

生殖医学

DOI: 10.13406/j.cnki.cyx.000237

PI3k/Akt信号通路及 MMP-2、MMP-9 在正常妊娠及自然流产绒毛组织中的表达

刘丽媛, 何俊琳, 刘学庆, 丁裕斌, 王应雄, 陈雪梅

(重庆医科大学公共卫生与管理学院生殖生物学教研室, 重庆 400016)

【摘要】目的:检测磷脂酰肌醇 3 激酶/蛋白激酶 B(phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B, PI3k/Akt)信号通路及基质金属蛋白酶-2(matrix metalloproteinase-2, MMP-2)与基质金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinase-9, MMP-9)在早孕期正常妊娠和自然流产绒毛组织中的表达情况,并探讨其表达与自然流产的关系。**方法:**采用 real-time PCR、免疫组织化学方法和 Western blot 技术检测 20 例早孕期自然流产绒毛组织与 20 例正常人工流产绒毛组织中 PI3k、Akt、p-Akt、张力蛋白磷酸酶(phosphatase and tensin homolog, PTEN)、MMP-2、MMP-9 等表达情况。**结果:**荧光定量 PCR 结果显示, PI3k ($P=0.000$)、Akt ($P=0.005$)、MMP-9 ($P=0.000$)的 mRNA 水平在自然流产组(SPO 组)明显低于正常人工流产组(NOR 组), PTEN 的 mRNA 水平在 SPO 组则高于 NOR 组($P=0.000$)。免疫组化结果显示 PI3k ($P=0.006$)、Akt ($P=0.000$)、p-Akt ($P=0.000$)、MMP-9 ($P=0.000$)在 SPO 组表达明显低于 NOR 组, PTEN 的表达则呈现相反的趋势($P=0.000$), MMP-2 在 SPO 组与 NOR 组没有明显变化($P=0.092$)。Western blot 结果与免疫组化结果一致, PI3k ($P=0.047$)、Akt ($P=0.011$)、p-Akt ($P=0.001$)、MMP-2 ($P=0.893$)、MMP-9 ($P=0.005$)。**结论:**PI3k/Akt 信号通路参与了早孕期自然流产的发生,可能通过影响 MMP-9 的表达而影响其侵袭功能。本研究对于揭示自然流产发生的分子机制具有重要意义,为临床上预防与治疗早期流产的发生提供了新的方向。

【关键词】自然流产;磷脂酰肌醇 3 激酶/蛋白激酶 B;基质金属蛋白酶-2;基质金属蛋白酶-9

【中图分类号】R714.1+2

【文献标志码】A

【收稿日期】2013-10-18

Expression of PI3k/Akt signal pathway and MMP-2, MMP-9 in villi tissues of normal pregnancy and spontaneous abortion

Liu Liyuan, He Junlin, Liu Xueqing, Ding Yubin, Wang Yingxiong, Chen Xuemei

(Teaching and Research Section of Reproductive Biology, College of Public Health and Management, Chongqing Medical University)

【Abstract】Objective: To investigate the expression of phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B (PI3k/Akt) signal pathway, matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) and matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) in villi tissues of normal pregnancy and spontaneous abortion and their relationship. **Methods:** Real-time PCR, immunohistochemistry and Western blot were used to detect the expression and location of PI3k, Akt, p-Akt, PTEN, MMP-2, MMP-9 between normal artificial abortion (20 cases) and spontaneous abortion (20 cases) in villi tissues. **Results:** The mRNA expression of PI3k ($P=0.000$), Akt ($P=0.005$) and MMP-9 ($P=0.000$) in the villi tissues was higher in normal artificial abortion (NOR group) than in spontaneous abortion (SPO group). The mRNA expression of PTEN in the villi tissues was higher in SPO group than in NOR group ($P=0.000$). The protein expression of PI3k ($P=0.006$), Akt ($P=0.000$), p-Akt ($P=0.000$) and MMP-9 ($P=0.000$) in the villi tissues was higher in NOP group than in SPO group. The protein expression of PTEN was higher in SPO group than in NOR group ($P=0.000$). MMP-2 had no significant change between two groups ($P=0.092$). Western blot results were consistent with the immunohistochemical results. PI3k ($P=0.047$), Akt ($P=0.011$), p-Akt ($P=0.001$), MMP-2 ($P=0.893$) and MMP-9 ($P=0.005$). **Conclusion:** PI3k/Akt signal pathway is involved in the spontaneous abortion during the first trimester, which may

affect the expression of MMP-9 and reduce the invasion of trophoblast. This study provides new evidence for clinical prevention and treatment of early abortion.

【Key words】spontaneous abortion; phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B; matrix metalloproteinase-2; matrix metalloproteinase-9

作者介绍:刘丽媛, Email: sjmlj613@126.com,

研究方向: 胚胎着床。

通信作者:陈雪梅, Email: shirly-cxm@163.com。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(编号: 81202234); 教育部博士点基金资助项目(编号: 20115503120002); 重庆市科委自然科学基金资助项目(编号: cstc2013jcyjA10046)。

优先出版: <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.13406/j.cnki.cyx.000237.html>

成功的妊娠有赖于绒毛滋养层细胞的增殖、分化与有效的侵入子宫内膜,以上行为发生不足即会导致反复流产、胎儿生长受限、先兆子痫等疾病的发生^[1-4]。大部分的自然流产发生在妊娠早期,在此时期,滋养层细胞侵入子宫蜕膜是胎盘形成的一个关键步骤。研究表明,滋养层细胞与一些恶性肿瘤细胞具有相似的生物学特性,但滋养层细胞对子宫内膜的侵袭表现为“节制性侵袭”,以保证妊娠的顺利发生,此过程中受多种信号通路的调节。

大量研究证实,磷脂酰肌醇 3 激酶(phosphoinositide 3-kinase,PI3k)/蛋白激酶 B(protein kinase B,PKB,又名 Akt)信号通路在细胞增殖、分化、血管生成、胚胎发育和肿瘤侵袭中具有重要角色,它能够介导生长因子依赖的绒毛滋养层细胞生长与侵袭^[5]。但是,该信号通路在早期妊娠绒毛组织中的表达情况及是否参与了自然流产的发生尚未见报道。

基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)是一族依赖 Zn^{2+} 、 Ca^{2+} ,能降解细胞外基质的蛋白水解酶类,参与体内多种生理及病理过程。自 1966 年 Nagai 报道 MMP 以来,目前至少已经发现 23 种 MMPs,其中认为主要是 MMP-2 和 MMP-9 参与了胚胎着床的调控,在滋养细胞侵袭过程中发挥重要作用^[6]。PI3k/Akt 信号通路是否可能通过调节 MMP-2 和 MMP-9 的表达而影响滋养细胞侵袭,从而在自然流产中发挥作用成为关注的焦点。因此本研究分析了自然流产及正常人工流产绒毛组织中 PI3k/Akt 信号通路分子及 MMP-2 和 MMP-9 的表达情况,探讨上述分子是否参与了自然流产的发生。

1 材料与方法

1.1 研究对象

选取 2012 年 5 月至 2013 年 10 月在重庆医科大学附属第一医院门诊患者,所有的病例选择依据患者病史、体检、妇科检查、B 超检查等,排除生殖道解剖结构异常、生殖道感染因素。所有研究对象身体健康,月经规律,无不良孕产史。同时,男方精液正常,夫妇染色体核型检查正常。分析经患者知情同意收集 8~10 周无菌新鲜自然流产绒毛标本 20 例,同时选取同时期正常人工流产绒毛标本 20 例。2 组患者年龄均在 18~35 岁之间,且年龄无统计学差异($P=0.568$)。其中自然流产组(SPO 组)(24.90 ± 4.52)岁,病例选择依据 B 超检查提示胚胎停止发育;人工流产组(NOR 组)(25.70 ± 4.83)岁,B 超检查显示胚胎发育正常。

1.2 主要试剂

Trizol 裂解液、逆转录试剂盒以及 real-time PCR 试剂盒购自宝生物有限公司,引物(上海生工公司)。兔抗人 PI3K(美国 cell signaling 公司)、Akt、p-Akt、张力蛋白磷酸酶(phos-

phatase and tensin homolog, PTEN)、MMP-2、MMP-9(南京 bioworld 公司),鼠抗人 β -actin(美国 sigma 公司);SP9001 免疫组化试剂盒,DAB 显色试剂盒(北京中杉金桥生物技术有限公司);二抗均购自北京中杉金桥生物技术有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 RNA 的提取与 real-time PCR 按照 Trizol 试剂说明书抽提绒毛组织总 RNA,紫外分光光度计测定其浓度和纯度,将鉴定合格的 RNA 进行逆转录。real-time PCR,反应体系:SYBR green mix 12.5 μ l,上下游引物各 1 μ l,cDNA 2 μ l,Rnase-free 水 8.5 μ l。反应条件:95 $^{\circ}$ C 3 min;95 $^{\circ}$ C 10 s,60 $^{\circ}$ C 30 s,循环 40 次,65 $^{\circ}$ C~95 $^{\circ}$ C 条件下检测溶解曲线。引物(所有引物序列均为 5'→3'):
PI3k,上游:CGTTTCTGCTTTGGGA-CAAC,下游:CCTGATGATGCTCGTGGAG;
Akt,上游:TGAG-AGAAGCCACGCTGTC,下游:CGGAGAACAACTGGATGAA;
PTEN,上游:AGACCATAACCCACCACAGC,下游:ACACCA-GTTCGTCCTTTC;
MMP-2,上游:AGTTTCCATTCCGCTT-CCAG,下游:CGGTCGTAGTCTCTCACTGCT;
MMP-9,上游:CCAACTACGACACCGACGAC,下游:TGGAAGATGAATGG-AACTGG;
 β -actin,上游:CTGGAACGGTGAAGGTGACA,下游:AAGGGACTTCCTGTAACAATGCA。

1.3.2 免疫组织化学染色(SP 法) 冲洗绒毛组织,去除表面血迹,10%中性甲醛固定 24 h,石蜡包埋,5 μ m 厚连续切片。常规石蜡切片脱水,按照 SP-9001 免疫组化检测试剂盒操作,抗体的稀释比例为:PI3-Kinase p110 α (1:100)、Akt(1:100)、p-Akt(1:80)、PTEN(1:80)、MMP-2(1:150)、MMP-9(1:150),阴性对照采取 PBS 代替一抗。照相方法采用 Olympus BX40 显微镜采集。

1.3.3 Western blot 技术 Western blot 技术检测组织中 PI3k、Akt、p-Akt、PTEN、MMP-2、MMP-9 等表达情况。操作步骤:取约 100 mg 绒毛组织,经液氮碾磨,加入 200 μ l 蛋白裂解液(碧云天)和 2 μ l 蛋白酶抑制剂 PMSF(100 mmol/L),冰浴震荡裂解 20 min,4 $^{\circ}$ C(每 5 min 振荡 1 次)、12 000 r/min 离心 15 min,然后采用 BCA 法进行蛋白定量。蛋白样品(每支约 50 μ g)按 4:1 溶于 5 $\times$ 上样缓冲液中并混匀,沸水煮 10 min,10% SDS-PAGE 凝胶电泳,恒压 80 V 电泳 2 h;将蛋白质电转至 PVDF 膜(0.45 μ m)上,3%的 BSA 室温封闭 1 h;然后分别孵育一抗 PI3K、Akt、p-Akt、PTEN、MMP-2、MMP-9、 β -actin(抗体与 3%BSA 比例为 1:1 000),37 $^{\circ}$ C 孵育 3 h,PBST 洗涤 3 次,每次 5 min;再与 3%BSA 稀释的二抗室温孵育 1 h,PBST 洗涤 3 次,每次 5 min;化学发光 ECL 法显影观察条带。

1.4 结果分析

1.4.1 Real-time PCR 结果 采用 β -actin 作为内参,进行归一化。

1.4.2 免疫组织化学结果判定 免疫组化染色的阳性信号以胞浆或胞核出现棕黄色颗粒为标准,显微镜下拍照,用 Image-pro Plus 6.0 软件对每张照片测量阳性细胞的灰度值,计算每个视野的平均灰度值。

1.4.3 Western blot 图像分析 用 Quantityone 软件对 Western blot 结果进行定量分析。采用目的蛋白/ β -actin 来计算蛋白含量。

1.5 统计学处理

每个实验重复 3 次,所有实验数据均采用 SPSS 19.0 统计软件,数据结果以均值 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,用成组设计 t 检验进行分析和处理,检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 PI3k、Akt、PTEN、MMP-2、MMP-9 在人工流产绒毛和自然流产绒毛组织中的表达

mRNA 表达水平结果分析见表 1。NOR 组和 SPO 组相比,PI3k、Akt、MMP-9 在 NOR 组绒毛组织中的表达均高于 SPO 组,而 PTEN 在 SPO 组表达高于 NOR 组,MMP-2 没有明显变化。

2.2 PI3k、Akt、p-Akt、PTEN 在人工流产绒毛和自然流产绒毛组织中的表达

免疫组织化学染色结果见图 1。NOR 组和 SPO 组相比,PI3k、Akt、p-Akt 在 NOR 组绒毛组织中的表达均高于 SPO 组,而 PTEN 在 SPO 组表达高于 NOR 组,差异分析见表 2。PI3k、Akt、p-Akt、PTEN 均主要定位在绒毛组织的细胞滋养层与合体滋养层细胞胞质中。

2.3 MMP-2、MMP-9 在人工流产绒毛和自然流产绒毛组织中的表达

如图 2 所示,MMP-2 主要表达在合体滋养层细胞胞质中,且 NOR 组与 SPO 组没有统计学差异。MMP-9 表达在合体滋养层以及细胞滋养层胞质中,NOR 组明显高于 SPO 组,差异分析见表 3。

表 1 PI3k、Akt、PTEN、MMP-2、MMP-9 在 NOR 组以及 SPO 组 mRNA 表达量以及分析比较

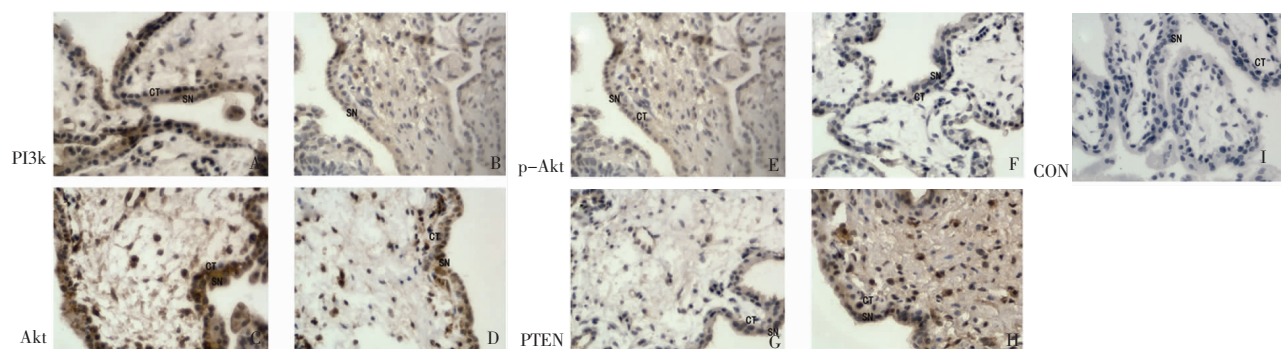
Tab.1 mRNA expression of PI3k,Akt,PTEN,MMP-2 and MMP-9 in NOR group and SPO group and its comparison

分组	PI3k	Akt	PTEN	MMP-2	MMP-9
NOR组	0.977 $\pm$ 0.020	1.152 $\pm$ 0.137	1.031 $\pm$ 0.145	1.000 $\pm$ 0.060	1.107 $\pm$ 0.142
SPO组	0.240 $\pm$ 0.009	0.620 $\pm$ 0.083	2.275 $\pm$ 0.062	0.951 $\pm$ 0.103	0.243 $\pm$ 0.005
t 值	57.441	5.752	-13.632	0.705	10.497
P 值	0.000	0.005	0.000	0.520	0.009

表 2 绒毛组织 PI3k、Akt、p-Akt、PTEN 免疫组化灰度值分析

Tab.2 Grey value analysis of PI3k,Akt,p-Akt and PTEN in the villi tissues by immunohistochemistry

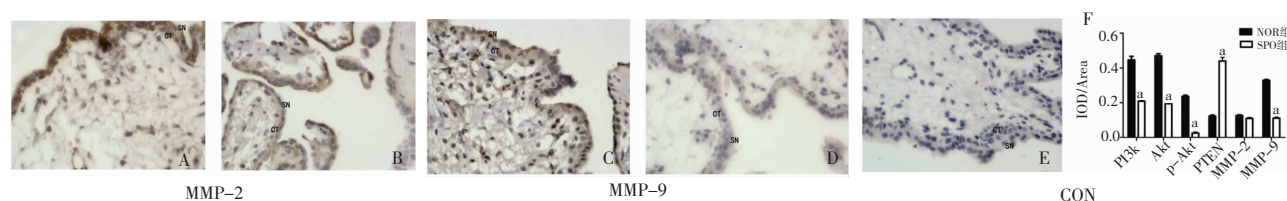
分组	PI3k	Akt	p-Akt	PTEN
NOR组	0.446 $\pm$ 0.037	0.469 $\pm$ 0.021	0.236 $\pm$ 0.011	0.123 $\pm$ 0.100
SPO组	0.209 $\pm$ 0.083	0.194 $\pm$ 0.057	0.025 $\pm$ 0.126	0.439 $\pm$ 0.364
t 值	11.009	21.969	21.864	-14.525
P 值	0.006	0.000	0.000	0.000



A、C、E、G. 人工流产绒毛组织;B、D、F、H. 自然流产绒毛组织;I. 阴性对照;CT. 细胞滋养层;SN. 合体滋养层

图 1 PI3k、Akt、p-Akt、PTEN 在正常人工流产绒毛组织与自然流产绒毛组织中的表达 (400 $\times$)

Fig.1 Expression of PI3k,Akt,p-Akt and PTEN in the villi tissues of artificial abortion and spontaneous abortion (400 $\times$)



A、C. 正常人工流产绒毛;B、D. 自然流产绒毛组织;E. 阴性对照;F. IOD/Area 定量分析;CT. 细胞滋养层;SN. 合体滋养层

图 2 MMP-2、MMP-9 在正常人工流产绒毛和自然流产绒毛组织中的表达 (400 $\times$)

Fig.2 Expression of MMP-2 and MMP-9 in the villi tissues of artificial abortion and spontaneous abortion (400 $\times$)

表 3 绒毛组织 MMP-2、MMP-9 免疫组化灰度值分析

Tab.3 Grey value analysis of MMP-2 and MMP-9 in the villi tissues by immunohistochemistry

分组	MMP-2	MMP-9
NOR组	0.125 ± 0.079	0.328 ± 0.095
SPO组	0.110 ± 0.100	0.111 ± 0.010
<i>t</i> 值	2.204	26.675
<i>P</i> 值	0.092	0.000

2.4 PI3k、Akt、p-Akt、PTEN、MMP-2、MMP-9 在人工流产绒毛和自然流产绒毛组织中 Western blot 分析

Western blot 分析结果见图 3, PI3k、Akt、p-Akt 在 NOR 组绒毛组织中的表达量明显高于 SPO 组 ($P < 0.05$), PTEN 相反 ($P < 0.05$), MMP-2 表达量在两组间没有明显变化, MMP-9 表达量在 NOR 组高于 SPO 组 ($P < 0.05$), 其差异分析见表 4。

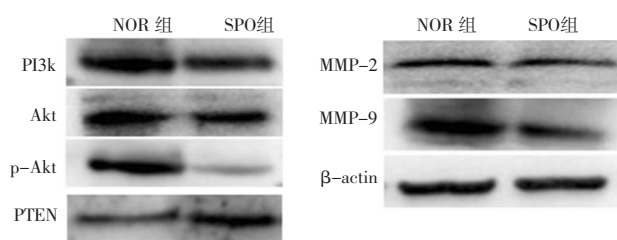


图 3 Western blot 检测人工流产及自然流产绒毛组织中 PI3k、Akt、p-Akt、PTEN、MMP-2 和 MMP-9 的蛋白表达

Fig.3 Expression of PI3k, Akt, p-Akt, PTEN, MMP-2 and MMP-9 protein in the villi tissues of artificial abortion and spontaneous abortion detected by Western blot

3 讨论

在妊娠发生过程中, 胎母对话主要通过胎盘维系, 滋养层细胞侵入子宫蜕膜是胎盘形成的一个关键步骤。当胚胎着床之后, 合体滋养层细胞侵入子宫上皮是侵袭开始的标志, 随后滋养层细胞进一步侵入子宫蜕膜, 参与子宫螺旋动脉的重塑, 从而形成胎盘组织, 为胚胎的发育提供营养支持。此步骤受阻可能会引发增殖、迁移、侵袭不足, 最终导致流产、先兆子痫等的发生。滋养层细胞侵入母体子宫内膜的过程与肿瘤细胞的转移侵袭具有相似性,

是一个复杂而精密的调控过程, 受到多种因素的调节, 涉及多条信号通路的参与^[7]。PI3k/Akt 信号通路属于酪蛋白激酶型受体转导途径, 研究表明多种生长因子可通过活化 PI3k, 产生类脂产物 PI(3,4)P2 和 PI(3,4,5)P3, 进而激活下游信号蛋白 Akt, 最终调节细胞增殖、分化、迁移、侵袭等多种功能。PTEN 是 PI3k/Akt 信号通路的负调控元件, 它们分别从 PIP3 的 3' 和 5' 去除磷酸将其转变成 PI(4,5)P2 和 PI(3,4)P2 而降解, 从而发挥抑制肿瘤发生的作用^[8]。Kobavashi 等^[10]研究显示 p-Akt 蛋白在胃癌组织中的阳性表达率为 57%, 其表达的程度与胃癌组织中 VEGF 蛋白及血管生成密度显著相关, 提示 p-Akt 蛋白的高表达可能参与促进胃癌细胞的侵袭转移^[9]。Haslinger 等也证实 PI3k/Akt 信号参与了 SGHPL-5 滋养细胞的迁移。也有研究表明, PI3k/Akt 信号通路参与调节滋养层细胞的分化发育^[11]。在本研究中, 正常绒毛组织中 PI3k、Akt 以及磷酸化 Akt 水平在 SPO 组绒毛组织中均低于 NOR 组绒毛组织, 而其负调控元件 PTEN 在 SPO 组绒毛组织中表达略高于 NOR 组, 提示 PI3k/Akt 信号通路在妊娠早期滋养层细胞侵袭子宫的过程中可能发挥着一定的调控作用, 推测 PTEN 表达升高抑制了 PI3k/Akt 的激活, 从而导致滋养层细胞的增殖、迁移和对子宫内层侵袭不足, 影响胎盘形成从而引起流产的发生。

在滋养层细胞侵入母体子宫内膜的过程中, MMPs 扮演着重要的角色。MMPs 在滋养细胞侵袭过程中能够降解细胞外基质, 生理状态下参与细胞外基质的重构^[12], 以利于滋养细胞的侵入。大量研究表明, MMP-2 和 MMP-9 在绒毛外滋养层侵入子宫内膜过程发挥重要作用^[13], 它们的表达受多条信号通路的影响, 如 MAPK、Wnt 以及 PI3k/Akt 信号通路^[14-15]。为了探讨 PI3k/Akt 信号通路在人工流产与自然流产中的可能机制, 本研究检测了 MMP-2 和 MMP-9 在 2 组标本中的表达情况。结果表明, MMP-2 在 SPO 组绒毛组织中的表达略有降低, 而 MMP-9 在 SPO 组明显低于 NOR 组, 其表达趋势与

表 4 PI3k、Akt、p-Akt、PTEN、MMP-2、MMP-9 在 NOR 组与 SPO 组的蛋白表达及其表达分析

Tab.4 Protein expression of PI3k, Akt, p-Akt, PTEN, MMP-2, MMP-9 in NOR group and SPO group and its analysis

分组	PI3k	Akt	p-Akt	PTEN	MMP-2	MMP-9
NOR组	0.981 ± 0.330	1.901 ± 0.232	1.693 ± 0.189	0.704 ± 0.155	1.018 ± 0.523	2.958 ± 0.678
SPO组	0.362 ± 0.185	0.892 ± 0.312	0.312 ± 0.156	1.437 ± 0.338	0.964 ± 0.397	0.695 ± 0.152
<i>t</i> 值	2.832	4.496	9.748	-3.413	0.143	5.644
<i>P</i> 值	0.047	0.047	0.001	0.027	0.893	0.005

PI3K、Akt 及 p-Akt 一致, Li 等研究^[16]也证实 Bmi-1 的过表达通过介导 PTEN/PI3k/Akt 和上调 MMP-2 和 MMP-9 的表达参与了肝细胞癌的转移和侵袭。提示 MMP-2 与 MMP-9 可能受到 PI3k/Akt 信号通路调节。有研究者指出 MMP-9 在滋养细胞侵袭中比 MMP-2 有更重要的角色, MMP-9 在妊娠前 3 个月的细胞滋养层中表达达到峰值^[7], 与滋养层细胞的侵袭力呈正相关。本研究发现在自然流产绒毛组织中, MMP-9 的表达比 MMP-2 降低更为明显, 提示其在自然流产的过程中可能发挥着更为重要的作用。MMP-9 表达下调使滋养层细胞对子宫内膜细胞外基质的降解与重塑能力下降, 进而影响子宫内膜蜕膜化、内膜血管和胎盘血管的生成, 使母胎对话的建立受阻而导致妊娠失败。此外, 有研究表明 MMP-9 可通过对细胞外基质的重塑来促进胚胎着床过程中蜕膜的止血^[17]。当 MMP-9 分泌减少时, 已着床胚胎容易发生蜕膜剥离和流产。已有研究证实, 在妊娠前 3 个月中, MMP-2 表达于合体滋养层中, 而 MMP-9 主要表达在绒毛的细胞滋养层中^[6], 与本实验结果一致。

本研究证实了 PI3k/Akt 信号通路参与了人类妊娠前 3 个月胎盘绒毛组织增殖、黏附及侵入子宫内膜的过程, 在自然流产过程中发挥一定的作用, 并且与侵袭指标 MMP-9 表达趋势一致, 提示该信号通路可能参与调控了 MMP-9 的表达, 从而引起滋养细胞侵袭能力的改变导致自然流产的发生, 但这一结论仍需体外实验进一步证实。综上所述, PI3k/Akt 信号通路可能参与维持早期妊娠。本研究对于进一步探讨早期流产的分子机制具有重要意义, 为临床预防和治疗早期流产的发生提供了新的方向。

参 考 文 献

- [1] Olivares EG, Munoz R, Tejerizo G, et al. Decidual lymphocytes of human spontaneous abortions induce apoptosis but not necrosis in JEG-3 extravillous trophoblast cells[J]. Biol Reprod, 2002, 67(4): 1211-1217.
- [2] Crocker IP, Cooper S, Ong SC, et al. Differences in apoptotic susceptibility of cytotrophoblasts and syncytiotrophoblasts in normal pregnancy to those complicated with preeclampsia and intrauterine growth restriction[J]. Am J Pathol, 2003, 162(2): 637-643.
- [3] Kaufmann P, Black S, Huppertz B, et al. Endovascular trophoblast invasion: implications for the pathogenesis of intrauterine growth retardation and preeclampsia[J]. Biol Reprod, 2003, 69(1): 1-7.
- [4] Bose P, Kadyrov M, Goldin R, et al. Aberrations of early trophoblast differentiation predispose to pregnancy failure: lessons from the anti-phospholipid syndrome[J]. Placenta, 2006, 27(8): 869-875.
- [5] Zhu R, Huang YH, Tao Y, et al. Hyaluronan up-regulates growth and invasion of trophoblasts in an autocrine manner via PI3K/AKT and MAPK/ERK1/2 pathways in early human pregnancy[J]. Placenta, 2013, 34(9): 784-791.
- [6] Isaka K, Usuda S, Ito H, et al. Expression and activity of matrix metalloproteinase 2 and 9 in human trophoblasts[J]. Placenta, 2003, 24(1): 53-64.
- [7] Ferretti C, Bruni L, Dangles-Marie V, et al. Molecular circuits shared by placental and cancer cells, and their implications in the proliferative, invasive and migratory capacities of trophoblasts[J]. Hum Reprod Update, 2007, 13(2): 121-141.
- [8] Jiang BH, Liu LZ. PI3K/PTEN signaling in angiogenesis and tumorigenesis[J]. Adv Cancer Res, 2009(102): 19-65.
- [9] Kobavashi I, Semba S, Matsuda Y, et al. Significance of Akt phosphorylation on tumor growth and vascular endothelial growth factor expression in human gastric carcinoma[J]. Pathobiology, 2006, 73(1): 8-17.
- [10] Haslinger P, Haider S, Sonderegger S, et al. AKT isoforms 1 and 3 regulate basal and epidermal growth factor-stimulated SGHPL-5 trophoblast cell migration in humans[J]. Biol Reprod, 2013, 88(3): 54.
- [11] Kent LN, Konno T, Soares MJ. Phosphatidylinositol 3 kinase modulation of trophoblast cell differentiation [J]. BMC Dev Biol, 2010(10): 97.
- [12] Moore CS, Crocker SJ. An alternate perspective on the roles of TIMPs and MMPs in pathology[J]. Am J Pathol, 2012, 180(1): 12-16.
- [13] Nissi R, Talvensaaari-Mattila A, Kotila V, et al. Circulating matrix metalloproteinase MMP-9 and MMP-2/TIMP-2 complex are associated with spontaneous early pregnancy failure[J]. Reprod Biol Endocrinol, 2013(11): 2.
- [14] Qiu Q, Yang M, Tsang BK, et al. EGF-induced trophoblast secretion of MMP-9 and TIMP-1 involves activation of both PI3K and MAPK signalling pathways[J]. Reproduction, 2004, 128(3): 355-363.
- [15] Sonderegger S, Haslinger P, Sabri A, et al. Wingless (Wnt)-3A induces trophoblast migration and matrix metalloproteinase-2 secretion through canonical Wnt signaling and protein kinase B/AKT activation [J]. Endocrinology, 2010, 151(1): 211-220.
- [16] Li XL, Yang ZX, Song WJ, et al. Overexpression of Bmi-1 contributes to the invasion and metastasis of hepatocellular carcinoma by increasing the expression of matrix metalloproteinase (MMP) 2, MMP-9 and vascular endothelial growth factor via the PTEN/PI3K/Akt pathway [J]. Int J Oncol, 2013, 43(3): 793-802.
- [17] Nuttall RK, Kennedy TG. Gelatinases A and B and tissue inhibitors of metalloproteinases 1, 2, and 3 during in vivo and in vitro decidualization of rat endometrial stromal cells[J]. Biol Reprod, 1999, 60(2): 471-478.

(责任编辑: 冉明会)