

妊娠区带蛋白与相关疾病关系的研究进展

王璐 陈玲丽 黄飏 周秀梅*

(浙江理工大学生命科学与医药学院, 杭州 310018)

摘要 妊娠区带蛋白(pregnancy zone protein, PZP)是一种高度依赖雌激素的免疫血浆蛋白, 含有多酶蛋白酶的识别位点, 是一个较好的免疫抑制剂。PZP具有独特的结构和理化性质, 在生物医学领域具有重要的应用潜力。近年来, 随着ELISA技术和质谱技术的发展, PZP水平在疾病中得到评估, 其水平的升高已被报道与恶性疾病发生有关。该文综述了PZP在相关疾病中的研究进展, 并重点阐述了其作为肿瘤的新型血清标志物的研究, 以期对肿瘤的诊治提供新思路。

关键词 妊娠区带蛋白; 肿瘤; 血清标志物; 免疫抑制

Research Progress on the Relationship between Pregnancy Zone Protein and Related Diseases

WANG Lu, CHEN Lingli, HUANG Biao, ZHOU Xiumei*

(College of Life Sciences and Medicine, Zhejiang Sci-Tech University, Hangzhou 310018, China)

Abstract PZP (pregnancy zone protein) is a highly estrogen-dependent immune plasma protein, which contains multiple protease recognition sites and is an excellent immunosuppressant. PZP has unique structure, physical and chemical properties and has great potential in biomedical applications. In recent years, with the development of ELISA and mass spectrometry, PZP level has been evaluated in disease, and its elevation has been reported to be associated with malignant disease. This article reviews the research progress of PZP in related diseases, and focuses on its research as a new serum marker of tumor, in order to provide a new idea for the diagnosis of tumor.

Keywords pregnancy zone protein; tumor; serum marker; immunosuppression

妊娠区带蛋白(pregnancy zone protein, PZP)又被称作SP₃(α 2-AP-glycoprotein)、PAM、血清因子Xh、孕球蛋白和 α ₂ AP-glycoprotein。1958年, OLIVELLI和RUGGIERI^[1]首先发现了PZP, SMITHIES^[2]首次对其进行了描述, 他在淀粉凝胶电泳上检测到一个蛋白区, 存在于妊娠后期血清中。PZP的分子量为359 kDa, 是一种高分子量糖蛋白, 属于高度保守的 α -巨球蛋白(α -macroglobulin, α M)家族, 该家族包括许多蛋白抑制剂和补体成分。PZP由两个相同的180 kDa亚基共价结合组成, 含有多个蛋白酶的识别位点, 与蛋白酶结合成1:1的PZP-酶复合物, 是一个良好的蛋白酶免疫抑制剂。

1 PZP的作用简介

PZP是良好的广谱蛋白酶抑制剂之一, 因为它能够结合、捕获和抑制几乎所有种类的蛋白酶^[3]。蛋白酶抑制在许多生物途径中都很重要, 例如在凝血和纤溶的调节以及免疫反应的调节和抑制等方面发挥作用(图1)。PZP可能来源于中性粒细胞^[4], 被认为是一种强大的T细胞免疫抑制剂, 可抑制T淋巴细胞的免疫反应、招募、迁移, T细胞增殖和白细胞介素2的产生^[5-6], 在妊娠中防止胎儿对母体的排斥反应^[4]。PZP在体外似乎抑制了免疫应答, 可能是PZP与淋巴细胞结合, 从而阻止植物血凝素(phytohaemagglutinin, PHA)和淋巴细胞之间的反应^[7-8]。免疫活性细胞亚群(如单核细胞)具有PZP-蛋白酶复合物受体, PZP-蛋白酶复合物与单核细胞的结合随着细胞成熟而增加, PZP可能对细胞周期蛋白水解的控

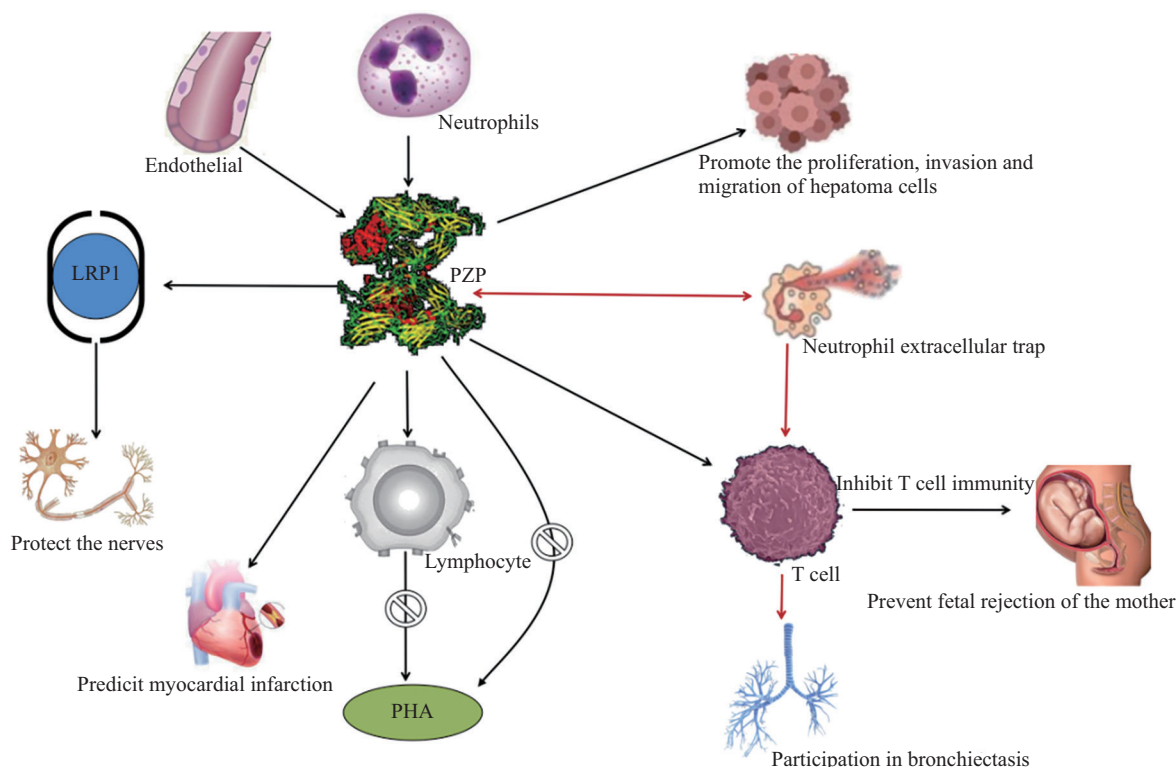
收稿日期: 2021-12-13 接受日期: 2022-02-11

*通讯作者。Tel: 0571-86843181, E-mail: zhoxiumei824@163.com

Received: December 13, 2021

Accepted: February 11, 2022

*Corresponding author. Tel: +86-571-86843181, E-mail: zhoxiumei824@163.com



PZP及其配体形成的配合物可与LRP1结合并通过内吞作用内化, PZP有助于受体介导的胞吞和溶酶体清除A β 或其他斑块衍生成分, 起到神经保护作用。PZP对淋巴细胞对PHA反应的作用机制一种可能性是妊娠区带蛋白与淋巴细胞结合, 从而阻止PHA与淋巴细胞之间的反应。另一种可能性是PHA与妊娠区带蛋白反应并被其灭活。

The complexes formed by PZP and its ligands can bind to LRP1 and be internalized by endocytosis. PZP can help receptor-mediated endocytosis and lysosomes to clear A β or other plaque-derived components and play a neuroprotective role. One possibility for the mechanism of action of PZP on lymphocyte in response to PHA is that the PZP binds to lymphocyte, thus blocking the reaction between PHA and lymphocyte. Another possibility is that PHA reacts with and is inactivated by the PZP.

图1 PZP在相关疾病中的研究
Fig.1 Study of PZP in related diseases

制和组织免疫反应的调节有重要作用^[9-10]。

PZP是妊娠相关血浆蛋白中最主要的定量蛋白。PZP在许多不同组织中表达, 包括肝脏、肾脏、子宫、胎盘、卵巢和大脑, 并且也存在于脑脊液、滑膜液和血浆等^[11]。PZP在健康男性和正常女性机体中微量存在, 是一种依赖雌激素的高分子量糖蛋白。PZP的浓度在某些生理和病理条件下显著增加, 如在怀孕几周后的血清中可以检测到, 其水平在妊娠期间可显著提高^[12], 并在分娩几周内恢复到孕前水平^[13]。在进行雌性激素治疗后, PZP水平也会随之上升^[14]。PZP水平在不同的疾病中上调, 并被认为是一种急性期反应物^[12]。有报道认为, PZP和肝癌、肺癌、乳腺癌等癌症有关, 并在炎症感染等一些疾病中发挥作用^[4]。有研究表明, 结肠癌细胞释放外泌体可刺激相邻成纤维细胞向癌相关成纤维细胞和肌成纤维细胞分化, 从而促进结肠癌细胞的血管生成和转

移^[15]。痰液中PZP浓度升高与铜绿假单胞菌引起的呼吸道感染有关^[4]。在肝癌组织内PZP表达水平较低, 且PZP水平下调与临床预后差相关^[16], 在肺癌组织内PZP mRNA下调, 并与免疫细胞浸润显著相关^[17]。

2 PZP在相关疾病中的研究

2.1 PZP在妇科疾病中的研究

BERNE等^[18]检测到使用含雌激素的口服避孕药女性血清中的PZP, 并认为雌激素具有诱导PZP产生的作用。目前认为子宫肌瘤、子宫内膜癌及部分卵巢肿瘤与雌激素有关, 可能是雌激素水平的升高诱导了PZP的产生。在妇科肿瘤患者中均能检测出PZP值(即PZP浓度值), 卵巢癌患者血清PZP值明显高于卵巢瘤患者, 子宫内膜癌和宫颈癌患者的血清PZP值高于子宫肌瘤患者。而恶性肿瘤患者PZP水平远远大于良性肿瘤患者^[19]。在葡萄胎患者血清中

PZP水平变化不明显,而当病变程度增加时,恶性葡萄胎和绒癌患者中PZP下调^[19]。这提示PZP可以作为判断滋养细胞良、恶性肿瘤和预后水平的标志物。

孕妇血清PZP可能与胎盘、胎儿发育有关,随胎盘和胎儿的生长、发育、成熟而逐渐增加^[19]。HORNE等^[20]发现妊娠高血压疾病的严重程度不同,患者胎盘绒毛组织的病变程度也不同,他们认为PZP可能产生于胎盘的绒毛组织。滕红等^[19]通过单向免疫扩散法对妊高征孕妇的PZP水平进行测定,在轻、中度患者中发现其无明显差异,在重度患者中仅有20%的患者PZP水平较低。

根据滕红等^[19]的研究表明,PZP值在妊娠早期可作为一种辅助手段去监测先兆流产。在妊娠早期对患者孕妇的PZP值进行检测,若PZP水平正常则表明患者孕妇的流产风险较小,若PZP值偏低,说明患者孕妇的流产风险较大,研究表明PZP偏低的患者流产概率能达到60%。

DAMBER等^[21]用放射免疫法测定了新被发现的、未经治疗的妇科肿瘤患者的PZP值,并将其值与健康人以前的结果进行了比较,发现癌症患者的PZP值与健康女性的PZP值没有显著差异。PE-TERSEN等^[22]通过ELISA评估118例乳腺癌患者体内PZP水平,发现乳腺癌病人体内的PZP值与年龄匹配的正常人组或良性肿瘤组的PZP浓度没有差异,且不受治疗和病程的影响,这与CARLSSON等^[23]的结论一致。

体外研究表明,乳腺肿瘤组织和腺癌细胞系可能合成并分泌PZP^[24]。血浆PZP的连续测量被建议用于监测乳腺癌中微转移肿瘤的消散^[25]。STIMSON等^[26]报道恶性乳腺肿瘤患者的PZP水平升高,血液水平与临床阶段和病程呈正相关。STIMSON等^[27]通过酶免疫分析11例乳腺癌患者体内PZP浓度,在所有病例中,PZP水平在转移灶发现前已显著升高。PZP随着转移灶的形成而上升,直到成功经过治疗后才下降,其浓度和肿瘤分期呈正相关。随着STIMSON等^[28]的早期发现,癌症和PZP之间的关系被特别关注。PZP与巨球蛋白 α_2 (α_2 macroglobulin, A2MG)的一级结构十分相似,这两种巨球蛋白具有共同的免疫反应表位^[29]。人的血清中具有高浓度的A2MG,且其很难与PZP分离^[30]。这似乎为部分矛盾的研究结果提供了一种可能性,人体中存在的A2MG参与反应,交叉反应导致实验结果出现偏差。PZP与乳腺癌的

关系还有待重新评估。

2.2 妊娠区带蛋白在癌症中的研究

恶性肿瘤的产生是一个多因素共同作用的复杂过程,早发现早治疗能够提高癌症患者的治愈率与生存率。目前,癌症的检测多为侵入式检查,过程复杂,灵敏度不高,体积较小的肿瘤难以被发现。血清中通常存在约10 000种不同的蛋白质和多肽,其中许多蛋白质和多肽是由生理或病理过程中的细胞分泌的^[31]。血清学的检测利用肿瘤标志物诊断,血清易从患者身上获取,操作方便,对患者造成伤害小,更适用于临床诊断。

通过对健康人血浆外泌体蛋白组成的研究,发现PZP蛋白普遍存在于外泌体中^[32],通过PZP蛋白可从供体细胞传递到受体细胞,并调节受体细胞的功能^[33]。根据这些发现,一些研究人员试图建立PZP血清水平与自身免疫和侵袭性疾病之间的关系。例如,在乳腺癌、肺癌和妇科癌症患者中有血清水平升高的报道^[34],血清PZP与乳腺癌分期呈正相关^[35-36]。在妇科恶性肿瘤患者中妊娠相关 α_2 糖蛋白(pregnancy-associated α_2 -glycoprotein, α_2 -PAG)和肿瘤程度呈正相关,其中有一半患者是卵巢癌^[37]。PZP在肝癌细胞和组织中呈高甲基化低表达,PZP的下调和肝癌患者预后差呈正相关^[16]。分析PZP在肺癌中的表达及其与免疫细胞浸润的相关性,肺癌组织中PZP mRNA表达下调,且呈显著相关^[17]。PZP作为一种新的血清生物标志物可用于筛查,为肿瘤的诊断提供了新的机会。

2.2.1 PZP作为筛查2型糖尿病患者肺腺癌的血清标志物

糖尿病的本质是代谢性疾病,它以慢性高血糖为特征。2型糖尿病(diabetes mellitus type 2, T2DM)不仅与微血管并发症和大血管并发症有关,而且还与多种癌症的发生和发展有关,包括肺癌、乳腺癌和胰腺癌^[38-39]。尽管T2DM人群的癌症发病率较高,但在T2DM患者中筛查和早期诊断特定类型癌症的可靠生物标志物尚未被发现。

YANG等^[17]通过顺序窗口采集所有理论质谱技术和平行反应监测质谱技术分析确诊为癌症的住院T2DM患者的临床资料,发现并初步验证了PZP和胰岛素样生长因子结合蛋白3(insulin like growth factor binding protein-3, IGFBP3)可作为潜在的生物标志物。随后,采用ELISA分析进一步验证这些生物标志物,并确定PZP作为一种新型的血清标志物,其可用于

T2DM患者肺腺癌的筛查, 加强辅助诊断, 从而有利于早期手术治疗。

2.2.2 PZP与肝癌的相关性 肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是肝癌的主要组织学亚型, 占原发性肝癌的90%, 已有报道称与肿瘤发生发展相关的两种机制是遗传变异和表观遗传修饰^[40]。基因启动子区域的异常CGI甲基化可以激活原癌基因或沉默抑癌基因, 导致下游关键基因表达改变, 促进癌细胞的增殖^[41]。

PZP是一种蛋白质编码基因, 能够通过一种独特的“诱捕”机制抑制所有四类蛋白酶。有研究表明, PZP与非酒精性脂肪肝的肝纤维化有关, 而肝纤维化是正常肝组织向肝硬化组织逐渐转移的开始^[42]。

WU等^[43]研究发现, PZP在肝癌组织和细胞中呈高甲基化和低表达, 其甲基化水平与其表达水平呈显著负相关。通过对HepG2和HuH-7细胞进行实时定量PCR, 检测PZP mRNA的表达, 发现PZP过表达的HCC细胞中PZP的表达水平明显高于对照组。PZP超甲基化和低表达患者的生存时间明显短于低甲基化和高表达患者, 并证实了PZP是一种抑癌基因, 其高甲基化促进了肝癌细胞的增殖、迁移和侵袭, 并为探索新的HCC治疗靶点提供了基础。

由于缺乏早期诊断的生物标志物, 大部分的HCC患者在发现时已进入晚期。大多数HCC患者接受了肝切除术、射频消融、肝移植、分子靶向化疗等治疗, 但预后仍不理想, 肿瘤在几个月或几年后又复发了。因此, 对预后生物标志物的发现和治疗靶点及其干预以改善肝癌患者的不良预后仍然至关重要。

SU等^[44]通过基因表达谱数据动态分析和人类蛋白质图谱图像分类分析, 发现PZP在HCC组织中的表达低于正常组织, PZP表达水平降低与HCC患者预后差呈正相关。同时利用癌症基因组图谱数据库进行分析, 结果显示PZP表达是独立的预后因素, 发现PZP水平低与HCC患者的不良预后呈正相关。此外, PZP可能在肝癌免疫微环境中调控和招募肿瘤浸润性免疫细胞方面发挥重要作用, 证实PZP的表达可能是HCC预后的生物标志物和潜在的分子治疗靶点。

2.3 妊娠区带蛋白作为早期心肌梗死的血清标志物

心肌梗死(myocardial infarction, MI)是全球范围内患者死亡和致残的首要原因。早发型心肌梗死的

风险程度尚不清楚, 且缺乏有效评估风险的生物标志物。

PZP与A2MG的结构间具有广泛的同源性, 在所有相应的氨基酸残基中, 71%的蛋白质的序列是相同的, 如果包括化学性质相似的残基, 则蛋白质序列相似的比例会增加到78%^[44]。这两种蛋白都是极好的蛋白酶抑制剂, 都能抑制丝氨酸蛋白酶。A2MG已被证明是人类心肌肥厚、左心室质量增加和心肌梗死的早期标志物^[45-46], 而PZP和A2MG之间联系密切, PZP也可能作为心肌梗死的标志物。

有研究表明, 静脉输注PZP足以预防小鼠心脏移植排斥反应, 但PZP基因敲除的小鼠对病毒的易感性增强^[47]。XUAN等^[48]通过ELISA验证结果显示, 早发型心肌梗死患者血清中PZP和富亮氨酸 α -2糖蛋白的浓度高于正常健康人组。Logistic回归分析结果表明, PZP值上升是早发型心肌梗死的独立危险因素。

2.4 妊娠区带蛋白在炎症中的研究

PZP在大量不同的炎症条件下上调, 被描述成一种急性期蛋白^[12], PZP是一种具有抗蛋白酶活性的广谱免疫抑制剂^[49]。它在妊娠中的作用被认为是抑制细胞介导的免疫反应^[5], 以防止胎儿的排斥反应。PZP已被证明能抑制T淋巴细胞免疫反应, T细胞招募、迁移、增殖和白细胞介素2的产生^[50]。研究表明, 给小鼠注射PZP可以防止T细胞介导的移植排斥反应, 且敲除PZP基因的小鼠更易被感染^[47,51]。

FINCH等^[4]在测定痰液PZP水平时, 发现在病情严重的患者中PZP水平升高, 并且PZP浓度与支气管扩张严重程度指数、恶化频率和症状呈显著相关。他们还发现, PZP是中性粒细胞胞外陷阱(neutrophil extracellular trap, NET)产生时释放的一种新的中性粒细胞蛋白, 是支气管扩张严重程度生物标志物, 在严重疾病和高细菌负荷患者的气道中有高浓度的PZP。在支气管扩张患者中, PZP与气道感染有关, 可能是NET通过调节T细胞功能导致呼吸道感染易感性增强的一种机制。

FINCH等^[4]研究了急性肺部感染是否会导致葡萄球菌中PZP水平的增加, 得出急性肺部感染会引发中性粒细胞介导的炎症反应。金黄色葡萄球菌被用作一种常见的支气管扩张病原体, 可引起强烈的中性粒细胞反应, 包括NET的形成^[4]。在感染小鼠的肺匀浆中检测到金黄色葡萄球菌, 这与葡萄球菌中

性粒细胞增多有关,感染导致葡萄球菌中PZP值的增加,这与葡萄球菌中性粒细胞计数直接相关。

PZP是中性粒细胞介导炎症的标志,这一发现可能对中性粒细胞发挥关键作用的其他疾病很重要。需要进一步的工作来确定PZP是否仅仅是慢性中性粒细胞炎症的标记物,或者它是否在支气管扩张的慢性感染的发病机制中有直接作用。

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是类肠道免疫功能障碍疾病,在世界范围内发病率和患病率呈上升趋势。作为一种慢性胃肠道疾病,其发病机制尚不清楚。目前,IBD的诊断是基于临床、内镜、生化、横断面影像、组织学检查等多种检查手段,多数为入侵时检测方法,其诊断仍然明显滞后,导致治疗开始的延迟,损害患者的健康和诱导疾病发展^[52-53]。鉴于目前IBD患者对其治疗的初级和获得性耐药性很高,迫切希望出现新的药物靶点和生物标志物。近年来,外泌体在IBD发病机制和治疗中的作用成为研究热点。

WONG等^[54]分离并研究了急性结肠炎小鼠血清外泌体。血清外泌体在体外能显著激活巨噬细胞,提示血清外泌体在IBD诊断中的潜力。此外,ZHENG等^[55]从IBD患者的唾液中提取了外泌体。分析结果显示,IBD患者蛋白酶体 $\alpha 7$ 亚基(PSMA7)的表达明显高于健康对照组。SHAO等^[56]研究了健康人和IBD患者血清外泌体的蛋白谱,发现PZP在IBD患者和健康人群中有显著差异,通过ELISA法检测血清外泌体中IBD的水平,其在IBD患者中的表达水平要高得多,这为PZP作为一种新的IBD血清学生物标志物,用于IBD诊断提供了可能。

2.5 妊娠区带蛋白在阿尔茨海默病中的研究

蛋白质错误折叠是许多人类疾病的病理基础,PZP能有效抑制体外错误折叠蛋白包括淀粉样 β 肽(amyloid β -protein, A β)的聚集,这与子痫前期和阿尔茨海默病(Alzheimer's Disease, AD)有关。

AD不能被治愈,药物仅仅可以延缓AD症状发展,所以尽早发现开始治疗是至关重要的。到目前为止,AD的诊断手段较为滞后。由于血液采样的可及性和适用性,使用血清生物标志物对AD的早期筛查是较为理想的。

PZP与A2MG的一级结构十分相似,A2MG和AD的发病机制有关。HYE等^[57]通过比较病例和对照组的二维凝胶图像发现,AD患者血浆中A2MG水

平升高。在AD大脑的斑块内也检测到A2MG,它和A β 结合生成复合物^[58]。在AD中, α_2 巨球蛋白和PZP被发现与A β 共定位^[59-60]。PZP与A2MG类似,可能在AD的发病机制中起到一定作用。

CHIABRANDO等^[61]在细胞培养中,发现甲胺活化的PZP能够抑制神经生长因子促进的神经突延伸,而正常的PZP对其几乎或没有作用。CATER等^[62]发现PZP有效地抑制了错误折叠蛋白包括淀粉样蛋白-肽的聚集,这种蛋白在子痫前期和AD中形成斑块。IJSELSTIJIN等^[63]脑组织切片免疫组化验证结果显示,AD患者的老年斑、小胶质细胞和胶质细胞中有较强的PZP表达,而对照组仅在一些分散的胶质细胞中低表达,发现蛋白酶抑制剂蛋白PZP是症状前AD的潜在血清生物标志物。

有报道称,PZP基因编码区域的一个单核苷酸多态性位点与晚发性AD呈正相关^[64-65]。体外实验表明,激活的PZP可抑制PC12细胞中神经生长因子介导的神经突生长和神经生长因子受体介导的信号转导,且呈剂量依赖性^[66]。

DIANA等^[67]在AD患者的血清中,发现PZP水平高于未患老年痴呆症的对照组,认为这种增加是由于在疾病早期脑源性PZP进入血液导致的。PZP可能参与人类AD发病机制。与非痴呆对照组相比,AD患者死后大脑皮层中PZP免疫反应性增加。在AD皮质中,PZP免疫反应局限于与老年斑相互作用的小胶质细胞,偶尔在神经元中观察到。并将血清PZP水平升高与AD的特征性病理联系起来,目前的数据表明PZP在AD中的早期参与。PZP在AD发病过程中的作用有待进一步研究。

3 总结与展望

综上所述,PZP作为一种具有抗蛋白酶活性的广谱免疫抑制剂,在许多疾病中具有潜在的临床应用价值,是一类非常有前途的新型血清标志物。在妇科肿瘤中PZP可作为良、恶性肿瘤的鉴别诊断及判定其预后的一项较好的辅助指标。PZP与乳腺癌的关系有待继续评估,PZP有可能对同一个体进行纵向研究,提供有关疾病病程和治疗效果的一些信息。

PZP在免疫细胞中高度表达,PZP可能在HCC免疫微环境中调节和招募肿瘤免疫浸润细胞中发挥重要作用。PZP在正常及肝癌组织中的差异表达,可能是启动子区域PZP基因的甲基化抑制了某些转录因

子的结合,从而导致转录抑制,这提示其可能是HCC预后的生物标志物和潜在的分子治疗靶点。早发型心肌梗死患者血清中PZP水平升高,为心肌梗死的早期筛查提供了新的思路。PZP和AD关系密切,在AD中PZP水平上升,给AD的诊断和治疗提供了新的思路。PZP出现于NET中且它没有已知的抗菌作用,推测PZP可能通过与NET相互作用来调节T细胞功能,从而参与支气管扩张患者的免疫耐受。PZP是中性粒细胞介导的炎症标志物的发现对于中性粒细胞发挥关键作用的其他疾病来说很重要。需要进一步的机制研究来确定PZP是否仅仅是慢性中性粒细胞炎症的标志物,为炎症的治疗提供新方法。PZP的构象变化和蛋白酶的结合也值得人们深入探索。随着对PZP理化性质的研究和生理结构的探索的不断完善,以及对它们的临床应用价值的不断发掘,在大量科学工作者的积极参与实验下,PZP的研究和应用将取得更重大的突破。

参考文献 (References)

- [1] OLIVELLI F, RUGGIERI P. Presence and significance of placental antigens in the blood of pregnant women [J]. *Minerva Ginecol*, 1958, 10(24): 953-8.
- [2] SMITHIES O. Zone electrophoresis in starch gels and its application to studies of serum proteins [J]. *Adv Protein Chem*, 1959, 14(2): 65-113.
- [3] KOVACS D M. Alpha2-macroglobulin in late-onset Alzheimer's disease [J]. *Exp Gerontol*, 2000, 35(4): 473-9.
- [4] FINCH S, SHOEMARK A, DICKER A J, et al. Pregnancy zone protein is associated with airway infection, neutrophil extracellular trap formation, and disease severity in bronchiectasis [J]. *Original Article*, 2019, 200(8): 992-1001.
- [5] SKORNICKA E L, KIYATKINA N, WEBER M C, et al. Pregnancy zone protein is a carrier and modulator of placental protein-14 in T-cell growth and cytokine production [J]. *Cell Immunol*, 2004, 232(1): 144-56.
- [6] PETERSON L W, ARTIS D. Intestinal epithelial cells: regulators of barrier function and immune homeostasis [J]. *Nat Rev Immunol*, 2014, 14(3): 141-53.
- [7] WU M, LAN H, YE Z, et al. Hypermethylation of the PZP gene is associated with hepatocellular carcinoma cell proliferation, invasion and migration [J]. *Febs Open Bio*, 2021, 11(2): 826-32.
- [8] SCHOULTZ B V, Stigbrand T, Tarnvik A. Inhibition of PHA-induced lymphocyte stimulation by the pregnancy zone protein [J]. *FEBS Lett*, 1973, 38(1): 23-6.
- [9] PERSELLIN R H, Rhodes J. Inhibition of human monocyte Fc receptor and HLA-DR antigen expression by pregnancy alpha-2 glycoprotein [J]. *Clin Exp Immunol*, 1981, 46(2): 350-4.
- [10] JENSEN P H, DAVIDSEN O, GLIEMANN J, et al. Cell association and degradation of pregnancy zone protein-chymotrypsin complex in cultured human monocytes [J]. *Scand J Clin Lab Invest*, 1988, 48(2): 165-76.
- [11] TAYADE C, ESADEG S, FANG Y, et al. Functions of alpha 2 macroglobulins in pregnancy [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2005, 245(1): 60-6.
- [12] BOHN H. Nachweis und charakterisierung von schwangerschafts proteinen in der menschlichen placenta, sowie ihre quantitative immunologische bestimmung in serum schwangerer Frauen [J]. *Arch Gynaek*, 1971, 210(4): 440-57.
- [13] DAMBER M G, SCHOULTA B V, SOLHEIM F, et al. A quantitative study of the pregnancy zone protein in sera of women taking oral contraceptives [J]. *Am J Obstet Gynecol*, 1974, 119(3): 289-92.
- [14] BECKMAN L, SCHOULTZ B V, STIGBRAND T. "Pregnancy zone" protein in sera from patients with prostatic cancer treated with oestrogens [J]. *Urol Res*, 1973, 1(2): 67-9.
- [15] WANG M A, SU Z S, AMOAH P. Crosstalk among colon cancer-derived exosomes, fibroblast-derived exosomes, and macrophage phenotypes in colon cancer metastasis [J]. *Int Immunopharmacol*, 2020, 81: 106298.
- [16] SU L, ZHANG G H, KONG X D. Prognostic significance of pregnancy zone protein and its correlation with immune infiltrates in hepatocellular carcinoma [J]. *Cancer Manage Res*, 2020, 12(2): 27-36.
- [17] YANG J Y, YANG C, SHEN H, et al. Discovery and validation of PZP as a novel serum biomarker for screening lung adenocarcinoma in type 2 diabetes mellitus patients [J]. *Cancer Cell Int*, 2021, 21(162): 2-13.
- [18] BERNE B H. Alpha-pregnoglobulin: a pregnancy-associated macroglobulin elevated by estrogen and oral contraceptive administration [J]. *Obstet Gynecol*, 1974, 43(4): 620.
- [19] 滕红, 张为远, 朱凤全. 检测妊娠区带蛋白临床意义的研究[J]. *中华妇产科杂志* (TENG H, ZHANG W Y, ZHU F Q. Study on the clinical significance of detection of pregnancy zone protein [J]. *Chinese Journal of Obstetrics and Gynecology*), 1994, 29(2): 88-124.
- [20] HORNE C H, MCLAY A L, TAVIDIA H B, et al. Studies on pregnancy-associated globulin [J]. *Clin Exp Immunol*, 1973, 13(4): 603-11.
- [21] DAMBER G, SCHOULTZ B, STIGBRAND T. On the occurrence of the pregnancy zone protein (PZ) in gynecological cancer [J]. *Arch. Gynak*, 1976, 221(2): 96-101.
- [22] PETERSEN C M, JENSEN P H, BUKH A, et al. Pregnancy zone protein: a re-evaluation of serum levels in healthy women and in women suffering from breast cancer or trophoblastic disease [J]. *Scand J Clin Lab Invest*, 1990, 50(5): 479-85.
- [23] CARLSSON L, SOTTRUP-JENSEN L, STIGBRAND T. A two-site monoclonal enzyme immunoassay for pregnancy-associated alpha2-glycoprotein [J]. *J Immunol Methods*, 1987, 104(2): 73-9.
- [24] SARCIONE E J, DELLUOMO D S, ZLOTY M. Pregnancy-associated alpha2glycoprotein (alpha2-PAG) synthesis by human breast cancer tissue and cultured cell lines [J]. *Int J Cancer*, 1983, 31(2): 143-7.
- [25] MAXWELL J M, STIMSON W H, CETTINGBY G, et al. Detection of mammary micrometastases by pregnancy-associated alpha2-glycoprotein (PAC, alpha2-PAC or PAM) and carcinoembryonic antigen (CEA) [J]. *Eur J Cancer*, 1979, 2(5): 709-14.
- [26] STIMSON W H, ANDERSON J M, FARQUHARSON D

- M. Pregnancy-associated α 2-glycoprotein [J]. *Lancet*, 1977, 309(8010): 542-3.
- [27] STIMSON W H. Correlation of the blood-level of a pregnancy associated α 2-macroglobulin with the clinical course of cancer patients [J]. *Lancet*, 1975, 305(7910): 777-9.
- [28] MULLER T, BOWEN M, MELLO J D, et al. Limitations of using pregnancy-associated alpha-2 glycoprotein as a tumor marker [J]. *Eur J Cancer Clin Oncol*, 1982, 18(4): 327-32.
- [29] WESTROM B R, KARLSSON B W, OHLSSON K. Immuno-cross-reactivity between alpha-macroglobulins from pig, dog, rat and man including human pregnancy-associated alpha 2-glycoprotein [J]. *Hoppe-Seyler's Z Physiol Chem*, 1983, 364(364): 375-81.
- [30] SAND O, FOLKERSEN J, WESTERGARRD J G, et al. Characterization of human pregnancy zone protein. Comparison with human alpha 2-macroglobulin [J]. *J Biol Chem*, 1985, 260(29): 15723-35.
- [31] RIFAIL N, GILETTE M A, STEVEN A C. Protein biomarker discovery and validation: the long and uncertain path to clinical utility [J]. *Nat Biotechnol*, 2006, 24(8): 971-83.
- [32] BASTOS-AMADOR P, ROYO F, GONZALEZ E, et al. Proteomic analysis of microvesicles from plasma of healthy donors reveals high individual variability [J]. *J Proteomics*, 2012, 75(12): 3574-84.
- [33] PEGTEL D, GOULD S. Exosomes [J]. *Annu Rev Biochem*, 2019, 88(1): 487-514.
- [34] BAUER H. The pregnancy-associated α 2-glyco-protein (α 2-PAG) a tumor marker [J]. *Klin Wochenschr*, 1981, 59(4): 149-55.
- [35] BAUER H W, DEUTSHMANN K, PETER H H, et al. Pregnancy-associated α 2-glycoprotein in malignant melanoma [J]. *Eur J Cancer*, 1978, 15(1): 123-6.
- [36] WILKING N, CARLSTROM K, GUSTAFSSON S A, et al. Pregnancy-associated glycoprotein (α 2-PAC)-A possible marker in breast cancer [J]. *Int J Cancer*, 1984, 34(4): 479-81.
- [37] BAUER H W, KRAUS H. Variations in the level of the pregnancy-associated α 2-glycoprotein in patients with gynecologic cancer [J]. *Eur J Cancer*, 1980, 16(11): 1475-81.
- [38] SHLOMAI G, NEEL B, LETOITH D, et al. Type 2 diabetes mellitus and cancer: the role of pharmacotherapy [J]. *J Clin Oncol*, 2016, 34(35): 4261-69.
- [39] ABUDAWOOD M. Diabetes and cancer: a comprehensive review [J]. *J Res Med Sci*, 2019, 24(8): 94-5.
- [40] WU C T, MORRIS J R. Genes, genetics, and epigenetics: a correspondence [J]. *Science*, 2001, 293(2): 1103-5.
- [41] KULIS M, ESTELLER M. DNA methylation and cancer [J]. *Adv Genet*, 2010, 70(2): 27-56.
- [42] ZHAO P, WU J, LU F, et al. The imbalance in the complement system and its possible physiological mechanisms in patients with lung cancer [J]. *BMC Cancer*, 2019, 19(1): 201-69.
- [43] STIMSON W H, FARQUHARSON D M, SHEPERD A, et al. Studies on the synthesis of pregnancy-associated α 2 glycoprotein by the liver, placenta and peripheral blood leukocyte populations [J]. *J Clin Lab Immunol*, 1972, 2(5): 235-8.
- [44] DEVRIENDT K, VAN B, CASSIMAN J J, et al. Primary structure of pregnancy zone protein. Molecular cloning of a full-length PZP cDNA clone by the polymerase chain reaction [J]. *Biophys Acta*, 1991, 1088(1): 95-103.
- [45] GRAM J, JESPERSEN J. On the significance of antithrombin-III, alpha 2-macroglobulin, alpha 2-antiplasmin, histidine-rich glycoprotein, and protein C in patients with acute myocardial infarction and deep vein thrombosis [J]. *Thromb Haemost*, 1985, 53(2): 503-5.
- [46] ANNAPOORANI P, DHANDAPANY P S, SADAYAPPAN S, et al. Cardiac isoform of alpha-2 macroglobulin-A new biomarker for myocardial infarcted diabetic patients [J]. *Atherosclerosis*, 2006, 186(1): 173-6.
- [47] SVENDSEN P, STIGBRAND T, TEISNER B, et al. Immunosuppressive effect of human pregnancy zone protein on H-2 incompatible mouse heart allografts [J]. *Apamis*, 1978, 86(4): 199-201.
- [48] XUAN C, LI H, LI L L. Screening and identification of pregnancy zone protein (PZP) and leucine-rich alpha-2-glycoprotein (LRG) as potential serum biomarkers for early-onset myocardial infarction using protein profile analysis [J]. *Proteomics Clin Appl*, 2018, 79(2): 1-36.
- [49] STIMSON W. Are pregnancy-associated serum proteins responsible for the inhibition of lymphocyte transformation by pregnancy serum [J]? *Clin Exp Immunol*, 1980, 40(2): 157-60.
- [50] STIMSON W H. Studies on the immunosuppressive properties of pregnancy-associated α 2-macroglobulin [J]. *Clin Exp Immunol*, 1976, 25(2): 199-206.
- [51] SVENDSEN P, STIGBRAND T, TEISNER B, et al. Immunosuppressive effect of human pregnancy zone protein on H-2 incompatible mouse heart allografts [J]. *Acta Pathol Microbiol Scand*, 1978, 86(6): 199-201.
- [52] MAASER C, STURM A, VAVRICKA S R, et al. ECCO-ESGAR guideline for diagnostic assessment in IBD Part 1: initial diagnosis, monitoring of known IBD, detection of complications [J]. *J Crohns Colitis*, 2019, 13(2): 144-64.
- [53] FIORINO G, DANESI S. Diagnostic delay in Crohn's disease: time for red flags [J]. *Dig Dis Sci*, 2016, 61(11): 3097-105.
- [54] WONG W Y, LEE M M, CHAN B D, et al. Proteomic profiling of dextran sulfate sodium induced acute ulcerative colitis mice serum exosomes and their immunomodulatory impact on macrophages [J]. *Proteomics*, 2016, 16(7): 1131-45.
- [55] ZHENG N X, CHEN N F, ZHANG N Q, et al. Salivary exosomal PSMA7: a promising biomarker of inflammatory bowel disease [J]. *Protein Cell*, 2017, 8(9): 686-95.
- [56] SHAO J, JIN Y, SHAO C, et al. Serum exosomal pregnancy zone protein as a promising biomarker in inflammatory bowel disease [J]. *Cell Mol Biol Lett*, 2021, 26(36): 2-13.
- [57] HYE A, LYNHAM S, THAMBSETTY M, et al. Proteome-based plasma biomarkers for Alzheimer's disease [J]. *Brain*, 2006, 129(11): 3042-50.
- [58] KOVACS D M. Alpha2-macroglobulin in late-onset Alzheimer's disease [J]. *Exp Gerontol*, 2000, 35(4): 473-9.
- [59] NIJHOLT D A, IJSSSELSTJIN L, MARCEL M, et al. Pregnancy zone protein is increased in the Alzheimer's disease brain and associates with senile plaques [J]. *J Alzheimers Dis*, 2015, 46(1): 227-38.
- [60] THAL D R, SCHOBEL R, BIRKENMEIER G. The subunits of alpha2-macroglobulin receptor/low density lipoprotein receptor-related protein, native and transformed alpha2-macroglobulin and interleukin 6 in Alzheimer's disease [J]. *Brain Res*, 1997, 777(1): 223-7.

- [61] SANCHEZ M C, CHIABRANDO G A, Vides M A. Pregnancy-zone protein-tissue-type plasminogen activator complexes bind to low-density lipoprotein receptor-related protein (LRP) [J]. Arch Biochem Biophys, 2001, 389(2): 218-22.
- [62] CATER J H, KUMITA J R, ZEINEDDINE A R, et al. Human pregnancy zone protein stabilizes misfolded proteins including preeclampsia- and Alzheimer's-associated amyloid beta peptide [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2019, 12(2): 1-10.
- [63] IJSSELSTIJN L, DEKKER L J, STINGL C, et al. Serum levels of pregnancy zone protein are elevated in presymptomatic Alzheimer's disease [J]. J Proteome Res, 2011, 10(2): 4902-10.
- [64] EDWARDS T L, PERICAK V, GILBERT J R, et al. An association analysis of Alzheimer's disease candidate genes detects an ancestral risk haplotype clade in ACE and putative multilocus association between ACE, A2M and LRR TM3 [J]. Am J Med Genet Part B, 2009, 150(5): 721-35.
- [65] ROGAEVA E, KAWARAI T, GEORGE-HYSLOP P S. Genetic-complexity of Alzheimer's disease: successes and challenges [J]. J Alzheimers Dis, 2006, 9(3): 381-7.
- [66] CHIABRANDO G A, SANCHEZ M C, SKORNICKA E L, et al. Low-density lipoprotein receptor-related protein mediates in PC12 cell cultures the inhibition of nerve growth factor-promoted neurite outgrowth by pregnancy zone protein and alpha2-macroglobulin [J]. J Neurosci Res, 2002, 70(1): 57-64.
- [67] DIANA N, IJSSELSTIJN L, VAN W, et al. Pregnancy zone protein is increased in the Alzheimer's disease brain and associates with senile plaques [J]. J Alzheimer's Dis, 2005, 46(1): 227-38.