

纳米银对中枢神经系统的影响及其机制的研究进展

胡志斌¹, 罗瑞¹, 李喆勉¹, 陈博璐¹, 汤奕舟¹, 洪武定¹, 江从元², 许恒毅¹

1. 南昌大学食品科学与技术国家重点实验室, 江西 南昌 330047

2. 湖南安信恒毅生物科技有限公司, 湖南 长沙 410000

摘要:

纳米银因其优良的物理、化学及生物学特性, 目前已广泛应用于化妆品、纺织品和医疗卫生等领域, 涉及人们日常生活的各个方面。然而纳米银粒径小, 可以通过多种途径进入中枢神经系统, 并且容易在其中蓄积, 从而影响中枢神经系统的正常生理功能。本文归纳了纳米银进入中枢神经系统的途径, 主要包括透过血脑屏障和嗅神经途径; 简述了纳米银对中枢神经系统的影响, 体现在对神经细胞及组织的正常生理功能的干扰和对生物个体神经行为学的影响; 总结了纳米银对中枢神经系统的影响机制, 集中于纳米银影响基因表达和导致细胞凋亡、引起细胞氧化应激以及破坏神经元间连接这三方面。文章最后提出纳米银对神经系统毒性作用现存的问题及日后的研究趋势, 以期为其毒理学的发展提供借鉴和参考。

关键词: 纳米银; 中枢神经系统; 进入途径; 毒理机制

Effects of silver nanoparticles on central nervous system and its mechanisms: A review of recent studies HU Zhi-bin¹, LUO Rui¹, LI Zhe-mian¹, CHEN Bo-lu¹, TANG Yi-zhou¹, HONG Wu-ding¹, JIANG Cong-yuan², XU Heng-yi¹ (1.State Key Laboratory of Food Science and Technology, Nanchang University, Nanchang, Jiangxi 330047, China; 2.Hunan Anxin Hengyi Biotechnology Co. Ltd., Changsha, Hunan 410000, China)

Abstract:

Due to the excellent physical, chemical, and biological properties, silver nanoparticles (AgNPs) have been widely applied in the fields of textiles, cosmetics, and health care, involving all aspects of daily life. However, AgNPs have a small particle size and can enter the central nervous system through various routes and accumulate therein, thereby affecting the normal physiological functions of the central nervous system. This paper summarized the routes of AgNPs entering the central nervous system, including passing through the blood-brain barrier and the olfactory nerve pathway; briefly described the effects of AgNPs on the central nervous system such as interfering with the normal physiological function of nerve cells and tissues and the neurobehaviors of individual organisms; and summarized related mechanisms: affecting gene expression and causing cell apoptosis, inducing cellular oxidative stress, and destroying interneuronal connections. Finally, the paper raised existing problems in studies linking AgNPs to neurotoxicity and future development trend, aiming to provide insights and reference for the development of AgNPs toxicology.

Keywords: silver nanoparticle; central nervous system; route of entry; toxicological mechanism

DOI 10.13213/j.cnki.jeom.2019.19193

基金项目

国家自然科学基金项目 (81560537)

作者简介

胡志斌 (1997—), 男, 本科生;
E-mail: HuZhiBin@email.ncu.edu.cn

通信作者

许恒毅, E-mail: kidyxu@163.com

利益冲突 无申报

收稿日期 2019-04-01

录用日期 2019-06-28

文章编号 2095-9982(2019)09-0874-05

中图分类号 R114

文献标志码 A

►引用

胡志斌, 罗瑞, 李喆勉, 等. 纳米银对中枢神经系统的影响及其机制的研究进展 [J]. 环境与职业医学, 2019, 36 (9): 874-878.

►本文链接

www.jeom.org/article/cn/10.13213/j.cnki.jeom.2019.19193

Funding

This study was funded.

Correspondence to

XU Heng-yi, E-mail: kidyxu@163.com

Competing interests None declared

Received 2019-04-01

Accepted 2019-06-28

►To cite

HU Zhi-bin, LUO Rui, LI Zhe-mian, et al. Effects of silver nanoparticles on central nervous system and its mechanisms: A review of recent studies[J]. Journal of Environmental and Occupational Medicine, 2019, 36(9): 874-878.

►Link to this article

www.jeom.org/article/en/10.13213/j.cnki.jeom.2019.19193

纳米银是由 20~15 000 个银原子组成的银原子簇, 其在三维尺度上至少有一维在 1~100 nm 之间^[1]。纳米银和金属银相比, 有着更为优良的物理化学特性, 并且因能够克服细菌对抗生素的抗药性而表现出强效的抗菌性能, 已广泛应用于化妆品、纺织品和医疗卫生等领域^[2-3]。然而, 生物体可通过胃肠道吸收、皮肤接触和呼吸道吸入等多种途径暴露于纳米银^[4], 在其各组织器官中产生不同程度的纳米银蓄积^[5]。有研究表明, 纳米银可通过多种方式进入中枢神经系统, 并在其中具有较强的滞留能力, 即使经过较长恢复期也无法

完全被清除^[6]。纳米银对中枢神经系统的损伤是不可逆的,因此探究纳米银的神经毒性成为研究的热点。鉴于此,本文综述了纳米银进入中枢神经系统的途径、纳米银对中枢神经系统的影响及纳米银对中枢神经系统的毒性机制,以期为其毒理学的深入研究提供一定的参考。

1 纳米银进入中枢神经系统的途径

中枢神经系统是脊椎动物最为重要的一个系统,其正常状态是维持生物体内环境稳态所必需的。为了维持中枢神经系统的正常生理功能,血脑屏障(blood brain barrier, BBB)通过其对物质的选择性通过作用,将中枢神经系统与外周血液隔离,保护其免受外来致病因素的影响。已有研究表明,纳米银可以通过血脑屏障和嗅神经途径进入中枢神经系统,并在神经系统中滞留^[6]。

1.1 通过血脑屏障进入中枢神经系统

纳米银可通过破坏血脑屏障中的紧密连接蛋白以增加血脑屏障的通透性,进而使其更易进入中枢神经系统。Chen等^[7]建立由内皮细胞和星形胶质细胞共培养的体外血脑屏障模型,经脂多糖处理,模拟炎症反应,并将细胞暴露于粒径为8 nm的纳米银溶液(2 μg/mL) 24 h,发现该模型的经皮电阻值下降,内皮细胞和星形胶质细胞的活性降低,血脑屏障间的紧密连接蛋白闭合蛋白5(claudin-5)和闭合小环蛋白1(zonula occludens-1, ZO-1)不连续。经口给予大鼠粒径为10 nm的纳米银溶液(0.2 mg/kg) 14 d,通过实时荧光定量聚合酶链式反应(real-time quantitative polymerase chain reaction, RT-PCR)检测到紧密连接蛋白claudin-5、ZO-1和咬合蛋白(occludin)的mRNA水平下降,同时观察到脑皮质和海马区内血管周围的星形胶质细胞和神经纤维水肿,但并没有发现作为周细胞标记物的血小板衍生生长因子受体β(β-type platelet-derived growth factor receptor, PDGFβR)表达发生变化,也没有鉴别出周细胞在超微结构上的变化^[8]。

1.2 通过嗅神经进入中枢神经系统

嗅神经是纳米银进入脑的重要的途径。Patchin等^[9]分别将小鼠暴露于粒径为20 nm(C20组)和110 nm(C110组)的纳米银-柠檬酸盐缓冲液雾化剂中,在1 d和7 d后均发现C20组和C110组小鼠的嗅球中存在纳米银蓄积现象,C20组的蓄积水平比C110组高,且蓄积水平随着时间的增加而增高。另外,Wen等^[10]经鼻

腔分别给予新生大鼠粒径为20 nm的纳米银溶液,发现暴露4周的短期实验组(1 mg/kg)和暴露12周的长期实验组(0.1 mg/kg)的大鼠脑部均有纳米银蓄积,且经过恢复期后纳米银的消除率远低于其他器官。Genter等^[11]经鼻腔给予小鼠粒径为25 nm的纳米银溶液(100、500 mg/kg),然后通过金属自显影技术观察到在小鼠的嗅球和侧脑室中有纳米银分布。

2 纳米银对中枢神经的影响

中枢神经系统与生物体的各种生理活动密切相关,其主要由神经元和神经胶质细胞组成。纳米银可通过影响中枢神经系统细胞的活性与功能来影响中枢神经系统的正常生理作用,也可对生物体行为产生直接的影响。

2.1 对神经细胞及组织的影响

神经元在生物体内主要起兴奋传导作用,然而纳米银可破坏神经细胞正常结构,影响神经系统正常生理功能。Ahmed等^[12]经皮下注射给予大鼠粒径为1~100 nm纳米银溶液(30 mg/kg) 8周后,发现纳米银可通过血脑屏障进入大脑,导致神经元变性和细胞膜破裂,然后从致密神经元转移到其他神经元,且随着纳米银在神经系统中蓄积时间增长,坏死神经元数量增加,表明纳米银可破坏神经细胞正常结构并影响神经系统正常生理功能。Hsiao等^[13]将小鼠神经母细胞瘤细胞Neuro-2a暴露于粒径为10 nm的纳米银溶液中,发现纳米银可直接导致Neuro-2a细胞的凋亡和坏死。

星形胶质细胞参与血脑屏障的组成,具有为神经细胞提供营养物质和通过产生谷胱甘肽以防止发生氧化应激反应的作用,但有研究发现纳米银会破坏血脑屏障正常生理结构并增加其通透性。Xu等^[14]发现在高剂量(10 mg/kg)和低剂量(1 mg/kg)经口暴露粒径为3~30 nm的纳米银溶液14 d的大鼠脑组织神经轴突中存在纳米银,且伴随有明显的神经元变性和星形胶质细胞肿胀现象。使用大鼠脑微血管内皮细胞、周细胞和星形胶质细胞三种细胞进行共同培养建立血脑屏障体外模型,并将其暴露于粒径为100 nm的纳米银溶液(1、10 μg/mL) 24 h,观察到大鼠脑微血管内皮细胞紧密连接蛋白ZO-1的表达水平下降,血脑屏障通透性显著增加,星形胶质细胞中线粒体严重收缩、内质网扩张和核型异化^[15]。此外,纳米银还通过增加硫氧还蛋白互作蛋白的含量抑制硫氧还蛋白(thioredoxin, Trx)系统,降低*Nr4a1*和*Dusp1*的表达水平,抑制星形

胶质细胞的抗氧化作用。同时,纳米银通过调节星形胶质细胞中的丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)信号通路、B细胞淋巴瘤-2基因(B-cell lymphoma-2, *Bcl-2*)表达或哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)活性,诱导炎症和细胞凋亡^[15]。

小胶质细胞属于中枢神经系统内的常驻免疫细胞,在调节正常生理功能上至关重要,研究发现纳米银具有促进小胶质细胞活化的作用。Patchin等^[9]将大鼠暴露于纳米银气溶胶时发现纳米银在鼻内蓄积,其入脑速度和引起嗅球中胶质细胞的活化程度具有尺寸依赖性,并与暴露时间有关。Söderstjerna等^[16]将小鼠视网膜小胶质细胞进行体外培养,分别暴露于粒径为20 nm的纳米银溶液(0.0035 mg/mL)和80 nm的纳米银溶液(0.22 mg/mL) 72 h,发现纳米银暴露组的小胶质细胞发生了明显的形态学变化,细胞形态从静息态下的分枝样经由中间态转变为变形虫样的活化态。Duffy等^[17]将小鼠小胶质细胞和下丘脑细胞共同培养,分别暴露于粒径为20 nm的纳米银细胞培养液(0.01、0.05、0.1 μg/mL) 2 h和24 h,发现小胶质细胞代谢活动增强,肿瘤坏死因子α(tumour necrosis factor-α, TNF-α)释放量增加,而下丘脑细胞活性下降,且具有剂量依赖性。

2.2 对生物个体神经行为学的影响

Ghaderi等^[18]每隔3 d经皮下注射给予孕期小鼠粒径为32 nm的纳米银溶液(0.2、2 mg/kg)直至分娩,对后代进行水迷宫实验、被动回避学习实验、高架十字迷宫实验等,与对照组相比,暴露组后代的认知行为受到了严重的损伤并出现各种神经行为障碍,其中雌性小鼠受影响更为显著。Javurek等^[19]经鼻腔给予小鼠边长45 nm的立方纳米银和粒径平均为50 nm的球形纳米银(3.6 mg/kg)溶液,发现两组小鼠出现明显的头倾病症,暴露于立方纳米银的小鼠表现得更为焦虑。Hritcu等^[20]将大鼠暴露于粒径为29 nm的纳米银溶液(5、10 μg/kg)和23 nm的纳米银溶液(5、10 μg/kg) 7 d后,通过Y迷宫和径向臂迷宫实验发现纳米银严重损伤大鼠短期记忆和工作记忆,但对运动记忆和参考记忆无明显影响。

3 纳米银对中枢神经系统影响的机制

纳米银对神经系统的损伤是不可逆的,因此其毒作用机制一直是研究的热点,只有充分了解其对神经

系统的损伤机制才能有效预防。近年来,纳米银对中枢神经系统毒作用机制的研究主要集中于纳米银影响基因表达和导致细胞凋亡、引起细胞氧化应激以及破坏神经元间连接等方面。

但是需要注意的是,大量研究表明很多因素会对纳米银的神经毒性产生影响,其中银离子的释放在纳米银的毒理学研究中具有较大争议。银离子的毒性通常较纳米银大,但又区别于纳米银^[10, 21], Sun等^[22]通过对比研究发现纳米银通过增加细胞内半胱氨酸蛋白酶活性诱导细胞凋亡,而银离子则通过破坏细胞膜的完整性而导致细胞坏死。因此,下文主要针对纳米银对中枢神经系统的毒作用机制进行归纳。

3.1 影响基因表达和导致细胞凋亡

纳米银能够诱导神经细胞DNA损伤,影响基因表达并导致细胞凋亡。将小鼠暴露于粒径为20 nm的纳米银气溶胶中,检测到炎症因子TNF-α在小鼠体内大量存在,同时检测到小胶质细胞中核因子κB(nuclear factor kappa-B, NF-κB)信号通路p65磷酸化以及活性氧(reactive oxygen species, ROS)的产生,表明纳米银可通过激活NF-κB信号通路影响基因的表达来触发神经炎症反应^[17]。*Bax*与*Bcl-2*为细胞内的一对同源基因,*Bax*促进细胞凋亡,而*Bcl-2*抑制细胞凋亡。Ghooshchian等^[23]经腹腔给予小鼠纳米银(0.1、0.2、0.4 mg/mL)溶液,通过RT-PCR检测发现小鼠海马神经元细胞中*Bax*基因表达上调、*Bcl-2*基因表达下调,且*Bax*与*Bcl-2*比值随剂量的增加而增大,表明纳米银可通过调节神经元中*Bax*和*Bcl-2*的表达来促进细胞凋亡。此外,有研究发现纳米银能导致小鼠胚胎细胞中的DNA缺失,损伤小鼠骨髓细胞中的染色体,同时下调大部分的碱基切除修复基因的表达^[24]。

3.2 引起细胞的氧化应激

纳米银可在神经元中引起氧化应激反应,导致细胞内的ROS水平急剧上升,从而破坏细胞内蛋白质、细胞膜、DNA等生物大分子以及细胞器。Haase等^[25]建立了主要由神经元等细胞组成的混合原代细胞模型,将模型分别暴露于粒径为20、40 nm的纳米银溶液(10、20 μg/mL),发现20 μg/mL暴露组有强烈的氧化应激反应。Guo等^[26]的研究中将新生小鼠的海马神经干细胞体外培养3~7 d形成神经网络之后,暴露于粒径为20 nm的纳米银溶液(2 μg/mL)中,观察到细胞活性降低且神经细胞的轴突和树突断裂,细胞内超氧化物歧化酶水平升高,线粒体膜电位水平降低,表

明即使在 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度下, 纳米银仍可以通过引起氧化应激和破坏线粒体来促进细胞凋亡。另外, Ishido 等^[27] 在神经干细胞的体外神经球实验中发现, 纳米银可使细胞内线粒体膜电位遭到破坏, 并且阻碍神经干细胞的迁移, 这进一步说明纳米银对于神经细胞的发育具有毒性作用。

3.3 破坏神经元间的突触联系

中枢神经系统依靠神经元间的正常突触结构以实现细胞间的物质信息交流, 纳米银能影响突触正常生理功能。Xu 等^[28] 发现粒径为 20 nm 的纳米银可抑制小鼠皮质原代培养的神经纤维生长, 且引起突触前膜突触素和突触后膜受体密度下降。Skalska 等^[29] 采用灌胃方法将大鼠暴露于粒径为 10 nm 的纳米银溶液 (0.2 mg/kg) 14 d 后, 观察到大脑皮质与海马区发生了一系列病理变化, 包括突触小体肿胀、突触小泡堆积以及突触间隙变窄等。此外, Repar 等^[30] 将神经元和星形胶质细胞共培养物暴露于粒径为 20 nm 的纳米银-柠檬酸盐溶液 (0.1、1.0、5.0、10、30、50 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 发现, 纳米银能下调神经元中突触后致密蛋白 95 和突触素的表达, 并导致神经变性, 且下调程度和变性程度随纳米银浓度增大而增加。

4 小结与展望

纳米银已被证实能以多种方式进入人体, 并给人体健康带来一定威胁。但就目前现状来看, 关于纳米银对中枢神经系统影响的研究还不够全面, 并且大多是动物实验和体外神经细胞实验, 由这些实验结果外推到人仍存在一定的不确定性, 鲜有人群流行病学的调查, 难以确定纳米银对人体产生毒性的阈值。除此之外, 不同途径暴露于纳米银会对神经细胞产生不同程度的毒性, 且纳米银的存在状态也会干扰其毒性的评价, 而目前并没有建立起一个完善的毒性对照机制。因此, 纳米银对中枢神经系统的影响仍待进一步探究, 其对人体神经系统的毒理学研究将会成为重点。随着研究的深入, 纳米银的神秘面纱将会被一一揭开, 为纳米银的安全使用提供科学依据。

参考文献

- [1] MCSHAN D, RAY PC, YU H. Molecular toxicity mechanism of nanosilver [J]. J Food Drug Anal, 2014, 22 (1) : 116-127.
- [2] 徐明, 王哲, 刘思金. 纳米银生物过程及影响的研究进展 [J]. 中国材料进展, 2016, 35 (1) : 28-35.
- [3] ZHANG XF, LIU ZG, SHEN W, et al. Silver nanoparticles : synthesis, characterization, properties, applications, and therapeutic approaches [J]. Int J Mol Sci, 2016, 17 (9) : 1534.
- [4] 王秀娟, 薛玉英, 唐萌. 纳米银的体内毒性及毒作用机制研究进展 [J]. 生态毒理学报, 2018, 13 (1) : 50-60.
- [5] 曲晨, 刘伟, 荣海钦, 等. 纳米银的生物学特性及其潜在毒性的研究进展 [J]. 环境与健康杂志, 2010, 27 (9) : 842-845.
- [6] STRUŻYŃSKA L. The application, neurotoxicity, and related mechanisms of silver nanoparticles [M] //JIANG X, GAO H. Neurotoxicity of Nanomaterials and Nanomedicine. London : Academic Press, 2017 : 151-177.
- [7] CHEN IC, HSIAO IL, LIN HC, et al. Influence of silver and titanium dioxide nanoparticles on *in vitro* blood-brain barrier permeability [J]. Environ Toxicol Pharmacol, 2016, 47 : 108-118.
- [8] DĄBROWSKA-BOUTA B, SULKOWSKI G, FRONTCZAK-BANIEWICZ M, et al. Ultrastructural and biochemical features of cerebral microvessels of adult rat subjected to a low dose of silver nanoparticles [J]. Toxicology, 2018, 408 : 31-38.
- [9] PATCHIN ES, ANDERSON DS, SILVA RM, et al. Size-dependent deposition, translocation, and microglial activation of inhaled silver nanoparticles in the rodent nose and brain [J]. Environ Health Perspect, 2016, 124 (12) : 1870-1875.
- [10] WEN R, YANG X, HU L, et al. Brain-targeted distribution and high retention of silver by chronic intranasal instillation of silver nanoparticles and ions in Sprague-Dawley rats [J]. J Appl Toxicol, 2016, 36 (3) : 445-453.
- [11] GENTER M B, NEWMAN N C, SHERTZER H G, et al. Distribution and systemic effects of intranasally administered 25 nm silver nanoparticles in adult mice [J]. Toxicol Pathol, 2012, 40 (7) : 1004-1013.
- [12] AHMED M M, HUSSEIN M M A. Neurotoxic effects of silver nanoparticles and the protective role of rutin [J]. Biomed Pharmacother, 2017, 90 : 731-739.
- [13] HSIAO IL, HSIEH Y K, CHUANG C Y, et al. Effects of silver nanoparticles on the interactions of neuron- and glia-like cells : toxicity, uptake mechanisms, and lysosomal tracking [J]. Environ Toxicol, 2017, 32 (6) : 1742-1753.
- [14] XU L, SHAO A, ZHAO Y, et al. Neurotoxicity of silver nanoparticles in rat brain after intragastric exposure [J]. J Nanosci Nanotechnol, 2015, 15 (6) : 4215-4223.
- [15] XU L, DAN M, SHAO A, et al. Silver nanoparticles induce

- tight junction disruption and astrocyte neurotoxicity in a rat blood-brain barrier primary triple coculture model [J]. *Int J Nanomedicine*, 2015, 10 : 6105-6119.
- [16] SÖDERSTJERNA E, BAUER P, CEDERVALL T, et al. Silver and gold nanoparticles exposure to *in vitro* cultured retina-studies on nanoparticle internalization, apoptosis, oxidative stress, glial- and microglial activity [J]. *PLoS One*, 2014, 9 (8) : e105359.
- [17] DUFFY CM, SWANSON J, NORTHROP W, et al. Microglial immune response to low concentrations of combustion-generated nanoparticles : an *in vitro* model of brain health [J]. *Nanomaterials*, 2018, 8 (3) : 155.
- [18] GHADERI S, TABATABAEI SR, VARZI HN, et al. Induced adverse effects of prenatal exposure to silver nanoparticles on neurobehavioral development of offspring of mice [J]. *J Toxicol Sci*, 2015, 40 (2) : 263-275.
- [19] JAVUREK AB, SURESH D, SPOLLEN WG, et al. Gut dysbiosis and neurobehavioral alterations in rats exposed to silver nanoparticles [J]. *Sci Rep*, 2017, 7 : 2822.
- [20] HRITCU L, STEFAN M, URSU L, et al. Exposure to silver nanoparticles induces oxidative stress and memory deficits in laboratory rats [J]. *Cent Eur J Biol*, 2011, 6 (4) : 497-509.
- [21] BEER C, FOLDBJERG R, HAYASHI Y, et al. Toxicity of silver nanoparticles—Nanoparticle or silver ion? [J]. *Toxicol Lett*, 2012, 208 (3) : 286-292.
- [22] SUN C, YIN N, WEN R, et al. Silver nanoparticles induced neurotoxicity through oxidative stress in rat cerebral astrocytes is distinct from the effects of silver ions [J]. *NeuroToxicology*, 2016, 52 : 210-221.
- [23] GHOOSHCHIAN M, KHODARAHMI P, TAFVIZI F. Apoptosis-mediated neurotoxicity and altered gene expression induced by silver nanoparticles [J]. *Toxicol Ind Health*, 2017, 33 (10) : 757-764.
- [24] KOVVURU P, MANCILLA P E, SHIRODE A B, et al. Oral ingestion of silver nanoparticles induces genomic instability and DNA damage in multiple tissues [J]. *Nanotoxicology*, 2015, 9 (2) : 162-171.
- [25] HAASE A, ROTT S, MANTION A, et al. Effects of silver nanoparticles on primary mixed neural cell cultures : uptake, oxidative stress and acute calcium responses [J]. *Toxicol Sci*, 2012, 126 (2) : 457-468.
- [26] GUO X, ZHANG G, CHEN L, et al. Newborn neurons are damaged *in vitro* by a low concentration of silver nanoparticles through the inflammatory oxidative stress pathway [J]. *DNA Cell Biol*, 2017, 36 (12) : 1062-1070.
- [27] ISHIDO M, SHIMAYA E, USU R, et al. Repulsive apoptosis during exposure of mesencephalic neural stem cells to silver nanoparticles in a neurosphere assay *in vitro* [J]. *Curr Drug Discov Technol*, 2015, 12 (1) : 43-51.
- [28] XU F, PIETT C, FARKAS S, et al. Silver nanoparticles (AgNPs) cause degeneration of cytoskeleton and disrupt synaptic machinery of cultured cortical neurons [J]. *Mol Brain*, 2013, 6 : 29.
- [29] SKALSKA J, FRONTCZAK-BANIEWICZ M, STRUŻYŃSKA L. Synaptic degeneration in rat brain after prolonged oral exposure to silver nanoparticles [J]. *NeuroToxicology*, 2015, 46 : 145-154.
- [30] REPAR N, Li H, AGUILAR JS, et al. Silver nanoparticles induce neurotoxicity in a human embryonic stem cell-derived neuron and astrocyte network [J]. *Nanotoxicology*, 2018, 12 (2) : 104-116.

(英文编辑：汪源；编辑：龚士洋，陈姣；校对：宋琪)

(上接第 873 页)

- vitro* [J]. *J Anat*, 2015, 227 (6) : 746-756.
- [35] THORNE D, KILFORD J, PAYNE R, et al. Characterisation of a Vitrocell® VC 10 *in vitro* smoke exposure system using dose tools and biological analysis [J]. *Chem Cent J*, 2013, 7 (1) : 146.
- [36] FUKANO Y, OGURA M, EGUCHI K, et al. Modified procedure of a direct *in vitro* exposure system for mammalian cells to whole cigarette smoke [J]. *Exp Toxicol Pathol*, 2004, 55 (5) : 317-323.
- [37] 吴丹, 管东波, 宋宏. 支气管上皮细胞气液界面暴露培养在环境毒理学研究中的应用 [J]. *毒理学杂志*, 2013, 27 (2) : 153-155.
- [38] 张素萍, 刘海云, 李建祥, 等. 香烟烟雾气体体外染毒方法的建立 [C] // 第七届全国环境与职业医学研究生学术研讨会暨复旦大学博士生论坛: 环境与职业医学论文集. 上海: 环境与职业医学编辑委员会, 复旦大学, 2008 : 142.

(英文编辑：汪源；编辑：汪源；校对：韩凤婵)