

DOI: 10.7524/AJE.1673-5897.20171220001

閻静, 赵云, 黄佳伟, 等. PM_{2.5}和甲醛联合暴露致小鼠肺损伤及其分子机制的研究[J]. 生态毒理学报, 2018, 13(3): 87-93

Ge J, Zhao Y, Huang J W, et al. Study on the lung damage in mice induced by a combined exposure of PM_{2.5} and formaldehyde and its molecular mechanism [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2018, 13(3): 87-93 (in Chinese)

PM_{2.5}和甲醛联合暴露致小鼠肺损伤及其分子机制的研究

閻静, 赵云, 黄佳伟, 张萍, 潘雯, 尤安琪, 黄希, 杨旭, 李睿*

华中师范大学生命科学学院, 武汉 430079

收稿日期: 2017-12-20 录用日期: 2018-03-02

摘要: 我国城市当前普遍存在室外大气 PM_{2.5}与室内甲醛(FA)联合污染状况,二者均被报道在单独暴露下可以导致肺损伤并诱导和诱发哮喘的急性发作,但其联合污染的具体效应,以及分子机制目前尚不清楚。为探究 PM_{2.5}和/或甲醛暴露对小鼠的肺损伤及其可能的机制,分别将雄性 Balb/c 小鼠分为以下 6 组:对照组, AZD8055 组, PM_{2.5}组, FA 组, PM_{2.5}+FA 组, PM_{2.5}+FA+AZD8055 组。染毒结束后,观察肺组织病理学变化;检测肺组织氧化损伤,活性氧(reactive oxygen species, ROS),还原型谷胱甘肽(glutathione, GSH)和丙二醛(malondialdehyde, MDA)的含量, DNA 损伤, DNA-蛋白质交联(DNA-protein crosslink, DPC)系数和 8-羟基脱氧鸟苷(8-OH-dG)的含量,以及细胞凋亡、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3(Caspase-3)的含量。结果表明,当吸入气态甲醛浓度为 3 mg·m⁻³,气道滴注 PM_{2.5}浓度为 2.5 mg·mL⁻¹时,肺组织出现不同程度的支气管重塑和炎症细胞浸润。ROS 显著上升, GSH 显著下降, DPC、8-OH-dG 以及 Caspase-3 都显著上升。添加 AZD8055 后,肺组织损伤效应更加显著。PM_{2.5}复合甲醛的暴露导致小鼠肺损伤具有协同作用,氧化应激及其下游的 DNA 损伤可能是甲醛联合 PM_{2.5}致小鼠肺损伤的一种重要机制。

关键词: PM_{2.5}; 甲醛; 复合暴露; 肺组织损伤; 分子机制

文章编号: 1673-5897(2018)3-087-07 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

Study on the Lung Damage in Mice Induced by a Combined Exposure of PM_{2.5} and Formaldehyde and its Molecular Mechanism

Ge Jing, Zhao Yun, Huang Jiawei, Zhang Ping, Pan Wen, You Anqi, Huang Xi, Yang Xu, Li Rui *

School of Life Sciences, Central China Normal University, Wuhan 430079, China

Received 20 December 2017 accepted 2 March 2018

Abstract: Currently, the combined pollution of PM_{2.5} and indoor formaldehyde (FA) has become a common issue in main cities of China. The two pollutants have both been reported to induce the lung damage and worsen allergic asthma, while there is no knowledge that whether their combined exposure has synergistically toxicological effects and its molecular mechanisms remain unknown. In order to explore the influence and the underlying mechanisms of FA and PM_{2.5} on lung damage, male Balb/c mice were randomly divided into six groups: Control group, AZD8055 group, PM_{2.5} group, FA group, PM_{2.5}+FA group, PM_{2.5}+FA+AZD8055 group. After the end of treatment, histopathological changes of lung tissue were observed, furtherly the oxidative damage (ROS, GSH, MDA), DNA

基金项目: 科技部十三五国家重点研发计划(No. 2017YFC0702700); 国家自然科学基金面上项目(No. 21577045)

作者简介: 閻静(1992-), 女, 硕士研究生, 研究方向为环境生物医学, E-mail: gejing@mails.ccnuc.edu.cn

* 通讯作者(Corresponding author), E-mail: ruili@mail.ccnuc.edu.cn

damage (DPC, 8-OH-dG) and apoptosis (Caspase-3) in lung tissue were detected. The results showed that compared with control group, different degrees of pathological changes in the lung tissue when exposed to $3 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-3}$ formaldehyde and $2.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ $\text{PM}_{2.5}$. The level of ROS were significantly increased, GSH content were significantly decreased, and the levels of DPC, 8-OH-dG and caspase-3 were also significantly increased. These adverse effects were more potent with the concurrent administration of AZD8055. In short, co-exposure to FA and $\text{PM}_{2.5}$ has synergistic effects on lung damage and oxidative stress along with its downstream DNA damage may be one of important mechanisms accounting for the lung injury in mice caused by combined exposure.

Keywords: $\text{PM}_{2.5}$; formaldehyde; combined exposure; lung damage; molecular mechanism

2016年,世界卫生组织发布报告指出,世界上92%的人口生活在空气质量水平超过世界卫生组织限值的地区^[1]。在我国,当前最为关注的城市室外和室内空气污染物分别是 $\text{PM}_{2.5}$ 和甲醛^[2-3]。

大气 $\text{PM}_{2.5}$,指空气动力学等效直径 $\leq 2.5 \mu\text{m}$ 的细颗粒物,是我国近年来对人体健康影响最大的空气污染物。吸附了不同污染物的 $\text{PM}_{2.5}$ 被吸入到肺组织后,可通过微血管扩散到血液中,引起肺癌、呼吸道疾病、心血管疾病^[4-5],以及免疫系统和造血系统疾病等健康问题^[6-7]。谢元博等^[8]发现, $\text{PM}_{2.5}$ 每增加 $10 \mu\text{g} \cdot \text{m}^{-3}$,北京市健康居民哮喘发病率增加2.10%。另外,2016年《环境卫生展望》(*Environmental Health Perspectives, EHP*)杂志上的一文指出, $\text{PM}_{2.5}$ 浓度增加量即使低至 $4.00 \sim 7.06 \mu\text{g} \cdot \text{m}^{-3}$,都与健康人群哮喘的患病率上升相关^[9]。上述研究表明,室外大气 $\text{PM}_{2.5}$ 与哮喘发病率相关,其暴露可引起肺组织损伤。

甲醛作为一种重要的化工原料,广泛应用于建筑、木材加工、家具、纺织品等产业。它对人体健康的负面影响涉及多个组织器官,主要表现为眼部和呼吸道的刺激作用,呼吸道紊乱、哮喘或类似哮喘的病症,长期接触甲醛还可导致鼻腔、鼻咽、消化道和皮肤的癌变,以及白血病等造血系统恶性肿瘤^[10]。岳伟等^[11]在甲醛暴露和成人哮喘关系的病例对照研究中指出,甲醛浓度超过 $0.12 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-3}$ 后,室内甲醛每升高 $10 \mu\text{g} \cdot \text{m}^{-3}$,健康成人哮喘危险性提高0.2倍。澳大利亚 Rumchev 等^[12]研究发现,甲醛暴露水平达到或超过 $0.60 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-3}$ 时,健康儿童发生哮喘的危险度就会增加。上述2项研究表明,甲醛暴露可以诱导健康成人和儿童发生哮喘,且儿童的对甲醛的敏感性更高。

目前,无论流行病学或是实验研究,都主要关注室外大气 $\text{PM}_{2.5}$ 和甲醛的单独暴露效应,二者联合暴露效应在环境学界的研究迄今为止鲜有报道。2016

年中国环境状况公报数据显示,2016年80%城市 $\text{PM}_{2.5}$ 浓度超过我国环保部的安全标准 $35 \mu\text{g} \cdot \text{m}^{-3}$ ^[3]。此外,目前我国城市室内甲醛超标居室比例高达70%^[13]。基于 $\text{PM}_{2.5}$ 和甲醛超标污染的客观情况,二者复合暴露更接近于我国城市居民的真实生活环境。因此,研究二者联合暴露的健康效应非常必要。本项研究中,通过肺组织病理学观察、氧化应激、DNA损伤及细胞凋亡等生物学指标的检测,从而探讨 $\text{PM}_{2.5}$ 和甲醛单一及复合暴露诱导产生小鼠肺损伤的可能机制。

1 材料与方法 (Materials and methods)

1.1 实验动物

SPF级6周龄雄性 Balb/c 小鼠(约22 g)购自湖北省疾病预防控制中心。购买回来后在动物饲养室继续饲养1周,待其适应新环境后再进行实验。动物饲养室的环境条件为:温度 $20 \sim 25 \text{ }^\circ\text{C}$,相对湿度 $50\% \sim 70\%$,光暗循环周期为 12 h:12 h。

1.2 主要试剂与仪器

福尔马林(10%, Sigma公司), $\text{PM}_{2.5}$ 染毒液(采集于华中师范大学), AZD8055 (Abmole Bioscience公司), GSH试剂盒(南京建成生物工程研究所),小鼠 8-OH-dG ELISA试剂盒(Blue Gene),小鼠 Caspase-3 ELISA试剂盒(Blue Gene),蛋白酶 K (Merck), Hoechst 33258 荧光染料(Sigma公司),小型智能环境气候仓(WH-2),气态甲醛浓度测定仪(4160-2),全波长/荧光酶标仪(Bio-tek),全波长酶标仪(DNM-9602)。

1.3 实验方法

1.3.1 $\text{PM}_{2.5}$ 样品制备

2015年10月—2016年1月,在华中师范大学建筑物楼顶(高10 m左右,周围没有明显的污染源)放置 Thermo Anderson G-2.5 大流量采样器(美国热电电子公司),采用石英纤维滤膜(英国 Whatman公司)采集大气 $\text{PM}_{2.5}$ 。采样后将采有 $\text{PM}_{2.5}$ 的滤膜裁剪

为长宽均为 1 cm, 浸入去离子水中, 超声振荡 15 min, 重复 3 次, 洗脱 PM_{2.5}, 振荡液用 6 层纱布过滤, 滤液冷冻真空干燥 (Labconco, USA), 低温冰箱保存备用。暴露时, 用无菌生理盐水配制成相应浓度悬液。

1.3.2 实验动物分组与暴露方案

实验采用 48 只 SPF 级雄性 Balb/c 小鼠, 随机分为 6 组, 每组 8 只小鼠。FA 采用职业气态暴露方式 (3 mg·m⁻³, 8 h·d⁻¹, 5 d·w⁻¹, 2 w), PM_{2.5} 采用气道滴注的暴露方式 (2.5 mg·mL⁻¹, 40 μL·次⁻¹, 3 次·w⁻¹, 2 w)。介导 DNA 损伤修复哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin, mTOR) 特异性的阻断剂 AZD8055 采用灌胃的方式进行暴露, 暴露的剂量为 20 mg·kg⁻¹·d⁻¹。实验动物分组与暴露方案如图 1 所示。

1.3.3 肺组织匀浆液制备

第 12 天染毒结束之后, 将小鼠颈椎脱臼处死, 取小鼠肺组织, 称重, 加入一定量预冷的磷酸盐缓冲液 (PBS), 用玻璃匀浆器在 0~4 °C 下制成 10% 的组织匀浆液, 将匀浆液以 10 000 r·min⁻¹ 离心 15 min, 取上清备用。

1.3.4 生化指标测定

小鼠肺蛋白含量测定: Folin-酚法测定小鼠肺组织匀浆的蛋白含量, 具体实验步骤按照试剂盒说明书标准操作规范进行。ROS 含量测定: 采用 2', 7'-

二氯荧光黄双乙酸盐 (2', 7'-Dichlorodihydrofluorescein diacetate, DCFH-DA) 法, 取小鼠肺组织匀浆并用 PBS 稀释 100 倍。每孔 100 μL 加入酶标板中。加入 10 mmol·L⁻¹ 的 DCFH-DA 100 μL, 在 37 °C 下避光保存 10 min 后, 在 480 nm 激发光、520 nm 发射光下测量其荧光强度。GSH 含量测定: 具体实验步骤按照所使用试剂盒说明书标准操作规范进行。MDA 含量测定: 采用硫代巴比妥酸 (thiobarbituric acid, TBA) 法。取 10 mL 试管, 每管加入 0.5 mL 待测样品液, 然后各管加入 2 mL 6% TBA 溶液, 混匀后沸水浴 15 min, 取出后流水冷却。10 000 r·min⁻¹ 离心 10 min, 取上清液分别在 450 nm、532 nm 和 600 nm 波长下测定吸光值, 按 $C(\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}) = [6.45(A_{532} - A_{600}) - 0.56 A_{450}] / \text{蛋白浓度}$, 计算出每管样品中 MDA 的浓度。DPC 系数测定: 采用 KCl-SDS 沉淀法。向样品中加入 100 mmol·L⁻¹ KCl 可形成十二烷基硫酸钾-蛋白质沉淀联合体, 而游离的 DNA 留在上清液中。将上清转移后, 向沉淀加入蛋白酶 K 消化与 DNA 交联的蛋白质, 使交联的 DNA 释放出来。再加入荧光染料 Hoechst 33258 对 DNA 染色, 测定荧光值即可得出 DNA 的相对含量。最后通过公式来计算 DPC 系数, $\text{DPC} = \text{交联 DNA 含量} / (\text{交联 DNA 含量} + \text{游离 DNA 含量})$ 。8-OH-dG 和 Caspase-3 含量测定: 使用双抗体夹心 ELISA 法测定, 具体实验步骤按照所使用试剂盒说明书标准操作规范进行。

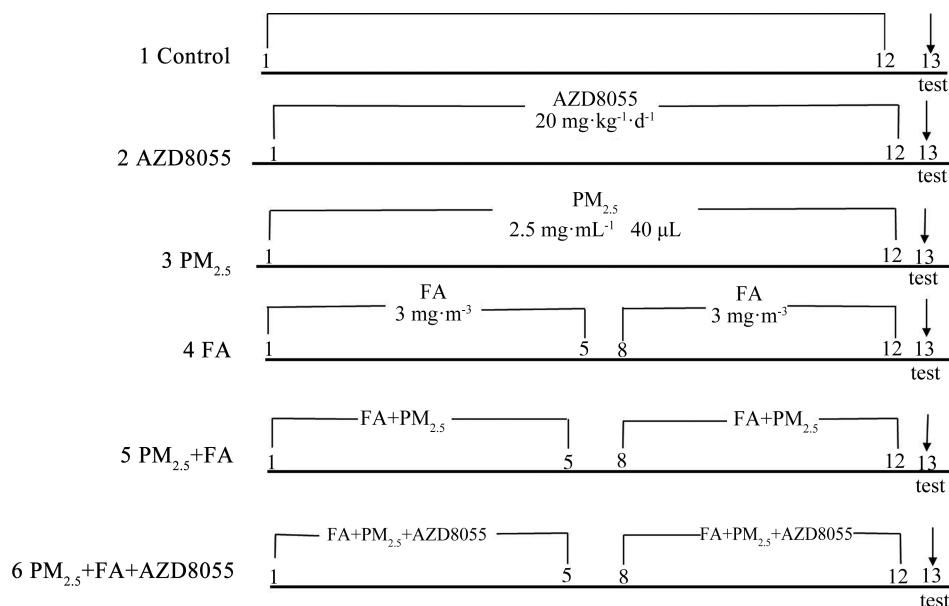


图 1 实验动物分组与暴露方案

Fig. 1 Experimental groups and exposure scheme

1.3.5 小鼠肺组织切片

从气管开始小心剥离完整的肺,之后在预冷的生理盐水中冲洗干净肺表面的血迹,做好标记后浸没于固定液中。48 h后,经脱色、清洗、染色、脱水等处理后用石蜡包埋,切成约 10 μm 的薄片,制成永久装片。

1.4 统计学分析

实验数据用平均值 \pm 标准差表示。用 GraphPad Prism 5 软件作图,SPSS 13.0 软件对数据进行统计学分析。采用单因素方差分析(one-way ANOVA),Turkey 多重比较(multiple comparisons)检验组间均值的差异显著性,显著水平 α 定为 $P<0.05$ 。

2 结果(Results)

2.1 小鼠一般体征和体重的变化

对照组小鼠皮毛干爽光滑,精神状态良好,喜动而不喜卧。染毒 2 周后,与对照组相比,PM_{2.5}+FA 组和 PM_{2.5}+FA+AZD8055 组小鼠的毛汗湿竖立,精神萎靡,喜挤卧而不喜动。小鼠体重的变化如图 2 所示,各染毒组小鼠的体重与对照组相比都出现不同程度的降低($P>0.05$)。

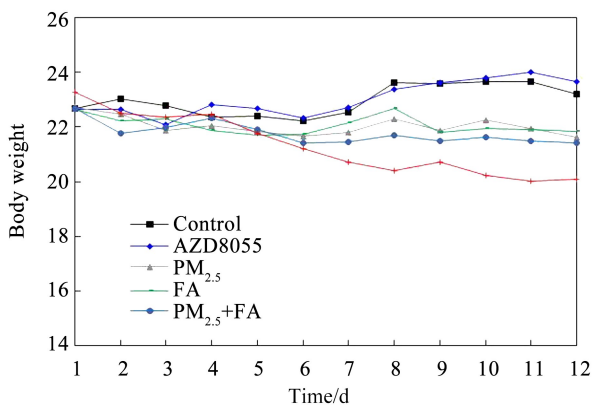


图 2 小鼠体重变化

Fig. 2 Body weight change in mice

2.2 小鼠肺组织氧化应激指标测定结果

染毒 2 周后,小鼠肺组织 ROS 含量变化如图 3A 所示,与对照组相比 PM_{2.5}组、FA 组、PM_{2.5}+FA 组以及 PM_{2.5}+FA+AZD8055 组的 ROS 水平都显著上升($P<0.001$);分别与 PM_{2.5}、FA 单独暴露组相比,PM_{2.5}+FA 组的 ROS 含量的增加也具有显著差异($P<0.001$);与 PM_{2.5}+FA 组相比,PM_{2.5}+FA+AZD8055 组的 ROS 含量显著性增加($P<0.05$)。小鼠肺组织

GSH 含量变化如图 3B 所示,与对照组相比,各组 GSH 水平均表现为显著性下降($P<0.01$ 或 $P<0.001$);相比于 PM_{2.5}组,PM_{2.5}+FA 组中 GSH 含量显著性降低($P<0.05$)。小鼠肺组织 MDA 含量变化如图 3C 所示,与对照组相比,PM_{2.5}组的 MDA 水平显著性上升($P<0.05$),FA 组,PM_{2.5}+FA 组和 PM_{2.5}+FA+AZD8055 组 MDA 水平显著性上升($P<0.01$);与 PM_{2.5}组相比,PM_{2.5}+FA 组 MDA 水平显著性上升($P<0.05$);相比与 PM_{2.5}+FA 组,PM_{2.5}+FA+AZD8055 组 MDA 水平显著上升($P<0.05$)。

2.3 小鼠肺组织 DNA 损伤测定结果

小鼠肺组织 DPC 含量变化如图 3D 所示,与对照组相比,各组 DPC 水平均显著性上升($P<0.01$ 或 $P<0.001$)。小鼠肺组织 8-OH-dG 含量变化如图 3E 所示,与对照组相比,FA 组 8-OH-dG 含量显著上升($P<0.05$);PM_{2.5}组,PM_{2.5}+FA 组和 PM_{2.5}+FA+AZD8055 组 8-OH-dG 含量显著上升($P<0.01$);与 PM_{2.5}、FA 单独暴露组相比,PM_{2.5}+FA 组 8-OH-dG 含量显著上升($P<0.01$)。

2.4 小鼠肺组织凋亡 Caspase-3 含量测定结果

图 3F 显示,相比于对照组,各组 Caspase-3 含量显著上升($P<0.001$)。与 PM_{2.5}组、FA 组单独暴露组相比,PM_{2.5}+FA 组 Caspase-3 含量显著性($P<0.05$)上升。

2.5 肺组织 H&E 染色

肺组织 H&E 染色切片镜检结果如图 4 所示,对照组和 AZD8055 组小鼠的肺组织切片表现为气道组织上皮结构完整,气道壁光滑,没有明显的细胞浸润,气道平滑肌细胞为单层排列。PM_{2.5}组和 FA 组小鼠的肺组织切片表现为气道壁增厚,气道皱缩,周围出现以嗜酸性粒细胞和淋巴细胞为主的炎细胞浸润。从 PM_{2.5}+FA 组和 PM_{2.5}+FA+AZD8055 组可以看出,气道表皮出现了严重的皱缩、断裂,气管周围与肺泡腔出现大量的炎症细胞浸润。

3 讨论(Discussion)

近年来的研究发现,生理水平的 ROS 可作为信号分子参与细胞增殖、迁移、分化和基因表达等生命过程。当机体受到外界不良因素刺激时,过量生成的 ROS 可以耗竭体内 GSH,造成机体中生物大分子过氧化,其中 MDA 是脂质过氧化的主要产物之一^[14]。持续的氧化应激会导致包括 Caspase-3 在内的凋亡因子释放,使线粒体功能失调,产生细胞凋亡^[15]。本研究中,PM_{2.5}复合甲醛暴露后,小鼠肺组织

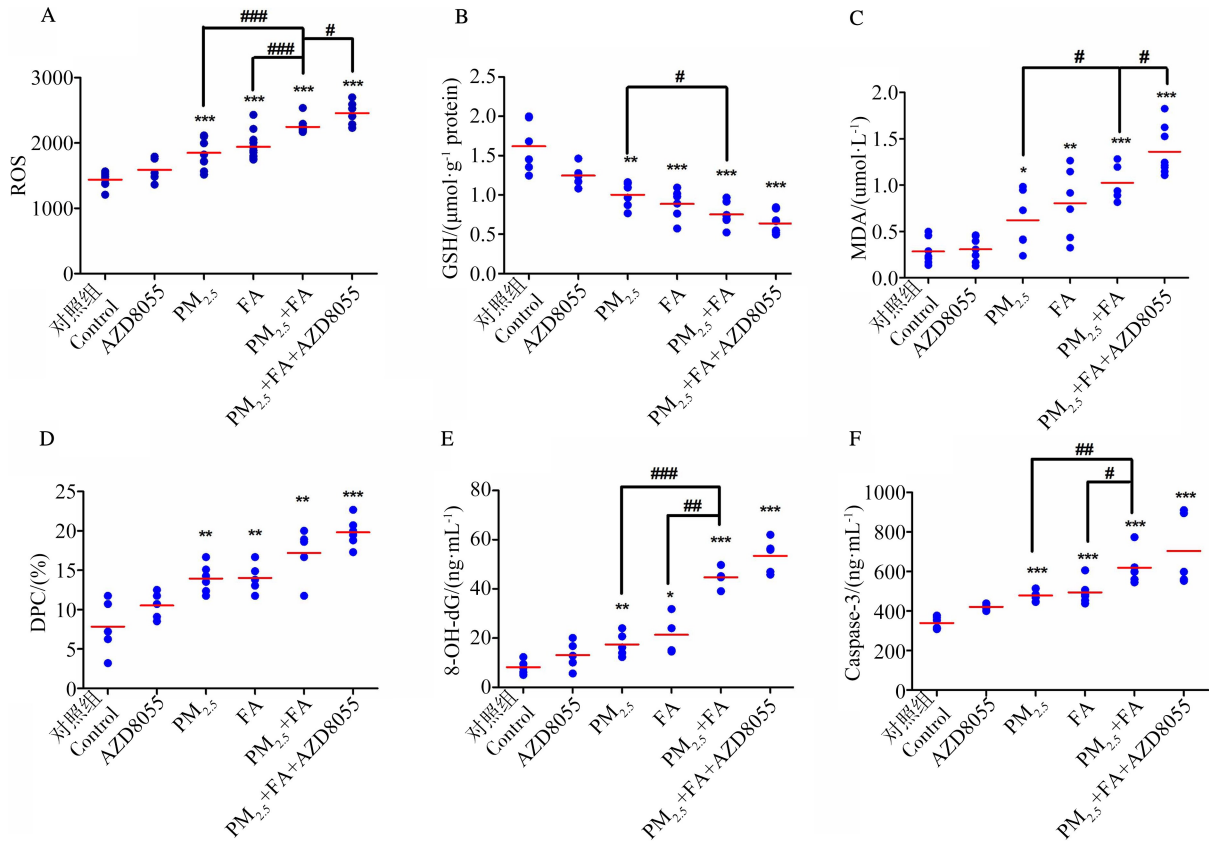


图 3 小鼠肺组织氧化应激、DNA 损伤、细胞凋亡测定结果

注:与对照相比,* P<0.05,** P<0.01,*** P<0.001;与 PM_{2.5}+FA 组相比,# P<0.05,## P<0.01,### P<0.001。

Fig. 3 The oxidative stress, DNA damage, apoptosis levels in the lung tissue

Note: Compared with control group, * P<0.05, ** P<0.01, *** P<0.001; compared with PM_{2.5}+FA group, # P<0.05, ## P<0.01, ### P<0.001.

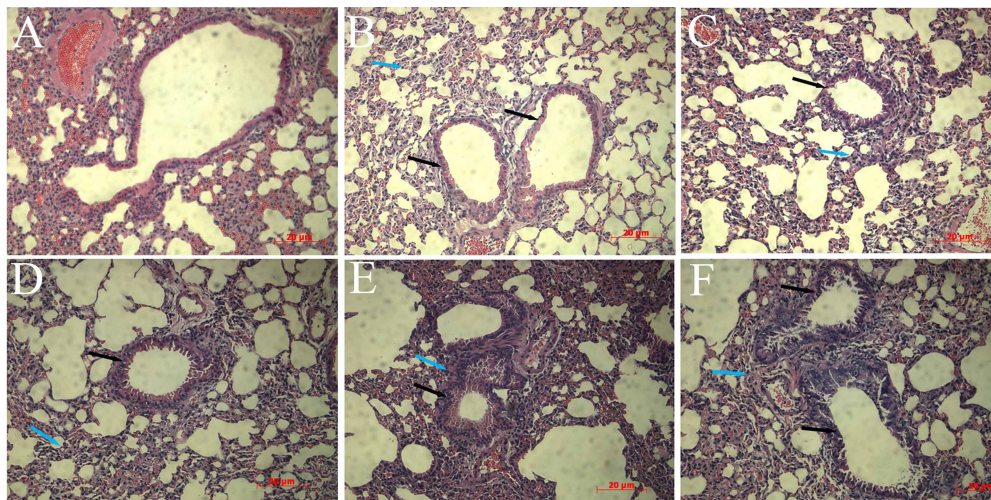


图 4 小鼠肺组织切片 H&E 染色

注: A, 对照组; B, AZD8055 组; C, PM_{2.5} 组; D, FA 组; E, PM_{2.5}+FA 组; F, PM_{2.5}+FA+AZD8055 组。

黑色箭头为支气管重塑;蓝色箭头为炎症细胞浸润。

Fig. 4 Histopathological changes of mouse lung tissue stained with H&E

Note: A, Control group; B, AZD8055 group; C, PM_{2.5} group; D, FA group; E, PM_{2.5}+FA group; F, PM_{2.5}+FA+AZD8055 group.

Black arrows indicate bronchial remodeling; blue arrows indicate inflammatory cells infiltration.

中 ROS 和 MDA 含量出现显著性上升, GSH 含量下降, 表明 PM_{2.5} 联合甲醛暴露可以使机体抗氧化能力降低, 导致肺组织产生氧化损伤。此外, 二者单独暴露均会导致肺组织中 Caspase-3 含量显著升高, 复合暴露可显著提升小鼠肺组织 Caspase-3 水平。由此推测, PM_{2.5} 与甲醛共同作用导致小鼠肺组织产生强烈的氧化应激, 从而诱导凋亡因子释放和线粒体功能失调, 引发细胞凋亡。

此外, 过量的 ROS 还能攻击 DNA 分子, 形成稳定的共价化合物 8-OH-dG 严重影响 DNA 分子的构象与功能, 阻碍正常的基因的复制与转录翻译过程^[16]。体内和体外实验研究均表明, 甲醛可以诱导大鼠肺组织 DNA 生成 8-OH-dG, 且呈现剂量效应^[17], 而 Longhin 等^[18] 研究发现, PM_{2.5} 暴露会导致 8-OH-dG 含量的增加。本研究中, PM_{2.5} 联合甲醛暴露后, 小鼠肺组织 8-OH-dG 含量增加, 由此说明, PM_{2.5} 和/或甲醛暴露能通过过量 ROS 从而引起小鼠产生 DNA 损伤。DPC 是甲醛诱发 DNA 损伤的主要形式, 由 DNA 和蛋白质共价交联形成。甲醛作为交联剂直接导致与之接触的组织 and 细胞形成过量 DPC, 影响了 DNA 的结构和功能^[19-20]。本研究中, PM_{2.5} 和甲醛单独暴露均会导致肺组织 DPC 的形成, 且 PM_{2.5} 和甲醛复合暴露可显著增加 DPC 的含量。由此推测, 可能由于二者共同暴露导致肺组织发生氧化应激, 产生大量 ROS, 继而介导了 8-OH-dG 和 DPC 形成, 造成严重的 DNA 损伤效应。

正常情况下, 当 DNA 损伤发生时, 机体可启动 DNA 损伤修复, 其中, mTOR 可通过 mTORC1-S6K1 激活范可尼贫血互补群基因 D2 (Fanconi anemia complementation group D2, FANCD2), 进而激活 ATM-Chk2 检验点来修复 DNA 损伤, 从而减少 DNA 分子损伤^[22]。Guo 等^[22] 的研究也表明, 当小鼠 mTOR 基因被敲除后, FANCD2 蛋白表达下调, 进而导致了 DNA 的损伤, 由此说明 mTOR 参与了 DNA 损伤的修复。AZD8055 作为 mTOR 分子的特异性抑制剂, 能够特异性阻断 DNA 的损伤修复, 从而加重 DNA 的损伤^[23]。本研究中, 使用阻断剂 AZD8055 后可使暴露于 PM_{2.5} 和甲醛的小鼠体内 DPC 和 8-OH-dG 含量显著上升, 从而进一步验证了 AZD8055 能够阻断 mTOR 介导的 DNA 损伤修复途径, 从而加重 DNA 的损伤。

综上所述, 研究表明, PM_{2.5}、甲醛暴露后小鼠肺组织发生病变, 肺组织出现氧化损伤、DNA 损伤和细

胞凋亡的现象, 导致了小鼠的肺损伤。PM_{2.5} 和甲醛联合暴露会加重小鼠肺损伤, 表现为协同作用。而复合暴露导致肺部的氧化损伤, 因破坏 DNA 损伤修复而加重的 DNA 损伤, 以及细胞凋亡可能是联合暴露导致肺损伤的重要机制。PM_{2.5} 和甲醛复合暴露肺损伤对解释我国哮喘的发病率居高不下具有一定的提示作用。

致谢: 感谢科技部十三五国家重点研发计划 (No: 2017YFC0702700) 和国家自然科学基金 (No: 21577045) 对本研究的资助。

通讯作者简介: 李睿 (1973-), 女, 生物工程博士, 现任职于华中师范大学生命科学院, 副教授, 硕士生导师, 主要从事本科生与研究生分子生物学教学和环境污染物健康效应及其分子生物学机理的科研工作, 迄今已发表 SCI 收录论文 30 多篇。

参考文献 (References):

- [1] World Health Organization. Ambient air pollution: A global assessment of exposure and burden of disease [R]. WHO, 2016
- [2] 中华人民共和国环境保护部. 2016 中国环境状况公报 [R]. 北京: 中华人民共和国环境保护部, 2016
Ministry of Environmental Protection of the People's Republic of China (MEP). China Environmental Status Bulletin 2016 [R]. Beijing: MEP, 2016 (in Chinese)
- [3] 郭新彪, 杨旭. 空气污染与健康 [M]. 武汉: 湖北科学技术出版社, 2015: 20-21
Guo X B, Yang X. Air Pollution and Health [M]. Wuhan: Hubei Science and Technology Press, 2015: 20-21 (in Chinese)
- [4] Hoek G, Brunekreef B, Goldbohm S. Association between mortality and indicators of traffic-related air pollution in the Netherlands: A cohort study [J]. Lancet, 2002, 360 (9341): 1203-1209
- [5] Miller K A, Siscovick D S, Sheppard L, et al. Long-term exposure to air pollution and incidence of cardiovascular events in women [J]. New England Journal of Medicine, 2007, 356(5): 447
- [6] World Health Organization. 7 million premature deaths annually linked to air pollution [R]. WHO, 2016
- [7] Visani G, Manti A, Valentini L, et al. Environmental nanoparticles are significantly over-expressed in acute myeloid leukemia [J]. Leukemia Research, 2016, 50: 50-56
- [8] 谢元博, 陈娟, 李巍. 雾霾重污染期间北京居民对高浓度 PM_{2.5} 持续暴露的健康风险及其损害价值评估 [J]. 环

- 境科学, 2014, 35(1): 1-8
- Xie Y B, Chen J, Li W. An assessment of PM_{2.5} related health risks and impaired values of Beijing residents in a consecutive high level exposure during heavy haze days [J]. *Environment Science*, 2014, 35(1): 1-8 (in Chinese)
- [9] Mirabelli M C, Vaidyanathan A. Outdoor PM_{2.5}, ambient air temperature, and asthma symptoms in the past 14 days among adults with active asthma [J]. *Environmental Health Perspectives*, 2016, 124(12): 1882-1890
- [10] IARC. Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans-formaldehyde [R]. World Health Organization, International Agency for Research on Cancer, 2012, 100(Part F): 401-436
- [11] 岳伟, 金晓滨, 潘小川, 等. 室内甲醛与成人过敏性哮喘关系的研究[J]. *中国公共卫生*, 2004, 20(8): 904-906
Yue W, Jin X B, Pan X C, et al. Relationship between indoor air formaldehy exposure and allergic asthma in adults [J]. *Chinese Journal of Public Health*, 2004, 20(8): 904-906 (in Chinese)
- [12] Rumchev K B, Spickett J T, Bulsara M K, et al. Domestic exposure to formaldehyde significantly increases the risk of asthma in young children [J]. *European Respiratory Journal*, 2002, 20(2): 403-408
- [13] Jin M W, Xu S M, An Q, et al. A review of risk factors for childhood leukemia [J]. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 2016, 20(18): 3760-3764
- [14] Oki Y, Kantar H M, Zhou X, et al. Adult acute megakaryocytic leukemia: An analysis of 37 patients treated at M.D. Anderson Cancer Center [J]. *Blood*, 2006, 107: 880-884
- [15] 刘旭东. 单壁碳纳米管对昆明小鼠认知能力以及自主移动能力的影响[D]. 武汉: 华中师范大学, 2014: 54-55
Liu X D. Cognitive and locomotor activity changes of Kunming mice induced by single-walled carbon nanotubes [D]. Wuhan: Central China Normal University, 2014: 54-55 (in Chinese)
- [16] 武阳. 甲醛遗传毒性与氧化损伤研究[D]. 武汉: 华中师范大学, 2010: 15-16
Wu Y. Study on genetic toxicity and oxidative damage of formaldehyde [D]. Wuhan: Central China Normal University, 2010: 15-16 (in Chinese)
- [17] Wang G, Jiang R, Zhao Z, et al. Effects of ozone and fine particulate matter (PM_{2.5}) on rat system inflammation and cardiac function [J]. *Toxicology Letters*, 2013, 217(1): 23-33
- [18] Longhin E, Holme J A, Gutzkow K B, et al. Cell cycle alterations induced by urban PM_{2.5} in bronchial epithelial cells: Characterization of the process and possible mechanisms involved [J]. *Particle and Fibre Toxicology*, 2013, 10(1): 63
- [19] 魏晨曦. 甲醛在有苯的作用下致小鼠造血毒性的研究[D]. 武汉: 华中师范大学, 2014: 82-83
Wei C X. Formaldehyde-induced hematotoxicity in mice with or without benzene exposure [J]. Wuhan: Central China Normal University, 2014: 82-83 (in Chinese)
- [20] Barker S, Weinfeld M, Murray D. DNA-protein crosslinks: Their induction, repair, and biological consequences [J]. *Mutation Research*, 2005, 589(2): 111-135
- [21] Shen C, Oswald D, Phelps D, et al. Regulation of FANCD2 by the mTOR pathway contributes to the resistance of cancer cells to DNA double strand breaks [J]. *Cancer Research*, 2013, 73(11): 3393-3401
- [22] Guo F, Li J, Zhang S, et al. mTOR kinase inhibitor sensitizes T-cell lymphoblastic leukemia for chemotherapy-induced DNA damage via suppressing FANCD2 expression [J]. *Leukemia*, 2014, 28(1): 203-206
- [23] Bandhakavi S, Kim Y M, Ro S H, et al. Quantitative nuclear proteomics identifies mTOR regulation of DNA damage response [J]. *Molecular & Cellular Proteomics*, 2010, 9: 403-414 ◆