

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2020.08.010

滋养细胞胞内双链 DNA 感受器通过 MAPK/I κ B 信号 介导炎性细胞因子分泌*

蒋锦杏¹ 张 慧³ 任莉莉¹ 高 宇^{2Δ} 李 宁^{1Δ}

(1 暨南大学 第二临床医学院(深圳市人民医院)生物治疗室 广东 深圳 518020;

2 暨南大学 第二临床医学院(深圳市人民医院)妇产科 广东 深圳 518020;

3 中国科学院大学深圳医院(光明)医学遗传与分子诊断中心 广东 深圳 518106)

摘要 目的:探究滋养细胞能否感受胞内双链 DNA 刺激及其对炎性因子分泌的影响,揭示胎盘的免疫识别和免疫屏障功能,探讨妊娠期感染所致不良妊娠结局的发病机制。**方法:**利用人工合成的双链 DNA 模拟物 poly (dA:dT) 转染人滋养细胞系 HTR-8/SVneo, Real-Time PCR 方法检测滋养细胞胞内双链 DNA 识别受体的表达水平; Western Blot 检测滋养细胞 MAPK 和 I κ B 信号的活化情况; ELISA 检测 HTR-8/SVneo 细胞培养上清中 IL-6、IL-8、MCP-1、CXCL10 的分泌水平。**结果:**Real-Time PCR 结果表明, HTR-8/SVneo 能够感受胞内双链 DNA 刺激并上调包括 IFI16、AIM2、DHX36、DHX9、LRRFIP1、KU70、ZBP1/DAI 和 DDX41 在内的多种双链 DNA 感受器的 mRNA 表达水平; Western Blot 实验结果表明, 滋养细胞识别双链 DNA 后能够促进 MAPK 和 I κ B 信号通路活化, 转染 90 分钟后 ERK、JNK、p38 和 I κ B α 的磷酸化水平最高, 其后随着时间逐渐减弱; 加入 I κ B、p38 和 JNK 特异性抑制剂能够抑制 poly(dA:dT) 介导的 IL-8、IL-6 和 CXCL10 分泌, 但其分泌不受 ERK 抑制剂的影响; MCP-1 的分泌能够被 p38 和 JNK 抑制剂阻断, 但 p38 和 ERK 抑制剂不影响其分泌。**结论:**人滋养细胞存在功能性胞内双链 DNA 识别机制, 活化的 DNA 识别信号能够激活 MAPK 和 I κ B 信号通路, 并通过 I κ B、p38 或 JNK 信号介导 IL-8、IL-6、MCP-1 及 CXCL10 等细胞因子和趋化因子的分泌。

关键词:胞内双链 DNA 感受器; 滋养细胞; MAPK/I κ B 信号通路; 炎性细胞因子

中图分类号:R-33; R392.11 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2020)08-1446-05

Trophoblastic Intracellular Double-stranded DNA Sensors Mediate Inflammatory Cytokines Secretion via MAPK/ I κ B Signaling Pathway*

JIANG Jin-xing¹, ZHANG Hu³, REN Li-li¹, GAO Yu^{2Δ}, LI Ning^{1Δ}

(1 Cytotherapy Laboratory, The Second Medical College of Jinan University, Shenzhen People's Hospital, Shenzhen, Guangdong,

518020, China; 2 Department of Obstetrics and Gynecology, The Second Medical College of Jinan University, Shenzhen People's

Hospital, Shenzhen, Guangdong, 518020, China; 3 Department of Obstetrics and Gynecology,

The Center for Medical Genetics and Molecular Diagnosis, Shenzhen, Guangdong, 518106, China)

ABSTRACT Objective: The study was preformed to investigate the expression pattern of intracellular double-stranded DNA sensors in human trophoblast cells and its effect on the secretion of inflammatory factors, to reveal the immune recognition and immune barrier function of placenta, and to better understand the pathogenesis of adverse pregnancy outcomes caused by pregnancy infection. **Methods:** Synthetic double-stranded DNA (dsDNA) mimics, poly (dA:dT), were transfected into human trophoblast cell line HTR-8/SVneo, double-stranded DNA sensors' mRNA were detected by quantitative real-time PCR and the phosphorylation levels of MAPK and I κ B signaling were detected by Western Blot. ELISA was used to detect IL-6, IL-8, MCP-1 and CXCL10 secretion. **Results:** Real-Time PCR results showed that IFI16, AIM2, DHX36, DHX9, LRRFIP1, KU70, ZBP1/DAI and DDX41 mRNA levels were dramatically upregulated in HTR-8/SVneo cells. The phosphorylation levels of ERK, JNK, p38 and I κ B were elevated at 90 minutes after poly (dA:dT) transfection, and then gradually decreased. The induction of IL-8, IL-6 and CXCL10 secretion is dependent on I κ B, p38 and JNK signaling pathways; MCP-1 secretion is dependent on p38 and JNK signaling pathways. However, these cytokines and chemokines were not affected by ERK inhibitor. **Conclusions:** Human placental trophoblast cells express functional intracellular double-stranded DNA sensors, which can recognize double-stranded DNA and activate MAPK/I κ B signaling pathways that mediate the secretion of IL-8, IL-6, MCP-1 and CXCL10.

* 基金项目: 广东省自然科学基金项目(2017A030310646, 2019A1515011068); 广东省科技计划项目(2016A020215207);

深圳市科技计划项目(JCYJ20180228164515747); 中国博士后基金项目(2018M643371)

作者简介: 蒋锦杏(1984-), 女, 硕士, 主管技师, 临床免疫学方向, 电话: 15889657572, E-mail: jiang.jinxing@szhospital.com

Δ 通讯作者: 李宁, 男, 博士, E-mail: lining.yatu@hotmail.com;

高宇, E-mail: gaoyucool@126.com

(收稿日期: 2019-11-06 接受日期: 2019-11-30)

Key words: Intracellular double-stranded DNA sensor; Trophoblast cells; MAPK/I κ B signaling pathway; Inflammatory cytokines

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R392.11 **Document code:** A

Article ID:1673-6273(2020)08-1446-05

前言

妊娠疾病严重威胁孕产妇及新生儿生命健康,2015 年全球约有 30.3 万孕产妇在妊娠期或围产期死亡^[1]。子宫内感染是导致流产、早产、胎儿宫内发育迟缓、胎盘早剥、围产期及新生儿发病率和死亡率等不良妊娠结局的重要诱因之一。胎盘滋养细胞不仅是妊娠建立和维持的物质基础,还是母-胎界面特殊的固有免疫细胞,多种妊娠疾病均与滋养细胞功能障碍密切相关。滋养细胞表达多种固有免疫识别受体,使得胎盘形成一个高效的免疫学屏障以抵抗病原微生物感染和垂直传播,但其具体的分子机制尚未完全阐明。

子宫内感染过程中病原微生物释放出大量的核酸成份,其中病原来源的双链 DNA 可作为病原相关分子模式(Pathogen-associated molecular patterns, PAMPs)被胞内双链 DNA 识别受体识别,从而介导固有免疫应答以抵御病原微生物入侵。胞内双链 DNA 识别受体(Cytosolic double-stranded DNA sensor)是近年来新发现的模式识别受体(Pattern recognition receptors, PRRs),能够广泛识别病毒、细菌等病原来源的 DNA 成份^[2-7]。尽管滋养细胞固有免疫识别功能越来越受到关注,但是滋养细胞能否识别外源 DNA 成份及其对滋养细胞功能的影响尚未阐明。

本研究以人滋养细胞系为体外研究模型,探究滋养细胞能否感受胞内双链 DNA 刺激及其对炎性因子分泌的影响,不仅有助于揭示胎盘的免疫识别和免疫屏障功能,同时也为深入探讨妊娠期感染所致不良妊娠结局的发病机制奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

人工合成的双链 DNA 模拟物 poly(dA:dT)购自 Invivogen 公司;DNA 转染试剂 LyoVec 购自 Invivogen 公司;Trizol 试剂购自 Sigma 公司;RT-PCR 试剂购自 TaKaRa 公司;FastStart Universal SYBR Green Master 购自 Roche 公司;PCR 引物由上海生工生物公司合成;phospho-ERK、ERK、phospho-JNK、JNK、phospho-p38、p38、phospho-I κ B、I κ B 购自 CST 公司; β -Tubulin 购自天津三箭生物技术公司;goat anti-rabbit IgG-HRP、goat anti-mouse IgG-HRP 购自 Santa Cruz 公司;Bay 11-7082、SB203580、SP600125、PD98059 购自 Tocris 公司;Human IL-6、IL-8、MCP-1、CXCL10 等 ELISA 试剂盒购自 R&D 公司。

1.2 方法

1.2.1 人滋养细胞培养及处理 人滋养细胞系 HTR-8/SVneo 由中国科学院深圳先进技术研究院张键、范秀军研究员惠赠,用含 10%胎牛血清的 DMEM/F12 培养基培养。细胞处理如下:① 将培养的 HTR-8/SVneo 细胞用转染试剂 LyoVec 转染 1 μ g/mL poly(dA:dT),在转染指定时间后收集细胞总 RNA 或细胞总蛋白;② 不同特异性通路抑制剂(NF- κ B 抑制剂 Bay 11-7082, MAPK 抑制剂 SB203580、PD98059 和 SP600125)处理细胞:用 2 μ M Bay 11-7082、7 μ M SB203580、10 μ M SP600125、或 10 μ M PD98059 预先处理 HTR-8/SVneo 细胞 1h,随后用 LyoVec 转染 1 μ g/mL poly(dA:dT),48h 后收集培养上清。

1.2.2 细胞总 RNA 提取和 RT-PCR 参照 Trizol 试剂说明书提取细胞总 RNA,取总量为 2 μ g 的 RNA 反转录合成 cDNA,使用 FastStart Universal SYBR Green Master 试剂进行 Real-Time PCR 检测,同时以 GAPDH 作为内参,引物序列如表 1 所示。

表 1 基因引物序列表

Table 1 Genes and primer sequences

Genes	Forward primer	Reverse primer
AIM2	ACACGCTTCAAACCTCAGCCCCT	GGTGCTATGAACTCCAGATGTCAGC
IFI16	GGAGCAAGCCAGCACTAGTCAGC	TCCCAGAAACGGAACCGCAGGA
DHX36	GGGCAGAATCTTGTGGCAGTGGT	ATAAATACGGGTCTGACTGGAGCC
DHX9	TTCGAGTACACGCTATGGAGATCGT	GCCCCAAAGGAGTTGGCGCT
KU70	AACTCCAGAGCAGGTGGGCAAGA	GTCAGGTCCACTGCTTGTTCGG
LRRFIP1	GCTGAATCTAGGCGGCAGTACGA	TGCTTCAGGGCCTCCTTGACT
DAI/ZBP1	AGCCAACAACGGGAGGAAGACA	TGGGCGGTAAATCGTCCATGCT
DDX41	CATGCCCATCTATCTGTGGA	GGGTTCCTACTACCGCTGTCC
GAPDH	ACATCATCCCTGCCTCTACTG	ACCACCTGGTGCTCAGTGTA

1.2.3 Western Blot 检测 使用 RIPA 将 HTR-8/SVneo 细胞裂解后,提取细胞总蛋白,BCA 法测定蛋白浓度。Western Blot 检测 MAPK 和 I κ B 的磷酸化水平,以 β -Tubulin 作为内参。

1.2.4 ELISA 检测 参照 R&D 公司 DuoSet ELISA 试剂盒说明书,检测 HTR-8/SVneo 细胞培养上清中 IL-6、IL-8、MCP-1、CXCL10 的分泌水平。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 19.0 软件进行统计学分析, 计量资料以均数 $\pm$ 标准差表示, 组内比较采用 *t* 检验。 $P \leq 0.05$ 视为统计学差异显著。

2 结果

2.1 双链 DNA 上调滋养细胞胞内双链 DNA 感受器基因表达水平

为了检测人滋养细胞能否感受胞内双链 DNA 刺激, 以人工合成的双链 DNA 模拟物 poly (dA:dT) 作为激动剂转染 HTR-8/SVneo 细胞, 分析了多种胞内双链 DNA 感受器 mRNA 的表达水平。荧光定量 PCR 结果表明, HTR-8/SVneo 能够感受 poly (dA:dT) 刺激上调包括 IFI16、AIM2、DHX36、DHX9、LRRFIP1、KU70、ZBP1/DAI 和 DDX41 在内的多种双链 DNA 感受器的 mRNA 表达水平(见图 1)。

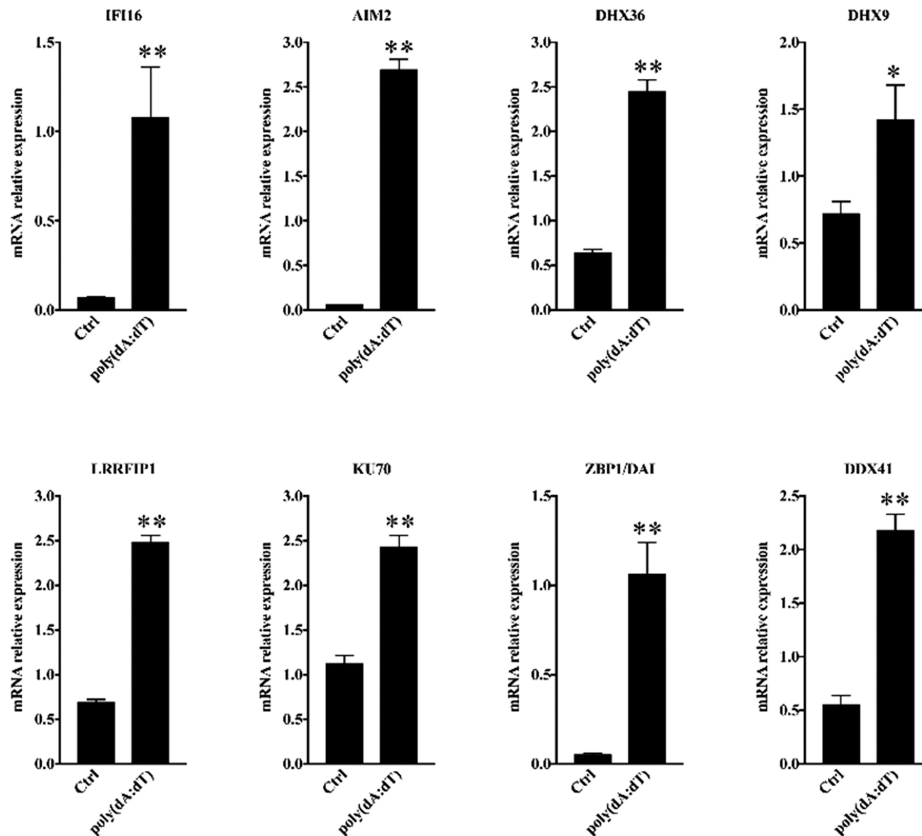


图 1 poly(dA:dT)转染前后滋养细胞胞内双链 DNA 识别受体的表达变化

Fig.1 Comparison of the changes of recognition receptors of double stranded DNA in trophoblast cells before and after poly(dA:dT) transfection

Note: Ctrl, transfection reagent LyoVec blank control; ** $P \leq 0.01$, compared with blank control group.

2.2 滋养细胞识别胞内双链 DNA 促进 MAPK 和 $\text{I}\kappa\text{B}$ 信号通路活化

为了进一步分析人滋养细胞感受胞内双链 DNA 刺激后能否激活 MAPK 和 $\text{I}\kappa\text{B}$ 信号通路, 研究利用 $1 \mu\text{g/mL}$ poly(dA:dT)转染 HTR-8/SVneo 细胞, 分别在不同时间点收集细胞总蛋白。Western Blot 实验结果表明, poly(dA:dT)能够激活 MAPK 和 $\text{I}\kappa\text{B}$ 信号通路, 且在转染 90 min 后 ERK、JNK、p38 和 $\text{I}\kappa\text{B}\alpha$ 的磷酸化水平最高, 其后随着时间逐渐减弱(如图 2 所示)。这些结果证实了人滋养细胞存在功能性胞内双链 DNA 识别机制, 能够活化 MAPK 和 $\text{I}\kappa\text{B}$ 信号通路启动免疫应答。

2.3 双链 DNA 促进细胞因子和趋化因子分泌依赖于 $\text{I}\kappa\text{B}$ 、p38 和 JNK 信号

研究利用信号通路特异性抑制剂分析滋养细胞感受胞内双链 DNA 刺激后对细胞因子和趋化因子分泌的影响。实验结果显示, Bay 11-7082、SB203580 和 SP600125 能够抑制 poly

(dA:dT) 介导的 IL-8、IL-6 和 CXCL10 分泌, 但其分泌不受 PD98059 的影响; MCP-1 的分泌能够被 SB203580 和 SP600125 抑制, 但 Bay 11-7082 和 PD98059 不影响其分泌。这些结果表明, 滋养细胞感受胞内双链 DNA 刺激通过 $\text{I}\kappa\text{B}$ 、p38 和 JNK 信号介导 IL-8、IL-6 和 CXCL10 分泌, 同时通过 p38 和 JNK 信号介导 MCP-1 分泌, 而不经由 ERK 影响这些细胞因子和趋化因子的分泌。

3 讨论

妊娠期感染是导致流产、早产、胎儿宫内发育迟缓、围产期和新生儿发病率和死亡率等不良妊娠结局的重要诱因。在妊娠期间, 胎盘是胎儿和母体进行营养物质和气体交换的场所, 不仅能够调节局部免疫形成免疫耐受微环境以保护胎儿免受免疫排斥, 还能形成高效的物理学和生物学屏障以抵抗病原微生物感染和垂直传播^[8,9], 仅有为数不多的病原微生物(如单核细

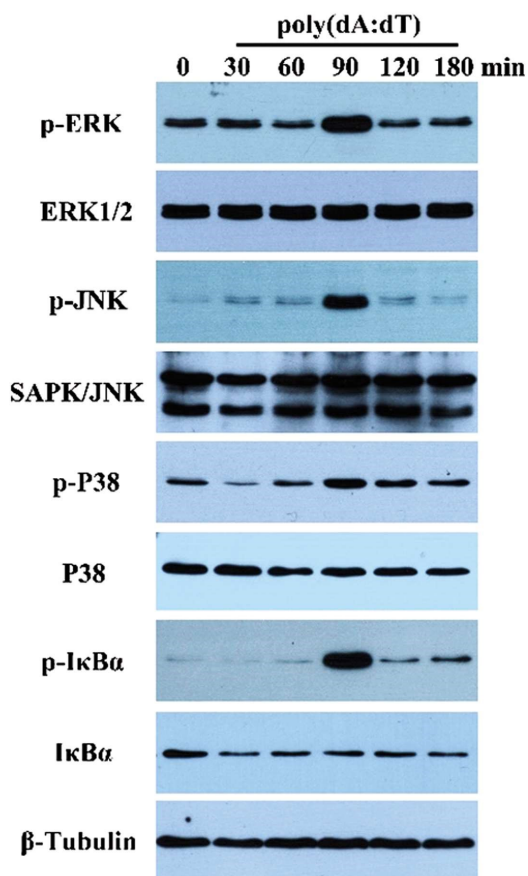


图2 poly(dA:dT)活化滋养细胞后 MAPK 和 IκB 信号通路的表达情况

Fig. 2 Expression of MAPK and kappa B signaling pathways in trophoblast cells by poly(dA:dT)

胞增生李斯特菌、巨细胞病毒、寨卡病毒、弓形虫等)能够打破胎盘屏障感染胎儿。因此,阐明胎盘组织抵抗病原微生物胎盘感染和垂直传播的机制,对于解决妊娠期间感染导致的不良妊娠结局至关重要。

近年来,越来越多的证据表明滋养细胞作为胎盘的主要细胞成份,不仅是正常妊娠建立和维持的物质基础,还是母-胎界面特殊的固有免疫细胞。滋养细胞表达 Toll-like receptors (TLRs)^[10,11]、NOD-like receptors (NLRs)^[12-14]、AIM2-like receptors (ALRs)^[15-17]和 RIG-I-like receptors (RLRs)^[18,19]等家族多种模式识别受体。其中,TLR4 配体脂多糖 (LPS) 和 TLR3 配体双链 RNA 能够促进早孕期滋养细胞分泌 IL-8、MCP-1、GRO-α 等趋化因子,趋化单核细胞和嗜中性粒细胞到达母-胎界面,说明滋养细胞表达的功能性 TLR3 和 TLR4 可能参与到识别和清除病原微生物感染过程^[20]。Chan 等^[21]也指出合胞体滋养细胞表达的 TLR2 可能在抵抗巨细胞病毒感染和垂直传播中发挥重要作用。此外,滋养细胞能够在 LPS 和单核细胞增生李斯特菌的刺激下诱导 NLRP3 炎性小体活化^[22,23]。前期研究中我们还发现,人早孕期绒毛组织能够感受胞内双链 DNA 刺激,激活 AIM2 炎性小体并促进 Caspase-1 活化和 IL-1β 分泌^[24]。这些研究表明,滋养细胞存在多种固有免疫识别机制用以感受病原微生物入侵,进而诱发机体免疫应答。本研究的结果表明,滋养细胞能够感受胞内双链 DNA 刺激并介导 IL-8、IL-6、MCP-1 和

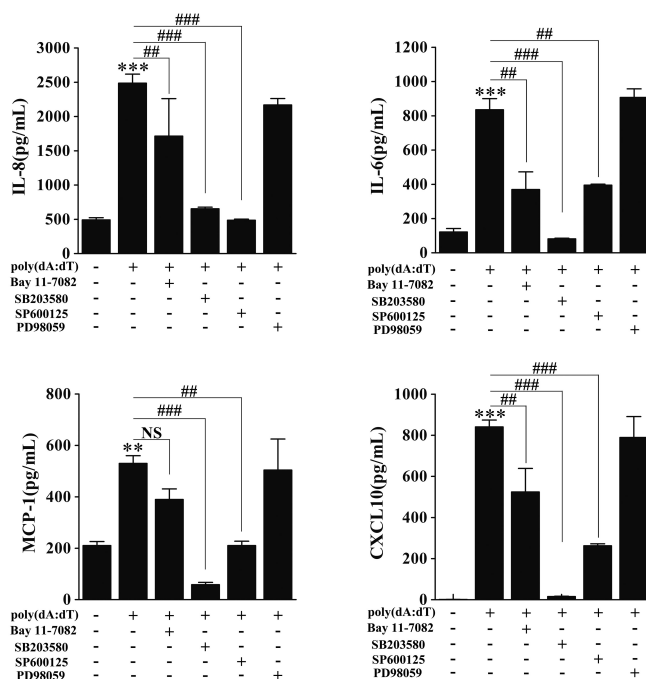


图3 不同信号通路特异性抑制剂对滋养细胞细胞因子和趋化因子分泌的影响

Fig. 3 Effects of the secretion of cytokines and chemokines by different

signaling pathway-specific inhibitors. Ctrl, LyoVec blank control;

** $P \leq 0.01$, compared with the blank control group, # $P \leq 0.01$,

$P \leq 0.001$, compared with the poly(dA:dT) positive control group.

CXCL10 分泌,揭示了滋养细胞在识别病原微生物复制过程中释放 DNA 成份中的作用。

前期研究发现,滋养细胞 IFI16 能够识别子痫患者外周血高浓度的游离 DNA 介导可溶性 Flt-1 和 endoglin 分泌,同时诱导滋养细胞发生程序性死亡,在子痫的发生发展中发挥重要作用^[15,16]。先兆子痫患者胎盘组织中 TLR3 和 TLR7/8 的表达水平显著高于正常妊娠患者,而 TLR3 或 TLR7/8 的配体能够诱导妊娠小鼠发生先兆子痫样综合症^[25]。此外,Jabłońska A 等^[18]指出 I 型单纯疱疹病毒感染可促进晚孕期滋养细胞 IFI16 和 RIG-I 上调表达,推测其抵抗单纯疱疹病毒感染中发挥作用。滋养细胞表达的 RLRs 家族成员参与识别寨卡病毒,并诱导 I 型干扰素分泌以控制寨卡病毒复制^[19]。这些研究表明,滋养细胞存在胞内核酸识别机制用以感受病原微生物感染过程中释放的核酸成份,从而诱发机体免疫应答。本研究的结果表明,人滋养细胞系 HTR-8/SVneo 表达包括 IFI16、AIM2、DHX36、DHX9、LRRFIP1、KU70、ZBP1/DAI 和 DDX41 在内的多种双链 DNA 感受器,且这些基因的 mRNA 表达水平能够被双链 DNA 特异性激活。与此同时,滋养细胞在转染双链 DNA 后 ERK、JNK、p38 和 IκBα 信号通路被显著激活;而胞内双链 DNA 介导的 IL-8、IL-6 和 CXCL10 分泌依赖于 IκB、p38 和 JNK 信号, MCP-1 的分泌依赖于 p38 和 JNK 信号,抑制 ERK 信号活化不影响这些细胞因子和趋化因子的分泌。以上这些结果初步证实了滋养细胞存在功能性的胞内双链 DNA 识别机制。

综上所述,本研究以人滋养细胞系 HTR-8/SVneo 作为研究对象,初步证实了滋养细胞表达多种双链 DNA 感受器,活化

的 DNA 识别信号可通过 I κ B、p38 和 JNK 信号介导 IL-8、IL-6 和 CXCL10 分泌,同时通过 p38 和 JNK 信号介导 MCP-1 分泌。滋养细胞表达的功能性胞内双链 DNA 识别受体是固有免疫系统的重要组成部分,在识别和抵御病原微生物入侵中发挥重要作用,这些发现使得我们对妊娠感染过程中胎盘的免疫学屏障作用有了更深的理解和认识,也为深入探讨胎盘滋养细胞胞内双链 DNA 识别受体的表达模式和活化机制奠定了基础,这不仅能丰富母-胎界面免疫调控基础理论,还是关乎我国生殖健康的重要课题。

参考文献(References)

- [1] Ozimek J A, Kilpatrick S J. Maternal mortality in the twenty-first century [J]. *Obstetrics and Gynecology Clinics of North America*, 2018, 45(2): 175-186
- [2] Chan Y K, Gack M U. Viral evasion of intracellular DNA and RNA sensing[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2016, 14(6): 360-373
- [3] Schattgen S A, Fitzgerald K A. The PYHIN protein family as mediators of host defenses [J]. *Immunological reviews*, 2011, 243(1): 109-118
- [4] Zhang Z, Yuan B, Bao M, et al. The helicase DDX41 senses intracellular DNA mediated by the adaptor STING in dendritic cells [J]. *Nature immunology*, 2011, 12(10): 959-965
- [5] Kim T, Pazhoor S, Bao M, et al. Aspartate-glutamate-alanine-histidine box motif (DEAH)/RNA helicase A helicases sense microbial DNA in human plasmacytoid dendritic cells [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2010, 107(34): 15181-15186
- [6] Zhang X, Brann T W, Zhou M, et al. Cutting edge: Ku70 is a novel cytosolic DNA sensor that induces type III rather than type I IFN[J]. *The Journal of Immunology*, 2011, 186(8): 4541-4545
- [7] Yang P, An H, Liu X, et al. The cytosolic nucleic acid sensor LRRFIP1 mediates the production of type I interferon via a β -catenin-dependent pathway[J]. *Nature immunology*, 2010, 11(6): 487-494
- [8] Moffett A, Loke C. Immunology of placentation in eutherian mammals [J]. *Nature Reviews Immunology*, 2006, 6(8): 584-594
- [9] Delorme-Axford E, Donker R B, Mouillet J F, et al. Human placental trophoblasts confer viral resistance to recipient cells [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2013, 110(29): 12048-12053
- [10] Abrahams V M, Mor G. Toll-like receptors and their role in the trophoblast[J]. *Placenta*, 2005, 26(7): 540-547
- [11] Pineda A, Verdin-Terán S L, Camacho A, et al. Expression of toll-like receptor TLR-2, TLR-3, TLR-4 and TLR-9 is increased in placentas from patients with preeclampsia [J]. *Archives of Medical Research*, 2011, 42(5): 382-391
- [12] Kavathas P B, Boeras C M, Mulla M J, et al. Nod1, but not the ASC inflammasome, contributes to induction of IL-1 β secretion in human trophoblasts after sensing of *Chlamydia trachomatis* [J]. *Mucosal Immunology*, 2013, 6(2): 235-243
- [13] Wang Z, Liu M, Nie X, et al. NOD1 and NOD2 control the invasiveness of trophoblast cells via the MAPK/p38 signaling pathway in human first-trimester pregnancy[J]. *Placenta*, 2015, 36(6): 652-660
- [14] Stødle G S, Silva G B, Tangerås L H, et al. Placental inflammation in pre-eclampsia by Nod-like receptor protein (NLRP) 3 inflammasome activation in trophoblasts [J]. *Clinical & Experimental Immunology*, 2018, 193(1): 84-94
- [15] Chu X, Chen W, Li N, et al. Cytosolic double-stranded DNA induces nonnecroptotic programmed cell death in trophoblasts via IFI16[J]. *The Journal of Infectious Diseases*, 2014, 210(9): 1476-1486
- [16] Li N, Fu Y, Chen W, et al. IFI16 mediates soluble Flt-1 and endoglin production by trophoblast cells[J]. *Journal of Hypertension*, 2015, 33(8): 1658-1665
- [17] Chen C Y, Chen C Y, Liu C C, et al. Omega-3 polyunsaturated fatty acids reduce preterm labor by inhibiting trophoblast cathepsin S and inflammasome activation[J]. *Clinical Science*, 2018, 132(20): 2221-2239
- [18] Jabłońska A, Studzińska M, Suski P, et al. Enhanced expression of IFI16 and RIG I in human third-trimester placentas following HSV-1 infection[J]. *Clinical & Experimental Immunology*, 2018, 193(2): 255-263
- [19] Ma J, Ketkar H, Geng T, et al. Zika virus non-structural protein 4A blocks the RLR-MAVS signaling[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 25, 9: 1350
- [20] Abrahams V M, Visintin I, Aldo P B, et al. A role for TLRs in the regulation of immune cell migration by first trimester trophoblast cells[J]. *The Journal of Immunology*, 2005, 175(12): 8096-8104
- [21] Chan G, Guilbert L J. Ultraviolet-inactivated human cytomegalovirus induces placental syncytiotrophoblast apoptosis in a Toll-like receptor-2 and tumour necrosis factor- α dependent manner[J]. *The Journal of Pathology: A Journal of the Pathological Society of Great Britain and Ireland*, 2006, 210(1): 111-120
- [22] Pontillo A, Girardelli M, Agostinis C, et al. Bacterial LPS differently modulates inflammasome gene expression and IL-1 β secretion in trophoblast cells, decidual stromal cells, and decidual endothelial cells[J]. *Reproductive Sciences*, 2013, 20(5): 563-566
- [23] Li W, Chang Y, Liang S, et al. NLRP3 inflammasome activation contributes to *Listeria monocytogenes*-induced animal pregnancy failure[J]. *BMC Veterinary Research*, 2016, 12(1): 36
- [24] 周敏, 李宁, 付艳, 等. Poly (dA: dT) 促进体外培养的人绒毛组织 AIM2 炎性体活化[J]. *现代生物医学进展*, 2015 (14): 2614-2616
- [25] Chatterjee P, Weaver L E, Doersch K M, et al. Placental Toll-like receptor 3 and Toll-like receptor 7/8 activation contributes to preeclampsia in humans and mice[J]. *PLoS One*, 2012, 7(7): e41884