

GRHL2 在子痫前期患者胎盘中的表达及对滋养层细胞增殖、侵袭的影响

张 雅, 刘晓红

(陕西省人民医院产科, 陕西 西安 710068)

[摘要]目的 探讨粒状头样 2 基因 (GRHL2) 在子痫前期 (PE) 患者胎盘中的表达及对滋养层细胞增殖、侵袭的影响。方法 收集 2022 年 1 月至 6 月期间在陕西省人民医院进行剖宫产分娩的 32 例 PE 患者的胎盘组织 (PE 组), 同时收集同期在本院进行剖宫产分娩的 32 例正常妊娠产妇的胎盘组织 (对照组), Western blot 检测胎盘组织中 GRHL2 蛋白表达; 将对数生长长期的人绒毛膜滋养层细胞 HTR-8/Svneo 分为空白组、GRHL2 小干扰 RNA 阴性对照 (si-NC) 组、GRHL2 小干扰 RNA (si-GRHL2) 组、GRHL2 过表达质粒阴性对照 (pcDNA) 组、GRHL2 过表达质粒 (pcDNA-GRHL2) 组, CCK-8、克隆形成实验检测 HTR-8/Svneo 细胞 OD₄₅₀ 值、克隆形成率; Transwell 实验检测 HTR-8/Svneo 细胞侵袭; Western blot 检测 HTR-8/Svneo 细胞中 GRHL2、增殖细胞核抗原 (PCNA)、基质金属蛋白酶 (MMP)-2、磷酸化磷脂酰肌醇 3 激酶 (p-PI3K)、磷酸化丝氨酸苏氨酸蛋白激酶 (p-Akt) 蛋白表达。结果 PE 组患者胎盘组织中 GRHL2 蛋白表达水平高于对照组, 差异有统计学意义 ($t=57.240, P<0.05$); 与空白组、si-NC 组比较, si-GRHL2 组 HTR-8/Svneo 细胞中 GRHL2 蛋白表达降低, OD₄₅₀ 值、克隆形成率、侵袭细胞数、PCNA、MMP-2、p-PI3K、p-Akt 蛋白表达升高 (t 值介于 5.477~24.595 之间, $P<0.05$); 与空白组、pcDNA 组比较, pcDNA-GRHL2 组 HTR-8/Svneo 细胞中 GRHL2 蛋白表达升高, OD₄₅₀ 值、克隆形成率、侵袭细胞数、PCNA、MMP-2、p-PI3K、p-Akt 蛋白表达降低 (t 值介于 9.295~24.239 之间, $P<0.05$)。结论 GRHL2 在 PE 患者胎盘组织中高表达, 沉默 GRHL2 可促进 HTR-8/Svneo 细胞增殖与侵袭, 而过表达 GRHL2 可抑制 HTR-8/Svneo 细胞增殖与侵袭, 其机制可能与调控 PI3K/Akt 通路有关。

[关键词]粒状头样 2 基因; 子痫前期; 胎盘; 增殖; 侵袭

Doi:10.3969/j.issn.1673-5293.2024.09.002

[中图分类号]R173

[文献标识码]A

[文章编号]1673-5293(2024)09-0007-07

Expression of GRHL2 in the placenta of preeclampsia patients and its impacts on proliferation and invasion of trophoblast cells

ZHANG Ya, LIU Xiaohong

(Department of Obstetrics, Shaanxi Provincial People's Hospital, Shaanxi Xi'an 710068, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the expression of the grainyhead-like 2 (GRHL2) gene in the placenta of preeclampsia (PE) patients and its impacts on the proliferation and invasion of trophoblast cells. **Methods** Placental tissues were collected from 32 PE patients who underwent cesarean section at Shaanxi Provincial People's Hospital from January to June 2022 (PE group). Placental tissues were also collected from 32 normal pregnant women who underwent cesarean section during the same period at the same hospital (control group). Western blot was used to detect the expression of GRHL2 protein in placental tissues. Human chorionic trophoblast cells HTR-8/Svneo in the logarithmic growth phase were divided into the blank group, GRHL2 small interfering RNA negative control (si-NC) group, GRHL2 small interfering RNA (si-GRHL2) group, GRHL2 overexpression plasmid negative control (pcDNA) group, and GRHL2 overexpression plasmid (pcDNA-GRHL2) group. CCK-8 and colony formation assays were used to detect the OD₄₅₀ value and colony formation rate of HTR-8/Svneo cells. Transwell assay was used to detect HTR-8/Svneo cell invasion. Western blot was used to detect the expression of GRHL2, proliferating cell nuclear antigen (PCNA), matrix metalloproteinase (MMP)-2, phosphorylated phosphatidylinositol 3-kinase (p-PI3K), and phosphorylated serine/threonine-protein kinase (p-Akt) proteins in HTR-8/Svneo cells. **Results** The expression level of GRHL2 protein in the placental tissues of the PE group was significantly higher than that in the control group ($t=57.240, P<0.05$). Compared with the blank group and si-NC group, the expression of GRHL2 protein in HTR-8/Svneo cells of the si-GRHL2 group was decreased, while the OD₄₅₀ value, colony

[收稿日期]2023-10-17

[基金项目]陕西省重点研发计划项目 (2020SF-037)

[作者简介]张 雅 (1981—), 女, 副主任医师, 主要从事妊娠合并心脏疾病研究。

[通讯作者]刘晓红, 副主任医师。

formation rate, number of invasive cells, and the expression levels of PCNA, MMP-2, p-PI3K, and p-Akt proteins were increased (t value ranged from 5.477 to 24.595, $P < 0.05$). Compared with the blank group and pcDNA group, the expression of GRHL2 protein in HTR-8/Svneo cells of the pcDNA-GRHL2 group was increased, while the OD₄₅₀ value, colony formation rate, number of invasive cells, and the expression levels of PCNA, MMP-2, p-PI3K, and p-Akt proteins were decreased (t values ranged from 9.295 to 24.239, $P < 0.05$). **Conclusion** GRHL2 is highly expressed in the placental tissues of PE patients. Silencing GRHL2 can promote the proliferation and invasion of HTR-8/Svneo cells, while overexpressing of GRHL2 can inhibit the proliferation and invasion of HTR-8/Svneo cells. The mechanism may be related to the regulation of the PI3K/Akt pathway.

[Key words] grainyhead-like 2; preeclampsia; placenta; proliferation; invasion

子痫前期(preeclampsia, PE)是一种伴有高血压和蛋白尿的多系统血管综合征,通常在妊娠 20 周后可观察到^[1-2]。全世界 PE 的发病率约为 2%~8%,它是孕妇及其胎儿死亡和发病的主要原因^[3]。尽管医学取得了重大进展,但娩出胎儿和胎盘仍然是唯一已知的治疗 PE 的方法^[4]。多项研究提示了 PE 发病的可能理论:滋养层细胞增殖和侵袭受抑是 PE 的主要诱因^[5];滋养层侵袭性降低导致蜕膜螺旋动脉重塑失败,母体供氧不足,导致抗血管生成因子释放,最终引起内皮细胞功能障碍和全身炎症,诱发 PE^[6]。尽管关于 PE 的研究有很多,但与 PE 发病机制相关的潜在机制仍有待探索。粒状头样 2 基因(grainyhead-like 2, GRHL2)是在哺乳动物中发现的 GRHL 转录因子家族成员,其可调控许多生物过程,包括细胞上皮-间充质转化、侵袭和转移等^[7]。已有研究显示,PE 患者胎盘组织中 GRHL2 水平显著上调,且可影响滋养层细胞的增殖与侵袭^[8],但具体机制尚不明确。相关研究显示,干扰 GRHL2 基因表达可通过调控磷脂酰肌醇 3 激酶(phosphoinositide 3-kinase, PI3K)/丝氨酸苏氨酸蛋白激酶(serine/threonine protein-kinase, Akt)通路进而调控肾癌细胞的增殖和迁移行为^[9]。但 GRHL2 对滋养层细胞增殖、侵袭的影响是否与调控 PI3K/Akt 通路有关尚不可知。因此,本研究主要探究 GRHL2 对滋养层细胞增殖、侵袭的影响及其可能的机制。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集 2022 年 1 月至 6 月期间在陕西省人民医院进行剖宫产分娩的 32 例 PE 患者的胎盘组织,并命名为 PE 组;同时收集同期在本院进行剖宫产分娩的 32 例正常妊娠产妇的胎盘组织,并命名为对照组。所有组织立即冻存于 -80℃ 中。该研究得到本院伦

理委员会的批准(审批号: SX20220178),所有患者均签署了知情同意书。

1.2 主要试剂及仪器

人绒毛膜滋养层细胞 HTR-8/Svneo 购自上海弘顺生物科技有限公司。GRHL2 小干扰 RNA (si-GRHL2)及其阴性对照 (si-NC)、GRHL2 过表达质粒 (pcDNA-GRHL2)及其阴性对照 (pcDNA)均购自赛默飞世尔科技有限公司;CCK-8 试剂盒购自武汉菲恩生物科技有限公司;兔源一抗 GRHL2、增殖细胞核抗原 (proliferating cell nuclear antigen, PCNA)、基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinases, MMP)-2、p-PI3K、p-Akt、PI3K、Akt、GAPDH 及辣根过氧化物酶标记的羊抗兔 IgG 二抗均购自英国 Abcam 公司。CB 60 型 CO₂ 培养箱购自上海锡为科学仪器有限公司;SAF-680T 型酶标仪购自上海巴玖实业有限公司;CKX53 型光学显微镜购自日本奥林巴斯公司;DYCZ24DN 型蛋白电泳仪购自北京六一仪器厂。

1.3 细胞培养与分组

将 HTR-8/Svneo 细胞在含有 10% 胎牛血清的 RPMI1640 培养基中培养。取对数生长期的 HTR-8/Svneo 细胞,分为空白组 (正常培养的 HTR-8/Svneo 细胞)、si-NC 组 (转染 si-NC)、si-GRHL2 组 (转染 si-GRHL2)、pcDNA 组 (转染 pcDNA)、pcDNA-GRHL2 组 (转染 pcDNA-GRHL2),转染 48h 后,收集各组细胞用于后续实验。

1.4 CCK-8 法检测 HTR-8/Svneo 细胞 OD₄₅₀ 值

以 10 000 个/孔的密度将 HTR-8/Svneo 细胞接种于 96 孔板中,按照 1.3 所述分组进行对应处理后,向各孔中加入 10 μL CCK8 溶液,在 37℃ 中孵育 1h 后利用酶标仪测量各孔 450nm 处的吸光度,吸光度越大表明细胞增殖能力越强。

1.5 克隆形成实验检测 HTR-8/Svneo 细胞克隆形成率

将 HTR-8/Svneo 细胞(500 个)接种于 6cm 细胞培养板中,并在含有 10%胎牛血清的 RPMI1640 培养基中培养 14d。然后,除去培养液,将 HTR-8/Svneo 细胞用甲醇固定、0.1%结晶紫染色,观察克隆形成情况。克隆形成率(%)=(形成克隆数/接种细胞数)×100%。

1.6 Transwell 实验检测 HTR-8/Svneo 细胞侵袭

将 1.3 中的各组 HTR-8/Svneo 细胞(2×10^5 个)悬浮在 200 μ L 无血清的 RPMI1640 培养基中,再将细胞悬液加入预先涂覆有基质胶的 Transwell 上室中,然后向下室中加入 500 μ L 含 20%胎牛血清的 RPMI1640 培养基。孵育 24h 后,用 4%多聚甲醛固定、结晶紫染色侵袭的细胞,利用光学显微镜观察细胞侵袭情况。

1.7 Western blot 检测 HTR-8/Svneo 细胞中 GRHL2、PCNA、MMP-2、p-PI3K、p-Akt 蛋白表达

利用 RIPA 缓冲液裂解并提取胎盘组织匀浆及 HTR-8/Svneo 细胞样品总蛋白。2,2-联喹啉-4,4-二甲酸二钠法进行蛋白定量后,取 40 μ g 蛋白进行 10%十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺进行凝胶电泳,将电泳分离的蛋白转移到 PVDF 膜上,并用 5%脱脂牛奶封闭膜 1h 后,在 4℃下将膜与一抗 GRHL2(1 : 4 000)、PCNA(1 : 3 000)、MMP-2(1 : 5 000)、p-PI3K(1 : 4 000)、PI3K(1 : 4 000)、p-Akt(1 : 4 000)、Akt(1 : 4 000)、GAPDH(1 : 5 000)孵育过夜,再与二抗(1 : 4 000)在常温下孵育 2h。加入 ECL 试剂观察蛋白印迹,利用 Image J 软件分析目的蛋白条带灰度值。

1.8 统计学方法

利用 SPSS 29.0 软件进行统计分析。所有符合正态分布和方差齐性的计量数据以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示, t 检验用于两组间的差异比较,单因素方差分析用于多组间的差异比较,进一步两两比较采用 SNK- q 检验。 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 GRHL2 在胎盘组织中的表达比较

32 例 PE 组患者胎盘组织中 GRHL2 蛋白平均

表达水平为(1.56 ± 0.13),32 例对照组为(0.21 ± 0.03),PE 组高于对照组,差异有统计学意义($t=57.240,P<0.05$),见图 1。

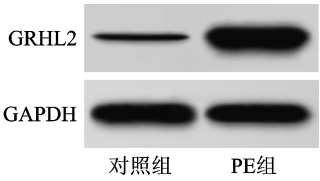
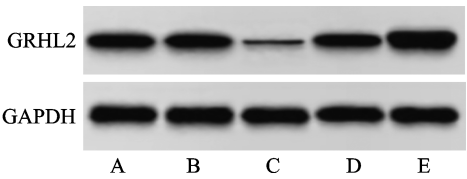


图 1 Western blot 检测胎盘组织中 GRHL2 蛋白表达
Fig.1 Western blot detection of GRHL2 protein expression in placental tissue

2.2 沉默 GRHL2 或过表达 GRHL2 对 HTR-8/Svneo 细胞中 GRHL2 蛋白表达变化的影响

与空白组、si-NC 组比较,si-GRHL2 组 HTR-8/Svneo 细胞中 GRHL2 蛋白表达降低,差异有统计学意义(t 值分别为 24.595、21.875, $P<0.05$);与空白组、pcDNA 组比较,pcDNA-GRHL2 组 HTR-8/Svneo 细胞中 GRHL2 蛋白表达升高,差异有统计学意义(t 值分别为 12.989、13.145, $P<0.05$),见图 2 和表 1。



注:A 为空白组;B 为 si-NC 组;C 为 si-GRHL2 组;D 为 pcDNA 组;E 为 pcDNA-GRHL2 组。

图 2 Western blot 检测各转染组 HTR-8/Svneo 细胞中 GRHL2 蛋白表达

Fig.2 Western blot detection of GRHL2 protein expression in HTR-8/Svneo cells of each transfection group

表 1 各组 HTR-8/Svneo 细胞中 GRHL2 蛋白表达比较 ($\bar{x}\pm s$)

Table 1 Comparison of GRHL2 protein expression in HTR-8/Svneo cells of each group ($\bar{x}\pm s$)

分组	GRHL2/GAPDH
空白组	0.86 ± 0.07
si-NC 组	0.87 ± 0.08
si-GRHL2 组	$0.15\pm0.01^{*}\#$
pcDNA 组	0.85 ± 0.07
pcDNA-GRHL2 组	$1.69\pm0.14^{*}\&$

注:n=6;* 与空白组比较,差异有统计学意义;# 与 si-NC 组比较,差异有统计学意义;& 与 pcDNA 组比较,差异有统计学意义。

2.3 沉默 GRHL2 或过表达 GRHL2 对 HTR-8/Svneo 细胞 OD₄₅₀ 值及克隆形成率的影响

与空白组、si-NC 组比较,si-GRHL2 组 HTR-8/Svneo 细胞 OD₄₅₀ 值及克隆形成率升高,差异有统计学意义(t 值介于 5.477~13.950 之间, $P<0.05$);与空白组、pcDNA 组比较,pcDNA-GRHL2 组 HTR-8/Svneo 细胞 OD₄₅₀ 值及克隆形成率降低,差异有统计学意义(t 值介于 10.954~18.424 之间, $P<0.05$),见表 2 和图 3。

表 2 各组 HTR-8/Svneo 细胞 OD₄₅₀ 值及克隆形成率变化比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of OD₄₅₀ values and clone formation rate changes in HTR-8/Svneo cells in each group ($\bar{x} \pm s$)

分组	OD ₄₅₀ 值	克隆形成率(%)
空白组	0.76±0.08	43.34±1.86
si-NC 组	0.75±0.06	42.96±1.91
si-GRHL2 组	0.96±0.04 [*] #	61.15±2.56 [#]
pcDNA 组	0.74±0.06	43.03±1.84
pcDNA-GRHL2 组	0.36±0.04 ^{*&}	26.65±1.21 ^{*&}

注:n=6;*与空白组比较,差异有统计学意义;#与 si-NC 组比较,差异有统计学意义;&与 pcDNA 组比较,差异有统计学意义。

2.4 沉默 GRHL2 或过表达 GRHL2 对 HTR-8/Svneo 细胞侵袭的影响

与空白组、si-NC 组比较,si-GRHL2 组 HTR-8/Svneo 细胞侵袭细胞数升高,差异有统计学意义(t 值分别为 17.212、17.443, $P<0.05$);与空白组、pcDNA 组比较,pcDNA-GRHL2 组 HTR-8/Svneo 细胞侵袭细胞数降低,差异有统计学意义(t 值分别为 23.702、24.239, $P<0.05$),见表 3 和图 4。

表 3 各组 HTR-8/Svneo 细胞侵袭细胞数变化比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of changes in the number of invasive cells in HTR-8/Svneo cells in each group ($\bar{x} \pm s$)

分组	侵袭细胞数(个)
空白组	56.67±2.33
si-NC 组	55.94±2.41
si-GRHL2 组	89.93±4.12 ^{*#}
pcDNA 组	55.87±2.16
pcDNA-GRHL2 组	29.96±1.48 ^{*&}

注:n=6;*与空白组比较,差异有统计学意义;#与 si-NC 组比较,差异有统计学意义;&与 pcDNA 组比较,差异有统计学意义。

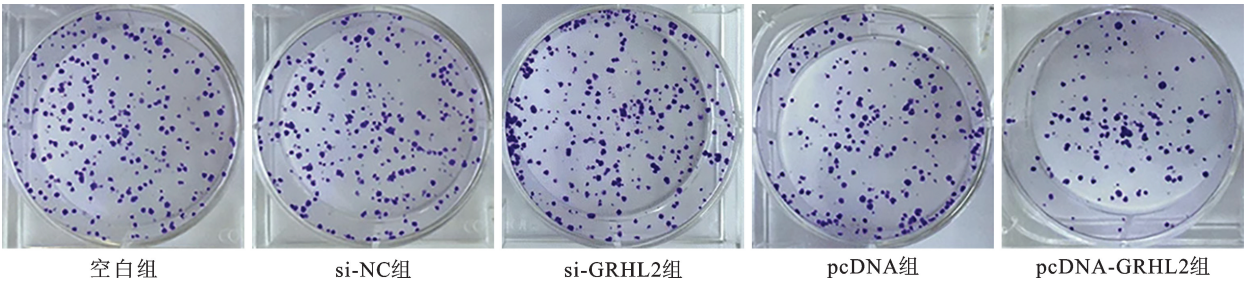


图 3 克隆形成实验检测 HTR-8/Svneo 细胞克隆形成情况

Fig.3 Clonogenic assay for detecting colony formation in HTR-8/Svneo cells

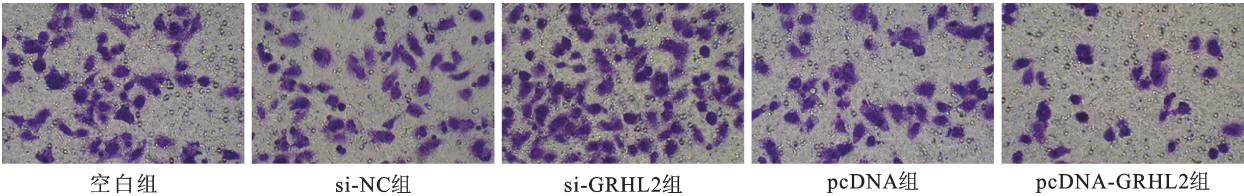


图 4 Transwell 实验检测 HTR-8/Svneo 细胞侵袭

Fig.4 Transwell experiment detection of HTR-8/Svneo cell invasion

2.5 沉默 GRHL2 或过表达 GRHL2 对 HTR-8/Svneo 细胞中 PCNA、MMP-2 及 PI3K/Akt 信号通路相关蛋白表达的影响

与空白组、si-NC 组比较,si-GRHL2 组 HTR-8/

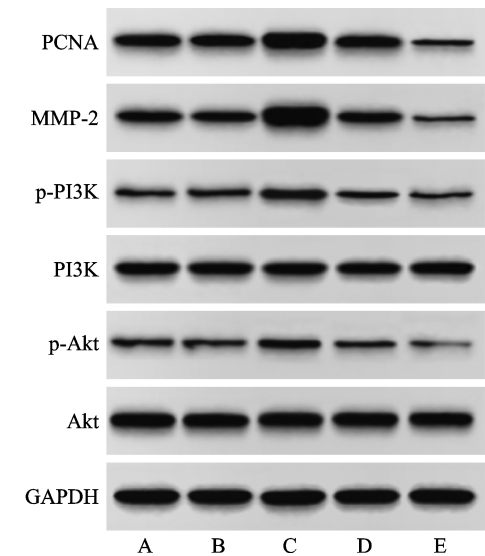
Svneo 细胞中 PCNA、MMP-2、p-PI3K、p-Akt 蛋白表达升高,差异有统计学意义(t 值介于 13.327~18.075 之间, $P<0.05$);与空白组、pcDNA 组比较,pcDNA-GRHL2 组 HTR-8/Svneo 细胞中 PCNA、

MMP-2、p-PI3K、p-Akt 蛋白表达降低,差异有统计学意义(t 值介于 9.295~20.469 之间, $P<0.05$),见表 4 和图 5。

表 4 各组 HTR-8/Svneo 细胞中 PCNA、MMP-2、p-PI3K、p-Akt 蛋白表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

分组	PCNA/GAPDH	MMP-2/GAPDH	p-PI3K/PI3K	p-Akt/Akt
空白组	0.84±0.07	0.65±0.05	0.36±0.03	0.26±0.02
si-NC 组	0.82±0.08	0.66±0.06	0.38±0.02	0.27±0.02
si-GRHL2 组	1.56±0.11 ^{*#}	1.86±0.16 ^{*#}	0.77±0.06 ^{*#}	0.59±0.04 ^{*#}
pcDNA 组	0.83±0.07	0.64±0.05	0.37±0.02	0.27±0.03
pcDNA-GRHL2 组	0.35±0.02 ^{*δ}	0.20±0.02 ^{*δ}	0.24±0.01 ^{*δ}	0.11±0.01 ^{*δ}

注:n=6;*与空白组比较,差异有统计学意义;#与 si-NC 组比较,差异有统计学意义; δ 与 pcDNA 组比较,差异有统计学意义。



注:A 为空白组;B 为 si-NC 组;C 为 si-GRHL2 组;D 为 pcDNA 组;E 为 pcDNA-GRHL2 组。

图 5 Western blot 检测各组 HTR-8/Svneo 细胞中 PCNA、MMP-2、p-PI3K、p-Akt 蛋白表达

Fig.5 Western blot detection of PCNA, MMP-2, p-PI3K, and p-Akt protein expression in HTR-8/Svneo cells in each group

3 讨论

3.1 PE 研究现状

PE 是妊娠的常见并发症,威胁母婴健康^[10]。目前,胎盘分娩是 PE 的唯一根治性解决方案,而降压药仅对病情稳定的患者有效。如果患者没有得到适当或及时的治疗,可能会发生子痫或致命并发症,包括中风和肺水肿等^[11]。许多研究报道,胎盘基因表达异常可导致子宫螺旋动脉重塑障碍,并调节 PE 的发生和发展^[12]。因此,开发新的用于治疗 PE 的

分子标志物具有重要意义。

3.2 GRHL2 可影响人绒毛膜滋养层细胞 HTR-8/Svneo 增殖与侵袭

GRHL2 是上皮组织发育和功能的重要转录因子,可调控细胞增殖、侵袭等生物学行为^[13]。据报道,沉默 GRHL2 可促进滋养层细胞增殖、迁移与侵袭^[14];GRHL2 在 PE 患者胎盘中过表达,下调 GRHL2 可促进滋养层细胞迁移^[15];GRHL2 可通过调控上皮间质转化过程促进 PE 的发生^[16]。本研究亦显示,PE 组患者胎盘组织中 GRHL2 蛋白表达水平显著高于对照组,与空白组、si-NC 组比较,si-GRHL2 组 HTR-8/Svneo 细胞 OD₄₅₀ 值、克隆形成率、侵袭细胞数升高;与空白组、pcDNA 组比较,pcDNA-GRHL2 组 HTR-8/Svneo 细胞 OD₄₅₀ 值、克隆形成率、侵袭细胞数降低,表明 GRHL2 蛋白在 PE 患者胎盘组织中高表达,沉默 GRHL2 可促进人绒毛膜滋养层细胞 HTR-8/Svneo 增殖与侵袭,而过表达 GRHL2 则呈相反趋势。PCNA 作为支架蛋白在 DNA 复制和修复中发挥重要作用^[17];MMP-2 是细胞侵袭的关键调节因子^[18]。检测 PCNA、MMP-2 蛋白表达水平可从蛋白质水平上衡量 HTR-8/Svneo 细胞增殖、侵袭能力。本研究显示,沉默 GRHL2 可促进 HTR-8/Svneo 细胞中 PCNA、MMP-2 蛋白表达,而过表达 GRHL2 可抑制 HTR-8/Svneo 细胞中 PCNA、MMP-2 蛋白表达,再次从蛋白质水平上证实了 GRHL2 对 HTR-8/Svneo 细胞增殖、侵袭的调控作用,提示 GRHL2 可能成为治疗 PE 的潜在有效靶点。此外,有研究报道,GRHL2 通过抑制 PI3K/Akt 通路抑制结直肠癌细胞中

PCNA 蛋白表达进而抑制结直肠癌细胞增殖^[19]；GRHL2 通过抑制 TGF β 信号通路抑制胃癌细胞中 MMP-2 蛋白表达进而抑制胃癌细胞侵袭^[20]。以上研究表明 GRHL2 可通过调控通路影响 PCNA、MMP-2 蛋白表达进而影响细胞的生物学行为。但 GRHL2 具体通过哪些通路影响 PCNA、MMP-2 蛋白表达进而影响 HTR-8/Svneo 细胞增殖、侵袭,有待后续实验进一步确定。

3.3 GRHL2 调控 PI3K/Akt 信号通路影响 HTR-8/Svneo 增殖与侵袭

PI3K/Akt 通路是许多细胞功能的调节因子,包括增殖、侵袭、代谢^[21]。最近,越来越多的证据表明 PI3K/Akt 信号通路与 PE 的发病机制有关。如激活 PI3K/Akt 信号通路可促进 HTR8/Svneo 细胞的上皮-间充质转化过程^[22];激活 PI3K/Akt 信号通路可增强滋养层细胞的侵袭能力,以预防 PE^[23];抑制 PI3K/Akt 信号通路可抑制滋养层细胞增殖,迁移和侵袭能力^[24];抑制 PI3K/Akt 信号通路可抑制人绒毛膜滋养层细胞增殖、迁移和侵袭,从而参与 PE 的发生发展^[25]。本研究显示,与空白组、si-NC 组比较,si-GRHL2 组 HTR-8/Svneo 细胞中 p-PI3K、p-Akt 蛋白表达升高,与空白组、pcDNA 组比较,pcDNA-GRHL2 组 HTR-8/Svneo 细胞中 p-PI3K、p-Akt 蛋白表达降低,表明沉默 GRHL2 可激活 HTR-8/Svneo 细胞中的 PI3K/Akt 信号通路,而过表达 GRHL2 可抑制 HTR-8/Svneo 细胞中的 PI3K/Akt 信号通路,提示 GRHL2 对 HTR-8/Svneo 细胞增殖、侵袭的促进作用可能与调控 PI3K/Akt 信号通路有关。未进一步设置 PI3K/Akt 信号通路激活剂或抑制剂来验证 GRHL2 是否真正通过调控 PI3K/Akt 信号通路影响 HTR-8/Svneo 细胞增殖、侵袭过程是本研究的不足之一,后期将会深入探究。

综上所述,GRHL2 在 PE 患者胎盘组织中高表达,沉默 GRHL2 可促进 HTR-8/Svneo 细胞增殖与侵袭,而过表达 GRHL2 可抑制 HTR-8/Svneo 细胞增殖与侵袭,其机制可能与调控 PI3K/Akt 通路有关。该研究可能为 PE 的临床治疗提供新的思路,未对作用机制进行深入探讨是本研究的缺陷之一,后期将继续研究。

【参考文献】

- [1] Song X, Zhang X, Xia Q, et al. LncRNA LINC00534 regulates cell proliferation and migration via the miR-494-3p/PTEN axis in HTR-8/Svneo cells[J]. J Clin Lab Anal, 2023, 37(1): e24802.
- [2] Rana S, Lemoine E, Granger J P, et al. Preeclampsia: pathophysiology, challenges, and perspectives [J]. Circ Res, 2019, 124(7): 1094-1112.
- [3] Ives C W, Sinkey R, Rajapreyar I, et al. Preeclampsia: pathophysiology and clinical presentations: JACC state-of-the-art review [J]. J Am Coll Cardiol, 2020, 76(14): 1690-1702.
- [4] Nunode M, Hayashi M, Nagayasu Y, et al. MiR-515-5p suppresses trophoblast cell invasion and proliferation through XIAP regulation in preeclampsia [J]. Mol Cell Endocrinol, 2023, 559: 111779.
- [5] Ren J, Cai J. Circ_0014736 induces GPR4 to regulate the biological behaviors of human placental trophoblast cells through miR-942-5p in preeclampsia [J]. Open Med (Wars), 2023, 18(1): 20230645.
- [6] Zhu S, Li Z, Cui L, et al. Activin A increases human trophoblast invasion by upregulating integrin β 1 through ALK4 [J]. FASEB J, 2021, 35(2): e21220.
- [7] Bai X, Li Y, Li Y, et al. GRHL2 expression functions in breast cancer aggressiveness and could serve as prognostic and diagnostic biomarker for breast cancer [J]. Clin Med Insights Oncol, 2022, 16: 11795549221109511.
- [8] Zhou B, Zhang X, Li T, et al. CircZDHHC20 represses the proliferation, migration and invasion in trophoblast cells by miR-144/GRHL2 axis [J]. Cancer Cell Int, 2020, 20: 19.
- [9] 杨超, 谭威, 崔应东, 等. 微小 RNA-4652-3p 通过下调 GRHL2 表达抑制肾癌细胞的增殖和迁移 [J]. 现代泌尿生殖肿瘤杂志, 2020, 12(6): 347-352.
- [10] Hua Y, Wang J, Yuan D L, et al. A tag SNP in syncytin-2 3'-UTR significantly correlates with the risk of severe preeclampsia [J]. Clin Chim Acta, 2018, 483: 265-270.
- [11] Lai W, Yu L. Insulin-like growth factor 1 ameliorates pre-eclampsia by inhibiting zinc finger E-box binding homeobox 1 by up-regulation of microRNA-183 [J]. J Cell Mol Med, 2023, 27(9): 1179-1191.
- [12] Gao Y, Shi M, Liu M, et al. MiR-95-3p/EPM2A/MMP2 contributes to the pathogenesis of severe preeclampsia

- through the regulation of trophoblast biological behaviour[J].Arch Biochem Biophys,2023,741:109596.
- [13]Wang Z,Coban B,Wu H,et al.GRHL2-controlled gene expression networks in luminal breast cancer[J].Cell Commun Signal,2023,21(1):15.
- [14]Zhou M,Yu X,Li C,et al.Circ_0111277 suppresses trophoblast cell proliferation, angiogenesis, migration, invasion and EMT via regulating miR-188-3p/GRHL2 axis[J].Am J Reprod Immunol,2023,89(3):e13657.
- [15]Shen X Y,Zheng L L,Huang J,et al.CircTRNC18 inhibits trophoblast cell migration and epithelial-mesenchymal transition by regulating miR-762/Grhl2 pathway in pre-eclampsia[J].RNA Biol,2019,16(11):1565-1573.
- [16]李宣宣.粒状头样 2 基因调节上皮间质转化参与子痫前期发生的机制研究[D].武汉:华中科技大学,2021.
- [17]Røst L M,Ræder S B,Olaisen C,et al.PCNA regulates primary metabolism by scaffolding metabolic enzymes[J].Oncogene,2023,42(8):613-624.
- [18]Chrabańska M,Rynkiewicz M,Kiczmer P,et al.Immunohistochemical expression of CD44,MMP-2,MMP-9,and Ki-67 as the prognostic markers in non-clear cell renal cell carcinomas-a prospective cohort study[J].J Clin Med,2022,11(17):5196.
- [19]Hu F,He Z,Sun C,et al.Knockdown of GRHL2 inhibited proliferation and induced apoptosis of colorectal cancer by suppressing the PI3K/Akt pathway[J].Gene,2019,700:96-104.
- [20]Xiang J,Fu X,Ran W,et al.Grhl2 reduces invasion and migration through inhibition of TGFβ-induced EMT in gastric cancer[J].Oncogenesis,2017,6(1):e284.
- [21]Fan M,Dong L,Meng Y,et al.Leptin promotes HTR-8/Svneo cell invasion via the crosstalk between MTA1/WNT and PI3K/AKT pathways[J].Dis Markers,2022,2022:7052176.
- [22]Chen M,Chao B,Xu J,et al.CPT1A modulates PI3K/Akt/mTOR pathway to promote preeclampsia[J].Placenta,2023,133:23-31.
- [23]Liu H,Yu L,Ding Y,et al.Progesterone enhances the invasion of trophoblast cells by activating PI3K/AKT signaling pathway to prevent preeclampsia [J]. Cell Transplant,2023,32:9636897221145682.
- [24]Chang R,Su Y,Kong H,et al.Upregulation of SEMP1 contributes to improving the biological functions of trophoblast via the PI3K/AKT pathway in preeclampsia[J].Mol Biotechnol,2024,66(3):531-543.
- [25]吴黄琪,孙萍,杜鑫,等.METTL3 对人绒毛膜滋养层细胞增殖、迁移、侵袭 PI3K/AKT 信号通路蛋白的调控作用[J].山东医药,2023,63(14):40-44.
- [专业责任编辑:冯 玲]
[中文编辑:郭乐倩;英文编辑:冯佳圆]