

影响纳米材料毒性的关键因素

徐莺莺^①, 林晓影^{①②}, 陈春英^{①*}

① 国家纳米科学中心, 中国科学院纳米生物效应与安全性重点实验室, 北京 100190;

② 黑龙江中医药大学基础医学院, 哈尔滨 150040

* 联系人, E-mail: chenchy@nanoctr.cn

2013-01-17 收稿, 2013-03-28 接受, 2013-07-02 网络版发表

摘要 随着纳米技术的发展, 越来越多的纳米产品开始进入人们的日常生活, 纳米材料的毒性因此成为人们日渐关注的问题. 近年来, 纳米材料毒性的研究取得了很大进展, 包括体内和体外实验研究纳米材料与生物大分子、细胞、器官和组织的相互作用以及其引起的毒性. 纳米材料通过诱导氧化应激和炎症反应等机制产生一系列毒性效应. 纳米材料本身的物理化学性质对其毒性有决定性的影响, 这些性质包括尺寸、形状、表面电荷、化学组成、表面修饰、金属杂质、团聚与分散性、降解性能以及“蛋白冠”的形成. 阐明物化性质对纳米材料毒性的影响, 对于纳米材料的合理设计和安全应用具有重要的意义. 本文对影响纳米材料毒性的关键因素进行了总结和分析, 对近年来纳米材料毒性效应的研究进展进行了综述.

关键词

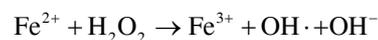
纳米材料
纳米毒理学
物理化学性质
蛋白冠
氧化应激
炎症

在生物医学领域, 纳米材料具有广泛的应用前景, 包括医学成像、诊断、药物的靶向输运以及癌症的同步诊断和治疗等^[1]. 同时, 纳米材料也已经用于电子元件、涂料、运动器材、化妆品、食品添加剂等许多商业产品^[2]. 由于纳米材料尺寸很小, 容易通过吸入、食入和皮肤渗透进入机体^[3]. 人们接触纳米材料的机会越来越多, 然而对于纳米材料可能的毒性作用还缺乏系统深入的了解. 纳米材料的尺寸介于生物大分子与细胞器之间, 因此与生物体系的作用不同于小分子及同种的块体材料^[4]. 对纳米材料的毒性效应研究衍生出纳米科学的一个重要分支: 纳米毒理学(nanotoxicology). 纳米毒理学的概念在 2004~2005 年间提出^[5,6], 这一领域主要研究纳米材料与生物体系, 包括组织、器官、细胞、亚细胞结构以及生物大分子的相互作用及其引起的毒性效应.

纳米材料的一般定义为, 至少在一维尺度上长度小于 100 nm 的材料. 纳米材料具有特殊的性质, 包括量子尺寸效应、表面效应以及宏观量子隧道效应等. 这些特性赋予纳米材料不同于块体材料的物理

性质, 如光、热、电、磁、力学性质, 以及化学性质, 如吸附、分散与团聚、表面活性与催化、光催化性质. 因此, 纳米毒理学关注由纳米材料的特殊性质引起的, 与生物体的组织、器官、细胞及生物分子之间的作用(图 1). 国内外近十年来发表了大量纳米毒理学领域的工作, 包括在体和体外相互作用, 并对纳米材料毒性效应的机制进行了许多探索, 得到了一些基本的结论.

一般认为, 纳米材料可以引起氧化应激和炎症反应(图 1), 进而对细胞和机体产生毒性作用^[7]. 纳米材料能够通过不同的机制产生活性氧(ROS), 对于含有过渡金属如 Fe^{2+} 的纳米材料, 可以通过 Fenton 反应



产生 $\text{OOH}\cdot$ 和 $\text{OH}\cdot$ 自由基^[8]. 惰性纳米材料本身不能诱导自由基的产生, 但是可以通过与细胞线粒体的作用, 增加线粒体中 ROS 的产生^[9]. 过量的 ROS 引起细胞氧化应激反应, 包括脂质过氧化、蛋白质和 DNA 损伤、信号通路紊乱, 最终诱发肿瘤、神经退行性和心血管病变. 而富勒烯衍生物则具有清除自

引用格式: 徐莺莺, 林晓影, 陈春英. 影响纳米材料毒性的关键因素. 科学通报, 2013, 58: 2466–2478

Xu Y Y, Lin X Y, Chen C Y. Key factors influencing the toxicity of nanomaterials (in Chinese). Chin Sci Bull (Chin Ver), 2013, 58: 2466–2478.
doi: 10.1360/972012-1634

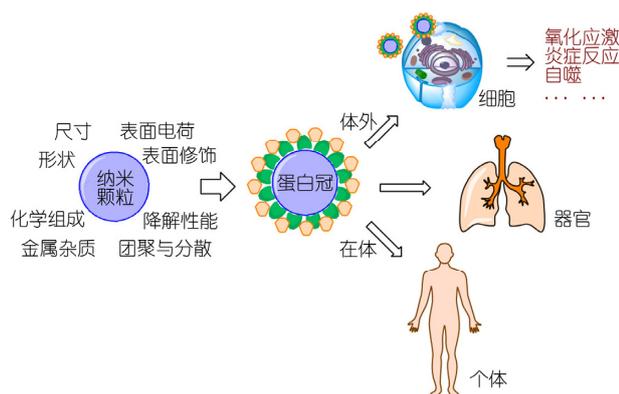


图1 纳米材料与生物体系的相互作用及其影响因素示意图

由基, 保护细胞和器官免受活性氧损伤的抗氧化作用^[10,11].

纳米材料毒性效应的另一方面是引起炎症反应^[12]. 炎症反应是免疫系统被活化以识别并清除入侵的病原微生物的过程, 包括免疫细胞的活化和向病变部位的聚集. 通过内吞作用进入免疫细胞的纳米材料, 可以通过刺激免疫细胞产生促炎性因子(IL-1, TNF- α , IFN- γ)和趋化因子(IL-8, MCP-1), 诱导和加速炎症反应^[13]. 近年的研究发现, 一些纳米材料可以活化免疫细胞内的 NLRP3 炎症小体, 产生促炎性因子 IL-1 β , 诱导细胞炎症, 如氨基修饰的聚苯乙烯纳米颗粒^[14]、银纳米颗粒^[15]以及氢氧化铝纳米颗粒^[16]. 纳米颗粒对炎症反应的影响还涉及到对 Th1/Th2 免疫反应类型的调节. Th 细胞引发的炎症信号能进一步活化 T, B 淋巴细胞和巨噬细胞产生炎性细胞因子. 一些研究认为, 通常较大的颗粒(>1 μm)引起 Th1 型免疫反应, 而较小的颗粒(<500 nm)引起 Th2 型免疫反应^[17].

Nei 等人^[18]将氧化应激和炎症反应归结于 ROS 过量产生的结果, 认为在低剂量 ROS 时, 主要通过 nrf-2 转录因子激活细胞抗氧化元件; 较高浓度 ROS 激活 NF- κB 信号通路产生炎症反应; 而更高的 ROS 水平则启动细胞凋亡信号. 最近的研究发现, 纳米材料对细胞自噬的抑制或激活也是纳米材料毒性效应的一个重要方面^[19]. 自噬是细胞内成分的一个降解途径, 通过双层膜将需要降解的生物大分子和细胞器包裹, 形成自噬体(autophagosome); 自噬体进而与溶酶体融合, 形成自噬溶酶体(autolysosome), 将包裹的成分降解. 目前已经报道多种纳米材料可以诱导细胞自噬, 包括各种金属氧化物、贵金属 Au, 树枝

状聚合物、富勒烯 C₆₀, SWCNTs 等^[17]. 自噬与很多细胞功能相关联, 包括免疫^[20]、炎症^[21]和细胞凋亡^[22]等. 因此, 纳米材料可能通过对细胞自噬功能的抑制或激活, 对细胞或机体产生毒副作用.

纳米材料的毒性效应与其自身的物理化学性质紧密联系, 这些性质包括尺寸、形状、表面电荷、化学组成、表面修饰、金属杂质、团聚与分散性以及降解性能等. 同时, 由于纳米材料较大的比表面积和较高的表面能, 一旦接触生理环境, 将会迅速吸附一系列的蛋白质, 即形成所谓的“蛋白冠(protein corona)” (图1). 本文首先介绍蛋白冠的形成, 进而对影响纳米材料毒性的关键因素进行概述.

1 蛋白冠的形成

纳米材料可以通过呼吸道、消化道、皮肤渗透以及注射的方式进入血液, 进入血液的纳米颗粒会吸附血清蛋白质, 形成“蛋白冠”. 纳米颗粒与蛋白质通过静电吸附、疏水作用、氢键作用结合^[23]. 蛋白冠的形成存在 Vroman 效应^[24], 即吸附在纳米颗粒表面的蛋白质可能会解吸附, 形成的表面空缺位点会迅速被其他同种或不同的蛋白占据. 这一过程取决于液体中某种蛋白质的浓度以及蛋白质与纳米颗粒的结合常数. 对于纳米材料在血浆中的蛋白吸附行为, Vroman 效应将其分为“早期”和“晚期”两个阶段. 在早期阶段, 纳米颗粒优先吸附白蛋白、IgG、纤维蛋白原等高浓度和高吸附速率的蛋白质, 随后则被载脂蛋白和凝血因子等高亲和力的蛋白质取代^[25,26].

蛋白冠的形成将会改变纳米颗粒的尺寸和表面组成, 进而影响纳米颗粒的吸收、转运以及毒性^[23]. 体内和体外实验都表明, 纳米材料和血浆蛋白的结合与其被细胞摄取的速率呈正相关^[27]. 血浆中的一大类蛋白质称为“调理素(opsonin)”, 如免疫球蛋白 IgG 和补体成分. 调理素的吸附(即调理作用)能够增加纳米材料被巨噬细胞的摄取^[28]. 通过血浆蛋白的调理作用, 纳米材料迅速被血液以及组织中的单核/巨噬细胞摄取, 分布于网状内皮系统, 这导致纳米材料被快速从血液中清除, 并在肝、脾中富集^[29].

蛋白冠的形成与纳米材料的细胞毒性也直接相关. Ge 等人^[30]采用了实验和理论相结合的方法, 研究了 SWCNT 与血液蛋白质形成的“蛋白冠”, 发现血浆的主要蛋白(如纤维蛋白原, 免疫球蛋白、白蛋白、转铁蛋白)会在碳纳米管的表面进行竞争性吸附(图2),

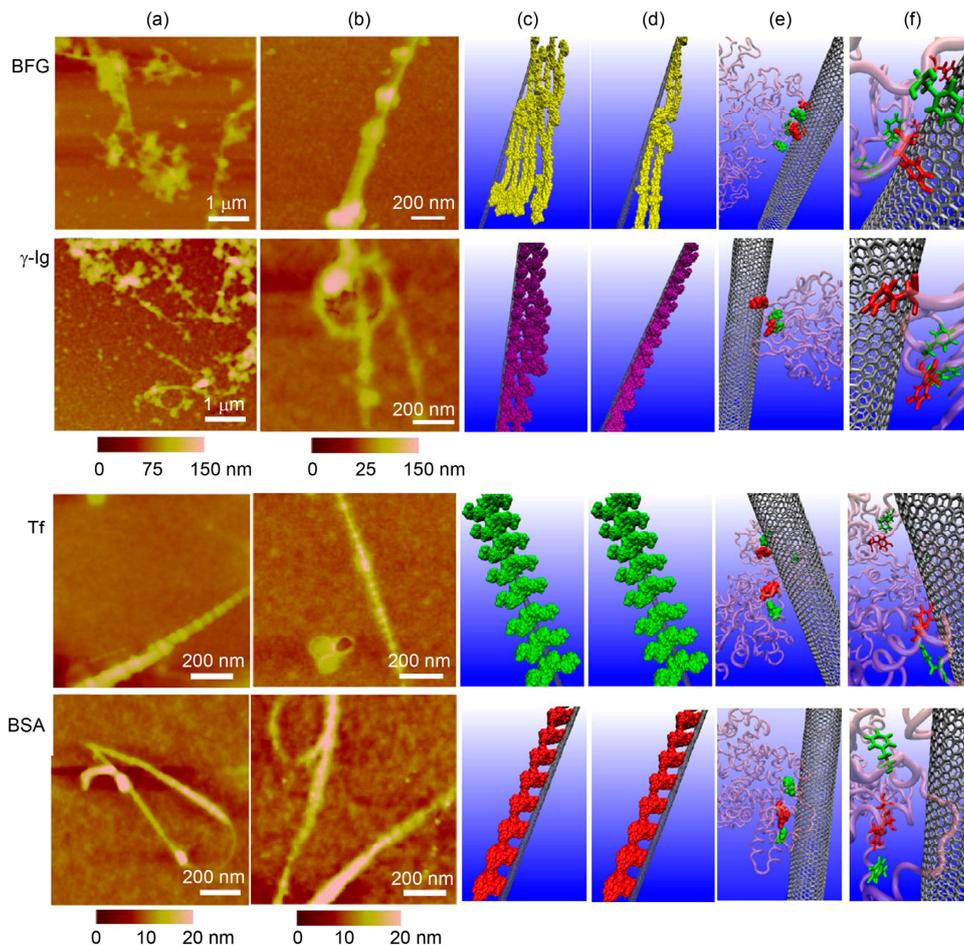


图2 SWCNT与血浆蛋白的相互作用

(a), (b) SWCNTs 与不同的血浆蛋白孵育 10 min 和 5 h 的原子力显微照片; (c), (d) SWCNTs 与不同的血浆蛋白孵育 10 min 和 5 h 的表面相互作用分子动力学理论模拟, 以及蛋白质结合位点 ((e), (f))^[30]

SWCNT与血浆蛋白的结合主要取决于碳纳米管与蛋白质芳香氨基酸(Trp, Phe, Tyr)之间的 π - π 堆积作用. SWCNT 吸附血浆蛋白质之后, 能够显著降低其细胞毒性. 这表明碳纳米管在进入体内以后, 其表面容易吸附血液蛋白, 这可以大大降低其细胞毒性, 提高其生物安全性.

一般来说, 进入生理环境的任何纳米材料都会吸附蛋白质, 但是其吸附的蛋白质种类以及形成的“蛋白冠”的结构和组成依赖于纳米材料的合成特性. 这些合成特性主要是化学组成、形貌和表面曲率^[23]. 研究表明, 相比于亲水性和中性纳米颗粒, 疏水性和带电荷的颗粒表面吸附更多的蛋白质, 且更易引起吸附的蛋白质变性^[31]. 因此, 通过合成过程调控纳米材料的物理化学特性, 能够调控其蛋白质吸附特

性, 进而降低其毒性, 提高生物利用度.

2 尺寸

纳米材料的尺寸决定了其比表面积大小, 进而影响其与细胞和机体作用的方式和毒性. 首先, 尺寸影响纳米颗粒进入细胞的内吞方式. 例如, HeLa 细胞对金纳米颗粒的摄取依赖于其尺寸大小^[32]. 而一些金属氧化物如氧化铁纳米颗粒, 在细胞外培养体系中稳定存在, 而进入细胞之后存在不同程度的团聚, 颗粒的尺寸变大, 这种在细胞内的团聚效应能够增加其作为磁共振显像对照试剂的信号强度^[33].

研究认为, 较大的颗粒(>5 μm)主要通过经典的吞噬作用和巨胞饮作用, 而亚微米的颗粒主要通过受体介导的内吞机制, 其依赖的受体类型与尺寸有

关^[34]。其次,细胞对纳米材料的摄取也存在尺寸选择性。两种主要的抗原呈递细胞,巨噬细胞和树突状细胞(DC)对颗粒的摄取也与尺寸有关。DC和巨噬细胞均能摄取小于1 μm的颗粒,而较大的颗粒只有巨噬细胞能够处理。即DC更有效地摄取尺寸与病毒相当的纳米颗粒,而巨噬细胞主要摄取与细菌尺寸相当的微米颗粒^[35]。

纳米材料的尺寸同样影响其在体内的毒性作用,如Oberdorster等人^[36]发现吸入25 nm的TiO₂纳米颗粒,相比于250 nm的颗粒诱导更强的肺部炎症反应。对于惰性的金纳米颗粒,静脉注射小于50 nm的颗粒能够迅速扩散到全身组织,而100~200 nm的颗粒则迅速被网状内皮系统捕获^[37,38]。对碳纳米管(CNTs)的研究表明,细胞对CNTs的内吞方式依赖于其尺寸和表面修饰^[39]。CNTs在体内的分布和毒性也依赖于尺寸,Wick等人^[40]发现聚集的CNTs比分散良好的CNTs具有更大的毒副作用,能够改变间皮瘤细胞的形态和功能,产生类似石棉的效应。Park等人^[41]连续14 d给小鼠口服银纳米颗粒,研究其生物分布、毒性以及炎症反应,发现只有粒径较小的纳米颗粒(22, 42, 71 nm)能够分布于脑、肺、肝、肾等脏器,而较大的颗粒(323 nm)则不能被小肠吸收进入血液循环。同时,较小的纳米银能够增加血清炎性因子水平并引起肝、肾的组织病理损伤。

临床和实验研究表明,随着纳米材料的尺寸减小,产生的ROS增加。纳米颗粒表面的电子供体或受体与分子氧反应,生成超氧阴离子或羟基自由基,进一步氧化其他生物分子。这对过渡金属及金属氧化物纳米材料引起的组织损伤和炎症尤其重要。例如,Carlson等人^[42]报道银纳米颗粒能够以一种尺寸依赖的方式增加大鼠肺泡巨噬细胞炎性细胞因子的表达。Park等人^[43]研究了三种尺寸的银纳米颗粒(4, 20, 70 nm)对人巨噬细胞系U937的促炎症以及毒性效应,发现只有4 nm的颗粒表现出最高的细胞毒性、氧化应激水平以及促炎性因子IL-8的分泌。

3 形状

形状和长径比也是决定纳米材料毒性的关键因素。纳米材料可以制备成各种形状,包括球状、管状、纤维状、环形以及平板状。纳米材料的形状首先影响其与细胞膜的相互作用,进而影响细胞的摄入和内吞^[44]。哺乳动物细胞对纳米材料的摄入主要通过内

吞的主动转运方式,即通过细胞质膜内陷形成囊泡,将外界物质包裹,随后从膜上脱落将物质输入细胞的过程。纳米材料的形状影响内吞过程中细胞膜的弯曲。Champion等人^[45]发现球形纳米颗粒比杆状和纤维状纳米材料更易被细胞内吞。

对于具有一定长径比的纳米材料,长径比对其生物效应和毒性也有显著的影响。例如,Poland等人^[46]报道腹腔注射较长的多壁碳纳米管(MWCNTs)能引起腹腔炎症,而较短的MWCNTs由于被巨噬细胞快速摄取和清除,没有引起腹腔炎症。Meng等人^[47]采用大鼠肾上腺嗜铬细胞瘤细胞PC12(一种类神经元细胞系)比较了不同长短的MWCNTs的毒性作用,发现长度较短(0.5~2 μm)的CNTs在10及30 μg/mL浓度时,不仅对细胞没有明显的毒性效应,而且具有显著的促神经细胞分化的作用。深入研究显示,相比于长的MWCNTs,短的MWCNTs具有较高的细胞内吞,且有外排过程,并在分子水平上影响神经生长因子信号通路,进而促进神经细胞的分化。

Qiu等人^[48]研究了不同形状和长径比的金纳米材料,发现乳腺癌细胞MCF-7对纳米材料的摄取具有形状依赖性。随着长径比增加,细胞摄入的纳米颗粒减少(图3)。Chithrani等人^[49]也报道74 nm×14 nm的金纳米棒的细胞摄取速率小于直径74或14 nm的球形纳米颗粒。对TiO₂的研究也有类似的结果,即具有较大长径比的纤维状结构比球形结构具有更大的细胞毒性。Hamilton等人^[50]发现15比5 μm长度的纳米纤维对肺巨噬细胞表现出更大的细胞毒性,且能够引起肺部炎症反应。

4 表面电荷

表面电荷影响纳米材料对离子和生物分子的吸附,进而影响细胞和生物体对纳米材料的反应。同时,表面电荷是纳米颗粒胶体行为的主要决定因素,通过影响纳米颗粒的聚集和团聚行为影响纳米材料的生物效应^[51]。通常认为,阳离子表面比阴离子表面的纳米材料有更大的毒性,并且进入血液循环之后更易引起溶血和血小板沉积,而中性表面的纳米材料表现出较好的生物相容性^[52]。一般认为,这是由于纳米材料的阳离子表面更易与细胞膜的负电荷磷脂头部结合。纳米材料的表面电荷也影响其对体内蛋白质等生物大分子的吸附,进而影响其在体内的组织分布和清除。

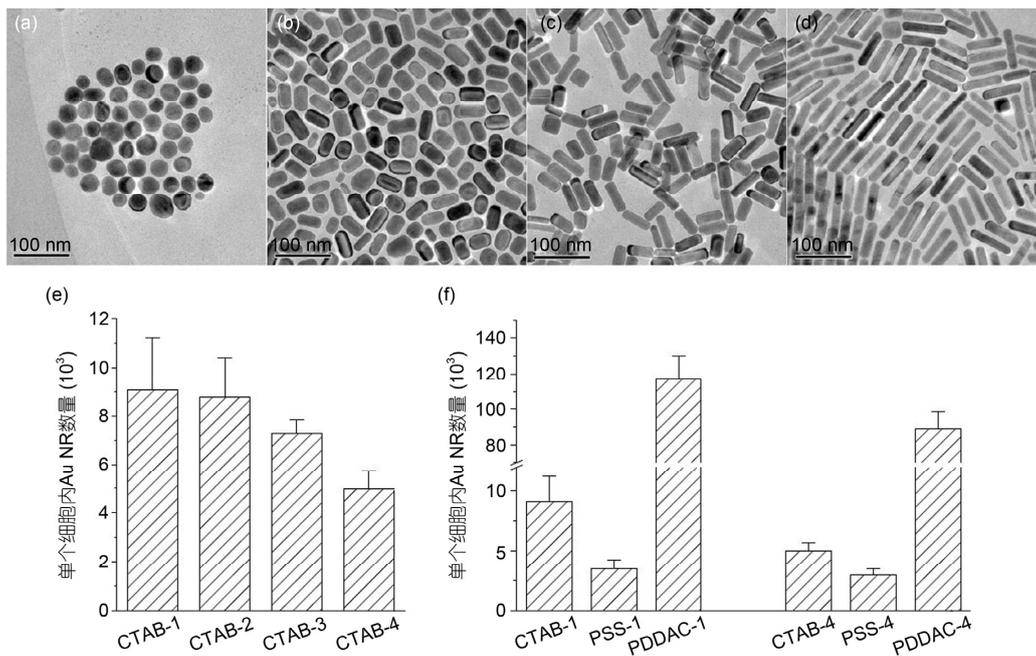


图3 长径比和表面修饰对 MCF-7 细胞摄入金纳米材料的影响

(a)~(d) CTAB 包裹的不同长径比的 Au NRs 的透射电子显微镜(TEM)照片: (a) CTAB-1, (b) CTAB-2, (c) CTAB-3, (d) CTAB-4; 长径比(e)和表面修饰(f)对 MCF-7 细胞摄入金纳米材料的影响^[48]

Liu 等人^[53]用人宫颈癌 HeLa 细胞和正常的小鼠胚胎成纤维细胞 NIH 3T3 为模型,研究了羧基和氨基表面修饰的聚苯乙烯(PS)纳米颗粒对细胞周期的影响(图 4),发现 50 nm 的氨基化 PS 引起细胞周期 G1 期延迟和降低细胞周期蛋白 D, E 的表达.同时,氨基化 PS 表现出更高的细胞毒性,能够破坏细胞膜完整性. Saxena 等人^[54]报道羧基修饰的 SWCNTs 相比于未修饰 SWCNTs,对 CD1 小鼠表现出更大的体内毒性,这种毒性可能归因于修饰的 SWCNTs 具有更好的分散性和表面负电荷. Pietroiusti 等人^[55]用孕鼠模型研究 SWCNTs 的生殖毒性,发现羧基修饰的 SWCNTs 也比未修饰 SWCNTs 更易导致小鼠胎儿畸形.

纳米材料的电荷性质也影响其穿透生物屏障的能力,研究发现,50 nm 和 500 nm 的表面正电荷颗粒可以渗透进入皮肤,而同样尺寸的表面带负电荷的颗粒以及中性颗粒均不能渗透进入皮肤^[56]. 纳米颗粒的表面电荷可以影响血脑屏障的完整性和通透性,高浓度的带电荷纳米颗粒能导致血脑屏障的完整性受到损伤^[57]. Geys 等人^[58]研究了氨基化的正电荷量子点(QDs)和羧基化的负电荷量子点的体内毒性,通过静脉注射,羧基化 QDs 引起更为严重的肺部血管栓塞.

5 化学组成

相比于纳米材料的尺寸和表面电荷,化学组成对其细胞生物效应有更本质的影响.例如,不同金属或金属氧化物纳米材料诱导细胞产生活性氧的能力不同,进而产生的细胞毒性不同^[59]. Wan 等人^[60]研究了纳米钴和纳米二氧化钛产生活性氧的能力以及基因毒性,发现纳米钴能够诱导人肺癌 A549 细胞产生活性氧并引起 DNA 损伤,而纳米二氧化钛没有产生上述效应.

对贵金属纳米颗粒金和银的毒性效应也有许多报道. Yen 等人^[61]比较了三种不同尺寸的金和银纳米颗粒对 J774 A1 巨噬细胞的毒性和促炎症效应,发现两种纳米颗粒在浓度大于 10 ppm (1 ppm=1 $\mu\text{g g}^{-1}$, 余同)时都具有显著的细胞毒性效应,且均能够被巨噬细胞摄取,但是只有金纳米颗粒能够增加巨噬细胞促炎症因子 IL-1, IL-6 和 TNF- α 的表达.

Harper 等人^[62]用斑马鱼胚胎模型研究了 11 种尺寸相同的纳米颗粒的毒性,包括氧化铝、二氧化钛、氧化锆、氧化钆、氧化镉、氧化钽、氧化钪、氧化铟、氧化铋、二氧化硅以及铝掺杂的氧化铈纳米颗粒. 斑马鱼胚胎暴露于含纳米颗粒的水中 5 d 之后, 50 ppm

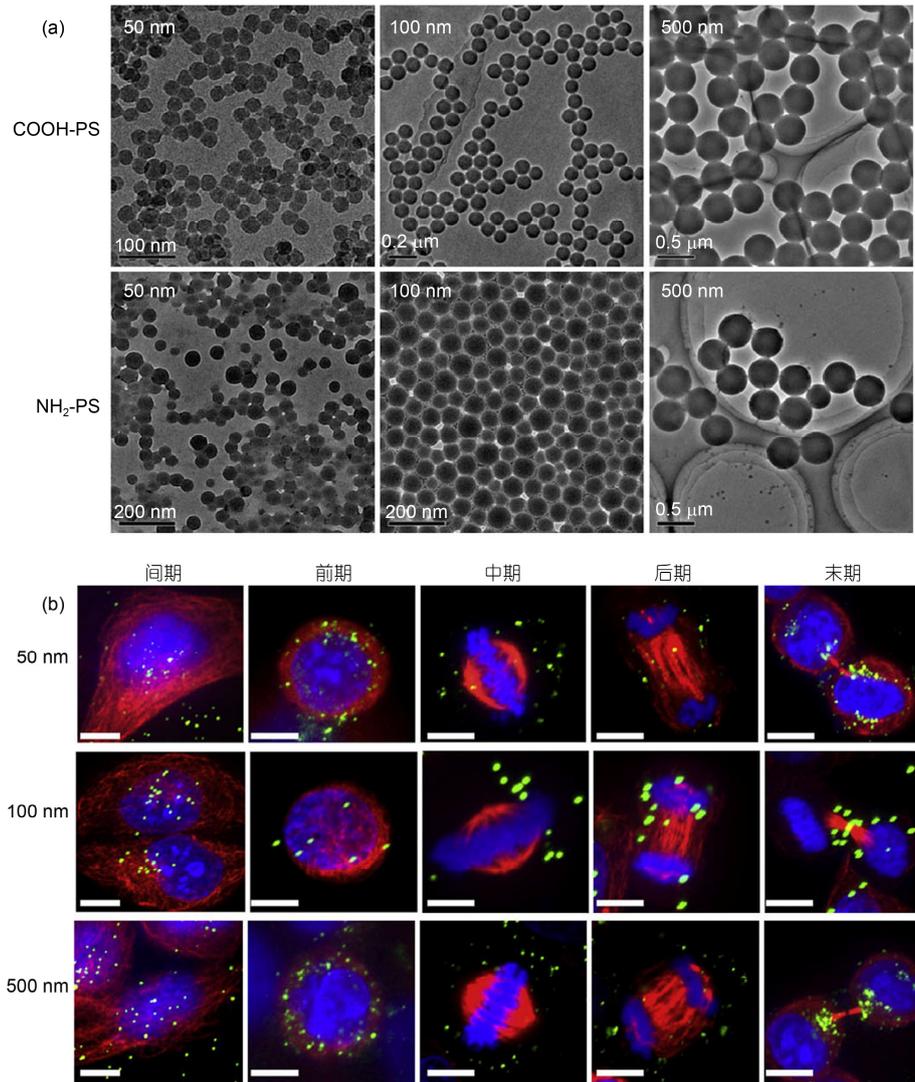


图4 不同尺寸和表面修饰的聚苯乙烯(PS)纳米颗粒对 HeLa 细胞周期的影响

(a) 不同尺寸羧基和氨基表面修饰的 PS 纳米颗粒的 TEM 照片; (b) 不同细胞周期的 HeLa 细胞微管(红色)与羧基修饰的 PS 纳米颗粒(绿色)在细胞内的定位^[53]

的氧化钆和氧化钪纳米颗粒引起显著的致死率,且 250 ppm 的氧化钷、氧化钆、氧化镨纳米颗粒能够引起斑马鱼胚胎畸形,而其他纳米材料没有引起显著的毒性效应。

相同化学组成的纳米材料,晶体结构不同,也会影响其生物效应。例如, TiO_2 纳米颗粒的细胞毒性与其晶体结构相关。Sayes 等人^[63]发现锐钛矿型比金红石型 TiO_2 纳米颗粒的细胞毒性大 100 倍;同时,晶型也影响其致细胞死亡的方式。锐钛矿型纳米颗粒主要引起细胞坏死,而金红石型通过产生活性氧诱导细胞凋亡^[64]。Wang 等人^[65]通过鼻腔滴注的方法给小

鼠注射两种晶型的 TiO_2 纳米颗粒,检测小鼠脑部 TiO_2 的含量,并对脑组织进行氧化损伤和病理学检查。发现 TiO_2 纳米颗粒能够在脑组织中沉积,在海马区含量较高;沉积的纳米颗粒引起脑组织脂质过氧化和蛋白质氧化,增加谷胱甘肽和一氧化氮的释放。锐钛矿型 TiO_2 引起更高的毒性效应,且具有时间效应,随着时间延长,纳米颗粒的沉积增加,并能通过上调 $\text{TNF-}\alpha$ 和 $\text{IL-1}\beta$ 的表达引起炎症反应^[66]。

6 表面修饰

通过表面修饰可以调节纳米材料的生物效应。

表面修饰的首要作用是稳定纳米颗粒的胶体溶液,减少或防止其团聚和聚沉,以利于对其生物效应的研究和应用;其次可以减少纳米材料组成离子的释放,减少不良生物效应;第三,纳米材料的合理表面修饰可以减少其与生理介质中生物大分子的相互作用,减少蛋白冠的形成,例如,减少血清蛋白质对纳米颗粒的“调理作用”,进而减少网状内皮系统对纳米颗粒的捕获,增加其生物利用度。

纳米材料的不同表面修饰引起不同的生物效应及毒性. Li 等人^[67]发现不同手性谷胱甘肽修饰的量子点,对人肝癌上皮细胞 HepG2 自噬活性的影响不同,因此产生不同的细胞毒性. Xu 等人^[68]研究了三种不同表面修饰的金纳米棒(Au NRs)对免疫系统的作用,发现表面修饰对其免疫效应有显著影响. 其中,聚二烯丙基二甲基氯化铵(PDDAC)和聚乙烯亚胺(PEI)修饰的 Au NRs 显著诱导艾滋病毒膜蛋白编码基因的体液和细胞免疫应答,并能够在体外刺激树突状细胞成熟. 而十六烷基三甲基溴化铵(CTAB)修饰的 Au NRs 则引起显著的细胞毒性,且不能引起有效的免疫应答. 不同的表面修饰也会影响细胞对纳米材料的摄取, Qiu 等人^[48]研究了上述三种 Au NRs

被人乳腺癌细胞 MCF-7 细胞的内存,发现表面修饰对 Au NRs 的细胞内存起主要作用,只有 PDDAC-Au NRs 表现出最有效的细胞内存和最小的细胞毒性(图 3). Wang 等人^[69]以肺组织相关的几类细胞,如正常的人支气管上皮细胞(16HBE)、人肺癌上皮细胞(A549)、大鼠原代间充质干细胞(MSC)为模型,发现 CTAB 修饰的 Au NRs 可以选择性地定位于肺癌 A549 细胞的线粒体,降低线粒体膜电势并增加细胞活性氧水平,诱导肿瘤细胞凋亡;而对于正常的 16HBE 和 MSC 细胞, Au NRs 主要定位于溶酶体中,并能被细胞外排,对细胞没有表现出毒性作用. 这是由于不同类型的细胞对金纳米棒的内存、胞内转运途径以及溶酶体对 Au NRs 表面分子 CTAB 的耐受性存在明显的差异. 这种差异导致肿瘤细胞中 Au NRs 蓄积在线粒体中,从而降低了线粒体膜电位,引起胞内氧化应激水平增加,最终导致细胞死亡(图 5).

聚乙二醇 PEG 是美国 FDA 批准的生物相容性聚合物,被用于多种纳米材料的表面修饰,以提高纳米颗粒在血液中的循环时间,减少系统清除. Ballou 等人^[70]用不同分子量的 PEG 修饰量子点,发现低分子量 PEG (750 Da)修饰的量子点在静脉注射 1 h 之后迅

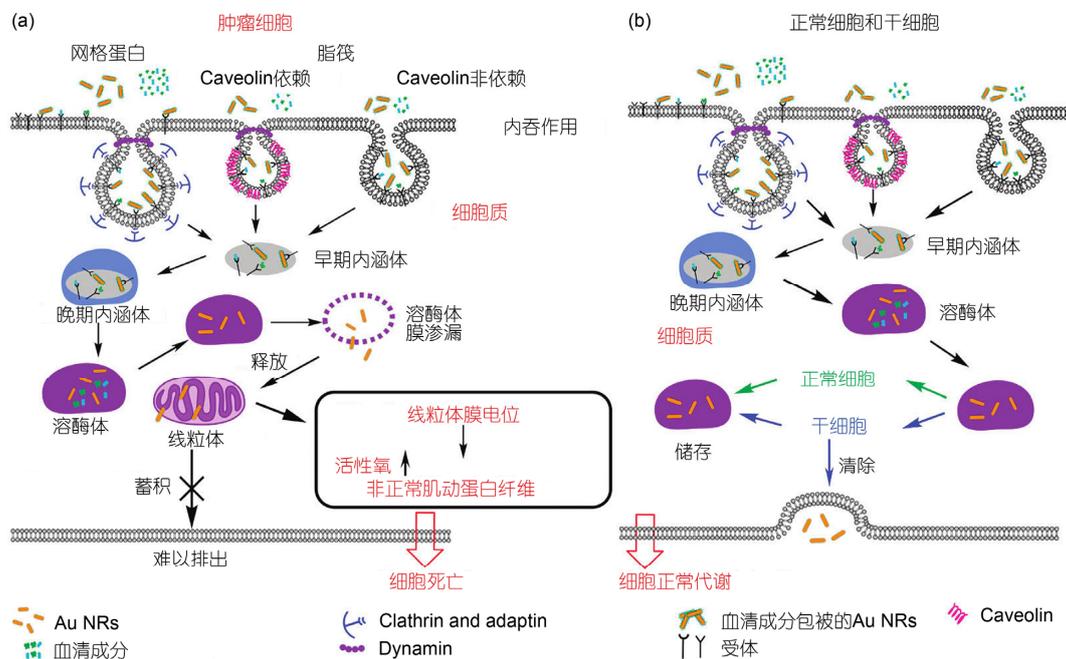


图 5 AuNRs 在不同类型细胞中的不同转运方式引起的细胞毒性差异

(a) 人肺癌细胞 A549 摄入 Au NRs 增加了溶酶体膜通透性,使 Au NRs 被释放到胞浆,继而靶向线粒体造成线粒体损伤,最终导致细胞死亡;(b) 人正常支气管上皮细胞 16HBE 和大鼠原代间充质干细胞摄入的 Au NRs 能稳定存在于溶酶体中并被细胞外排,对细胞代谢无明显影响^[69]

速从系统清除,但是高分子量(5000 Da)修饰的量子点在 3 h 之后仍存在于血液循环中.表面修饰同样对碳纳米管的生物效应影响显著. Yang 等人^[71]用 PEG 修饰 SWCNTs,可以显著改善其药物动力学性质,延长其血液半衰期. Lacerda 等人^[72]将二亚乙基三胺五乙酸修饰的 MWCNTs 通过尾静脉注射到小鼠体内,能够达到很高的清除效率.

7 金属杂质

在纳米材料的制备过程中,可能用到金属催化剂,因此会引入一些金属杂质.尤其对于化学气相沉积方法制备的碳纳米管,可能会含有过渡金属催化剂如 Fe, Y, Ni, Mo, Co 等.越来越多的研究表明,金属杂质的存在是碳纳米管毒性的一个重要原因^[73].在细胞培养体系和生理介质中, CNTs 中的金属会释放出来增加 CNTs 的毒性.研究表明,商业的 SWCNTs 和 MWCNTs (含有 Fe, Co, Mo 和 Ni)能够穿过细胞膜,以剂量和时间依赖的方式增加细胞内活性氧水平,同时降低线粒体膜电位,而高度纯化的 CNTs 则没有上述细胞毒性^[74].细胞内的谷胱甘肽作为有效的抗氧化剂,在氧化应激过程中具有细胞保护的作用,SWCNTs 中的氧化镍能够影响谷胱甘肽的氧化还原特性,增加细胞毒性^[75].

由于 CNTs 中金属杂质和无定形碳的存在,影响 CNTs 毒性的主要因素还存在一定的争议. Ge 等人^[76]

定量研究了金属杂质和管状结构对 CNTs 毒性的贡献,实验发现有相当量的金属溶出释放到溶液中,释放的量与生物微环境的性质和金属种类有关(图 6).用电子自旋共振波谱检测发现,含有金属杂质和通过酸处理去除部分金属杂质的 CNTs 均能产生羟基自由基,羟基自由基与 Fe 金属杂质的含量呈正相关. Fe 在产生羟基自由基的过程中发挥主要作用,能够增加细胞内活性氧的产生进而损伤细胞活力.当浓度小于 80 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时, CNTs 的管状结构对细胞活力没有显著影响. Meng 等人^[77]比较了不同 Fe 杂质含量的 MWCNTs 对 PC12 细胞的毒性,发现高 Fe 含量的材料对细胞的毒性较大,能够破坏细胞骨架,减少神经突的形成,并抑制神经细胞分化.

8 团聚与分散性

团聚和分散性影响纳米材料在生物微环境中的尺寸和形状,因此也是影响纳米材料毒性的重要因素.纳米材料由于较大的比表面积和较高的表面能,容易发生聚集和团聚,形成较大的颗粒,且造成纳米材料粒径的不均一性.因此在评价纳米材料毒性时,必须考虑到纳米材料的团聚.例如, CNTs 能够引起肺部损伤和炎症.这种损伤是由于 CNTs 形成的较大的聚集体沉积在气道中^[78]. Liu 等人^[79]发现单分散的 CNTs 比聚集状态的 CNTs 对细菌表现出更强的毒性. Wick 等人^[40]发现分散良好的 CNTs 比石棉的毒性更

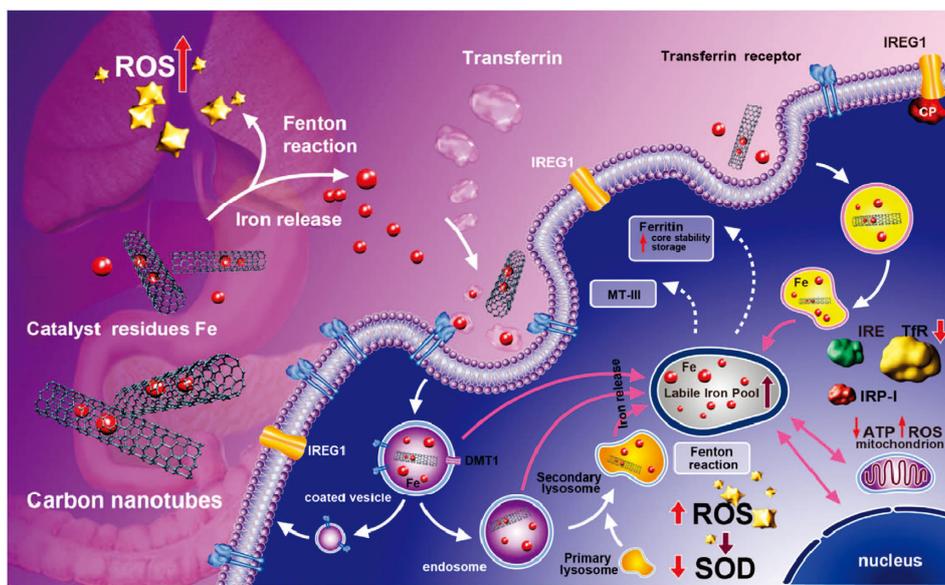


图 6 CNTs 和金属杂质的细胞内转运以及细胞毒性的分子机制^[76]

小, 而 CNTs 的绳索状聚集体的毒性大于同样浓度的石棉纤维. 聚集的 CNTs 具有更大的硬度和刚性, 而单分散的 CNTs 具有更好的弹性和柔性. 因此, CNTs 的毒性至少部分依赖于其聚集程度. Bermudez 等人^[80]报道大鼠吸入 21 nm 的 TiO₂ 能够引起肺部毒性, 尽管纳米颗粒的原始尺寸为 21 nm, 但是所形成的气溶胶中颗粒尺寸为 1.37 μm. 同样, 团聚尺寸为 1.44 μm 的 TiO₂ 气溶胶比同样团聚尺寸而原始粒径较大的 TiO₂ 气溶胶具有更大的肺部毒性. Grassian 等人^[81]发现在气管滴注和吸入实验中, 21 比 5 nm 的 TiO₂ 颗粒均表现出更大的毒性. 他们认为这是由于较大的颗粒所形成的聚集体由于颗粒间的结合力较弱而易解聚. 同时, 在实验中观察到气管滴注比吸入 TiO₂ 纳米颗粒的毒性更大, 这是由于在吸入实验中所制备的气溶胶比水分散液所形成的纳米颗粒聚集体更大. 因此在实际的研究中, 要考虑纳米材料的团聚和分散性能, 对材料在生理环境中的实际聚集状况进行详细的表征.

9 降解性能

纳米材料的降解是研究纳米材料毒性需要考虑的一个重要因素. 当纳米材料在体内不能降解, 长期蓄积于特定的组织和器官时, 可能会产生毒性作用. 因此, 采用模式生物对纳米材料在体内的分布和长期毒性进行研究十分必要.

对于可生物降解的纳米材料, 要考虑材料降解之后的成分对机体的毒性作用. 作为磁共振成像的对照试剂, 超顺磁性氧化铁(SPIO)纳米颗粒在生物医学上具有广泛的应用. SPIO 具有生物降解性能, 在细胞内可以通过铁代谢途径被利用, 实验发现经静脉注射之后血清中铁含量瞬时性升高^[82]. 但是, 铁离子有产生氧化应激的风险, 因此在实际应用中应避免高剂量或短时间内重复注射, 以避免铁代谢的超负荷. 介孔二氧化硅纳米颗粒(MSN)是具有蜂窝状孔结构的纳米材料, 由于具有规整的孔网络和较大的孔体积, 使其成为有效的药物载体. 为研究 MSN 的降解性能, Cauda 等人^[83]用模拟的人血浆与 MSN 共同孵育, 发现未修饰和三种有机物表面修饰的 MSN 在血浆中均能发生部分降解, 导致孔堵塞和介孔结构消失, 并能观察到模拟血浆中无机物沉积在 MSN 表面. Zhai 等人^[84]研究了人脐静脉内皮细胞 HUVEC 对 MSN 的降解作用, 发现 MSN 能被细胞降

解, 降解首先发生在胞浆和溶酶体中, 随后只发生在溶酶体中, 同时, 细胞培养液中 Si 的含量随时间增加, 这表明细胞降解 MSN 产生的 Si 能够被排出到细胞外.

碳纳米管具有独特的性质和广泛应用, 然而由于细胞毒性的存在^[85], 其生物降解性能也受到广泛关注. Allen 等人^[86,87]报道一种天然存在的酶——辣根过氧化物酶, 在低浓度 H₂O₂ 存在下, 可以缓慢降解 SWCNTs 的管状结构. Zhao 等人^[88]也报道这种酶同样可以降解 MWCNTs, 且能够对管状结构进行层层降解, 管壁缺陷的存在能够加速降解过程. Kagan 等人^[89]发现, 人的中性粒细胞髓过氧化物酶也可以降解 SWCNTs, 经过降解之后的材料经吸入后不会引起小鼠肺部的炎症反应.

量子点具有优良的光学特性, 在体内外的实时动态检测中具有广泛的应用前景, 同时量子点的毒性与降解特性也引起了极大的关注. Qu 等人^[90]使用秀丽线虫(*C. elegans*)模型, 结合同步辐射技术如 X 射线原位微区元素成像与化学结构分析技术, 研究量子点在体内的代谢与降解过程和长期毒理效应. 量子点经摄食进入并积累在秀丽线虫消化系统, 进入消化道内皮细胞并定位于溶酶体, 长期蓄积的量子点能够从消化系统向生殖系统迁移, 并导致生殖障碍和子代发育毒性. 而另一种被广泛关注的纳米材料——金纳米棒则在体内长期稳定存在, 不会发生降解^[91,92]. 因此, 研究纳米材料的毒性和生物效应需要首先对其降解性能进行深入了解.

10 总结与展望

纳米材料的毒性具有不同于小分子及块体材料的特殊性, 决定于纳米材料特殊的物理化学性质. 纳米毒理学的研究经历了近十年的发展, 已经进入了系统深入阐明生物效应机制的阶段. 目前比较认可的毒性机制有氧化应激和炎症反应. 进一步系统深入研究纳米材料与生物大分子、细胞以及器官之间的相互作用, 对纳米材料的合理设计和安全应用有重要的指导意义.

纳米材料自身的物理化学性质对其生物效应有着决定性影响, 这些性质包括尺寸、形状、表面电荷、化学组成、表面修饰、金属杂质、团聚与分散性、降解性能以及蛋白冠的形成等. 纳米材料的“合成特性”决定其“生物特性”, 包括蛋白冠的组成和结构、团聚与分散性等. 因此, 通过合理的合成设计, 能够

调控纳米材料的生物效应,降低毒性作用。

免疫系统作为识别外源物质的第一道屏障,对纳米材料的识别和应答起关键作用^[93]。这对于纳米药物载体尤为重要,药物载体需要避开非特异性免

疫系统的捕获,将药物送达预定的靶点。因此,研究免疫系统对纳米材料的识别、应答以及纳米材料的免疫毒性,对了解纳米材料在生物体内的行为具有十分重要的意义。

参考文献

- 1 Farokhzad O C, Langer R. Impact of nanotechnology on drug delivery. *ACS Nano*, 2009, 3: 16–20
- 2 Mahmoudi M, Azadmanesh K, Shokrgozar M A, et al. Effect of nanoparticles on the cell life cycle. *Chem Rev*, 2011, 111: 3407–3432
- 3 Zhao Y, Xing G, Chai Z. Nanotoxicology: Are carbon nanotubes safe? *Nat Nanotech*, 2008, 3: 191–192
- 4 Shvedova A A, Kagan V E, Fadeel B. Close encounters of the small kind: Adverse effects of man-made materials interfacing with the nano-cosmos of biological systems. *Ann Rev Pharmacol*, 2010, 50: 63–88
- 5 Donaldson K, Stone V, Tran C L, et al. Nanotoxicology. *Occup Environ Med*, 2004, 61: 727–728
- 6 Oberdorster G, Oberdorster E, Oberdorster J. Nanotoxicology: An emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles. *Environ Health Persp*, 2005, 113: 823–839
- 7 Li Y F, Chen C. Fate and toxicity of metallic and metal-containing nanoparticles for biomedical applications. *Small*, 2011, 7: 2965–2980
- 8 Liu Q, Berchner-Pfannschmidt U, Moller U, et al. A fenton reaction at the endoplasmic reticulum is involved in the redox control of hypoxia-inducible gene expression. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101: 4302–4307
- 9 Xia T, Kovochich M, Brant J, et al. Comparison of the abilities of ambient and manufactured nanoparticles to induce cellular toxicity according to an oxidative stress paradigm. *Nano Lett*, 2006, 6: 1794–1807
- 10 Lao F, Chen L, Li W, et al. Fullerene nanoparticles selectively enter oxidation-damaged cerebral microvessel endothelial cells and inhibit JNK-related apoptosis. *ACS Nano*, 2009, 3: 3358–3368
- 11 Lao F, Li W, Han D, et al. Fullerene derivatives protect endothelial cells against NO-induced damage. *Nanotechnology*, 2009, 20: 225103–225111
- 12 Li Y, Liu Y, Fu Y, et al. The triggering of apoptosis in macrophages by pristine graphene through the MAPK and TGF-beta signaling pathways. *Biomaterials*, 2012, 33: 402–411
- 13 Zhou H, Zhao K, Li W, et al. The interactions between pristine graphene and macrophages and the production of cytokines/chemokines via TLR- and NF-KB-related signaling pathways. *Biomaterials*, 2012, 33: 6933–6942
- 14 Lunov O, Syrovets T, Loos C, et al. Amino-functionalized polystyrene nanoparticles activate the NLRP3 inflammasome in human macrophages. *ACS Nano*, 2011, 5: 9648–9657
- 15 Yang E J, Kim S, Kim J S, et al. Inflammasome formation and IL-1 beta release by human blood monocytes in response to silver nanoparticles. *Biomaterials*, 2012, 33: 6858–6867
- 16 Eisenbarth S C, Colegio O R, O'Connor W, et al. Crucial role for the Nalp3 inflammasome in the immunostimulatory properties of aluminium adjuvants. *Nature*, 2008, 453: 1122–1126
- 17 Van Z M, Granum B. Adjuvant activity of particulate pollutants in different mouse models. *Toxicology*, 2000, 152: 69–77
- 18 Nel A, Xia T, Madler L, et al. Toxic potential of materials at the nanolevel. *Science*, 2006, 311: 622–627
- 19 Stern S T, Adiseshiaiah P P, Crist R M. Autophagy and lysosomal dysfunction as emerging mechanisms of nanomaterial toxicity. *Part Fibre Toxicol*, 2012, 9: 20–34
- 20 Kuballa P, Nolte W M, Castoreno A B, et al. Autophagy and the immune system. *Ann Rev Immunol*, 2012, 30: 611–646
- 21 Levine B, Mizushima N, Virgin H W. Autophagy in immunity and inflammation. *Nature*, 2011, 469: 323–335
- 22 Hussain S, Al-Nsour F, Rice A B, et al. Cerium dioxide nanoparticles induce apoptosis and autophagy in human peripheral blood monocytes. *ACS Nano*, 2012, 6: 5820–5829
- 23 Walkey C D, Chan W C W. Understanding and controlling the interaction of nanomaterials with proteins in a physiological environment. *Chem Soc Rev*, 2012, 41: 2780–2799
- 24 Vroman L, Adams A L, Fischer G C, et al. Interaction of high molecular-weight kininogen, factor-Xii, and fibrinogen in plasma at interfaces. *Blood*, 1980, 55: 156–159
- 25 Goppert T M, Muller R H. Adsorption kinetics of plasma proteins on solid lipid nanoparticles for drug targeting. *Int J Pharmaceut*, 2005, 302: 172–186
- 26 Blunk T, Luck M, Calvor A, et al. Kinetics of plasma protein adsorption on model particles for controlled drug delivery and drug targeting. *Eur J Pharm Biopharm*, 1996, 42: 262–268

- 27 Ehrenberg M S, Friedman A E, Finkelstein J N, et al. The influence of protein adsorption on nanoparticle association with cultured endothelial cells. *Biomaterials*, 2009, 30: 603–610
- 28 Lunov O, Syrovets T, Loos C, et al. Differential uptake of functionalized polystyrene nanoparticles by human macrophages and a monocytic cell line. *ACS Nano*, 2011, 5: 1657–1669
- 29 Chonn A, Semple S C, Cullis P R. Association of blood proteins with large unilamellar liposomes *in vivo*. Relation to circulation lifetimes. *J Biol Chem*, 1992, 267: 18759–18765
- 30 Ge C C, Du J F, Zhao L N, et al. Binding of blood proteins to carbon nanotubes reduces cytotoxicity. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108: 16968–16973
- 31 Roach P, Farrar D, Perry C C. Interpretation of protein adsorption: Surface-induced conformational changes. *J Am Chem Soc*, 2005, 127: 8168–8173
- 32 Hauck T S, Ghazani A A, Chan W C W. Assessing the effect of surface chemistry on gold nanorod uptake, toxicity, and gene expression in mammalian cells. *Small*, 2008, 4: 153–159
- 33 Soenen S J H, Himmelreich U, Nuytten N, et al. Intracellular nanoparticle coating stability determines nanoparticle diagnostics efficacy and cell functionality. *Small*, 2010, 6: 2136–2145
- 34 Zhao F, Zhao Y, Liu Y, et al. Cellular uptake, intracellular trafficking, and cytotoxicity of nanomaterials. *Small*, 2011, 7: 1322–1337.
- 35 Gamvrellis A, Leong D, Hanley J C, et al. Vaccines that facilitate antigen entry into dendritic cells. *Immunol Cell Biol*, 2004, 82: 506–516
- 36 Oberdorster G, Ferin J, Lehnert B E. Correlation between particle-size, *in vivo* particle persistence, and lung injury. *Environ Health Persp*, 1994, 102: 173–179
- 37 Sonavane G, Tomoda K, Sano A, et al. *In vitro* permeation of gold nanoparticles through rat skin and rat intestine: Effect of particle size. *Colloid Surface B*, 2008, 65: 1–10
- 38 De J W H, Hagens W I, Krystek P, et al. Particle size-dependent organ distribution of gold nanoparticles after intravenous administration. *Biomaterials*, 2008, 29: 1912–1919
- 39 Kostarelos K, Lacerda L, Pastorin G, et al. Cellular uptake of functionalized carbon nanotubes is independent of functional group and cell type. *Nat Nanotech*, 2007, 2: 108–113
- 40 Wick P, Manser P, Limbach L K, et al. The degree and kind of agglomeration affect carbon nanotube cytotoxicity. *Toxicol Lett*, 2007, 168: 121–131
- 41 Park E J, Bae E, Yi J, et al. Repeated-dose toxicity and inflammatory responses in mice by oral administration of silver nanoparticles. *Environ Toxicol Pharmacol*, 2010, 30: 162–168
- 42 Carlson C, Hussain S M, Schrand A M, et al. Unique cellular interaction of silver nanoparticles: Size-dependent generation of reactive oxygen species. *J Phys Chem B*, 2008, 112: 13608–13619
- 43 Park J, Lim D H, Lim H J, et al. Size dependent macrophage responses and toxicological effects of Ag nanoparticles. *Chem Commun*, 2011, 47: 4382–4384
- 44 Verma A, Stellacci F. Effect of surface properties on nanoparticle-cell interactions. *Small*, 2010, 6: 12–21
- 45 Champion J A, Mitragotri S. Role of target geometry in phagocytosis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103: 4930–4934
- 46 Poland C A, Duffin R, Kinloch I, et al. Carbon nanotubes introduced into the abdominal cavity of mice show asbestos-like pathogenicity in a pilot study. *Nat Nanotech*, 2008, 3: 423–428
- 47 Meng L, Chen R, Jiang A, et al. Carbon nanotubes: Short multiwall carbon nanotubes promote neuronal differentiation of PC12 cells via up-regulation of the neurotrophin signaling pathway. *Small*, 2013, 9: 1786–1798
- 48 Qiu Y, Liu Y, Wang L M, et al. Surface chemistry and aspect ratio mediated cellular uptake of Au nanorods. *Biomaterials*, 2010, 31: 7606–7619
- 49 Chithrani B D, Ghazani A A, Chan W C W. Determining the size and shape dependence of gold nanoparticle uptake into mammalian cells. *Nano Lett*, 2006, 6: 662–668
- 50 Hamilton R F, Wu N Q, Porter D, et al. Particle length-dependent titanium dioxide nanomaterials toxicity and bioactivity. *Part Fibre Toxicol*, 2009, 6: 35–45
- 51 Hoshino A, Fujioka K, Oku T, et al. Physicochemical properties and cellular toxicity of nanocrystal quantum dots depend on their surface modification. *Nano Lett*, 2004, 4: 2163–2169
- 52 Goodman C M, McCusker C D, Yilmaz T, et al. Toxicity of gold nanoparticles functionalized with cationic and anionic side chains. *Bioconjugate Chem*, 2004, 15: 897–900
- 53 Liu Y X, Li W, Lao F, et al. Intracellular dynamics of cationic and anionic polystyrene nanoparticles without direct interaction with mitotic spindle and chromosomes. *Biomaterials*, 2011, 32: 8291–8303
- 54 Saxena R K, Williams W, Mcgee J K, et al. Enhanced *in vitro* and *in vivo* toxicity of poly-dispersed acid-functionalized single-wall carbon nanotubes. *Nanotoxicology*, 2007, 1: 291–300

- 55 Pietroiusti A, Massimiani M, Fenoglio I, et al. Low doses of pristine and oxidized single-wall carbon nanotubes affect mammalian embryonic development. *ACS Nano*, 2011, 5: 4624–4633
- 56 Kohli A K, Alpar H O. Potential use of nanoparticles for transcutaneous vaccine delivery: Effect of particle size and charge. *Int J Pharmaceut*, 2004, 275: 13–17
- 57 Lockman P R, Koziara J M, Mumper R J, et al. Nanoparticle surface charges alter blood-brain barrier integrity and permeability. *J Drug Target*, 2004, 12: 635–641
- 58 Geys J, Nemmar A, Verbeken E, et al. Acute toxicity and prothrombotic effects of quantum dots: Impact of surface charge. *Environ Health Persp*, 2008, 116: 1607–1613
- 59 Horie M, Kato H, Fujita K, et al. *In vitro* evaluation of cellular response induced by manufactured nanoparticles. *Chem Res Toxicol*, 2012, 25: 605–619
- 60 Wan R, Mo Y Q, Feng L F, et al. DNA damage caused by metal nanoparticles: involvement of oxidative stress and activation of ATM. *Chem Res Toxicol*, 2012, 25: 1402–1411
- 61 Yen H J, Hsu S H, Tsai C L. Cytotoxicity and immunological response of gold and silver nanoparticles of different sizes. *Small*, 2009, 5: 1553–1561
- 62 Harper S, Usenko C, Hutchison J E, et al. *In vivo* biodistribution and toxicity depends on nanomaterial composition, size, surface functionalisation and route of exposure. *J Exp Nanosci*, 2008, 3: 195–206
- 63 Sayes C M, Wahi R, Kurian P A, et al. Correlating nanoscale titania structure with toxicity: A cytotoxicity and inflammatory response study with human dermal fibroblasts and human lung epithelial cells. *Toxicol Sci*, 2006, 92: 174–185
- 64 Hussain S M, Braydich-Stolle L K, Schrand A M, et al. Toxicity evaluation for safe use of nanomaterials: Recent achievements and technical challenges. *Adv Mater*, 2009, 21: 1549–1559
- 65 Wang J X, Chen C Y, Liu Y, et al. Potential neurological lesion after nasal instillation of TiO₂ nanoparticles in the anatase and rutile crystal phases. *Toxicol Lett*, 2008, 183: 72–80
- 66 Wang J X, Liu Y, Jiao F, et al. Time-dependent translocation and potential impairment on central nervous system by intranasally instilled TiO₂ nanoparticles. *Toxicology*, 2008, 254: 82–90
- 67 Li Y Y, Zhou Y L, Wang H Y, et al. Chirality of glutathione surface coating affects the cytotoxicity of quantum dots. *Angew Chem Int Ed*, 2011, 50: 5860–5864
- 68 Xu L G, Liu Y, Chen Z Y, et al. Surface-engineered gold nanorods: Promising DNA vaccine adjuvant for HIV-1 treatment. *Nano Lett*, 2012, 12: 2003–2012
- 69 Wang L M, Liu Y, Li W, et al. Selective targeting of gold nanorods at the mitochondria of cancer cells: Implications for cancer therapy. *Nano Lett*, 2011, 11: 772–780
- 70 Ballou B, Lagerholm B C, Ernst L A, et al. Noninvasive imaging of quantum dots in mice. *Bioconjugate Chem*, 2004, 15: 79–86
- 71 Yang S T, Fernando K A S, Liu J H, et al. Covalently PEGylated carbon nanotubes with stealth character *in vivo*. *Small*, 2008, 4: 940–944
- 72 Lacerda L, Soundararajan A, Singh R, et al. Dynamic imaging of functionalized multi-walled carbon nanotube systemic circulation and urinary excretion. *Adv Mater*, 2008, 20: 225–230
- 73 Liu Y, Zhao Y, Sun B, et al. Understanding the toxicity of carbon nanotubes. *Acc Chem Res*, 2013, 46: 702–713
- 74 Fubini B, Ghiazza M, Fenoglio I. Physico-chemical features of engineered nanoparticles relevant to their toxicity. *Nanotoxicology*, 2010, 4: 347–363
- 75 Liu X Y, Gurel V, Morris D, et al. Bioavailability of nickel in single-wall carbon nanotubes. *Adv Mater*, 2007, 19: 2790–2796
- 76 Ge C C, Li Y, Yin J J, et al. The contributions of metal impurities and tube structure to the toxicity of carbon nanotube materials. *NPG Asia Mater*, 2012, 4: e32, doi: 10.1038/am.2012.60
- 77 Meng L, Jiang A, Chen R, et al. Inhibitory effects of multiwall carbon nanotubes with high iron impurity on viability and neuronal differentiation in cultured PC12 cells. *Toxicology*, 2012, <http://dx.doi.org/10.1016/j.tox.2012.11.011>
- 78 Muller J, Huaux F, Moreau N, et al. Respiratory toxicity of multi-wall carbon nanotubes. *Toxicol Appl Pharm*, 2005, 207: 221–231
- 79 Liu S B, Wei L, Hao L, et al. Sharper and faster “nano darts” kill more bacteria: A study of antibacterial activity of individually dispersed pristine single-walled carbon nanotube. *ACS Nano*, 2009, 3: 3891–3902
- 80 Bermudez E, Mangum J B, Wong B A, et al. Pulmonary responses of mice, rats, and hamsters to subchronic inhalation of ultrafine titanium dioxide particles. *Toxicol Sci*, 2004, 77: 347–357
- 81 Grassian V H, Adamcakova-Dodd A, Pettibone J M, et al. Inflammatory response of mice to manufactured titanium dioxide nanoparticles: Comparison of size effects through different exposure routes. *Nanotoxicology*, 2007, 1: 211–226
- 82 Weissleder R, Stark D D, Engelstad B L, et al. Superparamagnetic iron-oxide: Pharmacokinetics and toxicity. *Am J Roentgenol*, 1989, 152: 167–173

- 83 Cauda V, Schlossbauer A, Bein T. Bio-degradation study of colloidal mesoporous silica nanoparticles: Effect of surface functionalization with organo-silanes and poly(ethylene glycol). *Micropor Mesopor Mat*, 2010, 132: 60–71
- 84 Zhai W Y, He C L, Wu L, et al. Degradation of hollow mesoporous silica nanoparticles in human umbilical vein endothelial cells. *J Biomed Mater Res Part B-Appl Biomater*, 2012, 100B: 1397–1403
- 85 褚颖, 李文新. 碳纳米管的细胞毒性. *中国科学 B 辑: 化学*, 2008, 38: 677–684
- 86 Allen B L, Kichambare P D, Gou P, et al. Biodegradation of single-walled carbon nanotubes through enzymatic catalysis. *Nano Lett*, 2008, 8: 3899–3903
- 87 Allen B L, Kotchey G P, Chen Y N, et al. Mechanistic investigations of horseradish peroxidase-catalyzed degradation of single-walled carbon nanotubes. *J Am Chem Soc*, 2009, 131: 17194–17205
- 88 Zhao Y, Allen B L, Star A. Enzymatic degradation of multiwalled carbon nanotubes. *J Phys Chem A*, 2011, 115: 9536–9544
- 89 Kagan V E, Konduru N V, Feng W H, et al. Carbon nanotubes degraded by neutrophil myeloperoxidase induce less pulmonary inflammation. *Nat Nanotech*, 2010, 5: 354–359
- 90 Qu Y, Li W, Zhou Y, et al. Full assessment of fate and physiological behavior of quantum dots utilizing *Caenorhabditis elegans* as a model organism. *Nano Lett*, 2011, 11: 3174–3183
- 91 Nie X, Chen C Y. Au nanostructures: An emerging prospect in cancer theranostics. *Sci China Life Sci*, 2012, 55: 872–883
- 92 Wang L M, Li Y F, Zhou L J, et al. Characterization of gold nanorods *in vivo* by integrated analytical techniques: Their uptake, retention, and chemical forms. *Anal Bioanal Chem*, 2010, 396: 1105–1114
- 93 许利耕, 陈春英. 纳米材料作为重大疾病疫苗载体或佐剂的研究进展. *科学通报*, 2012, 57: 2341–2353

Key factors influencing the toxicity of nanomaterials

XU YingYing¹, LIN XiaoYing^{1,2} & CHEN ChunYing¹

¹CAS Key Laboratory for Biomedical Effects of Nanomaterials and Nanosafety, National Center for Nanoscience and Technology, Beijing 100190, China;

²School of Basic Medical Sciences, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China

With the development of nanotechnology, more and more commercial nanoproducts enter our daily life. Therefore, the toxicity of nanomaterials becomes an increasing concern. Recently, great progress has been achieved in this field, which includes *in vitro* and *in vivo* experimental studies of the interactions between nanomaterials and biomacromolecules, cells, tissues and organs, and the toxicity they caused. Series of toxic effects of nanomaterials are caused by some mechanisms, such as the oxidative stress, inflammatory reaction, autophagy, and so on. These toxic effects are crucially affected by the intrinsic physicochemical properties of nanomaterials, which include size, shape, surface charge, surface modification, chemical composition, metal impurities, agglomeration and dispersion, degradation, and the formation of “protein corona”. Therefore, it is highly significant to illuminate these effects caused by different properties for designing nanomaterials rationally and applying them safely. In this review, we summarize and analyze the key factors which influence the toxicity of nanomaterials and the related research progress in recent ten years.

nanomaterials, nanotoxicology, physicochemical properties, protein corona, oxidative stress, inflammation

doi: 10.1360/972012-1634