妊娠合并症

DOI:10.13406/j.cnki.cyxb.001209

类固醇受体辅助活化因子-3 通过 PI3K/Akt/mTOR 信号通路参与子痫前期发病机制中的作用研究

袁 雨,单 楠,谭 彬,刘洋铭,何承晋,漆洪波

(重庆医科大学附属第一医院妇产科、重庆医科大学"中国-加拿大-新西兰"联合母胎医学实验室,重庆 400016)

【摘 要】**目的**:探讨类固醇受体辅助活化因子-3(steroid receptor coactivator-3,SRC-3)参与人脐静脉内皮细胞株(HUVECs)受损的信号通路,及其在子痫前期发病机制中的作用。**方法**:收集 2014 年 10 月至 2015 年 10 月在重庆医科大学附属第一医院行选择性剖宫产手术的正常足月妊娠组(31 例)以及子痫前期组(29 例)的胎盘组织。使用 Western blot 检测 2 组胎盘组织 SRC-3 的表达。脐静脉内皮细胞株(HUVECs)分为 4 个处理组:正常常氧对照(N)培养组、缺氧/复氧(H/R)培养组、SRC-3 shRNA 慢病毒敲降(shSRC-3)培养组以及 PI3K 特异性抑制剂(LY294002)培养组。使用 Western blot 检测内皮细胞中 SRC-3、p-Akt(Ser^{473})、Akt、p-mTOR(Ser^{2481})、mTOR 的表达。使用细胞管腔成型实验检测内皮细胞血管形成能力。**结果**:SRC-3 在子痫前期胎盘组织蛋白水平低于正常足月胎盘(t=3.501,P=0.013)。细胞学实验中,与 N 组相比,H/R 组、shSRC-3 组及 LY294002 组 HUVECs 的 SRC-3(t=4.236,P=0.007;t=5.469,P=0.002;t=4.165,P=0.008)、p-Akt(Ser^{473})/Akt(t=5.214,P=0.002;t=5.188,P=0.002;t=7.054,P=0.000)、p-mTOR(Ser^{2481})/mTOR(t=4.832,P=0.003;t=5.695,P=0.001;t=5.699,P=0.001)表达降低。H/R 组、shSRC-3 组、LY294002 组 HUVECs 血管形成能力低于 N 组(t=5.268,P=0.002;t=4.648,P=0.004;t=4.087,P=0.009)。**结论**:SRC-3 可能通过 PI3K/Akt/mTOR 通路参与子痫前期的发病机制。

【关键词】子痫前期;类固醇受体辅助活化因子-3;血管内皮;PI3K/Akt/mTOR

【中图分类号】R714.24 【文献标志码】A 【收稿日期】2016-09-12

Steroid receptor coactivator-3 is involved in the pathogenesis of preeclampsia by regulating PI3K/Akt/mTOR pathway

Yuan Yu, Shan Nan, Tan Bin, Liu Yangming, He Chengjin, Qi Hongbo

(*Department of Obstetrics and Gynecology, The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University; China-Canada-New Zealand Joint Laboratory of Maternal and Fetal Medicine, Chongqing Medical University*)

【Abstract】***Objective***: To explore the mechanism of steroid receptor coactivator-3(SRC-3) involved in in the pathogenesis of preeclampsia(PE). ***Methods***: Western blot was used to detect the expression of SRC-3 protein in placentas. Cell treatments of each group were as follows: normal culture group(N), hypoxia/reoxygenation(H/R) culture group, lentivirus short hairpin RNA against SRC-3 transfect group(shSRC-3), PI3K inhibitor LY294002 culture group(LY294002). Western blot was used to detect the expression of SRC-3, p-Akt(Ser^{473}), Akt, p-mTOR(Ser^{2481}), mTOR protein in HUVECs. The tube formation assay was used to detect tube formation capacity of HUVECs. ***Results***: The protein levels of SRC-3 were decreased in PE placentas than in normal placentas(t=3.501, P=0.013). In four cell groups, the expression of SRC-3(t=4.236, P=0.007; t=5.469, P=0.002; t=4.165, P=0.008), p-Akt(Ser^{473})/Akt(t=5.214, P=0.002; t=5.188, P=0.002; t=7.054, P=0.000), p-mTOR(Ser^{2481})/mTOR(t=4.832, P=0.003; t=5.695, P=0.001; t=5.699, P=0.001) proteins in H/R group, shSRC-3 group and LY294002 group were lower than that in normal group. Moreover, the tube formation ability of H/R group, shSRC-3 group and LY294002 group were reduced (t=5.268, P=0.002; t=4.648, P=0.004; t=4.087, P=0.009). ***Conclusion***: These results suggest that SRC-3 may play a critical role in the pathogenesis of PE though PI3K/Akt/mTOR pathway.

【Key words】preeclampsia; steroid receptor coactivator-3; human umbilical vein endothelial cells; PI3K/Akt/mTOR

作者介绍:袁 雨,Email:395235234@qq.com,

研究方向:子痫前期的发病机制。

通信作者:漆洪波,Email:qihongbo728@163.com。

基金项目:国家自然科学基金青年科学基金资助项目(编号:81601304)。

优先出版:http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.r.20170313.1136.078.html (2017-03-13)

子痫前期(preeclampsia,PE)是一类妊娠特有疾病,是我国孕产妇死亡的第二大原因,严重威胁母婴健康,其临床特征为妊娠 20 周后首次出现血压≥140/90 mmHg 及蛋白尿,可伴随发生头痛、视力障碍、肝肾功异常等。目前,PE 的具体发病机制还有待阐明,但是多项研究表明,子痫前期的发生发展与胎盘缺血再灌注所导致的血管内皮损伤存在相关联系[1]。有研究证实类固醇受体辅助活化因子-3(steroid receptor coactivator-3,SRC-3)作为雌激素受体转录共激活因子,在血管内皮细胞中高度表达,而且在雌激素介导的血管保护机制中具有重要作用[2]。而 SRC-3 是否参与子痫前期的发病机制,国内外尚无相关研究。本实验以氧化应激致人脐静脉内皮细胞损伤为模型,探讨 SRC-3 通过调控 PI3K/Akt/mTOR 通路在子痫前期血管内皮细胞损伤机制中的作用。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 胎盘组织 收集 2014 年 10 月至 2015 年 10 月在重庆医科大学附属第一医院行选择性剖宫产手术的正常足月妊娠孕妇组(31 例)以及子痫前期组(29 例)的胎盘组织。收取胎盘时,选取体积约 1 cm×1 cm×1 cm 大小胎盘,避免肉眼可见的钙化及坏死区。本研究经重庆医科大学伦理委员会审批,所有孕妇均签署知情同意书。研究对象均为单胎,子痫前期诊断标准参照《妇产科学》八版教材,排除标准为既往无慢性高血压、糖尿病、肝肾功能异常等合并症,无吸烟、酗酒及长期服用药物史。

1.1.2 主要试剂 人脐静脉血管内皮细胞株(HUVECs)由重庆医科大学生命科学院提供;单克隆兔抗 SRC-3 抗体(#5765;美国 Cell Signaling Technology 公司);多克隆兔抗 p-Akt(Ser^{473})(#9271;美国 Cell Signaling Technology 公司),多克隆兔抗 Akt(#9272;美国 Cell Signaling Technology 公司),单克隆兔抗 p-mTOR(Ser^{2481})(ab137133;英国 Abcam 公司),单克隆兔抗 mTOR(#2983;美国 Cell Signaling Technology 公司),单克隆鼠抗 β-actin(BM0627;中国博士德技术有限公司),辣根酶标记山羊抗兔 IgG(H+L)(ZB-2301;中国中杉金桥生物技术有限公司),辣根酶标记山羊抗小鼠 IgG(H+L)(ZB-2305;中国中杉金桥生物技术有限公司);靶向人 SRC-3 基因的短发夹 RNA(short hairpin RNA,shRNA)慢病毒载体(中国吉玛制药有限公司);PI3K 特异性抑制剂 LY294002(S1105;美国 Selleck 公司);基质胶(356234;美国 BD 公司);细胞培养相关试剂(美国 Thermo Fisher Scientific 公司);Western blot 相关试剂(美国 Bio-Rad 公司)。

1.1.3 细胞分组 人脐静脉血管内皮细胞(HUVECs)共分为 4 个组:正常常氧对照培养(N)组、缺氧/复氧培养(H/R)组、SRC-3 shRNA 慢病毒敲降培养(shSRC-3)组以及 PI3K 特异性抑制剂培养(LY294002)组。HUVECs 处理前均使用含有 10%胎牛血清的 1640 培养基,于 37 ℃、20%O_2、5%CO_2 条件下培养;当细胞处于对数生长期时进行后续实验。H/R 条件为 37 ℃、2%O_2、5%CO_2 缺氧 2 h,37 ℃、20%O_2、5%CO_2 复氧 6 h[3]。LV3-SRC-3 慢病毒感染复数为 10 MOI,转染后于嘌呤霉素筛选处理,进一步使用流式细胞术检测转染效率,验证转染效率为 99%以上后继续进行后续实验。LY294002 处理浓度为 20 μmol/L,处理时间为 24 h。

1.2 实验方法

1.2.1 Western blot 检测蛋白水平 应用蛋白印迹技术检测 2组胎盘组织 SRC-3、β-actin 水平以及内皮细胞中 SRC-3、p-Akt(Ser^{473})、Akt、p-mTOR(Ser^{2481})、mTOR、β-actin 的水平。蛋白上样量为 40 μg。一抗浓度分别为:SRC-3(1:1 000)、p-Akt(Ser^{473})(1:1 000)、Akt(1:1 000)、p-mTOR(Ser^{2481})(1:1 000)、mTOR (1:1 000)、β-actin (1:1 000)。在 Bio-Rad ChemiDoc XRS+化学发光成像系统上检测蛋白质印记条带灰度,用 ImageJ 图像分析软件进行灰度分析。

1.2.2 管腔成型试验检测血管形成能力 将 50 μL 未稀释的基质胶(10 mg/mL)放至 96 孔板中,避免气泡产生,待凝固后,加入 3×10^4 个细胞。细胞处理参照 1.1.3。处理 8 h 后,于显微镜下观察、拍照,使用 Image pro plus 软件计算管腔长度。小管形成指数表示为每平方毫米面积的管腔长度。以上实验均重复 3 次。

1.3 统计分析

采用 GraphPad Prime 6.0 软件进行统计学分析。所有数据以均数 ± 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,2 组数据均数间比较采用两独立样本 t 检验;方差不齐的 2 组数据均数间比较采用 Mann-Whitney 双侧检验;多组数据均数间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 Dunnett-t 检验。检验水准 $\alpha=0.05$。

2 结 果

2.1 临床资料分析结果

子痫前期组与正常足月妊娠组孕妇相比,年龄和孕次没有明显差异;孕周、产次、胎儿体质量、胎儿身长和胎盘重量明显低于正常足月妊娠组,差异均具有统计学意义;BMI、尿蛋白、收缩压、舒张压明显高于正常足月妊娠组,差异均具有统计学意义。见表 1。

2.2 Western blot 检测正常足月妊娠组与子痫前期组胎盘中 SRC-3 蛋白水平

本实验采用 31 例正常胎盘组织及 26 例子痫前期组织进行 Western blot 分析(代表性 Western blot 结果如图 1 所示),结果证实与正常足月妊娠组胎盘组织相比,子痫前期组

胎盘中 SRC-3 蛋白水平降低，差异具有统计学意义（1.065 ± 0.074 vs. 0.679 ± 0.976；t=3.150；P=0.003）。

2.3 Western blot 检测内皮细胞中 SRC-3 蛋白水平

流式细胞仪检测 SRC-3 shRNA 慢病毒载体对 HUVECs 的转染效率约为 99.34%，可供后续试验。使用 Western blot验证，H/R 组、shSRC-3 组与 LY294002 组中 SRC-3 蛋白水平低于 N 组，差异具有统计学意义（图 2，表 2）。

表 1 正常足月妊娠患者与子痫前期患者临床信息比较

Tab.1 Clinical information of normal group and preeclampsia group

分组	正常足月妊娠组	子痫前期组	t/U 值	P 值
例数（n）	31	26	-	-
年龄（岁）	30.39 ± 3.35	29.88 ± 5.05	0.044	0.664
孕周（周）	39.21 ± 0.82	36.60 ± 2.25	-4.245[a]	0.000
BMI（kg/m²）	27.63 ± 2.84	30.56 ± 3.52	3.513	0.001
孕次（次）	2.42 ± 1.41	2.35 ± 1.09	0.207	0.837
产次（次）	0.42 ± 0.49	0.15 ± 0.37	2.239	0.029
尿蛋白（g/24 h）	0.05 ± 0.01	2.72 ± 1.26	-6.457[a]	0.000
收缩压（mmHg）	119.90 ± 8.38	162.00 ± 17.79	-6.453[a]	0.000
舒张压（mmHg）	66.45 ± 6.60	101.30 ± 12.16	-6.417[a]	0.000
胎儿体质量（g）	3 402.00 ± 292.04	2 669.00 ± 475.32	-4.194[a]	0.000
胎儿身长（cm）	49.79 ± 1.18	47.00 ± 2.00	-4.149[a]	0.000
胎盘重量（g）	568.10 ± 46.89	467.60 ± 42.93	8.041	0.000

注：a，U 值，采用 Mann-Whitney 双侧检验

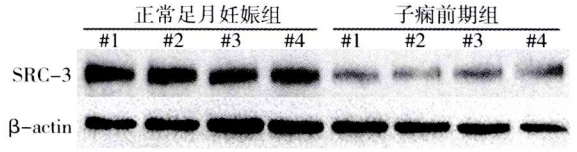


图 1 Western blot 检测正常足月妊娠组和子痫前期组胎盘中 SRC-3 蛋白水平

Fig.1 Western blot for the protein level of SRC-3 in normal placentas and preeclampsia placentas

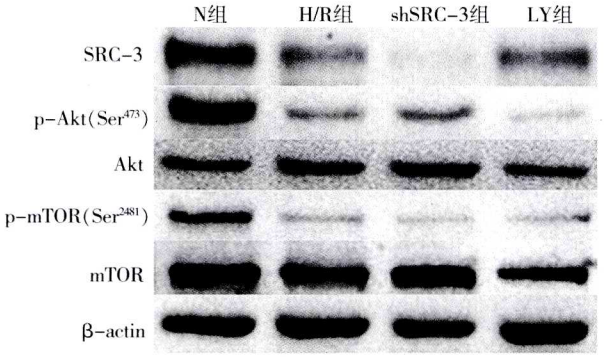


图 2 Western blot 检测各培养组 HUVECs 中 SRC-3、p-Akt (Ser^{473})及 p-mTOR(Ser^{2481})蛋白表达水平

Fig.2 SRC-3, p-Akt (Ser^{473}) and p-mTOR (Ser^{2481}) protein expressions in HUVECs of each group detected by Western blot

表 2 各培养组 HUVECs 中 SRC-3 蛋白水平定量分析

Tab.2 Quantitative analysis of SRC-3 protein in HUVECs of each group

组别	SRC-3蛋白相对表达水平/β-actin	F 值	P 值
N组	1.211 ± 0.213	11.405	0.003
H/R组[a]	0.555 ± 0.194		
ShSRC-3 组[b]	0.364 ± 0.192		
LY 组[c]	0.566 ± 0.155		

注：a，H/R 组和 N 组比较，t_D=4.236，P=0.007；b：shSRC-3 组和 N 组比较，t_D=5.469，P=0.002；c：LY 组和 N 组比较，t_D=4.165，P=0.008；-：无此项目

2.4 Western blot 检测内皮细胞中 PI3K/Akt/mTOR 通路指标

进一步验证 SRC-3 与 PI3K/Akt/mTOR 通路相关性，Western blot 结果如图 2 所示，与 N 组相比，H/R 组、shSRC-3 组与 LY294002 组中 p-Akt（Ser^{473}）/Akt、p-mTOR（Ser^{2481}）/mTOR 水平降低，差异具有统计学意义（表 3，表 4）。

表 3 各培养组 HUVECs 中 p-Akt(Ser^{473})蛋白水平定量分析

Tab.3 Quantitative analysis of p-Akt(Ser^{473}) protein in HUVECs of each group

组别	p-Akt（Ser^{473}）蛋白相对表达水平/Akt	F 值	P 值
N组	1.175 ± 0.261	18.455	0.001
H/R组[a]	0.410 ± 0.179		
shSRC-3 组[b]	0.414 ± 0.162		
LY 组[c]	0.140 ± 0.053		

注：a，H/R 组和 N 组比较，t_D=5.214，P=0.002；b：shSRC-3 组和 N 组比较，t_D=5.188，P=0.002；c：LY 组和 N 组比较，t_D=7.054，P=0.000；-：无此项目

表 4 各培养组 HUVECs 中 p-Mtor(Ser^{2481})蛋白水平定量分析

Tab.4 Quantitative analysis of p-mTOR (Ser^{2481}) protein in HUVECs of each group

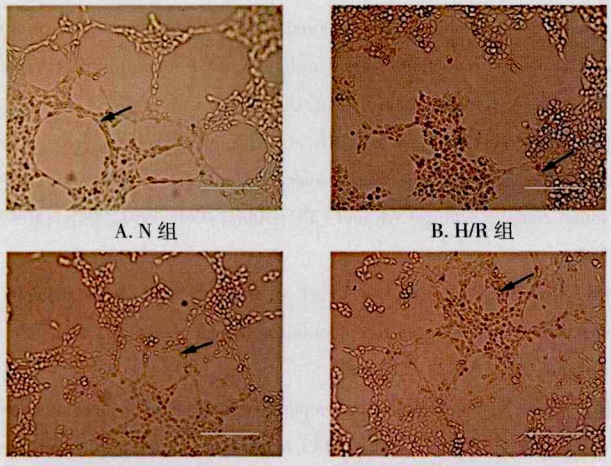
组别	p-mTOR（Ser^{2481}）蛋白相对表达水平/mTOR	F 值	P 值
N组	1.121 ± 0.272	14.957	0.001
H/R组[a]	0.437 ± 0.108		
shSRC-3 组[b]	0.315 ± 0.166		
LY 组[c]	0.314 ± 0.085		

注：a，H/R 组和 N 组比较，t_D=4.832，P=0.003；b：shSRC-3 组和 N 组比较，t_D=5.695，P=0.001；c：LY 组和 N 组比较，t_D=5.699，P=0.001；-：无此项目

2.5 内皮细胞的血管形成能力检测

组织和内皮细胞中均证实 SRC-3 在子痫前期中呈下降趋势，所以本实验进一步对内皮细胞血管功能进行了检测。由图 3 可见，与 N 组相比，H/R 组、shSRC-3 组与 LY294002

组HUVECs的血管形成能力降低，差异具有统计学意义，见表5。



A. N 组　B. H/R 组　C. shSRC-3 组　D. LY 组

图中箭头所指为脐静脉内皮细胞形成小管结构

图 3　管腔成型实验检测 HUVECs 血管形成能力(200×)

Fig.3　Tube formation ability of HUVECs detected by tube formation assay(200×)

表 5　各培养组 HUVECs 管腔成型的对比分析

Tab.5　Comparative analysis of tube formation capacity of HUVECs with different treatments

组别	小管形成指数（mm/mm²）	*F* 值	*P* 值
N组	0.112 ± 0.038		
H/R组	0.026 ± 0.007	11.358	0.003
shSRC-3组	0.036 ± 0.004		
LY组	0.046 ± 0.010		

注：a，H/R 组和 N 组比较，t_D=5.268，*P*=0.002；b：shSRC-3 组和 N 组比较，t_D=4.648，*P*=0.004；c：LY 组和 N 组比较，t_D=4.087，*P*=0.009；-：无此项目；小管形成指数表示每平方毫米面积的管道长度

3　讨　论

SRC-3 是核激素受体转录共激活因子家族的一员，基因定位于人 20q12 染色体上，其编码的 SRC-3 蛋白含 1 420 个氨基酸，全长约 160 kD。SRC-3 有 2 个转录激活区（ADI 和 AD2），其中 AD1 区域主要与 CBP 和 P300 相互作用，参与细胞凋亡、细胞周期调控和细胞分化等生理过程，且 p300/CBP 具有乙酰转移酶活性，能通过乙酰化组蛋白和非组蛋白的方式参与基因的转录调控；AD2 区域位于 SRC-3 蛋白的 C 端，主要负责调控与甲基化组蛋白、共激活因子等相关过程[4]。有研究发现，随着孕周的增加，SRC-3 在人胎盘中的蛋白表达水平递增，在晚孕期达到峰值[5]，且使用小鼠动物模型发现 SRC-3 在胎盘形成以及胚胎存活方面具有重要作用[6]。另外，研究证实 SRC-3 和雌激素受体在子宫内膜细胞和血管平滑肌细胞中存在共表达现象，推测 SRC-3 可能参与了雌激素介导的血管保护机制[2]，血管内皮细胞损伤可以导致血管收缩功能异常及凝血系统功能障碍，所以被视为子痫前期发病重要原因之一[7]。因此，本研究旨在探讨 SRC-3 是否通过调控内皮细胞受损机制参与子痫前期发病。

首先，组织学的研究结果发现，与正常足月妊娠组胎盘组织相比，子痫前期胎盘中 SRC-3 蛋白水平降低，说明 SRC-3 异常可能参与子痫前期的发病机制。

随后，采用内皮细胞进一步验证 SRC-3 在子痫前期发病机制中的潜在作用。研究证实缺氧复氧（H/R）可以导致胎盘的氧化应激，进而导致子痫前期的发生[8]，本研究中细胞缺氧复氧模型为缺氧 2 h、复氧 6 h[3]，建立子痫前期细胞模型。结果发现，与正常足月妊娠组比较，H/R 可明显抑制 SRC-3 蛋白的表达，并明显抑制内皮细胞血管形成能力，进一步证实 SRC-3 蛋白的表达受损可能参与子痫前期的发病机制。

磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白（PI3K/Akt/mTOR）在细胞增殖、凋亡、血管生成等过程中发挥着重要的生物学功能。有研究证实，p-Akt/Akt[9]和 p-mTOR/mTOR[10]水平降低可以通过减弱滋养细胞的侵袭能力以及影响血管内皮功能，从而导致子痫前期的发生。本实验结果发现，与正常足月妊娠组比较，H/R 处理后，p-Akt（Ser473）/Akt、p-mTOR（Ser2481）/mTOR 水平明显降低，验证了子痫前期中 PI3K/Akt/mTOR 水平呈下降趋势。使用 PI3K 特异性抑制剂 LY294002 后发现，LY294002 组 p-Akt（Ser473）/Akt、p-mTOR（Ser2481）/mTOR 水平较正常足月妊娠组明显降低，说明PI3K 特异性抑制剂 LY294002 抑制成功。进一步使用管腔成型实验证实 LY294002 组的 HUVECs 血管形成能力下降，说明 PI3K/Akt/mTOR 水平下降可以通过影响 HUVECs 的血管形成能力，进而导致子痫前期的发生。

另外，有研究证明 SRC-3 可以通过调控 PI3K/Akt/mTOR 通路影响细胞增殖等功能[11]，所以本研究进一步验证了 SRC-3 是否可以通过 PI3K/Akt/mTOR 通路影响子痫前期的发生。本研究使用携带 GFP 报告基因的 SRC-3 shRNA 慢病毒载体敲降 HUVECs 中 SRC-3 的表达，通过实验证明，shSRC-3 组 SRC-3 水平明显降低，说明敲降成功。随后，本研究发现，shSRC-3 组中 p-Akt(Ser473)/Akt、p-mTOR(Ser2481)/mTOR 水平较正常足月妊娠组明显降低，且血管形成能力呈下降趋势，说明 SRC-3 可能作为 PI3K/Akt/mTOR 通路的上游分子，通过影响 HUVECs 的血管形成能力而导致子痫前期的发生。值得注意的是，LY294002 组 SRC-3 的水平较正常足月妊娠组降低，考虑 SRC-3 与 PI3K/Akt/mTOR 通路存在反馈机制，有待进一步阐明。

综上所述，本研究首次证实 SRC-3 在子痫前期胎盘中呈低表达，且其通过下调 PI3K/Akt/mTOR 通路，减弱 HUVECs 的血管形成能力，进而参与子痫前期的发病机制。后续研究可通过动物模型，进一步验证 SRC-3 在子痫前期中的作用，为药物治疗靶点提供新的理论依据。

参 考 文 献

[1] Pennington KA, Schlitt JM, Jackson DL, et al. Preeclampsia: multiple approaches for a multifactorial disease[J]. Dis Model Mech, 2012, 5(1): 9-18.

[2] Yuan Y, Liao L, Tulis DA, et al. Steroid receptor coactivator-3 is required for inhibition of neointima formation by estrogen[J]. Circulation, 2002, 105(22): 2653-2659.

[3] Leach RE, Kilburn BA, Petkova A, et al. Diminished survival of human cytotrophoblast cells exposed to hypoxia/reoxygenation injury and associated reduction of heparin-binding EGF-like growth factor[J]. Am J Obstet Gynecol, 2008, 198(4): 471.e1-8.

[4] Chen H, Lin RJ, Schiltz RL, et al. Nuclear receptor coactivator ACTR is a novel histone acetyltransferase and forms a multimeric activation complex with p/CAF and CBP/p300[J]. Cell, 1997, 90(3): 569-580.

[5] Kim SC, Park MN, Lee YJ, et al. Interaction of steroid receptor coactivators and estrogen receptors in the human placenta[J]. J Mol Endocrinol, 2016, 56(3): 239-247.

[6] Chen X, Liu Z, Xu J. The cooperative function of nuclear receptor coactivator 1(NCOA1) and NCOA3 in placental development and embryo survival[J]. Mol Endocrinol, 2010, 24(10): 1917-1934.

[7] Roberts JM, Taylor RN, Musci TJ, et al. Preeclampsia: an endothelial cell disorder[J]. Am J Obstet Gynecol, 1989, 161(5): 1200-1204.

[8] Hung TH, Burton GJ. Hypoxia and reoxygenation: a possible mechanism for placental oxidative stress in preeclampsia[J]. Taiwan J Obstet Gynecol, 2006, 45(3): 189-200.

[9] Wu D, Hong H, Huang X, et al. CXCR2 is decreased in preeclamptic placentas and promotes human trophoblast invasion through the Akt signaling pathway[J]. Placenta, 2016, 43: 17-25.

[10] Knuth A, Liu L, Nielsen H, et al. Placenta growth factor induces invasion and activates p70 during rapamycin treatment in trophoblast cells[J]. Am J Reprod Immunol, 2015, 73(4): 330-340.

[11] Ying H, Furuya F, Willingham MC, et al. Dual functions of the steroid hormone receptor coactivator 3 in modulating resistance to thyroid hormone[J]. Mol Cell Biol, 2005, 25(17): 7687-7695.

（责任编辑：张辉洁）