

基于 HIF-1 α /VEGF 轴探讨孕前 PM_{2.5} 暴露对小鼠母胎界面血管重构的影响

张英英, 张文平, 白文琳, 李奔, 刘楠楠, 张志红

山西医科大学公共卫生学院, 山西 太原 030001



DOI 10.11835/JEOM21309

摘要:

[背景] 大气细颗粒物(PM_{2.5})可引起胚胎早期发育异常,导致胚胎停育、自然流产等不良妊娠结局。低氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)/血管内皮生长因子(VEGF)轴调控的母胎界面血管重构是胚胎早期发育的关键环节。

[目的] 观察孕前 PM_{2.5} 暴露对小鼠受孕前子宫状态和受孕后母胎界面血管重构的影响,并探讨 HIF-1 α /VEGF 轴在其中的调控作用。

[方法] 选取 8 周龄性成熟 C57BL/6J 小鼠雌性 40 只,雄性若干(交配使用,不做任何处理),适应性饲养 1 周。将雌鼠分为 PM_{2.5} 暴露组和对照组,每组 20 只。PM_{2.5} 暴露组小鼠给予鼻腔滴注 3 mg·kg⁻¹ 的 PM_{2.5} 悬液,隔天 1 次,持续 4 周;对照组给予同等剂量经空白采样膜处理的悬液。染毒期间每周记录雌鼠体重。染毒结束后每组各取 6 只雌鼠断头处死,取子宫称重并计算其脏器系数,利用 HE 染色观察子宫组织病理学形态,同时检测 HIF-1 α 、VEGF 及其受体 Flt-1 和 Flk-1 的 mRNA 表达。将各组剩余 14 只雌鼠按照雌雄 2:1 笼养过夜,统计受孕比例。妊娠第 10 天(GD10)断头处死,解剖子宫,利用 HE 染色观察胚胎和胎盘组织病理学形态,同时检测母胎界面血管生成分子标志物 HIF-1 α 、VEGF 及其受体 Flt-1 和 Flk-1 的 mRNA 表达。

[结果] 与对照组相比,孕前 PM_{2.5} 暴露对雌鼠体重增长无明显影响,但可引起子宫脏器系数降低,同时伴有子宫内膜变薄等病理学损伤,以及 HIF-1 α 、VEGF 及其受体 Flt-1 和 Flk-1 的 mRNA 表达下降(均 $P < 0.05$)。孕前 PM_{2.5} 的暴露进一步引起雌鼠出现受孕比例降低(对照组: 9/14; 暴露组: 5/14),胚胎排列不齐,发育异常,胎盘变小,螺旋动脉血管管壁变薄(对照组: 1.00 $\pm$ 0.06; 暴露组: 0.86 $\pm$ 0.08; $P = 0.01$)等病理学变化,HIF-1 α 、VEGF 及其受体 Flk-1 的 mRNA 表达明显下降(均 $P < 0.05$)。

[结论] 孕前 PM_{2.5} 暴露可引起雌鼠子宫病理学损伤和血管生成异常,进一步影响受孕后母胎界面的血管重构,HIF-1 α /VEGF 轴可能发挥调控作用。

关键词: 孕前; 细颗粒物; 血管形成; 低氧诱导因子-1 α ; 血管内皮生长因子

Effects of pre-pregnancy PM_{2.5} exposure on vascular remodeling in mother-fetal interface of mice via HIF-1 α /VEGF axis ZHANG Yingying, ZHANG Wenping, BAI Wenlin, LI Ben, LIU Nannan, ZHANG Zhihong (School of Public Health, Shanxi Medical University, Taiyuan, Shanxi 030001, China)

Abstract:

[Background] Atmospheric fine particulate matter (PM_{2.5}) can induce abnormal early embryo development, resulting in adverse pregnancy outcomes such as embryo damage and spontaneous abortion. The vascular remodeling of maternal-fetal interface regulated by hypoxia inducible factor-1 α (HIF-1 α)/vascular endothelial growth factor (VEGF) axis is a key link in early embryo development.

[Objective] To investigate the effects of pre-pregnancy PM_{2.5} exposure on the uterine state of mice before conception and the vascular remodeling of maternal-fetal interface after conception, and to further explore the regulatory role of the HIF-1 α /VEGF axis.

[Methods] Forty eight-week-old C57BL/6J sexually mature female mice and several males (for mating, without any treatment) were adaptive fed for 1 week. The female mice were divided into a PM_{2.5} exposure group and a control group, 20 mice per group. The PM_{2.5} exposure group

基金项目

国家自然科学基金青年项目(82103938); 国家自然科学基金面上项目(81872589); 山西省高等学校科技创新项目(2020L0176); 山西医科大学校级博士启动基金项目(XD1916); 山西省基础研究计划青年项目(20210302124038)

作者简介

张英英(1989—),女,博士,讲师;
E-mail: zhangyingying@sxmu.edu.cn

通信作者

张志红, E-mail: zzh1973@sxmu.edu.cn

伦理审批

已获取

利益冲突

无申报

收稿日期

2021-07-11

录用日期

2021-12-15

文章编号

2095-9982(2022)02-0141-06

中图分类号

R114

文献标志码

A

► 引用

张英英, 张文平, 白文琳, 等. 基于 HIF-1 α /VEGF 轴探讨孕前 PM_{2.5} 暴露对小鼠母胎界面血管

重构的影响[J]. 环境与职业医学, 2022,

39(2): 141-146.

► 本文链接

www.jeom.org/article/cn/10.11835/JEOM21309

Funding

This study was funded.

Correspondence to

ZHANG Zhihong, E-mail: zzh1973@sxmu.edu.cn

Ethics approval

Obtained

Competing interests

None declared

Received

2021-07-11

Accepted

2021-12-15

► To cite

ZHANG Yingying, ZHANG Wenping, BAI Wenlin, et al. Effects of pre-pregnancy PM_{2.5} expos-

ure on vascular remodeling in mother-fetal in-

terface of mice via HIF-1 α /VEGF axis[J]. Journ-

al of Environmental and Occupational Medi-

cine, 2022, 39(2): 141-146.

► Link to this article

www.jeom.org/article/en/10.11835/JEOM21309

was given $3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ PM}_{2.5}$ suspension by nasal instillation, once every other day for four weeks; the control group were treated with the same dose of blank sampling membrane suspension. Body weight of the mice was recorded every week during the experimental period. At the end of the exposure, six mice from each group were sacrificed. Then the uterus was weighted and its organ coefficients were calculated, a histopathological morphology evaluation was conducted by HE staining, and the mRNA expressions of HIF-1 α , VEGF and its receptors Flt-1 and Flk-1 in the uterus samples were further examined. The remaining 14 female mice in each group were caged with male mice overnight with a sex ratio of 2:1, then we calculated the pregnancy rate. On gestation day 10 (GD10), the female mice were decapitated and the uterus was dissected, the histopathological morphology of embryo and placenta were observed by HE staining, and the mRNA expressions of HIF-1 α , VEGF and its receptors Flt-1 and Flk-1 were detected as well in the uterus samples.

[Results] Compared with the control group, the pre-pregnancy $\text{PM}_{2.5}$ exposure had no significant effect on body weight gain of the female mice, but decreased uterine organ coefficient, accompanied by pathological damage such as endometrium thinning as well as decreased mRNA expressions of HIF-1 α , VEGF and its receptors Flt-1 and Flk-1 (all $P_s < 0.05$). After mating, the pre-pregnancy $\text{PM}_{2.5}$ exposure induced a decrease of the pregnancy rate (control group: 9/14; exposure group: 5/14) and abnormal embryo arrangement, small placenta, narrowing of spiral arteries (control group: 1.00 ± 0.06 ; exposure group: 0.86 ± 0.08 ; $P = 0.01$), as well as significant decreases in HIF-1 α , VEGF and its receptor Flk-1 mRNA expressions. (all $P_s < 0.05$).

[Conclusion] Pre-pregnancy $\text{PM}_{2.5}$ exposure has adverse effects on the pathological structure and angiogenesis in female mice uterus, leading to abnormal vascular network remodeling at the mother-fetal interface after conception, and the HIF-1 α /VEGF axis may play a regulatory role.

Keywords: pre-pregnancy; fine particulate matter; angiogenesis; hypoxia inducible factor-1 α ; vascular endothelial growth factor

2021 年世界卫生组织最新发布的《全球空气质量指南》指出,空气污染仍然是人类健康面临的重大威胁之一,低于已知标准的暴露浓度甚至也会导致健康损害^[1]。细颗粒物(fine particulate matter with median aerodynamic diameter $\leq 2.5 \mu\text{m}$, $\text{PM}_{2.5}$)是空气污染物的主要成分,不仅含有大量有机物,而且可富集多种重金属,可对人体呼吸系统、心血管系统以及神经系统等产生不良影响^[2-3]。

随着颗粒物跨气血屏障和胎盘屏障学说的形成以及“健康与疾病发育起源”理论的兴起, $\text{PM}_{2.5}$ 的胚胎发育毒性及其分子机制研究成为国内外关注的焦点。众多流行病学调查研究发现,孕期 $\text{PM}_{2.5}$ 暴露是胚胎早期发育异常、胎停育以及稽留流产的危险因素,且随着污染物浓度的升高,各风险直线上升^[4-5]。受孕后 3 个月是胚胎发育分化的关键期,胚胎对有害刺激的抵抗力十分微弱,也称为孕妇敏感期。因此,受孕前的 3 个月是研究有害因素暴露和胚胎发育异常之间因果关系的重要窗口^[6]。然而,目前针对 $\text{PM}_{2.5}$ 暴露与胚胎发育的研究大部分集中于受孕后的暴露^[7-10],对于孕前这一敏感窗口,虽有流行病学调查的证据^[5-6, 11],但相关机制研究比较少见。

正常生理条件下,子宫腔属于低氧环境(O_2 体积分数为 2%)^[12],低氧诱导因子-1 α (hypoxia inducible factor-1 α , HIF-1 α)作为主要的氧平衡调节因子,能够通过 HIF-1 α /血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)轴靶向调节 VEGF 及其受体 1(Flt-1)和受体 2(Flk-1)等的表达,参与子宫内膜周期性脱落

和宫内血管生成稳态,是反映子宫内膜容受程度的重要指标^[13-14];同时,HIF-1 α /VEGF 轴还可调控孕早期螺旋动脉重铸,在母胎界面血管网重构以及胚胎早期发育过程中发挥重要作用^[15-17]。因此,基于 HIF-1 α /VEGF 轴系统跟踪母体受孕前后血管生成的变化,能够为孕前 $\text{PM}_{2.5}$ 暴露引起胚胎发育异常的分子机制研究提供新的方向。本研究采用动物暴露模型,探讨孕前 $\text{PM}_{2.5}$ 暴露对小鼠受孕前子宫状态和受孕后母胎界面血管生成和发育的影响,初步探索 HIF-1 α /VEGF 轴在其中发挥的作用,从而为促进育龄人群生殖健康防护提供实验基础和理论支撑。

1 对象与方法

1.1 实验动物

选取 8 周龄 C57BL/6J 性成熟小鼠雌性 40 只,雄性若干,体重均在 16~18 g 左右,由北京维通利华实验动物技术有限公司提供。将小鼠置于固定温度(24 ± 2) $^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $50\% \pm 5\%$ 以及 12/12 h 光照/黑暗周期的标准条件下饲养,其间可自由饮水和进食。本项实验研究通过山西医科大学动物福利和伦理委员会审查(批准号: 2021GLL077)。

1.2 研究方法

1.2.1 $\text{PM}_{2.5}$ 采样和处理 本实验所用 $\text{PM}_{2.5}$ 采样点为太原市两个主要交通路口,采样器距地面高度为 1.5 m,采样时间为 2015 年 5—7 月,时间段为 9:00—21:00。采样设备为武汉天虹的大流量颗粒物采样器,采样流速为 $1\,000 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$, $\text{PM}_{2.5}$ 样品被采集到滤膜

上。PM_{2.5} 和空白膜的混悬液制备如下：将载有 PM_{2.5} 的滤膜或空白膜裁成 1 cm² 大小，加适量去离子水，超声 20 min，连续 3 次，6 层纱布过滤。将过滤后的液体真空冷冻干燥，保存于 -80℃ 冰箱备用。

1.2.2 动物分组及处理 适应性饲养 1 周后，将饲养的 40 只雌鼠随机分为两组，每组 20 只，分别为对照组和 PM_{2.5} 暴露组。根据课题组前期实验基础^[7, 18]，PM_{2.5} 暴露组小鼠采用 3 mg·kg⁻¹ 的 PM_{2.5} 混悬液进行鼻腔滴注，对照组滴注经空白采样膜处理的悬液，隔天 1 次，持续 4 周。染毒期间所有动物自由饮水进食，每周记录上述 40 只小鼠的体重。

染毒结束，每组各取 6 只小鼠称重，断头处死取出子宫，称重并统计其子宫脏器系数；进一步进行伊红苏木素(hematoxylin and eosin, HE)染色，观察各组子宫组织病理学形态，进行归一化处理判断变化情况。采用荧光定量 PCR(reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR)技术检测子宫组织 HIF-1α、VEGF 及其受体 Flt-1 和 Flk-1 的 mRNA 表达。

将每组剩余的 14 只雌鼠与正常雄鼠按照雌雄 2:1 的比例合笼过夜，经阴栓或阴道分泌物涂片确定妊娠，并记做妊娠第 0 天(GD0)，统计各组受孕比例；GD10 孕鼠进行断头处死，迅速解剖子宫，利用 HE 染色观察胚胎和胎盘组织病理学形态，进行归一化处理判断变化情况，结合 RT-PCR 技术检测子宫蜕膜层组织 HIF-1α、VEGF 及其受体 Flt-1 和 Flk-1 的 mRNA 表达。

1.2.3 HE 染色 对于暴露后小鼠子宫、交配后 GD10 小鼠子宫和胚胎组织的 HE 染色操作如下：断头处死小鼠获取子宫组织和胎盘组织，去除外周脂肪，用 0.9%生理盐水洗净。切取部分组织，0.1 mol·L⁻¹ 的磷酸盐缓冲液漂洗两次，10%的福尔马林中室温浸泡过夜。次日，取出组织用石蜡包埋。随后将组织进行切片，厚度为 5~6 μm，进行 HE 染色。通过光学显微镜(BX53，

日本奥林巴斯)观察子宫内膜厚度、腺体数量，并进一步放大切片部位，对螺旋动脉数量和管壁厚度进行观察和测量。

将每组子宫 HE 图片进行 20 倍放大，随机选择 4 个视野，分别统计各视野中腺体数量；随机选择 4 个视野，分别统计各视野中螺旋动脉的数量；将各组切片进行 150 倍放大，随机选择 5 个视野，分别统计各视野中螺旋动脉管壁厚度的平均值。

1.2.4 RT-PCR 检测 分别选取雌鼠孕前子宫组织(近阴道处)及孕后子宫蜕膜层组织 30 mg，300 μL Trizol 裂解液匀浆，依次加三氯甲烷、异丙醇进行离心提纯，75%酒精纯化，最后用适量不含 RNA 酶的水溶解，采用核酸蛋白定量仪测定 RNA 浓度。然后使用反转录试剂盒(北京赛文创新生物科技有限公司)，将 RNA 反转成 1×cDNA，并稀释 5 倍。以 β-actin 作为内参，利用荧光定量 PCR 仪(CFX96，美国伯乐公司)对 HIF-1α、VEGF 及其受体 Flt-1 和 Flk-1 的 mRNA 表达进行相对定量检测。

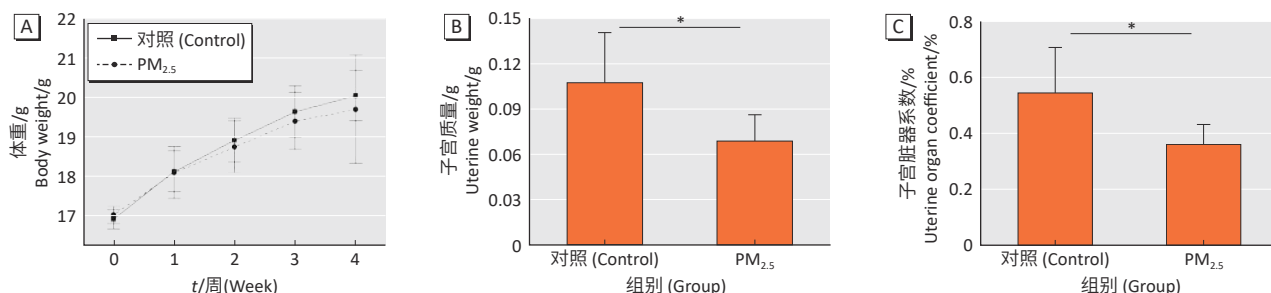
1.3 统计学分析

采用 Origin 8.0 软件对实验数据进行统计分析及绘图处理，所得实验数据以均数±标准差表示。对照组和 PM_{2.5} 暴露组之间数据的比较，定性资料采用卡方检验，定量资料采用 t 检验。检验水准 α=0.05。

2 结果

2.1 孕前雌鼠变化

2.1.1 体重及子宫脏器系数 与对照组相比，随着 PM_{2.5} 暴露时间的延长，PM_{2.5} 暴露组雌鼠体重增长呈现减缓趋势，但差异尚无统计学意义(图 1A)，同时毛发光泽度、饮食饮水情况、活动情况等基础指标并无明显变化。进一步统计发现，PM_{2.5} 暴露组雌鼠子宫质量及脏器系数较对照组明显下降(均 P<0.05)(图 1B、C)。



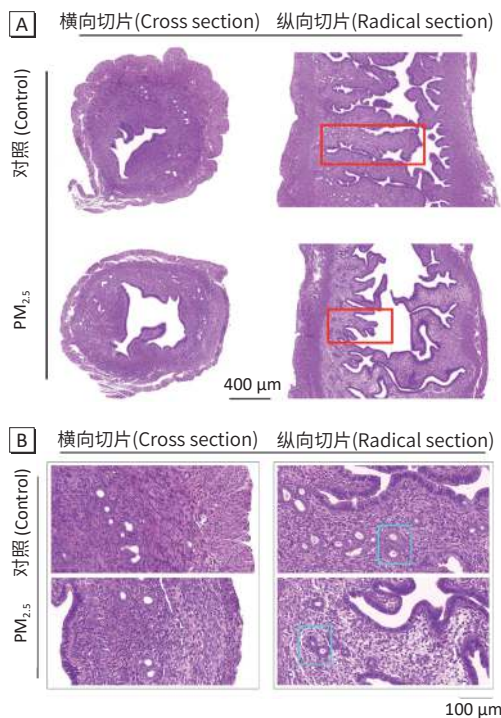
[注] A: n=20; B、C: n=5~6。*: P<0.05。

[Note] A: n=20; B、C: n=5~6。*: P<0.05。

图 1 孕前 PM_{2.5} 暴露对雌鼠体重 (A)、子宫质量 (B) 及子宫脏器系数 (C) 的影响

Figure 1 Effects of pre-pregnancy PM_{2.5} exposure on body weight (A), uterine weight (B), and uterine organ coefficient (C) of female rats

2.1.2 子宫病理学形态 子宫组织 HE 染色结果表明,与对照组相比,孕前 $PM_{2.5}$ 组雌鼠出现子宫内膜变薄、腺体稀疏且短小等现象(图 2A),但两组间腺体数量差异尚无统计学意义(对照组: 1.00 ± 0.27 ; 暴露组: 0.72 ± 0.13 ; $P=0.11$)。为了进一步观察子宫内膜血管状态,对上述切片进行局部放大,发现 $PM_{2.5}$ 暴露组雌鼠子宫内膜层螺旋动脉血管数量较对照组减少(对照组: 1.00 ± 0.07 ; 暴露组: 0.66 ± 0.14 ; $P=0.02$)(图 2B)。



[注] A 中红色方框所示为子宫腺体, B 中蓝色方框所示为子宫螺旋动脉。

[Note] In Figure A, uterine glands are shown in the red boxes; In Figure B, spiral uterine arteries are shown in the blue boxes.

图 2 孕前 $PM_{2.5}$ 暴露对雌鼠子宫病理学形态(A)和内膜血管形态(B)的影响

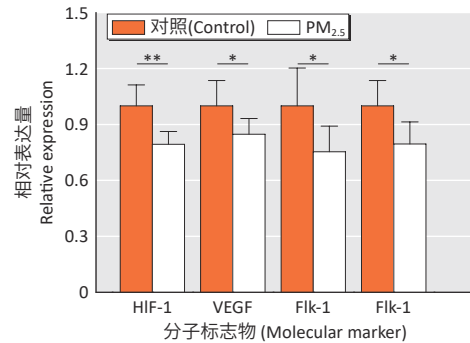
Figure 2 Effects of pre-pregnancy $PM_{2.5}$ exposure on uterus pathological morphology (A) and uterus endometrial vascular morphology (B) of female mice

2.1.3 子宫血管生成分子标志物 与对照组相比, $PM_{2.5}$ 暴露组雌鼠子宫 HIF-1 α 、VEGF 及其受体 Flt-1 和 Flk-1 的 mRNA 表达下降,且差异均具有统计学意义(均 $P < 0.05$),结果如图 3 所示。

2.2 雌鼠怀孕率、孕后胚胎和胎盘组织形态

结果显示,孕前 $PM_{2.5}$ 的暴露进一步引起雌鼠出现受孕比例降低,对照组雌鼠怀孕比例为 9/14, $PM_{2.5}$ 暴露组为 5/14。GD10 解剖后发现,孕前 $PM_{2.5}$ 暴露能够引起胚胎排列不齐(图 4A1 和 B1)、发育异常(图 4A2 和 B2)、胎盘变小(图 4A3 和 B3)、螺旋动脉血管管腔狭窄,管壁变薄(对照组: 1.00 ± 0.06 ; 暴露

组: 0.86 ± 0.08 ; $P=0.01$)(图 4A4 和 B4)等病理学变化。但两组胚胎数量差异尚无统计学意义(对照组: 10.22 ± 1.79 ; 暴露组: 8.00 ± 2.00 ; $P=0.054$)。

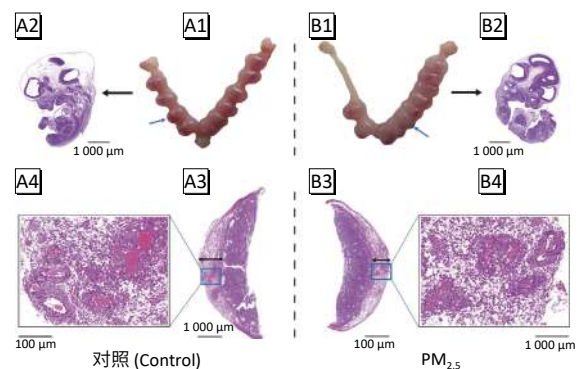


[注] *: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$ 。

[Note] *: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$ 。

图 3 孕前 $PM_{2.5}$ 暴露对雌鼠子宫血管生成分子标志物的影响 ($n=5 \sim 6$)

Figure 3 Effects of pre-pregnancy $PM_{2.5}$ exposure on molecular markers of uterine angiogenesis in female mice ($n=5 \sim 6$)



[注] A1、B1 所示为胚胎形态,蓝色箭头所示为解剖位置;A2、B2 为解剖后胚胎的病理学形态;A3、B3 所示为胎盘病理学形态,黑色双箭头所示为蜕膜层;A4、B4 所示为蜕膜层螺旋动脉血管病理学形态。

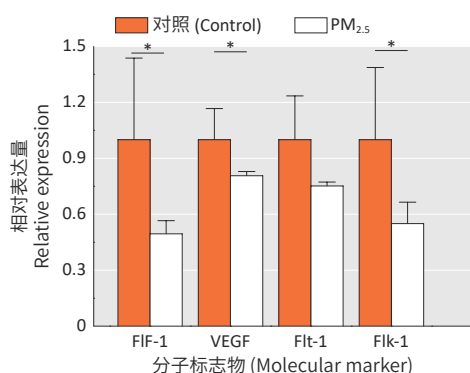
[Note] Figure A1 and B1 show embryonic morphology, and blue arrow shows anatomical position; A2 and B2 are the pathological morphology of an embryo sample after dissection; A3 and B3 show the pathological appearance of placenta, and the decidua layer is indicated by black double-headed arrows; A4 and B4 show the pathological morphology of spiral arteries in decidua layer.

图 4 孕前 $PM_{2.5}$ 暴露对胚胎形态,胚胎、胎盘和蜕膜层病理学形态的影响

Figure 4 Effects of pre-pregnancy $PM_{2.5}$ exposure on embryonic morphology and pathological morphology of embryo, placenta, and decidua layer

2.3 孕后雌鼠子宫蜕膜层血管生成分子标志物

与对照组相比, $PM_{2.5}$ 暴露组雌鼠受孕后子宫蜕膜层 HIF-1 α 、VEGF 及其受体和 Flk-1 的 mRNA 表达明显下降(均 $P < 0.05$), Flt-1 的 mRNA 表达差异无统计学意义,如图 5 所示。



[注] *: $P < 0.05$ 。

[Note] *: $P < 0.05$ 。

图5 孕前PM_{2.5}暴露对雌鼠母胎界面蜕膜层血管生成分子标志物的影响 ($n=3\sim6$)

Figure 5 Effects of pre-pregnancy PM_{2.5} exposure on molecular markers of angiogenesis in decidual layer of maternal-fetal interface in female mice ($n=3\sim6$)

3 讨论

PM_{2.5} 作为主要的大气污染物,由于其粒径小、比表面积大,易富集有毒有害物质,穿过气血屏障以及胎盘屏障,可对妊娠的建立和胚胎的生长发育产生深远影响^[19-20]。目前,国内外学者对孕期PM_{2.5}暴露导致的不良妊娠结局研究较为深入,但对孕前这一敏感窗口的研究比较少见。本实验通过构建动物模型,发现孕前PM_{2.5}暴露能够引起小鼠子宫病理学和血管生成异常,进一步影响受孕后母胎界面的血管网重构, HIF-1 α /VEGF 信号通路可能参与调控。

体重是反映机体状态最基本的指标。本研究染毒期间,两组雌鼠活动情况、毛发光泽度、饮食情况等无明显差异,PM_{2.5}暴露组小鼠体重增长较对照组稍有减缓,但差异尚无统计学意义。关于PM_{2.5}暴露与体重之间的关系,有学者认为PM_{2.5}暴露与体重增长呈正相关,是肥胖相关疾病的危险因素^[21],也有研究发现PM_{2.5}可通过干扰肠道微生态抑制体重增长^[22]。育龄期女性子宫健康状况与受孕能力、受精卵形成、胚胎发育过程息息相关。子宫脏器系数作为反映子宫状态的基础参数^[23],是本实验首先关注的重点。Hu等^[24]的研究发现,铜作为PM_{2.5}的重金属组分,能够引起子宫脏器系数的明显降低。本课题组前期在太原采集的PM_{2.5}成分分析发现,铜也是其主要的重金属成分^[25]。本实验中PM_{2.5}暴露组小鼠子宫脏器系数发生明显降低,而子宫脏器系数与其内膜厚度、腺体密度、卵泡发育以及黄体酮的分泌息息相关,也决定着子宫的受孕能力^[26]。因此,孕前PM_{2.5}暴露对雌鼠子宫的损伤效应评估不应只限于其本身,还应该关注受孕后母胎界面的建立和胚胎发育的过程。

本研究中,PM_{2.5}暴露组雌鼠受孕前出现子宫内膜变薄、腺体稀疏、螺旋动脉血管数量减少等组织病理学损伤。研究证实,子宫腺体形态以及螺旋动脉血管稳态,是反映子宫容受性的重要指标,也是保证妊娠建立和胚胎发育的结构基础^[27]。妊娠早期母胎界面循环建立过程中,绒毛外滋养细胞向螺旋动脉血管内皮细胞逆向侵入,与其相互交叉并逐渐将其取代,发生螺旋动脉血管重铸,此过程伴随血管新生和血管生成^[28]。重铸后的管腔直径由0.2 mm扩大到2 mm,血流动力学特性也由“高阻低流”变为“低阻高流”,保证了母胎间血氧循环和营养物质交换^[27]。本实验雌鼠受孕后,与对照组相比,暴露组小鼠出现子宫蜕膜层螺旋动脉血管管腔变窄、管壁变薄,胎盘减小等病理学现象。结合孕前和孕后的形态学结果可推测,孕前PM_{2.5}暴露可能通过改变子宫容受性,干扰怀孕早期子宫螺旋动脉血管重铸,进一步影响母胎界面血管网重构以及胚胎早期发育。

血管新生和生成过程中,VEGF作为明星分子至关重要。一项关于PM_{2.5}和血管生成的meta分析表明,VEGF作为PM_{2.5}的靶向分子标志物,是目前已知最经典的血管生成因子,可诱导内皮细胞增殖和毛细血管形成,是参与血管新生与重塑的重要成分^[29]。HIF-1 α 作为主要的氧平衡调节因子,能够靶向调控VEGF及其受体Flt-1和Flk-1组成的血管网络,作用于子宫内膜,维持宫内血管生成稳态,促进妊娠的建立、维持和胚胎的正常发育^[30-31]。本实验发现孕前PM_{2.5}暴露引起怀孕雌鼠子宫蜕膜组织出现螺旋动脉血管减少的病理现象,进一步的RT-PCR结果也证实,无论是孕前还是孕后,子宫内膜HIF-1 α 、VEGF及其受体Flt-1和Flk-1的mRNA表达均明显降低或呈现降低的趋势,提示孕前PM_{2.5}暴露可通过干扰子宫血管生成稳态,影响受孕能力和受孕后母胎界面血管网的重构。

综上,本研究发现孕前PM_{2.5}暴露可通过引起雌鼠子宫容受性改变,进一步引起受孕比例下降、母胎界面血管重构异常等不良结局,其机制可能与HIF-1 α /VEGF轴调控子宫血管生成有关。值得进一步思考的是,对于孕前PM_{2.5}暴露的雌性小鼠,经过正常交配后孕早期未发现明显异常的胚胎是否可以正常出生,出生或者成年后对某些疾病的患病风险是否会升高尚未知,这也是未来值得关注和研究的方向。

参考文献

[1] World Health Organization. WHO global air quality guidelines: particulate

- matter (PM_{2.5} and PM₁₀), ozone, nitrogen dioxide, sulfur dioxide and carbon monoxide[M]. Geneva: World Health Organization, 2021.
- [2] CHEN R, YIN P, MENG X, et al. Associations between coarse particulate matter air pollution and cause-specific mortality: a nationwide analysis in 272 Chinese cities[J]. *Environ Health Perspect*, 2019, 127(1): 017008.
- [3] PAPA G, CAPITANI G, CAPRI E, et al. Vehicle-derived ultrafine particulate contaminating bees and bee products[J]. *Sci Total Environ*, 2021, 750: 141700.
- [4] XUE T, ZHU T, GENG G, et al. Association between pregnancy loss and ambient PM_{2.5} using survey data in Africa: a longitudinal case-control study, 1998-2016[J]. *Lancet Planet Health*, 2019, 3(5): E219-EE225.
- [5] ZHANG L, LIU W, HOU K, et al. Air pollution-induced missed abortion risk for pregnancies[J]. *Nat Sustain*, 2019, 2(11): 1011-1017.
- [6] REN S, HAYNES E, HALL E, et al. Periconception exposure to air pollution and risk of congenital malformations[J]. *J Pediatr*, 2018, 193: 76-84.
- [7] YUE H, JI X, KU T, et al. Sex difference in bronchopulmonary dysplasia of offspring in response to maternal PM_{2.5} exposure[J]. *J Hazard Mater*, 2020, 389: 122033.
- [8] ZHU J, LEE RW, TWUM C, et al. Exposure to ambient PM_{2.5} during pregnancy and preterm birth in metropolitan areas of the state of Georgia[J]. *Environ Sci Pollut Res*, 2019, 26(3): 2492-2500.
- [9] ZHANG T, ZHENG X, WANG X, et al. Maternal exposure to PM_{2.5} during pregnancy induces impaired development of cerebral cortex in mice offspring[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(1): 257.
- [10] GRIPPO A, ZHANG J, CHU L, et al. Air pollution exposure during pregnancy and spontaneous abortion and stillbirth[J]. *Rev Environ Health*, 2018, 33(3): 247-264.
- [11] 李怡雪, 刘佳, 王佳佳, 等. 大气细颗粒物暴露对辅助生殖孕妇胎停育影响的初步研究[J]. *环境与健康杂志*, 2018, 35(9): 753-756.
- LI YX, LIU J, WANG JJ, et al. Effects of exposure to ambient fine particles on arrested fetal development in pregnant women treated with assisted reproduction[J]. *J Environ Health*, 2018, 35(9): 753-756.
- [12] FATHOLLAHIPOUR S, PATIL PS, LEIPZIG ND. Oxygen regulation in development: lessons from embryogenesis towards tissue engineering[J]. *Cells Tissues Organs*, 2018, 205(5/6): 350-371.
- [13] RABINOWITZ MH. Inhibition of hypoxia-inducible factor prolyl hydroxylase domain oxygen sensors: tricking the body into mounting orchestrated survival and repair responses[J]. *J Med Chem*, 2013, 56(23): 9369-9402.
- [14] WU Y, LUCIA K, LANGE M, et al. Hypoxia inducible factor-1 is involved in growth factor, glucocorticoid and hypoxia mediated regulation of vascular endothelial growth factor-A in human meningiomas[J]. *J Neurooncol*, 2014, 119(2): 263-273.
- [15] MAYBIN JA, MURRAY AA, SAUNDERS PT K, et al. Hypoxia and hypoxia inducible factor-1 α are required for normal endometrial repair during menstruation[J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 295.
- [16] SUNDRANI D, KHOT V, PISAL H, et al. Gestation dependent changes in angiogenic factors and their associations with fetal growth measures in normotensive pregnancy[J]. *PLoS One*, 2013, 8(1): e54153.
- [17] ALI LE, SALIH MM, ELHASSAN EM, et al. Placental growth factor, vascular endothelial growth factor, and hypoxia-inducible factor-1 α in the placentas of women with pre-eclampsia[J]. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 2019, 32(16): 2628-2632.
- [18] YUE H, JI X, LI G, et al. Maternal exposure to PM_{2.5} affects fetal lung development at sensitive windows[J]. *Environ Sci Technol*, 2020, 54(1): 316-324.
- [19] CHEN M, LIANG S, ZHOU H, et al. Prenatal and postnatal mothering by diesel exhaust PM_{2.5}-exposed dams differentially program mouse energy metabolism[J]. *Part Fibre Toxicol*, 2017, 14(1): 3.
- [20] CHEN M, WANG X, HU Z, et al. Programming of mouse obesity by maternal exposure to concentrated ambient fine particles[J]. *Part Fibre Toxicol*, 2017, 14(1): 20.
- [21] HU Z, CHEN M, ZHOU H, et al. Inactivation of TNF/LT locus alters mouse metabolic response to concentrated ambient PM_{2.5}[J]. *Toxicology*, 2017, 390: 100-108.
- [22] ZHAO P, LU W, HONG Y, et al. Long-term wet precipitation of PM_{2.5} disturbed the gut microbiome and inhibited the growth of marine medaka *Oryzias melastigma*[J]. *Sci Total Environ*, 2021, 755: 142512.
- [23] DAVARPANAH AH, KAMBADAKONE A, HOLALKERE NS, et al. Diffusion MRI of uterine and ovarian masses: identifying the benign lesions[J]. *Abdom Radiol (NY)*, 2016, 41(12): 2466-2475.
- [24] HU S, YANG J, RAO M, et al. Copper nanoparticle-induced uterine injury in female rats[J]. *Environ Toxicol*, 2019, 34(3): 252-261.
- [25] ZHANG Y, JI X, KU T, et al. Heavy metals bound to fine particulate matter from northern China induce season-dependent health risks: a study based on myocardial toxicity[J]. *Environ Pollut*, 2016, 216: 380-390.
- [26] XU T, LI X, YANG L, et al. Impact of cold exposure on the reproductive function in female rats[J]. *BioMed Res Int*, 2018, 2018: 3674906.
- [27] ROBSON A, LASH GE, INNES BA, et al. Uterine spiral artery muscle dedifferentiation[J]. *Hum Reprod*, 2019, 34(8): 1428-1438.
- [28] ZHI Z, YANG W, LIU L, et al. Early missed abortion is associated with villous angiogenesis via the HIF-1 α /VEGF signaling pathway[J]. *Arch Gynecol Obstet*, 2018, 298(3): 537-543.
- [29] SUN Y, WANG Y, YUAN S, et al. Exposure to PM_{2.5} via vascular endothelial growth factor relationship: meta-analysis[J]. *PLoS One*, 2018, 13(6): e0198813.
- [30] PENCE JC, CLANCY KB H, HARLEY BA C. Proangiogenic activity of endometrial epithelial and stromal cells in response to estradiol in gelatin hydrogels[J]. *Adv Biosyst*, 2017, 1(9): 1700056.
- [31] LIU M, DENG T, HE J, et al. Exposure to Benzo[a]pyrene impairs the corpus luteum vascular network in rats during early pregnancy[J]. *Environ Pollut*, 2020, 259: 113915.

(英文编辑: 汪源; 责任编辑: 王晓宇)