

DOI: 10.13671/j.hjkxxb.2018.0375

段慧玲, 夏瑾, 梁刚, 等. 2019. PM_{2.5} 对小鼠和 H9C2 细胞心肌肥大相关因子 mRNA 表达的影响 [J]. 环境科学学报, 39(3): 978-984
Duan H L, Xia J, Liang G, et al. 2019. Effect of PM_{2.5} on mRNA expression of cardiac hypertrophy-related factors in mice and H9C2 cells [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 39(3): 978-984

PM_{2.5} 对小鼠和 H9C2 细胞心肌肥大相关因子 mRNA 表达的影响

段慧玲¹, 夏瑾¹, 梁刚¹, 秦国华^{1,2,*}, 桑楠¹

1. 山西大学环境与资源学院, 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, 广州 510632

摘要:用采自太原市4个不同季节的细颗粒物(PM_{2.5})对小鼠心肌细胞H9C2进行染毒后,采用荧光定量PCR技术检测心肌肥大相关因子ANP和TGF-β的mRNA水平。采用浓度分别为0、1、3、10 μg·mL⁻¹的冬季PM_{2.5}处理H9C2细胞后,检测心肌肥大相关因子ANP、β-MHC、MMP2和MMP9的mRNA水平。之后分别选取4周龄、4月龄、10月龄C57BL/6雌性小鼠作为实验模型,采用咽后壁滴注的方法用3 mg·kg⁻¹ PM_{2.5}暴露4周。采用苏木素-伊红染色(H&E)对小鼠心脏组织病理切片进行观察,并检测ANP和β-MHC的mRNA水平。结果发现,与对照组相比,冬季PM_{2.5}诱导H9C2细胞中ANP和TGF-β的mRNA水平升高最为显著;其中,当冬季PM_{2.5}染毒浓度较高时可诱导ANP、β-MHC、MMP2和MMP9的mRNA水平均显著升高。经PM_{2.5}暴露4周后,幼年和老年小鼠心肌细胞核质比显著降低。老年小鼠心脏组织中ANP和β-MHC的mRNA表达水平显著上升。实验表明,冬季PM_{2.5}诱导心肌肥大标志物表达改变的效应要强于其他季节,且有一定的剂量效应关系,而老年小鼠对PM_{2.5}诱导的心肌肥大效应最为敏感。

关键词:PM_{2.5}; 小鼠; H9C2 细胞; 心肌肥大; 不同年龄

文章编号:0253-2468(2019)03-978-07 中图分类号:X171.5 文献标识码:A

Effect of PM_{2.5} on mRNA expression of cardiac hypertrophy-related factors in mice and H9C2 cells

DUAN Huiling¹, XIA Jin¹, LIANG Gang¹, QIN Guohua^{1,2,*}, SANG Nan¹

1. College of Environmental Science and Resources, Shanxi University, Taiyuan 030006

2. Guangzhou Key Laboratory of Environmental Exposure and Health, School of Environment, Jinan University, Guangzhou 510632

Abstract: H9C2 cells were exposed to fine particulate matters (PM_{2.5}) from four different seasons in Taiyuan City, the mRNA levels of ANP and TGF-β related to cardiac hypertrophy were detected by real-time PCR. H9C2 cells were exposed to winter PM_{2.5} at a concentration of 0, 1, 3, and 10 μg·mL⁻¹, the mRNA levels of ANP, β-MHC, MMP2, and MMP9 were measured by real-time PCR. Female C57BL/6 mice at 4-week, 4-month, and 10-month were exposed to 3 mg·kg⁻¹ PM_{2.5} for 4 weeks by the means of posterior pharyngeal wall drip method. The histological sections of heart were observed by hematoxylin-eosin staining (H&E); the mRNA levels of ANP and β-MHC were detected. The results showed that the mRNA levels of ANP and TGF-β in H9C2 cells were significantly increased after exposed to winter PM_{2.5} compared with the control group. Winter PM at higher concentrations could increase the mRNA levels of ANP, β-MHC, MMP2 and MMP9. After four weeks exposure, the nucleoplasmic ratios of cardiomyocytes in young and older mice were significantly reduced. The mRNA expression levels of ANP and β-MHC in cardiac tissues of older mice were significantly increased. The study indicated that the effect of the winter PM_{2.5} increased cardiac hypertrophy markers expression is stronger than other seasons, with a dose-effect manner. While older mice are the most sensitive to PM_{2.5}-induced cardiac hypertrophy.

Keywords: PM_{2.5}; mice; H9C2 cells; cardiac hypertrophy; different age

收稿日期:2018-08-27 修回日期:2018-09-26 录用日期:2018-09-26

基金项目: 国家自然科学基金(No.21777091); 广州市环境暴露与健康重点实验室开放基金(No.GZKLEEH201612); 环境化学与生态毒理学国家重点实验室开放基金(No.KF2016-17)

作者简介: 段慧玲(1993—), 女, E-mail:417239429@qq.com; * 责任作者, E-mail:qinguoju@sxu.edu.cn

1 引言(Introduction)

近30年来,工业化和城市化的快速发展使得大气污染成为影响我国环境质量、居民健康和社会可持续发展的重要因素。以大气细颗粒物为代表的区域大气环境污染日趋严重,PM_{2.5}已成为目前影响我国空气质量状况的关键指标。而伴随着空气污染的日渐加重,空气污染所引起的呼吸道疾病的发病率和死亡率也在不断升高。2010年美国心脏协会(AHA)发布的《大气污染与心血管疾病》(Brook *et al.*, 2010)的科学声明中明确指出,空气污染可显著增加心血管疾病的发病率和死亡率。在美国哈佛等六城市的研究(Dockery *et al.*, 1993)表明,PM_{2.5}每升高10 μg·m⁻³,人群总死亡率增加16%,心血管疾病死亡率增加28%。国内的一些流行病学研究(任艳军等,2006)也表明,大气污染尤其是颗粒物污染与人群心血管疾病的死亡风险增加也存在相关性。

老年高血压人群患严重左心室心肌肥大的风险是中年人的2倍、年轻人的4倍,因此,研究颗粒物对不同年龄的小鼠心肌肥大标志物ANP和β-MHC所产生的影响具有重要意义(Cuspidi *et al.*, 2012)。研究表明(Michelle *et al.*, 2008),颗粒物对健康的影响存在着显著的季节性和区域性差异,颗粒物对心血管疾病的影响在冬天最大,PM_{2.5}每增加10 μg·m⁻³,住院治疗的人增加1.49%。国内也有研究表明(Tao *et al.*, 2014),北京地区与PM_{2.5}有关的各种气溶胶具有独特的季节性。因此,研究不同季节、不同浓度的颗粒物对心肌细胞的影响具有非常重要的意义。

研究发现,PM_{2.5}暴露导致死亡的原因主要是缺血性心脏病、心律失常和心力衰竭等(Pope *et al.*, 2004)。心肌肥大是心力衰竭的前期表现,因此,研究心肌肥大对于预防心力衰竭和猝死具有非常重要的意义。β-肌球蛋白重链(β-myosin heavy chain, β-MHC)基因的再表达(Pandya *et al.*, 2006)及左心室中心房利尿肽(Atrial natriuretic peptide, ANP)基因表达的上调(Younes *et al.*, 1995),均可作为心肌肥大的生物标志物。同时,也有研究发现,PM_{2.5}可引起患有自发性高血压的小鼠心脏重构,从而使心脏组织中转化生长因子β1(Transforming growth factor-β1, TGF-β1)的mRNA表达明显升高(董晨等,2006)。

基于以上分析,本研究采用太原市不同季节的PM_{2.5}对小鼠H9C2心肌细胞进行染毒,并测定其

TGF-β和ANP的mRNA转录水平;采用太原市冬季不同浓度的PM_{2.5}对心肌细胞H9C2进行染毒,并测定其β-MHC、ANP、基质金属蛋白酶(Matrix metalloproteinase, MMPs)MMP2和MMP9的mRNA转录水平。同时,通过咽后壁滴注的方法对4周龄、4月龄和10月龄的C57BL/6雌性小鼠进行浓度为0、1、3、10 μg·mL⁻¹的冬季PM_{2.5}染毒,对其心脏组织进行病理学观察,检测小鼠心脏组织中ANP和β-MHC的mRNA表达水平。

2 材料与方法(Materials and methods)

2.1 材料

2.1.1 主要试剂 H9C2细胞来自国家实验细胞资源共享平台(北京),低糖DMEM培养基购自Gibco公司,胎牛血清购自BI公司,提取总RNA时所用Trizol、反转试剂盒及荧光定量PCR试剂均购自于Takara公司,引物合成由Invitrogen有限公司完成,其余试剂均为国产分析纯。

2.1.2 主要仪器 TH-150 CⅢ型智能中流量空气采样器、CO₂培养箱(Thermo,美国)、超低温冰箱(Thermo,美国)、蛋白核酸仪(NanoDrop,美国)、垂直电泳槽(Bio-Rad,美国)、显微镜(Olympus,日本)、Real-time PCR Qtower 2.2(Analytik Jena AG, Jena,德国)。

2.2 PM_{2.5}采集及其悬浊液的制备

在2012—2013年,采用石英滤膜和TH-150 CⅢ型智能中流量空气采样器采集了太原市大气中PM_{2.5},采样流量为100 L·min⁻¹,每天采样时间设置为22 h,并在采样前后称量石英滤膜的质量,将采集完成的滤膜密封在铝箔中,4℃储藏。将滤膜剪碎、超声振荡、过滤后,在真空中冷冻干燥。所采集的颗粒物的化学组分之前已有报道(Qin *et al.*, 2018)。

2.3 体外染毒实验

H9C2细胞贴壁生长于含10%胎牛血清和1%青链霉素的低糖DMEM培养液中,并置于含5%CO₂、37℃恒温培养箱中培养。细胞生长至80%左右时,将生长良好的细胞随机分为5组,采用低糖DMEM培养液配制不同季节PM_{2.5}染毒液(终浓度为10 μg·mL⁻¹),加入H9C2细胞培养皿中进行不同季节的PM_{2.5}染毒,同时设置一组对照。

细胞生长至80%左右时,将生长良好的细胞随机分为4组,采用低糖DMEM培养液将太原市冬季PM_{2.5}染毒液终浓度分别配置为1、3、10 μg·mL⁻¹,加

入 H9C2 细胞培养皿中进行不同浓度的太原市冬季 PM_{2.5} 染毒, 同时设置一组对照。体外实验的染毒剂量依据课题组之前已有的报道 (Zhang et al., 2016)。

2.4 整体动物染毒实验

分别选取 4 周龄、4 月龄、10 月龄 C57BL/6 雌性小鼠各 12 只 (购自南京君科生物工程有限公司), 每个年龄随机分为 2 组, 每组 6 只, 分别为 4 周龄对照组、4 周龄 PM_{2.5} 组、4 月龄对照组、4 月龄 PM_{2.5} 组、10 月龄对照组和 10 月龄 PM_{2.5} 组。小鼠置于不锈钢笼中, 12 h 昼夜周期循环, 保证外界温度为 (24±2) °C, 湿度为 50%±5%。采用咽后壁滴注法, 每 2 d 给小鼠滴注 1 次生理盐水 (对照组) 或 3 mg·kg⁻¹ (以体重计) 太原市冬季 PM_{2.5}, 共暴露 4 周。染毒期间, 观察实验动物颗粒物染毒后的精神状态、饮食情况、活动及体重变化等。暴露结束后第 2 天处死小鼠, 取出心脏组织, 将左心室心尖部分进行固定, 其余组织液氮速冻后转入 -80 °C 冰箱中保存。PM_{2.5} 暴露剂量是根据小鼠的通气量 (90 mL·min⁻¹) 及中国环境空气质量标准 (GB3095—2012) 日平均 PM_{2.5} 二级浓度限值 (75 μg·m⁻³) 的 3 倍来计算得到的, 在重污染情况下, 小鼠每天吸入 PM_{2.5} 0.02916 mg (75 μg·m⁻³ × 3 × 90 mL·min⁻¹ × 10⁻⁶ × 60 min × 24 h); 以小鼠平均体重 20 g 来计算每日吸入的 PM_{2.5} 剂量为 1.458 mg·kg⁻¹ (以体重计, 下同) (0.02916 mg/0.02 kg)。因为每 2 d 进行一次染毒, 则每

次染毒量应为 2.916 mg·kg⁻¹ (≈3 mg·kg⁻¹)。

2.5 HE 染色组织学分析

将小鼠处死后, 立即取出心脏组织, 在 4% 的多聚甲醛中固定, 用常规梯度酒精和二甲苯脱水, 用石蜡包埋。组织切成 5 μm 厚的切片常规脱蜡烘干后, 苏木素染色, 蒸馏水洗涤, 氨水反蓝 30 s, 蒸馏水洗涤; 伊红染色 3 min, 蒸馏水洗涤; 脱水, 晾干, 封片, 显微镜下观察并拍照。使用 IPWIN32 软件进行分析, 以细胞核面积与细胞质面积之比量化得到心肌细胞核质比。

2.6 总 RNA 的提取与荧光定量 PCR

取 80~100 mg 心脏组织或 1×10⁶ 个 H9C2 细胞, 用 Trizol 匀浆提取总 RNA, 通过测定 RNA 在 260 nm 处的吸光度来定量。使用 Prime ScriptTM 反转录试剂盒将提取的 RNA 反转录成 cDNA 于 -80 °C 条件下储存备用。使用荧光定量 PCR 仪进行 PCR 反应, 所需引物均采用 Primer Premier 5.0 软件进行设计, 所用引物的序列见表 1。

PCR 反应总体积为 20 μL, 其中含有 1 μL cDNA, 10 μL SYBR Premix Ex Taq, 上、下游引物各 1 μL 和 7 μL dd H₂O。反应条件为: 95 °C 预变性 3 min; 95 °C 变性 20 s, 55 °C 退火 20 s, 72 °C 延伸 20 s, 扩增 45 个循环。所有 PCR 扩增片段的大小均经过溴化乙啶染色的琼脂糖凝胶电泳证实, 最终结果以目的基因与内参基因 GAPDH 表达的比值来表示。

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
rat-GAPDH	NM_017008	5'-ATGTATCCGTTGGATCTGAC-3'	5'-CCTGCTTCAACCACCTTCTTG-3'
rat-ANP	NM_012612	5'-GCCACTGAGAGGTGGTGAAT-3'	5'-GCAGACTGGAGAGGTAAGG-3'
rat-β-MHC	NM_017240	5'-CTACCCAACCTAACGGATGCC-3'	5'-GTGTTCTGCCTAACGGTGCTG-3'
rat-TGF-β	NM_021578	5'-GCGGACTACTACGCCAAAGA-3'	5'-GTATCAGTGGGGTCAGCAG-3'
rat-MMP2	NM_031054.2	5'-GTTATGAGACCTTGAGCCCG-3'	5'-CCAATCGTGCCTCCATCCTT-3'
rat-MMP9	NM_031055.1	5'-TATGGTTACACTCGGGCAGC-3'	5'-CTGAACCATCAGCAAACCGG-3'
mice-GAPDH	NM_008084	5'-CTTGGCATTGTGGAAGGGC-3'	5'-CAGGGATGATGTTCTGGGCA-3'
mice-ANP	NM_008725.2	5'-GCTTCGGGGTAGGATTGAC-3'	5'-CACACCACAAGGGCTTAGGA-3'
mice-β-MHC	NM_080728.2	5'-TCTTGTGCTACCCAGCTCCA-3'	5'-TTCCACCTAAAGGGCTGTGC-3'

2.7 数据统计学处理

用 SPSS 统计软件进行数据统计分析, 用 Origin 软件作图, 结果以均值±标准误 (mean ±SE) 的形式来表示, 用 t 检验和 One way ANOVA 法检验各处理组与相应回照组的显著性差异。

3 结果 (Results)

3.1 不同季节 PM_{2.5} 暴露对 H9C2 细胞中 TGF-β 和 ANP 的 mRNA 转录水平的影响

由图 1 可知, 不同季节的 PM_{2.5} 暴露后, 秋季和

冬季PM_{2.5}可致小鼠心肌细胞中ANP的mRNA转录

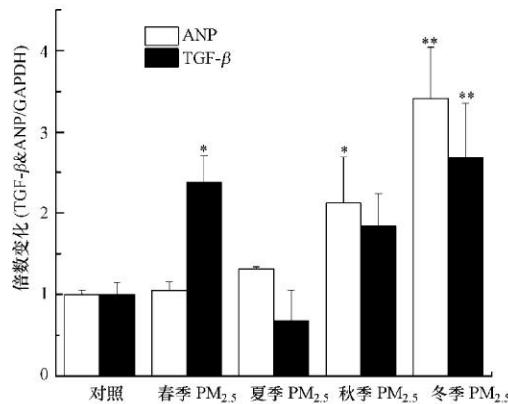


图1 不同季节PM_{2.5}暴露对H9C2细胞中TGF-β和ANP的mRNA转录水平的影响(One-way ANOVA test, n=3~6,与对照组相比,* p<0.05, ** p<0.01)

Fig.1 Effects of PM_{2.5} from different seasons exposure on mRNA levels of TGF-β and ANP in H9C2 cells

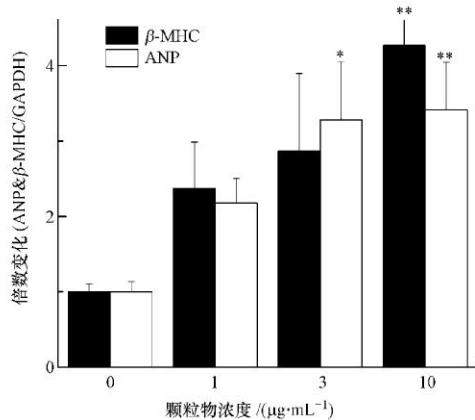


图2 不同浓度冬季PM_{2.5}暴露对H9C2细胞中β-MHC、ANP、MMP2和MMP9的mRNA转录水平的影响

Fig.2 Effects of winter PM_{2.5} at different concentrations on mRNA transcription levels of ANP, β-MHC, MMP2 and MMP9 in H9C2 cells

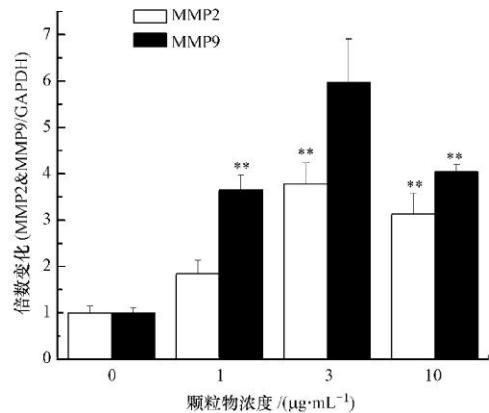
3.3 PM_{2.5}暴露对不同年龄小鼠体重的影响

染毒期间观察了实验动物颗粒物染毒后的精神状态、饮食情况、活动及体重变化等,发现PM_{2.5}组

水平显著上升,分别为对照组的2.12和3.41倍.而小鼠心肌细胞中TGF-β的mRNA转录水平则在春季和冬季上升显著,分别为对照组的2.37和2.69倍.综上表明,冬季PM_{2.5}的毒性效应最为显著.

3.2 不同浓度冬季PM_{2.5}暴露对H9C2细胞中ANP、β-MHC、MMP2和MMP9的mRNA转录水平的影响

由图2可知,不同浓度的冬季PM_{2.5}暴露后,小鼠心肌细胞中ANP、β-MHC、MMP2和MMP9的mRNA转录水平均上升,且有明显的剂量效应关系.其中,β-MHC和ANP在PM_{2.5}浓度为10 μg·mL⁻¹时上升趋势最为显著,分别为对照组的4.26和3.41倍.基质金属蛋白酶MMP2的mRNA转录水平在PM_{2.5}浓度为3和10 μg·mL⁻¹时均显著上升,分别为对照组的3.13和3.78倍.基质金属蛋白酶MMP9的mRNA转录水平在PM_{2.5}浓度为1、3、10 μg·mL⁻¹时均显著上升,分别为对照组的3.64、4.04、5.97倍.



在染毒期间出现了活动减少、精神稍差、静伏少动及体重降低等情况(表2).

表2 不同年龄小鼠体重

Table 2 Body weight of mice at different ages

组别	4周龄		4月龄		10月龄	
	对照组	PM _{2.5} 组	对照组	PM _{2.5} 组	对照组	PM _{2.5} 组
体重/g	18.75±0.63	18.29±0.42	19.14±0.59	19.71±0.87	29.43±0.37	24.86±0.94 ***

注:T test, n=6~7,与对照组相比,*** p<0.001.

3.4 PM_{2.5}暴露对不同年龄小鼠心肌细胞核质比的影响

H&E染色结果显示(图3a),不同年龄的

C57BL/6雌性小鼠经3 mg·kg⁻¹PM_{2.5}暴露4周后,心肌纤维均出现不同程度的增粗并趋于紊乱,心肌细胞胞浆染色变淡.根据核质比结果分析可知

(图3b),与对照组相比,PM_{2.5}暴露后,4周龄和10月龄小鼠的心肌细胞核质比显著降低,4月龄小鼠

心肌细胞核质比与对照组相比变化不显著,表明PM_{2.5}暴露可导致幼年和老年小鼠产生心肌肥大.

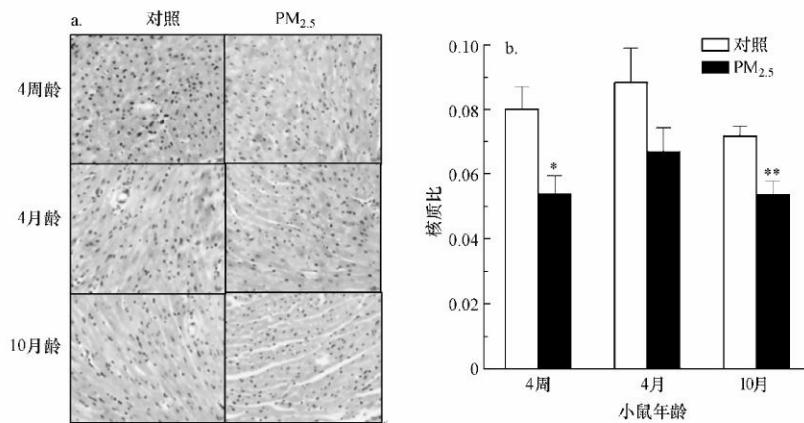


图3 PM_{2.5}暴露对不同年龄小鼠心肌细胞核质比的影响(T test, n=6, 与对照组相比, * p<0.05, ** p<0.01, 下同)

Fig.3 Effects of PM_{2.5} exposure on nucleoplasmic ratio of cardiomyocytes in mice at different ages

3.5 PM_{2.5}暴露对不同年龄小鼠心肌肥大生物标志物 ANP 和 β -MHC 的 mRNA 转录水平的影响

如图4所示,PM_{2.5}暴露4周后,老年小鼠的ANP 和 β -MHC 的 mRNA 表达水平显著升高,分别

为各自对照组的3.94和3.39倍.幼年和中年小鼠ANP 和 β -MHC 的 mRNA 表达水平与对照组相比无显著性差异.

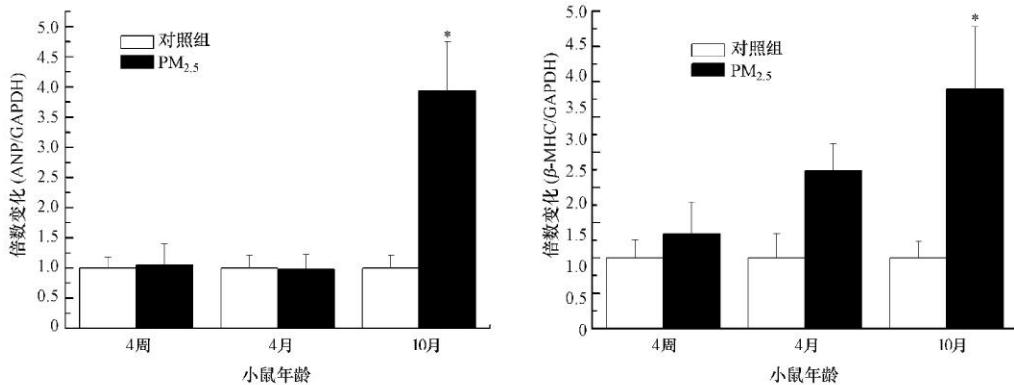


图4 PM_{2.5}暴露对不同年龄小鼠心肌肥大生物标志物 ANP 和 β -MHC 的 mRNA 转录水平的影响

Fig.4 Effects of PM_{2.5} exposure on mRNA transcription levels of cardiac hypertrophic biomarkers ANP and β -MHC in mice at different ages

4 讨论(Discussion)

心肌肥厚是心脏为适应血流动力学过负荷而发生的增生.虽然早期心肌肥厚有利于维持正常的心功能,但由于心肌肥厚本身也可增加心肌耗氧量,故长时间会导致心力衰竭,增加猝死发生率(Hunter et al., 1999).心肌肥厚是许多心脏疾病发展的一个重要阶段,早前有流行病学研究证明,长期暴露于PM_{2.5}与左心室心肌肥大有关(Ying et al.,

2009).左心室心肌肥大是一种高血压患者常见的心血管并发症,并且在高血压经过治疗后,仍是充血性心力衰竭的常见原因.课题组最近的研究发现,PM_{2.5}暴露会显著提高老年小鼠血压,降低老年小鼠的心脏射血分数(EF),并且显著影响老年小鼠的心脏收缩功能(Qin et al., 2018).本研究通过H&E染色后的核质比分析表明,PM_{2.5}暴露后,幼年和老年的小鼠与对照组相比均产生了显著的心肌肥大,中年小鼠的现象并不显著.

国内的一项研究表明,心肌梗死后心肌细胞中TGF- β 表达增高,且可能在心室重塑和心肌炎性修复过程中起重要作用(刘英等,2005)。Rooij等(2006)研究发现,心肌肥大的特征在于细胞大小的增加、蛋白质合成的增强、肌节的组装和胎儿基因的再激活.ANP是一种心脏特异性激素,存储在心房中并随着心房舒张而释放.在心肌肥大发生时,ANP基因的表达会明显上调.贺擎等(2012)的研究结果表明,冬季和夏季PM₁₀和PM_{2.5}均明显抑制A549细胞的细胞活力,导致ROS生成升高.颗粒物细胞毒性夏季大于冬季,但2001—2004年关于上海地区的研究发现,冬季PM₁₀对死亡率的影响明显高于夏季(Kan et al., 2008),这提示我们不同季节颗粒物毒性可能与其组分和来源有关.本研究利用太原市不同季节的PM_{2.5}对H9C2染毒发现,与对照组相比,冬季PM_{2.5}染毒组的H9C2细胞中ANP和TGF- β 的mRNA转录水平上升趋势最为显著,表示冬季PM_{2.5}诱导心肌肥大的可能性最大.

胎儿时期表达的 β -MHC基因的重新表达也是病理性心脏肥大的另一标志物(Pandya et al., 2006).研究表明,肥厚型心肌病(HCM)与 β -肌球蛋白重链的基因座(MYH7)有关(Fananapazir et al., 1993).MMPs是酶家族的成员,因其能特异地降解细胞外基质且其活性位点中需要锌离子用于催化活性而得名(Malemud et al., 2006).最近研究发现,终末期心力衰竭患者的MMP种类不均匀增加,这表明在心力衰竭患者中表达了特定的MMP组合.通过使用心力衰竭的动物模型,也已经证明了关于心肌MMP表达和左心室重塑过程的机制关系(Spinale et al., 2002).在动脉粥样硬化斑块破裂损伤区MMPs活性也明显升高(Galis et al., 1994).在本研究中,利用太原市冬季不同浓度的PM_{2.5}对H9C2染毒后发现,与对照组相比,较高浓度的冬季颗粒物可诱导ANP、 β -MHC、MMP2和MMP9的mRNA水平显著升高.

流行病学和毒理学的研究都发现,颗粒物暴露会对人体健康产生危害,很多因素可能加重这些危害,包括性别(Chen et al., 2005)、年龄(特别是儿童和老年人)、心血管或呼吸系统疾病患者、遗传多态性和社会经济状况等(Sacks et al., 2011).本研究通过对不同鼠龄的雌性小鼠进行PM_{2.5}暴露,探讨了不同年龄对PM_{2.5}诱发心肌肥大标志物的影响.有研究发现,颗粒物可以使女性患心血管疾病的风险增

加,但在男性中并未发现此现象(Chen et al., 2005,王欣等,2010).阚海东等的一项重复性时间序列研究结果表明,女性的PM相关的心血管死亡率更高(Kan et al., 2008).因此,本研究选择了雌性小鼠作为研究对象,但PM_{2.5}诱发不同性别的小鼠心肌肥大标志物效应是否有差异仍然有待研究.由于生理差异,儿童和老年人可能比一般人群更容易受到PM诱导的影响.已有研究表明,同样的PM暴露水平,儿童可能比成人更容易受到不良影响,因为儿童在户外活动的时间更长(Wilson et al., 2004).同时,老年人由于已存在的心血管和呼吸系统疾病,通常也被认为是易感人群(Spinale et al., 2002).本研究也发现,对不同年龄的小鼠进行相同条件的PM_{2.5}暴露之后,幼年和老年小鼠更为敏感,尤其是老年小鼠的效应尤为显著.但也有研究对成年的C57BL/6小鼠进行了长达6个月的柴油废气暴露,并未发现其对心肌肥大和心脏功能有影响(Liu et al., 2013),这一研究也强调了环境PM_{2.5}颗粒组分在毒性作用中的重要性.结合之前的分析,这些都提示有必要在进一步的研究中着重于颗粒物组分与心脏毒性的关系.

本研究结果表明,太原市冬季PM_{2.5}毒性作用强于夏季PM_{2.5},且PM_{2.5}浓度为10 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 作用于H9C2细胞时,心肌肥大标志物ANP和 β -MHC,以及基质金属蛋白酶MMP2和MMP9的mRNA升高最为显著;PM_{2.5}暴露可以引起幼年和老年小鼠产生心肌肥大,并使老年小鼠的ANP和 β -MHC的表达水平显著升高.本研究结果为大气污染诱发的心肌肥大的预防和治疗提供了理论基础.但实验也存在有一定的局限性,该研究并未对心肌肥大相关蛋白的表达进行研究,并未对PM_{2.5}致心肌肥大的关键组分及分子机制进行深入研究,在下一步工作中将对PM_{2.5}中的关键组分及其导致心肌肥大的分子机制进行深入研究.

5 结论(Conclusions)

- 1) 太原市冬季PM_{2.5}诱导心肌肥大相关因子TGF- β 和ANP的mRNA水平增加最为显著.
- 2) 太原市冬季PM_{2.5}诱导心肌肥大相关因子mRNA水平的增加具有明显的剂量效应关系.
- 3) 老年小鼠对太原市冬季PM_{2.5}诱导心肌肥大最为敏感,其次为幼年小鼠.

责任编辑简介：秦国华（1977—），女，教授，博士，主要从事环境与健康方面的研究，发表论文50余篇。

参考文献(References)：

- Bell M L, Ebisu K, Peng R D, et al. 2008. Seasonal and regional short-term effects of fine particles on hospital admissions in 202 US counties, 1999–2005 [J]. *American Journal of Epidemiology*, 168 (11) : 1301–1310
- Brook R D, Rajagopalan S, Pope C A, et al. 2010. Particulate matter air pollution and cardiovascular disease an update to the scientific statement from the american heart association [J]. *Circulation*, 121 (21) : 2331–2378
- Cuspidi C, Negri F, Sala C, et al. 2012. Age related prevalence of severe left ventricular hypertrophy in essential hypertension: echocardiographic findings from the ETODH study [J]. *Blood Press*, 21 (3) : 139–145
- Chen L H, Knutson S F, Shavlik D, et al. 2005. The association between fatal coronary heart disease and ambient particulate air pollution: Are females at greater risk? [J]. *Environmental Health Perspectives*, 113 (12) : 1723–1729
- Dockery D W, Xu X, Spengler J D, et al. 1993. An association between air pollution and mortality in six U.S.cities [J]. *New England Journal of Medicine*, 329 (24) : 1753–1759
- 董晨, 曹强, 宋伟民. 2006. 大气PM_{2.5}对自发性高血压大鼠心脏的急性毒作用 [J]. 环境与职业医学, 23 (2) : 96–99
- Fananapazir L, Dalakas M C, Cyran F, et al. 1993. Missense mutations in the beta-myosin heavy-chain gene cause central core disease in hypertrophic cardiomyopathy [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 90 (9) : 3993, DOI: 10.1073/pnas.90.9.3993
- Galis Z S, Sukhova G K, Lark M W, et al. 1994. Increased expression of matrix metalloproteinases and matrix degrading activity in vulnerable regions of human atherosclerotic plaques [J]. *Journal of Clinical Investigation*, 94 (6) : 2493–2503
- Hunter J J, Chien K R. 1999. Signaling pathways for cardiac hypertrophy and failure [J]. *The New England Journal of Medicine*, 341 (17) : 1276–1283
- 贺擎, 丁文军, 范魏, 等. 2012. 冬季和夏季PM₁₀和PM_{2.5}人肺上皮细胞A549毒性的比较 [J]. 中国科学院大学学报, 29 (3) : 324–331
- Kan H, London S J, Chen G, et al. 2008. Season, sex, age, and education as modifiers of the effects of outdoor air pollution on daily mortality in shanghai, China: The public health and air pollution in asia (PAPA) study [J]. *Environmental Health Perspectives*, 116 (9) : 1183–1188
- 刘英, 廖玉华, 程翔, 等. 2005. 急性心肌梗死后心脏TGF-β1的表达和心室重塑 [J]. 中国病理生理杂志, 21 (12) : 2305–2309
- Liu Y, Chien W M, Medvedev I O, et al. 2013. Inhalation of diesel exhaust does not exacerbate cardiac hypertrophy or heart failure in two mouse models of cardiac hypertrophy [J]. *Particle & Fibre Toxicology*, 10 (1) : 49
- Malemud C J. 2006. Matrix metalloproteinases (MMPs) in health and disease: An overview [J]. *Front Biosci*, 11 (2) : 1696–1701
- Pope R C, Burnett R T, Thurston G D, et al. 2004. Cardiovascular mortality and long-term exposure to particulate air pollution: epidemiological evidence of general pathophysiological pathways of disease [J]. *Circulation*, 109 (1) : 71–77
- Pandya K, Kim H S, Smithies O. 2006. Fibrosis, not cell size, delineates β-myosin heavy chain reexpression during cardiac hypertrophy and normal aging in vivo [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103 (45) : 16864–16869
- Qin G H, Xia J, Zhang Y Y, et al. 2018. Ambient fine particulate matter exposure induces reversible cardiac dysfunction and fibrosis in juvenile and older female mice [J]. *Particle and Fibre Toxicology*, 15 : 27
- Rooij E V, Sutherland L B, Liu N, et al. 2006. A signature pattern of stress-responsive microRNAs that can evoke cardiac hypertrophy and heart failure [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103 (48) : 18255–18260
- 任艳军, 李秀央, 金明娟, 等. 2006. 大气颗粒物污染与心血管疾病死亡的病例交叉研究 [D]. 杭州: 浙江大学
- Spinale F G. 2002. Matrix metalloproteinases regulation and dysregulation in the failing heart [J]. *Circulation Research*, 90 (5) : 520–530
- Sacks J D, Stanek L W, Luben T J, et al. 2011. Particulate matter-induced health effects: Who is susceptible? [J]. *Environmental Health Perspectives*, 119 (4) : 446–454
- Tao J, Gao J, Zhang L, et al. 2014. Pm_{2.5} pollution in a megacity of southwest China: Source apportionment and implication [J]. *Atmospheric Chemistry & Physics*, 14 (4) : 8679–8699
- Wilson W, Claiborn C S, Hemming B L. 2004. Air quality criteria for particulate matter [R]. EPA 600/P-99/002aF-bF 2004. Washington, D.C: U.S.Environmental Protection Agency
- 王欣, 邓芙蓉, 吴少伟, 等. 2010. 北京市某区大气可吸入颗粒物和细颗粒物对儿童肺功能的短期影响 [J]. 北京大学学报(医学版), 42 (3) : 340–344
- Younes A, Boluyt M O, O'Neill L, et al. 1995. Age-associated increase in rat ventricular ANP gene expression correlates with cardiac hypertrophy [J]. *American Journal of Physiology*, 269 (3 Pt 2) : H1003
- Ying Z, Yue P, Xu X, et al. 2009. Air pollution and cardiac remodeling: a role for RhoA/Rho-kinase [J]. *American Journal of Physiology*, 296 (1) : H1540
- Zhang Y, Ji X, Ku T, et al. 2016. Heavy metals bound to fine particulate matter from northern China induce season-dependent health risks: A study based on myocardial toxicity [J]. *Environmental Pollution*, 216 : 380–390