

沙尘暴 PM_{2.5} 对大鼠呼吸系统免疫损伤机制研究

晓开提·依不拉音^{1*}, 地丽拜尔·斯拉木², 范妙丽¹

(¹新疆医科大学公共卫生学院, ²乌鲁木齐市铁路卫生监督所, 乌鲁木齐 830011)

摘要: **目的** 探讨沙尘暴细颗粒物(PM_{2.5})染毒对大鼠呼吸系统的炎症免疫损伤情况及其损伤机制。**方法** 将 40 只正常成年雄性 Wistar 大鼠随机分为空白对照组和各染毒组低、中、高剂量 4 个组, 每组 10 只。采用气管直接注入染毒法, 分别给大鼠灌注 0、1.5、7.5、37.5 mg/kg 剂量的颗粒物悬浮液。灌注 24 h 后处死大鼠, 并对其肺泡灌洗液(BALF)中白细胞介素-1(IL-1)、白细胞介素-6(IL-6)、白细胞介素-8(IL-8)、肿瘤坏死因子(TNF)、白细胞介素-4(IL-4)、白细胞介素-10(IL-10)、白细胞介素-13(IL-13)水平及免疫球蛋白 A (IgA)、免疫球蛋白 G(IgG)、免疫球蛋白 M(IgM)的含量进行检测。**结果** 高剂量组大鼠 BALF 中 IL-1、IL-6、IL-8、TNF 水平高于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), IL-4、IL-10 及 IL-13 在各剂量组间表达水平差异无统计学意义; 高剂量组大鼠 BALF 中 IgG 与 IgM 的含量与对照组比较显著升高 ($P < 0.01$), 各组 IgA 含量的变化差异无统计学意义。**结论** 沙尘暴细颗粒物 PM_{2.5} 可引起大鼠呼吸系统显著的免疫损伤, 其中以高剂量的 PM_{2.5} 染毒对机体的损伤尤为显著, 机体暴露于高剂量沙尘暴细颗粒物 PM_{2.5} 环境可增加呼吸系统疾病发生的危险。

关键词: 沙尘暴 PM_{2.5}; 呼吸系统; 免疫损伤; 肺泡灌洗液

中图分类号: R114 **文献标识码:** A **文章编号:** 1009-5551(2011)10-1097-04

Immunologic injury of respiratory system of rats induced by dust storm PM_{2.5}

Xiaokaiti Yibulayin¹, Dilibaier Silamu², FAN Miao-Li¹

(¹College of Public Health, Xinjiang Medical University, ²Urumqi Railway Health Supervision, Urumqi 830011, China)

Abstract: **Objective** To explore how and what the mechanisms of immunologic injury that dust storm PM_{2.5} to the rats respiratory system through the experiments. **Methods** Fourty wistar rats were randomly divided into toxicosis groups and control group by intratracheal instillation ($n = 10$). After in stilled 24 hours, and content of interleukin (IL)-1, IL-6, IL-8, tumor necrosis factor (TNF), IL-4, IL-10, IL-13 and immunoglobulin (Ig)A, IgG, IgM in bronchoalveolar lavage fluid (BALF) were detected. **Results** In group of high dosen areotics, content of IL-1 IL-6 IL-8 TNF in BALF dramatically increased ($P < 0.05$). And the result of IL-4, IL-10, IL-13 had no statistics significant among groups. Group of high dosen areotics, content of IgG, IgM in BALF of were obviously higher than that in control group; And the result of IgA had no statisties signifieant among groups. **Conclusion** Dust storm (PM_{2.5}) can cause significant immunologic and inflammatory injury to rats' pulmonary tissue, High dose PM_{2.5} has the most severe in-

* 作者简介: 晓开提·依不拉音(1964—), 男(维吾尔族), 教授, 硕士生导师, 研究方向: 大气环境与健康。

jury to human body, which exposition to high dose dust storm (PM_{2.5}) may increase the danger of getting disease of respiratory system.

Key words: dust storm PM_{2.5}; respiratory system; immunologic injury; bronchoalveolar lavage fluid (BALF)

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^[1],沙尘暴发生时大量的细颗粒物被扬起,同时在细颗粒物形成和长途传输过程中,发生了大量的化学和生物学污染,对大气和人类健康带来极大的危害^[2]。由于粒径 $\leq 2.5 \mu\text{m}$ 的细颗粒物吸附性强,可携带重金属、硫酸盐、有机物、病毒等进入呼吸道深部,危害更严重。而沙尘暴颗粒物(PM_{2.5})在来源、理化组成方面有特殊性,生物学效应与其他颗粒物可能不完全一致^[3],有关PM_{2.5}的毒理学作用的研究,在国内外均少见。本研究通过新疆吐鲁番市沙尘暴频发期采集细颗粒物,采用气管灌注法染毒的大鼠动物模型,对不同浓度沙尘暴细颗粒物进行了呼吸系统毒理学研究,探讨沙尘暴细颗粒物对大鼠呼吸系统的免疫损伤作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物 正常成年雄性 Wistar 大鼠 40 只,由新疆医科大学实验动物中心提供,体质量 180~250 g。

1.2 主要仪器与试剂 G1200 型大流量采样器(美国 andersen 公司);石英纤维滤膜(美国 Whatman 公司);Alpha2-2 冷冻干燥机(德国 Christ 公司);71-PH 分光光度仪(美国 Beike 公司);Bio-Rad550 型酶联免疫(ELISA)检测仪(美国 Bio-Rad 公司);ELISA 试剂盒(轩昊公司);免疫球蛋白 A(IgA)、免疫球蛋白 G(IgG)、免疫球蛋白 M(IgM)(南京建成生物制品研究所)。

1.3 方法

1.3.1 沙尘暴 PM_{2.5} 的采集 采样点位于吐鲁番市城区交通干线旁,距离道路约 20 m,周围人口密集,附近无工业企业,采样器距离地面约 10 m。样品的采集时间为 2010 年 3—5 月,采样流量为 $1 \text{ m}^3/\text{min}$ 。每天 24 h 连续采样,连续采集 2 个月。

万方数据

石英纤维滤膜在采样前恒温干燥 24 h 后称重,采样后在同样条件下平衡 24 h,称重,−20 ℃避光保存。

1.3.2 样品的制备 将载有颗粒物的滤膜浸入蒸馏水中,在超声振荡器上反复振荡,多层无菌纱布过滤后滤液用低温离心机 4 ℃、10 000 r/min 离心 20 min。吸取上清液继续用于超声振荡,收集底层颗粒物,最后将浓缩的上清液及所有收集的底层颗粒物合并真空冷冻干燥,低温冰箱保存,以灭菌三蒸水制备成不同浓度的颗粒物悬液,用前超声振荡 5 min 混匀。

1.3.3 动物分组和动物染毒 大鼠在正常饲料饲养 1 周后进行实验,在乙醚麻醉后按 1.5、7.5 和 37.5 mg/kg 分别缓慢经气管注入沙尘暴 PM_{2.5} 悬液 1 mL,对照组大鼠气管注入 1 mL 生理盐水。每天染毒 1 次,共进行 1 个月,然后禁食至 24 h 后处死大鼠。经气管插管用 37 ℃生理盐水进行支气管肺泡灌洗,每次 3 mL,灌洗 3 次,合并灌洗液并离心,上清液置于−20 ℃低温保存待测。

1.3.4 指标测定 采用 ELISA 法测定肺细胞灌洗液(BALF)中肿瘤坏死因子(TNF)、白细胞介素-1(IL-1)、白细胞介素-6(IL-6)、白细胞介素-8(IL-8)、白细胞介素-4(IL-4)、白细胞介素-10(IL-10)、白细胞介素-13(IL-13)水平,及 IgA、IgG、IgM 的含量。

1.4 统计学处理 采用 SPSS15.0 软件包对实验数据进行统计学处理,计量指标采用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,并进行单因素方差分析,检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 染毒大鼠 BALF 中促炎细胞因子水平的检测结果 染毒大鼠 BALF 中 TNF、IL-1、IL-6 和 IL-8 的含量均呈现随剂量增加而升高的趋势,低、中剂量组 TNF、IL-1、IL-6 和 IL-8 水平与对照组比较差异

无统计学意义 ($P > 0.05$)。高剂量组 TNF、IL-1、IL-6 和 IL-8 水平高于对照组,差异有统计学意义 ($P < 0.05 \sim 0.01$)(表 1)。

表 1 各组大鼠 BALF 中促炎细胞因子水平比较 (pg/L, $\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	TNF	IL-1	IL-6	IL-8
对照组	457.6±354.3	288.5±238.2	725.6±559.7	343.6±313.7
低剂量组	489.3±313.5	345.3±212.1	823.8±546.3	502.8±349.3
中剂量组	522.4±305.3	354.5±220.7	864.6±535.7	503.2±414.1
高剂量组	967.6±414.9**	539.6±252.2*	1653.8±759.9**	943.8±559.2**

注:与对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

2.2 染毒大鼠 BALF 中抗炎细胞因子水平的检测结果 染毒大鼠 BALF 中 IL-4、IL-10 和 IL-13 水平在不同剂量组之间差异无统计学意义 ($P > 0.05$)(表 2)。

表 2 各组大鼠 BALF 中抗炎细胞因子水平比较 (pg/L, $\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	IL-4	IL-10	IL-13
对照组	144.4±138.2	349.6±332.7	38.7±26.5
低剂量组	199.3±125.1	497.8±311.3	49.8±21.3
中剂量组	196.5±144.7	476.6±382.7	42.2±23.1
高剂量组	279.5±176.2	463.8±299.9	41.8±24.2

2.3 染毒大鼠 BALF 中 IgA、IgG、IgM 的检测结果 高剂量组大鼠 BALF 中 IgG、IgM 的含量较对照组显著升高 ($P < 0.01$),各组 IgA 含量的变化差异无统计学意义 ($P > 0.05$),低、中剂量组与对照组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)(表 3)。

表 3 各组大鼠 BALF 中 IgA、IgG、IgM 的含量比较 (mg/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	IgA	IgG	IgM
对照组	143.4±30.2	176.6±32.7	238.7±41.5
低剂量组	149.3±32.1	172.8±37.3	249.8±36.3
中剂量组	135.5±35.7	201.6±35.7	262.2±43.1
高剂量组	154.7±36.5	228.1±45.9**	312.8±47.2**

注:与对照组比较, ** $P < 0.01$ 。

3 讨论

大气细颗粒物 PM2.5 染毒性引起的呼吸系统免疫损伤,其主要的病理特征是肺部严重的免疫反应。而肺组织炎症免疫反应的发生发展与多种细胞因子有关。长期反复接触会使人体免疫力低下,当颗粒物较多而超过机体清除能力时,就会导致肺炎、

万方数据

哮喘等疾病,细菌感染是引起慢性呼吸系统疾病的主要病原体^[4]。TNF、IL-1、IL-6 和 IL-8 都是由单核巨噬细胞、自然杀伤(NK)细胞等分泌的细胞因子,是介导炎症反应的重要介质。IL-4、IL-10 和 IL-13通过抑制内皮细胞及单核细胞合成分泌 IL-1、IL-6、IL-8 和 TNF- α 等促炎性细胞因子,从而减轻炎性介质对内皮细胞的损伤。总之,细胞因子在机体发生感染情况下,在体内既起到促炎作用,又存在着抗炎反应,与其它体液因子以及神经内分泌因素等形成了一个复杂的网络^[5]。

本研究结果显示,高剂量组大鼠 BALF 中 TNF、IL-1、IL-6 及 IL-8 水平显著高于对照组,低、中剂量染毒组与生理盐水对照组比较差异无统计学意义。IL-6 是急性炎症反应的主要标志之一,也是一种多细胞来源并具有复杂生物学功能的 CK 细胞,具有调节免疫应答、急性期反应及造血作用,参与机体炎症反应和抗感染防御作用^[6],TNF 表达水平较高,表明 TNF 可以促进 IL-6 和 IL-8 的产生,其原因主要是在 IL-6、IL-8 基因的增强启动区域内含有对 TNF 的功能反应成分^[7]。本研究结果显示,高剂量组大鼠 BALF 中 IL-4、IL-10 及 IL-13 水平高于对照组,且 IL-10 表达水平高于 IL-4 和 IL-13,表明在肺的急性炎症期 IL-10 有抑制 IL-1、IL-6、IL-8、TNF 等炎症介质表达的作用,但因抗炎因子的表达水平比促炎因子的表达水平低,导致肺组织的炎性损伤。大鼠染毒后,染毒大鼠 BALF 中 IgG、IgM 的含量与对照组相比显著升高,IgG、IgM 亦同时全面调节局部炎症及免疫反应产生有效的协

- 458.
- [2] Quintana M, Saha S, Rphani M, et al. Electromechanical coupling, uncoupling, and ventricular function in patients with bundle branch block: a tissue-Doppler echocardiographic study[J]. *Echocardiography*, 2004, 21(8): 687-698.
- [3] Rayan MM. Resting myocardial velocity gradient is a reliable measurement that identifies viable myocardium[J]. *Echocardiography*, 2009, 26(7): 684-690.
- [4] Yip G, Abraham T, Belohlavek M, et al. Clinical applications of strain rate imaging[J]. *J Am Soc Echocardiogr*, 2003, 16(12): 1334-1342.
- [5] 吴田,郭瑞强,陈金玲. 应变率成像评价 2 型糖尿病患者左室舒张功能[J]. *临床心血管病杂志*, 2010, 26(10): 740-742.
- [6] 张涓,吴雅峰,杨新春,等. 超声评价 LBBB 对左室整体局部活动的影晌[J]. *岭南心血管病杂志*, 2003, 9(5): 326-329.
- [7] 孙欣,王浩,牛红霞. 超声心动图评价束支传导阻滞左右心室间收缩失同步[J]. *中国医学影像技术*, 2006, 22(2): 233-235.
- [8] 韦武,林涛,汤宝鹏. 心室再同步化治疗慢性充血性心力衰竭的临床应用[J]. *新疆医科大学学报*, 2007, 30(10): 1197-1199.
- [9] Bader H, Garrigue S, Lafitte S, et al. Intraleft ventricular electromechanical asynchrony. A new independent predictor of severe cardiac events in heart failure patients[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2004, 43(3): 248-256.
- [10] 刘书丽,苏虹,杨军. 定量组织多普勒成像对完全性左束支传导阻滞患者心室运动同步性的研究[J]. *辽宁医学杂志*, 2008, 22(1): 16-18.

[收稿日期:2011-05-13]

(上接 1099 页)

调作用,这说明沙尘细颗粒物 PM_{2.5} 染毒大鼠后,可引起呼吸系统的免疫改变,其免疫损伤的改变程度与染毒的剂量相关,染毒剂量越大,炎症免疫改变越明显。显然这种炎症免疫反应其本身是机体的一种防御和保护性反应,但这种炎症免疫反应本身对机体具有一定的损伤作用。因此沙尘细颗粒物 PM_{2.5} 呼吸系统染毒后对呼吸系统的损伤主要反映在免疫损伤方面。

参考文献:

- [1] 周自江. 近 45 年中国扬沙和沙尘暴天气[J]. *第四纪研究*, 2001, 21(1): 9-17.
- [2] 王成功,董光荣,陈惠忠,等. 沙尘暴研究进展[J]. *中国沙漠*, 2000, 20(4): 349-356.
- [3] 牛生杰,章澄昌. 贺兰山地区沙尘气溶胶粒子谱分布的观测研究[J]. *大气科学*, 2001, 25(2): 243-252.
- [4] Pozzi R, Berardis BD, Paoletti L, et al. Inflammatory mediators induced by coarse (PM_{2.5-10}) and fine (PM_{2.5}) urban air Particles in RAW 264.7 cells[J]. *Toxicology*, 2003, 98(183): 243-254.
- [5] 张文丽. 细颗粒物污染及对炎性因子 IL-6 表达的影响[J]. *卫生研究*, 2003, 32(6): 548-552.
- [6] 黄雪莲,金星,郭新彪,等. 沙尘暴 PM_{2.5}、PM₁₀ 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.
- [7] Driscoll KE. TNF- α and MPI-2: role in Partiele-induced inflammation and regulation by oxidative steress[J]. *Toxicol Lett*, 2000, 15(112-113): 177-184.

[收稿日期:2011-04-28]