

不同功能化基团修饰的硅纳米颗粒与人皮肤角质形成细胞系(HaCaT)的生物效应

何晓晓 刘芳 王柯敏* 葛佳 秦迪岚 龚萍 谭蔚泓

(湖南大学化学生物传感与计量学国家重点实验室, 湖南大学生物医学工程中心, 湖南大学生命科学与技术研究院, 湖南省生物纳米工程技术研究中心, 长沙 410082. * 联系人, E-mail: kmwang@hnu.cn)

摘要 系统地研究了纯硅纳米颗粒(SiNP)、磷酸化硅纳米颗粒(PO_4NP)和氨基化硅纳米颗粒(NH_2NP)与人皮肤角质形成细胞系(HaCaT)的生物效应. 考查了3种不同功能化基团修饰的硅纳米颗粒对HaCaT细胞的细胞黏附效率、细胞增殖及细胞周期的影响, 以及HaCaT细胞对SiNP, PO_4NP 和 NH_2NP 的吞噬情况. 结果表明: SiNP, PO_4NP 以及 NH_2NP 3种颗粒对HaCaT细胞的影响均存在浓度依赖关系, 当3种不同功能化基团修饰的硅纳米颗粒在细胞培养液中的终浓度低于 $0.2 \mu\text{g}/\mu\text{L}$ 时, 与HaCaT细胞具有良好的生物相容性, 但是随着纳米颗粒在细胞培养液中终浓度的增大, PO_4NP , SiNP和 NH_2NP 对HaCaT细胞的影响也逐渐增大, 其中 PO_4NP 所产生的影响随浓度增大的趋势最慢, SiNP次之, NH_2NP 最快; 同时, HaCaT细胞对纳米颗粒的吞噬量和吞噬速度也因其表面修饰的不同而存在差异, 在同样的作用浓度和作用时间下, NH_2NP 进入到细胞的量最多、速度最快, SiNP次之, PO_4NP 则最少、最慢. 这些研究结果的获得为指导硅纳米颗粒在生物医学研究中的安全应用以及硅纳米颗粒的后续修饰提供了理论依据, 有利于进一步拓展硅纳米颗粒在生物医学领域中的应用.

关键词 纯硅纳米颗粒(SiNP) 磷酸化硅纳米颗粒(PO_4NP) 氨基化硅纳米颗粒(NH_2NP) 生物效应
人皮肤表皮细胞(HaCaT)

随着纳米技术的飞速发展, 各种纳米材料大量涌现, 其优良特性及特殊功能使其具有广泛的应用前景^[1-3]. 在纳米材料日渐产业化的同时, 人们接触纳米材料的机会随之迅速增多, 纳米材料带来的生物效应也引起了人们的普遍关注^[4-6], 现有的职业和环境卫生接触标准是否适用的问题已成为纳米技术下游产品开发的一个瓶颈. 因此在研究与开发纳米材料的同时, 纳米材料的生物效应也即生物安全性问题也逐渐成为科研工作者研究的新焦点. 目前, 对生物效应研究比较深入的纳米材料主要集中在碳颗粒或碳纳米管、磁颗粒、 TiO_2 超微粒子、固体脂质体纳米颗粒、包覆DNA的纳米颗粒、半导体量子点等^[7-12]. 研究表明: 纳米材料的生物安全性与其纳米尺寸和比表面积、化学性质和表面修饰等因素均有很大关系^[8,13-16]. 因此, 开展纳米材料的生物效应研究, 不但可以指导纳米材料的安全应用, 拓展纳米材料在生物医学研究中的应用领域, 同时对纳米材料的制备及其后续修饰也具有非常重要的指导意义.

近年来, 硅纳米颗粒因具有表面易修饰性、合成简单等优点在生物分离、细胞识别、细菌检测、DNA

检测、基因载体等研究领域得到了广泛的应用^[17-23]. 与此同时, 硅纳米颗粒的生物效应研究也引起了重视, 如: 我们研究小组^[24]开展了硅纳米颗粒对COS-7细胞、HNE1细胞等细胞的毒性检测, 朱诗国等^[25]开展了多聚赖氨酸-硅纳米颗粒与体内外周血血浆蛋白以及外周血红细胞的生物亲和性研究. 然而尽管硅纳米颗粒与之应用领域的靶细胞或靶分子、靶组织以及靶器官等的生物亲和性是评价硅纳米颗粒是否适于生物医学研究安全应用的重要指标, 但是硅纳米颗粒对人和周围环境的影响也是硅纳米颗粒安全应用以及下游产品开发时不容忽视的一个重要方面, 因此, 从硅纳米颗粒对人以及周围环境的影响的角度来探讨硅纳米颗粒的生物效应具有非常重要的理论指导意义. 最近美国国家环境保护局宣布开展纳米材料对环境和人可能造成危害的研究, 其中重点研究的五大问题之一就是皮肤对纳米材料的吸附和纳米材料对皮肤的生物效应(<http://www.people.com.cn/GB/keji/1059/2987437.html>), 因为皮肤接触与吸收是纳米材料侵入机体内部的主要途径之一, 皮肤可能通过表皮细胞吸收纳米颗粒, 进一步引起皮肤与机体

内部的生物效应。因此,本文以人皮肤表皮的主要细胞——人皮肤角质形成细胞(HaCaT)为研究对象,因为它的异常增殖与凋亡和许多皮肤病的发病密切相关^[26],系统地研究了易实现生物分子连接并在生物医学研究中有广泛应用前景的 3 种不同功能化基团修饰的硅壳纳米颗粒:硅纳米颗粒(SiNP)、磷酸化硅纳米颗粒(PO_4NP)与氨基化硅纳米颗粒(NH_2NP)与人皮肤角质形成细胞系(HaCaT)的生物效应。考查了 3 种不同功能化基团修饰的硅纳米颗粒对人皮肤角质形成细胞系(HaCaT)的细胞黏附效率、细胞增殖及细胞周期的影响,以及HaCaT细胞对SiNP, PO_4NP 和 NH_2NP 的吞噬情况,获得了一些有意义的研究结果。

1 实验

1.1 试剂与仪器

联吡啶钌配合物($[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+} \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 简称为 Rubpy, Fluka), 氨基硅烷化试剂(APTS, 湖北武汉大学有机硅新材料股份有限公司), 磷酸硅烷化试剂(THPMP, Aldrich 公司), 细胞周期检测试剂盒(Becton-Dickinson 美国, cat.no 340242), 其他试剂均为国产分析纯。

Zetasizer 分析仪(3000HS, Malvern 英国), 透射电子显微镜(JEM-1230, 日本电子光学研究所), 细胞培养箱(Nu-4750E, NUAIR 美国), 酶联免疫检测仪(EL312e, BIO-TEK 美国), 激光共聚焦显微镜(FV500-IX70, Olympus 日本), 流式细胞仪(FACSCalibur, Becton-Dickinson 美国)。

1.2 细胞系

人皮肤角质形成细胞系(HaCaT cell line)购自湘雅医学院, 复苏后常规接种于含 15%小牛血清的 RPMI1640 完全培养基(加青霉素 100 IU/mL, 链霉素 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$)中, 37 $^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 的细胞培养箱中培养。

1.3 实验方法

() 不同功能化基团修饰的硅壳荧光纳米颗粒的制备和表征。采用文献报道的方法^[17,19]制备出以荧光染料联吡啶钌配合物Rubpy为核, 二氧化硅为外壳的纯硅壳荧光纳米颗粒, 并采用后续修饰的方法制备磷酸化硅壳荧光纳米颗粒(PO_4NP)与氨基化硅壳荧光纳米颗粒(NH_2NP), 即将制备好的纯硅壳荧光纳米颗粒在醋酸的催化下分别加入磷酸硅烷化试剂与

氨基硅烷化试剂, 连续搅拌 24 h 后, 收集, 水洗数次即分别得到磷酸化硅纳米颗粒(PO_4NP)与氨基化硅纳米颗粒(NH_2NP)。用 Zetasizer 分析仪和透射电子显微镜对上述 3 种纳米颗粒进行表征。

() SiNP, PO_4NP 和 NH_2NP 对 HaCaT 细胞黏附效率的影响。将 HaCaT 细胞以 10^5 个/孔接种到数个 6 孔板中, 同时在各孔中分别加入 SiNP, PO_4NP 和 NH_2NP , 使其终浓度分别为 0.2, 0.5 和 1.0 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$, 以不加纳米颗粒的 HaCaT 细胞为对照, 充分混匀后让细胞悬浮液与纳米颗粒共同培育 24 h 后倾去培养基, 用 PBS 洗涤数次后, 采用激光共聚焦显微镜观察细胞贴壁情况。

() SiNP, PO_4NP 和 NH_2NP 对 HaCaT 细胞增殖的影响。采用 MTT 法检测 SiNP, PO_4NP 和 NH_2NP 对 HaCaT 细胞增殖率的影响。将 HaCaT 细胞以 1×10^4 个/孔的密度接种于 96 孔板中, 留数孔不加细胞作空白对照, 再置于细胞培养箱培养。待细胞贴壁生长好后, 取出 96 孔板, 向其中分别加入灭菌的 SiNP, PO_4NP 和 NH_2NP (约 10 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$), 使它们在细胞培养液中的终浓度分别为 0.2, 0.6, 1.0, 1.4, 1.8, 2.2, 2.6, 3 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$, 每种浓度梯度做 5 孔平行实验, 留数孔不加纳米颗粒作为正常对照, 混匀后放入细胞培养箱中作用 24 h 后取出 96 孔板, 往其中加入 10 μL 5 mg/mL 的 MTT, 置于培养箱中反应 4 h 后, 取出迅速倾倒孔内液体, 加入 DMSO 100 μL , 震荡反应 10 min, 于酶联仪上测定波长为 570 nm 的吸光度值, 采用细胞相对增殖率(RGR)来体现不同浓度纳米颗粒对细胞影响的大小。RGR = 实验组 A 值/对照组 A 值, 并根据美国药典¹⁾ USP 细胞毒性分级标准来度量不同浓度的 SiNP, PO_4NP 和 NH_2NP 对细胞增殖的影响程度。

() SiNP, PO_4NP 和 NH_2NP 对 HaCaT 细胞周期的影响。分别将 SiNP, PO_4NP 和 NH_2NP 加入到对数生长期的 HaCaT 细胞中, 使其终浓度分别为 0.2 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 和 1.0 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$, 以不加纳米颗粒的细胞为对照, 共同培育 6 h 后收集细胞, 70%乙醇 4 $^{\circ}\text{C}$ 固定过夜, 离心弃乙醇, PBS 洗涤。细胞周期检测试剂盒处理: 加入含 RNase 和 Triton X-100 碘化丙锭的染液, 避光染色 30 min, 保证细胞浓度为 $10^5 \sim 10^6$ 个/mL, 用流式细胞仪检测。用 CellQUEST 软件获取数据, ModFit 软件分析结果。

() HaCaT 细胞对 SiNP, PO_4NP 和 NH_2NP 的吞噬

1) U. S. Pharmacopeia/National Formulary (USP/NF). Edited by The United States Pharmacopeial Convention. USP29, 2005.

情况. 将对数生长期的 HaCaT 细胞接种于内置有盖玻片的 6 孔板中, 待细胞贴壁生长好后, 将 HaCaT 细胞分别与 SiNP, PO₄NP 和 NH₂NP 荧光纳米颗粒共同作用 0.5, 1, 2, 4 h (纳米颗粒在培养液中的终浓度均为 0.2 μg/μL), 取出盖玻片清洗, 用 4% 的多聚甲醛固定, 用 PBS 反复吹打, 尽可能的去除背景信号, 封片, 激光共聚焦观察 HaCaT 细胞吞噬 SiNP, PO₄NP 和 NH₂NP 随时间的变化情况.

同时, 还采用流式细胞仪从统计学角度定量考查了 HaCaT 细胞对 SiNP, PO₄NP 和 NH₂NP 的吞噬情况, 即将对数生长期的 HaCaT 细胞与 SiNP, PO₄NP 和 NH₂NP 共同培育 6 h, 胰酶消化并收集细胞, 离心洗涤后上机检测. 以 488 nm 的激光光源激发, 通过 FL3 通道来收集纳米颗粒的荧光信号.

2 结果与讨论

2.1 不同功能化基团修饰的硅壳荧光纳米颗粒的制备和表征

采用透射电子显微镜对制备的不同功能化基团修饰的硅壳荧光纳米颗粒的大小和形貌进行了检测, 结果如图 1 所示, 纯硅壳荧光纳米颗粒的大小为(48.3 ± 4) nm, 制备的纯硅壳荧光纳米颗粒分别经过磷酸硅烷化试剂与氨基硅烷化试剂的后续修饰后, 纳米颗粒在大小上稍微有些增大, PO₄NP 的大小为(51.7 ± 4) nm, NH₂NP 的大小为(53.8 ± 5) nm, 因此在考查这三种纳米颗粒与 HaCaT 细胞的生物效应的差异时, 基本上可以排除纳米颗粒大小差异产生的影响. 但是, 经过磷酸硅烷化试剂与氨基硅烷化试剂后续修饰的纳米颗粒的 Zeta 电位发生了显著变化, SiNP, PO₄NP 和 NH₂NP 的 Zeta 电位分别为-35.9, -45.6 和 28.2 mV.

2.2 SiNP, PO₄NP 和 NH₂NP 对 HaCaT 细胞黏附效率的影响

采用激光共聚焦显微镜对与硅壳纳米颗粒共同

培育的 HaCaT 细胞进行观察, 结果如图 2 所示, 经 SiNP 处理后的 HaCaT 细胞有变圆的趋势, 贴壁的细胞相对减少; 经 PO₄NP 处理后的 HaCaT 细胞保持了良好的细胞形态, 随机视野内贴壁的细胞也较多; 而经 NH₂NP 处理后的 HaCaT 细胞形态则更为不规则, 贴壁的细胞非常少. 对于同种硅壳纳米颗粒处理的细胞, 纳米颗粒的浓度对细胞贴壁的影响也不一样, 纳米颗粒终浓度为 1 μg/μL 的处理组, 其细胞受到影响的严重程度要比纳米颗粒终浓度为 0.2 μg/μL 的大得多, 细胞的贴壁数目也相对要少. 因此可以得出: 硅壳纳米颗粒对 HaCaT 细胞黏附率的影响与硅壳纳米颗粒表面所带的基团有关, PO₄NP 影响最小, SiNP 次之, NH₂NP 影响最大; 这可能是由于不同基团修饰的硅壳纳米颗粒表面所带电荷不同引起的, NH₂NP 表面带有较高的正电荷使其能迅速与 HaCaT 细胞接触并更多地吸附在其表面, 同样浓度下, NH₂NP 黏附到细胞表面和进入细胞中的量则相比于带很高的负电荷的 PO₄NP 更多. 而对于同一种纳米颗粒而言, 其对细胞黏附率的影响与纳米颗粒浓度相关, 浓度越高影响越大.

2.3 SiNP, PO₄NP 和 NH₂NP 对 HaCaT 细胞增殖的影响

细胞存活率的测定主要是为了考查 SiNP, PO₄NP 和 NH₂NP 对贴壁生长好的 HaCaT 细胞分裂繁殖的影响. 结果表明(图 3), 经纳米颗粒终浓度为 0.2 μg/μL 的 SiNP, PO₄NP 和 NH₂NP 分别处理后的 HaCaT 细胞的存活率都在 80% 以上, 根据美国药典分级标准判断为低毒性; 随着纳米颗粒浓度的增高, HaCaT 细胞的存活率均出现下降的趋势, 但其下降的速度却不一样, NH₂NP 处理后的 HaCaT 细胞的存活率下降最快, PO₄NP 处理后的 HaCaT 细胞的存活率下降最慢; 当纳米颗粒终浓度高达 2 μg/μL 时, SiNP 处理后的 HaCaT 细胞存活率仅为 40%, PO₄NP 处理后的 HaCaT

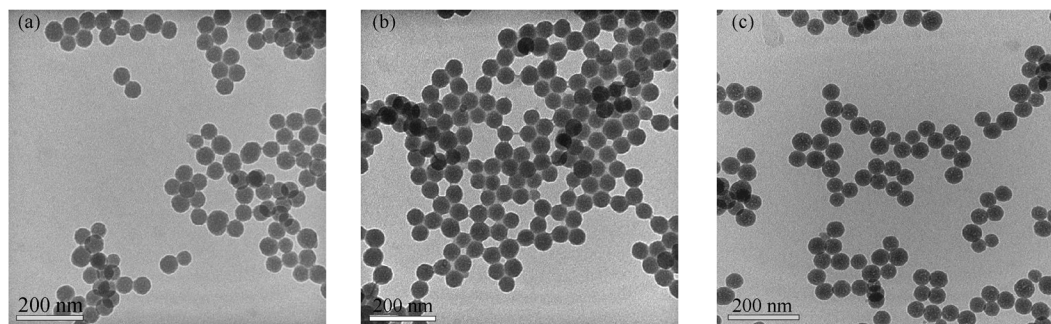


图 1 SiNP, PO₄NP 和 NH₂NP 的透射电子显微镜照片
(a) SiNP(48.3 ± 4 nm), (b) PO₄NP(51.7 ± 4 nm), (c) NH₂NP(53.8 ± 5 nm)

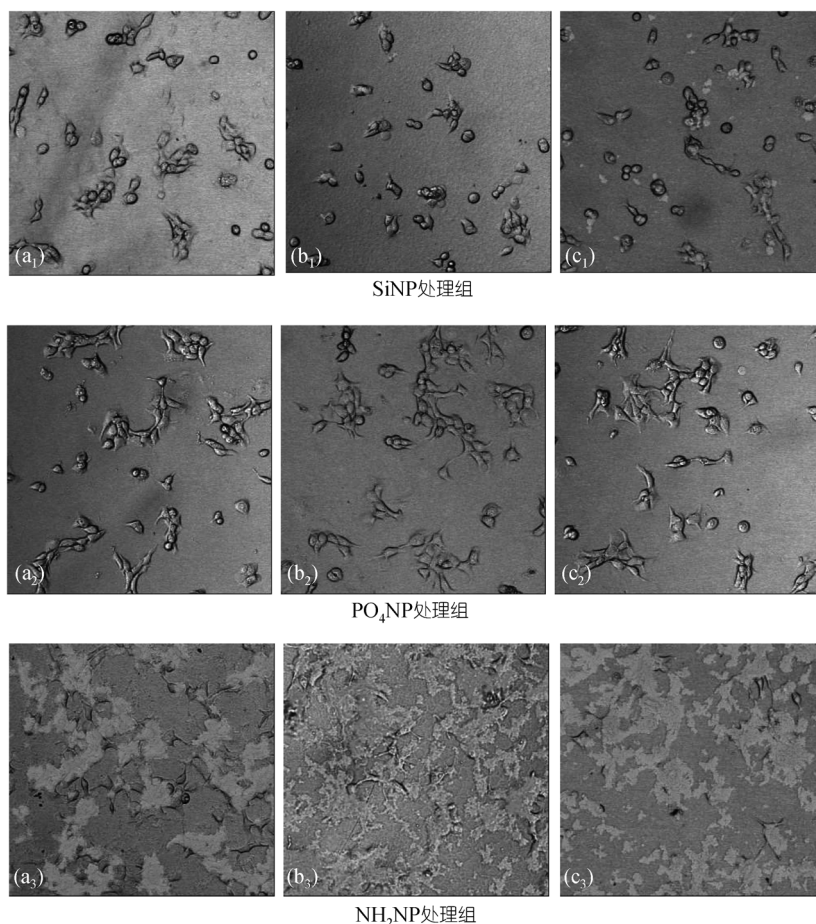


图 2 不同浓度 SiNP, PO₄NP 和 NH₂NP 在 HaCaT 细胞贴壁过程中对细胞贴壁以及细胞形态的影响
(a)、(b)、(c) 的硅壳纳米颗粒在细胞培养液中的终浓度分别为 0.2, 0.5 和 1.0 μg/μL

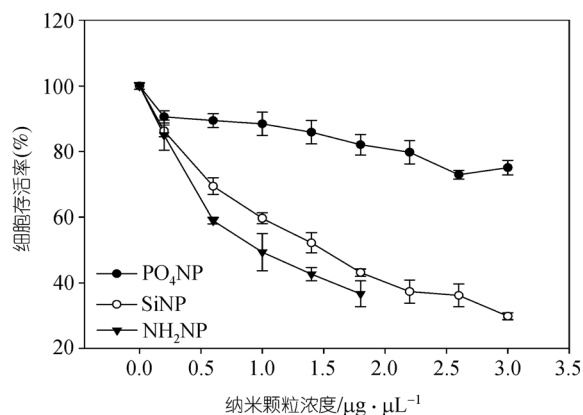


图 3 SiNP, PO₄NP 和 NH₂NP 对 HaCaT 细胞系增殖率的影响

细胞的存活率仍在 80% 以上, 而对于 NH₂NP, 在其终浓度为 1.4 μg/μL 时, HaCaT 细胞的存活率就下降至 40%。由此我们可以得出: 纳米颗粒对 HaCaT 细胞增

值的影响是浓度依赖的, 随着颗粒浓度的增加, HaCaT 细胞的存活率逐渐降低; 并且, 不同功能化基团修饰的硅壳纳米颗粒对 HaCaT 细胞增值的影响不同, 大小顺序为: PO₄NP < SiNP < NH₂NP; 但在低浓度范围内 (<0.2 μg/μL), 3 种纳米颗粒对 HaCaT 细胞增值的影响均非常小, 不会影响细胞正常的生长和繁殖。

2.4 SiNP, PO₄NP 和 NH₂NP 对 HaCaT 细胞周期的影响

采用流式细胞仪 (FCM) 对 DNA 定量可将形态上不易区别的群体细胞分成 3 个群, 即 DNA 合成前期 (G1 期), DNA 合成期 (S 期) 和 DNA 复制后期/分裂期 (G2 期), 这三个群体细胞对药物处理的反映不同, 采用细胞增值指数 (proliferative index, PI = (G2 + S)/(G1 + S + G2)) 来衡量纳米颗粒对细胞周期的影响。结果发现当采用终浓度为 0.2 μg/μL 的 SiNP, PO₄NP 和 NH₂NP 分别处理 HaCaT 细胞后, 对细胞增值周期的影响均

非常小(见表 1), 与对照相比, 纳米颗粒处理组的 HaCaT 细胞 G2 期都增大, 说明低浓度的纳米颗粒从一定程度上还促进了 HaCaT 细胞的增值. 当纳米颗粒终浓度上升为 1.0 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 时(图 4), SiNP 和 PO_4NP 处理后的 HaCaT 细胞周期 PI 值分别为 43.43 和 45.32, 比对照细胞的 PI 值(40.136)均有上升的趋势, 但是变化不大, S 期和 G2 期相对对照变化也不大, 而以 1.0 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ NH_2NP 处理后的 HaCaT 细胞周期的 PI 值则上升到 79.03, 其中 S 期所占比例非常大, 而 G2 期几乎为零, 这表明以 1.0 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ NH_2NP 终浓度处理后的 HaCaT 细胞, 虽然其加速了 DNA 的合成, 却阻滞了细胞进入分裂期, 即抑制了细胞的增殖. 因此, 我们可以得出: 在纳米颗粒与 HaCaT 细胞的作用浓度低于 0.2 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$, SiNP, PO_4NP 和 NH_2NP 均不会对细胞的生长周期产生影响, 随着浓度增大到 1.0 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 时, SiNP 和 PO_4NP 对 HaCaT 细胞周期依然无很大影响, 而 NH_2NP 则使细胞周期发生了紊乱.

表 1 低浓度纳米颗粒(0.2 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$)对 HaCaT 细胞周期的影响

	G1	S	G2
对照	38.01	49.01	12.98
SiNP	33.74	44.89	21.37
PO_4NP	37.69	41.62	20.69
NH_2NP	30.54	49.36	20.09

2.5 HaCaT 细胞对 SiNP, PO_4NP 和 NH_2NP 的吞噬情况

当纳米颗粒与贴壁生长好的细胞共同培育时, 细胞会通过吞噬作用把纳米颗粒摄入其内, 但是细胞吞噬表面带不同电荷纳米颗粒的能力也不同. 如图 5 所示, 我们发现, 当纳米颗粒在培养液中的终浓度均相同的情况下(0.2 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$), NH_2NP 纳米颗粒在与 HaCaT 细胞作用 0.5 h 时就已经黏附在细胞膜周围, 1 h 时开始进入到细胞内, 而此时 SiNP 才开始在 HaCaT 细胞表面聚集, 相比之下, HaCaT 细胞对 PO_4NP 的吞噬则更慢, 共同培育 2 h 时才能观测到荧光信号. 图 6 为采用流式细胞仪定量检测 HaCaT 细胞对 SiNP, PO_4NP 和 NH_2NP 的吞噬情况, 可以看出, NH_2NP 处理后 HaCaT 细胞的荧光强度最大, SiNP 次之, PO_4NP 最小, 这进一步说明了在同样的作用浓度和作用时间下, 表面带正电荷的 NH_2NP 进入 HaCaT 细胞的速度最快, 量最多, SiNP 次之, 而 PO_4NP 则最慢、最少. 这可能与纳米颗粒的表面基团有关, 表面带正电荷的 NH_2NP 与带负电荷的细胞膜之间存在一种相互作用力, 从而促使 NH_2NP 得以更快、更多地进入 HaCaT 细胞, PO_4NP 由于其表面所带负电荷比 SiNP 更多, 故相对于 SiNP 来说, 进入细胞中的速度和量则更少.

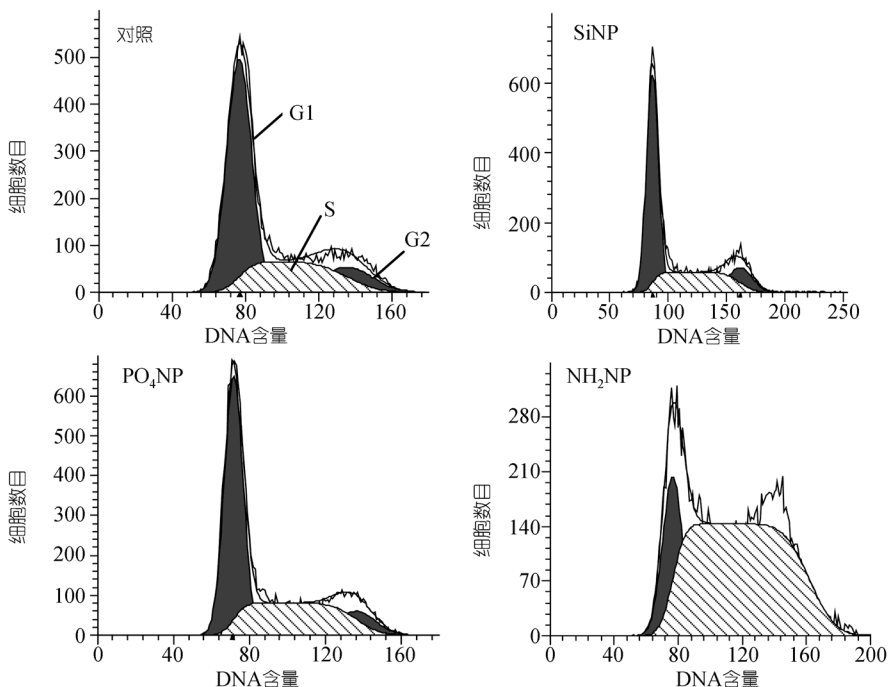


图 4 SiNP, PO_4NP 和 NH_2NP 对 HaCaT 细胞周期的影响(处理浓度均为 1.0 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$)

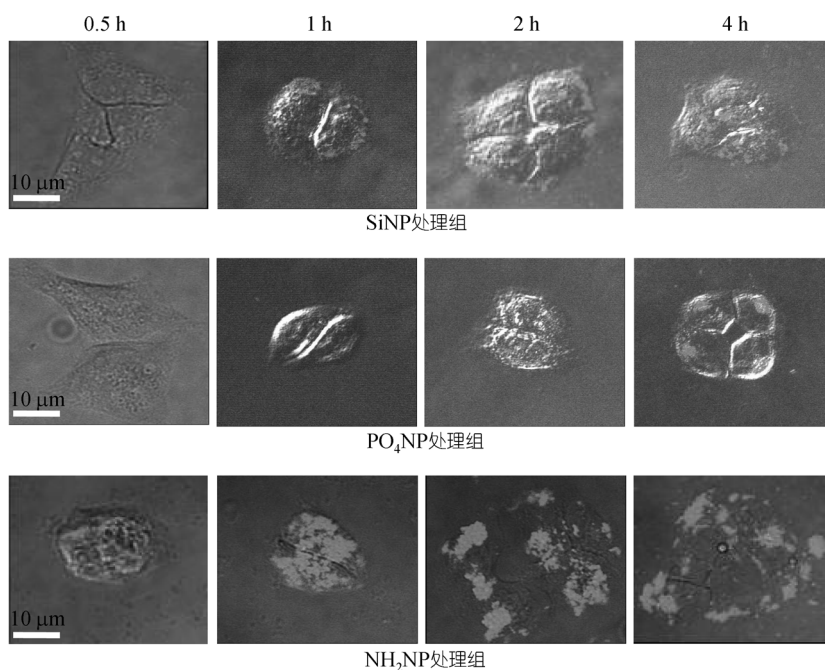


图 5 SiNP, PO₄NP 和 NH₂NP 在 HaCaT 细胞中随时间的分布情况

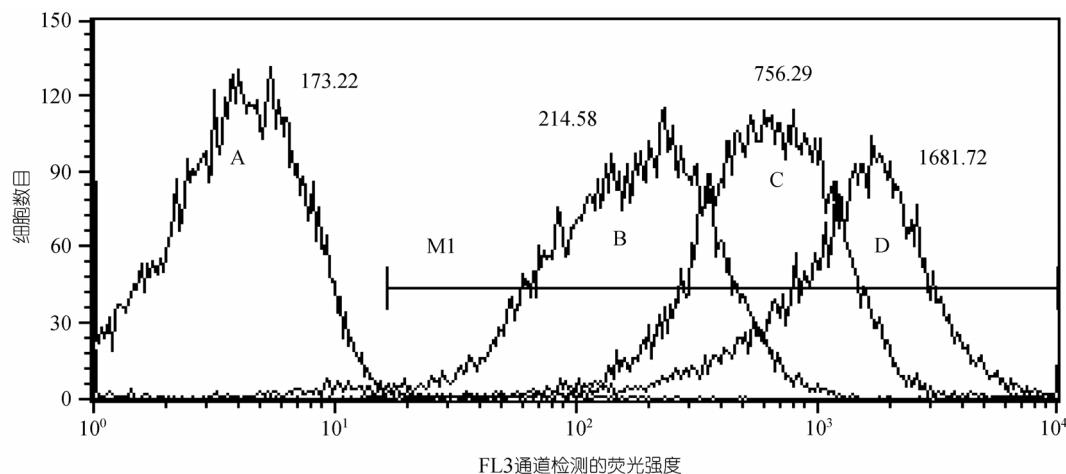


图 6 吞噬了 SiNP, PO₄NP 和 NH₂NP 的 HaCaT 细胞荧光强度

3 种纳米颗粒的作用浓度均为 0.2 μg/μL. A 为对照, B, C, D 分别为 PO₄NP, SiNP 与 NH₂NP 处理组

综上所述, SiNP, PO₄NP 和 NH₂NP 三种颗粒对人皮肤角质形成细胞系的生物效应有明显的差异, 在相同实验条件下, PO₄NP, SiNP 和 NH₂NP 对 HaCaT 细胞的影响是逐渐增大的. 我们分析这种差别可能很大程度上是由于纳米颗粒表面修饰不同的基团后导致纳米颗粒的电荷不同引起的. 因为纯硅壳荧光纳米颗粒分别经过磷酸硅烷化试剂与氨基硅烷化试剂的后续修饰后, 纳米颗粒在大小上只是稍微有些增

大, 而电荷的变化却要显著得多. 这三种纳米颗粒都是没有生物靶向修饰的, 他们与细胞的作用是非特异性的, 当所有的实验条件都一致的情况下, 带正电的纳米颗粒与带负电的细胞膜之间存在的静电吸附作用, 导致同种细胞对表面带正电荷的硅纳米颗粒的黏附效率要高, 进而吞噬能力要大于表面带负电荷的硅纳米颗粒, 细胞吞噬的颗粒越多, 可能细胞增殖、细胞周期等其他生理活动产生的影响也越大.

3 结论

本文利用 Rubpy 荧光纳米颗粒的荧光信号同步指示作用,系统地研究了纯硅纳米颗粒(SiNP)、磷酸化硅纳米颗粒(PO_4NP)与氨基化硅纳米颗粒(NH_2NP)与人皮肤角质形成细胞系(HaCaT)的生物效应。结果表明: SiNP, PO_4NP 和 NH_2NP 三种颗粒对人皮肤角质形成细胞系的影响均存在浓度依赖关系,对其中任何一种硅壳纳米颗粒来说,只要是与 HaCaT 细胞的作用的纳米颗粒的终浓度低于 $0.2 \mu\text{g}/\mu\text{L}$ 时,对 HaCaT 细胞的黏附效率、增值率和细胞周期的影响均很小,但是随着作用浓度的增大, PO_4NP , SiNP 和 NH_2NP 对 HaCaT 细胞的影响是逐渐增大的,其中 PO_4NP 所产生的影响随浓度增大的趋势最慢, SiNP 次之, NH_2NP 最快。这些研究结果的获得为指导硅纳米颗粒在生物医学研究中的安全应用提供了重要的理论依据,并且可以通过改变其表面修饰来改善硅纳米颗粒的生物安全性,为硅纳米颗粒的后续修饰提供参考,有利于进一步拓展硅纳米颗粒在生物医学领域中的应用。

致谢 本工作为国家自然科学基金重点项目(批准号: 20135010)和科技部国际合作重点项目(批准号: 2003DF000039),并得到国家重点基础研究发展规划(批准号: 2002CB513100-10)、国家科技攻关计划(批准号: 2003BA310A16)、国家科技发展计划(批准号: 2003AA302250)及国家自然科学基金(批准号: 20405005)资助。

参 考 文 献

- 1 Akerman M E, Chan W C W, Laakkonen P, et al. Nanocrystal targeting in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99: 12617—12621[DOI]
- 2 Santra S, Zhang P, Wang K, et al. Conjugation of biomolecules with luminophore-doped silica nanoparticles for photostable biomarkers. *Anal Chem*, 2001, 73: 4988—4993[DOI]
- 3 He X X, Wang K M, Tan W H, et al. Bioconjugated nanoparticles for DNA protection from cleavage. *J Am Chem Soc*, 2003, 125: 7168—7169[DOI]
- 4 Service R F. Nanomaterials show signs of toxicity. *Science*, 2003, 300(11): 243[DOI]
- 5 Zhang W X. Environmental technologies at the nanoscale. *Environ Sci Technol*, 2003, 37(5): 103—108
- 6 Kelly K L. Nanotechnology grows up. *Science*, 2004, 304: 1732—1734[DOI]
- 7 Jia G, Wang H F, Yan L, et al. Cytotoxicity of carbon nanomaterials: single-wall nanotube, multi-wall nanotube, and fullerene. *Environ Sci Technol*, 2005, 39: 1378—1383[DOI]
- 8 Ajay K G, Mona G. Cytotoxicity suppression and cellular uptake enhancement of surface modified magnetic nanoparticles. *Biomaterials*, 2005, 26: 1565—1573[DOI]
- 9 Afaq F, Abidi P, Matin R, et al. Cytotoxicity, pro-oxidant effects and antioxidant depletion in rat lung alveolar macrophages exposed to ultrafine titanium dioxide. *J Appl Toxicol*, 1998, 18: 307—312[DOI]
- 10 Scholer N, Hahn H, Muller R H, et al. Effect of lipid matrix and size of solid lipid nanoparticles (SLN) on the viability and cytokine production of macrophages. *Int J Pharm*, 2002, 231: 167—176[DOI]
- 11 Ziady A G, Gedeon C R, Muhammad O, et al. Minimal toxicity of stabilized compacted DNA nanoparticles in the murine lung. *Mol Ther*, 2003, 8(6): 948—956[DOI]
- 12 Akiyoshi H, Kouki F, Taisuke O, et al. Physicochemical properties and cellular toxicity of nanocrystal quantum dots depend on their surface modification. *Nano Lett*, 2004, 4(11): 2163—2169[DOI]
- 13 Oberdörster G, Ferin J, Gelein R, et al. Role of the alveolar macrophage in lung injury: studies with ultrafine particles. *Environ Health Perspect*, 1992, 97: 193—199
- 14 Deng Y, Xu H B, Huang K X, et al. Size effects of realgar particles on apoptosis in a human umbilical vein endothelial cell line: ECV-304. *Pharmacol Res*, 2001, 44(6): 513—518[DOI]
- 15 Sayes C M, John D F, Guo W, et al. The differential cytotoxicity of water-soluble fullerenes. *Nano Lett*, 2004, 4(10): 1881—1887[DOI]
- 16 Catherine M G, Catherine D M, Tuna Y, et al. Toxicity of gold nanoparticles functionalized with cationic and anionic side chains. *Bioconjug Chem*, 2004, 15: 897—900[DOI]
- 17 何晓晓, 王柯敏, 谭蔚泓, 等. 超顺磁性 DNA 纳米富集器应用于痕量寡核苷酸的富集. *高等学校化学学报*, 2003, 24(1): 40—42
- 18 Bruce I J and Sen T. Surface modification of magnetic nanoparticles with alkoxysilanes and their application in magnetic bioseparations. *Langmuir*, 2005, 21: 7029—7035[DOI]
- 19 何晓晓, 王柯敏, 谭蔚泓, 等. 基于生物荧光纳米颗粒的新型荧光标记方法及其在细胞识别中的应用. *科学通报*, 2001, 46(16): 1353—1356
- 20 Wang L, Yang C Y, Tan W H. Dual luminophore-doped silica nanoparticles for multiplexed signaling. *Nano Lett*, 2005, 5(1): 37—43[DOI]
- 21 Zhao X J, Tapeç-Dytioco R, Tan W H. Ultrasensitive DNA detection using highly fluorescent bioconjugated nanoparticles. *J Am Chem Soc*, 2003, 125: 11474—11475[DOI]
- 22 何晓晓, 王柯敏, 谭蔚泓, 等. 基于氨基化 SiO_2 纳米颗粒的新型基因载体. *科学通报*, 2002, 47(18): 1365—1369[摘要]
- 23 Yang H H, Zhang S Q, Chen X L, et al. Magnetite containing spherical silica nanoparticles for biocatalysis and bioseparations. *Anal Chem*, 2004, 76(5): 1316—1321[DOI]
- 24 李杜, 何晓晓, 王柯敏, 等. 无机硅壳类纳米颗粒对细胞的毒性检测. *湖南大学学报*, 2002, 29(6): 1—6
- 25 朱诗国, 甘凯, 李征, 等. 多聚赖氨酸-硅纳米颗粒的生物相容性研究. *癌症*, 2003, 22(10): 1114—1117
- 26 Inbaraj J J, Chignell C F. Cytotoxic action of juglone and plumbagin: a mechanistic study using HaCaT keratinocytes. *Chem Res Toxicol*, 2004, 17: 55—62[DOI]

(2006-01-09 收稿, 2006-04-07 接受)