

• 论 著 •

miR-663 调控 MMP11 对妊娠滋养层细胞侵袭和迁移的影响

段昆茂¹, 王世芳^{1△}, 陈周红²

1. 重庆医科大学附属第一医院綦江医院产科, 重庆 401420;

2. 重庆医科大学附属第三医院妇产科, 重庆 401120

摘要:目的 探讨微小 RNA-663(miR-663)调控基质金属蛋白酶 11(MMP11)对妊娠滋养层细胞侵袭和迁移的影响。方法 收集 2018 年 7 月至 2020 年 7 月重庆医科大学附属第一医院綦江医院收治的妊娠期子痫前期患者行剖宫产留取的胎盘组织 19 例,同时收集健康妊娠女性行剖宫产留取的胎盘组织 19 例(对照组织)。采用 qRT-PCR 检测子痫前期患者胎盘组织及对照组织中 miR-663 和 MMP11 mRNA 表达。在妊娠滋养层 JEG-3 细胞中转染 MMP11 过表达载体、miR-663 抑制剂或/和 MMP11 小干扰 RNA,采用 CCK-8 法测定增殖,Transwell 小室测定迁移和侵袭。生物学信息学软件预测 miR-663 的靶基因,荧光素酶报告系统鉴定二者的靶向关系。结果 与对照组织比较,子痫前期患者胎盘组织中 miR-663 表达水平升高($P < 0.05$),MMP11 mRNA 表达水平降低($P < 0.05$)。下调 miR-663 或过表达 MMP11 均能够提高妊娠滋养层细胞的增殖活性,促进细胞迁移和侵袭。抑制 MMP11 能够逆转下调 miR-663 对妊娠滋养层细胞增殖、侵袭和迁移的促进作用。miR-663 靶向负调控 MMP11。结论 下调 miR-663 调控 MMP11 会促进妊娠滋养层细胞的侵袭和迁移。

关键词:微小 RNA-663; 子痫前期; 基质金属蛋白酶 11; 滋养层细胞; 侵袭

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2021.22.017

中图分类号:R714

文章编号:1673-4130(2021)22-2766-06

文献标志码:A

Effects of miR-663 regulates MMP11 on the invasion and migration of gestational trophoblast cells

DUAN Kunmao¹, WANG Shifang^{1△}, CHEN Zhouhong²

1. Department of Obstetrics, Qijiang Hospital, the First Affiliated Hospital of Chongqing

Medical University, Chongqing 401420, China; 2. Department of Gynaecology and

Obstetrics, the Third Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 401120, China

Abstract: **Objective** To investigate the effect of microRNA-663 (miR-663) regulating matrix metalloproteinase11 (MMP11) on the invasion and migration of gestational trophoblast cells. **Methods** A total of 19 cases of placental tissue taken by cesarean section from pregnant preeclampsia patients admitted to Qijiang Hospital, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University from July 2018 to July 2020 were collected, as well as 19 cases of placental tissue taken by cesarean section from healthy pregnant women (control tissue). qRT-PCR method was used to detect the expression of miR-663 and MMP11 mRNA in the placenta of patients with preeclampsia and control tissue. MMP11 overexpression vector, miR-663 inhibitor or/and MMP11 small interfering RNA were transfected into gestational trophoblast JEG-3 cells, and CCK-8 method was used to measure proliferation, Transwell chamber was used to measure migration and invasion. The bioinformatics software was used to predict the target genes of miR-663, and the luciferase reporter system was used to identify the target relationship between the two. **Results** Compared with control tissues, the expression level of miR-663 in the placenta tissue of patients with preeclampsia increased ($P < 0.05$), and the expression levels of MMP11 mRNA decreased ($P < 0.05$). Down-regulation of miR-663 or over-expression of MMP11 can increase the proliferation activity of gestational trophoblast cells and promote cell migration and invasion. Inhibiting MMP11 can reverse the promotion of down-regulating miR-663 on the proliferation, invasion and migration of gestational trophoblast cells. miR-663 targeted the negative regulation of MMP11. **Conclusion** Down-regulating miR-663 regulates MMP11 can promote the invasion and migration of gestational

作者简介:段昆茂,女,主治医师,主要从事产科相关研究。△ **通信作者,** E-mail:191680240@qq.com。

本文引用格式:段昆茂,王世芳,陈周红. miR-663 调控 MMP11 对妊娠滋养层细胞侵袭和迁移的影响[J]. 国际检验医学杂志, 2021, 42(22): 2766-2771.

trophoblast cells.

Key words: microRNA-663; preeclampsia; matrix metalloproteinase11; trophoblast cells; invasion

子痫前期是妊娠期高血压疾病的一种特殊类型,一般表现为妊娠女性在妊娠 20 周以后出现水肿、蛋白尿、高血压,在分娩以后血压恢复正常^[1]。目前尚不清楚子痫前期的具体发病机制和病因,已知滋养层细胞是胎盘的主要组成部分,在胎盘形成和胎儿正常发育过程中具有重要作用,滋养层细胞侵入子宫螺旋动脉受限和过浅均可能诱导子痫前期的发生,改善滋养层细胞侵袭和迁移能力可能是抑制子痫前期的重要步骤^[2]。微小 RNA(miRNA)是一类没有编码蛋白质功能的 RNA,可以通过与靶基因的 3'端非翻译区(3'UTR)结合影响蛋白翻译^[3]。miRNA 的功能很多,如调控细胞分化、凋亡、炎症、衰老、氧化损伤、增殖等,还与很多疾病的发生有关^[4]。既往研究显示,子痫前期患者胎盘组织中 miRNA 表达异常,且影响滋养层细胞的功能^[5]。miR-663 是与肿瘤有关的调控因子,还与鼻息肉的产生、烫伤修复等过程密切相关^[6-8]。研究显示,miR-663 在子痫前期患者中高表达^[9]。目前尚不清楚 miR-663 在妊娠滋养层细胞迁移和侵袭中的作用。前期的预实验发现,miR-663 和基质金属蛋白酶 11(MMP11)的 3'UTR 端有互补结合位点,MMP11 是基质金属蛋白酶家族成员,在细胞运动、侵袭过程中发挥促进作用^[10]。本研究通过探讨 miR-663 调控 MMP11 对妊娠滋养层细胞迁移和侵袭的影响及机制,以期改善子痫前期的预后提供方向。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2018 年 7 月至 2020 年 7 月重庆医科大学附属第一医院綦江医院收治的妊娠期子痫前期患者行剖宫产留取的胎盘组织 19 例,同时收集健康妊娠女性行剖宫产留取的胎盘组织 19 例(对照组织)。

1.2 方法

1.2.1 实验细胞与试剂 妊娠滋养层 JEG-3 细胞购自上海通派生物科技有限公司;DMEM 培养液、CCK-8、二喹啉甲酸(BCA)蛋白检测试剂盒购自北京索莱宝科技有限公司;miR-663 模拟物(mimics)和抑制剂(anti-miR-663)、模拟对照序列(miR-NC)及抑制剂对照序列(anti-miR-NC)由上海安必奇生物科技有限公司构建;MMP11 过表达载体及其小干扰 RNA(si-MMP11)、空载体(vector)、小干扰 RNA 阴性对照(si-NC)、MMP11 野生型(WT)和突变型(MUT)荧光素酶报告载体均由湖南丰晖生物科技有限公司构建;MMP11、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)抗体购自上海齐一生物科技有限公司。

1.2.2 miR-663 和 MMP11 mRNA 表达水平检测 采用 qRT-PCR 检测 miR-663 和 MMP11 mRNA 表达水平。采用 Trizol 试剂提取子痫前期患者胎盘组织和对照组织中的总 RNA,利用紫外分光光度计检测 RNA 水平和纯度。然后利用逆转录试剂盒将 RNA 逆转录为 cDNA,以 cDNA 为模板,行 PCR 反应。PCR 反应参数为:95 ℃ 预变性 60 s;95 ℃ 变性 30 s,60 ℃ 退火 30 s,68 ℃ 延伸 30 s,共 40 个循环。利用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法分析目的基因的表达变化,miR-663 内参为 U6,MMP11 mRNA 内参为 GAPDH。PCR 引物为:U6 上游引物 5'-ATTGGAACGATACAGAGAAGATT-3',下游引物 5'-GGAACGCTTCACGAATTTA-3';miR-663 上游引物 5'-GTGCGTGTCTGCTGGAGTCG-3',下游引物 5'-TTTAGGCGGGGCG-3';MMP11 上游引物 5'-TTCTACACCTTCCGCTACC-3',下游引物 5'-GGACTGGCTTCTCACCATCATAT-3';GAPDH 上游引物 5'-GCACCGTCAAGGCTGAGAAC-3',下游引物 5'-TGGTGAAGACGCCAGTGGA-3'。

1.2.3 细胞培养和分组 复苏 JEG-3 细胞,用含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养液置于 CO₂ 培养箱中培养。将 2.5 mL 对数期 JEG-3 细胞(5.0×10^4 个/毫升)接种至 6 孔板中,用 Lipofectamine™ 2000 脂质体法,分别转染 anti-miR-NC(anti-miR-NC 组)、anti-miR-663(anti-miR-663 组)、miR-NC(miR-NC 组)、miR-663 mimics(miR-663 组)、Vector(Vector 组)、MMP11 过表达载体(MMP11 组),共转染 anti-miR-663 与 si-NC(anti-miR-663 + si-NC 组)、anti-miR-663 与 si-MMP11(anti-miR-663 + si-MMP11 组)。同时设置对照组(Control 组):不进行任何转染操作,常规培养。转染 6 h 后,更换新鲜培养液。培养 24 h 后,采用 qRT-PCR 检测 Control 组、anti-miR-NC 组和 anti-miR-663 组 miR-663 表达验证转染效果,具体方法同 1.2.2;采用蛋白免疫印迹(Western blot)法检测 Control 组、anti-miR-NC 组、anti-miR-663 组、miR-NC 组和 miR-663 组细胞中 MMP11 蛋白表达水平,观察 miR-663 对细胞中 MMP11 蛋白表达水平的影响,同时检测 Vector 组、MMP11 组、anti-miR-663 + si-NC 组、anti-miR-663 + si-MMP11 组 MMP11 蛋白表达验证转染效果。

1.2.4 细胞增殖检测 采用 CCK-8 法检测 Control 组、anti-miR-NC 组、anti-miR-663 组、Vector 组、MMP11 组、anti-miR-663 + si-NC 组和 anti-miR-663 + si-MMP11

组细胞增殖情况。将 0.2 mL 各组细胞(5.0×10^4 个/毫升)接种到 96 孔板,培养 24 h 后,每孔加 10 μ L CCK-8。孵育 3 h,在酶标仪上测定 450 nm 处吸光度(A)值。

1.2.5 细胞迁移和侵袭检测 利用孔径为 8 μ m 的 Transwell 小室测定 Control 组、anti-miR-NC 组、anti-miR-663 组、Vector 组、MMP11 组、anti-miR-663 + si-NC 组和 anti-miR-663 + si-MMP11 组细胞迁移及侵袭情况。侵袭实验:预先在 Transwell 小室的上室添加人工基质胶,自然晾干。然后于上室加 100 μ L 各组细胞悬液(5.0×10^4 个/毫升),下室中添加 500 μ L 含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养液。在培养箱中孵育 24 h,将 Transwell 小室取出,擦掉没有穿膜的细胞,放在 4% 多聚甲醛溶液中固定 10 min,将小室取出,风干后进行苏木精染色。选择 4 个视野,计数细胞穿膜数量。迁移实验:除不铺基质胶外,步骤与侵袭实验相同。

1.2.6 靶向关系预测及鉴定 采用生物信息学软件 targetsan 分析 miR-663 的靶基因。以荧光素酶报告系统鉴定二者的靶向关系。将 miR-663 mimics、miR-NC 分别和 WT、MUT 荧光素酶报告载体共转染到 JEG-3 细胞,培养 24 h 后,用荧光素酶活性测定试剂盒分析细胞荧光素酶活性变化。

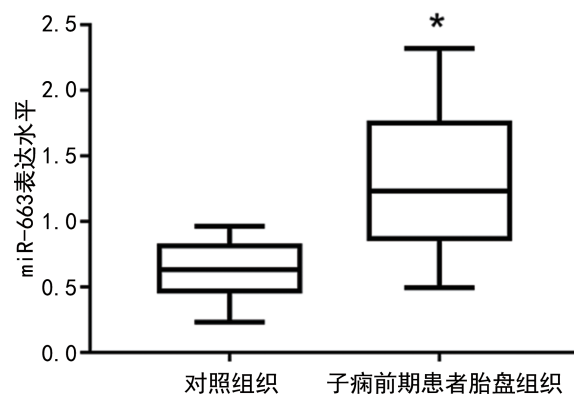
1.2.7 MMP11 蛋白表达水平检测 采用 Western blot 检测各组细胞中 MMP11 蛋白表达水平。将 2.5 mL 各组细胞(5.0×10^4 个/毫升)接种至 6 孔板中,培养 24 h 后,弃培养液,用 RIPA 试剂提取细胞中总蛋白,用 BCA 法测定蛋白表达水平。用微量加样器取 25 μ g 的蛋白样品分别加入 SDS-PAGE 凝胶样品孔内,接通电源。前 30 min,以 70 V 的电压电泳,然后调整为 100 V 继续电泳约 1.5 h,肉眼可见蓝色染料进入到底部边缘。取出凝胶,放在电转液内结合 15 min。设置 100 V 的电压转膜 1 h。电转结束后,将分离蛋白转移至硝酸纤维素膜,并浸泡在含有 5% 脱脂奶粉的平皿内,在室温孵育 2 h。然后放在 MMP11(1:1 000)、GAPDH(1:1 000)一抗溶液中于 4 $^{\circ}$ C 冰箱中孵育过夜,洗膜后,再放在二抗(1:2 000)溶液中室温孵育 2 h。滴加显影液避光显影,曝光拍照,分析条带灰度值。以 MMP11 与 GAPDH 灰度值的比值表示 MMP11 蛋白表达水平。

1.3 统计学处理 采用 SPSS21.0 统计软件进行数据分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用 *t* 检验,多组间比较采用方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 子痫前期患者胎盘组织和对照组织中 miR-663 表达水平比较 与对照组织比较,子痫前期患者胎盘

组织中 miR-663 表达水平升高($P < 0.05$),miR-663 在子痫前期患者胎盘组织中呈高表达,见图 1。



注:与对照组织比较,* $P < 0.05$ 。

图 1 子痫前期患者胎盘组织和对照组织 miR-663 表达水平比较

2.2 miR-663 inhibitor 转染后妊娠滋养层细胞中 miR-663 表达水平比较 与 Control、anti-miR-NC 组比较,anti-miR-663 组妊娠滋养层细胞中 miR-663 表达水平降低($P < 0.05$),见表 1。

表 1 miR-663 inhibitor 转染后妊娠滋养层细胞中 miR-663 表达水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	miR-663
Control 组	1.00 ± 0.11
anti-miR-NC 组	0.98 ± 0.09
anti-miR-663 组	$0.36 \pm 0.04^*$
<i>F</i>	182.202
<i>P</i>	< 0.001

注:与 Control 组、anti-miR-NC 组比较,* $P < 0.05$ 。

2.3 下调 miR-663 对妊娠滋养层细胞增殖、迁移和侵袭的影响 与 Control、anti-miR-NC 组比较,anti-miR-663 组妊娠滋养层细胞增殖活性升高,迁移和侵袭数目增加($P < 0.05$)。下调 miR-663 能促进妊娠滋养层细胞增殖、迁移和侵袭。见表 2。

表 2 下调 miR-663 对妊娠滋养层细胞增殖、迁移和侵袭的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	A 值	侵袭数目	迁移数目
Control 组	0.52 ± 0.05	115.03 ± 10.27	156.32 ± 12.05
anti-miR-NC 组	0.51 ± 0.04	112.79 ± 16.78	154.87 ± 13.07
anti-miR-663 组	$0.63 \pm 0.05^*$	$185.24 \pm 17.30^*$	$207.81 \pm 16.83^*$
<i>F</i>	20.152	74.188	45.521
<i>P</i>	< 0.001	< 0.001	< 0.001

注:与 Control 组、anti-miR-NC 组比较,* $P < 0.05$ 。

2.4 miR-663 与 MMP11 的关系 生物信息学软件显示 miR-663 和 MMP11 存在结合位点,见图 2,提示 miR-663 和 MMP11 为靶向关系。与 miR-NC 组比

较,miR-663 mimics 和 WT 共转染后的妊娠滋养层细胞荧光素酶活性降低($P<0.05$),见表 3。

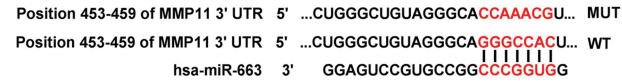


图 2 miR-663 和 MMP11 结合位点

表 3 miR-663 mimics 和 MUT、WT 共转染后的妊娠滋养层细胞荧光素酶活性比较($\bar{x}\pm s$)

组别	MUT	WT
miR-NC 组	1.00±0.08	1.00±0.10
miR-663 组	0.98±0.12	0.52±0.04
<i>t</i>	0.416	13.370
<i>P</i>	0.683	<0.001

2.5 miR-663 对 MMP11 表达的调控作用 与 Control、anti-miR-NC 组比较,anti-miR-663 组妊娠滋养层细胞中 MMP11 蛋白表达水平升高($P<0.05$);与 miR-NC 组比较,miR-663 组妊娠滋养层细胞中 MMP11 蛋白表达水平降低($P<0.05$),提示 miR-663 负调控 MMP11 表达。见图 3、表 4。

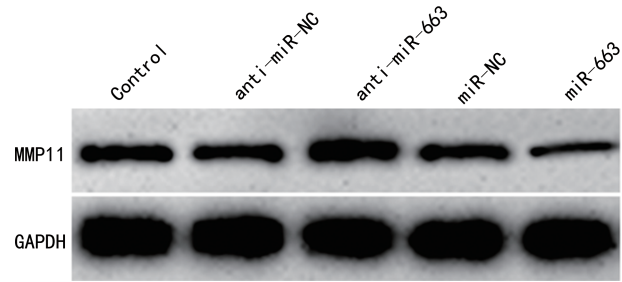


图 3 miR-663 inhibitor 转染后妊娠滋养层细胞中 MMP11 蛋白表达情况

2.6 子痫前期患者胎盘组织和对照组织中 MMP11 mRNA 表达水平比较 与对照组织比较,子痫前期患者胎盘组织 MMP11 mRNA 表达水平降低($P<0.05$),提示 MMP11 mRNA 在子痫前期患者中表达下调。见图 4。

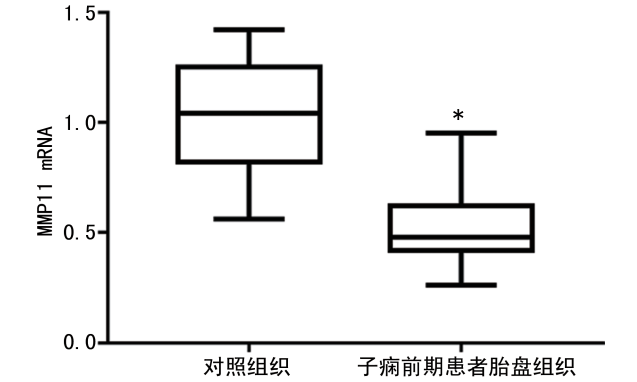
2.7 抑制 MMP11 逆转下调 miR-663 对妊娠滋养层细胞增殖、迁移和侵袭的作用 与 Control、Vector 组比较,MMP11 组妊娠滋养层细胞中 MMP11 蛋白表达水平升高,增殖活性升高,侵袭数目和迁移数目增加($P<0.05$)。与 anti-miR-663+si-NC 组比较,anti-

miR-663+si-MMP11 组妊娠滋养层细胞中 MMP11 蛋白表达水平降低,增殖活性降低,侵袭数目和迁移数目减少($P<0.05$)。见图 5、表 5。

表 4 miR-663 inhibitor 转染后妊娠滋养层细胞中 MMP11 蛋白表达水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	MMP11 蛋白
Control 组	0.29±0.03
anti-miR-NC 组	0.30±0.04
anti-miR-663 组	0.45±0.04 [*]
miR-NC 组	0.32±0.05
miR-663 组	0.12±0.02 [#]
<i>F</i>	88.907
<i>P</i>	<0.001

注:与 Control 组、anti-miR-NC 组比较,^{*} $P<0.05$;与 miR-NC 组比较,[#] $P<0.05$ 。



注:与对照组织比较,^{*} $P<0.05$ 。

图 4 子痫前期患者胎盘组织和对照组织中 MMP11 mRNA 表达水平比较

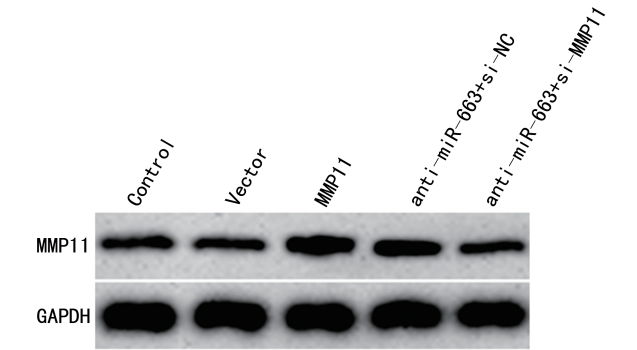


图 5 Western blot 检测妊娠滋养层细胞中 MMP11 蛋白表达

表 5 各组妊娠滋养层细胞 MMP11 蛋白表达水平、增殖活性(A 值)、侵袭数目、迁移数目比较($\bar{x}\pm s$)

组别	MMP11 蛋白	A 值	侵袭数目	迁移数目
Control 组	0.27±0.05	0.51±0.06	112.84±11.69	154.89±10.72
Vector 组	0.29±0.03	0.50±0.03	113.74±10.75	153.94±11.27
MMP11 组	0.53±0.05 [*]	0.65±0.05 [*]	173.32±14.20 [*]	186.34±15.22 [*]
anti-miR-663+si-NC 组	0.47±0.06	0.62±0.07	180.54±16.34	205.43±18.56

续表 5 各组妊娠滋养层细胞 MMP11 蛋白表达水平、增殖活性(A 值)、侵袭数目、迁移数目比较($\bar{x} \pm s$)

组别	MMP11 蛋白	A 值	侵袭数目	迁移数目
anti-miR-663+si-MMP11 组	0.26±0.04 [#]	0.43±0.06 [#]	125.48±13.62 [#]	149.67±13.35 [#]
F	64.789	24.010	54.425	27.347
P	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与 Control 组、Vector 组比较,* $P<0.05$;与 anti-miR-663+si-NC 组比较,[#] $P<0.05$ 。

3 讨 论

胚胎发育与功能性胎盘的形成功能,囊胚期的胚胎细胞分化形成内细胞团和滋养外胚层细胞,内细胞团分化形成胎儿,滋养外胚层细胞分化形成不同的滋养层细胞,滋养层细胞不断增殖分化,最终形成具有侵袭能力的多层绒毛外滋养层细胞,绒毛外滋养层细胞迁移、侵袭至子宫蜕膜,进入母体的螺旋动脉,维持子宫正常功能,为胚胎发育提供有利条件^[11-12]。研究显示,滋养层细胞侵袭、迁移受限是子痫前期发生的关键原因^[13]。

miRNA 是一类长度在 22 nt 左右的非编码 RNA 分子,这类分子可在转录后调控其靶基因的表达^[14]。miRNA 在进化上极为保守,在不同组织和细胞中的表达丰度不同^[15]。miRNA 的异常表达常常与疾病有关,如 miRNA 在肿瘤中可发挥类似癌基因或抑癌基因的作用,通过影响细胞的增殖、凋亡等发挥作用^[16]。现阶段已经发现了数千个 miRNA,影响人体内 30% 的基因表达,在生命进程中发挥十分重要的作用^[17]。miRNA 在子痫前期中可通过调控滋养层细胞的迁移和侵袭发挥作用^[18]。既往研究表明,子痫前期患者胎盘组织中 miR-663 表达水平升高,提示 miR-663 可能参与子痫前期的发病过程^[9]。本研究结果显示,miR-663 在子痫前期患者中表达水平升高,并且下调 miR-663 可加快滋养层细胞的增殖,诱导细胞迁移和侵袭,miR-663 可能具有加快子痫前期进展的作用。

miRNA 的功能多样性与其调控机制有关,miRNA 与靶基因的 3'UTR 端通过碱基互补结合,进而影响靶蛋白的表达,并且同一个 miRNA 可同时有多个靶基因,分别参与不同的生理、病理调控过程^[19-20]。本研究发现,miR-663 与 MMP11 的 3'UTR 端互补结合,并且 miR-663 靶向负调控 MMP11 表达。MMP11 是基质金属蛋白酶家族成员,而基质金属蛋白酶家族是细胞外基质降解的关键蛋白酶^[21-22]。细胞合成的基质降解酶能够为细胞的运动、迁移和侵袭提供条件^[23]。本研究发现,子痫前期胎盘组织中 MMP11 表达水平降低,并且上调 MMP11 可增强滋养层细胞的侵袭、迁移和增殖能力,提示 MMP11 在子痫前期中可能发挥抑制作用。同时本研究还设置了逆转实验,证明抑制 MMP11 逆转了下调 miR-663

对滋养层细胞侵袭、迁移和增殖的促进作用,这进一步说明下调 miR-663 可使 MMP11 的表达下调,从而促进滋养层细胞的侵袭、迁移和增殖,miR-663 在子痫前期中的作用机制可能与 MMP11 有关。

综上所述,miR-663 可能具有促进子痫前期发展的作用,并且下调 miR-663 可靶向促进 MMP11 增强滋养层细胞的侵袭、迁移和增殖能力,目前尚不明确 miR-663 是否能够通过其他途径影响滋养层细胞侵袭,这些内容会在以后的研究中进一步探讨。本研究为明确子痫前期的分子发生机制和靶向基因治疗子痫前期提供了思路。

参考文献

- [1] TURBEVILLE H R, SASSER J M. Preeclampsia beyond pregnancy: long-term consequences for mother and child [J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2020, 318(6): F1315-F1326.
- [2] GONG F, CHENG H, SHI Y, et al. LncRNA TDRG1/miR-214-5p axis affects preeclampsia by modulating trophoblast cells [J]. Cell Biochem Funct, 2020, 38(4): 352-361.
- [3] BASCUÑÁN K A, PÉREZ-BRAVO F, GAUDIOSO G, et al. A miRNA-based blood and mucosal approach for detecting and monitoring celiac disease [J]. Dig Dis Sci, 2020, 65(7): 1982-1991.
- [4] YU Y, GUO R, ZHANG Y, et al. miRNA-mRNA profile and regulatory network in stearic acid-treated β -cell dysfunction [J]. J Endocrinol, 2020, 246(1): 13-27.
- [5] MA H Y, CU W, SUN Y H, et al. miRNA-203a-3p inhibits inflammatory response in preeclampsia through regulating IL-24 [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2020, 24(10): 5223-5230.
- [6] WANG S, LIU J, LI C, et al. Research of the effect of miR-663 on the proliferation of prostate cancer cells, and the correlations of miR-663 with pathological grade and clinical stage [J]. J BUON, 2017, 22(4): 1011-1016.
- [7] YU H, JU J, LIU J, et al. Aberrant expression of miR-663 and transforming growth factor- β 1 in nasal polyposis in children [J]. Exp Ther Med, 2018, 15(5): 4550-4556.
- [8] WU S G, LI H T, WANG L L, et al. Lidocaine promotes fibroblast proliferation after thermal injury via up-regulating the expression of miR-663 and miR-486 [J]. Kaohsiung J Med Sci, 2020, 36(4): 274-280.

- [9] ARTHURS A L, LUMBERS E R, PRINGLE K G. miRNA mimics that target the placental renin-angiotensin system inhibit trophoblast proliferation[J]. *Mol Hum Reprod*, 2019, 25(4): 218-227.
- [10] XU G, ZHANG B, YE J, et al. Exosomal miRNA-139 in cancer-associated fibroblasts inhibits gastric cancer progression by repressing MMP11 expression[J]. *Int J Biol Sci*, 2019, 15(11): 2320-2329.
- [11] LIU E, ZHOU Y, LI J, et al. microRNA-491-5p inhibits trophoblast cell migration and invasion through targeting matrix metalloproteinase-9 in preeclampsia[J]. *Mol Med Rep*, 2020, 22(6): 5033-5040.
- [12] WANG D, NA Q, SONG G Y, et al. Human umbilical cord mesenchymal stem cell-derived exosome-mediated transfer of microRNA-133b boosts trophoblast cell proliferation, migration and invasion in preeclampsia by restricting SGK1[J]. *Cell Cycle*, 2020, 19(15): 1869-1883.
- [13] XU Y, SUI L, QIU B, et al. ANXA4 promotes trophoblast invasion via the PI3K/Akt/eNOS pathway in preeclampsia[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2019, 316(4): C481-C491.
- [14] LUO Y, QU X, KAN D, et al. The microRNA-451a/chromosome segregation 1-like axis suppresses cell proliferation, migration, and invasion and induces apoptosis in nasopharyngeal carcinoma. [J]. *Bioengineered*, 2021, 12(1): 6967-6980.
- [15] BHAT S S, BIELEWICZ D, GULANICZ T, et al. mRNA adenosine methylase (MTA) deposits m6A on pri-miRNAs to modulate miRNA biogenesis in arabidopsis thaliana[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2020, 117(35): 21785-21795.
- [16] BI H, FEI Q, LI R, et al. Disruption of miRNA sequences by TALENs and CRISPR/Cas9 induces varied lengths of miRNA production[J]. *Plant Biotechnol J*, 2020, 18(7): 1526-1536.
- [17] FRAZIER S, MCBRIDE M W, MULVANA H, et al. From animal models to patients; the role of placental miRNAs, miR-210, miR-126, and miR-148a/152 in preeclampsia[J]. *Clin Sci (Lond)*, 2020, 134(8): 1001-1025.
- [18] XUEYA Z, YAMEI L, SHA C, et al. Exosomal encapsulation of miR-125a-5p inhibited trophoblast cell migration and proliferation by regulating the expression of VEGFA in preeclampsia [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 525(3): 646-653.
- [19] DING B, YAO M, FAN W, et al. Whole-transcriptome analysis reveals a potential hsa_circ_0001955/hsa_circ_0000977-mediated miRNA-mRNA regulatory sub-network in colorectal cancer[J]. *Aging (Albany NY)*, 2020, 12(6): 5259-5279.
- [20] KONDYBAYEVA A, AKIMNIYAZOVA A, KAMENOVA S, et al. Prediction of miRNA interaction with mRNA of stroke candidate genes[J]. *Neurol Sci*, 2020, 41(4): 799-808.
- [21] WANG Y, WEI Y, FAN X, et al. microRNA-125b as a tumor suppressor by targeting MMP11 in breast cancer [J]. *Thorac Cancer*, 2020, 11(6): 1613-1620.
- [22] SHAN Z G, SUN Z W, ZHAO L Q, et al. Upregulation of tubulointerstitial nephritis antigen like 1 promotes gastric cancer growth and metastasis by regulating multiple matrix metalloproteinase expression[J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2021, 36(1): 196-203.
- [23] SONG M, WANG N, LI Z, et al. miR-125a-3p suppresses the growth and progression of papillary thyroid carcinoma cell by targeting MMP11[J]. *J Cell Biochem*, 2020, 121(2): 984-995.

(收稿日期: 2021-03-11 修回日期: 2021-08-17)

(上接第 2765 页)

- [15] WANG J, LV S, CHEN G, et al. Meta-analysis of the association between vitamin D and auto-immune thyroid disease[J]. *Nutrients*, 2015, 7(4): 2485-2498.
- [16] KIM D. Low vitamin D status is associated with hypothyroid Hashimoto's -thyroiditis[J]. *Hormones (Athens)*, 2016, 15(3): 385-393.
- [17] 王亦丹, 徐友娣. 妊娠期亚临床甲减者 TPOAb 与妊娠结局相关性分析[J]. *中国妇幼健康研究*, 2016, 27(3): 308-311.
- [18] 赵胡英, 潘石蕾, 刘映玲, 等. 妊娠 20 周前 TSH 水平及 TPOAb 状态与妊娠结局的关系[J]. *解放军医学杂志*, 2019, 44(10): 871-875.
- [19] 狄华, 杨艳, 徐经安, 等. 孕妇血清维生素 D 与 CTX-1、PINP 以及妊娠结局的关系[J]. *实验与检验医学*, 2020, 38(4): 683-684.
- [20] BOZDAG H, AKDENIZ E. Does severe vitamin D deficiency impact obstetric outcomes in pregnant women with thyroid autoimmunity? [J]. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 2020, 33(8): 1359-1369.
- [21] 夏艳, 周跃华, 宗旦棣, 等. 妊娠期母体甲状腺自身免疫与亚临床甲减对子代智力与运动发育影响的研究[J]. *临床和实验医学杂志*, 2015, 15(8): 670-672.
- [22] TRIGGIANESE P, WATAD A, CEDOLA F, et al. Vitamin D deficiency in an Italian cohort of infertile women [J]. *Am J Reprod Immunol*, 2017, 78(4): 1-10.
- [23] 刘晴晴, 李岫森, 邓秉权, 等. 维生素 D 受体: 新发现和临床转化新视角[J]. *中国血液净化*, 2021, 20(2): 107-110.

(收稿日期: 2021-02-22 修回日期: 2021-07-03)