



内质网在纳米材料毒性效应形成中的作用及机制*

王娟^{1,2)} 徐文娟³⁾ 王信文³⁾ 王晶晶^{1,2)} 王妹梅^{3)**} 许安^{1,4)**}

(¹⁾ 中国科学院合肥物质科学研究院技术生物与农业工程研究所, 中国科学院强磁场与离子束物理生物学重点实验室/环境毒理与污染控制技术安徽省重点实验室, 合肥 230031; (²⁾ 中国科学技术大学, 合肥 230026; (³⁾ 安徽医科大学病理生理学教研室, 合肥 230032;

(⁴⁾ 安徽大学物质科学与信息技术研究院, 合肥 230601)

摘要 随着纳米材料在食品、药物、生物医学等多领域的应用, 其在生产使用过程中对人类健康的影响引起了广泛关注. 内质网是蛋白质折叠与加工修饰、脂质合成以及 Ca^{2+} 储存的主要场所, 是维护细胞内稳态的重要细胞器. 内质网作为纳米材料的主要靶细胞器之一, 在纳米材料引起的毒性效应中起重要作用. 本文结合近年来国内外相关研究进展, 阐述了纳米银(Ag-NPs)、纳米金(Au-NPs)、纳米二氧化钛(TiO_2 -NPs)、纳米氧化锌(ZnO -NPs)、纳米二氧化硅(SiO_2 -NPs)、富勒烯(C_{60})、单壁与多壁碳纳米管(SWCNTs/MWCNTs)以及石墨烯与氧化石墨烯(GO)等典型纳米材料对内质网结构功能的影响, 并归纳总结了内质网在不同纳米材料诱导的毒性效应中的作用及其异同点. 纳米材料可通过引起内质网应激诱导细胞凋亡、炎症反应以及细胞自噬, 还可通过激活 IP_3 信号通路诱导内质网 Ca^{2+} 释放激活钙依赖的细胞凋亡. 纳米材料可在内质网中积累造成结构损伤及功能障碍, 还可诱导内质网自噬.

关键词 内质网, 纳米材料, 细胞凋亡, 炎症反应, 细胞自噬, 毒性效应

中图分类号 Q291, X174

DOI: 10.16476/j.pibb.2018.0052

纳米技术的出现始于1980s, 目前纳米科学已成为当今世界三大支柱科学之一. 纳米材料作为一种新型材料, 正被用于各种商业产品如电子产品、医疗保健产品、食品、纺织品等^[1-3]. 大量纳米材料在生产、使用和废弃的过程中不可避免地被释放到环境中, 从而增加其与生物接触的机会^[2, 4]. 有关纳米材料的生物安全性研究引起了相关领域众多学者的关注以及世界各国政府的高度重视. 具有不同理化性质的纳米材料可通过不同的毒性机制产生不同的炎症反应及毒性反应.

内质网是一种精细的亚细胞器结构, 广泛分布于几乎所有真核细胞的胞质中. 内质网不仅是蛋白质与脂质合成的重要场所, 也是细胞内信号转导的关键细胞器, 它同细胞的存活与凋亡联系紧密^[5]. 当细胞受到内外因素刺激时, 内质网结构与功能受到干扰, 导致细胞代谢与功能的损伤, 从而诱发疾病. 内质网在纳米材料诱导毒性效应中的作用已逐步成为纳米毒性研究的一个热点. 本文在回顾纳米

材料诱导生物效应的基础上, 结合近几年来国内外关于内质网介导Ag-NPs等几种常见纳米材料诱导毒性效应的研究现状, 重点探讨内质网在不同纳米材料毒性效应中的作用并归纳其发生机制, 并对现有研究存在的问题和今后的主要研究方向进行讨论, 旨在为研究内质网在纳米材料毒性效应中作用的科研人员提供一定的参考.

1 内质网的结构与功能

内质网是真核细胞中由单位膜围成的三维网状

* 国家自然科学基金(21677147、21507002、21607157、21507136)、中国博士后基金(2016M600477)、安徽省博士后基金(2017B161)、国家级大学生创新计划项目(201710366002)、中科院大学生创新计划项目和安徽医科大学博士启动基金(XJ201506)资助项目.

** 通讯联系人.

王妹梅. Tel: 0551-65595362, E-mail: wangmm@ustc.edu.cn

许安. Tel: 0551-65593336, E-mail: anxu@ipp.ac.cn

收稿日期: 2018-04-25, 接受日期: 2018-11-05

结构, 在细胞内膜系统中占据中心地位, 根据表面是否有核糖体附着, 可分为糙面和光面内质网两种. 内质网主要负责蛋白质折叠与组装、脂质合成、囊泡运输以及 Ca^{2+} 储存, 其对稳态条件的改变极为敏感^[6]. 内质网在细胞凋亡、自噬及坏死过程中起重要作用^[7-10].

当细胞受到各种生理病理因素刺激时, 会造成内质网稳态失衡, 使得内质网腔内未折叠和错误折叠蛋白质累积或 Ca^{2+} 浓度发生改变, 诱发内质网应激 (endoplasmic reticulum stress, ER stress), 继而激活未折叠蛋白质反应 (unfolded protein response, UPR)^[11-12]. UPR 主要是未折叠蛋白质在内质网中累积, 诱导内质网分子伴侣蛋白 GRP78/BIP (78 ku glucose-regulated protein) 与 3 种跨膜感受蛋白, PERK (PKR-like endoplasmic reticulum kinase)、IRE1 (inositol-requiring protein 1) 和 ATF6 (activating transcription factor 6), 解偶联. UPR 的激活主要包括 3 条信号转导通路: a. 活化后的 PERK 磷酸化 eIF2 α , 阻断蛋白质合成, 促进 ATF4 翻译, 促使内质网恢复稳态; b. 活化后的 IRE1 具有核酸内切酶活性, 剪切胞质中 mRNA 分子 *xbp-1*, 产生有活性的转录因子 XBP-1s 进入细胞核并调节下游基因的表达; c. ATF6 与 GRP78/BIP 分离后转运入高尔基体, 先后被 site1 和 site2 蛋白酶水解激活, 转入细胞核并促进基因表达. 持续的 ER stress 将会诱发细胞凋亡^[13-15]. ER stress 在炎症反应以及自噬过程中同样发挥重要作用.

细胞内游离 Ca^{2+} 可作为多效性第二信使参与调控卵母细胞受精、胚胎形态形成、细胞分化、细胞增殖以及细胞死亡等生理学过程^[16]. 内质网是细胞内 Ca^{2+} 储存的主要场所, 多种刺激因素可诱导 Ca^{2+} 从内质网释放进入胞质. 内质网 Ca^{2+} 的释放一方面可诱导 ER stress 调控细胞凋亡; 另一方面可导致胞质和线粒体 Ca^{2+} 超负荷, 增强线粒体敏感性从而诱发细胞凋亡^[17-18].

纳米材料作用于细胞后可直接或间接损伤内质网结构, 诱导 ER stress、内质网 Ca^{2+} 内环境紊乱及功能障碍^[6, 17, 19-20]. 内质网的功能状态在稳定细胞功能和维持细胞存活中起着重要作用^[5]. 研究表明, 内质网功能变化参与多种疾病如中风、癫痫、阿尔茨海默病、动脉粥样硬化、糖尿病等的发生^[18].

2 内质网与细胞凋亡

内质网作为细胞中的重要细胞器, 其在细胞凋亡中的作用机制受到广泛关注. 内质网参与纳米材料诱导的细胞凋亡机制主要包括 UPR、ER stress 激活的 Caspase-12 级联反应以及 Ca^{2+} 信号通路 (图 1).

2.1 内质网在典型金属及金属氧化物纳米材料诱导的细胞凋亡中的作用

2.1.1 内质网在 Ag-NPs 诱导的细胞凋亡中的作用

Ag-NPs 由于其独特的抗菌效应, 广泛应用于日常消费品以及医药产品中. 随着 Ag-NPs 的大量使用和废弃, 其对环境健康效应产生了一定的威胁^[21-22]. 作为典型的纳米颗粒, Ag-NPs 以聚合物大规模内吞或单体被动扩散的方式进入细胞中, 且低剂量暴露即可诱导细胞凋亡^[23-24].

Ag-NPs 可诱导哺乳动物细胞内质网出现损伤^[19-20]. Zhang 等^[6] 研究发现, Ag-NPs 能够引发内质网内 Ca^{2+} 稳态失衡, 导致线粒体 Ca^{2+} 超载, 诱导 ER stress, 诱导 GRP78 表达上调继而激活 UPR (包括: a. 诱导 PERK 及其下游 eIF2 α 蛋白的磷酸化; b. 诱导 IRE1 α 磷酸化进而剪切 *xbp-1*; c. 激活 ATF6), 从而导致 CHOP 蛋白的表达上调, 引发细胞凋亡. 此外, 当 Ag-NPs 暴露于人乳腺癌细胞 MCF-7 和 T-47D 时, 能够诱导细胞产生 ER stress, 激活 PERK、IRE1 α 和 ATF6. 一方面激活 PERK-eIF2 α 通路调控 ATF4, 进而通过激活凋亡前体蛋白如 CHOP 而抑制抗凋亡 Bcl-2 家族蛋白, 从而诱导细胞凋亡; 另一方面激活 IRE1 α 通路, 进而激活 JNK 通路来调控 Bcl-2 家族蛋白 xIAP 和 Mcl-1, 从而诱导细胞凋亡. 该研究还发现 HSP70 水平的下调可能通过下调 IRE1 α 激活 Bax 并对 PARP 进行加工, 进而诱导细胞凋亡^[25]. 对 PVP-Ag-NPs 暴露于斑马鱼胚胎的研究发现, PVP-Ag-NPs 能够在内质网中聚集, 并且抑制内质网中蛋白质的正常合成, 最终诱导细胞凋亡^[26]. 也有研究表明, 在斑马鱼肝细胞中 Ag-NPs 能够诱导 ER stress, 包括激活 ER stress 标志基因 *bip*, 并协同 *atf-6* 和 *xbp-1s* 基因, 共同影响凋亡前体基因 *p53* 和 *bax* 转录; 而在斑马鱼胚胎中 Ag-NPs 能够诱导 ER stress 相关基因 *bip* 和 *synv* 上调, 诱导凋亡前体基因 *nox* 和 *p21* 转录发生改变, 从而影响斑马鱼胚胎孵化以及发育形态学缺陷^[27]. Huo 等^[21] 分别在体内和体外对 Ag-NPs 诱导的 ER stress 进行研究, 发现 Ag-NPs 能够激活人支

气管上皮细胞(16HBE)的ER stress信号通路,导致 *xbp-1s*、*chop/ddit3*、*trib3*、*adm2*、*asns* 等的 mRNA 水平上调,以及 BIP、Caspase-12、cleaved Caspase-12、HERP 和 HSP70 的蛋白质水平上调,进而诱导细胞凋亡的发生。此外,该研究发现 JNK 信号通路在 Ag-NPs 诱导的内质网相关的细胞凋亡中起重要作用,且体内实验同样发现 Ag-NPs 能够诱导小鼠的肺和肾脏产生 ER stress 并激活细胞凋亡。亦有体内研究表明,Ag-NPs 能够剂量依赖性诱导氧化应激导致 ER stress 的发生,导致 HSP70、BIP、p-IRE1、p-PERK 和 CHOP 的蛋白质水平上调,以及 *chop* 和 *xbp-1s* 的基因水平上调,且肝脾肺肾作为 Ag-NPs 的主要靶器官,出现较高水平的应激压力并伴随凋亡的发生,但心脏和大脑中应激压力较弱^[28]。Srivastava 等^[29] 研究发现,Ag-NPs 和 Ag⁺均能够诱导角质形成细胞(HaCat)和腺癌人类肺泡基底上皮细胞(A549)产生氧化应激和 ER stress,该结果表明 Ag⁺对于 Ag-NPs 诱导 ER stress 具有一定贡献。

2.1.2 内质网在TiO₂-NPs诱导的细胞凋亡中的作用

TiO₂-NPs 作为一种典型的纳米金属氧化物,由于其高光催化性和超亲水性,被广泛应用于防晒产品、涂料以及生物医学领域^[30-32]。伴随其应用的广泛性,TiO₂-NPs 在生产、使用以及运输等环节将不断释放到环境中,其生物安全性格外受到关注。

研究发现 TiO₂-NPs 能够引起大鼠细胞内质网结构损伤,甚至导致内质网出现破损^[33]。Chen 等^[34] 研究发现 TiO₂-NPs 可影响肥大细胞 ER 内 Ca²⁺稳态。深入研究表明,TiO₂-NPs 能够诱导大鼠原代培养海马神经元细胞内质网体积增大,诱导内质网 Ca²⁺稳态失衡,进而引发 ER stress 反应,导致 GRP78、CHOP 和 Caspase-12 蛋白质水平表达上调,最终诱导细胞凋亡的发生^[35]。此外,研究表明 TiO₂-NPs 能够引起原代培养的 Sertoli 细胞内质网出现肿胀,激活内质网特异蛋白 GRP78 表达上调,进而激活 Caspase-12 和 CHOP 表达,最终诱导内质网介导的细胞凋亡发生^[5]。

2.1.3 内质网在ZnO-NPs诱导的细胞凋亡中的作用

ZnO-NPs 由于其独特的结构属性与理化性质,广泛应用于商业产品。已有研究表明 ZnO-NPs 在全球的年产量达到 31 500~34 000 吨,其中约 8%~20% 将进入水环境中^[36]。ZnO-NPs 在生产和使用的各个阶段对人类健康产生的潜在威胁均受到广泛关注。

通过活体观察鼠肝癌组织切片,发现 35 nm 的 ZnO-NPs 能够诱导 ER 发生肿胀与囊泡化^[37]。且 ZnO-NPs 可影响内质网对于 Ca²⁺的摄入,导致内质网内 Ca²⁺稳态失衡^[38]。深入研究发现 ZnO-NPs 能够降低线粒体膜电位,导致 ROS 增加,细胞内过高的 ROS 将会诱导 ER stress 反应,进而激活 Caspase-12,从而诱导非线粒体依赖性的细胞凋亡^[39]。Chen 等^[14] 研究发现,ZnO-NPs 能够通过诱导 ROS 的产生进而诱导人脐静脉内皮细胞(HUVECs)产生 ER Stress,导致 *xbp-1s*、*chop* 和 *caspase-12* 的 mRNA 水平上调,以及 BIP、CHOP、GADD34、p-PERK、p-eIF2 α 和 cleaved Caspase-12 的蛋白质水平上调,从而激活 Caspase-12 依赖的 ER stress 通路,进而诱导细胞凋亡的发生,且该研究发现 Zn²⁺ 在此过程中起重要作用。此外,研究表明 ZnO-NPs 能够诱导人胎儿肺纤维原细胞产生 ER stress,调控 *ERN1* 基因水平,剪切 *xbp-1* 的 mRNA 使其活化,激活 IRE1 信号通路,且 ERN1 能够上调 Caspase-2 水平,进而诱导细胞凋亡的发生^[40]。体内研究发现,ZnO-NPs 能够引起小鼠肝脏组织细胞内质网出现肿胀,导致结构出现损伤,且剂量依赖性诱导细胞上调 *grp78*、*grp94*、*xbp-1* 和 *pdi-3* 的 mRNA 水平,并且诱导 PERK 和 eIF2 α 磷酸化,从而诱导 ER stress^[41]。持续的 ER stress 一方面诱导 CHOP 表达上调,导致促凋亡基因 *bax* 上调以及抗凋亡基因 *bcl-2* 下调,从而激活 ER stress 介导的细胞凋亡的发生;另一方面,ER stress 通过激活 IRE1,进而激活 ASK-1 信号通路,激活 JNK 凋亡信号通路;此外 ER stress 还可通过激活 Caspase-12 进而激活 Caspase-3 和 Caspase-9,最终激活 Caspase 凋亡级联通路^[41]。另外,Kuang 等^[42] 研究发现,相比于大粒径(90 nm) ZnO-NPs,小粒径(30 nm) ZnO-NPs 能够在小鼠肝脏组织中大量累积,通过诱导 ROS 促进 *perk*、*eif2 α* 、*atf4*、*chop*、*JNK*、*caspase-12*、*caspase-9*、*grp94* 以及 *bax* 的 mRNA 水平表达上调,激活 ER stress。ER stress 一方面激活 PERK-eIF2 α -ATF4-CHOP 信号通路导致抗凋亡蛋白 Bcl-2 水平下调,另一方面通过 IRE1 α 磷酸化激活 JNK 通路来抑制 Bcl-2 的抗凋亡功能并激活促凋亡蛋白 Bax,进而激活 Caspase 级联反应,诱导细胞凋亡^[42]。此外持续的 ER stress 可激活 Caspase 级联反应,包括激活 Caspase-12 和 Caspase-9,进而诱导细胞凋亡的发生^[42]。

2.2 内质网在碳纳米材料诱导的细胞凋亡中的作用

碳纳米管广泛应用于化学传感器、生物医学成像系统以及药物载体等^[43-45]. 研究发现, P-SWCNT能够诱导RAW264.7细胞发生内质网肿胀, 导致ER stress及相关蛋白质如p-IRE1 α 和CHOP的上调. 此外, P-SWCNT还导致线粒体功能紊乱, 诱导Bax、cleaved-PARP和Cytochrome c (Cyt c) 蛋白质表达水平的上升, ER stress与线粒体功能紊乱共同作用导致细胞凋亡的发生^[43].

石墨烯(graphene)是由六方排列的碳原子组成的一种单原子厚的二维片层结构, 作为一种新兴的非金属纳米材料, 具有独特的物理化学属性^[46]. 研究表明石墨烯能够诱导正常人支气管上皮细胞(BEAS-2B)的EGFR活化、激活PLC-IP₃通路、导致ER释放Ca²⁺、进而活化Ca²⁺调节的线粒体依赖的细胞凋亡信号通路, 包括Cyt c释放以及Caspase-3活化^[17]. 氧化石墨烯(graphene oxide, GO)作为石墨烯最为重要的衍生物之一, 广泛应用于生物医学领域^[47]. 研究发现当GO作用于肺癌细胞(GLC-82)时, 能够在胞质、线粒体、内质网以及细胞核中聚集, 进而诱导毒性效应^[48]. 亚微米尺寸GO(submicrometer-sized GO, SGO)和纳米尺寸GO(nanometer-sized GO, NGO)均能够激活HUVECs细胞膜G蛋白偶联受体(G protein-coupled receptor, GPCR), 从而激活PLC β -IP₃通路导致ER释放Ca²⁺, Ca²⁺促进JNK磷酸化Bcl-2蛋白, 导致Bcl-2-Bcl-1复合物解离出活化的Bcl-1, Bcl-1激活LC3进而诱导细胞自噬, 最终导致细胞凋亡甚至DNA片段化^[49]. 该研究表明, GO诱导的内质网Ca²⁺内环境紊乱不能诱导ER stress的产生^[49].

2.3 内质网在其他纳米材料诱导的细胞凋亡中的作用

在各种各样的纳米材料中, Au-NPs因其在物理、化学和光电方面的独特属性, 广泛应用于生物影像、靶向药物运输、药物敏化以及光热疗法^[50-54]. Saw等^[55]研究发现, 不同粒径大小的Au-NPs可诱导不同的细胞毒性, 当使用30、60、80和100 nm Au-NPs暴露于乳腺癌细胞(MDA-MB231)时, 小粒径Au-NPs(30 nm)在内质网中大量聚集, 而其他粒径Au-NPs主要聚集于溶酶体和线粒体中. 此外, 研究发现低剂量Au-NPs持续暴露于人脐静脉内皮细胞(HUVECs)时, 可导致

纳米颗粒在胞内累积并诱导细胞产生ER stress^[56]. Au-NPs作为新颖的人中性粒细胞促凋亡药物, 能够诱导多形核嗜中性粒细胞产生ER stress, 激活ER膜上受体蛋白IRE1、ATF6和PERK, 并且激活ER驻留Caspase家族蛋白Caspase-4, 进而诱导ER stress介导的细胞凋亡通路的活化^[57]. 包含金纳米颗粒的聚乙二醇纳米凝胶(PEGylated nanogel containing gold nanoparticles, GNG)会在细胞质以及核膜周围积累, 主要定位于内含体和溶酶体中^[58]. GNG可上调鼠鳞状癌细胞SCCVII中ER stress相关蛋白质IRE1 α 和p-PERK的表达, 诱导ER stress引起的细胞凋亡; ER stress还可下调DNA损伤修复通路HR和NHEJ的关键蛋白质Rad51和Ku70表达, 从而抑制DNA双链断裂的损伤修复^[58]. 此外, GNG还可通过上调人肺癌细胞(A549)中IRE1 α 、BIP/GRP78、钙联接蛋白Calnexin和Ero-1 α 的蛋白质表达诱导ER stress, 最终导致细胞凋亡^[58]. Tsai等^[15]利用基因芯片和系统生物学分析的方法分析了Au-NPs处理的K562细胞, 处理6 h后, BIP的上调表明其激活了与自救反应相关的IRE1 α 和ATF6路径, 处理细胞12~48 h后, 激活PERK通路来补偿内质网分子伴侣蛋白HSP90B和BIP的下调. 当这些反应不足以缓解ER stress时, 凋亡信号通路中的关键基因*chop*和*cleaved caspase-3*表达上调, 最终导致凋亡的发生. 此外, Au-NPs诱导的ER stress还能促进ROS的产生, 进而导致线粒体释放Cyt c, 造成线粒体损伤, 最终导致细胞凋亡发生^[15].

SiO₂-NPs广泛应用于化学机械研磨、食品添加剂和医药领域. 研究发现, 内质网是SiO₂-NPs的重要靶标, SiO₂-NPs能够进入小鼠胶质细胞N9和神经元细胞SH-SY5Y并靶向进入内质网^[59-60]. SiO₂-NPs和SiO₂-1% Ag-NPs能扰乱人肝细胞(Huh7)的内质网功能, 诱导产生ER stress, 上调ER stress标志物*bip*和*xbp-1s*的mRNA水平, 并产生ROS, 但Christen表示纳米颗粒诱导的ROS产生与ER stress并无直接关联. 此外ER stress会导致Ca²⁺稳态失衡, 诱发细胞自我修复(即细胞功能修复和清除未折叠蛋白质)或者引起细胞毒性, 包括细胞凋亡^[61]. 无定形SiO₂-NPs(amorphous SiO₂-NPs, aSNPs)可诱导ER stress并激活p53, 进而促进p53凋亡通路相关蛋白Bad、Bax、Bcl-2和Bcl-x的表达, 刺激Cyt c的释放, 起始细胞凋亡通路^[62].

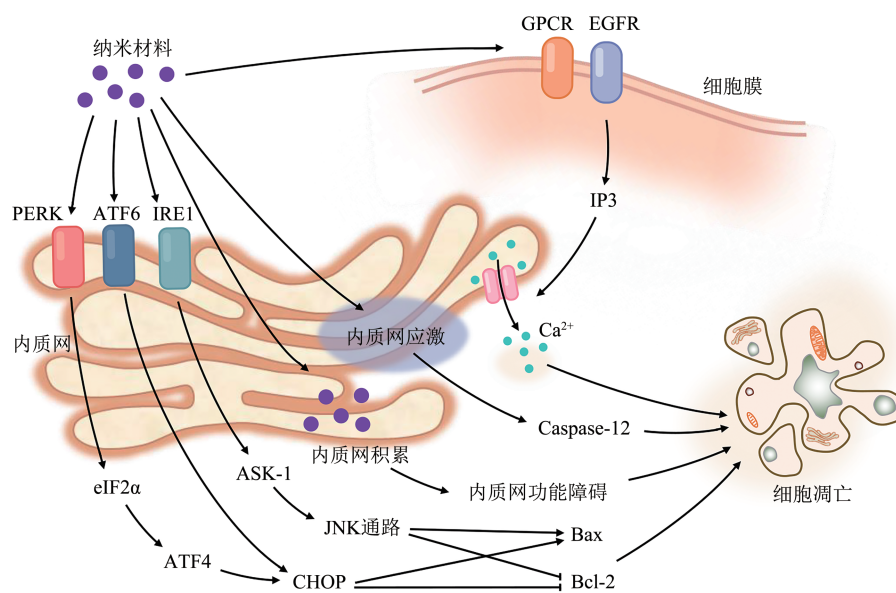


Fig. 1 Roles of ER in apoptosis induced by NPs [5-6, 14-15, 17, 21, 25-28, 35, 39-43, 49, 57-58, 61-62]

图1 内质网在纳米材料诱导的细胞凋亡中的作用 [5-6, 14-15, 17, 21, 25-28, 35, 39-43, 49, 57-58, 61-62]

3 内质网与炎症反应

炎症反应是人体免疫系统对抗感染、组织损伤和应激反应的一种防御性反应. 持续的ER stress可介导内皮细胞活化和炎症反应, 从而引起动脉粥样硬化及其他炎症疾病的发生^[63]. 研究表明纳米材料诱导的ER功能紊乱与炎症反应具有密切联系(图2).

在斑马鱼肝细胞中Ag-NPs能够诱导ER stress反应, 包括激活ER stress标志基因**bip**、**atf6**和**xbp**-

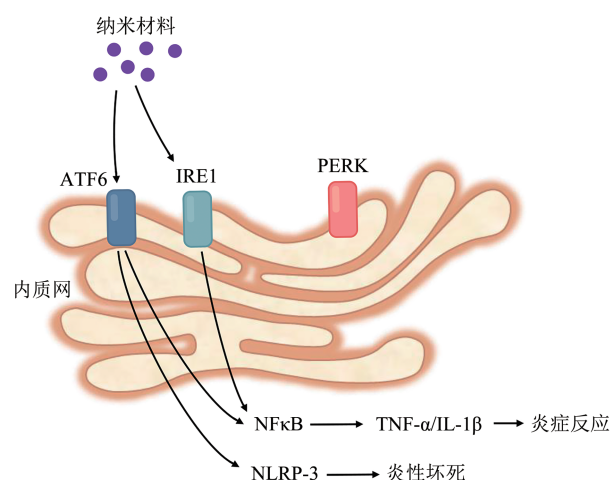


Fig. 2 Roles of ER in inflammation induced by NPs [27, 64-67]

图2 内质网在纳米材料诱导的炎症反应中的作用 [27, 64-67]

Is 基因, 进而激活NF-κB通路促进TNF-α的分泌, 最终导致炎症反应的发生, 且TNF-α的分泌可能与JAK-STAT的激活及抗病毒反应相关^[27]. Simard等^[64]研究发现, 不同浓度Ag-NPs处理人单核细胞THP-1可激活不同的ER stress信号分子. 当Ag-NPs浓度为1~10 mg/L时, ER stress中PERK路径可被强烈激活; 而当Ag-NPs浓度达到25 mg/L时, 通过人类炎症反应的Caspase-4的调节可诱导ATF6的降解, 进而引发与细胞凋亡相关的NLRP-3炎性体的活化, 且ATF6剪切体的出现与Caspase-1 p20/Caspase-1活性以及IL-1β的分泌密切相关, 该研究表明NLRP-3炎性体的活化与Ag-NPs诱导产生的细胞焦亡具有紧密联系. 该研究还发现, Ag-NPs还可通过上调热休克蛋白家族基因诱导ER stress^[64].

Yu等^[65]通过气体暴露的方式研究了TiO₂-NPs对小鼠的毒性效应, 发现TiO₂-NPs能够进入肺部细胞, 导致内质网肿胀与线粒体破裂, 并且激活ER stress反应, 通过诱导GRP78、IRE1α和CHOP蛋白质表达水平上调, 调节细胞内炎症介质如NF-κB、p38和VCAM-1的表达水平, 进而诱导炎症反应的发生.

Eom等^[66]研究发现, MWCNTs能够诱导秀丽隐杆线虫产生ER stress和氧化应激, 这类应激水平的升高可能是MWCNTs诱导毒性的潜在机制. 长

度为 10~30 μm 的 MWCNTs 可靶向定位于细胞核和线粒体中, MWCNTs 不影响内质网应激相关 *xbp-1s* 的 mRNA 水平和 BIP 的蛋白质水平, 却能够诱导 *ddit3* (*chop*) mRNA 水平上调, *ddit3* 可作为转录因子调控细胞释放炎症细胞因子 IL-6, 诱导炎症反应的发生; 而长度为 0.5~2 μm 的 MWCNTs 毒性相对较小^[67].

富勒烯 (fullerenes, C_{60}) 作为碳的同素异形体, 由于其独特的材料性质以及其潜在的应用价值, 受到相关领域学者的广泛关注. 研究发现 C_{60} 能够诱导人星形胶质细胞产生 ER Stress^[68]. 当 TR- C_{70} (Texas Red- C_{70}) 暴露于肥大细胞 (MC) 后, 能够靶向性作用于内质网, 并抑制内质网 Ca^{2+} 释放和 ROS 产生, 这与其具有的抗炎效应具有密切关联^[69].

4 内质网与细胞自噬

自噬是由溶酶体介导的细胞内生物大分子及细胞器降解、回收以及再利用的代谢过程. 内质网与自噬之间联系紧密: a. 内质网腔中错误折叠的蛋白质累积诱导 ER stress 引发自噬^[70-72]; b. 内质网中形成自体吞噬泡, 发生内质网自噬^[73-78]. 其中, 内质网自噬作为选择性自噬研究的新领域, 主要功能为改善细胞内环境, 提高细胞保护作用^[79]. 内质网自噬与细胞中其他类型的选择性自噬及细胞凋亡之

间关系密切, 在多种疾病如糖尿病、神经退行性疾病以及肾脏疾病等发生发展中有重要作用, 已逐步成为疾病防治的新靶标^[80-81]. 研究表明纳米材料诱导的内质网结构与功能变化在细胞自噬中具有重要作用 (图 3).

从酵母细胞到哺乳动物细胞, 自噬与 ER stress 之间的相互调控都是高度保守的过程^[82]. 研究表明 TiO_2 -NPs 能够激活人支气管上皮细胞内质网应激相关蛋白 BIP, 诱导 IRE1 α 磷酸化并上调 CHOP 水平, 进而激活 ER stress 信号通路, 并且诱导线粒体-内质网结构偶联膜 (mitochondria-associated endoplasmic reticulum membranes, MAM) 破裂, 表现为相关蛋白质 GRP75 和 VDAC 的下调, 从而影响 IP_3R 介导的 Ca^{2+} 释放, 导致线粒体 Ca^{2+} 含量降低而胞质中 Ca^{2+} 含量上升, 诱发线粒体功能紊乱, 引发细胞自噬相关蛋白 LC3、p62 和 Beclin1 上调, 最终导致自噬发生^[83]. Yu 等^[65] 通过气体暴露的方式进行体内研究, 发现 TiO_2 -NPs 能够进入小鼠肺部细胞, 激活 ER stress, 通过诱导 GRP78、IRE1 α 和 CHOP 蛋白质表达水平上调, 剂量依赖性引发细胞自噬相关蛋白 LC3、p62 和 Beclin1 表达上调, 诱发细胞自噬. 研究发现 P-SWCNT 能够诱导 RAW264.7 细胞内质网出现肿胀, 上调 ER stress 相关蛋白 p-IRE1 α 和 CHOP 表达水平, P-SWCNT 还可诱导线粒体功能紊乱, ER stress 和线粒体紊乱共

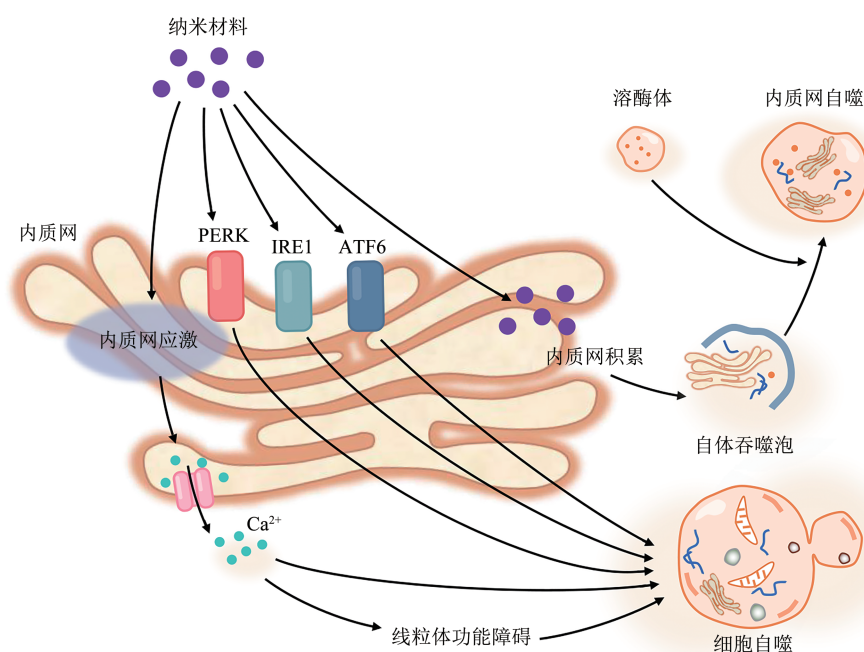


Fig. 3 Roles of ER in autophagy induced by NPs [43, 65, 83-86]

图3 内质网在纳米材料诱导的自噬中的作用 [43, 65, 83-86]

同导致细胞自噬的发生, 表现为 ATG5、Beclin 1、LAMP-2、p62 和 LC3B 蛋白质表达水平上升并伴随溶酶体的活化^[43].

Au-NPs 可诱导永生化小鼠成纤维细胞 ER 出现肿胀并释放游离的核糖体, 激活的 ER stress 通过诱导细胞自噬以帮助细胞恢复稳态, 当细胞损伤严重时便会导致细胞死亡^[84]. Fe_3O_4 -NPs 广泛应用于药物载体和核磁共振成像中, 体内与体外研究表明 Fe_3O_4 -NPs 均能够诱导细胞 LC3-阳性自噬体的累积, 深入探究发现 Fe_3O_4 -NPs 通过诱导 MCF-7 细胞和小鼠肾脏以及脾组织产生 ER stress 激活相关蛋白 PERK 和 ATF6, 进而诱导细胞自噬发生, 此外, ER-Golgi 应激亦可诱导细胞自噬发生^[85].

对于 SiO_2 -NPs 的研究发现, 人结肠癌细胞 (HCT-116) 长时间暴露于 SiO_2 -NPs 后, 能在内质网中观察到 SiO_2 -NPs 的聚集, 引发内质网自噬, 且无论低剂量 (10 mg/L) 还是高剂量 (200 mg/L), SiO_2 -NPs 不仅能够诱导细胞内自噬相关蛋白从 LC3-I 向 LC3-II 转变, 还能激活 p62 来结合泛素化蛋白和 LC3-II 形成结合体, 介导累积的、错误折叠的蛋白质和功能紊乱的细胞器靶向进入自体吞噬泡 (autophagosomes, APs), 最终诱导内质网自噬的发生^[86].

5 总结与展望

近年来, 国内外围绕内质网在纳米材料诱导的毒性效应中的作用展开了一系列研究工作, 特别是针对 Ag-NPs、 TiO_2 -NPs、ZnO-NPs、Au-NPs、 SiO_2 -NPs 以及典型碳纳米材料的研究. 现有研究结果显示, 内质网参与纳米颗粒诱导的细胞凋亡、细胞自噬以及炎症反应 (表1). 其中, 内质网在纳米材料诱导的细胞凋亡中的作用主要包括: a. 激活 ER stress 相关 PERK-eIF2 α -ATF4-CHOP 信号通路和 ATF6-CHOP 信号通路, 上调促凋亡蛋白 Bax 以及下调 Bcl-2 家族抗凋亡蛋白, 进而激活细胞凋亡的发生; b. 通过激活应激相关蛋白 IRE1 来激活 ASK-1 和 JNK 信号通路, 进而下调 Bcl-2 家族抗凋亡蛋白并上调促凋亡蛋白 Bax, 最终诱导细胞凋亡; c. 通过诱导 ER stress 激活 Caspase-12 进而激活 Caspase-3 和 Caspase-9, 最终激活 Caspase 凋亡级联通路; d. 纳米材料结合膜蛋白受体 GPCR/EGFR, 激活下游 PLC-IP₃ 通路并促进 ER 释放 Ca^{2+} , 进而活化 Ca^{2+} 调节的凋亡信号通路; e. 纳米材料在内质网中聚集, 诱导内质网结构与功能损伤进而诱导细胞

凋亡. 内质网在纳米材料诱导的炎症反应中的作用主要包括: a. ER stress 相关蛋白 ATF6 作为激活炎症体的分子开关, 激活 ATF6-NF- κ B 信号通路, 促进炎症因子 TNF- α 和 IL-1 β 的分泌, 诱导炎症反应的发生; b. 激活 ATF6, 导致炎症体 NLRP-3 的活化, 最终诱导细胞炎症性坏死 (细胞焦亡). 内质网在纳米材料诱导的细胞自噬中的作用主要包括: a. 通过引发 ER stress 调控 Ca^{2+} 稳态, 诱导 Ca^{2+} 释放进入胞质或线粒体中, 进而诱导细胞自噬; b. 通过激活 UPR 中的 PERK、IRE1、ATF6 诱发细胞自噬; c. 纳米材料直接在 ER 中聚集引发选择性内质网自噬. 此外, 研究表明内质网应激还可下调 DNA 修复通路 HR 和 NHEJ 的关键蛋白 Rad51 和 Ku70 表达, 从而抑制 DNA 双链断裂的损伤修复.

不同纳米材料诱导的毒性效应与材料的尺寸、形状、组成、电荷、晶体结构、团聚与分散性、溶解性等物化性质密切相关. 内质网在介导不同纳米材料毒性效应形成中的作用存在一些异同点: a. 金属纳米材料 (如 PVP-Ag-NPs 和 Au-NPs) 和碳纳米材料 (GO 和经修饰的富勒烯 Texas Red- C_{70}) 均可在内质网中聚集, 导致内质网功能障碍从而产生毒性效应; b. 小粒径的纳米材料对内质网的影响更为显著, 如相比于 90 nm ZnO-NPs, 30 nm ZnO-NPs 可诱导更为显著的 ER stress; c. 部分金属与金属氧化物纳米材料可通过颗粒及其释放的金属离子损伤内质网, 进而诱发性毒性效应, 如 Ag-NPs 和 ZnO-NPs; d. 金属与金属氧化物纳米材料多通过诱导 ER stress 产生毒性效应, 而碳纳米材料不仅可通过诱导 ER stress 产生毒性效应, 还与内质网 Ca^{2+} 释放引发的细胞凋亡密切相关; e. 金属与金属氧化物纳米材料可诱导细胞凋亡、细胞自噬以及炎症反应 (包括细胞焦亡), 而碳纳米材料除诱导细胞毒性效应外, 还具有抗炎症效应, 如 Texas Red- C_{70} .

然而, 内质网在纳米材料毒性效应中的作用机制研究尚处于起步阶段, 诸多科学问题亟待解决, 包括: a. 不同纳米材料入胞后, 对于内质网的靶向性是否存在差异, 以及生物体对于不同纳米材料的代谢或改变而产生的作用并不明确; b. 鲜有研究聚焦于纳米材料对内质网与其他细胞器 (如线粒体、溶酶体、高尔基体) 相互作用的影响; c. 关于内质网在纳米材料诱导毒性效应如凋亡、自噬以及炎症反应的具体机制尚不完全清晰, 且由内质网介导的细胞凋亡、自噬以及炎症反应之间的相互关联, 仍需更加深入的研究; d. 纳米材料诱导的 ER stress 与

Table 1 The role of ER in the nano-toxicology
表1 内质网在不同纳米材料毒性效应中的作用

纳米材料		毒性效应	致毒因素	参考文献
金属与金属氧化物	Ag-NPs	聚集于内质网, 扰乱Ca ²⁺ 稳态, 诱导ER stress, 细胞凋亡, 炎症反应	Ag-NPs/Ag ⁺	[6, 19-21, 25-29, 64]
	Au-NPs	聚集于内质网, 内质网损伤, 现游离核糖体, 诱导ER stress, 细胞凋亡, 细胞自噬, 抑制DNA的损伤修复	Au-NPs	[15, 55-58, 84]
	TiO ₂ -NPs	内质网损伤, 破坏MAM结构, 扰乱Ca ²⁺ 稳态, 诱导ER stress, 细胞凋亡, 炎症反应, 细胞自噬	TiO ₂ -NPs	[5, 33-35, 65, 83]
	ZnO-NPs	内质网损伤, 扰乱Ca ²⁺ 稳态, 诱导ER stress, 细胞凋亡	ZnO-NPs/Zn ²⁺	[14, 37-42]
	Fe ₃ O ₄ -NPs	诱导ER stress, 细胞自噬	Fe ₃ O ₄ -NPs	[85]
碳纳米材料	p-SWCNTs	内质网损伤, 诱导ER stress, 细胞凋亡, 细胞自噬	SWCNTs	[43]
	MWCNTs	诱导ER stress, 炎症反应	MWCNTs	[66-67]
	Fullerence	靶向性作用于内质网, 扰乱Ca ²⁺ 稳态, 诱导ER stress, 具有抗炎症效应	Fullerence	[68-69]
	Graphene	扰乱Ca ²⁺ 稳态, 诱导细胞凋亡	Graphene	[17]
其他	GO	聚集于内质网, 扰乱Ca ²⁺ 稳态, 诱导细胞自噬, 细胞凋亡	GO	[48-49]
	SiO ₂ -NPs	聚集于内质网, 内质网功能损伤, 诱导ER stress, 细胞凋亡, 内质网自噬	SiO ₂ -NPs	[59-62, 86]

DNA 损伤修复甚至基因突变之间的关联性; e. 现有关于内质网对纳米材料毒性效应的研究仍缺乏系统、完整、可靠的评估方法, 因此仍需通过不断探索, 找到更加有效的、完整的、新颖的研究方法, 对不同生物学终点如内质网结构与功能的损伤等进行检测.

参 考 文 献

[1] Ernie H. Nanotechnology: Looking as we leap. *Environmental Health Perspectives*, 2004, **112**(13): A740

[2] Tang S, Wang M, Germ K E, *et al.* Health implications of engineered nanoparticles in infants and children. *World Journal of Pediatrics*: WJP, 2015, **11**(3): 197-206

[3] 周国强, 陈春英, 李玉锋, 等. 纳米材料生物效应研究进展. *生物化学与生物物理进展*, 2008, **35**(9): 998-1006

Zhou G Q, Chen C Y, Li Y F, *et al.* *Prog. Biochem. Biophys*, 2008, **35**(9): 998-1006

[4] Garcia-Reyero N, Kennedy A J, Escalon B L, *et al.* Differential effects and potential adverse outcomes of ionic silver and silver nanoparticles *in vivo* and *in vitro*. *Environmental Science & Technology*, 2014, **48**(8): 4546-4555

[5] Hong F, Zhao X, Chen M, *et al.* TiO₂ nanoparticles-induced apoptosis of primary cultured Sertoli cells of mice. *J Biomed Mater Res A*, 2016, **104**(1): 124-135.

[6] Zhang R, Piao M J, Kim K C, *et al.* Endoplasmic reticulum stress signaling is involved in silver nanoparticles-induced apoptosis. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 2012, **44**(1): 224-232

[7] Chavez-Valdez R, Flock D L, Martin L J, *et al.* Endoplasmic reticulum pathology and stress response in neurons precede programmed necrosis after neonatal hypoxia-ischemia. *Int J Dev Neurosci*, 2016, **48**: 58-70(DOI: 10.1016/j.ijdevneu.2015.11.007)

[8] Zhou F, Li Y H, Wang J J, *et al.* Endoplasmic reticulum stress could induce autophagy and apoptosis and enhance chemotherapy sensitivity in human esophageal cancer EC9706 cells by mediating PI3K/Akt/mTOR signaling pathway. *Tumor Biol*, 2017, **39**(6): 705748(DOI: 10.1177/1010428317705748)

[9] 王友, 朱苏红, 刘秀华. 内质网自噬的研究进展. *生理科学进展*, 2015, **46**(6): 415-419

Wang Y, Zhu S H, Liu X H. *Progress in Physiological Sciences*, 2015, **46**(6): 415-419

[10] 杨方万, 穆茂媛, 肖娟娟, 等. 内质网应激诱导细胞凋亡机制的研究进展. *医学研究杂志*, 2014, **43**(10): 176-180

Yang F W, Mu M Y, Xiao J J, *et al.* *Journal of Medical Research*, 2014, **43**(10): 176-180

[11] Xu C Y, Bailly-Maitre B, Reed J C. Endoplasmic reticulum stress: cell life and death decisions. *J Clin Invest*, 2005, **115**(10): 2656-2664

[12] Kim I, Xu W J, Reed J C. Cell death and endoplasmic reticulum stress: disease relevance and therapeutic opportunities. *Nat Rev Drug Discov*, 2008, **7**(12): 1013-1030

[13] Ron D, Walter P. Signal integration in the endoplasmic reticulum unfolded protein response. *Nat Rev Mol Cell Bio*, 2007, **8**(7): 519-529

[14] Chen R, Huo L, Shi X, *et al.* Endoplasmic reticulum stress induced by zinc oxide nanoparticles is an earlier biomarker for nanotoxicological evaluation. *ACS Nano*, 2014, **8**(3): 2562-2574

[15] Tsai Y Y, Huang Y H, Chao Y L, *et al.* Identification of the nanogold

- particle-induced endoplasmic reticulum stress by omic techniques and systems biology analysis. *ACS Nano*, 2011, **5**(12): 9354-9369
- [16] Humeau J, Bravo-San Pedro J M, Vitale I, *et al.* Calcium signaling and cell cycle: progression or death. *Cell Calcium*, 2018, **70**(SI): 3-15(DOI: 10.1016/j.ceca.2017.07.006)
- [17] Tsai S-M, Bangalore P, Chen E Y, *et al.* Graphene-induced apoptosis in lung epithelial cells through EGFR. *Journal of Nanoparticle Research*, 2017, **19**(7): 262(DOI: 10.1007/s11051-017-3957-9)
- [18] 李卉丽, 刘爽, 韩济生, 等. 内质网在细胞凋亡中的作用. *中华医学杂志*, 2005, **85**(36): 2584-2586
- Li H L, Liu S, Han J S, *et al.* *National Medical Journal of China*, 2005, **85**(36): 2584-2586
- [19] Ansari M A, Shukla A K, Oves M, *et al.* Electron microscopic ultrastructural study on the toxicological effects of AgNPs on the liver, kidney and spleen tissues of albino mice. *Environ Toxicol Pharmacol*, 2016, **44**: 30-43(DOI: 10.1016/j.etap.2016.04.007)
- [20] Almansour M, Sajti L, Melhim W, *et al.* Ultrastructural hepatocytic alterations induced by silver nanoparticle toxicity. *Ultrastruct Pathol*, 2016, **40**(2): 92-100
- [21] Huo L, Chen R, Zhao L, *et al.* Silver nanoparticles activate endoplasmic reticulum stress signaling pathway in cell and mouse models: the role in toxicity evaluation. *Biomaterials*, 2015, **61**: 307-315(DOI: 10.1016/j.biomaterials.2015.05.029)
- [22] Mitrano D M, Rimmele E, Wichser A, *et al.* Presence of nanoparticles in wash water from conventional silver and nano-silver textiles. *ACS Nano*, 2014, **8**(7): 7208-7219
- [23] Chichova M, Shkodrova M, Vasileva P, *et al.* Influence of silver nanoparticles on the activity of rat liver mitochondrial ATPase. *Journal of Nanoparticle Research*, 2014, **16**(2): 2243
- [24] Cote-Maurais G, Bernier J. Silver and fullerene nanoparticles' effect on interleukin-2-dependent proliferation of CD4 (+) T cells. *Toxicology In Vitro*, 2014, **28**(8): 1474-1481
- [25] Simard J C, Durocher I, Girard D. Silver nanoparticles induce irremediable endoplasmic reticulum stress leading to unfolded protein response dependent apoptosis in breast cancer cells. *Apoptosis*, 2016, **21**(11): 1279-1290
- [26] Gao J J, Mahapatra C T, Mapes C D, *et al.* Vascular toxicity of silver nanoparticles to developing zebrafish (*Danio rerio*). *Nanotoxicology*, 2016, **10**(9): 1363-1372
- [27] Christen V, Capelle M, Fent K. Silver nanoparticles induce endoplasmic reticulum stress response in zebrafish. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2013, **272**(2): 519-528
- [28] Chen R, Zhao L, Bai R, *et al.* Silver nanoparticles induced oxidative and endoplasmic reticulum stresses in mouse tissues: implications for the development of acute toxicity after intravenous administration. *Toxicology Research*, 2016, **5**(2): 602-608
- [29] Srivastava M, Singh S, Self W T. Exposure to silver nanoparticles inhibits selenoprotein synthesis and the activity of thioredoxin reductase. *Environmental Health Perspectives*, 2012, **120**(1): 56-61
- [30] Simon M, Saez G, Muggioli G, *et al.* *In situ* quantification of diverse titanium dioxide nanoparticles unveils selective endoplasmic reticulum stress-dependent toxicity. *Nanotoxicology*, 2017, **11**(1): 134-145
- [31] Hu R P, Gong X L, Duan Y M, *et al.* Neurotoxicological effects and the impairment of spatial recognition memory in mice caused by exposure to TiO₂ nanoparticles. *Biomaterials*, 2010, **31**(31): 8043-8050
- [32] Iavicoli I, Leso V, Fontana L, *et al.* Toxicological effects of titanium dioxide nanoparticles: a review of *in vitro* mammalian studies. *Eur Rev Med Pharmacol*, 2011, **15**(5): 481-508
- [33] Wang J, Gao Y, Hou Y, *et al.* Evaluation on cartilage morphology after intra-articular injection of titanium dioxide nanoparticles in rats. *J Nanomater*, 2012(DOI: 10.1155/2012/452767)
- [34] Chen E Y, Garnica M, Wang Y C, *et al.* A mixture of anatase and rutile TiO₂ nanoparticles induces histamine secretion in mast cells. *Part Fibre Toxicol*, 2012, **9**: 2(DOI: 10.1186/1743-8977-9-2)
- [35] Sheng L, Ze Y, Wang L, *et al.* Mechanisms of TiO₂ nanoparticle-induced neuronal apoptosis in rat primary cultured hippocampal neurons. *J Biomed Mater Res A*, 2015, **103**(3): 1141-1149
- [36] Keller A A, Lazareva A. Predicted releases of engineered nanomaterials: from global to regional to local. *Environ Sci Technol*, 2014, **1**(1): 65-70
- [37] Almansour M, Sajti L, Melhim W, *et al.* Ultrastructural hepatic alterations induced by 35 nm zinc oxide nanoparticles. *Nanosci Nanotech Let*, 2015, **7**(9): 763-769
- [38] Wang H J, Growcock A C, Tang T H, *et al.* Zinc oxide nanoparticle disruption of store-operated calcium entry in a muscarinic receptor signaling pathway. *Toxicology In Vitro*, 2010, **24**(7): 1953-1961
- [39] Guo D, Bi H, Liu B, *et al.* Reactive oxygen species-induced cytotoxic effects of zinc oxide nanoparticles in rat retinal ganglion cells. *Toxicology In Vitro*, 2013, **27**(2): 731-738
- [40] Ng C T, Yong L Q, Hande M P, *et al.* Zinc oxide nanoparticles exhibit cytotoxicity and genotoxicity through oxidative stress responses in human lung fibroblasts and *Drosophila melanogaster*. *International Journal of Nanomedicine*, 2017, **12**: 1621-1637 (DOI: 10.2147/IJN.S124403)
- [41] Yang X, Shao H, Liu W, *et al.* Endoplasmic reticulum stress and oxidative stress are involved in ZnO nanoparticle-induced hepatotoxicity. *Toxicology Letters*, 2015, **234**(1): 40-49
- [42] Kuang H, Yang P, Yang L, *et al.* Size dependent effect of ZnO nanoparticles on endoplasmic reticulum stress signaling pathway in murine liver. *Journal of Hazardous Materials*, 2016, **317**: 119-126(DOI: 10.1016/j.jhazmat.2016.05.063)
- [43] Park E J, Zahari N E, Kang M S, *et al.* Toxic response of HIPCO single-walled carbon nanotubes in mice and RAW264.7 macrophage cells. *Toxicology Letters*, 2014, **229**(1): 167-177
- [44] Arlt M, Haase D, Hampel S, *et al.* Delivery of carboplatin by carbon-based nanocontainers mediates increased cancer cell death. *Nanotechnology*, 2010, **21**(33): 335101
- [45] Saito N, Usui Y, Aoki K, *et al.* Carbon nanotubes: biomaterial applications. *Chem Soc Rev*, 2009, **38**(7): 1897-1903

- [46] Geim A K. Science, graphene: status and prospects. *Science*, 2009, **324**(5934): 1530-1534
- [47] Zhang L, Xia J, Zhao Q, *et al.* Functional graphene oxide as a nanocarrier for controlled loading and targeted delivery of mixed anticancer drugs. *Small*, 2010, **6**(4): 537-544
- [48] Li Y P, Wu Q L, Zhao Y L, *et al.* Response of microRNAs to *in vitro* treatment with graphene oxide. *ACS Nano*, 2014, **8**(3): 2100-2110
- [49] Lim M H, Jeung I C, Jeong J, *et al.* Graphene oxide induces apoptotic cell death in endothelial cells by activating autophagy via calcium-dependent phosphorylation of c-Jun N-terminal kinases. *Acta Biomater*, 2016, **46**: 191-203(DOI: 10.1016 / j. actbio.2016.09.018)
- [50] Loo C, Lin A, Hirsch L, *et al.* Nanoshell-enabled photonics-based imaging and therapy of cancer. *Technol Cancer Res T*, 2004, **3**(1): 33-40
- [51] Sasidharan A, Monteiro-Riviere N A. Biomedical applications of gold nanomaterials: opportunities and challenges. *Wires Nanomed Nanobi*, 2015, **7**(6): 779-796
- [52] Xia X H, Xia Y N. Gold nanocages as multifunctional materials for nanomedicine. *Front Phys-Beijing*, 2014, **9**(3): 378-384
- [53] Chandran P, Riviere J E, Monteiro-Riviere N A. Surface chemistry of gold nanoparticles determines the biocorona composition impacting cellular uptake, toxicity and gene expression profiles in human endothelial cells. *Nanotoxicology*, 2017, **11**(4): 507-519
- [54] Dreaden E C, Austin L A, Mackey M A, *et al.* Size matters: gold nanoparticles in targeted cancer drug delivery. *Therapeutic Delivery*, 2012, **3**(4): 457-478
- [55] Saw W S, Ujihara M, Chong W Y, *et al.* Size-dependent effect of cystine / citric acid-capped confetto-like gold nanoparticles on cellular uptake and photothermal cancer therapy. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2018, **161**: 365-374(DOI: 10.1016 / j. colsurfb.2017.10.064)
- [56] Gunduz N, Ceylan H, Guler M O, *et al.* Intracellular accumulation of gold nanoparticles leads to inhibition of macropinocytosis to reduce the endoplasmic reticulum stress. *Scientific Reports*, 2017, **7**: 40493(DOI: 10.1038/srep40493)
- [57] Noel C, Simard J C, Girard D. Gold nanoparticles induce apoptosis, endoplasmic reticulum stress events and cleavage of cytoskeletal proteins in human neutrophils. *Toxicology In Vitro*, 2016, **31**: 12-22(DOI: 10.1016/j.tiv.2015.11.003)
- [58] Yasui H, Takeuchi R, Nagane M, *et al.* Radiosensitization of tumor cells through endoplasmic reticulum stress induced by PEGylated nanogel containing gold nanoparticles. *Cancer Letters*, 2014, **347**(1): 151-158
- [59] Zielinski J, Moller A M, Frenz M, *et al.* Evaluation of endocytosis of silica particles used in biodegradable implants in the brain. *Nanomedicine*, 2016, **12**(6): 1603-1613
- [60] Ducray A D, Stojiljkovic A, Moller A, *et al.* Uptake of silica nanoparticles in the brain and effects on neuronal differentiation using different *in vitro* models. *Nanomedicine*, 2017, **13**(3): 1195-1204
- [61] Christen V, Fent K. Silica nanoparticles and silver-doped silica nanoparticles induce endoplasmic reticulum stress response and alter cytochrome P4501A activity. *Chemosphere*, 2012, **87**(4): 423-434
- [62] Kasper J, Hermanns M I, Bantz C, *et al.* Inflammatory and cytotoxic responses of an alveolar-capillary coculture model to silica nanoparticles: comparison with conventional monocultures. *Part Fibre Toxicol*, 2011, **8**: 6(DOI: 10.1186/1743-8977-8-6)
- [63] Ozcan L, Tabas I. Role of endoplasmic reticulum stress in metabolic disease and other disorders. *Annu Rev Med*, 2012, **63**: 317-328(DOI: 10.1146/annurev-med-043010-144749)
- [64] Simard J C, Vallieres F, De Liz R, *et al.* Silver nanoparticles induce degradation of the endoplasmic reticulum stress sensor activating transcription factor-6 leading to activation of the NLRP-3 inflammasome. *Journal of Biological Chemistry*, 2015, **290**(9): 5926-5939
- [65] Yu K N, Sung J H, Lee S, *et al.* Inhalation of titanium dioxide induces endoplasmic reticulum stress-mediated autophagy and inflammation in mice. *Food and Chemical Toxicology*, 2015, **85**: 106-113(DOI: 10.1016/j.fct.2015.08.001)
- [66] Eom H J, Roca C P, Roh J Y, *et al.* A systems toxicology approach on the mechanism of uptake and toxicity of MWCNT in *Caenorhabditis elegans*. *Chem-Biol Interact*, 2015, **239**: 153-163 (DOI: 10.1016/j.cbi.2015.06.031)
- [67] Long J, Xiao Y, Liu L, *et al.* The adverse vascular effects of multi-walled carbon nanotubes (MWCNTs) to human vein endothelial cells (HUVECs) *in vitro*: role of length of MWCNTs. *J Nanobiotechnology*, 2017, **15**(1): 80(DOI: 10.1186/s12951-017-0318-x)
- [68] Minchenko D O, Prylutska S V, Moenner M, *et al.* Effect of C60Fullerene on the expression of ERN1 signaling related genes in human astrocytes. *Materialwissenschaft und Werkstofftechnik*, 2013, **44**(2-3): 150-155
- [69] Dellinger A, Zhou Z, Norton S K, *et al.* Uptake and distribution of fullerenes in human mast cells. *Nanomedicine*, 2010, **6**(4): 575-582
- [70] Bernales S, McDonald K L, Walter P. Autophagy counterbalances endoplasmic reticulum expansion during the unfolded protein response. *Plos Biol*, 2006, **4**(12): 2311-2324
- [71] Ogata M, Hino S I, Saito A, *et al.* Autophagy is activated for cell survival after endoplasmic reticulum stress. *Mol Cell Biol*, 2006, **26**(24): 9220-9231
- [72] Yorimitsu T, Nair U, Yang Z F, *et al.* Endoplasmic reticulum stress triggers autophagy. *Journal of Biological Chemistry*, 2006, **281**(40): 30299-30304
- [73] Axe E L, Walker S A, Manifava M, *et al.* Autophagosome formation from membrane compartments enriched in phosphatidylinositol 3-phosphate and dynamically connected to the endoplasmic reticulum. *J Cell Biol*, 2008, **182**(4): 685-701
- [74] Hayashi-Nishino M, Fujita N, Noda T, *et al.* A subdomain of the endoplasmic reticulum forms a cradle for autophagosome formation. *Nature Cell Biology*, 2009, **11**(12): 1433-U102
- [75] Yla-Anttila P, Vihinen H, Jokita E, *et al.* 3D tomography reveals

- connections between the phagophore and endoplasmic reticulum. *Autophagy*, 2009, **5**(8): 1180-1185
- [76] Matsunaga K, Morita E, Saitoh T, *et al.* Autophagy requires endoplasmic reticulum targeting of the PI3-kinase complex *via* Atg14L. *J Cell Biol*, 2010, **190**(4): 511-521
- [77] Suzuki K, Akioka M, Kondo-Kakuta C, *et al.* Fine mapping of autophagy-related proteins during autophagosome formation in *Saccharomyces cerevisiae*. *J Cell Sci*, 2013, **126**(11): 2534-2544
- [78] Graef M, Friedman J R, Graham C, *et al.* ER exit sites are physical and functional core autophagosome biogenesis components. *Mol Biol Cell*, 2013, **24**(18): 2918-2931
- [79] 李赫宁, 李兰芳, 陈临溪. 内质网自噬--疾病防治的新靶标. *中国药理学通报*, 2015, **3**(3): 302-308
- Li H N, Li L F, Chen L X. *Chinese Pharmacological Bulletin*, 2015, **3**(3): 302-308
- [80] Ghavami S, Shojaei S, Yeganeh B, *et al.* Autophagy and apoptosis dysfunction in neurodegenerative disorders. *Prog Neurobiol*, 2014, **112**: 24-49(DOI: 10.1016/j.pneurobio.2013.10.004)
- [81] Drozdova T, Papillon J, Cybulsky A V. Nephron missense mutations: induction of endoplasmic reticulum stress and cell surface rescue by reduction in chaperone interactions. *Physiological Reports*, 2013, **1**(4): e00086
- [82] 季宇彬, 张璐, 国松, 等. 内质网应激反应与细胞自噬相互作用机制研究进展. *食品与药品*, 2016, **18**(6): 443-447
- Ji Y B, Zhong L, Guo S, *et al.* *Food and Drug*, 2016, **18**(6): 443-447
- [83] Yu K N, Chang S H, Park S J, *et al.* Titanium dioxide nanoparticles induce endoplasmic reticulum stress-mediated autophagic cell death *via* mitochondria-associated endoplasmic reticulum membrane disruption in normal lung cells. *Plos One*, 2015, **10**(6): e0131208
- [84] Gioria S, Chassaigne H, Carpi D, *et al.* A proteomic approach to investigate AuNPs effects in Balb/3T3 cells. *Toxicology Letters*, 2014, **228**(2): 111-126
- [85] Zhang X D, Zhang H Q, Liang X, *et al.* Iron oxide nanoparticles induce autophagosome accumulation through multiple mechanisms: lysosome impairment, mitochondrial damage, and ER Stress. *Mol Pharmaceut*, 2016, **13**(7): 2578-2587
- [86] Wei F, Wang Y, Luo Z, *et al.* New findings of silica nanoparticles induced ER autophagy in human colon cancer cell. *Scientific Reports*, 2017, **7**: 42591(DOI: 10.1038/srep42591)

The Role of Endoplasmic Reticulum in Introducing Nano-toxicology and The Mechanism Involved*

WANG Juan^{1,2)}, XU Wen-Juan³⁾, WANG Xin-Wen³⁾, WANG Jing-Jing^{1,2)},
WANG Mei-Mei^{3)**}, XU An^{1,4)**}

¹⁾Key Laboratory of High Magnetic Field and Ion Beam Physical Biology, Chinese Academy of Sciences; Key Laboratory of Environmental Toxicology and Pollution Control Technology of Anhui Province, Institute of Technical Biology and Agriculture Engineering, Hefei Institutes of Physical Science, Chinese Academy of Sciences, Hefei 230031, China;

²⁾University of Science and Technology of China, Hefei 230026, China;

³⁾Department of Pathophysiology, Anhui Medical University, Hefei 230032, China;

⁴⁾Institutes of Physical Science and Information Technology, Anhui University, Hefei 230601, China)

Abstract With the wide application of nanomaterials in many fields such as food, drug and biomedicine, their negative impacts on the health of human beings in the process of production and uses have attracted much attention. Endoplasmic reticulum (ER), an important organelle and functions in folding and assembling of cellular proteins, synthesis of lipids, and storage of free calcium, is sensitive to stress. ER as one of the most sensitive targets of nanomaterials plays important roles in the toxicity of nanomaterials. This review summarizes the recent studies on the role of ER in the nanotoxicology of several typical nanomaterials, including silver nanoparticles (Ag-NPs), titanium dioxide nanoparticles (TiO₂-NPs), zinc oxide nanoparticles (ZnO-NPs), gold nanoparticles (Au-NPs), silica nanoparticles (SiO₂-NPs), fullerene, single/multi-walled carbon nanotubes (SWCNTs/MWCNTs) and graphene/graphene oxide (GO), and analyzes the difference. The nanomaterials can cause ER stress, and in turn induce apoptosis, inflammation and autophagy. They can also activate the release of Ca²⁺ from the ER Ca²⁺ stores through IP₃ pathway and further trigger calcium-regulated apoptotic cell death. Nanomaterials tend to accumulate in ER causing damage of ER and inducing ER autophagy.

Key words endoplasmic reticulum, nanomaterials, apoptosis, inflammation, autophagy, toxicity

DOI: 10.16476/j.pibb.2018.0052

* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (21677147, 21507002, 21607157, 21507136), China Postdoctoral Science Foundation (2016M600477), Anhui Province Postdoctoral Science Foundation (2017B161), National Training Program of Innovation for Undergraduates (201710366002) and CAS Training Program of Innovation for Undergraduates and Scientific Research of BSKY (XJ201506) from Anhui Medical University.

** Corresponding author.

WANG Mei-mei. Tel: 0551-65595362, E-mail: wangmm@ustc.edu.cn

XU An. Tel: 0551-65593336, E-mail: anxu@ipp.ac.cn

Received: April 25, 2018 Accepted: November 5, 2018