

DOI: 10.7524/AJE.1673-5897.20180813004

程志斌, 杨峥, 刘艳菊, 等. 汽油车尾气亚慢性暴露对小鼠肺的损伤作用[J]. 生态毒理学报, 2019, 14(2): 298-310

Cheng Z B, Yang Z, Liu Y J, et al. Subchronic exposure to gasoline vehicle exhaust induced lung injury in mice [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2019, 14(2): 298-310 (in Chinese)

汽油车尾气亚慢性暴露对小鼠肺的损伤作用

程志斌, 杨峥, 刘艳菊*, 郭青云, 朱明昊, 钟震宇, 李俊芳, 单云芳, 张鹏骞, 刘田

北京麋鹿生态实验中心, 北京 100076

收稿日期: 2018-08-13 录用日期: 2018-11-23

摘要: 机动车尾气是我国大气细颗粒物 PM_{2.5} 污染的主要来源之一, 长期暴露于机动车尾气对动物呼吸系统及其他多种脏器造成损害。为探索长期暴露于汽油燃烧的汽车尾气对小鼠肺组织的损伤作用, 将 51 只雄性 8 周龄 SPF 级 ICR 小鼠随机分为 7 个处理。其中, 空气对照组 1 个(6 只); 箱体对照组 3 个: 0.5 h 对照组(5 只)、1 h 对照组(8 只)、2 h 对照组(8 只); 汽油车尾气暴露组 3 个: 0.5 h 暴露组(8 只)、1 h 暴露组(8 只)、2 h 暴露组(8 只)。小鼠每天在自制染毒箱中暴露 0.5 h、1 h、2 h。95 d 的暴露实验后, 处死实验鼠, 测定其肺组织的炎症因子白介素-6(IL-6)、乳酸脱氢酶(LDH)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、转化生长因子 β (TGF- β), 并制作小鼠肺部病理学切片进行 HE 染色。暴露实验过程中, 观察记录小鼠行为特征, 测定箱体内 O₂、NO_x、NO₂、NO、SO₂ 和 CO 的浓度。采集汽油车尾气的 PM_{2.5}, 对其水溶性阴离子(F⁻、Cl⁻、NO₂⁻、NO₃⁻、SO₄²⁻)、水溶性阳离子(Na⁺、NH₄⁺、Ca²⁺、K⁺、Mg²⁺)、有机碳(OC)和元素碳(EC)、7 种重金属元素(Cu、Ni、Mn、Zn、Pb、As、Cr)、16 种多环芳烃(PAHs)浓度等进行了测定。结果表明: (1) 亚慢性染毒箱内汽油车尾气 PM_{2.5} 所分析的化学物质中, OC 浓度最高, 占 PM_{2.5} 中总化学物质浓度的 75.5%; 其次是 EC, 占 22.9%; 再次是阴离子和阳离子, 分别占 1.11% 和 0.27%。(2) 3 个暴露组小鼠活跃程度降低, 暴露 5~8 min 后进入睡眠或休息状态, 呼吸频率降低, 小鼠通过这些行为来减少汽油车尾气的伤害。(3) 汽油车尾气长期暴露组的体重增长率与各自对照组之间不存在显著差异, 但 2 h 暴露组体重增长率明显小于 2 h 对照组, 且 2 h 暴露组在第 14 周开始体重有下降的趋势。(4) 与对照组相比, 1 h 暴露组的 IL-6 和 0.5 h 暴露组的 TNF- α 显著升高, 说明汽油车尾气暴露造成小鼠肺炎症损伤, 使 IL-6、TNF- α 的分泌增加。随着暴露时间的延长, IL-6 和 TNF- α 表现为 2 h 暴露组分别显著低于 1 h 暴露组和 0.5 h 暴露组, 意味长期暴露后小鼠肺部受到严重伤害, 免疫力严重下降, 不再有积极的抗炎性反应。(5) 组织病理观察表明, 与开放对照组比较, 3 个汽油车尾气暴露组小鼠肺部组织充血较为严重, 大量淋巴细胞、中性粒细胞浸润, 肺泡间质增生明显, 呈现出随时间延长损伤加重的梯度差异。(6) 汽油车尾气长期暴露可致实验鼠肺脏损伤, 且随着暴露时间的增加, 对肺组织造成的损伤程度增加。

关键词: 汽油车尾气; 颗粒物; 小鼠; 化学成分; 染毒箱; 炎症因子; 病理伤害

文章编号: 1673-5897(2019)2-298-13 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

Subchronic Exposure to Gasoline Vehicle Exhaust Induced Lung Injury in Mice

Cheng Zhibin, Yang Zheng, Liu Yanju*, Guo Qingyun, Zhu Minghao, Zhong Zhenyu, Li Junfang, Shan Yunfang, Zhang Pengqian, Liu Tian

Beijing Milu Ecological Research Center, Beijing 100076, China

Received 13 August 2018 accepted 23 November 2018

基金项目: 国家自然科学基金(41475133)

作者简介: 程志斌(1983-), 男, 硕士研究生, 研究方向为环境生物学和动物学, E-mail: czb@milupark.org.cn

* 通讯作者 (Corresponding author), E-mail: liuyanju@hotmail.com

Abstract: Motor vehicle exhaust is one of the main sources of PM_{2.5} pollution in China. Long-term exposure to vehicle exhaust causes damage to animal respiratory system and other organs. To explore the effects of long-term exposure to gasoline-burning vehicle exhaust on lung tissue damage in mice, 51 male 8-week-old SPF-class ICR mice were randomly divided into 7 groups. Among them, one air control group (6 mice); three control groups: 0.5 h control group (5 mice), 1 h control group (8 mice), and 2 h control group (8 mice); three gasoline exhaust exposure groups: 0.5 h exposure group (8 mice), 1 h exposure group (8 mice), and 2 h exposure group (8 mice). Mice were exposed to gasoline engine exhaust in homemade chambers for 0.5 h, 1 h, and 2 h daily. After 95 days of exposure, the mice were sacrificed and their lung tissues were measured for inflammatory factors interleukin-6 (IL-6), lactate dehydrogenase (LDH), tumor necrosis factor- α (TNF- α), and transform growth factor β (TGF- β), and pulmonary pathology sections were made for HE staining. During the exposure experiment, the behavioural characteristics of the mice were observed and the concentrations of O₂, NO_x, NO₂, NO, SO₂ and CO in the exposure chamber were determined. In addition, PM_{2.5} gasoline vehicle exhaust particles were collected and analysed for concentrations of water-soluble anions (F⁻, Cl⁻, NO₂⁻, NO₃⁻, SO₄²⁻), water-soluble cations (Na⁺, NH₄⁺, Ca²⁺, K⁺, Mg²⁺), organic carbon (OC) and elementary carbon (EC), seven heavy metals (Cu, Ni, Mn, Zn, Pb, As, Cr) and 16 polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). The results showed that: (1) Among the chemical species analyzed in the sub-chronic exposure chamber, the OC concentration was the highest, accounting for 75.5% of the total chemical concentration in PM_{2.5}; followed by EC, accounting for 22.9%; and then anion and cation, accounting for 1.11% and 0.27%, respectively. (2) The mice in the three exposed groups were less active. After 5-8 minutes of exposure, they entered sleep or rest, with the respiratory rate decreased, and these behaviours can reduce the damage from gasoline exhaust emissions. (3) There was no significant difference for weight growth rate between the parallel exposure and control groups, but the growth rate of the 2 h exposure group was significantly lower than that of the 2 h control group, and the 2 h exposure group has a weight decline tendency at the 14th week. (4) Compared with the control group, TNF- α in the 0.5 h exposure group and IL-6 in the 1 h exposure group were significantly increased, indicating that exposure to gasoline exhaust gases induced mouse lung inflammation injury, with increased secretion of IL-6 and TNF- α . With the prolongation of exposure time, IL-6 and TNF- α were significantly lower in the 2 h exposure group than that in the 1 h exposure group and 0.5 h exposure group respectively, which indicates that the lungs of the mice were seriously injured and the immunity was seriously reduced, with no positive anti-inflammatory response. (5) Histopathological observation showed that pulmonary congestion was more serious in the three exposure groups than in the control groups, a large number of lymphocytes and neutrophils infiltrated, and the alveolar interstitial hyperplasia was obvious, showing a gradient difference of damage aggravation with time. (6) Long-term exposure of gasoline vehicle exhaust can cause lung injury in mice, and the degree of damage to lung tissue increases with increasing exposure time.

Keywords: gasoline engine exhaust; PM_{2.5}; mice; chemical composition; exposure chamber; inflammatory factor; pathological injury

随着经济的发展,我国机动车的数量激增,仅北京地区从1999年至2010年的一年间,机动车辆就从123万量增至463万量^[1]。机动车尾气已经成为我国城市道路大气细颗粒物PM_{2.5}污染的主要来源之一^[2-4],源解析表明,其对北京地区PM_{2.5}的贡献高达31.1%^[5]。北京市在非供暖季汽车尾气排放的CO、NO₂、SO₂、碳氢化合物(HC)分别占大气中总排放CO、NO₂、SO₂、HC的53.3%、74.3%、20.3%

和67.8%^[6]。机动车运行过程中向大气排放的各类有害污染物中,不乏NH₄⁺、SO₄²⁻、NO₃等城市二次污染物的重要前体物^[7],严重危害人体健康,对呼吸、神经、循环、生殖等多系统造成损伤^[8-13],成为引发癌症的诱因^[14-16],是导致人群死亡率增加的重要原因^[17]。

在带来大气交通污染的机动车中,主要包括柴油车和汽油车(又称汽车),而汽油车是城市居民出行的主要交通工具,其产生的污染对健康的影响受

到很大关注,人们已开展了不少相关研究。体外细胞实验表明,汽车尾气颗粒物可抑制人肺腺癌 A549 细胞的增殖功能、破坏 A549 细胞膜的完整性、引起 A549 细胞氧化应激及膜脂质的过氧化损伤^[18-19]。短期暴露于汽车尾气可诱导大鼠肺组织的 DNA 单链断裂和线粒体的损伤^[20-21]、大鼠睾丸组织生物大分子的氧化损伤和 DNA 单链断裂^[22]、改变小鼠肺部菌群的物种组成和丰度^[23]。长期暴露于汽车尾气可致大鼠肺纤维化和慢性炎症肺脏形态损伤^[24],且表现出胚胎毒性和遗传毒性^[25]。尽管涉及汽车尾气对肺组织毒性的研究不少,但是,有关汽油为主要燃料的机动车尾气长期暴露对动物的毒性伤害,尤其是结合汽油车尾气化学成分探讨其毒性机制的研究更少。

因此,本研究通过自制染毒箱对小鼠进行亚慢性暴露实验,采用汽油发动机模拟无净化设施的汽油车尾气暴露场景对小鼠肺组织的损伤作用,结合汽油燃料尾气中主要污染气体及 PM_{2.5} 化学成分,探索汽油车尾气排放对小鼠行为、体重、肺组织炎症因子及肺组织解剖学性状的影响,为探索汽油车尾气排放对动物机体的健康危害机制提供重要的实验依据。

1 材料与方法 (Materials and methods)

1.1 主要仪器与试剂耗材

主要仪器:中流量颗粒物采样器(崂应 2030,青岛崂山应用技术研究所)、离子色谱仪(ICS 2000,美国 Dionex 公司)、元素碳/有机碳分析仪(DRI Model 2001A,美国 Atmoslytic 公司)、X 射线荧光分析仪(MESA-50,日本 HORIBA 公司)、气相色谱-质谱联用仪(7890A-5977C,美国安捷伦公司)、全自动生化仪(TBA-120FR ACCUTE 型,日本东芝)、可见光分光光度计(7200,上海优尼柯仪器有限公司)、放射免疫仪(XH6080,西安核仪器厂)、光吸收酶标仪(Sunrise™ F50,瑞士帝肯)、汽油机(Wackerneuson,德国威克诺森)、烟气分析仪(Testo 340,德国德图)、烟气探针(Testo 0409 1202,德国德图)、CO 检测仪(EM-20,香港澳洲新仪器)。

主要试剂耗材:石英滤膜(英国 Whatman 公司,直径 90 cm)、92#汽油(中国石化);小鼠白细胞介素 6(interleukin-6, IL-6)、乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、转化生长因子 β (transforming growth factor, TGF- β)试剂盒(北京冬歌生物科技有限公司);自制的

50 L 铝箔气袋;自制的 1 m×1 m×0.5 m 的聚四氟乙烯可密封的染毒箱、鼠笼(290 mm×178 mm×160 mm)。

1.2 暴露气体和 PM_{2.5} 样品采集与化学成分测定

1.2.1 样品采集

92#汽油为燃料的汽油机怠速运行 10 min 后,把不锈钢采样管伸入排气管内 3 cm 处,以 100 L·min⁻¹流量把尾气吸入自制的 50 L 铝箔气袋,以备亚慢性暴露实验用。用配有 PM_{2.5} 采样头的崂应™ 2030 型中流量智能 TSP 采样器在 Whatman™ 石英膜(Grade QMA1851-090)上同步采集 2 份 PM_{2.5} 平行样品,以备分析质量浓度和化学物质。参照文献[26-27],对采样前后滤膜进行预处理并用万分之一天平称重,获得 PM_{2.5} 的质量浓度。并将各化学组分核算为 500 L 染毒箱体内实际的暴露化学组分含量(气袋 50 L)。

1.2.2 化学成分的测定

PM_{2.5} 样品中水溶性阴离子(F⁻、Cl⁻、NO₂⁻、NO₃⁻、SO₄²⁻)和水溶性阳离子(Na⁺、NH₄⁺、Ca²⁺、K⁺、Mg²⁺)的浓度采用离子色谱仪测定,有机碳(OC)和元素碳(EC)用元素碳/有机碳分析仪分析,Cu、Ni、Mn、Zn、Pb、As、Cr 等 7 种重金属元素用 MESA-50 型 X 射线荧光分析仪分析,详见文献[26-27]的分析方法;16 种多环芳烃(PAHs)用气相色谱-质谱联用仪分析,包括萘、苊烯、苊、芴、菲、蒽、荧蒽、芘、苯并(a)蒽、蒽、苯并(b)荧蒽、苯并(k)荧蒽、苯并(a)芘、茚并(1,2,3-cd)芘、二苯并(a,h)蒽、苯并(ghi)芘,详见王欣欣等^[28]的分析方法。

汽油车尾气亚慢性暴露的过程中,用烟气分析仪和烟气探针(泵速 0.6 L·min⁻¹)测量染毒箱内(每天小鼠进入染毒箱的开始染毒阶段和染毒快结束之前阶段)的 O₂、NO_x、NO₂、NO、SO₂、CO 检测仪测量染毒箱内 CO 的气体浓度,结果取 105 次测定结果的平均值。

1.3 实验动物及亚慢性暴露实验

1.3.1 实验动物

购买北京华阜康生物科技股份有限公司(合格证号:11401300053484)的 51 只雄性 7 周龄 SPF 级 ICR(Institute of Cancer Research,费城癌症研究所)小鼠,体重(38±2) g,每个鼠笼饲养 2 只鼠。实验在室温(22~29 °C)下进行,饲养场所每日消毒,操作人员穿着防护服,以保证洁净的生长环境。小鼠实验前适应性饲养 1 周。

1.3.2 亚慢性暴露实验

将小鼠随机分为7个处理(见表1):1个开放对照组,即小鼠直接暴露于室内空气中(6只小鼠);另外6个处理均在可密封聚四氟乙烯染毒箱(1 m×1 m×0.5 m)内完成,其中,3个对照组分别为0.5 h对照组(5只小鼠,箱内空气日暴露0.5 h)、1 h对照组(8只小鼠,箱内空气日暴露1 h)、2 h对照组(8只小鼠,箱内空气日暴露2 h);3个暴露组分别为0.5 h暴露组(8只小鼠,箱内汽油车尾气日暴露0.5 h)、1 h暴露组(8只小鼠,箱内汽油车尾气日暴露1 h)、2 h暴露组(8只小鼠,箱内汽油车尾气日暴露2 h)。用不锈钢波纹管密封连接已采集有汽油车尾气的毒气袋及染毒箱,通过控制PVC球阀、采用慢速气泵,把袋内气体缓慢泵入已放置了小鼠的染毒箱内,袋内气体完全泵入染毒箱后密封接口,让小鼠按上述处理要求在汽油车尾气暴露0.5 h、1 h、2 h后,取出小鼠笼,打开密封盖,完全置换为新鲜空气,至此完成1 d的暴露实验。如此进行95 d的暴露实验。暴露实验过程中,观察记录小鼠行为特征,每隔7 d测量小鼠体重1次,处死前进行最后一次称重,采用公式计算体重增长率,即体重增长率=(终体重-初体重)/初体重。

1.4 动物样本制备及各项指标的测定

亚慢性暴露实验结束后,参照程志斌等^[29-30]的

表1 暴露实验参数

Table 1 The experimental parameters in different groups

| 实验组 Groups | 时间/h Time/h | 小鼠数 Mice number |
|-----------------------------------|-------------|-----------------|
| 开放对照组 Open control group (OCG) | 0.5, 1, 2 | 6 |
| 对照组 Control group (CG) | 0.5 | 5 |
| | 1 | 8 |
| | 2 | 8 |
| 暴露组 Exposure groups (EG) | 0.5 | 8 |
| | 1 | 8 |
| | 2 | 8 |

分析方法,采用断颈法处死实验鼠,采集鲜肺组织,-80℃下保存,采用双抗体一步夹心法测定炎症因子IL-6、LDH、TGF-β、TNF-α;同时采集左肺(同一部位),用福尔马林固定,HE染色后制作肺组织病理切片,观察分析。

1.5 数据分析

用Excel和SPSS 17.0软件计算平均值和标准差,对各组之间IL-6、LDH、TGF-β、TNF-α等炎症因子、体重增长率、染毒箱内污染物浓度(CO因均超过仪器量程无法统计差异性)的差异性进行单因素方差分析(One-Way ANOVA),方差齐性采用LSD检验,方差非齐性采用Dunnett's T3检验,并绘制柱状图(平均值和标准误)。

2 结果 (Results)

2.1 亚慢性染毒箱内汽油车尾气中的氧气和各类污染物浓度

差异性分析表明,各组染毒箱在每天小鼠进入染毒箱的开始染毒阶段和染毒结束前阶段内O₂浓度和污染物浓度差异均不显著(P>0.05)。染毒箱内O₂浓度为20.65%~20.73%(见表2),汽车尾气污染物浓度普遍偏高,分别用平均值(GB3095—2012中二级小时浓度限值)表示如下:NO_x为1.95~2.21(0.25) mg·m⁻³;NO₂为0~0.14(0.2) mg·m⁻³;NO为1.80~2.21 mg·m⁻³;SO₂为163.61~167.88 mg·m⁻³;CO为>1 116(10) mg·m⁻³。汽油车尾气PM_{2.5}的各类污染物中,OC浓度最高,为633 μg·m⁻³,占PM_{2.5}中总化学物质浓度的75.5%;其次是EC,为192 μg·m⁻³,占22.9%;再次是阴离子和阳离子,分别为9.31 μg·m⁻³和2.27 μg·m⁻³,各占1.11%和0.27%,最低的为7种重金属,0.04 μg·m⁻³,占0.0482%(图1)。PM_{2.5}的各化学组分类别详细情况见表3,其中,阴离子成分中,NO₃和SO₄²⁻浓度最高,分别为3.10 μg·m⁻³和3.01 μg·m⁻³,PO₄³⁻次之,为2.22 μg·m⁻³。

表2 染毒箱内氧气及污染物浓度

Table 2 Oxygen and pollutant concentration in chronic exposure box

| | O ₂ % | NO _x /(mg·m ⁻³) | NO ₂ /(mg·m ⁻³) | NO/(mg·m ⁻³) | SO ₂ /(mg·m ⁻³) | CO/(mg·m ⁻³) | 样本数(n) |
|----------------------|------------------|--|--|--------------------------|--|--------------------------|--------|
| 0.5 h 暴露组 (0.5 h EG) | 20.73±0.06 | 2.21±1.11 | 0±0 | 2.21±1.11 | 165.09±58.15 | >1 116 | 23 |
| 1 h 暴露组(1 h EG) | 20.71±0.07 | 1.95±1.53 | 0.14±0.31 | 1.80±1.22 | 163.61±68.87 | >1 116 | 53 |
| 2 h 暴露组(2 h EG) | 20.65±0.01 | 2.18±1.45 | 0.09±0.28 | 2.08±1.17 | 167.88±60.20 | >1 116 | 29 |

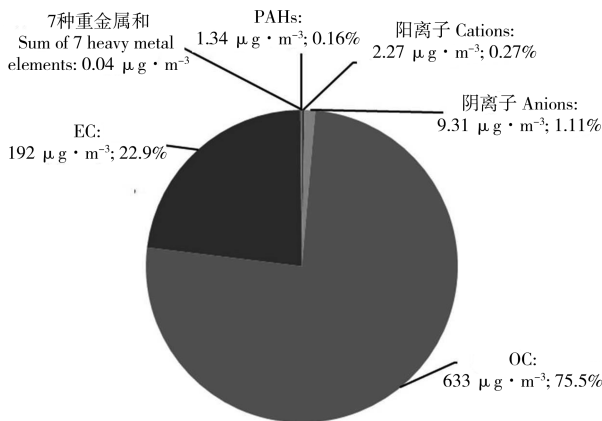


图1 汽油车尾气 PM_{2.5} 化学组分浓度及百分比

注: EC 表示元素碳, OC 表示有机碳, PAHs 表示多环芳烃。

Fig. 1 Chemical components in PM_{2.5} of gasoline engine exhaust

Note: EC stands for elemental carbon; OC stands for organic carbon; PAHs stands for polycyclic aromatic hydrocarbons.

阳离子组分中, NH₄⁺ 浓度最高, 为 1.15 μg·m⁻³; Ca²⁺ 浓度次之, 为 0.733 μg·m⁻³。第三浓度为 Na⁺, 为 0.223 μg·m⁻³。PAHs 中, 苯并(a)芘浓度最高, 为 228 ng·m⁻³, 超过 GB3095—2012 中一级 24 h 平均浓度 2.5 ng·m⁻³。重金属元素浓度由高到低的顺序依次为 (ng·m⁻³): Ni(18.8)、Zn(8.79)、Cu(5.15)、Mn(3.34)、Cr(2.74)、Pb(1.55)、As(0), 其中 Cr 超过 GB3095—2012 中一级年平均浓度 0.025 ng·m⁻³。

2.2 汽油车尾气亚慢性暴露下小鼠的行为变化

汽油车尾气暴露之初, 小鼠活跃度增加、出现在刨花垫料内窜动等躁动特征, 5~8 min 之内活跃程度下降、均趴卧休息或睡眠、呼吸频率下降。同时, 空气暴露对照组(染毒箱)的小鼠未表现出躁动行为, 10~15 min 后活动频率下降, 部分趴卧休息或睡眠。而正常的开放对照组, 小鼠明显未出现这些变化。这些情况表明, 亚慢性暴露于汽油车尾气给

表3 慢性染毒箱 PM_{2.5} 各化学组分

Table 3 Chemical components in PM_{2.5} for chronic exposure box

| 组分类别 Component category | 参数 Parameter | 样品 1 Sample 1 | 样品 2 Sample 2 | 均值 Mean | 组分类别 Component category | 参数 Parameter | 样品 1 Sample 1 | 样品 2 Sample 2 | 均值 Mean |
|--|-------------------------------|------------------|------------------|------------|----------------------------|-----------------|------------------|------------------|------------|
| 离子组分 Ionic component (μg·m ⁻³) | F ⁻ | 0.236 | 0.343 | 0.290 | PAHs(ng·m ⁻³) | 萘 Nap | 6.22 | 2.72 | 4.47 |
| | Cl ⁻ | 0.483 | 0.904 | 0.693 | | 萘烯 Acp | 37.2 | 33.1 | 35.2 |
| | SO ₄ ²⁻ | 3.03 | 2.98 | 3.01 | | 芘 Acy | 2.31 | 2.10 | 2.21 |
| | NO ₃ ⁻ | 3.12 | 3.09 | 3.10 | | 芴 Flu | 12.8 | 10.2 | 11.5 |
| | PO ₄ ³⁻ | 2.26 | 2.18 | 2.22 | | 菲 Phe | 86.8 | 95.7 | 91.3 |
| | Na ⁺ | 0.222 | 0.223 | 0.223 | | 蒽 Ant | 50.8 | 49.8 | 50.3 |
| | NH ₄ ⁺ | 1.15 | 1.15 | 1.15 | | 荧蒽 Flt | 162 | 195 | 178 |
| | K ⁺ | 0.0942 | 0.108 | 0.101 | | 芘 Pyr | 194 | 253 | 223 |
| | Mg ²⁺ | 0.0662 | 0.0551 | 0.0606 | | 苯并(a)蒽 BaA | 44.7 | 42.6 | 43.7 |
| | Ca ²⁺ | 0.933 | 0.532 | 0.733 | | 蒽 CHR | 23.3 | 22.4 | 22.8 |
| 碳质组分 Carbon component (μg·m ⁻³) | TC | 842 | 807 | 825 | 苯并(b)荧蒽 BbF | 92.0 | 95.1 | 93.6 | |
| | OC | 650 | 616 | 633 | 苯并(k)荧蒽 BkF | 56.0 | 45.6 | 50.8 | |
| | EC | 192 | 191 | 192 | 苯并(a)芘 BaP | 230 | 226 | 228 | |
| 元素组分 Element component (ng·m ⁻³) | As | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 茚并(1,2,3-cd)芘 IcdP | 95.6 | 94.9 | 95.2 | |
| | Cr | 2.32 | 3.16 | 2.74 | 二苯并(a,h)蒽 DahA | 3.97 | 5.33 | 4.65 | |
| | Cu | 5.40 | 4.91 | 5.15 | 苯并(ghi)芘 BghiP | 210 | 208 | 209 | |
| | Ni | 19.1 | 18.4 | 18.8 | | | | | |
| | Pb | 2.64 | 0.456 | 1.55 | | | | | |
| | Mn | 3.25 | 3.42 | 3.34 | | | | | |
| | Zn | 8.75 | 8.83 | 8.79 | | | | | |

注: TC 表示总碳。

Note: TC stands for total carbon.

小鼠带来了一定的精神压力,随后小鼠通过降低活跃程度,如休息和入睡以降低呼吸频率来减少汽油车尾气对自身的伤害;空气暴露对照组(染毒箱)在箱子内 10~15 min 后活动频率会下降,可能是由于小鼠的呼吸作用使染毒箱内 CO₂ 浓度上升而促进睡眠有关。

2.3 汽油车尾气亚慢性暴露下的小鼠体重变化

由图 2 可知,汽油车尾气亚慢性暴露组与各对照组之间体重增长曲线相近,仅 2 h 暴露组在第 14 周体重开始下降。差异性分析表明,各组之间体重增长率差异不显著($P>0.05$),但 2 h 暴露组体重增长率均值明显小于 2 h 对照组的(见表 4)。

2.4 汽油车尾气亚慢性暴露下的小鼠肺组织炎症因子变化

图 3 可知,空气对照组、0.5 h 对照组、1 h 对照组和 2 h 对照组小鼠肺组织的 IL-6、LDH、TGF- β 之间没有显著变化,说明密封的箱体环境及密封时间的长短均不影响所测的小鼠肺组织炎症因子。相同暴露时间的暴露组与对照组比较发现,只有 1 h 暴

露组显著提高了 IL-6($P=0.002<0.05$),其他的处理均未造成显著影响。虽然 0.5 h 对照组的 TNF- α 显著低于开放对照组的,但 0.5 h 暴露组的 TNF- α 显著高于同时间的对照组($P=0.008<0.05$)。这说明汽油车尾气暴露造成小鼠肺炎症损伤,使 IL-6、TNF- α 的分泌增加。随着暴露时间的延长,IL-6 表现为 2 h 暴露组显著低于 1 h 暴露组($P<0.05$)、TNF- α 表现为 2 h 暴露组显著低于 0.5 h 暴露组($P<0.05$),意味着长期暴露后小鼠肺部受到严重伤害、免疫力严重下降,不再有积极的抗炎性反应。暴露组与对照组的 LDH 和 TGF- β 分泌水平差异不显著,说明这 2 种炎症因子对汽油燃烧尾气排放污染物的反应不明显。

2.5 汽油车尾气亚慢性暴露下的小鼠肺组织病理变化

组织病理观察表明,汽油车尾气对小鼠肺组织的损伤随日暴露时间增加而加重,损伤程度表现为:2 h 暴露组>1 h 暴露组>0.5 h 暴露组。随着暴露时间的延长,小鼠出现肺损伤的数量增多、损伤的程度加重,如充血较重,出现大量淋巴细胞、中性粒细胞浸润,肺泡间质增生明显,可见肺泡细支气管黏膜细胞脱落(图 4)。

3 讨论 (Discussion)

3.1 汽油车尾气亚慢性暴露对小鼠行为和体重的影响

小鼠的潮气量即每次吸入和呼出的气体量为 0.15 (0.09~0.23) mL,呼吸频率 163 (84~230)次·min⁻¹,推断 8 只小鼠 0.5 h、1 h 和 2 h 的气体交换量均值分别为 5.87 L、11.7 L 和 23.5 L,500 L 箱体所容纳的空气量足够维持小鼠生命活动的消耗,经小鼠最长时间消耗后箱内氧气仍可达 20%,因此不会因为缺氧而影响小鼠生命特征。

汽油车尾气中含有 NO_x、NO₂、NO、SO₂、CO 和

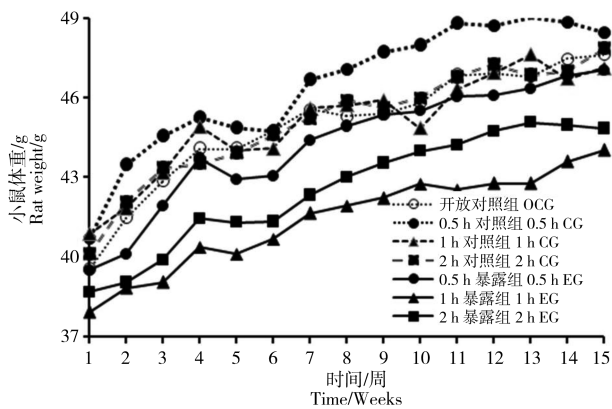


图 2 汽油车尾气暴露对小鼠体重增长的影响
Fig. 2 Effect of gasoline engine exhaust exposure on body weight in mice

表 4 汽油车尾气暴露对小鼠体重增长的影响

Table 4 Effect of gasoline engine exhaust exposure on body weight in mice

| 组别 Groups | 初体重/g Initial weight/g | 终体重/g Final weight/g | 体重增长率/% Weight growth rate/% |
|---------------------|------------------------|----------------------|------------------------------|
| 开放对照组(OCG) | 39.53±0.90 | 47.64±0.88 | 20.58±2.83 |
| 0.5 h 对照组(0.5 h CG) | 40.73±0.39 | 48.48±1.45 | 18.97±2.69 |
| 1 h 对照组(1 h CG) | 40.87±0.50 | 47.14±1.10 | 15.54±1.76 |
| 2 h 对照组(2 h CG) | 40.10±0.27 | 47.85±1.23 | 19.31±2.93 |
| 0.5 h 暴露组(0.5 h EG) | 39.52±0.61 | 47.05±2.20 | 18.65±3.71 |
| 1 h 暴露组(1 h EG) | 37.92±0.72 | 44.04±1.33 | 15.84±2.58 |
| 2 h 暴露组(2 h EG) | 38.69±0.42 | 44.87±1.53 | 15.88±3.28 |

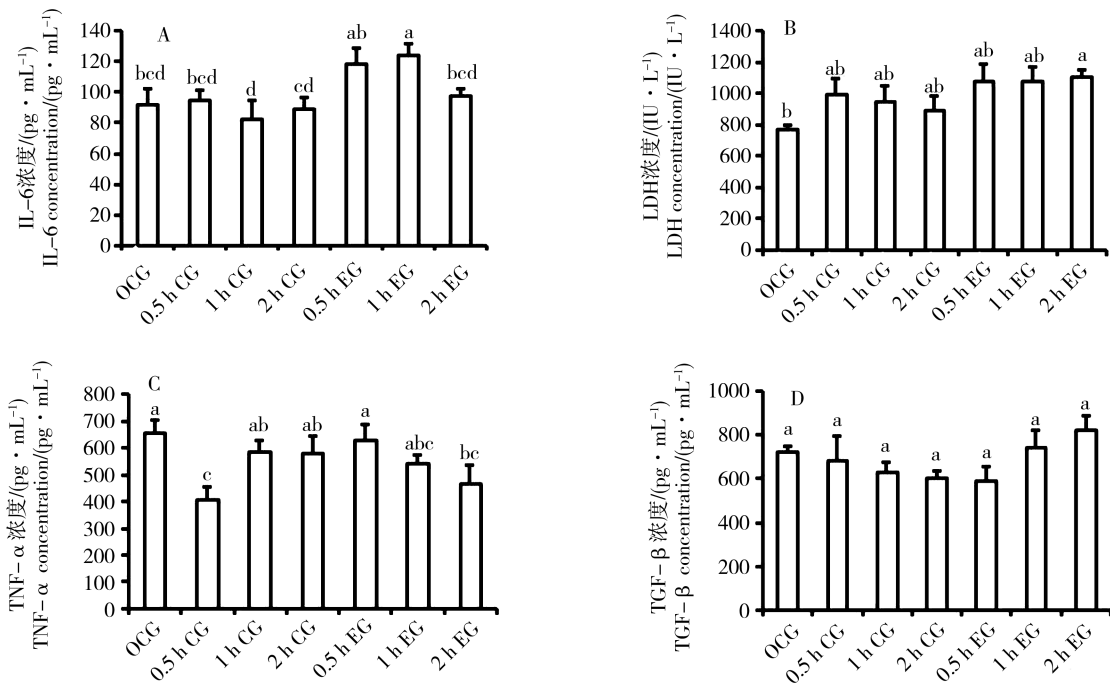


图3 不同处理小鼠肺部炎症因子参数变化

注:同一参数具有相同字母的2个处理之间无显著差异($P>0.05$),不具有相同字母的2个处理之间具有显著差异($P<0.05$)。

Fig. 3 Effect on inflammatory factors in mice lung of different groups

Notes: There is no significant difference between two treatments with same letter at $P > 0.05$, and there is significant difference between two treatments without same letter at $P < 0.05$.

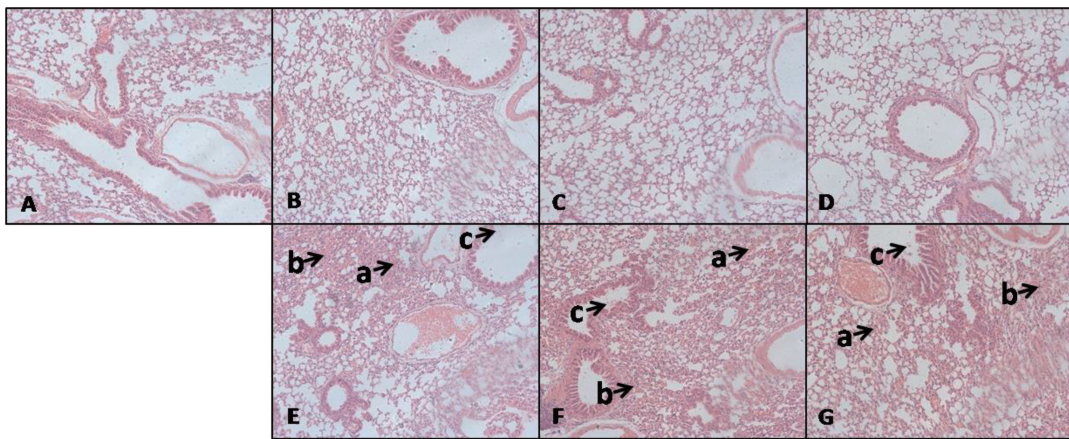


图4 不同处理组小鼠肺部病理切片 HE 染色图(10×10倍)

注:A为开放对照组;B为0.5 h对照组;C为1 h对照组;D为2 h对照组;E为0.5 h暴露组;F为1 h暴露组;G为2 h暴露组;
a为肺泡组织充血;b为淋巴细胞、中性粒细胞浸润,肺泡间质增生;c为肺泡细支气管黏膜细胞脱落。

Fig. 4 Influence of chronic exposure to gasoline engine exhaust on pathology in mice lung (10×10 HE stain)

Note: A. OCG, B. 0.5 h CG, C. 1 h CG, D. 2 h CG, E. 0.5 h EG, F. 1 h EG, G. 2 h EG. a. alveolar congestion; b. lymphocyte and neutrophil infiltration, alveolar interstitial hyperplasia; c. exfoliation of alveolar bronchiole mucosal cells.

PAHs等,具有毒性,部分具有刺激性,在染毒箱中 NO_x 、 SO_2 、CO、苯并(a)芘浓度已经超过国家环境空气质量二级标准,对呼吸系统和神经系统有较大伤害,给小鼠带来了精神和心理压力,在刚进入染毒箱

时,小鼠的反应就很激烈,它们通过降低活跃程度,入睡、降低呼吸频率来减少汽油车尾气对自身的伤害。有研究认为,大鼠长期在 $10 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-3}$ 和 $15 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-3}$ 的 SO_2 染毒箱中持续运动($2 \text{ h} \cdot \text{d}^{-1}$, 10 d),肺组织

出现损伤,可能是运动引起机体肺通气量增加、气流速度加快、肺扩散能力增强,导致运动者 SO_2 的吸入浓度和速度均增加,从而加剧了 SO_2 对免疫细胞的毒作用^[31]。同理,在重污染天气情况下,建议人们尽量减少外出或者户外运动^[32-33]。

体重是反映动物健康状况的基本指标之一,毒理学试验中,动物体重经常被作为测评指标^[34]。车望军等^[20]将汽油车尾气的颗粒物、冷凝物和半挥发性有机物中的二氯甲烷提取物以 $50.0 \text{ L} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的剂量经气管滴注染毒 SD 大鼠(每周1次,共4次),结果显示暴露组的体重增长率与空白组差异不显著。而严超等^[35]用汽油车尾气 $\text{PM}_{2.5}$ 气管滴注染毒 SD 大鼠 60 d(1次·d⁻¹),与正常组相比, $\text{PM}_{2.5}$ 暴露组($2 \mu\text{g} \cdot (100 \text{ g})^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 和 $16 \mu\text{g} \cdot (100 \text{ g})^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)的体重明显降低($P < 0.05$)。汽油车尾气亚慢性暴露 SD 大鼠 21 d(1 h·d⁻¹)后体重无明显变化^[36]。杨伟^[37]研究认为,汽车尾气的 $\text{PM}_{2.5}$ ($777.20 \sim 789.20 \mu\text{g} \cdot \text{m}^{-3}$)对 C57 BL/6 雄鼠暴露 40 d 后,暴露组与对照组相比,体重无明显差异($P > 0.05$)。本实验中,汽油车尾气长期暴露组的体重增长率与各自对照组之间不存在显著差异,但 2 h 暴露组体重增长率均值明显小于 2 h 对照组的,且 2 h 暴露组在暴露的第 14 周开始体重有下降的趋势。这说明长期长时间暴露对体重增长存在一定程度的影响,造成健康伤害。汽油车尾气中的 PAHs 和挥发性有机物(VOCs)具有生物积累性,直接影响动物机体的健康。将汽油车尾气颗粒物的有机提取物注射入小鼠体内,会使小鼠体重增长缓慢^[38]。

3.2 汽油车尾气亚慢性暴露对小鼠肺炎症因子分泌水平的影响

LDH 是活细胞胞浆内含酶之一,来自肺上皮细胞、巨噬细胞和中性粒细胞,当细胞膜受损通透性增加时,此酶从细胞内逸出,使肺泡腔中 LDH 含量升高,是反映毒物毒性的早期灵敏指标^[39]。IL-6,是指在白细胞或免疫细胞间相互作用的淋巴因子,在激活与调节免疫细胞及在炎症反应中起重要作用^[40]。TNF- α 是一种具有杀伤肿瘤细胞功能的促炎细胞因子,主要由活化的单核巨噬细胞产生,在炎症反应、免疫调节中起重要作用^[41]。TGF- β 信号通路就是通过调节细胞的生长、增殖、分化、迁移和凋亡等过程,在机体的免疫反应和创伤修复等生物过程发挥重要的功能^[42]。肺损伤会导致肺部的细胞因子分泌失衡,尤其在大气颗粒物、机动车尾气、重金属等空气污染物导致动物肺部炎症因子 LDH、IL-6、

TNF- α 和 TGF- β 的分泌失衡方面的研究已经有大量报道^[29-30,43-46]。

本实验中,1 h 暴露组显著提高 IL-6;0.5 h 暴露组的 TNF- α 显著高于同时时间的对照组,说明汽油车尾气造成小鼠肺炎症损伤,使 IL-6、TNF- α 的分泌增加。这与许多学者研究结果相一致。樊磊等^[47]对昆明种小鼠汽车尾气亚慢性暴露实验($\text{PM}_{2.5}$ 为 $58.22 \sim 141.32 \mu\text{g} \cdot \text{m}^{-3}$)的研究表明,在汽车尾气中长时间(8 h·d⁻¹)连续暴露 30 d 后,支气管-肺泡灌洗液(BALF)中细胞因子 IL-6 和 TNF- α 水平较正常对照组明显升高,而短时间(4 h·d⁻¹)暴露组则与空白对照组差异不显著。对 Wistar 大鼠气管滴注汽油车尾气颗粒物制剂 3 d(1次·d⁻¹), $8.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $40.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 染毒剂量,结果表明,暴露组 LDH 分泌量显著高于空白组^[39]。这说明急性滴注染毒对鼠肺的危害更加直接,因此危害严重,但缺乏对环境情况的模拟。本实验中,各暴露组与各自对应时间的对照组的 LDH 和 TGF- β 分泌水平差异不显著,与以往研究不同:徐雯等^[19]的汽车尾气颗粒物对 A549 细胞毒性作用的研究表明,汽车尾气颗粒物($50 \sim 400 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)可增加肺上皮细胞膜损伤,促使 LDH 的分泌增加。一方面,原因可能在于污染物作用的对象不同,即直接作用于细胞和个体的差异,另一方面,可能是由于作用的污染物不同,前者是汽油燃烧废气,而后者为颗粒物。

汽油车尾气中的许多有害成分是导致肺组织炎症的重要原因。长期接触 SO_2 使得呼吸系统的免疫功能和防御作用均遭到削弱甚至破坏,呼吸系统的抵抗力会逐渐降低,诱发呼吸道各种炎症^[48]。大气 $\text{PM}_{2.5}$ 中大量的 OC、EC、PAHs 及重金属等化学物质均对肺组织具有细胞毒性作用^[30,49]。Chuang 等^[50]将北京、西安和香港的重雾霾的 $\text{PM}_{2.5}$ 悬液对 BALB/c 小鼠进行气管滴注暴露($50 \mu\text{g} \cdot \text{d}^{-1}$ 和 $150 \mu\text{g} \cdot \text{d}^{-1}$, 第 1 天和第 7 天染毒 1 次,第 14 天取材),研究认为 BALF 中 IL-6 分泌水平显著升高,这一变化与 $\text{PM}_{2.5}$ 中高浓度的 OC、EC 密切相关。当大鼠长期暴露在 $56 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-3}$ 和 $112 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-3}$ 的 SO_2 (6 h·d⁻¹, 10 d)中,肺组织及肺细胞通透性增强, BALF 中 LDH 分泌水平显著升高^[51],大鼠肺组织中的 IL-6 和 TNF- α 分泌水平显著升高^[31]。本实验中 CO 高达 $1116 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-3}$,在长达 95 d 的慢性汽油车尾气暴露中,未出现明显急性中毒症状或死亡现象,但以往研究表明,CO 急性中毒,会造成肺组织损伤,血清

中 LDH 和 TNF- α 的含量显著升高^[52-54]。陈轶等^[55]研究认为长期暴露于地下停车场汽车尾气环境 (PM_{2.5} 为 309 $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$, CO 为 16.784 $\text{mg}\cdot\text{m}^{-3}$, NO_x 为 0.318 $\text{mg}\cdot\text{m}^{-3}$) 中 90 d, 可导致机体血清 TNF- α 和 TGF- β 1 水平显著升高和免疫系统紊乱, 严重超标的 PM_{2.5}、CO 和 NO_x 等 3 种污染物是主要原因。细胞学实验也表明, 大气污染细颗粒中有机成分苯并(a)芘直接引起人 II 型肺上皮细胞慢性炎症^[56], 导致 TNF- α 分泌显著增加并造成 DNA 损伤^[57], 苯并(a)芘环氧化物也会引起人 Wi-38 型肺成纤维细胞炎症和 DNA 损伤^[58]。本实验染毒箱中 SO₂ 高达 (165.30 \pm 6.29) $\text{mg}\cdot\text{m}^{-3}$, 其他的成分 NO_x、OC、PAHs 等物质浓度均较高, 正是由于这些有毒物质导致了肺组织损伤, 使肺细胞炎症因子分泌水平出现失衡。

本实验中, 随着暴露时间的延长, IL-6 和 TNF- α 表现为 2 h 暴露组分别显著低于 1 h 暴露组和 0.5 h 暴露组, 意味长期暴露后小鼠肺部受到严重伤害、免疫力严重下降, 不再有积极的抗炎性反应。这与孟紫强等^[59]的研究结果相类似, 当小鼠吸入 SO₂ 浓度为 14 $\text{mg}\cdot\text{m}^{-3}$ (4 h·d⁻¹, 7 d) 时, 肺组织中 IL-6、TNF- α 的含量均显著升高, 而 TGF- β 1 没有明显变化; 吸入 28 $\text{mg}\cdot\text{m}^{-3}$ SO₂ 后, 肺组织中 IL-6、TNF- α 均显著升高, TGF- β 1 的升高不明显; 而吸入 56 $\text{mg}\cdot\text{m}^{-3}$ SO₂ 之后, 肺组织中 3 种细胞因子均未见显著改变。本实验中染毒箱中 SO₂ 浓度为 (165.30 \pm 6.29) $\text{mg}\cdot\text{m}^{-3}$, 浓度更高, SO₂ 对小鼠肺组织产生了较大伤害, 可能是由于染毒物暴露时间或染毒物的浓度不同, 肺组织炎症因子分泌水平差异性也表现出不同。另外, 本实验中污染物的复杂性和共同作用, 也可能是造成 IL-6 和 TNF- α 浓度随暴露时间加长而显著降低的重要原因。

3.3 汽油车尾气亚慢性暴露对小鼠肺组织的病理伤害

汽车尾气对小鼠的危害, 主要是经由呼吸系统进入血液造成的, 因此肺成为汽油车尾气的靶器官。长期暴露在汽车尾气来源的 PM_{2.5} 污染环境(气管滴注法, 60 d) 中引起大鼠肺、心、肝、脾、肾炎症损害, 肺脏及心脏损害明显, 高剂量组 (16 $\mu\text{g}\cdot(100\text{g})^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$) 可见肺部大量淋巴细胞、中性粒细胞浸润, 肺泡间质增生明显, 大量中性粒细胞浸润的小脓肿, 以及组织吞噬细胞, 且随着 PM_{2.5} 浓度的增加越为严重^[6]。本实验中汽车尾气暴露组的肺组织出现明显的充血现象, 大量淋巴细胞、中性粒细胞浸润, 肺泡

间质增生也明显, 且存在时间梯度的差异。这与许多学者的研究结果相一致。昆明种小鼠在汽车尾气 (PM_{2.5} 为 58.22 ~ 141.32 $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$) 中 (4 h·d⁻¹)、长 (8 h·d⁻¹) 时间连续暴露 30 d 后, 肺组织切片染色后均可见汽车尾气长时间暴露组小鼠肺泡间质中有较多中性粒细胞及淋巴细胞浸润, 长时间暴露小鼠肺损伤得更严重^[47]。张迪^[60]将汽油车尾气对昆明小鼠亚慢性暴露 28 d (2 次·d⁻¹, 5 min·次⁻¹) 后, 小鼠肺部终末细支气管的上皮细胞萎缩或增生, 部分肺泡管、肺泡囊、肺泡萎缩, 并伴有充血现象, 肺内小血管管壁增生, 肺泡隔的结缔组织增生。王晔等^[24]利用汽油机尾气长期亚慢性暴露雄性大鼠, 结果表明前 2 周以炎症反应为主, 4 周后可见肺组织开始出现成纤维细胞增生, 随时间延长, 纤维组织增生也越来越明显, 但仍有慢性炎症反应。然而汽油车尾气暴露时间较短时, 对实验鼠肺组织不能构成损伤的危害。石鑫等^[23]将 C57BL/6 小鼠在汽车尾气环境短期连续暴露 5 d (1 h·d⁻¹), 并未观察到肺组织病变。本实验汽油机尾气直接为汽油发动机的尾气, 即未经过净化装置处理的汽车尾气, 其有害物质浓度更高, 这也是实验结果中肺组织损伤的可能原因。因此, 汽油车尾气长期暴露可致实验鼠肺脏损伤, 且随着暴露时间的增加, 对肺组织造成的损伤程度增加。

通讯作者简介: 刘艳菊 (1969-), 女, 博士, 研究员, 研究方向为环境生物学, 出版著作 5 部, 发表论文 80 余篇。

参考文献 (References):

- [1] Lang J, Cheng S, Wei W, et al. A study on the trends of vehicular emissions in the Beijing - Tianjin - Hebei (BTH) Region, China [J]. Atmospheric Environment, 2012, 62: 605-614
- [2] Wang Y S, Yao L, Wang L L, et al. Mechanism for the formation of the January 2013 heavy haze pollution episode over central and eastern China [J]. Science China: Earth Sciences, 2014, 44(1): 14-25
- [3] Goel R, Guttikunda S K. Evolution of on-road vehicle exhaust emissions in Delhi [J]. Atmospheric Environment, 2015, 105: 78-90
- [4] Amato F, Alastuey A, Karanasiou A, et al. AIRUSE-LIFE+: A harmonized PM speciation and source apportionment in five southern European cities [J]. Atmospheric Chemistry and Physics, 2016, 16(5): 3289-3309
- [5] 韩力慧, 张鹏, 张海亮, 等. 北京市大气细颗粒物污染与来源解析研究[J]. 中国环境科学, 2016, 36(11): 3203-

- 3210
Han L H, Zhang P, Zhang H L, et al. Pollution and source apportionment of atmospheric fine particles in Beijing [J]. *China Environmental Science*, 2016, 36(11): 3203-3210 (in Chinese)
- [6] 杨昆昊, 夏赞宇, 何芑, 等. 机动车燃油质量及尾气排放与北京市大气污染的相关性[J]. *中国科学院大学学报*, 2017, 34(3): 304-317
Yang K H, Xia Z Y, He P, et al. Correlation of fuel quality and emissions of motor vehicle with atmospheric pollution in Beijing [J]. *Journal of University of Chinese Academy of Sciences*, 2017, 34(3): 304-317(in Chinese)
- [7] 薛国强, 朱彬, 王红磊. 南京市大气颗粒物中水溶性离子的粒径分布和来源解析[J]. *环境科学*, 2014, 35(5): 1633-1643
Xue G Q, Zhu B, Wang H L. Size distributions and source apportionment of soluble ions in aerosol in Nanjing [J]. *Environmental Science*, 2014, 35(5): 1633-1643 (in Chinese)
- [8] Kagawa J. Health effects of diesel exhaust emissions—A mixture of air pollutants of worldwide concern [J]. *Toxicology*, 2002, 181: 349-353
- [9] Rengaraj D, Kwon W S, Pang M G. Effects of motor vehicle exhaust on male reproductive function and associated proteins [J]. *Journal of Proteome Research*, 2014, 14(1): 22-37
- [10] Reis H, Reis C, Sharip A, et al. Diesel exhaust exposure, its multi-system effects, and the effect of new technology diesel exhaust [J]. *Environment International*, 2018, 114: 252-265
- [11] 邵瑜, 程义斌, 徐东群, 等. 机动车尾气暴露与交通协管员呼吸系统症状和肺功能的关系研究[J]. *环境与健康杂志*, 2010, 27(5): 436-439
Shao Y, Cheng Y B, Xu D Q. Study on relationship between automobile exhaust exposure and respiratory syndromes and lung function among traffic police assistants [J]. *Journal of Environment and Health*, 2010, 27(5): 436-439 (in Chinese)
- [12] 王少利, 郭新彪, 张金良. 北京市大气污染对学龄儿童呼吸系统疾病和症状的影响[J]. *环境与健康杂志*, 2004, 21(1): 41-44
Wang S L, Guo X B. Study on the effects of ambient air pollution on respiratory disease and symptoms among school-age children in Beijing [J]. *Journal of Environment and Health*, 2004, 21(1): 41-44 (in Chinese)
- [13] 刘美娟, 董光辉, 潘国伟, 等. 鞍山市大气污染对儿童呼吸系统健康的影响[J]. *环境与健康杂志*, 2006, 23(3): 198-201
Liu M J, Dong G H, Pan G W. Effects of air pollution on respiratory system of children in Anshan City [J]. *Journal of Environment and Health*, 2006, 23(3): 198-201 (in Chinese)
- [14] Benbrahim-Tallaa L, Baan R A, Grosse Y, et al. Carcinogenicity of diesel-engine and gasoline-engine exhausts and some nitroarenes [J]. *The Lancet Oncology*, 2012, 13(7): 663-664
- [15] 刘奇琛, 黄婧, 郭新彪. 北京市大气挥发性有机物(VOCs)的污染特征及来源[J]. *生态毒理学报*, 2017, 12(3): 49-61
Liu Q C, Huang J, Guo X B. Pollution characteristics and sources of ambient volatile organic compounds (VOCs) in Beijing [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2017, 12(3): 49-61 (in Chinese)
- [16] Widziewicz K, Rogula-Kozłowska W, Rogula-Kopiec P, et al. PM1 and PM1-bound metals during dry and wet periods: Ambient concentration and health effects [J]. *Environmental Engineering Science*, 2017, 34(5): 312-320
- [17] Künzli N, Kaiser R, Medina S, et al. Public-health impact of outdoor and traffic-related air pollution: A European assessment [J]. *The Lancet*, 2000, 356(9232): 795-801
- [18] 张遵真, 吴媚, 张浩, 等. 汽油车尾气对人肺腺癌 A549 细胞的氧化损伤效应研究[J]. *生态毒理学报*, 2006, 1(1): 25-29
Zhang Z Z, Wu M, Zhang H, et al. Oxidative damage induced by extract from gasoline-fueled vehicle emissions in human lung adenocarcinoma A549 cells [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2006, 1(1): 25-29 (in Chinese)
- [19] 徐雯, 江俊康, 杨北平, 等. 不同粒径汽车尾气颗粒物对 A549 细胞毒性作用的比较[J]. *环境科学学报*, 2013, 33(12): 3407-3412
Xu W, Jiang J K, Yang B P, et al. Comparison of the toxic effects in A549 cells induced by automobile exhaust particulates with different sizes [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2013, 33(12): 3407-3412 (in Chinese)
- [20] 车望军, 王玲, 罗擎英, 等. 汽油车尾气致大鼠肺组织氧化损伤机制的研究[J]. *四川大学学报: 医学版*, 2009, 40(1): 11-14
Che W J, Wang L, Luo Q Y, et al. Oxidative damage of gasoline engine exhausts to rat lung tissues [J]. *Journal of Sichuan University: Medical Science Edition*, 2009, 40(1): 11-14 (in Chinese)
- [21] Nagashima M, Kasai H, Yokota J, et al. Formation of an oxidative DNA damage, 8-hydroxydeoxyguanosine, in mouse lung DNA after intratracheal instillation of diesel exhaust particles and effects of high dietary fat and beta-carotene on this process [J]. *Carcinogenesis*, 1995, 16(6):

- 1441-1445
- [22] 车望军, 吴媚, 张遵真, 等. 汽油车尾气对大鼠睾丸组织的氧化损伤和遗传毒性作用[J]. 卫生研究, 2008, 37(4): 417-420
Che W J, Wu M, Zhang Z Z, et al. Effects of the extracts of condensate, particulates and semivolatle organic compounds from gasoline exhaust on oxidative damage and genotoxicity in testicles of rats [J]. Journal of Hygiene Research, 2008, 37(4): 417-420 (in Chinese)
- [23] 石鑫, 陈倩, 李婷华, 等. 吸入汽车尾气对小鼠肺部菌群的影响[J]. 上海交通大学学报: 医学版, 2018, 38(2): 146-150
Shi X, Chen Q, Li T H, et al. Effects of inhaling vehicle exhaust on lung microbiome in mice [J]. Journal of Shanghai Jiaotong University, 2018, 38(2): 146-150 (in Chinese)
- [24] 王晔, 刘妍彤, 薛灵抒, 等. 汽油车尾气致慢性肺损伤的形态学改变研究[J]. 现代预防医学, 2012, 39(6): 1349-1354
Wang Y, Liu Y T, Xue L S, et al. Study on the morphological changes of the rats' lung caused by exhausting of gasoline engine [J]. Modern Preventive Medicine, 2012, 39(6): 1349-1354 (in Chinese)
- [25] 王海青, 成要平, 何玉洁. 妊娠期大鼠汽车尾气暴露对仔鼠生殖毒性及遗传毒性研究[J]. 环境与健康杂志, 2011, 28(2): 122-124
Wang H Q, Cheng Y P, He Y J. Productive toxicity and genotoxicity of automobile exhaust [J]. Journal of Environment and Health, 2011, 28(2): 122-124 (in Chinese)
- [26] Liu Q Y, Liu Y J, Yin J, et al. Chemical characteristics and source apportionment of PM₁₀, during Asian dust storm and non-dust storm days in Beijing [J]. Atmospheric Environment, 2014, 91(1): 85-94
- [27] Liu Y J, Zhang T T, Liu Q Y, et al. Seasonal variation of physical and chemical properties in TSP, PM₁₀ and PM_{2.5} at a roadside site in Beijing and their influence on atmospheric visibility [J]. Aerosol and Air Quality Research, 2014, 14: 954-969
- [28] 王欣欣, 刘庆阳, 刘艳菊, 等. 二级热脱附-气相色谱-质谱联用测定大气可吸入颗粒物中的16种多环芳烃[J]. 色谱, 2010, 28(9): 849-853
Wang X X, Liu Q Y, Liu Y J, et al. Determination of 16 polycyclic aromatic hydrocarbons in airborne particle samples using two-step thermal desorption and gas chromatography-mass spectrometry [J]. Chinese Journal of Chromatography, 2010, 28(9): 849-853 (in Chinese)
- [29] 程志斌, 刘艳菊, 郭青云, 等. 沙尘暴源区土壤盐碱扬尘对大鼠呼吸系统的免疫损伤[J]. 生态毒理学报, 2018, 13(2): 127-138
Cheng Z B, Liu Y J, Guo Q Y, et al. Immunologic injuries on respiratory system of rats induced by saline-alkali soil dust from dust storm source region [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2018, 13(2): 127-138 (in Chinese)
- [30] 程志斌, 刘艳菊, 亓学奎, 等. 北京不同污染天气 PM_{2.5} 和 PM₁₀ 染毒对大鼠生理病理参数的影响[J]. 生态毒理学报, 2018, 13(3): 226-240
Cheng Z B, Liu Y J, Qi X K, et al. Influence of PM_{2.5} and PM₁₀ exposure on physiological and pathological parameters of rats under different polluted weather in Beijing [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2018, 13(3): 226-240 (in Chinese)
- [31] 刘晓莉, 陈巍, 乔德才. 二氧化硫污染对运动大鼠血清和肺组织 IL-6、TNF- α 水平的影响[J]. 中国运动医学杂志, 2009, 28(1): 51-54
Liu X L, Chen W, Qiao D C. Effect of sulfur dioxide pollution on IL-6 and TNF- α level in serum and lungs in exercising rats [J]. Chinese Journal of Sports Medicine, 2009, 28(1): 51-54 (in Chinese)
- [32] Giles L V, Barn P, Künzli N, et al. From good intentions to proven interventions: Effectiveness of actions to reduce the health impacts of air pollution [J]. Environmental Health Perspectives, 2011, 119(1): 29-36
- [33] Ban J, Zhou L, Zhang Y, et al. The health policy implications of individual adaptive behavior responses to smog pollution in urban China [J]. Environment International, 2017, 106: 144-152
- [34] 林健, 黄宗锈, 林蔚, 等. SD 大鼠体重和主要脏器正常参考值探讨及相关分析[J]. 海峡预防医学杂志, 2005, 11(5): 24-26
Lin J, Huang Z X, Lin W. Study on the normal reference value and correlation analysis of body weight and the main organs of SD rat [J]. Strait Journal of Preventive Medicine, 2005, 11(5): 24-26 (in Chinese)
- [35] 严超, 曹希宁, 沈炼桔, 等. 汽车尾气来源 PM_{2.5} 长期暴露导致大鼠多器官损害[J]. 重庆医科大学学报, 2015(6): 844-849
Yan C, Cao X N, Shen L J, et al. Long exposure to automobile exhaust source PM_{2.5} leads to inflammatory injury of multiple organs in SD rats [J]. Journal of Chongqing Medical University, 2015(6): 844-849 (in Chinese)
- [36] 武辉. 五龙颗粒对汽车尾气所致大鼠免疫抑制的作用研究[D]. 成都: 成都中医药大学, 2004: 35-36
Wu H. Effect of Wulong prescription on immunosuppression induced by automobile exhaust in rats [D]. Chengdu: Chengdu University of TCM, 2004: 35-36 (in Chinese)
- [37] 杨伟. NO-NOS 信号通路介导汽车尾气暴露下致雄鼠

- 生精功能损伤的初步研究[D]. 重庆: 第三军医大学, 2015: 19-22
- Yang W. Effect of automobile exhaust exposure on male mice spermatogenesis function mediated by NO-NOS pathway [D]. Chongqing: Third Military Medical University, 2015: 19-22 (in Chinese)
- [38] 张志红, 杨文敏, 黄铁明. 汽油车尾气颗粒物对小鼠免疫功能的影响[J]. 中国公共卫生学报, 1999, 18(6): 353-355
- Zhang Z H, Yang W M, Huang T M. The effect of gasoline exhaust particles on some immune functions of mouse [J]. Chinese Journal of Public Health, 1999, 18(6): 353-355 (in Chinese)
- [39] 张澍, 李晓林, 林兆川, 等. 汽车尾气中含铂颗粒与非含铂颗粒物肺毒性比较[J]. 环境与职业医学, 2006, 23(2): 89-92
- Zhang S, Li X L, Lin Z C, et al. Comparison of pulmonary toxicity induced by platinum and non-platinum particles emitted from motor vehicle exhaust [J]. Journal of Environmental & Occupational Medicine, 2006, 23(2): 89-92 (in Chinese)
- [40] 张帆, 刘健, 端淑杰. 白介素 37 的生物学特性及其与疾病的相关性研究进展[J]. 中国临床保健杂志, 2018, 21(1): 135-138
- Zhang F, Liu J, Duan S J. Research progress of relationship between interleukin-37 and diseases [J]. Chinese Journal of Clinical Healthcare, 2018, 21(1): 135-138 (in Chinese)
- [41] 吕建媛, 李宏芬, 宋海澄, 等. TNF- α 在强直性脊柱炎患者血清中的表达[J]. 标记免疫分析与临床, 2014, 21(6): 786-787
- Lv J Y, Li H F, Song H C, et al. Expression of TNF- α in serum of patients with ankylosing spondylitis [J]. Labeled Immunoassays and Clinical Medicine, 2014, 21(6): 786-787 (in Chinese)
- [42] 刘镛, 赵琴平, 董惠芬, 等. TGF- β 信号传导通路及其生物学功能[J]. 中国病原生物学杂志, 2014(1): 77-83
- Liu R, Zhao Q P, Dong H F, et al. The TGF- β signaling pathways and their biological functions [J]. Journal of Pathogen Biology, 2014(1): 77-83 (in Chinese)
- [43] 谭强, 宋宏, 陈穗梅, 等. 机动车尾气污染对学龄儿童肺功能及炎症因子水平的影响[J]. 环境与健康杂志, 2009(9): 766-769
- Tan Q, Song H, Chen S M. Effect of vehicle exhaust pollution on lung function and inflammatory factors level in pupils [J]. Journal of Environment and Health, 2009(9): 766-769 (in Chinese)
- [44] 李可欣, 曹红英, 王斌, 等. 三种典型纳米颗粒物造成的人体肺细胞氧化应激和炎症效应[J]. 生态毒理学报, 2010, 5(6): 787-792
- Li K X, Cao H Y, Wang B, et al. Oxidative stress and inflammatory effect on A549 cell line induced by three typical nano-particles [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2010, 5(6): 787-792 (in Chinese)
- [45] 刘爱红, 孙康宁, 赵冬梅. 多壁碳纳米管引起白鼠肺部毒性的评价[J]. 生态毒理学报, 2010, 5(5): 724-729
- Liu A H, Sun K N, Zhao D M. Comparative pulmonary toxic assessment of multi-wall carbon nanotubes in rats [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2010, 5(5): 724-729 (in Chinese)
- [46] Liu Q, Baumgartner J, Zhang Y, et al. Source apportionment of Beijing air pollution during a severe winter haze event and associated pro-inflammatory responses in lung epithelial cells [J]. Atmospheric Environment, 2016, 126(2): 28-35
- [47] 樊磊, 曹继军, 张英杰, 等. 汽车尾气暴露对小鼠运动力竭时间的影响[J]. 生态毒理学报, 2017, 12(5): 287-293
- Fan L, Cao J J, Zhang Y J, et al. The effect of vehicle exhaust exposure on the running exhausting time of mice [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2017, 12(5): 287-293 (in Chinese)
- [48] 孟紫强. 环境毒理学[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 2000: 353-358
- [49] 杨凌. 大气细颗粒物急性、亚慢性染毒对小鼠肺损伤及其免疫机制的研究[D]. 上海: 复旦大学, 2014: 10-40
- Yang L. Study on effects and immune mechanism of acute and sub-chronic exposure of PM_{2.5} on lung in mice [D]. Shanghai: Fudan University, 2014: 10-40 (in Chinese)
- [50] Chuang H C, Ho K F, Cao J J, et al. Effects of non-protein-type amino acids of fine particulate matter on E-cadherin and inflammatory responses in mice [J]. Toxicology Letters, 2015, 237(3): 174-180
- [51] 杜青平, 孟紫强. 二氧化硫对大鼠肺细胞膜通透性的损伤效应[J]. 中国公共卫生, 2003, 19(7): 783-785
- Du Q P, Meng Z Q. Damage effects of sulfur dioxide on pulmonary membranous permeability of rats [J]. China Public Health, 2003, 19(7): 783-785 (in Chinese)
- [52] 田锁臣, 吴铁军, 王可富. 急性重度一氧化碳中毒大鼠肿瘤坏死因子及白细胞介素的变化[J]. 中华危重病急救医学, 2004, 16(12): 760-761
- Tian S C, Wu T J, Wang K F. Changes of tumor necrosis factor and interleukin in acute severe carbon monoxide poisoning rats [J]. Chinese Critical Care Medicine, 2004, 16(12): 760-761 (in Chinese)
- [53] 李自力, 康学文, 郭豫学, 等. 纳洛酮对急性 CO 中毒大

- 鼠血清肿瘤坏死因子 α 、白介素8含量的影响[J]. 中国急救复苏与灾害医学杂志, 2007, 2(12): 718-719
- Li Z L, Kang X W, Guo Y X, et al. Serum tumor necrosis factor- α and interleukin-8 changes in acute carbon monoxide poisoning and the effect of naloxone: Experiment with rats [J]. *China Journal of Emergency Resuscitation & Disaster Medicine*, 2007, 2(12): 718-719 (in Chinese)
- [54] 付双来. 急性一氧化碳中毒患者血清酶学变化及其临床意义[J]. 现代中西医结合杂志, 2002, 11(15): 1417-1418
- Fu S L. Changes and clinical significance of serum enzymes of acute carbon monoxide poisoning [J]. *Modern Journal of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine*, 2002, 11(15): 1417-1418 (in Chinese)
- [55] 陈轶, 陈志斌, 詹鹏铭, 等. 地下停车场汽车尾气污染对小鼠血清炎症因子影响的研究[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2013, 20(6): 353-354
- Chen Y, Chen Z B, Zhan J M, et al. A study on effect of automobile exhaust pollutants in under ground parking area on serum inflammatory cytokines of mice [J]. *Chinese Journal of Integrated Traditional and Western Medicine in Intensive and Critical Care*, 2013, 20(6): 353-354 (in Chinese)
- [56] 邵丹青, 杜毅鹏, 冯娟, 等. 大气污染细颗粒中有机成分苯并芘直接引起人II型肺上皮细胞慢性炎症[J]. 中国病理生理杂志, 2015(10): 1920
- Shao D Q, Du Y P, Feng J, et al. Benzopyrene, an organic component of fine air pollution particles, directly causes chronic inflammation of human type II pulmonary epithelial cells [J]. *Chinese Journal of Pathophysiology*, 2015 (10): 1920 (in Chinese)
- [57] Umannová L, Machala M, Topinka J, et al. Benzo[a]pyrene and tumor necrosis factor- α coordinately increase genotoxic damage and the production of proinflammatory mediators in alveolar epithelial type II cells [J]. *Toxicology Letters*, 2011, 206(2): 121-129
- [58] Dreij K, Rhrissorakrai K, Gunsalus K C, et al. Benzo[a]pyrene diol epoxide stimulates an inflammatory response in normal human lung fibroblasts through a p53 and JNK mediated pathway [J]. *Carcinogenesis*, 2010, 31(6): 1149-1157
- [59] 孟紫强, 刘玉香, 武冬梅. 二氧化硫对小鼠肺及血清中细胞因子的影响[J]. 中国公共卫生, 2004, 20(9): 1050-1051
- Meng Z Q, Liu Y X, Wu D M. Effect of sulfur dioxide inhalation on cytokine levels in lungs and serum of mice [J]. *China Public Health*, 2004, 20(9): 1050-1051 (in Chinese)
- [60] 张迪. 各种汽车尾气对小白鼠部分器官组织形态学上的影响[D]. 大连: 辽宁师范大学, 2009: 18-19
- Zhang D. Automobile exhaust on mouse tracheal study the impact of organizational form [D]. Dalian: Liaoning Normal University, 2009: 18-19 (in Chinese) ◆