



李艳, 山东大学生殖医学与子代健康全国重点实验室, 山东大学研究员, 硕士研究生导师, 山东大学未来计划青年学者, 山东省高等学校青创团队计划“生殖医学创新团队”负责人, 美国内分泌学会和美国心脏协会国际会员。2011年毕业于山东大学临床医学七年制获临床医学妇产科学士及硕士学位, 2015年毕业于加拿大英属哥伦比亚大学妇产科生殖与发育科学专业获博士学位, 2016至2019年于美国哈佛大学医学院及布莱根妇女医院从事医学博士后研究工作。2019年2月至今任山东大学齐鲁医学院及妇儿与生殖健康研究院研究员。主要研究方向: 围绕胎盘早期发育调控, 开展子痫前期、复发性流产等重大妊娠疾病的发病机理及临床诊疗研究。以第一/通讯作者身份在*Hum Reprod Update*、*EBioMedicine*、*Trends Endocrinol Metab*、*Cell Prolif*、*Hum Reprod*等主流期刊发表SCI论文30篇。主持国家重点研发计划子课题1项, 国家自然科学基金等省部级以上项目3项, 入选山东大学“青年学者未来计划”。荣获山东省科技进步一等奖、山东省医学科技创新成果一等奖、2023年张丽珠生殖医学青年创新奖, 获国家发明专利授权1件。

激活素A调控人类滋养细胞生物学特性的分子机制 及其与胎盘源性妊娠疾病关系的研究进展

蓝湘鑫 王钰峰 李艳*

(山东大学生殖医学与子代健康全国重点实验室, 济南 250012)

摘要 在人类妊娠建立过程中, 胚胎滋养外胚层细胞与子宫内膜直接接触, 严密介导母胎对话, 调控胚胎着床、植入宫腔, 并逐渐形成维持妊娠期间物质交换、营养供应的胎盘组织。起源于滋养外胚层的一部分滋养细胞(trophoblast)侵袭、迁移进入母体蜕膜组织, 重塑子宫螺旋小动脉, 对于胎盘形成和母胎血液循环建立至关重要。滋养细胞侵袭、迁移、增殖、凋亡、内皮特性获得等生物学特性异常是胚胎种植失败、自然流产、妊娠滋养细胞疾病、子痫前期、胎儿生长受限等胎盘源性妊娠疾病的重要因素。激活素A(activin A)作为转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β)超家族中的一种分泌型蛋白, 在妊娠期间母体循环及母胎界面表达丰富, 在调控滋养细胞生物学特性以及妊娠的建立和维持中起重要作用。该文主要围绕激活素A调控人类滋养细胞生物学特性的分子机制及其在胎盘源性妊娠疾病中表达改变的研究进展进行综述。

关键词 激活素A; 滋养细胞; 生物学特性; 妊娠; 胎盘源性妊娠疾病

Advances in Understanding the Molecular Mechanisms of Activin A-Regulated Biological Characteristics in Human Trophoblasts and Its Dysregulation in Placenta-Derived Pregnancy Disorders

收稿日期: 2024-01-02 接受日期: 2024-02-27

国家自然科学基金(批准号: 82101784)资助的课题

*通信作者。Tel: 0531-88382084, E-mail: ubcliyan@sdu.edu.cn

Received: January 2, 2024

Accepted: February 27, 2024

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.82101784)

*Corresponding author. Tel: +86-531-88382084, E-mail: ubcliyan@sdu.edu.cn

LAN Xiangxin, WANG Yufeng, LI Yan*

(State Key Laboratory of Reproductive Medicine and Offspring Health, Shandong University, Jinan 250012, China)

Abstract During the establishment of human pregnancy, embryonic trophoblast cells are in direct contact with the endometrium, closely mediate the maternal-fetus dialogue, regulate embryo implantation and gradually form the placenta, which is responsible for maintaining material exchange and nutrient supply throughout pregnancy. A subset of trophoblast cells invade and migrate into the maternal decidual tissue, remodeling the uterine spiral arteries, which is essential for placental formation and blood supply. Abnormalities in biological characteristics such as trophoblast invasion, migration, proliferation, apoptosis, and acquisition of endothelial-like phenotype are important causative factors in various placenta-derived pregnancy disorders, including embryo implantation failure, miscarriage, gestational trophoblastic diseases, PE (preeclampsia), and FGR (fetal growth restriction). Activin A, a secreted protein belonging to the TGF- β superfamily, is abundantly present in the maternal circulation and at the maternal-fetal interface during pregnancy, which plays key roles in regulating the biological characteristics of trophoblasts and the establishment and maintenance of pregnancy. This paper reviews the molecular mechanisms through which activin A regulates the biological characteristics of human trophoblasts and its dysregulation in placenta-derived pregnancy disorders.

Keywords activin A; trophoblast; biological characteristics; pregnancy; placenta-derived pregnancy disorders

人类妊娠建立过程中, 胚胎在受精后6~7天发育成晚期囊胚并植入母体宫腔。胚胎植入是一个由胚胎滋养细胞、母体蜕膜基质细胞、免疫细胞等共同协调介导的精密的母胎对话过程。在妊娠黄体分泌的孕酮及合体滋养细胞合成分泌的人绒毛膜促性腺激素(human chorionic gonadotropin, hCG)、雌孕激素等的作用下, 胚胎外层的滋养细胞逐渐发育、浸润母体子宫, 形成胎儿提供血供和营养的胎盘组织。胎盘滋养细胞增殖、侵袭、迁移等生物学特性异常会导致母胎界面血管重塑不足、胎盘功能障碍, 在妊娠早期表现为胚胎种植失败、早期妊娠丢失; 在妊娠中晚期表现为子痫前期(preeclampsia, PE)、胎儿生长受限等多种临床常见的胎盘源性妊娠相关疾病。近年来, 基于胎儿起源的成人疾病的“多哈理论”认为, 胎儿宫内不良环境会增加子代在成年后罹患心血管疾病、神经精神疾病、代谢性疾病的风险^[1]。有关胎盘源性妊娠疾病的病理生理机制备受关注, 随着研究的不断深入, 胎盘滋养细胞生物学特性的调控被认为是胎盘发育、功能建立和维持的重要机制之一, 然而其具体调控机制并不明确。因此, 深入理解滋养细胞生物学特性的生理病理调控机制, 可为滋养细胞功能障碍相关的胎盘源性妊娠疾病的病因认识、机制探索及防控诊治提供重要的思路。

激活素A(activin A)是转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β)超家族中的一员, 其作为一种分泌型蛋白, 广泛存在于人类的各种组织中并参与调节造血、胚胎发育、组织修复和纤维化等基本生物过程^[2]。激活素A最早被发现存在于下丘脑-垂体-卵巢轴中发挥重要作用, 自此后30余年, 激活素A在生殖领域中的作用被逐步揭示, 包括参与子宫内膜蜕膜化、胚胎着床、胎盘形成和妊娠维持等重要的妊娠生理过程。研究发现激活素A与滋养细胞侵袭、迁移、内皮特性获得等生物学特性的调控密切相关。母体血液中激活素A水平的改变与多种胎盘源性妊娠疾病(如子痫前期、早期妊娠丢失等)的发生密切相关, 提示其可能作为胎盘源性妊娠疾病的潜在治疗靶点。

本文综述了激活素A调控人类滋养细胞生物学特性的作用和分子机制, 以及作为生物靶标用于胎盘源性妊娠疾病的早期预测、诊断和治疗新策略的应用。

1 激活素A的结构、受体、信号通路和调节机制

目前, 哺乳动物中已经成功分离的激活素(activin)家族成员包括激活素A、激活素B(activin B)、激活素C(activin C)、激活素E(activin E)和激活素

AB(activin AB), 它们在结构上具有相似性, 都是由两个抑制素 β (inhibin β , INHB)亚基经二硫键连接而成的双亚基蛋白^[3]。如图1所示, 激活素A、激活素B、激活素C、激活素E和激活素AB分别由两个抑制素 β A(inhibin β A, INHBA)亚基、两个抑制素 β B(inhibin β B, INHBB)亚基、两个抑制素 β C(inhibin β C, INHBC)亚基、两个抑制素 β E(inhibin β E, INHBE)亚基、一个抑制素 β A和一个抑制素 β B亚基构成。目前研究较为充分且已证明具有明确生物活性的二聚体只有激活素A、激活素B和激活素AB^[4]。激活素A和激活素B在人类卵泡液、胎盘、羊水和孕期血清中均可被检测到^[5]; 而有研究表明激活素AB仅能在卵泡液中被检测到^[6]; 另一项更近的研究在孕期血清中也检测到了激活素AB, 其浓度约为激活素A的千分之一^[7]。编码激活素A的*Inhba*基因被编码激活素B的*Inhbb*基因取代的突变小鼠表现出卵泡数量减少、睾丸发育异常等生殖功能障碍^[8]。这说明激活素家族成员虽然在结构上具有相似性, 但在组织分布和功能上存在很多差异性。此外, β A和 β B亚基还分别与抑制素 α (inhibin α , INHA)亚基构成抑制素A(inhibin A)和抑制素B(inhibin B), 抑制素在功能上与激活素起拮抗作用。

激活素A下游信号转导通路通过I型和II型受体组合形成复合物转导细胞内信号级联反应^[9-10]。I型受体通常被称为激活素受体样激酶(activin receptor-like kinases, ALKs)。目前在哺乳动物中已报道的I型受体共有7个(ALK1~7), 与激活素A结合的I型受体(activin receptor type I, ActRI)主要是ALK4^[11]。已

知的II型受体共有5个, 包括TGF- β II型受体(transforming growth factor β receptor II, TGF β RII)、激活素IIA型和IIB型受体(activin receptor type IIA/B, ActRIIA/B)、骨形态发生蛋白II型受体(bone morphogenetic protein receptor type II, BMPRII)和苗勒氏管抑制物质II型受体(Müllerian inhibitory substance type II receptor, MISRII), 与激活素A结合的II型受体是ActRIIA/B^[12]。I型和II型受体都有一个胞外结构域、一个胞内丝氨酸/苏氨酸激酶和一个富含甘氨酸和丝氨酸的胞质甘氨酸丝氨酸(glycine serine, GS)结构域, GS可以被磷酸化激活。两种受体不能单独发挥作用, II型受体需要招募I型受体来进行信号传递, 反之, I型受体只能与II型受体结合的配体形成复合物^[13]。

激活素A与II型受体的胞外结构域结合, 促进II型受体磷酸化, 然后招募I型受体, 形成异源丝氨酸/苏氨酸激酶复合物^[2], 通过两种途径介导细胞内信号转导: 经典途径和非经典途径。如图2所示, 在SMAD介导的经典途径中, 细胞内的SMAD2和SMAD3被磷酸化并招募SMAD4, 形成活化的异三聚体SMAD复合物SMAD2/3-SMAD4, 移位至细胞核, 作为转录因子调控靶基因的转录^[12,14]。激活素A还可通过独立于SMAD激活的非经典途径发挥作用, 如糖尿病肾病中的RhoA/Rho相关蛋白激酶(Rho associated protein kinases, ROCK)信号^[15], 骨骼肌分解代谢、炎症性疾病和纤维化中的丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)信号^[16-17], 肿瘤中的磷脂酰肌醇3-激酶(phosphatidyl inositol 3-kinase, PI3K)/蛋白激酶B(protein kinase B, AKT)通路^[18]等。

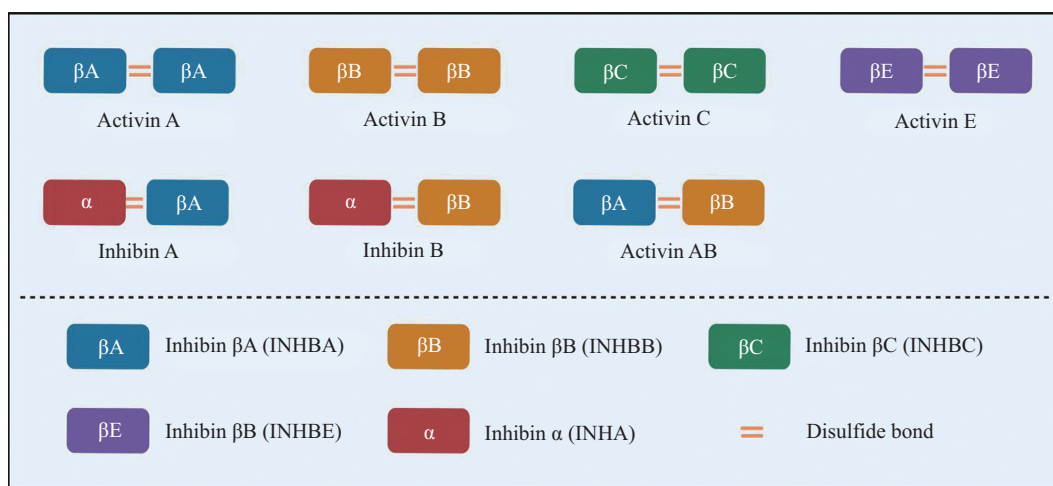


图1 激活素和抑制素家族成员组成结构

Fig.1 Compositional structures of activin and inhibin family members

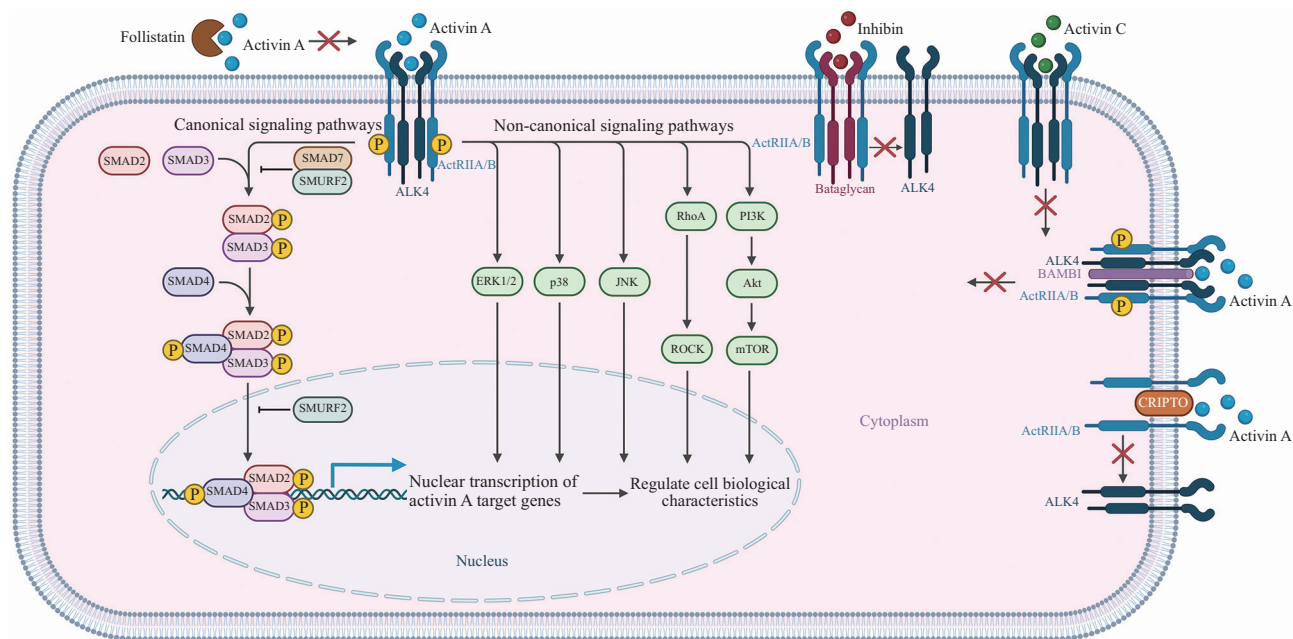


图2 激活素A的信号通路及调节机制

Fig.2 Signaling pathways and regulatory mechanisms of activin A

非经典的信号通路可以协同或拮抗SMAD介导的效应^[19], 调控靶基因转录, 从而调节细胞生物学特性。

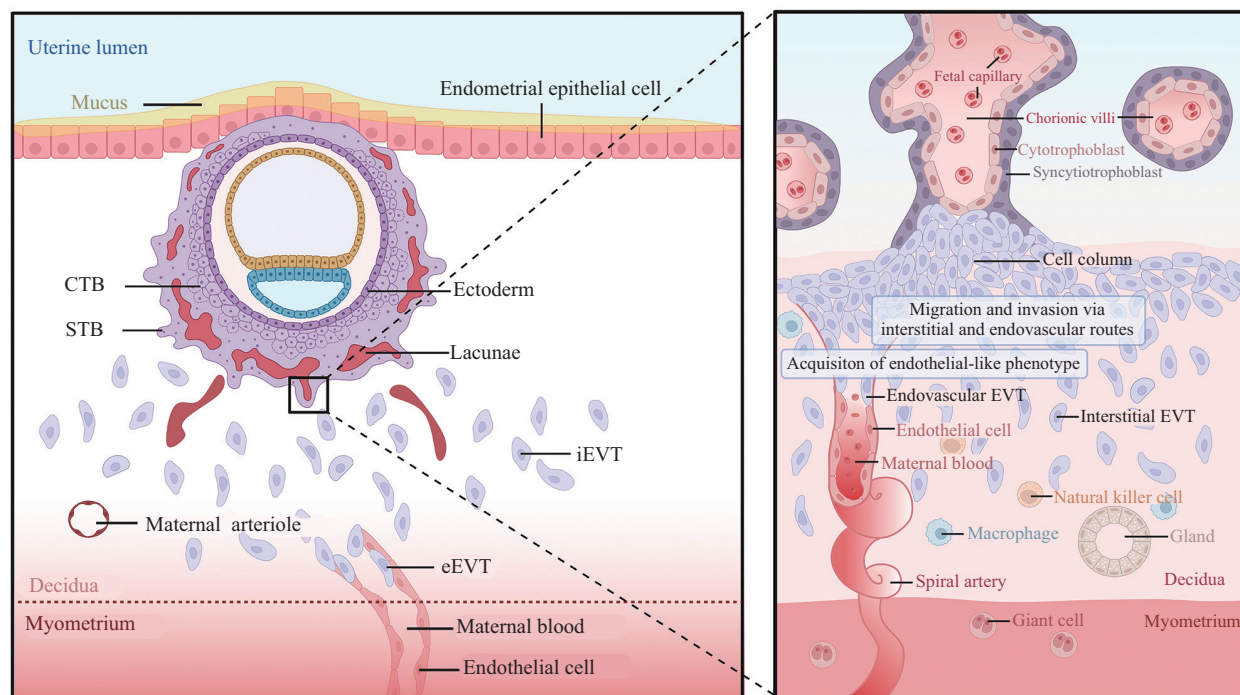
激活素A信号通路的调节机制复杂, 其信号级联的调节因子分布于细胞外间质、细胞膜和细胞内^[20-22]。目前研究较多的是卵泡抑素(follistatin, FST)和抑制素(inhibin), 二者都是在细胞膜和血液循环中被发现的激活素A的内源性抑制剂^[23-24]。卵泡抑素通过包围、中和激活素A的受体结合位点, 阻止激活素A与I、II型受体结合^[25]。抑制素的 α 亚基锚定在III型TGF- β 受体(抑制素共受体betaglycan)上, 其 β 亚基与ActRII结合, 与激活素A竞争受体位点。因为抑制素与ActRII的结合不招募I型受体, 不足以触发下游级联信号, 因此抑制素是激活素的竞争性拮抗剂^[26]。最近的证据也表明, 激活素C可能通过结合ActRII和ActRI拮抗激活素A的受体, 因为激活素C的结合不会导致ActRI磷酸化, 不能启动信号级联^[27]。BAMBI是一种跨膜蛋白, 通过与激活素I型和II型受体的稳定而独立的关联来抑制激活素信号转导^[28]。CRIPTO位于细胞膜上, 是表皮生长因子/Cripto-1/FRL-1/Cryptic(EGF-CFC)家族的共受体, 通过降低激活素/ActRII复合物招募I型受体的能力抑制激活素A下游信号通路^[29]。激活素A信号的阻断也可以发生在细胞内。激活的SMAD复合物可能通过增加细胞内SMAD7水平诱导负反馈机制, 与ActRI形成

复合物阻止SMAD2/3被磷酸化, 从而阻断整个下游通路^[30-31]。SMAD泛素连接酶SMURF可以被SMAD7募集到I型受体上进而介导蛋白酶体降解, 或者作为SMAD2的拮抗剂^[32]在信号通路的调节中发挥重要作用(图2)。

2 激活素A在母胎界面中的表达、定位及在妊娠建立和维持中的动态变化

非孕期, 激活素A在子宫内膜中的表达呈现随月经周期而周期性变化的动态模式。在增殖期内膜中的INHBA水平非常低; 而在月经周期其余阶段中, 腔上皮的INHBA水平较高且保持恒定, 腺体INHBA水平则在分泌期逐渐增加, 并于分泌晚期达到最大值^[33]。分泌期内膜腺体分泌高水平的激活素A表明激活素A在子宫内膜获得容受性以顺应胚胎植入而发生的一系列形态功能变化中发挥重要作用^[2]。FLORIO等^[34]在hCG日收集了宫腔内人工授精(intrauterine insemination, IUI)患者的宫腔灌洗液, 发现成功妊娠的女性宫腔灌洗液中激活素A的水平显著高于未妊娠者(0.800 vs 0.022 ng/mL, $P < 0.0001$)。激活素A对不孕症患者接受IUI治疗后的胚胎是否成功着床具有较好的预测能力^[34-35]。

妊娠期间, 胎盘是激活素A的主要来源^[36]。激活素A的水平在妊娠期间逐渐增加, 母体外周血的



Uterine lumen: 宫腔; mucus: 黏液; endometrial epithelial cell: 内膜上皮细胞; cytotrophoblast: 细胞滋养细胞; syncytiotrophoblast: 合体滋养细胞; ectoderm: 滋养外胚层; lacunae: 绒毛间隙; interstitial extravillous trophoblast: 间质绒毛外滋养细胞; endovascular extravillous trophoblast: 血管内绒毛外滋养细胞; maternal arteriole: 母体小动脉; maternal blood: 母体血液; endothelial cell: 内皮细胞; decidua: 蜕膜; myometrium: 肌层; fetal capillary: 胎儿毛细血管; chorionic villi: 绒毛膜绒毛; cell column: 细胞柱; migration and invasion via interstitial and endovascular routes: 经间质途径和血管内途径迁移和侵袭; acquisition of endothelial-like phenotype: 内皮特性获得; natural killer cell: 自然杀伤细胞; macrophage: 巨噬细胞; gland: 腺体; spiral artery: 螺旋动脉; giant cell: 巨细胞。

图3 妊娠早期母胎界面绒毛滋养层的形态结构和细胞分类

Fig.3 Morphologic structure and cellular classification of the chorionic trophoblast at the maternal-fetal interface in early pregnancy

激活素A水平与胎盘中的激活素A水平高度相关, 接近分娩时达到峰值, 在胎儿及胎盘娩出后, 母体血清激活素A水平在短期内迅速下降至未妊娠水平^[37-38], 提示激活素A是反映妊娠各阶段中胎盘-胎儿单元功能状态的重要标志。

人类妊娠早期, 囊胚外壁的滋养外胚层是发育成胎盘的基本细胞来源, 包括不同的滋养细胞类型: 绒毛外层多核的合体滋养细胞 (syncytiotrophoblast, STB)、位于绒毛核心的细胞滋养细胞 (cytotrophoblast, CTB) 和绒毛外滋养细胞 (extravillous trophoblast, EVT)。如图3所示, 两层细胞在囊胚表面形成大量多分支的绒毛膜绒毛, 突入蜕膜中。一些绒毛漂浮在充满母体血液的绒毛间隙内, 被称为漂浮绒毛, 为发育中的胎儿提供了充分的物质交换面积; 其他锚定附着在子宫壁的绒毛, 被称为锚定绒毛, 远端为细胞滋养细胞柱, 这些细胞滋养细胞逐步分化形成具有侵袭、迁移等功能的侵袭性 EVT。侵袭性 EVT 包括间质 EVT (interstitial EVT, iEVT) 和血管内

EVT (endovascular EVT, eEVT)。iEVT 迁移、侵入子宫蜕膜, 将囊胚锚定于子宫壁; 而 eEVT 侵入子宫螺旋动脉, 获得血管内皮细胞样表型并逐渐取代血管内皮细胞 (血管内皮特性获得), 将子宫螺旋动脉改造成低阻抗、高容量的血管, 保证母体血流对母胎界面的灌注, 满足胎儿成长对营养物质的需求^[39]。这些过程的异常可能导致胎盘源性妊娠疾病的发生, 如早期妊娠丢失、胎儿生长受限和子痫前期等^[40]。

激活素A调控人类滋养细胞生物学特性的过程依赖于激活素A、受体和下游信号转导分子在母胎界面的协调时空表达和作用。人类妊娠的前三个月, 激活素A、受体和 SMAD 分子在母胎界面的绒毛外滋养细胞、合体滋养细胞、细胞滋养细胞或蜕膜中的表达汇总信息如表1所示。

3 激活素A对滋养细胞生物学特性的调控

3.1 激活素A调控滋养细胞的增殖和凋亡

滋养细胞的增殖、凋亡在胎盘形成和生理功

表1 激活素A、受体和SMAD分子在妊娠早期母胎界面的表达

Table 1 Expression of activin A, receptors and SMAD molecules at the maternal-fetal interface in early pregnancy

激活素A/受体/SMAD分子	细胞/组织定位	表达	检测方法	参考文献		
Activin A/receptors/SMAD molecules	Cell/tissue localization	Expression	Detection method	References		
Activin A	STB	Protein	IHC	[41]		
	CTB	Protein	IHC	[41]		
		Protein	Two-site ELISA	[42]		
		mRNA	RT-qPCR	[43]		
		Protein	IHC	[44]		
		Protein	Two-site ELISA	[45]		
Type I receptors						
ACVR1B (ALK4)	EVT	mRNA	RT-qPCR	[46]		
Type II receptors						
ACVR2A (ActRIIA)	EVT	mRNA	RT-qPCR	[43]		
ACVR2B (ActRIIB)	EVT	mRNA	RT-qPCR	[43]		
SMAD molecules						
SMAD2	STB	Protein	IHC	[47-48]		
			IF	[49]		
		Protein	IHC	[47-48]		
			IF	[49-50]		
	CTB	mRNA	WB	[50]		
			RT-qPCR	[50]		
		Protein	IF	[49-50]		
			WB	[43,50-51]		
		SMAD3	STB	Protein	IHC	[47]
			CTB	Protein	IHC	[47]
IF/WB	[50]					
mRNA	RT-qPCR			[50]		
	Protein			IF	[50]	
WB			[43,50-51]			
SMAD4	STB		mRNA	RT-qPCR	[50]	
				Protein	IHC	[47]
		Protein	IHC	[50]		
			WB	[47]		
	CTB	mRNA	qPCR	[50]		
			Protein	WB	[46,50]	
		mRNA	RT-qPCR	[46,50]		

STB: 合体滋养细胞; CTB: 细胞滋养细胞; EVT: 绒毛外滋养细胞; IHC: 免疫组织化学; RT-qPCR: 逆转录定量实时聚合酶链反应; IF: 免疫荧光; WB: 免疫印记。
STB: syncytiotrophoblast; CTB: cytotrophoblast; EVT: extravillous trophoblast; IHC: immunohistochemistry; RT-qPCR: reverse transcription quantitative real-time polymerase chain reaction; IF: immunofluorescence; WB: Western blot.

能维持, 以及子痫前期、早期妊娠丢失等胎盘源性妊娠疾病中发挥重要作用^[52-53]。激活素对于维持小鼠滋养层干细胞增殖是必要的, 在缺少外源TGF-β或激活素的情况下, 滋养层干细胞系无法维持长期培养, 而在培养基中加入激活素A的天然抑制剂FST会在短时间内抑制细胞增殖^[54]。而永生化滋养细胞(HTR-8/SVneo)和人类原代滋养细胞在体外培养过

程中, 外源性添加激活素A对细胞增殖无明显促进作用^[55-56]。在妊娠早期绒毛外植体培养过程中外源性添加激活素A能刺激CTB近端区域内的细胞分裂和生长, 此作用可以被FST拮抗^[24]。然而, 激活素A过高会诱导滋养细胞凋亡。YU等^[57]用病理性高剂量激活素A处理滋养细胞, 发现Nodal/ALK7信号随之增强并诱导了滋养细胞凋亡。结合子痫前期患者

血浆和胎盘中激活素A水平异常增高,为子痫前期患者母胎界面细胞过度凋亡的病理特征提供了一种可能的解释。

3.2 激活素A调控滋养细胞的融合

胎盘的重要功能之一是内分泌功能,通过产生hCG和孕酮等支持妊娠的建立和维持。具有内分泌功能的合体滋养层是由滋养层细胞膜融合产生的。激活素信号的激活可促进STB融合^[58]。激活素A在妊娠早期胎盘hCG分泌的调节中发挥作用。SONG等^[59]用激活素A刺激培养的人类胎盘滋养层绒毛膜,发现激活素A能促进促性腺激素的产生和芳香化酶活性。在人早期妊娠胎盘组织体外培养体系中加入激活素A能快速刺激灌注系统中hCG的分泌^[60]。有研究表明,90%以上21号染色体三体(trisomy 21, T21)妊娠的胎盘滋养细胞融合异常,hCG分泌低于正常水平;而在T21胎盘分离培养的原代滋养细胞中外源性补充充足激活素A能促进滋养层细胞的融合^[61]。

3.3 激活素A调控滋养细胞的侵袭和迁移

在正常人类妊娠中,胎盘绒毛外滋养细胞EVT迁移、侵入母体子宫内层至肌层内1/3处,浸润过浅会造成胚胎着床失败、早期妊娠丢失、子痫前期等,而浸润过深则会导致植入性胎盘植入甚至穿透性胎盘植入^[62]。这是一个在时间和空间上受到多种激素、生长因子和细胞因子严格调控的过程^[63]。研究表明,TGF- β 超家族中TGF- β 1、TGF- β 2、TGF- β 3和Nodal抑制EVT的侵袭性,而激活素A、激活素B、激活素AB、骨形态发生蛋白2(bone morphogenetic protein 2, BMP2)和GDF8促进EVT的侵袭^[19]。激活素A处理人绒毛滋养细胞系HTR-8/SVneo细胞的转录组测序结果显示,激活素A对滋养细胞生物学特性的调控过程主要富集于细胞外基质(extracellular matrix, ECM)与受体相互作用通路中^[56]。CANIGGIA等^[24]发现,向离体培养的绒毛外植体中加入激活素A后观察到了绒毛尖端的滋养细胞形成了表达MMP9和HLA-G的具有侵袭能力的EVT。基于永生滋养层细胞系、人原代滋养细胞或妊娠早期绒毛外植体的研究结果显示,激活素A通过上调N-钙黏蛋白(N-cadherin)^[64]、基质金属蛋白酶-2(matrix metalloproteinase, MMP-2)^[46]、MMP26^[65]、整合素 β 1(integrin β 1)^[56]、整合素 β 3(integrin β 3)^[55]等下游靶基因的表达,调节细胞黏附和ECM重构,以SMAD2/3-SMAD4依赖的方式促进EVT侵袭和迁移。

3.4 激活素A调控滋养细胞的内皮特性获得

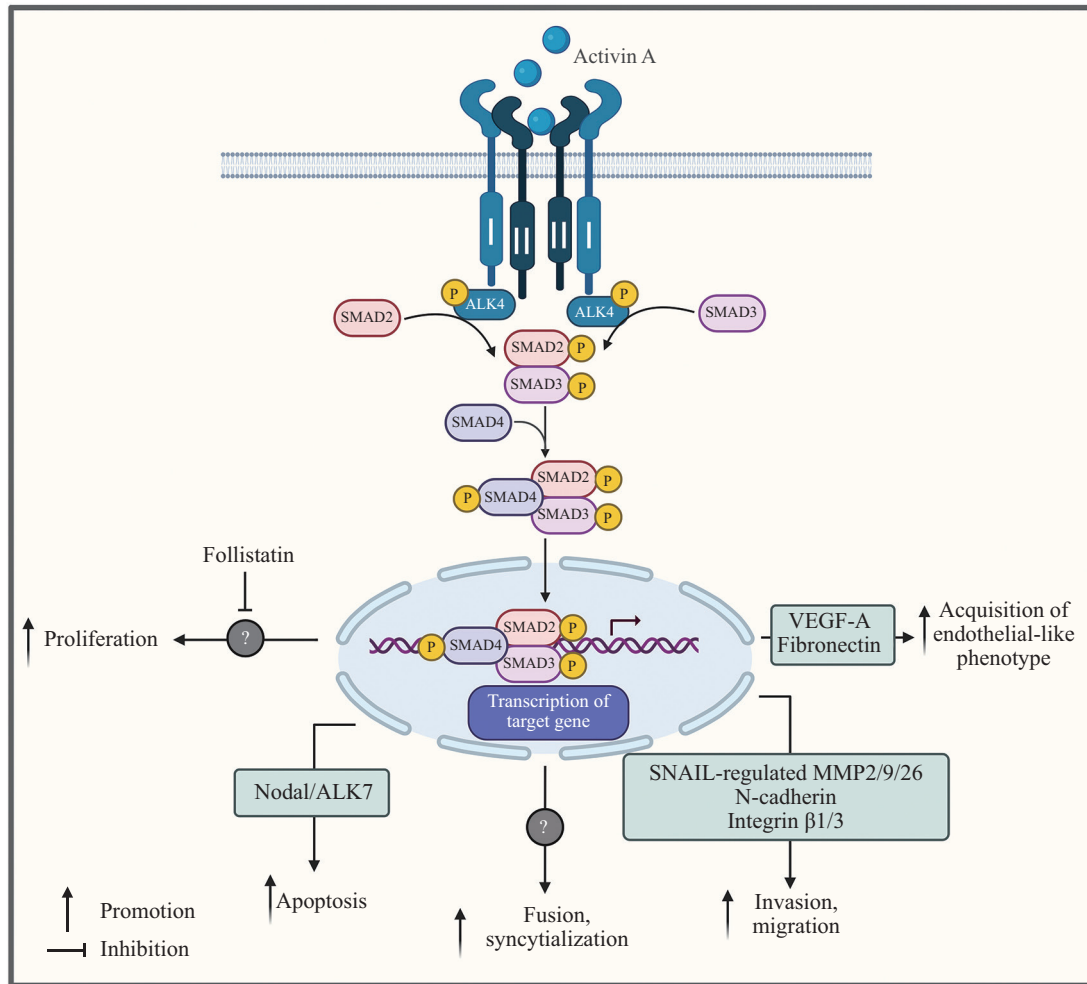
妊娠期间母体子宫螺旋动脉的充分重塑是妊娠维持、母胎物质交换的重要条件^[66]。eEVT穿透母体远端螺旋动脉管腔,获得内皮样特性,取代子宫血管内皮细胞。血管内皮生长因子-A(vascular endothelial growth factor-A, VEGF-A)是该生理过程中公认的关键调节因子。LI等^[67]研究发现,激活素A可通过SMAD2/3-SMAD4信号通路增加人永生滋养细胞(HTR-8/SVneo)中VEGF-A的表达水平,进而可促进HTR-8/SVneo细胞内皮样特性获得。此外,最近的一篇研究发现,激活素A能通过经典的SMAD信号通路上调EVT和HTR-8/SVneo细胞中Fibronectin的表达,并能促进绒毛外植体的外生性生长和HTR-8/SVneo细胞内皮样特性获得。而在小鼠母胎界面局部敲减Fibronectin会造成小鼠早期妊娠丢失和子宫局部血管异常^[68]。图4汇总了目前已经证实的激活素A对滋养细胞生物学特性调控作用的下游靶标分子及已证实的信号通路^[24,46,55-56,64,67,69]。

4 激活素A在胎盘源性妊娠疾病中的表达改变

4.1 激活素A与早期妊娠丢失

在自然受孕的女性中,包含激活素A在内的母体激素异常降低与早期妊娠丢失发生相关。在蜕膜化过程中激活素A的表达是动态的,孕妇血清中的激活素A水平高于非妊娠女性,并在妊娠期持续增加直至妊娠晚期。有报道称,健康女性的血清激活素A水平在妊娠过程中可增加近70倍^[70]。

妊娠早期,激活素A可以通过调节蜕膜化和滋养细胞侵袭力参与胚胎着床和早期妊娠的建立^[20]。已有观察性临床研究发现,后续发生妊娠丢失的患者妊娠早期的血清激活素A水平显著低于获得活产者^[71-72]。对于早期妊娠丢失患者,尤其有反复妊娠丢失病史的患者,激活素A可能用于诊断滋养细胞功能障碍、早期妊娠管理以及妊娠结局的预测^[71]。也有研究指出,激活素A水平在早期妊娠丢失的女性中没有发生显著性改变。MUTTUKRISHNA等^[73]选取单次偶发妊娠丢失的患者($n=10$)和妊娠6~12周具有不明原因反复妊娠丢失病史的患者($n=12$),并以8~12周选择性终止妊娠的健康女性为对照组($n=15$),测定血清中的激活素A水平,结果表明偶发妊娠丢失患者与健康女性的血清激活素A水平相比并未存



Follistatin: 卵泡抑素; proliferation: 增殖; apoptosis: 凋亡; fusion: 融合; syncytialization: 合胞化; invasion: 侵袭; migration: 迁移; acquisition of endothelial-like phenotype: 内皮特性获得; transcription of target gene: 靶基因转录。图中向上的箭头表示相应的生物学特性增强。

Upward arrows in the figure indicate that the corresponding biological characteristics are enhanced.

图4 激活素A对滋养细胞生物学特性的调控机制

Fig.4 The regulatory mechanism of activin A on the biological characteristics of trophoblast cells

在显著差异。然而该研究样本量较小而具有相当的局限性。WALLACE等^[74]的一项病例对照研究同样发现,与健康对照相比,早期妊娠丢失患者妊娠6~13周的血清激活素A水平不具有显著性差异,但研究者对实验对象进行血样采集时,并非全部对象已接受妊娠情况的超声评估,因此该研究也具备一定局限性^[74]。

总体而言,激活素A在早期妊娠丢失发生机制中发挥的生物学效应尚不完全明确,激活素A是否可作为早期妊娠丢失预测和诊断的生物标志物目前也存在争议。

4.2 激活素A与异位妊娠

异位妊娠(ecotopic pregnancy)即胚胎着床发生于子宫体腔以外的妊娠,以输卵管妊娠最为常见。

据报道,与宫内妊娠相比,异位妊娠女性的血清激活素A浓度显著降低。FLORIO等^[75]在一项对536名妊娠部位不明女性的前瞻性研究中发现,相对于发生宫内妊娠和早期妊娠丢失患者,异位妊娠患者具有最低的血清激活素A水平,作者认为这是由于激活素A分泌受损继而发生相关的滋养细胞异常侵袭和胚胎异常植入所致的。此外,研究发现使用激活素A作为识别异位妊娠的独立标志物具有优势性的敏感性和特异性:以370 pg/mL作为诊断临界值时具有100%的敏感性和99.6%的特异性。RAUSCH等^[76]开展的一项包含100例异位妊娠和100例宫内妊娠患者血清的多中心病例对照研究发现,以激活素A血清浓度376.15 pg/mL为临界值预测异位妊娠具有80%的敏感性和72%的特异性。DAPONTE等^[77]还观察

到, 与正常妊娠相比, 异位妊娠和稽留流产患者的血清激活素A浓度均显著降低, 同时指出激活素A临界值为505 pg/mL时, 区分异位妊娠和正常妊娠的敏感性和特异性分别为87.9%和100%。

相反, 也有报道称血清激活素A无论是单独检测还是与孕酮或hCG等多项指标联合检测, 在预测异位妊娠方面都无显著临床意义^[78]。KIRK等^[79]对141名妊娠部位不明女性的研究发现, 激活素A水平与妊娠结局的相关性较弱, 单次或间隔48 h连续测量激活素A均不能可靠地预测妊娠部位不明女性的临床结局, 即发生妊娠丢失、正常宫内妊娠还是异位妊娠。

由此可见, 激活素A在异位妊娠相关细胞生物学特性中的作用机制尚未被完全阐明, 同时激活素A在区分异位妊娠和正常妊娠, 以及对异位妊娠早期预测中的临床价值目前仍存在争议。

4.3 激活素A与葡萄胎

作为妊娠期间人类胎盘分泌的抑制素相关蛋白, 激活素A、抑制素A和抑制素B在葡萄胎患者中的分泌水平是否与正常妊娠者有统计学差异, 并是否具有用于诊断葡萄胎的潜在临床价值, 目前对此的研究仍十分有限。FLORIO等^[80]使用ELISA技术对6例葡萄胎妊娠女性、37例正常妊娠女性和22例未妊娠健康女性的血清抑制素A、抑制素B、激活素A和hCG水平进行了测定, 发现了葡萄胎患者血清中的抑制素A和激活素A的水平均明显高于正常妊娠女性; 在接受清宫术后10~15天, 葡萄胎患者血清抑制素A和激活素A的水平显著下降至未妊娠水平, 说明葡萄胎患者异常增生的滋养细胞是这些二聚体蛋白分泌的来源, 同时也更加表明二者在葡萄胎妊娠患者术后随访中潜在的临床意义。既往研究指出, 激活素A和抑制素A的半衰期较hCG短^[36], 而在该研究中6例葡萄胎妊娠患者术后激活素A和抑制素A水平均比hCG水平下降更快, 均于术后10周左右即下降至未妊娠水平。因此, 与仅测定葡萄胎患者术后的血hCG水平相比, 联合测定血清激活素A、抑制素A水平或许能够更加客观地对术后情况进行评估并判断是否需行预防性化疗。然而, 目前缺乏有关激活素A与葡萄胎妊娠的大样本队列研究以阐明激活素A是否可用于葡萄胎的疾病诊治与临床随访。

4.4 激活素A与子痫前期

子痫前期是一种累及多系统的妊娠期高血压

疾病, 严重威胁母婴健康, 是母胎围产期病死率升高的主要原因。妊娠早期激活素A有助于促进滋养层细胞对蜕膜的侵袭, 这是胎盘良好附着于子宫的关键因素^[42]。绒毛侵袭不充分而造成胎盘浅着床伴随子宫螺旋小动脉重铸不良, 是导致胎盘结构功能缺陷和子痫前期发生的重要病理机制。

一项对子痫前期患者的回顾性巢式病例对照研究发现, 与健康对照组相比, 子痫前期女性在妊娠11~13⁺6周时血清激活素A水平显著升高, 这提示激活素A水平可能与子痫前期的病理生理学改变相关^[81]。另一项针对在不同妊娠阶段发病的子痫前期患者的研究显示, 早发性子痫前期(妊娠34周前确诊)患者在妊娠各阶段的激活素A水平均高于正常妊娠者; 而晚发性子痫前期(妊娠34周或之后确诊)患者与正常妊娠相比, 妊娠25周及之前的激活素A水平均不具显著性差异, 激活素A仅在27~30周及之后的测定中显著升高, 表明激活素A水平可能与子痫前期的发病时期及严重程度相关, 激活素A应用于预测早发型子痫前期可能比其他子痫前期具有更高的敏感性和似然比^[82]。

如前文中提到的, 许多独立研究都指出子痫前期患者的激活素A水平在获得临床诊断的数周至数月之前就已出现升高趋势, 一些观点认为这反映了早期妊娠中胎盘通过升高激活素A水平以促进滋养细胞侵袭的代偿性机制^[83-84]。一项发表于2019年的纵向病例对照研究发现, 早发型子痫前期患者在妊娠22~28周时的激活素A和唾液酸结合免疫球蛋白样凝集素-6水平升高, 而VEGF-A和胎盘生长因子水平降低, 同时这种多蛋白组学预测模型对重度子痫前期患者的敏感性高于早发型子痫前期患者, 表明在妊娠不同阶段中包括激活素A在内的胎盘分泌蛋白水平可用于鉴别早发型及晚发型子痫前期的表型, 并能够对早发型子痫前期的后续发展进行预测^[85]。

在动物实验研究中, 使用质粒构建的激活素A过表达妊娠小鼠, 以及注射重组人激活素A的妊娠小鼠这两种动物模型均出现了高血压、蛋白尿、胎儿生长受限或死胎等子痫前期的典型表型^[86-87]。BARBER等^[88]将健康雌性小鼠的主动脉在不同浓度的重组激活素A中孵育, 以分别模拟早期妊娠、晚期妊娠及子痫前期的激活素A水平, 孵育24 h后对血管反应性进行评估, 结果显示只有模拟子痫前期的激活素A水平可显著降低主动脉内皮依赖性舒张

能力, 但内皮非依赖性的血管反应未受到影响。对人主动脉内皮细胞系的进一步研究提示这种血管内皮障碍是由于细胞质膜渗透性增加、细胞增殖和黏附能力下降导致的, 这表明高水平的激活素A可能诱导子痫前期患者的血管内皮细胞生物学特性发生改变, 进而导致了广泛性血管内皮功能障碍。

由于孕妇血液中的激活素A在出现临床症状之前就已发生明显升高, 因此已有多数关于激活素A用于早期识别及预测潜在子痫前期患者的研究。有研究提出在单胎妊娠中联合评估平均动脉压、子宫动脉搏动指数和多种生物标志物(激活素A、抑制素A和可溶性内皮素等)可将子痫前期的检出率提高至91%^[89]。这种检测模型的检出率相当可观, 但不可否认的是进行多仪器多系统筛查的成本相当高。尽管如此, 激活素A在妊娠早期高风险子痫前期的预测和筛查中均表现出了较为显著的临床意义。

4.5 激活素A与胎儿生长受限

胎儿生长受限(fetal growth restriction, FGR)或宫内生长受限(intrauterine growth retardation, IUGR)指胎儿应有的生长潜力受损, 超声估测的胎儿体质量小于孕龄儿(small for gestation age, SGA)。FGR与胎儿围产期各类并发症的发病率及死亡率均密切相关, 同时已有流行病学研究指出, 既往发生FGR已成为胎儿成年后发生缺血性心脏病、高血压、糖尿病、阻塞性肺病等疾病的显著危险因素^[90]。因此, 尽早识别并诊断FGR、尽早改善胎儿健康状况是非常重要的。

由于激活素A可作为一种反映母胎界面发育不良及功能障碍的生物标志物, 并且在前文的讨论中我们提到以胎盘功能受损和并发FGR为特征表型的子痫前期患者具有较高水平的激活素A, 目前已有研究对激活素A能否用于筛查FGR进行探究。WALLACE等^[91]分别对FGR妊娠者、FGR并发PE妊娠者以及健康小样儿(即无发育异常和缺氧表现的SGA)妊娠的血清激活素A水平进行测定, 发现健康小样儿的孕妇血清激活素A水平与健康对照组相比无显著差异, 但FGR妊娠者、FGR并发PE妊娠者的血清激活素A水平均显著高于对照组和健康小样儿妊娠组。MORPURGO等^[92]对脐带血激活素A水平进行测量, 发现激活素A在FGR胎儿循环中同样显著高于健康对照组。与之类似, BARKEHALL-THOMAS等^[93]一项研究发现, 与健康小样儿妊娠

相比, FGR妊娠的母体血清激活素A水平显著升高。但作者指出, 在该研究中SGA妊娠和FGR妊娠之间存在相当大的重叠, 这表明单次的血清检测可能无法准确鉴别两者, 采用孕期连续的血清学检测可能会解决这一问题, 尤其针对超声检查提示可能存在SGA/FGR妊娠的以及其他具有FGR高危因素的患者。此外, 有文献报道, SGA妊娠合并脐动脉多普勒超声异常的患者, 与相似胎龄而脐动脉多普勒超声正常者相比具有更高的血清激活素A水平, 这进一步支持了当胎儿生长潜力受损时, 母体的血清激活素A水平发生显著升高的观点^[94]。

对FGR妊娠患者, 尤其FGR妊娠并发子痫前期患者, 侵入性更小、可检出孕周更早的检测方法是必要的, 因此需要更多研究来理解激活素A和SGA/FGR及子痫前期之间的关系, 同时重视SGA妊娠不同亚组间的母体血清激活素A水平的差异。

5 总结与展望

本文综述了激活素A调控人类滋养细胞生物学特性的作用和分子机制及信号通路, 总结了目前已知的激活素A调控人类滋养细胞的下游靶基因, 以及激活素A表达水平改变与胎盘源性妊娠疾病关系的研究进展。这为滋养细胞生物学特性异常、胎盘功能障碍相关的妊娠并发症的诊疗提供了潜在靶标和研究方向。

现有数据表明, 激活素A在母胎界面微环境调控胎盘建立和妊娠维持中发挥重要作用。作为一种分泌型蛋白, 激活素A能够便捷地经母体循环检测, 这为将激活素A作为异位妊娠、子痫前期等疾病的预测、诊断靶标提供了便利。尽管已有大量研究致力于通过检测母体循环激活素A来对相关妊娠并发症进行预测, 但由于样本量有限、激活素A检测方法、时间差异等因素的影响, 目前的研究仍存争议。因此, 开展更大样本量的多中心临床研究, 探索与其他生物标志物的关系, 建立更有效的联合预测模型具有重要意义。

激活素A调节人类滋养细胞生物学特性的基础研究数量有限, 且由于伦理学限制, 现有的大多研究数据来源于永生化人滋养细胞系、原代滋养细胞和绒毛外植体。体外研究不能充分模拟妊娠早期母胎界面的复杂微环境和多细胞互作, 常用实验动物的胎盘发育、滋养细胞生物学特性和人类存在一定的

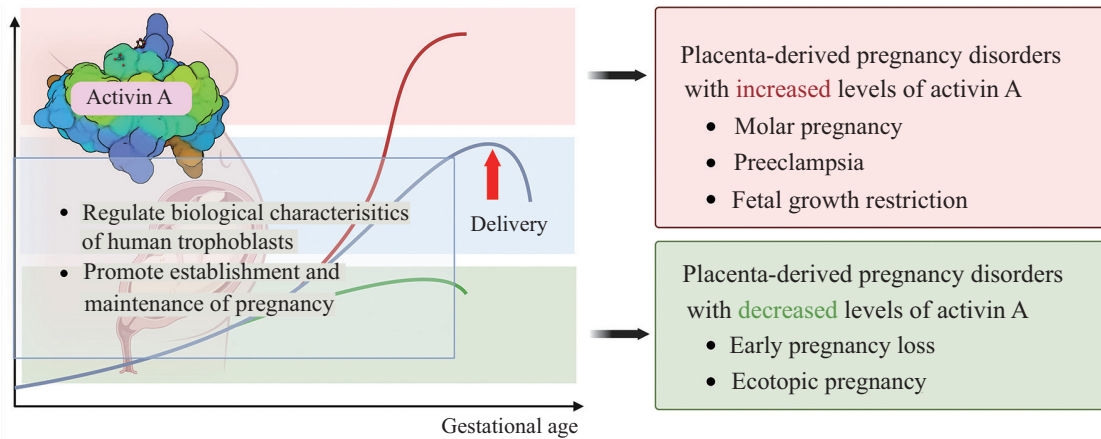


图5 激活素A水平异常与胎盘源性妊娠疾病

Fig.5 Dysregulated activin A levels in placenta-derived pregnancy disorders

差异。但值得欣慰的是,近年来,随着单细胞测序、空间转录组学、空间蛋白质组学等新技术的发展,目前已经成功建立了人类母胎界面时空图谱^[95]、妊娠早期滋养细胞发育的空间多组学图谱^[96],这为我们了解滋养细胞分类、生物作用、胎盘功能建立以及理解母胎界面细胞分布和交互作用、开发更有效的研究模型提供了便利。充分利用单细胞多组学测序技术、结合胎盘类器官^[97]以及子宫蜕膜和免疫细胞共培养等将为研究激活素A在调控滋养细胞生物学特性的基础研究提供强有力支撑。

目前滋养细胞生物学特性异常导致的胎盘源性妊娠疾病如子痫前期、胎儿生长受限仍然是妇产科临床诊疗的难点。基于激活素A在滋养细胞生物学特性调控和疾病发生发展机制中的作用,开发靶向激活素A的新型疾病精准干预策略至关重要。如图5所示,激活素A在妊娠早期能促进滋养细胞侵袭、迁移、内皮特性获得等生物学功能,且其表达水平随着正常妊娠进展逐渐升高,提示激活素A在妊娠建立和维持中发挥重要作用。值得注意的是,激活素A表达水平在不同妊娠时期疾病中的变化趋势存在差异,其在早期妊娠丢失、异位妊娠中表达水平下降,而在葡萄胎、子痫前期、胎儿生长受限中表达水平增高。不同妊娠时期的疾病均存在胎盘发育异常,激活素A表达异常是胎盘功能不全或损伤的标志,其不同妊娠时期疾病中的表达变化趋势差异可能是由于激活素A在妊娠不同阶段发挥不同的功能调控作用导致的。具体来说,在妊娠早期,激活素A在调节滋养细胞功能和妊娠的建立及维持中发挥重要作用;在妊娠中晚期,尤其是在FGR、PE

等胎盘发育异常的妊娠相关疾病中,激活素A的水平升高有可能是机体代偿妊娠早期胎盘发育异常的结果,而非导致疾病发生的原因。相似的例子有近期报道的BMP2,尽管其具有促进胎盘发育和滋养细胞生物学功能的作用,但BMP2在子痫前期患者妊娠晚期胎盘中的表达水平依旧是升高的^[98]。诚然,疾病中激活素A水平改变是疾病发生的因,还是机体为顺应病理环境进行代偿性调节的果仍有待进一步的实验验证,其作为生物学标志物在疾病早期预测中的价值尚待基于大规模的生物样本库和前瞻性队列研究。进一步在胎盘类器官或动物模型中探索激活素A在不同妊娠阶段及疾病状态下的作用,或者借助于纳米材料新技术^[99]在母胎界面局部靶向补充激活素A将有助于明确激活素A的作用机制和疾病治疗效果,推动胎盘源性妊娠疾病精准诊疗体系的建立和完善。

参考文献 (References)

- [1] GILLMAN M W. Developmental origins of health and disease [J]. N Engl J Med, 2005, 353(17): 1848-50.
- [2] BLOISE E, CIARMELA P, DELA CRUZ C, et al. Activin A in mammalian physiology [J]. Physiol Rev, 2019, 99(1): 739-80.
- [3] WIJAYARATHNA R, DE KRETZER D M. Activins in reproductive biology and beyond [J]. Hum Reprod Update, 2016, 22(3): 342-57.
- [4] WALTON K L, MAKANJI Y, HARRISON C A. New insights into the mechanisms of activin action and inhibition [J]. Mol Cell Endocrinol, 2012, 359(1/2): 2-12.
- [5] VIHKO K K, BLÄUER M, KUJANSUU E, et al. Activin B: detection by an immunoenzymometric assay in human serum during ovarian stimulation and late pregnancy [J]. Hum Reprod, 1998, 13(4): 841-6.
- [6] EVANS L W, MUTTUKRISHNA S, KNIGHT P G, et al. Devel-

- opment, validation and application of a two-site enzyme-linked immunosorbent assay for activin-AB [J]. *J Endocrinol*, 1997, 153(2): 221-30.
- [7] CALVERT M E, KALRA B, PATEL A, et al. Serum and urine profiles of TGF- β superfamily members in reproductive aged women [J]. *Clin Chim Acta*, 2022, 524: 96-100.
 - [8] BROWN C W, HOUSTON-HAWKINS D E, WOODRUFF T K, et al. Insertion of inhbb into the inhba locus rescues the inhba-null phenotype and reveals new activin functions [J]. *Nat Genet*, 2000, 25(4): 453-7.
 - [9] MATHEWS L S. Activin receptors and cellular signaling by the receptor serine kinase family [J]. *Endocr Rev*, 1994, 15(3): 310-25.
 - [10] LEWIS K A, GRAY P C, BLOUNT A L, et al. Betaglycan binds inhibin and can mediate functional antagonism of activin signaling [J]. *Nature*, 2000, 404(6776): 411-4.
 - [11] PANGAS S A, WOODRUFF T K. Activin signal transduction pathways [J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2000, 11(8): 309-14.
 - [12] DE CAESTECKER M. The transforming growth factor-beta superfamily of receptors [J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2004, 15(1): 1-11.
 - [13] WRANA J L, ATTISANO L, CÁRCAMO J, et al. TGF beta signals through a heteromeric protein kinase receptor complex [J]. *Cell*, 1992, 71(6): 1003-14.
 - [14] MASSAGUÉ J. How cells read TGF-beta signals [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2000, 1(3): 169-78.
 - [15] SOOMRO A, TRINK J, O'NEIL K, et al. Activin A and cell-surface GRP78 are novel targetable RhoA activators for diabetic kidney disease [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(6): 2839.
 - [16] DING H, ZHANG G, SIN K W, et al. Activin A induces skeletal muscle catabolism via p38 β mitogen-activated protein kinase [J]. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*, 2017, 8(2): 202-12.
 - [17] HEDGER M P, WINNALL W R, PHILLIPS D J, et al. The regulation and functions of activin and follistatin in inflammation and immunity [J]. *Vitam Horm*, 2011, 85: 255-97.
 - [18] WILEY M B, BAUER J, MEHROTRA K, et al. Non-canonical activin a signaling stimulates context-dependent and cellular-specific outcomes in CRC to promote tumor cell migration and immune tolerance [J]. *Cancers*, 2023, 15(11): 3003.
 - [19] LI Y, YAN J, CHANG H M, et al. Roles of TGF- β superfamily proteins in extravillous trophoblast invasion [J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2021, 32(3): 170-89.
 - [20] 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): 724-32.
 - [21] HEDGER M P, WINNALL W R. Regulation of activin and inhibin in the adult testis and the evidence for functional roles in spermatogenesis and immunoregulation [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2012, 359(1/2): 30-42.
 - [22] KEUTMANN H T, SCHNEYER A L, SIDIS Y. The role of follistatin domains in follistatin biological action [J]. *Mol Endocrinol*, 2004, 18(1): 228-40.
 - [23] DE WINTER J P, TEN DIJKE P, DE VRIES C J, et al. Follistatins neutralize activin bioactivity by inhibition of activin binding to its type II receptors [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 1996, 116(1): 105-14.
 - [24] CANIGGIA I, LYE S J, CROSS J C. Activin is a local regulator of human cytotrophoblast cell differentiation [J]. *Endocrinology*, 1997, 138(9): 3976-86.
 - [25] THOMPSON T B, LERCH T F, COOK R W, et al. The structure of the follistatin:activin complex reveals antagonism of both type I and type II receptor binding [J]. *Dev Cell*, 2005, 9(4): 535-43.
 - [26] GRAY P C, BILEZIKJIAN L M, VALE W. Antagonism of activin by inhibin and inhibin receptors: a functional role for betaglycan [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2002, 188(1/2): 254-60.
 - [27] MARINO F E, RISBRIDGER G, GOLD E. Re-evaluating the role of activin- β C in cancer biology [J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2015, 26(4): 463-70.
 - [28] ONICHTCHOUK D, CHEN Y G, DOSCH R, et al. Silencing of TGF-beta signalling by the pseudoreceptor BAMBI [J]. *Nature*, 1999, 401(6752): 480-5.
 - [29] GRAY P C, HARRISON C A, VALE W. Cripto forms a complex with activin and type II activin receptors and can block activin signaling [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(9): 5193-8.
 - [30] YAN X, LIU Z, CHEN Y. Regulation of TGF-beta signaling by Smad7 [J]. *Acta Biochim Biophys Sin*, 2009, 41(4): 263-72.
 - [31] MIYAZAWA K, MIYAZONO K. Regulation of TGF- β family signaling by inhibitory Smads [J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2017, 9(3): a022095.
 - [32] LI H, LU Q, LI Y, et al. Smurf participates in *Helicoverpa armigera* diapause by regulating the transforming growth factor- β signaling pathway [J]. *Insect Sci*, 2022, 29(5): 1251-61.
 - [33] LEUNG P H, SALAMONSEN L A, FINDLAY J K. Immunolocalization of inhibin and activin subunits in human endometrium across the menstrual cycle [J]. *Hum Reprod*, 1998, 13(12): 3469-77.
 - [34] FLORIO P, BRUNI L, GALLERI L, et al. Evaluation of endometrial activin A secretion for prediction of pregnancy after intrauterine insemination [J]. *Fertil Steril*, 2010, 93(7): 2316-20.
 - [35] JAIN M, SAMOKHODSKAYA L, MLADOVA E, et al. Mucosal biomarkers for endometrial receptivity: a promising yet underexplored aspect of reproductive medicine [J]. *Syst Biol Reprod Med*, 2022, 68(1): 13-24.
 - [36] MUTTUKRISHNA S, CHILD T J, GROOME N P, et al. Source of circulating levels of inhibin A, pro alpha C-containing inhibins and activin A in early pregnancy [J]. *Hum Reprod*, 1997, 12(5): 1089-93.
 - [37] FOWLER P A, EVANS L W, GROOME N P, et al. A longitudinal study of maternal serum inhibin-A, inhibin-B, activin-A, activin-AB, pro-alphaC and follistatin during pregnancy [J]. *Hum Reprod*, 1998, 13(12): 3530-6.
 - [38] NAPSO T, YONG H E J, LOPEZ-TELLO J, et al. The Role of placental hormones in mediating maternal adaptations to support pregnancy and lactation [J]. *Front Physiol*, 2018, 9: 1091.
 - [39] KNÖFLER M, HAIDER S, SALEH L, et al. Human placenta and trophoblast development: key molecular mechanisms and model systems [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2019, 76(18): 3479-96.
 - [40] CHADDHA V, VIERO S, HUPPERTZ B, et al. Developmental biology of the placenta and the origins of placental insufficiency [J]. *Semin Fetal Neonatal Med*, 2004, 9(5): 357-69.
 - [41] SCHNEIDER-KOLSKY M E, MANUELPIILLAI U, WALDRON K, et al. The distribution of activin and activin receptors in gestational tissues across human pregnancy and during labour

- [J]. Placenta, 2002, 23(4): 294-302.
- [42] BEARFIELD C, JAUNIAUX E, GROOME N, et al. The secretion and effect of inhibin A, activin A and follistatin on first-trimester trophoblasts *in vitro* [J]. Eur J Endocrinol, 2005, 152(6): 909-16.
- [43] ZHAO H J, CHANG H M, ZHU H, et al. Bone morphogenetic protein 2 promotes human trophoblast cell invasion by inducing activin A production [J]. Endocrinology, 2018, 159(7): 2815-25.
- [44] STOIKOS C J, HARRISON C A, SALAMONSEN L A, et al. A distinct cohort of the TGF β superfamily members expressed in human endometrium regulate decidualization [J]. Hum Reprod, 2008, 23(6): 1447-56.
- [45] MUTTUKRISHNA S, JAUNIAUX E, MCGARRIGLE H, et al. *In-vivo* concentrations of inhibins, activin A and follistatin in human early pregnancy [J]. Reprod Biomed Online, 2004, 8(6): 712-9.
- [46] LI Y, KLAUSEN C, ZHU H, et al. Activin A increases human trophoblast invasion by inducing SNAIL-mediated MMP2 up-regulation through ALK4 [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2015, 100(11): E1415-27.
- [47] XUAN Y H, CHOI Y L, SHIN Y K, et al. Expression of TGF- β signaling proteins in normal placenta and gestational trophoblastic disease [J]. Histol Histopathol, 2007, 22(3): 227-34.
- [48] FORBES K, SOUQUET B, GARSIDE R, et al. Transforming growth factor- β (TGF β) receptors I/II differentially regulate TGF β 1 and IGF-binding protein-3 mitogenic effects in the human placenta [J]. Endocrinology, 2010, 151(4): 1723-31.
- [49] XU J, SIVASUBRAMANIAM T, YINON Y, et al. Aberrant TGF β signaling contributes to altered trophoblast differentiation in preeclampsia [J]. Endocrinology, 2016, 157(2): 883-99.
- [50] HAIDER S, KUNIHS V, FIALA C, et al. Expression pattern and phosphorylation status of Smad2/3 in different subtypes of human first trimester trophoblast [J]. Placenta, 2017, 57: 17-25.
- [51] ZHAO H J, KLAUSEN C, LI Y, et al. Bone morphogenetic protein 2 promotes human trophoblast cell invasion by upregulating N-cadherin via non-canonical SMAD2/3 signaling [J]. Cell Death Dis, 2018, 9(2): 174.
- [52] HUPPERTZ B, HERRLER A. Regulation of proliferation and apoptosis during development of the preimplantation embryo and the placenta [J]. Birth Defects Res C Embryo Today, 2005, 75(4): 249-61.
- [53] QUMSIYEH M B, KIM K R, AHMED M N, et al. Cytogenetics and mechanisms of spontaneous abortions: increased apoptosis and decreased cell proliferation in chromosomally abnormal villi [J]. Cytogenet Cell Genet, 2000, 88(3/4): 230-5.
- [54] ERLEBACHER A, PRICE K A, GLIMCHER L H. Maintenance of mouse trophoblast stem cell proliferation by TGF- β /activin [J]. Dev Biol, 2004, 275(1): 158-69.
- [55] SUN F, CHENG L, GUO L, et al. Activin A promotes human trophoblast invasion by upregulating integrin β 3 via ALK4-SMAD4 signaling [J]. Placenta, 2022, 129: 62-9.
- [56] ZHU S, LI Z, CUI L, et al. Activin A increases human trophoblast invasion by upregulating integrin β 1 through ALK4 [J]. FASEB J, 2021, 35(2): e21220.
- [57] YU L, LI D, LIAO Q P, et al. High levels of activin A detected in preeclamptic placenta induce trophoblast cell apoptosis by promoting nodal signaling [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2012, 97(8): E1370-9.
- [58] SARKAR P, RANDALL S M, COLLIER T S, et al. Activin/nodal signaling switches the terminal fate of human embryonic stem cell-derived trophoblasts [J]. J Biol Chem, 2015, 290(14): 8834-48.
- [59] SONG Y, KEELAN J, FRANCE J T. Activin-A stimulates, while transforming growth factor beta 1 inhibits, chorionic gonadotrophin production and aromatase activity in cultured human placental trophoblasts [J]. Placenta, 1996, 17(8): 603-10.
- [60] STEELE G L, CURRIE W D, YUEN B H, et al. Acute stimulation of human chorionic gonadotropin secretion by recombinant human activin-A in first trimester human trophoblast [J]. Endocrinology, 1993, 133(1): 297-303.
- [61] GERBAUD P, PIDOUX G, GUIBOURDENCHE J, et al. Mesenchymal activin-A overcomes defective human trisomy 21 trophoblast fusion [J]. Endocrinology, 2011, 152(12): 5017-28.
- [62] BROSENS I, PUTTEMANS P, BENAGIANO G. Placental bed research: I. The placental bed: from spiral arteries remodeling to the great obstetrical syndromes [J]. Am J Obstet Gynecol, 2019, 221(5): 437-56.
- [63] KNÖFLER M, POLLHEIMER J. IFPA Award in Placentology lecture: molecular regulation of human trophoblast invasion [J]. Placenta, 2012, 33 Suppl(2): S55-62.
- [64] LI Y, KLAUSEN C, CHENG J C, et al. Activin A, B, and AB increase human trophoblast cell invasion by up-regulating N-cadherin [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2014, 99(11): E2216-25.
- [65] 仇巍, 赵亮, 柏素霞, 等. MMP-26在人正常胎盘滋养层细胞中的表达及激活素A对其表达的调节 [J]. 生物化学与生物物理进展 (QIU W, ZHAO L, BER S X, et al. Expression of matrix metalloproteinase-26 in human normal placental cytotrophoblast cells as well as its regulation by activin A [J]. Prog Biochem Biophys, 2005, 32(1): 25-30.
- [66] ESPINOZA J, ROMERO R, MEE KIM Y, et al. Normal and abnormal transformation of the spiral arteries during pregnancy [J]. J Perinat Med, 2006, 34(6): 447-58.
- [67] LI Y, ZHU H, KLAUSEN C, et al. Vascular endothelial growth factor-A (VEGF-A) mediates activin A-induced human trophoblast endothelial-like tube formation [J]. Endocrinology, 2015, 156(11): 4257-68.
- [68] LAN X, GUO L, HU C, et al. Fibronectin mediates activin A-promoted human trophoblast migration and acquisition of endothelial-like phenotype [J]. Cell Commun Signal, 2024, 22(1): 61.
- [69] CHEN V T, PENG C, LEUNG P C. Activin-A up-regulates type I activin receptor mRNA levels in human immortalized extravillous trophoblast cells [J]. Reprod Biol Endocrinol, 2003, 1: 29.
- [70] O'CONNOR A E, MCFARLANE J R, HAYWARD S, et al. Serum activin A and follistatin concentrations during human pregnancy: a cross-sectional and longitudinal study [J]. Hum Reprod, 1999, 14(3): 827-32.
- [71] 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): 1758-63.
- [72] JOHNS J, MUTTUKRISHNA S, LYGNOS M, et al. Maternal serum hormone concentrations for prediction of adverse outcome in threatened miscarriage [J]. Reprod Biomed Online, 2007, 15(4): 413-21.
- [73] MUTTUKRISHNA S, JAUNIAUX E, GREENWOLD N, et al.

- Circulating levels of inhibin A, activin A and follistatin in missed and recurrent miscarriages [J]. *Hum Reprod*, 2002, 17(12): 3072-8.
- [74] WALLACE E M, MARJONO B, TYZACK K, et al. First trimester levels of inhibins and activin A in normal and failing pregnancies [J]. *Clin Endocrinol*, 2004, 60(4): 484-90.
- [75] FLORIO P, SEVERI F M, BOCCHI C, et al. Single serum activin a testing to predict ectopic pregnancy [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2007, 92(5): 1748-53.
- [76] RAUSCH M E, SAMMEL M D, TAKACS P, et al. Development of a multiple marker test for ectopic pregnancy [J]. *Obstet Gynecol*, 2011, 117(3): 573-82.
- [77] DAPONTE A, DELIGEOGLOU 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.
- [78] WARRICK J, GRONOWSKI A, MOFFETT C, et al. Serum activin A does not predict ectopic pregnancy as a single measurement test, alone or as part of a multi-marker panel including progesterone and hCG [J]. *Clin Chim Acta*, 2012, 413(7/8): 707-11.
- [79] KIRK E, PAPAGEORGHIU A T, VAN CALSTER B, et al. The use of serum inhibin A and activin A levels in predicting the outcome of 'pregnancies of unknown location' [J]. *Hum Reprod*, 2009, 24(10): 2451-6.
- [80] FLORIO P, SEVERI F M, COBELLIS L, et al. Serum activin A and inhibin A. New clinical markers for hydatidiform mole [J]. *Cancer*, 2002, 94(10): 2618-22.
- [81] SPENCER K, COWANS N J, NICOLAIDES K H. Maternal serum inhibin-A and activin-A levels in the first trimester of pregnancies developing pre-eclampsia [J]. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2008, 32(5): 622-6.
- [82] MUTTUKRISHNA S, NORTH R A, MORRIS J, et al. Serum inhibin A and activin A are elevated prior to the onset of pre-eclampsia [J]. *Hum Reprod*, 2000, 15(7): 1640-5.
- [83] BARBER C V, YO J H, RAHMAN R A, et al. Activin A and pathologies of pregnancy: a review [J]. *Placenta*, 2023, 136: 35-41.
- [84] MUTTUKRISHNA S, HYETT J, PAINE M, et al. Uterine vein and maternal urinary levels of activin A and inhibin A in pre-eclampsia patients [J]. *Clin Endocrinol*, 2006, 64(4): 469-73.
- [85] TARCA A L, ROMERO R, BENSHALOM-TIROSH N, et al. The prediction of early preeclampsia: results from a longitudinal proteomics study [J]. *PLoS One*, 2019, 14(6): e0217273.
- [86] LIM R, ACHARYA R, DELPACHITRA P, et al. Activin and NADPH-oxidase in preeclampsia: insights from *in vitro* and murine studies [J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2015, 212(1): 86.e1-12.
- [87] KIM M N, PARK M N, JUNG H K, et al. Changes in the reproductive function and developmental phenotypes in mice following intramuscular injection of an activin betaA-expressing plasmid [J]. *Reprod Biol Endocrinol*, 2008, 6: 63.
- [88] BARBER C, YAP Y, HANNAN N J, et al. Activin A causes endothelial dysfunction of mouse aorta and human aortic cells [J]. *Reproduction*, 2022, 163(3): 145-55.
- [89] AKOLEKAR R, SYNGELAKI A, SARQUIS R, et al. Prediction of early, intermediate and late pre-eclampsia from maternal factors, biophysical and biochemical markers at 11-13 weeks [J]. *Prenatal diagnosis*, 2011, 31(1): 66-74.
- [90] WADSWORTH M E, KUH D J. Childhood influences on adult health: a review of recent work from the British 1946 national birth cohort study, the MRC National Survey of Health and Development [J]. *Paediatr Perinat Epidemiol*, 1997, 11(1): 2-20.
- [91] WALLACE E M, SCHNEIDER-KOLSKY M E, EDWARDS A, et al. Maternal serum activin A levels in association with intrauterine fetal growth restriction [J]. *BJOG*, 2003, 110(3): 306-10.
- [92] MORPURGO P S, CETIN I, BORGATO S, et al. Circulating levels of inhibin A, inhibin B and activin A in normal and intrauterine growth restricted (IUGR) fetuses [J]. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2004, 117(1): 38-44.
- [93] BARKEHALL-THOMAS A, TONG S, BAKER L S, et al. Maternal serum activin A and the prediction of intrauterine growth restriction [J]. *Aust N Z J Obstet Gynaecol*, 2006, 46(2): 97-101.
- [94] BOBROW C S, HOLMES R P, MUTTUKRISHNA S, et al. Maternal serum activin A, inhibin A, and follistatin in pregnancies with appropriately grown and small-for-gestational-age fetuses classified by umbilical artery Doppler ultrasound [J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2002, 186(2): 283-7.
- [95] GREENBAUM S, AVERBUKH I, SOON E, et al. A spatially resolved timeline of the human maternal-fetal interface [J]. *Nature*, 2023, 619(7970): 595-605.
- [96] ARUTYUNYAN A, ROBERTS K, TROULÉ K, et al. Spatial multiomics map of trophoblast development in early pregnancy [J]. *Nature*, 2023, 616(7955): 143-51.
- [97] HUANG L, TU Z, WEI L, et al. Generating functional multicellular organoids from human placenta villi [J]. *Adv Sci*, 2023, 10(26): e2301565.
- [98] DENG J, ZHAO H J, ZHONG Y, et al. H3K27me3-modulated Hofbauer cell BMP2 signalling enhancement compensates for shallow trophoblast invasion in preeclampsia [J]. *EBioMedicine*, 2023, 93: 104664.
- [99] GEISLER H C, SAFFORD H C, MITCHELL M J. Rational design of nanomedicine for placental disorders: birthing a new era in women's reproductive health [J]. *Small*, 2023, 16: e2300852.