

· 基础研究 ·

环状 RNA hsa_circ_0005579 在子痫前期患者胎盘中的表达及对滋养层细胞增殖、迁移及侵袭的影响

高明明¹, 俞兆儿¹, 姚丹¹, 仲红², 贾瑞喆^{1*}¹南京医科大学附属妇产医院(南京市妇幼保健院)产科, ²医学研究中心, 江苏 南京 210004

[摘要]目的:探究环状 RNA hsa_circ_0005579 作为子痫前期发展的新生物标志物的潜力,观察其在子痫前期患者胎盘中的表达及其对滋养层细胞增殖、迁移及侵袭的影响。**方法:**通过实时定量聚合酶链式反应(qRT-PCR)检测 20 例子痫前期患者和 20 例健康妊娠对照者胎盘组织中 hsa_circ_0005579 的表达,收集参与者的临床信息。采用核糖核酸酶 R(RNase R)消化分析、琼脂糖凝胶电泳及 Sanger 测序对 hsa_circ_0005579 进行鉴定,通过敲除 siRNA 转染 HTR-8/SVneo 细胞,利用 CCK-8 法、克隆形成分析、EdU 实验检测 hsa_circ_0005579 对滋养层细胞增殖的影响,采用 Transwell 分析、划痕实验检测 hsa_circ_0005579 对滋养层细胞迁移及侵袭的影响。同时,蛋白质印迹(Western blot)分析用于检测迁移标志物的蛋白质水平。**结果:**hsa_circ_0005579 在子痫前期患者胎盘中有显著的高表达。此外,与 si-NC 组相比,干扰 hsa_circ_0005579 的表达细胞活力明显增强、克隆形成数目增多、细胞增殖率增加、迁移及侵袭数目显著增多、细胞迁移率提高以及迁移标志物基质金属蛋白酶 2(MMP2)、基质金属蛋白酶 9(MMP9)蛋白水平提升。**结论:**环状 RNA hsa_circ_0005579 在子痫前期患者胎盘中高表达,沉默 hsa_circ_0005579 后 HTR-8/SVneo 的增殖、迁移及侵袭能力增强,有望为子痫前期的早期诊断和干预提供新的靶标。

[关键词] 环状 RNA; circ_0005579; 滋养细胞; 子痫前期**[中图分类号]** R714.245**[文献标志码]** A**[文章编号]** 1007-4368(2022)08-1112-07**doi:** 10.7655/NYDXBNS20220810

The expression of circular RNA hsa_circ_0005579 in the placenta of patients with preeclampsia and its effect on the proliferation, migration and invasion of trophoblast cells

GAO Mingming¹, YU Zhaoer¹, YAO Dan¹, ZHONG Hong², JIA Ruizhe^{1*}¹Department of Obstetrics, ²Department of Medical Research Center, Women's Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing Maternity and Child Health Care Hospital, Nanjing 210004, China

[Abstract] **Objective:** To explore the potential of the circular RNA hsa_circ_0005579 as a new biomarker for the development of pre-eclampsia, and to observe its expression in the placenta of patients with pre-eclampsia and its effect on the proliferation, migration and invasion of trophoblast cells. **Methods:** The expression of hsa_circ_0005579 was detected in placental tissues obtained from 20 women with pre-eclampsia and 20 healthy pregnancy controls using real-time quantitative polymerase chain reaction (qRT-PCR). Clinical information of participants was collected. Ribonuclease R (RNase R) digestion analysis, agarose gel electrophoresis and Sanger sequencing were used to verify hsa_circ_0005579. HTR-8/SVneo cells were transfected with hsa_circ_0005179 siRNA, cell counting kit-8 (CCK-8) assay, colony formation assay, EdU test were performed to detect the effect of hsa_circ_0005579 on the proliferation of trophoblast cells. Transwell assay and wound healing assay were used to detect the effect of hsa_circ_0005579 on the migration and invasion of trophoblast cells. Meanwhile, Western blot analysis was used to detect the protein level of migration markers. **Results:** Hsa_circ_0005579 had a significant high expression in the placenta of PE patients. In addition, compared with the si-NC group, the cell viability was significantly increased, the number of clone formation grew, the cell proliferation rate increased, and the number of migration and invasion did rise, the cell migration rate was upregulated, and the protein levels of migration markers matrix metalloproteinase 2 (MMP2) and matrix metalloproteinase 9 (MMP9) was enhanced in the si-circ_0005579 group. **Conclusion:** Circular

[基金项目] 国家自然科学基金(81971393)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: jiaruizhe2016@163.com

RNA hsa_circ_0005579 is highly expressed in the placenta of patients with pre-eclampsia, and the proliferation, migration and invasion ability of HTR-8/SVneo is enhanced after silencing hsa_circ_0005579. It is expected to provide new targets for early diagnosis and intervention of pre-eclampsia.

[Key words] circular RNA; circ_0005579; trophoblast cells; preeclampsia

[J Nanjing Med Univ, 2022, 42(08): 1112-1118]

子痫前期(pre-eclampsia, PE)是一种妊娠期特有疾病,通常在妊娠第20周开始出现新发高血压,伴有或不伴有蛋白尿^[1],是导致孕产妇发病和死亡的主要原因之一^[2]。然而,PE的发病机制尚未完全明确,越来越多的研究表明,受损的螺旋动脉重塑、胎盘功能障碍和滋养层侵袭不足在疾病的发生和发展中起着关键作用^[3]。此外,母胎界面绒毛外滋养层细胞在胎盘发育过程中起重要作用,它们有限的迁移和侵袭能力可导致异常的螺旋动脉重构和缺陷性的滋养层侵袭,从而导致PE的发生^[4]。因此,有必要揭示滋养细胞迁移和侵袭失调的病理生理学机制。

环状RNA(circRNA)普遍存在于哺乳动物细胞中,参与转录和转录后水平的基因表达调控^[5-6],可以通过一个或多个外显子、外显子和内含子序列或内含子序列反向剪接形成特殊的闭合环状结构^[7],不存在5'帽端和3'多聚腺苷酸(Poly A)尾,能耐受核酸外切酶的消化降解,比线性核糖核酸(linear RNA)和微小核糖核酸(miRNA)更加稳定^[8],被认为是极具前景的疾病生物标志物^[9]。研究表明环状RNA在包括PE在内的许多疾病中起着至关重要的作用,研究发现circVRK1通过作为miR-221-3p的内源竞争RNA调节PTEN来抑制滋养层细胞迁移、侵袭和上皮间质转化^[10];据报道,circLARP4和miR-424相互作用影响胃癌细胞的增殖和侵袭^[11];研究表明hsa_circ_0013958可能是肺腺癌早期诊断和预防的潜在分子标志物^[12]。因此,深入研究circRNA在PE发生中的变化及作用,有可能为PE的早期诊断和干预提供新的靶标

2016年,本课题组鉴定了胎盘组织中301个差异表达的环状RNA^[13],hsa_circ_0005579即为显著上调的环状RNA之一,尚未有文献深入研究其功能。本研究检测了环状RNA_0005579在子痫前期患者胎盘中的表达情况,探讨干扰hsa_circ_0005579的表达对HTR-8/SVneo细胞增殖、迁移和侵袭能力的影响,为PE的诊断与治疗提供新的思路。

1 材料和方法

1.1 材料

人绒毛膜滋养层HTR-8/SVneo细胞(货号ZQ0482,上海中乔新舟生物科技有限公司)。DMEM培养基、澳洲胎牛血清(Gibco公司,美国);TRIzol试剂、Lipofectamine 3000(Invitrogen公司,美国);逆转录试剂盒及实时定量PCR(qRT-PCR)荧光染料(Thermo公司,英国);RNase R(Epicentre公司,美国);circ_0005579的小干扰RNA(small interfering RNA, siRNA)及其阴性对照(siRNA-NC)(上海吉满生物科技有限公司);PCR引物(南京锐真生物技术有限公司);CCK-8检测试剂盒(DOJINDO公司,日本);EdU试剂盒(广州市锐博生物科技有限公司);基质胶(Corning公司,美国);结晶紫染液、蛋白酶抑制剂(北京索莱宝科技有限公司);RIPA裂解液、BCA蛋白定量试剂盒(碧云天生物技术研究);circ_0005579的所有抗体(Abcam公司,英国);硝酸纤维素膜、超敏电化学发光液(electrochemical luminescence, ECL)(Millipore公司,美国)。Synergy H4多功能酶标仪(BioTek公司,美国);荧光正置及倒置显微镜(Carl Zeiss公司,德国);3422型24孔Transwell小室(Corning公司,美国);EVOS XL Core型倒置显微镜(Invitrogen公司,美国);小型垂直电泳仪(Bio-Rad公司,美国)。

1.2 方法

HTR-8/SVneo细胞在添加有10%胎牛血清的DMEM培养基中于37℃、5%CO₂的环境中培养,使用Lipofectamine 3000进行转染,实验分为干扰组(si-circRNA)和干扰对照组(siRNA-NC),转染浓度为50 nmol/L,转染后24 h收集细胞用于HTR-8/SVneo细胞的表型验证。靶向hsa_circ_0005579的干扰序列:siRNA#1F, 5'-GUGUAAUGAUGAGA-ACUGGATT-3'; R, 5'-UCCAGUUCUCAUCAUUAACACTT-3'; siRNA#2F, 5'-UAAUGAUGAGAACUG-GACUGATT-3'; R, 5'-UCAGUCCAGUUCUCAUCAU-

UATT-3'; siRNA#3F, 5'-GAAUGUGUAAUGAUGA-GAACTT-3'; R, 5'-GUUCUCAUCAUUAACACAU-UCTT-3'。

1.2.1 组织标本

本研究获得了本院医学伦理委员会的批准(宁妇伦字[2019]KY-046号),在获得知情同意的情况下获得胎盘组织样品。收集了2020年9—12月40例产妇的胎盘组织,其中包括20例重度子痫前期患者,20例健康妊娠对照(足月妊娠)。根据美国妇产科医师学会(ACOG)的定义,先前血压正常的妇女妊娠20周后,符合以下任何标准即可诊断为PE^[14]:①收缩压 ≥ 140 mmHg或舒张压 ≥ 90 mmHg;②蛋白尿 ≥ 0.3 g/24 h或蛋白质/肌酐比率 ≥ 0.3 ,或蛋白尿 $\geq 1+$;③具有其他相关的严重临床症状。胎盘样本取自靠近母体一侧胎盘1/3以下的代表性组织块,保存在 -80 °C的冰箱中备用。

1.2.2 RNA提取、RNase R处理及qRT-PCR

通过TRIzol试剂从胎盘组织或细胞中分离出总RNA,与3 U/mg RNase R在37 °C下孵育20 min,逆转录后进行qRT-PCR反应。PCR引物如下:hsa_circ_0005579(发散型引物)正向,5'-TTGCCAACAGATGCGAGTG-3',反向,5'-AGCAGTTGGT-CATCAGTCC-3';Linear mRNA引物(收敛型引物)正向,5'-CTGTGGAATGCCCTCCTGTT-3',反向,5'-ACAGCACTTCCAGGTGTCC-3';GADPH正向,5'-AGAAGGCTGGGGCTCATTTG-3',反向,5'-GCAGGAGGCATTGCTGATGAT-3';U6正向,5'-CTCGCTTCG-GCAGCACA-3',反向,5'-AACGCTTCACGAATTT-GCGT-3'。通过Sanger测序检测在胎盘和HTR-8/sVneo细胞中扩增的circRNA的PCR产物。hsa_circ_0005579的表达以GAPDH为内参,使用2^{- $\Delta\Delta C_t$} 法计算其相对表达量。

1.2.3 CCK-8法检测细胞增殖活力和克隆形成实验

将转染的细胞接种在96孔板中(3×10^3 个/孔),接种后分别于0、24、48、72 h,将10 μ L CCK-8试剂添加至每个孔中,并在37 °C下孵育1.5 h,使用酶标仪在450 nm处测量每个孔的吸光度;对于克隆形成试验,将处理过的细胞重新接种到6孔板中(3 000个/孔),12 d后出现肉眼可见的克隆后终止培养,细胞用PBS清洗后用2 mL甲醇固定15 min,然后用0.1%结晶紫染色20 min,显微镜下测定克隆数。

1.2.4 EdU实验

EdU分析试剂盒用于检测DNA合成和细胞增殖。将 1×10^5 个处理过的细胞接种在已放置好细

胞爬片的24孔板中过夜。第2天,将EdU溶液(50 μ mol/L)加入24孔板并等待2 h,接下来按照制造商提供的方案获取目的样品,最后使用荧光正置显微镜拍摄图片。

1.2.5 Transwell实验

使用预涂基质胶的Transwell小室检测细胞的侵袭能力。将转染的细胞悬浮在200 μ L无血清培养基中(1×10^5 个/孔),移液到上部腔室,并将700 μ L补充了10%FBS的培养基添加到下部腔室中。在37 °C下培养72 h后,将穿过微孔膜并黏附至下膜表面的细胞用4%多聚甲醛固定并用0.1%结晶紫染色。通过倒置显微镜获取图片对细胞进行计数。使用未预涂基质胶的Transwell小室检测细胞的迁移能力,37 °C下培养24 h后取出小室,其余方法同上。

1.2.6 伤口愈合实验

将 1.0×10^6 个/孔细胞铺于6孔板中进行转染。待细胞汇合度达95%以上用无菌200 μ L枪头在细胞单层上划一道划痕。分别于0 h和16 h用倒置显微镜拍摄($\times 100$),Image J软件用于检测细胞迁移率。

1.2.7 蛋白免疫印迹法(Western blot)

使用RIPA裂解液从转染后72 h的细胞中提取总蛋白,加入蛋白酶抑制剂,随后用BCA蛋白定量试剂盒测定实验样本蛋白浓度,接下来,通过十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳(sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)分离蛋白质样品并转印到硝酸纤维素膜上,用5%的脱脂奶粉溶液常温封闭1 h,随后膜与基质金属蛋白酶2(MMP2, 1:1 000)、基质金属蛋白酶9(MMP9, 1:1 000)、 β -actin(1:1 000)抗体4 °C摇床孵育过夜,回收一抗,TBST清洗2次,加入按比例稀释的二抗(1:5 000),室温孵育1 h,最后使用ECL显影液进行曝光,采集图像,Image J软件分析灰度值。

1.3 统计学方法

通过SPSS 26.0软件进行统计分析,所有数据均表示为平均值 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$),两组间数据比较用 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 hsa_circ_0005579在PE患者胎盘中的表达水平

PE患者及完全正常产妇产临床特征见表1。与正常产妇组比,PE患者的收缩压、舒张压显著升高,而胎儿出生体重显著降低,有显著的PE特征。两者的产妇年龄及体重指数无明显差异,即排除其他因素的影响。

用qRT-PCR检测了 hsa_circ_0005579 在 PE 胎盘和正常妊娠胎盘中的表达水平,结果显示,与正常妊娠胎盘相比($1.00 \pm 0.55, n=20$), PE 孕妇胎盘中 circ_0005579 的表达明显上调($2.04 \pm 0.92, n=20$),差异有统计学意义(图 1A),提示 hsa_circ_0005579 的表达与 PE 的发生密切相关。

2.2 hsa_circ_0005579 的鉴定及特征

如图 1B 所示, hsa_circ_0005579 长度为 660 个碱基对(bp),由其宿主基因半胱氨酸丰富跨膜 BMP 调节因子 1(cysteine rich transmembrane BMP regulator 1, CRIM1)中的 4 个外显子反向剪接而成,通过 sanger 测序证实了剪接接头的序列,环化位点与其碱基数据一致。然后进一步评估了 hsa_circ_0005579 的稳定性, RNase R 处理后,与线性形式的 Linear mRNA 相比, circ_0005579 对 RNase R 消化降解具有抗性,这也表明 circ_0005579 是高度稳定的($P < 0.05$, 图 1C)。为了证实组织、细胞中存在 hsa_circ_0005579,设计了发散和收敛型引物,以

HTR-8/SVneo 细胞提取的互补 DNA(cDNA)和基因组 DNA(gDNA)为模板,凝胶电泳结果显示 circ_0005579 仅由 cDNA 扩增而不是由 gDNA 扩增(图 1D),说明 circ_0005579 的环状结构是反向剪接产生的。

2.3 hsa_circ_0005579 调控 HTR-8/SVneo 细胞的增殖能力

为了进一步研究 hsa_circ_0005579 对 PE 的影响,在 HTR-8/SVneo 细胞中干扰掉 hsa_circ_0005579,探索其对细胞增殖的影响。首先,检测了转染 si-NC、si-circ_0005579(si-circ_0005579#1、si-circ_0005579#2 和 si-circ_0005579#3)后 HTR-8/SVneo 细胞中 hsa_circ_0005579 的水平,评估转染效率。结果显示,相对于 si-NC 组, hsa_circ_0005579 的表达在 si-circ_0005579 组显著下调(图 2A),说明干扰成功,且 si-circ_0005579#3 的干扰效率最佳,干扰效率高达 83.5%。

为了深入了解 circ_0005579 在 PE 发病过程中

表 1 PE 患者和正常产妇的临床特征比较

特征	正常产妇(n=20)	PE 患者(n=20)	P 值
孕妇年龄(岁)	30.35 ± 3.42	31.75 ± 5.68	0.351
体重指数(kg/m ²)	26.93 ± 2.28	27.89 ± 1.77	0.145
收缩压(mmHg)	114.65 ± 9.14	161.05 ± 15.28	< 0.001
舒张压(mmHg)	71.00 ± 7.34	103.50 ± 9.92	< 0.001
胎儿出生体重(g)	3 214.50 ± 493.62	1 772.50 ± 486.67	< 0.001

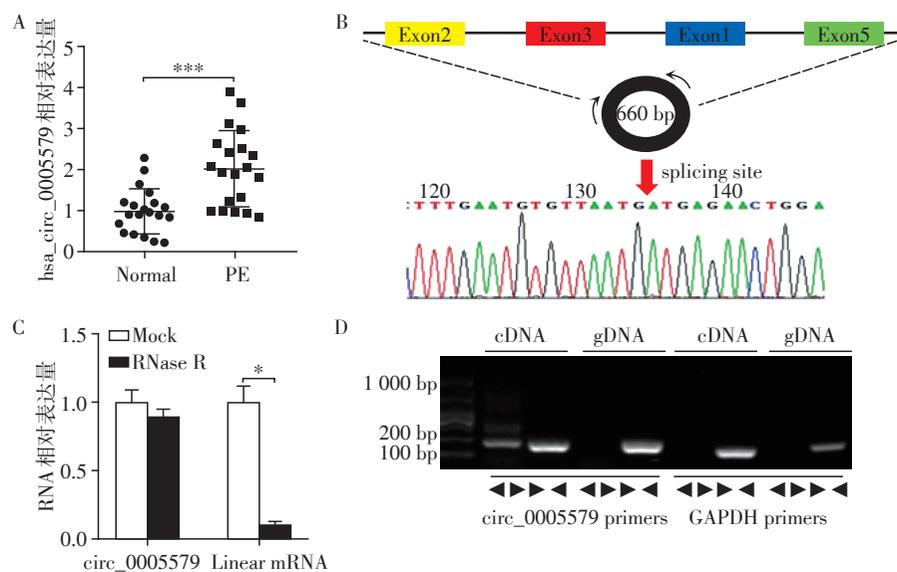


图 1 hsa_circ_0005579 在 PE 患者胎盘中的表达水平及其特征与鉴定
A: 与正常妊娠胎盘相比, PE 胎盘中的 hsa_circ_0005579 表达水平($n=20$); B: hsa_circ_0005579 的预测剪接模式和剪接位点序列; C: circ_0005579 的稳定性; D: hsa_circ_0005579 的存在及剪切模式。两组比较, * $P < 0.05$, *** $P < 0.001$ 。

图 1 hsa_circ_0005579 在 PE 患者胎盘中的表达水平及其特征与鉴定

Figure 1 The expression level of hsa_circ_0005579 in the placenta of PE patients and its characteristics and identification

的生物学功能,分别进行了CCK-8细胞活力检测实验(图2B)、克隆形成实验(图2C)及EdU实验(图2D)。结果发现,与si-NC组相比,细胞增殖能力因circ_0005579低表达而大大增加,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。

2.4 hsa_circ_0005579 调控 HTR-8/SVneo 细胞的迁移及侵袭能力

Transwell 实验(图3A)结果显示,与si-NC组相比,迁移和侵袭的HTR-8/SVneo细胞的数量可通过hsa_circ_000559的下调而增加。此外伤口愈合实验(图3B)显示处理16 h后,沉默的circ_0005579可促进HTR-8/SVneo细胞的迁移速率。通过检测细胞迁移标志物MMP2和MMP9的蛋白表达水平(图3C),发现干扰circ_0005579表达后,与对照组相比,MMP2、MMP9蛋白表达水平显著提高。以上结果均表明沉默circ_0005579对HTR-8/SVneo细胞的迁移和侵袭能力起着促进作用,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

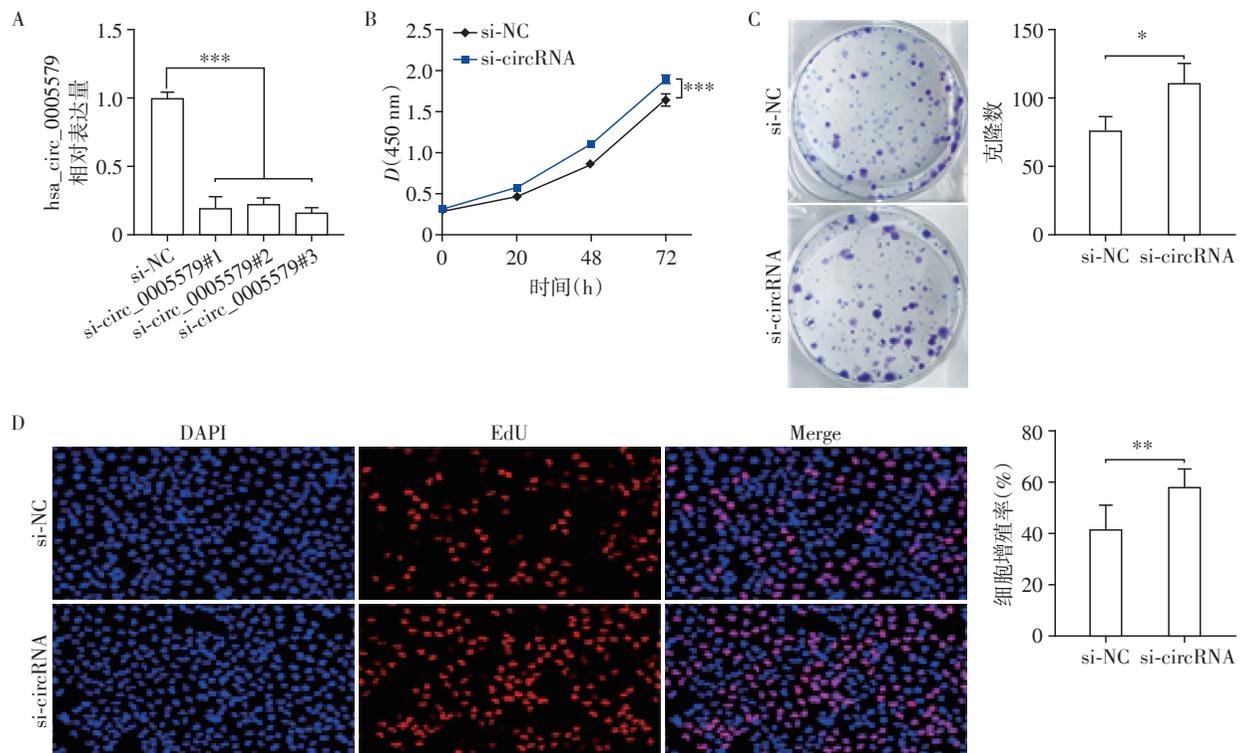
3 讨论

PE是一种妊娠特异性疾病,严重影响母亲及其后代的短期或长期健康^[15]。妊娠早期的有效预

测、干预、预防和控制对PE的发生和发展具有重要意义^[16],普遍的国际共识是早期预防和早期干预是管理PE的主要手段^[17],这就需要能有效预测PE发生的方法。因此,迫切需要进行研究来阐明PE的发病机制,目前研究认为胎盘滋养层细胞侵入母体蜕膜和子宫螺旋动脉重构功能障碍是PE的可能原因^[18],因此,为了探讨子痫前期的发病机制,研究PE和非PE胎盘中的差异表达因子至关重要。

环状RNA是一类新的由共价闭环形成的内源性非编码RNA,已被证明能调节细胞功能并参与调控多种疾病的进展^[19]。近年来,越来越多的证据表明,环状RNA在PE的发展中起着至关重要的作用^[20],研究人员发现敲除circLRRK1能显著促进HTR-8/SVneo细胞的增殖、迁移及侵袭能力^[21],体外细胞实验提示迁移标志物MMP2、MMP9蛋白表达水平升高,而MMP2、MMP9可以通过降解胎盘基底板和蜕膜中的胶原蛋白^[22],使滋养层细胞的侵入能力增强,保证子宫螺旋动脉重构正常完成。然而,仍然有大量的环状RNA在PE中的潜在功能尚未被很好地探究。

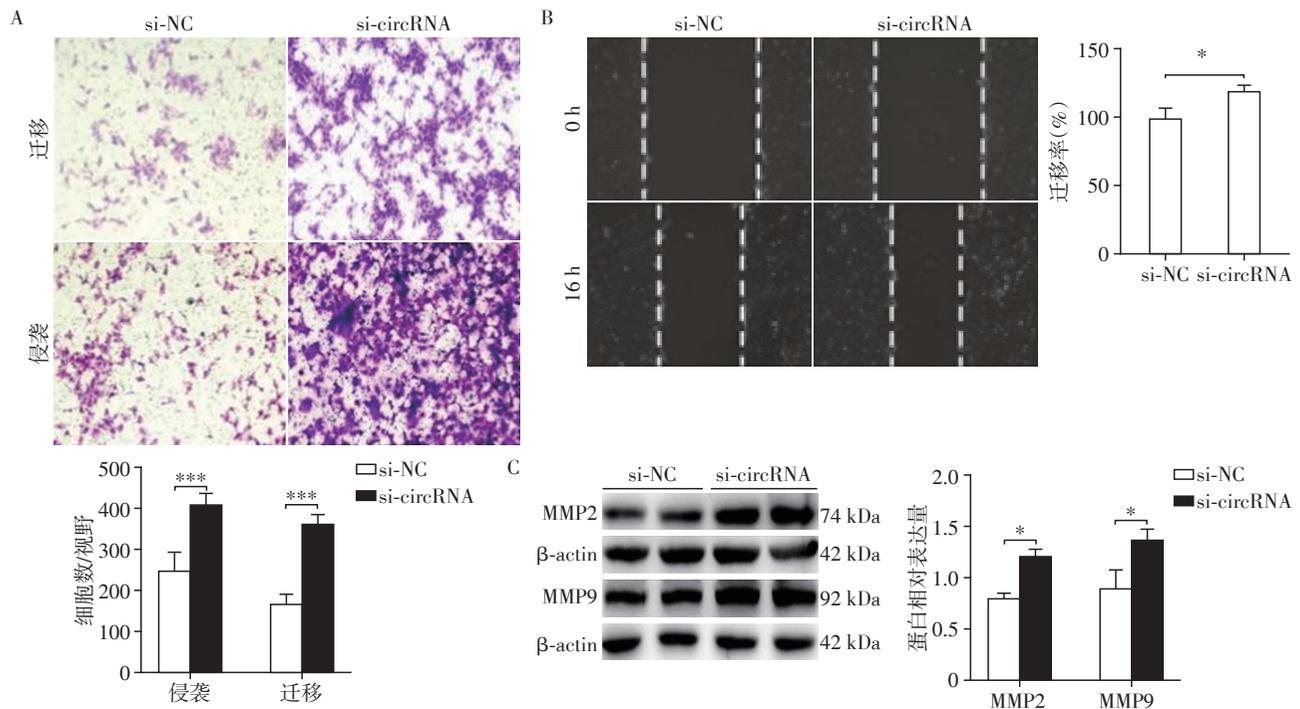
本研究源于课题组前期通过高通量测序筛选



A: hsa_circ_0005579 沉默后 HTR-8/SVneo 细胞中 hsa_circ_0005579 的 mRNA 表达水平; B: hsa_circ_0005579 沉默后的细胞活力; C: hsa_circ_0005579 沉默后单个细胞的增殖能力; D: hsa_circ_0005579 沉默后细胞的 DNA 合成和细胞增殖能力($\times 200$)。与 si-NC 组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 。

图2 沉默 hsa_circ_0005579 促进 HTR-8/SVneo 细胞的增殖能力

Figure 2 Silencing hsa_circ_0005579 promotes the proliferation of HTR-8/SVneo cells



A: 干扰 hsa_circ_0005579 表达后 HTR-8/SVneo 细胞的迁移、侵袭($\times 200$); B: 干扰 hsa_circ_0005579 表达后细胞的迁移率($\times 100$); C 干扰 hsa_circ_0005579 表达后细胞内的 MMP2、MMP9 表达水平。与 si-NC 组比较, * $P < 0.05$, *** $P < 0.001$ 。

图3 沉默 hsa_circ_0005579 促进 HTR-8/SVneo 细胞的迁移及侵袭能力

Figure 3 Silencing hsa_circ_0005579 promotes the migration and invasion of HTR-8/SVneo cells

出的胎盘中显著差异表达的环状 RNA, 其中 hsa_circ_0005579 为在 PE 患者胎盘中显著上调的一条环状 RNA, 然而, 目前尚未有其相关研究, hsa_circ_0005579 在 PE 中的作用和潜力尚未明确, 与之前的研究^[10]相似, 本研究发现, 相对于正常胎盘组织, 在 PE 胎盘组织中 hsa_circ_0005579 表达明显增加, 对其环状特征的鉴定表明, hsa_circ_0005579 确实是一种环状 RNA, 具有较高的稳定性。在滋养层细胞中沉默 hsa_circ_0005579 后, CCK-8 实验、克隆形成实验及 EdU 实验证实 hsa_circ_0005579 下调促进了滋养层细胞的增殖能力, 而 Transwell 实验及划痕实验结果说明干扰 hsa_circ_0005579 表达对滋养细胞的侵袭及迁移能力起到正向调控作用, Western blot 实验表明 MMP2、MMP9 蛋白水平显著上调, 提示敲除 hsa_circ_0005579 可以促进胎盘滋养细胞对子宫内膜的侵入, 从而使胎盘正常着床。因此, 有理由认为 hsa_circ_0005579 参与了 PE 的发病过程, hsa_circ_0005579 的敲除可能是治疗 PE 的有效策略。

综上所述, 环状 RNA hsa_circ_0005579 在 PE 患者胎盘中高表达, 沉默 hsa_circ_0005579 后滋养细胞的增殖、迁移及侵袭能力增强, 为 PE 的发病机制

研究提供新的思路, 其发挥功能的具体机制后续将进一步深入研究。

[参考文献]

- [1] PHIPPS E A, THADHANI R, BENZING T, et al. Pre-eclampsia: pathogenesis, novel diagnostics and therapies [J]. *Nat Rev Nephrol*, 2019, 15(5): 275-289
- [2] CASTELEIRO A, PAZ-ZULUETA M, PARÁS-BRAVO P, et al. Association between advanced maternal age and maternal and neonatal morbidity: a cross-sectional study on a spanish population [J]. *PLoS One*, 2019, 14(11): e0225074-e
- [3] OPICHKA M A, RAPPELT M W, GUTTERMAN D D, et al. Vascular dysfunction in preeclampsia [J]. *Cells*, 2021, 10(11): 3055
- [4] CHU Y, ZHU C, YUE C, et al. Chorionic villus-derived mesenchymal stem cell-mediated autophagy promotes the proliferation and invasiveness of trophoblasts under hypoxia by activating the JAK2/STAT3 signalling pathway [J]. *Cell Biosci*, 2021, 11(1): 182
- [5] HSHAO K Y, SUN H S, TSAI S J. Circular RNA - New member of noncoding RNA with novel functions [J]. *Exp Biol Med*(Maywood), 2017, 242(11): 1136-1141
- [6] SHEN H, LIU B, XU J, et al. Circular RNAs: characteris-

- tics, biogenesis, mechanisms and functions in liver cancer [J]. *J Hematol Oncol*, 2021, 14(1): 134
- [7] LASDA E, PARKER R. Circular RNAs: diversity of form and function[J]. *RNA*, 2014, 20(12): 1829–1842
- [8] KRISTENSEN L S, ANDERSEN M S, STAGSTED L V W, et al. The biogenesis, biology and characterization of circular RNAs[J]. *Nat Rev Genet*, 2019, 20(11): 675–691
- [9] HAQUE S, HARRIES L W. Circular RNAs (circRNAs) in health and disease[J]. *Genes (Basel)*, 2017, 8(12): 353
- [10] LI Z, ZHOU X, GAO W, et al. Circular RNA VPK1 facilitates pre-eclampsia progression via sponging miR-221-3P to regulate PTEN/Akt [J]. *J Cell Mol Med*, 2021, doi: 10.1111/jcmm.16454
- [11] ZHANG J, LIU H, HOU L, et al. Circular RNA_LARP4 inhibits cell proliferation and invasion of gastric cancer by sponging miR-424-5p and regulating LATS1 expression[J]. *Mol Cancer*, 2017, 16(1): 151
- [12] ZHU X, WANG X, WEI S, et al. hsa_circ_0013958: a circular RNA and potential novel biomarker for lung adenocarcinoma[J]. *FEBS J*, 2017, 284(14): 2170–2182
- [13] QIAN Y, LU Y, RUI C, et al. Potential significance of circular RNA in human placental tissue for patients with pre-eclampsia[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2016, 39(4): 1380–1390
- [14] 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
- [15] 邵慧静, 王天俊, 张嘉嘉, 等. 子痫前期胎盘样本的多肽组学分析及差异多肽功能的初步探究[J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2021, 41(8): 1151–1159
- [16] RANA S, LEMOINE E, GRANGER J P, et al. Preeclampsia: pathophysiology, challenges, and perspectives [J]. *Circ Res*, 2019, 124(7): 1094–1112
- [17] LAVALLEE L. Clinical presentation, assessment and management of pre-eclampsia[J]. *Nurs Stand*, 2015, 29(45): 51–59
- [18] ZHANG L, SANG M, LI Y, et al. WNT3 hypomethylation counteracts low activity of the Wnt signaling pathway in the placenta of preeclampsia[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2021, 78(21–22): 6995–7008
- [19] HAN B, CHAO J, YAO H. Circular RNA and its mechanisms in disease: from the bench to the clinic[J]. *Pharmacol Ther*, 2018, 187: 31–44
- [20] CHEN A, YU R, JIANG S, et al. Recent advances of microRNAs, long non-coding RNAs, and circular RNAs in preeclampsia[J]. *Front Physiol*, 2021, 12: 659638
- [21] TANG R, ZHANG Z, HAN W. CircLRRK1 targets miR-223-3p to inhibit the proliferation, migration and invasion of trophoblast cells by regulating the PI3K/AKT signaling pathway[J]. *Placenta*, 2021, 104: 110–118
- [22] 丰琳, 李炎. 子痫前期产妇血清MMP2、MMP9含量检测及胎盘床血流动力学异常情况评估[J]. *海南医学院学报*, 2015, 21(1): 111–113

[收稿日期] 2021-10-27

(本文编辑:唐震)



欢迎关注本刊微博、微信公众号!