

DOI: 10.7524/AJE.1673-5897.20201230001

陶一凡, 张小强, 李琪, 等. 纳米二氧化钛对小胶质细胞 Notch 信号通路及炎症因子分泌水平的影响[J]. 生态毒理学报, 2021, 16(2): 212-218

Tao Y F, Zhang X Q, Li Q, et al. Effects of nano-titanium dioxide on Notch signaling pathway and secretion of inflammatory factors in microglia [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2021, 16(2): 212-218 (in Chinese)

纳米二氧化钛对小胶质细胞 Notch 信号通路及炎症因子分泌水平的影响

陶一凡, 张小强*, 李琪, 孙腾腾, 崔丹丹

环境医学工程教育部重点实验室, 东南大学公共卫生学院, 南京 210000

收稿日期: 2020-12-30 录用日期: 2021-03-23

摘要: 由于纳米材料的广泛应用及其可能存在的生物安全性风险, 本研究探讨了纳米二氧化钛对小胶质细胞 Notch 信号通路及炎症因子分泌水平的影响。以不同浓度的纳米二氧化钛染毒小胶质细胞, MTT 法测定细胞活力, 乳酸脱氢酶(LDH)检测试剂盒测定细胞培养液上清液 LDH 活性, ELISA 法测定细胞培养液上清液肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)、白细胞介素-6(IL-6)的分泌水平, Western Blot 法检测 Notch-1 和 Hes-1 的蛋白表达水平。结果表明, 与对照组相比, 纳米二氧化钛 40.0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 和 50.0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 暴露组细胞活力显著降低; 纳米二氧化钛 20.0、30.0 和 40.0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 暴露组 LDH 水平明显升高; 纳米二氧化钛 15.0、20.0、30.0 和 40.0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 暴露组 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 分泌水平升高; 纳米二氧化钛 20.0、30.0 和 40.0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 暴露组 Notch-1 及 Hes-1 蛋白表达水平升高。研究表明, 纳米二氧化钛暴露导致细胞活力降低, 破坏细胞膜的完整性, 炎症因子及 Notch 信号通路相关蛋白 Notch-1 和 Hes-1 的表达水平升高。

关键词: 纳米二氧化钛; 小胶质细胞; 炎症反应; 炎症因子; Notch

文章编号: 1673-5897(2021)2-212-07 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

Effects of Nano-titanium Dioxide on Notch Signaling Pathway and Secretion of Inflammatory Factors in Microglia

Tao Yifan, Zhang Xiaoqiang*, Li Qi, Sun Tengteng, Cui Dandan

Key Laboratory of Environmental Medicine and Engineering, Ministry of Education, School of Public Health, Southeast University, Nanjing 210000, China

Received 30 December 2020 accepted 23 March 2021

Abstract: In consideration of the wide application of nanomaterials and the potential risk of their biosafety, this study aimed to investigate the effects of Nano-TiO₂ on Notch signaling pathway and the secretion of inflammatory factors in microglia. Different concentrations of Nano-TiO₂ were used to intervene microglia cells. The cell viability was determined by MTT; the lactate dehydrogenase (LDH) detection kit was used to determine LDH activity in the cell supernatant; the secretion level of tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-1 β (IL-1 β) and interleukin-6 (IL-6) in the cell supernatant were measured by ELISA; the protein expression levels of Notch-1 and Hes-1 were detected by Western Blotting. Compared with the control group, the cell viability of the 40.0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ and 50.0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$

基金项目: 江苏省普通高校研究生科研创新计划资助项目(SJZZ16_0034)

第一作者: 陶一凡(1995—), 男, 硕士研究生, 研究方向为食品毒理学和纳米毒理学, E-mail: 670581814@qq.com

* 通讯作者 (Corresponding author), E-mail: zhangxq7843@126.com

·mL⁻¹ Nano-TiO₂ exposure group was significantly reduced; 20.0, 30.0 and 40.0 μg·mL⁻¹ Nano-TiO₂ exposure group had a significant increase in LDH level; the secretion levels of TNF-α, IL-1β and IL-6 were increased in the 15.0, 20.0, 30.0 and 40.0 μg·mL⁻¹ Nano-TiO₂ exposure groups; the expression levels of Notch-1 and Hes-1 were increased in the 20.0, 30.0 and 40.0 μg·mL⁻¹ Nano-TiO₂ exposure groups. It is suggested that the exposure of Nano-TiO₂ lead to the decrease of cell viability, the destruction of cell membrane integrity, and the increase on the expression of inflammatory factors, Notch-1 and Hes-1 proteins.

Keywords: titanium dioxide nanoparticles; microglia; inflammation; inflammatory factors; Notch

纳米二氧化钛颗粒(Nano-titanium dioxide, Nano-TiO₂)是介于原子、分子和宏观体系之间的一种新型纳米材料,除了具备 TiO₂ 基本的特性外,还具备一些特殊的理化性质,例如,屏蔽紫外线的功能强,分散性和耐候性良好。Nano-TiO₂ 可用于化妆品、功能纤维、塑料、涂料和油漆等产品中,可作为紫外线屏蔽剂,防止紫外线的侵害^[1]。近几年来, Nano-TiO₂ 在抗菌食品包装材料^[2-4]、食品添加剂^[5]等方面的应用日益广泛^[6]。在我们日常食物中,如咖啡伴侣、口香糖、巧克力、各类硬糖、软糖和奶制品等中均含有的颗粒大小不等的 Nano-TiO₂^[7]。

随着纳米材料的应用越来越广,人们与它的接触机会也大大增加,其安全性问题也引起了人们的关注。相关体内实验研究表明, Nano-TiO₂ 可能会穿过胎盘屏障而影响胚胎的大脑发育^[8];可能会损害神经元或神经胶质细胞的形态和功能,从而导致细胞坏死^[9];可以通过血脑屏障进入中枢神经系统,引起神经元损伤、神经炎症反应等^[10];会使得血脑屏障的通透性增加,维持血脑屏障的紧密连接蛋白 ZO-1 和 Claudin-5 表达受到干扰^[11];会影响动物的空间学习能力和记忆能力,导致空间记忆的紊乱,这也意味着 Nano-TiO₂ 可能在大脑中积累从而导致神经退行性变^[8]。

小胶质细胞在大脑发育早期就已存在,几乎均匀分散在整个中枢神经系统当中。小胶质细胞是中枢神经系统中的巨噬细胞,是人体中枢神经系统中的第一道也是最主要的一道免疫防线^[12]。小胶质细胞被认为是最敏感的脑病理传感器,一旦发现脑损伤或神经系统功能障碍的迹象,小胶质细胞将经历一个复杂的、多阶段的激活过程,将其转化为“激活的小胶质细胞”^[13]。大量活化的小胶质细胞是中枢神经系统内促炎因子和自由基等神经毒性物质的重要来源^[12]。不受控制或过度激活的小胶质细胞可能会产生过多的炎性细胞因子、炎性因子和自由基,从而加剧组织损伤和神经元死亡^[14]。Nano-TiO₂ 作为

纳米材料中广泛使用的消费品,可以通过各种途径进入体内,穿过血脑屏障进入中枢神经系统中^[11],而小胶质细胞作为脑内的免疫细胞, Nano-TiO₂ 对小胶质细胞的毒作用机制一直备受关注^[15-16]。

Notch 信号通路在进化上高度保守,通过相邻细胞之间的相互作用调节细胞、组织、器官的分化和发育。大量研究表明, Notch 信号通路可促进细胞的炎症反应、氧化应激和细胞凋亡,且与免疫调节密切相关^[17-19]。本研究使用不同浓度的 Nano-TiO₂ 染毒小胶质细胞,进而研究 Nano-TiO₂ 对小胶质细胞活性、其细胞膜的完整性及炎症因子的分泌情况的影响,重点探讨了 Nano-TiO₂ 对 Notch 信号通路的激活作用,从而更进一步地揭示 Nano-TiO₂ 诱导小胶质细胞炎症反应的分子机制。

1 材料与方法(Materials and methods)

1.1 主要试剂

小胶质细胞(BV2)(中国医学科学院基础医学研究所细胞中心); Nano-TiO₂ 颗粒(德国 Degussa 公司); DMEM 高糖培养基(美国 HyClone 公司); 胎牛血清(美国 HyClone 公司); 四甲基偶氮唑盐(MTT)(德国默克 Sigma 公司); 乳酸脱氢酶(LDH)检测试剂盒(南京建成生物工程研究所); 双抗体夹心酶联免疫吸附实验(ELISA)试剂盒(上海酶联生物科技有限公司)。

1.2 主要仪器

马尔文粒径分析仪(Zetasizer Nano-ZS90, 英国 Malvern 公司); 酶标分析仪(RT-6000, 美国 Rayto 公司); 转印电泳槽(DYCZ-40D, 北京六一仪器厂); 化学发光成像系统(Tanon 5200, 上海天能科技有限公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 制备 Nano-TiO₂ 染毒悬液

使用电子天平精确称量一定量的 Nano-TiO₂ 粉末,加入完全培养基配成的母液。使用前超声震荡,根据实验需要稀释成相应浓度。

1.3.2 细胞培养

将小胶质细胞置于含 10% 胎牛血清的高糖 DMEM 中,置于 37 °C、5% CO₂ 条件下培养。培养至对数生长期时进行实验。

1.3.3 Nano-TiO₂ 颗粒表征

稀释 Nano-TiO₂ 母液,使用马尔文粒度分析仪,通过动态光散射检测 Nano-TiO₂ 工作溶液中 Nano-TiO₂ 的粒径、多分散系数(PDI)和 Zeta 电位。

1.3.4 MTT 法测定细胞存活率

在小胶质细胞培养至对数生长期后,以 1×10^4 个·mL⁻¹ 的浓度接种到 96 孔培养板中培养。在细胞贴壁后,将它们分为空白组、对照组和 Nano-TiO₂ 处理组,浓度分别为 15.0、20.0、30.0、40.0 和 50.0 μg·mL⁻¹。每组有 5 个复孔,并继续孵育 24 h。向每个孔中添加 10.0 μL 浓度为 5.0 mg·mL⁻¹ MTT 溶液,并继续在培养箱中培养 4 h。每孔中加入 150 μL 二甲基亚砷(DMSO),置于摇床上震荡,使晶体完全溶解。用酶标仪检测吸光度 $D(560)$ 值并计算细胞活力。

细胞存活率(%) = $[D(560)_{\text{实验组}} - D(560)_{\text{空白组}}] / [D(560)_{\text{对照组}} - D(560)_{\text{空白组}}] \times 100\%$

1.3.5 细胞培养液上清中 LDH 活性测定

取置于对数生长期的小胶质细胞,以 6×10^4 个·孔⁻¹ 的浓度接种到 24 孔培养板中培养。细胞贴壁后,加入含有不同浓度(0、15.0、20.0、30.0 和 40.0 μg·mL⁻¹)的 Nano-TiO₂ 的完全培养基,培养 24 h 后取上清培养液,离心后取上清。设置标准空白孔,在 450 nm 处测量光密度值,计算 LDH 活性,并根据 LDH 试剂盒说明确定细胞膜完整性。

LDH 活性(U·L⁻¹) = $[(\text{测定孔 OD 值} - \text{对照组 OD 值}) / (\text{标准孔 OD 值} - \text{空白孔 OD 值})] \times \text{标准品浓度} \times 1000$

1.3.6 ELISA 法检测 IL-1β、IL-6 和 TNF-α 分泌水平

取置于对数生长期的小胶质细胞,以 6×10^4 个·孔⁻¹ 的浓度接种在 24 孔板中培养。细胞贴壁后,分别添加不同浓度的 Nano-TiO₂ 的完全培养基(0、15.0、20.0、30.0 和 40.0 μg·mL⁻¹)。培养 24 h 后收集细胞培养上清液,离心 20 min 并取上清液。根据 ELISA 试剂盒说明进行实验,在 450 nm 处测量光密度值。根据标准曲线测定样品中 IL-1β、IL-6 和 TNF-α 的分泌水平。

1.3.7 Western Blot 法检测 Notch 信号通路相关蛋白表达水平

将处于对数生长期的小胶质细胞以 8×10^5 个·mL⁻¹ 的浓度接种在 6 孔板中培养。细胞贴壁后,添加不同浓度 Nano-TiO₂ 的完全培养基(0、15.0、20.0、30.0 和 40.0 μg·mL⁻¹),继续孵育 24 h。使用 RIPA 裂解液裂解细胞并提取蛋白质。在 4 °C、12 000 r·min⁻¹ 的条件下离心 15 min 并取上清液。用 BCA 蛋白质定量试剂盒确定提取的蛋白浓度后,制胶、上样、电泳、转膜,用 5% 脱脂奶粉封闭 2 h,分别加入一抗 Notch-1 抗体、Hes-1 抗体和 β-actin 抗体(1:1 000),4 °C 过夜,洗膜,二抗孵 1.5 h 后,洗膜并曝光显色。使用 Image J(v1.47)软件对蛋白条带灰度值进行分析。

设立对照组(不施加任何处理)、抑制剂对照组、DAPT+Nano-TiO₂ 共同处理组(Nano-TiO₂ 干预前 1.5 h 加(γ-分泌酶抑制剂(DAPT)),Nano-TiO₂ 处理组(40 μg·mL⁻¹)。采用蛋白质印迹法(Western Blot)分别测定各组 Notch-1、Hes-1 蛋白表达变化情况,用 ELISA 法测定各组炎症因子分泌水平。

1.4 统计学分析

实验数据表示为均值±标准差。应用 SPSS 24.0 软件进行统计学分析,多组之间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA)。两两比较时,若方差齐则采用 LSD-*t* 检验,若不齐则用 Dunnett's T3 检验。趋势分析采用 Spearman 相关分析,结果以相关系数(*r*)表示。检验水准取 α=0.05。

2 结果(Results)

2.1 Nano-TiO₂ 的表征

Nano-TiO₂ 的平均水合粒径为(73.55±3.29) nm, Zeta 电位为(-5.74±0.63) mV, PDI 为 0.19±0.1,根据上述结果可知 Nano-TiO₂ 的混合分散体系较为稳定。

2.2 细胞活力

如图 1 所示,与对照组相比,Nano-TiO₂ 浓度为 40.0 μg·mL⁻¹ 和 50.0 μg·mL⁻¹ 时,细胞活力显著降低($P < 0.05$)。不在同浓度的 Nano-TiO₂ 暴露条件下,暴露浓度越高,细胞活性越低($r = -0.745, P < 0.05$)。

2.3 LDH 活性

如图 2 所示,与对照组相比,Nano-TiO₂ 在 20.0、30.0 和 40.0 μg·mL⁻¹ 的浓度时,细胞培养液上清中的 LDH 活性升高(均 $P < 0.05$)。随着 Nano-TiO₂ 暴露浓度的增加,细胞培养液上清 LDH 活性也同时增加($r = 0.960, P < 0.05$)。

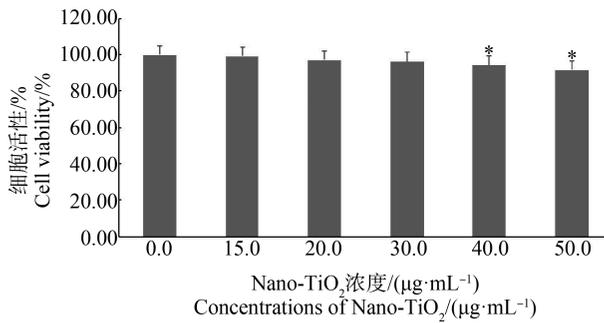


图 1 Nano-TiO₂ 对小胶质细胞 BV2 细胞活力的影响

注: *与对照组相比, $P < 0.05$ 。

Fig. 1 Effect of Nano-TiO₂ on the cell viability of microglia BV2 cells

Note: *represent $P < 0.05$ compared with the control group.

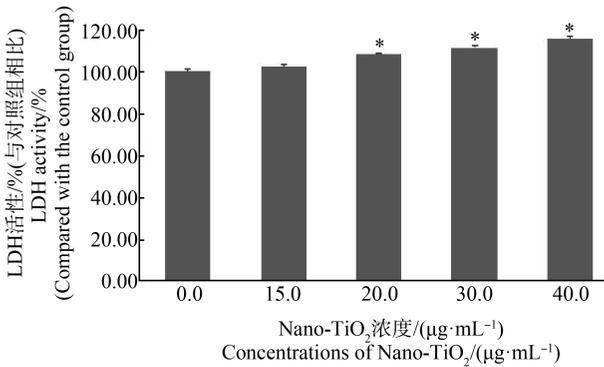


图 2 不同浓度的 Nano-TiO₂ 处理 24 h 后 BV2 细胞的 LDH 活性

注: *与对照组相比, $P < 0.05$ 。

Fig. 2 LDH activity of BV2 cells treated with different concentrations of Nano-TiO₂ for 24 h

Note: *represent $P < 0.05$ compared with the control group.

2.4 TNF-α、IL-1β 和 IL-6 表达水平

如图 3 所示,与对照组相比,Nano-TiO₂ 在 15.0、20.0、30.0 和 40.0 μg·mL⁻¹ 的浓度时,细胞上清液中的 TNF-α、IL-1β 和 IL-6 分泌水平升高(均 $P < 0.05$),剂量-效应关系明显($r_{\text{TNF-}\alpha} = 0.901, P < 0.05; r_{\text{IL-1}\beta} = 0.959, P < 0.05; r_{\text{IL-6}} = 0.958, P < 0.05$)。

2.5 Notch 信号通路相关蛋白表达水平

如图 4 所示,与对照组相比,Nano-TiO₂ 在 20.0、30.0 和 40.0 μg·mL⁻¹ 的暴露浓度下,Notch-1 及 Hes-1 表达水平升高($P < 0.05$),且 Notch-1 及 Hes-1 蛋白表达水平的改变与 Nano-TiO₂ 暴露浓度存在剂量-效应关系($r_{\text{Notch-1}} = 0.894, P < 0.05; r_{\text{Hes-1}} = 0.739, P < 0.05$)。

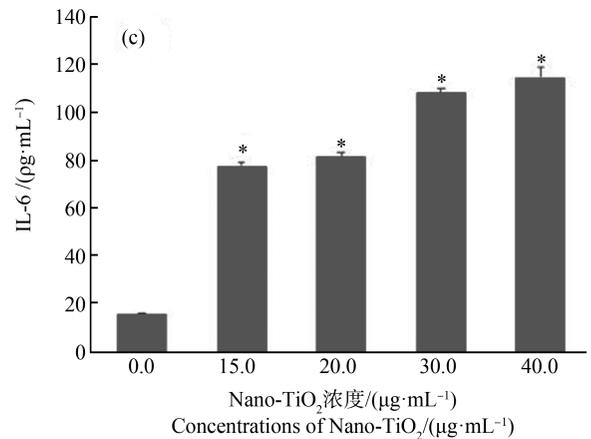
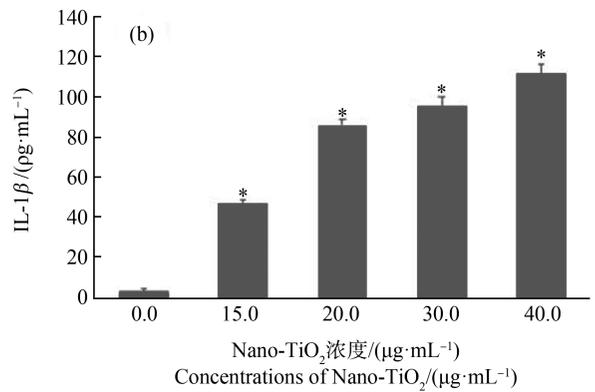
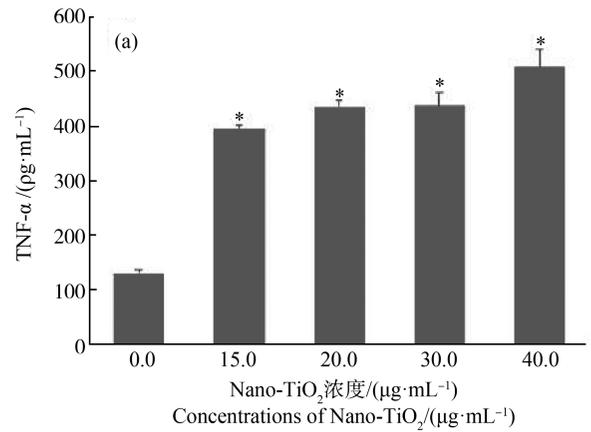


图 3 不同浓度 Nano-TiO₂ 处理 24 h 后 BV2 细胞炎症因子分泌水平

注: * 与对照组相比, $P < 0.05$ 。

Fig. 3 Secretion of inflammatory factors in BV2 cells treated with different concentrations of Nano-TiO₂ for 24 h

Note: *represent $P < 0.05$ compared with the control group.

2.6 Notch 信号通路在 Nano-TiO₂ 诱导小胶质细胞产生炎症因子中的作用

如图 5 所示,在 40.0 μg·mL⁻¹ Nano-TiO₂ 作用下,Notch-1 及 Hes-1 表达明显增加($P < 0.05$);加入 DAPT 后,Notch-1 及 Hes-1 表达水平降低($P < 0.05$)。与对照组相比,Notch 通路抑制剂 DAPT(10.0 μmol·

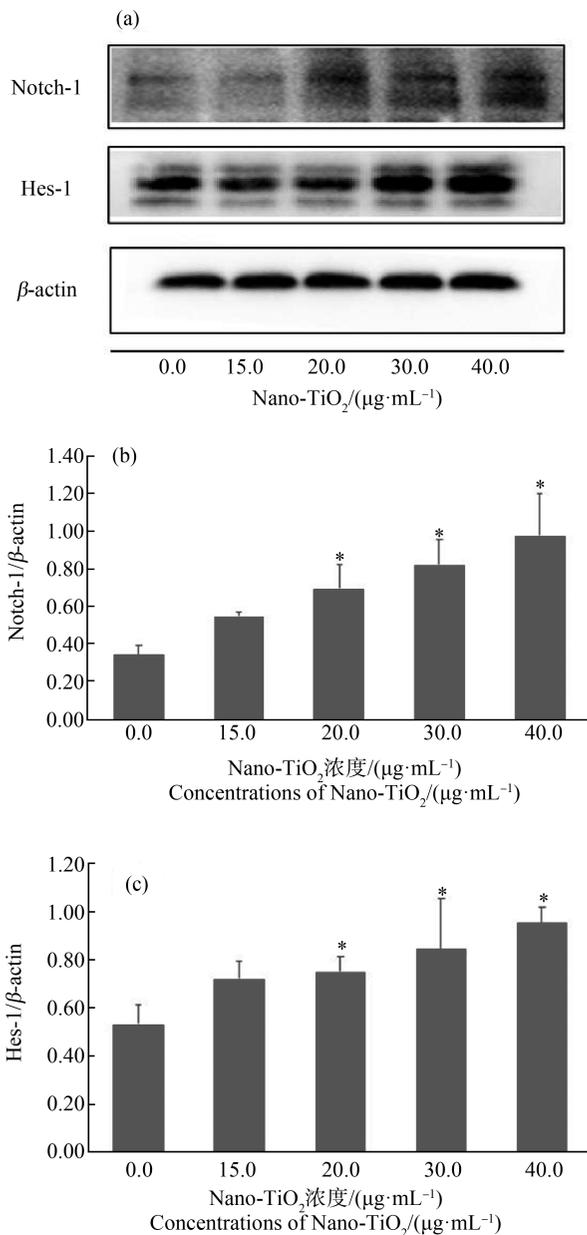


图4 不同浓度 Nano-TiO₂ 处理 24 h 后 BV2

细胞 Notch 信号通路相关蛋白表达水平

注: * 表示与对照组相比, $P < 0.05$; (a), Hes-1、Notch-1 蛋白表达(Western Blot 法); (b), Notch-1/ β -actin 灰度值比值; (c), Hes-1/ β -actin 灰度值比值。

Fig. 4 Expression levels of Notch signaling pathway related proteins in BV2 cells treated with different concentrations of Nano-TiO₂ for 24 h

Note: *represent $P < 0.05$ compared with the control group;

(a), Hes-1 and Notch-1 protein expression by Western Blot method; (b), the ratio of Notch-1 to β -actin; (c), the ratio of Hes-1 to β -actin.

L⁻¹)对小胶质细胞 TNF- α 、IL-6 及 IL-1 β 分泌无明显影响。结果表明,DAPT 可有效降低 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 分泌水平($P < 0.05$)。

3 讨论 (Discussion)

Nano-TiO₂ 是使用最多的纳米颗粒之一,很多日常生活用品中均有添加。纳米颗粒能够随血液循环进入大脑并穿过血脑屏障,引起血脑屏障损伤、神经炎症反应,从而导致中枢神经系统受损^[8-9]。Wang 等^[17]研究发现,通过检测小胶质细胞的 Notch 通路的相关效应因子,通过干预 Notch 信号途径,导致小胶质细胞分泌炎症因子发生改变并且其吞噬作用增强,证明了 Notch 信号系统对于小胶质细胞的炎性表达有重要调节作用。但目前关 Nano-TiO₂ 能否通过激活小胶质细胞里的 Notch 信号通路,进而导致细胞炎症反应增强的相关研究报道较少。因此本研究采用小胶质细胞暴露于 Nano-TiO₂ 颗粒,探讨 Nano-TiO₂ 对 Notch 信号通路的影响,判断 Notch 信号通路在 Nano-TiO₂ 导致小胶质细胞炎症反应水平改变中的作用。

本研究结果表明,小胶质细胞暴露于 Nano-TiO₂ 导致细胞活力下降,并存在剂量-效应关系,本研究 MTT 实验的细胞染毒剂量为 15.0、20.0、30.0、40.0 和 50.0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,当暴露剂量为 50.0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,细胞活力明显下降,出现明显的细胞毒性,所以本研究后续实验的细胞染毒剂量为 15.0、20.0、30.0 和 40.0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ Nano-TiO₂。

在不同浓度 Nano-TiO₂ 暴露条件下,细胞培养液上清 LDH 活性随 Nano-TiO₂ 浓度增加而增加,这说明 Nano-TiO₂ 在一定浓度条件下可以对小胶质细胞膜的完整性造成一定程度的破坏。这些结果与 Rihane 等^[15]的研究报道一致。并且其他体内研究也表明,实验动物通过各种给药途径接受 Nano-TiO₂ 后,主要器官中 Nano-TiO₂ 颗粒的含量增加,进而诱发氧化应激和器官功能障碍^[20]。通过饮用水暴露于 Nano-TiO₂ 的小鼠肝脏中的 8-羟基脱氧鸟嘌呤水平升高, DNA 受损^[21]。通过管饲法将小鼠暴露于 Nano-TiO₂ 后,肝脏、肾脏、脑皮质和海马中的 Nano-TiO₂ 含量升高。本研究结果显示, Nano-TiO₂ 浓度为 15.0、20.0、30.0 和 40.0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,小胶质细胞 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 表达水平均升高,具有明显的剂量-效应关系,且较低浓度的 Nano-TiO₂ (15 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 和 20 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)就能刺激小胶质细胞分泌相关炎症因子。Nano-TiO₂ 刺激了小胶质细胞,使其炎症因子分泌增加,使得细胞生存环境恶化,造成细胞自身的持续激活,炎症因子持续释放,进而导致神经炎症及神经元损伤,造成神经毒性结局^[22]。

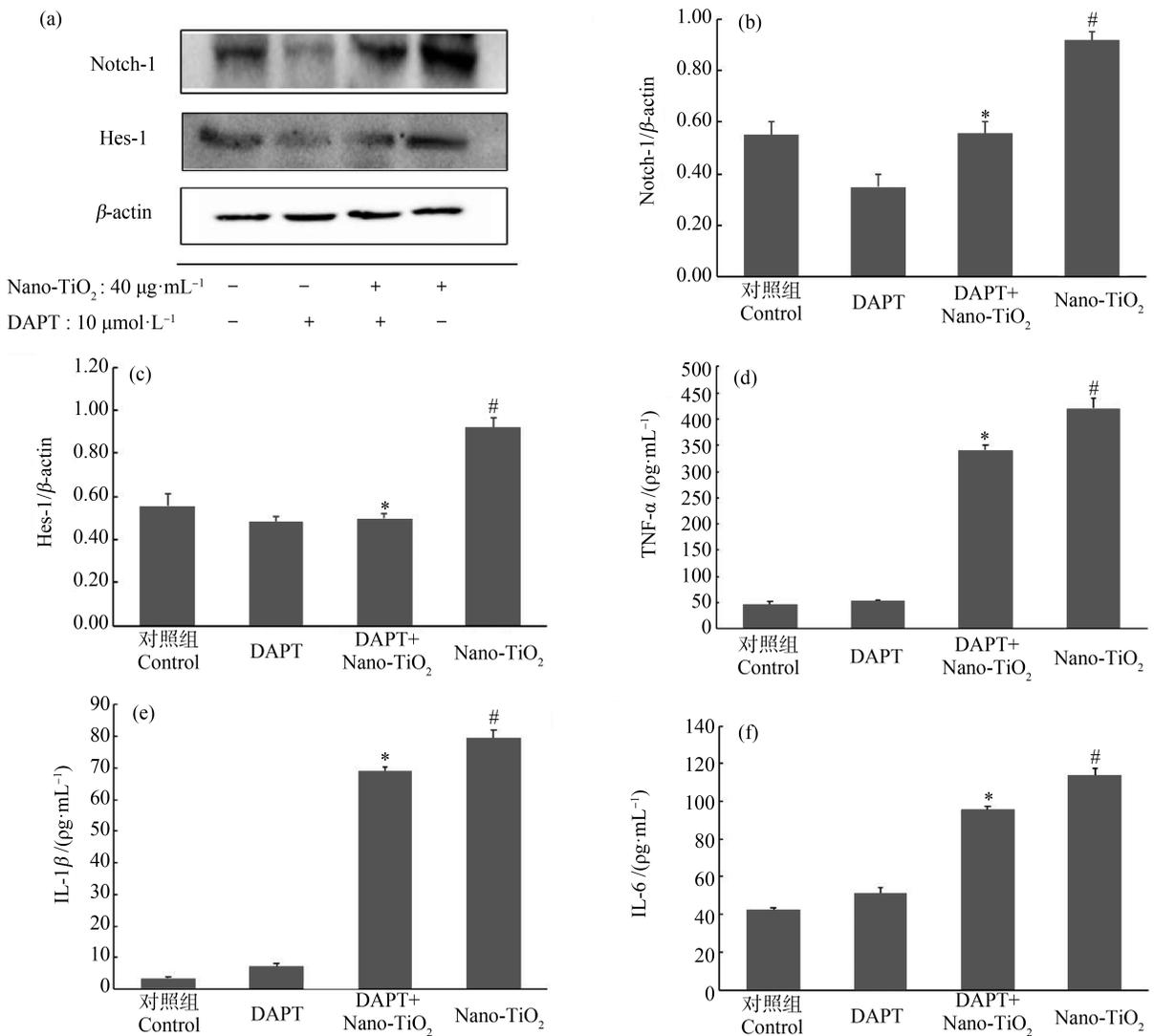


图 5 γ -分泌酶抑制剂 (DAPT) 对 Nano-TiO₂ 所致 Notch 信号通路表达及炎症因子分泌的影响

注: #表示与对照组相比, $P < 0.05$; * 表示与 Nano-TiO₂ 暴露组相比, $P < 0.05$; (a), Hes-1、Notch-1 蛋白表达(Western Blot 法);

(b), Notch-1/ β -actin 灰度值比值; (c), Hes-1/ β -actin 灰度值比值; (d) ~ (f), TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 的分泌水平。

Fig. 5 Effects of γ -secretase inhibitor (DAPT) on the expression of Notch signaling pathway and secretion of inflammatory factors induced by Nano-TiO₂

Note: # represent $P < 0.05$ compared with the control group; * represent $P < 0.05$ compared with Nano-TiO₂ exposure group;

(a), Hes-1 and Notch-1 protein expression by Western Blot method; (b), the ratio of Notch-1 to β -actin;

(c), the ratio of Hes-1 to β -actin; (d) ~ (f), the secretion of TNF- α , IL-1 β and IL-6.

Notch 信号通路是参与调节炎症反应通路的重要通路之一。有研究发现, IL-6、TNF- α 和 IL-1 β 等炎症因子的表达与 Notch 信号通路的表达呈正相关^[18-19,23]。本研究中, Notch 信号通路相关蛋白表达的结果表明, Nano-TiO₂ 暴露引起小胶质细胞中 Notch-1 和 Hes-1 表达水平增加, 由此说明 Nano-TiO₂ 可激活小胶质细胞中 Notch 信号通路; 在 Nano-TiO₂ 暴露组中加入 Notch 信号通路抑制剂

DAPT 后发现, 相较于未加抑制剂的 Nano-TiO₂ 暴露组, 炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 分泌水平下降, 由此可知, Notch 信号通路的激活会促进炎症因子的分泌。有研究表明^[18], 经脂多糖(LPS)诱导活化后的小胶质细胞大量释放 IL-12、TNF- α 和 iNOS 等炎症介质, 用 DAPT 阻断 Notch 信号通路后, M1 型小胶质细胞释放炎症介质减少并向 M2 型小胶质细胞演变, 同时 M2 型细胞释放抑炎因子 IL-10, 这提示

Notch 信号通路参与小胶质细胞炎症的发生发展,这与本研究结果一致。由此我们推断,Notch 信号通路与小胶质细胞内炎症因子的分泌有着相关性,Nano-TiO₂ 颗粒可以使小胶质细胞内的 Notch 信号通路表达增强并促使炎症因子释放增加,Notch 信号通路表达增强对小胶质细胞炎症因子分泌水平起到重要作用。

通讯作者简介:张小强(1968—),男,博士,副教授,主要研究方向为食品毒理学、纳米毒理学。

参考文献(References):

- [1] Wang L Z, Sasaki T. Titanium oxide nanosheets: Graphene analogues with versatile functionalities [J]. Chemical Reviews, 2014, 114(19): 9455-9486
- [2] Venkatasubbu G D, Baskar R, Anusuya T, et al. Toxicity mechanism of titanium dioxide and zinc oxide nanoparticles against food pathogens [J]. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2016, 148: 600-606
- [3] Wang Y N, Ma J Z, Xu Q N, et al. Fabrication of antibacterial casein-based ZnO nanocomposite for flexible coatings [J]. Materials & Design, 2017, 113: 240-245
- [4] Kubacka A, Serrano C, Ferrer M, et al. High-performance dual-action polymer-TiO₂ nanocomposite films via melting processing [J]. Nano Letters, 2007, 7(8): 2529-2534
- [5] 赵秋艳, 李沛生. 新型铁营养强化剂——超微细元素铁粉[J]. 食品与发酵工业, 2001, 27(6): 67-69
Zhao Q Y, Li B S. A new iron dietary supplement-ultra-micro iron powder [J]. Food and Fermentation Industries, 2001, 27(6): 67-69 (in Chinese)
- [6] Kumar P, Mahajan P, Kaur R, et al. Nanotechnology and its challenges in the food sector: A review [J]. Materials Today Chemistry, 2020, 17: 100332
- [7] Lim J H, Bae D, Fong A. Titanium dioxide in food products: Quantitative analysis using ICP-MS and Raman spectroscopy [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2018, 66(51): 13533-13540
- [8] Grissa I, Guezguez S, Ezzi L, et al. The effect of titanium dioxide nanoparticles on neuroinflammation response in rat brain [J]. Environmental Science and Pollution Research, 2016, 23(20): 20205-20213
- [9] Long T C, Tajuba J, Sama P, et al. Nanosize titanium dioxide stimulates reactive oxygen species in brain microglia and damages neurons *in vitro* [J]. Environmental Health Perspectives, 2007, 115(11): 1631-1637
- [10] Song B, Liu J, Feng X L, et al. A review on potential neurotoxicity of titanium dioxide nanoparticles [J]. Nanoscale Research Letters, 2015, 10(1): 1042
- [11] Chen I C, Hsiao I L, Lin H C, et al. Influence of silver and titanium dioxide nanoparticles on *in vitro* blood-brain barrier permeability [J]. Environmental Toxicology and Pharmacology, 2016, 47: 108-118
- [12] Butovsky O, Weiner H L. Microglial signatures and their role in health and disease [J]. Nature Reviews Neuroscience, 2018, 19(10): 622-635
- [13] Kettenmann H, Hanisch U K, Noda M, et al. Physiology of microglia [J]. Physiological Reviews, 2011, 91(2): 461-553
- [14] Cheng M, Yang L, Dong Z P, et al. Folic acid deficiency enhanced microglial immune response via the Notch1/nuclear factor kappa B p65 pathway in hippocampus following rat brain I/R injury and BV₂ cells [J]. Journal of Cellular and Molecular Medicine, 2019, 23(7): 4795-4807
- [15] Rihane N, Nury T, M'rad I, et al. Microglial cells (BV-2) internalize titanium dioxide (TiO₂) nanoparticles: Toxicity and cellular responses [J]. Environmental Science and Pollution Research, 2016, 23(10): 9690-9699
- [16] Valentini X, Deneufbourg P, Paci P, et al. Morphological alterations induced by the exposure to TiO₂ nanoparticles in primary cortical neuron cultures and in the brain of rats [J]. Toxicology Reports, 2018, 5: 878-889
- [17] Wang Y C, He F, Feng F, et al. Notch signaling determines the M1 versus M2 polarization of macrophages in antitumor immune responses [J]. Cancer Research, 2010, 70(12): 4840-4849
- [18] Wu F, Luo T, Mei Y W, et al. Simvastatin alters M1/M2 polarization of murine BV₂ microglia via Notch signaling [J]. Journal of Neuroimmunology, 2018, 316: 56-64
- [19] Grandbarbe L, Michelucci A, Heurtaux T, et al. Notch signaling modulates the activation of microglial cells [J]. Glia, 2007, 55(15): 1519-1530
- [20] Song B, Zhou T, Yang W L, et al. Contribution of oxidative stress to TiO₂ nanoparticle-induced toxicity [J]. Environmental Toxicology and Pharmacology, 2016, 48: 130-140
- [21] Zhang R, Niu Y J, Li Y W, et al. Acute toxicity study of the interaction between titanium dioxide nanoparticles and lead acetate in mice [J]. Environmental Toxicology and Pharmacology, 2010, 30(1): 52-60
- [22] Hughes V. Microglia: The constant gardeners [J]. Nature, 2012, 485(7400): 570-572
- [23] Cao Q, Lu J, Kaur C, et al. Expression of Notch-1 receptor and its ligands Jagged-1 and Delta-1 in amoeboid microglia in postnatal rat brain and murine BV-2 cells [J]. Glia, 2008, 56(11): 1224-1237