

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2020.05.005

NOD1 配体抑制人早孕期滋养细胞的侵袭功能*

蔡玉莹¹ 聂晓露² 邓科文² 陈欣² 王翌华^{1Δ}

(1 广州医科大学基础医学院 广东 广州 511436; 2 中山大学孙逸仙纪念医院妇产科 广东 广州 510120)

摘要 目的:明确固有免疫受体 NOD1 对人早孕期滋养细胞侵袭功能的调控及对侵袭相关因子分泌的影响。**方法:**采用免疫细胞化学法鉴定原代滋养细胞 NOD1 的表达,用 transwell 侵袭实验检测激活 NOD1 后滋养细胞侵袭功能的改变,ELISA 检测配体刺激后滋养细胞 MMP2 和 MMP9 的分泌情况。**结果:**免疫细胞化学结果显示滋养细胞分离鉴定成功,且原代滋养细胞可以表达固有免疫受体 NOD1。使用 NOD1 的特异性配体及非特异性配体,发现激活 NOD1 可以抑制滋养细胞的侵袭,且非特异性配体 LPS 可以下调侵袭相关金属基质蛋白酶分子 MMP2 和 MMP9 的分泌,特异性配体 iE-DAP 仅下调 MMP9 的分泌而对 MMP2 的分泌无影响。**结论:**固有免疫模式识别受体 NOD1 可以在早孕期滋养细胞表达,可调控滋养细胞的侵袭功能,其激活会导致侵袭相关分子 MMP2 和 MMP9 的分泌下降。

关键词:滋养细胞;NOD1;侵袭功能;固有免疫受体;金属基质蛋白酶

中图分类号:R-33;R714.5;Q492 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2020)05-822-05

Ligands of NOD1 Inhibits the Invasiveness of Trophoblast Cells*

CAI Yu-ying¹, NIE Xiao-lu², DENG Ke-wen², CHEN Xin², WANG Zhao-hua^{1Δ}

(1 School of Basic Medical Sciences, Guangzhou Medical University, Guangzhou, Guangdong, 511436, China;

2 SUN Yat-sen Memorial Hospital of SUN Yat-sen University, Guangzhou, Guangdong, 510120, China)

ABSTRACT Objective: To identify the effect of innate immunity receptor NOD1 on the invasion of human early pregnancy trophoblast cells. **Methods:** The expression of NOD1 was identified by immunocytochemistry. Transwell matrigel invasion assay was used to analyze the ability of invasiveness after NOD1 activation. We also used ELISA assay to test the secretion of MMP2 and MMP9 after NOD1 activation. **Results:** Immunocytochemistry result showed the separation of human trophoblast cells was successful. NOD1 had been expressed by primary trophoblast cells. Activation of NOD1 inhibited the invasion of trophoblasts. LPS down-regulated the secretion of both MMP2 and MMP9 while iE-DAP only down-regulated the secretion of MMP9. **Conclusion:** Innate immune pattern recognition receptor NOD1 was expressed by trophoblast cells in early pregnancy, which could regulate the invasion of trophoblasts.

Key words: Trophoblast cells; NOD1; Invasiveness; Innate immune receptor; Metalloproteinase

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R714.5; Q492 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2020)05-822-05

前言

常见的模式识别受体有 Toll 样受体 (Toll-like receptor, TLR)家族、NLR 受体(NOD-like receptor, NLR)家族和 C 型凝集素受体家族等^[1]。其中,Toll 样受体家族和 C 型凝集素受体家族主要是跨膜蛋白家族,是细胞外环境的重要守护者^[2]。近年来研究发现,作为重要的胞浆模式识别受体,NLR 在固有免疫系统中守护着细胞内环境^[3]。NOD1 是 NLR 中最先被发现的成员,可以特异性识别来自 G- 细菌的降解产物 iE-DAP (γ -D-glutamyl-meso-diaminopimelic acid, iE-DAP)^[4],也可以非特异性识别来自细菌胞壁的降解产物脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)^[5]。

滋养细胞属于上皮细胞起源,不仅是胎盘的主要组成细胞,更是母胎界面唯一与母体蜕膜细胞直接接触的胎儿细胞^[6]。

滋养细胞的生物学行为和肿瘤极其相似^[7],有增殖、分化、融合、侵袭等特性^[8]。滋养细胞的侵袭作用可使其侵入子宫蜕膜和浅肌层(肌层内 1/3),对母体的子宫螺旋动脉进行重铸,从而形成有血流交换功能的胎盘。滋养细胞侵袭功能受损可以导致流产、子痫前期、胎儿宫内生长受限等妊娠相关疾病^[9]。

为明确早期妊娠母胎界面中滋养细胞是否表达 NOD1 及其对人早孕期滋养细胞侵袭功能的调控作用,我们收集人早孕期正常的绒毛组织并进行分离培养获得滋养细胞,使用滋养细胞的特异性配体 iE-DAP 和非特异性配体 LPS 分别激活 NOD1,观察其侵袭功能的变化。

1 材料与方法

1.1 研究对象

* 基金项目:广东省自然科学基金项目(2017A030310488);广东省教育厅科研项目(2015KQNCX134);广州市属高校科研项目(1201630263);

广州医科大学校级科研项目(2015C02)

作者简介:蔡玉莹(1993-),女,硕士研究生,主要研究方向:生物学,E-mail: 872704738@qq.com

Δ 通讯作者:王翌华(1987-),女,讲师,主要研究方向:生殖免疫,肿瘤免疫,E-mail: 517244608@qq.com,电话:13751768832

(收稿日期:2019-09-25 接受日期:2019-10-19)

选取 2017 年 3 月至 2018 年 7 月从中山大学孙逸仙纪念医院门诊手术室收集行人工流产术 7-10 周正常妊娠的绒毛组织,将所取得的绒毛组织置于 DMEM-高糖(Dulbecco's modified Eagle's medium-High Glucose)培养液中,快送至实验室。正常妊娠标准:既往无自然流产史与异常生育史;本次妊娠停经后无阴道流血、无发热及其他明显不适;术前检查未发现病原体感染,超声检查见原始心管搏动,未见宫腔积液等。

1.2 主要试剂

DMEM-High Glucose 培养液购自杭州吉诺生物医药技术有限公司,细胞培养用澳洲胎牛血清购自 Gibco 公司;DNase I 购自 Sigma 公司,Percoll 购自 Pharmacia 公司,0.25%胰蛋白酶购自 Gibco 公司,Collagenase IV 购自 sigma 公司,Matrigel TM Basement Membrane Matrix 购自 BD 公司,三抗购自 Hyclone 公司,细胞培养用 PBS 购自杭州吉诺生物医药技术有限公司。小鼠抗人角蛋白 7 小鼠抗人波形蛋白单克隆抗体、兔抗鼠 ABC 免疫组化试剂盒、山羊抗兔链霉卵白素试剂盒购自中杉金桥生物技术有限公司,小鼠抗人 NOD1 单克隆抗体,同型对照鼠 IgG,MMP2 ELISA 试剂盒购自 R&D 公司,MMP9 ELISA 试剂盒购自达科为生物医药技术公司。

1.3 方法

1.3.1 早孕期滋养细胞分离培养 用 PBS 将绒毛组织充分洗涤 3 次,去除血块、蜕膜等组织。将剩余组织剪碎成糊状,配置消化体系,使 DNase I 的工作终浓度为 150 U/mL,不含 EDTA 胰酶的终浓度为 0.125%,采用 DMEM 高糖培养液调整该体系体积为组织体积的 3 倍,37℃震荡消化 10-15 min。收集消化液上清加入 FBS 终止胰酶作用,残余绒毛组织较多时再消化一次。取获得的消化上清液经 100 目、300 目和 400 目不锈钢滤网。将过滤液收集至 100 mL 烧杯中,300×g 10 min 离心,弃上清,并使用 DMEM 高糖培养液重悬细胞,铺于已铺好的不连续 percoll 梯度液上,Percoll 分离液密度梯度为 20%,30%,45%和 60%四个密度,1000×g 20 min 离心,吸取 30%与 45%层和 45%与 60%层细胞(密度范围 1.048~1.062 g/mL),PBS 洗涤。用含 20%FBS 的 DMEM 高糖培养液重悬后种入 75 cm² 塑料培养瓶,于 37℃培养箱中贴壁 10-15 min 去除容易贴壁的成纤维细胞,收集未贴壁细胞,计数并根据实验需要种于铺有 IV 型胶原的培养板中,37℃、5% CO₂ 培养箱过夜。24h 后 PBS 洗涤去除未贴壁的细胞,即可得到纯度为 95%以上的滋养细胞。培养液为含 20%澳洲胎牛血清和 1%三抗的 DMEM 高糖溶液。

1.3.2 细胞免疫化学鉴定滋养细胞表达 NOD1 原代滋养细胞培养 24 小时后,4%多聚甲醛固定 30 min。0.1% Triton X-100 处理细胞 30min,通透细胞膜。3% H₂O₂ 孵育 30min 以去除内源性过氧化物酶的活性。山羊血清封闭 30 min。然后弃封闭液,分别加小鼠抗人 CK7,Vimentin,小鼠 IgG,小鼠抗人 NOD1 抗体 4℃过夜。PBS 洗涤后,依次加入生物素化二抗、辣根过氧化物酶标记的亲本素化生物素反应试剂,37℃孵育 15 min,DAB 避光显色,苏木素复染,返蓝,中性树胶封片。免疫化学染色封片后,于 Olympus 倒置显微镜下读片。

1.3.3 侵袭实验 在 Transwell 板(24 孔板,孔径 8 μm 的小室,小室直径 6.5 mm),预先加入按照 1:6 稀释的 Matrigel 20 μL,

放入培养箱中的待 Matrigel 干燥后备用。新鲜分离的滋养细胞以 2×10⁵/200 μL/孔加入小室中的上室,下室加入 500 μL 培养液。在上下室中添加不同浓度的配体 iE-DAP 和 LPS (10 μg/mL),继续培养 48h。后取出 Transwell 板,弃去上清,以棉签轻轻拭去上室滤膜内面的细胞,保留定向迁移至滤膜下表面的细胞,4%多聚甲醛固定,苏木素染色,利用 Olympus BX51+DP70 荧光显微镜,高倍显微镜(×200)下每孔随机选择 5 个视野计数细胞,侵袭指数=实验组每高倍镜视野中迁移至下表面的细胞数/对照组每高倍镜视野中迁移至下表面的细胞数。

1.2.4 酶联免疫吸附实验 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 检测特异性配体和非特异性配体刺激后原代滋养细胞上清中各种细胞因子的水平:为检测受到配体刺激后原代滋养细胞上清液中 MMP2,MMP9 的分泌水平,将新鲜分离的滋养细胞以 2×10⁵/孔种植于 24 孔板中,每孔含有 800 μL 培养基。培养 24 小时后用含 1%胎牛血清的 DMEM-高糖培养基饥饿 6 小时。然后换新鲜培养液(含 20%澳洲胎牛血清)分别添加的 iE-DAP 和 LPS(10 μg/mL)。继续培养 48 小时后,收集细胞培养上清,离心去除细胞杂质,放 -80℃冰箱保存。搜集的上清在一个月依据人 MMP2 和 MMP9 的 ELISA 试剂盒说明进行检测。MMP2 检测的灵敏度为 0.049 ng/mL,MMP9 检测的灵敏度为 15 pg/mL。

1.3 统计学方法

采用 SPSS17 进行数据统计分析,数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间差异比较用 t 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 细胞免疫化学鉴定人早孕期滋养细胞及 NOD1 的表达

如图 1 所示,滋养细胞是上皮来源,故其角蛋白 CK7 染色阳性,波形蛋白染色(Vimentin)阴性。本实验分离得到的滋养细胞纯度达 90~95%,与文献报道一致。NOD1 染色阳性,说明人早孕期滋养细胞表达 NOD1。

2.2 激活 NOD1 抑制滋养细胞的侵袭能力

使用 NOD1 的特异性配体 iE-DAP 和非特异性配体 LPS 刺激原代滋养细胞,观察侵袭指数的变化。如图 2 所示,使用 10 μg/mL 的 iE-DAP 和 LPS 刺激原代滋养细胞后,与对照组相比,侵袭指数明显下降 ($P < 0.001, P < 0.01$),而 iE-DAP 组与 LPS 组之间无明显差异($P > 0.05$)。

2.3 激活 NOD1 对原代滋养细胞分泌 MMP2 和 MMP9 的水平的影响

如图 3 所示,使用 10 μg/mL 的 iE-DAP 和 LPS 刺激原代滋养细胞后收集细胞上清液,检测上清中 MMP2 和 MMP9 的分泌水平。图 3A 示 iE-DAP 组 MMP2 的分泌与对照组相比无明显差异($P > 0.05$),与 LPS 组相比也无明显统计学意义($P > 0.05$),LPS 组 MMP2 分泌水平与对照组相比显著下降,差异有统计学意义($P < 0.05$)。iE-DAP 组及 LPS 组 MMP9 的分泌均与对照组相比显著下降,差异有统计学意义($P < 0.001, P < 0.01$),而 iE-DAP 组与 LPS 组 MMP9 的分泌水平相比较无明显统计学差异($P > 0.05$)。

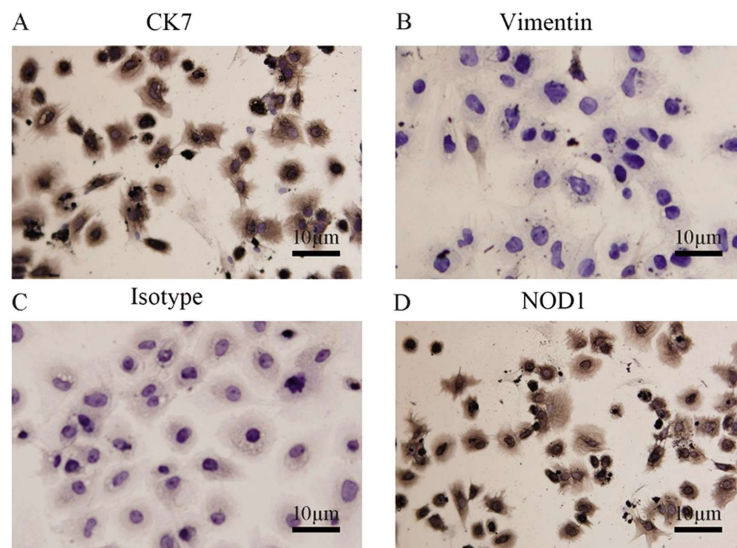


图1 免疫细胞化学显色法鉴定原代滋养细胞

A 图为原代滋养细胞 CK7 染色, B 图为 Vimentin 染色, C 图为小鼠 IgG 染色, D 为小鼠抗人 NOD1 染色

Fig.1 The expression of NOD1 in primary trophoblast cells was identified by immunocytochemistry

Purified primary trophoblast cells were cultured for 24 hours and then stained with mouse anti human CK7 (Fig. A) and mouse anti human Vimentin (Fig. B) antibodies. Trophoblast cells expressed CK7 strongly and were negative for Vimentin. NOD1 expression was seen in Fig. D and Fig.C was stained by mouse anti human IgG as negative control.

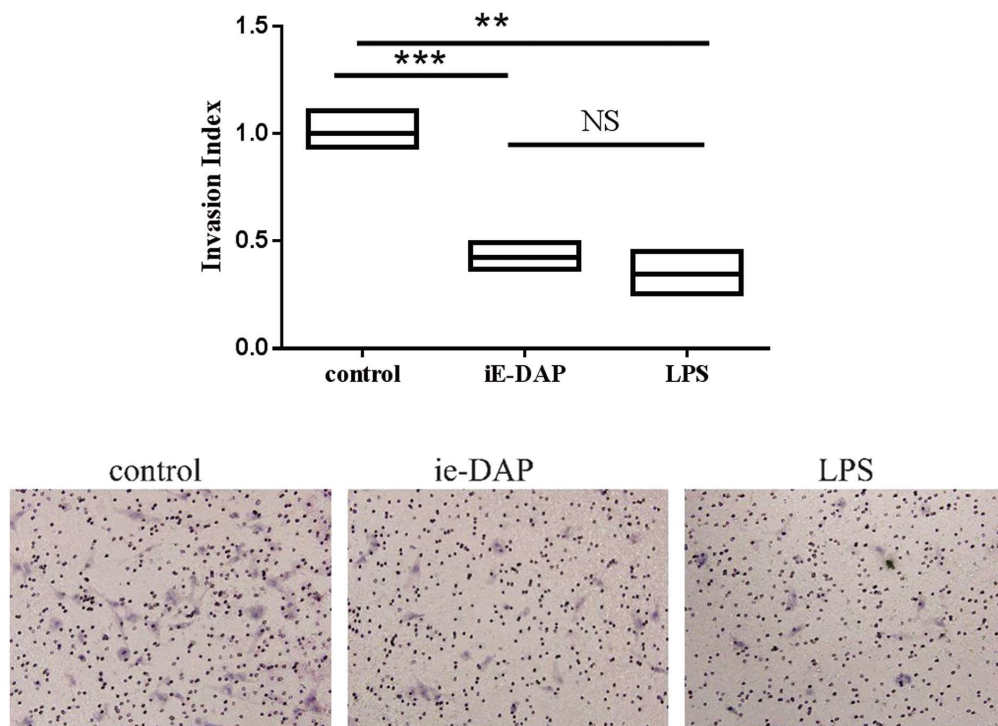


图2 Transwell 侵袭实验检测激活 NOD1 后滋养细胞的侵袭功能

Fig.2 The ability of invasiveness of primary trophoblast cells was tested by Transwell assay.

Note: Invasion Index = number of cells migrating to the lower surface per high power field of the experimental group / number of cells migrating to the lower surface per high power field of the control group. Data are expressed as $\bar{x} \pm SD$, $n=3$. ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$, compared with control group; NS means no significant difference.

3 讨论

过去几年针对 Toll 样受体的研究表明机体可以表达一系列结构相关的蛋白受体感受特定的微生物组分,启动天然免疫应答反应^[10]。在母胎界面,最先研究的模式识别受体是 Toll 样

受体。人们发现母胎界面对微生物的先天免疫应答可能对妊娠结局产生重大影响,如宫内感染与某些妊娠并发症密切相关^[11], Toll 样受体 2 和 4 的异常表达和早产的发生密切相关^[12, 13]。除了 Toll 样受体外,还有更多的模式识别受体家族参与了母胎界面的免疫平衡。N 样受体家族就是非常重要的成员之一^[14],其

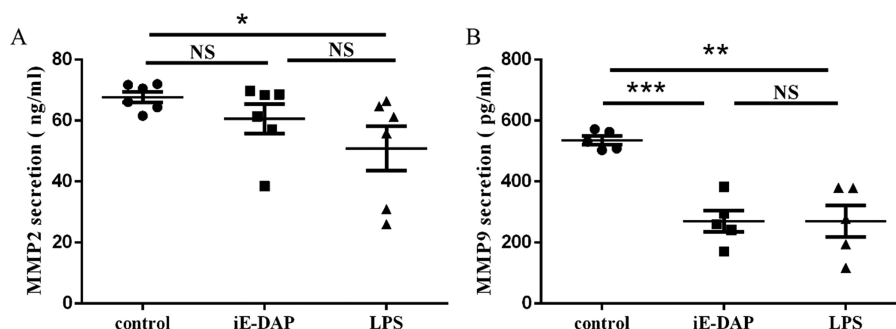


图3 激活 NOD1 后对原代滋养细胞 MMP2 和 MMP9 分泌水平的影响

Fig.3 Effect of the activation of NOD1 on the secretion levels of MMP2 and MMP9 in the primary trophoblast cells

Note: Data are expressed as $\bar{x} \pm SD$, $n=6$. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, compared with control group; NS means no significant difference.

主要存在于在细胞质中,可以识别细菌的分解产物,因含有亮氨酸重复序列结构域,被称为 N 样受体家族(NLR)^[15]。NOD1 蛋白是 N 样受体家族中重要的代表性分子,在生理状态下主要被两种类型的细胞表达:抗原呈递细胞和上皮细胞^[16]。其定位主要在胞浆,通过识别从膜表面受体逃逸的病原微生物引起免疫防御反应,维持机体稳态^[17]。本研究通过收集绒毛组织分离培养滋养细胞并进行细胞免疫化学鉴定,进一步确认了滋养细胞的上皮来源,且表达固有免疫受体 NOD1,提示 NOD1 可能参与了母胎界面的固有免疫基础。

在胚胎种植的过程中,滋养细胞可以增殖、侵入子宫蜕膜和浅肌层(肌层内 1/3),对母体的子宫螺旋动脉进行重铸,从而形成有血流交换功能的胎盘^[18,19]。这一过程发生障碍会导致很多妊娠相关疾病。因此,滋养细胞的增殖和侵袭程度需要被精确调控,适度的胞增殖和侵入对成功的胎盘植入至关重要^[20]。增生不足或者侵入过浅会使子宫螺旋动脉重塑不良,导致复发性流产、子痫前期^[21]和胎儿生长受限^[22]等疾病。而过度的增生和侵袭又可以导致正常的滋养细胞演变为葡萄胎,或者是绒毛膜癌^[23]。我们通过 transwell 侵袭实验发现激活 NOD1 后可以抑制滋养细胞的侵袭功能,无论是 NOD1 的特异性配体还是非特异性配体都有此作用。因此,在妊娠过程中,病原微生物感染可能通过激活胞浆受体 NOD1,使滋养细胞侵袭不良,导致不良的妊娠结局。

滋养细胞入侵至母体蜕膜深部,取代子宫螺旋动脉血管内皮细胞,必须首先降解细胞外基质,并在其中迁移、游走,才能进入蜕膜深部与内皮细胞相互作用^[18]。降解细胞外基质,需要一类被称为金属基质蛋白酶的家族^[24,25]。其中,MMP2 与 MMP9 是金属基质蛋白酶的家族的重要成员,可以降解细胞外基质中的胶原、纤维粘连蛋白及层粘连蛋白等,是早孕期滋养细胞穿过细胞外基质的关键酶^[26]。基质金属蛋白酶表现出蛋白水解活性,涉及滋养细胞侵袭子宫壁的效率,这些酶的分泌失调也与不良妊娠结局有关^[27]。有报道 MMP-2 和 MMP-9 的减少会干扰妊娠早期螺旋动脉的正常重塑,可以观察到先兆子痫最初病理生理变化^[26]。MMPs 分泌不足可以导致多种妊娠合并症,如自然流产,胎儿宫内生长受限等^[28-30]。母胎界面 MMP-2 和 MMP-9 减少可能导致血管舒张减少,血管收缩增加,最终导致子痫前期等疾病^[24]。本研究采用 ELISA 法,发现原代滋养细胞在受到 NOD1 特异性配体 iE-DAP 刺激后,MMP9 的分泌水平明显降低,MMP2 的分泌未受明显影响。受到 NOD1 的非特异

性配体刺激后,MMP2 和 MMP9 的分泌均表现出明显下降。我们推测 NOD1 的不同配体通过影响不同的金属基质蛋白酶的分泌影响着滋养细胞的侵袭能力。

本研究首先验证了母胎界面的滋养细胞可以表达固有免疫受体 NOD1,激活 NOD1 将导致母胎界面滋养细胞侵袭能力下降,且不同的配体激活可能引起不同金属基质蛋白酶的分泌改变。关于 NOD1 的配体如何差异的调控金属基质蛋白酶的分泌以及影响滋养细胞的侵袭功能则有待深入研究。

参考文献(References)

- [1] Cerny J, Striz I. Adaptive innate immunity or innate adaptive immunity? [J]. Clin Sci (Lond), 2019, 133(14): 1549-1565
- [2] Olmos-Ortiz A, Flores-Espinosa P, Mancilla-Herrera I, et al. Innate Immune Cells and Toll-like Receptor-Dependent Responses at the Maternal-Fetal Interface [J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(15)[Epub ahead of print]
- [3] Keestra-Gounder A M, Tsolis R M. NOD1 and NOD2: Beyond Peptidoglycan Sensing [J]. Trends Immunol, 2017, 38(10): 758-767
- [4] Inohara N, Koseki T, Del P L, et al. Nod1, an Apaf-1-like activator of caspase-9 and nuclear factor-kappaB [J]. J Biol Chem, 1999, 274(21): 14560-14567
- [5] Sharma A, Maurya C K, Arha D, et al. Nod1-mediated lipolysis promotes diacylglycerol accumulation and successive inflammation via PKCdelta-IRAK axis in adipocytes [J]. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis, 2019, 1865(1): 136-146
- [6] Knofler M, Haider S, Saleh L, et al. Human placenta and trophoblast development: key molecular mechanisms and model systems [J]. Cell Mol Life Sci, 2019, 76(18): 3479-3496
- [7] Costanzo V, Bardelli A, Siena S, et al. Exploring the links between cancer and placenta development [J]. Open Biol, 2018, 8(6)
- [8] Giakoumopoulos M, Golos T G. Embryonic stem cell-derived trophoblast differentiation: a comparative review of the biology, function, and signaling mechanisms [J]. J Endocrinol, 2013, 216(3): R33-R45
- [9] Velicky P, Knofler M, Pollheimer J. Function and control of human invasive trophoblast subtypes: Intrinsic vs. maternal control [J]. Cell Adh Migr, 2016, 10(1-2): 154-162
- [10] Kaur B P, Secord E. Innate Immunity [J]. Pediatr Clin North Am, 2019, 66(5): 905-911
- [11] Koga K, Izumi G, Mor G, et al. Toll-like receptors at the maternal-fetal interface in normal pregnancy and pregnancy complications [J].

- Am J Reprod Immunol, 2014, 72(2): 192-205
- [12] Prearo M N, Camargo B R, Fernandes M L, et al. Toll-Like Receptor-2 and -4 Expression by Maternal Neutrophils in Preterm Labor[J]. Gynecol Obstet Invest, 2018, 83(1): 1-8
- [13] Tangeras L H, Silva G B, Stodde G S, et al. Placental inflammation by HMGB1 activation of TLR4 at the syncytium [J]. Placenta, 2018, 72-73: 53-61
- [14] Dolasia K, Bisht M K, Pradhan G, et al. TLRs/NLRs: Shaping the landscape of host immunity[J]. Int Rev Immunol, 2018, 37(1): 3-19
- [15] Platnich J M, Muruve D A. NOD-like receptors and inflammasomes: A review of their canonical and non-canonical signaling pathways[J]. Arch Biochem Biophys, 2019, 670: 4-14
- [16] Mukherjee T, Hovingh E S, Foerster E G, et al. NOD1 and NOD2 in inflammation, immunity and disease [J]. Arch Biochem Biophys, 2019, 670: 69-81
- [17] Abrahams V M. The role of the Nod-like receptor family in trophoblast innate immune responses[J]. J Reprod Immunol, 2011, 88 (2): 112-117
- [18] Hemberger M, Hanna C W, Dean W. Mechanisms of early placental development in mouse and humans [J]. Nat Rev Genet, 2019[Epub ahead of print]
- [19] Soma H. Messages from the placenta across multiple species: A 50 years exploration[J]. Placenta, 2019, 84: 14-27
- [20] Moser G, Windsperger K, Pollheimer J, et al. Human trophoblast invasion: new and unexpected routes and functions [J]. Histochem Cell Biol, 2018, 150(4): 361-370
- [21] Ridder A, Giorgione V, Khalil A, et al. Preeclampsia: The Relationship between Uterine Artery Blood Flow and Trophoblast Function[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(13) [Epub ahead of print]
- [22] Mifsud W, Sebire N J. Placental pathology in early-onset and late-onset fetal growth restriction[J]. Fetal Diagn Ther, 2014, 36(2): 117-128
- [23] Candelier J J. The hydatidiform mole [J]. Cell Adh Migr, 2016, 10 (1-2): 226-235
- [24] Chen J, Khalil R A. Matrix Metalloproteinases in Normal Pregnancy and Preeclampsia[J]. Prog Mol Biol Transl Sci, 2017, 148: 87-165
- [25] Barisic A, Devic P S, Ostojic S, et al. Matrix metalloproteinase and tissue inhibitors of metalloproteinases gene polymorphisms in disorders that influence fertility and pregnancy complications: A systematic review and meta-analysis[J]. Gene, 2018, 647: 48-60
- [26] Espino Y S S, Flores-Pliego A, Espejel-Nunez A, et al. New Insights into the Role of Matrix Metalloproteinases in Preeclampsia [J]. Int J Mol Sci, 2017, 18(7):1-10
- [27] Majali-Martinez A, Hiden U, Ghaffari-Tabrizi-Wizsy N, et al. Placental membrane-type metalloproteinases (MT-MMPs): Key players in pregnancy[J]. Cell Adh Migr, 2016, 10(1-2): 136-146
- [28] He Y, Sun Q. IFN-gamma induces upregulation of TNF-alpha, downregulation of MMP-2 and MMP-9 expressions in abortion rat[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2018, 22(15): 4762-4767
- [29] Castruita-De L R C, Garza-Veloz I, Delgado-Enciso I, et al. Spontaneous abortion is preceded by an altered serum concentration of matrix metalloproteinases [J]. J Matern Fetal Neonatal Med, 2019: 1-9
- [30] Ulrich C C, Arinze V, Wandscheer C B, et al. Matrix metalloproteinases 2 and 9 are elevated in human preterm laboring uterine myometrium and exacerbate uterine contractility dagger[J]. Biol Reprod, 2019, 100 (6): 1597-1604

(上接第 821 页)

- [15] Ahn B K. Perspectives on Mussel-Inspired Wet Adhesion [J]. J Am Chem Soc, 2017, 139(30): 10166-10171
- [16] Scognamiglio F, Travan A, Borgogna M, et al. Enhanced bioadhesivity of dopamine-functionalized polysaccharidic membranes for general surgery applications[J]. Acta Biomater, 2016, 44: 232-242
- [17] Cheon J, Park W. Green Synthesis of Silver Nanoparticles Stabilized with Mussel-Inspired Protein and Colorimetric Sensing of Lead (II) and Copper(II) Ions[J]. Int J Mol Sci, 2016, 17(12): 2006
- [18] Seo S, Lee D W, Ahn J S, et al. Significant Performance Enhancement of Polymer Resins by Bioinspired Dynamic Bonding [J]. Adv Mater, 2017, 29(39): 1703026
- [19] Han L, Lu X, Liu K, et al. Mussel-Inspired Adhesive and Tough Hydrogel Based on Nanoclay Confined Dopamine Polymerization[J]. ACS Nano, 2017, 11(3): 2561-2574
- [20] Cheng H, Yue K, Kazemzadeh-Narbat M, et al. Mussel-Inspired Multifunctional Hydrogel Coating for Prevention of Infections and Enhanced Osteogenesis [J]. ACS Appl Mater Inter, 2017, 9 (13): 11428-11439
- [21] Fan C, Fu J, Zhu W, et al. A mussel-inspired double-crosslinked tissue adhesive intended for internal medical use [J]. Acta Biomater, 2016, 33:51-63
- [22] Shin J, Lee J S, Lee C, et al. Tissue Adhesive Catechol-Modified Hyaluronic Acid Hydrogel for Effective, Minimally Invasive Cell Therapy[J]. Adv Funct Mater, 2015, 25(25): 3814-3824
- [23] Wang Y, Chen Z, Luo G, et al. In-Situ-Generated Vasoactive Intestinal Peptide Loaded Microspheres in Mussel-Inspired Polycaprolactone Nanosheets Creating Spatiotemporal Releasing Microenvironment to Promote Wound Healing and Angiogenesis[J]. ACS Appl Mater Inter, 2016, 8(11): 7411-7421