

围产医学

DOI:10.11699/cyxb20131009

KLF8在人早孕绒毛组织中的表达及其意义

杨中玫, 罗 欣, 白 冰, 漆洪波

(重庆医科大学附属第一医院妇产科, 重庆 400016)

【摘要】目的:通过检测正常孕妇早孕期绒毛组织中双向转录因子 Krüppel-like factor 8(KLF8)的定位及表达,探讨其在早孕期滋养细胞侵袭中的作用。**方法:**选择 2012 年 3 月至 2012 年 6 月在重庆医科大学附属第一医院门诊孕 6~11 周进行选择性流产的 22 例正常孕妇为研究对象,取绒毛组织标本,采用免疫组化 SP 法检测各组孕妇绒毛组织中 KLF8 蛋白的定位,实时荧光定量 PCR 技术检测各组孕妇绒毛组织中 KLF8 mRNA 表达水平,采用蛋白印迹法检测各组孕妇绒毛组织中 KLF8、基质金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinase-9, MMP-9)蛋白的表达水平。**结果:**(1)正常孕 6~11 周绒毛组织中均有 KLF8 蛋白表达,主要定位于绒毛组织滋养层中的细胞滋养细胞和合体滋养细胞。(2)KLF8 mRNA 随妊娠周数增加而逐渐升高,并在孕 8~10 周达到高峰(孕 8 周最高),而后急剧降低。(3)正常早孕绒毛组织中 KLF8、MMP-9 蛋白表达水平同样随妊娠周数增加而逐渐升高,并在孕 8~10 周达到最高峰(孕 9 周最高),而后逐渐降低。(4)正常早孕绒毛组织中 KLF8 蛋白及 MMP-9 蛋白表达呈正相关关系,相关系数 r 为 0.66($P<0.001$)。**结论:**KLF8 在正常早孕组织中定位于滋养层细胞尤其是与侵袭密切相关的细胞滋养细胞中,且表达变化与 MMP-9 蛋白水平以及滋养细胞浸润能力相吻合,提示 KLF8 可能参与胚胎植入及胎盘形成过程中滋养细胞浸润活性调控。

【关键词】早期妊娠;绒毛;滋养细胞;转录因子**【中国图书分类法分类号】**R714.1**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2013-04-15Expression and significance of Krüppel-like factor 8
in human villous tissues during early pregnancy

YANG Zhongmei, LUO Xin, BAI Bing, QI Hongbo

(Department of Obstetrics and Gynecology, The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University)

【Abstract】Objective: To evaluate the expression and localization of Krüppel-like factor 8(KLF8) in human villous tissues during early pregnancy and to explore the effect of KLF8 on trophoblast invasion during early pregnancy. **Methods:** A total of 22 early pregnancy human villous tissues of 6–11 weeks of gestation(weeks) were obtained from elective terminations of apparently normal pregnancies from March 2012 to June 2012 in The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University. And then immunohistochemical SP method was employed to detect the localization of KLF8 protein. KLF8 mRNA level was determined by quantitative real-time PCR technique and Western blot analysis was used to quantify KLF8 and matrix metalloproteinase-9(MMP-9) protein expression levels. **Results:** (1) There were KLF8 immunoreactivity expressed in villous tissues from 6–11 weeks. It was primarily located in cyto- and syncytio-trophoblast in the trophoblast layer of the chorionic villi. (2) KLF8 mRNA levels were gradually increased with gestational ages, peaked at 8–10 gestational ages (being the highest at 8 weeks) and then decreased sharply. (3) KLF8 and MMP-9 protein levels also shared the same pattern of expression in human villous tissues from early pregnancy: gradually increased from 6 weeks, peaked at 8–10 weeks (being the highest at 8 weeks) and then slightly decreased at the end of the first trimester (11 weeks). (4) There was a positive correlation between the expression of KLF8 and MMP-9 protein in human villous tissues from early pregnancy ($r=0.66, P<0.001$). **Conclusions:** KLF8 immunoreactivity is primarily located in trophoblast layer especially in the invasion-related cyto-trophoblast cells. Besides, its expression has a forward association with MMP-9 levels and trophoblast invasion. These results indicate that KLF8 may play an important role in the regulation of trophoblast invasion during implantation and placentation.

【Key words】 early pregnancy; villi; trophoblast; transcriptional factor

作者介绍: 杨中玫, Email: yzmnaney@163.com,

研究方向: 妇产科学。

通信作者: 漆洪波, Email: qihongbo@sina.com。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(编号: 81070502); 国家临床

重点专科建设经费资助项目(编号: 201101ckZD)。

技术支持: 广东省产科重大疾病重点实验室。

正常胚胎植入和早期胎盘形成是人类成功妊娠的重要环节。胚胎植入以滋养细胞向母体子宫组织侵袭为特点,其过度的侵袭可以导致胎盘对子宫肌层的异常附着即胎盘植入,而侵袭受限可以导致子痫前期、胎膜早破、早产以及宫内生长受限。然而目前为止,胚胎植入的分子细胞学机制仍尚未明确。新近研究发现,双向转录因子 Krüppel-like factor 8 (KLF8)的异常升高可以导致 E-钙黏蛋白的降低以及基质金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinase-9, MMP-9)的升高,从而促进乳腺癌的浸润及转移^[1-2]。因此,本研究通过检测正常早期妊娠绒毛组织中 KLF8 和 MMP-9 的表达以及两者的相关性,探讨其在胚胎植入和胎盘形成过程中的作用。

1 材料与方法

1.1 研究对象

选择 2012 年 3 月至 2012 年 6 月自愿在重庆医科大学附属第一医院门诊手术室行人工流产的早期妊娠妇女 22 例为研究对象,取材均经本人同意。所有研究对象年龄 20~35 岁;既往均无经期紊乱、高血压、心脏病、肾脏病、糖尿病及甲状腺功能亢进等病史;无复发性自然流产、畸胎、死胎等不良孕产史;无吸烟、长期服用药物史。要求孕期无急、慢性感染性疾病;肝、肾功能检查正常。均为单胎,负压吸宫术进行人工流产;妊娠 6~11 周,彩超证实为宫内妊娠且见胚芽及胎心搏动且孕囊与停经天数相符;妊娠前 3 个月及妊娠后未服用药物,未接触毒物及放射线;每孕周为 1 组,孕 6 周($n=3$),孕 7 周($n=4$),孕 8 周($n=4$),孕 9 周($n=4$),孕 10 周($n=4$),孕 11 周($n=3$),共 6 组。

1.2 方法

1.2.1 标本采集 于人工流产术时收集绒毛组织,生理盐水冲洗后,把标本分为 3 份,1 份置入 4%多聚甲醛中固定;另 2 份置于灭菌灭酶冻存管迅速放入液氮中,过夜后转入 -80°C 冰箱保存待测。

1.2.2 免疫组化 SP 法检测胎盘组织中 KLF8 蛋白的定位 绒毛组织标本用 4%多聚甲醛固定 24 h 后行石蜡包埋,切成 $5\text{ }\mu\text{m}$ 的薄片备用。操作按 SP 法试剂盒(北京中杉金桥生物技术有限公司)说明书进行。兔抗人 KLF8 多克隆抗体(美国 Sigma 公司)用 PBS 稀释至 1:200,兔非免疫血清代替一抗作为阴性对照,二氨基联苯胺(DAB)染色。以绒毛组织中各种细胞核和(或)胞质出现棕黄色着色视为阳性染色。

1.2.3 实时荧光定量 PCR 技术检测绒毛组织中 KLF8 mRNA 的表达 取适量的绒毛组织(约 100 mg)于液氮中研磨成粉末后,采用 TRIzol 一步法提取胎盘组织总 RNA(美国 Invitrogen 公司),根据逆转录试剂盒(日本 Takara 公司)说明进行逆转录。PCR 引物由上海生工生物工程技术有限公司

设计,大连宝生物有限公司合成。KLF8 上游引物序列:5'-CTACTGTTCTGACCCAGGCTCT-3',下游引物序列为 5'-GTCTTCAGGCCACCCATCTTAT-3',扩增片段长度为 124 bp。内参照为 β 肌动蛋白(β -actin):上游引物序列为 5'-ACCCC-GTGCTGCTGACCGAG-3',下游引物序列为 5'-TCCCGGCC-AGCCAGGTCCA-3',扩增片段长度为 249 bp。反应体系如下:PCR 特异上、下游引物各 $0.5\text{ }\mu\text{l}$,cDNA 模板 $2.0\text{ }\mu\text{l}$,荧光染料 SYBR Green $10.0\text{ }\mu\text{l}$,加灭菌蒸馏水 $7.0\text{ }\mu\text{l}$ 至总体积为 $20\text{ }\mu\text{l}$ 。每管于混匀离心后置于实时荧光定量 PCR 仪中,阴性对照以无 RNA 酶的水代替 cDNA 模板,每例样品及阴性对照均设 3 个平行复孔,取均值。PCR 反应条件如下: 94°C 预变性 5 min、 94°C 变性 30 s、 57°C 退火 30 s、 72°C 延伸 30 s,共 45 个循环。反应结束后记录扩增曲线和溶解曲线,以测定样品扩增的特异性。应用相对定量法来检测 KLF8 在绒毛组织中表达的差异,根据 PCR 扩增曲线,得到每个样本的循环阈值(Ct),采用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法计算 KLF8 mRNA 相对表达量。

1.2.4 蛋白印迹法检测绒毛组织中 KLF8、MMP-9 蛋白的表达 蛋白检测包括:(1)组织蛋白提取:取适量的绒毛组织(约 100 mg)于液氮中研磨成粉末后加入 1 ml 细胞裂解液及苯甲基磺酰氟(PMSF) $10\text{ }\mu\text{l}$,待其充分裂解 30 min 后, 4°C $12\text{ }000\text{ r/min}$ 离心 5 min,收集上清液,用二辛可宁酸(BCA)法检测蛋白浓度(蛋白抽提、定量、凝胶配制试剂盒均购自碧云天生物技术有限公司),而后煮沸 10 min 使蛋白变性,置于 -80°C 冻存备用。(2)检测 KLF8、MMP-9 蛋白:先后配制 12%分离胶和 5%浓缩胶行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶(SDS-PAGE)电泳,上样 $40\text{ }\mu\text{g}$ 总蛋白,将蛋白转移到聚偏二氟乙烯膜(PVDF,美国 Millipore 公司)上,置于含 5%脱脂牛奶的含 0.05%Tween20 的枸橼酸盐缓冲液(TBST)中, 37°C 封闭 1.5 h 后分别加入兔抗人 KLF8 多克隆抗体(稀释度为 1:1 000,美国 Sigma 公司)、羊抗人 MMP-9 多克隆抗体(稀释度为 1:500,美国 Santa 公司)、兔抗人 β -actin 单克隆抗体(稀释度为 1:2 500,美国 Santa Cruz 公司)后 4°C 孵育过夜,TBST 洗膜 $10\text{ min} \times 3$ 次。分别加入辣根过氧化物酶标记的羊抗兔 IgG 二抗(稀释度 1:3 000,北京中杉金桥生物技术有限公司)、兔抗羊 IgG 二抗(稀释度 1:3 000,北京中杉金桥生物技术有限公司), 37°C 孵育 1 h,TBST 洗膜 $10\text{ min} \times 3$ 次,加入增强化学发光(ECL)显色液(美同 Santa Cruz 公司),暗室曝光显影,重复 3 次。在 ChemiDoc XRS 化学发光成像系统(美国 Bio-Rad 公司)上检测蛋白质印迹条带灰度,用 Quantity One 4.62 版图像分析软件进行分析,以 KLF8、MMP-9 与 β -actin 的灰度值比值作为 KLF8、MMP-9 蛋白的相对表达水平。

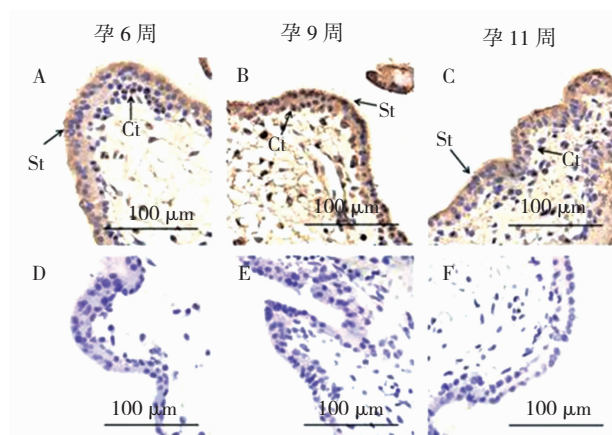
1.3 统计学方法

应用 GraphPad Prism 5.0 软件进行统计分析,所有数据用均数 $\pm$ 标准误($\bar{x} \pm s$)表示。多组均数间比较采用单因素方差分析,并应用 Tukey 检验作两两比较,相关性分析用 Pearson 相关分析。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 KLF8 蛋白在绒毛组织中的表达定位

早孕期各孕周绒毛组织中均可见棕褐色阳性染色细胞,主要定位于绒毛滋养层中,特别是细胞滋养细胞,且不同孕周染色亚细胞部位及强度有差异。孕 6 周表达呈弱阳性,主要表达在细胞滋养细胞胞核中,细胞滋养细胞质和合体滋养细胞核、细胞质阳性较弱;随着孕周增加表达逐渐增强,在孕 8~10 周细胞滋养细胞和合体滋养细胞核、细胞质均呈强阳性表达,以细胞滋养细胞核强阳性表达更为明显,其中孕 9 周阳性最强,随后在孕 11 周可见明显的表达减弱(图 1)。



A. KLF8 蛋白在孕 6 周绒毛组织的表达:滋养层阳性染色,且细胞滋养细胞核阳性染色明显;B. KLF8 蛋白在孕 9 周绒毛组织的表达:滋养层中的细胞滋养细胞和合体滋养细胞核、细胞质的阳性染色均较孕 6 周强;C. KLF8 蛋白在孕 11 周绒毛组织的表达:滋养层中的阳性染色较前明显减弱,细胞滋养细胞核中几乎没有阳性染色;D. 孕 6 周组阴性对照;E. 孕 9 周组阳性对照;F. 孕 11 周组阴性对照;St. 合体滋养细胞;Cl. 细胞滋养细胞;SP, 400 ×

图 1 早孕期不同孕周绒毛组织中 KLF8 蛋白的表达定位

Fig.1 Localization of KLF8 protein in villous tissues during early pregnancy

2.2 绒毛组织中 KLF8 mRNA 的表达

早孕期各孕周绒毛组织中均可检测到 KLF8 mRNA 的表达,且随孕周的增加呈现一定的表达趋势:孕 6 周表达较低,随后表达量逐渐增高,在孕 8 周达到最高,而后缓慢降

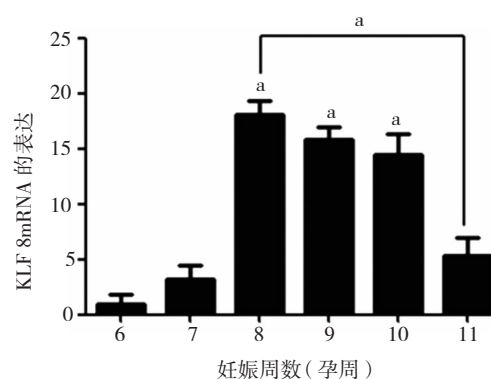
低并在孕 8~10 周达到高峰(与孕 6 周比较,孕 8~10 周均 $P < 0.05$,组间虽有下降趋势但没有统计学差异),孕 11 周时出现急剧降低(表 1、图 2)。

表 1 正常孕早期各孕周绒毛组织 KLF8 mRNA 表达水平

Tab.1 Expression of KLF8 mRNA in normal villous tissues

during early pregnancy				
组别	例数 (n)	KLF8	q 值	P 值 ^a
孕 6 周	3	1.00 ± 0.85	—	—
孕 7 周	4	3.16 ± 1.31	1.422	0.147
孕 8 周	4	18.04 ± 1.28 ^b	12.640	0.002
孕 9 周	4	15.83 ± 1.19	10.980	0.008
孕 10 周	4	14.52 ± 1.79	8.987	0.013
孕 11 周	3	5.38 ± 1.54 ^b	3.099	0.064

注:a,与孕 6 周比较;b,孕 8 周与孕 11 周比较;q=9.540, $P=0.001$;单因素方差分析: $F=4.372$, $P=0.011$;—,无此项目



除 2 组间的特殊标志外,均与孕 6 周比较;a: $P < 0.05$

图 2 早孕期各孕周绒毛组织中 KLF8 mRNA 的表达

Fig.2 Expression of KLF8 mRNA in villous tissues during early pregnancy

2.3 绒毛组织中 KLF8、MMP-9 蛋白的表达

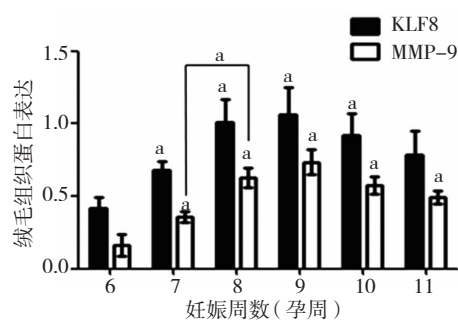
早孕期各孕周绒毛组织中均可检测到 KLF8、MMP-9 蛋白的表达,KLF8、MMP-9 蛋白随孕周的增加呈现相似的表达趋势:孕 6 周表达较低,随后表达量逐渐增高,在孕 9 周达到最高,而后缓慢降低并在孕 8~10 周达到高峰(KLF8:与孕 6 周比较,孕 8~10 周均 $P < 0.05$,组间比较没有统计学差异,MMP-9:与孕 6 周比较,孕 8~10 周均 $P < 0.01$,组间比较没有统计学差异(表 2、图 3)。

表 2 正常孕早期各孕周 KLF8、MMP-9 蛋白表达水平

Tab.2 Expression of KLF8 and MMP-9 proteins in normal villous tissues during early pregnancy

组别	例数 (n)	KLF8	q 值 (KLF8)	P 值 (KLF8) ^a	MMP-9	q 值 (MMP-9)	P 值 (MMP-9) ^a
6周	3	0.42 ± 0.08	—	—	0.16 ± 0.08	—	—
7周	4	0.65 ± 0.05	4.750	0.045	0.36 ± 0.03 ^b	4.801	0.035
8周	4	0.99 ± 0.11	5.755	0.011	0.65 ± 0.05 ^b	8.921	0.003
9周	4	1.11 ± 0.14	5.804	0.012	0.71 ± 0.07	10.110	0.003
10周	4	0.87 ± 0.11	5.186	0.028	0.56 ± 0.04	7.291	0.005
11周	3	0.79 ± 0.17	2.691	0.114	0.49 ± 0.04	5.700	0.020

注:a,与孕 6 周比较;b,孕 7 周与孕 8 周相比较;q=6.866, $P=0.008$;单因素方差分析: $F=13.68$, $P < 0.001$;—,无此项目



除 2 组间的特殊标志外,均与孕 6 周比较, a: $P < 0.05$

图 3 早孕期各孕周绒毛组织中 KLF8、MMP-9 蛋白的表达
Fig.3 Expression of KLF8 and MMP-9 proteins in villous tissues during early pregnancy

2.4 绒毛组织中 KLF8、MMP-9 蛋白表达的相关性分析

早孕期绒毛组织中 KLF8 与 MMP-9 蛋白的表达水平呈正相关($r=0.66$, $P < 0.001$) (图 4)。

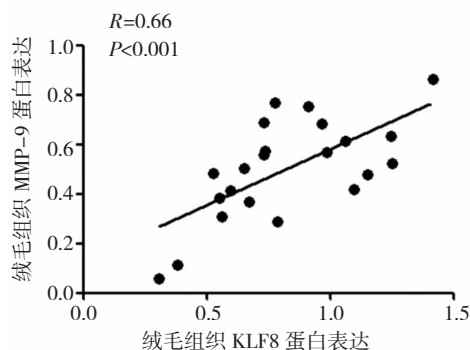


图 4 早孕期各孕周绒毛组织中 KLF8、MMP-9 蛋白的相关性分析

Fig.4 Correlation between KLF8 and MMP-9 proteins in villous tissues during early pregnancy

3 讨论

3.1 KLF8、MMP-9 的生物学特性

KLF8 是一种双向转录因子,对于调控细胞周期、转化、上皮向间质转化以及浸润方面具有重要作用^[2]。与这些功能密切相关的是它特有的结构特征:控制转录活化或抑制的氨基末端活化区域,结合靶基因启动子 GT-box (CACCC) 的羧端锌指结构域以及核定位信号区域^[3]。研究发现 Src、PI3K/Akt 以及 Wnt/ β -catenin 信号通路能促进 KLF8 的表达^[2,4],其转录物可以被 Sp1、KLF1、Wnt3a 激活^[2,4],也可以被 KLF3、BP-1-102 (Stat3 抑制剂)^[2,5]所抑制。翻译后 SUMO 化修饰及定位也可以对 KLF8 进行调节^[2]。KLF8 在多种人类肿瘤中发现过表达,如卵巢癌、胃癌^[6-7]。并且它能够通过抑制 E-钙黏蛋白表达以及激

活 MMP-9 的转录,促进肿瘤的启动及进程^[1-2]。有关 KLF8 在妊娠中的作用研究甚少,新近研究发现 KLF8 mRNA 在人胎盘组织中表达丰富且在 17~22 d 的牛孕体中 KLF8 mRNA 呈现一个递增趋势^[8-9]。

MMP-9 是一种锌指蛋白水解酶,作为 MMPs 家族中的重要一员,主要表达于滋养细胞及蜕膜细胞,能降解基底膜和细胞外基质的主要成分 IV 型胶原,是滋养细胞侵袭过程的关键酶^[10]。MMPs 表达及活性的变化,以及与金属蛋白酶组织抑制剂的平衡失调必然导致滋养细胞侵袭能力的变化,过度的侵袭可以导致胎盘植入,而侵袭受限可以导致子痫前期、胎膜早破、早产以及宫内生长受限^[11]。

3.2 KLF8、MMP-9 在早孕期绒毛组织中表达变化及意义

本研究显示, KLF8 主要表达于早孕期绒毛组织与侵袭密切相关的细胞滋养细胞中,提示其可能与滋养细胞侵袭力相关。Wang 等^[2]发现 KLF8 可以通过直接结合并激活人 MMP-9 基因启动子促进 MMP-9 的表达,从而促进乳腺癌细胞的侵袭和转移。本研究对早孕期绒毛组织中的 KLF8 与 MMP-9 进行检测,发现早孕期绒毛组织中 KLF8 与 MMP-9 表达呈明显正相关,提示在孕早期这个滋养细胞侵袭的重要时期, KLF8 可能通过对 MMP-9 表达的影响调控滋养细胞侵袭,从而影响正常的胚胎植入。Xu 等^[12]发现在培养的孕 7~11 周人细胞滋养细胞中, MMP-9 表达随孕周增加逐渐增高,这与本研究结果部分矛盾,可能和 2 个研究标本数量有限以及标本类型不同有关。

诸多研究发现 MMPs 介导的细胞侵袭受到多种调节因子调控,包括氧分压、激素、黏附分子、生长因子等^[10]。而 KLF8 作为 MMP-9 的上游分子,对于其在胎盘植入及胎盘形成过程中的作用目前尚不清楚。多项研究发现 KLF8 的主要调节机制取决于细胞类型或者细胞内容物^[4-6],基于本研究所发现的 KLF8 与 MMP-9 的正相关关系以及两者在分子机制上的联系,可以根据孕早期 KLF8 的表达模式以及对 MMP-9 相同的激活功能,推测其可能的调控因素:(1)妊娠初期,孕 10 周前,绒毛外细胞滋养细胞侵袭蜕膜、封闭螺旋动脉,导致胎盘低氧状态^[13-14],这一低氧环境利于滋养细胞的侵袭,并在 8~10 周达到孕早期的高峰^[15-16]。而之后的孕 10~12 周,绒毛间血流量增加,滋养细胞周围氧分压升高至常氧状态^[13]。越来越多的证据表明胎盘的缺氧复氧可以导致活性氧(reactive oxygen series, ROS)的生成^[17],

而 ROS 可以通过活化局部黏着斑激酶(focal adhesion kinase,FAK)信号通路诱导 MMPs 的表达调控细胞迁移/侵袭^[18]。FAK 作为 KLF8 的上游分子,在胎盘组织低氧时期表达增高,而随着氧分压的升高,FAK 在 10~12 周后急剧降低^[19]。这一表达模式与本研究中的 KLF8 表达呈现出惊人的相似,也进一步证实胎盘组织氧分压的改变可能通过 FAK 调控 KLF8,进而调节 MMP-9 的表达影响滋养细胞侵袭力。(2)激素类如人绒毛膜促性腺激素(human chorionic gonadotrophin,HCG)由合体滋养细胞合成,在受精后不久 HCG 水平即快速增高,在孕 8~10 周达到高峰,而后缓慢降低。新近研究发现 HCG 同样可以显著激活滋养细胞的侵袭及 MMP-9 的活性^[20]。但是 HCG 是否以及如何通过调控 KLF8 进而调节 MMP-9 仍未可知,需要后期更多的研究。

综上所述,滋养细胞侵袭是一个多因素参与、多阶段发展的动态变化过程,滋养细胞侵袭力的改变与多种妊娠并发症有密切关系,但其具体的调控机制至今仍不明确。本研究通过检测 KLF8 在正常孕早期孕妇绒毛组织中的定位及动态表达水平以及与 MMP-9 的相关性,初步探讨了其对滋养细胞侵袭的作用,为进一步深入研究胎盘植入及胎盘形成提供了新的思路,为妊娠并发症特别是子痫前期的早期预测和诊断提供了新的靶点。

参 考 文 献

- [1] Wang X,Zheng M,Liu G,et al.Kruppel-like factor 8 induces epithelial to mesenchymal transition and epithelial cell invasion[J].Cancer Res,2007,67(15):7184-7193.
- [2] Wang X,Lu H,Urvalek A M,et al.KLF8 promotes human breast cancer cell invasion and metastasis by transcriptional activation of MMP9[J].Oncogene,2011,30(16):1901-1911.
- [3] Rodriguez E,Martignetti J A.The Kruppel traffic report;cooperative signals direct KLF8 nuclear transport[J].Cell Res,2009,19(9):1041-1043.
- [4] Yang T,Cai S Y,Zhang J,et al.Kruppel-like factor 8 is a new wnt/beta-catenin signaling target gene and regulator in hepatocellular carcinoma[J].PLoS One,2012,7(6):e39668.
- [5] Zhang X,Yue P,Page B D,et al.Orally bioavailable small-molecule inhibitor of transcription factor Stat3 regresses human breast and lung cancer xenografts[J].Proc Natl Acad Sci U S A,2012,109(24):9623-9628.
- [6] Wang X,Urvalek A M,Liu J,et al.Activation of KLF8 transcription by focal adhesion kinase in human ovarian epithelial and cancer cells[J].J Biol Chem,2008,283(20):13934-13942.
- [7] Chen G,Yang W,Jin W,et al.Lentivirus-mediated gene silencing of KLF8 reduced the proliferation and invasion of gastric cancer cells[J].Mol Biol Rep,2012,39(10):9809-9815.
- [8] Yamakoshi S,Bai R,Chaen T,et al.Expression of mesenchymal-related genes by the bovine trophectoderm following conceptus attachment to the endometrial epithelium[J].Reproduction,2012,143(3):377-387.
- [9] van Vliet J,Turner J,Crossley M.Human Krüppel-like Factor 8;a CACCC-box binding protein that associates with CtBP and represses transcription[J].Nucleic Acids Res,2000,28(9):1955-1962.
- [10] Ko H S,Kang H K,Kim H S,et al.The effects of oncostatin M on trophoblast cells;Influence on matrix metalloproteinases-2 and -9,and invasion activity[J].Placenta,2012,33(11):908-913.
- [11] Norwitz E R.Defective implantation and placentation;laying the blueprint for pregnancy complications[J].Reprod Biomed Online,2006,13(4):591-599.
- [12] Xu P,Wang Y L,Zhu S J,et al.Expression of matrix metalloproteinase-2,-9,and-14,tissue inhibitors of metalloproteinase-1,and matrix proteins in human placenta during the first trimester[J].Biol Reprod,2000,62(4):988-994.
- [13] Jauniaux E,Watson A L,Hempstock J,et al.Onset of maternal arterial blood flow and placental oxidative stress;a possible factor in human early pregnancy failure[J].Am J Pathol,2000,157(6):2111-2122.
- [14] Imperatore A,Rolfo A,Petraglia F,et al.Hypoxia and preeclampsia;increased expression of urocortin 2 and urocortin 3[J].Reprod Sci,2010,17(9):833-843.
- [15] Lyall F,Bulmer J N,Duffie E,et al.Human trophoblast invasion and spiral artery transformation;the role of PECAM-1 in normal pregnancy,preeclampsia,and fetal growth restriction[J].Am J Pathol,2001,158(5):1713-1721.
- [16] Lee S B,Wong A P,Kanasaki K,et al.Preeclampsia;2-methoxyestradiol induces cytotrophoblast invasion and vascular development specifically under hypoxic conditions[J].Am J Pathol,2010,176(2):710-720.
- [17] Hung T H,Burton G J.Hypoxia and reoxygenation;a possible mechanism for placental oxidative stress in preeclampsia[J].Taiwan J Obstet Gynecol,2006,45(3):189-200.
- [18] Park S J,Jeon Y J.Dieckol from Ecklonia cava suppresses the migration and invasion of HT1080 cells by inhibiting the focal adhesion kinase pathway downstream of Rac1-ROS signaling[J].Mol Cells,2012,33(2):141-149.
- [19] MacPhee D J,Mostachfi H,Han R,et al.Focal adhesion kinase is a key mediator of human trophoblast development[J].Lab Invest,2001,81(11):1469-1483.
- [20] Chen J Z,Wong M H,Brennecke S P,et al.The effects of human chorionic gonadotrophin,progesterone and oestradiol on trophoblast function[J].Mol Cell Endocrinol,2011,342(1-2):73-80.

(责任编辑:冉明会)