

重度子痫前期胎盘 microRNA 谱差异表达研究

李晓娟¹ 周芝熠¹ 王珏¹ 钱源^{2,3,4*}

(1. 昆明医科大学第一附属医院 产科, 云南 昆明 650032; 2. 云南省检验医学重点实验室, 云南 昆明 650032; 3. 云南省内设研究机构实验诊断研究所, 云南 昆明 650032; 4. 昆明医科大学第一附属医院医学 检验科, 云南 昆明 650032)

【摘要】 目的 筛选云南地区重度子痫前期孕妇与正常孕妇胎盘组织中 microRNA 差异表达, 探究 microRNA 与重度子痫前期发病机制的关系。**方法** 通过对 3 例重度子痫前期患者和 3 例正常孕妇胎盘组织抽提 Total RNA 样品检测, Small RNA Sample Pre Kit 文库构建, 上机行 HiSeq 测序, 获得 microRNA 的表达数据。对差异表达的 microRNA 进行差异分析、靶基因预测、靶基因注释等生物信息学分析。**结果** 通过对实验组与对照组 microRNA 表达谱的对比, 筛选出了 41 个差异表达的 microRNA, 其中 22 个表达上调, 19 个表达下调。对候选靶基因 KEGG 富集最显著的 20 条分析结果显示: 候选靶基因功能富集通路与 Rap1 信号通路、雌激素信号通路、焦点黏着、FcγR 介导的吞噬作用、调节干细胞多能性的信号通路、钙信号通路、炎症介质调节的 TRP 通道、Ras 信号通路、TGF-β 信号通路的炎症介质调节等相关。**结论** 重度子痫前期与正常产妇胎盘组织存在差异表达的 microRNA, 可能与重度子痫前期的发病机制相关, 胎盘组织中差异表达的 microRNA 为探寻新的重度子痫前期诊断标记物及潜在治疗靶点提供依据。

【关键词】 重度子痫前期; microRNAs; 外泌体; 发病机制; 生物标记物

【中图分类号】 R714.56 **【文献标识码】** A

【Abstract】 Objective To screen the differential expression of microRNA in placenta of pregnant women with severe preeclampsia and normal pregnant women in Yunnan and explore the relationship between microRNA and pathogenesis of severe preeclampsia. **Method** Total RNA was extracted from placentas of 3 severe preeclampsia patients and 3 normal pregnant women. The small RNA Sample Pre Kit library was constructed and sequenced by HiSeq. The differentially expressed microRNAs were analyzed by bioinformatics such as differential analysis, target gene prediction and target gene annotation. **Results** By comparing the microRNA expression profiles of the experimental group and the control group, 41 differentially expressed microRNAs were screened out, of which 22 were up-regulated and 19 down-regulated. The 20 most significant analysis results of KEGG enrichment showed that the candidate target gene enrichment pathway was associated with Rap1 signaling pathway, estrogen signaling pathway, focal adhesion, Fc-gamma R-mediated phagocytosis, signal pathway regulating stem cell pluripotency, calcium signaling pathway, TRP pathway regulated by inflammatory mediators, and Ras signaling pathway. The TGF-beta signaling pathway is mediated by inflammatory mediators. **Conclusions** Differentially expressed microRNA in placenta of preeclampsia women may be related to the pathogenesis of severe preeclampsia. Differentially expressed microRNA in placenta may provide a basis for exploring new diagnostic markers and po-

DOI: 10.13470/j.cnki.cjpd.2019.02.005

基金项目: 国家自然科学基金地区基金资助项目(81360103)、云南省高层次卫生技术人才培养(后备人才)资助项目(H-201628)、2017 年云南省应用基础研究计划面上项目(2017FB107)、2017 年国家自然科学基金院内匹配资助项目(81760273)

* 通信作者: 钱源, E-mail: yuanqian2x@hotmail.com

tential therapeutic targets for severe preeclampsia.

【Key words】 severe preeclampsia; microRNAs; exosome; pathogenesis; biomarkers

子痫前期是妊娠期特有疾病,对母儿健康造成严重损害,重度子痫前期是引起孕产妇及新生儿患病率和死亡率增加的主要原因。有研究显示 3%~8% 的孕期妇女可发生子痫前期,并与妊娠期高血压和蛋白尿有关^[1]。目前子痫前期的发病机制尚未明确,普遍认为子痫前期是多种因素共同作用的结果,如滋养细胞功能障碍、子宫螺旋动脉重塑障碍、血管内皮细胞广泛损伤、母胎免疫不耐受等^[2]。胎盘娩出后子痫前期病情可明显好转,提示其病因可能与胎盘相关。子痫前期不仅危害母体,还可对后代造成不良影响,Kajantie E 等^[3]研究发现子痫前期可通过胎儿宫内内皮功能障碍增加后代患心血管疾病的概率。早期有效的预测手段将有助于降低子痫前期的发病率,减轻该病的严重性,减少并发症及改善围生期不良结局。

microRNA 是一类长约 22 个核苷酸的单链非编码 RNA,可以通过与靶 mRNA 的 3'UTR 完全或不完全互补配对结合,导致靶基因降解或抑制其蛋白质翻译,从而参与基因的表达调控,在发育、分化、细胞增殖、凋亡等基本的细胞生物学过程中起重要作用^[4]。microRNA 对基因进行翻译后水平的调节,Pineles BL 等^[5]于 2007 年首次报导胎盘组织中 microRNAs 差异表达,并提示胎盘中 microRNA 差异表达可能与子痫前期的病理机制相关。此后多项研究发现重度子痫前期患者胎盘组织中 microRNA 的表达水平显著高于正常孕妇^[6]。最近的一些研究表明 microRNA 在调节胎盘发育和功能方面起着重要作用^[7]。尤其是对于子宫螺旋动脉重铸、滋养细胞增殖、侵袭功能、内皮功能、上皮间质转化、Ca²⁺ 反应及 NO 产生等方面起调控作用。本研究通过将重度子痫前期患者 microRNA 表达谱与正常孕妇的对比筛选,寻找差异表达的 microRNA,为探究 microRNA 在重度子痫前期发病机制中的作用提供依据,为探寻新的重度子痫前期诊断标记物及潜在治疗靶点提供依据。

1 对象与方法

1.1 研究对象

1.1.1 实验组选取 2016 年在昆明医科大学第一附属医院住院分娩的 3 例重度子痫前期患者。重度子痫前期组的诊断标准按照美国妇产科医师学会的要求,以下表现则作为子痫前期的严重表现^[8]:①收缩压 ≥ 160 mmHg 或舒张压 ≥ 110 mmHg(卧床休息,两次血压测量间隔至少 4h);②血小板减少(血小板 $<100 \times 10^9/L$);③肝功能损害(血清转氨酶水平为正常参考值 2 倍以上),严重的持续右上腹或上腹痛,对药物治疗没有反应,并排除其他诊断,或两者兼而有之;④进行性肾功能不全(血清肌酐浓度大于 1.1mg/dl(97.2 μ mol/L)或在无其他肾脏疾病的情况下血肌酐浓度为正常参考值 2 倍以上);⑤肺水肿;⑥新发生的脑功能或视觉障碍。

1.1.2 对照组选取同时期相同孕产次的 3 例正常患者。

1.1.3 排除标准合并原发性高血压、心血管疾病、肝肾疾病、糖尿病、肿瘤、急慢性感染性疾病及胎儿染色体异常或发育畸形等妊娠合并症病史。所选样本均经过昆明医科大学第一附属医院伦理委员会批准,每位研究对象均已签署知情同意书。

1.2 研究方法

1.2.1 胎盘组织处理及 microRNA 的分离及提取 胎盘娩出后,选取胎盘中无钙化和出血点的部位,从母体面至胎儿面采集数块面积约 1cm $\times$ 1cm $\times$ 1cm 的胎盘组织,并用生理盐水反复漂洗去除血液等,用纱布吸干后加入 RNA later 后置于-80℃ 的冰箱保存,准备对等量混合后组织中 Total RNA 的提取。

1.2.2 microRNA 测序分析样品检测合格后,使用 Small RNA Sample Pre Kit 构建文库,文库构建完成后,先使用 Qubit2.0 进行初步定量,稀释文库至 1ng/ μ l,随后使用 Agilent 2100 对文库的 insert size 进行检测,符合预期后使用 Q-PCR 方法对文库的有效浓度进行准确定量(文库有效浓度 >2 nM)。库

检合格后通过 illumina HiSeqTM2500 平台进行高通量测序,测序及结果分析由北京诺禾致源公司完成。

1.2.3 microRNA 数据分析对高通量测序结果进行质量评估后用 bowtie 将长度筛选后的 sRNA 定位到参考序列上,分析 small RNA 在参考序列上的分布情况,将上述 mapped 到参考序列上的 reads,与 miRBase 中指定范围序列进行比对,得到各样品匹配上的 sRNA 的详细情况。对各样本中已知和新 microRNA 进行表达量的统计,并用 TPM 进行表达量归一化处理。并对样品间基因表达水平进行相关性分析以检验实验可靠性和样本选择是合理性。

1.3 microRNA 差异表达分析及筛选方法对样品采用基于负二项分布的 DESeq 进行分析,从差异倍数(Fold change)和校正后的显著水平 (padj/qvalue)两个水平进行评估,以 $qvalue < 0.01$ 、 $\log_2(\text{foldchange}) > 1$ 为筛选条件对差异 microRNA 进行筛选。再用火山图推断差异 microRNA 的整体

分布情况,将所有比较组合差异 microRNA 的并集在每个实验组中的 TPM 值,用 R 语言中的 pheatmap 聚类软件包进行层次聚类分析。

1.4 microRNA 靶基因预测、候选靶基因 GO 富集分析及 KEGG 分析使用 miRanda 软件 (<http://www.microrna.org/microrna/home.do>) 对差异 microRNA 进行靶基因预测,之后我们对每组差异表达的 microRNA 靶基因集合通过 Goseq 方法进行 Gene Ontology 富集分析,应用 KOBAS 进行 KEGG 富集分析,以 $P < 0.05$ 为筛选标准。

2 结果

2.1 正常孕妇与重度子痫前期患者胎盘组织基因表达水平相关分析显示 $R^2 = 0.975$,spearman 相关系数为 0.905,kendall-tau 相关系数为 0.788,表明样本选择合理、实验可靠(图 1)。

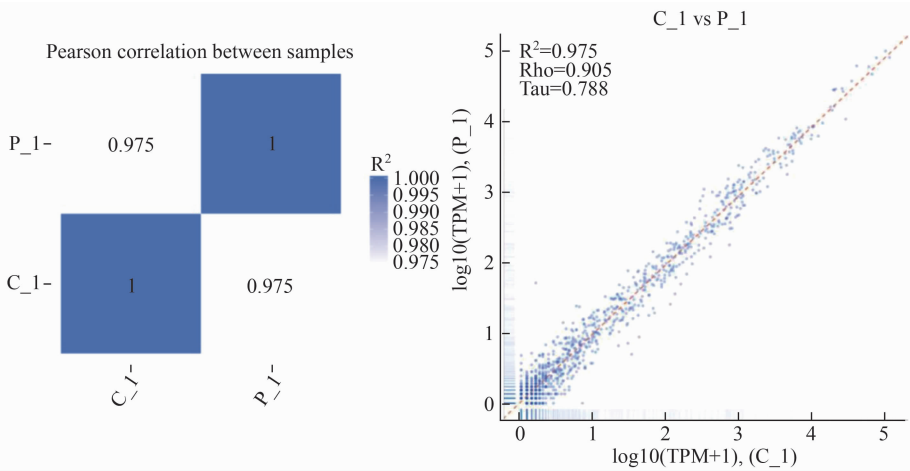


图 1 样品间 microRNA 表达量相关性示意图

横坐标与纵坐标分别为为样品的 $\log_{10}(\text{TPM} + 1)$ (R^2 :pearson 相关系数方; Rho :spearman 相关系数; Tau :kendall-tau 相关系数)。

2.2 实验筛选出 931 个差异表达的 microRNA,有 41 个 microRNA 符合 $q\text{ value} < 0.01$ 、 $\log_2(\text{fold change}) > 1$ 的筛选条件,其中 22 个表达上调,19 个表达下调(表 1)。差异 microRNA 火山图、整体层次聚类图显示这些 microRNA 在两组中有显著差

异(图 2)。

2.2 对候选靶基因 KEGG 富集最显著的 20 条分析结果显示:候选靶基因功能富集通路与 Rap1 信号通路、雌激素信号通路、焦点黏着、FcγR 介导的吞噬作用、调节干细胞多能性的信号通路、钙信号通路、炎症介质调节的 TRP 通道、Ras 信号通路、TGF-β 信号通路的炎症介质调节等相关见表 2。

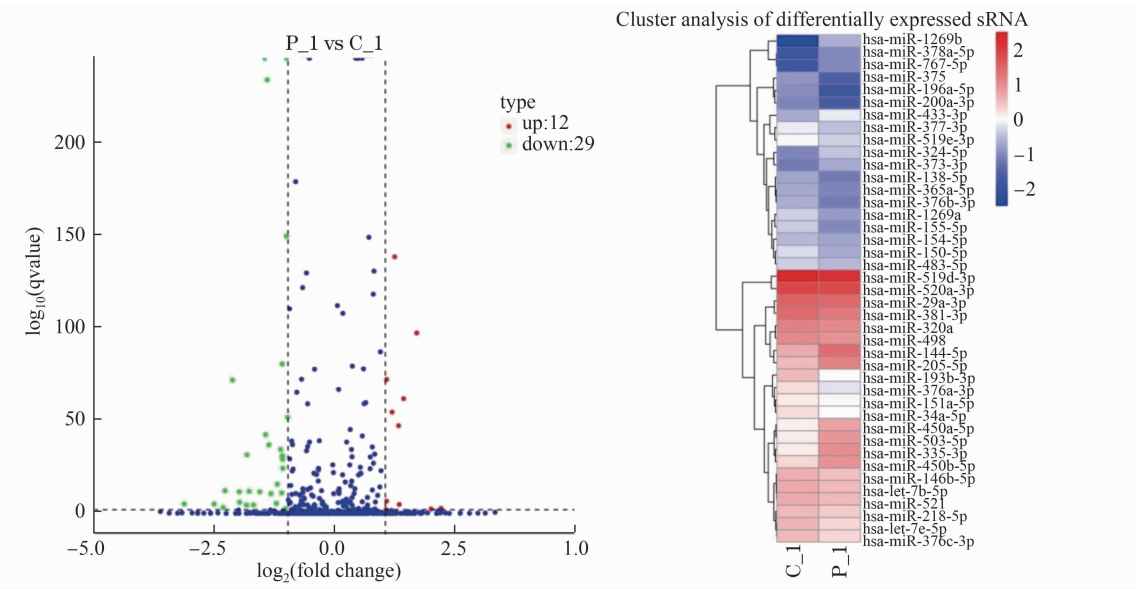


图 2 差异 miRNA 火山图、整体层次聚类图

火山图:横坐标代表 miRNA 在不同实验组中表达倍数化,纵坐标代表 miRNA 表达量变化的统计学显著程度, 图中的散点代表各个 miRNA,蓝色圆点表示无显著性差异的 miRNA,红色圆点表示显著上调的差异 miRNA, 绿色圆点表示显著下调的差异 miRNA;聚类图:以 log10(TPM+1)值进行聚类,红色表示高表达 miRNA, 蓝色表示低表达 miRNA

表 1 差异表达的 microRNA 列表

microRNA	差异倍数	P	q	表达调控
hsa-miR-373-3p	1. 0169	0. 0013998	0. 007363	up
hsa-miR-433-3p	1. 0267	2. 6415E-08	2. 02E-07	up
hsa-miR-205-5p	1. 0273	8. 038E-75	2. 67E-73	up
hsa-miR-450b-5p	1. 1391	4. 9045E-57	1. 27E-55	up
hsa-miR-144-5p	1. 192	1. 48E-141	1. 1E-139	up
hsa-miR-450a-5p	1. 2714	1. 1581E-49	2. 84E-48	up
hsa-miR-324-5p	1. 2846	2. 1329E-06	1. 37E-05	up
hsa-miR-503-5p	1. 3765	2. 4164E-64	7. 03E-63	up
hsa-miR-335-3p	1. 6449	4. 126E-100	1. 83E-98	up
hsa-miR-767-5p	1. 9413	0. 00073191	0. 003939	up
hsa-miR-378a-5p	2. 1455	0. 00029344	0. 001646	up
hsa-miR-1269b	6. 2644	2. 7481E-13	2. 61E-12	up
hsa-miR-498	-1. 0078	3. 3985E-54	8. 55E-53	down
hsa-miR-29a-3p	-1. 0323	8. 822E-153	7. 5E-151	down
hsa-miR-520a-3p	-1. 034	0	0	down
hsa-miR-154-5p	-1. 0531	0. 00060403	0. 003289	down
hsa-miR-218-5p	-1. 1071	2. 5119E-26	3. 6E-25	down
hsa-miR-146b-5p	-1. 1119	2. 759E-31	4. 35E-30	down
hsa-let-7b-5p	-1. 1155	4. 0015E-33	6. 77E-32	down
hsa-miR-320a	-1. 1194	2. 6333E-83	1. 07E-81	down
hsa-miR-151a-5p	-1. 1292	8. 5492E-13	7. 96E-12	down
hsa-miR-521	-1. 1505	1. 0939E-36	2. 04E-35	down
hsa-miR-34a-5p	-1. 1206	1. 2455E-17	1. 43E-16	down
hsa-miR-483-5p	-1. 2391	5. 6036E-07	3. 75E-06	down
hsa-miR-519e-3p	-1. 3499	2. 0849E-12	1. 87E-11	down
hsa-miR-376c-3p	-1. 3934	3. 5137E-39	6. 96E-38	down
hsa-miR-381-3p	-1. 4264	1. 428E-237	1. 5E-235	down
hsa-let-7e-5p	-1. 4601	9. 9213E-45	2. 31E-43	down

续表

hsa-miR-519d-3p	-1.4792	0	0	down
hsa-miR-377-3p	-1.5791	1.871E-13	1.81E-12	down
hsa-miR-365a-5p	-1.7088	4.0247E-06	2.53E-05	down
hsa-miR-150-5p	-1.7976	9.8536E-14	9.76E-13	down
hsa-miR-376a-3p	-1.8421	1.0282E-33	1.77E-32	down
hsa-miR-138-5p	-1.8493	4.8484E-06	2.97E-05	down
hsa-miR-376b-3p	-1.9951	1.1313E-07	8.1E-07	down
hsa-miR-1269a	-2.0013	1.7694E-13	1.73E-12	down
hsa-miR-193b-3p	-2.1404	1.6546E-74	5.31E-73	down
hsa-miR-155-5p	-2.2932	5.1382E-14	5.2E-13	down
hsa-miR-200a-3p	-2.3318	0.0001145	0.000662	down
hsa-miR-375	-2.5157	1.1981E-06	7.8E-06	down
hsa-miR-196a-5p	-3.1321	1.1088E-06	7.27E-06	down

表 2 候选靶基因 KEGG 富集最显著的 20 条通路

Pathway term	P	gene number
Rap1 signaling pathway	0.113107	199
Axon guidance	0.129303	123
Focal adhesion	0.152667	192
Phosphatidylinositol signaling system	0.158	80
Fc gamma R-mediated phagocytosis	0.177698	88
Platelet activation	0.186251	123
Leukocyte transendothelial migration	0.196477	111
Endocytosis	0.197156	194
Signaling pathways regulating pluripotency of stem cells	0.198227	132
Proteoglycans in cancer	0.199858	186
Cholinergic synapse	0.208482	106
Renal cell carcinoma	0.217874	64
Calcium signaling pathway	0.218405	164
Estrogen signaling pathway	0.220588	94
AMPK signaling pathway	0.221973	115
Inflammatory mediator regulation of TRP channels	0.223327	93
Hippo signaling pathway	0.225498	141
Lysosome	0.227186	113
Ras signaling pathway	0.227516	205
TGF-beta signaling pathway	0.229267	76

3 讨论

子痫前期的发病机制目前尚未明确,国内外多项研究认为其病理根源在于胎盘,胎盘功能障碍与子痫前期发生、发展密切相关。子宫螺旋动脉重塑不良、胎盘缺氧、滋养细胞功能障碍、炎症反应和内皮功能障碍在子痫前期发病机制中起关键作用,目前已有多项关于子痫前期患者胎盘中 microRNA 表达谱的研究表明子痫前期胎盘 microRNA 存在差异表达,且与子痫前期密切相关^[9, 10]。可推测胎盘中过表达的 microRNA 可能过度降解对子痫前期起抑制作用的靶 mRNA,导致相关蛋白表达下

降;相反,低表达的 microRNA 可能对促进子痫前期发生发展的靶 mRNA 抑制不足,导致相关蛋白表达上调。这些差异表达的 microRNA 可能通过调节相应的靶基因,通过不同的信号通路在子痫前期的病理过程中发挥重要作用。

此次重度子痫前期胎盘差异表达的 microRNA 候选靶基因功能富集通路与细胞增殖、黏附、迁移、雌激素信号通路、钙调节、炎症介质调节、TGF-β 信号通路等相关,这些通路异常与子痫前期发生、发展密切相关。这些信号通路与胎盘滋养细胞增殖、侵袭等功能密切相关,滋养细胞功能障碍可导致螺旋动脉重铸不良、胎盘浅着床,胎盘缺血、缺氧引起炎

症因子释放导致内皮损伤,诱发全身血管收缩、体液外渗透因子痫前期的发生。其中部分通路已被验证和子痫前期发病相关。Schiessl B 等人的研究表明雌激素受体(estrogen receptor, ESR)在子痫前期患者胎盘组织中高表达,ESR 可能通过影响滋养细胞的功能参与子痫前期的发生、发展^[11]。妊娠期母体易缺钙,细胞内 Ca^{2+} 浓度与血管平滑肌的兴奋性有关,血管内皮素(ET-1)可使细胞内钙通道开放,使 Ca^{2+} 向细胞内转移,使平滑肌兴奋性增加,同时 Ca^{2+} 还与 NO 的生成和活性维持有关,低 Ca^{2+} 时 NO 生成减少,这些都可引起血管收缩导致血压升高^[12]。

侵袭性绒毛外滋养细胞重建子宫螺旋动脉可增加血管直径,使胎盘血流灌注增加,这一过程异常可引起胎盘缺氧,导致滋养细胞功能紊乱诱发子痫前期。此次研究通过对重度子痫前期组及对照组 microRNA 表达谱进行对比,筛选出了 41 个差异表达的 microRNA。其中大部分 microRNA 是否与子痫前期发生、发展相关尚未见报导,需进一步研究证实。此次研究发现在重度子痫前期胎盘中 hsa-let-7b-5p 和 hsa-let-7e-5p 表达水平下调。目前已有关于 let-7 家族的研究表明其与子痫前期相关,但具体机制有待进一步研究。Xu Dai 等人^[13] 研究发现低表达水平的 miR-let-7d 除了可促进子痫前期滋养细胞的增殖、分化和侵袭能力,在抑制细胞凋亡方面起着重要作用,miR-Let-7d 可能成为子痫治疗方法的研究中的潜在靶基因。目前研究发现 Let-7 是一种低氧反应性 miRNA,低氧条件下 let-7 水平升高,通过其靶基因 AGO1(argonaute 1)上调血管内皮生长因子(VEGF)促进血管生成^[14, 15]。同时研究发现 let-7c 与抗凋亡基因 Bcl-xL mRNA 结合,通过抑制 Bcl-x L 转录,从而诱导细胞凋亡^[16]。缺氧和细胞凋亡都与子痫前期的发生相关,hsa-let-7b-5p 和 hsa-let-7e-5p 是否参与子痫前期的发生、发展有待进一步研究。

研究发现胎盘可通过称为外泌体的小纳米囊泡与母体生理学进行交流,胎盘细胞分泌的外泌体在妊娠 6 周就可从母体循环中被鉴定出来,并且它们的浓度随着胎龄的增加而增加^[17]。这些信号分子

被认为在多泡体与细胞膜进行胞外融合后从母细胞释放到外泌体中。一旦外泌体被释放到细胞外空间,一些外泌体就有能力沿着体循环以非激素信号或通信的形式与体内的远处组织相互作用。由于外泌体在体循环,它们为起源组织的无创活检的发展提供了机会,这为筛选和诊断相关疾病标志物提供了新的途径^[18]。已有研究证实了组织特异性外泌体在子痫前期诊断中的应用价值,可作为子痫前期潜在的生物标记物^[19]。Carlos Salomon 等人^[20] 对无症状的妇女外泌体进行检测,发现随后发展为子痫前期的孕妇血浆中的外泌体浓度明显大于对照组,认为对母血中存在的胎盘衍生外泌体进行定量,并通过对标记物 miR-486-1-5p 和 miR-486-2-5p 表达量检测,可以及早发现有子痫前期风险的无症状妇女。Lauren Anton 等人的研究发现血清 miR-210 在子痫前期临床症状出现前数月就已升高,miR-210 有望成为子痫前期新的预测性血清生物标志物,有助于识别高危孕妇^[21]。此次研究中差异表达的 microRNA 尚未行外泌体研究验证,尚需进一步研究证实它们是否是子痫前期潜在的生物标记物。

子痫前期发病机制是十分复杂的,发病过程远在临床体征出现之前,因此很难找到识别早期的生物标志物。目前重度子痫前期管理多通过类固醇来诱导胎儿肺成熟和及时分娩结束妊娠,若能及早预测子痫前期发生,并提出有效的方法来阻止这一过程,将有助于减少子痫前期及其相关并发症的发生。通过对子痫前期胎盘组织中差异性表达的 microRNA 的检测研究,筛查出差异常表达的 microRNA 并通过进一步研究探索差异表达 microRNA 与子痫前期发病的相关性,通过检测相应外泌体水平作为标记物。为妊娠期及早筛查出子痫前期的高危孕妇,进而对其进行干预,改善妊娠结局提供可能性。通过此方法筛选出子痫前期相关 microRNA 有望成为子痫前期预测、诊断的标志物及治疗的靶点。

参考文献

- [1] Anderson UD, Olsson MG, Kristensen KH, et al. Review: Biochemical markers to predict preeclampsia[J]. Placenta,

- 2012,33(Suppl):S42-S7.
- [2] Ducat A, Doridot L, Calicchio R, et al. Endothelial cell dysfunction and cardiac hypertrophy in the STOX1 model of pre-eclampsia[J]. *Sci Rep*, 2016, 6:19196.
 - [3] Zhou C, Zou QY, Li H, et al. Preeclampsia downregulates microRNAs in fetal endothelial cells: roles of miR-29a/c-3p in endothelial function[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2017, 102(9):3470-3479.
 - [4] Bushati N, Cohen SM. microRNA functions[J]. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2007, 23(23):175.
 - [5] 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(3):261. e1-e6.
 - [6] 骆琦. miRNA 在重度子痫前期胎盘组织中的表达水平[J]. *中国优生与遗传杂志*, 2017, 7:69-70.
 - [7] Xie L, Mouillet JF, Chu T, et al. C19MC microRNAs regulate the migration of human trophoblasts[J]. *Endocrinology*, 2014, 155(12):4975-4985.
 - [8] Obstetriciansgynecologists ACO. Hypertension in pregnancy. Report of the American College of Obstetricians and Gynecologists' task force on hypertension in pregnancy[J]. *Obstet Gynecol*, 2013, 122(5):1122-1131.
 - [9] Luo S, Cao N, Tang Y, et al. Identification of key microRNAs and genes in preeclampsia by bioinformatics analysis[J]. *PloS One*, 2017, 12(6):e0178549.
 - [10] Gunel T, Hosseini MK, Gumusoglu E, et al. Expression profiling of maternal plasma and placenta microRNAs in pre-eclamptic pregnancies by microarray technology[J]. *Placenta*, 2017, 52:77.
 - [11] Schiessl B, Mylonas I, Hantschmann P, et al. Expression of endothelial NO synthase, inducible NO synthase, and estrogen receptors alpha and beta in placental tissue of normal, pre-eclamptic, and intrauterine growth-restricted pregnancies [J]. *J Histochem Cytochem*, 2005, 53(12):1441.
 - [12] Steinert JR, Wyatt AW, Jacob R, et al. Redox modulation of Ca²⁺ signaling in human endothelial and smooth muscle cells in pre-eclampsia[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2009, 11(5):1149-1163.
 - [13] Dai X, Cai Y. Down-regulation of microRNA let-7d inhibits the proliferation and invasion of trophoblast cells in pre-eclampsia[J]. *J Cell Biochem*, 2017, 119(1):1141-1151.
 - [14] Chen Z, Lai TC, Jan YH, et al. Hypoxia-responsive miRNAs target argonaute 1 to promote angiogenesis[J]. *J Clin Invest*, 2013, 123(3):1057-1067.
 - [15] Zhao C, Popel AS. Computational model of microRNA control of HIF-VEGF pathway: insights into the pathophysiology of ischemic vascular disease and cancer[J]. *PLoS Comput Biol*, 2015, 11(11):e1004612.
 - [16] Shimizu S, Takehara T, Hikita H, et al. The let-7 family of microRNAs inhibits Bcl-xL expression and potentiates sorafenib-induced apoptosis in human hepatocellular carcinoma [J]. *J Hepatol*, 2010, 52(5):698-704.
 - [17] Truong G, Guanzon D, Kinhal V, et al. Oxygen tension regulates the miRNA profile and bioactivity of exosomes released from extravillous trophoblast cells - Liquid biopsies for monitoring complications of pregnancy[J]. *Plos One*, 2017, 12(3):e0174514.
 - [18] Mitchell MD, Peiris HN, Kobayashi M, et al. Placental exosomes in normal and complicated pregnancy[J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2015, 213(4):S173-S181.
 - [19] Tannetta DS, Dragovic RA, Gardiner C, et al. Characterisation of syncytiotrophoblast vesicles in normal pregnancy and pre-eclampsia: expression of Flt-1 and endoglin [J]. *Plos One*, 2013, 8(2):e56754.
 - [20] Salomon C, Guanzon D, Scholzromero K, et al. Placental exosomes as early biomarker of preeclampsia - Potential role of exosomal microRNAs across gestation[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2017, 102(9):3182.
 - [21] Anton L, Olarerin-George AO, Schwartz N, et al. miR-210 inhibits trophoblast invasion and is a serum biomarker for preeclampsia[J]. *Am J Pathol*, 2013, 183(5):1437-1445.

(收稿日期:2019-04-29)

编辑:宋文颖