

# 环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第39卷 第5期

Vol.39 No.5

**2018**

中国科学院生态环境研究中心 主办  
科学出版社 出版



目次

|                                                      |                                                                            |
|------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------|
| 餐饮行业细颗粒物(PM <sub>2.5</sub> )排放测算方法:以上海市为例            | 王红丽, 景盛翱, 楼晟荣, 陶士康, 乔利平, 李莉, 黄成, 林立, 陈长虹 (1971)                            |
| 上海夏季PM <sub>2.5</sub> 中有机物的组分特征、空间分布和来源              | 高雅琴, 王红丽, 景盛翱, 乔利平, 李莉, 朱书慧, 楼晟荣, 陶士康, 冯加良, 李想, 陈长虹 (1978)                 |
| 北京南郊区PM <sub>2.5</sub> 中水溶性无机盐季节变化及来源分析              | 高韩钰, 魏静, 王跃思 (1987)                                                        |
| 基于样方法的天津市春季道路扬尘PM <sub>10</sub> 中水溶性离子特征及来源解析        | 赵静琦, 姬亚芹, 张蕾, 王士宝, 李越洋 (1994)                                              |
| 广州秋季HONO污染特征及夜间来源分析                                  | 田智林, 杨闻达, 虞小芳, 张曼曼, 张贺伟, 程丁, 程鹏, 王伯光 (2000)                                |
| 基于硫氧同位素研究南京北郊夏季大气中硫酸盐来源及氧化途径                         | 韩珣, 任杰, 陈善莉, 王瑾瑾, 沈潇雨, 魏英, 郭照冰, 朱彬 (2010)                                  |
| 区县尺度机动车高分辨率排放清单建立方法及应用                               | 樊守彬, 郭津津, 李雪峰 (2015)                                                       |
| 典型工业生物质锅炉多环芳烃排放特征                                    | 林玉君, 白莉, 王焕香, 肖文, 刘军, 向运荣, 张春林 (2023)                                      |
| 多时间尺度HSPF模型参数不确定性研究                                  | 庞树江, 王晓燕, 马文静 (2030)                                                       |
| 氮氧同位素联合稳定同位素模型解析水源地氮源                                | 金赞芳, 张文辽, 郑奇, 朱晨阳, 李非里 (2039)                                              |
| 白洋淀水体挥发性有机物污染特征与风险评价                                 | 高秋生, 赵永辉, 焦立新, 田自强, 杨柳, 杨苏文, 崔志丹, 郝子峰 (2048)                               |
| 太湖颗粒态有机质的荧光特征及环境指示意义                                 | 吕伟伟, 姚昕, 张保华, 刘延龙, 李元鹏 (2056)                                              |
| 长江口滩涂表层沉积物中微塑料的分布及沉降特点                               | 朱晓桐, 衣俊, 强丽媛, 程金平 (2067)                                                   |
| 桂林五里峡水库丰水期溶解有机碳特征                                    | 卢晓漩, 李强, 靳振江, 彭文杰, 房君佳, 黄炳惠, 宋昂 (2075)                                     |
| 青藏高原多年冻土区典型植被下河流溶解性有机碳的生物可利用性                        | 马小亮, 刘桂民, 吴晓东, 徐海燕, 叶琳琳, 张晓兰, 白炜 (2086)                                    |
| 城郊与城镇河流中溶解性有机质与重金属的相关性                               | 梁梦琦, 邵美玲, 曹昌丽, 纵亚男, 唐剑锋 (2095)                                             |
| 溶解性有机质在岩溶水系统中的迁移转化及影响因素分析                            | 张连凯, 刘朋雨, 覃小群, 单晓静, 刘文, 赵振华, 姚昕, 邵明玉 (2104)                                |
| 三峡库区澎溪河回水区溶解态金属离子来源和时空分布特征分析                         | 赵晓松, 蔚建军, 付莉, 姜伟, 周川, 李波, Douglas Haffner, Christopher Weisener, 张磊 (2117) |
| 澜沧江流域沉积物间隙水-上覆水营养盐特征与交换通量分析                          | 望雪, 程豹, 杨正健, 刘德富, 徐雅倩 (2126)                                               |
| 蓄水期三峡水库香溪河沉积物-水系统营养盐分布特征                             | 苏青青, 刘德富, 纪道斌, 宋林旭, 崔玉洁, 李欣, 陈秀秀, 刘心愿 (2135)                               |
| 两种沉水植物对上覆水和间隙水中各形态磷的影响                               | 杨文斌, 高顺峰, 万锐, 孙祥, 王赢 (2145)                                                |
| 于桥水库沉积物-水界面氮磷剖面特征及交换通量                               | 文帅龙, 龚琬晴, 吴涛, 郑小兰, 江雪, 李鑫, 钟继承 (2154)                                      |
| 岷江干流表层沉积物中磷形态空间分布特征                                  | 杨耿, 秦延文, 韩超南, 马迎群, 刘志超, 杨晨晨 (2165)                                         |
| 农业排水沟渠硝态氮吸收动力学特征及相关性分析                               | 李如忠, 殷齐贺, 高苏蒂, 陈广洲 (2174)                                                  |
| 不同合成条件对ZnAl-LDHs覆膜改性生物陶粒除磷效果的影响                      | 向洋, 张翔凌, 雷雨, 方晨佳, 袁野, 姜应和, 徐舟影 (2184)                                      |
| 真空紫外/过二硫酸盐去除饮用水中嗅味物质                                 | 孙昕, 史路肖, 张燧, 杨煜, 唐晓 (2195)                                                 |
| 石墨烯负载铁锰氧化物活化过一硫酸盐降解金橙G                               | 夏文君, 刘峰, 郝尚斌, 黄天寅, 王忠明, 陈家斌 (2202)                                         |
| 载铜或铈生物炭吸附水体中As(V)的作用机制                               | 李锦, 祖艳群, 李刚, 孙国新 (2211)                                                    |
| DOM不同相对分子质量组分在无机矿物上的吸附及其对卡马西平吸附的影响实验                 | 梁雨, 何江涛, 张思 (2219)                                                         |
| 污水处理厂中有机磷阻燃剂的污染特征                                    | 孙佳薇, 丁炜楠, 张占恩, 王俊霞, 顾海东 (2230)                                             |
| 低温污水前置强化混凝                                           | 刘海龙, 任宇霞, 张忠民 (2239)                                                       |
| 印染废水反渗透脱盐系统运行性能及膜污堵特性                                | 谭玉琨, 张泽田, 吴乾元, 姚颖, 胡洪营, 丘培文 (2249)                                         |
| 生物膜CANON反应器性能的优化:从FBBR到MBBR                          | 付昆明, 李慧, 周厚田, 仇付国 (2256)                                                   |
| 两次污泥颗粒化过程中微生物群落的动态变化                                 | 高景峰, 张丽芳, 张树军, 高永青, 王时杰, 樊晓燕, 潘凯玲 (2265)                                   |
| 铝、铁、钛3种金属盐基混凝剂调理污泥的性能比较                              | 王晓萌, 王鑫, 杨明辉, 张淑娟 (2274)                                                   |
| 热、热碱处理对污泥溶胞和溶解性有机物的影响                                | 代勤, 张文哲, 于潘芬, 易皓, 刘俊新, 肖本益 (2283)                                          |
| 曝气时间比对亚硝化颗粒污泥形成的影响                                   | 李冬, 郭跃洲, 曹美忠, 劳会妹, 李帅, 张杰 (2289)                                           |
| 中国城市污泥中汞含量的时空分布特征                                    | 王宁, 刘清伟, 职音, 程柳, 麻冰涓, 毛宇翔 (2296)                                           |
| 夏季太湖湖/藻型湖区N <sub>2</sub> O生成与迁移特征及其影响因素              | 郑小兰, 文帅龙, 李鑫, 龚琬晴, 刘德鸿, 钟继承 (2306)                                         |
| 太湖藻型湖区CH <sub>4</sub> 、CO <sub>2</sub> 排放特征及其影响因素分析  | 贾磊, 蒲旖旎, 杨诗俊, 苏荣明珠, 秦志昊, 张弥 (2316)                                         |
| 内蒙古典型草原季节性冻土区土壤剖面CO <sub>2</sub> 、N <sub>2</sub> O特征 | 李晋波, 姚楠, 李秀, 赵英, 张阿凤, 兰志龙, 范庭 (2330)                                       |
| 黄土高原成龄苹果园生态系统CO <sub>2</sub> 通量特征                    | 杨剑锋, 杨小妮, 王俊花, 段宇敏, 祁香宁, 张林森 (2339)                                        |
| 生物炭施用对紫色水稻土温室气体排放的影响                                 | 祁乐, 高明, 郭晓敏, 牛海东, 李婷, 孙涛, 曹群岭, 汤铭豪 (2351)                                  |
| 不同施肥处理对东北黑土温室气体排放的短期影响                               | 李平, 郎漫, 李森, 魏玮, 李凯凯 (2360)                                                 |
| ITS高通量测序研究黄海微型真核浮游生物多样性及分布特征                         | 张莉, 林佳宁, 张远, 王书平, 张晓娇 (2368)                                               |
| 不同排海方式城市尾水微生物扩散规律                                    | 郎秀璐, 宋志文, 徐爱玲, 牛成洁, 郭明月 (2380)                                             |
| 旅游活动对岩溶洞穴地下水中细菌群落的影响:以重庆丰都两个洞穴为例                     | 吕现福, 贺秋芳, 王凤康, 赵瑞一, 张弘 (2389)                                              |
| 不同沼灌年限稻田土壤微生物群落分析                                    | 朱金山, 张慧, 马连杰, 廖敦秀, 杨星勇, 王龙昌, 王定勇 (2400)                                    |
| 生物炭对褐土理化特性及真菌群落结构的影响                                 | 阎海涛, 殷金玉, 丁松爽, 任天宝, 许家来, 宗浩, 高强, 刘国顺 (2412)                                |
| 铅锌尾矿砂污染下的岩溶土壤微生物群落碳源代谢特征                             | 房君佳, 李强, 刘畅, 靳振江, 梁月明, 黄炳惠, 卢晓漩, 彭文杰 (2420)                                |
| 湖库沉积物好氧反硝化菌群脱氮特性及种群结构                                | 康鹏亮, 张海涵, 黄廷林, 陈胜男, 商潘路, 冯稷, 贾亮宇 (2431)                                    |
| 反硝化菌群的氮代谢与反硝化偶联机制                                    | 张泽宇, 王明霞, 程永毅, 周志峰 (2438)                                                  |
| 广西西江流域土壤铅空间分布与污染评价                                   | 张云霞, 宋波, 陈同斌, 伏凤艳, 黄飞, 庞瑞, 潘惠妹 (2446)                                      |
| 三峡库区消落带农业活动对土壤汞变化的影响                                 | 陈秋禹, 孙松, 尹德良, 王永敏, 张成, 王定勇 (2456)                                          |
| 水稻不同生长时期不同组织中抗砷内生菌的筛选与鉴定                             | 王伯勋, 王学东, 段桂兰 (2464)                                                       |
| 汞在酸性紫色水稻土的转化与水稻汞富集特征                                 | 李雨岑, 孙涛, 邓晗, 张成, 王永敏, 王定勇 (2472)                                           |
| 华北平原不同生产模式设施蔬菜生命周期环境影响评价                             | 徐强, 胡克林, 李季, 韩卉, 杨合法 (2480)                                                |
| 基于细菌毒性测试与小鼠肺基因转录分析的PM <sub>2.5</sub> 健康效应            | 宋鹏程, 陆书玉, 魏永杰, 陈倩倩, 罗丽娟 (2489)                                             |
| 中国PM <sub>2.5</sub> 污染空间分布的社会经济影响因素分析                | 段杰雄, 翟卫欣, 程承旗, 陈波 (2498)                                                   |

# 基于细菌毒性测试与小鼠肺基因转录分析的 PM<sub>2.5</sub> 健康效应

宋鹏程<sup>1</sup>, 陆书玉<sup>1,2\*</sup>, 魏永杰<sup>3</sup>, 陈晓倩<sup>4</sup>, 罗丽娟<sup>5</sup>

(1. 东华大学环境科学与工程学院, 上海 201620; 2. 上海市环境科学学会, 上海 200003; 3. 中国环境科学研究院, 北京 100012; 4. 上海市检测中心, 上海 201203; 5. 上海市辐射环境监督站, 上海 200065)

**摘要:** 尽管大量流行病学和毒理学研究表明, PM<sub>2.5</sub>暴露会导致一系列肺部疾病, 但是其毒性机制尚不明确. 本研究选取不同浓度梯度 PM<sub>2.5</sub> 颗粒物样品进行细菌毒性评价, 结果显示颗粒物的发光细菌急性毒性、遗传毒性分别为低毒和阴性. 此外, 采用气管灌注方法模拟小鼠呼吸暴露, 研究了肺脏病理改变及差异基因表达. 肺脏病理切片分析显示, PM<sub>2.5</sub>暴露造成肺组织不同程度炎症反应和纤维化损伤, 并呈现浓度越高、损伤程度越明显的现象. 通路分析发现 PM<sub>2.5</sub>暴露影响到核糖体蛋白功能、脂肪酸与胆固醇代谢功能的正常表达, 提示肺部炎症反应源于基因损害, 其造成的损害后果可能是不可逆的. GO 聚类分析发现免疫功能发生聚类富集, 相关基因功能异常表达可能是造成肺部炎症的具体路径. 这些发现有助于了解 PM<sub>2.5</sub>暴露危害路径和机制.

**关键词:** PM<sub>2.5</sub>; 急性毒性; 遗传毒性; 转录组分析; 差异基因

中图分类号: X171.5 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2018)05-2489-09 DOI: 10.13227/j.hjkk.201709201

## Health Effects of PM<sub>2.5</sub> Based on Bacterial Toxicity Test and Transcriptional Analysis in Lungs of Mice

SONG Peng-cheng<sup>1</sup>, LU Shu-yu<sup>1,2\*</sup>, WEI Yong-jie<sup>3</sup>, CHEN Xiao-qian<sup>4</sup>, LUO Li-juan<sup>5</sup>

(1. College of Environmental Science and Engineering, Donghua University, Shanghai 201620, China; 2. Shanghai Society of Environmental Sciences, Shanghai 200003, China; 3. Chinese Research Academy of Environmental Sciences, Beijing 100012, China; 4. Shanghai Academy of Public Measurement, Shanghai 201203, China; 5. Shanghai Radio-Environment Supervision Agency, Shanghai 200065, China)

**Abstract:** Although epidemiology and toxicology studies have demonstrated that exposure to ambient air particles could result in a variety of lung diseases, but the pulmonary toxicological mechanism remains obscure. In this study, the toxicity of PM<sub>2.5</sub> particles in different concentrations was investigated by toxicological methods, including the luminescent bacteria acute toxicity test and genotoxicity performed by SOS chromogenic reaction. The results indicated that, the acute toxicity and genotoxicity were low and negative, respectively. In addition, rats were treated with PM<sub>2.5</sub> suspension through intratracheal instillation, and the pathologic changes and expression of different genes in their lungs were carried out. We found that PM<sub>2.5</sub> exposure resulted in fibrotic changes and inflammation in the lung with the increase in PM<sub>2.5</sub> concentration. Pathway analysis indicated that PM<sub>2.5</sub> can induce pulmonary toxicity through disturbing the function of ribosomal protein, fatty acids, and cholesterol metabolism, suggesting an inflammatory reaction in the lung is caused by genetic damage and is irreversible. A gene ontology analysis revealed that abnormal expression of related genes in the immune response could be the specific pathway of lung inflammation. These findings improve our understanding of the toxicological pathway and mechanism of PM<sub>2.5</sub> exposure.

**Key words:** PM<sub>2.5</sub>; acute toxicity; genotoxicity; transcriptome profiling; differential gene

PM<sub>2.5</sub>具有比表面积大、粒径小的特点, 易于富集重金属、有机毒物(二噁英、PAHs)、细菌、病毒等有毒有害物质, 并在呼吸道和肺泡中沉积<sup>[1]</sup>. 流行病学和毒理学研究证实, 人体长期暴露于 PM<sub>2.5</sub> 污染环境中会增加肺癌、呼吸道疾病以及动脉硬化等疾病的发病率<sup>[2,3]</sup>. 短时间暴露于高浓度 PM<sub>2.5</sub> 环境, 会造成一些呼吸道疾病的加重, 如支气管炎和哮喘等, 同时也可能影响肺活量、心率变异等生理体征<sup>[4,5]</sup>. 颗粒物污染, 尤其是 PM<sub>2.5</sub> 污染, 对老

人、小孩或已经有呼吸系统和心血管疾病的易感人群影响较大<sup>[6]</sup>, 高浓度 PM<sub>2.5</sub> 暴露对呼吸系统疾病有促进作用<sup>[7]</sup>. 近年来, 一些细菌、动物被作为研究模型参与到环境毒性研究中, 如发光细菌水质毒性检测<sup>[8]</sup>、小鼠颗粒物暴露研究<sup>[9]</sup>. 但是 PM<sub>2.5</sub> 的

收稿日期: 2017-09-22; 修订日期: 2017-10-31

基金项目: 上海市环境保护局环保科研项目专项(沪环科 2013 第 79 号, 沪环科 2014 第 38 号)

作者简介: 宋鹏程(1987~), 男, 博士研究生, 主要研究方向为大气污染控制及评价, E-mail: penches@163.com

\* 通信作者, E-mail: sisrlu@126.com

细菌毒性却鲜有研究,健康危害作用机制尚未完全揭示<sup>[10]</sup>.在不同气象、污染排放条件下,PM<sub>2.5</sub>吸附的毒物种类、浓度也会有明显区别,这是难以有效开展组分浓度与毒性效应定量关系研究的重要原因. Aammi 等<sup>[11]</sup>采用发光细菌 *Vibrio fischeri*、SOS 显色反应方法评估了伊斯坦布尔不同工业特征区域的大气颗粒物的急性毒性、基因毒性,并发现毒性效应与季节、采样区位有显著的关联.

有研究表明,PM<sub>2.5</sub>暴露危害机制主要是由于炎症、氧化应激和基因毒性带来的不良影响<sup>[3]</sup>,其中基因毒性主要包括氧化性 DNA 损伤及基因的异常表达<sup>[12]</sup>.一些以鼠类为模型进行颗粒物暴露健康效应研究的结果显示,无论是间接暴露<sup>[9]</sup>(气管灌注)还是直接呼吸暴露<sup>[13]</sup>,动物肺组织及脏器均产生不同程度的损害. Gunnison 等<sup>[14]</sup>将小鼠暴露于浓缩后的城市大气 PM<sub>2.5</sub>,结果显示 *Limd1* 基因表达下调 1.5 倍, *Rex3* 基因的表达在心脏组织中升高 1.8 倍. Leikauf 等<sup>[15]</sup>将小鼠暴露于 NiSO<sub>4</sub> 颗粒物环境中,发现肺损伤、基因变化随暴露时间的增加而增强.

本研究用微生物和哺乳动物作为实验受体,选

取不同浓度梯度的 PM<sub>2.5</sub>颗粒物样品,对 PM<sub>2.5</sub>发光细菌急性毒性和遗传毒性进行评价;通过非创伤气管灌注小鼠来模拟呼吸暴露,采用肺组织病理分析、转录组测序手段,开展 PM<sub>2.5</sub>暴露危害效果及机制的研究. PM<sub>2.5</sub>采样点位于浦东新区中心城区,周边主要为居民区和商业区,是典型的城区或居民区监测采样点. 采样位置距地面约 20 m,站点区域空气质量受污染源排放影响较小. 采样仪器为武汉天虹 TH-20A 型和 MetOne SASS 采样器.

1 细菌毒性研究

选取不同浓度梯度的 PM<sub>2.5</sub>颗粒物样品开展发光细菌急性毒性和遗传毒性评价,实验在上海市检测中心生物与安全检测实验室进行. 采样仪器为武汉天虹 TH-20A 型四通道采样器,采样膜为 Teflon 滤膜. 将采样膜剪碎,置于 15 mL 灭菌超纯水中,在 80 Hz 的频率下超声 15 min,重复上述过程 1 次. 在第 3 次超声时,加入 20 mL 超纯水,80 Hz 超声 20 min,最终得到各个浓度的 50 mL 样品母液,用于发光细菌急性毒性和遗传毒性测试,PM<sub>2.5</sub>悬浮液样品信息见表 1.

表 1 PM<sub>2.5</sub>悬浮液样品信息  
Table 1 PM<sub>2.5</sub> suspended sample information

| 样品编号 | 滤膜上 PM <sub>2.5</sub> 质量<br>/mg | 质量浓度<br>/μg·m <sup>-3</sup> | 遗传毒性悬浮液     |                             | 急性毒性悬浮液     |                             |
|------|---------------------------------|-----------------------------|-------------|-----------------------------|-------------|-----------------------------|
|      |                                 |                             | 加水体积<br>/mL | 实验浓度<br>/mg·L <sup>-1</sup> | 加水体积<br>/mL | 实验浓度<br>/mg·L <sup>-1</sup> |
| 1    | 0.91                            | 43.4                        | 50          | 18.2                        | 50          | 18.2                        |
| 2    | 2.03                            | 96.3                        | 50          | 40.6                        | 50          | 40.6                        |
| 3    | 1.50                            | 70.0                        | 50          | 30.0                        | 50          | 30.0                        |
| 4    | 1.93                            | 89.4                        | 50          | 38.6                        | 50          | 38.6                        |
| 5    | 2.74                            | 129.7                       | 50          | 54.8                        | 50          | 54.8                        |
| 6    | 2.86                            | 135.4                       | 100         | 28.6                        | 100         | 28.6                        |

1.1 发光细菌急性毒性

发光细菌遇到有毒物质后发生敏感反应而抑制自身发光,抑制程度与所受污染物浓度及其毒性大小相关<sup>[16]</sup>.用费氏弧菌进行环境生物毒性预警和急性毒性测试是目前比较成熟的方法<sup>[17]</sup>.采用毒性分析仪(SDI, Microtox Model 500 型分析仪, MicrotoxOmni software v1.2)测试表 1 中 PM<sub>2.5</sub>悬浮液样品对发光细菌发光量的抑制作用,结果用 EC<sub>50</sub> 表示(发光量减少 50% 时 PM<sub>2.5</sub>悬浮液的体积分数,单位为%).

1.1.1 实验材料

实验细菌为发光细菌 *Vibrio fischeri* (NRRL B-11177)冻干粉,含有 10<sup>6</sup> 个细菌,采购于格维恩科

技有限公司,于 -18℃ ~ -20℃ 下保存. 主要材料有超纯水(发光细菌冻干粉的活化溶液)、2% NaCl (稀释水,同时用作空白对照组)、毒性分析仪配套的测试管(用于样品、参比样品、空白对照的检测).

1.1.2 实验过程

根据 ISO 11348-3:2007(水质-水样对弧菌类光发射抑制影响的测定)中规定的方法进行实验操作和急性毒性判定<sup>[18]</sup>.将制备的 PM<sub>2.5</sub>悬浮液稀释成不同浓度梯度的待测样品,用稀释水平 *D* (*D* = 待测样品总体积/悬浮液体积)表示,本实验样品的稀释水平 *D* 分别为 1、2、3、4、6、8、12、16,并设立空白对照组.空白对照组和各浓度组均设两个平行样.

启动 Microtox Omni 软件 v1.2. 检测和记录未接触样品、参比样品前的所有测试管内的光密度值 ( $I_0$ )，数据直接输入软件，然后立刻加入样品(稀释样品溶液、参比样品溶液或 NaCl 溶液)，涡旋混匀，放在控温槽内，保持  $15^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ，培养 30 min 后再测光密度值  $I_{30}$ 。

1.1.3 测试结果

用七水硫酸锌( $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $1\,934\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )作

为毒性参照物，与复苏后的发光细菌接触 30 min 后，发光抑制率为 53%；本实验中毒性参照组、空白对照组 30 min 的发光抑制率与平均值的偏差均在 3% 内、校正因子数值均在 0.6 ~ 1.8 之间。通过上述测试表明，本研究的发光抑制测试结果稳定、可靠。发光细菌急性毒性检测结果如表 2，根据毒性分级标准判断，样品 5、6 的发光细菌急性毒性为低毒，其余样品为无毒。

表 2 发光细菌急性毒性检测结果

Table 2 Acute toxicity test results of luminescent bacteria

| 样品编号 | 滤膜上 PM <sub>2.5</sub> 质量<br>/mg | 质量浓度<br>/ $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ | 遗传毒性悬浮液 |                                     | 毒性判断 |
|------|---------------------------------|-------------------------------------------|---------|-------------------------------------|------|
|      |                                 |                                           | 加水体积/mL | 实验浓度/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ |      |
| 1    | 0.91                            | 43.4                                      | 50      | 18.2                                | 低毒   |
| 2    | 2.03                            | 96.3                                      | 50      | 40.6                                | 低毒   |
| 3    | 1.50                            | 70.0                                      | 50      | 30.0                                | 无毒   |
| 4    | 1.93                            | 89.4                                      | 50      | 38.6                                | 无毒   |
| 5    | 2.74                            | 129.7                                     | 50      | 54.8                                | 无毒   |
| 6    | 2.86                            | 135.4                                     | 100     | 28.6                                | 无毒   |

1.2 细菌遗传毒性

指示菌暴露于基因毒性物质中会诱发 SOS 反应。通过 SOS 反应揭示、判断 DNA 是否受损伤及受损伤的程度，从而判断待测物是否具有三致毒性效应(致畸、致癌、致突变)。样品的基因毒性大小用 SOS 诱导因子(SOSIF)来表征，反映受试物诱导 SOS 显色反应的能力，即遗传毒性的大小。

1.2.1 实验材料

A 瓶: SOS-CHOROMOTEST™ 实验菌株的生长液(5 个)；B 瓶: SOS-CHOROMOTEST™ 实验冻干菌株(1 个，EBPI 公司大肠杆菌 *E. coli* PQ37)；C 瓶: SOS-CHOROMOTEST™ 实验的稀释液(1 个)，10% 二甲亚砜(DMSO，溶于生理盐水)；D 瓶: 标准遗传毒性溶液(阳性参照物，1 个)，包含  $10\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  的 4-硝基喹啉-1-氧化物(4-NQO)的溶液；E 瓶: 蓝色显色剂(2 个)；F 瓶: 碱性磷酸酶的稀释液(1 个)；G 瓶: 碱性磷酸酶(1 个)；H 瓶: 终止液(1 个)；I 瓶: 二甲亚砜(DMSO，1 个)，用于溶解不溶于水的样品；J: 2 块 96 孔板和生物危害品袋(用于废弃物)；恒温培养箱(Torrey, IN20)；微量离心机；酶标仪。PM<sub>2.5</sub> 待测样品信息见表 1。

1.2.2 实验过程简介

在实验前一天，打开 A 瓶和 B 瓶。迅速从 A 瓶中转移 10 ~ 12 mL 的生长液到含有冻干菌粉的 B 瓶内，充分混匀 30 s。同时，打开第二瓶 A 瓶，从已含有菌株和 10 ~ 12 mL 的生长液的 B 瓶中，转移 100  $\mu\text{L}$  到新的 A 瓶中，混匀。在  $37^{\circ}\text{C}$  下过夜培养 8

~ 12 h。第二天菌液的光密度  $D$  值( $600\text{ nm} \pm 20\text{ nm}$ )应在 0.15 ~ 0.20 的范围内。在实验当天，观察生长菌液是否有一定的浑浊，只有在浑浊存在的情况下，实验才得以进行。用  $D$  值来判断是否有浑浊，如  $D$  值过高，应稀释菌液使  $D$  值在 0.05 和 0.06 之间。

将表 1 中各个样品母液分别在一块 96 孔板(6 行  $\times$  16 列)上进行稀释，稀释因子为 2，每个样品设有 14 个稀释测试浓度。用 D 瓶 4-NQO 溶液作为阳性对照组(离心管内)，用 10% DMSO(C 瓶)稀释得到 6 个 2 倍的稀释浓度。用 10% DMSO 作阴性对照组。

将样品分散入微孔板开始 SOS 显色反应实验，分别在  $(600 \pm 20)\text{ nm}$  和  $(420 \pm 20)\text{ nm}$  下读取吸光值，进行 SOSIF 值计算。本实验中的 SOSIF 值由 EBPI-SOS-CHROMOTEST™ 试剂盒配套的 Excel 表计算得到。

1.2.3 遗传毒性结果

诱导系数 SOSIF  $< 1.5$  时，表明受试物遗传毒性呈阴性，诱导系数 SOSIF 在 1.5 ~ 2.0 之间，受试物有可能有遗传毒性，诱导系数 SOSIF  $> 2.0$  时，受试物遗传毒性呈阳性。由于实验数据较多，选取表 1 中第 6 号样品进行 SOS 反应测试数据展示，具体内容见表 3。

测试数据表明，6 个 PM<sub>2.5</sub> 样品的所有浓度梯度的 SOSIF 范围在 0.89 ~ 1.24 之间(表 4)，符合 SOSIF  $< 1.5$  的毒性判断条件，表明受试物遗传毒性

呈阴性. 此外, 从单个样品角度看, 不同实验浓度梯度的 SOSIF 值与均值偏差较小, 不存在异常波动值, 线性关系不明显, 进一步说明“阴性”结果较为稳定.

用 SPSS 软件拟合  $PM_{2.5}$  样品浓度-SOSIF 关系, 尽管线性关系不明显, 但是有助于人们直观了解遗传毒性的结果表达, 6 个  $PM_{2.5}$  样品遗传毒性结果见表 4.

表 3 6 号样品 SOS 反应结果

Table 3 SOS reaction results of sample No. 6

| 实验浓度/ $mg \cdot L^{-1}$ | 稀释倍数  | $D_{600}$ | $D_{420}$ | SOSIF |
|-------------------------|-------|-----------|-----------|-------|
| 阴性对照 1                  | —     | 0.248 8   | 2.005 0   | —     |
| 阴性对照 2                  | —     | 0.227 8   | 1.778 5   | —     |
| 0.003 5                 | 8 192 | 0.241 7   | 1.875 1   | 0.99  |
| 0.007 0                 | 4 096 | 0.216 5   | 1.747 5   | 0.95  |
| 0.014 0                 | 2 048 | 0.245 6   | 1.676 1   | 1.12  |
| 0.027 9                 | 1 024 | 0.222 8   | 1.735 8   | 0.98  |
| 0.055 9                 | 512   | 0.254 5   | 1.740 3   | 1.12  |
| 0.111 7                 | 256   | 0.280 6   | 1.839 4   | 1.17  |
| 0.223 4                 | 128   | 0.233 6   | 1.834 3   | 0.98  |
| 0.446 9                 | 64    | 0.226 1   | 1.709 5   | 1.01  |
| 0.893 8                 | 32    | 0.226 9   | 1.719 7   | 1.01  |
| 1.787 5                 | 16    | 0.206 7   | 1.607 9   | 0.99  |
| 3.575 0                 | 8     | 0.270 6   | 1.807 4   | 1.15  |
| 7.150 0                 | 4     | 0.253 8   | 1.726 6   | 1.13  |
| 14.300 0                | 2     | 0.239 6   | 1.675 5   | 1.10  |
| 28.600 0                | 1     | 0.224 2   | 1.581 7   | 1.09  |

表 4 遗传毒性测试数据

Table 4 Test data for genetic toxicity

| 样品编号 | 质量浓度/ $\mu g \cdot m^{-3}$ | SOSIF 范围    | 浓度-SOSIF 拟合曲线                     | SOSIF = 1.5 对应浓度/ $mg \cdot L^{-1}$ | SOSIF = 2.0 对应浓度/ $mg \cdot L^{-1}$ | 遗传毒性 |
|------|----------------------------|-------------|-----------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|------|
| 1    | 43.4                       | 0.92 ~ 1.24 | $y = 1.054 + 0.001x, R^2 = 0.005$ | 446.0                               | 946.0                               | 阴性   |
| 2    | 96.3                       | 0.89 ~ 1.17 | $y = 0.970 + 0.005x, R^2 = 0.574$ | 106.0                               | 206.0                               | 阴性   |
| 3    | 70.0                       | 0.93 ~ 1.14 | $y = 0.993 + 0.005x, R^2 = 0.530$ | 101.4                               | 201.4                               | 阴性   |
| 4    | 89.4                       | 0.92 ~ 1.12 | $y = 0.964 + 0.005x, R^2 = 0.666$ | 107.2                               | 207.2                               | 阴性   |
| 5    | 129.7                      | 0.92 ~ 1.10 | $y = 0.987 + 0.002x, R^2 = 0.530$ | 256.5                               | 506.5                               | 阴性   |
| 6    | 135.4                      | 0.95 ~ 1.17 | $y = 1.046 + 0.003x, R^2 = 0.080$ | 151.3                               | 318.0                               | 阴性   |

2 材料与方法

2.1 样品采集及处理

采样仪器为 MetOne SASS, 滤膜为 Teflon 膜. 小鼠的呼吸量<sup>[19]</sup>取  $34 mL \cdot min^{-1}$ , 将空气质量标准 (GB 3095-2012) 日均值一级标准 ( $35 \mu g \cdot m^{-3}$ )、二级标准 ( $70 \mu g \cdot m^{-3}$ ) 分别作为小鼠的呼吸暴露浓度, 则小鼠一天  $PM_{2.5}$  呼吸暴露量分别为  $1.7 \mu g (34 mL \cdot min^{-1} \times 60 min \times 24 h \times 35 \mu g \cdot m^{-3} = 1.7 \mu g)$  和  $3.5 \mu g$ . 采用气管灌注方法模拟小鼠呼吸暴露, 设置日灌注量分别为  $1.7$ 、 $3.5$ 、 $7.0 \mu g$  的 3 个浓度梯度实验组, 对应  $PM_{2.5}$  日均暴露浓度分别为  $35$ 、 $70$  和  $140 \mu g \cdot m^{-3}$ , 同时设置不含  $PM_{2.5}$  的生理盐水对照组.

$PM_{2.5}$  滤膜剪碎后, 超声振荡处理  $15 min$  (重复 3 次) 后冷冻保存; 根据每个样品膜上  $PM_{2.5}$  质量,

加入一定量的灭菌后的生理盐水, 配制成  $17$ 、 $35$ 、 $70 \mu g \cdot mL^{-1}$  的颗粒物悬浮液, 冷冻保存. 每次实验使用 1 张  $PM_{2.5}$  滤膜进行悬浮液配置, 实验当天配置使用. 气管灌注量为每天  $100 \mu L$ , 分 3 次灌注, 灌注间隔时间为  $8 h$ ; 实验隔天进行, 共进行  $7 d$ 、 $21$  次灌注实验.

2.2 气管灌注

本实验所用动物为从中国医学科学院购买 7 周大 C57 雄鼠, 体重为  $20 \sim 25 g$ , 共 40 只, 将其随机分为 4 组, 每个浓度梯度各 10 只. 分笼饲养,  $12 h/12 h$  昼夜交替, 温度  $22^{\circ}C \pm 1^{\circ}C$ , 相对湿度  $40\% \sim 60\%$ . 在中科院心理所动物实验中心 SPF 级动物房适应性饲养, 自由进食、饮水等, 至 8 周大时, 开始气管灌注实验. 每次灌注时, 对小鼠腹腔注射戊巴比妥钠 ( $10 mg \cdot L^{-1}$ ) 进行麻醉,  $5 min$  后生效. 使用  $10 \mu L$  移液器, 每次吸取少量液体, 将其伸入小

鼠鼻腔，由其自行吸入进气道。而后将小鼠直立，垂直旋转小鼠，以使灌注物在小鼠肺脏中均匀分布，从而建立颗粒物损伤小鼠肺脏模型。

2.3 肺脏处理

实验动物被麻醉处死后，迅速取出肺组织，将左肺放入福尔马林溶液中固定，用于肺组织病理分析；右肺迅速放入液氮冷冻，用于肺 RNA 提取。

2.3.1 取肺

开胸腔，小心取下肺组织，放于 DEPC-H<sub>2</sub>O 中清洗。左肺放于甲醛溶液中固定；取右肺上两叶，用 DEPC-H<sub>2</sub>O 清洗，去除血液，并保证不被 DNA 污染，之后迅速放于冻存管内，放入液氮冻存。

2.3.2 肺组织病理分析

将对照组（灌注液不含 PM<sub>2.5</sub>，仅为生理盐水）和暴露组（灌注液 PM<sub>2.5</sub> 浓度分别为 17、35、70 μg·mL<sup>-1</sup>）肺置于福尔马林溶液中浸泡、固定，24 h 后采用石蜡包埋、切片后用苏木素伊红染色（HE 染

色）。用 100 ~ 400 倍自动光学显微镜（Nikon90i 全自动科研级显微镜）观察组织形态，并拍照保存。

2.3.3 转录组测序

转录组研究是基因功能及结构研究的基础，通过新一代高通量测序，能够全面快速地获得某一物种特定组织或器官在某一状态下的几乎所有转录本序列信息。选取对照组（生理盐水灌注）和中度浓度暴露组小鼠（日灌注量为 3.5 μg），提取肺组织，进行全基因组的表达谱测序分析。

3 结果与讨论

3.1 肺脏病理切片分析

各实验组代表性肺脏切片见图 1，可以看出，PM<sub>2.5</sub> 暴露后，大部分毛细血管及小静脉扩张充血，肺泡腔充满淡红色，比较匀质的水肿液，肺泡腔扩张，存在炎性渗出物，且肺组织有实化现象，此现象随 PM<sub>2.5</sub> 浓度增大而加重。

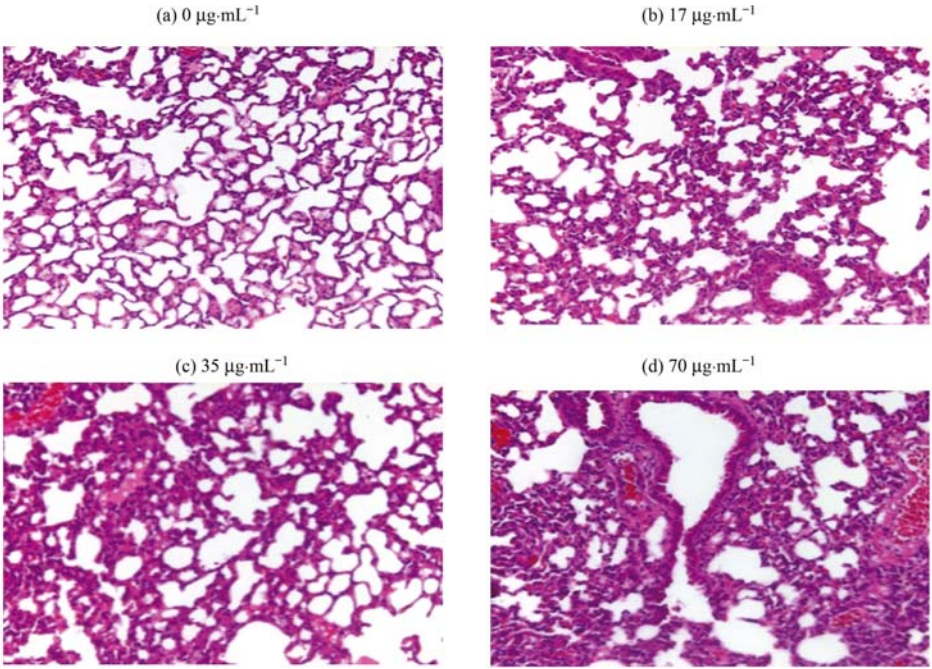


图 1 各实验组代表性肺脏切片图（HE × 200）

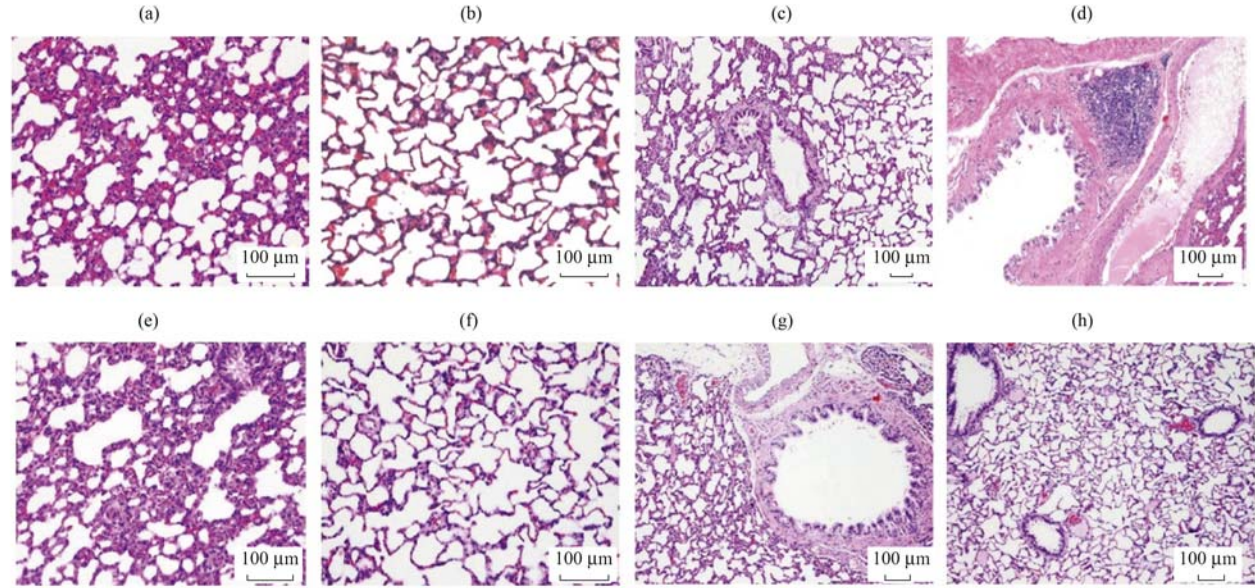
Fig. 1 Lung histology (HE stain × 200) of representative experimental group

结果表明，PM<sub>2.5</sub> 暴露对肺组织会造成不同程度的损伤，浓度越高，损伤现象越明显，主要表现为肺部炎症和纤维化。需要强调的是，上述间接暴露实验结果与本课题组另一项直接暴露实验结论相吻合<sup>[20]</sup>。在直接暴露实验中，孕鼠及其 8 周龄大仔鼠被分别放置于暴露箱（呼吸环境空气）和对照箱（呼吸经 HEPA 膜过滤后的环境空气）中进行暴露实验。实验结果显示，相比对照组，暴露组动物肺

部均出现炎症反应，且气管上皮杯状细胞出现明显增生，各实验组代表性肺病理切片见图 2。

3.2 基因测序分析

本次测序中，从“每个碱基序列质量中位数、每条序列的质量均值分布、碱基位置分布、每条序列平均 GC 含量分布、每条序列中 N 含量”5 项指标对测序质量进行评估，均呈现较好的评估结果，说明测序质量可靠，符合研究要求，可进行后续



(a) 暴露组孕鼠肺泡; (b) 对照组孕鼠肺泡; (c) 暴露组孕鼠支气管; (d) 对照组孕鼠支气管; (e) 暴露组 8 周龄仔鼠肺泡; (f) 对照组 8 周龄仔鼠肺泡; (g) 暴露组 8 周龄仔鼠支气管; (h) 对照组 8 周龄仔鼠支气管

图 2 孕鼠和 8 周龄仔鼠肺脏切片

Fig. 2 Lung histology (HE stain  $\times 100$ ) of pregnant rats and 8-week-old rat offspring

分析.

3.2.1 差异基因结果分析

以对照组基因表达量为基准, 计算暴露组相对于对照组基因的表达式, 从而筛选出差异表达式基因. 基因表达式计算使用 RPKM 法 (Reads Per Kb per Million reads). 使用 ILLUMINA 测序仪进行转录组测序分析, 按照  $P < 0.05$  才具有显著性差异的原则, 共得到差异基因 381 个. 相比于对照组, 暴露组小鼠肺脏中 246 个基因表达上调, 135 个基因表达下调.

为了进一步探索这些差异基因从哪些方面影响肺脏功能, 采用 DAVID Bioinformatics Resources 6.8 (<https://david.ncifcrf.gov>) 进行了 GO (Gene Ontology) 功能分析和 Pathway 分析, 从中筛选具有差异的通路、功能聚类及造成影响的具体基因.

3.2.2 差异基因 Pathway 分析

Pathway 指代谢通路, 是转录组测序后基因表达结果分析的重要工具. 差异基因 Pathway 分析在机制研究中显得尤为重要, 可以了解实验条件下显著改变的代谢通路, 寻找不同样品的差异基因可能与哪些细胞通路的改变相关<sup>[21]</sup>. 根据  $P < 0.05$  原则, Ribosome、PPAR signaling pathway 两条通路具有统计学显著性, 见图 3.

最明显差异通路为与核糖体 (Ribosome) 相关的通路, 而核糖体的核心功能是参与 DNA、细胞蛋白

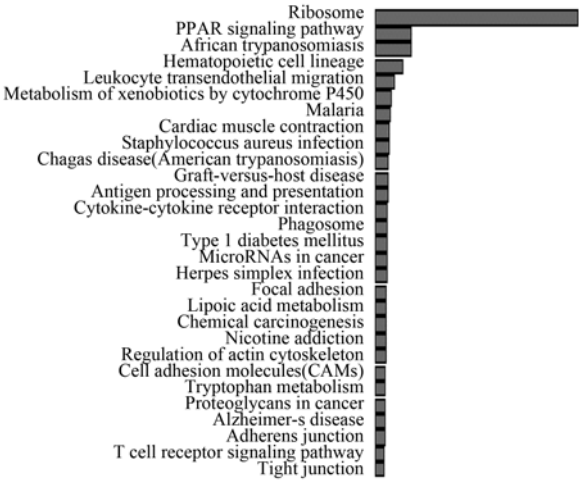


图 3 差异基因的 Pathway 分析

Fig. 3 Pathway analysis of differentially expressed genes

质合成<sup>[22]</sup>, 转录组测序结果分析显示, 暴露组小鼠肺部很多核糖体表达上调, 如 RP117 (上调 3.84 倍), RPS27 (上调 2.7 倍), RPS3 (上调 2.33 倍), RPL37 (上调 1.91 倍), RPL18 (上调 1.4 倍), 说明  $PM_{2.5}$  暴露影响了小鼠肺脏中核糖体相关功能, 提示人们肺部炎症反应源于基因损害, 其造成的损害后果可能是不可逆的, 这一结论也有助于揭示  $PM_{2.5}$  作为致癌物的致癌机制.

另一条具较显著差异的信号通路为 PPAR (peroxisome proliferator-activated receptors), PPAR 是配体激活的转录因子, 广泛参与机体各种代谢及

细胞分化过程,并在炎症过程中发挥重要作用<sup>[23]</sup>. 引起本条通路的主要差异基因是 Apoal、Apoa2、Scd1. 其中,相比于对照组,暴露组 Apoal (apolipoprotein A1) 上调 23 倍, Apoa2 (apolipoprotein A2) 上调 7 倍,二者均为载脂蛋白,是血浆中高密度脂蛋白的主要成分,它们的表达异常会导致胆固醇代谢异常,也会影响机体正常的免疫反应; Scd1 下调 1.8 倍,此基因的主要功能是调控脂肪酸的合成. 因此,可以推断,颗粒物暴露影响到小鼠肺部载脂蛋白合成及其代谢功能的正常发挥,相关基因的过度表达可能是导致肺脏功能损伤的原因之一;此外,颗粒物暴露影响会直接或间接影响到脂肪酸的代谢功能,从而导致肺脏病变.

### 3.2.3 差异基因 GO 功能分析

GO 分析可以找到富集差异基因的 GO 分类条目,通过 GO 分析可以了解差异基因富集在哪些生物学功能<sup>[24]</sup>. 本研究中,根据  $P < 0.05$  原则,富集度最高的聚类集中于免疫功能,也就是说 PM<sub>2.5</sub> 暴露影响到小鼠的免疫功能正常表达. 机体免疫功能具有识别、杀灭、解毒、分解和清除体内异物的能力,可以维持机体内环境的稳定性. 已有研究证明颗粒物暴露会使得机体产生氧化应激和炎症反应两种生物应答,并伴随基因组结构或功能的改变<sup>[25]</sup>. 由于氧化应激和炎症反应与机体免疫功能密不可分的生物学过程,可以推断 PM<sub>2.5</sub> 暴露严重影响小鼠机体免疫功能,导致肺脏功能损坏. 结合聚类分析结果,功能损坏路径主要体现在以下 5 个方面.

(1) CD8b1, 一种白细胞分化抗原,参与 T 细胞介导的免疫反应,在暴露组中表达下调 2.74 倍;同时, Cd74 上调 1.47 倍,在调节免疫系统的抗原表达过程中发挥重要作用.

(2) Klrg1 表达下调 3.61 倍, Klre1 表达上调 3.43 倍. Klrg1 和 Klre1 均为自然杀伤细胞表面受体,能协调某些肿瘤细胞的溶菌作用,以及导致一些被感染病毒的失活.

(3) C2, C3 在补体系统激活中扮演着中心角色,分别上调 1.56 倍、1.42 倍;同时, Cfp 上调 1.47 倍,它是一种血浆糖蛋白,能激活补体系统和免疫系统.

(4) Cxcl14 是一种细胞因子,主要参与免疫调节和一些炎症过程,通过结合相应受体调节细胞生长、分化和效应,调控免疫应答,在暴露组中下调 2.1 倍.

(5) MMP9, 涉及正常生理过程中细胞外基质

的分解,如胚胎发育、繁殖和组织重构等过程,下调 1.7 倍. Camp 可以编码抗菌肽,其上调 5.43 倍. Ccl5 为趋化因子,参与免疫调节和炎症过程,下调 2.1 倍.

目前很多研究将 PM<sub>2.5</sub> 暴露危害原因与肺部新陈代谢功能紊乱相关联,但具体机制尚不明确. Gu 等<sup>[26]</sup> 用气管灌注等方法开展了小鼠 PM<sub>2.5</sub> 暴露健康效应研究,发现 PM<sub>2.5</sub> 暴露加重了慢性阻塞性肺病 (COPD) 小鼠的病情,并通过影响 Notch 信号通路的方式干扰了小鼠免疫平衡及功能的正常发挥; Wang 等<sup>[9]</sup> 同样用 PM<sub>2.5</sub> 悬浮液气管灌注方法研究了成年小鼠的代谢应答,发现小鼠肺部氧化应激指标显著增加,参与脂质及核苷酸代谢的功能有异常;张蕴晖等<sup>[27]</sup> 在用 PM<sub>2.5</sub> 染毒心血管内皮细胞 24 h 后,提取内皮细胞中的 mRNA 进行分析发现, PM<sub>2.5</sub> 染毒浓度的增加,趋化因子 mRNA 表达产物的相对含量显著增高;这些研究结论在本文也得以补充证实.

## 4 结论

(1) 尽管 6 个 PM<sub>2.5</sub> 样品浓度在 43.4 ~ 135.4  $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$  之间,均超过了环境空气质量标准 (GB 3095-2012) 年均值二级标准 (35  $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ ),但细菌急性毒性和遗传毒性结果分别为低毒和阴性;由表 2 可以看出,6 个样品中最低浓度实验组 (编号 1) 和中浓度实验组 (编号 2) 的急性毒性结果为低毒,而高浓度组 (编号 5、6) 急性毒性结果却为无毒;说明 PM<sub>2.5</sub> 浓度高低与其细菌毒性无明显或确定的相关性. 也就是说, PM<sub>2.5</sub> 浓度高低并不是决定 PM<sub>2.5</sub> 毒性的关键因素,其毒性大小还是由 PM<sub>2.5</sub> 吸附的毒性成分及含量决定的.

(2) 由于采样点位于典型居民区,受工业污染影响较小, PM<sub>2.5</sub> 毒性成分含量相对较低,这可能是造成上述“低毒或无毒”的原因. 但这一发现同时也提示,在非重污染天气条件下,从细菌毒性角度看,日常 PM<sub>2.5</sub> 暴露对居民健康的影响可能是有限的.

(3) 肺脏病理切片分析结果显示,不同浓度梯度的颗粒物暴露,对小鼠肺组织会造成不同程度的损伤,并呈现浓度越高、损伤程度越明显的现象,病理特征表现为肺部炎症和纤维化,这一研究结果与笔者之前一项 PM<sub>2.5</sub> 直接暴露研究结论相吻合.

(4) 本研究中,最明显差异通路为与核糖体 (Ribosome) 相关的通路. 颗粒物暴露影响到核糖体

蛋白功能的正常表达,提示人们肺部炎症反应源于基因损害,其造成的损害后果可能是不可逆的.另一条较显著差异的信号通路为PPAR,分析其通路上具体基因,发现颗粒物暴露影响到脂肪酸和胆固醇代谢,可能是导致肺脏病变的原因.GO聚类分析发现免疫功能发生聚类富集,细胞表面抗原的破坏、补体系统分子、细胞因子、血浆蛋白、核糖体蛋白及趋化因子等异常表达可能是造成肺部炎症的具体路径.

#### 参考文献:

- [1] 高知义. 大气细颗粒物人群暴露的健康影响及遗传易感性研究[D]. 上海: 复旦大学, 2010.  
Gao Z Y. Study on impacts in human health exposure to fine particulate matter and genetic susceptibility [D]. Shanghai: Fudan University, 2010.
- [2] Wolf K, Stafoggia M, Cesaroni G, *et al.* Long-term exposure to particulate matter constituents and the incidence of coronary events in 11 European cohorts [J]. *Epidemiology*, 2015, **26** (4): 565-574.
- [3] Tan C C, Lu S J, Wang Y P, *et al.* Long-term exposure to high air pollution induces cumulative DNA damages in traffic policemen[J]. *Science of the Total Environment*, 2017, **593-594**: 330-336.
- [4] Leiva G M A, Santibañez D A, Ibarra E S, *et al.* A five-year study of particulate matter (PM<sub>2.5</sub>) and cerebrovascular diseases [J]. *Environmental Pollution*, 2013, **181**: 1-6.
- [5] Babadjouni R M, Hodis D M, Radwanski R, *et al.* Clinical effects of air pollution on the central nervous system; a review [J]. *Journal of Clinical Neuroscience*, 2017, **43**: 16-24.
- [6] 殷永文, 程金平, 段玉森, 等. 上海市霾期间PM<sub>2.5</sub>、PM<sub>10</sub>污染与呼吸科、儿呼吸科门诊人数的相关分析[J]. *环境科学*, 2011, **32**(7): 1894-1898.  
Yin Y W, Cheng J P, Duan Y S, *et al.* Correlation analysis between the PM<sub>2.5</sub>, PM<sub>10</sub> which were taken in the hazy day and the number of outpatient about breathing sections, breathing sections of pediatrics in Shanghai [J]. *Environmental Science*, 2011, **32**(7): 1894-1898.
- [7] Guan W J, Zheng X Y, Chung K F, *et al.* Impact of air pollution on the burden of chronic respiratory diseases in China: time for urgent action [J]. *The Lancet*, 2016, **388** (10054): 1939-1951.
- [8] 李再兴, 尹青, 赵俊娜, 等. 发光细菌法测定水质急性毒性研究进展[J]. *河北科技大学学报*, 2014, **35**(5): 480-486.  
Li Z X, Yin Q, Zhao J N, *et al.* Advance in the application of luminescent bacteria on detecting acute toxicity of water [J]. *Journal of Hebei University of Science and Technology*, 2014, **35** (5): 480-486.
- [9] Wang X F, Jiang S F, Liu Y, *et al.* Comprehensive pulmonary metabolome responses to intratracheal instillation of airborne fine particulate matter in rats [J]. *Science of the Total Environment*, 2017, **592**: 41-50.
- [10] 吴明红, 陈缪璐, 陈祖怡, 等. 多环芳烃在上海近郊大气颗粒物(PM<sub>2.5</sub>和PM<sub>10</sub>)中的污染特征、来源及其健康风险评估[J]. *上海大学学报(自然科学版)*, 2014, **20**(4): 521-530.  
Wu M H, Chen L L, Chen Z Y, *et al.* Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in atmospheric particulate matter (PM<sub>2.5</sub> and PM<sub>10</sub>) from a suburban area in Shanghai: levels, sources and risk assessment [J]. *Journal of Shanghai University (Natural Science)*, 2014, **20**(4): 521-530.
- [11] Aammi S, Karaca F, Petek M. A toxicological and genotoxicological indexing study of ambient aerosols (PM<sub>2.5-10</sub>) using in vitro bioassays [J]. *Chemosphere*, 2017, **174**: 490-498.
- [12] Zhao H, Yang B, Xu J, *et al.* PM<sub>2.5</sub>-induced alterations of cell cycle associated gene expression in lung cancer cells and rat lung tissues [J]. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 2017, **52**: 77-82.
- [13] Wei Y J, Zhang J J, Li Z G, *et al.* Chronic exposure to air pollution particles increases the risk of obesity and metabolic syndrome: findings from a natural experiment in Beijing [J]. *The FASEB Journal*, 2016, **30**(6): 2115-2122.
- [14] Gunnison A, Chen L C. Effects of subchronic exposures to concentrated ambient particles in mice: VI. Gene expression in heart and lung tissue [J]. *Inhalation Toxicology*, 2005, **17**(4-5): 225-233.
- [15] Leikauf G D, McDowell S A, Wesselkamper S C, *et al.* Pathogenomic mechanisms for particulate matter induction of acute lung injury and inflammation in mice [J]. *Research Report*, 2001, **105**: 59-71.
- [16] 朱丽娜, 刘瑞志, 夏建新, 等. 发光细菌法测定水质综合毒性研究进展[J]. *中央民族大学学报(自然科学版)*, 2011, **20**(4): 14-20.  
Zhu L N, Liu R Z, Xia J X, *et al.* Advances of microbial methods on joint toxicity detection [J]. *Journal of Minzu University of China (Natural Sciences Edition)*, 2011, **20**(4): 14-20.
- [17] 孙成华, 石爱军, 刘保献, 等. 基于发光细菌的细颗粒物(PM<sub>2.5</sub>)可溶性提取液综合生物效应测试方法及其应用[J]. *生态毒理学报*, 2016, **11**(1): 353-361.  
Sun C H, Shi A J, Liu B X, *et al.* Application of luminescent bacteria in the acute toxicity test of the water-soluble constituents of PM<sub>2.5</sub> [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2016, **11**(1): 353-361.
- [18] ISO 11348-3:2007, Water quality-determination of the inhibitory effect of water samples on the light emission of *Vibrio fischeri* (Luminescent bacteria test)-Part 3: method using freeze-dried bacteria[S].
- [19] 邹移海, 徐志伟, 黄韧, 等. 实验动物学[M]. (第二版). 北京: 科学出版社, 2012. 167.
- [20] Song P C, Li Z G, Li X Q, *et al.* Transcriptome profiling of the lungs reveals molecular clock genes expression changes after chronic exposure to ambient air particles [J]. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2017, **14** (1): 90.
- [21] 张春香, 张国林, 郭丽娜, 等. 基于高通量转录组测序的山羊睾丸和附睾头差异表达基因分析[J]. *畜牧兽医学报*, 2014, **45**(3): 391-401.  
Zhang C X, Zhang G L, Guo L N, *et al.* Study on differentially expressed genes between caprine testis and epididymis caput based on transcriptomes with high-throughput RNA-seq technology [J]. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 2014,

- 45(3): 391-401.
- [22] Wang W, Nag S, Zhang X, *et al.* Ribosomal proteins and human diseases: pathogenesis, molecular mechanisms, and therapeutic implications[J]. *Medicinal Research Reviews*, 2015, **35**(2): 225-285.
- [23] 赵攀, 张晓燕, 杨吉春, 等. PPAR $\beta/\delta$  在炎症中的作用[J]. *中国药理学通报*, 2009, **25**(9): 1124-1127.  
Zhao P, Zhang X Y, Yang J C, *et al.* Role of PPAR $\beta/\delta$  in inflammation[J]. *Chinese Pharmacological Bulletin*, 2009, **25**(9): 1124-1127.
- [24] Huntley R P, Sawford T, Mutowo-Meullenet P, *et al.* The GOA database: gene ontology annotation updates for 2015[J]. *Nucleic Acids Research*, 2015, **43**(D1): D1057-D1063.
- [25] Hu H J, Asweto C O, Wu J, *et al.* Gene expression profiles and bioinformatics analysis of human umbilical vein endothelial cells exposed to PM<sub>2.5</sub>[J]. *Chemosphere*, 2017, **183**: 589-598.
- [26] Gu X Y, Chu X, Zeng X L, *et al.* Effects of PM<sub>2.5</sub> exposure on the Notch signaling pathway and immune imbalance in chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Environmental Pollution*, 2017, **226**: 163-173.
- [27] 张蕴晖, 曹慎, 丁佳玮, 等. 炎症因子在大气细颗粒物 (PM<sub>2.5</sub>) 心血管毒性中的作用[J]. *中国环境科学*, 2006, **26**(1): 16-19.  
Zhang Y H, Cao S, Ding J W, *et al.* Study on the role of inflammatory factors in the cardiovascular toxicity of PM<sub>2.5</sub>[J]. *China Environmental Science*, 2006, **26**(1): 16-19.

环境科学

## CONTENTS

|                                                                                                                                                                  |                                                                      |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|
| Estimation of Fine Particle ( $PM_{2.5}$ ) Emission Inventory from Cooking: Case Study for Shanghai                                                              | WANG Hong-li, JING Sheng-ao, LOU Sheng-rong, <i>et al.</i> (1971)    |
| Chemical Characterization, Spatial Distribution, and Source Identification of Organic Matter in $PM_{2.5}$ in summertime Shanghai, China                         | GAO Ya-qin, WANG Hong-li, JING Sheng-ao, <i>et al.</i> (1978)        |
| Seasonal Variation and Source Analysis of Water-soluble Inorganic Salts in $PM_{2.5}$ in the Southern Suburbs of Beijing                                         | GAO Han-yu, WEI Jing, WANG Yue-si (1987)                             |
| Characteristics and Source Apportionment of Water-soluble Inorganic Ions in Road Dust $PM_{2.5}$ During Spring in Tianjin Using the Quadrat Sampling Method      | ZHAO Jing-qi, JI Ya-qin, ZHANG Lei, <i>et al.</i> (1994)             |
| HONO Pollution Characteristics and Nighttime Sources During Autumn in Guangzhou, China                                                                           | TIAN Zhi-lin, YANG Wen-da, YU Xiao-fang, <i>et al.</i> (2000)        |
| Sulfur Sources and Oxidation Pathways in Summer Aerosols from Nanjing Northern Suburbs Using S and O Isotopes                                                    | HAN Xun, REN Jie, CHEN Shan-li, <i>et al.</i> (2010)                 |
| Methods for Determining and Applications of High-Resolution Vehicle Emission Inventory at County Scale                                                           | FAN Shou-bin, GUO Jin-jin, LI Xue-feng (2015)                        |
| Characteristics of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Emitted from Typical Industrial Biomass Boilers                                                              | LIN Yu-jun, BAI Li, WANG Huan-xiang, <i>et al.</i> (2023)            |
| Research of Parameter Uncertainty for the HSPF Model Under Different Temporal Scales                                                                             | PANG Shu-jiang, WANG Xiao-yan, MA Wen-jing (2030)                    |
| Contribution of Nitrogen Sources in Water Sources by Combining Nitrogen and Oxygen Isotopes and SIAR                                                             | JIN Zan-fang, ZHANG Wen-liao, ZHENG Qi, <i>et al.</i> (2039)         |
| Pollution Characteristics and Health Risk Assessment of Volatile Organic Compounds in Baiyangdian Lake                                                           | GAO Qiu-sheng, ZHAO Yong-hui, JIAO Li-xin, <i>et al.</i> (2048)      |
| Fluorescent Characteristics and Environmental Significance of Particulate Organic Matter in Lake Taihu, China                                                    | LÜ Wei-wei, YAO Xin, ZHANG Bao-hua, <i>et al.</i> (2056)             |
| Distribution and Settlement of Microplastics in the Surface Sediment of Yangtze Estuary                                                                          | ZHU Xiao-tong, YI Jun, QIANG Li-yuan, <i>et al.</i> (2067)           |
| Water Chemistry and Characteristics of Dissolved Organic Carbon During the Wet Season in Wulixia Reservoir, SW China                                             | LU Xiao-xuan, LI Qiang, JIN Zhen-jiang, <i>et al.</i> (2075)         |
| Bioavailability of Dissolved Organic Carbon in Rivers for Typical Vegetation Types in the Permafrost Regions on the Qinghai-Tibet Plateau                        | MA Xiao-liang, LIU Gui-min, WU Xiao-dong, <i>et al.</i> (2086)       |
| Characteristics of Dissolved Organic Matter (DOM) and Relationship with Dissolved Heavy Metals in a Peri-urban and an Urban River                                | LIANG Meng-qi, SHAO Mei-ling, CAO Chang-li, <i>et al.</i> (2095)     |
| Migration and Transformation of Dissolved Organic Matter in Karst Water Systems and an Analysis of Their Influencing Factors                                     | ZHANG Lian-kai, LIU Peng-yu, QIN Xiao-qun, <i>et al.</i> (2104)      |
| Source and Distribution of Dissolved Metal Ions in the Backwater Area of Pengxi River in Three Gorges Reservoir                                                  | ZHAO Xiao-song, YU Jian-jun, FU Li, <i>et al.</i> (2117)             |
| Differences in Diffusive Fluxes of Nutrients from Sediment Between the Natural River Areas and Reservoirs in the Lancang River Basin                             | WANG Xue, CHENG Bao, YANG Zheng-jian, <i>et al.</i> (2126)           |
| Nutrient Distribution Characteristics of the Sediment-water System in the Xiangxi River During the Impoundment of TGR                                            | SU Qing-qing, LIU De-fu, JI Dao-bin, <i>et al.</i> (2135)            |
| Effects of Submerged Macrophytes on Different Phosphorus Fractions in Overlying Water and Interstitial Water                                                     | YANG Wen-bin, GAO Shun-feng, WAN Rui, <i>et al.</i> (2145)           |
| Distribution Characteristics and Fluxes of Nitrogen and Phosphorus at the Sediment-water Interface of Yuqiao Reservoir                                           | WEN Shuai-long, GONG Wan-qing, WU Tao, <i>et al.</i> (2154)          |
| Distribution of Phosphorus Fractions in Surface Sediments of Minjiang Mainstreams                                                                                | YANG Geng, QIN Yan-wen, HAN Chao-nan, <i>et al.</i> (2165)           |
| Nitrate Uptake Kinetics and Correlation Analysis in an Agricultural Drainage Ditch                                                                               | LI Ru-zhong, YIN Qi-he, GAO Su-di, <i>et al.</i> (2174)              |
| Influencing Factors for Phosphorus Removal by Modified Bio-ceramic Substrates Coated with ZnAl-LDHs Synthesized by Different Modification Conditions             | XIANG Yang, ZHANG Xiang-ling, LEI Yu, <i>et al.</i> (2184)           |
| Removal of Odorants in Drinking Water Using VUV/Persulfate                                                                                                       | SUN Xin, SHI Lu-xiao, ZHANG Yi, <i>et al.</i> (2195)                 |
| Degradation of OG with Peroxymonosulfate Activated by a $MnFe_2O_4$ -graphene Hybrid                                                                             | XIA Wen-jun, LIU Feng, HAO Shang-bin, <i>et al.</i> (2202)           |
| Mechanism of As(V) Removal from Water by Lanthanum and Cerium Modified Biochars                                                                                  | LI Jin, ZU Yan-qun, LI Gang, <i>et al.</i> (2211)                    |
| Adsorption of Dissolved Organic Matter with Different Relative Molecular Masses on Inorganic Minerals and Its Influence on Carbamazepine Adsorption Behavior     | LIANG Yu, HE Jiang-tao, ZHANG Si (2219)                              |
| Pollution Characteristics of Organophosphorus Flame Retardants in a Wastewater Treatment Plant                                                                   | SUN Jia-wei, DING Wei-nan, ZHANG Zhan-en, <i>et al.</i> (2230)       |
| Enhanced Coagulation as a Pretreatment for Low Temperature Wastewater                                                                                            | LIU Hai-long, REN Yu-xia, ZHANG Zhong-min (2239)                     |
| Operating Characteristics and Fouling Characteristics of a RO Membrane System for Desalination of Dyeing Wastewater                                              | TAN Yu-jun, ZHANG Ze-tian, WU Qian-yuan, <i>et al.</i> (2249)        |
| Optimization of the Nitrogen Removal Performance on the CANON Process in a Biofilm Reactor: From FBBR to MBBR                                                    | FU Kun-ming, LI Hui, ZHOU Hou-tian, <i>et al.</i> (2256)             |
| Microbial Community Dynamics During Two Sludge Granulation Processes                                                                                             | GAO Jing-feng, ZHANG Li-fang, ZHANG Shu-jun, <i>et al.</i> (2265)    |
| Sludge Conditioning Performance of Polyaluminum, Polyferric, and Titanium Xerogel Coagulants                                                                     | WANG Xiao-meng, WANG Xin, YANG Ming-hui, <i>et al.</i> (2274)        |
| Effects of Heat and Heat-alkaline Treatments on Disintegration and Dissolved Organic Matter in Sludge                                                            | DAI Qin, ZHANG Wen-zhe, YU Pan-fen, <i>et al.</i> (2283)             |
| Effect of Different Ratios of Anaerobic Time and Aeration Time on the Formation of Partial Nitrification Granules                                                | LI Dong, GUO Yue-zhou, CAO Mei-zhong, <i>et al.</i> (2289)           |
| Spatial and Temporal Variation of Mercury in Municipal Sewage Sludge in China                                                                                    | WANG Ning, LIU Qing-wei, ZHI Yin, <i>et al.</i> (2296)               |
| Characteristics of $N_2O$ Release and Influencing Factors in Grass-type and Algae-type Zones of Taihu Lake During Summer                                         | ZHENG Xiao-lan, WEN Shuai-long, LI Xin, <i>et al.</i> (2306)         |
| Analysis of Greenhouse Gas Emission Characteristics and Their Influencing Factors in the Algae Zone of Lake Taihu                                                | JIA Lei, PU Yi-ni, YANG Shi-jun, <i>et al.</i> (2316)                |
| Dynamics of $CO_2$ and $N_2O$ in Seasonal Frozen Soil Profiles for a Typical Steppe in Inner Mongolia                                                            | LI Jin-bo, YAO Nan, LI Xiu, <i>et al.</i> (2330)                     |
| Characteristics of $CO_2$ Flux in a Mature Apple ( <i>Malus domestica</i> ) Orchard Ecosystem on the Loess Plateau                                               | YANG Jian-feng, YANG Xiao-ni, WANG Jun-hua, <i>et al.</i> (2339)     |
| Effects of Biochar Application Rates on Greenhouse Gas Emissions in the Purple Paddy Soil                                                                        | QI Le, GAO Ming, GUO Xiao-min, <i>et al.</i> (2351)                  |
| Short-Term Effects of Different Fertilization Treatments on Greenhouse Gas Emissions from Northeast Black Soil                                                   | LI Ping, LANG Man, LI Miao, <i>et al.</i> (2360)                     |
| Eukaryotic Micro-plankton Community Diversity and Characteristics of Regional Distribution in the Yellow Sea by ITS High-throughput Sequencing                   | ZHANG Li, LIN Jia-ning, ZHANG Yuan, <i>et al.</i> (2368)             |
| Influence of Different Patterns of Discharge on Microbial Diffusion in Municipal Treated Wastewater                                                              | LANG Xiu-lu, SONG Zhi-wen, XU Ai-ling, <i>et al.</i> (2380)          |
| Impact of Tourism on Bacterial Communities of Karst Underground River: A Case Study from Two Caves in Fengdu, Chongqing                                          | LÜ Xian-fu, HE Qiu-fang, WANG Feng-kang, <i>et al.</i> (2389)        |
| Diversity of the Microbial Community in Rice Paddy Soil with Biogas Slurry Irrigation Analyzed by Illumina Sequencing Technology                                 | ZHU Jin-shan, ZHANG Hui, MA Lian-jie, <i>et al.</i> (2400)           |
| Effect of Biochar Amendment on Physicochemical Properties and Fungal Community Structures of Cinnamon Soil                                                       | YAN Hai-tao, YIN Quan-yu, DING Song-shuang, <i>et al.</i> (2412)     |
| Carbon Metabolism Characteristics of the Karst Soil Microbial Community for Pb-Zn Mine Tailings                                                                  | FANG Jun-jia, LI Qiang, LIU Chang, <i>et al.</i> (2420)              |
| Denitrification Characteristics and Community Structure of Aerobic Denitrifiers from Lake and Reservoir Sediments                                                | KANG Peng-liang, ZHANG Hai-nan, HUANG Ting-lin, <i>et al.</i> (2431) |
| Investigation of the Coupling Mechanism between Naphthalene Degradation and Denitrification of a Naphthalene Degraded Bacterial Consortium Under Denitrification | ZHANG Ze-yu, WANG Ming-xia, CHENG Yong-yi, <i>et al.</i> (2438)      |
| Spatial Distribution Study and Pollution Assessment of Pb in Soils in the Xijiang River Drainage of Guangxi                                                      | ZHANG Yun-xia, SONG Bo, CHEN Tong-bin, <i>et al.</i> (2446)          |
| Effects of Agricultural Activities on Soil Mercury Changes in the Water-Level-Fluctuating Zone of the Three Gorges Reservoir                                     | CHEN Qiu-yu, SUN Song, YIN De-liang, <i>et al.</i> (2456)            |
| Screening and Identification of Arsenic-resistant Endophytic Bacteria from Different Rice Tissues ( <i>Oryza sativa</i> L.) in Different Growth Stages           | WANG Bo-xun, WANG Xue-dong, DUAN Gui-lan (2464)                      |
| Characteristics of Mercury Transformation in Soil and Accumulation in Rice Plants in an Acidic Purple Paddy Soil Area                                            | LI Yu-qin, SUN Tao, DENG Han, <i>et al.</i> (2472)                   |
| Life Cycle Environmental Impact Assessment on Different Modes of Greenhouse Vegetable Production in the North China Plain                                        | XU Qiang, HU Ke-lin, LI Ji, <i>et al.</i> (2480)                     |
| Health Effects of $PM_{2.5}$ Based on Bacterial Toxicity Test and Transcriptional Analysis in Lungs of Mice                                                      | SONG Peng-cheng, LU Shu-yu, WEI Yong-jie, <i>et al.</i> (2489)       |
| Socio-economic Factors Influencing the Spatial Distribution of $PM_{2.5}$ Concentrations in China: An Exploratory Analysis                                       | DUAN Jie-xiong, ZHAI Wei-xin, CHENG Cheng-qi, <i>et al.</i> (2498)   |