

QSOX1 在子痫前期胎盘中的表达及其对滋养细胞凋亡和增殖功能的影响

李金津, 童 超, 漆洪波

(重庆医科大学附属第一医院妇产科、重庆医科大学母胎国际合作联合实验室, 重庆 400016)

【摘要】目的:探究静息巯基氧化酶-1(quiescin sulfhydryl oxidase 1, QSOX1)在子痫前期(preeclampsia, PE)胎盘中的表达情况, QSOX1 对滋养细胞的生物学行为的影响, 及其参与 PE 发生的潜在机制。**方法:**收集 2015 年 11 月至 2016 年 12 月于重庆医科大学附属第一医院产科住院行选择性剖宫产术的孕妇的胎盘组织, 包括正常足月妊娠组(31 例)和 PE 组(35 例)。正常氧条件下, 人绒毛外滋养细胞系(human transformed primary extravillous trophoblast cell line, HTR8/SVneo)细胞分为小干扰 RNA(small interfering RNA, siRNA)阴性对照组(siControl)和 QSOX1 特异 siRNA 干扰组(siQSOX1), 每组 6 例样本, 实验重复 3 次。缺氧条件下, HTR8/SVneo 细胞分为 4 组, 分别为正常氧处理组(0 h)、缺氧 6 h 处理组(6 h)、缺氧 12 h 处理组(12 h)和缺氧 24 h 处理组(24 h), 每组各 6 例样本, 实验重复 3 次。采用 Western blot 法检测正常孕妇与 PE 孕妇胎盘中 QSOX1 的差异表达以及 HTR8/SVneo 细胞缺氧处理后 QSOX1 和缺氧诱导因子-1 α (hypoxia inducible factor-1 α , HIF-1 α)的蛋白表达。利用 siRNA 技术干扰 HTR8/SVneo 细胞 QSOX1 的表达, 用 Western blot 法检测转染细胞活性半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶(Cleaved cysteinyl aspartate specific proteinase, Cleaved caspase)相关蛋白和细胞周期蛋白 D1(CyclinD1)的表达水平。并利用流式细胞术检测转染细胞凋亡, 比色法检测转染细胞的增殖情况。**结果:**QSOX1 在 PE 胎盘中的表达明显高于正常胎盘(0.955 ± 0.285 vs. 3.921 ± 0.960) ($P=0.001$)。缺氧处理 HTR8/SVneo 细胞后 QSOX1 和 HIF-1 α 的表达均明显升高(1.183 ± 0.160 vs. 3.987 ± 0.098 ; 1.051 ± 0.444 vs. 1.912 ± 0.118) (均 $P=0.000$)。下调 QSOX1 后 HTR8/SVneo 细胞 Cleaved caspase-3、Cleaved caspase-9 蛋白表达明显减少(2.940 ± 0.514 vs. 1.075 ± 0.121 ; 9.223 ± 1.230 vs. 1.011 ± 0.019) ($P=0.004$; $P=0.000$), 而 CyclinD1 的蛋白表达增加(1.851 ± 0.972 vs. 4.189 ± 0.399) ($P=0.018$)。QSOX1 干扰后 HTR8/SVneo 细胞凋亡能力减低[(21.007 ± 2.214)% vs. (10.057 ± 0.388)%] ($P=0.001$), 增殖能力增加(0.389 ± 0.162 vs. 1.401 ± 0.059) ($P=0.020$)。**结论:**QSOX1 高表达引起滋养细胞凋亡增加和增殖减少, 可能参与 PE 的发生。

【关键词】凋亡; 增殖; 滋养细胞; 子痫前期; 静息巯基氧化酶-1

【中图分类号】R714.24

【文献标志码】A

【收稿日期】2018-01-26

Expression of QSOX1 in the placentas of preeclampsia and its effects on the apoptosis and proliferation of trophoblast cells

Li Jinjin, Tong Chao, Qi Hongbo

(Department of Obstetrics, The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University; International Collaborative Joint Laboratory of Reproduction and Development of Ministry of Education of China, Chongqing Medical University)

【Abstract】Objective: To explore the expression of quiescin sulfhydryl oxidase 1 (QSOX1) in the placentas of preeclampsia (PE), its effects on the apoptosis and proliferation of trophoblast cells and its probable role in the development of PE. **Methods:** Human term placentas from normal pregnancies (31 cases) and from pregnancies complicated by PE (35 cases) were obtained, and all samples collected in the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University from November 2015 to December 2016. Under the condition

of normal oxygen, human transformed primary extravillous trophoblast cell line (HTR8/SVneo) cells were divided into the small interference RNA (siRNA) group, the negative control group (siControl) and the QSOX1 inhibition group (siQSOX1), and the experiment repeated 3 times, 6 samples in each group. Under the

作者介绍: 李金津, Email: shinydl@163.com,

研究方向: 妊娠期高血压。

通信作者: 漆洪波, Email: qihongbo728@126.com。

优先出版: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20180528.1044.014.html>

(2018-05-29)

condition of hypoxia, HTR8/SVneo cells were divided into 4 groups respectively, the normal oxygen treatment group (0 h), the 6 hour hypoxia treatment group (6 h), the 12 hour hypoxia treatment group (12 h) and the 24 hour hypoxia treatment group (24 h), and the experiment repeated 3 times, 6 samples in each group. Western blot was used to detect the expression levels of QSOX1 in the placenta from normal pregnant women and from PE pregnant women, and the expression levels of QSOX1 and hypoxia inducible factor-1 α (HIF-1 α) in human transformed primary extravillous trophoblast (HTR8/SVneo) cells treated with hypoxia. Down-regulation of QSOX1 in HTR-8/Svneo cells was achieved by small interfering RNA (siRNA) interference. The protein expression levels of cleaved cysteinyl aspartate specific proteinases (Cleaved caspase) and CyclinD1 in HTR-8/Svneo cells treated with siRNA were measured by Western blot. Furthermore, the apoptosis of transfected cells was detected by flow cytometry, and the cell proliferation by colorimetric method. **Results:** QSOX1 was overexpressed in the PE placenta compared with the normal placenta (0.955 ± 0.285 vs. 3.921 ± 0.960) ($P=0.001$). Hypoxia induced the higher expressions of QSOX1 and HIF-1 α in HTR-8/Svneo cells (1.183 ± 0.160 vs. 3.987 ± 0.098 ; 1.051 ± 0.444 vs. 1.912 ± 0.118) ($P=0.000$). Inhibition of QSOX1 expression in HTR-8/Svneo cells led to the decreased expressions of Cleaved caspase-3 and Cleaved caspase-9 (2.940 ± 0.514 vs. 1.075 ± 0.121 ; 9.223 ± 1.230 vs. 1.011 ± 0.019) ($P=0.004$, $P=0.000$), but the elevated expression of CyclinD1 (1.851 ± 0.972 vs. 4.189 ± 0.399) ($P=0.018$). Inhibition of QSOX1 expression in HTR-8/Svneo cells attenuated the cell apoptosis [$(21.007 \pm 2.214)\%$ vs. $(10.057 \pm 0.388)\%$] ($P=0.001$) but promoted the cell proliferation (0.389 ± 0.162 vs. 1.401 ± 0.059) ($P=0.020$). **Conclusion:** Overexpression of QSOX1 may be involved in the pathogenesis of PE by regulating the apoptosis and proliferation of trophoblast cells.

【Key words】apoptosis; proliferation; trophoblast cells; preeclampsia; quiescin sulphydryl oxidase 1

子痫前期(preeclampsia, PE)是一种妊娠期特有疾病,以妊娠 20 周后新发高血压和蛋白尿为特征,严重威胁着孕产妇和胎儿的健康^[1]。虽然其具体的致病机制未明,但已有的研究表明 PE 的发生与母体螺旋动脉重塑不良、胎盘缺氧低灌注和氧化应激密切相关^[2-3],此外细胞毒性和细胞凋亡因素也参与了 PE 的发生发展过程^[4]。胎盘是妊娠过程中联系母体和胎儿的重要器官,胎盘细胞增殖和凋亡的平衡是胎盘发挥功能的基础,平衡失调将导致病理妊娠和妊娠期并发症的发生。研究发现与正常怀孕的妇女相比,PE 妇女胎盘凋亡的滋养细胞数量明显增加,但其具体机制尚不清楚^[5]。静息巯基氧化酶-1 (quiescin sulphydryl oxidase 1, QSOX1) 是 QSOX 家族成员,属于一类 FAD 依赖的巯基氧化酶,它促进肽和蛋白质中二硫键的形成,通过 $2R-SH + O_2 \rightarrow R-S-S-R + H_2O_2$ ^[6]。研究发现 PE 妇女血浆过氧化氢(hydrogen peroxide, H_2O_2)水平明显高于正常妊娠妇女^[7-8],而 H_2O_2 作为一种已知的氧化应激诱导物,可以促使培养的原代滋养细胞发生凋亡^[7]。由此,本研究对 QSOX1 在 PE 胎盘中的表达, QSOX1 对滋养细胞的凋亡、增殖生物学行为的影响,以及可能参与 PE 发生的潜在机制进行了探索。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 胎盘组织 收集 2015 年 11 月至 2016 年 12 月于重庆医科大学附属第一医院产科住院行选择性剖宫产术的孕妇的胎盘组织,包括正常足月妊娠组(31 例)和 PE 组(诊断参照《妇产科学》第八版教材)(35 例)。患有慢性高血压、糖尿病、肾脏或肝脏疾病的孕妇,以及无蛋白尿的妊娠高血压孕妇被排除在外。胎盘样本采集和处理的具体方法如本实验室之前文章所述^[9]。本研究符合重庆医科大学附属第一医院人体试验伦理委员会所制定的伦理学标准,并已征得所有受试者知情同意。

1.1.2 细胞及 siRNA 人绒毛外滋养细胞系(human transformed primary extravillous trophoblast cell line, HTR8/SVneo)细胞株购自美国 ATCC 细胞库。QSOX1 干扰和阴性对照的小干扰 RNA (small interfering RNA, siRNA) 购自上海吉玛制药有限公司。siQSOX1-1 正义链:5'-GCUGAACACAGAG-GCCAAUTT-3', 反义链 5'-AUUGGCCUCUGUGUUCAGCTT; siQSOX1-2 正义链:5'-GCUCCACUGUUUGGAAUTT-3', 反义链 5'-AUUCCAAACAGUGGGAGCTT; siQSOX1-3 正义链:5'-GCACUACAUCUGCGGAUATT-3', 反义链 5'-UAU-CCGCAGGAUGUAGUGCTT-3'; siControl 正义链:5'-UUCU-CCGAACGUGUCACGUTT-3', 反义链 5'-ACGUGACACGU-UCGGAGAATT-3'。

1.1.3 主要试剂 胎牛血清购于美国 Gemini 生物公司; RIPM1640 培养基购自美国 Gibco 公司; Lipofectamine 2000 购自美国 Invitrogen 公司。蛋白提取、定量试剂盒、Annexin V-FITC 细胞凋亡检测试剂盒和 CCK-8 试剂盒购自江苏碧云天生物研究所。Western blot 相关试剂来自美国 Bio-Rad 公司。多克隆羊抗 QSOX1 抗体、多克隆鼠抗缺氧诱导因子-1 α (hypoxia inducible factor-1 α , HIF-1 α) 抗体、多克隆鼠抗细胞周期蛋白 D1 (CyclinD1) 抗体、多克隆鼠抗 β -Actin 抗体均购自美国 Santa Cruz 公司。多克隆兔抗活性半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3 (Cleaved cysteinyl aspartate specific proteinase, Cleaved caspase-3) 抗体购自美国 abcam 公司。多克隆兔抗活性半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-9 (Cleaved cysteinyl aspartate specific proteinase, Cleaved caspase-9) 抗体来自中国沈阳万类生物公司。兔抗山羊、山羊抗兔和山羊抗鼠二抗均来自中国中杉金桥公司。ECL 化学发光试剂盒购自美国 Millipore 公司。用于免疫组化的 DAB 来自中国中杉金桥公司。

1.2 方法

1.2.1 siRNA 转染及细胞处理 每孔 1×10^5 个 HTR-8/Svneo 细胞接种于 6 孔板, 用含 10% 胎牛血清的 RIPM1640 培养基正常条件 (5% O_2 , 37 $^{\circ}C$) 培养 24 h。更换成无双抗培养基后, 分别加入终浓度为 50 pmol/mL QSOX1 siRNA (siQSOX1) 和 50 pmol/mL 阴性对照 siRNA (siControl) 转染液, 混匀后, 培养 24 h (5% O_2 , 37 $^{\circ}C$)。之后用正常培养基继续培养 48 h, 收集转染的细胞用于后续实验。对于细胞的缺氧处理, 将 HTR-8/Svneo 细胞置于 1% O_2 , 37 $^{\circ}C$ 分别培养 6、12、24 h, 然后进行后续的 Western blot 检测。

1.2.2 免疫组化法 收集胎盘组织用 4% 多聚甲醛固定, 石蜡包埋, 切片厚度约 5 μm 。进行二甲苯脱蜡、梯度酒精水化和抗原热修复、封闭。然后滴加 QSOX1 抗体 (1:25), 放置于湿盒中进行孵育, 4 $^{\circ}C$ 过夜。之后用 HRP 标记的山羊二抗 (1:100), 37 $^{\circ}C$ 孵育 30 min。最后经 DAB 显色封片于显微镜下进行观察、拍照。

1.2.3 Western blot 提取相应组织和细胞蛋白, 用 BCA 试剂盒测定蛋白浓度, 分别配制成 4 $\mu g/\mu L$ 组织和 1 $\mu g/\mu L$ 细胞的蛋白样本, 蛋白上样量均为 20 μL 。然后进行 QSOX1、HIF-1 α 、Cleaved caspase-3、Cleaved caspase-9、Cyclin D1 和 β -Actin 蛋白表达的检测, 具体方法同本实验室之前文章所述^[10]。其中一抗浓度 QSOX1 为 1:1 000; HIF-1 α 为 1:1 000; Cleaved caspase-3 为 1:1 000; Cleaved caspase-9 为 1:500; Cyclin D1 为 1:1 000; β -Actin 为 1:1 000。一抗 4 $^{\circ}C$ 孵育 48 h, 1:5 000 浓度的二抗室温孵育 1 h。最后, 用 ChemiDoc XRS 化学发光成像系统 (Bio-Rad, USA) 检测蛋白表达信号, 利用 ImageJ 软件进行蛋白信号图像分析。

1.2.4 细胞凋亡检测 收集 QSOX1 干扰组 (siQSOX1) 和对照组 (siControl) 的 HTR-8/Svneo 细胞, 用 PBS 将细胞稀释成浓度为 2.5×10^3 个细胞/ μL 的细胞悬液, 利用 Annexin V-FITC 细胞凋亡检测试剂盒和 CytoFLEX 流式细胞仪 (Beck-

man, USA) 进行细胞凋亡的检测。

1.2.5 细胞增殖测定 利用 Cell Counting Kit-8 (CCK-8) 试剂盒测定干扰后细胞的增殖能力。细胞转染前 24 h, 在 96 孔板中每孔以 5×10^3 个细胞的密度种板, 每孔加入 100 μL 细胞培养基, 待细胞汇合度达 70% 时。细胞分别转入 QSOX1 siRNA (siQSOX1) 或阴性对照 siRNA (siControl), 继续培养 24 h, 之后更换细胞培养基培养 47 h 后, 每孔加入 10 μL CCK-8 试剂, 避光, 继续培养 1 h。在波长 450 nm 下, 用酶标仪 (Thermo scientific, USA) 测定每孔的吸光度值。

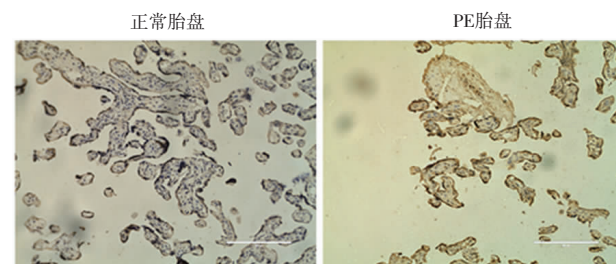
1.3 统计学分析

应用 GraphPad Prism 6.0 软件 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA) 进行分析和作图, 所有数据采用均数 $\pm$ 标准差表示, 两组之间的比较采用独立样本 t 检验分析, 多组数据之间的比较采用单因素方差进行分析, 组间两两比较采用 Dunnett- t 检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

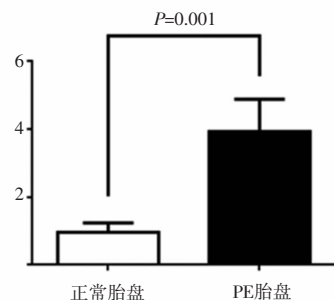
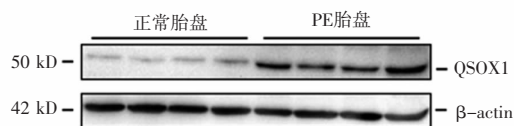
2 结果

2.1 QSOX1 在正常和 PE 胎盘中的蛋白表达

由图 1A 胎盘免疫组化结果可见, 与正常胎盘相比, QSOX1 在 PE 胎盘中的阳性表达增高。QSOX1 在胎盘中的蛋白表达水平通过 Western blot 检测, 如图 1B 显示 QSOX1 在 PE 胎盘中的蛋白表达量 (0.955 ± 0.285) 比正常胎盘 (3.921 ± 0.960) 约高 75.6%, 差异具有统计学意义 ($t=5.924$, $P=0.001$)。



A. 胎盘组织免疫组化分析 (200 $\times$)



B. Western blot 检测 QSOX1 蛋白表达

图 1 QSOX1 在正常和 PE 胎盘中的表达

2.2 缺氧处理后 HTR-8/Svneo 细胞中 QSOX1 和 HIF-1 α 的蛋白表达水平

为了模拟在 PE 发生发展过程中胎盘的缺氧状态^[3,11],将 HTR-8/Svneo 细胞置于缺氧的环境,从而进一步分析缺氧对 QSOX1 表达的影响。如图 2 所示,Western blot 结果表明,随着细胞缺氧 0、6、12、24 h, QSOX1 蛋白表达水平明显升高 ($F=177.400, P=0.000$), 其蛋白表达量分别为 1.183 ± 0.160 、 2.459 ± 0.253 、 3.987 ± 0.098 、 3.358 ± 0.031 , 与 0 h 相比, 缺氧 6、12、24 h 的 QSOX1 蛋白表达明显增加, 差异具有统计学意义 (均 $P=0.000$)。同时 HIF-1 α 蛋白表达水平也明显升高 ($F=62.220, P=0.000$), 细胞缺氧 0、6、12、24 h 其 HIF-1 α 蛋白表达量分别为 1.051 ± 0.444 、 1.270 ± 0.098 、 1.912 ± 0.118 、 2.107 ± 0.154 , 与 0 h 相比, 在缺氧 12、24 h 的 HIF-1 α 蛋白表达明显增加, 且差异具有统计学意义 ($P=0.000; P=0.000$)。以上结果提示在缺氧状态下可能通过 HIF-1 α 途径促进 QSOX1 在 HTR-8/Svneo 细胞中的表达。

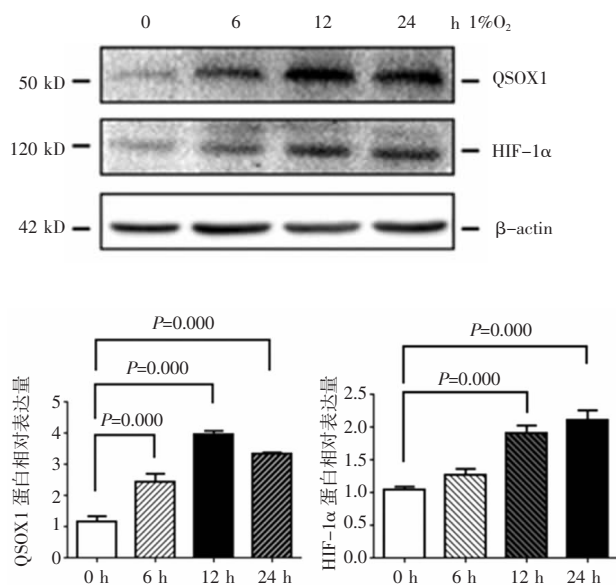


图 2 缺氧时 HTR-8/Svneo 细胞 QSOX1 和 HIF-1 α 的蛋白表达

2.3 QSOX1 干扰后在 HTR8/SVneo 细胞中的蛋白表达水平

进一步研究 QSOX1 对滋养细胞增殖和凋亡生物学行为的影响, 利用 siRNA 干扰 HTR8/SVneo 细胞中 QSOX1 的表达。Western blot 结果显示, 3 条 QSOX1 特异 siRNA 序列中的 2 条序列有明显的 QSOX1 沉默效果 ($F=20.080, P=0.000$), 与 siControl (11.911 ± 1.356) 相比, siQSOX1-1 干扰组和 siQSOX1-3 干扰组 QSOX1 蛋白表达受到明显抑制, 蛋白表达量分别为 7.666 ± 1.325 和 3.276 ± 2.019 , 差异具有统计学意义 ($P=0.018, P=0.004$), 但 siQSOX1-2 干扰组 (9.580 ± 0.470) 没有明显的沉默效应 ($P>0.05$) (图 3)。其中 siQSOX1-3 干扰效果最好, 因此选用此序列用于后续的实验。

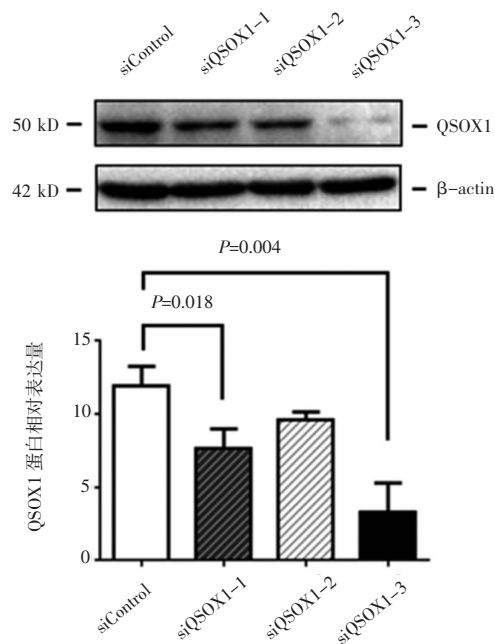


图 3 QSOX1 干扰后在 HTR8/SVneo 细胞中的蛋白表达水平

2.4 QSOX1 蛋白表达抑制后对 HTR8/SVneo 细胞凋亡的影响

siRNA 干扰 HTR8/SVneo 细胞 QSOX1 表达后, Western blot 结果显示干扰组 HTR8/SVneo 细胞 (siQSOX1) 中 QSOX1 蛋白表达量 (1.652 ± 0.623) 相比对照组 (siControl) (5.064 ± 1.426) 降低约 67.4%, 差异具有统计学意义 ($t=3.797, P=0.019$) (图 4A)。Western blot 进一步检测 HTR8/SVneo 细胞对照组 (siControl) 与 QSOX1 干扰组 (siQSOX1) 中 Caspase 蛋白表达, 结果提示干扰 QSOX1 表达后细胞中 Cleaved caspase-9 蛋白表达量 (1.075 ± 0.121) 和 Cleaved caspase-3 蛋白表达量 (1.011 ± 0.019) 明显低于各自对照组 ($2.940 \pm 0.514; 9.223 \pm 1.230$), 差异具有统计学意义 ($t=11.560, P=0.004; t=6.118, P=0.000$) (图 4A)。同时, 流式细胞仪检测 HTR8/SVneo 细胞凋亡结果表明, 与对照组 (siControl) (21.007 ± 2.214)% 相比, QSOX1 干扰组 (siQSOX1) 凋亡细胞 (10.057 ± 0.388)% 明显减少, 差异具有统计学意义 ($t=8.437, P=0.001$) (图 4B)。研究结果表明下调 QSOX1 的蛋白表达能显著抑制细胞凋亡。

2.5 QSOX1 蛋白表达抑制后对 HTR8/SVneo 细胞增殖的影响

Western blot 结果如图 5A 所示, QSOX1 下调的 HTR8/SVneo 细胞 (siQSOX1) 的周期蛋白 D1 (Cyclin D1) 蛋白表达量 (4.189 ± 0.399) 高于对照组 (siControl) (1.851 ± 0.972), 差异具有统计学意义 ($t=3.854, P=0.018$)。采用 CCK-8 比色法检测细胞增殖能力, 结果显示抑制 QSOX1 表达的 HTR8/SVneo 细胞 (siQSOX1) 其 OD 值 (1.401 ± 0.059) 明显高于对照组细胞 (siControl) (0.389 ± 0.162), 差异具有统计学意义 ($t=3.904, P=0.020$) (图 5B), 提示下调 QSOX1 后 HTR8/SVneo 细胞的增殖能力增加。

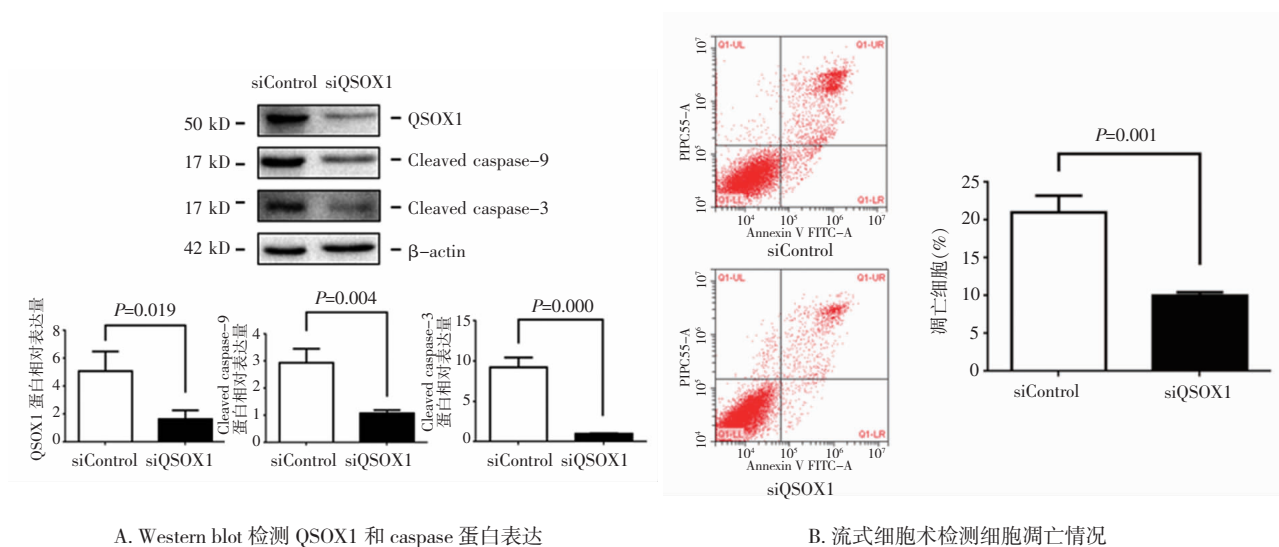


图 4 QSOX1 蛋白表达抑制后对 HTR8/SVneo 细胞凋亡的检测

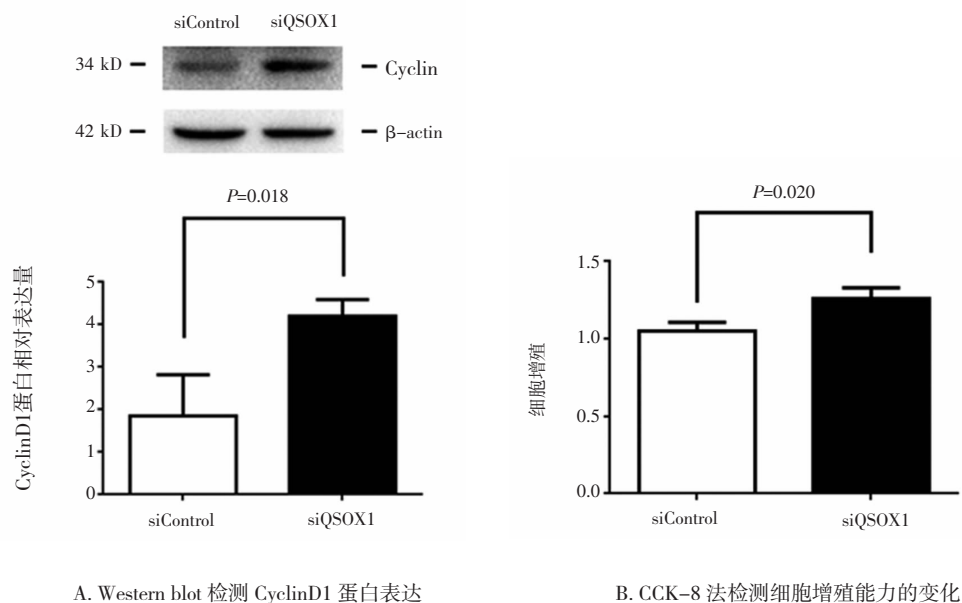


图 5 QSOX1 蛋白表达抑制后对 HTR8/SVneo 细胞增殖的检测

3 讨论

QSOX1 是一种硫氧还原蛋白 (TRX) 和巯基氧化酶 (ERV1) 古老基因的融合, 位于人类第 1 号染色体长臂第 2 区第 4 条带 (1q24), 主要通过氧化巯基、分子氧生成二硫键和 H_2O_2 [6]。研究发现 QSOX1 在乳腺癌、胰腺癌、前列腺癌等多种癌组织中呈高表达, 并且肿瘤细胞所处的缺氧环境可以诱导 QSOX1 的表达 [6, 12]。此外, 在 QSOX1 高表达的癌组

织中, 肿瘤细胞产生的大量活性氧簇 (reactive oxygen species, ROS) H_2O_2 可以改变细胞内部微环境, 促使肿瘤的发生发展 [6]。Saben 等 [13] 的研究表明 QSOX1 基因在人类胎盘组织中的表达高于其他组织, 胎盘中它位于合体细胞和胎儿血管内皮细胞, 可能与胎盘的生物学功能相关。但 QSOX1 在胎盘中的作用及与发育相关疾病的关系目前并不清楚。

虽然目前 PE 的发病机制尚未明了, 但是已有的研究表明 ROS 和抗氧化剂之间的不平衡所导致的氧化应激在 PE 的发生发展过程中具有重要作

用^[3,14]。ROS 家族成员 H_2O_2 为 QSOX1 的一种反应产物,它能促进胎盘中缺血/再灌注诱发的氧化应激^[14]。有研究发现与正常妊娠期妇女相比,PE 妇女血浆中 H_2O_2 水平明显升高^[7-8]。并且与肿瘤细胞相似的是,子痫前期发生过程中,胎盘将处于缺氧和氧化应激的状态。本研究发现在 PE 妇女胎盘中 QSOX1 的蛋白表达明显高于正常妊娠妇女,提示 QSOX1 可能参与 PE 的发生。结合本课题组先前的研究,给予 HTR8/SVneo 细胞缺氧处理适合于体外研究 PE 病理生理机制^[15]。因此,本研究采用单纯缺氧处理 HTR8/SVneo 细胞来模拟 PE 发病过程,Western blot 结果显示缺氧条件下 QSOX1 蛋白表达明显增加,进一步提示 QSOX1 可能与 PE 的发病有关。

正常妊娠时,螺旋动脉重铸良好有利于母胎血液供应和物质交换,而螺旋动脉重铸障碍会引起胎盘缺血缺氧,导致 PE、流产、宫内生长受限等妊娠期并发症的发生^[2],而滋养细胞是子宫螺旋动脉重铸的关键细胞。因此,本研究采用 siRNA 技术干扰 HTR8/SVneo 细胞中 QSOX1 的表达,Western blot 结果显示下调 QSOX1 的蛋白表达能显著抑制半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶介导的凋亡信号通路,上调细胞周期蛋白 Cyclin D1 的表达。随后采用流式细胞术检测细胞凋亡,和 CCK-8 试剂盒检测细胞增殖水平,均得到与 Western blot 相一致的结果。以上结果均证明 QSOX1 蛋白表达上调可诱导滋养细胞凋亡增加和抑制细胞增殖,从而明确了 QSOX1 对滋养细胞凋亡和增殖的生物学行为的影响。

由此推测,QSOX1 的过表达引起的滋养细胞凋亡增加和增殖减少,这或许导致子宫螺旋动脉重铸不足,造成胎盘缺血缺氧从而可能诱发 PE 的发生。但 QSOX1 是否是通过产生大量 H_2O_2 或其他途径发挥作用,以及对胎盘形成发育和在 PE 发生发展中的其他作用还需进一步研究,还有待在动物模型中做进一步的观察和验证。本研究结果首次探索了 QSOX1 在 PE 胎盘中的蛋白表达和对滋养细胞生物学功能的影响,这为 QSOX1 在胎盘中可能发挥的作用,以及 PE 可能的发病机制提供了新的思路和理论依据。

参 考 文 献

- [1] Mol BWJ, Roberts CT, Thangaratinam S, et al. Pre-eclampsia[J]. Lancet, 2016, 387(10022): 999-1011.
- [2] Lyall F, Robson SC, Bulmer JN. Spiral artery remodeling and trophoblast invasion in preeclampsia and fetal growth restriction: relationship to clinical outcome[J]. Hypertension, 2013, 62(6): 1046-1054.
- [3] Zárate A, Saucedo R, Valencia J, et al. Early disturbed placental ischemia and hypoxia creates immune alteration and vascular disorder causing preeclampsia[J]. Arch Med Res, 2014, 45(7): 519-524.
- [4] Barakonyi A, Miko E, Szereday L, et al. Cell death mechanisms and potentially cytotoxic natural immune cells in human pregnancies complicated by preeclampsia[J]. Reprod Sci, 2014, 21(2): 155-166.
- [5] Longtine MS, Chen B, Odibo AO, et al. Villous trophoblast apoptosis is elevated and restricted to cytotrophoblasts in pregnancies complicated by preeclampsia, IUGR, or preeclampsia with IUGR[J]. Placenta, 2012, 33(5): 352-359.
- [6] Lake DF, Faigel DO. The emerging role of QSOX1 in cancer[J]. Antioxid Redox Signal, 2014, 21(3): 485-496.
- [7] Tang C, Liang J, Qian J, et al. Opposing role of JNK-p38 kinase and ERK1/2 in hydrogen peroxide-induced oxidative damage of human trophoblast-like JEG-3 cells[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2014, 7(3): 959-968.
- [8] Cicero AF, Salvi P, D'Addato S, et al. Association between serum uric acid, hypertension, vascular stiffness and subclinical atherosclerosis: data from the Brisighella Heart Study[J]. J Hypertens, 2014, 32(1): 57-64.
- [9] Burton GJ, Sebire NJ, Myatt L, et al. Optimising sample collection for placental research[J]. Placenta, 2014, 35(1): 9-22.
- [10] Tong C, Morrison A, Mattison S, et al. Impaired SIRT1 nucleocytoplasmic shuttling in the senescent heart during ischemic stress[J]. FASEB J, 2013, 27(11): 4332-4342.
- [11] Korkes HA, Oliveira LD, Sass N, et al. Relationship between hypoxia and downstream pathogenic pathways in preeclampsia[J]. Hypertens Pregnancy, 2017, 36(2): 145-150.
- [12] Shi CY, Fan Y, Liu B, et al. HIF1 contributes to hypoxia-induced pancreatic cancer cells invasion via promoting QSOX1 expression[J]. Cell Physiol Biochem, 2013, 32(3): 561-568.
- [13] Saben J, Zhong Y, McKelvey S, et al. A comprehensive analysis of the human placenta transcriptome[J]. Placenta, 2014, 35(2): 125-131.
- [14] Kang C, Cho W, Park M, et al. H_2O_2 -triggered bubble generating antioxidant polymeric nanoparticles as ischemia/reperfusion targeted nanotheranostics[J]. Biomaterials, 2016, 85: 195-203.
- [15] 杨晓涛, 韩顶立, Baker PN, 等. 体外缺氧诱导子痫前期滋养细胞模型优化及代谢组学鉴定[J]. 重庆医科大学学报, 2017, 42(8): 1045-1052.

(责任编辑:张辉洁)