DOI:10.13406/j.cnki.cyxb.000973

自噬调节白介素-33的表达与子痫前期发病机制的关系

石书明[1],徐　昉[2],张　华[1]

（重庆医科大学附属第一医院 1.妇产科;2.急诊医学科 & 重症医学科,重庆　400016）

【摘　要】**目的**:探究白介素-33(interleukin-33,IL-33)在子痫前期(preeclampsia,PE)胎盘中的表达以及自噬通过调节 IL-33 的表达参与 PE 发病的分子机制。**方法**:应用免疫组化法及 Western blot 检测 PE 患者与正常妊娠胎盘中 IL-33,微管相关蛋白 LC3(LC3)的表达,应用 Western blot 检测 PE 患者与正常妊娠胎盘中 IL-33 受体 ST2 和核转录因子-κB(nuclear factor, NF-κB)的表达。使用 3-Methyladenine(3-MA)、巴佛洛霉素 A1(bafilomycin A1,BAF)处理人类绒毛膜外滋养细胞株 HTR8/SVneo,检测 IL-33、ST2 和 NF-κB 蛋白表达情况以及自噬水平的高低。**结果**:(1)Western blot 检测结果显示 IL-33 平均吸光度(absorbance,A)值 PE 组低于对照组(t=2.830,P=0.010),LC3B/A 平均 A 值 PE 组高于对照组(t=3.470,P=0.005),ST2 蛋白表达 PE 组高于对照组(t=2.650,P=0.026),NF-κB 表达水平 PE 组高于对照组(t=3.180,P=0.005);(2)BAF 处理 HTR8/SVneo 细胞株,IL-33 蛋白水平较正常对照组明显降低(t_a=3.740,P_a=0.006),LC3B/A 比值水平较二甲基甲砜(dimethyl sulphoxide,DMSO)组明显升高(t_d=2.500,P_d=0.032)。3-MA 对 IL-33、NF-κB 以及自噬水平的表达情况影响不明显。**结论**:过度自噬可能降低 IL-33 水平,导致 IL-33 抗炎作用减弱,进而出现过度炎症反应,并且这一过程与 PE 的发病存在一定关系。

【关键词】白介素-33;子痫前期;自噬;滋养细胞

【中图分类号】R714　　【文献标志码】A　　【收稿日期】2016-03-18

Relationship between expression of autophagy regulation interleukin-33 and the pathogenesis of preeclampsia

Shi Shuming[1],*Xu Fang*[2],*Zhang Hua*[1]

(*1. Department of Obstetrics and Gynecology;2. Department of Emergency and Intensive Care Unit, The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University*)

【Abstract】***Objective***:To characterize the deregulation of interleukin-33(IL-33) expression which regulated by autophagy in the pathological process of preeclampsia(PE). ***Methods***:The expressions of IL-33 protein and autophagy were detected in placentas of normal term and pregnancies complicated with PE by immunohistochemistry and Western blot. The levels of ST2,specific receptor of IL-33,and nuclear factor(NF-κB) were tested in placentas of normal term and pregnancies complicated with PE by Western blot. The autophagy pharmacological cell model was built *in vitro* by using HTR8/SVneo cell line which treated with 3-methyladenine(the inhibition of autophagy) and bafilomycin A1(the inhibition of autophagy body material degradation);then the expressions of IL-33, ST2 and NF-κB were detected by Western blots. ***Results***:The expressions of IL-33 protein were reduced,expressions of LC3B/A were increased,expressions of ST2 protein and NF-κB were increased in placentas of pregnancies complicated with PE than in placentas of normal term(t=2.830,P=0.010;t=3.470,P=0.005;t=2.650,P=0.026;t=3.180,P=0.005). In addition,BAF treatment exerted negative influence on the level of IL-33 in HTR8/SVneo cells(t_a=3.740,P_a=0.006),however,3-MA treatment had no significant function. ***Conclusion***:Autophagy plays a role in the pathophysiology mechanism of PE through the down-regulating the levels and anti-inflammatory effects of IL-33.

【Key words】interleukin-33;preeclampsia;autophagy;trophoblast

作者介绍:石书明,Email:shi.shuming@163.com,
研究方向:子痫前期。

通信作者:张　华,Email:zh2844@ gmail.com。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(编号:81370732、81570069)。

优先出版:http://www.cnki.net/kcms/detail/50.1046.r.20160513.1636.092.html
(2016-05-13)

子痫前期(preeclampsia,PE)是一种特有的妊娠期并发症,严重威胁母儿健康,但其病理生理学机制尚未完全阐明。研究表明,正常妊娠是以低水平炎症反应为主,然而 PE 患者以失控性炎症反应占主导作用[1-4]。白介素-33(interleukin-33,IL-33)是近年来被发现的白介素家族成员之一,可参与调节炎症反应,其受体 ST2 包括 4 种亚型,其中以跨模型 ST2(ST2L)及可溶性 ST2(sST2)发挥主要作用[5-6]。IL-33 通过与 ST2L 相结合诱导 Th2 细胞因子分泌,并进入细胞核通过绑定核转录因子-κB(nuclear factor,NF-κB),抑制其磷酸化,起抗炎作用[7-8]。

然而,本课题组前期研究发现 PE 患者胎盘中存在过度自噬[9],自噬在妊娠相关的炎症反应过程中发挥重要作用,但自噬是否可以通过调节 IL-33 的分泌,影响到 NF-κB 的活化而参与 PE 发病,尚未见报道。本研究通过观察 IL-33 在 PE 胎盘和细胞模型中的表达为线索,探索自噬是否可以通过调控 IL-33 的表达从而参与 PE 的发病。

1 材料及方法

1.1 胎盘组织的收集

选取 2014 年 3 月至 2015 年 3 月在重庆医科大学附属第一医院产科终止妊娠的晚孕期正常对照组(gestational matched controls,GMCs)胎盘 10 例及 PE 患者的胎盘 10 例。PE 诊断标准依据第八版《妇产科学》。研究对象均为单胎,既往无其它合并症,且孕期无感染性疾病。该研究获得重庆人体实验伦理委员会批准,受试者知情并同意。

1.2 主要试剂

3-Methyladenine(3-MA,M9281,Sigma)可干扰或阻断自噬体的形成;bafilomycin A1(BAF,ab120497,abcam)抑制自噬体内物质的降解;单克隆鼠抗 IL-33 抗体(ALX-804-840-C100,ENZO),多克隆兔抗 LC3 抗体(NB100-2220,NOVUS),多克隆羊抗 ST2/IL-1R4 抗体(AF523,R&D)多克隆兔抗 NF-κB 抗体(ab7970,Abcam),多克隆兔抗 NF-κB 抗体(ab16502,Abcam),β-actin(TA-09,ZSGB-BIO)。

1.3 方法

1.3.1 免疫组化法 具体操作步骤依照免疫组化试剂盒(中山金桥)进行,并利用分析软件(Image Pro Plus 6.0)对组化结果光学密度进行分析。一抗浓度,IL-33 浓度 1:250,LC3 浓度 1:100。

1.3.2 免疫荧光染色法 细胞爬片。细胞多重染色:HTR8/SVneo 细胞爬片用 4%多聚甲醛 4 ℃固定 10 min,PBS 漂洗 3 次。用山羊封闭血清封闭 1 h。滴加一抗兔抗 LC3 抗体(1:300),4 ℃保湿孵育过夜,PBS 漂洗 3 次后滴加异硫氰酸荧光素(FITC)标记的羊抗兔二抗(E031220-01,EARTH)抗体(浓度为 1:50),避光操作。在完成上述操作之后的 HTR8/SVneo 细胞爬片再滴加滴兔抗 NF-κB 抗体(ab16502,1:1 000),4 ℃孵育过夜,PBS 漂洗 3 次后滴加四甲基异硫氰酸罗丹明(TRITC)标记的羊抗兔二抗(CW0152,CWBIO)抗体(浓度为 1:50),用 4',6-二脒基-2-苯基吲哚(4',6-diamidino-2-phenylindole,DAPI,VECTOR)荧光染核,封片。在荧光显微镜(EVOS FL Auto)下观察 NF-κB,以及 LC3 的表达。

1.3.3 细胞及处理分组 HTR8/SVneo 细胞株由加拿大 Graham 教授惠赠,用含 10%胎牛血清(Gibco)的 RIPM1640 培养基(Gibco)培养。细胞干预及实验分组为:对照组(空白对照),干预组(3-MA、BAF、1‰DMSO)。3-MA、BAF 溶于 DMSO 至 1 mol/L 为储存液备用,用完全培养基稀释至工作浓度(3-MA 为 5 mmol/L,BAF 为 0.1 μmol /L)。

1.3.4 Western blot 用 RIPA 裂解液提取总蛋白。BCA 法测定蛋白浓度,上样量为 20 μg/孔。依次进行电泳分离、转膜、封闭、一抗孵育过夜、二抗孵育,ECL 化学发光试剂盒显色。BIO-RAD 化学发光成像系统检测蛋白印记条带及 Image Lab 图像分析软件进行分析。一抗浓度 IL-33 为 1:1 000,LC3 为 1:2 000,ST2 为 1:1 000,NF-κB(ab7970,1:700),β-actin为 1:2 000。

1.4 统计学处理

应用 SPSS 17.0 软件进行统计分析,数据以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。晚孕期正常对照组(GMSc)和 PE 组之间采用 Welch's 修正 t 检验。细胞实验处理组空白对照组、BAF、3-MA、DMSO 共 4 组(每组 15 例)采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD-t 法,检验水准 α=0.05。

2 结 果

2.1 IL-33 与 LC3 在正常及 PE 胎盘组织中的表达

免疫组化以及 Western blot 方法检测晚孕期正常对照组和 PE 组的胎盘组织中表达 IL-33 以及 LC3A 和 LC3B 见图 1。免疫组化平均吸光度(absorbance,A)值分析 PE 组 IL-33 表达水平低于 GMCs(t=11.990,P=0.000),相反的是 LC3 水平升高(t=3.890,P=0.030)见表 1。Western blot 检测结果相似,IL-33 平均 A 值 PE 组低于 GMCs 组(t=2.830,P=0.010),LC3B/A 平均 A 值 PE 组高于 GMCs 组(t=3.470,P=0.005),见表 2。

表 1 患者一般资料

Tab.1 General information of the patients

资料项目	GMCs组	PE组	t 值	P 值
年龄(岁)	24.50 ± 0.58	25.80 ± 0.79	1.330	0.200
孕周(周)	37.15 ± 0.20	36.80 ± 0.26	1.060	0.302
非孕期 BMI(kg/m²)	22.74 ± 0.45	22.72 ± 0.56	0.030	0.978
孕晚期 BMI(kg/m²)	24.13 ± 1.79	23.99 ± 1.34	0.350	0.730

表 2 免疫组化检测 GMCs 和 PE 患者胎盘中 IL-33 和 LC3 的平均 A 值（$\bar{x}\pm s$）

Tab.2 Average positive A of IL-33 and LC3 in placenta of GMCs complicated with PE detected by immunohistochemistry（$\bar{x}\pm s$）

组别	免疫组化 IL-33 表达	免疫组化 LC3 表达
GMCs 组	143.00 ± 0.47	123.80 ± 1.80
PE 组	129.60 ± 1.01	135.50 ± 2.41
t 值	11.990	3.890
P 值	0.000	0.030

表 3 Western blot 检测 GMCs 和 PE 患者胎盘中 IL-33 和 LC3B/A 的平均 A 值（$\bar{x}\pm s$）

Tab.3 Average positive A of IL-33 and LC3B/A in placenta of GMCs complicated with PE detected by Western blot（$\bar{x}\pm s$）

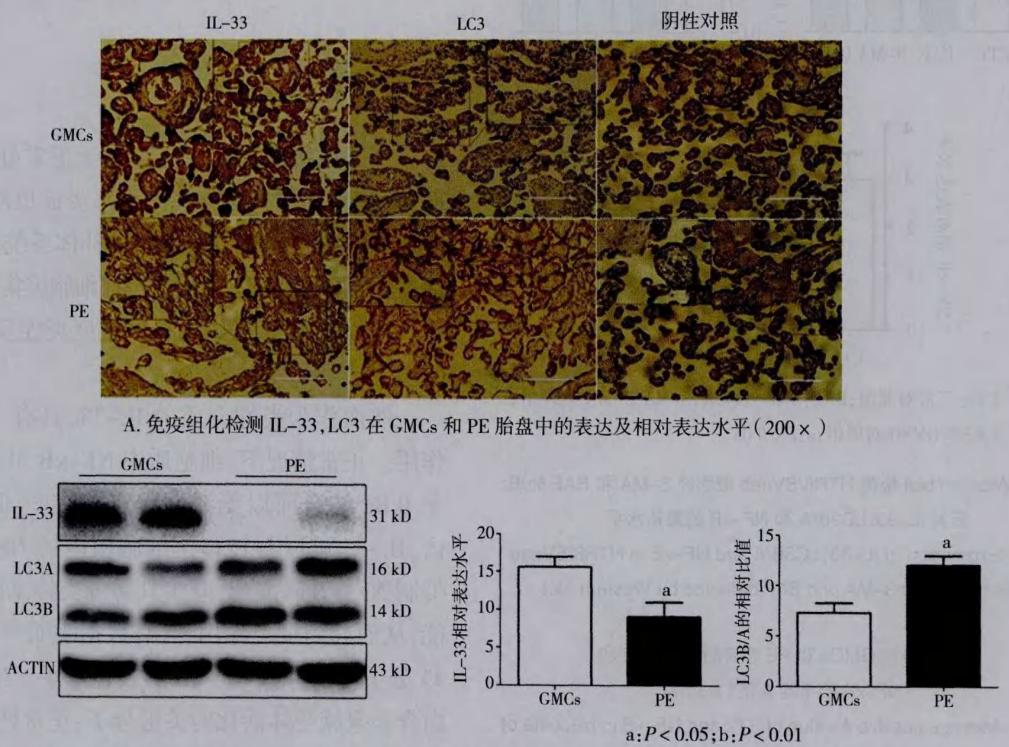
组别	IL-33表达	LC3B/A表达
GMCs 组	6.25 ± 0.54	7.28 ± 0.96
PE 组	3.62 ± 0.76	12.00 ± 0.96
t 值	2.830	3.470
P 值	0.010	0.005

2.2 ST2 与 NF-κB 在正常及 PE 胎盘组织中的表达

结果显示正常孕妇和 PE 患者的胎盘均表达 ST2 与 NF-κB 见图 2。Western blot 检测结果显示，ST2 平均 A 值 PE 组高于 GMCs（t=2.650，P=0.026），NF-κB 平均 A 值 PE 组高于 GMCs（t=3.180，P=0.005），见表 3。

2.3 不同处理组细胞中 IL-33，LC3B/A 和 NF-κB 的表达变化

Western blot 实验结果显示，BAF 处理 HTR8/SVneo 细胞株，IL-33 蛋白水平与正常对照组比较明显降低（t_d=2.500，P_d=0.032），LC3B/A 比值水平与 DMSO 组比较显著升高（t_a=3.740，P_a=0.006），但 NF-κB 没有出现明显变化。3-MA 处理 HTR8/SVneo 细胞株，IL-33，LC3B/A 比值，NF-κB 水平较正



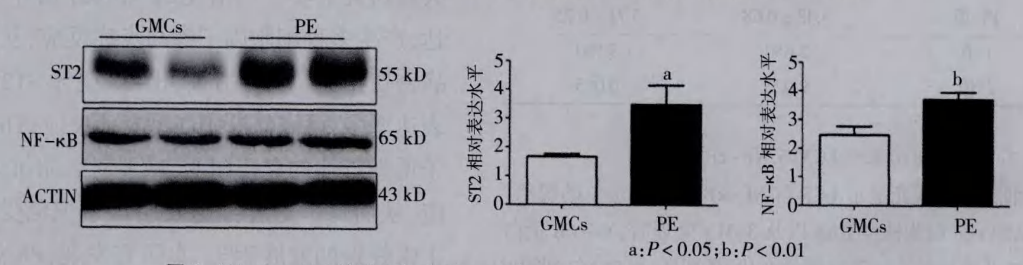
A. 免疫组化检测 IL-33，LC3 在 GMCs 和 PE 胎盘中的表达及相对表达水平（200×）

a：P<0.05；b：P<0.01

B. Western blot 检测 IL-33 和 LC3B/A 在 GMCs 和 PE 胎盘中的表达及相对表达水平

图 1 IL-33 和 LC3B/A 在 GMCs 和 PE 患者胎盘组织中的表达

Fig.1 Expression of IL-33 and LC3B/A protein in placenta in GMCs complicated with PE

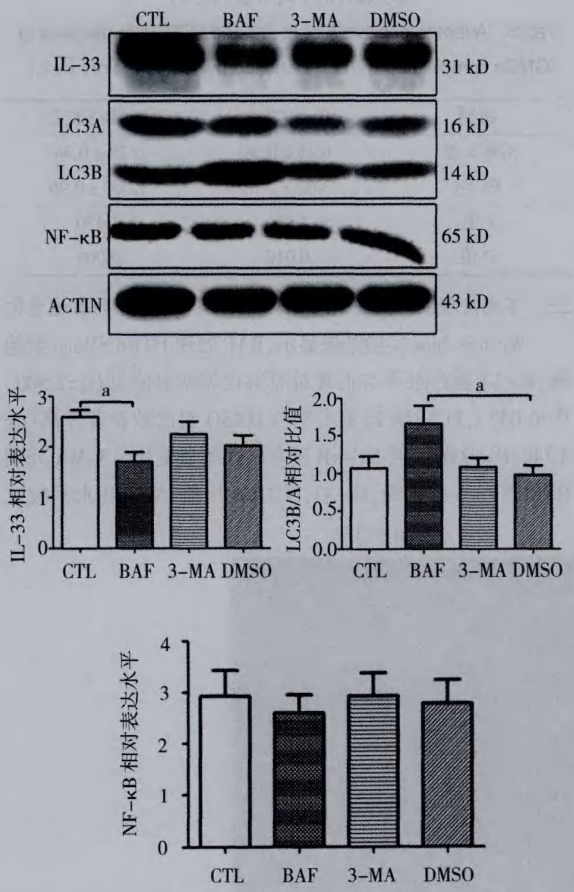


a：P<0.05；b：P<0.01

图 2 Western blot 检测 ST2 和 NF-κB 在 GMCs 和 PE 胎盘中的表达

Fig.2 Expression of ST2 and NF-κB protein in placenta of GMCs complicated with PE observed by Western blot

常对照组以及 DMSO 组均无明显变化见图 3，表 4。



CTL：正常对照组；BAF：BAF 处理组；3-MA：3-MA 处理组；DMSO：DMSO 对照组；a：$P<0.05$

图 3　Western blot 检测 HTR8/SVneo 细胞经 3-MA 和 BAF 处理后其 IL-33、LC3B/A 和 NF-κB 的表达水平

Fig.3　Expression of IL-33, LC3B/A and NF-κB in HTR8/SVneo cells treated by 3-MA and BAF detected by Western blot

表 4　检测 GMCs 和 PE 患者胎盘中 ST2 和 NF-κB 的平均 A 值（$\bar{x}\pm s$）

Tab.4　Average positive A value of ST2 and NF-κB in placenta of GMCs complicated with PE（$\bar{x}\pm s$）

组别	ST2表达	NF-κB 表达
GMCs 组	1.67 ± 0.10	2.47 ± 0.30
PE 组	3.48 ± 0.68	3.71 ± 0.25
t 值	2.650	3.180
P 值	0.026	0.005

2.4　不同处理组细胞中 LC3 与 NF-κB 的表达

细胞免疫荧光显示 LC3 与 NF-κB 存在共定位的现象。HTR8/SVneo 细胞株经 BAF 以及 3-MA 处理后，NF-κB 蛋白在胞核及胞质的表达没有明显变化，见图 4、表 5。在 HTR8/SVneo 细胞裂解液中没有检测到 ST2 相关蛋白。

表 5　检测 HTR8/SVneo 细胞在 3-MA 和 BAF 处理下 IL-33、LC3B/A和 NF-κB 的平均 A 值（$\bar{x}\pm s$）

Tab.5　Average A of IL-33, LC3B/A and NF-κB in HTR8/SVneo cells treated by 3-MA and BAF（$\bar{x}\pm s$）

组别	IL-33表达	LC3B/A表达	NF-κB 表达
CTL 组	2.59 ± 0.14	1.07 ± 0.16	2.93 ± 0.50
BAF 组	1.71 ± 0.19[a]	1.66 ± 0.24[d]	2.60 ± 0.35
3-MA 组	2.25 ± 0.25	1.08 ± 0.12	3.40 ± 0.65
DMSO 组	2.02 ± 0.20	0.98 ± 0.13	2.71 ± 0.41
F 值	3.460	3.410	0.120
P 值	0.041	0.037	0.945

注：①表 4 中 F、P 值通过单因素方差分析计算得出；②a：BAF 处理组与 CTL 组比较；b：3-MA 处理组与 CTL 组相比较；c：DMSO 对照组与 CTL 组相比较；d：BAF 处理与 DMSO 对照组相比较；e：3-MA 处理组与 DMSO 对照组相比较

3　讨　论

广义系统性炎症广泛存在于正常妊娠过程中，而 PE 患者体内持续存在高水平炎症反应[10-12]。研究发现，PE 与正常妊娠相比较，其补体系统被失控性激活，进而放大炎症反应，促进炎症细胞聚集[13]。Redman 首次提出[14]，由于妊娠期母体过度炎症反应导致 PE 的发生。

然而作为炎性介质的 IL-33，具有一定的抗炎作用。正常情况下，细胞质中 NF-κB 可以与抑制因子 IkBa 结合而以无活性状态存在[15]，但在细胞核内，IL-33 可以与转移至细胞核内的 NF-κB 绑定，抑制 NF-κB 磷酸化，减少其触发炎性基因表达的可能，从而起到抗炎作用[8]。有数据表明[16-17]，注射 IL-33 分子可以降低 NF-κB 的表达水平。NF-κB 作为白介素家族受体活化的关键分子，正常妊娠时 IL-33 对其有一定水平的抑制作用，但是低水平 IL-33 对 NF-κB 抑制作用明显降低，导致 NF-κB 表达增加。大量研究证实[18-20]，活化的 NF-κB 诱导多种基因表达，产生多种细胞因子参与炎症反应，从而与 PE 发病密切相关。另一方面，IL-33 受体 ST2L 于妊娠期表达增多，可以促进 Th2 型炎症反应，Th2 型细胞因子增强母体的免疫耐受，减弱对胚胎抗原的排斥反应，从而保护滋养细胞及胎盘组织免受损伤，促进正常妊娠的发展[21-22]。本研究发现，PE 患者胎盘中 IL-33 降低，而 ST2L、NF-κB 表达较正常明显升高，

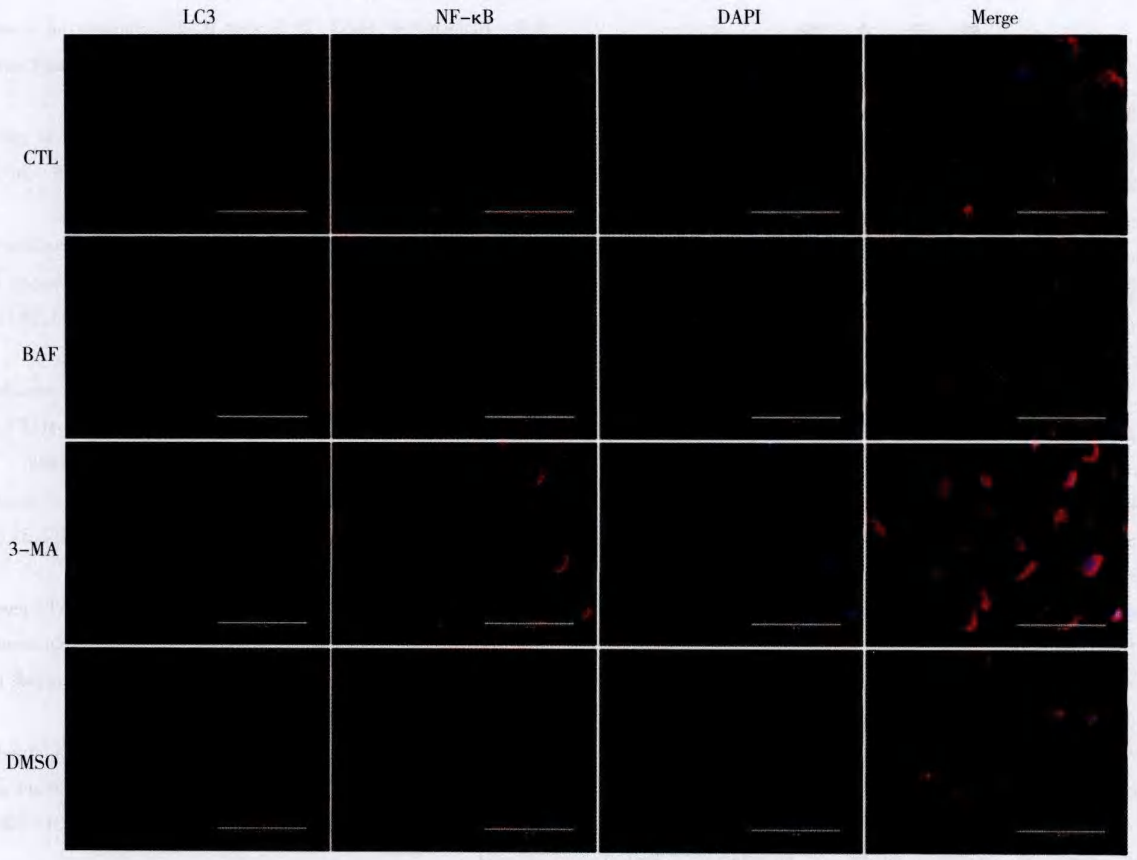


图 4 免疫荧光检测 HTR8/SVneo 细胞经 3-MA 和 BAF 处理后 LC3 和 NF-κB 的表达位置及表达水平(400 x)

Fig.4 Expression of LC3 and NF-κB in HTR8/SVneo cells treated by 3-MA and BAF detected by immunofluorescence (400 x)

其原因可能是某种因素导致 IL-33 在 PE 胎盘中表达下降，其抗炎作用减弱，导致 NF-κB 磷酸化增加，炎症反应加重。同时，ST2L 补偿性表达上调可能是为了加强与低水平的 IL-33 结合促进 Th2 型免疫应答，对抗失控性炎症以达到维持正常妊娠的目的。

在 PE 胎盘中还发现存在过度自噬。众所周知，适度水平的自噬，有利于维持细胞内环境稳态，以适应外界环境变化；而超负荷的外界刺激，将诱发细胞的过度自噬，导致细胞功能紊乱[9,23-24]。因此推测，过度自噬导致 IL-33 水平降低，严重削弱其抗炎作用，进而参与 PE 发病。为了进一步验证，课题组用 HTR8 细胞建立绒毛外滋养细胞的自噬模型，探讨改变自噬水平对 IL-33/ST2 的影响。BAF 可以抑制自噬体与溶酶体结合，减少自噬体内物质降解，导致 LC3B/A 升高，提示可以短期内提升自噬水平，从而模拟 PE 患者胎盘中存在过度自噬的情况。本研究中使用 BAF 上调自噬水平后，IL-33 清除增多，表达量降低，但有趣的是 NF-κB 并没有出现明显变化，且在 HTR/8 细胞株中无法检测 ST2。既然 ST2 在 HTR/8 细胞株裂解液中无法检测，那么推测HTR/8细胞株表面可能不存在 ST2L，只有游离状态的sST2 发挥作用，sST2 作为 IL-33 的诱骗受体[25-26]，阻断IL-33 与 IL-1R 结合封闭 IL-33 下游反应，故对 NF-κB 的表达无明显影响。本实验研究中通过 3-MA 抑制自噬体形成，而自噬水平，IL-33 和 NF-κB 蛋白表达均不受影响。原因可能是 HTR/8 细胞株对 3-MA 不敏感，因而相应蛋白没有出现预期的变化。因此还需继续在组织中探索过度自噬对 IL-33 的影响。

本研究首次探索了在 PE 中 IL-33/ST2 与自噬的关系。初步证实，过度自噬可能导致 IL-33 清除过多，水平降低，抗炎作用减弱，过度炎症发生。本研究尚存诸多不足之处，有待进一步深入研究自噬通过调控 IL-33 诱导炎症发生和诱发 PE 的具体分子机制。

参 考 文 献

[1] Ramma W, Ahmed A. Is inflammation the cause of pre-eclampsia? [J]. Biochem Soc Trans, 2011, 39(6): 1619-1627.

[2] Bernardi FC, Felisberto F, Vuolo F, et al. Oxidative damage, inflammation, and Toll-like receptor 4 pathway are increased in preeclamptic patients: a case-control study[J]. Oxid Med Cell Longev, 2012(2012): 636419.

[3] Crowley SD. The cooperative roles of inflammation and oxidative stress in the pathogenesis of hypertension[J]. Antioxid Redox Signal, 2014, 20(1): 102-120.

[4] Harmon AC, Cornelius DC, Amaral LM, et al. The role of inflammation in the pathology of preeclampsia[J]. Clin Sci (Lond), 2016, 130(6): 409-419.

[5] Schmitz J, Owyang A, Oldham E, et al. IL-33, an interleukin-1-like cytokine that signals via the IL-1 receptor-related protein ST2 and induces T helper type 2-associated cytokines[J]. Immunity, 2005, 23(5): 479-490.

[6] Milovanovic M, Volarevic V, Radosavljevic G, et al. IL-33/ST2 axis in inflammation and immunopathology[J]. Immunol Res, 2012, 52(1-2): 89-99.

[7] Hu WT, Huang LL, Li MQ, et al. Decidual stromal cell-derived IL-33 contributes to Th2 bias and inhibits decidual NK cell cytotoxicity through NF-kappaB signaling in human early pregnancy[J]. J Reprod Immunol, 2015(109): 52-65.

[8] Han JM, Wu D, Denroche HC, et al. IL-33 Reverses an obesity-induced deficit in visceral adipose tissue ST2+ T regulatory cells and ameliorates adipose tissue inflammation and insulin resistance[J]. J Immunol, 2015, 194(10): 4777-4783.

[9] Gao L, Qi HB, Kamana KC, et al. Excessive autophagy induces the failure of trophoblast invasion and vasculaturepossible relevance to the pathogenesis of preeclampsia[J]. J Hypertens, 2015, 33(1): 106-117.

[10] Szarka A, Rigo JJ, Lazar L, et al. Circulating cytokines, chemokines and adhesion molecules in normal pregnancy and preeclampsia determined by multiplex suspension array[J]. BMC Immunol, 2010(11): 59.

[11] Willis C, Morris JM, Danis V, et al. Cytokine production by peripheral blood monocytes during the normal human ovulatory menstrual cycle[J]. Hum Reprod, 2003, 18(6): 1173-1178.

[12] Murphy MS, Tayade C, Smith GN. Evidence of inflammation and predisposition toward metabolic syndrome after pre-eclampsia[J]. Pregnancy Hypertens, 2015, 5(4): 354-358.

[13] Lynch AM, Murphy JR, Gibbs RS, et al. The interrelationship of complement-activation fragments and angiogenesis-related factors in early pregnancy and their association with pre-eclampsia[J]. BJOG, 2010, 117(4): 456-462.

[14] 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.

[15] Picard C, Casanova JL, Puel A. Infectious diseases in patients with IRAK-4, MyD88, NEMO, or IkappaBalpha deficiency[J]. Clin Microbiol Rev, 2011, 24(3): 490-497.

[16] Ali S, Mohs A, Thomas M, et al. The dual function cytokine IL-33 interacts with the transcription factor NF-kappaB to dampen NF-kappaB-stimulated gene transcription[J]. J Immunol, 2011, 187(4): 1609-1616.

[17] Yin H, Li P, Hu F, et al. IL-33 attenuates cardiac remodeling following myocardial infarction via inhibition of the p38 MAPK and NF-kappaB pathways[J]. Mol Med Rep, 2014, 9(5): 1834-1838.

[18] Vaughan JE, Walsh SW. Activation of NF-kappaB in placentas of women with preeclampsia[J]. Hypertens Pregnancy, 2012, 31(2): 243-251.

[19] Li W, Li Z, Chen Y, et al. Autoantibodies targeting AT1 receptor from patients with acute coronary syndrome upregulate proinflammatory cytokines expression in endothelial cells involving NF-kappaB pathway[J]. J Immunol Res, 2014(2014): 342693.

[20] Xue P, Zheng M, Gong P, et al. Single administration of ultra-low-dose lipopolysaccharide in rat early pregnancy induces TLR4 activation in the placenta contributing to preeclampsia[J]. PLoS One, 2015, 10(4): e124001.

[21] Reinhard G, Noll A, Schlebusch H, et al. Shifts in the TH1/TH2 balance during human pregnancy correlate with apoptotic changes[J]. Biochem Biophys Res Commun, 1998, 245(3): 933-938.

[22] Dong M, He J, Wang Z, et al. Placental imbalance of Th1- and Th2-type cytokines in preeclampsia[J]. Acta Obstet Gynecol Scand, 2005, 84(8): 788-793.

[23] Pupyshev AB. [Reparative autophagy and autophagy death of cells. Functional and regulatory aspects][J]. Tsitologiia, 2014, 56(3): 179-196.

[24] Tanida I. Autophagosome formation and molecular mechanism of autophagy[J]. Antioxid Redox Signal, 2011, 14(11): 2201-2214.

[25] Ates I, Ozkayar N, Ates H, et al. Elevated circulating sST2 associated with subclinical atherosclerosis in newly diagnosed primary hypertension[J]. Hypertens Res, 2016.doi: 10.1038/hr.2016.16[Epub ahead of print].

[26] De la Fuente M, MacDonald TT, Hermoso MA. The IL-33/ST2 axis: Role in health and disease[J]. Cytokine Growth Factor Rev, 2015, 26(6): 615-623.

（责任编辑：冉明会）