

PM_{2.5}暴露下皮肤损伤评价方法研究进展

于淼¹, 郭立群¹, 李秋爽², 邱晓峰³, 赵华¹, 王敏¹

1. 北京工商大学理学院, 北京 100048

2. 生态环境部对外交流与合作中心, 北京 100035

3. 诺斯贝尔化妆品股份有限公司, 广东 中山 528427

摘要:

PM_{2.5}作为目前国内大气污染物的代表物质,其颗粒直径小,易于透过皮肤或黏膜组织进入体内,造成人体呼吸系统和心脑血管系统的损伤。皮肤作为人体面积最大的器官,也是接触PM_{2.5}等污染物的第一道屏障。暴露于一定剂量的污染物会使皮肤出现敏感、老化等现象。PM_{2.5}对于皮肤和体内器官的损伤途径不同,为研究PM_{2.5}暴露下皮肤的损伤机理及药物的修复机制,需选择合适的实验模型。本文综述PM_{2.5}对皮肤的损伤途径,并列举PM_{2.5}暴露下皮肤损伤的评价方法及其原理、适用性。评价方法包括体内法和体外法。体内法包括小鼠模型评价、人体暴露评价(使用烟雾模拟器);体外法包括PM_{2.5}溶液染毒、动态气体染毒、细胞共培养染毒模型、气液界面细胞暴露培养这四种基于细胞生物学、毒理学的实验方法,并对上述研究方法的优劣进行比较,以期PM_{2.5}暴露下皮肤的损伤机理的研究提供参考。

关键词: PM_{2.5}; 皮肤; 染毒方法; 体内法; 体外法

Evaluation methods of skin damage under PM_{2.5} exposure: A review of recent studies YU Miao¹, GUO Li-qun¹, LI Qiu-shuang², QIU Xiao-feng³, ZHAO Hua¹, WANG Min¹ (1.School of Science, Beijing Technology and Business University, Beijing 100048, China; 2.International Environmental Cooperation Center, Ministry of Ecology and Environment of China, Beijing 100035, China; 3.Northbell Cosmetics Co., Ltd., Zhongshan, Guangdong 528427, China)

Abstract:

As a representative substance of current atmospheric pollutants in China, PM_{2.5} has a small particle diameter and can penetrate through skin or mucosal tissues, which may cause damage to the respiratory system and cardiovascular and cerebrovascular system in human body. The skin is the largest organ of the integumentary system and the first barrier to contact with pollutants such as PM_{2.5}. Skin exposure to certain doses of pollutants may cause skin sensitization and aging. Considering that PM_{2.5} has different routes to cause damage to the skin and internal organs, appropriate experimental models are needed to study the mechanism of skin damage and the mechanism of drug repair under PM_{2.5} exposure. This article reviewed the paths of PM_{2.5} damage to the skin, and enumerated the existing methods for evaluating skin damage under PM_{2.5} exposure as well as their principles and applicability. The evaluation methods were classified into *in vivo* and *in vitro* methods. The *in vivo* methods included mouse model evaluation and human exposure evaluation (using smoke simulator); the *in vitro* methods included PM_{2.5} solution exposure, dynamic inhalation exposure, cell co-culture exposure model, and air-liquid interface cell exposure model, based on cell biology and toxicology. The article compared the advantages and disadvantages of above experimental methods, aiming to provide reference for the study of the damage mechanism of skin exposed to PM_{2.5}.

Keywords: PM_{2.5}; skin; exposure method; *in vivo* method; *in vitro* method

DOI 10.13213/j.cnki.jeom.2019.19156

作者简介

于淼(1995—),女,硕士生;
E-mail: yumiao1116@126.com

通信作者

王敏, E-mail: wangmin_216@163.com

伦理审批 不需要

利益冲突 无申报

收稿日期 2019-03-19

录用日期 2019-08-02

文章编号 2095-9982(2019)09-0869-06

中图分类号 R122

文献标志码 A

引用

于淼, 郭立群, 李秋爽, 等. PM_{2.5}暴露下皮肤损伤评价方法研究进展[J]. 环境与职业医学, 2019, 36(9): 869-873, 878.

本文链接

www.jeom.org/article/cn/10.13213/j.cnki.jeom.2019.19156

Correspondence to

WANG Min, E-mail: wangmin_216@163.com

Ethics approval Not required

Competing interests None declared

Received 2019-03-19

Accepted 2019-08-02

To cite

YU Miao, GUO Li-qun, LI Qiu-shuang, et al. Evaluation methods of skin damage under PM_{2.5} exposure: A review of recent studies[J]. Journal of Environmental and Occupational Medicine, 2019, 36(9): 869-873, 878.

Link to this article

www.jeom.org/article/en/10.13213/j.cnki.jeom.2019.19156

中国科学院“大气雾霾成因与控制”专项研究表明,生物质燃料燃烧产生大量有害气体及颗粒物排放,如机动车尾气^[1]等受逆温现象形成的大气环流,导致空气中悬浮微粒不易扩散,出现阻滞^[2],形成一类由水分、灰尘、无机酸类(SO_x、NO_x)以及有机烃类、重金属等组成的气溶胶状物质^[3]。以PM_{2.5}为代表的气体颗粒物由于比表面积大,富含大量有毒有害物质且输送距离远,在大气中的滞留时间长^[4-5],部分挥发性有机物在大气中经过复杂的多相化学反应^[6],

可穿透皮肤黏膜和血管壁,渗透进入血液循环,对人体健康产生极大的危害^[7]。除室外大气、交通环境影响外,吸烟产生的二手香烟烟雾也是室内环境中PM_{2.5}浓度增加的一个主要因素,PM_{2.5}甚至作为检测二手烟浓度的标志物^[8]。近年来,国内外对以PM_{2.5}为代表的大气污染物的污染区域、时空分布、化学成分组成以及对人体生理健康影响等都开展了大规模的研究^[9],通过临床医学和动物实验已经证实PM_{2.5}等气体颗粒物与多种呼吸道疾病、心血管疾病和肿瘤门诊就诊率和每日死亡率均呈现显著的正相关^[10-11]。PM_{2.5}也会促进机体生成活性氧,引发氧化应激和炎症反应。作为目前国内大部分城市的首要大气污染物,大气颗粒物PM_{2.5}、PM₁₀限值已于2012年纳入我国《环境空气质量标准》第三次修订稿中^[12-13],同时也作为评价大气雾霾污染程度指标。

皮肤作为人体接触外界环境的第一道屏障,很容易受到PM_{2.5}等污染物的伤害^[14]。大气污染物中的硫酸盐、硝酸盐等物质会伴随PM_{2.5}粉尘颗粒,共同通过毛孔进入皮肤内,干扰皮肤附属器的新陈代谢等生理反应^[15]。PM_{2.5}中主要化学成分如硫酸盐、铵盐等,经日光照射后形成气溶胶,直接或间接通过诱发光化学反应刺激皮肤,诱发敏感、干痒等不适。Stellman等^[16]研究发现交通拥挤地区所采集的大气悬浮颗粒物中的多环芳烃组分与致癌特性有关。

由于皮肤的生理结构特殊,其在PM_{2.5}环境下的染毒机理与呼吸系统等也大不相同,因此需选择更适合皮肤组织的损伤评价方法。目前国内主要采用流行病学研究和实验动物模型等方法研究PM_{2.5}短期暴露下的损伤机制,也可采用体外培养细胞模型,通过细胞在暴露后形态、相关细胞因子分泌及特定基因蛋白等指标变化,分析其对于细胞生理功能和代谢的影响。本文综述了PM_{2.5}对皮肤组织损伤及细胞毒性的各种评价方法,并初步探讨和比较了这些评价方法的适用性。

1 体内法评价

1.1 小鼠模型评价

建立实验小鼠损伤模型,可采用模拟呼吸道暴露方式,如吸入式暴露法、气管滴注法等,造成呼吸系统及其他器官如气道和肺组织等器官损伤^[17]。吸入式暴露法的外部暴露浓度不均,内暴露浓度难以测定,更适用于呼吸道及相关器官损伤的研究。韩雪等^[14]采

用滴注法对小鼠进行染毒,但只反映PM_{2.5}经呼吸系统吸收后皮肤衰老指标的相关变化[如表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR) mRNA的表达升高],这种反应与真实自然环境下人体皮肤通过毛孔、黏膜、呼吸系统、消化系统等复杂的吸收过程所产生的反应存在较大差异。同时,实验设计中的PM_{2.5}染毒浓度远高于大气中细颗粒物的实际浓度,无法呈现真实环境中在细颗粒物的长时间暴露下,人体皮肤损伤指标积累和皮肤生理状态的缓慢变化过程。此外,还可通过全身暴露法研究PM_{2.5}等气体颗粒物对动物体内各系统的损伤机制。相较而言,全身暴露法能更好模拟真实的PM_{2.5}暴露环境,但对仪器设备要求较高,操作难度较大。目前针对皮肤损伤的小鼠评价模型尚未形成统一的操作标准。

1.2 人体暴露评价

人体暴露评价是指人体在一定时期内,与一种或多种的生物、化学或物理因子在空间上的接触过程^[18],是环境健康风险评价和流行病学研究中的重要组成部分。江月明等^[19]通过构建香烟烟雾模拟大气污染的临床评估模型,研究空气污染对皮肤角质层蛋白羰基化水平的影响。采用定制的污染模拟箱(图1),以香烟烟雾模拟污染物,将健康受试者前臂屈侧向上暴露于污染模拟箱中,分别于暴露0、1、2、3、4、5 h后,用D-squame胶片采集角质层样本,对比分析皮肤使用乳液前后皮肤蛋白羰基化水平。但此类方法只能分析角质层部分指标。

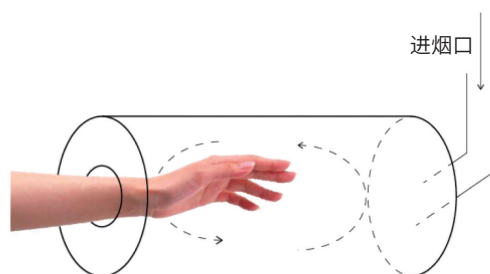


图1 烟雾模拟器示意图

可以通过室外真实场景PM_{2.5}浓度监测或室内模拟,记录暴露时间和PM_{2.5}浓度并计算分析单位浓度下指标的定量变化。郝延慧^[20]通过对大气颗粒物短期暴露下46名志愿者进行固定群组追踪,并采用线性模型研究PM_{2.5}浓度与志愿者免疫指标的相关性。Grevendonk等^[21]对比利时东林堡医院的孕妇进行问卷调查,通过环境监测和相关数学模型确定孕妇的PM_{2.5}暴露值,发现其血液线粒体8-羟脱氧鸟苷水

平的增加与 $PM_{2.5}$ 暴露水平的增加相关 ($P=0.04$)。

2 体外法评价

体外评价法即在实验室环境下离体培养动物或人体细胞,利用细胞生物学、分子生物学及毒理学等技术手段,操作性强,作用模式相对一致并且可以高通量筛选和分析。体外细胞实验具有实验时间短、实验条件和影响因素易于控制的优势,方便进行相对复杂的实验设计,因而被广泛应用于药品、化学品及环境毒理学等各领域研究。2010年9月欧盟消费品安全技术委员会颁布的《化妆品组分测试和安全评估指南》(The SCCS Notes of Guidance for the Testing of Cosmetic Ingredients and Their Safety Evaluation)中修订动物替代实验3R原则,提出在化妆品(原料)和化学品的评价方法中对动物实验进行减少、替代和优化。现已超过40个国家在化妆品(原料)、化学品的评价中禁止使用动物实验^[22]。

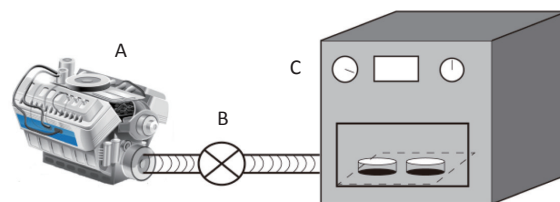
2.1 $PM_{2.5}$ 溶液染毒

$PM_{2.5}$ 溶液染毒法是将采集的 $PM_{2.5}$ 溶解在细胞培养液中对细胞进行暴露处理^[23-25]。 $PM_{2.5}$ 成分来源复杂多样,需根据研究物质性质选择提取试剂,也可购买商业化标准品,如负载于滤膜上的 SRM 2783 $PM_{2.5}$ 标准品(雾霾分析)产品。Mitkus 等^[26]将美国国家标准和技术研究所临时参考材料 $PM_{2.5}$ 溶解检测发现, $PM_{2.5}$ 刺激后 A549 细胞大量分泌 IL-8 和 MCP-1。Zhang 等^[27]通过体外细胞探究 $PM_{2.5}$ 对皮肤的损伤机理,结果表明 $PM_{2.5}$ 中部分微小颗粒物会穿过角质形成细小微粒,在细胞质、线粒体、细胞核中均有一些细小微粒存在,并且应用一种新型微流体系统检测出 $PM_{2.5}$ 对核因子 κB (nuclear factor kappa-B, NF- κB)、白介素 (interleukin, IL) -6、IL-1 β 、嗜中性白细胞碱性磷酸酶 (neutrophilic alkaline phosphatase, NALP3) 和 Caspase-1 的表达均有影响。但此方法的 $PM_{2.5}$ 溶解在细胞培养液中,其接触细胞方式受到液体介质的影响,并不能真正重现实际暴露情况和作用过程。

2.2 动态气体染毒

为了更好地模拟 $PM_{2.5}$ 由生物质燃料燃烧产生的过程,研究人员开发了动态气体染毒装置,如氙灯老化综合试验箱。此类装置使用机动车尾气作为 $PM_{2.5}$ 来源,可实时监测箱体内部空气 $PM_{2.5}$ 浓度,通过循环装置使颗粒物保持悬浮流通,同时可设定温度、湿度从而更好地模拟外界环境。氙灯老化综合试验箱可

用于杀菌,可放置细胞或其他实验对象进行染毒。李铭鑫等^[28]研制出一种简易气体动态染毒装置(图2),该装置通过汽油机制备染毒气体,并应用机械循环系统保证装置内的温度、湿度和一定量的 $PM_{2.5}$ 。除了研究 $PM_{2.5}$ 毒性外,该装置还可同时研究 O_3 的细胞毒性。这种方法与自然环境中 $PM_{2.5}$ 侵害人体过程最为接近,但装置的内循环设备使 $PM_{2.5}$ 悬浮流动不容易沉降,导致 $PM_{2.5}$ 与细胞接触量不易控制。



[注] A：烟雾制造装置；B：空气泵及过滤装置；C：气体老化综合箱。

图2 动态气体染毒装置示意图

2.3 细胞共培养染毒模型

细胞共培养包括接触式培养和非接触式培养,可广泛应用于研究细胞间接触、自分泌或旁分泌及不同类型细胞间的相互作用^[29-30]。接触式共培养是将两种细胞按一定比例接种到同一细胞培养体系中传代培养,待细胞生长稳定后进行相关评价,可探讨两种细胞间的相互影响^[31]。该方法较适合研究生长环境和生长状态接近的不同细胞间信号传递及相互作用。培养条件及染毒方式与前述单细胞溶液染毒方法类似。非接触式共培养是应用 Transwell 膜(图3)等技术^[32]将细胞培养环境分层,两种细胞分别接种在不同膜室,可分析上层细胞经刺激后分泌因子对下层细胞的影响,也可将一种细胞上清液或刺激物与另一种细胞共培养,探讨一种细胞分泌物或不同粒径刺激物对另一种细胞的影响。这种模型可以在保留体内细胞微环境物质和结构基础的同时,展现细胞培养的直观性和条件可控性的优势^[33]。

皮肤组织是不同种类细胞构建的多层复杂结构,与真实皮肤组织相近的培养体系能够更好地模拟真实的生理环境。近年来发展起来的三维重组人工皮肤模型(three-dimensional reconstructed human epidermis model, 3D-RHE)是指将具有三维结构的不同材料的载体与各种不同种类的细胞在体外共同培养,细胞可在载体的三维结构中迁移、生长,构成三维细胞-载体复合物。三维细胞培养大致可分为无支架和支架式培养模型,其中支架式培养模型较为常见,由天然或合成材料制成。此模型具有与人类皮肤

相似的生理结构和代谢功能^[34],可直接暴露于PM_{2.5}污染环境,通过生理学及细胞生物学指标进行毒理分析和作用机理研究。

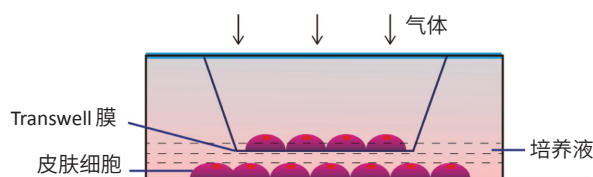
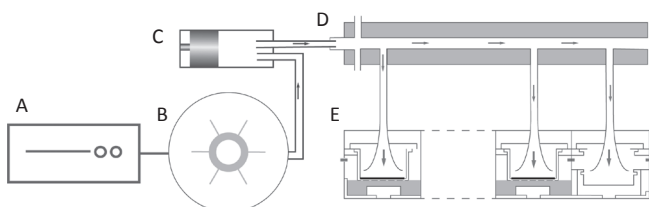


图3 Transwell细胞共培养模式

2.4 气液界面细胞暴露培养

传统细胞培养方法无法将细胞直接暴露于气态污染环境中,因此需要开发更适合的气态污染物体外暴露系统。近年出现的气液界面培养逐渐被用于气态污染物体外毒性研究。Thorne等^[35]使用VITROCELL®系统(图4)将传统烟气暴露中的烟草烟雾颗粒转换为烟雾气溶胶形态,产生稳定的烟草烟雾释放,通过记录颗粒沉积量、测量收集到的气相烟雾标记物的变化,从而探究烟雾对细胞的损伤作用。Fukano等^[36]在VITROCELL®系统基础上引用了CULTEX染毒技术,这种暴露系统利用Transwell膜技术,使细胞在气液界面与气体混合物直接接触染毒,可以维持良好培养条件并能保护细胞不受气压和气流影响,消除残余烟雾,更好地评估染毒效果。



[注] A: 烟雾参数控制器; B: 烟气制造; C: 活塞装置; D: 烟气传送与稀释; E: 烟气与细胞培养装置对接。

图4 VITROCELL®系统示意图

目前国内针对气溶胶状混合物细胞染毒也已研制出相应暴露装置。吴丹等^[37]利用Petri-PERM培养皿建立的气液界面培养体系对人支气管上皮细胞进行暴露,比较低剂量的两种环境污染物对细胞的毒性作用。张素萍等^[38]利用CULTEX细胞暴露染毒系统考察香烟烟雾的细胞毒性,结果表明,当进烟流量在50 mL/min时,即使很低的烟雾浓度也会使得人支气管上皮细胞大量死亡,降低流量后细胞存活率显著提高,证实香烟颗粒物对细胞的损伤与浓度和进烟流量均相关,这种结果是PM_{2.5}直接溶解后处理细胞无法

得到的。

与直接将颗粒物溶解入细胞培养体系检测细胞毒性相比,暴露装置染毒更符合实际状态下的暴露途径、过程与吸收机制,并且可设置不同条件和影响因素进行考察。

3 小结与展望

近年来,国内外学者用体内法和体外法对大气颗粒物的染毒和给药量进行了大量研究,也开发了一系列相应的实验设备。传统的生物染毒方式更适用于呼吸道和体内循环系统,但与皮肤直接接触空气颗粒物不同。因此,研究皮肤在PM_{2.5}暴露下的损伤机制及药物对该损伤的修复作用,需要寻找一种更接近于真实暴露方式的实验模型,同时需要对气体浓度及成分进行模拟和定量。体内法对染毒对象、染毒剂量要求较高,体外法则可以根据实验设计要求建立细胞模型和处理条件,研究深层机理或药物干预的高通量筛选,但目前的细胞模型技术尚不能分析皮肤组织与其他器官和系统的相互作用。

综上所述,目前的皮肤组织染毒方法已有较大的创新,但仍需针对不同的实验对象及实验目的对各种模型及操作方法进一步优化。

参考文献

- [1] 白春礼. 中国科学院大气灰霾成因与控制研究进展 [J]. 中国科学院院刊, 2017, 32 (3): 215-218.
- [2] 郭荣芬, 黎成超, 邓聪, 等. “2015·3·22”云南大范围空气污染事件气象成因分析 [J]. 灾害学, 2017, 32 (3): 91-95.
- [3] 高丽云, 张学军, 汪涛, 等. 环境中细颗粒物PM_{2.5}对呼吸系统的作用机制 [J]. 新乡医学院学报, 2017, 34 (3): 163-165.
- [4] ZHOU W, TIAN D, HE J, et al. Exposure scenario: another important factor determining the toxic effects of PM_{2.5} and possible mechanisms involved [J]. Environ Pollut, 2017, 226: 412-425.
- [5] 张瑜, 肖纯凌. PM_{2.5}对呼吸系统的影响以及呼吸道益生菌的发展前沿 [J]. 中国医药导报, 2018, 15 (8): 28-31.
- [6] 马磊. 石家庄市环境空气中挥发性有机物(VOCs)的特征研究 [D]. 石家庄: 河北科技大学, 2017.
- [7] 王书美. 大气超细颗粒物急性暴露致血管损伤的毒性效应研究 [D]. 北京: 军事科学院, 2018.
- [8] HILL LD, EDWARDS R, TURNER JR, et al. Health assessment of future PM_{2.5} exposures from indoor, outdoor, and

- secondhand tobacco smoke concentrations under alternative policy pathways in Ulaanbaatar, Mongolia [J]. PLoS One, 2017, 12 (10) : e0186834.
- [9] SAMMARITANO MA, BUSTOS DG, POBLETE AG, et al. Elemental composition of PM_{2.5} in the urban environment of San Juan, Argentina [J]. Environ Sci Pollut Res, 2018, 25 (5) : 4197-4203.
- [10] HEßELBACH K, KIM GJ, FLEMMING S, et al. Disease relevant modifications of the methylome and transcriptome by particulate matter (PM_{2.5}) from biomass combustion [J]. Epigenetics, 2017, 12 (9) : 779-792.
- [11] 周惠玲, 洪新如, 黄惠娟, 等. PM_{2.5}对成人及胎儿心血管系统不良效应 [J]. 中国公共卫生, 2017, 33 (1) : 30-34.
- [12] 环境空气质量标准: GB 3095—2012 [S]. 北京: 中国环境科学出版社, 2016.
- [13] 王静, 徐刚. 浅谈新《环境空气质量标准》实施的意义 [J]. 低碳世界, 2017 (1) : 5.
- [14] 韩雪, 梁文艳, 梁文丽, 等. 大气细颗粒物对小鼠皮肤组织中表皮生长因子受体 mRNA 表达的影响 [J]. 中国美容医学, 2015, 24 (6) : 32-34.
- [15] 孙乐栋. 系统性红斑狼疮内脏损害的临床研究 [D]. 广州: 第一军医大学, 2000.
- [16] STELLMAN SD, TAKEZAKI T, WANG L, et al. Smoking and lung cancer risk in American and Japanese men: an international case-control study [J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2001, 10 (11) : 1193-1199.
- [17] 鹿奎奎, 凌敏, 卞倩. 大气细颗粒物致呼吸系统氧化应激和炎症反应损伤机制研究进展 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2017, 31 (6) : 682-688.
- [18] HEINEMEYER G. Concepts of exposure analysis for consumer risk assessment [J]. Exp Toxicol Pathol, 2008, 60 (2/3) : 207-212.
- [19] 江月明, 赵小敏, 瞿欣. 空气污染对皮肤角质层蛋白羰基化水平的影响及粉红胡椒木提取物和脂质混合物对皮肤损伤的防护作用 [J]. 中华皮肤科杂志, 2018, 51 (8) : 580-585.
- [20] 郝延慧. 大气颗粒物与成人健康效应的固定群组追踪研究 [D]. 上海: 复旦大学, 2013.
- [21] GREVENDONK L, JANSSEN BG, VANPOUCKE C, et al. Mitochondrial oxidative DNA damage and exposure to particulate air pollution in mother-newborn pairs [J]. Environ Health, 2016, 15 : 10.
- [22] The EUROPEAN UNION. Regulation (EC) no 1223/2009 of the European Parliament and of the Council of 30 November 2009 on cosmetic products (recast) (Text with EEA relevance) [EB/OL]. [2019-19-08-02]. https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/endocrine_disruptors/docs/cosmetic_1223_2009_regulation_en.pdf.
- [23] ZOU Y, JIN C, SU Y, et al. Water soluble and insoluble components of urban PM_{2.5} and their cytotoxic effects on epithelial cells (A549) *in vitro* [J]. Environ Pollut, 2016, 212 : 627-635.
- [24] 刘梦娇, 黄艺, 文航, 等. 北京大气 PM_{2.5} 与惰性 SiO₂ 的生物毒性比较 [J]. 环境科学, 2015, 36 (11) : 3943-3951.
- [25] 王芳, 李岩, 卢昕烁, 等. PM_{2.5}对血管内皮细胞氧化应激和凋亡的影响及机制 [J]. 中国病理生理杂志, 2017, 33 (3) : 423-427.
- [26] MITKUS RJ, POWELL JL, ZEISLER R, et al. Comparative physicochemical and biological characterization of NIST Interim Reference Material PM_{2.5} and SRM 1648 in human A549 and mouse RAW264.7 cells [J]. Toxicol in Vitro, 2013, 27 (8) : 2289-2298.
- [27] ZHANG Y, ZHENG L, TUO J, et al. Analysis of PM_{2.5}-induced cytotoxicity in human HaCaT cells based on a microfluidic system [J]. Toxicol in Vitro, 2017, 43 : 1-8.
- [28] 李铭鑫, 孙瑞佼, 郭大志, 等. 简易气体动式染毒装置的研制与应用 [J]. 医疗卫生装备, 2015, 36 (5) : 31-33.
- [29] BARRILA J, YANG J, CRABBÉ A, et al. Three-dimensional organotypic co-culture model of intestinal epithelial cells and macrophages to study Salmonella enterica colonization patterns [J]. NPJ Microgravity, 2017, 3 : 10.
- [30] BOGDANOWICZ DR, LU HH. Multifunction co-culture model for evaluating cell-cell interactions [M] //VUNJAK-NOVAKOVIC G, TURKSEN K. Biomimetics and Stem Cells: Methods and Protocols. New York, NY: Humana Press, 2014 : 29-36.
- [31] 郭立群, 王敏. 化妆品功效评价 (VII) ——细胞生物学在化妆品功效评价中的应用 [J]. 日用化学工业, 2018, 48 (7) : 371-377.
- [32] LU J, LI G, HE K, et al. Luteolin exerts a marked antitumor effect in cMet-overexpressing patient-derived tumor xenograft models of gastric cancer [J]. J Transl Med, 2015, 13 (1) : 42.
- [33] 常艳, 魏伟. 细胞共培养及其应用的研究进展 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2009, 14 (7) : 827-832.
- [34] KNIGHT E, PRZYBORSKI S. Advances in 3D cell culture technologies enabling tissue-like structures to be created *in*

(下转第 878 页)

- 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)