

DOI: 10.7524/AJE.1673-5897.20211012001

彭微, 程娇娇, 张凌燕, 等. 稀土掺杂的上转换纳米材料的生物毒性与其作用机制研究进展[J]. 生态毒理学报, 2022, 17(4): 315-322

Pei W, Cheng J J, Zhang L Y, et al. Research progress on biological toxicity and its mechanism of rare-earth-elements-doped upconversion nanoparticles [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2022, 17(4): 315-322 (in Chinese)

## 稀土掺杂的上转换纳米材料的生物毒性与其作用机制研究进展

彭微<sup>1</sup>, 程娇娇<sup>1</sup>, 张凌燕<sup>1,2</sup>, 殷慧<sup>1</sup>, 孟颖<sup>1</sup>, 罗利霞<sup>1,2,#</sup>, 李淑荣<sup>1,2,#</sup>, 孟佩俊<sup>1,2,\*</sup>

1. 内蒙古科技大学包头医学院公共卫生学院, 包头 014040

2. 内蒙古自治区卫生检测与评价工程技术中心, 包头 014040

收稿日期: 2021-10-12 录用日期: 2021-12-09

**摘要:** 稀土掺杂的上转换纳米材料(rare-earth-elements-doped upconversion nanoparticles, REEs-UCNPs)作为新兴一代的荧光纳米探针,具有独特而优异的反斯托克斯发光特点,与传统荧光材料相比,具有发光强度高、荧光寿命长、激发能量低、组织穿透能力强和生物相容性好等优点。近年来,REEs-UCNPs在生物医学、活体荧光成像、太阳能电池和卫生检测等领域应用日益广泛,其环境和人群暴露日益突出。随着纳米毒理学的深入研究,REEs-UCNPs的生物学毒性效应以及对环境和人类健康的影响逐渐被研究者关注,然而目前有关REEs-UCNPs的生物学毒性的报道较少。本文综述了近年来有关REEs-UCNPs在生物体内的吸收-分布-代谢-排泄、生物毒性、毒作用机制与影响因素等方面的研究进展,以期对REEs-UCNPs的进一步开发、应用和深入研究提供思路和参考依据。

**关键词:** 稀土掺杂的上转换纳米材料;生物毒性;研究进展

文章编号: 1673-5897(2022)4-315-08 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

## Research Progress on Biological Toxicity and Its Mechanism of Rare-earth-elements-doped Upconversion Nanoparticles

Peng Wei<sup>1</sup>, Cheng Jiaojiao<sup>1</sup>, Zhang Lingyan<sup>1,2</sup>, Yin Hui<sup>1</sup>, Meng Ying<sup>1</sup>, Luo Lixia<sup>1,2,#</sup>, Li Shurong<sup>1,2,#</sup>, Meng Peijun<sup>1,2,\*</sup>

1. Public Health School, Baotou Medical College, Inner Mongolia University of Science & Technology, Baotou 014040, China

2. Engineering Technology Center of Hygienic Inspection and Assessment of Inner Mongolia Autonomous Region, Baotou 014040, China

Received 12 October 2021 accepted 9 December 2021

**Abstract:** As a new generation of fluorescent nanoprobes, rare-earth-elements-doped upconversion nanomaterials (REEs-UCNPs) have unique conversion properties of anti-Stokes luminescence, and have remarkable advantages such as high luminous intensity, long fluorescence lifetime, low excitation energy, large penetration depth of excited

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81960601);内蒙古自治区自然科学基金资助项目(2021MS08055)

第一作者:彭微(1997—),女,硕士研究生,研究方向为卫生检验学,E-mail: 2848884955@qq.com

\* 通讯作者(Corresponding author), E-mail: mengpeijun79@163.com

# 共同通讯作者(Co-Corresponding author), E-mail: 21399333@qq.com

# 共同通讯作者(Co-Corresponding author), E-mail: luoluo\_80@yeah.net

light in biological tissue and little tissue damage, etc. In recent years, REEs-UCNPs have been widely used in biomedicine, *in vivo* fluorescence imaging, solar cells, health detection and other fields, and their environmental and human exposure have become increasingly prominent. With the in-depth study of nano toxicology, the biological toxic effects of REEs-UCNPs and their impact on environment and human health have been gradually concerned by researchers. However, there are few reports on the biological toxicity of REEs-UCNPs. In order to provide ideas and reference basis for the further development, application and in-depth research of REEs-UCNPs, this paper reviews the research progress on the biological absorption-distribution-metabolism-excretion, biological toxicity, toxic mechanism and their influencing factors of REEs-UCNPs in recent years.

**Keywords:** rare-earth-elements-doped upconversion nanoparticles (REEs-UCNPs); biological toxicity; research progress

稀土掺杂的上转换纳米材料 (rare-earth-elements-doped upconversion nanoparticles, REEs-UCNPs) 是稀土元素掺杂于晶体构成的纳米颗粒发光材料, 其基本结构由基质、激活剂和敏化剂组成, 可以通过多层修饰制备出表面修饰配体不同的纳米颗粒, 具有代表性的核壳式稀土掺杂的上转换纳米材料的结构如图 1 所示<sup>[1]</sup>。REEs-UCNPs 融稀土与纳米颗粒的独特性于一体, 可以在红外光 (980 nm) 的激发下发出不同颜色的可见光或紫外光, 与传统荧光材料相比, 具有发光强度高、荧光寿命长、激发能量低、组织穿透能力强、对机体组织损伤小和生物相容性好等特点<sup>[2-5]</sup>。近年来, REEs-UCNPs 在生物成像、光动力治疗、药物传输、太阳能电池和卫生检测等领域应用日益广泛, 另外, 其在临床医学领域具有极大的潜在应用前景<sup>[6-11]</sup>。例如, 2020 年, Zhu 等<sup>[5]</sup>用含孟加拉红 (RB) 的壳聚糖/β-GP 水凝胶修饰的 UCNPs (NaYF<sub>4</sub>:Yb,Er) 作为无创光化学封闭剂, 利用其高穿透力的近红外光实现了光化学组织粘合技术 (PTB) 无创修复损伤的跟腱组织, 避免传统技术绿光穿透时对切开皮肤暴露断裂肌腱部位造成损伤。2021 年, Xu 等<sup>[6]</sup>利用 NaCsWO<sub>3</sub> 纳米晶局域表面等离子体共振 (LSPR) 效应, 即吸收近红外光后能增强上转换发光 (upconversion luminescence, UCL), 设计

出 NaYF<sub>4</sub> 与 NaYF<sub>4</sub>:Yb,Er 修饰的 NaCsWO<sub>3</sub>, 应用到太阳能钙钛矿电池 (PSCs) 中, 发光强度提高 124 倍以上。在指纹成像中, 2020 年, Lei 等<sup>[7]</sup>合成的多壳层哑铃形 REEs-UCNPs, 实现了控制单激活剂铒 (Er) 离子在不同能级之间的能量迁移。利用激发波长从 980 nm 移动到 808 nm 时, 材料的荧光发射从红色切换到绿色的独特光学特性, 达到了同时成像指纹图案和检测指纹中爆炸物残留。随着 REEs-UCNPs 在各领域应用的日益广泛以及纳米毒理学的发展, 其生物毒性或安全性逐渐引起研究者关注, 目前对纳米材料生物毒性研究较多的有金纳米颗粒<sup>[12]</sup>、量子点<sup>[13]</sup>和碳纳米材料<sup>[14]</sup>等, 然而对于 REEs-UCNPs 这方面的研究与报道较少。本文对 REEs-UCNPs 在生物体内的吸收-分布-代谢-排泄、生物毒性、毒作用机制与影响因素等的现有研究报道进行了综述, 为合成安全可靠的 REEs-UCNPs、拓展其应用以及生物安全性评价提供思路和参考依据。

## 1 REEs-UCNPs 的吸收-分布-代谢-排泄 (Absorption-distribution-metabolism-excretion of REEs-UCNPs)

研究 REEs-UCNPs 在生物体内吸收-分布-代谢-排泄对其生物安全性评价具有重要意义, 为进一步

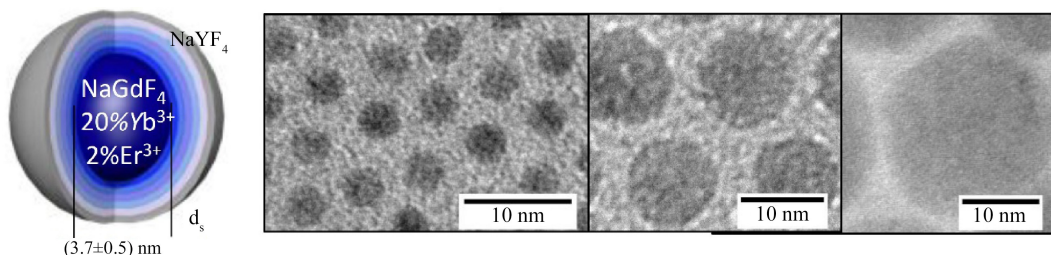


图 1 NaGdF<sub>4</sub>:Yb,Er@NaYF<sub>4</sub> 核壳式稀土掺杂的上转换纳米材料的结构示意图和相应的透射电镜图<sup>[1]</sup>

Fig. 1 Schematic of the core shell particles and corresponding TEM images of NaGdF<sub>4</sub>:Yb,Er@NaYF<sub>4</sub><sup>[1]</sup>

进行毒性机制研究提供思路。动物实验中,多数研究采用尾静脉注射方式进行染毒,研究显示血液中 REEs-UCNPs 多在肝脏、脾脏、心脏、肾脏和脑等器官中被吸收,但其主要作用的生物靶器官是肝脏与脾脏,并在 24 h 内能快速聚集<sup>[15-17]</sup>。有研究报道显示,富含窦状毛细血管的肝脏与脾脏的细胞内或细胞之间存在直径为 0.5 ~ 3.0  $\mu\text{m}$  和 50 ~ 80  $\mu\text{m}$  的小孔和膜孔,可形成筛板,该结构对纳米颗粒有高渗透性<sup>[16]</sup>。另外,生物体内的网状内皮系统对 REEs-UCNPs 具有一定的清除作用,但当纳米颗粒粒径远高于肾滤过阈值(5.5 nm)时,肾小球滤过受阻,因此纳米颗粒更易于在肝脾脏中聚集<sup>[18]</sup>。例如, Li 等<sup>[15]</sup>用钇(Y)含量代表聚乙二醇化 UCNPs (PEG-UCNPs, 其中 UCNPs 为  $\text{NaYF}_4:\text{Yb,Tm,Gd}$ )在体内的分布,按照小鼠体质量 15  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  的剂量静脉注射 PEG-UCNPs,检测其含量在 30 d 内的变化规律,肝脏与脾脏中 Y 的含量在注射 1 h 后迅速升高,第 7 天仍较高,30 d 后几乎检测不到;肾脏和肺的则是 24 h 后升高,第 7 天后显示下降,30 d 后肾脏几乎检测不到,肺中可检测到较低的 Y 含量,结果表明 PEG-UCNPs 在全身各脏器均有分布,总体来说肝脏与脾脏的分布量相对最高,且脾脏多集中在红髓。而 Chen 等<sup>[19]</sup>研究了小鼠尾静脉注射 PEG-聚醚酰亚胺(PEI)与叶酸(FA)修饰的多模靶向造影剂 UCNPs ( $\text{NaLuF}_4:\text{Gd,Yb,Er}$ )24 h 与 18 d 后的体内分布情况,结果显示,与其他组织相比,肝脏中的 REEs-UCNPs 在这 2 个时间点均最高,约 87% 聚集在其中。与大多数临床药物一样,对 REEs-UCNPs 清除的研究主要集中在肝胆排泄系统和肾脏排泄系统。研究显示,分布于肝、肾和脾脏等器官中的 REEs-UCNPs 在一段时间后可从体内排泄,其排泄速度与 REEs-UCNPs 的表面修饰配体无关<sup>[20]</sup>,但排泄途径受 REEs-UCNPs 的粒径与修饰配体的影响<sup>[15]</sup>。Seo 等<sup>[21]</sup>的研究表明,粒径比肾小球孔大的 REEs-UCNPs 开始会保留在肝脏与脾脏内,在肝脏中的 REEs-UCNPs 可被库普弗(Kupffer)细胞与肝细胞吞噬,最终排泄出。Li 等<sup>[15]</sup>的研究表明,可被巨噬细胞吞噬的 PEG-UCNPs 在肝脏中的清除率大于脾脏。同样, Tian 等<sup>[20]</sup>用 PEG-D-SP5 肽和凝集素-I(UEA-I)修饰的 UCNPs @  $\text{SiO}_2$  (UCNPs 为  $\text{NaErF}_4:\text{Yb@NaYF}_4:\text{Yb@NaNdF}_4:\text{Yb@NaGdF}_4:\text{Yb}$ )进行了代谢相关实验,结果表明, REEs-UCNPs 主要由肝脏清除。

## 2 REEs-UCNPs 的生物毒性 (Biological toxicity of REEs-UCNPs)

目前,有关研究 REEs-UCNPs 生物毒性的报道较少,且现有的研究多为急慢性毒性试验,少见特殊毒性试验。多数研究结果显示,在应用剂量内 REEs-UCNPs 是相对安全的。2017 年, Feng 等<sup>[22]</sup>的研究表明,在 PEG 修饰的 REEs-UCNPs ( $\text{Ba}_2\text{GdF}_7:\text{Yb,Er}$ )30 d 慢性毒性试验中,该材料对血细胞未造成破坏,对 F1 小鼠各器官(脾、心、肺、肾和肝)的组织损伤可忽略不计。Li 等<sup>[23]</sup>用聚吡咯(PPy)、DNA 与多柔比星(Dox)修饰的 REEs-UCNPs,按照 9.4  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  的剂量处理 Balb/c 裸鼠 1、7 和 30 d 后,与空白对照组比较,实验组组织未见明显损伤,血清生化检测的 5 项重要的肝功能指标(丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)、总胆红素(T-Bil)、总蛋白(TP)和白蛋白(ALB))和 2 项肾功能指标(肌酐(CREA)和尿素(UA))均在正常值范围内。Tian 等<sup>[20]</sup>用 4 种配体修饰(COOH、PEG、D-SP5、UEA-I)的 UCNPs @  $\text{SiO}_2$  (UCNPs 为  $\text{NaErF}_4:\text{Yb@NaYF}_4:\text{Yb@NaNdF}_4:\text{Yb@NaGdF}_4:\text{Yb}$ )评价 Balb/c 小鼠的长期体内毒性,发现在静脉注射 30 d 后,各实验组小鼠的体质量未见明显下降,其主要脏器(如心、肝、脾、肺和肾)未表现出明显异常或损伤,血液生化分析表明,实验组和对照组之间无统计学差异。2019 年, Guryev 等<sup>[16]</sup>用马来酸酐(PMAO)与锚蛋白重复蛋白(DARPin)<sub>9\_29</sub> 修饰的 UCNPs ( $\text{NaYF}_4:\text{Yb,Er,Tm/NaYF}_4$ )进行一般毒性与特殊毒性试验,腹腔与静脉注射 UCNPs 的小鼠与大鼠的急性毒性试验结果显示,未对大小鼠造成一定毒性影响;大鼠 14 d 慢性毒性试验显示,UCNPs 对器官和组织未造成毒性影响与形态学改变;特殊毒性试验结果表明,UCNPs 对大鼠的生殖功能无不良影响,对小鼠无不良致突变活性,但可中度抑制小鼠细胞免疫。

在对 REEs-UCNPs 的生物毒性研究中,也有部分实验结果表现出炎症反应与组织功能破坏等现象,甚至造成动物死亡。2018 年, Yu 等<sup>[24]</sup>通过比较不同浓度的 UCNPs 对 ICR 小鼠造成的急性毒性影响,发现用配体(Pro、Nle、Bpa、Leu 和 NPY)、DSPE-PEG 和光敏剂 MC540 修饰的 UCNPs ( $\text{LiLuF}_4:\text{Yb,Er@nLiGdF}_4@\text{mSiO}_2$ )在 200  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  剂量时可使实验组 ICR 小鼠肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )表达增加,造成轻度炎症反应,同时小鼠肝切片出现肝细胞肿胀、破裂与细胞核消失等病理损伤。2019 年, Chen 等<sup>[19]</sup>

用 PEG、PEI 与 FA 修饰的 UCNP<sub>s</sub>(NaLuF<sub>4</sub>:Gd, Yb, Er)进行不同浓度急性毒性试验,血液生化试验结果显示,白蛋白与胆碱酯酶(CHE)含量略有下降,表明小鼠肝实质受到轻微损伤;组织病理分析结果显示,随着剂量增加(10~100 mg·kg<sup>-1</sup>)小鼠的肝脏损伤更严重,表现为肝细胞逐渐出现弥漫性水肿、胞浆疏松、半透明与轻度充血,UCNP<sub>s</sub> 染毒剂量为 70 mg·kg<sup>-1</sup>与 100 mg·kg<sup>-1</sup>的小鼠肺泡壁轻度增厚充血,100 mg·kg<sup>-1</sup>组的小鼠还表现出肾小管弥漫性增厚的病理改变,甚至出现死亡现象。

上述实验多是采用静脉或腹腔注射的方式探讨 REEs-UCNP<sub>s</sub> 对动物的毒性影响。2019 年, Lay 等<sup>[25]</sup>使用秀丽线虫进行了为期 5 d 的生殖孵卵试验,评估了 UCNP<sub>s</sub>(α-NaYF<sub>4</sub>:Yb,Er@NaLuF<sub>4</sub>)的生物相容性和机械敏感性,结果显示实验组与对照组间

没有差异,初步认为消化道中 UCNP<sub>s</sub> 的摄取和积累不会影响蠕虫的生存。

### 3 REEs-UCNP<sub>s</sub> 的毒作用机制及其影响因素 (Toxic mechanism and influencing factors of REEs-UCNP<sub>s</sub>)

目前,关于 REEs-UCNP<sub>s</sub> 的毒作用机制主要集中在细胞层面,有研究显示,REEs-UCNP<sub>s</sub> 与细胞模型的相互作用可造成氧化应激、细胞膜受损与通透性改变、细胞核形态与功能改变、内质网应激等病理改变,进而导致细胞死亡或活性下降。不同类型、大小、浓度、反应时间的 REEs-UCNP<sub>s</sub> 处理对各种细胞模型存活率的影响如表 1 所示。REEs-UCNP<sub>s</sub> 的安全问题会对其实际应用造成一定影响,但与量子点 (quantum dots, QDs)等多数纳米颗粒的体内外毒性

表 1 稀土掺杂的上转换纳米材料与细胞孵育后的细胞活力

Table 1 Cell viability after incubation with rare-earth-elements-doped upconversion nanoparticles

稀土掺杂的上转换 纳米材料(REEs-UCNP <sub>s</sub> ) Rare-earth-elements- doped upconversion nanoparticles (REEs-UCNP <sub>s</sub> )	表面修饰基团 Surface modified ligands	尺寸/nm Size/nm	反应时间/h Response time/h	浓度 /(μg·mL <sup>-1</sup> ) Concentration /(μg·mL <sup>-1</sup> )	存活率/% Viability/%	细胞系 Cell line	文献 Reference
Ba <sub>2</sub> GdF <sub>7</sub> : Yb, Er	PEG	24±5	24	5 000	>85	HepG2 细胞 HepG2 cell	[22]
NaLaMgWO <sub>6</sub> : Yb, Er	-	~105	48	50~200	~100	WI-38 成纤维细胞 WI-38 fibroblast cells	[26]
NaGdF <sub>4</sub> : Yb, Er	PEI	42.6±8.3	24	12.5~200	>80	海拉细胞 HeLa cell 小鼠单核巨噬细胞 白血病细胞 RAW264.7 cell	[27]
β-NaYF <sub>4</sub> : Er, Yb	β-CD	38	24	25~400	>75	HepG2 细胞 HepG2 cell 成纤维细胞 L929 cell	[28]
NaYF <sub>4</sub> : Yb, Er	FA, PEI	5	12	750~12 000	~90	海拉细胞 HeLa cell	[29]
NaYF <sub>4</sub> : Tm, Yb@NaYF <sub>4</sub> : Nd, Yb	CIS/ZnS QD	30	72	1~1 245	>80	人舌鳞癌细胞 Cal27 cell	[30]
NaF <sub>4</sub> : Lu, Yb, Er	PPy, DNA-DOX	42±5	12~48	200~1 000	>80	海拉细胞系 HeLa cells 人胚胎肾细胞系 293T HEK293T cells	[23]

注:PEG 表示聚乙二醇;PEI 表示聚乙烯亚胺;β-CD 表示 β-环糊精;FA 表示叶酸;CIS 表示铜钼硫;QD 表示量子点;PPy 表示聚吡咯;DNA-DOX 表示 DNA-盐酸多柔比星。

Note: PEG stands for polyethylene glycol; PEI stands for polyethylene imine; β-CD stands for β-cyclodextrin; FA stands for folic acid; CIS stands for CuInS; QD stands for quantum dots; PPy stands for polypyrrole; DNA-DOX stands for doxorubicin hydrochloride.

研究类似,其毒作用与化学组成、表面修饰配体、电荷分布、粒径和所在体系中的浓度与稳定性有关。不同因素引起 REEs-UCNPs 的毒性效应及其毒作用机制不同。

### 3.1 修饰配体对 REEs-UCNPs 毒作用的影响

REEs-UCNPs 的应用有其独特的一面,表现在为了改变其功能常对其进行表面配体修饰以结合不同类型官能团,且在生物缓冲液中具有良好的分散稳定性和生物相容性<sup>[31]</sup>。如通过修饰 PEG 提高其生物相容性,修饰 PMAO 与十八烯(ODE)增加水油相的两亲性等。诸多研究显示,REEs-UCNPs 表面是否有配体修饰以及修饰配体的种类对其生物毒性的影响呈现出不同的效果。无配体修饰的 REEs-UCNPs 释放的稀土离子和磷酸基团相互作用会导致 ATP 失活,进而导致细胞凋亡与自噬,损伤细胞的清除使机体呈现炎症反应<sup>[32-33]</sup>。2018 年,Chen 等<sup>[33]</sup>的研究表明,REEs-UCNPs( $\text{NaYF}_4:\text{Er}$  与  $\text{NaGdF}_4:\text{Yb,Er}$ )可导致轻微肾炎和肝脏毒性。Xu 等<sup>[34]</sup>研究发现,不同浓度(25、50、100、200、400 和  $800 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )的 REEs-UCNPs( $\text{NaGdF}_4:\text{Yb,Er}$ ,  $\text{Mn}@\text{NaGdF}_4:\text{Yb}$ )对人肝癌细胞仅呈现低细胞毒性。现有研究表明,相同基质材料的 REEs-UCNPs 往往也会呈现不一样的细胞毒性,与其处理时间、浓度与染毒细胞种类等因素有关。Rafique 等<sup>[35]</sup>研究的  $\text{NaYF}_4:\text{Yb,Er}$  的 REEs-UCNPs 在高剂量( $700 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  和  $1\ 000 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )染毒人肝癌细胞株(HeLa、A549)、小鼠肿瘤细胞株(SCC7)和正常人细胞株(Hek293)12 h 后,细胞活力受到抑制<sup>[35]</sup>。Guller 等<sup>[36]</sup>对相同材料的 REEs-UCNPs 染毒(剂量为  $125 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )人角质形成细胞(Hacat)120 h 后,细胞存活率下降可忽略不计。

不同表面修饰配体的 REEs-UCNPs 的分散稳定性与生物相容性是不同的,不仅影响材料本身的光学特性,而且会改变材料表面电荷及其流体动力学直径,进而改变细胞对其的摄取量,影响细胞活力、增殖等<sup>[31,37]</sup>。例如,聚(低聚(乙二醇)甲基醚丙烯酸酯)-嵌段-聚(单丙烯氧基乙基磷酸酯)(POEGA-b-PMAEP)涂层修饰的 REEs-UCNPs 可造成细胞亚致死效应,细胞核表现出一系列应激变化,如细胞核有轻微形态改变,核仁 C23 与 B23 的丰度出现轻微变化<sup>[38]</sup>;PMAO 和 PEI 修饰的 REEs-UCNPs 可造成细胞形态的异常改变、 $\text{Ca}^{2+}$  活性的降低和细胞的死亡<sup>[39]</sup>;聚乙二醇二缩水甘油醚(PEG-DGE)修饰的

REEs-UCNPs 对细胞具有中度毒性作用,表现为生存能力下降和神经元-神经胶质网络功能活性的显著变化<sup>[40]</sup>。然而,2020 年 Liu 等<sup>[41]</sup>的研究表明,DNA 与金纳米粒子修饰的 REEs-UCNPs 的细胞毒性可忽略不计。

### 3.2 表面电荷对 REEs-UCNPs 毒作用的影响

众多研究显示,REEs-UCNPs 表面电荷的变化会影响其与细胞的相互作用。REEs-UCNPs 表面电荷(电位值)不仅受修饰配体的影响,也与其所处的基质密切相关。例如,细胞培养液中的 REEs-UCNPs 会吸附蛋白质,对其表面电荷影响很大<sup>[42-43]</sup>。2015 年,Zhang 等<sup>[37]</sup>研究发现,UCNP@ $\text{SiO}_2$ -PEG 和 UCNPs@ $\text{SiO}_2$ -PEG- $\text{NH}_2$  的电位值被 PEG 表面配体修饰后发生了显著变化,在培养基中孵育前与孵育后也可导致其电位值大小前后不同,电位值的变化进一步影响 REEs-UCNPs 在培养体系中的细胞内化率与流体动力学直径,其中,带正电荷的 UCNPs@ $\text{SiO}_2$ -PEG- $\text{NH}_2$  比带负电荷的 UCNPs@ $\text{SiO}_2$ -PEG 与 UCNPs@ $\text{SiO}_2$ -COOH 更易通过内吞作用进入细胞,因此其细胞摄取量更大,进而毒性增加;而内吞量小的 UCNPs@ $\text{SiO}_2$ -PEG 毒性大于 UCNPs@ $\text{SiO}_2$ -COOH 的原因是带电荷的强弱不同,带弱电荷的 UCNPs@ $\text{SiO}_2$ -PEG 在培养体系中会增大流体动力学直径导致细胞内化率低,细胞免疫反应强,进一步导致毒性较大。由于带正电荷的 REEs-UCNPs 易于被细胞静电吸引靠近,进而内吞进入细胞的量增加,2018 年,Guller 等<sup>[36]</sup>的研究显示,同为带正电荷的 UCNPs@PEI@Dx 与 UCNPs@PEI 的毒性大于带负电荷的 UCNPs,对细胞有明显损伤作用。2019 年,Lay 等<sup>[25]</sup>在秀丽线虫模式生物研究中,同样发现带正电荷的 REEs-UCNPs 更容易被咽部组织细胞内吞。

### 3.3 粒径对 REEs-UCNPs 毒作用的影响

近年来的诸多研究表明,稀土纳米颗粒的生物毒性与其粒径息息相关,不同粒径的稀土纳米颗粒会引起不同的细胞反应。Semashko 等<sup>[44]</sup>的研究表明,培养体系中的稀土纳米颗粒平均流体动力学直径不仅与其浓度有关,也与其培养体系密切相关;在不同培养体系中的稀土纳米颗粒,会与吸附的蛋白质、碳水化合物和电解质等分子相互作用,进而会形成高度复杂的电晕,导致在培养体系中形成不同粒径的颗粒,平均粒径在 55 nm 以上的稀土纳米颗粒不会对细胞生长产生任何影响,只有极小尺寸的纳米颗粒才能真正参与肿瘤的生长。然而,Chen 等<sup>[33]</sup>

的研究显示,粒径大的稀土纳米颗粒更容易被滞留在体内,比相对较小的纳米颗粒更易引起炎症反应,表现在白细胞数量增多。另外,2020年,Wang等<sup>[45]</sup>的研究显示,尽管粒径为35 nm的聚(丙烯酸)修饰的稀土掺杂的上转换纳米颗粒(PAA-REEs-UCNPs)的细胞摄取量高于粒径为55 nm的PAA-REEs-UCNPs,然而后者的清除速度较前者减慢,这在一定程度验证了Chen等<sup>[31]</sup>的研究结果。可见REEs-UCNPs粒径对生物体的影响是双向的。

#### 4 总结与展望(Conclusion and prospects)

REEs-UCNPs由于其独特的光化学特性,其应用日益广泛。目前,REEs-UCNPs的生物学毒性效应以及对环境和人类健康的影响已经引起一部分研究者的关注。本文对近年来有关REEs-UCNPs的吸收-分布-代谢-排泄、生物毒性、毒作用机制与影响因素等方面进行了综述。现有报道中,有关REEs-UCNPs生物毒性的实验研究相对较少,且现有研究中多数实验结果表明,在染毒剂量内,REEs-UCNPs对小鼠和大鼠组织未呈现出明显损伤。但也有研究表明,REEs-UCNPs可导致动物出现炎症反应、组织功能破坏等现象,甚至发生死亡。关于REEs-UCNPs毒作用机制及其影响因素的研究,目前结果显示,REEs-UCNPs对生物体的影响是复杂多变的,且各影响因素之间存在相互作用,例如,REEs-UCNPs表面电荷的变化受培养体系与表面修饰配体等因素的影响,同时其也可导致REEs-UCNPs的粒径不同,从而多维度影响REEs-UCNPs的毒性作用。

综上所述,目前对REEs-UCNPs的生物毒性研究缺乏系统性和全面性,且存在同样研究表现出不一致的结果。因此,一方面对REEs-UCNPs的生物毒性的研究应该针对纳米材料类型、表面修饰配体类型、纳米颗粒大小、表面修饰电荷种类和数量等诸多因素在细胞层面和动物层面进行全方位立体式研究分析。第二,建立REEs-UCNPs分析检测新技术深入了解其在亚细胞内和组织中的分布、代谢途径、形态变化和降解规律等信息,为全面阐释REEs-UCNPs在细胞和生物体内的变化规律提供依据。第三,结合基因组学、代谢组学和转录组学等技术进行多角度、深层次研究,为最终揭示REEs-UCNPs生物毒性机制和进行安全性评价提供依据。

通讯作者简介:孟佩俊(1979—),男,博士,教授,主要研究方向为卫生分析化学与稀土纳米材料分析毒理学。

共同通讯作者简介:李淑荣(1982—),女,硕士,副教授,主要研究方向为卫生检验与卫生毒理学。

罗利霞(1980—),女,博士,教授,主要研究方向为卫生检验与卫生毒理学。

#### 参考文献(References):

- [1] Würth C, Fischer S, Grauel B, et al. Quantum yields, surface quenching, and passivation efficiency for ultrasmall core/shell upconverting nanoparticles [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2018, 140(14): 4922-4928
- [2] Bloembergen N. Solid state infrared quantum counters [J]. *Physical Review Letters*, 1959, 2(3): 84-85
- [3] Yao J, Huang C, Liu C H, et al. Upconversion luminescence nanomaterials: A versatile platform for imaging, sensing, and therapy [J]. *Talanta*, 2020, 208: 120157
- [4] Wang F, Liu X G. Recent advances in the chemistry of lanthanide-doped upconversion nanocrystals [J]. *Chemical Society Reviews*, 2009, 38(4): 976-989
- [5] Zhu Y M, Xie A G, Li M, et al. Noninvasive photochemical sealing for Achilles tendon rupture by combination of upconversion nanoparticles and photochemical tissue bonding technology [J]. *BioMed Research International*, 2020, 2020: 1753152
- [6] Xu F, Sun Y, Gao H P, et al. High-performance perovskite solar cells based on  $\text{NaCsWO}_3 @ \text{NaYF}_4 @ \text{NaYF}_4$ : Yb, Er upconversion nanoparticles [J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2021, 13(2): 2674-2684
- [7] Lei Z D, Ling X, Mei Q S, et al. An excitation navigating energy migration of lanthanide ions in upconversion nanoparticles [J]. *Advanced Materials*, 2020, 32(9): e1906225
- [8] Rostami I. Empowering the emission of upconversion nanoparticles for precise subcellular imaging [J]. *Nanomaterials*, 2021, 11(6): 1541
- [9] Guryev E L, Smyshlyayeva A S, Shilyagina N Y, et al. UCNP-based photoluminescent nanomedicines for targeted imaging and theranostics of cancer [J]. *Molecules*, 2020, 25(18): 4302
- [10] Yan H, Dong J T, Huang X, et al. Protein-gated upconversion nanoparticle-embedded mesoporous silica nanovehicles via diselenide linkages for drug release tracking in real time and tumor chemotherapy [J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2021, 13(24): 29070-29082
- [11] Gao J, Yao X L, Chen Y X, et al. Near-infrared light-induced self-powered aptasensing platform for aflatoxin B1 based on upconversion nanoparticles-doped  $\text{Bi}_2\text{S}_3$  nanorods [J]. *Analytical Chemistry*, 2021, 93(2): 677-682
- [12] Maysinger D, Gran E R, Bertorelle F, et al. Gold nano-clusters elicit homeostatic perturbations in glioblastoma

- cells and adaptive changes of lysosomes [J]. *Theranostics*, 2020, 10(4): 1633-1648
- [13] Pasquali F, Agrimonti C, Pagano L, et al. Nucleo-mitochondrial interaction of yeast in response to cadmium sulfide quantum dot exposure [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2017, 324: 744-752
- [14] 孙晶, 欧阳少虎, 胡献刚, 等. 3种碳纳米材料对斑马鱼生长发育、氧化应激及代谢的影响[J]. *生态毒理学报*, 2020, 15(6): 101-114
- Sun J, Ouyang S H, Hu X G, et al. Effects of three carbonaceous nanomaterials on the developmental toxicity, oxidative stress, and metabolic profile in zebrafish [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2020, 15(6): 101-114 (in Chinese)
- [15] Li Q, Wang Z, Chen Y R, et al. Elemental bio-imaging of PEGylated NaYF<sub>4</sub>: Yb/Tm/Gd upconversion nanoparticles in mice by laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry to study toxic side effects on the spleen, liver and kidneys [J]. *Metalomics: Integrated Biometal Science*, 2017, 9(8): 1150-1156
- [16] Guryev E L, Shilyagina N Y, Kostyuk A B, et al. Preclinical study of biofunctional polymer-coated upconversion nanoparticles [J]. *Toxicological Sciences: An Official Journal of the Society of Toxicology*, 2019, 170(1): 123-132
- [17] Abualrejal M M A, Eid K, Tian R R, et al. Rational synthesis of three-dimensional core-double shell upconversion nanodendrites with ultrabright luminescence for bio-imaging application [J]. *Chemical Science*, 2019, 10(32): 7591-7599
- [18] Shan X R, Chen Q, Yin X Y, et al. Polypyrrole-based double rare earth hybrid nanoparticles for multimodal imaging and photothermal therapy [J]. *Journal of Materials Chemistry B*, 2020, 8(3): 426-437
- [19] Chen Y, Fei X X, Ye C Q, et al. Acute hepatotoxicity of multimodal targeted imaging contrast agent NaLuF<sub>4</sub>: Gd, Yb, Er-PEG/PEI-FA in mice [J]. *The Journal of Toxicological Sciences*, 2019, 44(9): 621-632
- [20] Tian R R, Zhao S, Liu G F, et al. Construction of lanthanide-doped upconversion nanoparticle-Uelx Europaeus Agglutinin-I bioconjugates with brightness red emission for ultrasensitive *in vivo* imaging of colorectal tumor [J]. *Biomaterials*, 2019, 212: 64-72
- [21] Seo H J, Nam S H, Im H, et al. Rapid hepatobiliary excretion of micelle-encapsulated/radiolabeled upconverting nanoparticles as an integrated form [J]. *Scientific Reports*, 2015, 5: 15685
- [22] Feng Y, Chen H D, Ma L N, et al. Surfactant-free aqueous synthesis of novel Ba<sub>2</sub>GdF<sub>7</sub>: Yb<sup>3+</sup>, Er<sup>3+</sup>@PEG upconversion nanoparticles for *in vivo* trimodality imaging [J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2017, 9(17): 15096-15102
- [23] Li L Y, Hao P L, Wei P, et al. DNA-assisted upconversion nanoplatfor for imaging-guided synergistic therapy and laser-switchable drug detoxification [J]. *Biomaterials*, 2017, 136: 43-55
- [24] Yu Z S, Xia Y Z, Xing J, et al. Y<sub>1</sub>-receptor-ligand-functionalized ultrasmall upconversion nanoparticles for tumor-targeted trimodality imaging and photodynamic therapy with low toxicity [J]. *Nanoscale*, 2018, 10(36): 17038-17052
- [25] Lay A, Sheppard O H, Siefe C, et al. Optically robust and biocompatible mechanosensitive upconverting nanoparticles [J]. *ACS Central Science*, 2019, 5(7): 1211-1222
- [26] Kumar K N, Vijayalakshmi L, Choi J. Investigation of upconversion photoluminescence of Yb<sup>3+</sup>/Er<sup>3+</sup>: NaLaMgWO<sub>6</sub> noncytotoxic double-perovskite nanophosphors [J]. *Inorganic Chemistry*, 2019, 58(3): 2001-2011
- [27] You Y, Cheng S S, Zhang L, et al. Rational modulation of the luminescence of upconversion nanomaterials with phycocyanin for the sensing and imaging of myeloperoxidase during an inflammatory process [J]. *Analytical Chemistry*, 2020, 92(7): 5091-5099
- [28] 邵帅, 丁彬彬, 朱忠丽, 等. 利用主客体化学制备水溶性上转换纳米药物及在肿瘤诊疗中的应用[J]. *分析化学*, 2019, 47(6): 823-831
- Shao S, Ding B B, Zhu Z L, et al. Preparation of water-soluble up-conversion nano-drug by host-guest chemistry and its application in tumor diagnosis and treatment [J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2019, 47(6): 823-831 (in Chinese)
- [29] Hu Y L, Wu B Y, Jin Q, et al. Facile synthesis of 5 nm NaYF<sub>4</sub>: Yb/Er nanoparticles for targeted upconversion imaging of cancer cells [J]. *Talanta*, 2016, 152: 504-512
- [30] Chan Y C, Chan M H, Chen C W, et al. Erratum: Near-infrared-activated fluorescence resonance energy transfer-based nanocomposite to sense MMP2-overexpressing oral cancer cells [J]. *ACS Omega*, 2018, 3(2): 2444
- [31] Chen Y H, D'Amario C, Gee A, et al. Dispersion stability and biocompatibility of four ligand-exchanged NaYF<sub>4</sub>: Yb, Er upconversion nanoparticles [J]. *Acta Biomaterialia*, 2020, 102: 384-393
- [32] Tian J, Zeng X, Xie X J, et al. Intracellular adenosine triphosphate deprivation through lanthanide-doped nanoparticles [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2015, 137(20): 6550-6558

- [33] Chen J P, Shi S S, Liu G F, et al. Potential clinical risk of inflammation and toxicity from rare-earth nanoparticles in mice [J]. Chinese Medical Journal, 2018, 131(13): 1591-1597
- [34] Xu J T, Lv R C, Du S K, et al. UCNPs@gelatin-ZnPc nanocomposite: Synthesis, imaging and anticancer properties [J]. Journal of Materials Chemistry B, 2016, 4(23): 4138-4146
- [35] Rafique R, Baek S H, Park C Y, et al. Morphological evolution of upconversion nanoparticles and their biomedical signal generation [J]. Scientific Reports, 2018, 8(1): 17101
- [36] Guller A E, Nadort A, Generalova A N, et al. Rational surface design of upconversion nanoparticles with polyethylenimine coating for biomedical applications: Better safe than brighter? [J]. ACS Biomaterials Science & Engineering, 2018, 4(9): 3143-3153
- [37] Zhang J P, Liu F Y, Li T, et al. Surface charge effect on the cellular interaction and cytotoxicity of NaYF<sub>4</sub>: Yb<sup>3+</sup>, Er<sup>3+</sup>@SiO<sub>2</sub> nanoparticles [J]. RSC Advances, 2015, 5(10): 7773-7780
- [38] Samhadaneh D M, Mandl G A, Han Z, et al. Evaluation of lanthanide-doped upconverting nanoparticles for *in vitro* and *in vivo* applications [J]. ACS Applied Bio Materials, 2020, 3(7): 4358-4369
- [39] Vedunova M V, Mishchenko T A, Mitroshina E V, et al. Cytotoxic effects of upconversion nanoparticles in primary hippocampal cultures [J]. RSC Advances, 2016, 6(40): 33656-33665
- [40] Mishchenko T A, Mitroshina E V, Smyshlyaeva A S, et al. Comparative analysis of the effects of upconversion nanoparticles on normal and tumor brain cells [J]. Acta Naturae, 2020, 12(2): 86-94
- [41] Liu B, Sun J, Zhu J J, et al. Injectable and NIR-responsive DNA-inorganic hybrid hydrogels with outstanding photothermal therapy [J]. Advanced Materials, 2020, 32(39): e2004460
- [42] Hernandez-Adame L, Cortez-Espinosa N, Portales-Pérez D P, et al. Toxicity evaluation of high-fluorescent rare-earth metal nanoparticles for bioimaging applications [J]. Journal of Biomedical Materials Research Part B, Applied Biomaterials, 2017, 105(3): 605-615
- [43] Hernández-Adame L, Méndez-Blas A, Ruiz-García J, et al. Synthesis, characterization, and photoluminescence properties of Gd: Tb oxysulfide colloidal particles [J]. Chemical Engineering Journal, 2014, 258: 136-145
- [44] Semashko V V, Pudovkin M S, Cefalas A C, et al. Tiny rare-earth fluoride nanoparticles activate tumour cell growth via electrical polar interactions [J]. Nanoscale Research Letters, 2018, 13(1): 370
- [45] Wang C, He M, Chen B B, et al. Study on cytotoxicity, cellular uptake and elimination of rare-earth-doped upconversion nanoparticles in human hepatocellular carcinoma cells [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2020, 203: 110951