

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△}

1. 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预处理前后细胞凋亡相关蛋白Bax、Bcl-2以及磷酸化(p)-PI3K、p-Akt的表达水平。结果 NS可降低AM细胞的存活率, 部分细胞出现凋亡形态学改变; 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△}. 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

△ 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. **Results** 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SiO₂^[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. 2016Y0045)资助

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

病^[12]等肿瘤细胞凋亡,从而抑制肿瘤。另有研究^[13]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,观察细胞死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、PI3K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(BOXChemXR5, 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 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 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 $^{\circ}\text{C}$ 、饱和湿度环境、50 mL/L CO_2 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 $^{\circ}\text{C}$ 烘箱烘烤2 h后,用F12K基础培养基配制成1 000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 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 $^{\circ}\text{C}$ 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 $1\times 10^5\text{ mL}^{-1}$ 。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 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 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 $[(A_{\text{实验组}}-A_{\text{空白孔}})/(A_{\text{对照组}}-A_{\text{空白孔}})\times 100\%]$,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 $\mu\text{g}/\text{mL}$)组。选取对数生长期的AM(密度为 $1\times 10^5\text{ mL}^{-1}$),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 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 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 $^{\circ}\text{C}$ 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 $\mu\text{g}/\text{mL}$),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 $\mu\text{g}/\text{mL}$)组和抑制剂LY294002+NS粉尘(0、5、10 $\mu\text{g}/\text{mL}$)组(抑制剂组)。选取对数生长期的AM,调整细胞密度 $1\times 10^5\text{ mL}^{-1}$,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,抑制剂组提前加入2 mL浓度为20 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 的LY294002预处理AM 2 h,再向各组加入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 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 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 \times Incubation Buffer洗涤2次;加入500 μL 1 \times 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检测凋亡相关蛋白的表达 实验组同1.3.3。收集各组NS粉尘染毒24 h后的AM, 每孔加入200 μ L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(1:1 000)、抗兔p-PI3K抗体(1:1 000)、抗兔Bcl-2抗体(1:2 000)、抗兔Bax抗体(1:2 000)、抗兔GAPDH抗体(1:1 000)震荡孵育过夜, TBST洗膜3次, 加入1:5 000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 $\bar{x}\pm s$ 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 μ g/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 μ g/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

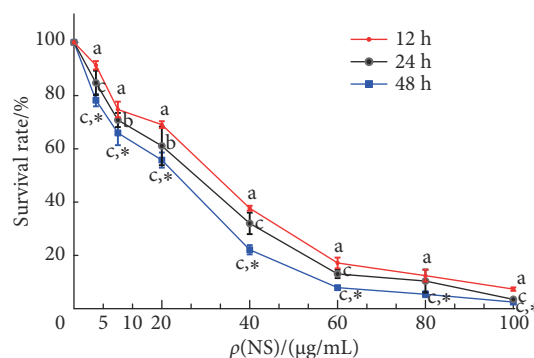


图1 不同质量浓度NS对AM存活率影响 ($n=3$)

Fig 1 The effect of NS on the survival rate of AM ($n=3$)

a $P<0.01$, vs. control group (0 μ 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 μ g/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 μ g/mL NS粉尘组(C)镜下可可见凋亡小体, 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 μ g/mL NS组AM凋亡率分别为 $35.57\%\pm 0.60\%$ 、 $39.60\%\pm 1.24\%$, 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 μ g/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

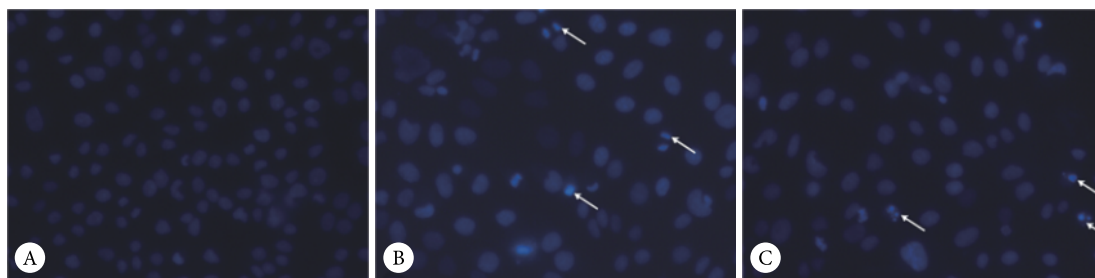


图2 荧光显微镜观察NS染毒AM凋亡形态。 $\times 400$

Fig 2 Cellular morphology of apoptotic AM induced by NS under fluorescence microscopy. $\times 400$

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

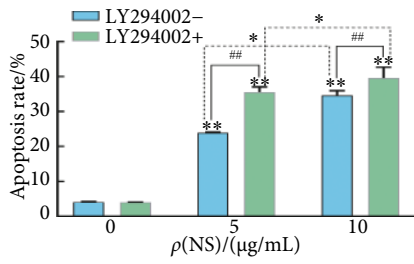


图 3 LY294002 预处理后 NS 染毒 24 h 对 AM 凋亡率的影响 (n=3)

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

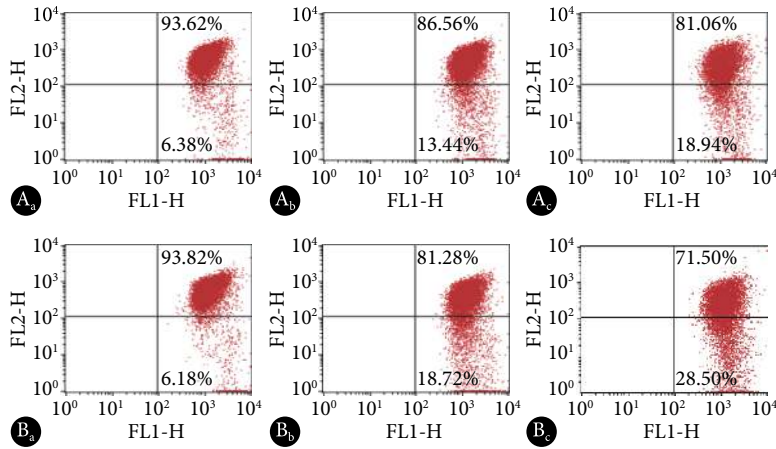


图 4 LY294002 预处理后 NS 染毒 24 h 对 AM 线粒体膜电位的影响 (n=3)

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

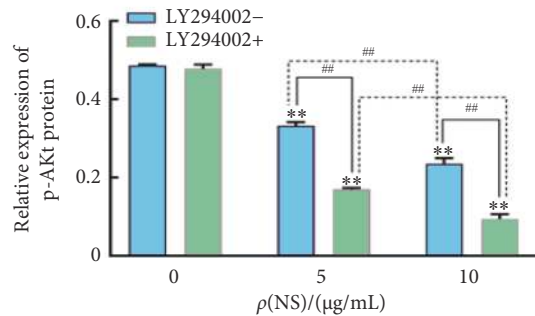
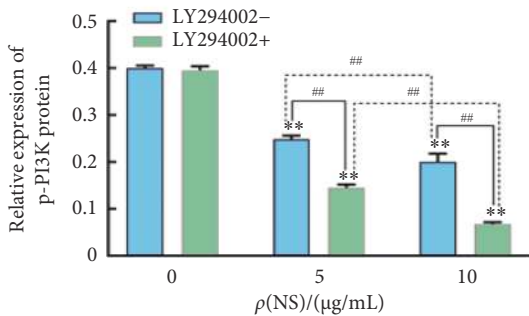
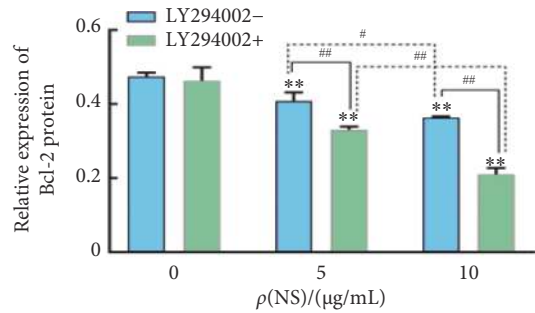
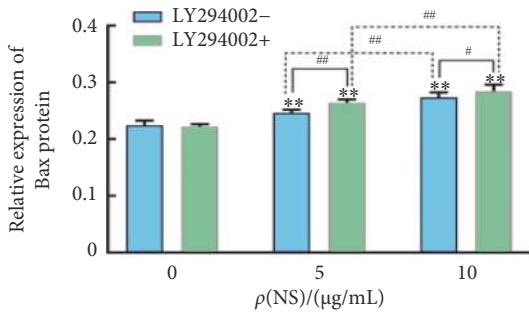
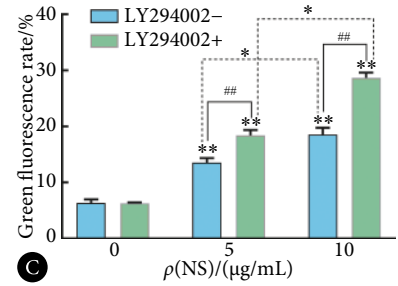


图 5 NS 和 LY294002 对凋亡相关蛋白表达的影响 (n=3)

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

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)。

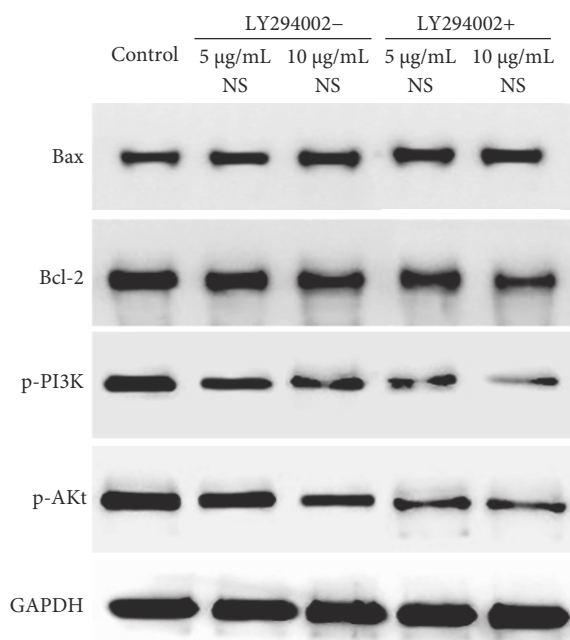


图 6 NS和LY294002处理后AM凋亡相关蛋白表达水平

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2 000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^[16];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^[17]。另有文献也报道^[18],NS可通过激活p53,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可以特异性地抑制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^[22],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

- [1] 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 PM_{2.5} 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 work-related 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 ROS-mediated 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 VII induces apoptotic cell death via inhibition of the PI3K/Akt and NF- κ B 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 p53-caspase 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 lipopolysaccharide-induced inflammatory injury in human intestinal 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 protein expression and DNA damage by nano-sized gadolinium oxide. *Int J Nanomedicine*, 2017, 12: 4541–4551.

(2019-09-16收稿, 2020-02-12修回)

编辑 余琳