

纳米银的神经毒理学效应*

张冰洁^{1,2} 刘倩^{1,2} 周群芳^{1,2**} 张建清³ 江桂斌^{1,2}

(1. 中国科学院生态环境研究中心环境化学与生态毒理学国家重点实验室 北京 100085; 2. 中国科学院大学资源环境学院 北京 100049; 3. 深圳疾病预防控制中心 深圳 518055)

摘要 纳米银是目前商品化程度最高的纳米材料之一。由于其独特的表面等离子共振性能、优良的抗菌活性,这种纳米材料已被广泛地应用于医药卫生、工业及日常生活等多个领域。随着纳米银应用领域的不断扩展,其生物安全性也受到了越来越多的关注。由于纳米银能够通过跨越血脑屏障等途径进入生物体脑部,因此纳米银的神经毒理学效应受到广泛关注,近年来已成为该领域研究热点之一。本综述总结了纳米银的脑累积效应以及进入脑组织的途径,主要包括经鼻通过嗅神经直接入脑和穿透血脑屏障。纳米银的神经毒性效应包括受暴露动物体的神经行为学改变、脑部的组织病理学效应或神经元和神经胶质细胞的形貌变化,与神经递质水平改变内在作用机制与氧化应激和炎性反应相关。纳米银的粒径、表面涂层和银离子释放是影响纳米银神经毒性的关键因素。本文最后提出当前纳米银神经毒理学研究中存在的问题及今后的研究方向。

关键词 纳米银 神经毒性 脑累积效应 分子机制 影响因素

中图分类号: O614. 122; X503 文献标识码: A 文章编号: 1005-281X(2018)09-1392-11

Neurotoxicological Effects of Nanosilver*

Bingjie Zhang^{1,2}, Qian S. Liu^{1,2}, Qunfang Zhou^{1,2**}, Jianqing Zhang³, Guibin Jiang^{1,2}

(1. State Key Laboratory of Environmental Chemistry and Ecotoxicology, Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China; 2. College of Resources and Environment, University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; 3. Shenzhen Center for Disease Control and Prevention, Shenzhen 518055, China)

Abstract Nanosilver is one of the most commercialized nanomaterials in the world. Due to its unique surface plasma resonance performance and excellent antibacterial activities, nanosilver has been widely used in many fields, such as medical area, health care, industrial products and our daily supplies. Meanwhile, the increasing application of nanosilver has drawn more and more attention to its biosafety. Previous toxicological studies have revealed diverse deleterious effects nanosilver may cause, wherein, neurotoxicity is highly concerned. This review mainly focuses on the neurotoxicological effects of nanosilver, and three aspects, including the bioaccumulation of nanosilver in brain and its penetration routes, neurotoxicological effects and the underlying molecular mechanisms, and the influencing factors, are comprehensively discussed. The administration of nanosilver through diverse ways could cause brain silver accumulation, and its penetration routes to the brain were mainly involved with the direct nasal olfactory nerve transfer and the translocation of the blood-brain barrier. The neurotoxicological effects of nanosilver were evidenced by neurobehavioral changes in the exposed

收稿: 2017年12月19日, 收修改稿: 2018年3月25日, 网络出版: 2018年9月21日

* 国家自然科学基金项目(No. 21477153, 21461142001, 21621064)、中国科学院前沿科学重点研究项目(No. 14040302, QYZDJ-SSW-DQC017)和深圳三名工程项目(No. SZSM201811070)资助

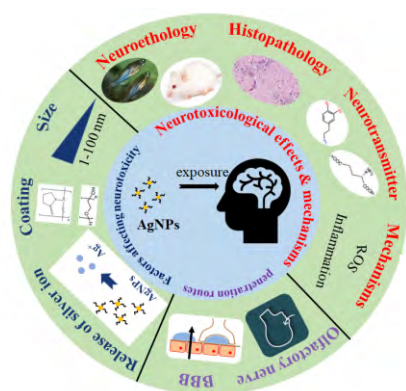
The work was supported by the National Natural Science Foundation of China(No. 21477153, 21461142001, 21621064), the Chinese Academy of Sciences(No. 14040302, QYZDJ-SSW-DQC017), and the Sanming Project of Medicine in Shenzhen(No. SZSM201811070).

** Corresponding author e-mail: zhouqf@rcees.ac.cn

http://www.progchem.ac.cn Progress in Chemistry, 2018, 30(9): 1392~1402

animals, histopathological alteration in the brain or cellular morphological changes in neurons and neuroglia cells, and the disturbance in the neurotransmitter secretion. The underlying mechanisms were related with oxidative damage and inflammatory responses. The factors, including particle size, surface coating and silver ion release, would potentially determine nanosilver induced neurotoxicity. Finally, the existing problems in neurotoxicological studies on nanosilver are pointed out, and the future perspectives in this area are proposed. The review would be of great help to risk assessment of the production, application and disposal of nanosilver.

Key words nanosilver; neurotoxicity; accumulation in brain; molecular mechanism; influencing factors



Contents

- 1 Introduction
 - 1.1 Overview
 - 1.2 The synthesis of nanosilver
 - 1.3 The environmental release of nanosilver
 - 1.4 The toxicological effects of nanosilver
- 2 The bioaccumulation of nanosilver in brain and its penetration routes
 - 2.1 The bioaccumulation of nanosilver in brain
 - 2.2 The penetration routes of nanosilver to brain
- 3 The neurotoxicological effects of nanosilver and its molecular mechanisms
 - 3.1 Neurobehavioral changes
 - 3.2 Histopathological effects
 - 3.3 Neurotransmitter changes
 - 3.4 The underlying molecular mechanisms
- 4 The key factors influencing the neurotoxicity of nanosilver
 - 4.1 Particle size
 - 4.2 Surface coating
 - 4.3 Release of silver ions
- 5 Conclusion and perspective

1 引言

1.1 纳米银概述

纳米银是三维空间中至少有一维处于纳米尺度

($< 100 \text{ nm}$) 的金属银单质, 常见英文名包括 nanosilver、silver nanoparticles (AgNPs) 或者 nAgs。纳米银是商业化程度最高的纳米材料之一^[1]。威尔逊国际研究中心调查显示, 在 1814 个被调查的产品中, 含有纳米银的产品多达 435 种, 居于纳米材料应用市场榜首^[2]。纳米银最为广泛的应用是作为抗菌剂被添加于多种商品中: 如医药卫生领域中的创伤敷料、避孕工具、手术设备和义肢假体; 日常生活中的空气喷雾、衣物洗涤剂、抗菌衣物、洗衣机; 工业工艺领域中的建筑涂层、水体净化剂等。

1.2 纳米银的合成

由于不断攀升的市场需求量与巨大的应用潜力, 纳米银人工合成的新方法新技术得到了不断深入研究与开发。目前纳米银的制备方法主要包括化学法、物理法、生物法^[3] 三种方法, 常见的物理法如超声波还原法^[4]、电火花爆炸^[5]、激光蚀刻^[6] 等; 常见的化学法如光化学法^[7]、化学还原法^[8] 等。目前在纳米银合成的研究领域, 绿色合成是研究的热点。绿色合成是指在化学还原法的基础上, 利用天然的抗氧化物质代替传统的化学还原剂从而获得纳米银的方法^[9]。天然的抗氧化物质主要包括微生物提取物、植物提取物两类。常见的微生物提取物主要为真菌、细菌类, 如树舌 (*Ganoderma applanatum*)^[10]、红面包菌 (*Neurospora crassa*)^[11]、短杆菌 (*Bacillus brevis*)^[12]; 植物提取物的种类则较为广泛, 如葡萄籽提取物^[8]、图拉西树叶^[13]、印度藤黄 (*Garcinia indica*)^[14]、獐牙菜 (*Swertia paniculata*)^[15] 等。通过控制不同的制备条件可以获得不同形状的纳米银材料, 如球形、立方体、锥形、棒状、丝状等^[16,17]。图 1 显示了几种不同形状的纳米银材料, 其中以球状纳米银的应用最为普遍。同样, 针对一定形状的纳米银, 通过调控反应时间、合成温度等条件可获得不同尺寸的纳米银^[18,19]。毒理学实验中研究最多的是粒径为 10 ~ 50 nm 的纳米银。为确保纳米银材料的分散稳定性, 在合成过程中可采用不同的稳定剂, 从而形成不同表面包被的纳米银材

料^[20]。不同纳米银材料的物化特征决定了其催化、光电性质与生物活性。例如,纳米银形状和尺寸可影响其局部表面等离子体共振特性^[21],从而赋予其在催化和光电领域良好的应用潜能;不同表面包被的纳米银具有不同的银离子释放能力,从而实现纳米银可控的抗菌行为^[22],使其在医疗消毒、日用抗菌等领域获得很好的应用价值。

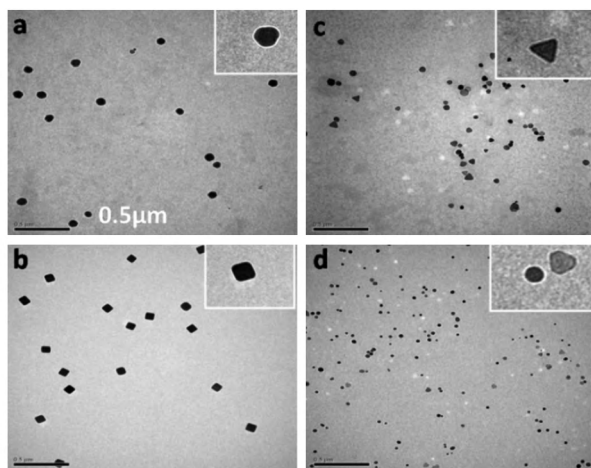


图1 几种不同形状的纳米银材料: (a) 球形纳米银, (b) 立方体纳米银 (c) 与 (d) 两种粒径的纳米银盘

Fig.1 Different shapes of nanosilver. (a) spherical, (b) cubic, (c) and (d) plate-shaped

1.3 纳米银的环境释放

随着纳米银产品开发应用的不断深化,其释放进入环境的途径也越来越多,例如,纳米银产品在制造过程中的无意排放;含纳米银的化妆品、衣物洗涤剂与纺织品等在使用过程中的释放^[23];相关废物处理过程中纳米银可通过污水处理厂的污泥以及垃圾填埋场的垃圾渗滤液等介质进入环境^[24]。释放入环境的纳米银可在大气、土壤、地表水及地下水中迁移转化^[25]。环境中纳米银的迁移转化过程主要包含以下四个变化:表面包被基团的置换与平衡、团聚作用、银离子释放以及与无机盐离子发生反应^[26,27]。

1.4 纳米银的毒理学效应

纳米银在环境中释放量的不断增加必然会对生态环境安全性构成威胁。目前针对纳米银的毒理学效应研究数据较为丰富,大量研究已证明,进入生物体内的纳米银主要分布于肝脏、肾脏等器官^[28-30]。有研究显示,纳米银会通过抑制细胞色素 P450 家族中细胞色素氧化酶 CYP2C、CYP2D 的活性影响肝脏功能^[31],并可诱导氧化应激引起肝脏病理学损伤^[32]。纳米银暴露也会对肾脏^[33]、心脏^[34]、肺

部^[35]等机体重要器官造成损伤。另外,纳米银可影响巨噬细胞的活性^[36],引起急性炎症反应^[37],造成免疫功能紊乱^[38]。在生殖毒性方面,研究表明纳米银暴露会对实验动物的生殖系统功能产生影响^[39],降低雄性实验动物的精子数量与质量^[40],使小鼠输精管、曲细精管发生病理性位移^[41];也可显著减少雌性实验动物卵巢内的卵泡数量^[41],造成卵泡闭锁^[42],降低动物的受孕率^[43]。除生殖毒性外,纳米银还具有一定的发育毒性效应^[39]。低浓度暴露条件下,纳米银会积累在胚胎肝脏血管周围及肠间质组织中^[44],降低心跳速率^[45],甚至造成实验动物胚胎死亡率与畸形率明显增加^[46]。此外,纳米银与其他污染物的联合暴露毒性效应也是纳米毒理学研究领域中的热点之一。研究显示,在与其他传统污染物共存条件下,纳米银会对实验动物产生更显著的毒理学效应^[47]。Kim 等^[48]发现纳米银与金属 Cd 联合暴露,水蚤 (*Daphnia magna*) 体内 Cd 的积累量明显高于 Cd 单独暴露组,表明纳米银对 Cd 的生物富集具有促进作用;纳米银与金属 Cd、金属 Hg 联合暴露可显著增加细胞内氧化应激的水平,引发细胞坏死^[49]。以上研究表明,纳米银具有多靶器官毒性效应,并且其毒理学作用机制较为复杂。

有研究表明纳米银可以进入生物体脑内^[50,51],并产生潜在的脑神经毒性效应。由于神经组织的修复能力有限^[52],纳米银的神经毒性效应受到了人们越来越多的关注。基于此,本文将从脑累积效应与入脑途径、神经毒性效应与作用机制、以及影响神经毒性关键因素这三个方面来介绍纳米银神经毒理学效应的最新研究进展,并提出该研究领域尚待解决的关键科学问题,为纳米银的生产应用安全性评价提供科学参考。

2 纳米银的脑累积效应与入脑途径

2.1 纳米银的脑累积效应

纳米银进入生物体是其产生毒性效应的重要前提,因此脑累积效应评价对于其毒性研究至关重要。动物实验显示,纳米银暴露途径不同,其在体内不同器官的蓄积量、代谢程度、代谢速率等不尽相同,但不同纳米银暴露模式均可引起脑银的出现。例如,纳米银经皮下注射给予雌性 Wistar 大鼠后,约有 90% 蓄积在肝脏和肾脏中,但在大脑组织中也有痕量银检出^[28],表明纳米银经皮给药后可进入脑组织。同样, Kim 等^[29]对 SD 大鼠进行 28 d 的纳米银经口暴露,发现体内银蓄积程度从高到低依次为:肝

脏 > 肾脏 > 肺部 > 脑部。在 90 d 的 SD 大鼠吸入纳米银的亚慢性暴露实验中也观察到类似的结果^[30]。对新生乳鼠进行为期三个月的纳米银滴鼻给药实验显示,大鼠体内主要器官均检测到银累积;经短期暴露,银累积主要集中在肝脏,而经长期暴露,银累积则主要出现在脑组织;时间效应分析显示,在长期暴露的条件下,脑部的银累积一直呈增长趋势,而其他器官的银含量在升高后又逐渐下降至检测背景值;值得注意的是,脑部的银累积在消除阶段并未见降低,这意味着长期给药造成的脑中银累积很难被消除^[53]。类似地, Lee 等^[54]的研究也显示,进入脑部的纳米银颗粒,代谢过程十分缓慢。例如,相比于血液、肝、肾、脾脏等器官,脑部纳米银清除的速度最慢,所需时间最长。进入脑组织的纳米银可分布在大脑不同区域,如延髓、海马、大脑皮层等^[53],然而有些研究则认为海马和大脑皮层是纳米银脑累积主要的靶组织^[55]。

人体暴露纳米银的途径主要包括呼吸系统、消化系统、皮肤接触、直接包埋,与其他特殊途径,如女性生殖系统接触含有纳米银的卫生用品、疾病诊断治疗造成的系统暴露等^[56]。进入生物体的纳米银通过血液循环^[57]或者与蛋白质结合后通过蛋白代谢的途径^[58]分布到全身各靶器官,并最终通过代谢排出体外^[59]。然而值得注意的是,进入人体的银的消除过程非常缓慢。临床非常典型的疾病是银质沉着病,主要表现为长期口服含银制剂后银离子沉淀在人体内脏器官,皮肤、角膜等部位呈蓝灰色^[60]。Lee 等^[61]对两位从事纳米银材料生产长达 7 年之久的男性工人进行健康调查,采集两人生产车间空气样本,分析发现空气中银的浓度分别为 0.35 和 1.35 mg/m³,而血样和尿样的采集分析显示,两人血样中银的含量为 0.034 和 0.0135 mg/dL,尿样中银的含量为 0.043 mg/dL 及未检出,均属于正常的浓度范围,且身体健康状况未见明显异常。

2.2 纳米银进入脑组织的途径

纳米银进入大脑主要有 2 个途径:经鼻通过嗅神经直接入脑和穿透血脑屏障入脑。其中,经由嗅神经入脑途径是化合物靶向进入脑组织的重要方式,主要有 2 条通路:嗅神经通路和三叉神经通路。已有研究表明,金属纳米颗粒可以通过鼻腔进入嗅球^[62],随嗅神经细胞的轴突转运到神经节,进而进入脑部^[63];也可以通过三叉神经通路进入大脑^[50]。而纳米银通过血脑屏障入脑则是当下纳米材料安全评价及应用研究的热点。血脑屏障 (blood brain

barrier, BBB) 主要是由脑微血管内皮细胞 (cerebral microvascular endothelial cells, CMEC) 及细胞间紧密连接构成^[64],它能限制血液中有害物质进入大脑,维持脑内环境的相对稳定。构成 BBB 的其他组成部分也至关重要,如:围绕在内皮细胞周围的周细胞能够吞噬和提呈抗原^[65];星形胶质细胞脚板形成的胶质膜也能够抑制 BBB 渗透性的增加^[66]。纳米银穿透 BBB 的主要方式如图 2 所示,其中包括破坏内皮细胞连接、利用内皮细胞或胶质细胞的内吞/外排作用、引起炎症细胞因子释放。针对纳米银穿透 BBB 的体外研究,多以构成 BBB 的细胞作为研究模型。例如 Chen 等^[67]利用星形胶质类细胞与微血管内皮细胞共培养的体外模型进行评价,发现纳米银暴露会破坏 BBB 中紧密连接蛋白,且具有比纳米二氧化钛更高的通过率。汤京龙等^[68]通过大鼠脑微血管内皮细胞和大鼠星形胶质细胞共培养的方式建立 BBB 体外模型,通过 ICP-MS 与 TEM 结合的研究手段,发现随着纳米银暴露剂量的增加, BBB 受损程度加剧,纳米银穿透 BBB 的比率上升。Trickler 等^[69]发现纳米银暴露可刺激脑微血管内皮细胞释放 TNF 和 PGE₂ 等促炎因子,从而增加 BBB 的渗透性,并且这种效应与纳米银的尺寸有关。

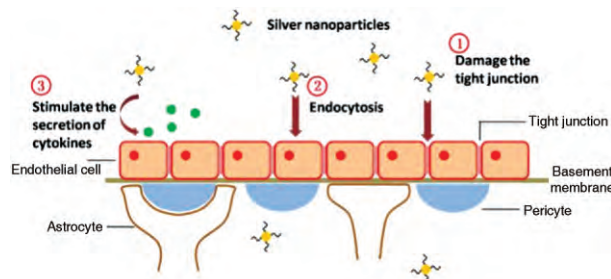


图 2 纳米银逾越血脑屏障的主要方式

Fig. 2 The main penetration routes of nanosilver through the blood-brain barrier

除了离体实验外,活体实验考察纳米银损伤并穿透 BBB 时通常也以构成 BBB 的细胞为研究目标。例如纳米银灌胃暴露会引起大鼠脑部胶质细胞肿胀、紧密连接蛋白表达上调^[70]。通过大脑皮层灌流暴露发现,纳米银会破坏 SD 大鼠 BBB 的功能,增加渗透率并进一步诱发脑部水肿^[71]。此外,进入血液循环系统的纳米银颗粒还可以作用于血浆中的关键酶原,从而调控血管屏障功能。例如龙艳敏等发现,表面负电荷的纳米银颗粒可有效引起血浆中血管舒缓素-激肽系统的级联活化,释放的炎症细胞因子缓激肽可与微血管内皮细胞的 B1 受体结合,引起细胞间粘合连接

蛋白 VE-Cadherin 功能受损,从而调控血管通透性^[72]。纳米银不仅可以直接破坏 BBB 的结构,也可以通过小窝蛋白和网格蛋白介导的内吞作用进入微血管内皮细胞^[73],从而穿透 BBB。

3 纳米银的神经毒性效应与作用机制

3.1 神经行为学改变

受试动物神经行为学改变是评价纳米银脑神经毒性效应的常见方式。神经行为学改变可综合反映神经系统病变的临床症状,是有效评价神经毒性的关键指标^[74]。在纳米银暴露诱导神经行为学效应研究方面,最为常用的实验动物模型是小鼠和大鼠。针对啮齿类动物的神经行为学研究,主要测试方法包括:评价运动整合及协调能力的平衡木实验、转棒实验^[75];评价认知能力的 Morris 水迷宫实验、虚拟迷宫实验^[76];评价自主行为及焦虑程度的旷场实验、高架十字迷宫实验^[77]。关于纳米银暴露引起的神经行为学变化,目前研究报道有一些相同或不同的发现。例如 Zhang 等^[78]发现,尾静脉注射纳米银会引起成年雄性 SD 大鼠体重下降,自主活动能力降低。新生 SD 大鼠经鼻暴露纳米银 14 周后,其小脑颗粒层遭到破坏,并出现运动协调障碍等小脑共济失调的症状^[79]。对雄性 C57BL/6 小鼠滴鼻暴露,水迷宫实验显示纳米银颗粒会降低小鼠的空间记忆能力,但不会影响其短期记忆能力^[80]。也有一些研究表明,纳米银对实验动物的神经行为学未产生影响^[80,81]。由此可见,纳米银暴露对实验动物神经行为学的影响可能与很多因素有关,如纳米银的暴露方式、暴露剂量、暴露时间及实验动物品系等。另外,关于纳米银亲代暴露后通过穿越胎盘屏障影响子代的神经发育也有报道。例如, Ghaderi 等^[82]对妊娠第三天的雌性 NMRI 小鼠进行纳米银皮下注射,每天暴露直至分娩,分析子代小鼠神经行为发现,其认知能力受到明显损害,神经行为出现障碍,并且雌性后代对纳米银暴露更加敏感。Wu 等^[83]也发现纳米银暴露会延长子代的平均逃避潜伏期,损害子代的空间认知能力。除了哺乳动物,水生鱼类也可因纳米银暴露出现一定的神经行为学改变。例如,斑马鱼受精卵在纳米银暴露下,不仅出现了孵化率降低和生长发育延迟的现象,孵化的幼鱼还可表现出一些神经行为学指标的明显改变,如对灯光反应出现迟钝现象等^[84]。

3.2 组织病理学效应

组织病理学直观阐释了由内源或外源因子引起

的器质性病变,是污染物毒性评价的重要手段。在纳米银神经毒性效应的研究中,也经常会对受试模型进行组织病理学效应的观察分析。例如, Tang 等^[85]对雌性 Wistar 大鼠单次皮下注射纳米银,研究发现,单次暴露可导致纳米银在脑内的长期(24 周)积累并造成神经元坏死。长期低剂量经口暴露纳米银,会下调成年雄性 Wistar 大鼠脑内与髓鞘结构稳定性相关的蛋白(CNP、MAG、MOG),进而破坏脑部的磷脂髓鞘^[86]。新生乳鼠长期经鼻给药后,纳米银暴露组小鼠矢状面切片在颗粒细胞层和浦肯野细胞层交界处出现大量空腔状结构,颗粒细胞皱缩、组织结构松散、胞间连接紧密性降低、部分小脑颗粒细胞层细胞丢失^[87]。Ahmed 等^[88]利用纳米银暴露雄性 Wistar 大鼠,组织病理学检查发现星形胶质细胞增生,且伴随着神经元退化和脱髓鞘现象。离体小脑颗粒神经元(CGCs)细胞的明场观察显示,1 μg/mL 纳米银暴露 24 h 后,CGCs 细胞胞体明显变圆、皱缩,细胞贴壁性变差,突触断裂,胞间连接破坏,细胞出现明显凋亡现象^[89],这与活体组织病理学观察到的现象相符。另外,纳米银灌胃暴露会破坏雄性 Wistar 大鼠脑部的突触结构,引起突触小泡向神经纤维网释放,突触结构退化,并且出现由细胞膜、细胞器碎片组成的髓鞘样结构,表明纳米银可能引起神经退行性样病变^[55]。

3.3 神经递质水平变化

神经递质是在神经元细胞突触间进行信息传递的特定化学物质。脑内神经递质主要分为四类,即生物原胺类、氨基酸类、肽类和其他类。其中,谷氨酸及五羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)对生物体学习记忆过程有重要作用^[90]。Begum 等^[91]利用人胚胎干细胞分化而成的谷氨酸能神经元作为细胞模型进行研究,发现柠檬酸盐包被的纳米银可以通过激活钙调蛋白诱导一氧化氮合成酶产生,造成谷氨酸兴奋性毒性。Hadrup 等^[92]通过整体动物实验发现,纳米银暴露会提高脑部 5-HT 及去肾上腺素的水平。此外,多巴胺也是一种重要的神经递质,研究表明纳米银暴露 PC12 细胞,会显著降低细胞分泌多巴胺^[93]。利用雌性 Wistar 大鼠经口暴露纳米银 14 d 也得出了类似的结论^[92]。这些研究结果表明,神经递质表达改变可能在纳米银调控神经毒性效应中起着关键作用。

3.4 神经毒性作用机制

3.4.1 氧化损伤

大量细胞实验及活体动物实验表明,氧化损伤

是纳米银造成神经毒性的主要机制。一方面, 纳米银会诱导细胞内大量活性氧自由基(reactive oxygen species ,ROS) 的产生^[94,95]。例如, Hsiao 等^[96]发现, 纳米银的暴露会引起胶质细胞产生大量的活性氧自由基, 引起氧化损伤。整体动物实验也表明, 低剂量纳米银暴露会引起雄性 Wistar 大鼠体内 ROS 水平、脂质过氧化(lipid peroxidation ,MDA) 水平显著上升^[97]。另一方面, 进入生物体的纳米银会与细胞中氧化还原反应相关的酶发生相互作用, 降低酶的活性及表达水平^[56]。Ahmed 等^[88]发现, 纳米银暴露会显著降低雄性 Wistar 大鼠脑部过氧化氢酶(catalase ,CAT)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase ,SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase ,GPX) 的活性。Bacchetta 等^[98]利用纳米银暴露中河秘鳉幼鱼进行研究也得出了类似的结论, 且幼鱼脑部的脂质过氧化水平显著提高。纳米银对生物体的氧化损伤会进一步启动细胞的炎症反应^[99], 同时激活线粒体相关的细胞凋亡通路, 造成细胞凋亡^[100]。

3.4.2 炎症反应

炎症细胞因子是一类主要由免疫细胞分泌的可介导多种免疫反应的内源性活性多肽。炎症细胞因子可以分为两类: 促炎性细胞因子(pro-inflammatory cytokines), 如白介素 1(interleukin-1 ,IL-1)、白介素 6(interleukin-6 ,IL-6)、白介素 8(interleukin-8 ,IL-8)、白介素 12(interleukin-12 ,IL-12)、干扰素 γ (interferon- γ ,IFN- γ)、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α ,TNF- α) 等, 主要参与机体免疫激活过程; 抗炎性细胞因子(anti-inflammatory cytokines), 如白介素 4(interleukin-4 ,IL-4)、白介素 10(interleukin-10 ,IL-10)、转化生长因子 β (transforming growth factor- β ,TGF- β) , 主要负责在免疫炎症反应中保护自身细胞, 终止炎症反应^[101,102]。神经系统释放炎症因子的细胞主要有微血管内皮细胞、星形胶质细胞和小胶质细胞^[103]。有研究表明细胞因子可参与神经退行性疾病中的炎症反应过程^[104], 在神经病理学效应方面发挥着重要的作用, 因此, 纳米银是否能够影响炎症细胞因子的释放, 是其神经安全性评价的重要方面。已有研究表明, 纳米银暴露 BV2 细胞, 会显著增加 IL-1 β 的水平^[105]。Danila 等^[106]发现纳米银暴露 Wistar 孕鼠会引起子代大脑海马一氧化氮合成酶(Inducible Nitric Oxide Synthase ,iNOS) 水平显著上升。Lin 等^[107]研究发现 BV2 细胞暴露纳米银后, 细胞内

化学进展, 2018, 30(9): 1392 ~ 1402

TREX1、干扰素调节因子 7(interferon regulator factor 7 ,IRF7) 的表达量下降, 前者表达量的下降会提高 TNF- α 、IFN-1、IL-1 β 的水平^[108], 后者则会与 IRF3 相互作用, 调节 BV2 的免疫反应。基于星形胶质细胞的研究发现, 低剂量纳米银会诱导星形胶质细胞释放多种炎症因子, 促进炎症反应的发生^[109]。在大脑微血管内皮细胞(bEnd. 3)、星形胶质细胞(ALT) 和神经瘤母细胞(N2a) 共培养的体系中, 纳米银的暴露会诱导内皮细胞分泌更多的 IL-6 和单核细胞趋化蛋白-1(monocyte chemoattractant protein-1 ,MCP-1) 等炎症细胞因子, 诱导星形胶质细胞、神经瘤母细胞 MCP-1 的分泌量上升^[110]。但也有研究表明, 神经细胞的炎症细胞因子水平并未因纳米银的暴露发生显著的改变^[67,96]。究其原因, 可能是不同实验使用的细胞模型不同, 受试纳米银的粒径与表面包被也同样对神经炎症调控的实验结果产生影响。由此可见, 在纳米银神经安全评价时, 不仅需要考察细胞模型、暴露剂量等问题, 更需要严格表征纳米银粒径、表面包被等自身性质, 以明确受试纳米颗粒的基本理化特征与其神经毒理效应及作用机制之间的相关性。

4 影响纳米银神经毒性的关键因素

4.1 粒径

纳米银粒径大小是影响其神经毒性效应的重要因素之一。一般认为, 纳米银粒径越小, 越容易通过血脑屏障^[111], 其神经毒性越大。动物实验表明, 相比于大粒径纳米银, 小粒径纳米银暴露的斑马鱼卵孵化率和生长发育速度明显更低。小粒径 AgNPs 造成幼鱼反应迟钝、活动下降, 而大粒径 AgNPs 则会使幼鱼更加亢奋^[84]。Haase 等^[95]比较了 20 与 40 nm 的纳米银, 发现对于神经元、胶质细胞和少突胶质细胞混合培养的细胞模型, 小粒径的纳米银产生的细胞毒性更大, 对细胞氧化损伤也更为严重。Trickler 等^[69]比较了 25、40、80 nm 三种粒径的纳米银对脑微血管内皮细胞炎症因子水平的影响, 发现三种纳米银虽然都能够影响细胞 TNF- α 的分泌水平, 但小粒径纳米银的作用效应更强, 且产生效应的时间更早, 表明其较强的神经毒性效应。另外, 25 nm 纳米银可以显著提高细胞前列腺素 E₂ (prostaglandin E₂ ,PGE₂) 的水平。相比较而言, 其他大粒径纳米银则并不诱导该效应。目前, 对于纳米银尺寸大小与其神经毒性效应强弱呈负相关这一现象, 相关研究已经证实的主要原因有两个: 第一, 研

究表明小粒径纳米银进入细胞的能力更强^[112,113],而进入细胞内的纳米银,由于其比表面积更高,生物活性也较高,从而产生更强的氧化应激、细胞免疫等生物效应^[114];第二,研究表明,不论是在纳米银的水溶液中^[115],还是在培养基介质中^[116],小粒径的纳米银释放银离子的能力都强于大粒径,从而表现出更强的生物毒性效应。

4.2 表面包被

纳米银的表面修饰可有效调控其理化性质,如表面电荷、亲疏水性、极性等,而纳米材料表面小分子化合物的引入通常也会影响原有纳米颗粒的生物学效应。针对纳米银,常见的表面包被配体化合物主要包括聚乙烯吡咯烷酮 (polyvinyl pyrrolidone, PVP)、柠檬酸盐、聚乙二醇 (polyethylene glycol, PEG)、聚乙烯 (polyethylene, PE) 等等。表面包被本身并无生物毒性,但包被后的纳米银与未包被的相比,细胞毒性显著增强^[117],DNA 损伤能力也大幅提高^[118]。其主要原因在于,未包被的纳米银颗粒更易聚集,进而不易进入细胞及细胞器,呈现较低的生物毒性^[119]。但也有研究表明,与单宁酸包被的纳米银相比,未包被的纳米银能刺激细胞产生强烈的免疫反应^[120]。不同包被的纳米银颗粒其生物学效应也有明显的差异性。大量研究表明,纳米银颗粒的生物摄入率与其稳定性和聚集状态有关^[116,121]。柠檬酸盐包被的纳米银和 PVP 包被的纳米银颗粒分别是最不稳定和最稳定的纳米银形态^[122]。Begum 等^[91]利用人胚胎干细胞分化成的谷氨酸能神经元为研究对象,分别进行了柠檬酸盐和 PVP 包被的 20 nm 纳米银的暴露实验,结果发现,与后者相比,柠檬酸盐包被的纳米银能在低浓度下显著破坏神经元轴突的生长,促进细胞内 ROS 产生及钙离子内流,降低微管相关蛋白 2 (microtubule associated protein 2, MAP2)、突触后密度蛋白 95 (postsynaptic density protein 95, PSD95)、I 型囊泡膜谷氨酸转运体 (vesicular glutamate transporter, vGlut1) 和门冬氨酸受体蛋白 (n-methyl-d-aspartate receptor, NMDA) 的表达。另有研究表明,柠檬酸盐包被的纳米银可以降低斑马鱼受精卵的孵化率和幼鱼生长发育速度,而 PVP 包被的纳米银则无明显的生物学效应^[84]。另外,有研究表明,人血清白蛋白等会抑制柠檬酸盐包被的纳米银的摄入,促进二氧化硅包被的纳米银的摄入^[114]。表面包被小分子的生物活性有时也会在一定程度上影响纳米银的生物兼容性与神经毒性^[123]。因此,我们认为不同包被纳米银的

稳定性差异导致其摄入能力的差异,是造成其生物效应有所不同的主要原因。同时,也需要考虑生物体内蛋白质对纳米银摄入率的影响与表面包被小分子本身的生物活性。

4.3 银离子释放

众所周知,银离子释放是纳米银杀菌效应的重要机制^[124]。纳米银作为银离子缓慢持续的释放源,可表现出比银离子更为持久的杀菌作用^[125]。与此同时,纳米银的银离子释放特性同样影响了其包括神经毒性在内的生物毒性效应评估。Wang 等^[126]发现纳米银颗粒具有“特洛伊木马效应”,进入细胞的纳米银可进一步释放银离子,产生毒性。Sussman 等^[127]的实验则从正反两面论证了纳米银在培养基中的提取物并不能直接造成细胞毒性,需要纳米银与细胞接触暴露才会产生生物学效应。Hsiao 等^[128]也得出了类似的结果。然而,人们在探讨由纳米银通过释放银离子产生毒性的同时,也不断发现了由纳米银颗粒暴露表现出的独特效应。Hadrup 等^[92]发现,雌性 Wistar 大鼠饲喂纳米银与银离子 28 d 后,纳米银会使脑内五羟色胺浓度升高,而银离子则不能引起这一效应。还有研究表明,纳米银和银离子虽然都会破坏脑部的突触结构,引起突触小泡向神经纤维网释放、突触结构退化,但与银离子相比,纳米银引起海马区域突触结构的退化更为严重^[55]。对星形胶质细胞的研究显示^[109],纳米银可激活 caspase 家族,诱发胶质细胞凋亡,而银离子则倾向于破坏细胞膜的完整性,诱发细胞坏死;在无细胞毒性的低浓度暴露实验中,纳米银可增加星形胶质细胞释放多种炎症因子,促进细胞炎症反应的发生,而银离子却不会产生类似效应。这些研究结果很好地显示了纳米银独特的颗粒效应所导致的神经毒性。此外,水生生物学实验也表明纳米银具有不同于银离子的神经毒性效应^[84]。总体而言,对于纳米银神经毒性作用中颗粒与离子所产生的贡献分别占据多少,目前尚无定论,这也是纳米银毒性机制研究的一个重要方向。

5 结论及展望

作为商业化程度最高的纳米材料之一,纳米银可在生产、应用或处置等不同环节进入环境,并进而通过多种途径迁移转化,最终进入生物体或人体。经过机体吸收、分布、转运等过程后,纳米银可在肝、肾、脑等重要器官中蓄积,从而对生物安全造成潜在威胁。已有研究证明,纳米银可以通过血脑屏障,对

生物体的神经系统造成伤害,因此纳米银的神经安全性评价至关重要。进入神经系统的纳米银颗粒会诱导神经细胞产生氧化应激,引发细胞凋亡,抑制突触形成,干扰神经递质代谢,进而产生一系列的神经毒性效应。

随着纳米银毒理学研究的不断深入,虽然人们对纳米银的神经毒理学效应与作用机制已获得了初步的认识,但在这一研究领域,仍然存在一些问题亟待进一步研究。(1)目前纳米银神经毒理学实验主要是以原代细胞、永生化的细胞等为研究模型,或者以大鼠、小鼠、水生动物等实验动物为研究模型,而基于人群流行病学调查研究鲜有可靠资料。基于离体组织细胞与模型动物的实验结果在用于阐述人体暴露风险时仍然存在瓶颈。随着纳米银商品化程度提高,人群纳米银的暴露风险也有所增加,因此,开展人群流行病学研究对评价纳米银是否具有人体神经相关疾病风险具有重要意义。(2)当前研究所使用的纳米银粒径、表面包被、纯度等各不相同,实验暴露方式、测试模型、评价终点等也不尽相同,这给纳米银神经毒性的综合评价及比较带来很大的难度。为了最大限度发挥纳米银的应用优势,同时又能客观规避其安全威胁,纳米银生物安全性评价,特别是其神经毒性风险评价,亟需一套完整、系统、公认的方法体系。

参 考 文 献

- [1] Chen X, Schluesener H J. *Toxicol. Lett.*, 2008, 176: 1.
- [2] Vance M E, Kuiken T, Vejerano E P, McGinnis S P, Hochella M F, Rejeski D, Hull M S, Beilstein J. *Nanotechnol.*, 2015, 6: 1769.
- [3] Anjugam M, Vaseeharan B, Iswarya A, Divya M, Prabhu N M, Sankaranarayanan K. *Microbial Pathogenesis*, 2018, 115: 31.
- [4] He C, Liu L, Fang Z, Li J, Guo J, Wei J. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2014, 21: 542.
- [5] Lerner M I, Pervikov A V, Glazkova E A, Svarovskaya N V, Lozhkomoev A S, Psakhie S G. *Powder Technology*, 2016, 288: 371.
- [6] Pathrose B, Nampoori V P N, Radhakrishnan P, Sahira H, Mujeeb A. *Optik – International Journal for Light and Electron Optics*, 2016, 127: 3684.
- [7] Raudonyte-Svirbutaviciene E, Neagu A, Vickackaite V, Jasulaitiene V, Zarkov A, Tai C W, Katelnikovas A. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 2018, 351: 29.
- [8] Ping Y, Zhang J, Xing T L, Chen G Q, Tao R, Choo K H. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 2018, 58: 74.
- [9] Rivera-Rangel R D, González-Muñoz M P, Avila-Rodríguez M, Razo-Lazcano T A, Solans C. *Colloids and Surfaces A*, 2018,

化学进展, 2018, 30(9): 1392 ~ 1402

- 536: 60.
- [10] Jogaiah S, Kurjogi M, Abdelrahman M, Hanumanthappa N, Tran L S P. *Arabian Journal of Chemistry*, 2017, DOI: 10.1016/j.arabjc.2017.12.002.
- [11] Quester K, Avalos-Borja M, Castro-Longoria E. *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology*, 2016, 7(2): 8.
- [12] Saravanan M, Barik S K, MubarakAli D, Prakash P, Pugazhendhi A. *Microbial Pathogenesis*, 2018, 116: 221.
- [13] Singh J, Mehta A, Rawat M, Basu S. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2018, 6: 1468.
- [14] Sangaonkar G M, Pawar K D. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2018, 164: 210.
- [15] Ahluwalia V, Elumalai S, Kumar V, Kumar S, Sangwan R S. *Microbial Pathogenesis*, 2018, 114: 402.
- [16] Zeng J, Zheng Y Q, Rycenga M, Tao J, Li Z Y, Zhang Q, Zhu Y M, Xia Y N. *Journal of the American Chemical Society*, 2010, 132: 8552.
- [17] Khodashenas B, Ghorbani H R. *Arabian Journal of Chemistry*, 2015, DOI: 10.1016/j.arabjc.2014.12.014.
- [18] Zhang Q, Li W Y, Wen L P, Chen J Y, Xia Y N. *Chemistry*, 2010, 16: 10234.
- [19] Pietrobon B, McEachran M, Kitaev V. *ACS Nano*, 2009, 3: 21.
- [20] Pongrac I M, Ahmed L B, Mlinarić H, Jurašin D D, Pavičić I, Marjanović Čermak A M, Milić M, Gajović S, Vinković Vrček I. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 2018, 50: 684.
- [21] Ren J T, Tilley R D. *Journal of the American Chemical Society*, 2007, 129: 3287.
- [22] Long Y M, Hu L G, Yan X T, Zhao X C, Zhou Q F, Cai Y, Jiang G B. *International Journal of Nanomedicine*, 2017, 12: 3193.
- [23] McShan D, Ray P C, Yu H T. *J. Food Drug Anal.*, 2014, 22: 116.
- [24] Gottschalk F, Sonderer T, Scholz R W, Nowack B. *Environmental Science & Technology*, 2009, 43: 9216.
- [25] Pachapur V L, Dalila Larios A, Cledón M, Brar S K, Verma M, Surampalli R Y. *Science of the Total Environment*, 2016, 563/564: 933.
- [26] Unrine J M, Colman B P, Bone A J, Gondikas A P, Matson C W. *Environ. Sci. Technol.*, 2012, 46: 6915.
- [27] Calder A J, Dimkpa C O, McLean J E, Britt D W, Johnson W, Anderson A J. *Sci. Total. Environ.*, 2012, 429: 215.
- [28] Tang J L, Xiong L, Wang S, Wang J Y, Liu L, Li J G, Yuan F Q, Xi T F. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 2009, 9: 4924.
- [29] Kim Y S, Kim J S, Cho H S, Rha D S, Kim J M, Park J D, Choi B S, Lim R, Chang H K, Chung Y H, Kwon I H, Jeong J, Han B S, Yu I J. *Inhal. Toxicol.*, 2008, 20: 575.
- [30] Sung J H, Ji J H, Park J D, Yoon J U, Kim D S, Jeon K S, Song M Y, Jeong J, Han B S, Han J H, Chung Y H, Chang H K, Lee J H, Cho M H, Kelman B J, Yu I J. *Toxicol. Sci.*,

• 1399 •

- 2009, 108: 452.
- [31] Kulthong K, Maniratanachote R, Kobayashi Y, Fukami T, Yokoi T. *Xenobiotica*, 2012, 42: 854.
- [32] El Mahdy M M, Eldin T A S, Aly H S, Mohammed F F, Shaalan M I. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 2015, 67: 21.
- [33] Hudecova A, Hasplova K, Miadokova E, Magdolenova Z, Rinna A, Collins A R, Galova E, Vaculikova D, Gregan F, Dusinska M. *Cell Biochemistry and Function*, 2012, 30: 101.
- [34] Elle R E, Gaillet S, Vide J, Romain C, Lauret C, Rugani N, Cristol J P, Rouanet J M. *Food and Chemical Toxicology*, 2013, 60: 297.
- [35] Kaewamatawong T, Banlunara W, Maneewattanapinyo P, Thammachareon C, Ekgasit S. *Journal of Environmental Pathology Toxicology and Oncology*, 2014, 33: 59.
- [36] Liu H L, Yang D F, Yang H L, Zhang H S, Zhang W, Fang Y J, Lin Z Q, Tian L, Lin B C, Yan J, Xi Z G. *Journal of Hazardous Materials*, 2013, 248: 478.
- [37] Scoville D K, Botta D, Galdanes K, Schmuck S C, White C C, Stapleton P L, Bammler T K, MacDonald J W, Altemeier W A, Hernandez M, Kleeberger S R, Chen L C, Gordon T, Kavanagh T J. *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 2017, 31: 4600.
- [38] Galbiati V, Cornaghi L, Gianazza E, Potenza M A, Donetti E, Marinovich M, Corsini E. *Food and Chemical Toxicology*, 2018, 112: 363.
- [39] Ema M, Okuda H, Gamo M, Honda K. *Reproductive Toxicology*, 2017, 67: 149.
- [40] Lafuente D, Garcia T, Blanco J, Sánchez D J, Sirvent J J, Domingo J L, Gómez M. *Reproductive Toxicology*, 2016, 60: 133.
- [41] Han J W, Jeong J K, Gurunathan S, Choi Y J, Das J, Kwon D N, Cho S G, Park C, Seo H G, Park J K, Kim J H. *Nanotoxicology*, 2016, 10: 361.
- [42] Amr El-Nouri M, Osama, Azmy M, Awatif, Ibraheim Elshal O, Ragab A, Hassan Ragab M, Elsherbini A. *Study of the Effects of Silver Nanoparticles Exposure on the Ovary of Rats*, 2013.
- [43] Orbea A, González-Soto N, Lacave J M, Barrio I, Cajaraville M P. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 2017, 199: 59.
- [44] Cambier S, Røgeberg M, Georgantzopoulou A, Serchi T, Karlsson C, Verhaegen S, Iversen T G, Guignard C, Kruszewski M, Hoffmann L, Audinot J N, Ropstad E, Gutleb A C. *Science of the Total Environment*, 2018, 610/611: 972.
- [45] Yoo M H, Rah Y C, Choi J, Park S, Park H C, Oh K H, Lee S H, Kwon S Y. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology*, 2016, 83: 168.
- [46] Sayed A E D H, Soliman H A M. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 2017, 822: 34.
- [47] Gliniski A, Liebel S, Pelletier E, Voigt C L, Randi M A, Campos S X, Oliveira Ribeiro C A, Filipak Neto F. *Toxicol. Mech. Methods*, 2016, 26: 251.
- [48] Kim I, Lee B T, Kim H A, Kim K W, Kim S D, Hwang Y S. *Chemosphere*, 2016, 143: 99.
- [49] Miranda R R, Bezerra A G, Oliveira Ribeiro C A, Randi M A F, Voigt C L, Skytte L, Rasmussen K L, Kjeldsen F, Filipak Neto F. *Toxicology in Vitro*, 2017, 40: 134.
- [50] Kanazawa T, Akiyama F, Kakizaki S, Takashima Y, Seta Y. *Biomaterials*, 2014, 35: 4247.
- [51] Sharma H S, Sharma A. *Nanomedicine (London, England)*, 2010, 5: 533.
- [52] 王云(Wang Y), 丰伟悦(Feng W Y), 赵宇亮(Zhao Y L), 柴之芳(Chai Z F). *中国科学 B 辑: 化学(Science in China Series B: Chemistry)*, 2009, 106.
- [53] Wen R X, Yang X X, Hu L G, Sun C, Zhou Q F, Jiang G B. *Journal of Applied Toxicology*, 2016, 36: 445.
- [54] Lee J H, Kim Y S, Song K S, Ryu H R, Sung J H, Park J D, Park H M, Song N W, Shin B S, Marshak D, Ahn K, Lee J E, Yu I J. *Particle and Fibre Toxicology*, 2013, 10.
- [55] Skalska J, Frontczak-Baniewicz M, Struzynska L. *Neurotoxicology*, 2015, 46: 145.
- [56] 薛玉英(Xue Y Y), 唐萌(Tang M). *东南大学学报(自然科学版)(Journal of Southeast University(Natural Science))*, 2009, 1315.
- [57] Lee Y, Choi J, Kim P, Choi K, Kim S, Shon W, Park K. *Toxicol. Res.*, 2012, 28: 139.
- [58] Donaldson K, Stone V, Tran C L, Kreyling W, Borm P J. *Occup. Environ. Med.*, 2004, 61: 727.
- [59] 徐明(Xu M), 王哲(Wang Z), 刘思金(Liu S J). *中国材料进展(Rare Metals Letters)*, 2016, 28.
- [60] 滕傲雪(Teng A X). *微量元素与健康研究(Studies of Trace Elements and Health)*, 2013, 65.
- [61] Lee J H, Mun J, Park J D, Yu I J. *Nanotoxicology*, 2012, 6: 667.
- [62] Kao Y Y, Cheng T J, Yang D M, Wang C T, Chiung Y M, Liu P S. *Journal of Molecular Neuroscience*, 2012, 48: 464.
- [63] Mistry A, Stolnik S, Illum L. *Int. J. Pharm.*, 2009, 379: 146.
- [64] Leite P E, Pereira M R, Granjeiro J M. *Toxicol In Vitro*, 2015, 29: 1653.
- [65] 秦伟伟(Qin W W), 修瑞娟(Xiu R J), 史晓瑞(Shi X R). *国际脑血管病杂志(International Journal of Cerebrovascular Diseases)*, 2010, 18: 711.
- [66] Nuriya M, Shinotsuka T, Yasui M. *Cereb Cortex*, 2013, 23: 2118.
- [67] Chen I C, Hsiao I L, Lin H C, Wu C H, Chuang C Y, Huang Y J. *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, 2016, 47: 108.
- [68] 汤京龙(Tang J L), 王硕(Wang S), 刘丽(Liu L), 王春仁(Wang C R), 奚廷斐(Xi Y F). *无机化学学报(Chinese Journal of Inorganic Chemistry)*, 2013, 1025.
- [69] Trickler W J, Lantz S M, Murdock R C, Schrand A M, Robinson B L, Newport G D, Schlager J J, Oldenburg S J, Paule M G, Slikker W, Hussain S M, Ali S F. *Toxicol. Sci.*, 2010, 118: 160.

- [70] Xu L M, Shao A L, Zhao Y H, Wang Z J, Zhang C P, Sun Y L, Deng J, Chou L L. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 2015, 15: 4215.
- [71] Sharma H S, Hussain S, Schlager J, Ali S F, Sharma A. *Acta Neurochir. Suppl.*, 2010, 106: 359.
- [72] Long Y M, Zhao X C, Clermont A C, Zhou Q F, Liu Q, Feener E P, Yan B, Jiang G B. *Nanotoxicology*, 2016, 10: 501.
- [73] Landgraf L, Muller I, Ernst P, Schafer M, Rosman C, Schick I, Kohler O, Oehring H, Breus V V, Basche T, Sonnichsen C, Tremel W, Hilger I, Beilstein J. *Nanotechnol.*, 2015, 6: 300.
- [74] 管磊剑(Guan J L), 徐凯旋(Xu K X), 李宁宁(Li N N), 王心如(Wang X R), 吴笛(Wu D). *中国公共卫生(Chinese Journal of Public Health)*, 2017, 1018.
- [75] Stamenkovic V, Milenkovic I, Galjak N, Todorovic V, Andjus P. *Behavioural Brain Research*, 2017, 331: 241.
- [76] Schoenfeld R, Schiffelholz T, Beyer C, Leplow B, Foreman N. *Neurobiology of Learning and Memory*, 2017, 139: 117.
- [77] Bodden C, Siestrup S, Palme R, Kaiser S, Sachser N, Richter S H. *Behavioural Brain Research*, 2018, 336: 261.
- [78] Zhang Y B, Ferguson S A, Watanabe F, Jones Y, Xu Y, Biris A S, Hussain S, Ali S F. *Small*, 2013, 9: 1715.
- [79] Yin N Y, Zhang Y, Yun Z J, Liu Q, Qu G B, Zhou Q F, Hu L G, Jiang G B. *Toxicol. Lett.*, 2015, 237: 112.
- [80] Davenport L L, Hsieh H, Eppert B L, Carreira V S, Krishan M, Ingle T, Howard P C, Williams M T, Vorhees C V, Genter M B. *Neurotoxicol. Teratol.*, 2015, 51: 68.
- [81] Liu P D, Huang Z H, Gu N. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2013, 87: 124.
- [82] Ghaderi S, Tabatabaei S R F, Varzi H N, Rashno M. *Journal of Toxicological Sciences*, 2015, 40: 263.
- [83] Wu J J, Yu C H, Tan Y, Hou Z, Li M, Shao F, Lu X X. *Environmental Research*, 2015, 138: 67.
- [84] Powers C M, Slotkin T A, Seidler F J, Badireddy A R, Padilla S. *Neurotoxicol. Teratol.*, 2011, 33: 708.
- [85] Tang J L, Xiong L, Wang S, Wang J Y, Liu L, Li J G, Wan Z Y, Xi T F. *Applied Surface Science*, 2008, 255: 502.
- [86] Dabrowska-Bouta B, Zieba M, Orzelska-Gorka J, Skalska J, Sulkowski G, Frontczak-Baniewicz M, Talarek S, Listos J, Struzynska L. *Toxicology*, 2016, 363/364: 29.
- [87] Yin N Y, Zhang Y, Yun Z J, Liu Q, Qu G B, Zhou Q F, Hu L G, Jiang G B. *Toxicology Letters*, 2015, 237: 112.
- [88] Ahmed M M, Hussein M M A. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2017, 90: 731.
- [89] Yin N Y, Liu Q, Liu J Y, He B, Cui L, Li Z N, Yun Z J, Qu G B, Liu S J, Zhou Q F, Jiang G B. *Small*, 2013, 9: 1831.
- [90] 李永生(Li Y S), 阎学安(Yan X A), 邵福源(Shao F Y). *实用医药杂志(Practical Journal of Medicine & Pharmacy)*, 2006, 864.
- [91] Begum A N, Aguilar J S, Elias L, Hong Y. *Neurotoxicology*, 2016, 57: 45.
- [92] Hadrup N, Loeschner K, Mortensen A, Sharma A K, Qvortrup K, Larsen E H, Lam H R. *Neurotoxicology*, 2012, 33: 416.
- [93] Hussain S M, Javorina A K, Schrand A M, Duhart H M, Ali S F, Schlager J J. *Toxicol. Sci.*, 2006, 92: 456.
- [94] Mytych J, Zebrowski J, Lewinska A, Wnuk M. *Molecular Neurobiology*, 2017, 54: 1285.
- [95] Haase A, Rott S, Mantion A, Graf P, Plendl J, Thunemann A F, Meier W P, Taubert A, Luch A, Reiser G. *Toxicol. Sci.*, 2012, 126: 457.
- [96] Hsiao I L, Hsieh Y K, Chuang C Y, Wang C F, Huang Y J. *Environmental Toxicology*, 2017, 32: 1742.
- [97] Skalska J, Dąbrowska-Bouta B, Strużyńska L. *Food and Chemical Toxicology*, 2016, 97: 307.
- [98] Bacchetta C, Ale A, Simoniello M F, Gervasio S, Davico C, Rossi A S, Desimone M F, Poletta G, López G, Monserrat J M. *Ecological Indicators*, 2017, 76: 230.
- [99] Shi J P, Sun X, Lin Y, Zou X Y, Li Z J, Liao Y Y, Du M M, Zhang H W. *Biomaterials*, 2014, 35: 6657.
- [100] Kim S H, Ko J W, Koh S K, Lee I C, Son J M, Moon C, Kim S H, Shin D H, Kim J C. *Molecular & Cellular Toxicology*, 2014, 10: 173.
- [101] 亓坤(Qi K), 杜怡峰(Du Y F). *中国神经免疫学和神经病学杂志(Chinese Journal of Neuroimmunology and Neurology)*, 2013, 278.
- [102] 徐说(Xu S), 林文娟(Lin W J). *生物化学与生物物理进展(Progress in Biochemistry and Biophysics)*, 2014, 1099.
- [103] Colonna M, Butovsky O. *Microglia Function in the Central Nervous System During Health and Neurodegeneration.* in: Littman D R, Yokoyama W M, editors. *Annual Review of Immunology*, 2017, 35: 441.
- [104] Rubio-Perez J M, Morillas-Ruiz J M. *Scientific World Journal*, 2012, 2012: 756357.
- [105] Huang C L, Hsiao I L, Lin H C, Wang C F, Huang Y J, Chuang C Y. *Environmental Research*, 2015, 136: 253.
- [106] Danila O O, Berghian A S, Dionisie V, Gheban D, Olteanu D, Tabaran F, Baldea I, Katona G, Moldovan B, Clichici S, David L, Filip G A. *Nanomedicine*, 2017, 12: 1455.
- [107] Lin H C, Huang C L, Huang Y J, Hsiao I L, Yang C W, Chuang C Y. *Toxicology in Vitro*, 2016, 34: 289.
- [108] Pereira-Lopes S, Celhar T, Sans-Fons G, Serra M, Fairhurst A M, Lloberas J, Celada A. *The Journal of Immunology*, 2013, 191: 6128.
- [109] Sun C, Yin N Y, Wen R X, Liu W, Jia Y X, Hu L G, Zhou Q F, Jiang G B. *Neurotoxicology*, 2016, 52: 210.
- [110] Lin H C, Ho M Y, Tsen C M, Huang C C, Wu C C, Huang Y J, Hsiao I L, Chuang C Y. *Toxicological Sciences*, 2017, 158: 151.
- [111] Hanada S, Fujioka K, Inoue Y, Kanaya F, Manome Y, Yamamoto K. *Int. J. Mol. Sci.*, 2014, 15: 1812.
- [112] Chen L Q, Fang L, Ling J, Ding C Z, Kang B, Huang C Z. *Chemical Research in Toxicology*, 2015, 28: 501.
- [113] Braydich-Stolle L K, Lucas B, Schrand A, Murdock R C, Lee T, Schlager J J, Hussain S M, Hofmann M C. *Toxicological Sciences*, 2010, 116: 577.

- [114] Riaz Ahmed K B , Nagy A M , Brown R P , Zhang Q , Malghan S G , Goering P L. *Toxicology in Vitro* ,2017 ,38: 179.
- [115] Liu J Y , Hurt R H. *Environmental Science & Technology* , 2010 ,44: 2169.
- [116] Gliga A R , Skoglund S , Odnevall W I , Fadeel B , Karlsson H L. *Particle and Fibre Toxicology* ,2014 ,11: 11.
- [117] Suresh A K , Pelletier D A , Wang W , Morrell-Falvey J L , Gu B , Doktycz M J. *Langmuir* ,2012 ,28: 2727.
- [118] Ahamed M , Karns M , Goodson M , Rowe J , Hussain S M , Schlager J J , Hong Y. *Toxicology and Applied Pharmacology* , 2008 ,233: 404.
- [119] Zhang T L , Wang L M , Chen Q , Chen C Y. *Yonsei. Med. J.* , 2014 ,55: 283.
- [120] Orłowski P , Krzyzowska M , Zdanowski R , Winnicka A , Nowakowska J , Stankiewicz W , Tomaszewska E , Celichowski G , Grobelny J. *Toxicology in Vitro* ,2013 ,27: 1798.
- [121] Milic M , Leitinger G , Pavicic I , Zebic Avdicevic M , Dobrovic S , Goessler W , Vinkovic Vreck I. *J. Appl. Toxicol.* ,2015 , 35: 581.
- [122] Tejamaya M , Römer I , Merrifield R C , Lead J R. *Environmental Science & Technology* ,2012 ,46: 7011.
- [123] Naha P C , Casey A , Tenuta T , Lynch I , Dawson K A , Byrne H J , Davoren M. *Aquatic Toxicology* ,2009 ,92: 146.
- [124] Van Aerle R , Lange A , Moorhouse A , Paszkiewicz K , Ball K , Johnston B D , de-Bastos E , Booth T , Tyler C R , Santos E M. *Environ. Sci. Technol.* ,2013 ,47: 8005.
- [125] Zhou Q F , Sun C , Liu W , Jiang G B. *Chinese Science Bulletin (Chinese Version)* ,2015 ,60: 645.
- [126] Wang Z , Liu S J , Ma J , Qu G B , Wang X Y , Yu S J , He J Y , Liu J F , Xia T , Jiang G B. *ACS Nano* ,2013 ,7: 4171.
- [127] Sussman E M , Casey B J , Dutta D , Dair B J. *J. Appl. Toxicol.* ,2015 ,35: 631.
- [128] Hsiao I L , Hsieh Y K , Wang C F , Chen I C , Huang Y J. *Environmental Science & Technology* ,2015 ,49: 3813.