

天然提取物抗 PM_{2.5} 诱导 A549 细胞凋亡的作用

祖桂芳¹, 姜薇², 赵晓红^{1*}, 常迪¹, 申深¹

1. 北京联合大学应用文理学院, 北京 100191

2. 中国科学院化学研究所, 北京 100190

摘要: 采集北京城区大气可吸入颗粒物中的细颗粒物(PM_{2.5}) 用其对人肺腺癌 A549 细胞染毒, 探讨 PM_{2.5} 对细胞增殖的毒性和诱导细胞凋亡的作用, 并且考察了加入不同浓度的红豆越橘提取物和竹叶提取物对其的抗性作用。实验采用 MTT 法检测细胞增殖作用, 采用 Annexin V-FITC/PI 双染法和流式细胞仪检测细胞凋亡。结果显示: PM_{2.5} 浓度 < 150 mg·L⁻¹ 时可刺激 A549 细胞增殖, 而 PM_{2.5} 浓度 ≥ 150 mg·L⁻¹ 时可抑制细胞增殖; 竹叶提取物和红豆越橘提取物浓度 < 200 mg·L⁻¹ 范围内没有明显的细胞毒性作用, 但具有抗 PM_{2.5} 细胞毒性的作用; 与 PM_{2.5} 单独作用组比较, 浓度为 50 mg·L⁻¹ 和 100 mg·L⁻¹ 的竹叶提取物可明显降低细胞凋亡率 ($p < 0.05$); 红豆越橘提取物也能够降低 PM_{2.5} 诱导的 A549 细胞凋亡率, 且有剂量-效应关系 ($r = -0.958$, $p < 0.05$); 在相同浓度下 (50 mg·L⁻¹) 竹叶提取物的拮抗保护能力强于红豆越橘提取物。实验结果表明, 竹叶提取物和红豆越橘提取物的细胞毒性较低, 一定浓度范围内 2 种提取物对 PM_{2.5} 诱导的 A549 细胞凋亡率有拮抗作用。

关键词: 细颗粒物(PM_{2.5}); 竹叶提取物; 红豆越橘提取物; 细胞增殖; 细胞凋亡

文章编号: 1673-5897(2011)6-429-06 中图分类号: R994.6 文献标识码: A

Anti-apoptosis Effect of Natural Extracts on A549 Cell Apoptosis Induced by PM_{2.5}

Zu Guifang¹, Jiang Wei², Zhao Xiaohong^{1*}, Chang Di¹, Shen Shen¹

1. College of Arts and Sciences of Beijing Union University, Beijing 100191, China

2. Institute of Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100190, China

Received 3 December 2010 accepted 13 July 2011

Abstract: The mechanism of cell damage induced by fine particulate matter (PM_{2.5}) and the anti-damage effect produced by natural extracts were studied by human lung carcinoma A549 cells as targets. MTT assay was used to measure the cytotoxicity, and apoptotic rate was detected by flow cytometry with Annexin V-FITC/PI double staining method. The results showed that PM_{2.5} stimulated the proliferation of A549 cells at lower concentration (< 150 mg·L⁻¹), while PM_{2.5} inhibited the proliferation at higher concentration (≥ 150 mg·L⁻¹). No significant cytotoxicity was observed in cells exposed to bamboo leaf extract and lingonberry extract but anti-cytotoxicity effects were shown at concentrations lower than 200 mg·L⁻¹. Compared to the apoptotic rate induced by PM_{2.5}, bamboo leaf extract could significantly decrease the apoptosis at 50 mg·L⁻¹ and 100 mg·L⁻¹ ($p < 0.05$). Lingonberry extract could reduce the apoptosis induced by PM_{2.5} with good dose-response relationship ($r = -0.958$, $p < 0.05$). The anti-apoptosis effect of bamboo leaf extract was higher than that of lingonberry extract at the same concentration (50 mg·L⁻¹). The results suggested that the bamboo leaf extract and lingonberry extract would have no significant cyto-

收稿日期: 2010-12-03 录用日期: 2011-07-13

基金项目: 北京市自然科学基金(7092015);

作者简介: 祖桂芳(1981-), 女, 硕士, 研究方向为细胞生物学, E-mail: zuguifang@163.com; * 通讯作者(Corresponding author), E-mail: xiaohong@ygi.edu.cn

toxicity but have antagonistic effect on PM_{2.5}-induced apoptotic rate in certain concentration range.

Keywords: fine particulate matter (PM_{2.5}); bamboo leaf extract; lingonberry extract; cell proliferation; apoptosis

红豆越橘是一种药食兼用的野生水果,广泛分布在我国东北和新疆地区,资源较为丰富。目前我国的红豆越橘仍然处于野生状态,开发利用潜力很大^[1]。据报道红豆越橘提取物中含有丰富的酚类物质,具有多种生理功能,能够清除自由基,抗脂质过氧化等,还能有效地治疗呼吸道疾病,作为功能食品具有很好的发展前景^[2-4]。目前对越橘活性成分的研究和应用多集中在改善视力,调节微血管血流,抑制自由基对毛细胞血管的损害,抗脂质过氧化作用等方面。有研究报道越橘提取物具有诱导肿瘤细胞 HL-60 凋亡的作用^[5-6]。竹子是禾本科多年生常绿植物,是当今世界最具使用价值的植物之一。早园竹作为主要的观赏竹类,在北京地区分布较为普遍。竹叶黄酮类化合物具有类似 SOD 和 GSH-Px 的作用,能清除人体内活性氧自由基,防止生物膜脂质被超氧自由基($\cdot O_2^-$)和羟基自由基($\cdot OH$)氧化,防止 DNA 受到损伤^[7-8]。有研究显示竹叶总黄酮能明显降低小鼠心肌组织凋亡的发生,抑制 Bax、Cyt-c 和 caspase-3 表达,对心肌缺血/再灌注损伤具有预防作用^[9]。

大气污染现已成为影响人类生存环境和身体健康的主要因素之一。可吸入颗粒物被人吸入后,会累积在呼吸系统中,引发多种疾病。近年来越来越多的流行病学和毒理学资料表明,大气可吸入颗粒物,尤其是空气动力学直径 $\leq 2.5 \mu m$ 的细颗粒物(PM_{2.5})与人类疾病的发病率、死亡率关系极为密切,能引起哮喘,肺功能下降,呼吸系统炎症,甚至累及心血管系统、神经系统和免疫系统,导致癌症的发生^[10-13]。

细胞凋亡是多细胞生物体内一个重要的生命现象,它已成为当前生命科学和医学领域的研究热点。细胞凋亡的动态平衡的失调与许多疾病的发生和发展有着密切的关系。可吸入颗粒物表面所携带的过渡态金属、有机物,以及本身的粒径特征均可引起细胞损伤。活性氧类(reactive oxygen species, ROS)产生之后可以通过 DNA,影响信号的转导,调节钙离子浓度,调节激酶和磷酸酶的活性,活化转录因子等多种途径导致细胞凋亡^[14-15]。以北京城区 PM₁₀ 作用于人胚肺成纤维细胞的研究表明,PM₁₀ 诱导可使细胞凋亡增加,且存在剂量-效应关系,而加入低聚

壳聚糖对 PM₁₀ 诱导的细胞凋亡未见明显抑制作用^[16-17]。而天然提取物抗 PM_{2.5} 诱导细胞凋亡的影响尚未见报道。因此,研究北京城区可吸入颗粒物诱导肺细胞 A549 的细胞凋亡的作用,并考察天然活性物质可否降低颗粒物的损伤作用,具有一定的理论和现实意义。

1 材料与方法(Materials and methods)

1.1 实验材料

细胞株采用人肺腺癌 A549 细胞(由军事医学科学院惠赠);红豆越橘提取物由绿色金可生物技术公司提供。竹叶黄酮提取物:竹叶采于 2008 年 11 月北京鹰山森林公园,竹叶用超声振荡的方法提取竹叶黄酮(提取率为 $2.44 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$)。

1.2 主要试剂

DMEM 培养基购自美国的 Gibco 公司;小牛血清购自杭州江滨生物技术有限公司;胰蛋白酶、四甲基偶氮唑蓝(MTT)和二甲基亚砜(DMSO)均购自美国的 Amresco 公司;Annexin V-FITC 凋亡试剂盒购自北京宝赛生物技术有限公司;碘化丙啶(PI)购自美国的 Sigma 公司,所用试剂均为分析纯。

1.3 主要仪器

TSP/PM₁₀/PM_{2.5}-2 型颗粒物采样器(配以 PM_{2.5} 采样头,兰星迪克科技有限公司,北京);石英滤膜(东洋滤纸株式会社,日本);CO₂ 培养箱(Forma 3110 系列,美国);TE2000-U 倒置显微镜(Nikon,日本);5840R 冷冻离心机(Eppendorf,德国);流式细胞仪(BD 公司,美国);MQX200 微板分光光度计(Bio-Tek,美国)。

1.4 实验方法

1.4.1 颗粒物的采集与制备

2008 年采暖期在北京市海淀区学院路旁 5 楼平台,采用大流量颗粒物采样器连续采样 22 h,间隔为 2 h。将滤膜剪成 1 cm^2 大小,超纯水振荡 1 min,收集洗脱液,6 层无菌纱布过滤,真空冷冻干燥,超低温冰箱避光保存。用时以磷酸缓冲液(PBS)配成 $12 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的颗粒物悬液,灭菌,用前经超声振荡 2 min。

1.4.2 细胞增殖试验(MTT 法)

细胞增殖能力的检测能反映毒物的毒性作用大小,并为其他研究提供最佳作用剂量的选择依据。

具体方法为:取指数生长期的A549细胞,将 1×10^5 mL⁻¹的细胞悬液1 mL,接种于24孔培养板,置于37℃、含5% CO₂的培养箱中培养24 h后,弃上清,用D-Hanks液洗3次,加入不含小牛血清的终浓度分别为0、25、50、100、200、400、800和1 600 μg·mL⁻¹的提取物,每个浓度设3个平行,培养20 h后,弃上清,用D-Hanks洗2次,每孔加入0.9 mL不含小牛血清的培养液和0.1 mL MTT,继续培养4 h,之后3 000 r·min⁻¹离心10 min,弃上清,每孔加入DM-SO 1 mL,震荡待其充分溶解后,取150 μL加入96孔培养板,每孔再设3个平行。微板分光光度计测OD值,激发波长为570 nm,参考波长为630 nm。

1.4.3 细胞凋亡的检测

取指数生长期的细胞,以 1×10^5 mL⁻¹的细胞悬液2 mL,接种于6孔培养板,置于37℃、5% CO₂的培养箱培养24 h后,弃上清,用D-Hanks液洗3次,加入不含小牛血清的样品,每个浓度设3个平行,培养20 h。收集细胞培养液,用PBS洗2次,胰酶消化;将细胞与原细胞培养液混合,1000 r·min⁻¹、4℃条件下离心12 min;用PBS将其重新制成细胞悬液,1000 r·min⁻¹、4℃条件下再次离心12 min,弃去上清液;用200 μL的binding buffer制成细胞悬液,过200目筛后,滤液中加6 μL的Annxin-V,避光静置15 min,再加3 μL的PI后即完成样品前处理,用流式细胞仪检测。

1.5 数据处理

用EXCEL进行数据处理,SPSS13.0进行描述性统计分析。数据表示方法均为Mean ± SD表示,2组均数比较采用t检验;不同样品浓度与对照组比较采用单因素方差分析。

2 结果(Results)

2.1 天然提取物对A549细胞增殖的影响

2.1.1 竹叶提取物对A549细胞增殖的影响

不同浓度的竹叶提取物作用于A549细胞24 h后,对细胞增殖的影响见表1。

由表1可见,竹叶提取物对细胞增殖的影响表现为低浓度(50和100 mg·L⁻¹)有促进细胞增殖的作用,而高浓度(200 mg·L⁻¹以上)有一定程度的抑制作用。与对照组相比,各浓度组均有显著性差异($p < 0.05$),且细胞存活率随浓度增加而降低。

2.1.2 红豆越橘提取物对A549细胞增殖的影响

不同浓度的红豆越橘提取物作用于A549细胞24 h后,对细胞增殖的影响见表2。

表1 不同浓度竹叶提取物对A549细胞增殖的影响

Table 1 Effects of bamboo leaf extract on A549 cell proliferation

剂量/(mg·L ⁻¹)	细胞存活率(Mean ± SD, n=4) / %
0	100.00
50	261.34 ± 11.63*
100	152.62 ± 2.78*
200	80.24 ± 2.35*
400	65.08 ± 5.86*
800	61.99 ± 2.58*
1 600	48.89 ± 1.94*

注:* 与对照比较 $p < 0.05$ 。

表2 不同浓度红豆越橘提取物对A549细胞增殖的影响

Table 2 Effects of lingonberry extract on A549 cell proliferation

剂量/(mg·L ⁻¹)	细胞存活率(Mean ± SD, n=4) / %
50	141.05 ± 1.64*
100	166.43 ± 2.74*
200	255.43 ± 4.20*
400	106.17 ± 4.57*
800	92.17 ± 1.48*
1 600	54.89 ± 2.23*
3 200	43.29 ± 1.25*

注:* 与对照比较 $p < 0.05$ 。

由表2可见,红豆越橘提取物对细胞增殖的影响表现为浓度在50~400 mg·L⁻¹范围内明显促进细胞增殖,细胞存活率最高达255%,而当浓度达到800~3 200 mg·L⁻¹的范围才显示出抑制细胞增殖的作用,且抑制作用有明显的剂量-效应关系($r = 0.96$ $p < 0.05$)。

2.2 天然提取物抗PM_{2.5}细胞毒性的作用

2.2.1 不同处理对A549细胞增殖的影响

考察PM_{2.5}对A549细胞的细胞增殖的影响,以及在该体系中加入天然提取物后细胞增殖的变化,所得结果列于表3。

由表3可见,PM_{2.5}影响A549细胞存活率的规律为低浓度(50和100 mg·L⁻¹)刺激细胞增殖,高浓度(150和200 mg·L⁻¹)抑制细胞增殖,当浓度为200 mg·L⁻¹时细胞存活率明显降低,仅为42.06%。当分别加入100 mg·L⁻¹竹叶提取物和红豆越橘提取物后,对PM_{2.5}所致的细胞毒性作用有明显的抵抗作用,细胞存活率极明显升高($p < 0.01$)。

表3 不同处理对 A549 细胞增殖的影响
Table 3 Effects of different treatments
on A549 cell proliferation

剂量/($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	细胞存活率(Mean \pm SD, n=4) /%		
	PM _{2.5}	PM _{2.5} + 竹叶 提取物 (100 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	PM _{2.5} + 红豆 越橘提取物 (100 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)
0	100	166.43 \pm 2.74*	152.62 \pm 2.78*
50	118.38 \pm 2.29	98.52 \pm 1.99	113.12 \pm 4.54
100	105.07 \pm 1.93	102.06 \pm 2.47	107.33 \pm 9.14
150	93.57 \pm 0.76	108.88 \pm 3.57	96.20 \pm 2.11
200	42.06 \pm 5.63	86.77 \pm 6.41 ##	82.88 \pm 4.52 ##

注: * 与对照比较 $p < 0.05$; ## 与只加 PM_{2.5} 的实验组比较 $p < 0.01$ 。

2.2.2 竹叶提取物抗 PM_{2.5} 诱导细胞凋亡的作用

以 $200 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ PM_{2.5} 作为损伤模型,将 50、100 和 $150 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的竹叶提取物提前 1 h 加入 A549,观察其对 A549 细胞凋亡的影响,结果见图 1。

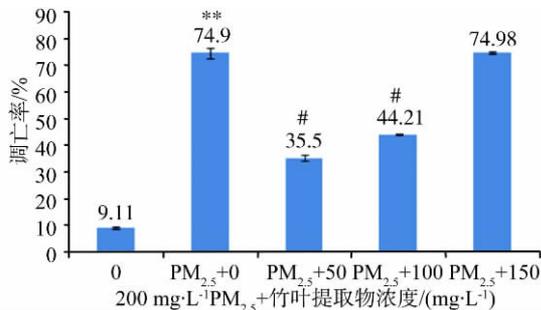


图1 不同浓度的竹叶提取物对 PM_{2.5} 诱导的 A549 细胞凋亡的影响

注: ** 与对照比较 $p < 0.01$ # 与 PM_{2.5} 单独作用比较 $p < 0.05$ 。

Fig. 1 Effects of different concentrations of bamboo leaf extract on PM_{2.5}-induced A549 apoptosis

由图 1 可以看出,与对照组比较,PM_{2.5} 的加入导致 A549 细胞凋亡率明显增加,差异极显著 ($p < 0.01$)。而与未加提取物的 PM_{2.5} 诱导的 A549 细胞凋亡结果相比,加入浓度为 50 和 $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的竹叶提取物后,能明显降低细胞凋亡率 ($p < 0.05$)。以 $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度组作用最明显,但随竹叶提取物浓度增加,保护作用降低, $150 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时对细胞的凋亡率无明显影响,与单独 PM_{2.5} 作用组比较无显著性差异 ($p > 0.05$),说明竹叶提取物的有效剂量范围较小 ($50 \sim 100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)。

2.2.3 红豆越橘提取物抗 PM_{2.5} 诱导细胞凋亡的作用

以 $200 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ PM_{2.5} 作为损伤模型,将 100、200 和 $400 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的红豆越橘提取物提前 1 h 加入 A549,观察其对 A549 细胞凋亡的影响,结果见图 2。

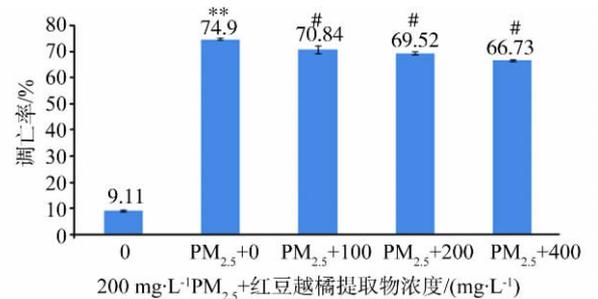


图2 不同浓度的红豆越橘提取物对 PM_{2.5} 诱导的 A549 细胞凋亡的影响

注: ** 与对照比较 $p < 0.01$ # 与 PM_{2.5} 单独作用比较 $p < 0.05$ 。

Fig. 2 Effects of different concentrations of lingonberry extract on PM_{2.5}-induced A549 apoptosis

由图 2 可以看出,当加入红豆越橘提取物后,与单独 PM_{2.5} 作用下的 A549 细胞凋亡率相比,细胞凋亡率明显降低,差异显著 ($p < 0.05$),且随提取物浓度增加,细胞凋亡率逐渐降低,显示出剂量-效应关系 ($r = -0.958$, $p < 0.05$)。但在相同浓度下与竹叶提取物相比,对细胞凋亡的降低作用没有竹叶提取物明显。

3 讨论(Discussion)

细胞增殖是生物体生长、发育、繁殖和遗传的基础。凡是影响细胞增殖的因素,都能影响细胞的生长速度。检测细胞增殖能力是细胞毒理学常用的手段和方法,能反映受试物的毒性大小。

本实验选用人肺泡上皮细胞株 A549 作为体外培养细胞模型^[18],同时引入大气可吸入颗粒物 PM_{2.5} 考察其对 A549 细胞的细胞增殖损伤,观察竹叶提取物和红豆越橘提取物对细胞增殖率的影响。分析结果认为,天然提取物单独作用于 A549 细胞时,竹叶提取物和红豆越橘提取物在低浓度水平下 ($50 \sim 100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 没有明显细胞毒性作用。低浓度的 PM_{2.5} 可刺激 A549 细胞增殖,高浓度的 PM_{2.5} 则抑制 A549 细胞增殖。加入竹叶和红豆越橘提取物进行干预,在一定浓度下均可不同程度地降低 PM_{2.5} 对细胞的毒性作用,在一定程度上减轻了

PM_{2.5}对A549细胞造成的损伤。

细胞凋亡是一种由凋亡相关基因调节控制的主动过程,对多细胞生物的发展和维持非常重要^[19]。本实验采用流式细胞技术^[20]对A549细胞凋亡情况进行检测。分析实验结果认为,与PM_{2.5}颗粒物单独作用比较,加入浓度为50和100 mg·L⁻¹的竹叶提取物均可使PM_{2.5}诱导的细胞凋亡率显著性降低($p < 0.05$),说明竹叶提取物对颗粒物引起的细胞凋亡有一定的保护作用。红豆越橘提取物也能够使PM_{2.5}诱导的A549细胞凋亡率显著性降低,但作用没有竹叶提取物的保护作用强。

本研究结果表明,竹叶提取物和红豆越橘提取物细胞毒性比较低,在一定浓度范围内能促进A549细胞增殖。一定浓度范围内的竹叶提取物对PM_{2.5}诱导的A549细胞凋亡有拮抗作用;红豆越橘提取物对由PM_{2.5}诱导的A549细胞晚期凋亡也有一定的拮抗作用,但没有竹叶提取物的保护作用明显。竹叶提取物活性物质主要是黄酮类物质^[7],红豆越橘提取物中主要含有花青素和多酚类物质^[2],不同提取物对A549细胞凋亡保护作用不同可能与其活性成分不同有关,对其保护作用的机制还需做进一步的研究。

通讯作者简介:赵晓红(1961—),女,博士,研究员,主要从事环境与食品毒理方面的研究。

参考文献:

- [1] 曲路平,赵树春,李亚东,等. 红豆越橘的调查研究[J]. 吉林农业大学学报,1990,12(3): 26-30
- [2] 祖桂芳,赵晓红,崔胜楠. 红豆越橘活性成分研究及开发利用[J]. 生命科学,2009,21(1): 151-155
Zu G F, Zhao X H, Cui S N. Research of active substances about *Vaccinium vitis-idaea* L. and its development and application [J]. Chinese Bulletin of Life Sciences, 2009, 21(1): 151-155 (in Chinese)
- [3] Wang S Y, Feng R, Bowman L, et al. Antioxidant activity in lingonberries (*Vaccinium vitis-idaea* L.) and its inhibitory effect on activator protein-1, nuclear factor- κ B, and mitogen-activated protein kinases activation [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2005, 53(8): 3156-3166
- [4] Zheng W, Wang S Y. Oxygen radical absorbing capacity of phenolics in blueberries, cranberries, chokeberries, and lingonberries [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003, 51(2): 502-509
- [5] 李颖畅,孟宪军. 蓝莓花色苷抗氧化活性的研究[J]. 食品与发酵工业,2007,33(9): 61-64
Li Y C, Meng X J. Studies on the antioxidant activity of anthocyanins from blueberry [J]. Food and Fermentation Industries, 2007, 33(9): 61-64 (in Chinese)
- [6] 潘一峰,瞿伟菁,顾于蓓,等. 越桔果渣中黄酮类成分抗氧化活性的研究[J]. 食品科学,2005,26(10): 206-210
Pan Y F, Qu W J, Gu Y B, et al. Research on the anti-oxidation effects of flavonoids from fruit residues of *Vaccinium vitis-idaea* L. [J]. Food Science, 2005, 26(10): 206-210 (in Chinese)
- [7] 郝培应,徐有明,皮忠来. 竹类植物衍生物的生理活性及其疗效的研究进展[J]. 世界林业研究,2004,17(3): 21-24
Hao P Y, Xu Y M, Pi Z L. Advances in studying on physiological activity and curative effect of bamboo derivatives [J]. World Forestry Research, 2004, 17(3): 21-24 (in Chinese)
- [8] 刘璇,米生权,张宇轩,等. 北京早园竹叶提取物的抗氧化活性研究[J]. 环境与健康杂志,2009,26(3): 239-241
Liu X, Mi S Q, Zhang Y X, et al. Anti-oxidative activity of extract of north *Ph. Praecox* leaves [J]. Journal of Environment and Health, 2009, 26(3): 239-241 (in Chinese)
- [9] 付晓春,王希,郑辉,等. 竹叶总黄酮抗大鼠心肌细胞凋亡作用的研究[J]. 中西医结合心脑血管病杂志,2007,5(2): 125-126
Fu X C, Wang X, Zheng H, et al. Anti-myocardial apoptosis of bamboo leaves flavonoid [J]. Chinese Journal of Integrative Medicine on Cardio-/Cerebrovascular Disease, 2007, 5(2): 125-126 (in Chinese)
- [10] Ballester F, Tenías J M, Pérez-Hoyos S. Air pollution and emergency hospital admissions for cardiovascular diseases in Valencia, Spain [J]. Journal of Epidemiology & Community Health, 2001, 55: 57-65
- [11] Samoli E, Analitis A, Touloumi G, et al. Estimating the exposure-response relationships between particulate matter and mortality within the APHEA Multicity Project [J]. Environmental Health Perspectives, 2005, 113(1): 88-95
- [12] Ostro B, Broadwin R, Green S, et al. Fine particulate air pollution and mortality in nine California counties: Results from CALFINE [J]. Environmental Health Perspectives, 2006, 114(1): 29-33
- [13] 钱孝琳,阚海东,宋伟民,等. 大气细颗粒物污染与居民每日死亡关系的Meta分析[J]. 环境与健康杂志,2005,22(4): 246-248
Qian X L, Kan H D, Song W M, et al. Meta-analysis of association between air fine particulate matter and daily mortality [J]. Journal of Environment and Health, 2005, 22(4): 246-248

- (in Chinese)
- [14] 曹阳, 祁俊生, 王远亮. 自由基介导细胞凋亡的机制[J]. 重庆三峡学院学报, 2004, 20(3): 118-122
Cao Y, Qi J S, Wang Y L. Mechanisms of inducing apoptosis by free radical [J]. Journal of Chongqing Three Gorges University, 2004, 20(3): 118-122 (in Chinese)
- [15] Laing S, Wang G H, Briazova T, et al. Airborne particulate matter selectively activates endoplasmic reticulum stress response in the lung and liver tissues [J]. American Journal of Physiology Cell Physiology, 2010, 299(4): C736-C749
- [16] 米生权, 赵晓红, 陶燕, 等. 城市大气 PM₁₀ 对 HLF 细胞增殖和细胞周期与凋亡及细胞内钙离子浓度的影响[J]. 环境与职业医学, 2005, 22(5): 417-419, 423
Mi S Q, Zhao X H, Tao Y, et al. Exploring urban inhalable particle matter PM₁₀ on mechanisms of cell toxicity to HLF cells [J]. Journal of Labour Medicine, 2005, 22(5): 417-419, 423 (in Chinese)
- [17] 赵晓红, 米生权, 郝云婕. PM₁₀ 诱导人胚肺成纤维细胞自由基产生与其凋亡的作用[J]. 环境与健康杂志, 2005, 22(6): 427-430
Zhao X H, Mi S Q, Hao Y J. Reactive oxygen radicals generation and apoptosis in HLF cells induced by PM₁₀ [J]. Journal of Environment and Health, 2005, 22(6): 427-430 (in Chinese)
- [18] 刘茜, 刁路明, 吕秀红. 熊果酸对 A549 细胞增殖、凋亡的影响及其机制[J]. 肿瘤防治研究, 2006, 33(11): 802-804, F0003
Liu Q, Diao L M, Lv X H. Effects of ursolic acid on proliferation, apoptosis of human non-small cell lung cancer A549 cells and possible mechanism [J]. Cancer Research on Prevention and Treatment, 2006, 33(11): 802-804, F0003 (in Chinese)
- [19] Dagher Z, Garçon G, Billet S, et al. Role of nuclear factor- κ B activation in the adverse effects induced by air pollution particulate matter (PM_{2.5}) in human epithelial lung cells (LI32) in culture [J]. Journal of Applied Toxicology, 2007, 27(3): 284-290
- [20] 阮红梅, 张奇亚. 流式细胞术在细胞凋亡研究中的应用[J]. 动物医学进展, 2005, 26(3): 12-15
Ruan H M, Zhang Q Y. Application of flow cytometry in the study of apoptosis [J]. Progress in Veterinary Medicine, 2005, 26(3): 12-15 (in Chinese)