

朱丽娜,杨林汇,林本成,等.不同模式 PM<sub>2.5</sub>暴露下大鼠的肺泡巨噬细胞活化及其机制 [J]. 中国环境科学, 2025,45(2):1099-1109.

Zhu L N, Yang L H, Lin B C, et al. Activation of alveolar macrophage in rats under different modes of PM<sub>2.5</sub> exposure and its mechanism [J]. China Environmental Science, 2025,45(2):1099-1109.

## 不同模式 PM<sub>2.5</sub> 暴露下大鼠的肺泡巨噬细胞活化及其机制

朱丽娜<sup>1,2</sup>,杨林汇<sup>1,2</sup>,林本成<sup>2</sup>,石 玥<sup>2</sup>,刘焕亮<sup>2\*</sup>,裘著革<sup>2\*\*</sup> (1.上海海洋大学海洋科学与生态环境学院,上海 201306; 2.军事科学院军事医学研究院,天津 300050)

**摘要:** 为探讨长期低浓度连续与高浓度间歇两种 PM<sub>2.5</sub> 暴露模式对大鼠肺泡巨噬细胞活化的影响,将 Wistar 大鼠分为三组:空白对照组、4 倍浓缩 PM<sub>2.5</sub> 连续暴露组(4FC 组)和 8 倍浓缩 PM<sub>2.5</sub> 间歇暴露组(8FI 组).采用动物全身动态暴露系统对大鼠进行染毒,共暴露 84 天.HE 染色法观察肺组织病理变化,比色法测定肺泡灌洗液(BALF)中氧化应激指标,RT-qPCR 测定肺组织中 M2 极化标志物的 mRNA 水平,Western-blot 测定肺组织中巨噬细胞活化信号通路相关蛋白表达水平.结果显示,与对照组相比,实验组大鼠出现明显的肺损伤症状,BALF 中氧化指标升高.大鼠肺组织中 M2 极化标志物的 mRNA 水平增加,PI3K/AKT 以及 JAK1/STAT6 信号通路相关蛋白表达均明显上升,且 8FI 组高于 4FC 组.由此证明,长期吸入 PM<sub>2.5</sub> 可通过激活 PI3K/AKT 和 JAK1/STAT6 信号通路促进肺泡巨噬细胞的活化,进而造成肺损伤.且高浓度间歇吸入 PM<sub>2.5</sub> 比低浓度连续吸入 PM<sub>2.5</sub> 对肺部造成的损伤更为严重.在细胞水平上,进一步验证了 PM<sub>2.5</sub> 对 AMs 活化及相关信号通路的影响.

**关键词:** PM<sub>2.5</sub>; 动态暴露; 肺泡巨噬细胞; PI3K/AKT 信号通路; JAK1/STAT6 信号通路

中图分类号: X171.5 文献标识码: A 文章编号: 1000-6923(2025)02-1099-11

**Activation of alveolar macrophage in rats under different modes of PM<sub>2.5</sub> exposure and its mechanism.** ZHU Li-na<sup>1,2</sup>, YANG Lin-hui<sup>1,2</sup>, LIN Ben-cheng<sup>2</sup>, SHI Yue<sup>2</sup>, LIU Huan-liang<sup>2\*</sup>, XI Zhu-ge<sup>2\*\*</sup> (1.College of Oceanography and Ecological Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2.Military Medical Sciences Academy, Academy of Military Sciences, Tianjin 300050, China). *China Environmental Science*, 2025,45(2): 1099~1109

**Abstract:** To explore the effects of two distinct PM<sub>2.5</sub> exposure patterns on alveolar macrophages activation in rats, namely long-term low-concentration continuous exposure and high-concentration intermittent exposure. The rats were divided into three groups: a blank control group, a 4-fold concentrated PM<sub>2.5</sub> continuous exposure group (4FC group) and an 8-fold concentrated PM<sub>2.5</sub> intermittent exposure group (8-FI group). Exposure was facilitated using a whole-body dynamic exposure system over 84 days. The pathological changes in lung tissue were observed using hematoxylin and eosin (HE) staining. The oxidative stress indexes in bronchoalveolar lavage fluid (BALF) were determined by colorimetry. The mRNA levels of M2 polarization markers in lung tissue were measured by RT-qPCR. The protein expression levels related to the PI3K/AKT and JAK1/STAT6 signaling pathways, which are involved in macrophage activation, were assessed by Western blot. The results showed that, compared with the control group, the experimental group showed obvious symptoms of lung injury, accompanied by a significant elevation oxidation index in BALF. The mRNA levels of M2polarization marker and the protein expression of PI3K/AKT and JAK1/STAT6 signaling pathways were significantly upregulated, with the 8FI group showing higher levels than the 4FC group. These findings demonstrate that long-term inhalation of PM<sub>2.5</sub> can promote the activation of alveolar macrophages via the stimulation of the PI3K/AKT and JAK1/STAT6 signaling pathways, ultimately leading to lung injury. And intermittent inhalation of PM<sub>2.5</sub> with high concentration has a more serious effect on alveolar macrophages activation than continuous inhalation to low concentration. At the cellular level, the effect of PM<sub>2.5</sub> on alveolar macrophages activation and related signaling pathways were further verified.

**Key words:** PM<sub>2.5</sub>; dynamic exposure; alveolar macrophages; PI3K/AKT signaling pathway; JAK1/STAT6 signaling pathway

随着国家《环境空气质量标准》的提出和《大气污染防治行动计划》政策的实施,我国大部分地区的空气污染情况已经有了明显的改善.从 2013 年至 2022 年,我国的 PM<sub>2.5</sub>(空气动力学直径 $\leq 2.5\mu\text{m}$  的颗粒物)的平均浓度从  $67.4\mu\text{g}/\text{m}^3$  降至  $29\mu\text{g}/\text{m}^3$ ,降低了 57%;且近十年内重污染天数(PM<sub>2.5</sub> 日均值大于

$150\mu\text{g}/\text{m}^3$ )也有明显的减少<sup>[1-2]</sup>.然而,我国空气中的 PM<sub>2.5</sub> 仍然具有浓度超标频次高、长时间维持在高

收稿日期: 2024-07-30

基金项目: 国家重点研发计划(2017YFC0702700)

\* 责任作者, 副研究员, tjliuhuanliang@126.com; \*\* 研究员, zhugexi2003@sina.com

浓度、呈区域性分布等特点<sup>[3]</sup>。其中,京津冀、长三角和珠三角空气污染现象尤为严重。 $PM_{2.5}$  颗粒物易于进入人体呼吸道,并在肺泡中积累、渗透,可能导致呼吸系统的结构损伤和功能障碍,进而引发一些肺部疾病。肺纤维化(PF)是由肺部上皮组织反复微损伤造成细胞外基质过度沉积的一种慢性间质性肺部疾病<sup>[4]</sup>。 $PM_{2.5}$  中由化石燃料燃烧、工业活动等产生的硫酸盐、硝酸盐和铵等成分可以极大程度的引起肺功能下降,进而诱发 PF<sup>[5]</sup>。研究表明,长期暴露于  $PM_{2.5}$  不仅能引发肺部炎症,促成 PF,同时也可能会引起肺血管重塑,导致肺动脉高压<sup>[6-7]</sup>。

然而,当前多数研究采用气管<sup>[8-9]</sup>或鼻腔滴注<sup>[10]</sup> $PM_{2.5}$  颗粒悬液的方式建立动物染毒模型,这些给药方式在操作过程中容易对动物造成物理伤害,且麻醉会增加动物死亡风险,进而影响实验结果。此外,以往的实验研究通常采用单一的低、中、高剂量  $PM_{2.5}$  暴露模型<sup>[11-13]</sup>或采用同一  $PM_{2.5}$  暴露浓度建立急性暴露与长期暴露模型<sup>[14]</sup>。尽管这些模型能够控制各实验组染毒时间相同或暴露浓度一致,但各组暴露总剂量之间仍存在显著差异,未能充分揭示不同浓度水平与  $PM_{2.5}$  毒性效应之间的相关性。

鉴于目前动物染毒方式及模型建立方面存在的不足,本研究采用  $PM_{2.5}$  在线浓缩富集系统和动物全身动态暴露系统建立了 4 倍浓缩连续式和 8 倍浓缩间歇式两种  $PM_{2.5}$  暴露模式的动物模型,以探讨在暴露剂量相当的情况下,连续式与间歇式暴露对大鼠肺部健康的影响。这两种  $PM_{2.5}$  暴露模式模拟了日常生活中新风系统、空气净化系统等设备的不同运行方式,即连续运行和间歇运行。随着人们生活质量的提升以及全民健康意识的增强,对新风系统及空气净化系统的需求显著增加。然而这些设备在连续运行和间歇运行两种运行模式下对人们健康的影响及其能耗、运行成本等方面一直存在争议<sup>[15]</sup>。本研究对比分析了两种运行模式对肺部健康产生的影响及相关机制,旨在为室内空气污染物的有效控制及设备能耗的优化策略提供参考。

肺泡巨噬细胞(AMs)作为肺部免疫细胞的“主将”,在 PF 进程中发挥着重要的调节作用<sup>[16]</sup>。AMs 根据组织遇到的微环境刺激和信号做出功能性反应,从而表现出某种特定表型的过程称为 AMs 活化,亦称 AMs 极化<sup>[17]</sup>。AMs 依据其激活方式可分为经典

活化的巨噬细胞(M1)和选择性活化的巨噬细胞(M2)。相较于 M1 极化,M2 极化在肺部损伤中扮演着更为重要的角色,尤其是慢性阻塞性肺疾病<sup>[18]</sup>。Wang 等<sup>[19]</sup>通过观察 PF 过程中 AMs 活化的动态变化发现,在炎症时期,M1 型巨噬细胞显著比例明显增加;一旦炎症得到控制,M1 型巨噬细胞便会显著地向 M2 型激活状态转变。而关键信号通路的激活与抑制,直接决定了巨噬细胞的功能状态,进而对肺部炎症反应和组织修复过程产生影响<sup>[20-21]</sup>。研究表明,Janus 激酶/信号转导和转录激活因子(JAK/STAT)以及磷脂酰肌醇 3 激酶/蛋白激酶 B(PI3K/AKT)是调节 PF 进程的关键信号通路,抑制其表达可以有效缓解 PF 的症状<sup>[22-23]</sup>。然而,先前的研究多采用博来霉素(BLM)<sup>[24]</sup>、脂多糖(LPS)<sup>[25]</sup>或者二氧化硅( $SiO_2$ )<sup>[26]</sup>诱导的 PF 模型来探究 JAK/STAT 或 PI3K/AKT 信号通路对 PF 的影响。本文通过  $PM_{2.5}$  动态暴露装置建立大鼠 PF 模型,探究了  $PM_{2.5}$  暴露过程中,AMs 活化及 JAK1/STAT6、PI3K/AKT 信号通路的变化。

本课题组前期研究发现,雄性大鼠长期处于低浓度连续与高浓度间歇两种  $PM_{2.5}$  暴露模式下可通过 TIPE2 甲基化诱导 M2 型巨噬细胞活化,激活 TGF- $\beta$ 1/Smad2 信号通路,最终导致支气管纤维化<sup>[27]</sup>。本研究基于前期建立的  $PM_{2.5}$  染毒模型,探讨两种  $PM_{2.5}$  暴露模式对大鼠肺部组织的毒性作用及 AMs 活化关键信号通路 JAK1/STAT6、PI3K/AKT 的变化;并进一步利用大鼠肺泡巨噬细胞(NR8383)建立  $PM_{2.5}$  染毒模型,在细胞水平验证 AMs 活化过程中的关键通路表达情况。有望为不同  $PM_{2.5}$  暴露方式的环境健康风险评估及后续预防或减轻吸入  $PM_{2.5}$  导致的肺损伤提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物及处理

流行病学调查<sup>[28]</sup>和本课题组前期研究结果<sup>[27]</sup>都表明,冬季采暖期大气  $PM_{2.5}$  污染和毒性效应较为严重。结合我国冬季呼吸系统疾病高发的特点,本实验选择冬季采暖期(2018 年 12 月至 2019 年 3 月)进行  $PM_{2.5}$  动物暴露。实验动物选择 6 周龄 SPF 级雄性 Wistar 大鼠 42 只,体重为(180 $\pm$ 10)g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,动物合格证号为 SCXK(京) 2016-0006,饲养于天津市环境医学与作

业医学研究所 SPF 级实验动物中心,室温为 21~26 °C,相对湿度为 40%~60%,昼夜均为 12h.实验期间,大鼠可自由饮水、饮食.本动物实验经环境医学与作业医学研究所动物伦理学委员会批准(批准号: IACUC of AMMS-04-2018-004).

适应喂养一周后将大鼠按照体重随机分为三组,分别为空白对照组(Control 组)、4 倍浓缩 PM<sub>2.5</sub> 连续暴露组(4FC 组)和 8 倍浓缩 PM<sub>2.5</sub> 间歇暴露组(8FI 组),每组 14 只.采用 HRH-PM286 型 PM<sub>2.5</sub> 在线浓缩富集系统(北京慧荣和科技有限公司)和 HRH-MNE3026 型动物全身动态暴露系统(北京慧荣和科技有限公司)对动物进行 PM<sub>2.5</sub> 暴露处理. Control 组饲养于洁净空气的 SPF 级实验动物中心,不进行任何干预;4FC 组的 PM<sub>2.5</sub> 暴露浓度为环境大气中 PM<sub>2.5</sub> 浓度的 4 倍,每天连续暴露 8h;8FI 组的 PM<sub>2.5</sub> 暴露浓度为环境中 PM<sub>2.5</sub> 浓度的 8 倍,每暴露 1h 暂停 1h,每天共间歇暴露 8h.暴露组非染毒时段饲养于洁净空气的 SPF 级实验动物中心.总共连续暴露 84 天,每 28 天测量 1 次大鼠体重.暴露期间实时记录大气环境中 PM<sub>2.5</sub> 浓度及各组动物 PM<sub>2.5</sub> 暴露浓度,每 28 天计算 PM<sub>2.5</sub> 暴露平均值.染毒结束后,用 2%戊巴比妥钠将大鼠麻醉处死,每组取 8 只收集肺泡灌洗液(BALF),其余 6 只收集新鲜肺组织.

### 1.2 肺组织病理学观察

经 4%多聚甲醛固定后的肺组织样本,通过 JT-12J 型脱水机(武汉俊杰电子有限公司)进行乙醇梯度脱水.采用 JB-L8 型包埋机(武汉俊杰电子有限公司)进行常规石蜡包埋切片,HE 染色后使用 BX51 型奥林巴斯显微镜(南京贝登电子商务有限公司)观察并拍照记录.

### 1.3 检测大鼠 BALF 氧化应激指标

采用丙二醛(MDA)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、总超氧化物歧化酶(T-SOD)试剂盒(南京建成生物工程研究所)检测 BALF 上清液中 MDA 的含量及 GSH-Px、T-SOD 的活性,按试剂盒说明书进行操作.

### 1.4 RT-qPCR 测定肺组织中肺泡巨噬细胞 M2 极化标志物

RT-qPCR 测定转化生长因子-β(TGF-β)与精氨酸酶 1(Arg-1)的 mRNA 表达水平.取大鼠冻存肺组织,用 TRNzol Universal 总 RNA 提取试剂(天根生化

科技)提取组织 mRNA,使用 NanoDrop 分光光度计测定各样本 RNA 纯度和浓度,体外反转录合成 cDNA.将稀释后的 cDNA(150ng/μL)作为模板,按照 RT-qPCR 试剂盒说明书进行扩增,扩增反应程序为:95 °C 预变性 30s;反应 40 个循环:95 °C 变性 5s, 60 °C 退火延伸 30s;熔解曲线:95 °C 15s,60 °C 1min,每 15s 升温 0.3 °C,95 °C 15s.使用 ABI Step One plus 实时荧光定量 PCR 仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司)检测各模板的 Ct 值,用 2<sup>-ΔΔCt</sup> 值计算目的基因的相对表达变化.目的基因引物序列见表 1.

表 1 目标基因的 RT-qPCR 引物序列分析

Table 1 RT-qPCR primer sequence analysis of target gene

基因名称	引物序列(5'→3')	产物长度(bp)
TGF-β	F:GACCGCAACAACGCAATCTATG	106
	R:GCAATGGGGGTTCTGGCACT	
Arg-1	F:CTCCAAGCCAAAGTCCTTAGAG	185
	R:AGGAGCTGTCATTAGGGACATC	

### 1.5 Western-blot 测定大鼠肺组织中 AMs 活化通路 PI3K/AKT 及 JAK1/STAT6 关键蛋白的表达

Western-blot 测定大鼠肺组织中 AMs 活化信号通路 PI3K/AKT 的关键蛋白 PI3K、p-AKT/AKT 以及 JAK1/STAT6 信号通路关键蛋白 JAK1、p-STAT6/STAT6 的表达水平.利用 RIPA 裂解液(碧云天生物技术有限公司)提取大鼠肺组织蛋白,并采用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒(北京索莱宝科技有限公司)进行蛋白定量.每孔加入适量的蛋白样品,经 PAGE 凝胶电泳后,湿转方法将目的蛋白分别转膜至 PVDF 膜上.脱脂奶粉封闭 1h,加入 AKT、p-AKT、JAK1、PI3K、STAT6 抗体(美国 CST 公司)、p-STAT6 抗体(英国 Abcam 公司)、GAPDH 抗体(天津优抗公司)4 °C 摇床孵育过夜,TBST 清洗 3 次,每次 10min,加入羊抗兔 IgG-HRP、羊抗小鼠 IgG-HRP(北京博奥森生物技术有限公司)室温摇床孵育 1h,洗膜后按照 ECL 显色试剂盒说明书进行显色.使用 Gel-Pro analyzer 软件进行成像并用 Image J 软件分析目的条带的灰度值.

### 1.6 PM<sub>2.5</sub> 的采集与处理

动物实验暴露期间通过崂山 2030 型中流量智能 TSP 采样器(青岛崂山应用技术研究)和直径为 80mm 的石英滤膜采集 PM<sub>2.5</sub> 颗粒物,采样地点为天

津市和平区环境医学与作业医学研究所五楼阳台, 采样流量为  $100\text{m}^3/\text{min}$ , 采样周期为 24h, 每 4h 休息采样器 0.5h. 采样前将石英滤膜置于马弗炉中  $400^\circ\text{C}$  灼烧 4h 以彻底消除滤膜可能吸附的有机组分. 放置采样膜时, 使用无菌镊子夹取采样膜, 滤膜毛面朝上. 采样结束后取下滤膜,  $-20^\circ\text{C}$  保存. 将采集颗粒物后的滤膜剪碎, 放入装有适量超纯水的无菌烧杯中, 使用 KQ2200DE 型超声振荡仪(功率 800W, 工作频率 60kHz, 昆山市超声仪器有限公司)冰浴超声震荡 15min, 重复 3 次. 超声后用无菌纱布过滤 2 次, 将滤液置于 TGL-20M 型高速台式冷冻离心机(长沙湘仪离心机仪器有限公司)  $4^\circ\text{C}$ 、 $10\,000\text{r}/\text{min}$  离心 10min 后, 收集底层颗粒物于玻璃平皿中,  $-80^\circ\text{C}$  冷冻过夜. 次日用 FD-1C 型台式超低温冷冻干燥仪(美国 BD 公司)制备  $\text{PM}_{2.5}$  干粉,  $-80^\circ\text{C}$  保存备用. 使用前先将  $\text{PM}_{2.5}$  干粉紫外灭菌 30min, 再用无菌 PBS(北京鼎国生物技术公司)配成浓度为  $100\text{mg}/\text{mL}$  的染毒母液并混匀, 用于细胞实验.

### 1.7 细胞培养及处理

实验细胞选用 NR8383 大鼠肺泡巨噬细胞(武汉原生原代公司), 用含 20% 胎牛血清(美国 Thermo Fisher Scientific 公司)、1% 青链霉素(美国 Hyclone 公司)的 Ham's F-12K 培养基(武汉普诺赛生命科技有限公司)于  $37^\circ\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  培养箱中培养.

**1.7.1 CCK-8 检测巨噬细胞活性** 取处于对数生长期的 NR8383 大鼠肺泡巨噬细胞, 制备  $2 \times 10^4$  cells/mL 的单细胞悬液, 接种至 96 孔板, 每孔  $100\mu\text{L}$ . 24h 后进行分组染毒, 依据  $\text{PM}_{2.5}$  染毒浓度设置 0, 17.5, 35,  $70\mu\text{g}/\text{mL}$  暴露组, 每组 6 个复孔, 每孔加入  $100\mu\text{L}$  相应浓度的  $\text{PM}_{2.5}$  悬液. 24h 染毒结束后每孔加入  $10\mu\text{L}$  的 CCK-8 试剂(碧云天生物技术有限公司)避光孵育 1h, 用酶标仪(美国 Molecular Devices 公司)于  $450\text{nm}$  处测定吸光度值, 计算细胞存活率.

**1.7.2 RT-qPCR 测定 NR8383 大鼠肺泡巨噬细胞 M2 极化标志物** 实验分为对照组、 $\text{PM}_{2.5}$  组和 IL-4 组. 取对数生长期细胞, 用培养液将细胞数调整至  $5 \times 10^5$  cells/mL. 接种至 6 孔板, 每组设 3 个复孔. 对照组使用含 20% 胎牛血清、1% 青链霉素的 Ham's F-12K 培养基正常培养, 不使用任何药物刺激;  $\text{PM}_{2.5}$  组和 IL-4 组分别给予  $70\mu\text{g}/\text{mL}$   $\text{PM}_{2.5}$  悬液、 $20\text{ng}/\text{mL}$  IL-4(英国 Abcam 公司)<sup>[29]</sup>处理 24h. 收集细胞, 加入

TRNzol 试剂裂解细胞, 采用 RT-qPCR 测定 NR8383 大鼠肺泡巨噬细胞中 Arg-1、TGF- $\beta$  基因表达, 方法同 1.5.

**1.7.3 Western-blot 测定 NR8383 大鼠肺泡巨噬细胞活化通路 PI3K/AKT 及 JAK1/STAT6 关键蛋白的表达** 细胞分组及处理方式同 1.8.2, 用 RIPA 裂解液提取细胞蛋白进行定量分析. 采用 Western-blot 测定 PI3K、p-AKT/AKT、JAK1、p-STAT6/STAT6 蛋白的表达水平, 方法同 1.6.

## 1.8 统计学方法

采用 SPSS 24.0 软件进行统计分析, 计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示. 多组间比较采用方差齐性检验和单因素方差分析(One-Way ANOVA). 进一步进行组间两两比较, 若方差齐时, 采用 LSD 法检验; 若方差不齐时, 采用 Dunnet's T3 法检验. 以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义.

## 2 结果

### 2.1 $\text{PM}_{2.5}$ 染毒浓度

实验利用  $\text{PM}_{2.5}$  在线浓缩动物全身吸入暴露系统进行 Wistar 大鼠  $\text{PM}_{2.5}$  染毒实验. 本实验中大鼠染毒共 84d, 根据每天浓缩后的  $\text{PM}_{2.5}$  浓度求得每 28d  $\text{PM}_{2.5}$  浓缩浓度的平均值, 如表 2 所示.

表 2 每 28 天大气  $\text{PM}_{2.5}$  浓缩浓度在每组中的分布 ( $n=28$ ,  $\bar{x} \pm s$ ,  $\text{mg}/\text{m}^3$ )

Table 2 Distribution of  $\text{PM}_{2.5}$  concentration in each group every 28 days ( $n=28$ ,  $\bar{x} \pm s$ ,  $\text{mg}/\text{m}^3$ )

时间	大气环境	4FC 组	8FI 组
1-28d	0.08±0.15	0.33±0.61	0.65±1.19
29-56d	0.08±0.07	0.33±0.29	0.65±0.56
57-84d	0.08±0.08	0.34±0.32	0.69±0.67

注: 对照组暴露于洁净空气中,  $\text{PM}_{2.5}$  浓度为  $0\text{mg}/\text{m}^3$ .

### 2.2 Wistar 大鼠体重变化

不同  $\text{PM}_{2.5}$  暴露模式下的大鼠体重变化如图 1 所示. 整个实验阶段, 实验组与对照组 Wistar 大鼠体重随染毒周期的增长大致呈稳定增高趋势. 染毒第 28 天时, 4FC 组和 8FI 组大鼠体重均明显低于对照组, 差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 4FC 组与 8FI 组之间体重变化无显著差异. 染毒第 56 天时, 8FI 组大鼠体重明显低于对照组和 4FC 组, 差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 4FC 组较对照组无显著差异. 染毒第 84 天时, 与对照组相比, 4FC 组和 8FI 组大鼠的体重均明

显降低,且 8FI 组大鼠体重低于 4FC 组( $P<0.05$ ).

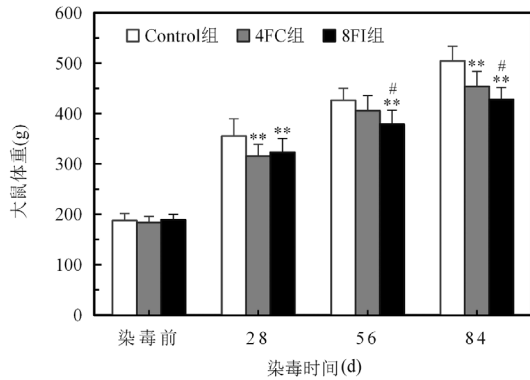


图 1 不同 PM<sub>2.5</sub> 暴露模式对大鼠体重的影响( $n=14$ )  
Fig.1 Effects of different PM<sub>2.5</sub> exposure modes on weight of rats ( $n=14$ )

<sup>\*</sup>:与 Control 组相比, $P<0.05$ ; <sup>\*\*</sup>:与 Control 组相比, $P<0.01$ ; <sup>#</sup>:与 4FC 组相比, $P<0.05$ ; <sup>##</sup>:与 4FC 组相比, $P<0.01$ ,下同

### 2.3 大鼠肺组织病理学结果

HE 染色结果如图 2 所示.对照组大鼠肺组织整

体结构正常,肺泡结构清晰,肺泡壁无增厚,无明显炎症细胞浸润.染毒组大鼠肺组织整体结构异常,可见间质充血(黄色箭头)、肺泡壁明显增厚(黑色箭头).其中 4FC 组肺组织可见由上皮细胞和多核巨细胞组成的肉芽肿(蓝色箭头),8FI 组肺组织可见肺泡萎缩塌陷、炎症细胞浸润(绿色箭头),并且出现实质化(红色箭头),表现为 PF 的病理性特征.

### 2.4 大鼠 BALF 中氧化应激指标

大鼠 BALF 中氧化应激指标测定结果如图 3 所示.与对照组相比,4FC 组和 8FI 组大鼠 BALF 中 MDA 含量均升高,且 8FI 组 MDA 含量明显高于 4FC 组,差异均有统计学意义( $P<0.05$ );与对照组相比,4FC 组和 8FI 组 GSH-Px 和 SOD 活力均降低,且 8FI 组大鼠 BALF 中的 GSH-Px 和 SOD 的活力均低于 4FC 组,差异均有统计学意义( $P<0.05$ ).此结果表明不同的 PM<sub>2.5</sub> 暴露模式下,大鼠肺部氧化平衡遭到破坏,发生了氧化应激反应,且 8FI 组较 4FC 组反应更为严重.

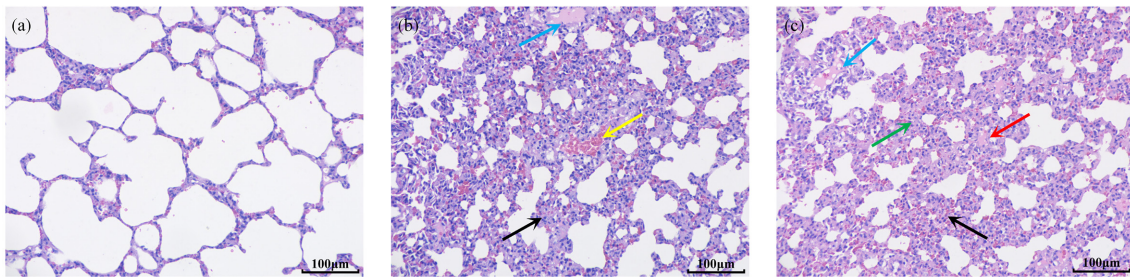


图 2 大鼠肺组织 HE 染色结果

Fig.2 HE staining results in lung tissue of rats  
(a) Control 组; (b) 4FC 组; (c) 8FI 组

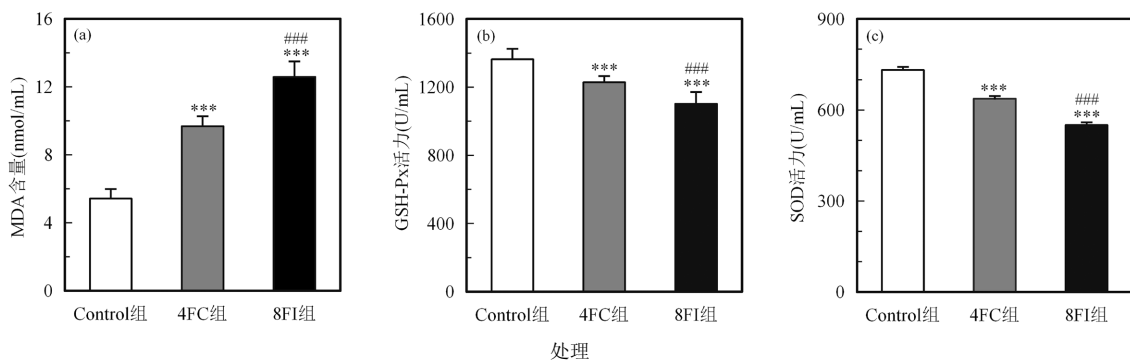


图 3 PM<sub>2.5</sub> 暴露对大鼠 BALF 中(a)MDA 含量和(b)GSH-Px、(c)SOD 活力的影响( $n=8$ )

Fig.3 Effects of PM<sub>2.5</sub> exposure on (a) MDA content, (b) GSH-Px and (c) SOD activity in BALF of rats ( $n=8$ )

<sup>\*\*</sup>:与 Control 组相比, $P<0.001$ ; <sup>###</sup>:与 4FC 组相比, $P<0.001$ ,下同

### 2.5 大鼠肺组织 TGF-β 与 Arg-1 的 mRNA 水平

TGF-β 与 Arg-1 是 AMs 发生 M2 型极化的标

志物.如图 4 所示,经过不同模式的 PM<sub>2.5</sub> 暴露后,大鼠肺组织中 TGF-β 与 Arg-1 的 mRNA 水平依次

为:8FI组>4FC组>对照组,差异均有统计学意义( $P<0.05$ ).此结果表明 $PM_{2.5}$ 暴露使大鼠AMs向M2型活化,且8倍浓缩间歇式吸入较4倍浓缩连续式吸入对AMs活化的影响更为严重.

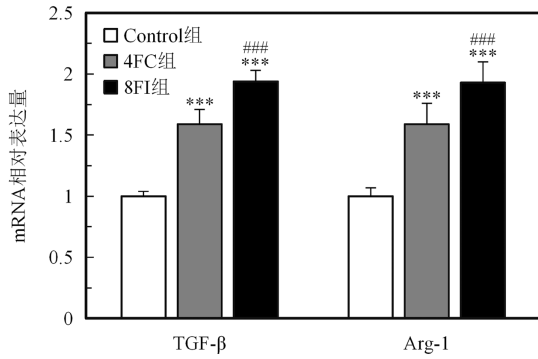


图4  $PM_{2.5}$ 暴露大鼠肺组织中M2极化相关基因表达水平( $n=6$ )

Fig.4 Expression levels of genes related to M2 polarization in lung tissue of  $PM_{2.5}$  exposed rats( $n=6$ )

### 2.6 大鼠肺组织 AMs 活化通路 PI3K/AKT、JAK1/STAT6 关键蛋白表达水平

表3  $PM_{2.5}$ 暴露大鼠肺组织中AMs活化通路相关蛋白水平( $n=6, \bar{x} \pm s$ )

Table 3 Levels of proteins related to AMs activation pathway in lung tissue of  $PM_{2.5}$  exposed rats( $n=6, \bar{x} \pm s$ )

组别	JAK1/GAPDH	PI3K/GAPDH	p-AKT/AKT	p-STAT6/STAT6
Control组	0.70±0.02	0.58±0.04	0.42±0.02	0.72±0.06
4FC组	0.83±0.04 <sup>a</sup>	0.74±0.06 <sup>a</sup>	0.61±0.04 <sup>a</sup>	0.86±0.06 <sup>a</sup>
8FI组	0.87±0.02 <sup>a</sup>	0.87±0.04 <sup>ab</sup>	0.87±0.06 <sup>ab</sup>	0.92±0.05 <sup>a</sup>

注: <sup>a</sup>与Control组比较, $P<0.05$ ; <sup>b</sup>与4FC组比较, $P<0.05$ .

Western blot 法检测各组肺组织中 PI3K/AKT、JAK1/STAT6 关键蛋白表达水平,结果如表 3 和图 5 所示.与对照组相比,PI3K/AKT 信号通路的关键蛋白 PI3K 和 p-AKT/AKT 表达显著升高,且在 8FI 组中的表达显著高于 4FC 组,差异均有统计学意义( $P<0.05$ );JAK1/STAT6 信号通路关键蛋白 JAK1、p-STAT6/STAT6 表达显著升高,差异具有统计学意义( $P<0.05$ ).由此得出,不同模式的  $PM_{2.5}$  暴露可能通过 PI3K/AKT、JAK1/STAT6 信号通路引发大鼠肺泡巨噬活化,并使其向 M2 型极化,且 PI3K/AKT 通路更能有效激活 M2 型 AMs.

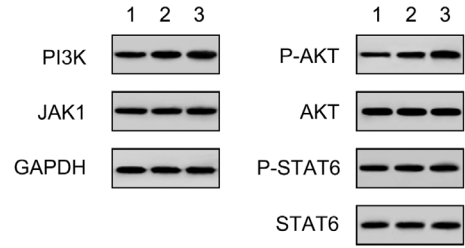


图5  $PM_{2.5}$ 暴露大鼠肺组织中AMs活化通路相关蛋白表达

Fig.5 Expression of proteins related to AMs activation pathway in lung tissue of  $PM_{2.5}$  exposed rats

1: Control组; 2: 4FC组; 3: 8FI组

### 2.7 CCK-8 检测 NR8383 细胞活性

采用不同浓度的  $PM_{2.5}$  暴露后, NR8383 细胞活性结果如图 6 所示.当  $PM_{2.5}$  浓度分别为 0, 17.5, 35, 70  $\mu\text{g/mL}$  时, NR8383 巨噬细胞的活性分别为 (100.86±0.81)%、(92.86±1.80)%、(86.36±1.18)%、(77.26±3.41)%,差异具有统计学意义( $P<0.05$ ).结果表明, $PM_{2.5}$  干预后 NR8383 细胞活性显著下降,且  $PM_{2.5}$  浓度越大,对细胞的毒性作用越大.

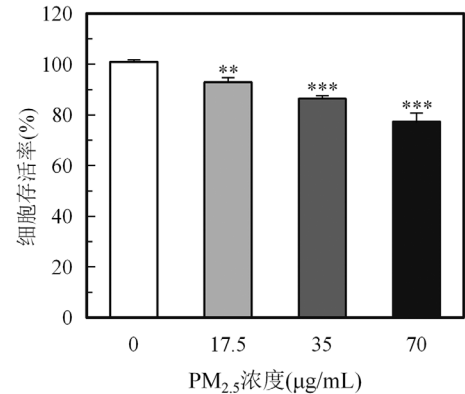


图6  $PM_{2.5}$ 对NR8383细胞的活性影响( $n=3$ )

Fig.6 Effect of  $PM_{2.5}$  on the viability of NR8383 cells( $n=3$ )

### 2.8 大鼠肺泡巨噬细胞 TGF-β 与 Arg-1 的 mRNA 水平

NR8383 细胞中 TGF-β 与 Arg-1 的 mRNA 水平如图 7 所示.与对照组相比, $PM_{2.5}$  组和 IL-4 组大鼠肺泡巨噬细胞 NR8383 中的 M2 极化标志物 TGF-β 与 Arg-1 mRNA 水平均显著上升( $P<0.05$ ),且 IL-4 组较  $PM_{2.5}$  组表达量更为显著( $P<0.05$ ).

### 2.9 大鼠肺泡巨噬细胞活化通路 PI3K/AKT、JAK1/STAT6 关键蛋白表达水平

与对照组相比, $PM_{2.5}$  组和 IL-4 组大鼠肺泡巨噬细胞 NR8383 中的 JAK1、PI3K、p-AKT/AKT 和

p-STAT6/STAT6 蛋白表达显著提高,且 IL-4 组 PI3K、p-AKT/AKT 和 p-STAT6/STAT6 蛋白明显高于 PM<sub>2.5</sub> 组,差异均有统计学意义( $P<0.05$ ).结果见表 4 和图 8.

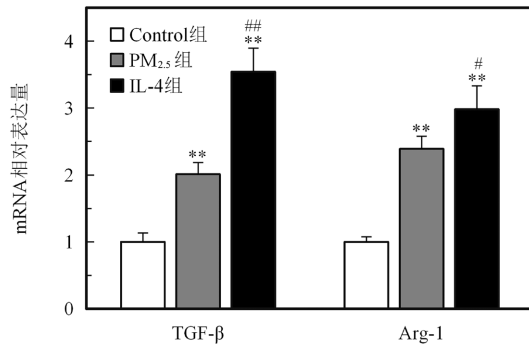


图 7 NR8383 细胞中 M2 极化相关基因表达水平( $n=3$ )

Fig.7 Expression levels of genes related to M2 polarization in NR8383 cells( $n=3$ )

\*:与 Control 组相比, $P<0.05$ ; \*\*:与 Control 组相比, $P<0.01$ ; #:与 PM<sub>2.5</sub> 组相比, $P<0.05$ ; ##:与 PM<sub>2.5</sub> 组相比, $P<0.01$

表 4 NR8383 细胞活化通路相关蛋白水平( $n=3, \bar{x} \pm s$ )

Table 4 Levels of proteins related to activation pathways in NR8383 cells( $n=3, \bar{x} \pm s$ )

组别	JAK1/GAPDH	PI3K/GAPDH	p-AKT/AKT	P-STAT6/STAT6
Control 组	0.81±0.10	0.89±0.14	0.56±0.05	0.79±0.08
PM <sub>2.5</sub> 组	1.08±0.07 <sup>a</sup>	1.30±0.08 <sup>a</sup>	0.82±0.08 <sup>a</sup>	0.96±0.02 <sup>a</sup>
IL-4 组	1.10±0.06 <sup>a</sup>	1.54±0.06 <sup>ab</sup>	1.11±0.12 <sup>ab</sup>	1.13±0.10 <sup>ab</sup>

注: <sup>a</sup>与 Control 组比较, $P<0.05$ ; <sup>b</sup>与 PM<sub>2.5</sub> 组比较, $P<0.05$ .

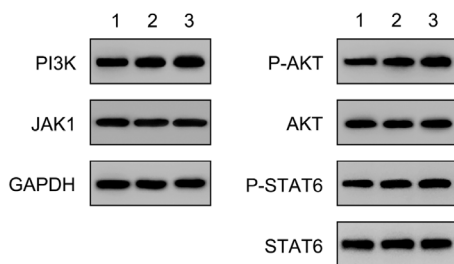


图 8 PM<sub>2.5</sub> 暴露大鼠肺泡巨噬细胞(NR8383)活化通路相关蛋白表达

Fig.8 Expression of proteins related to activation pathway in NR8383 cells

1: Control 组; 2: PM<sub>2.5</sub> 组; 3: IL-4 组.

### 3 讨论

#### 3.1 PM<sub>2.5</sub> 暴露可造成大鼠肺部损伤

随着人们健康意识的提高,空气污染问题也越

来越受到广泛关注.而 PM<sub>2.5</sub> 作为首要的空气污染物,因其颗粒体积小、比表面积大,容易吸附空气中的有毒有害物质,成分复杂,对人体造成的危害不容小觑.众多流行病学研究表明,暴露于高浓度 PM<sub>2.5</sub> 环境中会导致患者死亡率显著上升、肺功能出现衰退,并加剧肺部疾病的进展,尤其是长期暴露于重工业环境的人群<sup>[5,30-32]</sup>.细颗粒物是天津市冬春季的主要空气污染物,而集中供暖是导致该现象的关键因素<sup>[33]</sup>.在先前的研究中,我们采集了 PM<sub>2.5</sub> 并对其成分进行分析,发现其中重金属及多环芳烃分别占 PM<sub>2.5</sub> 总质量的 0.71% 和 4.46%<sup>[34]</sup>.本研究通过在线实时监测并采集环境中的细颗粒物对大鼠进行实际环境空气 PM<sub>2.5</sub> 浓缩动态吸入暴露,利用“PM<sub>2.5</sub> 实时在线浓度动物全身暴露系统”模拟真实的 PM<sub>2.5</sub> 暴露环境,评估了低浓度连续式及高浓度间歇式两种模式下,PM<sub>2.5</sub> 暴露对大鼠肺部组织健康的影响.

研究结果显示,经过不同模式的 PM<sub>2.5</sub> 暴露后,4FC 和 8FI 组的大鼠体重较对照组均明显下降,其原因可能有: (1) PM<sub>2.5</sub> 的摄入诱发大鼠肺部炎症,这可能伴随着食欲减退、营养不良等现象,进而导致暴露组大鼠体重逐渐下降.(2) 颗粒物对大鼠呼吸系统造成损伤的同时,可能对大鼠其他系统也造成了一定的损伤,导致相应的器官发生萎缩、质量减少,从而导致暴露组体重下降<sup>[35]</sup>.HE 染色结果直观的展示了在 PM<sub>2.5</sub> 暴露总量相似的情况下,高浓度 PM<sub>2.5</sub> 间歇暴露比低浓度 PM<sub>2.5</sub> 连续暴露对肺部造成的损伤更为严重,且出现了 PF 症状.巨英超等利用 PM<sub>2.5</sub> 全身暴露染毒系统对 Wistar 大鼠进行了 9 个月的染毒,也观察到大鼠肺部发生了明显的病变,肺组织呈现出不同程度的结节且内部沉积着大量颗粒性物质<sup>[36]</sup>.

氧化应激是由组织或细胞中产生过量活性氧(ROS)或氧化-抗氧化系统失衡引起的病理损伤,此过程中会伴随着氧化能力的增强以及抗氧化能力的减弱<sup>[37]</sup>.氧化损伤是 PM<sub>2.5</sub> 引发肺部炎症的重要机制之一<sup>[38]</sup>.本研究发现,与对照组比较,4FC 和 8FI 组抗氧化指标 SOD 及 GSH-Px 活力均降低,脂质过氧化产物 MDA 含量升高.此结果说明了 PM<sub>2.5</sub> 可以引起机体产生氧化应激,且 8FI 组大鼠反应更加明显.此外,PM<sub>2.5</sub> 还可使得肝脏、心脏等多种器官发生氧化损伤<sup>[39-41]</sup>.这可能是由于 PM<sub>2.5</sub> 中具有含氧化还原性质的过渡金属、醌类化合物、环境持久性自由基、

多环芳烃及挥发性有机化合物等,它们可以被代谢激活产生 ROS,从而破坏细胞内氧化还原系统平衡来诱发氧化应激反应<sup>[42]</sup>.而过量的 ROS 能够作为有效的炎症刺激,诱导促炎细胞因子的合成与分泌并激活炎症信号通路,导致炎症和肺损伤<sup>[38,43-44]</sup>.Lin 等<sup>[45]</sup>发现 PM<sub>2.5</sub> 暴露通过氧化应激增强了肺组织的炎症反应,其表现为 BALF 中的炎症细胞数量增加以及促炎因子表达上调.而 AMs 作为典型的炎症细胞,其活化作用与肺组织炎性损伤有着密不可分的关系.

### 3.2 PM<sub>2.5</sub> 暴露可诱导 AMs 发生 M2 型极化

巨噬细胞活化是一个动态的过程,M1 和 M2 型巨噬细胞的平衡关系很大程度上影响着肺损伤进程.在肺部发生炎症早期,M1 型巨噬细胞通过产生 TNF- $\alpha$ 、IL-6 等炎症介质发挥促炎作用;在炎症消退时期,AMs 从 M1 表型转变为 M2 表型,通过释放 TGF- $\beta$ 、IL-10 等抗炎细胞因子来抑制炎症,进而促进组织修复<sup>[18]</sup>.TGF- $\beta$  是 M2 型巨噬细胞释放的主要抗炎分子,它能够诱导成纤维细胞分化为肌成纤维细胞,促进肌成纤维细胞增殖并形成细胞外基质沉积<sup>[46-47]</sup>.而成纤维细胞增殖和过度胶原沉积正是 PF 形成的主要原因<sup>[48]</sup>.已有研究证实,间充质干细胞分泌的 TGF- $\beta$  可使巨噬细胞极化向 M2 表型倾斜<sup>[49]</sup>.同时,Arg-1 也是 M2 极化的重要标志物,它能将 L-精氨酸催化为 L-鸟氨酸和尿素,该降解过程可刺激 Th2 细胞产生 IL-4,从而诱导 M2 型巨噬细胞极化<sup>[37]</sup>.Zhang 等<sup>[50]</sup>通过单细胞转录组学揭示了亚慢性暴露于 PM<sub>2.5</sub> 后,IL-17 介导的免疫失调可导致 TGF- $\beta$  的分泌增加,而富含 TGF- $\beta$  的微环境会进一步促使巨噬细胞发生 M2 极化并使得成纤维细胞增殖,从而诱发慢性炎症.本研究结果显示,4FC 组和 8FI 组大鼠肺组织内的 TGF- $\beta$  与 Arg-1 的基因表达均明显上调,且 8FI 组更为显著.表明两种 PM<sub>2.5</sub> 暴露模式皆可促使 AMs 向 M2 型极化,且在暴露剂量相当的情况下,高浓度间歇式暴露相较于低浓度连续式暴露能更大程度地激活 M2 极化,促进肺部慢性炎症,进而诱导 PF.

### 3.3 PM<sub>2.5</sub> 通过 JAK1/STAT6 及 PI3K/AKT 信号通路调控 AMs 活化

巨噬细胞活化是一个多因素相互作用的复杂过程,受多种信号分子和通路调控.Yang 等<sup>[51]</sup>采用气

管滴注结晶二氧化硅(CS)混悬液建立矽肺大鼠模型,发现养清尘肺方(YCF)通过抑制 PI3K/AKT、JAK/STAT 和 Wnt 信号通路传导来成纤维细胞活化.另有研究发现,蝎毒多肽(SVP)可抑制 JAK/STAT6 信号通路,阻碍 AMs 向 M2 型极化,进而改善博来霉素(BLM)诱发的 PF<sup>[52]</sup>.然而,JAK1/STAT6 和 PI3K/AKT 信号通路在 PM<sub>2.5</sub> 诱导 PF 形成过程中调节 M2 极化的确切作用仍不清晰,需要进一步探索.本研究显示,与对照组相比,4FC 组和 8FI 组大鼠肺组织中 PI3K/AKT 信号通路的关键蛋白 PI3K 和 p-AKT/AKT 表达明显升高,且 8FI 组明显高于 4FC 组;同时,实验组 JAK1/STAT6 信号通路关键蛋白 JAK1、p-STAT6/STAT6 表达也显著升高.这说明两种 PM<sub>2.5</sub> 暴露模式能够有效地激活 JAK1/STAT6 和 PI3K/AKT 信号通路,促进 M2 型巨噬细胞活化,且 PI3K/AKT 较 JAK1/STAT6 对 AMs 活化的影响更为显著.IL-4 是 M2 极化的有效诱导剂,可通过与受体结合来使得 Janus 激酶(JAK)磷酸化,从而激活 STAT-6 转录因子并导致靶炎症介质的基因表达,并激活 JAK/STAT 信号通路<sup>[53]</sup>.同时,IL-4 也可诱导  $\gamma$ c-IRS-2 依赖的酪氨酸磷酸化,并使磷脂酰肌醇 3-激酶(PI3K)与生长因子受体结合蛋白 2(Grb2)的 p85 亚基结合,从而激活 PI3K/AKT 信号通路<sup>[54]</sup>.我们在细胞水平上也观察到,PM<sub>2.5</sub> 染毒后 M2 极化标志物表达量增加,JAK1/STAT6 和 PI3K/AKT 信号通路的关键蛋白含量上调,与 IL-4 处理组结果趋势一致.由此证实,PM<sub>2.5</sub> 可能通过 JAK1/STAT6 和 PI3K/AKT 信号通路诱导 AMs 活化向 M2 型转变.我们将通过进一步研究,阐明 JAK1/STAT6 与 PI3K/AKT 信号通路在 M2 极化过程的调控作用.

### 3.4 研究展望

长链非编码 RNA(lncRNA)和微小 RNA(miRNA)能通过与特定的基因序列结合来调节基因表达,在表观遗传调控中扮演着核心角色.随着研究的不断发展,越来越多的 lncRNA 和 miRNA 被证明与多种疾病的发生发展存在密切关联<sup>[55]</sup>.Xue 等<sup>[56]</sup>通过 RNA 测序分析发现,在缺氧条件下,从神经胶质瘤细胞提取的外泌体中 miR-25-3p 通过激活小胶质细胞和巨噬细胞中的 PI3K/AKT 通路诱导 M2 极化.Xu 等<sup>[57]</sup>发现,lncRNA Gm16410 可通过调节巨噬细胞活化并降低 TNF- $\alpha$  等炎症因子的 mRNA 和蛋

白质水平,抑制肺部炎症.Han 等<sup>[58]</sup>揭示了 lnc-Helf/PTBP1/PIK 3R5/AKT 前馈放大信号可促进巨噬细胞 M1 极化,从而加剧肝纤维化和炎症过程.此外,有研究表明, lncRNA AGAP2-AS1 可通过与其下游靶标 miR-9-5p 竞争性结合来上调血栓调节蛋白 2 的表达,进而激活 PI3K/AKT 信号通路,促使巨噬细胞向 M2 极化,最终导致肾细胞癌变<sup>[59]</sup>.然而,目前关于 PF 进程中,M2 极化上游 lncRNA-mRNA 调控网络及关键靶基因与巨噬细胞活化信号通路的相互作用机制尚不明确.未来,我们将通过进一步的研究分析出 PM<sub>2.5</sub> 致 AMs 活化的 lncRNA-mRNA 调控网络的关键靶基因,为 PF 的治疗新策略提供潜在的靶点.

## 4 结论

4.1 在 PM<sub>2.5</sub> 暴露剂量相当的情况下,高浓度间歇性暴露较低浓度连续性暴露对肺组织造成了更为严重的损伤.其原因为高浓度间歇性暴露较低浓度连续性暴露能够引起炎症反应和氧化应激,并且在更大程度上激活了 M2 型活化.

4.2 PM<sub>2.5</sub> 暴露可通过激活 JAK1/STAT6 及 PI3K/AKT 信号通路,使 AMs 活化向 M2 型极化.因此, JAK1/STAT6 及 PI3K/AKT 信号通路作为 AMs 活化的主要调控通路,下调其关键蛋白的表达可能会成为 PF 的靶向治疗手段.然而,目前与 M2 极化相关的信号通路中的 lncRNA-mRNA 调控网络尚不明确,我们将通过进一步的研究来阐明.

## 参考文献:

- [1] 中华人民共和国生态环境部.生态环境部通报 2022 年 12 月和 1-12 月全国环境空气质量状况 [EB/OL]. [https://www.mee.gov.cn/ywdt/xwfb/202301/t20230128\\_1014006.shtml](https://www.mee.gov.cn/ywdt/xwfb/202301/t20230128_1014006.shtml). 2023-01-28/2023-11-08.  
Ministry of Ecology and Environment of the People's Republic of China. Report on the state of the ecology and environment in China 2022 [EB/OL]. [https://www.mee.gov.cn/ywdt/xwfb/202301/t20230128\\_1014006.shtml](https://www.mee.gov.cn/ywdt/xwfb/202301/t20230128_1014006.shtml).2023-01-28/2023-11-08.
- [2] 中国科学杂志社.2013~2017 年中国 PM<sub>2.5</sub> 污染的快速改善及其健康效益 [EB/OL]. <https://new.qq.com/rain/a/20200605A0EEML00.2020-06-05/2023-11-08>.  
Science China Press. Rapid improvement of PM<sub>2.5</sub> pollution and its health benefits in China from 2013 to 2017 [EB/OL]. <https://new.qq.com/rain/a/20200605A0EEML00.2020-06-05/2023-11-08>.
- [3] 王稚真,倪佳慧.国内空气 PM<sub>2.5</sub> 的污染现状与优化途径分析 [J]. 环境与发展, 2020,32(4):72-73.  
Wang Z Z, Ni J H. Analysis of PM<sub>2.5</sub> pollution in China and optimization approaches [J]. Inner Mongolia Environmental Sciences, 2020,32(4):72-73.
- [4] Chen YC, Chuang TY, Liu CW, et al. Particulate matters increase epithelial-mesenchymal transition and lung fibrosis through the ETS-1/NF-κB-dependent pathway in lung epithelial cells [J]. Particle and Fibre Toxicology, 2020,17(1):41.
- [5] Goobie G C, Carlsten C, Johansson K A, et al. Association of particulate matter exposure with lung function and mortality among patients with fibrotic interstitial lung disease [J]. JAMA Internal Medicine, 2022,182(12):1248-1259.
- [6] 丛鲁红,李晨,陈德生,等.可吸入颗粒物 PM<sub>2.5</sub> 对大鼠急性肺损伤及肺纤维化的影响 [J]. 中国医师杂志, 2016,18(6):857-860,864.  
Cong L H, Li C, Chen D S, et al. Effect of particulate matter 2.5 on acute lung injury fibrosis in rats [J]. Journal of Chinese Physician, 2016,18(6):857-860,864.
- [7] Xu M, Wang X, Xu L, et al. Chronic lung inflammation and pulmonary fibrosis after multiple intranasal instillation of PM in mice [J]. Environmental Toxicology, 2021,36(7):1434-1446.
- [8] Gao J, Yuan J, Liu Q, et al. Adipose-derived stem cells therapy effectively attenuates PM<sub>2.5</sub>-induced lung injury [J]. Stem Cell Research & Therapy, 2021,12(1):355.
- [9] 侯天芳,马元元,王广发.大气细颗粒物致炎动物模型系统评价 [J]. 中国实验动物学报, 2018,26(1):65-71.  
Hou T F, Ma Y Y, Wang G F. Systematic evaluation of pulmonary inflammation induced by fine particulate matter in a mouse model [J]. Acta Laboratorium Animalis Scientia Sinica, 2018,26(1):65-71.
- [10] 黄丽坤,徐媛媛,王广智,等.哈尔滨市大气细颗粒物污染特征及其毒性效应 [J]. 中国环境科学, 2019,39(12):5326-5332.  
Huang L K, Xu Y Y, Wang G Z, et al. Study on pollution characteristics and toxic effects of fine particulate matter in Harbin, China [J]. China Environmental Science, 2019,39(12):5326-5332.
- [11] Ning J, Du H, Zhang Y, et al. N6-Methyladenosine modification of CDH1 mRNA promotes PM<sub>2.5</sub>-induced pulmonary fibrosis via mediating epithelial mesenchymal transition [J]. Toxicological Sciences, 2022,185(2):143-157.
- [12] Chu C, Zhang H, Cui S, et al. Ambient PM<sub>2.5</sub> caused depressive-like responses through Nrf2/NLRP3 signaling pathway modulating inflammation [J]. Journal of Hazardous Materials, 2019,369:180-190.
- [13] Chen S, Chen L, Ye L, et al. PP2A-mTOR-p70S6K/4E-BP1 axis regulates M1 polarization of pulmonary macrophages and promotes ambient particulate matter induced mouse lung injury [J]. Journal of Hazardous Materials, 2022,424(Pt C):127624.
- [14] Liu Y, Yuan Q, Zhang X, et al. Fine particulate matter (PM<sub>2.5</sub>) induces inhibitory memory alveolar macrophages through the AhR/IL-33 pathway [J]. Cellular Immunology, 2023,386:104694.
- [15] 郭利敏.中小型旅馆室内污染物分布规律及影响研究 [D]. 吉林:吉林建筑大学, 2024.  
Guo L M. Distribution of indoor pollutants in small and medium-sized hotels and impact study [D]. Jilin: Jilin Jianzhu University, 2024.
- [16] Shi T, Denney L, An H, et al. Alveolar and lung interstitial macrophages: Definitions, functions, and roles in lung fibrosis [J]. Journal of Leukocyte Biology, 2021,110(1):107-114.
- [17] Shapouri-Moghaddam A, Mohammadian S, Vazini H, et al.

- Macrophage plasticity, polarization, and function in health and disease [J]. *Journal of Cellular Physiology*, 2018,233(9):6425–6440.
- [18] Deng L, Jian Z, Xu T, et al. Macrophage polarization: An important candidate regulator for lung diseases [J]. *Molecules*, 2023,28(5):2379.
- [19] Wang L, Zhang Y, Zhang N, et al. Potential role of M2 macrophage polarization in ventilator-induced lung fibrosis [J]. *International Immunopharmacology*, 2019,75:105795.
- [20] Yunna C, Mengru H, Lei W, et al. Macrophage M1/M2 polarization [J]. *European Journal of Pharmacology*, 2020,877:173090.
- [21] Yan Z, Kui Z, Ping Z. Reviews and perspectives of signaling pathway analysis in idiopathic pulmonary fibrosis [J]. *Autoimmunity Reviews*, 2014,13(10):1020–1025.
- [22] Li H, Wang Z, Zhang J, et al. Feifukang ameliorates pulmonary fibrosis by inhibiting JAK-STAT signaling pathway [J]. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 2018,18(1):234.
- [23] Wang H, Wang G, Meng Y, et al. Modified Guo-Min decoction ameliorates PM<sub>2.5</sub>-induced lung injury by inhibition of PI3K-AKT and MAPK signaling pathways [J]. *Phytomedicine*, 2024,123:155211.
- [24] Xu Y, Wang X, Han D, et al. Revealing the mechanism of Jiegeng decoction attenuates bleomycin-induced pulmonary fibrosis via PI3K/Akt signaling pathway based on lipidomics and transcriptomics [J]. *Phytomedicine*, 2022,102:154207.
- [25] Hu X, Xu Q, Wan H, et al. PI3K-Akt-mTOR/PFKFB3 pathway mediated lung fibroblast aerobic glycolysis and collagen synthesis in lipopolysaccharide-induced pulmonary fibrosis [J]. *Laboratory Investigation*, 2020,100(6):801–811.
- [26] Yang T, Pan Q, Yue R, et al. Daphnetin alleviates silica-induced pulmonary inflammation and fibrosis by regulating the PI3K/AKT1 signaling pathway in mice [J]. *International Immunopharmacology*, 2024,133:112004.
- [27] Liu H, Nie H, Lai W, et al. Different exposure modes of PM<sub>2.5</sub> induces bronchial asthma and fibrosis in male rats through macrophage activation and immune imbalance induced by TIPE2 methylation [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2022,247:114200.
- [28] Li T, Zhang Y, Jiang N, et al. Ambient fine particulate matter and cardiopulmonary health risks in China [J]. *Chinese Medical Journal (English)*, 2023,136(3):287–294.
- [29] Huang X, Li Y, Fu M, et al. Polarizing macrophages in vitro [J]. *Methods in Molecular Biology*, 2018,1784:119–126.
- [30] Baddour NA, Paulin LM, Gassett AJ, et al. Air pollution exposure and interstitial lung features in SPIROMICS participants with chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Annals of the American Thoracic Society*, 2024,21(9):1251–1260.
- [31] Cui F, Sun Y, Xie J, et al. Air pollutants, genetic susceptibility and risk of incident idiopathic pulmonary fibrosis [J]. *European Respiratory Journal*, 2023,61(2):2200777.
- [32] Lan D, Fermoyle CC, Troy LK, et al. The impact of air pollution on interstitial lung disease: a systematic review and meta-analysis [J]. *Frontiers in Medicine (Lausanne)*, 2024,10:1321038.
- [33] 张京.天津市大气颗粒物生源要素组成、来源及其环境影响 [D]. 天津:天津大学, 2022.
- Zhang J. Compositions, sources and environmental impacts of biogenic elements of atmospheric particulate matter in Tianjin, China [D]. Tian Jin: Tianjin University, 2022.
- [34] 丁素素,刘焕亮,林本成,等.PM<sub>2.5</sub>长期动态低浓度恒定及高浓度间隔吸入暴露对雄性大鼠睾丸的损伤效应 [J]. *环境与健康杂志*, 2020, 37(1):11–15.
- Ding S S, Liu H L, Lin B C, et al. Effects of long-term dynamic inhalation of PM<sub>2.5</sub> with constant low concentration and interval high concentration on testis damage in male rats [J]. *Journal of Environment and Health*, 2020,37(1):11–15.
- [35] Li B, Liang Y, Bao H, et al. Real-ambient particulate matter exposure-induced FGFR1 methylation contributes to cardiac dysfunction via lipid metabolism disruption [J]. *Science of The Total Environment*, 2023,870:161903.
- [36] 巨英超,刘亮,贺宇彤,等.大气细颗粒物PM<sub>2.5</sub>致Wistar大鼠肺部病变的研究 [J]. *肿瘤防治研究*, 2017,44(10):652–658.
- Ju Y C, Liu L, He Y T, et al. Pulmonary lesions of wistar rats induced by atmospheric particulate PM<sub>2.5</sub> [J]. *Cancer Research on Prevention and Treatment*, 2017,44(10):652–658.
- [37] Otoupalova E, Smith S, Cheng G, et al. Oxidative stress in pulmonary fibrosis [J]. *Comprehensive Physiology*, 2020,10(2):509–547.
- [38] Hou T, Zhu L, Wang Y, et al. Oxidative stress is the pivot for PM<sub>2.5</sub>-induced lung injury [J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2024,184:114362.
- [39] 闫志鹏,李舒月,邢硕颂,等.不同城市PM<sub>2.5</sub>致小鼠肝脏纤维化的效应差异研究 [J]. *中国环境科学*, 2022,42(6):2878–2885.
- Yan Z P, Li S Y, Xing Q S, et al. Differential effects of PM<sub>2.5</sub> from different cities in the induction of hepatic fibrosis in mice [J]. *China Environmental Science*, 2022,42(6):2878–2885.
- [40] Xu M X, Ge C X, Qin Y T, et al. Prolonged PM<sub>2.5</sub> exposure elevates risk of oxidative stress-driven nonalcoholic fatty liver disease by triggering increase of dyslipidemia [J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2019,130:542–556.
- [41] Liu T, Jiang B, Fu B, et al. PM<sub>2.5</sub> induces cardiomyoblast senescence via AhR-mediated oxidative stress [J]. *Antioxidants*, 2024,13(7):786.
- [42] Meng Q, Liu J, Shen J, et al. Fine particulate matter metal composition, oxidative potential, and adverse birth outcomes in Los Angeles [J]. *Environmental Health Perspectives*, 2023,131(10):107012.
- [43] Traina G, Bolzacchini E, Bonini M, et al. Role of air pollutants mediated oxidative stress in respiratory diseases [J]. *Pediatric Allergy and Immunology*, 2022,33:38–40.
- [44] 鲁娴娴,黄佳伟,崔海燕,等.低浓度甲醛和PM<sub>2.5</sub>联合暴露对哮喘小鼠的影响 [J]. *中国环境科学*, 2020,40(3):1335–1344.
- Lu X X, Huang J W, Cui H Y, et al. The effect of combined exposure of low concentration formaldehyde and PM<sub>2.5</sub> on asthma model mice [J]. *China Environmental Science*, 2020,40(3):1335–1344.
- [45] Lin C M, Huang T H, Chi M C, et al. N-acetylcysteine alleviates fine particulate matter (PM<sub>2.5</sub>)-induced lung injury by attenuation of ROS-mediated recruitment of neutrophils and Ly6 Chigh monocytes and lung inflammation [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2022,239:113632.
- [46] Liu S, Zhang Z, Wang Y, et al. The chemokine CCL1 facilitates pulmonary fibrosis by promoting macrophage migration and M2 polarization [J]. *International Immunopharmacology*, 2023,120:110343.

- [47] Lee JW, Chun W, Lee HJ, et al. The role of macrophages in the development of acute and chronic inflammatory lung diseases [J]. *Cells*, 2021,10(4):897.
- [48] Cheng P, Li S, Chen H. Macrophages in lung injury, repair, and fibrosis [J]. *Cells*, 2021,10(2):436.
- [49] Liu F, Qiu H, Xue M, et al. MSC-secreted TGF- $\beta$  regulates lipopolysaccharide-stimulated macrophage M2-like polarization via the Akt/FoxO1 pathway [J]. *Stem Cell Research & Therapy*, 2019, 10(1):345.
- [50] Zhang R, Chen S, Chen L, et al. Single-cell transcriptomics reveals immune dysregulation mediated by IL-17A in initiation of chronic lung injuries upon real-ambient particulate matter exposure [J]. *Particle and Fibre Toxicology*, 2022,19(1):42.
- [51] Yang F, Hou R, Liu X, et al. Yangqing Chenfei formula attenuates silica-induced pulmonary fibrosis by suppressing activation of fibroblast via regulating PI3K/AKT, JAK/STAT, and Wnt signaling pathway [J]. *Phytomedicine*, 2023,110:154622.
- [52] Xu L, Zhang Y, Dai Q, et al. Scorpion venom polypeptide governs alveolar macrophage M1/M2 polarization to alleviate pulmonary fibrosis [J]. *Tissue and Cell*, 2022,79:101939.
- [53] Athari SS. Targeting cell signaling in allergic asthma [J]. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 2019,4:45.
- [54] Van Dyken SJ, Locksley RM. Interleukin-4- and interleukin-13-mediated alternatively activated macrophages: roles in homeostasis and disease [J]. *Annual Review of Immunology*, 2013, 31:317-343.
- [55] Ma B, Wang S, Wu W, et al. Mechanisms of circRNA/lncRNA-miRNA interactions and applications in disease and drug research [J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2023,162:114672.
- [56] Xue Z, Liu J, Xing W, et al. Hypoxic glioma-derived exosomal miR-25-3p promotes macrophage M2 polarization by activating the PI3K-AKT-mTOR signaling pathway [J]. *Journal of Nanobiotechnology*, 2024,22(1):628.
- [57] Xu J, Xu H, Ma K, et al. LncRNA Gm16410 mediates PM<sub>2.5</sub>-induced macrophage activation via PI3K/AKT pathway [J]. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 2021,9:618045.
- [58] Han X, Guo B, Zhao S, et al. LncRNA Helf promotes hepatic inflammation and fibrosis by interacting with PTBP1 to facilitate PIK3R5 mRNA stabilization [J]. *Cellular and Molecular Biology Letters*, 2023,28(1):77.
- [59] Xu P, Feng DX, Wang J, et al. LncRNA AGAP2 antisense RNA 1 stabilized by insulin-like growth factor 2 mRNA binding protein 3 promotes macrophage M2 polarization in clear cell renal cell carcinoma through regulation of the microRNA-9-5p/THBS2/PI3K-Akt pathway [J]. *Cancer Cell International*, 2023,23(1):330.

**作者简介:** 朱丽娜(1999-),女,江西九江人,上海海洋大学硕士研究生,主要研究方向为环境毒理学.zlnjuliana@163.com.