

经口暴露三氯乙烯对小鼠肝脏 JMJD3 表达和 M1 型库普弗细胞极化的影响

黄华¹, 丁百旺¹, 左绪磊¹, 杨屹¹, 彭家乐¹, 王燚灿¹, 张家祥^{1,2}, 朱启星^{1,2}

1. 安徽医科大学公共卫生学院职业卫生与环境卫生学系, 安徽 合肥 230032

2. 安徽医科大学第一附属医院皮肤病研究所, 安徽 合肥 230032

摘要:

[背景] 三氯乙烯(TCE)可通过受污染的水或空气经生物蓄积作用进入人体,从而产生健康危害,受累脏器以肝脏最为多见。

[目的] 观察 TCE 经口暴露小鼠肝脏中 M1 型库普弗细胞(KCs)极化的情况,探讨组蛋白赖氨酸去甲基化酶 JMJD3 与 KCs M1 型极化之间的关系。

[方法] 选取 72 只 SPF 级雌性 BALB/c 小鼠,6~8 周龄,将其随机分为 4 组:空白对照组(18 只)、溶剂对照组(18 只)、2.5 mg·mL⁻¹ TCE 组(18 只)和 5.0 mg·mL⁻¹ TCE 组(18 只),适应性喂养 1 周。按照课题组前期研究建立小鼠 TCE 经口暴露模型,染毒 8 周。分别在第 2、4、8 周时处死小鼠取肝脏组织,采用 Western blotting 法检测小鼠肝脏组织中组蛋白赖氨酸去甲基化酶 JMJD3 的蛋白表达水平,采用免疫荧光法对巨噬细胞标志 F4/80 和 M1 型巨噬细胞表面标志 CD11c 进行共定位,采用免疫组织化学法检测巨噬细胞 M1 型标志 CD16/32 和小鼠肝脏 M1 型巨噬细胞相关炎症因子肿瘤坏死因子-α(TNF-α)的表达情况。

[结果] 在第 2、4、8 周时,各组小鼠状态良好,没有出现因 TCE 染毒而死亡的个体,各组间小鼠耗水量差异无统计学意义,各时间点小鼠体重增长及肝脏系数的组间差异没有统计学意义($P>0.05$)。Western blotting 法检测结果显示:在各时间点空白对照组和溶剂对照组 JMJD3 蛋白表达水平差异均无统计学意义,2.5 mg·mL⁻¹ TCE 组和 5.0 mg·mL⁻¹ TCE 组 JMJD3 蛋白表达水平相较于对照组均升高,且第 4、8 周 5.0 mg·mL⁻¹ TCE 组 JMJD3 蛋白表达水平高于 2.5 mg·mL⁻¹ TCE 组($P<0.05$)。免疫荧光共定位结果显示:在各时间点空白对照组和溶剂对照组 F4/80 与 CD11c 表达较少,2.5 mg·mL⁻¹ TCE 组和 5.0 mg·mL⁻¹ TCE 组 F4/80 与 CD11c 表达较高。免疫组织化学检测结果显示:CD16/32 和 TNF-α 在空白对照组和溶剂对照组表达较低,而在 2.5 mg·mL⁻¹ TCE 组和 5.0 mg·mL⁻¹ TCE 组出现大量沉积。

[结论] KCs M1 型极化及促炎因子的表达可能与经口暴露 TCE 所致的 JMJD3 表达水平增加有关。

关键词: 三氯乙烯; 肝脏毒性; 库普弗细胞; 组蛋白赖氨酸去甲基化酶

Effect of oral exposure to trichloroethylene on JMJD3 expression and polarization of M1 Kupffer cells HUANG Hua¹, DING Baiwang¹, ZUO Xulei¹, YANG Yi¹, PENG Jiale¹, WANG Yican¹, ZHANG Jiaxiang^{1,2}, ZHU Qixing^{1,2} (1. Department of Occupational and Environmental Health, School of Public Health, Anhui Medical University, Hefei, Anhui 230032, China; 2. Institute of Dermatology, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei, Anhui 230032, China)

Abstract:

[Background] Trichloroethylene (TCE) can enter human body through biological accumulation of polluted water or air, resulting in health hazards. The most commonly involved organs are the liver.

[Objective] To observe potential polarization of M1 Kupffer cells (KCs) in mice liver exposed to TCE orally, and to investigate the relationship between histones lysin demethylase JMJD3 and M1 KCs polarization.

[Methods] A total of 72 SPF BALB/c mice aged 6 to 8 weeks were randomly divided into a blank control group ($n=18$), a vehicle control group ($n=18$), a 2.5 mg·mL⁻¹ TCE group ($n=18$), and a 5.0 mg·mL⁻¹ TCE group ($n=18$) after adaptive feed for one week. A TCE transoral exposure



DOI 10.11836/JEOM21242

基金项目

国家自然科学基金(81874259); 安徽省自然科学基金(2008085QH385); 安徽医科大学博士科研资助基金(XJ201941)

作者简介

黄华(1996—),女,硕士生;
E-mail: huanghua9639@163.com

通信作者

朱启星, E-mail: zqxing@yeah.net
张家祥, E-mail: zhangjiaxiang@ahmu.edu.cn

伦理审批 已获取

利益冲突 无申报

收稿日期 2021-05-24

录用日期 2021-11-15

文章编号 2095-9982(2022)01-0065-06

中图分类号 R114

文献标志码 A

引用

黄华, 丁百旺, 左绪磊, 等. 经口暴露三氯乙烯对小鼠肝脏 JMJD3 表达和 M1 型库普弗细胞极化的影响 [J]. 环境与职业医学, 2022, 39(1): 65-70.

本文链接

www.jeom.org/article/cn/10.11836/JEOM21242

Funding

This study was funded.

Correspondence to

ZHU Qixing, E-mail: zqxing@yeah.net
ZHANG Jiaxiang, E-mail: zhangjiaxiang@ahmu.edu.cn

Ethics approval Obtained

Competing interests None declared

Received 2021-05-24

Accepted 2021-11-15

To cite

HUANG Hua, DING Baiwang, ZUO Xulei, et al. Effect of oral exposure to trichloroethylene on JMJD3 expression and polarization of M1 Kupffer cells[J]. Journal of Environmental and Occupational Medicine, 2022, 39(1): 65-70.

Link to this article

www.jeom.org/article/en/10.11836/JEOM21242

model was established after eight weeks of administration according to previous research of the research group. In the 2nd, 4th, and 8th weeks, the mice were sacrificed and liver tissue samples were collected. Western blotting was used to detect the expression level of JMJD3 in the liver tissue samples. Immunofluorescence was used to co-locate the macrophage marker F4/80 and the surface marker CD11c of M1 macrophages. Immunohistochemistry was used to detect the expressions of CD16/32, a marker of M1 macrophages, and TNF- α , an inflammatory factor of M1 macrophages in mouse liver.

[Results] In the 2nd, 4th, and 8th weeks, the mice in each group were generally in good condition, and no individual died due to TCE. There was no statistically significant difference in the amount of water consumed by each group, nor in the body weight gain and the liver coefficient of mice at each time point ($P > 0.05$). The results of Western blotting analysis showed that there was no statistically significant difference in JMJD3 protein expression level between the blank control group and the vehicle control group at each time point, the expression levels of JMJD3 protein in the 2.5 mg·mL⁻¹ TCE group and the 5.0 mg·mL⁻¹ TCE group were higher than that in the control group, and the expression level of JMJD3 protein in the 5.0 mg·mL⁻¹ TCE group was higher than that in the 2.5 mg·mL⁻¹ TCE group ($P < 0.05$). The results of immunofluorescence co-localization showed that the expressions of F4/80 and CD11c were low in the blank control group and the vehicle control group, while the expressions of F4/80 and CD11c were increased in the 2.5 mg·mL⁻¹ and the 5.0 mg·mL⁻¹ TCE groups. The results of immunohistochemistry showed that the expressions of CD16/32 and TNF- α in the blank control group and the vehicle control group were low, and there were large deposits in the 2.5 mg·mL⁻¹ TCE group and the 5.0 mg·mL⁻¹ TCE group.

[Conclusion] The polarization of M1 KCs and the expression of proinflammatory factors may be related to an increased expression level of JMJD3 induced by oral TCE exposure.

Keywords: trichloroethylene; liver toxicity; Kupffer cell; histone lysine demethylase

三氯乙烯(trichloroethylene, TCE)作为一种优良的工业有机溶剂被广泛应用于金属表面处理、石蜡萃取及制冷剂、干洗剂的生产等^[1]。在东南亚和我国广东地区因职业接触 TCE 所引起的职业性三氯乙烯药疹样皮炎严重威胁职业人群健康^[2]；且因其广泛的工业应用及其脂溶性、挥发性、不易燃性致使 TCE 大量进入环境中,严重污染空气、水源和土壤,其所引起的河水及浅层地下水的环境污染问题不容忽视^[3]。环境中的 TCE 可以通过生物蓄积作用进入机体发挥毒性作用^[4],对人体和其他生物体皮肤和脏器的损伤已被广泛证实^[5-6],其中受累脏器以肝脏最为多见^[7-8]。

有研究表明^[9],TCE 及其代谢产物会引起表观遗传变化,从而改变免疫功能并促进肝脏炎症反应。在环境因素作用下,表观遗传机制(主要包括 DNA 修饰、组蛋白修饰、非编码 RNA 调控以及染色质重塑等)在基因的激活上调或沉默下调中起着至关重要的作用^[10]。库普弗细胞(Kupffer cells, KCs)是肝脏特有的巨噬细胞,占人体组织巨噬细胞的 80%~90%,在肝脏疾病的发生发展中发挥重要作用^[11]。KCs 在炎症反应过程中可被迅速激活并向不同方向极化^[12],根据所处微环境中不同成分的刺激,KCs 主要极化为两种亚型,包括促炎的 M1 型(CD11c、CD16/32 是 M1 型巨噬细胞的主要标志)和抗炎的 M2 型(M2 型巨噬细胞高表达甘露糖受体 CD206)。M1 型 KCs 分泌肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白介素-1 β 等细胞因子,M2 型 KCs 分泌白介素-10、转化生长因子- β 等细

胞因子^[13]。与 M1 型或 M2 型激活相关的表观遗传调控主要依赖于炎症相关基因启动子区域的组蛋白修饰,在巨噬细胞极化的信号调节和传导过程中发挥重要作用^[14]。多种组蛋白修饰酶可催化组蛋白尾部精氨酸和赖氨酸的翻译后修饰,招募效应蛋白的结合,影响下游蛋白,进而参与特定的细胞过程,其中组蛋白赖氨酸去甲基化酶 JMJD3 与巨噬细胞的激活相关^[15]。由于目前 JMJD3 在 M1 型 KCs 中的研究较少,本研究采取动物实验的方法,建立 TCE 经口暴露小鼠模型,通过检测小鼠肝脏内 JMJD3,巨噬细胞标志 F4/80, M1 型巨噬细胞标志 CD11c、CD16/32 及细胞因子 TNF- α 的表达情况,探索 TCE 通过 JMJD3 修饰促进 KCs M1 型极化和促炎的作用机制。

1 对象与方法

1.1 主要试剂与仪器

TCE(99.5%分析纯级, Sigma, 美国),二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO; 北京索莱宝科技有限公司, 中国),免疫组化检测试剂盒、二氨基联苯胺显色液(北京中杉金桥生物技术有限公司, 中国),JMJD3 抗体(Novus Biologicals, 美国),F4/80 抗体(Cell Signaling Technology, 美国),CD11c 抗体、CD16/32 抗体(R&D Systems, 美国),TNF- α 抗体(北京博奥森生物技术有限公司, 中国),4',6-二脒基-2-苯基吲哚(4',6-diamidino-2-phenylindole, DAPI; Abcam, 英国),聚偏二氟乙烯膜、Western blotting 发光液试剂盒(GE Healthcare, 德

国), 光学显微镜(BX53, 奥林巴斯, 日本), 气相色谱三重四极杆质谱仪(7890-7000D, Agilent Technology, 美国), Western blotting 全自动化学发光成像系统(上海勤翔科学仪器有限公司, 中国)。

1.2 实验动物的处理

自安徽医科大学实验动物中心购入 72 只 BALB/c 小鼠, 雌性, 6~8 周龄, 体重(20.78 ± 1.34) g。将小鼠饲养在干净清洁的饲养笼中, 每笼 6 只动物。严格控制动物房温度($20 \sim 25$ °C)、湿度 [$(50 \pm 5)\%$] 以及光照条件(12 h 光照和 12 h 黑暗交替), 供给标准饲料和洁净饮水。适应性喂养 1 周后, 参照课题组前期研究建立小鼠模型^[16], 将小鼠随机分为 4 组: 2.5 mg·mL⁻¹TCE 组(18 只, TCE 用体积分数 1% DMSO 助溶)、5.0 mg·mL⁻¹TCE 组(18 只, TCE 用体积分数 1% DMSO 助溶)、溶剂对照组(18 只, 含有体积分数 1% DMSO 的饮用水)、空白对照组(18 只, 喂以正常饮用水)。为保证 TCE 浓度的稳定, 饮用水每隔 24 h 更换一次, 染毒 8 周。用甲基叔丁基醚分别在 0、6、12、18 和 24 h 对 2.5 mg·mL⁻¹TCE 组和 5.0 mg·mL⁻¹TCE 组小鼠的饮用水进行提取, 使用气相色谱三重四极杆质谱仪进行分析, 经计算两剂量组各时点 TCE 浓度基本恒定, 浓度变化差异没有统计学意义($P > 0.05$)。记录小鼠每日饮水量和每周体重, 并计算 2.5 mg·mL⁻¹TCE 组和 5.0 mg·mL⁻¹TCE 组平均暴露量。分别在第 2、4、8 周三个时点根据实验要求处死小鼠(每个时点每组 6 只), 无菌环境中取肝脏样品。

1.3 Western blotting 法检测 JMJD3 蛋白表达水平

加入等量(50 μg)肝脏样品蛋白提取物, 并使用 SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳进行电泳分离。200 mA 转膜 3 h, 将蛋白质转移到聚偏二氟乙烯膜上后, 室温下在 5% 脱脂牛奶中封闭 2 h。将膜与 JMJD3 抗体(1:500)和甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)抗体(1:10000)一起置于 4°C 孵育过夜。第 2 天, 将膜在含有体积分数 0.05% Tween-20 的 Dulbecco's 磷酸盐缓冲液(Dulbecco's phosphate-buffered saline, DPBS)中洗涤 3 次, 并用 DPBS 洗涤 1 次, 每次洗涤持续 10 min, 然后与山羊抗兔 IgG 抗体(1:5000)一起室温孵育 2 h。将膜在含有体积分数 0.05% Tween-20 的 DPBS 中洗涤 3 次, 在 DPBS 中洗涤 1 次, 每次 10 min; 用 Western blotting 发光液试剂盒配合 Western blotting 全自动化学发光成像系统进行显影, 最后通过 Image-Pro Plus 6.0 软件分析灰度值。

1.4 免疫荧光法检测 F4/80 及 CD11c 表达

将待染肝脏切片置于 98°C 恒温箱烤片 20 min, 二甲苯、酒精脱蜡。磷酸盐缓冲液(phosphate-buffered saline, PBS)洗涤 3 次, 每次 5 min。再用柠檬酸盐缓冲液于微波炉中进行抗原修复。自然冷却至室温后用体积分数 0.3% Triton-X100 处理 25 min, PBS 洗 3 次, 再用山羊血清 37°C 封闭 2 h, 滴加 F4/80(1:200)及 CD11c(1:240)一抗混合液 4°C 过夜。次日复温 30 min 后 PBS 清洗 3 次, 再用荧光二抗(1:400)避光孵育 2 h, DAPI 染核 15 min, 避光于显微镜下观察。

1.5 免疫组织化学法检测 CD16/32 和 TNF-α 表达

将待染肝脏切片置于 98°C 恒温箱烤片 20 min, 二甲苯、酒精脱蜡。PBS 洗涤 3 次, 每次 5 min。先用内源性过氧化物酶处理, 再用柠檬酸盐缓冲液于微波炉中进行抗原修复。自然冷却至室温后, PBS 洗 3 次, 再用山羊血清 37°C 封闭 15 min, 分别滴加 CD16/32 抗体(1:40)和 TNF-α 抗体(1:240)4°C 过夜。次日复温 30 min 后用 PBS 清洗 3 次, 再依次滴加二抗、辣根酶, 二氨基联苯胺显色后镜下观察。

1.6 统计学分析

使用 SPSS 23.0 统计软件进行分析。所有计量数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 单因素方差分析用于比较多组数据间的差异, SNK 检验用于两组间的比较, 检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 小鼠基础情况

在第 2、4、8 周, 各组小鼠状态良好, 没有出现因 TCE 染毒而死亡的个体, 各组间小鼠耗水量差异无统计学意义($P > 0.05$), 平均耗水量为 $0.13 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, 2.5 mg·mL⁻¹TCE 组和 5.0 mg·mL⁻¹TCE 组平均 TCE 暴露量为 $357.03 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 和 $657.62 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 。各时间点小鼠体重增长及肝脏系数的组间差异没有统计学意义($P > 0.05$)。

2.2 TCE 对小鼠肝脏组织 JMJD3 蛋白表达的影响

在第 2、4、8 周, 溶剂对照组小鼠肝脏 JMJD3 蛋白表达水平与空白对照组比较, 差异均无统计学意义($P > 0.05$)。2.5 mg·mL⁻¹TCE 组与 5.0 mg·mL⁻¹TCE 组 JMJD3 蛋白表达相较于对照组均增加($P < 0.05$), 且第 4、8 周 5.0 mg·mL⁻¹TCE 组 JMJD3 蛋白表达水平高于 2.5 mg·mL⁻¹TCE 组($P < 0.05$)。见图 1。

2.3 TCE 对小鼠肝脏组织 F4/80 及 CD11c 表达的影响

在第 2~8 周, 空白对照组和溶剂对照组 F4/80

与 CD11c 表达较少, 2.5 mg·mL⁻¹TCE 组和 5.0 mg·mL⁻¹TCE 组 F4/80 与 CD11c 表达阳性区域较多。见图 2。

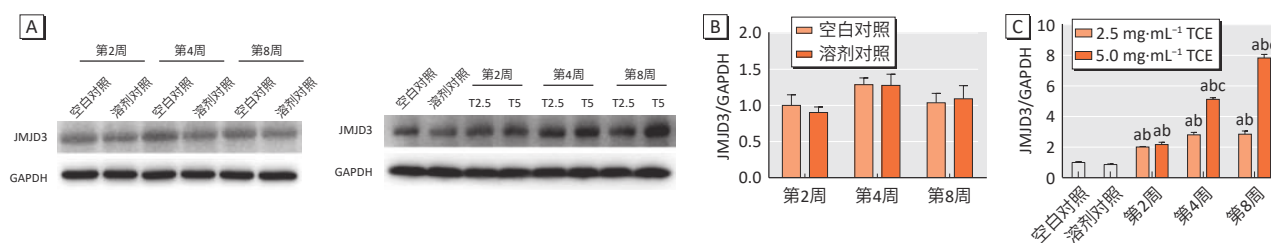
2.4 TCE 对小鼠肝脏组织 CD16/32 表达的影响

图 3 显示, 在第 2~8 周, 空白对照组与溶剂对照组 CD16/32 表达低; 2.5 mg·mL⁻¹TCE 组和 5.0 mg·mL⁻¹TCE 组 CD16/32 出现大量沉积, 各时点 5.0 mg·mL⁻¹TCE

组 CD16/32 表达均高于 2.5 mg·mL⁻¹TCE 组 ($P < 0.05$)。

2.5 TCE 对小鼠肝脏组织 TNF- α 表达的影响

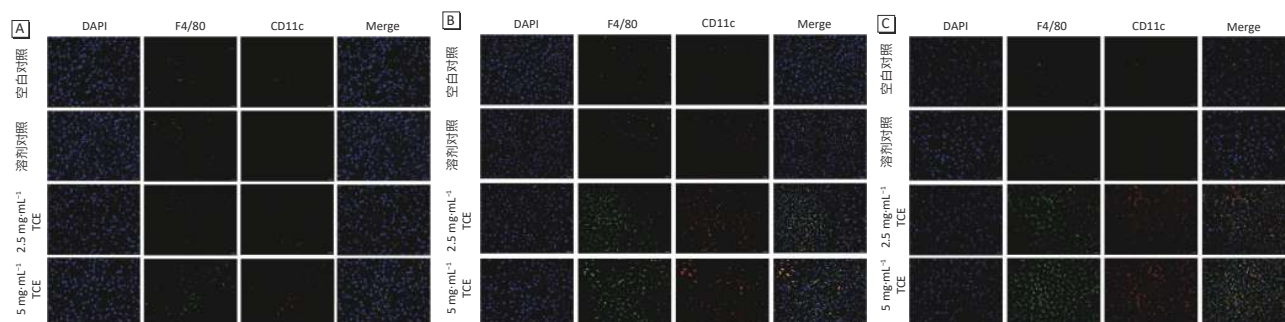
图 4 显示, 在第 2~8 周, 空白对照组与溶剂对照组 TNF- α 表达低; 2.5 mg·mL⁻¹TCE 组和 5.0 mg·mL⁻¹TCE 组 TNF- α 出现大量沉积, 第 2、8 周 5.0 mg·mL⁻¹TCE 组 TNF- α 表达均高于 2.5 mg·mL⁻¹TCE 组 ($P < 0.05$)。



[注] A: JMJD3 的蛋白电泳条带, T2.5: 2.5 mg·mL⁻¹TCE 组; T5: 5.0 mg·mL⁻¹TCE 组。B: JMJD3 的蛋白表达结果。a: 与空白对照组比较, $P < 0.05$; b: 与溶剂对照组比较, $P < 0.05$; c: 与 2.5 mg·mL⁻¹TCE 组比较, $P < 0.05$ 。C: 空白对照、溶剂对照均为第 4 周的数据。

图 1 TCE 经口染毒不同时间后各组小鼠肝脏 JMJD3 蛋白表达水平 ($n=6$)

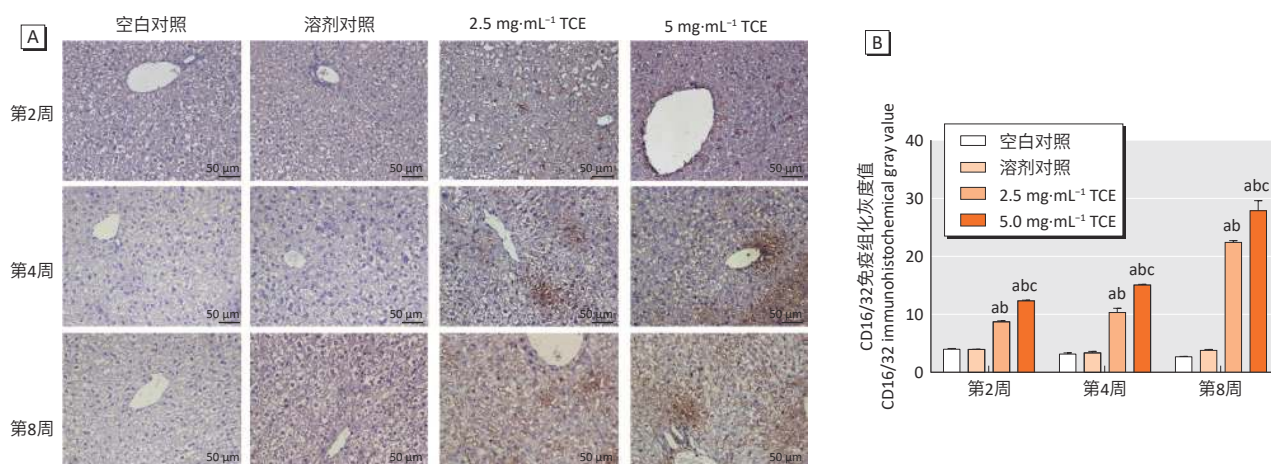
Figure 1 Expression of JMJD3 protein in liver of mice following oral TCE treatment for different time ($n=6$)



[注] A~C: TCE 经口染毒第 2、4、8 周。

图 2 TCE 经口染毒不同时间后小鼠肝脏 F4/80 与 CD11c 荧光共定位检测结果 ($\times 400$) ($n=6$)

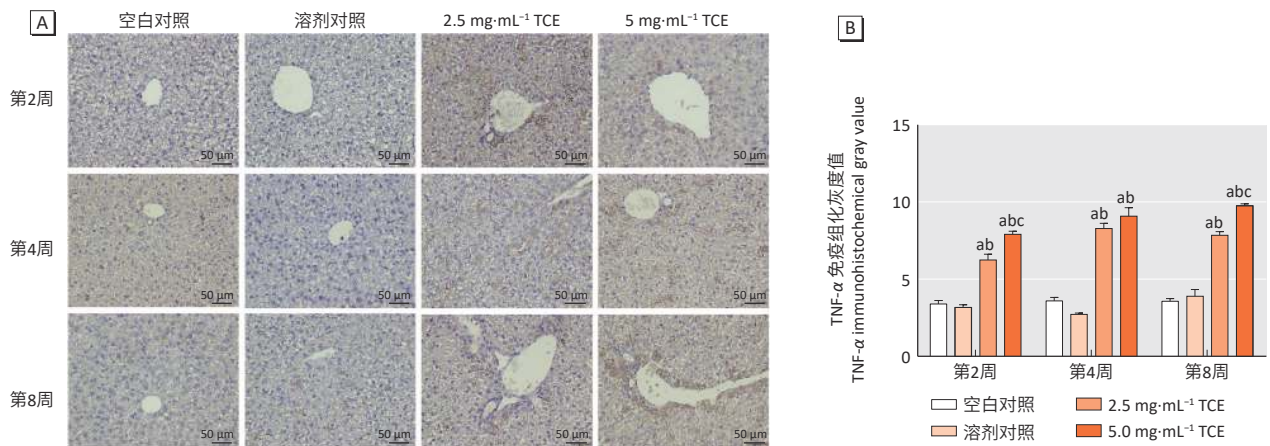
Figure 2 F4/80 and CD11c co-localization detection results in liver of mice following oral TCE treatment for different time ($\times 400$) ($n=6$)



[注] A: TCE 经口染毒不同时间后小鼠肝脏 CD16/32 免疫组化结果图片 ($\times 400$)。B: TCE 经口染毒不同时间后小鼠肝脏 CD16/32 表达变化。a: 与空白对照组比较, $P < 0.05$; b: 与溶剂对照组比较, $P < 0.05$; c: 与 2.5 mg·mL⁻¹TCE 组比较, $P < 0.05$ 。

图 3 TCE 经口染毒不同时间后小鼠肝脏 CD16/32 免疫组化结果 ($n=6$)

Figure 3 Immunohistochemical results of CD16/32 in liver of mice following oral TCE treatment for different time ($n=6$)



[注] A: TCE 经口染毒不同时间后小鼠肝脏 TNF- α 免疫组化结果图片($\times 400$)。B: TCE 经口染毒不同时间后小鼠肝脏 TNF- α 表达变化。a: 与空白对照组比较, $P < 0.05$; b: 与溶剂对照组比较, $P < 0.05$; c: 与 2.5 mg·mL⁻¹TCE 组比较, $P < 0.05$ 。

图 4 TCE 经口染毒不同时间后小鼠肝脏 TNF- α 免疫组化结果 ($n=6$)

Figure 4 Immunohistochemical results of TNF- α in mouse liver in liver of mice following oral TCE treatment for different time ($n=6$)

3 讨论

根据美国环境保护署的有毒物质排放清单, 2017 年有 930 t TCE 从工业场所释放到环境中, TCE 在空气中的半衰期约为 7 d, 但在土壤和水中的半衰期为 300 d^[17]。由于持续的大气排放和在地下环境中的持久性存在, TCE 成为 21 世纪最值得关注的环境污染物之一^[18]。职业人群 TCE 暴露主要通过呼吸道吸入和皮肤接触途径, 一般人群主要是经口暴露于 TCE。美国职业安全 and 卫生管理局规定工作场所在工作日 8 h 内 TCE 的吸入允许接触限值为 537.4 mg·m⁻³ (100 ppm), 短期 (5 min) 接触限值为 1612.3 mg·m⁻³ (300 ppm)。对于液相 TCE, 百万分之一 (ppm) 与 mg·kg⁻¹ 的换算比例为 1:1, 因此, 啮齿动物模型中 100 或 300 mg·kg⁻¹TCE 暴露可以模拟某些处于或接近美国职业安全 and 卫生管理局限值的工作场所条件。

TCE 在体内可经细胞色素 P450 代谢, 生成的水合氯醛、三氯乙酸和二氯乙酸等与特定靶器官 (如肝和肺) 相关^[4]。有研究发现, 三氯乙烯、二氯乙酸和三氯乙酸可以改变表观遗传标志, 且在患病组织中可发现相同或相似的表观遗传改变^[19]。JMJD/KDM 家族 (含 Jumonji C 结构域) 是一类重要的组蛋白赖氨酸去甲基化酶, 能够催化相关基因启动子区域特定赖氨酸位点二甲基化和三甲基化的去甲基化。JMJD3 是 JMJD/KDM 家族中的重要成员之一, 可介导组蛋白 H3 第 27 位赖氨酸 (H3K27) 的去甲基化, 激活巨噬细胞靶基因启动子区域的转录活性, 促进巨噬细胞极化^[20]。本次研究发现, 相较于空白对照组、溶剂对照组, TCE 暴露组 JMJD3 表达水平升高, 表明经口暴露 TCE 导致 JMJD3 表达水平增加。

在受到不同细胞外刺激时, 组蛋白赖氨酸去甲基化酶 JMJD3 可以激活不同的基因来调节巨噬细胞 M1 型和 M2 型的平衡, 即 JMJD3 既能调节巨噬细胞发生 M1 型极化促进炎症反应从而介导不同的免疫性疾病, 也能使巨噬细胞发生 M2 型极化从而抑制炎症反应和促进组织修复^[21]。KCs 是肝脏常驻巨噬细胞, 在肝损伤和修复中具有关键作用。局部代谢和免疫环境使 KCs 表现出极大的可塑性, 可以极化为促炎性 M1 型和抗炎性 M2 型。其中 M1 型巨噬细胞的特征在于上调促炎性细胞因子、趋化因子和前列腺素, 如白介素-6、TNF- α 和白介素-1 β , 以消除病原体和促进 T 辅助细胞 1 型 (Th1 细胞) 应答。M2 型巨噬细胞则参与 T 辅助细胞 2 型 (Th2 细胞) 应答, 分泌白介素-10 和转化生长因子- β , 以促进炎症的消退和伤口愈合^[22]。F4/80 是鼠巨噬细胞的特异性标记^[23], 本次研究免疫荧光结果显示, 小鼠经口摄入 TCE 后, 2.5 mg·mL⁻¹TCE 组与 5.0 mg·mL⁻¹TCE 组 F4/80 和 M1 型巨噬细胞表面标志 CD11c 表达量增加且高度重合; 免疫组化结果也显示, 2.5 mg·mL⁻¹TCE 组与 5.0 mg·mL⁻¹TCE 组 KCs M1 型标志 CD16/32 表达水平较空白对照组和溶剂对照组有升高现象, 这表明经口摄入 TCE 引起 KCs M1 型极化升高。对染毒 2~8 周后小鼠肝脏 M1 型巨噬细胞相关炎症因子 TNF- α 进行免疫组化检测, 结果显示相比空白对照组和溶剂对照组, 2.5 mg·mL⁻¹TCE 组与 5.0 mg·mL⁻¹TCE 组 TNF- α 表达水平升高, 进一步证明了 KCs M1 型极化的增加。这提示 JMJD3 作为炎症、免疫疾病的潜在预防与治疗靶点, 通过干预 JMJD3 对 KCs M1 型极化的调节, 可能成为预防和治疗 TCE 所致肝损伤的新策略, 值得深入探究。

综上所述,经口摄入 TCE 导致的 KCs M1 型极化的激活及相关细胞因子的表达可能与 JMJD3 表达水平增加有关。但本次研究未使用小分子抑制剂或基因敲减等方法来进行验证,因此 JMJD3 如何调节 KCs M1 型极化的详细机制仍需要进一步研究。

参考文献

- [1] FRIESEN MC, LOCKE SJ, CHEN YC, et al. Historical occupational trichloroethylene air concentrations based on inspection measurements from Shanghai, China[J]. *Ann Occup Hyg*, 2015, 59(1): 62-78.
- [2] 李博栋,王贤,杨小东,等.补体调节蛋白CD46在聚肌胞苷酸加重三氯乙烯致敏小鼠肝损伤中的表达规律[J]. *环境与职业医学*, 2017, 34(12): 1060-1066.
LI BD, WANG X, YANG XD, et al. Expression of complement regulatory protein CD46 in poly I: C exacerbated liver immune injury in trichloroethylene sensitized mice[J]. *J Environ Occup Med*, 2017, 34(12): 1060-1066.
- [3] 李云霞,戴宇飞.三氯乙烯的免疫毒性[J]. *环境与职业医学*, 2018, 35(1): 8-13.
LI YX, DAI YF. Immunotoxicity of trichloroethylene[J]. *J Environ Occup Med*, 2018, 35(1): 8-13.
- [4] LASH L H, FISHER J W, LIPSCOMB J C, et al. Metabolism of trichloroethylene[J]. *Environ Health Perspect*, 2000, 108 Suppl 2(Suppl 2): 177-200.
- [5] HORZMANN KA, PORTALES AM, BATCHO KG, et al. Developmental toxicity of trichloroethylene in zebrafish (*Danio rerio*)[J]. *Environ Sci Process Impacts*, 2020, 22(3): 728-739.
- [6] LAI C, WU F, WANG Y, et al. Specific epigenetic microenvironment and the regulation of tumor-related gene expression by trichloroethylene in human hepatocytes[J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2021, 208: 111453.
- [7] 吴奇峰,李聪,黄永顺,等.职业性三氯乙烯药疹样皮炎患者血清总胆红素水平与肝功能的关系[J]. *环境与职业医学*, 2016, 33(12): 1162-1165.
WU QF, LI C, HUANG YS, et al. Relation between serum total bile acid and liver function of patients with occupational medicamentous dermatitis induced by trichloroethylene[J]. *J Environ Occup Med*, 2016, 33(12): 1162-1165.
- [8] ZHANG JX, LI N, WANG H, et al. The immune response in trichloroethylene hypersensitivity syndrome: a review[J]. *Toxicol Ind Health*, 2017, 33(11): 876-883.
- [9] BLOSSOM SJ, GILBERT KM. Epigenetic underpinnings of developmental immunotoxicity and autoimmune disease[J]. *Curr Opin Toxicol*, 2018, 10: 23-30.
- [10] ALAM R, ABDOLMALEKY HM, ZHOU JR. Microbiome, inflammation, epigenetic alterations, and mental diseases[J]. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 2017, 174(6): 651-660.
- [11] BENNETT H, TROUTMAN TD, SAKAI M, et al. Epigenetic regulation of kupffer cell function in health and disease[J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 609618.
- [12] GOLDEN-MASON L, ROSEN HR. Galectin-9: diverse roles in hepatic immune homeostasis and inflammation[J]. *Hepatology*, 2017, 66(1): 271-279.
- [13] 徐琼影,张家祥,杨屹,等.M1型库普弗细胞极化在三氯乙烯致敏小鼠肝脏损伤中的作用[J]. *环境与职业医学*, 2019, 36(10): 927-933.
XU QY, ZHANG JX, YANG Y, et al. Role of M1 Kupffer cell polarization in liver injury induced by trichloroethylene in mice[J]. *J Environ Occup Med*, 2019, 36(10): 927-933.
- [14] KAPELLOS TS, IQBAL AJ. Epigenetic control of macrophage polarisation and soluble mediator gene expression during inflammation[J]. *Mediators Inflamm*, 2016, 2016: 6591703.
- [15] KANG MK, MEHRAZARIN S, PARK NH, et al. Epigenetic gene regulation by histone demethylases: emerging role in oncogenesis and inflammation[J]. *Oral Dis*, 2017, 23(6): 709-720.
- [16] LI SL, YU Y, YANG P, et al. Trichloroethylene alters Th1/Th2/Th17/Treg paradigm in mice: a novel mechanism for chemically induced autoimmunity[J]. *Int J Toxicol*, 2018, 37(2): 155-163.
- [17] ELKIN ER, HARRIS SM, SU AL, et al. Placenta as a target of trichloroethylene toxicity[J]. *Environ Sci Process Impacts*, 2020, 22(3): 472-486.
- [18] DE MIRANDA BR, GREENAMYRE JT. Trichloroethylene, a ubiquitous environmental contaminant in the risk for Parkinson's disease[J]. *Environ Sci Process Impacts*, 2020, 22(3): 543-554.
- [19] BACCARELLI A, BOLLATI V. Epigenetics and environmental chemicals[J]. *Curr Opin Pediatr*, 2009, 21(2): 243-251.
- [20] ZHANG X, LIU L, YUAN X, et al. JMJD3 in the regulation of human diseases[J]. *Protein Cell*, 2019, 10(12): 864-882.
- [21] 敬东红,邓明华,龚建平,等.组蛋白去甲基化酶JMJD3在巨噬细胞中的作用[J]. *中国普外基础与临床杂志*, 2019, 26(6): 753-757.
JING DH, DENG MH, GONG JP, et al. Effects of histone demethylase JMJD3 in macrophages[J]. *Chin J Bases Clin Gen Surg*, 2019, 26(6): 753-757.
- [22] DENG M, WANG J, WU H, et al. IL-4 alleviates ischaemia-reperfusion injury by inducing kupffer cells M2 polarization via STAT6-JMJD3 pathway after rat liver transplantation[J]. *Biomed Res Int*, 2020, 2020: 2953068.
- [23] DOS ANJOS CASSADO A. F4/80 as a major macrophage marker: the case of the peritoneum and spleen[M]//KLOC M. Macrophages: Origin, Functions and Biointervention. Cham: Springer, 2017: 161-179.

(英文编辑:汪源;责任编辑:陈姣)