

于颖, 路鸿艳. 血管内皮生长因子失衡及补体沉积与先兆子痫的相关性研究[J]. 中国比较医学杂志, 2020, 30(4): 70-76.
Yu Y, Lu HY. Research on the relationship between vascular endothelial growth factor imbalance and complement deposition in preeclampsia [J]. Chin J Comp Med, 2020, 30(4): 70-76.
doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2020.04.011

血管内皮生长因子失衡及补体沉积与先兆子痫的相关性研究

于 颖*, 路鸿艳

(淄博市妇幼保健院产科, 山东 淄博 255000)

【摘要】 目的 探究血管内皮生长因子失衡和异常补体免疫激活在早期妊娠的蜕膜和胎盘形成以及先兆子痫致病过程中的作用, 阐明其与先兆子痫发病之间的关系。**方法** 选择近交系 BPH-5 小鼠作为先兆子痫模型动物, C57 小鼠作为对照。自由交配, 母鼠怀孕当天定义为 E0.5 d, 收集 E5.5 d 和 E7.5 d 孕鼠的子宫植入位置的组织以及 E10.5 d 的胎盘组织, 进行实时定量 PCR、免疫组化、免疫荧光及 Western blot 检测子宫和胎盘组织中补体成分: C3、C9、C1qa、CfB; 以及血管内皮生长因子家族 VEGF、VEGFR1、VEGFR2、sFlt-1 的表达情况。**结果** BPH-5 小鼠子宫在蜕膜化高峰期 E7.5 d 时出现特异性补体成分表达显著增高, 妊娠中期 E10.5 d 时在胎盘组织的 TGC 层检测到补体 C3 和 C9 沉积增加; 在着床期 E5.5 d 时 BPH-5 妊娠小鼠植入部位中 VEGFa mRNA 显著上调, VEGFR1 和 VEGFR2 的 mRNA 下调, 并且检测到 VEGF 蛋白的表达量明显增加, 组织病理学检测发现在 E7.5 d 发现 BPH-5 小鼠蜕膜比率明显降低, 着床后的蜕膜血管生成受到明显抑制。**结论** PE 的致病过程中, 血管内皮生长因子失衡先于母胎界面补体成分的增加, 并且妊娠母体的变化先于胎盘发生, 进而推动母体 PE 病情的进展。

【关键词】 先兆子痫, 血管内皮生长因子, 补体, 滋养细胞
【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2020) 04-0070-07

Research on the relationship between vascular endothelial growth factor imbalance and complement deposition in preeclampsia

YU Ying*, LU Hongyan

(Zibo Maternal and Child Health Hospital, Department of Obstetrics, Zibo 255000, China)

【Abstract】 Objective To explore the role of vascular endothelial growth factor imbalance and abnormal complement immune activation in decidua and placenta formation during early pregnancy, and to clarify its relationship with preeclampsia. **Methods** Inbred BPH-5 mice were selected as preeclampsia model animals, and C57 mice were selected as control animals. The day of pregnancy was defined as day E0.5 d. Tissues from uterine implantation sites were collected on day E5.5 d and E7.5 d, and placental tissues were collected from pregnant rats on day E10.5 d. The following complement components were detected in the uterus and placenta by real-time quantitative PCR, immunohistochemistry, immunofluorescence and western blots: C3, C9, C1qa, and CfB. Additionally the expression of the following vascular endothelial growth factor (VEGF) family members was detected: VEGF, VEGFR1, VEGFR2, and sFlt-1. **Results** The

[作者简介] 于颖(1981—), 女, 主治医师, 硕士, 研究方向: 妇产科学。E-mail: yupnc0u@163.com

expression of specific complement components in the uterus of BPH-5 mice was significantly increased on day E7.5 d, during the peak period of decidualization, and the deposition of C3 and C9 was detected in the trophoblast giant cell layer of the placenta on day E10.5 d, in the second trimester of pregnancy. On day E5.5 d after implantation, VEGFa mRNA was significantly up-regulated, VEGFR1 and VEGFR2 mRNA levels were down-regulated, and the expression of VEGF protein was significantly increased in pregnant BPH-5 mice. The histopathological examination result showed that the decidual ratio of BPH-5 mice was significantly decreased on day E7.5 d, and decidual angiogenesis was significantly inhibited after implantation. **Conclusions** In the pathogenesis of preeclampsia, the imbalance of VEGF occurs earlier than the increase in complement components at the maternal-fetal interface, and this change in maternal pregnancy precedes the occurrence of the placenta, which promotes the progression of maternal preeclampsia.

【Keywords】 preeclampsia, vascular endothelial growth factor, complement, trophoblast

先兆子痫(preeclampsia, PE)是胎盘功能障碍的常见表现,呈现为妊娠 20 周后出现的高血压,并伴有肾功能不全,肝功能异常,神经症状,血小板减少其中一项或者多项症状^[1]。先兆子痫在妊娠妇女中发病率高达 8%,会导致胎儿的生长受限和早产,以及孕产妇长期的高血压等心血管疾病,已经成为导致全球孕产妇和新生儿死亡的主要原因之一^[2-3]。

补体系统是天然免疫反应的关键组成部分,补体的过度激活会增加全身性炎症反应,发生类似 PE 的母体症状^[4],并且在 PE 患者的胎盘内检测到补体系统的过度激活和异常表达的补体蛋白^[5];此外有研究发现妊娠 20 周前血清补体 B、C3a 和 C5a 水平的异常升高与 PE 的发病具有相关性^[6]。

妊娠期子宫和胎盘中新生血管的生长主要由血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)和胎盘生长因子(placental growth factor, PIGF)介导调控,可溶性抗血管生成因子受体(antiangiogenic soluble VEGF receptor 1, sFlt-1)能够与 VEGF 和 PIGF 发生结合后拮抗其促进血管生成的作用^[7]。在 PE 患者的循环血液中可以观察到 sFlt-1 水平的升高及 VEGF 和 PIGF 的降低,并且动物实验发现:在小鼠妊娠中期外源性给予 sFlt-1 蛋白可以诱导 PE 的发生^[8]。表明 VEGF 家族的异常信号传导在胎盘疾病的发生发展中发挥重要的调控作用^[9]。但是血管生成因子平衡的紊乱和异常的补体信号活化在早期妊娠和 PE 的致病过程中发挥怎样具体的分子调控机制一直缺乏深入的研究,本项研究通过构建 PE 的小鼠模型,探究血管内皮生长因子失衡和异常补体免疫激活在早期妊娠的蜕膜和胎盘形成中的作用,阐

明其与先兆子痫发病之间的关系。现将研究结果报道如下。

1 材料和方法

1.1 实验动物

选择近交系 6~8 周龄/雌性,SPF 级 BPH-5 小鼠作为先兆子痫的模型动物^[7],共 30 只,体重 18~22 g,购自成都达硕实验动物有限公司[SCXK(川)2015-0030],选择 6~8 周龄/雌性,SPF 级 C57 小鼠作为对照动物,共 30 只,每只体重 18~22 g,购自川北医学院[SCXK(川)2018-0030]。所有动物饲养于本医院的实验动物中心[SYXK(鲁)2018-0025],给与自由饮食和交配。观察到母鼠怀孕的首天定义为 E0.5 d。收集 E5.5 d 和 E7.5 d 的怀孕母鼠的子宫以及 E10.5 d 的胎盘,储存在-80℃冰箱用于后续实验。所有动物实验内容符合医院实验动物伦理和保护指南,伦理审批号 IACUC:2018ZF017X,全部实验内容遵循 3R 原则。

1.2 主要试剂与仪器

DNA 提取试剂盒(货号:142579,购自德国 Qiagen 公司);TRIzol(货号:15596018,购自美国 Invitrogen 公司);4% 甲醛固定液(货号:BWZ6716-2016)和无水乙醇(货号:YA13223000ME)(均购自国药集团化学试剂有限公司);30% H₂O₂ 溶液(货号:ZLI-9311,购自北京中杉金桥有限公司);大鼠抗小鼠 C3 单克隆抗体(货号:sc-58926,购自美国 Santa Ana 公司);大鼠抗小鼠 CD31 单克隆抗体(货号:sc-46694,购自美国 Santa Ana 公司);用于 IF 的二级抗体是 Alexa Fluor 594(货号:C10639)和 Alexa Fluor 488(货号:A10266)(购自美国 Thermo Fisher 公司);兔抗鼠 C9 单克隆抗体(货号:PAB823Mu01,购自 Cloud-Clone 公司);大鼠抗小鼠 CD31 单克隆

抗体(货号:550274,购自美国 BD 生物公司)和山羊抗小鼠 VEGFR2 单克隆抗体(货号:AF644,购自美国 R&D Systems 公司);用于免疫组化检测的二级抗体是生物素兔抗山羊 IgG(货号:sc-3919)、生物素山羊抗兔 IgG(货号:sc-2004)和生物素兔抗鼠 IgG(货号:sc-358926)(购自美国 Santa Ana 公司);DAB 显色试剂盒(货号:ZLI-9018,购自北京中杉金桥生物技术有限公司);SYBR Green 酶(货号:208054,购自美国 Qiagen 公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 实时定量 PCR 检测目的基因的表达水平

从胎盘植入部位的子宫和胎盘组织中提取总 RNA,合成 cDNA,用 SYBR Green 酶进行定量 RT-PCR 检测基因表达情况。每个样本进行 3 次重复,计算目标基因的相对表达水平。

1.3.2 免疫荧光和免疫组化检测

选胎盘植入部位的子宫和胎盘组织用于组织学染色,将标本在 4℃ 的 4% 多聚甲醛中固定,30% 蔗糖的 PBS 溶液浸泡后,包埋于 OCT 化合物中,用冷冻切片机切成 7 mm 薄片。随机选择 5 只 BPH-5 小鼠和 C57 对照小鼠子宫的胎盘植入部位及胎盘组织进行免疫荧光和免疫组化染色,观察组织内 C3 补体、C9 补体、VEGFR2、CD31 的原位表达情况。具体步骤:脱蜡,1 mmol/L 的 EDTA 缓冲液中微波加热行抗原修复,3% H₂O₂ 室温孵育 10 min,5% BSA 封闭 20 min,滴加一抗 4℃ 孵育过夜,加 HRP 标记的二抗 37℃ 孵育 60 min,以上各步骤结束时均用 PBS 洗 3 次,每次 5 min,然后加 DAB 溶液显色 10 min,最后苏木精或亚甲基绿复染,梯度酒精脱水干燥,二甲苯透明,中性树胶封片。显微镜下读片,应用 Image Pro Plus 6.0 图像分析软件测量累积光密度值(IOD),对目的蛋白的表达进行半定量分析。

1.3.3 组织学分析

免疫荧光切片采用 Nikon A1 扫描共聚焦显微镜和 Image J 软件进行图像观察和分析。免疫组化切片采用 Nikon Microphot-FXA 显微镜和 NIS-Elements D 3.10 软件进行图像观察和分析。由三位研究者独立测量阳性细胞的染色面积,计算其与切片中滋养层巨细胞(TGC)总面积的比值定义为阳性率,并取 3 位观察者的平均值。

1.3.4 Western blot 检测目的蛋白表达水平

使用 RIPA 裂解缓冲液提取关节软骨细胞中的总蛋白,Western blot 法检测目的蛋白表达量。具体步骤如下:以 BCA 法测定总蛋白浓度,95℃ 变性 5 min 后,以 15% SDS-凝胶进行电泳分离,随后将目的蛋白以湿转法转移至 PVDF 膜上;5% BSA-TBST 溶液封闭 1 h;5% BSA-TBST 稀释一抗,置于 4℃ 水平摇床孵育过夜;次日使用 TBST 洗膜 3 次,每次 10 min;5% BSA-TBST 稀释二抗,室温孵育 40 min;TBST 洗膜 3 次,每次 10 min;ECL 显色液曝光显影。Image-Pro Plus 6.0 软件扫描测定目的条带的灰度值。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 22.0 软件进行数据处理和统计分析,计量资料表述为以平均数±标准差($\bar{x} \pm s$),两组间比较采用 student-*t* 检,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

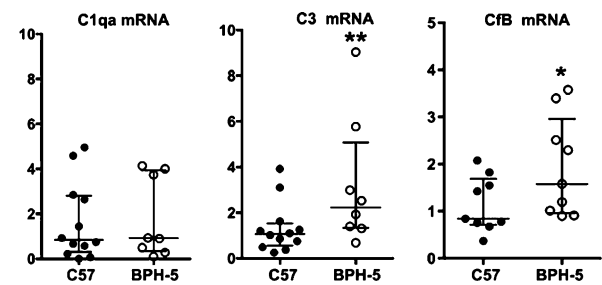
2.1 蜕膜化高峰期在 BPH-5 小鼠的蜕膜血管中出现补体的表达增加

我们通过 qRT-PCR 和免疫染色检测了 BPH-5 小鼠在蜕膜化高峰期 E7.5 d 时特异性补体成分的表达情况。如图 1 所示,E7.5 d BPH-5 小鼠和 C57 小鼠的胎盘植入部位检测到补体 C1qa 的 mRNA 表达量相当,但补体 C3 和 Cfb 的 mRNA 表达量在 BPH-5 小鼠中显著增加。

进一步我们对 E7.5 d 子宫内胎盘植入部位的组织进行了补体 C3 和内皮细胞标记 CD31 的免疫荧光染色。观察到在 BPH-5 小鼠的子宫植入部位的组织中补体 C3 表达显著增加,并且在外胎盘锥中检测到补体 C3 的沉积(图 2 中用虚线黄线突出显示)。C3 与 CD31 的荧光共定位图像显示 BPH-5 小鼠的补体 C3 主要沉积在妊娠后的蜕膜血管周围(图 3),根据 CTCF 测定值证实:PE 小鼠的胎盘植入部位的血管周围会出现显著增加的补体 C3 沉积。

2.2 妊娠中期胎盘的 TGC 层中补体的表达显著增加

我们检测 E10.5 d 即妊娠中期胎盘中补体的表达情况,发现 BPH-5 小鼠和 C57 小鼠的胎盘组织中

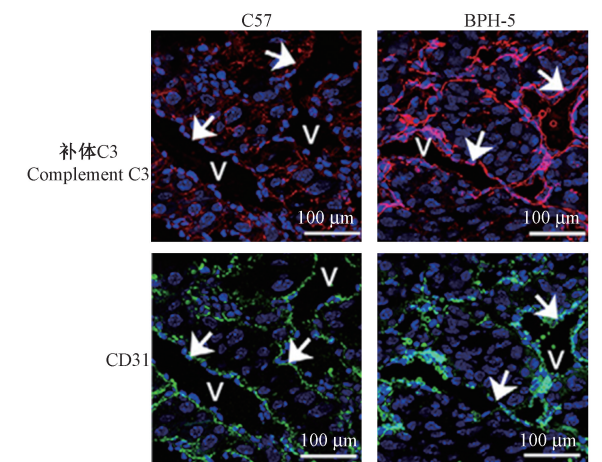


注: * $P < 0.05$, ** $P < 0.001$ 。

图 1 qRT-PCR 分析 E7.5 d C57 和 BPH-5 孕鼠的植入部位补体 C1qa、C3 和 Cfb mRNA 的表达

Note. * $P < 0.05$, ** $P < 0.001$.

Figure 1 The mRNA of complements C1qa, C3 and Cfb in the implantation site of C57 and BPH-5 pregnant mice were analyzed by qRT-PCR



注: v: 血管。

图 3 对 E7.5 d 植入部位的组织进行补体 C3 和 CD31 的免疫荧光双染

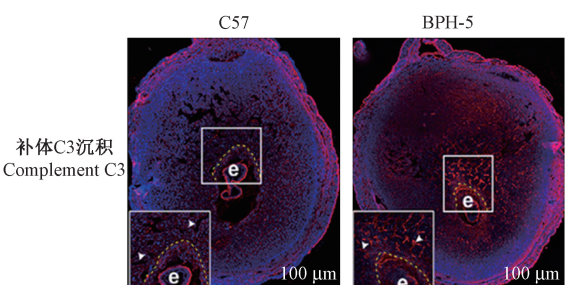
Note. v, blood vessel.

Figure 3 C3 and CD31 immunofluorescence staining of the tissues implanted on E7.5 d, and the decidual blood vessels were marked with CD31

补体 C1qA 和 Cfb 的 mRNA 的表达量相当,但补体 C3 在 BPH-5 小鼠中的表达显著增加(图 4)。并且免疫组化染色证实在 BPH-5 小鼠的胎盘中 C3 和 C9 沉积增加,阳性染色定位于 TGC 层(图 5、6)。

2.3 BPH-5 小鼠的植入部位在胎盘形成之前已经存在血管内皮生长因子表达的失衡

如图 7 所示,在着床期和蜕膜化开始时期, BPH-5 小鼠和 C57 小鼠补体 C1qA、C3 和 Cfb 的

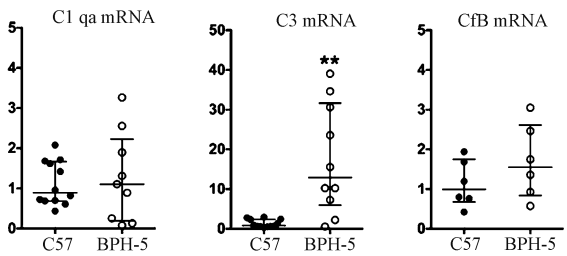


注:细胞核用 DAPI 染色(蓝色),C3 阳性染色为红色。在 C57 和 BPH-5 植入部位的外胎盘锥体(虚线和胚胎之间的区域)和蜕膜血管系统(箭头)周围检测到补体 C3 的沉积。e:胚胎。

图 2 选择 E7.5 d 植入部位的组织进行免疫荧光染色

Note. The nucleus was stained with DAPI (blue) and C3 positive staining was red. The deposition of complement C3 was detected around the external placental cone (the area between the dotted line and the embryo) and the decidual vascular system (arrowhead) of the C57 and BPH-5 implantation sites. e, embryo.

Figure 2 The immunofluorescence staining of tissues implanted on E7.5 d



注: ** $P < 0.001$ 。

图 4 qRT-PCR 检测 E10.5 d 时 C57 和 BPH-5 胎盘组织中补体成分 C1qa、C3 和 Cfb mRNA 的表达

Note. ** $P < 0.001$.

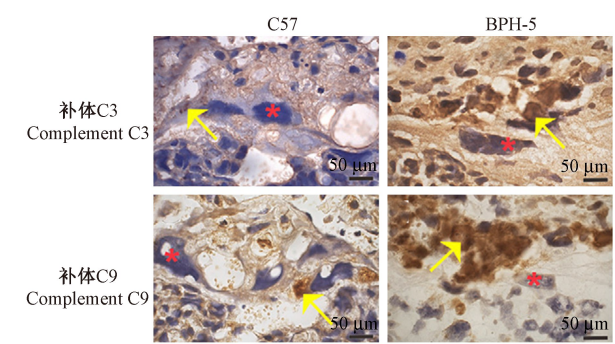
Figure 4 The expression of complement components C1qa, C3 and Cfb mRNA in placental tissue of C57 and BPH-5 was detected by qRT-PCR

mRNA 的表达量相当。但 BPH-5 小鼠中 VEGFa 的 mRNA 显著上调,VEGFR1 和 VEGFR2 的 mRNA 表达下调。蜕膜化高峰期,在 BPH-5 小鼠的植入部位 VEGFa 的 mRNA 表达呈上升趋势。免疫印迹检测证实 BPH-5 小鼠植入部位的 VEGF 蛋白表达量也随之显著增加(图 8)。这些数据显示 BPH-5 小鼠在妊娠早期发生补体异常沉积之前就会出现 VEGF 基因家族的表达异常。

2.4 BPH-5 小鼠的植入部位呈现蜕膜血管的异常

因为在 E5.5 和 E7.5 d 的 BPH-5 小鼠中观察到 VEGF 家族成员的表达异常,我们进一步检测蜕膜血管是否会随之发生改变。评估 E7.5 d 在 BPH-5 小鼠和 C57 小鼠的植入部位蜕膜血管系统的发育

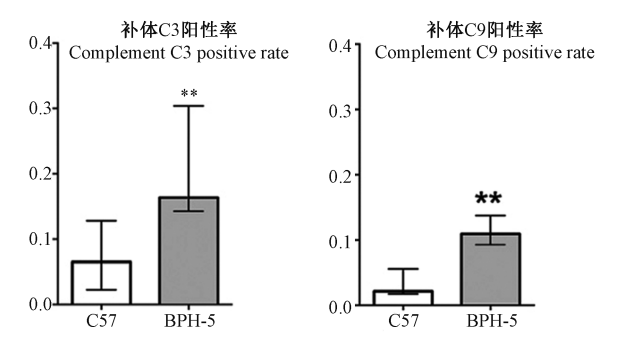
情况,测量蜕膜毛细血管管腔面积与蜕膜总面积比值进行组间比较。与 C57 对照小鼠相比,BPH-5 小鼠的蜕膜比率明显降低(图 9),提示在 BPH-5 小鼠的妊娠过程中,着床后的蜕膜血管生成受到明显抑制。



注:红色星号:胎盘 TGC 层;黄色箭头:阳性染色。
图 5 免疫组化检测 E10.5 d 时 C57 和 BPH-5 胎盘组织中补体 C3 和 C9 的组织沉积

Note. Red asterisk, placental TGC layer. Yellow arrow, positive staining.

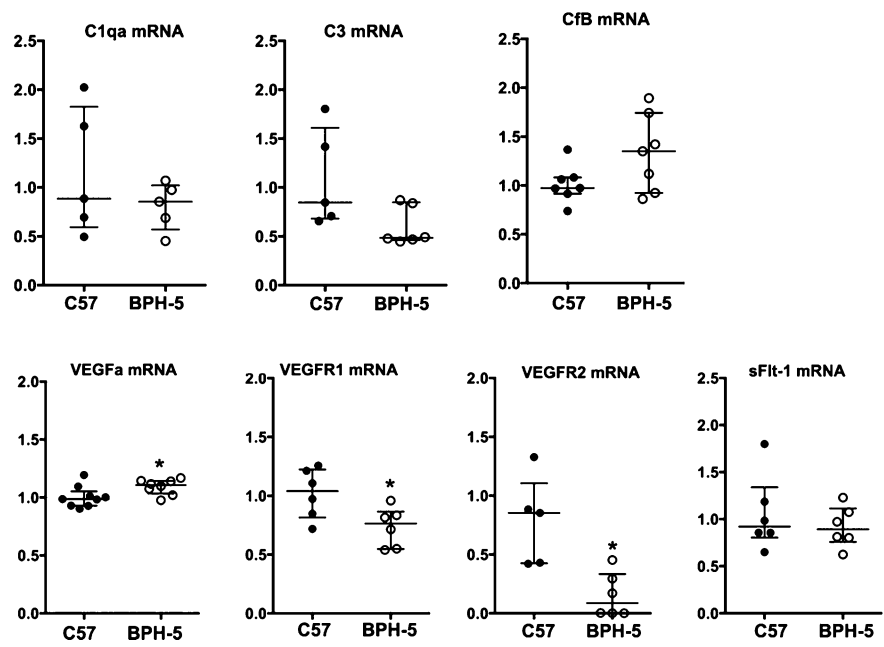
Figure 5 The deposition of complement C3 and C9 in placental tissue of C57 and BPH-5 was detected by immunohistochemistry



注: ** $P < 0.001$ 。
图 6 定量评估 BPH-5 和 C57 小鼠的胎盘 TGC 层中 C3 和 C9 沉积量

Note. ** $P < 0.001$.

Figure 6 The deposition of C3 and C9 in placental TGC layer of BPH-5 and C57 mice was quantitatively evaluated



注: * $P < 0.05$, $n = 5$ 。
图 7 qRT-PCR 检测 E5.5 d 的 C57 小鼠和 BPH-5 小鼠植入部位的补体和血管内皮生长因子基因的表达情况

Note. * $P < 0.05$, $n = 5$.

Figure 7 The expression of complement and vascular endothelial growth factor gene in the implanted site of C57 mice and BPH-5 mice were detected by qRT-PCR

2.5 妊娠中期 BPH-5 胎盘中呈现血管生成因子的表达失衡

分析 BPH-5 小鼠小鼠的胎盘组织中血管生成相关基因在 E10.5 d 时的表达情况。与 C57 对照组相比, BPH-5 小鼠的胎盘组织中促血管生成的 VEGFa、PlGF 和 RGC32 基因的 mRNA 表达显著降低, 而抗血管生成因子 sFlt-1mRNA 的 mRNA 表达上调(图 10)。

3 讨论

我们的研究以 BPH-5 小鼠为 PE 的模型动物, 首次发现在 PE 的致病过程中, 血管内皮生长因子的失衡先于母胎界面补体成分的增加而出现明显变化, 并且妊娠母体子宫内的分子变化先于胎盘发生, 最终推动母体 PE 病情的进展。

我们发现在 BPH-5 小鼠的蜕膜化高峰期的胎盘植入部位中补体 C3 和 C5b 水平均显著升高。一

直以来的研究认为补体 C3 和 C5b 的异常激活与不良妊娠结局具有相关性^[10], 这与我们的研究结果具有一致性。我们观察到的在 E7.5 d 的外胎盘锥中出现过量的补体 C3 沉积, 在妊娠中期胎盘的 TGC 层中补体 C9 的水平显著增加, 而 C9 是所有补体途径形成最终补体效应复合物的共同组成部分^[10]。这些发现表明: BPH-5 小鼠妊娠早期局部补体通路的异常激活是启动 PE 发生发展的重要因素。

我们的研究进一步深入挖掘了 BPH-5 小鼠妊娠中补体过度沉积与 VEGF 家族基因表达异常之间的关系, 发现在 BPH-5 小鼠的蜕膜化开始时期, 补体系统异常激活之前, VEGF 家族包括 VEGF, PlGF, VEGFR1, VEGFR2 和 sFlt-1 就已经出现了异常表达^[11], 这些基因的表达与蜕膜血管生成, 胎盘生长及 PE 的发病密切相关^[12]。在 小鼠中, VEGF 在子宫内 膜和种植后的蜕膜中表达较高, 激活 VEGF 受体 VEGFR1 和 VEGFR2 可以促进蜕膜血管生成^[13-14]。

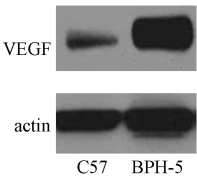
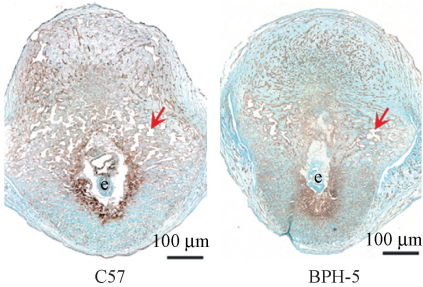


图 8 免疫印迹检测 C57 小鼠和 BPH-5 小鼠植入部位的 VEGF 蛋白表达量

Figure 8 The expression of VEGF protein in the implanted site of C57 mice and BPH-5 mice was detected by immunoblotting

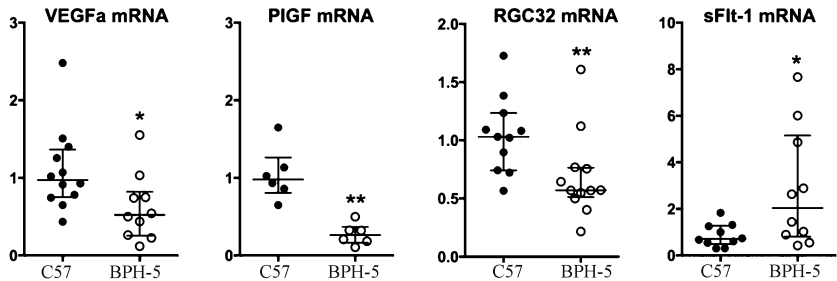


注: 以 VEGFR2 指示新生蜕膜毛细血管, 红色箭头指示毛细血管; e: 胚胎。

图 9 免疫组化检测 E7.5 d 时蜕膜血管中 VEGFR2 的表达

Note. VEGFR2 was used to indicate new decidual capillaries and red arrows were used to indicate capillaries. e: embryo.

Figure 9 The expression of VEGFR2 in decidual blood vessels was detected by immunohistochemistry



注: * $P < 0.05$, ** $P < 0.001$, $n = 5$ 。

图 10 qRT-PCR 监测妊娠中期 E10.5 d 时胎盘中血管内皮生长因子相关基因的 mRNA 表达情况

Note. * $P < 0.05$, ** $P < 0.001$, $n = 5$ 。

Figure 10 qRT-PCR was used to monitor the mRNA expression of vascular endothelial growth factor-related genes in placenta at E10.5 d in the second trimester of pregnancy

我们的数据表明,在 E5.5 d 的 BPH-5 妊娠小鼠中 VEGFR1 和 VEGFR2 表达明显降低,这导致机体内形成了抗血管生成环境,抑制蜕膜血管系统的发育。在 E7.5 d,血管间隙减少和促血管生成配体 VEGFA 和 PlGF 的表达增加,后者可能与机体的反馈调节机制有关,以响应和对抗机体的抗血管生成状态^[15]。在这个过程中,血管密度的降低导致机体的局部缺氧环境,进而诱导 VEGFA 的表达。这种蜕膜血管系统的异常发育和局部 VEGF 家族基因的异常表达先于 sFlt-1 在 BPH-5 小鼠胎盘中的表达增高和补体的异常沉积。此外,我们在 BPH-5 妊娠小鼠中成功捕捉到蜕膜血管系统的明显异常,血管周围有过量的补体沉积。基于以上发现,我们认为异常的蜕膜血管生成是触发补体系统异常激活的早期因素,进而触发机体发生一系列有害的连锁反应,如滋养细胞侵入母体螺旋动脉,即发生 PE 第一阶段的病理改变。我们的后续研究着重探寻早期血管内皮生长因子失衡在 BPH-5 孕鼠胎盘植入过程中发挥的具体作用机制和细胞学基础,以及如何有效遏制母胎界面补体的过度激活,进而遏制 PE 病情的早期进展。

综上所述,我们的研究成功证实了蜕膜血管内皮生长因子失衡先于补体系统的异常激活发生,而补体系统的激活反过来又会导致异常滋养细胞侵袭和胎盘的不良发育,这是导致 PE 发病的重要分子基础,针对这一机制的研究证据有望为临床 PE 的治疗探索出早期干预靶点。

参考文献:

- [1] 李敬. 先兆子痫发病机制临床研究进展 [J]. 医学理论与实践, 2016, 29(12): 1573-1574.
- [2] 陈立玲. 妊娠期慢性高血压并发早发型重度先兆子痫对母儿结局的影响 [J]. 中国社区医师, 2018, 34(15): 26-27.
- [3] 梁燕霞, 胡海滨, 陈步云, 等. 早发型重度先兆子痫对母儿结局的影响 [J]. 吉林医学, 2019, 40(6): 1216-1218.
- [4] Sarween N, Drayson MT, Hodson J, et al. Humoral immunity in late-onset Pre-eclampsia and linkage with angiogenic and inflammatory markers [J]. Am J Reprod Immunol, 2018, 80(5): e13041.
- [5] Keshavarzi F, Mohammadpour-Gharehbagh A, Shahrakipour M,

- et al. The placental vascular endothelial growth factor polymorphisms and preeclampsia/preeclampsia severity [J]. Clin Exp Hypertens, 2017, 39(7): 606-611.
- [6] Lokki AI, Kaartokallio T, Holmberg V, et al. Analysis of complement C3 gene reveals susceptibility to severe preeclampsia [J]. Front Immunol, 2017, 8: 589.
- [7] Reijnders D, Liu CC, Xu X, et al. Celecoxib restores angiogenic factor expression at the maternal-fetal interface in the BPH/5 mouse model of preeclampsia [J]. Physiol Genomics, 2018, 50(5): 385-392.
- [8] Ali Z, Khaliq S, Zaki S, et al. Altered expression of vascular endothelial growth factor, vascular endothelial growth factor receptor-1, vascular endothelial growth factor receptor-2, and Soluble Fms-like Tyrosine Kinase-1 in peripheral blood mononuclear cells from normal and preeclamptic pregnancies [J]. Chin J Physiol, 2019, 62(3): 117-122.
- [9] He Y, Xu B, Song D, et al. Correlations between complement system's activation factors and anti-angiogenesis factors in plasma of patients with early/late-onset severe preeclampsia [J]. Hypertens Pregnancy, 2016, 35(4): 499-509.
- [10] Penning M, Chua JS, van KC, et al. Classical complement pathway activation in the kidneys of women with preeclampsia [J]. Hypertension, 2015, 66(1): 117-125.
- [11] Zhang YG, Yang HL, Zhang YP, et al. Pigment epithelium-derived factor/vascular endothelial growth factor ratio for early prediction of preeclampsia: A prospective multicenter study in China [J]. Pregnancy Hypertens, 2018, 14: 43-48.
- [12] Trapiella-Alfonso L, Alexander L, Fraichard C, et al. VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) functionalized magnetic beads in a microfluidic device to improve the angiogenic balance in preeclampsia [J]. Hypertension, 2019, 74(1): 145-153.
- [13] Shi X, Zheng G, Liu H, et al. Vascular endothelial growth factor C participates in regulation of maspin in extravillous trophoblast cell migration and invasion [J]. Reprod Fert Develop, 2019, doi: 10.1071/RD18438.
- [14] Boulanger H, Lefèvre G, Ahriz Saksi S, et al. Potential value of placental angiogenic factors as biomarkers in preeclampsia for clinical physicians [J]. Nephrol Ther, 2018, 15(6): 413-429.
- [15] Zhang YG, Yang HL, Zhang YP, et al. Pigment epithelium-derived factor/vascular endothelial growth factor ratio for early prediction of preeclampsia: A prospective multicenter study in China [J]. Pregnancy Hypertens, 2018, 14: 43-48.

[收稿日期] 2019-07-30