

## 白藜芦醇在PM2.5诱导的气道炎症中的作用

袁亚连，李炎玉，苏燕玉，吕权超，蔡欣（广东医科大学附属医院呼吸疾病研究所，广东湛江 524001）

**摘要：**目的 探讨白藜芦醇(Res)对PM2.5诱导气道上皮细胞IL-8表达的影响。方法 先用不同浓度PM2.5刺激人气道上皮细胞株16HBE，再将16HBE细胞分为PM2.5组(75 mg/L)、Res+PM2.5组(100 μmol/L Res+75 mg/L PM2.5)、空白对照组，分别用荧光定量PCR、ELISA检测IL-8表达。结果 PM2.5呈浓度和时间依赖性刺激16HBE细胞表达IL-8，Res+PM2.5组中IL-8表达明显低于PM2.5组( $P<0.05$ )。结论 Res可能通过抑制气道上皮细胞表达IL-8，进而减轻PM2.5诱导的气道炎症反应。

**关键词：**白藜芦醇；气道炎症；PM2.5；IL-8

中图分类号：R 562.1<sup>+1</sup>

文献标识码：A

文章编号：2096-3610(2017)05-0487-03

### Role of resveratrol in PM2.5 induced airway inflammation

YUAN Ya-lian, LI Yan-yu, SU Yan-yu, LV Quan-chao, CAI Xin (Institute of Respiratory Diseases, Affiliated Hospital of Guangdong Medical University, Zhanjiang 524001, China)

**Abstract:** Objective To investigate the effect of resveratrol on IL-8 expression of airway epithelial cells induced by PM2.5. Methods 16HBE cells (human airway epithelial cell line) were stimulated with different concentrations of PM2.5, and then were divided into 3 groups: PM2.5 group (75 mg/L), resveratrol +PM2.5 group (100 μmol/L resveratrol + 75 mg/L PM2.5), and blank control group. IL-8 expression was detected by fluorescent quantitative PCR and ELISA. Results PM2.5 induced IL-8 expression of 16HBE cells in a dose and time dependent manner. IL-8 expression was lower in resveratrol +PM2.5 group than in PM2.5 group ( $P<0.05$ ). Conclusion Resveratrol may alleviate PM2.5-induced airway inflammatory reaction via inhibiting IL-8 expression of epithelial cells.

**Key words:** resveratrol; airway inflammation; PM2.5; IL-8

近年来大气污染越来越严重，其中以细颗粒物(PM)的污染尤为明显。多项研究<sup>[1-3]</sup>发现，PM与呼吸系统疾病、心血管疾病及癌症的发病密切相关，长期暴露PM2.5刺激下可增加气道高反应性，并可诱发中性粒细胞性气道炎症。白藜芦醇(resveratrol, Res)是一种天然小分子化合物，称为非黄酮类多酚化合物，多项研究<sup>[4-5]</sup>发现其对炎症、肿瘤等多种疾病中具有良好的治疗作用，这可能与其具有抗氧化、抗炎、抑制肿瘤活性以及改善细胞内能量代谢等作用相关。PM可诱导中性粒细胞性气道炎症，白藜芦醇具有抗炎作用，而白藜芦醇在PM诱导的气道

炎症中的作用目前尚未对此有报道。本文拟以空气动力学直径≤2.5 μm的悬浮颗粒物PM2.5作为研究对象，研究白藜芦醇在PM2.5诱导的气道炎症中的作用。

### 1 材料和方法

#### 1.1 实验材料和化学试剂

16HBE细胞(美国ATCC)，细胞培养液改良型1640(Hyclone公司提供)；胰蛋白酶、胎牛血清(Gibco公司提供)，双抗(青霉素、链霉素)；Res、PM2.5(sigma公司提供)；PBS(Hyclone公司提供)；PrimeScriptTM RT reagent Kit(中国TAKARA)；SYBRR Premix Ex TaqTM II(中国TAKARA)。酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒(R&D有限公司提供)；TRE-trizol(Invitrogen公司提供)，q-PCR引物(上海生物科技有限公司合成)。

#### 1.2 细胞培养及加药

基金项目：广东医科大学创新强校项目(No.4CX14115G)，  
国家自然科学基金面上项目(No.81670025)

收稿日期：2017-07-02；修订日期：2017-09-22

作者简介：袁亚连(1987-)，女，硕士，住院医师。

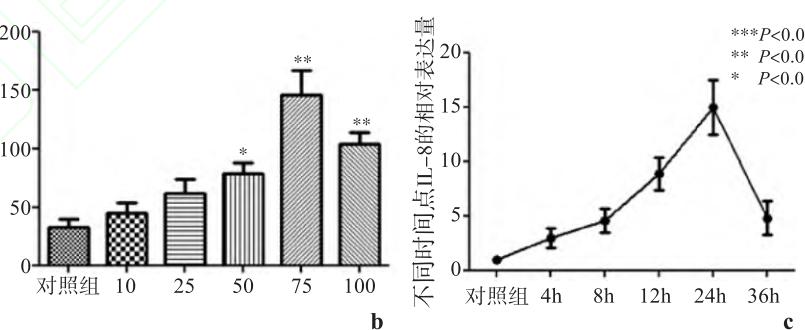
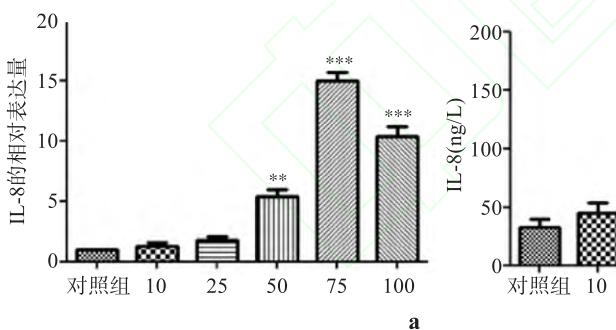
通信作者：蔡欣，硕士，主治医师，

E-mail: 3064264@qq.com。

人气道上皮细胞(16HBE细胞)用含10%胎牛血清1640培养液,于37℃、5%CO<sub>2</sub>条件下培养,细胞融合80%~90%时用0.25%胰蛋白酶消化传代或用于实验。取对数生长期的16HBE细胞,以4×10<sup>5</sup>个/mL密度的细胞悬液接种至6孔培养板,于37℃、5%CO<sub>2</sub>条件下培养24 h。首先予不同质量浓度(10、25、50、75、100 mg/L)的PM2.5刺激16HBE24 h,收集细胞RNA及培养基上清,通过qPCR和ELISA方法检测IL-8的表达水平,摸索PM2.5的最佳质量浓度,发现IL-8的表达呈PM2.5质量浓度依赖,其中75 mg/L PM2.5为最佳质量浓度。然后将实验分为PM2.5组(75 mg/L)、Res+PM2.5组(100 μmol/L Res+75 mg/L PM2.5)、空白对照组(DMSO),其中Res+PM2.5组、空白对照组分别先予100 μmol/L Res、DMSO 2 μL预处理2 h,然后同时加入PM2.5刺激细胞24 h,收集培养基上清和提取细胞RNA,通过ELISA、qPCR检测IL-8的表达。

### 1.3 检测细胞炎症因子表达水平

收集上述3组细胞,Trizol法提取细胞的总RNA,检测RNA的纯度之后按照PrimeScriptTM RT reagent Kit逆转录试剂盒操作步骤对RNA进行逆转录,荧光定量PCR检测IL-8基因的相对表达量。吸取各组细胞上清液,根据IL-8 ELISA试剂盒实验步骤检测细胞分泌IL-8蛋白水平。



### 1.4 统计学处理

应用Graphpad Prism 5.0统计软件进行统计学分析,所有数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间计量资料采用t检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 PM2.5诱导人气道上皮细胞分泌炎症因子IL-8

予不同质量浓度PM2.5(10、25、50、75、100 mg/L)刺激16HBE24 h,收集样本,通过qPCR、ELISA方法检测发现IL-8的表达呈质量浓度依赖,其中75 mg/L PM2.5为最佳质量浓度,IL-8mRNA水平较正常对照组升高约15倍( $P<0.01$ )。予75 mg/L PM2.5刺激细胞4、8、16、24、36 h,结果显示IL-8的表达呈时间依赖。详见图1。

### 2.2 白藜芦醇可抑制PM2.5诱导的人气道上皮细胞炎症因子IL-8的表达

与空白对照组相比,PM2.5组中IL-8的表达量升高约15倍( $P<0.01$ );与PM2.5组相比Res+PM2.5组中IL-8的表达量明显降低( $P<0.05$ )。详见图2。

## 3 讨论

本研究中我们主要探讨Res在PM2.5诱导的气道炎症中的作用。本实验用的PM2.5是空气动力学直径≤2.5 μm的悬浮颗粒物,国内学者研究发现PM2.5

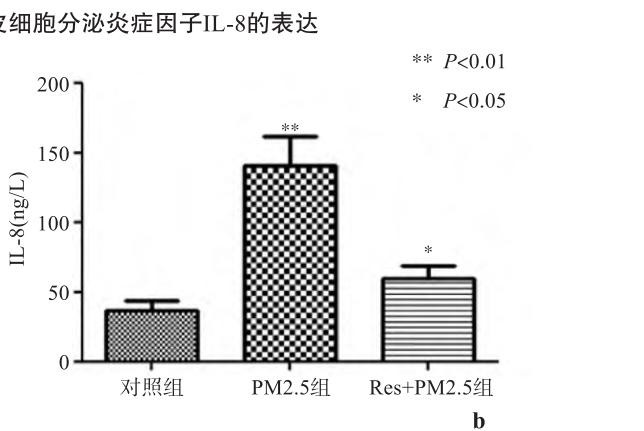
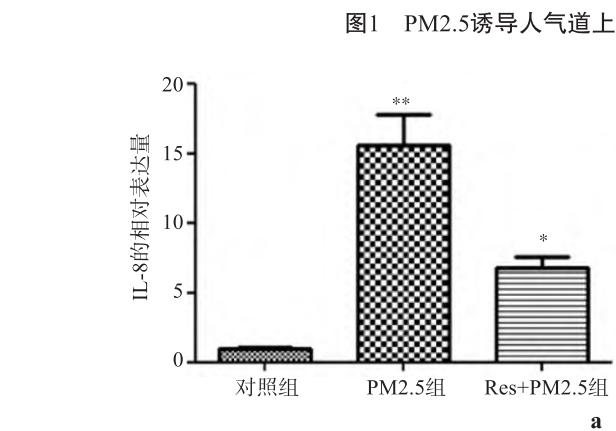


图1 PM2.5诱导人气道上皮细胞分泌炎症因子IL-8的表达

图2 白藜芦醇可抑制PM2.5诱导的人气道上皮细胞炎症因子IL-8的表达

能够引起A549细胞内IL-1 $\beta$ 基因表达水平上调<sup>[6]</sup>。王雪艳等<sup>[7]</sup>研究阐明PM2.5使过敏性哮喘大鼠的气道病理改变加重、外周血白细胞和BALF中EOS增高。另外有研究表明PM长期暴露可刺激气道高反应性,诱导中性粒细胞性气道炎症<sup>[8]</sup>。

IL-8是一种对中性粒细胞有趋化作用的蛋白质,它能促进钙动员,使细胞形态发生改变,细胞脱颗粒增强,刺激组胺释放和分泌炎性介质及黏附分子等,启动炎症反应<sup>[9-10]</sup>。我们的研究中发现PM2.5可诱导人气道上皮细胞分泌炎症因子IL-8,与Yan等<sup>[11]</sup>的研究结果一致,然而白藜芦醇对PM2.5诱导的气道炎症中的作用目前尚未见文献报道。

白藜芦醇是一种天然小分子化合物,广泛存在于各种水果和蔬菜中,尤其是葡萄,具有抗炎、抗氧化的多种作用,用途广泛。目前多个研究发现白藜芦醇可减轻炎性因子对机体的损害。Birrell等<sup>[12]</sup>证明白藜芦醇在脂多糖诱导的小鼠肺损伤中具有抗炎的作用;李玉屏<sup>[13]</sup>研究发现白藜芦醇减轻COPD内质网应激诱导的肺泡上皮细胞凋亡。本研究予白藜芦醇预处理细胞后再予PM2.5刺激细胞,IL-8的表达水平比PM2.5组的明显降低,这说明白藜芦醇可抑制PM2.5诱导的细胞炎性因子IL-8的分泌。

综上所述,本研究发现白藜芦醇在PM2.5诱导的气道炎症的发生中起保护作用,为治疗PM2.5引起的气道炎症提供新药物,但其具体的机制尚需要进一步研究。

## 参考文献:

- [1] Badyda A J, Grellier J, Dabrowiecki P. Ambient PM2.5 exposure and mortality due to lung cancer and cardiopulmonary diseases in polish cities[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2017, 944: 9-17.
- [2] D'Amato G, Vitale C, De Martino A, et al. Effects on asthma and respiratory allergy of climate change and air pollution [J]. *Multidiscip Respir Med*, 2015, 10(1): 39.
- [3] 薛丹, 刘学军, 杜毓锋, 等. PM2.5激活内质网应激诱导肺组织细胞凋亡对慢性阻塞性肺疾病大鼠的影响[J]. 国际呼吸杂志, 2016, 36(12): 907-914.
- [4] Knobloch J, Wahl C, Feldmann M, et al. Resveratrol attenuates the release of inflammatory cytokines from human bronchial smooth muscle cells exposed to lipoteichoic acid in chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 2014, 114(2): 202-209.
- [5] Liu H, Ren J, Chen H, et al. Resveratrol protects against cigarette smoke-induced oxidative damage and pulmonary inflammation[J]. *J Biochem Mol Toxicol*, 2014, 28(10): 465-471.
- [6] 杨拉维, 王亚红, 杨腾, 等. PM<sub>2.5</sub>对A549细胞IL-1 $\beta$ 表达的影响[J]. 环境卫生学杂志, 2015(6): 493-497.
- [7] 王雪艳, 刘戈力, 刘长山. PM2.5对哮喘大鼠气道炎症的影响[C]. 沈阳: 免疫学及变态反应学术会议: 2015.
- [8] D'Amato G, Cecchi L, D'Amato M, et al. Urban air pollution and climate change as environmental risk factors of respiratory allergy: an update[J]. *J Investig Allergol Clin Immunol*, 2010, 20(2): 95-102.
- [9] Standiford T J, Kunkel S L, Strieter R M. Interleukin-8: a major mediator of acute pulmonary inflammation[J]. *Reg Immunol*, 1993, 5(3-4): 134-141.
- [10] Strieter R M. Interleukin-8: a very important chemokine of the human airway epithelium[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2002, 283(4): L688-L689.
- [11] Yan Z, Wang J, Li J, et al. Oxidative stress and endocytosis are involved in upregulation of interleukin-8 expression in airway cells exposed to PM2.5[J]. *Environ Toxicol*, 2016, 31(12): 1869-1878.
- [12] Birrell M A, Mccluskie K, Wong S, et al. Resveratrol, an extract of red wine, inhibits lipopolysaccharide induced airway neutrophilia and inflammatory mediators through an NF-kappaB-independent mechanism[J]. *FASEB J*, 2005, 19(7): 840-841.
- [13] 李玉屏. 白藜芦醇减轻COPD内质网应激诱导的肺泡上皮细胞凋亡研究[D]. 长沙: 中南大学, 2013.