

# 滋养层细胞侵袭相关基因表达谱分析

范才波<sup>1,2</sup> 何俊琳<sup>1\*</sup> 王应雄<sup>1</sup> 刘学庆<sup>1</sup> 陈雪梅<sup>1</sup> 丁裕斌<sup>1</sup>

(重庆医科大学, <sup>1</sup>公共卫生学院生殖生物学研究室、遗传优生教研室;

<sup>2</sup>临床检验诊断学省部共建教育部重点实验室, 重庆 400016)

**摘要** 分离收集正常妊娠第8~12周的细胞滋养层细胞和绒毛外滋养层细胞, 提取细胞总RNA, 制备cRNA探针并与Affymetrix U133 plus2.0基因芯片进行杂交, 获得正常细胞滋养层细胞和绒毛外滋养层细胞基因表达谱芯片。经计算机分析共筛选到1318个差异表达基因, 其中上调基因813个, 下调505个。所有差异表达基因按Gene Ontology功能分类标准进行了功能检索。为胚胎发育早期绒毛外滋养层细胞侵袭的基因调控机制的研究提供了实验基础。

**关键词** 细胞滋养层细胞; 绒毛外滋养层细胞; 基因芯片; 基因表达谱; 侵袭

滋养层细胞对子宫蜕膜的侵袭机制是现代医学面临的待解之谜。人胚着床发生在妊娠4~5周, 随后滋养层细胞分裂、增殖, 并可沿绒毛和绒毛外两个方向分化, 最终形成生物学特性明显不同的两种细胞, 即无侵袭能力的细胞滋养层细胞(cytotrophoblast cells, CTB)和有侵袭能力的绒毛外滋养层细胞(extravillous trophoblast cells, EVT)。CTB主要执行内分泌、营养和免疫功能, 而EVT侵袭性随胚胎发育进程逐渐增强, 于妊娠第10~12周达高峰, 并向子宫间质和螺旋动脉腔内侵袭性生长, 形成固定绒毛, 为胎盘形成及胚胎早期发育分化创造条件<sup>[1]</sup>。

然而, 迄今为止对人类滋养层细胞侵入过程的调节机制了解甚少。EVT侵袭行为的获得伴随与其功能密切相关的基因表达改变, 涉及能量代谢、细胞增殖、免疫调节、凋亡等相关基因表达, 从而从整体上适应胚胎的生长发育。基因芯片技术为这一复杂生殖过程基因表达谱的创建及分析提供了有效的手段<sup>[2,3]</sup>。

原始滋养层细胞完成向CTB和EVT分化之后逐渐退化, 在EVT的侵袭高峰期(妊娠第10~12周), 绒毛和蜕膜组织中主要为CTB和EVT(而非原始滋养层细胞), 因此, 以无侵袭特性的CTB为对照来研究EVT侵袭相关的差异表达基因, 必将有助于系统地揭示胚胎早期发育过程中滋养层细胞侵袭的基因网络调控机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

选择妊娠8~12周人工流产的绒毛和蜕膜组织各6例(重庆医科大学附属第一医院妇产科, 标本收集均征得病人知情同意。选择无遗传病史、无产道异常、无免疫系统异常等情况下自愿终止妊娠的标本; 染色体核型正常), 分离CTB和EVT细胞<sup>[4]</sup>。

### 1.2 总RNA提取

Trizol法抽提CTB和EVT的总RNA, 分光光度计和琼脂糖电泳鉴定RNA纯度和完整性。

### 1.3 cDNA文库合成、芯片杂交

收集纯度和完整性合格的RNA, 等量混合后, 重新沉淀RNA, 70%酒精保存, 在干冰的保护下立即交上海生物芯片公司完成cRNA探针制备及芯片(Affymetrix)杂交。

### 1.4 数据提取和差异表达基因筛选

芯片结果采用Affymetrix扫描仪进行扫描, 根据公司提供的GCOS1.2软件读取、处理数据。差异基因筛选标准为EVT/CTB比值 $\geq 2.0$ (上调)或 $\leq -2.0$ (下调)。

### 1.5 基因芯片质量控制

**1.5.1 芯片内质控指标** 芯片杂交在上海生物芯片中心完成并进行严格的质控, 其标准如下:

(1) 阵列上没有人为的痕迹, 包括高低不平的密度点, 刮痕等。

(2) 平均背景杂交信号点的值小于100。

收稿日期: 2006-08-07 接受日期: 2006-10-20

重庆市自然科学基金重点项目(No.2004-47)和重庆市计划生育委员会项目(No.2004-007)资助

\*通讯作者。Tel: 023-68485001, E-mail: hejunlin\_11@yahoo.com.cn

表1 验证基因RT-PCR引物

基因名称	基因文库号	有义(F)/反义(R)	引物序列	产物长度
<i>MMP-9</i>	NM_004994	F	GCC TGC CAC TTC CCC TTC ATC	336 bp
		R	CCC CAC TTC TTG TCG CTG TCA	
<i>TIMP-1</i>	NM_003254	F	TTC CAC AGG TCC CAC AAC	228 bp
		R	CGT CCA CAA GCA ATG AGT	
β 肌动蛋白	NM_001101	F	ACA CCT TCT ACA ATG AGC TG	828 bp
		R	CTG CTT GCT GAT CCA CAT CT	

(3) 杂交信号中, BioB 检出率大于 50%; BioC、BioD 和 cre 的信号值超过 BioB 信号强度。

(4) 以β肌动蛋白和GAPDH作为内参照基因,其3'端探针集合的杂交信号小于5'端的3倍。

(5) 两张芯片上相同信号点的相关性大于 95%。

1.5.2 RT-PCR 验证芯片结果 为验证芯片数据的可靠性,分别选取芯片结果中明显上调基因基质金属蛋白酶-9 (*MMP-9*)和下调基因组织金属蛋白酶抑制因子(*TIMP-1*)各1个,运用RT-PCR检测其在CTB和EVT中的mRNA表达,验证mRNA表达值和芯片结果的一致性。各检测基因RT-PCR引物序列如下表1所示。

## 1.6 基因功能分类和检索

各组芯片杂交结果中的差异表达基因根据 Gene Ontology (<http://www.geneontology.org/>)功能分类标准进行了检索分类,具体功能参考NCBI GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez>)、Source Search (<http://genome-www5.Stanford.edu>)、IHOP (<http://www.pdg.cnb.uam.es>)、Genomics and Bioinformatics Group(<http://discover.nci.nih.gov>)、CGAP (<http://cgap.nci.nih.gov>)等数据库。我们分别检索了上调和下调明显的各30个基因,并对其基因功能予以描述。此外,通过PubMed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez>)和OVID (<http://gateway.ut.ovid.com>)数据库对它们进行检索,寻找已经报道的有关在肿瘤和/或滋养层细胞侵袭方面发挥作用的基因。

## 2 结果

### 2.1 细胞总 RNA 抽提质量控制

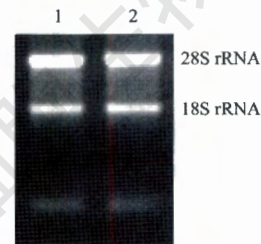


图1 细胞RNA电泳图

1: 正常CTB rRNA; 2: 正常EVT rRNA。

总RNA经紫外分光光度计检测,CTB RNA浓度为1.86 μg/μl、EVT为1.69 μg/μl,  $A_{260/280}$  达到1.9~2.1, RNA纯度符合要求;1%琼脂糖凝胶电泳分析,28S rRNA和18S rRNA电泳条带清晰,两者亮度之比约为2:1,表明RNA完整性好(图1)。

### 2.2 芯片杂交

芯片杂交信号经处理后,比较两张芯片数据相关性。散点图的X轴为CTB信号值,Y轴为EVT信号值,图中红色的点表示杂交信号在两张芯片中均被检测到,这些基因均有表达;蓝色的点表示杂交信号只在一张芯片中被检测到,这些基因只在一种细胞表达;黄色的点表示杂交信号在两张芯片中均未被检测到,这些基因在CTB和EVT均无表达(图2)。

### 2.3 RT-PCR 验证芯片数据可靠性

选择明显上调基因(*MMP-9*)和下调基因(*TIMP-1*),RT-PCR检测其mRNA表达以验证芯片数据的可靠性。电泳结果见图3和图4。

将每个样本目的基因PCR扩增产物的积分光密度值与β肌动蛋白的积分光密度值相比,得出积分光密度比率值(表2)。结果显示目的基因A值比值与芯

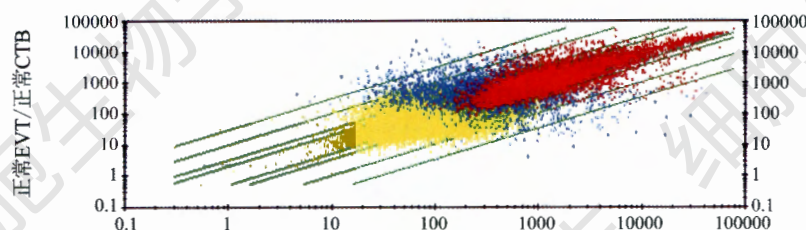
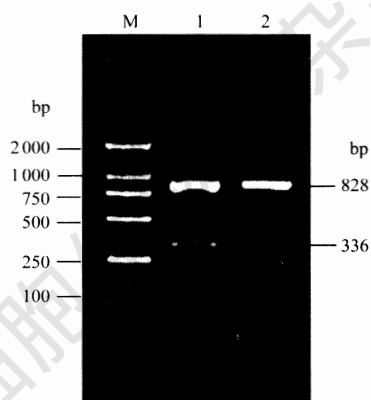


图2 正常EVT和CTB信号散点图

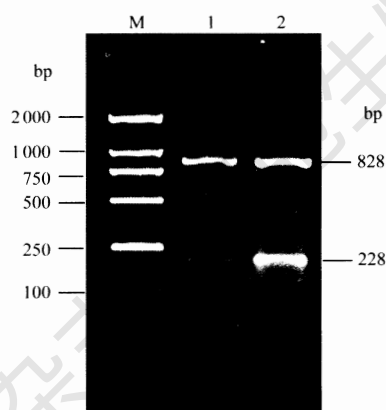
表2 RT-PCR与芯片结果的比较

基因名称	基因文库号	目的基因 mRNA/ $\beta$ 肌动蛋白 mRNA ( $\bar{x}\pm s$ )		EVT/CTB 比值	基因芯片 比值
		CTB	EVT		
<i>MMP-9</i>	NM_004994	0.1527 $\pm$ 0.0024	0.3943 $\pm$ 0.0029	2.58	3.1
<i>TIMP-1</i>	NM_003254	0.6853 $\pm$ 0.0057	0.2261 $\pm$ 0.0041	0.33	0.3*

\*表示芯片中比值(-3.4)的倒数绝对值。

图3 RT-PCR检测 *MMP-9* mRNA 表达

$\beta$  肌动蛋白: 828 bp; *MMP-9*: 336 bp。M: DNA marker; 1: *MMP-9* mRNA 在 EVT 中的表达; 2: *MMP-9* mRNA 在 CTB 中的表达。

图4 RT-PCR检测 *TIMP-1* mRNA 表达

$\beta$  肌动蛋白: 828 bp; *TIMP-1*: 228 bp。M: DNA marker; 1: *TIMP-1* mRNA 在 EVT 中的表达; 2: *TIMP-1* mRNA 在 CTB 中的表达。

片结果变化趋势一致。

#### 2.4 差异表达基因的功能分类检索

在公司提供的 3 081 个比值变化有意义的基因中, 严格筛选出差异表达基因 1 318 个, 聚类分析结果显示上调基因 813 个, 占差异表达基因的 61.7%、下调基因 505 个, 占差异表达基因的 38.3%。按 Gene Ontology 功能分类标准对差异表达基因进行分类检索(表 3)。

#### 2.5 差异表达基因的生物功能注释

表3 差异表达基因的 Gene Ontology 分类

Gene Ontology 分类	上调基因数目	下调基因数目
细胞外基质相关基因	29	11
信号转导相关基因	87	53
转录调节相关基因	80	40
细胞生长/维持相关基因	41	15
代谢相关基因	95	36
凋亡相关基因	17	11
物质转运相关基因	104	47
细胞周期相关基因	16	7
应激反应相关基因	6	0
细胞防御反应相关基因	4	5
免疫应答相关基因	69	5
细胞黏附相关基因	46	28
发育相关基因	58	21

同一个基因可能涉及不同功能组。

<

我们选取了 EVT/CTB 比值差异最明显的上调和下调各 30 个差异表达基因, 在 Gene Ontology 和 NCBI GenBank 中检索每个基因的功能信息; 并在 PubMed 和 OVID 数据库中检索与肿瘤和/或滋养层细胞侵袭相关的基因信息。具体功能信息注释见表 4 (上调基因) 和表 5 (下调基因)。

通过检索发现, 在上调的 30 个基因中有 16 个参与了肿瘤和/或滋养层细胞侵袭的调节, 在下调的 30 个基因中有 9 个参与了肿瘤和/或滋养层细胞侵袭的调节。此外, 在上调最明显的 30 个基因中, 有 3 个基因尚未命名, 4 个基因无 Gene Ontology 描述。在下调最明显的 30 个基因中, 有 2 个基因尚未命名, 7 个基因无 Gene Ontology 描述。

### 3 讨论

滋养层细胞侵袭在胚胎早期发育过程中起着十分重要的作用, 涉及复杂而精细的基因表达调控网络体系, 在这个网络体系中, 必然包含众多和侵袭行为密切相关的信息。本实验采用 Affymetrix U133 plus2.0 人类全基因组基因表达谱芯片(属于发现型芯片, 可以发现尚未报道的新基因<sup>[9]</sup>), 获得了 EVT 和 CTB 的差异表达基因, 这些基因大致可分为以下几类。

表4 30个上调差异表达基因功能注释

基因名称	法定公开号	唯一基因号	比值	基因功能
<i>GNLY</i>	NM_006433	Hs.105806	7.8	细胞防御反应*
<i>CP</i>	NM_000096	Hs.282557	7.4	铜离子稳态, 铜离子转运活性*
<i>ALDH1A2</i>	AB015228	Hs.435689	7.0	氧化还原酶活性, 电子传递活性, 维生素A代谢*
<i>PTPRR</i>	NM_002849	Hs.198288	6.8	胚胎发育, 酶相关受体蛋白信号途径, 蛋白氨基酸去磷酸化作用, 胞膜整合成分*
<i>GZMA</i>	NM_006144	Hs.90708	6.6	凋亡, 核纤层蛋白切割, 免疫应答, 糜蛋白酶活性, 粒酶A活性, 水解酶活性*
<i>INDO</i>	M34455	Hs.840	6.6	免疫应答, 妊娠, 色氨酸代谢, 电子传递活性, 氧化还原酶活性*
<i>MMP-9</i>	NM_004994	Hs.397413	6.6	细胞黏附, 细胞外基质*
<i>CXCL13</i>	NM_006419	Hs.100431	6.5	细胞信号转导, 免疫应答, 趋化因子活性*
<i>CP</i>	AL556703	Hs.282557	6.4	铜离子稳态, 铜离子转运活性, 氧化还原酶活性*
<i>BTEB1</i>	NM_001206	Hs.150557	6.4	Pol II启动了转录调节, 锌离子接合*
<i>TM4SF3</i>	NM_004616	Hs.84072	6.3	蛋白氨基酸糖基化, 胞膜整合成分, 信号转导*
<i>PSMB9</i>	NM_002800	Hs.381081	6.3	免疫应答, 泛素依赖蛋白代谢, 内切酶活性
<i>MAOB</i>	NM_000898	Hs.82163	6.1	胞膜整合成分, 电子传递活性, 氧化还原酶活性
<i>PTGDS</i>	BC005939	Hs.446429	6.1	前列腺素D合成酶活性, 异构酶活性, 维生素A接合
<i>CP</i>	AI684991	Hs.282557	6.1	铜离子接合, 铜离子转运活性, 氧化还原酶活性*
<i>CYP3A5</i>	NM_000777	Hs.150276	5.9	电子传递, 类固醇代谢, 氧化还原酶活性*
—	AU147419	Hs.202577	5.9	—
<i>KLRC</i>	NM_002260	Hs.512576	5.8	细胞防御反应, 信号转导
<i>ADRA2A</i>	AF284095	Hs.249159	5.8	G蛋白质偶联受体蛋白信号途径, Ras蛋白信号转导, 肾上腺素受体活性
<i>IL15</i>	Y09908	Hs.528402	5.8	免疫应答, 信号转导, 细胞增殖正调节*
<i>C1S</i>	BC007010	Hs.458355	5.7	补体激活经典途径, 蛋白质和肽水解, 钙离子接合, 糜蛋白酶活性, 水解酶活性
<i>C4BPA</i>	NM_000715	Hs.1012	5.7	补体激活经典途径
<i>G6PC</i>	NM_000151	Hs.435783	5.7	糖代谢, 胞膜整合成分, 水解酶活性
—	AI760356	Hs.193784	5.7	—
<i>PPAP2α</i>	AW512988	Hs.446660	5.7	脂代谢, 细胞氧化增殖
—	AI554926	—	5.7	—
<i>IGFBP2</i>	NM_000597	Hs.433326	5.6	细胞生长与维持, 胰岛素样生长因子(IGF)接合*
<i>ADH1B</i>	M21692	Hs.4	5.6	Zn <sup>2+</sup> 依赖性乙醇脱氢酶活性, 电子传递活性, 氧化还原酶活性, 锌离子接合
<i>ACSL5</i>	AW173691	Hs.11638	5.6	脂肪酸代谢, 连接酶活性, 镁离子接合*
<i>DKFZp434E</i>	AL133104	Hs.255960	5.6	—

\*表示参与肿瘤和/或滋养层细胞侵袭力调节的基因。

### 3.1 物质转运和代谢相关基因的表达

胚胎早期发育中, 胎儿生长发育需要大量的氧和能量供应, 糖、脂肪和蛋白质代谢十分旺盛, 摄取和运输这些物质的相关基因的表达也最活跃。本研究结果显示一些与糖代谢途径和通路中的酶调节相关基因的表达上调, 如负责催化生成丙酮酸经氧化脱羧进入三羧酸循环的丙酮酸脱羧酶6 (*PCX6*)和催化三磷酸甘油醛转化为1,3二磷酸甘油酸的三磷酸甘油醛脱氢酶(*GAPD*)基因表达明显上调。此外, 还观察到与一组细胞色素c氧化酶相关的编码基因, 如*COX7A1*表达上调, 其表达上调可能直接参与了EVT对细胞外基质的侵袭<sup>[6]</sup>。在脂肪酸代谢途径中, 我们观察到*ACSL-1*、*ACSL-4*、*ACSL-5*、*ACAA2*等基因表达显著上调。对蛋白质代谢相关基因的分析发现, 与蛋白质合成相关的基因以上调为主, 如翻译启动因子*EIF2C2*、*EIF4E3*、*EIF4G3*、调节翻译延长的蛋白C4 (*ARPC4*)、多胺合成限速酶鸟氨酸脱

羧酶1 (*ODC1*)上调。多胺是调节细胞生长的重要物质, 促进蛋白质和核酸合成, *ODC1*高表达还可诱导MAPK活性促进细胞生长<sup>[7]</sup>。

### 3.2 细胞周期调控、信号转导和凋亡相关基因的表达

Ca<sup>2+</sup>信号通路的相关基因中, 钙调蛋白样受体(*CALCRI*)、钙调蛋白依赖性蛋白激酶2δ (*CAMK2δ*)、钙依赖性活性蛋白(*CADPS2*)等显著上调。钙调蛋白是胞内信使Ca<sup>2+</sup>的重要受体蛋白, 通过与Ca<sup>2+</sup>结合后活化Ca<sup>2+</sup>-CaM激酶, 并级联激活下游多种蛋白激酶以调节细胞活动。钙结合蛋白则主要位于内质网, 其表达后引起Ca<sup>2+</sup>释放而使钙内流的激活<sup>[8]</sup>。在细胞周期转向G<sub>2</sub>期后, 凋亡效应基因*ARF*和*CASPASP-1*、*CASPASP-8*上调, 进而激活*p53*, 从而使凋亡通路激活。从与凋亡发生相关的信号转导和细胞增殖相关的基因的差异表达趋势上看, 促进凋亡发生的相关基因表达上调少于下调, 而抑制凋亡发生的相关基因则

表 5 30 个下调差异表达基因功能注释

基因名称	法定公开号	唯一基因号	比值	基因功能
<i>VGLL1</i>	BE542323	Hs.9030	-9.5	DNA 依赖的转录调节, 转录激活物活性
<i>HAPLN1</i>	U43328	Hs.2799	-8.3	细胞黏附, 细胞外基质, 透明质酸酶结合*
<i>HBZ</i>	NM_005332	Hs.272003	-8.1	氧运输活性*
—	AF147356	Hs.538600	-7.8	—
<i>IMP-3</i>	NM_006547	Hs.79440	-7.5	RNA 转录后加工, 蛋白质生物合成, RNA 结合*
<i>ERVWE1</i>	AF513360	—	-6.9	DNA 转转座, 胞膜整合成分
<i>PEG10</i>	BE858180	Hs.137476	-6.9	—
<i>HBG2</i>	NM_000184	Hs.302145	-6.7	—
<i>MBNL3</i>	NM_018388	Hs.105134	-6.6	生长发育, 核苷酸结合
<i>DLK1</i>	U15979	Hs.169228	-6.4	生长发育, 胞膜整合成分, 钙离子结合
<i>GATA3</i>	A1796169	Hs.169946	-6.4	细胞防御反应, 形态发生, DNA 依赖的转录调节*
<i>HBG2</i>	A1133353	Hs.302145	-6.4	—
<i>IMP-3</i>	AU160004	Hs.79440	-6.3	RNA 转录后加工, 形态发生, 蛋白质生物合成, RNA 结合*
<i>HAPLN1</i>	NM_001884	Hs.2799	-6.3	细胞黏附, 细胞外基质, 透明质酸结合
<i>HBE1</i>	NM_005330	Hs.117848	-6.3	氧运输活性
<i>ERVWE1</i>	AF072506	—	-6.2	DNA 转转座, 胞膜整合成分
—	AK002184	Hs.336247	-6.2	—
<i>GH2</i>	AF006060	Hs.406754	-6.1	激素活性*
<i>EGFL6</i>	NM_015507	Hs.12844	-6.1	细胞周期调控, 钙离子结合, 整联蛋白结合*
<i>VGLL1</i>	NM_016267	Hs.9030	-6.0	DNA 依赖的转录调节, 转录激活物活性
<i>GAGEC1</i>	NM_007003	Hs.441038	-6.0	—
<i>PEG10</i>	AL582836	Hs.137476	-6.0	—
<i>ISYNA1</i>	AL137749	Hs.405873	-5.9	肌醇生物合成, 磷脂生物合成, IP3 合酶活性
<i>HBG1/2</i>	NM_000559	Hs.449631	-5.8	氧运输活性
<i>SLC22A11</i>	NM_018484	Hs.283078	-5.8	钠离子依赖转运活性
<i>AREG</i>	NM_001657	Hs.270833	-5.7	细胞增殖, 信号转导, 膜整合成分, 细胞因子活性, 生长因子活性*
<i>CCR7</i>	NM_001838	Hs.1652	-5.7	G 蛋白偶联受体蛋白信号途径, 趋化性, 视紫红质样受体活性*
<i>DNMT3B</i>	NM_006892	Hs.251673	-5.7	DNA (胞嘧啶-5-)-甲基转移酶活性, DNA 结合
<i>GJA5</i>	A1692880	Hs.447968	-5.7	信号转导, 胞膜整合成分, 连接子通道活性
<i>PSG5</i>	NM_002781	Hs.534030	-5.6	妊娠, 生长发育

\* 表示参与肿瘤和/或滋养层细胞侵袭力调节的基因。

以上调多见, 从而促进胚胎的顺利发育。此外, 实验还发现了 G 蛋白家族成员 *RASEF*、*RASGRP1*、*RASSF4* 等和 MAPK 家族成员 *JUN*、*JAK1* 等的上调, 它们可能在细胞增殖、凋亡、转录与转化等方面发挥重要作用。核转录因子 cAMP 反应元件结合蛋白 2 (*CREBL2*) 表达活跃, 可能在参与细胞骨架的重构和维持方面发挥着极其重要的作用<sup>[9]</sup>。

### 3.3 细胞外基质和细胞黏附相关基因的表达

在胚胎早期发育过程中, 部分原始滋养层细胞分化为 EVT, 表现出侵袭特性, 识别、黏附并降解细胞外基质, 进而形成胚盘。因此, 细胞黏附和细胞外基质降解相关基因表达应该十分活跃, 众多国内外的研究也证实了细胞外基质蛋白 2 (*ECM2*)、基质金属蛋白酶 (*MMP-1*、*MMP-9*、*MMP-26*)、黏附分子 (*ICAM-3*) 和 *CD9*、*CD14* 等基因表达上调, 而组织金属蛋白酶抑制因子 (*TIMP-1*、*TIMP-2*、*TIMP-3*) 明显下调, 这和我们的芯片结果是一致的<sup>[10~12]</sup>。此

外, 我们还发现了二肽基肽酶 IV (*DPPIV*) 基因表达的上调, *DPPIV* 是在胚胎 EVT 上表达的一种膜型肽酶, 能够降解或活化与特异性细胞表面受体接触的生物活性肽, 通过生物活性肽的代谢调节 EVT 的侵袭<sup>[13,14]</sup>。

### 3.4 免疫应答和细胞防御反应相关基因的表达

胚胎 EVT 对母体的侵袭和母体对胚胎的免疫允许是胚胎正常着床和发育的基本条件。由于胚胎相对于母体是一个半抗原, 要在宫腔内达到“容受性”状态并顺利妊娠, 就必须有相关的免疫应答和细胞防御反应相关基因表达, 以阻止免疫排斥的发生。免疫调节基因的表达上调 (*HLA-A*、*HLA-B*、*HLA-C*、*HLA-E* 等) 明显多于下调, 反应了母体对于胚胎这个半抗原的排斥, 但同时细胞防御反应相关基因的表达不活跃, 并呈现双向调节, 这表明母体并没有排斥胚胎这个半抗原, 而是接受了它。部分免疫相关基因表达下调明显, 这可能是对上调基因的一种

负反馈抑制性调节, 如过氧化物增殖活化蛋白 2 $\alpha$  (PPAP2 $\alpha$ )<sup>[15]</sup>。

### 3.5 细胞生长/维持和发育相关基因的表达

胚胎的生长发育是一个耗能的过程, 其总的效应是合成代谢大于分解代谢, 细胞生长/维持和发育相关基因在促进细胞的生长发育方面进行了精确的调控。我们发现了生长因子家族中的很多成员上调表达活跃, 如表皮生长因子 L5 (EGFL5)、转化生长因子- $\beta$  调节基因(ENG)、胰岛素样生长因子-1 (IGF-1)、胰岛素样生长因子结合蛋白 1、2、4~7 (IGFBP-1、IGFBP-2、IGFBP-4~IGFBP-7)、白细胞介素(IL-1R1、IL-1R2、IL-6R、IL-15)和白血病抑制因子(LIF)等的表达明显上调, 维持细胞的正常的生长发育。

总之, 我们的芯片实验结果表明 EVT 的侵袭行为涉及与其功能密切相关的基因表达改变, 如能量代谢基因、细胞增殖相关基因、免疫调节基因、凋亡基因等, 以从整体上适应胚胎的生长发育, 这是一

个复杂而精细的基因表达调控网络机制。如何更有效地解读这些生物学信息还有待进一步探索, 特别是对未知功能基因的深入研究将有助于从基因水平分析这一复杂的病理生理过程, 并为最终揭示EVT异常侵袭提供依据。

### 参考文献 (References)

- [1] Xu P *et al. Biol Reprod*, 2000, **62**: 988
- [2] Reese J *et al. J Biol Chem*, 2001, **276**: 44137
- [3] Bilban M *et al. Placenta*, 2000, **21**: S99
- [4] Kliman HJ *et al. Endocrinology*, 1986, **118**: 1567
- [5] Shioda T. *J Environ Pathol Toxicol Oncol*, 2004, **23**: 13
- [6] Chalaya TV *et al. Biochemistry*, 2006, **71**: 294
- [7] Leong WF *et al. Cell Microbiol*, 2006, **8**: 565
- [8] Hong EJ *et al. J Reprod Dev*, 2005, **51**: 499
- [9] Saydam O *et al. Vet Microbiol*, 2006, **113**: 185
- [10] Xiang W *et al. Biol Reprod*, 2002, **66**: 1790
- [11] Lacin S *et al. Hum Reprod*, 2001, **16**: 2305
- [12] Bai SX *et al. Reproduction*, 2005, **129**: 103
- [13] Fujiwara H *et al. Biochim Biophys Acta*, 2005, **1751**: 26
- [14] Sato Y *et al. J Clin Endocrinol Metab*, 2002, **87**: 4287
- [15] Neve BP *et al. Circulation*, 2001, **103**: 207

## Gene Expression Profiles Analysis Related to Invasion of Trophoblasts

Cai-Bo Fan<sup>1,2</sup>, Jun-Lin He<sup>1\*</sup>, Ying-Xiong Wang<sup>1</sup>, Xue-Qing Liu<sup>1</sup>, Xue-Mei Chen<sup>1</sup>, Yu-Bin Ding<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>Laboratory of Reproductive Biology, Department of Genetics, School of Public Health; <sup>2</sup>Key Laboratory of Laboratory Medical Diagnostics, Ministry of Education, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

**Abstract** Cytotrophoblast cells (CTB) and extravillous trophoblast cells (EVT) from 8 week to 12 week normal villous and deciduas were separated and collected. The total RNA of CTB and EVT were extracted respectively. The CTB and EVT gene chip hybridization and gene expression profiles data extraction were performed in Shanghai Biochip Limited Company. The differential expression gene between CTB and EVT were analyzed by computer. We found 1 318 differential expression genes (813 genes up-regulated and 505 genes down-regulated respectively) and queried their biological functions and classified categories according to the standard of Gene Ontology. This study would help us to reveal the mechanism of gene network regulation in EVT invasion in early embryo development.

**Key words** cytotrophoblast cells; extravillous trophoblast cells; gene chip; gene expression profiles; invasion

Received: August 7, 2006 Accepted: October 20, 2006

This work was supported by the Key Program of Nature Science Foundation of Chongqing (No.2004-47) and Family Planning Committee of Chongqing (No.2004-007)

\*Corresponding author. Tel: 86-23-68485001, E-mail: hejunlin\_11@yahoo.com.cn