

【论文荟萃】

文章编号:1001-5914(2008)01-0067-02

# 沙尘暴细颗粒物致大鼠肺细胞 DNA 损伤研究

徐大琴,牛静萍,万学中,王燕侠,陈晓燕,徐佳

**摘要:**为探讨沙尘暴细颗粒物(PM<sub>2.5</sub>)对大鼠肺细胞 DNA 的损伤作用。将清洁级 Wistar 大鼠随机分为 12 组,每组 6 只,采用气管注入法染毒,分别灌注 0、1.5、7.5、37.5 mg/kg 的颗粒物悬液,在灌注 12、24、48 h 后分别处死大鼠,采用单细胞凝胶电泳(SCGE)技术检测肺细胞 DNA 的损伤。结果显示,不同染毒时间,1.5、7.5、37.5 mg/kg 的颗粒物悬液均可引起大鼠肺细胞 DNA 损伤,且随剂量增加损伤作用增大。在 1.5 和 7.5  $\mu\text{g}/\text{ml}$  组,不同染毒时间 DNA 迁移长度不同,但随时间的延长不呈时间-效应关系。染毒 12 h DNA 拖尾最长,48 h 次之,24 h 最短。不同浓度沙尘暴 PM<sub>2.5</sub> 对大鼠肺细胞 DNA 损伤具有剂量-效应关系;沙尘暴 PM<sub>2.5</sub> 作用 12 h 时对大鼠肺细胞 DNA 损伤最强。

**关键词:**空气污染;颗粒物;沙尘暴;呼吸系统

**中图分类号:**R994.6

**文献标识码:**A

近半个世纪以来,沙尘暴发生强度和次数在我国呈明显上升趋势<sup>[1]</sup>,已有研究表明沙尘暴颗粒物具有肺毒性<sup>[2-4]</sup>。动物实验也表明,沙尘暴细颗粒物(PM<sub>2.5</sub>)可影响巨噬细胞的吞噬功能,诱导巨噬细胞分泌炎症因子<sup>[5-7]</sup>,还可对巨噬细胞产生氧化损伤,使其存活率下降<sup>[8]</sup>。本研究采用单细胞凝胶电泳(SCGE)技术,探讨不同染毒浓度沙尘暴细颗粒物分别在灌注 12、24、48 h 后对大鼠肺细胞 DNA 的损伤作用。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要仪器与试剂

TH-150C Ⅲ型大气总悬浮颗粒物智能中流量采样器(武汉天虹仪器厂),HH-WZI-Cr600 型电热恒温水箱(北京长安科学仪器厂),DYY-Ⅲ型水平电泳仪(北京六一仪器厂),Olympus 荧光显微镜,超细玻璃纤维滤膜(武汉天虹仪器厂)。正常熔点琼脂糖(NMA)、低熔点琼脂糖(LMA)、溴化乙锭(EB)、二甲基亚砜(DMSO)等均购自 Sigma 公司,其他试剂均为国产分析纯。

### 1.2 采样方法

于 2006 年 3 月 13 日—5 月 27 日,采用 TH-150C Ⅲ型大气总悬浮颗粒物智能中流量采样器,在沙尘暴频发地区——民勤县采样。采样器放置在距地面高度约 3 m 的屋顶上,其四周无交通干线及工厂;采样滤膜均为洁净超细玻璃纤维滤膜。

### 1.3 颗粒物的处理

将采样后的滤膜放入超纯水中,超声振荡 30 min 后,将振荡液用 6 层无菌纱布过滤,真空冷冻干燥 24 h,称重,生理盐水配制成不同浓度的颗粒物悬液,并经高压灭菌 15 min,4℃备用。

### 1.4 动物分组及染毒

将清洁级健康成年雄性 Wistar 大鼠(兰州大学医学实验中心,甘医动字第 14-006,SCXK(甘)2005-2007),体重 180~250 g,随机分为 12 组,每组 6 只。采用气管注入法进行染毒,染毒剂量分别为 1.5、7.5、37.5 mg/kg,对照组(0 mg/kg 组)灌注等量生理盐水。分别于灌注 12、24、48 h 后处死大鼠。

### 1.5 单细胞悬液的制备

取出肺组织,加入少量 PBS;用眼科剪将组织剪至匀浆状,加入 10 ml PBS;用 200 目尼龙网过滤到试管内;1 500 r/min,离心 3 min( $r=11.5\text{ cm}$ ),再用 PBS 洗 3 次,低速离心除去细胞碎片,作细胞计数并调整细胞浓度为  $2\times 10^5\sim 5\times 10^5$  个/ml。

### 1.6 单细胞凝胶电泳(SCGE)

实验方法参照文献[6],EB 染色后的样本应尽快在荧光显微镜下观察电泳图象。

### 1.7 统计学处理

实验数据以  $\bar{x}\pm s$  表示,应用 SPSS 10.0 统计软件进行方差分析,两两比较采用  $q$  检验。

## 2 结果

表 1 可见,在 12、24、48 h 各时间段,随着 PM<sub>2.5</sub> 浓度增大,肺细胞 DNA 损伤程度有增加的趋势。与对照组(0 mg/kg)比较,染毒 12 和 24 h 时,7.5 和 37.5 mg/kg 组 DNA 迁移长度增加,差异均有统计学意义(均  $P<0.01$ );染毒 48 h 时,1.5、7.5、37.5 mg/kg 组 DNA 迁移长度增加,差异均有统计学意义( $P<0.05$  或  $P<0.01$ )。表 1 可见,染毒 12 h DNA 拖尾最长,48 h 次之,24 h 最短,说明 12 h 的氧化损伤的程度较 24 h 和 48 h 重,24 h 氧化损伤的程度较 48 h 轻。在 1.5 mg/kg 组,与染毒 12 h 比较,染毒 24 和 48 h DNA 损伤程度减轻,差异有统计学意义(均  $P<0.01$ )。在 7.5 mg/kg 组,与染毒 12 h 比较,染毒 24 h DNA 损伤程度减轻,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。不同浓度染毒组的 DNA 损伤程度随时间的延长不具有时间-效应关系。

表 1 不同浓度的 PM<sub>2.5</sub> 作用不同时间对大鼠肺细胞 DNA 迁移长度的影响 ( $n=6, \bar{x}\pm s, \mu\text{m}$ )

剂量(mg/kg)	12 h	24 h	48 h
0	15.75 $\pm$ 5.00	16.50 $\pm$ 5.45	17.00 $\pm$ 4.76
1.5	33.50 $\pm$ 3.71	17.50 $\pm$ 1.73 <sup>△△</sup>	27.50 $\pm$ 4.20 <sup>*△△</sup>
7.5	53.75 $\pm$ 2.46 <sup>**</sup>	24.50 $\pm$ 4.58 <sup>**△</sup>	28.50 $\pm$ 3.05 <sup>*</sup>
37.5	48.75 $\pm$ 3.32 <sup>**</sup>	36.25 $\pm$ 5.42 <sup>**</sup>	43.25 $\pm$ 2.06 <sup>**</sup>

注:同一染毒时间,与对照(0 mg/kg)组比较,<sup>\*</sup> $P<0.05$ ,<sup>\*\*</sup> $P<0.01$ ;同一染毒剂量,与染毒 12 h 比较,<sup>△</sup> $P<0.05$ ,<sup>△△</sup> $P<0.01$ 。

## 3 讨论

Sagai 等<sup>[7]</sup>发现 PM<sub>2.5</sub> 具有产生活性氧( $\cdot\text{ROS}$ )的能力,PM<sub>2.5</sub>

基金项目:兰州大学医学科研基金资助项目(LZUYX200621)

作者单位:兰州大学公共卫生学院劳动卫生与环境卫生学研究所(甘肃兰州 730000)

作者简介:徐大琴(1981-),女,硕士研究生,主要从事环境毒理学研究。

通讯作者:牛静萍, E-mail: niujingp@lzu.edu.cn

自身还具有自由基活性,可作用于上皮细胞和巨噬细胞,使它们释放活性氧和活性氮,NO 作为自由基可同氧自由基相互作用而损害细胞本身及邻近的细胞。Penning 等<sup>[9]</sup>认为摄入体内的 PM2.5 到达肺组织后,激活肺泡巨噬细胞上的一氧化氮合酶(NOS),产生的 NO 与 ROS 中极不稳定的 O<sub>2</sub><sup>-</sup>·形成稳定的 ONOO<sup>-</sup>,而 ONOO<sup>-</sup>也可直接攻击细胞生物大分子 DNA,使其受到损伤;另外 PM2.5 还可以通过引起肺细胞膜的脂质过氧化,使组织的抗氧化能力减弱或氧应激增强,破坏体内氧化抗氧化系统的平衡,导致氧化损伤进而造成大鼠脂质过氧化损伤,使抗氧化酶活力降低,导致细胞膜功能系统受损,免疫功能下降,从而干扰正常的生理功能。本研究显示,12、24、48 h 各时间段的不同浓度的 PM2.5 对肺细胞 DNA 有损伤,且随沙尘暴细颗粒物浓度的增加,损伤作用明显,说明低浓度的沙尘暴细颗粒物就可以引起大鼠肺细胞 DNA 损伤,浓度越大,损伤越明显。其可能的机制为 PM2.5 吸附性强,可携带重金属、硫酸盐、有机物、病毒等进入呼吸道和肺部,从而引起肺细胞膜的脂质过氧化,减弱组织的抗氧化能力,导致大鼠脂质过氧化损伤;吸入的细颗粒物越多,则其携带的物质越多,成分越复杂,则对肺细胞膜的氧化损伤越大。

本研究发现,在 1.5 和 7.5 μg/ml 组,不同染毒时间 DNA 迁移长度不同,差异均有统计学意义(P<0.05 或 P<0.01),但随时间的延长不呈时间-效应关系。且染毒 12 h DNA 拖尾最长,48 h 次之,24 h 最短,说明染毒 12 h 造成的 DNA 氧化损伤程度较 24 和 48 h 重,染毒 24 h 造成的 DNA 氧化损伤程度较 48 h 轻。其可能是 12 h 时沙尘暴进入肺组织,其表面携带的物质使得组织的抗氧化能力逐渐减弱,氧化应激逐渐增强,导致体内氧化抗氧

化系统失去平衡,对细胞产生毒性;24 h 时氧化应激水平降低,PM2.5 对肺细胞 DNA 损伤较 12 h 时轻;48 h 时一方面体内的氧化应激水平进一步降低,另一方面随着时间的延长,体内吸入的沙尘暴 PM2.5 的量逐渐增多,携带的引起肺细胞膜的脂质过氧化物越多,对肺细胞膜的氧化损伤增大。另外,细胞毒性还依赖于颗粒物的表面积,颗粒物粒径越小表面积就越大,其有害物质就易与组织细胞结合发挥其毒性作用。对于沙尘暴 PM2.5 对肺组织的更深一步毒理作用机制,需要和其在传输过程中携带何种成分结合分析。

# 参考文献:

- [1]周自江.近 45 年中国扬尘和沙尘暴天气[J].第四纪研究,2001,21(1):9-17.
- [2]连兵,徐国刚,张学书,等.沙漠尘毒性及潜在致纤维化作用的实验研究[J].卫生毒理学杂志,1995,9(4):223-235.
- [3]黄雪莲,金昱,郭新彪,等.沙尘暴 PM10、PM2.5 对大鼠肺泡巨噬细胞吞噬功能的影响[J].卫生研究,2004,33(2):154-157.
- [4]黄雪莲,金昱,郭新彪,等.沙尘暴 PM10、PM2.5 对大鼠肺泡巨噬细胞炎性因子分泌的影响[J].环境与健康杂志,2004,21(1):38-40.
- [5]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.
- [6]孟紫强,张连珍.应用彗星试验研究细胞 DNA 损伤的原理与方法[J].中国公共卫生,1998,14(7):425-427.
- [7]Sagai M, Lim HB, Ichinose T. Lung carcinogenesis by diesel exhaust particles and the carcinogenic mechanism via active oxygens [J]. Inhalation Toxicol,2000, 12: 215-223.
- [8]Penning T. Dihydrodiol dehydrogenases and polycyclic aromatic hydrocarbon activation: generation of reactive and redox active o-quinones [J]. Chem Res Toxicol,1999,12:1-8.

(收稿日期:2007-11-20)

(本文编辑:高申)

## 2007 年版中国科技期刊引证报告“预防医学与卫生学类期刊总被引频次和影响因子排序表”

期刊名称	总被引频次		影响因子		期刊名称	总被引频次		影响因子	
	数值	学科排名	数值	学科排名		数值	学科排名	数值	学科排名
工业卫生与职业病	320	33	0.223	29	中国防痨杂志	792	11	0.551	9
华南预防医学	369	30	0.302	23	中国工业医学杂志	405	24	0.245	27
环境与健康杂志	748	13	0.462	12	中国公共卫生	2 314	3	0.358	17
环境与职业医学	371	29	0.327	19	中国慢性病预防与控制	493	21	0.310	21
疾病控制杂志	397	26	0.304	22	中国热带医学	354	31	0.161	33
解放军预防医学杂志	406	23	0.279	26	中国食品卫生杂志	420	22	0.502	10
热带病与寄生虫学	31	35	0.134	34	中国卫生统计	383	28	0.338	18
热带医学杂志	399	25	0.373	16	中国消毒学杂志	538	17	0.669	7
实用预防医学	715	14	0.207	30	中国学校卫生	1 185	4	0.380	15
卫生研究	900	9	0.464	11	中国职业医学	517	19	0.292	25
现代预防医学	668	15	0.174	32	中华传染病杂志	1 158	5	0.889	5
营养学报	926	8	0.594	8	中华结核和呼吸杂志	3 879	1	1.171	2
预防医学情报杂志	385	27	0.238	28	中华劳动卫生职业病杂志	768	12	0.444	13
职业与健康	547	16	0.067	35	中华流行病学杂志	2 416	2	1.299	1
中国艾滋病性病	808	10	0.726	6	中华实验和临床病毒学杂志	503	20	0.400	14
中国病原生物学杂志	530	18	0.327	19	中华卫生杀虫药械	106	34	0.300	24
中国地方病防治杂志	351	32	0.181	31	中华预防医学杂志	1 018	7	0.947	3
中国地方病学杂志	1 101	6	0.899	4					