生殖系统疾病

DOI:10.13406/j.cnki.cyxb.000964

TXNIP激活 NLRP3 炎性小体在子痫前期发病中的作用

杨 勇,张 华

(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:探讨硫氧还蛋白结合蛋白(thioredoxin-interacting protein,TXNIP)激活核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3(NLR family pyrin domain containing 3,NLRP3)炎性小体与子痫前期(preeclampsia,PE)发病的关系。**方法**:收集重庆医科大学附属第一医院 2013 年 12 月至 2014 年 6 月分娩的 15 例 PE 和 15 例正常产妇的胎盘组织,应用 Western blot 检测胎盘中TXNIP 与 NLRP3 的表达水平。以人绒毛外滋养细胞(human transformed primary extravillous trophoblast cell line,HTR8/SVneo)体外培养,分为正常对照组(N)组、缺氧复氧(hypoxia/reoxygenation,H/R)组、H/R+Scrambled siRNA(H/R+NC)组和 H/R+TXNIP siRNA(H/R+siRNA)组。各组处理后使用 Western blot 检测细胞 TXNIP 和 NLRP3 蛋白表达水平,应用半胱氨酸蛋白酶-1(Caspase-1)活性检测试剂盒检测 Caspase-1 活性,应用蛋白质免疫共沉淀法(Co-Immunoprecipitation,Co-IP)检测 TXNIP 与 NLRP3、凋亡相关的斑点样蛋白(apoptosis-associated speck-like protein containing CARD,ASC)之间的相互作用,并实时检测细胞侵袭与增殖。**结果**:TXNIP 与 NLRP3 在 PE 组胎盘组织中的表达明显高于 N 组(P=0.003、P=0.002);在细胞模型中,H/R 处理后,TXNIP 与 NLRP3 的表达明显升高(P=0.011、P=0.022),相互之间作用明显加强;抑制 TXNIP 后,NLRP3 表达明显降低(P=0.000),ASC 蛋白水平也明显下降(P=0.001),而且降低 H/R 对侵袭与增值能力的抑制作用(P=0.001、P=0.038)。**结论**:TXNIP 介导的 NLRP3 炎性体激活可能在 PE 发病中起作用。

【关键词】硫氧还蛋白结合蛋白;子痫前期;缺氧复氧

【中图分类号】R714.24 **【文献标志码】**A **【收稿日期】**2015-12-22

Effect of TXNIP mediated NLRP3 inflammasome activationon the pathogenesis of preeclampsia

Yang Yong, Zhang Hua

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

【Abstract】*Objective*: To explore the role of thioredoxin-interacting protein(TXNIP) mediated NLR family pyrin domain containing 3 (NLRP3) inflammasome activation in the pathogenesis of preeclampsia(PE). ***Methods***: Fifteen cases of early-onset PE and 15 cases of normal maternal placental tissue were collected in the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University from December 2013 to June 2014. Western blot was used to detect the expression of TXNIP and NLRP3 in placenta. Human transformed primary extravillous trophoblast cell line(HTR8/SVneo) cells were used to establish the model of PE, which were divided into control group, hypoxia reoxygenation(H/R) group, H/R+Scrambled siRNA(H/R+NC)group and H/R+TXNIP siRNA(H/R+siRNA) group. After the treatment, expressions of TXNIP and NLRP3 were detected by Western blot; Caspase 1 activity was measured by Caspase-1 active detection kit; interaction between TXNIP and NLRP3 was tested by Co-IP; invasion and proliferation were detected by real-time cell analyzer instrument. ***Results***: The expression of TXNIP and NLRP3 in placenta in PE group was obviously higher than that of normal group(P=0.003, P=0.002). In the cell model, H/R could increase the expression of TXNIP and NLRP3 obviously(P=0.000, P=0.001), and interaction between TXNIP and NLRP3 was improved remarkably. After the inhibition of TXNIP, expression of NLRP3 was significantly reduced(P=0.000), and ASC level was also declined obviously(P=0.001), and the invasion and proliferation ability of H/R was decreased (P=0.001, P=0.038). ***Conclusion***: TXNIP mediated NLRP3 inflammatory activation plays an important role in the pathogenesis of PE.

【Key words】thioredoxin -interacting protein; preeclampsia; hypoxia/reoxygenation

作者介绍:杨 勇,Email:504651893@qq.com,
研究方向:围产医学。

通信作者:张 华,Email:zh2844@gmail.com。

基金项目:国家自然科学基金面上资助项目(编号:81370732)。

优先出版:http://www.cnki.net/kcms/detail/50.1046.r.20160513.1610.074.html (2016-05-13)

子痫前期(preeclampsia,PE)是妊娠期特有的疾病[1],而妊娠本就是一个炎症过程,母胎界面的炎症失衡是导致 PE 发生的原因之一[2]。有研究证明,PE 患者血液中白介素-1β(interleukin-1β,IL-1β)水平高于正常,而 IL-1β 的分泌与核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3(NLR family pyrin domain containing 3,NLRP3)炎性体密切相关[3-4]。NLRP3 炎性体是目前研究最明确的一个炎性小体,它由 NLRP3、凋亡相关的斑点样蛋白(apoptosis-associated speck-like protein containing CARD,ASC)和半胱氨酸蛋白酶-1(caspase-1)三部分组成,激活时,caspase-1 可以将无活性的 IL-1β 前体剪切为有生物学作用的 IL-1β[5]。

硫氧还蛋白结合蛋白(thioredoxin-interacting protein,TXNIP)是硫氧还蛋白(thioredoxin,TRX)结合蛋白的一种,它通过抑制 TRX 的功能发挥生物学作用[6]。研究证实 TXNIP 具有促进凋亡、抑制增殖、抑制肿瘤细胞侵袭等作用[7]。此外,TXNIP 还可以与 NLRP3 结合从而激活 NLRP3 炎性小体[8]。

然而,TXNIP 是否通过激活 NLRP3 炎性小体在 PE 的发生发展中起作用,迄今尚无报道。故本研究通过建立 PE 细胞模型[9-10],探究 TXNIP 介导 NLRP3 炎性体激活在 PE 中的作用。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 胎盘组织 实验组收集 PE 患者胎盘组织 15 例,从 2013年 12 月至 2014 年 6 月在重庆医科大学附属第一医院产科住院病人,诊断标准参考文献[11];对照组收集正常孕妇胎盘 15 例;所有研究对象均以剖宫产终止妊娠,麻醉方式为硬膜外麻醉,无高血压、心脏病、糖尿病、甲状腺功能疾病、肾脏疾病以及可能导致缺氧性改变的其他并发症。本研究得到重庆市伦理委员会批准,所有受试者均以书面知情同意书告知。

1.1.2 细胞培养和缺氧复氧 人绒毛外滋养细胞(human transformed primary extravillous trophoblast cell line,HTR8/SVneo)培养在含 10%胎牛血清(fetal bovine serum,FBS,Gibco)的 1640 培养基(Gibco)中,在 37 ℃、5% CO_2、20% O_2 孵箱中培养。细胞长满瓶底 60%~80%时开始不同处理。缺氧复氧(hypoxia/reoxygenation,H/R)处理如前所述,HTR8/Svneo 在三气孵箱(Thermo Fisher Scientific,Basingstoke,UK)中,2% O_2、5% CO_2、93% N_2 条件下培养 2 h,然后转至正常条件下培养 6 h,建立 PE 细胞模型。

1.1.3 主要试剂 单克隆兔抗 TXNIP 抗体(ab188865;Abcam);单克隆兔抗 NLRP3 抗体(#13158;Cell Signaling Technology);多克隆兔抗 Caspase-1 抗体(sc-514;Santa cruz);多克隆兔抗 ASC 抗体(sc-22514-R;Santa cruz);单克隆鼠抗IL-1β 抗体(ab8320;Abcam);Immobilon Western Chemiluminescent HRP Substrate(MILLIPORE,WBKLS0500);Caspase-1 活性检测试剂盒(C101;碧云天);VECTASHIELD Mounting Medium with DAPI(H-1200,VECTOR);Lipofectamine™ 2000 (11668-027;Invitrogen)

1.2 方法

1.2.1 Western blot 将提取的组织和细胞蛋白浓度调至 1 μg/μl,分别取 20 μl 加入 SDS-聚丙烯酰胺进行电泳,后转至 PVDF 膜上,5%脱脂牛奶封闭 1 h,一抗(TXNIP、NLRP3、ASC、Caspase-1、β-actin)4 ℃过夜。室温摇床上孵育二抗(辣根过氧化物标记的山羊抗兔 IgG 抗体)1 h。显影剂显影,Bio-rad 仪器采集图像,并分析图像灰度值。

1.2.2 TXNIP siRNA 转染 按照吉玛 siRNA 产品使用手册分别在 H/R+Scrambled siRNA 组和 H/R+TXNIP siRNA 组细胞中加 100 pmol Scrambled siRNA+5 μl Lipo2000 和 100 pmol TXNIP siRNA+5 μl Lipo2000,6 h 后更换培养基,培养 48 h后予以 H/R 处理。

1.2.3 细胞 Caspase-1 水平的检测 收集 6 孔板中处理后的细胞,按照 Caspase-1 活性检测试剂盒说明书进行操作。

1.2.4 免疫共沉淀 收集 10 cm 培养皿细胞,冰上裂解 20 min,12 000 g 离心 15 min,取上清,检测蛋白浓度并调至 1 μg/μl,取 200 μl 加入 5ulTXNIP 或 NLRP3 抗体,4 ℃缓慢摇动过夜,加 40 μl Protein A+G 凝胶 4 ℃缓慢摇动 3 h,PBS 洗涤珠子 5 次,加入 40 μl 上样缓冲液,100 ℃处理 5 min,上样进行 Western blot。

1.2.5 实时无标记细胞分析仪(real-time cell analyzer,RTCA)检测侵袭与增殖 实时侵袭与增殖监测仪器由实时检测机器、特殊的检测侵袭或增殖的 16 孔板、xCELLigence 公司的软件组成。实验步骤严格按照仪器操作说明书,在检测侵袭的 16 孔板上层的底部铺 60 μl,10 μg/μl 的基质胶(BD)37 ℃孵箱内放置过夜,分别在上层加 30 μl 完全培养基,在下层加 165 μl 无血清培养基,将上下层组装起来,检测基线,每个孔中加 110 μl 含有 5×10^5 个细胞的悬液,然后按各种预处理分组。将检测板放入机器,15 min 检测 1 次,共 48 h。用 RTCA 的分析软件进行分析。

1.2.6 免疫荧光 细胞经过处理后,多聚甲醛固定 20 min 后进行免疫荧光,一抗是单克隆鼠抗 IL-1β,二抗是异硫氰酸荧光素(fluorescein isothiocyanate,FITC)标记的山羊抗鼠抗体,DAPI 用于染核并封片,用荧光显微镜(EVOS FL Auto;Life Technologies,USA)收集图像。

1.3 统计分析

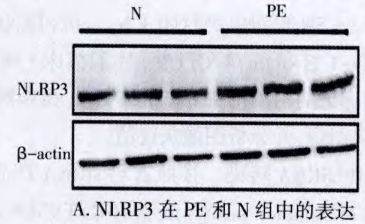
采用 GraphPad Prism 5.0 软件进行统计学分析。所有数据采用平均值 ± 标准差($\bar{x}\pm s$),两组均数间的比较采用独立

样本 t 检验分析；多组间的均数比较采用单因素方差分析，并应用Tukey 检验作两两比较。检验水准 α=0.05。

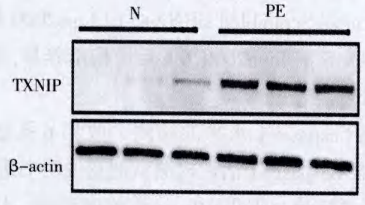
2 结　果

2.1 TXNIP 和 NLRP3 炎性小体在 PE 组胎盘中表达上调

NLRP3 在孕晚期胎盘组织中表达，并且在 PE 组胎盘组织中的表达明显高于 N 组（图 1A），在 N 组与 PE 组胎盘组织中的表达水平分别为（1.981 ± 0.121）、（2.522 ± 0.187），2组比较差异有统计学意义（P=0.022）（表 1）。同样 TXNIP 在 PE 组胎盘组织中的表达也明显高于 N 组（P=0.011）（图 1B，表1）。



A. NLRP3 在 PE 和 N 组中的表达



B. TXNIP 在 PE 和 N 组中的表达

图 1　Western blot 检测胎盘组织中 NLRP3 和 TXNIP 的表达

Fig.1　NLRP3 and TXNIP protein expression in placenta detected by Western blot

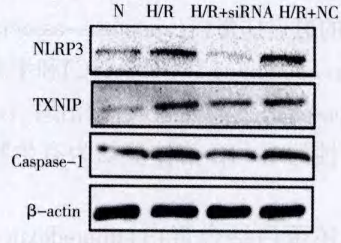
表 1　胎盘组织中 NLRP3 与 TXNIP 蛋白水平的比较分析

Tab.1　Comparative analysis of NLRP3 and TXNIP protein level in placenta

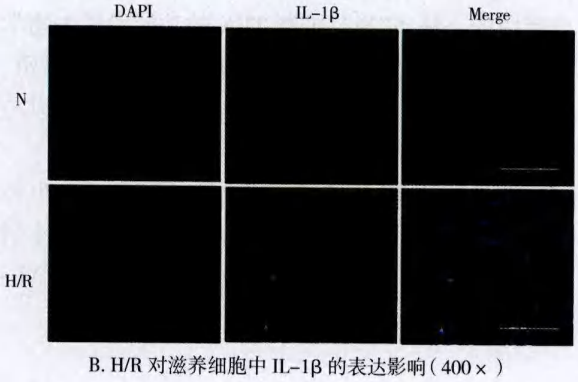
组别	例数	NLRP3蛋白水平	TXNIP蛋白水平
N 组	15	1.981 ± 0.121	7.341 ± 0.450
PE 组	15	2.522 ± 0.187	9.952 ± 0.389
t 值		2.426	2.708
P 值		0.022	0.011

2.2 缺氧复氧（H/R）上调 HTR8/SVneo 细胞中 TXNIP 和NLRP3 炎性小体水平

HTR8/SVneo cell 在 H/R 条件下，TXNIP 和 NLRP3 蛋白表达水平明显高于 N 组（P=0.000，P=0.000）（图 2A，表 2）。NLRP3 下游的 IL-1β 在 H/R 条件下的荧光强度也明显升高（图2B），而且 Caspase-1 的活性（83.930 ± 0.884）也明显高于 N 组（45.570 ± 0.673）（P=0.000）（表 2）。同时 H/R 增强 HTR8/Svneo 细胞中 ASC、NLRP3、TXNIP 三者之间的相互作用（图3A）。



A. H/R 影响 NLRP3、TXNIP 以及 Caspase-1 蛋白表达水平



B. H/R 对滋养细胞中 IL-1β 的表达影响（400×）

图 2　H/R 对滋养细胞中 TXNIP、NLRP3、Caspase-1 和 IL-1β 表达的影响

Fig.2　Effect of H/R on the expression of TXNIP, NLRP3, Caspase-1 and IL-1β in HTR8/SVneo cells

2.3 TXNIP siRNA 抑制 NLRP3 炎性小体激活

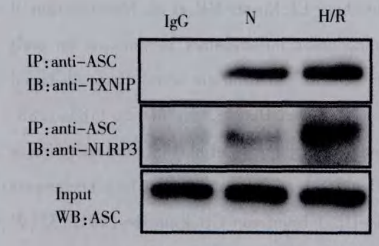
HTR8/SVneo 细胞转染 TXNIP siRNA 后，TXNIP 蛋白表达水平明显下降（图 3C，P=0.001），而且 H/R 诱导的 NLRP3 与 Caspase-1 蛋白表达上调也被部分抑制（P=0.002，P=0.001）（图 2A，表 2）。

表 2　各组细胞中 NLRP3、TXNIP 和 Caspase-1 蛋白水平与 caspase-1 活性的比较分析

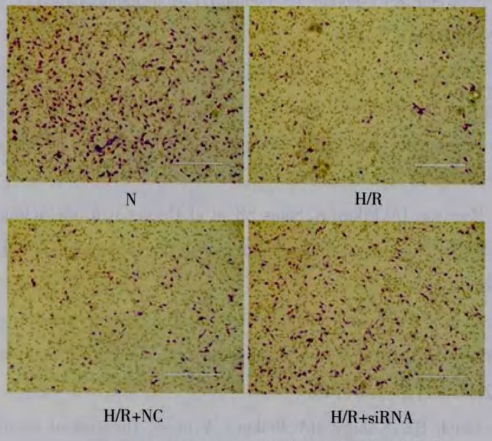
Tab.2　Comparative analysis of NLRP3, TXNIP and caspase-1 protein level and Caspase-1 activity in each group

组别	例数	NLRP3	TXNIP	Caspase-1	Caspase-1活性
N 组	3	0.120 0 ± 0.003 2	0.077 0 ± 0.004 7	0.266 0 ± 0.012 2	45.570 0 ± 0.673 0
H/R 组	3	0.413 0 ± 0.013 5 [a]	0.289 0 ± 0.008 0 [c]	0.498 0 ± 0.023 2 [e]	83.930 0 ± 0.884 0 [g]
H/R+NC组	3	0.407 0 ± 0.021 2	0.249 0 ± 0.007 5	0.464 0 ± 0.012 4	75.570 0 ± 0.673 3
H/R+siRNA组	3	0.105 0 ± 0.004 3 [b]	0.106 0 ± 0.004 2 [d]	0.234 0 ± 0.005 3 [f]	35.240 0 ± 0.518 0 [h]
F 值		177.800	271.400	83.240	1 115.000
P 值		0.000	0.000	0.000	0.000

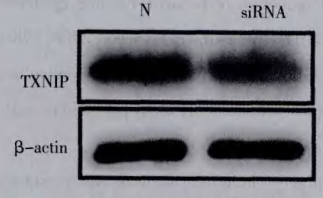
注：a，与 N 组比较，P=0.000；b：与 H/R+NC 组比较，P=0.002；c：与 N 组比较，P=0.000；d：与 H/R+NC 组比较，P=0.000；e：与 N 组比较，P=0.000；f：与 H/R+NC 组比较，P=0.001；g：与 N 组比较，P=0.000；h：与 H/R+NC 组比较，P=0.000



A. H/R 对 NLRP3 与 TXNIP 相互作用的影响



B. H/R 和 siRNA 对滋养细胞侵袭力的影响



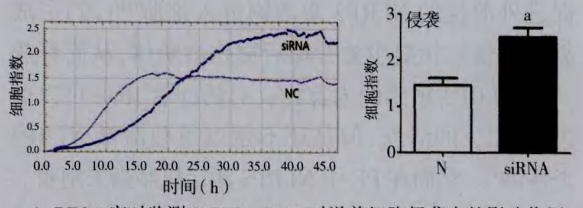
C. TXNIP siRNA 作用效率

图 3　TXNIP 调节滋养细胞的侵袭以及 NLRP3 炎性体激活

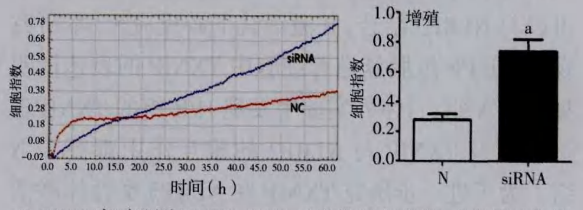
Fig.3　TXNIP regulating invasion and activation of NLRP3 inflammasome in HTR8/SVneo

2.4　TXNIP siRNA 拮抗 H/R 对细胞侵袭、增殖能力的影响

H/R 组中细胞的侵袭能力明显低于 N 组（图 3B），N 组与 H/R 组穿透的细胞数量分别为 371.70 ± 8.09，126.70 ± 8.09，2 组比较差异有统计学意义（P=0.000）。而在转入 TXNIP siRNA 后，部分的逆转 H/R 对 HTR8/Svneo 细胞侵袭能力的损伤（P=0.001）（图 3C）。在实时细胞分析仪（real-time cell analyzer，RTCA）实时监测中，发现siRNA组的侵袭、增殖能力明显高于 NC 组（图4A、B，表3）。



A. RTCA 实时监测 TXNIP siRNA 对滋养细胞侵袭力的影响作用



B. RTCA 实时监测 TXNIP siRNA 对滋养细胞增殖能力的影响作用

a，与对照组相比，P<0.05

图 4　侵袭力、增殖能力检测

Fig.4　Representative images of the invasion and proliferation assay

3　讨　论

PE 作为一种妊娠特发性疾病，随着妊娠结束，症状基本消失，其基本病理生理改变是全身小动脉痉挛。有研究证实，与炎症相关的细胞因子表达失衡会加剧全身小动脉损伤，进而加重 PE 临床症状[12]。其中，IL-1β 能介导内皮细胞功能紊乱、体外调控滋养细胞的侵袭力，故其与 PE 的关系逐渐被重视[13]。文献报道，IL-1β 可作为 PE 的一个特异性标志物来预测其发生发展[3]。而 IL-1β 分泌主要受 NLRP3 炎性复合体的调控[5]。本研究于 PE 患者的胎盘组织中发现 IL-1β 和 NLRP3 的表达均明显上调，说明 NLRP3 可能参与 PE 发病。

表 3　各组细胞侵袭以及增殖的比较分析

Tab.3　Comparative analysis of invasion and proliferation in each group

组别	例数	侵袭（传统）	侵袭（RTCA）	增殖（RTCA）
N 组	3	371.700 ± 8.090	1.467 ± 0.088	0.280 ± 0.023
H/R 组	3	126.700 ± 8.090 [a]	0.433 ± 0.033 [c]	0.123 ± 0.020 [e]
H/R+NC 组	3	151.000 ± 4.359	0.533 ± 0.066	0.150 ± 0.015
H/R+siRNA 组	3	226.300 ± 6.888 [b]	0.966 ± 0.120 [d]	0.200 ± 0.005 [f]
F 值		246.700	32.050	15.670
P 值		0.000	0.000	0.001

注：a，与 N 组比较，P=0.000；b：与 H/R+NC 组比较，P=0.001；c：与 N 组比较，P=0.000；d：与 H/R+NC 组比较，P=0.034；e：与 N 组比较，P=0.007；f：与 H/R+NC 组比较，P=0.038

目前，对 NLRP3 炎性小体激活机制的研究主要集中在 3 方面：(1)细胞外的的 ATP 激发钾离子内流，且不断募集泛连接蛋白-1 从而形成细胞膜孔，促进外源性的 NLRP3 激活物进入细胞[14]；(2)形成晶体或微粒状结构被吞噬后损伤溶酶体，从而释放一些 NLRP3 敏感的内容物；(3)活性氧 ROS 可以促进 NLRP3 的活性，但是还不足以单独激活 NLRP3 炎性体[15]。然而在 PE 中 NLRP3 激活机制尚未阐明。

有学者发现，在糖尿病患者的 β 细胞中 TXNIP 可以与 NLRP3 结合，并激活其下游反应[8]。本研究发现，在 PE 组胎盘滋养细胞中 TXNIP 的表达量明显高于 N 组，且体外实验中发现 H/R 组的 TXNIP表达量以及 TXNIP 与 NLRP3 的相互作用都高于 N 组。为了进一步研究 TXNIP 在 NLRP3 炎性体激活中的作用，用 TXNIP siRNA 转染 HTR8/SVneo 细胞以降低 TXNIP 的表达，发现 TXNIP 的表达降低后，NLRP3 的下游 ASC、Caspase-1 和 IL-1β 的表达降低。本研究表明 HTR8/SVneo 细胞中 TXNIP 可以激活 NLRP3 炎性小体。

滋养细胞的侵袭能力受损与 PE 发病密切相关，大量研究表明 H/R 参与抑制滋养细胞侵袭力，但是具体机制尚不清楚[16]。本研究发现，H/R 条件下 HTR8/SVneo 细胞的侵袭力明显降低。然而在 H/R 条件下，若细胞转染了 TXNIP SiRNA 可以部分恢复其侵袭能力。本研究表明 TXNIP 不仅可以促进炎症，也可能参与调节滋养层细胞侵袭能力。Nishizawa 等的研究发现，TXNIP 可以促进凋亡、抑制增殖，并且抑制肿瘤细胞的的生成[17]。本研究也发现，H/R 可以明显降低 HTR8/SVneo 细胞增殖。而被 TXNIP SiRNA 处理后，HTR8/SVneo 细胞的增殖能力明显恢复。

综上所述，PE 胎盘中 TXNIP 表达上调可能与滋养细胞功能异常相关。TXNIP 介导的 NLRP3 炎性小体激活，可能是 PE 的发病机制之一。

参 考 文 献

[1] Sibai B,Dekker G,Kupferminc M. Pre-eclampsia[J]. Lancet,2005,365(9461):785-799.

[2] Redman CW,Sacks GP,Sargent IL. Preeclampsia:an excessive maternal inflammatory response to pregnancy[J]. Am J Obstet Gynecol,1999,180(2 Pt 1):499-506.

[3] Siljee JE,Wortelboer EJ,Koster MP,et al. Identification of interleukin-1 beta,but no other inflammatory proteins,as an early onset pre-eclampsia biomarker in first trimester serum by bead-based multiplexed immunoassays[J]. Prenat Diagn,201,33(12):1183-1188.

[4] Amash A,Holcberg G,Sapir O,et al. Placental secretion of interleukin-1 and interleukin-1 receptor antagonist in preeclampsia:effect of magnesium sulfate[J]. J Interferon Cytokine Res,2012,32(9):432-441.

[5] Schroder K,Tschopp J. Tschopp.The inflammasomes[J]. Cell,2010,140(6):821-832.

[6] Nishiyama A,Matsui M,Iwata S,et al. Identification of thioredoxin-binding protein-2/vitamin D(3) up-regulated protein 1 as a negative regulator of thioredoxin function and expression[J]. J Biol Chem,1999,274(31):21645-21650.

[7] Morrison JA,Pike LA,Sams SB,et al.Thioredoxin interacting protein(TXNIP) is a novel tumor suppressor in thyroid cancer[J]. Mol Cancer,2014(13):62.

[8] Zhou R,Tardivel A,Thorens B,et al. Thioredoxin-interacting protein links oxidative stress to inflammasome activation[J]. Nature Immunology,2009,11(2):136-140.

[9] 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 epidermal growth factor-like growth factor[J]. Am J Obstet Gynecol,2008,198(4):471.e1-477.

[10] 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.

[11] ACOG practice bulletin. Diagnosis and management of preeclampsia and eclampsia[J]. Obstet Gynecol,2002,99(1):159-167.

[12] Yin N,Zhang H,Luo X,et al. IL-27 activates human trophoblasts to express IP-10 and IL-6:implications in the immunopathophysiology of preeclampsia[J]. Mediators Inflamm,2014(2014):926875.

[13] Redman CW,?Sargent IL,Immunology of pre-eclampsia[J]. Am J Reprod Immunol,2010,63(6):534-543.

[14] Cruz CM,Rinna A,Forman HJ,et al. ATP activates a reactive oxygen species-dependent oxidative stress response and secretion of proinflammatory cytokines in macrophages[J]. J Biol Chem,2007,282(5):2871-2879.

[15] Cassel SL,Eisenbarth SC,Iyer SS,et al. The Nalp3 inflammasome is essential for the development of silicosis[J]. Proc Natl Acad Sci U S A,2008,105(26):9035-9040.

[16] Redman CW,Sargent IL,Latest advances in understanding preeclampsia[J]. Science,2005,308(5728):1592-1594.

[17] Nishizawa K,Nishiyama H,Matsui Y,et al. Thioredoxin-interacting protein suppresses bladder carcinogenesis[J]. Carcinogenesis,2011,32(10):1459-1466.

（责任编辑：冉明会）