

## 燃煤 PM<sub>2.5</sub> 不同组分对血管内皮细胞的氧化损伤效应

王菲菲<sup>1</sup>,王先良<sup>1\*</sup>,刘芳盈<sup>2</sup>,吕占禄<sup>1</sup>,钱岩<sup>1</sup>,朋玲龙<sup>1,3</sup> (1.中国环境科学研究院环境基准与风险评估国家重点实验室,北京 100012; 2.淄博市疾病预防控制中心环境卫生监测所,山东 淄博 255026; 3.安徽医科大学公共卫生学院劳动卫生与环境卫生系,安徽 合肥 230032)

**摘要:** 为了解细颗粒物不同组分在心血管系统损伤中的毒性机制,以大同散煤为样品煤,提取燃煤 PM<sub>2.5</sub> 全颗粒物、无机组分及有机组分,分别对人脐静脉内皮细胞 EA.hy926 进行染毒,采用超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)及丙二醛(MDA)指标检测 PM<sub>2.5</sub> 不同组分对 EA.hy926 细胞氧化损伤程度的影响.结果表明,燃煤 PM<sub>2.5</sub> 各组分对 EA.hy926 细胞染毒 24h 后,随着染毒剂量的增加,细胞上清液中 SOD 活力均下降,与对照组相比差异显著,而相同剂量组比较,其抑制 SOD 活力能力依次为:有机组分>无机组分>全颗粒物,且相同剂量组不同组分间的比较均有统计学差异;GSH-Px 活力均下降,具有剂量依赖性,引起 GSH-Px 活力下降程度基本具有无机组分>有机组分>全颗粒物的趋势,但统计学意义不显著;MDA 含量分别有不同程度的增加,各组分所致的 MDA 含量大小存在低剂量组有机组分>全颗粒物>无机组分,高剂量组全颗粒物>无机组分>有机组分趋势,随着剂量增加,全颗粒物和无机组分引起 MDA 含量明显增加,而有机组分则变化趋于平缓.可见,燃煤 PM<sub>2.5</sub> 不同组分均对血管内皮细胞 EA.hy926 氧化损伤作用明显,SOD、GSH-Px 等抗氧化酶的活性降低.

**关键词:** 燃煤细颗粒物; PM<sub>2.5</sub>; 血管内皮细胞; EA.hy926; 氧化损伤

**中图分类号:** X503.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 100-6923(2014)03-0780-06

**Oxidative injury effect of different compositions of coal-fired PM<sub>2.5</sub> on vascular endothelial cells.** WANG Fei-fei<sup>1</sup>, WANG Xian-liang<sup>1\*</sup>, LIU Fang-ying<sup>2</sup>, LÜ Zhan-lu<sup>1</sup>, QIAN Yan<sup>1</sup>, PENG Ling-long<sup>1,3</sup> (1.State Key Laboratory of Environmental Criteria and Risk Assessment, Chinese Research Academy of Environmental Sciences, Beijing 100012, China; 2.Zibo Municipal Center For Disease Control and Prevention, Zibo 255026, China; 3.School of Public Health, Anhui Medical University, Hefei 230032, China). *China Environmental Science*, 2014,34(3): 780~785

**Abstract:** To explore the effects of different compositions of fine particles on the cardiovascular system. Coal sample taking Datong coal as a sample, Coal-fired PM<sub>2.5</sub> was sampled by fixed source dilution channel in the laboratory. All particles, as well as isolated inorganic and organic compositions, were extracted to contaminate EA.hy926 cells for 24h respectively. To evaluate oxidative damages of different compositions of coal-fired PM<sub>2.5</sub> exposed to the EA.hy926 cells, the assays of superoxide dismutase (SOD), malondialdehyde (MDA), Glutathione peroxidase (GSH-Px) were carried out using assay kits according to the manufacturer's instructions. The results showed that as the dose increased, SOD activity decreased in EA.hy926 exposed to different compositions of coal-fired PM<sub>2.5</sub> 24h. Each dose group was statistically different ( $P<0.01$ ) compared with the control group, and there is a dose-response relationship. At the same dose, SOD inhibition of different compositions was: organic compounds> inorganic compositions > all particles, with statistically significance differences among the same dose. Compared to solvent control, as the dose increased, GSH-Px activity decreased in EA.hy926 exposed to different compositions of coal-fired PM<sub>2.5</sub>. At the same dose, GSH-Px inhibition of different compositions was: inorganic compounds > organic compositions > all particles, with no statistically significance differences. As the dose increased, MDA levels in supernatants treated with all particles, inorganic compositions and organic compositions increased, respectively. At the low doses, MDA level of different compositions of coal-fired PM<sub>2.5</sub> on EA.hy926 was: organic compositions > all particles > inorganic compositions, while at the high doses: all particles >

收稿日期: 2013-07-16

基金项目: 国家自然科学基金(20907047);国家环保公益性行业科研专项(200909036,201409079);中国环境科学研究院中央级公益性科研院所基本科研业务专项基金(2008KYYW05,2009KYYW05)

\* 责任作者, 副研究员, xlwang@craes.org.cn

inorganic compositions > organic compositions with statistically significance, and as the dose increased, MDA level caused by all particles and inorganic compositions increased significantly, while changes of organic compositions is leveling off. The results can be seen from the above, different compositions of PM<sub>2.5</sub> exerted oxidative damage to EA.hy926, reduced activities of SOD, GSH-Px, and increased MDA level. But the mechanisms underlying them need further exploration.

**Key words:** coal-fired fine particles; PM<sub>2.5</sub>; vascular endothelial cell; EA.hy926; oxidative injury

PM<sub>2.5</sub> 是大气颗粒物的主要组成部分和主要毒性组分,其主要来源于燃煤排放和汽车尾气.目前我国的大气污染虽然已从煤烟型转向煤烟和燃油复合型,但燃煤污染产生的 PM<sub>2.5</sub> 污染仍较为严重<sup>[1]</sup>.山西某煤烟型污染城市大气颗粒物污染源解析研究显示,在燃煤、土壤、建材、交通、冶金和燃油 6 种主要污染源中,燃煤源对大气颗粒物的平均贡献率最大,采暖期和非采暖期燃煤对 PM<sub>2.5</sub> 的贡献率分别为 35%~48%和 20%~42%<sup>[2]</sup>.研究显示,PM<sub>2.5</sub> 可到达细支气管及肺泡,通过肺部氧化应激炎症反应释放炎症因子和细胞因子介导心血管事件,部分组分(如水溶性过渡金属等)甚至可以穿过肺泡间质进入血液循环,直接影响心血管系统<sup>[2-4]</sup>.研究显示,PM<sub>2.5</sub> 可到达细支气管及肺泡,通过肺部氧化应激炎症反应释放炎症因子和细胞因子介导心血管事件,部分组分(如水溶性过渡金属等)甚至可以穿过肺泡间质进入血液循环,直接影响心血管系统<sup>[4]</sup>.研究选择大同散煤为样煤采集细颗粒物,以人脐静脉内皮细胞 EA.hy926 为研究对象,采用超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)及丙二醛(MDA)指标检测 PM<sub>2.5</sub> 不同组分对 EA.hy926 细胞氧化损伤程度的影响,以期探寻 PM<sub>2.5</sub> 对心血管细胞毒性的优势组分及进一步探讨燃煤 PM<sub>2.5</sub> 对心血管毒性机制提供参考.

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 试验细胞 人脐静脉血管内皮细胞株 EA.hy926 购自美国 ATCC 细胞库,增殖周期约为 31h.

1.1.2 仪器 PM<sub>2.5</sub> 撞击式中流量颗粒物采样器(78L/min),生物安全柜(美国 Thermo Forma 公

司),CO<sub>2</sub> 恒温培养箱(美国 Thermo Forma 公司),倒置显微镜(日本 OLYMPUS 公司,TH4-200),自动蒸汽灭菌锅(北京发恩科贸有限公司, D-1).

1.1.3 试剂 超氧化物歧化酶(SOD)试剂盒(南京建成生物工程研究所),丙二醛(MDA)试剂盒(南京建成生物工程研究所),谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)试剂盒(南京建成生物工程研究所).

### 1.2 方法

1.2.1 燃煤 PM<sub>2.5</sub> 的采集 以大同散煤为样煤,采用 PM<sub>2.5</sub> 撞击式中流量颗粒物采样器(78L/min)和直径 90mm 的石英纤维滤膜,利用固定源稀释通道对燃煤排放细颗粒物进行直接采集,具体方法参照文献<sup>[5]</sup>.

1.2.2 燃煤 PM<sub>2.5</sub> 全颗粒物、无机组分和有机组分的提取 全颗粒物提取采用超声水浴法,无机组分提取采用超声水浴提取后,0.22μm 过滤法,有机组分提取采用于索氏提取器法,具体方法参照文献<sup>[5]</sup>.全颗粒物和无机组分用灭菌 PBS 配制成 100,250,500,1000,2000μg/mL 的染毒母液备用,有机组分用色谱纯二甲亚砜(DMSO)配制成 100,250,500,1000,2000μg/mL 的染毒母液备用.

1.2.3 血管内皮细胞 EA.hy926 的培养 将冻存的 EA.hy926 细胞移入含 20%胎牛血清和 1%双抗的 DMEM 培养液中,在 37℃5%CO<sub>2</sub> 条件下培养复苏.具体方法见文献<sup>[5]</sup>.

1.2.4 细胞染毒和试验分组 将燃煤 PM<sub>2.5</sub> 全颗粒物、无机组分、有机组分染毒母液超声震荡 15min,依据 MTs 法检测燃煤 PM<sub>2.5</sub> 不同组分对 EA.hy926 细胞毒性影响数据,加入含 0.5% 胎牛血清的 DMEM 培养液 10 倍稀释,使终浓度为 10,25,50,100,200μg/mL,全颗粒物和无机组分以 PBS 为溶剂对照,有机组分以 DMSO 为溶剂对照.临用前超声 15min,弃去培养板中原培养液,加入

已配制好的终浓度染毒液,每个剂量设置 3 个平行样。

染毒 24h 后,按照氧化损伤效应指标测定试剂盒说明,取细胞上清液 1mL 加入 EP 管中,3000r/min,离心 15min,取上清用于氧化损伤试验。

1.2.5 氧化损伤效应指标测定 (1) SOD 活力测定:按照试剂盒说明中的操作步骤加样,混匀,室温放置 10min,设置钨灯,550nm 处,1cm 光径,蒸馏水调零,比色测 OD 值。每 mL 反应液中 SOD 抑制率达 50%时所对应的 SOD 量为一个 SOD 活力单位(U)。

(2) GSH-PX 测定:按照试剂盒说明中的操作步骤加样,混匀,室温静置 15min 后,412nm 处,1cm 光径,蒸馏水调零,测 OD 值。规定每 0.1mL 细胞上清液在 37℃ 反应 5min,扣除非酶促反应的作用,使反应体系中 GSH 浓度降低 1 $\mu$ mol/L 为一个酶活力单位。

(3) MDA 含量的测定:按照试剂盒说明中的操作步骤加样,旋涡混匀器充分混匀。试管口用保鲜膜封口,并针刺一小孔,置 95℃ 恒温水浴 40min。流水冷却后,波长 532nm 处,1cm 光径,蒸馏水调零,比色测 OD 值。

### 1.3 统计与分析

用 SPSS 18.0 软件进行统计处理,试验结果以“平均数 $\pm$ 标准差”表示。多个样本平均数的比较采用单因素方差分析,根据方差齐性检验结果,方差齐性时选择 LSD 法,方差不齐时选择 Tamhane's T2 法,统计检验水准  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 燃煤 PM<sub>2.5</sub> 各组份对 EA.hy926 细胞 SOD 含量的影响

燃煤 PM<sub>2.5</sub> 各组份对 EA.hy926 细胞染毒 24h 后,随着染毒剂量的增加,细胞上清液中 SOD 活力均下降,且与对照组之间比较有统计学差异( $P < 0.01$ ),存在剂量-反应关系。具体结果分别为全颗粒物(26.45~19.03U/mL)、无机组分(26.45~15.5U/mL)、有机组分(20.15~9.37U/mL)(表 1)。

相同剂量组比较,燃煤 PM<sub>2.5</sub> 各组份抑制 SOD 活力能力依次为:有机组分>无机组分>全颗粒物,同剂量组不同组份间的比较均有统计学差异( $P < 0.01$ )(表 1)。

表 1 燃煤细颗粒物不同组分染毒后细胞上清液中 SOD 的变化

Table 1 SOD contents of the different components of coal-fired PM<sub>2.5</sub> on EA.hy926 cells

剂量 ( $\mu$ g/mL)	SOD(U/mL)		
	全颗粒物	无机组分	有机组分
溶剂对照	26.45 $\pm$ 0.53(PBS)	26.45 $\pm$ 0.53(PBS)	20.15 $\pm$ 0.72(DMSO)
10	23.46 $\pm$ 0.43**	18.05 $\pm$ 0.29** $\Delta$ $\Delta$	15.1 $\pm$ 0.81** $\star\star\#$
25	21.19 $\pm$ 0.43**	17.8 $\pm$ 0.27** $\Delta$ $\Delta$	12.18 $\pm$ 0.35** $\star\star\#$
50	20.76 $\pm$ 0.78**	16.94 $\pm$ 0.27** $\Delta$ $\Delta$	11.82 $\pm$ 0.63** $\star\star\#$
100	19.78 $\pm$ 0.11**	16.32 $\pm$ 0.29** $\Delta$ $\Delta$	10.63 $\pm$ 0.61** $\star\star\#$
200	19.03 $\pm$ 0.29**	15.5 $\pm$ 0.45** $\Delta$ $\Delta$	9.37 $\pm$ 0.77** $\star\star\#$

注:数据为  $\bar{x} \pm s$ ,  $n=3$ 。\*为与溶剂对照组相比  $P < 0.05$ ; \*\*为  $P < 0.01$ 。

$\star$ 为相同剂量下,全颗粒物与有机组分相比  $P < 0.05$ ;  $\star\star$ 为  $P < 0.01$ 。 $\Delta$ 为相同剂量下,全颗粒物与无机组分相比  $P < 0.05$ ;  $\Delta\Delta$ 为  $P < 0.01$ 。 $\#$ 为相同剂量下,无机组分与有机组分相比  $P < 0.05$ ;  $\#\#$   $P < 0.01$ 。

### 2.2 燃煤 PM<sub>2.5</sub> 各组份对 EA.hy926 细胞 GSH-PX 含量的影响

和溶剂对照相比,燃煤 PM<sub>2.5</sub> 全颗粒物、无机组分和有机组分分别对 EA.hy926 细胞染毒后,随着染毒剂量的增加,细胞上清液中 GSH-Px 活力分别下降(71.16~17.68,71.16~13.05,65.13~13.47U/mL),除有机组分低浓度组(10,25 $\mu$ g/mL)外,各剂量组与溶剂对照组比较均有统计学差异( $P < 0.01$  或  $P < 0.05$ ),具有一定的剂量依赖性(表 2)。

同剂量组染毒,燃煤 PM<sub>2.5</sub> 各组份对细胞上清 GSH-Px 活力的影响程度依次为:低浓度(10 $\mu$ g/mL)时,无机组分>全颗粒物>有机组分,随着剂量增加,出现了无机组分>有机组分>全颗粒物。但相同剂量组染毒,全颗粒物和有机组分比较仅在 25、100 $\mu$ g/mL 剂量组有统计学差异;和有机组分相比,全颗粒物和无机组分分别仅在 10 $\mu$ g/mL 剂量组有统计学差异( $P < 0.01$  或  $P < 0.05$ )(见表 2)。可见,燃煤 PM<sub>2.5</sub> 各组份引起 GSH-Px 活力下降程度基本具有无机组分>有机组分>全颗粒物的趋势,但统计学意义不显著。

表 2 燃煤细颗粒物不同组分染毒后细胞上清液中 GSH-PX 的变化

Table 2 GSH-PX contents of the different components of coal-fired PM<sub>2.5</sub> on EA.hy926cells

剂量 (μg/mL)	GSH-Px(U/mL)		
	全颗粒物	无机组分	有机组分
溶剂对照	71.16±2.63(PBS)	71.16±2.63(PBS)	65.13±6.53(DMSO)
10	40.84±5.97**	34.52±1.46**	57.26±8.41 ☆##
25	41.68±2.19**	29.05±1.26** △	40.84±6.23
50	28.21±2.63**	24.84±1.93**	24.00±2.53**
100	21.89±1.93**	13.47±1.93** △	17.68±3.34**
200	17.68±3.34**	13.05±1.46**	13.47±1.93**

注: 数据为  $\bar{x} \pm s$ ,  $n=3$ . \* 为与溶剂对照组相比  $P<0.05$ ; \*\* 为  $P<0.01$ . ☆ 为相同剂量下, 全颗粒物与有机组分相比  $P<0.05$ ; ☆☆ 为  $P<0.01$ . △ 为相同剂量下, 全颗粒物与无机组分相比  $P<0.05$ ; △△ 为  $P<0.01$ . # 为相同剂量下, 无机组分与有机组分相比  $P<0.05$ , ##  $P<0.01$

### 2.3 燃煤 PM<sub>2.5</sub> 各组分对 EA.hy926 细胞 MDA 含量的影响

和溶剂对照相比, 燃煤 PM<sub>2.5</sub> 全颗粒物、无机组分和有机组分分别对 EA.hy926 细胞染毒后, 随着染毒剂量的增加, 细胞上清液中 MDA 含量分别有不同程度的增加 (2.91~7.23, 2.91~6.99, 3.22~5.40U/mL). 除无机组分低浓度组 (10, 25μg/mL) 和溶剂对照相比无统计学差异外, 其他不同组分各剂量组与溶剂对照组之间均有统计学差异 ( $P<0.01$  或  $P<0.05$ ) (表 3).

相同剂量组染毒, 燃煤 PM<sub>2.5</sub> 各组分对细胞上清 MDA 的影响程度没有一致性, 低浓度 (10, 25, 50μg/mL) 时, 有机组分 > 全颗粒物 > 无机组分, 随着剂量增加 (100, 200μg/mL), 逐渐出现了全颗粒物 > 无机组分 > 有机组分的趋势. 相同剂量组全颗粒物和无机组分比较, 分别在 (10, 25, 50, 100μg/mL) 具有统计学差异, 而在 200μg/mL 时无统计学意义; 和有机组分比较, 全颗粒物和无机组分分别在 (25, 100, 200μg/mL)、(10, 25, 50, 200μg/mL) 有统计学差异 ( $P<0.01$  或  $P<0.05$ ). 特别注意的是, 在 200μg/mL 剂量组和有机组分比较, 无机组分和全颗粒物 MDA 增加明显 ( $P<0.01$ ) (表 3). 可见, 燃煤 PM<sub>2.5</sub> 各组分所致的 MDA 含量大小存在低剂量组有机组分 > 全颗粒物 > 无机组分, 高剂量组全颗粒物 > 无机组分 > 有机组分趋势, 且具有

统计学意义. 从上述结果可以看出, 随着剂量增加, 全颗粒物和无机组分引起 MDA 含量明显增加, 而有机组分则变化趋于平缓.

表 3 燃煤细颗粒物不同组分染毒后细胞上清液中 MDA 的变化

Table 3 MDA contents of the different components of coal-fired PM<sub>2.5</sub> on EA.hy926cells

剂量(μg/mL)	MDA(nmol/mL)		
	全颗粒物	无机组分	有机组分
溶剂对照	2.91±0.43	2.91±0.43	3.22±0.23
10	4.37±0.42**	3.00±0.21 △	4.51±0.28**###
25	4.51±0.14**	3.52±0.14 △	4.79±0.14** ☆##
50	4.74±0.49**	3.76±0.35* △	4.93±0.14**###
100	6.29±0.22**	4.74±0.35** △	4.98±0.21** ☆☆
200	7.23±0.29**	6.99±0.78**	5.40±0.22** ☆☆ ##

注: 数据为  $\bar{x} \pm s$ ,  $n=3$ . \* 为与溶剂对照组相比  $P<0.05$ ; \*\* 为  $P<0.01$ . ☆ 为相同剂量下, 全颗粒物与有机组分相比  $P<0.05$ ; ☆☆ 为  $P<0.01$ . △ 为相同剂量下, 全颗粒物与无机组分相比  $P<0.05$ ; △△ 为  $P<0.01$ . # 为相同剂量下, 无机组分与有机组分相比  $P<0.05$ , ##  $P<0.01$

### 3 讨论

氧化和抗氧化系统的平衡是决定细胞生存状态的关键因素. 正常机体内有一套抗氧化防御系统, 来防止氧及其代谢产物对机体的损伤, 包括清除自由基, 如 SOD、GSH-Px 等; 自由基作用于脂质发生过氧化反应, 氧化终产物为 MDA, 会引起蛋白质、核酸等生命大分子的交联聚合, 且具有细胞毒性. MDA 的测定常常与 SOD 和 GSH-PX 的测定相互配合, MDA 的高低间接反应了机体细胞受自由基攻击的严重程度, 而 SOD、CAT 和 GSH-PX 活力的高低又反应了机体清除氧自由基的能力, 即机体抗氧化能力.

MDA 含量常常可反映机体内脂质过氧化的程度, 间接地反映出机体细胞受自由基损伤的严重程度. 正常和沙尘天气 PM<sub>2.5</sub> 暴露于大鼠肺泡巨噬细胞, 细胞内 MDA 和胞质游离 Ca<sup>2+</sup> 含量升高, 而谷胱甘肽 (GSH) 含量下降<sup>[6]</sup>. 油烟 PM<sub>2.5</sub> 有机成分对胎鼠肺泡 II 型上皮细胞 MDA 影响随着 PM<sub>2.5</sub> 染毒浓度的升高和染毒时间的延长而升

高<sup>[7]</sup>。PM<sub>2.5</sub>暴露对人体血液中MDA会产生影响,每增加10μg/m<sup>3</sup>,血液中MDA会增加3.7%,显示PM<sub>2.5</sub>暴露能诱导外周血的氧化应激<sup>[8]</sup>。然而也有研究表明,PM<sub>2.5-10</sub>和UFP导致了大鼠心脏中MDA增加1.5倍,而PM<sub>2.5</sub>暴露和心脏MDA变化无统计学意义,结论显示慢性暴露于PM<sub>2.5-10</sub>和UFP会对心肌相关疾病基因表达(细胞色素P450和硫氧还蛋白)产生直接影响<sup>[9]</sup>。颗粒物不同组分对MDA影响存在不一致性。有研究发现<sup>[10]</sup>,城市PM不同组分使脂质过氧化物MDA增加能力依次为:水溶组分>有机提取物>非水溶组分。而王伟等<sup>[11]</sup>测定PM<sub>2.5</sub>对中国仓鼠肺成纤维细胞(CHL)氧化损伤时,PM<sub>2.5</sub>导致MDA含量影响是:有机组分大于无机组分,但是尚不能认为氧化损伤指标间的差异具有统计学意义。上述研究结果的剂量-反应关系与实验相一致,随着剂量增加,燃煤PM<sub>2.5</sub>3种组分均会导致MDA含量增加,且均有剂量依赖性。但在相同剂量组,不同组分对MDA影响比较显示:低浓度时,有机组分>无机组分>全颗粒物,随着剂量增加,逐渐出现了全颗粒物>无机组分>有机组分,而且无机组分在较高剂量时增加明显,且均差异具有统计学意义。从上述结果可以看出,随着剂量增加,全颗粒物和无机组分引起MDA含量明显增加,而有机组分变化趋于平缓。这与他人研究结果存在差异,推测可能是PM<sub>2.5</sub>来源及组分不同所致。相比大气PM<sub>2.5</sub>,燃煤细颗粒物含有更多的痕量重金属成分(如As、Ni、V、Se、Cd、Pb、Cr等)和有机组分等<sup>[12]</sup>,能够刺激肺泡巨噬细胞产生自由基,对组织细胞造成进一步损伤,如脂质过氧化、膜上受体与酶类灭活、蛋白质损伤、DNA损伤和诱导细胞凋亡。

SOD是一种含有金属元素的活性蛋白酶,是人体内重要的抗氧化酶。人体内有两种SOD,一种是CuZn-SOD,另一种是Mn-SOD,两者之和为T-SOD。本实验检测了T-SOD。SOD是生物体内清除自由基(如超氧阴离子自由基等)的首要物质,活力越高表示清除自由基和抗氧化能力越强。GUTIÉRREZ-CASTILLO ME等人<sup>[10]</sup>发现,城市PM不同组分暴露可导致SOD活力降低的影响程度为:水溶组分>有机提取物>非水溶组分。

王伟等<sup>[11]</sup>在测定PM<sub>2.5</sub>对中国仓鼠肺成纤维细胞(CHL)氧化损伤时,PM<sub>2.5</sub>导致SOD活力影响是:有机>无机,但是尚不能认为氧化损伤指标间的差异具有统计学意义。油烟PM<sub>2.5</sub>有机组分能导致胎鼠肺泡II型上皮细胞SOD活力随着PM<sub>2.5</sub>染毒浓度的升高和染毒时间的延长而降低<sup>[7]</sup>。但动物实验研究<sup>[13]</sup>发现,随着PM<sub>2.5</sub>浓度增大,正常、沙尘暴天气PM<sub>2.5</sub>均可引起大鼠肺、肝脏SOD酶活性逐渐降低,而心脏SOD酶活性无显著性变化。大气PM<sub>2.5</sub>可诱导HUVECs的SOD活性呈剂量依赖性下降,其中相同剂量组染毒,水溶组分比有机组分对SOD活性抑制更强。燃烧源颗粒物排放会降低冠状动脉病人SOD及增加炎症反应和血小板活化<sup>[14]</sup>。本研究结果显示:和对照相比,随着剂量增加,燃煤PM<sub>2.5</sub>3种组分对SOD活性降低,且均有剂量依赖性,这与以上研究结论一致,但相同剂量组染毒,不同组分对SOD活性影响为有机组分>无机组分>全颗粒物( $P<0.01$ )。该结果与本实验MTS细胞毒性试验研究结果一致,但与以上其他人的研究结果有差别,推测可能是由于采用不同源PM<sub>2.5</sub>,其化学组成和携带的痕量重金属差异所致,大同市采暖期颗粒物中BaP、PAHs等有机组分及金属元素均大于非采暖期<sup>[15]</sup>,且秋季大气中Ni、Cu、Zn、As、Se、Br、Pb等在细粒子中富集程度较高,主要来源于燃煤尘、土壤尘和工业源<sup>[16]</sup>。另一方面本研究测的是细胞上清中的总SOD活力,而以上研究测的是细胞线粒体内SOD活力。

GSH-Px是机体内广泛存在的一种过氧化物分解酶,硒是GSH-Px酶系的组成成分,它能催化GSH变为GSSG,使有毒的过氧化物还原成无毒的羟基化合物,同时促进H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>的分解,从而保护细胞膜的结构及功能不受过氧化物的干扰及损害。GSH-Px的生理功能主要是催化GSH参与过氧化反应,清除在细胞呼吸代谢过程中产生的过氧化物和羟自由基,从而减轻细胞膜多不饱和脂肪酸的过氧化作用。GSH是一种低分子清除剂,GSH-Px活力和GSH量的多少可衡量机体抗氧化能力。孟紫强等<sup>[13]</sup>研究发现,随着PM<sub>2.5</sub>浓度增大,正常天气和沙尘PM<sub>2.5</sub>使大鼠肺脏GSH含

量呈剂量依赖性降低,使肝脏 GSH 含量出现先升高后降低的非线性变化特征,而心脏 GSH 含量无显著性变化。正常天气 PM<sub>2.5</sub> 比沙尘暴 PM<sub>2.5</sub> 对肺、肝脏 GSH 含量的影响较大,但同剂量 2 种来源 PM<sub>2.5</sub> 对 3 种脏器 GSH 酶活性的影响均无显著性差异。油烟 PM<sub>2.5</sub> 有机组分能导致胎鼠肺泡 II 型上皮细胞 GSH 活力随着 PM<sub>2.5</sub> 染毒浓度的升高而降低,并未存在时间剂量关系<sup>[7]</sup>。本实验结果显示:各组分的 GSH-Px 虽然随着燃煤 PM<sub>2.5</sub> 浓度增加逐渐降低,存在剂量反应关系,这与以上研究的结果具有一致性,但同剂量染毒,低浓度 (10μg/mL) 时,无机组分>全颗粒物>有机组分,随着剂量增加,出现了无机组分>有机组分>全颗粒物,不同组分之间的差异没有统计学意义,尚不能认为不同组分对 GSH-Px 活力影响有差别。

## 4 结论

4.1 燃煤 PM<sub>2.5</sub> 各组分对 EA.hy926 细胞染毒 24h 后,随着染毒剂量的增加,细胞上清液中 SOD 活力均下降,与对照组相比差异显著,而相同剂量组比较,其抑制 SOD 活力能力依次为:有机组分>无机组分>全颗粒物,且相同剂量组不同组分间的比较均有统计学差异。

4.2 燃煤 PM<sub>2.5</sub> 各组分对 EA.hy926 细胞染毒 24h 后,随着染毒剂量的增加,GSH-Px 活力均下降,具有剂量依赖性,引起 GSH-Px 活力下降程度基本具有无机组分>有机组分>全颗粒物的趋势,但统计学意义不显著。

4.3 和溶剂对照相比,燃煤 PM<sub>2.5</sub> 全颗粒物、无机组分和有机组分分别对 EA.hy926 细胞染毒后,随着染毒剂量的增加,MDA 含量分别有不同程度的增加,各组分所致的 MDA 含量大小存在低剂量组有机组分>全颗粒物>无机组分,高剂量组全颗粒物>无机组分>有机组分趋势,随着剂量增加,全颗粒物和无机组分引起 MDA 含量明显增加,而有机组分则变化趋于平缓。

## 参考文献:

[1] 吕建,李定凯,吕子安.燃烧过程颗粒物的形成及我国燃烧源分析[J].环境污染治理技术与设备,2006,7(5):43-45.

- [2] Brook R D, Franklin B, Cascio W, et al. Air pollution and cardiovascular disease A statement for healthcare professionals from the expert panel on population and prevention science of the American Heart Association [J]. *Circulation*, 2004,109(21):2655-2671.
- [3] Nemmar A, Hoet P H M, Vanquickenborne B, et al. Passage of inhaled particles into the blood circulation in humans [J]. *Circulation*, 2002,105(4):411-414.
- [4] Nogueira J B. Air pollution and cardiovascular disease [J]. *Rev. Port Cardiol.*, 2009,28(6):715-733.
- [5] 刘芳盈,丁明玉,王菲菲,等.燃煤 PM<sub>2.5</sub> 不同组分对血管内皮细胞的毒性 [J]. *环境与健康*, 2011,24(6):684-690.
- [6] 耿红,孟紫强,张全喜.沙尘暴细颗粒物对大鼠肺泡巨噬细胞钙水平和脂质过氧化的影响 [J]. *环境科学学报*, 2005,25(6):845-850.
- [7] 王勇,操基玉,郭冬梅,等.油烟中细颗粒物致胎鼠肺泡 II 型上皮细胞氧化应激指标的影响 [J]. *环境与健康杂志*, 2010,10:872-875.
- [8] Rensen S M, Daneshvar B, Hansen M, et al. Personal PM<sub>2.5</sub> exposure and markers of oxidative stress in blood [J]. *Environmental Health Perspectives*, 2003,111(2):161-166.
- [9] Simkhovich B Z, Kleinman M T, Mehrian-Shai R, et al. Chronic exposure to ambient particulate matter alters cardiac gene expression patterns and markers of oxidative stress in rats [J]. *Air Quality, Atmosphere and Health*, 2011,4(1):15-25.
- [10] Gutiérrez-Castillo M E, Roubicek D A, Cebrián-García M E, et al. Effect of chemical composition on the induction of DNA damage by urban airborne particulate matter [J]. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 2006,47(3):199-211.
- [11] 王伟,程硕,谈明光,等.上海市吴淞地区大气 PM<sub>2.5</sub> 两种提取成分的细胞毒性研究 [J]. *环境与职业医学*, 2005,22(4):15-18.
- [12] Ball B R, Smith K R, Veranth J M, et al. Bioavailability of iron from coal fly ash:mechanisms of mobilization and of biological effects [J]. *Lillalation Toxicology*, 2000,12:209-22.
- [13] 孟紫强,张全喜.沙尘暴 PM<sub>2.5</sub> 对大鼠肺、心、肝组织的氧化损伤效应 [J]. *卫生研究*, 2006,35(6):690-693.
- [14] Delfino R J, Staimer N, Tjoa T, et al. Circulating biomarkers of inflammation, antioxidant activity, and platelet activation are associated with primary combustion aerosols in subjects with coronary artery disease [J]. *Environmental Health Perspectives*, 2008,116(7):898-906.
- [15] 赵起越,张颖川,丁中华,等.大同市大气颗粒物中苯并(a)芘的日变化研究 [J]. *北方环境*, 2004,29(4):17-20.
- [16] 张仁健,石磊,荆俊山,等.大同市秋季大气气溶胶化学成分及来源解析 [J]. *中国粉体技术*, 2009,15(2):7-9.

作者简介:王菲菲(1978-),女,山西太原人,高级工程师,主要从事环境毒理学研究.发表论文 8 篇。