

抗氧化剂对二氧化硫诱导的大鼠心脏线粒体损伤的缓解作用

夏瑾¹, 秦国华^{1,2*}, 桑楠¹ (1. 山西大学环境与资源学院, 山西太原 030006; 2. 暨南大学环境学院, 广州市环境暴露与健康重点实验室, 广东广州 510632)

摘要: 采用 Wistar 大鼠作为模型进行整体动物染毒, SO₂ 组动式吸入 SO₂ (7mg/m³) 28d, 每天 4h; SO₂+NALC (N-乙酰半胱氨酸) 组吸入同样条件的 SO₂, 且自 SO₂ 染毒之日起隔天腹腔注射 50mg/kg b.w. NALC, 对照组吸入新鲜空气并注射生理盐水. 采用荧光定量 PCR 技术检测心脏组织中氧化磷酸化复合体亚基 COI 和 ATP6 以及核转录因子 PGC1- α 、NRF1、TFAM 的 mRNA 转录水平; 并采用 Western blot 技术检测 3 种线粒体调控基因的蛋白表达. 结果发现, 在吸入 SO₂ 后, 核转录因子 PGC1- α 、NRF1、TFAM 的 mRNA 转录和蛋白表达水平显著降低, 并且 2 种亚基 COI 和 ATP6 的 mRNA 转录水平也显著下降, 而抗氧化剂 NALC 处理能够明显缓解 3 种核转录因子及 2 种复合体亚基表达水平的下降. 提示 SO₂ 暴露通过下调 PGC1- α 、NRF1、TFAM 表达来影响线粒体 DNA 的转录, 干扰氧化磷酸化重要组分的合成, 该过程发生机制可能与自由基的产生相关, 而抗氧化剂的使用可有效缓解 SO₂ 诱导的心脏线粒体损伤作用.

关键词: SO₂; 抗氧化剂; 线粒体; 氧化磷酸化

中图分类号: X503.22 文献标识码: A 文章编号: 1000-6923(2018)08-3129-06

DOI: 10.19674/j.cnki.issn1000-6923.2018.0334

Antioxidants alleviated sulfur dioxide-induced mitochondrial damage in rat hearts. XIA Jin¹, QIN Guo-hua^{1,2*}, SANG Nan¹ (1. College of Environmental Science and Resources, Shanxi University, Taiyuan 030006, China; 2. Guangzhou Key Laboratory of Environmental Exposure and Health, School of Environment, Jinan University, Guangzhou 510632, China). *China Environmental Science*, 2018, 38(8): 3129-3134

Abstract: Male Wistar rats were exposed to SO₂ (7mg/m³) for 28 days, 4 hours per day in SO₂ group. Rats in SO₂+NALC group were exposed to SO₂ and NALC (50mg/kg b.w., i.p.) every other day, which was dissolved in saline. Rats in control group were exposed to filtered air and saline. The mRNA levels of complexes IV and V subunits (COI&ATP6) and three mitochondrial transcript factors (PGC1- α , NRF1, TFAM) were analyzed by real-time RT-PCR after exposure. And the protein levels of the above three mitochondrial transcript factors were detected by Western blot. The results showed that the mRNA and protein expression levels of PGC1- α , NRF1 and TFAM were decreased significantly after SO₂ inhalation, combined with the down-regulations of COI&ATP6 on mRNA levels. But NALC could alleviate the depressions of these genes. It indicated that SO₂ exposure could impact the transcription of mitochondria DNA through PGC1- α -NRF1-TFAM down-regulation, interfere the synthesis of important components of oxidative phosphorylation. The mechanism might be related to the production of free radicals. Antioxidants could be used to alleviate sulfur dioxide-induced mitochondrial damage in rat hearts.

Key words: SO₂; antioxidants; mitochondria; oxidative phosphorylation

作为一种主要的气态大气污染物, SO₂ 可通过含硫化石燃料的燃烧、汽车尾气的排放等形式进入到环境中^[1]. SO₂ 能够迅速有效地被生物体上呼吸道吸收, 随后转变为亚硫酸盐和亚硫酸氢盐的衍生物, 随体液循环运输至外周器官^[2]. 流行病学研究表明, SO₂ 与日益升高的心血管疾病住院率之间存在明确的相关性, 在诱发缺血性心脏疾病的过程中具有重要作用^[3]. 动物实验结果表明, 吸入 SO₂ 以后, 心脏组织中亚硫酸盐的含量显著升高^[4]. 实验室前期研究表明, SO₂ 可诱导小鼠心脏和肺部发生氧化损伤^[5]. 线粒体是暴露于 SO₂ 的小鼠心肌细胞中最敏感的细胞器^[6]. 线粒体是氧化磷酸化的主要场所, 而亚

硫酸盐的毒性与线粒体氧化磷酸化功能受损有关^[7]. 研究证实, 吸入 SO₂ 后可在小鼠心肌层观察到线粒体肿胀、嵴的减少和消失、心肌肌原纤维的紊乱^[6]. 维持心脏的收缩需要较高且稳定的 ATP 水平, 而线粒体功能障碍则会对心肌产生极端不利的影响, 有研究证明线粒体功能损伤与心衰相关^[8]. 越来越多的研究表明线粒体功能障碍与心血管疾病密切相关. 本课题组研究发现, SO₂ 吸入会导致大鼠心脏氧

收稿日期: 2018-01-06

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(21777091); 广州市环境暴露与健康重点实验室开放基金资助项目(GZKLEEH201612); 环境化学与生态毒理学国家重点实验室开放基金资助项目(KF2016-17)

* 责任作者, 教授, qinguoju@sxu.edu.cn

化磷酸化复合体——细胞色素 C 氧化酶(复合体 IV)和 ATP 合酶(复合体 V)亚基的 mRNA 转录水平发生改变^[9].氧化磷酸化负责产生行使正常的细胞功能时所需的大部分 ATP,氧化磷酸化过程受多种因子和生物过程如激素水平、供氧、转录因子等的调控,一些转录因子如转录辅激活物过氧化物酶体增殖物激活受体- γ 辅助活化因子-1 α (PGC-1 α)、核呼吸因子 1 (NRF1)、线粒体转录因子 A(TFAM)在细胞核-线粒体信息通讯过程中发挥重要作用^[10-11].而 SO₂ 吸入会通过降低这些与线粒体氧化磷酸化相关的转录因子的表达来影响线粒体 DNA 的复制及转录,进而导致线粒体功能受损^[9].

本研究通过测定大鼠心脏线粒体氧化磷酸化调控基因 PGC1- α 、NRF1 和 TFAM 的 mRNA 转录水平和蛋白表达水平以及氧化磷酸化复合体的 2 种亚基 COI 和 ATP6 的 mRNA 转录水平,来检测抗氧化剂对 SO₂ 诱导的大鼠心脏线粒体损伤的改善效应.

1 材料与方法

1.1 主要试剂

NALC(N-乙酰半胱氨酸)购自 Sigma 公司;提取总 RNA 时所用 Trizol、反转试剂盒以及荧光定量 PCR 试剂均购自于 Takara 公司;引物合成由上海英潍捷基生物有限公司完成;anti-GAPDH 抗体购自 Cell Signaling Technology; anti-PGC1- α 、anti-NRF1、anti-TFAM 抗体均购自于 Bioss 公司;其余试

剂均为国产分析纯.

1.2 整体动物染毒实验

体重 200g 左右的 SPF 级 Wistar 成年雄性大鼠 21 只,购自河北实验动物中心,随机分为 3 组,每组 7 只,分别为对照组、SO₂ 组、SO₂+NALC 组. 12h 昼夜周期,外界温度为(24 \pm 2) $^{\circ}$ C,湿度为 50% \pm 5%,其中 SO₂ 组和 SO₂+NALC 组暴露于 7mg/m³ 的 SO₂ 中进行动式吸入染毒,对照组接受过滤后的洁净空气.每天染毒 4h,持续染毒 28d. SO₂ 自动监测仪实时监测箱体内 SO₂ 浓度,染毒期间禁水禁食,其余时间自由进水进食. SO₂+NALC 组自染毒之日起以腹腔注射的方式隔天注射 50mg/kg (b.w.) NALC,对照组和 SO₂ 组注射生理盐水.染毒结束后处死大鼠,组织放入液氮中速冻随后转入-80 $^{\circ}$ C 储存.

1.3 总 RNA 的提取与荧光定量 PCR

取 50~100mg 大鼠心脏组织,用 Trizol 提取总 RNA,甲醛变性琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 完整性,确保 OD260/280 值处于 1.8~2.0 范围内,取 1 μ g 总 RNA,使用反转试剂盒合成 cDNA,将产物放置于-80 $^{\circ}$ C 备用. IQ5Real-Time PCR 系统(Bio-Rad,USA)进行扩增,荧光定量 PCR 所用的引物序列见表 1. PCR 反应体积为 20 μ L,其中含有 1 μ L cDNA,10 μ L SYBR Premix Ex Taq,上下游引物各 1 μ L, H₂O 7 μ L. 反应条件:95 $^{\circ}$ C 3min, 95 $^{\circ}$ C 20s, 55 $^{\circ}$ C 20s, 72 $^{\circ}$ C 20s,所有 PCR 扩增片段的大小均已经溴化乙啶染色的琼脂糖凝胶电泳证实.

表 1 荧光定量 PCR 所用引物序列
Table 1 Primers used in real-time PCR

基因	基因 bank 号	上游引物	下游引物
<i>GAPDH</i>	NM_017008	5'-ATGTATCCGTTGTGGATCTGAC-3'	5'-CCTGCTTACCACCTTCTTG-3'
<i>COI</i>	X14848	5'-GAGGCTTCGGAAACTGAC-3'	5'-GCTTATGTTATTTATTCGTGGG-3'
<i>ATP6</i>	X14848	5'-TTTGCTCTTTCATTACC-3'	5'-TGAGTGTAGTCGGTTGCT-3'
<i>PGC1-α</i>	NM_031347	5'-GACCACAAACGATGACCCTC-3'	5'-TGTTGCGACTGCGGTTGT-3'
<i>NRF1</i>	NM_001100708	5'-GAGTGACCCAAACCGAACA-3'	5'-GGAGTTGAGTATGTCCGAGT-3'
<i>TFAM</i>	NM_031326	5'-GGTGTATGAAGCGGATTT-3'	5'-CTTCTCTTTTAGCGGTTT3'

1.4 总蛋白的提取与 Western blot

取大鼠心脏组织 50~80mg,加入 1mL 裂解缓冲液,成分为:1%乙基苯基聚乙二醇(Nonidet P40),1mmol/L 乙二胺四乙酸(EDTA), 125mmol/L 氟化钠(sodium fluoride), 0.5mmol/L 钒酸钠(sodium vanadate), 2.5 μ g/mL 抑肽酶(aprotinin), 5 μ g/mL 胃蛋

白酶抑制剂(pepstatin), 50 μ g/mL 亮抑酶酞(leupeptin), 25 μ mol/L 苯甲基磺酰氟(PMSF), 25 μ g/mL 胰蛋白酶抑制剂(trypsin inhibitor).匀浆至无组织块后,4 $^{\circ}$ C, 13000r/min 离心 15min,取上清.以 BSA 作为标准蛋白,考马斯亮蓝法测定蛋白质浓度,-80 $^{\circ}$ C 备用.Western blot 检测目的蛋白表达水平:

50μg 蛋白上样量,加蛋白上样缓冲液,聚丙烯酰胺凝胶电泳分离蛋白,将蛋白电转至硝酸纤维素膜上,封闭,加对应的一抗与目的蛋白特异性结合,4℃孵育过夜,清洗一抗,加荧光二抗与一抗结合,清洗二抗,LI-COR Odyssey 红外荧光系统扫描检测,结果表示为目的蛋白与 GAPDH 蛋白的灰度比值。

1.5 数据统计学处理

用 SPSS 17.0 对数据进行统计分析.数据以均值±标准误(mean±SE)的形式表示,用 two-way ANOVA 及事后 LSD 检验统计 SO₂ 组与对照组、SO₂ 组与 SO₂+NALC 组之间的差异显著性. *P*<0.05 认为具有统计学上的显著性差异。

2 结果

2.1 SO₂ 暴露对大鼠心脏组织中 CO1 和 ATP6mRNA 转录水平的影响

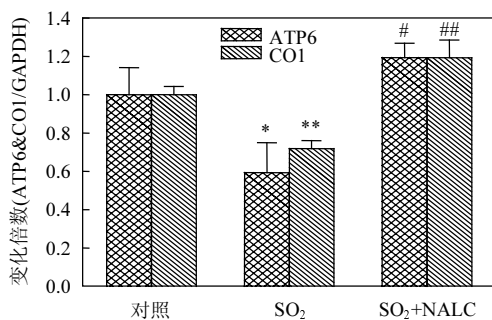


图 1 SO₂ 暴露对大鼠心脏组织中 CO1 和 ATP6mRNA 转录水平的影响

Fig.1 Effect of SO₂ exposure on mRNA levels of CO1 and ATP6in rat hearts (n=7)

与对照组相比:**P*<0.05,***P*<0.01;与 SO₂ 组相比:##*P*<0.01,###*P*<0.001

由图 1 可知,SO₂ 吸入后,大鼠心脏组织中 ATP6 和 CO1 的 mRNA 转录水平分别为对照组的 0.59 倍和 0.72 倍,与对照组相比显著下降,而 SO₂+NALC 组 ATP6 和 CO1 的 mRNA 转录水平均恢复至对照组的 1.19 倍,表明 NALC 能够显著恢复 ATP6 和 CO1 的 mRNA 转录水平。

2.2 SO₂ 暴露对大鼠心脏组织中 PGC1-α、NRF1 和 TFAM mRNA 转录水平的影响

由图 2 可知,SO₂ 吸入后大鼠心脏组织中 PGC1-α、NRF1 和 TFAM mRNA 转录水平分别为对照组的 0.68 倍、0.71 倍和 0.74 倍,显著低于对照组水平,而 SO₂+NALC 组 PGC1-α、NRF1 和 TFAM

的 mRNA 转录水平分别恢复至对照组的 0.98 倍、1.01 倍和 0.99 倍,表明 NALC 能够显著且有效地恢复 PGC1-α、NRF1 和 TFAM 的 mRNA 转录至对照组水平。

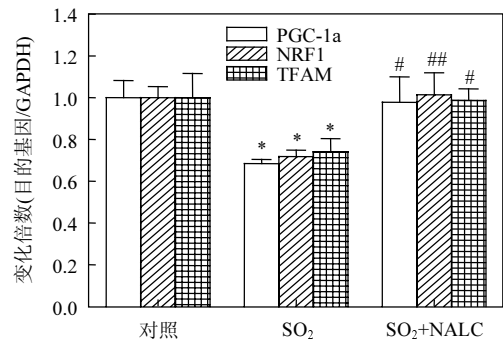


图 2 SO₂ 暴露对大鼠心脏组织中 PGC1-α、NRF1 和 TFAM mRNA 转录水平的影响

Fig.2 Effect of SO₂ exposure on mRNA levels of PGC1-α、NRF1 and TFAM in rat hearts (n=7)

与对照组相比:**P*<0.05;与 SO₂ 组相比:##*P*<0.05,###*P*<0.01

2.3 SO₂ 暴露对大鼠心脏组织中 PGC1-α、NRF1 和 TFAM 蛋白表达水平的影响

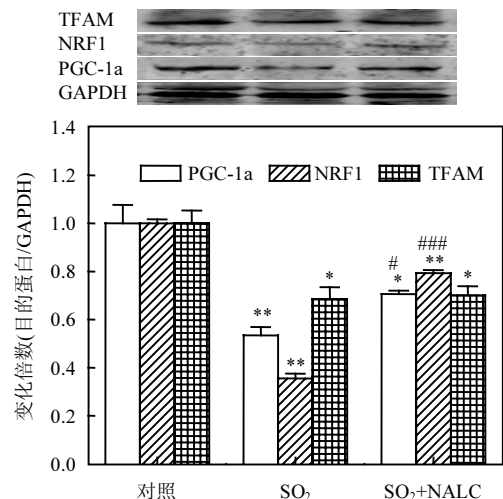


图 3 SO₂ 暴露对大鼠心脏组织中 PGC1-α、NRF1 和 TFAM 蛋白表达水平的影响

Fig.3 Effect of SO₂ exposure on protein levels of PGC1-α、NRF1 and TFAM in rat hearts (n=7)

与对照组相比:**P*<0.01,***P*<0.001;与 SO₂ 组相比:##*P*<0.05,###*P*<0.001

由图 3 可知,SO₂ 吸入后,大鼠心脏组织中 PGC1-α、NRF1 和 TFAM 蛋白表达水平分别为对照组的 0.53 倍、0.36 倍和 0.68 倍,与对照组相比下降极其显著,而 SO₂+NALC 组 PGC1-α、NRF1 和 TFAM

的蛋白表达水平分别恢复至对照组的 0.71 倍、0.79 倍和 0.70 倍,分别升高了 34%、119%和 2.9%,表明 NALC 能够非常显著地恢复 PGC1- α 和 NRF1 的蛋白表达水平,并一定程度上提高了 TFAM 的蛋白表达水平。

2.4 双因素无重复实验方差分析

如表 2 所示,SO₂ 处理显著影响各目的基因的 mRNA 转录和蛋白表达水平,NALC 处理除了对 TFAM 的蛋白表达水平的影响无统计学差异,对其他目的基因的 mRNA 转录和蛋白表达水平均影响显著。

3 讨论

近年来,流行病学研究发现,空气污染物如 SO₂、PM_{2.5} 等与心血管疾病发病率和死亡率的升高密切相关^[12]。其中 SO₂ 作为一种全身性毒物^[13-15],其对亚细胞结构的损伤已经受到广泛的关注。实验室前期研究表明,SO₂ 可引起小鼠几种组织器官(包括心脏)超微结构发生不同程度的改变,在不同的亚细胞结构中,线粒体受损伤最为严重^[6]。线粒体是真核细胞产生能

量的主要场所,其代谢产生的能量是机体内能量的主要来源。心脏作为机体消耗能量最大的器官,心肌细胞活动对线粒体高度依赖,与其他肌细胞相比,心肌细胞所含线粒体更为丰富。线粒体大约构成了心肌细胞总胞浆量的 1/3,主要依靠线粒体氧化磷酸化来获取能量。线粒体氧化磷酸化主要成分受核 DNA (nDNA)和线粒体 DNA (mtDNA)的双重控制。TFAM 是一个由核基因编码的蛋白,可调节线粒体 DNA 的复制和转录^[16-17],而 NRF1 能活化 TFAM 的表达^[10,18]。PGC1- α 作为一个重要的辅激活因子,能诱导 NRF1 表达,与 NRF1 结合后共同作用于 TFAM 的启动子区,调节线粒体基因组的转录与复制^[19]。细胞色素 C 氧化酶由 13 个亚基组成,其中最大的 3 个亚基 CO1、CO2、CO3 是由 mtDNA 编码^[20]。ATP 合酶由 12 个多肽组成,其中 ATP6 和 ATP8 由 mtDNA 编码^[21]。与细胞的 nDNA 相比,mtDNA 是母系遗传,没有组蛋白保护,呈裸露状态,又缺乏有效的修复系统,而且为不对称复制,复制频率和次数高,因此 mtDNA 更易受损伤。而 CO1 和 ATP6 作为 mtDNA 编码的与线粒体能量代谢相关基因也更易受到 SO₂ 影响。

表 2 双因素无重复实验方差分析
Table 2 Two-way non-repeated ANOVA analysis

组间因素	荧光定量 PCR					蛋白免疫印迹		
	PGC1 α	NRF1	TFAM	CO1	ATP6	PGC1 α	NRF1	TFAM
SO ₂ 处理	6.778*	8.023*	4.891*	9.689**	4.980*	44.903***	710.180***	21.823**
NALC 处理	5.857*	8.841**	4.416*	27.463***	10.843**	6.083*	326.759***	0.057

注:双因素方差分析F值如表所示,分子自由度均为1,荧光定量PCR结果的分母自由度为18,蛋白免疫印记结果的分母自由度为6;*P<0.05,**P<0.01,***P<0.01。

本研究选取 7mg/m³ 作为 SO₂ 整体动物染毒浓度,出于以下两点考虑:首先,美国国家职业安全卫生研究所推荐的职业工作环境中 SO₂ 浓度为 0.5~20.0mg/m³^[22]。其次,在本研究中动物每天暴露于 SO₂ 的时间为 4h,但实际情况下人或动物则是每天 24h 暴露于污染的大气中。因此,本研究使用的 7mg/m³ 高于人类嗅觉阈值,与职业工作环境的浓度相一致^[23]。

在本研究中,吸入 SO₂ 后显著降低了大鼠心脏组织中 3 种调控基因 PGC1- α 、NRF1 和 TFAM 的转录和翻译水平,并且由 mtDNA 编码的 CO1 和 ATP6 的 mRNA 水平也发生了显著下降,实验室前期研究表明吸入 SO₂ 可显著降低大鼠心脏组织线粒体中的 ATP 含量^[24]。上述结果提示 SO₂ 可能通过下调

PGC1- α 、NRF1 和 TFAM 3 种核转录因子,影响线粒体 DNA 的复制和转录,下调线粒体 DNA 编码的呼吸链复合体亚基的表达水平,干扰线粒体的生物合成,影响氧化磷酸化。由于维持心脏收缩功能需要较高水平的 ATP,因此一旦发生线粒体功能障碍将会对心肌细胞产生极其不利的影。研究表明发生充血性心力衰竭的心肌细胞中线粒体基因转录水平低,PGC1- α 、NRF1 和 TFAM 表达水平下调^[10]。因此推测 SO₂ 所引起的人群中缺血性心脏病、心力衰竭等心血管疾病的发生可能是通过线粒体电子传递链上重要组分来影响线粒体的呼吸作用及能量代谢,继而对心脏功能产生不利影响。

已有研究表明,SO₂ 急性暴露导致小鼠心脏组

织中氧化应激水平升高^[5],并且在受到亚硫酸盐刺激的人中性粒细胞中能够检测到 $\cdot\text{SO}_3^-$, $\cdot\text{SO}_4^-$, $\cdot\text{OOH}$, $\cdot\text{OH}$ 自由基的存在^[25].最近有研究显示,无论过氧化氢存在与否,线粒体亚血红素蛋白细胞色素 C 均能够将亚硫酸盐氧化为亚硫酸盐自由基^[26].而亚硫酸盐自由基是一种强效氧化剂,能够氧化或破坏任何一种生物分子,所以亚硫酸盐自由基可能与 SO_2 导致的线粒体损伤有关.因此,在本研究中加入了抗氧化剂 NALC,同时也是一种自由基清除剂.有报道指出,腹腔注射 50mg/kg b.w. NALC 时能有效抑制四氯化碳及硫代乙酰胺诱导的大鼠肝脏纤维化及肝损伤^[27],所以在本研究中采用了相同的 NALC 剂量.结果表明, NALC 处理可显著提高 PGC1- α 、NRF1 和 TFAM 3 种调控基因的 mRNA 转录和蛋白表达水平,同时显著增加了 2 种氧化磷酸化复合体亚基 CO1 和 ATP6 的 mRNA 转录水平.前期研究发现, NALC 处理可显著降低 SO_2 对心肌细胞内 ROS 所产生的诱导作用^[28].这一结果提示 SO_2 对线粒体产生损伤可能是通过诱导自由基的产生,影响 PGC1- α 、NRF1 和 TFAM 等的转录,进而抑制线粒体电子传递链重要组分的合成,而 NALC 能够通过清除 ROS 来有效抑制这种现象.

线粒体是产生 ROS 的主要细胞器,低氧水平(比如缺血)会降低呼吸链的效率,导致 ROS 的产生^[29].研究表明,呼吸链产生的 ROS 参与了体细胞 mtDNA 损伤的过程^[30].其他研究发现, As_2O_3 能够诱导 ROS 产生导致小鼠卵母细胞 mtDNA 损伤^[31].在本研究中,吸入 SO_2 导致 mtDNA 编码的氧化磷酸化复合体亚基 CO1 和 ATP6 的 mRNA 转录水平明显降低,而 SO_2 +NALC 处理组 mtDNA 编码亚基的 mRNA 水平显著升高,提示吸入 SO_2 引起的 mtDNA 损伤可通过抑制 ROS 产生来得到有效缓解.研究发现一些细胞因子诸如 TNF- α 和 TGF- β 能够降低 PGC1- α 及其下游靶基因的 mRNA 表达水平^[32-33],但越来越多的证据表明 MAPK、ERK1/2 信号通路在 PGC1- α 调节线粒体功能过程中发挥重要作用^[34,35],然而具体机制仍需进一步研究证实.

4 结论

4.1 吸入 SO_2 引起大鼠心脏组织 PGC1- α 、NRF1 和 TFAM 3 种调控基因的转录和翻译水平显著降低.

4.2 吸入 SO_2 引起大鼠心脏组织氧化磷酸化复合体亚基 CO1 和 ATP6 的 mRNA 转录水平显著降低.

4.3 抗氧化剂 NALC 能够显著缓解 SO_2 引起的线粒体能量代谢相关基因表达水平的下降,提示该过程可能与自由基的产生相关.

参考文献:

- [1] Brook R D, Franklin B, Cascio W, et al. Air pollution and cardiovascular disease: A statement for healthcare professionals from the expert panel on population and prevention science of the American heart association [J]. *Circulation*, 2004,109:2655-2671.
- [2] Shapiro R. Genetic effects of bisulfite (sulfur dioxide) [J]. *Mutat. Res.*, 1977,39:149-175.
- [3] Sunyer J, Ballester F, Tertre A L, et al. The association of daily sulfur dioxide air pollution levels with hospital admissions for cardiovascular diseases in Europe (the Aphea-II study) [J]. *Eur. Heart J*, 2003,24: 752-760.
- [4] Meng Z, Li R, Zhang X. Levels of sulfite in three organs from mice exposed to sulfur dioxide [J]. *Inhal. Toxicol.*, 2005,17:309-313.
- [5] Meng Z, Qin G, Zhang B, et al. Oxidative damage of sulfur dioxide inhalation on lungs and hearts of mice [J]. *Environ. Res.*, 2003,93: 285-292.
- [6] Meng Z, Liu Y. Cell morphological ultrastructural changes in various organs from mice exposed by inhalation to sulfur dioxide [J]. *Inhal. Toxicol.*, 2007,19:543-551.
- [7] Hadler H I, Cook G L. The mitochondrial activation of sulfate and arsenate and their role in carcinogenesis [J]. *J Environ. Pathol. Toxicol.*, 1979,2(3):601-612.
- [8] Tsutsui H, Kinugawa S, Matsushima S. Oxidative stress and mitochondrial DNA damage in heart failure [J]. *Circ. J*, 2008,72:A31-A37.
- [9] Qin G, Wu M, Wang J, et al. Sulfur dioxide contributes to the cardiac and mitochondrial dysfunction in rats [J]. *Toxicol. Sci.*, 2016,151(2): 334-346.
- [10] Garnier A, Fortin D, Deloménie C, et al. Depressed mitochondrial transcription factors and oxidative capacity in rat failing cardiac and skeletal muscles [J]. *J. Physiol.*, 2003,551:491-501.
- [11] Scarpulla R C. Nuclear activators and co-activators in mammalian mitochondrial biogenesis [J]. *Biochim. Biophys. Acta*, 2002,1576: 1-14.
- [12] Newby D E, Mannucci P M, Tell G S. Expert position paper on air pollution and cardiovascular disease [J]. *Eur. Heart J*, 2015,36(2): 83-93.
- [13] Meng Z. Oxidative damage of sulfur dioxide on various organs of mice: sulfur dioxide is a systemic oxidative damage agent [J]. *Inhal. Toxicol.*, 2003,15:181-195.
- [14] Meng Z, Qin G, Zhang B. DNA damage in mice treated with sulfur dioxide by inhalation [J]. *Environ. Mol. Mutagen.*, 2005,46:150-155.
- [15] Meng Z, Qin G, Zhang B, et al. DNA damaging effects of sulfur dioxide derivatives in cells from various organs of mice [J]. *Mutagenesis*, 2004,19(6):465-468.

- [16] Parisi M A, Clayton D A. Similarity of human mitochondrial transcription factor 1 to high mobility group proteins [J]. *Science*, 1991,17,252(5008):965-969.
- [17] Scarpulla R C. Transcriptional paradigms in mammalian mitochondrial biogenesis and function [J]. *Physiol. Rev.*, 2008,88(2):611-38.
- [18] Ryan M T, Hoogenraad N J. Mitochondrial-nuclear communications [J]. *Annu. Rev. Biochem.*, 2007,76:701-22.
- [19] Finck B N, Kelly D P. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1 (PGC-1) regulatory cascade in cardiac physiology and disease [J]. *Circulation*, 2007,115(19):2540-8.
- [20] 柏干荣,陆松敏.缺血缺氧与线粒体 DNA 编码细胞色素氧化酶基因损伤 [J]. *创伤外科杂志*, 2004,6:230-232.
- [21] 蔡成,常立文,卢红艳,等.高氧对早产新生大鼠肺组织细胞色素- β 、三磷酸腺苷合成酶 6 表达的影响 [J]. *实用儿科临床杂志*, 2006,21:541-544.
- [22] Dutch Expert Committee on Occupational Standards. Sulphur dioxide; health-based recommended occupational exposure limit, 5th ed [Z]. (ISBN 90-5549-507-7), Hague, The Netherlands: Health Council of the Netherlands Press, 2003.
- [23] Sang N, Yun Y, Li H, et al. SO₂ inhalation contributes to the development and progression of ischemic stroke in the brain [J]. *Toxicological Sciences*, 2010,114(2):226-236.
- [24] Qin G, Wu M, Wang J, et al. Sulfur Dioxide Contributes to the Cardiac and Mitochondrial Dysfunction in Rats [J]. *Toxicol. Sci.*, 2016, 151(2):334-346.
- [25] Rangelova K, Rice A B, Khajo A, et al. Formation of reactive sulfite-derived free radicals by the activation of human neutrophils: an ESR study [J]. *Free Radic. Biol. Med.*, 2012,52:1264-1271.
- [26] Velayutham M, Hemann C F, Cardounel A J, et al. Sulfite oxidase activity of cytochrome c: role of hydrogen peroxide [J]. *Biochem. Biophys.*, 2016,5:96-104.
- [27] Nissar A U, Farrukh M R, Kaiser P J, et al. Effect of N-acetyl cysteine (NAC), an organosulfur compound from Allium plants, on experimentally induced hepatic preneoplastic events in Wistar rat [J]. *Phytomedicine*, 2013,20(10):828-833.
- [28] 夏瑾,秦国华,桑楠.二氧化硫及其衍生物对大鼠心肌细胞胶原蛋白表达的影响 [J]. *环境科学学报*, 2017,37(4):1601-1607.
- [29] Arany Z, Foo S Y, Ma Y. HIF-independent regulation of VEGF and angiogenesis by the transcriptional coactivator PGC-1 α [J]. *Nature*, 2008,451(7181):1008-1012.
- [30] Lebrecht D, Walker U A. Role of mtDNA lesions in anthracycline cardiotoxicity [J]. *Cardiovasc. Toxicol.*, 2007,7:108-113.
- [31] Zhang W, Liu Y, An Z, et al. Mediating effect of ROS on mtDNA damage and low ATP content induced by arsenic trioxide in mouse oocytes [J]. *Toxicol.*, 2011,25:979-984.
- [32] Valerio A, Cardile A, Cozzi V, et al. TNF- α downregulates eNOS expression and mitochondrial biogenesis in fat and muscle of obese rodents [J]. *J. Clin. Invest.*, 2006,116(10):2791-2798.
- [33] Sohn E J, Kim J, Hwang Y, et al. TGF- β suppresses the expression of genes related to mitochondrial function in lung A549cells [J]. *Cell Mol. Biol.*, 2012,58(suppl.):1763-1767.
- [34] Yan W, Zhang H, Liu P, et al. Impaired mitochondrial biogenesis due to dysfunctional adiponectin-AMPK-PGC-1 α signaling contributing to increased vulnerability in diabetic heart. *Basic [J]. Res. Cardiol.*, 2013,108:329.
- [35] Zhu J H, Gusdon A M, Cimen H, et al. Impaired mitochondrial biogenesis contributes to depletion of functional mitochondria in chronic MPPT toxicity: Dual roles for ERK1/2 [J]. *Cell Death Dis.*, 2012,3(5):e312.

作者简介:夏瑾(1993-),女,河南民权人,山西大学硕士研究生,研究方向为环境毒理学。