

# 纳米银材料中可溶性银离子对皮肤细胞间隙连接通讯的影响

秦 宇<sup>1</sup>, 邓芙蓉<sup>1</sup>, 魏红英<sup>1</sup>, 韩丽敏<sup>2,3</sup>, 许珺辉<sup>1</sup>, 郭新彪<sup>1△</sup>

(1. 北京大学公共卫生学院劳动卫生与环境卫生学系, 北京 100191; 2. 北京大学衰老研究中心, 北京 100191; 3. 北京大学基础医学院生物化学与分子生物学系, 北京 100191)

**[摘 要]** **目的:**探讨纳米银中可溶性银离子对皮肤细胞 HaCaT 间隙连接通讯的影响。**方法:**将 1 g/L 纳米银储备液于 4 °C, 20 000 ×g 离心 2 h 后, 吸取上清作为银离子储备液, 采用电感耦合等离子体质谱法测定其中银离子含量。采用细胞划痕染料标记示踪技术检测细胞间隙连接通讯的改变; 分别采用蛋白免疫印迹和实时荧光定量 PCR 技术检测连接蛋白 43 (connexin 43, Cx43) 及其 mRNA 表达的变化。**结果:**不同浓度银离子 (0.01, 0.1 和 1.0 mg/L) 对 HaCaT 细胞间隙连接通讯无明显影响。进一步的研究发现, 经上述不同浓度银离子作用后, 细胞 Cx43 蛋白及 mRNA 水平均无明显改变。**结论:**纳米银材料中可溶性银离子对 HaCaT 细胞间隙连接通讯的影响及其作用特征可能与纳米银不同。

**[关键词]** 金属纳米粒子; 银; 细胞间通讯; 连接蛋白 43; 缝隙接合部

**[中图分类号]** R318.08 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1671-167X(2013)03-0412-05

**doi:**10.3969/j.issn.1671-167X.2013.03.014

## Effects of silver ion of silver nanoparticles on gap junctional intercellular communication of human skin cells

QIN Yu<sup>1</sup>, DENG Fu-rong<sup>1</sup>, WEI Hong-ying<sup>1</sup>, HAN Li-min<sup>2,3</sup>, XU Jun-hui<sup>1</sup>, GUO Xin-biao<sup>1△</sup>

(1. Department of Occupational and Environmental Health Sciences, Peking University School of Public Health, Beijing 100191, China; 2. Peking University Research Center on Aging, Beijing 100191, China; 3. Department of Biochemistry and Molecular Biology, Peking University School of Basic Medical Sciences, Beijing 100191, China)

**ABSTRACT Objective:** To further investigate the effects of silver ion ( $Ag^+$ ) dissolved from silver nanoparticles (AgNps) on gap junctional intercellular communication (GJIC) between HaCaT cells. **Methods:** In this study, 20 000 ×g of 1 g/L AgNps suspension were centrifuged at 4 °C for 2 h, then the supernatant was collected as  $Ag^+$  stock solution and measured by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS); GJIC was detected by the scrape loading/dye transfer assay; connexin 43 (Cx43) protein and mRNA level were estimated by Western-blot and RT-PCR, respectively. **Results:** Different concentrations of  $Ag^+$  (0.01, 0.1 and 1.0 mg/L) did not affect the GJIC significantly. No notable changes were observed in expression of Cx43 protein and mRNA. **Conclusion:** The characteristics of  $Ag^+$  and the effects on gap junctional intercellular communication between HaCaT cells may be different from those of AgNps.

**KEY WORDS** Metal nanoparticles; Silver; Cell communication; Connexin 43; Gap junctions

纳米银具有优越的抗菌性能, 已被广泛用于烧烫伤贴、抗菌敷料、妇科栓剂、纺织物等, 但同时也增加了皮肤暴露于纳米银的风险<sup>[1]</sup>。目前有关纳米银对皮肤生物学作用的研究仍较为局限, 所得结果也存在不一致性。有研究观察纳米银对豚鼠过敏性接触性皮炎模型的影响, 发现纳米银实验组与溶剂对照组、空白对照组相比较, 红斑治疗效果明显, 并

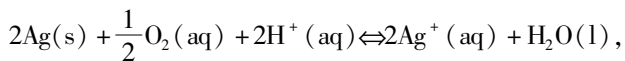
呈剂量依赖性<sup>[2]</sup>; 然而也有研究显示纳米银颗粒作用于人角质形成细胞 (HEKs) 后, 可引起白细胞介素 1 $\beta$  (interleukin 1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ )、IL-6、IL-8 和肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor  $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ) 显著增高<sup>[3]</sup>。此外, 有研究发现皮肤不仅是人体暴露和吸收纳米银的一个重要途径, 还可能是其效应器官在体内的蓄积场所<sup>[4-5]</sup>。

**基金项目:** 国家自然科学基金(21077006)和国家高技术研究发展计划(863 计划)(2012AA062804)资助 Supported by the National Natural Science Foundation of China (21077006) and the National High Technology Research and Development Program of China (863 Program) (2012AA062804)

$\Delta$  Corresponding authors' e-mail, guoxb@bjmu.edu.cn

网络出版时间:2013-5-28 9:19:54 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.4691.R.20130528.0919.006.html>

以往研究表明,纳米银接触溶液后可经以下途径释放一定量的银离子<sup>[6]</sup>:



由此可见,纳米银悬液中,纳米银以纳米银颗粒及银离子两种形态存在。银离子的毒性作用及抗菌作用早已被人们熟知,但银离子在纳米银生物学效应中所起到的作用尚不得而知。有研究报道,纳米银和银离子均可使大鼠嗜铬细胞瘤 PC-12 细胞株体积减小,细胞边界模糊,线粒体功能下降<sup>[7]</sup>;还有研究发现,纳米银和银离子均可导致人单核细胞白血病 THP-1 细胞株氧化应激和细胞凋亡<sup>[8]</sup>,提示纳米银和银离子对细胞的毒性作用可能是相似的。但有学者研究纳米银和银离子对硝化菌生长的抑制情况却发现,在银含量相同的情况下,纳米银的抑制作用更强,纳米银和银离子的半数有效浓度( EC<sub>50</sub>)分别为 0.14 mg/L 和 0.27 mg/L<sup>[9]</sup>。

细胞间缝隙连接通讯(gap junctional intercellular communication, GJIC)是存在于相邻细胞间的直接通讯通道,由连接蛋白构成六聚体在相邻细胞膜上锚定形成。在已知的 21 种连接蛋白中,连接蛋白 43(connexin 43, Cx 43)的表达量最多<sup>[10]</sup>。化学物质通过作用于连接蛋白影响 GJIC 的功能。GJIC 除在细胞增殖、分化和死亡/凋亡等生理过程中起到重要作用外,GJIC 的减弱或消失还与癌症的发生和发展密切相关<sup>[11]</sup>。本课题组前期研究发现,纳米银和纳米二氧化钛均可引起人肺细胞间隙连接通讯的改变<sup>[12-13]</sup>,提示 GJIC 可能是纳米材料对细胞的作用特征之一,纳米银在无明显细胞毒性浓度(4 mg/L)下<sup>[12]</sup>,可通过上调 Cx43 mRNA 及蛋白表达水平,明显促进 A549 细胞 GJIC 功能。本研究将在以往研究的基础上,进一步探讨纳米银中可溶性银离子对于皮肤 GJIC 及 Cx43 蛋白的作用,为深入揭示纳米银的生物学作用机制提供科学数据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验细胞

实验所用为人永生表皮细胞 HaCaT(购自中国典型培养物保藏中心 CCTCC, GCD106)。细胞培养于含 10% (体积分数)胎牛血清和青链霉素双抗的 MEM(mimimum essential medium)培养液,于 37 ℃、5% (体积分数)CO<sub>2</sub> 条件下培养。

### 1.2 主要试剂

荧光黄及 MTT 购自美国 Sigma 公司, MEM 干粉培养基及 Cx43 合成引物购自美国 Life Technology

公司,类标准胎牛血清购自兰州民海生物工程有限公司, Cx43 抗体购自美国 Cell Signaling Technology 公司, RNA 提取试剂盒购自德国 Qiagen 公司。

### 1.3 银离子溶液的制备

本次研究所用纳米银颗粒购自美国 Sigma 公司 (<100 nm)。经透射电子显微镜和元素分析,纳米银为球形,粒径约为 20 ~ 50 nm,比表面积为 5 m<sup>2</sup>/g,纯度为 99.5%,仅有极微量元素残留(Na: 870 μg/g, Ca: 30 μg/g, Fe: 6.6 μg/g)。用十万分之一天平称取纳米银,加入适量超纯水,配置为 1 g/L 储备液,使用前加冰超声 30 min。

本研究采用高速离心法制备银离子溶液。由于纳米银粒径小,质量轻,即使再高转速离心仍无法完全去除上清液中的纳米银,但 Beer 等<sup>[14]</sup>通过紫外可见吸收光谱证实,通过高速离心所得银离子上清液中主要成分为银离子,纳米银含量很低; Tien 等<sup>[15]</sup>也证明,纳米银粒径大于 10 nm, 20 000 × g 超声 100 min 可去除至少 96% 的纳米银颗粒,因此,本研究中银离子溶液制备参考 Tien 等<sup>[15]</sup>的方法,并延长了离心时间,将纳米银储备液(1 g/L)超声分散后于 4 ℃, 20 000 × g 离心 2 h,取上清液作为银离子储备液。根据纳米银的细胞毒性结果,用培养液将银离子储备液按不同倍数稀释后染毒进行后续实验。

### 1.4 细胞毒性测定

采用 MTT 法评价纳米银的细胞毒性。将生长良好的细胞制成 1 × 10<sup>5</sup>/mL 细胞悬液,以每孔 200 μL 接种于 96 孔板,培养至细胞达到 90% 融合后,加入不同浓度(0.625、1.25、2.5、5.0、12.5、25.0、50.0、200.0 mg/L)纳米银悬液染毒 24 h,以不加纳米银的培养液为阴性对照,每个剂量组做 8 个平行样。染毒结束前 4 h,每孔加入 20 μL MTT(5 g/L),继续孵育 4 h,弃培养液,每孔加入 200 μL DMSO,吹打均匀,使 MTT 还原产物完全溶解,将上清液转入另一 96 孔板,用酶联免疫检测仪测光密度(D),测定波长为 570 nm。细胞存活率 = (D<sub>实验组</sub> / D<sub>对照组</sub>) × 100%,实验重复 3 次。

### 1.5 纳米银与培养液作用不同时间释放银离子测定

纳米银储备液超声分散后,按照所需浓度以培养液稀释,模拟细胞生长环境,于 CO<sub>2</sub> 孵箱内放置不同时间,4 ℃, 20 000 × g 离心 2 h,电感耦合等离子体质谱法(inductively coupled plasma mass spectrometry, ICP-MS)测定银离子含量。

### 1.6 GJIC 检测

采用细胞划痕染料标记示踪技术检测 GJIC。依照细胞毒性实验结果,分别加入不同浓度的银离子染毒 24 h,各剂量组分别设 2 个平行样。各组染毒结束后,加入适量 0.05% (质量分数) 的荧光黄染料,用外科手术刀在 6 孔板底部划线 4 或 5 条,使细胞在 37 °C 接触荧光染料 15 min,荧光显微镜观察细胞间荧光染料的扩散情况,实验重复 3 次。

### 1.7 蛋白印迹法测定 Cx43 蛋白

不同浓度的银离子染毒 24 h 后,各组细胞用预冷的 PBS 洗 3 次,收集细胞,加入细胞裂解液冰浴裂解 30 min,4 °C,13 000 r/min 离心 20 min,取上清,考马斯亮蓝进行蛋白定量。98 °C 变性 5 min,SDS-PAGE 电泳后转移至 NC 膜,5% (质量分数) 牛血清白蛋白 (bovine serum albumin, BSA) 封闭 2 h,加入 Cx43 抗体 (1:3 000) 孵育过夜后,用羊抗兔二抗 (1:10 000) 孵育 2 h,洗膜后化学发光, X 胶片曝光,显影。实验重复 3 次。

### 1.8 Cx43 mRNA 表达测定

细胞培养于 6 孔板,加入不同浓度银离子 4、12、24 h 后,收集细胞,按照试剂盒说明提取总 RNA,经逆转录获得 cDNA,实时定量 PCR (real-time PCR, RT-PCR) 检测 Cx43 mRNA 水平。引物序列: Cx43 为 5'-GGTCTGAGTGCCTGAACCTGCCT-3' (正向引物) 和 5'-TGCCTGGCACCACCTCTTTTGC-3' (反向引物),以  $\beta$ -actin 为内参,序列为 5'-CAC-CAGGGCGTGATGGT-3' (正向引物) 和 5'-CTCAAA-CATGATCTGGTCAT-3' (反向引物)。反应条件:95 °C 预变性 5 min,95 °C 变性 10 s,57 °C 退火/延伸 1 min,共 40 个循环;57 °C 最终延伸 1 min。结果以实验组与对照组的相对表达比值  $2^{-\Delta Ct}$  表示,其中  $\Delta Ct = \text{实验组} (Ct_{\text{目的基因}} - Ct_{\text{内参基因}}) - \text{对照组} (Ct_{\text{目的基因}} - Ct_{\text{内参基因}})$ 。实验重复 3 次。

### 1.9 统计分析

应用 SPSS 13.0 软件,对各处理组获得的计量资料指标进行统计分析,结果以均数  $\pm$  标准差表示;各组实验结果证明方差齐后,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD 检验。 $P < 0.05$  表示差异具有统计学意义。

## 2 结果

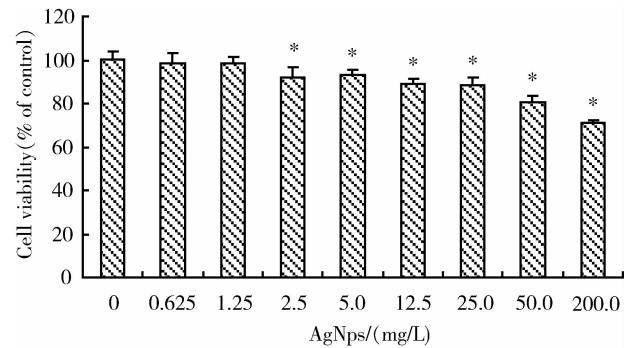
### 2.1 纳米银细胞毒性测定

不同剂量组纳米银对 HaCaT 细胞的存活率与对照组相比有差异 (图 1),随着染毒浓度的增加细胞活性降低,当纳米银浓度为 50 mg/L 以下时,细胞存活率均在 80% 以上,因此,本研究选用纳米银的

最高作用浓度为 50 mg/L。

### 2.2 纳米银与培养液作用不同时间银离子释放情况

因纳米银释放银离子为一个动态连续过程,本研究探讨了纳米银与细胞培养液连续作用不同时间后,纳米银释放出银离子量的变化特征。结果发现,50 mg/L 纳米银与培养液接触不同时间,银离子含量有差异。纳米银加入培养液后 6 h,银离子含量与刚加入时相比无明显差异,12 h 后银离子释放量明显增加,至 24 h 时约增加了 0.29 mg/L ( $P < 0.05$ , 表 1)。考虑到本研究中计划用银离子对细胞的最长染毒时间为 24 h,即在 24 h 的时候,细胞已经终止了对银离子的暴露,若采用 24 h 时的银离子含量是不准确的,因而本研究采用 1.0 mg/L 为后续实验中银离子的最高浓度,该浓度近似等于纳米银加入培养液后悬液中所含有的银离子浓度。



\*  $P < 0.05$ , compared with control (AgNps 0 mg/L).

图 1 不同浓度纳米银对 HaCaT 细胞活性影响 ( $n = 8$ )

Figure 1 Cytotoxicity of AgNps on HaCaT cells ( $n = 8$ )

表 1 50 mg/L 纳米银与培养液作用不同时间可溶性银离子含量

Table 1 50 mg/L AgNps dissolved  $\text{Ag}^+$  in culture medium at different time

Time/h	$\text{Ag}^+ / (\text{mg/L})$
0	1.03 $\pm$ 0.03
2	0.96 $\pm$ 0.07
4	1.11 $\pm$ 0.02
6	1.05 $\pm$ 0.02
12	1.28 $\pm$ 0.05 *
24	1.32 $\pm$ 0.05 *

\*  $P < 0.05$ , compared with 0 h.

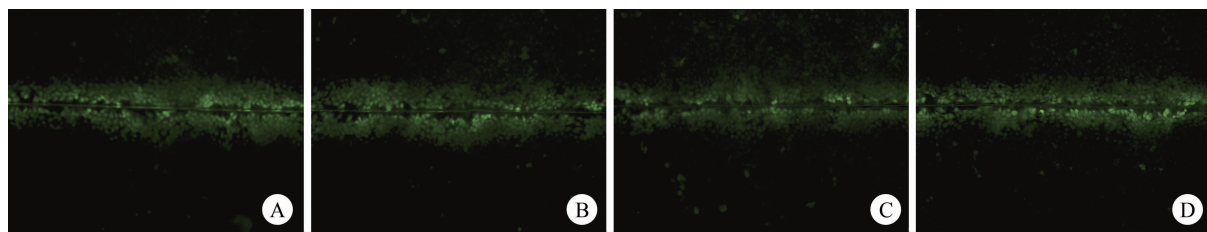
### 2.3 纳米银中可溶性银离子对 GJIC 的影响

由细胞毒性结果可知,纳米银在 50 mg/L 以下时不引起 HaCaT 细胞明显毒性,因此选择 0.5、5、50 mg/L 3 个剂量中相应可溶性银离子含量为本研究拟使用银离子浓度。高速离心分离后经 ICP-MS 测

定,0.5、5、50 mg/L 各纳米银悬液中银离子约为0.01、0.1、1.0 mg/L。

图2显示了不同浓度银离子染毒24 h后对HaCaT细胞间隙连接通讯的影响,可见对照组细胞

划痕两侧有一定数目的细胞,提示HaCaT细胞可正常表达细胞间通讯。划痕两侧荧光强度无明显差异,表明银离子并未对HaCaT细胞间隙连接通讯产生明显影响。



A, control; B, 0.01 mg/L  $Ag^+$ ; C, 0.1 mg/L  $Ag^+$ ; D, 1.0 mg/L  $Ag^+$ .

图2 不同浓度银离子对HaCaT细胞间隙连接通讯的影响

Figure 2 Effects of  $Ag^+$  on HaCaT gap junctional intercellular communication

## 2.4 纳米银中可溶性银离子对Cx43蛋白的影响

蛋白印迹测定Cx43蛋白表达结果可见,随着银离子剂量的增加,各组Cx43蛋白表达与磷酸化程度与对照组相比差异很小,并无明显增加或者减少趋势(图3)。RT-PCR结果与之一致,银离子作用4、12、24 h均未发现Cx43 mRNA水平明显改变(图4)。

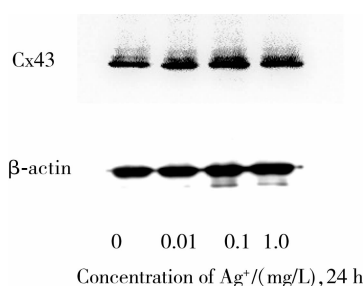


图3 不同浓度银离子对细胞间隙连接蛋白Cx43的影响

Figure 3 Effects of  $Ag^+$  on Cx43 Western blot band pattern

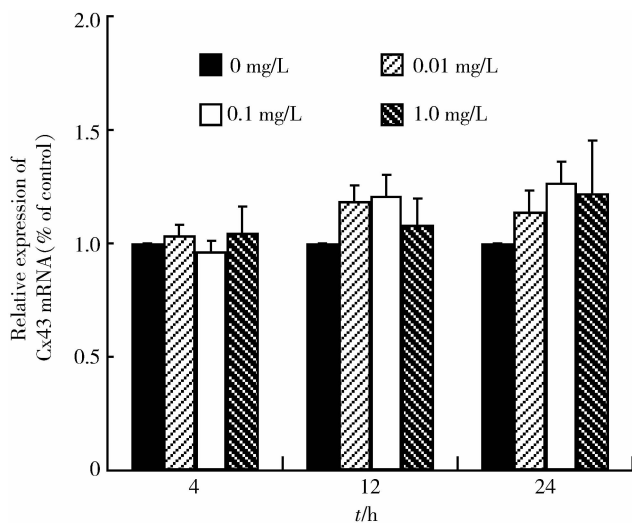


图4 不同浓度银离子对Cx43 mRNA的影响( $n=3$ )

Figure 4 The expression level of Cx43 mRNA induced by  $Ag^+$  ( $n=3$ )

## 3 讨论

由于纳米银释放的银离子也具有生物学作用,越来越多的研究开始关注纳米银的生物学效应是其本身作用还是悬液中的银离子引起。目前对这一问题尚无定论,不同研究中甚至得到相反结论<sup>[7-9,12]</sup>。研究表明,上清液中银离子含量不同,对纳米银悬液产生的生物学效应的影响不同<sup>[14]</sup>。以往的研究多使用硝酸银等作为银离子供体<sup>[8,12]</sup>,并非为纳米银接触溶液后释放出的银离子,从而也就不能真正解释纳米银释放的银离子在其生物学效应中的作用。目前研究此问题的常用方法为使用离心、薄膜梯度扩散等方法将银离子分离后,用ICP-MS或离子选择电极测定其浓度<sup>[16]</sup>。本文采用Tien等<sup>[15]</sup>的方法,利用高速离心法去除纳米银颗粒,提取上清液作为银离子的供体,并由ICP-MS测定其含量,用于直接评价纳米银释放的银离子的生物学效应。

本研究选择GJIC为效应指标。众多研究表明,GJIC与癌症的发生有密切关系,GJIC降低或者缺失,可使肿瘤细胞失去周围正常细胞的生长调控作用而无限增殖,最后导致癌症的发生。许多促癌物质(如TPA)可明显抑制GJIC<sup>[17]</sup>,而一些抗癌物质(如绿茶提取物、 $\beta$ 胡萝卜素)可提高GJIC的功能<sup>[18]</sup>。以往研究发现,纳米银、纳米二氧化钛、纳米二氧化硅和超细炭黑等均可引起GJIC的改变<sup>[12-13,19]</sup>,提示GJIC可能是不同纳米材料的共同生物学特征之一。本课题组前期研究也发现,纳米银可引起A549细胞GJIC功能的增加<sup>[12]</sup>,并在HaCaT细胞中得到了一致的结果。本研究探讨纳米银对GJIC的影响是否与其释放的银离子相关,研究发现,使用不同浓度银离子作用HaCaT细胞后,

GJIC 功能无差异。GJIC 由相邻细胞的连接子相互结合形成,物质通过调节连接蛋白引起 GJIC 的改变。HaCaT 细胞可表达多种连接蛋白,如 Cx26、Cx43、Cx31 等,其中 Cx43 表达最多<sup>[20]</sup>。因而本研究继续探索纳米银释放的银离子是否可引起 Cx43 蛋白及 mRNA 水平的改变,两实验得到一致结果,银离子并未引起 Cx43 改变。

研究发现,纳米银与银离子的作用特征可能不同。Foldbjerg 等<sup>[8]</sup>将纳米银与等量的银离子作用于 THP-1 细胞,发现两者均可引起细胞活性氧的增加,但相同时间内,银离子可引起更多的细胞死亡,且坏死细胞与凋亡细胞的比例明显大于纳米银引起的细胞死亡。纳米银与银离子作用特征不同,因此观察不同的效应终点,可观察到不同的结果,这也部分解释了先前研究结果的不一致性。本研究也显示,银离子并未参与 GJIC 的调节。

纳米银释放银离子的量受到一系列条件影响,如溶液 pH、氧含量、温度、纳米银粒径、浓度等<sup>[6]</sup>。纳米银对细胞染毒过程中,放置于 37 °C,含有 5% (体积分数) CO<sub>2</sub> 的孵箱内,其 pH、温度均发生变化,纳米银将与培养液相互作用,重新达到纳米银与银离子的平衡。纳米银初始浓度越高,释放银离子越多,本研究选用最高剂量为 50 mg/L 的纳米银与培养液作用不同时间,观察银离子的释放情况,研究发现银离子产生量不同,6 h 内银离子量变化不大,作用 12 及 24 h 后,银离子量有所增加,24 h 时银离子终浓度约增加了 0.29 mg/L。采用 24 h 时的银离子含量并不准确,因此本研究选择 1.0 mg/L 为所用银离子的最高浓度,但这可能低估部分银离子的作用。在今后的实验中,可延长纳米银释放银离子的时间,并比较不同释放时间银离子溶液对细胞间隙连接通讯的影响,以进一步研究银离子在纳米银生物学效应中的作用。

本研究通过分析纳米银释放银离子对皮肤细胞 GJIC 的作用,发现纳米银与银离子的作用机制可能不同,提示对纳米银进行生物学效应评价时,需考察纳米银释放的银离子含量,并探讨银离子是否对研究的生物指标产生影响。

#### 参考文献

[ 1 ] Ahamed M, Alsalmi MS, Siddiqui MK. Silver nanoparticle applications and human health [J]. Clin Chim Acta, 2010, 411 (23 -

24); 1841 - 1848.

- [ 2 ] Bhol KC, Aroy J, Schechter PJ. Anti-inflammatory effect of topical nanocrystalline silver cream on allergic contact dermatitis in a guinea pig model [J]. Clin Exp Dermatol, 2004, 29(3): 282 - 287.
- [ 3 ] Samberg ME, Oldenburg SJ, Monteiro-Riviere NA. Evaluation of silver nanoparticle toxicity in skin *in vivo* and keratinocytes *in vitro* [J]. Environ Health Perspect, 2010, 118(3): 407 - 413.
- [ 4 ] Chang AL, Khosravi V, Egbert B. A case of argyria after colloidal silver ingestion [J]. J Cutan Pathol, 2006, 33(12): 809 - 811.
- [ 5 ] Laresse FF, D'Agostin F, Crosera M, et al. Human skin penetration of silver nanoparticles through intact and damaged skin [J]. Toxicology, 2009, 255(1 - 2): 33 - 37.
- [ 6 ] Liu J, Hurt RH. Ion release kinetics and particle persistence in aqueous nano-silver colloids [J]. Environ Sci Technol, 2010, 44(6): 2169 - 2175.
- [ 7 ] Hussain SM, Javorina AK, Schrand AM, et al. The interaction of manganese nanoparticles with PC-12 cells induces dopamine depletion [J]. Toxicol Sci, 2006, 92(2): 456 - 463.
- [ 8 ] Foldbjerg R, Olesen P, Hougaard M, et al. PVP-coated silver nanoparticles and silver ions induce reactive oxygen species, apoptosis and necrosis in THP-1 monocytes [J]. Toxicol Lett, 2009, 190(2): 156 - 162.
- [ 9 ] Choi O, Hu Z. Size dependent and reactive oxygen species related nanosilver toxicity to nitrifying bacteria [J]. Environ Sci Technol, 2008, 42(12): 4583 - 4588.
- [ 10 ] Solan JL, Lampe PD. Connexin43 phosphorylation: structural changes and biological effects [J]. Biochem J, 2009, 419(2): 261 - 272.
- [ 11 ] Yamasaki H. Gap junctional intercellular communication and carcinogenesis [J]. Carcinogenesis, 1990, 11(7): 1051 - 1058.
- [ 12 ] Deng F, Olesen P, Foldbjerg R, et al. Silver nanoparticles up-regulate Connexin43 expression and increase gap junctional intercellular communication in human lung adenocarcinoma cell line A549 [J]. Nanotoxicology, 2010, 4(2): 186 - 195.
- [ 13 ] 祁琨, 邓芙蓉, 郭新彪. 纳米二氧化钛颗粒对人肺成纤维细胞缝隙连接通讯的影响 [J]. 北京大学学报: 医学版, 2009, 41(3): 297 - 301.
- [ 14 ] Beer C, Foldbjerg R, Hayashi Y, et al. Toxicity of silver nanoparticles - nanoparticle or silver ion? [J]. Toxicol Lett, 2011, 208(3): 286 - 292.
- [ 15 ] Tien DC, Tseng KH, Liao CY, et al. Discovery of ionic silver in silver nanoparticle suspension fabricated by arc discharge method [J]. J Alloys Compd, 2008, 463(1 - 2): 408 - 411.
- [ 16 ] Yu SJ, Chao JB, Sun J, et al. Quantification of the uptake of silver nanoparticles and ions to HepG2 cells [J]. Environ Sci Technol, 2013, 47(7): 3268 - 3274.
- [ 17 ] Rakib MA, Kim YS, Jang WJ, et al. Attenuation of 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA)-induced gap junctional intercellular communication (GJIC) inhibition in MCF-10A cells by e9, t11-conjugated linoleic acid [J]. J Agric Food Chem, 2010, 58(22): 12022 - 12030.
- [ 18 ] Choung YH, Choi SJ, Joo JS, et al. Green tea prevents down-regulation of gap junction intercellular communication in human keratinocytes treated with PMA [J]. Eur Arch Otorhinolaryngol, 2011, 268(6): 885 - 892.
- [ 19 ] Ale-Agha N, Albrecht C, Klotz LO. Loss of gap junctional intercellular communication in rat lung epithelial cells exposed to carbon or silica-based nanoparticles [J]. Biol Chem, 2010, 391(11): 1333 - 1339.
- [ 20 ] Scott CA, Kelsell DP. Key functions for gap junctions in skin and hearing [J]. Biochem J, 2011, 438(2): 245 - 254.

(2013-02-01 收稿)

( 本 文 编 辑 : 赵 波 )