

# 氧化应激相关因子 Nrf2、HSP70 在妊娠期肝内胆汁淤积症胎盘组织中的表达意义及相关性分析\*

张雪梅 李阳 陈丽 蔡燕

(川北医学院附属医院, 四川 南充 637000)

**【摘要】** 目的 探讨妊娠期肝内胆汁淤积症(ICP)患者胎盘组织中氧化应激相关因子 Nrf2、热休克蛋白 70 (HSP70)的表达,分析二者相关性及滋养细胞氧化应激在 ICP 发病机制中的作用。方法 收集 2018 年 3 月—2019 年 12 月在我院治疗并以剖宫产终止妊娠的 ICP 患者的胎盘组织标本 60 例,其中 ICP 轻度组 30 例,重度组 30 例;另收集同期正常妊娠孕妇的胎盘组织标本 30 例,作为正常妊娠组。采用 RT-qPCR、免疫组化方法测定胎盘组织中 Nrf2、HSP70 的表达情况,同时分析 Nrf2 与 HSP70 之间的相关性。结果 ICP 轻、重度组胎盘组织中 Nrf2、HSP70 的表达均高于正常妊娠组,ICP 重度组胎盘组织中的表达高于轻度组,且组间表达差异有统计学意义( $P < 0.01$ );ICP 组胎盘组织中 Nrf2 与 HSP70 的表达呈正相关( $r = 0.980, P < 0.05$ );ICP 组平均孕周明显低于正常妊娠组,差异有统计学意义( $t = -6.487, P < 0.01$ )。结论 Nrf2、HSP70 均存在于人体胎盘滋养细胞中,且在 ICP 胎盘组织中呈高表达;ICP 发生机制可能与滋养细胞氧化应激有关;Nrf2、HSP70 可能相互影响,共同作用,参与了 ICP 的发生。

**【关键词】** 妊娠期肝内胆汁淤积症;Nrf2;HSP70;氧化应激;滋养细胞

**【中图分类号】** R714.25 **【文献标志码】** A **DOI:**10.3969/j.issn.1672-3511.2023.11.005

## Expression and correlation analysis of oxidative stress-related factors Nrf2 and HSP70 in placental tissue of intrahepatic cholestasis of pregnancy

ZHANG Xuemei, LI Yang, CHEN Li, CAI Yan

(The Affiliated Hospital of North Sichuan Medical College, Nanchong 637000, Sichuan, China)

**【Abstract】** **Objective** To investigate the expressions of oxidative stress-related factors Nrf2 and HSP70 in the placenta of patients with intrahepatic cholestasis of pregnancy (ICP), and explore the role of mitochondrial oxidative stress in the pathogenesis of ICP. **Methods** The placental tissue samples of ICP patients who were treated in our hospital and terminated pregnancy by cesarean section were collected from March 2018 to December 2019, including 30 mild cases and 30 severe cases. In addition, 30 placental tissue samples of single normal pregnant women excluding surgical complications and pregnancy-related diseases in the same period were collected as a control group. The expression of Nrf2 and HSP70 in the placental tissue was determined by RT-qPCR and immunohistochemistry, and the correlation between the two was analyzed. **Results** The expressions of Nrf2 and HSP70 in the placenta tissues of the mild and severe ICP group were higher than those of control group, and the expressions of placental tissues of ICP severe group were higher than those of mild group, and the expression differences between groups were statistically significant ( $P < 0.01$ ). The expressions of Nrf2 and HSP70 in the placenta of ICP group were positively correlated ( $r = 0.980, P < 0.05$ ). The average gestational week of the ICP group was significantly lower than that of the control group, and the difference was statistically significant ( $t = -6.487, P < 0.01$ ). **Conclusion** Both Nrf2 and HSP70 are found in human placental trophoblasts, and are higher expressed in the placental tissue of the ICP group. The pathogenesis of ICP may be related to oxidative stress

基金项目:四川省卫健委 2020 普及应用项目(20PJ145);川北医学院附属医院科研发展计划项目(2022JC003);南充市市校科技战略合作专项(19SXHZ0291)

通讯作者:蔡燕, E-mail:ey96366@163.com

引用本文:张雪梅,李阳,陈丽,等.氧化应激相关因子 Nrf2、HSP70 在妊娠期肝内胆汁淤积症胎盘组织中的表达意义及相关性分析[J].西部医学,2023,35(11):1584-1588. DOI:10.3969/j.issn.1672-3511.2023.11.005

in trophoblasts. The Nrf2 and HSP70 may interact with each other, and jointly play an anti-oxidative stress role and participate in the occurrence of ICP.

**【Key words】** Intrahepatic cholestasis of pregnancy; Nrf2; HSP70; Oxidative stress; Trophocyte

妊娠期肝内胆汁淤积症(Intrahepatic cholestasis of pregnancy, ICP)是妊娠中晚期特有疾病,以血清总胆汁酸升高为主要特征<sup>[1-2]</sup>。ICP 可影响新生儿预后,如自发性早产、新生儿窒息、颅内出血、神经系统后遗症等,使围产儿病死率升高<sup>[3-4]</sup>,其中不可预料的胎死宫内是最严重的不良妊娠结局,是临床医生面临的一大难题。目前关于 ICP 的病因及发病机制尚不清楚,有报道认为 ICP 的发病可能与高胆汁酸刺激下,滋养细胞发生氧化应激(Oxidation stress, OS)反应有关<sup>[5]</sup>。转录因子 NF-E2 相关因子 2(Nuclear factor E2-related factor 2, Nrf2),作为抗氧化应激代表之一,参与细胞各种生命活动,可直接感应并响应活性氧(Reactive oxygen species, ROS)引起的线粒体功能变化,发挥重要抗氧化应激作用<sup>[6-7]</sup>。热休克蛋白 70(Heat Shock Protein, HSP70)是机体的一种保护蛋白,以高浓度存在于细胞质和细胞核中,发挥其抗氧化应激等重要生物功能<sup>[8-9]</sup>。基于此,本研究通过探讨氧化应激相关因子 Nrf2、HSP70 在孕妇胎盘组织中的表达情况,分析二者之间的相关性,及滋养细胞氧化应激在 ICP 发病机制中的作用。

## 1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2018 年 3 月—2019 年 12 月我院收治的临产前剖宫产终止妊娠的 ICP 孕妇 60 例,分为轻度组 30 例,重度组 30 例。纳入标准:均符合最新版《妊娠期肝内胆汁淤积症指南》<sup>[2]</sup>的诊断及分类标准。排除标准:①合并内外科疾病,如妊娠期心脏病、妊娠合并糖尿病、妊娠合并病毒性肝炎、妊娠合并急性阑尾炎等。②合并其他妊娠并发症,如妊娠期高血压疾病、胎膜早破、前置胎盘等。③多胎妊娠。另选取同期正常妊娠孕妇 30 例为正常妊娠组。所有产妇及家属均对本研究知情,并签署知情通知书。本研究获川北医学院附属医院医学伦理委员会批准通过(2018NO. 0315)。

1.2 主要试剂和仪器 兔抗人 HSP70 多克隆抗体(abcam 公司),兔抗 Nrf2 多克隆抗体(novus 公司),封闭用正常山羊血清工作液,一步法聚合物免疫组化检测试剂(PV-6043),DAB 显色试剂盒(以上均购于北京中杉有限公司),总 RNA 抽提 Trizol 试剂(美国 Ambion 公司),逆转录试剂盒(美国 Thermo 公司),高通量实时荧光定量分析系统(德国 Qiagen 公司),引物基因均购于美国 Invitrogen 公司, QuantiNova

SYBR Green PCR Kit 购于德国 Qiagen 公司,轮转式切片机(徕卡 RM2135 徕卡仪器有限公司),PHY-III 病理组织漂烘仪(常州市中威电子有限公司),DM500 型徕卡显微镜(徕卡仪器有限公司),DHP420 型电热恒温培养箱(重庆永恒实验仪器厂),OLYMPUS 显微镜照相系统(OLYMPUS 公司)。

### 1.3 方法

1.3.1 样本采集与保存 两组实验标本均在剖宫产胎盘娩出后 5 min 内采集,无菌操作下避开胎盘梗死、坏死及钙化灶,取母体面近脐带处胎盘组织 4~6 份,每份 50~100 mg,生理盐水充分冲洗,无菌纱布吸去生理盐水,其中 3 份分别装入 1.5 mL 离心管(装有 1 mL RANstore 液),做好标记存于-80 °C 冰箱,另外 3 份用 10% 甲醛固定 24 h 后石蜡包埋,保存备用。

1.3.2 免疫组化 将制备好的切片在 60 °C 的电热恒温箱中烤片 30 min,依次置于二甲苯 I、II 中脱蜡,各 10 min,然后梯度酒精水化;加入蛋白酶修复液,加热煮沸 30 min 进行抗原修复,自然冷却后,自来水、蒸馏水及 PBS 液浸洗;山羊血清封闭抗原,室温孵化 30 min,倾去多余液体,滴加一抗,4 °C 湿盒过夜,然后加入二抗,37 °C 水浴恒温箱内孵育 30 min, PBS 冲洗;经过 DAB 显色 5 min,苏木素染色 1 min,1% 盐酸酒精分化 10 s,45 °C 温水内返蓝 10 min;最后梯度酒精脱水各 2 min,二甲苯 II、二甲苯 I 内各 1 min,自来水冲洗 5 min,干燥,封片。染色结果评估:将制作好的切片在高倍镜下选取 5 个不同视野评分,以细胞染色强度得分:未着色为 0 分、黄色为 1 分、棕黄色为 2 分、棕褐色为 3 分;阳性细胞百分率得分:<5% 为 0 分、5%~24% 为 1 分、25%~50% 为 2 分、>50% 为 3 分。细胞染色强度及细胞阳性百分率得分为免疫组化积分:0 分为阴性(-),1~2 分为(+),3~4 分为(++),5~6 分为(+++);(+)(+)~(+++)为阳性表达。

1.3.3 实时荧光定量聚合酶链反应(RT-qPCR) 总 RNA 提取:分别称量约 50 mg 胎盘组织,放入液氮制冷研钵内至粉末状。取 1 mL Trizol 液与粉末状胎盘组织充分混合。按照制备试剂盒说明书提取胎盘组织中总 RNA,获取 cDNA。运用 Primer 3.0 软件设计特异性引物。每个样本均设复孔,最终检测结果取平均值。RT-qPCR:采用 SYBR Green 检测模式,测定实验组与对照组的胎盘组织中 Nrf2、HSP70 mRNA 的表达水平。RT-qPCR 反应体系为:总体积 20  $\mu$ L,上

游引物和下游引物各 0.4 μL,模板 DNA 2 μL,2×QulantiNova SYBR Green PCR Kit 10 μL,QN ROX Reference Dye 0.1 μL,dd H<sub>2</sub>O 7.1 μL。荧光定量 PCR 仪为:QS 12K Flex ABI。反应条件为:95 °C 预变性 2 min,95 °C 变性 5 s,60 °C 退火 10 s,共 40 个循环,并且做扩增及溶解曲线分析。每个样品目的基因 CT 值用内参基因 GAPDH 来进行标化(ΔCT=CT 目的基因-CT 内参),运用 2<sup>-ΔΔCT</sup> 对结果进行相对定量判读<sup>[10]</sup>。引物序列见表 1。

表 1 引物序列

Table 1 Primer sequences

基因	序列
<i>Nrf2</i>	F:5'-AGCGACGAAAAGAGTATGA-3' R:5'-TGGGCAACCTGGGAGTAG-3'
<i>HSP70</i>	F:5'-TGGAGATAGTTGGTGGTGCT-3' R:5'-CAGGCGATAAGATGGCACA-3'
<i>GAPDH</i>	F:5'-GGACCTGACCTGCCGTCTA-3' R:5'-GAGTGGGTGTCGCTGTTG-3'

1.4 统计学分析 采用 SPSS 23.0 和 GraphPad Prism 6 软件进行统计分析,相对表达量进行正态性及方差齐性检验后,以均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,该计量资料采用完全随机设计的单因素方差分析,组间多重比较采用 LSD 法;两样本均数比较(基本资料)采用 *t* 检验;计数资料采用  $\chi^2$  检验;Pearson 卡方检验进行组间率的比较,变量间的相关性分析采用 Pearson 相关分析。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 ICP 组与正常妊娠组临床资料比较 ICP 组与

正常妊娠组孕妇平均年龄比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ );ICP 组平均孕周显著低于正常妊娠组( $P < 0.01$ )。见表 2。

表 2 ICP 组与正常妊娠组年龄、孕周比较( $\bar{x} \pm s$ )

Table 2 Comparison of age and gestational week between ICP group and control group

临床指标	ICP 组	正常妊娠组	<i>t</i>	<i>P</i>
年龄(岁)	29.40±3.91	30.53±4.54	-1.226	0.224
孕周(周)	36.90±2.04	39.42±0.83	-6.487	<0.001

2.2 ICP 组与正常妊娠组中 *Nrf2* 的表达 ICP 轻、重度组胎盘组织中 *Nrf2* 阳性表达率、*Nrf2* mRNA 表达水平均高于正常妊娠组( $P < 0.01$ )。进一步两两比较,ICP 重度组 *Nrf2* 阳性表达率、*Nrf2* mRNA 表达水平均高于轻度组,ICP 轻度组 *Nrf2* 阳性表达率、*Nrf2* mRNA 表达水平均高于正常妊娠组( $P < 0.05$ )。见表 3、图 1。

表 3 ICP 组与正常组 *Nrf2* 的表达水平 [ $n, n(\times 10^{-2})$ , ( $\bar{x} \pm s$ )]

Table 3 The expression level of *Nrf2* in the ICP group and the control group

组别	<i>n</i>	<i>Nrf2</i> 表达				阳性率	<i>Nrf2</i> mRNA
		0	+	++	+++		
重度组	30	1	1	18	10	29(96.7) <sup>①②</sup>	2.202±0.65 <sup>①②</sup>
轻度组	30	7	7	12	4	23(76.7) <sup>②</sup>	1.842±0.44 <sup>②</sup>
正常妊娠组	30	11	13	5	1	19(63.3)	1.493±0.67
$\chi^2/F$						10.141	8.962
<i>P</i>						0.006	<0.01

注:与轻度组比较,① $P < 0.05$ ;与正常妊娠组比较,② $P < 0.05$ 。

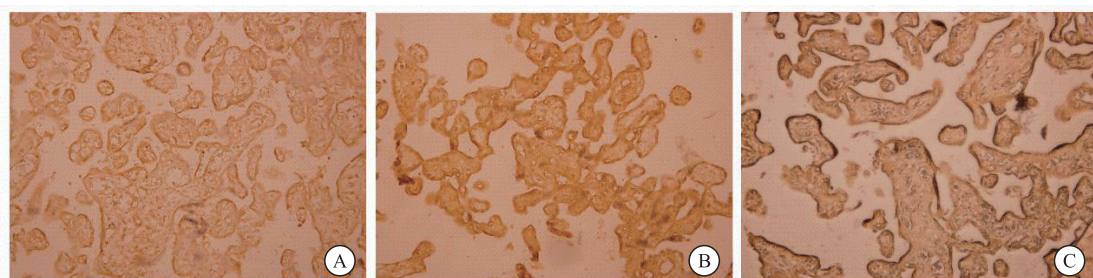


图 1 *Nrf2* 在胎盘组织中的表达(400×)

Figure 1 Expression of *Nrf2* in placental tissue

注:A. 正常妊娠组;B. ICP 轻度组;C. ICP 重度组。

2.3 ICP 组与正常妊娠组中 *HSP70* mRNA 的表达水平 ICP 轻、重度组和正常妊娠组胎盘组织中均有 *HSP70* mRNA 表达,表达存在差异且有统计学意义( $F = 11.063, P < 0.01$ ),进一步两两比较,ICP 轻、重度组的表达水平均升高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );ICP 重度组表达水平高于轻度组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见图 2、表 4。

2.4 *Nrf2* mRNA 与 *HSP70* mRNA 表达水平的相关性分析 ICP 胎盘组织中 *Nrf2* mRNA 与 *HSP70* mRNA 均呈高表达,对其表达情况进行 Pearson 相关分析,结果提示二者呈正相关( $r = 0.980, P < 0.05$ )。推测滋养细胞中的 *Nrf2*、*HSP70* 可能在抗氧化应激反应中发挥协同作用,共同参与了 ICP 的发生发展。见图 3。

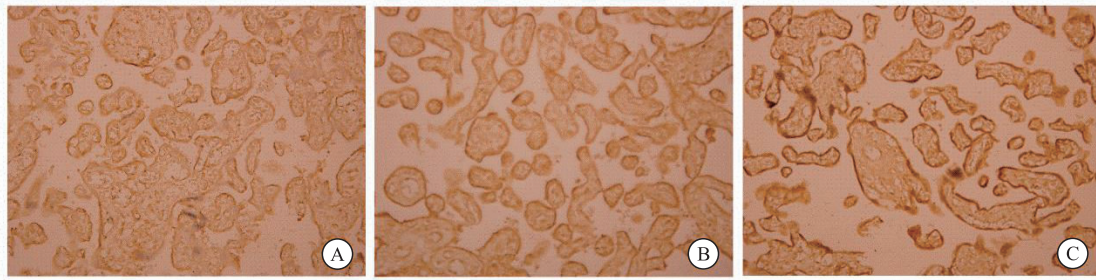


图 2 HSP70 在胎盘组织中的表达(400×)

Figure 2 Expression of HSP70 in placental tissue

注: A. 正常妊娠组; B. ICP 轻度组; C. ICP 重度组。

表 4 ICP 组与正常妊娠组 HSP70 mRNA 的表达水平 [ $n, n(\times 10^{-2})$ , ( $\bar{x} \pm s$ )]

Table 4 The expression level of HSP70 mRNA in the ICP group and the control group

组别	n	HSP70 表达				阳性率	HSP70mRNA
		0	+	++	+++		
重度组	30	2	2	17	9	28(93.3) <sup>①②</sup>	2.197±0.61 <sup>①②</sup>
轻度组	30	9	10	8	3	21(70.0) <sup>②</sup>	1.786±0.31 <sup>②</sup>
正常妊娠组	30	12	13	4	1	18(60.0)	1.440±0.52
$\chi^2/F$						9.228	11.063
P						0.01	<0.01

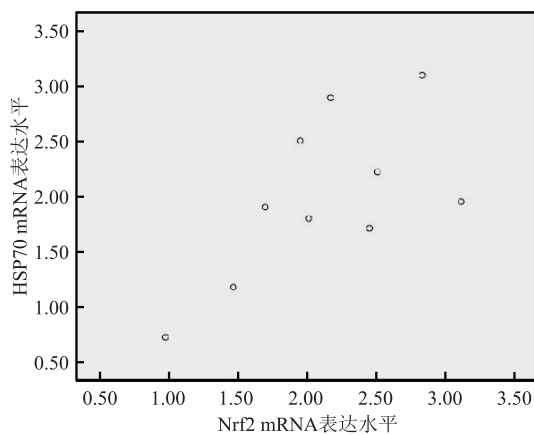
注: 与轻度组比较, ① $P < 0.05$ ; 与正常妊娠组比较, ② $P < 0.05$ 。

图 3 Nrf2、HSP70 mRNA 表达情况的相关性分析

Figure 3 Correlation analysis of Nrf2, HSP70 mRNA expression

注: 图中仅显示部分结果。

### 3 讨论

ICP 是妊娠中、晚期特有疾病, 以皮肤瘙痒, 血清胆汁酸升高为主要临床表现<sup>[1]</sup>, 可出现黄疸、脂肪泻、凝血功能异常、葡萄糖耐量异常等情况, 从而使孕妇患妊娠期糖尿病、妊娠期高血压、产后出血等疾病的风险相对增高<sup>[4,11]</sup>, 但最主要危害是导致突发胎死宫内、羊水粪染等严重不良妊娠结局<sup>[3,12]</sup>, 其发病机制仍然是目前研究的热点及难点。

ICP 患者主要特征表现是高胆汁酸, 胆汁酸浓度与病情严重程度呈正相关, 高胆汁酸可通过 OS 发挥

细胞毒性作用, 造成胎盘功能障碍, 出现胆汁酸转运、代谢异常, 对胎儿造成严重不良影响, 因此, 认为 ICP 的发病与高胆汁酸刺激引起的 OS 可能有关<sup>[13-14]</sup>。近年来, OS 在子痫前期、妊娠期糖尿病、流产等妊娠相关性疾病中已有一定研究, 但在 ICP 中研究较少。

Nrf2 作为防御 ROS 的基础, 参与细胞各种生命活动, 控制细胞对内源性和外源性氧化应激的适应性, 当受到氧化应激刺激(ROS 累积)时, Nrf2 水平升高并转运至细胞核中发挥其生物活性, 调控抗氧化剂基因转录和 II 相解毒过程, 发挥抗氧化应激的重要生物功能<sup>[15-16]</sup>。YU 等<sup>[17]</sup>发现子痫前期孕妇胎盘中, Nrf2 可激活抗氧化相关基因, 通过介导相应转运蛋白避免子痫前期患者胎盘受侵袭; 在 ICP 大鼠胎盘中线粒体和内质网损伤与 Nrf2 表达呈负相关, Nrf2 发挥了其抗氧化应激功能<sup>[18]</sup>。本研究发现 OS 因子 Nrf2 在 ICP 患者胎盘组织中高表达, 且重度组表达明显高于轻度组。因此, 认为 ICP 的发病机制可能与滋养细胞 OS 有关, 且 ICP 重度组比轻度组发生 OS 更明显, 细胞损伤更严重, 导致胎盘功能障碍也越明显, 更易发生不良妊娠结局。

HSP70 是热休克蛋白家族研究最多的应激蛋白, 可以通过改善线粒体的生物功能发挥抗氧化应激作用<sup>[19]</sup>。HSP70 在子痫前期、妊娠期糖尿病、胎儿生长受限、流产、早产等妊娠相关疾病中已有较多研究<sup>[20]</sup>。Li 等<sup>[21]</sup>发现, 应激状态下 HSP70 通过对肝管内胆汁酸转运蛋白起重要作用, 从而防止胆汁酸在肝细胞内累积产生毒性, 减少细胞损伤。HSP70 在 ICP 发病机制中的研究相对较少, 本研究从分子角度研究测定出 HSP70 在 ICP 患者胎盘中高表达, 发挥其抗氧化作用, 进一步证实 ICP 发病机制可能与滋养细胞线粒体 OS 有关。

Nrf2、HSP70 作为抗氧化应激代表, 二者之间有一定相关性, Du 等<sup>[22]</sup>证实了激活的 Nrf2 调控转录基因表达上调, 使 HSP70 表达增加, 二者共同作用减弱

OS,减少细胞的氧化损伤。Alani 等<sup>[23]</sup>认为,Nrf2 可以非特异性地调节 HSP70 的转录,从而影响 HSP70 的表达,调控细胞凋亡。Nrf2 也能通过靶基因调控 HSP70 表达上调诱导抗氧化防御系统,减弱 OS<sup>[24]</sup>。本研究发现 ICP 胎盘组织中 Nrf2 mRNA 与 HSP70 mRNA 均呈高表达,进行相关分析提示二者呈正相关( $r=0.980, P<0.05$ ),与相关文献<sup>[25]</sup>的研究结果相符。因此认为,ICP 患者滋养细胞发生 OS 时,Nrf2、HSP70 表达增高,相互影响,共同作用,增强抗氧化功能。

#### 4 结论

氧化应激相关因子 Nrf2、HSP70 在 ICP 患者胎盘组织中均呈高表达,且呈正相关,表明 ICP 的发病机制可能与高胆汁酸刺激下滋养细胞氧化应激反应有关,其中 Nrf2、HSP70 可能共同参与了 ICP 的发生、发展。因此,通过对 Nrf2、HSP70 在 ICP 患者胎盘组织中的表达研究,为进一步探索氧化应激相关因子对 ICP 的诊断、防治提供帮助,为 ICP 研究方向及疾病防治提供一定的理论基础。

#### 【参考文献】

- 谢幸,孔北华,段涛.妇产科学(第九版)[M].北京:人民卫生出版社,2018:92-94.
- 中华医学会妇产科学分会产科学组.妊娠期肝内胆汁淤积症诊疗指南(2015)[J].中华妇产科杂志,2015,50(7):481-485.
- 王红英,胡芳,李漪,等.肝内胆汁淤积症孕妇临床特征及母儿不良结局危险因素分析[J].西部医学,2019,31(5):715-718.
- DI MASCIO D, QUIST-NELSON J, RIEGEL M, *et al.* Perinatal death by bile acid levels in intrahepatic cholestasis of pregnancy: a systematic review[J]. J Matern Fetal Neonat Med, 2021, 34(21): 3614-3622.
- HAN F, XU L, HUANG Y, *et al.* Magnesium sulphate can alleviate oxidative stress and reduce inflammatory cytokines in rat placenta of intrahepatic cholestasis of pregnancy model[J]. Arch Gynecol Obstet, 2018, 298(3): 631-638.
- 路阳.Nrf2 蛋白的 O-GlcNAcylation 修饰在抗氧化应激中的作用和机制研究[D].长春:东北师范大学,2017.
- HOLMSTRÖM K M, KOSTOV R V, DINKOVA-KOSTOVA A T. The multifaceted role of Nrf2 in mitochondrial function[J]. Curr Opin Toxicol, 2016, 1: 80-91.
- KURASHOVA N A, MADAIEVA I M, KOLESNIKOVA L I. Expression of Heat Shock Proteins HSP70 under Oxidative Stress[J]. Adv Gerontol, 2019, 32(4): 502-508.
- ZEMANOVIC S, IVANOV M V, IVANOVA L V, *et al.* Dynamic Phosphorylation of the C Terminus of Hsp70 Regulates the Mitochondrial Import of SOD2 and Redox Balance[J]. Cell Rep, 2018, 25(9): 2605-2616, e7.
- 何泳龙.水通道蛋白 3 在原发性痛性关节炎患者中变化的研究[D].南充:川北医学院,2016.
- LIU C, GAO J, LIU J, *et al.* Intrahepatic cholestasis of pregnancy is associated with an increased risk of gestational diabetes and preeclampsia[J]. Ann Transl Med, 2020, 8(23): 1574.
- 唐固平.妊娠期肝内胆汁淤积症羊水性状与妊娠结局的关系[J].西部医学,2009,21(6):986-987.
- LOFTHOUSE E M, TORRENS C, MANOUSOPOULOU A, *et al.* Ursodeoxycholic acid inhibits uptake and vasoconstrictor effects of taurocholate in human placenta[J]. FASEB J, 2019, 33(7): 8211-8220.
- 刘晓媛,姚炎,汪涛,等.妊娠期肝内胆汁淤积症不良妊娠结局与细胞死亡方式相关性的研究进展[J].中华妇产科杂志,2018,53(7):500-503.
- KAPUY O, PAPP D, VELLAI T, *et al.* Systems-level feedbacks of NRF2 controlling autophagy upon oxidative stress response[J]. Antioxidants(Basel), 2018, 7(3): 39.
- LIU S, PI J, ZHANG Q. Signal amplification in the KEAP1-NRF2-ARE antioxidant response pathway [J]. Redox Biol, 2022, 54: 102389.
- YU L, WANG T, QUE R, *et al.* The potentially protective role of ATP-binding cassette transporters in preeclampsia via Nrf2[J]. Pregnancy Hypertens, 2019, 18: 21-28.
- MANOHARAN B, BOBBY Z, DORAIRAJAN G, *et al.* Increased placental expressions of nuclear factor erythroid 2-related factor 2 and antioxidant enzymes in gestational diabetes: Protective mechanisms against the placental oxidative stress[J]. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2019, 238: 78-85.
- ZEMANOVIC S, IVANOV M V, IVANOVA L V, *et al.* Dynamic phosphorylation of the C terminus of Hsp70 regulates the mitochondrial import of SOD2 and redox balance[J]. Cell Rep, 2018, 25(9): 2605-2616.
- WANG Y, YANG C, HASSAN N A H, *et al.* HO-1 reduces heat stress-induced apoptosis in bovine granulosa cells by suppressing oxidative stress[J]. Aging (Albany NY), 2019, 11(15): 5535-5547.
- LI A D, XIE X L, QI W, *et al.* TGR5 promotes cholangiocarcinoma by interacting with mortalin[J]. Exp Cell Res, 2020, 389(2): 111855.
- DU D, LV W, SU R, *et al.* Hydrolyzed camel whey protein alleviated heat stress-induced hepatocyte damage by activated Nrf2/HO-1 signaling pathway and inhibited NF- $\kappa$ B/NLRP3 axis [J]. Cell Stress Chaperones, 2021, 26(2): 387-401.
- ALANI B, SALEHI R, SADEGHI P, *et al.* Silencing of Hsp70 intensifies 6-OHDA-induced apoptosis and Hsp90 upregulation in PC12 cells[J]. J Mol Neurosci, 2015, 55(1): 174-183.
- YANG M, KUANG M, WANG G, *et al.* Choline attenuates heat stress-induced oxidative injury and apoptosis in bovine mammary epithelial cells by modulating PERK/Nrf-2 signaling pathway[J]. Mol Immunol, 2021, 135: 388-397.
- TIAN Y, CHE H, YANG J, *et al.* Astaxanthin Alleviates Aflatoxin B1-Induced Oxidative Stress and Apoptosis in IPEC-J2 Cells via the Nrf2 Signaling Pathway[J]. Toxins (Basel), 2023, 15(3): 232.

(收稿日期:2022-07-30;修回日期:2023-09-07;编辑:刘灵敏)