

赵培,谭鹤,彭克楠,等. 细颗粒物 PM2.5 对 *ApoE* 基因敲除小鼠动脉粥样硬化的影响及机制 [J]. 中国比较医学杂志, 2020, 30(4): 33-39.

Zhao P, Tan H, Peng KN, et al. Influence and mechanisms of fine particulates (PM2.5) on atherosclerosis progression in *ApoE-deficient* mice [J]. Chin J Comp Med, 2020, 30(4): 33-39.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2020.04.006

细颗粒物 PM2.5 对 *ApoE* 基因敲除小鼠动脉粥样硬化的影响及机制

赵培,谭鹤,彭克楠,李新新,马倩,霍丽静,张明明,路永刚,帖彦清*

(河北省人民医院检验科,石家庄 050051)

【摘要】 目的 本实验旨在探讨细颗粒物 PM2.5 (particulate matter, PM2.5) 对 *ApoE* 基因敲除 (*ApoE*^{-/-}) 小鼠(动脉粥样硬化模型小鼠)的影响及作用机制。**方法** 将 32 只 8 周龄的雄性 *ApoE*^{-/-} 小鼠按随机数字表法分为正常对照组 (*n* = 16) 和 PM2.5 组 (*n* = 16) 两组,分别给予高脂饲料喂养同时 PM2.5 组气管滴注 PM2.5 的生理盐水混悬液 (30 mg/(kg/d)),对照组气管滴注同等剂量的生理盐水。8 周后评价小鼠心脏功能;测定全血中的 PM2.5 浓度,血清中血糖、血脂水平及炎症因子水平;降支全动脉油红 O 染色、主动脉根部 MOVAT 染色评估斑块面积;实时荧光定量 PCR 法检测降主动脉中肿瘤坏死因子-α (tumor necrosis factor, TNF-α)、白介素-6 (interleukin-6, IL-6)、脂蛋白相关磷脂酶 A2 (lipoprotein associated phospholipase A2, Lp-PLA2)、NAD(P)H 氧化酶亚单位 p22phox 和 p47phox 的水平。**结果** PM2.5 组小鼠全血中重金属成分含量升高 (*P* < 0.05),心脏功能无明显改变 (*P* > 0.05),血糖血脂水平无明显差异 (*P* > 0.05),血清炎症因子水平显著升高 (*P* < 0.05),动脉粥样硬化斑块显著增大 (*P* < 0.05), IL-6、TNF-α、Lp-PLA2、p22phox 和 p47phox 的表达水平显著升高 (*P* < 0.05)。**结论** PM2.5 暴露能够促进 *ApoE*^{-/-} 小鼠动脉粥样硬化的进展,其机制可能与炎症反应和氧化应激有关。

【关键词】 细颗粒物 PM2.5;动脉粥样硬化;炎症;氧化应激

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2020) 04-0033-07

Influence and mechanisms of fine particulates (PM2.5) on atherosclerosis progression in *ApoE-deficient* mice

ZHAO Pei, TAN He, PENG Kenan, LI Xinxin, MA Qian, HUO Lijing, ZHANG Mingming, LU Yonggang, TIE Yanqing*

(Clinical Laboratory, Hebei General Hospital, Shijiazhuang 050051, China)

【Abstract】 Objective To investigate the effect and mechanisms of PM2.5 on atherosclerotic plaques in *ApoE-knockout* mice. **Methods** Thirty-two 8-week-old male *ApoE*^{-/-} mice were divided into two groups, both fed with a high-fat diet; a control group that was treated with normal saline by intratracheal instillation, and an experimental group that was exposed to PM2.5 (30 mg/kg body weight) saline suspension by intratracheal instillation. We measured PM2.5 in whole blood using inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS), and measured lipids and inflammatory factors using

[基金项目] 河北省医学科学研究重点课题计划 (20170012)。

[作者简介] 赵培 (1980—), 女, 硕士, 副主任技师, 研究方向: 动脉粥样硬化相关机制研究。E-mail: zhaopei21980@163.com

[通信作者] 帖彦清 (1968—), 女, 硕士, 主任技师, 研究方向: 动脉粥样硬化相关机制研究。E-mail: 376595552@qq.com

standard method. Echocardiography was used to evaluate cardiac function. The whole descending arteries were stained with Oil Red O, aortic roots were stained with Movat, and descending arteries were investigated using quantitative PCR. **Results** In the PM2.5 group, We observed elevated heavy metal components ($P < 0.05$), but there was no significant change in heart function ($P > 0.05$), blood glucose and lipid levels ($P > 0.05$). We also observed elevated serum inflammatory factor levels ($P < 0.05$). In addition, the PM2.5 group had larger atherosclerotic plaques ($P < 0.05$), elevated levels of the inflammatory factors IL-6, TNF- α , and Lp-PLA2, and elevated levels of the NADPH oxidase subunits p22phox and p47phox ($P < 0.05$). **Conclusions** In *ApoE*^{-/-} mice, PM2.5 exposure is associated with increased inflammatory factors and oxidative stress, thus contributing to the progression of atherosclerosis.

【**Keywords**】 PM2.5; atherosclerosis; inflammation; oxidative stress

PM2.5 是指悬浮在大气中空气动力学直径 $\leq 2.5 \mu\text{m}$ 的颗粒物,主要来源于燃料燃烧、机动车尾气和道路扬尘等。石家庄市空气污染严重,特别是 PM2.5 颗粒物重金属含量高。研究发现 PM2.5 能避开呼吸系统屏障直接进入血液循环,改变白细胞功能,引起氧化应激和炎症反应^[1]。动脉粥样硬化是一种慢性炎症性疾病,被认为是心血管疾病的主要病理学基础^[2]。多项流行病学研究显示急性或长期暴露于 PM2.5 能显著升高人群心血管事件发生和死亡的风险^[3-4]。那么 PM2.5 能否引起 *ApoE*^{-/-} 小鼠(As 模型小鼠)血清及斑块中炎症因子及氧化应激的表达,改变小鼠心脏功能并加速动脉粥样硬化的发生发展呢?本实验采用 PM2.5 干预 *ApoE*^{-/-} 小鼠(As 模型小鼠),通过超声心动图评价小鼠心脏功能;通过测定血清中以及降主动脉中的炎症因子水平来评价 PM2.5 对 *ApoE*^{-/-} 小鼠的炎症反应的影响;通过测定降主动脉中 NAD(P)H 氧化酶亚单位 p22phox 和 p47phox 的水平来评价 PM2.5 对 *ApoE*^{-/-} 小鼠的氧化应激的影响。通过降支全动脉油红 O 染色、主动脉根部 MOVAT 染色评估 PM2.5 干预对 *ApoE*^{-/-} 小鼠动脉粥样硬化形成的影响。本实验就 PM2.5 暴露诱发 *ApoE*^{-/-} 小鼠的炎症反应和氧化应激从而促进其动脉粥样硬化发生发展的深层机制进行初步探讨,为积极应对 PM2.5 诱发心血管疾病的相关研究工作提供参考。

1 材料和方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物

32 只八周龄的雄性 SPF 级 *ApoE*^{-/-} 小鼠(体重为 20~22 g),购自卡文斯实验动物有限公司[SCXK(苏)2016-0010],饲养于河北省人民医院临床研究中心 SPF 级动物房,每笼 5~6 只。所有小鼠在 20℃~24℃ 和 45%~55% 湿度条件下,以 12 h 的明暗循

环用高脂饮食喂养 8 周(含 21% 脂肪、19.5% 酪蛋白和 1.25% 胆固醇),动物实验在河北省人民医院实验动物中心[SYXK(冀)2015-0065]进行,该动物实验经过了河北省人民医院医学伦理委员会的批准(201922)并按实验动物使用的 3R 原则给予人道的关怀。

1.1.2 实验材料

细颗粒物(PM2.5)由河北省疾病预防控制中心通过 TH-150D 型智能中流量空气总悬浮颗粒物采样器进行 24 h 连续中流量采样收集。收集 PM2.5 于内置石英纤维滤膜上,每天更换一张滤膜,阴雨天气不采样。将 PM2.5 滤膜称重并溶解于生理盐水中,然后超声波处理 30 min,以分散颗粒,最后用液氮冷冻干燥,并在黑暗中 4℃ 下储存^[5]。

1.2 主要试剂与仪器

药品与试剂:高脂饲料(江苏美迪森生物医药有限公司);油红 O 和 MOVAT 染液(Sigma Aldrich 公司);血糖、血脂(TC、TG、LDL-C)(贝克曼公司);引物(英潍捷基贸易有限公司),逆转录试剂盒(RR047 A,宝生物公司),荧光定量检测试剂盒(RR820 A,宝生物公司)。仪器:全自动生化分析仪(贝克曼 5821),石蜡切片机(德国 Leica 公司),多用途低温离心机(Eppendorf 公司),正置显微镜(德国 Carl Zeiss 公司),体视显微镜(德国 Leica 公司),Epoch CHS 酶标仪(美国 BioTek 公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 动物分组与造模处理

将 *ApoE*^{-/-} 小鼠随机分为 PM2.5 组($n = 16$)和对照组($n = 16$),每天将 10 mg 的 PM2.5 粉末悬浮在 4.8 mL 的生理盐水中,PM2.5 组每只小鼠每天气管滴注 0.3 mL PM2.5 混悬液一次,对照组滴注相同剂量的生理盐水。小鼠 PM2.5 用量是参考石家庄地区正常成人每天 PM2.5 吸入量(2017 年石家庄平均 PM2.5 为 $65 \mu\text{g}/\text{m}^3$),所有动物的操作均

符合河北省人民医院动物伦理委员会和 NIH 实验动物护理和使用指南。

1.3.2 小鼠超声心动图和血流动力学测量

实验结束时,小鼠经 1% 的异氟醚麻醉后使用配有 30 MHz 高频探头的 Visual Sonic Vevo 770 型超声仪 (VisualSonics, Toronto, Canada) 沿仰卧小鼠胸骨旁左室乳头肌水平短轴和长轴切面采集左室图像,同时在二维图像引导下分别获取 5 个以上连续心动周期 M 型超声影像并记录以下参数:射血分数 (LV ejection fractions, EF), 左室缩短分数 (fractional shortening, FS), 左室收缩末期内径 (left ventricular end systolic dimension, LVESd), 左室舒张末期内径 (left ventricular end diastolic dimension, LVEDd), 左室舒张末期后壁厚度 (left ventricular posterior wall thickness at end diastolic stage, LVPWd) 和左室舒张末期前壁厚度 (left ventricular anterior wall thickness at end diastolic stage, LVAWd), 并比较两组小鼠以上数据的差异。

1.3.3 小鼠全血重金属测定

小鼠取血,采用质量浓度为 10 mg/L 的铝、钒、铁、锰、硒、银等微量重金属 (Agilent 科技公司,美国) 的标准溶液配制各种质量浓度为 0.00、5.00、10.00、20.00、50.00、100.00 和 200.00 $\mu\text{g/L}$ 的溶液,并建立标准曲线,电感耦合等离子体质谱法 (ICP-MS, Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, USA) 测定全血的重金属含量,同时测定小鼠所用的 PM2.5 混悬液的重金属含量。

1.3.4 小鼠血糖、血脂、IL-6 和 TNF- α 水平的测定

小鼠取血后离心获得血清,全自动生化分析仪

检测血清葡萄糖 (GLU)、总胆固醇 (TC)、甘油三酯 (TG)、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C) 的水平,ELISA 方法测定血清 IL-6 和 TNF- α 水平。

1.3.5 小鼠动脉斑块面积评估

评估整个动脉的脂质沉积情况,从左锁骨下动脉到髂骨分叉处解剖主动脉油红 O 染色。以油红 O 阳性面积/血管总面积 $\times 100\%$ 评估主动脉整体斑块大小。主动脉根部行石蜡切片,参照文献行 Movat 染色^[6],评估动脉斑块大小,数据通过 Image Pro Plus-6 软件 (Media Cybernetics, Inc.) 进行分析。

1.3.6 小鼠降主动脉斑块内部相关基因检测

使用 TRIzol 两步法抽提降主动脉的总 RNA,按照逆转录试剂说明书进行实时荧光定量 PCR。20 μL 逆转录反应体系中,总 RNA 加样量在约 500 ng;得到的 cDNA 用无酶水稀释 5 倍, -80°C 冰箱保存备用。斑块内部相关因子及内参基因荧光定量 PCR 反应引物序列,见表 1。

1.4 统计学方法

所有数据采用 SPSS 17.0 统计软件进行分析。计量资料以平均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,各组间数据的比较依据资料的性质采用 t 检验或方差分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 小鼠超声心动图

定量分析表明,两组间 EF、FS、LVESd、LVEDd、LVPWD 和 LVAWD 等数据差异无显著性,PM2.5 未能影响心脏功能 (见图 1、表 2)。

表 1 基因引物序列
Table 1 Realtime quantitative PCR gene primers

基因 Gene	上游引物 Forward primer	下游引物 Reverse primer
TNF- α	5'-CAC AGA AAG CAT GAT CCG CG-3'	5'-ACT GAT GAG AGG GAG GC CAt-3'
IL-6	5'-AGC CAG AGT CCT TCA GAG AGA-3'	5'-TGG TCT TGG TCC TTA GCC Ac-3'
Lp-PIA2	5'-CCAGAGATTCAGATGTGGAGTt-3'	5'-TGGCAGAGTTGATAAAGAGGAG-3'
p22phox	5'-CAT CGT GGC TAC TGC TGG Ac-3'	5'-TGG ACC CCT TTT TCC TCT Tt-3'
p47phox	5'-CGA AGA AGC CTG AGA CAT ACc-3'	5'-ATA TCC CCT TTC CTC ACC ACc-3'
GAPDH	5'-TG TG TCC GTC GTG GAT CTG A-3'	5'-CCT GCT TCA CCA CCT TCT TGA t-3'

表 2 对照组及 PM2.5 组 $ApoE^{-/-}$ 小鼠心脏功能的比较
Table 2 Comparison of cardiac function between the control group and PM2.5 group

组别 Groups	EF	FS	LVESd	LVEDd	LVPWd	LVAWd
对照组 Control group	70.54 $\pm$ 7.13	39.84 $\pm$ 4.91	2.48 $\pm$ 0.72	3.81 $\pm$ 0.36	0.74 $\pm$ 0.10	0.79 $\pm$ 0.04
PM2.5 组 PM2.5 group	72.74 $\pm$ 9.03	44.19 $\pm$ 8.26	2.52 $\pm$ 0.43	3.89 $\pm$ 0.46	0.82 $\pm$ 0.02	0.85 $\pm$ 0.21

2.2 小鼠血液中重金属含量测定

采用电感耦合等离子体质谱法测定 PM2.5 混悬液及两组小鼠血液中重金属含量,我们发现 PM2.5 组(表 3)全血中重金属含量显著升高,特别是铝、钒和铁,且 PM2.5 组小鼠的全血重金属比例与 PM2.5 混悬液相似(表 4)。这些数据表明 PM2.5 重金属颗粒可以通过气管滴注法进入 *ApoE*^{-/-} 小鼠循环系统。

2.3 小鼠血糖、血脂以及促炎因子水平的检测

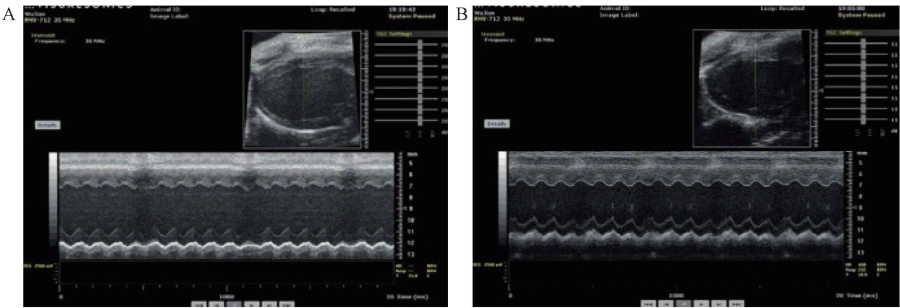
PM2.5 组和对照组小鼠血清的 GLU、CHOL、TG、LDL-C 和 HDL-C 水平无显著差异(图 2A)。然而,经 PM2.5 处理的 *ApoE*^{-/-} 小鼠表现出较高的血清促炎因子(IL-6、TNF-α)表达水平(图 2B、2C)。

2.4 小鼠动脉粥样硬化斑块面积评估

采用定量形态学方法测量了从主动脉弓到髂总动脉分叉处的全降主动脉油红 O 染色标本,以代表动脉粥样硬化斑块所占区域。与对照组相比经 PM2.5 处理的 *ApoE*^{-/-} 小鼠主动脉斑块面积的百分比比较高(**P*=0.0276)。主动脉根部切成 5 μm 的石蜡切片进行 Movat 染色,显示 PM2.5 组主动脉根部斑块面积显著增加(**P*=0.0231),见图 3。

2.5 降主动脉斑块内部炎症和氧化应激相关基因表达

我们发现经 PM2.5 处理后的 *ApoE*^{-/-} 小鼠降主动脉斑块内经典的促炎细胞因子 IL-6、TNF-α、Lp-PLA2 以及 NAD(P)H 氧化酶亚单位 p22phox 和 p47phox 的表达显著增加(表 5)。



注:A:对照组;B:PM2.5 组。
图 1 PM2.5 对 *ApoE*^{-/-} 小鼠超声心动图检测的心功能影响
Note. A, Control group. B, PM2.5 group.

Figure 1 PM2.5 affect cardiac function tested by echocardiographic images in *ApoE*^{-/-} mice

表 3 PM2.5 组小鼠及对照组小鼠血液中重金属含量比较(μg/L)

Table 3 Comparison of heavy metal content in blood of PM2.5 group mice and control group mice

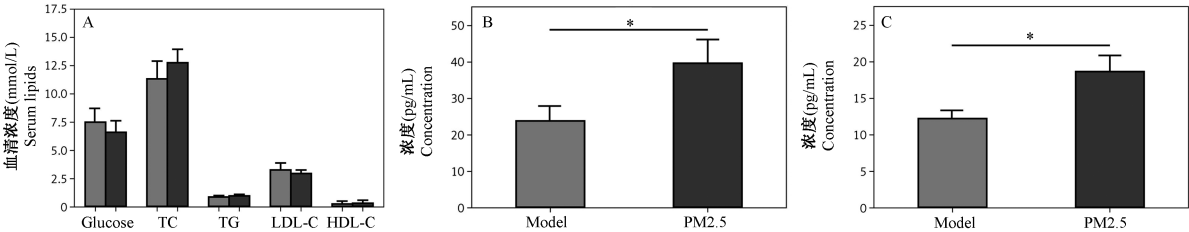
组别 Groups	铝 (Al)	钒 (V)	铁 (Fe)	锰 (Mn)	硒 (Se)	银 (Ag)
对照组 Control group	286.50±30.36	1.59±0.11	292700±29360	15.99±1.17	647.0±41.76	0.24±0.021
PM2.5 组 PM2.5 group	642.80±95.32*	4.56±0.32*	542763±14250*	20.07±2.71	695.3±65.32	0.16±0.027

注:与对照组比较,**P*<0.05。
Note. Compared with the control group,**P*<0.05.

表 4 PM2.5 混悬液重金属的成份和含量(μg/L)

Table 4 Composition and content of heavy metals in PM2.5 suspension

成份 Component	铝 (Al)	钒 (V)	铁 (Fe)	锰 (Mn)	硒 (Se)	银 (Ag)
含量 Content	0.27302	0.00216	0.44658	0.03611	0.01604	0.00068

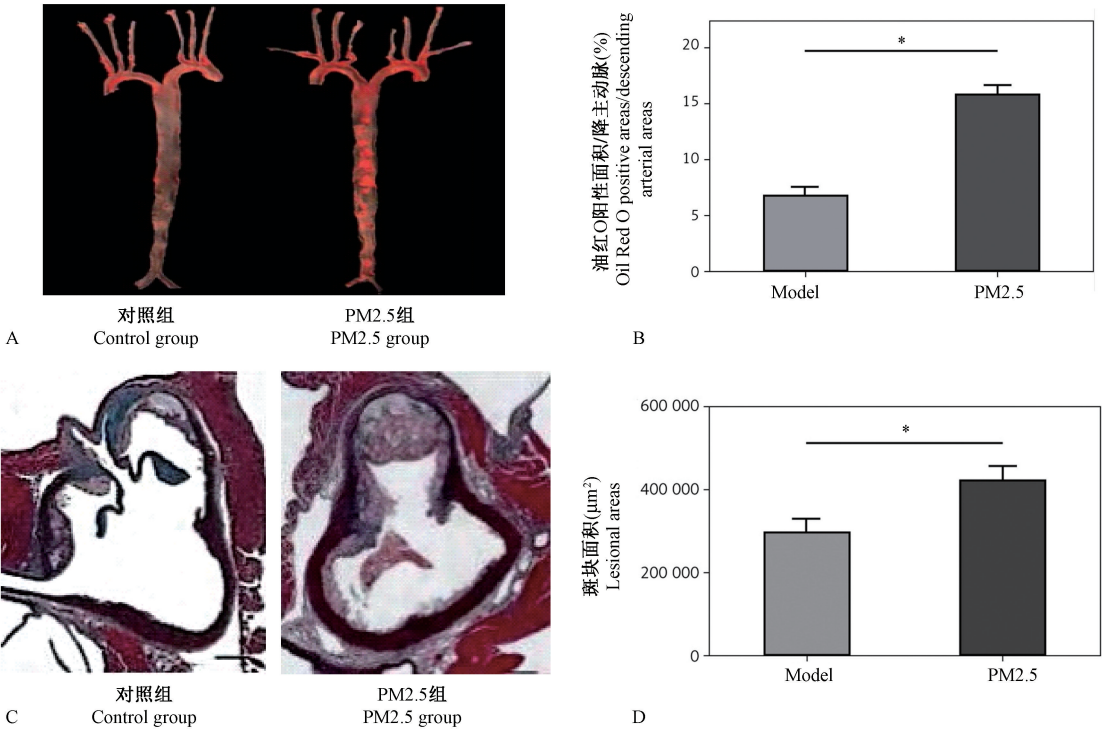


注:A;对照组和 PM2.5 组 *ApoE*^{-/-} 小鼠血清炎症因子水平差异无显著性 ($P>0.05$);B;PM2.5 组 *ApoE*^{-/-} 小鼠血清 IL-6 水平显著升高 ($*P<0.05$);C;PM2.5 组 *ApoE*^{-/-} 小鼠血清 TNF- α 水平显著升高 ($*P<0.05$)。

图 2 PM2.5 处理对 *ApoE*^{-/-} 小鼠血糖、血脂以及血清炎症因子水平的影响

Note. A, There was no significant difference in serum inflammatory factor levels between *ApoE*^{-/-} mice in the control group and PM2.5 group ($P>0.05$). B, Serum IL-6 level of *ApoE*^{-/-} mice in PM2.5 group was significantly increased ($*P<0.05$). C, Serum TNF- α level of *ApoE*^{-/-} mice in PM2.5 group was significantly increased ($*P<0.05$).

Figure 2 The effect on serum glucose、serum lipids and serum inflammatory factor levels by treatment with PM2.5 in *ApoE*^{-/-} mice.



注:A;对照组和 PM2.5 组全降主动脉油红 O 染色;B;油红 O 染色显示 PM2.5 组全降主动脉斑块面积显著增加 ($*P=0.0276$);C;PM2.5 组和对照组主动脉根部切片 MOVAT 染色;D;MOVAT 染色显示 PM2.5 组主动脉根部斑块面积显著增加 ($*P=0.0231$)。

图 3 PM2.5 处理对 *ApoE*^{-/-} 小鼠动脉粥样硬化斑块面积的影响

Note. A, descending aorta oil red O staining in the control group and PM2.5 group. B, oil red O staining showed a significant increase in the area of aortic plaques in the PM2.5 group ($*P=0.0276$). C, MOVAT staining of aortic root sections in PM2.5 group and control group. D, MOVAT staining showed a significant increase in aortic root plaque area in the PM2.5 group ($*P=0.0231$).

Figure 3 The effect on areas of atherosclerotic lesions by treatment with PM2.5 in *ApoE*^{-/-} mice

表 5 PM2.5 对 *ApoE*^{-/-} 小鼠斑块内部炎症反应和氧化应激的影响

Table 5	The effect on inflammatory factors and Oxidative stress genes by treatment with PM2.5 in <i>ApoE</i> ^{-/-} mice				
组别 Groups	TNF-α	IL-6	Lp-PLA2	p22phox	p47phox
对照组 Control group	0.54±0.11	0.53±0.18	0.46±0.10	0.43±0.09	0.62±0.11
PM2.5 组 PM2.5 group	8.5±1.365 *	8.02±1.03 *	5.26±0.86 *	1.13±0.25 *	1.15±0.19 *

注：与对照组比较，* *P*<0.05。
Note. Compared with the control group, * *P*<0.05.

3 讨论

2018 年世卫组织公布了最新的全球前十位死亡原因,其中缺血性心脏病和中风高居榜首,而 As 是这两种疾病的主要病理基础。As 是一种在动脉管壁发生的慢性、低水平炎症性疾病,以脂质堆积和纤维斑块形成为特征,血压增高、血脂升高、慢性炎症、氧化应激等因素都会引起 As 形成与恶化^[7]。近年来关于大气污染对 As 患者的不利影响逐渐引起了人们的重视。研究发现,短期暴露于高浓度或长期暴露于低浓度 PM2.5 是 As 进展的一个危险因素^[8]。我们的研究发现 PM2.5 的暴露对超声心动图检测的心功能没有影响 (*P*>0.05),同样 PM2.5 组和对照组在血糖或血脂方面没有显著差异 (*P*>0.05),说明短期(8 周)暴露于高浓度的 PM2.5 可能不会对小鼠的心脏功能以及血糖和血脂的水平造成影响。Li 等^[9]研究发现 LDL 受体基因敲除小鼠长时间暴露于超细颗粒物会引起小鼠血浆中 HDL 水平降低,同时甘油三酯水平显著升高。我们的研究结果与其不相同可能与本实验 PM2.5 暴露时间短有关。

在病理条件下,持续或不受控制的炎症可能导致宿主器官损伤和动脉粥样硬化,导致心肌梗塞和中风^[10-11]。氧化应激能够通过直接氧化损伤和间接信号介导损伤促进动脉粥样硬化的发生发展^[12]。而炎症反应和氧化应激是 PM2.5 发挥促动脉粥样硬化作用的重要机制^[13]。PM2.5 经呼吸进入肺部可直接造成呼吸道上皮氧化损伤和肺组织炎症,导致大量炎性细胞因子进入体循环促发系统性炎症反应^[14]。IL-6 是由活化的巨噬细胞、上皮细胞以及平滑肌细胞等生成,能促进单核细胞趋化因子蛋白-1 的分泌从而促进动脉粥样硬化进程的发展,同时能增加细胞黏附分子的表达,刺激血管平滑肌细胞的增殖与迁移。动脉斑块中存在着大量的巨噬细胞,这些巨噬细胞同样能通过分泌促炎细胞因子

(如 IL-6、TNF-α 等)吸收胆固醇、脂质形成泡沫细胞,引发细胞凋亡等促进 As 斑块的形成、发展和破裂^[15]。脂蛋白相关磷脂酶 A2 (Lp-PLA2)是新近发现的 AS 危险因子,它属于磷脂酶 A2 超家族,由 AS 斑块内的巨噬细胞和淋巴细胞等合成,血浆中约有三分之二的 Lp-PLA2 与含 apoB 的 LDL 结合,并被转运至血管内膜的易损区,特异性地剪切内膜下氧化低密度脂蛋白(OX-LDL)分子中的氧化磷脂,生成促 AS 的炎性介质-氧化型游离脂肪酸(OX-FA)和溶血卵磷脂(lyso-PC)^[16],这两者能够加快 AS 斑块发生发展的进程、并促进斑块的坏死和脱落。我们的研究发现 PM2.5 组 *ApoE*^{-/-} 小鼠血清促炎因子(IL-6、TNF-α)水平显著升高 (*P*<0.05),这与国内张书余等^[17]的研究结果一致,他们的研究发现气管滴入 PM2.5 悬浮溶液诱发了动脉粥样硬化大鼠 IL-6 和 TNF-α 的表达增加;另有药红梅等^[18]研究证实,PM2.5 尾静脉注射染毒可即使 As 大鼠血清 IL-6、TNF-α、心肌 NF-κB 活性增加。除此之外我们的研究还发现 PM2.5 同时诱发了动脉硬化斑块内 IL-6、TNF-α 及 Lp-PLA2 的表达升高 (*P*<0.05),这可能是造成 PM2.5 组斑块面积显著增大的原因之一。

已经证实活性氧(reactive oxygen species,ROS)生成增多引起的氧化应激参与了多种心血管疾病的发生发展。NADPH 氧化酶(NADPH oxidase, Nox)是一类以生成 ROS 为主要功能的蛋白质, NADPH 氧化酶在单核细胞中生成 ROS,是导致动脉粥样硬化的重要因素^[19],目前共发现 NADPH 氧化酶有 7 种亚型, Nox2 是最早发现的 Nox 亚型, Nox2 表达于细胞膜,由胞膜亚基 gp91phox、p22phox 和胞浆亚基 p40phox、p47phox、p67phox、Rac1 组成,生理状态下不具有活性,其活化需要胞浆亚基相互结合并转位到细胞膜。越来越多的证据显示, PM2.5 能够刺激机体产生氧化应激^[20], Mo 等^[21] 研究发现 PM2.5 能够通过 p38 和丝裂原活化蛋白激

酶(mitogen-activated protein kinases, MAPKs)磷酸化,从而活化还原性辅酶 II 氧化酶(NADPH oxidase)引起内皮细胞内 ROS 水平的升高,而血管内皮的功能紊乱是动脉粥样硬化发生发展的病理基础之一。我们的研究发现,NAD(P)H 氧化酶亚基 p22phox 和 p47phox 在 PM2.5 组 *ApoE*^{-/-} 小鼠动脉粥样硬化斑块中的表达水平显著升高($P<0.05$)。说明 PM2.5 激活了 *ApoE*^{-/-} 小鼠斑块内 NADPH 氧化酶,NADPH 氧化酶的激活或促使单核细胞和内皮细胞中 ROS 的产生,从而促进动脉粥样硬化斑块的发展。

综上所述,我们的研究发现 PM2.5 的暴露能够引起 *ApoE*^{-/-} 小鼠血清中 IL-6、TNF- α 水平的升高,说明 PM2.5 促发了小鼠体内的炎症反应;我们还发现 PM2.5 组 *ApoE*^{-/-} 小鼠动脉硬化斑块发展速度明显快于对照组,PM2.5 组小鼠动脉斑块内 IL-6、TNF- α 、Lp-PLA2、NAD(P)H 氧化酶亚基 p22phox 和 p47phox 表达显著增加,这说明 PM2.5 能够通过炎症反应和氧化应激两个方面加速 *ApoE*^{-/-} 小鼠动脉粥样硬化斑块的形成。

参考文献:

- [1] Gai HF, An JX, Qian XY, et al. Ovarian damages produced by aerosolized fine particulate matter (PM2.5) pollution in mice: possible protective medications and mechanisms [J]. Chin Med J (Engl), 2017, 130(12): 1400-1410.
- [2] Kral JB, Schrottmaier WC, Salzmann M, et al. Platelet interaction with innate immune cells [J]. Transfus Med Hemother, 2016, 43(2): 78-88.
- [3] Huo Y, Schober A, Forlow SB, et al. Circulating activated platelets exacerbate atherosclerosis in mice deficient in apolipoprotein E [J]. Nat Med, 2003, 9(1): 61-67.
- [4] Li Q, Liu H, Alattar M, et al. The preferential accumulation of heavy metals in different tissues following frequent respiratory exposure to PM2.5 in rats [J]. Sci Rep, 2015, 5(19): 16936.
- [5] Gu XY, Chu X, Zeng XL, et al. Effects of PM2.5 exposure on the Notch signaling pathway and immune imbalance in chronic obstructive pulmonary disease [J]. Environ Pollut, 2017, 226(3): 163-173.
- [6] 李莉,翟同钧,陈融,等. Movat 五色套染法的改进及应用 [J]. 临床与实验病理学杂志, 2002, 18(6): 660-662.
- [7] Du Y, Xu X, Chu M, et al. Air particulate matter and cardiovascular disease: the epidemiological, biomedical and

- clinical evidence [J]. J Thorac Dis, 2016, 8(1): E8-E19
- [8] Lelieveld J, Evans JS, Fnais M, et al. The contribution of outdoor air pollution sources to premature mortality on a global scale [J]. Nature, 2015, 525(7569): 367-371.
- [9] Li R, Navab M, Pakbin P, et al. Ambient ultrafine particles alter lipid metabolism and HDL anti-oxidant capacity in LDLR-null mice [J]. J Lipid Res, 2013, 54(6): 1608-1615.
- [10] Fang L, Moore XL, Dart AM, et al. Systemic inflammatory response following acute myocardial infarction [J]. J Geriatr Cardiol, 2015, 12(3): 305-312.
- [11] Ivanova EA, Orekhov AN. Monocyte activation in immunopathology: cellular test for development of diagnostics and therapy [J]. J Immunol Res, 2016, 2016: 4789279.
- [12] 田美杰,孙英健,官佳懿,等. 橙皮苷对小鼠抗氧化作用及抗氧化酶基因表达的影响 [J]. 中国实验动物学报, 2016, 24(2): 150-157.
- [13] Meng X, Zhang Y, Yang KQ, et al. Potential harmful effects of PM2.5 on occurrence and progression of acute coronary syndrome: epidemiology, mechanisms, and prevention measures [J]. Int J Environ Res Public Health, 2016, 13(8): E748.
- [14] Prueitt RL, Cohen JM, Goodman JE. Evaluation of atherosclerosis as a potential mode of action for cardiovascular effects of particulate matter [J]. Regul Toxicol Pharmacol, 2015, 73(2): S1-15.
- [15] Sorci-Thomas, Mary G, Thomas MI. Microdomains, inflammation and atherosclerosis [J]. Circ Res, 2016, 118(4): 679-691.
- [16] 潘晨亮,彭瑜,张钰. 脂蛋白相关磷脂酶 A2 与冠心病的相关性研究进展 [J]. 中国动脉硬化杂志, 2014, 22(1): 90-94.
- [17] 张书余,张夏琨,周骥,等. 冷空气与霾对动脉粥样硬化大鼠影响的实验研究 [J]. 科学技术与工程, 2018, 18(2): 56-65
- [18] 药红梅,吕吉元. PM2.5 不同成分致冠状动脉粥样硬化大鼠炎症作用的探讨 [J]. 环境与职业医学, 2010, 27(11): 673-676.
- [19] Medbury HJ, Williams H, Fletcher JP. Clinical significance of macrophage phenotypes in cardiovascular disease [J]. Clin Transl Med, 2014, 3(1): 63.
- [20] Pei Y, Jiang R, Zou Y, et al. Effects of fine particulate matter (PM2.5) on systemic oxidative stress and cardiac function in *ApoE*^{-/-} mice [J]. Int J Environ Res Public Health, 2016, 13(5): E484.
- [21] Mo Y, Wan R, Chien S, et al. Activation of endothelial cells after exposure to ambient ultrafine particles: The role of NADPH oxidase [J]. Toxicol Appl Pharm, 2009, 236(2): 183-193.

[收稿日期] 2019-09-01