

尿酸及高尿酸常见治疗药物对滋养细胞融合功能的影响

李铭洋¹, 赵佳琪^{1,2}, 解安霞¹, 王议平¹, 蔡忠宇¹, 李瑞霞¹, 魏晓星^{1*}

1. 青海大学 医学院, 青海 西宁 810016

2. 青海大学 生态环境工程学院, 青海 西宁 810016

摘要: **目的** 明确尿酸和常见高尿酸治疗药物对人绒毛膜癌 (Bewo) 细胞活力及融合功能的影响。**方法** 在加入或不加入 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 毛喉素诱导 Bewo 细胞融合的情况下, 分别使用 (30、50、70、100、160、200、400、600 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 尿酸或者别嘌醇、非布司他、苯溴马隆、丙磺舒 (1、10、20、50、100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 处理 Bewo 细胞 48 h, 通过 CCK-8 法检测细胞活力并筛选药物合适浓度, 采用酶联免疫吸附测定 (ELISA) 法检测人绒毛膜促性腺激素 (hCG) 分泌量; 使用激光共聚焦显微镜观察细胞融合情况并计算融合率; 通过实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 技术分析融合关键基因合胞素 1 (*ERVW-1*)、合胞素 2 (*ERVFRD-1*)、合胞素 2 受体 (*MFSD2A*)、丙氨酸/丝氨酸/半胱氨酸/苏氨酸转运蛋白 (*ASCT1*)、*ASCT2* mRNA 表达量。**结果** 各浓度尿酸对 Bewo 细胞活力没有明显影响; 与对照组相比, 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 别嘌醇组的 Bewo 细胞活力显著降低 ($P < 0.05$); 在加入毛喉素后, 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 别嘌醇组的 Bewo 细胞活力在一定程度上下降, 但没有显著差异; 加或不加毛喉素, 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 非布司他, 50、100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 苯溴马隆都显著降低 Bewo 细胞活力 ($P < 0.05$ 、0.001)。与毛喉素组相比, 尿酸及 4 种高尿酸治疗药物均显著降低 hCG 分泌量 ($P < 0.01$ 、0.001), 显著抑制细胞的融合 ($P < 0.001$); 尿酸显著抑制 *ERVW-1*、*ERVFRD-1*、*MFSD2A* mRNA 表达 ($P < 0.05$ 、0.01、0.001), 4 种高尿酸治疗药物显著抑制 *VFRD-1*、*MFSD2A* mRNA 表达 ($P < 0.001$), 非布司他显著抑制 *ERVW-1* mRNA 表达 ($P < 0.05$), 别嘌醇、非布司他、丙磺舒显著上调 *ASCT2* 的 mRNA 表达 ($P < 0.01$ 、0.001)。**结论** 尿酸降低滋养细胞融合程度进而导致其分泌 hCG 功能下降; 高尿酸药物会加剧这种功能的缺陷, 针对于高尿酸孕妇急需开发新药。

关键词: 尿酸; 别嘌醇; 非布司他; 苯溴马隆; 丙磺舒; Bewo 细胞; 毛喉素; 滋养细胞; 融合

中图分类号: R965 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2025)05-1257-09

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2025.05.017

Effects of uric acid and common hyperuricemic drugs on viability and fusion functions of trophoblast cell lines

LI Mingyang¹, ZHAO Jiaqi^{1,2}, XIE Anxia¹, WANG Yiping¹, CAI Zhongyu¹, LI Ruixia¹, WEI Xiaoxing¹

1. Medical School, Qinghai University, Xining 810016, China

2. School of Ecological and Environmental Engineering, Qinghai University, Xining 810016, China

Abstract: Objective To clarify the effects of uric acid and common hyperuricemia treatment drugs on the viability of human choriocarcinoma (Bewo) cells and their fusion-related functions. **Methods** Bewo cells were treated with (30, 50, 70, 100, 160, 200, 400, 600 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) uric acid or allopurinol, febuxostat, benzbromarone, probenecid (1, 10, 20, 50, 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) for 48 h with or without 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ thapsigargin-induced fusion. Cell viability was detected by CCK-8 assay and the appropriate drug concentrations were screened. The secretion of human chorionic gonadotropin (hCG) was detected by ELISA. Cell fusion was observed by laser confocal microscopy and the fusion rate was calculated. The mRNA expression of key fusion genes, syncytin-1 (*ERVW-1*), syncytin-2 (*ERVFRD-1*), syncytin-2 receptor (*MFSD2A*), alanine/serine/cysteine/threonine transporter (*ASCT1*), and *ASCT2* was analyzed by real-time fluorescence quantitative PCR (qRT-PCR). **Results** Uric acid at various concentrations had no significant effect on the viability of Bewo cells. Compared with the control group, the viability of Bewo cells in the 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ allopurinol group was significantly reduced ($P < 0.05$). After the addition of thapsigargin, the viability of Bewo cells in the 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ allopurinol group decreased to

收稿日期: 2024-12-30

基金项目: 青海省科学技术厅自然科学基金资助项目 (2024-ZJ-923); 青海省“昆仑英才-高端创新创业人才”项目

作者简介: 李铭洋, 男, 硕士研究生, 研究方向为医学生理学与生物化学。E-mail: lmy18941657522@163.com

*通信作者: 魏晓星, 男, 博士生导师, 研究方向为医学生理学与生物化学。E-mail: weixiaoxing@qhu.edu.cn

some extent, but there was no significant difference. With or without thapsigargin, 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ febuxostat, 50 and 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ benzbromarone significantly reduced the viability of Bewo cells ($P < 0.05, 0.001$). Compared with the thapsigargin group, uric acid and four hyperuricemia treatment drugs significantly reduced the secretion of hCG ($P < 0.01, 0.001$) and significantly inhibited cell fusion ($P < 0.001$). Uric acid significantly inhibited the mRNA expression of *ERVW-1*, *ERVFRD-1*, and *MFSD2A* ($P < 0.05, 0.01, 0.001$). The four hyperuricemia treatment drugs significantly inhibited the mRNA expression of *ERVFRD-1* and *MFSD2A* ($P < 0.001$). Febuxostat significantly inhibited the mRNA expression of *ERVW-1* ($P < 0.05$). Allopurinol, febuxostat, and probenecid significantly upregulated the mRNA expression of *ASCT2* ($P < 0.01, 0.001$). **Conclusion** Uric acid can decrease the degree of fusion of trophoblast cell line and lead to the decrease of hCG secretory function. However, hyperuricemic drugs may exacerbate this functional deficit, and there is an urgent need to develop new drugs for pregnant women with high uric acid.

Key words: uric acid; allopurinol; febuxostat; benzbromarone; probenecid; Bewo cell; froskolin; trophoblast cell; fusion

尿酸是嘌呤代谢的终末产物，且作为人体内重要的抗氧化物质，在孕产妇中，其浓度的升高与多种妊娠疾病和不良妊娠结局相关^[1]，因此控制妊娠期尿酸水平对于保障母婴健康至关重要。目前国内常用的高尿酸治疗药物主要包括尿酸生成抑制类的黄嘌呤氧化酶抑制剂，如别嘌呤醇、非布司他，以及促尿酸排泄药物，如苯溴马隆、丙磺舒^[2-3]。在妊娠期高尿酸血症的临床应用中，孕妇应谨慎或不建议使用上述 4 种药物^[4]。目前关于尿酸及上述 4 种药物在滋养细胞上的研究，主要聚焦于与其他药物联合应用后的转运效率^[5-6]以及对其他疾病模型的应用^[7]，而较少关注尿酸及高尿酸治疗药物对滋养细胞功能的直接影响。本实验旨在研究尿酸以及 4 种常见高尿酸治疗药物对滋养细胞系活力以及功能的影响，并探究其作用机制，为高尿酸治疗药物在孕产妇中的安全应用提供参考。

1 材料

1.1 实验细胞

人绒毛膜癌细胞 (Bewo) (货号 CL-0500) 购自武汉普诺赛生命科技有限公司。

1.2 药物及主要试剂

毛喉素、尿酸、别嘌呤醇、非布司他、苯溴马隆、丙磺舒 (批号 B20397、S30640、S45825、S42697、S24722、S24877, 上海市源叶生物科技有限公司); CCK-8 检测试剂盒、人绒毛膜促性腺激素 (hCG) 酶联免疫吸附测定 (ELISA) 试剂盒 (批号 E-CK-A362、E-EL-H0175, 武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司); TRiGent、反转录试剂盒 (批号 MF034-01、MF166-plus-T, 北京聚合美生物科技有限公司)。 β -actin (批号 B662102, 内参) 及目的基因合胞素 1 (*ERVW-1*)、合胞素 2 (*ERVFRD-1*)、合胞素 2 受体 (*MFSD2A*)、丙氨酸/丝氨酸/半胱氨酸/苏氨酸转运蛋白 (*ASCT1*)、*ASCT2* 引物购于上

海生工生物工程股份有限公司，目的基因引物序列见表 1。

表 1 引物序列

Table 1 Primer sequences

基因	引物序列 (5'→3')
<i>ERVW-1</i>	F: GCAGCGTCCCGGAAATATTGATG R: AGAGTGGCAGAGTGATAGCAGTTG
<i>ASCT1</i>	F: TGCCACAGCGTCCAGTGTTG R: CGGTCCACAATCCAGTCCACAG
<i>ASCT2</i>	F: GCTGCTTATCCGCTTCTTCAACTC R: CCACATCCTCCATCTCCACGATC
<i>ERVFRD-1</i>	F: TCTACAGCGGAATGGGTTCTATTGG R: ACTTGGACGCAGGGTGTGTTGG
<i>MFSD2A</i>	F: ACACATGGCACCACCTCACAC R: GCTGGGCTTCATAGGGTCTCTC

1.3 仪器

HCP-168 型 CO₂ 恒温培养箱 (中国海尔集团公司); Nanodrop 2000 (美国 Thermo 公司); xMark 酶标仪 (美国 BioRad 公司); A1R⁺ 激光共聚焦显微镜 (日本 Nikon 公司)。

2 方法

2.1 细胞培养

Bewo 细胞株培养在含 15% 胎牛血清和 1% 双抗的 Hams F12 培养基中，置于 5% CO₂、37 °C 恒温培养箱中培养，待细胞密度达到 70%~80% 时，进行铺板铺皿处理。

2.2 CCK-8 实验

取对数生长期 Bewo 细胞以每孔 1×10^4 个接种于 96 孔板，接种 24 h 后，在加或者不加 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 毛喉素^[8] 诱导 Bewo 细胞合胞化的情况下，用尿酸 (30、50、70、100、160、200、400、600 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 或者别嘌呤醇、非布司他、苯溴马隆、丙磺舒 (1、10、20、50、100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 处理 48 h，对照组不加药，空白组不接种细胞。培养结束后加入 CCK-8 试

剂, 孵育 2 h 后, 使用酶标仪在 450 nm 处测定吸光度 (A) 值, 计算细胞相对存活率。

$$\text{细胞相对存活率} = (A_{\text{实验}} - A_{\text{空白}}) / (A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}})$$

2.3 ELISA 实验

取对数生长期细胞以每孔 1×10^5 个细胞接种于 6 孔板, 接种 24 h 后, 分为对照组、毛喉素 ($50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 组、尿酸 (30、50、70、100、160、200、400、600 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 组、别嘌醇 ($50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 组、非布司他 ($50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 组、苯溴马隆 ($20 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 组、丙磺舒 ($100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 组, 除对照组外, 各给药组均同时添加 $50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 毛喉素, 处理 48 h 后, 取上清 ELISA 法检测 hCG 的含量。

2.4 细胞免疫荧光实验

取对数生长期细胞以每孔 1×10^5 个细胞接种于共聚焦皿, 接种 24 h 后, 分为对照组、毛喉素 ($50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 组、尿酸 ($600 \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 组、别嘌醇 ($50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 组、非布司他 ($50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 组、苯溴马隆 ($20 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 组、丙磺舒 ($100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 组, 除对照组外, 各给药组均同时添加 $50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 毛喉素, 处理 48 h 后, 室温下固定 20 min, 渗透 10 min, 封闭 1 h, 与紧密连接蛋白 1 (ZO-1) 一抗 (1:400) 在 4°C 下孵育过夜, TBST 洗皿, 滴加相应的二抗后室温孵育 2 h, TBST 再次洗皿, DAPI 进行复染, 室温避光孵育 5 min, 加入水星封片剂后利用激光共聚焦显微镜拍摄, 计算细胞融合率。

$$\text{细胞融合率} = (N - S) / T$$

N 为合胞体中的细胞核数量, S 为合胞体数量, T 为计数的细胞核总数

2.5 实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 法

取对数生长期细胞以每孔 1×10^5 个接种于 6 孔板, 分组及给药操作同“2.3”项, 收集细胞, 依据试剂盒说明书提取细胞总 RNA, 检测 RNA 浓度后, 将其逆转录为 cDNA 后, 进行 qRT-PCR 检测。基于内参基因 $\beta\text{-actin}$ 归一化目的基因 mRNA 表达水平, 并使用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法分析, 分析各组 $ERVW-1$ 、 $ASCT1$ 、 $ASCT2$ 、 $ERVFRD-1$ 、 $MFS2A$ 的水平差异。

2.6 统计学方法

采用 SPSS 26.0 统计学软件进行数据分析, 计量资料均用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用单因素 ANOVA 检验。

3 结果

3.1 尿酸对 Bewo 细胞活力的影响

不管是否加入毛喉素, 与对照组比较, 不同质

量浓度 (30、50、70、100、160、200、400、600 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 尿酸组细胞相对存活率均无显著变化, 见表 2。

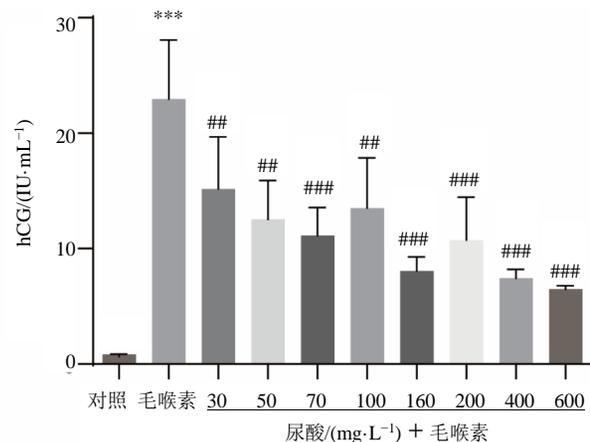
表 2 尿酸对 Bewo 细胞活力的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Table 2 Effect of uric acid on cell viability ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

组别	质量浓度/ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	细胞相对存活率/%	
		不加毛喉素	加毛喉素
对照	—	100±0	100±0
尿酸	30	121±13	106±5
	50	130±17	121±2
	70	133±24	128±30
	100	114±29	121±9
	160	131±41	126±37
	200	131±22	116±12
	400	117±27	109±10
600	117±11	125±15	

3.2 尿酸对 Bewo 细胞 hCG 分泌的影响

毛喉素组和尿酸各质量浓度梯度组 Bewo 细胞 hCG 分泌量远高于对照组 ($P < 0.001$); 与毛喉素组相比, 随着尿酸的质量浓度升高, Bewo 细胞分泌 hCG 的能力下降, 各组均差异显著 ($P < 0.01$ 、 0.001), 见图 1。



与对照组比较: *** $P < 0.001$; 与毛喉素组比较: ## $P < 0.01$
$P < 0.001$ 。

*** $P < 0.001$ vs control group; ## $P < 0.01$ ### $P < 0.001$ vs forskolin group.

图 1 尿酸对 Bewo 细胞 hCG 分泌的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Fig. 1 Effect of uric acid on secretion of hCG in Bewo cell ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

3.3 高尿酸治疗药物对 Bewo 细胞的作用浓度筛选

CCK-8 法检测 4 种高尿酸常见治疗药物的浓度梯度 (1、10、20、50、100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 作用下的 Bewo 细胞相对存活率, 结果显示, 与对照组相比, 100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 别嘌醇组的 Bewo 细胞相

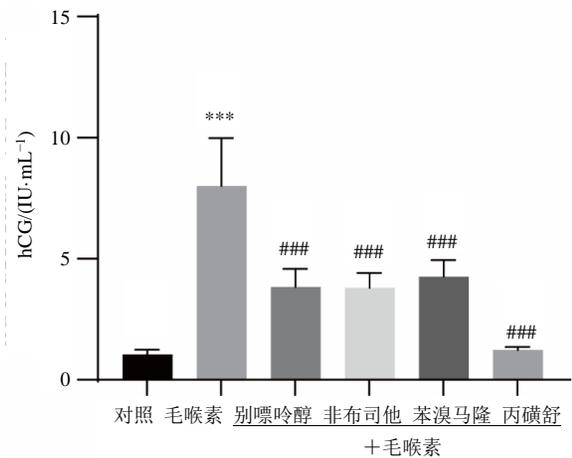
对存活率显著降低 ($P < 0.05$)；在加入毛喉素后， $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 别嘌醇组 Bewo 细胞相对存活率在一定程度上下降，但没有显著差异。而无论是否应用毛喉素， $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 非布司他、 50 、 $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 苯溴马隆都显著降低 Bewo 细胞相对存活率 ($P < 0.05$ 、 0.001)，其中 50 、 $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 苯溴马隆组细胞相对存活率分别降低至 50% 左右、 20% 以下；各浓度丙磺舒对 Bewo 细胞相对存活率并没有明显影响，见表 3。

结果表明，无论是否存在 $50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 毛喉素，高浓度的别嘌醇、非布司他以及苯溴马隆对滋养细胞系的相对存活率产生了明显的抑制作用，各浓度丙磺舒对细胞相对存活率没有明显影响，后续实验将采用 $50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 别嘌醇、 $50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 非布司

他、 $20 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 苯溴马隆以及 $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 丙磺舒对 Bewo 细胞进行干预研究。

3.4 高尿酸治疗药物对 Bewo 细胞 hCG 分泌的影响

使用 ELISA 法检测高尿酸治疗药物影响下 Bewo 细胞 hCG 的分泌程度，结果表明，与对照组比较，毛喉素组 hCG 分泌显著增加 ($P < 0.001$)；与毛喉素组比较，4 种高尿酸治疗药物的应用均降低 Bewo 细胞分泌 hCG 的能力 ($P < 0.001$)，其中别嘌醇、非布司他和苯溴马隆 3 种药物之间没有明显差异，且高于对照组，但丙磺舒组与对照组的分泌量没有明显差异，结果见图 2。



与对照组比较：*** $P < 0.001$ ；与毛喉素组比较：### $P < 0.001$ 。
*** $P < 0.001$ vs control group; ### $P < 0.001$ vs forskolin group.

图 2 高尿酸治疗药物对滋养细胞系 hCG 分泌的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Fig. 2 Effect of hyperuricemia treatment drugs on secretion of hCG in trophoblast cell lines ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

表 3 高尿酸治疗药物浓度梯度影响下的细胞活力 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

组别	浓度/ ($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	细胞相对存活率/%	
		不加毛喉素	加毛喉素
对照	—	100 ± 0	100 ± 0
别嘌醇	1	99 ± 9	100 ± 13
	10	106 ± 6	101 ± 13
	20	99 ± 3	106 ± 7
	50	97 ± 8	103 ± 16
	100	87 ± 4*	92 ± 12
非布司他	1	98 ± 5	100 ± 2
	10	107 ± 10	98 ± 3
	20	106 ± 15	95 ± 5
	50	99 ± 7	99 ± 6
	100	79 ± 11*	85 ± 17#
苯溴马隆	1	108 ± 7	97 ± 6
	10	107 ± 9	97 ± 5
	20	104 ± 5	94 ± 4
	50	49 ± 3***	55 ± 14###
	100	19 ± 5***	13 ± 6###
丙磺舒	1	109 ± 8	107 ± 9
	10	106 ± 5	108 ± 10
	20	106 ± 3	109 ± 13
	50	108 ± 7	118 ± 7
	100	101 ± 6	103 ± 3

与不加毛喉素对照组比较：* $P < 0.05$ *** $P < 0.001$ ；与加毛喉素对照组比较：# $P < 0.05$ ### $P < 0.001$ 。

* $P < 0.05$ *** $P < 0.001$ vs control group without forskolin; # $P < 0.05$ ### $P < 0.001$ vs control group with forskolin.

3.5 尿酸及高尿酸治疗药物对 Bewo 细胞融合的影响

选择绿色荧光标记膜蛋白 ZO-1，蓝色的 DAPI 试剂染细胞核。对 Bewo 细胞进行细胞免疫荧光处理后，使用激光共聚焦显微镜观察并计算细胞融合率，结果发现，与对照组比较，毛喉素组细胞融合率显著升高 ($P < 0.001$)；与毛喉素组比较， $600 \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 尿酸明显抑制细胞的融合 ($P < 0.001$)，但应用了高尿酸治疗药物的细胞存在着与对照组、毛喉素组以及尿酸组明显不同的镜下差异，可观察到细胞间间隙变大，细胞间存在没有被染色的区域，其中 4 种药物的细胞融合率均低于毛喉素组 ($P < 0.001$)，别嘌醇、非布司他、丙磺舒细胞融合率略低于尿酸，但没有显著差异，见图 3、4。

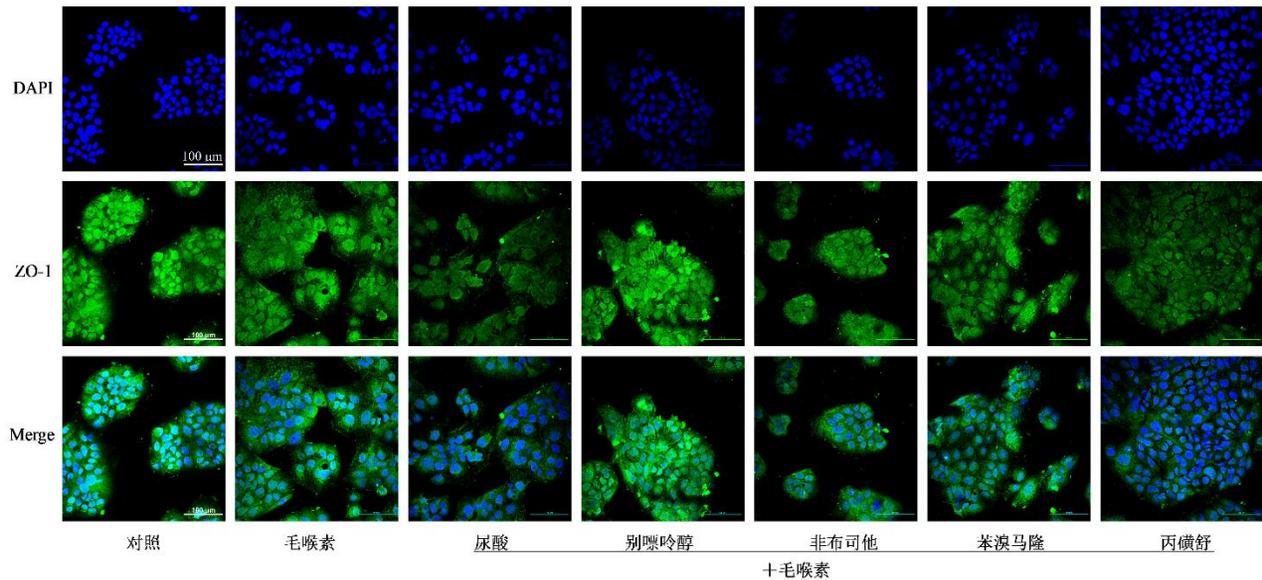
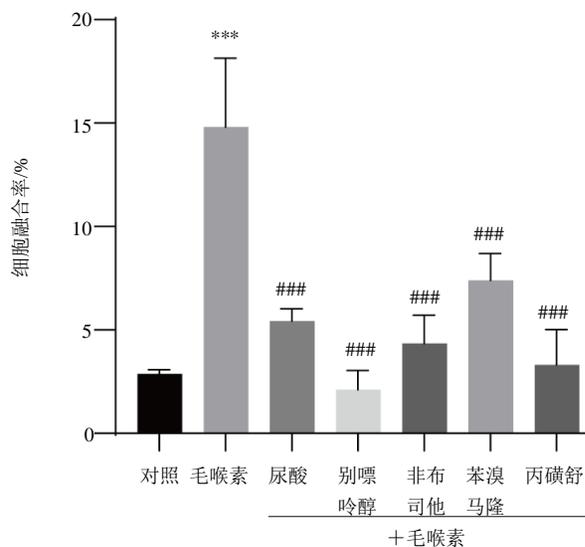


图 3 尿酸及高尿酸治疗药物对 Bewo 细胞融合的影响

Fig. 3 Effects of uric acid and hyperuricemia therapeutic drugs on Bewo cell fusion



与对照组比较: *** $P < 0.001$; 与毛喉素组比较: ### $P < 0.001$ 。

*** $P < 0.001$ vs control group; ### $P < 0.001$ vs forskolin group.

图 4 尿酸及高尿酸治疗药物作用下 Bewo 细胞融合率 ($\bar{x} \pm s, n=3$)Fig. 4 Bewo cell fusion rate under action of uric acid and hyperuricemia therapeutic drugs ($\bar{x} \pm s, n=3$)

3.6 尿酸以及高尿酸治疗药物对 Bewo 细胞融合相关基因的影响

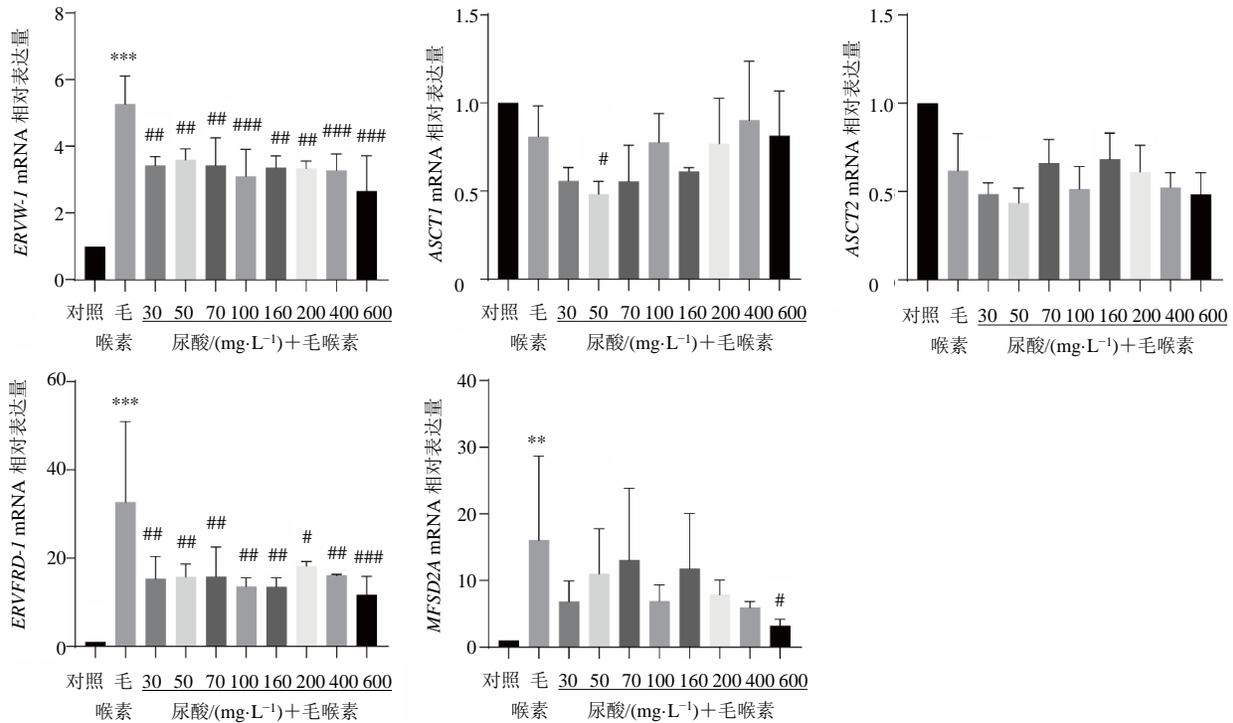
通过 qRT-PCR 技术检测尿酸浓度梯度对 Bewo 细胞融合相关 mRNA 的表达情况, 结果发现, 与对照组相比, 毛喉素提高了 Bewo 细胞中 *ERVW-1*、*ERVFRD-1*、*MFSD2A* mRNA 的表达水平 ($P < 0.01$ 、 0.001), 同时降低了 *ASCT2* mRNA 的表达量 ($P <$

0.01), *ASCT1* mRNA 的表达量虽然下降, 但是与对照组没有统计学差异。与毛喉素组比较, 尿酸抑制毛喉素诱导的 *ERVW-1*、*ERVFRD-1*、*MFSD2A* mRNA 表达上调 ($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001), 而尿酸对 *ASCT1* 与 *ASCT2* mRNA 作用不明显, 见图 5。

Bewo 细胞经治疗高尿酸常见药物处理后, 其 *ERVFRD-1*、*MFSD2A* mRNA 的表达水平均显著低于毛喉素组 ($P < 0.001$); 非布司他组 *ERVW-1* mRNA 的表达水平显著低于毛喉素组 ($P < 0.05$); 而别嘌醇、非布司他、丙磺舒组 *ASCT2* 的 mRNA 表达水平均上调, 高于毛喉素组 ($P < 0.01$ 、 0.001)。见图 6。

4 讨论

尿酸是次黄嘌呤和黄嘌呤的代谢产物, 具有抗氧化作用, 同时也是高尿酸血症和痛风的重要指标。人体内尿酸主要来源于自身嘌呤核苷酸的分解以及食物中嘌呤的代谢, 并主要通过肾脏排出^[9-10]。在正常生理情况下, 非孕期健康女性血清尿酸平均水平为 $40 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 左右, 由于妊娠早期孕妇雌激素水平升高, 尿酸排泄能力提升导致其浓度下降至 $30 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 左右^[4]。随着孕期激素分泌的改变尿酸排泄能力的下降, 以及胎儿尿酸向母体的转移, 使孕妇血尿酸浓度升高, 正常中晚期孕妇的尿酸浓度可达 $50 \sim 70 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。尿酸在孕期异常升高预示着发生孕妇产科疾病、不良妊娠结局和母婴疾病的风险增加^[11-16]。随着时代的进步, 中国各省成年人膳食中

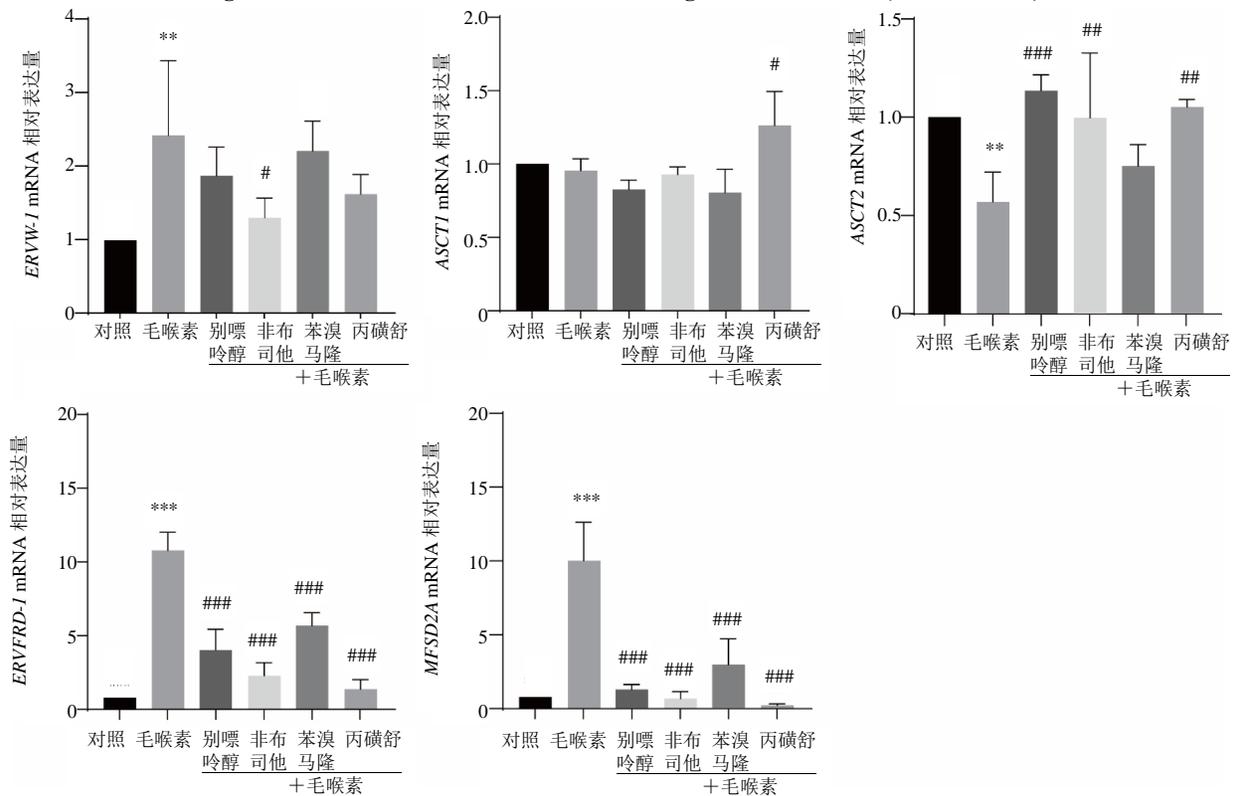


与对照组比较: ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$; 与毛喉素组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ ### $P < 0.001$ 。

** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs control group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ ### $P < 0.001$ vs forskolin group.

图 5 尿酸对 Bewo 细胞中融合相关基因的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 5 Influence of uric acid on fusion-related genes in Bewo cells ($\bar{x} \pm s, n=3$)



与对照组比较: ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$; 与毛喉素组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ ### $P < 0.001$ 。

** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs control group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ ### $P < 0.001$ vs forskolin group.

图 6 高尿酸治疗药物对 Bewo 细胞中融合相关基因的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 6 Influence of hyperuricemia therapeutic drugs on fusion-related genes in Bewo cells ($\bar{x} \pm s, n=3$)

的嘌呤与果糖摄入量逐年增加^[17]，因此控制孕妇妊娠期的尿酸浓度至关重要，与母婴健康密切相关。在本实验中，通过检测尿酸浓度梯度对滋养细胞系活力的影响，发现尿酸浓度的提升并未明显改变 Bewo 细胞活力，进而证明与多种妊娠疾病相关的高尿酸并非通过直接降低细胞活性引发不良妊娠结局。

胎盘是妊娠中母婴连接的重要一过性器官，主要承担着物质运输、免疫屏障以及激素分泌等功能；胎盘绒毛是胎盘的基本功能单位，由细胞滋养细胞及其融合形成的合体滋养层构成^[18-19]。合体滋养层处于胎盘外侧，直接与母体血液接触，进而进行物质交换，并承担孕妇在妊娠期间大部分的激素分泌功能^[20-21]。因此，细胞滋养细胞的融合程度是胎盘能否正常发挥功能的重要因素。本研究发现，随着尿酸浓度的提升，Bewo 细胞分泌 hCG 的能力逐渐下降，这一现象证实了尿酸影响合体滋养层形成并降低其分泌能力。进一步来说，孕妇的血尿酸浓度可能影响胎盘功能的好坏。合体滋养层的形成由合胞素蛋白介导^[22]，人类的合胞素源于整合至基因组中的人逆转录病毒^[23]。有研究发现，在妊娠期糖尿病及子痫前期等妊娠疾病中，患者胎盘绒毛中的合体滋养层形态改变，合胞素表达量降低^[24-26]。而合体滋养层形成的过程被疾病阻断或抑制，胎盘绒毛就会受损，进而导致胎盘功能不全，甚至引发胎儿体质量异常、发育不全以及流产死胎等不良妊娠结局^[27]。目前对合胞化的研究侧重于合胞素在融合中的作用^[28]，而合胞素受体作为融合关键蛋白，还承担着中性氨基酸和溶血性磷脂酰胆碱在胎盘中的转运作用^[29-31]。针对尿酸如何导致滋养细胞系融合能力下降的问题，本研究对融合相关蛋白的 mRNA 进行了 qRT-PCR 检测。结果发现，经毛喉素诱导正常融合的 Bewo 细胞中，*ERVW-1*、*ERVFRD-1* 以及 *MFS2A* 的 mRNA 相对表达量明显升高；而这 3 种基因 mRNA 的相对表达量随着尿酸浓度的提升而逐渐降低，且该趋势与尿酸对 Bewo 细胞 hCG 分泌能力的影响趋势一致。这证明了尿酸通过降低 Bewo 细胞融合关键基因导致了其融合能力的下降，从而使其分泌能力大大降低。此类滋养细胞融合能力的下降及合胞素表达降低现象，与临床上很多与高尿酸相关的妊娠疾病的病理特征吻合。

在发现了尿酸对滋养细胞系融合起到抑制作用的同时，本研究也进行了高尿酸治疗药物的平行

研究，尝试比较妊娠期尿酸水平与维持尿酸水平的药物对滋养细胞系的影响，并根据细胞的融合程度筛选出最佳的妊娠期高尿酸药物。目前中国常用的高尿酸血症治疗药物可分为 2 类：黄嘌呤氧化酶抑制剂（以别嘌呤醇和非布司他为主）以及促尿酸排泄药物（以苯溴马隆和丙磺舒为主）。但是这 4 种药物对滋养细胞的影响并未进行广泛研究。在滋养细胞活力检测中发现，除丙磺舒外，别嘌呤醇、非布司他以及苯溴马隆在 $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度下均不同程度降低滋养细胞系活力，其中苯溴马隆在 $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度下使细胞活力降低至 10%~20%，在 $50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的浓度下降低至 50% 左右。鉴于胎盘会对营养物质以及药物在一定程度上富集，因此在不影响细胞活力的情况下，进一步研究药物对滋养层细胞功能的影响，发现这 4 种高尿酸治疗药物均可抑制融合相关蛋白的 mRNA 表达，降低细胞融合程度，进而降低细胞 hCG 分泌功能。本研究发现除非布司他外，其他 3 种药物下 Bewo 细胞的细胞融合率均低于高浓度尿酸。结合之前实验结果表明，高尿酸确实降低滋养细胞融合及分泌功能，但别嘌呤醇、非布司他、苯溴马隆以及丙磺舒未能有效解决这一问题。因此，建议应针对高尿酸妊娠期孕妇开发不影响胎盘及滋养细胞功能的新药，以缓解高尿酸引发的妊娠期疾病以及不良妊娠结局。

本研究还存在如下的局限性和难点。首先，未对 4 种药物代谢成分进行深入分析，其中别嘌呤醇在人体内可代谢为羟嘌呤醇^[32]，二者共同发挥着抑制尿酸生成的作用。后续研究应进一步分析药物代谢产物对滋养细胞系的影响。第二，使用的 Bewo 细胞源于人绒毛膜癌细胞，较好地保留了人细胞滋养细胞的融合特性，该细胞在毛喉素刺激下可融合并分泌相关激素。然而，与人类胎盘中提取的原代细胞滋养细胞共同进行实验将更有说服力。此外，动物实验中也面临着重要问题。大部分哺乳动物体内存在尿酸分解酶，高尿酸模型难以建立；常用的啮齿类实验动物比如鼠类，其胎盘形态与人类胎盘存在差异，鼠类合胞素类型与人类也并不相同^[33]。最后，高尿酸血症的治疗药物在孕妇中均被禁用或谨慎使用，使研究人员难以观察高尿酸药物长期作用下的孕妇胎盘，为妊娠期高尿酸的治疗带来困难。目前国外已开发出尿酸氧化酶用于治疗原发性及继发性的高尿酸血症^[8, 34-35]，该类药物治疗理论上对胎盘功能应无影响，但是其对孕妇体内滋养层细胞

的影响并没有深入研究,国内也没有引进,因此其在高尿酸孕妇的应用需要进一步去研究。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Hu J H, Xu W Y, Yang H Y, et al. Uric acid participating in female reproductive disorders: A review [J]. *Reprod Biol Endocrinol*, 2021, 19(1): 65.
- [2] 张超, 常岭迪, 冯伟, 等. 高尿酸血症发病机制与治疗策略的研究进展 [J]. *空军军医大学学报*, 2024, 15(10): 1184-1190.
- Zhang C, Chang L D, Feng W, et al. Research progress on the pathogenesis and treatment strategies of hyperuricemia [J]. *J Air Force Med Univ*, 2024, 15(10): 1184-1190.
- [3] 张梦婷, 何丽娜, 吕奕菁. 治疗高尿酸血症的药物研究进展 [J]. *中国药物经济学*, 2024, 19(1): 114-117, 121.
- Zhang M T, He L N, Lv Y J. Advances in drug therapy for hyperuricemia [J]. *China J Pharm Econ*, 2024, 19(1): 114-117, 121.
- [4] 裴小华, 赵亚亚, 柏云, 等. 妊娠期高尿酸血症 [J/OL]. *中华妇幼临床医学杂志(电子版)*, 2018, 14(4): 378-383.
- Pei X H, Zhao Y Y, Bo Y, et al. Gestational hyperuricemia [J/OL]. *Chin J Obstet Gynecol Pediatr Electron Ed*, 2018, 14(4): 378-383.
- [5] Xiao X R, Tang Y H, Wooff Y, et al. Upregulation of pannexin-1 hemichannels explains the apparent death of the syncytiotrophoblast during human placental explant culture [J]. *Placenta*, 2020, 94: 1-12.
- [6] Kimura T, Tsukada A, Fukutomi T, et al. Urate transport via paracellular route across epithelial cells [J]. *Biol Pharm Bull*, 2019, 42(1): 43-49.
- [7] Negi M, Mulla M J, Han C S, et al. Allopurinol inhibits excess glucose-induced trophoblast IL-1 β and ROS production [J]. *Reproduction*, 2020, 159(1): 73-80.
- [8] Eliesen G A M, Franssen M, Kooijman N, et al. Effects of tumor necrosis factor on undifferentiated and syncytialized placental choriocarcinoma BeWo cells [J/OL]. *Toxicol in Vitro*, 2022, 80: 105327.
- [9] Annesi L, Tossetta G, Borghi C, et al. The role of xanthine oxidase in pregnancy complications: A systematic review [J]. *Antioxidants (Basel)*, 2024, 13(10): 1234.
- [10] Yang S L, Liu H M, Fang X M, et al. Signaling pathways in uric acid homeostasis and gout: From pathogenesis to therapeutic interventions [J]. *Int Immunopharmacol*, 2024, 132: 111932.
- [11] 赵茹, 韩晨, 黄泽宇, 等. 孕晚期血清尿酸及血清尿酸/肌酐水平与不良妊娠结局的关系研究 [J]. *中国全科医学*, 2024, 27(9): 1074-1081.
- Zhao R, Han C, Huang Z Y, et al. Correlation of serum uric acid and serum uric acid/creatinine ratio levels with adverse pregnancy outcomes in late pregnancy [J]. *Chin Gen Pract*, 2024, 27(9): 1074-1081.
- [12] 黄琼辉, 刘捷, 曾超美, 等. 母体高尿酸血症对妊娠结局和新生儿合并症影响的回顾性巢式病例对照研究 [J]. *中国循证儿科杂志*, 2022, 17(5): 331-335.
- Huang Q H, Liu J, Zeng C M, et al. The effect of maternal hyperuricemia on pregnancy outcomes and neonatal complications: A retrospective nested case-control study [J]. *Chin J Evid Based Pediatr*, 2022, 17(5): 331-335.
- [13] Su S F, Zhang E J, Gao S, et al. Serum uric acid and the risk of gestational diabetes mellitus: A systematic review and meta-analysis [J]. *Gynecol Endocrinol*, 2023, 39(1): 2231101.
- [14] 高海侠, 张晓月. 孕晚期超声 S/D 值联合尿酸水平预测子痫前期并发胎儿生长受限不良妊娠结局的临床价值 [J]. *中国医学计算机成像杂志*, 2024, 30(5): 599-603.
- Gao H X, Zhang X Y. Clinical predictive value of ultrasound S/D in late pregnancy combined with uric acid in adverse pregnancy outcomes of patients with preeclampsia complicated with fetal growth restriction [J]. *Chin Comput Med Imag*, 2024, 30(5): 599-603.
- [15] 李莉, 郑丹, 张桂芳, 等. 孕早期血清中胎盘蛋白 13 和尿酸水平与早发型重度子痫前期的相关性研究 [J]. *江西医药*, 2024, 59(8): 741-744.
- Li L, Zheng D, Zhang G F, et al. Correlation between serum placental protein 13 and uric acid levels in early pregnancy and early-onset severe preeclampsia [J]. *Jiangxi Med J*, 2024, 59(8): 741-744.
- [16] 卢永收. 孕晚期血尿酸水平对母婴结局的影响 [J]. *中国医药指南*, 2023, 21(11): 21-24.
- Lu Y S. The influence of blood uric acid level in the third trimester of pregnancy on the maternal and infant outcome [J]. *Guide China Med*, 2023, 21(11): 21-24.
- [17] 董孟茹, 魏艳丽, 欧阳一非, 等. 中国成年居民膳食嘌呤摄入状况分析 [J]. *中国食物与营养*, 2024, 30(10): 73-77.
- Dong M R, Wei Y L, Ouyang Y F, et al. Analysis of dietary purine intake of Chinese adult residents between 1991 and 2018 [J]. *Food Nutr China*, 2024, 30(10): 73-77.
- [18] Khorami-Sarvestani S, Vanaki N, Shojaeian S, et al. Placenta: An old organ with new functions [J]. *Front Immunol*, 2024, 15: 1385762.
- [19] Bu C Z, Wang Z W, Ren Y W, et al. Syncytin-1

- nonfusogenic activities modulate inflammation and contribute to preeclampsia pathogenesis [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2022, 79(6): 290.
- [20] Renaud S J, Jeyarajah M J. How trophoblasts fuse: An in-depth look into placental syncytiotrophoblast formation [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2022, 79(8): 433.
- [21] Aplin J D, Jones C J P. Cell dynamics in human villous trophoblast [J]. *Hum Reprod Update*, 2021, 27(5): 904-922.
- [22] Renaud S J. An old dog with new tricks: TFEB promotes syncytin expression and cell fusion in the human placenta [J]. *Genes Dev*, 2024, 38(15/16): 695-697.
- [23] Johnson W E. Origins and evolutionary consequences of ancient endogenous retroviruses [J]. *Nat Rev Microbiol*, 2019, 17(6): 355-370.
- [24] Yuan X, Liu X Y, Zhu F Y, et al. Endoplasmic reticulum stress impairs trophoblast syncytialization through upregulation of HtrA4 and causes early-onset preeclampsia [J]. *J Hypertens*, 2023, 41(12): 2095-2106.
- [25] [24][24] Huang L J, Tu Z W, Wei L D, et al. Generating functional multicellular organoids from human placenta villi [J]. *Adv Sci (Weinh)*, 2023, 10(26): e2301565.
- [26] Valent A M, Choi H, Kolahi K S, et al. Hyperglycemia and gestational diabetes suppress placental glycolysis and mitochondrial function and alter lipid processing [J]. *FASEB J*, 2021, 35(3): e21423.
- [27] Zhou H J, Zhao C Q, Wang P X, et al. Regulators involved in trophoblast syncytialization in the placenta of intrauterine growth restriction [J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2023, 14: 1107182.
- [28] Prišćáková P, Svoboda M, Feketová Z, et al. Syncytin-1, syncytin-2 and suppressyn in human health and disease [J]. *J Mol Med (Berl)*, 2023, 101(12): 1527-1542.
- [29] Shimada H, Powell T L, Jansson T. Regulation of placental amino acid transport in health and disease [J]. *Acta Physiol (Oxf)*, 2024, 240(7): e14157.
- [30] Štafl K, Trávníček M, Janovská A, et al. Receptor usage of syncytin-1: ASCT2, but not ASCT1, is a functional receptor and effector of cell fusion in the human placenta [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2024, 121(44): e2407519121.
- [31] Martinez-Molledo M, Nji E, Reyes N. Structural insights into the lysophospholipid brain uptake mechanism and its inhibition by syncytin-2 [J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2022, 29(6): 604-612.
- [32] Day R O, Graham G G, Hicks M, et al. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of allopurinol and oxypurinol [J]. *Clin Pharmacokinet*, 2007, 46(8): 623-644.
- [33] Mangeney M, Renard M, Schlecht-Louf G, et al. Placental syncytins: Genetic disjunction between the fusogenic and immunosuppressive activity of retroviral envelope proteins [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(51): 20534-20539.
- [34] Howard S C, Avagyan A, Workeneh B, et al. Tumour lysis syndrome [J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2024, 10(1): 58.
- [35] Botson J K, Saag K, Peterson J, et al. A randomized, placebo-controlled study of methotrexate to increase response rates in patients with uncontrolled gout receiving pegloticase: primary efficacy and safety findings [J]. *Art Rheumatol*, 2023, 75(2): 293-304.

[责任编辑 兰新新]