

- combined with azithromycin sequential therapy in the treatment of rmpp and its effect on Th1/Th2 cytokine levels [J]. Comput Math Methods Med, 2022, 2022: 5162768.
- [25] CHEN S, PIAO Y, SONG Y, et al. Protective effects of glaucocalyxin A on the airway of asthmatic mice [J]. Open Med (Wars), 2022, 17(1): 1158-1171.
- [26] SHI F L, YUAN L S, WONG T S, et al. Dimethyl fumarate inhibits necroptosis and alleviates systemic inflammatory response syndrome by blocking the RIPK1-RIPK3-MLKL axis [J]. Pharmacol Res, 2023, 189: 106697.
- [27] ZHAO H, CHEN X, ZHANG W, et al. Pan-immune-inflammation value is associated with the clinical stage of colorectal cancer [J]. Front Surg, 2022, 9: 996844.
- [28] HERMELIJN S M, MACKENBACH M J, VAN HORIK • 短篇论著 •
- C, et al. Quantitative CT imaging analysis to predict pathology features in patients with a congenital pulmonary airway malformation [J]. J Pediatr Surg, 2022, 57(8): 1567-1572.
- [29] LI Y, GUO Z, ZHANG G, et al. The correlation between vitamin a status and refractory Mycoplasma pneumoniae pneumonia (RMPP) incidence in children [J]. BMC Pediatr, 2020, 20(1): 359.
- [30] WANG S, JIANG Z, LI X, et al. Diagnostic value of serum LDH in children with refractory Mycoplasma pneumoniae pneumoniae; a systematic review and meta-analysis [J]. Front Pediatr, 2023, 11: 1094118.
- (收稿日期: 2024-08-26 修回日期: 2024-11-28)

YY1 调节 Th17 平衡激活 PI3K/AKT 信号通路对子痫前期大鼠胎盘血管生成的影响*

徐 洁¹, 沈玉叶², 吴 辰², 贺 艺², 黄丽琼^{1△}
1. 咸宁市妇幼保健院产科, 湖北咸宁 437000; 2. 咸宁市中心医院/湖北科技学院第一附属医院产科, 湖北咸宁 437000

摘 要:目的 探讨上调转录因子 Yin Yang-1(YY1)表达对子痫前期大鼠胎盘血管生成的影响及可能机制。方法 选择 30 只雌性 SD 大鼠随机分为 CON 组(正常孕鼠)、PE 组(PE+腹腔注射空白慢病毒载体)、YY1 组(PE+腹腔注射 YY1 过表达慢病毒载体), 采用尾静脉注射脂多糖诱导构建 PE 模型, 建模 18 d 后检测大鼠血压、尿蛋白、血肌酐及胎鼠生长发育情况, 免疫组织化学法检测胎盘微血管密度(MVD), 实时荧光定量 PCR(qPCR)检测胎盘组织中 Foxp3、RORγt mRNA 表达, 蛋白印迹法检测胎盘组织中血管内皮生长因子(VEGF)、血管生成素-1(Ang-1)、胚胎生长因子(PLGF)及磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B(PI3K/Akt)通路蛋白表达。结果 与 CON 组比较, PE 组、YY1 组大鼠收缩压、舒张压、血肌酐、尿蛋白、胎盘组织 RORγt mRNA 水平增加($P<0.05$), 胎鼠体重、身长、胎盘湿重、胎盘组织 MVD、Foxp3 mRNA 及 VEGF、Ang-1、PLGF、p-PI3K、p-Akt 蛋白表达降低($P<0.05$); 与 PE 组比较, YY1 组大鼠收缩压、舒张压、血肌酐、尿蛋白、胎盘组织 RORγt mRNA 水平降低($P<0.05$), 胎鼠体重、身长、胎盘湿重、胎盘组织 MVD、Foxp3 mRNA 及 VEGF、Ang-1、PLGF、p-PI3K、p-Akt 蛋白表达增加($P<0.05$)。结论 上调 YY1 表达可促进 PE 大鼠胎盘血管生成, 可能与 YY1 能通过调节调节性 T 细胞/辅助性 T 细胞 17 平衡激活 PI3K/Akt 信号有关。

关键词: Yin Yang-1; 子痫前期; 胎盘血管生成; 磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B 通路
DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2025.08.022 **中图法分类号:** R714.2
文章编号: 1673-4130(2025)08-1010-06 **文献标志码:** A

子痫前期(PE)是一种以高血压、蛋白尿等为主要特征的妊娠期全身性血管疾病, 与子宫-胎盘血流循环障碍引发的胎盘持续缺氧缺血有关, 可造成复发性流产、胎儿宫内窘迫等不良母婴结局^[1]。目前有学者认为, 母胎的免疫紊乱参与了 PE 的发生^[2]。妊娠期母体对胎儿的免疫耐受既能保证胚胎免受母体排斥, 还对病原微生物入侵起到抵御作用, 而母胎之间免疫耐受平衡的打破可能引发 PE、自发性流产等病理妊娠

后果, 而调节性 T 细胞(Treg)/辅助性 T 细胞 17(Th17)平衡被认为参与了 PE 的发生^[3]。RORγt、Foxp3 表达是维持 Treg/Th17 平衡的关键, 其中 RORγt 是调控 Th17 发育和功能的关键转录因子, 可通过调节 Th17 效应因子白细胞介素(IL)-17A 表达来参与机体免疫反应, 还能抑制 Treg 细胞分化和 Foxp3 表达, 影响免疫抑制相关细胞因子表达, 因此胎盘组织 Foxp3 和 RORγt 表达能在一定程度反映

* 基金项目: 湖北省中央引导地方科技发展专项项目(2022BCE052)。
△ 通信作者, E-mail: 12996572@qq.com。

Treg/Th17 平衡状态。Yin Yang-1 (YY1) 是一种既往发现与肿瘤血管生成有关的转录因子,近年来有研究发现其在复发性流产患者滋养细胞中水平明显降低,推测 YY1 可能参与了妊娠维持过程^[4];还有研究发现,YY1 能通过调节 Treg/Th17 平衡减轻狼疮性肾炎小鼠的肾损伤,提示 YY1 也可通过参与机体免疫调节影响肾功能^[5],但 YY1 是否能够通过调节免疫平衡参与妊娠维持目前尚不明确。本研究通过建立 PE 大鼠模型,分析上调 YY1 表达对 PE 大鼠胎盘血管生成、胎盘组织 Foxp3 和 ROR γ t 表达的影响及可能机制,以期临床 PE 发病机制研究提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料来源 SPF 级 SD 大鼠[购自上海医科大学动物房,SCXK(沪)2020-0014],选择 30 只约 8 周龄雌性大鼠(体重 250~290 g)和 15 只 10 周龄雄性大鼠(体重 310~350 g),饲养环境安静清洁,温度 21~25 ℃,湿度 50%~70%,光/暗 12 h,提供清洁饲料和灭菌水,本研究严格遵循 3R 原则。

1.2 仪器与试剂 YY1 过表达慢病毒载体及空白慢病毒载体(上海吉凯基因技术有限公司设计并合成),RNAisoPlus 试剂盒(日本 TAKARA 公司),血管内皮生长因子(VEGF)、血管生成素-1(Ang-1)、胚胎生长因子(PLGF)、p-磷脂酰肌醇 3-激酶(p-PI3K)、p-蛋白激酶 B(p-Akt)、 β -actin 兔抗及山羊抗兔 HPR 标记二抗(北京中杉公司);大肠杆菌内毒素 LPS(货号:L2880,美国 Sigma 公司);无创血压计(日本 Softron 公司 BP2010 型),离心机(德国 Eppendorf 5417R 型),全自动生化仪(日立 AU5700 型),实时荧光定量 PCR(qPCR)仪(德国 Roche 公司 7500Fast 型),光学显微镜(日本奥林巴斯 CX23 型),电泳仪(美国伯乐 1645050 型)。

1.3 方法

1.3.1 动物分组及处理 适应性饲养 1 周后按照雌:雄=2:1 合笼,每日用阴道涂片检查,待观察到有精子作为妊娠第 0 天,并将雌性大鼠随机分为 CON 组、PE 组、YY1 组 3 组,其中 PE 组、YY1 组在大鼠妊娠的第 4~5 天采用尾静脉注射 0.5 μ g/kg 脂多糖方式诱导建立 PE 模型^[6],CON 组尾静脉注射等量无菌 0.9% NaCl 溶液。YY1 组在造模第 14 天将 40 μ L YY1 过表达慢病毒载体(滴度 1.0×10^{11} TU/mL)加入 0.9% NaCl 溶液配制成 0.34 mL 溶液,然后通过微量注射器注入 YY1 组腹腔中,PE 组腹腔注射等量空白慢病毒载体,各组分笼继续饲养。

1.3.2 大鼠血压、血肌酐及尿蛋白的测定 建模第 21 天采用无创血压计测定小鼠尾动脉血压,每次测定时间固定在上午 8—12 点,每只重复 3 次并取平均值,实验前对大鼠进行血压稳定训练,尽量保证实验期间其情绪稳定;并在血压测定的同一天用代谢笼收集大鼠 18 点至次日 8 点尿液,同时腹主动脉取血,离

心取上层清液,采用全自动生化仪测定大鼠尿蛋白及血肌酐水平。

1.3.3 胎鼠生长发育情况测定 血压测定结束后将各组大鼠颈椎脱臼处死,分离胎鼠及胎盘组织,采用电子称测定胎鼠体重、胎盘湿重,去皮后将胎鼠、胎盘放置在托盘上,待数据稳定记录下来;将胎鼠侧放在桌面上,使身体伸直,尺子测量鼻尖至鼠尾根部长度作为其身长。

1.3.4 免疫组织化学法测定胎盘血管生成情况 取各组大鼠胎盘组织用多聚甲醛固定,石蜡包埋、切片,采用二甲苯、梯度浓度乙醇脱蜡置水,过氧化氢孵育 15 min 后加 5% 血清封闭 2 h,随后滴加兔抗大鼠 CD34 一抗(1:200)4 ℃过夜,次日取出采用 TBS 漂洗,然后用大鼠二步法免疫组织化学试剂盒进行免疫组织化学染色,最后用蒸馏水漂洗,梯度浓度乙醇脱水、透明封片,然后在 400 倍光学显微镜下随机选择 10 个视野采用 IPP6.0 以数点方式统计单位面积(mm^2)CD34 阳性表达的微血管,从而评估微血管密度(MVD)。

1.3.5 qPCR 检测胎盘组织中 Foxp3、ROR γ t mRNA 表达 取每只小鼠胎盘组织研磨后,用 RNA 提取试剂盒提取组织中总 RNA,并计算其纯度和浓度,然后采用逆转录试剂盒将其逆转录为 cDNA,根据 NCBI 数据库中的基因 ID 在 Primerbank 数据库中寻找 Foxp3、ROR γ t 引物序列,据此合成引物序列,进行 qPCR 扩增:95 ℃ 5 min,95 ℃ 30 s,60 ℃ 30 s,共 40 个循环,72 ℃ 5 min,然后采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 计算目的基因 mRNA 相对表达量。引物序列:Foxp3 上游引物 5'-TGGCAATAGTTCCTTCCCAGAGT-3',下游引物 5'-ATCGGATAAGGGTGGCATAGGT-3',95 bp;ROR γ t 上游引物 5'-CTACGCCTGGAGGACGTTCTACG-3',下游引物 5'-CTCCCACATCTCCCACAT-TGACTTC-3',96 bp;内参 GAPDH 上游引物 5'-TGATGGGTGTGAACCACGAG-3',下游引物 5'-AGTGATGGCATGGACTGTGG-3',152 bp。

1.3.6 蛋白印迹法检测胎盘组织中相关蛋白表达 取每只小鼠胎盘组织 100 mg,经液氮研磨后加入 1 mL 含 PMSF 的 RIPA 细胞裂解液,以 12 000 r/min 离心 10 min 取蛋白沉淀,采用 BCA 法测定提取的蛋白浓度。将蛋白上样并进行 10% SDS-PAGE 电泳,蛋白分离后转到 PVDF 膜上,然后采用 5% 脱脂奶粉封闭 2 h,加入对应一抗,VEGF(1:2 000)、Ang-1(1:1 000)、PLGF(1:5 000)、p-PI3K(1:1 000)、p-Akt(1:1 000)、内参 β -actin(1:5 000)在 4 ℃冰箱中孵育过夜,取出后用 PBS 洗涤并加入 HPR 标记二抗(1:5 000)室温孵育 2 h,再次用 PBS 洗涤并采用 ECL 显色,Image J 软件分析蛋白条带灰度值,计算目的蛋白相对表达量水平。

1.4 统计学处理 采用 SPSS22.0 软件分析数据,符

合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD-*t* 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组血压、血肌酐及尿蛋白水平比较 与 CON

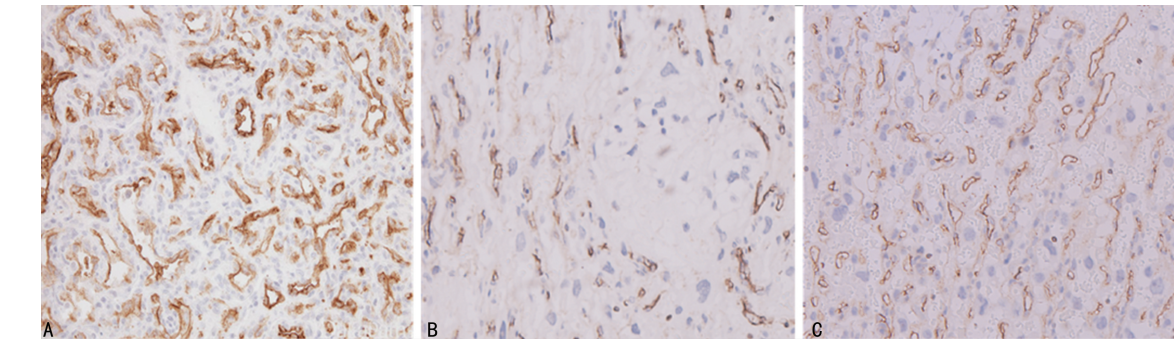
表 1 各组血压、血肌酐及尿蛋白比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	收缩压(mmHg)	舒张压(mmHg)	血肌酐(mmol/L)	尿蛋白(mg/mL)
CON 组	10	71.42±9.43	106.24±11.36	4.22±0.48	3.26±0.41
PE 组	10	155.63±12.61 ^a	203.55±12.47 ^a	12.06±0.71 ^a	9.73±0.78 ^a
YY1 组	10	78.62±12.15 ^{ab}	114.29±11.48 ^{ab}	5.24±0.49 ^{ab}	3.59±0.46 ^{ab}
<i>F</i>		165.256	210.181	559.298	403.144
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与 CON 组比较,^a $P < 0.05$;与 PE 组比较,^b $P < 0.05$ 。

2.2 各组胎鼠生长发育情况 各组均未出现死胎、胎盘吸收情况,与 CON 组比较,PE 组、YY1 组大鼠胎鼠体重、身长、胎盘湿重降低($P < 0.05$);与 PE 组比较,YY1 组大鼠胎鼠体重、身长、胎盘湿重增加($P < 0.05$)。见表 2。

2.3 各组胎盘微血管密度比较 免疫组织化学检测结果显示,CON 组胎盘组织 CD34 阳性表达的微血管较多,而 PE 组 CD34 阳性表达的微血管密度明显减少,YY1 组 CD34 阳性表达的微血管密度较 PE 组增加($P < 0.05$),见图 1。



注:A 为 CON 组,B 为 PE 组,C 为 YY1 组。

图 1 免疫组织化学法检测 CD34 阳性表达的微血管(×200)

2.4 各组胎盘组织中 Foxp3、RORγt mRNA 表达比较 qPCR 结果显示,与 CON 组比较,PE 组、YY1 组大鼠胎盘组织中 Foxp3 mRNA 表达降低($P < 0.05$),RORγt mRNA 表达升高($P < 0.05$);与 PE 组比较,YY1 组大鼠胎盘组织 Foxp3 mRNA 表达升高($P < 0.05$),RORγt mRNA 表达降低($P < 0.05$),见表 3。

表 3 各组胎盘组织中 Foxp3、RORγt mRNA 表达比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	Foxp3 mRNA	RORγt mRNA
CON 组	10	1.02±0.09	0.99±0.04
PE 组	10	0.53±0.06 ^a	1.26±0.15 ^a

组比较,PE 组、YY1 组大鼠收缩压、舒张压、血肌酐、尿蛋白水平增加($P < 0.05$);与 PE 组比较,YY1 组大鼠收缩压、舒张压、血肌酐、尿蛋白水平降低($P < 0.05$)。见表 1。

表 2 各组胎鼠生长发育情况($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	胎鼠体重(g)	胎鼠身长(cm)	胎盘湿重(g)
CON 组	10	5.72±0.41	3.61±0.35	0.48±0.06
PE 组	10	4.39±0.53 ^a	2.85±0.31 ^a	0.27±0.05 ^a
YY1 组	10	4.78±0.24 ^{ab}	3.27±0.29 ^{ab}	0.41±0.07 ^{ab}
<i>F</i>		27.681	14.364	31.181
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001

注:与 CON 组比较,^a $P < 0.05$;与 PE 组比较,^b $P < 0.05$ 。

续表 3 各组胎盘组织中 Foxp3、RORγt mRNA 表达比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	Foxp3 mRNA	RORγt mRNA
YY1 组	10	0.81±0.04 ^{ab}	0.90±0.06 ^{ab}
<i>F</i>		136.316	38.014
<i>P</i>		<0.001	<0.001

注:与 CON 组比较,^a $P < 0.05$;与 PE 组比较,^b $P < 0.05$ 。

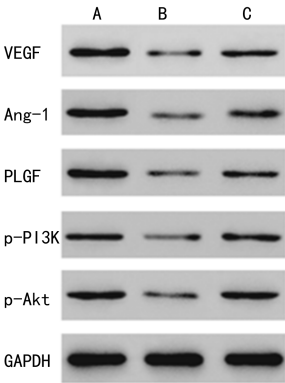
2.5 各组胎盘血管相关因子及 PI3K/Akt 通路蛋白表达比较 Western blot 结果显示,与 CON 组比较,PE 组、YY1 组大鼠胎盘组织中 VEGF、Ang-1、PLGF、p-PI3K、p-Akt 蛋白表达均降低($P < 0.05$);与

PE 组比较, YY1 组大鼠胎盘组织中 VEGF、Ang-1、PLGF、p-PI3K、p-Akt 蛋白表达均升高 ($P<0.05$)。见表 4、图 2。

表 4 各组胎盘血管相关因子及 PI3K/Akt 通路蛋白表达比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	VEGF	Ang-1	PLGF	p-PI3K	p-Akt
CON 组	10	0.92±0.07	0.98±0.12	0.96±0.29	0.85±0.11	0.83±0.07
PE 组	10	0.21±0.04 ^a	0.26±0.02 ^a	0.22±0.05 ^a	0.19±0.02 ^a	0.30±0.05 ^a
YY1 组	10	0.66±0.09 ^{ab}	0.51±0.23 ^{ab}	0.53±0.15 ^{ab}	0.77±0.06 ^{ab}	0.75±0.06 ^{ab}
<i>F</i>		265.137	59.217	37.974	241.739	222.636
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与 CON 组比较, ^a $P<0.05$;与 PE 组比较, ^b $P<0.05$ 。



注:A 为 CON 组, B 为 PE 组, C 为 YY1 组。

图 2 各组胎盘血管相关因子及 PI3K/Akt 通路蛋白表达

3 讨 论

PE 是一种可累及全身多个组织器官的代谢疾病,是全球范围内孕妇及围生儿死亡的主要原因之一,目前其病因及发病机制尚未完全研究清楚^[7]。本研究根据相关文献采用脂多糖诱导构架 PE 大鼠模型,发现 PE 组和 YY1 组收缩压、舒张压、血肌酐、尿蛋白明显增加,提示 PE 模型建立成功,进一步检测胎鼠生长发育情况发现,PE 组和 YY1 组胎鼠身长、体重及胎盘温重明显低于 CON 组,提示 PE 可引发母体身体损伤及胎鼠生长发育不良,而探究 PE 发病机制对改善母婴结局具有重要意义。

YY1 是定位在 14 号染色体 q32.2 上的高度保守蛋白,是锌指转录因子 GL1-Kruppl 家族的成员^[8]。目前有学者在多种脊椎动物中发现 YY1 转录结合位点,且能通过调节生物体基因表达参与胚胎发育及肿瘤浸润的调节^[9-10]。YY1 能通过招募共激活因子发挥抑制、激活转录的双重功能,相关研究发现,YY1 能通过直接结合并激活 VEGF 受体,还能与 HIF-1 α 结合形成转录激活复合物共同促进 VEGF 表达,而沉默 YY1 可下调卵巢肿瘤细胞中 VEGF-Akt 通路抑制血管生成^[11-13]。近年来,关于 YY1 参与胚胎发育过程调控的研究逐渐增多。有研究认为,妊娠过程中滋养层细胞的增殖、侵袭过程与肿瘤生长及侵袭机制类似,YY1 基因缺失可影响早期胚胎 Tsix 表达,进而引发 X 染色体失活^[14];还有研究发现,卵黄囊内胚层的

YY1 表达可影响组织中 VEGF 表达从而参与内胚层分化,推测其可能通过间接影响血管生成来参与细胞生物过程^[15]。此外,滋养层细胞转移及侵袭过程的精准调控是胚胎正常发育的先决条件,其侵袭能力受损也是 PE 的重要特征之一。YY1 还被发现在滋养层细胞中表达异常,且能影响多种迁移蛋白及炎症因子水平进而影响滋养细胞侵袭^[16],提示 YY1 与胚胎发育及妊娠维持密切相关。本研究也发现,过表达 YY1 后 PE 大鼠相关临床症状及胎鼠生长发育情况得到改善,同时胎盘血管生成增加。PE 患者不仅表现为胎盘滋养细胞侵袭能力受损,本研究结果提示 YY1 可能作为治疗 PE 的潜在靶点。

与复发性流产发病机制相似,PE 的发生被认为与 Th17 细胞数量异常增多有关^[17]。本研究发现,与 CON 组比较,PE 组、YY1 组大鼠胎盘组织中 Foxp3 mRNA 表达降低, ROR γ t mRNA 表达升高,与 PE 组比较,YY1 组大鼠胎盘组织 Foxp3 mRNA 表达升高, ROR γ t mRNA 表达降低,提示 PE 大鼠胎盘组织中可能存在 Treg/Th17 失衡,而过表达 YY1 可以改善这种免疫失衡状况。相关研究认为,母体和胎儿的 Treg/Th17 失衡与 PE 的发生有关,其中 Treg 主要介导免疫耐受,可分泌白细胞介素(IL)-10、IL-4 等炎症因子,在妊娠维持中起到重要作用,目前已经发现 PE 孕妇的蜕膜组织中 Treg 数量明显低于健康孕妇^[18-19];而 Th17 特异性分泌的 IL-17 参与胚胎着床及滋养细胞浸润中的炎症反应,过高的炎症水平可导致卵细胞着床失败及流产^[20],因此纠正 Treg/Th17 失衡对妊娠维持具有重要意义。目前认为, Treg/Th17 失衡可通过分泌大量细胞因子影响相关炎症信号通路的激活及表达,进而对下游靶器官造成损伤^[21]。PI3K/Akt 通路是参与细胞增殖、转移及凋亡调控的经典信号通路,同时具有丝氨酸/苏氨酸激酶及磷脂激酶活性,其中 PI3K 是由催化功能的 p110 和调节功能 p85 单位组成的磷脂酶,被活化后可产生第二信使激活下游丝氨酸/苏氨酸激酶 Akt,而 Akt 磷酸化后可通过一系列级联反应参与调控细胞生物学行为^[22-23]。相关研究发现,PI3K/Akt 通路与胎盘滋

养细胞侵袭及血管生成过程相关,有学者上调 PI3K/Akt 通路后发现妊娠高血压小鼠血管内皮损伤得到改善,同时蜕膜组织中促炎因子表达降低^[24]。本研究发现,PE 组大鼠胎盘组织中 VEGF、Ang-1、PLGF 及 PI3K/Akt 通路相关蛋白表达均降低,而 YY1 组大鼠胎盘组织中上述蛋白表达异常情况明显改善,提示 YY1 可同时影响 PI3K/Akt 通路表达及促进 PE 血管生成。此外,有研究发现,活化的 T 细胞可通过刺激 CD28 影响 PI3K/Akt 通路^[25],推测 YY1 可能通过改善 Treg/Th17 失衡进而影响 PI3K/Akt 通路的激活。还有研究认为,PI3K/Akt 通路可能通过调节转化生长因子-β 表达影响母胎的免疫耐受环境,以维持正常妊娠状态^[26];PI3K/Akt 通路激活还可通过抑制 NF-κB 活化来促进免疫耐受,从而提高 Treg 细胞及相关因子水平^[27],提示 PI3K/Akt 通路可能与免疫失衡相互影响,共同参与 PE 的发展。

综上所述,上调 YY1 表达可促进 PE 大鼠胎盘血管生成,可能与 YY1 能通过调节 Treg/Th17 平衡激活 PI3K/AKT 通路有关,YY1 有望成为 PE 治疗的新靶点。但本研究存在一定的不足之处,一是 PI3K/AKT 通路如何调控血管生成相关因子表达并促进 PE 胎盘组织微血管密度增加目前尚不明确,二是 YY1 是否可以通过其他通路影响 Treg/Th17 平衡参与免疫耐受及妊娠维持尚不清楚,具体机制仍有待进一步研究。

参考文献

[1] 王媛,唐慧荣,王娅,等. 孕期血压与妊娠期高血压或子痫前期发病关系的研究[J]. 中华妇产科杂志, 2021, 56(11):767-773.

[2] 漆洪波,童超. 从母胎界面着眼探究子痫前期的发病机制[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2020, 36(1):61-64.

[3] 谢丝雨,张英,陈繁. Th17/Treg 相关细胞因子失衡参与子痫前期的发病机制[J]. 安徽医科大学学报, 2023, 58(7):1194-1199.

[4] ZHANG Y, WANG H, QIU P, et al. Decidual macrophages derived NO downregulates PD-L1 in trophoblasts leading to decreased Treg cells in recurrent miscarriage[J]. Front Immunol, 2023, 14(6):118-154.

[5] WANG B, JIANG X, LI Y, et al. YY1 alleviates lupus nephritis-induced renal injury by reducing the Th17/Treg cell ratio via the IFN-γ/Fra2 axis[J]. Lab Invest, 2022, 102(8):872-884.

[6] 李亚梅,王燕侠. 黄芩苷激活胆碱能抗炎途径改善脂多糖诱发的子痫前期大鼠症状[J]. 中国免疫学杂志, 2020, 36(21):2587-2591.

[7] 叶宁芝,陈灵林,蔡婉婉. 重度子痫前期发病主要影响因素及妊娠结局研究[J]. 中国妇幼保健, 2023, 38(15):2836-2839.

[8] 李文静,田霖丽,刘鸣. 转录因子 Yin Yang-1 在头颈部肿瘤的研究进展[J]. 中国现代医学杂志, 2021, 31(13):71-

76.

[9] WAROWICKA A, BRONIARCZYK J, WEGLEWSKA M, et al. Dual role of YY1 in HPV life cycle and cervical cancer development[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(7):3453.

[10] MARTINEZ-RUIZ G U, MORALES-SANCHEZ A, PACHECO-HERNANDEZ A F. Roles played by YY1 in embryonic, adult and cancer stem cells[J]. Stem Cell Rev Rep, 2021, 17(5):1590-1606.

[11] WANG X, FAN W, LI N, et al. YY1 lactylation in microglia promotes angiogenesis through transcription activation-mediated upregulation of FGF2[J]. Genome Biol, 2023, 24(1):87.

[12] DONG X, GUO R, JI T, et al. YY1 safeguard multidimensional epigenetic landscape associated with extended pluripotency[J]. Nucleic Acids Res, 2022, 50(21):12019-12038.

[13] CHEN M, CHAO B, XU J, et al. CPT1A modulates PI3K/Akt/mTOR pathway to promote preeclampsia[J]. Placenta, 2023, 133(3):23-31.

[14] LI J, HOU L, ZHAO R, et al. Potential use of anti-cancer drugs for treatment of preeclampsia by targeting the miRNA-IGF1R-PI3K-AKT Axis[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2022, 22(1):388-392.

[15] SHU C, HAN S, XU P, et al. Estrogen and preeclampsia: potential of estrogens as therapeutic agents in preeclampsia[J]. Drug Des Devel Ther, 2021, 15(7):2543-2550.

[16] TIAN FJ, CHENG Y X, LI X C, et al. The YY1/MMP2 axis promotes trophoblast invasion at the maternal-fetal interface[J]. J Pathol, 2016, 239(1):36-47.

[17] 赵钰林,王永红. mTOR 信号通路与子痫前期发病的相关性[J]. 国际妇产科学杂志, 2022, 49(6):655-658.

[18] LI T, LING Z, XIE K, et al. The COL-4A1 polypeptide destroy endothelial cells through the TGF-β/PI3K/AKT pathway[J]. Sci Rep, 2021, 11(1):15761.

[19] 张航,聂黎虹,秦凯悦,等. 甜菜碱抑制 PI3K/AKT/NF-κB 通路诱导 C4-2B 前列腺癌细胞凋亡[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2021, 37(6):513-519.

[20] 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, 2023, 5(2):114-119.

[21] LI H, YU L, DING Y, et al. Yin Yang 1 impacts upon preeclampsia by regulating Treg/TH17 cells and PI3K/AKT pathway[J]. J Immunotoxicol, 2023, 20(1):222-230.

[22] LIU R J, XU Z P, HUANG X, et al. Yin Yang 1 promotes the neuroendocrine differentiation of prostate cancer cells via the non-canonical WNT pathway (FYN/STAT3)[J]. Clin Transl Med, 2023, 13(10):e1422.

[23] WANG Y, YANG D, ZHU R, et al. YY1/ITGA3 pathway may affect trophoblastic cells migration and invasion ability[J]. J Reprod Immunol, 2022, 153(6):103-106.

[24] SATO N, SAKAI N, FURUKAWA K, et al. Yin Yang 1 regulates ITGAV and ITGB1, contributing to improved

- prognosis of colorectal cancer[J]. Oncol Rep, 2022, 47(5):87.
- [25] WEI S Y, SHIH Y T, WU H Y, et al. Endothelial Yin Yang 1 phosphorylation at S118 induces atherosclerosis under flow[J]. Circ Res, 2021, 129(12):1158-1174.
- [26] CHEN S, LU K, HOU Y, et al. YY1 complex in M2 macrophage promotes prostate cancer progression by upregulating IL-6 [J]. J Immunother Cancer, 2023, 11(4):

e006020.

- [27] YIN Y, ZHANG J, YU H, et al. Effect of lncRNA-ATB/miR-651-3p/Yin Yang 1 pathway on trophoblast-endothelial cell interaction networks [J]. J Cell Mol Med, 2021, 25(12):5391-5403.

(收稿日期:2024-09-02 修回日期:2024-11-28)

• 短篇论著 •

circ_0006089 与 miR-217 在奥沙利铂耐药胃癌细胞中的表达及其对耐药细胞转移活性的影响^{*}

张旗林¹, 李园园², 许琦华², 廖冰灵², 周 颖^{2△}

上海市第七人民医院:1. 外科;2. 消化科, 上海 200137

摘要:目的 探讨 circ_0006089 与微小 RNA(miR)-217 在奥沙利铂耐药的胃癌细胞(MGC803/L-OHP 细胞)中的作用。方法 采用实时荧光定量 PCR 检测奥沙利铂耐药的胃癌细胞(MGC803/L-OHP 细胞)和非耐药的胃癌细胞(MGC803 细胞)中 circ_0006089 与 miR-217 的表达。将 MGC803/L-OHP 细胞随机分为 4 组:si NC 组、si circ_0006089 组、miR NC 组和 miR-217 mimic 组。采用集落试验分析 MGC803/L-OHP 细胞的增殖能力;通过 Transwell 试验分析 MGC803/L-OHP 细胞的侵袭能力;通过流式细胞术分析 MGC803/L-OHP 细胞的凋亡率;通过 StarBase 预测 circ_0006089 与 miR-217 的结合位点。通过双荧光素酶报告基因检测与实时荧光定量 PCR 分析 MGC803/L-OHP 细胞中 circ_0006089 与 miR-217 的靶向调控关系。结果 与非耐药的胃癌组织和细胞比较,奥沙利铂耐药的胃癌组织和细胞中的 circ_0006089 水平增加($P<0.05$),miR-217 水平降低($P<0.05$)。与 si NC 组和 miR NC 组的 MGC803/L-OHP 细胞比较,si circ_0006089 组和 miR-217 mimic 组的 MGC803/L-OHP 细胞的增殖活性、侵袭能力减弱、凋亡率增加($P<0.05$)。StarBase 预测显示, circ_0006089 与 miR-217 存在结合位点。荧光素酶活性比较显示,与 miR NC 组比较,在 circ_0006089 WT 组中转染 miR-217 mimic 后荧光素酶活性降低($P<0.05$),实时荧光定量 PCR 结果显示,在 MGC803/L-OHP 细胞中过表达 circ_0006089 后,miR-217 水平降低($P<0.05$)。结论 在奥沙利铂耐药的胃癌组织和细胞中, circ_0006089 高表达而 miR-217 低表达,并且 circ_0006089 能够靶向抑制 miR-217 的表达。通过下调 circ_0006089 或增加 miR-217 的表达能够抑制奥沙利铂耐药的胃癌细胞的增殖、侵袭,并促进其凋亡。

关键词:微小 RNA-217; circ_0006089; 奥沙利铂; 胃癌**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2025.08.023**文章编号:**1673-4130(2025)08-1015-05**中图法分类号:**R735.2**文献标志码:**A

胃癌起源于胃黏膜上皮细胞,是消化系统最常见的恶性肿瘤之一^[1]。近年来,胃癌的新发病例和死亡率逐年上升。尽管一些化疗药物(如第 3 代铂类抗癌药奥沙利铂)在胃癌治疗方面显示出了良好疗效,但由于某些分子信号传导异常,胃癌细胞常表现出恶性生长和对化疗药物的耐药,导致患者预后不良。近期研究发现,微小 RNA(miR)-217 与胃癌奥沙利铂耐药密切相关^[2-3]。因此,深入研究胃癌的相关分子机制,探索胃癌细胞耐药相关靶点具有重要意义。

“分子海绵”功能是环状 RNA(circRNA)目前被

研究得最多的机制。大多数已报道的 circRNA 通过作为 miRNA 的分子海绵调控下游靶基因的表达,发挥其生物学功能^[4-5]。有研究报道, circ_9119 能够通过调控 miR-126 表达来抑制肝癌细胞的增殖、侵袭^[6]。有研究发现,胃癌患者体内的 circRNA 中, circ_0006089 在胃癌患者的癌组织与癌旁组织中表达差异明显^[7]。然而, circ_0006089、miR-217 是否参与胃癌细胞奥沙利铂耐药尚未明确。因此,本研究通过探索 circ_0006089、miR-217 与胃癌细胞奥沙利铂耐药的关系,期为胃癌的治疗提供新思路。

* 基金项目:上海市青年科技英才扬帆计划(21YF1434700);浦东新区科技发展基金事业单位民生科研专项(PKJ2022-Y11);上海中医药大学附属第七人民医院人才培养计划(XX2023C13)。

△ 通信作者, E-mail: drzhouying@126.com。