

· 论 著 ·

双酚 A 对人早孕绒毛滋养细胞 IGF-I 及 ADAM12 表达的影响

张毅, 陈松, 陈宏健, 卢惠, 周繇, 马燕琳

海南医学院第一附属医院生殖医学中心 海南省人类生殖与遗传重点实验室, 海南 海口 570102

摘要: **目的** 探讨对人早孕绒毛滋养细胞采用不同浓度双酚 A (BPA) 干扰, 对其胰岛素样生长因子 I (IGF-I) 及解整合素-金属蛋白酶 12 (ADAM12) 表达的影响。**方法** 取海南医学院妇产科门诊人流室一名自然妊娠早孕 50 d 孕妇的新鲜绒毛组织制备绒毛滋养细胞 (孕妇知情同意, 并经医院伦理委员会批准), 配制 4 组含不同浓度 BPA 的培养液 (A 组: 1×10^{-4} g/L, B 组: 1×10^{-5} g/L, C 组: 1×10^{-6} g/L, D 组: 1×10^{-7} g/L), 并设培养基 (E 组: BPA 0 g/L) 为对照组, 进行滋养细胞培养, 72 h 后收取滋养细胞行实时荧光定量聚合酶链式反应 (real-time PCR) 实验, 检测不同浓度 BPA 条件下 IGF-I、ADAM12 mRNA 表达量的变化。**结果** 各实验组中 ADAM12、IGF-I mRNA 的表达受 BPA 的影响, 均有不同程度升高。当 BPA 浓度为 1×10^{-5} g/L (B 组) 时, IGF-I mRNA 的表达明显升高, 是 C 组的 3.18 倍 ($P < 0.01$), 是对照组 E 组的 5.48 倍 ($P < 0.01$); ADAM12 mRNA 的表达量明显上升, 是 C 组的 4.19 倍 ($P < 0.01$), 是对照组 E 组的 6.27 倍 ($P < 0.01$)。**结论** BPA 对绒毛滋养细胞的 IGF-I 和 ADAM12 的 mRNA 表达有刺激升高的作用。

关键词: 双酚 A; 雌激素; 绒毛滋养细胞; 胰岛素样生长因子 I; 解整合素-金属蛋白酶 12; 实时荧光定量酶链式聚合反应

中图分类号: R 715 文献标识码: A 文章编号: 1674-8182(2019)07-0893-05

Effect of bisphenol A on the expressions of IGF-I and ADAM12 of human chorionic trophoblasts at early pregnancy

ZHANG Yi, CHEN Song, CHEN Hong-jian, LU Hui, ZHOU Yi, MA Yan-lin

Department of Reproduction, Hainan Key Laboratory of Human Reproduction and Genetics,

First Affiliated Hospital of Hainan Medical College, Haikou, Hainan 570102, China

Corresponding author: MA Yan-lin, E-mail: mayanlinma@hotmail.com

Abstract: Objective To investigate the effects of different concentrations of bisphenol A (BPA) on the expressions of insulin-like growth factor I (IGF-I) and a disintegrin and metalloproteinase 12 (ADAM12) in human chorionic trophoblasts at early pregnancy. **Methods** Trophoblast cells were prepared from fresh villus tissue of a woman of natural pregnancy with 50 days of early pregnancy in the Abortion Room of Gynecology and Obstetrics Clinic of Hainan Medical College (informed consent of pregnant women and approved by the Ethical Committee of the Hospital). Four groups of culture media containing different concentrations of BPA were prepared: group A (1×10^{-4} g/L), group B (1×10^{-5} g/L), group C (1×10^{-6} g/L), group D (1×10^{-7} g/L), and a culture medium was designed as group E (control group, BPA 0 g/L). After 72 hours of culture, trophoblasts were collected for real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction (real-time PCR) to detect IGF-I and ADAM12 mRNA relative expression levels in different concentrations of BPA. **Results**

The expression of ADAM12 and IGF-I mRNA in each experimental group was affected by BPA and increased in varying degrees. When the concentration of BPA was 1×10^{-5} g/L (in the concentration of group B), its expression of IGF-I mRNA increased significantly, which was 3.18 times of that in group C ($P < 0.01$), and 5.48 times of that in group E ($P < 0.01$); while its expression of ADAM12 mRNA was 4.19 times of that in group C and 6.27 times of that in group E ($P < 0.01$).

Conclusion BPA can stimulate the expressions of IGF-I and ADAM12 mRNA in chorionic trophoblast cells.

Key words: Bisphenol A; Estrogen; Chorionic trophoblast cell; Insulin-like growth factor I; A disintegrin and

metalloproteinase 12; Real time polymerase chain reaction

Fund program: National Natural Science Foundation of China (81660433); Science and Technology Project of Hainan Province (061005); Major Science and Technology Project of Hainan Province (ZDKJ2017007)

双酚 A (bisphenol A, BPA), 是酚类环境雌激素的一种, 其化学名 2,2-双(4-羟基苯基)丙烷[2,2-bis(4-hydroxyphenyl)propane], 分子式为 $C_{15}H_{16}O_2$, 是一种重要的有机化工原料。早在 1936 年, Dodds 就通过皮下注射证明了 BPA 的雌激素样活性作用。此后, BPA 对人类环境和健康的影响也逐渐引起了关注。大量体外实验和动物实验研究都表明其强烈的抗雄激素作用及弱雌激素样作用, 并且发现 BPA 可引起激素内分泌紊乱、生殖器官形态学和功能及性发育的紊乱。许多国家(包括中国在内)已经明令禁止在婴儿奶瓶中使用 BPA。

在妊娠早期, 滋养细胞行使其正常功能是确保妊娠正常维系的关键。滋养细胞来自滋养外胚层, 是母-胎界面唯一与母体免疫系统直接接触的胎儿细胞, 在胚胎植入、母-胎免疫耐受过程中发挥着重要的作用。许多产科疾病, 比如反复自然流产、妊娠高血压综合征以及胎儿生长受限等, 都伴有滋养细胞的某些生物学功能异常。

近年来多项研究证实胰岛素样生长因子 I (insulin-like growth factor I, IGF-I)、解整合素-金属蛋白酶 12 (a disintegrin and metalloproteinase 12, ADAM12) 的分泌异常均与自然流产的发生关系密切。IGF-I 可以影响早期胚胎绒毛滋养层的侵入、分化和胎盘形成, 从而影响胎盘和胚胎的生长发育^[1]。ADAM12 作为一种 IGF 结合蛋白的水解酶, 对体内的 IGF-I 的生物活性起着调节作用。

本研究拟通过体外培养人早孕绒毛滋养细胞, 在 BPA 的干扰下, 观察 IGF-I 及 ADAM12 的表达变化, 探讨 BPA 对人滋养细胞 IGF-I 及 ADAM12 表达的影响。

1 对象与方法

1.1 实验对象 本实验所用的早孕绒毛组织来源于海南医学院妇产科门诊人流室, 该孕妇为自然妊娠 50 d, 自愿要求行人工流产, 无腹痛或阴道流血等先兆流产症状, 无服用流产药物史, 无急慢性器质性或感染性病变, 无有害理化因素接触史, 既往无自然流产、出生儿缺陷史和家族性遗传病史。孕妇对实验知情同意, 实验经医院伦理委员会批准。

1.2 试剂 主要实验耗材及试剂: 六孔板(海南伯杰科技有限公司), 500 ml 高压灭菌洗瓶(Nalgene, 美

国), CHANG AMHIO(Irvine Scientific, 美国), FBS(胎牛血清, Gibco, 美国), 胶原蛋白酶 I (Invitrogen), 0.25% 胰酶-EDTA (Gibco, 美国), RNA 提取试剂盒 (Qiagen, 德国), 逆转录试剂盒 (Takara, 日本), BPA (天津市大茂化学试剂厂, 天津), Brilliant II SYBR Green QPCR Master Mix (Agilent)。

1.3 引物的设计与合成 在 NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 找出 IGF-I (登录号: M37484.1) 和 ADAM12 (登录号: BC060804.1) 的 cDNA 序列。并根据序列设计荧光定量引物, 引物信息见表 1, 引物由英维捷基公司合成, 内参基因采用 GAPDH (由海南医学院生殖中心提供)。引物工作浓度为 10 ppmol/ μ l。

表 1 引物信息

基因	引物序列	扩增大小
IGF-I	Forwards primer: CTGGAGACAGGGGCTTTTATT	153bp
	Reverse primer: ACTTGGCAGGCTTGAGGG	
ADAM12	Forwards primer: CTACAACGGGAAAGCAAA	114bp
	Reverse primer: AGCGAGGGAGACATCAGTA	
GAPDH	Forwards primer: CGAGATCCCTCCAAAATCAA	294bp
	Reverse primer: TGTGGTCATGAGTCTTCCA	

1.4 滋养细胞的制备 挑取绒毛大约为 50~60 根, 用 PBS 将绒毛洗净, 用 0.25% EDTA-胰酶和胶原酶 I 法制备原代滋养细胞, 3 d 传代 1 次, 即收集滋养细胞备用。

1.5 分组 配制浓度为 1g/L 的 BPA 母液, 用 0.22 μ m 过滤器过滤。以母液配制 4 组含不同浓度 BPA 的培养液 (A 组: 1×10^{-4} g/L, B 组: 1×10^{-5} g/L, C 组: 1×10^{-6} g/L, D 组: 1×10^{-7} g/L) 并设培养基 (E 组: BPA 0 g/L) 为对照组, 进行滋养细胞培养。每组设置 10 个平行样本, 将其置于 CO_2 培养箱中培养 72 h 后取绒毛滋养细胞做实时定量酶链式聚合反应 (real-time PCR) 实验。将收集好的滋养细胞调整细胞浓度为 8.25×10^4 个/ml, 移至六孔板, 每孔 1 ml; 再吸取含不同浓度 BPA 的培养基 A、B、C、D、E 至六孔板 (每孔 1 ml), 即 A、B、C、D、E 组每孔中 BPA 最终浓度分别为: 1×10^{-4} g/L, 1×10^{-5} g/L, 1×10^{-6} g/L, 1×10^{-7} g/L 和 0。

1.6 Real-time PCR 法检测细胞 IGF-I、ADAM12 的 mRNA 相对表达水平 按照试剂盒的操作步骤进行操作, 提取各实验组绒毛滋养细胞的总 RNA。随后进行 1% 的凝胶电泳, 经紫外检测法 (UV) 检测以确

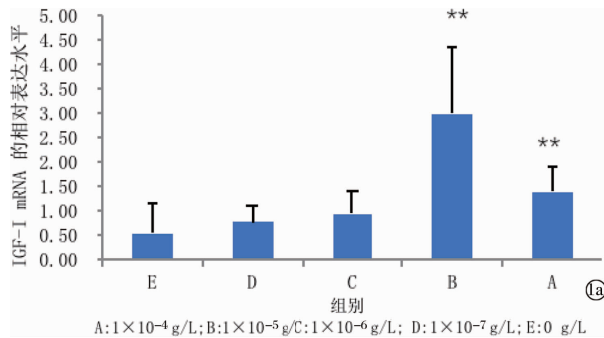
认 RNA 完整性。测定 RNA 浓度,并将实验所用的 RNA 定为 200 ng。按所列的反应体系(20 体系)加样:5 × RT Buffer 4 μl;Oligo dT Primer 1 μl;RNasin 0.5 μl;DNTP MIX 1 μl;反转录酶 1 μl;MgCl₂ 4.8 μl。其反转录程序依照试剂盒说明书进行,所得互补 DNA(cDNA)进行 real-time PCR,其每管反应体系为:cDNA 1 μl; primer 各 0.5 μl; SYBR Green I Mix 10 μl; ddH₂O 8 μl。反应程序为:95 °C, 10 min; 95 °C 20 s, 59 °C 30 s 循环 42 次;最后进行熔解度实验:升温范围 40 ~ 95 °C,且升温速率为每循环 0.1 °C。通过 2^{-ΔΔCT}法计算 mRNA 相对表达量。

1.7 统计学方法 用 SPSS 17.0 软件进行单因素方差分析(one-way ANOVA),多重比较采用 LSD-t 检验。当尾概率 P > 0.05 时,则数据之间没有统计学差异;0.01 < P < 0.05 则数据之间具有显著性差异,记为“*”;P < 0.01,则认为数据之间具有极显著差异,记为“**”。

2 结果

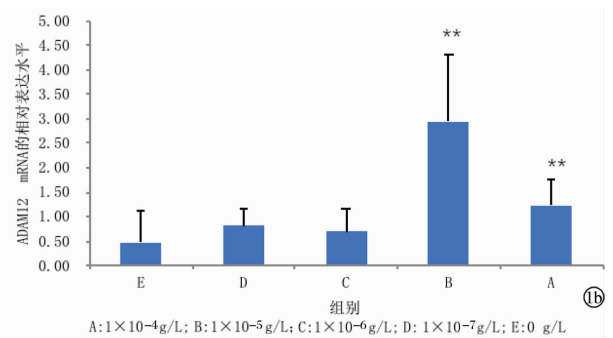
2.1 总 RNA 的提取与 cDNA 的反转录 通过 1% 琼脂糖凝胶电泳与测定 OD_{260/280} 的比值确定了 RNA 的完整性较好,由此 RNA 所反转录的 cDNA 具有完整的信息,后续实验的结果可靠。

2.2 不同浓度的 BPA 对 IGF-I 与 ADAM12 mRNA



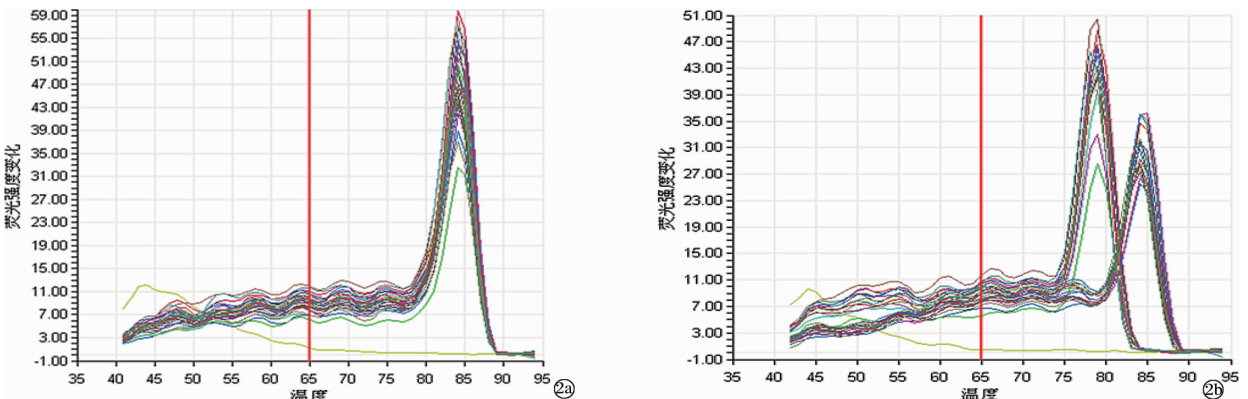
表达水平的影响 由 E 组至 A 组的顺序,BPA 的浓度呈 10 倍递增。图 1a 显示,与 E 组 BPA 0 g/L 时比较,当 BPA 浓度上升至 1 × 10⁻⁶ g/L 时,滋养细胞的 IGF-I mRNA 的表达均有不同程度上升,但统计学无差异(P > 0.05),说明在较低的 BPA 浓度下,对绒毛细胞 IGF-I 的表达影响不明显;而当浓度增加到 1 × 10⁻⁵ g/L(B 组)时,IGF-I mRNA 的表达明显升高,是 C 组的 3.18 倍(P < 0.01),是对照组 E 组的 5.48 倍(P < 0.01),BPA 发挥了最佳作用。而当浓度增加到 1 × 10⁻⁴ g/L 时,IGF-I mRNA 的表达量较 B 组下调,较对照组 E 组无统计学差异。说明,IGF-I 的表达量受到 BPA 的影响,浓度处于 1 × 10⁻⁵ g/L 时,对 IGF-I 产生影响最明显。

图 1b 显示的 ADAM12 相对表达水平的变化与 IGF-I 相似。与对照组 E 组 0 g/L 时比较,当 BPA 浓度上升至 1 × 10⁻⁶ g/L 时,ADAM12 mRNA 的表达均有不同程度上升,但无统计学差异(P > 0.05);而当浓度增加到 1 × 10⁻⁵ g/L(B 组)时,ADAM12 的表达量明显上升,是 C 组的 4.19 倍(P < 0.01),是对照组 E 组的 6.27 倍(P < 0.01),显示此浓度的 BPA 发挥了最佳效应,刺激 ADAM12 的表达量发生异常的升高,而当浓度增加到 1 × 10⁻⁴ g/L 时,IGF-I 的表达量较 B 组下调,与对照组 E 组比较亦无统计学差异(P > 0.05)。



注:1a:IGF-I mRNA 表达水平;与 E 组、D 组、C 组比较,** P < 0.01;1b:ADAM12 mRNA 表达水平;与 E 组、D 组、C 组比较,** P < 0.01。

图 1 不同浓度的 BPA 对 IGF-I 与 ADAM12 mRNA 表达水平的影响



注:2a:内参 GAPDH 的熔解曲线;2b:左、右单峰分别为 ADAM12 和 IGF-I 的熔解曲线,无峰的线为空白 ddH₂O 对照。

图 2 IGF-I、ADAM12 与 GAPDH 的熔解曲线

IGF-I 与 ADAM12 的 mRNA 相对表达水平受到 BPA 浓度的影响,且浓度不同时影响不同。当浓度处于 1×10^{-5} g/L 时,影响最明显,而过高或过低的浓度并未对两者的相对表达水平产生统计学意义上的差异。

2.3 IGF-I、ADAM12 与 GAPDH 的产物单一性分析

熔解度试验所返回的熔解曲线,其各个引物均体现为单峰,说明产物为单一的特异性产物,所得到的 CT 值能反映每份样品的真实情况。见图 2。

3 讨论

BPA 是一种重要的环境雌激素,化学名 4-二羟基二苯基丙烷 ($C_{15}H_{16}O_2$)。BPA 由苯酚、丙酮在酸性介质中合成的,是环氧树脂、聚碳酸酯、聚砜、聚芳酯、酚醛树脂、不饱和聚酯树脂、阻燃剂等产品的重要原料。由 BPA 制造的最终产品包括牙科填料、杀真菌剂、机械仪表、医疗器械、附着剂、保护涂层、聚碳酸酯塑料制品等,广泛应用于日常生活用品。Olea 在 1996 年就报道在牙科填充物中含有 BPA。BPA 不但通过呼吸道、皮肤等途径接触人体,而且通过加热可以存在于食品中^[2-3]。国内外研究提示,在发育早期低剂量 BPA 可能影响人类的生长发育、性成熟、血液的激素水平、生殖器官的功能、免疫功能、酶活性、脑结构、脑的化学物质和行为^[4-5]。但是 BPA 对早孕绒毛的影响尚未见报道,因此,探索 BPA 对早孕绒毛的影响,对进一步研究其对妊娠的影响十分重要。

IGF-I 也称生长介素,是由 70 个氨基酸残基组成的单链蛋白。IGF-I 及 IGF-I 受体广泛分布于全身各组织,在局部环境中通过旁分泌和(或)自分泌机制发挥促有丝分裂及合成代谢作用。IGF 系统在女性生育生殖中起着重要的调节作用,其调节子宫内膜的增殖和分泌,与雌孕激素相互作用维持内膜的周期性;促进卵泡发育、优势卵泡的选择;促进滋养细胞的分化,调节滋养层细胞对子宫内膜的侵入,促进胎盘发育和类固醇激素合成;促进胎儿新陈代谢和组织分化等。IGF-I 可增加细胞外基质的黏连,刺激滋养层细胞的侵入及迁移,促进胚胎早期种植。反刍动物及灵长类的在体研究证明,IGF-I 促进胎儿主要器官、内分泌腺及骨骼成熟,调节胎儿正常代谢。过低的 IGF-I 表达,将导致各种病理产科的发生,如妊娠期高血压、胎儿宫内发育迟缓、流产等^[6-7]。过高的 IGF-I 表达,与各种恶性肿瘤、子宫内膜异位症等发病相关^[8]。

本研究结果提示,在 BPA 小于 1×10^{-4} g/L 的浓度时,均不同程度刺激滋养细胞分泌 IGF-I,意味着即

使低浓度的 BPA,也可能对妊娠带来潜在的风险。

ADAM12 是 ADAM 大家族中的一员,是一种与组织生长及器官发育紧密相关的含锌蛋白酶,ADAM12 在细胞分化、黏附、融合和相互作用的过程中发挥着重要的作用,在胎盘组织中的表达丰富,ADAM12 的浓度在整个孕期随孕周的增加而升高,特别是早期较敏感^[9],其参与了滋养细胞的生长、分化、融合和迁移等多个环节。ADAM12 对于胚胎发育主要是通过参与生殖过程中的受精、胚胎植入和胎盘形成等重要的阶段而产生影响。

正常血清中的 IGF 以复合物形式存在,包含有 IGF-I、II 和 IGF 结合蛋白-3 (insulin-like growth factor-binding protein-3,IGFBP-3),仅有少量 IGF-I 和 II 游离于血液中。IGFBP-3 能够调节血中游离 IGF-I 的浓度,当它与 IGF-I 结合,可使血清中游离 IGF-I 浓度下降,达到减弱 IGF-I 的作用。Shi 等^[10]的研究认为,血清中的 IGFBP-3 做为可溶性 ADAM12 的作用底物而被其水解,可溶性 ADAM12 将 IGFBP-3 水解为无活性的小分子片段后,将大大提高血清中游离 IGF-I 的水平及作用。

本研究结果发现,BPA 具有刺激滋养细胞分泌 ADAM12 的作用,提示 BPA 可能通过 ADAM12 对 IGFBP-3 的调节,刺激 IGF-I 分泌增加;BPA 可能通过多种机制,刺激滋养细胞 IGF-I 及 ADAM12 的分泌,增加妊娠期的潜在风险。

随着科学技术的发展,环境污染对生态环境、人体健康所产生的有害影响已经日益受到人们的关注。最为重要的是有些化学物质在 10^{-9} 级或甚至更低的浓度时就已经产生了有害的影响。这种有害的影响包括显性的和隐性的,后者容易被人们忽略,但是一旦危害发生,其危害更为严重,更为深远。

本研究发现,BPA 含量在 1×10^{-5} g/L 时即出现了明显刺激滋养细胞分泌 IGF-I 和 ADAM12 升高的作用。Rochester^[11]研究提示,普通人群血清中所含的 BPA 为 0 ~ 1.9 ng/ml,儿童、成年男性和女性血清中游离 BPA 为 0.3 ~ 4.4 ng/ml。我国汪莉等^[12]对深圳市人群血清中的 BPA 进行检测,结果显示:BPA 的职业密切接触者血清中 100% 可检出,BPA 含量均大于 27.16 μ g/L (是 1×10^{-5} g/L 的 2.7 倍),最大值为 41.61 μ g/L (是 1×10^{-5} g/L 的 4.1 倍);非职业接触者 51% 检出,检出最小值为 0.58 μ g/L ($< 1 \times 10^{-5}$ g/L),最大值为 13.54 μ g/L (是 1×10^{-5} g/L 的 1.3 倍)。这与其他国家报道的水平相一致。这个数据非常令人惊讶,意味着大多数普通人的血清 BPA 浓度都高出本实验浓度。如果是处于育龄期的妇女,

其发生不良妊娠结局的几率将明显增加。Quirós-Alcalá 等^[13]对 491 名美国墨西哥裔孕妇进行尿液的 BPA 浓度检测,其平均值在 $1.0 \mu\text{g/L}$ ($< 1 \times 10^{-5} \text{g/L}$)。这也提示,BPA 浓度在 $1 \times 10^{-6} \text{g/L}$ 是一个相对安全的浓度。

BPA 作为一种重要的化工原料,它与我们的生活息息相关,而它的危害也将直接威胁着人类,今后如何加强育龄期妇女体内 BPA 生物暴露剂量的测定,如何规范生产和使用含 BPA 的制品,是值得我们进一步思考的问题。

参考文献

[1] Mayama R1, Izawa T, Sakai K, et al. Improvement of insulin sensitivity promotes extravillous trophoblast cell migration stimulated by insulin-like growth factor-I [J]. *Endocr J*, 2013, 60 (3): 359 - 368.

[2] Howdeshell KL, Peterman PH, Judy BM, et al. Bisphenol A is released from used polycarbonate animal cages into water at room temperature [J]. *Environ Health Perspect*, 2003, 111 (9): 1180 - 1187.

[3] Kang JH, Kito K, Kondo F. Factors influencing the migration of bisphenol A from cans [J]. *J Food Prot*, 2003, 66 (8): 1444 - 1447.

[4] 李芙蓉,蔡云朗,任慕兰,等. BPA 对离体人子宫肌瘤细胞增殖的影响 [J]. *环境与健康杂志*, 2008, 25 (4): 311 - 313.

[5] Fernández M, Bourguignon N, Lux-Lantos V, et al. Neonatal exposure to bisphenol a and reproductive and endocrine alterations resembling

the polycystic ovarian syndrome in adult rats [J]. *Environ Health Perspect*, 2010, 118 (9): 1217 - 1222.

[6] Mahmoud S, Nasri H, Nasr AM, et al. Maternal and umbilical cord blood level of macrophage migration inhibitory factor and insulin like growth factor in Sudanese women with preeclampsia [J]. *J Obstet Gynaecol*, 2019, 39 (1): 63 - 67. [Epub ahead of print].

[7] Nawabi J, Vohlen C, Dinger K, et al. Novel functional role of GH/IGF-I in neonatal lung myofibroblasts and in rat lung growth after intrauterine growth restriction [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2018, 315 (5): L623 - L637.

[8] 刘泽慧,杨晓杰. 子宫内膜异位患者血清血管内皮生长因子、胰岛素样生长因子-I 表达特征及其临床应用价值 [J]. *中国医学工程*, 2018, 26 (8): 79 - 82.

[9] Christians JK, Beristain AG. ADAM12 and PAPP-A: Candidate regulators of trophoblast invasion and first trimester markers of healthy trophoblasts [J]. *Cell Adh Migr*, 2015, 10 (1/2): 147 - 153.

[10] Shi ZD, Xu WZ, Loechel F, et al. ADAM12, a disintegrin and metalloproteinase, interacts with insulin-like growth factor-binding protein-3 [J]. *J Biol Chem*, 2000, 275 (24): 18574 - 18580.

[11] Rochester JR. Bisphenol A and human health: A review of the literature [J]. *Reprod Toxicol*, 2013, 42 (30): 132 - 155.

[12] 汪莉,何继宝,李风华,等. 深圳市人群中双酚 A 含量的血清学调查 [J]. *实用预防医学*, 2005, 12 (2): 241 - 242.

[13] Quirós-Alcalá L, Eskenazi B, Bradman A, et al. Determinants of urinary bisphenol A concentrations in Mexican/ Mexican-American pregnant women [J]. *Environ Int*, 2013, 59: 152 - 160.

收稿日期: 2019-01-08 修回日期: 2019-02-08 编辑: 石嘉莹

(上接第 892 页)

[8] Redmond GP. Thyroid dysfunction and women's reproductive health [J]. *Thyroid*, 2004, 14 Suppl 1: 5 - 15.

[9] 夏舟岚,陆月红,马英英,等. 自身免疫性甲状腺炎与排卵障碍相关性研究 [J]. *中国实用妇科与产科杂志*, 2015, 31 (3): 239 - 241.

[10] Anagnostis P, Tarlatzis BC, Kauffman RP. Polycystic ovarian syndrome (PCOS): Long-term metabolic consequences [J]. *Metab Clin Exp*, 2018, 86: 33 - 43.

[11] Delitala AP, Capobianco G, Delitala G, et al. Polycystic ovary syndrome, adipose tissue and metabolic syndrome [J]. *Arch Gynecol Obstet*, 2017, 296 (3): 405 - 419.

[12] Valkenburg O, Steegers-Theunissen RP, Smedts HP, et al. A more atherogenic serum lipoprotein profile is present in women with polycystic ovary syndrome: a case-control study [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2008, 93 (2): 470 - 476.

[13] Fruzzetti F, Perini D, Lazzarini V, et al. Adolescent girls with polycystic ovary syndrome showing different phenotypes have a different metabolic profile associated with increasing androgen levels [J]. *Fer-*

til Steril, 2009, 92 (2): 626 - 634.

[14] Oppenheimer JH, Schwartz HL, Lane JT, et al. Functional relationship of thyroid hormone-induced lipogenesis, lipolysis, and thermogenesis in the rat [J]. *J Clin Invest*, 1991, 87 (1): 125 - 132.

[15] Petersen KF, Cline GW, Blair JB, et al. Substrate cycling between pyruvate and oxaloacetate in awake normal and 3,3'-5-triiodo-L-thyronine-treated rats [J]. *Am J Physiol*, 1994, 267 (2 Pt 1): E273 - E277.

[16] 张颖,姚旋,宋宜云,等. 甲状腺激素与代谢调控 [J]. *生命科学*, 2013, 25 (2): 176 - 183.

[17] Chen S, Zhou X, Zhu H, et al. Preconception TSH and pregnancy outcomes: a population-based cohort study in 184 611 women [J]. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2017, 86 (6): 816 - 824.

[18] Nazarpour S, Ramezani TF, Simbar M, et al. Thyroid dysfunction and pregnancy outcomes [J]. *Iran J Reprod Med*, 2015, 13 (7): 387 - 396.

收稿日期: 2019-01-29 修回日期: 2019-02-15 编辑: 石嘉莹