

徐雯,江俊康,杨北平,等.2013.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,33(12):3407-3412

Xu W, Jiang J K, Yang B P, *et al.* 2013. Comparison of the toxic effects in A549 cells induced by automobile exhaust particulates with different sizes [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 33(12):3407-3412

不同粒径汽车尾气颗粒物对 A549 细胞毒性作用的比较

徐雯¹,江俊康¹,杨北平²,梅德清³,戴兵^{1,*}

1. 南通大学公共卫生学院,南通 226019

2. 南通大学电子信息学院,南通 226019

3. 江苏大学汽车与交通工程学院,镇江 212013

收稿日期:2013-04-03

修回日期:2013-05-13

录用日期:2013-05-13

摘要:讨论并比较了不同粒径汽车尾气颗粒物对人肺癌上皮细胞 A549 的毒性作用.通过采样器 MOUDI 分级捕获不同粒径的汽车尾气颗粒物,再分别以 0、50、100、200、400 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的浓度及不同粒径的尾气颗粒物对 A549 细胞染毒 48 h,然后用四甲基偶氮唑盐比色法[3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide, MTT 法]检测颗粒物对细胞活力的影响,用乳酸脱氢酶(LDH)释放法测定细胞膜完整性的改变,用超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD)及丙二醛(Malondialdehyde, MDA)试剂盒测定细胞的氧化应激水平及氧化损伤.结果显示:染毒浓度为 50 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,各粒径染毒组与对照组,以及各粒径染毒组之间细胞生存率的差异均不显著($p > 0.05$);染毒浓度为 100~400 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,与对照组相比,各粒径汽车尾气颗粒物均以剂量依赖的方式引起细胞存活率降低($p < 0.05$);同一染毒浓度下,PM_{0.18-1.00} 组抑制细胞增殖的能力、破坏细胞膜完整性的能力及引起胞内氧化应激水平升高的能力均显著强于 PM_{1.00-3.20} 组,其中,PM_{0.56-1.00} 组毒性最大.与对照组相比,各粒径染毒组胞内 MDA 含量均上升($p < 0.05$),其中,PM_{0.56-1.00} 组胞内 MDA 含量最高,其他粒径染毒组彼此之间的 MDA 含量差异不显著($p > 0.05$).因此,汽车尾气颗粒物可抑制 A549 细胞增殖功能,破坏细胞膜的完整性,引起细胞氧化应激及膜脂质的过氧化损伤.不同粒径汽车尾气颗粒物对细胞的损伤作用有所差异,PM_{0.18-1.00} 的毒性强于 PM_{1.00-3.20},而 PM_{0.56-1.00} 的毒性又强于 PM_{0.18-0.56}.

关键词:汽车尾气颗粒物;粒径;人肺癌上皮细胞;细胞毒性

文章编号:0253-2468(2013)12-3407-06

中图分类号:R122.2, X171.5

文献标识码:A

Comparison of the toxic effects in A549 cells induced by automobile exhaust particulates with different sizes

XU Wen¹, JIANG Junkang¹, YANG Beiping², MEI Deqing³, DAI Bing^{1,*}

1. School of Public Health, Nantong University, Nantong 226019

2. School of Electronic Information, Nantong University, Nantong 226019

3. School of Automobile and Traffic Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang 212013

Received 3 April 2013;

received in revised form 13 May 2013;

accepted 13 May 2013

Abstract: This study investigated and compared the toxic effects in human lung adenocarcinoma cells A549 induced by automobile exhaust particulates with different sizes. Automobile exhaust particulates were captured by MOUDI according to their sizes. A549 cells were treated with automobile exhaust particulates with different sizes for 48 h at 0, 50, 100, 200 and 400 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, respectively. 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) assay was performed to detect cell viability rate, and LDH releasing was used to examine the change of cytomembrane integrity. The alteration of intracellular superoxide dismutase (SOD) and malondialdehyde (MDA) were determined by SOD kit and MDA kit, respectively. Results showed that at the concentration of 50 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, there were no significant differences of the cell viability from either the two exposed groups or the control groups ($p < 0.05$); Compared with the control group, the cell viability significantly decreased with a dose-dependent manner from 100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ to

基金项目:国家自然科学基金(No. 50976051);交通运输部联合科技攻关项目(No. 2009-353-332-280);江苏省交通运输厅科技创新攻关计划项目(No. 10Y25)

Supported by the National Natural Science Foundation of China(No. 50976051), the Joint Program of Science and Technology Project from Ministry of Transport (No. 2009-353-332-280) and the Innovation Program of Science and Technology in Transportation Commission of Jiangsu(No. 10Y25)

作者简介:徐雯(1987—),女,E-mail: xw2219870306@yeah.net; *通讯作者(责任作者),E-mail: d.bing@ntu.edu.cn

Biography: XU Wen (1987—), female, E-mail: xw2219870306@yeah.net; *Corresponding author, E-mail: d.bing@ntu.edu.cn

400 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ($p < 0.05$); $\text{PM}_{0.18-1.00}$ were more effective in inhibiting cell viability, in damaging cytomembrane integrity, and in ascending the level of intracellular SOD than $\text{PM}_{1.00-3.20}$, with $\text{PM}_{0.56-1.00}$ showing the strongest toxicity. Compared with the control group, the level of intracellular MDA increased in each group exposed to automobile exhaust particulates with different sizes ($p < 0.05$). The level of intracellular MDA in the $\text{PM}_{0.56-1.00}$ reached a peak, and there was no significant difference among any other groups exposed to automobile exhaust particulates with different sizes. Therefore, automobile exhaust particulates could inhibit the proliferation of A549 cells, damage the integrity of the cell membrane, cause cellular oxidative stress, and lead to the membrane lipid peroxidation injury. The adverse effects of particulate matters of different sizes on A549 cells were different, with the toxicity of $\text{PM}_{0.18-1.00}$ stronger than that of $\text{PM}_{1.00-3.20}$ and the toxicity of $\text{PM}_{0.56-1.00}$ stronger than that of $\text{PM}_{0.18-0.56}$.

Keywords: automobile exhaust particulates; particle size; A549; cytotoxicity

1 引言 (Introduction)

随着我国汽车保有量的快速增加,汽车尾气颗粒物已成为大气细颗粒物($\text{PM}_{2.5}$)的主要来源之一.国内外大量的流行病学调查研究已经表明, $\text{PM}_{2.5}$ 与人类疾病的发病率、死亡率密切相关(Ostro *et al.*, 2006; Cakmak *et al.*, 2009),主要对呼吸系统(Skrzypek *et al.*, 2013)和心血管系统造成伤害(Miller *et al.*, 2007),能引起咳嗽、降低肺功能、引发呼吸道炎症(Mehta *et al.*, 2013)、哮喘(Parker *et al.*, 2009)、心律失常、非致命性的心脏病(Pope *et al.*, 2011).此外,还可累及神经系统(Li *et al.*, 2011; Ma *et al.*, 2009)、免疫系统(De Haar *et al.*, 2006),促使癌症发生(Parent *et al.*, 2013).

尽管如此,大气细颗粒物引起损伤的确切机制仍不清楚.关于颗粒物肺毒性的作用机制,细胞水平上,肺上皮细胞是颗粒物接触和沉积的主要靶细胞之一,肺泡II型上皮细胞(ATII)是肺泡上皮的干细胞,有增殖和修复的能力,对保持肺功能不可缺少.国内外许多学者(Shang *et al.*, 2013; Danielsen *et al.*, 2011; Gualtieri *et al.*, 2009; Billet *et al.*, 2007a)通过体外染毒具有ATII特性和表型的A549细胞来研究颗粒物对呼吸系统的毒理作用,取得了不小的进步.

有关颗粒物对A549细胞毒性作用的研究,过去主要针对大气颗粒物而言,其粒度分级也大都以 $\text{PM}_{2.5}$ 、 PM_{10} 来分级(Billet *et al.*, 2008b; Sanchez-Perez *et al.*, 2009).本研究专注于汽车尾气颗粒物对A549细胞的毒性作用,利用MOUDI从0.18~3.20 μm 分级捕获不同粒径的尾气颗粒物,从不同的指标角度对每一粒径级的细胞毒性进行探讨和比较.本研究对加强颗粒物的污染防治及公众的健康保护意识具有重要的现实意义和指导意义,并对亚微米及以下级颗粒物的生物毒性作用等后续研究也大有裨益.

2 材料与方法 (Materials and methods)

2.1 汽车尾气颗粒物的采集

汽车尾气颗粒物由江苏大学汽车与发动机排放实验室通过微孔均匀沉积冲击式采样器MOUDI分级捕获,MOUDI利用惯性将粒子分离,其空气动力学分割直径分别为0.18、0.32、0.56、1.00、1.80、3.20、5.60、10.00 μm .含有颗粒的发动机排气以30 $\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ 的体积流量进入冲击器,在惯性作用下逐阶分级并被冲击介质铝箔($\Phi 47$ mm, MSP公司)所捕获.图1为发动机在3000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 转速、100%负荷工况下,采样时间分别为12、15和18 min时各粒径级颗粒占总颗粒质量比的柱状图.由图1可见,采样器MOUDI具有较好的重复性,采样及分级测量较为可靠.同时可见,大部分尾气颗粒物的粒径处在1.0 μm 以下,粒径在5.60 μm 以上的颗粒物微乎其微.

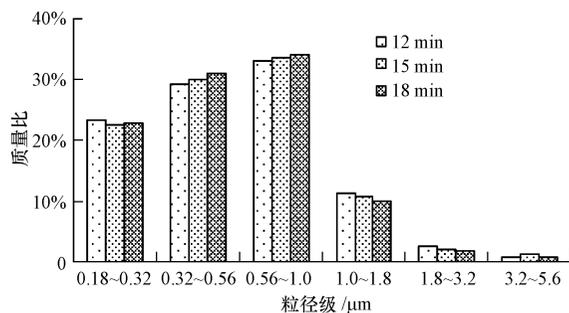


图1 MOUDI采样器采集的尾气颗粒物中各粒径级颗粒所占份额

Fig. 1 Percentage of exhaust particles with sizes collected by the MOUDI

2.2 尾气颗粒物的处理

将载有颗粒物的铝箔剪成小片投入试管,加入稍过量的稀盐酸反应数分钟,4 $^{\circ}\text{C}$ 、20000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 条件下离心20 min,弃上清,加灭菌水重悬后再次离心,重复3~4次;沉淀物真空冷冻干燥72 h,恒重称量,以MILLI-Q水制备成10 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的颗粒物储备

液,低温冰箱保存.用前高压灭菌,超声振荡混匀.

2.3 细胞培养

A549 细胞购自中科院上海细胞库,用含 10% 胎牛血清(美国 GIBCO 公司)的 RPMI 1640 培养基(美国 GIBCO 公司),在 5% CO₂、37 °C、饱和湿度的细胞培养箱(德国 HERAEUS 公司)内培养.

2.4 细胞存活率的测定

细胞存活率用 MTT 法进行测定.待细胞融合度达到 80%~90% 时即传代培养,用 0.25% 的胰蛋白酶(美国 GIBCO 公司)消化,调整细胞密度至 1×10^5 个·mL⁻¹,接种于 96 孔培养板,每孔 200 μL,24 h 后加入终浓度分别为 0、50、100、200、400 μg·mL⁻¹ 的颗粒物混悬液,每个浓度设 8 个平行样,并设空白孔,48 h 后进行 MTT 常规操作.用酶标仪(美国 Bio-Tek 公司)检测在 560 nm 波长处的吸光度值.

2.5 LDH、SOD 及 MDA 检测

取对数生长期细胞,按照 5×10^5 个·孔⁻¹ 的密度接种于 6 孔培养板,常规培养 24 h 后予以终浓度为 100 μg·mL⁻¹ 的不同粒径汽车尾气颗粒物混悬液,每组设 6 个平行样,染毒 48 h 后,收集细胞培养上清液进行 LDH 活力(南京建成)测定;RIPA 裂解液(碧云天)裂解细胞,测定 SOD 活力(南京建成)及 MDA(南京建成)含量,BCA 法(美国 Pierce 公司)

测蛋白浓度,以上操作均严格遵照试剂说明书进行.

2.6 统计分析

应用 SPSS16.0 软件包进行统计学分析,资料数据以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm S$) 表示,组间比较采用单因素方差分析,两两比较用 SNK 法,以 $p < 0.05$ 为差异有统计学意义.

3 结果(Results)

3.1 颗粒物浓度及粒径对细胞活性的影响

不同染毒浓度下 5 种粒径(0.18~0.32、0.32~0.56、0.56~1.00、1.00~1.80、1.80~3.20 μm) 汽车尾气颗粒物对 A549 细胞活性的影响如图 2 所示.由图可知,低浓度(50 μg·mL⁻¹) 时各粒径染毒组与对照组之间、各粒径染毒组彼此之间的细胞存活率差异均不显著($p > 0.05$);染毒浓度为 100~400 μg·mL⁻¹ 时,与对照组相比,各粒径颗粒物均以剂量依赖的方式引起细胞存活率均降低($p < 0.05$).各粒径颗粒物染毒组间相互比较,细胞存活率为:PM_{0.56~1.00} 组最低,PM_{0.18~0.32}、PM_{0.32~0.56} 组次之,PM_{1.00~1.80}、PM_{1.80~3.20} 组最高,PM_{0.18~0.32} 与 PM_{0.32~0.56} 组之间、PM_{1.00~1.80} 与 PM_{1.80~3.20} 组之间的细胞存活率差异不显著($p > 0.05$).

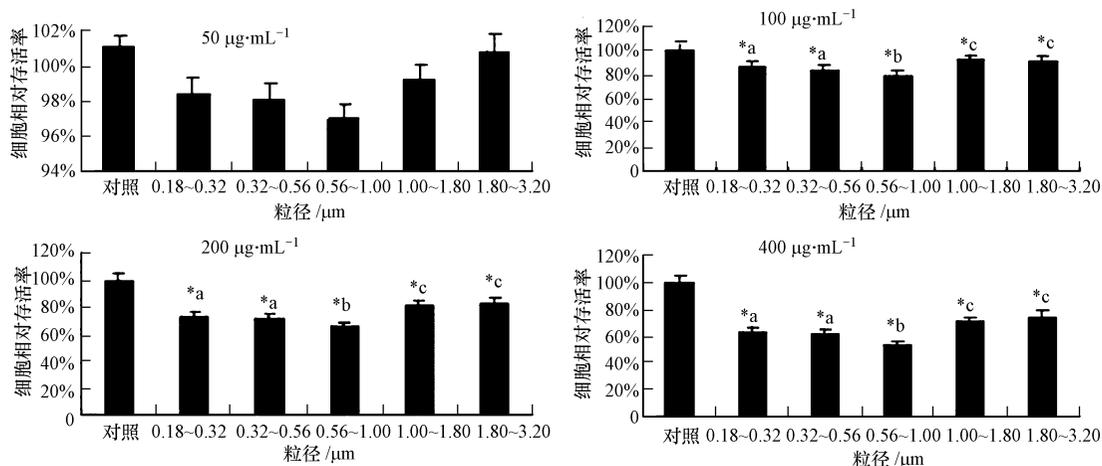


图2 不同浓度下5种粒径尾气颗粒物染毒后各染毒组细胞存活率($n=8$, *:与对照组相比, $p < 0.05$;不同字母表示各染毒处理组之间差异显著, $p < 0.05$,下同)

Fig.2 Viability of different sizes of automobile exhaust particulates to human A549 lung cells after 48h exposure

由 MTT 法检测结果发现,50 μg·mL⁻¹ 时细胞受毒害作用尚未显现,而 200、400 μg·mL⁻¹ 浓度下部分粒径染毒组的细胞存活率又较低,故最终选择 100 μg·mL⁻¹ 作为后续实验的染毒浓度.

3.2 颗粒物粒径对细胞膜完整性的影响

图 3 是 5 种粒径汽车尾气颗粒物在 100 μg·mL⁻¹ 浓度下,染毒 A549 细胞 48 h 后细胞培养液中 LDH 活性测定结果.由图可知,与对照组相比,各粒径染毒组细胞培养上清液中 LDH 活性均显著

升高 ($p < 0.05$), 其中, $PM_{0.56-1.00}$ 组最高, $PM_{0.18-0.32}$ 、 $PM_{0.32-0.56}$ 组次之, $PM_{1.00-1.80}$ 、 $PM_{1.80-3.20}$ 组最低, $PM_{0.18-0.32}$ 与 $PM_{0.32-0.56}$ 组之间、 $PM_{1.00-1.80}$ 与 $PM_{1.80-3.20}$ 组之间的细胞 LDH 活性差异不显著 ($p > 0.05$).

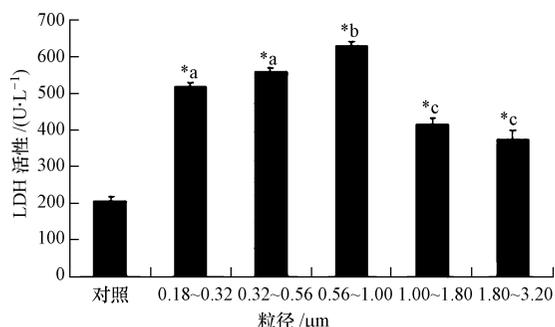


图3 不同粒径尾气颗粒物染毒后细胞培养液中 LDH 活力 ($n = 6$)

Fig. 3 LDH activity of culture supernatant fluids after exposed to exhaust particulates with different sizes ($n = 6$)

3.3 氧化应激与氧化损伤

图4是5种粒径汽车尾气颗粒物在 $100 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 浓度下, 染毒 A549 细胞 48 h 后对胞内 SOD 活性及 MDA 含量的测定结果. 结果显示, 与对照组相比, 各粒径染毒组细胞裂解液中 SOD 活性均显著下降 ($p < 0.05$), 其中 $PM_{0.56-1.00} < PM_{0.18-0.56} <$

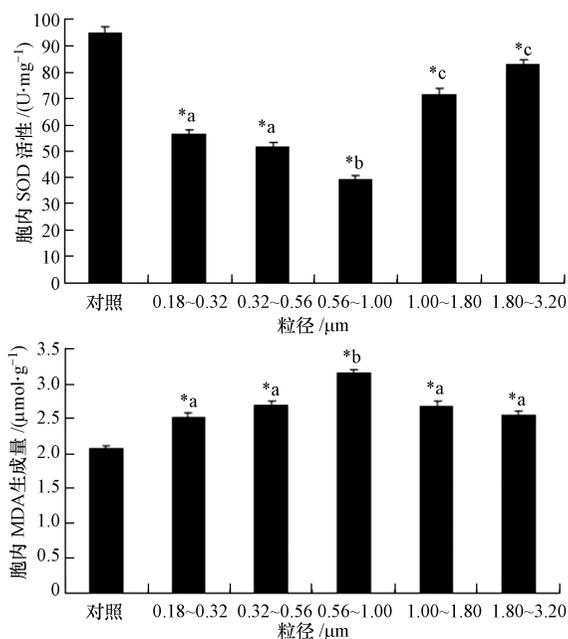


图4 不同粒径尾气颗粒物染毒后细胞内 SOD 活力和 MDA 生成量 ($n = 6$)

Fig. 4 The intracellular SOD activity and MDA activity of cells after exposed to exhaust particulates with different sizes ($n = 6$)

$PM_{1.00-3.20}$, $PM_{0.18-0.32}$ 与 $PM_{0.32-0.56}$ 组之间、 $PM_{1.00-1.80}$ 与 $PM_{1.80-3.20}$ 组之间的胞内 SOD 活性差异不显著 ($p > 0.05$). 与对照组相比, 各粒径染毒组胞内 MDA 含量均上升 ($p < 0.05$), 其中, $0.56 \sim 1.00 \mu\text{m}$ 组胞内 MDA 含量最高, 其他各粒径染毒组 MDA 含量差异不显著 ($p > 0.05$).

4 讨论 (Discussion)

汽车尾气颗粒物是造成大气污染的主要污染物之一, 它粒径较小, 可进入呼吸道深部, 与人体呼吸系统多种疾病有着密切关系. 本实验用 MTT 法观察不同浓度、不同粒径的汽车尾气颗粒物对 A549 细胞活性的影响. 结果显示, 染毒浓度越高, 细胞存活率越低, 具有较明显的剂量依赖性; $PM_{0.18-1.00}$ 比 $PM_{1.00-3.20}$ 具有更强的抑制细胞活性的能力, 这与 Lü 等 (2012) 的研究结论“细颗粒物比粗颗粒物具有更强的细胞毒性”基本一致.

膜通透性的改变是毒性物质作用于细胞的常见早期反应. 乳酸脱氢酶 (LDH) 是活细胞胞浆内含酶之一, 是细胞毒性的重要指标. Chang 等 (2007) 通过对细胞培养液中 LDH 活力的研究表明, 高剂量二氧化硅颗粒可导致细胞膜损伤, 说明纳米颗粒可导致 A549 细胞膜通透性增加, 具有明显的细胞毒性作用. Wessels 等 (2010) 也证实城市大气颗粒物可引起 A549 细胞 LDH 活性升高. 本研究中, 5 种粒径汽车尾气颗粒物在 $100 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 浓度下染毒 A549 细胞 48 h 后, 在细胞培养液中均检测到了 LDH 的高水平表达, 与上述文献报道一致. $PM_{0.18-1.00}$ 对细胞膜结构的破坏强于 $PM_{1.00-3.20}$, 其中, $PM_{0.56-1.00}$ 组对细胞膜结构的损伤最为严重, $PM_{0.18-0.32}$ 与 $PM_{0.32-0.56}$ 组次之, 粒径较大的 $PM_{1.00-1.80}$ 组与 $PM_{1.80-3.20}$ 组损伤相对较轻, 这与课题组的 MTT 实验结果一致. 细胞 SOD 作为抗氧化体系中较为关键的酶之一, 其活力可间接反映细胞内自由基清除的情况. $PM_{0.18-1.00}$ 引起机体氧化应激的能力强于 $PM_{1.00-3.20}$, 其中, $PM_{0.56-1.00}$ 染毒组细胞内氧化应激水平最高, $PM_{0.18-0.32}$ 与 $PM_{0.32-0.56}$ 染毒组次之, 粒径较大的 $PM_{1.00-1.80}$ 与 $PM_{1.80-3.20}$ 染毒组胞内氧化应激水平相对最轻. 一些针对大气 $PM_{2.5}$ 与 PM_{10} 氧化损伤作用的研究发现, $PM_{2.5}$ 比 PM_{10} 能诱导产生更多的 MDA (Ding *et al.*, 2006). 而在气管滴注大气 $PM_{2.5}$ 的整体动物实验 (林治卿, 2005) 中未观察到大鼠肺 MDA 含量变化. 丙二醛 (MDA) 作为细胞发生脂质

过氧化反应的代表性产物,是氧化损伤的标记物,其生成量的多少间接反映了机体细胞氧化损伤的严重程度. 本研究发现,最强效应仍是出现在 $PM_{0.56-1.00}$ 染毒组.

总体上, $PM_{0.18-1.00}$ 的细胞毒性强于 $PM_{1.00-3.20}$,这与许多研究者对 $PM_{2.5}$ 与 PM_{10} 的细胞毒性作用比较所得结论是一致的,其原因可能是由于颗粒物的粒径越小,比表面积越大,吸附的有毒有害物质越多,与细胞的接触面增大,因此对细胞的毒性作用更强. 本研究通过对汽车尾气细颗粒物更为精细的划分,发现 $PM_{0.56-1.00}$ 组的毒性大于 $PM_{0.18-0.56}$ 组,与张睿等(2012)对上海大气颗粒物在大粒径范围内致细胞毒性研究中得到的“在同等染毒浓度下,粗颗粒物(1.8~10.0 μm)、细颗粒物(0.1~1.8 μm)及超细颗粒物(0.01~0.1 μm)3种染毒组中,细胞存活率最低的样品为细颗粒物”的结果较为类似. 目前,有关对细颗粒不同粒径的毒性研究还较少, Sun 等(2013)最近通过横断面研究表明,颗粒物中影响亚临床动脉粥样硬化的最主要因素是有机碳等颗粒物成分,同样以有机碳为主要成分的汽车尾气颗粒物可导致 A549 细胞的氧化应激和炎症反应. Li 等(2013)研究发现,细颗粒物、超细颗粒物能引起血管的氧化应激和炎症反应,并通过 NF- κ B 信号导致血管钙化. 本课题前期研究也已表明,汽车尾气颗粒物可引起 A549 细胞 NF- κ B 蛋白的改变,其中 $PM_{0.56-1.00}$ 最为显著. 因此,推测汽车尾气颗粒物中成分的不同是影响颗粒物毒性的主要因素,并在不同粒径的颗粒物上体现了不同的效应.

目前研究大多集中于对微米级以上(如 $PM_{2.5}$ 、 PM_{10})颗粒的生物毒害作用研究,从而得出的倾向性结论是颗粒粒径越小,损伤作用越强. 但在考虑不同成分背景下,亚微米(0.1~1 μm)及亚微米以下、甚至纳米级的颗粒却未必仍遵从这样的规律,因此,细颗粒物的研究,尤其是超细胞颗粒物的研究需要综合考虑颗粒成分、性质、粒径等.

5 结论(Conclusions)

汽车尾气颗粒物对人肺癌上皮 A549 细胞具有一定的损伤作用,可抑制 A549 细胞增殖功能、破坏细胞膜的完整性、引起细胞氧化应激及膜脂质的过氧化损伤. 不同粒径汽车尾气颗粒物对细胞的损伤作用有所差异,在 0.18~3.20 μm 范围内,以 0.56~1.00 μm 粒径的尾气颗粒物的损伤作用最为

显著.

责任作者简介:戴兵(1964—),男,教授,硕导,主要从事大气颗粒物理化特性及对环境的影响、生物毒性的研究.

参考文献(Reference):

- Billet S, Garçon G, Dagher Z, *et al.* 2007. Ambient particulate matter ($PM_{2.5}$): physicochemical characterization and metabolic activation of the organic fraction in human lung epithelial cells (A549) [J]. *Environ Res*, 105(2): 212-223
- Billet S, Abbas I, Le Goff J, *et al.* 2008. Genotoxic potential of polycyclic aromatic hydrocarbons-coated onto airborne particulate matter ($PM_{2.5}$) in human lung epithelial A549 cells [J]. *Cancer Lett*, 270(1): 144-155
- Cakmak S, Dales R E, Vida C B. 2009. Components of particulate air pollution and mortality in Chile [J]. *Int J Occup Environ Health*, 15(2): 152-158
- Chang J S, Chang K L, Hwang D F, *et al.* 2007. In vitro cytotoxicity of silica nanoparticles at high concentrations strongly depends on the metabolic activity type of the cell line [J]. *Environ Sci Technol*, 41(6): 2064-2068
- Danielsen P H, Moller P, Jensen K A, *et al.* 2011. Oxidative stress, DNA damage, and inflammation induced by ambient air and wood smoke particulate matter in human A549 and THP-1 cell lines [J]. *Chem Res Toxicol*, 24(2): 168-184
- De Haar C, Hassing I, Bol M, *et al.* 2006. Ultrafine but not fine particulate matter causes airway inflammation and allergic airway sensitization to co-administered antigen in mice [J]. *Clinical Experimental Allergy*, 36(11): 1469-1471
- 丁剑, 张剑波. 2006. 颗粒物中粗细粒子的毒性比较 [J]. *环境与健康杂志*, (5): 466-467
- Gualtieri M, Mantecchia P, Corvaja V, *et al.* 2009. Winter fine particulate matter from Milan induces morphological and functional alterations in human pulmonary epithelial cells (A549) [J]. *Toxicol Lett*, 188(1): 52-62
- 李久存, 魏永杰, 陈田, 等. 2011. 妊娠期和哺乳期暴露于大气颗粒物对仔鼠中枢神经系统的影响 [J]. *环境与健康杂志*, 28(5): 377-379
- Li R, Mittelstein D, Kam W, *et al.* 2013. Atmospheric ultrafine particles promote vascular calcification via the NF- κ B signaling pathway [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 304(4): 362-369
- Lu S, Zhang R, Yao Z, *et al.* 2012. Size distribution of chemical elements and their source apportionment in ambient coarse, fine, and ultrafine particles in Shanghai urban summer atmosphere [J]. *J Environ Sci*, 24(5): 882-890
- 林治卿, 裘著革, 杨丹凤, 等. 2005. $PM_{2.5}$ 的污染特征及其生物效应研究进展 [J]. *解放军预防医学杂志*, 23(2): 150-152
- 马建新, 李运田, 周益锋. 2009. 可吸入颗粒物对大鼠心脏交感神经分布的影响及 β 受体阻滞剂对其的作用 [J]. *中国预防医学杂志*, 10(2): 95-98
- Mehta S, Shin H, Burnett R, *et al.* 2013. Ambient particulate air

- pollution and acute lower respiratory infections; a systematic review and implications for estimating the global burden of disease[J]. *Air Qual Atmos Health*, 6(1): 69-83
- Miller K A, Siscovick D S, Sheppard L, *et al.* 2007. Long-term exposure to air pollution and incidence of cardiovascular events in women[J]. *N Engl J Med*, 356(5): 447-458
- Ostro B, Broadwin R, Green S, *et al.* 2006. Fine particulate air pollution and mortality in nine California counties; results from CALFINE[J]. *Environ Health Perspect*, 114(1): 29-33
- Parker J D, Akinbami L J, Woodruff T J. 2009. Air pollution and childhood respiratory allergies in the United States [J]. *Environ Health Perspect*, 117(1): 140-147
- Parent M E, Goldberg M S, Crouse D L, *et al.* 2013. Traffic-related air pollution and prostate cancer risk: a case-control study in Montreal, Canada[J]. *American Journal of Epidemiology*, 171:110-112
- Pope C R, Burnett R T, Turner M C, *et al.* 2011. Lung cancer and cardiovascular disease mortality associated with ambient air pollution and cigarette smoke: shape of the exposure-response relationships [J]. *Environ Health Perspect*, 119(11): 1616-1621
- Sanchez-Perez Y, Chirino Y I, Osornio-Vargas A R, *et al.* 2009. DNA damage response of A549 cells treated with particulate matter (PM_{10}) of urban air pollutants[J]. *Cancer Lett*, 278(2): 192-200
- Shang Y, Fan L, Feng J, *et al.* 2013. Genotoxic and inflammatory effects of organic extracts from traffic-related particulate matter in human lung epithelial A549 cells: The role of quinones [J]. *Toxicol in Vitro*, 27(2): 922-931
- Skrzypek M, Zejda J E, Kowalska M, *et al.* 2013. Effect of residential proximity to traffic on respiratory disorders in school children in upper Silesian Industrial Zone, Poland [J]. *Int J Occup Med Environ Health*, 26(1): 83-91
- Sun M, Kaufman J D, Sun-Young K, *et al.* 2013. Particulate matter components and subclinical atherosclerosis: common approaches to estimating exposure in a Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis cross-sectional study[J]. *Environ Health*, 12(1): 39-41
- Wessels A, Birmili W, Albrecht C, *et al.* 2010. Oxidant generation and toxicity of size-fractionated ambient particles in human lung epithelial cells[J]. *Environ Sci Technol*, 44(9): 3539-3545
- 张睿, 吕森林, 尚羽, 等. 2012. 上海大气超细颗粒物和工业纳米颗粒物的表征及细胞毒性的比较研究[J]. *环境科学*, 33(5): 1431-1436