基础研究 DOI：10.13406/j.cnki.cyxb.003734

聚苯乙烯微塑料联合高脂处理对血管内皮细胞的影响

王 静，刁家妮，龙 菁，何渝广，谭丽萍，陈雪梅，李方方，何俊琳，王应雄，高茹菲，李伟轲
（重庆医科大学公共卫生学院生殖与发育教育部国际合作联合实验室，重庆 400016）

【摘 要】目的：探讨聚苯乙烯微塑料（polystyrene microplastics，PS-MPs）联合高脂处理对血管内皮细胞的影响。**方法：**使用含5%胎牛血清的DMEM培养基培养人脐静脉血管内皮细胞（human umbilical vein endothelial cells，HUVECs）。对HUVECs采用常规培养、高脂处理和PS-MPs联合高脂处理。实验分为对照组、高脂处理组和PS-MPs联合高脂处理组。采用CCK-8试剂检测细胞活力，F-actin染色检测细胞形态变化情况，流式细胞术、划痕实验和管腔形成实验检测细胞凋亡、迁移和成管能力。**结果：**HUVECs暴露于高脂环境后，细胞活力明显降低，细胞形态皱缩，细胞凋亡水平明显增加，细胞迁移和成管能力均明显降低。相较于高脂处理组，PS-MPs联合高脂处理后，细胞活力，细胞形态，细胞凋亡水平和细胞迁移能力均没有明显变化，但细胞成管能力进一步受损。**结论：**高脂处理会影响细胞活力，改变细胞形态，损伤血管内皮细胞功能；在高脂处理基础上联合PS-MPs处理后，可加剧血管内皮细胞功能损伤。

【关键词】聚苯乙烯微塑料；高脂；人脐静脉血管内皮细胞；成管能力
【中图分类号】R114 **【文献标志码】**A **【收稿日期】**2024-09-03

Effect of polystyrene microplastics combined with high-fat treatment on vascular endothelial cells

Wang Jing，Diao Jiani，Long Jing，He Yuguang，Tan Lipin，Chen Xuemei，Li Fangfang，He Junlin，Wang Yingxiong，Gao Rufei，Li Weike
（*1Joint Laboratory of International Cooperation of the Ministry of Education for Reproduction and Development，School of Public Health，Chongqing Medical University*）

【Abstract】*Objective*：To investigate the effect of polystyrene microplastics（PS-MPs）combined with high-fat treatment on vascular endothelial cells. ***Methods*：**Human umbilical vein endothelial cells（HUVECs）were cultured in the DMEM medium containing 5% fetal bovine serum. HUVECs were treated with conventional culture，high-fat treatment，and PS-MPs combined with high-fat treatment. The experiment was conducted in the three groups of control group，high-fat treatment group and PS-MPs + high-fat treatment group. CCK-8 assay was used to measure cell viability，F-actin staining was used to observe cell morphological changes，and flow cytometry，scratch assay，and tube formation assay were used to measure the apoptosis，migration，and tube-forming ability of cells. ***Results*：**After HUVECs were exposed to the high-fat environment，there was a significant reduction in cell viability，shrinkage of cells，a significant increase in cell apoptosis，and significant reductions in cell migration and tube-forming ability. Compared with the high-fat treatment group，there were no significant changes in cell viability，cell morphology，cell apoptosis，and cell migration ability after PS-MPs combined with high-fat treatment，but the tube-forming ability of cells was further impaired. ***Conclusion*：**High-fat treatment will affect cell viability，change cell morphology，and damage vascular endothelial cell function，and PS-MPs combined with high-fat treatment can aggravate the damage of vascular endothelial cell function.

【Key words】polystyrene microplastics；high-fat；human umbilical vein endothelial cells；tube-forming ability

随着生活水平的提高和饮食结构的改变，肥胖人口数量飞速增长，肥胖的患病率也迅速增加。造成肥胖的原因众多，饮食不当是最主要的原因，长期高脂饮食导致脂肪摄入过量而引起肥胖[1-2]。在肥胖状态下，人体血浆中游离脂肪酸含量增加，诱

作者介绍：王 静，Email：wang-jing@stu.cqmu.edu.cn，研究方向：环境暴露对生殖功能的影响。
通信作者：李伟轲，Email：liweike@cqmu.edu.cn。
基金项目：国家自然科学基金青年基金资助项目（编号：82301890）。
优先出版：https://link.cnki.net/urlid/50.1046.r.20250117.1134.004（2025-01-17）

导血管内皮细胞中活性氧的产生，导致细胞氧化应激水平增高，血管舒张减少，最终引起肥胖患者血管功能异常[3-5]。课题组前期研究显示，高脂诱导的肥胖早孕小鼠子宫内膜血管内皮细胞生长因子受体1表达显著降低，血管内皮细胞功能紊乱，血管生成受损[6]。血管内皮细胞是覆盖于血管内膜表面相互嵌合的单层扁平或多角形细胞[7]。血管内皮细胞作为血液与血管壁之间的物理屏障，直接与循环血液接触，不仅能够完成血液和组织液之间的代谢交换，还可以通过合成和分泌各种血管活性因子和生长因子来响应物理化学刺激，调节局部血管的舒缩以维持血管的正常功能[8-9]。血管内皮细胞若受到损伤，会引起细胞功能失衡，从而破坏血管稳态，导致多种疾病发生，如动脉粥样硬化、高血压、心力衰竭等心血管疾病[10-12]。然而，除了肥胖会影响血管内皮细胞功能外，目前还有研究发现微塑料暴露也会对血管内皮细胞功能造成损伤。

全球塑料污染已成为重大的环境和公共卫生问题[13]。大型塑料垃圾在物理、化学及生物作用下被分解形成更小的塑料颗粒，国际上将粒径≤5 mm的塑料颗粒定义为微塑料（microplastics，MPs）[14-15]。尽管塑料被认为是惰性材料，但已有研究发现，暴露于MPs和塑料添加剂会激活生物体内过氧化物酶体增殖物激活受体，影响脂肪生成和脂质代谢，提示MPs的暴露可能与全球肥胖患病率的增加有关[16]。此外，MPs被证实对微生物、海洋生物及陆地动植物具有负面影响[17-19]，能够经消化道和呼吸道进入生物体导致炎症反应、氧化应激及DNA损伤等[20-22]。常见的MPs包括聚乙烯微塑料（polyethylene microplastics，PE-MPs）、聚丙烯微塑料（polypropylene microplastics，PP-MPs）、聚苯乙烯微塑料（polystyrene microplastics，PS-MPs）等，其中PS-MPs被认为是研究微塑料生物毒性的模型粒子，其对机体的影响引起了人们的广泛研究[23-24]。

PS-MPs暴露与心血管疾病危险因素之间存在密切联系。粒径<150 μm的PS-MPs暴露于人体后可穿透肠上皮，通过门静脉进入血液，而粒径<10 μm的PS-MPs则可直接穿透血管[25]。另有研究发现，口服暴露于5 mg/L 0.5 μm PS-MPs 90 d的大鼠出现毛细血管充血，PS-MPs浓度达到50 mg/L时，大鼠心肌变薄甚至破裂[26]。血管内皮细胞位于血管内膜表面，是与进入血液的PS-MPs直接接触的靶细胞。粒径为0.1 μm和0.5 μm PS-MPs可黏附于HUVECs细胞膜表面，造成细胞膜损伤；随着暴露时间的增加，0.1 μm PS-MPs会被吸收进入细胞，诱导HUVECs中自噬体形成，引起细胞氧化应激和凋亡水平增加，最终导致血管生成障碍[27-28]。这表明PS-MPs暴露可损害HUVECs功能。

PS-MPs不仅独立存在，还能够与自然环境中其他污染物联合作用，引发综合毒性作用[29]。研究发现，PS-MPs联合2,2′,4,4′-四溴二苯醚（2,2′,4,4′-Tetrabromodiphenyl Ether，BDE-47）暴露后，可加剧斑马鱼胚胎的心血管损伤[30]。另有研究显示，PS-MPs联合高脂饮食暴露后，可加剧斑马鱼肝脏损伤，导致斑马鱼脂质代谢异常[31]。当血管内皮细胞单独暴露于高脂环境或者PS-MPs时，会引起细胞氧化应激水平增加和细胞过度凋亡，损伤血管内皮细胞功能，导致血管生成受损。然而，目前关于PS-MPs联合高脂处理对血管内皮细胞功能的影响尚不明确，促使本课题组深入研究和探讨。

本研究利用PS-MPs联合高脂处理HUVECs，通过检测细胞形态、活力、凋亡、迁移和血管生成能力，明确PS-MPs联合高脂处理对HUVECs的影响，为研究PS-MPs联合高脂处理在血管生成过程中的作用提供新的见解。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 人脐静脉血管内皮细胞（human umbilical vein endothelial cells，HUVECs） 来源于前期研究工作中液氮冻存的人脐静脉血管内皮细胞。

1.1.2 实验试剂 油酸（oleate，OA）和棕榈酸（palmitic acid，PA）购买自美国Sigma公司；PS-MPs购买自中国译元生物公司；DMEM培养基购买自美国gibco公司；胎牛血清（fetal bovine serum，FBS）购买自中国苏州双洇生物科技有限公司；PBS购买自中国博士德生化科技有限公司；CCK-8试剂购买自中国北京赛文创新生物科技有限公司；BODIPY染液、F-actin染液购买自中国碧云天生物技术有限公司；Matrigel基质胶购买自中国康宁公司。

1.1.3 实验仪器 高压灭菌锅、超净工作台为上海博讯公司产品；高速冷冻离心机、超纯水系统、水套式二氧化碳培养箱为赛默飞世尔科技公司产品；-80℃超低温冰箱为海尔公司产品；多功能酶标仪为上海美谷公司产品；倒置显微镜为奥林巴斯公司产品；恒温水浴锅为江苏太仓实验设备公司产品；荧光共聚焦显微镜为日本Nikon公司产品；扫描电子显微镜为日本日立科学仪器（北京）有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞培养 HUVECs生长于含5%胎牛血清的DMEM培养基中，于37 ℃、5%CO_2培养箱中培养，待细胞融合至90%时，按照1∶3比例进行传代。

1.2.2 细胞处理 体外高脂诱导方法参照已有研究报道[32]，本研究采用OA和PA联合处理方式模拟高脂环境，培养基中OA的终浓度为50 μmol/L，PA的终浓度为500 μmol/L。结合课题组前期研究和参考文献报道确定给予HUVECs的PS-MPs粒径和浓度[33]，将5 μm PS-MPs以100 μg/mL的浓度悬浮于含5%胎牛血清的高脂培养基中。分别使用含5%胎牛血清的DMEM培养基、含5%胎牛血清的高脂培养基和含5%胎牛血清的高脂联合100 μg/mL 5 μm PS-MPs培养基处理HUVECs细胞48 h。

1.2.3 细胞活力检测 通过CCK-8试剂检测细胞活力。在96孔板中处理HUVECs 48h后，按照1∶9的比例用DMEM培养基稀释CCK-8试剂原液（现配现用），每孔中加入100 μL CCK-8稀释液（避免出现气泡，以免影响后续吸光度值的测定），于37 ℃敷箱中孵育2 h后，使用多功能酶标仪测定450 nm处吸光度值。

1.2.4 BODIPY染色检测细胞中脂滴沉积情况 在24孔板中滴1滴5% DMEM培养基后，放入1张细胞爬片，加入适量HUVECs细胞悬液和400 μL 5% DMEM培养基，待细胞密度达到70%后处理细胞至48 h。细胞处理结束后，取出孔板，弃培养基，PBS润洗3次后，使用4%多聚甲醛室温固定20 min，按照1∶2 000比例稀释BODIPY染液，每孔加入200 μL BODIPY染液室温避光孵育20 min后，再使用PBS润洗3次。扣取爬片倒扣于滴有DAPI染液的载玻片上，室温静置10 min待DAPI染液进入细胞核。于共聚焦显微镜下拍摄观察细胞中脂滴沉积情况。

1.2.5 F-actin染色检测细胞骨架形态变化 在24孔板中滴1滴5%DMEM培养基后，放入1张细胞爬片，加入适量HUVECs细胞悬液和400 μL 5%DMEM培养基，待细胞密度达到70%后处理细胞至48 h。细胞处理结束后，取出孔板，弃培养基，PBS润洗3次后，使用4%多聚甲醛室温固定20 min，按照1∶600比例稀释F-actin染液，每孔加入200 μL F-actin染液室温避光孵育1 h后，再使用PBS润洗3次。扣取爬片倒扣于滴有DAPI染液的载玻片上，室温静置10 min待DAPI染液进入细胞核。于共聚焦显微镜下拍摄观察细胞骨架形态变化情况。

1.2.6 流式细胞术检测细胞凋亡情况 在6孔板中处理HUVECs细胞48 h后，使用0.25%胰酶将细胞消化为单个细胞，使用PBS缓冲液重悬，离心机中800 r/min离心5 min，反复2次，最终使用500 μL PBS缓冲液将不少于1×10^6个细胞重悬于1.5 mL EP管中，立即使用流式细胞仪检测细胞凋亡情况。

1.2.7 划痕实验检测细胞迁移能力 取适量HUVECs细胞悬液加入6孔板中，使孔中细胞于第2天早上铺满孔板。使用马克笔在孔板背面做好标记，用1 mL枪头比着直尺在孔板中间画1条直线，使用PBS缓冲液洗掉脱落的细胞。分别在细胞处理0 h和48 h使用显微镜拍照记录细胞迁移情况，并使用Image J软件统计分析细胞迁移率。

细胞迁移率（%）=|48 h划痕面积-0 h划痕面积|/0 h划痕面积×100%

1.2.8 细胞管腔形成实验 在6孔板中处理HUVECs细胞48 h后，使用0.25%胰酶将细胞消化为单个细胞并且使用细胞计数板进行计数。将基质胶用DMEM原液按照1∶1比例稀释，均匀混合后，在48孔板中每孔加入100 μL基质胶稀释液，避免产生气泡，置于37 ℃敷箱中凝固1 h。取适量细胞悬液加入48孔板中，使每孔中含有1.8×10^4个HUVECs细胞，培养基中液体总体积为200 μL。将48孔板继续放入37 ℃敷箱中培养，6 h后取出拍照记录HUVECs细胞管腔形成情况，并且使用Image J软件分析管腔形成的节点数以及血管分支数。

1.3 统计学方法

所有实验均重复3次及以上，采用SPSS 26.0统计分析软件进行数据分析。采用单因素方差分析进行多组间比较，随后采用Bonferroni检验进行多组间的两两比较。统计图采用GraphPad prism 9.5进行绘制，数据采用均数±标准差（$\bar{x}\pm s$）显示。检验水准α=0.05。

2 结 果

2.1 PS-MPs联合高脂处理明显降低HUVECs细胞活力

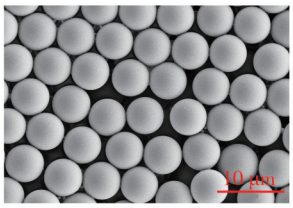
本研究采用的PS-MPs粒径为5 μm，通过扫描电镜对5 μm PS-MPs微球进行观察，结果显示PS-MPs的外观均成圆形，粒径较为均一（图1A）。荧光显微镜观察发现，培养48 h后，对照组HUVECs细胞形态如鹅卵石样均匀分布；高脂以及PS-MPs联合高脂处理后，HUVECs细胞密度降低、数量减少（图1B）。CCK-8试剂检测细胞活力发现，经高脂处理后，HUVECs细胞活力与对照组相比明显降低；PS-MPs联合高脂处理后，与高脂处理组相比，HUVECs细胞活力没有明显变化，但与对照组相比，HUVECs细胞活力明显降低（图1C）。

2.2 PS-MPs联合高脂处理导致HUVECs细胞骨架形态异常

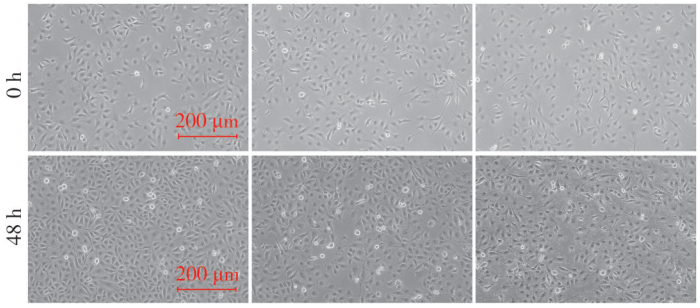
为进一步明确100 μg/mL 5 μm PS-MPs联合高脂处理对HUVECs细胞的影响，本研究首先通过BODIPY染色观察细胞内脂滴沉积情况，结果显示高脂处理后HUVECs细胞中出现大量脂滴沉积；PS-MPs联合高脂处理后，HUVECs细胞中同样出现大量脂滴沉积，但相较于高脂处理组没有明显差异（图2A、B）。F-actin染色结果显示，对照组HUVECs细胞F-肌动蛋白分布均匀，细胞网状微丝有序排列；高脂处理后，HUVECs细胞形态皱缩，体积减小；PS-MPs联合高脂处理后，HUVECs细胞同样出现皱缩，体积减小（图2C）。

2.3 PS-MPs联合高脂处理对HUVECs细胞凋亡无显著影响

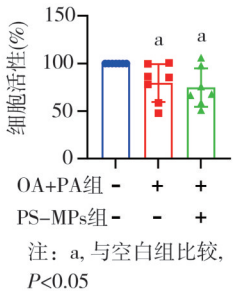
血管生成是1个复杂的动态过程，涉及血管内皮细胞的增殖、迁移和管腔形成等关键的生物学过程。血管内皮细胞增殖和凋亡相互关联，共同维持生物体的生长发育。若细胞过度凋亡，则会影响细胞正常功能。流式细胞术结果显示，高脂处理后HUVECs细胞凋亡明显增加；PS-MPs联合高脂处理后，与高脂处理组和对照组相比，HUVECs细胞凋亡水平均无明显变化（图3A、B）。



A. 5 μm PS-MPs表征



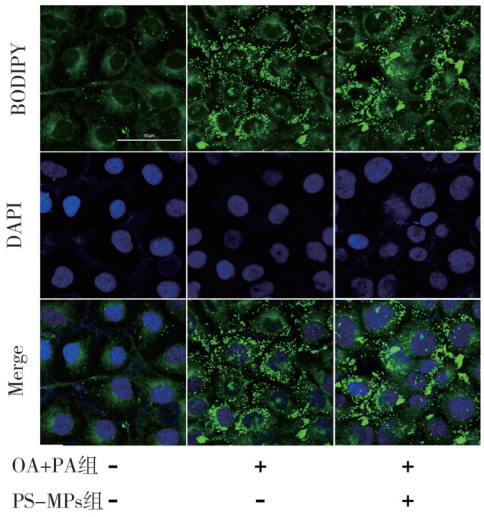
B. PS-MPs联合高脂处理0 h和48 h后HUVEC形态



注：a, 与空白组比较, $P<0.05$

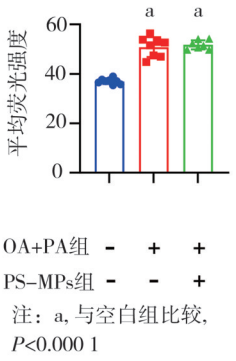
C. CCK-8检测PS-MPs联合高脂处理48 h后HUVEC细胞活力

图1　PS-MPs联合高脂处理对HUVEC细胞活力的影响



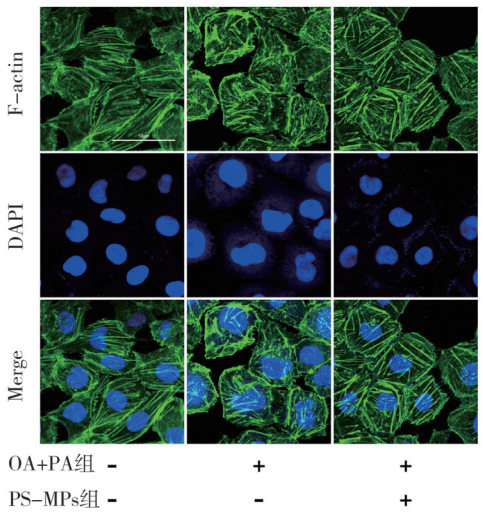
注: 绿色: BODIPY; 蓝色: DAPI; 标尺为50 μm

A. BODIPY染色检测HUVEC细胞中脂滴沉积情况



注：a, 与空白组比较, $P<0.000\ 1$

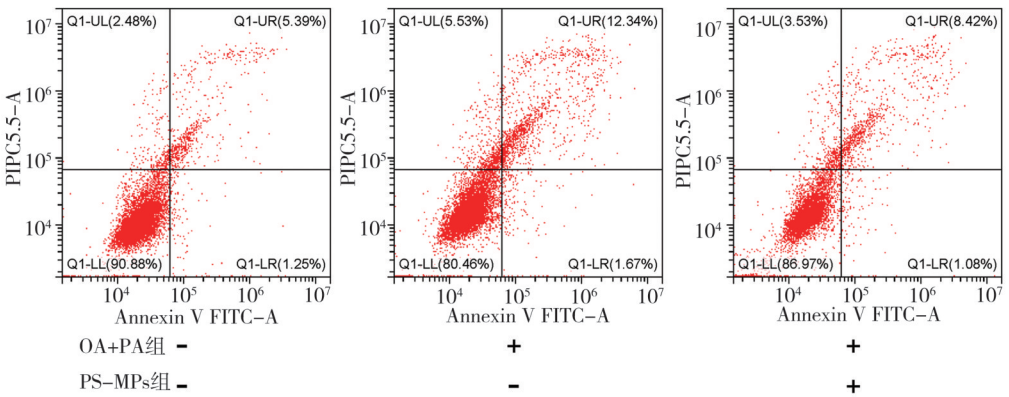
B. BODIPY平均荧光强度



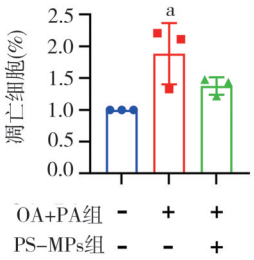
注: 绿色: F-actin; 蓝色: DAPI; 标尺为50 μm

C. F-actin染色观察HUVEC细胞骨架形态

图2　PS-MPs联合高脂处理对HUVEC细胞骨架形态的影响



A. 流式细胞术检测PS-MPs联合高脂处理48 h后HUVEC细胞凋亡水平



注：a, 与空白组比较, $P<0.05$

B. 凋亡细胞比例柱状统计图

图3　PS-MPs联合高脂处理对HUVEC细胞凋亡水平的影响

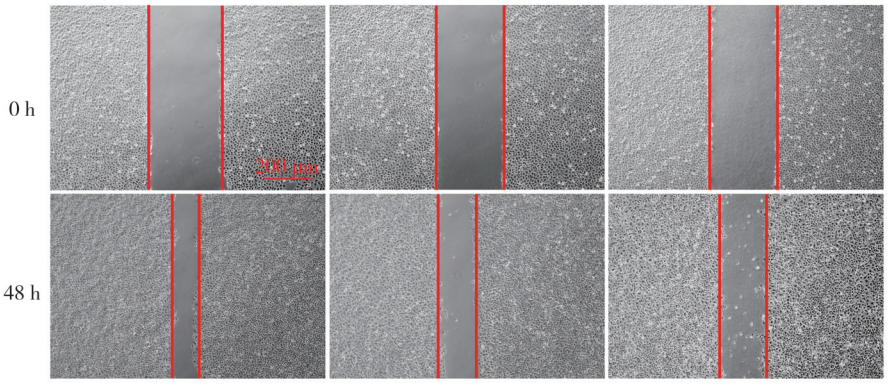
2.4　PS-MPs联合高脂处理降低HUVECs细胞迁移能力

本课题组进一步采用划痕实验评估HUVECs细胞的迁移能力。结果显示，高脂处理后HUVECs细胞迁移能力明显降低；PS-MPs联合高脂处理后，与对照组相比，HUVECs细

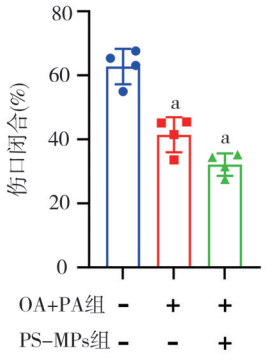
胞迁移能力显著降低；而相较于高脂处理组，HUVECs细胞迁移能力有进一步降低的趋势（图4A、B）。以上结果表明，在高脂处理的基础上，联合100 μg/mL 5 μm PS-MPs处理可能会进一步降低HUVECs细胞迁移能力。

2.5 PS-MPs联合高脂处理加剧HUVECs血管生成功能损伤

血管生成是正常组织生长及损伤修复的必要过程，对于胚胎发育、器官生长和伤口愈合等至关重要。血管内皮细胞在体外特定条件下，可响应血管生成信号，形成细胞条索，随后形成血管管腔[34]。因此，本研究进一步利用管腔形成实验评估HUVECs细胞的血管形成能力。结果显示，高脂处理后，HUVECs细胞形成的血管分支节点数量和血管分支总长度均显著降低，提示高脂处理后血管生成受损。PS-MPs联合高脂处理后，与高脂处理组相比，HUVECs细胞形成血管分支节点数量和血管分支以及血管分支总长度均进一步降低，提示PS-MPs联合高脂处理使血管生成受损加重（图5A~D）。以上结果表明，100 μg/mL 5 μm PS-MPs联合高脂处理后可加剧血管生成损伤。



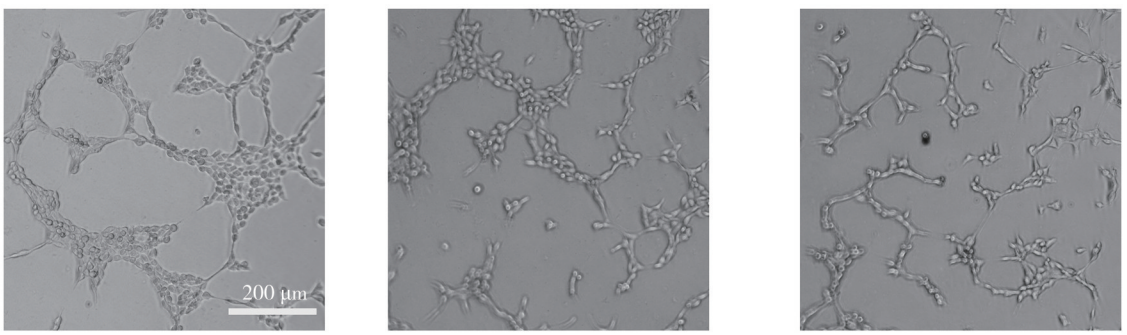
A. 划痕实验检测PS-MPs联合高脂处理48 h后HUVEC细胞迁移能力



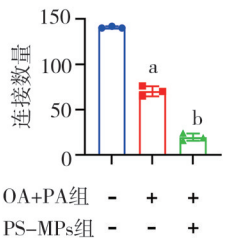
注：a, 与空白组比较, $P<0.01$

B. 0 h和48 h划痕区域面积差值统计图

图4 PS-MPs联合高脂处理对HUVEC细胞迁移能力的影响

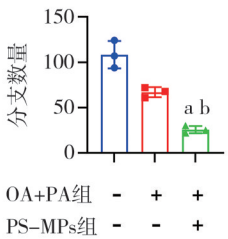


A. HUVEC细胞管腔形成实验



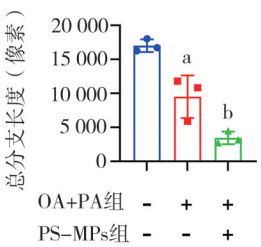
注：a, 与空白组比较, $P<0.01$；b, 与OA+PA组比较, $P<0.01$

B. 血管分支节点数量统计图



注：a, 与空白组比较, $P<0.05$；b, 与OA+PA组比较, $P<0.01$

C. 血管分支数量统计图



注：a, 与空白组比较, $P<0.01$；b, 与OA+PA组比较, $P<0.01$

D. 血管分支总长度统计图

图5 PS-MPs联合高脂处理对HUVEC细胞管腔形成能力的影响

3 讨 论

近年来，微塑料被证明是影响生物体健康的重要危险因素。目前已有研究发现，在人体血液、胎盘和肺组织中均可检测到微塑料的存在[21,35-36]。PS-MPs具有密度小、体积小和比表面积大的特点，也具有高浓度的急性毒性作用和低浓度易积累的作用[27]。课题组前期研究也发现，随着500 nm和5 μm PS-MPs在HUVECs细胞中暴露浓度的增加，粒径越小、浓度越高的PS-MPs对细胞的毒性越强（本文未显示）。

除了PS-MPs单独造成的损伤外，PS-MPs与环境中其他污染物联合暴露造成的毒性也引起了广泛的关注。PS-MPs可作为环境污染物吸附的受体，并且环境污染物的吸附会阻碍PS-MPs的生物降解，延长其在生物体内的毒性影响[37]。已有研究发现，微塑料暴露会加重多氯联苯对斑马鱼肝脏的损伤[38]。此外，PS-MPs暴露不仅加剧高脂饮食喂养斑马鱼导致的肝脏损伤和脂质代谢异常，还会加重高脂肥胖小鼠的胰岛素抵抗[31,39]。随着全球肥胖率的增加，与肥胖相关疾病的发病率也越来越高，包括2型糖尿病、动脉粥样硬化、高血压等[40]。研究显示，肥胖患者体内过多的脂肪组织会导致大量生物活性物质释放，不仅影响体重，还会诱发胰岛素抵抗、炎症反应和氧化应激，引起血管内皮细胞功能障碍，从而导致心血管疾病[41-43]。然而，目前关于PS-MPs暴露联合高脂处理对血管内皮细胞功能的影响尚不明确。在本研究中，本研究通过使用100 μg/mL 5 μm PS-MPs联合高脂处理HUVECs 48 h后，检测HUVECs活力与形态结构、凋亡水平以及细胞迁移和成管功能，进一步探讨联合暴露对HUVECs的影响。

在外界不良因素的刺激下，细胞活力可能发生改变，进而影响细胞功能。本研究结果显示，高脂处理后，HUVECs细胞活力受到明显抑制，PS-MPs联合高脂处理后，与高脂处理组相比，细胞活力没有明显变化，但与对照组相比，HUVECs细胞活力明显降低。细胞的正常功能不仅受到细胞活力的影响，还与其形态结构密切相关，细胞F-actin骨架蛋白是维持细胞形态与极性的基本骨架蛋白。血管内皮细胞作为血液与周围组织之间的屏障，具有调控血管舒缩和维持血管的功能[8-9]。血管内皮细胞骨架蛋白F-actin发生重构和细胞通透性的改变是导致炎症反应和引起血管损伤的的分子基础[44-47]。本研究结果显示，PS-MPs联合高脂处理后，与高脂处理组相比，细胞形态没有明显改变，但与对照组相比，细胞形态同样变得皱缩，体积减小。Lee HS等[33]研究发现，0.5 μm和1 μm PS-MPs处理HUVECs 48 h后，细胞活力受到明显抑制；而5 μm PS-MPs处理HUVECs细胞48 h后，细胞活力没有发生明显改变。这提示，PS-MPs联合高脂处理后，相较于高脂处理组，细胞活力以及形态结构没有明显改变，可能是由于5 μm PS-MPs对细胞影响较小，不足以引起细胞活力和形态结构发生明显改变。

血管生成是一个高度复杂且动态变化的生物学过程，始于生物发育的早期阶段[48]。在血管生成过程中，血管母细胞在胚胎发育过程中形成原始血管，并在多种生长因子和细胞因子的作用下，血管内皮细胞开始增殖、迁移，最终形成新的血管[49]。在本研究结果中发现，经高脂处理后，HUVECs细胞的凋亡水平增加，迁移能力降低，细胞功能受损。细胞凋亡是需要能量的细胞死亡过程，具有阶段性和程序性，在一定条件下可逆。凋亡过程的发生受到抗凋亡蛋白Bcl-2和促凋亡蛋白Bax表达含量比值的影响，Bcl-2和Bax的比例失调会导致线粒体释放细胞色素C，改变Caspase-9和Caspase-3表达水平；而Caspase-3处于凋亡级联反应的下游，是凋亡级联反应的共同下游作用分子，是凋亡反应的最终执行者，其表达水平对于凋亡反应的发生至关重要[50-51]。在本研究中，高脂处理基础上联合PS-MPs处理后，相较于高脂处理组，细胞凋亡水平有恢复趋势，本课题组猜测此时细胞可能处于应激状态，细胞中Bcl-2和Bax的比例发生变化，影响Caspase-3的表达水平，最终导致细胞凋亡水平呈现恢复趋势。血管内皮细胞具有自主运动特性，在特定情况下，可获得集体迁移特征。血管内皮细胞迁移是血管生成的早期过程之一，也是血管生成的重要标志[52]。有研究表明，JAK/STAT3信号通路的激活可上调血管内皮生长因子VEGF的表达，促进血管内皮细胞的迁移[53]；HUVECs中PI3K/AKT/ERK分子磷酸化也可促进VEGF的表达，进而促进血管内皮细胞的迁移[54]。本研究结果发现，PS-MPs联合高脂处理后，血管内皮细胞迁移能力有进一步降低趋势，可能是由于在高脂处理基础上联合PS-MPs处理后影响血管内皮生长因子VEGF的表达，从而影响血管内皮细胞迁移能力，但其具体的作用机制还有待进一步的研究。

血管生成和管腔形成是血管内皮细胞最重要和最特殊的生物学功能，是一个高度组织化和协调

的细胞和分子事件[55]。本研究结果发现，PS-MPs联合高脂处理后，相较于高脂处理组，细胞形成血管分支节点数、血管分支数量以及血管分支总长度均进一步显著降低，血管生成能力受损加重。这表明，PS-MPs联合高脂处理可加剧HUVECs血管生成障碍。有研究发现，高脂饮食和MPs的生物积累呈正相关[31]。PS-MPs由于其疏水性，易与脂质结合形成复合体，并通过吸附作用降低脂肪酶活性，从而降低生物体内脂滴的利用度，同时导致PS-MPs在生物体内难以消化和排泄[56]。PS-MPs在体内长时间的积累，则会导致机体脂质代谢紊乱以及炎症反应的发生[39]。机体脂质代谢紊乱，会引起血浆游离脂肪酸含量增加，诱导血管内皮细胞中活性氧的产生，导致细胞氧化应激水平增高，血管舒张减少，最终导致血管功能异常[3-5]。在本研究结果中，PS-MPs联合高脂处理后，HUVECs血管生成能力受损加重，可能与PS-MPs吸附脂滴在细胞中长时间沉积有关。PS-MPs吸附脂滴在血管内皮细胞中长时间积累，细胞对脂滴的利用度降低，细胞脂毒性增加，脂质代谢紊乱，同时PS-MPs的沉积则会引起细胞氧化应激水平增高，在多重损伤因素的协同作用下，导致血管内皮细胞功能严重受损，最终引起血管生成障碍。但在本课题组目前的研究中，暂未对此进行深入研究，其具体作用机制还需进行探索。

本研究利用HUVECs构建PS-MPs联合高脂处理模型，发现经高脂处理可降低血管内皮细胞活力、改变细胞形态、增加细胞凋亡水平、损害细胞迁移和成管能力；5 μm PS-MPs联合高脂处理后，血管内皮细胞成管能力进一步受损，并加剧血管内皮细胞成管功能障碍。然而，PS-MPs联合高脂处理通过何种机制影响血管内皮细胞功能及其在血管生成过程中的作用，还需要更多的科学研究和证据来进行探索。

参 考 文 献

[1] Antoniotti GS, Coughlan M, Salamonsen LA, et al. Obesity associated advanced glycation end products within the human uterine cavity adversely impact endometrial function and embryo implantation competence[J]. Hum Reprod, 2018, 33(4): 654-665.

[2] Rhee JS, Saben JL, Mayer AL, et al. Diet-induced obesity impairs endometrial stromal cell decidualization: a potential role for impaired autophagy[J]. Hum Reprod, 2016, 31(6): 1315-1326.

[3] Tripathy D, Mohanty P, Dhindsa S, et al. Elevation of free fatty acids induces inflammation and impairs vascular reactivity in healthy subjects[J]. Diabetes, 2003, 52(12): 2882-2887.

[4] Steinberg HO, Tarshoby M, Monestel R, et al. Elevated circulating free fatty acid levels impair endothelium-dependent vasodilation[J]. J Clin Invest, 1997, 100(5): 1230-1239.

[5] Inoguchi T, Li P, Umeda F, et al. High glucose level and free fatty acid stimulate reactive oxygen species production through protein kinase C: dependent activation of NAD(P)H oxidase in cultured vascular cells[J]. Diabetes, 2000, 49(11): 1939-1945.

[6] 龙 菁. 子宫内膜基质细胞前列腺素E2在肥胖导致的蜕膜血管生成障碍中的作用及机制研究[D]. 重庆: 重庆医科大学, 2022.
Long J. The role and mechanism of prostaglandin E2 in endometrial stromal cells in obesity induced decidual angiogenesis disorders[D]. Chongqing: Chongqing Medical University, 2022.

[7] 郝晓娟. 血管内皮细胞功能的影响因素及其研究进展[J]. 医学综述, 2012, 18(20): 3371-3374.
Hao XJ. Research progress of influencing factors on the function of vascular endothelial cells[J]. Med Recapitul, 2012, 18(20): 3371-3374.

[8] Potente M, Gerhardt H, Carmeliet P. Basic and therapeutic aspects of angiogenesis[J]. Cell, 2011, 146(6): 873-887.

[9] 宗如月, 罗新鹏, 路小超, 等. 血管生成在恶性肿瘤中作用及靶向治疗策略的研究进展[J]. 生命科学, 2022, 8(6): 644-652.
Zong RY, Luo XP, Lu XC, et al. Progress of angiogenesis and targeted therapy strategies in human cancer[J]. Chin Bull Life Sci, 2022, 8(6): 644-652.

[10] Triggle CR, Samuel SM, Ravishankar S, et al. The endothelium: influencing vascular smooth muscle in many ways[J]. Can J Physiol Pharmacol, 2012, 90(6): 713-738.

[11] Santos-Gomes J, Le Ribeuz H, Brás-Silva C, et al. Role of ion channel remodeling in endothelial dysfunction induced by pulmonary arterial hypertension[J]. Biomolecules, 2022, 12(4): 484.

[12] Mehrotra D, Wu JX, Papangeli I, et al. Endothelium as a gatekeeper of fatty acid transport[J]. Trends Endocrinol Metab, 2014, 25(2): 99-106.

[13] Barnes DKA, Galgani F, Thompson RC, et al. Accumulation and fragmentation of plastic debris in global environments[J]. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci, 2009, 364(1526): 1985-1998.

[14] Yousif E, Haddad R. Photodegradation and photostabilization of polymers, especially polystyrene: review[J]. Springerplus, 2013, 2: 398.

[15] Auta HS, Emenike CU, Fauziah SH. Distribution and importance of microplastics in the marine environment: a review of the sources, fate, effects, and potential solutions[J]. Environ Int, 2017, 102: 165-176.

[16] Kannan K, Vimalkumar K. A review of human exposure to microplastics and insights into microplastics as obesogens[J]. Front Endocrinol, 2021, 12: 724989.

[17] Wang J, Lv SH, Zhang MY, et al. Effects of plastic film residues on occurrence of phthalates and microbial activity in soils[J]. Chemosphere, 2016, 151: 171-177.

[18] Dong YM, Gao ML, Qiu WW, et al. Uptake of microplastics by carrots in presence of As (III): Combined toxic effects[J]. J Hazard Mater, 2021, 411: 125055.

[19] An D, Na J, Song J, et al. Size-dependent chronic toxicity of fragmented polyethylene microplastics to *Daphnia magna*[J]. Chemosphere, 2021, 271: 129591.

[20] Ibrahim YS, Tuan Anuar S, Azmi AA, et al. Detection of microplastics in human colectomy specimens[J]. JGH Open, 2020, 5(1): 116-121.

[21] Ragusa A, Svelato A, Santacroce C, et al. Plasticenta: First evidence of microplastics in human placenta[J]. Environ Int, 2021, 146: 106274.

[22] Schwabl P, Köppel S, Königshofer P, et al. Detection of various microplastics in human stool: a prospective case series[J]. Ann Intern

Med,2019,171(7):453-457.
[23] Chen YC, Chen KF, Lin KY A, et al. Evaluation of toxicity of polystyrene microplastics under realistic exposure levels in human vascular endothelial EA. hy926 cells[J]. Chemosphere,2023,313:137582.
[24] Geyer R, Jambeck JR, Law KL. Production, use, and fate of all plastics ever made[J]. Sci Adv,2017,3(7):e1700782.
[25] Zhu XQ, Wang CX, Duan XY, et al. Micro- and nanoplastics: a new cardiovascular risk factor?[J]. Environ Int,2023,171:107662.
[26] Li ZK, Zhu SX, Liu Q, et al. Polystyrene microplastics cause cardiac fibrosis by activating Wnt/β-catenin signaling pathway and promoting cardiomyocyte apoptosis in rats[J]. Environ Pollut,2020,265(Pt A):115025.
[27] 火传益,张 慧,倪 玲,等.亚低温对聚苯乙烯微塑料所致血管内皮细胞损伤的影响[J].环境卫生学杂志,2023,13(4):250-256.
Huo CY, Zhang H, Ni L, et al. Effects of mild hypothermia on vascular endothelial cell injury induced by polystyrene microplastics[J]. J Environ Hyg,2023,13(4):250-256.
[28] Lu YY, Li HY, Ren HY, et al. Size-dependent effects of polystyrene nanoplastics on autophagy response in human umbilical vein endothelial cells[J]. J Hazard Mater,2022,421:126770.
[29] Bhagat J, Zang LQ, Nakayama H, et al. Effects of nanoplastic on toxicity of azole fungicides (ketoconazole and fluconazole) in zebrafish embryos[J]. Sci Total Environ,2021,800:149463.
[30] Wang QP, Li YZ, Chen YR, et al. Toxic effects of polystyrene nanoplastics and polybrominated diphenyl ethers to zebrafish (*Danio rerio*)[J]. Fish Shellfish Immunol,2022,126:21-33.
[31] Du J, Hu YQ, Hou MM, et al. Combined effects of high-fat diet and polystyrene microplastic exposure on microplastic bioaccumulation and lipid metabolism in zebrafish[J]. Fish Shellfish Immunol, 2023, 137:108803.
[32] Hetherington AM, Sawyez CG, Zilberman E, et al. Differential lipotoxic effects of palmitate and oleate in activated human hepatic stellate cells and epithelial hepatoma cells[J]. Cell Physiol Biochem, 2016, 39(4):1648-1662.
[33] Lee HS, Amarakoon D, Wei CI, et al. Adverse effect of polystyrene microplastics (PS-MPs) on tube formation and viability of human umbilical vein endothelial cells[J]. Food Chem Toxicol, 2021, 154: 112356.
[34] Davis S, Aldrich TH, Jones PF, et al. Isolation of angiopoietin-1, a ligand for the TIE2 receptor, by secretion-trap expression cloning[J]. Cell,1996,87(7):1161-1169.
[35] Sun Q, Ren SY, Ni HG. Incidence of microplastics in personal care products: an appreciable part of plastic pollution[J]. Sci Total Environ,2020,742:140218.
[36] Amato-Lourenço LF, Carvalho-Oliveira R, Júnior GR, et al. Presence of airborne microplastics in human lung tissue[J]. J Hazard Mater, 2021,416:126124.
[37] Li SL, Qiao ZP, Huang MD, et al. Combined exposure of polystyrene microplastics and benzo[a]pyrene in rat: Study of the oxidative stress effects in the liver[J]. Ecotoxicol Environ Saf,2024,278:116390.
[38] Rainieri S, Conlledo N, Larsen BK, et al. Combined effects of microplastics and chemical contaminants on the organ toxicity of zebrafish (*Danio rerio*)[J]. Environ Res,2018,162:135-143.
[39] 缪立颖,王 欣,韩洋洋.泛凋亡在肝脏疾病中的作用及其机制研究进展[J].中华肝脏病杂志,2024,32(11):1047-1052.
Miao LY, Wang X, Han YY. Research progress on the role and mechanism of PANoptosis in liver diseases[J]. Chin J Hepatol,2024,32(11): 1047-1052.
[40] Korner J, Aronne LJ. The emerging science of body weight regulation and its impact on obesity treatment[J]. J Clin Invest,2003,111(5): 565-570.
[41] Madamanchi NR, Vendrov A, Runge MS. Oxidative stress and vascular disease[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol,2005,25(1):29-38.
[42] Rocha VZ, Libby P. Obesity, inflammation, and atherosclerosis[J]. Nat Rev Cardiol,2009,6:399-409.
[43] Hirosumi J, Tuncman G, Chang LF, et al. A central role for JNK in obesity and insulin resistance[J]. Nature,2002,420(6913):333-336.
[44] Goeckeler ZM, Wysolmerski RB. Myosin light chain kinase-regulated endothelial cell contraction: the relationship between isometric tension, actin polymerization, and myosin phosphorylation[J]. J Cell Biol,1995,130(3):613-627.
[45] He F, Peng J, Deng XL, et al. RhoA and NF-κB are involved in lipopolysaccharide-induced brain microvascular cell line hyperpermeability[J]. Neuroscience,2011,188:35-47.
[46] Kim JY, Lee YG, Kim MY, et al. Src-mediated regulation of inflammatory responses by actin polymerization[J]. Biochem Pharmacol, 2010,79(3):431-443.
[47] Koss M, Pfeiffer GR 2nd, Wang Y, et al. Ezrin/radixin/moesin proteins are phosphorylated by TNF-alpha and modulate permeability increases in human pulmonary microvascular endothelial cells[J]. J Immunol,2006,176(2):1218-1227.
[48] Rizov M, Andreeva P, Dimova I. Molecular regulation and role of angiogenesis in reproduction[J]. J Obstet Gynecol,2017,56(2):127-132.
[49] Tsakiroglou P, VandenAkker NE, Del Bo' C, et al. Role of berry anthocyanins and phenolic acids on cell migration and angiogenesis: an updated overview[J]. Nutrients,2019,11(5):1075.
[50] 李迎敏,阴怀清,栗 红,等.亚低温干预下新生大鼠缺氧缺血性脑损伤脑组织 Bax 基因表达变化及意义[J].中西医结合心脑血管病杂志,2014,12(9):1114-1116.
Li YM, Yin HQ, Li H, et al. Bax gene expression after hypoxic ischemic brain injury by mild hypothemia intervention in neonatal rats[J]. Chin J Integr Med Cardio Cerebrovasc Dis,2014,12(9):1114-1116.
[51] Nakagami H, Morishita R, Yamamoto K, et al. Phosphorylation of p38 mitogen-activated protein kinase downstream of bax-caspase-3 pathway leads to cell death induced by high D-glucose in human endothelial cells[J]. Diabetes,2001,50(6):1472-1481.
[52] Nowak-Sliwinska P, Alitalo K, Allen E, et al. Consensus guidelines for the use and interpretation of angiogenesis assays[J]. Angiogenesis,2018,21(3):425-532.
[53] Suen JL, Chang Y, Shiu YS, et al. IL-10 from plasmacytoid dendritic cells promotes angiogenesis in the early stage of endometriosis[J]. J Pathol,2019,249(4):485-497.
[54] Liao FC, Liao ZQ, Zhang T, et al. ECFC-derived exosomal THBS1 mediates angiogenesis and osteogenesis in distraction osteogenesis via the PI3K/AKT/ERK pathway[J]. J Orthop Translat, 2022, 37: 12-22.
[55] Fallah A, Sadeghinia A, Kahroba H, et al. Therapeutic targeting of angiogenesis molecular pathways in angiogenesis-dependent diseases [J]. Biomed Pharmacother,2019,110:775-785.
[56] Tan HW, Yue TT, Xu Y, et al. Microplastics reduce lipid digestion in simulated human gastrointestinal system[J]. Environ Sci Technol, 2020,54(19):12285-12294.

（责任编辑：李青颖）

本文引用格式：
王 静,刁家妮,龙 菁,等.聚苯乙烯微塑料联合高脂处理对血管内皮细胞的影响[J].重庆医科大学学报,2025,50(7):969-976.