

# 纳米材料体外细胞毒性研究现状与展望

汪保林<sup>1</sup> 邱 慧<sup>2</sup>

(1 南昌市食品药品检验所,南昌,330038; 2 南昌市洪都中医院制剂中心,南昌,330000)

**摘要** 纳米科学是上个世纪80年代末发展起来的新兴学科,是21世纪最有前途的新科学技术之一。随着纳米材料应用的日益广泛,其所带来的健康风险也越来越大,对其生物安全性的研究也刻不容缓。文章就纳米材料的毒性影响因素,对细胞造成的毒性效应机制及其体外细胞毒性的评价方法进行详细阐述,并综述了近几年来关于纳米材料毒性研究的最新进展及对纳米技术安全性评估进行了系统的讨论。

**关键词** 纳米材料;细胞毒性;影响因素;评价方法

## Research Situation and Prospects on in-Vitro Cytotoxicity of Nanomaterials

Wang Baolin<sup>1</sup>, Qiu Hui<sup>2</sup>

(1 Nanchang Institute for Food and Drug Control, Nanchang 330038, China; 2 Center for Preparation of Nanchang Hongdu Hospital of TCM, Nanchang 330000, China)

**Abstract** Nanoscience emerged in the last 1980s and is developed as one of the most promising new science and technology in the 21st century. With the increasing widespread application of nanomaterials, their health risk has been greatly increased and researches on its biological safety are imperatively needed. In this paper, the toxic influential factors, the cytotoxicity mechanism of nanomaterials and the evaluation methods on cytotoxicity of nanomaterials in vitro were elucidated in detail. Simultaneously, the latest developments on the toxicity of nanomaterials and the security assessment of nano technologies were also systematically discussed.

**Key Words** Nanomaterials; Cytotoxicity; Influential factors; Evaluative methods

中图分类号:R-331;R319 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2017.02.052

从“纳米牙膏”到“纳米防晒霜”,全球目前已有300多种运用纳米技术上市的产品。纳米技术开始走进人们的生活圈,它们在环境和人群中的暴露率大大增加。目前对纳米材料可能的、潜在的安全性问题报道甚少。因此,对纳米颗粒生态安全性的评估也刻不容缓。虽然纳米材料的应用在一般情况下都不会造成严重的直接暴露,但纳米材料一旦进入机体就会在体内蓄积,最终导致严重的生物毒性。大量研究表明:正常无害的大分子物质一旦做成纳米级可能会具有潜在毒性。与此同时,工程化纳米材料在医学诊断和治疗上的有效利用,造成机体对纳米颗粒的细胞摄取,循环系统和神经系统的转运与分布的特殊动力学行为,也成为了纳米材料致生物毒性的主要原因<sup>[1]</sup>。综上所述,只有全面了解纳米材料的毒性行为,才能更好地应用纳米材料并发展纳米技术。

## 1 纳米材料的毒性影响因素

纳米材料的毒性取决于多种因素,除了与材料

的纯度,尺寸大小,化学结构,团聚状态,剂量大小及所带电荷相关外,还与暴露时间,暴露途径以及纳米材料的表面修饰、表面活性密切相关<sup>[2]</sup>。不同纳米材料的毒性效应存在差异,一般情况下,纳米颗粒粒径越小,其潜在毒性越大<sup>[3]</sup>。而这种差异与颗粒本身的其他特殊性质如表面特征,聚合状态以及化学组成等有密切关系<sup>[4]</sup>。

在体外毒性实验中,纳米颗粒会被分散于细胞培养基中,此时,颗粒处于水溶液环境,包括粒径等其他特征会发生相应变化,而这些变化很可能会影响到颗粒与生物体的作用方式及强度大小。动物实验发现:经体外灌注产生的纳米毒性效应与颗粒的粒径和表面积息息相关,即随着纳米颗粒减小,其表面积会增大,随后会产生更强的炎症反应<sup>[1]</sup>。与此同时,剂量大小也是影响纳米颗粒细胞毒性的关键因素。在0~15 ppm的研究范围内,纳米SiO<sub>2</sub>对鼠胚胎成纤维细胞和人体皮瘤细胞无明显毒性作用,但当纳米SiO<sub>2</sub>颗粒剂量高于138 μg/mL时,会

基金项目:江西省食品药品监督管理局科技计划(编号:2015yp14)

作者简介:汪保林(1985.10—),男,硕士研究生,药师,研究方向:天然药物化学,E-mail:rlxlei1021@163.com

通信作者:邱慧(1989.08—),女,硕士研究生,药师,研究方向:细胞毒理学与代谢组学,E-mail:412672105@qq.com

导致细胞膜的严重损伤<sup>[5]</sup>。多数纳米金属及其金属氧化物颗粒在水溶液中易发生团聚效应,团聚后的颗粒其粒径大小决定了颗粒是通过细胞内吞作用,ROS 诱导的吞噬作用还是其他机制进入细胞内部<sup>[6]</sup>。暴露途径决定了生物屏障和纳米材料间的作用关系。就目前的研究来看,肺部是纳米颗粒主要的摄入器官,呼吸途径毒性是明确的,纳米材料可引起机体呼吸系统的炎性反应,但口服、皮肤接触,正常机体非疾病状态时,纳米材料其实无法突破生物屏障。据报道,细胞膜表面带负电荷,因此细胞易与表面带正电荷的颗粒、离子以及小分子物质发生相互作用,从而进入细胞内部<sup>[7]</sup>,在细胞内蓄积并产生严重的生物毒性。Richards, D 等研究表明,无机材料包覆的纳米颗粒的表面电荷及表面疏水性是细胞毒性的可控因素,表面带正电荷的纳米材料相对其他带负电荷或中性的纳米材料而言具有更强的毒性效应,且纳米颗粒的细胞毒性效应也会随着表面疏水性的增强而增强<sup>[8]</sup>。目前,对于多数纳米材料的毒性评价都只停留在简单的表面毒性方面,对于其毒性机制的研究尚不深入,急需广泛关注。

## 2 纳米颗粒细胞毒性发生机制

研究细胞毒性效应产生主要包括以下 3 个方面:线粒体活性的抑制,细胞膜完整性、通透性的改变,其次是氧化应激诱导细胞凋亡或坏死。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性反应及毒性反应。Lai 等将纳米颗粒与细胞相互作用后诱导产生细胞毒性及其他反应机制归纳为如下几点<sup>[9]</sup>:1)与细胞膜发生相互作用,引起离子转运及信号转导的不稳定性甚至导致细胞死亡;2)与线粒体发生相互作用,改变新城代谢途径或者干预抗氧化防护体系和 ROS 的产生;3)与 DNA 发生作用,破坏 DNA 片段结构,抑制细胞周期的分裂和蛋白质的合成;4)与细胞骨架发生相互作用,阻碍囊泡的运转,产生机械性损伤并导致细胞死亡;5)与磷脂、蛋白质或者其他生物大分子作用,造成不同程度的细胞损伤。

线粒体是对各种细胞损伤最为敏感的细胞器之一,在细胞损伤时最常见的病理改变主要包括线粒体大小,数量以及结构的改变,凋亡或受损的线粒体最终可由细胞的自噬过程加以处理并被溶酶体降解消化。Chou cc<sup>[21]</sup>等指出,小鼠经灌注 SWCNT 后,肺组织病理切片中发现肺巨噬细胞可经内吞作用摄入 SWCNT,并随着时间和剂量的增加肺巨噬细胞内沉积的 SWCNT 颗粒越多,甚至能产生肉芽肿病变。

上述研究充分证明了碳纳米管确实可以与细胞膜表面发生相互作用,并在细胞内沉积,继而产生细胞毒性。但是,目前关于 CNT 进入细胞的途径研究尚处于探索阶段,需要进一步深入证实。

纳米颗粒诱导氧化应激的机制主要是当金属型纳米颗粒分散在适当试剂当中会催化 ROS 的生成,发生 Fenton 反应,从 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 氧化得到 OOH-和 OH-等氧化离子。此外,一些惰性纳米材料虽然不具备自发生成 ROS 的能力,但是当纳米离子能够靶向聚集在线粒体时,在一些生物条件下能够诱导 ROS 的生成。低水平的氧化应激会促使机体保护性反应的发生,而高水平的氧化应激则会导致机体的过氧化损伤<sup>[10]</sup>。细胞组织在受到自由基的氧化胁迫时,构成细胞组织的各种物质如糖类、蛋白质、脂质以及 DNA 等大分子物质会发生各种氧化反应,导致交联、变性、断裂等氧化损伤以及细胞结构和功能的破坏,产生机体组织和器官的病变,最终导致毒性反应。

Nel 等<sup>[10]</sup>也提出 ROS 的生成和机体的氧化应激反应是纳米材料诱导多种生物毒性效应的重要机制。纳米 SWCNTs, SiO<sub>2</sub>, ZnO 对小鼠胚胎成纤维的毒性研究结果表明,纳米 ZnO 的细胞毒性高于其他非金属纳米颗粒,可引起细胞内 ROS 水平的显著上升,谷胱甘肽的大量耗竭,丙二醛以及超氧化物歧化酶含量的明显降低,在此证明氧化应激可能是纳米材料细胞毒性的一个主要途径<sup>[4]</sup>。An 等<sup>[11]</sup>发现,碳纳米管可结合于 DNA 上,导致 DNA 的损伤,造成机体遗传毒性。综上可知,纳米材料会造成细胞内结构损伤,存活率下降,细胞内氧化自由基水平升高以及 DNA 断链等毒性反应,致使细胞在一定条件下发生凋亡。

## 3 体外细胞毒性实验研究现状

体外毒性检测主要包括 2 个方面:纳米颗粒在无细胞体系中的活性和纳米颗粒与细胞的相互作用。纳米颗粒在细胞体系中的活性包括蛋白质的反应,补体激活以及氧化自由基的产生等。检测纳米材料与细胞的作用首先是要区别是什么细胞毒性,而一般药物的毒性作用不是诱导细胞凋亡就是细胞坏死。

3.1 氧化应激检测方法 纳米颗粒致细胞毒性的一个重要途径就是诱导发生氧化应激。氧化应激反应主要的检测方法有:通过 DCFH-DA<sup>[12]</sup> 荧光标记法,黄嘌呤氧化酶法、二硫代二硝基苯甲酸法,罗丹明 123 荧光染色,硫代巴比妥酸法等检测细胞内

ROS 含量; Amplex Red 荧光染色可检测细胞内脂质氢过氧化物; C11-BODIPY 荧光染色, GSH 试验方法<sup>[13]</sup>等检测细胞内脂质过氧化; 免疫印迹法检测 SOD 的表达, 氯化硝基四氮唑兰 (NBT) 可检测细胞内 SOD 的活性, DTNB 可检测机体抗氧化系统的损伤。

**3.2 细胞凋亡检测方法** 细胞凋亡是指机体在一定的生理或病理条件下, 遵循一定程序自身结束生命的过程。细胞核浓缩、染色体凝聚、DNA 片段化、细胞缩小、分解, 凋亡小体的形成等是细胞凋亡的主要形态变化特征, 但对周围细胞无明显影响。可用于检测细胞凋亡的试验主要包括如下几种方法:

形态学观察: 普通光学显微镜 (Ordinary Optical Microscopy), 荧光显微镜 (Fluorescence Microscope) 和透射电子显微镜 (Transmission Electron microscopy, TEM) 可对染毒细胞的形态进行分析。凋亡细胞形态依据为: 细胞染色质浓集, 靠近核膜, 产生核边集现象; 染色质断裂、核膜裂解, 凋亡小体形成等典型的细胞凋亡形态。

DNA 损伤所引起的细胞毒性效应检测方法主要有彗星试验, TUNEL 法, 流式细胞仪法<sup>[14]</sup>等检测手段, 流式细胞术检测凋亡的常用方法包括: 1) DNA 荧光检测; 2) 抗荧光抗体染色荧光检测; 3) 末端标记法检测; 4) 线粒体膜电位检测。彗星试验是将少量分散的细胞与低熔点琼脂糖液混合后铺在预冷的琼脂板上制成的, 经细胞裂解和碱性解旋, 并在碱性环境下进行电泳; 当 DNA 存在断裂损伤时, 细胞核会形成一个类似彗星的图像, 根据彗星的头部和尾部的含量比率, 进而确定细胞 DNA 损伤的程度。TUNEL 法的原理是: 当细胞凋亡时, 染色体 DNA 会断裂并产生大量的 3-OH 粘性端, 在相关转移酶的作用下, 将脱氧核糖核苷酸与过氧化物酶或碱性磷酸酶的反应形成的生物标记到 DNA 的 3-OH 端, 并通过荧光定量分析或酶联显色技术分析细胞凋亡情况。AMES 试验及微核检测法可用于纳米材料诱导的基因遗传毒性检测<sup>[15]</sup>。FITC-Annexin V/PI 双荧光标记法<sup>[16]</sup>, DNA 阶梯法 (DNA ladder)<sup>[17]</sup>, Caspase<sup>[18]</sup>发光实验也可用于检测细胞凋亡。

**3.3 细胞坏死检测方法** 细胞坏死是在病理条件下产生的被动死亡 (凋亡是主动死亡), 如物理性或化学性的损害因子及缺氧与营养不良等均导致细胞坏死。坏死细胞的膜通透性增高, 致使细胞肿胀, 细胞器变形或肿大, 早期核无明显形态学变化, 最后细胞破裂, 细胞内含物释放到细胞外, 导致炎症反应。

细胞膜完整性是一个可以用来评价细胞活力的指标, 因此细胞坏死检测可包括 LDH 法<sup>[19]</sup>, 荧光物质检查法, 台盼兰法 (Trypan Blue)<sup>[20]</sup>, 中性红 (Neutral Red Assay)<sup>[21]</sup> 以及碘化丙啶 (PI)<sup>[22]</sup> 染色法等。乳酸脱氢酶 (LDH) 是细胞内稳定的蛋白酶, 主要存在于正常细胞的细胞质中, 当细胞受损伤或凋亡时会释放到细胞外; LDH 能催化乳酸形成丙酮酸盐, 丙酮酸盐和四氮唑盐反映形成紫色的结晶物质甲瓩, 可在 490 ~ 500 nm 出测量吸光度值, 从而判断细胞坏死程度, 此法操作简便、快捷, 是常用的纳米材料细胞毒性评价的方法。目前, 荧光物质已成为流式细胞仪或微孔板细胞检测中的理想物质, 这些荧光物质可以是细胞膜通透的或者是细胞膜非通透的, 他们或者直接结合与核酸, 或者要求主动的细胞代谢来产生可检测的荧光, 从而检测细胞活性。这类方法检测速度快, 通量大、成本低, 越来越受到科研工作者的青睐。染料排斥法是测定细胞存活率常用方法, 其原理是存活得细胞可排斥多种染料而不着色, 严重受损细胞因细胞膜通透性发生改变, 染料可以通过细胞膜而被着色, 台盼蓝 (Trypan Blue) 以及碘化丙啶 (PI) 是该法常用的染料。中性红 (Neutral Red) 是弱的阳离子染色剂, 能通过细胞扩散, 积累在细胞溶酶体里, 如果细胞膜发生改变, 中性红的摄入量就会减少及漏出, 可通过测量中性红摄入的光子谱来区分死细胞和活细胞, 判别细胞毒性。Wilhelmi 等采用 LDH 法来检测纳米颗粒对 RAW264.7 巨噬细胞产生的细胞毒性<sup>[23]</sup>, 方法简便, 结果可靠。

免疫印记法与 CDDE (Cell Death Detection ELISA) 法, 吖啶橙/溴乙非啶 (Acridine Orange/ethidium Bromide)<sup>[24]</sup> 试验及 FITC-Annexin V/PI<sup>[25]</sup> 双荧光标记也可用于细胞毒性检测, 上述方法可用于区别细胞凋亡与细胞坏死。Radziun 等<sup>[16]</sup> 采用 Annexin V-FITC/PI 双荧光标记, 流式细胞术 (Flow cytometry, FCM) 检测细胞凋亡, 流式细胞散点示意图左下角为正常细胞百分含量, 右下角为早期凋亡细胞百分含量, 左上角为晚期凋亡细胞百分含量, 以及左上角为坏死细胞百分含量。

**3.4 细胞生长抑制检测方法** 细胞生长抑制实验的方法包括 MTT, XTT, WST-1/WST-8, MTS, TTC, Alamar Blue, <sup>[3H]</sup> 胸腺嘧啶掺入法, Brude 掺入法及细胞计数法等多种细胞增殖毒性研究方法。MTT, XTT, WST-1/WST-8, MTS, TTC 等属于四氮唑盐类物质, 可以被线粒体内的琥珀酸脱氢酶还原成有色甲瓩, 然后通过酶标仪记录吸光度 OD 值, 继而检测细

胞毒性的。MTT 比色法是目前纳米材料细胞毒性分析最常用、最经典的方法, MTT 在溶液中呈浅黄色, 可以被线粒体内的琥珀酸脱氢酶还原生成难溶性的深紫色结晶甲瓚 (formazan), 并沉淀在细胞中 (死细胞无此功能), 在特定溶剂中完全溶解, 通过酶标仪在 570 nm 波长附近测定光吸收值。由于甲瓚形成量与细胞数成正比, 从而可间接反映活细胞数量。CCK-8 是一种 MTT 的衍生化合物, 可以被线粒体内的一系列氧化脱氢酶还原生成橙黄色的甲瓚晶体。细胞增殖速率越快, 甲瓚产生的越多, 颜色也会越深; 因此细胞毒性越大颜色就越浅。对于同种细胞, 溶液颜色的深浅与细胞数目呈正比。WST-8、MTS 以及 XTT 产生的甲瓚晶体都是水溶性的, 无需用加 DMSO 进一步溶解, 操作更加简便。其次, WST-8 产生甲瓚的比 XTT 和 MTS 产生的更加稳定, 测出的结果重现性更好。另外, MTT、XTT 等相比 WST-8 其线性范围更宽, 灵敏度也更高。因此, CCK-8 是检测细胞活性最有利的手段之一。

AlamarBlue 比色法: 细胞快速增殖过程中, 细胞内环境会由氧化环境转化为还原环境, 其呼吸链中的 NADPH/NADP, FADH/FAD 和 NADH/NAD 等的比值也会升高; AlamarBlue 被细胞摄取后, 在细胞质中会被以上代谢中间体还原, 而释放到细胞外; 被还原 AlamarBlue 的累积会使培养基由靛青蓝转变成粉红色, 并通过酶标仪或分光光度仪来检测培养基中 OD 值和荧光强度的变化, 继而分析细胞增殖的情况。相对 MTT、WST、CCK 等四唑盐类物质, AlamarBlue 毒性最小, 价格便宜, 且染色后细胞还可以继续培养。

细胞毒性试验的检测手段多种多样, 但是一味的选择最快、最贵的方法是不明智、不合理的。一些有关碳纳米管的毒性研究结果分歧也相当大。Worle-Knirsch<sup>[22]</sup> 等指出, 用 MTT 比色法进行细胞活性测定得出碳纳米管对 A549 细胞有明显的细胞毒效应, 而实际上, 碳纳米管可能会与 MTT 复合物反应, 继而形成复杂的结合物, 导致其不能被 DMSO 溶解, 使测定吸光度下降, 最终造成细胞活性下降的假阴性结果。然而, 使用 WST-1 方法对细胞存活力进行测定时, 发现碳纳米管并无细胞毒性。Richards<sup>[8]</sup> 等采用 MTT、中性红、IL-8 及透射显微镜等四种方法对碳纳米管进行细胞毒性检测。有趣的是, 四种方法显示出了不同结果。研究者将上述发现归结于以下两点: 首先经观察发现纳米材料能吸收 MTT 染料和中性红染料而产生假阴性与假阳性结果; 其次, 碳纳

米材料具有吸收培养基中存在的营养物质的潜能, 这些都将降低细胞生长数并且误导实验结果。因此建议采用 2 种或 2 种以上的方法, 包括 CCK-8, MST, INT, XTT, WST-1, TTC 等方法来同时测定纳米材料的细胞毒性或者至少采用一种不会产生不良反应可能性的研究手段来确证细胞毒性效应。例如用显微镜来评估细胞病理形态学, 以便能够对实验结果的可靠性进行相互佐证, 防止出现类似错误的假象。

3.5 纳米材料细胞毒性的最新检测方法 纳米微粒毒性研究的一大难题就是纳米粒的毒性可能随着其理化性质 (形状, 大小, 凝集效应, 表面修饰, 化学结构, 结晶作用) 的改变而使纳米材料变得复杂化, 多样差异化而难以评定。传统的毒性测试使用的动物模型往往是不切实际的, 因为它的时间密集, 低容量, 价格昂贵, 并且只能检测有限的效应终点。鉴于上述问题, North 等<sup>[26]</sup> 提出了中心机制型高通量检测技术 (Mechanism-centered High-throughput Testing)。该方法可很好的解决纳米材料因种类差异与数量庞大所引起的迫切问题依赖可预测性的新型毒性检测系统, 高通量筛选技术 (High-throughput Screening, HTS) 也许会成为评估纳米材料生物毒性的最有效的方法。然而就目前研究而言, 这种方法单独用于评估大批量纳米材料的毒性实验是不大可能成功的, 需要有效的体内研究相互确证<sup>[9]</sup>。一些研究者还指出<sup>[27]</sup>, HTS 将不会替代传统毒性检测方法, 但是其对纳米材料毒性深入研究的优化作用有一定的帮助。Sayes<sup>[28]</sup> 等基于对纳米材料的特殊理化参数 (尺寸大小, 表面电荷等) 与生物特性 (如 LDH 的释放) 的测量, 开发出一种数学模型以反应工程化纳米材料的特性是如何影响细胞的反应。该研究表明, 计算模型的建立对暴露于纳米材料所引起的生物效应的评估能够很好地运用于预测纳米材料毒性检测。Sadik 等人<sup>[29]</sup> 研究出了一种便携、可溶解氧的电化学传感器阵列, 该方法能够检测出工程纳米材料 (量子点和富勒烯), 且具有快速提供纳米毒性信息的能力。

#### 4 讨论

尽管目前对一些纳米材料的生物效应已经有了一些评定, 但是各种类型纳米颗粒的潜在毒性和可能的机制影响还不是十分清楚。纳米材料因其特殊的尺寸、形状、组分和表面修饰的不同, 生物多样性也明显超过常规化学物品。考虑到纳米材料的高产量和对潜在危害物筛选的急迫性, 当前, 科学界的首要任务就是在今后一两年内, 达成纳米科技对人体

及环境影响的国际公约,并建立科学、完善的检测方法。但现在关于纳米材料的毒理学研究较少,无论是体内代谢,细胞作用还是生化反应,都没有系统的理论。因此,初步建立评价纳米材料毒性与其特殊理化性质和体内物质的构效关系模型,是为全面、准确地评价纳米材料的毒性提供科学依据,为如何减弱或消除其毒性提供参考。流式细胞术是一种高通量、多参数细胞分子生物学检测技术,在毒理学研究领域已得到了广泛的应用。已有研究表明,将高通量筛选技术与基于细胞毒性机制的实验方法相结合,与相关的纳米材料毒性数据进行比较分析,可有效地建立多样化的理化参数与细胞毒性的关系模型<sup>[9]</sup>。近年来,一些研究者们也开始转变传统的研究思路,逐渐从生物系统的整体性分析入手,探索药物生物毒性的诊断理论和方法学的新途径。代谢组学作为一种全新的组学技术,始于上个世纪90年代中期,它利用高灵敏度、高分离效率的仪器,考察了生物体受遗传和外界环境刺激或干扰后其所有代谢产物的质和量的动态变化,来揭示药物对生物体的毒性实质和机制。Zomer等人也开始从代谢组学角度对多种常见的毒性物质(如:镉、D-半乳糖胺、四氯化碳、对乙酰氨基酚等)进行了系统的毒性效应评价<sup>[30]</sup>。Hadrup等人也运用代谢组学的方法来挖掘纳米银对小鼠造成的毒性作用的靶向器官、靶向位点以及作用的生物标志物和作用机制<sup>[31]</sup>。

体内、体外毒性研究面临的重大问题还是评价方法的不确定性和随意性,目前没有能直接反应纳米材料毒性的客观指标存在。从生物学体内的角度来看,最容易做,最容易把握的哺乳动物就是小鼠,但是真的上升到模式动物时,在纳米毒性靶向不确定的情况下,这种假想是不存在的。例如,果蝇是模式动物,但在遗传方面运用较多,胚胎干细胞是理想的筛选胚胎毒性的方法,但也只局限在胚胎毒性,在毒性方面只有经过大批量的筛选才能确定纳米毒性的整体水平,单单做了几种细胞,是不能说明纳米毒性有多大,什么剂量下才能很好的控制纳米毒性。虽然动物试验能持续提供有关纳米毒性的最新信息,但却有一定的局限性,还需考虑经济与伦理方面的问题。目前,已有相关技术手段用于模拟与预测纳米颗粒在活体内的表现,因此希望在将来能够开发可以替代活体试验的检测手段。

对于这些挑战,安生·曼雷德教授也表示,纳米技术充满了原始的创新性,是具有战略性、前瞻性的新兴科技,它同时也是一把“双刃剑”。虽然工程化

纳米材料可能会产生一些毒性效应,但就目前的研究结果和数据并不能充分的指出这些毒性效应将会成为主导生命健康的大问题。纳米材料具有潜在的临床价值,我们应该积极客观的看待纳米材料带给我们的影响。例如,一些纳米材料能够靶向作用于线粒体并且启动程序性的细胞死亡,这一特性能够成为一种新型的癌症化疗方法。不过要想纳米材料很好的应用于我们的生活,造福于人类,纳米材料的安全性评估是刻不容缓的。

#### 参考文献

- [1] Chen Y, Chen J, Dong J, et al. Comparing study of the effect of nanosized silicon dioxide and microsized silicon dioxide on fibrogenesis in rats[J]. *Toxicology & Industrial Health*, 2004, 20(1-5): 21-27.
- [2] Rd F C, Bandaru P R. Toxicity issues in the application of carbon nanotubes to biological systems[J]. *Nanomedicine Nanotechnology Biology & Medicine*, 2010, 6(2): 245-256.
- [3] Fiedler N, Laumbach R, Kelly K. Health Effects of a Mixture of Indoor Air Volatile Organics, Their Ozone Oxidation Products, and Stress[J]. *Environmental Health Perspectives*, 2005, 113(11): 1542-1548.
- [4] Warheit D B. How meaningful are the results of nanotoxicity studies in the absence of adequate material characterization? [J]. *Toxicological Sciences*, 2008, 101(2): 183-185.
- [5] Na L, Ma L, Wang J, et al. Interaction Between Nano-Anatase TiO<sub>2</sub> and Liver DNA from Mice In Vivo[J]. *Nanoscale Research Letters*, 2009, 5(1): 108-115.
- [6] Ludwig K, Limbach, Peter Wick, Pius Manser, et al. Exposure of Engineered Nanoparticles to Human Lung Epithelial Cells: Influence of Chemical Composition and Catalytic Activity on Oxidative Stress[J]. *Environmental Science & Technology*, 2007, 41(11): 4158-4163.
- [7] Harshfrenkel O, Rozentur E, Benita S, et al. Surface charge of nanoparticles determines their endocytic and transcytotic pathway in polarized MDCK cells[J]. *Biomacromolecules*, 2008, 9(2): 435-443.
- [8] Richards D, Ivanisevic A. ChemInform Abstract: Inorganic Material Coatings and Their Effect on Cytotoxicity[J]. *Chemical Society Reviews*, 2011, 41(6): 2052-2060.
- [9] Lai D Y. Toward toxicity testing of nanomaterials in the 21st century: a paradigm for moving forward[J]. *Wiley Interdisciplinary Reviews Nanomedicine & Nanobiotechnology*, 2012, 4(1): 1-15.
- [10] Andre Nel, Tian Xia, Lutz Mädler, et al. Tox potential of materials at the nanolevel[J]. *Science*, 2006, 311(5761): 622-627.
- [11] An H, Liu Q, Ji Q, et al. DNA binding and aggregation by carbon nanoparticles[J]. *Biochemical & Biophysical Research Communications*, 2010, 393(4): 571-576.
- [12] Magdalena S, Branimir K, Jana P, et al. Effect of poly- $\alpha$ ,  $\gamma$ , L-glutamic acid as a capping agent on morphology and oxidative stress-dependent toxicity of silver nanoparticles[J]. *International Journal of Nanomedicine*, 2010, 6(4): 1389-1396.
- [13] Nastassja L, Vicki C, Rebekah D. Cytotoxicity of nanoparticles[J]. *Small*, 2008, 4(1): 26-49.

- [14] Karlsson H L, Gustafsson J, Cronholm P, et al. Size-dependent toxicity of metal oxide particles—A comparison between nano- and micrometer size [J]. *Toxicology Letters*, 2009, 188 (2) : 112-118.
- [15] Yan L, Chen D H, Jian Y, et al. Genotoxicity of silver nanoparticles evaluated using the Ames test and in vitro, micronucleus assay [J]. *Mutation Research/genetic Toxicology & Environmental Mutagenesis*, 2011, 745 (1-2) : 4-10.
- [16] Radziun E, Dudkiewicz W J, Książek I, et al. Assessment of the cytotoxicity of aluminium oxide nanoparticles on selected mammalian cells [J]. *Toxicology in Vitro*, 2011, 25 (8) : 1694-1700.
- [17] Arora S, Jain J, Rajwade J M, et al. Cellular responses induced by silver nanoparticles: In vitro, studies [J]. *Toxicology Letters*, 2008, 179 (2) : 93-100.
- [18] Arora S, Jain J, Rajwade J M, et al. Interactions of silver nanoparticles with primary mouse fibroblasts and liver cells [J]. *Toxicology & Applied Pharmacology*, 2009, 236 (236) : 310-318.
- [19] Chen X, Jie Z, Du S, et al. Autophagy upregulation promotes macrophages to escape mesoporous silica nanoparticle (MSN)-induced NF- $\kappa$ B-dependent inflammation [J]. *Inflammation Research*, 2016, 1-17.
- [20] Soares T, Ribeiro D, Proença C, et al. Size-dependent cytotoxicity of silver nanoparticles in human neutrophils assessed by multiple analytical approaches [J]. *Life Sciences*, 2015, 145 : 247-254.
- [21] Taju G, Majeed S A, Nambi K S N, et al. In vitro assay for the toxicity of silver nanoparticles using heart and gill cell lines of *Catla catla*, and gill cell line of *Labeo rohita* [J]. *Comparative Biochemistry & Physiology Part C Toxicology & Pharmacology*, 2014, 161 (5) : 41-52.
- [22] Wörle-Knirsch, J. M, Pulskamp, K, Krug, H. F. Oops they did it again! Carbon nanotubes hoax scientists in viability assays [J]. *Nano Letters*, 2006, 6 (6) : 1261-1268.
- [23] Wilhelmi V, Fischer U, Berlo D V, et al. Evaluation of apoptosis induced by nanoparticles and fine particles in RAW 264.7 macrophages: Facts and artefacts [J]. *Toxicology in Vitro An International Journal Published in Association with Bibra*, 2012, 26 (26) : 323-34.
- [24] Gopinath P, Gogoi S K, Chattopadhyay A, et al. Implications of silver nanoparticle induced cell apoptosis for in vitro gene therapy [J]. *Nanotechnology*, 2008, 19 (7) : 075104.
- [25] Yu H Z, Li Y H, Wang R X, et al. Cytotoxicity of lidocaine to human corneal endothelial cells in vitro [J]. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 2014, 114 (4) : 352-359.
- [26] North M, Vulpe C D. Functional toxicogenomics: mechanism-centered toxicology [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2010, 11 (12) : 4796-813.
- [27] Feliu N, Fadeel B. Nanotoxicology: no small matter [J]. *Nanoscale*, 2010, 2 (12) : 2514-2520.
- [28] Sayes C, Ivanov I. Comparative study of predictive computational models for nanoparticle-induced cytotoxicity [J]. *Risk Analysis*, 2010, 30 (11) : 1723-1734.
- [29] Sadik O A, Zhou A L, Kikandi S, et al. Sensors as tools for quantitation, nanotoxicity and nanomonitoring assessment of engineered nanomaterials [J]. *Journal of Environmental Monitoring*, 2009, 11 (10) : 1782-1800.
- [30] Palmer J A, Poenitzsch A M, Smith S M, et al. Metabolic Biomarkers of Prenatal Alcohol Exposure in Human Embryonic Stem Cell-derived Neural Lineages [J]. *Alcoholism Clinical & Experimental Research*, 2012, 36 (8) : 1314-1324.
- [31] Hadrup N, Lam H R, Loeschner K, et al. Nanoparticulate silver increases uric acid and allantoin excretion in rats, as identified by metabolomics [J]. *Journal of Applied Toxicology* *Jat*, 2012, 32 (11) : 929-933.

(2016-05-31 收稿 责任编辑:白桦)

(上接第 445 页)

- [45] Benavente OR, Hart RG, McClure LA, et al. Effects of clopidogrel added to aspirin in patients with recent lacunar stroke [J]. *N Engl J Med*, 2012, 367 (9) : 817-825.
- [46] 商洪才. 芪参益气滴丸对心肌梗死二级预防的临床试验研究通过专家组验收 [J]. *天津中医药*, 2010, 27 (4) : 266.
- [47] 刘红旭. 经皮冠状动脉介入治疗 (PCI) 围手术期心肌损伤中医诊疗专家共识解读 [J]. *世界中医药*, 2016, 11 (3) : 377-380.
- [48] Tanaka A, Kawarabayashi T, Nishibori Y, et al. No-reflow phenomenon and lesion morphology in patients with acute myocardial infarction [J]. *Circulation*, 2002, 105 (18) : 2148-2152.
- [49] Abdelmeguid AE, Topol EJ, Whitlow PL, et al. Significance of mild transient release of creatine kinase-MB fraction after percutaneous coronary interventions [J]. *Circulation*, 1996, 94 (7) : 1528-1536.
- [50] 侯淑娟. 丹参粉针注射剂治疗急性心肌梗死的临床观察 [A]. 北京中医药大学络病专业委员会学术年会论文集 [C]. 北京, 2010.
- [51] 董静. 应用速度向量成像技术评价丹红注射液对不稳定型心绞痛患者 PCI 围手术期的心肌保护作用 [D]. 北京: 解放军医学院, 2014.
- [52] 王磊, 张敏州, 程康林, 等. 通冠胶囊对冠心病 PCI 术后左心室收缩功能影响的临床研究 [J]. *中药材*, 2007, 30 (2) : 247-250.
- [53] 乔志强, 张敏州, 张翔炜, 等. 通冠胶囊改善冠心病介入术后患者生命质量的随机双盲及安慰剂对照研究 [J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2006, 4 (1) : 4-5.
- [54] 陈伯钧, 苏学旭, 潘宗奇. 通冠胶囊抑制急性心肌梗死后左心室重构的临床研究 [J]. *江苏中医药*, 2006, 27 (2) : 23-24.
- [55] 张翔炜, 张敏州. 通冠胶囊对冠心病经皮冠脉介入术后患者凝血纤溶系统的影响 [J]. *中国中西医结合杂志*, 2004, 24 (12) : 1065-1068.
- [56] 张敏州. 冠心病中医药循证研究进展 [J]. *循证医学*, 2009, 9 (6) : 327-331.

(2016-03-29 收稿 责任编辑:王明)