

子痫前期相关 Siglec-6 核心基因的预测及生物信息学分析

秦金金, 曹辰媛, 邢杰杰, 安燕, 黄煜湘

(河北大学附属医院产科, 河北 保定 072550)

摘要:目的 探讨子痫前期高通量生物信息学分析与核心发病基因。方法 选取基因表达综合数据库(Gene Expression Omnibus, GEO)2个关于子痫前期编码基因芯片数据进行生物信息学分析。通过R语言对2组数据进行均一化校正,其后找到共同上调和下调表达的差异基因。对上调和下调表达的差异基因进行基因本体富集分析、京都百科全书信号通路富集分析、蛋白互作网络分析以及核心基因计算分析,找到与子痫前期最相关的发病基因及信号通路。随机选取河北大学附属医院产科5例子痫前期患者和正常产妇的胎盘组织进行实时定量聚合酶链反应对核心基因进行验证实验。结果 融合子痫编码基因芯片 GSE43942 和 GSE66273 筛选出 38 个共同上调和 20 个共同下调表达的基因。全部数据经均一化处理后的基因本体分析显示,生物功能富集于促卵泡激素分泌的正向调节,分子组成富集于细胞外区,细胞组分富集于激素活性,信号通路富集于肽激素代谢通路。蛋白质互作网络结果显示,全部差异基因间共 58 个点,30 条线,cytohubba 对全部点和线分析计算后锁定 Siglec-6 为子痫前期发病的核心基因。实时定量聚合酶链反应验证子痫前期孕妇胎盘组织内 Siglec-6 表达是正常孕妇体内的 2.85 倍,与生物信息学分析结果一致。结论 Siglec-6 可作为子痫前期血清学诊断的潜在诊疗标志物,并希望成为此疾病新的治疗靶点。

关键词:子痫前期;高通量生物信息学分析;基因本体富集分析;京都百科全书信号通路富集分析;蛋白互作网络分析;实时定量聚合酶链反应

中图分类号:R714.244

文献标志码:A

Predication and bioinformatics analysis of preeclampsia-related Siglec-6 core genes

QIN Jinjin, CAO Chenyuan, XING Jiejie, AN Yan, HUANG Yuxiang

(Department of Obstetrics, Affiliated Hospital of Hebei University, Baoding 072550, Hebei, China)

Abstract: Objective To investigate the core pathogenesis genes of preeclampsia through high throughput bioinformatics analysis. **Methods** Two microarray datasets of preeclampsia coding genes from Gene Expression Omnibus (GEO) were selected for bioinformatics analysis. The datasets were homogenized and corrected with R language, and then the up-regulated and down-regulated differentially expressed genes were selected, which were then analyzed with gene ontology enrichment, Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) signal pathway enrichment, protein interaction network analysis and core gene calculation analysis to identify the most relevant pathogenesis genes and signal pathways of preeclampsia. Five placentas of preeclampsia patients and normal pregnant women were randomly selected for real-time quantitative PCR to verify the core genes. **Results** A total of 38 up-regulated and 20 down-regulated genes were screened from the microarray GSE43942 and GSE66273. After homogenization of all data, gene ontology analysis showed that biological function was enriched in positive regulation of follicle-stimulating hormone secretion, molecular composition was enriched in extracellular region, and cell component was enriched in hormone activity. KEGG signaling pathway was enriched in the Peptide hormone metabolism pathway. The protein interaction network showed that there were 58 points and 30 lines among all differentially expressed genes. The cytohubba analysis identified Siglec-6 as the core gene of preeclampsia. The real-time quantitative PCR showed that the expression of Siglec-6 in the placental tissue of pre-

eclampsia pregnant women was 2.85 times that of normal pregnant women, which was consistent with the results of bioinformatics analysis. **Conclusion** Siglec-6 could be used as a potential diagnostic and therapeutic marker for preeclampsia.

Key words: Preeclampsia; High throughput bioinformatics analysis; Gene ontology enrichment analysis; Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes signal pathway enrichment analysis; Protein interaction network analysis; Real-time quantitative PCR

子痫前期是妊娠期特有的并发症,主要表现为妊娠 20 周后会出现血压升高,并对机体多个系统器官造成严重损害^[1]。目前,妊娠期高血压发病率逐年上升,是危害孕妇和胎儿身体健康的一个重要危险因素^[2-3]。临床诊断以检测血压和 24 h 尿蛋白进行评估。当前治疗手段多以降压和改善肾功能等对症支持治疗为主,使孕妇顺利度过围产期^[4]。因目前对妊娠期高血压特别是子痫前期的发病机制尚不清晰^[5-8],因此有效的早期诊断方法尚缺乏。孕妇体内的多肽如脑钠肽、腺苷酸活化的蛋白激酶、胸腺素 B4 以及血管内皮生长因子被认为有潜在诊断子痫前期的功能,并可作为分子靶标进行治疗^[9],但尚未在临床得到广泛应用。本研究通过对高通量生物信息数据库进行挖掘,应用高通量生物信息分析工具^[10]进行数据分析,以期通过对大数据生物信息分析的方法筛选出子痫前期患者的核心发病基因,并为后续的研究提供科学可靠的研究方向。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取 2020 年 1 月至 12 月在河北大学附属医院产科行剖宫产的子痫前期患者 5 例以及正常产妇 5 例的胎盘组织。子痫前期患者年龄 24~36 岁,平均(27.12±3.24)岁,体质量指数(body mass index, BMI)为24.61±2.58,收缩压(156.06±6.65)mmHg,舒张压(101.35±5.48)mmHg,尿蛋白(3.47±0.53)g/24 h;孕周(35.43±3.18)周;胎儿体质量(2.18±0.42)kg。正常产妇年龄 25~35 岁,平均(26.67±3.29)岁;BMI 为 25.63±3.10,收缩压(108.55±5.93)mmHg,舒张压(71.69±5.07)mmHg,尿蛋白未检出,孕周(38.05±3.10)周,胎儿体质量(3.16±0.74)kg。两组年龄和 BMI 比较差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

纳入标准:①妊娠前月经周期正常;②单胎妊娠;③两组孕妇签署知情同意书。

排除标准:①合并内分泌及自身免疫性疾病;②合并慢性高血压、心脏病、糖尿病;③合并多胎妊娠、胎儿异常、胎膜早破、感染。子痫前期诊断标准

参照《妇产科学》(第 9 版)中相关标准。胎盘的处理:胎盘娩出后 30 min 内,选取胎盘中部避开基底膜与羊膜处,切取约 1.0 cm×1.0 cm 的组织,共 3 块,冰盐水漂洗后,液氮速冻并转运至-80℃冰箱中备用。本研究经河北大学附属医院伦理委员会批准(HDFY-LL-2021-238)。

1.2 方法

1.2.1 子痫前期基因芯片数据

编码基因芯片 GSE43942 和 GSE66273 来源于基因表达综合数据库(gene expression omnibus, GEO)(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>)。GSE43942 芯片含有 5 例子痫前期患者和 7 例正常孕妇患者胎盘组织。GSE66273 含有 6 例子痫前期患者和 5 例正常孕妇患者胎盘组织。全部数据在分析前均应用计算机 R 语言以及 Limma 分析包进行均一化处理,应用 GEO2R 算法进行差异表达基因的计算。设置 P 值和差异倍数(fold change, FC)进行差异基因的筛选。当 $P<0.05$, $|\log_2 FC|>2$ 时差异具有统计学意义。其后将 2 组基因芯片进行融合分析,筛选共同差异表达的上调和下调的编码基因。

1.2.2 功能富集分析

应用 DAVID(<https://david.ncifcrf.gov/>)在线分析软件^[11]进行基因本体和京都百科全书信号通路富集分析。其中基因本体分析包括生物过程、分子功能和细胞组分。TBtools 进行数据分析和可视化呈现。R 语言进行信号通路“气泡图”绘制。

1.2.3 蛋白质互作网络分析

应用 STRING(<http://string-db.org/cgi/input.pl>)在线分析软件^[12]进行蛋白质互作网络分析。其中将全部共同差异表达的基因输入多种蛋白质对话框,物种选择人类。网络边缘定义为可信。最小关联评分 ≥ 0.400 。数据分析方法包括文本挖掘、实验数据、主流数据库、共表达报道、互作关系、基因融合关系、共现关系等 7 方面进行计算。

1.2.4 核心发病基因预测

应用 cytoscape 软件(<https://cytoscape.org/>)对蛋白质互作网络分析结果进行可视化处理,其后应用内置应用软件 cytohubba 从 11 个不同的方面进行

多维度拓扑计算,根据 degree 算法进行全部差异表达基因关联分数排列,对核心基因进行分析。

1.2.5 实时定量聚合酶链反应

TRIZOL 试剂(购自美国 GIBCO/BRL 公司)进行组织 RNA 提取,并验证 RNA 浓度及纯度($1.8 \leq OD_{260}/OD_{280} \leq 2.0$)。然后进行 RNA 逆转录以及实时定量 PCR。其中 SIGLEC6 顺向引物序列为 AGCCTCGTACTATGGTTATGGC,反向引物序列为 CACTTCTTCGTCTGGGTCGTT。内参基因 GGA-GCGAGATCCCTCCAAAAT,反向引物序列为 GGCTGTTGTCATACTTCTCATGG。实验重复 3 次。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 22.0 软件进行统计分析,计量资料

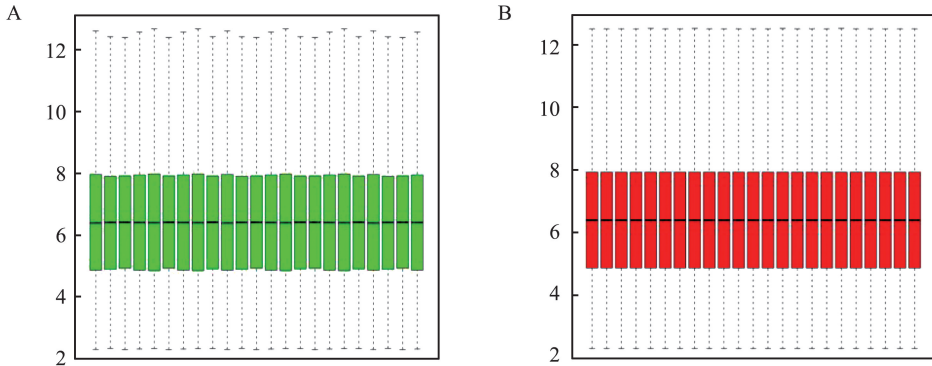


图 1 对数据库中 11 例子痫前期患者和 12 例正常孕妇患者基因芯片数据均一化处理 A:处理前;B:处理后。

Figure 1 The gene chip data of 11 cases of preeclampsia patients and 12 cases of normal pregnant women in the database were homogenized A: Before processing; B: After processing.

2.2 差异基因本体分析

全部差异基因本体分析结果显示,生物过程富集于促卵泡激素分泌生成的正调控,血管生成,细胞增殖的正调控,胰高血糖素分泌的负调节,卵泡刺激

以 $\bar{x} \pm s$ 表示,实时定量聚合酶链反应计算基因相对差异倍数采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 算法。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 芯片差异基因

GSE43942 包含 236 个差异上调表达的基因和 166 个差异下调表达的基因。GSE66273 包含 233 个差异上调表达的基因和 268 个差异下调表达的基因。对两组基因芯片进行融合分析后,筛选出 38 个共同差异上调表达和 20 个共同差异下调表达的基因。全部数据经均一化处理后进行后续分析,均一化结果见图 1。

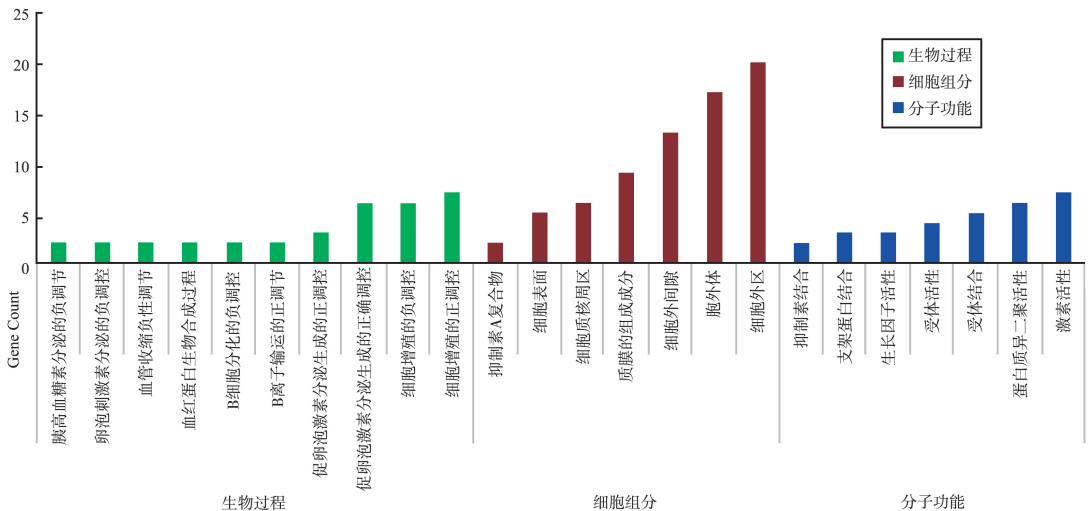


图 2 基因本体包括生物过程、细胞组分、分子功能分析结果

Figure 2 Analysis results of gene ontology, including biological process, cellular component, and molecular function

素分泌的负调控。细胞组分富集于细胞外区,细胞外间隙,抑制素 A 复合物,胞外体,细胞质核周区。分子功能富集于激素活性,支架蛋白结合,蛋白质异二聚活性,抑制素结合,受体结合,详细表达见图 2。

2.3 差异基因信号通路分析

全部差异基因 KEGG 信号通路富集于肽激素代谢,糖皮质激素代谢途径,TP53 调节,类风湿关节炎

炎生物合成途径,白细胞介素-4 和白细胞介素-13 信号转导通路,详见图 3。

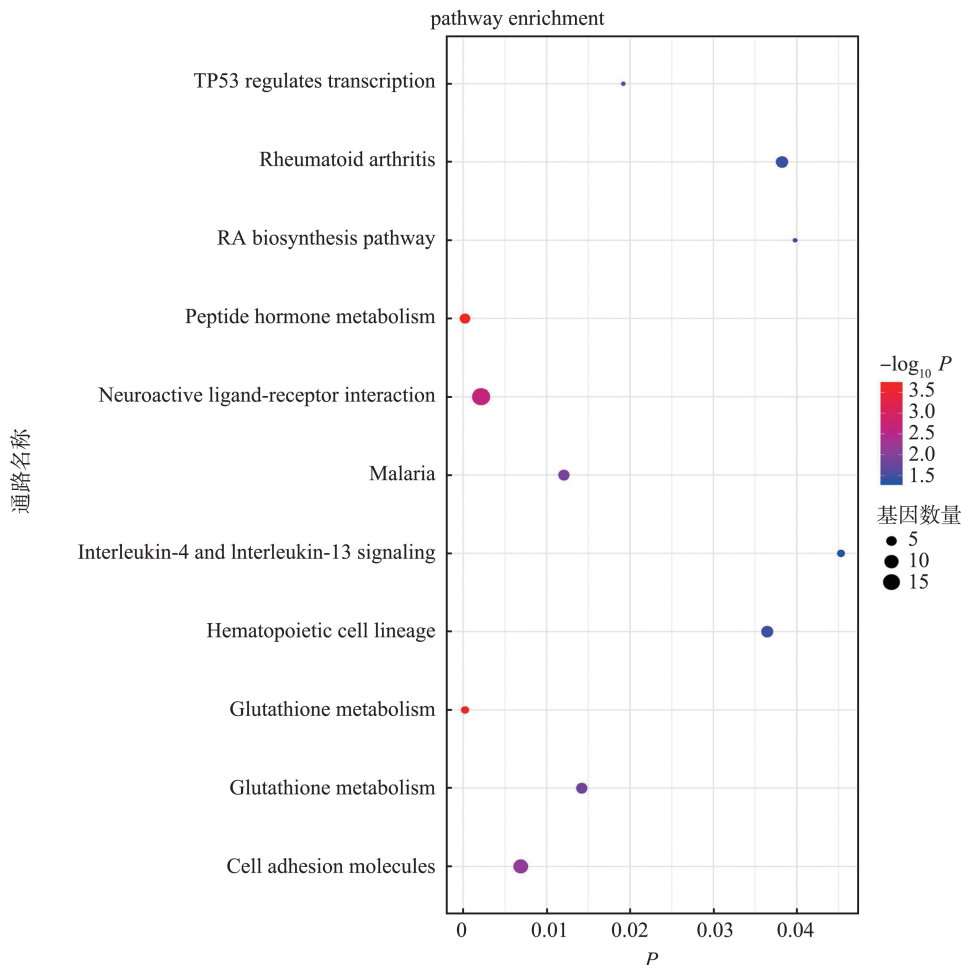


图 3 差异基因信号通路分析(点的大小代表基因数,颜色渐变代表 P 值大小)。

Figure 3 Analysis of the signaling pathways of differentially expressed genes (The dot size indicated number of genes, the color indicated the P values)

2.4 蛋白质相互作用网络分析

上调基因蛋白质相互作用网络:包括 38 个点,15 条线, $P = 1.23e^{-06}$ 。下调基因蛋白质相互作用网络包括 20 个点,4 条线, $P = 0.0612$ 。共同表达基因蛋白质相互作用网络包括 58 个点,30 条线, $P = 5.01e^{-08}$ 。

2.5 核心发病基因预测

将蛋白质相互作用网络分析所得到的基因间关系输入 cytoscape 进行 cytohubba 模块分析。将全部核心基因根据 degree 程度排列,依次 Siglec-6 为 5 分,Inha 为 4 分,Slamf1 为 3 分,Pappa2 为 3 分,Mmp1 为 3 分。因此 Siglec-6 为子痫前期发病的核心基因,详见图 4。

2.6 实时定量 PCR 实验

实时定量 PCR 显示 Siglec-6 在子痫前期患者胎盘组织中的相对 CT 值为 (2.73 ± 0.32) ,在正常患者胎盘组织中相对 CT 值 (4.243 ± 0.52) ,表达差异倍

数为 2.85,差异有统计学意义($P < 0.05$),详见图 5。

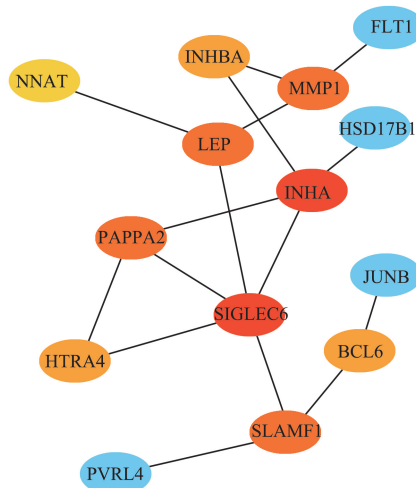


图 4 蛋白质相互作用网络图(颜色渐变代表前 10 位核心发病基因)

Figure 4 The interaction network of proteins (The color indicated the 10 most important core etiological genes)

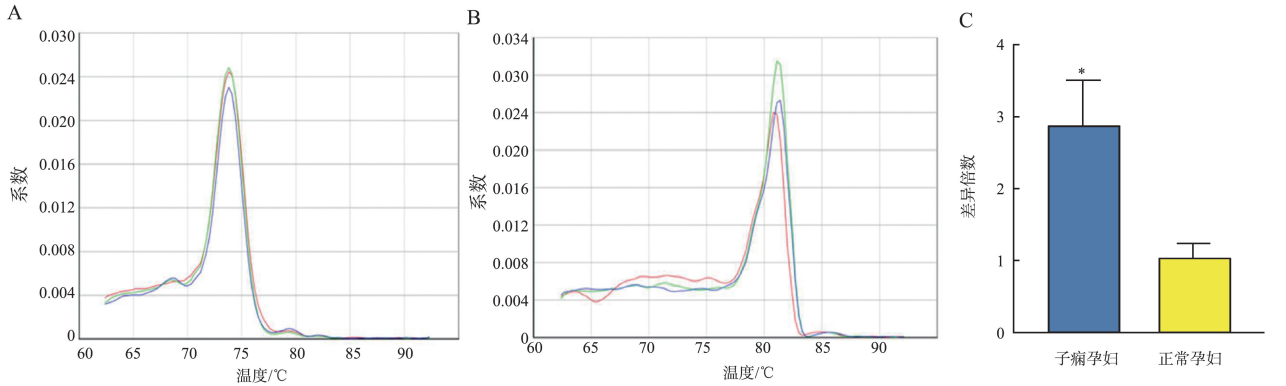


图5 qRT-PCR 溶解曲线显示 ASIGLEC6 的 CT 值和差异表达倍数

A: Siglec-6 在子痫前期患者胎盘组织中的溶解曲线; B: Siglec-6 在正常孕妇胎盘组织中的溶解曲线; C: $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算 Siglec-6 在子痫前期患者胎盘组织中表达量是正常孕妇胎盘组织中的 2.85 倍。

Figure 5 The qRT-PCR dissolution curves indicating of CT value and fold numbers of differentiated expressions of Siglec-6

A: The dissolution curves of Siglec-6 in preeclampsia patient's placental tissue; B: The dissolution curves of Siglec-6 in normal pregnant women's placental tissue; C: $2^{-\Delta\Delta Ct}$ calculated that the expression of Siglec-6 in the placentas of preeclampsia patients was 2.85 times that of normal pregnant women.

3 讨论

子痫前期是一种严重危害孕妇和胎儿健康的围产期并发症^[13]。目前临床诊断主要依靠于监测血压以及检测 24 h 尿蛋白含量。但是由于生理状态下血压波动较大,且影响因素较多,很难精确区分妊娠期高血压的程度^[14]。而即使做出精确诊断,胎儿娩出仍是目前唯一的有效方法,主要原因是子痫前期的分子机制不明确^[15]。当前学者认为子痫前期是由多种混合因素造成,包括胎盘发育不良、胎盘缺血、血管重塑、滋养细胞不足等因素^[2],也针对不同的发病机制提出了潜在诊疗标志物以及治疗靶点,包括抗血管生成因子、血管内皮生长因子、胸腺素 B4 肽、脑钠肽、胎盘生长因子以及同型半胱氨酸。但上述物质诊断特异性较低,随着二代测序技术的发展和进步,生物信息学在子痫前期靶基因的预测和分析等研究中发挥了重要作用^[16]。而本研究利用先进的生物信息学工具对既往子痫相关数据在基因组学方面进行深入分析。

本研究通过对子痫前期患者和正常孕妇测序结果进行分析后,将 2 个基因芯片的数据进行整合,寻找出在 2 个基因芯片中均呈现一致性表达的基因。其后对全部基因数据进行均一化处理,此方法可以有效的剔除“垃圾信息”。这也是现代生物信息学在数据分析方面所具备的独特优势。因为在数据测序的过程中,会出现许多与所要研究的疾病并不相关的基因变化,这些基因会对最终的结果造成一定的偏差。在生物信息学出现之前,如此庞大的基因偏差很难被全面的一次性排除。比如 CCL4、

ACTG2、NNT、WNT2 虽然在 GSE43942 中差异性表达,但是似乎与重度子痫前期并无太直接的联系,诸如此类的基因在测序结果中有成百上千个,逐一进行排查显然费时费力,而应用生物信息学进行分析后可以简单、方便的排除此类不相关的信息,也就是所谓的“垃圾信息”。

本研究结果显示, Siglec-6 是子痫前期患者发病的关键基因。Siglec-6 是 Siglecs 家族中的一员,是一种跨膜受体,其基因仅在灵长类动物中表达^[17]。Siglec-6 在人类胎盘呈特异性表达,研究表明, Siglec-6 妊娠早期仅在细胞滋养层和合体滋养层细胞中表达,而且其表达水平在妊娠早期较高,后随妊娠周期而逐渐下降^[18]。Siglec-6 配体瘦蛋白与子宫糖基化脂蛋白均是分泌蛋白,通过机体的内分泌或旁分泌发挥生理作用。在子痫前期患者中, Siglec-6 在胎盘上的表达随妊娠周期的增加而上升,妊娠早期主要在合体滋养层与部分基质细胞表达。而在妊娠后期,细胞滋养层也会有部分表达。而在子痫前期患者中, Siglec-6 的表达相较于正常妊娠者明显升高^[19]。因此 Siglec-6 表达水平的异常升高可能与子痫前期的发病机制有关。这将为 Siglec-6 成为诊断标志物提供必要的条件。Várkonyi 等^[20]也发现 Siglec-6 在子痫前期患者和 HELLP 综合征胎盘组织中存在共同趋势的差异性表达,而且推测炎症反应可能参与子痫前期患者发病。虽然文章尚未对炎症反应如何参与子痫前期做出进一步的研究,但是推测可能是 Siglec-6 调节胎盘组织中的瘦素进而引起的一系列免疫炎症反应。事实上,早在 2014 年和 2015 年 Trifonova 等^[21]、Kaartokallio 等^[22]就发现 Siglec-6 在子痫前期孕妇胎盘中过度

表达。但是受到当时生物信息学发展的限制, Siglec-6并未引起研究者的关注。而随着生物信息学的发展,使得本研究通过多种分析方法最终锁定 Siglec-6 作为子痫前期患者发病过程中的核心基因,且通过实验的方法验证 Siglec-6 在子痫前期患者胎盘组织中呈现高表达,与既往研究一致。因此 Siglec-6 具备成为子痫前期患者潜在的诊疗标志物的可能。

本研究 KEGG 信号通路富集分析结果显示,激素代谢通路可能是子痫前期发病的关键信号通路。关于子痫前期患者体内激素变化水平,Zhang 等^[23]通过对 203 个子痫前期孕妇体内性激素基因多态性方面进行研究,发现 TXNRD2/COMT、SULT1A2/SULT1A1、CYP17A1、HSD17B3、GNRHR、LHCGR 和 SULF1 等基因多态性可能与子痫前期患者具有相关性。Shin 等^[24]通过对子痫前期患者体内类固醇激素进行研究,对比了雌激素、黄体酮、孕烯醇酮和脱氢表雄酮等 4 种激素后发现,这 4 种激素在子痫前期患者胎盘组织和血液中均呈现低表达趋势,而其中雌激素、黄体酮下降明显具有统计学意义,提示这两种激素可能是子痫发病过程中通过体内激素代谢通路参与疾病的发生和发展。不仅类固醇激素可能参与子痫前期患者的发病,Procopciuc 等^[25]发现 D2-Thr92Ala 基因突变通过调节甲状腺激素也会参与到子痫的发病过程中。推测激素代谢通路可能是子痫前期发病的关键信号通路。

综上所述,Siglec-6 作为子痫前期发病的关键基因,可作为子痫前期血清学诊断的潜在诊疗标记物,并有希望成为此疾病新的治疗靶点,值得临床借鉴。

参考文献:

- [1] Rana S, Lemoine E, Granger JP, et al. Preeclampsia: pathophysiology, challenges, and perspectives [J]. *Circ Res*, 2019, 124(7): 1094-1112.
- [2] 李晓琼, 季东林, 胡海琴, 等. 孕早期胎盘生长因子、同型半胱氨酸及血管内皮生长因子对妊娠期高血压疾病的预测价值[J]. *中国妇产科临床杂志*, 2020, 21(1): 87-88.
- [3] 中华医学会妇产科学分会妊娠期高血压疾病学组. 妊娠期高血压疾病诊治指南(2020)[J]. *中华妇产科杂志*, 2020, 55(4): 227-238.
- [4] 马善朵, 王维俊, 冯文. Hcy、ET-1 和 mALB 联合检测用于妊娠高血压疾病患者肾损伤的早期诊断[J]. *国际检验医学杂志*, 2020, 41(1): 120-122.
- [5] 廖灵蕴, 刘敏, 张燕萍, 等. 子痫前期孕妇胎盘组织中 circRNA 表达谱及 circRNA-miRNA-mRNA 相互作用网络分析[J]. *中华妇产科杂志*, 2023, 58(6): 430-441. LIAO Lingyun, LIU Min, ZHANG Yanping, et al. Circular RNA expression profiles and circRNA miRNA mRNA crosstalk in pre-eclampticplacenta [J]. *Chinese Journal of Obstetrics and Gynecology*, 2023, 58(6): 430-441.
- [6] Rana S, Lemoine E, Granger JP, et al. Preeclampsia: pathophysiology, challenges, and perspectives [J]. *Circ Res*, 2019, 124(7): 1094-1112.
- [7] 隋欣爽, 孙敬霞, 袁晶, 等. 内皮细胞特异性分子与子痫前期关系的研究进展[J]. *国际妇产科学杂志*, 2021, 48(2): 169-173. SUI Xinshuang, SUN Jingxia, YUAN Jing, et al. Research progress on the relationship between endocan and pre-eclampsia [J]. *Journal of International Obstetrics and Gynecology*, 2021, 48(2): 169-173.
- [8] Ives CW, Sinkey R, Rajapreyar I, et al. Preeclampsia-pathophysiology and clinical presentations: JACC state-of-the-art review [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2020, 76(14): 1690-1702.
- [9] 黄金, 贾瑞喆. 母体中多肽与子痫前期相关性的研究进展[J]. *医学综述*, 2020, 22(1): 322-325. HUANG Jin, JIA Ruizhe. Advances in research on relationship between polypeptide in mother and preeclampsia [J]. *Medical Recapitulate*, 2020, 22(1): 322-325.
- [10] Wang W, Wang T, Wang Y, et al. Integration of gene expression profile data to verify hub genes of patients with stanford aortic dissection [J]. *Biomed Res Int*, 2019, 2019: 3629751. doi: 10.1155/2019/3629751.
- [11] Huang DW, Sherman BT, Tan Q, et al. The DAVID gene functional classification tool: a novel biological module-centric algorithm to functionally analyze large gene lists [J]. *Genome Biol*, 2007, 8(9): R183. doi: 10.1186/gb-2007-8-9-r183.
- [12] Szklarczyk D, Franceschini A, Kuhn M, et al. the STRING database in 2011: functional interaction networks of proteins, globally integrated and scored [J]. *Nucleic Acids Res*, 2011, 39: 561-568. doi: 10.1093/nar/gkq973.
- [13] Jim B, Karumanchi SA. Preeclampsia: pathogenesis, prevention, and long-term complications [J]. *Semin Nephrol*, 2017, 37(4): 386-397.
- [14] 孙宁玲. 2018 年欧洲心脏病学会《妊娠期心血管疾病诊疗指南》中妊娠期高血压疾病简介及解读[J]. *中华高血压杂志*, 2019, 27(5): 401-403.
- [15] Mohamad, Muhammad A, Mohd M, et al. A review of candidate genes and pathways in preeclampsia-an integrated bioinformatical analysis [J]. *Biology (Basel)*, 2020, 9(4): 62. doi: 10.3390/biology9040062.
- [16] Tian QX, Xia SH, Wu YH, et al. Comprehensive analy-

- sis of the differential expression profile of microRNAs in missedabortion [J]. *Kaohsiung J Med Sci*, 2020, 36 (2): 114-121.
- [17] Brinkman-Van der Linden EC, Hurtado-Ziola N, Hayakawa T, Wiggleton L, et al. Human-specific expression of Siglec-6 in the placenta [J]. *Glycobiology*, 2007, 17 (9): 922-931.
- [18] Rumer KK, Uyenishi J, Hoffman MC, et al. Siglec-6 expression is increased in placentas from pregnancies complicated by preterm preeclampsia [J]. *Reprod Sci*, 2013, 20(6): 646-653.
- [19] Winn VD, Gormley M, Paquet AC, et al. Severe preeclampsia-related changes in gene expression at the maternal-fetal interface include sialic acid-binding immunoglobulin-like lectin-6 and pappalysin-2 [J]. *Endocrinology*, 2009, 150(1): 452-462.
- [20] Várkonyi T, Nagy B, Füle T, et al. Microarray profiling reveals that placental transcriptomes of early-onset HELLP syndrome and preeclampsia are similar [J]. *Placenta*, 2011, Suppl(0): S21-29.
- [21] Trifonova EA, Gabdulina TV, Ershov NI, et al. Analysis of the placental tissue transcriptome of normal and preeclampsia complicated pregnancies [J]. *Acta Naturae*, 2014, 6(2): 71-83.
- [22] Kaartokallio T, Cervera A, Kyllönen A, et al. Gene expression profiling of pre-eclamptic placentae by RNA sequencing [J]. *Sci Rep*, 2015, 21(5): 14107. doi: 10.1038/srep17245.
- [23] Zhang P, Yang H, Feng Y, et al. Polymorphisms in sex hormone metabolism genes and risk of preeclampsia in Taiyuan, China [J]. *Gynecol Obstet Invest*, 2018, 83 (2): 179-186.
- [24] Shin YY, Jeong JS, Park MN, et al. Regulation of steroid hormones in the placenta and serum of women with preeclampsia [J]. *Mol Med Rep*, 2018, 17(2): 2681-2688.
- [25] Procopciuc LM, Caracostea G, Hazi G, et al. D2-Thr92Ala, thyroid hormone levels and biochemical hypothyroidism in preeclampsia [J]. *Gynecol Endocrinol*, 2017, 33(2): 136-140.

(编辑:刘霞)