

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2018.10.011  
文章编号: 1005-8982 (2018) 10-0060-06

## MicroRNA-29a 对人正常滋养细胞迁移和侵袭功能的影响及其可能的机制

莫玉俏, 卢敏, 陈小菊

(海南省人民医院 产科, 海南 海口 570311)

**摘要:** **目的** 检测 microRNA-29a (miR-29a) 在子痫前期孕妇胎盘组织中的表达及其对人正常滋养细胞系 HTR8/Svneo 迁移和侵袭能力的影响及可能的作用机制。 **方法** 收集行剖宫产分娩的 30 例子痫前期孕妇及 30 例正常妊娠孕妇的胎盘组织, 应用实时聚合酶链反应 (real-time PCR) 检测胎盘组织 miR-29a 的表达水平。应用生物信息学软件预测 miR-29a 的潜在靶基因, 选取 *ITGB1* 作为研究靶基因。将 miR-29a 模拟物 (miR-29a mimics) 转染人正常滋养细胞系 HTR8/Svneo, real-time PCR 检测转染后 HTR8/Svneo 细胞中 miR-29a 的表达变化, 划痕实验和 Transwell 侵袭实验检测转染后 HTR8/Svneo 细胞迁移和侵袭能力的变化, Western blot 检测转染后 HTR8/Svneo 细胞 *ITGB1* 蛋白的表达变化。 **结果** real-time PCR 结果显示子痫前期孕妇胎盘组织中 miR-29a 表达水平较正常妊娠孕妇增高 ( $P < 0.05$ )。人正常滋养细胞系 HTR8/Svneo 细胞转染 miR-29a mimics 后, miR-29a 表达水平增高 ( $P < 0.05$ ), *ITGB1* 蛋白表达水平降低 ( $P < 0.05$ ), 划痕实验和 Transwell 侵袭实验显示细胞迁移和侵袭能力降低 ( $P < 0.05$ )。 **结论** miR-29a 在子痫前期孕妇胎盘组织中高表达, 可能通过调控 *ITGB1* 的表达参与子痫前期的发生发展。

**关键词:** microRNA-29a; 子痫前期; 滋养细胞; 迁移; 侵袭 *ITGB1*

**中图分类号:** R714.2

**文献标识码:** A

## Effect of miR-29a on migration and invasion of human normal trophoblast cells and mechanism

Yu-qiao Mo, Min Lu, Xiao-ju Chen

(Department of Obstetrics, Hainan Provincial People's Hospital, Haikou, Hainan 570311, China)

**Abstract: Objective** To explore the expression of miR-29a in placental tissues of patients with preeclampsia and its effect and possible mechanism on invasion and migration of human normal trophoblast cell line HTR8/Svneo. **Methods** Placental tissues were collected from 30 pregnant women with preeclampsia and 30 normal pregnant women who delivered by cesarean section. Real-time PCR was used to analyze the expression level of miR-29a in placental tissues. The potential target genes of miR-29a were predicted by bioinformatics software, and *ITGB1* as a target gene was selected. Then, HTR8/Svneo cells were transfected with miR-29a mimics. Real-time PCR was used to explore the expression level of miR-29a and Western blot was used to explore the expression level of *ITGB1* protein in HTR8/Svneo cells after transfection. Wound healing assay and Transwell assay were used to analyze the effect of miR-29a on invasion and migration of HTR8/Svneo cells after transfection. **Results** Real-time PCR showed that the expression of miR-29a in the placental tissues of the patients with preeclampsia was significantly higher than that of normal pregnant women ( $P < 0.05$ ). After transfection with miR-29a mimics in HTR8/Svneo cells, the expression of miR-29a was significantly increased ( $P < 0.05$ ), the expression of *ITGB1* protein and the capacity of invasion and migration were significantly decreased ( $P < 0.05$ ). **Conclusions** The expression of miR-29a is

significantly up-regulated in placental tissues of the patients with preeclampsia, and miR-29a may participate in the occurrence and development of preeclampsia by regulating ITGB1 expression.

**Keywords:** miR-29a; preeclampsia; trophoblast cell; invasion; migration; ITGB1

子痫前期是妊娠期特有疾病,以妊娠 20 周后出现高血压、蛋白尿为主要特征,可伴有全身多器官功能的损害或衰竭,严重患者可以出现抽搐、昏迷甚至死亡<sup>[1]</sup>,对孕产妇和围生儿造成严重危害。子痫前期的发病机制尚不明确<sup>[2]</sup>,但子痫前期患者的临床症状在胎盘娩出后消失的这一现象提示发育异常的胎盘在子痫前期发病过程中扮演着重要角色<sup>[3]</sup>。目前认为滋养细胞的侵蚀不良与子痫前期患者存在的胎盘浅着床和螺旋动脉重铸障碍密切相关<sup>[4]</sup>。

MicroRNA (miRNA) 是一类存在于生物体中可以调控基因表达的内源性非编码小分子 RNA,通过降解靶基因 mRNA 或阻止其蛋白翻译对靶基因进行调节<sup>[5]</sup>。近年来研究表明,子痫前期患者胎盘组织及外周血中存在着大量异常表达的 miRNA<sup>[6-7]</sup>,影响滋养细胞的增殖、侵袭等生物学功能,与子痫前期的发生发展密切相关<sup>[8-10]</sup>。miR-29a 是较早发现的 miRNA 之一,miR-29a 在多种肿瘤中表达异常,并且与肿瘤细胞的增殖、凋亡、迁移及侵袭能力密切相关<sup>[11-14]</sup>,但 miR-29a 对滋养细胞迁移、侵袭等细胞生物学功能是否有影响尚不明确。近期 Li 等<sup>[15]</sup>在对子痫前期孕妇与正常孕妇的血浆 miRNA 表达谱进行比较时发现,子痫前期孕妇血浆中 miR-29a 表达增高,并应用实时聚合酶链反应 (real-time PCR) 进行了验证,但 miR-29a 在子痫前期孕妇胎盘组织中的表达情况尚不明确。本研究检测 miR-29a 在子痫前期和正常孕妇胎盘组织中的表达情况,在体外建立高表达 miR-29a 的滋养细胞系模拟子痫前期孕妇胎盘组织中 miR-29a 的高表达状态,并分析过表达 miR-29a 对滋养细胞迁移、侵袭能力的影响,以探讨 miR-29a 在子痫前期发生发展中可能的作用机制。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选择 2015 年 1 月-2016 年 1 月在海南省人民医院产科住院行剖宫产分娩的 30 例子痫前期孕妇为研究对象,并选择同期 30 例行剖宫产分娩的正常孕妇作为对照组。所有孕妇均为单胎初产,无烟、酒等特殊嗜好,无内外科合并症及其他产科合发症。子痫前

期的诊断标准参照第 8 版《妇产科学》<sup>[16]</sup>。本次研究报告经医院伦理委员会批准,告知研究事项后均签署知情同意书。胎盘娩出后,在母体面胎盘中央区以脐带为中心剪取大小约 1 cm × 1 cm × 1 cm 的胎盘组织,避开机化、钙化或出血灶。将所有收集的组织在离体 20 min 内置于液氮速冻,-80℃ 保存备用。

### 1.2 细胞与试剂

人正常滋养细胞系 HTR8/Svneo 购自 ATCC 中国细胞库。hsa-miR-29a mimics 及 mimics-NC 均购自上海吉凯基因公司,逆转录试剂盒及 real-time PCR 试剂盒购自日本 TaKaRa 公司,miR-29a 及 U6 引物由上海吉凯基因公司设计合成,Trizol 试剂和脂质体 2000 (Lipofectamine™ 2000) 购自美国 Invitrogen 公司,鼠抗人 ITGB1、GAPDH 单克隆抗体和辣根过氧化物酶标记的兔抗鼠 IgG 均购自美国 Abcam 公司,Transwell 小室购自美国 Costar 公司,Matrigel 胶购自美国 BD 公司。

### 1.3 方法

**1.3.1 生物信息学分析** 采用 TargetScan (www.targetscan.org) 和 miRanda (www.microrna.org) 生物信息学在线预测软件分析 miR-29a 的靶基因。

**1.3.2 细胞培养** 人正常滋养细胞系 HTR8/Svneo 培养在含 10% 胎牛血清的 RPMI1640 培养基中,37℃、5% 二氧化碳 CO<sub>2</sub> 饱和湿度培养箱中培养,细胞呈贴壁生长。

**1.3.3 细胞转染** 取对数生长的 HTR8/Svneo 细胞接种于 6 孔板培养,细胞密度至 60% ~ 70%,严格按照 Lipofectamine 2000 试剂盒操作说明书进行转染操作,将 miR-29a mimics 及阴性对照 (mimics-NC) 转染 HTR8/Svneo 细胞,实验分为 miR-29a mimics 组 (转染 miR-29a mimics 的 HTR8/Svneo 细胞)、mimics-NC 组 (转染 mimics-NC 的 HTR8/Svneo 细胞) 及空白对照组 (未进行转染操作的自然生长 HTR8/Svneo 细胞)。

**1.3.4 real-time PCR 检测胎盘组织及细胞系 miR-29a 的表达** 使用 Trizol 试剂从组织或细胞中提取总 RNA,测定浓度及纯度合格后,严格按照逆转录试剂盒说明书操作进行逆转录合成 cDNA。取 cDNA 按 Real-PCR 试剂盒说明书配置反应体系进行 real-time PCR 反应,反应条件:预变性 94℃ 2 min,变性 94℃

20 s, 退火延伸 60℃ 30 s, 扩增 40 个循环。以 U6 作为内参基因, 实验重复 3 次, miR-29a 表达量数值采用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  法计算。

**1.3.5 Western blot 检测** 转染后 HTR8/Svneo 细胞 ITGB1 蛋白的表达收集对数生长期的细胞, 用蛋白裂解液提取细胞总蛋白, BCA 法测定蛋白样品浓度。每孔取 40  $\mu$ g 蛋白上样, SDS-聚丙烯酰胺凝胶上电泳 30 min, 加入 5% 脱脂奶粉溶液, 室温封闭 2 h 后, 加入适当浓度一抗, 4℃ 反应过夜后, 次日洗膜后, 再加入辣根过氧化物酶标记的二抗, 室温孵育 2 h, 洗膜后, 将膜置于 ECL 化学发光中, 凝胶成像系统显影, 以 ITGB1 蛋白条带灰度值与 GAPDH 蛋白条带灰度值的比值表示 ITGB1 蛋白的相对表达量。

**1.3.6 划痕实验检测** 转染后 HTR8/Svneo 细胞迁移能力的变化取转染 24 h 后各组 HTR8/Svneo 细胞, 用 10  $\mu$ l 枪头在孔板中心轴处沿直线轻轻划痕, PBS 洗去漂浮细胞后继续培养, 培养 24 h, 在显微镜下观察拍照记录 0 和 24 h 时刻划痕间距, 以细胞划痕愈合百分比表示各组细胞的迁移能力。

**1.3.7 Transwell 侵袭实验检测** 转染后 HTR8/Svneo 细胞侵袭能力的变化将 Matrigel 基质胶包被 Transwell 小室基底膜, 收集转染 24 h 后各组 HTR8/Svneo 细胞, 向上室加入含  $5 \times 10^4$  个细胞, 稀释于不含胎牛血清的 RPMI1640 培养液中, 下室加入含 10% 胎牛血清的 RPMI1640 培养液, 37℃、5% 二氧化碳 CO<sub>2</sub> 饱和湿度培养 24 h 后取出, 棉签擦净基质胶及上室面未迁移的细胞, 甲醛固定, 0.5% 结晶紫染色, 随机选取显微镜下 5 个不同视野计数穿出细胞数, 取平均值, 实验重复 3 次。

## 1.4 统计学方法

采用 SPSS 20.0 软件进行数据分析, 计量资料以均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 两组间均数比较采用 *t* 检验, 3 组间均数比较采用单因素方差分析, 采用 SNK-*q* 检验进行两两比较,  $P < 0.05$  为差异有统计学

意义。

## 2 结果

### 2.1 两组孕妇临床特征的比较

两组患者在年龄、分娩孕周等临床特征方面比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 而在血压、新生儿出生体重等方面比较差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见附表。

### 2.2 两组孕妇胎盘组织中 miR-29a 的表达水平

Real-time PCR 结果显示, 子痫前期组孕妇胎盘组织中 miR-29a 表达水平高于对照组孕妇, 差异有统计学意义 ( $t = 66.489, P = 0.000$ )。见图 1。

### 2.4 miR-29a 靶基因的预测

通过 TargetScan 和 miRanda 生物信息学在线预测软件预测 miR-29a 的靶基因, 从 2 个软件得到的结果进行交集分析预测并综合分析, 预测 ITGB1 是 miR-29a 的 1 个潜在靶基因, 该基因的 3' UTR 中存在与 miR-29a 互补的结合位点。见图 2。

### 2.5 转染后 HTR8/Svneo 细胞 miR-29a 的表达

Real-time PCR 检测各组细胞 miR-29a 表达水平, 经单因素方差分析, 差异有统计学意义 ( $F = 1230.78, P = 0.000$ ), 各组 miR-29a 表达水平有差别; 进一步两两比较显示, miR-29a mimics 组细胞 miR-29a 的表达水平高于 mimics-NC 组和空白对照组 ( $q = 60.862, P = 0.000; q = 60.667, P = 0.000$ ); mimics-NC 组 miR-29a 的表达水平与空白对照组比较, 差异无统计学意义 ( $q = 0.196, P = 0.903$ )。见图 3。

### 2.6 转染后 HTR8/Svneo 细胞 ITGB1 蛋白表达水平的变化

Western blot 检测各组细胞 ITGB1 蛋白表达水平, 经单因素方差分析, 差异有统计学意义 ( $F = 31.200, P = 0.004$ ), 各组 ITGB1 蛋白表达水平差异有统计学意义; 进一步两两比较显示, miR-29a mimics 组细胞中 ITGB1 蛋白表达低于 mimics-NC 组和空白对照组

附表 两组孕妇临床特征 ( $n = 30, \bar{x} \pm s$ )

组别	年龄 / 岁	分娩孕周 / 周	收缩压 / mmHg	舒张压 / mmHg	新生儿出生体重 / kg
对照组	29.3 $\pm$ 3.2	39.0 $\pm$ 2.8	117.8 $\pm$ 9.1	73.5 $\pm$ 9.2	3 689 $\pm$ 458.0
子痫前期组	28.8 $\pm$ 2.7	37.9 $\pm$ 2.1	153.3 $\pm$ 14.5	95.1 $\pm$ 11.9	3 145 $\pm$ 752.0
<i>t</i> 值	0.654	1.721	11.358	7.865	3.384
<i>P</i> 值	0.516	0.091	0.000	0.000	0.001

( $q = 9.369, P = 0.001$ ;  $q = 9.954, P = 0.000$ ); mimics-NC 组 ITGB1 蛋白的表达水平与空白对照组比较, 差异无统计学意义 ( $q = 0.586, P = 0.213$ )。见图 4。

### 2.7 转染后 HTR8/Svneo 细胞迁移能力的变化

划痕实验显示 3 组细胞的划痕愈合百分比分别为: miR-29a mimics 组 ( $50.2 \pm 4.4$ )%, mimics-NC

组 ( $75.6 \pm 4.6$ )%, 空白对照组 ( $76.1 \pm 5.1$ )%, 3 组比较差异有统计学意义 ( $F = 59.350, P = 0.000$ )。进一步两两比较显示, miR-29a mimics 组细胞划痕修复能力低于 mimics-NC 组和空白对照组 ( $q = 13.212$  和  $13.472$ , 均  $P = 0.000$ ); mimics-NC 组和空白对照组比较, 差异无统计学意义 ( $q = 0.260, P = 0.301$ )。见图 5。

### 2.8 转染后 HTR8/Svneo 细胞侵袭能力的变化

侵袭试验显示 3 组细胞穿入下层小室的细胞数目分别为: miR-29a mimics 组 ( $22 \pm 5$ ) 个/HP, mimics-NC 组 ( $65 \pm 10$ ) 个/HP; 空白对照组 ( $61 \pm 11$ ) 个/HP, 3 组比较差异有统计学意义 ( $F = 41.290, P = 0.000$ )。进一步两两比较显示, miR-29a mimics 组细胞数少于 mimics-NC 组和空白对照组 ( $q = 11.632$  和  $10.550$ , 均  $P = 0.000$ ); mimics-NC 组和空白对照组比较, 差异无统计学意义 ( $q = 1.082, P = 0.189$ )。见图 6。

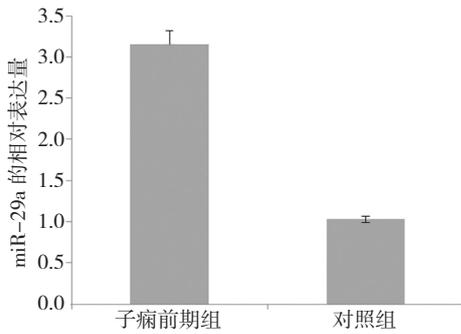


图 1 胎盘组织中 miR-29a 的相对表达量

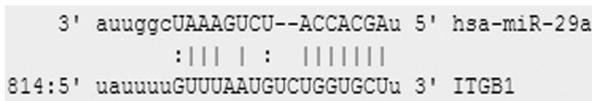


图 2 miR-29a 靶基因的预测

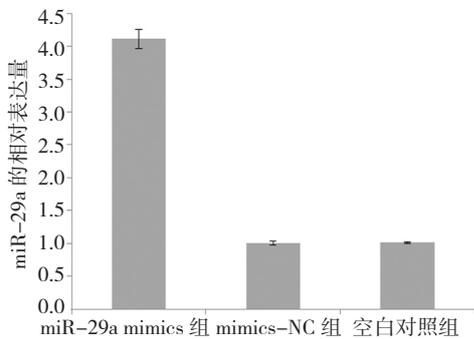


图 3 3 组 HTR8/Svneo 细胞中 miR-29a 的相对表达量

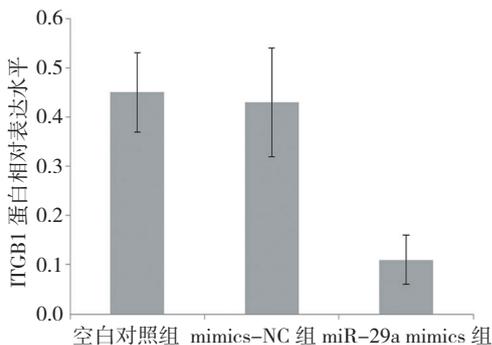
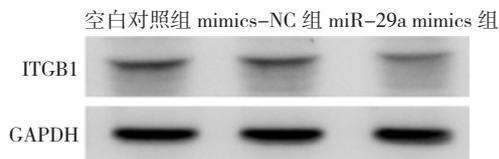


图 4 3 组 HTR8/Svneo 细胞 ITGB1 蛋白的相对表达

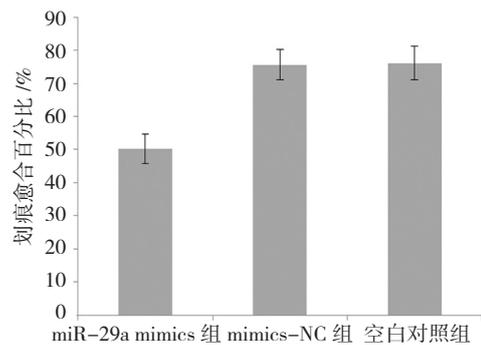
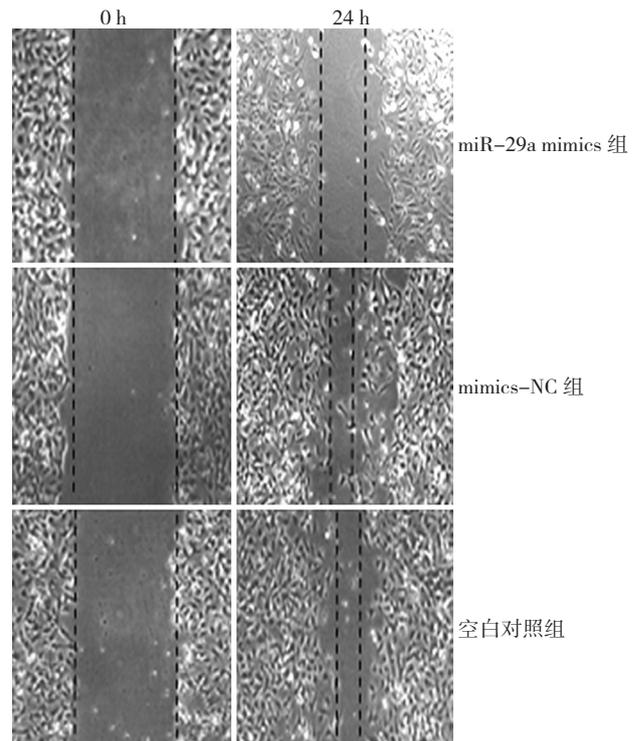


图 5 3 组 HTR8/Svneo 细胞划痕愈合百分比

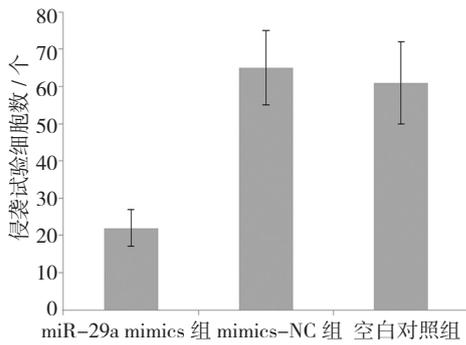


图 6 3 组 HTR8/Svneo 细胞侵袭实验细胞数目

### 3 讨论

子痫前期是妊娠期孕妇合并症，是孕产妇及围生儿死亡的主要原因，具体的发病机制至今尚不明确，阻碍了该疾病的预后和治疗。目前较一致的看法认为血管重铸不足和胎盘功能障碍与子痫前期有关，其中胎盘滋养细胞浸润功能下降是导致胎盘浅着床和螺旋动脉重铸失败的原因之一。近年来研究发现，子痫前期孕妇胎盘与正常孕妇胎盘相比，存在着一些特异性、异常表达的 microRNA，提示 microRNA 表达的变化可能参与的子痫前期的发生发展，为探索子痫前期的发病机制提供了新的思路。

miR-29a 位于染色体 7q32.3 负链的普通型脆性位点 FRA7H 内，目前有关 miR-29a 在恶性肿瘤方面的研究较多。LIU 等<sup>[11]</sup>在研究中发现，miR-29a 通过靶向 ROBO1 调控胃癌细胞的迁移侵袭功能。HAN 等<sup>[12]</sup>发现 miR-29a 通过靶向 CEACAM1 调控肺腺癌细胞的增殖、迁移及侵袭行为。但 miR-29a 是否与滋养细胞的迁移、侵袭功能相关，目前尚未见报道。本研究发现 miR-29a 在子痫前期孕妇胎盘组织中表达水平较正常孕妇增高，因此推测 miR-29a 的高表达可能与滋养细胞迁移侵袭能力的下降有关。

为了验证 miR-29a 的高表达与人正常滋养细胞迁移侵袭能力的关系，本研究应用细胞转染技术，对人正常滋养细胞 HTR8/Svneo 转染 miR-29a 模拟物后，细胞中 miR-29a 表达水平增高，成功模拟了子痫前期孕妇胎盘组织中 miR-29a 的高表达状态，同时划痕实验和 Transwell 侵袭实验证实人正常滋养细胞 HTR8/Svneo 中 miR-29a 表达水平增高后，细胞的迁移和侵袭能力出现相应的下降，证实子痫前期孕妇胎盘组织 miR-29a 的高表达与其滋养细胞迁移侵袭能力下降有关。

进一步研究 miR-29a 调控人正常滋养细胞迁移

侵袭的机制，本研究应用目前常用的 miRNA 靶基因预测软件 TargetScan 和 miRanda 对 miR-29a 的靶基因进行预测，综合分析，最终选定 *ITGB1* 作为候选靶基因进行研究。本研究发现对人正常滋养细胞 HTR8/Svneo 转染 miR-29a 模拟物后，细胞中 miR-29a 表达水平增高，Western blot 显示 *ITGB1* 蛋白表达水平降低，说明 miR-29a 与 *ITGB1* 之间存在负向调控关系，后续的实验将通过双荧光素酶报告基因实验对 miR-29a 与 *ITGB1* 之间的靶向调控关系进行进一步的验证。*ITGB1* 是细胞黏附分子家族中重要的一类分子，是介导细胞与细胞外环境（如细胞外基质、ECM 等）之间连接的跨膜受体，并且其可以促进基质金属蛋白酶的活化及分泌，降解 ECM，促进细胞的迁移与侵袭<sup>[17-18]</sup>。JIANG 等<sup>[19]</sup>通过基因芯片技术发现 *ITGB1*、*UBB*、*PIK3R1*、*MAPRE1* 及 *VEGFA* 基因参与了子痫前期的病理进程。LI 等<sup>[20]</sup>在研究中通过 real-time PCR 证实子痫前期孕妇胎盘组织中 *ITGB1*、*MCL1*、*MMP2* 及 *VEGFA* 的表达水平较健康对照组降低，提示子痫前期孕妇胎盘组织中 *ITGB1* 的表达降低与子痫前期密切相关。子痫前期孕妇胎盘组织中 miR-29a 的高表达负向调控 *ITGB1* 的表达，造成 *ITGB1* 低表达，从而使滋养细胞迁移及侵袭能力下降，参与子痫前期的发生发展。

综上所述，miR-29a 在子痫前期孕妇胎盘组织中高表达，增高滋养细胞 miR-29a 表达能降低滋养细胞迁移及侵袭能力，其调控机制可能与 miR-29a 对 *ITGB1* 的表达的负向调控有关，为子痫前期发病机制的研究及子痫前期的诊疗提供了新的思路。

### 参 考 文 献:

- [1] CRAICIIM, WAGNERSJ, WEISSGERBERTL, et al. Advances in the path physiology of pre-eclampsia and related podocyteinjury[J]. *Kidney Int*, 2014, 86(2): 275-285.
- [2] STEEGERSEA, VONDADELSZENP, DUVEKOTJJ, et al. Pre-eclampsia[J]. *Lancet*, 2010, 376(9741): 631-644.
- [3] KIM Y J. Pathogenesis and promising non-invasive markers for preeclampsia[J]. *ObstetGynecol Sci*, 2013, 56(1): 2-7.
- [4] TAL R. The role of hypoxia and hypoxia-inducible factor-1Alpha in preeclampsia pathogenesis[J]. *Biology of Reproduction*, 2012, 87(6): 1-8.
- [5] BARTEL D P. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*, 2004, 116(2): 281-297.
- [6] CHOI S Y, YUNJ, LEEJ, et al. MicroRNA expression profiles in placenta with severe preeclampsia using a PNA-based microarray[J]. *Placenta*, 2013, 34(9): 799-804.

- [7] BETONIJS, DERRK, PAHLMC, et al. MicroRNA analysis in placentas from patients with preeclampsia: comparison of new and published results[J]. *Hypertens Pregnancy*, 2013, 32(4): 321-339.
- [8] DORIDOT L, MIRALLES F, BARBAUX S, et al. Trophoblasts, invasion, and microRNA[J]. *Front Genet*, 2013(4): 248.
- [9] SUN M, CHEN H, LIU J, et al. MicroRNA-34a inhibits human trophoblast cell invasion by targeting MYC[J]. *BMC Cell Biol*, 2015(16): 21.
- [10] DING J, HUANG F, WU G, et al. MiR-519d-3p suppresses invasion and migration of trophoblast cells via targeting MMP-2[J]. *PLoS One*, 2015, 10(3): e0120321.
- [11] LIU X, CAI J, SUN Y, et al. MicroRNA-29a inhibits cell migration and invasion via targeting Roundabout homolog 1 in gastric cancer cells[J]. *Mol Med Rep*, 2015, 12(3): 3944-3950.
- [12] HAN H S, SON S M, YUN J, et al. MicroRNA-29a suppresses the growth, migration, and invasion of lung adenocarcinoma cells by targeting carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 6[J]. *FEBS Lett*, 2014, 588(20): 3744-3750.
- [13] CHEN L, XIAO H, WANG Z H, et al. miR-29a suppresses growth and invasion of gastric cancer cells in vitro by targeting VEGF-A[J]. *BMB Rep*, 2014, 47(1): 39-44.
- [14] 刘永敏, 段萍, 鄢文海, 等. 过表达 microRNA-29a 上调锌脂蛋白 91 对大鼠肾上腺嗜铬细胞瘤细胞凋亡的影响 [J]. *中国现代医学杂志*, 2016, 26(11): 18-23.
- [15] LI H, GE Q, GUO L, et al. Maternal Plasma miRNAs Expression in Preeclamptic Pregnancies[J]. *Biomed Res Int*, 2013, 2013: 970265.
- [16] 谢幸, 苟文丽. 妇产科学 [M]. 第 8 版. 北京: 人民卫生出版社, 2013: 64-73.
- [17] WANG L, ZHANG Y, LV W, et al. Long non-coding RNA Linc-ITGB1 knockdown inhibits cell migration and invasion in GBC-SD/M and GBC-SD gallbladder cancer cell lines[J]. *ChemBiol Drug Des*, 2015, 86(5): 1064-1071.
- [18] MORI H, LO A T, INMAN J L, et al. Transmembrane/cytoplasmic, rather than catalytic, domains of Mmp14 signal to MAPK activation and mammary branching morphogenesis via binding to integrin  $\beta 1$ [J]. *Development*, 2013, 140(2): 343-352.
- [19] JIANG F, YANG Y, LI J, et al. Partial least squares-based gene expression analysis in preeclampsia[J]. *Genet Mol Res*, 2015, 14(2): 6598-6604.
- [20] LI P, GUO W, DU L, et al. microRNA-29b contributes to preeclampsia through its effects on apoptosis, invasion and angiogenesis of trophoblast cells[J]. *ClinSci (Lond)*, 2013, 124(1): 27-40.

(张西倩 编辑)