

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2015.09.007

MiR-18b-5p 对人滋养细胞系 HTR-8 细胞迁移功能的影响 *

吴成丽 尹国武 杨 烨 孙晓梁 朱晓明[△]

(第四军医大学唐都医院妇产科 陕西 西安 710038)

摘要 目的:通过研究子痫前期胎盘组织中低表达的 miR-18b-5p(微小 RNA18b-5p)对人滋养细胞系 HTR-8 迁移能力的影响,进一步探讨 miR-18b-5p 在子痫前期发病过程中的作用。**方法:**将化学合成的 miR-18b-5p inhibitor、miR-18b-5p inhibitor NC,采用瞬时转染的方法将 miR-18b-5p inhibitor 转入人滋养细胞系 HTR-8 中设为实验组;miR-18b-5p inhibitor NC 转入 HTR-8 细胞中设为阴性对照组;空白转染组为空白对照组。应用 Realtime RT-PCR 技术检测各组 miR-18b-5p 在 mRNA 水平的表达,同时采用微孔滤膜培养小室及双室联合培养系统(Transwell 实验)检测实验组与对照组细胞迁移能力的变化。**结果:**Realtime RT-PCR 结果显示:转染 miR-18b-5p inhibitor 后 miR-18b-5p 的表达量分别与阴性对照组和空白对照组相比明显降低,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。Transwell 实验结果显示 miR-18b-5p inhibitor 组与两对照组相比细胞的迁移能力明显降低,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。**结论:**在 HTR-8 细胞中降调节 miR-18b-5p 可以显著的降低细胞的迁移能力,推测病理性低表达的 miR-18b-5p 有可能通过降低滋养细胞的迁移能力,使妊娠早期细胞滋养细胞从合体绒毛顶端迁出减少,导致覆盖合体滋养细胞进而形成具有增殖能力的细胞簇减少,最终造成滋养层浅表植入,从而引起子痫前期的发生。

关键词:miR-18b-5p;HTR-8 细胞;细胞迁移

中图分类号:R-33;R714.245 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2015)09-1632-04

The Effect of MiR-18b-5p on Migration Capacity of Trophoblast Cell HTR-8 *

WU Cheng-li, YIN Guo-wu, YANG Ye, SUN Xiao-luan, ZHU Xiao-ming[△]

(Department of Obstetrics and Gynecology of Tangdu Hospital, The Fourth Military Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710038, China)

ABSTRACT Objective: In order to make clear the down-regulated miR-18b-5p plays an important role in the pathogenesis progress of preeclampsia. The effect of miR-18b-5p on the migration capacity of Trophoblast Cell HTR-8 have been studied. **Methods:** The miR-18b-5p inhibitor and miR-18b-5p inhibitor NC were synthesized by a chemical synthesis process. The technology of transient transfection was used to transfect with miR-18b-5p inhibitor in HTR-8 cells as the experimental group. In the same way, The miR-18b-5p inhibitor NC was transfected into HTR-8 cells as the negative control group. Blank transfection group as the blank control group. The realtime RT-PCR technology have been used to detect each group miR-18b-5p in the expression of mRNA level. At the same time, Transwell experiment were applied to test cell migration ability of experimental group and control group. **Results:** Compared with control groups, Realtime RT-PCR results showed that the miR-18b-5p amount of expression in miR-18b-5p inhibitor transfection group significantly lower ($P < 0.05$). Compared with control group, Transwell experiment results showed that the cell migration ability in miR-18b-5p inhibitor group significantly reduced ($P < 0.05$). **Conclusion:** MiR-18b-5p can significantly reduce the migration ability of HTR-8 cells, the down-expression of miR-18b-5p can make nourish cells of myometrium from the top of solid fluff out in early pregnancy by reducing the nourish cell migration ability, prompting syncytiotrophoblast that has the proliferation of cell clusters decrease, eventually led to the trophoblast superficial implants, which causing the occurrence of preeclampsia.

Key words: miR-18b-5p; HTR-8 cell; Cell migration

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R714.245 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2015)09-1632-04

前言

自 1993 年 Lee 等^[1]发现 miRNA 以来,miRNA 的研究是成为分子生物学研究领域的热点,人们逐渐认识到 miRNA 具有相对保守性,在生物进化发育和疾病发展过程中,通过与靶基因互补配对,可抑制靶基因的表达产生基因沉默效应^[2-4]。子痫

前期是妊娠期特有的常见疾病,严重威胁着孕产妇的健康与生命,但是目前子痫前期发生的病理机制尚不明确。以往研究表明胎盘滋养细胞迁移能力降低、细胞缺血缺氧、凋亡增加、分化异常等因素促使子痫前期的发生^[5-7]。我们前期研究^[8]采用高通量的 miRNA 表达谱芯片筛选子痫前期胎盘与正常胎盘组织中差异表达的 miRNA,并通过 Realtime RT-PCR 方法验证了芯片

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81471474;81170582)

作者简介:吴成丽,女,硕士研究生,主要研究方向:妇产科学

△ 通讯作者:朱晓明,主治医师、讲师,E-mail:zhuxm81@fmmu.edu.cn

(收稿日期:2014-10-28 接受日期:2014-11-26)

结果,发现 miR-18b 在子痫前期胎盘组织中呈病理性低表达,而后课题组^[10]在 HTR-8 细胞中降调节 miR-18b 后,发现细胞的凋亡率增加,推测 miR-18b 可能影响滋养细胞的功能参与了子痫前期的发病过程。本实验采用瞬时转染技术将 miR-18b-5p inhibitor 转入人滋养细胞 HTR-8 中,采用 Realtime RT-PCR 和 Transwell 实验检测抑制 miR-18b-5p 表达后对 HTR-8 细胞迁移能力的影响,旨在探讨 miR-18b-5p 在子痫前期病理生理过程中的作用。

1 材料与方法

1.1 细胞与试剂

人滋养细胞系 HTR-8(购自加拿大多伦多大学);胎牛血清(美国 Hyclone);DMEM-F12 培养液(美国 Hyclone);Opti-MEN 培养液(美国 GIBCO 公司);miR-18b-5p inhibitor、miR-18b-5p inhibitor NC(中国上海吉玛生物公司);总 RNA 提取试剂盒(中国上海飞捷生物公司);qRT-PCR 反转录试剂盒(日本 TaKaRa 公司);脂质体 2000 转染试剂盒(美国 Invitrogen 公司);miR-18b-5p 反转录引物、U6 内参(日本 TaKaRa 公司);荧光定量 SYBR Rpremix Ex TaqTM 试剂盒(日本 TaKaRa 公司);Transwell 小室(美国 Costar 公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞培养 取液氮中的 HTR-8 细胞进行复苏,13% FBS 培养基进行细胞培养。3-4 次传代调整细胞状态,取细胞生长融合度达 85% 以上的细胞在转染前 24 小时用 0.25% 胰酶消化,含 13% FBS 终止消化,并以 $(3 \sim 5) \times 10^5 / L$ 细胞密度接种于六孔板中,最后每孔加入 2 mL 13% FBS 培养基,37℃、5% CO₂ 的孵箱中孵育至细胞融合度达 85%-90% 时进行转染。

1.2.2 细胞瞬时转染 按照脂质体 2000 说明书进行,转染分为三组:miR-18b inhibitor 组、miR-18b inhibitor NC-FAM 组、空白转染组。247 μL Opti-MEN 培养液与 3 μL 脂质体 2000 混合,分别有两管,室温静置 5 min;25 μL miR-18b inhibitor、25 μL inhibitor NC-FAM 分别与 225 μL Opti-MEN 培养液混合;将上述两管再次分别与含脂质体的 Opti-MEN 培养液轻柔混合,形成两管 500 μL 的混合液,在温静条件下放置 20 min;最后设置一管空白转染组,只在 EP 管中加入 500 μL Opti-MEN 培养液,同样室温静置 20 min,这样最终形成 miRNA/脂质体复合物。分别将上述三组处理因素加入铺有 HTR-8 细胞的六孔板中并作相应标记,37℃、5% CO₂ 的孵箱中孵育,3~4 h 后

换为 13%FBS 并于荧光显微镜下观察转染效率,继续在细胞培养箱中培养 48 h。

1.2.3 Realtime RT-PCR 检测各组细胞 miR-18b-5p 的表达量 按照飞捷生物总 RNA 极速抽提试剂盒说明书提取各组 HTR-8 细胞的总 RNA,并分别每组用分光光度计检测其纯度和 2.5% 琼脂糖凝胶电泳检测其完整性。按照 TaKaRa 公司的 SYBR Premix Ex TaqTM 试剂盒的说明书,进行反转录(37℃ 孵育 60 min 85℃ 孵育 5 s),cDNA 产物在 Bio-Rad PCR 仪上进行扩增,以 TaKaRa 公司提供的 U6 为内参,引物序列为 R: aacgcttcacgaatttcggt, F: ctgcgttcggcagcaca;miR-18b-5p 的上游引物序列为 5' ggtccatctagtgcagttag 3',下游引物为 TaKaRa 公司试剂盒中的 Uni-miR qPCR primer,PCR 扩增的反应体系为 25 微升,反应条件:1 个 PCR 循环(95℃, 30 s),40 个 PCR 循环(95℃, 5 s; 60℃, 30 s)。比较 CT 值法进行相对定量分析,miR-18b-5p 的相对定量利用公式 $2^{-\Delta\Delta C_T}$ 计算。

1.2.4 Transwell 法检测各组 HTR-8 细胞的迁移能力 选取 24 孔板的 Transwell 小室,每组各设 3 复孔。取消化转染 48 h 后的 HTR-8 细胞,终止消化后离心弃去培养液,PBS 洗涤 2 遍,用无血清的培养基 DMEM/F12(1:1)重悬细胞,细胞计数并调整细胞密度为 $5 \times 10^5 / mL$,各组分别取 200 μL 加入到上室内,取 600 μL 含 13%FBS 的 DMEM/F12(1:1)完全培养基加入到下室,37℃、5% CO₂ 培养箱中培养 24 h 后取出 24 孔板,用干燥的棉签擦拭上室底部表面未穿过膜的细胞,PBS 洗涤 2 遍后甲醇固定 15 min,再次 PBS 洗涤 2 遍,0.1% 的结晶紫染色 15 min。在 200 倍显微镜下计数迁移到小室膜底部的细胞数,取每组随机计数 5 个不重复视野并计算平均值。

1.3 统计学分析处理

采用 SPSS17.0 软件对数据进行 F 检验和 q 检验分析,P<0.05 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 HTR-8 细胞转染效率的检测

Realtime RT-PCR 技术检测转染 48 h 后各组 HTR-8 细胞中的 miR-18b-5p 的表达量,图 1 为荧光实时定量 PCR 熔解曲线图,结果显示:miR-18b-5p inhibitor 组与对照组相比 miR-18b-5p 的表达量是明显下降的,差异具有统计学意义(P<0.05),结果见图 2。

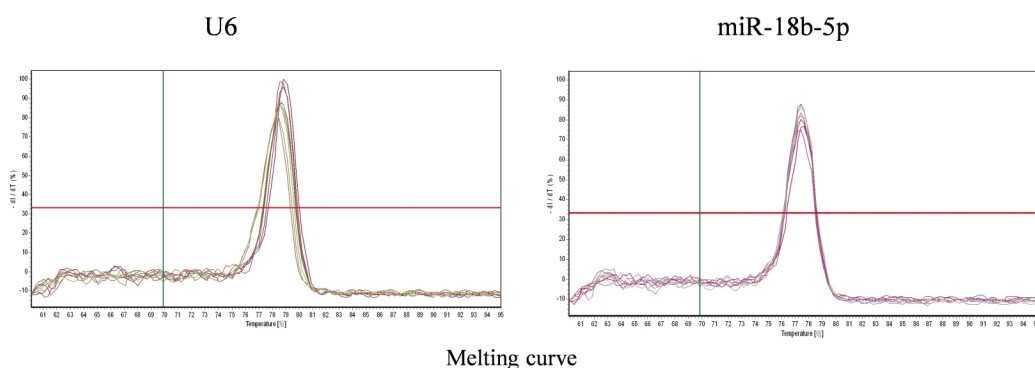


图 1 荧光实时定量 PCR 熔解曲线图

Fig. 1 Realtime RT-PCR melting curve

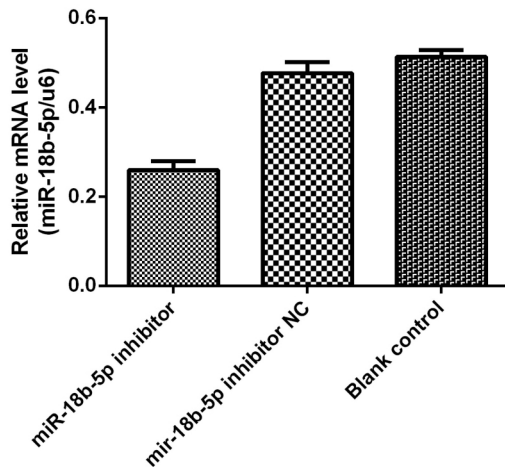


图2 转染后各组荧光实时定量 PCR miR-18b-5p 扩增结果统计学分析

Fig. 2 The statistical analysis of expression of miR-18b-5p by Realtime

RT-PCR after transfection

Note: Compared with the control group, * $P < 0.05$.

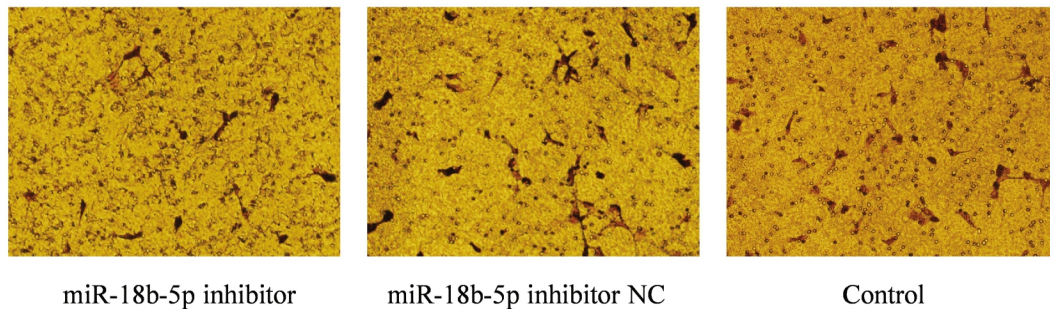


图3 转染后 Transwell 实验的细胞穿膜数结果(× 200 倍)

Fig. 3 Results of Transwell experiment after transfection(× 200)

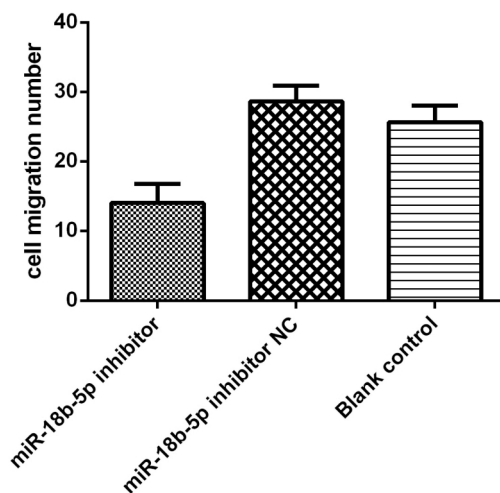


图4 转染后 Transwell 实验结果统计分析图

Fig. 4 The statistical analysis of Transwell experiment results

after transfection

Note: Compared with the control group, * $P < 0.05$.

因此,子痫前期目前依然是产科研究的的最大热点,近年来越来越多的学者着力于基因水平研究其发病机制。2007 年由 Pineles 等人^[9]首次发现子痫前期胎盘组织中存在差异性表

2.2 HTR-8 细胞迁移能力的检测

Transwell 实验检测转染 48 h 后各组 HTR-8 细胞迁移能力的变化,每组样本设 3 复孔,200 倍显微镜下随机选取 5 个不重复视野并计算小室微孔膜底层细胞数,取平均值做统计学分析,结果(图 3、图 4)显示:miR-18b-5p inhibitor 组细胞穿膜数显著低于对照组,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。

3 讨论

子痫前期是妊娠期常见的特有疾病,具有病情复杂,变化快,特别是重度子痫前期可以引起多器官功能障碍,严重影响母婴的健康。目前其发病机制尚不明确,也没有有效的预防和治疗方案,只能对症处理,该疾病是全球产科医师面临的棘手问题。在以往研究基础上,人们更多的认同子宫螺旋动脉重塑障碍和滋养细胞功能障碍是导致子痫前期发病的主要原因,但由于其具体的病理机制尚不明了,至今该疾病仍旧是产科的一大难题。

达的 microRNA,这一研究的发现引起更多学者的关注;2009 年我课题组^[9]采用高通量的 miRNA 表达谱芯片筛选出子痫前期胎盘组织中 miRNA-18b 是低表达的,推测 miRNA18b 参与了子痫前期的发生;2012 年我课题组杨烨等人^[10]做了关于 miRNA18b 对滋养细胞 HTR8 凋亡率影响的研究,发现降调节 miRNA18b 后细胞的凋亡率增加,并进一步做了凋亡相关基因,Bcl-2 和 P53 分别在基因和蛋白水平的改变,推测 miRNA18b 可能通过调节 Bcl-2 和 P53 的表达,促进了 HTR-8 细胞的凋亡,这一实验表明子痫前期中低表达的 miR18b 通过增加 HTR8 细胞的凋亡率,影响滋养细胞的功能从而参与了子痫前期的发生。

子痫前期的病因和病理机制复杂,子痫前期的发生也是多因素作用的结果,但是滋养细胞功能的改变是子痫前期发生的主要原因。本研究中,我们采用瞬时转染技术在 HTR-8 细胞中抑制了 miR-18b-5p 的表达,发现其明显降低了 HTR-8 细胞的迁移能力,进一步揭示了 miR-18b-5p 对滋养细胞 HTR-8 功能的影响,从而更好的完善了 miR-18b-5p 对滋养细胞功能改变的研究,更深入的为子痫前期发病机制研究提供理论依据。

子痫前期的发生与子宫螺旋动脉重塑障碍有关,血管重塑是由绒毛外细胞滋养细胞(EVT)完成的,具有类似肿瘤细胞生物学行为。在妊娠早期细胞滋养细胞突破滋养层从固体绒毛顶

端迁出, 覆盖于合体滋养细胞从而形成具有增殖能力的细胞簇, 称为滋养细胞柱。来源于滋养细胞柱的 EVT 对于建立完善的子宫-胎盘血液循环至关重要^[1], 如果在妊娠早期细胞滋养细胞从合体绒毛顶端迁出的能力降低, 那么具有增殖能力的滋养细胞柱将会减少, 这必然使得来源于滋养细胞柱的 EVT 也会随之减少, 最终导致胎盘的血液循环障碍, 进而引起胎盘相关性疾病的发生。血管生成素-2(Ang-2)是血管生成素家族成员之一, 位于 8 号染色体短臂上, 其是胎盘发育过程中所必须的因子, Ang-2 可以调节血管退化与新生之间的精细平衡, 促进内皮细胞增生和迁移, 最终刺激新生血管出芽, 参与了生理和病理性血管生成^[2], 这一研究表明子痫前期的发生与 Ang-2 在胎盘组织中的表达失衡密切相关, 子痫前期胎盘组织中差异表达的 Ang-2 可能使血管内皮细胞迁移和增生能力降低, 从而促使血管的重塑障碍, 导致子痫前期的发生。Cobellis 等人^[3]通过免疫组化的方法研究了 Notch 蛋白家族在子痫前期胎盘组织中的表达, 并进一步研究了表达下调的血管内皮生长因子(VEGF)在 Notch 信号通路中参与血管形成。2011 年 Hunkapiller 等人^[4]进一步发现 Notch 配体 Jagged1 在子痫前期胎盘组织中表达是下调的。这些研究充分说明 Notch 家族蛋白在子痫前期胎盘中表达异常影响着滋养细胞的迁移和浸润能力, 使母胎之间的血管床的形成受阻, 最终参与了子痫前期的发生。Lala 等人^[5]的研究证明滋养细胞迁移能力的降低参与了子痫前期的发生。Li X 等人^[6]对 miR-155 在子痫前期发生中的致病机理研究表明, miR-155 通过 eNOS 负调控 HTR-8 细胞的迁移, 参与了重度子痫前期的发生。Zho Y 等人^[7]对于长非编码 RNA SPRY4-IT1 在子痫前期中作用机制研究发现, 高表达 SPRY4-IT1 会促使 HTR-8 细胞的迁移率降低和滋养细胞的凋亡率增加, 推测其参与了子痫前期的病理过程。

2007 年 Karamjit 等人^[8]对高原牦牛的 HIF-1 α 的基因水平研究中提到人类的 miRNA-18b 的靶基因作用位点为于 HIF-1 α 的 3'-UTR 区。同年有研究发现在子痫前期的滋养细胞系中 HIF-1 α 是过表达的^[9]。Reshelf 等人^[10]研究发现在缺氧的状态下, 氧依赖的脯氨酰羟化酶和门冬酰羟化酶的活性显著下降, 逐渐增加的 HIF-1 α 与 HIF-1 β 联接形成具有活性的异质二聚体, 促使活化的 HIF-1 与 TGF- β 3 相结合后启动 TGF- β 3 的转录, 在子痫前期胎盘组织中增加 TGF- β 3 的表达, 高表达的 TGF- β 3 可以导致滋养细胞迁移能力的降低, 滋养细胞浸润过浅, 这样更进一步加剧胎盘的缺血缺氧, 从而促使了子痫前期的发生。MicroRNA 是一组短的非编码 RNAs, 通过与其靶基因结合抑制 mRNA 的转录或者蛋白的翻译抑制, 调节滋养细胞的增值、凋亡、浸润/迁移和血管重塑, 参与了胎盘相关性疾病的发生, 胎盘组织中差异性表达的 microRNA 与妊娠并发症, 如子痫前期密切相关, 众多研究表明, 子痫前期胎盘组织中差异性表达的 MicroRNA 通过影响滋养细胞的迁移能力参与了子痫前期的病理生理过程^[11]。

子痫前期发生的病因学说众多, 有血管内皮受损学说、免疫机制学说和滋养层浅表植入学说。Alasztics B 等人^[12]在子痫前期发生的病理机制研究中认为子痫前期的发生是细胞体液免疫因素和内皮受损共同作用的结果。但最新研究显示, 滋养层浅表植入学说占主要地位, 该学说认为滋养细胞的功能障

碍, 导致胎盘的浅着床, 进而导致子痫前期的发生。2014 年 Zou Y 等人^[13]研究发现 miR-101 与其靶基因 ER 作用影响 HTR-8 细胞的凋亡功能参与了子痫前期的发生。Li X 等人^[14]发现 miR-155 在 HTR-8 细胞中调节 eNOS, 使滋养细胞的迁移能力降低, 从而导致重度子痫前期的发生。Li Q 等人^[15]研究发现 miR-125b-1-3p 通过与其靶基因 S1PR1 作用降低滋养细胞的侵袭能力参与了子痫前期发生的病理过程。

综上所述, 可见滋养细胞迁移能力的降低参与了子痫前期的发病过程, 本实验证明在 HTR-8 细胞中降调节 miR-18b-5p 后, 与对照组相比, 细胞的迁移能力明显降低, 差异具有统计学意义。推测 miR-18b-5p 参与了子痫前期的病理生理过程。子痫前期的发生往往是滋养细胞的迁移能力和侵袭能力的降低, 细胞凋亡率的增加等滋养细胞功能的异常综合作用的结果。

参考文献(References)

- [1] Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The C elegans heterochronic gene lin-4 encodes small RNAs with antisense complementarity to lin-14 [J]. Cell, 1993, 75(5): 843-854
- [2] Pasquinelli A, Reinhurt B, Slack F, et al. Conservation of the sequence and temporal expression of let-7 heterochronic regulatory RNA [J]. Nature, 2000, 408(6808): 86-89
- [3] Yin JQ, Wang Y. siRNA-mediated gene regulation system: now and the future [J]. Int J Mol Med, 2002, 10(4): 355-365
- [4] Tan FL, Yin JQ. Application of RNAi to cancer research and therapy [J]. Front Biosci, 2005, 10(4): 1946-1960
- [5] 张惠, 刘伟. 子痫前期滋养细胞功能障碍病因学研究进展 [J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2012, 28(4): 305-308
Zhang Hui, Liu Wei. The etiology research progress of sertoli cell dysfunction in Pre-eclampsia [J]. Chinese Journal of Practical Gynecology and Obstetrics, 2012, 28(4): 305-308
- [6] Redman CW, Sargent IL. The pathogenesis of pre-eclampsia [J]. Gynecol Obstet Fertil, 2001, 29: 518-522
- [7] 雷玲, 李力. 子痫前期发病机制研究进展 [J]. 国外医学妇产科学分册, 2006, 33(5): 342-345
Lei Ling, Li Li. The general situation of pathogenesis in preeclampsia [J]. Foreign Medical Sciences (Obstet Gynecol Fascicle, 2006, 33(5): 342-345
- [8] Xiao-ming Zhu, Tao Han, Ian L Sargent, et al. Differential expression profile of microRNAs in human placentas from preeclamptic pregnancies vs normal pregnancies [J]. Am J Obstet Gynecol, 2009, 200: 661.e1-661.e7
- [9] Pineles BL, Romero R, Montenegro D, et al. Distinct subsets of microRNAs are expressed differentially in the human placentas of patients with preeclampsia [J]. Am J Obstet Gynecol, 2007, 196: 261.e1-6
- [10] 杨烨, 朱晓明, 尹国武, 等. MiR-18b 对滋养细胞 HTR-8 细胞功能的影响 [J]. 现代生物医学进展, 2013, 13(12): 2221-2224
Yang Ye, Zhu Xiao-ming, Yin Guo-wu, et al. The Effect of Mir-18b on the Function of Trophoblast Cell (HTR-8) [J]. Progress in Modern Biomedicine, 2013, 13(12): 2221-2224
- [11] 刘明, 吉蕾, 王雁玲. 子痫前期发病机制的研究进展 [J]. 国际生殖健康/计划生育杂志, 2013, 32(6): 454-458

- [3] Cao W, Guo XW, Zheng HZ, et al. Current progress of research on pharmacologic actions of salvianolic acid B [J]. *Chin J Integr Med*, 2012, 18(4): 316-320
- [4] Chen T, Cao H, Zhu S, et al. Investigation of the binding of Salvianolic acid B to human serum albumin and the effect of metal ions on the binding [J]. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*, 2011, 81(1): 645-652
- [5] Chen T, Zhu S, Cao H, et al. Studies on the interaction of salvianolic acid B with human hemoglobin by multi-spectroscopic techniques[J]. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*, 2011, 78(4): 1295-1301
- [6] Chen T, Liu W, Chao X, et al. Salvianolic acid B attenuates brain damage and inflammation after traumatic brain injury in mice [J]. *Brain Res Bull*, 2011, 84(2): 163-168
- [7] Zhao Y, Guo Y, Gu X. Salvianolic Acid B, a potential chemopreventive agent, for head and neck squamous cell cancer [J]. *J Oncol*, 2011, 2011(2): 534-548
- [8] Wang ZS, Luo P, Dai SH, et al. Salvianolic acid B induces apoptosis in human glioma U87 cells through p38-mediated ROS generation [J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2013, 33(7): 921-928
- [9] Yang Y, Ge PJ, Jiang L, et al. Modulation of growth and angiogenic potential of oral squamous carcinoma cells in vitro using salvianolic acid B[J]. *BMC Complement Altern Med*, 2011, 11(3): 54-55
- [10] Furnari FB, Fenton T, Bachoo RM, et al. Malignant astrocytic glioma: genetics, biology, and paths to treatment [J]. *Genes Dev*, 2007, 21(21): 2683-2710
- [11] Hosseinimehr SJ. Beneficial effects of natural products on cells during ionizing radiation [J]. *Rev Environ Health*, 2014, 29 (6): 139-142
- [12] Bogler O, Mikkelsen T. Angiogenesis and apoptosis in glioma: two arenas for promising new therapies [J]. *J Cell Biochem*, 2005, 96(1): 16-24
- [13] Pauwels B, Wouters A, Peeters M, et al. Role of cell cycle perturbations in the combination therapy of chemotherapeutic agents and radiation[J]. *Future Oncol*, 2010, 6(9): 1485-1496
- [14] Fernet M, Megnin-Chanet F, Hall J, et al. Control of the G2/M checkpoints after exposure to low doses of ionising radiation: implications for hyper-radiosensitivity[J]. *DNA Repair (Amst)*, 2010, 9(1): 48-57
- [15] Hassan M, Watari H, AbuAlmaaty A, et al. Apoptosis and Molecular Targeting Therapy in Cancer [J]. *Biomed Res Int*, 2014, 2014(8): 845-848
- [16] Poli G, Leonarduzzi G, Biasi F, et al. Oxidative stress and cell signaling[J]. *Curr Med Chem*, 2004, 11(9): 1163-1182
- [17] Jelluma N, Yang X, Stokoe D, et al. Glucose withdrawal induces oxidative stress followed by apoptosis in glioblastoma cells but not in normal human astrocytes[J]. *Mol Cancer Res*, 2006, 4(5): 319-330
- [18] Santandreu FM, Brell M, Gene AH, et al. Differences in mitochondrial function and antioxidant systems between regions of human glioma[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2008, 22(5): 757-768
- [19] Stegh AH, Kim H, Bachoo RM, et al. Bcl2L12 inhibits post-mitochondrial apoptosis signaling in glioblastoma [J]. *Genes Dev*, 2007, 21(1): 98-111
- [20] Ordys BB, Launay S, Deighton RF, et al. The role of mitochondria in glioma pathophysiology[J]. *Mol Neurobiol*, 2010, 42(1): 64-75

(上接第 1635 页)

- Liu Ming, Ji Lei, Wang Yan-ling. Placental Factors Related to Preeclampsia[J]. *Int Reprod Health/Fam Plan*, 2013, 32(6): 454-458
- [12] Li X, Li C, Dong X, et al. MicroRNA-155 inhibits migration of trophoblast cells and contributes to the pathogenesis of severe preeclampsia by regulating endothelial nitric oxide synthase [J]. *Mol Med Rep*, 2014, 10(1): 550-554
- [13] Cobelliis L, Mastrogiacomio A, Fedefio E, et al. Distribution of Notch protein members in normal and preeclampsia complicated placentas[J]. *Cell Tissue Res*, 2007, 330(3): 527-534
- [14] Hunkapiller NM, Gasperowicz M, Kapidzic M, et al. A role for Notch signaling in trophoblast endovascular invasion and in the pathogenesis of preeclampsia [J]. *Development*, 2011, 138 (14): 2987-2998
- [15] Karamjit S Dolt, Manoj K Mishra, Jayashree Karar, et al. cDNA cloning, gene organization and variant specific expression of HIF-1 α in high altitude yak (*Bos grunniens*)[J]. *Gene*, 2007, (386): 73-80
- [16] E S Meade, Y Y Ma, S Guller. Role of Hypoxia-Inducible Transcription Factors 1a and 2a in the Regulation of Plasminogen Activator Inhibitor-1 Expression in a Human Trophoblast Cell Line [J]. *Placenta*, 2007, (28): 1012-1019
- [17] Reshef Tal. The Role of Hypoxia and Hypoxia-Inducible Factor-1Alpha in Preeclampsia Pathogenesis [J]. *Biology of Reproduction*, 2012, 87(6): 1341-1348
- [18] Lala N, Girish GV, Cloutier-Bosworth A, et al. Mechanisms in decorin regulation of vascular endothelial growth factor-induced human trophoblast migration and acquisition of endothelial phenotype [J]. *Biol Reprod*, 2012, 87(3):59
- [19] Zou Y, Jiang Z, Yu X, et al. Upregulation of long noncoding RNA SPRY4-IT1 modulates proliferation, migration, apoptosis, and network formation in trophoblast cells HTR-8SV/neo [J]. *PLoS One*, 2013, 8(11): e79598
- [20] Fu G, Brki J, Hayder H, et al. MicroRNAs in Human Placental Development and Pregnancy Complications [J]. *Int J Mol Sci*, 2013, 14(3): 5519-5544
- [21] Alasztics B, KukorZ, Valent S, et al. The pathophysiology of preeclampsia in view of the two-stage model [J]. *Orv Hetil*, 2012, 153 (30): 1167-1176
- [22] Zou Y, Jiang Z, Yu X, et al. MiR-101 regulates apoptosis of trophoblast HTR-8/SVneo cells by targeting endoplasmic reticulum (ER) protein 44 during preeclampsia [J]. *J Hum Hypertens*, 2014, 28 (10): 610-616
- [23] Li X, Li C, Dong X, et al. MicroRNA-155 inhibits migration of trophoblast cells and contributes to the pathogenesis of severe preeclampsia by regulating endothelial nitric oxide synthase [J]. *Mol Med Rep*, 2014, 10(1): 550-554
- [24] Li Q, Pan Z, Wang X, et al. miR-125b-1-3p inhibits trophoblast cell invasion by targeting sphingosine-1-phosphate receptor 1 in preeclampsia[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014, S0006-291X (14)01675-1