

量子点毒性效应的研究进展

李鸿程^①, 周群芳^①, 刘伟^①, 闫兵^②, 赵一兵^③, 江桂斌^{①*}

① 中国科学院生态环境研究中心环境化学与生态毒理国家重点实验室, 北京 100085;

② 山东大学药学院, 济南 250100;

③ 厦门大学化学化工学院, 厦门 361005

* 联系人, E-mail: gbjiang@rcees.ac.cn

收稿日期: 2008-01-26; 接受日期: 2008-02-21

国家自然科学基金重点项目(批准号: 20537020), 国家重点基础研究发展计划(批准号: 2003CB415001)资助

摘要 量子点(quantum dots, QDs)作为一种新型的纳米材料已备受关注. 由于其独特的荧光特性, 量子点已经成功地应用于生命科学等领域. 近年来, 量子点的生物学毒性效应及其环境影响成为新的研究热点. 本文综述了量子点毒性效应的相关研究, 并对该领域的前景及研究方向进行了评述和展望.

关键词

量子点
毒理学
纳米材料

1 引言

随着纳米技术的产业化, 纳米材料在医疗诊断、材料改性、环境污染物降解以及生物技术等领域得到了广泛的应用. 不可避免地, 随着对纳米材料研究的深入, 这种超精细颗粒对环境造成的潜在危害也逐渐受到人们的重视^[1,2]. 量子点(quantum dots, QDs), 也称半导体纳米微晶体, 是一种由 II-VI 族或 III-V 族元素组成的纳米颗粒. 由于其粒径很小(约 2~10 nm), 电子和空穴被量子限域, 连续能带变成具有分子特性的分立能级结构, 所以量子点具有独特的光学性质. 目前, 量子点最具前景的应用是在生物和医学领域中作为荧光标记物^[3~6].

作为一种新型的荧光探针, 量子点的激发光波段范围宽、发射光谱宽度窄、荧光强度高、稳定性好以及寿命较长等优点使得它比传统的有机染料(如罗丹明 6G)有明显的优越性. 由于单独的量子点容易受到杂质和晶格缺陷的影响, 荧光量子产率很低, 并且容易释放出有毒元素 Cd, 所以目前应用最为广泛的量子点是一种以 CdSe, CdTe 等为核, ZnS, ZnSe 等作为表面薄层的核/壳结构的物质, 此结构不仅能得到

较高的发光产率和较好的光化学稳定性^[7,8], 并能有效地防止 Cd 的溢散而产生的毒性. 但在成功解决了量子点荧光效率的问题之后, 其分散性、水溶性以及如何降低量子点与其他介质的非特异性结合又成为了其生物学应用领域面临的新的挑战. 1998 年, Alivisatos^[9]和 Nie^[10]两个研究组开展了量子点作为生物荧光探针, 并适用于活细胞体系的工作, 初步解决了量子点的水溶性以及如何通过表面的活性基团与生物大分子偶联的问题. 随之, 人们陆续开始了利用各种生物兼容性的量子点对细胞进行识别鉴定、表面或内部的生物大分子定位、细胞器定位、胞内组分的运动和迁移, 以及信号传导等方面的研究. 但是直到 2001 年, 量子点在生物学中的第一个真正应用才得以实现. Nie^[11]等将不同数量和不同荧光特性的量子点组合后移植进高分子小球, 从而形成具有光谱编码功能的微粒. 研究发现, 只需要 5、6 种颜色并结合 6 种不同发光强度的量子点进行组合得到的量子点微粒就可以形成 1 万至 4 万个可识别的编码信号, 并且这些编码微粒在检测识别 DNA 片段的模型实验中取得了成功. 到目前为止, 量子点在生物学上已经成功地

地应用于单分子检测、单细胞追踪以及动物活体成像等领域 [12~15].

随着研究的不断深入, 量子点与生物学之间的关系也必将更加紧密. 那么, 新的问题产生了: 这种短期或长期附载在生物体内且性能独特的纳米颗粒在吸收、转运及代谢过程中会对生物个体、组织、细胞甚至生物分子的行为带来什么样的影响? 是否存在潜在的负面生物效应? 如果存在, 如何评价? 这一系列的问题加速了对这种纳米材料毒性评价的需求. 但到目前为止, 量子点结构的多样性和其毒理学数据信息的匮乏又使得我们对量子点的毒性评价显得尤为困难.

2 量子点毒理学效应研究现状与分析

迄今为止的各种研究结果表明, 影响量子点毒

性的因素很多, 包括颗粒自身的理化性质(如粒径大小、稳定性、分散性、表面电荷、表面修饰基团、氧化态), 量子点浓度, 受体细胞(活体)的种类, 以及培养(暴露)时间等. 因此, 在评价量子点毒性时, 不能简单地定义其是否具有毒性, 而应该综合分析量子点的内在性质, 及其与外界环境的相互作用等诸多因素.

2.1 量子点理化结构对细胞毒性的影响

2004 年, 人们开始围绕量子点结构与其毒性的关系展开讨论, 见表 1. Shiohara 等 [16] 探讨了量子点 CdSe/ZnS 的粒径大小对细胞活性的影响. 三种不同尺度(荧光发射波长分别为 520, 570 和 640 nm)的量子点 CdSe/ZnS 与羊血清蛋白(SSA)键合后, 分别对非洲绿猴肾细胞(Vero)、人宫颈癌传代细胞(HeLa)和人

表 1 量子点理化结构对其毒性的影响

量子点类型	模型动物	暴露浓度	毒性效应	参考文献
CdSe/ZnS-MUA	Vero 细胞 Hela 细胞 人原代肝细胞	0~0.4 mg/mL	0.1~0.2 mg/mL 产生细胞毒性; 小尺寸 CdSe/ZnS 有较大的毒性	[16]
CdTe	HepG2 细胞; 大鼠	2 nmol/kg	2 nmol/kg 产生细胞毒性; 小尺寸 CdTe 具有较大的毒性	[17]
CdTe 红色: 5.2±0.1 nm 绿色: 2.2±0.1 nm	PC12 细胞 N9 细胞	0.01~100 µg/mL	10 µg/mL 具有细胞毒性; 染色质浓缩和空泡化	[18]
CdSe/ZnS 加合物: —COOH, —NH ₂ , —OH, —OH/COOH, —NH ₂ /OH	WTK1 细胞	1~2 µmol/L	QD-COOH: DNA 损伤 其他加合物没有表现基因毒性	[19]
PEG-SiO ₂ /ZnS-CdSe PEG-SiO ₂ /CdSe	Cos7, NIH3T3, HepG2 细胞	0~100 µg/mL	100 µg/mL: 50%细胞活性 比 MAA/QD 和 PA/QD 毒性小	[20]
CdSe-Fluronic 68 CdSe-CTAB CdSe-SDS	HepG2 细胞	0~400 µg/mL	Fluronic 68-CdSe 的细胞毒性远 小于 CTAB-CdSe 和 SDS-CdSe	[21]
MPA-CdTe Cys-CdTe NAC-CdTe Cys-CdSe/ZnS	MCF-7 细胞	10 µg/mL	Cys-CdSe/ZnS 没有细胞毒性; MPA-CdTe, Cys-CdTe 和 NAC- CdTe 均具有明显的细胞毒性	[22]
CdSe/ZnS-MPA, PEG, silane: 红色发射光(24 nm) 绿色发射光(13 nm)	NRK 纤维原细胞 MDA-MB-435S 细胞 CHO 细胞 RBL 细胞	2~10 nmol/L	细胞以不同的方式吸收量子点 PEG-silane-CdSe/ZnS	[23]
PEG-CdSe/CdS: 750-PEG-QD 6000-PEG-QD	SK-BR-3 细胞	10~150 nmol/L	细胞毒性大小为: 裸核 QD>(750)-QD>(6000)-QD	[24]
PEG-CdSe/ZnS: 750-PEG-QD 5000-PEG-QD	小鼠	20 pmol QD/g 体重	不同的吸收速率; 没有明显的细胞坏死现象	[25]
QD-LM QD-LM-BSA	大鼠	16 pmol QD/g 体重	不同的毒物动力学特性; 靶器官没有明显的病理学变化	[26]
PEG-CdTe/ZnS: 5000-PEG-QD	小鼠	1.12 pmol QD/g 体重	没有明显的组织病理学异常; 在血液中有较长的半衰期	[27]

原代肝细胞(HC)的存活率进行了考察. 通过MTT法实验发现: 即使在低剂量(0.1 mg/mL)暴露浓度下, 细胞活性也会显著性地降低. 另外, QD520 和QD570 对细胞活性的影响比QD640 的影响要大. 由于粒子在细胞内的运动与粒径大小密切相关, 这有可能解释小粒径的颗粒更容易引起细胞变化的原因. 研究者又从细胞急性毒性的角度出发, 对暴露于不同浓度QD520 下Vero细胞的存活率进行了考察. 结果表明, 细胞存活率存在明显的剂量-效应和时间-效应关系, 即随着暴露浓度和暴露时间的增加, 细胞存活率也显著性降低. 这与Zhang^[17]等研究的不同尺度CdTe对HepG2 细胞毒性影响的结果是一致的.

Lovric等^[18]对不同粒径和表面电荷的量子点CdTe在PC12 和N9 细胞亚细胞器中的分布及其毒性效应进行了研究. 结果表明: CdTe在亚细胞器中的分布主要由粒径大小决定. 共聚焦荧光显微镜显示: 具有红色发射光的CdTe(Red型, 直径为 5.2 ± 0.1 nm)主要分布在细胞质中, 而具有绿色发射光的CdTe(Green型, 直径为 2.2 ± 0.1 nm)则主要分布在细胞核内部. 此外, 两种不同粒径的CdTe在 $10 \mu\text{g/mL}$ 时均表现出显著的细胞增殖毒性. 但在高剂量($100 \mu\text{g/mL}$)暴露条件下, Red型和Green型对细胞代谢活性表现出不同的抑制率, 分别为 $46.8 \pm 2.3\%$ 和 $68.8 \pm 1.4\%$, 这也表明小粒径量子点具有更大的潜在毒性. 另外, 带有正电荷(氨基修饰)和带负电荷(羧基修饰)的量子点均可以不同程度地引起细胞核形态的改变(如染色质浓缩和空泡化)和细胞代谢活性的下降.

研究表明: 量子点的表面理化性质是影响其毒性的关键. 目前已有不少课题组开展了研究量子点表面修饰物的工作. Hoshino等^[19]研究了量子点ZnS/CdSe经不同基团修饰后对WTK1 细胞遗传毒性的影响. 研究人员在量子点ZnS/CdSe原有壳/核结构的基础上, 包被上巯基十一酸(MUA)、半胱氨酸、硫代甘油以及等比例的上述混合物, 分别得到QD-COOH, QD-NH₂, QD-OH, QD-OH/COOH 和QD-NH₂/OH五种亲水性量子点. 结果表明, 这五种量子点的荧光强度和最大荧光发射波长都有一定程度的改变. 通过彗星实验, 对比了不同量子点的遗传毒性. 实验发现, 在 $2 \mu\text{mol/L}$ 的暴露浓度下对WTK1

作用 2 h, 只有QD-COOH呈现高毒性, 而其他官能团修饰的量子点在同等条件下均呈现低毒或无毒. 为了确认毒性来源, 研究者单独对MUA、半胱氨酸和硫代甘油作了毒性测试, 结果显示MUA具有较高毒性, 而半胱氨酸和硫代甘油毒性相对较低, 这解释了QD-COOH呈现高毒性的现象, 从而也证实了量子点表面修饰基团是决定其毒性的重要因素. Selvan等^[20]分析了量子点外层包覆SiO₂ 后对细胞毒性的影响. 他们利用反相微乳技术制备了稳定性好且量子产率较高(17%~20%)的SiO₂/ZnS-CdSe和SiO₂/CdSe, 并与MAA-CdSe和PA/ZnS-CdSe进行了细胞毒性的比较. 毒性测试表明: SiO₂/QD对Cos7, NIH 3T3 和HepG2 三种细胞的毒性远小于同等条件下MAA/QD和PA/QD的细胞毒性. 他们推测这种毒性的降低主要是因为SiO₂ 包覆有效抑制了CdSe的降解. Guo等^[21]分别用Fluronic 68 (F-68)、溴代十六烷基三甲胺(CTAB)和十二烷基磺酸钠(SDS)作为量子点CdSe表面聚合物壳层, 并比较了这三种量子点对HepG2 细胞活性的影响. 结果发现: F-68 修饰后的量子点, 其细胞毒性远小于CTAB和SDS修饰后的毒性. Cho 等^[22]比较了四种表面经过不同修饰的量子点(MPA-CdTe, Cys-CdTe, NAC-CdTe和Cys-CdSe/ZnS)对人乳腺癌细胞增殖毒性的影响. 实验结果表明: 在 $10 \mu\text{g/mL}$ 浓度下暴露 1 h, MPA-CdTe, Cys-CdTe和NAC-CdTe均具有明显的细胞毒性, 而Cys-CdSe/ZnS则对细胞活性几乎没有影响. Kirchner等^[23]探讨了量子点外层包裹不同的高分子聚合物后对细胞毒性的影响. 他们将CdSe和CdSe/ZnS分别用巯基丙酸(MPA)、硅烷(silane)和聚合物(polymer)修饰后再与不同细胞作用. 共聚焦荧光显微镜成像表明: 同种细胞以相似的方式吸收MPA-polymer, polymer-silane等包裹的CdSe/ZnS, 且小颗粒(绿色发射光, 粒径约 13 nm)比大颗粒(红色发射光, 粒径约 24 nm)更容易进入细胞, 而细胞对PEG-silane包裹的量子点的吸收情况恰好相反. 这暗示了外层聚合物亲脂性的不同可能引起细胞吸收方式的不同, 而吸收方式的不同可能进一步导致细胞毒性的不同. Chang等^[24]比较了乳腺癌细胞SK-BR-3 对不同聚乙二醇(PEG)修饰的量子点的内吞作用及其毒性响应, 结果发现, SK-BR-3 细胞对不同量子点的吸收程度与细胞毒性大小遵循相同的规律: 裸核

QD>(750)-PEG-QD>(6000)-PEG-QD.

2.2 量子点在活体内的毒物动力学研究

毒物动力学是研究毒理学效应的重要参考依据,但目前关于量子点毒物动力学的报道较少. Ballou 等^[25]将两亲性的聚丙烯酸包覆于 QD 的表面,并键合上不同分子量(750 和 5000)的 PEG,以 20 pmol QD/g 体重的剂量,通过尾静脉注入小鼠体内.结果表明:聚合物分子量的不同导致了小鼠对量子点吸收水平上的差异.无损荧光影像显示:(750)-PEG-QD 在给药 1 min 后就能被肝脏吸收,但 1 h 后几乎完全被清除;而(5000)-PEG-QD 在注射后 1~3 h 内才被肝脏吸收. Fischer 等^[26]将具有 ZnS/CdSe 结构的量子点经过巯基十一酸/赖氨酸(QD-LM, 约 25 nm)包被后再与牛血清白蛋白交联(QD-LM-BSA, 约 80 nm),以 16 pmol QD/g 体重的剂量,通过颈部静脉注入大鼠体内.通过对比这两种不同量子点在大鼠体内的动力学行为发现:在生物吸收方面,肝脏、脾脏、肺、肾、淋巴腺和骨髓中都不同程度地检出,其中都以肝脏为主要的靶器官,但是这两种量子点在肝脏中的吸收百分比却存在显著性差异,分别为 36.4% 和 99.5%;在清除方面,QD-LM 和 QD-LM-BSA 在血浆中的清除速率分别为 $0.59 \pm 0.16 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $1.23 \pm 0.22 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$,对应的半衰期为 58.5 ± 17.0 和 $38.7 \pm 3.5 \text{ min}$;在代谢产物(尿液和粪便)中,并没有检测出量子点的存在.类似地, Yang^[27]等研究了商品化量子点(5000)-PEG-ZnS/CdTe (QD705, 约 13 nm)在小鼠体内的毒物动力学行为.他们以 40 pmol QD(约 1.12 pmol QD/g 体重)的剂量,通过尾静脉注射至小鼠体内.结果表明:肝脏和脾脏是 QD705 的主要富集器官;血浆中的清除速率为 $2.3 \text{ mL} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$,半衰期 $t_{1/2}$ 为 18.5 h,这远大于 Ballou^[25](QD630, QD645 和 QD655 的 $t_{1/2}$ 为 12~70 min)和 Fischer^[26]($t_{1/2} < 60 \text{ min}$)报道的结果;同 Fischer 结果一样,在单次给药后 0~28 天的过程中,尿液和粪便中也未检测出量子点.但 Ballou 等^[25]通过肠道内存在量子点荧光的现象,推断量子点可以通过粪便排出.此外, Zhang 等^[17]以 $2 \text{ nmol} \cdot \text{kg}^{-1}$ 剂量的 CdTe 静脉注射至大鼠体内后,对血液和尿液的生理指标进行了检测,并未发现明显的变化.这几项研究尽管并未发现靶器官有明显的病

变反应,但药代动力学的不同可能会导致量子点毒性水平的差异.

为了更好地发挥量子点独特的光学性能以及有效地提高量子点的生物可利用性,研究者在量子点的结构修饰和毒性研究上做了大量的工作.毫无疑问,结构上的改进使得量子点在稳定性、荧光强度以及荧光寿命方面都得到了很好的提高,但同时也必然影响了量子点在生物体内的化学行为.因此,要想了解这些未知的化学过程,机理研究是很重要的.

2.3 量子点对机体的氧化损伤效应及机理研究

近年来,一些研究组从不同角度对量子点的致毒机理展开了讨论. Derfus 等^[28]发现,以巯基乙酸(MAA)为分散剂,三辛基氧化膦(TOPO)包裹的 CdSe 量子点在空气中氧化 30 min 后与细胞作用,细胞活性从 98% 显著降低为 21%. 由此推测,这种细胞毒性可能是 CdSe 表面发生氧化反应所引起的.为验证这种假设,研究人员采用紫外照射的方法加速 CdSe 的氧化过程,结果表明:细胞活性随氧化时间的增加而显著降低,并存在明显的时间-效应关系.通过对体系中 Cd^{2+} 自由溶解态浓度的测定发现:同等条件下,未经氧化的 QDs 体系中 Cd^{2+} 浓度为 $6 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$;经空气诱导氧化后 TOPO-QDs 体系中 Cd^{2+} 浓度为 $126 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$;经紫外光催化氧化后 QDs 体系中 Cd^{2+} 浓度为 $82 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$.由此提出了量子点的细胞致毒机理: CdSe 核表面的氧化导致了 Cd^{2+} 的释放,如图 1 所示.鉴于环境自身氧化物质 H_2O_2 的存在,研究人员同时测定了经 $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ H}_2\text{O}_2$ 的氧化过程后,量子点 CdSe 体系中 Cd^{2+} 的自由溶解态浓度为 $24 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$.据文献报道,浓度为 $11\sim 44 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 Cd^{2+} 会造成肝细胞死亡^[29,30].这更充分说明了量子点环境中存在潜在的毒性.

Kirchner 等^[23]在讨论了不同聚合物对细胞吸收方式的影响后,进一步研究了量子点 CdSe 和 CdSe/ZnS 的毒性与 Cd^{2+} 释放的关系.他们通过量子点染毒前后贴壁生长细胞数目来评价 QD 产生的细胞增殖毒性,同时利用 ICP-OES 测定了体系中自由溶解态 Cd^{2+} 的浓度.结果发现:细胞毒性随着体系中 Cd^{2+} 浓度的增加而增大,这与 Derfus^[28]的结论是一致的.但有趣的是,在纳米 Au 上包裹同样的聚合物,

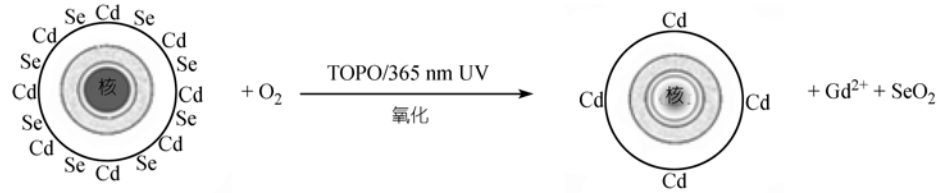


图1 量子点表面经氧化后 Cd^{2+} 的释放机理 [28]

在相同的条件下作用于同种细胞, 纳米 Au 同样可以产生类似于量子点的毒性反应. 这充分表明, 体系中 Cd^{2+} 的释放是造成细胞损伤的重要因素但不是唯一因素, 影响其毒性的其他机理还有待进一步的研究.

考虑到修饰后的量子点在生物体内经过长期的生物氧化和降解过程后, 很可能造成壳层脱落而形成裸核结构. 因此, 研究未经过任何修饰的量子点毒性也是很有必要的. Lovric [31] 研究组发现: 裸核CdTe能造成MCF-7 细胞线粒体、质膜和细胞核的损伤以及线粒体中细胞色素C的释放, 最终导致细胞凋亡. 实验还发现: 裸核CdTe产生的细胞毒性可以通过抗氧化剂的介入得以抑制, 所以这种细胞损伤可能是由ROS介导产生的. 因此, 他们认为: 量子点在作为生物荧光标记物时, 关键在于如何调控壳层结构, 防止生物体或外界环境的氧化所引起的降解过程. 但奇怪的是, 在Lovric [18] 前期研究中, 两种抗氧化剂(NAC, Trolox)的加入对细胞活性有着不同的影响: $2\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的NAC可以很大程度地抑制量子点诱导的细胞增殖毒性; 而在相同条件下, 同样作为抗氧化剂的Trolox却不能抑制该毒性, 这说明活性氧自由基并不是造成量子点毒性的唯一机制.

Tsay [32] 综合了前人的工作, 从自由基小分子的角度, 提出了量子点的核/壳结构在生物体内发生一系列降解、氧化反应, 从而导致细胞毒性的机理, 如图2所示. 量子点壳层结构由于生物体或外界环境的氧化作用而受到破坏, 壳层氧化脱落, 进而引起中心核的氧化以及 Cd^{2+} 的释放; 另一方面, 氧化过程中产生的活性氧物质(ROS)在生物体内又会引起一系列自由基链反应, 诱发脂质过氧化过程, 最终导致细胞凋亡. Cho等 [22] 在随后的体外实验中验证了Tsay的观点, 他们将不同的量子点($CdCl_2$ 作为阳性对照)在同一浓度下($10\text{ }\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)作用MCF-7 细胞, 比较了细胞内 Cd^{2+} 浓度和对应的细胞增殖毒性之间的关系. 结果发

现: 当暴露于 $CdCl_2$ 时, 细胞内 Cd^{2+} 浓度和细胞活性之间存在显著的负相关($R^2 = 0.868$), 而暴露于量子点时, 两者并不存在明显的剂量-效应关系, 这说明细胞毒性的产生并不是 Cd^{2+} 单独作用的结果. 进一步结合暴露过程中细胞溶酶体和线粒体形态学的改变, 研究人员认为量子点毒性是游离 Cd^{2+} 和氧化过程产生的ROS共同作用的结果.

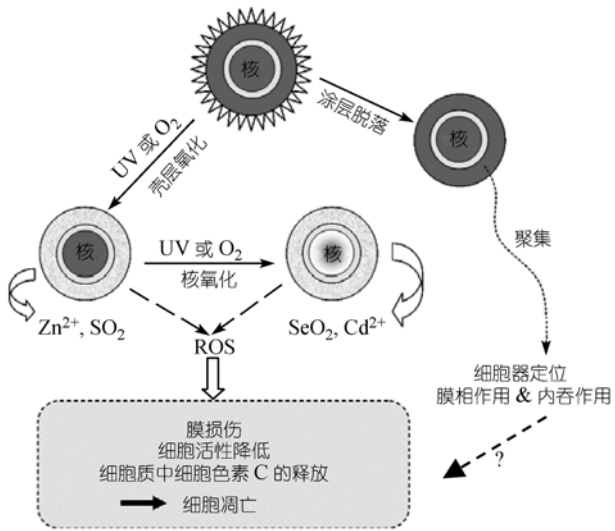


图2 量子点降解致毒机理示意图 [32]

Green等 [33] 深入地研究了量子点产生的活性氧自由基对超螺旋DNA缺损的影响. 实验发现: 仅仅在紫外光的照射下, DNA的损伤率小于 5%; 只有量子点存在的情况下, DNA的损伤率为 29%; 而在紫外光和量子点共存的情况下, DNA的损伤率达到了 56%. 他们认为这种DNA损伤是由量子点表面光催化氧化产生的自由基导致的.

Ipe等 [34] 进一步探讨了氧化应激与量子点本身结构的相关性. 他们认为: 单独的CdS在紫外光下能产生羟自由基和超氧阴离子自由基, 单独的CdSe同样

也能产生羟自由基,而具有核/壳结构的CdSe/ZnS并没有自由基的产生,这表明经过特定的壳层修饰,QD能在一定程度上抑制有毒元素Cd的溢出,从而抑制自由基的产生.

综上所述,关于量子点的毒性机制研究主要集中在重金属元素 Cd^{2+} 的释放、氧化过程中活性氧的产生以及活性氧自由基介导的氧化应激等方面的探讨. 为了避免或减弱该机制的影响,普遍的研究思路是通过量子点的包裹材料和包覆技术的选择,从而将量子点毒理学效应问题简单化: 其一为量子点的表面物理化学特性对其毒性效应不起作用或不起主要作用; 其二为结合化学键合技术并选择适当的包覆材料可有效避免量子点崩解所产生的毒性效应. 目前,相关研究仍在持续进行中.

2.4 量子点毒性效应的其他相关研究与探讨

除上述因素外,影响量子点生物效应及毒性的因素还有很多. 其中最小有作用剂量和最大无作用剂量是两个很重要的参数,合理控制这两个参数,可以在没有或最低毒性响应的条件下达到生物应用的目的. Larson等^[35]利用双光子荧光成像技术实现了量子点在小鼠体内的示踪,发现 $1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ QD并没有导致明显的病理学反应,这与Voura等^[36]的结果是一致的. Hanaki等^[37]将Vero细胞暴露于 $0.24 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的SSA-MUA/CdSe/ZnS培养液中 2 h,也未发现细胞活性发生显著性变化. Chen等^[38]认为 $10 \text{ pmol}/10^5$ 细胞数(约 $10 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$)浓度的CdSe/ZnS对HeLa细胞的存活率影响很小.

本课题组进行了量子点ZnS/CdSe在水生动物(泥鳅)体内的毒物动力学研究. 我们分析了不同时间、不同浓度量子点在泥鳅各组织中的分布富集状况,结果表明: 肝脏和肾脏是量子点的主要富集器官. 另外,我们从雌激素效应的角度考察了量子点(PEG-ZnS/CdSe)在雄性泥鳅体内对 17β -雌二醇(E2)诱导产生卵黄蛋白原(Vtg)的影响. 实验发现,等浓度CdSe和 Cd^{2+} (以Cd计)都能显著性抑制E2诱导产生的Vtg. 结合量子点致毒机理来看,Cd扮演着至关重要的角色. 而Cd作为一种新型的环境内分泌干扰物,已经为大家所共识: Cd^{2+} 与雌激素受体有很高的亲和力^[39],能够通过改变E2受体(ER)的构象,来抑制E2与

ER的特异性结合,从而影响E2诱导产生的卵黄蛋白原^[40]. 我们推测量子点抑制Vtg的机理和游离态 Cd^{2+} 基本一致,但是量子点作为一种典型的纳米材料,具有很大的比表面积,也有可能由于非特异性吸附E2从而导致了生物体对E2的吸收,具体的机理还有待进一步研究.

3 结语与展望

为了进一步完善关于量子点的毒理学数据,以满足量子点在生物学方面的更多应用,我们可以从以下几个方面开展相关研究工作:

(1) 量子点合成工艺本身是个多元化的过程: 从合成原料和路线,到通过化学修饰解决水溶性和稳定性问题,最后与生物大分子的交联. 因此,如何适当控制反应,有效地避免配体效应和溶剂效应,从而尽可能减少有机毒物的引入是解决量子点毒性效应问题的重要环节.

(2) 从量子点组分角度出发,研究各组成元素如Cd, Se, Te, S, Zn等的毒性^[41-44],并和已知组分的毒性研究结果作对比.

(3) 建立模型系统,采用多种染毒途径和检测指标,在现有毒性研究的基础上,再从神经毒性、生殖毒性、免疫毒性、毒物动力学等多角度进行综合评价分析.

(4) 尽管量子点用作生物标记的量可能远小于毒理学实验染毒的剂量,但纳米材料的高吸附性可能产生生物累积效应,这使得量子点在体内吸收、分布、代谢和排泄(即ADME)的综合研究显得更有意义.

(5) 目前,体外实验(细胞水平)研究较多,而体内实验(个体水平)和生物分子实验(分子水平)的研究相对较少. 把个体、细胞和分子三种层次的研究有机的结合,可以获得一些更有说服力的毒理学数据.

(6) 量子点已经被组装于多种纳米颗粒表面或内部(包括二氧化硅、有机聚合物、磷脂等纳米颗粒)而构成复合型多功能纳米探针,并应用于生物和医学等领域. 由于这类多功能纳米探针必然是今后应用于生命物质编码和功能标识的主要探针之一,所以其毒理学效应将对进一步的生物应用具有指导作用. 另外,通过复合纳米探针的毒理学效应研究,据此合理构建各种复合纳米探针,也将为进一步研究

不同类型量子点本身的毒理学效应并开发环境友好复合纳米探针提供新的研究思路。

(7) 虽然其他量子点(如 SrSe, SrTe, BaSe 等)还没有广泛应用于生物学, 但可以通过评价它们毒效的同性和异性, 来为其将来在生物学方面的应用提供有力的参考依据。

(8) 从研究方法的角度看, 开展量子点毒理学效应研究时, 量子点的理化特征必须具有可控性。因此,

对量子点的制备和表征应该有相应的高要求, 如此才能保证毒理学效应研究的科学性。

综上所述, 量子点作为生物学领域强有力的工具, 不仅要具有水溶性好、稳定性强和荧光产率高的特性, 更要满足其毒性尽可能低的要求, 这就需要进行大量的毒理学方面的研究。正如纳米技术是一个长久的、持续的研究开发过程一样, 量子点毒性效应的研究, 也必将是个长久、持续的探索过程。

参考文献

- 1 Oberdörster G, Oberdörster E, Oberdörster J. Nanotoxicology: An emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles. *Environ Health Perspect*, 2005, 113(7): 823–839
- 2 Nel A, Xia T, Mädler L, Li N. Toxic potential of materials at the nanolevel. *Science*, 2006, 311(5761): 622–627 [\[DOI\]](#)
- 3 Gao X H, Cui Y Y, Levenson R M, Chung L W K, Nie S M. *In vivo* cancer targeting and imaging with semiconductor quantum dots. *Nat Biotechnol*, 2004, 22(8): 969–976 [\[DOI\]](#)
- 4 Alivisatos P. The use of nanocrystals in biological detection. *Nat Biotechnol*, 2004, 22(1): 47–52 [\[DOI\]](#)
- 5 Michalet X, Pinaud F F, Bentolila L A, Tsay J M, Doose S, Li J J, Sundaresan G, Wu A M, Gambhir S S, Weiss S. Quantum dots for live cells, *in vivo* imaging, and diagnostics. *Science*, 2005, 307(5709): 538–544 [\[DOI\]](#)
- 6 Howarth M, Takao K, Hayashi Y, Ting A Y. Targeting quantum dots to surface proteins in living cells with biotin ligase. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(21): 7583–7588 [\[DOI\]](#)
- 7 Dabbousi B O, Rodriguez-Viejo J, Mikulec F V, Heine J R, Mattoussi H, Ober R, Jensen K F, Bawendi M G. (CdSe)ZnS core-shell quantum dots: Synthesis and characterization of a size series of highly luminescent nanocrystallites. *J Phys Chem B*, 1997, 101(46): 9463–9475 [\[DOI\]](#)
- 8 Hines M A, Guyot-Sionnest P. Synthesis and characterization of strongly luminescing ZnS-capped CdSe nanocrystals. *J Phys Chem*, 1996, 100(2): 468–471 [\[DOI\]](#)
- 9 Bruchez Jr M, Moronne M, Gin P, Weiss S, Alivisatos A P. Semiconductor nanocrystals as fluorescent biological labels. *Science*, 1998, 281(5385): 2013–2016 [\[DOI\]](#)
- 10 Chan W C W, Nie S. Quantum dot bioconjugates for ultrasensitive nonisotopic detection. *Science*, 1998, 281(5385): 2016–2018 [\[DOI\]](#)
- 11 Han M Y, Gao X H, Su J Z, Nie S. Quantum-dot-tagged microbeads for multiplexed optical coding of biomolecules. *Nat Biotechnol*, 2001, 19(7): 631–635 [\[DOI\]](#)
- 12 Dahan M, Levi S, Luccardini C, Rostaing P, Riveau B, Triller A. Diffusion dynamics of glycine receptors revealed by single-quantum dot tracking. *Science*, 2003, 302(5644): 442–445 [\[DOI\]](#)
- 13 Jaiswal J K, Mattoussi H, Mauro J M, Simon S M. Long-term multiple color imaging of live cells using quantum dot bioconjugates. *Nat Biotechnol*, 2003, 21(1): 47–51 [\[DOI\]](#)
- 14 Dubertret B, Skourides P, Norris D J, Noireaux V, Brivanlou A H, Libchaber A. *In vivo* imaging of quantum dots encapsulated in phospholipid micelles. *Science*, 2002, 298(5599): 1759–1762 [\[DOI\]](#)
- 15 Wu C L, Zheng J S, Huang C B, Lai J P, Li S Y, Chen C, Zhao Y B. Hybrid silica-nanocrystal-organic dye superstructures as post-encoding fluorescent probes. *Angew Chem-Int Edit*, 2007, 46 (28): 5393–5396 [\[DOI\]](#)
- 16 Shiohara A, Hoshino A, Hanaki K, Suzuki K, Yamamoto K. On the cyto-toxicity caused by quantum dots. *Microbiol Immunol*, 2004, 48(9): 669–675
- 17 Zhang Y B, Chen W, Zhang J, Liu J, Chen G P, Pope C. *In vitro* and *in vivo* toxicity of CdTe nanoparticles. *J Nanosci Nanotechnol*, 2007, 7(2): 497–503 [\[DOI\]](#)
- 18 Lovric J, Bazzi H S, Cuic Y, Fortin G R A, Winnik F M, Maysinger D. Differences in subcellular distribution and toxicity of green and

- red emitting CdTe quantum dots. *J Mol Med*, 2005, 83(5): 377–385 [\[DOI\]](#)
- 19 Hoshino A, Fujioka K, Oku T, Suga M, Sasaki Y F, Ohta T, Yasuhara M, Suzuki K, Yamamoto K. Physicochemical properties and cellular toxicity of nanocrystal quantum dots depend on their surface modification. *Nano Lett*, 2004, 4(11): 2163–2169 [\[DOI\]](#)
 - 20 Selvan S T, Tan T T, Ying J Y. Robust, non-cytotoxic, silica-coated CdSe quantum dots with efficient photoluminescence. *Adv Mater*, 2005, 17(3): 1620–1625 [\[DOI\]](#)
 - 21 Guo G N, Liu W, Liang J G, He Z K, Xu H B, Yang X L. Probing the cytotoxicity of CdSe quantum dots with surface modification. *Mat Lett*, 2007, 61(8-9): 1641–1644 [\[DOI\]](#)
 - 22 Cho S J, Maysinger D, Jain M, Roder B, Hackbarth S, Winnik F M. Long-term exposure to CdTe quantum dots causes functional impairments in live cells. *Langmuir*, 2007, 23 (4): 1974–1980 [\[DOI\]](#)
 - 23 Kirchner C, Liedl T, Kudera S, Pellegrino T, Javier A M, Gaub H E, Fertig N, Parak W J. Cytotoxicity of colloidal CdSe and CdSe/ZnS nanoparticles. *Nano Lett*, 2005, 5(2): 331–338 [\[DOI\]](#)
 - 24 Chang E, Thekkekk N, Yu W W, Colvin V L, Drezek R. Evaluation of quantum dot cytotoxicity based on intracellular uptake. *Small*, 2006, 2(12): 1412–1417 [\[DOI\]](#)
 - 25 Ballou B, Lagerholm B C, Ernst L A, Bruchez M P, Waggoner A S. Noninvasive imaging of quantum dots in mice. *Bioconjug Chem*, 2004, 15(1): 79–86 [\[DOI\]](#)
 - 26 Fischer H C, Liu L C, Pang K S, Chan W C W. Pharmacokinetics of nanoscale quantum dots: *In vivo* distribution, sequestration, and clearance in the rat. *Adv Funct Mater*, 2007, 16(10): 1299–1305 [\[DOI\]](#)
 - 27 Yang R H, Chang L W, Wu J P, Tsai M H, Wang H J, Kuo Y C, Yeh T K, Yang C S, Lin P. Persistent tissue kinetics and redistribution of nanoparticles, quantum dot 705, in mice: ICP-MS quantitative assessment. *Environ Health Perspect*, 2007, 115(9): 1339–1343
 - 28 Derfus A M, Chan C W, Bhatia S N. Probing the cytotoxicity of semiconductor quantum dots. *Nano Lett*, 2004, 4(1): 11–18 [\[DOI\]](#)
 - 29 Kondoh M, Araragi S, Sato K, Higashimoto M, Takiguchi M, Sato M. Cadmium induces apoptosis partly *via* caspase-9 activation in HL-60 cells. *Toxicol*, 2002, 170(1-2): 111–117 [\[DOI\]](#)
 - 30 Rikans L E, Yamano T. Mechanisms of cadmium-mediated acute hepatotoxicity. *J Biochem Mol Toxic*, 2000, 14(2): 110–117 [\[DOI\]](#)
 - 31 Lovric J, Cho S J, Winnik F M, Maysinger D. Unmodified cadmium telluride quantum dots induce reactive oxygen species formation leading to multiple organelle damage and cell death. *Chem Biol*, 2005, 12(11): 1227–1234 [\[DOI\]](#)
 - 32 Tsay J M, Michalet X. New light on quantum dot cytotoxicity. *Chem Biol*, 2005, 12(11): 1159–1161 [\[DOI\]](#)
 - 33 Green M, Howman E. Semiconductor quantum dots and free radical induced DNA nicking. *Chem Commun*, 2005, (1): 121–123
 - 34 Ipe B I, Lehnig M, Niemeyer C M. On the generation of free radical species from quantum dots. *Small*, 2005, 1(7): 706–709 [\[DOI\]](#)
 - 35 Larson D R, Zipfel W R, Williams R M, Clark S W, Bruchez M P, Wise F W, Webb W W. Water-soluble quantum dots for multiphoton fluorescence imaging *in vivo*. *Science*, 2003, 300(5624): 1434–1436 [\[DOI\]](#)
 - 36 Voura E B, Jaiswal J K, Mattoussi H, Simon S M. Tracking metastatic tumor cell extravasation with quantum dot nanocrystals and fluorescence emission-scanning microscopy. *Nat Med*, 2004, 10(9): 993–998 [\[DOI\]](#)
 - 37 Hanaki K, Momo A, Oku T, Komoto A, Maenosono S, Yamaguchi Y, Yamamoto K. Semiconductor quantum dot/albumin complex is a long-life and highly photostable endosome marker. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, 302(3): 496–501 [\[DOI\]](#)
 - 38 Chen F Q, Gerion D. Fluorescent CdSe/ZnS nanocrystal-peptide conjugates for long-term, nontoxic imaging and nuclear targeting in living cells. *Nano Lett*, 2004, 4(10): 1827–1832 [\[DOI\]](#)
 - 39 Stoica A, Katzenellenbogen B S, Martin M B. Activation of estrogen receptor- α by the heavy metal cadmium. *Mol Endocrinol*, 2000, 14(4): 545–553 [\[DOI\]](#)
 - 40 Nesatyy V J, Ammann A A, Rutishauser B V, Suter M J F. Effect of cadmium on the interaction of 17 beta-estradiol with the rainbow trout estrogen receptor. *Environ Sci Technol*, 2006, 40(4): 1358–1363 [\[DOI\]](#)
 - 41 Walther U I, Walther S C, Temruck O. Effect of enlarged glutathione on zinc-mediated toxicity in lung-derived cell lines. *Toxicol Vitro*, 2007, 21(3): 380–386 [\[DOI\]](#)
 - 42 Shen H M, Yang C F, Ong C N. Sodium selenite-induced oxidative stress and apoptosis in human hepatoma HepG(2) cells. *Int J Cancer*, 1999, 81(5): 820–828 [\[DOI\]](#)
 - 43 Cetkauskaite A, Pessala P, Sodergren A. Elemental sulfur: Toxicity *in vivo* and *in vitro* to bacterial luciferase, *in vitro* yeast alcohol dehydrogenase, and bovine liver catalase. *Environ Toxicol*, 2004, 19(4): 372–386 [\[DOI\]](#)
 - 44 Yarema M C, Curry S C. Acute tellurium toxicity from ingestion of metal-oxidizing solutions. *Pediatrics*, 2005, 116(2): 319–321 [\[DOI\]](#)