

文章编号:1006-3617(2006)02-0089-04

中图分类号:X513

文献标识码:A

【论著】

汽车尾气中含铂颗粒物与非含铂颗粒物肺毒性比较

张澍¹, 李晓林², 林兆川¹, 宋伟民^{1*}

摘要: [目的] 探讨使用三元催化转换器(TWC)后汽车尾气中含铂颗粒物与未使用TWC的汽车尾气中非含铂颗粒物肺毒性的差异。[方法] 选择雄性Wistar大鼠(每组6只,8组),分别气管滴注低(1.6 mg/kg体重)、中(8 mg/kg体重)、高(40 mg/kg体重)剂量的含铂和非含铂颗粒物,另设生理盐水组和空白对照组。气管一次滴注量为1.5 ml/kg体重,连续3 d。计算肺灌洗液中各类白细胞百分比,测定乳酸脱氢酶(LDH)、酸性磷酸酶(ACP)等细胞毒性及细胞氧化损伤指标,计算2种颗粒物的毒性指数,并进行比较。[结果] 2种颗粒物中、高剂量染毒组肺灌洗液中细胞毒性指标及细胞氧化损伤情况均有不同程度的升高,呈一定的剂量反应关系;但非含铂颗粒物的各指标变化程度大于含铂颗粒物,毒性指数也大于含铂颗粒物。[结论] 汽车尾气中非含铂颗粒物的肺毒性大于含铂颗粒物,可能是由于较强的氧化损伤能力造成的。

关键词: 三元催化转换器; 含铂颗粒物; 非含铂颗粒物; 毒性指数

Comparison of Pulmonary Toxicity Induced by Platinic and Non-platinic Particles Emitted from Motor Vehicle Exhaust ZHANG Shu¹, LI Xiao-lin², LIN Zhao-chuan¹, SONG Wei-ming^{1*} (1. Department of Environmental Health, Fudan University, Shanghai 200032, China; 2. Shanghai Institute of Applied Physics, Shanghai 201800, China)

Abstract: [Objective] To compare the pulmonary toxicity of particles emitted from motor vehicle with and without three-way catalyst. [Methods] Wistar rats were instilled via trachea with suspensions of two kinds of particles. The indexes in bronchoalveolar lavage fluid (BALF) were determined and the toxicity indexes (TI) were calculated. [Results] The indexes in all exposed groups were significantly higher than those in the control group with the dose-response relationships. The index changes induced by non-platinic particles were greater than those induced by platinic particles. [Conclusion] The pulmonary toxicity induced by non-platinic particles is higher than that of platinic particles.

Key Words: three-way catalyst (TWC); platinic particles; non-platinic particles; toxicity index (TI)

三元催化转换器(TWC)1975年起在美国使用,至今已有近30年;在欧洲使用了10多年;我国自2004年7月1日起在全国范围内开始实施相当于欧洲II号标准的国家机动车污染物排放标准第二阶段限值(简称国2标准),而北京市和上海市已分别于2002年8月和2003年3月提前实施欧洲II号标准。与此同时,我国机动车数量也大大增加,2002年,已达6800多万辆,是1990年的4倍多;2002年底,上海机动车数量已超过120万辆,且以每年10%以上的速度递增;这就意味着大量配有TWC的汽车将在我国投入生产和使用。TWC^[1]由金属外壳、陶瓷格栅基底和大约2g左右的铂涂层(作为催化剂)组成;能降低机动车所排废气中的3种主要污染物(HC、CO和NO_x)

约90%,因此,配有TWC的汽车所释放出的尾气颗粒物中的有机物含量有所降低;但在净化尾气同时,由于高温、化学反应、机械摩擦等原因,而使得金属催化剂涂层损耗,并附着于尾气颗粒物排放出来,形成新的尾气颗粒物——含铂颗粒物。资料表明^[2-5],使用TWC之前,空气中铂浓度均在检测限以下;使用之后,环境中铂浓度上升了10倍甚至100倍。2001年全世界由汽车催化转换器释放出的铂量达0.5吨^[6]。随着越来越多配有TWC的汽车在世界范围内生产、销售、使用,其释放出的含铂颗粒物与未配备TWC的汽车所释放出的非含铂颗粒物相比较,它们对健康影响有何不同,这一问题逐渐引起人们的关注。

为此,本次研究通过两种不同尾气颗粒物悬浮液气管滴注大鼠作为急性染毒方式,研究含铂颗粒物和含铂颗粒物的细胞损伤和氧化损伤程度有何不同,从而进一步解释两种颗粒物对人群健康的危害程度,更好地保护人类健康。

1 材料与与方法

1.1 尾气颗粒物的采样和处理

于2004年11月起,在汽油车标准实验台架上,发动机处于全速状态下(所用汽油均为93#汽油),用铜管将尾气从排气

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(编号:10375084;30271106;10490182)

作者简介: 张澍(1980-),女,硕士生,研究方向:环境毒理学

***通讯作者**(Correspondent author): 宋伟民教授, E-mail: wmsong@shmu.edu.cn

作者单位: 1.上海市复旦大学公共卫生学院,上海 200032; 2.中国科学院上海应用物理研究所,上海 201800

管引出,接冷凝器、水气分离器后导入一密封箱内,通过已校正的CYQ26型大流量空气采样器收集颗粒物于200×250 mm²玻璃纤维滤膜上。采样前,滤膜置于180℃恒温箱中1~2 h,冷却后置于干燥器中,恒重后,称重。对配有和未配有TWC的汽车分别采样。

将载有颗粒物的滤膜剪裁成1 cm×3 cm大小,浸入去离子蒸馏水中,超声振荡(40 min×3次),洗脱颗粒物,震荡液经6层纱布过滤,冷冻真空干燥,低温冰箱保存备用。用生理盐水配成所需浓度(低、中、高剂量组分别为:1.07、5.33、26.7 mg/ml)后,超声震荡15 min,混匀,4℃保存。临用前振荡使颗粒物充分混匀。

1.2 试验动物分组和染毒

SPF级12周雄性Wistar大鼠,由中科院实验动物部提供。随机分成8组,每组6只,含铂和非含铂颗粒物染毒剂量均分3组:低剂量组,1.6 mg/kg体重;中剂量组,8.0 mg/kg体重;高剂量组,40.0 mg/kg体重;另设生理盐水对照组和空白对照组。染毒方法为气管滴注染毒,气管一次滴注量为1.5 ml/kg体重,连续染毒3 d。

1.3 肺灌洗和灌洗液(BALF)成分分析

1.3.1 肺灌洗液提取及处理 染毒结束24 h后,用10%水合氯醛麻醉大鼠,腹主动脉取血处死,以止血钳夹闭左主支气管,暴露气管,剪一斜口,插入带有聚乙烯管的肺灌洗针头,结扎固定。缓慢注入磷酸缓冲液(PBS)5 ml,然后缓慢抽出灌洗液,边操作边轻轻按摩胸部以增加灌洗液的洗出率。提取的肺灌洗液(BALF)立即分0.5 ml在5 ml离心管里,常温保存用于LDH测定。剩余部分经4℃1 000 r/min离心10 min,下层细胞沉淀用PBS调整细胞浓度至1×10⁶/ml,用于进行细胞涂片,Giemsa染色后进行白细胞分类计数,计数500个细胞,计算

BALF中各类细胞的百分比;将上清取出,再以10 000 r/min离心20 min取上清,分装成2管,保存于-20℃待测各项生化指标。

1.3.2 生化指标测定 灌洗液中生化指标包括乳酸脱氢酶(LDH)、酸性磷酸酶(ACP)、碱性磷酸酶(AKP)、唾液酸(SA)、白蛋白(ALB)、总蛋白(TP)、超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)含量的测定,测定试剂盒均由南京建成生物制品研究所提供,严格按照试剂盒说明书测定上述指标。

1.3.3 毒性指数^[7]计算 采用毒性指数(Toxicity index, TI)将各项指标综合,计算公式为:

$$TI = \sum Wi \left(\frac{Ei}{Ci} \right)$$

式中,Ci为生理盐水对照组各项指标测定值;Ei为试验组各项指标测定值;Wi为各项指标权重,根据各项指标毒理学意义及灵敏度确定如下:LDH 0.25, ACP 0.15, AKP 0.08, ALB 0.10, TP 0.15, SA 0.12, AM% 0.15。

1.4 统计分析

用SPSS11.5统计软件进行数据的录入和处理,各组均数比较采用单因素方差分析。

2 结果

2.1 细胞计数

由表1可见,非含铂颗粒物在低剂量时即出现随染毒浓度的增加BALF中巨噬细胞分类计数(%)下降,中性粒细胞分类计数(%)升高的变化,而含铂颗粒物在高剂量时方呈现此变化;且含铂颗粒物各染毒组白细胞分类变化程度小于非含铂颗粒物相应剂量染毒组。各组淋巴细胞分类计数与对照组比较未见明显差异。

表1 肺灌洗液中细胞分类计数结果($\bar{x} \pm s$, %)

Table 1 The sorts of WBC in BALF (mean ± SD, %)

组别(Group)	颗粒物剂量(Dose, mg/kg)	巨噬细胞(AM)	中性粒细胞(PMN)	淋巴细胞(LC)	其他(Others)
空白对照组(Blank control)	0.0	77.23 ± 2.12	12.17 ± 1.70	8.33 ± 0.85	2.27 ± 0.33
生理盐水组(Negative control)	0.0	77.40 ± 1.91	11.67 ± 0.99	8.37 ± 0.80	2.57 ± 0.48
含铂颗粒物	1.6	78.17 ± 1.33	11.50 ± 1.06	7.93 ± 0.50	2.40 ± 0.54
Platinic particles	8.0	75.87 ± 2.27	13.60 ± 2.49*	8.20 ± 0.89	2.33 ± 0.37
	40.0	73.73 ± 1.90**	15.37 ± 1.12**	8.63 ± 0.87	2.27 ± 0.48
非含铂颗粒物	1.6	75.13 ± 2.17**	13.90 ± 1.26**	8.57 ± 0.99	2.40 ± 0.47
Non-platinic particles	8.0	72.37 ± 0.51***	17.13 ± 0.71****	8.23 ± 0.51	2.27 ± 0.55
	40.0	67.40 ± 2.46****	22.37 ± 2.35****	7.80 ± 0.79	2.43 ± 0.46

[注]*:与生理盐水组比较(Compared with negative control group), $P < 0.05$; **: $P < 0.01$ 。#:与含铂颗粒物相应剂量组比较(Compared with the same dose group of platinic particles), $P < 0.05$; ##: $P < 0.01$

2.2 生化指标

2.2.1 肺灌洗液中的细胞损伤指标 表2结果显示: BALF中LDH、ACP、AKP、ALB、TP、SA各指标,含铂颗粒物高剂量组与对照组比较差异有显著性($P < 0.01$);非含铂颗粒物中、高剂量组与对照组比较差异均有显著性($P < 0.05$ 、 $P < 0.01$);并且均表现为剂量依赖性。非含铂颗粒物各剂量组指标变化程度均大

于含铂颗粒物相应剂量组,中、高剂量组差别均有统计学意义。

2.2.2 肺灌洗液中的氧化损伤指标 MDA随着染毒剂量的增加而增加,而SOD随染毒剂量的增加而减少。含铂颗粒物高剂量组与对照组比较差异有显著性($P < 0.01$);非含铂颗粒物中、高剂量组与对照组比较差异有显著性($P < 0.01$)。非含铂颗粒物各剂量组指标变化程度均大于含铂颗粒物相应剂量组。

表 2 大鼠肺灌洗液中 LDH、ACP、AKP、ALB、TP、SA 测定结果 ($\bar{x} \pm s$)
Table 2 The levels of LDH、ACP、AKP、ALB、TP、SA in rats' BALF (mean \pm SD)

组别 (Group)	颗粒物剂量 (Dose, mg/kg)	LDH (U/L)	ACP (U/100 ml)	AKP (U/100 ml)	TP (mg/ml)	ALB (mg/ml)	SA (mg/L)
空白对照组 (Blank control)	0.0	953.94 \pm 49.90	0.38 \pm 0.13	1.98 \pm 0.38	0.39 \pm 0.02	0.19 \pm 0.08	11.37 \pm 4.53
生理盐水组 (Negative control)	0.0	981.82 \pm 53.09	0.51 \pm 0.14	1.87 \pm 0.34	0.42 \pm 0.04	0.23 \pm 0.09	10.55 \pm 6.65
含铂颗粒物 (Platinic particles)	1.6	991.52 \pm 45.34	0.49 \pm 0.17	2.32 \pm 0.47	0.42 \pm 0.02	0.20 \pm 0.07	11.77 \pm 3.58
	8.0	1 141.82 \pm 54.96**	0.71 \pm 0.18*	2.76 \pm 0.83*	0.44 \pm 0.02	0.25 \pm 0.09	13.80 \pm 4.53
	40.0	1 532.12 \pm 54.31**	1.13 \pm 0.19**	4.91 \pm 0.96**	0.49 \pm 0.01**	0.37 \pm 0.06**	19.08 \pm 5.43**
非含铂颗粒物 (Non-platinic particles)	1.6	1 370.81 \pm 51.50***	0.64 \pm 0.17	2.82 \pm 0.36*	0.48 \pm 0.02***	0.24 \pm 0.09	13.23 \pm 5.85
	8.0	1 736.58 \pm 47.54***	1.29 \pm 0.18***	3.61 \pm 0.42***	0.51 \pm 0.02***	0.43 \pm 0.09***	17.79 \pm 4.15*
	40.0	2 682.33 \pm 54.84***	2.04 \pm 0.21***	6.79 \pm 0.76***	0.65 \pm 0.02***	0.51 \pm 0.10***	29.65 \pm 6.10***

[注] *: 与生理盐水组比较 (Compared with negative control group), $P < 0.05$; **: $P < 0.01$ 。#: 与含铂颗粒物相应剂量组比较 (Compared with the same dose group of platinic particles), $P < 0.05$; ##: $P < 0.01$

表 3 大鼠肺灌洗液中 SOD、MDA 测定结果 ($\bar{x} \pm s$)
Table 3 The levels of SOD、MDA in rats' BALF (mean \pm SD)

组别 (Group)	颗粒物剂量 (Dose, mg/kg)	SOD (U/ml)	MDA (mg/ml)
空白对照组 Blank control	0.0	27.35 \pm 4.93	0.63 \pm 0.14
生理盐水组 Negative control	0.0	27.59 \pm 2.29	0.64 \pm 0.14
含铂颗粒物 Platinic particles	1.6	25.04 \pm 3.17	0.82 \pm 0.18
	8.0	21.35 \pm 1.83**	0.82 \pm 0.18
	40.0	17.56 \pm 4.11**	1.85 \pm 0.23**
非含铂颗粒物 Non-platinic particles	1.6	22.04 \pm 1.94**	0.88 \pm 0.20**
	8.0	17.88 \pm 3.05***	1.03 \pm 0.28***
	40.0	9.20 \pm 2.65***	2.56 \pm 0.22***

[注] *: 与生理盐水组比较 (Compared with negative control group), $P < 0.05$;
** : $P < 0.01$ 。#: 与含铂颗粒物相应剂量组比较 (Compared with the same dose group of platinic particles), $P < 0.05$; ##: $P < 0.01$

2.3 毒性指数计算

根据计算公式可以算出含铂颗粒物 $TI=1.65$, 非含铂颗粒物 $TI=2.53$, 由此可以看出非含铂颗粒物的毒性大于含铂颗粒物。

3 讨论

本次实验采用气管滴注方法对大鼠进行染毒, 以生理盐水作为溶剂对照, 所得结果显示生理盐水对照组和空白对照组各项指标均未见明显的统计学差异, 表明气管滴注染毒方法对肺组织无明显的急性损伤作用。

肺巨噬细胞是呼吸道重要的防御细胞, 也是吸入性毒物攻击的靶细胞。本次研究发现, 尾气颗粒物染毒大鼠后 BALF 中巨噬细胞减少, 提示尾气颗粒物造成巨噬细胞破坏、死亡, 对其有损伤作用; 中性粒细胞增多是肺组织产生炎症反应的表现, 原因是颗粒物作为炎症刺激物进入组织, 加之巨噬细胞死亡崩解, 释放大量趋化因子, 使得中性粒细胞大量渗出。非含铂颗粒物染毒组大鼠巨噬细胞减少及中性粒细胞增加程度较含铂颗粒物染毒组大, 说明尾气中非含铂颗粒物的巨噬细胞毒性及引起急性炎症的能力要大于含铂颗粒物。

LDH 属胞质酶, 来自肺上皮细胞、巨噬细胞和中性粒细胞。当细胞膜受损通透性增加时, 此酶从细胞内逸出, 使肺泡腔中 LDH 含量升高, 是反映毒物毒性的早期灵敏指标。ACP 为溶酶体酶, 在巨噬细胞中含量较多, 参与肺部防御反应, 当肺巨噬细胞发挥吞噬作用而崩解死亡后, 大量 ACP 进入 BALF 中。AKP 主要由 II 型肺泡细胞产生, 部分由中性粒细胞产生, 其含量提示了 II 型肺泡细胞受损程度和中性粒细胞浸润程度。BALF 中蛋白来源于血浆渗出, 反映了肺泡上皮-毛细血管屏障损伤程度; SA^[8] 是神经氨酸衍生物的一种九碳氨基糖, 是血小板膜上的重要成分, 而血小板参与了急性肺损伤的发病过程。本研究中以上各指标较对照组均明显上升, 表明尾气颗粒物对肺实质和膜性组织具毒作用, 且具一定的剂量-反应关系, 这与国内外以往毒理学及流行病学研究结果相符^[9-12]。

MDA 和 SOD 常反映机体的氧化状态和抗氧化能力。MDA 是细胞膜发生脂质过氧化反应的终末产物, 其含量的多少间接反映了机体细胞氧化损伤的严重程度。SOD 是生物体内重要的抗氧化酶, 主要存在于细胞质内, 是超氧阴离子的天然清除剂, 其活性的高低与体内抗氧化能力相关; MDA 和 SOD 均可反映机体内氧化应激水平。本实验发现, 染毒组肺灌洗液中 MDA 水平明显升高, 而 SOD 活性显著性下降, 表明颗粒物的吸入可能使肺组织发生氧化损伤, 该损伤超出了机体代偿能力, 造成肺组织细胞内抗氧化酶活性下降, 最终导致肺组织的氧化和抗氧化状态失衡引起细胞毒性。

毒性指数^[7]是根据 BALF 中各项指标毒理学意义及灵敏度的不同, 赋予各指标不同的权重, 将各指标综合起来表示某种毒物的毒性大小。本次研究发现, 非含铂颗粒物的毒性指数大于含铂颗粒物, 表明非含铂颗粒物的综合毒性大于含铂颗粒物。同时, 非含铂颗粒物染毒组 BALF 中各指标变化程度均显著高于含铂颗粒物染毒组, 亦表明非含铂颗粒物的肺毒性高于含铂颗粒物。这可能是因为 TWC 的应用使得汽车尾气中的碳氢化合物含量大大减少, 附着于尾气颗粒物上的有机物等一些有害物质含量也随之减少, 可能使其对机体组织氧化损伤能力下降, 故毒性低于未经过催化的尾气颗粒物。在催化反应过程中由于高温、化学反应、机械摩擦等原因损耗而附着于尾气颗粒物上的金属催化剂绝大部分为金属态, 有研究表明^[13], 可溶性铂浓度 $< 10 \text{ ng/m}^3$ 或总铂浓度 $< 100 \text{ ng/m}^3$, 可以认为是安

全的。有学者^[14]保守地估计可溶性铂的无明显有害作用水平 (NOAEL) 为 1.5 ng/m^3 , 从汽车中排出的可溶性铂占 0.1%~1%, 则汽车排出铂的 NOAEL 为 $150\sim 1\,500 \text{ ng/m}^3$, 为敏感人群加上一个安全系数 10, 可得到汽车排出铂的指导浓度为 $15\sim 150 \text{ ng/m}^3$ 。此外, 随尾气排出的金属铂含量非常低, 可能尚不能影响尾气颗粒物的整体毒性作用。WHO 环境卫生标准任务组 (WHO Task Group on Environment Health Criteria)^[15]亦认为环境中由 TWC 排放的铂非常低, 可能对健康没有影响, 但从安全的角度, 尚需进一步审查。

参考文献:

- [1] Ravindra K, Benes L, Van Grieken R. Platinum group elements in the environment and their health risk [J]. *Sci Total Environ*, 2004, 318: 1-43.
- [2] Johnson DE. Levels of platinum, palladium and lead in population of Southern California [J]. *Environ health perspect*, 1975, 12: 27-33.
- [3] Tölg G, Alt F. Contribution to an improvement in extreme trace analysis of metallic platinum in biotic and environmental material [R]. Abstract prepared for the Third Conference of BMFT Study Group on Precious Metal Emissions, 1990.
- [4] Alt F, Bambauer A, Hoppstock K. Platinum traces in airborne particulate matter. Determination of whole content, particle size distribution and soluble platinum [J]. *Fresenius J Anal Chem*, 1993, 346: 693-696.
- [5] Dietl C, Laschka D, Waber M. Biomonitoring of platinum emissions from motor vehicles [A]. In: Zereini F, Alt F, editors. *Anthropogenic platinum-Group-Element Emissions and Their Impact on Man and Environment* [C]. Berlin: Springer Verlag, 1999. 65-72.
- [6] Barbante C, Veyseyre A. Greenland snow evidence of large scale atmospheric contamination for platinum, palladium and rhodium [J]. *Environ Sci Technol*, 2001, 35: 835-839.
- [7] 赵毓梅, 杨文敏. 大气粗细颗粒物的成分分析及其肺毒性研究 [J]. *卫生研究*, 1996, 25(2): 89-91.
- [8] 刘宏, 赵金桓, 王世俊. 唾液酸与急性肺损伤发病关系的初步研究 [J]. *中国工业医学杂志*, 2001, 14(2): 75-76.
- [9] Van Vliet P, Knape M, Janssen N. Motor vehicle exhaust and chronic respiratory symptoms in children living near freeways [J]. *Environ Res*, 1997, 74(2): 122-132.
- [10] Edwards J, Walters S, Griffiths BK. Hospital admissions for asthma in preschool children relationship to major roads in Birmingham, United Kingdom [J]. *Arch Environ Health*, 1994, 49(4): 223-227.
- [11] 宋健, 叶舜华. 柴油机排出物对大鼠肺细胞毒性的研究 [J]. *卫生毒理学杂志*, 1995, 9(3): 153-155.
- [12] 余晓星, 彭宝成. 机动车尾气颗粒物对实验动物肺损伤作用的研究及比较 [J]. *河北医科大学学报*, 1997, 18(1): 5-8.
- [13] Merget R. Occupational platinum salt allergy. Diagnosis, prognosis, prevention and therapy [A]. In: Zereini F, Alt F editors. *Anthropogenic Platinum-Group-Element Emissions and Their Impact on Man and Environment* [C]. Berlin: Springer Verlag, 1999. 257-266.
- [14] Merget R, Rosner G. Evaluation of the health risk of platinum group metals emitted from automotive catalytic converters [J]. *Sci Total Environ*, 2001, 270(1-3): 165-173.
- [15] WHO. *Environmental Health Criteria 125-Platinum* [R]. Geneva: World Health Organization, International Programme on Chemical Safety, 1991. 167.

(收稿日期: 2005-10-08)

(校对: 刘卓宝)

【会讯】

第五届全国环境与职业医学研究生学术研讨会 将在南京市召开

由本刊编委会与南京医科大学等单位联合主办的“第五届全国环境与职业医学研究生学术研讨会”将于 2006 年 5 月 18 日~19 日, 在南京医科大学召开, 来自加拿大渥太华大学的国际环境毒理学杂志主编 Sam Kacew 教授和南京医科大学副校长王心如教授将分别为大会作特邀报告。全国 20 余所大学、科研院所中代表当今我国预防医学科研前沿水平的近 30 位博士、硕士研究生, 届时将先后带着其导师的风格和思路, 宣讲他们的论文。大会系国家级继续医学教育项目 (编号: 2006-12-01-006), 可授 I 类学分 10 分, 听课费 195 元/人。欢迎全国预防医学、公共卫生工作者踊跃参会。联系人: ①忻霞萍, Tel: 021-62758710-1326, 1324, 1322, 1315。②齐泓, Tel: 025-86862834。大会也欢迎企业到会设展。

本刊编辑部

2006 年 3 月 28 日