

纳米二氧化钛神经毒性及其机制的研究进展

周婕^a, 王文浩^b, 刘素鹏^{a*} (宜春学院, a.医学院, b.生命科学与资源环境学院, 江西 宜春 336000)

摘要: 纳米二氧化钛(TiO₂ NPs)作为一种新型纳米材料, 已成为多个领域的研究热点。随着在日常生活中接触 TiO₂ NPs 愈发容易, TiO₂ NPs 的毒性也逐渐受到关注。TiO₂ NPs 能够通过血脑屏障进入脑内并蓄积, 引起脑组织、神经细胞的损伤, 影响情感与认知, 降低学习记忆能力。本文对近年来 TiO₂ NPs 引起的体内外神经毒性, 以及其毒性机制如氧化应激、炎症反应、凋亡等的研究现状进行综述, 旨在丰富 TiO₂ NPs 的毒性研究数据库, 为其日常安全使用提供科学依据。

关键词: 纳米二氧化钛; 神经毒性; 炎症; 氧化应激; 凋亡

中图分类号: R961 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2017)05-0771-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2017.05.033

引用本文: 周婕, 王文浩, 刘素鹏. 纳米二氧化钛神经毒性及其机制的研究进展[J]. 中国现代应用药学, 2017, 34(5): 771-776.

Toxicity of Titanium Dioxide Nanoparticles in Central Nervous System and the Molecular Mechanisms Involved

ZHOU Jie^a, WANG Wenhao^b, LIU Supeng^{a*} (Yichun University, a.School of Medicine, b.School of Life Science and Environmental Resource, Yichun 336000, China)

ABSTRACT: Titanium dioxide nanoparticles(TiO₂ NPs) possess unique characteristics and have found many practical applications in industry and daily life. A wide use of TiO₂ NPs raises the question about their safety to the environment, humans and biota. Once exposed to TiO₂ NPs, they could be absorbed and easily enter the body, cross blood-brain barrier and then accumulated in the brain regions, especially in the cortex and hippocampus, leading to dysfunctions of central nerve system. *In vivo* and *in vitro* studies have demonstrated that the morphology and function of glial or neuronal cells could be damaged by TiO₂ NPs. It is summarized the previous studies that the neurotoxic mechanisms mainly consist of oxidative stress, inflammation, apoptosis, genotoxicity, and autophagy. Meanwhile, other factors such as disrupted signaling pathways, depleted neurotransmitters and direct impaired cell components have also been seen in neurotoxicity of TiO₂ NPs. In short, this review aims at understanding the potential neural risks of TiO₂ NPs fully and improving its bio-safety for applications in the near future.

KEY WORDS: titanium dioxide nanoparticles; neurotoxicity; inflammation; oxidative stress; apoptosis

纳米材料是指其三维空间结构至少有一维处于纳米尺度(直径<100 nm), 或是由纳米结构单元所构成的材料。纳米二氧化钛(Titanium dioxide nanoparticles, TiO₂ NPs)是其中的一种新型纳米材料, 其比表面积大而尺寸小, 因此具有许多独特的理化性质, 如表面稳定性、吸附力强、吸光率高、对热/磁/光敏感等, 使其被广泛应用于生物医学工程、药品食品、化妆品、化工制造等众多领域^[1-2]。

TiO₂ NPs 的广泛应用, 使得各数量级的 TiO₂ NPs 可通过不同的途径进入机体, 如在生产、使用中直接进入, 或经由环境、食物链等间接被摄取。一般认为 TiO₂ NPs 的毒性较小, 并且 TiO₂ 还于 2002 年被美国食品药品监督管理局正式认可为食

品添加剂。然而由于 TiO₂ NPs 独特的纳米效应: 表面效应、体积效应、量子尺寸效应, 使其可能存在一些不同于常规 TiO₂ 的生物学活性^[3]。大量体外研究表明, TiO₂ NPs 的表面活性极高, 容易与胞内蛋白质、DNA 等生物大分子发生反应, 诱导活性氧、炎症反应、改变酶活性、干预基因表达, 甚至导致细胞死亡^[4]; 体内实验也证实, TiO₂ NPs 进入血液后, 极易到达并蓄积在机体各重要器官(如脑、脾、肝、肾、肺等)中, 引起组织器官的损伤^[5-6]。

因此, TiO₂ NPs 的生物安全性亟待评估, 阐明其可能的毒性机制也迫在眉睫。目前 TiO₂ NPs 的毒性研究主要集中在组织影响、细胞毒性、对生物大分子的表达与活性的影响等几个方面。本

基金项目: 国家自然科学基金项目(81660593); 江西省教育厅科学技术研究项目(GJJ151022)

作者简介: 周婕, 女, 博士, 讲师 Tel: (0795)7055173 E-mail: zj9032@126.com *通信作者: 刘素鹏, 男, 高级实验师 Tel: (0795)7055172 E-mail: lsp1960@126.com

文结合国内外相关文献,以 TiO_2 NPs 为研究对象,综述其对机体神经系统的不良反应。

1 暴露途径与体内分布

TiO_2 NPs 进入机体的途径较多,一般可经胃肠道、呼吸道、皮肤、注射等方式进入体内,并分布、蓄积到重要的组织器官中。由于 TiO_2 NPs 可作为食品添加剂及药物载体等,因此胃肠道暴露是 TiO_2 NPs 最常见的暴露方式之一。含 TiO_2 NPs 最高的食品为口香糖、糖果与巧克力等,喜食甜食者易成为纳米 TiO_2 的高暴露人群,口香糖中超过 93% 的 TiO_2 是 TiO_2 NPs 级别的,非常容易通过咀嚼进入人体,胃肠道中的 TiO_2 NPs 可在 24 h 内达到 $200 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ [7]。除食品外,清洁水质时使用的 TiO_2 NPs [8] 也能够经消化道进入人体,通过血液循环分布到脑、肝、骨等各种器官中,其余部分经粪便和尿液排出。 TiO_2 NPs 经口摄取进入胃肠道后,可经血液循环和淋巴循环,运输到体内各部位。Geraets 等 [9] 口服给予大鼠 5 类 TiO_2 NPs (NM-100、NM-101、NM-102、NM-103 和 NM-104) 后,经 Ti 分析发现, TiO_2 NPs 主要分布在肝脏中,其次是脾和肺;与对照组相比,大鼠脑内的 TiO_2 NPs 含量也显著升高。然而最近越来越多的研究显示,胃肠道对 TiO_2 NPs 存在吸收限度,因此进口摄入的 TiO_2 NPs 并不会在体内过量堆积 [10]。

在日常应用中, TiO_2 NPs 还被广泛用于各类化妆品(特别是防晒霜)中,其能否经透皮吸收进入体内也引起了研究人员的重视。健康成人在使用了含 TiO_2 NPs 的防晒霜后, TiO_2 NPs 多沉积在皮肤角质层、毛囊角质层和毛乳头处等,无法穿透活皮肤组织 [11]。Coelho 等 [12] 发现,连续使用含 TiO_2 NPs 的防晒霜 8 d 后, TiO_2 NPs 可以穿透毛囊角质层,沉积在毛囊周围的真皮中。Miquel-Jeanjean 等 [13] 采用与人皮肤最相似的猪皮肤进行 TiO_2 NPs 的皮肤渗透性研究,结果显示 TiO_2 NPs 可穿透角质层进入到表皮,主要蓄积在角质层与表皮,渗透液中未检测到其存在。而将人类皮肤成纤维细胞系暴露于 TiO_2 NPs 后, TiO_2 NPs 不会促使皮肤细胞死亡,也未出现染色体断裂、DNA 损伤等基因毒性 [14]。

由于 TiO_2 NPs 在空气消毒等方面的应用,大气中亦存在极少量的 TiO_2 NPs,其粒径极小,能经过呼吸道吸入体内,主要沉积在鼻咽、支气管

和肺泡区域,并且可以通过感觉神经分布到脑内 [15]。氧化钛制造业的工人长期暴露于含 TiO_2 NPs 空气中,其肺部可发现明显的 TiO_2 NPs 沉积,且其尿液中亦检测到 TiO_2 NPs [16]。SRXRF 图谱分析显示,经鼻吸入 TiO_2 NPs 的小鼠, TiO_2 NPs 一方面可以沿嗅觉神经转移到嗅球后,进入中枢神经系统,并主要累积在海马区;另一方面 TiO_2 NPs 还扩散到血液循环中,穿过血脑屏障进入中枢,影响脑部基因的表达 [17-18]。此外,腹腔注射也是一种常用的评估 TiO_2 NPs 体内毒性的暴露途径。Krystek 等 [19] 对 Wistar 大鼠注射给予 TiO_2 NPs, 14 d 后, TiO_2 NPs 主要富集在大鼠的肝脏与脾脏中,也有少量分布在肺、脑、肾等组织。

2 神经毒性反应

2.1 体外神经毒性

大量研究结果显示, TiO_2 NPs 的高生物活性以及易被细胞摄取内化,使其能造成神经细胞损伤 [20]。研究人员采用人类 U373、SHSY5Y 细胞 ($20 \sim 150 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ TiO_2 NPs, 作用 3, 6, 24 h) [21], 大鼠 C6、P12、N27 细胞 ($20 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ TiO_2 NPs, 作用 2, 4, 6, 24 h) [22] 等作为体外研究对象,发现 TiO_2 NPs 能显著抑制神经细胞的增殖,改变其形态,诱导凋亡。在原代培养的大鼠海马神经元细胞中, TiO_2 NPs ($5, 15, 30 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 作用 24 h 后能引起线粒体肿胀、脊消失、细胞核固缩、DNA 断裂、染色质边缘化等典型的凋亡特征 [23]。此外, $0.25 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ TiO_2 NPs 作用 24 h 后还能引起小神经胶质细胞内活性氧(ROS)堆积,炎症因子水平上扬,内质网扩张,胞内钙水平升高,线粒体膜电位降低等现象,提示 TiO_2 NPs 引起的凋亡可能与 ROS 及 ROS 依赖的线粒体途径相关 [24]。在预先使用抗氧化剂 N-MPG 后, TiO_2 NPs ($5, 10, 50 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 作用 1 h) 的细胞毒性得到了一定程度的缓解,其机制为抑制 ROS 依赖的 p53 凋亡通路和 caspase 家族活化,从而减少细胞的死亡 [25]。

2.2 体内神经毒性

目前,研究人员多采用非哺乳类脊椎动物(鱼类)和哺乳类脊椎动物(啮齿类)2 类动物模型来评估 TiO_2 NPs 的体内神经毒性。Federici 等 [26] 发现将虹鳟鱼暴露于 TiO_2 NPs ($0.1, 0.5, 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 14 d 后, TiO_2 NPs 能进入虹鳟鱼脑部并引起脑部电解质和微量元素水平的变化, K^+ 、 Mn 、 Cu 、 Zn 等含量显著上升,轻微抑制 Na^+ - K^+ -ATP 酶;恢复

期时, K^+ 含量水平恢复正常, Cu 、 Zn 含量水平下降至峰值时的一半, 但依然高于对照组。Ramsden 等^[27]将虹鳉鱼暴露于 TiO_2 NPs($10, 100\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 8 周后, 也发现了类似的离子浓度和酶活性的变化。Boyle 等^[28]发现 $1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ TiO_2 NPs 作用 14 d 后, 除了直接影响虹鳉鱼的脑组织外, 还会聚积在腮组织, 抑制有氧呼吸, 引起缺氧, 造成神经损伤。Ramsden 等^[29]在斑马鱼模型上发现, 同样暴露于 TiO_2 NPs($0.1, 1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)14 d 后, 斑马鱼脑内 TiO_2 NPs 的含量虽然呈现出时间依赖性增长, 但并未出现如虹鳉鱼样的脑部电解质及微量元素水平的改变。Wang 等^[30]也认为 $1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ TiO_2 NPs 在作用 72 h 后尚不能影响斑马鱼胚胎的发育与神经发生分化。而 Sheng 等^[31]发现 TiO_2 NPs($5, 10, 20, 40\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)对斑马鱼造成的神经毒性是亚慢性的, 将斑马鱼持续暴露于 TiO_2 NPs 45 d, 低剂量的 TiO_2 NPs($5\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)就可引起脑组织损伤, 斑马鱼的空间认知记忆水平显著下降, 脑内神经递质去甲肾上腺素、多巴胺、5-羟色胺水平大幅减少, NO 水平增加, 胶质细胞过度增殖, 神经元出现凋亡。这些神经细胞损伤可能与 TiO_2 NPs 激活了 C-jun、BDNF 基因, 抑制了 p38、NGF、CREB 等基因的表达相关。

Hu 等^[32]对小鼠连续灌胃 TiO_2 NPs($5, 10, 50\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 60 d 后发现, TiO_2 NPs 对小鼠的神经系统造成了不可逆的严重损伤: 小鼠脑组织异常、脑质量减少, 空间认知与记忆能力受损, 并出现了与非哺乳类脊椎动物模型相似的微量元素水平改变、神经递质分泌失衡、代谢酶活性降低等病变。Zhang 等^[33]通过鼻腔滴注给予小鼠 TiO_2 NPs($500\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)30 d 后发现, TiO_2 NPs 能穿透血脑屏障富集在脑组织如皮质、纹状体、海马区等, 引起小鼠的海马神经元出现空泡, 锥体细胞拉长变大, 神经元形态发生改变, 数量也大幅减少。Ze 等^[34]采取同样的方式将小鼠暴露于 TiO_2 NPs($2.5, 5, 10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)90 d 后, TiO_2 NPs 能剂量依赖性减少小鼠脑质量, 胶质细胞水肿、细胞核不规则, 锥体细胞体积变小、细胞核固缩、变性, 蛋白质分析显示脑内促凋亡蛋白(如 Bax 等)含量升高、而抑凋亡蛋白(如 Bcl-2 等)减少; 在对小鼠海马区的亚慢性毒性的研究^[35]中也发现, 暴露于 TiO_2 NPs($2.5, 5, 10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)9 个月后, 海马细胞凋亡, 海马组织出现严重病理学改变, 如锥体神

经元水肿、出血和神经胶质细胞增殖等, 伴有组织坏死。这些结果表明, TiO_2 NPs 引起的动物体内神经毒性存在种属之间的差异性, 虽然其神经毒性的表现、强弱及机制存在不同, 但是在日常应用中, TiO_2 NPs 的亚慢性神经毒性依然不容忽视。

3 机制

3.1 细胞结构损伤

研究显示, 细胞膜和线粒体是 TiO_2 NPs 攻击的靶标之一。 TiO_2 NPs($25, 50, 100\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 作用 24 h)可通过脂质过氧化破坏细胞膜结构, 使细胞线粒体肿胀、嵴减少、出现空泡, 导致原代培养的大鼠星形胶质细胞死亡^[36]。Coccini 等^[37]发现, 神经细胞 D384 和 SH-SY5Y 暴露于 TiO_2 NPs (急性毒性: $1.5\sim 250\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 作用 4, 24, 48 h; 亚急性毒性: $0.05\sim 31\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 作用 10 d)后, 细胞形态发生改变, 细胞膜呈现不完整状态, 线粒体膜孔开放、膜电势降低, 使细胞活性显著降低。此外, 该研究亦显示 SH-SY5Y 细胞对 TiO_2 NPs 的敏感性较 D384 细胞高, 出现线粒体功能紊乱的毒性剂量分别为 $15\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 和 $31\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。Mao 等^[38]发现 $100\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ TiO_2 NPs 作用 24 h 后能破坏 SH-SY5Y 细胞的微管结构, 与微管和 Tau 蛋白相互作用, 使微管紊乱、收缩、强度下降, 降低新生微管寿命, 增加微管的不稳定性, 引起神经毒性。

3.2 氧化应激

Pelclova 等^[39-40]将 30 名工人间歇(14 ± 9) $\text{min}\cdot\text{d}^{-1}$ 暴露于含 TiO_2 NPs 气溶胶的工厂车间中($0.4\sim 0.65\text{ mg}\cdot\text{m}^{-3}$), 探究 TiO_2 NPs 影响人体健康的潜在生物标记物, 依据伦理委员会要求, 收集工人的呼气浓缩物为生物样本进行检测, 其脂质过氧化物标记物 MDA、HHE、8-异前列腺素, 以及氨基酸氧化标记物 o-Tyr、3-ClTyr、3-NOTyr 的含量均显著上升, 出现氧化应激损伤。 TiO_2 NPs($0.1\sim 200\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 作用 0~24 h)被摄取进入细胞后, 能够时间、剂量依赖性升高 BV2 小神经胶质细胞内 ROS 的含量, 过量的 ROS 能攻击线粒体膜孔蛋白, 引起线粒体膜电势崩解、干扰呼吸链功能, 影响细胞能量代谢, 导致细胞损伤^[41]。在 P12 大鼠嗜铬细胞中同样也出现了 TiO_2 NPs($1\sim 100\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 作用 0~24 h)引起的 ROS 堆积, 并且胞内的内源性抗氧化酶(如 SOD、CAT、GSH-Px 及 GST 等)的含量与活力水平均明显下降^[42]。由于 ROS 能引起胞

内脂质、蛋白及 DNA 等生物分子损伤,使细胞膜和细胞器的功能受损, Liu 等^[43]在单次暴露于 $40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ TiO_2 NPs 的小鼠脑内检测到超氧阴离子及 H_2O_2 的同时,也发现了小鼠皮质与海马区出现脂质过氧化、DNA 解旋与断裂、蛋白质变性 & 线粒体损伤等,并且受损的线粒体能释放促凋亡因子(如细胞色素 C 等),引起细胞的死亡。Ze 等^[44]也发现, TiO_2 NPs ($1.25, 2.5, 5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 作用 9 个月)能上调 ROS 水平、激活其下游的 p38、c-Jun 等通路,抑制小鼠脑部抗氧化酶的活性,减少细胞对 ROS 的清除;预先使用抗氧化剂减少 TiO_2 NPs 引起的 ROS,则能一定程度上减轻动物的脑部损伤。

3.3 基因损伤

一些外源物质如化疗药物等可以通过直接或间接的方式,引起细胞核内 DNA 损伤,产生基因毒性。对暴露于含 TiO_2 NPs 空气中的工作人员进行职业风险评估,结果显示其核酸氧化损伤标记物 8-OHdG、8-OHG、5-OHMeU 含量显著上升^[45]。研究人员通过彗星试验、微核测试和染色体畸变试验等手段,对 TiO_2 NPs 引起的 DNA 损伤程度进行评估^[46]。 TiO_2 NPs ($1.25, 2.5, 5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 作用 9 个月)作用于人神经干细胞 24 h 后,能通过改变 DNA 的脱氧核糖和碱基,诱导 DNA 发生解旋或者断裂,导致 DNA 损伤^[47]。研究人员认为, TiO_2 NPs ($1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 作用 24 h)引起的基因毒性与其诱导产生的活性氧相关,大量堆积的 ROS 能作用于神经细胞的 DNA,引起 DNA 的氧化损伤^[48]。超氧阴离子能诱导 DNA 的碱基突变、破坏或脱落,促使脱氧核糖分解,促进磷酸二脂键断裂等,引起 DNA 单链断裂,抑癌基因 p53 的 5, 7, 8 位外显子发生突变,从而产生神经毒性^[49]。在预先使用自由基清除剂叶绿素(CHL)的小鼠脑组织中,ROS 水平显著降低,且 DNA 的损伤程度也明显被缓解^[36]。

3.4 炎症反应

TiO_2 NPs [$20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot (2 \text{ d})^{-1}$, 作用 20 d]作为外来物质被转运入中枢神经系统后,易引起细胞间免疫调节,使小神经胶质细胞活化,活化的小神经胶质细胞能表达复合刺激因子 MHC、B7 及 CD40,成为抗原呈递细胞;还能释放促炎因子和趋化因子,上调胞内 IL-1 β 、IL-2、TNF- α 、MCP-1、MIP-2 等含量,诱导神经炎症^[50]。IL-1 β 能与

NMDAR(N-甲基-D-天氨酸受体)离子通道相互作用,诱导 Ca^{2+} 内流,增加炎症状态下的神经元的易感性^[51]。这些炎性因子的升高与 TiO_2 NPs 激活了小鼠海马区 NF- κB 信号通路相关, TiO_2 NPs ($2.5, 5, 10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 作用 90 d)能诱导炎症信号,促使 I $\kappa\text{B}\alpha$ 降解, NF- κB 游离并转位入核、与相应的 DNA 位点结合,促进炎症相关基因的表达,引起神经炎症^[52]。ROS 能通过活化 IKK/I κB 或 Akt、ERK 来激活 NF- κB 通路, NF- κB 活化后产生的炎症因子也能加剧 ROS 堆积,形成正反馈,加重 TiO_2 NPs 引起的神经损伤。

3.5 凋亡

细胞凋亡也称为细胞程序性死亡,是一种由基因控制的细胞自主而有序的死亡方式,涉及基因的调控、激活及表达等复杂过程^[53]。Sheng 等^[23]发现 TiO_2 NPs 能导致原代培养的大鼠海马神经元细胞发生凋亡。 TiO_2 NPs 被细胞摄取之后,能增加细胞内 Ca^{2+} 含量,激活 Ca^{2+} 依赖的内质网应激。同时破坏线粒体膜电位,从而引起线粒体膜孔开放,释放细胞色素 C,激活 caspase 家族,引起细胞凋亡。这一凋亡现象在小神经胶质细胞 N9(TiO_2 NPs: $16, 64, 125 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 作用 24 h)^[54]和星形胶质细胞 U87(TiO_2 NPs: $1, 10, 50 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 作用 48 h)^[55]中也被观察到。暴露于 TiO_2 NPs 后,细胞内促凋亡因子 Bax 含量显著上升,抑凋亡因子 Bcl-2 含量显著下降, Bax 从细胞浆内转位到线粒体外膜,与线粒体膜孔蛋白相互作用,促进膜孔开放,使凋亡诱导因子从线粒体内膜间隙中释放到细胞浆内,激活 caspase-3,导致凋亡。

3.6 其他机制

TiO_2 NPs 作用于动物的中枢神经系统,可引起神经细胞膜破裂,胞内 Ca^{2+} 浓度上升;减少神经递质(如多巴胺、乙酰胆碱)的生成,损伤学习与记忆能力;激活胞内信号通路如 B 细胞受体通路、钙通路及死亡受体通路等,改变其下游基因如内源性抗氧化系统(如 Nfr-2 体系)、炎症因子、死亡因子的表达水平;作用于细胞器,能影响其超微结构,引起线粒体应激、内质网应激等^[56]。孕鼠暴露于 TiO_2 NPs 后, TiO_2 NPs ($100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 作用 21 d)不仅造成孕鼠的神经系统变性,还能通过胎盘进入胎鼠的大脑皮层与海马区,影响胎鼠大脑的发育,使海马神经元数量减少,神经细胞出现 G2/M 期细胞周期阻滞,并干预与 DNA 修复、免

疫应答、脂质代谢以及记忆、认知相关的基因表达,抑制 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$ 酶、 $\text{Ca}^{2+}\text{-ATP}$ 酶活性,影响细胞能量代谢等^[57]。

4 小结

本文总结了现阶段关于 TiO_2 NPs 神经毒性的研究成果, TiO_2 NPs 在给人们生活带来便利的同时,其引起的神经毒性也不容忽视。它通过呼吸道、消化道等方式进入机体后,能被转运至脑内,也能由母体传递到胚胎,引起氧化应激、炎症、凋亡等反应,甚至引起细胞死亡,最终造成脑部损伤。目前关于 TiO_2 NPs 在脑内的蓄积、毒性及其机制的研究尚少,有待研究人员进一步深入探讨,并将动物研究的结果与日常接触 TiO_2 NPs 人群的数据进行综合对比,建立更加合理的评估准则,为 TiO_2 NPs 的安全使用提供更加可靠的科学依据。

REFERENCES

- [1] CHANG X, ZHANG Y, TANG M, et al. Health effects of exposure to nano- TiO_2 : a meta-analysis of experimental studies [J]. *Nanoscale Res Lett*, 2013, 8(1): 51. Doi: 10.1186/1556-276X-8-51.
- [2] XU A, YING J, HE W, et al. Preparation and evaluation of doxorubicin-loaded titanium dioxide nanoparticles [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药学), 2014, 31(8): 962-965.
- [3] GRANDE F, TUCCI P. Titanium dioxide nanoparticles: a risk for human health [J]. *Mini Rev Med Chem*, 2016, 16(9): 762-769.
- [4] HUANG K, WU C, HUANG K, et al. Titanium nanoparticle inhalation induces renal fibrosis in mice via an oxidative stress upregulated transforming growth factor-beta pathway [J]. *Chem Res Toxicol*, 2015, 28(3): 354-364.
- [5] XUE C, LI X, YANG X. Effect of nanotitanium dioxide long term exposure on the skin damage in Balb/c nude mice [J]. *J Toxicol*, 2015, 29(6): 420-427.
- [6] MOHAMED H, HUSSEIN N A. Genotoxicity studies of titanium dioxide nanoparticles (TiO_2NPs) in the brain of mice [J]. *Scientifica (Cairo)*, 2016, 2016(2): 1-7.
- [7] CHEN X, CHENG B, YANG Y, et al. Characterization and preliminary toxicity assay of nano-titanium dioxide additive in sugar-coated chewing gum [J]. *Small*, 2013, 9(9/10): 1765-1774.
- [8] SKOCAJ M, FILIPIC M, PETKOVIC J, et al. Titanium dioxide in our everyday life; is it safe [J]. *Radiol Oncol*, 2011, 45(4): 227-247.
- [9] GERAETS L, OOMEN A, KRISTEK P, et al. Tissue distribution and elimination after oral and intravenous administration of different titanium dioxide nanoparticles in rats [J]. *Part Fibre Toxicol*, 2014(11): 30. Doi: 10.1186/1743-8977-11-30.
- [10] JONES K, MORTON J, SMITH I, et al. Human *in vivo* and *in vitro* studies on gastrointestinal absorption of titanium dioxide nanoparticles [J]. *Toxicol Lett*, 2015, 233(2): 95-101.
- [11] ZHANG X, LI W, YANG Z. Toxicology of nanosized titanium dioxide: an update [J]. *Arch Toxicol*, 2015, 89(12): 2207-2217.
- [12] COELHO S, PATRI A, WOKOVICH A, et al. Repetitive application of sunscreen containing titanium dioxide nanoparticles on human skin [J]. *JAMA Dermatol*, 2016, 152(4): 470-472.
- [13] MIQUEL-JEANJEAN C, CRÉPEL F, RAUFAST V, et al. Penetration study of formulated nanosized titanium dioxide in models of damaged and sun-irradiated skins [J]. *Photochem Photobiol*, 2012, 88(6): 1513-1521.
- [14] BROWNING C, THE T, MASON M, et al. Titanium dioxide nanoparticles are not cytotoxic or clastogenic in human skin cells [J]. *J Environ Anal Toxicol*, 2014, 4(6): 239. Doi: 10.4172/2161-0525.1000239.
- [15] SHI H, MAGAYE R, CASTRANOVA V, et al. Titanium dioxide nanoparticles: a review of current toxicological data [J]. *Part Fibre Toxicol*, 2013(10): 15. Doi: 10.1186/1743-8977-10-15.
- [16] PELCLOVA D, BAROSOVA H, KUKUTSCHOVA J, et al. Raman microspectroscopy of exhaled breath condensate and urine in workers exposed to fine and nano TiO_2 particles: a cross-sectional study [J]. *J Breath Res*, 2015, 9(3): 036008.
- [17] KWON S, YANG Y, YANG H, et al. Nasal and pulmonary toxicity of titanium dioxide nanoparticles in rats [J]. *Toxicol Res*, 2012, 28(4): 217-224.
- [18] ŚWIDWIŃSKA-GAJEWSKA A M, CZERCZAK S. Titanium dioxide nanoparticles-biological effects [J]. *Med Pr*, 2014, 65(5): 651-663.
- [19] KRISTEK P, TENTSCHERT J, NIA Y, et al. Method development and inter-laboratory comparison about the determination of titanium from titanium dioxide nanoparticles in tissues by inductively coupled plasma mass spectrometry [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2014, 406(16): 3853-3861.
- [20] SONG B, LIU J, FENG X, et al. A review on potential neurotoxicity of titanium dioxide nanoparticles [J]. *Nanoscale Res Lett*, 2015(10): 342-359.
- [21] VALDIGLESIAS V, COSTA C, SHARMA V, et al. Comparative study on effects of two different types of titanium dioxide nanoparticles on human neuronal cells [J]. *Food Chem Toxicol*, 2013(57): 352-361.
- [22] HUERTA E, PÉREZ J, MÁRQUEZ S, et al. Titanium dioxide nanoparticles induce strong oxidative stress and mitochondrial damage in glial cells [J]. *Free Radic Biol Med*, 2014(73): 84-94.
- [23] SHENG L, ZE Y, WANG L, et al. Mechanisms of TiO_2 nanoparticle-induced neuronal apoptosis in rat primary cultured hippocampal neurons [J]. *J Biomed Mater Res A*, 2015, 103(3): 1141-1149.
- [24] XUE Y, WU J, SUN J. Four types of inorganic nanoparticles stimulate the inflammatory reaction in brain microglia and damage neurons *in vitro* [J]. *Toxicol Lett*, 2012, 214(2): 91-98.
- [25] NALIKA N, PARVEZ S. Mitochondrial dysfunction in titanium dioxide nanoparticle-induced neurotoxicity [J]. *Toxicol Mech Methods*, 2015, 25(5): 355-363.
- [26] FEDERICI G, SHAW B, HANDY R. Toxicity of titanium dioxide nanoparticles to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): gill injury, oxidative stress, and other physiological effects [J]. *Aquat Toxicol*, 2007, 84(4): 415-430.
- [27] RAMSDEN C, SMITH T, SHAW B, et al. Dietary exposure to titanium dioxide nanoparticles in rainbow trout, (*Oncorhynchus mykiss*): no effect on growth, but subtle biochemical disturbances in the brain [J]. *Ecotoxicology*, 2009, 18(7): 939-951.
- [28] BOYLE D, AL-BAIRUTY G, RAMSDEN C, et al. Subtle alterations in swimming speed distributions of rainbow trout

- exposed to titanium dioxide nanoparticles are associated with gill rather than brain injury [J]. *Aquat Toxicol*, 2013(126): 116-127.
- [29] RAMSDEN C, HENRY T, HANDY R. Sub-lethal effects of titanium dioxide nanoparticles on the physiology and reproduction of zebrafish [J]. *Aquat Toxicol*, 2013(126): 404-413.
- [30] WANG Y, HE Z, FANG Y, et al. Effect of titanium dioxide nanoparticles on zebrafish embryos and developing retina [J]. *Int J Ophthalmol*, 2014, 7(6): 917-923.
- [31] SHENG L, WANG L, SU M, et al. Mechanism of TiO₂ nanoparticle-induced neurotoxicity in zebrafish (*Danio rerio*) [J]. *Environ Toxicol*, 2016, 31(2): 163-175.
- [32] HU R, GONG X, DUAN Y, et al. Neurotoxicological effects and the impairment of spatial recognition memory in mice caused by exposure to TiO₂ nanoparticles [J]. *Biomaterials*, 2010, 31(31): 8043-8050.
- [33] ZHANG L, BAI R, LI B, et al. Rutile TiO₂ particles exert size and surface coating dependent retention and lesions on the murine brain [J]. *Toxicol Lett*, 2011, 207(1): 73-81.
- [34] ZE Y, ZHENG L, ZHAO X, et al. Molecular mechanism of titanium dioxide nanoparticles-induced oxidative injury in the brain of mice [J]. *Chemosphere*, 2013, 92(9): 1183-1189.
- [35] ZE Y, HU R, WANG X, et al. Neurotoxicity and gene-expressed profile in brain-injured mice caused by exposure to titanium dioxide nanoparticles [J]. *J Biomed Mater Res A*, 2014, 102(2): 470-478.
- [36] WILSON C L, NATARAJAN V, HAYWARD S L, et al. Mitochondrial dysfunction and loss of glutamate uptake in primary astrocytes exposed to titanium dioxide nanoparticles [J]. *Nanoscale*, 2015, 7(44): 18477-18488.
- [37] COCCINI T, GRANDI S, LONATI D, et al. Comparative cellular toxicity of titanium dioxide nanoparticles on human astrocyte and neuronal cells after acute and prolonged exposure [J]. *Neurotoxicology*, 2015(48): 77-89.
- [38] MAO Z, XU B, JI X, et al. Titanium dioxide nanoparticles alter cellular morphology via disturbing the microtubule dynamics [J]. *Nanoscale*, 2015, 7(18): 8466-8475.
- [39] PELCLOVA D, ZDIMAL V, FENCLOVA Z, et al. Markers of oxidative damage of nucleic acids and proteins among workers exposed to TiO₂ (nano) particles [J]. *Occup Environ Med*, 2016, 73(2): 110-118.
- [40] PELCLOVA D, ZDIMAL V, KACER P, et al. Markers of lipid oxidative damage among office workers exposed intermittently to air pollutants including nanoTiO₂ particles [J]. *Rev Environ Health*, 2017, 32(1/2): 193-200.
- [41] RIHANE N, NURY T, M'RAD I, et al. Microglial cells (BV-2) internalize titanium dioxide (TiO₂) nanoparticles: toxicity and cellular responses [J]. *Environ Sci Pollut Res Int*, 2016, 23(10): 9690-9699.
- [42] LIU S, XU L, ZHANG T, et al. Oxidative stress and apoptosis induced by nanosized titanium dioxide in PC12 cells [J]. *Toxicology*, 2010, 267(1-3): 172-177.
- [43] LIU S, YANG Z. Evaluation of the effect of acute and subacute exposure to TiO₂ nanoparticles on oxidative stress [J]. *Methods Mol Biol*, 2013(1028): 135-145.
- [44] ZE Y, SHENG L, ZHAO X, et al. Neurotoxic characteristics of spatial recognition damage of the hippocampus in mice following subchronic peroral exposure to TiO₂ nanoparticles [J]. *J Hazard Mater*, 2014(264): 219-229.
- [45] RIM K, SONG S, KIM H. Oxidative DNA damage from nanoparticle exposure and its application to workers' health: a literature review [J]. *Saf Health Work*, 2013, 4(4): 177-186.
- [46] GOLBAMAKI N, RASULEV B, CASSANO A, et al. A high impact peer reviewed journal publishing experimental and theoretical work across the breadth of nanoscience and nanotechnology [J]. *Nanoscale*, 2015(7): 2154-2198.
- [47] FUJIOKA K, HANADA S, INOUE Y, et al. Effects of silica and titanium oxide particles on a human neural stem cell line: morphology, mitochondrial activity, and gene expression of differentiation markers [J]. *Int J Mol Sci*, 2014, 15(7): 11742-11759.
- [48] SONG B, ZHANG Y, LIU J, et al. Unraveling the neurotoxicity of titanium dioxide nanoparticles: focusing on molecular mechanisms [J]. *Beilstein J Nanotechnol*, 2016(7): 645-654.
- [49] EL-GHOR A, NOSHY M, GALAL A, et al. Normalization of nano-sized TiO₂-induced clastogenicity, genotoxicity and mutagenicity by chlorophyllin administration in mice brain, liver, and bone marrow cells [J]. *Toxicol Sci*, 2014, 142(1): 21-32.
- [50] YOUNES N, AMARA S, MRAD I, et al. Subacute toxicity of titanium dioxide (TiO₂) nanoparticles in male rats: emotional behavior and pathophysiological examination [J]. *Environ Sci Pollut Res Int*, 2015, 22(11): 8728-8737.
- [51] ERRIQUEZ J, BOLIS V, MOREL S, et al. Nanosized TiO₂ is internalized by dorsal root ganglion cells and causes damage via apoptosis [J]. *Nanomedicine*, 2015, 11(6): 1309-13019.
- [52] ZE Y, SHENG L, ZHAO X, et al. TiO₂ nanoparticles induced hippocampal neuroinflammation in mice [J]. *PLoS One*, 2014, 9(3): e92230.
- [53] LUO H, HUANG Y, YANG L. Effect of chitosan nanoparticles on the proliferation of K562 cells [J]. *Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学)*, 2014, 31(10): 1175-1178.
- [54] LI X, XU S, ZHANG Z, et al. Apoptosis induced by titanium dioxide nanoparticles in cultured murine microglia N9 cells [J]. *Chin Sci Bull*, 2009, 54(20): 3830-3836.
- [55] LAI J C, LAI M B, JANDHYAM S, et al. Exposure to titanium dioxide and other metallic oxide nanoparticles induces cytotoxicity on human neural cells and fibroblasts [J]. *Int J Nanomedicine*, 2008, 3(4): 533-545.
- [56] ROLLEROVA E, TULINSKA J, LISKOVA A, et al. Titanium dioxide nanoparticles: some aspects of toxicity/focus on the development [J]. *Endocr Regul*, 2015, 49(2): 97-112.
- [57] MOHAMMADIPOUR A, FAZEL A, HAGHIR H, et al. Maternal exposure to titanium dioxide nanoparticles during pregnancy; impaired memory and decreased hippocampal cell proliferation in rat offspring [J]. *Environ Toxicol Pharmacol*, 2014, 37(2): 617-625.

收稿日期: 2016-09-07

(本文责编: 曹粤锋)