动。FST 和 Activin 存在于人的子宫内膜和输卵管上皮细胞,在月经周期中调节内膜的生理性改变^[5]。FULLERTON 等^[6]学者认为,FST 在小鼠子宫内膜的容受性和蜕膜化过程中发挥了重要的作用。PRAKASH 等^[7]研究显示,与健康可育女性相比,RIF 女性子宫内膜上皮腺细胞中 FST 的表达水平明显降低。FST 通过与 TGF- β 超家族的共有 β 亚单位结合,从而拮抗其结合物的生物活性。CRUZ 等^[8]研究表明,子宫内膜的 FST 缺失,将会导致内膜对雌激素和孕酮的信号不应答,所以胚胎无法着床于内膜,不能妊娠。本研究旨在探讨 Activin B、FST 与 RIF 患者的关系及其影响机制,从而对 IVF 周期中发生 RIF 的风险做出预测,并为临床治疗提供更为科学的指导。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2018 年 5 月至 2019 年 12 月在本院生殖医学科进行 ART[IVF 与胚胎移植(ET)或卵泡浆内单精子显微注射(ICSI)]治疗的不孕患者,其中由于男方因素或者输卵管因素于本院首次进行 ART 助孕后妊娠并分娩的患者作为对照组;至少进行 3 次移植(新鲜或者解冻的胚胎,每次至少有 1 枚优质胚胎,移植优质胚胎数大于或等于 4)均未妊娠的患者作为 RIF 组;每组 15 例。两组患者进入周期前评估,卵巢储备功能尚好,同意选择常规的方案进行控制性促排卵。纳入标准:(1)符合不孕症的诊断标准;(2)年龄 23~37 岁;(3)进行 3 次及以上取卵周期并每个周期

有 1 个优质胚胎移植而未孕;(4)基础内分泌正常,且有正常月经周期;(5)进入周期前 6 个月未进行过宫腔操作或使用激素类药物。排除标准:(1)宫腔异常形态;(2)染色体异常或其他遗传因素引起的 RIF;(3)既往有卵巢功能不全、卵巢早衰、多囊卵巢综合征等影响卵巢反应性的疾病;(4)子宫内膜异位症患者;(5)可移植的优质胚胎(7 个细胞以上,碎片小于 10%的卵裂胚,或者 4BB、5BB 的囊胚) <2 个;(6)有传染性疾病;(7)输卵管积水。本研究经秦皇岛市妇幼保健院伦理委员会讨论通过,所有受试者均签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 内膜标本的采集

所有研究对象的内膜均在进入治疗周期前 1 个月经周期的第 21~22 天[体内促黄体生成素(LH)峰的第 7 天]或排卵后第 6 天行宫腔镜取内膜或者子宫内膜刺激时留取。将内膜一式两份,一份送病理科用于切片和免疫组织化学(IHC)检查,一份保存于液氮中用于 FST、Activin B、骨形态蛋白 4(BMP4)及 Smad3 的 Western blot 检测。并收集该日的空腹静脉血 2 mL,离心取上清液,保存于 -20°C 待用。

1.2.2 内膜组织总蛋白的提取

总蛋白提取试剂盒购自北京索莱宝有限公司,严格按照试剂盒操作说明进行提取蛋白。迅速从液氮中取出内膜组织放于冰上,融于室温下。用剪刀剪碎组织后,称取 0.1~0.2 g 组织,置于干净的离心管内,加入 500 μL 组织裂解液(已加入蛋白酶抑制剂),然后用组织匀浆器匀浆至无明显固状物质。吸取匀浆于预冷的尖底离心管内,4 $^{\circ}\text{C}$,10 000 r/min,离心 5 min,吸取上清液于 -80°C 保存待用。

1.2.3 采用 Western blot 检测内膜组织中 FST、Activin B、BMP4 和 Smad3 蛋白的表达

采用牛血清蛋白(BCA)法测定蛋白浓度,根据吸光度值从标准曲线中计算蛋白的浓度。根据蛋白浓度计算上样量。本研究实验的样品量为 20 μL ,上样量为 30 μg 。临用前加入最终的样品缓冲液:2%十二烷基硫酸钠(SDS)、100 mmol/L 二硫苏糖醇(DTT)、60 mmol/L 三羟甲基氨基甲烷盐酸盐(Tris, pH 6.8)、0.01%溴酚蓝和 10%甘油。在电极(正极)上依次叠放聚偏二氟乙烯(PVDF)膜和凝胶。转膜结束,将膜浸入封闭液(含 5%脱脂奶粉的 Tris 缓冲盐)中缓慢振荡后洗涤;加一抗(FST 一抗购自 invitrogen,批号 AB_10982080;Activin B 抗体 ProSpec,批号:CYT-058;BMP4 抗体购自 abcam,批号:ab209851;Smad3 抗体购自 abcam,批号:ab40854)4 $^{\circ}\text{C}$ 缓慢振荡

过夜;加辣根过氧化物酶(HRP)标记的二抗(1:10 000 稀释),室温缓慢振荡 2 h 后洗涤;以 β -actin 作为内参,采用 Quantity One 软件将条带转化为灰度值,蛋白表达量=目的条带灰度值/内参条带灰度值。

1.2.4 采用免疫发光法定性激素和抗缪勒管激素(AMH)的水平

采用罗氏公司的 Cobas601 测定两组患者基础的内分泌水平,包括雌二醇(E2)、孕酮(P)、LH、卵泡刺激素(FSH)的水平及 AMH 的水平,每个结果测定 3 次,取平均值。

1.2.5 观察指标及随访

参照欧洲辅助生殖会议,RIF 定义:3 次及以上优质胚胎移植未妊娠或移植大于 10 枚胚胎未妊娠^[9]。胚胎质量评价标准参照 Brown's 形态学评分系统评分^[10]。优质胚胎定义:胚胎评级为 I 级和 II 级的胚胎。采用超声监测移植日内膜厚度。

1.3 统计学处理

数据采用 SPSS20.0 软件进行统计学分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两两比较采用 LSD-*t* 检验;计数资料以例数和百分比表示,组间比较采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 两组患者一般资料比较

两组患者年龄、不孕年限、体重指数(BMI)、不孕原因、不孕类型、受精方式比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$),见表 1。

表 1 两组患者一般资料比较($n=15$)

项目	RIF 组	对照组	F/χ^2	P
年龄($\bar{x} \pm s$,岁)	33.45 \pm 1.24	32.76 \pm 1.95	1.156	0.257
不孕年限($\bar{x} \pm s$,年)	3.82 \pm 0.69	4.23 \pm 0.75	1.558	0.130
BMI($\bar{x} \pm s$,kg/m ²)	23.13 \pm 2.47	23.78 \pm 1.96	0.798	0.431
不孕类型[n(%)]			0.136	0.713
原发	7(46.67)	6(40.00)		
继发	8(53.33)	9(60.00)		
不孕因素[n(%)]			0.188	0.910
男方因素	4(26.67)	5(33.33)		
输卵管因素	7(46.67)	6(40.00)		
混合因素	4(26.66)	4(26.67)		
受精方式[n(%)]			0.536	0.464
IVF	9(60.00)	7(46.67)		
ICSI	6(40.00)	8(53.33)		

2.2 两组患者性激素及 AMH 水平的比较

两组患者基础内分泌水平和 AMH 的水平比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$),见表 2。

2.3 两组患者控制性促排卵及移植日内膜厚度比较

扳机日比较两组患者的 E2、P、获卵数、促性腺激素(Gn)用量、注射 Gn 时间等,两组差异均无统计学意义($P > 0.05$);两组患者移植日内膜的厚度比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 3。

表 2 两组患者基础内分泌水平及 AMH 水平比较($\bar{x} \pm s$, $n=15$)

项目	RIF 组	对照组	t	P
基础 E2(pmole/L)	113.58 \pm 11.56	109.47 \pm 8.65	1.103	0.280
基础 P(nmol/L)	0.85 \pm 0.02	0.86 \pm 0.01	1.732	0.094
基础 LH(mIU/mL)	6.49 \pm 0.76	6.85 \pm 0.83	1.223	0.232
基础 FSH(mIU/mL)	6.98 \pm 1.12	7.39 \pm 0.97	1.072	0.293
AMH(ng/mL)	2.45 \pm 0.69	2.17 \pm 0.78	1.041	0.307
内膜日 E2(pmole/L)	396.42 \pm 23.76	403.57 \pm 19.36	0.374	0.903
内膜日 P(nmol/L)	25.81 \pm 1.97	26.43 \pm 2.14	0.416	0.825

表 3 两组患者控制性促排卵情况比较($\bar{x} \pm s$, $n=15$)

项目	RIF 组	对照组	t	P
扳机日 E2(pmole/L)	10 798.54 \pm 453.79	10 953.74 \pm 892.53	0.600	0.553
扳机日 P(nmol/L)	2.53 \pm 0.98	2.41 \pm 1.05	0.324	0.749
获卵数(个)	12.45 \pm 2.01	11.78 \pm 1.96	0.924	0.363
Gn 用量(IU)	2 109.84 \pm 389.05	1 980.37 \pm 562.86	0.733	0.470
注射 Gn 时间(d)	12.45 \pm 1.08	13.67 \pm 2.14	1.971	0.058
内膜厚度(mm)	11.12 \pm 1.90	11.85 \pm 2.13	0.991	0.330

2.4 两组患者内膜 FST 和 Actvin B 表达水平比较

Western blot 检测结果显示,RIF 组 FST 蛋白的相对表达量明显低于对照组,RIF 组 Actvin B 蛋白的相对表达量明显高于对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$),见表 4、图 1。

表 4 两组患者 FST、ActvinB 蛋白相对表达量比较($\bar{x} \pm s$, $n=15$)

项目	RIF 组	对照组	t	P
FST	0.65 \pm 0.05	0.97 \pm 0.07	14.407	0.000
Actvin B	0.95 \pm 0.02	0.81 \pm 0.04	12.124	0.000

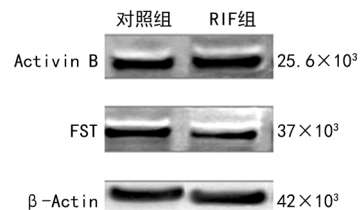


图 1 两组患者 FST 和 Actvin B 蛋白表达

2.5 两组患者内膜 BMP4 和 Smad3 表达水平比较

Western blot 检测结果显示,RIF 组 BMP4 蛋白的相对表达量明显低于对照组,RIF 组 Smad3 蛋白的相对表达量明显高于对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$),见表 5、图 2。

表 5 两组患者 BMP4、Smad3 蛋白相对表达量比较 ($\bar{x} \pm s, n = 15$)

项目	RIF 组	对照组	t	P
BMP4	0.66 ± 0.07	0.84 ± 0.06	7.562	0.000
Smad3	0.98 ± 0.09	0.77 ± 0.04	4.326	0.000

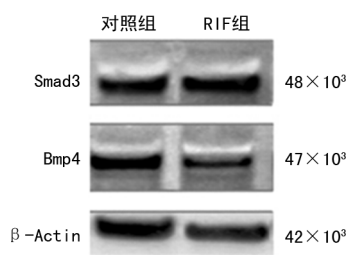


图 2 两组患者 Smad3 和 Bmp4 蛋白的表达

3 讨论

ART 技术已经成为不孕患者的主要治疗手段,但仍然有些不孕女性存在 RIF 的情况,目前如何解决此问题成为辅助生殖领域研究的热点。高质量的胚胎和良好的内膜容受性是胚胎成功妊娠的关键因素。子宫内膜在植入期间和蜕膜期间会受许多因素的影响,这些因素可能对 IVF 成功妊娠的结局至关重要。REFAAT^[11] 提出 Activin 及其相关蛋白在调节子宫内 膜容受性,滋养细胞活性和胚胎着床中起着重要作用。这些候选蛋白的病理表达与植入异常和早孕失败有关。有研究表明,在流产、反复流产、妊娠期高血压及 IVF 后 RIF 的妇女中,FST、Activin 和抑制素的表达与调节存在异常^[12-15]。本文主要研究子宫内 膜容受性的相关蛋白的表达情况,在蛋白水平上研究子宫内 膜容受性的调控,以改善内膜的容受性,提高 ART 的成功率及胚胎的利用率。

子宫内膜在雌孕激素的作用下,发生增殖、分泌,出现短暂的种植窗,一部分基质细胞分化为蜕膜细胞。有学者研究表明,Activin 和 FST 在子宫内膜异位症患者的内膜中表达增加^[16],说明 FST 和 Activin 在子宫内膜的蜕膜化的调节中发挥了重要作用。有研究在 2006 年报道,Activin A 在子宫内膜在蜕膜化的细胞中高度表达^[17]。本研究结果表明,RIF 组患者 FST 蛋白表达明显低于对照组,说明 FST 的缺失可能是 RIF 的影响因素,但是具体机制还有待进一步研究。本研究进一步检测下游基因,RIF 组的 BMP4 蛋白水平明显降低,而 Smad3 蛋白的表达量明显增高 ($P < 0.05$)。在临床工作中,可以用 FST 和 Activin B 在内膜上的表达情况预测 RIF 的情况,从而为患者节省胚胎、减轻其心理负担。

综上所述,RIF 患者种植窗期,子宫内膜 FST 蛋白缺失,Activin B 蛋白增加,说明其在内膜容受性中均起到重要的调节作用,可能会导致胚胎不能成功着床。由于本研究的样本量不够多,可能存在一定的误差性,但是仍然希望本研究能够对 ART 中发生 RIF 的风

险做出预测,并为临床治疗提供更为科学的指导。

参考文献

- [1] 张丽. 胚胎移植反复种植失败的原因及治疗研究进展[J]. 中国计划生育学杂志, 2017, 25(8): 559-562.
- [2] 江晓玲, 李桂荣, 樊桂玲, 等. 辅助生殖中反复种植失败相关对策研究进展[J]. 华北理工大学学报(医学版), 2017, 19(1): 75-79.
- [3] BASHIRI A, HALPER K I, ORVIETO R. Recurrent implantation failure-update overview on etiology, diagnosis, treatment and future directions[J]. Reprod Biol Endocrinol, 2018, 16(1): 121.
- [4] PRAKASH A, LI TC, TUCKERMAN E, et al. A study of luteal phase expression of inhibin, activin, and follistatin subunits in the endometrium of women with recurrent miscarriage[J]. Fertil Steril, 2006, 86(6): 1723-1730.
- [5] DAPONTE A, DELIGEOROGLOU E, GARAS A, et al. Activin a and follistatin as biomarkers for ectopic pregnancy and missed abortion[J]. Dis Markers, 2013, 35(5): 497-503.
- [6] FULLERTON P T, MONSIVAIS D, KOMMAGANI R, et al. Follistatin is critical for mouse uterine receptivity and decidualization[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2017, 114(24): E4772-4781.
- [7] PRAKASH A, TUCKERMAN E, LAIRD S, et al. A preliminary study comparing the endometrial expression of inhibin, activin and follistatin in women with a history of implantation failure after IVF treatment and a control group[J]. BJOG, 2008, 115(4): 532-536.
- [8] CRUZ C D, FERNANDO M R. The role of TGFβ superfamily members in the pathophysiology of endometriosis[J]. Gynecol Endocrinol, 2015, 31(7): 511-515.
- [9] MARGALIOTH E J, BEN-CHETRIT A, GAL M, et al. Investigation and treatment of repeated implantation failure following IVF-ET[J]. Hum Reprod, 2006, 21(12): 3036-3043.
- [10] Alpha Scientists in Reproductive Medicine and ESHRE Special Interest Group of Embryology. The Istanbul consensus workshop on embryo assessment: proceedings of an expert meeting[J]. Hum Reprod, 2011, 26(6): 1270-1283.

- infection on the incidence of delayed neurological deficit and poor outcome after aneurysmal subarachnoid hemorrhage [J]. *Neurol Res Int*, 2012,2012:479-865.
- [4] 何双英,唐红宇,王爱民. 动脉瘤性蛛网膜下腔出血患者医院感染危险因素[J]. *中国感染控制杂志*, 2016,15(6):408-411.
- [5] 郑莹莹,郑贝贝,杨钰. 血管内介入栓塞术对颅内动脉瘤患者术后康复及感染发生率的影响[J]. *中国地方病防治杂志*, 2018,33(5):582-584.
- [6] HORMUZDIYAR H D, ROBERT F R, TIMOTHY R S, et al. Hospital-acquired infections after aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a nationwide analysis [J]. *World Neurosurg*, 2016, 88:459-474.
- [7] FRONTERA J A, FERNANDEZ A, SCHMIDT J M, et al. Impact of nosocomial infectious complications after subarachnoid hemorrhage [J]. *Neurosurgery*, 2008,62:80-87.
- [8] LACKNER P, MUELLER C, BEER R, et al. Nosocomial infections and antimicrobial treatment in coiled patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage [J]. *Curr Drug Targets*, 2017, 18(12): 1417-1423.
- [9] 李爱国,刘之彝,龙晓东,等. 颅内动脉瘤介入栓塞术和颅内夹闭术治疗高分级动脉瘤性蛛网膜下腔出血的临床疗效观察[J]. *临床外科杂志*, 2018,26(7):497-500.
- [10] 王东宝,周稳,曹培成,等. 神经外科动脉瘤术后颅内感染危险因素 logistic 回归分析及防范措施[J]. *中华医院感染学杂志*, 2016, 26(16): 3749-3751.
- [11] 马志君. 颅内动脉瘤夹闭术后手术并发症与预后及其相关性研究[J]. *解放军预防医学杂志*, 2018,36(6):717-719,728.
- [12] GRASSO G. Impact of Health care-associated infection in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage[J]. *World Neurosurg*, 2018,115:295-296.
- [13] 冯金平,李立芳,王瑞丽,等. 颅脑动脉瘤夹闭术后患者感染病原菌分布及对球蛋白水平影响研究[J]. *中华医院感染学杂志*, 2016, 26(23): 5459-5461.
- [14] 洪涛. 开颅夹闭手术与血管栓塞介入术治疗脑动脉瘤破裂的临床价值分析[J]. *中国社区医师*, 2018,34(25):84-87.
- [15] 周啟志. 中心静脉导管相关血流感染的危险因素与预防控制进展[J]. *中国消毒学杂志*, 2015, 32(3):265-268.
- [16] 何书萍,余云湖,陆冬梅,等. 颅脑动脉瘤患者术后抗感染治疗对降钙素原的影响[J]. *中华医院感染学杂志*, 2016,26(19):4467-4469.

(收稿日期:2020-05-28 修回日期:2020-11-22)

(上接第 1521 页)

- [11] REFAAT B. Role of activins in embryo implantation and diagnosis of ectopic pregnancy: a review [J]. *Reprod Biol Endocrinol*, 2014,12(1): 116.
- [12] LUISI S, FLORIO P, REIS F M, et al. Inhibins in female and male reproductive physiology: role in gametogenesis, conception, implantation and early pregnancy [J]. *Hum Reprod Update*, 2005,11(2):123-135.
- [13] PRAKASH A, LAIRD S, TUCKERMAN E, et al. Inhibin a and activin a May be used to predict pregnancy outcome in women with recurrent miscarriage [J]. *Fertil Steril*, 2005, 83(6): 1758-1763.
- [14] HOLDSWORTH-CARSON S J, CRAYTHORN R G, WINNALL W R, et al. Follistatin is essential for normal postnatal development and function of mouse oviduct and uterus [J]. *Reprod Fertil Dev*, 2015, 27(7):985-999.
- [15] D'ANTONA D, REIS F M, BENEDETTO C, et al. Increased maternal serum activin A but not follistatin levels in pregnant women with hypertensive disorders [J]. *J Endocrinol*, 2000, 165(1):157-162.
- [16] STOIKOS C J, SALAMONSEN L A, HANNAN N J, et al. Activin a regulates trophoblast cell adhesive properties: implications for implantation failure in women with endometriosis-associated infertility [J]. *Hum Reprod*, 2010, 25(7): 1767-1774.
- [17] JONES R L, FINDLAY J K, FARNWORTH P G, et al. Activin a and inhibin a differentially regulate human uterine matrix metalloproteinases: potential interactions during decidualization and trophoblast invasion [J]. *Endocrinology*, 2006, 147(2):724-732.

(收稿日期:2020-09-07 修回日期:2020-11-30)