

# PM<sub>2.5</sub> 通过 TLR4/ROS 途径促进多炎性小体生成诱导 RAW264.7 巨噬细胞凋亡和炎症反应\*

王伟<sup>1,2</sup> 黄秋阳<sup>1</sup> 罗书<sup>3</sup> 郑文武<sup>1</sup> 冯健<sup>1</sup> 叶强<sup>1</sup> 郑舒展<sup>1</sup>

(1. 西南医科大学附属医院心血管内科 四川 泸州 646000; 2. 南充市中心医院心血管内科 四川 南充 637000;  
3. 四川省泸州市生态环境监测中心站 四川 泸州 646000)

**【摘要】** 目的 探讨细颗粒物(PM<sub>2.5</sub>)对 RAW264.7 巨噬细胞凋亡和炎症反应的影响,进一步探讨炎性小体和活性氧(ROS)在 PM<sub>2.5</sub> 作用中的具体机制。方法 将 RAW264.7 细胞分为空白对照组、PM<sub>2.5</sub> 组、PM<sub>2.5</sub>+TKA242 组、PM<sub>2.5</sub>+ROS(-)组、PM<sub>2.5</sub>+ROS(+),采用 CCK8 检测细胞活性,ROS 检测试剂盒测定细胞内 ROS 水平,流式细胞仪检测细胞凋亡情况,Western Blot 检测 TLR4、NLRP1、NLRP3、NLRC4、AIM2、caspase-1 表达情况,ELISA 检测 IL-1 $\beta$ 、IL-18、IL-10 分泌情况。结果 PM<sub>2.5</sub> 呈浓度和时间依赖性抑制 RAW264.7 巨噬细胞活性,具有促巨噬细胞凋亡的作用( $P<0.05$ )。Western Blot 结果发现 PM<sub>2.5</sub> 刺激 NLRP1、NLRP3、NLRC4、AIM2 四种炎性小体的表达,TLR4 也呈高表达;ELISA 显示 PM<sub>2.5</sub> 促进了促炎因子 IL-1 $\beta$ 、IL-18 分泌,同时抑制抑炎因子 IL-10 的分泌( $P<0.05$ )。使用 TLR4 抑制剂 TKA242 后相较于 PM<sub>2.5</sub> 组细胞凋亡率下降,多炎性小体、促炎因子也表现出下降( $P<0.05$ )。PM<sub>2.5</sub> 增加巨噬细胞的 ROS 水平,使用 ROS 抑制剂后细胞凋亡率下降,TLR4、多炎性小体、促炎因子均表现出下降,而使用 ROS 激动剂后则表现相反的结果( $P<0.05$ )。结论 PM<sub>2.5</sub> 通过 TLR4/ROS 途径促进多炎性小体生成诱导 RAW264.7 巨噬细胞凋亡和炎症反应。

**【关键词】** PM<sub>2.5</sub>; TLR4; 炎性小体; 活性氧; 凋亡

**【中图分类号】** R364.5 **【文献标志码】** A **DOI:**10. 3969/j. issn. 1672-3511. 2022. 11. 005

## PM<sub>2.5</sub> promotes the formation of poly inflammasomes through the TLR4/ROS pathway to induce apoptosis and inflammatory response of RAW264.7 macrophages

WANG Wei<sup>1,2</sup>, HUANG Qiuyang<sup>1</sup>, LUO Shu<sup>3</sup>, ZHENG Wenwu<sup>1</sup>, FENG Jian<sup>1</sup>, YE Qiang<sup>1</sup>, ZHENG Shuzhan<sup>1</sup>

(1. Department of Cardiology, The Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Luzhou 646000, Sichuan, China;  
2. Department of Cardiology, Nanchong Central Hospital, Nanchong 637000, Sichuan, China;  
3. Ecological Environment Monitoring Central Station of Luzhou, Luzhou 646000, Sichuan, China)

**【Abstract】 Objective** To study the effects of PM<sub>2.5</sub> (particulate matter <2.5 $\mu$ m) on apoptosis and inflammatory response of RAW264.7 macrophages and the roles of inflammasome and ROS (reactive oxygen species). **Methods** RAW264.7 cells were divided into control group, PM<sub>2.5</sub> group, PM<sub>2.5</sub>+TAK242 group, PM<sub>2.5</sub>+ROS(-) and PM<sub>2.5</sub>+ROS(+) groups. Cell activity was detected by CCK8, and intracellular ROS level was determined by ROS detection kit. Cell apoptosis was detected by flow cytometry, TLR4, NLRP1, NLRP3, NLRC4, AIM2 and Caspase-1 were detected by Western Blot, and IL-1 $\beta$ , IL-18 and IL-10 were detected by ELISA. **Results** PM<sub>2.5</sub> can inhibit RAW264.7 activity in a concentration and time dependent manner, and promote macrophage apoptosis. Western Blot results showed that PM<sub>2.5</sub> stimulated the expression of NLRP1, NLRP3, NLRC4 and AIM2 ( $P<0.05$ ), and TLR4 was also highly expressed ( $P<0.05$ ). ELISA showed that PM<sub>2.5</sub> also promoted the secretion of pro-inflammatory cytokines IL-1 $\beta$  and IL-18 ( $P<0.05$ ), and inhibited the secretion of anti-inflammatory cytokines IL-10 ( $P<0.05$ ). After TAK242, TLR4 inhibitor, compared with PM<sub>2.5</sub> group, the apoptosis rate was decreased ( $P<0.05$ ), and the polyinflammasomes and

基金项目:泸州市人民政府-西南医科大学科技战略合作项目(2017LZXNYD-J03);西南医科大学附属医院资助课题(20013)

通信作者:郑舒展,博士,硕士生导师,E-mail: toshuzhan@126.com

引用本文:王伟,黄秋阳,罗书,等.PM<sub>2.5</sub>通过 TLR4/ROS 途径促进多炎性小体生成诱导 RAW264.7 巨噬细胞凋亡和炎症反应[J].西部医学,2022,34(11):1581-1587. DOI:10. 3969/j. issn. 1672-3511. 2022. 11. 005

pro-inflammatory cytokines were also decreased ( $P < 0.05$ ). PM2.5 increases the ROS level, and the apoptosis rate decreases after ROS inhibitors ( $P < 0.05$ ). TLR4, polyinflammasomes and pro-inflammatory cytokines all decrease ( $P < 0.05$ ), while ROS agonists show the opposite results. **Conclusion** PM2.5 promotes polyinflammasomes generation and induces RAW264.7 macrophages apoptosis and inflammatory response through TLR4/ROS pathway.

**【Key words】** PM2.5; TLR4; Inflammasome; Reactive oxygen species; Apoptosis

大气污染是全球性公共卫生问题,特别是直径小于或等于 2.5 微米的细颗粒物(Fine particulate matter, PM2.5),是大气中影响人类健康的主要物质。流行病学证据表明,PM2.5 可增加心血管病的发病率和死亡率<sup>[1]</sup>,大气 PM2.5 年平均暴露浓度每增加 10  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ,心血管疾病发病和死亡风险分别增加 25%和 16%<sup>[2]</sup>,可能与其促动脉粥样硬化、破坏粥样斑块稳定性相关<sup>[3]</sup>,但具体作用机制有待阐明。巨噬细胞是动脉粥样硬化过程的主要效应细胞,其在粥样斑块中的聚集数量以及分泌炎症因子是粥样斑块不稳定的主要因素<sup>[4]</sup>。已有研究显示 PM2.5 可直接进入循环系统,主要具有致炎效应,可被巨噬细胞的 Toll 样受体 4(Toll like receptor 4, TLR4)识别<sup>[5]</sup>,活化 NF- $\kappa$ B 途径引起炎症因子<sup>[6-7]</sup>。然而,炎症调控机制非常复杂,炎性小体以及活性氧(Reactive oxygen species, ROS)在其中扮演的角色不得而知。炎性小体是胞内多蛋白复合体,是天然免疫系统的重要组成部分,主要分为 NOD 样受体(NOD-like receptor, NLR)家族受体蛋白(包括不含 PYD 结构域的 NLRC4)和非 NLR 家族受体蛋白 AIM2 等,其促进炎症因子分泌在炎症级联反应中具有重要作用<sup>[8]</sup>。由于 PM2.5 复杂复合物的理化特性,相关炎性小体是否参与 PM2.5 的致炎作用研究甚少,推测 PM2.5 可能通过增加巨噬细胞 TLR4 的表达,进而通过激活细胞内炎症小体的作用发挥促炎效应,影响巨噬细胞的凋亡,从而造成斑块的不稳定。另外,氧化应激在炎症反应中的调控作用已被证实,因此本研究将重点探讨多炎症小体及 ROS 在 PM2.5 对巨噬细胞炎症与凋亡作用中的具体影响,为阐明 PM2.5 在动脉粥样硬化中的致病机理提供理论基础。

## 1 材料与方法

1.1 主要材料与试剂 PM2.5 样本采集于 2020 年 3 月~6 月四川省泸州市茜草园艺路(泸州市生态环境监测中心站提供);RAW264.7 细胞株(中乔新舟);ROS 检测试剂盒(碧云天);ANNEXIN V-FITC/PI 凋亡检测试剂盒、TLR4 抑制剂 TAK242(索莱宝);胎牛血清(FBS)、高糖 DMEM 培养基(GIBCO);抗 GAPDH、NLRC4 抗体(Abcam);抗 NLRP3 抗体(CST);抗 NLRP1(Santa);抗 AIM2 抗体(Protein-

tech);抗 Caspase1 抗体(Affbiotech);Western blot 实验相关试剂(ASPEN);IL-1 $\beta$ 、IL-18、IL-10 酶联免疫吸附(ELISA)检测试剂盒(ELK Biotechnology);ROS 活性氧诱导剂、ROS 活性氧抑制剂(Bestbio)。

## 1.2 方法

1.2.1 PM2.5 混悬液制备 将 PM2.5 样本置于灭菌注射用水中,使用超声清洗器洗脱、溶解、震荡 3 次,每次持续 40 min,将所得洗脱溶解液纱布过滤后取过滤液,12000 r/min 下离心 10 min,取沉淀物低温冷冻干燥获得 PM2.5 颗粒物,再将 PM2.5 颗粒超声波震荡溶于 PBS 溶液中,配成终浓度 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  溶液,高温蒸汽灭菌后放置于 4 $^{\circ}\text{C}$  冰箱中避光保存备用,使用时用 PBS 稀释至实验所需浓度。

1.2.2 细胞处理 使用 DMEM 高糖培养基+5% FBS+1%青链霉素作为 RAW264.7 巨噬细胞完全培养基,37 $^{\circ}\text{C}$ ,5% CO<sub>2</sub> 孵箱中培养,当细胞贴壁长满 90%时进行传代,PBS 洗涤两次后使用一次性细胞刮刀将细胞轻轻刮离瓶底,1000 r/min 离心 3 min,取沉淀吹散混匀重置后进行传代培养。

1.2.3 实验分组 首先确定 PM2.5 在不同浓度和时间下对细胞活性和凋亡的影响,PM2.5 浓度梯度设为 0、25、50、75 和 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ;时间梯度上设 6、12、18、24、36 和 48 h。再将细胞分成空白对照组、PM2.5 组、PM2.5+TKA242 组、PM2.5+ROS(-)组、PM2.5+ROS(+ )组,其中空白对照组按 1:1 加入等量 PBS,PM2.5 组加入 PM2.5 悬液,PM2.5+TKA242 组加入 PM2.5 悬液和 TLR4 抑制剂 TKA242(40  $\mu\text{mol}/\text{L}$ ),PM2.5+ROS(-)组加入 PM2.5 悬液和 ROS 抑制剂(1:500),PM2.5+ROS(+ )组加入 PM2.5 悬液和 ROS 激动剂(1:1000),培养适当时间。

1.2.4 CCK8 细胞活性检测 取对数期细胞接种在 96 孔板上继续培养,每组予以相应干预后再向每孔加入 10 $\mu\text{L}$  的 CCK-8 溶液,再在 37 $^{\circ}\text{C}$ ,5% CO<sub>2</sub> 孵箱中培养 2 h,使用酶标仪测定在 450 nm 的吸光度。

1.2.5 细胞凋亡率检测 向 24 孔板中加入 PBS 洗涤细胞,一次性细胞刮刀将细胞轻轻刮离瓶底,300 r/min 离心 10 min 弃上清,按照 ANNEXIN V-FITC/PI 凋亡检测试剂盒说明书用 Binding Buffer 重悬 2 次并稀释细胞至 1 $\times 10^6$  个/mL,Annexin V-FITC 避光

染色 10 min, 然后 PI 避光孵育 5 min, 1 h 内流式细胞仪检测凋亡率。

1.2.6 ROS 检测 取各组处理好的细胞用无血清细胞培养液洗涤后, 按照 ROS 检测试剂盒说明书加入  $10 \mu\text{mol/L}$  的 DCFH-DA,  $37^\circ\text{C}$  下孵育 20 min, 再用无血清细胞培养液洗涤细胞 3 次, 在 488 nm 波长下使用酶标仪检测样品吸光度。

1.2.7 Western blot 检测蛋白表达 使用 RIPA 裂解液裂解细胞提取蛋白, 用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒测定蛋白浓度, SDS-PAGE 凝胶分离后进行转膜, 5% 脱脂牛奶封闭膜, 加入一抗 [TLR4、NLRP1 (1:500); NLRP3、NLRC4、AIM2、Caspase-1 (1:1000)],  $4^\circ\text{C}$  侧摆摇床上缓慢摇动孵育过夜, 再加入二抗稀释液室温孵育 2 h, 用电化学发光液对蛋白印迹条带进行显影, 使用 AlphaEase-FC 软件分析目标条带的灰度值。

1.2.8 ELISA 检测 取各组处理后的细胞培养上

清液  $500 \mu\text{L}$ ,  $4^\circ\text{C}$  下 3500 r/min 离心 10 min, 取上清液, 稀释后按照 ELISA 试剂盒说明书检测 IL-1 $\beta$ 、IL-18、IL-10 浓度, 首先梯度稀释标准品, 以标准品浓度及对应 OD 值绘制标准曲线, 然后检测样品并通过回归方程计算样本细胞因子浓度, 并乘以稀释倍数, 即得各组织样本浓度。

1.3 统计学分析 使用 SPSS 28.0 统计学软件进行统计分析, GraphPad Prism 8 进行绘图, 计量资料采用均数 $\pm$ 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 PM2.5 抑制 RAW264.7 巨噬细胞活性 实验证实 PM2.5 对 RAW264.7 巨噬细胞活性的影响呈时间、剂量依赖性, 即暴露 24 h 后 PM2.5 的浓度越高 RAW264.7 细胞的活性越低 ( $P < 0.05$ ), 同时在相同的 PM2.5 浓度 ( $50 \mu\text{g/mL}$ ) 作用下, 细胞的活性随着 PM2.5 作用时间的延长而降低 ( $P < 0.05$ )。见图 1。

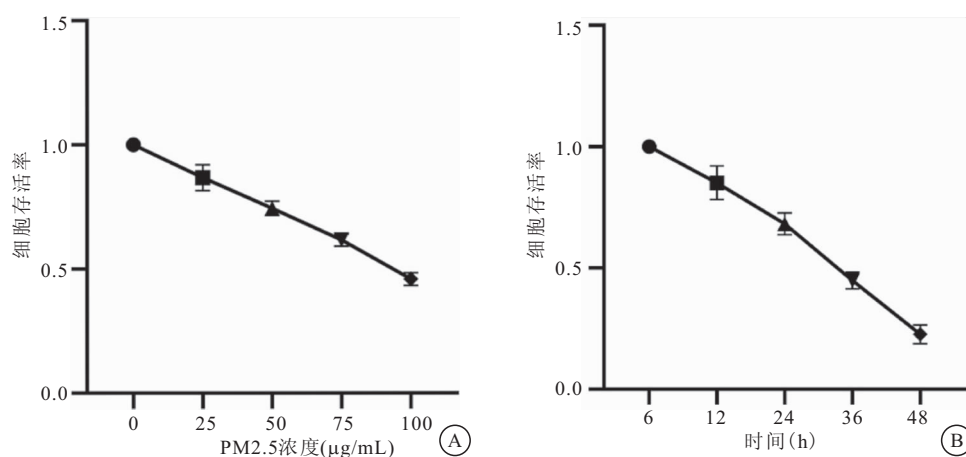


图 1 不同 PM2.5 浓度及干预时间对巨噬细胞活性的影响 ( $n=4$ )

Figure 1 Effects of different PM2.5 intervention time on the activity of macrophages

注: A. 不同浓度的 PM2.5 作用 24 h 对 RAW264.7 巨噬细胞活性的影响; B.  $50 \mu\text{g/mL}$  PM2.5 暴露不同时间对 RAW264.7 细胞活性的影响

2.2 PM2.5 促进巨噬细胞的凋亡  $50 \mu\text{g/mL}$  的 PM2.5 刺激 24 h 后, PM2.5 组较空白对照组有更高的凋亡率 ( $P < 0.05$ ), 表明 PM2.5 可促进巨噬细胞的凋亡, 而在 PM2.5+TKA242 组抑制 TLR4, PM2.5+ROS(-) 组抑制 ROS 后凋亡率低于 PM2.5 组 ( $P < 0.05$ ), 而激活 ROS 的 PM2.5+ROS(+) 组凋亡率则比 PM2.5 组明显上升 ( $P < 0.05$ ), 提示 PM2.5 可能通过 TLR4、ROS 相关机制促进巨噬细胞凋亡。见图 2。

2.3 PM2.5 增加多炎性小体的表达以及促炎因子释放 Western blot 显示 PM2.5 组相较于空白对照组检测出 NLRP1、NLRP3、NLRC4、AIM2 四种炎性小体表达升高 ( $P < 0.05$ ), Caspase-1 表达也明显增高

( $P < 0.05$ ), 同时 ELISA 显示 PM2.5 组相对于空白对照组促炎因子 IL-1 $\beta$ 、IL-18 分泌增加 ( $P < 0.05$ ), 而抑炎因子 IL-10 则减少 ( $P < 0.05$ ), 提示 PM2.5 促进多炎性小体表达并促进炎性因子释放。见图 3。

2.4 PM2.5 通过 TLR4 激活多炎性小体促进炎性因子释放 相对于空白对照组, PM2.5 组检测到 TLR4 的高表达 ( $P < 0.05$ ), 而使用 TLR4 抑制剂 TKA242 抑制 TLR4 后 NLRP1、NLRP3、NLRC4、AIM2 四种炎性小体表达较 PM2.5 组下降, Caspase-1 表达也降低 ( $P < 0.05$ ), ELISA 显示 PM2.5+TKA242 组较 PM2.5 组促炎因子 IL-1 $\beta$ 、IL-18 的分泌减少 ( $P < 0.05$ )。见图 4。

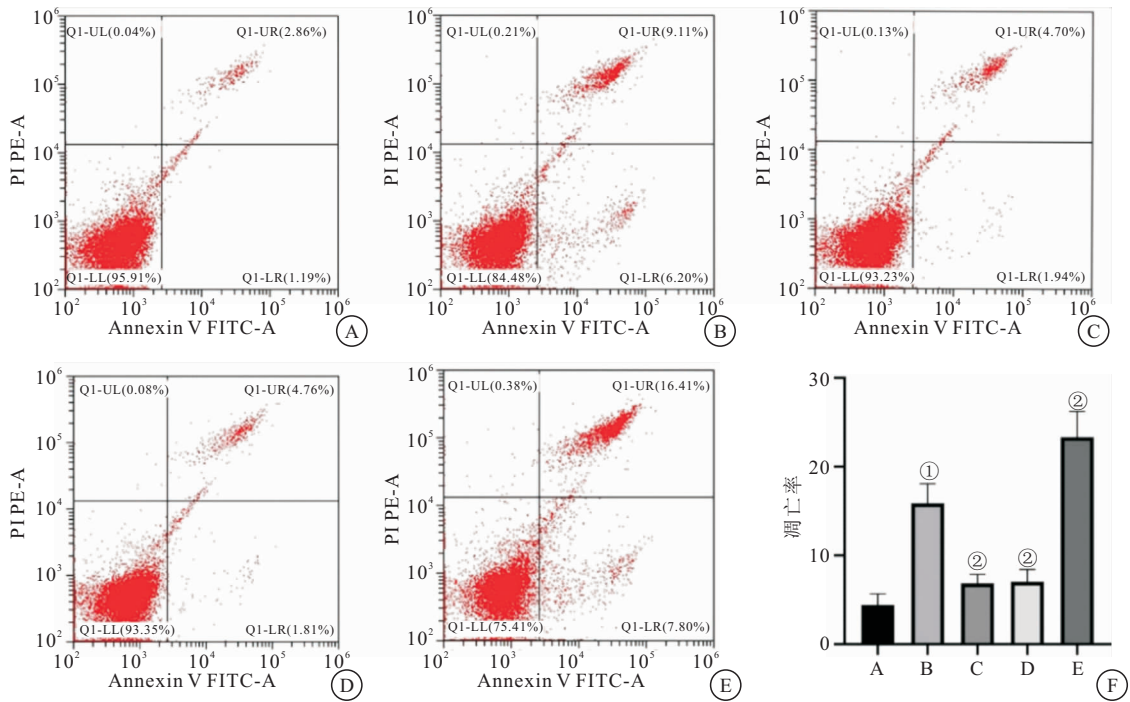


图 2 各组 RAW264.7 巨噬细胞凋亡率变化 (n=3)

Figure 2 Apoptosis rate of RAW264.7 macrophages in each group

注: A. 空白对照组; B. PM2.5 组; C. PM2.5 + TAK242 组; D. PM2.5 + ROS(-) 组; E. PM2.5 + ROS(+) 组。与空白对照组比较, ①  $P < 0.05$ ; 与 PM2.5 组比较, ②  $P < 0.05$

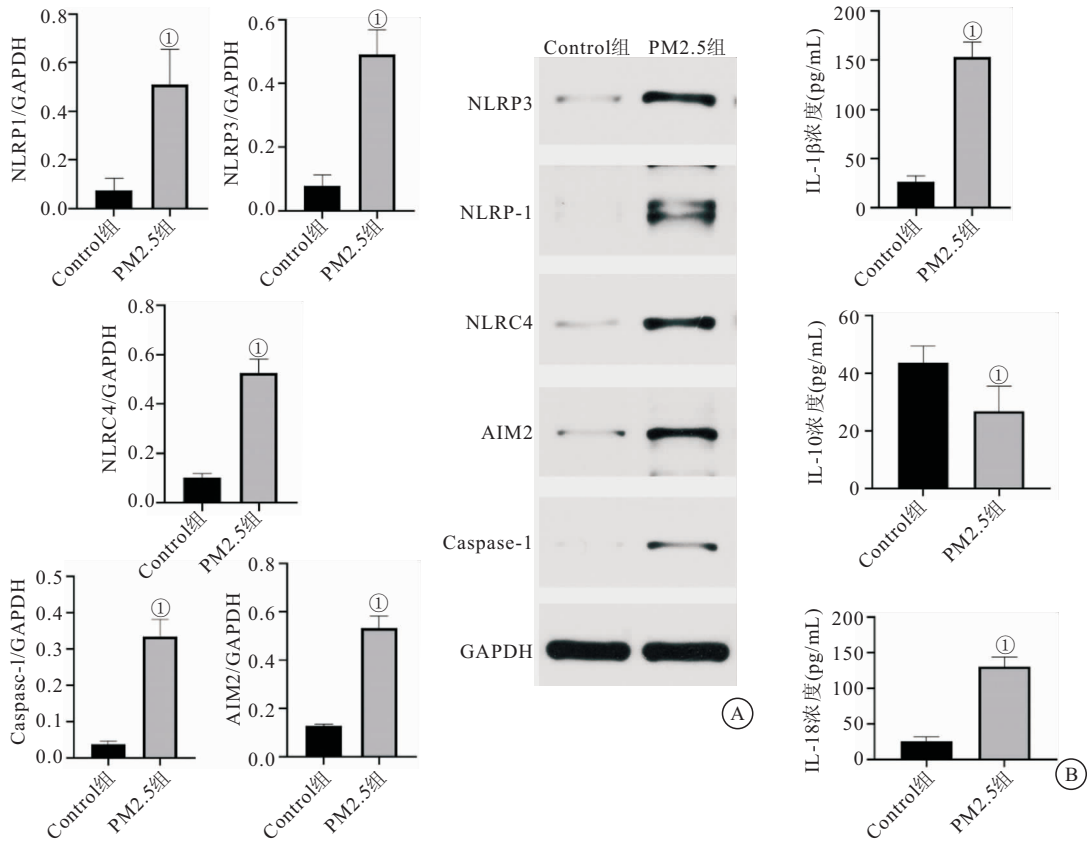


图 3 PM2.5 干预下炎性小体表达(A)以及细胞因子分泌(B)情况 (n=3)

Figure 3 The expression of inflammasome (A) and cytokine secretion (B)

注: 与空白对照组比较, ①  $P < 0.05$

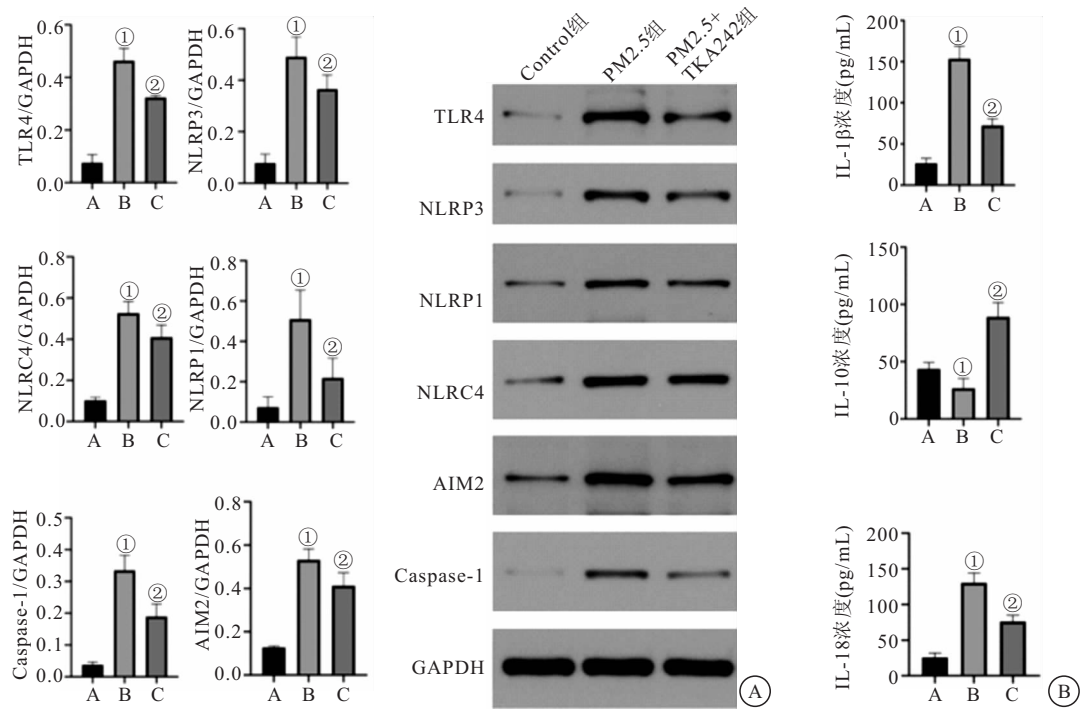


图 4 PM2.5 通过 TLR4 激活多炎性小体(A)促进炎症因子释放(B)(n=3)

Figure 4 PM2.5 activates polyinflammasome through TLR4 (A) and promotes the release of inflammatory factors (B)

注: A. 空白对照组; B. PM2.5 组; C. PM2.5+TAK242 组。与空白对照组比较, ①P<0.05; 与 PM2.5 组比较, ②P<0.05

2.5 ROS 在 PM2.5 促巨噬细胞炎症反应和凋亡的作用 PM2.5 组 ROS 水平明显高于空白对照组 ( $P < 0.05$ ), 抑制 TLR4 后 ROS 水平较 PM2.5 组降低 ( $P < 0.05$ ) (图 5), 提示 PM2.5 可通过 TLR4 促进 ROS 的生成。与 PM2.5 组比较, 加入 ROS 抑制剂的 PM2.5+ROS(-) 组 NLRP1、NLRP3、NLRC4、AIM2 四种炎性小体表达下降, TLR4、Caspase-1 表达降低 ( $P < 0.05$ ), 促炎因子 IL-1 $\beta$ 、IL-18 的分泌也减少, 而 PM2.5+ROS(+) 组加用 ROS 激动剂后则表现出相反的结果, 见图 6。

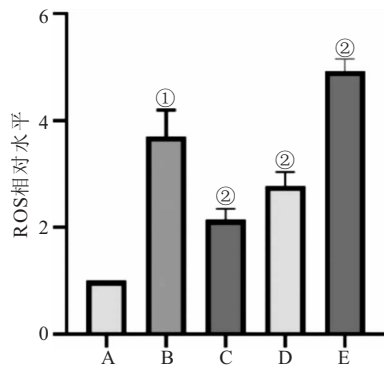


图 5 各组巨噬细胞内 ROS 相对水平 (n=3)

Figure 5 ROS Intensity Ratios in macrophages of each group

注: A. 空白对照组; B. PM2.5 组; C. PM2.5+TAK242 组; D. PM2.5+ROS(-) 组; E. PM2.5+ROS(+) 组。与空白对照组比较, ①P<0.05; 与 PM2.5 组比较, ②P<0.05

### 3 讨论

当前大气环境污染备受全球关注, 其中 PM2.5 与人类疾病密切相关, 临床研究发现暴露于 PM2.5 中会导致心肌梗死发生率上升<sup>[9]</sup>, 动物实验也提示暴露于 PM2.5 会损伤心肌、增加粥样斑块的易损性<sup>[10-11]</sup>, 而在动脉粥样硬化斑块的形成和稳定过程中巨噬细胞来源的泡沫细胞在血管壁的堆积至关重要<sup>[4]</sup>。PM2.5 经呼吸道通过肺毛细血管进入血液循环<sup>[12]</sup>, 可改变循环系统的氧化应激状态和炎症水平, 引起系统性炎症反应<sup>[13]</sup>。

炎性小体激活后调节 caspase-1 的活化, 促使多种细胞因子产生, 可刺激巨噬细胞分泌促炎因子和趋化因子, 因而具有炎症放大效应<sup>[14]</sup>。NLRP1、NLRP3、NLRC4、AIM2 是目前研究最多的炎性小体, 在调节炎症因子产生过程中具有独立或者协同的作用<sup>[8]</sup>。其中, NLRP3 的活化可造成粥样斑块的不稳定, 有研究发现 NLRP3 可被 PM2.5 激活<sup>[15]</sup>, 但是 PM2.5 成分复杂<sup>[16]</sup>, 除了 NLRP3, PM2.5 能否激活其他炎性小体尚无相关研究。本实验观察到 PM2.5 作用于巨噬细胞后四种炎性小体表达均增加, caspase-1 表达增高, 促炎因子 IL-1 $\beta$ 、IL-18 分泌增加, 炎症抑制因子 IL-10 减少, 提示 PM2.5 可通过激活多种炎性小体从而促进巨噬细胞的炎症效应, 但是在此过程中是否存在激活多炎性小体的共同位点需要进一步研究。

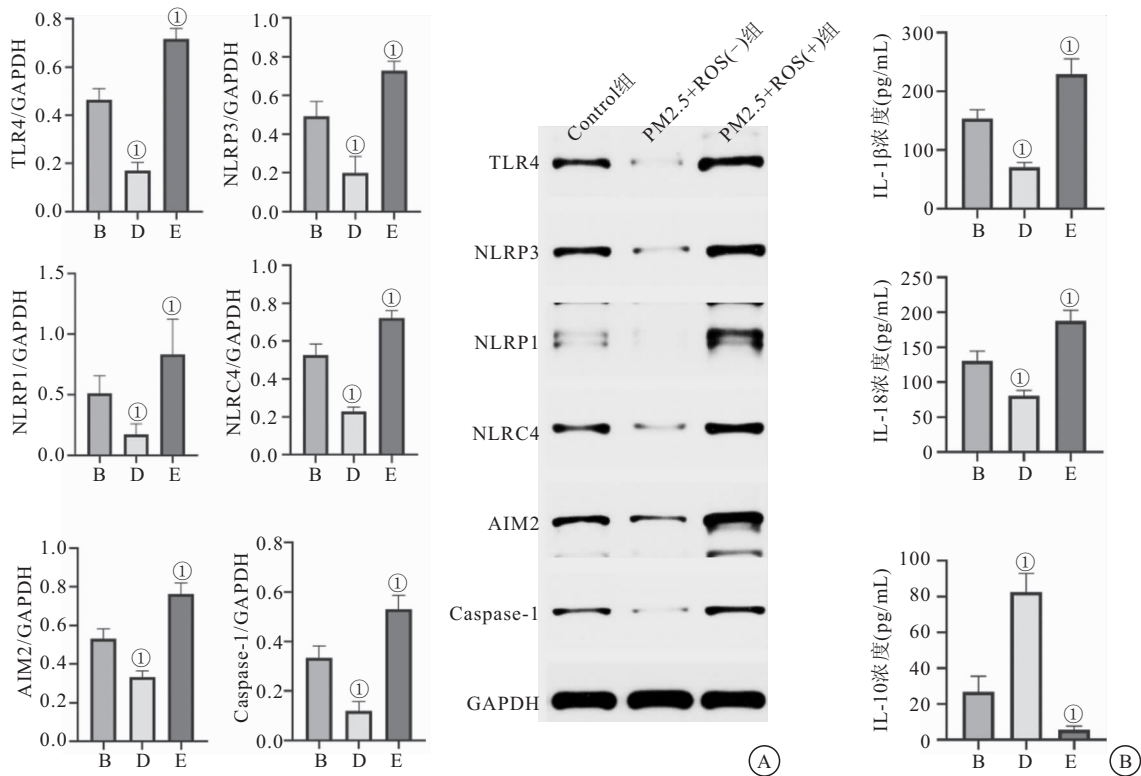


图 6 ROS 影响下各组炎性小体表达(A)以及细胞因子分泌(B)情况(n=3)

Figure 6 Expression of inflammasome (A) and cytokine secretion (B) in each group under ROS intervention

注: B. PM2.5 组; D. PM2.5+ROS(-)组; E. PM2.5+ROS(+)组。与 PM2.5 组比较, ①P<0.05

巨噬细胞凋亡贯穿于整个动脉粥样硬化病理过程<sup>[16]</sup>,早期斑块中巨噬细胞凋亡的增加利于抑制泡沫细胞形成,而晚期粥样斑块中巨噬细胞凋亡则会促使坏死核心形成<sup>[17]</sup>,并且触发 NLRP3 活化加速动脉粥样硬化发展<sup>[18]</sup>。本实验观察到 PM2.5 能够促进巨噬细胞的凋亡。TLR4 是识别病原体高度保守结构基序的主要受体,在 AS 的发生发展中的作用极其重要。同时,氧化损伤与炎症反应都是引起内皮功能紊乱和促进动脉粥样硬化斑块发展的公认的重要因素<sup>[16]</sup>,研究发现 PM2.5 可通过理化特性和经代谢生成的 ROS 影响细胞<sup>[19]</sup>,而 ROS 也能引起炎性小体的激活、聚集<sup>[20]</sup>,ROS 的产生也会促进 TLR4 的表达,使 TLR4 介导的氧化应激反应效应增强<sup>[16]</sup>。目前关于 PM2.5 对二者的共同影响鲜有报道。本研究观察到 PM2.5 可刺激巨噬细胞 ROS 的产生,TLR4 抑制剂可抑制 PM2.5 对 ROS 的升高作用,表明 PM2.5 通过 TLR4 介导巨噬细胞 ROS 的生成;另一方面,使用 ROS 抑制剂也可削弱 PM2.5 对 TLR4 的上调作用,而加入 ROS 激动剂则进一步增加 TLR4 的表达,表明 ROS 作为 PM2.5 作用于 TLR4 后的产物分子可正反馈 TLR4 的表达,通过上调 TLR4 的表达进一步促进 PM2.5 的致炎作用。另外,ROS 激动剂可进一步增加 PM2.5 促多炎症小体的表达和炎性因子的分泌作

用,而 ROS 抑制剂则削弱 PM2.5 的致炎效应,说明 PM2.5 可能通过 TLR4/ROS 途径促进巨噬细胞炎症反应和凋亡过程。

由于不同区域的 PM2.5 在成分上可能存在区别,对机体的影响可能存在差异,没有采集多区域的 PM2.5 样本进行平行实验是本实验的不足之处,同时本实验为体外实验,未在原始细胞中进行实验,可能与人体内病理过程存在区别,因此下一步研究可观察 PM2.5 对体内动脉粥样硬化过程的影响及对巨噬细胞炎症反应的机制探讨。

#### 4 结论

PM2.5 可通过 TLR4 受体增加多炎症小体的表达,同时增加 ROS 的水平促进 RAW264.7 巨噬细胞凋亡和炎症反应。

#### 【参考文献】

[1] MCGUINN L A, WARD-CAVINESS C K, NEAS L M, *et al.* Association between satellite-based estimates of long-term PM2.5 exposure and coronary artery disease[J]. *Environ Res*, 2016, 145: 9-17.  
 [2] LIANG F, LIU F, HUANG K, *et al.* Long-term exposure to fine particulate matter and cardiovascular disease in china[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2020, 75(7): 707-717.  
 [3] 陈欢,刘永生. PM2.5 对动脉粥样硬化的影响及机制[J]. *预防医*

- 学, 2021, 33(10): 1017-1021.
- [4] 白瑞娜, 郝瑞席, 冯志博. 巨噬细胞与动脉粥样硬化—亚型及功能[J]. 中国循环杂志, 2014, 29(5): 393-395.
- [5] SHOENFELT J, MITKUS R J, ZEISLER R, *et al.* Involvement of TLR2 and TLR4 in inflammatory immune responses induced by fine and coarse ambient air particulate matter[J]. *J Leukoc Biol*, 2009, 86(2): 303-312.
- [6] ZHU J, ZHAO Y, GAO Y, *et al.* Effects of different components of PM(2.5) on the expression levels of *nf- $\kappa$ b* family gene mRNA and inflammatory molecules in human macrophage[J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2019, 16(8): 1408.
- [7] FU H, LIU X, LI W, *et al.* PM2.5 Exposure Induces Inflammatory Response in macrophages via the TLR4/COX-2/NF- $\kappa$ B Pathway[J]. *Inflammation*, 2020, 43(5): 1948-1958.
- [8] RATHINAM V A, FITZGERALD K A. Inflammasome complexes: emerging mechanisms and effector functions[J]. *Cell*, 2016, 165(4): 792-800.
- [9] 董凤鸣, 莫运政, 李国星, 等. 大气颗粒物(PM10/PM2.5)与人群循环系统疾病死亡关系的病例交叉研究[J]. 北京大学学报(医学版), 2013, 45(3): 398-404.
- [10] 齐铁雄, 石琳, 郑彤, 等. 四种污染源气体颗粒物对大鼠血清肌红蛋白和脑钠肽的影响[J]. 西部医学, 2018, 30(9): 1252-1256.
- [11] GENG J, LIU H, GE P, *et al.* PM2.5 promotes plaque vulnerability at different stages of atherosclerosis and the formation of foam cells via TLR4/MyD88/NF $\kappa$ B pathway[J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2019, 176: 76-84.
- [12] 严小甜, 丁志山. PM2.5 暴露致机体损伤及其机制研究进展[J]. 生态毒理学报, 2019, 14(2): 71-80.
- [13] 赵培, 刘晶, 于芳, 等. PM2.5 对 ApoE-/-小鼠动脉粥样硬化的影响及机制[J]. 西部医学, 2021, 33(3): 326-329, 335.
- [14] 张丽, 王江, 王秀艳, 等. 动脉粥样硬化大鼠血清 IL-1 $\beta$ 、IL-6 以及冠状动脉巨噬细胞 CD68 的变化[J]. 中国老年学杂志, 2013, 33(21): 5391-5393.
- [15] DU X, JIANG S, ZENG X, *et al.* Fine particulate matter-induced cardiovascular injury is associated with NLRP3 inflammatory activation in Apo E(-/-) mice[J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2019, 174: 92-99.
- [16] WEICHENTHAL S A, GODRI-POLLITT K, VILLENEUVE P J. PM2.5, oxidant defence and cardiorespiratory health: a review[J]. *Environ Health*, 2013, 12: 40.
- [17] TABAS I. Consequences and therapeutic implications of macrophage apoptosis in atherosclerosis: the importance of lesion stage and phagocytic efficiency[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2005, 25(11): 2255-2264.
- [18] XU Y J, ZHENG L, HU Y W, *et al.* Pyroptosis and its relationship to atherosclerosis[J]. *Clin Chim Acta*, 2018, 476: 28-37.
- [19] CROBEDDU B, ARAGAO-SANTIAGO L, BUI L C, *et al.* Oxidative potential of particulate matter 2.5 as predictive indicator of cellular stress[J]. *Environ Pollut*, 2017, 230: 125-133.
- [20] WOLF D, LEY K. Immunity and Inflammation in Atherosclerosis[J]. *Circ Res*, 2019, 124(2): 315-327.

(收稿日期: 2021-12-05; 修回日期: 2022-06-20; 编辑: 刘灵敏)

(上接第 1580 页)

- [15] KÜHL S, DEYHLE H, ZIMMERLI M, *et al.* Cracks in dentin and enamel after cryopreservation[J]. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*, 2012, 113(2): e5-e10.
- [16] 刘威, 郭明伟, 郭治宇, 等. 胞内冰形成机理研究进展[J]. 制冷学报, 2018, 39(3): 126-134.
- [17] LI T, MAI Q, GAO J, *et al.* Cryopreservation of human embryonic stem cells with a new bulk vitrification method[J]. *Biol Reprod*, 2010, 82(5): 848-853.
- [18] DAVIES O G, SMITH A J, COOPER P R, *et al.* The effects of cryopreservation on cells isolated from adipose, bone marrow and dental pulp tissues [J]. *Cryobiology*, 2014, 69(2): 342-347.
- [19] KUMAR A, BHATTACHARYYA S, RATTAN V. Effect of uncontrolled freezing on biological characteristics of human dental pulp stem cells[J]. *Cell Tissue Bank*, 2015, 16(4): 513-522.
- [20] FINGER E B, BISCHOF J C. Cryopreservation by vitrification: a promising approach for transplant organ banking[J]. *Curr Opin Organ Transplant*, 2018, 23(3): 353-360.
- [21] PERRY B C, ZHOU D, WU X, *et al.* Collection, cryopreservation, and characterization of human dental pulp-derived mesenchymal stem cells for banking and clinical use[J]. *Tissue Eng Part C Methods*, 2008, 14(2): 149-156.
- [22] 黄晓君, 方杨, 李润意, 等. 无托槽隐形矫治与固定矫治术对辅助正畸患者牙周健康的影响[J]. 西部医学, 2019, 31(10): 1577-1581.
- [23] CHAŁAS R, WÓJCIK-CHEĆINSKA I, WOŹNIAK M J, *et al.* Płytką bakteryjna jako biofilm-zagrozenia w jamie ustnej oraz sposoby zapobiegania [Dental plaque as a biofilm - a risk in oral cavity and methods to prevent][J]. *Postepy Hig Med Dosw (Online)*, 2015, 69: 1140-1148.

(收稿日期: 2021-12-28; 修回日期: 2022-09-13; 编辑: 刘灵敏)