

褪黑素对 PM_{2.5} 暴露所致 ApoE^{-/-} 小鼠肺炎症和淋巴管生成的保护作用研究

蒋金金^{1,2}, 陈玉萍^{2,3}, 李洋¹, 丁世彬^{1,2}

1. 江苏医药职业学院公共卫生与管理学院, 江苏 盐城 224005; 2. 江苏省心脑血管疾病和癌症防控工程研究中心;
3. 江苏医药职业学院科技处

摘要:目的 研究褪黑素对大气 PM_{2.5} 暴露所致 ApoE^{-/-} 小鼠肺炎症和淋巴管生成的保护作用。方法 将 28 只雄性 ApoE^{-/-} 小鼠随机分为: 对照组, 褪黑素组, PM_{2.5} 组和 PM_{2.5} + 褪黑素组; 全部实验动物连续 24 周给予西方饮食。从第 25 周开始, 褪黑素组和 PM_{2.5} + 褪黑素组小鼠连续 8 周每天灌胃给予褪黑素(20 mg/kg); PM_{2.5} 组和 PM_{2.5} + 褪黑素组小鼠气管滴注 PM_{2.5}(5 mg/kg); 对照组和褪黑素组小鼠同时气管滴注生理盐水。在 PM_{2.5} 暴露结束 24 小时后, 处死全部小鼠, 分析四组小鼠体重增加、肺重/体重比值。检测小鼠肺组织炎性细胞因子 TNF- α 和 IL-6 浓度; 用免疫荧光染色法评估肺组织淋巴管标志物 LYVE1 表达水平; 用 Western Blot 测定肺组织淋巴管标志蛋白 LYVE1 和 PROX1 水平, 淋巴管生成调节蛋白 VEGF-C 和 VEGFR-3 的蛋白质表达水平。结果 PM_{2.5} 组小鼠肺组织 TNF- α 和 IL-6 浓度以及肺组织 PROX1, LYVE1, VEGF-C 和 VEGFR-3 的蛋白质表达显著高于对照组($P < 0.05$)。PM_{2.5} + 褪黑素组小鼠肺组织中 TNF- α 和 IL-6 浓度以及肺组织 PROX1, LYVE1, VEGF-C 和 VEGFR-3 的蛋白质表达显著低于 PM_{2.5} 组($P < 0.05$)。结论 大气 PM_{2.5} 暴露能显著增加 ApoE^{-/-} 小鼠肺炎症, 并且可能通过调控 VEGF-C/VEGFR-3 信号通路增加肺组织的淋巴管生成; 褪黑素能显著改善 PM_{2.5} 所致肺炎症和降低肺淋巴管生成。

关键词: 褪黑素; PM_{2.5}; ApoE 基因敲除小鼠; 肺炎症; 淋巴管生成

中图分类号: R-33 文献标志码: A 文章编号: 1003-8507(2025)02-227-06

DOI: 10.20043/j.cnki.MPM.202409319

Protective effect of melatonin on PM_{2.5} - induced inflammation and lymphangiogenesis in the lung of ApoE^{-/-} mice

JIANG Jin-jin*, CHEN Yu-ping, LI Yang, DING Shi-bin

* School of Public Health and Management, Jiangsu Medical College, Yancheng, Jiangsu 224005, China

Abstract; Objective To study the protective effect of melatonin on PM_{2.5} - induced inflammation and lymphangiogenesis in the lung of ApoE^{-/-} mice. **Methods** Twenty-eight male ApoE^{-/-} mice were randomized into: control group, PM_{2.5} group, melatonin group and PM_{2.5} + melatonin group. All mice were fed with western diet for 24 weeks. From the 25th week, mice in the melatonin group and PM_{2.5} + melatonin group were daily orally gavaged with melatonin (20 mg/kg · bw) for 8 weeks; mice in the PM_{2.5} group and PM_{2.5} + melatonin group were exposed to PM_{2.5} by tracheal instillation (5 mg/kg); and mice in the control group and melatonin group were instilled with saline at the same time. After 24 h of PM_{2.5} exposure, mice were euthanized and weight gain and lung weight/body weight ratio in four groups were analyzed. The concentrations of inflammatory cytokines (TNF- α and IL-6) in the lung tissue of mice were measured. Immunofluorescence staining of lung tissue was visualized the lymphatic marker LYVE1 expression. Western Blot was used to assess the protein expression levels of lymphangiogenesis markers PROX1 and LYVE1, lymphangiogenesis regulatory proteins VEGF-C and VEGFR-3 in lung tissues. **Results** The levels of TNF- α and IL-6 and the protein expressions of PROX1, LYVE1, VEGF-C and VEGFR-3 in lung tissues of PM_{2.5} group were significantly higher than the control group ($P < 0.05$). Moreover, the levels of TNF- α , IL-6 and the protein expressions of PROX1, LYVE1, VEGF-C and VEGFR-3 in lung tissues of the PM_{2.5} + melatonin group were significantly lower than the PM_{2.5} group ($P < 0.05$). **Conclusion** Ambient PM_{2.5} exposure obviously increases lung inflammation of ApoE^{-/-} mice, and may increase lymphangiogenesis in lung through regulating the VEGF-C/VEGFR-3

基金项目: 国家自然科学基金项目(82204095); 江苏省自然科学基金(BK20210141); 江苏高校“青蓝工程”资助项目(苏教师函[2023]27号, 苏教师函[2024]14号); 江苏省卫生健康委员会医学科研项目(M2022035, M2021020)

作者简介: 蒋金金(1985—)女, 博士, 副教授, 研究方向: 空气污染的毒性效应研究

通信作者: 丁世彬, E-mail: dingshibin@163.com

3 signaling pathway in the lung tissues; melatonin markedly improves PM2.5 - induced lung inflammation and reduces lymphangiogenesis in lung.

Keywords: Melatonin; PM2.5; ApoE gene knockout mouse; Lung inflammation; Lymphangiogenesis

近年来由于工业化和城市化的快速发展,颗粒物空气污染已成为严重威胁我国环境安全和人群健康的主要空气污染物。大气 PM2.5 是粒径小于 2.5 μm 的大气颗粒物,由于 PM2.5 粒径较小,能通过人体呼吸运动进入肺泡甚至进入血液循环^[1-2],因此肺被认为是 PM2.5 暴露和产生毒性效应的直接靶器官。ApoE^{-/-} 是一种已被广泛应用的动脉粥样硬化动物模型,大气 PM2.5 暴露能导致 ApoE^{-/-} 小鼠心脏功能紊乱、加重动脉粥样硬化^[3-4],这表明 ApoE^{-/-} 小鼠心血管系统对大气 PM2.5 导致的毒性更敏感。此外,研究发现 ApoE^{-/-} 小鼠的肺脏暴露于 PM2.5 后,其肺炎反应比 C57BL/6J 小鼠更为严重^[5],这表明 ApoE^{-/-} 小鼠模型肺脏对于 PM2.5 诱导的炎症和毒性具有较高的敏感性。动物实验研究已经证实,肺组织中的淋巴管在哮喘、肺结核和慢性阻塞性肺病中具有重要作用^[6-7],但大气 PM2.5 暴露对肺淋巴生成的影响尚无报道。有研究报道,褪黑素干预能改善 PM2.5 暴露导致的肺损伤^[8]。因此,本研究将探索 PM2.5 对 ApoE^{-/-} 小鼠肺炎症和淋巴管生成的影响及其分子机制,并观察褪黑素是否存在的保护作用。

1 实验材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物 28 只雄性 6-8 周龄(体重 18~23g) SPF 级 ApoE^{-/-} 小鼠,购自斯贝福(北京)生物技术有限公司【SCXK(京)2019-0010】。实验动物饲养在江苏医药职业学院 SPF 级动物房【SYXK(苏)2023-0005】,环境温度为 21~25 $^{\circ}\text{C}$,湿度为 60%~70%。本研究中动物实验操作过程严格遵守江苏医药职业学院实验动物伦理学规范,实验获得江苏医药职业学院伦理委员会批准(SYLL-2022-008)。

1.1.2 试剂与仪器 西方饮食饲料(南通特洛菲饲料科技有限公司,中国);白细胞介素-6(IL-6)和肿瘤坏死因子 α (TNF- α) ELISA 试剂盒(北京索莱宝科技有限公司,中国);全蛋白提取试剂盒(碧云天生物技术有限责任公司,中国);PROX1 抗体,LYVE1 抗,VEGFR-3 抗体和 VEGF-C 抗体(Abcam 公司,中国);GAPDH 抗体和二抗(Proteintech 生物技术有限公司,中国);电泳和转膜系统(Bio-Rad,美国);低温离心机(Eppendorf,德国);双色红外激光成像系统(LI-COR,美国);全自动酶标仪(Thermo 公司,美国);超薄切片机(莱卡,德国);荧光倒置显微镜(Olympus,日本)。

1.2 实验方法

1.2.1 大气 PM2.5 采集和处理 应用武汉天虹大流量颗粒采样器(TH-1000C 型)收集大气 PM2.5。PM2.5 处理方法参照我们之前的研究^[8]:采样结束后,将载有 PM2.5 的石英纤维滤膜剪成 2 cm \times 2 cm 小块滤膜浸泡在超纯水中超声洗脱 4 h,在真空干燥机中进行真空干燥,并储存于 -80 $^{\circ}\text{C}$ 待用。

1.2.2 动物分组和处理 将 28 只 ApoE^{-/-} 小鼠随机分为:对照组,褪黑素组,PM2.5 组和 PM2.5 + 褪黑素组;每组 7 只小鼠。实验动物连续 24 周给予西方饮食。从第 25 周开始,褪黑素组和 PM2.5 + 褪黑素组小鼠连续 8 周每天灌胃给予褪黑素(20 mg/kg);对照组和褪黑素组小鼠同时气管滴注生理盐水;PM2.5 组和 PM2.5 + 褪黑素组小鼠气管滴注 PM2.5 (5 mg/kg),每周滴注 2 次。我国《环境空气质量标准》(GB 3095-2012)中关于 PM2.5 浓度的一级浓度限值为 24 h 平均浓度为 35 $\mu\text{g}/\text{m}^3$,依据上述标准和小鼠的呼吸生理参数和 100 倍不确定因子来确定本研究使用的 PM2.5 染毒浓度为 5 mg/kg^[9]。

1.2.3 检测肺组织中炎性细胞因子 TNF- α 和 IL-6 浓度 最后一次染毒结束 24 小时后,使用戊巴比妥(20 mg/kg)对小鼠进行麻醉,心脏穿刺取血,然后分离肺组织并称重。按照 ELISA 试剂盒说明书检测肺组织 TNF- α 和 IL-6 浓度。

1.2.4 肺组织免疫荧光染色 用 4% 多聚甲醛溶液将小鼠左肺组织固定后用石蜡包埋,用切片机将石蜡切片切成 5 μm 厚度的切片进行 LYVE1 荧光染色,用激光共聚焦显微镜获取免疫荧光染色图像。

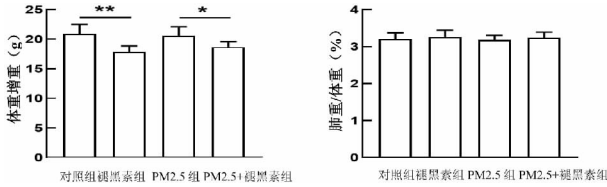
1.2.5 Western blot 法检测目的蛋白表达水平 称取 50 mg 肺组织,加入蛋白裂解液在 4 $^{\circ}\text{C}$ 下裂解 2 h,然后在低温离心机以 12 000 r/min 离心 15 min,留上清;用 BCA 蛋白定量试剂盒测定上清液中样品蛋白浓度。将蛋白样品在 10% 或 12% 的聚丙烯酰胺凝胶上电泳分离,转膜至 PVDF 膜上,用封闭液封闭 2 h,用 TBS 洗膜 3 次后,然后分别用不同一抗(PROX1 抗体,LYVE1 抗,VEGFR-3 抗体,VEGF-C 抗体和 GAPDH 抗体)在 4 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育过夜。用 TBS 洗膜 3 次后,将膜置于二抗室温下孵育 2 h。用双色红外激光成像系统检测蛋白表达水平,用 Image J 软件分析蛋白免疫印迹条带的灰度值。

1.3 统计学方法 实验结果用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,应用 SPSS 13.0 统计软件包进行统计分析。数据资料符合正态分布,用单因素方差分析;不符合正

态分布的数据采用非参数检验。检验水准为 $\alpha = 0.05$ 。

2 实验结果

2.1 小鼠体重增重和肺组织/体重比值比较 由图 1 可见,褪黑素组小鼠体重增重低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$);PM2.5 + 褪黑素组小鼠体重增重显著低于 PM2.5 组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。四组小鼠体重增重和肺组织/体重比值差异无统计学意义($P > 0.05$)。以上结果表明:PM2.5 暴露对小鼠体重增重没有影响,而褪黑素干预能降低小鼠体重增重。



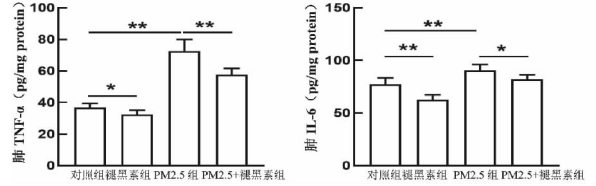
注: $n=7$, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

图 1 四组小鼠体重增重和肺重/体重比值

Fig. 1 The body weight gain and the ratio of lung weight to body weight of mice in four groups

2.2 褪黑素能降低 ApoE^{-/-}小鼠肺组织 TNF- α 和

IL-6 浓度 由图 2 可见,褪黑素组小鼠肺组织中 TNF- α 和 IL-6 浓度低于对照组($P < 0.05$);PM2.5 组小鼠肺组织中 TNF- α 和 IL-6 浓度显著高于对照组($P < 0.05$);PM2.5 + 褪黑素组小鼠肺组织中 TNF- α 和 IL-6 浓度显著低于 PM2.5 组($P < 0.05$)。以上结果表明:PM2.5 能增加小鼠肺组织炎症水平,而褪黑素能降低小鼠肺组织炎症水平。

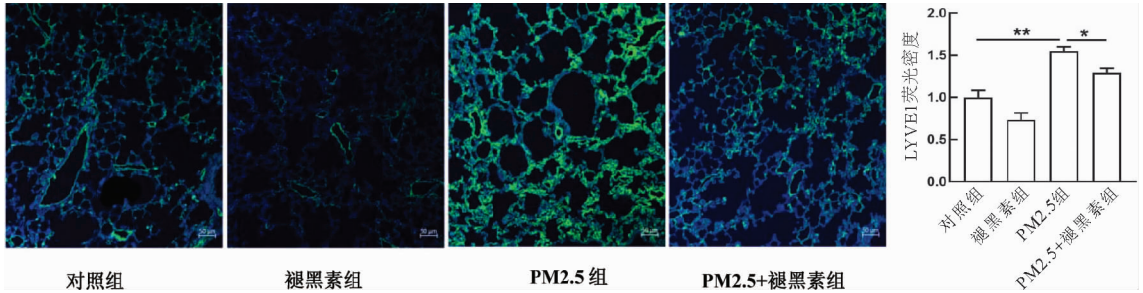


注: $n=7$, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

图 2 四组小鼠肺组织 IL-6 和 TNF- α 浓度

Fig. 2 The concentration of IL-6 and TNF- α in lung tissues of mice in four groups

2.3 褪黑素能减少 ApoE^{-/-}小鼠肺组织 LYVE1 表达 由图 3 可见,肺组织免疫荧光染色观察发现:PM2.5 组小鼠肺组织淋巴管标志物 LYVE1 表达水平高于对照组;PM2.5 + 褪黑素组小鼠肺组织淋巴管标志物 LYVE1 表达水平低于 PM2.5 组。



注: $n=3$, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

图 3 肺组织 LYVE1 免疫荧光染色($\times 20$,标尺为 50 μm)

Fig. 3 Immunofluorescence staining of LYVE1 in the lung tissues ($\times 20$, scale bar = 50 μm)

2.4 褪黑素能降低 PM2.5 暴露小鼠肺组织 PROX1 和 LYVE1 蛋白表达水平 由图 4 可见,褪黑素组小鼠肺组织 PROX1 和 LYVE1 的蛋白表达显著低于对照组($P < 0.05$);PM2.5 组小鼠肺组织 PROX1 和 LYVE1 的蛋白表达显著高于对照组($P < 0.05$);PM2.5 + 褪黑素组小鼠肺组织 PROX1 和 LYVE1 的蛋白表达显著低于 PM2.5 组($P < 0.05$)。

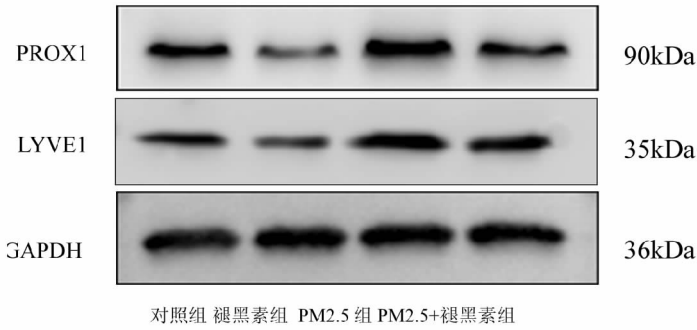
2.5 褪黑素能降低 PM2.5 暴露小鼠肺组织 VEGFR-3 和 VEGF-C 蛋白表达水平 由图 5 可见,褪黑

素组小鼠肺组织 VEGFR-3 和 VEGF-C 蛋白表达均显著低于对照组($P < 0.05$);PM2.5 组小鼠肺组织 VEGFR-3 和 VEGF-C 蛋白表达均显著高于对照组($P < 0.05$);PM2.5 + 褪黑素组小鼠肺组织 VEGFR-3 和 VEGF-C 蛋白表达均显著低于 PM2.5 组($P < 0.05$)。

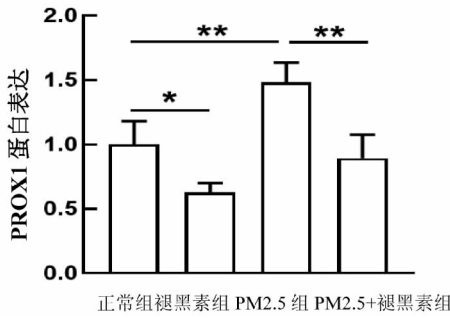
3 讨论

《柳叶刀》杂志发表的《2019 年全球疾病负担报

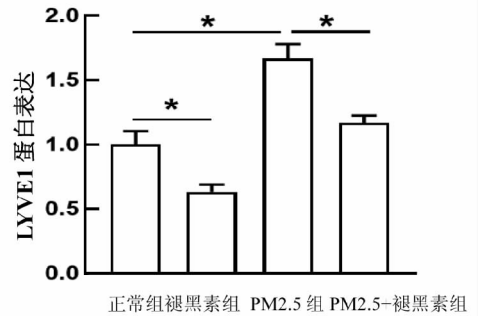
A



B



C

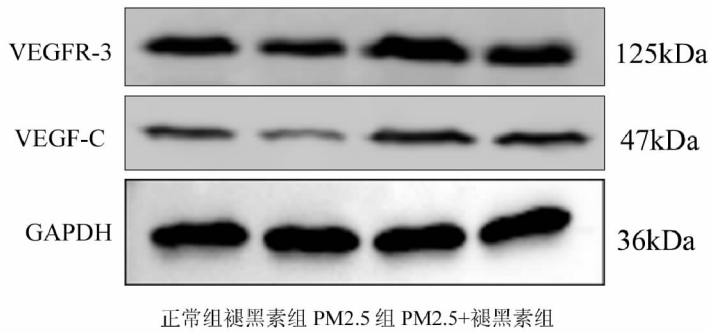


注: $n=3$, * $P<0.05$, ** $P<0.01$ 。A: 蛋白免疫印迹图片; B: PROX1 蛋白表达; C: LYVE1 蛋白表达。

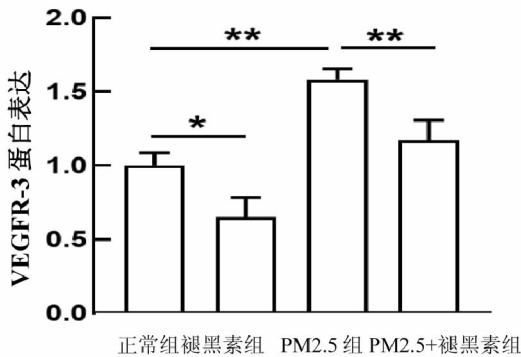
图 4 四组小鼠肺组织 PROX1 和 LYVE1 蛋白表达水平

Fig. 4 The protein expression of PROX1 and LYVE1 in lung tissues of mice in four groups

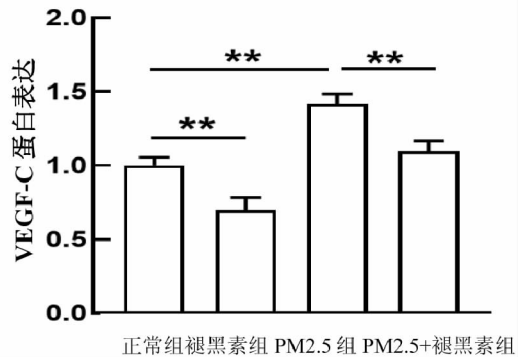
A



B



C



注: $n=3$, * $P<0.05$, ** $P<0.01$ 。A: 蛋白免疫印迹图片; B: VEGFR-3 蛋白表达; C: VEGF-C 蛋白表达。

图 5 PM2.5 和高盐饮食对小鼠肝脏 VEGFR-3 和 VEGF-C 蛋白表达的影响

Fig. 5 Effects of PM2.5 and high-salt diet on the protein expression of VEGFR-3 and VEGF-C in liver of mice

告》显示,2019 年 PM_{2.5} 造成我国 120 万人过早死亡和 2 500 万伤残调整生命年损失^[10]。近年来我国大气环境总体趋势向好,大气 PM_{2.5} 浓度显著降低,但大气 PM_{2.5} 的健康危害仍然不容忽视。流行病学队列研究发现,大气 PM_{2.5} 暴露与对呼吸系统疾病和心血管疾病的发病率和死亡率的增加显著相关^[11-12]。动物研究显示,PM_{2.5} 暴露能加重哮喘小鼠气道炎症,还能促进肺组织的炎症释放和诱导氧化抗氧化失衡,导致 C57BL/6 小鼠急性肺损伤^[13-14]。因此,大气 PM_{2.5} 暴露引发的炎症是造成肺损伤和肺部疾病的主要致病机制之一。褪黑素是一种内源性激素,具有较强的抗氧化能力和抗炎能力。有研究报道,褪黑素能改善肺炎克雷伯菌引起的肺细胞炎症和凋亡^[15],能通过抑制炎症反应和细胞焦亡减轻甲型流感病毒诱导的肺上皮细胞损伤^[16]。本研究发现,连续 8 周通过气管滴注方式给予西方饮食喂养的 ApoE^{-/-} 小鼠 PM_{2.5} 暴露后,小鼠的肺重/体重比值没有明显改变,但小鼠肺泡灌洗液中 TNF- α 和 IL-6 浓度增加,而褪黑素干预能显著降低 PM_{2.5} 暴露小鼠肺泡灌洗液中炎症细胞因子浓度,表明褪黑素能抑制 PM_{2.5} 所致的肺炎症反应。

肺淋巴功能障碍在肺部疾病的发生和进展中具有重要作用,淋巴管生成可能是肺部病理过程中的积极参与者^[17],但具体机制尚不清楚。体内体外实验研究已经证实,大气 PM_{2.5} 暴露能导致肺炎症和纤维化损伤^[18-19]。因此,本研究推测大气 PM_{2.5} 暴露导致的肺炎症伴随肺淋巴管生成增加。本研究结果发现:大气 PM_{2.5} 暴露能显著增加肺淋巴标志蛋白 PROX1 和 LYVE1 的蛋白表达水平,表明 PM_{2.5} 暴露能增加肺淋巴管生成;而褪黑素干预能显著降低 PM_{2.5} 所致的肺淋巴管生成。在组织炎症部位通常存在由巨噬细胞和粒细胞诱导的淋巴管生成,导致炎症部位产生大量 VEGF-C^[17];VEGF-C 主要通过直接结合淋巴管内皮细胞上表达 VEGFR-3 诱导淋巴管生成^[20]。本研究首次报道:PM_{2.5} 暴露能上调小鼠肺 VEGFR-3 和 VEGF-C 的蛋白质表达,褪黑素能降低 VEGFR-3 和 VEGF-C 蛋白质表达;以上结果表明:PM_{2.5} 暴露可能通过导致的炎症上调 VEGFR-3/VEGF-C 信号通路增加小鼠肺淋巴管生成,而褪黑素能显著降低 PM_{2.5} 暴露小鼠肺炎症及抑制肺淋巴管生成。

综上所述,大气 PM_{2.5} 暴露能导致 ApoE^{-/-} 小鼠肺炎症并且通过上调肺 VEGFR-3 和 VEGF-C 增加肺脏淋巴管生成;褪黑素能有效改善 PM_{2.5} 所致的肺炎症和淋巴管生成。

利益冲突声明 本研究不存在任何利益冲突

参考文献

- [1] Wang HY, Shen XY, Liu JL, et al. The effect of exposure time and concentration of airborne PM_{2.5} on lung injury in mice: A transcriptome analysis[J]. Redox Biology, 2019, 26: 101264.
- [2] Xie W, You J, Zhi CX, et al. The toxicity of ambient fine particulate matter (PM_{2.5}) to vascular endothelial cells [J]. Journal of Applied Toxicology, 2021, 41(5): 713-723.
- [3] Geng J, Liu HY, Ge PB, et al. PM_{2.5} promotes plaque vulnerability at different stages of atherosclerosis and the formation of foam cells via TLR4/MyD88/NF κ B pathway [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2019, 176: 76-84.
- [4] Gao YH, Zhang Q, Sun JB, et al. Extracellular vesicles derived from PM_{2.5}-exposed alveolar epithelial cells mediate endothelial adhesion and atherosclerosis in ApoE^{-/-} mice [J]. The FASEB Journal, 2022, 36(2): e22161.
- [5] 柳敏,吕鹏,于文成. 大气细颗粒物致动脉粥样硬化小鼠肺脏炎症损伤[J]. 中国公共卫生, 2017, 33(1): 98-102.
- [6] Liu M, Lv P, Yu WC. Effect of airborne fine particulate matter on atherosclerotic lung inflammatory injury in mice [J]. Chinese Journal of Public Health, 2017, 33(1): 98-102. (In Chinese)
- [7] Stump B, Cui Y, Kidambi P, et al. Lymphatic changes in respiratory diseases: more than just remodeling of the lung? [J]. American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology, 2017, 57(3): 272-279.
- [8] Summers BD, Kim K, Clement CC, et al. Lung lymphatic thrombosis and dysfunction caused by cigarette smoke exposure precedes emphysema in mice [J]. Scientific Reports, 2022, 12(1): 5012.
- [9] Fan GH, Zhu TY, Min XP, et al. Melatonin protects against PM_{2.5}-induced lung injury by inhibiting ferroptosis of lung epithelial cells in a Nrf2-dependent manner [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2021, 223: 112588.
- [10] 丁世彬,李洋,陈玉萍,等. PM_{2.5} 对代谢相关脂肪性肝病模型小鼠肝淋巴生成的影响[J]. 中国实验动物学报, 2024, 32(8): 985-991.
- [11] Ding SB, Li Y, Chen YP, et al. Effect of particulate matter 2.5 on hepatic lymphangiogenesis in metabolic-associated fatty liver disease model mice [J]. Acta Laboratorium Animalis Scientia Sinica, 2024, 32(8): 985-991. (In Chinese)
- [12] Zhang Y, Shi T, Wang AJ, et al. Air pollution, health shocks and labor mobility [J]. International Journal of Environmental Research and Public Health, 2022, 19(3): 1382.
- [13] Offer S, Hartner E, Di buccianico S, et al. Effect of atmospheric aging on Sootparticle toxicity in lung cell models at the Air-Liquid interface: differential toxicological impacts of biogenic and anthropogenic secondary organic aerosols (SOAs) [J]. Environmental Health Perspectives, 2022, 130(2): 27003.
- [14] Pope CA, Coleman N, Pond ZA, et al. Fine particulate air pollution and human mortality: 25+ years of cohort studies [J]. Environmental Research, 2020, 183: 108924.
- [15] 张妍,牛泽宇,王彩虹,等. 铁死亡在交通相关 PM_{2.5} 加重哮喘小鼠气道炎症中的作用[J]. 现代预防医学, 2024, 51(6): 998-1004.

- Engineering: Social Sciences Edition, 2023, 38(6): 35–49. (In Chinese)
- [15] Cui Y, Yang L, Du J, et al. Relationships among oral hygiene behavior, toothache, and depressive symptoms in Chinese older adults[J]. *Clinical Oral Investigations*, 2023, 27(10): 6147–6155.
- [16] Bantel D, Chmielewski WX, Brähler E, et al. Variables associated with oral health – related self – efficacy – results of a cross – sectional study[J]. *BMC Oral Health*, 2023, 23(1): 939.
- [17] Wang J, Wang Y, Li H, et al. Associations between oral health and depression and anxiety: A cross – sectional and prospective cohort study from the UK Biobank [J]. *Journal of Clinical Periodontology*, 2024, 51(11): 1466–1477.
- [18] Skośkiewicz – Malinowska K, Malicka B, Ziętek M, et al. Oral health condition and occurrence of depression in the elderly[J]. *Medicine*, 2018, 97(41): e12490.
- [19] Avenetti D, Lee HH, Pugach O, et al. Tooth brushing behaviors and fluoridated toothpaste use among children younger than three years old in Chicago[J]. *Journal of Dentistry for Children*, 2020, 87(1): 31–38.
- [20] Folayan MO, Ibigbami OI, Oloninyi IO, et al. Associations between psychological wellbeing, depression, general anxiety, perceived social support, tooth brushing frequency and oral ulcers among adults resident in Nigeria during the first wave of the COVID – 19 pandemic[J]. *BMC Oral Health*, 2021, 21(1): 520.
- [21] Zelig R, Jones VM, Touger – Decker R, et al. The eating experience: adaptive and maladaptive strategies of older adults with tooth loss[J]. *JDR Clinical and Translational Research*, 2019, 4(3): 217–228.
- [22] Walls AWG, Steele JG. The relationship between oral health and nutrition in olderpeople [J]. *Mechanisms of Ageing and Development*, 2004, 125(12): 853–857.
- [23] Kotronia E, Brown H, Papacosta AO, et al. Poor oral health and the association with diet quality and intake in older people in two studies in the UK and USA[J]. *The British Journal of Nutrition*, 2021, 126(1): 118–130.
- [24] Li R, Zong ZY, Gu XX, et al. Higher dietary diversity as a protective factor against depression among older adults in China: a cross – sectional study[J]. *Annals of Palliative Medicine*, 2022, 11(4): 1278–1289.
- [25] Kiesswetter E, Hengeveld LM, Keijsers BJ, et al. Oral health determinants of incident malnutrition in community – dwelling older adults[J]. *Journal of Dentistry*, 2019, 85: 73–80.
- [26] Hwang G, Cho YH, Kim EJ, et al. Differential effects of sleep disturbance and malnutrition on Late – Life depression among Community – Dwelling older adults[J]. *Frontiers in Psychiatry*, 2022, 13: 820427.
- [27] Weintraub JA, Kaerberlein M, Perissinotto C, et al. Geroscience: aging and oral health research[J]. *Advances in Dental Research*, 2023, 31(1): 2–15.
- [28] 王晓玉,李一凡,姚博爽,等. 新冠疫情发生前和疫情期间青少年生活满意度与抑郁的变化及其相互关系的纵向追踪研究 [J]. *现代预防医学*, 2023, 50(8): 1398–1402.
- Wang XY, Li YF, Yao BS, et al. Changes and interrelationship between Life satisfaction and depression of adolescents before and during COVID – 19: a longitudinal follow – up study[J]. *Modern Preventive Medicine*, 2023, 50(8): 1398–1402. (In Chinese)
- [29] Liu J, Wei W, Peng QY, et al. The roles of Life satisfaction and community recreational facilities in the relationship between loneliness and depression in older adults [J]. *Clinical Gerontologist*, 2022, 45(2): 376–389.

收稿日期:2024-09-27

(上接第 231 页)

- Zhang Y, Niu ZY, Wang CH, et al. Effects of ferroptosis induced by traffic – related PM2.5 in exacerbating airway inflammation in asthmatic mice[J]. *Modern Preventive Medicine*, 2024, 51(6): 998–1004. (In Chinese)
- [14] 师王玉,邵奇,王雪茜,等. 不同剂量下 PM2.5 介导的肺组织氧化损伤与上皮屏障破坏 [J/OL]. *中国实验动物学报*, 1–7 [2024–12–16]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2986.q.20240902.1331.002.html>.
- Shi YY, ShaoQ, Wang XQ, et al. Oxidative damage and epithelial barrier disruption of lung tissue mediated by PM2.5 at different doses[J/OL]. *Acta Laboratorium Animalis Scientia Sinica*, 1–7. [2024–12–16]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2986.q.20240902.1331.002.html>.
- [15] Jiang W, Liu J, Zhao XQ, et al. Melatonin ameliorates lung cell inflammation and apoptosis caused by *Klebsiella pneumoniae* via AMP – activated protein kinase[J]. *Inflammopharmacology*, 2022, 30(6): 2345–2357.
- [16] 吕圣杰,李春香,吕园,等. 褪黑素通过抑制 NLRP3 介导的炎症反应及细胞焦亡减轻甲型流感病毒诱导肺上皮细胞损伤[J]. *病毒学报*, 2023, 39(6): 1541–1548.
- Lv SJ, Li CX, Lv Y, et al. Melatonin alleviates the injury of lung epithelial cells induced by influenza a virus by inhibiting NLRP3 mediated inflammatory response and pyroptosis [J]. *Chinese Journal of Virology*, 2023, 39(6): 1541–1548. (In Chinese)
- [17] Trivedi A, Reed HO. The lymphatic vasculature in lung function and respiratory disease [J]. *Frontiers in Medicine*, 2023, 10: 1118583.
- [18] 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.
- [19] Wang HT, Wang GS, Meng YF, et al. Modified Guo – Min decoction ameliorates PM2.5 – induced lung injury by inhibition of PI3K – AKT and MAPK signaling pathways[J]. *Phytomedicine*, 2024, 123: 155211.
- [20] Tanabe K, Wada J, Sato Y. Targeting angiogenesis and lymphangiogenesis in kidney disease [J]. *Nature Reviews Nephrology*, 2020, 16(5): 289–303.

收稿日期:2024-09-18