

## 苯并(a)芘通过降低突触融合蛋白 17 和溶酶体关联膜蛋白 2 表达阻抑人脐静脉内皮细胞自噬流

赵冬婷<sup>1</sup>, 彭文仪<sup>1</sup>, 薛盼盼<sup>1</sup>, 姜小军<sup>1</sup>, 陈舒婷<sup>1</sup>, 高慧倩<sup>2,3</sup>, 封少龙<sup>2,3</sup>

(1. 南华大学公共卫生学院 衡阳市健康危害因子检验检疫新技术研究重点实验室, 湖南省衡阳市 421001;

2. 桂林医学院公共卫生学院预防医学研究所, 广西桂林市 541199; 3. 中国科学院广州地球化学研究所

有机地球化学国家重点实验室 广东省环境资源利用与保护重点实验室, 广东省广州市 510640)

[关键词] 苯并(a)芘; 突触融合蛋白 17; 溶酶体关联膜蛋白 2; 人脐静脉内皮细胞; 自噬; 心血管疾病

[摘要] 目的 研究苯并(a)芘(BaP)影响人脐静脉内皮细胞(HUVEC)自噬的机制。方法 HUVEC经BaP(2.5、5、10 μmol/L)处理24 h后,分别采用间接免疫荧光法、Western blot、吡啶橙染色和单丹磺酰尸胺染色等技术方法,检测自噬体及其内容物降解、目标蛋白微管相关蛋白1轻链3(LC3)、选择性自噬接头蛋白p62、Beclin-1、自噬相关蛋白5(Atg5)、Atg7、Atg12、组织蛋白酶B(CTSB)、组织蛋白酶D(CTSD)、突触融合蛋白17(STX17)、溶酶体关联膜蛋白2(LAMP2)表达、溶酶体数量与功能,及相关上游关键调控蛋白丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶(Akt)、细胞外调节蛋白激酶(ERK)、转录因子EB(TFEB)磷酸化水平。结果 BaP暴露组HUVEC内,检测结果显示:(1)LC3 puncta水平、LC3 II/LC3 I比率增加,自噬起始关键蛋白(Beclin-1、Atg5、Atg7、Atg12)表达升高,Akt蛋白磷酸化则明显降低;(2)p62 puncta和p62蛋白水平明显升高;(3)溶酶体数量增加,并伴随着溶酶体特征性水解酶(CTSB、CTSD)表达升高,相应地ERK、TFEB磷酸化水平增加;(4)调控自噬体与溶酶体融合的关键蛋白STX17与LAMP2降低。结论 BaP通过降低STX17与LAMP2表达水平,阻抑了HUVEC正常的自噬流。

[中图分类号] R54

[文献标识码] A

### Benzo(a) pyrene blocking up the autophagic flux in human umbilical vein endothelial cell by down-regulating the expressions of syntaxin 17 and lysosomal associated membrane protein 2

ZHAO Dongting<sup>1</sup>, PENG Wenyi<sup>1</sup>, XUE Panpan<sup>1</sup>, JIANG Xiaojun<sup>1</sup>, CHEN Shuting<sup>1</sup>, GAO Huiqian<sup>2,3</sup>, FENG Shaolong<sup>2,3</sup>

(1. School of Public Health of University of South China & Hengyang Key Laboratory of New Technology for Inspection and Quarantine of Health Hazard Factors, Hengyang, Hunan 421001, China; 2. Institute of Preventive Medicine, School of Public Health, Guilin Medical University, Guilin, Guangxi 541199, China; 3. Guangzhou Institute of Geochemistry, Chinese Academy of Sciences & State Key Laboratory of Organic Geochemistry & Guangdong Key Laboratory of Environmental Resources Utilization and Protection, Guangzhou, Guangdong 510640, China)

[KEY WORDS] benzo(a) pyrene; syntaxin 17; lysosomal associated membrane protein 2; human umbilical vein endothelial cell; autophagy; cardiovascular disease

[ABSTRACT] **Aim** To study the mechanism of benzo(a) pyrene (BaP) affecting autophagy in human umbilical vein endothelial cell (HUVEC). **Methods** HUVECs were treated with BaP (2.5, 5, 10 μmol/L) for 24 h. The degradation of autophagosome and its contents, the expressions of target proteins microtubule-associated protein 1 light chain 3 (LC3), sequestosome 1 (p62), Beclin-1, autophagy-related protein 5 (Atg5), Atg7, Atg12, cathepsin B (CTSB), cathepsin D (CTSD), syntaxin 17 (STX17), lysosomal associated membrane protein 2 (LAMP2), the number and function of lysosomes, and the phosphorylation levels of related upstream key regulatory proteins serine-threonine

[收稿日期] 2020-12-25

[修回日期] 2021-04-08

[基金项目] 国家自然科学基金(41877390);有机地球化学国家重点实验室开放基金(SKLOG-202010);湖南省自然科学基金(2019JJ40241);广东省科技项目(2017B030314057)

[作者简介] 赵冬婷,硕士研究生,研究方向为环境颗粒物对人体健康的影响,E-mail为1156629790@qq.com。通信作者封少龙,博士,教授,研究方向为毒害污染物的环境行为及其对人体健康的分子机制,E-mail为slfeng@glmc.edu.cn。

protein kinase (Akt), extracellular regulated protein kinase (ERK) and transcription factor EB (TFEB) were detected respectively by indirect immunofluorescence, Western blot, acridine orange staining and monodansyl cadaverine staining.

**Results** In HUVEC of BaP exposure group, the test results showed that: (1) The level of LC3 puncta and the ratio of LC3 II/LC3 I increased, the expressions of key autophagy initiation proteins (Beclin-1, Atg5, Atg7 and Atg12) increased, and the phosphorylation of Akt protein decreased significantly; (2) The levels of p62 puncta and p62 protein increased significantly; (3) The number of lysosomes increased, accompanied by the increased expressions of lysosomal characteristic hydrolases (CTSB, CTSD), and the phosphorylation levels of ERK and TFEB increased accordingly; (4) The key proteins STX17 and LAMP2 regulating the fusion of autophagy and lysosome decreased. **Conclusion** BaP inhibits the normal autophagic flux of HUVEC by reducing the expression levels of STX17 and LAMP2.

多环芳烃 (polycyclic aromatic hydrocarbon, PAH) 是环境中广泛存在的持久性毒害有机污染物, 对人体具有致癌、致畸和致突变等多种毒害作用, 其对人体健康的潜在影响一直备受国际社会和人们的普遍关注<sup>[1-2]</sup>。新近的流行病学研究显示, PAH 类污染物对心血管具有重要影响, 但是其潜在的生物学机制尚不清楚<sup>[3-5]</sup>。

自噬是生物细胞通过溶酶体途径代谢大分子蛋白与受损细胞器的重要生理生化过程, 是细胞维持自身稳定与功能的重要机制<sup>[6-7]</sup>。大量研究表明, 自噬不仅是细胞应激内外环境变化 (如氧化应激、DNA 损伤、外源物或药物刺激等) 的适应性反应, 也参与到诸多疾病发生发展的病理过程中<sup>[8-11]</sup>。研究表明, 理想的自噬水平是心血管系统细胞维持自身稳定与功能所必需的生理条件; 反之, 则会促进一系列心血管病的发生发展<sup>[12-15]</sup>。

本文以中国 16 种优控 PAH 的重要成员苯并 (a) 芘 [benzo (a) pyrene, BaP] 为受试物, 心血管生理与病理研究中的经典模式细胞人脐静脉内皮细胞 (human umbilical vein endothelial cell, HUVEC) 为细胞模型, 研究阐明 BaP 影响 HUVEC 自噬的机制, 从而为科学评价 PAH 类污染物对人心血管系统的影响提供基础数据, 为防治 PAH 类污染物诱发的心血管疾病提供新思路。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

BaP 标准品购自国家标准物质网 (www. bwwz. com); 胎牛血清购自美国 Gibco 公司; DMEM 高糖培养基购自美国 Hyclone 公司; 青霉素、链霉素、胰酶购自北京索莱宝公司; 蛋白定量二喹啉甲酸 (bicinchoninic acid, BCA) 试剂盒购自康为世纪公司; 兔抗丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶 (serine-threonine protein kinase, Akt) 抗体、兔抗微管相关蛋白 1 轻链 3 (micro-

tubule-associated protein 1 light chain 3, LC3) 抗体、兔抗 p-Akt 抗体、兔抗细胞外调节蛋白激酶 (extracellular regulated protein kinase, ERK) 抗体、兔抗 p-ERK 抗体、兔抗突触融合蛋白 17 (syntaxin 17, STX17) 抗体、兔抗溶酶体关联膜蛋白 2 (lysosomal associated membrane protein 2, LAMP2) 抗体购自美国 Cell Signaling Technology 公司; 兔抗选择性自噬接头蛋白 (sequestosome 1, p62) 抗体购自美国 ProteinTech 公司; 兔抗转录因子 EB (transcription factor EB, TFEB) 抗体购自美国 Bethyl 公司; 兔抗 p-TFEB 抗体购自美国 EMD Millipore 公司。

### 1.2 细胞培养

HUVEC 由南华大学心血管疾病研究所提供, 用含 10% 胎牛血清、1% 抗生素 (100 kIU/L 青霉素和 100 g/L 链霉素) 的 DMEM 培养基在 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 的条件下培养, 取对数生长期细胞用于后续实验。

### 1.3 间接免疫荧光检测

HUVEC 经 BaP (2.5、5、10 μmol/L) 染毒 24 h 后, 用 4% 多聚甲醛固定 30 min; 磷酸盐缓冲液 (phosphate buffered solution, PBS) 洗 2 次后, 用 0.4% TritonX-100 室温透膜 30 min; 室温下用 5% 牛血清白蛋白封闭 30 min, 孵育目标蛋白 (LC3、P62) 的抗体, 4 °C 过夜; PBS 润洗后, 加异硫氰酸荧光素 (FITC) 标记的二抗室温孵育 1 h; PBS 润洗后, 加 4', 6-二脒基-2-苯基吲哚 (DAPI) 作用 15 min; PBS 润洗后, 暗室内荧光显微镜观察并拍照记录。

### 1.4 Western blot 检测

HUVEC 经 BaP (2.5、5、10 μmol/L) 染毒 24 h 后, 收集细胞, 冰上裂解, 定量蛋白样品, 用于 Western blot 检测。蛋白样品经十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE) 分离后, 电转于聚偏二氟乙烯 (PVDF) 膜上。得到的膜经洗涤、5% 脱脂牛奶封闭 2 h 后, 与抗目标蛋白的一抗 4 °C 孵育过夜。用 TBST 洗涤 3 次后, 将膜与相应的辣根过氧化物酶标记的二抗室温下孵育 1 h。化学发光成

像分析系统显影成像, Image-J 图像分析软件分析条带灰度值。

### 1.5 吖啶橙染色

HUVEC 经 BaP (2.5、5、10  $\mu\text{mol/L}$ ) 染毒 24 h 后, 用吖啶橙 (acridine orange, AO) 染色缓冲液漂洗 1 次, 加入 AO 染液避光染色 15 min。PBS 洗 2 次后, 暗室荧光显微镜观察并拍照记录。

### 1.6 单丹磺酰尸胺染色

HUVEC 经 BaP (2.5、5、10  $\mu\text{mol/L}$ ) 染毒 24 h 后, 用洗涤缓冲液漂洗细胞, 加入 10% 单丹磺酰尸胺 (monodansyl cadaverine, MDC) 液避光染色 30 min。洗涤缓冲液漂洗后, 暗室荧光显微镜观察并拍照记录。

### 1.7 统计分析

所有数据均用  $\bar{x} \pm s$  表示, 统计软件为 SPSS 18.0。单因素方差分析组间的差异, 用  $t$  检验进行

组间的两两比较, 以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 BaP 影响 LC3 的表达

LC3 是细胞内自噬小体的重要分子标志物, 观察 LC3 蛋白颗粒 (puncta) 的形成与水平是当前定性与定量观测细胞自噬小体的重要方法。本文结果显示, 与对照组 (即 0  $\mu\text{mol/L}$  BaP 组) 相比, BaP (2.5、5、10  $\mu\text{mol/L}$ ) 处理组细胞内的 LC3 puncta 明显增高, 并呈现一定的剂量-效应关系 (图 1); 同时, Western blot 结果也显示, 与对照组相比, LC3 II/LC3 I 的比率随着 BaP 处理剂量的增加而明显升高 ( $P < 0.05$ ), 具有一定的剂量-效应关系 (图 1)。上述结果表明, 在 BaP 作用下, HUVEC 内自噬体明显增高。

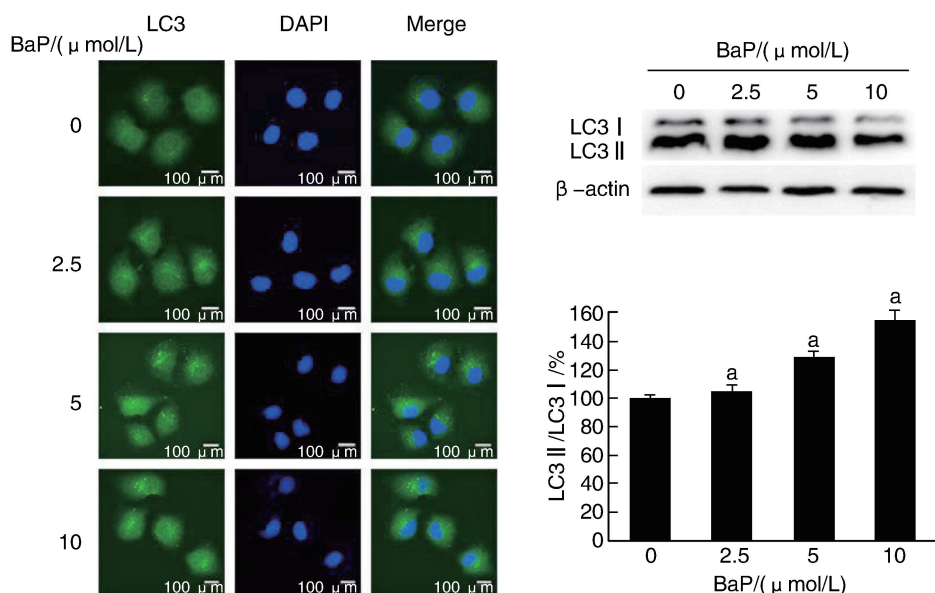


图 1. BaP 对 HUVEC 中 LC3 表达的影响

a 为  $P < 0.05$ , 与对照组比较。

Figure 1. Effect of BaP on LC3 expression in HUVEC

### 2.2 BaP 影响自噬相关蛋白的表达

我们进一步研究了 BaP 是否影响 HUVEC 自噬起始关键蛋白 Beclin-1、自噬相关蛋白 5 (autophagy-related protein 5, Atg5)、Atg7、Atg12 的表达, 以及上游调控节点蛋白 Akt 的表达及其磷酸化。结果表明, 与对照组相比, BaP 处理组细胞 Beclin-1、Atg5、Atg7、Atg12 蛋白表达明显升高, 并呈现一定的剂量-效应关系 ( $P < 0.05$ ; 图 2)。研究表明, Akt 磷酸化后, 可通过激活哺乳动物雷帕霉素靶蛋白

(mammalian target of rapamycin, mTOR) 抑制细胞自噬起始过程<sup>[16]</sup>。与对照组相比, BaP 处理组细胞内 Akt 磷酸化水平显著降低, 呈现负的剂量-效应关系 ( $P < 0.05$ ; 图 2)。实验结果表明, BaP 可通过抑制 Akt 磷酸化而诱导 HUVEC 内自噬增加。细胞内自噬体水平升高, 可能是细胞自噬起始增强, 也可能是自噬后期受阻的结果, 或者兼而有之。

### 2.3 BaP 影响 p62 的表达

p62 是自噬内容物降解的重要生物标志物。为

此,检测了 p62 puncta 和蛋白表达水平。与对照组相比,BaP 处理组细胞 p62 puncta 升高,并呈现一定的剂量-效应关系(图 3);p62 蛋白表达水平也随

BaP 处理剂量的增加而增加,呈现类似的剂量-效应关系( $P<0.05$ ;图 3)。上述结果提示 BaP 导致 HUVEC 自噬后期内容物的降解受阻。

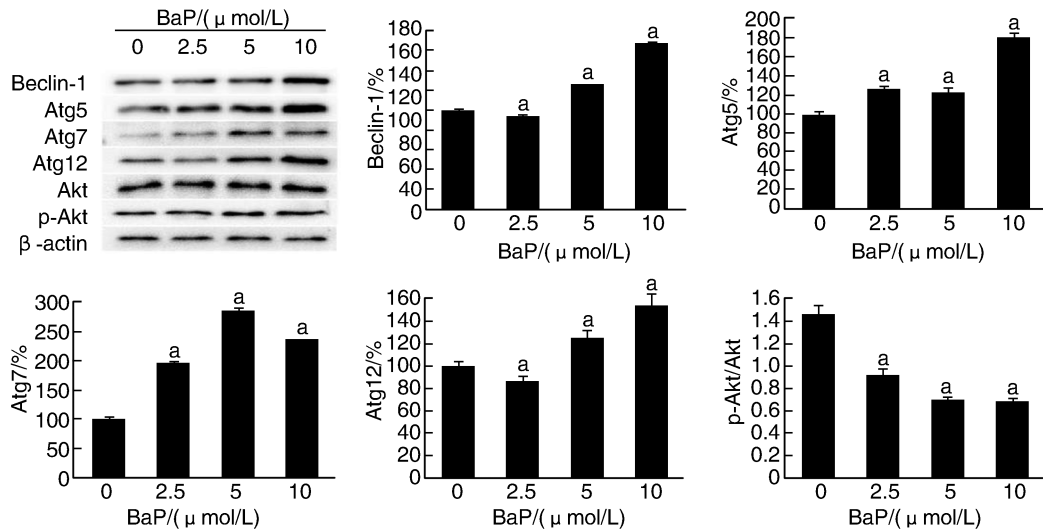


图 2. BaP 对 HUVEC 中自噬相关蛋白表达的影响

a 为  $P<0.05$ ,与对照组比较。

Figure 2. Effect of BaP on autophagy related protein expression in HUVEC

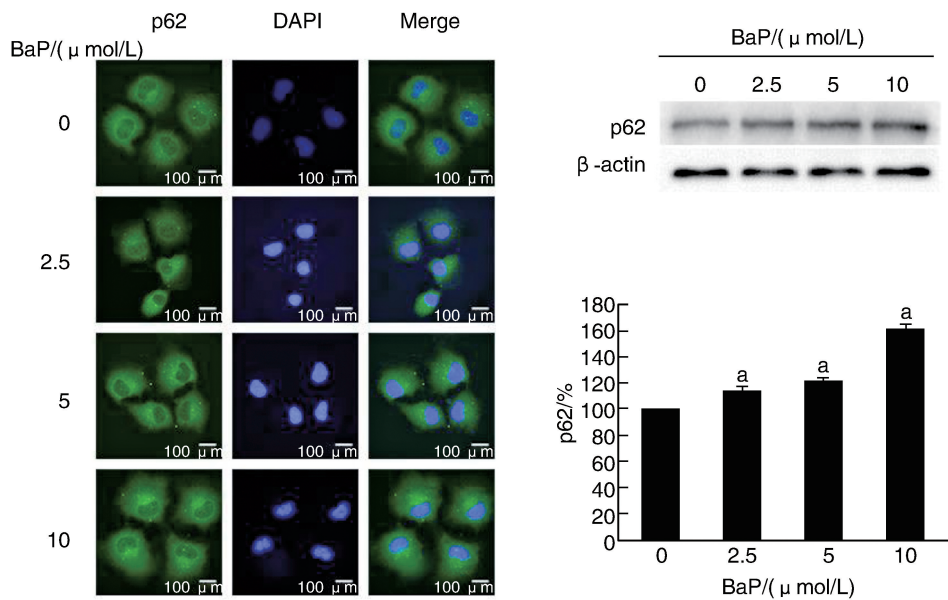


图 3. BaP 对 HUVEC 中 p62 表达的影响

a 为  $P<0.05$ ,与对照组比较。

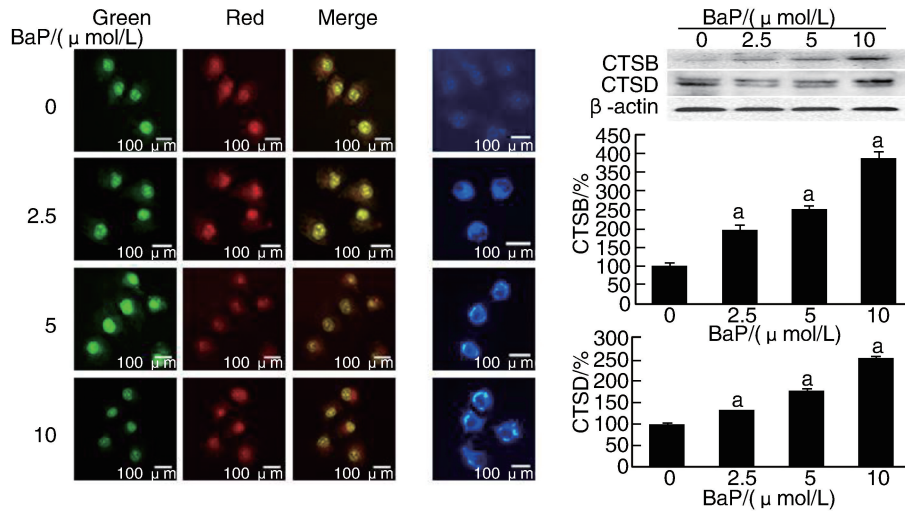
Figure 3. Effect of BaP on p62 expression in HUVEC

#### 2.4 BaP 影响溶酶体及 CTSB、CTSD、ERK、TFEB 的表达

细胞自噬后期内容物降解受阻,有可能是由于溶酶体功能降低,也可能是由于自噬体与溶酶体的融合受到抑制,或兼而有之。因此,我们进一步研

究了在 BaP 作用下 HUVEC 内容酶体数量与代表性水解酶的表达。结果显示,与对照组相比,BaP 处理组细胞内容酶体数量明显增多(图 4);溶酶体的特征性水解酶组织蛋白酶 B (cathepsin B,CTSB)、组织蛋白酶 D (cathepsin D,CTSD)也明显增高( $P<0.05$ ;

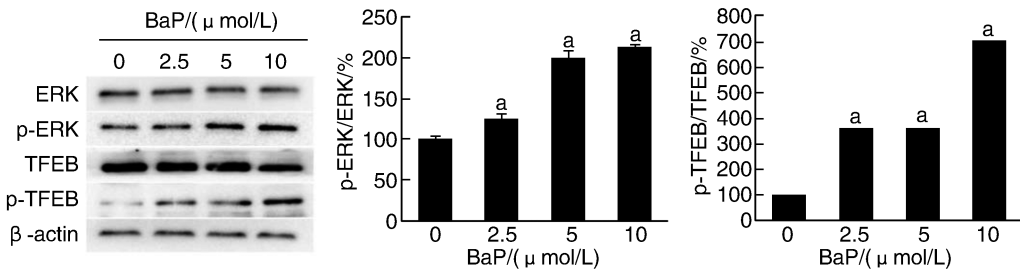
图4)。



**图4. BaP对HUVEC中溶酶体及CTSB、CTSD表达的影响**  
 左边显微镜图,左图为AO染色,右图为MDC染色。a为P<0.05,与对照组比较。  
**Figure 4. Effect of BaP on lysosome and CTSB, CTSD expressions in HUVEC**

同时,我们还进一步研究了调控溶酶体生物发生的上游关键蛋白ERK和TFEB的表达与磷酸化。结果显示,ERK、TFEB的磷酸化水平随BaP浓度的

增加而上升,呈现明显的剂量-效应关系(P<0.05;图5)。提示BaP通过ERK/TFEB信号途径,增加了HUVEC内溶酶体的功能活性。



**图5. BaP对HUVEC中ERK、TFEB蛋白及磷酸化的影响**  
 a为P<0.05,与对照组比较。  
**Figure 5. Effect of BaP on ERK, TFEB and their phosphorylation in HUVEC**

2.5 BaP影响STX17和LAMP2蛋白的表达

文献报道<sup>[17-19]</sup>,BaP可能抑制了HUVEC内自噬小体与溶酶体的融合,从而阻抑了正常的自噬流。为此我们检测了控制自噬小体与溶酶体融合的关键蛋白STX17、LAMP2蛋白表达情况。结果显示,虽然在低剂量BaP(2.5,5 μmol/L)时,STX17表达高于对照组,但就整个处理组来说,其表达随BaP剂量的增加而明显减少,呈现负的剂量-效应关系;LAMP2蛋白表达随BaP处理剂量的增加而明显减少,呈现负的剂量-效应关系(P<0.05;图6)。提示BaP通过抑制STX17和LAMP2蛋白表达,从而阻抑了HUVEC内正常自噬流。

3 讨论

PAH是中国环境中广泛存在的有机毒害污染物<sup>[20]</sup>,且相对浓度较高<sup>[21]</sup>。它可通过呼吸、消化以及表面接触等多种途径暴露于人体,并透过人体的各类生理屏障,到达靶器官组织并蓄积。因此,其对人体健康的影响一直备受人们的关注,也是环境医学研究的前沿领域。新近研究<sup>[22-25]</sup>显示,大气PAH类污染物是中国城乡居民心血管病发病率和致死率居高不下的重要原因,但是其潜在的生物学机制尚没有研究清楚。

内皮细胞是内衬于心血管系统表面的上皮细胞,

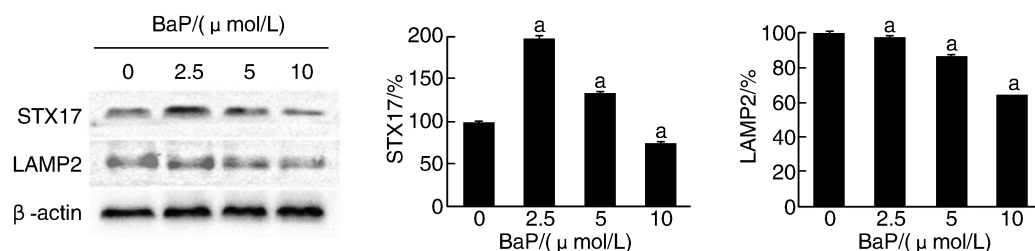


图 6. BaP 对 HUVEC 中 STX17、LAMP2 蛋白表达的影响

a 为  $P < 0.05$ , 与对照组比较。

Figure 6. Effect of BaP on STX17 and LAMP2 protein expression in HUVEC

在心血管系统中执行感知血流及其成分变化、调节心血管系统生理过程、维持心血管系统自身稳定等重要生理功能<sup>[26]</sup>。由于其处于心血管系统中独特的生理位置,内皮细胞也是内、外环境因素致心血管病发生发展的首要靶细胞。内、外环境因素常首先作用于内皮细胞,致使其功能紊乱或死亡而导致一系列心血管病发生发展。通过各种途径进入人体的 PAH 类污染物,将首先直接作用于心血管内皮细胞,进而影响心血管系统的健康。因此,研究 PAH 类污染物对心血管内皮细胞的毒性效应与分子机制,一定程度上反应了 PAH 类污染物危害心血管系统健康的实际情况,具有重要的理论与实际意义。

研究表明,自噬不但是心血管系统细胞维持自身稳定与功能所必需的生理条件,也在心血管病的发生发展的病理过程中扮演重要角色<sup>[12-15]</sup>。本文的结果显示,BaP 一方面通过抑制 Akt/mTOR 信号途径促进 HUVEC 自噬的起始,表明启动自噬也是 HUVEC 应激外源物刺激的重要适应性生理反应过程,这与前人的研究结果<sup>[8-11]</sup>相一致;另一方面,BaP 抑制了 STX17 和 LAMP2 的表达,阻抑了自噬体与溶酶体的融合,导致受试细胞内的自噬体增多和内容物不能有效降解。这从一个侧面解释了前人的研究结果<sup>[27]</sup>,即 BaP 可抑制 HUVEC 增殖,并促进其死亡,其中重要原因可能是阻断了细胞正常的自噬过程。BaP 也被发现能干扰人肝细胞 (HL-7702)、人肺癌细胞 (A549) 等多种人体细胞的自噬过程,导致自噬性死亡<sup>[28-29]</sup>。由此可见,干扰靶细胞的正常自噬过程,可能是 BaP 等 PAH 类污染物损害人体健康的重要分子机制。

现代医学研究表明,环境有害因素诱导或促进动脉粥样硬化是其危害心血管健康的重要病理基础。已有研究表明,PAH 类污染物可影响血管内皮细胞正常生理功能,促进动脉粥样硬化的发生与发

展<sup>[23-25]</sup>。同时,在动物或人体动脉粥样硬化标本中常观察到升高的自噬体及高表达的 LC3 与 p62<sup>[30-33]</sup>。本文结果显示,BaP 作用于 HUVEC 后,抑制了细胞 STX17 与 LAMP2 的表达,阻抑了自噬体与溶酶体融合,导致细胞内自噬体和溶酶体升高,并伴随着 LC3 和 p62 蛋白水平增加。这从一个侧面反映了阻抑内皮细胞的自噬流是 PAH 类污染物致人体动脉粥样硬化进而导致心血管病发生发展的重要分子机制。本文结果为预防与治疗 PAH 类污染物致人体动脉粥样硬化提供了新的思路。

#### [参考文献]

- [1] ZHANG Y, TAO S. Global atmospheric emission inventory of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) for 2004[J]. Atmos Environ, 2009, 43(4): 812-819.
- [2] ZHANG Y, TAO S, SHEN H, et al. Inhalation exposure to ambient polycyclic aromatic hydrocarbons and lung cancer risk of Chinese population[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2009, 106(50): 21063-21067.
- [3] XU X, COOK R L, ILACQUA V A, et al. Studying associations between urinary metabolites of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and cardiovascular diseases in the United States[J]. Sci Total Environ, 2010, 408(21): 4943-4948.
- [4] CLARK J D 3RD, SERDAR B, LEE D J, et al. Exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons and serum inflammatory markers of cardiovascular disease[J]. Environ Res, 2012, 117: 132-137.
- [5] ALSHAARAWY O, ELBAZ H A, ANDREW M E. The association of urinary polycyclic aromatic hydrocarbon biomarkers and cardiovascular disease in the US population[J]. Environ Int, 2016, 89-90: 174-178.
- [6] MA Y, GALLUZZI L, ZITVOGEL L, et al. Autophagy and cellular immune responses[J]. Immunity, 2013, 39(2): 211-227.
- [7] LAROCCA T J, HENSON G D, THORBURN A, et al. Translational evidence that impaired autophagy contributes

- to arterial ageing [J]. *J Physiol*, 2012, 590 (14): 3305-3316.
- [8] JIANG F. Autophagy in vascular endothelial cells[J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2016, 43(11): 1021-1028.
- [9] KROEMER G, MARIÑO G, LEVINE B. Autophagy and the integrated stress response [J]. *Mol Cell*, 2010, 40 (2): 280-293.
- [10] LEVINE B, KROEMER G. Autophagy in the pathogenesis of disease[J]. *Cell*, 2008, 132(1): 27-42.
- [11] RYTER S W, LEE S J, SMITH A, et al. Autophagy in vascular disease[J]. *Proc Am Thorac Soc*, 2010, 7(1): 40-47.
- [12] LAMPERT M A, GUSTAFSSON Å B. Balancing autophagy for a healthy heart [J]. *Curr Opin Physiol*, 2018, 1: 21-26.
- [13] LAVANDERO S, CHIONG M, ROTHERMEL B A, et al. Autophagy in cardiovascular biology [J]. *J Clin Invest*, 2015, 125(1): 55-64.
- [14] MIALET-PEREZ J, VINDIS C. Autophagy in health and disease: focus on the cardiovascular system[J]. *Essays Biochem*, 2017, 61(6): 721-732.
- [15] SACHDEV U, LOTZE M T. Perpetual change: autophagy, the endothelium, and response to vascular injury [J]. *J Leukoc Biol*, 2017, 102(2): 221-235.
- [16] MANNING B D, TOKER A. Akt/PKB signaling: navigating the network[J]. *Cell*, 2017, 169(3): 381-405.
- [17] ITAKURA E, KISHI-ITAKURA C, MIZUSHIMA N. The hairpin-type tail-anchored SNARE syntaxin 17 targets to autophagosomes for fusion with endosomes/lysosomes[J]. *Cell*, 2012, 151(6): 1256-1269.
- [18] NISHINO I, FU J, TANJI K, et al. Primary LAMP-2 deficiency causes X-linked vacuolar cardiomyopathy and myopathy (Danon disease) [J]. *Nature*, 2000, 406 (6798): 906-910.
- [19] TANAKA Y, GUHDE G, SUTER A, et al. Accumulation of autophagic vacuoles and cardiomyopathy in LAMP-2-deficient mice[J]. *Nature*, 2000, 406(6798): 902-906.
- [20] WANG S, JI Y, ZHAO J, et al. Source apportionment and toxicity assessment of PM<sub>2.5</sub>-bound PAHs in a typical iron-steel industry city in northeast China by PMF-ILCR [J]. *Sci Total Environ*, 2020, 713: 136428.
- [21] ZHEN X L, LIU G, LI J H, et al. PAHs in road dust of Nanjing Chemical Industry Park, China: chemical composition, sources, and risk assessment [J]. *J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng*, 2020, 55(1): 33-43.
- [22] 胡盛寿, 高润霖, 刘力生, 等. 《中国心血管病报告 2018》概要 [J]. *中国循环杂志*, 2019, 34(3): 209-220.
- [23] HOLME J A, BRINCHMANN B C, REFSNES M, et al. Potential role of polycyclic aromatic hydrocarbons as mediators of cardiovascular effects from combustion particles [J]. *Environ Health*, 2019, 18(1): 74.
- [24] ZHENG X, HUO X, ZHANG Y, et al. Cardiovascular endothelial inflammation by chronic coexposure to lead (Pb) and polycyclic aromatic hydrocarbons from preschool children in an e-waste recycling area [J]. *Environ Pollut*, 2019, 246: 587-596.
- [25] YAMAGUCHI O. Autophagy in the heart [J]. *Circ J*, 2019, 83(4): 697-704.
- [26] 瞿凯, 邱菊辉, 王贵学. 血管内皮细胞屏障功能的血流动力学调控及其与动脉粥样硬化的关系 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2020, 28(1): 1-6.
- [27] 牛琳. 多环芳烃类化合物苯并芘对人脐静脉内皮细胞血栓调节蛋白表达的影响及机制研究 [D]. 太原: 山西医科大学, 2017: 23-33.
- [28] YUAN L, LIU J, DENG H, et al. Benzo[a]pyrene induces autophagic and pyroptotic death simultaneously in HL-7702 human normal liver cells [J]. *J Agric Food Chem*, 2017, 65(44): 9763-9773.
- [29] LUKASZEWICZ A, NIECHODA A, ZARZECKI M, et al. Co-expression of Hsp70 protein and autophagy marker protein LC3 in A549 cells and THP1 cells exposed to nanoparticles of air pollution [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2020, 1271: 61-68.
- [30] ZHANG C, SYED T W, LIU R, et al. Role of endoplasmic reticulum stress, autophagy, and inflammation in cardiovascular disease [J]. *Front Cardiovasc Med*, 2017, 4: 29.
- [31] JIA G, SOWERS J R. Autophagy: a housekeeper in cardiorenal metabolic health and disease [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2015, 1852(2): 219-224.
- [32] PAN B, LI J, PARAJULI N, et al. The calcineurin-TFEB-p62 pathway mediates the activation of cardiac macroautophagy by proteasomal malfunction [J]. *Circ Res*, 2020, 127(4): 502-518.
- [33] WU Y Y, ZHENG B R, CHEN W Z, et al. Expression and role of autophagy related protein p62 and LC3 in the retina in a rat model of acute ocular hypertension [J]. *Int J Ophthalmol*, 2020, 13(1): 21-28.
- (此文编辑 曾学清)