

人造纳米颗粒呼吸系统毒性及生物效应的研究进展

吴添舒, 唐萌*

环境医学工程教育部重点实验室, 东南大学公共卫生学院&苏州纳米科技协同创新中心, 江苏省生物材料与器件重点实验室, 南京 210009

* 联系人, E-mail: tm@seu.edu.cn

2014-09-05 收稿, 2014-11-03 接受, 2015-02-04 网络版发表

国家自然科学基金(30972504, 81172697, 81302461, 81473003)、国家重大科学研究计划(2011CB933404)和江苏省基础研究计划(BK2011606)资助

摘要 随着纳米技术在全球的迅猛发展, 人造纳米颗粒已经广泛应用于生物医学领域, 其生物安全性成为研究者的关注热点. 由于呼吸道是人造纳米颗粒进入机体的主要途径之一, 纳米颗粒对机体呼吸系统的毒性和生物效应的相关研究越来越多. 本文介绍了人造纳米颗粒和纳米药物在治疗呼吸系统疾病中的应用, 重点归纳了几种常见人造纳米颗粒对机体呼吸系统的毒性效应和可能的毒性作用机制, 阐述了影响纳米颗粒毒性的几点因素, 为今后人造纳米颗粒的研究和应用提供有价值的参考.

关键词

人造纳米颗粒
毒理学
生物效应
吸入毒性

目前, 国际标准化组织(ISO)将纳米颗粒定义为二维或三维处于纳米尺寸(1~100 nm)范围内的实质性颗粒^[1]. 纳米颗粒可自然生成, 如通过火山喷发、山火^[2], 也可人工制造. 而人造纳米颗粒又可分为意外生成(通常称为污染物)和占大多数的由工厂和实验室有目的合成^[3]. 纳米颗粒具有很多独特的性质, 如表面效应、量子尺寸效应及宏观量子隧道效应等, 这些性质使其在性能上与微米材料间存在显著差异, 在电子、化学、环境保护和生物医学等领域有优越而广泛的应用^[4].

随着纳米产品大量进入生活、环境中, 尤其是职业环境中悬浮着大量的纳米颗粒, 呼吸暴露无疑是人造纳米颗粒进入机体的主要暴露途径之一, 主要的暴露人群包括生产工人、工程师和研究者. 经呼吸道吸入的纳米颗粒能到达肺泡, 避开巨噬细胞的吞噬而转运入血^[5], 对其他系统造成损伤. 也有研究显示, 纳米颗粒还可以经过实验动物的嗅神经进入中枢神经系统^[6]. 人群研究表明, 空气中的超细颗粒物是呼吸系统疾病入院率和死亡率增高的危险因素之一, 且危害与颗粒物粒径相关, 纳米颗粒对呼吸系统

的影响不容忽视. 鉴于纳米颗粒种类繁多, 实验繁杂, 本文就常见的几种人造纳米颗粒对机体呼吸系统毒性及生物效应做一总结, 力求为今后人造纳米颗粒呼吸毒性的研究提供指导, 并为相关部门制定相应的法律法规来预防纳米颗粒的吸入毒性提供参考.

1 人造纳米药物在呼吸系统疾病中的应用

纳米科技的发展对一系列高新技术的发生与发展具有极为重要的影响, 在药物研究领域亦是如此. 纳米药物主要分为两类: 一类是利用纳米技术改良传统的分子药物, 如研发具有精确表面模式的纳米颗粒载体; 二是全新的纳米药物. 与传统的分子药物相比, 纳米药物的最大优点在于: (1) 纳米药物利用纳米颗粒的小尺寸效应, 容易进入细胞而实现高效的治疗作用; (2) 纳米药物的比表面积大, 可链接或载带的功能基团或活性中心多; (3) 纳米材料的性能优越, 便于生物降解或吸收; (4) 纳米颗粒所具有的多孔、中空、多层等结构特性, 易于实现药物的缓控释放的功能, 达到长期有效的治疗效果^[7].

携带药物进入机体肺部药物运载最早开展的

引用格式: 吴添舒, 唐萌. 人造纳米颗粒呼吸系统毒性及生物效应的研究进展. 科学通报, 2015, 60: 729-740

Wu T S, Tang M. Research advances on the toxic effects of manufactured nanoparticles on the respiratory system (in Chinese). Chin Sci Bull, 2015, 60: 729-740, doi: 10.1360/N972014-00941

研究之一. 呼吸道在解剖学和生理学上的独特优势使其有广阔的比表面积, 加之肺血交换容易, 利于药物高效吸收并广泛分布. 再加上蛋白和核酸在肺部并不容易被分解失活, 这些都使得呼吸道在纳米颗粒携带药物运载治疗呼吸系统疾病方面具有独特的优势^[8]. 研究者发现, 目前已有多种类型的人造纳米药物可以用于治疗呼吸系统疾病, 如肺结核、肺动脉高血压、哮喘以及肺癌等^[9~13]. 人造纳米颗粒携带药物一经入肺, 颗粒即降解释放药物, 而药物则通过上皮细胞屏障渗透入血. 因此, 纳米药物可以纳入呼吸系统疾病的治疗方案中, 以提高药物的生物利用度和长期效应.

目前, 纳米药物的研究是美国、日本、德国等发达国家的新热点, 例如, 2005~2006年, 由美国国立卫生研究院(NIH)出资在美国建立了20个纳米医学研究中心. 当然, 我国在纳米药物的研究方面也不甘落后, 我国科技部的“973”和“863”计划包括了多个纳米医学和纳米药物的研究项目. 纳米药物作为一个新兴领域, 研发异常火热, 然而上市的产品却很少, 究其原因, 不外乎是将纳米技术应用到制药行业还面临很大挑战, 尚存在很多难以解答的技术性和安全性问题, 例如其有效性、特异性、靶向性等诸问题仍不明晰, 使得各国的药品评审专家疑问重重, 产品无法获准进入临床试验, 更无法上市. 若要使这项新型治疗方案能够应用于人体, 其中最重要的就是人造纳米药物的生物安全性评估. 所以, 纳米颗粒毒性和生物效应研究将在很长一段时间内受到全球研究者的关注.

2 常见的人造纳米颗粒类型及其对呼吸系统的毒性和生物效应

人造纳米颗粒可以由碳和各种金属合成; 也可以设计成各种形状, 如管型、棒型、梳型、钉型、空心或实心球以及复杂的链式结构. 不同的材料和形状不但使其拥有了不同的应用功能, 而且也使其生物效应不尽相同. 鉴于呼吸道是人造纳米颗粒进入机体的主要途径之一, 呼吸系统成为纳米颗粒毒性和生物效应的一个重要作用靶点. 并且纳米颗粒一经入肺即可被肺泡细胞吸收, 在肺部蓄积. 呼吸系统毒性已经成为纳米颗粒对机体生物效应研究的重点. 目前研究发现纳米颗粒暴露对机体呼吸系统造成的

生物毒效应大致包括氧化应激损伤、DNA损伤、炎症反应和由此恶化形成的肺纤维化、尘肺等^[14]. 由于人造纳米颗粒种类繁多, 不同类型的纳米颗粒对呼吸系统会造成不同的生物毒效应, 此处选取了目前常用的、具有代表性的并已经商业化生产的3种类型的人造纳米颗粒做具体阐述.

2.1 碳纳米管

碳纳米管(CNTs)是一种具有特殊结构(径向尺寸为纳米量级, 轴向尺寸为微米量级, 管子两端基本上都封口)的一维量子材料, 主要由呈六边形排列的碳原子构成数层到数十层的同轴圆管. 层与层之间保持固定的距离, 约0.34 nm, 直径一般为2~20 nm, 外部包裹单层膜或多层膜, 因而可分为多壁碳纳米管(MWCNT)和单壁碳纳米管(SWCNT). 碳纳米管凭借优越的理化性质可以运载药物, 用于治疗呼吸系统疾病, 其对机体的潜在危害多是由于它的小尺寸效应和纤维结构引起的. Mitchell等人^[15]将小鼠呼吸暴露于0.3~5.3 mg/m³的多壁碳纳米管14 d后发现, 所有暴露组小鼠的免疫功能均受到损害, 脾脏中T细胞分裂素显著降低, 而白介素-10 (IL-10)显著升高. 这可能是由于进入呼吸系统的碳纳米管能被呼吸系统黏膜纤毛和肺淋巴系统中的巨噬细胞吞噬, 从而刺激了机体免疫反应. 而胸膜淋巴系统清除肺中的碳纳米管又可能造成更严重的负面效应, 如胸膜炎症和胸膜下间质纤维化^[16].

Shvedova等人^[17]发现, 5.0 mg/m³的单壁碳纳米管呼吸暴露4 d导致小鼠中性粒细胞和巨噬细胞浸润, 并在中性粒细胞明显减少后出现氧化应激反应, 提示了碳纳米管的肺毒性. 但Morimoto等人^[18]的研究却显示, 若短期暴露剂量够低(该实验为0.03和0.13 mg/m³), 单壁碳纳米管则不会引起任何呼吸系统毒性. 但是, 将实验鼠长期(3个月)暴露于较低浓度(0.1~2.5 mg/m³)的多壁碳纳米管中, 虽然小鼠没有发生严重的全身中毒现象, 但是研究者观察到肺脏重量明显增加, 肺部和肺相关淋巴结出现显著的多病灶肉芽肿性和中性粒细胞性炎症, 组织细胞扩散, 肺泡内脂蛋白沉积^[19].

此外, 碳纳米管进入机体产生的生物效应还包括可引起一些常见的呼吸系统疾病. 研究显示单壁碳纳米管可以通过Th2免疫激活和氧化应激加剧小鼠过敏性气道炎症^[20]. 同样, 多壁碳纳米管也有损

伤实验鼠呼吸道功能的作用^[21]。由此可见,若要将碳纳米管应用到哮喘的治疗中,还需要克服其对过敏性气道的潜在损伤作用。另外,若将实验鼠先进行细菌内毒素的感染,会显著增加多壁碳纳米管造成肺纤维化的可能性^[22]。同样有研究显示相较于单独暴露单壁碳纳米管或感染李斯特氏菌,实验鼠同时暴露于两者将造成更严重的肺部炎症^[23]。此实验结果表明,微生物感染可能是职业或医疗环境中人造纳米颗粒暴露人群的一项重要的危险因素,值得注意和深入研究。

Yamashita等人^[24]研究显示,碳纳米管可以在机体内引起遗传毒性,并且形状长而厚的多壁碳纳米管有着最强的损伤DNA和引起炎症的能力。另外,给实验鼠腹腔重复注射无修饰或COOH修饰的多壁碳纳米管均能浓度依赖性地引起基因毒性作用,如结构染色体畸变,DNA损伤和核异构^[25]。由于遗传毒性在机体癌症发展中起着重要的作用,研究结果暗示碳纳米管可能为潜在的致癌物质(图1)。并且,由于碳纳米管会造成长期炎症反应,促进细胞增殖和肺泡纤维化,其严重后果之一即为肺部原位肿瘤的发生^[26]。碳纳米管作为一种经典而常用的人造纳米颗粒已被研究多年,上述提到的吸入毒性和对呼吸系统的生物效应在下面几类纳米颗粒中同样会有所涉及。

2.2 金属及金属氧化物纳米颗粒

(i) 氧化铁纳米颗粒。氧化铁纳米颗粒用于磁性药物载体,肿瘤靶向定位、诊断以及治疗的研究已广泛开展,为医学研究带来新契机和希望,其中较为常用的纳米氧化铁颗粒为 Fe_2O_3 、 Fe_3O_4 磁体、磁铁矿等。氧化铁纳米颗粒在广泛使用的同时,其生物安全

性亦越来越受到人们的重视。

Pauluhn^[27]使用鼻式暴露的方式使Wistar大鼠接触 Fe_3O_4 粉尘,染毒浓度为0, 4.7, 16.6和52.1 mg/m^3 ,动物暴露每天6 h,每周5 d,连续13周后取支气管肺泡灌洗液(BALF)检测,发现嗜中性粒细胞比例明显升高;组织病理学检查发现,颗粒沉积部位的上呼吸道表现为杯状细胞的过度上皮化和在鼻腔细胞内出现嗜酸性小体,下呼吸道的细支气管中炎性改变,这些改变都提示当染毒剂量为16.6和52.1 mg/m^3 时有肺部炎症的发生;而在52.1 mg/m^3 的染毒剂量下,还观察到肺部间隔有胶原纤维产生。Lin等人^[28]使用气管滴注的方式将Wistar大鼠暴露于 Fe_3O_4 纳米颗粒每2天一次,共5周,将肺泡灌洗液中乳酸脱氢酶(LDH)、总的抗氧化能力(T-AOC)、超氧化物歧化酶(SOD)和丙二醛(MDA)作为氧化应激指标,IL-6作为炎性生物标志物,结果表明 Fe_3O_4 纳米颗粒通过氧化损伤和炎症反应引起肺损伤。

Ahamed等人^[29]发现, Fe_3O_4 纳米颗粒染毒的人类肺上皮细胞可以浓度依赖性地导致氧化应激,DNA损伤以及caspase-3和caspase-9 mRNA介导的细胞凋亡,氧化铁纳米颗粒表现出遗传毒性。但是,Zhang等人^[30]应用彗星实验和微核实验研究左旋谷氨酸包裹的 Fe_2O_3 纳米颗粒对中国仓鼠肺细胞的遗传毒性却发现,虽然有氧化应激反应的发生,但是无论是低浓度(8 mg/m^3)还是高浓度(128 mg/m^3)的 Fe_2O_3 纳米颗粒暴露,细胞均没有产生遗传毒效应,暗示了纳米颗粒的有效修饰可以显著降低其毒性并增加生物相容性。该发现可以很好地应用于提高人造纳米颗粒的生物安全性。

(ii) 二氧化钛纳米颗粒。二氧化钛(TiO_2)纳米颗粒也是一种可以用于生物医疗领域的纳米材料,

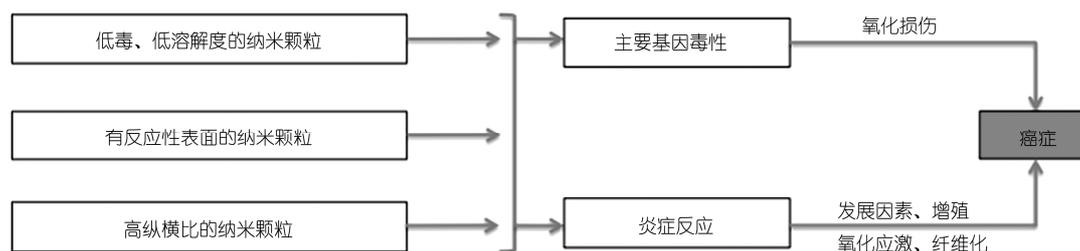


图1 人造纳米颗粒致癌性的潜在过程。左侧显示的不同纳米颗粒类型在生物有效浓度作用下通过潜在病理过程导致癌症发生(改自文献[26])
Figure 1 The potential processes that might be involved in manufactured nanoparticles carcinogenesis. Biological effective doses are shown below each particle type on the left and potentially pathobiological processes are shown around the arrows leading to cancer on the right (revised from Ref. [26])

其生物安全性不可避免地引起了研究者的关注. 在一个急性呼吸暴露实验中, 将实验鼠置于2, 10, 50 mg/m³TiO₂纳米颗粒气溶胶中5 d, 每天6 h, 尸检结果发现了浓度依耐性的肺部炎症和中性粒细胞增加, 但是实验鼠并没有发生可检出的系统性疾病^[31]. Nurkiewicz等人^[32]发现, 24 h呼吸暴露20 mg/m³TiO₂纳米颗粒可以造成实验动物肩膀肌肉中小动脉的微血管障碍, 该外周血管影响可能与炎症和神经源性机制的活化有关. 但是, 低浓度TiO₂纳米颗粒呼吸暴露引起的微血管障碍可能并非是肺部炎症和损伤导致的结果. 这是由于我们已经熟知纳米颗粒与心血管疾病间的关系, 大量研究表明纳米颗粒可以显著改变心率、血压、血液凝固性等^[33].

van Ravenzwaay等人^[34]发现, 实验动物短期暴露于100 mg/m³TiO₂纳米颗粒和250 mg/m³微米尺寸的TiO₂产生了相似的肺部炎症反应, 提示相同浓度的TiO₂纳米颗粒可能会造成更严重的炎症反应和肿瘤发生. 但是, Rourgaard等人^[35]给实验鼠鼻内滴注5, 50和500 μg/mL的直径小于5 μm的TiO₂颗粒和TiO₂纳米颗粒, 结果发现短期(24 h)内, 两者在最大暴露浓度时均能增加BALF中的IL-6和总蛋白含量; 长期(3个月)则产生了相似的气道炎症反应, 表明TiO₂纳米颗粒似乎并没有更高的毒性. 由此可见, 我们需要更多的实验来验证这些矛盾的结论.

Sun等人^[36]发现, 实验鼠气管滴注2.5, 5和10 mg/m³TiO₂纳米颗粒90 d后, 血红蛋白氧合酶-1(HO-1)表达增加, NF-κB抑制因素和Hsp70表达降低, 肺部炎症的发生与TiO₂纳米颗粒引起的氧化应激和炎性细胞因子表达密切相关. TiO₂纳米颗粒可以有效激活*caspase-3*和*caspase-9* mRNA, 影响肺部特定基因和蛋白的表达. 早在20世纪80年代就有研究发现, 将实验鼠暴露于高浓度的微米尺寸的TiO₂颗粒长达2年, 观察到了肺部肿瘤的发生^[37]. 在2006年, 国际癌症协会(IARC)将TiO₂列为2B级致癌物(即可疑致癌物)^[38]. 但是, 鉴于纳米颗粒较短的制造和使用历史, 有关其负面健康效应的流行病学调查还很缺乏. 因而, 今后的研究重点将放在各种类型的商业用人造纳米颗粒的人群暴露调查和剂量-反应关系分析, 以求更安全地使用它们.

(iii) 纳米银颗粒. 纳米银颗粒在机体中是否分解释放银离子, 或聚合为大分子决定了其毒性效应. 有研究显示, 肺表面活性剂的一种主要成分——二棕

桐酰磷脂酰胆碱(DPPC)延迟了银离子的释放, 但并没有显著改变整个银离子的总量. TEM图像显示DPPC呈半透明层包裹纳米银颗粒, 改善了纳米银颗粒的色散, 抑制其聚合和粗化. 由此可见, 纳米银颗粒在机体肺部的活动性很复杂, 研究其呼吸系统毒性需要注意很多因素^[39].

Roberts等人^[40]将实验鼠暴露于低剂量(银含量为20 mg/L)和高剂量(银含量为200 mg/L)的纳米银颗粒气溶胶中5 h, 并于1和7 d后检测BALF中LDH活性和白蛋白浓度, 判定纳米银颗粒对细胞通透性的影响等毒性作用. 结果发现, 2个染毒组的BALF中LDH活性和白蛋白浓度没有显著差异, 但是高浓度组的BALF中中性粒细胞数显著增加, 提示纳米银可能导致的呼吸系统生物效应包括肺部炎症的发生、肺泡气屏障损伤和肺泡巨噬细胞活动. 近期一项实验显示单次气管滴注胶状纳米银颗粒可以导致中度的急性肺部炎症和组织损伤, 而肺组织中金属硫蛋白的表达则表明机体对纳米银颗粒的侵入存在保护性反应^[41].

Wang等人^[42]研究发现, 相比于尺寸110 nm、包裹聚乙烯吡咯烷酮(PVP)和柠檬酸的纳米银颗粒(简称为: P110和C110), 尺寸20 nm的纳米银(P20和C20)表现出更严重的细胞毒性和氧化应激损伤能力, 可能与其高分解率和高生物利用率有关. 而P110有比C110更低的细胞毒性, 与PVP增加纳米银颗粒的稳定性, 减少了银离子释放有关. 当比较C20和C110会发现C20更倾向于诱发实验动物急性肺中性粒细胞炎症和肺纤维化并产生趋化因子. 但是C110颗粒可以缓慢而持续地释放银离子, 导致长期损害. 释放的金属银在气道和肺间质上的胶原纤维中沉积. 该实验结果表明尺寸和表面修饰可以影响纳米银颗粒的细胞毒性以及急性和慢性肺损伤. Gliga等人^[43]也得出相似的结论, 小尺寸的纳米银颗粒(10 nm)对体外培养的人类肺细胞表现出更高的毒性, 该毒性效应与细胞内金属银的释放有关, 即为一种“特洛伊木马”效应.

Suliman等人^[44]以纳米银颗粒染毒人类肺上皮细胞, 发现其表现出剂量依耐性和时间依耐性的细胞毒性. 暴露组细胞中检测到氧化应激反应, *caspases*基因的活化, 促炎性细胞因子水平增高和DNA损伤. 该研究结果显示了纳米银颗粒对遗传物质可能有损伤作用.

(iv) 氧化锌纳米颗粒. 如今, 氧化锌(ZnO)纳米颗粒越来越多地用于制造防晒霜、生物传感器、食品添加剂、颜料、橡胶制品和电子材料. 由于人类暴露于该物质的几率增加, ZnO的生物安全性也成为人们关注的焦点. Fukui等人^[45]以ZnO纳米颗粒气管滴注实验鼠和ZnO染毒体外培养的肺恶性上皮细胞. 结果显示, ZnO纳米颗粒导致了实验鼠肺部严重的氧化应激损伤, 脂质过氧化, HO-1和 α -生育酚水平升高. 染毒的体外细胞胞内活性氧和锌水平也显著增加, 导致细胞死亡. 并且ZnO纳米颗粒可以蓄积在肺部, 持续释放锌离子, 造成长期毒性作用. Sahu等人^[46]将人肺细胞暴露于5, 25, 50和100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 50 nm的ZnO纳米颗粒中孵育24 h, 实验结果显示染毒细胞收缩、核凝结、凋亡小体形成. 谷胱甘肽(GSH)水平的损耗和ROS的升高暗示了氧化应激的形成; DNA断裂则显示死亡细胞的凋亡类型. 此外, ZnO纳米颗粒暴露增加了作为金属导致毒性的生物标志物——金属硫蛋白基因的表达.

Yan等人^[47]研究发现, ZnO纳米颗粒暴露浓度依赖性增高了IL-8 mRNA和蛋白的表达, 而以转录抑制剂放线菌素D (Act D)预处理细胞可以抑制ZnO导致的NF κ B和C/EBP β 转录因子参与的IL-8 mRNA表达. mRNA衰变实验则显示, ZnO纳米颗粒刺激延迟了BEAS-2B细胞中IL-8 mRNA的退化, 而细胞预处理吞噬作用抑制剂细胞松弛素B(CB)可以阻止30%的IL-8 mRNA表达. 由此可见, ZnO纳米颗粒暴露通过转录激活和mRNA稳定诱发了IL-8基因的表达, 纳米颗粒的内化(Internalization)也部分解释了该诱导现象(图2).

近期, Juang等人^[49]的研究发现, 暴露于高浓度35 nm ZnO纳米颗粒的实验动物体内有多达46种蛋白表达发生了显著变化, 并且根据基因本体论(Gene Ontology)的注释, 这些表达差异的蛋白说明ZnO纳米颗粒暴露主要影响了机体免疫和炎症过程. 其中, 作为特发性肺纤维化和肺癌的候选标记物——S100A8和S100A9蛋白在ZnO暴露后明显上调. 该实验结果较好地解释了ZnO纳米颗粒引起肺损伤的作用机制.

此外, 若将实验动物同时暴露于ZnO纳米颗粒与其他一些有毒物质, 可能会造成更严重的健康危害. Jain等人^[50]模拟涂料生产车间, 将ZnO纳米颗粒和甲苯结合染毒雄性大鼠, 分为空气对照, 200 ppm

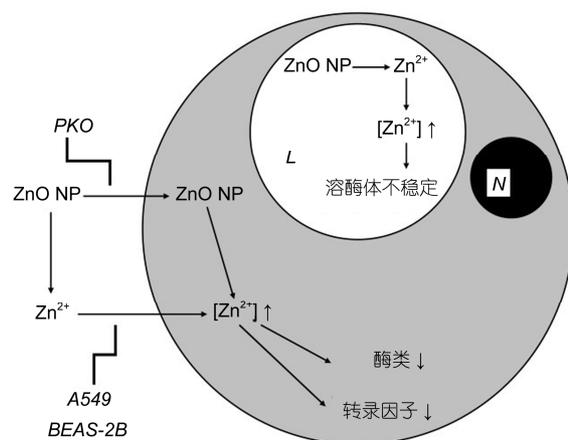


图2 公认的氧化锌纳米颗粒的体外毒性作用机制(改自文献[48])

Figure 2 Putative mechanisms underlying the *in vitro* effects of ZnO NPs (revised from Ref. [48])

(1 ppm=1 $\mu\text{g}/\text{g}$)甲苯暴露, 10 mg/m^3 ZnO暴露组, 低剂量ZnO (5 mg/m^3)和甲苯(200 ppm)联合暴露和高剂量联合暴露(ZnO为10 mg/m^3). 研究结果显示, 即使低剂量的ZnO纳米颗粒和甲苯联合暴露(即涂料生产行业的职业接触限制)也可以导致实验鼠肺部炎症和纤维化. 可见, 为了工人的健康, 涂料行业需要与时俱进, 根据最新的科学研究及时修改职业卫生标准.

2.3 半导体纳米颗粒

量子点是我们最熟知的一种人造半导体纳米颗粒. 量子点(Quantum Dots, QDs)是一种由III~V族或II~VI族元素组成的, 典型的量子点直径通常在1~10 nm. 量子点的结构一般以一种半导体材料为内核, 外面包裹第二种半导体材料^[51]. 目前应用最广泛的为内核含镉(Cd)和碲(Te)的量子点, 因为它们量子限制区域横跨整个光谱. 通常, 我们需要在量子点表面包裹一层ZnS的外壳来减少或消除高毒的Cd²⁺的释放, ZnS还可以提高量子点的荧光效能并减少氧化和光漂白反应^[52]. 量子点由于本身可能用到有毒的重金属作为组成材料, 研究者普遍认为其存在毒性. 随着量子点的制备技术和表面生物修饰技术的进步, 量子点在生物医学领域被广泛用于药物运载和生物成像, 其毒性和生物安全性也得到了高度重视.

Brunetti等人^[53]通过常规毒性实验发现CdSe/ZnS量子点降低了人肺腺癌细胞的活性, 可能是量子点释放的Cd²⁺和导致的胞内氧化应激联合作用的结果. 有些研究认为, 氧化应激损伤是Cd²⁺造成的毒性生

物作用之一,但是最新的研究证据显示即使将含镉量子点包裹一层严密的外膜抑制 Cd^{2+} 的释放,量子点染毒的细胞内ROS含量依然显著升高^[54].由此可见,氧化应激可能是量子点本身理化特性造成的后果之一,仅仅抑制量子点中重金属离子的释放并不能完全降低量子点的毒性.

与其他纳米颗粒类似,用量子点给实验动物染毒也会引起机体的免疫反应. Hoshino等人^[55]发现,量子点可以影响染毒的实验动物机体内免疫细胞的扩散. Bruneau等人^[56]的研究显示,量子点可以引起适应性免疫反应,浓度依赖性促进淋巴细胞转化. Sadaf等人^[57]则发现机体在与量子点接触后白细胞激增.免疫反应的增强可以排除机体内的量子点,但由于小尺寸效应,通过呼吸道摄入的量子点依然很容易在呼吸系统蓄积. Roberts等人^[58]给实验鼠气管滴注CdSe/ZnS量子点,共14 d,发现量子点可以在整个呼吸道蓄积,肺泡巨噬细胞是主要的摄入量量子点的细胞.同时,在肺部蓄积的量子点很难由机体自主排出. Ma-Hock等人^[59]发现实验鼠肺部水溶性CdS/ $\text{Cd}(\text{OH})_2$ 量子点含量在呼吸道染毒3周后还没有下降.其他种类的无镉量子点同样可以在肺部沉积,不存在明显差异^[60].

肺部炎症和组织损伤依旧是量子点对呼吸系统毒性的主要表现. Roberts等人^[58]还发现,增加CdSe/ZnS量子点的染毒剂量的同时,也增加了肺损伤参数,LDH水平和白蛋白含量,并在染毒后第7和14天损伤最为严重.在最高暴露剂量组,BALF中的炎症细胞(肺泡巨噬细胞、中性粒细胞和淋巴细胞)以及炎症趋化因子MCP-1和MIP-2含量在暴露后第7和14天达到顶峰.另外,McConnachie等人^[61]的研究显示,肺部炎症反应与量子点导致的氧化应激损伤密切相关. CdSe/ZnS量子点造成的肺部炎症在基因缺陷(严重的GSH合成不足)的实验鼠中表现最为严重.此外,Ho等人^[62]研究发现,除了持续性炎症反应,长期含镉量子点暴露还能诱发间质淋巴细胞渗透和肉芽肿反应,促进肺纤维化的发生,损伤肺功能.

在量子点遗传毒性研究方面, Jacobsen等人^[63]将实验鼠暴露于量子点后,检测到BALF中细胞的DNA损伤水平显著升高. Nagy等人^[64]应用实时PCR技术观测量子点染毒的正常人类支气管上皮细胞中与细胞死亡和炎症通路有关的基因表达水平的变化,结果发现与细胞凋亡相关的基因CASP9以及线粒体功

能相关的基因CYP1A2和UCPI出现上调.上调基因中BAD和CASP9与细胞中DNA碎片的增加有密切联系.在Gagné等人^[65]的实验中观察到了多达25种与炎症反应,氧化应激、内分泌系统和与免疫相关的基因对量子点暴露产生了特异性变化(图3).量子点在基因层面上引起的生物效应对机体可以产生很严重的健康危害.因而,研究者表示即使量子点的优异特性使其能用于癌症治疗,但它同样对正常细胞存在较大风险.

为了使读者能够更简洁地了解此3类人造纳米颗粒的呼吸毒性研究结果,并较方便地就纳米材料种类、选用的实验模型、暴露方式和时间等进行比较,表1就不同纳米颗粒的毒性效应给出直观展示.

3 影响纳米颗粒吸入毒性的主要因素

前文已经提到很多可以影响纳米颗粒毒性的因素,例如尺寸大小、形貌、浓度、表面涂层、化学组成和聚集能力.国际放射防护委员会(ICRP)早在10年前就指出,不同粒径的纳米颗粒在人类呼吸道不同部位的沉积率不同^[67].粒径为1 nm的颗粒,90%左右在鼻咽部沉积,其余10%在气管支气管区沉积,肺泡中几乎无沉积;粒径为5~10 nm的颗粒,吸入后在鼻咽部、气管、支气管和肺泡3个区域的沉积均为20%~30%;粒径10~100 nm的颗粒吸入后在肺泡中沉积量最大,鼻咽部最少,粒径为20 nm的颗粒,吸入后有50%左右在肺泡内沉积^[67].纳米颗粒由此可以造成严重程度不同的负面生物效应.

对于人造纳米颗粒的众多形貌,早在20世纪就有研究显示相较于球形的纳米颗粒,纤维状赋予纳米颗粒更强的细胞遗传毒性,并且肺纤维化和肺癌的发生风险更高^[68].而在纤维状的纳米颗粒中,例如碳纳米管,除了尺寸大小外,其长径比也是影响毒性的一个主要因素. Magrez等人^[69]比较了长径比不同的3种碳纳米管:多壁碳纳米管、碳纳米纤维和纳米炭黑(长径比分别为80~90, 30~40和1 nm)对人肺癌细胞H546, H446和Calu-1的毒性,MTT结果显示纳米炭黑毒性最大,而多壁碳纳米管最小.

制造纳米颗粒所选用材料的理化性质,可以说在本质上决定了其毒性.特别是大多数人造纳米颗粒都含有金属,甚至重金属,金属材料的转变通常可以在分子水平上改变各种生物过程进而损伤细胞.例如,氧化铁纳米颗粒中铁元素可以诱导促炎性细

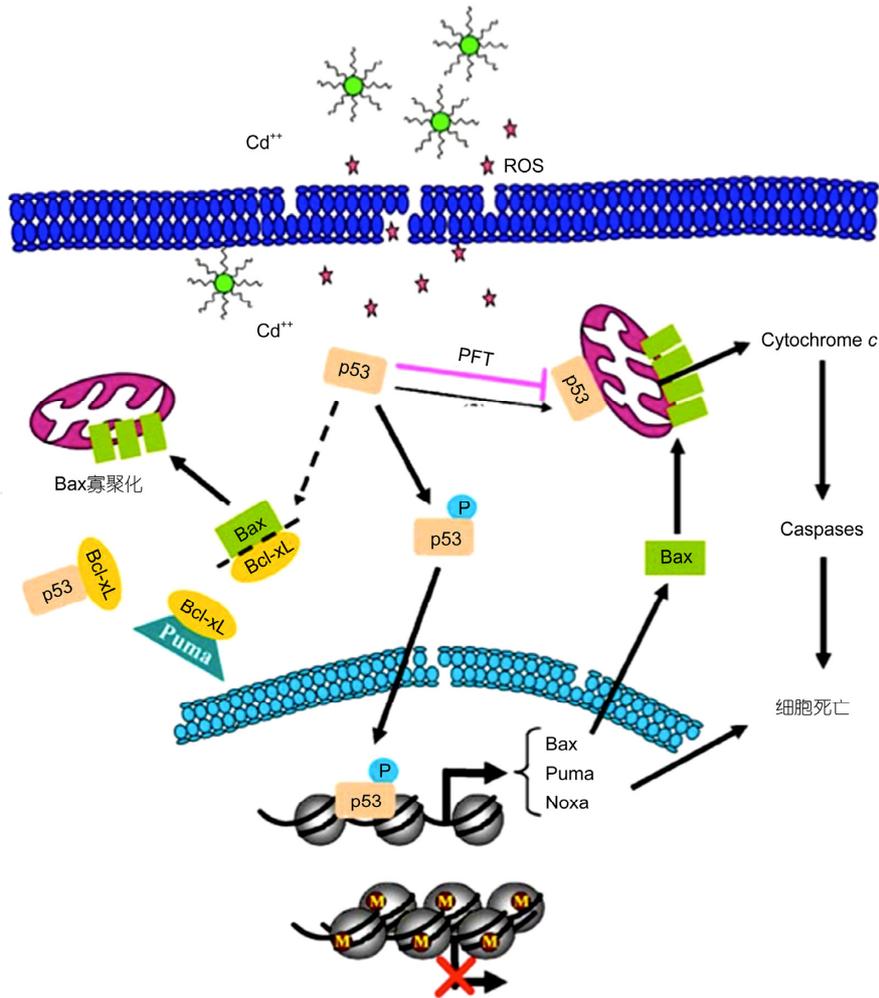


图3 量子点暴露导致的细胞遗传水平上的变化(改自文献[66])

Figure 3 Changes at the cellular epigenetic and genomic levels induced by QDs (revised from Ref. [66])

胞因子IL-6水平增高^[28]；含镉量子点释放的镉离子更是高毒物质，可造成一系列严重的毒效应^[70]。此外，纳米颗粒具有聚集能力，表现为吸附蛋白质，改变纳米颗粒的空气动力学特性，从而影响它们在气道中的沉积和清除，影响免疫功能，产生毒效应^[71]。

暴露剂量是实验中不可或缺的一项研究系数，有关人造纳米颗粒的生物安全性研究大多显示毒性随着浓度的增加而增加。但是鉴于越来越多的研究者认识到化学物质在低浓度时的“兴奋效应”，或许目前公认的“剂量依赖性的毒效应”结论将受到挑战。由于不同的应用需求，纳米颗粒表面往往附着有涂层，而涂层可以决定纳米颗粒的毒性大小。某些情况下，涂层的作用可以促进中性粒细胞流入肺部，改变肺上皮渗透性，使纳米颗粒沉积于淋巴结中^[72]；或

使纳米颗粒表面带正/负电荷，导致不同程度的毒性效应，在图4中有直观展示。但是，若选用适当的涂层也可以增加纳米颗粒的生物相容性，减小材料的理化性质造成的毒性作用。

4 展望

通过总结已有研究，我们发现人造纳米颗粒普遍存在毒性，通过呼吸道摄入的纳米颗粒可以对呼吸系统造成不同程度的负面生物效应。其中含有金属乃至重金属的纳米颗粒毒性尤为明显，需要研究者采取不同的措施，例如涂层修饰，来降低或消除毒效应。随着人造纳米材料工业化进程的加快和在生物医学领域的巨大价值，其广泛应用与生物安全性的矛盾将越来越突出。目前的研究结果为人们深入

表1 人造纳米颗粒呼吸毒性研究汇总
Table 1 Overview of toxicity studies on the respiratory system using manufactured nanoparticles

人造纳米颗粒类型	纳米颗粒	实验模型	暴露途径和暴露时间	观察到的毒性效应								文献		
				细胞毒性	细胞膜完整性	细胞凋亡	肺肉芽肿和/或纤维化	肺损伤	炎症反应	氧化应激	细胞因子/白介素水平升高		免疫损伤	基因毒性
碳纳米管	多壁碳纳米管	C57BL/6小鼠	全身/鼻式暴露; 6 h, 7 d, 14 d				+	+	+	+	+	+	[15,16, 21,24]	
	多壁碳纳米管	A549细胞		+		+							[24]	
	单壁碳纳米管	C57BL/6小鼠	鼻式暴露; 4 d				+	+	+	+			[17]	
	多壁碳纳米管	Wistar大鼠	鼻式暴露; 90 d				+	+	+			+	[19]	
	单壁碳纳米管	ICR小鼠	鼻式暴露; 6周	+					+	+		+	[20]	
	单壁碳纳米管	C57BL/6小鼠	腹腔注射; 24 h	+		+	+	+	+				+	[24]
	多壁碳纳米管	Swiss-Webster小鼠	腹腔注射; 5 d							+	+		+	[25]
金属及金属氧化物纳米颗粒	Fe ₃ O ₄ 纳米颗粒	Wistar大鼠	鼻式暴露; 5和13周	+			+	+	+	+	+	+	[27~29]	
	Fe ₂ O ₃ 纳米颗粒	CHL细胞		+						+			[30]	
	TiO ₂ 纳米颗粒	Wistar大鼠	鼻式暴露; 5 d							+			[31, 34]	
	TiO ₂ 纳米颗粒	BALB/cJ小鼠	单次静脉注射						+		+		[35]	
	TiO ₂ 纳米颗粒	ICR小鼠	气管滴注; 90 d					+	+	+		+	[36]	
	纳米银颗粒	SD大鼠	全身暴露; 5 h	+			+	+	+			+	[40]	
	纳米银颗粒	C57BL/6小鼠	单次气管滴注						+	+			[41]	
	纳米银颗粒	C57BL/6小鼠	鼻式暴露; 40 h, 21 d				+	+	+		+		[42]	
	纳米银颗粒	BEAS-2B细胞	24 h	+	+					+			[42,43]	
	纳米银颗粒	A549细胞	24 h	+		+				+	+		[44]	
	ZnO纳米颗粒	Wistar大鼠	单次气管滴注							+	+		[45]	
	ZnO纳米颗粒	A549细胞	24 h							+			[45]	
	ZnO纳米颗粒	L-132细胞	24 h	+	+	+				+			[46]	
	ZnO纳米颗粒	BEAS-2B细胞	24 h								+		[47]	
ZnO纳米颗粒	SD大鼠	全身暴露; 24 h						+		+		[49]		
半导体纳米颗粒	CdSe/ZnS QDs	A549细胞	24, 48 h	+	+	+				+			[53]	
	CdSe/ZnS QDs	CD4+细胞	24, 48 h								+	+	[55]	
	CdSe/ZnS QDs	SD大鼠	单次气管滴注						+	+	+	+	[58]	
	CdS/Cd(OH) ₂ QDs	Wistar大鼠	鼻式暴露; 5 d					+	+				[59]	
	CdSe/ZnS QDs	C57BL/6小鼠	单次鼻腔滴注					+	+	+	+		[61]	
	CdTe QDs	C57小鼠	单次气管滴注					+	+		+		[63]	

研究纳米颗粒的吸入毒性提供了一定的理论依据与线索, 但还存在很多问题亟待解决:

虽然有大量优秀的纳米颗粒毒性以及生物和环境效应研究, 但大多数为体外细胞实验或动物实验, 相关的人群流行病学调查的资料极度缺乏. 而职业

人群是人造纳米颗粒暴露的高危人群之一, 亟需流行病学数据制定相关职业卫生标准, 预防职业中毒事件的发生;

由于不同粒径的纳米颗粒在人类呼吸道不同部位的沉积率不同, 纳米颗粒的吸入毒效应显示出相

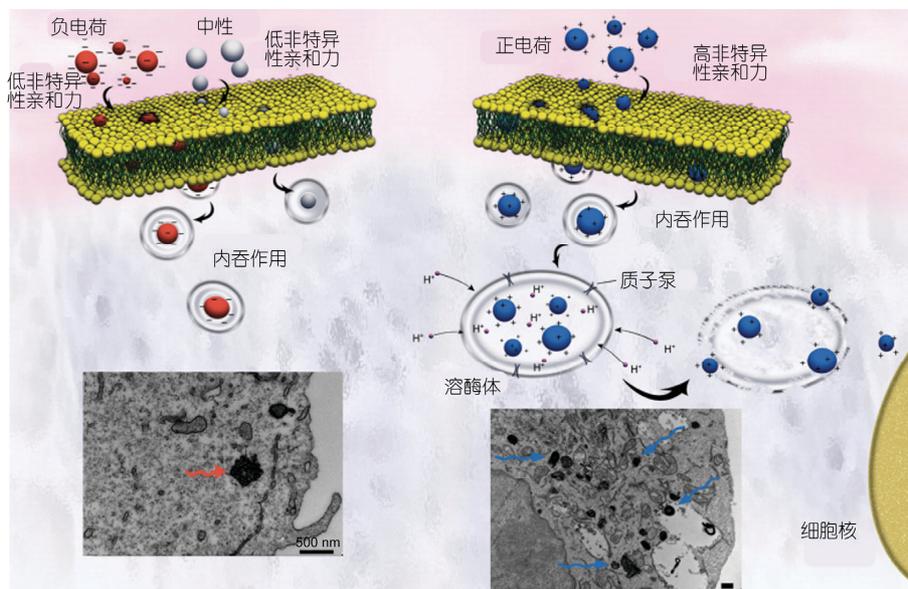


图4 纳米颗粒表面电荷导致不同的细胞摄取率。相比于表面带负电荷和中性的纳米颗粒，表面带正电荷的纳米颗粒更易被细胞摄取，从而破坏溶酶体以加强胞质交换和诱导细胞死亡信号。图中下部为分别暴露于表面带负/正电荷超顺磁性铁纳米颗粒(SPION)的 HeLa 细胞的电子显微镜图(改自文献[73])

Figure 4 The importance of the surface charge on the yield of cell uptake. Positively charged NPs illustrate significant cellular uptake, in comparison with negative and neutral one, and are capable of disrupting the lysosomes to enhance cytoplasmic delivery and induce cell death signaling cascades. The bottom panels show TEM images of HeLa cells which have been exposed to negatively and positively charged SPIONs (revised from Ref. [73])

当大的尺寸依赖性，而尺寸并不是传统毒理学考虑的导致毒性效应的因素之一。因此，在原有毒理学的理论框架下，需要引入新的概念和参数，同时建立新的知识体系；

(3) 着重加强纳米颗粒的机制探讨，包括其在生命体内的分布和代谢，与生物大分子的相互作用机制。

解决这些问题将是未来人造纳米颗粒吸入毒性研究的主要方向。开展人造纳米颗粒暴露所致的呼吸系统毒性和机制的研究时，可以更好地利用纳米材料的正面效应，为纳米材料安全性评价及标准的制定提供理论依据。我们必须承认，人造纳米材料的生物安全性研究还有很长的一段路要走。

参考文献

- 1 Cao X Y, Du J J. Application of nanotechnology in medicine (in Chinese). Meical Recapitulate, 2009, 15: 969-971 [曹献英, 杜晶晶. 纳米技术在医学中的应用. 医学综述, 2009, 15: 969-971]
- 2 Sciencemuseum. Nature's nanoparticles. [2014-4-19]. <http://www.sciencemuseum.org.uk/antenna/nano/planet/143.asp>
- 3 Andujar P, Lanone S, Brochard P, et al. Respiratory effects of manufactured nanoparticles. Revue Des Maladies Respiratoires, 2011, 28: e66-e75
- 4 Alexis F, Pridgen E M, Langer R, et al. Nanoparticle technologies for cancer therapy. In: Schäfer-Korting M, ed. Handbook of Experimental Pharmacology: Drug Delivery. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 2010. 55-86
- 5 Wang B, Feng W, Zhu M, et al. Neurotoxicity of low-dose repeatedly intranasal instillation of nano- and submicron-sized ferric oxide particles in mice. J Nanoparticle Res, 2009, 11: 41-53
- 6 Elder A, Gelein R, Silva V, et al. Translocation of inhaled ultrafine manganese oxide particles to the central nervous system. Environ Health Perspect, 2006, 114: 1172
- 7 Di Marco M, Shamsuddin S, Razak K A, et al. Overview of the main methods used to combine proteins with nanosystems: Absorption, bioconjugation, and encapsulation. Intl J Nanomed, 2010, 5: 37
- 8 Bur M, Henning A, Hein S, et al. Inhalative nanomedicine-opportunities and challenges. Inhalat Toxicol, 2009, 21: 137-143

- 9 Saraogi G K, Gupta P, Gupta U, et al. Gelatin nanocarriers as potential vectors for effective management of tuberculosis. *Intl J Pharmaceut*, 2010, 385: 143–149
- 10 Beck-Broichsitter M, Gauss J, Gessler T, et al. Pulmonary targeting with biodegradable salbutamol-loaded nanoparticles. *J Aerosol Med Pulmonary Drug Delivery*, 2010, 23: 47–57
- 11 Kimura S, Egashira K, Chen L, et al. Nanoparticle-mediated delivery of nuclear factor κ B decoy into lungs ameliorates monocrotaline-induced pulmonary arterial hypertension. *Hypertension*, 2009, 53: 877–883
- 12 Matsuo Y, Ishihara T, Ishizaki J, et al. Effect of betamethasone phosphate loaded polymeric nanoparticles on a murine asthma model. *Cell Immunol*, 2009, 260: 33–38
- 13 Surendiran A, Sandhiya S, Pradhan S, et al. Novel applications of nanotechnology in medicine. *Ind J Med Res*, 2009, 130: 689–701
- 14 Li J J, Muralikrishnan S, Ng C T, et al. Nanoparticle-induced pulmonary toxicity. *Exp Biol Med*, 2010, 235: 1025–1033
- 15 Mitchell L A, Gao J, Vander Wal R, et al. Pulmonary and systemic immune response to inhaled multiwalled carbon nanotubes. *Toxicol Sci*, 2007, 100: 203–214
- 16 Ryman-Rasmussen J P, Cesta M F, Brody A R, et al. Inhaled carbon nanotubes reach the subpleural tissue in mice. *Nat Nanotechnol*, 2009, 4: 747–751
- 17 Shvedova A A, Kisin E, Murray A R, et al. Inhalation vs. aspiration of single-walled carbon nanotubes in C57BL/6 mice: Inflammation, fibrosis, oxidative stress, and mutagenesis. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2008, 295: L552
- 18 Morimoto Y, Hirohashi M, Kobayashi N, et al. Pulmonary toxicity of well-dispersed single-wall carbon nanotubes after inhalation. *Nanotoxicology*, 2012, 6: 766–775
- 19 Ma-Hock L, Treumann S, Strauss V, et al. Inhalation toxicity of multiwall carbon nanotubes in rats exposed for 3 months. *Toxicol Sci*, 2009, 112: 468–481
- 20 Inoue K I, Yanagisawa R, Koike E, et al. Repeated pulmonary exposure to single-walled carbon nanotubes exacerbates allergic inflammation of the airway: Possible role of oxidative stress. *Free Rad Biol Med*, 2010, 48: 924–934
- 21 Wang X, Katwa P, Podila R, et al. Multi-walled carbon nanotube instillation impairs pulmonary function in C57BL/6 mice. *Part Fibre Toxicol*, 2011, 8: 24
- 22 Cesta M F, Ryman-Rasmussen J P, Wallace D G, et al. Bacterial lipopolysaccharide enhances PDGF signaling and pulmonary fibrosis in rats exposed to carbon nanotubes. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2010, 43: 142
- 23 Shvedova A A, Fabisiaik J P, Kisin E R, et al. Sequential exposure to carbon nanotubes and bacteria enhances pulmonary inflammation and infectivity. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2008, 38: 579
- 24 Yamashita K, Yoshioka Y, Higashisaka K, et al. Carbon nanotubes elicit DNA damage and inflammatory response relative to their size and shape. *Inflammation*, 2010, 33: 276–280
- 25 Patlolla A K, Hussain S M, Schlager J J, et al. Comparative study of the clastogenicity of functionalized and nonfunctionalized multi-walled carbon nanotubes in bone marrow cells of Swiss-Webster mice. *Environ Toxicol*, 2010, 25: 608–621
- 26 Donaldson K, Poland C A. Inhaled nanoparticles and lung cancer—What we can learn from conventional particle toxicology. *Swiss Med Weekly*, 2012, 142: w13547
- 27 Pauluhn J. Subchronic inhalation toxicity of iron oxide (magnetite, Fe_3O_4) in rats: Pulmonary toxicity is determined by the particle kinetics typical of poorly soluble particles. *J Appl Toxicol*, 2012, 32: 488–504
- 28 Lin Z, Ma L, Zhu-ge X, et al. A comparative study of lung toxicity in rats induced by three types of nanomaterials. *Nanoscale Res Lett*, 2013, 8: 1–11
- 29 Ahamed M, Alhadlaq H A, Alam J, et al. Iron oxide nanoparticle-induced oxidative stress and genotoxicity in human skin epithelial and lung epithelial cell lines. *Curr Pharm Des*, 2013, 19: 6681–6690
- 30 Zhang T, Qian L, Tang M, et al. Evaluation on cytotoxicity and genotoxicity of the *L*-glutamic acid coated iron oxide nanoparticles. *J Nanosci Nanotechnol*, 2012, 12: 2866–2873
- 31 Ma-Hock L, Burkhardt S, Strauss V, et al. Development of a short-term inhalation test in the rat using nano-titanium dioxide as a model substance. *Inhalat Toxicol*, 2009, 21: 102–118
- 32 Nurkiewicz T R, Porter D W, Hubbs A F, et al. Nanoparticle inhalation augments particle-dependent systemic microvascular dysfunction. *Part Fibre Toxicol*, 2008, 5: 1
- 33 Sun Q, Hong X, Wold L E. Cardiovascular effects of ambient particulate air pollution exposure. *Circulation*, 2010, 121: 2755–2765
- 34 van Ravenzwaay B, Landsiedel R, Fabian E, et al. Comparing fate and effects of three particles of different surface properties: Nano-TiO₂, pigmentary TiO₂ and quartz. *Toxicol Lett*, 2009, 186: 152–159
- 35 Roursgaard M, Jensen K A, Poulsen S S, et al. Acute and subchronic airway inflammation after intratracheal instillation of quartz and titanium dioxide agglomerates in mice. *Scient World J*, 2011, 11: 801–825

- 36 Sun Q, Tan D, Ze Y, et al. Pulmotoxicological effects caused by long-term titanium dioxide nanoparticles exposure in mice. *J Hazard Materials*, 2012, 235: 47–53
- 37 Lee K, Trochimowicz H, Reinhardt C. Pulmonary response of rats exposed to titanium dioxide (TiO₂) by inhalation for two years. *Toxicol Appl Pharmacol*, 1985, 79: 179–192
- 38 IARC. Cobalt in Hard Metals and Cobalt Sulfate, Gallium Arsenide, Indium Phosphide and Vanadium Pentoxide. IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum, 2006, 86: 1–294
- 39 Leo B F, Chen S, Kyo Y, et al. The stability of silver nanoparticles in a model of pulmonary surfactant. *Environ Sci Technol*, 2013, 47: 11232–11240
- 40 Roberts J R, McKinney W, Kan H, et al. Pulmonary and cardiovascular responses of rats to inhalation of silver nanoparticles. *J Toxicol Environ Health, Part A*, 2013, 76: 651–668
- 41 Kaewamatawong T. Acute and subacute pulmonary toxicity caused by single intratracheal instillation of colloidal silver nanoparticles in mice: Pathobiological changes and metallothionein respon. *J Environ Pathol Toxicol Oncol*, 2014, 33: 59–66
- 42 Wang X, Ji Z, Chang C H, et al. Use of coated silver nanoparticles to understand the relationship of particle dissolution and bioavailability to cell and lung toxicological potential. *Small*, 2014, 10: 385–398
- 43 Gliga A R, Skoglund S, Wallinder I O, et al. Size-dependent cytotoxicity of silver nanoparticles in human lung cells: the role of cellular uptake, agglomeration and Ag release. *Particle Fibre Toxicol*, 2014, 11: 11
- 44 Suliman Y, Omar A, Ali D, et al. Evaluation of cytotoxic, oxidative stress, proinflammatory and genotoxic effect of silver nanoparticles in human lung epithelial cells. *Environ Toxicol*, 2013, doi: 10.1002/tox.21880
- 45 Fukui H, Horie M, Endoh S, et al. Association of zinc ion release and oxidative stress induced by intratracheal instillation of ZnO nanoparticles to rat lung. *Chemico-biological Interactions*, 2012, 198: 29–37
- 46 Sahu D, Kannan G, Vijayaraghavan R, et al. Nanosized zinc oxide induces toxicity in human lung cells. *ISRN Toxicol*, 2013, doi: 10.1155/2013/316075
- 47 Yan Z, Xu L, Han J, et al. Transcriptional and posttranscriptional regulation and endocytosis were involved in zinc oxide nanoparticle-induced interleukin-8 overexpression in human bronchial epithelial cells. *Cell Biol Toxicol*, 2014, 30: 79–88
- 48 Vandebriel R J, De Jong W H. A review of mammalian toxicity of ZnO nanoparticles. *Nanotechnol Sci Appl*, 2012, 5: 61–71
- 49 Juang Y M, Lai B H, Chien H J, et al. Changes in protein expression in rat bronchoalveolar lavage fluid after exposure to zinc oxide nanoparticles: An iTRAQ proteomic approach. *Rapid Commun Mass Spectrometry*, 2014, 28: 974–980
- 50 Jain S, Rachamalla M, Kulkarni A, et al. Pulmonary fibrotic response to inhalation of ZnO nanoparticles and toluene co-exposure through directed flow nose only exposure chamber. *Inhalat Toxicol*, 2013, 25: 703–713
- 51 Leutwyler W K, Bürgi S L, Burgl H. Semiconductor clusters, nanocrystals, and quantum dots. *Science*, 1996, 271: 933–937
- 52 Yong K T, Law W C, Hu R, et al. Nanotoxicity assessment of quantum dots: From cellular to primate studies. *Chem Soc Rev*, 2013, 42: 1236–1250
- 53 Brunetti V, Chibli H, Fiammengio R, et al. InP/ZnS as a safer alternative to CdSe/ZnS core/shell quantum dots: *In vitro* and *in vivo* toxicity assessment. *Nanoscale*, 2013, 5: 307–317
- 54 King-Heiden T C, Wicinski P N, Mangham A N, et al. Quantum dot nanotoxicity assessment using the zebrafish embryo. *Environ Sci Technol*, 2009, 43: 1605–1611
- 55 Hoshino A, Hanada S, Manabe N, et al. Immune response induced by fluorescent nanocrystal quantum dots *in vitro* and *in vivo*. *NanoBiosci, IEEE Trans on*, 2009, 8: 51–57
- 56 Bruneau A, Fortier M, Gagne F, et al. *In vitro* immunotoxicology of quantum dots and comparison with dissolved cadmium and tellurium. *Environ Toxicol*, 2015, 30: 9–25
- 57 Sadaf A, Zeshan B, Wang Z, et al. Toxicity evaluation of hydrophilic CdTe quantum dots and CdTe@ SiO₂ nanoparticles in mice. *J Nanosci Nanotechnol*, 2012, 12: 8287–8292
- 58 Roberts J R, Antonini J M, Porter D W, et al. Lung toxicity and biodistribution of Cd/Se-ZnS quantum dots with different surface functional groups after pulmonary exposure in rats. *Part Fibre Toxicol*, 2013, 10: 5
- 59 Ma-Hock L, Brill S, Wohlleben W, et al. Short term inhalation toxicity of a liquid aerosol of CdS/Cd (OH)₂ core shell quantum dots in male Wistar rats. *Toxico Lett*, 2012, 208: 115–124
- 60 Liu J, Erogbogbo F, Yong K T, et al. Assessing clinical prospects of silicon quantum dots: Studies in mice and monkeys. *ACS Nano*, 2013, 7: 7303–7310
- 61 McConnachie L A, Botta D, White C C, et al. The glutathione synthesis gene Gclm modulates amphiphilic polymer-coated CdSe/ZnS quantum dot-induced lung inflammation in mice. *PLoS One*, 2013, 8: e64165
- 62 Ho C C, Chang H, Tsai H T, et al. Quantum dot 705, a cadmium-based nanoparticle, induces persistent inflammation and granuloma formation in the mouse lung. *Nanotoxicology*, 2013, 7: 105–115

- 63 Jacobsen N R, Moller P, Jensen K A, et al. Lung inflammation and genotoxicity following pulmonary exposure to nanoparticles in Apoe^{-/-} mice. *Part Fibre Toxicol*, 2009, 6: 2
- 64 Nagy A, Steinbrück A, Gao J, et al. Comprehensive analysis of the effects of CdSe quantum dot size, surface charge, and functionalization on primary human lung cells. *ACS Nano*, 2012, 6: 4748–4762
- 65 Gagné F, Fortier M, Yu L, et al. Immunocompetence and alterations in hepatic gene expression in rainbow trout exposed to CdS/CdTe quantum dots. *J Environ Monit*, 2010, 12: 1556–1565
- 66 Choi A O, Brown S E, Szyf M, et al. Quantum dot-induced epigenetic and genotoxic changes in human breast cancer cells. *J Mol Med (Berlin, Germany)*, 2008, 86: 291–302
- 67 Borm P J, Kreyling W. Toxicological hazards of inhaled nanoparticles-potential implications for drug delivery. *J Nanosci Nanotechnol*, 2004, 4: 521–531
- 68 Oberdörster G, Ferin J, Lehnert B E. Correlation between particle size, *in vivo* particle persistence, and lung injury. *Environ Health Perspect*, 1994, 102: 173
- 69 Magrez A, Kasas S, Salicio V, et al. Cellular toxicity of carbon-based nanomaterials. *Nano Lett*, 2006, 6: 1121–1125
- 70 Wu T, Tang M. Toxicity of quantum dots on respiratory system. *Inhalat Toxicol*, 2014, 26: 128–139
- 71 Kendall M, Brown L, Trought K. Molecular adsorption at particle surfaces: A PM toxicity mediation mechanism. *Inhalat Toxicol*, 2004, 16: 99–105
- 72 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
- 73 Sharifi S, Behzadi S, Laurent S, et al. Toxicity of nanomaterials. *Chem Soc Rev*, 2012, 41: 2323–2343

Research advances on the toxic effects of manufactured nanoparticles on the respiratory system

WU TianShu & TANG Meng

Key Laboratory of Environmental Medicine Engineering, Jiangsu Key Laboratory for Biomaterials and Devices, School of Public Health & Collaborative Innovation Center of Suzhou Nano Science and Technology, Southeast University, Nanjing 210009, China

With the rapid development of nanotechnology in recent years, manufactured nanoparticles have been increasingly used in a wide range of applications in the bio-medicine field. Meanwhile, the bio-safety of manufactured nanoparticles have received more and more attention. As inhalation is one of the primary routes where manufactured nanoparticles can enter the body, a number of studies have investigated the toxic effects of nanoparticles on the respiratory system. This review briefly introduced the application of nano-drugs for the treatment of diseases associated with the respiratory system, and then focused on the toxic effects and potential toxicity mechanisms of several common manufactured nanoparticles on the body's respiratory system. Further considerations of the factors influencing the toxicity of nanoparticles have also been provided. This review intended to provide valuable clues for further research into manufactured nanoparticles and their applications.

manufactured nanoparticles, toxicology, biological effects, inhalation toxicity

doi: 10.1360/N972014-00941