四川大学学报(医学版) 2020, 51 (4):488-493 J Sichuan Univ (Med Sci Edi) doi: 10.12182/20200760103

纳米二氧化硅通过PI3K/AKt信号通路影响 肺泡巨噬细胞凋亡的研究^{*}

李 宁^{1,2}, 陈祥娃¹, 霍婷婷³, 董发勤³, 邓建军^{1,4△}

 西南医科大学附属医院 医学检验部 (泸州 646000); 2. 四川省妇幼保健院 检验科 (成都 610041); 3. 西南科技大学 固体废物处理与资 源化教育部重点实验室(绵阳 621010); 4. 四川绵阳四〇四医院 检验科(绵阳 621000)

【摘要】目的 探讨磷脂酰肌醇激酶-3/蛋白激酶B(phosphatidyl inositol 3-kinase/protein kinase B, PI3K/AKt)信号通路对纳米二氧化硅(nano silica, NS)粉尘诱导肺泡巨噬细胞(alveolar macrophages, AM)凋亡发生的影响。方法 通过不同质量浓度的NS粉尘染毒AM细胞后, CCK-8法检测细胞存活率; 荧光显微镜观察细胞形态; 流式细胞术检测PI3K抑制剂LY294002预处理前后细胞的凋亡率与线粒体膜电位; Western blot法检测PI3K抑制剂LY294002预处理前后细胞的凋亡率与线粒体膜电位; Western blot法检测PI3K抑制剂LY294002预处理前后细胞的凋亡形态学 改变; LY294002预处理AM后, 线粒体膜电位水平的下降程度增加, 并下调Bcl-2、p-PI3K、p-AKt蛋白的表达, 同时上调Bax蛋白的表达, 增加细胞凋亡率。结论 PI3K/AKt信号通路可能参与了NS诱导AM细胞的凋亡过程。

【关键词】 纳米二氧化硅 肺泡巨噬细胞 PI3K/AKt 细胞凋亡

Nano-silicon Dioxide Affects Apoptosis of Alveolar Macrophages via PI3K/AKt Signaling Pathway $LI Ning^{1,2}$, CHEN Xiang-wa¹, HUO Ting-ting³, DONG Fa-qin³, DENG Jian-jun^{1,4 $\triangle}$}. 1. Department of Laboratory Medicine, Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Luzhou 646000, China; 2. Department of Laboratory Medicine, Sichuan Provincial Hospital for Women and Children, Chengdu 610041, China; 3. School of Environment and Resource, Southwest University of Science and Technology, Mianyang 621010, China; 4. Department of Laboratory Medicine, Sichuan Mianyang 404 Hospital, Mianyang 621000, China

 \bigtriangleup Corresponding author, E-mail: jianjundeng0801@163.com

[Abstract] Objective To investigate the effect of phosphatidyl inositol 3-kinase/protein kinase B (PI3K/AKt) signaling pathway on the apoptosis of alveolar macrophages (AM) induced by nano-silica (NS) dust. **Methods** After exposure to different concentrations of NS suspension, CCK-8 assay was used to detect the AM viability; the cellular morphology of apoptotic AM was observed under fluorescence microscopy; the apoptosis rate and mitochondrial transmembrane potential of cells were detected by flow cytometry before and after pretreatment with phosphatidyl inositol 3-kinase (PI3K) inhibitor LY294002; Western blot was used to detect the expression of apoptosis-related proteins Bax, Bcl-2, p-PI3K and p-AKt. **Resluts** The survival rate of AM was decreased in a time-dose relationship after NS exposure. With LY294002 pretreatment, the mitochondrial transmembrane potential level and the expressions of p-PI3K, p-AKt and Bcl-2 were decreased, the expression of Bax and the apoptosis rate were increased. **Conclusion** Our data suggested that the activation of PI3K/AKt signaling pathway played an important role in NS-induced apoptosis in alveolar macrophages.

(Key words) Nano-silica Alveolar macrophages PI3K/AKt Cell apoptosis

纳米二氧化硅(nano-silica, NS)是一种粒径极小、表 面效应较强、结构稳定性和易散性极佳的二氧化硅 (SiO₂)超微颗粒^[1],在人们的日常生活、科研、城市化建设 及工业化发展等领域发挥着重要的用途,但也加大了人 群暴露NS的风险。研究证实^[2-3],NS粉尘是大气细颗粒物 的关键组成成分,与前几年的雾霾天气密切相关。在实 验中还发现NS对机体的毒性远远大于SiO,^[4],流行病学资 料也表明^[5]长期呼吸含NS粉尘的空气可导致机体矽肺、 肺部炎症、肺纤维化及肺癌等发病率上升,其致病机制可 能与NS粉尘随呼吸进入肺泡组织、诱发肺泡巨噬细胞 (alveolar macrophages, AM)发生凋亡事件相关。细胞凋 亡是AM吞噬和清除肺内颗粒物和病原微生物等,保护机 体不受侵害的重要靶向环节之一^[6-7]。而细胞凋亡调控受 多种凋亡信号传导通路共同制约,其中磷脂酰肌醇激酶-3/蛋白激酶B(phosphatidyl inositol 3-kinase/protein kinase B, PI3K/AKt)通路与细胞凋亡密切相关^[8-9]。文献已报道 调控 PI3K/AKt信号通路可以诱导肺癌^[10]、肝癌^[11]、白血

^{*} 国家自然科学基金(No. 41472046, No. 41602033)和四川省科技计划项 目(No. 2016JY0045)资助

[△] 通信作者, E-mail: jianjundeng0801@163.com

病¹²¹等肿瘤细胞凋亡,从而抑制肿瘤。另有研究¹³¹也指出 在NS所致肺纤维化过程中PI3K/AKt通路有一定表达,但 是PI3K/AKt信号通路是如何参与NS粉尘致AM凋亡的作 用机制目前尚不清楚。因此,本研究选用NS体外染毒 AM,通过加入PI3K抑制剂LY294002,观察细胞凋亡率与 线粒体膜电位、以及凋亡相关蛋白表达的变化,探讨 NS粉尘致AM凋亡发生的分子调控机制,为NS粉尘造成 的细胞毒性机制提供新的理论依据。

1 材料与方法

1.1 主要试剂与仪器

主要试剂:改良型F12K培养基(Hyclone公司);胎牛 血清(Gibco公司);DMSO(四川生科力);CCK-8细胞计数 试剂盒、青霉素-链霉素双抗溶液、Hoechst33342染液、 P13K抑制剂LY294002(粉末状,纯度大于98%,用 DMSO配制溶解)、胰蛋白酶消化液(上海碧云天); Annexin V-FITC/PI细胞凋亡检测试剂盒、线粒体膜电位 检测试剂盒、SDS-PAGE凝胶配制试剂盒、BCA蛋白含量 检测试剂盒(江苏凯基);抗兔磷酸化(p)-PI3K抗体、抗兔 p-AKt抗体、抗兔GAPDH抗体(美国 CST);抗兔Bcl-2抗 体、抗兔Bax抗体(英国 Abcam)。

主要仪器: 倒置相差荧光显微镜(Axio Observer A, Zeiss公司), 微孔板分光光度计(BioTek Power Wave XS2, BioTek公司), 流式细胞仪(FACS Calibur, Becton Dickinson公司), 蛋白电泳仪(164-5051, BIO-RAD公司), 凝胶成像系统(BOXChemiXR5, SYNGENE公司)。

1.2 细胞培养及NS粉尘悬液配置

AM选用大鼠肺泡巨噬细胞(NR8383细胞株,购于中 国科学院上海生命科学研究院),培养于含150 mL/L胎牛 血清、10 mL/L青-链霉素双抗溶液(含100 µg /mL链霉 素+100 U/mL 青霉素)的F12K完全培养基中,置于pH 值 为7.2~7.4、温度37 ℃、饱和湿度环境、50 mL/L CO₂细 胞培养箱中培养,每2 d 按1:2的比例进行常规消化和传 代,选取对数期生长良好的细胞,进行后续实验。

NS粉尘(粒径为30 nm)购于北京德科岛金科技有限 公司。实验前,称量NS粉尘,置160 ℃烘箱烘烤2 h后,用 F12K基础培养基配制成1 000 µg /mL的母液,密封,超声 振荡仪振荡混匀20 min,母液呈清亮透明状态,置4 ℃冰 箱保存备用。实验中所有NS粉尘悬液均须用F12K基础 培养基稀释。

1.3 实验方法

1.3.1 CCK-8法检测细胞相对存活率 用F12K完全培养

基调整对数生长期AM,使细胞密度为1×10⁵ mL⁻¹。选取 3块无菌96孔培养板,每孔接种150 μL细胞悬液孵育24 h。 每块培养板设置空白组(实验过程中只加F12K基础培养 基)、实验组(实验过程中加相应的用F12K基础培养基配 置的NS粉尘悬液和AM悬液)和对照组(实验过程中只加 相应的用F12K基础培养基配置的NS粉尘悬液)。待细胞 贴壁生长融合达到80%,弃上清,PBS清洗2次,依次加入 5、10、20、40、60、80、100 μg/mL NS粉尘悬液(同浓度设 置3平行孔),孵育12 h、24 h 和48 h,每孔加入10 μL CCK-8溶液,避光孵育1.5 h,微孔板分光光度计测量450 nm 波长处吸光度(A)值。计算细胞相对存活率〔(A_{实验组}-A_{空白孔})/ (A_{对照组}-A_{空白孔})×100%〕,绘制生长曲线。

1.3.2 细胞凋亡形态 实验设置空白对照组和NS粉尘 (5、10 μg/mL)组。选取对数生长期的AM(密度为1× 10⁵ mL⁻¹),每孔接种2 mL细胞悬液到6孔板中,孵育24 h; 待细胞贴壁至80%时,弃上清,PBS洗涤2次,加入2 mL质 量浓度为0(空白对照组)、5、10 μg/mL NS粉尘悬液染毒 AM 24 h; PBS洗涤2次,加入1 mL体积分数为70%乙醇 (4℃保存)静置固定细胞10~20 min; PBS洗涤2次,每孔 加入1 mL Hoechst33342染液(10 μg/mL),室温避光孵育 10 min,吸除含染料的培养液,PBS洗涤2次,每孔加入适 量的抗荧光猝灭封片液,并用洁净的盖玻片覆盖,荧光显 微镜下观察AM形态。

1.3.3 流式细胞术检测细胞凋亡率 实验分为NS粉尘 $(0, 5, 10 \mu g/mL)$ 组和抑制剂LY294002+NS粉尘 $(0, 5, 10 \mu g/mL)$ 组(抑制剂组)。选取对数生长期的AM, 调整 细胞密度1×10⁵ mL⁻¹, 每孔接种2 mL细胞悬液到6孔板, 孵 育24 h; 待细胞贴壁生长融合至80%时, 抑制剂组提前加 人2 mL浓度为20 µmol/L的LY294002预处理AM 2 h, 再向 各组加人2 mL不同质量浓度的NS粉尘悬液共同孵育AM 24 h后, 消化、离心收集AM。使用Binding Buffer悬浮细 胞后, 分别加入 5 µL Annexin V-FITC 和PI染液, 室温避 光孵育5~15 min, 流式细胞仪检测细胞凋亡率。实验组 的每个质量浓度设3个平行孔。

1.3.4 细胞线粒体膜电位 实验分组同1.3.3。收集各组 NS粉尘染毒24 h后的AM,加入10 μmol/L JC-1工作液 500 μL悬浮细胞,孵育15~20 min,2 000 r/min离心 5 min收集细胞,用1×Incubation Buffer洗涤2次;加入 500 μL 1×Incubation Buffer重新悬浮细胞;JC-1标记后,用 流式细胞仪检测细胞凋亡时发出的绿色荧光强度(位于 流式细胞仪的检测图谱坐标轴右下象限区域细胞百分比 率),反映细胞线粒体膜电位下降程度,实验组的每个质 量浓度设3个平行孔。

1.3.5 Western blot检测周亡相关蛋白的表达 实验分组 同1.3.3。收集各组NS粉尘染毒24 h后的AM,每孔加入 200 μL细胞裂解液提取每组细胞总蛋白,并检测各组蛋 白的含量。SDS-PAGE分离后转PVDF膜,50 mL/L脱脂奶 粉封闭1.5~2 h,加入抗兔p-AKt抗体(1:1000)、抗兔p-PI3K抗体(1:1000)、抗兔Bcl-2抗体(1:2000)、抗兔 Bax抗体(1:2000)、抗兔GAPDH抗体(1:1000)震荡孵 育过夜,TBST洗膜3次,加入1:5000稀释的HRP标记的 羊抗兔IgG,孵育1~2 h;TBST洗膜3次,漂洗,吸干,显色, 运用凝胶成像处理系统检测分析处理,目的蛋白条带灰 度值与内参蛋白GAPDH条带灰度值的比值为目的蛋白 的相对表达量。

1.4 统计学方法

样本数据以 x±s表示。在数据满足正态分布且方差 齐的前提下,组间样本均数的比较采用单因素方差分 析,否则采用校正t检验(t'检验), P<0.05为差异有统计学 意义。

2 结果

2.1 NS对AM存活率的影响

如图1所示,不同质量浓度NS染毒AM 12 h、24 h 和48 h后,与对照组相比,细胞存活率随着NS染毒质量浓 度增加和染毒时间延长均呈递减趋势,且存在时间-剂量 依赖效应(P<0.05);当NS质量浓度为80 μg/mL时,12 h 和24 h组间细胞存活率的差异无统计学意义;AM在NS 质量浓度为5、10 μg/mL时,染毒12 h、24 h、48 h后,细 胞存活率均超过50%,因此将其选为后续实验的染毒终 浓度。

2.2 NS对AM细胞核形态的影响

如图2所示,空白对照组(A)AM呈均匀浅蓝色荧光, 细胞形态较为规则,细胞核呈椭圆形或圆形,且胞核相对





a $P{<}0.01,$ vs. control group (0 $\mu g/mL$ NS); b $P{<}0.05,$ c $P{<}0.01,$ vs. 12 h group; * $P{<}0.05,$ vs. 24 h

规则; AM经NS粉尘染毒后, 5 μg/mL NS粉尘组(B)部分细 胞染色质浓染聚集到细胞一侧呈亮蓝色的强荧光表象, 与细胞质荧光强度有明显差异, 且该细胞相对周围细胞 体积变小、形态欠规则、胞核偶见波纹状或折叠样改变; 10 μg/mL NS粉尘组(C)镜下可查见凋亡小体, 部分亮蓝 色强荧光表象的细胞有明显的核固缩或核碎裂等凋亡样 改变, 核膜不完整, 细胞体积大小不均一。

2.3 NS对AM凋亡率的影响

如图3所示, AM染毒24 h后, 细胞凋亡率随着NS质量 浓度增加而上升, 与对照组相比, 差异有统计学意义 (P<0.01); LY294002预处理后, 5、10 μg/mL NS组AM凋亡 率分别为35.57%±0.60%、39.60%±1.24%, 与同质量浓度 未使用抑制剂组相比, 细胞凋亡率增高, 差异有统计学意 义(P<0.01)。

2.4 NS对AM线粒体膜电位的影响

如图4所示,未经LY294002处理的NS组,绿色荧光强 度百分比随着NS质量浓度增高呈上升趋势,差异有统计 学意义(*P*<0.01);LY294002处理后,在5、10 μg/mL NS染 毒AM后,绿色荧光强度百分比分别较相同质量浓度的未



图 2 荧光显微镜观察NS染毒AM凋亡形态。×400

Fig 2 Cellular morphology of apoptotic AM induced by NS under fluorescence microscopy. ×400

A: Control group (0 µg/mL NS); B: 5 µg/mL NS group; C: 10 µg/mL NS group. White arrows indicated apoptotic cells

490



图 3 LY294002预处理后NS染毒24 h对AM凋亡率的影响(n=3)

Fig 3 The apoptotic rates of AM after 24 h exposure to NS pretreated by LY294002 (*n*=3)

** *P*<0.01, vs. control group (0 μg/mL NS); ## *P*<0.01; * *P*<0.05

经LY294002处理的NS组增加4.89%和10.10%(P<0.01),提示线粒体膜电位下降更为明显。

2.5 凋亡相关蛋白表达水平

Western blot检测结果见图5和图6,所有蛋白均经内参蛋白GAPDH校正。不同质量浓度NS染毒AM 24 h 后,与对照组比较,Bcl-2、p-PI3K、p-AKt蛋白表达水平下 降,而Bax表达升高,差异均有统计学意义(P<0.01);相同 质量浓度的NS染毒组,使用LY294002预处理后,Bcl-2、p-PI3K、p-AKt蛋白表达降低,Bax蛋白表达上调,差异有统 计学意义(P<0.01或P<0.05)。



图 4 LY294002预处理后NS染毒24 h对AM线粒体膜电位的影响(n=3) Fig 4 The mitochondrial membrane potential of AM after 24 h exposure to NS pretreated by LY294002 (n=3)

A: LY294002—; B: LY294002+; C: Bar graphs representing the proportion of mitochondrial membrane potential (*n*=3); a: Control (0 µg/mL NS); b: 5 µg/mL NS; c: 10 µg/mL NS. ** *P*<0.01, vs. control group (0 µg/mL NS); ## *P*<0.01; * *P*<0.01



图 5 NS和LY294002对凋亡相关蛋白表达的影响(n=3)

Fig 5 The effect of NS and LY294002 on the expressions of apoptosis related proteins (n=3)

** P<0.01, vs. control group (0 μg/mL NS); # P<0.05; ## P<0.01



图 6 NS和LY294002处理后AM凋亡相关蛋白表达水平 Fig 6 The levels of apoptosis related proteins in AM after treatment with NS and LY294002

3 讨论

NS是我国及世界工业化产量最高的一种纳米材料, 目前,已有大约2000种含NS颗粒的产品进入市场^[14]。人 体可通过多种方式接触NS粉尘,如呼吸含NS的空气、使 用含NS的化妆品、口服含NS颗粒的药物等。流行病学调 查发现,长期接触NS颗粒可导致人群的呼吸系统疾病发 病率和死亡率升高^[15]。因此,NS对机体潜在的毒性影响 需引起人们的高度重视。

随呼吸系统进入肺泡组织的 NS 可导致 AM 凋亡发 生,进而引起呼吸、心血管、肾脏多系统毒性。NS 作用 AM一方面可通过提高 AM 内活性氧表达水平,激活线粒 体凋亡通路诱导细胞凋亡发生¹¹⁶;另一方面SiO₂刺激巨噬 细胞分泌的高浓度肿瘤坏死因子和半胱氨酸天冬氨酸蛋 白水解酶-8,可启动死亡受体结构域的聚集促进凋亡发 生¹²⁷。另有文献也报道^{118]}, NS 可通过激活 *p*53,提高细胞 内活性氧浓度、诱导 DNA 的损伤及上调细胞凋亡相关 的基因表达等,通过死亡受体通路、线粒体通路与内质网 通路促进细胞凋亡。本实验通过不同质量浓度 NS 染毒 AM,荧光显微镜观察发现NS作用后的 AM 细胞核形态 发生了改变,且细胞凋亡率增加;同时在 PI3K 特异性抑 制剂 LY294002 预处理 AM后,促凋亡蛋白 Bax 上调,抑 凋亡蛋白 Bcl-2 降低,说明 PI3K/AKt 信号通路参与了 NS粉尘致 AM凋亡的发生过程。 AKt是 PI3K 下游直接的靶蛋白, 它可接收 PI3K 的信 号并传递给下游分子; PI3K经典抑制剂LY294002可以特 异地抑制 PI3K 的活性, 有效阻止 PI3K 依赖的 AKt 磷酸 化发生。有研究表明^[19-20], SiO₂感染后鼠类肺部组织病理 切片有大量白细胞浸润, 炎症因子白介素-6、肿瘤坏死因 子浓度升高, 并且可改变PI3K/AKt通路活化状态。而p-PI3K、p-AKt蛋白的表达量是反映 PI3K/AKt 通路活化状 态的标志性指标。本实验NS染毒AM 24 h后, p-PI3K、p-AKt蛋白表达水平相对降低, 说明NS染毒AM后可抑制 PI3K/AKt通路活化。

本研究还采用流式细胞术检测了细胞凋亡率,发现 AM凋亡率随着NS质量浓度增加而上升,相同NS质量浓 度时,LY294002预处理组与未处理组相比,AM凋亡率明 显上升。另外,细胞线粒体膜电位下降是通过线粒体通 透性转换孔的开放,使膜两侧出现电位差及质子浓度梯 度,是细胞凋亡早期发生的指标之一^[21]。本研究通过JC-1 标记和流式细胞术相结合,检测抑制剂LY294002预处理 前后细胞线粒体膜电位下降程度,发现使用LY294002可 使AM线粒体膜电位的下降程度增加,说明抑制PI3K/AKt 信号通路可促进NS染毒AM凋亡的发生。

对于凋亡相关蛋白的研究,目前普遍认为Bcl-2具有 抵抗细胞凋亡的生物学功能,当其高表达时可维持细胞 的存活,对细胞起保护作用;Bax是促细胞凋亡蛋白代表, 与Bcl-2具有高度的氨基酸序列同源性。有研究表明^[21], Bax/Bcl-2比值是反映细胞凋亡的关键指标,其随着细胞 凋亡率上升而增加。本实验结果显示,LY294002预处理 后,PI3K/AKt通路处于抑制状态,Bax蛋白表达上升,Bcl-2蛋白表达水平降低,表明通过LY294002抑制PI3K/AKt通 路,可促进NS诱导AM凋亡的发生,更直观的验证了 PI3K/AKt通路参与AM的凋亡过程。

综上所述,短期暴露NS可有效的阻滞AM的PI3K/AKt 通路活化状态,增加细胞凋亡率;通过LY294002抑制 PI3K/AKt通路后,可上调Bax表达和降低Bcl-2表达,促进 AM凋亡事件发生。鉴于PI3K-AKt通路富集有很多的信 号蛋白,本课题组将进一步研究PI3K/AKt上下游分子形 成的网络通路与NS作用下机体免疫应答之间的关系,为 NS粉尘引起的相关疾病诊疗提供新的治疗方案。

参考文献

- BORM P J A, FOWLER P, KIRKLAND D. An updated review of the genotoxicity of respirable crystalline silica. Part Fibre Toxicol, 2018, 15(1): 23.
- [2] WANG R, CHEN R, WANG Y, et al. Complex to simple: in vitro

exposure of particulate matter simulated at the air-liquid interface discloses the health impacts of major air pollutants. Chemosphere, 2019, 223(5): 263–274.

- [3] JIANG N, LI Q, SU F, et al. Chemical characteristics and source apportionment of PM2.5 between heavily polluted days and other days in Zhengzhou, China. J Environ Sci (China), 2018, 66: 188–198.
- [4] CHEN L, LIU J, ZHANG Y, *et al.* The toxicity of silica nanoparticles to the immune system. Nanomedicine (Lond), 2018, 13(15): 1939–1962.
- [5] MANDRIOLI D, SCHLÜNSSEN V, ÁDÁM B, et al. WHO/ILO workrelated burden of disease and injury: protocol for systematic reviews of occupational exposure to dusts and/or fibres and of the effect of occupational exposure to dusts and/or fibres on pneumoconiosis. Environ Int, 2018, 119: 174–185.
- [6] LEIBE R, HSIAO I L, FRITSCH-DECKER S, *et al.* The protein corona suppresses the cytotoxic and pro-inflammatory response in lung epithelial cells and macrophages upon exposure to nanosilica. Arch Toxicol, 2019, 93(4): 871–885.
- [7] WAN X, ZHANG X, PAN W, et al. Ratiometric fluorescent quantification of the size dependent cellular toxicity of silica nanoparticles. Anal Chem, 2019, 91(9): 6088-6096.
- [8] LEE M H, HONG S H, PARK C, et al. Hwang-Heuk-San induces apoptosis in HCT116 human colorectal cancer cells through the ROSmediated activation of caspases and the inactivation of the PI3K/Akt signaling pathway. Oncol Rep, 2016, 36(1): 205–214.
- [9] LARSON-CASEY J L, DESHANE J S, RYAN A J, et al. Macrophage Akt1 kinase-mediated mitophagy modulates apoptosis resistance and pulmonary fibrosis. Immunity, 2016, 44(3): 582–596.
- [10] HE H, XU C, ZHENG L, et al. Polyphyllin W induces apoptotic cell death via inhibition of the PI3K/Akt and NF-κB pathways in A549 human lung cancer cells. Mol Med Rep, 2020, 21(2): 597–606.
- [11] CHEN J, CHEN Z, HUANG Z, et al. Formiminotransferase cyclodeaminase suppresses hepatocellular carcinoma by modulating cell apoptosis, DNA damage, and phosphatidylinositol 3-kinases (PI3K)/Akt signaling pathway. Med Sci Monit, 2019, 25: 4474–4484.
- [12] TENG Z, XU S, LEI Q. Tanshinone II A enhances the inhibitory effect of imatinib on proliferation and motility of acute leukemia cell line TIB-152

in vivo and *in vitro* by inhibiting the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway. Oncol Rep, 2020, 43(2): 503–515.

- [13] ZHANG L, LI Y, LIANG C, et al. CCN5 overexpression inhibits profibrotic phenotypes via the PI3K/Akt signaling pathway in lung fibroblasts isolated from patients with idiopathic pulmonary fibrosis and in an *in vivo* model of lung fibrosis. Int J Mol Med, 2014, 33(2): 478–486.
- [14] VANCE M E, KUIKEN T, VEJERANO E P, et al. Nanotechnology in the real world: redeveloping the nanomaterial consumer products inventory. Beilstein J Nanotechnol, 2015, 6: 1769–1780.
- [15] NEMMAR A, YUVARAJU P, BEEGAM S, et al. Oxidative stress, inflammation, and DNA damage in multiple organs of mice acutely exposed to amorphous silica nanoparticles. Int J Nanomedicine, 2016, 11: 919–928.
- [16] YANG Y, DU X, WANG Q, et al. Mechanism of cell death induced by silica nanoparticles in hepatocyte cells is by apoptosis. Int J Mol Med, 2019, 44(3): 903–912.
- [17] 符蓉,徐忠伟,高宏生,等.二氧化硅通过激活线粒体和死亡受体途径 介导小鼠RAW264.7巨噬细胞凋亡和极化的机制研究.武警后勤学院 学报(医学版), 2017, 26(10): 829-835.
- [18] WANG W, ZENG C, FENG Y, et al. The size-dependent effects of silica nanoparticles on endothelial cell apoptosis through activating the p53caspase pathway. Environ Pollut, 2018, 233: 218–225.
- [19] HADRUP N, SHARMA A K, POULSSEN M, et al. Toxicological risk assessment of elemental gold following oral exposure to sheets and nanoparticles—a review. Regul Toxicol Pharmacol, 2015, 72(2): 216–221.
- [20] QIAO C X, XU S, WANG D D, et al. MicroRNA-19b alleviates lipopolysaccharideinduced inflammatory injury in humanintestinal cells by up-regulation of Runx3. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2018, 22(16): 5284–5294.
- [21] YAZDIMAMAGHANI M, MOOS P J, GHANDEHARI H. Global gene expression analysis of macrophage response induced by nonporous and porous silica nanoparticles. Nanomedicine, 2018, 14(2): 533–545.
- [22] ALARIFI S, ALI H, ALKAHTANI S, et al. Regulation of apoptosis through bcl-2/bax proteinsexpression and DNA damage by nano-sized gadoliniumoxide. Int J Nanomedicine, 2017, 12: 4541–4551.

(2019-09-16收稿, 2020-02-12修回)

编辑 余 琳