多环芳烃暴露致女性生殖毒性及其分子机制

米辰炀[1,2]，许仲妍[2]，谢嘉渝[2]，陈维娜[2]，李雪莹[2]，方鑫[1]，张慧东[2]

1. 内蒙古医科大学公共卫生学院，内蒙古 呼和浩特 010021
2. 四川大学华西公共卫生学院，四川 成都 610041

摘要：

多环芳烃（PAHs）是广泛存在的持久性环境毒物，其典型代表苯并［*a*］芘（BaP）是人类致癌物质，可通过胎盘屏障，最终代谢形成7，8-二氢二羟基-9，10-环氧化苯并［*a*］芘（BPDE）及其DNA加合物，直接影响女性生殖健康。本文从人群、动物、细胞和分子层次上阐述了PAHs对女性生殖健康的毒害作用和机制。在人群层次上，孕妇暴露于PAHs会导致流产、早产、胚胎停止发育等不良妊娠结局，并影响胎儿的正常生长发育。在动物水平上，BaP不仅会影响雌鼠的生殖健康，也会导致幼鼠生长发育不良。在细胞层次上，BaP或BPDE会抑制滋养层细胞的侵袭、迁移和增殖能力，促进滋养层细胞的凋亡、死亡。表观遗传学因素，例如DNA甲基化、miRNA、lncRNA，会直接参与导致细胞功能障碍的分子过程。目前该研究领域尚处于初级阶段，需要多学科合作，深入研究，为保障女性生殖健康提供科学依据和预防途径。

关键词：多环芳烃；苯并［*a*］芘；滋养层细胞；女性生殖健康；表观遗传学

Toxic effects and relevant molecular mechanisms of polycyclic aromatic hydrocarbon exposure on female reproductive health

MI Chen-yang[1,2], XU Zhong-yan[2], XIE Jia-yu[2], CHEN Wei-na[2], LI Xue-ying[2], FANG Xin[1], ZHANG Hui-dong[2] (1.*School of Public Health, Inner Mongolia Medical University, Hohhot, Inner Mongolia* 010021*, China*; 2.*West China School of Public Health, Sichuan University, Chengdu, Sichuan* 610041*, China*)

Abstract:

Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) are widespread persistent environmental toxicants. Their typical representative benzo[*a*]pyrene (BaP), a human carcinogen, can pass through the placental barrier and be finally metabolized into benzo[*a*]pyrene-7, 8-dihydrodiol-9, 10-epoxide (BPDE) and its DNA adducts, directly affecting female reproductive health. This article reviewed the toxic effects and mechanisms of PAHs on female reproductive health at various levels such as populations, animals, cells, and molecules. At population level, exposure to PAHs in pregnant women could lead to adverse pregnancy outcomes such as abortion, premature delivery, and embryo undevelopment, and also affect the normal growth and development of fetuses. At animal level, BaP could not only affect the reproductive health of female rats, but also cause adverse developmental outcomes in young rats. At cellular level, BaP or BPDE could inhibit the invasion, migration, and proliferation of human trophoblastic cells, and promote the apoptosis and death of trophoblastic cells. Epigenetic factors, such as DNA methylation, miRNA, and lncRNA, are directly involved in the BaP exposure relevant molecular processes leading to cell dysfunction. At present, this research field is still in its primary stage, and requires multi-disciplinary cooperation and in-depth studies, aiming to provide a scientific basis and preventive approach for female reproductive health protection.

Keywords: polycyclic aromatic hydrocarbons; benzo[*a*]pyrene; trophoblast cells; female reproductive health; epigenetics

生殖健康存在于每个人的完整生命周期中，由于女性的生理特点和担负的社会责任，较男性面临更多的生殖问题。女性的生殖健康不仅关系到女性本身，而且对家庭、人口控制和社会经济等多个方面都有影响。因此，关注女性生殖健康对整个人类社会的健康发展都具有重要的意义。

人胚胎发育的早期阶段，受精卵经过分裂、增殖和分化，形成桑椹胚和胚泡，进而分化成内、中、外三胚层。胚胎的着床对正常妊娠十分重要，胚泡植入

DOI 10.13213/j.cnki.jeom.2019.18386

基金项目
国家重点研发计划（2017YFC1002002）；中央高校基本科研业务费专项资金资助（20822041B4082）；国家自然科学基金项目（81422041，31370793）；青年千人计划（无编号）

作者简介
米辰炀（1993—），女，硕士生；
E-mail：michenyang272@foxmail.com

通信作者
张慧东，E-mail：huidong.zhang@scu.edu.cn
方鑫，E-mail：532406217@qq.com

利益冲突 无申报
收稿日期 2018-06-08
录用日期 2018-11-22

文章编号 2095-9982(2019)01-0043-07
中图分类号 R122
文献标志码 A

▸引用
米辰炀，许仲妍，谢嘉渝，等. 多环芳烃暴露致女性生殖毒性及其分子机制［J］. 环境与职业医学，2019，36（1）：43-49.

▸本文链接
www.jeom.org/article/cn/10.13213/j.cnki.jeom.2019.18386

Funding
This study was funded.

Correspondence to
ZHANG Hui-dong, E-mail: huidong.zhang@scu.edu.cn
FANG Xin, E-mail: 532406217@qq.com

Competing interests None declared
Received 2018-06-08
Accepted 2018-11-22

▸To cite
MI Chen-yang, XU Zhong-yan, XIE Jia-yu, et al. Toxic effects and relevant molecular mechanisms of polycyclic aromatic hydrocarbon exposure on female reproductive health[J]. Journal of Environmental and Occupational Medicine, 2019, 36(1): 43-49.

▸Link to this article
www.jeom.org/article/en/10.13213/j.cnki.jeom.2019.18386

子宫需要经过定位、黏附、侵袭、迁移等过程。胚泡植入子宫内膜后，滋养层细胞迅速增殖、分裂，形成绒毛膜，在胚胎和母体之间进行物质交换，随后胚胎各器官开始发育。滋养层细胞通过绒毛外途径分化成绒毛外滋养层细胞（extravillous trophoblasts，EVT），EVT细胞具有高度侵袭性，可侵入母体蜕膜和子宫螺旋动脉，对血管进行重塑，调节母体免疫反应，为胚胎提供营养[1]。适当的子宫血流灌注依赖于EVT细胞的适度侵袭和子宫-胎盘动脉的重塑[2]。EVT细胞侵入不良或减少导致子宫螺旋动脉重塑缺陷和胎盘灌注不足，进而引起胚胎宫内生长受限、先兆子痫、子痫[3]或流产[4]等妊娠相关疾病；而EVT细胞的过度侵袭会导致葡萄胎[5]、绒毛膜癌[6]等疾病。因此EVT细胞的适度侵袭和迁移对正常妊娠起着至关重要的作用。

随着人类社会的不断发展，环境污染问题日益严峻。环境污染对人类健康造成很大的危害，且引起公众的广泛关注。多环芳烃（polycyclic aromatic hydrocarbons，PAHs）是煤、石油、木材、烟草、有机高分子化合物等不完全燃烧时产生的挥发性碳氢化合物，具有高生物活性、持久性、脂溶性，是重要的环境污染物。日常生活中，人们可以从多种环境中接触到PAHs类污染物，如：汽车尾气、工厂污水、烟草烟雾、炒菜油烟、烧烤等。这些污染物可经口、肺、皮肤等多种途径进入人体，引起局部病变，甚至具有致癌和致突变作用。苯并［*a*］芘（benzo（a）pyrene，BaP）是PAHs的典型代表，被国际癌症研究机构归类为对人类致癌物质，有非常强的致畸、致癌、致突变和内分泌干扰作用。环境空气中BaP的质量浓度范围为20~100 mg/m^3[7]。根据日常食物消耗量和BaP在环境中的暴露水平，BaP每日总摄入量估计为每人125 ng[8]。BaP是间接致癌物，在线粒体细胞色素P450酶的催化氧化下形成BaP-2，3-、4，5-、7，8-和9，10-环氧化合物，其中BaP-7，8-环氧化物在环氧化物酶的作用下水解形成BaP-7，8-二醇，最终通过细胞色素P4501A1、1A2、1B1活化代谢成终致癌物7，8-二氢二羟基-9，10-环氧化苯并[*a*]芘（benzo[*a*]pyrene-7，8-dihydrodiol-9，10-epoxide，BPDE）[9]。BPDE能与鸟嘌呤的N2端氨基反应形成BPDE-DNA加合物，造成DNA损伤，具有致突变和致癌作用[10]。由于BaP的亲脂性，它可以通过血脑屏障进入中枢神经，成年人长期暴露于BaP环境中会使学习和记忆能力下降，而儿童暴露于BaP环境中会损害神经系统的发育[11]。职业接触BaP的工人，会出现许多神经系统症状，如自主调节异常和短暂性失忆[12]。

最近几年越来越多的研究开始关注BaP与女性生殖健康之间的关系。研究发现BaP可以通过胎盘屏障进入胎盘[13]，使子代发生肝、肺、淋巴组织和神经系统的肿瘤[14]；也有一些研究表明BaP会对女性生殖健康产生不良影响。本综述主要从几个不同研究层次上阐述PAHs类化合物对女性生殖健康的影响和相应的分子机制。

1 PAHs暴露的生殖毒性作用及其机制

1.1 PAHs导致妊娠和胎儿生长发育的不良结局

一些流行病学研究结果表明，PAHs暴露会损害女性生殖健康。有研究表明，母亲孕期BaP暴露可降低卵母细胞数量[15]，并导致子代成年后受精障碍[16]。在中国天津进行的病例对照研究中[17]，病例组选择患有经验性流产的人群，而对照组选择在怀孕14周前进行了选择性流产的人群，研究结果显示，病例组母体血液中的BPDE-DNA加合物水平为每10^{8}个核苷酸中含6.0个加合物，明显高于对照组水平（每10^{8}个核苷酸中含2.7个加合物）（P=0.000），提示母体血液中高水平的BPDE-DNA加合物可能增加怀孕早期流产的风险。

一些体内实验表明，BPDE-DNA加合物可在胎盘累积并且穿过胎盘屏障作用于胎儿，对胎儿和胎盘生长产生毒性[18]。在美国新泽西州进行的一项研究发现，孕妇产前PAHs暴露较高，胎儿死亡、早产和低出生体重的风险升高[19]。另一些研究也证实母亲孕期BaP暴露会减缓胎儿的生长[20]。在美国加利福尼亚州开展的研究发现，PAHs暴露与胎儿早产有相关性，孕期暴露的PAHs每增加0.14 μg/m^3，胎儿早产的概率增加30%[21]。

以上研究均证实PAHs暴露会导致流产、早产、胚胎停止发育等不良妊娠结局，并影响胎儿生长发育，为近年来不明原因的流产、胚胎停止发育和不孕症例数增加与环境污染暴露之间的联系提供了理论依据。

1.2 PAHs导致雌鼠及幼鼠的不良生殖结局

除了人群流行病研究，在动物实验中，也发现了一些类似的结果。与对照组小鼠相比，经PAHs处理的小鼠受孕率下降约40%，受孕后胚芽细胞数下降20%[22]。将孕鼠暴露于25、75、100 mg/m^{3}的BaP中，在怀孕15~17 d时通过窦静脉穿刺采集血样，发现孕

鼠血浆孕酮、雌激素、催乳素的浓度逐渐降低，胎儿存活率也以剂量依赖的方式下降[23]。对暴露于BaP的小鼠卵巢转录组基因进行检测，发现与卵泡增殖、卵母细胞死亡及卵巢肿瘤发生相关的基因表达上调，同时BaP激活原始卵泡，在体内外形成卵泡闭锁，诱导线粒体活性氧（Reactive oxygen species，ROS）和卵膜脂质过氧化水平增加，导致成年小鼠卵膜流动性和受精能力损伤[16]。

PAHs暴露也会影响幼鼠的正常发育。PAHs染毒的孕鼠胚胎发育异常，33%的胚胎发生尾部畸形[24]。也发现孕鼠经PAHs染毒后，幼鼠免疫功能下降[25]或发生恶性程度极高的淋巴瘤[26]。BaP会抑制幼年SD大鼠海马区的中枢神经递质γ-氨基丁酸释放和传导，影响幼鼠的学习记忆能力[27]。

以上研究表明，BaP不仅会影响雌鼠的生殖健康，如降低生育能力、增加卵巢肿瘤的发生风险，也会对幼鼠产生不良发育结局，如生长受限、免疫功能下降、发育畸形、恶性淋巴瘤的发生风险增加。

1.3 PAHs削弱滋养层细胞的功能

滋养层细胞是胎儿侧的胎盘细胞，具有运输营养物质、免疫反应、内分泌调节的功能。与子宫内膜相比，滋养层细胞具有较高的细胞增殖率、较低的解毒和免疫反应能力、生理不成熟等特征[28-29]，因此其对环境毒物更为敏感。滋养层细胞的适度侵袭、迁移对胚胎着床、胎盘形成及其生长发育十分重要，增殖、侵袭、迁移功能异常都会导致妊娠相关疾病（表1），因此研究环境毒物对滋养层细胞功能的影响，对于理解并预防妊娠相关疾病具有重要的意义。

1.3.1 抑制滋养层细胞的侵袭和迁移功能 BaP可以通过多种途径抑制滋养层细胞的侵袭迁移，导致先兆子痫、流产、宫内生长受限等。BaP处理滋养层细胞HTR-8/SVneo后，其侵袭和迁移功能减弱，在机制上，BaP可诱导基质金属蛋白酶（MMP）-9和E-钙粘着蛋白（E-cadherin）的蛋白水平上调，激活MAPK信号途径，从而抑制了滋养层细胞的侵袭和迁移功能。直接将滋养层细胞HTR-8/SVneo暴露于0.25~1.0 μmol/L的BPDE中，发现细胞凋亡没有明显变化，然而细胞的侵袭和迁移功能却受到明显抑制，进一步研究发现，BPDE通过抑制FAK/SRC/PI3K/AKT途径下调MMP-2和内皮细胞性一氧化氮合酶（eNOS），进而抑制了滋养层细胞的迁移和侵袭能力[30]。

1.3.2 抑制滋养层细胞的增殖能力 滋养层细胞的增殖被抑制会导致流产、胎儿宫内生长受限等。有研究表明，人绒毛膜癌细胞BeWo暴露在BaP环境中，会使表皮生长因子受体受损，有丝分裂被抑制，细胞的增殖能力减弱[31]。在吸烟女性胎盘中可以检测到BaP-DNA加合物，通过比较吸烟和不吸烟女性的滋养层细胞，发现吸烟女性滋养层细胞中的细胞周期调节因子降低，导致细胞增殖障碍；将滋养层细胞暴露于尼古丁中，也发现尼古丁可以抑制滋养层细胞的增殖[32]。将绒毛膜癌细胞JEG-3暴露于BaP中，表皮生长因子受体和*c-myc* mRNA有所降低，导致调控细胞周期G1和G2期的D1、CDK4和CDK1蛋白表达被明显抑制，进而抑制了滋养层细胞的增殖[33]。BaP还可以通过激活MAPK8/9和PRKAA1/2信号通路降低ID2蛋白的水平，从而抑制滋养层细胞的增殖[34]。研究表明，BaP处理HTR8-SVneo细胞，诱导促生长因子IGF-1表达降低并发生碱基对突变，进而影响细胞功能，导致胎儿宫内生长受限[35]。

1.3.3 促进滋养层细胞的凋亡、死亡 研究表明，采用0.1~50 μmoL/L的BaP处理HTR8-SVneo细胞，细胞存活率明显下降，并发生不同程度的凋亡[36]。滋养层细胞Swan 71暴露于BPDE后，线粒体融合基因（Mfn1，Mfn2和OPA1）的蛋白表达水平降低，分裂基因（Fis1和Drp1）的蛋白表达水平增加，导致线粒体的分裂/融合紊乱，进而碎片化，释放Cyt c，激活Caspase-3，增加促凋亡蛋白（P53和Bak1）并抑制抗凋亡蛋白（Bcl-2）的表达，诱导细胞凋亡[37]。BaP还可以诱导HTR-8/SVneo细胞死亡[38]。

表1 PAHs对滋养层各种细胞系多种功能的影响及可能的不良结局

细胞系	影响的细胞功能	可能产生的疾病	参考文献
BeWo	抑制细胞增殖	流产、宫内生长受限	31
HTR-8/SVneo	抑制细胞侵袭、迁移	宫内生长受限、先兆子痫	32
HTR-8/SVneo	诱导细胞死亡	妊娠高血压	35
HTR-8/SVneo	促进细胞凋亡	先兆子痫、葡萄胎	36
HTR-8/SVneo	抑制细胞侵袭、迁移	宫内生长受限、先兆子痫	22
HTR-8/SVneo	诱导基因突变	宫内生长受限	35
Swan 71	促进细胞凋亡	先兆子痫、葡萄胎	34

2 PAHs暴露致生殖毒性潜在的分子机制

目前，PAHs对女性生殖毒性的分子机制研究尚不多。有研究表明产前暴露于污染空气、持久性有机污染物会引起早期胚胎表观遗传学的改变[39]。由于滋养层细胞独特的生理功能，下文总结表观遗传学对滋养层细胞的影响进而导致不良妊娠结局的分子机制，

提示PAHs通过改变表观遗传因素致生殖毒性的潜在机制。

2.1 DNA甲基化对滋养层细胞功能的影响

DNA甲基化是指在DNA甲基化转移酶的催化下，在DNA的特定碱基上进行甲基化修饰，参与表观遗传学调控作用，例如，可改变染色质结构、DNA构象、DNA稳定性以及DNA与蛋白之间的相互作用[40]。DNA甲基化的主要形式有5-甲基胞嘧啶（5mC）和少量N6-甲基腺嘌呤（6mA）及7-甲基鸟嘌呤（7mG）。DNA甲基化一般会导致相应的基因沉默，去甲基化则会使基因活化。大多数甲基化都发生在CpG岛上，例如，一些特定的CpG岛在任何发育阶段都没有发生甲基化，但在癌组织中某些抑癌基因的CpG岛则发生超甲基化。

研究发现，在滋养层细胞中*CLDN4*和*FUT4*基因发生高甲基化，抑制其蛋白的表达，进而抑制MMP-2或MMP-9的表达和活性，削弱了滋养层细胞的侵袭和迁移功能[41]。在HTR-8/SVneo细胞中，编码E-cadherin的*CDH1*基因启动子区发生超甲基化，使E-cadherin表达降低，有助于滋养层细胞的侵袭和迁移；相反，在绒毛膜癌细胞系JEG-3细胞中，*CDH1*基因启动子区甲基化程度很低，E-cadherin表达增多，降低细胞的侵袭和迁移功能[42]。母系印记基因*MEST*在HTR-8/Svneo细胞中正常表达，用siRNA敲低*MEST*基因后，滋养层细胞的侵袭和迁移能力降低；在JEG-3细胞中，*MEST*亚型2启动子区发生高甲基化，抑制*MEST*的表达，削弱了滋养层细胞的侵袭和迁移功能，导致自发流产[43]。

6mA在哺乳动物中的丰度较低，对其研究进展较少。有研究表明，在果蝇胚胎时期，6mA去甲基化酶（DMAD）介导的6mA修饰促进早期生殖细胞的分化，提示DMAD-6mA体系在调控高等真核生物的发育中具有特定的作用[44]。在斑马鱼和猪的早期胚胎中得到与果蝇相似的结果，早期胚胎6mA的修饰含量较高，最高可达到5hmC在胚胎中的水平，并随着胚胎的发育逐渐降低[45]，提示这些物种的早期胚胎阶段存在6mA的主动去甲基化过程，推动早期胚胎发育。

2.2 miRNA对滋养层细胞功能的影响

miRNA长度约20~25个核苷酸，具有高度保守性、时序性和组织特异性。miRNA可沉默特定基因，进而参与器官形成、胚胎发育以及癌症的发生。目前只有一小部分miRNA的生物学功能得到阐明，研究表明，miRNA的异常表达与女性生殖障碍也密切相关。

有研究对42个子痫前期组织和42个正常妊娠胚胎组织中的miR-4421进行检测，发现miR-4421在子痫前期组织中高表达，其可阻滞滋养层细胞周期并抑制细胞增殖[46]。也有研究发现在先兆子痫胎盘中miR-518b的表达增多，并通过Rap1b-Ras-MAPK途径促进滋养层细胞过度增殖，引发先兆子痫[47]。miR-15b通过靶向结合*AGO2*基因的3′-UTR区而抑制AGO2蛋白的表达，进而抑制HTR-8/SVneo细胞的侵袭和内皮细胞的形成，导致先兆子痫胎盘[48]。其他研究发现，miR-371a-5p和miR-518a-3p在恶性妊娠肿瘤组织的滋养层细胞中过表达，促进绒毛膜癌细胞的增殖、迁移和侵袭功能[49]。滋养层细胞Swan 71暴露于BPDE后，miR-194-3p的表达上调，抑制PI3K/AKT/CDC42/PAK1信号通路，进而抑制Swan 71细胞丝状伪足的形成和细胞侵袭、迁移功能；siRNA敲低miR-194-3p后，可上调此信号通路，促进伪足的形成和细胞侵袭、迁移功能[50]。

2.3 lncRNA对滋养层细胞功能的影响

长链非编码RNA（long non-coding RNA，lncRNA），长度大于200个核苷酸，具有时空表达特异性。lncRNA可通过与DNA、RNA、蛋白之间的相互作用调控转录、翻译及蛋白的活性。已有研究表明，lncRNA的异常表达与癌症的发生和发展密不可分[51]；同时发现一些lncRNA也会直接影响滋养层细胞的功能。

先兆子痫患者组织中lncRNA-H19水平高于健康者组织，上调的lncRNA-H19可降低滋养层细胞活力，促进滋养层细胞的侵袭和自噬[52]。在先兆子痫患者的胚胎组织中lncRNA-MVIH水平下调，抑制滋养层细胞侵袭、迁移，又通过负调节Jun-B蛋白（AP-1的转录因子）而抑制滋养层细胞的生长和血管生成[53]。通过研究了lncRNA-H19与胎儿生长受限的关系，发现敲低孕早期EVT细胞中的lncRNA-H19后，滋养层细胞的侵袭和迁移能力减弱，提示H19/TGFb信号通路的失调可能是导致胎儿生长受限的一种潜在机制[54]。

3 小结与展望

PAHs是持久性有机污染物，不易降解，会对生物和人造成多种健康威胁。越来越多的流行病学和动物实验表明，PAHs对女性生殖健康有重要的毒性作用。女性生殖健康包括女性身体健康、生殖健康和子代发育健康，因此研究PAHs对女性生殖健康的影响，对保护女性健康和人类繁衍都有重要意义。PAHs通过对滋

养层细胞侵袭、迁移、增殖、凋亡等功能的影响，造成宫内生长受限、先兆子痫、绒毛膜癌等不良结局。目前对PAHs影响滋养层细胞功能和影响女性生殖健康机制的研究尚处于初级阶段，还需要在流行病学、环境毒理学、妇产科和基础医学多学科的携手合作下，进行深入研究，为女性生殖障碍、不良妊娠的预防和临床治疗提供依据。

目前，在细胞层面上研究BPDE对滋养层细胞功能的影响以及相应的分子机制，可以解释一些重要的毒理学问题。然而，每个细胞都是独一无二的，以细胞群体为对象的研究往往忽略了细胞之间的异质性和差异性，因此需要在单细胞层次上进一步研究环境毒物对女性生殖健康的影响。Gawad[55]在综述中介绍了单细胞基因组测序技术的发展，为单细胞的时空动态研究提供了技术基础。另外，单分子超分辨技术可以研究单个蛋白或DNA在细胞中的时空动态过程，可采用该技术揭示生命最早期单个生物大分子参与的毒理学标志性过程。表观遗传因素可以明显影响滋养层细胞的功能，因此需要进一步研究各种非编码RNA在BPDE导致滋养层细胞功能障碍中的作用和分子机制。最后，期望可以发现新的生物标志物，用于检测疾病，发现靶标通路中蛋白的促进剂或者拮抗剂，精确恢复细胞某一功能，最终预防女性生殖疾病，保障女性生殖健康。

参考文献

[1] JI L, BRKIĆ J, LIU M, et al. Placental trophoblast cell differentiation: physiological regulation and pathological relevance to preeclampsia [J]. Mol Aspects Med, 2013, 34 (5): 981-1023.

[2] LALA P K, NANDI P. Mechanisms of trophoblast migration, endometrial angiogenesis in preeclampsia: the role of decorin [J]. Cell Adh Migr, 2016, 10 (1-2): 111-125.

[3] KADYROV M, SCHMITZ C, BLACK S, et al. Pre-eclampsia and maternal anaemia display reduced apoptosis and opposite invasive phenotypes of extravillous trophoblast [J]. Placenta, 2003, 24 (5): 540-548.

[4] BALL E, BULMER J N, AYIS S, et al. Late sporadic miscarriage is associated with abnormalities in spiral artery transformation and trophoblast invasion [J]. J Pathol, 2006, 208 (4): 535-542.

[5] ANDRIJONO A, HEFFEN W L. Study of apoptosis induction of hydatidiform mole trophoblastic cell by the administration of retinoic acid [J]. Indones J Obstet Gynecol, 2008, 32 (2): 99-104.

[6] LASH G E, OTUN H A, INNES B A, et al. Regulation of extravillous trophoblast invasion by uterine natural killer cells is dependent on gestational age [J]. Hum Reprod, 2010, 25 (5): 1137-1145.

[7] WORMLEY D D, RAMESH A, HOOD D B. Environmental contaminant–mixture effects on CNS development, plasticity, and behavior [J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2004, 197 (1): 49-65.

[8] LEE B M, SHIM G A. Dietary exposure estimation of benzo [a] pyrene and cancer risk assessment [J]. J Toxicol Environ Health A, 2007, 70 (15-16): 1391-1394.

[9] SLAGA T J, BRACKEN W J, GLEASON G, et al. Marked differences in the skin tumor-initiating activities of the optical enantiomers of the diastereomeric benzo (a) pyrene 7, 8-diol-9, 10-epoxides [J]. Cancer Res, 1979, 39 (1): 67-71.

[10] LING H, SAYER J M, PLOSKY B S, et al. Crystal structure of a benzo [a] pyrene diol epoxide adduct in a ternary complex with a DNA polymerase [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2004, 101 (8): 2265-2269.

[11] CHEPELEV N L, MOFFAT I D, BOWERS W J, et al. Neurotoxicity may be an overlooked consequence of benzo [a] pyrene exposure that is relevant to human health risk assessment [J]. Mutat Res Rev Mutat Res, 2015, 764: 64-89.

[12] RAMESH A, INYANG F, HOOD D B, et al. Metabolism, bioavailability, and toxicokinetics of Benzo (α) pyrene in F-344 rats following oral administration [J]. Exp Toxicol Pathol, 2001, 53 (4): 275-290.

[13] KELMAN B J, SPRINGER D L. Movements of benzo [a] pyrene across the hemochorial placenta of the guinea pig [J]. Proc Soc Exp Biol Med, 1982, 169 (1): 58-62.

[14] RICE J M, WARD J M. Age dependence of susceptibility to carcinogenesis in the nervous system [J]. Ann N Y Acad Sci, 1982, 381 (1): 274-289.

[15] ZENZES M T. Smoking and reproduction: gene damage to human gametes and embryos [J]. Hum Reprod Update, 2000, 6 (2): 122-131.

[16] SOBINOFF A P, PYE V, NIXON B, et al. Jumping the gun: smoking constituent BaP causes premature primordial follicle activation and impairs oocyte fusibility through oxidative

stress [J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2012, 260（1）: 70-80.

[17] WU J, HOU H, RITZ B, et al. Exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons and missed abortion in early pregnancy in a Chinese population [J]. Sci Total Environ, 2010, 408（11）: 2312-2318.

[18] SANYAL M K, MERCAN D, BELANGER K, et al. DNA adducts in human placenta exposed to ambient environment and passive cigarette smoke during pregnancy [J]. Birth Defects Res A Clin Mol Teratol, 2007, 79（4）: 289-294.

[19] VASSILEV Z P, ROBSON M G, KLOTZ J B. Associations of polycyclic organic matter in outdoor air with decreased birth weight: a pilot cross-sectional analysis [J]. J Toxicol Environ Health A, 2001, 64（8）: 595-605.

[20] DUARTE-SALLES T, MENDEZ M A, MELTZER H M, et al. Dietary benzo（a）pyrene intake during pregnancy and birth weight: associations modified by vitamin C intakes in the Norwegian Mother and Child Cohort Study（MoBa）[J]. Environ Int, 2013, 60: 217-223.

[21] WILHELM M, GHOSH J K, SU J, et al. Traffic-related air toxics and preterm birth: a population-based case-control study in Los Angeles County, California [J]. Environ Health, 2011, 10: 89.

[22] DETMAR J, RABAGLINO T, TANIUCHI Y, et al. Embryonic loss due to exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons is mediated by Bax [J]. Apoptosis, 2006, 11（8）: 1413-1425.

[23] ARCHIBONG AE, INYANG F, RAMESH A, et al. Alteration of pregnancy related hormones and fetal survival in F-344 rats exposed by inhalation to benzo（a）pyrene [J]. Reprod Toxicol, 2002, 16（6）: 801-808.

[24] KHLOOD E B, MIYOSHI H, IWATA H, et al. Effects of concurrent exposure to 3-methylcholanthrene and vitamin A on fetal development in rats [J]. Jpn J Vet Res, 1999, 47（1-2）: 13-23.

[25] RODRIGUEZ J W, KOHAN M J, KING L C, et al. Detection of DNA adducts in developing CD4+CD8+ thymocytes and splenocytes following *in utero* exposure to benzo [a] pyrene [J]. Immunopharmacol Immunotoxicol, 2002, 24（3）: 365-381.

[26] YU Z, LOEHR C V, FISCHER K A, et al. *In utero* exposure of mice to dibenzo [a, l] pyrene produces lymphoma in the offspring: role of the aryl hydrocarbon receptor [J]. Cancer Res, 2006, 66（2）: 755-762.

[27] 段利. 苯并[a]芘诱导新生幼鼠Glu和GABA神经递质释放及传导障碍的机制研究 [D]. 重庆: 重庆医科大学, 2014.

[28] BARR D B, BISHOP A, NEEDHAM L L. Concentrations of xenobiotic chemicals in the maternal-fetal unit [J]. Reprod Toxicol, 2007, 23（3）: 260-266.

[29] MAKRI A, GOVEIA M, BALBUS J, et al. Children's susceptibility to chemicals: a review by developmental stage [J]. J Toxicol Environ Health B Crit Rev, 2004, 7（6）: 417-435.

[30] WANG R, WANG W, AO L, et al. Benzo [a] pyrene-7, 8-diol-9, 10-epoxide suppresses the migration and invasion of human extravillous trophoblast HTR-8/SVneo cells by down-regulating MMP2 through inhibition of FAK/SRC/PI3K/AKT pathway [J]. Toxicology, 2017, 386: 72-83.

[31] ZHANG L, CONNOR E E, CHEGINI N, et al. Modulation by benzo [a] pyrene of epidermal growth factor receptors, cell proliferation, and secretion of human chorionic gonadotropin in human placental cell lines [J]. Biochem Pharmacol, 1995, 50（8）: 1171-1180.

[32] GENBACEV O, MCMASTER M T, LAZIC J, et al. Concordant *in situ* and *in vitro* data show that maternal cigarette smoking negatively regulates placental cytotrophoblast passage through the cell cycle [J]. Reprod Toxicol, 2000, 14（6）: 495-506.

[33] DRUKTEINIS J S, MEDRANO T, ABLORDEPPEY E A, et al. Benzo[a]pyrene, but not 2, 3, 7, 8-TCDD, induces G2/M cell cycle arrest, p21CIP1 and p53 phosphorylation in human choriocarcinoma JEG-3 cells: a distinct signaling pathway [J]. Placenta, 2005, 26（S1）: S87-S95.

[34] XIE Y, ABDALLAH M E, AWONUGA A O, et al. Benzo（a）pyrene causes PRKAA1/2-dependent ID2 loss in trophoblast stem cells [J]. Mol Reprod Dev, 2010, 77（6）: 533-539.

[35] FADIEL A, EPPERSON B, SHAW M I, et al. Bioinformatic analysis of benzo-α-pyrene-induced damage to the human placental insulin-like growth factor-1 gene [J]. Reprod Sci, 2013, 20（8）: 917-928.

[36] 连立芬. 山奈酚抑制BaP致HTR8-SVneo细胞氧化损伤的研究 [D]. 石家庄: 河北医科大学, 2014.

[37] WANG W, WANG R, ZHANG Q, et al. Benzo（a）pyren-7, 8-dihydrodiol-9, 10-epoxide induces human trophoblast Swan 71 cell dysfunctions due to cell apoptosis through disorder of mitochondrial fission/fusion [J]. Environ Pollut, 2018, 233: 820-832.

[38] DONG Q，HOU H，WU J，et al. The Nrf2-ARE pathway is associated with Schisandrin b attenuating benzo（a）pyrene-Induced HTR cells damages *in vitro* [J]. Environ Toxicol，2016，31（11）：1439-1449.

[39] PERERA F，HERBSTMAN J. Prenatal environmental exposures，epigenetics，and disease [J]. Reprod Toxicol，2011，31（3）：363-373.

[40] RAZIN A，RIGGS AD. DNA methylation and gene function [J]. Science，1980，210（4470）：604-610.

[41] HU Y，BLAIR J D，YUEN RKC，et al. Genome-wide DNA methylation identifies trophoblast invasion-related genes：claudin-4 and Fucosyltransferase IV control mobility via altering matrix metalloproteinase activity [J]. Mol Hum Reprod，2015，21（5）：452-465.

[42] LAN X，FU L J，HU Z Y，et al. Methylated oligonucleotide（MON）-induced promoter hypermethylation is associated with repression of CDH1 expression and contributes to the migration and invasion of human trophoblast cell lines [J]. Reprod Fertil Dev，2017，29（8）：1509-1520.

[43] PENG W，CHEN Y，LUO X，et al. DNA methylation-associated repression of MEST/PEG1 expression contributes to the invasion of extravillous trophoblast cells [J]. Placenta，2016，46：92-101.

[44] ZHANG G，HUANG H，LIU D，et al. N6-methyladenine DNA modification in Drosophila [J]. Cell，2015，161（4）：893-906.

[45] LIU J，ZHU Y，LUO G Z，et al. Abundant DNA 6mA methylation during early embryogenesis of zebrafish and pig [J]. Nat Commun，2016，7：13052.

[46] GAO X，LI H，WEI J X. MiR-4421 regulates the progression of preeclampsia by regulating CYP11B2 [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci，2018，22（6）：1533-1540.

[47] LIU M，WANG Y，LU H，et al. miR-518b enhances human Trophoblast cell Proliferation Through Targeting Rap1b and activating Ras-MaPK signal [J]. Front Endocrinol，2018，9：100.

[48] YANG M，CHEN Y，CHEN L，et al. miR-15b-AGO2 play a critical role in HTR8/SVneo invasion and in a model of angiogenesis defects related to inflammation [J]. Placenta，2016，41：62-73.

[49] ZHAO J R，CHENG W W，WANG Y X，et al. Identification of microRNA signature in the progression of gestational trophoblastic disease [J]. Cell Death Dis，2018，9（2）：94.

[50] TIAN Z，WANG R，ZHANG X，et al. Benzo [a] pyrene-7，8-diol-9，10-epoxide suppresses the migration and invasion of human extravillous trophoblast Swan 71 cells due to the inhibited filopodia formation and down-regulated PI3K/AKT/CDC42/PAK1 pathway mediated by the increased miR-194-3p [J]. Toxicol Sci，2018，166（1）：25-38.

[51] YANG G，LU X，YUAN L. LncRNA：a link between RNA and cancer [J]. Biochim Biophys Acta，2014，1839（11）：1097-1109.

[52] XU J，XIA Y，ZHANG H，et al. Overexpression of long non-coding RNA H19 promotes invasion and autophagy via the PI3K/AKT/mTOR pathways in trophoblast cells [J]. Biomed Pharmacother，2018，101：691-697.

[53] ZOU Y，LI Q，XU Y，et al. Promotion of trophoblast invasion by lncRNA MVIH through inducing Jun-B [J]. J Cell Mol Med，2018，22（2）：1214-1223.

[54] ZUCKERWISE L C，LU L，MEN Y，et al. 161：H19 lncRNA alters trophoblast cell migration and invasion through TGF-β signaling in placentas with fetal growth restriction [J]. Am J Obstet Gynecol，2016，214（1）：S103-S104.

[55] GAWAD C，KOH W，QUAKE S R. Single-cell genome sequencing：current state of the science [J]. Nat Rev Genet，2016，17（3）：175-188.

（英文编辑：汪源；编辑：汪源；校对：丁瑾瑜）