

· 实验技术及其应用 ·

RIPK1/MLKL/PGAM5 通路在交通相关 PM_{2.5} 诱导哮喘小鼠心脏损伤中的作用

牛泽宇^{1,2,3}, 王彩红^{1,2,3}, 张妍^{1,2,3}, 田家瑜^{1,2,3}, 刘楠楠^{1,2,3}, 宋露露^{1,2,3}, 赵利芳^{1,2,3}, 张志红^{1,2,3}

1.山西医科大学公共卫生学院环境卫生学教研室,山西太原 030001;

2.山西医科大学黄河流域生态公共卫生安全研究中心,山西太原 030001;

3.煤炭环境致病与防治教育部重点实验室,山西太原 030001

摘要:目的 探讨 RIPK1/MLKL/PGAM5 通路在交通相关 PM_{2.5} 诱导哮喘小鼠心脏损伤中的作用。方法 BALB/c 雄性小鼠 50 只,随机分为对照组(NS 组)、哮喘组(OVA 组)、OVA+ 低浓度 PM_{2.5} 组[LPM_{2.5}, 1.8 mg/(kg·bw)]、OVA+ 中浓度 PM_{2.5} 组[MPM_{2.5}, 3.6 mg/(kg·bw)]、OVA+ 高浓度 PM_{2.5} 组[HPM_{2.5}, 7.2 mg/(kg·bw)]。建立 OVA 哮喘模型小鼠,经鼻腔滴注不同浓度的 PM_{2.5} 混悬液 10 次。HE 染色观察心脏组织病理学改变,Tunel 染色法检测心脏组织细胞凋亡,qRT-PCR 和 Western blot 法检测小鼠心脏组织中 RIPK1、RIPK3、MLKL、PGAM5、DRP1 的蛋白及 mRNA 表达水平。结果 与 NS 组相比,PM_{2.5} 染毒组的小鼠心脏组织中心肌纤维排列明显无序,且 HPM_{2.5} 组心肌纤维明显断裂,凋亡细胞数量明显增加,HPM_{2.5} 组 RIPK1、RIPK3、MLKL、PGAM5、DRP1、p-DRP1 蛋白表达均高于 NS 组 ($q_1=20.940, P<0.05; q_2=7.311, P<0.05; q_3=4.805, P<0.05; q_4=5.976, P<0.05; q_5=5.096, P<0.05; q_6=10.390, P<0.05$)。与 NS 组相比,HPM_{2.5} 组 RIPK1、RIPK3、DRP1 基因表达显著升高($q_1=7.952, P<0.05; q_2=5.172, P<0.05; q_3=5.430, P<0.05$)。结论 交通相关 PM_{2.5} 可通过 RIPK1/MLKL/PGAM5 通路诱导哮喘小鼠心脏发生坏死性凋亡。

关键词:交通相关 PM_{2.5}; 坏死性凋亡; 哮喘; 心脏损伤

中图分类号:R256.12;R54 文献标志码:A 文章编号:1003-8507(2024)09-1695-07

DOI:10.20043/j.cnki.MPM.202311413

The role of RIPK1/MLKL/PGAM5 pathway in traffic-related PM_{2.5}-induced heart injury in asthmatic mice

NIU Ze-yu*, WANG Cai-hong, ZHANG Yan, TIAN Jia-yu, LIU Nan-nan, SONG Lu-lu, ZHAO Li-fang, ZHANG Zhi-hong

*Department of Environmental Health, School of Public Health, Shanxi Medical University, Taiyuan, Shanxi 030001, China

Abstract: Objective To investigate the role of RIPK1/MLKL/PGAM5 pathway in traffic-related PM_{2.5}-induced heart injury in asthmatic mice. **Methods** In total 50 male BALB/c mice were randomly divided into control group (NS group), asthma group (OVA group), OVA + low concentration PM_{2.5} group (LPM_{2.5}, 1.8 mg/kg·bw), OVA + medium concentration PM_{2.5} group (MPM_{2.5}, 3.6 mg/kg·bw), and OVA + high concentration PM_{2.5} group (HPM_{2.5}, 7.2 mg/kg·bw). OVA asthma model mice were instilled with different concentrations of PM_{2.5} suspension through nasal cavity for 10 times. The pathological changes of heart tissue were observed by HE staining, the apoptosis of heart tissue was detected by Tunnel staining, and the protein and mRNA expression levels of RIPK1, RIPK3, MLKL, PGAM5, DRP1, and mRNA in mouse heart tissue were detected by qRT-PCR and Western blot methods. **Results** Compared with NS group, the arrangement of central muscle fibers in PM_{2.5} group was obviously disordered, the myocardial fibers in HPM_{2.5} group were obviously broken, and the number of apoptotic cells was significantly increased. The protein expression of RIPK1, RIPK3, MLKL, PGAM5, DRP1, and p-DRP1 in HPM_{2.5} group was higher than that in NS group ($q_1=20.940, P<0.05; q_2=7.311, P<0.05; q_3=4.805, P<0.05; q_4=5.976, P<0.05; q_5=5.096, P<0.05; q_6=10.390, P<0.05$). The expression of RIPK1, RIPK3, and DRP1 genes in HPM_{2.5} group was significantly higher than that in NS group ($q_1=7.952, P<0.05; q_2=5.172, P<0.05; q_3=5.430, P<0.05$). **Conclusion** Traffic-related PM_{2.5} can induce cardiac necrotic apoptosis in asthmatic mice through RIPK1/MLKL/PGAM5 pathway.

Keywords: Traffic-related PM_{2.5}; Necrotic apoptosis; Asthma; Heart injury

基金项目:国家自然科学基金(82273595);中央引导地方科技发展资金(YDZJSX2021A028)

作者简介:牛泽宇(1995—),男,硕士在读,研究方向:大气污染的肝脏毒性

通信作者:张志红, E-mail:zzh1973@sxmu.edu.cn

《2022 年全球空气质量报告》指出,空气污染导致每年超过 600 万人死亡,暴露于空气污染会导致并加重哮喘、肺部疾病和心脏病等,且明确指出 PM_{2.5} 可导致心血管疾病的发生。在六种主要空气污染物中,细颗粒物(fine particle matter, PM_{2.5})是对人类最有害的污染物^[1]。随着社会的发展,汽车成了重要的交通工具,低空 PM_{2.5} 的来源逐渐由煤烟型转变为汽车尾气,对人类健康造成了极大危害^[2]。流行病学研究发现,人类暴露于与交通有关的空气污染与不良心血管疾病和呼吸系统疾病有关^[3]。前期研究发现 PM_{2.5} 可诱导哮喘大鼠发生内质网应激和自噬,进而导致心脏损伤^[4]。

哮喘是一种常见的慢性炎症性气道疾病,可导致肺组织结构重塑和功能障碍^[5]。流行病学研究表明,PM_{2.5} 暴露与哮喘发作风险增加有关^[6]。哮喘可导致肺通气和肺换气功能障碍,造成机体缺氧,进而引起心肌细胞损伤。此外,哮喘个体与非哮喘个体相比,动脉粥样硬化的患病率增加^[7]。因此,哮喘人群更易发生心脏损伤。但是 PM_{2.5} 对哮喘患者的心脏毒性机制尚不清楚。

坏死性凋亡是由丝氨酸/苏氨酸激酶受体相互作用蛋白激酶 1(RIPK1)介导,通过激活受体相互作用蛋白激酶 3(RIPK3)以及混合谱系激酶结构域样(MLKL)等坏死性凋亡相关因子的一种细胞程序性死亡^[8]。在心脏缺血灌注损伤和对小鼠缺血性心力衰竭的研究中均发现有细胞坏死性凋亡的参与^[9-10]。线粒体是高度动态的细胞器,它们通过连续融合和裂变以维持适当的线粒体数量。GTP 酶动力蛋白相关蛋白 1(GTPase dynamin-related protein 1, DRP1)是线粒体裂变的重要调节因子^[11]。当 DRP1 表达过多时,功能性线粒体的数量随着线粒体碎裂的积累减少,进而导致细胞发生坏死性凋亡。磷酸甘油酸变位酶 5(phosphoglycerate mutase 5, PGAM5)是一种线粒体外膜的丝氨酸/苏氨酸磷酸酶^[12],有研究显发现其可充当 RIPK1/RIPK3/MLKL 复合物的靶标,调节 DRP1 表达。在大鼠缺血再灌注模型和细胞实验中,发现抑制 PGAM5 可以降低 DRP1 和 p-DRP1(ser616)表达,改善线粒体功能,减少缺血再灌注引起的心肌损伤^[13]。但是交通相关 PM_{2.5} 通过 RIPK1/MLKL/PGAM5 通路诱导哮喘小鼠心脏损伤尚无文献报道。

故本研究我们构建了哮喘小鼠模型,探讨交通相关 PM_{2.5} 对哮喘小鼠的心脏毒性及其可能的作用机制。

1 材料与方法

1.1 PM_{2.5} 的采集与处理 采样地点为在山西省太

原市某大型交通路口,采样时间为 2020 年 11 月—2021 年 1 月,每天 8:00—20:00。在距离地面 1.6 m 高度使用武汉天虹大流量采样器以 1 m³/min 流量采样,采样后的玻璃纤维滤膜放入干燥器中平衡 24 h。将含有 PM_{2.5} 的滤膜裁剪成 1 cm² 的小块浸入去离子水中,超声震荡 3 次,每次 30 min,收集三次的浸出液,倒入不锈钢平皿中,用锡箔纸封口并扎孔。-80℃ 冰箱冷冻 48 h,然后置于冷冻干燥器中冷冻干燥,收集的絮状物即为 PM_{2.5} 颗粒物,保存于 -20℃ 备用。且课题组前期使用电感耦合等离子体-质谱法(ICP-MS)和离子色谱法(IC)对 2018 年采集的交通相关 PM_{2.5} 中金属成分及水溶性离子成分进行了测定^[14]。

1.2 实验动物以及模型构建 50 只雄性 BALB/c 小鼠(6~8 周龄,体重 20~25 g)购自北京维通利华实验动物技术有限公司,动物许可证号 [SCXK(京)2021-0006],动物实验经山西省肿瘤医院动物实验伦理审查委员会批准(2022026)。适应性喂养一周。小鼠随机分为 5 组,每组 10 只:对照组(NS 组)、哮喘组(OVA 组)、OVA + 低剂量 PM_{2.5} 染毒组[LPM_{2.5}, 1.8 mg/(kg·bw)],OVA + 中剂量 PM_{2.5} 染毒组[MPM_{2.5}, 3.6 mg/(kg·bw)],OVA + 高剂量 PM_{2.5} 染毒组[HPM_{2.5}, 7.2 mg/(kg·bw)]。于实验的第 1、8 和 15 d 对小鼠进行致敏。NS 组腹腔注射无菌 PBS,其他组腹腔注射含 OVA 和 Al(OH)₃ 的 PBS 混悬液。从第 21 d 开始对小鼠进行 OVA 雾化激发。NS 组用无菌 PBS 雾化,其他各组用 2% OVA 雾化激发,隔一天雾化激发一次,每次持续 30 min,共激发 10 次。从第 20 d 开始,小鼠经异氟烷麻醉后,经鼻腔滴注 PM_{2.5} 染毒液,隔一天一次,共 10 次。NS 组和 OVA 组鼻腔滴注 20 μl 空白染毒液,其他组鼻腔滴注 20 μl 不同浓度的 PM_{2.5} 染毒液。于第 40 d 摘眼球取血后,断颈处死小鼠,取材。图 1 为 PM_{2.5} 加重小鼠哮喘模型诱导示意图。

1.3 试剂与抗体 OVA、Al(OH)₃(美国 Sigma 公司);PGAM5、p-DRP1、β-actin(美国 SAB 公司),RIPK1、RIPK3、MLKL、DRP1(武汉 Proteintech 公司);山羊抗鼠二抗、山羊抗兔二抗、蛋白酶抑制剂、BCA 蛋白定量试剂盒(武汉博士德生物工程有限公司);反转录试剂盒、cDNA 扩增试剂盒(日本 TaKaRa 公司);mRNA 引物合成、SDS-PAGE 凝胶制备试剂盒(上海生工);Tunel 试剂盒(武汉赛维尔生物科技有限公司)。

1.4 病理学评估 采用 4%多聚甲醛对 BALB/c 小鼠肺组织和心脏组织进行固定,并用石蜡包埋切片,经二甲苯脱蜡,梯度乙醇(100%、90%、80%、70%)分馏后再水化。清洗切片后按照试剂盒的说明,进行 HE 染色和 Tunel 染色。在光学显微镜下观察小鼠肺

组织和心脏组织的病理学改变。荧光显微镜心脏观 察心脏组织细胞凋亡。

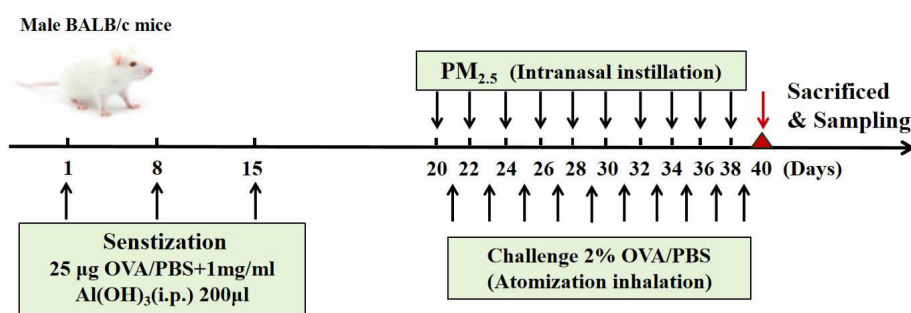


图 1 建立哮喘模型和和交通相关 PM_{2.5} 暴露的实验方案

Figure 1 Experimental protocol for modelling asthma and traffic-related PM_{2.5} exposure

1.5 Western Blot 检测心脏组织中蛋白表达水平

20 mg 心脏组织在 200 µl 裂解液(蛋白酶抑制剂:磷酸酶抑制剂:RIPA Buffer=1 : 1 : 100) 中使用超声破碎仪均质,然后在 4°C 离心机以 13 400 × g 离心 15 min,收集上清液。BCA 蛋白检测试剂盒测定上清液中总蛋白的浓度。使用 SDS-PAGE 凝胶分离蛋白质, PVDF 膜进行转膜,5%脱脂奶粉将 PVDF 膜室温封闭 2 h。然后,将膜置于目标蛋白一抗稀释液中(RIPK1, 1 : 1 000;RIPK3, 1 : 1 000;MLKL, 1 : 1 000;PGAM5, 1 : 1 000;DRP1, 1 : 1 000;p-DRP1 (ser616), 1 : 1 000; β-actin, 1 : 4 000),4°C 摇床孵育过夜,用 TBST 冲洗(3 × 10 min), 然后加入二抗室温孵育 40 min,用 TBST 冲洗(3 × 10 min)。最后,滴加 ECL 发光液观察免疫反应条带,Image-J 进行蛋白定量分析。

1.6 qRT-PCR 检测心脏组织中基因表达水平 使用 RNAiso Plus 从心脏组织中提取总 RNA。用 PrimeScript™ RT 试剂盒将 1 µg 总 RNA 逆转录成 cDNA。然后在 25 µl PCR 反应系统中扩增 20 ng cDNA。扩增条件:95°C 30 s,95°C 5 s,60°C 30 s,40 个循环。β-actin 归一化后,用 2^{-ΔΔCt} 法测定靶基因的相对表达值。各基因引物序列见表 1。

1.7 统计分析 采用 SPSS 22.0 软件对实验数据进行统计分析。使用 Graphpad Prism 8.2 处理分析结果并生成图表。采用单因素方差分析(one-way ANOVA) 进行多组间数据比较,采用 Tukey 检验进行多重比较,检验水准 α=0.05。

2 结果

2.1 交通相关 PM_{2.5} 对哮喘小鼠心脏组织的毒性作用 如图 2A 和 B 所示,NS 组心肌纤维完整,排列有序,OVA 组轻度紊乱,随着 PM_{2.5} 染毒浓度增加,心肌纤维明显无序,心肌细胞间隙变大,且在 HPM_{2.5} 组心肌纤维出现断裂,炎性细胞浸润。图 2C 所示,NS 组

凋亡细胞较少,OVA 组凋亡细胞数轻微增加,随着 PM_{2.5} 染毒浓度增加,凋亡细胞数量逐渐增加,说明 PM_{2.5} 可导致心脏组织发生细胞凋亡,造成心脏损伤。

表 1 各基因引物序列

Table 1 The primer sequences for each gene

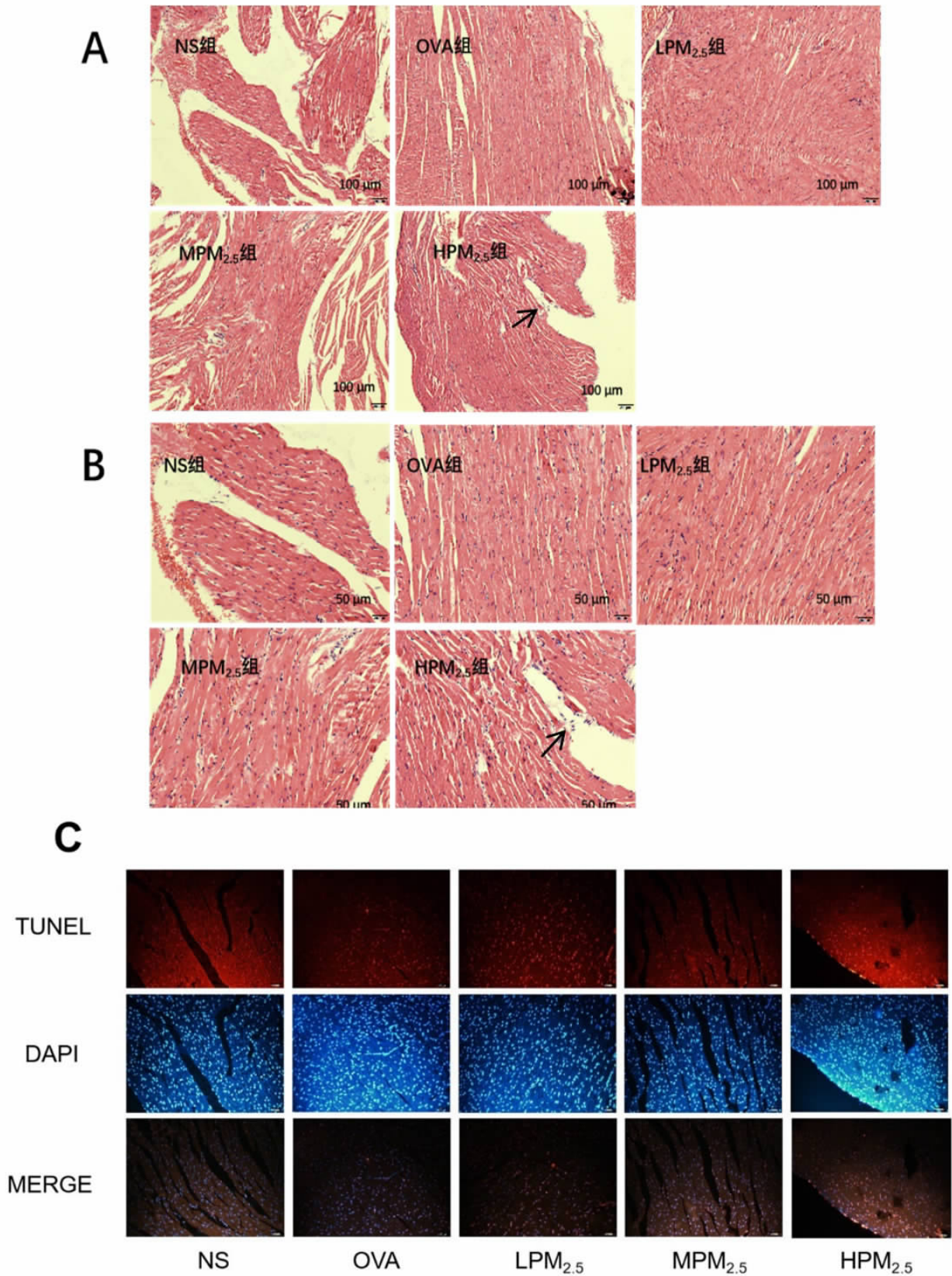
基因	引物序列(5'-3')
RIPK1(forward)	GAAGACAGACCTAGACAGCGG
RIPK1(reverse)	CCAGTAGCTTACCACCTCGAC
RIPK3(forward)	CAGTGGGACTTCTGTGCCG
RIPK3(reverse)	CAAGCTGTGTAGGTAGCACATC
MLKL(forward)	GGATTGCCCTGACTGTTGC
MLKL(reverse)	AACCGCAGACAGTCTCTCCA
PGAM(forward)	ATCTGGAGAAGACGAGTTGACA
PGAM5(reverse)	CCTGTTCCCGACCTAATGGT
DRP1(forward)	GGACCCACTAGGTGGCCTTA
DRP1(reverse)	ACGCTTAATCTGACGTTTGACC
β-actin	小鼠 ACTB 内参引物(生工生物 B661302)

2.2 交通相关 PM_{2.5} 对 RIPK1/MLKL/PGAM5 通路蛋白和 mRNA 表达水平的影响 如图 3A 和 C 所示, OVA 组中 RIPK1、RIPK3、MLKL、PGAM5 蛋白表达量均高于 NS 组,随着 PM_{2.5} 染毒浓度增加呈逐渐升高,在 HPM_{2.5} 组表达量最高。HPM_{2.5} 组中坏死性凋亡相关蛋白 RIPK1、RIPK3、MLKL 表达量均明显高于 NS 组 ($q_1=20.940, P<0.05; q_2=7.311, P<0.05; q_3=4.805, P<0.05$);与 OVA 组相比,HPM_{2.5} 组中 RIPK1、RIPK3 蛋白表达均显著升高 ($q_1=19.570, P<0.05; q_2=5.055, P<0.05$),MLKL 表达轻微升高($q=4.503, P>0.05$)。HPM_{2.5} 组中 PGAM5 蛋白表达量最高,与 NS 组比较差异具有统计学意义($q=5.976, P<0.05$);与 OVA 相比,PGAM5 轻微升高($q=3.691, P>0.05$)。

如图 3B 所示,RIPK1/MLKL/PGAM5 通路 mRNA 表达与蛋白表达水平一致,RIPK1、RIPK3、MLKL、

PGAM5 的 mRNA 表达水平随着 PM_{2.5} 染毒浓度增加逐渐增加, 与 NS 组相比, HPM_{2.5} 组中 RIPK1、RIPK3 表达明显升高 ($q_1=7.952, P<0.05; q_2=5.172, P<$

0.05); 而 MLKL、PGAM5 轻微升高, 差异未见统计学意义($q_1=1.765, P>0.05; q_2=1.572, P>0.05$)。

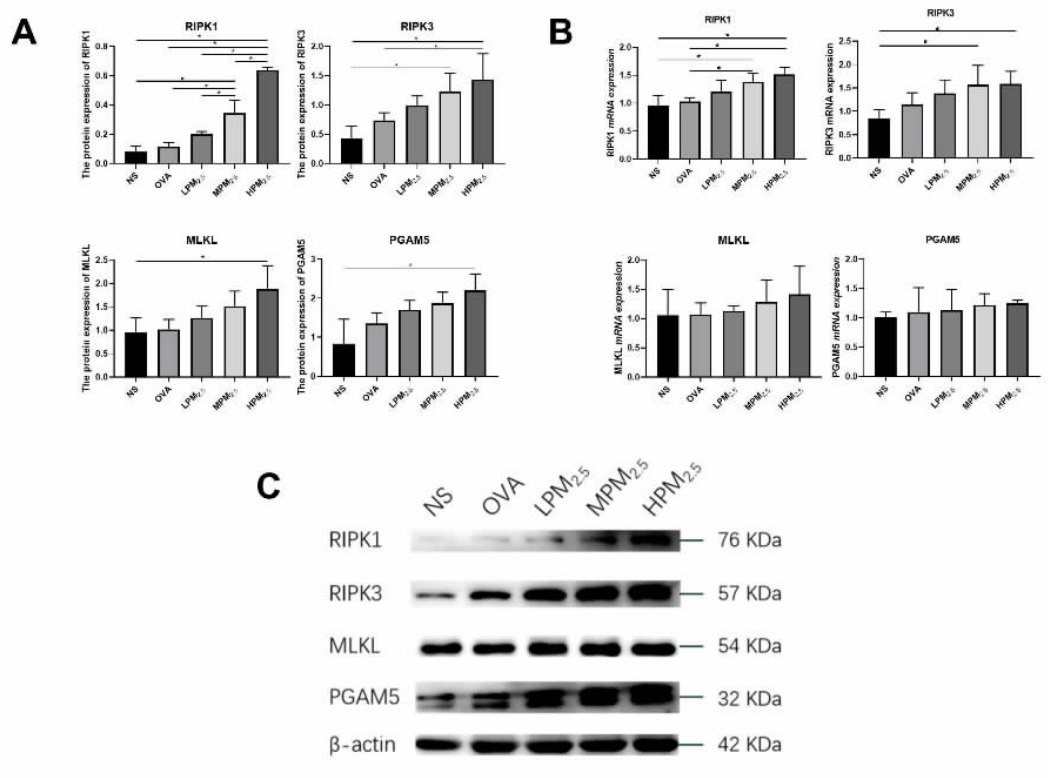


注: 图 A(HE 染色, ×200); 图 B(HE 染色, ×400); 图 C(TUNEL 染色, ×200)。

图 2 交通相关 PM_{2.5} 对哮喘小鼠心脏组织病理损伤

Notes: A: HE × 200; B: HE × 400; C: TUNEL × 200

Figure 2 Histopathological damage to the heart of asthmatic mice by traffic-related PM_{2.5}



注：图 A 为灰度分析定量结果；图 B 为 mRNA 表达结果；图 C 为 WB 结果；* $P < 0.05$

图 3 心脏组织中 RIPK1/MLKL/PGAM5 通路蛋白和 mRNA 的相对表达量

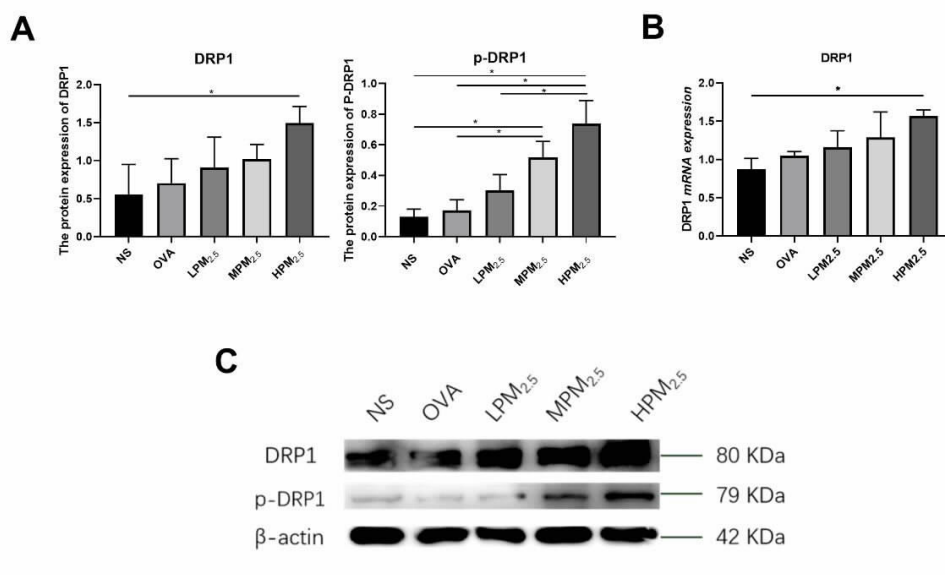
Notes: A: Quantitative results of gray analysis; B: mRNA expression results; C: WB results; * $P < 0.05$

Figure 3 Relative expression levels of RIPK1/MLKL/PGAM5 pathway proteins and mRNA in cardiac tissue

2.3 PM_{2.5} 对 DRP1 蛋白和 mRNA 表达水平的影响

如图 4 A 和 C 所示, OVA 组中 DRP1 及 p-DRP1 蛋白表达水平均高于 NS 组, 在 PM_{2.5} 染毒后, 表达量进一步升高, 在 HPM_{2.5} 组表达量最高。与 OVA 组相比, HPM_{2.5} 组中 p-DRP1 (ser616) 蛋白表达显著升高($q =$

9.667, $P < 0.05$)。与 NS 组相比 DRP1 及 p-DRP1 蛋白表达水平均明显升高 ($q_1 = 5.096, P < 0.05; q_2 = 10.390, P < 0.05$); DRP1 的 mRNA 表达水平呈上升趋势, 在 HPM_{2.5} 组中表达最高, 且明显高于 NS 组($q = 5.430, P < 0.05$)。



注：图 A 为灰度分析定量结果；图 B 为 mRNA 表达结果；图 C 为 WB 结果；* $P < 0.05$ 。

图 4 DRP1 蛋白和 mRNA 表达水平

Note: A: Quantitative results of gray analysis; B: mRNA expression results; C: WB results; * $P < 0.05$

Figure 4 Expression levels of DRP1 protein and mRNA

3 讨论

越来越多的流行病学证据表明,PM_{2.5}与哮喘的发生和加重息息相关^[15],PM_{2.5}粒径小,且可通过呼吸道进入肺组织引发炎症、氧化应激等引起肺组织损伤^[16]。随着PM_{2.5}来源的变化,交通相关PM_{2.5}对人健康影响日益加大,因此课题组前期Wu等人^[14]对交通来源PM_{2.5}全颗粒进行了成分分析,且进一步研究发现交通相关PM_{2.5}可通过TGF- β 1/SMAD3信号通路诱导哮喘大鼠气道纤维化。课题组Wang等^[17]通过肺组织HE染色以及测定小鼠血浆OVA特异性IgE证明哮喘模型构建成功,并发现交通相关PM_{2.5}可通过外泌体miR-129-2-3p加重哮喘。Wang等人^[18]发现PM_{2.5}诱发肺功能损伤时通过细胞外囊泡(sEV)继发心功能不全,也可通过气血交换,造成心血管系统的损伤。流行病学研究发现PM_{2.5}与心血管疾病发生的风险相关^[19],课题组前期研究发现PM_{2.5}通过自噬和内质网应激引起哮喘大鼠心脏损伤^[4]。但是疾病的发生往往是多途径的,从不同的通路进行探讨疾病的发生机制,更有利于疾病的预防与治疗。本研究发现PM_{2.5}可以通过RIPK1/MLKL/P GAM5通路介导线粒体裂变进而引起哮喘小鼠心脏损伤。

心脏是心血管系统的主要参与者,心脏组织结构与功能的改变与心血管疾病的发生紧密相关。心脏组织器质性改变与心血管疾病发生紧密相关。Wu等人^[20]研究发展PM_{2.5}暴露可导致小鼠心肌纤维紊乱、心肌间质水肿、毛细血管扩张和炎性细胞浸润。在本研究中,HE染色发现OVA组与NS相比,心肌纤维轻度紊乱,随着PM_{2.5}染毒增加,心肌纤维间隙变大,且在HPM_{2.5}组出现心肌纤维断裂,炎性细胞浸润。Tunel染色发现,随着PM_{2.5}染毒浓度增加,凋亡细胞数量明显增多,与心脏病理损伤表现一致。提示PM_{2.5}是心脏损伤的危险因子。

坏死性凋亡是由TNF(肿瘤坏死因子)超家族、TLR(Toll样受体)或干扰素受体中的死亡受体激活引发的一种程序性细胞死亡形式,RIPK1、RIPK3、MLKL是坏死性凋亡信号通路的关键分子。表现为质膜破裂、半透明细胞质、线粒体肿胀和核膜保存等形态特征^[21]。当受到刺激时,RIPK1与RIPK3相互作用募集下游蛋白MLKL形成坏死小体,细胞发生坏死性凋亡。在临床研究发现坏死性凋亡抑制剂增加心脏对缺血/再灌注(I/R)的耐受性并降低心肌梗死患者的死亡率^[22]。但是PM_{2.5}与哮喘小鼠心脏坏死性凋亡间的联系未见报道。本研究结果表明,与NS组和OVA组相比,PM_{2.5}暴露增加了坏死性凋亡相关分子RIPK1、RIPK3、MLKL基因和蛋白的表达,且在HPM_{2.5}组最显著。说明PM_{2.5}可引起哮喘小鼠心脏发

生坏死性凋亡。但是坏死小体是坏死性凋亡的启动者,并非执行者。坏死小体诱导心脏组织执行坏死性凋亡途径尚不清楚。

心脏是一种对能量变化非常敏感的器官,当机体内氧气供应不足,线粒体产生的能量不足以支持心脏对于能量的需求时,即可造成心脏的损伤。哮喘可引起气流受限,导致机体缺氧,而线粒体是机体氧化磷酸化的重要场所,氧含量不足,导致线粒体损伤,线粒体通过融合与裂变来维持线粒体稳态,通过线粒体自噬来清除衰老损伤的线粒体^[23]。而线粒体裂变主要受DRP1的调控,当DRP1和p-DRP1(ser616)表达增加,线粒体发生损伤,PGAM5是一种位于线粒体外膜的线粒体蛋白,PGAM5可作为坏死性凋亡下游蛋白参与坏死性凋亡的发生,在急性肝损伤研究中发现PGAM5-DRP1轴可诱导肝细胞发生坏死性凋亡^[24]。本研究发现随着PM_{2.5}暴露浓度增加,PGAM5、DRP1、p-DRP1(ser616)蛋白表达增加,与之前研究结果一致。

综上所述,本研究表明交通相关PM_{2.5}可通过RIPK1/MLKL/P GAM5通路诱导哮喘小鼠心脏损伤。但是本文仍存在一些不足,一是只对通路进行了验证,并未添加干预措施;二是此实验仅限于体内实验,仍需体外实验进行进一步验证。

利益冲突声明 本研究不存在任何利益冲突

参考文献

- [1] Anonym. 2022 World air quality report[R]. Swiss: IQAir, 2022.
- [2] Martins V, Correia C, Cunha-Lopes I, et al. Chemical characterisation of particulate matter in urban transport modes [J]. Journal of Environmental Sciences, 2021, 100: 51-61.
- [3] Hayes RB, Lim C, Zhang YL, et al. PM_{2.5} air pollution and cause-specific cardiovascular disease mortality [J]. International Journal of Epidemiology, 2020, 49(1): 25-35.
- [4] Tian JY, Shi H, Wang X, et al. The cardiotoxicity of asthmatic rats after traffic-related PM_{2.5} and water-soluble components exposure mediated by endoplasmic reticulum stress and autophagy [J]. Environmental Science and Pollution Research International, 2022, 29(33): 50704-50716.
- [5] Amini H, Saghati S, Hassanpour M, et al. Asthma can Promote Cardiomyocyte Mitophagy in a Rat Model [J]. Cardiovascular Toxicology, 2022, 22(8): 763-770.
- [6] Guarnieri M, Balmes JR. Outdoor air pollution and asthma[J]. Lancet, 2014, 383(9928): 1581-1592.
- [7] Tuleta I, Skowasch D, Aurich F, et al. Asthma is associated with atherosclerotic artery changes [J]. PLOS One, 2017, 12 (10): e0186820.
- [8] Prasad panda S, Kesharwani A, Prasanna Mallick S, et al. Viral-induced neuronal necroptosis: Detrimental to brain function and regulation by necroptosis inhibitors [J]. Biochemical Pharmacology, 2023, 213: 115591.

- [9] Song XY, Li TC. Ripk3 mediates cardiomyocyte necrosis through targeting mitochondria and the JNK-Bnip3 pathway under hypoxia-reoxygenation injury [J]. *Journal of Receptor and Signal Transduction Research*, 2019, 39(4): 331-340.
- [10] Ma F, Zhu Y, Chang L, et al. Hydrogen sulfide protects against ischemic heart failure by inhibiting RIP1/RIP3/MLKL-mediated necroptosis [J]. *Physiological Research / Academia Scientiarum Bohemoslovaca*, 2022, 71(6): 771-781.
- [11] Qin YT, Lv C, Zhang XX, et al. Neuraminidase1 inhibitor protects against Doxorubicin-Induced cardiotoxicity via suppressing Drp1-Dependent mitophagy [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 802502.
- [12] Yu B, Ma J, Li J, et al. Mitochondrial phosphatase PGAM5 modulates cellular senescence by regulating mitochondrial dynamics [J]. *Nature Communications*, 2020, 11(1): 2549.
- [13] 张乾卉. PGAM5/Drp1 信号通路在神诱导小鼠海马神经元 HT-22 细胞线粒体损伤及凋亡中的作用[D]. 沈阳:中国医科大学, 2020.
- Zhang QH. The role of PGAM5/ Drp1 in Mitochondrial Damage and Apoptosis in HT-22 Cells upon arsenite exposure [D]. Shenyang: China Medical University, 2020.
- [14] Wu HY, Wang D, Shi H, et al. PM2.5 and water-soluble components induce airway fibrosis through TGF- β 1/Smad3 signaling pathway in asthmatic rats [J]. *Molecular Immunology*, 2021, 137: 1-10.
- [15] Zhang YM, Xu XM, Zhang GL, et al. The association between PM2.5 concentration and the severity of acute asthmatic exacerbation in hospitalized children: A retrospective study in Chongqing, China [J]. *Pediatric Pulmonology*, 2023, 58(10): 2733-2745.
- [16] Gao JL, Lei T, Wang HY, et al. Dimethylarginine dimethylaminohydrolase 1 protects PM2.5 exposure-induced lung injury in mice by repressing inflammation and oxidative stress [J]. *Particle and Fibre Toxicology*, 2022, 19(1): 64.
- [17] 王彩红. 外泌体 miR--129--2--3p 在 PM2.5 加重哮喘中对气道上皮屏障功能的调控研究[D]. 太原:山西医科大学, 2023.
- Wang CH. Regulation of exosomal miR-129-2-3p on airway epithelial barrier function in PM2.5 aggravated asthma [D]. Taiyuan: Shanxi Medical University, 2023.
- [18] Wang H, Wang T, Rui W, et al. Extracellular vesicles enclosed-miR-421 suppresses air pollution (PM2.5)-induced cardiac dysfunction via ACE2 signalling [J]. *Journal of Extracellular Vesicles*, 2022, 11(5): e12222.
- [19] Krittanawong C, Qadeer YK, Hayes RB, et al. PM2.5 and cardiovascular health risks [J]. *Current Problems in Cardiology*, 2023, 48(6): 101670.
- [20] Wu TT, Tong MH, Chu AA, et al. PM2.5-Induced programmed myocardial cell death via mPTP opening results in deteriorated cardiac function in HFpEF mice [J]. *Cardiovascular Toxicology*, 2022, 22(8): 746-762.
- [21] Chen YL, Ren WQ, Wang QS, et al. The regulation of necroptosis by ubiquitylation [J]. *Apoptosis*, 2022, 27(9/10): 668-684.
- [22] Maslov LN, Popov SV, Naryzhnaya NV, et al. The regulation of necroptosis and perspectives for the development of new drugs preventing ischemic/reperfusion of cardiac injury [J]. *Apoptosis*, 2022, 27(9/10): 697-719.
- [23] Chan DC. Mitochondrial dynamics and its involvement in disease [J]. *Annual Review of Pathology*, 2020, 15: 235-259.
- [24] He GW, Günther C, Kremer AE, et al. PGAM5-mediated programmed necrosis of hepatocytes drives acute liver injury [J]. *Gut*, 2017, 66(4): 716-723.

收稿日期: 2023-11-22

(上接第 1694 页)

- Hong J, Cao Y, Tan ZM, et al. Antimicrobial resistance features and molecular typing of staphylococcus aureus in Jiangsu province, China [J]. *Chinese Journal of Zoonoses*, 2019, 35(7): 604-609.
- [13] 李洁群, 余静贵, 饶洁, 等. 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的临床分布和耐药性分析 [J]. *中国当代医药*, 2023, 30(22): 120-123.
- Li JQ, Yu JG, Rao J, et al. Analysis of drug resistance and clinical distribution in Methicillin-resistant Staphylococcus aureus [J]. *China Modern Medicine*, 2023, 30(22): 120-123.
- [14] 陈培超, 黄强, 毛育华, 等. 上海嘉定区某医院 2018-2022 年环境中金黄色葡萄球菌的分布及其耐药性 [J]. *中国感染控制杂志*, 2023, 22(7): 758-764.
- Chen PC, Huang Q, Mao YH, et al. Distribution and antimicrobial resistance of Staphylococcus aureus from the environment of a hospital in Jiading District, Shanghai, 2018-2022 [J]. *Chinese Journal of Infection Control*, 2023, 22(7): 758-764.
- [15] 李雅倩, 胡同平, 张文兰, 等. 2016-2018 年内蒙古包头地区金黄色葡萄球菌耐药监测结果分析 [J]. *现代预防医学*, 2020, 47(13): 2461-2465.
- Li YQ, Hu TP, Zhang WL, et al. Analysis of staphylococcus aureus antimicrobial resistance monitoring results in Baotou, Inner Mongolia, 2016-2018 [J]. *Modern Preventive Medicine*, 2020, 47(13): 2461-2465.
- [16] 徐娅雯, 黄瑶, 王艳, 等. 扬州地区克林霉素耐药金黄色葡萄球菌遗传进化特征 [J]. *公共卫生与预防医学*, 2023, 34(3): 56-60.
- Xu YW, Huang Y, Wang Y, et al. Genetic and evolutionary characteristics of clindamycin-resistant Staphylococcus aureus in Yangzhou [J]. *Journal of Public Health and Preventive Medicine*, 2023, 34(3): 56-60.
- [17] Laumay F, Benchetrit H, Corvaglia AR, et al. The staphylococcus aureus CC398 lineage: an evolution driven by the acquisition of prophages and other Mobile genetic elements [J]. *Genes*, 2021, 12(11): 1752.
- [18] Balakirski G, Hischebeth G, Altengarten J, et al. Recurrent mucocutaneous infections caused by PVL-positive Staphylococcus aureus strains: a challenge in clinical practice [J]. *Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft*, 2020, 18(4): 315-322.

收稿日期: 2023-12-18