

山西大学

硕士学位论文

沙尘暴细颗粒物的DNA损伤及氧化应激作用

姓名：张全喜

申请学位级别：硕士

专业：环境科学

指导教师：孟紫强

20060601

摘 要

大气细颗粒物能够进入人体肺部,甚至到达肺泡区,对健康的危害很大,近年来国内外对大气细颗粒物的研究越来越重视。本论文对沙尘暴细颗粒物的 DNA 损伤和氧化应激作用进行了研究。

所谓大气细颗粒物($PM_{2.5}$)是指空气动力学当量直径 $\leq 2.5\mu m$ 的悬浮颗粒物。本研究所使用的 $PM_{2.5}$ 是用美国热电子公司(Thermo Andersen)生产的 $PM_{2.5}$ 大流量空气采样器于 2004 年 3 月 1 日至 5 月 31 日在甘肃省武威市和内蒙古包头市采集的。

本研究分两部分,分别采用体外和体内实验进行沙尘暴 $PM_{2.5}$ 的毒理学研究。体外实验是用正常天气和沙尘暴 $PM_{2.5}$ 及其水提取物和有机提取物,分别作用于体外培养的大鼠肺泡巨噬细胞(AM),运用四甲基偶氮唑盐(MTT)法检测细胞存活率以及用单细胞凝胶电泳技术(SCGE)检测细胞 DNA 的损伤作用。结果表明:(1)沙尘暴和正常天气 $PM_{2.5}$ 及其水提取物和有机提取物均对大鼠 AM 产生一定的细胞毒性,且随剂量的增大而增强。(2)沙尘暴和正常天气 $PM_{2.5}$ 及其水提取物和有机提取物均可引起细胞 DNA 损伤,且随剂量增加而损伤增大;正常天气比沙尘暴样品对细胞 DNA 损伤作用更大。(3)不论正常天气 $PM_{2.5}$ 还是沙尘暴 $PM_{2.5}$,其有机提取物对 DNA 的损伤作用均比水提取物作用更强,表明 $PM_{2.5}$ 中引起 DNA 损伤的主要化学物是有机化合物种类。(4)武威与包头两城市工业水平不同,大气污染程度不同,但两地沙尘暴 $PM_{2.5}$ 及其水提取物和有机提取物对细胞 DNA 的损伤作用,在两地之间并无明显差异,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。

体内实验采用气管直接注入染毒法,用正常天气和沙尘暴 $PM_{2.5}$ 给大鼠染毒一次,染毒 24h 后处死大鼠,分别测定肺、心、肝脏的超氧化物歧化酶(SOD)活性、谷胱甘肽(GSH)含量及脂质过氧化作用(LPO)水平,同时用 SCGE 检测肺细胞 DNA 的损伤。结果表明:(1)沙尘暴和正常天气 $PM_{2.5}$ 染毒后大鼠肺、肝脏 SOD 酶的活性均随染毒剂量的增

加出现降低的趋势。GSH 含量在肺脏中出现显著剂量-效应性降低，肝脏中则出现先升高后降低的非线性变化特征。肺、心、肝脏的 LOP 水平均出现剂量-效应性升高，心脏的 SOD 酶活性和 GSH 含量无显著性变化。(2) 沙尘暴和正常天气 $PM_{2.5}$ 均可引起大鼠肺细胞 DNA 损伤，且出现显著剂量-依赖性升高。(3) 相同浓度的包头正常天气、包头沙尘暴、武威正常天气、武威沙尘暴样品对同一测量指标的影响无显著性差异。

从以上结果得出结论如下：正常天气 $PM_{2.5}$ 和沙尘暴 $PM_{2.5}$ 均可引起大鼠肺泡巨噬细胞和肺细胞 DNA 的损伤，同时使肺、心、肝脏呈现不同程度的氧化应激反应。由于沙尘暴来临时，大气 $PM_{2.5}$ 的质量浓度显著高于正常天气 ($P < 0.05$)，因此沙尘暴 $PM_{2.5}$ 造成的毒性会相应增大。

关键词：沙尘暴；细颗粒物；DNA 损伤；氧化应激；单细胞凝胶电泳技术

ABSTRACT

Airborne fine particles can penetrate to the regions of lung and the alveoli and have heavily damage effect on health. The study about airborne particles has been paid more and more attention at home and abroad. In this study, we investigated the DNA damage and oxidative stress effects of dust storms fine particles.

The meaning of airborne fine particles ($PM_{2.5}$) is particles with aerodynamic diameter less than $2.5\ \mu m$. The $PM_{2.5}$ samples in the study were collected by using $PM_{2.5}$ high volume air sampler (Thermon Anderson, USA) in Wuiwei city, Gansu province and Baotou city, Inner Mongolia Autonomous Region from March 1 to May 31, 2004.

This study is comprised of two parts, the toxicology effects of dust storm $PM_{2.5}$ were investigated by in vitro and in vivo study, respectively. In vitro study, rat alveolar macrophages were exposed to $PM_{2.5}$ samples, their water-soluble fractions and solvent-extractable organics from dust storm and normal weather, respectively. DNA damage of rat alveolar macrophages was detected with single cell gel electrophoresis technique (SCGE) and cytotoxicity was assessed by 3-(4, 5-dimethylthiazol-2-yl)-2, 5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) reduction assay. The results show: (1) $PM_{2.5}$ samples, their water-soluble fractions and solvent-extractable organics from dust storm and normal weather caused cytotoxicity to alveolar macrophages and the cell viability was decreased in a dose-response manner. (2) $PM_{2.5}$ samples, their water-soluble fractions and solvent-extractable organics of both normal $PM_{2.5}$ and dust storm $PM_{2.5}$ could lead to DNA damage in a dose-dependent manner; the samples of normal $PM_{2.5}$ made higher DNA damage than those of dust storm $PM_{2.5}$. (3) The solvent-extractable organics

made higher DNA damage than the water-soluble fractions of both normal PM_{2.5} and dust storm PM_{2.5}. It was suggested that the organic compounds are the main contributor to DNA damage. (4) No significant difference were observed in DNA damage of dust storm PM_{2.5} and their water-soluble fractions and solvent-extractable organics between Baotou city and Wuwei city, suggesting that the genotoxicity compounds are similar in dust storm PM_{2.5} of these two districts.

In vivo study, after rats were intratracheally instilled 24 h, the activities of SOD, the contents of GSH and the levels of LPO in hearts, livers, lungs of rats were measured. DNA damage of lung cells of rats was detected with SCGE. The results show: (1) Dust storm PM_{2.5} and normal weather PM_{2.5} instillation caused significantly decrease of SOD activities at higher concentration in livers and lungs. The contents of GSH in lungs appeared a dose-dependent decrease comparing with control group, whereas PM_{2.5} instillation at low concentration caused a significant increase and at higher PM_{2.5} instillation caused a significant decrease in livers of rats. The levels of LPO in lungs, hearts and livers all appeared significantly dose-dependent increase, but the changes of GSH contents and SOD activities in hearts of rats were statistically insignificant. (2) Both dust storm PM_{2.5} and normal weather PM_{2.5} could lead to DNA damage of lung cells in a dose-dependent manner. (3) The effects made by the same concentration samples respectively from Wuwei normal weather, Wuwei dust storm weather, Baotou normal weather and Baotou dust storm weather have no significant difference on the same examined index.

It concluded that: Both dust storm PM_{2.5} and normal weather PM_{2.5} could lead to DNA damage in alveolar macrophages and lung cells and oxidative stress in lungs, hearts and livers of rats. During dust storm periods, ambient PM_{2.5} mass concentration was significantly ($P<0.05$) higher than

that in normal weather, so the toxicology of dust storm $PM_{2.5}$ should be higher than that of normal weather $PM_{2.5}$.

Key words: dust storm; fine particulate matter; DNA damage; oxidative stress; the single cell gel electrophoresis technique

第一章 文献综述

1.1 沙尘暴的定义及特征

1.1.1 沙尘暴的定义

沙尘暴是指强风把地表沙尘卷入空中,使空气特别混浊,水平能见度小于 1km 的天气现象,它是沙尘天气的一种。沙尘天气是指强风从地面卷起大量尘沙,使空气混浊,水平能见度明显下降的一种天气现象,主要发生在干旱、半干旱及土地沙漠化比较严重的地区。根据中国气象局 2003 年 3 月 1 日实施的新标准^[1],沙尘天气分为浮尘、扬沙、沙尘暴、强沙尘暴四类,其中浮尘指尘土、细沙均匀地浮游在空中,使水平能见度小于 10km 的天气现象;扬沙指风将地面尘沙吹起,使空气相当混浊,水平能见度在 1~10km 以内的天气现象;沙尘暴指强风将地面大量尘沙吹起,使空气很混浊,水平能见度小于 1km 的天气现象;强沙尘暴指大风将地面尘沙吹起,使空气非常混浊,水平能见度小于 0.5km 的天气现象。

1.1.2 沙尘暴的特征

当沙尘暴到来时,强风裹挟沙尘滚滚向前,同时伴随着高空浮尘飘飘、地面扬尘连连,使得沙尘暴与扬沙、浮尘密切联系在一起,常常难以分割。但是,浮尘、扬沙、沙尘暴除导致空气水平能见度下降程度不同外,三者是有区别的:浮尘多为远处尘沙经上层气流传播而来,或由于远地或本地产生沙尘暴或扬沙后,尘沙等细小颗粒浮游空中而形成,出现时远方物体呈土黄色、太阳呈苍白色或淡黄色;扬沙形成机理与沙尘暴相近,它们的动力和热力学机制也基本相同,但扬沙多为本地沙尘被风吹起,影响范围较小;沙尘暴或强沙尘暴传输距离远,影响范围大,出现时天空呈现黄褐或红褐色,能见度急剧下降。强沙尘暴天气生成时,往往会看到气势磅礴、咆哮而来的几百米高的沙尘暴壁。有的特强沙尘暴到来时,天空一片黑暗,可达“伸手不见五指”的程度,俗称为“黑风”或“鬼怪”^[2]。

1.1.3 沙尘暴的强度划分

对沙尘暴强度的等级划分,一般采用风速和能见度两个指标,不仅因为这两个指标是目前气象台站的常规观测项目,资料记录历史长,分布范围广,易于获取,而且因为能见度差和强风速是沙尘暴的两个最主要致灾因素。表 1-1 为适合我国西北地区沙尘暴天气强度的划分标准^[3],许多气象台(站)都采用了此标准。

表 1-1 西北地区沙尘暴天气强度的划分标准

强度	瞬间极大风速	最小能见度
特强（黑风暴）	≥ 10 级或 $\geq 25\text{m/s}$	0 级（ $< 50\text{m}$ ）
强	≥ 8 级或 $\geq 20\text{m/s}$	1 级（ $< 200\text{m}$ ）
中	6~8 级或 $\geq 17\text{m/s}$	2 级（ $200 \sim 500\text{m}$ ）
弱	4~6 级或 $\geq 10\text{m/s}$	3 级（ $500 \sim 1000\text{m}$ ）

注：当风力和能见度不协调时，沙尘暴强度的确定方式分两种情况：①凡风速大、能见度也大时，强度以能见度对应级确定，如最大风速为 30m/s ，能见度为 100m 时，则确定为强沙尘暴天气；②当风速小、能见度也小时，则从原有风速对应级上升一级强度，如最大风速为 19m/s ，能见度为 100m 时，上升一级定为强沙尘暴天气。

1.2 沙尘暴成因、传输与时空分布

1.2.1 沙尘暴的成因

沙尘暴是一种危害极大的灾害性天气，它的发生发展既是一种加速土地荒漠化的重要过程，又是土地荒漠化发展到一定程度的具体表现。沙尘暴的发生是特定的气象和地理条件相结合的产物，其形成必须同时具备以下 3 个条件^[4]：大风、丰富的沙尘物质及不稳定的空气状态，其中大风是形成沙尘暴的动力条件，只有具备强而持久的风才能吹起大量的沙尘；丰富的沙尘源是形成沙尘暴的物质基础，沙漠、退化的林草地、无植被覆盖的干松土地、城乡建筑工地的泥沙等都可能成为沙源；而不稳定的空气状态则导致局地热对流猛烈发展，产生强大动力将沙尘卷入高空，从而形成沙尘暴或扬沙天气。

尽管沙尘暴有其自身的活动规律，但近代沙尘暴发展趋势剧增与自然资源被过度开发利用以及不合理的人为活动干扰造成的大面积植被破坏、沙化加剧、水土流失、土壤次生盐渍化密切相关^[5]，而不能完全归结为是自然风沙活动的结果。可以说，正是人类不合理的经济活动加剧了沙尘暴的强度和频率，或者说沙尘暴是伴随人类活动破坏生态平衡而愈演愈烈的。

1.2.2 沙尘暴的传输

沙尘暴天气过程所产生的沙尘气溶胶微粒在输送过程中不断地沉降、扩散和稀释，但沙尘暴细颗粒物在大气中停留时间长，具有远距离输送的能力，可随大气环流输送到较远的地方去，途经污染严重的城市地区，与城市大气污染物相互作用，对那里的天气和气候产生影响。例如，中国西北地区的沙尘暴天气过程可将当地的

黄沙粒子输送到日本、韩国、台湾，甚至北太平洋地区，作为该地上空冷却云中凝结核的一部分，起到增加降水的作用。撒哈拉及其周围干旱区的沙尘可由热带东风气流的携带，越过大西洋，输送到美洲大陆；还可通过沙尘暴过程输送沉降到欧洲中部、南部以及德国北部地区等。

我国北方春季的沙尘天气是与冷空气活动产生的大风相伴出现的。与冷空气活动路径相联系，西北地区沙尘暴天气的出现主要有 3 条移动路径（图 1-1），即西北路径（冷空气源于北冰洋冷气团，强冷空气自西西伯利亚向东南经我国北疆、内蒙古西部入侵河西走廊，造成大风沙尘暴，穿过巴丹吉林和腾格里沙漠，然后东移至鄂尔多斯高原）、西方路径（主要发生在塔里木盆地、河西走廊西部、青海省等）、北方路径（从蒙古国经我国内蒙古中部到达宁夏、陕北、华北等地），其中西北路径沙尘暴天气最多，约占总数的 68%，且该路径沙尘暴有移动迅速、强度大、影响范围广、灾害重的特点^[6]。

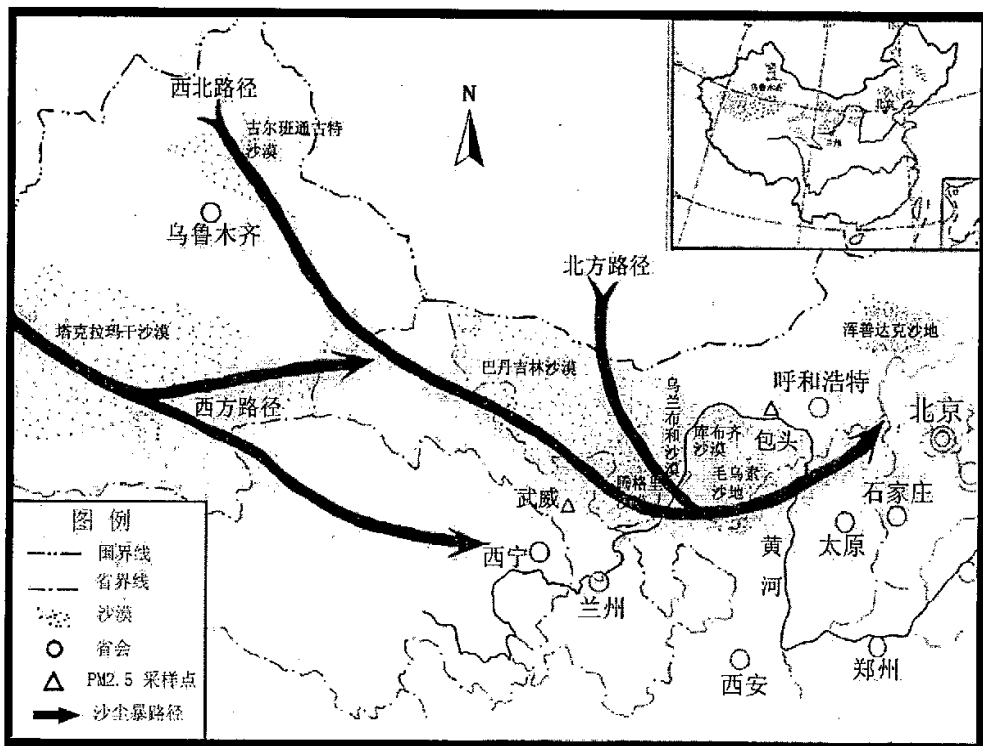


图 1-1 我国主要沙漠分布及西北地区沙尘暴移动路径示意图

1.2.3 沙尘暴的时空分布

全世界有 4 大沙尘暴多发区, 分别位于中亚、北美、中非和澳大利亚。我国的沙尘暴属于中亚沙尘暴区的一部分, 主要发生在北方干旱半干旱地区, 是世界上唯一在中纬度地区发生沙尘暴最多的区域。总的特点是西北多于东北地区、平原(或盆地)多于山区、沙漠及其边缘多于其它地区^[6]。从对我国强沙尘暴个例谱的统计分析表明: 沙源区主要分布在西北地区的巴丹吉林沙漠、腾格里沙漠、塔克拉玛干沙漠、乌兰布和沙漠、黄河河套的毛乌素沙地周围(图 1-1), 其中河西走廊到内蒙古中西部、宁夏干旱区既是我国沙尘暴最主要的源地区, 也是受沙尘暴影响最严重的地区; 华北北部的广大地区为沙尘暴的扩散影响区。扬沙的影响范围比沙尘暴要广, 一直延伸到长江中下游地区, 浮尘的影响范围更广, 其影响区域一直延伸到四川盆地和南岭北侧。

我国沙尘暴有季节和月份变化的特点^[5,7], 冬、春季最多, 夏季次之, 秋季(新疆地区为冬季)最低; 按月份来看, 4 月份发生频率最高, 3 月和 5 月次之, 秋季的 9 月份最低, 这主要是由于 5 月份以后, 随着气温的回升和降水的增加, 大面积种植的庄稼使得地表覆盖度提高, 沙尘暴发生的机会大大减少。沙尘暴也具有明显的日变化特征, 主要发生在中午至傍晚时段内, 占总数的 65.4%, 夜间至午前相对较少, 这显然与近地层空气热力稳定性的日变化有关^[8]。在河西走廊中部地区, 黑风暴大都出现在中午 12 时至晚上 22 时的时段内。

1.3 沙尘暴对人类的危害

沙尘暴在建国以来其发生次数呈明显上升趋势, 从 20 世纪 50 年代的 5 次增加到了 90 年代的 23 次, 给农牧业生产和人群健康造成了很大危害, 引起了社会的广泛关注。沙尘暴的危害作用主要表现在以下 4 方面^[9]:

(1) 风沙流的吹蚀与磨蚀。携带沙粒的运动气流的吹蚀作用和磨蚀作用可使肥沃的土壤变得贫瘠、农田及各种农业设施遭到损害, 导致农作物减产甚至绝收。

(2) 流沙埋压。沙尘暴所经之处, 其下部携带沙粒的风沙流遇阻减速, 将大量的沙粒沉积下来, 以流沙的形式掩埋农田、草场、居民区、工矿、铁路、公路等, 使当地景观发生变化。

(3) 大风袭击。沙尘暴来势凶猛, 伴随超强的风速, 产生严重的风蚀现象, 是土地沙漠化最重要的因素之一。此外, 破坏力巨大的风可以袭击各种工农业设施、拔树毁房、吹翻机动车辆、伤害人畜, 还可以中断供电线路、破坏交通和通讯设施等。1993 年 5 月 5 日发生在我国西北地区的特大沙尘暴, 使新疆、甘肃、内蒙古、

宁夏四省(区)共死亡 85 人, 伤 264 人, 失踪 31 人, 死亡和丢失牲畜 12 万头, 受灾农田和林地达几十万公顷, 数以百计的塑料大棚被毁, 公路、铁路、供电线路、基础设施等破坏严重, 经济损失数亿元。2000 年 3 月中下旬的沙尘暴使内蒙古阿拉善左旗和额济纳旗 376 眼人畜引水井被风沙埋没、近千座牲畜棚圈和塑料大棚被破坏、牧民的 80 万 kg 饲草被风刮走、8 万多亩麦田麦种被吹出, 直接经济损失上千万元。

(4) 影响大气环境。沙尘暴细颗粒物在大气中停留时间长、输送距离远、途经污染严重的城市地区, 与城市大气污染物相互作用。因而, 沙尘暴对环境的影响在很大程度上取决于其中的细颗粒物。这些细颗粒物对环境的影响主要体现在: ①恶化城市环境质量; ②降低大气能见度; ③增加大气多相化学反应的场所; ④长距离输送并沉降可导致区域性污染; ⑤直接反射和通过成云间接反射太阳辐射, 影响地球气候变化。其中, 沙尘细颗粒物与城市气态污染物的相互作用对大气化学与大气环境质量起着重要作用。目前国际上对此开展的研究包括: 光氧化剂在细颗粒物表面的耗损、痕量气体如氮氧化物的转化、有机污染物的光氧化和降解反应, 以及过渡态金属(如 Fe, Mn, Ti)离子的光催化氧化。沙尘暴携带大量沙尘, 使大气中颗粒物浓度急剧增加, 严重影响大气环境质量。大量的文献表明, 沙尘暴期间大气总悬浮颗粒物(TSP, 空气动力学当量直径 $\leq 100\mu\text{m}$ 的颗粒物)、可吸入颗粒物(PM_{10} , 空气动力学当量直径 $\leq 10\mu\text{m}$ 的悬浮颗粒物)、细颗粒物($\text{PM}_{2.5}$, 空气动力学当量直径 $\leq 2.5\mu\text{m}$ 的悬浮颗粒物)等含量大幅增加。沙尘暴发生期间, 大气二氧化硫(SO_2)、二氧化氮(NO_2)、臭氧(O_3)浓度下降^[10], 而硫酸盐(SO_4^{2-})浓度略有上升。在北京, 2000 年 4 月 6 日和 25 日发生的沙尘暴使大气 PM_{10} 日均值达 $1500\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、 $\text{PM}_{2.5}$ 日均值达 $230\mu\text{g}/\text{m}^3$, 分别为平时的 10 倍和 4 倍^[10]; 2002 年 3 月 20 日的沙尘暴使大气 TSP 浓度高达 $10900\mu\text{g}/\text{m}^3$, 超出国家标准约 30 倍^[11], 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 比平时高出数倍^[12]。

不过, 有研究表明^[7], 在遥远的过去, 黄土高原由沙尘暴输送的沙粒和土壤堆积而成, 夏威夷群岛上最初的土壤来自中国西北地区干旱苍凉的荒原。还有人认为沙尘暴对中和酸雨、减轻温室效应、减缓全球变暖趋势起到一定的积极作用^[13,14]。

1.4 沙尘暴对人体健康的影响及其毒理机制

1.4.1 沙尘暴对人体健康的影响

沙尘暴来临时, 眼、鼻、喉、皮肤等直接接触沙尘的部位可出现一定的刺激症

状(如口干唇裂、眼睛疼痛、流涕、流泪、咳嗽等)或过敏反应(如过敏性鼻炎、过敏性皮肤瘙痒症等),特别是一些首次或突然大量接触高密度沙尘的人可表现为突发性气促、胸痛、胸闷、头疼、头晕等,对于原先患有哮喘、慢性肺病、心脏病等疾病的患者症状会加剧。一些敏感人群可能会引起呼吸综合征、肺功能降低等不良健康效应。长期生活在颗粒物污染环境中的小学生免疫功能会受到明显抑制,导致呼吸系统对感染的抵抗力下降,呼吸道疾病患病率增加。大量的沙尘颗粒弥漫在空气中,还会散射和吸收阳光,降低地面紫外线的强度,削弱紫外线的消毒杀菌作用,因此,在颗粒物污染严重的地区,儿童佝偻病的发生率增加,扁桃腺炎、感冒等通过空气传播的疾病发病率升高^[15]。

伴随大风的沙尘暴除混有大量的尘埃颗粒外,还可携带花粉、细菌、病毒以及其它一些对人体或畜禽有害的物质,成为传播某些疾病的媒介,而且因为波及范围较大,还可能引起一些严重的公共卫生问题。即使从物理属性上说,沙尘暴对人的心理健康也有很大的负面影响:当沙尘暴出现时,空气及沙尘冲撞摩擦产生噪音,直接影响人体的神经系统,使人头痛、恶心、烦躁;猛烈的大风、沙尘常使空气中的负氧离子严重减少,导致一些对天气变化敏感的人身体不适,让人感到神经紧张和疲劳;加之能见度降低、光线阴暗,使人的视野受到限制,可能产生压抑和恐惧之感。

研究表明,沙尘暴是潜在的过敏性和非过敏性疾病的激发因素,并且与风湿病、黑热病、尤其与肺部疾患有关,如引起支气管炎、支气管哮喘、肺气肿等疾病^[16,17]。受起源于蒙古和中国北方的沙尘暴所影响,韩国汉城因沙尘天气使心血管和呼吸系统疾病导致的日死亡率增加了 4.1%^[18];台湾台北市沙尘天气 1 天之后呼吸系统疾病住院人数上升 7.66%, 2 天之后呼吸系统疾病死亡率上升 4.92%、心血管系统疾病死亡率上升 2.59%~3.65%, 3 天之后脑中风人数显著上升,这些都与空气中 PM_{10} 和 $PM_{2.5}$ 浓度增加有关^[19-21]。美国军队在某久未有人居住的沙尘暴多发地区进行军事行动时,士兵们发生了严重的呼吸道感染。美国华盛顿地区 1991 年发生沙尘暴的 2 天中,支气管炎的急诊量增加了 3.5%,鼻窦炎的急诊量增加了 4.5%^[22]。一次严重的沙尘暴使美国加利福尼亚的圣华金山谷(San Joaquin Valley)中 18 人感染了肺球形真菌病(coccidiomycosis),其中 1 人死亡^[23]。

此外,沙尘暴还可以引起非职业性尘肺病的发生,即风沙尘肺病,它是一种在干旱、半干旱环境中因严重的大风沙尘造成的地方病,其特征是肺的慢性纤维化。在印度喜马拉雅山区的一些村庄(如 Ladakh 地区),村民以农业为生,这里没有矿

产和工厂,有的是频繁发生的沙尘暴,大气颗粒物中游离二氧化硅的比例高达 60%~70%,流行病学调查^[24,25]显示该区非职业性尘肺的发生率为 2.0%~45.3%,与沙尘暴的严重程度密切相关。50 岁以上的村民不同程度地患有矽肺病,肺中无机沙尘的化学分析表明:石英占 16%~21%,元素硅(折算)总量为 54%,这与居住环境中采集的沙尘样品中的硅含量类似,显然,肺中的尘粒是来源于生活中的沙尘环境,而非工作场所。

风沙环境对肺的影响在我国也引起了广泛注意^[26],蔡曦光等^[27]于90年代初证明人与动物长期生活在风沙环境中可造成尘肺,这是非职业尘肺的首次提出,随后不断发现无任何职业粉尘接触史的尘肺病人,其中不少是由于居住在沙尘浓度高的环境中所致。逢兵等^[28]发现长期接触过量沙漠尘可促进沙漠肺的形成,老年人群患者较多,患者中可出现轻度阻塞性肺功能改变,X线检查表现为双肺粟粒状阴影或阴影融合,但这种病对患者日常生活影响不大。陈怀涛等^[29]在甘肃安西县观察到风沙尘肺病人的同时,还对河西走廊地区多种家畜家禽的肺组织进行了综合性研究,发现动物尘肺在这里普遍地存在着,而且和人的上述尘肺在性质上基本一致,均属铝硅酸盐尘肺,是由长期吸入细小沙尘而引起的。1995年4月~5月,李保全等^[30]在新疆维吾尔自治区且末县阿热勒乡调查了年龄在45岁以上的维吾尔族男性农民120人,排除从事过石棉矿、水泥厂等粉尘作业的人员,共检出21例风沙尘肺患者,有的合并有肺结核或肺心病,这与且末县地处塔克拉玛干沙漠边缘、居民常年遭受沙尘暴或扬沙骚扰有关。

1.4.2 沙尘暴对健康影响的毒理机制

沙尘暴是大气中沙尘气溶胶的重要来源。沙尘气溶胶的存在不仅对源地,而且还可通过大气输送对其下游广大地区的生态系统、大气环境和大气化学等产生很大影响,甚至还可能改变沙尘源地下游大气气溶胶和降水的物理化学特性。在沙尘暴导致空气中沙尘量急剧增加的过程中,大颗粒沙尘的增加更为明显,但大颗粒沙尘的重力沉降速度很快,因而滞留在沙尘影响区上空的是大量细小沙尘,由它们导致空气中 PM_{10} 、 $PM_{2.5}$ 浓度升高。一般来说,粒径 $10\mu m$ 的颗粒物,在空气中可持续飘浮 4~9h, $1\mu m$ 的颗粒物在 19~98 天才能降到地面,更小的如 $0.4\mu m$ 的则需要 120~140 天才能落地。在空气中飘浮时间越长的小颗粒物,越容易吸附有害气体、重金属元素、有机污染物、病原性微生物等物质,造成的危害也越大。当可吸入颗粒物进入呼吸道后,其上附着的有害物质可对呼吸道产生刺激和腐蚀作用,易使呼吸道的防御系统遭到破坏,如影响巨噬细胞的吞噬功能,导致免疫功能下降,引起

多种疾病。由于 $PM_{2.5-10}$ 可沉积在气管和支气管, $PM_{2.5}$ 可到达肺泡, 因此, 沙尘暴对人体健康的危害主要来自大气中增加的细小颗粒物 PM_{10} 或 $PM_{2.5}$, 即沙尘暴对人体或动物的毒性作用主要是由沙尘暴 PM_{10} 或 $PM_{2.5}$ 引起的。

毒理学实验表明, 沙尘暴 PM_{10} 和 $PM_{2.5}$ 可导致大鼠肺泡巨噬细胞 (AM) 的吞噬功能受损^[31], 诱导 AM 细胞分泌炎症因子一氧化氮 (NO)、白介素-8 (IL-8)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)^[32]; $50\mu\text{g/mL}$ 以上处理浓度的沙尘暴 PM_{10} 和 $PM_{2.5}$ 即可抑制人肺成纤维细胞的线粒体琥珀酸脱氢酶活力, 并引起胞质乳酸脱氢酶 (LDH) 和酸性磷酸酶 (ACP) 向细胞膜外渗漏, 且在相同染毒剂量下, $PM_{2.5}$ 比 PM_{10} 的毒性作用更明显^[33]。粒径小于 $10\mu\text{m}$ 的沙漠尘不仅可造成大鼠肺急性损伤, 而且对体外培养的巨噬细胞也产生毒性, 细胞存活率随染毒时间和染毒剂量的增加而下降, 细胞氧化损伤加剧^[34,35]。暴露于沙尘暴之下的大鼠肺泡灌洗液 (BALF) 中蛋白质、白介素-6 (IL-6)、LDH 含量增加^[36]。本室最近的研究表明, 沙尘暴 $PM_{2.5}$ 可引起大鼠 AM 细胞脂质过氧化损伤, AM 细胞死亡, 膜流动性改变, 膜 K^+ - Na^+ -ATP 酶、 Ca^{2+} - Mg^{2+} -ATP 酶活性改变, 酸性磷酸酶活性升高, 细胞内 Ca^{2+} 含量增加^[37-39]。

目前, 关于粒径 $10\mu\text{m}$ (或 $2.5\mu\text{m}$) 以下大气颗粒物 (包括沙尘颗粒) 的毒理机制主要集中在以下几方面^[40,41]:

(1) 颗粒物的肺细胞毒性

细颗粒物与肺组织细胞接触后, 可通过机械刺激或其成分的毒性作用, 对肺组织细胞造成损害, 导致细胞及其生化成分发生改变。具体表现为: 中性白细胞增高, 乳酸脱氢酶 (LDH), 酸性磷酸酶 (ACP), 碱性磷酸酶 (AKP) 和唾液酸 (SA) 等的变化。LDH 为胞浆酶, 当细胞膜通透性增加或细胞死亡溶解时大量释放, 使得细胞外液 LDH 活性增加, 而膜通透性的改变是许多毒性物质作用于细胞膜时的一种常见的早期反应。ACP 是溶酶体酶, 在肺泡巨噬细胞中特别活跃。颗粒物染毒后, 肺泡巨噬细胞受到刺激, 溶酶体数量增加, 吞噬活跃, 细胞中毒死亡后, ACP 也可大量逐出。NA 对生物膜结构与稳定性起着很重要的作用, NA 含量的增加提示生物膜的完整性受到损害。

(2) 颗粒物的免疫毒性

作为肺部防御的一道重要屏障, AM 细胞将进入肺内的整个颗粒物吞噬, 在颗粒物的刺激下 AM 细胞释放出一系列细胞因子 (cytokine, 通过作用于其相应的靶细胞受体而介导机体多种免疫效应, 在生理、病理过程中发挥着重要作用) 和前炎症因子, 如 TNF- α 、核转录因子 (NF- κB) 等, 由前炎症因子进一步刺激肺上皮细胞、

成纤维母细胞、内皮细胞等,使其分泌粘附因子及细胞因子(如 IL-8, IL-6 等),这些粘附因子及细胞因子使各种炎症细胞(如中性粒细胞、巨噬细胞、单核细胞、多形核白细胞等)聚集,导致炎症发生。观察巨噬细胞形态和吞噬能力的改变及释放的细胞因子,可以反映颗粒物对机体非特异性免疫的损伤程度。同时,颗粒物对特异性的细胞免疫也可造成损害。

(3) 颗粒物对细胞的氧化损伤

一些颗粒物不但本身具有自由基活性,而且还通过作用于上皮细胞和巨噬细胞,使它们释放活性氧(ROS)或活性氮(RNS),这些自由基或 ROS、RNS 不但攻击富含不饱和脂肪酸的细胞膜、线粒体膜等膜性系统,使膜结构受损、膜通透性和流动性改变,而且攻击蛋白质、核酸等生物大分子,使之发生链内或链间的交联、断裂,导致细胞本身及邻近细胞受到损害,其主要病理机制是引发脂质过氧化反应、削弱抗氧化能力,使细胞产生氧化损伤,进而可引起呼吸功能改变、肺纤维化、慢性支气管炎、肺气肿等疾病。

(4) 颗粒物的致突变性和潜在致癌性

颗粒物粒径越小,吸附的有毒重金属和多环芳烃等有机物越多,其致突变能力就越强^[15],一些短期遗传毒性实验从基因、DNA、染色体不同水平都说明颗粒物具有潜在的致癌性^[42]。由颗粒物对肺组织的氧化损伤而产生的 8-羟基脱氧鸟苷可能是肺癌形成的一个决定因子。另外,颗粒物还可能通过改变细胞间隙通讯功能、抑制细胞凋亡而导致正常细胞向癌细胞转化。

1.5 减少沙尘暴危害的对策

1.5.1 沙尘暴天气的防治措施

沙尘暴的防治措施主要有以下几方面:

(1) 防治沙尘暴必须树立科学的态度,正确的理念,摒弃长期以来在治理沙尘暴上的认识误区,比如:认为沙尘暴就是沙漠里的沙粒给人类造成的危害,防御沙尘暴就是治理沙漠,没有认识到沙尘暴的主要危害成分不是沙漠里的沙粒而是来自农田和退化草原的直径小于 100 μm 的微细颗粒;认为治沙就是植树造林,没有认识到防御沙尘暴最主要的措施是地面植被覆盖;认为“人定胜天”,苛求“人进沙退”,背离了自然规律,虽然局部地区环境有所改善,但整体情况仍在恶化。因此,防治沙尘暴不仅要进行制度创新、技术创新,更要进行人类价值观念的创新。

(2) 严格执行中华人民共和国环境保护法、森林法、草原法、水土保持法等相

关法律法规。在已经沙化的地区,实施生物措施与工程措施相结合,乔木、灌木、草本植物种植相结合。在生态脆弱区实行退耕还林还草和生态环境建设,严禁草场过度放牧。可把在西部生态脆弱区分散居住的人口迁移到生态条件较好的地区,用生态移民的办法建立生态无人区,靠自然生态的自我修复功能达到恢复生态的目的。

(3) 建立和完善沙尘天气的动态监测和预警系统,做好天气预报和预警服务,并加强对沙尘暴的科学研究,掌握沙尘暴发生发展的机制和规律。在沙尘暴低发期和缩小期,抓住有利时机,创造有利于植被生长的环境。在沙尘暴高发期和扩大期,及时预报预警,大力普及防灾知识,提高群众防灾意识,作好防护准备工作。

(4) 根据当地降水量、土壤储水量及水资源利用情况,合理安排作物种植,大力推广节水灌溉技术,提高水的利用率,严防地下水采用过度、水位下降。

(5) 防止沙漠戈壁边缘的土地沙化,保护好沙区现有天然植被,封沙封滩,育草育林,建立起遏制沙漠化推进的生态屏障,增加地面覆盖度,扩展沙漠绿洲。

1.5.2 沙尘暴期间个人防护措施

在沙尘暴的天气里,人们要尽量少外出,尤其是老年人、儿童和体弱多病者。即使沙尘暴过后的几天里,也尽量少出门。如需外出,最好戴上口罩、纱巾、防风眼镜,皮肤上涂点护肤品。这期间要避免剧烈运动,以免吸入更多的沙尘。回到家后,首先应对暴露的皮肤、眼睛、口腔、鼻腔进行清洗。另外,为了防止沙尘暴对室内的污染,要把门窗关好。有条件的家庭,可打开加湿器,增加空气中的湿度,使颗粒物沉降加快。没有加湿器的家庭,可采用一些日常方法,如勤擦桌子、拖地,以吸附尘埃,净化空气。此外,在沙尘暴期间,应多喝些水,多吃清淡食物。不要购买街头露天食品。

1.6 课题背景及意义

沙尘暴不仅是一种自然灾害现象,而且对大气环境构成极大威胁。由于它的影响范围广,危害程度大,对它的研究一直受到人们的关注。不过,目前的文献主要集中于沙尘暴起源、分布、传输路径、颗粒成分分析等物理和化学机制的报道上,对沙尘暴颗粒物毒性作用的研究报道不多,尤其在沙尘暴及其携带的可吸入颗粒物(PM_{10})或细颗粒物($PM_{2.5}$)及其毒理机制的分析方面尚未进行过系统和全面的研究。因此,本论文的工作富有创新性和一定的应用价值,可以初步揭示沙尘暴 $PM_{2.5}$ 的毒理机制,为制定沙尘暴防治政策提供依据。

本室的前期研究发现,沙尘暴 $\text{PM}_{2.5}$ 可剂量依赖性地降低大鼠肺泡巨噬细胞质膜 $\text{Ca}^{2+}\text{Mg}^{2+}$ -ATP 酶和 Na^+K^+ -ATP 酶的活性,使 AM 培养液中 LDH 和 ACP 活性增加,增大 AM 膜脂表层流动性和疏水区流动性,使细胞内 Ca^{2+} 含量增加等^[37-39]。本文进一步通过体外和体内实验研究了沙尘暴 $\text{PM}_{2.5}$ 的 DNA 损伤和氧化应激。论文的工作分三部分,一是文献综述,就沙尘暴的定义、特征、发生规律、对人类的危害、对人体健康的急慢性影响以及沙尘暴的防治措施作了较完整的阐述;二是通过体外实验分别研究了正常大气和沙尘暴 $\text{PM}_{2.5}$ 及其水提取物和有机提取物对肺泡巨噬细胞 DNA 的损伤作用以及细胞存活率的影响,分析了沙尘暴 $\text{PM}_{2.5}$ 不同组分的毒性差异,为探究沙尘暴的毒理机制奠定了基础;三是通过体内实验研究了正常天气和沙尘暴 $\text{PM}_{2.5}$ 样品对大鼠肺、心、肝组织的氧化应激作用以及对肺细胞 DNA 的损伤作用。

本论文研究内容是导师孟紫强教授主持的国家自然科学基金重点项目(30230310)“沙尘暴细颗粒物的理化特性及其对人体健康的影响”中的一部分,它对于揭示沙尘暴对人体和动物的危害机理、促进全社会对沙尘暴和环境问题的重视将起重要的推动作用。

第二章 沙尘暴细颗粒物对大鼠肺泡巨噬细胞 DNA 损伤作用的体外研究

2.1 前言

近年来我国西北地区春季几乎每年都会发生沙尘暴天气^[43]。沙尘暴发生时,沙源地和影响区大气中的可吸入颗粒物浓度迅速增加,大气污染急速加剧。通过对北京、青岛、台湾及韩国等地沙尘暴 PM_{2.5} 的成分分析表明,其上附着大量的 SO₄²⁻、NH₄⁺、NO₃⁻、K⁺、过渡金属元素(如 Fe、Zn)以及有机污染物如多环芳烃类和苯并[a]芘等^[44,45],甚至一些致病性的病毒、细菌也吸附于气溶胶之上,大大增加了它们的危害性。我国及亚洲其他地区的沙尘暴带来的 PM_{2.5} 可以被输送到北太平洋,甚至穿过太平洋到达美国的中部和北极圈,对全球的气候产生影响^[46,47]。因此,沙尘暴 PM_{2.5} 毒理效应的研究日益受到重视。

肺泡巨噬细胞(alveolar macrophages, AM)广泛分布于肺泡内及支气管表面,组成肺组织的第一道防线,是肺脏的重要免疫防御细胞,占肺部巨噬细胞数的 99%。它不但是清除肺部吸入颗粒(如大气颗粒物、沙尘颗粒或其它异物)的主要细胞,而且也是一种分泌和调节细胞,能阻止肺部受损后其它细胞的激活,促进肺部炎症的缓解。由于它能生成和释放多种细胞因子、弹力蛋白酶、活性氧或自由基等,因而在抗菌、抗肿瘤、抵御外源化合物以及许多肺部疾病的发病中起十分重要的作用,当 AM 功能受抑制或损害时,容易导致肺部感染、肺气肿或肺组织的其它病变。

空气中悬浮的 PM₁₀ 或 PM_{2.5} 颗粒进入气道后主要随其大小、轻重的差异,通过惯性冲撞或重力沉降作用而粘附或沉积在不同水平的气道粘膜上,其中大约 30% 沉积在中小气道、10%~15% 沉积在肺泡区。沉积在气管、支气管、细支气管内的颗粒通过气道的上皮纤毛运动排到咽喉部被咳出或被吞入消化道,沉积在肺泡内的颗粒则被巨噬细胞吞噬。一些毒性较大的颗粒物质(如游离 SiO₂)被 AM 吞噬后能使细胞发生自溶,如果剂量较大且危害时间较长,可导致矽肺等病变的产生。因此,观察颗粒物对 AM 的损伤作用可反映它们对机体的毒性大小。

体内外实验表明,城市大气 PM_{2.5} 可引起人和小鼠 AM 凋亡和坏死、细胞存活率降低^[40],损害 AM 吞噬功能^[48];大气 PM₁₀ 能增加巨噬细胞炎性蛋白-β(MIP-β)、单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)和白介素-6(IL-6) mRNA 的含量^[49];暴露于城市

大气 $PM_{0.1}$ 、 $PM_{0.1-2.5}$ 、 $PM_{2.5-10}$ 之下的人 AM 产生大量的炎性细胞因子^[50]。以大气 $PM_{2.5}$ 给小鼠气管滴注染毒 24h 后, 肺泡灌洗液 (BALF) 中 LDH、ACP、碱性磷酸酶 (AKP)、TNF- α 、白介素-1 (IL-1)、一氧化氮合酶 (NOS) 等活性、白蛋白 (ALB)、丙二醛 (MDA)、NO 等含量显著增高, 而超氧化物歧化酶 (SOD) 活性和 AM 的吞噬功能则显著下降^[51]; 美国曼哈顿世贸大楼 (WTC) 倒塌后扩散的灰尘颗粒 ($PM_{2.5}$ 和 $PM_{10-2.5}$) 引起人 AM 产生大量细胞因子或趋化因子 (如 IL-6、IL-8、TNF- α)^[52]。研究还表明, 大气 $PM_{2.5}$ 和 PM_{10} 处理的 AM 内产生大量自由基^[52]。本室的前期研究发现, 沙尘暴 $PM_{2.5}$ 可剂量依赖性地降低大鼠肺泡巨噬细胞质膜 $Ca^{2+}Mg^{2+}$ -ATP 酶和 Na^+K^+ -ATP 酶的活性, 使 AM 培养液中 LDH 和 ACP 活性增加, 增大 AM 膜脂表层流动性和疏水区流动性, 使细胞内 Ca^{2+} 含量增加等^[37-39]。以上研究说明暴露于大气可吸入颗粒物或细颗粒物之下可使 AM 受到损害。

为研究沙尘暴 $PM_{2.5}$ 的体外毒性作用, 选择甘肃省武威市和内蒙古包头市作为采样点, 采集正常天气 (晴朗且各大气污染物未超标的天气) 和沙尘暴天气下的大气 $PM_{2.5}$, 分别称为正常样品和沙尘暴样品。通过体外实验观察各样品总颗粒悬浮液、水提取物、有机提取物对大鼠 AM 细胞存活率和细胞 DNA 的损伤作用, 并对不同成分的毒性作用作了比较。

2.2 材料与方法

2.2.1 试剂与仪器

二甲基亚砜 (DMSO)、四甲基偶氮唑盐 (MTT)、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) 均购自 Sigma 公司; RPMI1640 培养基购自 GIBCORL, 其余试剂为国产分析纯。溶液用水为 Milli-Q 超纯水。 $PM_{2.5}$ 大流量大气采样器购自美国热电子公司 (Thermo Andersen), 图象分析仪购自德国 Leica 公司。

2.2.2 样品采集

(1) 采样时间与采样地点

采样时间为 2004 年 3 月 1 日至 5 月 31 日, 每日 24h 连续采样, 每周采 6 天。采样地点选择 2 个 (图 1-1), 一个位于甘肃省武威市环境监测站四楼楼顶 ($101^{\circ}49' \sim 104^{\circ}43'E$, $36^{\circ}29' \sim 39^{\circ}27'N$), 一个位于内蒙古自治区包头市医学院四楼楼顶 ($109^{\circ}50' \sim 111^{\circ}25'E$, $41^{\circ}20' \sim 42^{\circ}40'N$)。

(2) 采样仪器与样品保存

采用PM_{2.5}大流量大气采样器(Thermo Andersen) 24h连续采样, 采样仪器离地面约15m, 流量为1.13 m³/min。以石英纤维滤膜(美国Whatman公司)收集颗粒物, 每天换1张(沙尘暴天气时每6h换1张), 采好颗粒物的滤膜用铝箔纸包好、编号、存放于-20℃冰箱内。

(3) 样品分类

根据当地气象局和环保监测站资料区分正常天气 PM_{2.5} 和沙尘暴 PM_{2.5}。正常天气 PM_{2.5} 采自既无风沙又无污染的正常晴朗天气, 沙尘暴 PM_{2.5} 采自强风将地面大量尘沙吹起, 水平能见度很低的天气。根据《环境空气质量标准 GB 3095-1996》, 武威、包头 2 城市皆属于二类区(即城镇规划中确定的居住区、商业交通居民混合区、文化区、一般工业区和农村地区), 大气质量分级执行二级标准^[11]。

2.2.3 细颗粒物悬浮液及其水提取物和有机提取物溶液的制备

两城市不同种类的样品按照分类原则选择一些典型的日期分别进行合并, 以利于实验的完整性和一致性。每份载有样品的滤膜平均分为三份, 一份用来制备细颗粒物悬浮液, 一份用来制备水提取物溶液, 一份用来制备有机提取物溶液。方法参照文献^[54,55], 简述如下:

(1) 细颗粒物悬浮液的制备: 将载有 PM_{2.5} 颗粒的滤膜称重、剪碎后放入 50mL 小烧杯中, 加 30mL Milli-Q 超纯水低温超声振荡 30min, 收集悬浮液并真空冷冻干燥, 减重法获得干燥颗粒的重量, 密封保存于-20℃冰箱中。实验时以灭菌的 0.9% 生理盐水配成所需浓度的颗粒物悬液, 涡旋 5min 使其充分混匀。

(2) 水提取物溶液的制备: 将载有 PM_{2.5} 的石英纤维滤膜剪碎后加 Milli-Q 水低温超声振荡 30min, 收集悬浮液并以 0.45μm 针头过滤器过滤, 真空冷冻干燥, 称重后密封保存于-20℃。实验时以灭菌的生理盐水配成所需浓度。

(3) 有机提取物的制备: 将载有 PM_{2.5} 的石英纤维滤膜剪碎后加适量二氯甲烷超声振荡 30min, 每张膜提取 3 次, 收集提取液, 过滤, 干燥后称重, 用 DMSO 溶解并配成所需浓度, 4℃避光保存。

2.2.4 大鼠肺泡巨噬细胞的提取与培养

给体重 220~250g 的清洁、健康雄性 Wistar 大鼠注射戊巴比妥钠(90mg/kg)使其麻醉, 腹主动脉放血致死, 暴露气管和肺, 用灭菌消毒的磷酸盐缓冲液(PBS, pH=7.2)灌洗双肺, 肺泡灌洗液(BALF)于 3000r/min、4℃离心 10min。沉淀用含 10%小牛血清的 RPMI1640 培养液洗涤、悬浮, 并用台盼蓝拒染法计数。将细胞分装于细胞培养瓶中(每瓶约含 2.4×10⁶ 个细胞), 置 37℃、5%CO₂ 培养箱孵育 2h 后

小心倾去原培养液,用 0.9%生理盐水 3mL 轻轻洗涤 3 次以去除非贴壁细胞和原培养液成分,贴壁的肺泡巨噬细胞纯度大于 95%。

2.2.5 细胞毒性的测定

采用MTT分析法^[56]。因为活细胞的线粒体中存在与辅酶 II (NADP) 相关的脱氢酶,可将黄色的MTT还原为可溶于DMSO的蓝紫色物质 (Formazan),而死细胞中此酶消失,MTT不被还原,因而可根据吸光值确定细胞的存活程度。实验中以灭菌的PBS (pH=7.2) 配制成0.5% MTT溶液,滤过除菌,分装保存。

PM_{2.5} 和水提取物的细胞毒性:在 96 孔细胞培养板(每孔约含 2×10^5 个细胞)中加入不含血清的 RPMI1640 培养液和颗粒物处理液(对照用生理盐水)各 100 μ L,每 6 孔为一组平行。有机提取物的细胞毒性:在 96 孔细胞培养板(每孔约含 2×10^5 个细胞)中加入不含血清的 RPMI1640 培养液 190 μ L 和有机提取物处理液(对照用二甲基亚砷)10 μ L,每 6 孔为一组平行。培养 20h 后加入 5mg/mL 的 MTT 溶液(20 μ L/孔)继续培养 4h,小心弃上清。以 PBS 洗涤一次后加入 200 μ L 二甲基亚砷,室温下放置 15min。转移其中的 100 μ L 二甲基亚砷至新的 96 孔细胞培养板,在 BIO-RAD Model 550 型酶标仪上测值。计算细胞的相对存活率(处理组吸光值占对照组吸光值的百分率)。

2.2.6 细胞 DNA 损伤的测定

在 PM_{2.5} 和水提取物染毒组中,每个培养瓶中首先加入 1.7mL 无血清 RPMI1640 培养液(含 2.4×10^6 个大鼠肺泡巨噬细胞)和 200 μ L 生理盐水(对照组)或用生理盐水配制的不同浓度的 PM_{2.5} 悬液(终浓度分别为 33.3 μ g/mL、100 μ g/mL 和 300 μ g/mL)或水提取物溶液(终浓度分别为 75 μ g/mL、150 μ g/mL 和 300 μ g/mL);在有机提取物染毒组中,如上每个培养瓶中首先加入 1.7mL 含细胞的无血清 RPMI1640 培养液,对照组每瓶加入 30 μ L 的二甲基亚砷,实验组每瓶加入二甲基亚砷配制的不同浓度的有机提取物溶液(终浓度分别为 25 μ g/mL、50 μ g/mL 和 100 μ g/mL),孵育 4h 后收集细胞并用单细胞凝胶电泳技术(SCGE)检测 DNA 的损伤。

单细胞凝胶电泳技术主要根据 Singh 等^[57,58]的报告;并结合本实验室建立的方法进行^[59]。主要步骤如下:①单细胞悬液的制备 取上述染毒过的 AM 悬液,立即与预温 37℃ 的 0.7%低熔点琼脂糖以适当比例充分混匀。②制胶片 分作 3 层,第 1 层为正常熔点琼脂糖(NMA)层,第 2 层为含有细胞的低熔点琼脂糖(LMA)层,第 3 层为 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 2.5M

NaCl、100mM Na₂EDTA、10mM Tris、pH10，用前加 1%Triton X-100，10% DMSO) 中裂解 1h。④DNA 碱解旋 将载玻片浸于新配制的碱性电泳缓冲液 (0.3M NaOH、1mM EDTA) 中 30min，以便使 DNA 在碱性条件下解螺旋。⑤电泳 在电压 25V，电流 250mA 的条件下，电泳 30min。⑥中和 为使凝胶中碱液中和，加入缓冲液中 15min，冰箱保存。⑦染色与观察 用 30μg/mL EB 染色 20min 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。

2.2.7 统计分析

数据以平均值($\bar{x}$)±标准差(s)表示。用 SPSS11.0 统计软件通过双因素方差分析 (two-way ANOVA) 进行组间差异的显著性检验，均数间多重比较用 LSD 或 Bonferroni 法。 $P \leq 0.05$ 表示差异显著 (具统计学意义)。

2.3 结果

2.3.1 沙尘暴细颗粒物及其水提取物和有机提取物的提取率

从滤膜上提取的沙尘暴 PM_{2.5} 样品其总颗粒物、水提取物、有机提取物的提取率分别为：50.62%、10.36%和 3.10% (见表 2-1)。总颗粒物的提取率最高，有机提取物的提取率最低。水提取物的提取率约为有机提取物的 3.3 倍。

表 2-1 武威和包头沙尘暴 PM_{2.5} 及其水提取物和有机提取物的提取率

沙尘 样品	含样品的 滤膜重量 (g)	提取总颗 粒物重量 (g)	总颗粒物 提取率 (%)	提取水提 取物重量 (g)	水提取物 提取率 (%)	提取有机 提取物重 量 (g)	有机提取 物提取率 (%)
武威	0.4893	0.2498	51.06				
	0.4473			0.0424	9.48		
	0.3384					0.0104	3.07
包头	0.4474	0.2245	50.18				
	0.4106			0.0231	11.25		
	0.3912					0.0061	3.12
均值			50.62		10.36		3.10

2.3.2 沙尘暴细颗粒物及其水提取物和有机提取物的细胞毒性

采集的 PM_{2.5} 样品分为四种，BN 为包头正常天气样品，BS 为包头沙尘暴样品，

WN 为武威正常天气样品, WS 为武威沙尘暴样品。包头和武威不同天气下 $PM_{2.5}$ 及其水提取物和有机提取物处理大鼠肺泡巨噬细胞 24h 后的细胞毒性见图 2-1。

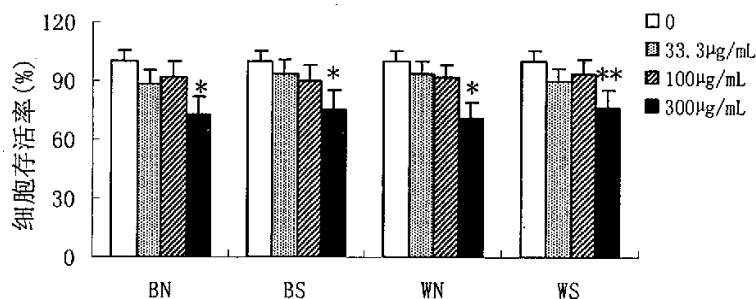


图2-1-1 $PM_{2.5}$ 总颗粒物

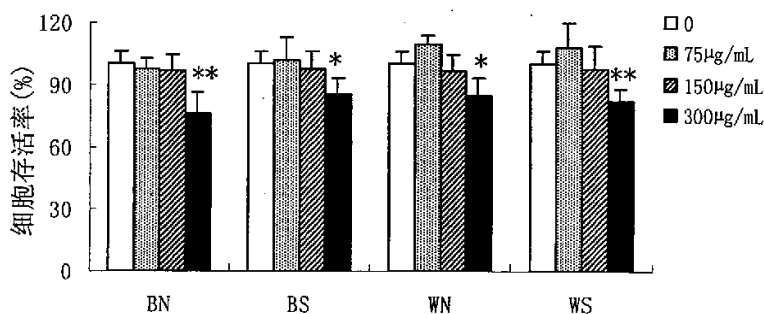


图2-1-2 $PM_{2.5}$ 水提取物

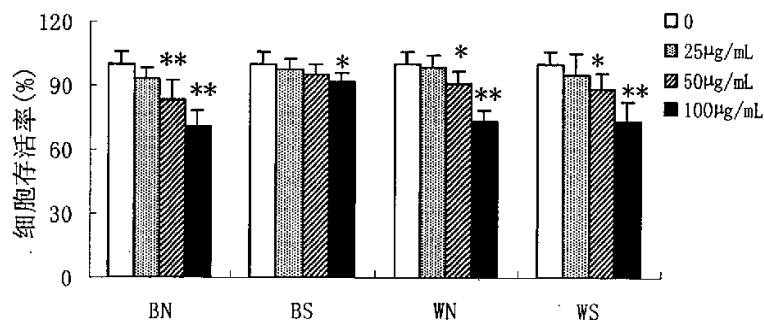


图2-1-3 $PM_{2.5}$ 有机提取物

图 2-1 不同地区沙尘暴和正常天气 $PM_{2.5}$ 及其水提取物和有机提取物

对大鼠肺泡巨噬细胞的毒性

BN: 包头正常天气样品; BS: 包头沙尘暴样品; WN: 武威正常天气样品; WS: 武威沙尘暴样品;

每一处理中, $n=6$; 与对照相比, $*p \leq 0.05$, $**p \leq 0.01$.

从图 2-1-1 可知: 随着 $PM_{2.5}$ 悬液浓度增大, 细胞存活率逐渐降低。在处理细

胞 24h 后, 包头正常天气和沙尘暴与武威正常天气和沙尘暴样品在高浓度 (300 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 下细胞存活率分别为 72.48%、75.84%、70.89%及 76.49%, 与对照组相比均有显著性差异。但在同一浓度下, 同一地区沙尘暴 $\text{PM}_{2.5}$ 与正常天气样品之间、包头正常与武威正常天气样品之间以及包头沙尘暴与武威沙尘暴样品之间, 对细胞的毒性均无显著性差异。

从图 2-1-2 可知: 随着 $\text{PM}_{2.5}$ 水提取物溶液浓度增大, 细胞存活率也逐渐降低。在处理细胞 24h 后, 包头正常天气和沙尘暴与武威正常天气和沙尘暴样品在高浓度 (300 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 下细胞存活率分别为 76.52%、85.74%、84.52%及 81.92%, 与对照组相比均有显著性差异。但在同一浓度下, 同一地区沙尘暴 $\text{PM}_{2.5}$ 水提取物样品与正常天气样品之间、包头正常与武威正常天气样品之间以及包头沙尘暴与武威沙尘暴样品之间, 对细胞的毒性均无显著性差异。

从图 2-1-3 可知: 随着 $\text{PM}_{2.5}$ 有机提取物溶液浓度增大, 细胞存活率逐渐降低。在处理细胞 24h 后, 包头正常天气和沙尘暴与武威正常天气和沙尘暴样品在高浓度 (100 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 下细胞存活率分别为 70.83%、91.38%、72.95%及 73.38%, 与对照组相比均有显著性差异。而且在高浓度下, 包头沙尘暴 $\text{PM}_{2.5}$ 有机提取物样品比包头正常天气 $\text{PM}_{2.5}$ 有机提取物样品对细胞的毒性显著降低, 但武威沙尘暴与武威正常天气样品之间、包头正常与武威正常天气样品之间, 以及包头沙尘暴与武威沙尘暴样品之间, 对细胞的毒性均无显著性差异。

2.3.3 沙尘暴细颗粒物及其水提取物和有机提取物对细胞 DNA 的损伤作用

运用 SCGE 技术分别检测包头和武威不同天气下 $\text{PM}_{2.5}$ 及其水提取物和有机提取物样品对大鼠肺泡巨噬细胞 DNA 的损伤作用, DNA 损伤参数采用近年来国际上常用的 Olive 尾矩 (OTM) 表示, 结果见图 2-2。

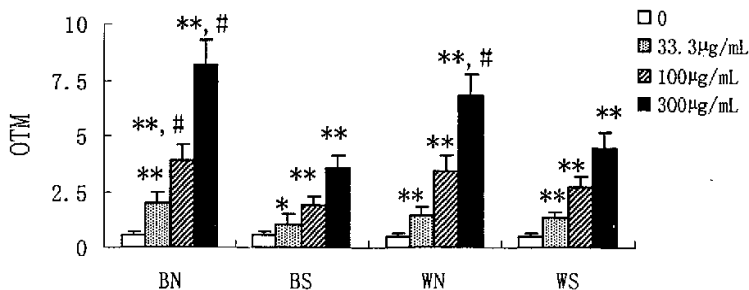


图2-2-1 $\text{PM}_{2.5}$ 总颗粒物

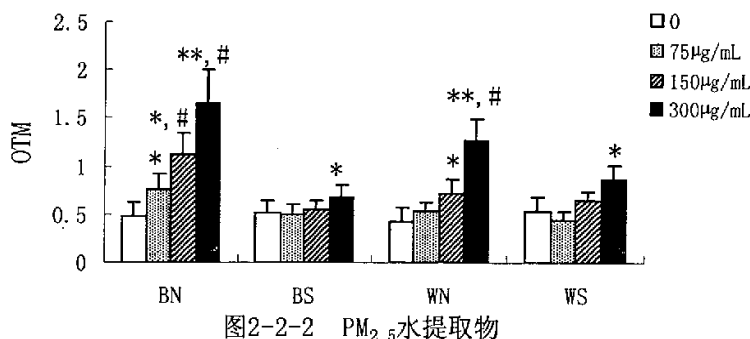
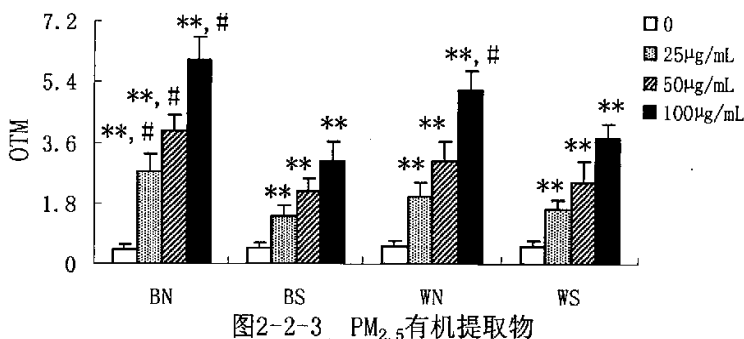
图2-2-2 PM_{2.5}水提取物图2-2-3 PM_{2.5}有机提取物

图2-2 不同地区沙尘暴和正常天气PM_{2.5}及其水提取物和有机提取物对大鼠肺泡巨噬细胞 DNA 的损伤作用

BN:包头正常天气样品; BS:包头沙尘暴样品; WN:武威正常天气样品; WS:武威沙尘暴样品
每一处理中, n=6;与对照相比, * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, 与同一地区沙尘暴样品相比, # $p \leq 0.05$.

从图 2-2-1 可知:随着 PM_{2.5} 处理浓度增大,包头正常天气和沙尘暴与武威正常天气和沙尘暴 4 种 PM_{2.5} 都有使细胞 DNA 损伤程度增加的趋势,即使用低浓度 (33.3 µg/mL) PM_{2.5} 处理细胞, DNA 受损伤的程度也显著升高。在中高浓度下,包头沙尘暴比包头正常天气样品对 DNA 损伤作用显著降低;在高浓度下,武威沙尘暴比武威正常天气样品对 DNA 损伤作用也显著降低。但包头与武威正常天气样品、包头与武威沙尘暴样品对细胞 DNA 的损伤均未见显著性差异。

从图 2-2-2 可知:随着 PM_{2.5} 水提取物处理浓度增大,包头正常天气和沙尘暴与武威正常天气和沙尘暴 4 种 PM_{2.5} 水提取物均有使细胞 DNA 损伤程度增加的趋势。从图 2-2-2 还可以看到,包头和武威正常天气 PM_{2.5} 水提取物比各自沙尘暴 PM_{2.5} 水提取物对 DNA 损伤作用更大,且环境污染较严重的包头市正常天气 PM_{2.5} 水提取物在低浓度 (75 µg/mL) 下就可引起 DNA 损伤显著增加。

从图 2-2-3 可知:随着 PM_{2.5} 有机提取物处理浓度增大,包头正常天气和沙尘暴

与武威正常天气和沙尘暴 4 种 $PM_{2.5}$ 有机提取物均有使细胞 DNA 损伤程度增加的趋势,即使在低浓度 ($25\mu\text{g/mL}$) 下,细胞 DNA 受损伤的程度也均显著升高。在各种浓度下,包头正常天气比包头沙尘暴样品,对 DNA 损伤均显著增加;在高浓度下,武威正常天气比武威沙尘暴样品,对 DNA 损伤显著增加。从图可知,武威与包头正常天气 $PM_{2.5}$ 之间、两地沙尘暴 $PM_{2.5}$ 之间,其有机提取物对 DNA 损伤未见显著差异。然而两地均表明正常天气 $PM_{2.5}$ 有机提取物比沙尘暴 $PM_{2.5}$ 有机提取物对 DNA 的损伤更强。

2.4 讨论

流行病学资料表明,沙尘暴可吸入颗粒物浓度上升与人群呼吸系统疾病的发病率相关^[22,60]。文献报道,城市大气总悬浮物(TSP)、 PM_{10} 、 $PM_{2.5}$ 和超细颗粒物($PM_{0.1}$)对肺灌洗液(BALF)或 AM 具有多种毒理效应,如引起膜损伤、DNA 损伤、氧化应激、免疫功能下降等,但有关沙尘暴 $PM_{2.5}$ 及其水提取物和有机提取物的毒性作用或毒理机制却研究很少。本研究结果表明,包头和武威正常天气和沙尘暴 $PM_{2.5}$ 及其水提取物和有机提取物均能对肺泡巨噬细胞的 DNA 造成损伤,且具有剂量依赖关系。其机理可能为:摄入体内的沙尘暴 $PM_{2.5}$ 到达肺组织后,一方面与巨噬细胞作用后释放活性氧,攻击细胞生物大分子 DNA;另一方面沙尘暴 $PM_{2.5}$ 激活肺泡巨噬细胞上的一氧化氮合酶,产生 NO,NO 又与活性氧中极不稳定的 O_2 形成稳定的 ONOO-,而 ONOO-也可直接攻击细胞生物大分子 DNA^[61]。 $PM_{2.5}$ 中的有机提取物(如有机多环芳烃类、有机酸组分和极性化合物组分)与水提取物(如重金属 Ni、Cd、Cr 等)可直接或间接作用于 DNA,引起 DNA 断裂或加合物形成。除此之外, $PM_{2.5}$ 也可通过直接产生活性自由基而作用于 DNA,诱导 DNA 链断裂。

从巴丹吉林沙漠东部,南至甘肃河西走廊,经腾格里沙漠、乌兰布和沙漠,至库布齐沙地和毛乌素沙地的区域,既是我国沙尘暴多发区之一,也是西北地区涉及范围最大的沙尘暴发生区,其最大中心在腾格里沙漠南缘的民勤,其次是库布齐沙地的杭锦旗和毛乌素沙地南部的定边^[4]。武威和包头即位于这一区域内(图 1-1),因而常受沙尘暴的侵袭,沙尘天气发生频率较大^[62],沙尘暴样品易于采集。本次两地样品采集地都位于市区内、发生的沙尘暴大部分在 3 月,具有一定的可比性。包头和武威沙尘暴 $PM_{2.5}$ 及其有机提取物与正常天气 $PM_{2.5}$ 及其有机提取物一样,在低浓度就对大鼠肺泡巨噬细胞 DNA 有显著损伤作用;然而 $PM_{2.5}$ 水提取物引起的损伤较小,各种样品在高浓度 ($300\mu\text{g/mL}$) 时才对大鼠肺泡巨噬细胞 DNA 有显著损

伤。以上结果表明, $PM_{2.5}$ 对细胞 DNA 的损伤作用主要是由颗粒物中的有机提取物引起的, 水提取物对细胞 DNA 的损伤作用较小。总颗粒物对 AM 影响大的原因可能与颗粒中的不溶成分有很大关系。研究发现, 沉积在肺组织和 AM 上的城市大气颗粒物引起 TNF- α 和内皮素-1(ET-1)大量产生主要是由颗粒物不溶成分引起的^[63]; 大气 PM_{10} 不溶成分比水溶成分能诱导 AM 产生更多的细胞因子如 IL-6、TNF- α 、MCP-1, 且能诱导 AM 发生凋亡^[64]。大气 $PM_{2.5}$ 介导的 AM 反应(如释放 TNF- α 、MIP- β 等)也主要由不溶成分产生^[65]。包头沙尘暴比包头正常天气, 不论是 $PM_{2.5}$, 还是水提取物和有机提取物样品, 对肺泡巨噬细胞 DNA 的损伤均显著降低, 这可能是因为包头是一个大气污染较严重的重工业城市, 其正常天气 $PM_{2.5}$ 比沙尘暴 $PM_{2.5}$ 所含有毒污染物较多有关。包头沙尘暴 $PM_{2.5}$ 和武威沙尘暴 $PM_{2.5}$ 及其水提取物和有机提取物样品相比, 它们之间没有显著性差异。推测两地沙尘暴的化学组份可能相似, 对此正在研究中。包头正常比武威正常天气的 $PM_{2.5}$ 及其水提取物和有机提取物样品引起的损伤较大, 虽然它们之间并没有显著性差异, 这可能与包头的重工业比武威发达, 环境污染较严重, 吸附在 $PM_{2.5}$ 上有毒的化学污染物较多有关。

$PM_{2.5}$ 的遗传毒性与它表面上吸附的成分有密切联系。水提取物以可溶性无机化学物为主, 沙尘暴 $PM_{2.5}$ 水提取物中以 $CaSO_4$ 含量最多, 其主要离子按其所占比例高低依次为: $SO_4^{2-} > Ca^{2+} > NO_3^- > Cl^- > NH_4^+ > Na^+$, 而正常天气 $PM_{2.5}$ 水提取物中以 NH_4NO_3 含量最多, 其主要离子按其所占比例高低依次为: $SO_4^{2-} > NO_3^- > NH_4^+ > Cl^- > Ca^{2+} > K^+$ ^[66,67]。此外, $PM_{2.5}$ 水提取物中还含有少量有毒金属离子如 Fe^{2+} , Cu^{2+} , Pb^{2+} , Cr^{6+} , 这些金属离子可能通过 Fenton 反应生成 ROS, 后者进攻 DNA 分子导致 SSB、DSB 以及碱基损伤。另外, 其它可溶性离子(如 Ca^{2+} 、 SO_4^{2-} 、 NO_3^- 、 NH_4^+ 等)的增加也会对细胞产生毒性效应。沙尘暴 $PM_{2.5}$ 有机提取物总量较正常天气 $PM_{2.5}$ 有机提取物少, 正常天气 $PM_{2.5}$ 有机提取物中石油残留物和多环芳烃类化合物(PAHs)含量较沙尘暴 $PM_{2.5}$ 多^[44,68]。石油残留物和 PAHs 均可与 DNA 作用形成 DNA 加合物, 导致 DNA 损伤, 这可能就是正常天气 $PM_{2.5}$ 有机提取物比沙尘暴 $PM_{2.5}$ 有机提取物对细胞 DNA 损伤作用严重的主要原因。总颗粒物中, 不论沙尘暴还是正常天气 $PM_{2.5}$ 均以地壳元素 Fe、Al、Ca、Na、Mg、Ti 等元素为主要组成部分, 两种 $PM_{2.5}$ 均含有一定量的 Cu、Zn、Pb、As 等有害金属元素, 然而, 沙尘暴 $PM_{2.5}$ 中上述地壳元素急剧增加, 比正常天气 $PM_{2.5}$ 均升高 5~8 倍^[66,67], 而上述有害金属元素在沙尘暴 $PM_{2.5}$ 中含量比正常天气降低。有害金属元素含量的减少, 以及有毒有机物如 PAHs 含量的减少, 可能是沙尘暴 $PM_{2.5}$ 毒性较正常天气 $PM_{2.5}$ 毒性

偏小的原因。总之，由于沙尘暴和正常天气 $PM_{2.5}$ 总颗粒物、水提取物和有机提取物，均有多种化学成分组成，且它们对细胞的毒性作用也不同，所以这些不同化学成分对颗粒物毒性作用的贡献情况尚需进一步研究。

实验中采取的处理剂量是根据以下资料确定的：正常大气中 $PM_{2.5}$ 以一定浓度而存在（美国 EPA 规定的日均限值为 $65 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ，武威市 3 月 1 日~5 月 31 日非沙尘天气的 $PM_{2.5}$ 质量浓度均值为 $73 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ），一个成人平均每分钟呼吸 15L 空气，吸入的细颗粒物约 15% 沉积在肺泡区（肺泡内活跃存在、行吞噬功能的 AM 约 2×10^6 个），则一个人（以武威市为例）一天（24h）中 $PM_{2.5}$ 在肺泡的负荷量（the “equivalent” human 24-h dose, EHD）为： $EHD = 73 \mu\text{g}/\text{m}^3 \times 15 \text{ L}/\text{min} \times 24 \text{ h} \times 0.15 = 236.5 \mu\text{g}$ ^[39,53]，如果发生沙尘天气则大气 $PM_{2.5}$ 浓度升高，EHD 相应也增加，在沙尘暴来临时大气 $PM_{2.5}$ 日均浓度约为该标准值的 2.33 倍左右，因而 EHD 可达到 $550 \mu\text{g}$ 。实验中细胞培养瓶内 AM 数量约 $2.0 \times 10^6 \sim 2.4 \times 10^6$ 个（参见 2.2.4），加入的培养液与样品总颗粒悬浮液共 1.9mL，则 3 个剂量（33、100、300 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）换算得到的颗粒物重量依次为：63、190、570 μg ，即中剂量代表的是正常天气下 $PM_{2.5}$ 对 AM 的作用水平，而高剂量代表的是沙尘暴天气下 $PM_{2.5}$ 对 AM 的作用水平。可见，实验中采取的剂量与实际比较相符，能够大致反映现实中的情况。由实验结果给出的启示是：沙尘暴 $PM_{2.5}$ 可损害 AM，不仅引起细胞 DNA 的损伤，而且使之存活率下降，这可能是沙尘暴引起健康损害的重要原因之一。其中包含不溶成分、水溶成分、有机成分等的总颗粒物对 AM 的毒性作用大于单独的水提取物或有机提取物，可能各种成分发挥毒作用时具有协同效应。

综上所述，沙尘暴 $PM_{2.5}$ 对 AM 的遗传毒性作用主要来自总颗粒物或有机提取物。尽管在最高处理剂量下沙尘暴样品比正常天气样品，对 DNA 损伤显著降低，但由于沙尘暴来临时，大气 $PM_{2.5}$ 质量浓度急剧升高，如采样期间武威沙尘暴天气时 $PM_{2.5}$ 质量浓度为正常天气的 2.46 倍（采样期间武威正常天气平均为 $61.94 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ，武威沙尘暴天气平均为 $152.47 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ）、包头沙尘暴天气时 $PM_{2.5}$ 质量浓度为正常天气的 3.27 倍（采样期间包头正常天气平均为 $77.18 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ，包头沙尘暴天气平均为 $252.56 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ）。如果考虑 $PM_{2.5}$ 浓度该因素的影响，则沙尘暴样品的毒性效应将会大大增加。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，对此目前本实验室正在进行中。

2.5 小结

包头和武威正常天气和沙尘暴 $PM_{2.5}$ 及其水提取物和有机提取物均能对肺泡巨噬细胞的 DNA 造成损伤, 且具有剂量依赖关系。 $PM_{2.5}$ 对细胞 DNA 的损伤作用主要是由颗粒物中的有机提取物引起的, 水提取物对细胞 DNA 的损伤作用较小。总颗粒物对 AM 影响大的原因可能与颗粒中的不溶成分有很大关系。尽管在最高处理剂量下沙尘暴样品比正常天气样品, 对 DNA 损伤显著降低, 但由于沙尘暴来临时, 大气 $PM_{2.5}$ 质量浓度急剧升高, 如果考虑 $PM_{2.5}$ 浓度该因素的影响, 则沙尘暴样品的毒性效应将会大大增加。

第三章 沙尘暴细颗粒物对大鼠肺细胞 DNA 的损伤及 对不同器官的氧化应激作用

3.1 前言

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。2000 年春季我国西北地区发生了多次沙尘暴天气,影响面积达 200 万平方公里,甚至远征数千至上万公里,沉降于远离其来源的北太平洋^[69]。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^[70]。空气中悬浮的 PM_{10} 或 $PM_{2.5}$ 颗粒进入气道后主要随其大小、轻重的差异,通过惯性冲撞或重力沉降作用而粘附或沉积在不同水平的气道粘膜上,其中大约 30% 沉积在中小气道、10%~15% 沉积在肺泡区。国内外的大量流行病学调查发现 $PM_{2.5}$ 的浓度上升与疾病的发病率、死亡率关系密切,尤其是呼吸系统疾病及心肺疾病^[71-73]。本室的前期研究发现,沙尘暴 $PM_{2.5}$ 可剂量依赖性地降低大鼠肺泡巨噬细胞质膜 $Ca^{2+}Mg^{2+}$ -ATP 酶和 $Na^{+}K^{+}$ -ATP 酶的活性,使 AM 培养液中 LDH 和 ACP 活性增加,增大 AM 膜脂表层流动性和疏水区流动性,使细胞内 Ca^{2+} 含量增加等^[37-39]。但从目前国内外的研究来看,有关沙尘暴 $PM_{2.5}$ 的毒性作用的报道较少,而有关沙尘暴 $PM_{2.5}$ 对除肺脏以外的其他脏器的毒理效应的研究尚未见报道。

为研究沙尘暴 $PM_{2.5}$ 的体内毒性作用,我们选择甘肃省武威市和内蒙古包头市作为采样点,采集正常天气(晴朗且各大气污染物未超标的天气)和沙尘暴天气下的大气 $PM_{2.5}$,分别称为正常天气样品和沙尘暴样品。通过体内实验观察各 $PM_{2.5}$ 总颗粒悬浮液对大鼠肺、心和肝脏的氧化应激效应,及对大鼠肺细胞 DNA 的损伤作用,试图通过不同浓度 $PM_{2.5}$ 染毒对大鼠肺、心、肝脏抗氧化酶活性及脂质过氧化水平的分析与研究,进一步探讨 $PM_{2.5}$ 对多种组织器官的毒作用及其机制。

3.2 材料与方法

3.2.1 试剂与仪器

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)、1,1,3,3-四乙氧基丙烷(MDA)、硫代巴比妥酸(TBA)、5',5'-二硫代双-(2-硝基苯甲酸)(DTNB)、DMSO、黄嘌呤氧化酶(Xanthine oxidase)、黄嘌呤(Xanthine)购自 Sigma 公司;RPMI1640 培养基购自 GIBCORL,其余试剂

为国产分析纯。溶液用水为 Milli-Q 超纯水。荧光测定用日立 (HITACHI) F-4500 型荧光分光光度计, 比色测定用 HITACHI U-3010 分光光度计。PM_{2.5} 大流量大气采样器购自美国热电子公司 (Thermo Andersen), 图象分析仪购自德国 Leica 公司。

3.2.2 样品采集

(1) 采样时间与采样地点

采样时间为 2004 年 3 月 1 日至 5 月 31 日, 每日 24h 连续采样, 每周采 6 天。采样地点选择 2 个 (图 1-1), 一个位于甘肃省武威市环境监测站四楼楼顶 (101°49'~104°43'E, 36°29'~39°27'N), 一个位于内蒙古自治区包头市医学院四楼楼顶 (109°50'~111°25'E, 41°20'~42°40'N)。

(2) 采样仪器与样品保存

采用 PM_{2.5} 大流量大气采样器 (Thermo Andersen) 24h 连续采样, 采样仪器离地面约 15m, 流量为 1.13 m³/min。以石英纤维滤膜 (美国 Whatman 公司) 收集颗粒物, 每天换 1 张 (沙尘暴天气时每 6h 换 1 张), 采好颗粒物的滤膜用铝箔纸包好、编号、存放于 -20℃ 冰箱内。

(3) 样品分类

根据当地气象局和环保监测站资料区分正常天气 PM_{2.5} 和沙尘暴 PM_{2.5}。正常天气样品采自既无风沙又无污染的正常晴朗天气, 沙尘暴样品采自强风将地面大量尘沙吹起, 水平能见度很低的天气。根据《环境空气质量标准 GB 3095-1996》, 武威、包头 2 城市皆属于二类区 (即城镇规划中确定的居住区、商业交通居民混合区、文化区、一般工业区和农村地区), 大气质量分级执行二级标准^[1]。

3.2.3 细颗粒物悬浮液的制备

两城市不同种类的样品按照分类原则选择一些典型的日期分别进行合并, 以利于实验的完整性和一致性。方法参照文献^[54], 简述如下:

细颗粒物悬浮液的制备: 将载有 PM_{2.5} 颗粒的滤膜称重、剪碎后放入 50mL 小烧杯中, 加 30mL Milli-Q 超纯水低温超声振荡 30min, 收集悬浮液并真空冷冻干燥, 减重法获得干燥颗粒的重量, 密封保存于 -20℃ 冰箱中。实验时以灭菌的 0.9% 生理盐水配成所需浓度的颗粒物悬液, 涡旋 5min 使其充分混匀。

3.2.4 动物分组及染毒

将大鼠随机分为对照组和低、中、高三个剂量染毒组, 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, 每组大鼠染毒一次, 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℃。

3.2.5 粗酶液的制备

大鼠染毒后禁食 24h, 腹腔注射戊巴比妥钠 (90mg/kg), 腹主动脉放血处死, 剥离肺、心、肝脏, 在冰冷的生理盐水中剪碎, 加生理盐水缓冲液 (组织与缓冲液的比例为 1:10), 用玻璃匀浆器在 4℃ 下制成组织匀浆液, 4℃ 下 15000/rpm 离心 5min, 取上清液为粗酶液, 立即用于超氧化物歧化酶 (SOD)、谷胱甘肽 (GSH) 硫代巴比妥酸反应物 (TBARS) 的含量的测定。

3.2.6 各指标的测定方法

(1) 细胞 DNA 损伤的测定

主要根据 Singh 等^[57,58]的报告, 并结合本实验室建立的方法进行 SCGE^[59]。每个样本随机选择 50 个细胞, 用 Leica 图象分析仪观察并保存图象, 用 Casp 软件自动测量肺细胞 DNA 迁移的 OTM。每个样品重复 6 次。

(2) SOD 酶活性的测定

Cu,Zn-SOD 酶活性测定采用黄嘌呤氧化酶法^[74,75], 在 560nm 处测 OD 值。一个单位的 SOD 定义为能够抑制 NBT 还原 50% 的蛋白中含有的 SOD 的活性, 数据表示为 U/mg 蛋白。

(3) TBARS 水平的测定

用硫代巴比妥酸 (TBA) 比色法^[76], 于激发波长 535nm, 发射波长 548nm 下测定正丁醇提取物的荧光强度。以单位蛋白质中 TBARS 的含量 (nmol/mg) 表示细胞脂质过氧化程度。

(4) GSH 含量的测定

采用 DTNB 比色法^[77], 在 412nm 下测吸光值, 根据标准曲线求得 GSH 含量。以单位蛋白质中 GSH 的含量 (nmol/mg) 表示细胞的抗氧化能力。

(5) 蛋白质测定

采用考马斯亮蓝法^[78], 以牛血清白蛋白作标准。

3.2.6 统计分析

数据以平均值 ($\bar{x}$) $\pm$ 标准差 (s) 表示。用 SPSS11.0 统计软件通过双因素方差分

析 (two-way ANOVA) 进行组间差异的显著性检验, 均数间多重比较用 LSD 或 Bonferroni 法。 $P \leq 0.05$ 表示差异显著 (具统计学意义)。

3.3 结果

3.3.1 沙尘暴细颗粒物对肺细胞 DNA 的损伤作用

运用 SCGE 技术分别检测包头和武威不同天气下 $PM_{2.5}$ 对大鼠肺细胞 DNA 的损伤作用, DNA 损伤参数采用近年来国际上常用的 OTM 表示, 结果见表 3-1。

从图 3-1 可知, 随着 $PM_{2.5}$ 浓度增大, 包头正常天气、沙尘暴与武威正常天气、沙尘暴 $PM_{2.5}$ 均使肺细胞 DNA 损伤程度增加, 且呈现显著的剂量依赖性关系。在 1.5mg/kg 剂量下, 包头正常天气组中肺细胞 DNA 的损伤已显著增加 (与对照相比, $p < 0.05$); 在 7.5mg/kg、37.5mg/kg 剂量下, 各组中肺细胞 DNA 的损伤均显著升高 (与对照相比, $p < 0.01$ 或 0.05)。图 3-1 也指出, 在同一浓度下, 正常天气 $PM_{2.5}$ 比沙尘暴 $PM_{2.5}$ 对细胞 DNA 的损伤较大, 但同一地区沙尘暴 $PM_{2.5}$ 与正常天气 $PM_{2.5}$ 之间、包头正常与武威正常天气 $PM_{2.5}$ 之间以及包头沙尘暴与武威沙尘暴 $PM_{2.5}$ 之间均无显著性差异。

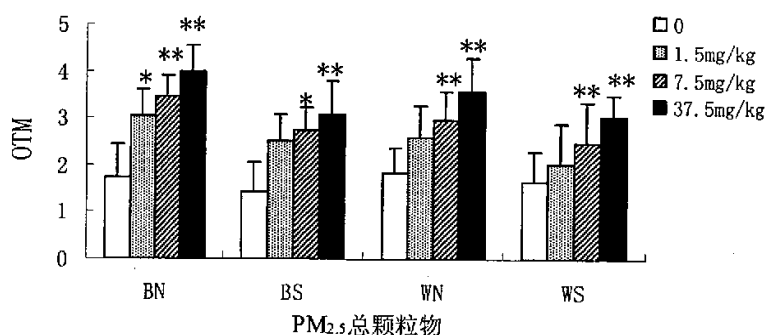


图 3-1 不同地区沙尘暴 $PM_{2.5}$ 对大鼠肺细胞 DNA 的损伤

BN: 包头正常天气样品; BS: 包头沙尘暴样品; WN: 武威正常天气样品; WS: 武威沙尘暴样品;
每一处理中, $n=6$; 与对照相比, * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$ 。

3.3.2 沙尘暴细颗粒物对 SOD 酶活性的影响

从表 3-1 可知, 随着 $PM_{2.5}$ 浓度增大, 包头正常天气、沙尘暴与武威正常天气、沙尘暴 $PM_{2.5}$ 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。肺脏在 1.5mg/kg 剂量下, 包头正常天气 $PM_{2.5}$ 可使 SOD 酶活性显著降低 (与对照相比, $p < 0.05$), 且随剂量增高而加剧。肝脏 SOD 酶活性也随着染毒

剂量增加而降低,但只有在高剂量染毒下(37.5mg/kg)才达到显著降低($p<0.05$)。

表 3-1 也指出,在同一剂量下,同一地区的沙尘暴与正常天气 $PM_{2.5}$ 之间、包头正常与武威正常天气 $PM_{2.5}$ 之间以及包头沙尘暴与武威沙尘暴 $PM_{2.5}$ 之间,它们对三种脏器 SOD 酶活性的影响均无显著性差异。

表 3-1 不同地区沙尘暴 $PM_{2.5}$ 对大鼠三种脏器 SOD 酶活性的影响

脏器	处理剂量 (mg/kg)	包头正常天气 $PM_{2.5}$	包头沙尘暴 $PM_{2.5}$	武威正常天气 $PM_{2.5}$	武威沙尘暴 $PM_{2.5}$
肺	0	4.34 ± 0.34	3.96 ± 0.54	4.01 ± 0.39	4.28 ± 0.48
	1.5	3.51 ± 0.28*	3.84 ± 0.28	3.56 ± 0.28	3.93 ± 0.32
	7.5	3.23 ± 0.46*	3.26 ± 0.41*	3.06 ± 0.31*	3.27 ± 0.26*
	37.5	3.04 ± 0.52**	3.13 ± 0.52*	2.79 ± 0.26**	3.07 ± 0.19*
心	0	3.99 ± 0.41	4.05 ± 0.49	3.86 ± 0.29	4.20 ± 0.54
	1.5	3.83 ± 0.41	3.95 ± 0.36	3.82 ± 0.58	4.09 ± 0.38
	7.5	3.79 ± 0.36	3.93 ± 0.38	3.95 ± 0.36	3.91 ± 0.57
	37.5	3.73 ± 0.56	3.97 ± 0.29	3.77 ± 0.23	3.99 ± 0.16
肝	0	1.96 ± 0.34	2.13 ± 0.52	1.89 ± 0.46	1.76 ± 0.29
	1.5	1.65 ± 0.47	1.95 ± 0.13	1.78 ± 0.26	1.69 ± 0.32
	7.5	1.57 ± 0.26	1.76 ± 0.35	1.63 ± 0.45	1.53 ± 0.42
	37.5	1.37 ± 0.48*	1.54 ± 0.31*	1.48 ± 0.15*	1.33 ± 0.28*

注:表内数据均用 $\bar{x} \pm s$ 表示,实验次数 $n = 6$;与对照相比, * $P \leq 0.05$; ** $P \leq 0.01$

3.3.3 沙尘暴细颗粒物对 GSH 含量的影响

从表 3-2 可知,随着 $PM_{2.5}$ 浓度增大,包头正常天气、沙尘暴与武威正常天气、沙尘暴 $PM_{2.5}$,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。肺脏在 7.5mg/kg 剂量下,包头正常天气 $PM_{2.5}$ 组中 GSH 含量已显著下降(与对照相比, $p<0.05$);在 37.5mg/kg 剂量下,各组中 GSH 含量均显著降低(与对照相比, $p<0.01$ 或 0.05)。肝脏在 7.5mg/kg 剂量下,包头正常天气组和武威正常天气组中 GSH 含量已显著下降(与对照相比, $p<0.05$);在高剂量 37.5mg/kg 下,各组中 GSH 含量均显著降低(与对照相比, $p<0.01$ 或 0.05)。

表 3-2 也指出,正常天气 $PM_{2.5}$ 比沙尘暴 $PM_{2.5}$ 对肺、肝脏 GSH 含量的影响较大,但在同一剂量下,同一地区的沙尘暴与正常天气 $PM_{2.5}$ 之间、包头正常与武威正常天气 $PM_{2.5}$ 之间以及包头沙尘暴与武威沙尘暴 $PM_{2.5}$ 之间,它们对三种脏器 GSH

含量的影响均无显著性差异。

表 3-2 不同地区沙尘暴 PM_{2.5} 对大鼠三种脏器 GSH 含量的影响

脏器	处理剂量 (mg/kg)	包头正常天气 PM _{2.5}	包头沙尘暴 PM _{2.5}	武威正常天气 PM _{2.5}	武威沙尘暴 PM _{2.5}
肺	0	19.23 ± 2.58	22.23 ± 3.13	17.56 ± 1.29	18.72 ± 1.98
	1.5	17.19 ± 1.69	19.37 ± 2.34	16.26 ± 1.98	17.63 ± 3.08
	7.5	13.24 ± 2.53*	17.26 ± 2.48	14.37 ± 3.01	14.97 ± 2.36
	37.5	12.75 ± 1.63**	16.23 ± 1.43*	12.99 ± 1.69**	14.36 ± 0.98*
心	0	14.77 ± 1.29	16.38 ± 1.93	17.05 ± 1.35	15.32 ± 2.14
	1.5	14.96 ± 1.76	16.02 ± 2.13	15.37 ± 2.36	15.33 ± 3.39
	7.5	13.65 ± 1.96	16.37 ± 2.46	16.88 ± 2.75	15.03 ± 1.87
	37.5	13.13 ± 1.36	15.33 ± 2.17	15.96 ± 3.34	14.65 ± 2.16
肝	0	23.18 ± 1.63	25.14 ± 2.31	27.45 ± 1.96	21.45 ± 2.09
	1.5	25.24 ± 1.89	26.34 ± 2.65	28.15 ± 2.16	23.86 ± 2.48
	7.5	20.46 ± 1.05*	23.36 ± 2.75	22.69 ± 1.56*	19.55 ± 2.71
	37.5	17.23 ± 3.08**	20.87 ± 0.98*	20.98 ± 3.12*	17.65 ± 1.25*

注：表内数据均用 $\bar{x} \pm s$ 表示，实验次数 $n = 6$ ；与对照相比，* $P \leq 0.05$ ；** $P \leq 0.01$

3.3.4 沙尘暴细颗粒物对 TBARS 水平的影响

从表 3-3 可知，随着 PM_{2.5} 浓度增大，包头正常天气、沙尘暴与武威正常天气、沙尘暴 PM_{2.5} 均可引起大鼠肺、肝、心脏 TBARS 水平逐渐增高。肺脏在 7.5mg/kg 剂量下，包头正常天气组中 TBARS 水平显著增加（与对照相比， $p < 0.05$ ）；在高剂量 37.5mg/kg 下，各组中 TBARS 水平均显著增加（与对照相比， $p < 0.01$ 或 0.05）。肝脏在 7.5mg/kg 剂量下，包头正常天气组和武威正常天气组中 TBARS 水平显著增加（与对照相比， $p < 0.05$ ）；在高剂量 37.5mg/kg 下，各组中 TBARS 水平均显著增加（与对照相比， $p < 0.01$ 或 0.05）。心脏在高剂量 37.5mg/kg 下，包头正常天气组中 TBARS 水平达到显著增加（与对照相比， $p < 0.05$ ）。

表 3-3 也指出，正常天气 PM_{2.5} 比沙尘暴 PM_{2.5} 对三种脏器 TBARS 水平的影响较大，但在同一剂量下，同一地区的沙尘暴与正常天气 PM_{2.5} 之间、包头正常与武威正常天气 PM_{2.5} 之间以及包头沙尘暴与武威沙尘暴 PM_{2.5} 之间，它们对三种脏器 TBARS 水平的影响均无显著性差异。

表 3-3 不同地区沙尘暴 PM_{2.5} 对大鼠三种脏器 TBARS 水平的影响

脏器	处理剂量 (mg/kg)	包头正常天气 PM _{2.5}	包头沙尘暴 PM _{2.5}	武威正常天气 PM _{2.5}	武威沙尘暴 PM _{2.5}
肺	0	0.23 ± 0.03	0.24 ± 0.04	0.26 ± 0.06	0.20 ± 0.02
	1.5	0.28 ± 0.03	0.26 ± 0.04	0.28 ± 0.05	0.23 ± 0.02
	7.5	0.33 ± 0.02*	0.28 ± 0.03	0.31 ± 0.01	0.27 ± 0.06
	37.5	0.35 ± 0.01**	0.31 ± 0.04*	0.39 ± 0.06*	0.29 ± 0.05*
心	0	0.22 ± 0.02	0.19 ± 0.05	0.24 ± 0.03	0.25 ± 0.04
	1.5	0.24 ± 0.03	0.21 ± 0.03	0.25 ± 0.05	0.25 ± 0.03
	7.5	0.25 ± 0.04	0.24 ± 0.07	0.28 ± 0.06	0.27 ± 0.05
	37.5	0.29 ± 0.03*	0.25 ± 0.04	0.30 ± 0.07	0.28 ± 0.03
肝	0	0.39 ± 0.02	0.42 ± 0.03	0.43 ± 0.04	0.41 ± 0.03
	1.5	0.44 ± 0.03	0.45 ± 0.03	0.46 ± 0.04	0.41 ± 0.05
	7.5	0.50 ± 0.02*	0.48 ± 0.04	0.49 ± 0.02*	0.48 ± 0.01
	37.5	0.56 ± 0.03**	0.50 ± 0.05*	0.52 ± 0.03**	0.51 ± 0.02*

注：表内数据均用 $\bar{x} \pm s$ 表示，实验次数 $n = 6$ ；与对照相比，* $P \leq 0.05$ ；** $P \leq 0.01$

3.4 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^[16,17]。同时，PM_{2.5} 中的亚微颗粒可以直接穿透肺泡随淋巴系统进入血液而作用于其他器官^[79]。本室的研究也提示我们 PM_{2.5} 很可能对呼吸系统之外的其他组织器官也产生氧化损伤作用^[80]。正常情况下，生物体通过抗氧化酶和非酶类物质，如 SOD、GSH 等组成的抗氧化防御系统抵抗自由基的侵袭^[81,82]。SOD、GSH 下降和 TBARS 水平增高提示细胞抗氧化能力降低、脂质过氧化作用增强，细胞可能受到一定程度的氧化应激或氧化损伤。

本实验结果发现，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增加，说明 PM_{2.5} 对肺细胞 DNA 有严重的损伤作用，其可能的机理为：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 (NO Synthase, NOS)，产生 NO，NO 又与活性氧中极不稳定的 O₂⁻ 形成稳定的 ONOO⁻，然后直接攻击细胞生物大分子 DNA，导致 DNA 损伤。PM_{2.5} 可被吸入呼吸系统深部，到达肺泡，对人体的危害较大，近年来已引起人们的广泛

关注。人群流行病学调查显示 $PM_{2.5}$ 污染与肺癌的发生密切相关。实验研究表明 $PM_{2.5}$ 可吸附许多复杂的有机与无机组分, 如有机多环芳烃类及重金属 Ni、Cd、Cr 等。它们可直接或间接作用于 DNA, 引起 DNA 断裂或加合物形成。此外, 细颗粒物也可通过与细胞作用产生不同活性自由基间接作用于 DNA, 诱发 DNA 链断裂。

本实验结果还发现, 正常天气 $PM_{2.5}$ 比沙尘暴 $PM_{2.5}$ 对肺细胞 DNA 的损伤较大, 这可能是因为正常天气 $PM_{2.5}$ 比沙尘暴 $PM_{2.5}$ 所含有毒污染物较多有关。武威与包头两城市工业水平不同, 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, 在两地之间并无明显差异。由此推论两地沙尘暴 $PM_{2.5}$ 所含遗传毒性化学物质可能类似。在相同处理剂量下沙尘暴 $PM_{2.5}$ 与正常天气 $PM_{2.5}$ 对细胞 DNA 损伤作用比较无显著差异, 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 $PM_{2.5}$ 的毒性效应将会大大增加。

活性氧自由基化学性质活泼, 能够与机体内的蛋白质、核酸及不饱和脂肪酸等生物大分子发生反应, 造成生物大分子失活和生物膜脂质过氧化, 导致细胞功能障碍, 甚至变性坏死, 引起严重的生物学效应包括致突变性和致癌性^[83,86]。SOD 是机体防御活性氧自由基损伤的第一道防线, 是清除自由基的最重要的一类酶, 尤其是对超氧阴离子的清除; 在机体抗氧化损伤、抗肿瘤和抗衰老过程中发挥着重要作用^[85,87]。GSH 是广泛存在于生物体内的小分子三肽化合物, 除直接和间接参与体内激素代谢、生物大分子合成等许多功能活动外, 还可与毒物分子及其代谢物发生结合反应降低毒物毒性或通过氧化还原反应降低毒物过氧化作用, 使含巯基酶(如 ATP 酶)免于被重金属和氧化剂损伤(或导致变性), 因而在拮抗氧化性毒物、维持细胞内 Ca^{2+} 稳态、调节酶活性中发挥重要作用^[38,88]。MDA 是膜脂过氧化的最终分解产物, 细胞内 MDA 的积累不仅表明细胞脂质过氧化程度加大, 而且 MDA 本身对细胞内膜系统、蛋白质以及核酸会造成一定的伤害。GSH 下降和 TBARS 增高提示细胞抗氧化能力降低、脂质过氧化作用增强, 细胞可能受到一定程度的氧化应激或氧化损伤^[39]。

本实验结果发现, 沙尘暴和正常天气 $PM_{2.5}$ 对大鼠肺、心、肝脏均有不同程度的氧化损伤作用, 其中对肺脏的损伤最大, 肝脏次之, 心脏最小。这一结果表明 $PM_{2.5}$ 对肺、肝脏具有明显的毒性作用, 其机制可能是通过对细胞膜产生脂质过氧化, 破坏组织的氧化-抗氧化系统的平衡, 导致氧化损伤所致。因此氧化应激引起的氧化损伤可能是沙尘暴 $PM_{2.5}$ 毒性作用的机制之一。氧化损伤的发动者——过量自由基或活性氧, 既可以是沙尘暴 $PM_{2.5}$ 本身所携带, 也可以经由 Fenton 反应(过

渡金属离子催化)或线粒体氧化磷酸化异常而产生^[89,90]。Sagai 等发现 $PM_{2.5}$ 具有产生 ROS 的能力^[91]。ROS 的产生与呼吸、循环系统损伤密切相关。Dellinger 等采用 EPR 技术检测到 $PM_{2.5}$ 自身含有大量的半醌类自由基,且这些自由基通过催化 ROS 循环对 DNA 造成损伤^[92]。本实验结果证实,哺乳类动物不同器官对自由基损伤的易感性有一定差异。肺、肝脏对自由基的易感性较强,沙尘暴 $PM_{2.5}$ 进入该脏器后随浓度的增加氧化损伤加重,SOD 酶活性明显降低,而心脏对自由基引起的氧应激反应没有肺、肝脏那么显著,这可能是由于心脏抗氧化应激能力较强所致,也可能是由于肺脏是 $PM_{2.5}$ 的靶组织,肺、肝、心三者对 $PM_{2.5}$ 的暴露浓度是不一样的,因此它们的氧化应激水平也不一样。

此外,本实验结果还发现,正常天气 $PM_{2.5}$ 比沙尘暴 $PM_{2.5}$ 对各测量指标的影响较大,这可能是因为正常天气 $PM_{2.5}$ 吸附了当地工业污染物比来自缺乏有机质的沙漠的沙尘暴 $PM_{2.5}$ 所含有毒污染物较多有关。包头沙尘暴 $PM_{2.5}$ 和武威沙尘暴 $PM_{2.5}$ 相比,它们之间没有显著性差异,推测两地沙尘暴均起源于我国西北地区的沙漠地带,二者的化学组份可能相似,对此正在研究中。虽然在相同处理剂量下沙尘暴 $PM_{2.5}$ 与正常天气 $PM_{2.5}$ 对各测量指标结果之间无显著差异,但由于沙尘暴来临时,大气 $PM_{2.5}$ 质量浓度急剧升高,如果考虑 $PM_{2.5}$ 浓度因素的影响,则沙尘暴 $PM_{2.5}$ 的毒性作用将会大大超过正常天气 $PM_{2.5}$ 的毒性作用。

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,对此目前本实验室正在进行中。

3.5 小结

正常天气和沙尘暴 $PM_{2.5}$ 均使大鼠肺细胞 DNA 的损伤程度增加,而且均可引起肺、肝脏 SOD 酶活性的降低,使肺脏 GSH 含量降低,肝脏 GSH 含量呈现先升高后降低的非线性变化特征,而且使肺、心、肝脏的 TBARS 含量升高。结果表明沙尘暴和正常天气 $PM_{2.5}$ 对大鼠肺细胞均有遗传毒性作用,同时对肺、心、肝脏均有不同程度的氧化应激作用。但在同一浓度下,同一地区沙尘暴 $PM_{2.5}$ 与正常天气 $PM_{2.5}$ 之间、包头正常与武威正常天气 $PM_{2.5}$ 之间以及包头沙尘暴与武威沙尘暴 $PM_{2.5}$ 之间均无显著性差异,然而沙尘暴 $PM_{2.5}$ 的急剧增高使其毒性作用更为严重。

第四章 结 论

用正常天气和沙尘暴 $PM_{2.5}$ 及其水提取物和有机提取物, 分别作用于体外培养的大鼠 AM, 然后检测细胞存活率以及细胞 DNA 的损伤。结果表明: 包头和武威正常天气和沙尘暴 $PM_{2.5}$ 及其水提取物和有机提取物均能对肺泡巨噬细胞的 DNA 造成损伤, 且具有剂量依赖关系。 $PM_{2.5}$ 对细胞 DNA 的损伤作用主要是由颗粒物中的有机提取物引起的, 水提取物对细胞 DNA 的损伤作用较小。总颗粒物对 AM 影响大的原因可能与颗粒中的不溶成分有很大关系。尽管在最高处理剂量下沙尘暴样品比正常天气样品, 对 DNA 损伤显著降低, 但由于沙尘暴来临时, 大气 $PM_{2.5}$ 质量浓度急剧升高, 如果考虑 $PM_{2.5}$ 浓度该因素的影响, 则沙尘暴样品的毒性效应将会大大增加。

采用气管直接注入染毒法, 用正常天气和沙尘暴 $PM_{2.5}$ 给大鼠染毒一次, 染毒 24h 后处死大鼠, 分别测定肺、心、肝脏的 SOD 活性、GSH 含量及 LPO 水平, 同时检测肺细胞 DNA 的损伤。结果表明: 正常天气和沙尘暴 $PM_{2.5}$ 均使大鼠肺细胞 DNA 的损伤程度增加; 同时使肺、心、肝脏呈现不同程度的氧化应激反应。但在同一浓度下, 同一地区沙尘暴 $PM_{2.5}$ 与正常天气 $PM_{2.5}$ 之间、包头正常与武威正常天气 $PM_{2.5}$ 之间以及包头沙尘暴与武威沙尘暴 $PM_{2.5}$ 之间均无显著性差异, 沙尘暴 $PM_{2.5}$ 的急剧增高使其毒性作用更为严重。

本实验分别从体外和体内两方面研究了沙尘暴 $PM_{2.5}$ 的 DNA 损伤及氧化应激作用, 比较了沙尘暴 $PM_{2.5}$ 不同组分之间以及沙尘暴 $PM_{2.5}$ 与正常天气 $PM_{2.5}$ 之间对大鼠 AM 的细胞毒性及 DNA 损伤作用, 并研究了沙尘暴 $PM_{2.5}$ 对大鼠不同脏器的氧化应激作用, 成果富有创新性和一定的实际意义, 在国际国内沙尘暴研究领域上处于较前沿位置, 填补了沙尘暴在环境毒理学研究中的空白。实验结果再一次提示人们防治沙尘暴、减轻沙尘颗粒对人体健康的危害刻不容缓。

参 考 文 献

- [1] 中国气象局. 沙尘天气预警业务服务暂行规定(修订)(气发[2003]12号).
- [2] 张广兴, 李霞. 沙尘暴观测及分级标准研究现状[J]. 中国沙漠, 2003, 23(5): 586-591.
- [3] 钱正安, 贺慧霞, 翟章, 等. 我国西北地区沙尘暴的分级标准和个例谱及其统计特征, 见: 方宗义等编, 中国沙尘暴研究[M], 北京: 气象出版社, 1997, 1-10.
- [4] 王式功, 董光荣, 陈惠忠, 等. 沙尘暴研究的进展[J]. 中国沙漠, 2000, 20(4): 349-356.
- [5] Wang S, Wang J, Zhou Z, *et al.* Regional characteristics of three kinds of dust storm events in China [J]. *Atmospheric Environment*, 2005, 39(3): 509-520.
- [6] 李耀辉. 近年来我国沙尘暴研究的新进展[J]. 中国沙漠, 2004, 24(5): 616-622.
- [7] Feng Q, Endo K N, Cheng G D. Dust storms in China: a case study of dust storm variation and dust characteristics [J]. *Bull Eng Geol Env*, 2002, 61(3): 253-261.
- [8] 周自江, 王锡稳, 牛若芸. 近 47 年中国沙尘暴气候特征研究[J]. 应用气象学报, 2001, (4): 318-332.
- [9] 秦大河. 沙尘暴[M]. 北京: 中国气象出版社, 2003, 1-10.
- [10] Xie S, Yu T, Zhang Y, *et al.* Characteristics of PM₁₀, SO₂, NO(x) and O₃ in ambient air during the dust storm period in Beijing [J]. *Sci Total Environ*, 2005, 345(1-3): 153-164.
- [11] 国家环保局. 环境空气质量标准(GB 3095-1996).
- [12] 孙业乐, 庄国顺, 袁蕙, 等. 2002 年北京特大沙尘暴的理化特性及其组分来源分析[J]. 科学通报, 2004, 49(4): 340-346.
- [13] Terada H, Ueda H, Wang Z. Trend of acid rain and neutralization by yellow sand in east Asia—a numerical study [J]. *Atmospheric Environment*, 2002, 36(3): 503-509.
- [14] Bishop J K, Davis R E, Sherman J T. Robotic observations of dust storm enhancement of carbon biomass in the North Pacific [J]. *Science*, 2002, 298(5594): 817-821.
- [15] 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.
- [16] Kwaasi A A, Parhar R S, al-Mohannna F A, *et al.* Aeroallergens and vianle microbes in sandstorm dust. Potential triggers of allergic and nonallergic respiratory ailments [J]. *Allergy*, 1998, 53(3): 255-265.
- [17] Korenyi-Both A L, Sved L, Korenyi-Both G E, *et al.* The role of the sand in chemical warfare agent exposure among Persian Gulf War veterans: Al Eskan disease and "dirty dust" [J]. *Mil Med*, 2000, 165(5): 321-336.
- [18] Kwon H J, Cho S H, Chun Y, *et al.* Effects of the Asian dust events on daily mortality in Seoul, Korea [J]. *Environ Res*, 2002, 90(1): 1-5.
- [19] Chen Y S, Sheen P C, Chen E R, *et al.* Effects of Asian dust storm events on daily mortality in Taipei, Taiwan [J]. *Environ Res*, 2004, 95(2): 151-155.
- [20] Yang C Y, Chen Y S, Chiu H F, *et al.* Effects of Asian dust storm events on daily stroke admissions in Taipei, Taiwan [J]. *Environ. Res*, 2005, 99(1): 79-84.
- [21] Chen Y S, Yang C Y. Effects of Asian dust storm events on daily hospital admissions for cardiovascular disease in Taipei, Taiwan [J]. *J Toxicol Environ Health A*, 2005, 68(17-18): 1457-1464.
- [22] Hefflin B J, Jalaludin B, McClure E, *et al.* Surveillance for dust storms and respiratory diseases in Washington State, 1991 [J]. *Arch Environ Health*, 1994, 49(3): 170-174.
- [23] Williams P L, Sable D L, Mendez P, *et al.* Symptomatic coccidioidomycosis following a severe natural dust storm. An outbreak at the Naval Air Station, Lemoore, Calif [J]. *Chest*, 1979, 76(5): 566-570.
- [24] Norboo T, Angchuk P T, Yahya M, *et al.* Silicosis in a Himalayan village population: role of environmental dust [J]. *Thorax*, 1991, 46(5): 341-343.
- [25] Norboo T, Saiyed H N, Angchuk P T, *et al.* Mini review of high altitude health problems in Ladakh [J]. *Biomed Pharmacother*, 2004, 58(4): 220-225.
- [26] 张林媛, 孙金秀. 风沙尘暴的非致癌性健康效应[J]. 中华预防医学杂志, 2002, 36(3): 204-207.
- [27] 蔡曦光. 8例非职业性尘肺的分析[J]. 环境与健康杂志, 2005, 22(1): 68.
- [28] 逢兵, 张学书, 蒋学之. 沙漠尘和沙漠肺[J]. 职业医学, 1993, 20(5): 301-302.
- [29] 陈怀涛, 马卓, 朱宣人, 等. 动物尘肺研究[J]. 畜牧兽医学报, 1994, 25(1):

84-90.

- [30] 李保全. 风沙尘肺调查报告[J]. 职业与健康, 2002, 18 (6): 13.
- [31] 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[J]. 卫生研究, 2004, 33(2): 154-157.
- [32] 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[J]. 环境与健康杂志, 2004, 21(1): 38-40.
- [33] 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[J]. 环境与健康杂志, 2004, 21 (4): 199-201.
- [34] 逢兵, 周彤, 吴向东, 等. 沙漠尘对大鼠肺巨噬细胞毒性机制的初步研究[J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 1998, 16(5): 305-306.
- [35] 逢兵, 邓中平, 周袁芬, 等. 沙漠尘对大鼠肺急性损伤的研究[J]. 中国公共卫生学报, 1994, 13: 309-310.
- [36] Lei Y C, Chan C C, Wang P Y, *et al.* Effects of Asian dust event particles on inflammation markers in peripheral blood and bronchoalveolar lavage in pulmonary hypertensive rats [J]. *Environ Res*, 2004, 95(1): 71-76.
- [37] 耿红, 孟紫强, 张全喜. 沙尘暴 PM_{2.5} 水溶和有机成分对巨噬细胞的损伤[J]. 中国环境科学, 2006, 26(1): 20-24.
- [38] 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(26): 845-850.
- [39] 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 Lett*, 2005, 157: 129-137.
- [40] Obot C J, Morandi M T, Hamilton R F, *et al.* A comparison of murine and human alveolar macrophage responses to urban particulate matter [J]. *Inhal Toxicol*, 2004, 16(2): 69-76.
- [41] 董发勤, 贺小春. 超细矿物粉尘与人体健康[J]. 环境与健康杂志, 2005, 22(5): 393-395.
- [42] 郭晓强. 大气颗粒物遗传毒性的研究进展[J]. 环境与健康杂志, 2005, 22(5): 391-392.
- [43] Chain ani-Wu CN. Diet and oral, pharyngeal, and esophageal cancer [J]. *Nutr Cancer*, 2002, 44(2): 104-126.

- [44] Guo ZG, Feng JL, Fang M, *et al.* The elemental and organic characteristics of PM_{2.5} in Asian dust episodes in Qingdao, China, 2002 [J]. *Atmospheric Environment*, 2004, 38: 909—917.
- [45] Park SH, Song CB, Kim MC, *et al.* Study on size distribution of total aerosol and water-soluble ions during an Asian dust storm event at Jeju Island, Korea [J]. *Environ Monit Assess*, 2004, 93(1-3): 157—183.
- [46] Rodler I, Zajkas G. Healthy nutrition and the prevention of cancer [J]. *Orv Hetil*, 2003, 144(9): 413-418.
- [47] Yu SG, AnderDn PJ, Elson CE. Efficacy of β -ionone in the chemoprevention of rat mammary carcinogenesis [J]. *Agric Food Chem*, 1995, 8(3): 2144-2147.
- [48] Renwick L C, Brown D, Clouter A, *et al.* Increased inflammation and altered macrophage chemotactic responses caused by two ultrafine particle types [J]. *Occup Environ Med*, 2004, 61(5): 442-447.
- [49] Ishii H, Hayashi S, Hogg J C, *et al.* Alveolar macrophage-epithelial cell interaction following exposure to atmospheric particles induces the release of mediators involved in monocyte mobilization and recruitment [J]. *Respir Res*, 2005, 6(1): 87.
- [50] Becker S, Soukup J M, Sioutas C, *et al.* Response of human alveolar macrophages to ultrafine, fine, and coarse urban air pollution particles [J]. *Exp Lung Res*, 2003, 29(1): 29-44.
- [51] 姜智海, 宋伟民, 周晓瑜, 等. PM_{2.5}对小鼠肺急性损伤的试验研究[J]. *卫生研究*, 2004, 33(3): 264-266.
- [52] Payne J P, Kemp S J, Dewar A, *et al.* Effects of airborne World Trade Center dust on cytokine release by primary human lung cells in vitro [J]. *J Occup Environ Med*, 2004, 46(5): 420-427.
- [53] Kleinman M T, Sioutas C, Chang M C, *et al.* Ambient fine and coarse particle suppression of alveolar macrophage functions [J]. *Toxicol Lett*, 2003, 137(3): 151-158.
- [54] 张 旻, 付娟玲, 王 芸, 等. 北京市大气细颗粒物的遗传和非遗传毒性研究[J]. *中国环境科学*, 2003, 23(4): 337—340.
- [55] 张 旻, 付娟玲, 王 芸, 等. 北京市大气细颗粒物对Balb/c 3T3细胞周期的

- 影响[J]. 环境科学学报, 2004, **24**(1): 96-100.
- [56] Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays [J]. *J Immunol Methods*, 1983, **65**(1-2): 55-63.
- [57] Singh N P. Technical report modification of alkaline microgel eletrophoresis for sensitive detection of DNA damage [J]. *Int, Radiat Biol*, 1994, **66**(1): 23-28.
- [58] Singh N P, Mccoy M T, Schneider E L. A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells [J]. *Experimental Cell Research*, 1988, **175**(1): 184-191.
- [59] 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.
- [60] Bener A, Abdulrazzaq YM, Al Mutawwa J, *et al*. Genetic and environmental factors associated with asthma [J]. *Hum Biol*, 1996, **68**(3): 405-414.
- [61] Penning T. Dihydrodio1 dehydrogenases and polycyclichydrocarbon activation: Genaration of reactive and redox active o-quinones [J]. *Chem. Res. Toxicol*, 1999, **12**(1): 1-18.
- [62] 罗晓玲. 河西走廊东部空气污染的天气成因分析及浓度预报[J]. 干旱区资源与环境, 2004, **18**(6): 19-22.
- [63] Adamson I Y, Prieditis H, Vincent R. Soluble and insoluble air particle fractions induce differential production of tumor necrosis factor alpha in rat lung [J]. *Exp Lung Res*, 2004, **30**(5): 355-368.
- [64] Soukup J M, Becker S. Human alveolar macrophage responses to air pollution particulates are associated with insoluble components of coarse material, including particulate endotoxin [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2001, **171**(1): 20-26.
- [65] Imrich A, Ning Y, Kobzik L. Insoluble components of concentrated air particles mediate alveolar macrophage responses in vitro [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2000, **167**(2): 140-150.
- [66] Sun Y L, Zhuang G S, Wang Y, *et al*. Chemical composition of dust storms in Beijing and implications for the mixing of mineral aerosol with pollution aerosol on the pathway [J]. *Geophys. Res.* 2005, **110**, 1-11.
- [67] Wang Y, Zhuang G S, Sun Y L, *et al*. Water-soluble part of the aerosol in the dust

- storm season- evidence of the mixing between mineral and pollution aerosols [J]. *Atmospheric Environ.* 2005, **39**, 7020-7029.
- [68] Guo Z G, Sheng L F, Feng J L, *et al.* Seasonal variation of solvent extractable organic compounds in the aerosols in Qingdao, China [J]. *Atmospheric Environ.* 2003, **37**, 1825-1834.
- [69] 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.
- [70] 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.
- [71] Dockery DW, Pope CA 3rd, Xu X, *et al.* An association between air pollution and mortality in six U.S. cities [J]. *N Engl J Med*, 1993, **329**(24):1753-1759.
- [72] Borja-Aburto VH, Castillejos M, Gold DR, *et al.* Mortality and Ambient fine particles in southwest Mexico city, 1993-1995 [J]. *Environmental Health Perspect*, 1998, **106**(12): 849-855.
- [73] Schwartz J, Dockery D W, Neas L M. Is daily mortality associated specifically with fine particles[J]. *J air waste manage Assoc*, 1996, **46**:927-939.
- [74] Sun Y, Oberley L W, Li YA. simple method for clinical assay superoxide dismutase [J]. *Clin Chem*, 1998, **34**: 497-500.
- [75] 孟紫强, 张波. 二氧化硫吸入对大鼠脑组织细胞的氧化损伤作用[J]. 中国环境科学, 2001, **21** (5): 464-467.
- [76] Wasowicz W, Neve J, Peretz A. Optimized steps in fluorometric determination of thiobarbituric acid-reactive substances in serum: importance of extraction pH and influence of sample preservation and storage [J]. *Clin Chem*, 1993, **39**(12): 2522-2526.
- [77] Jollow D J, Mitchell J R, Zampaglione N, *et al.* Bromobenzene-induced liver necrosis. Protective role of glutathione and evidence for 3,4-bromobenzene oxide as the hepatotoxic metabolite [J]. *Pharmacology*, 1974, **11**(3): 151-169.
- [78] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding [J]. *Anal Biochem*, 1976, **72**(1-2): 248-254.
- [79] Seaton A, MacNee W, Donaldson K, *et al.* Particulate air pollution and acute health

- effects [J]. *Lancet*, 1995, **345**(8493):176-178.
- [80] 刘晓莉, 李红, 孟紫强. PM_{2.5} 对大鼠心、肺、睾丸的氧化损伤作用[J]. 中国环境科学, 2005, **25**(2): 160-164.
- [81] Singh, R, Pathak, D N. Lipid peroxidation and glutathione peroxidase, glutathione reductase, superoxide dismutase, catalase, and glucose-6-phosphate dehydrogenase activities in FeCl₃-induced epileptogenic foci in the rat brain [J]. *Epilepsia*, 1990, **31**(1):15-26.
- [82] 孟紫强, 氧化应激效应与二氧化硫全身性毒作用研究[J]. 中国公共卫生, 2003, **19**(12):1422-1424.
- [83] 李云波, 刘世杰, 细胞内活性氧系统和化学毒物对其影响的研究概况[J]. 卫生毒理学杂志, 1990, **4**(2): 107-112.
- [84] Dreher D, Junod, A F. Role of oxygen free radicals in cancer development [J]. *European Journal of Cancer*, 1996, **32**(1):30-38.
- [85] Nordberg, J., Elias S.J. Arnér, Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system[J]. *Free Radical Biology & Medicine*, 2001, **31**(11):1287-1312.
- [86] Hartman P, Ponder R, Herng-HsiangLo, *et al.* Mitochondrial oxidative stress can lead to nuclear hypermutability [J]. *Mechanism of ageing and development*, 2004, **125**:417-420.
- [87] 方允中, 郑荣梁, 自由基生物学的理论与应用[M], 北京: 科学出版社, 2002: 162-212.
- [88] 耿红, 孟紫强. 二氧化硫吸入对小鼠 9 种脏器 GSH 和 GSH / GSSG 的影响[J]. 卫生研究, 2003, **32**(2): 103-106.
- [89] Riley M R, Boesewetter D E, Kim A M, *et al.* Effects of metals Cu, Fe, Ni, V, and Zn on rat lung epithelial cells [J]. *Toxicology*, 2003, **190**(3): 171-184.
- [90] 时宗波, 邵龙义, Jones T P, 等. 城市大气可吸入颗粒物对质粒 DNA 的氧化性损伤, 科学通报, 2004, **49**(7): 673-678.
- [91] Sagai M, Lim H B, Ichinose T. Lung carcinogenesis by diesel exhaust particles and the carcinogenic mechanism via active oxygens [J]. *Inhalation Toxicol*, 2000, **12**:215-223.
- [92] Barry Dellinger, William A. Pryor, Rafael Cueto, *et al.* Role of free radicals in the

Toxicity of Airborne Fine Particulate Matter [J]. *Chem. Res. Toxicol.* 2001, 14: 1371-1377.

致 谢

值此论文完成之际，谨向给予我关心、指导、帮助、以及提供各种便利条件的单位及个人表示最诚挚的谢意和最美好的祝愿。

首先感谢我的导师孟紫强教授，本论文是在他的精心指导下完成的，从最初的选题、设计到最终的修改和审定，无不凝聚着他的心血和智慧。在我学习期间，他的循循善诱和诲人不倦是我前进的动力，他的激励和督促增添我奋斗的勇气，他的严谨治学、忘我的工作热情、献身科学的执著精神和勤奋深深感染着我，他给我的教诲和启迪将使我终身受益。

感谢实验过程中解静芳、张建彪、李瑞金、张欣、杨振华、董绣青老师提供的便利，感谢耿红、秦国华、白巨利、魏爱丽给予我的支持和帮助，永远不会忘记曾在一起朝夕相处的王少栋、李屹、魏彩玲、卢彬、张剑、赵颖、吕亚峰、白维铭等同学。

此外，还要感谢父母和其他家人对我多年来的大力支持，今后我会更加严格地要求自己，用自己的成绩来回报他们对我的爱。

在即将结束硕士研究生学习之时，我怀着无比眷恋之心祝愿我们环境科学与工程研究中心的发展一日千里、更上层楼。同时祝愿所有关心和帮助过我老师、同学和家人永远幸福、平安！

张全喜

2006 年 5 月

附录

硕士研究生期间发表的论文及获得的专利

1. 发表的论文

- [1] Meng Z.Q, **Zhang QX**. Oxidative damage of dust storm fine particles instillation on lungs, hearts and livers of rats [J]. *Environmental Toxicology and Pharmacology* (in press)
- [2] Meng Z.Q, **Zhang QX**. DNA damage effects of dust storm PM_{2.5} on alveolar macrophages and lung cells of rats [J]. *Environmental research*. (in review)
- [3] 孟紫强, **张全喜**. 大气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.
- [4] 孟紫强, **张全喜**. 沙尘暴细颗粒物对大鼠肺泡巨噬细胞 DNA 损伤[J]. 环境与职业医学 (印刷中).
- [5] 孟紫强, **张全喜**. 沙尘暴细颗粒物对大鼠肺细胞 DNA 损伤作用[J]. 中国公共卫生 (印刷中).
- [6] 孟紫强, **张全喜**. 沙尘暴细颗粒物对大鼠肺、心、肝组织的氧化损伤效应[J]. 卫生研究 (印刷中).
- [7] Geng H, Meng Z, **Zhang Q**. 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 (2): 129-137.
- [8] Geng H, Meng Z, **Zhang Q**. In vitro responses of rat alveolar macrophages to particle suspensions and water-soluble components of dust storm PM_{2.5} [J]. *Toxicology in Vitro*, available online 2 December, 2005.
- [9] 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.
- [10] 耿红, 孟紫强, **张全喜**. 沙尘暴细颗粒物对肺泡巨噬细胞膜通透性与流动性的影响[J]. 中国公共卫生 (印刷中).
- [11] 耿红, 孟紫强, **张全喜**. 沙尘暴 PM_{2.5} 水溶和有机成分对巨噬细胞的损伤 [J]. 中国环境科学, 2006, 26 (1): 20-24.

- [12] 孟紫强, 李瑞金, 白巨利, 张全喜, 李屹. 亚硫酸钠对小鼠不同脏器的 DNA 损伤[J]. 食品科学, 2005, 26 (10): 203-206.

2、取得的专利

实用新型专利: “一种从动物肺中提取肺泡灌洗液的装置”, 已被国家知识产权局授予专利证书, 专利号: ZL 200420016495.9。作为主要完成人, 列第 3 位。

承 诺 书

本人郑重声明:所呈交的学位论文,是在导师指导下独立完成的,学位论文的知识产权属于山西大学。如果今后以其它单位名义发表与在读期间学位论文相关的内容,将承担法律责任。除文中已经注明引用的文献资料外,本学位论文不包括任何其他个人或集体已经发表或撰写过的成果。

学位论文作者(签章): 张全喜

2006年5月18日

个人简况及联系方式

一、个人简况:

姓名: 张全喜 性 别: 男 籍 贯: 山西省朔州市

教育背景: 1992.9-1995.7 初中 山西省忻州市阳方口煤矿中学

1995.9-1999.7 高中 山西省朔州市朔城区一中

1999.9-2003.7 本科 山西大学环境与资源学院

2003.9-2006.7 硕士 山西大学环科中心

获奖情况: 本科期间, 连续三年被评为“校三好学生”;

共获得优秀学生奖学金一等奖三次、二等奖三次和三等奖一次;

2000-2001, 2001-2002 年度连续获得“山西大学迅速环能奖学金”;

2001-2002, 2002-2003 年度连续获得“山西大学富士康助学奖金”;

2001-2002 年度获得“山西大学罗锈烈士纪念奖学金”;

2003 年度被评为“山西大学优秀毕业生”;

2003-2004 年度“校三好学生”、“优秀共产党员”;

2005.12 被评为山西大学保持共产党员先进性教育活动“优秀共产党员”。

工作去向: 山西大学环科中心任教

二、联系方式:

联系电话: 0351-7011011

手机号码: 13934546233

电子信箱: zqx1123@126.com