

纳米毒理学 原理与方法

梅兴国 著



科学出版社

纳米毒理学原理与方法

梅兴国 著

科学出版社

北 京

内 容 简 介

本书基于生物学、化学与物理学原理及大量实验研究数据资料,对纳米毒性的特点进行了剖析,并从新的视角审视了纳米毒性产生的机制,揭示了当前纳米毒理学研究所面临的主要困惑与误区;同时就生物体的结构组成与功能、纳米粒在体内基于物理粒子特征与生物系统的相互作用,以及纳米材料与生物体相互作用导致的物理损伤进行了系统的分析、论证,提出“纳米材料生物毒性是源于纳米材料与生物体相互作用导致的物理损伤”新理论,并就安全纳米载体的设计与安全性评估提出了方法和指导性建议。

本书可供从事纳米技术转化医学研究开发的相关人员阅读参考。

图书在版编目(CIP)数据

纳米毒理学原理与方法 / 梅兴国著. —北京: 科学出版社, 2019.1
ISBN 978-7-03-059456-3

I. ①纳… II. ①梅… III. ①纳米材料—毒理学—研究 IV. ①TB383

中国版本图书馆CIP数据核字(2018)第255648号

责任编辑: 马晓伟 / 责任校对: 张小霞
责任印制: 肖 兴 / 封面设计: 龙 岩

科学出版社出版

北京东黄城根北街16号

邮政编码: 100717

<http://www.sciencep.com>

河北鹏润印刷有限公司印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2019年1月第 一 版 开本: 787×1092 1/16

2019年1月第一次印刷 印张: 13 1/2 彩插: 1

字数: 330 000

定价: 98.00 元

(如有印装质量问题, 我社负责调换)

作者简介

梅兴国，湖北咸宁人，医学博士，中国人民解放军军事医学科学院教授(文职一级)。湖北科技学院特聘教授。1973～1977年，曾在军队医训队学习，后在咸宁县浮山卫生院从事医疗和中草药制剂工作；1982年1月获上海医科大学学士学位(77级)，后分别在上海医药工业研究院和华中科技大学获硕士和博士学位。曾在澳大利亚麦考瑞大学和美国匹兹堡大学从事生物技术药物研究工作3年。先后担任华中理工大学生物工程系主任，华中科技大学生命科学院副院长，军事医学科学院药剂学教研室主任、六所制剂室主任。曾兼任中国创新制剂产业联盟理事长、中国中医药研究促进会中药制剂专业委员会副主任委员、世界中医药学会联合会给药系统专业委员会副会长；《中国药学杂志》《军事医学》《国际药学研究》《解放军药学学报》等杂志编委；湖北省发展战略咨询委员会委员、中国科学院生化工程国家重点实验室学术委员会委员、复旦大学智能化递药教育部及全军重点实验室学术委员会委员、扬子江创新制剂国家重点实验室学术委员会委员；先后担任北京医药集团创新制剂中心首席科学家、北京振东药物研究院院长、湖北真奥医药研究院院长。



长期从事生物医学工程与新型药物递送系统研究，在新型给药系统研发方面积累了丰富的经验。在纳米脂质体、靶向长循环脂质体、长效缓释微球、口服缓释制剂、渗透泵控释制剂、自动注射给药系统、黏膜给药系统和经皮给药系统等方面开展了系统的基础研究及应用开发，解决了一系列的关键技术问题，建立了靶向微载体药物递送系统、口服缓控释制剂、自助给药、黏膜及经皮给药等一系列独具特色的药物递送新技术、新剂型的研发平台。

致力于新药研发合作与产品转化，与国内外多家企业建立了良好的合作关系，多项创新制剂技术实现应用转化，其中3种热敏靶向脂质体技术转让给美国Celsion公司，实现了创新制剂实验室研究与产业化终端的无缝对接，形成创新制剂成果应用高效“转化平台”。

主要研究方向：①创新制剂研究，包括微粒载体递送系统(微球、微囊、纳米粒、脂质体、微乳及靶向递送载体)；口服定时、定位、控释制剂；干粉吸入(DPI)制剂。②分子药剂学与生物药剂学研究。

出版专著6部，发表论文400余篇，申报专利60余项。主持和参加国家“八五”“九五”“十五”“十一五”“十二五”重点攻关项目及国家“重大新药创制”科技重大专项平台项目多项。指导博士后、博士与硕士研究生150余名。

前 言

在纳米科学与技术蓬勃发展的今天，纳米材料被越来越广泛地应用于生物医药领域。大量研究关注于不同理化性质的纳米材料对生物体的影响，并聚焦于纳米材料应用于生物体器官、组织及细胞的毒性作用研究。然而，在有关纳米材料的毒性作用及其在生物体内最终命运的大量研究论文中结论常相互矛盾。在不同研究工作中，即使是性质相同的纳米粒，其毒理学效应也不一致。正是因为这些不确定性，使我们无法通过识别和控制相关参数来评估纳米载体在体内和体外的安全毒性。

虽然学者们针对纳米毒性已经进行了大量的研究分析，但是纳米材料产生毒性的本质仍未被揭示。本书基于生物学、化学与物理学原理以及大量实验研究数据资料，对纳米毒性的特点进行剖析，并从新的视角审视纳米毒性产生的机制。首先，提出纳米毒理学目前面临的主要困惑：①纳米毒性评价缺乏明确的剂量与毒性的相关性，对同一种纳米粒的毒性评价难以重现；②尺寸效应导致毒性的观点证据不足；③由不同材料制成的、不同尺度的纳米粒会产生相同的基于氧化应激反应的毒性效应。同时，本书从生物体的结构与功能特点出发，阐述了生物体是由各种大大小小的生物分子构成的分子建筑，是自然界中一类特殊的物质结构形式。生物体内的所有物质交换、能量传递及新陈代谢过程都是基于溶解在水介质中的分子的相互作用和转化来实现的。而另一方面，不可生物降解的纳米粒属于非法进入生物体的外源物，不能参与生物过程的代谢与转化，在生物系统内也无合理存在的空间与转运途径。因此，纳米粒在体内基于物理粒子的特征与生物系统发生相互作用，或聚集堵塞微循环，或破坏性穿越细胞膜及嵌入生物膜通道或生物大分子空穴等引起生物结构破坏，进而引发急慢性炎症和功能异常。书中介绍了由纳米粒引起的三类物理损伤：黏附、膜损坏及大分子卡嵌，并揭示了纳米粒的成分、形状及大小等因素对毒性作用影响的相关规律。在系统观察、分析纳米材料与生物体相互作用的特点与规律后，本书提出“纳米材料生物毒性是源于纳米材料与生物体相互作用导致的物理损伤”这一新理论，即非生物降解纳米材料通过与生物大分子、亚细胞器、细胞间的物理相互作用，造成生物体微结构的改变或破坏。纳米材料对生物体的直接作用是物理损伤，其毒性反应是由物理损伤诱发的一系列生化反应的后效应。此外，本书还就安全纳米载体的设计与评估提出了方法与指导性建议。

纳米技术在生物医药领域的应用具有巨大潜力，大量的基础研究成果预示其在药物递送、生物成像和生物传感器等方面存在巨大优势。研究纳米毒性的本质对纳米载体的安全设计与毒性防护具有重要意义；在分子水平对纳米材料进行评价和质量控制是实现产业化

的必由之路。切不可由于纳米材料生物毒性的误区而导致纳米技术在生物医药领域的应用停滞不前。期望本书能为从事纳米技术转化医学研究开发的同行们提供有益的参考，起到抛砖引玉的作用。

作者实验室的博士龚伟、李志平、杨阳、高春生、杨美燕、李迎、杜丽娜、张慧、喻芳邻、杨艳芳等先后参与了本书相关的研究工作，为本项研究做出了重要贡献；作者实验室的硕士杨臻博、李明媛、高广宇、谢向阳、陈美玲、余继梅、周杰兆等参加了本书中相关的工作，以及本书文献资料收集、整理编辑等工作，为本书的撰写付出了辛勤劳动与卓越贡献；硕士刘承、胡小琴、马丝雨、高越、张越、陈志江、雷炜、唐雪梅、彭龙、陶敏、王琦等协助进行了书稿的文献查阅与校对工作；杨霄、张少博、刘燕等协助了本书书稿的校对工作，他们均为本书的出版付出了辛勤劳动，在此表示诚挚的感谢！

囿于作者在纳米毒理学方面的研究积累和水平有限，本书内容难免有不妥之处，诚望各位读者批评指正。



2018年8月16日

目 录

第 1 章 生物医药纳米技术的困境、挑战与发展趋势	1
第 1 节 纳米材料和纳米技术	2
第 2 节 纳米的“前生今世”——纳米技术的发展	3
第 3 节 生物医药领域的纳米技术	4
第 4 节 用于生物医药领域的纳米材料	18
第 5 节 纳米技术应用仍有巨大上升空间	22
第 6 节 纳米技术和纳米材料的工艺特性	23
第 7 节 生物医药纳米材料的问题	24
第 8 节 纳米技术转化医学面临的问题与困难	24
第 9 节 纳米材料的毒理学效应	26
第 10 节 纳米材料体内吸收、分布、代谢、排泄检测和毒理学研究方法亟待建立	34
第 11 节 生物医药纳米技术产业化的困境	35
第 12 节 结语	39
参考文献	39
第 2 章 分子演绎铸就生命结构, 分子间相互作用承载生命功能	44
第 1 节 生命系统: 分子的建筑	45
第 2 节 生物系统的运转: 分子的相互作用	50
第 3 节 自净系统与体系维稳	65
参考文献	66
第 3 章 分子与纳米颗粒	68
第 1 节 分子和纳米颗粒(物理学角度)	68
第 2 节 分子和纳米颗粒在溶剂中的运动规律	77
第 3 节 分子和纳米颗粒在生物体内的行为特点	80
参考文献	95
第 4 章 纳米毒性与物理损伤	101
第 1 节 纳米粒子与生物系统的相互作用	102
第 2 节 尺寸效应与表面效应	112
第 3 节 非生物降解性纳米材料的体内宿命	117
第 4 节 纳米毒性源于物理损伤	119

参考文献	130
第 5 章 尿酸盐纳晶引起的物理损伤	132
第 1 节 MSU 纳晶的制备与表征	133
第 2 节 细胞水平 MSU 纳晶的毒性研究	136
参考文献	145
第 6 章 生物医药纳米材料安全分类系统	146
第 1 节 纳米材料生物安全分类系统	147
第 2 节 生物相容性	151
第 3 节 生物可降解性	155
第 4 节 生物医药领域常用纳米载体材料的分类	160
第 5 节 结语	166
参考文献	167
第 7 章 生物医药纳米载体安全性设计与应用	170
第 1 节 生物医药纳米载体安全性设计基本原则	170
第 2 节 生物医药纳米载体安全性设计思路	171
第 3 节 生物医药纳米载体的安全性设计	172
第 4 节 纳米颗粒生物相容性的提升	179
第 5 节 生物医药纳米载体的应用	190
参考文献	193
第 8 章 生物医药纳米材料质量控制与安全评价基础	197
第 1 节 生物医药纳米材料的质量控制	197
第 2 节 生物医药纳米材料的安全评价	200
第 3 节 纳米材料的安全性和质量控制	206
第 4 节 结语	207
参考文献	207

第 1 章

生物医药纳米技术的困境、 挑战与发展趋势

自 20 世纪 70 年代纳米技术诞生以来，纳米材料因其卓越的理化性能和生物活性吸引了众多关注。纳米材料科学发展迅猛，目前已深入渗透到社会生产的各个领域，如生物技术、信息工程、结构材料、化工、电子、国防、环保、医药等，并取得了许多世人瞩目的重大进展。纳米技术正以惊人的速度发展并改变着社会生产和人类的生活方式。

由于纳米技术所带来的巨大的社会效益和经济效益，世界各国无不予以高度重视，并斥巨资加大对于这一领域的研发力度。截至 2016 年，在 Web of Knowledge 平台上可查到的纳米领域相关文献总数已经超过 1 500 000 篇（注：关键词 Nano*），其中生物医药领域纳米相关文献超过 380 000 篇（注：关键词 Nano*& bio*）。2005 ~ 2014 年文献发表情况如图 1-1 所示。

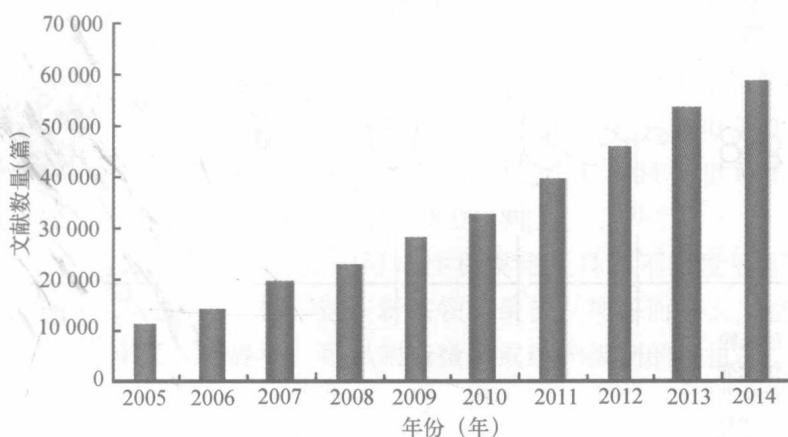


图 1-1 十年间生物医药领域纳米相关文献的发表数量增长情况

尽管世界各国在纳米生物医药领域投入巨大，但是纳米技术并非如预期般真正广泛进入实际的应用领域。纳米材料在电、光、磁等方面优异的物理性质和特殊的生物效应，似乎显示了其广阔而诱人的生物医药应用前景，但医药纳米材料广泛存在的安全性问题及自身技术的不完善，严重影响了其在体内应用过程中的可靠性。如何使医药纳米材料在生物体内发挥功效的同时避免毒性的产生，将是纳米生物医药领域未来亟待解决的重大难题。

纳米技术是 21 世纪科技产业革命的重要内容之一，生物医药领域纳米技术研究方兴未艾。抓住这一机遇突破生物医药纳米材料安全性瓶颈，发展真正适合体内应用的生物医药纳米材料和技术，最终为治愈长期困扰人类的疾病、更好地维护人类健康寻找新途径、新手段，仍然任重而道远。

第 1 节 纳米材料和纳米技术

1960 年，理查德·费曼提出“纳米”一词，并预言纳米技术发展时代的到来。1990 年，世界上最小的字母在国际商业机器公司（IBM）阿尔马登研究中心诞生。该研究中心的科学家通过对单个原子进行重排，在一小片镍晶体上用 35 个氩原子拼出了“IBM”三个字母，标志着纳米技术的正式诞生。

1 纳米（nm）为十亿分之一米（m），纳米技术通常研究 1 ~ 100nm 的物质，随着研究的不断进展，其研究范围不断拓宽，既有较大粒径的纳米粒子，也有如富勒烯（其粒径仅约为 0.7nm）般粒径较小的纳米粒子，这些材料都是现代纳米科学关注的对象（图 1-2）。纳米材料是指材料在三维空间中至少一个维度的尺寸在纳米尺度范围，在该尺度范围下肉眼是无法辨识这些材料的，只能通过电子显微技术等进行观察。由纳米颗粒组成的材料具有许多特异性能。因此，科学界又把它们称为“超微粒”材料和“21 世纪新材料”。纳米材料是人类对微观世界改造的经典案例。由于宏观物质是自下而上地组合与堆砌的，因此改变微观结构对于宏观物质的性质和作用将产生巨大的影响。

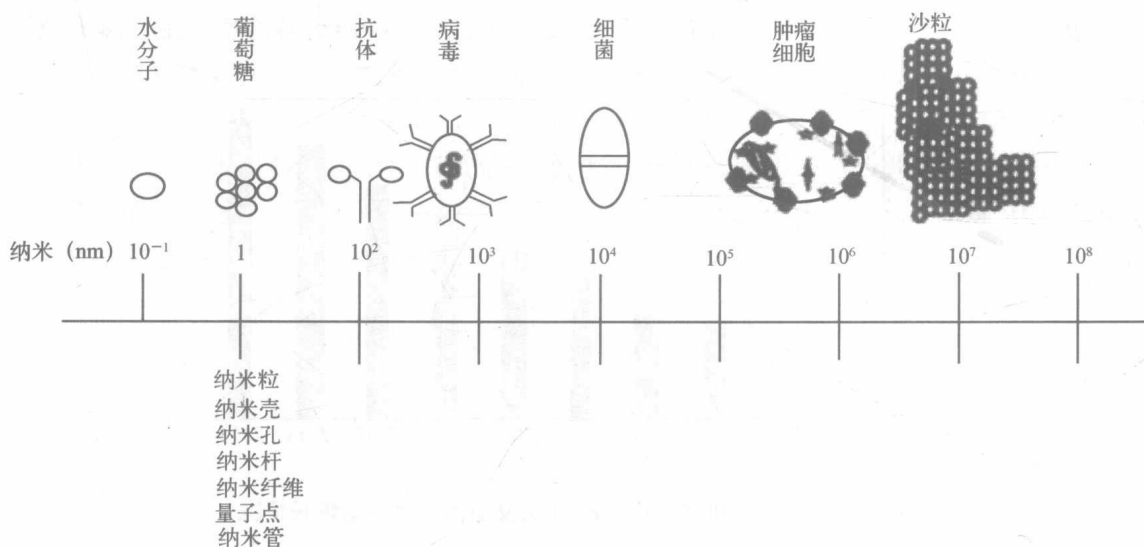


图 1-2 纳米尺度物质的大小

纳米技术是指制备纳米级尺度的材料或改造纳米尺度下的微观结构，并在这些材料上发展的技术和应用。纳米技术目前主要包括“Top down”和“Bottom up”两种制备策略。Top down 是指大于纳米级尺寸的原材料经处理变为纳米级，Bottom up 是指纳米材料经由更小的材料、分子或元素组合成为纳米级尺寸的物质。有的材料虽然本身尺寸很大，但其功能主要由纳米结构决定，因而也被囊括进纳米技术研究的行列当中。

第2节 纳米的“前生今世”——纳米技术的发展

纳米材料和纳米技术对于现代社会来说并不陌生。很多纳米技术的概念和利用其开发的产品正在不断争夺着人们的视线,对纳米技术的投入也是各国政府的首要关注点之一,纳米技术不仅成为新的技术高地,还承载了人们巨大的希望。然而,纳米材料和纳米技术其实并不完全是现代和人为的产物,纳米材料也并非完全是近现代才出现的。例如,烟雾和墨就是超细颗粒的代表,其特殊的性质也早在古代就为人类所发现。同时,自然界也会产生自然的纳米颗粒,但针对纳米颗粒真正大范围的观察和研究从20世纪80年代才逐步展开,随着观测技术的进步,人类开始对微观世界进行观察和改造。微观世界的改造和结构效应的积累是物质宏观性质的基础,自然界很多材料都是因为其在微观结构上的不同而导致宏观性质的差异。例如,蝴蝶的翅膀之所以能够借光产生衍射而显示出多种颜色,正是由于其翅膀上存在纳米尺度的微细结构;贝壳中的层状纳米结构导致其最终的坚硬性质。因此,对传统材料的改造需求,以及新的纳米材料在光、电、磁、表面性质和微小体积上展现的全新特性,使得人类又一次向操控微观世界迈步。

1959年,诺贝尔奖得主、物理学家理查德·费曼发表了题为“*There's plenty of room at the bottom*”的演讲,他预言人类对于微观世界的改造将引领下一个科技时代的到来,微机械、纳米机器人将是带动人类进步的重要工具。在当时的条件下,这是非常激进的想法。如今,经过近几十年的基础研究,纳米技术已经开始逐步进入商业应用,其领域主要包括电子、化妆品、汽车、运动产品和医疗等行业,而主要原材料多为银、碳、锌、硅、钛和金等。纳米技术在生物医药领域的应用也被较早地提出,如1965年首次提出脂质体的概念;1994年提出长循环脂质体载药体系的概念;1998年又提出利用量子点偶联技术指示肿瘤存在部位的概念。这些技术的运用和发展拓展了传统技术所不能达到的新高度。2015年,纳米技术相关的产品对世界经济的贡献超过10 000亿美元,超过200万工人受雇于纳米工业,另外有600万工人从事纳米技术相关的支持性工作。2004年世界工程纳米材料的产量在2000吨左右,预计在2020年会增加到58 000吨。

纳米技术伴随着人类对于微观世界的可知性和观测工具的不断发展而受到广泛的关注,同促进人类进步的其他事物一样,这一新兴领域最初以神秘而令人兴奋的面孔出现在我们面前。科学家设想在微观世界中,可以制造微米或纳米级别的“机器”来服务人类和帮助人类社会进步。在经济社会发达的今天,这一概念和技术产品已经成为全球热点并被迅速商品化、经济化,仅仅十几年的发展,纳米商品就遍布人们生活的各个角落。

纳米材料的特殊性质之一就是其极小的尺寸,这种尺寸使得其与细胞相比仍具有较小的体积。这种体积优势使得利用纳米材料制备针对组织、细胞和细胞器的装置成为可能。进入21世纪以来,纳米医药在肿瘤、心血管病、传染病等重大疾病的诊治方面展现出广阔的应用前景,短短几年就成为各国政府的“宠儿”。各国相继加大了对纳米医药研究的资助力度,美国、德国、瑞士、日本等发达国家都已将纳米生物技术和纳米医药作为本国纳米发展战略的主要内容之一。2009年,我国科技部发文批准组建“国家纳米药物工程技术研究中心”,根据《国家中长期科学和技术发展规划纲要(2006—2020年)》,纳米研

究已被列入“重大科学研究计划”，成为我国未来 15 年引领发展、实现重点跨越的 4 个领域之一。国家“863”计划、国家自然科学基金委员会、中国科学院都从不同层面部署了一批与纳米医药相关的重大项目。

作为全新的材料，纳米材料的另一主要应用在于，未来微电子器件会使现有的电脑、电视、卫星、机器人等所需的制造体积变得越来越小。例如，北京大学利用单壁碳纳米管做成了世界上最细、性能最好的扫描探针，获得了精美的热解石墨的原子形貌；利用单壁短管作为场电子显微镜（PEM）的电子发射源，拍摄到了过去认为不可能获得的超微原子像。复旦大学已经研制出 50nm 的新材料，居国际领先地位，这些材料将用于制造电子器件中的极板、存储器和导线。1999 年，美国乔治亚理工学院电子显微镜实验室主任王中林等发明了电子秤。电子秤的发明打开了纳米科学与技术新的研究领域，对生物学和医学研究来说，它可以测量单个病毒或生物大分子的质量，从而提供了通过质量判别病毒种类的新方法，以及寻找可用作细胞内温度测量探针的纳米材料的新途径。

第 3 节 生物医药领域的纳米技术

人类最关心的问题莫过于自身的健康，因此利用纳米技术服务于医药卫生领域就自然而然地成为纳米技术运用的重点方向。纳米颗粒（nanoparticles）是一种处在原子簇（几个到几百个原子或尺寸小于 1nm 的粒子）和宏观物体交接过渡区域的颗粒。这种介于微观系统和宏观系统之间的系统，是一种典型的介观系统，它具有表面效应、小尺寸效应和宏观量子隧道效应。由于纳米材料的尺寸已接近电子波长的相干长度，强相干所带来的自组织使纳米材料的性质发生了很大的变化。接近于光波长的尺寸加上大的表面积效应也使纳米材料所表现出的特性如熔点、磁性、导热、光学、导电等不同于该物质在整体状态时所表现的性质。这些特性不仅为操控微结构提供了宏观的手段，也为观察纳米材料同机体互动提供了信号媒介。纳米材料可制备成与细胞相比具有极小体积的结构单元，同时有的备选材料具有如腔-壳结构的优良性质，是理想的微载体。纳米材料的这些特性与效应，使得人们可以在不改变其化学成分的前提下，通过控制材料的基本性质，按照自己的需求设计、合成出具有特殊性能的新材料。这使得纳米材料在生物医药领域具有非常广阔的应用前景，如药物和基因传递、医学成像、光能疗法、组织工程学等。所以，在医药领域应用的纳米材料也是纳米技术研发的主流方向之一。

（一）纳米材料的生物成像及探针系统

量子点（quantum dot, QD）是一种由 II~VI 族或 III~V 族元素组成的纳米晶粒，其晶粒大小为 1~100nm，且具有类似晶体的规整原子排列。按照其元素组成，量子点可以分为 II~VI 族量子点（如 CdTe、CdSe 等）、IV~VI 族量子点（如 PbSe 等）及 III~V 族量子点（如 InP、GaN 等）等。按照其结构组成，量子点可以分为核/壳结构量子点（如 CdSe/ZnS、CdTe/CdSe 等）、合金量子点（如 CdSeTe、CdHgTe 等）及掺杂量子点（如 Mn:ZnS 等）。根据核材料和壳层材料能级排列的不同，核/壳结构量子点又可以分为三种

类型: Type I、反转 Type I 及 Type II, 如图 1-3 所示。合金量子点也有着非常有趣的性质, 如 CdSeTe 合金量子点结合了 CdSe 和 CdTe 两种量子点的性质, 其发射波长也在 CdSe 和 CdTe 量子点的发射波长范围内可调。掺杂可以有效改善量子点的特性, 通过引入杂质, 可以更好地控制量子点的能隙, 提高量子产率。

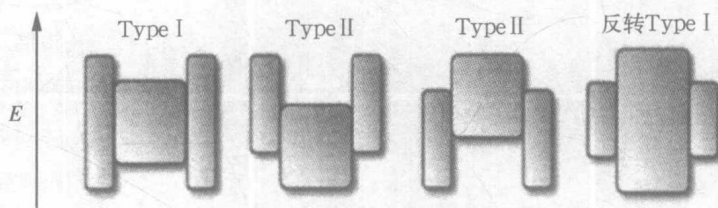


图 1-3 不同类型的核/壳结构量子点的能级排列示意图

图中矩形的上边缘和下边缘分别代表的是核材料(中间的矩形)和壳层材料(两边的矩形)的导带和价带的位置

量子点的光学及电学性质与其晶粒尺寸大小密切相关, 与传统的有机荧光染料相比, 量子点具有以下特点。①具有较宽的激发波长范围(从紫外区到远红外区)和较窄的发射波长范围, 因此可以用同一波长的光激发不同大小的量子点, 使其发射出不同波长的荧光。相比之下, 荧光染料的激发光波长范围较窄, 需要多种波长的激发光来激发不同种类荧光染料, 大大限制了荧光染料在实际工作中的应用。另外, 量子点的发射峰窄且对称、重叠小、易识别, 而荧光染料发射峰过宽、不对称、拖尾和重叠严重, 容易互相干扰, 给分析检测带来困难。②量子点的发射波长可通过控制量子点的大小和组成来调整, 因此根据所需波长能够任意合成晶粒大小不同的、均匀的量子点, 且谱峰为对称高斯分布。③量子点的荧光强度及稳定性是普通荧光染料的 100 倍左右, 不像有机荧光染料那样容易发生荧光淬灭, 其可以经受反复多次激发, 因此可用于研究细胞中生物分子之间长期的相互作用。④量子点可通过各种化学修饰获得较好的水溶性和生物相容性, 且其表面具有特异性连接位点, 可进行生物活体标记和检测, 如 Alfredo 等采用聚乙二醇(PEG)修饰的杆状 CdSe/CdS 量子点为生物探针, 跟踪监测了海葵 *N. Vectensis* 的生长过程(图 1-4)。基于上述诸多优点, 量子点已经成为研究热点, 目前其在合成制备、修饰及应用研究方面都取得了突破性进展。

Wu 等观察到, 利用量子点标记肿瘤标志物 Her2 所获取的免疫荧光信号比常规荧光染料标记靶细胞表面受体、细胞骨架、核抗原和其他细胞器所收集的荧光信号更加稳定可靠。他们还发现生物结合的胶体量子点在细胞标记、细胞示踪、DNA 检测和体内成像方面也很有价值(图 1-5)。Gao 等进行了体内量子点成像和肿瘤定位的动物研究, 他们观察到量子点在肝、脾、脑、心、肾和肺中的吸收、滞留和分布有逐渐减少的规律, 在裸鼠前列腺癌异种移植瘤模型的研究中, 量子点在瘤组织内特异性蓄积且呈现出亮橙红色。

韩明勇等实现了利用量子点合成荧光编码探针, 从理论上来说, 使用 6 种不同的发光颜色及 10 种不同的发光强度, 就可以设计出将近 100 万种不同的荧光编码。在研究中他们将多种不同发光颜色的量子点按照一定的比例包埋入聚苯乙烯微球中, 在聚苯乙烯微球

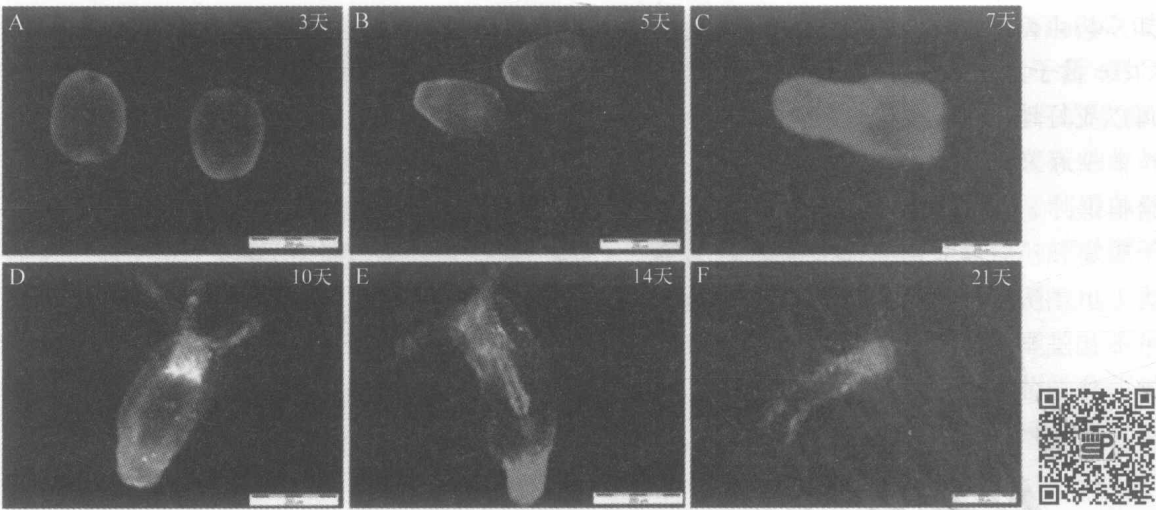


图 1-4 采用 PEG 包被的杆状量子点生物探针跟踪 *N. Vectensis* 的生长过程

扫一扫见
彩图 1-4

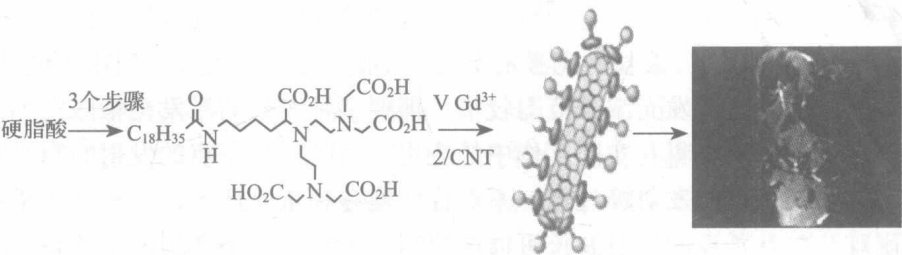


图 1-5 多壁碳纳米管嵌入钆作为磁共振成像 (MRI) 的造影剂在小鼠腿部肌肉成像

资料来源: Alfredo A, Valentina M, Veronica M, et al, 2014. Nanotoxicology using the sea anemone *Nematostella vectensis*: from developmental toxicity to genotoxicology. *Nanotoxicology*, 8(5):508-520

上连接 DNA 单链构成一种可以识别目标 DNA 链的荧光编码探针。此后，量子点荧光编码探针得到了深入的研究和发展，在细胞检测、免疫分析、药物筛选等许多与生命科学相关的领域和方向都得到了应用，如 Pang 等利用三种发不同颜色光的 CdSe/ZnS 量子点和 Fe₂O₃ 纳米粒子设计了一种可以同时检测乙型肝炎病毒 (HBV)、丙型肝炎病毒 (HCV) 和艾滋病病毒 (HIV) 三种病毒 DNA 的量子点荧光编码探针。

免疫分析是临床医学上鉴别某些生物标志物的重要生物技术手段。人类的健康与葡萄糖、尿酸、胆固醇和某些酶等重要的生理物质息息相关。因此，生物分子的分析方法需要具有敏感性好、成本低、能进行多组分同时检测等特点。量子点的激发波长范围宽，单一波长光源就可以激发不同大小的量子点，是实现多个组分同时检测的理想标记探针。尺寸可调的量子点用于荧光免疫分析，使其在生物临床诊断技术检测方面取得了进一步的发展。Pan 等用叶酸修饰可生物降解的聚丙交酯 - 维生素 E 琥珀酸酯 (PLA-TPGS) 纳米粒子并将量子点包裹于其中，制备出一种新型荧光探针，该荧光探针具有靶向作用和降低细胞毒性等优点，且其荧光强度较强，还可用于叶酸受体高表达的乳腺癌细胞 MCF-7 的成像。

以超顺磁性粒子(SPIO)为载体的微粒靶向递送系统已经成为比较热门的研究方向。其一般由两部分组成,即磁性核心(一般为 Fe_3O_4 、 Fe_2O_3 、 $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$)和具有生物相容性的聚合物或多孔生物聚合物涂层,且该涂层可以被功能化羧基、生物素、抗生物素蛋白、碳二亚胺和其他分子修饰。通过对纳米微粒的磁性导航,使其移向病变部位,从而起到抗原-抗体偶联及靶向作用。此外,聚合物涂层还可以通过共价结合、吸附或包埋目标物实现联合投递。超顺磁氧化铁纳米微粒还可以用于干细胞的分离。干细胞分离被认为是成功应用于观察和治疗疾病的初始步骤,而近些年纳米技术在干细胞分离和生物影像研究领域的巨大发展引人瞩目,SPIO成为干细胞分离和非侵袭性细胞追踪的理想探针,其与抗CD-34抗体相结合,成功从人体外周血液中浓缩外周血祖细胞;SPIO可以直接标记CD-34干细胞,然后通过磁性筛选按顺序分离;SPIO已经被成功用于监测神经干细胞移植到大鼠脑内7周的结果,能让研究人员更好地了解干细胞移植到神经系统的过程。SPIO还可以与其他技术相结合用于医学诊断和治疗,例如,细胞免疫疗法的有效性很大程度上取决于是否能成功将树突细胞(DC)导向引流淋巴结(DLN),以及与抗原特异性T细胞 $\text{CD}4^+$ 的相互影响。利用SPIO和近红外荧光(NIRF)染料组成双模态荧光磁性纳米探针,该新型探针能够追踪体内DC导向DLN的迁移过程,其具有磁性和光学对比的特点及良好的生物相容性,在标记和追踪DC的同时不会对细胞的活性、增殖和迁移能力产生影响,在临床评价肿瘤免疫疗法的效果方面极具应用前景。

(二) 生物工程

纳米材料在生物工程领域的应用也十分广泛,具有很好的发展前景。

1. 人造羟基磷灰石 羟基磷灰石(HAP)与骨质无机成分有化学结构相似性,并且展现出对宿主坚硬组织的强烈亲和性,最显著的特点是有较好的生物相容性和在体内降解缓慢,所以较多地应用于骨修复,也可以用于金属植入物的包裹层或者作为骨或牙齿的填充物。但是,由于HAP较低的机械强度,导致其只能局限应用于低承重的环境。纳米羟基磷灰石材料很好地改善了这一情况,同时很多研究者研发了生物可降解膜如胶原和合成类生物可降解膜。近年来,因胶原有极好的细胞亲和性和生物相容性,并可促进组织再生,通过纳米矿化作用将胶原制作成膜,可广泛用于牙周缺陷修复。然而纳米矿化胶原膜强度低难以制作,而且吸收速率难以与组织修复进程相匹配,因此一种包含三层物质的膜逐渐发展起来,这三层物质分别是二氧化碳纳米羟基磷灰石、胶原和聚乳酸羟基乙酸共聚物(PLGA),它们具有不同的生物降解速率,而且强度大,易于制作。

2. 纳米基因载体 以纳米颗粒作为基因载体,将DNA、RNA、肽核苷酸(PNA)、双链RNA(dsRNA)等基因治疗分子包裹在纳米颗粒中或吸附在其表面,通过与细胞相互作用进入细胞内,释放基因治疗因子并发挥基因治疗效能。此类载体克服了传统病毒载体制备复杂、有免疫原性、不能体内反复应用、存在安全隐患及非导向性等缺点。因此,纳米颗粒作为基因载体已引起越来越多的关注。

3. 人造红细胞 众所周知,脑细胞缺氧6~10min即出现坏死,内脏器官缺氧后也会呈现衰竭。设想如果有一种由超小型纳米泵构建的人造红细胞(respirocyte),其携氧量是

天然红细胞的 200 倍以上,那么当心脏因意外突然停止搏动时,医生可以立刻将大量的人造红细胞注入人体,及时提供生命赖以生存的氧,以维持整个机体的正常生理活动。美国的纳米技术专家 Robert Freitas 提出的人造红细胞的设计,已成为纳米技术的标志性成果。这个细胞是 $1\mu\text{m}$ 大小的金刚石的氧气容器,内部有 1000 个大气压,泵浦动力来自血清葡萄糖。在维持生物碳活性的同时,它输送氧的能力是同等体积天然红细胞的 236 倍,可用于贫血症的局部治疗、人工呼吸、肺功能丧失和体育运动需要的额外耗氧等。它的基本设计、结构功能,以及与生物体的相容性等已有专著详细论述。

4. 生物芯片 是不同于半导体电子芯片的另一类芯片。半导体电子芯片是集成具有特定电子学功能的微单元所形成的电子集成电路;而生物芯片则是在很小几何尺度的表面积上,装配一种或集成多种生物活性分子,仅用微量生理或生物采样,即可同时检测和研究不同的生物细胞、生物分子和 DNA 的特性,以及它们之间的相互作用,获得生命微观活动的规律。生物芯片可以粗略地分为细胞芯片、蛋白质芯片(生物分子芯片)和基因芯片(DNA 芯片)等,具有集成、同步和快速检测的优点,已成为 21 世纪生物医学工程的前沿科技。

5. 分子马达 是由生物大分子构成,利用化学能进行机械做功的纳米系统。天然的分子马达,如驱动蛋白、RNA 聚合酶、肌球蛋白等,在生物体内参与胞质运输、DNA 复制、细胞分裂、肌肉收缩等一系列重要的生命活动。美国康纳尔大学科学家利用 ATP 酶作为分子马达,研制出了一种可以进入人体细胞的纳米机电设备——“纳米直升机”。该设备共三个组件:两个金属推进器和一个附属于与金属推进器相连的金属杆的生物分子组件。其中的生物分子组件将人体的生物“燃料”——ATP 转化为机械能量,使得金属推进器的运转速率达到每秒 8 圈。但这种技术仍处于研制初期,对设备的控制和如何应用仍是未知数。将来该设备有可能承担在人体细胞内发放药物等医疗任务。

6. 纳米探针 是一支直径 50nm、外面包银的光纤,能传导一束氦-镉激光。它的尖部贴有可识别和结合 BPT[benzo (a) pyrene tetrol] 的单克隆抗体。抗体与 BPT 结合后,所形成的分子复合体能够被 325nm 波长的激光激发产生荧光。此荧光进入探针光纤后,由光探测器接收。此高选择性和高灵敏度的纳米传感器,可以用于探测很多细胞化学物质,可以监控活细胞的蛋白质和其他所感兴趣的生物化学物质,还可以探测基因表达和靶细胞的蛋白生成,筛选微量药物,以确定哪种药物能够最有效地阻止细胞内致病蛋白质的活动。

例如,一种探测单个活细胞的纳米传感器,其探头尺寸为纳米量级,当它插入活细胞时,可探知细胞内是否存在可导致肿瘤的早期 DNA 损伤。苯并芘是城市空气中普遍存在的致癌物质,在一般暴露的情况下,细胞摄取苯并芘并将其代谢。苯并芘和细胞中 DNA 反应形成一种可水解的 DNA 加合物 BPT,可采用上述纳米传感器检测细胞内 BPT 的含量,评估 DNA 的损伤情况。

随着纳米技术的进步,纳米探针将最终达到评定单个细胞健康状况的目的。

(三) 口腔医学领域

纳米口腔医学是一种利用纳米材料维护口腔健康的新兴科学,包括组织工程学等,并

以口腔纳米机器人为终极发展目标。相比其他科学技术,纳米技术对于口腔医学及其他健康护理领域具有更深刻的意义,可改善治疗效果、实现新的生物学功能,最大程度降低医疗成本。纳米技术和纳米材料在口腔医学中的应用主要包括以下几个方面(图1-6)。

1. 纳米微粒 晶粒小,表面曲率和比表面积大,所以存在于晶粒表面无序排列的原子百分数远大于晶态材料中表面原子所占的百分数,并且在同一纳米态晶粒内还常存在各种缺陷(如孪晶界、层错、位错),甚至还有不同的亚稳相共存。纳米微粒的这种特殊结构导致了它具有传统固体不具有的许多特殊性质和应用前景。目前,纳米微粒在口腔医学领域的应用主要是纳米羟基磷灰石(nano-hydroxyapatite, nHA)。nHA微晶在形态、晶体结构、合成和晶度上与生物骨、牙组织的磷灰石相似,具有更好的生物活性。nHA的植入物会无创伤地沉积在创伤组织内修复组织,与正常骨结合紧密,不会干扰细胞环境和机体功能。因此,国内外许多学者对nHA微晶颇为关注,并对其物理、化学、生物学特征进行了大量的研究。Fukuchi等的细胞实验结果显示,巨噬细胞大量地吞噬nHA微晶后可将其消化并排出细胞外,细胞的增殖率未受到影响。

2. 无机-有机纳米复合材料 正逐渐成为口腔医学中一个新兴的极富生命力的研究领域,吸引了众多研究者。这种材料是由无机相和有机相在纳米至亚微米范围内结合形成,两相界面间存在着较强或较弱的化学键(范德华力、氢键)。其中,有机相包括塑料、尼龙、有机玻璃、橡胶等,无机相包括金属、氧化物、陶瓷、半导体等,两相复合后将会获得集无机、有机、纳米粒子的诸多特性于一身的具有许多特异性的新材料。无机相赋予材料高强度、高模量、高耐划痕、耐腐蚀等特性,有机相赋予材料低密度、良好的柔韧性等特性。因此,通过改变参与反应的有机、无机组分含量,可以方便地实现材料的性能裁剪,从而制得所需性能的材料。

3. 纳米陶瓷 纳米陶瓷复合材料是指在陶瓷基体中加入纳米级第二相颗粒,从而提高其性能的材料。晶粒尺寸在50nm以下的纳米陶瓷,具有高硬度、高韧性、低温超塑性、易加工等传统陶瓷无可比拟的优点。因此,其优良的室温和高温力学性能、抗弯强度、断裂韧性,将大大提高口腔陶瓷修复体的强度和韧性,成为新型的口腔陶瓷修复材料。纳米陶瓷因其优异的表面特性既能促进新骨在种植体表面的快速沉积又能使周围支持骨稳定的原位获得修复,最大限度地减少由于松动对周围组织造成的损害。因此,包括复合型生物陶瓷和含骨生长因子复合陶瓷在内的纳米生物陶瓷材料具有良好的韧性,与人体组织相容,并能促进组织生长,可使细胞在材料表面生长,恢复病变组织的组织功能,包括免疫识别能力和生物催化活性等,展现了纳米生物陶瓷材料在口腔种植中的应用前景。

4. 口腔复合树脂材料 新型的聚合物单体主要是光化聚合丙烯酸酯或异丁烯酸酯基的向列液晶单体,其中能加入高比例的金属氧化物和二氧化硅纳米颗粒,并能在充入窝洞时保持良好的流动性,固化时形成高分子量的聚合物,聚合时不收缩或很少收缩。这种材料显示了很强的黏结性和较低的体积收缩性。二氧化锆用于牙科具有高X射线阻射、高强度和高硬度的特性,胶质的纳米二氧化锆具有高度的光学透明性,是理想的牙科复合树脂增强材料。Chan等将纳米氧化钽颗粒加入树脂中形成纳米复合树脂充填材料,既实现了放射阻射,又增强了材料的物理强度,并推断纳米颗粒加入玻璃离子黏固剂中有望改善其