

含镉量子点的毒性研究进展

王二梦 刘静 王兰*

(山西大学生命科学学院, 太原 030006)

摘要 含镉量子点是典型的量子点, 近年来受到广泛研究。含镉量子点的潜在毒性是其在生物成像及生物医药方面应用和发展的关键制约因素, 因此, 对其毒性作用的研究具有重要意义。目前对含镉量子点的体外毒性研究主要集中在人肝癌细胞(HepG2)、神经分泌细胞(PC12)等细胞实验及斑马鱼胚胎体外培养实验。体内毒性研究包括小鼠等动物实验。这些研究证实, 量子点对HepG2等细胞系和小鼠、贻贝等动物均具细胞毒性。研究者们普遍认为, 量子点是通过释放其组成中的重金属, 诱导生物体产生活性氧自由基, 进而引发细胞凋亡或自噬, 但对量子点的具体毒性作用机制并不完全清楚。该文对含镉量子点的体内和体外毒性研究工作进展进行了综述, 包括含镉量子点对肝肾细胞、神经细胞、血液细胞及免疫细胞等体外毒性研究工作, 对陆生及水生动物等的体内毒性研究工作, 旨在更好、更全面地评估含镉量子点的毒性, 为今后对量子点的毒性作用机制研究提供方向, 促进含镉量子点在生物医学方面的发展和应用。

关键词 含镉量子点; 体内研究; 体外研究; 毒性; 应用

Research Progress on Toxicity of Cadmium-Containing Quantum Dots

WANG Ermeng, LIU Jing, WANG Lan*

(School of Life Science, Shanxi University, Taiyuan 030006, China)

Abstract The cadmium-containing quantum dot is a typical quantum dot, which has been widely studied in recent years. People began to pay attention to its safety problem. The key constraint on the application and development of cadmium-containing quantum dots in biological imaging and biomedicine is its potential toxicity. Therefore, the study of its toxic effects is of great significance. At present, the *in vitro* toxicity studies on cadmium-containing quantum dots are mainly concentrated in cell lines such as human hepatoma cells HepG2, neurosecretory cells PC12, and *in vitro* culture experiments of zebrafish embryos. *In vivo* toxicity studies include animal experiments such as mice. These studies confirmed that quantum dots are cytotoxic to cell lines such as HepG2 and to animals such as mice and mussels. Researchers generally believe that quantum dots cause toxic effect by releasing heavy metals in their composition, inducing organisms to produce reactive oxygen free radicals, and then triggering apoptosis or autophagy, but the specific toxic mechanism of quantum dots is not completely clear. In this paper, the progress of *in vivo* and *in vitro* toxicity studies of cadmium-containing quantum dots was reviewed, including on hepatic and renal cells, nerve cells, blood and immune cells, as well as terrestrial, aquatic animals and the like. It aims to better and more comprehensively evaluate the toxicity of cadmium-containing quantum dots, and provide

收稿日期: 2019-04-15 接受日期: 2019-08-06

国家自然科学基金(批准号: 31672293)、山西省回国留学人员科研资助项目(批准号: 2016-1)、山西省重点研发项目(批准号: 201703D221008-3)资助的课题

*通讯作者: Tel: 0351-7011429, E-mail: lanwang@sxu.edu.cn

Received: April 15, 2019 Accepted: August 6, 2019

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.31672293), Shanxi Scholarship Council of China (Grant No.2016-1) and Shanxi Key Research and Development Program (Grant No.201703D221008-3)

*Corresponding author: Tel: +86-351-7011429, E-mail: lanwang@sxu.edu.cn

URL: <http://www.cjcb.org/arts.asp?id=5163>

direction for the future toxic mechanism of quantum dots to promote the development and application of cadmium-containing quantum dots in bioimaging and biomedicine.

Keywords cadmium-containing quantum dots; *in vivo* study; *in vitro* study; toxicity; application

纳米量子点(quantum dots, QDs)是纳米领域一种新半导体材料, 粒径范围为1~100 nm, 一般由II-VI族(如CdTe QDs)和III-V族(如InAs/GaAs QDs)元素组成, 或由2种或2种以上的半导体材料组成的核-壳(core-shell)结构(图1), 在生物传感以及生物探针或造影剂等领域得到大规模的研发和应用^[1]。研究者们越来越关注QDs的生物安全性。含镉量子点CdX(X=S、Se、Te等)的前驱体易获得、晶形简单、易于合成, 可作为研究QDs毒性作用和机制的典型QDs^[1]。本文将对含镉量子点的体内和体外毒性研究工作进展进行综述。

1 含镉量子点的特性及其在生物医学领域的应用

量子点的光激发原理如图2所示, 价带电子受光激励跃迁至导带, 在价带上留下空穴, 价带顶空穴与导带底激子相互作用成为准平衡态, 复合发光, 使得QDs这种半导体材料激发光谱宽、发射波长窄、发射峰窄而对称且重叠小。且量子点因种类不同, 单一波长可激发出不同颜色。量子点的性质与它的应用领域及毒性效果关系密切, 如以羧基修饰的量子点和以氨基修饰的量子点在体内的转运途径及造成的毒性效应均不同。因此, 在描述QDs的研究工作时, 必须说明所用QDs的特性, 如颗粒大小、光谱

范围、表面修饰及外壳等, 本文将研究者们所用量子点的特性作了总结(表1)。

QDs因颜色多样、荧光强度及稳定性强、灵敏度高、容易进行界面修饰连接、生物相容性好等优点, 在传统有机荧光染料的比较中脱颖而出, 是一种有巨大发展潜力的新型生物成像材料^[2]。在基因定位、蛋白检测、生物大分子的功能及分子相互作用、亚细胞定位、微生物检测及生物成像、肿瘤治疗方面有着广阔的应用前景^[3-4]。

1.1 在疾病检测中的应用

QDs可用于体内疾病检测, 如可用于抗疟原虫药物筛选、心脏疾病早期诊断、不同流感病毒亚型检测。传统疾病检测技术无法说明细胞与细胞间的作用及细胞内外的交联, 但QDs可用于体内细胞疫疾检测, 并靶标追踪药物路径^[2]。CdTe QDs可用于检测朊病毒, 检测限值低(最低检测限值为0.2 fg/ μ L)^[5]。CdSe/ZnS QD可用于检测记忆退行性疾病, 能够精确检测到阿尔兹海默症(Alzheimer's disease)的生物标志物载脂蛋白E(apolipoprotein E)^[6]。

1.2 在生物传感器中的应用

生物传感器在医学诊断、药物筛选、环境监测、食品安全等众多领域有着极为广阔的应用前景。

使用QDs做生物传感器的供体发光时间长, 使得受体的光密度得到增强, 可降低检测限值, 用于制

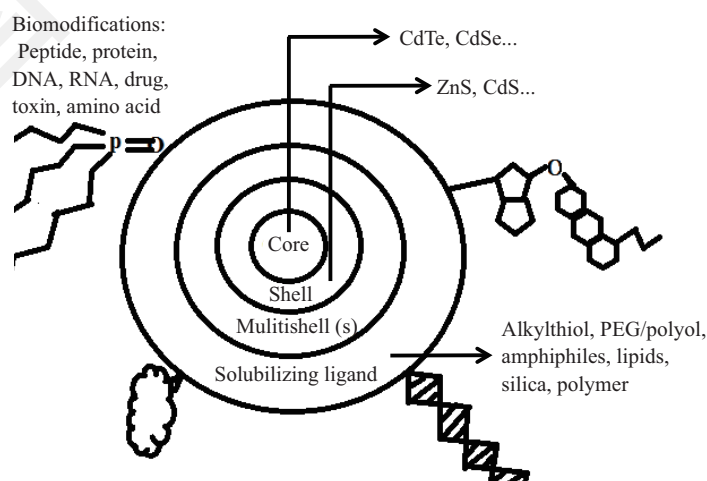


图1 QDs的结构

Fig.1 Schematic of QDs

备新型生物传感器、检测细菌^[7]等单细胞生物及其他生物大分子。连接核酸分子或其他活性分子的含镉QDs, 可应用于荧光能量共振转移分析传感器中的供体, 检测非基因分子和核酸序列, 如特定DNA序列分析^[8]、核酸分子杂交分析、DNA/RNA在细胞内行为的追踪检测、酶活性分析、蛋白构相变化检测、蛋白互作分析等^[9]。

QDs比传统荧光染料更适宜制备生物传感器, 但QDs的表面修饰增加了QDs的尺寸, 一方面拉大了QDs和受体分子之间的距离, 降低了能量转换效率; 另一方面增加了QDs穿膜的难度。这一点阻碍了QDs在生物传感器中的广泛应用。

1.3 在药物运输方面的应用

高荧光的水溶性纳米QDs作为生物成像的荧光染料及生物探针和靶向给药工具^[4]被广泛应用, 如聚乙二醇包被的CdTe QDs定位阿霉素可用于髓外多发性骨髓瘤(extramedullary multiple myeloma)治疗的智能给药系统^[10], 氨基-PEG(polyethylene glycol)修饰的CdSe/ZnS QDs可成功用于转送SiRNA复合物, 靶向阿尔兹海默症的细胞内生物标志蛋白酶切淀粉样前体蛋白(β -secretase, BACE1)^[11]。CdS/ZnS QDs可载送药物紫杉醇^[12]。

但QDs在携带药物到达靶器官、靶细胞器或细胞核之前在体内易聚集, 进而被溶酶体等细胞器吞

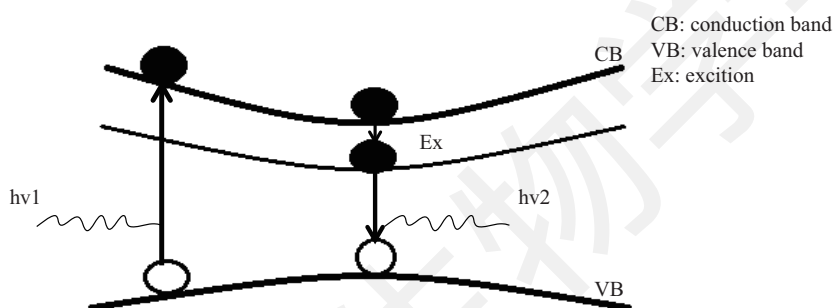


图2 QDs的光激发光

Fig.2 Photoluminescence of QDs

表1 文献中QDs特征概述

Table 1 Overview of literature QDs data attributes

项目 Item	种类 Type	数值 Value	项目 Item	种类 Type	数值 Value
Core	CdSe	30.43%	Surface modification	Polyacrylate polymer layers	13.04%
	CdTe	89.13%		Polymer	4.35%
Shell	ZnS	19.57%		None	63.04%
	CdS	21.74%		Gelatine layer	2.17%
	CdS/ZnS	13.04%		Amphiphilic polymer	2.17%
	None	65.22%		Topo-pmat	2.17%
Source	In home	89.13%	Cell source species	Amino acid	4.35%
	Commercial	30.43%		Cysteamine	8.70%
Size	All	2.2-75.0 nm		Others	16.36%
Spectral properties	Emission spectra	405-645 nm		Human	32.61%
	Absorption spectra	484-655 nm		Mouse	21.74%
Surface ligand	TGA	13.04%	...	Rat	10.87%
	MPA	36.96%		...	23.91%
	MSA	6.52%	Exposure time	0.3-1080 h	
	MUA	2.17%	Exposure concentration	1×10^{-7} -160 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$;	
	Others	19.57%		7.5×10^{-4} -5.0 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	
	Not shown	41.30%	Delivery type	Passive	19.57%
Stock solution	1-20 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$;			Active	2.17%
	12.4 $\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ -9.64 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$			Not shown	97.83%

噬。增强细胞膜通透性可使QDs顺利通过细胞膜到达药物靶点,而这势必会损伤细胞。研究安全有效的QDs穿膜方法,对QDs在运输药物方面的应用和发展至关重要。

1.4 在生物成像方面的应用

生物成像科技是医学研究领域强有力的工具,能为疾病诊断等提供直接的、真实的依据。QDs可用于细胞内成像、微生物成像、动物体内成像等方面。包含钆和镉的QDs可用于体内肿瘤细胞成像^[13-14]。经过修饰的QDs可识别金黄色葡萄球菌的胞外核酸酶,通过荧光追踪金黄色葡萄球菌的位置^[15]。功能化的QDs可特异性与细胞内的酶、DNA序列等结合,显示其位置。QDs用于动物体内成像的方法,与传统成像方法如磁共振成像、X-射线衍射成像等相比,低耗高效且分辨率更高。但相较于体外细胞成像,QDs体内成像的方法面临更多的挑战:首先是特异性修饰分子的选择,其次是QDs能成功的保持分散的状态进入体内到达靶点,最后是组成QDs的重金属所具有的毒性效应。

2 含镉量子点的体外研究

体外研究已经表明,含镉QDs具细胞毒性,所研究的细胞种类包括人肝癌细胞(HepG2细胞)、神经分泌细胞(PC12细胞)、人脐带静脉血管内皮细胞(human umbilical vein endothelial cell, HUVEC)、大鼠海马神经元细胞、小鼠成纤维细胞(L929细胞)^[16-23]。这些研究结果显示,含镉QDs对细胞的毒性作用主要体现在以下几个方面:造成细胞代谢活力下降、使细胞表面或内部细胞器形态结构产生病理性变化、诱发细胞凋亡和坏死,且所致细胞毒性的与QDs的尺寸、表面电荷、亲水性、表面配体及化学修饰等诸多因素有关^[24]。

2.1 对肝肾细胞的毒性

肝肾是体内与代谢有关的重要脏器,进入机体的CdTe QDs很容易对肝肾造成损害。因此,明确QDs和肝肾细胞的相互作用非常重要。体外研究发现,QDs可进入人肝癌细胞(HepG2)、小鼠肝细胞(AML12)、人体肾脏近小管上皮细胞(HEK293)、猪肾细胞(LLC-PK1)等,并能产生显著的细胞毒性作用。且CdTe QDs引起的细胞毒性具时间-剂量-效应依赖性。如NGUYEN等^[25-26]的研究表明,暴露于CdTe QDs后,线粒体产生体积扩张和嵴减少等病理

变化,膜电位降低或消失等功能变化。HepG2细胞中ROS含量增加,抗氧化酶活性发生变化,细胞凋亡发生。ZHANG等^[27]的研究结果显示,CdTe QDs处理后,AML12细胞中ROS(reactive oxygen species)含量显著上升,细胞发生凋亡。SU等^[28]的研究发现,CdTe QDs处理后,HEK293细胞出现大量死亡现象。SU等^[29]在后续研究中对CdTe QDs和CdCl₂对人肝细胞(HL-7702)的毒性影响。结果显示,CdTe QDs的细胞毒性比CdCl₂大,这一研究结果与CHEN等^[30]的研究结果一致,即含镉QDs所致肝肾细胞毒性比无机镉大,但这一结果能否推广至所有量子点,还有待进一步研究。

由此可见,暴露于含镉QDs,破坏了细胞氧化和抗氧化水平的稳态,诱导了内在(线粒体)凋亡通路的发生。QDs对肝肾细胞毒性的研究方法及其检测指标主要有:细胞水平的MTT法检测细胞存活率、组织形态学水平病理切片观察、蛋白水平的抗氧化酶活性分析及其基因表达量检测、基因水平的凋亡相关基因mRNA含量检测等。大部分停留在描述QDs处理后细胞内各项指标的变化情况,具体通过什么方式进入细胞,进入细胞后与生物大分子有无相互作用等知之甚少。如ZHAO等^[31]的研究就说明了含镉量子点与谷胱甘肽过氧化物酶(Gpx3)结构和功能变化的关系:含镉QDs通过范德华力和氢键与Gpx3结合,导致Gpx3 α 螺旋异常增加,结构发生变化。含镉QDs通过与Gpx3空腔中的Glu136以及所包围的Phe132、Pro130、Val129相互作用,降低了Gpx3的活性。但这一研究未在细胞实验或动物实验中证实。研究者在体外研究中应更多地探索含镉QDs与生物大分子间的相互作用,且应在细胞实验或动物实验中验证相关作用。

2.2 对神经细胞的毒性

中枢神经系统是纳米粒子(nanoparticles, NPs)的潜在靶器官,QDs作为拥有巨大发展潜力的纳米材料,确定QDs的神经毒性作用至关重要。大脑受到血脑屏障的保护,血脑屏障将血液与脑实质分开。FENG等^[32]的研究指出,纳米颗粒(包括纳米载体)可以通过血脑屏障传输并定位于中枢神经系统。鲍一苓等^[20]将巯基丁二酸包被的CdTe QDs作用于鼠PC-12细胞,结果显示,CdTe QDs与细胞接触后会通过胞吞途径进入细胞,之后,细胞肿胀,存活率显著下降,可见明显的细胞凋亡。相应地,ZHAO等^[33]

研究发现, CdTe QDs作用于线虫(*Caenorhabditis elegans*), 会损伤线虫运动神经元。

QDs以胞吞途径进入神经细胞, 对神经细胞的毒性作用主要表现在, 改变细胞形态, 诱发caspases依赖性的外源途径及以线粒体为中心的内源途径的细胞凋亡机制, 并引发细胞死亡。但基于QDs对神经细胞毒性的研究相对较少, 且QDs诱发神经细胞凋亡的具体过程并不清楚。

2.3 对血细胞和免疫细胞的毒性

QDs的应用引起了人们对其生物相容性和血液相容性的担忧。SAMUEL等^[34]对CdTe QDs与血小板的相互作用进行了全面的研究, 采用流式细胞术、相差、免疫荧光、原子力和透射电子显微镜分析了QDs对血小板功能及形态的影响。结果发现, CdTe QDs可与血小板细胞膜结合, 活化血小板, 导致血栓形成。MCCONNACHIE等^[35]的研究指出, 血红素氧合酶1(HMOX1)对CdSe/ZnS QDs暴露敏感。此外, QDs作为一种新型的生物成像和药物传递介质, 通常通过注射进入血管内皮系统, 从而直接暴露于血管内皮细胞。YAN等^[36]在巯基琥珀酸-CdTe QDs对人HUVECs细胞的毒性作用研究中发现, CdTe QDs诱导ROS的产生, 使线粒体出现网状碎片化, 破坏了线粒体膜电位, 显著增加了HUVECs的凋亡数。NGUYEN等^[37]的研究发现, 暴露于QDs降低了巨噬细胞J774A.1应答铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)菌株的细胞免疫防御功能。

含镉QDs通常是包被ZnS、CdS帽结构和/或聚合物, 细胞可将QDs内化, 从而产生细胞毒性。含镉QDs对血细胞及免疫细胞的毒性作用主要表现在, 干扰生物体对细菌的防御作用、通过激活线粒体凋亡途径, 诱导细胞凋亡, 损伤线粒体。但是对QDs进入线粒体并破坏膜电位的机制并不清楚, 对QDs与免疫细胞间的相互作用机制也不完全清楚。在含镉QDs对血细胞及免疫细胞的毒性研究工作中, 研究者期望发现有潜力作为生物指示物的生物活性分子, 如HMOX1, 但单一研究工作的结论能否推广至所有生物, 还有待探索。

2.4 生殖毒性

生殖毒性是生物毒性评估最重要的内容之一, 能够评估新材料对生物的长期毒性以及对自然界生态的影响, 可为纳米材料的应用与发展提供重要基础^[38]。

王晓梅等^[39]将CdSe/CdS/ZnS QDs与小鼠卵母细

胞共培养, 结果显示, QDs以时间依赖的方式在颗粒细胞内及卵母细胞周围累积, 显著降低了卵母细胞成熟率。在动物胚胎体外培养研究中, ZHANG等^[40-41]的研究表明, TGA-CdTe QDs处理, 可引起斑马鱼胚胎畸形。暴露于MPA-CdSe QDs会导致斑马鱼胚胎头部和尾部发生细胞凋亡。CdSe QDs的暴露导致斑马鱼死亡率升高、畸形率增高^[42]。TIAN等^[43]就CdTe QDs、CdS-CdTe QDs以及CdCl₂对斑马鱼胚胎的毒性大小进行了对比, 结果显示, 毒性大小顺序为: CdTe QDs>CdCl₂>CdS-CdTe QDs。这一结果与文中前述SU等^[28]对肾脏细胞的研究结果存在部分不符, 这表明量子点所造成的细胞毒性与其修饰成分密切相关。

QDs的生殖毒性研究结果揭示了, QDs对卵母细胞有生殖毒性, 含镉QDs进入生物体后的分布不同于无机镉, QDs主要分布在细胞周围, 而镉离子可被金属硫蛋白捕获主要位于细胞质中。且QDs与无机镉的毒性大小并不能以一概全。QDs与无机镉的毒性作用存在差异, QDs的毒性与镉离子释放有关, 但不全因镉离子释放所致, 具体毒性作用机制还有待研究。

3 含镉量子点的体内研究

3.1 对陆生动物的毒性

含镉QDs可在动物生殖组织器官中累积, 毒性作用呈现剂量依赖效应。LI等^[44]研究发现, 小鼠经静脉注射CdTe QDs后, 体重和性腺指数均显著变化, 在小鼠睾丸组织中可检测到镉的积累, 精子呈现明显的组织病理学变化, 成活率显著下降, 睾丸结构有显著损伤, 性腺激素水平出现明显波动。但是, 在该实验浓度下, 小鼠本身存活率及其后代存活率都没有显著变化。这一研究结果中检测到的镉含量, 无法确定是量子点本身的金属组成部分, 还是量子点在睾丸组织中降解释放出的镉离子。从这一研究工作中我们可以知道, 在该实验条件下, 量子点处理并不会对后代产生影响, 但长期暴露是否会影响后代成活率尚未可知, 需要进一步研究证明。

YAN等^[45-46]研究了CdTe QDs对家蚕性腺的毒性作用。背静脉注射CdTe QDs后, 经检测, QDs可进入家蚕幼虫的精巢和卵巢, 通过诱导ROS的生成, 致早期生殖细胞死亡或畸形, 引发通过线粒体和溶酶体途径的细胞凋亡和自噬。且雄蚕对QDs的暴露更为敏感性, 暴露于QDs对雄性精子的数量和质量有

严重的不利影响, 进一步影响受精的成功率。Ala或Gly结合的QDs可以缓解CdTe QDs在生殖细胞发育和受精过程中的毒性。显然, 这一结果告诉我们, 雄性个体是评价QDs生殖毒性的较好模型, 但由于物种间的差异性, 其它物种是否也符合这一研究结果仍待考量。且通过对比发现, 在对小鼠的研究中, 量子点并不影响后代, 而对家蚕的研究结果却与之相反。这就证实了量子点的暴露方式、暴露浓度和剂量、实验所选择的模式动物等因素都会影响实验结果, 也对综合比对不同研究工作造成了困难, 也正因为如此, 标准化量子点的剂量浓度对量子点的毒性研究至关重要。

3.2 对水生动物的毒性

纳米材料的广泛使用不可避免的会造成纳米材料在水环境中的积累, 研究者在研究量子点的毒性时, 会选择水生动物作为实验动物。ROCHA等^[47]选择了海产贻贝(紫贻贝, *Mytilus galloprovincialis*)作为实验动物, 研究了CdTe QDs对水生无脊椎动物金属硫蛋白(metallothionein, MT)表达量的影响。众所周知, MT在生物体内有着解毒作用, 研究发现, CdTe QDs处理, 诱导了MT的合成, 紫贻贝中MT20表达量显著上升, 且鳃组织对量子点的敏感性高于消化腺。TANG等^[48]研究发现, CdSe/ZnS QDs和CdTe QDs能引起淡水蚤(*Daphnia pulex*)的应激反应相关蛋白及DNA损伤基因表达量不同程度的变化。并且以ZnS为外壳的QDs毒性明显弱于CdTe QDs, 可能是组成QDs的锌在生物体内释放, 与ROS造成的氧化应激损伤起到了一定的拮抗作用。同时发现, 不同种类的QDs所造成的毒性效果也不同, 所以为了更好地了解QDs的毒性, 在研究中我们应该尽可能采用多种方法去评估QDs引起的毒性效应。

4 含镉量子点的毒性作用机制及降低毒性作用的潜在路径

判定量子点有毒的主要依据有2点: (1)细胞培养实验中发现含镉量子点能杀死细胞; (2)将对某一量子点的研究推广至所有量子点。如研究发现, CdTe QDs对生物体有害, 便认为所有的量子点都有害^[49]。实际上, 体内和体外的研究结果有明显差异, 且量子点种类繁多, 可以根据实际需要对其进行不同的表面修饰, LOVRIC等^[50]的研究显示, QDs被蛋白质或生物相容性聚合物修饰且结构完整时, 对细胞和生

物体无害。但当QDs在细胞内积累时, 涂层被降解, 产生“裸”QDs, 对细胞膜、线粒体和细胞核造成损害, 导致细胞死亡^[9,51-52](图3)。

4.1 与镉离子的关系

设计QDs时, 通常会加外壳(如ZnS、CdS等), 但不能完全保证QDs进入体内后, 外壳不会裂解。较为广泛接受的毒性机制为: 生物体内复杂的环境、外界紫外照射或氧气的氧化作用, 使QDs的壳结构破坏, Cd释放, 诱导机体生成ROS, ROS在体内引起一系列级联反应, 启动细胞程序性死亡(图4)。

镉释放后还会和细胞膜上的受体或细胞内其他活性分子结合, 影响该受体及活性分子行使生物学功能, 阻碍正常机体生理活动。

4.2 与ROS的关系

除了由镉释放诱导机体生成的ROS外, QDs裂解的外壳及表面活性物质也会诱导机体产生ROS。正常生理情况下, 机体内ROS与抗氧化剂处于一个平衡状态, 过量ROS的产生会消耗体内的抗氧化剂(如过氧化物酶、谷胱甘肽等抗氧化分子, 在消除外源物质诱导产生的ROS中发挥着重要作用), 破坏机体氧化与抗氧化稳态, 扰乱线粒体功能, 引起细胞膜发生脂质过氧化, 降低新陈代谢速率, 造成DNA损伤, 引起细胞凋亡或坏死。

4.3 基因毒性

QDs可进入细胞核, 直接与DNA作用, 阻碍基因的复制和转录, 破坏生物体内稳态。此外QDs也可直接与RNA作用, 影响基因的翻译过程; 与蛋白质相互作用, 抑制蛋白分子发挥活性作用。由QDs诱导产生的ROS会攻击DNA, 致使DNA断裂或发生点突变。

4.4 降低或消除量子点毒性的潜在路径

为了促进医药研究和药物递送新技术的发展, 需要研究高稳定性、高荧光、良好生物相容性的荧光探针。QDs荧光强度是传统荧光染料的近20倍, 光寿命长, 同一光波可激发出不同颜色的荧光, 这是QDs的巨大优势。QDs具有小尺寸效应、量子效应和表面效应, 毒性效应受尺寸大小、组成成分、表面修饰等因素的影响。QDs的毒性作用是其应用于临床的最大阻碍因素, 研究者们希望通过研究QDs的毒理机制, 降低QDs的毒性作用, 努力设计出毒性低、生物相容性好的QDs, 以推进QDs在分子示踪、药物筛选、体内成像、疾病监测等方面的应用。

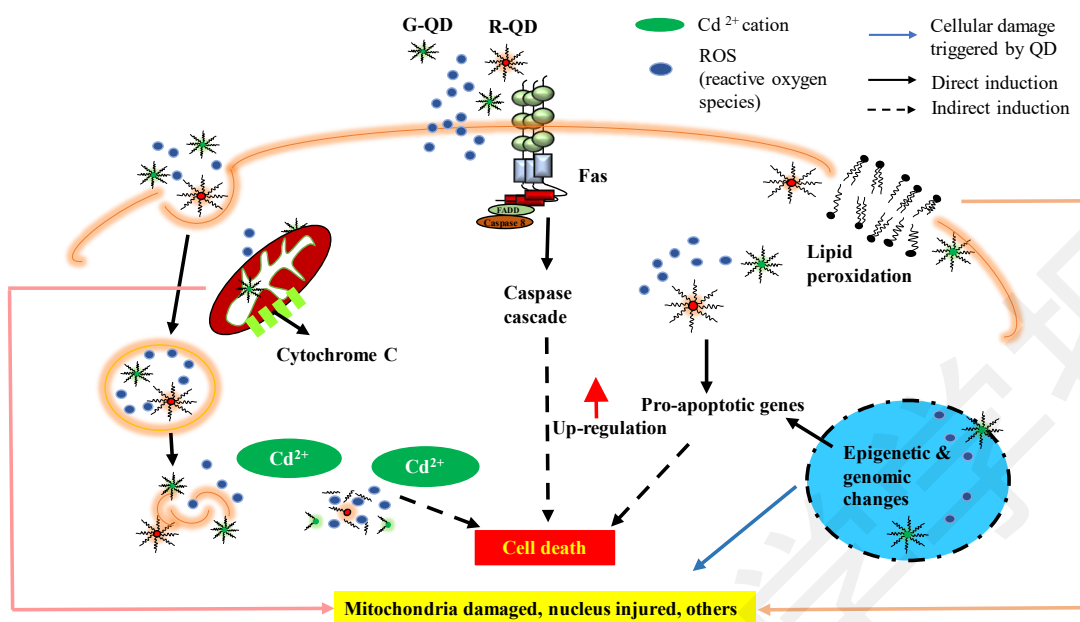


图3 含镉量子点的细胞毒性机制(根据参考文献[9, 51-52]修改)

Fig.3 Cellular mechanisms in cells treated with cadmium-containing QDs (modified from references [9, 51-52])

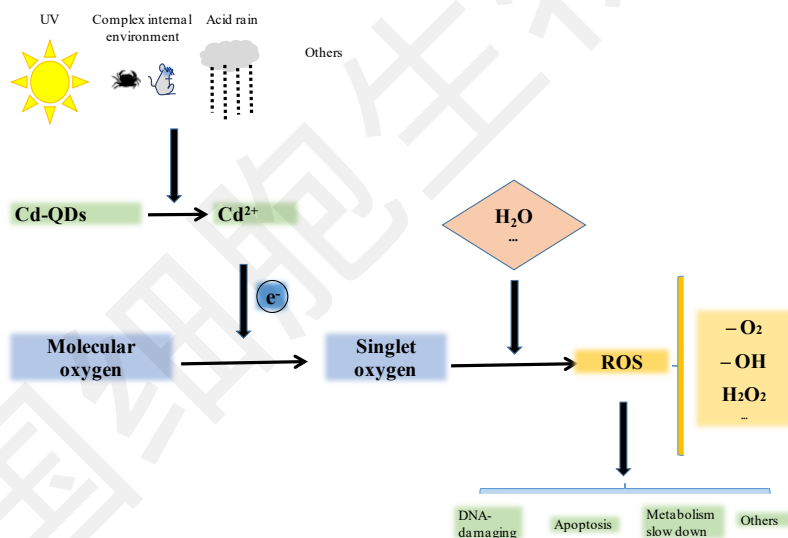


图4 含镉量子点的致毒机制

Fig.4 Toxic mechanisms of cadmium-containing QDs

在注意到QDs在光电性质方面巨大优势的同时, 研究者们也关注到了QDs的稳定性和潜在毒性作用。通过给QDs增加外壳和修饰的方法, 能够增强QDs的稳定性, 降低其毒性作用。如选用ZnS作外壳可降低裸QDs的毒性作用。但这并不能保证QDs在行使完使命被清除出去之前, 核中的重金属镉不会释放到体内。我们需要开发更稳定的外壳, 更有效的修饰方式。目前使用的修饰方式大多为在不影

响QDs功能的同时可降低其毒性的生物大分子, 如可降低QDs发生光氧化概率的牛血清白蛋白等。

5 存在的问题

5.1 细胞实验

量子点的外被涂层是影响其毒性的关键因素之一。细胞实验无疑是揭示含镉QD外部涂层与生物活性物质或细胞结构的相互作用, 帮助理解含镉

QDs的毒性作用机制的理想实验模式。且细胞实验已基本明确了含镉QDs的毒性作用机制, 但因其为体外细胞实验, 无法还原复杂的体内环境, 故细胞实验得出的结论最终仍需要在动物实验中去验证。

5.2 动物实验

动物实验中, 检测QDs的致死率、致畸率等指标变化, 可以说明QDs是有毒性作用的, 而毒性作用机制需要深入挖掘。比如说实验发现, QDs可引起SOD活性的降低, 那么首先应该通过基因水平检测, 明确mRNA含量是否有相应的变化, 若有, 则研究应着眼于QDs与sod的相互作用; 反之, 研究应立足于QDs和SOD之间的相互作用。研究者们应该更多的去关注如何在动物实验中验证细胞实验得出的结论。

6 小结与展望

目前, 最被人们所接受的量子点的致毒机理是: 量子点在空气中或在体内复杂的环境中降解, 其中的重金属被释放, 诱导生物体产生活性氧自由基, 破坏了体内的氧化与抗氧化系统的平衡, 进而通过一系列复杂的机制诱发细胞凋亡或自噬。而越来越多的研究表明, 量子点的毒性与无机镉溶液并不完全相同。含镉量子点进入生物体后的分布也不同于无机镉, 体内的无机镉与MT相结合, 主要分布在细胞质中。而量子点通常被核内体或溶酶体所吞噬或分布在细胞中靠近细胞膜的边缘部分。所以, QDs的毒性作用机制还有待完善。

总的来说, 含镉QDs的毒性作用机制需要细胞实验和动物实验的相互验证。生物体内环境复杂多变, 不同物种间研究结果也存在差异。在对量子点的毒性研究中, 为更好地对比不同研究者的研究结果, 应将剂量指标标准化。体外研究不应聚焦在会不会导致细胞死亡, 而应建立一个能反应量子点和细胞相互作用的体外研究模型。体内研究实验应说明量子点的浓度, 用多种方法测定亚致死毒性和生物相容性。

参考文献 (References)

- [1] OH E, LIU R, NEL A, et al. Meta-analysis of cellular toxicity for cadmium-containing quantum dots [J]. *Nat Nanotechnol*, 2016, 11(5): 479-86.
- [2] MUKHERJEE A, SHIM Y, MYONG SONG J. Quantum dot as probe for disease diagnosis and monitoring [J]. *Biotechnol J*, 2016, 11(1): 31-42.
- [3] MATEA C T, MOCAN T, TABARAN F, et al. Quantum dots in imaging, drug delivery and sensor applications [J]. *Int J Nano-medicine*, 2017, 12: 5421-31.
- [4] VAISHALI B, LIANGFANG Z, ETGAR L N, et al. Quantum dot-aptamer conjugates for synchronous cancer imaging, therapy, and sensing of drug delivery based on bi-fluorescence resonance energy transfer [J]. *Nano Letters*, 2007, 7(10): 3065-70.
- [5] SOBROVA P, BLAZKOVA I, CHOMOUCKA J, et al. Quantum dots and prion proteins: is this a new challenge for neurodegenerative diseases imaging? [J]. *Prion*, 2013, 7(5): 349-58.
- [6] MEDINA-SANCHEZ M, MISERERE S, MORALES-NARVAEZ E, et al. On-chip magneto-immunoassay for Alzheimer's biomarker electrochemical detection by using quantum dots as labels [J]. *Biosens Bioelectron*, 2014, 54: 279-84.
- [7] ZHAO X, CUI Y, WANG J, et al. Preparation of fluorescent molecularly imprinted polymers via pickering emulsion interfaces and the application for visual sensing analysis of *Listeria monocytogenes* [J]. *Polymers (Basel)*, 2019, 11(6): 984-96.
- [8] ANDREADOU M, LIANDRIS E, GAZOULI M, et al. Detection of *Leishmania*-specific DNA and surface antigens using a combination of functionalized magnetic beads and cadmium selenite quantum dots [J]. *J Microbiol Methods*, 2016, 123: 62-7.
- [9] MO D, HU L, ZENG G, et al. Cadmium-containing quantum dots: properties, applications, and toxicity [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2017, 101(7): 2713-33.
- [10] CHEN D, CHEN B, YAO F. Doxorubicin-loaded PEG- CdTe quantum dots as a smart drug delivery system for extramedullary multiple myeloma treatment [J]. *Nanoscale Res Lett*, 2018, 13(1): 373.
- [11] LI S, LIU Z, JI F, et al. Delivery of quantum dot- siRNA nanoparticles in SK-N-SH cells for BACE1 gene silencing and intracellular imaging [J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2012, 1: e20.
- [12] OLERILE L D, LIU Y, ZHANG B, et al. Near-infrared mediated quantum dots and paclitaxel co-loaded nanostructured lipid carriers for cancer theragnostic [J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2017, 150: 121-30.
- [13] WEITAO Y, WEISHENG G, XIAOQUN G, et al. Facile synthesis of Gd-Cu-In-S/ZnS bimodal quantum dots with optimized properties for tumor targeted fluorescence/MR *in vivo* imaging [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2015, 7: 18759-68.
- [14] HAFIAN H, SUKHANOVA A, TURINI M, et al. Multiphoton imaging of tumor biomarkers with conjugates of single-domain antibodies and quantum dots [J]. *Nanomedicine*, 2014, 10(8): 1701-9.
- [15] HUANG S, XIAO Q, HE Z K, et al. A high sensitive and specific QDs FRET bioprobe for MNase [J]. *Chem Commun (Camb)*, 2008, 45: 5990-2.
- [16] 陆杰, 张婷, 唐萌. 碲化镉量子点细胞毒性研究进展. *生态毒理学报*(LU J, ZHANG T, TANG M. Research advances in cytotoxicity of CdTe quantum dots. *Asian Journal of Ecotoxicology*), 2016, 11(5): 24-31.
- [17] PAESANO L, PEROTTI A, BUSCHINI A, et al. Markers for toxicity to HepG2 exposed to cadmium sulphide quantum dots; damage to mitochondria [J]. *Toxicology*, 2016, 374: 18-28.
- [18] LI X, CHEN N, SU Y, et al. Autophagy-sensitized cytotoxicity of quantum dots in PC12 cells [J]. *Adv Healthc Mater*, 2014, 3(3): 354-9.

- [19] PRASAD B R, MULLINS G, NIKOLSKAYA N, et al. Effects of long-term exposure of gelatinated and non-gelatinated cadmium telluride quantum dots on differentiated PC12 cells [J]. *J Nanobiotechnology*, 2012, 10(1): 116-21.
- [20] 鲍一苓, 李亦白, 樊佳, 等. 碲化镉量子点对 PC-12 细胞的细胞毒性研究. 现代生物医学进展(BAO Y L, LI Y B, FAN J, et al. Cytotoxicity of cadmium telluride quantum dot on PC-12 cells. *Progress in Modern Biomedicine*), 2014, 14(21): 4047-50.
- [21] CHANG S Q, DAI Y D, KANG B, et al. UV-enhanced cytotoxicity of thiol-capped CdTe quantum dots in human pancreatic carcinoma cells [J]. *Toxicol Lett*, 2009, 188(2): 104-11.
- [22] WU T, HE K, ZHAN Q, et al. Partial protection of N-acetylcysteine against MPA-capped CdTe quantum dot-induced neurotoxicity in rat primary cultured hippocampal neurons [J]. *Toxicol Res*, 2015, 4(6): 1613-22.
- [23] ZHANG T, WANG Y, KONG L, et al. Threshold dose of three types of quantum dots (QDs) induces oxidative stress triggers DNA damage and apoptosis in mouse fibroblast L929 Cells [J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2015, 12(10): 13435-54.
- [24] MICHAEL DE W, SIMON B, HITOSHI S, et al. Molecular assembly and self-assembly: molecular nanoscience for future technologies [J]. *NK Aca Sci Annals*, 2004, 56(10): 291-305.
- [25] NGUYEN K C, RIPPSTEIN P, TAYABALI A F, et al. Mitochondrial toxicity of cadmium telluride quantum dot nanoparticles in mammalian hepatocytes [J]. *Toxicol Sci*, 2015, 146(1): 31-42.
- [26] NGUYEN K C, WILLMORE W G, TAYABALI A F. Cadmium telluride quantum dots cause oxidative stress leading to extrinsic and intrinsic apoptosis in hepatocellular carcinoma HepG2 cells [J]. *Toxicology*, 2013, 306: 114-23.
- [27] ZHANG T, HU Y, TANG M, et al. Liver toxicity of cadmium telluride quantum dots (CdTe QDs) due to oxidative stress *in vitro* and *in vivo* [J]. *Int J Mol Sci*, 2015, 16(10): 23279-99.
- [28] SU Y, HE Y, LU H, et al. The cytotoxicity of cadmium based, aqueous phase-synthesized, quantum dots and its modulation by surface coating [J]. *Biomaterials*, 2009, 30(1): 19-25.
- [29] SU Y, HU M, FAN C, et al. The cytotoxicity of CdTe quantum dots and the relative contributions from released cadmium ions and nanoparticle properties [J]. *Biomaterials*, 2010, 31(18): 4829-34.
- [30] CHEN N, HE Y, SU Y, et al. The cytotoxicity of cadmium-based quantum dots [J]. *Biomaterials*, 2012, 33(5): 1238-44.
- [31] ZHAO L, ZONG W, ZHANG H, et al. Kidney toxicity and response of selenium containing protein-glutathione peroxidase (Gpx3) to CdTe QDs on different levels [J]. *Toxicol Sci*, 2019, 168(1): 201-8.
- [32] FENG X, CHEN A, ZHANG Y, et al. Application of dental nanomaterials: potential toxicity to the central nervous system [J]. *Int J Nanomedicine*, 2015, 10: 3547-65.
- [33] ZHAO Y, WANG X, WU Q, et al. Translocation and neurotoxicity of CdTe quantum dots in RMEs motor neurons in nematode *Caenorhabditis elegans* [J]. *J Hazard Mater*, 2015, 283: 480-9.
- [34] SAMUEL S P, SANTOS-MARTINEZ M J, MEDINA C, et al. CdTe quantum dots induce activation of human platelets: implications for nanoparticle hemocompatibility [J]. *Int J Nanomedicine*, 2015, 10: 2723-34.
- [35] MCCONNACHIE L A, WHITE C C, BOTTA D, et al. Heme oxygenase expression as a biomarker of exposure to amphiphilic polymer-coated CdSe/ZnS quantum dots [J]. *Nanotoxicology*, 2013, 7(2): 181-91.
- [36] YAN M, ZHANG Y, XU K, et al. An *in vitro* study of vascular endothelial toxicity of CdTe quantum dots [J]. *Toxicology*, 2011, 282(3): 94-103.
- [37] NGUYEN K C, SELIGY V L, TAYABALI A F. Cadmium telluride quantum dot nanoparticle cytotoxicity and effects on model immune responses to *Pseudomonas aeruginosa* [J]. *Nanotoxicology*, 2013, 7(2): 202-11.
- [38] KUMAR V, KUMARI A, GULERIA P, et al. Evaluating the toxicity of selected types of nanochemicals [J]. *Rev Environ Contam Toxicol*, 2012, 215: 39-121.
- [39] 王晓梅, 杨坚泰, 许改霞, 等. CdSe/CdS/ZnS 量子点对体外培养成熟卵母细胞的侵入性研究. 中国激光(WANG X M, YANG J T, XU G X, et al. Invasion of CdSe/CdS/ZnS quantum dots for oocytes *in vitro* maturation. *Chinese Journal of Lasers*), 2010, 37(11): 2730-4.
- [40] ZHANG W, LIN K, MIAO Y, et al. Toxicity assessment of zebrafish following exposure to CdTe QDs [J]. *J Hazard Mater*, 2012b, 213-214: 413-20.
- [41] ZHANG W, LIN K, SUN X, et al. Toxicological effect of MPA-CdSe QDs exposure on zebrafish embryo and larvae [J]. *Chemosphere*, 2012a, 89(1): 52-9.
- [42] ZHANG W, SUN X, CHEN L, et al. Toxicological effect of joint cadmium selenium quantum dots and copper ion exposure on zebrafish [J]. *Environ Toxicol Chem*, 2012, 31(9): 2117-23.
- [43] TIAN J, HU J, LIU G, et al. Altered Gene expression of ABC transporters, nuclear receptors and oxidative stress signaling in zebrafish embryos exposed to CdTe quantum dots [J]. *Environ Pollut*, 2019, 244: 588-99.
- [44] LI X, YANG X, YUWEN L, et al. Evaluation of toxic effects of CdTe quantum dots on the reproductive system in adult male mice [J]. *Biomaterials*, 2016, 96: 24-32.
- [45] YAN S Q, XING R, ZHOU Y F, et al. Reproductive toxicity and gender differences induced by cadmium telluride quantum dots in an invertebrate model organism [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 34182.
- [46] 鄢思琪. 碲化镉量子点对家蚕的生殖毒性及作用机制(硕士论文). 苏州大学, 2016.
- [47] ROCHA T L, BILBAO E, CARDOSO C, et al. Changes in metallothionein transcription levels in the mussel *Mytilus galloprovincialis* exposed to CdTe quantum dots [J]. *Ecotoxicology*, 2018, 27(4): 402-10.
- [48] TANG S, WU Y, RYAN C N, et al. Distinct expression profiles of stress defense and DNA repair genes in *Daphnia pulex* exposed to cadmium, zinc, and quantum dots [J]. *Chemosphere*, 2015, 120: 92-9.
- [49] KIM M T, QIN D, BENJAMIN A A, et al. Are quantum dots toxic exploring the discrepancy between cell culture and animal studies [J]. *Acc Chem Res*, 2013, 46(3): 662-71.
- [50] LOVRIC J, CHO S J, WINNIK F M, et al. Unmodified cadmium telluride quantum dots induce reactive oxygen species formation leading to multiple organelle damage and cell death [J]. *Chem Biol*, 2005, 12(11): 1227-34.
- [51] LOVRIC J, BAZZI H S, CUIE Y, et al. Differences in subcellular distribution and toxicity of green and red emitting CdTe quantum dots [J]. *J Mol Med (Berl)*, 2005, 83(5): 377-85.
- [52] FRANÇOISE M W, DUSICA M. Quantum dot cytotoxicity and ways to reduce it [J]. *Acc Chem Res*, 2013, 46(3): 672-80.