# 黄芩素对人绒毛膜滋养层细胞增殖和血管生成的作用研究

陈小芳,帅纬纬,章琦,聂露,谢小花,黄淑晖*
(江西省妇幼保健院,江西 南昌 330006)

**摘要** 目的:探讨黄芩素(Baicalein)对人滋养层细胞(HTR-8/Svneo)血管生成的影响。方法:本实验首先设置了不同剂量(0、5、10、20、40 和 100 nmol/L)黄芩素干预组,各组分别给予对应剂量的黄芩素干预培养 HTR-8/Svneo 细胞 24 h 后,通过 CCK-8 法检测各组细胞增殖活力,确定黄芩素低、中、高剂量。随后分别采用低、中、高剂量(20、40 和 100 nmol/L)黄芩素干预培养 HTR-8/Svneo 细胞 24 h。采用不同剂量黄芩素处理的 HTR-8/Svneo 细胞上清液干预培养人脐静脉内皮细胞(HUVEC)6 h,通过基质胶成管实验检测 HUVEC 的成管能力。通过 ELISA 试剂盒检测 HTR-8/Svneo 细胞上清液中血管内皮生长因子(VEGF)、色素上皮衍生因子(PEDF)含量。通过 qRT-PCR 法检测 HTR-8/Svneo 细胞中 VEGF、PEDF mRNA 表达水平。结果:与0 nmol/L黄芩素组相比,5、10、20 nmol/L 黄芩素组细胞增殖活力无显著变化($P>0.05$),40 nmol/L 和 100 nmol/L 黄芩素组细胞增殖活力显著升高($P<0.05$,$P<0.05$)。与 0 nmol/L 黄芩素组相比,40 nmol/L 和 100 nmol/L 黄芩素组的细胞相对小管长度和细胞连接接触数量显著增加($P<0.05$,$P<0.01$)。与 0 nmol/L 黄芩素组相比,20 nmol/L黄芩素、40 nmol/L 黄芩素和100 nmol/L黄芩素组的细胞上清液中 VEGF 含量显著升高($P<0.01$),而 PEDF 含量显著下降($P<0.01$)。与 0 nmol/L 黄芩素组相比,20 nmol/L 黄芩素、40 nmol/L 黄芩素和 100 nmol/L 黄芩素组的细胞中 VEGF mRNA 水平显著上升($P<0.01$),而 PEDF mRNA 水平显著下降($P<0.01$)。结论:黄芩素处理可显著促进 HTR-8/Svneo 血管生成,其机制可能与 VEGF 水平的上调及 PEDF 的抑制相关。

**关键词** 黄芩素;绒毛膜滋养层细胞;血管生成;血管内皮生长因子;色素上皮衍生因子
**中图分类号**:R285.5 **文献标识码**:A **文章编号**:1002-2392(2025)05-0018-05
**DOI**:10.19664/j.cnki.1002-2392.250090

稽留流产(Missed abortion)是一种特殊类型的自然流产,主要表现为妊娠早期胎儿无自然排出或胚胎未被确认的宫内死亡[1]。在稽留流产过程中,胎盘组织黏附于子宫壁,不能自发地从宫腔中排出[2]。稽留流产占临床诊断死产的 15%,患者会出现严重的出血和手术相关并发症。稽留流产的病因包括子宫内膜异位症、心理因素、感染、遗传和子宫异常等,已被证明与漏产的发生有关[3],但其确切发病机制尚不清楚。

在妊娠早期,已分化的胎盘滋养细胞(又称胞外滋养细胞)侵入母体血管,促进胎盘锚定,重塑螺旋动脉,从而增加流向绒毛内间隙的血流量,保证胎儿生长所需的充足血流量[4]。滋养层细胞在胚胎着床和胎盘形成过程中表现出增殖和侵袭的特征[5]。然而,滋养细胞增殖、迁移和凋亡的异常已被证明与早期妊娠并发症密切相关,如流产、宫内生长受限或宫内妊娠、子痫前期等[6]。因此,滋养层细胞增殖和血管生成对稽留流产的抑制具有重要意义。

黄芩素是黄芩中主要的黄酮类化合物之一,作为中草药使用较广,其具有抗病毒、抗炎、抗氧化等生物学作用[7-8]。更重要的是,研究[9-10]表明黄芩素在子痫前期或流产模型中发挥了积极作用。然而目前尚不清楚黄芩素是否能影响滋养层细胞的增殖及血管生成。血管生成过程受多种因子精密调控,其中血管内皮生长因子(Vascular endothelial growth factor, VEGF)作为关键的促血管生成因子,与抗血管生成的色素上皮衍生因子(Pigment epithelium derived factor, PEDF)相互拮抗,共同维持血管生成的动态平衡[11-14]。

因此,本研究以人滋养层细胞(HTR-8/Svneo)为

**收稿日期**:2023-12-16 **修回日期**:2024-11-21
**基金项目**:江西省中医药管理局科技计划项目(2021A391);江西省卫生健康委科技计划(220210887)
**作者简介**:陈小芳(1984-),女,博士,主治医师,研究方向:围产医学。
*通信作者:黄淑晖(1974-),女,硕士,主任医师,硕士生导师,研究方向:围产医学。

研究对象，旨在探究黄芩素对 HTR－8/Svneo 细胞增殖和血管生成的影响，并阐明其作用机制是否与 VEGF/PEDF 的表达相关。

## 1 材料和方法

### 1.1 细胞

人绒毛膜滋养层细胞 HTR－8/Svneo（批号：CL－0765）和人脐静脉血管内皮细胞（human umbilical vein endothelial cells，HUVEC）（批号：CL－0122）均购自普诺赛生物。

### 1.2 药品和试剂

完全 RPMI－1640 培养基（KGM31800S，凯基生物公司）；10% 胎牛血清（SH30070.01，Hyclone）；1% 的青霉素－链霉素（15140148，Gibco）；胰蛋白酶－EDTA 消化液（T1300，Solarbio）；黄芩素（491－67－8，MCE）。

细胞计数试剂盒－8（CCK－8）（KGA317，凯基生物公司）；金牌基质胶 Matrigel（0827555，ABW）；VEGF 测试盒（E－EL－H0111c，伊莱瑞特公司）；PEDF 测试盒（E－EL－H1875c，伊莱瑞特公司）；Trizol 试剂盒（CW0580S，Cwbio）；RNA 超纯提取试剂盒（CW0581M，Cwbio）；qPCR 逆转录试剂盒（R223－01，诺唯赞生物公司）；通用型高灵敏度染料法定量 PCR 检测试剂盒（Q711－02，诺唯赞生物公司）。

### 1.3 主要仪器

多功能酶标仪（SuperMax3100，闪谱）；Multiskan 微孔板仪（VLBLATGD2，Thermo Fisher Scientific）；光学显微镜（DM1000，Leica）；紫外可见分光光度计（NP80，NanoPhotometer）；荧光 PCR 仪（CFX96 Touch，Bio－Rad）。

### 1.4 实验方法

#### 1.4.1 细胞培养条件

HTR－8/SVneo 和 HUVEC 细胞在添加 10% FBS 和 1% 的青霉素－链霉素的 RPMI－1640 培养基中，于 37 ℃、5% $CO_2$ 的培养箱中培养。

#### 1.4.2 细胞分组

将对数生长期的 HTR－8/Svneo 细胞接种于96 孔板（$2\times10^4$ 个细胞/孔）。使用二甲基亚砜（DMSO）完全溶解黄芩素，用 RPMI－1640 培养液稀释至所需浓度（5、10、20、40 和 100 nmol/L）。细胞分为 6 组，对照组（0 nmol/L 黄芩素组）细胞采用含等体积 DMSO 溶剂的 RPMI－1640 培养液进行培养；实验组设置 5 个浓度组，分别 5、10、20、40、100 nmol/L 黄芩素组，各组细胞对应使用含相应浓度黄芩素的 RPMI－1640 培养液进行培养。每组设置6 个复孔。根据细胞活力测定结果确定黄芩素的浓度范围，选择 3 个浓度进行后续实验。

#### 1.4.3 细胞活力测定

采用 CCK－8 检测细胞活力。将经黄芩素干预后的 HTR－8/SVneo 细胞，以 3 000 个细胞/孔的密度接种于 96 孔板，每孔加入 100 μL 完全培养液，每组设置 6 个复孔，置于 37 ℃ 培养箱孵育。待实验结束后，每孔添加 10 μL CCK－8 试剂，37 ℃ 继续培养 2 h，随后使用 Multiskan 微孔板仪测定 450 nm 波长处的光密度值（OD450）。

#### 1.4.4 HUVEC 血管生成的测定

将 HUVEC 以 $2\times10^4$ 个细胞/孔的密度接种于预先包被 100 μL Matrigel 基质胶的 96 孔板，每孔添加 20 μL 经不同浓度黄芩素处理的 HTR－8/SVneo 细胞培养上清液，每组设置 6 个复孔，于 37 ℃、5% $CO_2$ 培养箱中孵育 6 h。孵育结束后，使用光学显微镜观察并采集血管样管状结构图像，随后利用 ImageJ 软件定量分析管状结构数量。

#### 1.4.5 ELISA 检测 VEGF、PEDF 蛋白水平

采用酶联免疫吸附法（ELISA）检测细胞上清液中 VEGF、PEDF 蛋白的水平。取细胞培养上清液，每组设置 9 个复孔，按照 VEGF 及 PEDF 检测试剂盒说明书进行操作。

#### 1.4.6 实时荧光定量 PCR 检测 VEGF、PEDF mRNA 表达水平

采用 Trizol 试剂盒提取细胞中的总 RNA，采用 RNA 超纯提取试剂盒进一步纯化 mRNA。利用紫外可见分光光度计测定 mRNA 的浓度和纯度，以 OD260/OD280 的比值评估 mRNA 质量。之后，使用 qPCR 逆转录试剂盒将 mRNA 逆转录合成 cDNA，每组设置 6 个复孔。采用荧光定量 PCR 仪进行荧光定量 PCR。引物序列为：VEGF，上游：5’－GAGGAGGGCAGAATCATCAC－3’，下游：5’－TGAGGTTTGATCCGCATAATCT－3’；PEDF，上游：5’－GAACCTCAAGAGTGCCTCCC－3’，下游：5’－GTTACCCACTGCCCCTTGAA’；β－actin，上游：5’－TGGCACCCAGCACAATGAA－3’，下游：5’－CTAAGTCATAGTCCGCCTAGAAGCA－3’。以 β－actin 作为内参基因，按照 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算 VEGF 和 PEDF 基因的相对表达量。

### 1.5 统计学方法

本研究利用 Graphpad Prism 9.0 软件进行图形绘制与统计分析。所有实验重复 3 次，定量结果采用均数 ± 标准差（$\bar{x}\pm s$）表示。在多组之间定量资料的分析中，首先进行正态性检验和方差齐性检验。若数据满足正态分布且方差齐，则采用单因素方差分析结合 LSD 法进行组间比较；若数据虽满足正态分布但方差

不齐,组间比较将采用 Dunnett'sT3 法;若数据不符合正态分布,则使用非参数检验方法进行组间比较。$P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 对 HTR-8/SVneo 细胞活力的影响

结果见表1。由结果可知,与0 nmol/L黄芩素组相比,5、10、20 nmol/L 黄芩素组细胞增殖活力无显著变化($P>0.05$),40 nmol/L 黄芩素组细胞增殖活力显著升高($P<0.05$),100 nmol/L 黄芩素组细胞增殖活力显著升高($P<0.01$)。后续实验选择 20、40、100 nmol/L剂量作为低、中、高剂量进行。

**表 1 CCK-8 法检测不同浓度黄芩素对 HTR-8/SVneo 细胞增殖的影响($\bar{x}\pm s, n=6$)**

| 组别 | 细胞增殖率/% |
|---|---|
| 0 nmol/L 组 | 100.00 ± 5.07 |
| 5 nmol/L 组 | 98.62 ± 8.16 |
| 10 nmol/L 组 | 100.44 ± 4.56 |
| 20 nmol/L 组 | 103.75 ± 5.05 |
| 40 nmol/L 组 | 111.80 ± 5.85 * |
| 100 nmol/L 组 | 122.36 ± 5.25 ** |

注:与 0 nmol/L 组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$。

### 2.2 对 HTR-8/SVneo 细胞共培养的 HUVEC 细胞血管生成的影响

见表2。血管形成测定实验结果显示,与 0 nmol/L 黄芩素组相比,20 nmol/L 黄芩素组的相对小管长度有所升高,但差异无统计学意义($P>0.05$);而 40 nmol/L 黄芩素组和100 nmol/L黄芩素组的相对小管长度与 0 nmol/L黄芩素组相比显著升高($P<0.05$, $P<0.01$)。与 0 nmol/L 黄芩素组相比,20 nmol/L 黄芩素、40 nmol/L 黄芩素和 100 nmol/L 黄芩素组的细胞之间的接触连接点数量显著升高($P<0.01$)。

**表 2 各组细胞相对小管长度和接触连接点数量比较($\bar{x}\pm s, n=6$)**

| 组别 | 相对小管长度/μm | 接触连接点数量/个 |
|---|---|---|
| 0 nmol/L 组 | 1 956.40 ± 276.80 | 10.20 ± 5.22 |
| 20 nmol/L 组 | 2 441.00 ± 234.40 | 23.60 ± 2.97 ** |
| 40 nmol/L 组 | 2 538.20 ± 416.39 * | 26.80 ± 6.61 ** |
| 100 nmol/L 组 | 2 736.20 ± 67.67 ** | 32.00 ± 4.85 ** |

注:与 0 nmol/L 组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$。

### 2.3 对 HTR-8/SVneo 细胞 VEGF、PDEF 蛋白分泌量的影响

与 0 nmol/L 黄芩素组相比,20 nmol/L 黄芩素、40 nmol/L黄芩素和 100 nmol/L 黄芩素组的细胞上清液中 VEGF 含量显著升高($P<0.01$),见表 3。与 0 nmol/L黄芩素组相比,20 nmol/L 黄芩素、40 nmol/L 黄芩素和 100 nmol/L 黄芩素组的细胞上清液中 PEDF 含量显著下降($P<0.01$),呈剂量依赖型。见表 3。

**表 3 各组细胞上清液中 VEGF、PDEF 蛋白分泌量($\bar{x}\pm s, n=9$, pg/mL)**

| 组别 | VEGF | PDEF |
|---|---|---|
| 0 nmol/L 组 | 475.80 ± 145.83 | 148.44 ± 22.01 |
| 20 nmol/L 组 | 837.76 ± 67.06 ** | 67.56 ± 13.97 ** |
| 40 nmol/L 组 | 893.90 ± 83.90 ** | 42.67 ± 4.58 ** |
| 100 nmol/L 组 | 1 192.38 ± 168.58 ** | 25.00 ± 2.50 ** |

注:与 0 nmol/L 组比较,** $P<0.01$。

### 2.4 对 HTR-8/SVneo 细胞 VEGF、PDEF mRNA 表达的影响

与 0 nmol/L 黄芩素组相比,20 nmol/L 黄芩素、40 nmol/L黄芩素和 100 nmol/L 黄芩素组的细胞中 VEGF mRNA 水平显著升高($P<0.01$),见表 4。与 0 nmol/L黄芩素组相比,20 nmol/L 黄芩素、40 nmol/L 黄芩素和 100 nmol/L 黄芩素组的细胞中 PEDF mRNA 水平显著下降($P<0.01$),呈剂量依赖型。见表 4。

**表 4 各组细胞中 VEGF、PDEF mRNA 水平比较($\bar{x}\pm s, n=6$)**

| 组别 | VEGF | PDEF |
|---|---|---|
| 0 nmol/L 组 | 1.00 ± 0.07 | 1.00 ± 0.08 |
| 20 nmol/L 组 | 1.88 ± 0.17 ** | 0.63 ± 0.05 ** |
| 40 nmol/L 组 | 2.01 ± 0.25 ** | 0.50 ± 0.06 ** |
| 100 nmol/L 组 | 2.23 ± 0.15 ** | 0.22 ± 0.02 ** |

注:与 0 nmol/L 组比较,** $P<0.01$。

## 3 讨论

滋养层细胞的增殖、迁移和侵袭是胎儿和胎盘发育的关键过程,而滋养细胞增殖和转移的抑制与稽留流产的发病机制有关[15-18]。本研究发现黄芩素对 HTR-8/Svneo 的细胞增殖和血管生成有促进作用,为预防稽留流产提供了潜在的有希望的策略。

HTR-8/Svneo 细胞来源于人胎盘绒毛滋养层细胞,被广泛用于稽留流产的体外细胞模型研究。抑制 HTR-8/Svneo 细胞增殖和迁移有助于稽留流产的发生[19]。本研究结果发现,40、100 nmol/L 的黄芩素干预显著促进了 HTR-8/Svneo 细胞的增殖。稽留流产被认为是早期病理性妊娠,胚胎死亡或胚胎发育迟缓[20]。在稽留流产的发生过程中,滋养层细胞的增殖被抑制。因此,黄芩素也可能通过促进滋养层细胞再增殖来减轻稽留流产。

胎盘血管的生成对于胎盘的生长发育是极其要的一个环节,血管生成主要受促血管生成因子和抗血管生成因子的调节,其中 VEGF 和 PEDF 是促血管生成

因子和抗血管生成因子的重要代表[21]，VEGF 与 PEDF 之间的平衡对血管生成至关重要。

VEGF 表达于胎盘绒毛内的内皮细胞和滋养层细胞、合体滋养细胞和基质巨噬细胞等[22-23]，调节血管舒张、血管通透性、血管保护和内皮细胞存活，还通过调节血管生长参与正常胎盘功能[24-25]。有研究对比了稽留流产和无任何疾病自愿进行人工流产患者血清和绒毛组织 VEGF 水平，发现稽留流产组血清 VEGF 水平和绒毛组织 VEGF 表达、微血管密度均低于对照组[26]。PEDF 是一种多功能旁分泌蛋白，是蛇形蛋白超家族的成员[27]。PEDF 在各种组织中广泛表达，包括胎盘和滋养细胞，并在妊娠后期发挥抗血管生成作用[28]。有研究表明，PEDF 在子痫前期女性的胎盘中上调[14, 29]。PEDF 的过表达可调节滋养层细胞的活性。此外，PEDF 表达与滋养层细胞侵袭呈负相关，与凋亡呈正相关，表明 PEDF 是维持滋养层细胞生物学功能的重要因素[30]。本研究结果显示，黄芩素 40、100 nmol/L处理后，HTR-8/SVneo 细胞上清液中 VEGF 含量显著上升而 PEDF 含量显著下降，此外 HTR-8/SVneo 细胞 VEGF mRNA 水平显著升高而 PEDF mRNA 水平显著下降，结果表明黄芩素处理可通过上调 VEGF 水平及下调 PEDF 水平促进HTR-8/SVneo 细胞血管生成。

综上所述，本研究表明黄芩素处理可促进滋养层细胞的增殖和血管生成，其机制可能与 VEGF 的上调和 PEDF 的抑制有关。本研究初步揭示了黄芩素对滋养层细胞增殖和血管生成的作用机制。但本研究也存在缺陷，未能从动物水平对黄芩素抑制稽留流产的作用进行探究，此外，关于黄芩素调节 VEGF/PEDF 平衡的作用机制还有待进一步研究，这将是我们后续研究的重点。

**参考文献：**

[1] 张启欣，张小薇，马致南. 血清全氟辛酸水平与稽留流产的相关性[J]. 广东医学，2023，44(7)：868-872.

[2] XIAO Q，ZENG F L，TANG G Y，et al. Expression of galectin-3 and apoptosis in placental villi from patients with missed abortion during early pregnancy[J]. Exp Ther Med，2019，17(4)：2623-2631.

[3] FANG J，XIE B，CHEN B H，et al. Biochemical clinical factors associated with missed abortion independent of maternal age：a retrospective study of 795 cases with missed abortion and 694 cases with normal pregnancy[J]. Medicine，2018，97(50)：e13573.

[4] MOSER G，WEISS G，SUNDL M，et al. Extravillous trophoblasts invade more than uterine arteries：evidence for the invasion of uterine veins[J]. Histochem Cell Biol，2017，147(3)：353-366.

[5] 牟珍妮，申思楠，唐丽，等. 基于 JAK1/STAT3 信号通路探讨寿胎丸含药血清对人绒毛膜滋养层细胞增殖、侵袭和迁移的影响[J]. 中国中医药信息杂志，2023，30(1)：84-90.

[6] 沈晔，李亚君，周洁琼. 川芎嗪通过 Wnt/β-catenin 通路调控滋养层细胞增殖和迁移改善子痫前期的研究[J]. 中国临床药理学杂志，2023，39(11)：1582-1586.

[7] AN H J，LEE J Y，PARK W. Baicalin modulates inflammatory response of macrophages activated by LPS via calcium-CHOP pathway[J]. Cells，2022，11(19)：3076.

[8] SHI H L，QIAO F，LU W T，et al. Baicalin improved hepatic injury of NASH by regulating NRF2/HO-1/NRLP3 pathway[J]. Eur J Pharmacol，2022，934：175270.

[9] WANG Y H，JIA Y R，YANG X，et al. A potential role of Baicalin to inhibit apoptosis and protect against acute liver and kidney injury in rat preeclampsia model[J]. Biomed Pharmacother，2018，108：1546-1552.

[10] WANG X D，ZHAO Y T，ZHONG X H. Protective effects of baicalin on decidua cells of LPS-induced mice abortion[J]. J Immunol Res，2014，2014：859812.

[11] ZHANG M L，TOMBRAN-TINK J，YANG S Y，et al. PEDF is an endogenous inhibitor of VEGF-R2 angiogenesis signaling in endothelial cells[J]. Exp Eye Res，2021，213：108828.

[12] XU M H，CHEN X，YU Z H，et al. Receptors that bind to PEDF and their therapeutic roles in retinal diseases[J]. Front Endocrinol，2023，14：1116136.

[13] XI L. Combination of pigment epithelium derived factor with anti-vascular endothelial growth factor therapy protects the neuroretina from ischemic damage[J]. Biomedecine Pharmacother，2022，151：113113.

[14] LIU J，YAO L F，WANG Y. Resveratrol alleviates preeclampsia-like symptoms in rats through a mechanism involving the miR-363-3p/PEDF/VEGF axis[J]. Microvasc Res，2023，146：104451.

[15] ZHU Q，DONG Y C，ZHANG L，et al. miR-98 is involved in missed abortion by targeting GDF6 and FAPP2[J]. Reproduction，2020，159(5)：525-537.

[16] LIANG W T，ZHU T Y，TAN N，et al. In missed abortion the decrease of IGF-1 down-regulates PI3K/AKT signaling pathway reducing the secretion of progesterone and β-hCG[J]. Growth Horm IGF Res，2022，65：101479.

[17] KOU J N，YUAN E W，YAN G W. Association between HIF-1α，BNIP3，and autophagy in the chorionic villi of missed abortion[J]. J Obstet Gynaecol Res，2023，49(7)：1710-1716.

[18] JIN X J，CHEN Y J，SHENG Z M，et al. SKAP2 is downregulated in the villous tissues of patients with missed abortion and regulates growth and migration in trophoblasts through the WAVE2-ARP2/3 signaling pathway[J]. Placenta，2022，128：100-111.

[19] 顾华芬，衣欢，陈亚萍，等. DEHP 对 HTR-8/Svneo 细胞功能的影响及机制研究[J]. 实用妇产科杂志，2017，33(7)：516-520.

[20] GULIC T，LASKARIN G，DOMINOVIC M，et al. Granulysin-mediated apoptosis of trophoblasts in blighted ovum and missed abortion[J]. Am J Reprod Immunol，2018，80(3)：e12978.

[21] UNUNG P J，BASSEY I E，ETUKUDO M H，et al. Effect of glycemic control and dyslipidemia on plasma vascular endothelial growth factor and pigment epithelium-derived factor in diabetic retinopathy patients in Northern Nigeria[J]. Int J Health Sci，2020，14(6)：4-12.

[22] 李鹏,陈丹丹,蔡琳,等. 丙泊酚对滋养层细胞 VEGF/MMP-9 通路及细胞活力、侵袭能力的影响[J]. 华中科技大学学报(医学版),2022,51(4):479-484.

[23] 徐卫星,孔凡道. 大黄素抑制 VEGF165 诱导下人脐静脉内皮细胞的增殖、迁移及侵袭的研究[J]. 锦州医科大学学报,2023,44(4):33-38.

[24] BHATTACHARJEE J,MOHAMMAD S,GOUDREAU A D,et al. Physical activity differentially regulates VEGF,PlGF,and their receptors in the human placenta[J]. Physiol Rep,2021,9(2):e14710.

[25] HU C J,WU Z F,HUANG Z H,et al. Nox2 impairs VEGF-A-induced angiogenesis in placenta via mitochondrial ROS-STAT3 pathway[J]. Redox Biol,2021,45:102051.

[26] JING G Z,YAO J L,DANG Y H,et al. The role of β-HCG and VEGF-MEK/ERK signaling pathway in villi angiogenesis in patients with missed abortion[J]. Placenta,2021,103:16-23.

[27] ZHANG X,ZHANG K,ZHANG Y. Pigment epithelium-derived factor facilitates NLRP3 inflammasome activation through downregulating cytidine monophosphate kinase 2: a potential treatment strategy for missed abortion[J]. Int J Mol Med,2020,45(5):1436-1446.

[28] STALBERG C,NODA N,POLETTINI J,et al. Pigment epithelial-derived factor in human fetal membranes[J]. J Matern Fetal Neonatal Med,2018,31(15):2058-2065.

[29] 吴英,余艳红,钟梅,等. 胎盘组织中色素上皮衍生因子蛋白的表达变化与子痫前期发病的关系[J]. 中华妇产科杂志,2013,48(7):490-493.

[30] WU Y,CHEN X X,JIAO S M,et al. Upregulated pigment epithelium-derived factor (PEDF) promotes trophoblast apoptosis and inhibits invasion in preeclampsia[J]. Reprod Biol,2021,21(4):100576.

## Effect of Baicalein on Proliferation and Angiogenesis of Human Trophoblast Cells

CHEN Xiaofang, SHUAI Weiwei, ZHANG Qi, NIE Lu, XIE Xiaohua, HUANG Shuhui

(*Jiangxi Provincial Maternal and Child Health Hospital*, *Nanchang* 330006, *China*)

**Abstract** Objective: To investigate the effect of baicalein on angiogenesis in human trophoblast cells (HTR-8/Svneo). Methods: In this experiment, different doses of baicalein (0, 5, 10, 20, 40, and 100 nmol/L) were used to treat HTR-8/Svneo cells for 24 hours. Cell proliferation was assessed by the CCK-8 method to determine the low, medium, and high doses of baicalein. Subsequently, HTR-8/Svneo cells were treated with low, medium, and high doses of baicalein (20, 40, and 100 nmol/L) for 24 hours. The supernatants of these cells were used to treat human umbilical vein endothelial cells (HUVECs) for 6 hours, and the tube formation ability of HUVECs was assessed by the matrigel tube formation assay. VEGF and PEDF levels in the supernatants of HTR-8/Svneo cells were measured using an ELISA kit. The mRNA expression levels of VEGF and PEDF in HTR-8/Svneo cells were measured by qRT-PCR. Results: Compared with the 0 nmol/L baicalein group, no significant change in cell proliferation was observed in the 5, 10, and 20 nmol/L baicalein groups. However, cell proliferation activity significantly increased in the 40 nmol/L and 100 nmol/L baicalein groups ($P<0.05$). Compared with the 0 nmol/L baicalein group, the relative tube length and the number of cell junctions were significantly increased in the 40 nmol/L and 100 nmol/L baicalein groups ($P<0.05$). In comparison to the 0 nmol/L baicalein group, VEGF levels in the supernatant of HTR-8/Svneo cells were significantly increased in the 20, 40, and 100 nmol/L baicalein groups ($P<0.01$), while PEDF levels significantly decreased ($P<0.01$). Furthermore, VEGF mRNA levels in HTR-8/Svneo cells were significantly increased in the 20, 40, and 100 nmol/L baicalein groups ($P<0.01$), while PEDF mRNA levels were significantly decreased ($P<0.01$). Conclusion: Baicalein treatment can significantly promote angiogenesis in human trophoblast cells (HTR-8/Svneo). The underlying mechanism may involve the upregulation of VEGF levels and the inhibition of PEDF.

**Key words** Baicalein; Trophoblast cells; Angiogenesis; Vascuar endothelial growth factor (VEGF); Pigment epithelium-derived factor(PEDF)