

沙尘与非沙尘 $PM_{2.5}$ 对人肺成纤维细胞存活率及细胞间通讯的影响

王菲菲 郑灿军 郭新彪¹
北京大学公共卫生学院, 北京 100083

摘要:目的 探讨沙尘与非沙尘 $PM_{2.5}$ 对人肺成纤维细胞存活率及细胞间通讯的影响。方法 使用沙尘与非沙尘 $PM_{2.5}$ 的全颗粒、无机提取物和有机提取物,按它们在 $PM_{2.5}$ 中的质量比例,确定各自的染毒浓度。受试物处理细胞 24 小时后,采用 MTT 法测定细胞的存活率,并用划痕染料标记示踪法测定细胞缝隙连接通讯(GJIC)水平。结果 在按上述确定的染毒浓度范围,沙尘和非沙尘全颗粒、沙尘无机提取物表现出明显的细胞毒性,有剂量-反应关系,且沙尘全颗粒的毒性最大。细胞划痕实验结果显示,沙尘和非沙尘 $PM_{2.5}$ 的全颗粒及其提取物均可抑制细胞间荧光扩散,抑制作用随剂量增高而增强,且有机提取物的抑制作用最强,其次是全颗粒,再次为无机提取物。结论 颗粒物的来源和成分是影响其毒性的的重要因素;沙尘与非沙尘 $PM_{2.5}$ 都能抑制细胞间通讯,GJIC 可能为颗粒物的毒性机制之一。

关键词: $PM_{2.5}$ 人肺成纤维细胞 毒性 细胞缝隙连接通讯 沙尘暴
中图分类号: R994.6 R56 X513 **文献标识码:** A

Effect of $PM_{2.5}$ collected during the dust and non-dust periods on the viability and gap junctional intercellular communication in human lung fibroblasts

Wang Fei-fei, Zheng Can-jun, Guo Xin-biao
School of Public Health, Peking University, Beijing 100083, China

Abstract: **Objective** To investigate the effects of $PM_{2.5}$ collected during the dust and non-dust periods on the viability and gap junctional intercellular communication (GJIC) in human lung fibroblasts. **Methods** Human lung fibroblasts were treated with $PM_{2.5}$ suspension and its organic and inorganic extracts at various concentrations for 24 h. The cellular viability was measured with MTT methods, and the GJIC between human lung fibroblasts was detected by the scrape loading dye transfer assay. **Results** $PM_{2.5}$ suspension from both sources and the inorganic extracts of dust $PM_{2.5}$ significantly decreased the viability of human lung fibroblast in a dose-dependent manner. Compared with other preparations, the dust $PM_{2.5}$ suspension had the highest effect. Gap junctional intercellular communication between human lung fibroblasts was significantly inhibited by the different composition of $PM_{2.5}$ from both sources in a dose-dependent manner. The inhibitory effects on GJIC were in the order of organic extract of $PM_{2.5}$ > suspension > inorganic extract. **Conclusion** Composition and source of $PM_{2.5}$ are important factors which influence the toxic effects on cells. The composition of $PM_{2.5}$ from both sources can inhibit GJIC, suggesting decreasing GJIC may be related to the biological mechanisms of toxicity caused by $PM_{2.5}$.

Key words: $PM_{2.5}$, human lung fibroblast, viability, gap junctional intercellular communication, dust storm

几十年来,学者们已对大气颗粒物做了很多研究,大量的流行病学资料和毒理学实验结果表明大气颗粒物污染与呼吸道、心血管系统疾病有很大关系。沙尘暴是一种对人类产生危害的天气现象。按中国气象局的分类标准,沙尘天气分为浮尘、扬沙、沙尘暴和强沙尘暴四类。近年来,中国沙尘暴的发生频率呈上升趋势且波及的范围越来越广,造成的损失越

来越严重。2000 年 3 月 21 日,甘肃省武威市出现沙尘天气时大气总悬浮颗粒物浓度最高达 $13.84\text{mg}/\text{m}^3$,超过国家二级标准 45 倍。受这次沙尘暴影响,3 月 22 日北京可吸入颗粒物全市平均浓度最大值达 $1.49\text{mg}/\text{m}^3$ [1]。华盛顿地区的颗粒物监测结果显示,沙尘天气期间 $PM_{2.5}$ 浓度较之非沙尘天气显著增加 [2]。文献报道沙尘暴颗粒物与肺纤维化、风湿病、黑热病以及肺炎等有关 [3]。Bener 和 Martinez-Ordaz 等的研究均认为沙尘暴是哮喘发病的一个重要的危险因素 [4,5]。台北和韩国的研究都表明,亚洲沙尘暴与死亡率的增高有关联,尤其大大增高呼吸和心血管疾病死亡的危险性 [6,7]。兰州市的研究表明,沙尘天气与呼吸道疾病发病人数呈显著正相关 [8]。沙尘暴颗

基金项目:国家自然科学基金项目资助 (No. 30230310; No. 30571534)

作者简介:王菲菲,女,硕士研究生

1 通讯作者

颗粒物可经过长距离传输进入人口密集的城市,且其重要组成部分PM_{2.5}由于粒径小可进入下呼吸道,沉积在肺泡,其中的超细颗粒物甚至可通过肺泡进入体循环。由此可见,沙尘与非沙尘天气的大气颗粒物在生物效应上有什么差异亟待进行探讨。目前国内关于沙尘暴颗粒物的毒理学研究并不多见。给肺性高血压大鼠染毒沙尘暴颗粒物,结果发现动物外周血白细胞和肺泡灌洗液中的总细胞数、中性粒细胞的比例、总蛋白、LDH活性、IL-6都随着染毒剂量的增加而增加,提示颗粒物可诱发肺部和全身性的炎症反应^[9]。作者最近的研究显示,沙尘暴颗粒物可对人肺成纤维细胞、肺泡巨噬细胞产生明显毒性,且PM_{2.5}的毒性大于PM₁₀;沙尘暴颗粒物还可导致巨噬细胞吞噬能力降低,促进巨噬细胞释放NO、IL-8、TNF- α 等炎症因子^[10-12]。

本研究以沙尘与非沙尘细颗粒物(PM_{2.5})为实验样品,分别提取样品各个组分,通过体外实验观察它们对人肺成纤维细胞的细胞毒性及对细胞缝隙连接通讯的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验细胞 人肺成纤维细胞(human lung fibroblast, HLF)由军事医学科学院提供,增殖周期为24~36h。

1.1.2 颗粒物的采集 颗粒物由北京大学环境学院胡敏教授提供。采样地点位于腾格里沙漠附近的甘肃省武威市,采样仪器离地面10m,周围无高大建筑物阻挡,也无重大污染源。采样时间为2004年3~5月,采用PM_{2.5}大流量大气采样器(Thermo Andersen)连续采样,以石英纤维滤膜(美国Whatman公司)收集颗粒物,每天换膜1张。本研究根据当地气象部门和环保检测站资料,结合国家《环境空气质量标准》(GB3095-1996)和《沙尘天气预警业务服务暂行规定(修订)》(气发[2003]12号),将样品分为沙尘颗粒物和沙尘非颗粒物。

1.1.3 主要试剂 DMEM培养基(Gibco,美国),小牛血清(天津市财慧生化制品厂),二氯甲烷(Sigma,美国),二甲基亚砜DMSO(AMRESCO,美国),四甲基偶氮唑盐MTT(Sigma,美国),乳酸脱氢酶试剂盒LDH(北京北化康泰临床试剂有限公司),荧光黄LY(Sigma,美国),12-O-四癸酰基-佛波-13-乙酸酯TPA(Sigma,美国)。

1.1.4 主要仪器 TP150型超声波清洗机(天鹏电子新技术北京有限公司),Alpha-24冷冻干燥机(德国Christ公司),BF2000氮气吹干仪(北京八方世纪公司),Bio-Rad550型酶联免疫检测仪(美国Bio-Rad公司),UFX-II型荧光显微镜(日本尼康公司),Q550CW图象分析系统(德国Leica公司)。

1.2 方法

1.2.1 PM_{2.5}样品的制备 将采样后的玻璃纤维膜在20℃,相对湿度45%的条件下平衡24h,用万分之一分析天平称取膜的重量,记录。将膜等分为3等分分别用于不同样品的制备。

1.2.1.1 全颗粒悬液的制备^[13] 用干净消毒的手术剪将一份膜剪成小块后放入洁净烧杯中,加入90ml的消毒去离子水,并用保鲜膜封口。水浴超声提取20分钟。用干净消毒的镊子将膜捞出,放在干燥器干燥。干燥完同样在20℃,相对湿度45%的条件下平衡24h,同一天平称重并记录。将提取液冷冻干燥24h,称重。用灭菌PBS配制成不同浓度贮备液,

-20℃避光保存。

1.2.1.2 颗粒物无机提取物的制备 前面操作同上。将提取液用0.45 μ m水系过滤头过滤,将过滤液冷冻干燥24h,称重。用灭菌PBS配制成不同浓度贮备液,-20℃保存。

1.2.1.3 颗粒物有机提取物的制备^[14,15] 用干净消毒的手术剪将一份膜剪成小块后放入洁净烧杯中,加入30ml的二氯甲烷并用铝箔封口。在水浴中进行超声提取20min,将提取液倒出到洁净烧杯中。操作再重复进行两次。最后将总的提取液超声混匀。用干净消毒的镊子将膜捞出,处理同上。将提取液过滤,将过滤液氮气吹干,称重,用色谱纯DMSO配制成不同浓度贮备液,-4℃避光保存。

1.2.1.4 染毒浓度系列的配制 根据计算,本次样品沙尘PM_{2.5}不同组分的质量比(全颗粒:无机提取物:有机提取物)为1.0、0.14、0.06,非沙尘为1.0、0.48、0.16。

按照上述比例,将不同组分配制成不同浓度的贮备液,实验时根据需要用无血清培养基稀释到所需染毒浓度。临用前超声震荡10min。

1.2.2 细胞培养 将HLF细胞于含10%小牛血清的DMEM培养液,37℃,5%CO₂条件下培养,当细胞达到80%融合时,以0.25%胰酶消化,1:3传代。

1.2.3 细胞毒性的测定 采用MTT法,即四甲基偶氮唑蓝微量酶反应比色法。参照Mosmann^[16]的方法,将生长良好细胞制成1 \times 10⁶/ml细胞悬液,以每孔200 μ l接种于96孔板,放入孵箱中培养24小时后,分别加入沙尘与非沙尘PM_{2.5}不同组分浓度系列染毒24小时。沙尘全颗粒的终浓度分别为30、60、90、120、150 μ g/ml,有机提取物分别为1.8、3.6、5.4、7.2、9 μ g/ml,无机提取物分别为4.2、8.4、12.6、16.8、21 μ g/ml;非沙尘全颗粒的终浓度分别为30、60、90、120、150 μ g/ml,有机提取物分别为4.8、9.6、14.4、19.2、24 μ g/ml,无机提取物分别为14.4、28.8、43.2、57.6、72 μ g/ml。全颗粒和无机提取物以PBS作溶剂对照,有机提取物以DMSO作溶剂对照,每个浓度4个平行样。染毒结束前4小时加入MTT,染毒结束后加入二甲基亚砜充分振荡溶解,用酶联免疫检测仪测吸光度(A₅₇₀)。实验重复两次后整理分析数据。

1.2.4 缝隙连接通讯(GJIC)的测定 采用划痕染料标记示踪法^[17]。将生长良好细胞制成1 \times 10⁶/ml细胞悬液,以每孔2ml接种于6孔板,培养24小时后细胞生长融合,加入剂量为5、10、15 μ g/ml的沙尘与非沙尘PM_{2.5}不同组分样品,染毒24小时,其中全颗粒和无机提取物以PBS作阴性对照,有机提取物以DMSO做阴性对照,而阳性对照TPA则以浓度100ng/ml接触细胞1h。每个浓度3个平行样。染毒结束后弃去培养液,用PBS洗涤3次,加入1ml的0.5mg/ml的荧光黄染料,用手术刀片在培养板底部轻柔划痕2条,然后将细胞置于37℃接触染料10min。吸出染液,PBS冲洗3次,以除去游离的荧光黄染料及脱落的细胞,加入4%甲醛固定。细胞间荧光染料的扩散情况用荧光显微镜观察并拍照,用图象分析系统测量3 μ m划痕两侧染料扩散的面积(μ m²)。实验重复两次后整理分析数据。

1.3 统计分析

应用EXCEL进行数据整理,SPSS10.0进行描述性统计分析,t检验以及单因素方差分析(方差齐时用S-N-K法,方差不齐则用Dunnets's t法)。

2 结果

2.1 沙尘和非沙尘 PM_{2.5}不同组分的细胞毒性

表 1 显示沙尘全颗粒在 60~150μg/ml 剂量范围内表现出明显的细胞毒性,且随着剂量的增加,毒性也明显增强;沙尘无机提取物在 12.6~21.0μg/ml 剂量出现明显的细胞毒性,同样毒性随剂量增加而增大;沙尘有机提取物在所测剂量范围未见明显的细胞毒性。而且,在相同全颗粒物当量染毒浓度,3 种样品的毒性有差异,沙尘全颗粒的毒性最大,具有统计学意义;无机提取物与有机提取物的比较差别无显著性。

表 2 的显示,非沙尘全颗粒则在 120μg/ml 和 150μg/ml 剂量出现明显毒性,;沙尘无机提取物和有机提取物则在染毒的最高剂量下表现出明显毒性,且在相同全颗粒物当量染毒浓度下,3 种样品的毒性区别不大。

比较表 1 与表 2,可知沙尘全颗粒的毒性显著高于非沙尘全颗粒。

表 1 沙尘 PM_{2.5}不同组分的细胞毒性
Table 1 Cytotoxicity of the different composition of PM_{2.5} collected in the dust periods (n = 8, $\bar{x} \pm s$)

Group	C/ μg·ml ⁻¹	A ₅₇₀	Viability (%)
Control	0	1.87 ± 0.18	100
PM _{2.5} suspension	30	1.73 ± 0.23 ⁽⁴⁾	92.3 ± 12.1
	60	1.60 ± 0.22 ^(2,4)	85.7 ± 11.8
	90	1.46 ± 0.12 ^(2,3,4)	78.2 ± 6.7
	120	1.36 ± 0.14 ^(2,4)	72.5 ± 7.6
	150	1.00 ± 0.05 ^(2,3,4)	53.6 ± 2.6
Inorganic extracts	4.2	1.99 ± 0.10	106.0 ± 5.2
	8.4	1.85 ± 0.02	98.8 ± 1.0
	12.6	1.75 ± 0.01 ⁽¹⁾	93.6 ± 0.2
	16.8	1.63 ± 0.13 ⁽²⁾	87.3 ± 6.8
	21.0	1.63 ± 0.13 ⁽²⁾	87.0 ± 6.8
DMSO	0	1.93 ± 0.49	100
organic extracts	1.8	1.91 ± 0.24	99.1 ± 12.2
	3.6	1.87 ± 0.26	96.7 ± 13.7
	5.4	1.81 ± 0.30	94.1 ± 15.6
	7.2	1.67 ± 0.29	86.7 ± 14.8
	9.0	1.65 ± 0.31	85.4 ± 16.1

Compared with control (1) $P < 0.05$ (2) $P < 0.01$, compared with organic extracts (3) $P < 0.05$, compared with inorganic extracts(4) $P < 0.05$

2.2 沙尘和非沙尘 PM_{2.5}不同组分对细胞间通讯的影响

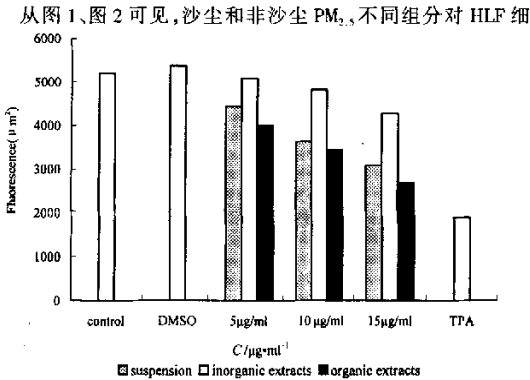


图 1 沙尘 PM_{2.5}不同组分对细胞 GJIC 的影响
Fig.1 Effect of the different composition of dust PM_{2.5} on GJIC between HLF (n = 6)

胞染毒 24 小时后均表现出对细胞 GJIC 的显著抑制作用,且抑制作用随剂量增高而增加。

表 2 非沙尘 PM_{2.5}不同组分对 HLF 的细胞毒性
Table 2 Cytotoxicity of the different composition of PM_{2.5} collected in the non-dust periods (n = 8)

Group	C/ μg·ml ⁻¹	A ₅₇₀	Viability (%)
Control	0	1.87 ± 0.18	100
PM _{2.5} suspension	30	1.86 ± 0.06	99.4 ± 3.3
	60	1.76 ± 0.09	94.1 ± 4.9
	90	1.76 ± 0.10 ⁽³⁾	93.8 ± 5.2
	120	1.58 ± 0.04 ^(2,3)	84.4 ± 2.2
	150	1.48 ± 0.04 ^(2,3)	79.0 ± 2.1
Inorganic extracts	14.4	1.89 ± 0.22	100.9 ± 11.8
	28.8	1.85 ± 0.18	98.7 ± 9.5
	43.2	1.79 ± 0.16	95.8 ± 8.3
	57.6	1.74 ± 0.20	92.8 ± 10.8
	72.0	1.53 ± 0.13 ⁽²⁾	81.6 ± 7.0
DMSO	0	1.93 ± 0.49	100
organic extracts	4.8	1.84 ± 0.49	95.3 ± 25.3
	9.6	1.62 ± 0.40	83.8 ± 21.0
	14.4	1.59 ± 0.38	82.4 ± 20.0
	19.2	1.58 ± 0.39	81.7 ± 20.3
	24.0	1.42 ± 0.30 ⁽¹⁾	73.4 ± 15.6

Compared with control (1) $P < 0.05$ (2) $P < 0.01$, compared with the values in corresponding dust PM_{2.5} groups (3) $P < 0.05$

比较沙尘和非沙尘 PM_{2.5}不同组分在同样浓度下对细胞间发光扩散的抑制作用可以看出,有机提取物的抑制作用最强,其次为全颗粒,再次为无机提取物。

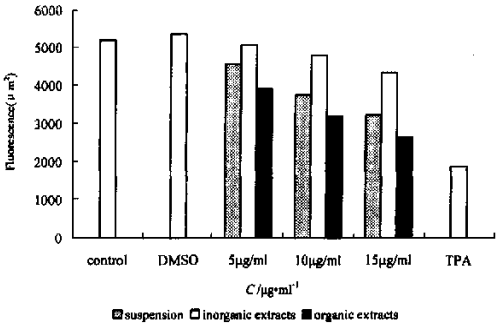


图 2 非沙尘 PM_{2.5}不同组分对细胞 GJIC 的影响
Fig.2 Effect of the different composition of non-dust PM_{2.5} on GJIC between HLF (n = 6)

3 讨论

由于颗粒物是一种复杂的混和物,不同来源的颗粒物由于形成条件的不同,其粒径分布和化学组成也大不相同。因此其对健康的影响性质和程度除了与颗粒物的大小有关,还与颗粒物的来源以及其所吸附的化学物和生物病原体有关。研究表明,风沙期间大气气溶胶与无风沙时气溶胶的物理化学特征有明显的差异;大气气溶胶的物理化学特征显示出,风沙期间的大气气溶胶主要来源于自然源,以局地尘源为主,人为排放的气溶胶作用相对减弱。北京市 1992 年 4 月 9~12 日有无沙尘暴天气时气溶胶的可溶性离子浓度,除了 NO₃⁻ 在风

沙天气时未检出和K⁺在风沙天气与无风沙天气时的浓度相差无几外,其它离子浓度均为风沙天气时高于无风沙时的值^[18]。同类研究也指出地壳元素例如Mg、Al和Ti的富集因子两者并无差别,而沙尘暴颗粒物对人为排放有关的元素的富集因子明显低于非沙尘暴颗粒物^[19]。可见沙尘暴与非沙尘暴颗粒物的成分并不相同,从而对人体的健康效应也可能不同,但目前对于沙尘暴颗粒物的研究主要集中在理化性质上,关于沙尘暴颗粒物的毒理学研究并不多。

过去对颗粒物的毒理学研究通常是提取其某一种组分(例如:内毒素、过渡金属、碳核、有机成分等)来研究其毒性及机制,所以并不能推测得出究竟何种成分在颗粒物的损伤作用中起主导作用。本研究从相同质量的颗粒物上分别提取全颗粒、无机成分、有机成分,并计算出三者质量之比,从而以全颗粒当量按比例计算出各成分染毒剂量系列。结果显示,沙尘和非沙尘全颗粒、沙尘无机提取物表现出明显的细胞毒性,有剂量-反应关系,且沙尘全颗粒的毒性最大。可以推测,颗粒物的毒作用不是单独由无机提取物或有机提取物引起的,而是碳核以及其上面所负载的化学成分的联合毒作用。武威是一个农业城市,所以颗粒物负载的污染成分比较少,在相同全颗粒当量染毒条件下,实际染毒的有机提取物浓度比较小,因此有机提取物对细胞的毒性相对也较小。墨西哥的一项研究得出沙尘颗粒肺毒性与石棉和硅类似,推测其可能是沙尘颗粒物致肺损伤重要原因^[20]。沙尘全颗粒的毒性明显高于非沙尘全颗粒,可能实验样品中沙尘颗粒物这些物质的含量远高于非沙尘颗粒。2002年3月北京发生的沙尘暴,主要地壳源元素Ca、Al、Fe、Mg、Na、Ti等高达平日的30~58倍。污染元素Zn、Cu、Pb、As、Cd、S比平时高出几倍至近十倍。这些污染物部分来自于沙尘暴长距离传输过程中矿物气溶胶与沿途污染源排放的污染气溶胶的混合。污染物在PM_{2.5}中的浓度占TSP总浓度的45%~69%,说明沙尘暴带来的大量矿物气溶胶尤其是其中的细粒子有利于污染物的转化和积聚^[21]。沙尘颗粒物吸附较多的过渡金属,而后者在自由基生成反应中起关键作用,与沙尘无机提取物表现出明显毒性有密切关系。可见沙尘PM_{2.5}对于健康的危害远比人们认为的严重,但仍有必要进一步分析本次实验样品的化学成分,才能得出更为准确的结论。

细胞间隙连接通讯(GJIC)是细胞间通讯的重要方式,它是两个细胞在接触区域形成的膜结构。GJIC是细胞间离子物质和营养素、核苷酸、环核苷酸、内源性和外源性代谢物等小分子物质交换的通道,通过细胞间离子和分子共享传递生长抑制或增殖信息,发挥细胞增殖、增生和转化控制的重要调节作用。许多环境促癌物可抑制细胞间隙通讯功能。本研究结果显示,在细胞存活率大于85%的条件下,沙尘和非沙尘PM_{2.5}的不同组分均可抑制细胞间荧光扩散,抑制作用随剂量增高而增强,且有机提取物的抑制作用最强,其次是全颗粒,再次为无机提取物。Heussen等研究表明大气颗粒物的有机提取物对原代培养的大鼠Ⅱ型肺泡上皮细胞GJIC有着显著的抑制作用,且颗粒物来源不同,抑制程度并不相同^[22,23]。Alink研究发现大气颗粒物全颗粒、有机提取物能够抑制GJIC^[24]。而且,用有机溶剂洗脱颗粒物上吸附的有机成分后,

用不溶性颗粒物染毒仍可抑制细胞的GJIC。赵晓红等的研究也指出,城区交通干道处采集的大气PM₁₀悬液也可抑制人肺成纤维细胞间隙连接通讯^[25]。张的研究结果认为,大气颗粒物有机提取物能够抑制GJIC,但无机提取物则对GJIC没有影响^[26]。本实验结果却显示,尽管与全颗粒和有机提取物相比作用较弱,但无机提取物可以抑制GJIC。其原因可能有:①颗粒物的来源不同,其化学成分可能有很大差异,②无机成分提取方法的不同,导致化学成分不同而造成差异。因此,对于不同来源颗粒物,深入的颗粒物生物效应分析有必要结合化学成分测定的结果。

综上所述,沙尘和非沙尘全颗粒、沙尘无机提取物表现出明显的细胞毒性,有剂量-反应关系,且沙尘全颗粒的毒性最大。沙尘和非沙尘PM_{2.5}的不同组分均可抑制细胞间荧光扩散,抑制作用随剂量增高而增强,且有机提取物的抑制作用最强,其次是全颗粒,再次为无机提取物。可见颗粒物的来源和成分是影响其毒性的重要因素,沙尘颗粒物对健康的影响不容忽视。有必要进一步对PM_{2.5}的化学成分进行分析,从而找出颗粒物的主要毒性成分,并在此基础上深入探讨颗粒物抑制GJIC的机制。

4 参考文献

- 1 王炜,方宗义.沙尘暴天气及其研究进展综述.应用气象报,2004,15(3):366-381
- 2 Claiborn GS, Finn D, Larson TV, et al. Windblown dust contributes to high PM_{2.5} concentrations. J Air Waste Manag Assoc, 2000, 50(8): 1440-1445
- 3 孟紫强,胡敏,郭新彪,等.沙尘暴对人体健康影响的研究现状.中国公共卫生,2003,19(4):471-472
- 4 Bener A, Abdulrazzaq YM. Genetic and environmental factors associated with asthma. Hum Biol, 1996; 68(3): 405-414
- 5 Martinez-Ordaz VA, Rincon-Castaneda CB, Velasco-Rodriguez VM, et al. Asthma and the environment in the Iagunera district. Rev Alerg Mex, 2000, 47(4):138-145
- 6 Chen YS, Sheen PC, Chen ER, et al. Effects of Asian dust storm events on daily mortality in Taipei, Taiwan. Environ Res, 2004, 95(2):151-155
- 7 Kwon HJ, Cho SH, Chun Y, et al. Effects of the Asian dust events on daily mortality in seoul, Korea. Environ Res, 2002, 90:1-5
- 8 黄玉霞,王宝鉴.兰州市呼吸道疾病与沙尘天气关系的分析.甘肃气象,2001,19(3):41-44
- 9 Lei YC, Chan CC, Wang PY, et al. Effects of Asian dust event particles on inflammation markers in peripheral blood and bronchoalveolar lavage in pulmonary hypertensive rats. Environ Res, 2004, 95(1): 71-76
- 10 金昱,郭新彪,黄雪莲,等.沙尘暴颗粒物对人肺成纤维细胞的细胞毒性研究.环境与健康杂志,2004,21(4):199-201
- 11 黄雪莲,金昱,郭新彪,等.沙尘暴PM_{2.5}/PM₁₀对大鼠肺泡巨噬细胞炎症因子分泌的影响.环境与健康杂志,2004,21(1):38-40
- 12 黄雪莲,金昱,郭新彪,等.沙尘暴PM_{2.5}/PM₁₀对大鼠肺泡巨噬细胞吞噬功能的影响.卫生研究,2004,33(2):154-157
- 13 Huang SL, Hsu MK, Chan CC. Effect of submicrometer particles composition on cytokine production and lipid peroxidation of human bronchial epithelial cells. Environ Health Perspect, 2003, 111(4): 478-487

文章编号:1000-8020(2006)01-0030-03

·论著·

环境污染物对着床前小鼠胚胎的 DNA 甲基转移酶活性的影响

吴庆 周志俊 大迫诚一郎¹

复旦大学公共卫生学院,上海 200032

摘要:目的 探讨环境污染物对着床前小鼠胚胎发育的直接影响,以及对基因组 DNA 甲基化的影响。方法 着床前小鼠 1 细胞期胚被放入含有不同的环境污染物的培养液中进行体外培养;观察 1 细胞期胚发育至胚泡期胚的发育率;测定胚泡期胚的 DNA 甲基转移酶 (DNA methyltransferase) 活性。结果 小鼠胚胎着床前期在含有环境污染物的培养液里发育的过程中,其形态没有发生显著的异常变化,各实验组的胚胎发育率在 61% - 67%。然而, DNA 甲基转移酶活性应环境污染物种类而异发生不同变化。与对照组相比,二噁英 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) 使着床前胚的 DNA 甲基转移酶活性显著升高;而二乙烯二苯乙烯雌酚 Diethylstilbestrol (DES) 和多氯联苯中的 2,2',3,3',4,4'-polychlorinated biphenyl (PCB153) 使着床前胚的 DNA 甲基转移酶活性显著下降。不过,二氯联苯二氯乙烯 p,p'-dichlorodiphenyl ethylene (DDE) 和苯二甲酸二丁酯 dibutyl phthalate (DBP) 对着床前胚的甲基转移酶活性的影响未达到统计显著水平。结论 环境污染物可在体外培养中对着床前胚 DNA 甲基转移酶活性产生作用,进而可能影响基因组甲基化模式的变化。

关键词:着床前初期胚 DNA 甲基转移酶活性 环境污染物

中图分类号:R944.6 Q132.7

文献标识码:A

Effect of environmental contaminants on DNA methyltransferase activity of mouse preimplantation embryos

Wu Qing, Zhou Zhi-jun, Ohsako Seichiro

School of Public Health, Fudan University, Shanghai 200032, China

Abstract: Objective To investigate the effect of environmental contaminants on development rate and DNA methyltransferase activity of preimplantation embryos. **Methods** 1-cell embryos were collected from oviduct, in vitro cultured to blastocyst stage in media with or without environmental contaminants. The development rate and DNA

- 14 Zheng M, Fang M, Wang F. et al. Characterization of the solvent extractable organic compounds in PM_{2.5} aerosols in Hongkong. Atmos Environ, 2000,34:2691-2702
- 15 Zheng M, Wan TSM, Fang M. et al. Characterization of the non-volatile organic compounds in the aerosols of hong kong-identification, abundance and origin. Atmospheric Environ, 1997,31(2):227-237
- 16 Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. J Immunol Methods, 1983,65:55-63
- 17 El-fouly MH, Trosko JE, Chang CC. Scrape-loading and dye transfer: a rapid and simple technique to study gap junctional intercellular communication. Exper Cell Res, 1987,168:422-430
- 18 杨东贞,颜鹏,徐祥德. 北京风沙天气的气溶胶特征. 应用气象学报, 2002,13:185-194
- 19 Zhang RJ, Xu YF, Han ZW. A comparison analysis of chemical composition of aerosols in the dust and non-dust periods in Beijing. Advances in Atmos Sci, 2004,21 (2):300-305
- 20 Osornio-Vargas AR, Hernandez-Rodriguez NAA. Lung cell toxicity experimentally induced by a mixed dust from Mexicali, Baja California, Mexico. Environ Res,
- 21 孙业乐,庄国顺,袁惠,等. 2002 年北京特大沙尘暴的理化特性及其组分来源分析. 科学通报, 2004,49(4):340-346
- 22 Heussen GAH, Alink GM. Inhibition of gap-junctional intercellular communication by TPA and airborne particulate matter in primary culture of rat alveolar type II cells. Carcinogenesis, 1992,13(4):719-722
- 23 Heussen GAH, Alink GM. Inhibition of gap-junctional intercellular communication by outdoor and indoor airborne particulate matter. Toxicology Letter, 1994,72:87-94
- 24 Alink GM, Sjogren M, Bos RP, et al. Effect of airborne particulate from selected indoor and outdoor environment on gap-junctional intercellular communication. Toxicol Letter, 1998,96:209-213
- 25 赵晓红,郭新彪,金昱,等. 可吸入颗粒物 PM₁₀ 对细胞间隙连接通讯的抑制作用. 环境与职业医学, 2003,20(2):83-86
- 26 张旻,付娟玲,何凌燕,等. 北京市大气细颗粒物的遗传和非遗传毒性研究. 中国环境科学, 2003,23(4):337-341

基金项目:日本国立环境所奖励课题

(2005-03-15 收稿)

作者简介:吴庆,女,博士,副教授

¹ National Institute for Environmental Studies, Japan