

# 纳米生物效应研究进展<sup>\*</sup>

赵宇亮 柴之芳

(高能物理研究所 北京 100039)

**摘要** 纳米生物效应是将纳米技术与生物、化学、物理、毒理学与医学等领域的实验技术结合起来,研究纳米尺度物质与生命过程相互作用及其结果的一个新兴科学领域。本文介绍了纳米生物效应研究的科学意义,国际发展现状和趋势,我国的研究进展,最后对我国如何发展纳米生物环境效应与安全性的研究提出了几点建议。

**关键词** 纳米生物效应,研究状况,发展趋势

正如 20 世纪微米科技的发展给人类带来的进步一样,纳米科技预计也将导致人类未来生产和生活方式的革命性变化,因而已经成为当前发达国家

赵宇亮研究员

投入最多,发展最快的科学研究和技术开发领域之一。就在人们逐渐认识纳米科学技术的优点和其潜在的巨大市场的同时,一个新的科学问题暨社会问题——纳米生物效应与安全性,近来引起了科学界和各国政府的高度重视。

纳米科技是研究尺寸范围在 0.1—100 nm (比如, C<sub>60</sub> 约 1nm, 单壁碳纳米管直径 1.4nm) 之间的物质的组成、结构、性质和特殊功能。由于纳米物质的尺寸效应、量子效应和

巨大表面积等导致的特殊物理化学性质,它们进入生命体后,所产生的化学活性和生物活性是否与现在的微米物质不同? 另一方面,细胞大小在几个到几十个微米量级,比细胞小几个量级的纳米颗粒进入人体后,将与生命体发生什么样的相互作用? 它们对生命过程会带来什么影响? 更进一步,那些具有自组装能力的人工纳米颗粒进入生命体后,对生命本身的分子自组装过程会带来什么影响? (比如,研究发现,与微米颗粒相比,纳米颗粒很容易进入细胞这个维持正常生命过程的基本单元)。目前没有人能回答这些重要的科学问题,纳米生物效应还几乎是一个未知的领域。科学家们推测,纳米尺度物质对生命过程的影响,有正面的也会有负面的。正面纳米生物效应,将给疾病早期诊断和高效治疗带来新的机遇和新的方法;负面纳米生物效应,称为纳米毒理学,它研究纳米物质对人体健康、生存环境和社会安全等的潜在负面影响。

比如,研究发现,人们在日常生活中经常接触到纳米颗粒物,主要是来自烟囱和柴油车的排放物,垃圾燃烧的烟雾等,其颗粒直径

<sup>\*</sup> 收稿日期:2005 年 2 月 16 日

大约为 50—70nm。被吸入人的肺泡后,对肺有严重的伤害。欧洲与美国对流行病学的长期研究结果表明,城市空气中纳米粒子的浓度与城市人口发病率及其相关的死亡率呈正相关,尤其与心肺疾病的发病率与死亡率的关系更为密切。因此,纳米生物效应研究的另一个重要方向是如何通过物理或化学的方法来消除纳米物质的毒性,“使纳米技术成为人类第一个在其可能产生负面效应之前,就已经过认真研究,引起广泛重视,并最终能安全造福人类的新技术。通过对这一领域的深入研究,不仅是为了更有效地促进纳米科技的健康发展,为纳米技术产品的安全应用提供指导,而且在这个过程中发展起来的新技术,还会用于更有效地监测、分析乃至减少业已存在我们生活中的纳米物质和微米物质可能造成的污染,如空气污染或水污染的消除与防治等”(引自白春礼院士在 243 次香山科学会议上的报告)。

## 1 国际研究现状和发展趋势

2003 年 4 月, *Science* 首先发表文章讨论纳米材料与生物环境相互作用可能产生的生物效应问题。随后, *Nature* 和 *Science* 杂志在 1 年内,先后 4 次发表编者文章,美国化学会以及欧洲许多学术杂志也纷纷发表文章,与各个领域的科学家们探讨纳米生物效应,尤其是纳米颗粒对人体健康、生存环境和社会安全等方面是否存在潜在的负面影响,即纳米生物环境安全性问题。

随后,英国政府委托英国皇家学会与英国皇家工程学院对纳米生物环境效应问题进行调研,历时 1 年 3 个月,于 2004 年 7 月 29 日发表了长达 95 页的研究报告。该报告建议英国政府成立专门研究纳米生物环境效应与安全性的研究中心(年预算 1 100 万 US\$)。

2004 年 12 月 5 日,欧共体在布鲁塞尔公布了“欧洲纳米战略”,把研究纳米生物环境健康效应问题的重要性,列在欧洲纳米发展战略的第三位。

同时,欧洲宣布启动“Nanosafety Integrating Projects”计划。全面开展纳米生物效应与安全性的研究。2005 年 1 月《纳米毒理学》(*Nanotoxicology*)专业杂志在英国出版,仅两年时间形成了一个新的前沿研究领域。

2003 年 4 月, *Science* 发表第一篇讨论文章以后,2003 年 10 月,美国政府在没有任何预算的情况下,增拨专款 600 万美元启动了纳米生物效应的研究工作。2004 年 6 月 18 日 *Science* 报道:美国将把纳米计划(NNI)的总预算的 11%投入纳米健康与环境的研究。中国《科技日报》2004 年 12 月 15 日报道:美国国家环保局宣布,美国国家环保局、国立卫生研究院开始实施“国家毒理学计划”,美国职业安全与健康局、美国食品与药物管理局也开始支持研究纳米材料对环境和人可能造成影响的研究,比如对肺和皮肤影响的研究等。在 2005 年美国化学会春季年会上,已经将纳米生物效应与纳米毒理学作为新的研究领域。2004 年美国、英国、法国、德国、日本、中国以及中国台湾相继召开纳米生物环境效应的学术会议。

在国际上,纳米生物效应研究已经取得了一些初步结果。限于篇幅,本文省略对正面纳米生物效应的叙述(比如纳米医学就是基于正面纳米生物效应的应用),主要介绍一些纳米负面生物效应。2003 年,美国杜邦公司用气管滴注法研究 SWNTs 对大鼠肺部的毒性,发现了多发性肉芽瘤,类似的研究结果也出现在美国宇航局太空中心的研究中。纽约罗切斯特大学的研究者让大鼠在含有粒径为 20nm 的聚四氟乙烯(“特氟龙”塑料)颗粒的空气中待 15 分钟,大多数实验大鼠在随后 4 小时内死亡,而另一组生活在含 120nm 颗粒的空气中的大鼠,则安然无恙。他们还对 TiO<sub>2</sub>、Pt、C 等纳米粒子的生物和细胞毒性进行了研究。在另一项实验中,该研究小组还发现吸入的 C-13 和锰纳米粒子可经大鼠的嗅球进入脑部,并到处迁移。美国三角公园研究院用气溶胶吸入法研究纳米 TiO<sub>2</sub> 对小鼠、大鼠、豚鼠肺部的

毒性,发现了炎症、严重沉积并清除困难。2004年美国南卫理公会大学研究发现  $C_{60}$  能使幼大嘴鲈鱼的脑细胞发生脂质过氧化作用。A. Shvedova 研究结果表明 CNTs 和纳米 Fe 能使人角质细胞和支气管上皮细胞受损和凋亡。另有报道认为,纳米颗粒可能容易在细胞内沉积,难以被清除。同时,科学家们推测,纳米颗粒进入肺的机制和与心血管系统作用的机制等与微米颗粒有很大的不同。

目前对纳米负面生物效应发表的研究数据还很少,更没有任何一类纳米材料的系统性研究数据,这方面的工作仍然需要较长时间的积累和发展,建立完善的研究体系。

## 2 国内的研究状况及研究成果

早在 2001 年 11 月,中国科学院高能物理研究所就提出了“开展纳米生物效应、毒性与安全性研究”的建议。该建议引起了中科院和高能所两级领导的高度重视和支持。2002 年开始筹建,并于 2004 年对原有的纳米生物组、稀土金属毒理组、重金属毒理组和有机卤素的生物效应与毒理学研究组进行整合,正式成立了我国第一个“纳米生物效应实验室”。由纳米科学、生物学、毒理学、医学和化学等领域的研究人员组成的研究团队,利用核分析技术的高准确度、微区、微量等非核技术无可替代的特点,检测生物环境中的纳米颗粒。研究纳米材料在生物体的吸收、分布、代谢等;研究在常量、微量、超微量的剂量下,对靶器官的生理功能的影响。利用中子活化分析的高灵敏度和小取样量,使我们能够将其与细胞分离技术结合起来,定性和定量分析在细胞中,以至不同细胞器中元素的化学种态及其变化。利用全反射 x 荧光分析,痕量元素的最小检测限可以达到 ng 量级;利用同位素标记技术,可以鉴别污染物来源的内源性或外源性;利用大科学装置平台、超高灵敏度核分析技术与纳米技术、生物技术、毒理学与医学技术等多学科交叉建立新的方法学,正在与国内外有关研究组织合作,

系统开展纳米物质生物效应的研究,已获得了一批研究成果。2004 年 11 月 31 日—12 月 2 日,以“纳米尺度物质的生物效应与安全性”为主题的第 243 次香山科学会议召开,来自全国 20 多个研究单位的专家对纳米生物效应与安全性的问题,进行了深入讨论。

目前,国内纳米生物效应的研究工作主要从生物整体水平、细胞水平、分子水平和环境等几个层面开展。其重点是研究纳米物质整体生物学效应以及对生理功能的影响、纳米物质的细胞生物学效应及其机制以及大气纳米颗粒对人体作用和影响等领域的研究。

(1) 在纳米颗粒的整体生物效应方面,目前已经取得了一些初步的研究结果。我们发现,在生理盐水溶液中尺寸小于 100nm 的磁性纳米颗粒,仅仅微克量级进入小鼠血管就能很快导致凝血现象以致堵塞血管,导致小鼠死亡。说明这种纳米颗粒进入生物体容易与心血管系统相互作用,可能有导致心血管疾病的潜在危险。进一步研究发现,对这种纳米颗粒表面进行化学修饰,可以极大地改变它的生物效应。一般的微米 Cu 粉,被认为是无毒的。但研究发现,纳米 Cu 粉对小鼠的脾、肾、胃均能造成严重伤害,而相同剂量的微米 Cu 却没有损害。但是,也不是所有的纳米颗粒都如此,比如,我们发现纳米 ZnO 与通常的微米 ZnO 的生物毒性,几乎没有差别。目前,大部分纳米材料的生物效应以及它们和相应微米材料的差别等问题还没有进行研究。

(2) 纳米颗粒在体内的吸收、分布、代谢和清除,各种纳米物质与生物靶器官相互作用的机理等,是另一个重要的研究方向。研究发现富勒烯在 SD 大鼠中,90%—95% 富集于肝脏,48 小时清除。然而,稍做表面修饰后的富勒烯,如:  $^{166}\text{Ho}_x\text{@C}_{82}(\text{OH})_x$ , 其生物效应明显不同,显出生物分布较广,在肝、骨骼、脾、肾、肺的含量依次递减,其它组织分布极低。比如对  $\text{Gd@C}_{82}(\text{OH})_{40}$  的生物分布研究结果表明,其 24 小时后主要位于肝和脾,在肺和血液中衰减极

快。水溶性富勒烯衍生物  $C_{60}(\text{CO}_2\text{H})_2$  可以进入细胞,并达到不同的细胞器中。我们与北京大学合作研究还发现,分子量高达 60 万的水溶性多羟基单壁碳纳米管(SWNTols)能非常容易且迅速地在小鼠的各组织和脏器间穿梭,现有的知识还无法解释这种现象。

(3) 纳米颗粒与细胞的相互作用研究刚刚开始。纳米颗粒能够进入细胞并与细胞发生作用,主要是对跨膜过程和细胞分裂、增殖、凋亡等基本生命过程的影响和相关信号传导通路的调控,从而在细胞水平上产生的生物效应。研究发现,材料的拓扑结构和化学特性是决定细胞与其相互作用的重要因素。某些纳米拓扑结构会促进细胞的粘附、铺展和细胞骨架的形成,但是在某些情况下,纳米拓扑结构会对细胞骨架分布和张纤维的取向产生负面影响。本实验室研究发现碳纳米管容易进入细胞,并影响细胞结构,在低剂量下 ( $2.5 \mu\text{g} / \text{ml}$ ),可以刺激肺巨噬细胞的吞噬能力,但在高剂量下 ( $20 \mu\text{g} / \text{ml}$ ),则严重降低肺巨噬细胞对外源性毒物的吞噬功能。在研究纳米氧化钛对人肝细胞(L-02 细胞株)的影响时,庞小峰等人发现纳米氧化钛游离于细胞之间,阻碍了胞间通信,降低细胞的生长速度。另有研究发现,富勒醇能够吸收紫外辐照产生的自由基,保护细胞膜不被紫外辐照损伤,能明显提高细胞存活率。纳米材料与细胞的作用机理目前尚不清楚,需要更进一步的系统研究。

(4) 纳米颗粒与生物大分子的相互作用研究。重点在纳米材料与生物分子(例如蛋白质、DNA) 的相互作用及其对生物分子结构和功能的影响等。在研究血浆蛋白分子在碳纳米管无纺膜表面的吸附行为中,许海燕等人发现纤维蛋白原分子有比较强的吸附作用,并且吸附上的纤维蛋白原分子的构型功能发生了某些改变。纳米结构物质与补体系统和免疫细胞的激活作用研究说明,纳米颗粒与蛋白质分子之间存在着较强的相互作用,使补体蛋白分子的酶活性发生改变。研究发现 PAMAM

dendrimers 可通过静电作用与 DNA 形成稳定的复合物,且可保护与之复合的 DNA 分子免受限制性内切酶的降解,可以作为 DNA 运送的载体导入细胞,实行外源基因在生物体内的表达。

(5) 大气中纳米颗粒的生物效应。目前,临床实验研究已对大气中超细颗粒物的生物毒性得出了初步结论,发现尺寸在 7—100 nm 的颗粒物在人体呼吸系统内有很高的沉积率;尺寸越小越难以被巨噬细胞清除,且容易向肺组织以外的组织器官转移,超细颗粒物可穿过血脑屏障。由于纳米毒理学刚开始发展,这方面的研究和数据比较少,目前尚缺乏准确的分析测试方法,研究存在一定的难度。

### 3 纳米生物负效应(毒性)的消除,以及纳米毒性的反向应用研究

为了使纳米技术有可能成为人类第一个在其可能产生负面效应之前,就被认真研究,引起广泛重视,并最终能安全造福人类的新技术,因此,我们在研究纳米生物效应的同时,积极开展纳米毒性消除的化学与物理研究,通过一定的化学修饰或物理处理来消除某些纳米材料的负效应(毒性),并保持其有益的纳米特性。我们的研究发现,某些碳纳米分子的外接修饰基团过多,会导致分子开口,形成不稳定结构,以致在生物体内破裂产生毒性。通过调节外接基团的种类和数量,不仅能改变其生物活性,而且增加其生物稳定性,消除可能存在的毒性,从而推动纳米科技健康安全地发展。在最近出版的《纳米通信》杂志上,美国 Rice 大学报道了一例消除纳米材料毒性的研究结果,通过化学修饰,纳米毒性的消除率高达 1 000 万倍,效果很好。

除上述研究外,还值得提到的是,我们在开展纳米材料生物效应研究的同时,也开展纳米生物负效应的反向应用研究,把观察到的负面生物效应应用到纳米医学诊断和治疗技术上,已经取得多项重要成果。从这一角度看,一些纳米材料存在某些特殊的负面生物效应,并

不一定全是坏事。

#### 4 对开展我国纳米生物效应与安全性研究的建议

(1) 管理决策能争取先机,亦等同原始创新。在科学研究领域,争取先机,就等于原始创新。以纳米生物效应为例,2003年4月, *Science* 发表第一篇讨论文章,仅仅半年,2003年10月美国政府在没有预算的情况下,就增拨专款启动了纳米生物效应的研究工作,政府管理和决策部门对科学前沿的反应和速度很快。除了科学家的高素质以外,政府科技管理和决策部门的魄力也是美国能够成为科技创新源泉的主要原因之一。在国内,我们2001年11月提出开展纳米生物效应与安全性的研究计划,尽管得到中科院领导和高能所领导的重视,但是,要得到更多专家的共识的路很漫长。事实上,等到所有专家都达成共识的时候,已经没有多少原始创新的空间了。因此,中国科技要真正创新,必须争取先机。政府科技管理和科技决策部门对新出现的前沿方向和学科的支持要及时,以便给科技人员的创新留有更多的时间和空间。

(2) 支持创新能力强的研究队伍,建立系统的研究体系。纳米生物效应的研究进展很快,仅仅不到两年的时间,专业学术杂志就已在英国出版。国内研究的起步比国外早,有较好的前期积累,取得了一批丰硕成果,已经得到国际同行的认可和好评。我国已形成了一支创新能力很强的研究队伍,又有从事交叉综合研究的平台,所以应抓住这个良机,积极支持建立相应的研究体系,深入系统地开展研究,以获得能够在科学上真正留下足迹的原始性创新成果。

(3) 具体研究方向建议。本着紧紧把握国际前沿发展方向,密切结合我国实际需求的原则,建议具体的研究方向主要集中在以下几个方面:纳米颗粒与生物体的相互作用以及由此所产生的整体生物效应;纳米颗粒与细胞的相互作用以及由此所产生的细胞生物学效应;纳

米颗粒与生物分子的相互作用以及由此所产生的分子生物学效应;纳米颗粒与微米颗粒在以上不同层次的生物效应的差别;纳米颗粒转化、迁移、团聚的方式和速率;生物环境下的纳米颗粒检测方法和技术。同时,必须同步建立起纳米生物效应数据库,为我国纳米技术应用中的生物环境效应和安全问题的评价以及相关政策法规的制定,如各种纳米工业标准、安全防护标准等提供科学依据。

不仅如此,在研究纳米毒理学的负面效应的同时,应进一步拓展纳米毒理学研究的思路,应用某些“毒理”,对纳米颗粒毒性进行消除,并使其产生有益的生物学效应,例如:对病变细胞的控制和病变组织的修复;利用纳米物质的生物效应来进行某些病变的早期诊断;关注在农业上的潜在应用。

(4) 支持多学科交叉,多层次系统、多技术集成的跨学科研究。美国政府在一份报告中曾指出:“为使未来科技领域真正有所成就,造就能够跨越传统学科进行研究并思考外部世界的新一代科学家是绝对必要的。培育这种要么能够跨学科研究,要么知道如何在学科交叉领域与他人合作的新一代研究人员,对于未来至关重要。”

纳米生物效应研究,是一个典型的综合性强的交叉学科领域,需要纳米科技、细胞生物学、分子生物学、高灵敏度的核技术、临床医学、基础医学、毒理学、物理学、化学和分析科学等多学科的融合交叉,需要各个领域的研究者的共同参与,需要各个领域研究单位的团结合作,进行人才、信息、技术、仪器设备等资源的共享,才能有效地完成纳米生物环境效应的研究。因此,纳米生物效应研究不仅推动纳米科技的健康发展,还能为上述许多学科提出新的科学问题,推动各学科的发展。

无论国际还是国内,纳米生物效应研究都刚刚开始,是一个新生的交叉学科领域。它既是国际科学前沿,也是与人类健康和生活密切相关的重要社会问题,因此是一个典型的在

国家需求和科学前沿的交汇点上的新领域,在这里充满了科学创新的机遇。

#### 主要参考文献

- 1 Rice R F. Science, 2003, 300: 243; Brumfiel G. Nature, 2003, 424: 246; Kelly K L. Science, 2004, 304: 1 732.
- 2 Yuliang Zhao. Nanotoxicology, Encyclopedia of Nanoscience and Nanotechnology. American Scientific Publishers, 2005.
- 3 Haifang Wang, Yuanfang Liu, Yuliang Zhao *et al.* J. Nanosciences & Nanotechnology, 2004, 4(8): 1; Guang Jia, Haifang Wang, Yuliang Zhao *et al.* Environ. Sci. & Technol., in the press on March 1, 2005.
- 4 Gengmei Xing, Yuliang Zhao *et al.* J. Phys. Chem. B, 2004, 108: 11 473; JACS, 2005; Science in China, B, 2005, 35: 1.
- 5 Sayes C M *et al.* Nano Letters, 2004, 4(10): 1 881; Colvin V. Nature Biotechnology, 2003, 21: 1 166; Goho A. Science News, 2004, 165: 211.

### Status of Study of Bio-Environmental Activities of Nanoscale Materials

Yuliang Zhao Zhifang Chai

(Institute of High Energy Physics, CAS, 100039 Beijing)

The scientific issues and research progresses in the new field of nano-biological activity (arising from interactions between nanoscale materials and biological systems) are briefly summarized. As nanoscale materials of unique physical and chemical properties that are clearly different from the micro-sized materials may lead to unpredictable distribution and effects within biological systems, CAS has established the Lab. for Bio-Environmental Health Sciences of Nanoscale Materials, studying biological activities /effects of nanomaterials, such as recognition, identification and quantification of hazards resulting from exposure to nanomaterials and the public health aspects of nanoparticles in air, water, other parts of the environment, foods, and nanodrugs.

**Keywords** nano-biological activity, research development

**赵宇亮** 高能物理研究所研究员,北京大学兼职教授。1985年大学毕业后进入中国核动力研究院从事核燃料研究。1989年赴日本原子力研究所进修。1992年考入日本东京都立大学研究生院,获硕士、博士学位。曾在日本学术振兴会做博士后研究。历任东京都立大学特别研究员,日本原子力研究所、先端科学研究中心共同研究员,日本理化学研究所研究员。2001年7月应聘中国科学院“引进国外杰出人才”回国,建立纳米生物效应实验室。主要从事物质转换动力学、碳纳米材料、纳米生物学效应等领域的研究。在国外学术刊物发表英文论文80余篇,中文论文2篇。1989年出国前的研究工作曾获国家部级科技进步三等奖。先后5次获优秀科研奖。曾应邀在多个国际会议做邀请学术报告。2004年应美国化学学会的权威刊物 *ES&T* 的邀请,撰写纳米生物效应方面的邀请论文;应《纳米科学与技术杂志》主编的邀请,为美国出版的《纳米科学技术百科全书》撰写“纳米生物效应”一章。是国际系列会议 *Pacificchem* 和 *APSORC* 的 Co-Organizer。同时担任美国化学学会和美国物理学会多个著名学术杂志审稿人,以及国际学术杂志 *J. Radioanalytical & Nuclear Chemistry* 的编委和国际顾问委员。