

内质网应激在缺氧诱导子痫前期胎盘滋养细胞模型中 调控凋亡的作用及机制

冒丽静, 诸静*, 袁园, 刘海云

(南通市妇幼保健院妇产科, 江苏 南通 226000)

摘要:目的 研究内质网应激(ERS)在体外缺氧诱导子痫前期(PE)滋养细胞模型中调控凋亡的作用及机制。**方法** 收集PE胎盘和健康胎盘,检测细胞凋亡率及ERS标志基因:葡萄糖调节蛋白78(GRP78)、ERS凋亡基因C/EBP同源蛋白(CHOP)、磷酸化JNK(p-JNK)、含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶-12(Cleaved caspase-12)的表达水平。培养胎盘滋养细胞HTR8/SVneo,采用低氧(1% O₂)处理24 h诱导PE细胞模型,采用ERS激动剂处理细胞,在PE细胞模型诱导过程中转染CHOP siRNA或给予JNK拮抗剂、Caspase-12抑制剂,检测细胞增殖水平(D值)、凋亡率及GRP78、CHOP、p-JNK、Cleaved caspase-12的表达水平。**结果** PE胎盘细胞凋亡率及GRP78、CHOP、p-JNK、Cleaved caspase-12的表达水平高于健康胎盘($P < 0.05$),且细胞凋亡率与GRP78、CHOP、p-JNK、Cleaved caspase-12的表达水平呈正相关;PE组及ERS激动剂组细胞的D值低于对照组,凋亡率及GRP78、CHOP、p-JNK、Cleaved caspase-12的表达水平高于对照组($P < 0.05$);缺氧诱导PE模型过程中转染CHOP siRNA降低CHOP表达,给予JNK拮抗剂降低p-JNK表达,给予Caspase-12抑制剂降低Cleaved caspase-12表达后,细胞D值升高,凋亡率及GRP78的表达水平降低($P < 0.05$)。**结论** 缺氧诱导PE滋养细胞模型中ERS,通过CHOP、JNK和Caspase-12介导细胞凋亡。

关键词:子痫前期;内质网应激;胎盘;滋养细胞;凋亡

中图分类号:R714.25 文献标志码:A 文章编号:2096-3882(2024)01-0006-06

DOI:10.3969/j.issn.2096-3882.2024.01.002

Role and mechanism of endoplasmic reticulum stress in regulating the apoptosis of hypoxia induced preeclampsia trophoblasts

MAO Lijing, ZHU Jing*, YUAN Yuan, LIU Haiyun

(Department of Obstetrics and Gynecology, Nantong Maternal and Child Health Hospital, Nantong, Jiangsu 226000, China)

Abstract: Objective To study the role and mechanism of endoplasmic reticulum stress (ERS) in regulating the apoptosis of hypoxia-induced preeclampsia (PE) trophoblasts in vitro. **Methods** PE placenta and healthy placenta were collected, and then the apoptosis rate and the levels of ERS marker gene glucose regulated protein 78 (GRP78), ERS apoptosis gene C/EBP homologous protein (CHOP), phosphorylated JNK (p-JNK) and Cleaved caspase-12 were examined. The placental trophoblasts HTR8/SVneo were cultured. A PE cell model was induced by exposing to low oxygen (1% O₂) for 24 h. The cells were treated with ERS agonists. During the induction of the PE cell model, the cells were transfected with CHOP siRNA or treated with JNK inhibitor and Caspase-12 inhibitor. Cell proliferation (D value), apoptosis rate and the levels of GRP78, CHOP, p-JNK and Cleaved caspase-12 were measured. **Results** The apoptosis rate and the levels of GRP78, CHOP, p-JNK and Cleaved caspase-12 in PE placenta were higher than those in healthy placenta ($P < 0.05$). Cell apoptosis rate was positively correlated with the levels of GRP78, CHOP, p-JNK, and Cleaved caspase-12. The D value of cells in the PE group and ERS agonist group were lower than those in the control group, and the apoptosis rate and the levels of GRP78, CHOP, p-JNK and Cleaved caspase-12 were higher than those in the control group ($P < 0.05$). Transfection of CHOP siRNA reduced CHOP expression, JNK inhibitor reduced p-JNK expression, and Caspase-12 inhibitor reduced Cleaved caspase-12 expression in the hypoxia-induced PE model, leading to increased D value, reduced apoptosis rate, and lowered GRP78 expression ($P < 0.05$). **Conclusions** ERS mediates cell apoptosis through CHOP, JNK, and Caspase-12 in the hypoxia-induced PE trophoblast model.

* 通信作者, E-mail: 526498829@qq.com

Key words: preeclampsia; endoplasmic reticulum stress; placenta; trophoblast; apoptosis

子痫前期 (preeclampsia, PE) 是妊娠期特发疾病,以母体高血压和蛋白尿为特征,对母胎健康均造成威胁。PE 的发病机制复杂且未完全明确,目前认为胎盘在 PE 的发病过程中起关键作用。根据 PE 发病的“两阶段”学说,第一阶段为子宫螺旋动脉重构障碍,胎盘缺血缺氧并造成滋养细胞凋亡及多种胎盘因子的异常释放;第二阶段为异常释放的胎盘因子进入母体血液循环,引起内皮损伤及 PE 相关的临床表现^[1]。缺氧引起胎盘滋养细胞凋亡的过程涉及线粒体凋亡途径、死亡受体凋亡途径、内质网应激(ERS)凋亡途径。已有临床研究报道 PE 胎盘中 ERS 凋亡途径的凋亡基因含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶-12 (caspase-12)、C/EBP 同源蛋白(CHOP)表达显著增加,提示 ERS 介导的胎盘滋养细胞凋亡可能参与 PE 的发病^[2]。另有妊娠期肝内胆汁淤积症及妊娠期糖尿病相关的基础研究证实 ERS 在相应疾病模型中参与胎盘滋养细胞凋亡的调控^[3],但关于 ERS 介导的胎盘滋养细胞凋亡在 PE 发病中的生物学作用尚缺乏充足的实验证据。因此,本研究将建立缺氧诱导的 PE 滋养细胞模型,通过该模型观察 ERS 调控细胞凋亡的作用,进而探讨 PE 发病的相关机制。

1 资料和方法

1.1 临床样本 胎盘样本均取自 2022 年 3 月—9 月在南通市妇幼保健院规律产检并分娩的孕产妇。PE 胎盘样本 42 例,孕产妇年龄(30.10±7.23)岁,初产妇 31 例、经产妇 11 例,孕(36.86±3.51)周,均符合 PE 诊断标准,排除妊娠期糖尿病、妊娠期肝内胆汁淤积症等其他妊娠期并发症。健康胎盘样本 64 例,年龄(31.41±7.94)岁,初产妇 46 例、经产妇 18 例,孕(37.84±3.84)周。PE 孕产妇及健康孕产妇一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$)。本研究获入组孕产妇知情同意,我院伦理委员会批准(伦理号:[2022]伦审批第 019 号)。

1.2 试剂与仪器 ERS 激动剂毒胡萝卜素、对照溶剂二甲基亚砜(DMSO)购自 Sigma 公司(美国);JNK 拮抗剂 SP600125 购自 MCE 公司(美国),用 DMSO 溶解、配置浓度为 10 mmol/L 的储存液;Caspase-12 抑制剂 Z-ATAD-FMK 购自 Abcam 公司(美国),用 DMSO 溶解、配置浓度为 2 mmol/L 的储存液;CCK8 试剂盒、TUNEL 试剂盒(显色法)和 TUNEL 试剂盒

(荧光法)购自碧云天生物公司;GRP78、CHOP、p-JNK、Cleaved caspase-12、 β -actin 特异性一抗购自 Abcam 公司(美国)。细胞培养箱购自 Thermo 公司(美国),光学显微镜、荧光显微镜均购自尼康公司(日本),凝胶电泳仪、凝胶成像系统购自天能仪器公司。

1.3 实验方法

1.3.1 细胞培养及分组 HTR8/SVneo 细胞(上海酶研生物科技公司)在含有 10%胎牛血清的培养基中贴壁培养,2 d 更换 1 次培养基,当细胞密度达到 90%左右时用胰蛋白酶进行消化传代并进行分组:①对照组:在常氧(21%O₂)条件下培养;②PE 组:缺氧(1%O₂)刺激滋养细胞 24 h 模拟 PE 病理生理机制的体外细胞模型^[4];③ERS 激动剂组:在常氧(21%O₂)条件下培养并加入 ERS 激动剂毒胡萝卜素,终浓度为 2 μ mol/L;④si-NC 组:在常氧(21%O₂)条件下转染 NC siRNA;⑤si-NC+PE 组:在缺氧(1%O₂)条件下转染 NC siRNA;⑥si-CHOP+PE 组:在缺氧(1%O₂)条件下转染 CHOP siRNA;⑦溶剂对照组:在常氧(21%O₂)条件下培养并加入对照溶剂 DMSO,终浓度为体积分数 0.1%;⑧溶剂+PE 组:在缺氧(1%O₂)条件下培养并加入对照溶剂 DMSO,终浓度为体积分数 0.1%;⑨JNK 拮抗剂+PE 组:在缺氧(1%O₂)条件下培养并加入 JNK 拮抗剂 SP600125,终浓度为 10.0 μ mol/L;⑩Caspase-12 抑制剂+PE 组:在缺氧(1%O₂)条件下培养并加入 Caspase-12 抑制剂 Z-ATAD-FMK,终浓度为 2.0 μ mol/L。每组均连续处理 24 h。

1.3.2 TUNEL 染色检测细胞凋亡 取石蜡包埋的 PE 胎盘及胎盘组织,制作组织切片后采用 TUNEL 试剂盒染色、DAB 显色及苏木精复染,在光学显微镜下连续观察 5 个高倍($\times 400$)视野,凋亡细胞的细胞核呈现棕褐色或棕黄色,出现不同程度的固缩,计算凋亡率。取分组处理后的 HTR8/SVneo 细胞,采用 TUNEL 试剂盒进行染色,DAPI 复染后在荧光显微镜下连续观察 5 个高倍($\times 400$)视野,凋亡细胞呈绿色,计算凋亡率(凋亡细胞数/细胞总数 $\times 100\%$)。

1.3.3 CCK8 法检测细胞增殖 取分组处理后的 HTR8/SVneo 细胞,按照 5×10^3 /孔、180 μ l/孔接种在 96 孔培养板内,培养 24 h 后向每孔加入 10 μ l CCK8 溶液,继续培养 1.5 h 后在酶标仪上检测每孔细胞 450 nm 的光密度(D)值。

1.3.4 Western blot 检测蛋白表达 取液氮冷冻的 PE 胎盘组织、健康胎盘组织各 20~30 mg,加入预冷的裂解液并在冰上研磨,得到研磨液后在 4 ℃ 离心机中 12 000 g 离心 10 min,分离上清样本、检测蛋白浓度置 -80 ℃ 冰箱保存。另取分组处理后的 HTR8/SVneo 细胞,加入预冷裂解液并用细胞刮刀破碎细胞,得到悬液后在 4 ℃ 离心机中 12 000 g 离心 10 min,分离上清样本,检测蛋白浓度后置 -80 ℃ 冰箱保存。取蛋白样本,每份 20 μg,进行 Western blot 检测,先在聚丙烯酰胺凝胶中电泳,分离不同分子量的蛋白,将凝胶中的蛋白电转移至硝酸纤维素膜,将膜放入 5%脱脂牛奶中、摇床上室温孵育 1 h,洗膜后分别用 GRP78 (1 : 500)、CHOP (1 : 800)、p-JNK (1 : 400)、Caspase-12 (1 : 1 000) 及 β-actin (1 : 5 000) 的特异性一抗 4 ℃ 孵育过夜。洗膜后,加入辣根过氧化物酶标记的二抗 (1 : 2 000),摇床上室温孵育 1 h,再次洗膜,在凝胶成像系统对膜上的蛋白进行显影,以目的蛋白/β-actin 的灰度值

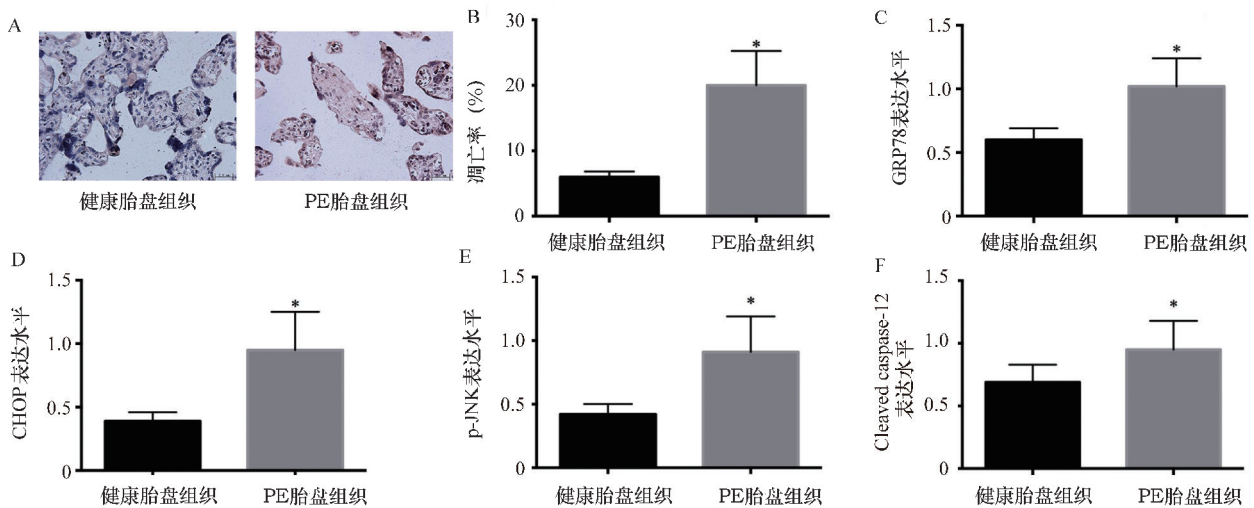
分析蛋白表达水平。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 22.0 软件对数据进行处理,计量资料以均数±标准差表示,2 组间比较采用独立样本 *t* 检验,多组间比较采用单因素方差分析,相关性分析采用 Pearson 检验。*P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PE 胎盘与健康胎盘凋亡率的比较 采用 TUNEL 染色检测胎盘凋亡率。PE 胎盘的凋亡率为 (19.99±5.24)%,高于健康胎盘的凋亡率 (5.96±0.84)%(*P*<0.05)。见图 1A、B。

2.2 PE 胎盘与健康胎盘 ERS 标志蛋白及凋亡蛋白表达的比较 采用 Western blot 检测胎盘中 ERS 标志蛋白 GRP78 及 ERS 凋亡蛋白 CHOP、p-JNK、Cleaved caspase-12 的相对表达水平,PE 胎盘中 GRP78、CHOP、p-JNK、Cleaved caspase-12 的相对表达水平高于健康胎盘(*P*<0.05)。见图 1C-F。



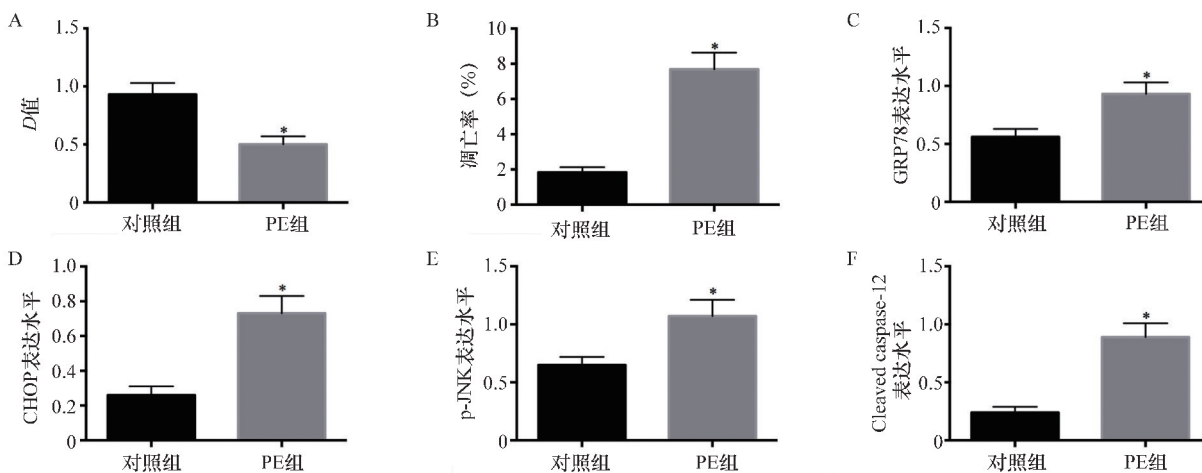
A. TUNEL 染色图(×400);B. 凋亡率;C. GRP78 表达;D. CHOP 表达;E. p-JNK 表达;F. Cleaved caspase-12 表达;与健康胎盘组织比较;* *P*<0.05

图 1 PE 胎盘与健康胎盘凋亡率、ERS 标志蛋白及凋亡蛋白表达的比较

2.3 PE 胎盘中凋亡率与 ERS 标志蛋白及凋亡蛋白表达的相关性 PE 胎盘凋亡率与 GRP78 (*r*=0.642 1)、CHOP (*r*=0.507 6)、p-JNK (*r*=0.597 8)、Cleaved caspase-12(*r*=0.338 2)相对表达水平呈正相关(*P*<0.05)。

2.4 PE 滋养细胞模型增殖能力、凋亡率、ERS 标志蛋白及凋亡蛋白表达水平的变化 采用 CCK8 法检测滋养细胞的增殖能力,PE 组滋养细胞的 *D* 值低

于对照组(*P*<0.05)。见图 2A。采用 TUNEL 法检测滋养细胞的凋亡率,PE 组滋养细胞的凋亡率高于对照组(*P*<0.05)。见图 2B。采用 Western blot 检测滋养细胞中 ERS 标志蛋白 GRP78 及 ERS 凋亡蛋白 CHOP、p-JNK、Cleaved caspase-12 的相对表达水平,PE 组滋养细胞中 GRP78、CHOP、p-JNK、Cleaved caspase-12 的相对表达水平高于对照组(*P*<0.05)。见图 2C-F。

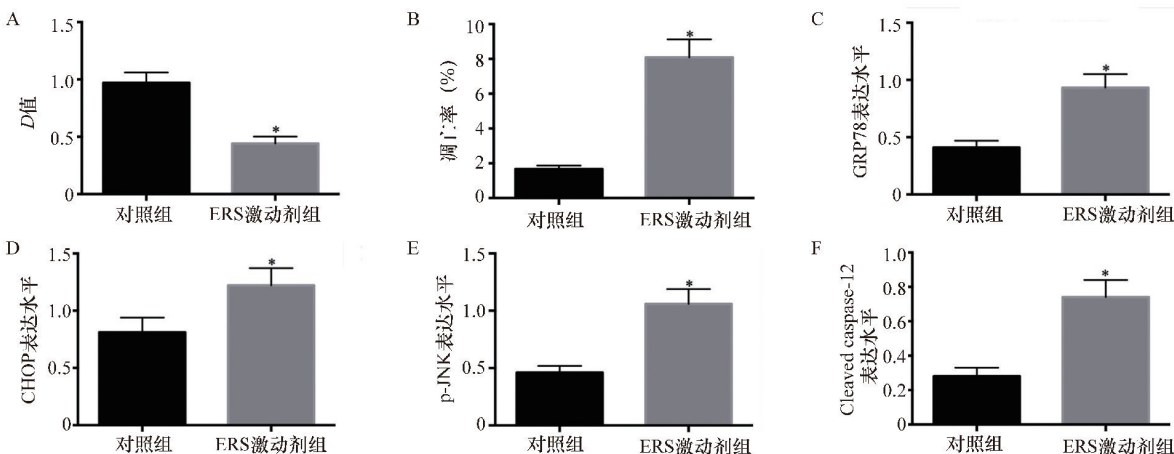


A. D 值;B. 凋亡率;C. GRP78 表达;D. CHOP 表达;E. p-JNK 表达;F. Cleaved caspase-12 表达;与对照组比较: * $P < 0.05$

图2 PE组与对照组滋养细胞D值、凋亡率、ERS标志蛋白及凋亡蛋白表达水平比较

2.5 ERS 激动剂对滋养细胞增殖能力、凋亡率、ERS 标志蛋白及凋亡蛋白表达水平的影响 采用 CCK8 法检测滋养细胞的增殖能力,ERS 激动剂组滋养细胞的 D 值低于对照组 ($P < 0.05$)。见图 3A。采用 TUNEL 法检测滋养细胞的凋亡率,ERS 激动剂组滋养细胞的凋亡率高于对照组 ($P < 0.05$)。见图

3B。采用 Western blot 检测滋养细胞中 ERS 标志蛋白 GRP78 及 ERS 凋亡蛋白 CHOP、p-JNK、Cleaved caspase-12 的相对表达水平,ERS 激动剂组滋养细胞中 GRP78、CHOP、p-JNK、Cleaved caspase-12 的相对表达水平高于对照组 ($P < 0.05$)。见图 3C-F。



A. D 值;B. 凋亡率;C. GRP78 表达;D. CHOP 表达;E. p-JNK 表达;F. Cleaved caspase-12 表达;与对照组比较: * $P < 0.05$

图3 ERS 激动剂组与对照组滋养细胞D值、凋亡率、ERS标志蛋白及凋亡蛋白表达水平较

2.6 敲低 CHOP 对 PE 滋养细胞模型增殖能力、凋亡率、ERS 标志蛋白的影响 采用 Western blot 检测滋养细胞中 CHOP 的相对表达水平,si-NC 组、si-NC+PE 组、si-CHOP+PE 组滋养细胞中 CHOP 的相对表达水平分别为 (0.34±0.03)、(0.92±0.11)、(0.27±0.02);si-NC+PE 组滋养细胞中 CHOP 的相对表达水平高于 si-NC 组 ($P < 0.05$),si-CHOP+PE 组滋养细胞中 CHOP 的相对表达水平低于 si-NC+

PE 组 ($P < 0.05$)。见图 4。采用 CCK8 法检测滋养细胞的增殖能力,si-NC 组、si-NC+PE 组、si-CHOP+PE 组滋养细胞的 D 值分别为 (1.01±0.12)、(0.48±0.05)、(0.95±0.10);si-NC+PE 组滋养细胞的 D 值低于 si-NC 组 ($P < 0.05$),si-CHOP+PE 组滋养细胞的 D 值高于 si-NC+PE 组 ($P < 0.05$)。采用 TUNEL 法检测滋养细胞的凋亡率,si-NC 组、si-NC+PE 组、si-CHOP+PE 组滋养细胞的凋亡率分

别为 $(2.36 \pm 0.15)\%$ 、 $(11.32 \pm 1.42)\%$ 、 $(5.94 \pm 0.62)\%$ ；si-NC+PE 组滋养细胞的凋亡率高于 si-NC 组 ($P < 0.05$)，si-CHOP+PE 组滋养细胞的凋亡率低于 si-NC+PE 组 ($P < 0.05$)。

2.7 JNK 拮抗剂对 PE 滋养细胞模型增殖能力、凋亡率、ERS 标志蛋白的影响 Western blot 检测滋养细胞中 p-JNK 的相对表达水平，溶剂对照组、溶剂+PE 组、JNK 拮抗剂+PE 组滋养细胞中 p-JNK 的相对表达水平分别为 (0.48 ± 0.04) 、 (0.87 ± 0.10) 、 (0.31 ± 0.02) ；溶剂+PE 组滋养细胞中 p-JNK 的相对表达水平高于溶剂对照组 ($P < 0.05$)，JNK 拮抗剂+PE 组滋养细胞中 p-JNK 的相对表达水平低于溶剂+PE 组 ($P < 0.05$)。见图 5。CCK8 法检测滋养细胞的增殖能力，溶剂对照组、溶剂+PE 组、JNK 拮抗剂+PE 组滋养细胞的 D 值分别为 (0.98 ± 0.12) 、 (0.47 ± 0.04) 、 (0.90 ± 0.10) ；溶剂+PE 组滋养细胞的 D 值低于溶剂对照组 ($P < 0.05$)，JNK 拮抗剂+PE 组滋养细胞的 D 值高于溶剂+PE 组 ($P < 0.05$)。采用 TUNEL 法检测滋养细胞的凋亡率，溶剂对照组、溶剂+PE 组、JNK 拮抗剂+PE 组滋养细胞中的凋亡率分别为 $(1.89 \pm 0.15)\%$ 、 $(8.03 \pm 1.32)\%$ 、 $(3.74 \pm 0.47)\%$ ；溶剂+PE 组滋养细胞的凋亡率高于溶剂对照组 ($P < 0.05$)，JNK 拮抗剂+PE 组滋养细胞的凋亡率低于溶剂+PE 组 ($P < 0.05$)。

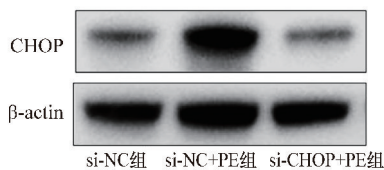


图 4 滋养细胞 CHOP 表达水平

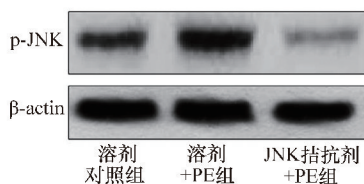


图 5 滋养细胞 p-JNK 表达水平

2.8 Caspase-12 抑制剂对 PE 滋养细胞模型增殖能力、凋亡率、ERS 标志蛋白的影响 Western blot 检测滋养细胞中 Cleaved caspase-12 的相对表达水平，溶剂对照组、溶剂+PE 组、Caspase-12 抑制剂+PE 组滋养细胞中 Cleaved caspase-12 的相对表达水平分别为 (0.48 ± 0.03) 、 (0.97 ± 0.12) 、 $(0.37 \pm$

$0.03)$ ；溶剂+PE 组滋养细胞中 Cleaved caspase-12 的相对表达水平高于溶剂对照组 ($P < 0.05$)，Caspase-12 抑制剂+PE 组滋养细胞中 Cleaved caspase-12 的相对表达水平低于溶剂+PE 组 ($P < 0.05$)。见图 6。CCK8 法检测滋养细胞增殖能力，溶剂对照组、溶剂+PE 组、Caspase-12 抑制剂+PE 组滋养细胞 D 值分别为 (1.06 ± 0.12) 、 (0.51 ± 0.04) 、 (0.94 ± 0.10) ；溶剂+PE 组滋养细胞 D 值低于溶剂对照组 ($P < 0.05$)，Caspase-12 抑制剂+PE 组滋养细胞 D 值高于溶剂+PE 组 ($P < 0.05$)。TUNEL 法检测滋养细胞的凋亡率，溶剂对照组、溶剂+PE 组、Caspase-12 抑制剂+PE 组滋养细胞凋亡率分别为 $(2.21 \pm 0.14)\%$ 、 $(9.12 \pm 1.03)\%$ 、 $(4.13 \pm 0.38)\%$ ；溶剂+PE 组滋养细胞凋亡率高于溶剂对照组 ($P < 0.05$)，Caspase-12 抑制剂+PE 组滋养细胞凋亡率低于溶剂+PE 组 ($P < 0.05$)。

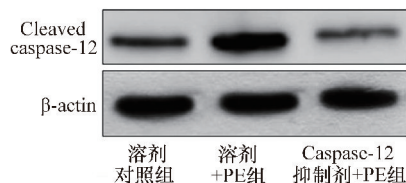


图 6 滋养细胞 Cleaved caspase-12 表达水平

3 讨论

根据 PE 发病的“两步法”学说^[1,5]，缺氧刺激胎盘滋养细胞是建立 PE 细胞模型的常用方法，根据杨晓涛等^[4]的实验结果，缺氧刺激 24 h 更适合用于 PE 病理生理机制的体外研究，研究缺氧刺激下胎盘滋养细胞凋亡的分子机制有助于深入阐明 PE 的发病机制。

ERS 是新发现的细胞凋亡调控机制之一。内质网作为细胞蛋白质的质量控制系统以及细胞应激的传感器，在慢性炎症、缺血缺氧、高糖等病理因素刺激下未折叠蛋白或错误折叠蛋白在内质网中聚集，进而激活 ERS 及未折叠蛋白反应，有利于维持细胞内蛋白质稳定及细胞的适应性存活并减轻组织在病理因素作用下的损伤。但持久、强烈的 ERS 不仅无法维持细胞内环境稳定，还会造成 GRP78 表达增加并与未折叠蛋白结合，进而通过下游 CHOP、JNK、Caspase-12 介导的生物学效应促进细胞凋亡，加重组织在病理因素作用下的损伤^[6-8]。既往研究^[9-10]及本研究结果均证实 PE 胎盘中 ERS 标志蛋白 GRP78 呈高表达趋势，提示胎盘中 ERS 的过度激活可能参与 PE 的发病。

基于此,本研究通过分析 ERS 在缺氧刺激下胎盘滋养细胞凋亡中的调控作用深入探索 ERS 的发病机制。ERS 途径中 CHOP、JNK、Caspase-12 促进细胞凋亡的生物学效应已获得一致认可。CHOP 表达增加可通过调控下游 B 细胞淋巴瘤/白血病-2 削弱细胞的抗凋亡能力、促进细胞色素 C 的释放及细胞凋亡^[11]; JNK 磷酸化为有活性的 p-JNK 及 Caspase-12 裂解为有活性的 Cleaved caspase-12 均能作用于 caspase 级联激活途径,引起 caspase-3 激活并引起细胞凋亡^[12]。本研究首先在 PE 胎盘样本及 PE 胎盘滋养细胞模型中检测了 ERS 相关的凋亡水平,与健康胎盘及对照组滋养细胞比较,PE 胎盘及 PE 细胞模型中滋养细胞凋亡率及 CHOP、p-JNK、Cleaved caspase-12 的表达水平均增加,以上结果提示 PE 胎盘及滋养细胞中 ERS 发生过度激活且可能进一步促进细胞凋亡。

为了进一步研究 PE 胎盘中 ERS 对细胞凋亡的调控作用,本研究首先在 PE 胎盘中进行了相关分析,ERS 标志蛋白及凋亡蛋白的表达水平均与细胞凋亡率呈正相关,提示 ERS 的激活可能促进 PE 胎盘中细胞凋亡,且这一促进作用可能由 ERS 凋亡蛋白 CHOP、JNK、Caspase-12 介导。随后进行细胞实验观察到 ERS 激动剂处理离体培养的胎盘滋养细胞使细胞凋亡率增加,这为 ERS 参与胎盘滋养细胞凋亡的调控提供了直接证据,结合 PE 细胞模型中 ERS 和细胞凋亡均显著激活的结果分析,ERS 的激活可能促进 PE 细胞模型发生细胞凋亡。因此 CHOP、JNK、Caspase-12 是 ERS 途径重要的凋亡基因,本研究将逐一验证这 3 种基因在 ERS 激活促进 PE 细胞模型发生细胞凋亡中的作用。

CHOP 的高表达、JNK 的磷酸化活化、Caspase-12 的裂解后活化介导了促进细胞凋亡的生物学效应,本研究 PE 细胞模型中 ERS 激活、细胞凋亡加剧。为进一步验证 ERS 途径中的 CHOP、JNK、Caspase-12 在 PE 细胞模型凋亡加剧中的作用,本研究针对 CHOP、JNK、Caspase-12 分别进行干预。为在 PE 细胞模型建立过程中抑制 CHOP 的表达、抑制 JNK 的磷酸化和 Caspase-12 的裂解,分别进行 CHOP siRNA 转染、JNK 拮抗剂干预、Caspase-12 抑制剂干预,经上述处理后,PE 细胞模型的增殖能力增加、凋亡率降低,表明抑制 CHOP 表达、JNK 磷酸化、Caspase-12 裂解能够抑制 PE 细胞模型的凋亡,进而表明 PE 细胞模型中 ERS 激活通过下游 CHOP、JNK、Caspase-12 介导了细胞凋亡。

综上,本研究通过临床样本检测及细胞实验探究了胎盘滋养细胞 ERS 激活对细胞凋亡的调控作用及机制。在 PE 发病过程中胎盘滋养细胞在缺血缺氧下发生 ERS 激活,进一步通过下游 CHOP、JNK、Caspase-12 促进滋养细胞发生凋亡。根据以上结果,胎盘中 ERS 介导的细胞凋亡参与 PE 的发病。

参考文献:

- [1] Ren ZL, Gao YF, Gao Y, et al. Distinct placental molecular processes associated with early-onset and late-onset preeclampsia [J]. *Theranostics*, 2021, 11(10): 5028-5044.
- [2] 李莉, 郑丹, 张佳, 等. 内质网应激因子 Caspase-12 与子痫前期发病机制的关系 [J]. *江西医药*, 2021, 56(4): 533-536.
- [3] Zhao JW, Chow RP, McLeese RH, et al. Modelling preeclampsia: a comparative analysis of the common human trophoblast cell lines [J]. *FASEB Bioadv*, 2021, 3(1): 23-35.
- [4] 杨晓涛, 韩顶立, Philip N. Baker, 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.
- [5] Vangrieken P, Al-Nasiry S, Bast A, et al. Hypoxia-induced mitochondrial abnormalities in cells of the placenta [J/OL]. *PLoS One*, 2021, 16(1): e0245155.
- [6] Huang CY, Deng JS, Huang WC, et al. Attenuation of lipopolysaccharide-induced acute lung injury by hispolon in mice, through regulating the TLR4/PI3K/Akt/mTOR and Keap1/Nrf2/HO-1 pathways, and suppressing oxidative stress-mediated ER stress-induced apoptosis and autophagy [J]. *Nutrients*, 2020, 12(6): 1742.
- [7] Song SL, Tan J, Miao YY, et al. Intermittent-hypoxia-induced autophagy activation through the ER-stress-related PERK/eIF2 α /ATF4 pathway is a protective response to pancreatic β -cell apoptosis [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 51(6): 2955-2971.
- [8] Hou XL, Li LJ, Chen S, et al. MKP-1 overexpression reduces postischemic myocardial damage through attenuation of ER stress and mitochondrial damage [J/OL]. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 2021: 8905578.
- [9] Du L, He F, Kuang L, et al. eNOS/iNOS and endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis in the placentas of patients with preeclampsia [J]. *J Hum Hypertens*, 2017, 31(1): 49-55.
- [10] Bastida-Ruiz D, Aguilar E, Ditisheim A, et al. Endoplasmic reticulum stress responses in placentation - A true balancing act [J]. *Placenta*, 2017, 57: 163-169.
- [11] Wu MZ, Fu T, Chen JX, et al. LncRNA GOLGA2P10 is induced by PERK/ATF4/CHOP signaling and protects tumor cells from ER stress-induced apoptosis by regulating Bcl-2 family members [J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(4): 276.
- [12] Wang XT, Cui XP, Zhu CW, et al. FKBP11 protects intestinal epithelial cells against inflammation-induced apoptosis via the JNK-caspase pathway in Crohn's disease [J]. *Mol Med Rep*, 2018, 18(5): 4428-4438.

收稿日期: 2023-03-16 修回日期: 2023-10-09

本文编辑: 王卿