

DOI: 10.13376/j.cblls/2015083

文章编号: 1004-0374(2015)05-0618-07

纳米氧化铜对生物体的毒害作用及机理

聂光丽^{1,2}, 何蓉^{1,3}, 唐玉林^{1,3*}

(1 深圳大学生命科学学院, 深圳 518060; 2 深圳市海洋生物资源与生态环境重点实验室, 深圳 518060; 3 深圳市微生物基因工程重点实验室, 深圳 518060)

摘要: 随着纳米技术的飞速发展, 人工纳米材料被广泛应用到能源、医药、军事、环保等各个领域。人工纳米氧化铜 (CuO NPs) 由于其独特的物化性质和广泛的用途备受人们关注, 其在生产及使用过程中形成的颗粒物有意无意地会进入土壤和水体中, 进而对生物体造成潜在危害。现就近几年来 CuO NPs 对不同生物体, 包括动物、植物、细菌等以及细胞和基因方面的纳米效应及致毒机制进行了分析和综述。对 CuO NPs 毒性的全面认识将为减轻人工纳米颗粒物的环境毒性研究提供参考, 并提出了今后相关研究的重要方向。

关键词: 纳米氧化铜; 毒害; 致毒机理; 生物体

中图分类号: TB323; X503.231 **文献标志码:** A

The biological toxicity of copper oxide nanoparticles and its toxicology mechanisms

NIE Guang-Li^{1,2}, HE Rong^{1,3}, TANG Yu-Lin^{1,3*}

(1 College of Life Sciences, Shenzhen University, Shenzhen 518060, China;

2 Shenzhen Key Laboratory of Marine Biological Resources and Ecological Environment, Shenzhen 518060, China;

3 Shenzhen Key Laboratory of Genetic Engineering Microbes, Shenzhen 518060, China)

Abstract: With the development of nanotechnology, artificial nanomaterials have been applied widely in the fields of energy resources, medicine, military, and environmental protection. Copper oxide nanoparticles (CuO NPs) have attracted a great deal of interest because of their unique properties. In the process of its production and application, the particles have been released into the soil and water and caused the potential toxicity to the environment. Here the toxicity of CuO NPs on different organisms, the cytotoxicity and genotoxicity of CuO NPs, and the toxicology mechanism of CuO NPs are briefly analyzed and reviewed. It is helpful to understand the toxicity comprehensively for providing more information for the study of reducing the environmental toxicity of CuO NPs.

Key words: copper oxide nanoparticles; toxicity; toxic mechanism; organisms

纳米材料是指粒径为 1~100 nm 的超细粒子材料^[1]。氧化铜纳米材料有氧化铜纳米颗粒^[2-3]、氧化铜纳米棒^[4-5]、氧化铜纳米片^[6-8]和氧化铜纳米梭^[9]等。与普通氧化铜相比, CuO NPs 在磁性、光吸收、化学活性、热阻、催化剂和熔点等方面表现出独特的物理化学性能, 具有表面效应、小尺寸效应、体积效应及宏观量子隧道效应等, 由此, CuO NPs 已成功用于电子设备、光学电子等领域, 如传感器、超导材料和热导材料等^[10]。另外, 因其具有抗菌和

抗生物活性, 喷于聚丙烯塑料制品或者纺织品上具有抗菌作用^[11], 可制成抗菌涂料, 应用于油轮等船只的水草污染防治。它也可用于生物医药, 如防毒面具和伤口敷料等。因 CuO NPs 的物理催化性能, 还可在工业生产中用作催化剂, 如对高氯酸铵的热

收稿日期: 2014-12-22; 修回日期: 2015-02-03

基金项目: 国家自然科学基金重点国际(地区)合作研究项目(41120134004)

*通信作者: E-mail: yltang@szu.edu.cn

分解^[12]、对罗丹明的光降解^[13]和对苯酚的氧化^[14]等均具有催化作用。

CuO NPs 的应用越来越广泛, 使其在环境中的释放概率增大, 对生物体的影响也受到了人们的普遍关注。

1 CuO NPs对生物体的毒害作用

1.1 CuO NPs在植物体内的转移及对植物的毒害作用

植物对 CuO NPs 的吸收主要是通过内吞作用跨过细胞膜进入细胞, 再经过表皮和皮层进入中柱。CuO NPs 在吸收进入根部后, 大多数会积累于根部, 也有部分可以转运到地上部, 并可在不同部位之间进行再转移。如对 Cu²⁺ 耐受性植物海州香薷 (*Elsholtzia splendens*) 的研究发现, CuO NPs 溶液处理根部后, 在根和叶片中均观察到纳米颗粒的存在^[15]; 在玉米 (*Zea mays* L) 植株中, CuO NPs 可通过木质部从根转运到地上部, 而地上部的 CuO NPs 可再通过韧皮部转移到其他部位, 甚至再回到根部^[16]。CuO NPs 在植物体各个部位间转运积累使得植物体各个组织部位的铜含量都高于正常水平, 进而对植物产生毒性。

CuO NPs 对植物的毒害作用主要表现在对植物生长的影响。CuO NPs 胁迫下, 植物生长缓慢, 严重时会使幼苗黄化, 叶片边缘萎蔫。如对海州香薷^[15]的研究显示, 与对照组相比, 浓度为 1 000 mg/L 的 CuO NPs 胁迫对根伸长生长的抑制达到了 73.3%, 叶和根的生物量分别降低了 51% 和 57%。对其他植物的研究有类似结果, 在低浓度 CuO NPs (10 mg/L) 胁迫下, 对萝卜 (*Raphanus sativus* L.)、黑麦 (*Secale cereale*) 的根伸长抑制率约为 4% 和 80%^[17]。CuO NPs 对白菜 (*Brassica pekinensis*) 的根伸长半抑制浓度为 1.4 mg/L^[18], 而对海州香薷根伸长的半抑制浓度是 480 mg/L^[15], 这些结果显示了不同植物对 CuO NPs 的耐受性不同。CuO NPs 还会影响植物的光合作用, 如 1 000 mg/L CuO NPs 处理海州香薷, 使其叶绿素 *a* 和叶绿素 *b* 含量分别降低了 7% 和 34%。而对水生植物紫萍^[19]的研究显示, CuO NPs 胁迫 48 h 之后会使其光系统 II 失活, 电子传递速率降低和热能消耗量增加, 光合作用效率降低。另外, CuO NPs 也会影响细胞器数量及其超微结构, 出现质体小球数目增多、叶绿体膜膨胀扩大、线粒体形状不完整和被破坏, 以及淀粉粒含量减少等现象^[20]。

CuO NPs 还影响植物体内多种酶的活性, 如 CuO NPs 处理水稻 (*Oryza sativa* L.) 幼苗, 会使其

根系活力下降, 根内丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 含量和过氧化氢 (hydrogen peroxide, H₂O₂) 含量显著升高, 超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 和过氧化物酶 (peroxidase, POD) 活性明显增强^[21]。

CuO NPs 在环境中的行为使其以不同的方式对植物产生影响。同时, 环境中的 CuO NPs 也会与植物发生互作, 如 CuO NPs 在溶液中会团聚成大颗粒, 也会向溶液中释放出 Cu²⁺。形成氧化铜大颗粒后, 其毒性作用往往降低, 释放 Cu²⁺ 后往往又会表现出离子毒害作用^[21]。土壤中 CuO NPs 会因植物根系释放的有机酸而发生聚集, 表面电荷发生变化, 加强其生物相容性, 加速植物对 CuO NPs 吸收和积累^[22]。

1.2 CuO NPs在动物体内的积累及生物学效应

CuO NPs 被动物吸收后可积累于不同组织中。CuO NPs 被动物食入之后, 部分被消化吸收, 另一部分不能被消化或吸收的就积累于肠道和消化腺内。Heinlaan 等^[23]在电镜下观察了大型溞 (*Daphnia magna*) 对 CuO NPs 的吸收情况。在大型溞摄入 CuO NPs 之后 2 h, CuO NPs 可分散在肠道内, 由于围食膜的存在, CuO NPs 未接触到肠上皮细胞微绒毛; 摄入 CuO NPs 后 48 h, 在中肠上皮细胞微绒毛之间可观察到纳米颗粒, 说明 CuO NPs 迁移到了中肠上皮细胞微绒毛之间。贝类在摄入 CuO NPs 后主要积累在消化腺和鳃中。研究显示在紫贻贝 (*Mytilus galloprovincialis*) 的消化腺中以纳米颗粒的形式积累铜^[24], 而贻贝 (*Mytilus edulis*) 吸入 CuO NPs 后主要积累在鳃中, 只有少量在消化腺内存在^[25]。进入动物体内的 CuO NPs 往往会对动物的细胞及组织产生不良影响。

有研究显示, 在饲料中添加低剂量 (CuO : 8 mg/kg) 的 CuO NPs, 可提高动物, 如肉鸡 (*Broilers*)^[26]、小鼠 (*Mus musculus*)^[27] 的日增重, 提高血清中抗氧化酶活性, 增强抗氧化能力, 提高动物免疫功能。但更多的研究表明, 一定剂量的 CuO NPs 对动物具有毒害作用, 导致动物的各脏器受损, 如给小鼠灌服不同浓度的 CuO NPs 混悬液, 小鼠的肾脏、小肠、肝脏等组织器官会广泛受损, 严重时会导致淤血、出血等病理变化^[28]。给小鼠注射 CuO NPs, 会导致其肺泡结构破坏, 出现急性肺损伤, 甚至死亡^[29]。对小鼠海马区神经中枢研究显示^[30], CuO NPs 会影响神经细胞的电压门控钠离子流, 即对离子通道有影响, 进而影响中枢神经系统。

体外研究发现, CuO NPs 对人的肝细胞^[31]、肾细胞^[32]以及非洲爪蟾 (*Xenopus laevis*) 上皮细胞^[33]

等不同的细胞系均有毒害作用, 表现为降低细胞活力, 使细胞周期停滞, 影响细胞增殖, 导致细胞凋亡等。

1.3 CuO NPs的抑菌作用

CuO NPs 的抗菌作用作为其优良特性之一已被较广泛地应用。研究发现, CuO NPs 对多种细菌的生长都有抑制作用, 如对弧菌 (*Vibrio fischeri*)^[34]、大肠杆菌 (*Escherichia coli*)、枯草杆菌 (*Bacillus subtilis*)、金黄色葡萄球菌 (*Streptococcus aureus*)^[35]、绿脓杆菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) 和沙门杆菌 (*Salmonella enteritidis*)^[36] 等的生长都有明显的抑制作用。有研究发现, 这种抑制作用与 CuO NPs 引起的细胞膜损伤有关^[37]。

研究表明, CuO NPs 对厌氧细菌的活性也有抑制作用。Luna-delRisco 等^[38] 报道, CuO NPs 能在无氧条件下抑制厌氧细菌产生沼气。这种抑制作用随 CuO NPs 的浓度增加而加大^[39], 如高浓度的 CuO NPs 可在短期内对乙酰化产甲烷菌 (acetoclastic methanogens) 和 H₂ 营养型的产甲烷菌 (H₂-consuming methanogens) 的活性产生影响; 而低浓度的 CuO NPs 在短期内的影响很小, 但长期处理则仍会对厌氧细菌产生影响, 导致生物反应器性能紊乱, 影响甲烷的产生^[40]。

2 CuO NPs的细胞毒性和基因毒性研究

人们对 CuO NPs 的细胞毒性的关注最早源于 Karlsson 等^[41] 对肺腺上皮细胞 (A549) 的研究, 其对不同纳米金属氧化物 (CuO、TiO₂、ZnO、Cu、Zn、Fe₂O₄、Fe₃O₄、Fe₂O₃) 以及纳米碳和多壁碳纳米管的研究显示, 相比于其他纳米颗粒, CuO NPs 对肺腺上皮细胞 A549 的毒害作用最强; 在 20 μg/L 的各纳米颗粒胁迫下, CuO NPs 胁迫细胞的死亡率在 93%, 其他纳米颗粒表现出低致死率, 甚至无致死率; 只有 CuO NPs 引起细胞内的活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 显著上升, CuO NPs 胁迫引起的 DNA 损伤程度也比其他纳米颗粒严重。

CuO NPs 对细胞活性有影响, 且随浓度的升高细胞活性降低。研究显示, CuO NPs 会使细胞内产生 ROS, 引起氧化损伤、DNA 损伤、细胞器膜破坏、线粒体去极化, 甚至细胞凋亡或坏死等。目前已在多种细胞系中检测到 CuO NPs 的细胞毒性, 详见表 1。各研究中, 细胞活性检测一般使用台盼蓝染色进行鉴定, DNA 损伤和 DNA 氧化损伤多用彗星实验检测, ROS 的产生则多使用双氯荧光素 (DCFH-DA) 检测, 细胞凋亡或坏死用碘化丙啶和吖啶橙荧光染色显示。纳米颗粒大小的表征用扫描电子显微

表1 CuO NPs对细胞系产生的细胞毒性和基因毒性

细胞系	颗粒大小(nm)	SEM/TEM (nm)	DLS (nm)	影响	参考文献
非洲爪蟾表皮细胞系(A6)	6或者100	(6±1)或者100	9~40或者40~500	细胞周期停滞, 细胞增殖受影响, 细胞凋亡	[33]
血淋巴细胞CHO	<50	31±10	284±21	DNA损伤	[24]
肺腺上皮细A549	42	20~40	220	细胞活性降低, DNA损伤氧化损伤	[41]
皮肤表皮细系 HaCaT	50	55.8±8.70	68.5±5	细胞活性随时间和纳米浓度显著递减, 产生ROS, 诱导细胞凋亡, DNA损伤	[42]
结肠癌细胞系 Caco-2	12和50~80	(74±17)和(40±16)	--	细胞活性降低, 影响单层细胞的形成, 引起促炎细胞因子和趋化因子上升	[43]
小鼠BALB3T3	25.67±5.27	26.35±7.89	143.35±11.36	在5、10和15 mg/mL浓度下细胞活性分别降低90%、47%和22%	[44]
气管道上皮细胞系HEp-2	<100	--	--	细胞活性降低, 产生ROS和8-isoprostane (一种氧化损伤和膜损伤标记物)	[45]
肺腺上皮细A549	<100	52.51±10.23	65.59	细胞活性降低; 产生DNA损伤	[46]
肺腺上皮细A549	34.3±0.76	10~50	300.04±10.8	细胞活性降低, 促炎症反应, 通过氧化胁迫诱导自我吞噬	[47]
肺腺上皮细A549	20~40	20~40	--	细胞活性降低, 产生ROS, 线粒体去极化, DNA损伤	[48]

镜 (scanning electron microscope, SEM) 或者透射电子显微镜 (transmission electron microscopy, TEM) 确定, 纳米颗粒在去离子水中的颗粒大小分布情况用动态光散射 (dynamic light scattering, DLS) 检测。

CuO NPs 引起的 DNA 损伤在上表中也有体现。此外, 还有更多研究也显示了 CuO NPs 的基因毒性, 如用 CuO NPs 处理紫贻贝后, 其淋巴细胞的 DNA 断裂明显^[49]。在 CuO NPs 胁迫下, 萝卜幼苗以及多年生和一年生黑麦草中都能检测到 DNA 损伤标记物 FapyAde (4,6-diamino-5-formamidopyrimidine)、FapyGua (2,6-diamino-4-hydroxy-5-formamidopyrimidine) 和 8-OH-Gua (7,8-dihydro-8-oxoguanine) 的积累, 并且损伤标记物的积累随 CuO NPs 浓度增加而增加^[17]。DNA 的断裂及损伤表明 CuO NPs 具有高度的基因毒性。

Ahamed 等^[50] 在研究 CuO NPs 对 A549 细胞的毒害作用时发现, CuO NPs 胁迫能诱导细胞损伤的第一标志物 Hsp70 的表达, 随后, 细胞周期检验点蛋白 p53 以及 DNA 损伤修复蛋白 Rad₅₁ 和 MSH₂ 的表达也上调, 这表明细胞对 CuO NPs 的基因毒性反应是通过 p53 途径介导的。

3 CuO NPs的毒性机理

CuO NPs 对生物体生长及代谢的毒性影响已有很多报道, 在细胞水平和基因水平上 CuO NPs 毒性也非常明显。目前认为, CuO NPs 的致毒机理有两方面: (1) 释放的 Cu²⁺ 对生物体产生离子毒害作用; (2) 纳米颗粒引起的氧化胁迫。

3.1 释放Cu²⁺引起的毒害

CuO NPs 在培养基中会释放出 Cu²⁺, CuO NPs 进入生物体或者细胞内也可释放出 Cu²⁺。Wang 等^[48] 通过超滤离心的方法检测到肺腺上皮细胞 (A549) 培养基中的 CuO NPs 可大量释放出 Cu²⁺。Aruoja 等^[51] 研究多种纳米颗粒物对海藻 (*Pseudokirchneriella subcapitata*) 的毒害时发现, CuO NPs 中的铜在溶液中 25% 释放为离子。在对水生植物浮萍 (*Landoltia punctata*) 的研究中发现, CuO NPs 胁迫下, 其超微结构发生变化, 线粒体及叶绿体膜有损伤, 但在电镜下并没有观察到细胞内纳米颗粒的存在, 推测其毒害效应是释放的离子所致^[20]。由于 Cu²⁺ 的氧化还原活性, Cu²⁺ 的积累能催化芬顿 (Fenton) 反应, 产生大量羟基自由基, 损害细胞组分, 如膜脂、蛋白质和核酸等^[52-53]。Cu²⁺ 和硫醇具有高度亲和性, 能和细胞内的铁硫簇蛋白相互作用影响

蛋白质或酶的功能。可见 CuO NPs 释放出的 Cu²⁺ 是其产生毒性的一个重要方面。

研究显示, 在酸性条件下 CuO NPs 能释放出更多的 Cu²⁺^[54], 进入细胞内的 CuO NPs 可以进入酸性细胞器, 如溶酶体等, 或接触酸性物质如核酸等, 在这些部位, CuO NPs 可能更易释放出高浓度 Cu²⁺ 而损伤细胞, 如进入细胞核的纳米颗粒更易致 DNA 损伤。

3.2 纳米颗粒引起氧化胁迫造成的细胞损伤

有研究显示, CuO NPs 表现出的纳米颗粒生物毒性远大于其释放的 Cu²⁺ 的毒性。Zhao 等^[37] 在研究 CuO NPs 对大肠杆菌的细胞毒性时发现, CuO NPs 会引起细胞膜的破裂, 而相当量的 Cu²⁺ 处理时没有细胞膜的破裂, 可见这一损伤效应是纳米颗粒直接造成的。在大肠杆菌上的类似研究也显示纳米颗粒的毒害作用远甚于其释放的离子胁迫^[55], 浓度为 125 mg/L 的 CuO NPs 可完全抑制大肠杆菌的生长, 其向培养基中释放的 Cu²⁺ 浓度为 2.7 mg/L, 以此浓度的 Cu²⁺ 处理大肠杆菌并没有引起生长抑制。本实验室观察 CuO NPs 及其对应的 Cu²⁺ 释放浓度下的拟南芥幼苗根细胞的损伤情况时也发现, 前者的毒性要比后者更大^[55]。Semisch 等^[49] 研究 CuO NPs 的细胞和基因毒性时还发现, 只有 CuO NPs 引起细胞凋亡的标志物亚二倍体 DNA (subdiploid DNA) 的积累, 而在 CuCl₂ 胁迫下亚二倍体 DNA 没有明显变化。对小鼠胚胎成纤维细胞 BALB 3T3 的研究发现^[44], CuO NPs 可引起细胞 ROS 的产生而引起细胞损伤, 而加入具有抗氧化作用的莱菔硫烷可明显降低 CuO NPs 引起的细胞损伤。在 CuO NPs 胁迫下加入抗氧化剂白藜芦醇可缓和呼吸道上皮细胞 HEp-2 的细胞毒性, 可见 CuO NPs 胁迫影响了细胞的氧化平衡状态。这些有别于或更甚于 Cu²⁺ 的毒害效应主要是由纳米颗粒引起的生物体内 ROS 的产生所导致的氧化损伤。

3.2.1 CuO NPs诱发氧化胁迫的主要原因

CuO NPs 自身的颗粒和表面特性等是引起氧化胁迫的一个重要原因。Zhao 等^[37] 研究表明, CuO NPs 在富里酸 (FA) 包裹下对细胞膜损伤程度降低。原因是 FA 增强了 CuO NPs 表面静电排斥, 减少了 CuO NPs 颗粒与大肠杆菌的直接接触, 降低了 CuO NPs 的毒害作用, 可见其表面特性不同造成的毒害作用不同。分子建模预测显示^[50], CuO NPs 的直径 $\geq 20\sim 30$ nm 时, 纳米颗粒所带表面电荷在抗氧化物如谷胱甘肽和过氧化氢酶的电化学势范围 (-4.12

eV ~ -4.84 eV) 内, 这时 CuO NPs 本身的电子层就可传导到细胞内的生物大分子上, 引起细胞内电位异常。另外, CuO NPs 可从细胞内的一些生物大分子上获取电子, 自身氧化后再传递到其他生物大分子上。由此推测, CuO NPs 可通过直接的氧化还原引起 DNA 损伤, 也可直接氧化其他生物体大分子, 如膜质等, 产生 ROS, 引起 DNA 损伤。

此外, CuO NPs 作为细胞的一种异物, 细胞在感受这种异物后会有一些免疫性的反应, 而其中一种反应可能就是诱发细胞内的氧爆发。本实验室的研究显示, 在 CuO NPs 处理 30 min 后的拟南芥根尖中即有大量的 ROS 产生, 与此同时, 检测到与氧爆发发生相关的基因, 如 *RbohD* 以及大量的与氧化胁迫相关的基因如 *Rhl41*、*Bcb*、*Msrb7*、*Prxca* 等表达被上调^[55]。

3.2.2 CuO NPs 诱发氧化胁迫引起的细胞反应

CuO NPs 通过释放 Cu^{2+} 引起的 Fenton 反应及纳米颗粒自身均会引起 ROS 的产生。氧化胁迫现象的发生则表现在 ROS 的产生与对活性中间产物的去氧化作用或对损伤的修复作用间的平衡被打破, 也是氧化修复和损伤过程的博弈。ROS 引起的这一系列细胞反应最终往往会导致细胞损伤。ROS 会影响线粒体呼吸、线粒体凋亡, 激活细胞的抗氧化系如 NADPH 氧化酶系, 超氧化物歧化酶 (SOD) 和过氧化氢酶 (CAT) 活性增加, 抗氧化酶的消耗增加, 导致脂质过氧化物 (LPO) 含量增加, 蛋白质变性等, 最终导致组织细胞的损伤。在氧化胁迫较温和的条件下, ROS 会激活对氧化还原较敏感的信号途径, 如有丝分裂原活化蛋白激酶 MAPK 信号途径及 B 细胞调控因子 NF- κ B 信号途径, 激发细胞的免疫反应, 激活炎症因子和趋化因子等, 这些与细胞纤维化、细胞凋亡以及肿瘤等密切相关^[56]。而极端氧胁迫则会导致线粒体膜损伤, 电子传递链功能散失, 细胞死亡^[44]。例如, Ahamed 等^[46] 对皮肤表皮细胞系 HaCaT 的研究显示, 随着 CuO NPs 的处理剂量和时间的增加, 细胞活性明显降低, 谷胱甘肽含量降低, ROS 产生, 引起 DNA 损伤、细胞凋亡或坏死。而进入细胞并附着于线粒体膜上的纳米颗粒会损伤线粒体膜和使膜去极化, 线粒体膜的破坏导致膜渗透产生 ROS, 进而激发细胞凋亡^[57]。细胞质中产生的 ROS 渗透到细胞核中后会与金属离子结合产生羟基, 攻击 DNA, 引起 DNA 损伤 (表 1)。另外, CuO NPs 也可直接进入细胞核^[48], 在核内的 CuO NPs 也许会直接攻击 DNA 造成损伤。

4 展望

由于 CuO NPs 颗粒本身及生物体的差异性, 不同颗粒大小和不同形状 of CuO NPs 导致的生物毒性效果不同^[43], 改变实验处理, 致使纳米颗粒本身的性质微变, 可能的生物效应就不同^[58-59]。虽然目前针对纳米氧化铜的毒性研究和机理阐述已有所增多, 但是针对纳米氧化铜的毒性解释和生物解毒性还需更进一步的研究。本文综述了 CuO NPs 对几类生物体的毒害作用及 CuO NPs 的致毒机理。CuO NPs 可通过纳米颗粒释放的离子及颗粒本身诱导细胞内产生 ROS, 引起氧化损伤, 对生物体造成毒害。全面而深入地认识 CuO NPs 的毒害及毒害机理将为以下几个方面提供有价值的信息: (1) 建立严格的检测人工纳米颗粒物的生物毒性程序和方法; (2) 设计具生物安全的人工纳米颗粒物; (3) 从不同方面为减轻人工纳米颗粒物的毒性提供新的策略。这也是今后相关研究的重要方向。

[参 考 文 献]

- [1] Peralta-Videa JR, Zhao L, Lopez-Moreno ML, et al. Nanomaterials and the environment: a review for the biennium 2008-2010. *J Hazard Mater*, 2011, 186(1): 1-15
- [2] Hong ZS, Cao Y, Deng JF. A convenient alcoholthermal approach for low temperature synthesis of CuO nanoparticles. *Mater Lett*, 2002, 52: 34-8
- [3] Jayaprakash J, Srinivasan N, Chandrasekaran P, et al. Synthesis and characterization of cluster of grapes like pure and Zinc-doped CuO nanoparticles by sol-gel method. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*, 2014, 136: 1803-6
- [4] Gao XP, Bao JL, Pan GL, et al. Preparation and electrochemical performance of polycrystalline and single crystalline CuO nanorods as anode materials for ion battery. *J Am Chem Soc*, 2004, 108: 5547-51
- [5] 徐惠, 黄剑, 陈泳. 孔状氧化铜纳米棒的制备及其催化性能研究. *功能材料*, 2011, 3(42): 388-91
- [6] Zhang W, Ding S, Yang Z, et al. Growth of novel nanostructured copper oxide (CuO) films on copper foil. *J Crystal Growth*, 2006, 291(2): 479-84
- [7] 邢瑞敏, 徐凤兰, 路丽, 等. 氧化铜纳米片的水热合成与表征. *化学研究*, 2014, 25(5): 445-8
- [8] 张丽惠, 葛秀涛. 氧化铜纳米片组装的球形花状结构的制备、表征及其形成机制. *化学研究与应用*, 2014, 26(2): 230-4
- [9] 娜廖, 尚德建. 氧化铜纳米梭的制备及其场发射性质. *科技信息*, 2011, 472-3
- [10] 雷涛, 李芬, 王艳红, 等. 纳米氧化铜粉体的制备及应用研究进展. *化工进展*, 2013, 32(10): 429-33
- [11] Delgado K, Quijada R, Palma R, et al. Polypropylene with embedded copper metal or copper oxide nanoparticles as a novel plastic antimicrobial agent. *Lett Appl Microbiol*,

- 2011, 53(1): 50-4
- [12] 杨慧, 刘志宏. 花状氧化铜纳米结构的制备及其性能研究. 陕西师范大学学报: 自然科学版, 2009, 37(6): 60-2
- [13] 孙健, 于锟, 黄家锐, 等. 两种形貌氧化铜微纳米材料的制备及光催化研究. 滁州学院学报, 2011, 13(2): 55-6
- [14] 程远见, 姜红, 陈日志, 等. 纳米晶氧化铜的制备及其催化苯酚氧化性能. 石油化工, 2012, 41(4): 391-5
- [15] Shi J, Peng C, Yang Y, et al. Phytotoxicity and accumulation of copper oxide nanoparticles to the Cu-tolerant plant *Elsholtzia splendens*. *Nanotoxicology*, 2014, 8(2): 179-88
- [16] Wang Z, Xie X, Zhao J, et al. Xylem- and phloem-based transport of CuO nanoparticles in maize (*Zea mays* L.). *Environ Sci Technol*, 2012, 46(8): 4434-41
- [17] Atha DHW, Petersen H, Cleveland, EJ, et al. Copper oxide nanoparticle mediated DNA damage in terrestrial plant models. *Environ Sci Technol*, 2012, 46(3): 1819-27
- [18] 向垒, 莫测辉, 卢锡洪, 等. 纳米氧化铜对白菜种子发芽的毒害作用研究. 农业环境科学学报, 2011, 30(9): 1830-5
- [19] Perreault F, Samadani M, Dewez D. Effect of soluble copper released from copper oxide nanoparticles solubilisation on growth and photosynthetic processes of *Lemna gibba* L. *Nanotoxicology*, 2014, 8(4): 374-82
- [20] Lalau CM, Mohedano RD, Schmidt EC, et al. Toxicological effects of copper oxide nanoparticles on the growth rate, photosynthetic pigment content, and cell morphology of the duckweed *Landoltia punctata*. *Protoplasma*, 2015, 252(1): 221-9
- [21] 王淑玲, 张玉喜, 刘汉柱, 等. 氧化铜纳米颗粒对水稻幼苗根系代谢毒性的研究. 环境科学, 2014 35(5): 1968-73
- [22] Dimkpa CO, Latta DE, McLean JE, et al. Fate of CuO and ZnO nano- and microparticles in the plant environment. *Environ Sci Technol*, 2013, 47(9): 4734-42
- [23] Heinlaan M, Kahru A, Kasemets K, et al. Changes in the *Daphnia magna* midgut upon ingestion of copper oxide nanoparticles: a transmission electron microscopy study. *Water Res*, 2011, 45(1): 179-90
- [24] Gomes TP, Cardoso, CG, Pinheiro C, et al. Accumulation and toxicity of copper oxide nanoparticles in the digestive gland of *Mytilus galloprovincialis*. *Aquat Toxicol*, 2012, 118-119: 72-9
- [25] Hu W, Culloty S, Darmody G, et al. Toxicity of copper oxide nanoparticles in the blue mussel, *Mytilus edulis*: a redox proteomic investigation. *Chemosphere*, 2014, 108: 289-99
- [26] 田相迪, 朱风华, 孙金全, 等. 纳米氧化铜和纳米铜对肉仔鸡铜表观消化率的影响. 安徽农业科学, 2007, 35(20): 6122-4
- [27] 朱连勤, 盖文婷, 朱风华, 等. 纳米氧化铜对小白鼠血浆抗氧化机能的影响. 饲料工业, 2008, 29(16): 7-10
- [28] 朱连勤, 董菊红, 朱风华, 等. 纳米氧化铜对小白鼠的急性毒性及蓄积毒性试验研究. 微量元素与健康研究, 2009, 26(3): 6-9
- [29] 孙婷婷, 蒋澄宇. 纳米氧化铜导致小鼠急性肺损伤. 基础医学与临床, 2012, 32(4): 386-9
- [30] Liu ZL, Ren S, Zhang G, et al. Nano-CuO inhibited voltage-gated sodium current of hippocampal CA1 neurons via reactive oxygen species but independent from G-proteins pathway. *J Appl Toxicol*, 2011, 31(5): 439-45
- [31] Wang Y, Aker WG, Hwang HM, et al. A study of the mechanism of *in vitro* cytotoxicity of metal oxide nanoparticles using catfish primary hepatocytes and human HepG2 cells. *Sci Total Environ*, 2011, 409(22): 4753-62
- [32] Xu J, Li Z, Xu P, et al. Nanosized copper oxide induces apoptosis through oxidative stress in podocytes. *Arch Toxicol*, 2013, 87(6): 1067-73
- [33] Thit A, Selck H, Bjerregaard HF. Toxicity of CuO nanoparticles and Cu ions to tight epithelial cells from *Xenopus laevis* (A6): effects on proliferation, cell cycle progression and cell death. *Toxicol In Vitro*, 2013, 27(5): 1596-601
- [34] Heinlaan M, Ivask A, Blinova I, et al. Toxicity of nano-sized and bulk ZnO, CuO and TiO₂ to bacteria *Vibrio fischeri* and crustaceans *Daphnia magna* and *Thamnocephalus platyurus*. *Chemosphere*, 2008, 71(7): 1308-16
- [35] Baek YW, An YJ. Microbial toxicity of metal oxide nanoparticles (CuO, NiO, ZnO, and Sb₂O₃) to *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, and *Streptococcus aureus*. *Sci Total Environ*, 2011, 409: 1603-8
- [36] 缪玲玲, 杜文姬, 胡耀娟, 等. 微波水热法合成纳米氧化铜及抗菌性能. 化工时刊, 2013, 27(8): 10-3
- [37] Zhao J, Wang Z, Dai Y, et al. Mitigation of CuO nanoparticle-induced bacterial membrane damage by dissolved organic matter. *Water Res*, 2013, 47(12): 4169-78
- [38] Luna-delRisco M, Orupold K, Dubourguier HC. Particle-size effect of CuO and ZnO on biogas and methane production during anaerobic digestion. *J Hazard Mater*, 2011, 189(1-2): 603-8
- [39] Gonzalez-Estrella J, Sierra-Alvarez R, Field JA. Toxicity assessment of inorganic nanoparticles to acetoclastic and hydrogenotrophic methanogenic activity in anaerobic granular sludge. *J Hazard Mater*, 2013, 260: 278-85
- [40] Otero-Gonzalez L, Field JA, Sierra-Alvarez R. Inhibition of anaerobic wastewater treatment after long-term exposure to low levels of CuO nanoparticles. *Water Res*, 2014, 58: 160-8
- [41] Karlsson HL, Cronholm P, Gustafsson J, et al. Copper oxide nanoparticles are highly toxic: A comparison between metal oxide nanoparticles and carbon nanotubes. *Chem Res Toxicol*, 2008, 21: 1726-32
- [42] Alarifi S, Ali D, Verma A, et al. Cytotoxicity and genotoxicity of copper oxide nanoparticles in human skin keratinocytes cells. *Int J Toxicol*, 2013, 32(4): 296-307
- [43] Piret JP, Vankoningsloo S, Mejia J, et al. Differential toxicity of copper (II) oxide nanoparticles of similar hydrodynamic diameter on human differentiated intestinal Caco-2 cell monolayers is correlated in part to copper release and shape. *Nanotoxicology*, 2012, 6(7): 789-803
- [44] Akhtar MJ. Protective effect of sulphoraphane against oxidative stress mediated toxicity induced by CuO nanoparticles in mouse embryonic fibroblasts BALB 3T3. *J Toxicol Sci*, 2012, 37(1): 139-48
- [45] Fahmy B, Cormier SA. Copper oxide nanoparticles induce

- oxidative stress and cytotoxicity in airway epithelial cells. *Toxicol In Vitro*, 2009, 23(7): 1365-71
- [46] Ahamed M, Siddiqui MA, Akhtar MJ, et al. Genotoxic potential of copper oxide nanoparticles in human lung epithelial cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 396(2): 578-83
- [47] Moschini E, Gualtieri M, Colombo M, et al. The modality of cell-particle interactions drives the toxicity of nanosized CuO and TiO₂ in human alveolar epithelial cells. *Toxicol Lett*, 2013, 222(2): 102-16
- [48] Wang Z, Li N, Zhao J, et al. CuO nanoparticle interaction with human epithelial cells: cellular uptake, location, export, and genotoxicity. *Chem Res Toxicol*, 2012, 25(7): 1512-21
- [49] Semisch A, Ohle J, Witt B, et al. Cytotoxicity and genotoxicity of nano- and microparticulate copper oxide: role of solubility and intracellular bioavailability. *Particle Fibre Toxicol*, 2014, 11: 10
- [50] Ahamed M, Siddiqui MA, Akhtar MJ, et al. Genotoxic potential of copper oxide nanoparticles in human lung epithelial cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 396(2): 578-83
- [51] Aruoja V, Dubourguier HC, Kasemets K, et al. Toxicity of nanoparticles of CuO, ZnO and TiO₂ to microalgae *Pseudokirchneriella subcapitata*. *Sci Total Environ*, 2009, 407(4): 1461-8
- [52] Hartwig A. Metal interaction with redox regulation: an integrating concept in metal carcinogenesis? *Free Rad Biol Med*, 2013, 55: 63-72
- [53] Festa RA, Thiele DJ. Copper: An essential metal in biology. *Curr Biol*, 2011, 21(21): 877-83
- [54] Cuillel M, Chevallet M, Charbonnier P, et al. Interference of CuO nanoparticles with metal homeostasis in hepatocytes under sub-toxic conditions. *Nanoscale*, 2014, 6(3): 1707-5
- [55] 何蓉. CuO NPs对拟南芥幼苗的胁迫机理研究[D]. 深圳大学, 2014
- [56] Nel A, Xia T, Madler L, et al. Toxic potential of materials at the nanolevel. *Science*, 2006, 311(5761): 622-7
- [57] Xia T, Kovoichich M, Nel AE. Impairment of mitochondrial function by particulate matter (PM) and their toxic components: implications for PM-induced cardiovascular and lung disease. *Front Biosci*, 2007, 12: 1238-46
- [58] Seo J, Kim S, Choi S, et al. Effects of physiochemical properties of test media on nanoparticle toxicity to *Daphnia magna* straus. *Bull Environ Contam Toxicol*, 2014, 93(3): 257-62
- [59] Villarreal FD, Das GK, Abid A, et al. Sublethal effects of CuO nanoparticles on Mozambique tilapia (*Oreochromis mossambicus*) are modulated by environmental salinity. *PLoS One*, 2014, 9(2): e88723