

PM_{2.5}对人II型肺泡上皮细胞A549的作用及机制研究

徐金兰 程婧 马翠卿*

(河北医科大学免疫教研室, 河北省重大疾病的免疫机制及干预重点实验室, 石家庄 050017)

摘要 随着工业化、城市化的飞速发展, 空气污染加剧, PM_{2.5}浓度越来越高, 对人类的危害也越来越大。由于多数病原体可以直接进入下呼吸道, 所以肺的抗炎作用显得尤为重要。大量的资料显示, II型肺泡上皮细胞(AECII)是一类具有干细胞潜能、自我更新、参与肺纤维化的多功能细胞。A549是人肺腺癌上皮细胞, 其可以合成卵磷脂, 并且含有高度不饱和脂肪酸, 这对于维持细胞膜磷脂有重要意义。目前, A549细胞被广泛作为II型肺泡上皮细胞的体外模型。该文以A549为模型, 从PM_{2.5}对A549细胞诱导型一氧化氮合酶合成、各种炎性因子分泌和对细胞自噬和凋亡的影响以及对A549细胞迁移、侵袭能力的增强四个方面展开介绍, 就A549在PM_{2.5}作用下的功能机制作一综述。

关键词 PM_{2.5}; A549细胞; 炎性因子; 对A549生理性状的影响

Effect and Mechanism Study of PM_{2.5} in Human Type II Alveolar Epithelial Cell A549

Xu Jinlan, Cheng Jing, Ma Cuiqing*

(Department of Immunology, Hebei Medical University, Key Laboratory of Immune Mechanism and Intervention on Serious Disease in Hebei Province, Shijiazhuang 050017, China)

Abstract With the rapid development of industrialization and urbanization, air pollution has become more and more serious, and the harm of PM_{2.5} to human beings is also increasing. Because most pathogens can enter the lower respiratory tract directly, the anti-inflammatory effect of the lung is particularly important. A large amount of data shows that type II alveolar epithelial cells (AECII) are a kind of pluripotent cells with stem cell potential, self-renewal and participation in pulmonary fibrosis. A549 is an epithelial cell of human lung adenocarcinoma. It can synthesize lecithin and contains high levels of unsaturated fatty acids, which is important for maintaining cell membrane phospholipids. At present, A549 cells are widely used as an *in vitro* model of type II alveolar epithelial cells. In this paper, A549 is used as a model to introduce the effects of PM_{2.5} on the synthesis of A549 cells induced nitric oxide synthase, the secretion of various inflammatory factors and the effects on cell autophagy and apoptosis, as well as the enhancement of migration and invasion of A549 cells from four aspects. The function and mechanism of A549 under the action of PM_{2.5} are summarized by taking A549 as the model.

Keywords PM_{2.5}; A549 cells; inflammatory cytokines; effects on physiological characteristics of A549

细颗粒物指环境空气中空气动力学当量直径 $\leq 2.5 \mu\text{m}$ 的颗粒物, 它的产生由很多因素引起, 如自

然源、人为源和大气化学反应等, 它是构成可吸入颗粒物的主要部分^[1]。与较粗的大气颗粒物相比,

收稿日期: 2018-09-12 接受日期: 2018-10-17

河北省自然科学基金(批准号: H2016206516)和河北省高层次人才资助项目(批准号: ZD2018001)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0311-86265664, E-mail: macuiqing@sina.com

Received: September 12, 2018 Accepted: October 17, 2018

This work was supported by the Nature Science Foundation of Hebei Province (Grant No.H2016206516) and the High-Level Talent Funding Project of Hebei Province (Grant No.ZD2018001)

*Corresponding author. Tel: +86-311-86265664, E-mail: macuiqing@sina.com

网络出版时间: 2019-02-21 15:16:36

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20190221.1516.032.html>

PM2.5粒径小、面积大、活性强,且附带有毒、有害物质,能长期悬浮于空气中,输送距离远,因此对大气环境质量、尤其是人体健康危害很大。众多流行病学调查均显示,PM2.5与包括肺癌在内的呼吸系统疾病关系密切^[2]。长期的PM2.5暴露能明显增加肺癌患者的死亡率,同时可致确诊后的肺癌患者的生存期缩短。有研究表明,PM2.5可能通过促进肿瘤新生血管形成,诱发炎症反应等^[3-5]。为了更好地了解PM2.5对机体的作用,本文将从细胞水平综述PM2.5对以A549为模型的肺上皮细胞功能等的影响。

1 PM2.5对A549细胞诱导型一氧化氮合酶(iNOS)合成的影响

PM2.5与心血管、呼吸道疾病住院率及全国死亡率升高密切相关。有研究表明,肺部一氧化氮(NO)大量表达,NO由一氧化氮合酶(NOS)诱导合成^[6]。NOS为内源性NO合成中的关键限速酶,其中iNOS从鼻咽部到肺组织中均可检测到,在作为呼吸道抵抗病毒感染首要屏障的上皮细胞中普遍表达,并能在呼吸道病毒感染后持续合成大量超生理水平NO,其与氧气反应后释放的氧自由基可损伤气道,加重肺部的炎症反应。目前,PM2.5致肺部NO合成的具体机制尚不明确。Chauhan等^[7]研究表明,PM2.5可能直接影响iNOS和NO的表达。Nam等^[8]证明,PM2.5通过核转录因子NF- κ B调控iNOS和NO的表达。也有报道PM2.5浓度与NF- κ B和NO水平呈剂量-反应关系,而iNOS的水平几乎没有改变^[9]。昂盛骏等^[10]选用A549细胞进行体外实验,用四甲基偶氮唑盐微量酶反应比色(MTT)法测定NO、iNOS细胞毒性和iNOS mRNA表达水平;用蛋白质免疫印迹(Western blot)法检测iNOS、NF- κ B和丝裂原活化蛋白激酶(p38-MAPK)蛋白表达水平;p65-NF- κ B和p38-MAPK分别采用PDTC和SB203580作为抑制剂;测定加入p38-MAPK通路抑制剂SB203580和p65-NF- κ B通路抑制剂PDTC后,iNOS mRNA及iNOS、p38、p65蛋白的表达水平,以此观察上述两条通路在PM2.5调控iNOS和NO中的作用。结果表明,PM2.5感染小鼠后,引起小鼠肺部NO和iNOS释放量升高;iNOS基因表达量上调;同时PM2.5导致A549细胞存活率降低,具有质量-反应关系,且计量 $\geq 25 \mu\text{g/mL}$ 的PM2.5可刺激

A549细胞NO和iNOS的合成。同时也提出,PM2.5可能通过NF- κ B和p38-MAPK两条通路调控iNOS的合成,针对这一问题已有很多研究^[11-12]。但对于PM2.5通过MAPK对iNOS基因表达调控的报道很少,需要进一步研究。

2 PM2.5暴露对A549自噬和凋亡的影响

目前,关于高浓度PM2.5如何致病的机制,多数学者认为大气颗粒物介导机体产生氧化应激是大气颗粒物发挥其毒理效应的基础。为了研究PM2.5的氧化应激效应诱发的支气管上皮细胞发生自噬的潜在分子机制,Liu等^[13]通过电镜成像、免疫荧光染色和免疫印迹等研究方法,证实了PI3K/Akt/mTOR信号通路在PM2.5诱导气道上皮细胞发生自噬过程中发挥关键的负向调节作用。杨露等^[14]总结说明,Nrf2在生理状态下结合在细胞质蛋白伴侣分子Keap1上且活性处于相对抑制状态,创伤及氧化应激使Nrf2与Keap1解偶联并发生核转移,与Maf、JunD、c-Jun等形成杂化二聚体,后与抗氧化反应元件(ARE)结合以进一步启动ARE调控的II相解毒酶及抗氧化酶基因的表达,保护细胞免受氧化损伤。有研究表明,PM2.5暴露下通过蛋白激酶AMPK调控自噬反应^[15]。自噬是真核细胞中分解折叠的蛋白质,蛋白质复合物和功能失调细胞器的生理亚细胞降解过程^[16],属于II型细胞程序性死亡方式,自噬可能比凋亡扮演更为主动和重要的角色。自噬在生理情况下,保持在较低水平,降解回收细胞内物质,起物质循环和营养供给作用。而在病理状态下,自噬水平反应性升高。有学者从自噬途径研究PM2.5促进肺癌细胞自噬凋亡机制^[17],其检测细胞自噬相关蛋白LC3和凋亡相关蛋白Bax,以验证PM2.5暴露对A549自噬和凋亡的影响。细胞在自噬过程中,游离于胞质中的LC3I逐渐以LC3II的形式定位于自噬小囊泡表面,已知LC3II转化水平可以反映细胞自噬发生的程度。结果显示,PM2.5引起A549细胞内LC3II的表达显著升高,且具有明显的时间依赖关系。该研究表明,随着PM2.5暴露处理的时间延长,细胞发生自噬显著上升,而且自噬小体数量呈上升趋势,提示PM2.5能够激活A549细胞的自噬降解途径,但是凋亡蛋白Bax含量逐渐下降,由此可以推断,PM2.5可诱导A549细胞发生自噬而减少凋亡的发

生。激活细胞内自噬降解途径,这可能是一种细胞的保护性机制。

3 PM2.5对A549细胞迁移、侵袭能力的增强作用

以往对PM2.5致呼吸系统损伤的分子机制的研究多集中于比较高浓度PM2.5所致的细胞损伤作用,但目前发现,PM2.5还增强了肿瘤细胞的迁移及侵袭能力^[18]。肿瘤细胞的转移过程非常复杂,涉及多条信号通路、转录因子及酶的活化。Wnt/ β -catenin信号传导通路在肿瘤细胞转移过程中起着重要作用。该通路激活时,过量的 β -链蛋白(β -catenin)从胞质中转移入细胞核,在核内与转录因子T细胞因子/淋巴增强因子(T cell factor, TCF/lymphoid enhancer factor, LEF)相互作用,激活下游大量具有促进肿瘤细胞转移功能的基因转录,如基质金属蛋白酶-2(MMP-2)、基质金属蛋白酶-9(MMP-9)、细胞周期蛋白D1(cyclin D1)、转录因子snail和slug等,进而增强肿瘤细胞转移能力^[19-22]。

3.1 基质金属蛋白酶家族

基质金属蛋白酶家族是降解细胞外基质的重要酶类。肿瘤细胞周围细胞外基质的降解是肿瘤侵袭和转移的必要条件,因此金属蛋白酶家族在肿瘤细胞迁移和侵袭过程中发挥重要作用。MMP-2和MMP-9是基质金属蛋白酶家族内的重要成员,同属于IV型明胶酶,主要降解细胞间基质及基底膜主要成分IV型胶原,促进肿瘤细胞侵袭和扩散,因此其在肿瘤转移过程中具有重要作用。研究表明,Wnt/ β -catenin信号通路的激活能够使MMP-2和MMP-9的表达水平增高^[20]。如Dong等^[23]的研究表明,电离辐射可通过激活Wnt/ β -catenin信号通路使其下游包括MMP-2和MMP-9在内的多种基因表达上调,增强胶质瘤细胞U87侵袭能力。杨丹等^[18]实验结果表明,在无血清条件下较低浓度(10 $\mu\text{g/mL}$)的PM2.5作用72 h即可使MMP-2和MMP-9蛋白表达水平上调,说明PM2.5增强肺癌A549细胞迁移、侵袭能力作用与其激活Wnt/ β -catenin信号通路并通过上调其下游MMP-2和MMP-9蛋白表达相关。

3.2 cyclin D1

cyclin D1是细胞周期蛋白家族的一个成员,在调控细胞周期进展过程中发挥重要作用,此外cyclin D1还是一个癌基因,在多种肿瘤包括肺癌中呈高表

达。由于Cyclin D1是G₁/S-特异性周期蛋白-D1,因此其主要推动细胞周期G₁期到S期的转变,从而促进细胞增殖。研究表明,PM2.5处理细胞后,细胞内cyclin D1的蛋白表达明显增高,说明PM2.5可通过提高Wnt/ β -catenin通路活性及其下游cyclin D1的蛋白表达而增强A549细胞的迁移、侵袭能力^[18]。

3.3 锌指蛋白转录因子snail超家族

锌指蛋白转录因子snail超家族包括snail(snail 1)和slug(snail 2) 2个成员,二者作为转录因子,调控某些基因的表达,如下调细胞间的紧密连接成分(如ZO-1)及上调肿瘤细胞的金属蛋白酶类的表达,这些均有助于增加细胞的迁徙转移力,尤其常见于各种肿瘤的癌性细胞向远处转移机制中^[24-25]。Wang等^[26]的研究表明,snail促进MMP-9表达,并且二者均与甲状腺乳头状癌的淋巴结转移有关。Li等^[27]报道,snail介导的MMP-2上调与细胞侵袭性增强有关。信号转导途径可调控snail和slug表达水平,当Wnt信号被激活,稳定的 β -catenin进入细胞核内与TCF/LEF相互作用,形成的复合物可使snail和slug转录,核内水平增加^[27]。杨丹等^[18]检测PM2.5对人肺癌细胞A549迁移、侵袭能力的影响,发现在无血清条件下暴露于较低浓度的PM2.5(10 $\mu\text{g/mL}$) 72 h,能够使细胞的侵袭、转移能力明显增强,说明PM2.5可能具有促进肺癌的早期转移的作用。此作用与PM2.5活化Wnt/ β -catenin信号转导通道,上调cyclin D1、转录因子snail和slug、MMP-2、MMP-9蛋白表达有关。

4 PM2.5对A549细胞各种炎性因子分泌的影响

PM2.5成分复杂,其主要由可溶性盐、金属元素、有机物质、碳质成分和生物组分等组成。根据PM2.5各组分样品的制备过程及前期研究结果显示,PM2.5水溶性组分主要是PM2.5完全颗粒物中的可溶性盐、可溶性金属离子等成分,PM2.5脂溶性组分主要为其中的有机物质,PM2.5单纯颗粒物主要为其中的碳质成分。有研究者发现,PM2.5中的过渡金属元素成分引起A549细胞氧化应激反应并释放炎性介质,例如,白细胞介素-1 β (IL-1 β)、白细胞介素-6(IL-6)、白细胞介素-8(IL-8)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)等炎性因子会诱发不同程度的肺部疾病^[28-31]。

4.1 PM2.5对A549细胞炎性因子IL-1 β 表达的影响

IL-1 β 是最重要的炎症细胞因子之一,在神经系

统、骨髓干细胞中发挥作用。有研究发现, PM_{2.5}可显著升高A549细胞炎症因子IL-1 β 的基因表达水平^[28]。通过相关性分析研究发现, Ni元素和炎症因子IL-1 β 的基因表达水平呈显著相关, 证明了Ni元素在PM_{2.5}诱导肺部炎症时的重要作用, Ni元素应该被定为PM_{2.5}毒性程度的一项重要指标。PM_{2.5}中均含有高浓度的多环芳烃(PAHs)和过渡金属元素, 研究表明, PAHs具有高度致癌作用, 特别是苯并芘(Bap)和患肺癌风险有显著相关性^[29]。研究发现, PAHs和IL-1 β 基因的表达水平呈显著相关, 表明PAHs的致癌作用可能与其上调IL-1 β 的表达有关^[28]。因此, IL-1 β 可能成为PM_{2.5}导致的肺部炎症疾病的一个治疗靶点, 这为预防和治疗PM_{2.5}诱发的肺部炎症疾病提供实验依据。

4.2 PM_{2.5}对A549炎症因子IL-6和TNF- α 分泌的影响

TNF- α 和IL-6是两种重要的炎症相关细胞因子。TNF- α 作为前炎症因子在炎症起始阶段起着重要作用, 其作用于肺上皮细胞、内皮细胞或成纤维细胞后可促进后者分泌黏附分子和IL-8等细胞因子。IL-6一方面可表现趋化作用, 趋化免疫细胞从而调节炎症反应; 另一方面也可以作为一种抗炎因子, 调节颗粒物暴露后引起的肺部炎症及纤维化过程。焦周光等^[30]将制备的PM_{2.5}颗粒物及其组分以不同浓度(10、50、100、200、400 $\mu\text{g/mL}$)对A549细胞染毒, 用MTS法分别在染毒6、10、24、48、72 h后测定细胞活力, 染毒24 h后用ELISA法和RT-qPCR法分别检测了染毒后细胞培养上清中IL-6和TNF- α 的蛋白含量和染毒后胞内IL-6和TNF- α mRNA的表达量。ELISA检测结果显示, 除PM_{2.5}水溶性组分外, 其余染毒样本较高染毒浓度(100 $\mu\text{g/mL}$ 及以上)显著增加了细胞培养上清中IL-6的分泌量。TR-qPCR检测结果显示, 除PM_{2.5}脂溶性组分外, 其余染毒样本都显著升高了细胞内TNF- α mRNA相对表达量。从炎症因子和上述MTS测定结果来看, PM_{2.5}单纯颗粒物可能比PM_{2.5}完全颗粒物有着更强的抑制细胞生长和促进炎症因子表达的作用。

4.3 PM_{2.5}对A549炎症因子IL-8分泌的影响

IL-8也是重要的炎症相关细胞因子, 沙尘和非沙尘细颗粒物PM_{2.5}均可刺激A549细胞合成和释放IL-8炎症因子。相关研究发现, PM_{2.5}作用于哮喘小鼠时, 通过促进哮喘小鼠体内IL-17的基因及蛋白表

达, 使得IL-17含量上升, 进而增强IL-8的炎症作用, 从而加重哮喘的发生、发展^[31]。

5 PM_{2.5}对A549细胞遗传毒性的影响

细胞增殖是生物体生长、发育、繁殖和遗传的基础, 是检测细胞毒理学常用的方法, 能反映受试物的毒性大小。由于PM_{2.5}相对较小的体积和较大的表面积, 因此表面可携带多种重金属和有机毒性物质, 这些表面携带的物质是致DNA损伤的主要成分。当前对PM_{2.5}毒性机制的研究已成为国内外公共卫生和医学领域研究的热点和前沿。研究显示, PM_{2.5}的吸附成分(如多环芳烃类有机物和重金属等)对细胞存在明显的毒性作用, 但PM_{2.5}中的非水溶成分和水溶成分对细胞产生的毒性作用大小及差异, 目前国内外的研究对此很少涉及^[32]。刘雪亚等^[33]以2013年12月采集的郑州市大气PM_{2.5}为实验样品, 利用微核实验得出结果, 发现大气PM_{2.5}水溶性成分和非水溶性成分均可引起染色体损伤, 降低A549细胞的存活率。还有其他研究通过制备PM_{2.5}完全颗粒物、PM_{2.5}水溶性组分、PM_{2.5}脂溶性组分和PM_{2.5}单纯颗粒物, 并从细胞活力、炎症损伤和DNA损伤等方面对比分析了可能对细胞造成的毒性作用^[30]。结果发现, PM_{2.5}水溶性组分并没有造成DNA碱基缺失的显著增加, 其较高染毒浓度(100 $\mu\text{g/mL}$ 及以上)所造成的DNA碱基缺失程度弱于PM_{2.5}完全颗粒物, 而PM_{2.5}脂溶性组分与PM_{2.5}完全颗粒物表现出的毒性作用几乎一致。至于其各成分的具体机制还需进一步研究。

除了以上几个方面, 还有研究发现, 随着地理位置和季节的不同, 大气颗粒物的健康效应也不同。大气颗粒物具有复杂的表面和内核结构, 其主要组分包括金属元素、可溶性的盐以及有机物等。过渡金属元素如铁(Fe)、钒(V)、镍(Ni)、铬(Cr)、铜(Cu)及锌(Zn)等可参与Fenton反应, 产生活性氧(ROS)诱导细胞氧化损伤, 引起细胞毒性^[34]。而且, 不同季节的颗粒物质量浓度的变化和组分分析所造成的毒性效应也存在差异^[35]。有研究者比较研究了北京市冬季于夏季PM₁₀和PM_{2.5}中各种金属元素对A549活力及ROS生成的影响, 结果显示, 冬季和夏季PM₁₀及PM_{2.5}均引起A549细胞活力下降, 诱导细胞内ROS生成的增加^[36]。与冬季相比, 夏季PM₁₀和PM_{2.5}明显抑制细胞活力, 并呈剂量-效应关系, 而

且夏季颗粒物明显诱导细胞ROS生成升高,同时推测过渡金属元素的含量的差异,可能是不同季节颗粒物的毒性效应产生差异的原因。其中,颗粒物中高浓度Zn元素可能在细胞毒性中起到重要作用,但是有关颗粒物中各种过渡金属元素在颗粒物细胞毒性中的相互作用机制,还需进一步研究。

6 结语与展望

随着现代工业化和城市化进程的加速,空气污染日益严重,雾霾天气也早已成为人类最为关心的环境问题之一,PM_{2.5}更是尽人皆知。虽然细颗粒物只是地球大气成分中含量很少的组分,但与较粗的大气颗粒物相比,细颗粒物粒径小,富含大量的有毒、有害物质且在大气中的停留时间长、输送距离远,因而对人体健康和大气环境质量的影响更大。研究表明,颗粒越小对人体健康的危害越大^[37]。自2012年底全国大范围爆发雾霾开始,国家对大气污染的治理步伐加快,2013年9月国务院颁布了“大气十条”,可以说是国家大气治理方面最重要的目标性规划。2015年1月1日起实施的《中华人民共和国环境保护法》被称为“史上最严”的环保法,2016年1月1日起施行,该法律强调应当加强对燃煤、工业、机动车船、扬尘、农业等大气污染的综合防治,推行区域大气污染联合防治,对颗粒物、二氧化硫、氮氧化物、挥发性有机物、氨等大气污染物和温室气体实施协同控制。

据悉,2012年联合国环境规划署公布的《全球环境展望5》指出,每年有70万人死于因臭氧导致的呼吸系统疾病,有近200万的过早死亡病例与颗粒物污染有关。《美国国家科学院院刊》(PNAS)也发表了研究报告,报告中称,人类的平均寿命因为空气污染很可能已经缩短了5年半。显然,PM_{2.5}不仅破坏环境,还对人体健康产生巨大的伤害。总而言之,作用机制为:PM_{2.5}通过上调cyclin D1、转录因子snail和slug、MMP-2、MMP-9蛋白表达来影响A549细胞的迁移和侵袭能力;也通过激活PI3K/AKT信号通路以及引起Nrf-2介导的防御机制来抵抗细胞氧化应激,从而诱导A549细胞发生自噬而减少凋亡的发生,激活细胞内自噬降解途径;PM_{2.5}中的过渡金属元素成分引起A549细胞氧化应激反应并释放IL-1 β 、IL-6、IL-8、TNF- α 等炎症介质,诱发程度不同的肺部疾病,甚至引起充血性心力衰竭和冠状动脉等心

脏疾病。更甚者,PM_{2.5}中的多环芳烃类有机物和重金属会造成DNA碱基缺失,对细胞的遗传物质产生毒性物质,从而引起肺癌、哮喘等疾病。PM_{2.5}中的各种成分对细胞影响的具体机制还需要进一步研究。

参考文献 (References)

- 1 李娟, 杨维超, 洪丽娟, 姚武, 吴卫东, 吴逸明, 等. PM_{2.5}对BEAS-2B细胞脂质过氧化损伤作用. 中国公共卫生(Li Juan, Yang Weichao, Hong Lijuan, Yao Wu, Wu Weidong, Wu Yiming, *et al.* Lipid peroxidation induced by PM_{2.5} in human bronchial epithelial cells. Chinese Journal of Public Health) 2014; 30(11): 1389-91.
- 2 Kim JY, Lee EY, Choi I, Kim J, Cho KH. Effects of the particulate matter 2.5 (PM_{2.5}) on lipoprotein metabolism, uptake and degradation, and embryo toxicity. Mol Cells 2015; 38(12): 1096-104.
- 3 Yue H, Yun Y, Gao R, Li G, Sang N. Winter polycyclic aromatic hydrocarbon-bound particulate matter from peri-urban north China promotes lung cancer cell metastasis. Environ Sci Technol 2015; 49(24): 14484-93.
- 4 Li X, Lü Y, Gao N, Sun H, Lu R, Yang H, *et al.* Micro RNA-802/Rnd3 pathway imposes on carcinogenesis and metastasis of fine particulate matter exposure. Oncotarget 2016; 7(23): 35026-43.
- 5 孟梅, 周泉生. PM_{2.5}引起的肿瘤新生血管形成和转移的研究进展. 科技导报(Meng Mei, Zhou Quansheng. Progress in PM_{2.5}-caused tumor neovascularization and metastasis. Science Technology Review) 2014; 32(26): 52-7.
- 6 Guo FH, Erzurum SC. Characterization of inducible nitric oxide synthase expression in human airway epithelium. Environ Health Perspect 1998; 106(Suppl 5): 1119-24.
- 7 Chauhan V, Breznan D, Goegan P, Nadeau D, Karthikeyan S, Brook JR, *et al.* Effects of ambient air particles on nitric oxide production in macrophage cell lines. Cell Biol Toxicol 2004; 20(4): 221-39.
- 8 Nam HY, Choi BH, Lee JY, Lee SJ, Kim HY, Lee KH, *et al.* The role of nitric oxide in the particulate matter (PM_{2.5})-induced NF kappaB activation in lung epithelial cells. Toxicol Lett 2004; 148(1/2): 95-102.
- 9 Farina F, Sancini G, Longhin E, Mantecca P, Camatini M, Palestini P. Milan PM1 induces adverse effects on mice lungs and cardiovascular system. Biomed Res Int 2013; 2013: 583513.
- 10 昌盛骏, 熊丽林, 唐萌. PM_{2.5}对人肺腺癌A549细胞iNOS合成的影响及其作用机制. 环境与职业医学(Ang Shengjun, Xiong Lilin, Tang Meng. Effects of PM_{2.5} on iNOS synthesis in human lung adenocarcinoma A549 cells and its mechanism. Journal of Environmental and Occupational Medicine) 2016; 33(5): 433-7.
- 11 王茜, 张辉, 刘名, 张作凤, 魏子峰, 孙娜, 等. P38信号通路调控帕金森病小鼠黑质NF- κ B和iNOS的表达. 南方医科大学学报(Wang Xi, Zhang Hui, Liu Ming, Zhang Zuofeng, Wei Zifeng, Sun Na, *et al.* Expression of NF- κ B and iNOS in Parkinson's disease mice regulated by P38 signaling pathway. Journal of Southern Medical University) 2014; 34(8): 1176-80.
- 12 Gualtieri M, Longhin E, Mattioli M, Mantecca P, Tinaglia V, Mangano E, *et al.* Gene expression profiling of A549 cells exposed to Milan PM_{2.5}. Toxicol Lett 2012; 209(2): 136-45.

- 13 Liu T, Wu B, Wang Y, He H, Lin Z, Tan J, *et al.* Particulate matter 2.5 induces autophagy via inhibition of the phosphatidylinositol 3-Kinase/Akt/mammalian target of rapamycin kinase signaling pathway in human bronchial epithelial cells. *Mol Med Rep* 2015; 12(2): 1914-22.
- 14 杨露, 袁雅. PM_{2.5}的氧化损伤机制及其与呼吸系统疾病关系. 临床荟萃(Yang Lu, Yuan Yadong. Oxidative damage mechanism of PM_{2.5} and its relationship with respiratory diseases. *Clinical Meta-Analysis*) 2016; 31(4): 433-8.
- 15 Wang Y, Lin Z, Huang H, He H, Yang L, Chen T, *et al.* AMPK is required for PM_{2.5}-induced autophagy in human lung epithelial A549 cells. *Int J Clin Exp Med* 2015; 8(1): 58-72.
- 16 Deng X, Zhang F, Wang L, Long F, Zhao Y, Chen DL, *et al.* Airborne fine particulate matter induces multiple cell death pathways in human lung epithelial cells. *Apoptosis* 2014; 19(7): 1099-112.
- 17 任妮娜, 林宜光, 林子英, 刘刚. PM_{2.5}暴露对肺癌细胞A549自噬和凋亡的影响. 实用医学杂志(Ren Nina, Lin Yiguang, Lin Ziyang, Liu Gang. Effects of PM_{2.5} exposure on autophagy and apoptosis of lung cancer A549 cells. *Journal of Practical Medicine*) 2017; 33(16): 2616-9.
- 18 杨丹, 周伟强, 杨彪, 肖纯凌. PM_{2.5}对人肺癌细胞A549迁移、侵袭能力的增强作用. 生态毒理学报(Yang Dan, Zhou Weiqiang, Yang Biao, Xiao Chunling. Enhancement of migration and invasion ability of human lung cancer cells A549 by PM_{2.5}). *Journal of Ecotoxicology* 2017; 12(5): 243-50.
- 19 Ben-Josef E, George A, Regine WF, Abrams R, Morgan M, Thomas D, *et al.* Glycogen synthase kinase 3 beta predicts survival in resected adenocarcinoma of the pancreas. *Clin Cancer Res* 2015; 21(24): 5612-8.
- 20 田慧芹, 张倩云, 韩秀珍. 基于Wnt/ β -catenin信号通路的结直肠癌研究进展. 生命的化学(Tian Huiqin, Zhang Qianyun, Han Xiuzhen. Research progress of colorectal cancer based on Wnt/ β -catenin signal pathway. *Chemistry of Life*) 2016; 36(1): 71-80.
- 21 杨丹, 王丽, 李珠, 刘赵阳, 刘畅, 郭丽. 棉酚通过Akt/ β -catenin通路抑制胃癌细胞迁移. 中国药理学通报(Yang Dang, Wang Li, Li Zhu, Liu Zhaoyang, Liu Chang, Guo Li, *et al.* Inhibitory effect of gossypol on migration of gastric carcinoma cell lines through Akt/ β -catenin passway. *Chinese Pharmacological Bulletin*) 2015; 31(6): 860-4.
- 22 Pei S, Yang X, Wang H, Zhang H, Zhou B, Zhang D, *et al.* Plantamajoside, a potential anti-tumor herbal medicine inhibits breast cancer growth and pulmonary metastasis by decreasing the activity of matrix metalloproteinase-9 and-2. *BMC Cancer* 2015; 15: 965.
- 23 Dong Z, Zhou L, Han N, Zhang M. Wnt/ β -catenin pathway involvement in ionizing radiation-induced invasion of U87glioblastoma cells. *Strahlenther Onkol* 2015; 191(8): 672-80.
- 24 Li D, Sun H, Sun WJ. Role of Rb BP5 and H3K4me3 in the vicinity of snail transcription start site during epithelial-mesenchymal-transition in prostate cancer cell. *Oncotarget* 2016; 7(40): 65553-67.
- 25 Ito K, Park SH, Nayak A, Byerly JH, Irie HY. PTK6 inhibition suppresses metastases of triple-negative breast cancer via Snail-dependent E-cadherin regulation. *Cancer Res* 2016; 76(15): 4406-17.
- 26 Wang N, Jiang R, Yang JY, Tang C, Yang L, Xu M, *et al.* Expression of TGF- β 1, SNAI1 and MMP-9 is associated with lymph node metastasis in papillary thyroid carcinoma. *Journal of Molecular Histology* 2014; 45(4): 391-9.
- 27 Li Y, Klausen C, Zhu H, Leung PC. Activin A increases human trophoblast invasion by inducing Snail-mediated MMP2 up-regulation through ALK4. *J Clin Endocrinol Metab* 2015; 100(11): E1415-27.
- 28 杨拉维, 王亚红, 杨腾, 陈婷, 何惠娟, 刘刚. PM_{2.5}对A549细胞IL-1 β 表达的影响. 环境卫生学杂志[Yang Lawei, Wang Yahong, Yang Teng, Chen Ting, He Huijuan, Liu Gang. Effects of PM_{2.5} on the expression of il-1 in A549 cells. *Journal of Environmental Health*] 2015; 5(6): 493-7.
- 29 Obiri S, Cobbina SJ, Armah FA, Luginaah I. Assessment of cancer and noncancer health risks from exposure to PAHs in street dust in the Tamale Metropolis, Ghana. *J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng* 2013; 48(4): 408-16.
- 30 焦周光, 付绪磊, 温占波, 李劲松, 李娜, 张柯, 等. 北京大气PM_{2.5}对A549细胞炎症因子及DNA损伤的毒性. 中国环境科学(Jiao Zhouguang, Fu Xulei, Wen Zhanbo, Li Jinsong, Li Na, Zhang Ke, *et al.* Toxicity of atmospheric PM_{2.5} to A549 cytokines and DNA damage. *Chinese Journal of Environmental Science*) 2016; 36(5): 1579-88.
- 31 唐寅. 室内燃煤PM_{2.5}对哮喘小鼠相关炎症因子影响的研究. 遵义医学院(博士学位论文)(Tang Yin. Effects of indoor coal burning PM_{2.5} on inflammatory factors related to asthma in mice. Zunyi Medical College), 2018.
- 32 祖桂芳, 姜薇, 赵晓红, 常迪, 申深. 天然提取物抗PM_{2.5}诱导A549细胞凋亡的作用. 生态毒理学报(Zu Guifang, Jiang Wei, Zhao Xiaohong, Chang Di, Shen Shen. Effects of natural extracts on PM_{2.5} induced apoptosis of A549 cells. *Journal of Ecotoxicology*) 2011; 6(4): 429-34.
- 33 刘雪亚, 王平, 李杰, 李萍, 卫军华, 高祎楠, 等. 大气细颗粒物不同成分对A549细胞遗传毒性的影响. 郑州大学学报(医学版)[Liu Xueya, Wang Ping, Li Jie, Li Ping, Wei Junhua, Gao Yinan, *et al.* Effects of different components of atmospheric fine particles on the cytotoxicity of A549 cells. *Journal of Zhengzhou University (Medical Edition)*] 2016; 51(4): 482-6.
- 34 Jeng HA. Chemical composition of ambient particulate matter and redox activity. *Environ Monit Assess* 2010; 169(1/2/3/4): 597-606.
- 35 童亚莉, 李可欣, 田舒菡, 梁涛. 稀土矿城市不同季节大气可吸入颗粒物中稀土含量特征及颗粒物细胞毒性. 生态毒理学报(Tong Yali, Li Kexin, Tian Shuhan, Liang Tao. Characteristics of rare earth content and cytotoxicity of particulate matter in atmospheric inhalable particulate matter in rare earth mining cities in different seasons. *Journal of Ecotoxicology*) 2017; 12(5): 129-40.
- 36 贺擎, 丁文军, 芮魏, 张芳. 冬季和夏季PM₁₀和PM_{2.5}对人肺上皮细胞A549毒性的比较. 中国科学院研究生院学报(He Qing, Ding Wenjun, Rui Wei, Zhang Fang. Comparison of the toxicity of PM₁₀ and PM_{2.5} to human lung epithelial cells A549 in winter and summer. *Journal of Graduate School of Chinese Academy of Sciences*) 2012; 29(3): 324-31.
- 37 丁剑, 张剑波. 颗粒物中粗细粒子的毒性比较. 环境与健康杂志(Ding Jian, Zhang Jianbo. Comparison of the toxicity of coarse and fine particles in particulate matter. *Journal of Environment and Health*) 2006; 23(5): 466-7.