

因、维生素 D 受体(VDR)基因和血色病(HFE)基因,已发现这些基因的不同基因型对铅中毒易感性具有一定的影响^[9]。国内外研究发现,铅作业工人 MDA 含量和 SOD 活性随血铅含量升高而升高,且其 DNA 损伤程度随 MDA 水平升高而显著增加,并且发现吸烟和饮酒可加强铅作业工人的 DNA 损伤程度,表明铅接触可诱发机体产生氧化应激性 DNA 损伤。XRCC1 蛋白是通过碱基切除修复途径来修复氧化应激所致 DNA 单链断裂的重要 DNA 修复酶^[10]。本研究发现,XRCC1 A194W 的杂合突变型和纯合突变型(CT+TT)能显著增加铅中毒的易感性;而 XRCC1 A399Q 的杂合突变型和纯合突变型(GA+AA)能显著降低铅中毒的易感性。说明 DNA 修复基因 XRCC1 A194W 和 A399Q 基因多态性与铅中毒易感性有关,可考虑作为铅中毒的重要易感性生物学标志。

参考文献

- [1] 叶细标,倪为民,傅华.基因多态性与铅毒性关系研究的现状[J].中华劳动卫生职业病杂志,2003,21(2):141~144.
- [2] Ye XB, Fu H, zhu JL et al. A study on oxidative stress in lead-exposed worker[J]. J Toxicol Environ Health A, 1999, 56(3): 161~172.
- [3] Caldecott KW, Aoufouchi S, Johnson P, et al. XRCC1 polypeptide interacts with DNA polymerase beta and possibly poly(ADP-ribose)polymerase [J]. Mol Cell Biol, 1997, 17(10): 5631~5640.
- [4] Roy CN, Penny DM, Feder JN, et al. The hereditary hemochromatosis protein HFE specifically regulates transferrin-mediated iron uptake in HeLa cells[J]. J Biol Chem, 1999, 274(13): 9022~9028.
- [5] Shen MR, Jones IM, Mohrenweiser H, et al. Nonconservative amino acid substitution variants exist at polymorphic frequency in DNA repair genes in healthy human[J]. Cancer Res, 1998, 58(4): 604~608.
- [6] Thompson LH, West MG. XRCC1 keeps DNA from getting stranded[J]. Mutat Res, 2000, 459(1): 1~18.
- [7] David-Beauchamp GL, London SJ. Genetic polymorphism of XRCC1 and lung cancer risk among African-Americans and Caucasians[J]. Lung Cancer, 2001, 34: 333~339.
- [8] Yu MW, Yang SY, Pan LS. Polymorphisms in XRCC1 and glutathione S-transferase genes and hepatitis-B related hepatocellular carcinoma[J]. J Natl Cancer Inst, 2003, 95(19): 1485~1488.
- [9] 张波,白伟,孟紫强.基因多态性与铅中毒关系的研究[J].环境与健康杂志,2002,19(4):348~350.
- [10] 纪之莹,李桂兰.DNA 修复基因 XRCC1 单核苷酸多态性与肿瘤易感性[J].国外医学:生物医学工程分册,2004,31(1):10~11.

收稿日期: 2006-03-10

(宋艳萍编辑 郭长胜校对)

文章编号: 1001-0580(2006)12-1458-02

中图分类号: R 994; X 511

文献标志码: A

【论著】

沙尘暴 PM_{2.5} 对大鼠肺细胞 DNA 损伤效应*

孟紫强, 张全喜

摘要: 目的 探讨沙尘暴细颗粒物(PM_{2.5})对大鼠肺细胞的遗传损伤作用。方法 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, 采用单细胞凝胶电泳技术(SCGE)检测肺细胞 DNA 的损伤。结果 沙尘暴和正常天气 PM_{2.5} 均可引起大鼠肺细胞 DNA 损伤, 且随剂量增加而损伤增大。正常天气 PM_{2.5} 比沙尘暴 PM_{2.5} 对肺细胞 DNA 的损伤更大, 但差异无统计学意义。结论 沙尘暴和正常天气 PM_{2.5} 均可引起大鼠肺细胞 DNA 的损伤, 由于沙尘暴 PM_{2.5} 浓度远高于正常天气 PM_{2.5}, 导致沙尘暴 PM_{2.5} 对 DNA 的毒性远大于正常天气 PM_{2.5}。

关键词: 沙尘暴 PM_{2.5}; 肺; 单细胞凝胶电泳技术

Damaging effects of dust storm fine particles instillation on DNA in lung cells of rats MENG Ziqiang, ZHANG Quanxi. Institute of Environmental Medicine and Toxicology, Shanxi University (Taiyuan 030006, China)

Abstract: Objective To investigate damaging effects of dust storm fine particle (PM_{2.5}) on DNA in lung cells of rats. Methods Wistar rats were randomly divided into toxicosis groups and control group by intratracheal instillation. After instilled 24 hours, DNA damage of lung cells of rats was detected with single cell gel electrophoresis technique. Results Both dust storm PM_{2.5} and normal weather PM_{2.5} could lead to DNA damage in a dose-dependent manner. Though the effects induced by normal weather PM_{2.5} heavier than dust storm PM_{2.5}, there was no significant difference between them. Conclusion Both dust storm PM_{2.5} and normal weather PM_{2.5} could lead to DNA damage in lung cells of rats. However, the dust storm PM_{2.5} whose airborne concentrations were much higher than that of normal weather PM_{2.5}, so the dust storm PM_{2.5} should be more harmful.

Key words: dust storm PM_{2.5}; lung; the single cell gel electrophoresis technique

近年来,我国沙尘暴天气的发生呈明显上升趋势,从 20 世纪 50 年代的 5 次增加到了 90 年代的 23 次^[1]。在沙尘暴

期间,由于空气中沙尘气溶胶和有害物质的浓度骤然升高,大气污染加剧,给人类健康带来严重的危害,其中对呼吸系统的危害最大^[2]。本室研究发现,沙尘暴 PM_{2.5} 可剂量依赖性地使大鼠肺泡巨噬细胞存活率和质膜 Ca²⁺-Mg²⁺-ATP 酶、Na⁺-K⁺-ATP 酶活性下降,使细胞的脂质过氧化水平、细胞内 Ca²⁺ 含量增加,使细胞培养液中乳酸脱氢酶(LDH)和碱性

*基金项目: 国家自然科学基金(30230310; 20477023); 山西省自然科学基金(20031092)

作者单位: 山西大学环境医学与毒理学研究所, 太原 030006

作者简介: 孟紫强(1939-), 男, 山西临汾人, 教授, 博士生导师, 研究方向: 环境医学与毒理学。

磷酸酶(ACP)活性增加，并增大膜脂表层流动性和疏水区流动性等^[3,4]。本文研究沙尘暴 PM_{2.5}对大鼠肺细胞 DNA 的损伤作用，探讨沙尘暴 PM_{2.5}的细胞遗传毒性作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物及化学试剂 实验采用清洁级健康成年雄性 Wistar 大鼠，(山西中医研究所动物房)。鼠龄 7 周，体重 180~220 g。实验所用试剂：正常熔点琼脂糖(NMA)、低熔点琼脂糖(LMA)、肌氨酸钠、Triton X-100 及溴化乙锭(EB)(美国 Sigma 公司)。

1.2 沙尘暴与正常天气 PM_{2.5}样品采集及颗粒物悬液的制备 采样地点位于甘肃省武威市和内蒙古自治区包头市，应用大流量空气颗粒物采样器(美国热电子公司)进行 PM_{2.5}采样，采样方法及颗粒物悬液的制备参见本实验室建立的方法^[3]。

1.3 动物分组及染毒 将大鼠随机分为对照组和低、中、高 3 个剂量染毒组，每组 6 只。采用封闭式气管注入染毒法，经气管注入颗粒物生理盐水悬液染毒，染毒剂量分别为 1.5、7.5 和 37.5 mg/kg，对照组灌注等体积的生理盐水，染毒溶液温度为 37 ℃。

1.4 细胞 DNA 损伤的测定 主要根据 Singh 等^[5]的报告，并结合本实验室建立的方法进行单细胞凝胶电泳(SCGE)^[6]：(1)单细胞悬液的制备：灌注 24 h 后处死大鼠，取肺脏将其剪碎，加适量磷酸盐缓冲液(PBS)压滤通过 200 目筛，制得肺细胞单细胞悬液。(2)制胶片：分作 3 层，分别为 NMA 层、含有细胞的 LMA 层和 LMA 层。(3)细胞裂解：将载玻片水平浸入新配制的 4 ℃ 细胞裂解液(含 2.5 mol/L NaCl、100 mmol/L 乙二胺四乙酸二钠(Na₂EDTA)、10 mmol/L Tris, pH10, 用前加 1% Triton X-100, 10% 二甲基亚砜(DMSO))中裂解 1 h。(4)DNA 碱解旋：将载玻片浸于新配制的碱性电泳缓冲液(0.3 mol/L NaOH、1 mmol/L EDTA)中解旋 30 min。(5)电泳：在电压 25 V, 电流 250 mA 的条件下，电泳 30 min。(6)中和：加入缓冲液中和 15 min。(7)染色与观察：用 30 μg/ml EB 染色 20 min 后，盖上盖玻片检测。每个样本随机选择 50 个细胞，用 Leica 图象分析仪(德国 Leica 公司)观察并保存图象，用 Casp 软件自动测量肺细胞 DNA 迁移的 Olive 尾矩(OTM)。每个样品重复 6 次。

1.5 统计分析 采用 SPSS 11.0 软件进行统计分析，各组间差异采用方差分析(ANOVA)进行显著性检验，均数间多重比较用最小极差法(LSD)或 Tamhane's *t*-test 法。 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

不同地区沙尘暴 PM_{2.5}对大鼠肺细胞 DNA 损伤(表 1)。从表 1 可知，随着 PM_{2.5}浓度增大，包头市与武威市正常、沙尘暴天气 PM_{2.5}均使肺细胞 DNA 损伤程度增加，且呈现明显的剂量依赖关系。在 1.5 mg/kg 剂量下，包头市正常天气组中肺细胞 DNA 的损伤已显著增加，与对照组相比， $P < 0.05$ ；在 7.5, 37.5 mg/kg 剂量下，各组中肺细胞 DNA 的损伤均显著升高(与对照组相比， $P < 0.01$ 或 0.05)。表 1 也表明，在同一浓度下，正常天气 PM_{2.5}比沙尘暴 PM_{2.5}对细胞 DNA 的损伤更大，但同一地区沙尘暴 PM_{2.5}与正常天气 PM_{2.5}之间、

包头市与武威市正常天气 PM_{2.5}之间以及包头市与武威市沙尘暴 PM_{2.5}之间差异均无统计学意义。

表 1 不同地区沙尘暴和正常天气 PM_{2.5}对大鼠肺细胞 DNA 损伤($\bar{x} \pm s$)

PM _{2.5} 样品	处理剂量 [mg/(kg·bw)]			
	0(对照)	1.5	7.5	37.5
包头市正常	1.63 ± 0.65	3.04 ± 0.56*	3.45 ± 0.45**	3.97 ± 0.57**
包头市沙尘暴	1.89 ± 0.59	2.53 ± 0.56	2.74 ± 0.49*	3.07 ± 0.72**
武威市正常	1.33 ± 0.69	2.61 ± 0.65	2.96 ± 0.83**	3.36 ± 0.71**
武威市沙尘暴	1.56 ± 0.74	2.04 ± 0.87	2.48 ± 0.52**	3.06 ± 0.42**

注：实验次数， $n = 6$ ；与对照组相比，* $P \leq 0.05$ ，** $P \leq 0.01$

3 讨论

流行病学研究发现，沙尘暴是潜在的过敏性和非过敏性系统疾病的激发因素，并且与风湿病、黑热病、尤其与肺部疾患有关，可引起支气管炎、支气管哮喘、肺气肿等疾病^[7]。本实验研究发现，沙尘暴和正常天气 PM_{2.5}均可引起肺细胞 DNA 的损伤，且呈现明显的剂量依赖性关系，其可能的机制为，摄入体内的 PM_{2.5}到达肺组织后，一方面 PM_{2.5}本身吸附的有毒物质和活性氧(ROS)直接攻击细胞生物大分子 DNA；另一方面 PM_{2.5}激活肺泡巨噬细胞上的一氧化氮合酶，产生 NO, NO_x 又与活性氧中极不稳定的 O₂⁻形成稳定的 ONOC⁻，然后直接攻击细胞生物大分子 DNA，导致 DNA 损伤。

本实验研究还发现，武威市与包头市工业水平不同，大气污染程度不同，但两地沙尘暴 PM_{2.5}对细胞 DNA 的损伤作用无明显差异，由此推论两地沙尘暴 PM_{2.5}所含遗传毒性化学物可能类似。虽然在相同处理剂量下沙尘暴 PM_{2.5}与正常天气 PM_{2.5}对各测量指标结果比较差异无统计学意义，但由于沙尘暴来临时，大气 PM_{2.5}质量浓度急剧升高，所以沙尘暴 PM_{2.5}对 DNA 的损伤作用远大于正常天气 PM_{2.5}。总之，对于沙尘暴 PM_{2.5}的毒理作用需要与其物理化学成分分析相结合进行探讨，本实验室正在进行中。

参考文献

- 庄国顺, 郭敬华, 袁蕙, 等. 2000 年我国沙尘暴的组成、来源、粒径分布及其对全球环境的影响[J]. 科学通报, 2001, 46(3): 101-107.
- Brockton JH, Bin J, Emily M, et al. Surveillance for dust storms and respiratory diseases in Washington State[J]. Arch Environ Health, 1991, 49: 170-174.
- 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.
- Geng H, Meng Z Q, Zhang Q X. Effects of blowing sand fine particles on plasma membrane permeability and fluidity, and intracellular calcium levels of rat alveolar macrophages[J]. Toxicology Letters, 2005, 157: 129-137.
- Singh N E. Technical report modification of alkaline microgel electrophoresis for sensitive detection of DNA damage[J]. Int Radiat Biol, 1994, 66(1): 23-28.
- 孟紫强, 张全喜. 大气细颗粒物致大鼠肺泡巨噬细胞 DNA 损伤[J]. 中国环境科学, 2005, 25(1): 15-17.
- 孟紫强, 胡敏, 郭新彪, 等. 沙尘暴对人体健康影响的研究现状[J]. 中国公共卫生, 2003, 19(4): 471-472.

收稿日期：2006-03-12

(宋艳萍编辑 郭长胜校对)