

DOI: 10.7524/AJE.1673-5897.20130321002

孔璐, 唐萌, 王大勇, 等. 不同尺度纳米镍对秀丽线虫发育毒性的比较研究[J]. 生态毒理学报, 2013, 8(4): 623-628

Kong L, Tang M, Wang D Y, et al. Developmental Toxicity of Two Size of Nickel Nanoparticles to *Caenorhabditis elegans* [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2013, 8(4): 623-628 (in Chinese)

不同尺度纳米镍对秀丽线虫的发育毒性

孔璐¹, 唐萌^{1, #}, 王大勇², 浦跃朴^{1, *}

1. 东南大学公共卫生学院 环境医学工程教育部重点实验室, 南京 210009

2. 东南大学生命科学研究院 发育与疾病相关基因教育部重点实验室, 南京 210009

摘要: 应用模式生物—秀丽隐杆线虫研究金属纳米镍的生殖发育毒性。采用 20 nm 和 90 nm 镍分别以 2.5 和 $5.0 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ 两个剂量对秀丽隐杆线虫进行染毒, 并以微米镍和生理盐水作对照, 采用后代数目、世代时间、形态和体长、寿命和半数致死率等生殖发育相关评价指标, 对纳米镍生殖发育毒性进行评价。结果发现, 与生理盐水对照组和微米镍组比较, 秀丽线虫暴露于 20 nm 和 90 nm 镍的两个剂量组后, 均表现出生殖和发育的异常 ($P < 0.01$), 并有剂量依赖性。且 90 nm 镍暴露对秀丽线虫后代数目、世代时间、形态和体长、寿命和半数致死天数等指标的缺陷作用均显著于 20 nm 镍。研究表明, 纳米镍可影响秀丽线虫的生殖和发育功能, 这一效应与纳米粒径和暴露浓度有关。此结论可为制定纳米镍的接触限值标准提供参考。

关键词: 模式生物; 秀丽隐杆线虫; 纳米镍; 发育毒性

文章编号: 1673-5897(2013)4-623-06 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

Developmental Toxicity of Nickel Nanoparticles to *Caenorhabditis elegans*

Kong Lu¹, Tang Meng^{1, #}, Wang Dayong², Pu Yuepu^{1, *}

1. Key Laboratory of Environmental Medicine and Engineering, Ministry of Education, School of Public Health, Southeast University, Nanjing 210009, China

2. Key Laboratory of Developmental Genes and Human Diseases, Institute of Life Sciences, Southeast University, Nanjing 210009, China

Received 21 March 2013 accepted 7 June 2013

Abstract: The aim of this study is to investigate reproductive and developmental toxicity of the metallic nickel nanoparticles using *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*). First, *C. elegans* were treated with 20 nm or 90 nm nickel nanoparticles at the doses of $2.5 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ and $5.0 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$, with $9 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl treatment and $3 \mu\text{m}$ nickel microparticle treatment as control groups. Then, the toxicity was detected by using a battery of bio-tests, including brood size, generation time, body size, life span and days of 50% lethality of *C. elegans*. Results indicated that, compared to control and microparticle group, abnormalities in reproduction and development were induced when *C. elegans* were exposed to $2.5 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ and $5.0 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ of 20 nm and 90 nm nickel nanoparticles ($P < 0.01$), and dose-dependent manners were observed. These re-

收稿日期: 2013-03-21 录用日期: 2013-06-07

基金项目: 国家重大科学研究计划(2011CB933404); 国家自然科学基金项目(30972504)

作者简介: 孔璐(1977-), 女, 讲师, 在职博士, 研究方向为纳米毒理学, E-mail: konglu_yaoyu@126.com;

* 通讯作者(Corresponding author), E-mail: yppu@seu.edu.cn;

共同通讯作者(Co-corresponding author), E-mail: tm@seu.edu.cn

sults indicated that, significant toxic effects on development and reproduction were observed in *C. elegans* after exposure to nickel nanoparticles, which can provide a reference for determining the exposure limit standard for nickel nanoparticles.

Keywords: model organism; *Caenorhabditis elegans*; nickel nanoparticles; developmental toxicity

镍是人类在生产和生活中广泛接触的一种金属,也是一类典型的重金属致癌物。研究表明,镍金属具有生殖毒性:镍使大鼠着床率下降、死胎率上升、子代体质量和新生鼠存活能力降低^[1];使绕足类产卵数、卵孵化率和成活后代数降低^[2];使弹尾目昆虫雌、雄成虫及幼虫的数目和幼虫的生长率降低^[3];导致秀丽线虫后代数目下降和世代时间延长^[4-5]。

随着纳米技术和纳米材料的快速发展,金属纳米镍应运而生。由于粒径小,金属纳米镍具有了纳米物质独特的物理化学性质。那么金属纳米镍是否也对人类健康尤其生殖健康产生不良影响?与微米镍相比其影响有无变化?目前仍处于研究空白。本课题利用模式生物秀丽线虫来研究并比较纳米镍和微米镍对线虫生殖发育的影响。

1 材料与方法(Materials and methods)

1.1 主要材料

20 nm 镍(产品代号 FNiN-20;黑色粉体,纯度 99.9%,比表面积 $\geq 20 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$,松装密度 $0.04 \sim 5 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$)和 90 nm 镍(产品代号 FNiN-80;黑色粉体,纯度 99%,比表面积 $\geq 8 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$,松装密度 $0.06 \sim 0.8 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$)购自昆山密友纳米科技有限公司。3 μm 镍(产品代号 ST-M-008-2;灰黑色粉体,纯度 99.0%,比表面积 $\geq 3 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$)购自上海水田材料科技公司。采用野生型 N2 秀丽隐杆线虫,购买于秀丽隐杆线虫遗传中心(*Caenorhabditis genetic center*, CGC)。

1.2 方法

1.2.1 纳米材料处理

应用生理盐水配制纳米镍和微米镍成悬浊液,经超声波破碎仪(Sonicator 4000,美国 Misonix 公司)超声 3 min。

1.2.2 暴露方法

选取 2 个粒径的纳米镍材料和微米镍材料,用生理盐水配成一定浓度的悬浊液,加入到每个培养皿中,等生理盐水挥发或浸入到线虫固体 NGM 培养基后,纳米镍和微米镍就沉积下来,均匀分散在培养基表层。采用的质量浓度,纳米镍为 2.5 和 $5 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$,微米镍为 $5 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$,空白对照组在培养皿中加入相应体积的生理盐水。暴露前 24 h 将纳米

镍和微米镍注入培养皿中。所有线虫均在 $20 \text{ }^\circ\text{C}$ 条件下培养。

1.2.3 后代数目测定

将 L4 期线虫挑到不同组别的培养皿中,一个组别的 10 条线虫分别放到 10 个培养皿里,每个培养皿中含 1 条线虫,暴露 72 h,记录线虫产卵数目。

1.2.4 世代时间测定

将 L4 期线虫挑到不同组别的培养皿中,一个组别的 10 条线虫分别放到 10 个培养皿里,每个培养皿中含 1 条线虫,暴露 72 h,观察线虫产第 1 个卵的时间(t_0),把第 1 个卵挑到正常 NGM 培养基中,观察这个卵经孵化后长成成虫,然后产第 1 个卵的时间(t_1),世代时间= $t_1 - t_0$ 。

1.2.5 体长测定

将 L4 期线虫挑到不同组别的培养皿中,一个组别的 10 条线虫放到一个培养皿里,暴露 72 h,取 6 个载玻片,上面各加一滴 M_9 ,把同一个剂量组的线虫挑到一个载玻片上的 M_9 内,加 1~2 滴叠氮化钠液,等虫体变直,盖上盖玻片,电子显微镜下观察并照相,体长图片在用 photoshop 软件测量。实验期间线虫产卵时,把卵挑到含正常 NGM 培养皿上培养,等到卵孵化长大到 L4 期,用相同的方法染毒 72 h,并测量二代线虫体长。

1.2.6 寿命测定

将 L4 幼虫期定义为 $t = 0$ 。转移 20 个 L4 期线虫到单个培养皿上,然后在其繁殖期每隔 2 d 转移到 1 个新的培养皿,并且记录下存活线虫的数目。记录线虫死亡一半和全部死亡时间,该指标进行 3 组平行试验。

1.2.7 数据处理

采用 SPSS13.0 软件进行分析。数据以平均数±标准差来表示,用方差分析法对数据进行组间差异显著性比较。

2 结果(Results)

2.1 纳米镍对秀丽线虫生殖行为的影响

后代数目能够反映秀丽线虫的生殖能力。纳米镍导致了后代数目的降低($P < 0.01$) (图 1)。与溶剂(生理盐水)组比较,暴露在 20 nm 镍的 2.5 和 $5.0 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$ 两剂量组中的秀丽线虫后代数目分别降

低了 49.1%和 49.5%;与微米镍组比较,暴露在 20 nm 镍的 2.5 和 5.0 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ 两剂量组中的秀丽线虫后代数目分别降低了 47.7%和 48.1%。同样,与生理盐水组比较,暴露在 90 nm 镍的 2.5 和 5.0 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ 两剂量组中的秀丽线虫后代数目分别降低了 72.5%和 77.0%;与微米镍组比较,暴露在 90 nm 镍的 2.5 和 5.0 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ 两剂量组中的秀丽线虫后代数目分别降低了 71.8%和 76.4%。且同剂量(5.0 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$)的 20 nm/90 nm 镍及微米镍 3 组中两两比较,差异均有统计学意义($P<0.01$)。这说明,纳米镍会干扰秀丽线虫的生殖行为,且这种干扰作用与纳米镍的粒径和暴露剂量有关。

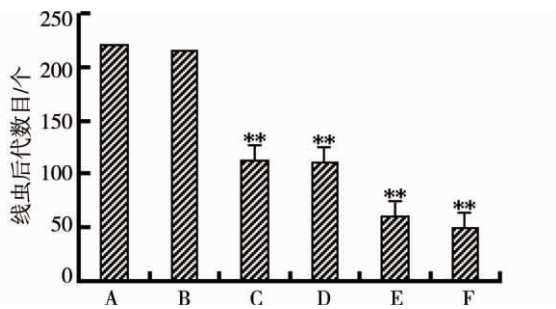


图 1 纳米镍对秀丽线虫生殖能力的影响

注:A,对照组(生理盐水);B,3 μm 镍组;C,20 nm 镍 2.5 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ 剂量组;D,20 nm 镍 5.0 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ 剂量组;E,90 nm 镍 2.5 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ 剂量组;F,90 nm 镍 5.0 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ 剂量组; **表示与对照组相比, $P<0.01$,下同。

Fig. 1 Reproductive capacity defects in

Caenorhabditis elegans exposed to nickel nanoparticles

世代时间反应纳米镍对秀丽线虫生殖速度的影响,一般来说,长的世代时间表示生殖速度的延缓。结果显示,与生理盐水组和微米镍组比较,暴露于 90 nm 镍的 2 个剂量组后,秀丽线虫世代时间均被延长,且差异均有显著性($P<0.01$)。暴露于 20 nm 镍的 2 个剂量组后,与生理盐水组和微米镍组相比,秀丽线虫世代时间无显著性差异。且同剂量(5.0 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$)的 20 nm/90 nm 镍及微米镍 3 组中两两比较,90 nm 镍剂量组与其他组别比较差异有显著性($P<0.01$)。对于同粒径纳米材料,随着暴露剂量的增加,世代时间有延长的趋势,但差异无统计学意义,见图 2。

2.2 纳米镍对秀丽线虫生长发育的影响

以秀丽线虫的形态和体长为指标对纳米镍导致的秀丽线虫发育缺陷进行评价。当暴露在 90 nm 镍

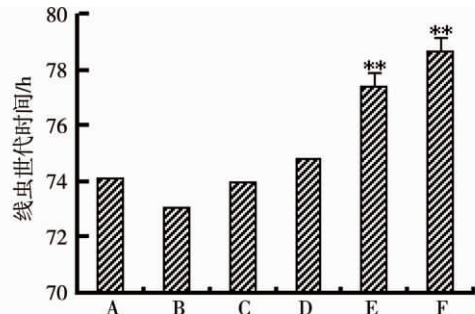


图 2 纳米镍对秀丽线虫生殖速度的影响

Fig. 2 Reproductive speed defects in *Caenorhabditis elegans* exposed to nickel nanoparticles

的 2.5 和 5.0 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ 剂量时,秀丽线虫的发育表现出生长迟缓的表型。与生理盐水组和微米镍组相比,90 nm 镍的第 1 代秀丽线虫体长显著缩短($P<0.01$),而且这种毒性呈现出浓度依赖性。在第 2 代秀丽线虫中,只有暴露在 5.0 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ 剂量的 90 nm 镍的秀丽线虫体长呈现显著缩短($P<0.01$),2.5 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ 剂量组秀丽线虫后代恢复了体长表型。20 nm 镍随着暴露剂量的增加,体长有降低的趋势,但 20 nm 镍在两代线虫和两个剂量组中比较差异均无统计学意义。同剂量 20 nm/90 nm 镍及微米镍 3 组中两两比较,第一代和二代线虫暴露于 90 nm 镍的 5 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ 和第一代线虫暴露于 90 nm 镍的 2.5 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ 剂量组与其他组别比较,差异有显著性($P<0.01$),见表 1 和图 3。

表 1 不同粒径和剂量纳米镍暴露对线虫生长发育的影响($n=10$)

Table 1 Developmental defects in *Caenorhabditis elegans* exposed to nickel nanoparticles with different sizes and doses

组别	剂量 / ($\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$)	第一代线虫 体长/mm	第二代线虫 体长/mm
生理盐水	—	1.66 \pm 0.11	1.63 \pm 0.11
20 nm 镍	2.5	1.61 \pm 0.09	1.63 \pm 0.10
	5.0	1.60 \pm 0.11	1.61 \pm 0.12
90 nm 镍	2.5	1.42 \pm 0.14 abc	1.60 \pm 0.09
	5.0	1.27 \pm 0.12 abc	1.50 \pm 0.11 abc
3 μm 镍	5.0	1.67 \pm 0.13	1.64 \pm 0.10

注:a,纳米镍暴露组与生理盐水组之间差异有统计学意义($P<0.01$);b,纳米镍暴露组与微米镍组之间差异有统计学意义($P<0.01$);c,同剂量暴露组之间差异有统计学意义($P<0.01$)。



图3 纳米镍引起的秀丽线虫产卵器畸形

Fig. 3 The appearance of abnormal vulva phenotypes caused by nickel nanoparticles exposure

2.3 纳米镍对秀丽线虫寿命的影响

寿命是应用秀丽线虫评价毒物毒性的一个非常重要的参数。从图4可以看出,20 nm和90 nm镍暴露与生理盐水对照和微米镍暴露组相比,均能够引起秀丽线虫寿命的缺陷。当在 $5 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ 90 nm镍中暴露时,秀丽线虫的最长寿命与生理盐水组和微米镍组比较平均减少了2 d。此外,20 nm和90 nm镍暴露下秀丽线虫的半数死亡时间也均表现出显著的缩减($P < 0.01$)。

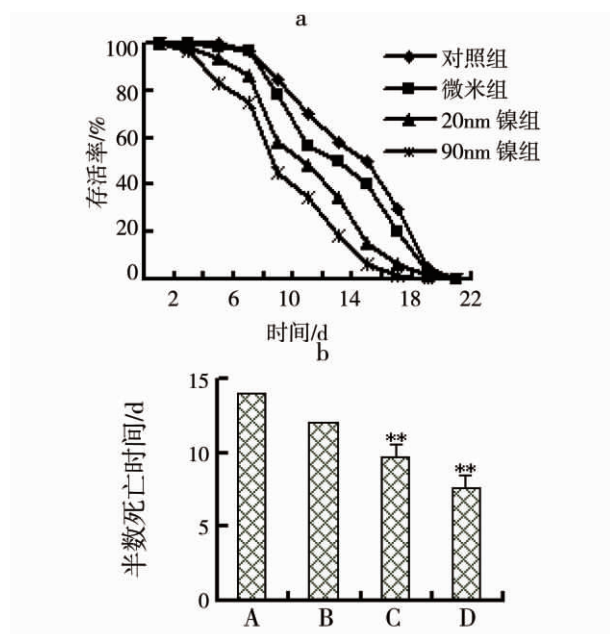


图4 纳米镍引起的秀丽线虫的寿命变化

注:a, 纳米镍暴露下的线虫寿命曲线;b, 纳米镍暴露下线虫数致死时间比较。b图中,A, 对照组; B, $5.0 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ 的 $3\mu\text{m}$ 镍; C, $5.0 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ 的20 nm镍; D, $5.0 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ 的90 nm镍。

ig. 4 Life span defects in *Caenorhabditis elegans* exposed to nickel nanoparticles

3 讨论 (Discussion)

秀丽隐杆线虫生命周期短、体积小、容易培养,

对外界环境的变化非常敏感,且行为反应模式稳定、结果灵敏可靠^[6-8]。目前,利用秀丽线虫已初步建立起较为完善的环境毒物毒性评估体系,由致死率、寿命、生殖发育、运动行为、转基因品系和突变体等指标构成^[9]。近年来,秀丽线虫作为模式动物,越来越多地被应用到纳米毒理学研究中^[10-17]。与传统实验动物大鼠或小鼠相比,线虫具有研究生殖毒性的优越性:①线虫后代数目多,雌雄同体线虫自体受精产生约300个受精卵;和雄虫交配可产约1000个后代。②具有完整的生殖系统和简单的发育过程。线虫身体透明,在普通光学显微镜下,体内生殖器官清晰可见,可以整体水平下观察外源性化学物质暴露对生殖器官的损伤。运用时程观察显微镜,还可以观察外源性化学物质暴露对生殖器官的动态损伤。③秀丽线虫基因组中约40%的基因在人基因组中有明显同源物存在^[18-19]。所以,利用秀丽线虫研究外源性化学物质的生殖发育毒性作用,其结果在一定范围和程度上可以外推到外源性化学物质对哺乳动物的损伤。

本文采用模式生物秀丽线虫探讨了纳米镍的生殖发育毒性作用。结果发现,与生理盐水对照组和微米镍组比较,秀丽线虫暴露于20 nm和90 nm镍的2个剂量组均表现出生殖和发育的异常($P < 0.01$),并有剂量依赖性。这一结果与Roh等对纳米银毒性的研究结果一致^[20],他们利用土壤线虫探讨20 nm银颗粒的生态毒性,发现纳米银能明显降低线虫的繁殖和功能基因的表达。

本研究证明,接触暴露条件下纳米镍对秀丽线虫生殖和发育毒性显著大于微米镍,这与许多纳米材料的毒性研究相符合:纳米材料对组织的损伤程度往往高于同种的常规材料。一般认为纳米粒子由于粒径小,比表面大,表面原子数增大而易分解,因

此一些原本无毒或者低毒的颗粒材料粒径达到纳米级后毒性显著增强。但是,可能由于细颗粒易于发生团聚作用等原因,20 nm 镍的毒性小于 90 nm 镍。为此,对 2 种纳米镍在线虫培养皿上的分散情况进行了观察分析,发现 20 nm 镍由于发生团聚而在显微镜下(40 倍)的粒径反而大于 90 nm 镍,见图 5,笔者推测纳米镍形成团聚体后具有了新的特性,其毒性也会随之发生变化。此外,不同粒径的纳米材料在实验动物体内的分布不同,产生的毒作用机制也不同^[21-23]。有关纳米镍对秀丽线虫毒作用机制以及不同粒径的纳米镍之间毒性差异的具体机理有待进一步研究。

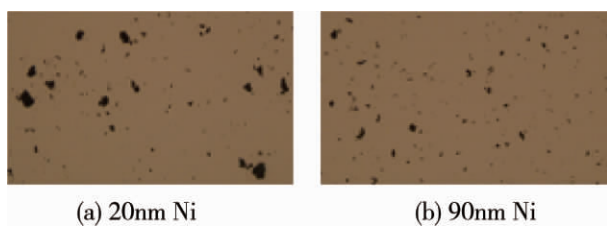


图 5 不同粒径纳米镍在线虫培养皿上的分散情况

通讯作者简介:浦跃朴(1957—),男,教授,博士生导师,主要研究方向为卫生毒理学。

唐萌(1958—),男,教授,博士生导师,主要研究方向为纳米毒理学。

参考文献:

- [1] 王献文. 剂量和孕期对镍在大鼠体内分布及胎盘转运的影响[D]. 兰州大学, 2009: 4
Wang W X. Dose and gestational age influence on distribution and placental transfer of nickel in rats [D]. Lanzhou University, 2009: 4
- [2] Mohammed E H, Wang G, Jiang J. The effects of nickel on the reproductive ability of three different marine copepods [J]. *Ecotoxicology*, 2010, 19(5): 911-916
- [3] Scott-Fordsmand J J. Toxicity of nickel to a soil-dwelling springtail, *Folsomia fimetaria* (Collembola: Isotomidae) [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 1999, 43(1): 57-61
- [4] Wang D Y, Wang Y. Nickel sulfate induces numerous defects in *Caenorhabditis elegans* that can also be transferred to progeny [J]. *Environmental Pollution*, 2008, 151(3): 585-592
- [5] Wang D Y, Yang P. Silver exposure causes transferable defects of phenotypes and behaviors in nematode *Caenorhabditis elegans* [J]. *Environmental Bioindicators*, 2007, 2(2): 1-10
- [6] Chiorazzi M, Rui L, Yang Y, et al. Related F-box proteins control cell death in *Caenorhabditis elegans* and human lymphoma [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2013, 110(10): 3943-3948
- [7] Zahler A M. Pre-mRNA Splicing and Its Regulation in *Caenorhabditis elegans* [M]. *WormBook: The Online Review of C. elegans Biology*, 2012, : 1-21
- [8] Maxwell C K, Phillip L, Alexandre B, et al. *Caenorhabditis elegans*: An emerging model in biomedical and environmental toxicology [J]. *Toxicology Science*, 2008, 106(1): 5-28
- [9] 张燕芬, 王大勇. 利用模式动物秀丽线虫建立环境毒物毒性的评估研究体系[J]. *生态毒理学报*, 2008, 3(4): 313-322
Zhang Y F, Wang D Y. Establishment of toxicity evaluation system using model organism of *Caenorhabditis elegans* [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2008, 3(4): 313-322 (in Chinese)
- [10] Cha Y J, Lee J, Choi S S. Apoptosis-mediated *in vivo* toxicity of hydroxylated fullerene nanoparticles in soil nematode *Caenorhabditis elegans* [J]. *Chemosphere*, 2012, 87(1): 49-54
- [11] Kim S W, Kwak J I, An Y J. Multigenerational study of gold nanoparticles in *Caenorhabditis elegans*: Transgenerational effect of maternal exposure [J]. *Environmental Science & Technology*, 2013, 47(10): 5393-5399
- [12] Wu Q, Nouara A, Li Y, et al. Comparison of toxicities from three metal oxide nanoparticles at environmental relevant concentrations in nematode *Caenorhabditis elegans* [J]. *Chemosphere*, 2013, 90(3): 1123-1131
- [13] Hsu P C, OCallaghan M, Al-Salim N, et al. Quantum dot nanoparticles affect the reproductive system of *Caenorhabditis elegans* [J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2012, 31(10): 2366-2374
- [14] Li Y, Yu S, Wu Q, et al. Chronic Al₂O₃-nanoparticle exposure causes neurotoxic effects on locomotion behaviors by inducing severe ROS production and disruption of ROS defense mechanisms in nematode *Caenorhabditis elegans* [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2012, 219-220: 221-230
- [15] Eom H J, Ahn J M, Kim Y, et al. Hypoxia inducible factor-1 (HIF-1)-flavin containing monooxygenase-2 (FMO-2) signaling acts in silver nanoparticles and silver ion toxicity in the nematode, *Caenorhabditis elegans* [J]. *Toxicology and Applied*

- Pharmacology, 2013, 270(2): 106–113
- [16] Ellegaard-Jensen L, Jensen K A. Nano-silver induces dose-response effects on the nematode *Caenorhabditis elegans* [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2012, 80(1): 216–223
- [17] Yang X, Gondikas A P, et al. Mechanism of silver nanoparticle toxicity is dependent on dissolved silver and surface coating in *Caenorhabditis elegans* [J]. Environmental Science & Technology, 2012, 46(2): 1119–1127
- [18] *C. elegans* Sequencing Consortium. Genome sequence of the nematode *C. elegans*: A platform for investigating biology [J]. Science, 1998, 282(5396): 2012–2018
- [19] Leung M C, Williams P L, Benedetto A, et al. *Caenorhabditis elegans*: An emerging model in biomedical and environmental toxicology [J]. Toxicological Sciences, 2008, 106(1): 5–28
- [20] Roh J Y, Sim S J, Yi J, et al. Ecotoxicity of silver nanoparticles on the soil nematode *Caenorhabditis elegans* using functional ecotoxicogenomics [J]. Environmental Science & Technology, 2009, 43(10): 3933–3940
- [21] 柏杉山, 李清钊, 刘克明, 等. 硫化镉量子点与常规硫化镉对小鼠遗传毒性的比较研究[J]. 生态毒理学报, 2008, 3(1): 59–64
- Bai S S, Li Q Z, Liu K M, et al. Comparative study of genotoxicity in mice exposed to cadmium sulfide quantum dots and normal cadmium sulfide [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2008, 3(1): 59–64 (in Chinese)
- [22] Nan A, Bai X, Son S J, et al. Cellular uptake and cytotoxicity of silica nanotubes [J]. Nano Letters, 2008, 8(8): 2150–2154
- [23] Lin W S, Huang Y W, Zhou X D, et al. *In vitro* toxicity of silica nanoparticles in human lung cancer cells [J]. Toxicology and Applied Pharmacology, 2006, 217(3): 252–259
- ◆