

本文引用:李航,郭伟丽,安珍,等. 鱼油对PM<sub>2.5</sub>所致大鼠肺损伤的干预作用[J]. 新乡医学院学报,2017,34(1):4-9. DOI:10.7683/xyxyxb.2017.01.002.

【基础研究】

## 鱼油对PM<sub>2.5</sub>所致大鼠肺损伤的干预作用

李航<sup>1</sup>, 郭伟丽<sup>1</sup>, 安珍<sup>1</sup>, 刘影影<sup>1</sup>, 翟成凯<sup>2</sup>, 吴卫东<sup>1</sup>

(1. 新乡医学院公共卫生学院, 河南 新乡 453003; 2. 新乡市第一人民医院呼吸内科, 河南 新乡 453000)

**摘要:** **目的** 探索鱼油对PM<sub>2.5</sub>气管滴注所致肺损伤的干预作用。**方法** 采用醋酸纤维酯膜收集2015年11月至2015年12月新乡市的PM<sub>2.5</sub>样品,用生理盐水制成悬液备用。36只Wistar雄性大鼠按完全随机设计分为生理盐水对照组、PM<sub>2.5</sub>染毒组(6 mg·kg<sup>-1</sup>)、溶剂(玉米油)对照组、溶剂+PM<sub>2.5</sub>组、低剂量鱼油+PM<sub>2.5</sub>组和高剂量鱼油+PM<sub>2.5</sub>组,每组6只。生理盐水组和PM<sub>2.5</sub>染毒组大鼠正常饲养3周后,分别用生理盐水和PM<sub>2.5</sub>悬液气管滴注,隔日1次,共3次。溶剂对照组大鼠用玉米油灌胃3周,之后用生理盐水气管滴注。溶剂+PM<sub>2.5</sub>组、低剂量鱼油+PM<sub>2.5</sub>组和高剂量鱼油+PM<sub>2.5</sub>组大鼠分别用玉米油和鱼油灌胃3周,之后用PM<sub>2.5</sub>悬液气管滴注染毒,隔日1次,共3次。各组大鼠末次处理后24 h进行支气管肺泡灌洗,测定支气管肺泡灌洗液(BALF)上清中总蛋白(TP)、乳酸脱氢酶(LDH)、白细胞介素-1β(IL-1β)和肿瘤坏死因子-α(TNF-α)水平。未灌洗的右肺经甲醛固定后制作病理切片,观察肺组织的病理学变化。**结果** PM<sub>2.5</sub>染毒组大鼠肺组织病理切片显示大量炎性细胞浸润,肺泡壁增厚,肺间质增宽;低剂量鱼油+PM<sub>2.5</sub>组、高剂量鱼油+PM<sub>2.5</sub>组大鼠肺组织仅有轻微炎性细胞浸润。生理盐水对照组与溶剂对照组大鼠BALF中TP、LDH、IL-1β、TNF-α水平比较差异均无统计学意义( $P>0.05$ ),PM<sub>2.5</sub>染毒组和溶剂+PM<sub>2.5</sub>组大鼠BALF中TP、LDH、TNF-α、IL-1β水平增高( $P<0.05$ );与PM<sub>2.5</sub>染毒组比较,溶剂+PM<sub>2.5</sub>组大鼠BALF中TP、LDH水平降低( $P<0.05$ ),TNF-α、IL-1β水平比较差异无统计学意义( $P>0.05$ );与PM<sub>2.5</sub>染毒组比较,低剂量鱼油+PM<sub>2.5</sub>组、高剂量鱼油+PM<sub>2.5</sub>组大鼠BALF中TP、LDH、TNF-α、IL-1β水平降低( $P<0.05$ );与溶剂+PM<sub>2.5</sub>组比较,低剂量鱼油+PM<sub>2.5</sub>组、高剂量鱼油+PM<sub>2.5</sub>组大鼠BALF中TP、LDH、TNF-α、IL-1β水平均降低( $P<0.05$ );与高剂量鱼油+PM<sub>2.5</sub>组比较,低剂量鱼油+PM<sub>2.5</sub>组大鼠BALF中TP、TNF-α水平降低( $P<0.05$ ),LDH、IL-1β水平比较差异无统计学意义( $P>0.05$ )。**结论** PM<sub>2.5</sub>可导致大鼠呼吸道损伤,鱼油能减少炎性因子的释放,对PM<sub>2.5</sub>所致大鼠肺损伤具有明显的保护作用。

**关键词:** 鱼油;PM<sub>2.5</sub>;支气管肺泡灌洗液;肺损伤

**中图分类号:** R563 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-7239(2017)01-0004-06

### Effect of fish oil on lung injury induced by PM<sub>2.5</sub> in rats

LI Hang<sup>1</sup>, GUO Wei-li<sup>1</sup>, AN Zhen<sup>1</sup>, LIU Ying-ying<sup>1</sup>, ZHAI Cheng-kai<sup>2</sup>, WU Wei-dong<sup>1</sup>

(1. School of Public Health, Xinxiang Medical University, Xinxiang 453003, Henan Province, China; 2. Department of Respiratory Medicine, the First People's Hospital of Xinxiang City, Xinxiang 453000, Henan Province, China)

**Abstract:** **Objective** To evaluate the effect of fish oil on PM<sub>2.5</sub>-induced lung injury in rats. **Methods** PM<sub>2.5</sub> specimen was collected by acetate membranes in Xinxiang city from November 2015 to December 2015. The dried samples were diluted into suspension with sterilized physiological saline before use. Thirty-six Wistar male rats were randomly divided into saline control group, PM<sub>2.5</sub> exposure group (6 mg·kg<sup>-1</sup>), solvent (corn oil) control group, solvent plus PM<sub>2.5</sub> group, low dose of fish oil plus PM<sub>2.5</sub> group and high dose of fish oil plus PM<sub>2.5</sub> group, six rats in each group. The rats in saline control group and PM<sub>2.5</sub> exposure group were fed normally for three weeks, then the rats were treated with saline and PM<sub>2.5</sub> suspension by tracheal instillation once every other day for three times. The rats solvent control group were administrated with corn oil by intragastric administration for three weeks before intratracheal instillation of saline once every other day for three times. The rats in solvent plus PM<sub>2.5</sub> group, low dose of fish oil plus PM<sub>2.5</sub> group and high dose of fish oil plus PM<sub>2.5</sub> group were administrated with corn oil and fish oil by intragastric administration for three weeks before intratracheal instillation of PM<sub>2.5</sub> once every other day for three times. Twenty-four hours after the last instillation, the rats were sacrificed and performed with alveolar wash. The levels of total protein (TP), lactate dehydrogenase (LDH), interleukin-1β (IL-1β) and tumor necrosis factor-α (TNF-α) in lavage flu-

DOI:10.7683/xyxyxb.2017.01.002

收稿日期:2016-09-27

基金项目:国家自然科学基金资助面上项目(编号:81573112,81373030);河南省教育厅科技创新团队项目(编号:14IRTSTHN017)。

作者简介:李航(1991-),女,河南平顶山人,硕士研究生在读,研究方向:空气污染引起的肺损伤。

通信作者:吴卫东(1963-),男,河南商丘人,博士,教授,硕士研究生导师,研究方向:空气污染与健康;E-mail:wdwu2013@126.com。

id were determined by kit. The right lung without lavage was used to make pathological section by formalin fixation and the pathological changes of lung tissue were observed. **Results** The inflammatory cell infiltration, thickened alveolar walls and increased alveolar spaces were found by the lung biopsy of rats in PM<sub>2.5</sub> exposure group. There was a small amount of inflammatory cell infiltration in the lung tissues of rats in low dose of fish oil plus PM<sub>2.5</sub> group and high dose of fish oil plus PM<sub>2.5</sub> group. There was no significant difference in the levels of TP, LDH, IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$  in BALF between solvent control group and saline control group ( $P > 0.05$ ). The levels of TP, LDH, IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$  in BALF of rats in PM<sub>2.5</sub> exposure group and solvent plus PM<sub>2.5</sub> group were significantly higher than those in saline control group ( $P < 0.05$ ). The levels of TP and LDH in BALF of rats in solvent plus PM<sub>2.5</sub> group were significantly lower than those in PM<sub>2.5</sub> exposure group ( $P < 0.05$ ). There was no significant difference in the levels of IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$  in BALF between solvent plus PM<sub>2.5</sub> group and PM<sub>2.5</sub> exposure group ( $P > 0.05$ ). The levels of TP and LDH in BALF of rats in low dose of fish oil plus PM<sub>2.5</sub> group and high dose of fish oil plus PM<sub>2.5</sub> group were significantly lower than those in PM<sub>2.5</sub> exposure group ( $P < 0.05$ ). There was no significant difference in the levels of IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$  in BALF between low dose of fish oil plus PM<sub>2.5</sub> group or high dose of fish oil plus PM<sub>2.5</sub> group and PM<sub>2.5</sub> exposure group ( $P > 0.05$ ). The levels of TP, LDH, TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  in BALF of rats in low dose of fish oil plus PM<sub>2.5</sub> group and high dose of fish oil plus PM<sub>2.5</sub> group were significantly lower than those in solvent plus PM<sub>2.5</sub> group ( $P < 0.05$ ). The levels of TP and TNF- $\alpha$  in BALF of rats in low dose of fish oil plus PM<sub>2.5</sub> group were significantly lower than those in high dose of fish oil plus PM<sub>2.5</sub> group ( $P < 0.05$ ). There was no significant difference in the levels of LDH and IL-1 $\beta$  in BALF between low dose of fish oil plus PM<sub>2.5</sub> group and high dose of fish oil plus PM<sub>2.5</sub> group ( $P > 0.05$ ). **Conclusion** PM<sub>2.5</sub> exposure can damage the respiratory tract of rats. Fish oil has a protective effect on lung injury induced by PM<sub>2.5</sub> in rats through reducing the release of inflammatory factors.

**Key words:** fish oil; PM<sub>2.5</sub>; bronchoalveolar lavage fluid; lung injury

近年来,城市空气污染问题变得日益严峻,空气质量急剧恶化直接影响了人们的正常生活和工作,甚至威胁到居民健康。空气污染物包括气体和颗粒污染物(particulate matter, PM), PM 的致病性主要取决于它的粒径、成分、来源、溶解度以及其产生的活性氧<sup>[1]</sup>。雾霾天气在我国多数大中型城市频繁出现<sup>[2]</sup>。PM<sub>2.5</sub>是指空气动力学直径小于 2.5  $\mu\text{m}$  的颗粒物,也称细颗粒物,是雾霾的主要成分。PM<sub>2.5</sub>的粒径小且比表面积大,易携带多环芳烃、挥发性化学物质、机动车尾气等有毒有害物质,能够穿过鼻毛的滤过而经呼吸道进入人体肺组织深处,其中更细的成分还可通过肺泡进入循环系统<sup>[3]</sup>。PM<sub>2.5</sub>可对人体的呼吸系统和心血管系统造成损害,细颗粒物进入呼吸道后,可引起肺部的炎症反应,增加慢性阻塞性肺疾病的住院率和病死率以及老年人心血管疾病的病死率<sup>[4,5]</sup>。短期暴露于富含 PM<sub>2.5</sub>的环境中与呼吸系统疾病入院率有关,PM<sub>2.5</sub>每升高 10  $\mu\text{g} \cdot \text{m}^{-3}$ ,呼吸系统疾病的病死率就会升高 1.51%<sup>[6]</sup>。PM<sub>2.5</sub>损害健康的机制尚不明确,目前公认 PM<sub>2.5</sub>对健康的影响与其所致的氧化应激和炎症反应密切相关<sup>[7]</sup>。鱼油是  $\omega$ -3 脂肪酸的主要来源,其作为治疗炎症相关疾病的辅助物被广泛应用于临床。 $\omega$ -3 脂肪酸还具有抗心律失常的作用,增加  $\omega$ -3 脂肪酸的摄入可降低心血管事件的危险<sup>[8,9]</sup>,其抗炎和止痛功效主要依赖于二十碳五烯酸(eicosapentaenoic acid, EPA)和二十二碳六烯酸(docosahexaenoic acid,

DHA)<sup>[10-12]</sup>。临床研究中鱼油被用于治疗心血管疾 病和类风湿性关节炎,主要是因为鱼油中的有效成分,特别是 EPA 和 DHA 可通过调节细胞因子如肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、白细胞介素以及脂质介质来发挥抗炎作用<sup>[13]</sup>。鉴于 PM<sub>2.5</sub>损伤机体的重要途径是氧化应激和炎症损伤,本研究采用鱼油对 PM<sub>2.5</sub>所致肺损伤进行干预,以探索鱼油在改善呼吸道损伤和炎性反应中的效果和作用机制,为预防 PM<sub>2.5</sub>所致肺损伤提供依据。

## 1 材料与方法

**1.1 动物** 健康清洁级 Wistar 大鼠 36 只,体质量 180 ~ 220 g,由北京维通利华实验动物技术有限公司提供(动物合格证编号:11400700120417)。36 只大鼠随机分为生理盐水对照组、PM<sub>2.5</sub>染毒组(6.0  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )、溶剂(玉米油)对照组、溶剂 + PM<sub>2.5</sub>组、低剂量鱼油(150  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) + PM<sub>2.5</sub>组和高剂量鱼油(300  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) + PM<sub>2.5</sub>组,每组 6 只。饲养于 24 ~ 26  $^{\circ}\text{C}$ 、湿度 40% ~ 70% 的普通动物房。

**1.2 主要仪器与试剂** Tisch Environmental TE-6070 PM<sub>2.5</sub>大流量采样器(美国 Tisch 公司),Christ 真空冷冻干燥机(德国 Christ 公司),超声波清洗机(郑州生元仪器有限公司),Enspire 多标记微孔板检测仪(美国 PerkinElmer 公司),Leica EG 1150 石蜡包埋机、Leica RM2245 切片机、Leica Auto Stainer XI 全自动染色机(德国 Leica 公司),Motic AE2000 光

学显微镜(中国麦克奥迪实业有限公司),鱼油胶囊(澳大利亚 Swisse 公司,每颗胶囊含 EPA 360 mg 和 DHA 240 mg),玉米油(山东西王食品有限公司),二辛可宁酸(bicinchoninic acid,BCA)法蛋白检测试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司),乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase,LDH)测定试剂盒(南京建成生物工程研究所),白细胞介素-1 $\beta$ (intedeukin-1 $\beta$ ,IL-1 $\beta$ )酶联免疫检测试剂盒(武汉博士德生物工程有限公司)和 TNF- $\alpha$  酶联免疫检测试剂盒(武汉华美生物工程有限公司)。

**1.3 PM<sub>2.5</sub>悬液的制备** 2015年11月至2015年12月,在新乡医学院院系楼顶部,用美国 Tisch Environmental TE-6070 PM<sub>2.5</sub>大流量采样器采集 PM<sub>2.5</sub>,采集地点周围无建筑物遮挡,为非工业区。采用玻璃纤维滤膜收集 PM<sub>2.5</sub>,采样完成后用锡箔纸包裹滤膜避免污染,放入 4℃ 冰箱保存。待使用时将玻璃纤维膜裁剪成 2 cm×3 cm 的方片浸入超纯水,超声震荡 20 min,共 3 次,纱布过滤后收集洗脱液,洗脱液真空冷冻干燥后放入 -20℃ 冰箱保存,使用时用无菌生理盐水配成相应浓度的 PM<sub>2.5</sub>悬液。

**1.4 动物处理** 生理盐水对照组和 PM<sub>2.5</sub>染毒组大鼠正常饲养 3 周后,分别气管滴注生理盐水和 PM<sub>2.5</sub>悬液(6 mg·kg<sup>-1</sup>),隔日 1 次,共 3 次。溶剂对照组和溶剂 + PM<sub>2.5</sub>组大鼠给予玉米油灌胃 3 周,之后气管滴注生理盐水和 PM<sub>2.5</sub>悬液,隔日 1 次,共 3 次。低剂量鱼油(150 mg·kg<sup>-1</sup>) + PM<sub>2.5</sub>组和高剂量鱼油(300 mg·kg<sup>-1</sup>) + PM<sub>2.5</sub>组大鼠先进行 3 周鱼油(玉米油作为鱼油的溶剂)灌胃,鱼油灌胃剂量分别为 150、300 mg·kg<sup>-1</sup>;然后进行气管滴注细颗粒物悬液,隔日 1 次,共 3 次,滴注量为 6 mg·kg<sup>-1</sup>,除生理盐水对照组和 PM<sub>2.5</sub>染毒组外,其余组大鼠气管滴注期间仍给予灌胃,共灌胃 28 d。末次气管滴注 24 h 后,大鼠腹腔注射 100 g·L<sup>-1</sup>水合氯醛麻醉,暴露胸腔,结扎右侧肺叶,生理盐水缓慢灌入左肺内,每次 5 mL,共灌洗 2 次。收集支气管肺泡灌洗液(bronchoalveolar lavage fluid,BALF),4℃ 下 1 500 r·min<sup>-1</sup>离心 20 min,取上清液进行生物化学分析。

**1.5 大鼠 BALF 中呼吸道损伤指标和炎症反应指标检测** 打开大鼠胸腔后结扎右肺,灌洗左肺,收集 BALF,检测呼吸道损伤指标总蛋白(total protein,TP)、LDH 以及炎症反应指标 IL-1 $\beta$  和 TNF- $\alpha$ 。测定 TP 时,将 25  $\mu$ L 的 BALF 加入 96 孔板,每孔加入 TP 试剂盒中的工作液 200  $\mu$ L,37℃ 孵育 30 min,用酶标仪在 540~590 nm 测定每个样品的吸光度值,计算出每个样品的蛋白水平。其原理是在碱性环境下蛋白分子中的肽链结构与 Cu<sup>2+</sup> 络合生成络合物,

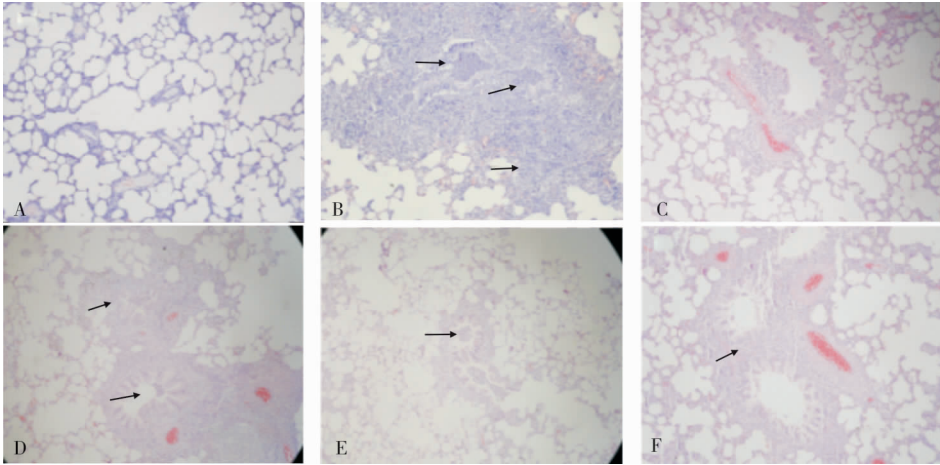
同时将 Cu<sup>2+</sup> 还原成 Cu<sup>+</sup>。BCA 试剂可敏感地与 Cu<sup>+</sup> 结合,形成稳定的有颜色的复合物,在 562 nm 处有高的吸光度值,颜色的深浅与蛋白质水平成正比。测定 LDH 时,将 20  $\mu$ L 的 BALF 加入 96 孔板,之后依次加入辅酶 I、2,4-二硝基苯肼和 0.4 mol·L<sup>-1</sup> 的 NaOH 溶液,用酶标仪在 450 nm 测定每个样品的吸光度值,计算出每个样品的 LDH 水平。使用 IL-1 $\beta$  和 TNF- $\alpha$  酶联免疫检测试剂盒检测 BALF 中 IL-1 $\beta$  和 TNF- $\alpha$ ,根据每个样品在酶标仪 450 nm 波长处的吸光度值,计算每个样品的 IL-1 $\beta$  和 TNF- $\alpha$  的水平。

**1.6 大鼠肺组织病理切片的制作与观察** 取各组大鼠右肺未灌洗肺组织,用甲醛固定 24 h 后,清洗组织块,进行乙醇梯度脱水,二甲苯透明,石蜡包埋切片,进行苏木精-伊红(hematoxylin and eosin,HE)染色,封片后光学显微镜下观察肺组织的病理学改变。

**1.7 统计学处理** 应用 SPSS 19.0 软件进行统计学分析,计量资料以均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,采用 Levene 检验进行方差齐性检验,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD 检验;检验水准  $\alpha = 0.05$ 。

## 2 结果

**2.1 各组大鼠肺组织形态学变化** HE 染色观察显示,生理盐水对照组大鼠肺组织中肺泡壁完整,肺泡分布均匀,肺间质未增宽,支气管结构正常,管腔内未见炎性细胞浸润(图 1A)。PM<sub>2.5</sub>染毒组大鼠肺组织中肺泡壁发生断裂,细支气管腔内有大量炎性细胞聚集,形成脓肿,被覆假复层纤毛柱状上皮不同程度变性,支气管周围肺间质内大量炎性细胞浸润,肺泡壁毛细血管扩张呈弥漫性出血,肺间质明显增宽(图 1B)。溶剂对照组大鼠肺组织中肺泡壁完整,肺泡分布均匀,肺间质未增宽,支气管结构正常,管腔内无炎性细胞浸润,但肺泡壁毛细血管轻度扩张出血(图 1C)。溶剂 + PM<sub>2.5</sub>组大鼠肺组织细支气管腔内、外均有炎性细胞浸润,肺泡壁毛细血管扩张明显,肺间质内毛细血管有明显的充血现象,肺间质增宽(图 1D)。低剂量鱼油 + PM<sub>2.5</sub>组大鼠肺组织肺泡结构完整,细支气管腔内外均有少量中性粒细胞浸润,炎性细胞聚集程度低于 PM<sub>2.5</sub>染毒组,血管轻微扩张充血,肺间质轻微增宽(图 1E)。高剂量鱼油 + PM<sub>2.5</sub>组大鼠肺泡结构基本正常,肺组织支气管腔内外存在炎性细胞聚集,白细胞的聚集程度低于 PM<sub>2.5</sub>染毒组和溶剂 + PM<sub>2.5</sub>组大鼠,肺间质轻度增宽,肺泡壁毛细血管扩张出血严重(图 1F)。



A:生理盐水对照组;B:PM<sub>2.5</sub>染毒组;C:溶剂对照组;D:溶剂 + PM<sub>2.5</sub>组;E:低剂量鱼油 + PM<sub>2.5</sub>组;F:高剂量鱼油 + PM<sub>2.5</sub>组;箭头处为支气管腔内和肺间质内炎性细胞聚集。

图 1 不同处理组大鼠肺组织病理变化( HE 染色, ×100)

Fig.1 Pathological changes in lung tissues of rats in different treatment groups( HE staining, ×100)

**2.2 各组大鼠 BALF 中 TP 和 LDH 水平比较** 结果见表 1。生理盐水对照组与溶剂对照组大鼠 BALF 中 TP、LDH 水平比较差异无统计学意义( $P < 0.05$ );与生理盐水对照组比较,PM<sub>2.5</sub>染毒组和溶剂 + PM<sub>2.5</sub>组大鼠 BALF 中 TP、LDH 水平增高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );与 PM<sub>2.5</sub>染毒组比较,溶剂 + PM<sub>2.5</sub>组、低剂量鱼油 + PM<sub>2.5</sub>组、高剂量鱼油 + PM<sub>2.5</sub>组大鼠 BALF 中 TP、LDH 水平降低,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );与溶剂 + PM<sub>2.5</sub>组比较,低剂量鱼油 + PM<sub>2.5</sub>组、高剂量鱼油 + PM<sub>2.5</sub>组大鼠 BALF 中 TP、LDH 水平均降低,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );与高剂量鱼油 + PM<sub>2.5</sub>组比较,低剂量鱼油 + PM<sub>2.5</sub>组大鼠 BALF 中 TP 水平降低( $P < 0.05$ ),LDH 水平差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

表 1 各组大鼠 BALF 中 TP 和 LDH 水平比较  
Tab.1 Comparison of the levels of TP and LDH in BALF of rats in the groups ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	<i>n</i>	TP/(mg · L <sup>-1</sup> )	LDH/(U · L <sup>-1</sup> )
生理盐水对照组	6	29.11 ± 7.88	11.87 ± 3.84
溶剂对照组	6	33.10 ± 7.07	18.72 ± 7.16
PM <sub>2.5</sub> 染毒组	6	151.43 ± 13.09 <sup>a</sup>	55.97 ± 6.77 <sup>a</sup>
溶剂 + PM <sub>2.5</sub> 组	6	86.17 ± 13.77 <sup>ab</sup>	30.69 ± 9.45 <sup>ab</sup>
低剂量鱼油 + PM <sub>2.5</sub> 组	6	33.23 ± 12.31 <sup>bc</sup>	12.85 ± 7.64 <sup>bc</sup>
高剂量鱼油 + PM <sub>2.5</sub> 组	6	70.64 ± 14.76 <sup>bcd</sup>	21.06 ± 8.04 <sup>bc</sup>

注:与生理盐水对照组比较<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与 PM<sub>2.5</sub>染毒组比较<sup>b</sup> $P < 0.05$ ;与溶剂 + PM<sub>2.5</sub>组比较<sup>c</sup> $P < 0.05$ ;与低剂量鱼油 + PM<sub>2.5</sub>组比较<sup>d</sup> $P < 0.05$ 。

**2.3 各组大鼠 BALF 中 IL-1β 和 TNF-α 水平比较** 结果见表 2。生理盐水对照组与溶剂对照组大鼠 BALF 中 IL-1β、TNF-α 水平比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ );与生理盐水对照组比较,PM<sub>2.5</sub>染毒组和溶剂 + PM<sub>2.5</sub>组大鼠 BALF 中 TNF-α、IL-1β 水平增高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );PM<sub>2.5</sub>染毒组与溶剂 +

PM<sub>2.5</sub>组大鼠 BALF 中 TNF-α、IL-1β 水平比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ );与 PM<sub>2.5</sub>染毒组比较,低剂量鱼油 + PM<sub>2.5</sub>组、高剂量鱼油 + PM<sub>2.5</sub>组大鼠 BALF 中 TNF-α、IL-1β 水平降低,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );与溶剂 + PM<sub>2.5</sub>组比较,低剂量鱼油 + PM<sub>2.5</sub>组、高剂量鱼油 + PM<sub>2.5</sub>组大鼠 BALF 中 TNF-α、IL-1β 水平均降低,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );与高剂量鱼油 + PM<sub>2.5</sub>组比较,低剂量鱼油 + PM<sub>2.5</sub>组大鼠 BALF 中 TNF-α 水平降低( $P < 0.05$ ),IL-1β 水平差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

表 2 各组大鼠 BALF 中 IL-1β 和 TNF-α 水平比较  
Tab.2 Comparison of the levels of IL-1β and TNF-α in BALF of rats in the groups ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	<i>n</i>	TNF-α/(ng · L <sup>-1</sup> )	IL-1β/(ng · L <sup>-1</sup> )
生理盐水对照组	6	5.96 ± 1.72	2.71 ± 1.50
溶剂对照组	6	9.11 ± 1.71	11.64 ± 6.14
PM <sub>2.5</sub> 染毒组	6	18.66 ± 1.09 <sup>a</sup>	50.81 ± 11.63 <sup>a</sup>
溶剂 + PM <sub>2.5</sub> 组	6	21.84 ± 2.55 <sup>a</sup>	41.76 ± 12.84 <sup>a</sup>
低剂量鱼油 + PM <sub>2.5</sub> 组	6	11.62 ± 4.63 <sup>bc</sup>	13.65 ± 7.10 <sup>bc</sup>
高剂量鱼油 + PM <sub>2.5</sub> 组	6	14.94 ± 3.02 <sup>bcd</sup>	21.76 ± 8.99 <sup>bc</sup>

注:与生理盐水对照组比较<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与 PM<sub>2.5</sub>染毒组比较<sup>b</sup> $P < 0.05$ ;与溶剂 + PM<sub>2.5</sub>组比较<sup>c</sup> $P < 0.05$ ;与低剂量鱼油 + PM<sub>2.5</sub>组比较<sup>d</sup> $P < 0.05$ 。

### 3 讨论

近年来,大气污染物影响公众健康,特别是大气颗粒物对心、肺疾病发生率和病死率均有明显的影响<sup>[14-15]</sup>。肺组织是人体进行气血交换的器官,是机体防御的初级屏障。机体通过免疫细胞活化、吞噬细胞功能增强以及各种细胞因子的相互调节,使肺组织调动各种手段清除颗粒物,同时达到修复组织损伤的目的。流行病学和毒理学研究表明,PM<sub>2.5</sub>通过呼吸道进入大鼠肺部以后可引起大鼠气管纤毛

的摆动功能减弱甚至丧失,导致异物排除功能障碍<sup>[16]</sup>。PM<sub>2.5</sub>进入呼吸道后,首先引起肺部的炎症反应。目前认为,PM<sub>2.5</sub>引起呼吸系统损伤的机制主要包括以下4个方面:(1)自由基过氧化损伤学说。PM<sub>2.5</sub>可导致机体活性氧自由基产生增加<sup>[17]</sup>。(2)转录因子及炎性相关因子激活学说。流行病学统计表明,PM<sub>2.5</sub>与炎性因子调节有关,PM<sub>2.5</sub>暴露可刺激机体使炎性因子释放增多,从而造成炎性损伤<sup>[18]</sup>。(3)细胞钙稳态失调学说。钙离子是细胞生理和病理调控与介导中重要的第二信使,钙离子浓度异常增高可激活产生一系列瀑布式炎症反应,导致炎症发生与细胞损伤<sup>[19]</sup>。(4)巨噬细胞损伤学说。PM<sub>2.5</sub>暴露可降低巨噬细胞的吞噬功能。

蛋白是反映肺部血管通透性的指标,BALF中的蛋白主要来自于血浆渗出,TP可反映肺泡上皮-毛细血管屏障损伤,是肺泡气血屏障完整性的指标。LDH是一种细胞质酶,细胞受损伤致细胞膜通透性增加或细胞死亡时均可释放到细胞外,是反映毒物毒性的早期灵敏指标,也是细胞受损的一个重要指标。炎性因子如IL-1 $\beta$ 和TNF- $\alpha$ 在局部和系统炎症反应中发挥至关重要的作用。IL-1 $\beta$ 是一种急性反应的细胞因子,可诱导多种细胞产生细胞因子,还可激活B淋巴细胞和T淋巴细胞。IL-1 $\beta$ 和TNF- $\alpha$ 还可直接引起炎症性肺损伤,并诱导炎症级联反应,使损伤加重和扩大。本研究结果显示,PM<sub>2.5</sub>染毒组大鼠BALF中的TP和LDH水平较生理盐水对照组明显升高,表明PM<sub>2.5</sub>会对大鼠呼吸道造成损伤;而PM<sub>2.5</sub>染毒组大鼠BALF中的IL-1 $\beta$ 和TNF- $\alpha$ 水平较生理盐水对照组明显升高,提示PM<sub>2.5</sub>由气管进入大鼠肺部后,对大鼠气道产生炎性刺激作用,释放炎性介质和趋化因子;溶剂对照组大鼠BALF中TP、LDH、IL-1 $\beta$ 和TNF- $\alpha$ 水平与生理盐水组比较差异无统计学意义,表明溶剂(玉米油)对正常大鼠没有影响。由大鼠肺部HE染色病理切片可知,PM<sub>2.5</sub>可对大鼠肺部造成严重损伤,导致肺泡壁断裂,间质增宽,支气管内炎性细胞聚集,血管增生、充血,肺组织的正常结构遭到一定程度破坏。以上结果显示,PM<sub>2.5</sub>暴露能引起肺组织损伤和炎症。

鱼油具有抗心律失常、止痛、抗炎等作用,作为一种抗炎药物也被广泛应用于临床<sup>[20]</sup>,其抗炎机制可能包括:鱼油可分解花生酸,减少促炎性的前列腺素和白细胞三烯生成;鱼油中的EPA和DHA可通过酶促反应生成抗炎症的脂质介质,如消散素和保护素;抑制核因子- $\kappa$ B(nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B)活化,下调炎症反应的强度<sup>[21]</sup>。一项双盲研究显示,鱼油可升高长期暴露于PM<sub>2.5</sub>环境中的志愿者血清

中的Cu/Zn超氧化物歧化酶和谷胱甘肽水平,降低血清过氧化脂质水平,对PM<sub>2.5</sub>造成的一系列健康损伤有干预作用<sup>[22]</sup>。

本研究结果显示,溶剂+PM<sub>2.5</sub>组大鼠肺组织细支气管腔内外炎性细胞浸润,肺泡壁毛细血管扩张明显,肺间质内毛细血管有明显的充血现象,肺间质增宽;低剂量鱼油+PM<sub>2.5</sub>组大鼠肺组织肺泡结构完整,细支气管腔内外均有少量中性粒细胞浸润,炎性细胞的聚集程度低于PM<sub>2.5</sub>染毒组和溶剂+PM<sub>2.5</sub>组,血管轻微扩张充血,肺间质轻微增宽;高剂量鱼油+PM<sub>2.5</sub>组大鼠肺泡结构基本正常,肺组织支气管腔内外存在炎性细胞聚集,白细胞的聚集程度低于PM<sub>2.5</sub>染毒组,肺间质轻度增宽,肺泡壁毛细血管扩张出血严重。溶剂+PM<sub>2.5</sub>组大鼠BALF中TP、LDH水平均显著低于PM<sub>2.5</sub>染毒组,但溶剂+PM<sub>2.5</sub>组大鼠BALF中TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 水平与PM<sub>2.5</sub>染毒组比较差异无统计学意义,低剂量鱼油+PM<sub>2.5</sub>组、高剂量鱼油+PM<sub>2.5</sub>组大鼠BALF中TP、LDH、IL-1 $\beta$ 和TNF- $\alpha$ 水平均明显低于PM<sub>2.5</sub>染毒组,以上结果提示,玉米油和鱼油对PM<sub>2.5</sub>造成的呼吸道以及细胞损伤均有保护作用,鱼油对PM<sub>2.5</sub>引起的肺部炎症有干预作用;而低剂量鱼油+PM<sub>2.5</sub>组、高剂量鱼油+PM<sub>2.5</sub>组大鼠BALF中TP、LDH、IL-1 $\beta$ 和TNF- $\alpha$ 水平明显低于溶剂+PM<sub>2.5</sub>组,提示鱼油对呼吸道和细胞损伤的保护作用以及对肺部炎症的干预作用均优于玉米油。与高剂量鱼油+PM<sub>2.5</sub>组比较,低剂量鱼油+PM<sub>2.5</sub>组大鼠BALF中的TP和TNF- $\alpha$ 水平均降低,而低剂量鱼油+PM<sub>2.5</sub>组与高剂量鱼油+PM<sub>2.5</sub>组LDH和IL-1 $\beta$ 水平比较差异无统计学意义,表明低剂量鱼油比高剂量鱼油对PM<sub>2.5</sub>所致的大鼠肺损伤保护效果更好,其原因有待进一步研究。

综上所述,PM<sub>2.5</sub>可导致大鼠肺损伤,鱼油能减少炎性因子的释放,对PM<sub>2.5</sub>所致大鼠肺损伤具有明显的保护作用。

## 参考文献:

- [1] XING Y F, XU Y H, SHI M H, *et al.* The impact of PM<sub>2.5</sub> on the human respiratory system [J]. *J Thorac Dis*, 2016, 8 (1): E69-E74.
- [2] MA M, LI S, JIN H, *et al.* Characteristics and oxidative stress on rats and traffic policemen of ambient fine particulate matter from Shenyang [J]. *Sci Total Environ*, 2015, 526: 110-115.
- [3] LOXHAM M. Harmful effects of particulate air pollution: identifying the culprits [J]. *Respirology*, 2015, 20 (1): 7-8.
- [4] AGA E, SAMOLI E, TOULOUMI G, *et al.* Short-term effects of ambient particles on mortality in the elderly: results from 28 cities in the APHEA2 project [J]. *Eur Respir J*, 2003, 40: 28s-33s.
- [5] TSAI S S, CHANG C C, YANG C Y. Fine particulate air pollution

and hospital admissions for chronic obstructive pulmonary disease; a case-crossover study in Taipei [J]. *Int J Environ Res Public Health*,2013,10(11):6015-6026.

[6] ATKINSON R W,KANG S,ANDERSON H R,*et al.* Epidemiological time series studies of PM<sub>2.5</sub> and daily mortality and hospital admissions;a systematic review and meta-analysis[J]. *Thorax*,2014,69(7):660-665.

[7] CHO A K,SIOUTAS C,MIGUEL A H,*et al.* Redox activity of airborne particulate matter at different sites in the Los Angeles Basin [J]. *Environ Res*,2005,99(1):40-47.

[8] HOLGUIN F,TÉLLEZ-ROJO M M,LAZO M,*et al.* Cardiac autonomic changes associated with fish oil *vs* soy oil supplementation in the elderly[J]. *Chest*,2005,127(4):1102-1107.

[9] GISSI PREVENZIONE INVESTIGATORS. Dietary supplementation with n-3 polyunsaturated fatty acids and vitamin E after myocardial infarction;results of the GISSI-Prevenzione trial[J]. *Lancet*,1999,354(9177):447-455.

[10] CALDER P C. Fatty acids and inflammation;the cutting edge between food and pharma [J]. *Eur J Pharmacol*,2011,668 ( Suppl 1 ):S50-S58.

[11] NOBRE M E,CORREIA A O,BORGES MDE B,*et al.* Eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid exert anti-inflammatory and antinociceptive effects in rodents at low doses [J]. *Nutr Res*,2013,33(5):422-433.

[12] SERHAN C N,PETASIS N A. Resolvins and protectins in inflammation resolution[J]. *Chem Rev*,2011,111(10):5922-5943.

[13] CALDER P C. The 2008 ESPEN Sir David Cuthbertson Lecture; fatty acids and inflammation – from the membrane to the nucleus and from the laboratory bench to the clinic[J]. *Clin Nutr*,2010,29(1):5-12.

[14] 曹胜男,杨中智. 大气颗粒物源解析技术研究进展[J]. 新乡医学院学报,2016,33 (11): 1007-1010.

[15] 梁芳芳,雷建存,王云云,等. PM<sub>2.5</sub> 浓度与儿童哮喘急性发作相关性的 Meta 分析[J]. 中华实用儿科临床杂志,2016,31(9):687-691.

[16] 肖纯凌,李舒音,尚德志,等. PM<sub>2.5</sub> 大气污染物致大鼠呼吸系统病理学变化[J]. 中国公共卫生,2011,27(12):1579-1581.

[17] MORROW P E. Possible mechanisms to explain dust overloading of the lungs[J]. *Fundam Appl Toxicol*,1988,10(3):369-384.

[18] 滕博,王贺彬,汪雅芳,等. 细颗粒物(PM<sub>2.5</sub>)与呼吸系统疾病的关系及机制[J]. 中国实验诊断学,2014,18(2):334-338.

[19] 邱勇,张志红. 大气细颗粒物免疫毒性研究进展[J]. 环境与健康杂志,2011,28(12):1117-1120.

[20] YOUNG K. Omega-6 (n-6) and omega-3 (n-3) fatty acids in tilapia and human health;a review[J]. *Int J Food Sci Nutr*,2009,60( Suppl 5 ):203-211.

[21] LOBO B W P,LIMA C K F,TEIXEIRA M S,*et al.* Fish oil attenuates persistent inflammatory pain in rats through modulation of TNF- $\alpha$  and resolvins[J]. *Life Sci*,2016,152:30-37.

[22] ROMIEU I,GARCIA-ESTEBAN R,SUNYER J,*et al.* The effect of supplementation with omega-3 polyunsaturated fatty acids on markers of oxidative stress in elderly exposed to PM<sub>2.5</sub> [J]. *Environ Health Perspect*,2008,116(9):1237-1242.

( 本文编辑:李胜利 英文编辑:徐自超 )

( 上接第 3 页 )

[31] KYEI G B,DINKINS C,DAVIS A S,*et al.* Autophagy pathway intersects with HIV-1 biosynthesis and regulates viral yields in macrophages[J]. *J Cell Biol*,2009,186(2):255-268.

[32] CAMPBELL G R,SPECTOR S A. Vitamin D inhibits human immunodeficiency virus type 1 and *Mycobacterium tuberculosis* infection in macrophages through the induction of autophagy[J]. *PLoS Pathog*,2012,8(5):e1002689.

[33] ZHOU D,SPECTOR S A. Human immunodeficiency virus type-1 infection inhibits autophagy[J]. *AIDS*,2008,22(6):695-699.

[34] BOREL S,ESPERT L,BIARD-PIECHACZYK M. Macroautophagy regulation during HIV-1 infection of CD4<sup>+</sup> T cells and macrophages[J]. *Front Immunol*,2012,3(1):97.

[35] WANG X,GAO Y,TAN J,*et al.* HIV-1 and HIV-2 infections induce autophagy in Jurkat and CD4<sup>+</sup> T cells [J]. *Cell Signal*,2012,24(7):1414-1419.

[36] ISHITSUKA K,TAMURA K. Human T-cell leukaemia virus type 1 and adult T-cell leukaemia-lymphoma[J]. *Lancet Oncol*,2014,15(11):e517-e526.

[37] DU J,CHEN C,GAO J,*et al.* History and update of HTLV infection in China[J]. *Virus Res*,2014,191(1):134-137.

[38] TANG S W,CHEN C Y,KLASE Z,*et al.* The cellular autophagy pathway modulates human T-cell leukemia virus type 1 replication [J]. *J Virol*,2013,87(3):1699-1707.

[39] HUANG J,REN T,GUAN H,*et al.* HTLV-1 Tax is a critical lipid raft modulator that hijacks I $\kappa$ B kinases to the microdomains for persistent activation of NF- $\kappa$ B[J]. *J Biol Chem*,2009,284(10):6208-6217.

[40] SAITO K,SAITO M,TANIURA N,*et al.* Activation of the PI3K-Akt pathway by human T-cell leukemia virus type 1 (HTLV-1) oncoprotein Tax increases Bcl-3 expression, which is associated with enhanced growth of HTLV-1-infected T cells[J]. *Virology*,2010,403(2):173-180.

[41] CHENG H,REN T,SUN S C. New insight into the oncogenic mechanism of the retroviral oncoprotein Tax [J]. *Protein Cell*,2012,3(8):581-589.

( 本文编辑:徐自超 )