

本文引用:何慧,朱沅,董豆豆,等. 母亲孕期高脂饮食促进子代主动脉血管内皮间充质转变[J]. 中国动脉硬化杂志, 2024, 32(11): 939-946. DOI: 10.20039/j.cnki.1007-3949.2024.11.003.

[文章编号] 1007-3949(2024)32-11-0939-08

· 实验研究 ·

母亲孕期高脂饮食促进子代主动脉血管内皮间充质转变

何慧, 朱沅, 董豆豆, 丁萌, 姜天宇, 莫晓川, 王筑婷, 欧海龙

贵州医科大学基础医学院生物化学与分子生物学教研室, 贵州省贵阳市 561113

[摘要] **[目的]** 研究小鼠在孕期给予高脂饲料喂养对其成年子代主动脉血管内皮间充质转化情况的影响。**[方法]** 将孕鼠随机分为正常饮食组、高脂饮食组,待母鼠分娩后,子代小鼠正常饮食 16 周。采用 Western blot、RT-qPCR 检测相关蛋白表达情况,免疫荧光及免疫组织化学染色对小鼠血管行病理分析。**[结果]** 与母亲孕期正常饮食的子代小鼠相比,孕期高脂饮食的子代小鼠血管内炎症分子表达、血管巨噬细胞浸润、单核细胞-内皮层黏附明显增加($P<0.05$)。血管内皮型一氧化氮合酶(eNOS)和一氧化氮(NO)水平则显著降低($P<0.05$)。对主动脉弓内弯处进行免疫荧光检测,发现孕期高脂饮食子代小鼠内膜上的 CD31 水平降低, α 平滑肌肌动蛋白(α -SMA)则上升。Western blot 结果显示母亲孕期高脂饮食子代小鼠血管内膜 CD31、血管内皮钙黏蛋白(VE-cadherin)表达降低($P<0.05$), α -SMA、波形蛋白的表达增加($P<0.05$);同时,母亲孕期高脂饮食子代小鼠主动脉弓内弯处转化生长因子 β (TGF- β)/Smad 信号活性增强、血管胞外基质的沉积增多。另外,孕期高脂饮食后,其子代血管的 Krüppel 样因子 2(KLF2)的 mRNA 和蛋白表达均分别降低了 76% 和 59%。**[结论]** 孕期高脂饮食可以导致其子代主动脉血管内皮间充质发生转变。该结果对动脉粥样硬化等血管性疾病的早期预防具有一定的意义。

[关键词] 高脂饮食; 内皮间充质转化; Krüppel 样因子 2; 小鼠; 母亲孕期; 子代

[中图分类号] R5;R363

[文献标识码] A

Maternal high-fat diet during pregnancy promotes aortic endothelial to mesenchymal transition in offspring

HE Hui, ZHU Yuan, DONG Doudou, DING Meng, JIANG Tianyu, MO Xiaochuan, WANG Zhuting, OU Hailong

Department of Biochemistry and Molecular Biology, School of Basic Medicine, Guizhou Medical University, Guiyang, Guizhou 561113, China

[ABSTRACT] **Aim** To study the effect of maternal high-fat diet during pregnancy on endothelial to mesenchymal transition of aortic vessels in adult offspring. **Methods** The pregnant mice were randomly divided into normal diet group and high-fat diet group, and the offspring mice were fed normally for 16 weeks after the mother gave birth. Western blot and RT-qPCR were used to detect the expression and transcription of related proteins, and immunofluorescence and immunohistochemical staining were used for pathological analysis. **Results** Compared with the offspring of maternal normal diet during pregnancy, the expressions of vascular inflammatory factors, macrophage infiltration, monocyte-endothelium adhesion were significantly increased in the offspring of maternal high-fat diet (OHF) during pregnancy ($P<0.05$). Vascular endothelial nitric oxide synthase (eNOS) activity, nitric oxide (NO) level were dramatically reduced ($P<0.05$). Immunofluorescence results showed reduced endothelial cell marker CD31 and increased mesenchymal marker α -smooth muscle actin (α -SMA) in OHF. Western blot analysis further confirmed the results, which showed that maternal high fat diet reduced vascular endothelial-cadherin (VE-cadherin) and CD31 and increased α -SMA and Vimentin in the offspring ($P<0.05$). The maternal high fat diet increased the extracellular matrix protein disposition and transforming growth factor beta (TGF- β)/Smad signaling in endothelium ($P<0.05$). Moreover, the maternal high fat diet reduced Krüppel-like factor 2 (KLF2) expression by 76% in mRNA level and 59% in protein level ($P<0.05$). **Conclusion** Maternal high-fat diet during pregnancy lead to a transition of endothelial to mesenchyme in the offspring aorta. The results provide

[收稿日期] 2024-02-01

[修回日期] 2024-04-20

[基金项目] 国家自然科学基金(32260232 和 32060219);贵州省科技基金(黔科合基础-ZK[2022]重点 038)

[作者简介] 何慧,硕士,研究方向为动脉粥样硬化,E-mail:xiaohhui97903@163.com。通信作者欧海龙,博士,教授,博士研究生导师,研究方向为血脂血管生物学,E-mail:ouhailong@hotmail.com。

a clue for prevention of vascular disease in early stage.

[KEY WORDS] high-fat diet; endothelial to mesenchymal transition; Kruppel-like factor 2; mice; maternal pregnancy; offspring

内皮是血管管腔表面的单细胞层,对各种外源性刺激形成屏障,维持血管稳态。大多数动脉粥样硬化诱因,包括剪切应力损伤、氧化应激和炎症因子,可激活内皮细胞,导致内皮功能障碍和内皮向间充质转化(endothelial to mesenchymal transition, EndMT)^[1-2]。EndMT是内皮细胞失去其典型特征并获得间充质表型的过程,表现出细胞紧密连接破坏、细胞外基质(extracellular matrix, ECM)沉积及纤维化,使炎症细胞更易渗透、迁移和侵袭^[3]。EndMT促进血管重塑、血管钙化、动脉粥样硬化的发生等^[1-2,4]。Krüppel样因子2(Kruppel-like factor 2, KLF2)是KLF家族成员,作为一种锌指转录因子,主要在内皮细胞中调节内皮型一氧化氮合酶(endothelial nitric oxide synthase, eNOS)、血小板调节素(thrombomodulin, TM)等基因的表达,对提高血管弹性、维持血管功能具有重要的作用^[5],而且研究发现低水平血清KLF2与急性临床事件有着密切的关系^[6]。孕期母亲的高脂肪饮食(high-fat diet, HFD)使成年子代更容易患上代谢综合征、行为障碍和心血管重塑等各种疾病^[7]。妊娠期的HFD会改变主动脉结构的发育程序,内膜壁较厚,血管形态异常,这会导致后代血管炎症和内皮功能受损,并增加动脉粥样硬化的风险^[8-10]。为进一步分析HFD与子代血管功能损伤的关系,本文试图探索母体孕期高脂肪饮食对其成年子代主动脉血管内皮细胞表型转变、KLF2表达的影响。

1 材料和方法

1.1 试剂和仪器

体式显微镜(江南永新,南京),正置荧光显微镜(TS100F, Nikon公司,日本),冰冻切片机(MEV, 德国),奥林巴斯Spin 10激光共聚焦显微镜,载脂蛋白E基因敲除(apolipoprotein E knockout, ApoE^{-/-})小鼠购自南京大学模式动物研究所;BCA蛋白定量试剂盒购自碧云天生物公司;免疫组织化学染色通用二步法试剂盒购自北京中杉金桥生物公司(货号:PV-9000);RIPA强裂解液和一抗稀释液购自碧云天生物有限公司;ECL发光液购自武汉三鹰生物有限公司;总胆固醇(total cholesterol, TC)、甘油三酯(triglyceride, TG)、高密度脂蛋白胆固

醇(high density lipoprotein cholesterol, HDLC)、低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDLC)测定试剂盒购自南京建成生物有限公司;一氧化氮(nitric oxide, NO)测定试剂盒购自南京建成生物有限公司(货号:A013-2-1);CD31、 α 平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA)、I型胶原(collagen I, Col I)、血管内皮钙黏蛋白(vascular endothelia-cadherin, VE-cadherin)抗体购自美国Abcam生物公司,使用比例均为1:1 000;磷酸化Smad2/3(phosphorylated Smad2/3, p-Smad2/3)、Smad 2/3购自艾菲生物有限公司,使用比例均为1:1 000;血管细胞黏附分子1(vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1)(1:1 000)、单核细胞趋化蛋白1(monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1)(1:800)、内皮型一氧化氮合酶(endothelial nitric oxide synthase, eNOS)(1:500)、波形蛋白(vimentin)(1:3 000)、转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β)(1:2 000)、KLF2(1:3 000)、III型胶原(collagen III, Col III)(1:1 000)、纤维连接蛋白(fibronectin, FN)(1:3 000)、细胞间黏附分子1(intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1)(1:2 000)等抗体购自武汉三鹰生物有限公司;其余生物试剂均为国产分析纯。

1.2 小鼠处理

ApoE^{-/-}小鼠饲养于(20±2)℃、相对湿度40%~70%、12 h光照/12 h黑暗的环境中。将6~8周龄体质量为18~20 g的小鼠进行高脂饲料喂养(21%脂肪和0.15%胆固醇),并雌雄合笼,待雌鼠怀孕后,分笼生育子代,子代继续正常饮食16周。实验分为母亲孕期正常饮食子代组(对照组)和母亲孕期高脂饮食子代(offspring of high-fat diet, OHF)组。待实验时间结束后,注射350 mg/kg水合氯醛麻醉ApoE^{-/-}小鼠,颈椎脱臼法处死。于体式显微镜下进行剖腹取材。本实验方案按照贵州医科大学动物伦理审查委员会规定的操作进行(No. 2000010)。

1.3 血脂检测

取材实验前禁止进食12 h,不禁水,小鼠眼球取血至EP管内,室温静置1~2 h,4℃、3 500 r/min离心10 min,吸取上清液,置于-80℃保存。按照生物化学试剂说明书操作检测小鼠血清内TC、TG、LDLC、HDLC的含量。

1.4 蛋白免疫印迹法

取小鼠主动脉弓弯部组织冰上裂解,BCA 法进行蛋白定量。取等量蛋白于 10% SDS-PAGE 蛋白电泳,电泳完毕,将蛋白转移至 PVDF 膜上。封闭液室温封闭 2 h 后,进行 4 ℃ 一抗过夜孵育,二抗室温孵育 2 h,最后将膜用 1×TBST 充分洗涤,加入 ECL 发光液,在天能多功能成像分析系统(Tanon)获取图像。根据该实验步骤取材检测 MCP-1、VCAM-1、ICAM-1、eNOS、CD31、VE-cadherin、α-SMA、Vimentin、ColⅡ、ColⅢ及 FN、KLF2 的表达。

1.5 反转录实时荧光定量 PCR

获取小鼠主动脉弓,用 TRIzol 试剂盒(天根公司)提取细胞总 RNA,使用 Nanodrop 2000(Thermo Scientific)检测 RNA 浓度及纯度。取 1 μg 总 RNA 反转录合成 cDNA 第一条链,以此为模板,用 SYBR GreenqPCR Master Mix Kit (Promega),在 Bio-Rad CFX Duet Real-time PCR System (Hercules, CA, USA) 上进行实时荧光定量 PCR 反应。KLF2 mRNA 的表达水平以 β-actin 作为内参照,通过 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法计算。

1.6 免疫组织化学染色检测 CD68 表达

取小鼠心脏上半部分进行冰冻切片,厚度为 8 μm,至三瓣膜出现。丙酮固定后,根据免疫组织化学通用二步法试剂盒说明书操作,加入适量的内源性过氧化物酶阻断剂,室温孵育 10 min, PBS 涮洗,一抗(CD68 以 1 : 50 浓度稀释)于 4 ℃ 孵育过夜。DAB 显色液(A 液 : B 液 = 1 : 1 混合,现配现用)处理后,自来水充分冲洗,复染、脱水、中性树胶封片,晾干,置于正置显微镜下观察小鼠主动脉根部 CD68 表达量,并采集图像。

1.7 免疫荧光染色检测 CD31、α-SMA、ColⅡ和 FN 表达

取 8 μm 的主动脉弓部,进行纵向冰冻切片,经丙酮固定后,进行 0.2% Triton X-100(磷酸盐缓冲液配制)通透处理。封闭后,滴加适量的 CD31、α-SMA、Col I 及 FN 等抗体,4 ℃ 孵育过夜,再与荧光标记的二抗室温孵育 2 h,经 PBS 洗涤、指甲油封片后,于激光共聚焦镜下观察、采集图像。根据步骤

检测小鼠主动脉弓部 CD31、α-SMA、Col I 及 FN 的表达情况。

1.8 血管单核细胞-血管内膜黏附实验

分离腹主动脉,镜下剖除多余的结缔脂肪组织。用 PBS 涮洗残余血块,将血管纵向切割以暴露内皮,置于 35 mm 板中。加入提前备好的 2',7'-二-(2-羧乙基)-5(6)-羧基荧光素乙酰甲酯[2',7'-bis-(2-carboxyethyl)-5-(and-6)-carboxyfluorescein, acetoxyethyl ester, BCECF-AM] (5 μmol/L, Abcam) 荧光标记的 THP-1 单核细胞,于 RPMI 1640 完全培养基中 37 ℃ 孵育 30 min,使细胞附着。孵育后,用 PBS 洗去未结合的单核细胞。在荧光显微镜拍照后对贴壁单核细胞进行计数。

1.9 血管 NO 含量测定

分离小鼠全主动脉,镜下剖除血管周边结缔脂肪组织。称取其质量,按照质量(g) : 体积(mL) = 1 : 9 的比例,加入适量生理盐水,于冰浴条件下进行研磨为匀浆,离心,取上清检测。根据试剂说明书操作,加入相应试剂混匀离心,于波长 550 nm,酶标仪测定各孔吸光度值。根据公式计算各组 NO 含量。

1.10 统计学分析

数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,用 Graph-PadPrism 9 软件进行统计学分析,两组间的比较采用 *t* 检验,多组间的比较采用单因素方差分析。

2 结 果

2.1 母亲孕期高脂饮食促进成年子代血管炎症反应

在母亲孕期高脂饮食子代正常饮食 16 周后,与孕期正常饮食小鼠的子代相比,子代鼠血脂水平差异无显著性(表 1),但血管巨噬细胞浸润、单核细胞-内皮层黏附明显增加(图 1B、C),其中血管巨噬细胞(CD68 阳性)增加了 1.1 倍。Western blot 结果显示母亲孕期高脂饮食子代中炎症因子 MCP-1、VCAM-1、ICAM-1 表达与孕期正常饮食子代相比分别提高了 1.4、1.8 和 1.6 倍(图 1D)。

表 1. 小鼠血脂指标比较(*n* = 6)
Table 1. Comparison of blood lipid indexes(*n* = 6)

分组	TC	TG	LDLC	HDLC
孕期正常饮食组	9.37±0.74	1.14±0.13	6.68±0.75	2.27±0.16
孕期高脂饮食组	27.46±2.11 ^a	1.27±0.11	17.81±2.32 ^a	1.78±0.20
孕期正常饮食子代组	8.81±0.65	1.07±0.59	5.55±0.79	1.54±0.19
孕期高脂饮食子代组	8.68±0.81	1.16±0.15	5.35±0.51	1.64±0.12

注 : a 为 *P* < 0.05, 与孕期正常饮食组相比。

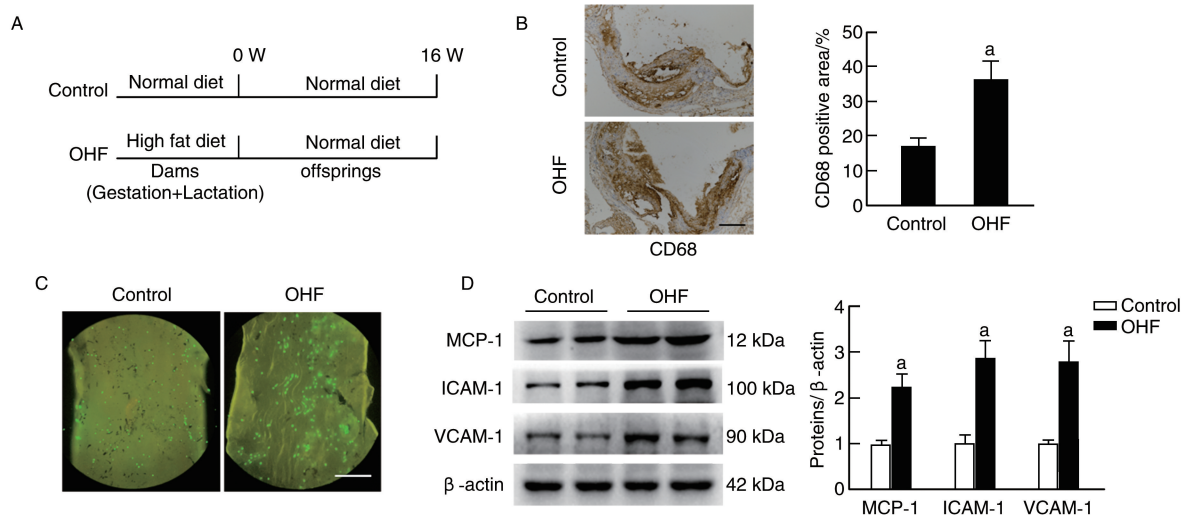


图 1. 母亲孕期高脂饮食子代主动脉血管炎症反应 ($n=6$)

A 为 ApoE^{-/-}小鼠母亲孕期高脂实验处理时间图;B 为子代主动脉根部巨噬细胞 CD68 表达情况,标尺为 200 μm ;
C 为子代单核巨噬细胞-血管内膜黏附,标尺为 300 μm ;D 为 Western blot 检测子代主动脉根部 MCP-1、ICAM-1、VCAM-1 的表达。
a 为 $P<0.05$,与母亲孕期正常饮食子代组(对照组)比较。

Figure 1. Vascular inflammatory response in offspring of maternal high-fat diet during pregnancy ($n=6$)

2.2 母亲孕期高脂饮食降低子代内皮功能

母亲孕期高脂饮食子代正常饮食 16 周后,分离血管内膜。Western blot 检测结果显示与孕期正常饮食子代小鼠相比,母亲孕期高脂饮食成年子代小

鼠血管 eNOS 表达水平降低了 51% (图 2A),小鼠血管的 NO 含量降低了 62% (图 2B)。这些结果提示,母亲孕期高脂饮食使子代内皮功能受损。

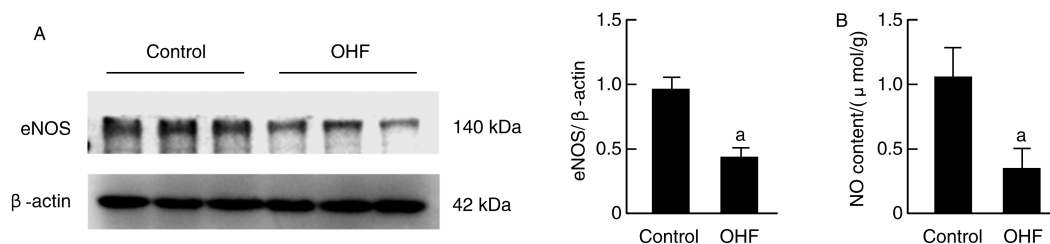


图 2. 母亲孕期高脂饮食对子代小鼠血管 eNOS 表达及 NO 含量的影响 ($n=6$)

A 为 Western blot 检测小鼠血管内皮 eNOS 表达情况;B 为两组子代小鼠血管 NO 含量比较。
a 为 $P<0.05$,与母亲孕期正常饮食子代组(对照组)比较。

Figure 2. The effect of maternal high-fat diet during pregnancy on vascular eNOS expression and NO content in the offspring mice ($n=6$)

2.3 母亲孕期高脂饮食促进子代血管内皮间充质转变

母亲孕期高脂饮食子代小鼠正常饮食 16 周之后,取主动脉弓内弯的冰冻切片,进行免疫荧光染色,结果发现,与母亲孕期正常饮食子代小鼠相比,孕期高脂饮食子代小鼠内皮细胞标志性蛋白 CD31 表达降低了 59%,而间充质蛋白 α -SMA 明显增加了近 1 倍(图 3A)。Western blot 结果显示孕期高脂饮食子代小鼠中 CD31、VE-cadherin 表达分别降低

了 42% 和 53%,而 α -SMA 和 Vimentin 增加了 1.8 倍和 90% (图 3B)。接着,我们对与内皮间充质转化相关的信号 TGF- β /Smad2/3 的活性进行检测,发现在孕期高脂饮食子代小鼠中,TGF- β 和 p-Smad2/3 水平平均比孕期正常饮食子代小鼠更高,分别提高了 1.0 倍和 70% (图 3C)。这些结果说明,母亲孕期高脂饮食引起了子代鼠血管发生了内皮间充质转变。

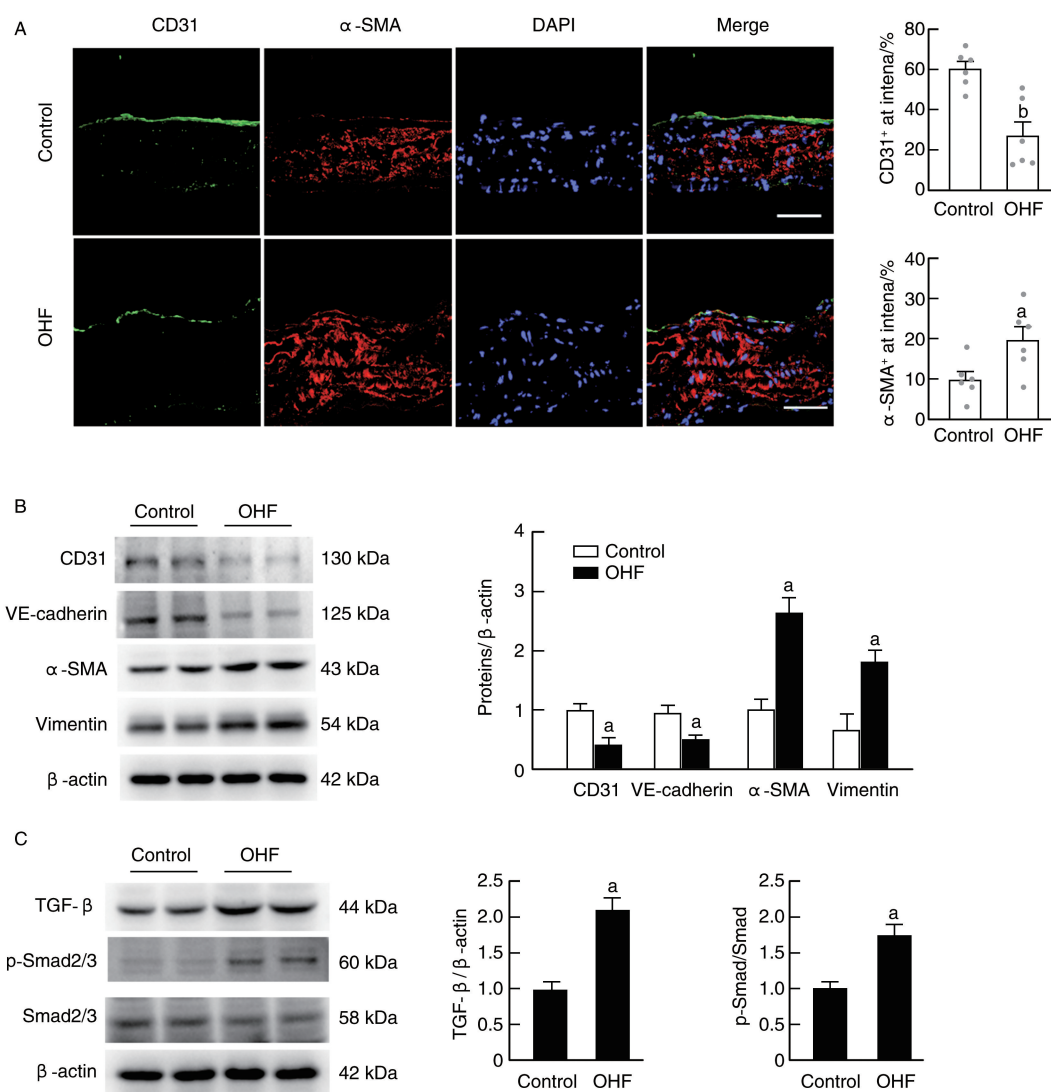


图 3. 母亲孕期高脂饮食对子代鼠主动脉弓内皮间充质转化的影响 ($n=6$)

A 为免疫荧光检测小鼠主动脉弓 CD31、α-SMA 表达,绿色代表 CD31,红色代表 α-SMA,标尺为 50 μm;B 为 Western blot 检测主动脉弓内 CD31、VE-Cadherin、α-SMA、Vimentin 的表达情况;C 为 Western blot 检测主动脉弓 TGF-β、p-Smad2/3、Smad2/3 的表达情况。

a 为 $P<0.05$, b 为 $P<0.01$, 与母亲孕期正常饮食子代组 (对照组) 相比。

Figure 3. The effect of maternal high-fat diet during pregnancy on aortic endothelial-mesenchymal transition in the offspring mice ($n=6$)

2.4 母亲孕期高脂饮食诱导子代血管胞外基质相关基因表达

分别对孕期高脂饮食子代小鼠和孕期正常饮食子代小鼠的主动脉弓内弯进行分离,并进行免疫荧光染色,结果发现,与孕期正常饮食子代小鼠相比,孕期高脂饮食子代小鼠的血管 Col I 和 FN (红色) 水平明显增加。在内膜上,孕期高脂饮食子代小鼠的 CD31 与 Col I 或 CD31 与 FN 共定位 (黄色) 趋势更为明显 (图 4A)。Western blot 检测主动脉内皮层的 Col I、Col III 和 FN 的表达,结果表明与孕期正常饮食子代组相比,孕期高脂饮食子代小鼠

Col I、Col III 和 FN 表达均分别提高了 1.4 倍、80% 和 1.1 倍 (图 4B)。

2.5 母亲孕期高脂饮食促进子代 KLF2 表达降低

分离主动脉弓内皮层检测 KLF2 的表达情况, RT-qPCR 结果显示,孕期高脂饮食子代小鼠的 KLF2 mRNA 水平与孕期正常饮食子代小鼠相比降低了 76% (图 5A)。Western blot 结果显示孕期高脂饮食子代小鼠中 KLF2 蛋白含量与孕期正常饮食子代小鼠相比降低了 59% (图 5B)。这说明,目前孕期高脂饮食可抑制其成年子代血管的 KLF2 表达。

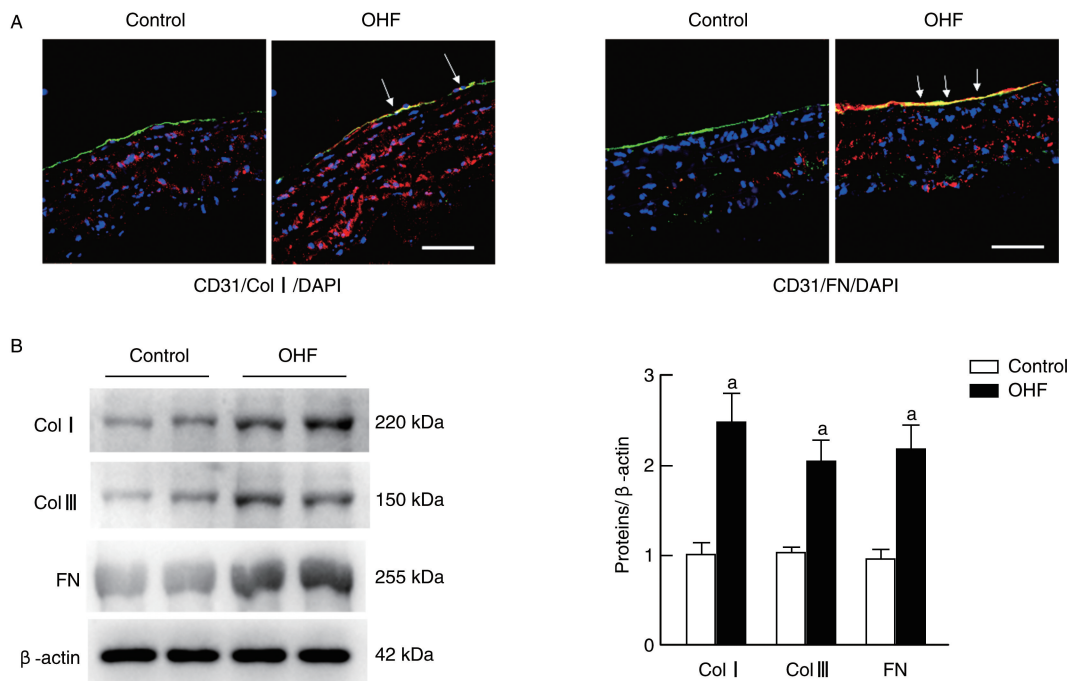


图 4. 母亲孕期高脂饮食诱导子代小鼠主动脉弓胞外基质成份的表达 ($n=6$)

A 为免疫荧光检测主动脉弓细胞外基质蛋白表达,绿色为内皮细胞 CD31,红色为基质成分 Col I (左)或 FN (右),标尺为 50 μm ;

B 为 Western blot 检测主动脉弓内膜 Col I、Col III 及 FN 的表达情况。a 为 $P<0.05$,与孕期正常饮食子代组(对照组)相比。

Figure 4. Maternal high-fat diet during pregnancy induced the expression of extracellular matrix components in aortic arch of offspring mice ($n=6$)

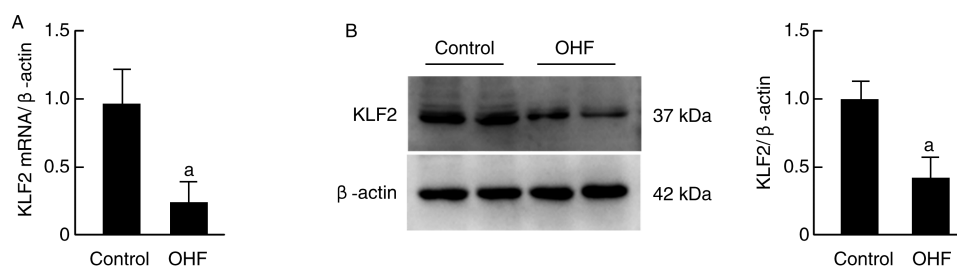


图 5. 孕期高脂饮食促进子代小鼠主动脉弓内皮层 KLF2 表达水平 ($n=6$)

A 为 RT-qPCR 检测主动脉弓内皮层 KLF2 mRNA 的水平;B 为 Western blot 检测小鼠主动脉弓内膜中 KLF2 的蛋白表达情况。

a 为 $P<0.05$,与孕期正常饮食子代组(对照组)相比。

Figure 5. Maternal high-fat diet during pregnancy promotes KLF2 expression in the aortic arch endothelium of offspring mice ($n=6$)

3 讨论

在 EndMT 中,主动脉血管内皮细胞逐渐失去功能,向间充质转化。在该分化过程中,其细胞表面的分子表达模式进行了重新编程,血管内皮标志性的蛋白如 CD31/血小板内皮细胞黏附分子 1 (platelet-endothelial cell adhesion molecule-1, PECAM-1)、假血友病因子 (von willebrand factor, vWF) 和 VE-cadherin 等,向间充质表型转变,包括成纤维细胞特异性蛋白 1 (fibroblast specific protein-1, FSP-1)、 α -SMA、平

滑肌蛋白 22 α (smooth muscle 22 α , SM22 α)、FN 和波形蛋白等^[11-13]。TGF- β 诱导的信号级联已被确定为 EndMT 启动和进展中最重要的调控途径^[14-16]。本研究中,我们发现母亲孕期高脂饮食抑制 TGF- β /Smad 信号,抑制 CD31、VE-cadherin 表达,上调 α -SMA 及波形蛋白的表达,从而证实了子代内皮细胞表型发生了改变。

在动脉粥样硬化发生、发展及斑块形成过程中,主动脉血管内皮经过一系列病理学改变,包括 EndMT、炎症、血管钙化以及血管功能降低等^[17-18]。

EndMT 已被证明与伤口愈合、炎症过程有关,并被证明可促进动脉粥样硬化、心脏纤维化和其他心血管疾病的发展^[19-20]。另一方面,子宫内环境直接影响胎儿发育及其成年之后的健康。研究表明,母亲孕期高脂饮食改变子代体内的代谢,激活体内胆固醇的合成,使子代对肥胖、糖尿病以及动脉粥样硬化等病变表现出较高的易感性^[21-25]。本研究结果表明母亲孕期高脂饮食促进成年子代 EndMT,提示母亲孕期的高脂饮食除了改变子代代谢外,还可能通过诱发 EndMT,降低内皮细胞功能,从而促进动脉粥样硬化的发生、发展。

KLF2 对血管功能具有保护作用,可激活一系列与血管内皮功能相关的基因,如 eNOS、血小板调节素基因的表达等^[5]。研究表明,KLF2 由层流剪切应力和他汀类药物诱导,同时被白细胞介素 1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 等促炎细胞因子抑制^[5]。KLF2 的表达受 AMP 活化蛋白激酶 (AMP-activated protein kinase, AMPK) 介导的丝裂原细胞外激酶 5 (mitogen extracellular kinase 5, MEK5)/细胞外信号调节激酶 5 (extracellular-signal regulated kinase 5, ERK5)/肌细胞增强因子 2 (myocyte enhancer factor 2, MEF2) 通路控制^[26]。另外, I 类组蛋白去乙酰酶 (histone deacetylase 3, HDAC3) 和 II 类组蛋白去乙酰酶 5/7 (histone deacetylase 5/7, HDAC5/7) 均作为转录抑制因子发挥作用,参与降低 KLF2 表达^[27-29]。这些分子机制是否参与孕期高脂饮食子代中 KLF2 的调控仍然需要后续的研究。另外,血管内皮通透性增加可促进炎症因子的浸润,进而影响内皮功能^[30-31]。本研究发现高脂饮食促进血管炎症,那么该促炎作用是否与内皮细胞紧密连接的破坏有关,需要进一步的研究。

总之,我们发现母亲在孕期高脂饮食可降低子代主动脉血管内皮细胞 KLF2 的表达、降低血管功能,使血管内皮细胞表型向间充质转变,该研究结果促进我们对子宫内环境在子代血管性病变,特别是在动脉粥样硬化病变过程中作用的认识,同时也对有效预防动脉粥样硬化的发生进行理论探索。

[参考文献]

- [1] HAO Y M, YUAN H Q, REN Z, et al. Endothelial to mesenchymal transition in atherosclerotic vascular remodeling[J]. Clin Chim Acta, 2019, 490: 34-38.
- [2] HELMKE A, CASPER J, NORDLOHNE J, et al. Endothelial-to-mesenchymal transition shapes the atherosclerotic plaque and modulates macrophage function[J]. FASEB J, 2019, 33(2): 2278-2289.
- [3] RIOS F J, HARVEY A, LOPES R A, et al. Progenitor cells, bone marrow-derived fibrocytes and endothelial-to-mesenchymal transition: new players in vascular fibrosis[J]. Hypertension, 2016, 67(2): 272-274.
- [4] LI X, SOUILHOL C, CANHAM L, et al. DLL4 promotes partial endothelial-to-mesenchymal transition at atherosclerosis-prone regions of arteries[J]. Vasc Pharmacol, 2023, 150: 107178.
- [5] NOVODVORSKY P, CHICO T J. The role of the transcription factor KLF2 in vascular development and disease[J]. Prog Mol Biol Transl Sci, 2014, 124: 155-188.
- [6] 王天舒, 景黎君, 杨亚琼, 等. 血清 KLF2、NOS3 水平对大动脉粥样硬化型急性脑梗死患者的诊断及病情评估价值[J]. 中国动脉硬化杂志, 2024, 32(6): 527-531. WANG T S, JING L J, YANG Y Q, et al. Value of serum KLF2 and NOS3 levels in the diagnosis and disease assessment of patients with acute cerebral infarction of large-artery atherosclerosis type[J]. Chin J Arterioscler, 2024, 32(6): 527-531.
- [7] GAWLIŃSKA K, GAWLIŃSKI D, FILIP M, et al. Relationship of maternal high-fat diet during pregnancy and lactation to offspring health[J]. Nutr Rev, 2021, 79(6): 709-725.
- [8] CERF M E. High fat programming and cardiovascular disease[J]. Medicina (Kaunas), 2018, 54(5): 86.
- [9] DRAKE A J, REYNOLDS R M. Impact of maternal obesity on offspring obesity and cardiometabolic disease risk[J]. Reproduction, 2010, 140(3): 387-398.
- [10] ALKEMADE F E, GITTENBERGER-DE GROOT A C, SCHIEL A E, et al. Intrauterine exposure to maternal atherosclerotic risk factors increases the susceptibility to atherosclerosis in adult life[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2007, 27(10): 2228-2235.
- [11] QIN W, ZHANG L, LI Z, et al. Endothelial to mesenchymal transition contributes to nicotine-induced atherosclerosis[J]. Theranostics, 2020, 10(12): 5276-5289.
- [12] CAO T, JIANG Y, LI D, et al. H19/TET1 axis promotes TGF- β signaling linked to endothelial-to-mesenchymal transition[J]. FASEB J, 2020, 34(6): 8625-8640.
- [13] LUO R, LI L, LIU X, et al. Mesenchymal stem cells alleviate palmitic acid-induced endothelial-to-mesenchymal transition by suppressing endoplasmic reticulum stress[J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2020, 319(6): E961-E980.
- [14] LI Z X, CHEN J X, ZHENG Z J, et al. TGF- β 1 promotes human breast cancer angiogenesis and malignant behavior by regulating endothelial-mesenchymal transition[J]. Front Oncol, 2022, 12: 1051148.

- [15] LAI Y J, TSAI F C, CHANG G J, et al. miR-181b targets semaphorin 3a to mediate TGF- β -induced endothelial-mesenchymal transition related to atrial fibrillation [J]. *J Clin Invest*, 2022, 132(13): e142548.
- [16] VAN MEETEREN L A, TEN DIJKE P. Regulation of endothelial cell plasticity by TGF- β [J]. *Cell Tissue Res*, 2012, 347(1): 177-186.
- [17] ALVANDI Z, BISCHOFF J. Endothelial-mesenchymal transition in cardiovascular disease [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2021, 41(9): 2357-2369.
- [18] ZHOU K, TIAN K J, YAN B J, et al. A promising field: regulating imbalance of EndMT in cardiovascular diseases [J]. *Cell Cycle*, 2021, 20(15): 1477-1486.
- [19] YANG S, WANG S, CHEN L, et al. Neutrophil extracellular traps delay diabetic wound healing by inducing endothelial-to-mesenchymal transition via the hippo pathway [J]. *Int J Biol Sci*, 2023, 19(1): 347-361.
- [20] ZHANG X, LI Z, LIU X, et al. ZPI prevents ox-LDL-mediated endothelial injury leading to inhibition of EndMT, inflammation, apoptosis, and oxidative stress through activating PI3K/Akt signal pathway [J]. *Drug Dev Res*, 2022, 83(5): 1212-1225.
- [21] GOHARKHAY N, TAMAYO E H, YIN H, et al. Maternal hypercholesterolemia leads to activation of endogenous cholesterol synthesis in the offspring [J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2008, 199(3): 273.
- [22] ZHENG J, XIAO X, ZHANG Q, et al. Maternal high-fat diet modulates hepatic glucose, lipid homeostasis and gene expression in the PPAR pathway in the early life of offspring [J]. *Int J Mol Sci*, 2014, 15(9): 14967-14983.
- [23] WAKANA N, IRIE D, KIKAI M, et al. Maternal high-fat diet exaggerates atherosclerosis in adult offspring by augmenting periaortic adipose tissue-specific proinflammatory response [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2015, 35(3): 558-569.
- [24] DE JONG K A, BARRAND S, WOOD-BRADLEY R J, et al. Maternal high fat diet induces early cardiac hypertrophy and alters cardiac metabolism in sprague dawley rat offspring [J]. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 2018, 28(6): 600-609.
- [25] ZHANG Q, XIAO X, ZHENG J, et al. A maternal high-fat diet induces DNA methylation changes that contribute to glucose intolerance in offspring [J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2019, 10: 871.
- [26] YOUNG A, WU W, SUN W, et al. Flow activation of AMP-activated protein kinase in vascular endothelium leads to Krüppel-like factor 2 expression [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2009, 29(11): 1902-1908.
- [27] LEE D Y, LEE C I, LIN T E, et al. Role of histone deacetylases in transcription factor regulation and cell cycle modulation in endothelial cells in response to disturbed flow [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2012, 109(6): 1967-1972.
- [28] WANG W, HA C H, JHUN B S, et al. Fluid shear stress stimulates phosphorylation-dependent nuclear export of HDAC5 and mediates expression of KLF2 and eNOS [J]. *Blood*, 2010, 115(14): 2971-2979.
- [29] SONG Y, LI X, WANG D, et al. Transcription factor Krüppel-like factor 2 plays a vital role in endothelial colony forming cells differentiation [J]. *Cardiovasc Res*, 2013, 99(3): 514-524.
- [30] MEZACHE L, SOLTISZ A M, JOHNSTONE S R, et al. Vascular endothelial barrier protection prevents atrial fibrillation by preserving cardiac nanostructure [J]. *JACC Clin Electrophysiol*, 2023, 9(12): 2444-2458.
- [31] 刘晨, 成姣, 刘烨, 等. 内皮细胞衰老与血管功能障碍 [J/OL]. *中国动脉硬化杂志*, 2024 (2024-03-14). <http://kns.cnki.net/kcms/detail/43.1262.R.20240314.1319.002.html>.
- LIU C, CHENG J, LIU Y, et al. Endothelial cell senescence and vascular dysfunction [J/OL]. *Chinese J Arterioscler*, 2024 (2024-03-14). <http://kns.cnki.net/kcms/detail/43.1262.R.20240314.1319.002.html>.
- (此文编辑 许雪梅)