

安徽医科大学学报

Acta Universitatis Medicinalis Anhui

ISSN 1000-1492, CN 34-1065/R

《安徽医科大学学报》网络首发论文

题目： 氧自由基介导富勒烯 C60 对 DHPN 诱导肺肿瘤的促进作用
作者： 张文，徐结苟
网络首发日期： 2026-03-03
引用格式： 张文，徐结苟. 氧自由基介导富勒烯 C60 对 DHPN 诱导肺肿瘤的促进作用 [J/OL]. 安徽医科大学学报. <https://link.cnki.net/urlid/34.1065.r.20260302.1552.004>



网络首发：在编辑部工作流程中，稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定，且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式（包括网络呈现版式）排版后的稿件，可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定；学术研究成果具有创新性、科学性和先进性，符合编辑部对刊文的录用要求，不存在学术不端行为及其他侵权行为；稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准，正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性，录用定稿一经发布，不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容，只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

出版确认：纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊（光盘版）》电子杂志社有限公司签约，在《中国学术期刊（网络版）》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版，以单篇或整期出版形式，在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊（网络版）》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物（ISSN 2096-4188，CN 11-6037/Z），所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

氧自由基介导富勒烯 C60 对 DHPN 诱导肺肿瘤的促进作用

张 文^{1,2}, 徐结苟¹

(¹安徽医科大学免疫学教研室, 合肥 230032; ²皖西卫生职业学院医学技术系医学检验教研室, 六安 237005)

摘要 目的 探讨气管内喷雾的高浓度富勒烯 C60 对 N-双(2-羟丙基)亚硝酸胺(DHPN)诱导的肺肿瘤发生是否有促进作用及其机制。**方法** 采用 DHPN 饮水法诱导建立大鼠肺肿瘤模型, 将 8 周龄雄性 Fisher 344 大鼠随机分为 5 组($n=15$): DHPN+Veh 组(0.2% DHPN+对照溶液)、DHPN+C60-L 组(0.2% DHPN+250 $\mu\text{g/mL}$ C60)、DHPN+C60-H 组(0.2% DHPN+500 $\mu\text{g/mL}$ C60)、DHPN 组(0.2% DHPN)和 C60-H 组(正常饮水+500 $\mu\text{g/mL}$ C60)。饮水中给予 0.2% DHPN, 启动致癌过程, 2 周后, 采用气管内喷雾的方法, 给予不同浓度的富勒烯 C60, 每 2 周喷雾 1 次, 共 20 次; 第 20 次喷雾 2 周后, 统计肺肿瘤(腺瘤和腺癌)的发生率、数目和大小。在另外机制研究的动物实验中, 8 周龄雄性 Fisher 344 大鼠共分 C60 处理组和溶剂对照组($n=5$), 采用气管内喷雾的方法, 给予 500 $\mu\text{g/mL}$ 的富勒烯 C60 或对照溶液, 每 2 d 喷雾 1 次, 共 5 次; 最后 1 次喷雾的 6 h 后, 摘取肺, 用于观察肺组织中富勒烯 C60 的分布以及检测肺组织抽提液中细胞因子、超氧化物歧化酶(SOD)、8-羟基脱氧鸟苷(8-OHdG)、细胞因子含量。**结果** C60-H 组中没有观察到肺肿瘤的发生; DHPN+C60-H 组肺肿瘤的发生率、数目和大小高于 DHPN+Veh 组($P<0.05$, $P<0.001$, $P<0.05$)和 DHPN 组($P<0.01$, $P<0.001$, $P<0.01$)。在另外机制研究的动物实验中, C60 处理组 SOD 与 8-OHdG 水平均高于溶剂对照组($P<0.001$ 和 0.001), 具有明显差异。**结论** 气管内喷雾的高浓度富勒烯 C60 促进了 DHPN 诱导的肺肿瘤发生; C60 导致了氧自由基产生增加, 促进基因突变可能是 C60 促进肺肿瘤发生的机制之一。

关键词 富勒烯 C60; 肺肿瘤; N-双(2-羟丙基)亚硝酸胺; 气管内喷雾; Fisher 344 大鼠

中图分类号 R382.5

文献标志码 A

Reactive oxygen species mediate promoting effect of fullerene C60

基金项目: 安徽省重点研究和开发计划对外科技合作项目(编号: 201904b11020024)

作者简介: 张 文, 女, 硕士研究生;

徐结苟, 男, 博士, 教授, 硕士生导师, 通信作者, E-mail: xujiegou@ahmu.edu.cn

on DHPN-induced lung tumors

Zhang Wen^{1, 2}, Xu Jiegou¹

(¹Dept of Immunology, Anhui Medical University, Hefei 230032; ²Medical Laboratory Teaching and Research Section, Department of Medical Technology, West Anhui Health Vocational College, Lu'an 237005)

Abstract *Objective* To investigate whether fullerene C60 administered by intratracheal spraying promotes N-bis (2-hydroxypropyl) nitrosamine (DHPN) induced-lung tumor development and the underlying mechanisms. *Methods* A rat lung tumor model was induced by the DHPN drinking water method. Eight-week-old male Fisher 344 rats were randomly divided into 5 groups ($n = 15$): DHPN+Veh group (0.2% DHPN + vehicle solution), DHPN+C60-L group (0.2% DHPN + 250 μ g/mL C60), DHPN+C60-H group (0.2% DHPN + 500 μ g/mL C60), DHPN group (0.2% DHPN), and C60-H group (normal drinking water + 500 μ g/mL C60). 0.2% DHPN in drinking water was given to initiate carcinogenesis, and 2 weeks later, different concentrations of fullerene C60 were administered by intratracheal spraying every two weeks for a total of 20 times. Two weeks after the last spraying, the incidence, number and size of lung tumors were statistically analyzed. In another mechanism animal experiment, 8-week-old male Fisher rats were divided into two groups with 5 rats in each group: C60 group and the control vehicle group. 500 μ g/mL C60 or the control vehicle intratracheally sprayed every two days for a total of 5 times. Six hours after the last spraying, the lungs were removed and used for observation of C60 distribution and for detection of SOD, 8-OHdG and cytokines in lung tissues. *Results* No lung tumorigenesis was observed in the C60-H group; the incidence, number and size of lung tumors in the DHPN+C60-H group were significantly higher than those in the DHPN+Veh group ($P < 0.05$, $P < 0.001$, $P < 0.05$) and the DHPN group ($P < 0.01$, $P < 0.001$, $P < 0.01$), respectively. In additional animal experiments designed for mechanistic investigation, the levels of SOD and 8-OHdG in the experimental group were markedly elevated compared with the control group (both $P < 0.001$), with statistically significant differences. *Conclusion* Intratracheal nebulization of high-concentration fullerene C60 promoted DHPN-induced lung tumorigenesis; C60 led to an increase in reactive oxygen species (ROS) production, thereby elevating the potential for gene mutation. This may represent one of the mechanisms underlying C60-induced promotion of lung tumorigenesis.

Keywords fullerene C60; lung tumor; N-bis (2-hydroxypropyl) nitrosamine; intratracheal spraying; fisher 344 Rats

Fund program Key Research and Development Program of Anhui Province for Foreign Cooperation in Science and Technology (No. 201904b11020024)

Corresponding author Jiegou Xu, xujiegou@ahmu.edu.cn

富勒烯 C60 (fullerene C60, C60) 是碳的主要同素异形体, 广泛用于微电子^[1]、光伏^[2]、电池^[3]、水处理^[4]和药物输送^[5]等领域。人体暴露可能通过吸入、皮肤和/或肠外途径发生^[6]。在啮齿类动物中, 肺部暴露于 C60 已被证明可诱发炎症、免疫毒性和呼吸毒性^[7-9]。当 C60 浓度达到 30 mg/m³ 时, 大鼠的肺部会出现明显的慢性活动性炎症和组织细胞浸润^[10]。但目前关于 C60 暴露后的生物相互作用及毒性效应研究仍较为匮乏, 其对肺组织的潜在致癌作用及相关机制尚未明确。N-双(2-羟丙基)亚硝胺(DHPN)是经典的肺肿瘤诱导剂, 可通过内源性途径介导氧自由基生成, 进而启动肺肿瘤的发生进程; 而 C60 亦可通过氧自由基作为核心介导因子, 与 DHPN 的致癌效应产生协同作用, 共同促进 DHPN 诱导的肺肿瘤发生与发展。二者的协同作用可能依赖于氧自由基介导的氧化应激、DNA 损伤及炎症反应等关键通路, 这也是本研究探究 C60 肺肿瘤促发效应的核心研究体系。化学致癌是一个多阶段、慢进程的复杂过程, 二阶段致癌法可在较短时间内明确受试物的肿瘤促发作用, 因此本研究拟采用该方法, 系统观察气管内喷雾的高浓度 C60 对 DHPN 诱导肺肿瘤的促进效应, 并深入探讨其潜在作用机制, 为 C60 的职业暴露防护及环境风险评估提供实验依据。

1 材料与amp;方法

1.1 实验动物和材料

Fisher344 大鼠, 雄性, 8 周龄, 购自日本神奈川 Charles River 动物中心。该研究经名古屋市立大学实验动物伦理道德委员会批准(编号: 20200173)。5 mg C60 (美国 Sigma-Aldrich 公司; 货号: CN379646) 悬浮于 10 mL 含 0.5% 非离子分散剂 Pluronic F68 (美国 Sigma-Aldrich 公司; 货号: P5556) 的生理盐水中, 然后用组织匀浆机(瑞士 Kinematica 公司; 型号: PT1600E) 以 3 000 r/min 研磨 1 min, 冷却, 反复 4 次, 制成 500 μg/mL 的 C60 悬液。气管内喷雾前超声振动 30 min, 减少 C60 集聚。

1.2 气管内喷雾

气管内喷雾按相关报道^[11]进行。Fisher 344 大鼠在异氟烷麻醉下, 轻轻拉出大鼠舌头, 从喉部插入气管内气溶胶喷雾器(IA-1B 型, 美国 Penn-century 公司)喷嘴至气管内, 将 0.5 mL C60 悬液或对照溶液喷出。

1.3 二阶段致癌实验

将 8 周龄雄性 Fisher 344 大鼠随机分组为 5 组，每组 15 只：DHPN+Veh 组（0.2% DHPN+对照溶液）、DHPN+C60-L 组（0.2% DHPN+250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ C60）、DHPN+C60-H 组（0.2% DHPN+500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ C60）、DHPN 组（0.2% DHPN）和 C60-H 组（正常饮水+500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ C60）。饮水中给予 0.2% DHPN，启动致癌过程，2 周后，采用气管内喷雾的方法，给予不同浓度的富勒烯 C60，每 2 周喷雾 1 次，共 20 次；第 20 次喷雾 2 周后，统计肺肿瘤（DHPN 诱导模型中主要病理类型为腺瘤及腺癌）的发生率、数目和大小。喷雾结束 2 周后，取肺组织，苏木精伊红染色，组织学观察肺肿瘤的发生率、数目和面积。C60-H 组不给予 DHPN，仅喷雾 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ C60，以观察 C60 是否单独致癌。

1.4 氧化应激与炎症反应机制验证动物实验

将 8 周龄雄性 Fisher 344 大鼠随机分为 2 组，每组 5 只，C60 处理组（C60 组）：气管内喷雾给予 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 富勒烯 C60 溶液；溶剂对照组（Vehicle 组）：气管内喷雾给予等体积对照溶液。每 2 d 喷雾 1 次，共 5 次；最后 1 次喷雾的 6 h 后，摘取肺，左肺用于检测超氧化物歧化酶（superoxide dismutase, SOD）、8-羟基脱氧鸟苷（8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine, 8-OHdG）和多种细胞因子，右肺用于组织学观察和透射电镜检查。

1.5 SOD、8-OHdG 和细胞因子的测定

上述 1.4 部分的大鼠左肺用于 SOD、8-OHdG 和多种细胞因子测定。首先采用华光基因组 DNA 分离试剂盒（日本和光纯药工业株式会社，货号：296-67701）分离基因组 DNA，然后采用 8-OHdG ELISA 试剂盒（日本老龄化控制研究所，货号：KOG-200SE）测定 8-OHdG 水平。剩余的部分左肺加入 1 mL 含 1% (Vol/Vol) 蛋白酶抑制剂（美国 Sigma-Aldrich 公司；货号：S8820）的组织蛋白提取试剂（美国 Thermo Fisher Scientific/Pierce 公司；货号：78510），用组织匀浆机制成匀浆，然后在 4 $^{\circ}\text{C}$ 、10 000 r/min 离心 5 min，上清液用于蛋白质含量、SOD 活力和细胞因子水平测定。蛋白含量测定用 BCATM 蛋白定量试剂盒（美国 Thermo Fisher Scientific/Pierce 公司；货号：23227）进行，SOD 活力采用超氧化物歧化酶检测试剂盒（美国 Cayman Chemical 公司；货号：706002）进行。11 种细胞因子包括白细胞介素（interleukin, IL）-1 α 、IL-1 β 、IL-6、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子（granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, GM-CSF）、粒细胞集落刺激因子（granulocyte colony-stimulating factor, G-CSF）、肿瘤坏死因子- α （tumor necrosis factor- α , TNF- α ）、干扰素- γ （interferon- γ , IFN- γ ）、IL-18、单核细胞趋化蛋白-1（monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1）、巨噬细胞炎症蛋白-1（macrophage inflammatory protein-1, MIP-1）、生长相关癌基因（growth-related oncogene, GRO），采用多因子检测

试剂盒（日本 GeneticLab 公司）进行测定。

1.6 组织学和透射电镜

石蜡包埋的肺组织和其他组织切片经苏木精伊红染色后，在奥林帕斯光学显微镜（日本 Olympus 公司；型号：BX51N-31P）下观察各组织的病理改变，采用 GraphPad 10 软件分析 100× 肺组织图像上肺肿瘤面积和全肺组织面积。戊二醛-锇酸固定的肺组织经脱水、环氧树脂包埋、1 mm 切片、磷钨酸负染后，用 JEM-1010 透射电镜（日本 JEOL 公司；型号：JEM-1010）观察。

1.7 统计学处理

采用 SPSS 22.0 软件进行分析。计量资料包括单位面积肺肿瘤的数目和面积、SOD、8-OHdG 和细胞因子含量，以 $\bar{x} \pm s$ 表示，采用双尾 Student's *T* 检验；肿瘤发生率采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 C60 对 DHPN 诱发的肺肿瘤发生的影响

DHPN 组肺组织内可观察到细胞增生、肺腺瘤和肺腺癌等病变，图 1A、1B 分别显示代表性的肺腺瘤和肺腺癌的组织学图片。在 C60-H 组肺组织未观察到上述病变，表明 C60 单独不能诱发肺肿瘤发生。

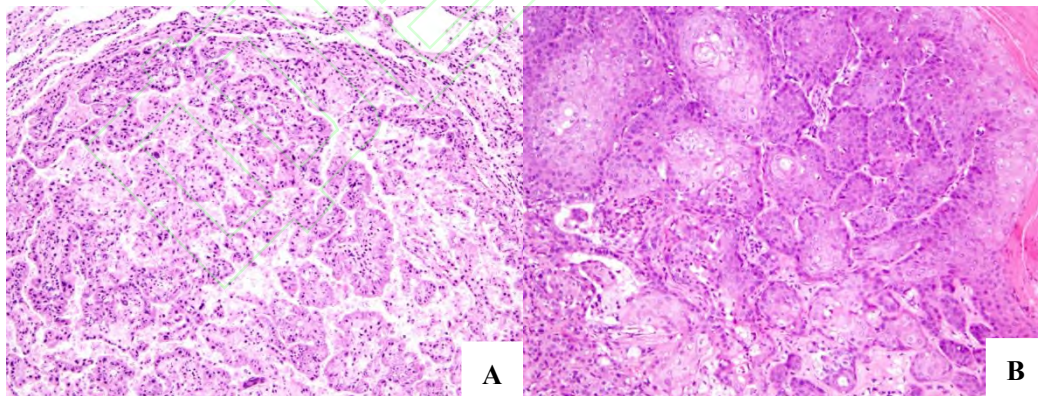


图 1 代表性肺肿瘤 ×200

Fig.1 Representative lung tumors ×200

A: Pulmonary adenoma; B: Pulmonary adenocarcinoma

分析各组肺肿瘤发生率，结果如图 2 所示，DHPN+C60-H 组的肺肿瘤发生率达到 100%，高于 DHPN+C60-L 组（53.3%， $P=0.01333$ ）、DHPN+Veh 组（53.3%， $P=0.01333$ ）和 DHPN 组（40.0%， $P=0.00024$ ）。C60-H 组肺肿瘤发生率为 0。

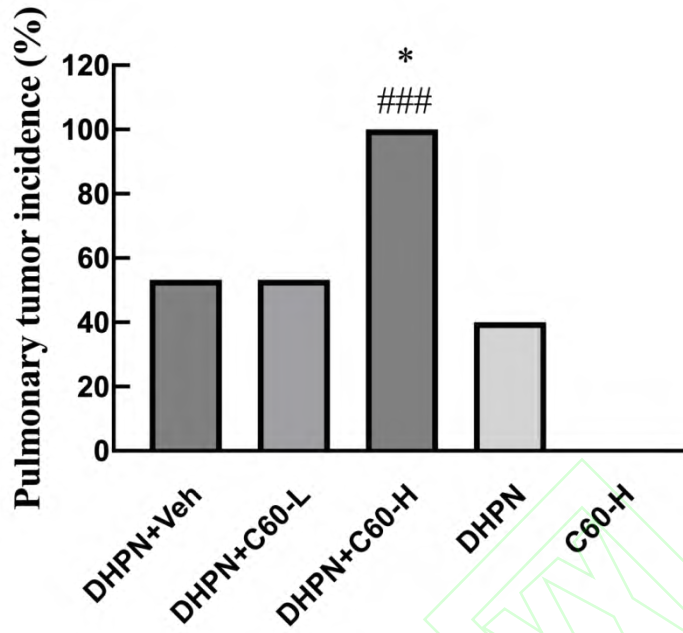


图 2 肺肿瘤的发生率

Fig.2 Incidence rate of lung tumors

* $P < 0.05$ vs DHPN+C60-H group; ### $P < 0.001$ vs DHPN group.

进一步测量每组大鼠的单位面积的肺肿瘤面积和数目，结果如表 1 所示，DHPN+C60-H 组肺肿瘤的数目和面积高于 DHPN+Veh 组 ($P=0.00011$ 、 0.0101) 和 DHPN 组 ($P=0.00048$ 、 0.0037)。DHPN+C60-L 组肺肿瘤的数目和面积与 DHPN+Veh 组和 DHPN 组差异无统计学意义。以上结果提示，从肺肿瘤的发生率、数目和大小角度分析，高浓度富勒烯 C60 暴露促进了 DHPN 诱发的肺肿瘤的发生。

表 1 肺肿瘤的数目和面积 ($\bar{x} \pm s$)

Tab.1 Number and area of lung tumors ($\bar{x} \pm s$)

Group	Number per cm^2 of pulmonary tissue	Area (mm^2/cm^2 pulmonary tissue)
DHPN+Veh	1.0 ± 1.3	1.5 ± 2.7
DHPN+C60-L	1.4 ± 1.6	3.1 ± 6.3
DHPN+C60-H	4.0 ± 1.9 #####	7.6 ± 6.1 **
DHPN	0.4 ± 0.7	0.6 ± 1.3
C60-H	0 ± 0	0 ± 0

注：* $P < 0.05$, ** $P < 0.001$ vs DHPN+C60-H group; ## $P < 0.01$, ### $P < 0.001$ vs DHPN group.

2.2 C60 对 DHPN 诱发的肾肿瘤和甲状腺肿瘤的影响

对大鼠肾脏和甲状腺组织进行病理染色后，经组织学检查分析肿瘤发生率。结果显示，C60-H 组大鼠没有发生肾脏肿瘤和甲状腺肿瘤，而其余各 DHPN 给予组均有肾脏肿瘤和甲状腺肿瘤发生。主要的肾脏肿瘤为间质细胞癌（MCC）、移行细胞癌（TCC）和肾细胞癌（RCC），在甲状腺主要为滤泡细胞瘤和癌。比较各 DHPN 给予组肾脏肿瘤和甲状腺肿瘤发生率和平均肿瘤个数均差异无统计学意义（表 2）。上述结果显示 C60 暴露对 DHPN 诱发的肾脏肿瘤和甲状腺肿瘤无促进作用，仅对 DHPN 诱发的肺肿瘤有促进作用。

表 2 肾脏肿瘤和甲状腺肿瘤 ($\bar{x} \pm s$)

Tab.2 Renal tumors and thyroid tumors ($\bar{x} \pm s$)

Group	Renal neoplasm			Thyroid neoplasm		
	Number per rat	Incidence (%)	Pathology	Number per rat	Incidence (%)	Pathology
DHPN+Veh	0.9±1.0	60.0	Mesenchymal cell carcinoma (MCC); transitional cell carcinoma (TCC); renal cell carcinoma (RCC)	1.6±1.0	90.0	Follicular cell adenoma and adenocarcinoma
DHPN+C60-L	0.8±0.8	60.0		3.6±2.5	80.0	
DHPN+C60-H	1.1±1.1	71.4		3.2±2.3	83.3	
DHPN	1.0±0.7	80.0		1.9±1.0	80.0	
C60-H	0.0±0.0	0		0.0±0.0	0	

2.3 富勒烯 C60 在肺组织中的分布及相关病理反应

短期 C60 暴露实验结果显示，与溶剂对照组（图 3A）相比，C60 处理组（给予 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的富勒烯 C60）的一个显著的变化是引起大量以巨噬细胞为主的免疫细胞浸润，且肺泡巨噬细胞聚集成团，内含大量吞噬的 C60 颗粒（图 3B）。透射电镜也证实了肺泡巨噬细胞内含有大量的 C60 颗粒（图 3C）。这些结果表明单核巨噬细胞对纳米材料具有吞噬作用相符。

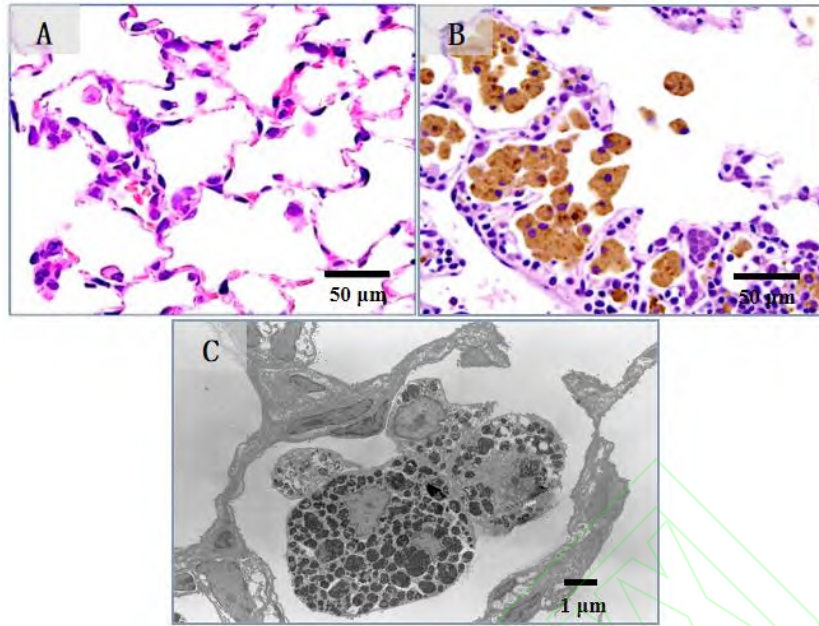


图3 肺泡巨噬细胞吞噬 C60 的形态学图像

Fig.3 Morphological images of alveolar macrophages phagocytosing C60

A: HE staining of control solution-treated lung tissue $\times 400$; B: HE staining of C60-treated lung tissue $\times 400$; C: TEM image of C60-treated lung tissue $\times 10\,000$.

2.4 C60 暴露对肺组织中的细胞因子产生的影响

采用 Multiplex Suspension Array 测定肺组织抽提液中与巨噬细胞有关的 11 种细胞因子的含量，最终检测结果如表 3。结果显示，11 种细胞因子溶剂对照组和 C60 处理组没有明显改变，表明这些细胞因子在 C60 促进肺肿瘤中的作用不明显。

表3 肺组织抽提液中的细胞因子含量 (pg/mg 蛋白, $\bar{x} \pm s$)

Tab.3 Cytokine contents in lung tissue extract (pg/mg protein, $\bar{x} \pm s$)

Cytokine	Vehicle group	C60 group
GM-CSF	11.07 \pm 9.29	29.92 \pm 37.91
G-CSF	0.92 \pm 0.14	0.98 \pm 0.18
IL-1 α	53.52 \pm 12.07	63.80 \pm 27.82
IL-1 β	29.53 \pm 24.68	23.12 \pm 11.61
IL-6	47.40 \pm 74.47	34.36 \pm 29.33

TNF- α	3.35 \pm 2.90	4.16 \pm 5.42
INF- γ	1.40 \pm 0.23	1.77 \pm 0.54
IL-18	888.20 \pm 348.55	1 116.87 \pm 224.73
MCP-1	58.02 \pm 63.73	32.25 \pm 30.84
MIP-1	15.62 \pm 7.88	16.11 \pm 3.53
GRO	381.32 \pm 184.05	400.87 \pm 166.16

2.5 C60 对肺组织中 SOD 和 8-OHdG 的影响

通过比色法检测肺组织中 SOD 活力，结果显示，C60 处理组 SOD 活性高于溶剂对照组 ($P < 0.001$)，提示 C60 暴露可诱导肺组织中超氧离子生成增加。见图 4。

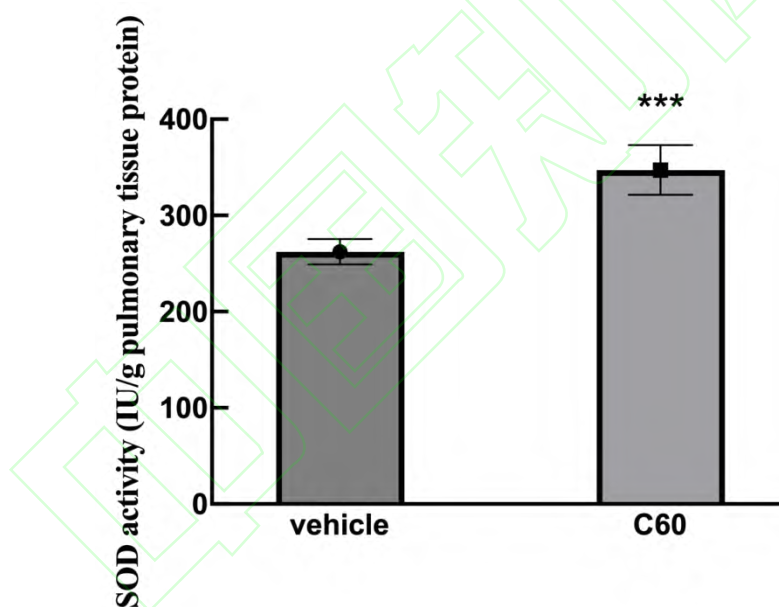


图 4 肺组织中 SOD 活力

Fig.4 SOD activity in lung tissue

a: Vehicle group; b: C60 group; *** $P < 0.001$ vs Vehicle group.

通过 ELISA 检测肺组织中 8-OHdG 的水平，结果显示，C60 处理组 8-OHdG 水平高于溶剂对照组 ($P < 0.001$)，提示 C60 处理会导致羟基自由基生成增加，进而引起 DNA 氧化损伤。见图 5。

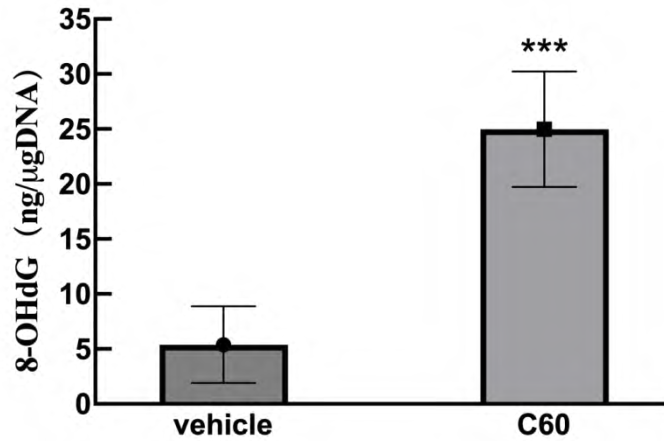


图 5 肺组织中 8-OHdG 水平

Fig.5 8-OHdG level in lung tissue

a: Vehicle group; b: C60 group; *** $P < 0.001$ vs Vehicle group.

3 讨论

近年来,随着纳米材料的广泛应用,富勒烯 C60 因其独特的物理化学性质,成为多种生物医学应用的潜在候选物,其生物安全性也受到广泛关注,特别是 C60 与肿瘤发生的关系已成为研究热点。化学致癌常有个漫长过程,本研究采用耗时较短的二阶段致癌模型来模拟相关过程:首先通过饮水给予亚硝胺类致癌物 DHPN 以诱发肺及其他组织肿瘤,随后通过气管内喷雾给予不同浓度的 C60,观察其对肿瘤发生的促进作用。结果显示,气管内喷雾给予浓度为 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 C60 共 20 次后,肺肿瘤的发生率、数目及面积均显著增加,表明高浓度 C60 可促进肺肿瘤的发生;但 C60 对 DHPN 诱发的肾脏和甲状腺肿瘤无促进作用。此外,单独给予 C60 并未诱发肺肿瘤,提示在本实验观察期内,C60 本身不具有致癌性。

为进一步阐明 C60 促进肺肿瘤发生的潜在机制,该研究设计了气管内 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ C60 短期喷雾实验,以排除 DHPN 对实验结果的干扰。组织学检测显示,C60 处理组的肺组织出现了以巨噬细胞为主的免疫细胞浸润,且光镜与电镜下均观察到肺泡巨噬细胞吞噬了大量 C60 颗粒。这一现象不仅印证了肺泡巨噬细胞作为肺部清除颗粒性异物主要防御机制的经典认知,更提示 C60 可通过激活巨噬细胞引发肺部炎症应答。肺泡巨噬细胞吞噬是肺部清除颗粒性异物的主要防御机制,当 C60 进入肺部后,肺表面活性蛋白就会吸附其表面,介导肺泡巨噬细胞吞噬后释放炎症因子^[12-14],其引起炎症反应与 Park et al^[8]报道的结果一致。进一步分析肺组织与巨噬细胞相关的 11 种细胞因子含量显示,C60 处理和对照溶液间没有明显差异,提示炎症因子在 C60 促进肺肿瘤中的作用不明显。

纳米材料会导致体内氧自由基产生,进而引起暴露组织病变。本研究结果显示,与溶剂对照组相比较,C60处理导致肺组织中SOD活力增强和8-OHdG含量增加,反映了氧自由基中的超氧离子和羟基自由基产生增加。氧自由基特别是羟基自由基具有极强的氧化能力,能引起DNA氧化损伤,增加了基因突变的可能性。这可能是富勒烯C60促进肺肿瘤发生的机制之一。

综上所述,单独经呼吸道暴露于富勒烯C60不会直接诱发肺肿瘤,但高浓度C60可通过介导氧自由基生成增加进而促进基因突变,显著增强DHPN诱导的肺肿瘤发生风险。该研究揭示了C60在与致癌物复合污染场景下的潜在肺部健康危害,提示在DHPN等致癌物共存的环境中,控制C60暴露水平是保护肺部健康、降低肺肿瘤发生风险的重要防控措施。此外,该研究揭示了氧自由基介导的DNA氧化损伤可能是C60促进肺肿瘤发生的潜在分子机制,为纳米材料富勒烯C60的环境健康风险评估提供了直接实验依据,也为复合污染环境肺肿瘤的预防及相关防控策略制定提供了科学支撑。

参考文献

- [1] Chernozatonskii L A, Kochaev A I, Bilayer C(60) polymer/h-BN heterostructures: a DFT study of electronic and optic properties[J]. *Polymers*, 2024, 16(11): 1580. doi:10.3390/polym16111580.
- [2] Meng R, Jiang Q, Liu D. Fullerene-based heterojunctions for non-selective absorption transparent solar cells[J]. *ACS Omega*, 2024, 9(24): 25960-7. doi:10.1021/acsomega.4c00823.
- [3] Zhai Y C, Oiwa S, Aoyagi S, et al. Synthesis of indano [60] fullerene thio ketone and its application in organic solar cells[J]. *Beilstein J Org Chem*, 2024, 20: 1270-7. doi:10.3762/bjoc.20.109.
- [4] Kuzminova A, Dmitrenko M, Dubovenko R, et al. Development and study of novel ultrafiltration membranes based on cellulose acetate[J]. *Polymers*, 2024, 16(9): 1236. doi:10.3390/polym16091236.
- [5] Prylutska S V, Lynchak O V, Kostjukov V V, et al. Antitumor effects and hematotoxicity of C(60)-Cis-Pt nano complex in mice with Lewis lung carcinoma[J]. *Exp Oncol*, 2019, 41(2): 106-11. doi:10.32471/exp-oncology.2312-8852.vol-41-no-2.13030.
- [6] Johnston H J, Hutchison G R, Christensen F M, et al. The biological mechanisms and physicochemical characteristics responsible for driving fullerene toxicity[J]. *Toxicol Sci*, 2010, 114(2): 162-82. doi:10.1093/toxsci/kfp265.
- [7] Baker G L, Gupta A, Clark M L, et al. Inhalation toxicity and lung toxicokinetics of C60 fullerene nanoparticles and microparticles[J]. *Toxicol Sci*, 2008, 101(1): 122-31. doi:10.1093/toxsci/kfm243.
- [8] Park E J, Kim H, Kim Y, et al. Carbon fullerenes (C60s) can induce inflammatory responses in the lung of mice[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2010, 244(2): 226-33.

doi:10.1016/j.taap.2009.12.036.

- [9] Shipkowski K A, Sanders J M, McDonald J D, et al. Disposition of fullerene C60 in rats following intratracheal or intravenous administration[J]. *Xenobiotica*, 2019, 49(9): 1078-85. doi:10.1080/00498254.2018.1528646.
- [10] National Toxicology Program. Toxicity studies of fullerene C60 (1 μ m and 50 nm) administered by nose-only inhalation to Wistar Han [CrI: WI (Han)] rats and B₆C₃F₁/N mice[J]. *Toxic Rep Ser*, 2020(87): NTP-TOX-87. doi:10.22427/NTP-TOX-87.
- [11] Perrin F E, Lacroix S, Avilés-Trigueros M, et al. Involvement of monocyte chemoattractant protein-1, macrophage inflammatory protein-1 α and interleukin-1 β in Wallerian degeneration[J]. *Brain*, 2005, 128(Pt 4): 854-66. doi:10.1093/brain/awh407.
- [12] Morimoto Y, Hirohashi M, Ogami A, et al. Expression of cytokine-induced neutrophil chemoattractant in rat lungs following an intratracheal instillation of micron-sized nickel oxide nanoparticle agglomerates[J]. *Toxicol Ind Health*, 2014, 30(9): 851-60. doi:10.1177/0748233712464807.
- [13] Wang Q, Wang Q, Zhao Z, et al. Surfactant proteins A/D-CD14 on alveolar macrophages is a common pathway associated with phagocytosis of nanomaterials and cytokine production[J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 758941. doi:10.3389/fimmu.2021.758941.
- [14] 郑松, 王殿超, 张磊. MeCP2 增加 LPS 诱导小鼠肺泡巨噬细胞的炎症因子分泌[J]. *安徽医科大学学报*, 2018, 53(5): 734-8. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2017.05.015.
- [14] Zheng S, Wang D C, Zhang L. MeCP2 increased LPS-induced secretion of inflammatory cytokines in mouse alveolar macrophages[J]. *Acta Univ Med Anhui*, 2018, 53(5): 734-8. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2017.05.015.