doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2023.06.003

ω-3 脂肪酸对人滋养层细胞侵袭和血管生成的影响 *

贺艳丽 王运萍 綦春蕾 赵淑华 李玲霞 周福兴 张 潍△

（第四军医大学西京医院妇产科 陕西 西安 710032）

摘要 目的：探讨 ω -3 脂肪酸对人滋养层细胞（HTR-8/SVneo）侵袭和血管生成的影响。**方法：**本实验设置了不同浓度二十碳五烯酸（EPA）和二十二碳六烯酸（DHA）处理组，依次为 0、1、50 和 100 μmol/L EPA 组；0、1、50 和 100 μmol/L DHA 组。各组 HTR-8/SVneo 细胞分别用相应浓度的 EPA 和 DHA 培养 48 h。然后通过 CCK-8 法检测细胞增殖，Matrigel Transwell 实验检测细胞侵袭。使用 EPA 和 DHA 处理的 HTR-8/SVneo 细胞的上清液培养人脐静脉内皮细胞（HUVEC）6 h，然后检测 HUVEC 的小管形成能力。通过 qRT-PCR 和 Western blot 检测 HTR-8/SVneo 细胞中三结构域蛋白 22（TRIM22）、信号转导和转录激活因子 1（STAT1）、p-STAT1（Tyr701）、基质金属蛋白酶 2（MMP2）、MMP9 和 VEGF 的表达。**结果：**与 0 μmol/L EPA 组或 0 μmol/L DHA 组相比，50 μmol/L EPA 组、100 μmol/L EPA 组、50 μmol/L DHA 组和 100 μmol/L DHA 组的 OD_{450nm}、侵袭细胞数量、MMP2 和 MMP9 的蛋白相对表达量均升高（$P<0.05$）。与 0 μmol/L EPA 组或 0 μmol/L DHA 组相比，50 μmol/L EPA 组、100 μmol/L EPA 组、50 μmol/L DHA 组和 100 μmol/L DHA 组的相对小管长度和 VEGF 蛋白相对表达量均升高（$P<0.05$）。与 0 μmol/L EPA 组或 0 μmol/L DHA 组相比，50 μmol/L EPA 组、100 μmol/L EPA 组、50 μmol/L DHA 组和 100 μmol/L DHA 组的 TRIM22 mRNA 和蛋白相对表达量均升高，而 STAT1 mRNA 相对表达量和 p-STAT1 (Tyr701)蛋白相对表达量均降低（$P<0.05$）。**结论：**ω-3 脂肪酸处理可促进滋养层细胞的侵袭性和血管生成，其机制可能与 TRIM22 的上调和 STAT1 活性的抑制有关。

关键词：ω -3 脂肪酸；滋养层细胞；侵袭；血管生成；三结构域蛋白 22；信号转导和转录激活因子 1

中图分类号：R-33；R714.244 **文献标识码：**A **文章编号：**1673-6273（2023）06-1010-07

Effects of Omega-3 Fatty Acids on the Invasion and Angiogenesis of Human Trophoblast Cells*

HE Yan-li, WANG Yun-ping, QI Chun-lei, ZHAO Shu-hua, LI Ling-xia, ZHOU Fu-xing, ZHANG Wei△

(Department of Obstetrics and Gynecology, Xijing Hospital, Fourth Military Medical University of PLA, Xi'an, Shaanxi, 710032, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the effects of omega-3 fatty acids on the invasion and angiogenesis of human trophoblast cells (HTR-8/SVneo). **Methods:** Different concentrations of eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA) groups were set up: 0 μmol/L EPA group, 1 μmol/L EPA group, 50 μmol/L EPA group and 100 μmol/L EPA group; 0 μmol/L DHA group, 1 μmol/L DHA group, 50 μmol/L DHA group and 100 μmol/L DHA group. The HTR-8/SVneo cells in each group were cultured with corresponding concentrations of EPA and DHA for 48 h. Then the cell proliferation was detected by the CCK-8 method, and the cell invasion was detected by the Matrigel Transwell test. Human umbilical vein endothelial cells (HUVEC) were cultured for 6 h with the supernatant of HTR-8/SVneo cells treated with EPA and DHA, and then the tubule forming ability of HUVEC was detected. The expression level of tripartite motif-containing 22 (TRIM22), signal transducer and activator of transcription 1 (STAT1), p-STAT1 (Tyr701), matrix metalloproteinase 2 (MMP2), MMP9, MMP9 and VEGF in HTR-8/SVneo cells were detected by qRT-PCR and Western blot. **Results:** Compared with the 0 μmol/L EPA group or 0 μmol/L DHA group, OD450 nm, number of invaded cells, and relative protein expression level of MMP2 and MMP9 in the 50 μmol/L EPA group, 100 μmol/L EPA group, 50 μmol/L DHA group and 100 μmol/L DHA group were increased ($P<0.05$). Compared with the 0 μmol/L EPA group or 0 μmol/L DHA group, the relative tubule length and the relative expression of VEGF protein in the 50 μmol/L EPA group, 100 μmol/L EPA group, 50 μmol/L DHA group and 100 μmol/L DHA group were increased ($P<0.05$). Compared with the 0 μmol/L EPA group or 0 μmol/L DHA group, the relative expression levels of TRIM22 mRNA and protein in the 50 μmol/L EPA group, 100 μmol/L EPA group, 50 μmol/L DHA group and 100 μmol/L DHA group were increased, while the relative expression of STAT1 mRNA and p-STAT1 (Tyr701) protein were decreased ($P<0.05$). **Conclusion:** Omega-3 fatty acid treatment can promote the invasiveness and angiogenesis of trophoblast cells. The mechanism may be related to the up-regulation of TRIM22 and the inhibition of STAT1 activity.

Key words: ω-3 fatty acids; Trophoblast cells; Invasion; Angiogenesis; Tripartite motif-containing 22; Signal transducer and

* 基金项目：国家自然科学基金青年基金项目（82002735）

作者简介：贺艳丽（1983-），女，硕士研究生，主治医师，主要研究方向：妇科肿瘤，E-mail: lsing20Qin@126.com

△ 通讯作者：张潍（1976-），男，博士研究生，副主任医师，主要研究方向：妇科肿瘤，E-mail: 31490002@qq.com

（收稿日期：2022-08-18 接受日期：2022-09-15）

activator of transcription 1

Chinese Library Classification (CLC): R-33; R714.244 Document code: A
Article ID: 1673-6273(2023)06-1010-07

前言

子痫前期(preeclampsia,PE)是一种以妊娠 20 周后孕妇血压升高和蛋白尿为特征的疾病,严重威胁母婴健康[1]。PE 的病因是多因素的,涉及胎盘免疫调节[2]、血管功能障碍[3]、缺血 / 缺氧[4]和遗传变异[5]。虽然 PE 的发病机制尚未完全阐明,但滋养层细胞浸润不足引起的子宫螺旋动脉重构障碍是该病的主要原因[6]。具体来说,正常情况下胚胎绒毛外滋养层细胞迁移到母体子宫蜕膜组织中参与螺旋动脉的重塑。然而,在氧化应激等病理条件下,滋养层细胞功能受损,导致胎盘浅着床和子宫螺旋动脉重构障碍[7]。因此,维持滋养层细胞的侵袭性及其相关的血管生成等正常生理功能对于阻止 PE 的进展具有重要的临床意义,研究母胎界面滋养层细胞的分子变化可能为 PE 的发病机制开辟新的视角。ω-3 脂肪酸的成分主要为二十碳五烯酸(eicosapentaenoic acid,EPA)和二十二碳六烯酸(docosahexaenoic acid,DHA),具有降血压、改善血管功能、抗动脉粥样硬化等作用[8]。此外,ω-3 脂肪酸还可促进胚胎发育[9]。ω-3 脂肪酸对大脑和眼睛发育至关重要[10]。然而,大多数孕妇和育龄妇女始终达不到 ω-3 脂肪酸的建议日摄入量[11,12]。有研究认为,补充 ω-3 脂肪酸和维生素 E 可通过降低子痫前期大鼠胎盘中 caspase-8 和 caspase-3 的表达,从而减少胎盘细胞凋亡[13]。然而,目前尚无文献研究 ω-3 脂肪酸是否影响人滋养层细胞侵袭和血管生成。

三结构域蛋白 22(tripartite motif protein 22,TRIM22)为一种干扰素(interferon,IFN)诱导的蛋白,也被称为 Staf50[14]。TRIM22 具有增强固有免疫[15]、抗人类免疫缺陷病毒 1 型[16]、抗甲型流感病毒[17]和抗丙型肝炎病毒等作用[18]。此外,TRIM22 被证实参与调控凋亡、细胞周期、侵袭等细胞功能。Liu 等[19]发现 TRIM22 在非小细胞肺癌中表达上调,并促进 A549 细胞的增殖和侵袭。此外,研究表明,TRIM22 的上调可提高滋养层细胞的侵袭性[20]。信号转导和转录激活因子 1(signal transducers and activators of transcription 1,STAT1)是 STAT 家族成员,一项研究表明,白细胞介素 -27(interleukin-27,IL-27)会激活 STAT1 从而抑制子痫前期患者的滋养层细胞迁移和侵袭[21]。

本研究以 HTR-8/SVneo 细胞研究对象,旨在探讨 ω-3 脂肪酸是否影响 HTR-8/SVneo 细胞侵袭和血管生成,及其对 TRIM22 和 STAT1 的影响。

1 材料与方法

1.1 药品与试剂

HTR-8/SVneo 细胞和人脐静脉内皮细胞(HUVEC)均购自美国 ATCC,EPA 和 DHA 均购自美国 Sigma。RPMI 1640、青霉素 / 链霉素双抗购自美国 Gibco。CCK-8 试剂盒购自碧云天生物技术研究所。Matrigel 基质胶、Transwell 购自美国 Corning。胎牛血清、结晶紫购自美国 Sigma Aldrich。TRIzol 购自美国 Invitgen。PrimeScript RT 试剂盒、SYBR PreMix Ex TaqⅡ购自日本 TaKaRa。RIPA 裂解缓冲液、BCA 蛋白浓度测定试剂盒、SDS-PAGE、ECL 试剂购自北京索宝科技有限公司。PVDF 膜购自美国 Millipore。脱脂牛奶购自生工生物工程(上海)股份有限公司。一抗及二抗均购自英国 Abcam。

1.2 方法

1.2.1 滋养层细胞培养和处理 HTR-8/SVneo 细胞在 RPMI 1640 培养基(添加 10%胎牛血清和 1%青霉素 / 链霉素)中于 37℃、5% CO_2 的培养箱中培养。达到 90%融合后,PBS 洗涤细胞,0.25%胰酶 37℃消化处理 2 min,10%胎牛血清终止消化,细胞悬液经 500 r/min 离心 5 min 后,10%胎牛血清重悬细胞进行传代培养。

1.2.2 滋养层细胞实验分组 使用无水乙醇溶解 EPA 和DHA,用 RPMI 1640 培养液稀释所需浓度(1、50 和 100 μmol/L)。实验设置不同浓度 EPA 和 DHA 处理组,依次为 0 μmol/L EPA 组、1 μmol/L EPA 组、50 μmol/L EPA 组和 100 μmol/L EPA 组;0 μmol/L DHA 组、1 μmol/L DHA 组、50 μmol/L DHA 组和100 μmol/L DHA 组;每组 6 个复孔。0 μmol/L EPA 组和 0 μmol/L DHA 组细胞用溶剂培养,其他组细胞用含不同浓度的 EPA 和 DHA 的 RPMI 1640 培养液培养。

1.2.3 细胞活力测定 将 HTR-8/SVneo 细胞接种于 96 孔板中(1×10^5/ 孔),每孔 100 μL,于 37℃、5%CO_2 培养 24 h 后用不同浓度 EPA 和 DHA 培养 48 h。然后换成含 CCK-8 试剂的培养液于 37℃、5% CO_2 下培养 4 h。然后用酶标仪在 450 nm 波长处测定吸光度值(OD)。

1.2.4 Matrigel Transwell 实验 将 Matrigel 基质胶平铺于 Transwell 小室中,37℃孵育过夜。然后将不同浓度 EPA 和 DHA 培养的细胞(1×10^4/ 孔)接种于 Transwell 小室中,每孔 200 μL,下室添加 750 μL 含 10%胎牛血清的完全培养基。37℃培养 48 h 后,用 100%甲醇固定 30 min。然后用 0.2%结晶紫染色 10 min。在奥林巴斯 IX51 显微镜下观察和记录侵袭的细胞。

1.2.5 人脐静脉内皮细胞(HUVEC)血管生成的测定 将液体状的 Matrigel 胶铺于 96 孔板中,每孔 40 μL,37℃干燥 45 min 备用。人脐静脉内皮细胞(HUVEC)在 RPMI 1640 培养基(添加 10%胎牛血清和 1%青霉素 / 链霉素)中于 37℃和 5%CO_2 下培养箱中培养。每日换液,达到 90%融合后进行传代培养。用含 EDTA 的 0.25%胰酶消化对数期生长 HUVEC,1000 r/min 离心 5 min,弃上清,用不含血清的培养基重悬细胞,调整细胞浓度至 5×10^5 个 /mL。将不同浓度 EPA 和 DHA 培养的 HTR-8/SVneo 细胞在 37℃、5%CO_2 培养 48 h,1000 r/min 离心 5 min,收集上清液。然后将 HUVEC 接种于 Matrigel 胶上,每孔 20 μL 细胞悬液,再补充 20 μL 的不同浓度 EPA 和 DHA 培养的 HTR-8/SVneo 细胞上清液,37℃、5%CO_2 培养 6 h,在奥林巴斯 IX53 倒置显微镜下(放大 100 倍)观察小管图像,记录小管的长度。

1.2.6 qRT-PCR 检测 mRNA 表达量 不同浓度 EPA 和 DHA 培养 HTR-8/SVneo 细胞 48 h 后,根据制造商的说明,使用

TRIzol 提取细胞总 RNA。用美国 ThermoFisher Science NanoDrop one 超微量分光光度计评估 RNA 的产量和纯度。使用 PrimeScript RT 试剂盒从 100 ng 总 RNA 中合成 cDNA，并使用 SYBR PreMix Ex Taq II 在美国 Bio-Rad CFX96 实时 PCR 检测系统上进行 qRT-PCR。反应程序为：48℃ 30 min，95℃ 10 min，95℃ 15 s，60℃ 60 s，40 次循环，引物序列为：TRIM22，上游：5'-CAATGTCACAAACCACGGAGCA-3'，下游：5'-GGAAGAGATGGTCTCAGTAGAGAT-3'；STAT1，上游：5'-AGACCACCTCTCTTCCTGTCGT-3'，下游物：5'-AAACTGCCAACTCAACACCTCT-3'；GAPDH，上游：5'-CCCACTCCTCCACCTTTGAC-3'，下游：5'-TGAGGTCCACCACCCTGTTG-3'。GAPDH 作为内参。通过 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法确定基因相对表达量。

1.2.7 Western blot 检测蛋白表达量　不同浓度 EPA 和 DHA 培养 HTR-8/SVneo 细胞 48 h 后，用 RIPA 裂解缓冲液裂解细胞。离心处理（10000 r/min、4℃离心 5 min）后收集总蛋白，用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒定量。通过 12%的 SDS-PAGE 分离等量的蛋白质，然后将其电转移到 PVDF 膜。用 5%脱脂牛奶封闭膜 1 h，然后与以下一抗在 4℃孵育过夜：TRIM22（1∶3000 稀释）、STAT1（1∶2000 稀释）、p-STAT1 (Tyr701，1∶2000 稀释）、基质金属蛋白酶 2（MMP2，1∶2000 稀释）、MMP9（1∶2000 稀释）、VEGF（1∶5000 稀释）和 GAPDH（1∶2000 稀释）。第二天，清洗膜并在室温下与 HRP 标记的 IgG 二抗（1∶2000 稀释）室温孵育 1 h。ECL 试剂显色。GAPDH 作为内参。

1.3 统计学分析

数据表示为 6 个独立重复的平均值± 标准差。对数据进行正态分布检验，采用单因素方差分析和 LSD 多重比较检验。使用 SPSS21.0 软件进行统计分析，GraphPad Prism 8.0 软件进行制图。统计学意义定义为 $P<0.05$。

2 结果

2.1 ω-3 脂肪酸对 HTR-8/SVneo 细胞活力的影响

CCK-8 检测显示，与 0 μmol/L EPA 组相比，50 μmol/L EPA 组和 100 μmol/L EPA 组细胞的 $OD_{450\ nm}$ 分别升高了 11.49%和 19.25%（$P<0.05$）。与 0 μmol/L DHA 组相比，50 μmol/L DHA 组和 100 μmol/L DHA 组的 OD450 nm 分别升高了 20.19%和 23.97%（$P<0.05$）。见图 1。

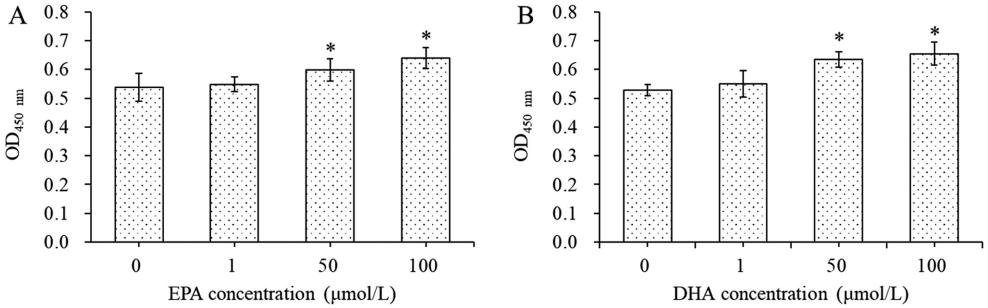

图 1 ω-3 脂肪酸对 HTR-8/SVneo 细胞活力的影响

Fig.1 The effect of omega-3 fatty acids on the viability of HTR-8/SVneo cells

Note: A and B: Cell viability of HTR-8/SVneo cells cultured with different concentrations of EPA and DHA for 48 h determined by CCK-8 method; compared with 0 μmol/L EPA or 0 μmol/L DHA, *$P<0.05$.

2.2 ω-3 脂肪酸对 HTR-8/SVneo 细胞侵袭的影响

Matrigel Transwell 实验显示，与 0 μmol/L EPA 组（46.00±7.87）相比，50 μmol/L EPA 组（89.83±7.86）和 100 μmol/L EPA 组（205.83±14.82）的侵袭细胞数量均显著升高（$P<0.05$）。与 0 μmol/L DHA 组（49.67±2.80）相比，50 μmol/L DHA 组（92.00±6.84）和 100 μmol/L DHA 组（200.33±16.85）的侵袭细胞数量均显著升高（$P<0.05$）。1 μmol/L EPA 和 1 μmol/L DHA 处理均未影响细胞侵袭能力（$P>0.05$）。见图 2。

Western blot 检测显示，与 0 μmol/L EPA 组相比，50 μmol/L EPA 组和 100 μmol/L EPA 组细胞中 MMP2 蛋白相对表达量分别升高了 282.41%和 496.15%，MMP9 蛋白相对表达量分别升高了 219.00%和 411.50%（$P<0.05$）。与 0 μmol/L DHA 组相比，50 μmol/L DHA 组和 100 μmol/L DHA 组细胞中 MMP2 蛋白相对表达量分别升高了 290.47%和 368.39%，MMP9 蛋白相对表达量分别升高了 217.83%和 300.17%（$P<0.05$）。见图 3。

2.3 ω-3 脂肪酸对 HTR-8/SVneo 细胞共培养的 HUVEC 血管生成的影响

小管形成测定实验显示，与 0 μmol/L EPA 组相比，50 μmol/L EPA 组和 100 μmol/L EPA 组的相对小管长度分别升高了 94.98%和 168.90%（$P<0.05$）。与 0 μmol/L DHA 组相比，50 μmol/L DHA 组和 100 μmol/L DHA 组的相对小管长度分别升高了 93.63%和 174.54%（$P<0.05$）。见图 4A-C。

Western blot 检测显示，与 0 μmol/L EPA 组相比，50 μmol/L EPA 组和 100 μmol/L EPA 组细胞中 VEGF 蛋白相对表达量分别升高了 42.90%和 180.97%（$P<0.05$）。与 0 μmol/L DHA 组相比，50 μmol/L DHA 组和 100 μmol/L DHA 组细胞中 VEGF 蛋白相对表达量分别升高了 169.72%和 294.51%（$P<0.05$）。见图 4D 和 E。

2.4 ω-3 脂肪酸对 HTR-8/SVneo 细胞中 TRIM22 和 STAT1 的影响

qRT-PCR 检测显示，与 0 μmol/L EPA 组相比，50 μmol/L EPA 组和 100 μmol/L EPA 组细胞中 TRIM22 mRNA 相对表达量分别升高了 97.50%和 258.67%，STAT1 mRNA 相对表达量分别降低了 44.48%和 73.75%（$P<0.05$）。与 0 μmol/L DHA 组相比，50 μmol/L DHA 组和 100 μmol/L DHA 组细胞中

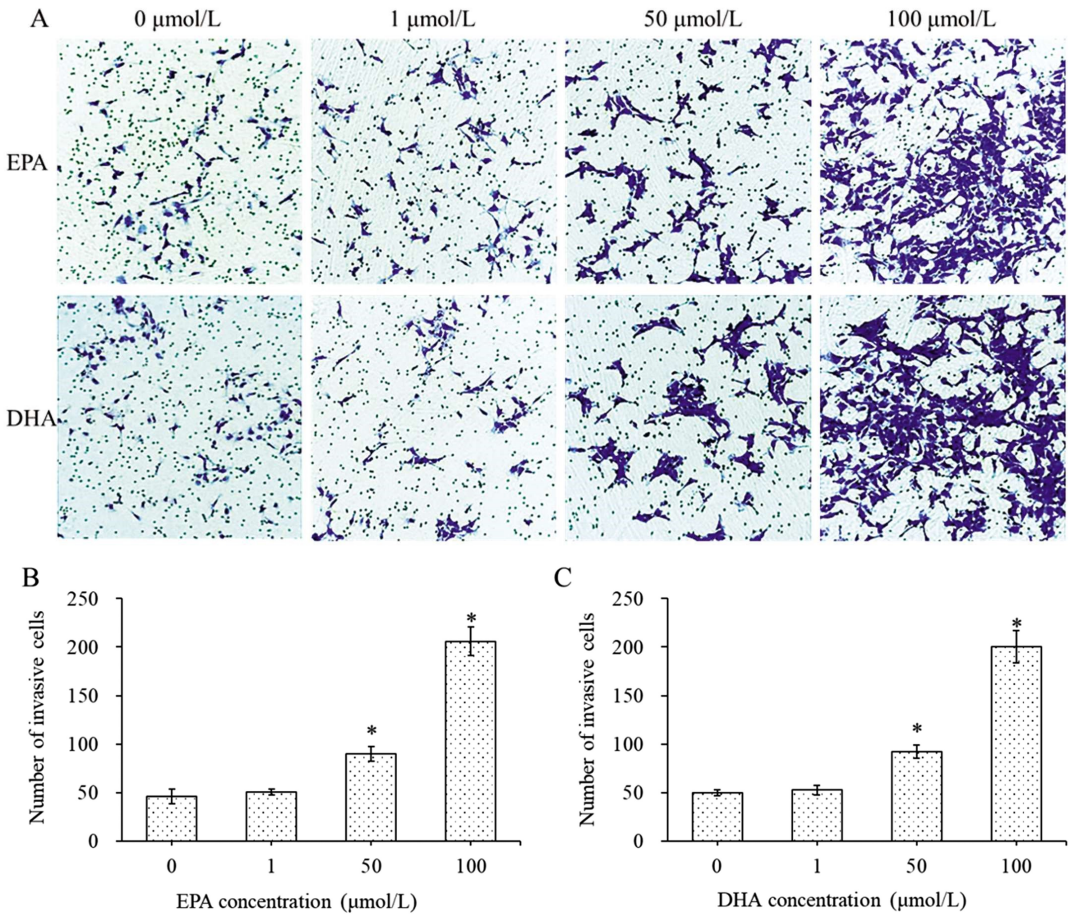

图 2 ω-3 脂肪酸对 HTR-8/SVneo 细胞侵袭的影响

Fig.2 The effect of ω-3 fatty acids on the invasion of HTR-8/SVneo cells

Note: A: Matrigel Transwell test image, magnification: 100×; B and C: the number of invasive cells in HTR-8/SVneo cells cultured with different concentrations of EPA and DHA for 48 h determined by Matrigel Transwell; compared with 0 μmol/L EPA or 0 μmol/L DHA, *P<0.05.

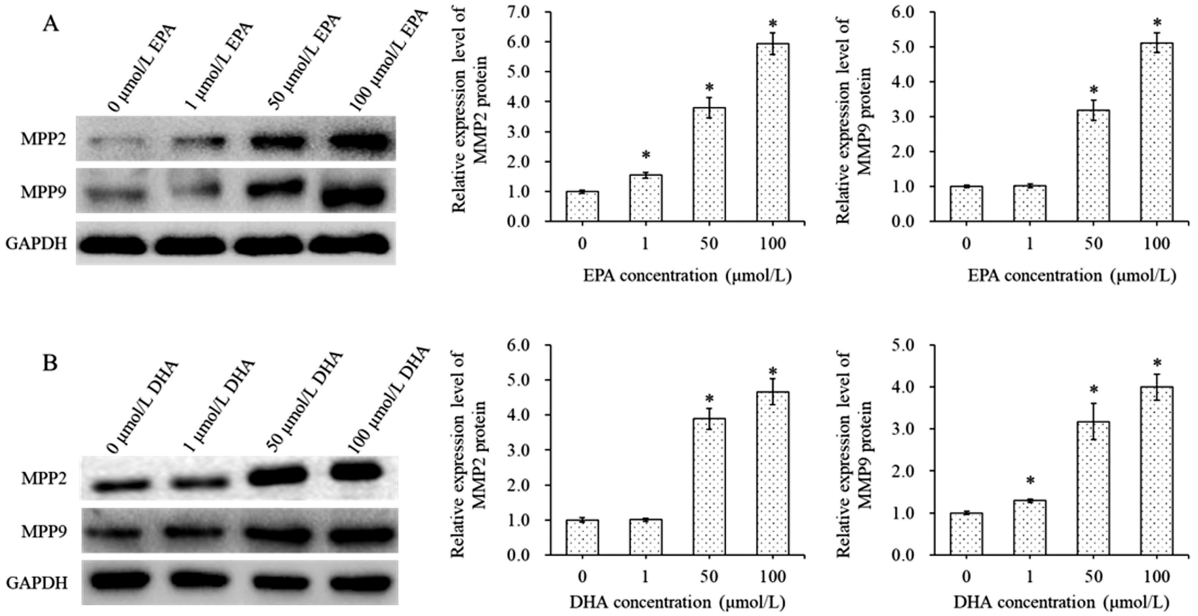

图 3 ω-3 脂肪酸对 HTR-8/SVneo 细胞中 MMP2 和 MMP9 蛋白表达的影响

Fig.3 The effect of ω-3 fatty acids on the expression level of MMP2 and MMP9 protein in HTR-8/SVneo cells

Note: A: The relative expression of MMP2 and MMP9 protein in HTR-8/SVneo cells cultured with different concentrations of EPA for 48 h detected by Western blot; B: The relative expression of MMP2 and MMP9 protein in HTR-8/SVneo cells cultured with different concentrations of DHA for 48 h detected by Western blot; compared with 0 μmol/L EPA or 0 μmol/L DHA, *P<0.05.

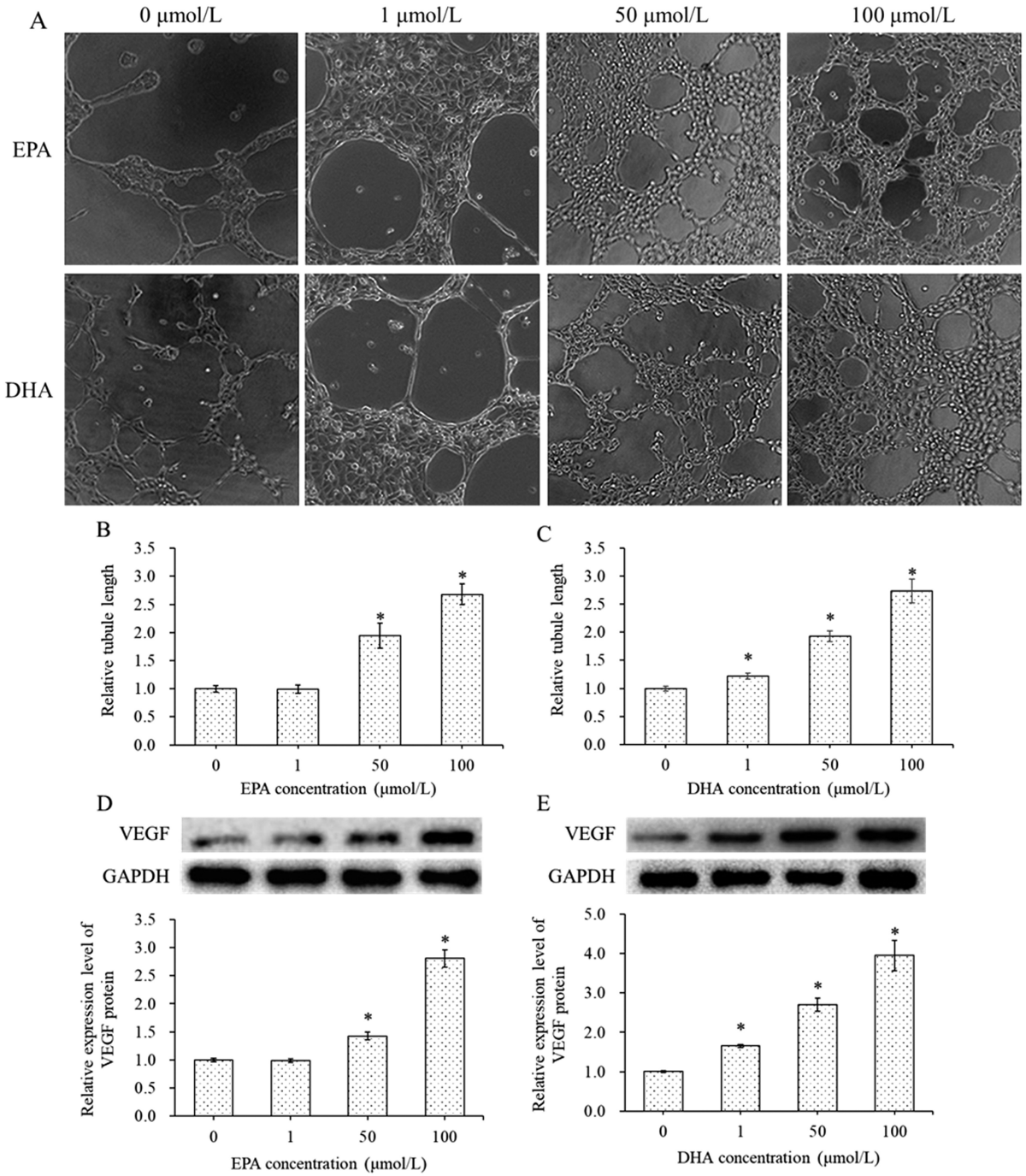

图 4 ω-3 脂肪酸对 HTR-8/SVneo 细胞共培养的 HUVEC 血管生成的影响

Fig.4 The effect of ω-3 fatty acids on the angiogenesis of HUVEC co-cultured with HTR-8/SVneo cells

Note: A: HUVEC tubules form images, magnification: 100×; B and C: Relative tubule length of HUVEC cultured in the supernatant of HTR-8/SVneo cells treated with EPA and DHA after 48 h; D and E: The relative expression of VEGF protein in HTR-8/SVneo cells cultured with different concentrations of EPA and DHA for 48 h detected by Western blot; compared with 0 μmol/L EPA or 0 μmol/L DHA, *P<0.05.

TRIM22 mRNA 相对表达量分别升高了 136.61%和 286.52%，STAT1 mRNA 相对表达量分别降低了 56.91%和 68.22%(P<0.05)。见图 5。

Western blot 检测显示，与 0 μmol/L EPA 组相比，50 μmol/L EPA 组和 100 μmol/L EPA 组的 TRIM22 蛋白相对表达量分别升高了 103.00%和 289.52%，p-STAT1 (Tyr701)蛋白相对表达量分别降低了 62.04%和 65.38%(P<0.05)。与 0 μmol/L DHA 组相比，50 μmol/L DHA 组和 100 μmol/L DHA 组的 TRIM22 蛋白相对表达量分别升高了 151.00%和 204.83%，p-STAT1 (Tyr701) 蛋白相对表达量分别降低了 50.42%和 75.37%(P<0.05)。然而，不同浓度的 EPA 或 DHA 处理均为改变 STAT1 的蛋白表达水平(P>0.05)。见图 6。

3 讨论

有研究表明，先兆子痫孕妇红细胞 ω-3 脂肪酸减少[22]，然而，大多数孕妇和育龄妇女达不到 ω-3 脂肪酸的建议日摄入量[11,12]。已经有文献显示，怀孕期间补充 DHA 可降低孕妇胎盘 caspase-3 水平，从而减少细胞凋亡[23]。另外，ω-3 脂肪酸可抑制

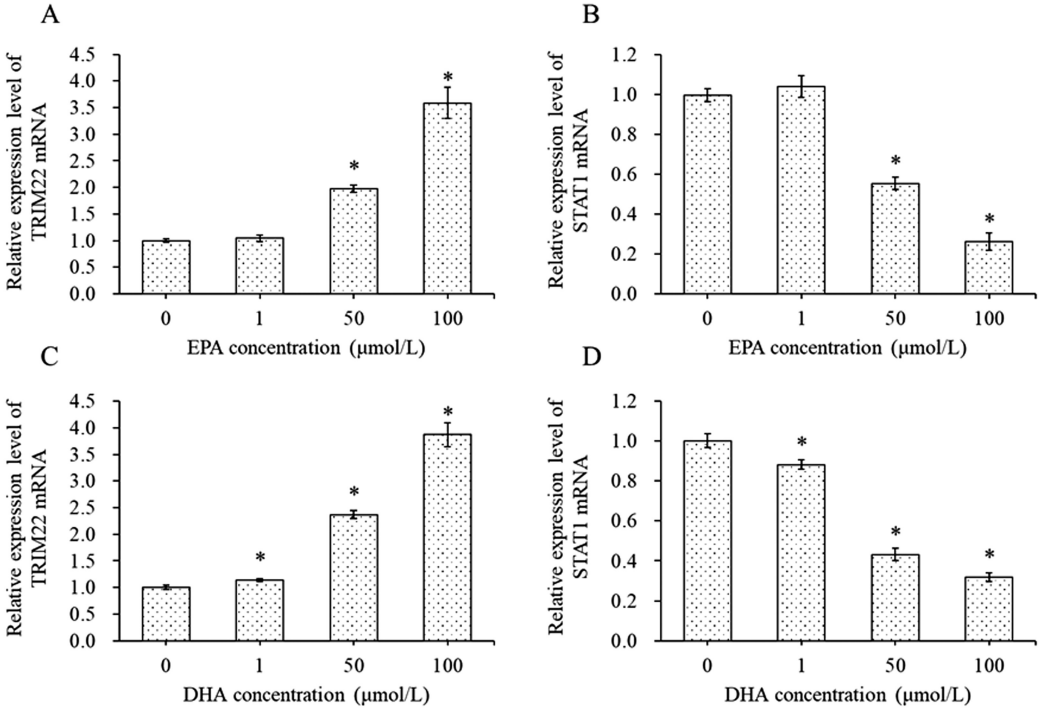

图 5 ω-3 脂肪酸对 HTR-8/SVneo 细胞中 TRIM22 和 STAT1 mRNA 表达的影响

Fig.5 The effect of ω-3 fatty acids on the mRNA expression level of TRIM22 and STAT1 in HTR-8/SVneo cells

Note: A and B: The relative expression of TRIM22 and STAT1 mRNA in HTR-8/SVneo cells cultured with EPA for 48 h at different concentrations detected by qRT-PCR; C and D: The relative expression of TRIM22 and STAT1 mRNA in HTR-8/SVneo cells cultured with DHA for 48 h at different concentrations detected by qRT-PCR; compared with 0 μmol/L EPA or 0 μmol/L DHA, *P<0.05.

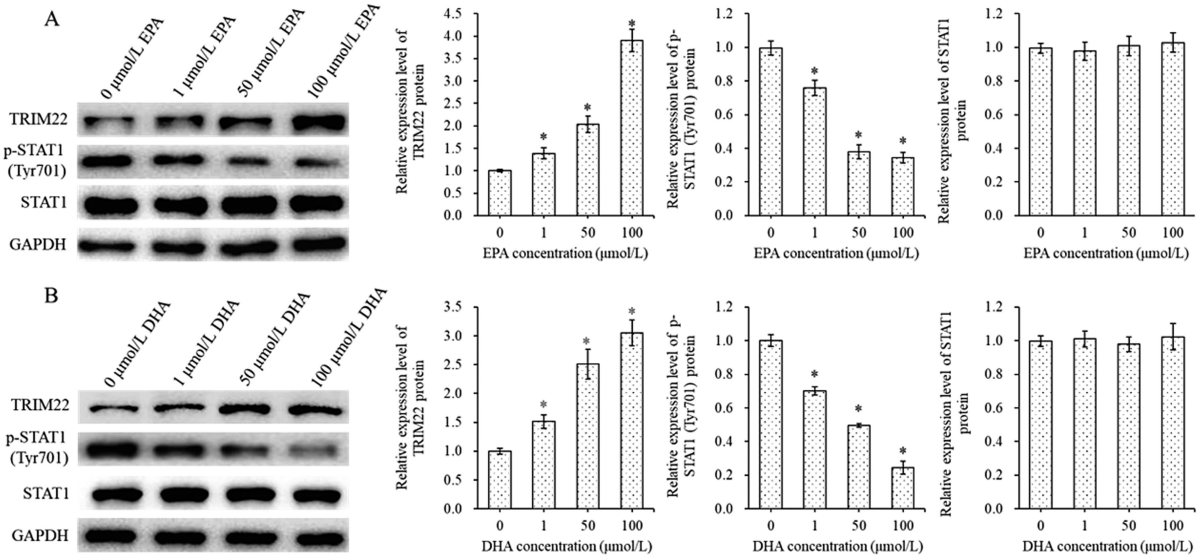

图 6 ω-3 脂肪酸对 HTR-8/SVneo 细胞中 TRIM22 蛋白表达量和 STAT1 活化的影响

Fig.6 The effect of ω-3 fatty acids on TRIM22 protein expression and STAT1 activation in HTR-8/SVneo cells

Note: A: Western blot detected the relative expression of TRIM22, p-STAT1 (Tyr701) and STAT1 in HTR-8/SVneo cells cultured with different concentrations of EPA for 48 h; B: Western blot detected the relative expression of TRIM22, p-STAT1 (Tyr701) and STAT1 in HTR-8/SVneo cells cultured with different concentrations of DHA for 48 h; compared with 0 μmol/L EPA or 0 μmol/L DHA, *P<0.05.

滋养层细胞组织蛋白酶 S 和炎症体的激活 [24]。本研究结果显示，50 μmol/L 和 100 μmol/L EPA 或 DHA 处理 HTR-8/SVneo 细胞 48 h 明显提高了细胞活力，推测其原因可能与 ω-3 脂肪酸的抗凋亡和抗炎作用有关。

胚胎植入与肿瘤侵袭转移具有相似性，滋养层细胞的侵袭特性类似肿瘤细胞，这也是胚胎发育和胎盘形成的关键[25]。因此，研究滋养层细胞的侵袭性可间接反映胎盘着床能力。本研究首次发现 50 μmol/L 和 100 μmol/L EPA 或 DHA 处理 HTR-8/SVneo 细胞 48 h 均明显提高了 HTR-8/SVneo 细胞的侵袭性，并上调了细胞侵袭相关蛋白 MMP2 和 MMP9 的表达。此外，血管生成是正常胎盘形成过程中的必要步骤。本研究结果也表明 50 μmol/L 和 100 μmol/L EPA 或 DHA 处理 HTR-8/

SVneo 细胞 48 h 后，用细胞上清液培养 HUVEC 6 h，均明显提高了 HUVEC 的小管形成能力，并上调了 HTR-8/SVneo 细胞中血管生成蛋白 VEGF 的表达。这些结果提示子痫前期孕妇补充 ω-3 脂肪酸可能通过促进滋养层细胞侵袭和血管生成来促进胎盘着床。

为了进一步揭示 ω-3 脂肪酸对滋养层细胞侵袭和血管生成的调节机制，本研究检测了 TRIM22 的表达变化。TRIM22 是 TRIM 家族的一员，TRIM 蛋白可作为 E3 泛素连接酶或免疫调节蛋白参与调节机体固有免疫[26,27]。另外，TRIM 在多种癌症中调节原癌 / 抑癌基因的转录后及随后的细胞功能，从而影响肿瘤特性[28,29]。TRIM22 基因敲除可能通过调节 PI3K/Akt/mTOR 通路抑制白血病细胞 K562 增殖和侵袭[20]。此外，TRIM 家族成员调节胚胎发育，其中包括 uTRIM、TRIM27、TRIM28 和 TRIM32 等[30,31]。TRIM22 可能通过调控 T 细胞的活化来影响母胎界面的免疫应答[32]。本研究显示，50 μmol/L 和 100 μmol/L EPA 或 DHA 处理 HTR-8/SVneo 细胞 48 h 后，细胞中 TRIM22 mRNA 和蛋白水平均显著升高，因此 ω-3 脂肪酸对滋养层细胞侵袭的促进作用可能与 TRIM22 的上调有关。其他文献指出，TRIM22 是孕酮受体的直接靶基因，可以介导子宫细胞中的孕酮作用，其外显子 1 上游含有孕激素反应部件（PRE），孕酮处理可升高 TRIM22 的 mRNA 水平[33]。本研究推测，ω-3 脂肪酸上调了滋养层细胞中 TRIM22 的表达，从而介导了滋养层细胞孕酮反应。

多项文献证实了 STAT1 对细胞侵袭的调控作用，STAT1 的 Tyr701 和 Ser727 磷酸化导致其二聚化，并促进二聚体转移到细胞核，从而激活多个基因转录并改变细胞行为[34]。据报道，IFN-γ 可诱导 STAT1 磷酸化并降低滋养层细胞中的侵袭性[35]。Suman 等报道，IL-11 降低了 HTR-8/SVneo 细胞的侵袭力以及 MMP2、MMP3 和 MMP9 的表达，并激活了 STAT1（Tyr701）[36]。本研究显示 50 μmol/L 和 100 μmol/L EPA 或 DHA 处理 HTR-8/SVneo 细胞 48 h 后，细胞中 STAT1 Tyr701 磷酸化水平均显著降低，提示 ω-3 脂肪酸对 STAT1 活性的抑制可能进一步提高了细胞的侵袭性。然而，Pereira de Sousa 等通过对 HTR-8/SVneo 细胞转染 STAT1 siRNA 来下调 STAT1，结果显示转染后细胞存活率和侵袭力均下降[37]。这些结果说明，STAT1 对滋养层细胞侵袭性的影响可能具有多种机制。

综上所述，本研究表明 ω-3 脂肪酸处理可促进滋养层细胞的侵袭性和血管生成，其机制可能与 TRIM22 的上调和 STAT1 活性的抑制有关。本研究建议将 ω-3 脂肪酸作为子痫前期患者的辅助药物，此外，TRIM22 和 STAT1 可能是子痫前期治疗的药物靶点。

参 考 文 献（References）

[1] Warrington JP, George EM, Palei AC, et al. Recent advances in the understanding of the pathophysiology of preeclampsia [J]. Hypertension, 2013, 62(4): 666-673

[2] Rambaldi MP, Weiner E, Mecacci F, et al. Immunomodulation and preeclampsia [J]. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol, 2019, 60: 87-96

[3] Myatt L, Webster RP. Vascular biology of preeclampsia [J]. J Thromb Haemost, 2009, 7(3): 375-384

[4] Granger JP, Alexander BT, Llinas MT, et al. Pathophysiology of preeclampsia: linking placental ischemia/hypoxia with microvascular dysfunction [J]. Microcirculation, 2002, 9(3): 147-160

[5] Oudejans CB, van Dijk M, Oosterkamp M, et al. Genetics of preeclampsia: paradigm shifts[J]. Hum Genet, 2007, 120(5): 607-612

[6] Redman CW, Sargent IL. Latest advances in understanding preeclampsia[J]. Science, 2005, 308(5728): 1592-1594

[7] Pollheimer J, Vondra S, Baltayeva J, et al. Regulation of placental extravillous trophoblasts by the maternal uterine environment [J]. Front Immunol, 2018, 9: 2597

[8] 刘立新. Omega-3 脂肪酸对高血压合并颈动脉粥样硬化患者血管内皮功能的影响[J]. 中国临床药理学杂志, 2010, 26(5): 330-333

[9] Coletta JM, Bell SJ, DSc, 等. ω-3 脂肪酸与妊娠 [J]. 妇产与遗传: 电子版, 2011, 1(1): 58-64

[10] Miyata J, Arita M. Role of omega-3 fatty acids and their metabolites in asthma and allergic diseases[J]. Allergol Int, 2015, 64(1): 27-34

[11] Nordgren TM, Lyden E, Anderson-Berry A, et al. Omega-3 fatty acid intake of pregnant women and women of childbearing age in the United States: potential for deficiency?[J]. Nutrients, 2017, 9(3): 197

[12] Thompson M, Hein N, Hanson C, et al. Omega-3 fatty acid intake by age, gender, and pregnancy status in the United States: National Health and Nutrition Examination Survey 2003-2014 [J]. Nutrients, 2019, 11(1): 177

[13] Ulu A, Sahoo PK, Yuil-Valdes AG, et al. Omega-3 fatty acid-derived resolvin d2 regulates human placental vascular smooth muscle and extravillous trophoblast activities[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(18): 4402

[14] Singh R, Gaiha G, Werner L, et al. Association of TRIM22 with the type 1 interferon response and viral control during primary HIV-1 infection[J]. J Virol, 2011, 85(1): 208-216

[15] Forlani G, Accolla RS. Tripartite motif 22 and class ii transactivator restriction factors: unveiling their concerted action against retroviruses[J]. Front Immunol, 2017, 8: 1362

[16] Barr SD, Smiley JR, Bushman FD. The interferon response inhibits HIV particle production by induction of TRIM22 [J]. PLoS Pathog, 2008, 4(2): e1000007

[17] Di Pietro A, Kajaste-Rudnitski A, Oteiza A, et al. TRIM22 inhibits influenza A virus infection by targeting the viral nucleoprotein for degradation[J]. J Virol, 2013, 87(8): 4523-4533

[18] Yang C, Zhao X, Sun D, et al. Interferon alpha (IFNα)-induced TRIM22 interrupts HCV replication by ubiquitinating NS5A [J]. Cell Mol Immunol, 2016, 13(1): 94-102

[19] Liu L, Zhou XM, Yang FF, et al. TRIM22 confers poor prognosis and promotes epithelial-mesenchymal transition through regulation of AKT/GSK3β/β-catenin signaling in non-small cell lung cancer [J]. Oncotarget, 2017, 8(37): 62069-62080

[20] Li L, Qi Y, Ma X, et al. TRIM22 knockdown suppresses chronic myeloid leukemia via inhibiting PI3K/Akt/mTOR signaling pathway [J]. Cell Biol Int, 2018, 42(9): 1192-1199

[21] Ge H, Yin N, Han TL, et al. Interleukin-27 inhibits trophoblast cell invasion and migration by affecting the epithelial-mesenchymal transition in preeclampsia[J]. Reprod Sci, 2019, 26(7): 928-938

[22] Wadhwani N, Patil V, Pisal H, et al. Altered maternal proportions of long chain polyunsaturated fatty acids and their transport leads to disturbed fetal stores in preeclampsia [J]. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids, 2014, 91(1-2): 21-30

（下转第 1032 页）

2020, 9: 1153

[21] Annesley SJ, Fisher PR. Mitochondria in health and disease[J]. Cells, 2019, 8(7): 680

[22] Angelova PR, Abramov AY. Role of mitochondrial ROS in the brain: from physiology to neurodegeneration [J]. FEBS Lett, 2018, 592(5): 692-702

[23] Oyewole AO, Birch-Machin MA. Mitochondria-targeted antioxidants [J]. Faseb j, 2015, 29(12): 4766-4771

[24] Wang H, Liu C, Zhao Y, et al. Mitochondria regulation in ferroptosis [J]. Eur J Cell Biol, 2020, 99(1): 151058

[25] Jagadeeswaran R, Vazquez BA, Thiruppathi M, et al. Pharmacological inhibition of LSD1 and mTOR reduces mitochondrial retention and associated ROS levels in the red blood cells of sickle cell disease[J]. Exp Hematol, 2017, 50: 46-52

[26] Cui X, Liu F, Wang JQ, et al. Complete sequence analysis of mitochondrial DNA of aplastic anemia patients [J]. Genet Mol Res, 2012, 11(3): 2130-2137

[27] 赖莉敏, 瞿礼萍, 刘思莉, 等. 蚕沙提取物对缺铁性贫血小鼠铁代谢的影响及抗氧化作用研究 [J]. 中药新药与临床药理, 2021, 32(5): 627-631

[28] Yusof A, Leithauser RM, Roth HJ, et al. Exercise-induced hemolysis is caused by protein modification and most evident during the early phase of an ultraendurance race[J]. J Appl Physiol (1985), 2007, 102(2): 582-586

[29] 黄晓巍, 徐岩, 刘玥欣, 等. 鹿茸多肽对心肌干细胞凋亡和线粒体膜稳定性的影响 [J]. 中国组织工程研究, 2017, 21(9): 1426-1431

[30] 赵天一, 姜彤伟, 张永和. 鹿茸多肽对缺血动物模型心肌细胞线粒体凋亡相关基因蛋白 Bc-l2/Bax 的影响[J]. 吉林中医药, 2013, 33(3): 281-282

[31] 刘春娟. 不同分子量鹿茸多肽抗氧化活性的研究 [J]. 食品工业科技, 2015, 36(13): 53-56

[32] 王逸文, 徐方剑, 孙浩, 等. 鹿茸多肽提取工艺及其药理学作用[J]. 上海中医药杂志, 2016, 50(4): 94-96

[33] 薛统, 高颀. 不同营养干预对运动性贫血大鼠红细胞及铁代谢指标的影响[J]. 北京体育大学学报, 2009, 32(8): 62-64

[34] 王伟良, 李蓉生, 陈嘉林. MEL 细胞系中铁对转铁蛋白受体 mRNA 和铁螯合酶 mRNA 表达的调节[J]. 中华血液学杂志, 1999, 21(1): 17-17

(上接第 1016 页)

[23] Wietrak E, Kamiński K, Leszczyńska-Gorzelak B, et al. Effect of docosahexaenoic acid on apoptosis and proliferation in the placenta: preliminary report[J]. Biomed Res Int, 2015, 2015: 482875

[24] Chen CY, Chen CY, Liu CC, et al. Omega-3 polyunsaturated fatty acids reduce preterm labor by inhibiting trophoblast cathepsin S and inflammasome activation[J]. Clin Sci (Lond), 2018, 132(20): 2221-2239

[25] Qiu Q, Yang M, Tsang BK, et al. EGF-induced trophoblast secretion of MMP-9 and TIMP-1 involves activation of both PI3K and MAPK signalling pathways[J]. Reproduction, 2004, 128(3): 355-363

[26] Versteeg GA, Rajsbaum R, Sánchez-Aparicio MT, et al. The E3-ligase TRIM family of proteins regulates signaling path ways triggered by innate immune pattern-recognition receptors [J]. Immunity, 2013, 38(2): 384-398

[27] Rajsbaum R, García-Sastre A, Versteeg GA. TRIMmunity: the roles of the TRIM E3-ubiquitin ligase family in innate antiviral immunity [J]. J Mol Biol, 2014, 426(6): 1265-1284

[28] Jaworska AM, Wlodarczyk NA, Mackiewicz A, et al. The role of TRIM family proteins in the regulation of cancer stem cell self-renewal[J]. Stem Cells, 2020, 38(2): 165-173

[29] Zhan W, Zhang S. TRIM proteins in lung cancer: Mechanisms, biomarkers and therapeutic targets[J]. Life Sci, 2021, 268: 118985

[30] 田利源, 周艳荣, 吴晓洁, 等. TRIM 基因家族一个新成员的克隆及功能研究[J]. 军事医学科学院院刊, 2007, 31(4): 301-304

[31] 贾路路, 曾令兵, 王方, 等. 草鱼 TRIM32 基因克隆表达及功能研究[J]. 水生生物学报, 2017, 41(4): 741-747

[32] Gongora C, Tissot C, Cerdan C, et al. The interferon-inducible Staf50 gene is downregulated during T cell costimulation by CD2 and CD28 [J]. J Interferon Cytokine Res, 2000, 20(11): 955-961

[33] Saito-Kanatani M, Urano T, Hiroi H, et al. Identification of TRIM22 as a progesterone-responsive gene in Ishikawa endometrial cancer cells[J]. J Steroid Biochem Mol Biol, 2015, 154: 217-225

[34] Wen Z, Zhong Z, Darnell JE, Jr. Maximal activation of transcription by Stat1 and Stat3 requires both tyrosine and serine phosphorylation [J]. Cell, 1995, 82(2): 241-250

[35] Verma S, Pal R, Gupta SK. Decrease in invasion of HTR-8/SVneo trophoblastic cells by interferon gamma involves cross-communication of STAT1 and BATF2 that regulates the expression of JUN[J]. Cell Adh Migr, 2018, 12(5): 432-446

[36] Suman P, Godbole G, Thakur R, et al. AP-1 transcription factors, mucin-type molecules and MMPs regulate the IL-11 mediated invasiveness of JEG-3 and HTR-8/SVneo trophoblastic cells[J]. PLoS One, 2012, 7(1): e29745

[37] Pereira de Sousa FL, Chaiwangyen W, Morales-Prieto DM, et al. Involvement of STAT1 in proliferation and invasiveness of trophoblastic cells[J]. Reprod Biol, 2017, 17(3): 218-224