

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第38卷 第8期

Vol.38 No.8

2017

中国科学院生态环境研究中心 主办
科学出版社 出版



目次

用于滤膜称重的饱和氯化镁溶液恒湿系统搭建与评估	李晓晓, 张强, 邓建国, 蒋靖坤, 郝吉明 (3095)
钢铁工业排放颗粒物中碳组分的特征	张进生, 吴建会, 马威, 冯银厂 (3102)
常州市大气 PM _{2.5} 中 PAHs 污染特征及来源解析	顾爱军, 刘佳澍, 罗世鹏, 毕承路, 苏亚兰, 叶招莲, 盖鑫磊 (3110)
兰州河谷盆地大气多环芳烃干沉降通量及来源	尉媛丽, 刘攀亮, 于周锁, 高宏, 毛潇萱, 马建民, 黄韬 (3120)
株洲市大气降尘中元素特征及来源分析	王世豪, 张凯, 柴发合, 钟学才, 周广柱, 杨晴, 柯馨妹 (3130)
传统北京烤鸭烤制过程中大气污染物的排放特征	徐敏, 何万清, 聂磊, 韩力慧, 潘涛, 石爱军 (3139)
基于车载测试的重型柴油车尾气典型烷烃排放特征	史纯珍, 郝雪薇, 申现宝, 曹鑫悦, 张伟, 吴辉, 姚志良 (3146)
基于 wavelet-SVM 的 PM ₁₀ 浓度时序数据预测	王平, 张红, 秦作栋, 姚清晨, 耿红 (3153)
广州港船舶停泊工况排放因子实测及排放量初步估算	黄学良, 张洲, 杨威强, 李晟, 朱明, 方华, 何俊杰, 陈俊文, 万承浩, 张艳利, 刘国光, 黄祖照, 王宇骏, 王新明 (3162)
沙尘天气对生物气溶胶中总微生物浓度及粒径分布的影响	李鸿涛, 祁建华, 董立杰, 高冬梅 (3169)
典型生活垃圾处理设施恶臭排放特征及污染评价	芦会杰 (3178)
杭州地区城区降雪中全氟化合物的污染特征	张明, 唐访良, 俞雅雲, 徐建芬, 陈金汉, 余波, 周姗, 张伟 (3185)
黄浦江流域典型污水中不同粒径胶体的三维荧光光谱特征	聂明华, 晏彩霞, 杨毅, 周俊良, 刘敏 (3192)
漓江地表水体有机碳来源	赵海娟, 肖琼, 吴夏, 刘凡, 苗迎, 蒋勇军 (3200)
夏季热分层效应对典型岩溶水库水化学及溶解无机碳的影响	吴飞红, 蒲俊兵, 李建鸿, 张陶, 李丽, 黄思宇 (3209)
城市不同功能区地表水重金属污染特性比较: 以宁波为例	徐美娟, 童桂华, 孙丹, 李建新, 虞效益 (3218)
地下水主要组分水化学异常识别方法对比: 以柳江盆地为例	张小文, 何江涛, 彭聪, 张昌延, 倪泽华 (3225)
人为扰动背景下城郊溪流底质磷的生物-非生物吸收潜力分析	李如忠, 叶舟, 高苏蒂, 郑悦 (3235)
长江口低氧区沉积物中磷的形态及其环境意义	刘军, 臧家业, 冉祥滨, 赵晨英, 刘季花, 王小静 (3243)
三峡库区小流域不同土地利用类型“土壤-水体”氮磷含量特征及其相互关系	陈成龙, 高明, 木志坚, 倪九派, 祁乐 (3254)
黄土高原降雨驱动下流域碳输移特征及其碳流失评估: 以羊圈沟坝系流域为例	鄂馨卉, 汪亚峰, 高扬, 陈利顶, 陈世博, 陈维梁 (3264)
新型溴代苯酚类消毒副产物的氯化降解机制	李欢, 李正魁, 李爱民, 周庆, 王莹, 潘咏 (3273)
藻形态及混凝剂组成对混凝-超滤过程的影响	张大为, 徐慧, 王希, 门彬, 王东升, 段晋明 (3281)
汝溪河浮游硅藻功能群特征及其与环境因子相关性分析	向蓉, 李巧玉, 喻焱, 张洪波, 董聪聪, 施军琼, 吴忠兴 (3290)
石岩水库叶绿素 a 时空分布及其影响因子分析	宋云龙, 张金松, 郭小雅, 朱佳, 王丽, 陶益, 张丽 (3302)
不同湿地模型中根系微生物的多样性	王林, 李冰, 余家辉, 朱加宾, 朱健 (3312)
北海湖微生物群落结构随季节变化特征	张雅洁, 李珂, 朱浩然, 张洪勋 (3319)
基于高通量测序的流化床生物滤器细菌群落结构分析	张海耿, 宋红桥, 顾川川, 单建军, 张宇雷, 倪琦 (3330)
高效反硝化菌和包埋填料性能及微生物群落分析	孟婷, 杨宏 (3339)
基于城市污水资源化的微藻筛选与污水预处理	韩松芳, 金文标, 涂仁杰, 陈洪一 (3347)
生物膜贴壁培养小球藻净化猪粪沼液废水的效果	王愿珠, 程鹏飞, 刘德富, 刘天中 (3354)
微气泡臭氧催化氧化-生化耦合工艺深度处理煤化工废水	刘春, 周洪政, 张静, 陈晓轩, 张磊, 郭延凯 (3362)
pH 冲击对海洋厌氧氨氧化菌处理含海水污水脱氮效能的影响	于德爽, 周同, 李津, 王晓霞, 吴国栋, 王骁静 (3369)
酒精废水部分亚硝化-厌氧氨氧化脱氮的可行性	周正, 林兴, 王凡, 顾澄伟, 沈婧, 袁砚, 金润 (3377)
模拟废水中钼的微生物回收及其对亚甲基蓝的催化特性	康乃馨, 朱能武, 郭雯颖, 何志心 (3385)
采用颜色空间表征 ANAMMOX 启动与冲击过程	王利君, 李志华, 韩冬, 张天宇, 杨成建 (3393)
CSTR 和 MBR 反应器的短程硝化快速启动	张婷, 吴鹏, 沈耀良, 闫刚, 徐乐中, Samwine Thomas (3399)
硫酸盐还原氨氧化体系中基质转化途径	完颜德卿, 黄勇, 毕贞, 刘忻, 姚鹏程, 张文静 (3406)
不同 TOC/NH ₄ ⁺ -N 对厌氧氨氧化脱氮效能的影响	王凡, 刘凯, 林兴, 周正, 李祥, 黄勇 (3415)
盐度对 EGSB 反应器的运行及厌氧颗粒污泥的影响	谭潇, 黄靛, 杨平, 涂奔州 (3422)
CANON 颗粒污泥工艺的启动与负荷提高策略	孙延芳, 韩晓宇, 张树军, 李星, 曹相生 (3429)
胞外聚合物对活性污泥吸附去除全氟辛酸磺酸 (PFOS) 的影响	刘鑫彤, 尹华, 彭辉, 李浩榕, 杨萍萍, 曹雅娟 (3435)
不同施肥方式下紫色土 N ₂ O 与 NO _x 的排放特征	胡磊, 刘韵, 朱波 (3442)
地膜覆盖对蔬菜地甲烷排放的影响	张凯莉, 郝庆菊, 冯迪, 石将来, 石孝均, 江长胜 (3451)
模拟的增温增雨对内蒙古温带草原土壤氨氧化微生物的影响	张翠景, 沈菊培, 孙翼飞, 王军涛, 杨中领, 韩红艳, 张丽梅, 万师强, 贺正 (3463)
长期施肥酸性旱地土壤硝化活性及自养硝化微生物特征	徐白璐, 钟文辉, 黄欠如, 秦红益, 邓欢, 韩成 (3473)
施加碳酸钙对酸性土壤微生物氮循环的影响	郭安宁, 段桂兰, 赵中秋, 唐仲, 王杨扬, 王伯勋 (3483)
水稻不同生育期根际与非根际土壤胞外酶对施氮的响应	魏亮, 汤珍珠, 祝贞科, 蔡观, 葛体达, 王久荣, 吴金水 (3489)
凋落物呼吸温度敏感性的变化特征及其影响因素	张彦军 (3497)
西北干旱区农田土壤磁性特征及其环境意义	王新, 夏敦胜, 王博, 陈红, 刘浩 (3507)
小麦秸秆驱动菱铁矿热解制备磁性生物炭及其吸附 Cd ²⁺ 活性	张如玉, 刘海波, 邹雪华, 庆承松, 李梦雪, 陈冬, 陈天虎 (3519)
交通污染暴露对 DNA 甲基化的影响	汪婷, 丁锐, 黄丹妮, 祝子逸, 章军, 叶怀庄, 徐迎春, 金永堂 (3529)
外接菌种对污泥堆肥效能及堆体细菌群落的影响	杨萍萍, 尹华, 彭辉, 唐少宇, 卢妙, 刘皓 (3536)
中国电动自行车动力铅酸蓄电池生命周期评价	刘巍, 田金平, 陈吕军 (3544)
《环境科学》征稿简则 (3280) 《环境科学》征订启事 (3301) 信息 (3353, 3472, 3535)	

交通污染暴露对 DNA 甲基化的影响

汪婷¹, 丁锐¹, 黄丹妮¹, 祝子逸², 章军³, 叶怀庄⁴, 徐迎春⁵, 金永堂^{1*}

(1. 浙江大学公共卫生学院环境表观遗传实验室, 杭州 310058; 2. 浙江大学医学院附属邵逸夫医院, 杭州 310058; 3. 浙江大学公共卫生学院毒理学研究室, 杭州 310058; 4. 浙江大学公共卫生实验教学中心, 杭州 310058; 5. 浙江大学药学院生化药理学研究室, 杭州 310058)

摘要: 探讨交通污染现场暴露对 DNA 甲基化的影响。30 只 8 周龄 Wistar 大鼠按随机数字表法随机分 5 组, 每组 6 只。其中 3 组分别在隧道(高暴露组)、路口(中暴露组)、校园(对照组)暴露 7 d, 另外 2 组分别在隧道暴露 14 d/28 d。在暴露过程中检测 3 个暴露地点 PM₁₀、NO₂ 的浓度。暴露实验分别在春季、秋季各进行一次。暴露结束后, 焦磷酸测序法检测肺组织和血液中 DNA(*p53*、*MGMT*、*MAGE-A4*)甲基化水平, 并分析比较不同暴露组间 DNA 甲基化水平的差异。结果表明, PM₁₀、NO₂ 浓度均为隧道(高暴露组) > 路口(中暴露组) > 校园(对照组), 差异具有统计学意义。秋季暴露 7 d 后, 与对照组相比, 肺组织中 *p53* ($P_{\text{路口}} = 0.016$; $P_{\text{隧道}} = 0.019$)、*MGMT* ($P_{\text{路口}} = 0.002$; $P_{\text{隧道}} = 0.003$) 启动子甲基化水平显著降低, 随着暴露时间的增加, 甲基化水平进一步降低; *MAGE-A4* 启动子区处于高度甲基化状态, 在肺组织和血液中, 均未发现 *MAGE-A4* 启动子甲基化水平在三暴露组间存在显著的统计学差异。7d 暴露对肺组织中 DNA 甲基化水平的影响更大, 但随着暴露时间的增加, 肺组织和血液中 DNA 甲基化水平改变模式趋于一致。Spearman 相关分析结果显示, 在肺组织中, PM₁₀ 和 *p53* 甲基化水平呈负相关关系 ($r = -0.347$; $P = 0.038$); NO₂ 和 *p53*、*MGMT*、*MAGE-A4* 甲基化水平均存在负相关 (r 值分别为 -0.482 、 -0.444 、 -0.346 , P 值均 < 0.05)。在血液中, *MAGE-A4* 甲基化水平与 PM₁₀、NO₂ 均呈正相关 (r 值分别为 0.395 、 0.431 , P 值均 < 0.05)。交通污染暴露会引起 *p53*、*MGMT* 启动子低甲基化。

关键词: 交通污染; DNA 甲基化; *p53*; *MGMT*; 暴露

中图分类号: X171.5 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2017)08-3529-07 DOI: 10.13227/j.hjxx.201701083

Effects of Traffic-related Air Pollution Exposure on DNA Methylation

WANG Ting¹, DING Rui¹, HUANG Dan-ni¹, ZHU Zi-yi², ZHANG Jun³, YE Huai-zhuang⁴, XU Ying-chun⁵, JIN Yong-tang^{1*}

(1. Environmental Epigenetics Laboratory, Department of Environmental Medicine, School of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China; 2. Department of Cardiothoracic Surgery, Sir Run Run Shaw Hospital, School of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China; 3. Department of Toxicology, School of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China; 4. Public Health Experimental Teaching Center, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China; 5. School of Pharmacology, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

Abstract: The goal of the present study was to explore the effects of traffic-related air pollution exposure on DNA methylation. Into five groups of 6, 30 healthy Wistar rats were randomly divided. Three groups of rats were then exposed to traffic-related air pollution at high (tunnel), moderate (crossroad), and low (control) pollution levels for 7 d, whereas the two other groups were exposed in the tunnel for 14 d/28 d. The levels of PM₁₀ and NO₂ were measured during the exposure. The study was performed in spring and autumn, and lung tissue and blood were collected after the exposure. Promoter methylation levels of *p53*, *MGMT*, and *MAGE-A4* were quantified via pyrosequencing. The levels of PM₁₀ and NO₂ in the crossroad and tunnel groups were significantly higher than those in the control group. After 7 d exposure in autumn, promoter methylation levels of *p53* and *MGMT* in lung tissue significantly decreased, and the methylation status continued to decrease with increasing exposure time; *MAGE-A4* was highly methylated and showed no difference among the three groups. DNA methylation in lung tissue was more likely to be changed compared with that in blood during 7 d exposure. As the exposure time increased, DNA methylation changes between blood and lung tissue started to coincide. In lung tissue, PM₁₀ exposure was significantly associated with decreased *p53* promoter methylation ($r = -0.347$, $P = 0.038$) and NO₂ exposure was significantly associated with decreased promoter methylation of *p53*, *MGMT*, and *MAGE-A4* ($r = -0.482$, -0.444 , and -0.346 , respectively; $P < 0.05$). In blood, PM₁₀ and NO₂ were significantly and positively associated with *MAGE-A4* promoter methylation ($r = 0.395$ and 0.431 , respectively; $P < 0.05$). Traffic-related air pollution exposure may induce promoter hypomethylation of *p53* and *MGMT*.

Key words: traffic-related air pollution; DNA methylation; *p53*; *MGMT*; exposure

收稿日期: 2017-01-11; 修订日期: 2017-03-07

基金项目: 国家自然科学基金项目(81372953, 81673124)

作者简介: 汪婷(1992~), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为环境表观遗传学, E-mail: wangtinghz@zju.edu.cn

* 通信作者, E-mail: jinedu@zju.edu.cn

汽车尾气中含有大量有害物质,包括由碳黑、焦油及重金属等构成的颗粒物(particulate matter, PM),苯及苯系物,多环芳烃(polycyclic aromatic hydrocarbon, PAH)以及 NO_2 、CO、 SO_2 及 O_3 等有害气体^[1]. 颗粒物可能通过引起系统或局部氧化应激、炎症反应,导致人群呼吸道感染、哮喘恶化、癌症风险增加^[2]. 苯是国际癌症研究中心认定的人类致癌物^[3]. 另外,迄今已发现 200 多种 PAHs,其中大部分具有致癌性. 随着机动车数量的不断增长,机动车尾气已经成为城市空气污染的主要来源^[4, 5].

肺癌是目前最常见的原发性恶性肿瘤之一,《2015 年中国肿瘤登记年报》显示肺癌是我国目前死亡率最高的恶性肿瘤^[6]. 多数流行病学研究表明,空气污染与肺癌患者死亡率及住院率升高相关^[7-9]. 随着肿瘤研究的深入,人们逐渐认识到,环境致癌物不仅可通过突变等遗传学机制改变基因的表达,也可通过表观遗传学机制改变基因功能,导致肺癌发生^[10, 11]. DNA 甲基化是目前表观遗传学研究中最为清楚,也是最重要的现象^[12]. 近年来,围绕空气污染相关疾病的表观遗传学机制研究越来越多,但仅限于单一空气污染物实验室暴露^[13]和工厂工人职业暴露^[14-16],国内外关于交通污染现场暴露的研究较为少见.

p53 基因是抑癌基因的一种,其主要功能是促进损伤细胞凋亡^[17]. 有研究表明,*p53* 基因低甲基化与 DNA 双链断裂以及染色体不稳定相关^[18],并参与了肺癌的发生发展^[19]. 有研究发现,工厂工人空气污染物 PAHs 及 PM_{10} 职业暴露会引起 *p53* 基因低甲基化^[20-22]. *MGMT* (O6-methylguanine DNA methyltransferase) 基因的主要功能是通过移除烷化剂加和物,保护细胞免受烷化剂的致癌作用^[23, 24]. 研究在肺癌等多种癌症细胞中都发现了 *MGMT* 基因高甲基化现象^[25-27]. 有报道指出,煤烟暴露引起的肺癌与 *MGMT* 基因高甲基化相关^[28]. *MAGE-I* 类抗原基因(melanoma-associated antigen gene-I)大多定位在 X 染色体上,主要功能是促进肿瘤细胞的增殖转移,一般只在睾丸和胎盘组织中表达^[29]. *MAGEs* 基因高表达在肺癌细胞中常见,与肺癌发生发展相关^[30-32].

综上所述,环境污染物暴露可能通过引起 *p53*、*MGMT*、*MAGEs* 基因甲基化异常,导致肺癌的发生. 本研究分析了交通污染暴露对 *p53*、*MGMT*、*MAGE-A4* 基因甲基化的影响,从表观遗传学角度探讨交通

污染暴露的致病和致癌机制.

1 材料与方法

1.1 主要试剂及仪器

仪器:中流量总悬浮颗粒物采样器(ZC-Q0101,浙江恒达仪器仪表有限公司)、焦磷酸测序仪(PyroMark Q24,美国 Qiagen 公司). 试剂:组织基因组 DNA 提取试剂盒购自天根生物科技(北京)有限公司,重亚硫酸盐纯化试剂盒、PCR 扩增试剂盒、焦磷酸测序试剂盒均购自美国 Qiagen 公司.

1.2 实验动物与现场暴露

60 只清洁级健康 Wistar 大鼠(8 周龄),由浙江大学动物研究中心提供. 大鼠购入后在动物房内适应一周,饲养温度为 20~24℃,保持 12 h/12 h 昼夜交替,可自由饮水进食. 适应性喂养一周后,按随机数字表法随机分 5 组,每组 6 只. 其中 3 组分别在隧道(高暴露组)、路口(中暴露组)、校园(对照组)暴露 7 d,另外 2 组分别在隧道暴露 14 d/28 d,暴露时间为每天 07:30~19:30. 暴露实验分别在春季、秋季各进行一次. 本研究中的春季和秋季根据气象学季节的定义确定,当日平均气温连续 5 d 高于 10℃时为春季开始,当日平均气温连续 5 d 低于 22℃时为秋季开始.

1.3 环境检测

采用中流量总悬浮颗粒物采样器测量暴露现场 PM_{10} 的浓度,每次自 07:30~19:30,每小时采样一次,连续检测 7 d,污染物水平为 84 次测量值的平均值. NO_2 浓度的测定采用盐酸萘乙二胺比色法(Saltzman 法).

1.4 DNA 甲基化检测

暴露结束后,将大鼠带回实验室,称重,经 CO_2 吸入使其麻醉,经左股动脉采血, -80℃ 保存. 经颈椎脱臼处死大鼠,解剖后,经心脏用生理盐水进行灌注,直至冲洗出的液体无血液. 完整获取其肺组织,用冷生理盐水冲洗后,拭干、称重, -80℃ 保存. 肺组织/血液 DNA 的提取按照 DNA 提取试剂盒所提供的方法进行. PCR 和焦磷酸测序部分见文献[33],引物序列和扩增条件详见表 1. PCR 体系(25 μL): dNTPs 和酶混合液 12.5 μL , Coraload Concentrate 2.5 μL , 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 引物各 0.5 μL , 去离子水 8 μL , 纯化 DNA 1 μL . CpG 位点甲基化百分率的取值范围为 0~100%,计算各检测 CpG 位点甲基化百分率的平均值,将该值作为基因启动子区的甲基化水平.

表 1 DNA 甲基化检测引物序列

Table 1 Primers and PCR conditions for DNA methylation analyses					
基因	上游引物 (5' to 3')	下游引物 (5' to 3')	测序引物 (5' to 3')	PCR 扩增条件	CpG 位点
<i>p53</i>	ATTATAGTTAGGGGCT ATTTGCTA	bio-AAAAAACCAATAACC ACAAAAAACTCATC	GGGGGTATTGTGTAT	95℃ 15min(1 个循环)	3
				94℃ 30 s, 57℃ 30 s, 72℃ 30 s (45 个循环)	
<i>MGMT</i>	GTTTTGTATAGTTTG TAAATTGGTGAGT	bio-AAAAAAAAAACCCCTT AAAACAACCTCAA	GTGAGTTTGGGGTA	94℃ 30 s, 57℃ 30 s, 72℃ 30 s (45 个循环)	2
<i>MAGE-A4</i>	TATTTTGTAAAGATTTT TGGAAGGAAGTTGT	bio-AATCAATCCAAAATT CTCACCTCAA	TTGGAAGGAAGTTGTAT	94℃ 30 s, 57.5℃ 30 s, 72℃ 30 s (45 个循环)	3
				72℃ 5 min(1 个循环)	

1.5 统计分析

采用 SPSS 20.0 统计软件对实验数据进行分析. DNA 甲基化水平比较符合正态分布,用平均值 ± 标准差表示. 根据各暴露现场污染物的浓度,将隧道归为高暴露组,路口归为中暴露组,校园归为对照组. 采用单因素方差法分析不同暴露组间 DNA 甲基化水平的差异,采用 Spearman 相关分析法分析污染物与 DNA 甲基化的关系. 所有统计学检验均采用双侧检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果与分析

2.1 基本情况

整个暴露过程中,大鼠活动正常,无器质性病变. 暴露现场污染物浓度详见表 2,主要污染物(PM_{10} 、 NO_2)浓度均为隧道(高暴露组) > 路口(中暴露组) > 校园(对照组),差异具有统计学意义. 另外,秋季污染物浓度高于春季,但差异无统计学意义.

2.2 暴露 7 d 后 DNA 甲基化水平比较

春季暴露 7 d 后,在肺组织和血液中,未发现 *p53*、*MGMT* 和 *MAGE-A4* 启动子甲基化水平在三组间存在显著的统计学差异. 秋季暴露 7 d 后,路口

表 2 春秋季各暴露地点主要交通相关空气污染物水平¹⁾

Table 2 Mean concentrations of traffic-related air pollutants during the exposures			
项目	污染物	春季	秋季
$PM_{10}/\mu g \cdot m^{-3}$	校园组	54.17 ± 31.95	69.06 ± 7.18
	路口组	531.94 ± 125.40 ^a	604.17 ± 87.34 ^a
	隧道组	1 258.33 ± 216.10 ^{a,b}	1 684.72 ± 193.05 ^{a,b}
$NO_2/\mu g \cdot m^{-3}$	校园组	28.05 ± 6.08	24.97 ± 6.76
	路口组	92.62 ± 18.05 ^a	115.33 ± 21.15 ^a
	隧道组	242.69 ± 55.79 ^{a,b}	351.82 ± 57.33 ^{a,b}
$T/^\circ C$	校园组	16.3 ± 0.7	22.2 ± 1.5
	路口组	16.7 ± 0.7	22.8 ± 2.5
	隧道组	18.7 ± 0.8	23.2 ± 0.9

1) a 表示与校园组比较, $P < 0.05$; b 表示与路口组比较, $P < 0.05$

和隧道暴露组肺组织 *p53* ($P_{\text{路口}} = 0.000$; $P_{\text{隧道}} = 0.000$) 和 *MGMT* ($P_{\text{路口}} = 0.000$; $P_{\text{隧道}} = 0.001$) 启动子甲基化水平均低于校园组,差异具有统计学意义,而血液 *p53* 和 *MGMT* 启动子甲基化水平在各暴露组间均不存在统计学差异. *MAGE-A4* 启动子区处于高度甲基化状态,暴露 7 d 后,在肺组织和血液中,均未发现 *MAGE-A4* 启动子甲基化水平在三组间存在显著的统计学差异. 详见表 3.

表 3 暴露 7 d 后大鼠肺组织/血液 DNA 甲基化水平¹⁾

Table 3 Promoter methylation changes measured after 7 d exposure							
基因		春季			秋季		
		校园组	路口组	隧道组	校园组	路口组	隧道组
<i>p53</i>	肺组织	8.44 ± 2.58	8.83 ± 2.33	7.00 ± 1.41	12.17 ± 1.11	8.33 ± 0.56 ^a	8.67 ± 0.52 ^a
	血液	7.56 ± 1.17	5.83 ± 1.41	6.17 ± 1.03	9.83 ± 2.10	10.83 ± 2.39	12.67 ± 1.03
<i>MGMT</i>	肺组织	11.42 ± 2.50	10.50 ± 2.32	8.75 ± 0.82	19.08 ± 2.27	10.08 ± 0.80 ^a	11.42 ± 0.66 ^a
	血液	9.25 ± 0.52	8.33 ± 1.33	7.92 ± 2.44	14.67 ± 2.34	12.83 ± 3.16	16.67 ± 1.08
<i>MAGE-A4</i>	肺组织	92.83 ± 1.09	90.94 ± 2.25	91.72 ± 1.60	93.22 ± 0.72	92.22 ± 1.94	92.28 ± 0.44
	血液	91.72 ± 1.78	92.72 ± 1.73	92.61 ± 0.65	91.44 ± 0.81	92.17 ± 2.21	93.50 ± 0.72

1) a 表示与校园组比较, $P < 0.05$

2.3 DNA 甲基化水平与污染物相关性分析

如表 4 所示,在肺组织中, PM_{10} 和 *p53* 启动子甲

基化水平呈负相关关系 ($r = -0.347$; $P = 0.038$),而与 *MGMT*、*MAGE-A4* 启动子甲基化水平的相关性

无统计学意义; NO₂ 和 *p53*、*MGMT*、*MAGE-A4* 启动子甲基化水平均存在负相关(*r* 值分别为 -0.482、-0.444、-0.346, *P* 值均 < 0.05)。在血液中, *MAGE-A4* 启动子甲基化水平与 PM₁₀、NO₂ 均呈正相关(*r* 值分别为 0.395、0.431, *P* < 0.05); PM₁₀、NO₂ 与 *p53*、*MGMT* 启动子甲基化水平的相关性均无统计学差异。

表 4 DNA 甲基化水平与污染物 (PM₁₀、NO₂) 的相关性分析结果 (*r* 值)¹⁾

Table 4 Association of PM₁₀/NO₂ average exposure with promoter methylation levels

项目	基因	肺组织		血液	
		<i>r_s</i>	<i>P</i> 值	<i>r_s</i>	<i>P</i> 值
PM ₁₀	<i>p53</i>	-0.347 ^a	0.038	0.248	0.144
	<i>MGMT</i>	-0.315	0.061	0.259	0.127
	<i>MAGE-A4</i>	-0.312	0.064	0.395 ^a	0.017
NO ₂	<i>p53</i>	-0.482 ^a	0.003	0.206	0.228
	<i>MGMT</i>	-0.444 ^a	0.007	0.142	0.409
	<i>MAGE-A4</i>	-0.346 ^a	0.039	0.431 ^a	0.009

1) a 表示 *P* < 0.05

2.4 DNA 甲基化水平与暴露时间的关系

利用隧道暴露组,探讨在高浓度污染物暴露情况下,DNA 甲基化水平与暴露时间的关联。如表 5 所示,春季暴露组中,肺组织 *p53* 和 *MGMT* 启动子甲基化水平随暴露时间的增加先降低后升高;隧道暴露 28 d 后,血液 *p53* 和 *MGMT* 启动子甲基化水平开始升高。秋季暴露组中,肺组织、血液 *p53* 和 *MGMT* 启动子甲基化水平随暴露时间的增加而逐渐降低。无论春季还是秋季,*MAGE-A4* 启动子甲基化水平基本不随暴露时间增加而发生显著的改变。

3 讨论

大量实验研究表明,表观遗传学修饰异常与疾病的发生发展密切相关,但目前仍不清楚表观遗传学修饰异常是疾病发生的原因还是结果^[34, 35]。本研究首次探索了交通污染暴露对 *p53*、*MGMT*、*MAGE-A4* 基因启动子甲基化水平的影响,对揭示表观遗传修饰异常与疾病发生的因果关系具有重要的科学意义。

表 5 隧道暴露 7 d/14 d/28 d 后大鼠肺组织/血液 DNA 甲基化水平比较¹⁾

Table 5 Promoter methylation changes measured after 7 d/14 d/28 d exposures in the tunnel

基因		春季			秋季		
		7 d	14 d	28 d	7 d	14 d	28 d
<i>p53</i>	肺组织	7.00 ± 1.41	5.06 ± 0.44 ^a	12.94 ± 0.88 ^{a,b}	8.67 ± 0.52	8.00 ± 0.82	5.78 ± 1.07 ^{a,b}
	血液	6.17 ± 1.03	7.00 ± 0.42	11.33 ± 2.21 ^{a,b}	12.67 ± 1.03	7.89 ± 0.75 ^a	6.33 ± 0.99 ^{a,b}
<i>MGMT</i>	肺组织	8.75 ± 0.82	6.17 ± 0.61 ^a	17.50 ± 2.41 ^{a,b}	11.42 ± 0.66	11.50 ± 0.95	8.00 ± 1.61 ^{a,b}
	血液	7.92 ± 2.44	8.08 ± 0.80	14.25 ± 3.28 ^{a,b}	16.67 ± 1.08	7.75 ± 2.12 ^a	11.50 ± 2.07 ^{a,b}
<i>MAGE-A4</i>	肺组织	91.72 ± 1.60	92.22 ± 1.07	92.61 ± 0.83	92.28 ± 0.44	91.94 ± 0.71	91.78 ± 1.03
	血液	92.61 ± 0.65	93.61 ± 0.49	92.17 ± 1.31 ^b	93.50 ± 0.72	92.50 ± 1.22	92.11 ± 0.72

1) a 表示与 7 d 比较, *P* < 0.05; b 表示与 14 d 比较, *P* < 0.05

目前已知 *p53* 基因是细胞凋亡的一种正向调节因子; *MGMT* 基因作为肿瘤抑制基因,具有通过移除烷化剂加和物,保护细胞免受烷化剂致癌作用的功能; *MAGEs* 基因主要参与肿瘤细胞的增殖转移。有报道称,肺癌病人细胞中存在 *p53*、*MGMT*、*MAGEs* 基因甲基化异常现象。本研究发现,秋季隧道暴露 7 d 后,肺组织中 *p53* 启动子甲基化水平显著降低,而且随着暴露时间的增加,甲基化水平进一步降低,这与国内外其他研究结果相一致。有研究在暴露于高浓度 PM 和 PAHs 的工厂工人血液发现了 *p53* 基因启动子低甲基化现象^[21, 22]。Peluso 等^[15]对来自泰国某工厂工人、工厂附近居民及郊区居民的血样进行检测后发现, *p53* 基因启动子甲基化水平随着居住地与工厂间距离的减小而降低。

有报道指出,煤烟暴露会引起 *MGMT* 启动子高

甲基化^[28],也有研究在肺癌细胞中检测到了 *MGMT* 高甲基化现象^[26, 27],与本研究发现的交通污染暴露会导致 *MGMT* 启动子低甲基化结果不一致。可能由于 *MGMT* 启动子低甲基化是空气污染暴露引起肺癌的一个早期事件,也可能与不同地区、不同时期污染物水平,污染物主要来源及研究对象不同有关,需在今后的研究中进一步阐明。

本研究在肺癌病人的唾液中检测到了 *MAGE-A1* 和 *MAGE-B2* 启动子低甲基化现象^[30]。 *MAGEs* 低甲基化是多种肿瘤早期筛选的指标之一,包括肺癌^[32, 36]。但本研究发现交通污染暴露并不会导致 *MAGE-A4* 启动子甲基化水平发生显著改变。可能与 *MAGEs* 基因家族本身高度甲基化,只在睾丸和胎盘组织中表达^[29]相关,也可能是 *MAGEs* 基因低甲基化是肿瘤发生后的结果。

有报道称^[37], 季节是引起表观遗传改变的因素之一, 因此本研究分别在春季和秋季进行了一次现场暴露实验, 并比较了两阶段 DNA 甲基化水平的差异. 笔者研究发现, 秋季对照组 *p53* 和 *MGMT* 启动子甲基化水平高于春季对照组, 可能与气温有关, 原因有待进一步研究. 本研究还发现, 虽然各污染物水平在春秋两季的差异无统计学意义, 但表观遗传改变却存在季节差异. 秋季暴露 7 d 后, 肺组织中 *p53*、*MGMT* 启动子甲基化水平显著降低, 而春季暴露 7 d 后, 未发现 3 组间甲基化水平存在统计学差异. 另外, 在春季, 随着暴露时间的增加, 肺组织 *p53*、*MGMT* 启动子甲基化水平先降低后升高; 在秋季, 肺组织 *p53*、*MGMT* 启动子甲基化水平随着暴露时间的增加而逐渐降低. 颗粒物是个混合物^[38], 春秋结果不完全相同可能与颗粒物的组成成分不同有关, 也可能与湿度和温度的修饰效应^[39]有关, 其原因有待进一步研究.

围绕空气污染相关疾病的表观遗传学机制研究多以外周血为研究样本. 本研究首次比较了相同暴露条件下, 同一个体血液和肺组织样本中 DNA 甲基化水平改变模式的差异. 秋季暴露 7 d 后, 路口和隧道暴露组肺组织 *p53*、*MGMT* 启动子甲基化水平与校园组的差异就有统计学意义, 而并没有发现血液中这两个基因启动子甲基化水平在 3 组之间存在统计学差异. 本研究选取了与交通污染最相关的 PM_{10} 、 NO_2 两种污染物^[40] 进行分析, Spearman 相关分析结果也显示 PM_{10} 、 NO_2 的 7 d 暴露对肺组织中 DNA 甲基化水平的影响更大. 这说明影响血液 DNA 甲基化的因素非常复杂, 除上述提到的因素外, 空气污染暴露引起的炎症反应、氧化应激等因素可能也起到一定作用^[2, 41]. 但随着暴露时间的增加, 肺组织和血液中 DNA 甲基化水平改变模式趋于一致. 上述结果表明, 血液样本易采集且能较好地反映肺组织中基因甲基化水平变化情况, 在实际工作中可以血液代表组织样本研究污染物暴露对组织基因甲基化水平的影响. 同时建议在研究短期暴露效应时, 如果选择血液样本, 给出结果时要稍加注意.

本研究采用焦磷酸测序法检测基因甲基化水平, 其结果重复性强, 可以同时检测多个 CpG 位点的甲基化水平, 精确率更高. 本次研究首次比较了肺组织和血液中 DNA 甲基化水平改变的差异. 本文是现场暴露研究, 能综合评价各种因素(污染物、温度、噪声等)对 DNA 甲基化水平的影响, 但是难

以确定各个因素的贡献大小. 其次, 本研究以大鼠为实验对象, 上述结果能否在人群中重现仍需进一步验证. 最后, 本研究以表观遗传学修饰异常改变为结局指标, 秋季隧道暴露 28d 后, *p53* 和 *MGMT* 启动子甲基化水平与春季对照组差异并不大, 因此无法确定表观遗传学修饰异常改变与疾病发生相关.

4 结论

(1) 交通污染暴露会导致 *p53* 和 *MGMT* 启动子低甲基化, 且 DNA 甲基化水平改变存在季节差异和组织差异, 秋季暴露更容易引起 DNA 甲基化水平发生改变, 肺组织中 DNA 甲基化水平改变比血液中更容易发生.

(2) 交通污染暴露会引起大鼠血液和肺组织中 *p53*、*MGMT* 启动子甲基化水平异常改变, 但表观遗传修饰异常改变后的结果还需进一步地研究. 从表观遗传角度解释复杂疾病的发生机制^[42, 43], 表观遗传学的药物研究和开发已成为肿瘤治疗研究的热点领域^[44], 深入进行表观遗传效应研究, 不仅对揭示污染物的作用机制具有重要科学意义, 而且为空气污染所致疾病的防治提供了一个重要靶向.

参考文献:

- [1] Heck J E, Wu J, Lombardi C, *et al.* Childhood cancer and traffic-related air pollution exposure in pregnancy and early life [J]. *Environmental Health Perspectives*, 2013, **121**(11-12): 1385-1391.
- [2] Esposito S, Tenconi R, Lelli M, *et al.* Possible molecular mechanisms linking air pollution and asthma in children [J]. *BMC Pulmonary Medicine*, 2014, **14**(1): 31.
- [3] 叶丛雷, 谢品华, 秦敏, 等. 广州市交通主干道空气中苯系物的测量 [J]. *环境科学*, 2012, **33**(11): 3718-3724.
Ye C L, Xie P H, Qin M, *et al.* BTX monitoring nearby main road traffic in Guangzhou [J]. *Environmental Science*, 2012, **33**(11): 3718-3724.
- [4] 孟夏, 陈仁杰, 阚海东. 我国交通来源大气污染现状及其健康危害 [J]. *中华预防医学杂志*, 2011, **45**(11): 1043-1045.
- [5] Patel M M, Miller R L. Air pollution and childhood asthma: recent advances and future directions [J]. *Current Opinion in Pediatrics*, 2009, **21**(2): 235-242.
- [6] Chen W Q, Zheng R S, Baade P D, *et al.* Cancer statistics in China, 2015 [J]. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 2016, **66**(2): 115-132.
- [7] Jardim M J. MicroRNAs: implications for air pollution research [J]. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 2011, **717**(1-2): 38-45.
- [8] Holloway J W, Savarimuthu Francis S, Fong K M, *et al.* Genomics and the respiratory effects of air pollution exposure [J]. *Respirology*, 2012, **17**(4): 590-600.
- [9] Reid B C, Ghazarian A A, DeMarini D M, *et al.* Research opportunities for cancer associated with indoor air pollution from

- solid-fuel combustion [J]. *Environmental Health Perspectives*, 2012, **120**(11): 1495-1498.
- [10] Soberanes S, Gonzalez A, Urich D, *et al.* Particulate matter air pollution induces hypermethylation of the p16 promoter via a mitochondrial ROS-JNK-DNMT1 pathway [J]. *Scientific Reports*, 2012, **2**: 275.
- [11] Bowman R V, Wright C M, Davidson M R, *et al.* Epigenomic targets for the treatment of respiratory disease [J]. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*, 2009, **13**(6): 625-640.
- [12] Yang I V, Schwartz D A. Epigenetic control of gene expression in the lung[J]. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 2011, **183**(10): 1295-1301.
- [13] Rager J E, Smeester L, Jaspers I, *et al.* Epigenetic changes induced by air toxics: formaldehyde exposure alters miRNA expression profiles in human lung cells [J]. *Environmental Health Perspectives*, 2011, **119**(4): 494-500.
- [14] Bollati V, Marinelli B, Apostoli P, *et al.* Exposure to metal-rich particulate matter modifies the expression of candidate microRNAs in peripheral blood leukocytes [J]. *Environmental Health Perspectives*, 2010, **118**(6): 763-768.
- [15] Peluso M, Bollati V, Munia A, *et al.* DNA methylation differences in exposed workers and nearby residents of the Ma Ta Phut industrial estate, Rayong, Thailand [J]. *International Journal of Epidemiology*, 2013, **41**(6): 1753-1760.
- [16] Bollati V, Baccarelli A, Hou L F, *et al.* Changes in DNA methylation patterns in subjects exposed to low-dose benzene[J]. *Cancer Research*, 2007, **67**(3): 876-880.
- [17] Robles A I, Linke S P, Harris C C. The *p53* network in lung carcinogenesis[J]. *Oncogene*, 2002, **21**(45): 6898-6907.
- [18] Pavanello S, Pesatori A C, Dioni L, *et al.* Shorter telomere length in peripheral blood lymphocytes of workers exposed to polycyclic aromatic hydrocarbons[J]. *Carcinogenesis*, 2010, **31**(2): 216-221.
- [19] Woodson K, Mason J, Choi S W, *et al.* Hypomethylation of *p53* in peripheral blood DNA is associated with the development of lung cancer [J]. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, 2001, **10**(1): 69-74.
- [20] Pavanello S, Bollati V, Pesatori A C, *et al.* Global and gene-specific promoter methylation changes are related to *anti-B[a]* PDE-DNA adduct levels and influence micronuclei levels in polycyclic aromatic hydrocarbon-exposed individuals [J]. *International Journal of Cancer*, 2009, **125**(7): 1692-1697.
- [21] Alegria-Torres J A, Barretta F, Batres-Esquivel L E, *et al.* Epigenetic markers of exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons in Mexican brickmakers: a pilot study [J]. *Chemosphere*, 2013, **91**(4): 475-480.
- [22] Hou L F, Zhang X, Tarantini L, *et al.* Ambient PM exposure and DNA methylation in tumor suppressor genes: a cross-sectional study[J]. *Particle and Fiber Toxicology*, 2011, **8**(1): 25.
- [23] Fahrner J, Kaina B. *O*⁶-methylguanine-DNA methyltransferase in the defense against *N*-nitroso compounds and colorectal cancer [J]. *Carcinogenesis*, 2013, **34**(11): 2435-2442.
- [24] Palmisano W A, Divine K K, Saccomanno G, *et al.* Predicting lung cancer by detecting aberrant promoter methylation in sputum [J]. *Cancer Research*, 2000, **60**(21): 5954-5958.
- [25] Esteller M, Hamilton S R, Burger P C, *et al.* Inactivation of the DNA repair gene *O*⁶-methylguanine-DNA methyltransferase by promoter hypermethylation is a common event in primary human neoplasia[J]. *Cancer Research*, 1999, **59**(4): 793-797.
- [26] Zöchbauer-Müller S, Fong K M, Virmani A K, *et al.* Aberrant promoter methylation of multiple genes in non-small cell lung cancers[J]. *Cancer Research*, 2001, **61**(1): 249-255.
- [27] Bujko M, Kowalewska M, Danska-Bidzinska A, *et al.* The promoter methylation and expression of the *O*⁶-methylguanine-DNA methyltransferase gene in uterine sarcoma and carcinosarcoma[J]. *Oncology Letters*, 2012, **4**(3): 551-555.
- [28] Liu Y, Lan Q, Shen M, *et al.* Aberrant gene promoter methylation in sputum from individuals exposed to smoky coal emissions[J]. *Anticancer Research*, 2008, **28**(4B): 2061-2066.
- [29] 徐莹莹, 桑梅香, 单保恩. 肿瘤抗原 MAGE 与 p53 关系的研究进展[J]. *癌变·畸变·突变*, 2013, **25**(2): 152-154.
- [30] Olaussen K A, Soria J C, Park Y W, *et al.* Assessing abnormal gene promoter methylation in paraffin-embedded sputum from patients with NSCLC[J]. *European Journal of Cancer*, 2005, **41**(14): 2112-2119.
- [31] Gure A O, Chua R, Williamson B, *et al.* Cancer-testis genes are coordinately expressed and are markers of poor outcome in non-small cell lung cancer[J]. *Clinical Cancer Research*, 2005, **11**(22): 8055-8062.
- [32] Grunwald C, Koslowski M, Arsiray T, *et al.* Expression of multiple epigenetically regulated cancer/germline genes in nonsmall cell lung cancer[J]. *International Journal of Cancer*, 2006, **118**(10): 2522-2528.
- [33] Ding R, Jin Y T, Liu X N, *et al.* Characteristics of DNA methylation changes induced by traffic-related air pollution[J]. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 2016, **796**: 46-53.
- [34] Cortessis V K, Thomas D C, Levine A J, *et al.* Environmental epigenetics: prospects for studying epigenetic mediation of exposure-response relationships [J]. *Human Genetics*, 2012, **131**(10): 1565-1589.
- [35] Lovinsky-Desir S, Miller R L. Epigenetics, asthma, and allergic diseases: a review of the latest advancements [J]. *Current Allergy and Asthma Reports*, 2012, **12**(3): 211-220.
- [36] Liu F, Killian J K, Yang M, *et al.* Epigenomic alterations and gene expression profiles in respiratory epithelia exposed to cigarette smoke condensate [J]. *Oncogene*, 2010, **29**(25): 3650-3664.
- [37] Ricceri F, Trevisan M, Fiano V, *et al.* Seasonality modifies methylation profiles in healthy people[J]. *PLoS One*, 2014, **9**(9): e106846.
- [38] Hou L F, Zhang X, Zheng Y N, *et al.* Altered methylation in tandem repeat element and elemental component levels in inhalable air particles [J]. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 2014, **55**(3): 256-265.
- [39] 罗娜娜, 赵文吉, 晏星, 等. 交通与气象因子对不同粒径大气颗粒物的影响机制研究[J]. *环境科学*, 2013, **34**(10): 3741-3748.
- [40] Luo N N, Zhao W J, Yan X, *et al.* Study on influence of traffic and meteorological factors on inhalable particle matters of different size[J]. *Environmental Science*, 2013, **34**(10): 3741-3748.
- [40] Kelly F J, Fussell J C. Air pollution and airway disease[J].

- Clinical & Experimental Allergy, 2011, **41**(8): 1059-1071.
- [41] Sørensen M, Daneshvar B, Hansen M, *et al.* Personal PM_{2.5} exposure and markers of oxidative stress in blood [J]. Environmental Health Perspectives, 2003, **111** (2): 161-166.
- [42] Karmaus W, Ziyab A H, Everson T, *et al.* Epigenetic mechanisms and models in the origins of asthma [J]. Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology, 2013, **13**(1): 63-69.
- [43] Fuso A. The ‘ golden age ’ of DNA methylation in neurodegenerative diseases [J]. Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, 2013, **51**(3): 523-534.
- [44] Hatzimichael E, Crook T. Cancer epigenetics: new therapies and new challenges [J]. Journal of Drug Delivery, **2013**: 529312.

《环境科学》连续 5 次荣获 “中国最具国际影响力学术期刊”称号

2016 年 11 月 22 日,中国学术期刊(光盘版)电子杂志社(CNKI)等机构发布“2016 中国最具国际影响力学术期刊”评选结果.《环境科学》再获“2016 中国最具国际影响力学术期刊”称号,是唯一入选的环境科学与资源科学类中文期刊,也是自首次评选以来连续 5 次获此殊荣. 评选以期刊国际影响力指数进行排序,遴选出排名前 5% (Top5%) 的期刊获评“中国最具国际影响力学术期刊”.



CONTENTS

Evaluation and Development of a Weighing Chamber by Using Saturated MgCl_2 Solution	LI Xiao-xiao, ZHANG Qiang, DENG Jian-guo, <i>et al.</i> (3095)
Characteristics Research on Carbonaceous Component of Particulate Matter Emitted from Iron and Steel Industry	ZHANG Jin-sheng, WU Jian-hui, MA Xian, <i>et al.</i> (3102)
Pollution Characteristics and Source Identification of PAHs in Atmospheric $\text{PM}_{2.5}$ in Changzhou City	GU Ai-jun, LIU Jia-shu, LUO Shi-peng, <i>et al.</i> (3110)
Atmospheric Dry Deposition Fluxes and Sources of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Lanzhou Valley, Northwest China	JU Yuan-li, LIU Pan-liang, YU Zhou-suo, <i>et al.</i> (3120)
Characteristics and Sources of Elements in Atmospheric Dust Fall in Zhuzhou City, Central China	WANG Shi-hao, ZHANG Kai, CHAI Fa-he, <i>et al.</i> (3130)
Atmospheric Pollutant Emission Characteristics from the Cooking Process of Traditional Beijing Roast Duck	XU Min, HE Wan-qing, NIE Lei, <i>et al.</i> (3139)
Exhaust Emission Characteristics of Typical Alkanes from Heavy-Duty Diesel Vehicles Based on a Portable Emission Measurement System	SHI Chun-zhen, HAO Xue-wei, SHEN Xian-bao, <i>et al.</i> (3146)
PM_{10} Concentration Forecasting Model Based on Wavelet-SVM	WANG Ping, ZHANG Hong, QIN Zuo-dong, <i>et al.</i> (3153)
Emission Factors and Preliminary Emission Estimates of Air Pollutants from Ships at Berth in the Guangzhou Port	HUANG Xue-liang, ZHANG Zhou, YANG Wei-qiang, <i>et al.</i> (3162)
Influence of Dust Events on the Concentration and Size Distribution of Microorganisms in Bioaerosols	LI Hong-tao, Qi Jian-hua, DONG Li-jie, <i>et al.</i> (3169)
Odor Emission Characteristics and Pollution Evaluation from Typical Household Rubbish Disposal Facilities	LU Hui-jie (3178)
Perfluorinated Compounds in Snow from Downtown Hangzhou, China	ZHANG Ming, TANG Fang-liang, YU Ya-yun, <i>et al.</i> (3185)
Fluorescence Characterization of Fractionated Colloids in Wastewaters Received by Huangpu River	NIE Ming-hua, YAN Cai-xia, YANG Yi, <i>et al.</i> (3192)
Sources of Organic Carbon in the Surface Water of Lijiang River	ZHAO Hai-juan, XIAO Qiong, WU Xia, <i>et al.</i> (3200)
Impacts of Thermal Stratification on the Hydrochemistry and Dissolved Inorganic Carbon in a Typical Karst Reservoir in Summer	WU Fei-hong, PU Jun-bing, LI Jian-hong, <i>et al.</i> (3209)
Comparison of Heavy Metal Contamination Characteristics in Surface Water in Different Functional Areas; A Case Study of Ningbo	XU Mei-juan, TONG Gui-hua, SUN Dan, <i>et al.</i> (3218)
Comparison of Identification Methods of Main Component Hydrochemical Anomalies in Groundwater; A Case Study of Liujiang Basin	ZHANG Xiao-wen, HE Jiang-tao, PENG Cong, <i>et al.</i> (3225)
Biotic and Abiotic Uptake of Phosphorus in Benthic Sediments of Suburban Streams Under Intense Human Disturbance Scenario	LI Ru-zhong, YE Zhou, GAO Su-di, <i>et al.</i> (3235)
Sedimentary Phosphorus Speciation in the Coastal Hypoxic Area of Changjiang Estuary and Its Environmental Significance	LIU Jun, ZANG Jia-ye, RAN Xiang-bin, <i>et al.</i> (3243)
Characteristics and the Relationship of Nitrogen and Phosphorus in Soil and Water of Different Land Use Types of a Small Watershed in the Three Gorges Reservoir Area	CHEN Cheng-long, GAO Ming, MU Zhi-jian, <i>et al.</i> (3254)
Characteristics of Carbon Transportation Under Rainfall Events and Associated Carbon Loss Evaluation in Loess Plateau, China; A Case Study of Yangjuangou Dam Watershed	E Xin-hui, WANG Ya-feng, GAO Yang, <i>et al.</i> (3264)
New Bromated Phenolic Disinfection Byproducts: Mechanism of Their Decomposition During Chlorination	LI Huan, LI Zheng-kui, LI Ai-min, <i>et al.</i> (3273)
Effects of Algal Morphology and Al Species Distribution on the Coagulation-Ultrafiltration Process	ZHANG Da-wei, XU Hui, WANG Xi, <i>et al.</i> (3281)
Functional Group Characteristics of Planktonic Diatoms and Their Relationship with Environmental Factors in the Ruxi River	XIANG Rong, LI Qiao-yu, YU Yi, <i>et al.</i> (3290)
Spatiotemporal Variations of Chlorophyll <i>a</i> and Its Relationship to Environmental Factors in Shiyan Reservoir	SONG Yun-long, ZHANG Jin-song, Guo Xiao-ya, <i>et al.</i> (3302)
Rhizosphere Microbial Diversity in Different Wetland Microcosms	WANG Lin, LI Bing, YU Jia-hui, <i>et al.</i> (3312)
Community Structure of Microorganisms and Its Seasonal Variation in Beihai Lake	ZHANG Ya-jie, LI Ke, ZHU Hao-ran, <i>et al.</i> (3319)
Analysis of Microbial Diversity in a Fluidized-Sand Biofilter Based on High-Throughput Sequencing Technology	ZHANG Hai-geng, SONG Hong-qiao, GU Chuan-chuan, <i>et al.</i> (3330)
Analysis of High-efficiency Denitrifying Bacteria and Embedding Filler Performance and Microflora	MENG Ting, YANG Hong (3339)
Selection of Microalgae for Biofuel Using Municipal Wastewater as a Resource	HAN Song-fang, JIN Wen-biao, TU Ren-jie, <i>et al.</i> (3347)
Purification Effect of Piggery Wastewater with <i>Chlorella pyrenoidosa</i> by Immobilized Biofilm-Attached Culture	WANG Yuan-zhu, CHENG Peng-fei, LIU De-fu, <i>et al.</i> (3354)
Combination of Microbubble Catalytic Ozonation and Biological Process for Advanced Treatment of Biotreated Coal Chemical Wastewater	LIU Chun, ZHOU Hong-zheng, ZHANG Jing, <i>et al.</i> (3362)
Effect of pH Shock on Nitrogen Removal Performance of Marine Anaerobic Ammonium-Oxidizing Bacteria Treating Saline Wastewater	YU De-shuang, ZHOU Tong, LI Jin, <i>et al.</i> (3369)
Removal of Nitrogen from Alcohol Wastewater by PN-ANAMMOX	ZHOU Zheng, LIN Xing, WANG Fan, <i>et al.</i> (3377)
Biorecovery of Palladium from Simulated Wastewaters and Its Catalytic Property for Methylene Blue	KANG Nai-xin, ZHU Neng-wu, GUO Wen-ying, <i>et al.</i> (3385)
Investigation of Initiation and Shock Process of ANAMMOX Based on Color Space	WANG Li-jun, LI Zhi-hua, HAN Dong, <i>et al.</i> (3393)
Fast Start-up of Shortcut Nitrification in a CSTR and an MBR	ZHANG Ting, WU Peng, SHEN Yao-liang, <i>et al.</i> (3399)
Conversion Pathways of Substrates in Sulfate-Reducing Ammonia Oxidation System	WANYAN De-qing, HUANG Yong, BI Zhen, <i>et al.</i> (3406)
Effect of Different TOC to NH_4^+ -N Ratios on Nitrogen Removal Efficiency in the ANAMMOX Process	WANG Fan, LIU Kai, LIN Xing, <i>et al.</i> (3415)
Effects of Salinity on the Operation of EGSB Reactors and the Anaerobic Granular Sludge	TAN Xiao, HUANG Liang, YANG Ping, <i>et al.</i> (3422)
Start-up of Granule CANON Process and the Strategy for Enhancing Total Nitrogen Removal Rate	SUN Yan-fang, HAN Xiao-yu, ZHANG Shun-jun, <i>et al.</i> (3429)
Effect of Extracellular Polymeric Substance (EPS) on the Adsorption of Perfluorooctane Sulfonate (PFOS) onto Activated Sludge	LIU Xin-tong, YIN Hua, PENG Hui, <i>et al.</i> (3435)
Characteristics of N_2O and NO_x Emissions from Purple Soil Under Different Fertilization Regimes	HU Lei, LIU Yun, ZHU Bo (3442)
Effect of Plastic Film Mulching on Methane Emission from a Vegetable Field	ZHANG Kai-li, HAO Qing-ju, FENG Di, <i>et al.</i> (3451)
Responses of Soil Ammonia Oxidizers to Simulated Warming and Increased Precipitation in a Temperate Steppe of Inner Mongolia	ZHANG Cui-jing, SHEN Ju-pei, SUN Yi-fei, <i>et al.</i> (3463)
Nitrification Activity and Autotrophic Nitrifiers in Long-term Fertilized Acidic Upland Soils	XU Bai-lu, ZHONG Wen-hui, HUANG Qian-ru, <i>et al.</i> (3473)
Effects of CaCO_3 Application on Soil Microbial Nitrogen Cycle in an Acid Soil	GUO An-ning, DUAN Gui-lan, ZHAO Zhong-qiu, <i>et al.</i> (3483)
Responses of Extracellular Enzymes to Nitrogen Application in Rice of Various Ages with Rhizosphere and Bulk Soil	WEI Liang, TANG Zhen-zhu, ZHU Zhen-ke, <i>et al.</i> (3489)
Variation in the Temperature Sensitivity of Surface Litter Respiration and Its Influencing Factors	ZHANG Yan-jun (3497)
Magnetic Properties of Farmland Soils in Arid Regions in Northwest China and Their Environmental Implications	WANG Xin, XIA Dun-sheng, WANG Bo, <i>et al.</i> (3507)
Preparation of Magnetic Biomass Carbon by Thermal Decomposition of Siderite Driven by Wheat Straw and Its Adsorption on Cadmium	ZHANG Ru-yu, LIU Hai-bo, ZOU Xue-hua, <i>et al.</i> (3519)
Effects of Traffic-related Air Pollution Exposure on DNA Methylation	WANG Ting, DING Rui, HUANG Dan-ni, <i>et al.</i> (3529)
Effects of Exogenous Microorganism Inoculation on Efficiency and Bacterial Community Structure of Sludge Composting	YANG Ping-ping, YIN Hua, PENG Hui, <i>et al.</i> (3536)
Life Cycle Assessment of Traction Lead-acid Batteries for Electric Bikes in China	LIU Wei, TIAN Jin-ping, CHEN Lü-jun (3544)