



Investigation on the Impact of Differently Treated PM_{2.5} on Cell Viability of Human Bronchial Epithelial Cells (Beas-2b) and the Construction of Bio-Hazard Index

Yuanze Liu, Qiaohui Zhang, Peiyi Xu

Shanghai World Foreign Language Academy, Shanghai, China

Email address:

birdyhawk@163.com (Yuanze Liu), 2440071243@qq.com (Qiaohui Zhang), claire710@foxmail.com (Peiyi Xu)

To cite this article:

Yuanze Liu, Qiaohui Zhang, Peiyi Xu. Investigation on the Impact of Differently Treated PM_{2.5} on Cell Viability of Human Bronchial Epithelial Cells (Beas-2b) and the Construction of Bio-Hazard Index. *Science Discovery*. Vol. 6, No. 3, 2018, pp. 212-217.

doi: 10.11648/j.sd.20180603.22

Received: April 19, 2018; **Accepted:** June 19, 2018; **Published:** June 26, 2018

Abstract: After PM_{2.5} is inhaled by the human body, various pathogens such as influenza viruses, can cause many respiratory diseases, causing local clogging of the lungs and causing damage. At present, the research on the effect of PM_{2.5} on human bronchial epithelial cells (BEAS-2B) and the toxicity of the respiratory system only focuses on the single source PM_{2.5}. The effects of different native PM_{2.5} on human bronchial epithelial cells (BEAS-2B) and the toxicity of the respiratory system have not been reported. In this paper, the effects of artificial PM_{2.5} graphene particles, sterilized atmospheric PM_{2.5} particles and unsterilized atmospheric PM_{2.5} particles on the viability of immortalized human bronchial epithelial cells (BEAS-2B) are investigated. The Bio-hazard Index describing the effects of PM_{2.5} on human respiratory health is constructed based on the change of BEAS-2B cell viability under different PM_{2.5} concentrations in the cell culture. The index can evaluate the physiological impact of PM_{2.5} on the human body, and is more intuitive than the current AQI, which only describes the physical concentration of PM_{2.5} in the air. The index thus provides a more accurate hazard prevention warning for susceptible population.

Keywords: PM_{2.5}, Human Bronchial Epithelial Cell, Bio-Hazard Index

本源不同的PM_{2.5}对人支气管上皮细胞活性影响及生物危害性指数的构建

刘苑泽, 张乔辉, 徐佩懿

上海市世界外国语中学, 上海, 中国

邮箱

birdyhawk@163.com (刘苑泽), 2440071243@qq.com (张乔辉), claire710@foxmail.com (徐佩懿)

摘要: PM_{2.5}被人体吸入后, 颗粒物携带的各种病菌如流感病毒会导致许多呼吸道疾病, 对肺部形成局部堵塞从而造成损害。目前关于PM_{2.5}对人支气管上皮细胞(BEAS-2B)的影响及对呼吸系统毒害作用的研究工作仅偏重单一来源的PM_{2.5}, 不同本源PM_{2.5}对人支气管上皮细胞(BEAS-2B)影响及对呼吸系统的毒害作用的研究还未见报道。本文使用MTT法分别研究了人工制造的PM_{2.5}石墨烯颗粒、经高温灭菌的大气PM_{2.5}颗粒及未经灭菌的大气PM_{2.5}颗粒对人正常支气管上皮细胞的活性的影响, 并依据细胞活性随培养液中PM_{2.5}浓度的变化情况构建出描述PM_{2.5}对人体生理影响的生物危害性指数, 与目前从物理角度描述空气污染浓度的AQI指数相比, 该指数可以从人体生理角度反映PM_{2.5}的影响, 更直观地表明PM_{2.5}对人体的危害性, 可以为易感人群提供更精准的危害预防警示。

关键词: PM2.5, 支气管上皮细胞, 生物危害性

1. 引言

PM2.5是一种空气动力学直径小于2.5微米的细颗粒物,当PM2.5的排放超过大气循环能力和承载度,持续积聚会导致大范围的雾霾。PM2.5可能包含有毒和有害物质如微生物和重金属等,被人体吸入后,颗粒物携带的各种病菌如流感病毒会导致许多呼吸道疾病,对肺部形成局部堵塞从而造成损害。

目前仅偏重单一来源PM2.5对人支气管上皮细胞(BEAS-2B)影响及对呼吸系统的毒害作用已有相关研究[1-8],但不同本源PM2.5对人支气管上皮细胞(BEAS-2B)影响及对呼吸系统的毒害作用的研究还未见报道。

为了更详细地研究PM2.5对人呼吸系统的危害,分别选取PM2.5非活性纯净物(石墨烯)、非活性混合物(经高温灭菌的大气PM2.5颗粒)及活性混合物(未经灭菌的大气PM2.5颗粒)作为污染物,研究不同本源的PM2.5对人支气管上皮细胞活性的影响。通过活细胞线粒体中的琥珀酸脱氢酶能使外源性MTT还原为不溶于水的蓝紫色结晶甲瓖,加入DMSO溶液溶解结晶可获得蓝紫色溶液,再由分光光度计检测溶液490nm下的吸光值,从而检测细胞活性,用以确定PM2.5对人支气管上皮细胞(BEAS-2B)活性的影响。

在以上研究成果的基础上,构建一种生物危害性指数,该指数可以从人体生理方面反映空气污染的程度,为易感人群提供更精准的危害预防警示,为保障人们的身体健康提供服务。

2. 相关工作

世界卫生组织(WHO)2012年报告指出,PM2.5每年可造成370万居民死亡。PM2.5对健康的影响已受到政府和社会各界的高度关注。近年来,关于PM2.5对人支气管上皮细胞(BEAS-2B)影响及对呼吸系统的毒害作用已引起人们的关注。文[1]利用实时细胞分析(real time cell analyze, RTCA)法及Alamar Blue法测定雾霾细颗粒物对于人支气管上皮细胞(BEAS-2B)和人胚肺成纤维细胞(MRC-5)的毒性作用进行了研究,研究结果表明雾霾细颗粒物对于呼吸系统细胞有毒性,RTCA法可以应用于雾霾细颗粒物体外毒性检测。文[2]以冬季为背景研究PM2.5对人呼吸系统的毒害作用。实验采集太原地区冬季PM2.5,考察其对人支气管上皮细胞系(BEAS-2B)的毒性效应。经研究发现,PM2.5处理细胞后,细胞活性氧自由基(ROS)含量随着PM2.5浓度的增高而增加,且在30 μ g/mL时达到最大,说明PM2.5中超微颗粒能够进入细胞并且会影响BEAS-2B细胞中细胞器结构。此外,细胞超氧化物歧化酶(SOD)和谷胱甘肽过氧化物酶(GPX)的含量随着PM2.5浓度的增高而减少,并在30 μ g/mL浓度时,SOD的含量下降为对照组的51.02%,GPX的含量下降为对照的54.10%,细胞培养液中白介素6(IL-6)和IL-8的含量随着PM2.5浓度的增高

而增高,并在30 μ g/mL浓度时,IL-6的含量达到对照组的3.18倍,IL-8的含量达到对照的1.90倍。文[2]的研究结果除表明在PM2.5暴露条件下,PM2.5能够引起细胞发生氧化应激和炎症反应外,还证明了PM2.5能抑制抗氧化酶的蛋白表达。文[3]研究大气细颗粒物PM2.5诱发呼吸道炎症因子表达及分泌的分子毒理机制,以及炎症因子在PM2.5所致骨髓间充质干细胞分化为血管样内皮细胞和癌相关成纤维母细胞的作用。研究结果表明大气细颗粒物PM2.5通过促进支气管NOX氧化酶和线粒体来源的ROS生成,促进炎症因子的表达和分泌;炎症因子进入血液促进BMSCs分化为ELCs和CAFs,进而改变肿瘤微环境而间接促进肿瘤的发生发展。文[4]研究大气细颗粒物PM2.5对人支气管上皮细胞活性的影响及其炎症作用。采用的方法:用PM2.5采样器采集上海地区大气PM2.5样本,扫描电镜观察PM2.5形态特征。将人支气管上皮细胞BEAS-2B暴露于不同浓度(0, 50, 100, 200, 400, 800 μ g/mL)的PM2.5 12, 24, 48 h,细胞活力检测试剂盒(cell counting kit-8, CCK-8)法检测PM2.5暴露对细胞活性的影响。实时定量PCR(quantitative real-time PCR, qRT-PCR)检测细胞粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte-macrophage colony stimulating factor, GM-CSF)和TNF- α mRNA的表达,Western印迹检测GM-CSF和TNF- α 蛋白的表达。研究结果:扫描电镜观察发现,PM2.5形态多样,大小不一,直径大多等于或小于2.5 μ m。与同时时间点未暴露组比较,各暴露组(50~800 μ g/mL)细胞活性呈不同程度的下降,差异具有统计学意义($P<0.05$)。与未暴露组比较,暴露于100, 400或800 μ g/mL PM2.5 24 h后,GM-CSF和TNF- α mRNA和蛋白表达水平明显升高($P<0.05$),且PM2.5暴露浓度越高,GM-CSF和TNF- α 的mRNA和蛋白升高水平越显著。研究结果表明大气PM2.5可引起人支气管上皮细胞的炎症反应,降低细胞活性,这可能与PM2.5促发和加重支气管肺部炎症性疾病有关。为了进一步了解PM2.5对人类健康危害的潜在机制,文[5]研究采用全基因组的方法来确定可能促进PM2.5对人类肺毒性作用的基因和通路问题。通过人支气管上皮(HBE)细胞暴露于不同浓度收集于中国武汉地区的PM2.5实验表明,PM2.5会降低HBE细胞的存活率,并且具有剂量效应关系。将HBE细胞暴露于200 μ g/mL和500 μ g/mL两种不同剂量的PM2.5悬浊液中,并且运用基因芯片技术检测了全基因组的转录情况。暴露于200 μ g/mL和500 μ g/mL PM2.5悬浊液的HBE细胞中分别检测到970和492种基因表达发生明显改变。而且PM2.5诱导大量有关炎症和免疫反应,氧化应激,DNA损伤刺激反应的基因改变,而这些基因有可能导致PM2.5相关的心肺疾病发生。信号通路分析发现不同剂量的PM2.5可以干扰某些相同的通路。流式细胞术分析证明,暴露于低剂量组或高剂量组的细胞与未经PM2.5染毒的对照细胞相比,细胞的G1期有显著的统计学改变。文[6]研究大气细颗粒物PM2.5及其水提取物对人支气管上皮细胞(HBE)的毒性和氧化应激效应。采用的方法:采集杭州地区某地PM2.5并提取其中水溶性成分,分别用0、100、250、500、1000、1500和

2000 $\mu\text{g/mL}$ PM_{2.5} 及其水提物对HBE 细胞进行染毒, 采用CC-8法检测细胞毒性。通过对染毒后细胞匀浆液中丙二醛(MDA)含量及超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性的测定, 评估PM_{2.5}及其水提物对HBE细胞氧化损伤效应及氧化应激反应的影响。研究结果: 随着PM_{2.5} 及其水提物染毒剂量的增加, HBE 细胞活力逐渐下降, 并具有明显的剂量-效应关系($P < 0.05$)。在相同剂量下, PM_{2.5} 的细胞毒性大于其水提物毒性($P < 0.05$)。与阴性对照组相比, 200、400 和 800 $\mu\text{g/mL}$ 剂量组细胞SOD活性明显下降($P < 0.05$), MDA含量明显升高($P < 0.05$); 而水提物400和 800 $\mu\text{g/mL}$ 剂量组细胞SOD活性明显下降($P < 0.05$), MDA含量明显升高($P < 0.05$)。研究结果表明PM_{2.5}及其水提物对HBE细胞均具有细胞毒性作用, 并且能引起细胞的氧化应激反应。文[7]用大气细颗粒物PM_{2.5}刺激人支气管上皮细胞(BEAS-2B细胞), 探讨其脂质过氧化作用。采用的方法: PM_{2.5}采自河南省郑州市, 实验细胞为人支气管上皮细胞。用0、12.5、25 $\mu\text{g/mL}$ 的PM_{2.5}刺激BEAS-2B细胞4h后, 使用流式细胞仪检测其活性氧(ROS)水平, 刺激BEAS-2B细胞8h, 用丙二醛试剂盒和超氧化物歧化酶活性测定试剂盒分别检测细胞裂解液中丙二醛(MDA)含量和超氧化物歧化酶(SOD)活性。研究结果: PM_{2.5}作用于BEAS-2B细胞4h, 12.5、25 $\mu\text{g/mL}$ 染毒组ROS水平分别为(6 074.69 \pm 41.65)、(7 338.58 \pm 168.34), 均明显高于对照组的(5 816.66 \pm 114.69)($P < 0.01$), 刺激BEAS-2B细胞 8h, 12.5、25 $\mu\text{g/mL}$ 染毒组MDA含量分别为(195.44 \pm 35.58)、(334.11 \pm 26.75) $\mu\text{mol/mg}$, 均明显高于对照组的(71.14 \pm 4.21) $\mu\text{mol/mg}$ ($P < 0.01$), 同时染毒组SOD活力分别为(100.08 \pm 7.54)、(80.03 \pm 7.61)U/mg, 均低于对照组的(159.91 \pm 10.59)U/mg($P < 0.01$)。研究结果表明PM_{2.5}可以引起BEAS-2B细胞脂质过氧化损伤。文[8]主要研究大气细颗粒物PM_{2.5}与呼吸和心血管系统疾病的发病率间的关系。研究方法: 采集2013年5月至2014年1月期间北京市玉泉路的PM_{2.5}, 分析颗粒物中金属元素、无机离子、有机碳(OC)/元素碳(EC)和多环芳烃(PAHs)的含量。金属元素的分析结果显示, As的年平均浓度(6.18 ng/m³)大于国家空气质量标准(6 ng/m³), 富集因子计算结果显示Zn、Pb、As、Cd、Ni、Cr、Cu、Sr和Mo为人为来源。水溶性离子中SO₄²⁻(17.47 $\mu\text{g/m}^3$)浓度最高, 其次为NO₃⁻(15.00 $\mu\text{g/m}^3$)、NH₄⁺(5.44 $\mu\text{g/m}^3$)、Cl⁻(4.02 $\mu\text{g/m}^3$)。PM_{2.5}中PAHs、OC和EC的年平均浓度分别为80.8 ng/m³、17.3 $\mu\text{g/m}^3$ 和3.08 $\mu\text{g/m}^3$, 其中苯并[a]芘的年平均浓度达6.97 ng/m³, 显著超过空气质量标准的限值(1 ng/m³)。此外不同季节PM_{2.5}组分分析显示, 春季SO₄²⁻、秋季NO₃⁻和冬季PAHs、Cl⁻显著高于其他季节。人支气管上皮BEAS-2B细胞经100 $\mu\text{g/mL}$ PM_{2.5}暴露处理24 h后, PM_{2.5}显著降低细胞活力, 引起细胞内活性氧簇(ROS)生成。分析发现, OC、PAHs和Cl⁻与细胞活力呈负相关, As、过渡金属元素、SO₄²⁻浓度与细胞内ROS的生成呈正相关。与PM_{2.5}中浓度相同的金属盐溶液和PAHs处理BEAS-2B细胞后发现, Cu、Fe、Zn和PAHs显著降低BEAS-2B细胞活力。而配制的金属盐溶液和PAHs与PM_{2.5}共同作用于

BEAS-2B细胞后, Zn和PAHs显著增加PM_{2.5}的细胞毒性。人脐静脉血管内皮EA.hy926暴露于PM_{2.5}后, 细胞内的ROS水平增加, 超氧化物歧化酶和过氧化氢酶活性发生改变, 还原型谷胱甘肽/氧化型谷胱甘肽降低, 细胞分裂原活化蛋白激酶(MAPK)、磷酸肌醇3激酶/蛋白激酶B(PI3K/AKT)和核转录因子- κ B(NF- κ B)表达激活, 细胞间黏附因子-1(ICAM-1)、血管黏附分子-1(VCAM-1)和炎症因子(IL-8和TNF- α)表达量增加。但是, 抗氧化剂N-乙酰半胱氨酸(NAC)显著抑制PM_{2.5}诱导的信号通路激活以及降低黏附因子和炎症因子表达。细胞外调节蛋白激酶(ERK)抑制剂(U0126)、PI3K/AKT抑制剂(LY294002)和NF- κ B抑制剂(BAY11-7082)显著下调PM_{2.5}诱导的ICAM-1和VCAM-1表达、NF- κ B激活以及THP-1的细胞粘附。此外c-Jun氨基末端激酶(JNK)抑制剂(SP600125)和ERK抑制剂(U0126)则减少IL-8和TNF- α 释放。研究结果表明PM_{2.5}诱导的ROS通过ERK/AKT/NF- κ B信号通路调节EA.hy926细胞的ICAM-1和VCAM-1表达, 促进EA.hy926细胞与单核细胞的黏附, 并通过JNK/ERK通路诱导IL-8和TNF- α 的释放。

上述研究工作都是针对单一来源PM_{2.5}, 不同本源PM_{2.5}对人支气管上皮细胞(BEAS-2B)影响及对呼吸系统的毒害作用的研究工作和成果还未见报道。

3. 材料与方法

3.1. PM_{2.5}悬浊液的制备

将石墨烯进行研磨, 获得PM_{2.5}石墨烯颗粒。将空气净化器滤膜上所吸附的微粒采样, 获得大气PM_{2.5}颗粒。

将0.4克石墨烯置于100mL DMSO中, 超声震荡, 配成4mg/mL的石墨烯悬浊液。将0.4克大气PM_{2.5}颗粒置于100mL 二甲基亚砜(DMSO)中, 使用灭菌锅高温灭菌1小时, 超声震荡, 配成灭菌大气PM_{2.5}悬浊液。将0.4克大气PM_{2.5}颗粒置于100mL DMSO中, 超声震荡, 配成未灭菌大气PM_{2.5}悬浊液。

3.2. 细胞培养

采用含10%胎牛血清、100U/mL青霉素、100 $\mu\text{g/mL}$ 链霉素的DMEM高糖培养液, 在37 $^{\circ}\text{C}$ 、5%CO₂的条件下培养人正常支气管上皮细胞(BEAS-2B)。将细胞接种于96孔板, 每个孔中接种5000个细胞。

3.3. 细胞活性检测

共做三组实验: 第一组以PM_{2.5}石墨烯为污染物, 置入浓度梯度为0、25、50、100、200、400 $\mu\text{g/mL}$; 第二组以灭菌大气PM_{2.5}为污染物, 置入浓度梯度为0、50、100、200、300、400 $\mu\text{g/mL}$; 第三组以未灭菌大气PM_{2.5}为污染物, 置入浓度梯度为0、50、100、200、300、400 $\mu\text{g/mL}$ 。每个浓度下设置5个复孔。实验运用MTT法检测细胞活性。将细胞接种于96孔板后, 于37 $^{\circ}\text{C}$ 、5%CO₂的条件下培养12小时。孵育后加入污染物, 在37 $^{\circ}\text{C}$ 、5%CO₂的条件下培养24小时。用移液枪吸去孔中PM_{2.5}悬浊液, 并用PBS冲洗孔底残留的PM_{2.5}

颗粒。向每孔中加入200 μ L 0.5%MTT溶液，培养4小时。培养结束后吸去孔内培养液，每孔中加入150 μ L二甲基亚砷（DMSO），置于摇床上低速震荡0.5min，充分溶解甲瓚结晶。在酶联免疫检测仪OD₄₉₀处检测各孔吸光值。

4. 数据记录与分析

4.1. 细胞活性分析

共做三组实验：第一组以PM2.5石墨烯为污染物，置入浓度梯度为0、25、50、100、200、400 μ g/mL；第二组

以灭菌大气PM2.5为污染物，置入浓度梯度为0、50、100、200、300、400 μ g/mL；第三组以未灭菌大气PM2.5为污染物，置入浓度梯度为0、50、100、200、300、400 μ g/mL。每个浓度下设置5个复孔，而后取其平均值除以控制组吸光值获得吸光值比率随PM2.5浓度的变化趋势。

图1为石墨烯模拟的不同浓度的PM2.5对于细胞活性的影响。总体来看，数据成上升趋势从0 μ g/mL下的1.0000上升至400 μ g/mL浓度下的1.1573。由图表所示，随着石墨烯模拟下的PM2.5浓度的增加，细胞的活性也随之增加。

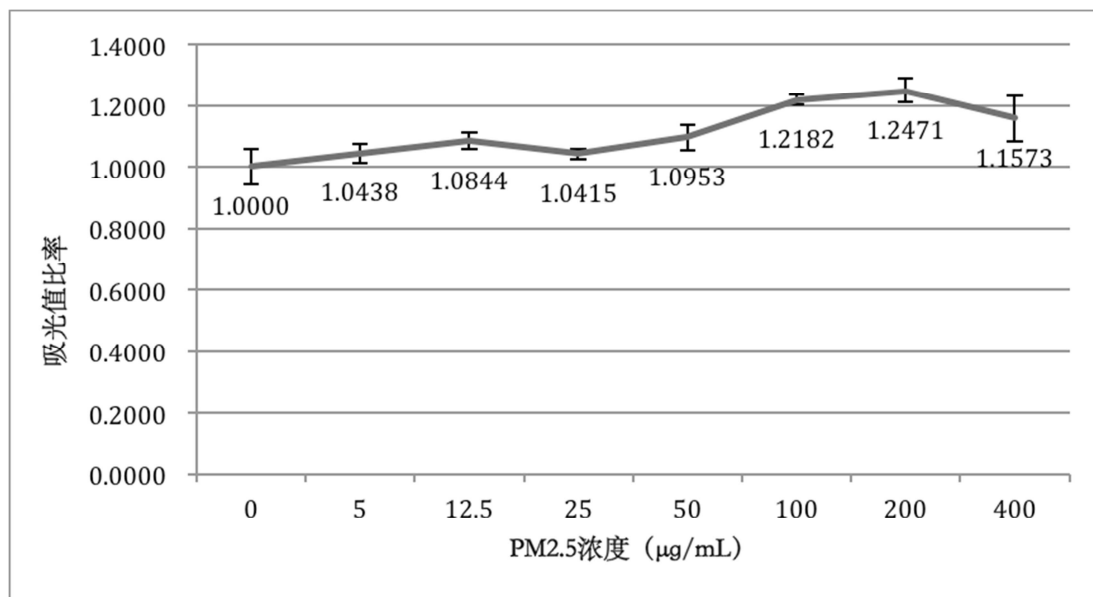


图1 不同石墨烯PM2.5浓度处理后甲瓚溶液OD₄₉₀处吸光值比率（误差线使用 ± 1 S.D.）。

图2所示的为未经过灭菌处理下的不同浓度的大气PM2.5对于细胞活性的影响。数据由0 μ g/mL初始的数值1.0000先于浓度为200 μ g/mL时下降至0.6366，而后浓度上

升为400 μ g/mL则轻微上升至0.6971。总体而言，随着未经过杀菌的PM2.5浓度的增加，细胞的活性减弱。

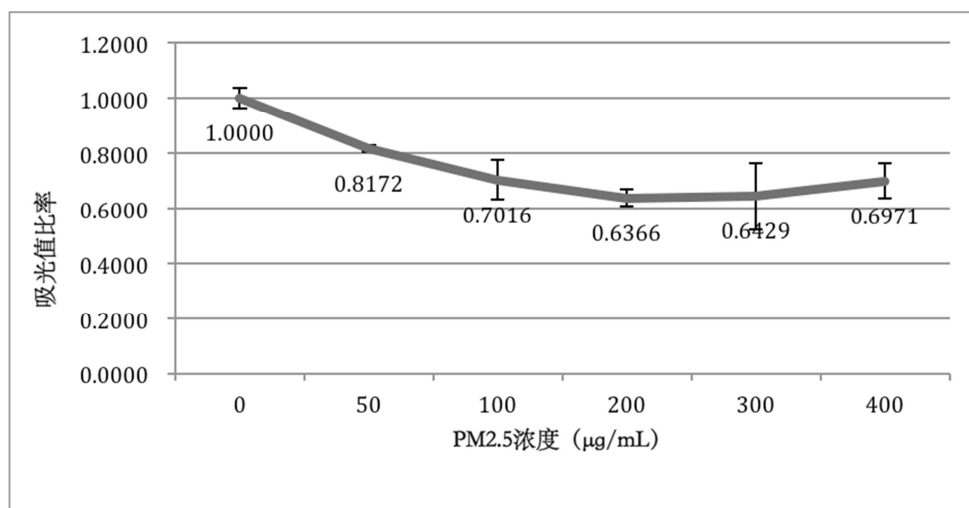


图2 不同未灭菌大气PM2.5浓度处理后甲瓚溶液OD₄₉₀处吸光值比率（误差线使用 ± 1 S.D.）。

图3所示，经过了杀菌处理的不同浓度大气PM2.5对于细胞活性的影响。由0 μ g/mL时的1.0000下降至400 μ g/mL

时的0.5317。随着杀菌处理后的PM2.5浓度递增，细胞活性发生显著递减。

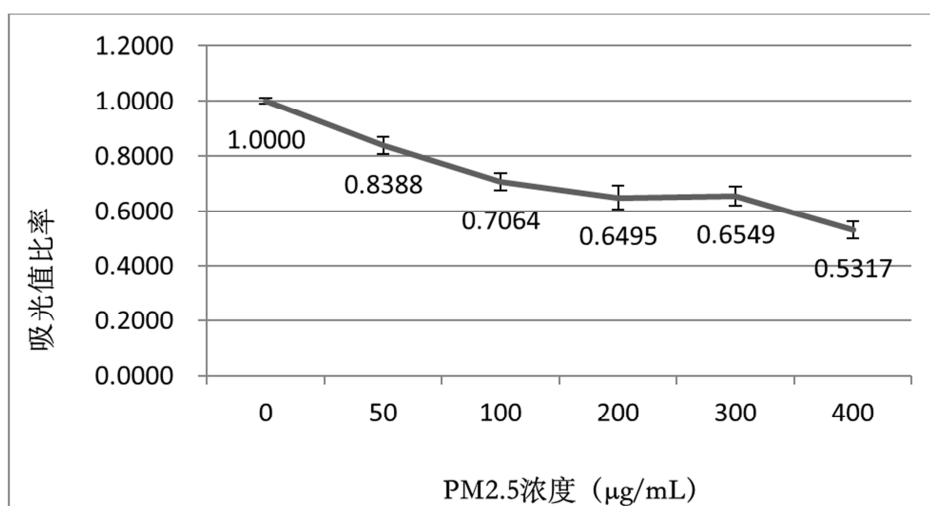


图3 不同灭菌大气PM2.5浓度处理后甲瓚溶液OD₄₉₀处吸光值比率（误差线使用±1 S.D.）。

三组数据相比之下，仅有第一组石墨烯模拟的PM2.5对于细胞的活性未见显著负面作用。相反的是另外两组直接由空气进化器采样的PM2.5都对于细胞活性的产生负影响，使其活性下降。由此可知纯净非活性的细颗粒物对人支气管上皮细胞活性有较小负面影响，而大气PM2.5含有除颗粒以外的成分，对人支气管上皮细胞活性产生显著负面影响。对比未经杀菌处理的PM2.5以及经过杀菌处理的PM2.5，在最终浓度为400μg/mL，未经过杀菌处理的细胞活性为0.6971大于经过杀菌处理的细胞活性0.5317。

4.2. 生物危害性指数

4.2.1. 变量与参数定义

I = 生物危害性指数

P = 甲瓚溶液吸光值比率关于未灭菌大气PM2.5悬浊液浓度的函数

x_p = PM2.5悬浊液浓度 (μg/mL)

x_a = 大气PM2.5浓度 (μg / m³)

V_a = 人24小时中吸入的空气体积

V_p = 人呼吸道24小时中分泌的粘液体积

G_a = 人24小时中吸入的PM2.5质量

4.2.2. 函数建立

首先运用Logger Pro软件回归分析甲瓚溶液吸光值比率关于未灭菌大气PM2.5悬浊液浓度的函数。未灭菌大气PM2.5对细胞活性的影响更接近于真实雾霾环境，因此函数更符合现实情况。使用指数函数进行拟合，得到：

$$P = 0.3753 \times e^{-0.01499x_p} + 0.6278$$

此拟合函数的相关系数为0.9975，展现出与原数据极高的相关性；RMSE值为0.01537，接近于0，因此展现出较少的偏差。

根据已知数据及拟合函数，可知 P 随 x_p 的增加而减小，即细胞活性随PM2.5浓度增加而减小，亦作生物危害性随PM2.5浓度增加而增加，因此 I 与 P 成反比，即：

$$I = \frac{1}{P}$$

$$I = \frac{1}{0.3753 \times e^{-0.01499x_p} + 0.6278}$$

生物危害性指数衡量24小时中人支气管受PM2.5累积的损伤。人支气管壁粘液中的PM2.5悬浊液浓度 x_p 可通过人24小时中吸入PM2.5的质量与人支气管24小时中分泌的粘液体积之比计算：

$$x_p = \frac{G_a}{V_p}$$

$$x_p = \frac{\frac{x_a}{1 \times 10^6} \times V_a}{V_p}$$

成年人一天吸入空气达10000L [9]，换算为10000000mL，即 $V_a = 1 \times 10^7 \text{ mL}$ 。正常人呼吸道每天约分泌10-100mL粘液 [10]，即 $V_p = 100 \text{ mL}$ 。因此：

$$x_p = \frac{x_a}{10}$$

代入 I 可得：

$$I = \frac{1}{0.3753 \times e^{-0.01499 \times \frac{x_a}{10}} + 0.6278}$$

$$I = \frac{1}{0.3753 \times e^{-0.001499x_a} + 0.6278}$$

为了增加生物危害性指数的实用性与直观性, 令

$$I = \frac{100}{0.3753 \times e^{-0.001499x_a} + 0.6278}$$

当 $x_a = 0$ 时,

$$I = \frac{100}{0.3753 \times e^{-0.001499 \times 0} + 0.6278} = 99.691 \approx 100。令 x_a = 0 时 I = 0:$$

$$I = \frac{100}{0.3753 \times e^{-0.001499x_a} + 0.6278} - 100$$

得到最终生物危害性指数

$$I = \frac{100}{0.3753 \times e^{-0.001499x_a} + 0.6278} - 100。$$

4.2.3. 模型检验

当大气PM2.5浓度为50 $\mu\text{g} / \text{m}^3$ 时, 将 $x_a = 50$ 代入

$$I = \frac{100}{0.3753 \times e^{-0.001499x_a} + 0.6278} - 100:$$

$$I = \frac{100}{0.3753 \times e^{-0.001499 \times 50} + 0.6278} - 100$$

$$I = 2.45906 \approx 2.5$$

当大气PM2.5浓度为45 $\mu\text{g} / \text{m}^3$ 时, 将 $x_a = 45$ 代入

$$I = \frac{100}{0.3753 \times e^{-0.001499x_a} + 0.6278} - 100:$$

$$I = \frac{100}{0.3753 \times e^{-0.001499 \times 45} + 0.6278} - 100$$

$$I = 2.1848 \approx 2.2$$

当大气PM2.5浓度为500 $\mu\text{g} / \text{m}^3$ 时, 将 $x_a = 500$ 代入

$$I = \frac{100}{0.3753 \times e^{-0.001499x_a} + 0.6278} - 100:$$

$$I = \frac{100}{0.3753 \times e^{-0.001499 \times 500} + 0.6278} - 100$$

$$I = 24.1977 \approx 24.2$$

当大气PM2.5浓度为4000 $\mu\text{g} / \text{m}^3$ 时, 将 $x_a = 4000$ 代

$$入 I = \frac{100}{0.3753 \times e^{-0.001499x_a} + 0.6278} - 100:$$

$$I = \frac{100}{0.3753 \times e^{-0.001499 \times 4000} + 0.6278} - 100$$

$$I = 59.0498 \approx 59.0$$

由此可见, 此模型对于自变量的变化敏感, 可用于反映暴露于不同大气PM2.5浓度下24小时对人支气管造成的影响。

5. 结论

与灭菌大气PM2.5和未灭菌大气PM2.5相比, PM2.5石墨烯即非活性纯净物对人支气管上皮细胞活性的负面

影响较小, 整体趋势为细胞活性与PM2.5石墨烯悬浊液浓度成正相关, 但未见显著统计学差异。灭菌大气PM2.5和未灭菌大气PM2.5悬浊液浓度增加时, 细胞活性显著下降。但灭菌大气PM2.5悬浊液浓度到达400 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时, 细胞活性有显著下降, 而未灭菌大气PM2.5组未见显著下降。由此可以得出纯净细颗粒物对人呼吸道健康有极少影响, 而大气PM2.5所含的其它非颗粒成分和活性成分对人呼吸道健康有更大的负面影响。

生物危害性指数的函数为:

$$I = \frac{100}{0.3753 \times e^{-0.001499x_a} + 0.6278} - 100$$

可通过代入当天大气PM2.5浓度计算得出当天大气PM2.5的生物危害性, 可用于跨地区横向比较与跨时间纵向比较, 衡量24小时暴露于PM2.5中对人体呼吸道造成的损伤。

下一步研究工作课通过测量PM2.5对细胞基因表达的影响以衡量PM2.5对细胞的长期损伤, 并将细胞基因表达量关于PM2.5浓度的函数加入生物危害性指数中。

参考文献

- [1] 顾雯,张少平,李毅民,等.利用实时细胞分析法和Alamar Blue法测定雾霾细颗粒物对呼吸系统的细胞毒性[J].卫生研究,2016,45(5):829-833。
- [2] 桑楠,岳慧峰.冬季细颗粒物对人支气管上皮细胞的毒性效应[J].山西大学学报(自然科学版),2017,40(3):615-621。
- [3] 晋小婷,苏瑞军,李卓玉.研究PM_{2.5}诱导的支气管炎症对骨髓间充质干细胞分化的影响及分子毒理[C].中国毒理学会湖北科技论坛.2015。
- [4] 洪志聪,骆献阳,蔡成福,等.大气细颗粒物对人支气管上皮细胞的活性抑制和炎性作用[J].中南大学学报(医学版),2017,42(9):1042-1047。
- [5] 储海燕,华秋翰,陈瑶瑶,等.中国武汉地区空气细颗粒物暴露对人支气管上皮细胞的全基因表达谱分析[C].中国环境科学学会年会.2015。
- [6] 张世鑫,伍立志,陈苘,等.大气细颗粒物及其水提物对人支气管上皮细胞的氧化损伤效应[J].预防医学,2016,28(4):332-335。
- [7] 李娟,杨维超,洪丽娟,等.PM_{2.5}对BEAS-2B细胞脂质过氧化损伤作用[J].中国公共卫生,2014,30(11):1389-1391。
- [8] 芮魏.PM2.5污染特征及其对BEAS-2B和EA.hy926细胞的分子毒性研究[D].中国科学院大学,2015。
- [9] 孙琦.论空气污染对人体健康的影响及防治措施[C]//2013中国环境科学学会学术年会论文集(第七卷).2013。
- [10] 常福聚,赵庆夏.人类呼吸道粘液[J].国际呼吸杂志,1986(4)。