纳米毒理学：一门演化自超细颗粒研究的新兴学科

Günter Oberdörster[1], Eva Oberdörster[2],and Jan Oberdörster[3]

1. Department of Environmental Medicine, University of Rochester, Rochester, New York, USA;
2. Department of Biology, Southern Methodist University, Dallas, Texas, USA;
3. Toxicology Department, Bayer CropScience, Research Triangle Park, North Carolina, USA

摘要：

在人类的进化过程中，人们持续不断地暴露于空气中的纳米颗粒（NSPs；粒径>100 nm的颗粒），然而，上个世纪以来，由于人为的来源，造成了人们对纳米粒子的暴露大幅增加。纳米技术的迅速发展可能会成为人们接触纳米粒子的另一途径，人们可通过吸入、食入、皮肤吸收以及纳米材料的注入等途径暴露于更多的纳米颗粒。迫切急需了解有关纳米颗粒的安全性和潜在的危险。以往的NSPs生物动力学研究的结果，以及新近对空气中超细颗粒物的流行病学和毒理学研究的结果，都可以被看作是纳米毒理学延伸领域的基础，而纳米毒理学可以定义为对工程纳米结构和纳米器件的安全性评价。总的来说，一些新兴的纳米毒理学概念可以从这些研究的结果中确定。人体吸入纳米颗粒后，特定大小的NSPs被有效地扩散沉积在呼吸道的所有部位。尺寸较小的NSPs易于被细胞摄入，并穿透上皮和内皮细胞转运至血液和淋巴循环，到达潜在的敏感靶部位，例如骨髓、淋巴结、脾脏和心脏。也有研究观察到，NSPs能通过轴突和神经元的树突迁移进入中枢神经系统和神经中枢。穿透皮肤的NSPs也能通过摄入作用分布到淋巴管系统。NSPs的内吞作用和生物动力学在很大程度上取决于其表面（涂层）的化学性质，以及其在体内的表面修饰作用。与具有相同化学特性的大尺寸的颗粒物相比，NSPs的比表面积更大，从而呈现出更多的生物活性。这种生物活性包括诱发炎症的潜力和同时具有亲氧化剂和抗氧化剂的活性，可以用于解释早期在环境相关物种中发现的NSPs的复杂毒性作用。NSPs内吞入细胞后所呈现出来的线粒体分配和氧化应激反应的证据，彰显出我们需要对NSPs在亚细胞结构间的相互作用进行基础研究的必要性。评估工程NSPs的安全性问题，还需要考虑到对适当的、相关的剂量/浓度的精心挑选，对受试有机体有害效应增加的可能性，以及潜在的有益效应所带来的收益。纳米毒理学研究必须是一个多学科交叉的团队学科（例如，毒物学、材料科学、医学、分子生物学、生物信息学等等），才能够对纳米材料的安全性进行适当的风险评估。

关键词：生物动力学，中枢神经系统，工程纳米材料，环境健康，人类健康，纳米粒子，呼吸道，风险评估，皮肤，超细颗粒。

Environ Health Perspect 113:823−839 (2005). doi:10.1289/ehp.7339, available via http://dx.doi.org/ [Online 22 March 2005]

在人类的进化过程中，人们有着暴露于空气中的纳米颗粒（nanosized particles, NSPs；粒径>100 nm的颗粒）的经历，但是，随着工业革命时代的到来，由于许多人为来源的出现，如内燃发动机、电厂和许多热电降解的其他来源，人们接触纳米颗粒的这种风险大幅地增加了。纳米技术领域的迅猛发展有可能成为人类通过（呼吸道）吸入、（胃肠（gastrointestinal, GI）道）食入、（皮肤）涂抹和注射（入血液循环）等不同途径接触到NSPs——工程纳米颗粒（nanoparticles, NPs）——的另一来源。表1总结了一些NSPs的自然和人为来源，后者分为无意来源和有意来源。

自生命存在之初，在生物体内发现的生物学分子或天然存在的分子可以作为纳米材料的例子。例如，在许多物种（从细菌到原生生物再到动物）中，生物磁体是一种天然存在的NSP（Blakemore 1975; Kirschvink 等人 2001）。甚至有人在人类的大脑中发现了生物磁体的存在（Dunn 等人 1995; Kirschvink 等人 1992; Schultheiss−Grassi 等人 1999），并发现这种生物性磁物质的存在与神经退行性病变有关（Dobson 2001; Hautot 等人 2003）。铁蛋白是一个覆有涂层的纳米材料的生物学例子，它是约12 nm大小的铁储存蛋白，在保护性蛋白外壳内包裹着5−7nm大小的水合氧化铁磷酸盐（Donlin 等人 1998）。包括富勒烯在内的纳米材料，在森林火灾和火山爆发等燃烧过程自然生成。

在人为来源的NSPs中，无意来源和有意来源之间明显的差异在于，前者是多分散的，具有复杂的化学特性（元素、可溶性和挥发性碳化合物；可溶性和低可溶性无机物；Cyrys 等人 2003; Hughes 等人 1998），而后者则是单分散的，具有精确的化学工程特点和固态形式，在气相或液相中生成的[国家纳米技术计划（National Nanotechnology Initiative, NNI）2004]。然而，尽管存在着这些差异，不同来源的NPs都可能适用同样的毒理学准则，因为决定这些纳米颗粒的生物活性的并不只是他们的粒径大小，还包括许多其它的颗粒物参数。然而，尚未对这些因素间存在的众多相互作用进行评估，在本文中，我们试图总结我们目前所掌握的这方面知识。

NSPs有不同的称呼，毒理学家称之为超细颗粒物（ultrafine particles, UFPs）[U.S. Environmental Protection Agency（EPA）2004]，大气科学家们称之为艾特肯模颗粒和核模颗粒[Kulmala 2004; National Research Council（NRC）1983]，而材料科学家们则称之为纳米工程材料（NNI 2004）。图1描述了空气中颗粒物的粒径大小范围，包括核模颗粒、艾特肯模颗粒、积聚

Address correspondence to G. Oberdörster, University of Rochester, Department of Environmental Medicine, 575 Elmwood Ave., MRBx Building, Box 850, Rochester, NY 14642 USA. Telephone: (585) 275-3804. Fax: (585) 256-2631. E-mail: Gunter_Oberdorster@urmc.rochester.edu

Supplemental Material is available online at http://ehp.niehs.nih.gov/members/2005/7339/supplemental.pdf

We thank J. Havalack for excellent assistance in preparing the manuscript.

This work was supported in part by the U.S. Environmental Protection Agency (EPA) STAR Program grant R827354, National Institute of Environmental Health Sciences grant ESO1247, U.S. Department of Defense MURI grant FA9550-04-1-430,and the National Science Foundation (SGER) BES-0427262.

The views expressed by the authors are their own and do not necessarily reflect those of the EPA.

J. Oberdörster is an employee of Bayer CropScience. The other authors declare they have no competing financial interests.

Received 18 June 2004 ; accepted 22 March 2005.

模颗粒和粗模颗粒。粒径小于0.1 μm的大气颗粒物，在毒理学文献被定义为UFPs，由瞬态核或艾特肯核组成（NRC 1983）。最近，已有研究观察到更小的核模颗粒，其粒径峰值大约在4 nm（McMurry和Woo 2002）。随着柴油车排放的尾气中纳米管的发现，内燃机所产生的NSPs与NPs之间的差别变得更为模糊（Evelyn 等人 2003）。在本篇综述中，使用“纳米”这一术语只反映了颗粒物的粒径大小，而不能反映出其化学成分。因这篇综述的目的起见，我们使用了下面的术语：“纳米颗粒”（NSP）包括所有粒径 >100 nm的工程和环境纳米级球状颗粒物。“工程纳米颗粒（NP）”只包括实验室中专门用于纳米颗粒物设计的球形NSP；其他工程纳米结构将根据其形状归类，例如，纳米管、纳米纤维、纳米线、纳米环等。“超细颗粒物（UFP）”包括环境和实验室产生的NSP，这些颗粒物不是在受控的环境中、经过设计而生产出来的。

表2显示了，假设空气中每一颗粒物的单位密度浓度均为10 μg/m^{3}时，四种模式的颗粒物之间所存在的巨大差异，特别是颗粒物数量浓度和颗粒物表面积的差异。在同一质量水平下，数量浓度特别高的NSPs，当这些粒子与细胞和亚细胞成分相互作用是，可能会有显著的毒理学意义。同样地，如果其他特性（如表面化学特性和体相化学特性）是相同的，那么每单位质量颗粒物所增加的表面积对其毒性的影响是至关重要的。虽然大气中的UFPs质量浓度非常低，背景浓度只有0.5~2 μg/m^{3}水平（Hughes 等人 1998），但在高污染事件发生的过程中或高速公路周围，空气中的UFPs浓度可增加几倍（Brand 等人 1991; Shi 等人 2001; Zhu 等人 2002）。

纳米颗粒的理化特性是决定其生物学活性的因素。固体NSPs的小粒径和相对较大的比表面积（表2）赋予了它们特定的属性，例如，使他们适于作为化学反应的催化剂。当考虑到颗粒物表面的原子或分子在确定其体相属性中发挥主导作用时，表面积的重要性就显而易见了（Amato 1989）；随着颗粒物粒径的减小，表面的原子或分子量与总原子或分子量的比值呈指数式增长（图2）。与大粒径颗粒物相比，相同质量的NSPs表面活性的增加，显示其具有更强的生物学活性，预示了是否应该将NSPs应用在活体生物，给他们提供固体的、而不是液体的颗粒物。这一生物活性的增加，可以是积极的、可取的（如抗氧化活性、作为疾病治疗载体的能力、穿透细胞屏障输送药物的能力），也可以是消极的、不可取的（如毒性、诱导氧化应激或细胞功能障碍），抑或是两者混合在一起、好坏参半的。NSPs不仅可能会产生不良的影响，与细胞和亚细胞结构相互作用的NSPs及其生物动力学还可能与那些大粒径的颗粒物存在很大的不同。例如，60多年前，病毒学家描述了30~50 nm大小的病毒粒子能够沿神经元轴突和树突迁移并跨越上皮组织的现象（Howe和Bodian 1940），而关于人造20 nm和30 nm固体颗粒能够增加炎症活动和上皮易位的第一例报告仅于最近出现（Ferin 等人 1990; Oberdörster 等人 1990）。

作为诊断和治疗设备，以及探究和了解活体细胞中分子进程和结构的工具，NPs的生物动力学行为特征在医学领域的应用前景颇具吸引力（Akerman 等人 2002; Foley 等人 2002; Kreuter 2001; Li 等人 2003）。例如，NPs可以将药物靶向输入到难以到达的组织内 [例如，中枢神经系统

表 1　UFPs /NPs（< 100 nm）的自然和人为来源

自然来源	人为来源	
	无意排放	有意释放（NPs）
天然气-颗粒物转换	内燃机	大小和形状受控，为改善功能性而设计
森林火灾	电厂	金属，半导体，金属氧化物，碳，聚合物
火山（热熔岩）	焚烧炉	纳米球，纳米线，纳米针，纳米管，纳米壳，纳米环，纳米板
病毒	喷气发动机	未经处理的，表面覆有涂层的（多用途的纳米技术：化妆品，医疗，面料，电子，光学，显示器等）
生物磁铁矿：趋磁细菌原生生物，软体动物，节肢动物，鱼类，鸟类，人脑，陨石（？）	金属烟雾（冶炼，焊接等）	
	聚合物烟雾	
	其他废气	
铁蛋白（12.5 nm）	热表面	
微粒（< 100 nm；活化细胞）	油炸，烘焙，烧烤	
	电动机	

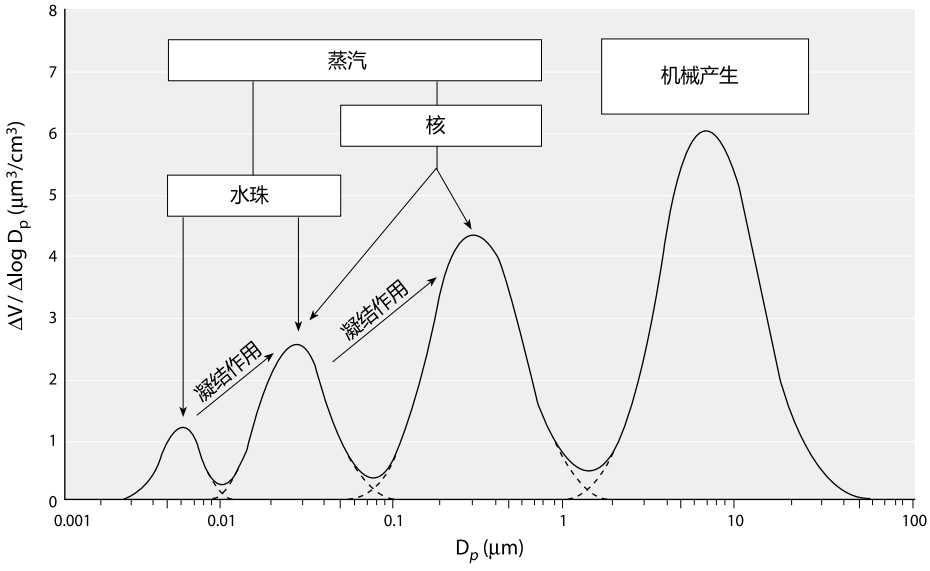

图1　交通来源的颗粒物理想化的粒度分布（U.S. EPA 2004）。Dp′ 粒径。四个多分散模式的交通来源的空气颗粒物，其粒径从<1 nm到 > 10 μm，大约跨越了四个数量级。核模和艾特肯模粒子被定义为UFPs（< 约100 nm）。依赖于来源的化学成分没有被很好地控制，造成UFPs存在很大的差异。相反，NPs（1~100 nm）的化学特性受到了良好的控制，一般呈单分散状态。

（CNS）], 以此对抗癌症，目前正在开发血管内的纳米传感器和纳米机器人设备，以及诊断和成像程序。纳米医学学科——定义为纳米技术及相关研究的医疗应用——已进展到能够设计、测试和优化这些应用，从而使得这些技术终将用于医生的日常诊疗中（Freitas 1999）。

然而，与旨在利用NPs的优良属性来改善人类健康形成强烈对比的是，当NPs作为药物被有目的地使用，抑或是在制造或工业应用处理过程中无意接触到NPs，我们在评估NPs的潜在不良影响方面的努力是有限的。使得NPs在纳米医学的发展和具体工业生产过程中富有吸引力的那些特性，当NPs与细胞相互作用时，也可能被证明是有害的。因此，评价NPs的安全性应该优先考虑到其预期的全球工业应用的可能性，以及人类直接接触或通过环境（空气、水、土壤）释放接触到NPs的可能性。纳米毒理学是一门新兴的学科，可以被定义为“研究工程纳米器件和纳米结构及其对活体生物效应的科学”，这门新兴学科正在吸引越来越多的关注。纳米毒理学研究不仅将为工程纳米结构和器件的安全性评价提供数据，而且也将通过提供其不良属性以及免除其不良影响的方法等信息，从而有助于推动纳米医学领域的快速发展。

表2 每10μg/m³气传颗粒物的粒子数和颗粒物表面积

颗粒物直径 (nm)	颗粒物数量 (cm^{-3})	颗粒物表面积 ($\mu m^2/cm^3$)
5	153,000,000	12,000
20	2,400,000	3,016
250	1,200	240
5,000	0.15	12

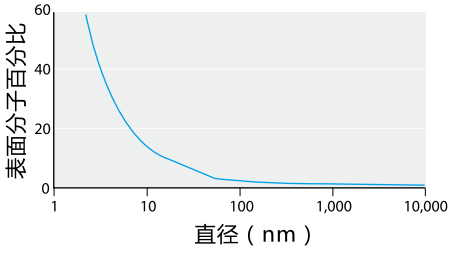

图2 颗粒物表面分子受到粒径大小的影响。当粒径减小至100 nm以下时，颗粒物表面分子成倍增加，反映了表面积在增加NSPs的化学和生物活性中的重要性。这一生物活性的增加，可以是积极的、可取的（如抗氧化活性、作为疾病治疗载体的能力、穿透细胞屏障输送药物的能力），也可以是消极的、不可取的（如毒性、诱导氧化应激或细胞功能障碍），抑或是两者混合在一起、好坏参半的。图片版权为H. Fissan所有（个人通信）。

人群中纳米材料的暴露状况。大气中的UFPs，除了自然的和人为的来源之外，某些工作场所条件下也会产生NSPs，其暴露浓度比通常空气中的暴露水平更高，可能高达几百μg/m³。对于工作场所和大气中通过呼吸道吸入的UFP暴露情况，人们已经有一些了解，但是，对于通过不同途径（无论是人群直接接触或通过环境污染而间接接触）接触到的NPs暴露水平，人们却知之甚少。例如，空气中纯态的碳纳米管或C60富勒烯暴露，有没有、或会不会有意义呢？在模拟的工作场所进行的首次测量中，NPs的暴露浓度非常低，<50μg/m³，而且所暴露的NPs大多是聚合物的形式（Maynard 等人 2004）。不过，即使空气中纳米级材料的暴露浓度非常低，还是能有极高的颗粒物数量浓度，大气UFPs测量结果已经证明了这一点（Hughes 等人 1998）。例如，20 nm粒子的浓度为10μg/m³，是一个低的质量浓度，但转换为数量浓度的话，则可达到 > 1×10^6 particles/cm³（见表2）。NPs主要的暴露途径是吸入，但在生产、使用和处理工程纳米材料的过程中，也需要考虑到消化道摄入和皮肤接触的可能，另外，在用于医学诊断和治疗时，还需要考虑到静脉注射、皮下或肌肉注射等接触途径（见表1）。然而，我们推测，NPs的毒理学研究可以借鉴已有的大气UFPs毒理学文献中的经验和数据 [其他详细信息可参见在线出版的本文的补充材料（http://ehp.niehs.nih.gov/members/2005/7339/supplemental.pdf）。]

环境中的人工纳米材料。人工纳米材料进入环境的原因无外乎以下几点。有些纳米材料是成吨生产出来的，而其他的纳米材料虽然现在的生产规模并不大，但将来也可能会大量生产。如此大规模生产出来的材料，其中一部分可能通过工业废水或运输和装卸过程中的泄露进入到环境中去。这些人工纳米材料被用于个人护理产品的生产，例如遮光剂和化妆品，并由此通过消费品的清洗持续地进入到环境中（Daughton和Ternes 1999）。电子、轮胎、燃料电池和许多其他产品中都会使用到人工纳米材料，我们并不清楚其中一些是否会在使用期间泄漏或消减。一次性材料（如过滤器）和电子产品中也用到人工纳米材料，因此他们也可能通过垃圾填埋和其他处理措施进入到环境当中。

科学家们还发现使用纳米材料进行环境修复的方法。虽然许多方法仍处于试验阶段（Chitose 等人 2003; Jaques和Kim 2000; Joo 等人 2004; Nagaveni 等人 2004; Nghiem 等人 2004; Tungittiplakorn 等人 2004），已在几十个地点注入了各种纳米材料，包括纳米铁（Mach 2004）。然而，对用于修复环境相关物种的NPs的测试以确定其安全性的工作尚未完成。虽然大多数人关心其对大型野生动物的影响，但许多食物链是以海底动物和土壤中的植物群和动物群为基础的，NPs的注入可能会显著影响到这些种群的生存。此外，正如Lecoanet等所指出的那样（2004年），纳米材料在土壤中的迁移速率不足迅速到能对环境进行有价值的补救。将来的实验室和现场研究将有助于明晰环境修复和环境污染之间的界限[可在线查阅本文的补充材料（http://ehp.niehs.nih.gov/members/2005/7339/supplemental.pdf）]。

空气中UFPs的毒理学研究

近年来，人们对空气中UFPs暴露的潜在健康影响的兴趣大为增加，研究表明，UFPs能影响呼吸道以及肺部以外器官的健康。人群流行病学研究和临床对照研究、啮齿类动物吸入/气管滴注试验、或体外细胞培养系统的结果均已显示了大气中的UFPs和实验用UFPs模型对健康的直接影响。例如，一些流行病学研究发现，大气UFPs与呼吸系统和心血管系统的不良影响之间存在关联，导致敏感人群的发病率和死亡率的增加（Pekkanen 等人 1997; Penttinen 等人 2001; Peters 等人 1997a, 1997b; von Klot 等人 2002; Wichmann 等人 2002），而其他流行病学研究却没有观察到这些关联（Pekkanen 等人 1997; Tiittanen 等人 1999）。临床对照研究评估了实验用UFPs的沉积和影响。在健康个体的整个呼吸道内发现了UFPs的高沉积率，而且在患有哮喘或慢性阻塞性肺病的个体中，UFPs的沉积更为严重。此外，控制了含碳UFPs的暴露之后，观察到UFPs对心血管系统的影响，包括对凝血的血液标记物和全身炎症以及肺扩散功能的影响（Anderson 等人 1990; Brown 等人 2002; Chalupa 等人 2004; Henneberger 等人, 2005; Jaques和Kim 2000; Pekkanen 等人 2002; Pietropaoli 等人 2004; Wichmann 等人 2000）。

在动物试验中，对实验用UFPs模型或大气UFPs的研究结果显示，UFPs对肺部炎症反应以及肺外器官的影响是轻微的，没有显著性的。动物吸入实验包括使用不同易感性的啮齿类动物模型，来分析肺灌洗参数和肺组织的病理学改变，以及对血液凝固级联反应的影响，并研究UFPs在肺外组织的迁移情况（Elder 等人 2000, 2002, 2004; Ferin 等人 1991; Ferin和Oberdörster 1992; Kreyling 等人 2002; Li 等人 1999; Nemmar 等人 1999, 2002a, 2002b, 2003; Oberdörster 等人 1992a, 1995, 2000, 2002, 2004; Semmler 等人 2004; Zhou 等人 2003）。

采用不同的细胞系统进行的体外研究结果显示，经实验用UFPs或经滤过收集到的大气UFPs染毒以后，细胞出现不同程度的促炎症反应和氧化应激相关的细胞反应（Brown 等人 2000, 2001; Li 等人 2003）。总的来说，体外研究结果发现，与氧化应激有关的基因表达和细胞信号通路的变化是UFPs的可能毒作用机制，以及过渡金属和某些有机化合物在燃烧产生的UFPs中的作用（图3）。这些可以改变细胞信号通路，包括钙离子信号和细胞因子信号（例如，白细胞介素- 8）（Donaldson 等人 2002; Donaldson和Stone 2003）。实验用UFPs模型比细颗粒所产生的健康影响更普遍更大，而大气UFPs对细胞反应的影响则有时超过粗、细颗粒物的影响，有时却又比粗、细颗粒的影响要小。通常情况下，要想解释体外研究的结果是十分困难的，因为所用的颗粒物的化学成分是不同的，靶细胞是不同的，染毒时间、效应终点和高剂量水平也不尽相同。特别是高剂量染毒得到的结果，如果这些结果比相关的空气暴露所得到的预期结果要高几个数量级，那么就要更应谨慎对待和解释这些结果了（参见下文的“暴露的剂量–反应关系的考量”）。[参见在线出版的本文的补充材料（http://ehp.niehs.nih.gov/members/2005/7339/supplemental.pdf）。]

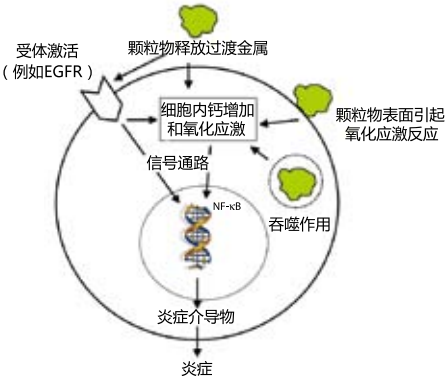

图3 NSPs与细胞相互作用的假想（改编自Donaldson和Tran 2002）。EGFR，表皮生长因子受体。炎症与氧化应激可以由几条主要途径介导：a）颗粒物表面的氧化应激作用引起细胞内钙增加和基因活化；b）颗粒物释放的过渡金属引起了氧化应激作用、细胞内钙增加和基因活化；c）颗粒物释放的过渡金属激活了细胞表面受体，随后引起基因活化；或d）NSPs在细胞内分布至线粒体产生了氧化应激作用。

纳米毒理学的概念

实验动物研究。关于NSPs对健康的潜在影响，下面的两个例子应有助于说明如下两点：*a*）在化学性质相同的前提下，相较于大粒径的颗粒物，NSPs具有较高的炎症作用；*b*）在某些职业条件下生成的NSPs能引起严重的急性肺损伤。

第一个例子是关于超细和细二氧化钛（TiO_2）粒子的研究，研究表明，当大鼠和小鼠气管内滴注质量浓度相同的锐钛型TiO_2超细颗粒（20 nm）和细颗粒（250 nm）时，锐钛型TiO_2超细颗粒能引发更大的肺部炎症性中性粒细胞反应（取决于给药后24小时肺灌洗）（图4A, C）。但是，当气管滴注的剂量单位为颗粒物的表面积时，很明显，TiO_2超细颗粒和细颗粒所引发的肺部中性粒细胞反应存在相同的剂量—反应曲线（图4B, D），这一结果表明，不同粒径但有相同化学特性的颗粒物表面积，如TiO_2，比颗粒物的质量或数量有更好的剂量依从性（Oberdörster G 2000）。

此外，将颗粒物表面浓度用肺组织的重量校正后，其在大鼠和小鼠中引起的炎症反应非常一致[参见在线出版的本文的补充材料中的图S-2（http://ehp.niehs.nih.gov/members/2005/7339/supplemental.pdf）]。对不同粒径的固体颗粒物吸入后所产生的毒理学效应，多个研究（特别是对从纳米颗粒到细颗粒等不同粒径的颗粒物进行的研究）的结果都显示，颗粒物浓度用表面积浓度表示所得到的剂量–反应关系，比用质量浓度

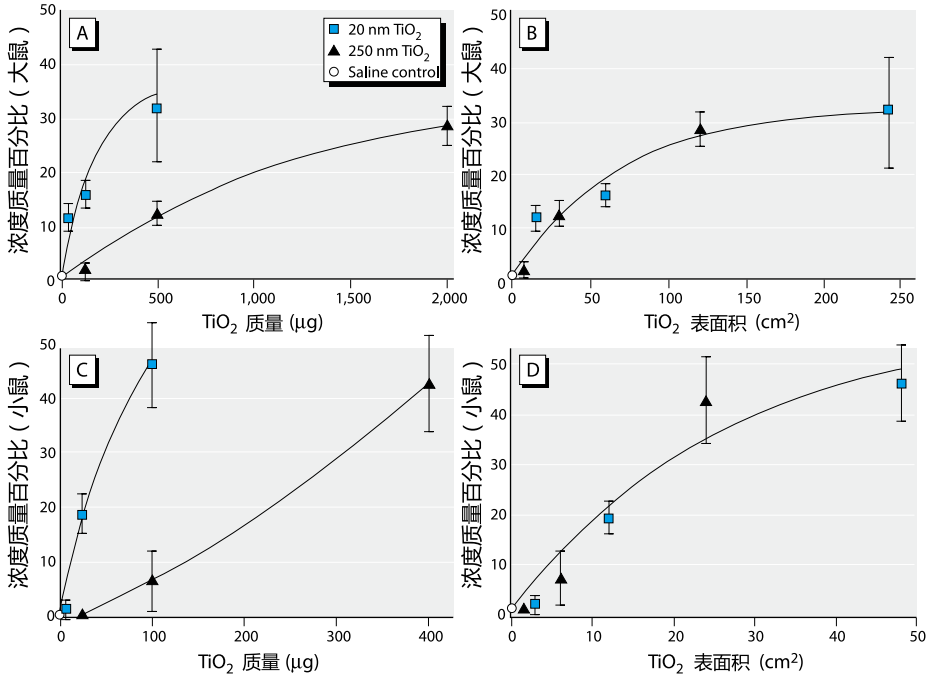

图4 大鼠和小鼠气管内注入不同质量浓度的20 nm和250 nm二氧化钛（TiO2）颗粒24小时后，大鼠（A, B）和小鼠（C, D）肺灌洗中的中性粒细胞百分比可作为炎症指示物。（A, C）用质量浓度表示时，观察到的纳米TiO_2的剂量反应曲线是明显陡峭的。（B, D）用颗粒物表面积浓度表达时，呈现出与（A,C）相同的剂量反应关系，这表明，在比较不同粒径大小颗粒物的影响时，只要他们具有相同的化学结构（在这个例子中是锐钛型TiO_2），那么颗粒物表面积似乎是一个更适合的剂量指标。数据用平均值 ± 标准差来显示。

表示所得到的剂量–反应关系更贴切（Brown 等人 2001; Donaldson 等人 1998, 2002; Driscoll 1996; Oberdörster和Yu 1990; Oberdörster 等人 1992a; Tran 等人 1998, 2000）[参考在线出版的本文的补充材料（http://ehp.niehs.nih.gov/members/2005/7339/supplemental.pdf）]。

第二个例子是：聚四氟乙烯（polytetrafluoroethylene, PTFE）烟雾暴露对大鼠的影响。正如这个例子所显示的那样，除了粒径大小之外，颗粒物的化学特性，特别是表面化学特性，对其毒性起着决定性的作用。PTFE烟雾（产自于PTFE加热过程中）一直被公认会对鸟类和哺乳动物产生高的急性毒性，包括人类（Cavagna 等人 1961; Coleman 等人 1968; Griffith 等人 1973; Nuttall 等人 1964; Waritx和Kwon 1968）。对这些烟雾进行的分析揭示了，PTFE加热到约480℃时，所产生的颗粒物具有纳米颗粒物的性质，粒数中位径（count median diameter, CMD）为18 nm。他们对大鼠具有很强的毒性，在50 $\mu g/m^3$暴露浓度下吸入15分钟后，4小时内可形成严重的急性肺损伤伴高死亡率（Oberdörster 等人 1995）。15分钟的短暂暴露导致肺泡区域积存的颗粒物至多有60 ng。在人类，急性肺损伤，也就是众所周知的聚合物烟雾热，可能使PTFE烟雾暴露的结果（Auclair 等人 1983; Goldstein 等人 1987; Lee 等人 1997; Williams 等人 1974; Woo 等人 2001）。另外，大鼠实验研究表明，单纯的气相化合物不会产生急性毒性，PTFE烟雾颗粒老化3分钟后，由于聚集作用，其颗粒物粒径增至100 nm以上，从而失去了其毒性作用（Johnston 等人 2000）。但是，这种毒性的丧失，最可能的原因是PTFE烟雾老化期间颗粒物表面化学性质的改变所造成的，而不仅仅是累积的较大颗粒的作用[参见在线出版的本文的补充材料（http://ehp.niehs.nih.gov/members/2005/7339/supplemental.pdf）]。

以上列举的这两个例子似乎代表了NSPs肺毒性的极端。TiO_2的化学特性是相当温和的，但相较于有同样化学构成的细颗粒物来讲，相同质量浓度的超细颗粒物仍能引发更为显著、更为严重的炎症反应；PTFE烟雾的急性毒性非常高，这可能与单位质量下较大的表面积上存在的反应簇有关。

工程纳米材料可以有很多不同的形状，例如，球状、纤维状、管状、环状和平面状。对于球形和纤维状纳米颗粒已经有了完善的毒理学研究，结果表明，长期接触天然的（如石棉）和人造的（例如，生物持久性玻璃体）纤维状纳米材料，与肺纤维化和癌症风险的增加有关[Greim 等人 2001; International Agency for Research on Cancer（IARC）2002]。决定纤维状纳米颗粒毒性的关键参数是3个D：剂量（dose）、尺寸（dimension）和持久性（durability）。纤维状纳米颗粒的定义是，直径/长度比率（长宽比）≥ 1:3，且长度 >5 μm、直径 ≤ 3 μm的细长结构 [World Health Organization（WHO） 1985]。碳纳米管的长宽比可高达≥100，长度可超过5 μm，单壁纳米管的直径介乎0.7 nm至1.5 nm之间，而多壁纳米管的直径为2~50 nm。经气管内给药方式染毒啮齿动物的三项研究的结果表明，碳纳米管的急性肺部炎症影响明显，但该效应在大鼠体内较弱（Warheit 等人 2004），而在小鼠体内则更持久（Lam 等人 2004; Shvedova 等人 2004b）。其中一项研究中的给药剂量非常高，大鼠染毒剂量为1~5 mg/kg，小鼠的染毒剂量为3.3~16.6 mg/kg（Lam 等人 2004），而另一研究的给药剂量较低，为0.3~1.3 mg/kg（Shvedova 等人 2004a）。这些研究都观察到高剂量的持久性颗粒物质能引起肉芽肿的形成这一现象，这是肺部组织对外源性物质侵入的一个正常的身体防御反应。纳米管生产过程中的金属杂质（例如铁）也可能参与观察到的健康效应的形成。虽然这些首批的体内实验研究表明了碳纳米管具有高的急性效应（包括急性死亡），但气管内滴注大剂量的高浸润性的纳米管所造成的气道堵塞可用于解释这种急性毒性效应，因此这种急性毒性不应被看作是纳米管本身所造成的（Warheit 等人 2004）。对碳纳米管进行的体外研究也观察到了显著的毒性效应。在体外实验中，用单壁碳纳米管（single-walled carbon nanotubes, SWNTs）染毒角质形成细胞和支气管上皮细胞，刺激这些细胞内出现氧化应激反应，包括自由基的形成、过氧化产物的累积和细胞抗氧化剂的消减（Shvedova 等人 2004a, 2004b）。多壁碳纳米管（multiwalled carbon nanotubes, MWNTs）有促炎症作用，并可内化入角质形成细胞内（Monteiro-Riviere 等人 2005）。同样，这些体外研究中所使用的染毒剂量相对较高，在将这些研究结果应用于体内暴露时，需要考虑到这一点。在一项最新的研究中，研究者用巨噬细胞比较了SWNTs和MWNTs与C_{60}富勒烯对细胞的毒性作用，结果发现，按细胞毒性大小排名：SWNTs > MWNTs > C_{60}。在SWNTs染毒的巨噬细胞内，发现了更深层次的细胞毒性（线粒体功能、细胞形态、细胞吞噬功能），在0.38 $\mu g/cm^3$的低浓度下就能观察到这种毒性效应。还需要评估纳米管内的金属杂质在其中可能的作用。因此，光纤毒理学中一般公认的原则是否适用于这些纳米纤维结构，仍有待商榷（Huczko 等人 2001）。

今后的研究除了要探究纳米管的毒性效应之外，同时还需关注沉积在呼吸道的纳米管的命运，在吸入研究中，优先使用分散度好（纯态）的气传纳米管。为在研究设计中确定适当的染毒剂量，对人群暴露的可能性和人群的接触程度进行评估是非常必要的。就纳米材料的理化性质、聚集状态和浓度（数量、质量、表面积）等方面信息确定人群接触特点，然后根据这些特点进行相应的动物和体外研究，是至关重要的。如果经气管滴注的纳米材料是直接进入到下呼吸道，那么需要考虑将其染毒剂量范围扩大，需要将所制备样品的预期的实际暴露水平包括在内[参见在线出版的本文的补充材料（http://ehp.niehs.nih.gov/members/2005/7339/supplemental.pdf）]。

生态毒理学研究。迄今进行的研究中，只有少数几个物种能被监管机构接受并作为评估纳米材料的生态毒理学效应模型。对未包被的、水溶性的、胶体状富勒烯（nC_{60}）进行的测试结果表明，使用U.S. EPA标准实验指南得到的大型蚤（*Daphnia magna*）的48小时半数致死浓度（median lethal concentration, LC50）为800 *ppb*（Oberdörster E 2004b）（U.S. EPA 1994）。在大嘴鲈鱼（*Micropterus salmoides*）中，0.5 ppm的nC_{60}染毒48小时后，虽然没观察到鲈鱼的死亡，但观察到nC60可引起脑组织的脂质过氧化和鱼鳃内谷胱甘肽的减少（Oberdörster E 2004a）。就脑组织中的脂质损害是如何发生的，有如下几种假设，包括富勒烯可通过血液循环或轴突运输到大脑，并能溶解入脂质丰富的脑组织，直接发挥其氧化还原活性（参见下面的“呼吸道内NSPs的处理”内容）；或者是与小胶质细胞产生的氧自由基有关；或与富勒烯经细胞色素P450代谢后产生的活性代谢产物有关。目前初

步的后续研究也已进行，用抑制消减杂交技术对0.5 ppm的纳米颗粒喂养的鱼群和对照鱼群的肝组织的mRNA进行分析。结果发现，0.5 ppm纳米颗粒染毒后，与免疫反应和组织修复有关的蛋白表达上调，而与内稳态调控和免疫调控相关的几个蛋白表达则下调。参与脂质代谢的细胞色素P450（CYP2K4）蛋白上调[参见在线出版的本文的补充材料（http://ehp.niehs.nih.gov/members/2005/7339/supplemental.pdf）]。除了这些生物化学和分子水平的变化，此次对鱼类进行的研究还报告了富勒烯的杀菌性能，并且正在探寻能否将其作为新的抗菌剂实验（Yamakoshi 等人 2003）。作为抗菌剂的工程纳米材料，如果经污水释放到环境中，可能会扰乱正常的微生物种群的生长。人为来源的内分泌干扰物研究告诉我们，干扰固氮菌及其植物宿主之间的信号传输，对作物生产是极其有害的，会造成生态学和经济学的损失。这一经验同样适用于富勒烯的研究（Fox 等人 2001）。

水溶性富勒烯和包覆碳纳米管在盐溶液（Cheng 等人 2004; Warheit 等人 2004）、细胞培养基（Lu 等人 2004; Sayes 等人 2004）、重组硬水和超纯水（Dieckmann 等人 2003; Oberdörster E 2004a, 2004b）中是稳定的。NSPs往往会吸附在沉积物和土壤粒子上，并由于NSPs的表面积：质量比较高，从而容易固化在沉积物和土壤中（Lecoanet和Wiesner 2004）。通过沉积物的摄入，NSPs会出现生物间的传输，人类会通过食物链来预测纳米材料在生态系统内的活动（图5）。

为了使纳米材料更具生物兼容性，可以采用包被纳米材料表面和进行共价表面修饰的方法。一些研究表明，无论是表面包被和共价修饰可通过曝露于空气中的氧气或紫外线（UV）照射1~4小时的方法进行风化处理（Derfus 等人 2004; Rancan 等人 2002）。因此，虽然表层包被和表面修饰在药物输送装置中是非常重要的，但环境条件下对纳米材料进行风化处理，就使得研究在紫外线和空气暴露条件下的毒性显得非常重要。即使对那些用于药物传输的NPs进行的表层包被可能没有生物持久性，或可在体内代谢为没有涂覆表层的NP核[参见在线出版的本文的补充材料（http://ehp.niehs.nih.gov/members/2005/7339/supplemental.pdf）]。

接触剂量—反应关系的考量。在NSPs的毒理学评价中，接触—剂量—反应关系的详尽评估是至关重要的。这不仅包括剂量问题——如上所述的颗粒物质量、数量或表面积浓度——更重要的是，效应与剂量水平之间的相关性。例如，

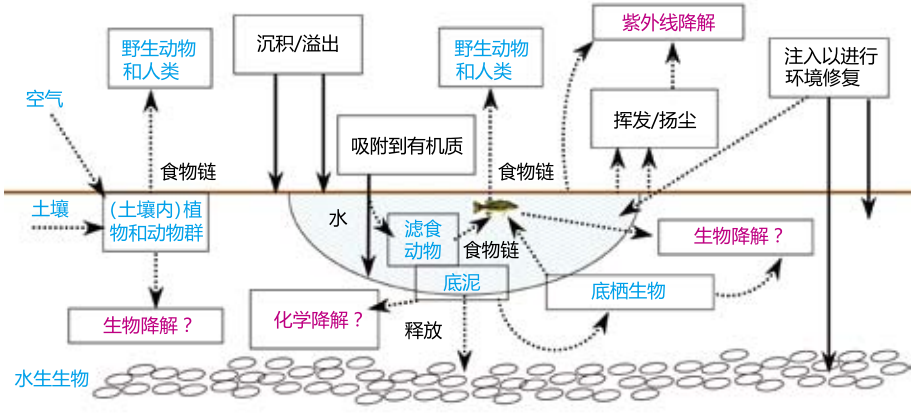

图5 环境中的NSPs暴露、吸收、分布和降解途径。实线显示的是已在实验室或现场研究中被证实的途径，或目前正在使用（环境治理）的途径。红色字体表示的是可能的降解途径，蓝色字体表示的是NSPs可能的沉降和来源。

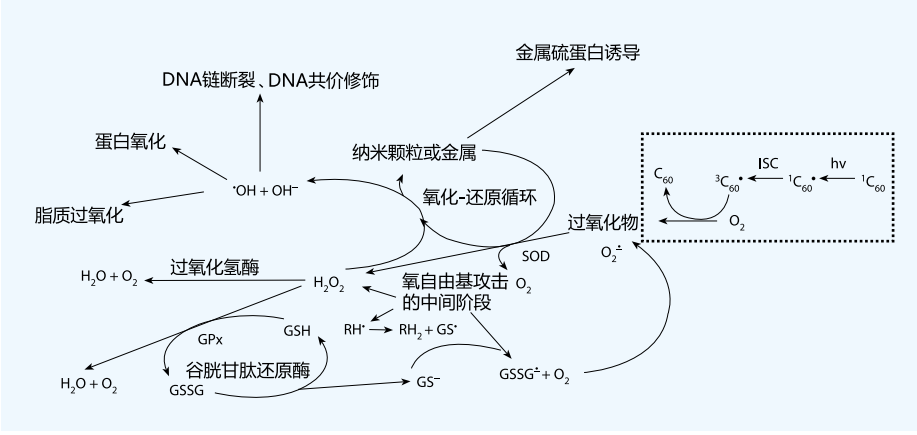

图6 已证明NPs可释放氧自由基 [图为C60的作用机制，由Yamakoshi 等人（2003）确定]，可与抗氧化防御系统相互作用。缩写：GPx，谷胱甘肽过氧化物酶；GSH，还原型谷胱甘肽；GSSG，氧化型谷胱甘肽；ISC，系统间跨越；R，任何有机分子；SOD，超氧化物歧化酶。除了富勒烯之外，金属（如镉，铁，或镍量子点，或从碳纳米管生产中产生的铁）也存在Fenton型反应。此处没有显示生物转化的II相反应、抗坏血酸、维生素E、β-胡萝卜素及其他相互作用。

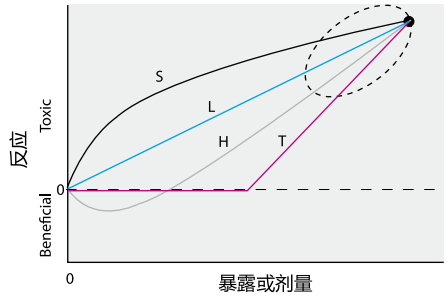

图7 暴露–反应或剂量–反应关系曲线的一些基本形状。缩写：H，曲线性（两相）；L，线性（无阈值）；S，超线性；T，阈值。体外或体内研究中，建立NSPs暴露–反应或剂量–反应关系的先决条件是，足够数量的数据点，即广泛的暴露浓度或剂量；对暴露水平的了解；以及关于器官或细胞水平的接触剂量信息（接触水平不等于剂量）。只有获取了高剂量（用虚线椭圆形指示）反应数据时，不同形状的剂量–反应曲线才可用于推断。如果存在阈值或曲线反应的话，缺乏低剂量范围数据——通常是与实际暴露水平最相关的——能导致对剂量–反应关系的严重误解。还需要考虑到暴露–剂量–反应关系的形状或斜率会随着敏感人群而发生改变的可能性。

在体外实验中，用于染毒原代细胞或细胞系的剂量非常高，这种做法颇具吸引力且经常发生，但这种剂量的设置根本没考虑或讨论到人体的实际暴露水平；例如，用每ml培养液中含100 μg的NSPs作为体外实验中所用的低剂量水平，但实际上所用的这个剂量是极其高的，人体的实际接触水平不可能达到这么高。同样，给老鼠气管内滴注几百微克的颗粒物，与体内研究中吸入接触水平不符；剂量和剂量率可人为引起高负荷剂量。尽管这种研究可以用在初期的原理验证阶段，但随后必须根据现实的体内暴露水平（包括最糟糕场景下的暴露水平），用低几个数量级的浓度来证实原来结果的可信度。“剂量决定毒性”这句话我们说了500年了，现在这句话也可以意译为“剂量决定作用机制”。与现实暴露相符的低剂量所得到的机制通路可能会与那些在非常高剂量下所得到的机制不同，因为高剂量会使得细胞或生物体的防御系统超负荷运转。

因此，只有在研究设计时考虑使用了合理的浓度/剂量，体内和体外研究才能为NSPs的毒性和作用模式提供有用的数据。这种方法在恰当识别剂量—反应曲线时显得尤为重要。只有高浓度/剂量水平下产生的数据，是很难确定讨论中的剂量反应曲线能否用线性（无阈值）、超线性、阈值或hormetic模式较好地模拟（图7）。研究设计应包括能反映预期暴露水平的、最接近的剂量。差距，迫切需要解决的一个关键问题是我们现在完全缺乏NSPs在人类或环境中暴露水平的数据。此外，为估算合适的染毒剂量，我们还需要了解一些NSPs的生物动力学知识。

NPs能够到达特定的作用靶点吗？如果可以，其剂量、剂量率和持久性怎样？此外，将体外研究结果外推到体内的风险评估中，虽然这一想法是很诱人的，但重要的是要记住，体外试验只是在提供机制过程信息方面有用，而阐明作用机制/模式则需要整体动物的研究。将有相关剂量水平的体外和体内研究结果结合起来分析，对确定NPs的潜在危害是最有用的方法，在选择剂量水平时，必须进行充分的讨论和论证。

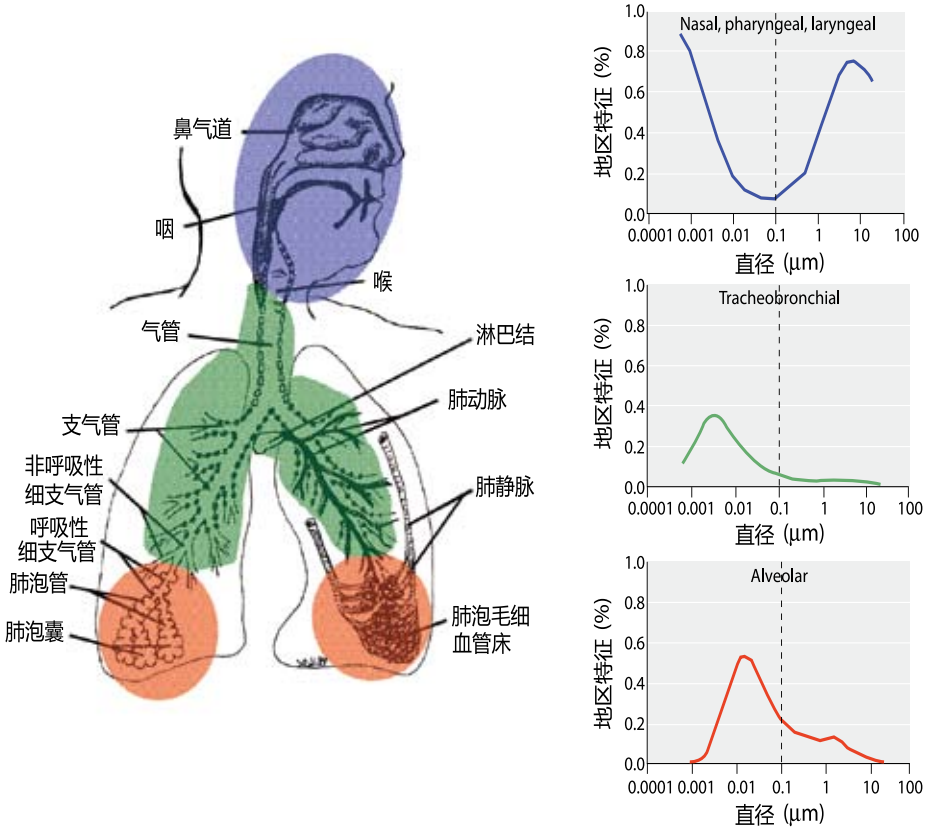

图8 鼻式呼吸时，吸入的颗粒物在人呼吸道的鼻咽部、气管和肺泡区域沉积百分数的估测。这一估测是依据国际放射防护委员会（International Commission on Radiological Protection, 1994）的数据。该图由J. Harkema绘制。

进入和靶向组织的门户

NSPs毒性的大部分体内研究是在哺乳动物系统进行的，研究的重点是呼吸道系统暴露，以验证UFPs能造成严重的健康影响这一假设。对于NPs来说，还必须考虑到其他的暴露途径，如皮肤和胃肠道，这些都额可以作为NPs进入体内的潜在门户。侵入门户特异性的防御机制能够保护哺乳动物免受有害物质的侵害。但是，如下文所述，这些防御系统未必对NSPs有效。

呼吸道

要想了解气传颗粒吸入后在有机体内的剂量，需要这些颗粒物沉积及其在体内代谢迁移转运的信息。在此，我们关注的是纳米材料吸入后在呼吸道内和呼吸道外的命运。NSPs和大尺寸的颗粒物在呼吸道内沉积和清除行为方面的差异性非常显著[参见在线出版的本文的补充材料（http://ehp.niehs.nih.gov/members/2005/7339/supplemental.pdf）]。

NSPs吸入后的高效沉积。由于NSPs吸入后与气道的空气分子发生碰撞而发生漂移，因此其在呼吸道内沉积的主要机制是弥散。其他的沉积机制，如惯性碰撞、重力沉降和拦截，对于大颗粒物来讲是很重要的，但对于NSP来讲却不起什么作用，只有当NSPs带有电荷时，才会发生电除尘的现象。图8显示了颗粒物吸入后在人类呼吸道的鼻咽部、气管支气管和肺泡区的部分沉积情况，这是在静止状态下采用鼻式呼吸的前提下，用预测性数学模型计算出来的（International Commission on Radiological Protection 1994）。这些预测适用于适当尺寸的单粒子颗粒物，而不使用于粒子团，后者显然会有更大的粒径以及不同的沉积部位。在呼吸道的三个区域，不同大小的NSPs（1~100 nm）沉积的量显著不同。例如，粒径为1 nm的颗粒物吸入后，90%沉积在鼻咽部，只有大约10%沉积于气管支气管区域，而肺泡区几乎没有任何沉积。然而，粒径为5 nm的颗粒物吸入后，在呼吸道的三个区域的沉积量基本上都是30%；而粒径为20 nm的颗粒物则主要沉积在肺泡区（沉积率超过50%），而在气管和鼻咽部

的沉积率约15%。这些沉积效率的不同应该可以用于解释不同粒径NSPs吸入后所引起的潜在影响，以及他们在肺外器官的沉积情况（下面会进一步讨论这一问题）。

呼吸道内NSPs的处置。上一节我们总结的数据表明，吸入的不同粒径的NSPs可沉积到呼吸道的所有三个区域。存在于呼吸道的几个防御机制旨在让粘膜表面免受细胞碎片和吸入后沉积的颗粒物的影响。几篇综述总结了众所周知的、经典的沉积颗粒物的清除机制和途径（Kreyling和Scheuch 2000; Schlesinger 等人 1997; U.S. EPA 2004），所以这里我们只简单地提一下这些机制，并就吸入NSPs指出他们之间存在的具体差异[参见在线出版的本文的补充材料（http://ehp.niehs.nih.gov/members/2005/7339/supplemental.pdf）]。

表3 呼吸道吸入的固体颗粒物的清除机制。

物理清除过程（迁移）
纤毛运动（鼻、气管支气管）
巨噬细胞吞噬（气管支气管、肺泡）
上皮细胞内吞作用（鼻、气管支气管、肺泡）
间质性易位（气管支气管、肺泡）
淋巴引流（气管支气管）
血液循环（气管支气管、肺泡）
感觉神经元（鼻、气管支气管）
化学清除过程[a]
溶出度
浸出
蛋白结合

[a]鼻、气管支气管和肺泡区域。

相对于大粒径的颗粒物来讲，NSPs沉积于呼吸道以后似乎易于转运到肺外组织，并通过不同的途径和机制到达其他的靶器官内。其中一条途径是，NSPs通过跨细胞转运，从呼吸道上皮转运到间质组织，然后直接或通过淋巴管进入到血液循环，导致其遍布全身。另一个是没有被普遍承认的机制，是NSPs独有的机制，是指NSPs被气道上皮内的感觉神经末梢所摄取，随后经轴突转运至神经节和中枢神经系统结构。

经典的清除途径。

沉积在呼吸道内的颗粒物的清除过程基本是通过如下两条途径（见表3）：*a*）颗粒物通过不同的机制进行物理转运；*b*）化学清除过程。浸出指的是颗粒物中元素的损耗（例如，石棉纤维中的钠离子溶解在细胞内外环境中）。在有生物溶解性的颗粒物或颗粒物成分中，化学溶解是不可避免的，要么是脂溶性的，要么是可溶于细胞内和细胞外液。然后，溶质和可溶性成分可吸收、扩散或与蛋白质和其它亚细胞结构结合，可能最后能够从呼吸道中被清除，进入到血液和淋巴循环。生物可溶性材料的化学溶解可能发生在呼吸道三个区域的任何部位，但取决于局部细胞内、外条件（pH值），其化学溶解程度是不同的。相反，吸入颗粒在呼吸道内的物理转运过程是多种多样的，在呼吸道的三个区域也是不同的。图9总结固体颗粒物的清除过程。正如下文讨论的那样，不同粒径的固体粒子之间存在明显的差异，使得对某些粒径的颗粒物有效的清除机制，未必对其他尺寸的颗粒物有效。

肺泡巨噬细胞吞噬沉积的颗粒物是固体颗粒物从肺泡区域被清除的最普遍机制。在颗粒物沉积部位，肺泡巨噬细胞的趋化作用使得其能够顺利地清除颗粒物（Warheit 等人 1988）。趋化信号最有可能是补体蛋白5a（C5a），是肺泡表面表达的血清蛋白的补体级联活化产物（Warheit 等人 1986; Warheit和Hartsky 1993）。随后，巨噬细胞通过黏膜纤毛活动梯对颗粒物进行逐渐内化。在这种清除机制下，固体颗粒在肺泡区域的留存半衰期，大鼠约为70天，而人类可达700人。这一清除机制的作用效率高度取决于肺泡巨噬细胞“感知”沉积颗粒物、移动到颗粒物沉积位点然后将他们吞噬的效率。这个沉积颗粒物的吞噬过程需要几个小时，因此，颗粒物在沉积于肺部6–12小时后，基本上所有的粒子都能被肺泡巨噬细胞所吞噬，随后被上述所讲的缓慢的肺泡清除系统清除出肺部。然而，在肺泡巨噬细胞介导的颗粒物清除级联反应中，不同粒径的颗粒物存在着显著的差异。

图10显示的是不同粒径颗粒物（分别经气管内滴注3 μm和10 μm的颗粒物，以及10 μg和40 μg聚苯乙烯粒）暴露的几项大鼠实验的研究结果（Kreyling 等人 2002; Oberdörster 等人 1992b, 2000; Semmler 等人 2004）。气管滴注24个小时后，取大鼠的肺组织进行肺灌洗，反复多次，肺灌洗液中检出的巨噬细胞数是早期灌洗实验得到的巨噬细胞总数的80%（Ferin 等人 1991）。如图10所示，粒径为0.5 μm、3 μm和10 μm的颗粒有80%可与巨噬细胞一起被灌洗出来，而粒径为15~20 nm和80 nm的颗粒物，只有20%能与巨噬细胞一起被灌洗出来。实际上，在肺灌洗后，

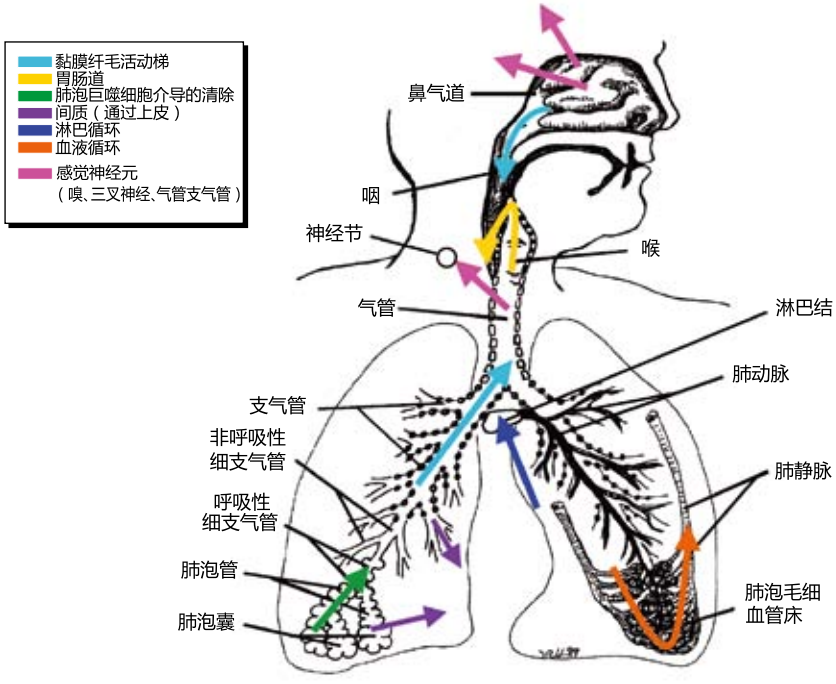

图9 颗粒物进出呼吸道的清除（处置）途径。这些途径在NSPs和大尺寸颗粒物之间有着显著的差异（参见“呼吸道NSPs的处置”章节）。该图由J. Harkema绘制。

大约80%的UFPs被继续保留在肺组织中，而只有20%的粒径 > 0.5 μm的大颗粒仍保留在灌洗过的肺组织中。这表明，NSPs或者存在于上皮细胞内，或者已进一步迁移到间质组织中[参见在线出版的本文的补充材料（http://ehp.niehs.nih.gov/members/2005/7339/supplemental.pdf）]。

颗粒物在上皮内的迁移。很显然，肺泡巨噬细胞吞噬NSPs的效率十分低下，因此，人们猜想上皮细胞不参与这些粒子在呼吸道内的处置过程。但事实上，一些研究结果表明，沉积在呼吸道内的NSPs容易进入到上皮及间质组织中。PTFE超细烟雾的研究也显示了这一点：暴露于PTFE烟雾15分钟后，在传导性气道的间质和粘膜下部位，以及靠近胸膜肺外间质中均发现了含氟颗粒（Oberdörster G 2000）。这种间质易位表明颗粒物的靶向位点从肺泡区域转向了间质，可能在该部位造成直接的损害。

在一项评估TiO_2颗粒[从颗粒到颜料级TiO_2（12~250 nm）]所致肺部炎症反应的研究中，惊人的发现是，气管内滴注不同剂量的TiO_2颗粒24小时以后，高剂量组反而出现了较低的毒性效应（Oberdörster 等人 1992a）。在较高剂量（用颗粒物的表面积浓度表示）的染毒组，超过50%的纳米TiO_2能到达肺间质，引起了其所造成的炎症反应从肺泡区域转移到了间质组织，这一额外发现解释了高剂量低效应的现象[参考在线出版的本文的参考材料（http://ehp.niehs.nih.gov/members/2005/7339/supplemental.pdf）]。与220 nm和250 nm相比，12 nm和20 nm的粒径较小，这也意味着它们要比NSPs的粒子数量多3个数量级，这似乎是颗粒物在肺泡上皮内易位的一个重要的决定因素，就像剂量和剂量率也是其决定因素一样（Ferin 等人 1992）。由于细颗粒物跨越肺泡上皮细胞进入间质组织的这种易位作用在大型动物（狗、非人灵长类动物）比在啮齿动物中更为重要（Kreyling和Scheuch 2000; Nikula 等人 1997），因此可以合理地假定，在大鼠体内发现的NSPs的这种高迁移率也会发生在人类当中[参见在线出版的本文的补充材料（http://ehp.niehs.nih.gov/members/2005/7339/supplemental.pdf）]。

颗粒物在循环系统内的迁移。颗粒物一旦到达肺间质，就会被吸收进入血液循环，而不是淋巴通路；这条途径也是依赖于颗粒物的大小，NSPs更容易进入血液循环。Berry 等人（1977）首次描述了NSPs穿越肺泡上皮的现象，使用的方法是30 nm金颗粒气管内灌注大鼠。暴露后30分钟，研究者发现肺毛细血管的血小板上存有大量的金颗粒；研究人员认为，这是颗粒物吸入后被机体清除的一条途径，对于将最小的空气污染物微粒——特别是烟草烟雾粒子——转运到远处器官是颇具意义的。他们还推测这一途径“可能易造成血小板的聚集，从而引起微血栓动脉粥样硬化的形成”（Berry 等人 1977）。

此后，许多针对不同类型颗粒物的研究也证实了这种迁移途径的存在，表4总结了这些研究结果。总的来说，这些研究表明，颗粒物尺寸和表面（涂层）化学特性可能是决定其穿越上皮和内皮细胞层的主要因素。特别要提到的是，Metha等于2004年总结的那些研究，以及Heckel等人于2004年进行的给啮齿类动物静脉注射有白蛋白包被的金纳米颗粒的研究，均证明了颗粒物能通过细胞膜表面的穴样内陷（胞膜窖）进行受体介导的细胞转运（白蛋白结合蛋白）（图11）。这些细胞膜表面的穴样内陷，是50~100 nm的小囊，最先是由Simionescu等人报道（1975），由质膜凹陷所形成，并被caveolin-1蛋白所包被。作为血浆和间质中含量最为丰富的蛋白，白蛋白似乎有益于NP的内吞作用，卵磷脂（磷脂的一种）也有这样的作用：即使是240 nm的聚苯乙烯颗粒，当涂被上卵磷脂后，就可以轻松穿越肺泡毛细管屏障，而没有涂被卵磷脂的颗粒则不能穿越这一屏障（Kato 等人 2003）。因此，存在于肺泡上皮组织液的白蛋白和卵磷脂，可能是促进上皮细胞摄取沉积于肺泡的NSPs的重要成分。

Rejman 等人（2004）综述了不同物质内化作用的若干条胞吞途径，包括吞噬、巨胞饮、网格蛋白介导的内吞作用和胞膜窖介导的内吞作用。他们在体外的非吞噬细胞研究中发现，< 200 nm的胶乳微球主要通过覆有网格蛋白的小窝进行内化，而在胶乳颗粒的粒径增加到500 nm时，胞膜窖介导的内吞作用成为其主要的途径。然而，正如表4所示，对于表面涂被白蛋白的NSPs，即使是最小的粒子，也是通过胞膜窖介导的内吞作用进行内化。不同细胞的胞膜窖是不同的：在肺毛细血管和肺泡I型上皮细胞上，胞膜窖的含量最为丰富，但脑毛细血管上则没有胞膜窖的存在（Gumbleton 2001）。随着肺泡壁吸气扩张和呼气收缩，肺组织的细胞膜表面约40 nm的穴状凹陷消失和重复出现，这被认为是大分子物质穿越细胞的途径（Patton 1996）。

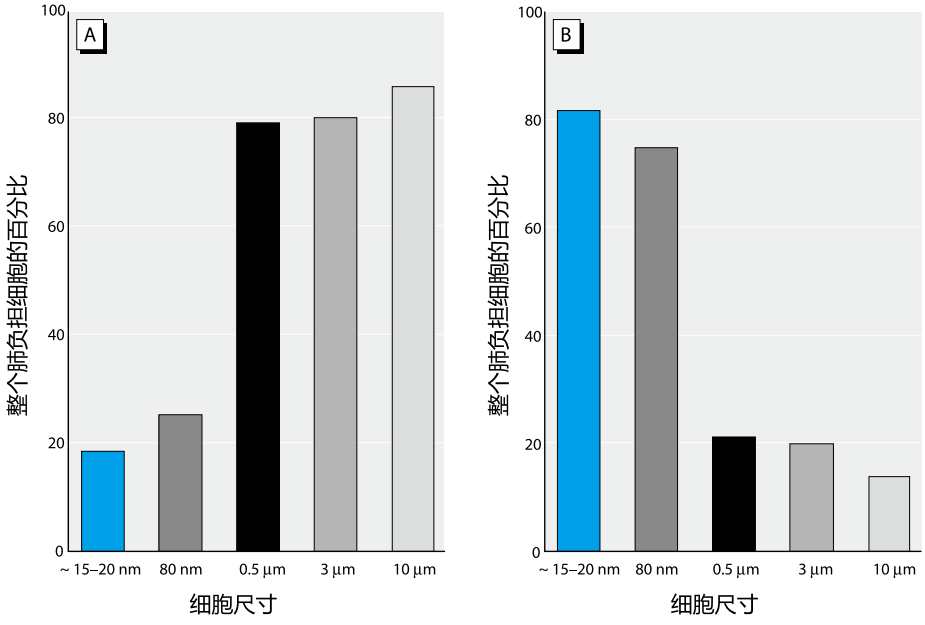

图10 吸入后24小时，纳米颗粒和大尺寸颗粒物在肺泡巨噬细胞（A）和被彻底灌洗的肺组织（上皮及间质内的留存；（B）24小时内的留存情况。肺泡巨噬细胞是阻止细、粗颗粒物进入肺泡的最重要的防御机制，但吸入的单个NSPs不能被肺泡巨噬细胞有效地吞噬。

关于生物性NSP（病毒）通过覆有网格蛋白的小窝和胞膜窖机制进入细胞的病毒学知识，参考（Smith和Helenius 2004），可以有助于揭示工程纳米颗粒进入细胞并与亚细胞结构发生作用的机制。

吸入的NSPs进入血液循环的人类学证据并不明确。一项研究显示，在吸入99Tc标记的22nm碳颗粒后，碳颗粒快速出现在血液循环中，并在人体肝脏中能观察到其显著富集（Nemmar 等人 2002a），而在另一项研究中，虽然使用了相同的标记颗粒，却没有这种碳颗粒在肝脏中富集的报告（ Brown 等人 2002）。考虑到从动物实验和人类研究中收集到关于NSPs在肺泡内外迁移的所有证据，我们认为人体很可能也存在这一途径；但颗粒物肺外迁移的程度高度依赖于颗粒物的表面特征/化学特性，而不是粒子的大小。颗粒物迁移进入血液循环可以作为颗粒物对心血管系统直接作用的一个机制，从而用于解释流行病学研究观察到的吸入UFPs后的心血管效应（Pekkanen 等人 2002; Wichmann 等人 2000），和临床研究中观察到的元素碳UFPs吸入后的血管反应（Pietropaoli 等人 2004）。除了NSPs在肺泡的迁移作用之外，其对心血管的影响也可能是一系列反应的必然结果，先是颗粒物诱发肺泡炎症，启动了全身的急性期反应，导致血液凝血的改变，最终对心血管产生不良影响（Seaton 等人 1995）。

一旦NSPs迁移入血液循环，它们就可以遍布全身。颗粒物经Kupffer细胞摄取后，肝脏是其主要的分布部位，其次是另一个网状内皮系统——脾脏，尽管包被有聚乙二醇（PEG）的NSPs几乎完全不进入肝脏和脾脏，而分布于其他的器官（Akerman 等人 2002）。也有报道表明NSPs进入体内后，分布于心脏、肾脏和免疫调节器官（脾、骨髓）。例如，从10 nm到240 nm不等的NPs，静脉注射入小鼠后，大部分分布于骨髓中（表5）。这种靶器官特异性可能对于药物传输是极其宝贵的，例如，将药物输送到中枢神经系统，必须对NPs表面进行修改以促进其能够通过特定的受体穿过血脑屏障（例如，在NPs表面包被载脂蛋白，使得其能够通过低密度脂蛋白（LDL）受体介导的内吞作用进入脑毛细血管内）（Kreuter 2001, 2004; Kreuter 等人 2002）。在使用NP药物传输系统时，必须仔细权衡它的利弊，以防止其对靶向细胞所带来的潜在细胞反应，必须对其进行严格的毒理学评估[参见在线出版的本文的补充材料（http://ehp.niehs.nih.gov/members/2005/7339/supplemental.pdf）]。

神经细胞的摄取和转运。呼吸道内的固体颗粒物经神经轴突迁移，只有NSPs具有这种作用。表6总结了经轴突迁移的代表性研究。研究者在60多年前就已经观察到这一途径的存在，但除了毒理学家之外，很少或根本没有人对之加以关注。图9所示的这条通路，鼻咽区和气管支气管区包含了嗅觉的感觉神经末梢和三叉神经末梢，以及气管支气管区错综复杂的感觉神经末梢网络。这些早期的研究主要是30 nm脊髓灰质炎病毒滴鼻黑猩猩和恒河猴的系列研究（Bodian和Howe 1941a, 1941b; Howe和Bodian 1940）。他们的研究显示，嗅神经和嗅球事实上是脊髓灰质炎病毒颗粒滴鼻后进入中枢神经系统的门户，随后可在嗅球部位重新收获病毒颗粒。鼻腔的嗅粘膜和嗅球之间距离非常近，因此需要经神经传输的距离很短（图12）。Bodian和Howe（1941b）确定了病毒在轴突的轴浆内的运输速度为每小时2.4 nm，这一速度与后来Adams和Bray（1983）将固体颗粒物（最大粒径500 nm）显微注射入蟹的巨轴突后，测得的神经元传输速度非常吻合，也与de Lorenzo（1970）用镀银胶体金（50 nm）染毒松鼠猴后测得的神经元传输速度吻合。

de Lorenzo（1970）的研究表明，镀银胶体金颗粒（50 nm）滴鼻松鼠猴后，颗粒物自嗅觉

表4 与颗粒物大小和表面化学性质相关的肺泡毛细血管迁移。

颗粒物大小(nm)	颗粒物类型	迁移	定位/效应	资料来源
5–20	金、白蛋白包被	Yes	通过细胞膜穴样凹陷（胞膜箬）	Mehta et al. 2004
8	金、白蛋白包被	Yes	通过“囊泡”	König et al. 1993
8	金、白蛋白包被	Yes	通过细胞膜穴样凹陷	Heckel et al. 2004
18	铱	Yes[a]	肺外器官	Kreyling et al. 2002
30	金	Yes	血小板？	Berry et al. 1977
35	碳	Yes	肝脏	Oberdörster et al. 2002
60	聚苯乙烯[b]	Yes	血栓形成，早期的	Nemmar et al. 2002b Silva et al., in press
60	聚苯乙烯	?	无血栓形成	Nemmar et al. 2002b
80	铱	Yes[a]	肺外器官	Kreyling et al. 2002
240	聚苯乙烯，卵磷脂	Yes	单核细胞	Kato et al. 2003
240	聚苯乙烯，未包被	No		Kato et al. 2003
400	聚苯乙烯	No	无血栓	Nemmar et al. 2003

? 为不知道
[a] 为最低限度 [b] 为间接证明

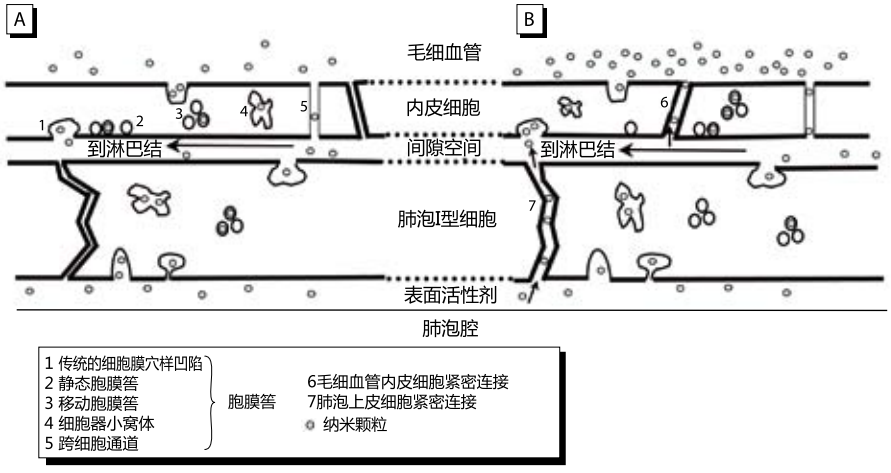

图11 不同形式的胞膜囊泡和细胞紧密连接是颗粒物迁移穿越细胞层的机制。根据颗粒物表面化学性质的不同，NSPs已显示出穿越I型肺泡上皮细胞和毛细血管内皮细胞的作用（表4），但不能通过健康状态下的细胞紧密连接（A）。然而，在损害或疾病状态（如内毒素暴露；B）下，NSPs也可穿过扩大的细胞紧密连接（Heckel 等人 2004）。这表明，在细胞受损状况下，评估NSPs的潜在影响是纳米毒理学的重要内容。改编自Cohen 等人（2004）。

神经轴突顺行迁移到嗅球部位。甚至在滴鼻1小时后，50 nm的金粒子能穿过嗅觉小球突触到达冠状细胞树突。该研究一个有趣的发现就是，到达嗅球部位的NSPs不再自由地散布在细胞质中，而是优先选择定位于线粒体中，这一现象对于其潜在的不良影响是颇为重要的（参见上述的“NSP毒性的活性氧机制”）。

新的研究表明，吸入的NSPs进入体内后也存在这种迁移途径。吸入13C标记的UFPs后（CMD=35 nm），第一天嗅球内的13C显著增加，直至暴露后7天，都维持这一增加趋势（Oberdörster 等人 2004）。另一项吸入研究是用纳米级（CMD=30 nm）锰氧化物（MnO_2）固体颗粒染毒大鼠，结果表明，暴露12天后，嗅球内的锰显著增加逾3.5倍，而肺部的锰仅增加1倍。当6小时暴露期内，将一只鼻孔塞住，那么嗅球内锰的增加仅限于没被堵住的那侧鼻孔（图13）（Feikert 等人 2004）。这一结果与吸入大尺寸二氧化锰（MnO_2）粒子的结果向对立，MnO_2颗粒（空气动力学直径中位数为1.3 μm和18 μm）吸入染毒大鼠15天，没有发现嗅锰有显著增加（Fechter 等人 2002）。鉴于嗅神经丝（形成嗅神经）轴突直径仅为100~200 nm（de Lorenzo 1957; Plattig 1989），这一结果是在预料之中的。

总的来说，这些研究指出，人类在环境和职业条件下接触气传NSPs，其嗅觉神经通路也应被视为是NSPs进入中枢神经系统的门户。但是，啮齿动物和人类之间存在非常重要的差别。在人类，鼻腔中嗅黏膜仅占总鼻腔粘膜表面的5%，而大鼠的嗅黏膜则占到总鼻腔粘膜表面的50%，其他都是强制的鼻呼吸者（表7）。因此可以认为，在嗅觉发达的动物体内，嗅觉途径可能是NSPs吸入后迁移到中枢神经系统的一个重要途径，但对嗅觉系统并不特别发达的人类，其重要性值得怀疑。不过，使用预测性颗粒物沉积模型估算得到的数值，以及表7的数据表明，20 nm颗粒物吸入后迁移到人类的嗅球部位的浓度的确是大鼠的1.6~10倍[参见在线出版的本文的补充材料（http://ehp.niehs.nih.gov/members/2005/7339/supplemental.pdf）]。

大鼠吸入可溶性锰后，可能会发生锰迁移至深部大脑结构的现象（Gianutsos 等人 1997），但需要进一步的研究，以确证该现象是否存在于NSPs固体颗粒物中。病毒学家积累的知识进一步确证了NSPs能在人体内沿着轴突和树突进行迁移。对于病毒学家来讲，他们早已知晓人类脑膜炎病毒能通过嗅觉和三叉神经元进行迁移，同样，疱疹病毒能沿着三叉神经向上和向下运动，从而引发唇疱疹在人类中的爆发（Kennedy和Chaudhuri 2002; Terasaki 等人 1997）。

NSPs固体颗粒的另一条神经迁移途径是通过三叉神经和气管支气管感觉神经（表6）。Hunter和Dey的研究（1998）表明，罗丹明标记的微球（20~200 nm）滴鼻大鼠，微球可通过三叉神经的视神经分支和上颌支的摄入，迁移至颅骨的三叉神经节内，而整个鼻粘膜中的感觉神

表5 NSPs从小鼠的血液循环迁移至骨髓。

颗粒物大小	颗粒物类型	研究发现	资料来源
~10 nm	聚乙二醇量子点	量子点快速出现在肝、脾、淋巴结和骨髓（小鼠）中	Ballou et al. 2004
< 220 nm	金属富勒烯	进入肝脏后，在骨髓的聚集性最强；在骨髓越积越多，而肝脏则越来越少（小鼠）	Cagle et al. 1999
90–250 nm	人血清白蛋白（HSA）包被的聚乳酸纳米颗粒	明显聚焦于骨髓，其次是肝脏（大鼠）	Bazile et al. 1992
240 nm	聚苯乙烯（不可生物降解） 聚氰基丙烯酸正丁酯（可生物降解）	快速通过骨髓的内皮细胞，被组织中的吞噬细胞所摄取（小鼠）	Gibaud et al. 1996, 1998, 1994

HSA, 人血清蛋白

表6 呼吸道的UFPs经神经迁移的研究。

资料来源	研究
Bodian and Howe 1941	脊髓灰质炎病毒（30 nm）滴鼻黑猩猩后，可沿嗅神经轴突迁移；迁移速率为2.4 mm/hr
de Lorenzo 1970	50 nm银包被的金颗粒滴鼻松鼠猴后，可沿嗅神经轴突迁移；迁移速率为2.5 mm/hr
Hunter and Dey 1998	使用微球颗粒从鼻上皮逆行追踪三叉神经
Hunter and Undem 1999	罗丹明标记的微球（20~200 nm）气管内滴注仓鼠，可经气管支气管区域的感觉神经迁移至神经结节
Oberdörster et al. 2004	大鼠全身吸入性暴露于^{13}C颗粒（粒数中位径~36 nm）后，在嗅球内检测到^{13}C颗粒

TB, 气管支气管区域

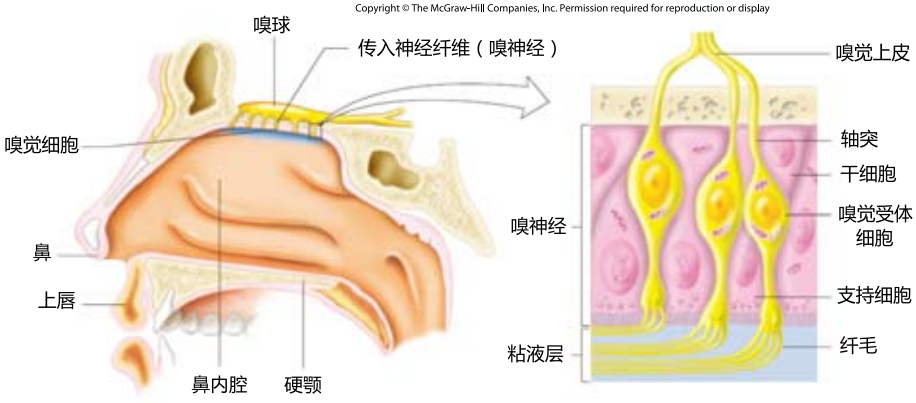

图12 中枢神经系统的嗅黏膜及邻近的嗅球。吸入的NSP[s]，特别是粒径小于10 nm的NSPs，通过扩散作用有效地沉积在嗅黏膜，就像空气中的“气味”分子沉积在嗅树突状纤毛区一样。随后的固体NSPs吸收和沿嗅神经转运已在非人类的灵长类动物和啮齿动物中北证明。颗粒物的表面化学性质可能会影响到其神经迁移。McGraw–Hill公司版权所有©。经McGraw-Hill获许，转载自Widmaier 等人（2004）。

经末梢，几乎都是三叉神经的分支。在Hunter和Undem的另一项研究（1999）中，将同样的微粒经气管滴注到豚鼠中，他们发现这些固体微粒可以经神经迁移到颈部迷走神经系统的结状神经节中。流行病学研究发现，大气颗粒物暴露与心血管疾病间的关联性部分归因于UFPs能通过呼吸道的感觉神经迁移到自主神经系统并直接影响到自主神经系统的功能（Utell等。2002年），因此Hunter等人的这一发现可能也能应用于大气UFPs的部分原因。

在谈到包括大气UFPs在内的空气污染物对中枢神经系统的潜在影响时，有必要提一下最近的两项小鼠暴露于富集的大气细颗粒物和UFPs的研究。Campbell 等人（2005）和Veronesi 等人（待出版）发现了肿瘤坏死因子α的显著增加，或多巴胺能神经元的减少，这一发现支持了大气PM能引起神经退行性病变的假说。Calderon-Garcidueñas 等人的研究（2002）也发现了空气污染与中枢神经系统影响之间的有趣关联：研究者们在墨西哥城的重度污染地区，发现犬的嗅粘膜、嗅球及大脑皮质和皮质下结构有明显的炎症或神经退行性改变，而在作为对照的、污染较少的农村地区，犬类并没有出现这些改变。不过，大气UFPs是否是这些影响的直接原因，这仍有待确定。

虽然已经明确NSPs可发生神经迁移，但颗粒物的粒径大小只是决定其神经迁移过程的其中一个参数。NSPs的表面特性（化学性质、电荷、形状、聚集性）也是重要的决定因素。不能认为所有的NSP，吸入后在体内的分布机制都是一样的。我们应该牢记的是，NSPs独特的生物动力学行为——细胞内吞作用、细胞转运、神经元和循环系统迁移及分布（这些都是医学治疗和诊断中可取的特性）——可能与其潜在毒性存在关联。例如，NP易化的药物传输系统，当其进入大脑中特定的细胞类型或亚细胞结构后，存在能否影响中枢神经系统的问题。举例来说，进入线粒体后是否会诱导氧化应激的产生？NPs的涂层或核是否持久稳定？要解决这些问题，关键是需要对其安全性进行评估[参见在线出版的本文的补充材料（http://ehp.niehs.nih.gov/members/2005/7339/supplemental.pdf）]。

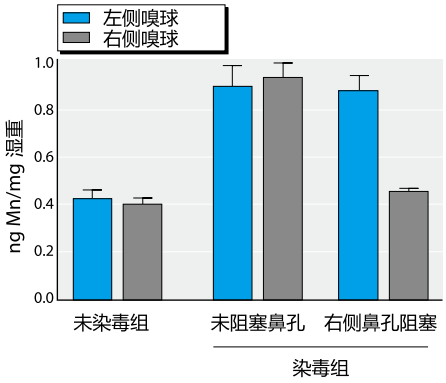

图13 将大鼠右鼻孔堵塞后，二氧化锰纳米颗粒（~ 30 nm，粒数中位径~450 μg/m3）吸入染毒6小时，染毒后24小时，检测发现Mn只累积在左侧嗅球部位。数据表示为平均值±标准差。数据来自于Feikert 等人（2004）。

通过胃肠道和皮肤接触NSPs

通过黏膜纤毛活动梯从呼吸道清理出来的NSPs，随后会进入到胃肠道中。另外，若食物或水中含有纳米材料，或者化妆品中用到纳米材料，抑或是作为药物或药物传输器件使用的纳米材料，都可以直接被胃肠道摄入。只有少数的研究调查了纳米材料在胃肠道内的吸收和分布情况，大多数的研究结果都表明，NSPs能穿过胃肠道并被快速排出体外。大鼠经口染毒放射性标记的功能化C_{60}富勒烯，用聚乙二醇（PEG）和白蛋白使其变为水溶性（18 kBq/100μL），

表7 大鼠与人体的鼻腔和嗅觉参数比较。

参数	大鼠	人
呼吸模式	鼻式呼吸	鼻式/口鼻式呼吸
鼻粘膜区	~16 cm^3	~105 cm^2
嗅粘膜区（占总粘膜的百分比）	~8 cm^3 (50)	~5.25 cm^2 (5)
有嗅粘膜的鼻气道百分数	~15	~10
嗅球重量	~85 ng	~168 ng

Based on Keyhani et al. (1997), Kimbell et al. (1997), and Turetsky et al. (2003).

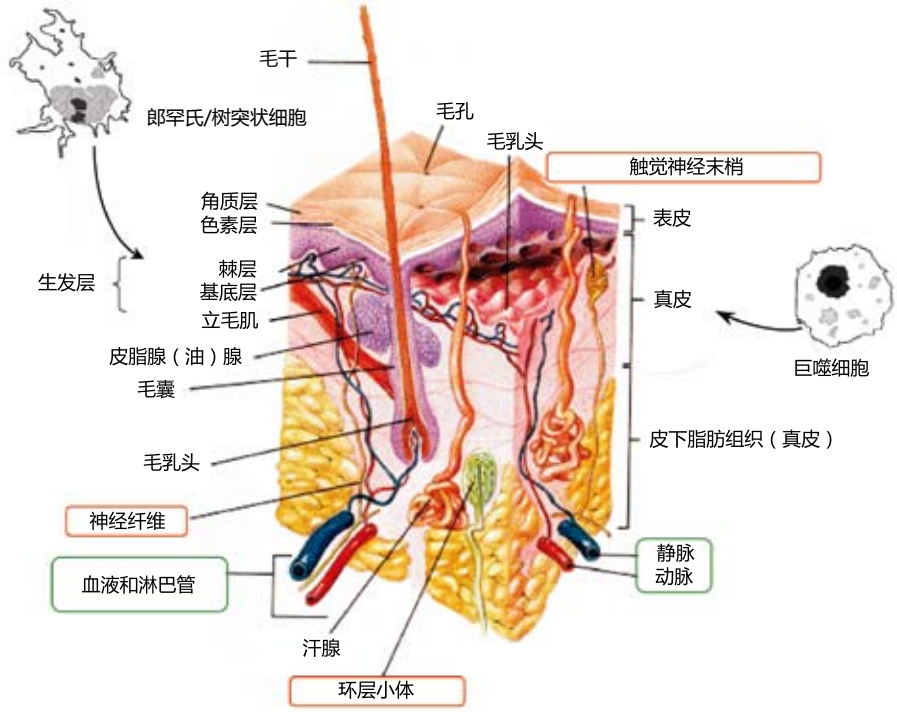

图14 表皮是阻止NSP渗透的紧密屏障。从数量上看，正常情况下不会出现皮肤迁移，或经皮肤迁移的可能性最小，但在皮肤弯曲部位（Tinkle 等人 2003）和破损皮肤区，经皮肤迁移的可能性会增加。一旦进入真皮，淋巴吸收是一个主要的迁移途径，可能会促进在树突状细胞（表皮）和巨噬细胞对NSPs的摄取；其他潜在途径可能包括血液循环和真皮感觉神经。摘自www.essentialdayspa.com授权的Essential Day Spa（2005）。

染毒后48小时内，有98%的富勒烯随粪便排出体外，而其余的则随尿液排出，这表明有一些富勒烯被吸收入血液循环（Yamago 等人 1995）。相比之下，在同一研究中，经静脉注射方式进入大鼠体内的放射性富勒烯（9.6 kBq/50 μL或14~18 kBq/215 μL），在染毒一周后，90%仍能在体内检测到，其中大多数（随着时间的长短，有73~80%不等）在肝脏中被检测到。Kreyling和他的同事（Kreyling 等人 2002; Semmler 等人 2004）对超细192Ir进行的研究结果表明，胃肠道对192Ir的摄取并不明显，而以前的研究则显示，较大的TiO_2颗粒（150~500 nm）能被吸收入血液并转移到肝脏（Böckmann 等人 2000; Jani 等人 1994）。有可能胃肠道吸收的差异既依赖于颗粒物表面的化学性质，也依赖于颗粒的大小。事实上，在大鼠经口染毒聚苯乙烯颗粒后，Jani 等人（1990）发现，胃肠道黏膜对颗粒的摄取依赖于颗粒物的大小（从50 nm到3000 nm不等），聚苯乙烯颗粒主要是通过回肠内集合淋巴结（Peyer's patches）摄取（50 nm大小的NSP摄取率为6.6%，100nm的NSP摄取率为5.8%，1μm颗粒物的摄取率为0.8%，而3μm大小的颗粒则不能被胃肠道所摄取），然后被转移到肠系膜淋巴结，再到全身器官（即，肝、脾、血液、骨髓和肾脏）。

皮肤接触可能是颗粒物一条非常重要的摄取途径。由外层的角质层（角质层）、棘细胞层（棘层）和基底细胞层（基底层）组成的表皮，为基底真皮层形成了一个非常紧密的保护层（图14）。真皮层有丰富的血液和组织巨噬细胞、淋巴管、树突状细胞（朗罕氏细胞，也存在在于表皮的棘层）和五种不同类型的感觉神经末梢。破损的皮肤是较大（0.5~7 μm）颗粒物进入体内的一个现成门户，经常赤脚走路或跑步的人腹股沟淋巴结积聚有大量土壤颗粒就证明了这一点；这也与象皮肿患者的淋巴水肿有关（非丝虫淋巴水肿; Corachan 等人 1988; Blundell 等人 1989）。Tinkle 等人（2003）假设，未破损的皮肤在弯曲的时候——在手腕运动时——将会引起NSPs的表皮渗透。他们在概念验证性实验中证实，确实是伸缩的皮肤，而不是平坦的皮肤，导致了1 μm荧光珠子穿透表皮层进入皮肤的真皮层。前面提及的非丝虫淋巴肿的报告解答了随后的关于真皮中的颗粒物如何进入血液循环的回题，即颗粒物被淋巴系统和附近的淋巴节所摄取。NSPs继续从淋巴结迁移入血液循环也同样可能会发生，正如小石棉纤维研究结果显示的那样（Oberdörster 等人 1988）。

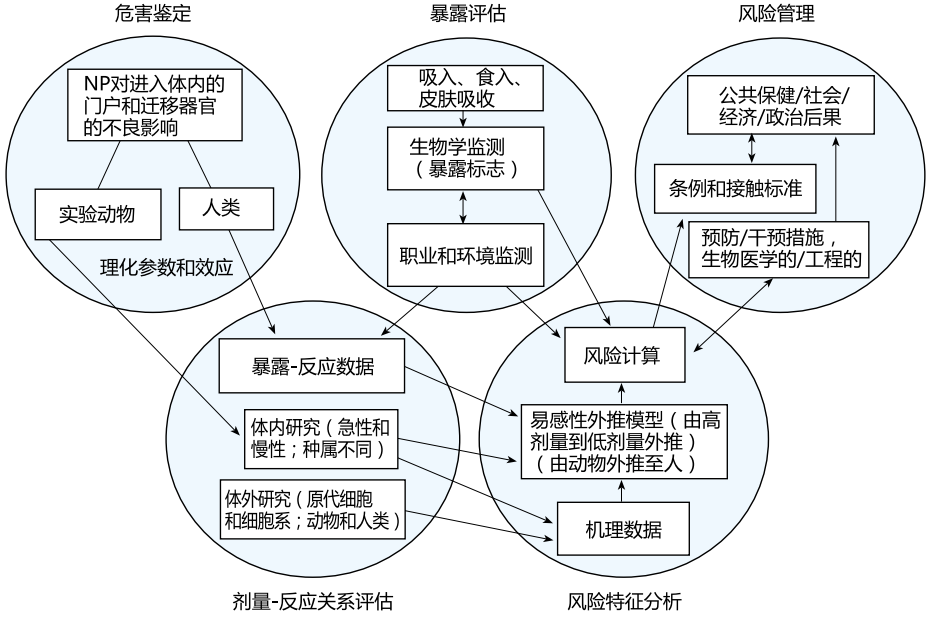

图15 NPs的风险评估（NRC 1983）和风险管理模式。风险评估要求回答以下问题：NPs能否产生不利影响？什么是剂量-反应关系？不同介质中的职业/环境暴露水平怎样？计算风险是多少？一旦风险确定，就能确定风险管理决策，包括接触标准和有效的风险沟通的规章制度和努力。改自Oberdörster（1994）。

Kim 等人（2004）近期的研究是给小鼠和猪皮内注射近红外量子点，结果确认，NPs一旦进入真皮层，将定位于局部淋巴结，使得这些粒子对于体内成像非常有用。皮肤巨噬细胞和树突状细胞（朗罕氏细胞）可能是颗粒物转运至淋巴结的机制（Ohl 等人 2004; Sato 等人 1998）；在巨噬细胞和树突状细胞吞噬NP后，存在其与T淋巴细胞间相互作用，从而引起潜在的免疫反应调节问题。例如，Chen 等人（1998）在将C60与甲状腺球蛋白和血清白蛋白偶联后，将其注射入小鼠的腹腔，能提高C60特异性抗体水平。显然，需要进行进一步的研究，以确定是否和在什么条件下，经任何途径进入机体的NPs可被免疫系统所识别。

另一个问题是，皮肤感觉神经能否摄取及转运NPs。这个机制已被证实存在于呼吸道的鼻部和气管部位，那同样的机制能发生在不同类型的的感觉神经密集的皮肤真皮层吗？鉴于肌肉注射NSPs后得到的经神经摄取和迁移的数据，答案是肯定的。例如，纳米级铁蛋白和铁葡聚糖注射到小鼠的舌头后，可在舌下神经核神经元检测到，将这些NSPs注射到小鼠面部肌肉也引起突触对颗粒物的摄入；在面部神经的细胞体也发现阳离子铁蛋白的存在，表明电荷对于轴突和轴突运输是非常重要的（Arvidson 1994; Malmgren 等人 1978; Olsson和Kristensson 1981）。肌肉注射铁蛋白（~112nm）、铁葡聚糖（11nm或21nm）金蛋白（20~25nm）NSPs的其他研究也显示，NSPs能快速通过基底膜进入神经肌肉接头的突触间隙，但这仅限于较小的纳米粒子，意味着颗粒物粒径大小可能是其能否穿透基底膜的决定因素，其阈值为10~20nm（Oldfors和Fardeau 1983）。

NSPs能够沿着皮肤感觉神经迁移已经为疱疹病毒所证实。病毒通过皮肤后——特别是破损皮肤，可沿感觉神经元的树突逆行转运到背根神经节，在那里他们仍然维持休眠状态，直到外界的应力触发其沿着树突顺行返回至皮肤（Kennedy和Chaudhuri 2002; Terasaki 等人 1997）。将来的研究需要确定，穿透表皮的NPs是否及在何种程度上能够沿皮肤感觉神经元迁移。

风险评估

工程纳米颗粒的毒理学数据的缺乏使得不能对其进行适当的风险评估。正因为如此，有些人甚至认为，工程纳米颗粒是危险的，他们必须呼吁对NPs有关研究进行预防性制止。然而，预防原则不能用来阻止有关纳米技术和NPs的研究。相反，我们应该努力在纳米技术的进一步发展和必要的潜在危险识别研究之间寻求良好的平衡，以便为风险评估制定科学的防御数据库。为此，必须对NPs对哺乳动物和生态系统的毒性有基本的了解，而不是基于一些受欢迎的科幻文学来试图评估NP的风险。最重要的是，政府机构和工业界应分配充足的资源以进行科学的风险评估，然后建立合理的风险管理程序。这一风险评估所需的数据应先验确定，使有限的资源可有效地用于发展有益的、计划周密的研究。

在这一点上，政府监管是不可能，因为缺乏进行此类监管的必要信息。然而，学术界、产业界和政府监管机构应认真考虑到，NPs具有新的、独特的生物学属性，其潜在风险与那些具有同样化学性质的大型材料是不一样的。给纳米材料贴上独特的标签，表明了处于争论中的纳米材料的毒理学特征可能与大型材料是不同的。毒理学试验和毒理学数据库将为NPs的材料安全性数据表提供信息，并将作为NP风险评估和风险管理的基础。显然，这种做法可能并不适合所有的NPs（例如，当纳米颗粒镶嵌入晶体时），需要彻底地讨论和审议这项拟议战略的可行性。为讨论这一点，以及在合理的试验基础上制定和决定其毒理学特征，召集工业界、学术界和监管机构的专家（包括材料科学家、化学家、化学工程师、毒理学家、医生、管理人员、统计学家和其他专家）召开国际性跨学科研讨会，以建立一个NPs分类框架和测试准则，将是非常有益的。多学科、多国家合作的团队方法是至关重要的。美国国家标准学会[American National Standards Institute (ANSI), 2004]、国际纳米技术委员会[International Council on Nanotechnology（ICON）, 2004]和国际标准化组织（International Organization for Standardization, 瑞士日内瓦）已经开始颇具代表意义的努力。

由于许多监管机构没有考虑到用于纳米技术生产的物质与传统的物质是不同的，目前没有对纳米技术产品的制造和使用进行具体地规定。通常，纳米级物质被视为技术材料或现有工艺的改变，因此不需要对其进行单独注册。然而，将一种已注册的物质制造成纳米形式的主要原因，是将该物质转换为纳米粒子并赋予其新的属性（例如，加强了其机械、电子、光学、催化和生物学活性）。因此，如上所述，虽然该母体材料的毒理学资料已经比较明确了，但转换为纳米形式后，其毒性可能会和其母体形式发生翻天覆地的变化。因此，一种物质被生产为纳米级物质以后，其新的毒性数据可能会导致NPs危险评估完全不同。图15显示的是危险评估/风险管理模式，指出了这一评估过程中所需的不同步骤和资料。

正如前几节所述，NPs与其母体原型的毒理学特征差异，不仅可归因于其内在的化学性质，在很大程度上还归因于两者的体内动力学的不同。虽然较大的粒子可能不会进入到中枢神经系统，但吸入的NSPs可通过上呼吸道的感觉神经元轴突迁移至中枢神经系统。此外，尽管每个质量单位的颗粒物的毒性可能会因其纳米形式和非纳米形式而有所不同，但重要的是，在研究其毒性是，要考虑到的不仅是新的生物学活性，还要考虑到新的靶器官和接触途径。一种物质被加工为纳米级以后，到底能增强皮肤渗透力或肺或胃肠道的吸收能力到何种程度？是什么因素决定了进入体循环的纳米颗粒有多少将遍布全身，到达骨髓，穿越血脑屏障，穿过胎盘影响后代发育，或在肝脏内有效分解？释放到环境中的纳米颗粒会影响到食物链中的那些重要物种吗？接触纳米颗粒后的长期影响是什么？我们可以预料到纳米材料带来的毒性特点变化和新的靶器官，这些信息对于建立纳米颗粒新的风险评估是必须的。目前存在的数据尚不能有效地解决这些问题，但这些数据对于确定NPs是否存在共同的作用/行为模式以用于建立风险评估的基准假设，则是非常重要的。

在未来十年内，纳米技术产品的使用将大大增加。事实上，纳米材料已应用于多个领域，从烧伤及伤口敷料到牙齿的黏结剂，从防晒油及化妆品到燃料电池、轮胎、光学产品、服装和电子产品。虽然目前只有极少部分人知道日常生活中存在的纳米技术（例如，无染服装），但是，在纳米技术被广泛采用之前，对研究和处理环境和人类健康问题，我们将采取审慎的态度。科学家们应评估纳米技术所带来的社会效益和潜在风险，并明确地就此信息与广大市民和管理部门进行沟通。这种类型的公开沟通和风险/效益评价将避免遇到最近在生物技术领域发生的基

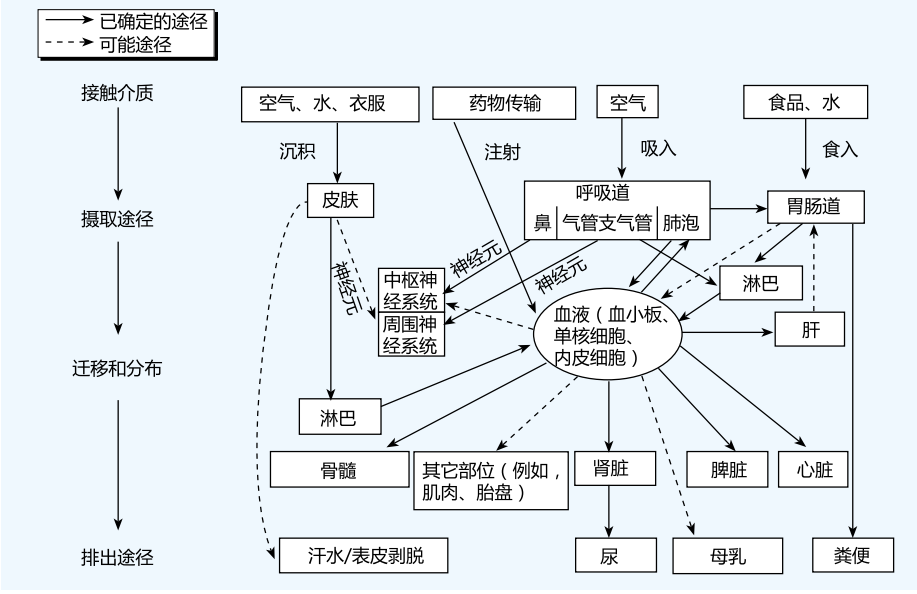

图16 NSPs的生物动力学。PNS，周围神经系统。虽然许多吸收和迁移途径已被证实，但其他途径仍然处于假设阶段，需要进一步的研究。NSPs的迁移率、在关键靶部位的累积和滞留及其机制仍不清楚。这些问题，以及其潜在的不良影响，在很大程度上取决于NSPs表面和核的理化特性。NSPs在患病或受损机体内的生物动力学的定性和定量变化，也需要进一步的研究。

因修饰生物这类的问题。在转基因生物这个例子中，生物技术领域的新兴技术在引进之前，其所带来的好处并没有与公众做有效沟通。随着公众对这种新技术的了解越来越多，对于公众对转基因生物可能会影响到生态系统平衡的这种关注，管理者和生物技术制造商未能做出有效应对。因此，公众对于转基因生物的支持率是很低的，尤其是在欧盟国家。对于纳米材料生产者，重要的是要证明其所生产的这种材料的健康风险确实可接受的。如果不采取这种积极措施，纳米材料可能被市民和监管者视为是危险的，可能导致对其不适当分类和不必要的繁重法规管理。这种作为（或制造商的不作为），反过来可能严重阻碍了有用纳米材料的商业化和广泛的应用。

总结和展望

环境UFPs研究为纳米毒理学的新兴领域奠定了基础，其目标是研究工程纳米材料（颗粒状、管状、壳状、量子点等）的生物动力学和潜在不良不良影响。环境UFPs与NPs间的主要差异是，前者具多分散的性质，而后者是单分散的，从粒子形态来看，尽管也生产其他形状（管状、线状、环状、平面状）的颗粒物，但UFPs往往是来自于燃烧颗粒物的分支状结构，而NPs则是球形。此外，燃烧产生的挥发性有机化合物和无机成分（例如，重金属、硝酸盐、硫酸盐），UFPs不同程度地承载了这些成分，导致UFPs和NPs在毒理学特征上存在差异。然而，至于不溶性颗粒而言，NSPs的动力学特征（包括细胞的相互作用）很可能是在UFPs和NPs间是相同的（图16）。

将纳米材料引入生物医学和电子领域为其应用打开了潘多拉宝盒，它可作为治疗和诊断工具应用于生物医学领域，也可应用于工程、电子、光学、消费品、替代能源、土壤/水整治等领域。然而，很少有人认识到，在无意或有意间，纳米材料可能产生不良影响或引起机体的免疫反应。在经全面测试后，纳米医药产品才会上市。但是，对于大多数现有纳米技术产品的制造商来讲，在纳米产品进入市场之前，他们需要针对纳米材料提供其具体的毒性数据，这一规定目前正处于讨论之中，尚待发展和完善（Bergeson和Auerbach 2004; Foresight和Governance Project 2003）。在产品的生命周期（生产、使用、处置）中，纳米材料可能会进入环境，目前对于NPs的生态毒理学影响的检测还没有统一的方案。此外，颗粒物表面涂层和共价表面修饰的稳定性，需要在生态环境和体内研究中加以确定。[参见在线出版的本文的补充材料（http://ehp.niehs.nih.gov/members/2005/7339/supplemental.pdf）。]

以前NSPs（主要是环境UFPs）的生物动力学研究和一些新的毒理学研究结果可作为将来纳米毒理学研究的基础资料。这些研究表明，相同的质量浓度和相同的化学性质下，NSPs的表面积比大尺寸颗粒物更大，所呈现出来的生物活性也更强；颗粒物表面积和数量似乎可成为预测NSPs引起的炎症和氧化应激反应的更好的指示物。这些研究可得出如下的纳米毒理学结论：

NSPs的生物动力学与大尺寸颗粒物是不同的。吸入后，NSPs可有效地沉积于呼吸道的所有区域；这些颗粒物能够避开特定的防御机制，可通过不同途径和机制（内吞和细胞转运）迁移出呼吸道。与皮肤接触时，有证据表明NSPs能渗透入真皮并通过淋巴循环进入局部的淋巴结。NSPs可能会被感觉神经摄取，这一点尚需继续研究。NSPs食入后，可通过淋巴进入机体，但大多数会通过粪便排出体外。进入血液循环后，NSPs可遍布全身，进入肝、脾、骨髓、心脏和其他器官。一般来说，NSPs在体内的迁移率是未知之数，可能很低，但也有可能会达到致病的水平。

NSPs的生物活性和生物动力学取决于许多参数：大小、形状、化学性质、结晶度、表面性质（表面积、孔隙、电荷、表面修饰、涂层风化）、聚集状态、生物持久性和剂量水平。这些参数可能会引起机体反应和细胞间相互作用的改变，例如可能比相同质量的大尺寸颗粒更能引起严重的炎症反应，穿越门户上皮组织迁移到其它器官，沿神经轴突和树突迁移，诱导氧化应激反应，NSPs在环境相关物种中起氧化剂和抗氧化活性，与蛋白和受体结合，定位于线粒体。

本文中讨论的细胞和有机体间相互作用的原则，适用于环境UFPs和NPs，即使是包被有生物相容性材料的NPs，也同样适用。了解颗粒物表面涂层的生物持久性与了解可能具有内在毒性的颗粒物核的生物利用度，二者是同样重要的，例如，由镉和铅化物组成的低于10 nm的量子点中的半导体金属化合物。这些材料的体积都非常小，使他们可以与此处介绍的多分散的NSPs具有相同的迁移过程，甚至由于其尺寸大小高度一致，从而使得迁移效率更为有效。在研究生物/毒理学影响时，可能会发现NSPs与亚细胞结构（例如，微管、线粒体）相互作用的新机制。纳米材料的多样性及可能产生的影响是纳米毒理学的重大挑战和研究需要，还需要评估人类在制造和使用纳米材料时的暴露状况。其目标是利用纳米材料的益处，避免其潜在的毒性作用，多学科团队的努力（包括毒理学、材料科学、医学、分子生物学、生物信息学及其亚学科的研究人员）会更好地完成这一目标。

校 正

作者发现，经胃肠道摄取NSPs的内容并未刊登在在线发表的原稿中。该部分内容已刊登在本文的“胃肠道和皮肤接触”章节中。

This translation is provided by School of Public Health, Fudan University, China. EHP strives to ensure that its foreign-language materials are faithful translations of their original English-language counterparts. Please report any problems or discrepancies to hu1@niehs.nih.gov.

References

Adams RJ, Bray D. 1983. Rapid transport of foreign particles microinjected into crab axons. Nature 303: 718-720.

Akerman MA, Chan WCW, Laakkonen P, Bhatia SN, Ruoslahti E. 2002. Nanocrystal targeting in vivo. Proc Natl Acad Sci USA 99:12617-12621.

Amato I. 1989. Making the right stuff. Sci News 136:108-110.

Anderson PJ, Wilson JD, Hiller FC. 1990. Respiratory tract deposition of ultrafine particles in subjects with obstructive or restrictive lung disease. Chest 97: 1115-1120.

ANSI. 2004. Home page. American National Standards Institute. Available: http://www.ansi.org. [accessed 16 March 2005].

Arvidson B. 1994. A review of axonal transport of metals. Toxicology 88:1-14.

Auclair F, Baudot P, Beiler D, Limasset J. 1983. Accidents benines et mortetels dus aux "traitement" du polytetrafluoroethylene en millieu industriel: observations cliniques et measures physio-chemiques des atmosphere pollues. Toxicol Eur Res 1:43-48.

Ballou B, Lagerholm BC, Ernst LA, Bruchez MP, Waggoner AS. 2004. Non-invasive imaging of quantum dots in mice. Bioconjug Chem 15:79-86.

Bazile DV, Ropert C, Huve P, Verrecchia T, Marlard M, Frydman A, et al. 1992. Body distribution of fully biodegradable [14C]-poly(lactic acid) nanoparticles coated with albumin after parenteral administration to rats. Biomaterials 13(15):1093-1102.

Bergeson LL, Auerbach B. 2004. The Environmental Regulatory Implications of Nanotechnology. Daily Environment Report No. 71. Washington, DC:Bureau of National Affairs, Inc. Available: http://www.lawbc.com/other_pdfs/The%20Environmental%20Regulatory%20Implications%20of%20Nanotechnology.pdf [accessed 26 April 2005].

Berry JP, Arnoux B, Stanislas G, Galle P, Chretien J. 1977. A microanalytic study of particles transport across the alveoli: role of blood platelets. Biomedicine 27: 354-357.

Blakemore R. 1975. Magnetotactic bacteria. Science 190:377-379.

Blundell G, Henderson WJ, Price EW. 1989. Soil particles in the tissues of the foot in endemic elephantiasis of the lower legs. Ann Trop Med Parasitol 83 (4): 381-385.

Böckmann J, Lahl H, Eckert T, Unterhalt B. 2000. Titan-Blutspiegel vor und nach Belastungsversuchen mit Titandioxid [in German]. Pharmazie 55: 140-143.

Bodian D, Howe HA. 1941a. Experimental studies on intraneural spread of poliomyelitis virus. Bull Johns Hopkins Hosp 69:248-267.

Bodian D, Howe HA. 1941b. The rate of progression of poliomyelitis virus in nerves. Bull Johns Hopkins Hosp 69:79-85.

Brand P, Gebhart J, Below M, Georgi B, Heyder J. 1991. Characterization of environmental aerosols on Helgoland Island. Atmos Environ 25A(3/4):581-585.

Brown DM, Stone V, Findlay P, MacNee W, Donaldson K. 2000. Increased inflammation and intracellular calcium caused by ultrafine carbon black is independent of transition metals or other soluble components. Occup Environ Med 57:685-691.

Brown DM, Wilson MR, MacNee W, Stone V, Donaldson K. 2001. Size-dependent proinflammatory effects of ultrafine polystyrene particles: a role for surface area and oxidative stress in the enhanced activity of ultrafines. Toxicol Appl Pharmacol 175:191-199.

Brown JS, Zeman KL, Bennett WD. 2002. Ultrafine particle deposition and clearance in the healthy and obstructed lung. Am J Respir Crit Care Med 166:1240-1247.

Cagle DW, Kenmnel SJ, Mirzadeh S, Alford JM, Wilson LJ. 1999. In vivo studies of fullerene-based materials using endohedral metallofullerene radiotracers. Proc Natl Acad Sci USA 96:5182-5187.

Calderon-Garcidueñas L, Azzarelli B, Acuna H, Garcia R, Gambling TM, Osnaya N, et al. 2002. Air pollution and brain damage. Toxicol Pathol 30(3):373-389.

Campbell A, Oldham M, Becaria A, Bondy SC, Meacher D, Sioutas C, et al. 2005. Particulate matter in polluted air may increase biomarkers of inflammation in mouse brain. Neurotoxicology 26:133-140.

Cavagna G, Finulli M, Vigliani EC. 1961. Studio sperimentale sulla patogenesi della febre da inalazione di fumi di Teflon (politetrafluoroetilene) [in Italian]. Med Lavoro 52:251-261.

Chalupa DC, Morrow PE, Oberdörster G, Utell MJ, Frampton MW. 2004. Ultrafine particle deposition in subjects with asthma. Environ Health Perspect 112: 879-882.

Chen B, Wilson S, Das M, Coughlin D, Erlanger B. 1998. Antigenicity of fullerenes: antibodies specific for fullerenes and their characteristics. Proc Natl Acad Sci USA 95:10809-10813.

Cheng X, Kan A, Tomson M. 2004. Napthalene adsorption and desorption from aqueous C60 fullerene. J Chem Engineer Data 49:675-678.

Chitose N, Ueta S, Seino S, Yamamoto T. 2003. Radiolysis of aqueous phenol solutions with nanoparticles. 1. Phenol degradation and TOC removal in solutions containing TiO2 induced by UV, gamma-ray and electron beams. Chemosphere 50:1007-1013.

Cohen A, Hnasko R, Schubert W, Lisanti M. 2004. Role of caveolae and caveolins in health and disease. Physiol Rev 84:1341-1379.

Coleman WE, Scheel LD, Gorski CH. 1968. The particle resulting from polytetrafluorethylene (PTFE) pyrolysis in air. AIHA J 29:54-60.

Corachan M, Tura JM, Campo E, Soley M, Traveria A. 1988. Poedoconiosis in Aequatorial Guinea. Report of two cases from different geological environments. Trop Geogr Med 40:359-364.

Cyrys J, Stolzel M, Heinrich J, Kreyling WG, Menzel N, Wittmaack K, et al. 2003. Elemental composition and sources of fine and ultrafine ambient particles in Erfurt, Germany. Sci Tot Environ 305:143-156.

Daughton C, Ternes T. 1999. Pharmaceuticals and personal care products in the environment: agents of subtle change? Environ Health Perspect 107(suppl 6): 907-938.

de Lorenzo AJ. 1957. Electron microscopic observations of the olfactory mucosa and olfactory nerve. J Biophys Biochem Cytol 3:839-850.

de Lorenzo AJ. 1970. The olfactory neuron and the blood-brain barrier. In: Taste and Smell in Vertebrates (Wolstenholme G, Knight J, eds). London:Churchill, 151-176.

Derfus AM, Chan WCW, Bhatia SN. 2004. Probing the cytotoxicity of semiconductor quantum dots. Nano Lett 4(1):11-18.

Dieckmann G, Dalton A, Johnson P, Razal J, Chen J, Giordano GM, et al. 2003. Controlled assembly of carbon nanotubes by designed amphiphilic peptide helices. J Am Chem Soc 125:1770-1777.

Dobson J. 2001. Nanoscale biogenic iron oxides and neurodegenerative disease. FEBS Lett 496:1-5.

Donaldson K, Brown D, Clouter A, Duffin R, MacNee W, Renwick L, et al. 2002. The pulmonary toxicology of ultrafine particles. J Aerosol Med 15:213-220.

Donaldson K, Li XY, MacNee W. 1998. Ultrafine (nanometre) particle mediated lung injury. J Aerosol Sci 29:553-560.

Donaldson K, Stone V. 2003. Current hypotheses on the mechanisms of toxicity of ultrafine particles. Ann Ist Super Sanita 39:405-410.

Donaldson K, Tran C-L. 2002. Inflammation caused by particles and fibers. Inhal Toxicol 14:5-27.

Donlin M, Frey R, Putnam C, Proctor J, Bashkin J. 1998. Analysis of iron in ferritin, the iron-storage protein. J Chem Educ 75:437-441.

Driscoll KE. 1996. Role of inflammation in the development of rat lung tumors in response to chronic particle exposure. Inhal Toxicol 8(suppl):139-153.

Dunn JR, Fuller M, Zoeger J, Dobson J, Heller F, Hamnmann J, et al. 1995. Magnetic material in the human hippocampus. Brain Res Bull 36:149-153.

Elder ACP, Gelein R, Azadniv M, Frampton M, Finkelstein J, Oberdorster G. 2002. Systemic interactions between inhaled ultrafine particles and endotoxin. Ann Occup Hyg 46(suppl 1):231-234.

Elder ACP, Gelein R, Azadniv M, Frampton M, Finkelstein J, Oberdorster G. 2004. Systemic effects of inhaled ultrafine particles in two compromised, aged rat strains. Inhal Toxicol 16(6/7):461-471.

Elder ACP, Gelein R, Finkelstein JN, Cox C, Oberdörster G. 2000. Pulmonary inflammatory response to inhaled ultrafine particles is modified by age, ozone exposure, and bacterial toxin. Inhal Toxicol 12(suppl 4):227-246.

Essential Day Spa. 2005. Skin Anatomy and Physiology. Available: http://www.essentialdayspa.com/Skin_Anathomy_and_Physiology.htm [accessed 26 April 2005].

Evelyn A, Mannick S, Sermon PA. 2003. Unusual carbon-based nanofibers and chains among diesel-emitted particles. Nano Lett 3:63-64.

Fechter LD, Johnson DL, Lynch RA. 2002. The relationship of particle size to olfactory nerve uptake of a non-soluble form of manganese into brain. Neurotoxicology 23: 177-183.

Feikert T, Mercer P, Corson N, Gelein R, Opanashuk L, Elder A, et al. 2004. Inhaled solid ultrafine particles (UFP) are efficiently translocated via neuronal naso-olfactory pathways [Abstract]. Toxicologist 78(suppl 1): 435-436.

Ferin J, Oberdörster G. 1992. Translocation of particles from pulmonary alveoli into the interstitium. J Aerosol Med 5:179-187.

Ferin J, Oberdörster G, Penney DP. 1992. Pulmonary retention of ultrafine and fine particles in rats. Am J Resp Cell Mol Biol 6:535-542.

Ferin J, Oberdörster G, Penney DP, Soderholm SC, Gelein R, Piper HC. 1990. Increased pulmonary toxicity of ultrafine particles? I. Particle clearance, translocation, morphology. J Aerosol Sci 21:381-384.

Ferin J, Oberdörster G, Soderholm SC, Gelein R. 1991. Pulmonary tissue access of ultrafine particles. J Aerosol Med 4(1):57-68.

Foley S, Crowley C, Smaihi M, Bonfils C, Erlanger BF, Seta P, et al. 2002. Cellular localisation of a water-soluble fullerene derivative. Biochem Biophys Res Commun 294:116-119.

Foresight and Governance Project. 2003. Nanotechnology & Regulation: A Case Study using the Toxic Substance Control Act (TSCA): A Discussion Paper. Publication 2003-6. Washington, DC:Woodrow Wilson International Center for Scholars. Available: http://www.nanotechcongress.com/Nanotech-Regulation.pdf [accessed 26 April 2005].

Fox JE, Starcevic M, Kow KY, Burow ME, McLachlan JA. 2001. Nitrogen fixation: endocrine disrupters and flavonoid signalling. Nature 413:128-129.

Freitas RA Jr. 1999. Nanomedicine, Volume I: Basic Capabilities. Georgetown, TX:Landes Bioscience.

Gianutsos G, Morrow GR, Morris JB. 1997. Accumulation of manganese in rat brain following intranasal administration. Fundam Appl Toxicol 37:102-105.

Gibaud S, Andreux JP, Weingarten C, Renard M, Couvreur P. 1994. Increased bone marrow toxicity of doxorubicin bound to nanoparticles. Eur J Cancer 30A: 820-826.

Gibaud S, Demoy M, Andreux JP, Weingarten C, Gouritin B, Couvreur P. 1996. Cells involved in the capture of nanoparticles in hematopoietic organs. J Pharm Sci 85: 944-950.

Gibaud S, Rousseau C, Weingarten C, Favier R, Douay L, Andreux JP, et al. 1998. Polyalkylcyanoacrylate nanoparticles as carriers for granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF). J Control Release 52:131-139.

Goldstein M, Weiss H, Wade K, Penek J, Andrews L, Brandt-Rauf P. 1987. An outbreak of fume fever in an electronics instrument testing laboratory. J Occup Med 29: 746-749.

Gopinath PG, Gopinath G, Kumar A. 1978. Target site of intranasally sprayed substances and their transport across the nasal mucosa: a new insight into the intranasal route of drug delivery. Curr Ther Res 23 (5): 596-607.

Greim H, Borm P, Schins R, Donaldson K, Driscoll K, Hartwig A, et al. 2001. Toxicity of fibers and particles--report of the workshop held in Munich, Germany, 26-27 October 2000. Inhal Toxicol 13:737-754.

Griffith FD, Stephens SS, Tayfun FO. 1973. Exposure of Japanese quail and parakeets to the pyrolysis products of fry pans coated with teflon and common cooking oils. Am Ind Hyg Assoc J 34:176-178.

Gumbleton M. 2001. Caveolae as potential macromolecule trafficking compartments within alveolar epithelium. Adv Drug Deliv Rev 49:281-300.

Hautot D, Pankhurst QA, Khan N, Dobson J. 2003. Preliminary evaluation of nanoscale biogenic magnetite in Alzheimer's disease brain tissue. Proc R Soc Lon B 270(suppl 1):S62-S64.

Heckel K, Kiefmann R, Dorger M, Stoeckelhuber M, Goetz AE. 2004. Colloidal gold particles as a new in vivo marker of early acute lung injury. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 287:L867-L878.

Henneberger A, Zareba W, Ibald-Mulli A, Ruckerl R, Cyrys J, Couderc JP, et al. 2005. Repolarization changes induced by air pollution in ischemic heart disease patients. Environ Health Perspect 113:440-446.

Howe HA, Bodian D. 1940. Portals of entry of poliomyelitis virus in the chimpanzee. Proc Soc Exp Biol Med 43:718-721.

Huczko A, Lange H, Calko E, Grubek-Jaworska H, Droszcz P. 2001. Physiological testing of carbon nanotubes: are they asbestos-like? Fullerene Sci Technol 9:251-254.

Hughes LS, Cass GR, Gone J, Ames M, Olmez I. 1998. Physical and chemical characterization of atmospheric ultrafine particles in the Los Angeles area. Environ Sci Technol 32:1153-1161.

Hunter DD, Dey RD. 1998. Identification and neuropeptide content of trigeminal neurons innervating the rat nasal epithelium. Neuroscience 83:591-599.

Hunter DD, Undem BJ. 1999. Identification and substance P content of vagal afferent neurons innervating the epithelium of the guinea pig trachea. Am J Respir Crit Care Med 159:1943-1948.

IARC (International Agency for Research on Cancer). 2002. Man-made Vitreous Fibres. IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum 81:1-418.

ICON. 2004. International Council on Nanotechnology Home page. Available: http://icon.rice.edu [accessed 16 March 2005].

International Commission on Radiological Protection. 1994. Human respiratory model for radiological protection. Ann ICRP 24:1-300.

Jani P, Halbert GW, Langridge J, Florence AT. 1990. Nanoparticle uptake by the rat gastrointestinal mucosa: quantitation and particle size dependency. J Pharm Pharmacol 42:821-826

Jani PU, McCarthy DE, Florence AT. 1994. Titanium dioxide (rutile) particle uptake from the rat GI tract and translocation to systemic organs after oral administration. Int J Pharm 105:157-168.

Jaques PA, Kim CS. 2000. Measurement of total lung deposition of inhaled ultrafine particles in healthy men and women. Inhal Toxicol 12:715-731.

Johnston CJ, Finkelstein JN, Mercer P, Corson N, Gelein R, Oberdorster G. 2000. Pulmonary effects induced by ultrafine PTFE particles. Toxicol Appl Pharmacol 168: 208-215.

Joo SH, Feitz AJ, Waite TD. 2004. Oxidative degradation of the carbothioate herbicide, molinate, using nanoscale zero-valent iron. Environ Sci Technol 38: 2242-2247.

Kato T, Yashiro T, Murata Y, Herbert DC, Oshikawa K, Bando M, et al. 2003. Evidence that exogenous substances can be phagocytized by alveolar epithelial cells and transported into blood capillaries. Cell Tiss Res 311: 47-51.

Kennedy P, Chaudhuri A. 2002. Herpes simplex encephalitis. J Neurol Neurosurg Psychiatry 73: 237-238.

Keyhani K, Scherer PW, Mozell MM. 1997. A numerical model of nasal odorant transport for the analysis of human olfaction. J Theor Biol 186:279-301.

Kim S, Lim YS, Soltesz EG, De Grand AM, Lee J, Nakayama A, et al. 2004. Near infrared fluorescent type II quantum dots for sentinel lymph node mapping. Nat Biotechnol 22(1):93-97.

Kimbell JS, Godo MN, Gross EA, Joyner DR, Richardson RB, Morgan KT. 1997. Computer simulation of inspiratory airflow in all regions of the F344 rat nasal passages. Toxicol Appl Pharmacol 145:388-398.

Kirschvink JL, Kobayashi-Kirschvink A, Woodford BJ. 1992. Magnetite biomineralization in the human brain. Proc Natl Acad Sci USA 89:7683-7687.

Kirschvink J, Walker M, Diebel C. 2001. Magnetite-based magneto-reception. Curr Opin Neurobiol 11: 462-468.

König MF, Lucocq JM, Webel ER. 1993. Demonstration of pulmonary vascular perfusion by electron and light microscopy. J Appl Physiol 75(4):1877-1883.

Kreuter J. 2001. Nanoparticulate systems for brain delivery of drugs. Adv Drug Deliv Rev 47:65-81.

Kreuter J. 2004. Influence of the surface properties on nanoparticle-mediated transport of drugs to the brain. J Nanosci Nanotech 4:484-488.

Kreuter J, Shamenkov D, Petrov V, Ramge P, Cychutek K, Koch-Brandt C, et al. 2002. Apolipoprotein-mediated transport of nanoparticle-bound drugs across the blood-brain barrier. J Drug Target 10:317-325.

Kreyling WG, Scheuch G. 2000. Clearance of particles deposited in the lungs. In: Particle-Lung Interactions (Gehr P, Heyder J, eds). New York:Marcel Dekker Inc., 323-376.

Kreyling W, Semmler M, Erbe F, Mayer P, Takenaka S, Schulz H, et al. 2002. Translocation of ultrafine insoluble iridium particles from lung epithelium to extrapulmonary organs is size dependent but very low. J Toxicol Environ Health 65A:1513-1530.

Kulmala M. 2004. Formation and growth rates of ultrafine atmospheric particles: a review of observations. J Aerosol Sci 35:143-176.

Lam CW, James JT, McCluskey R, Hunter RL. 2004. Pulmonary toxicity of single-wall carbon nanotubes in mice 7 and 90 days after intratracheal instillation. Toxicol Sci 77:126-134.

Lecoanet H, Bottero J, Wiesner M. 2004. Laboratory assessment of the mobility of nanomaterials in porous media. Environ Sci Technol 38:5164-5169.

Lecoanet H, Wiesner M. 2004. Velocity effects on fullerene and oxide nanoparticle deposition in porous media. Environ Sci Technol 38(16):4377-4382.

Lee CH, Guo YL, Tsai PJ, Chang HY, Chen CR, Chen CW, et al. 1997. Fatal acute pulmonary oedema after inhalation of fumes from polytetrafluoroethylene (PTFE). Eur Res J 10:1408-1411.

Li N, Sioutas C, Cho A, Schmitz D, Misra C, Sempf J, et al. 2003. Ultrafine particulate pollutants induce oxidative stress and mitochondrial damage. Environ Health Perspect 111:455-460.

Li X, Brown D, Smith S, MacNee W, Donaldson K. 1999. Short-term inflammatory responses following intratracheal instillation of fine and ultrafine carbon black in rats. Inhal Toxicol 11:709-731.

Lu Q, Moore JM, Huang G, Mount AS, Rao AM, Larcom LL, et al. 2004. RNA polymer translocation with single-walled carbon nanotubes. Nano Lett 4:2473-2477.

Mach R. 2004. Nanoscale Particle Treatment of Groundwater. Federal Remedial Technology Roundtable: Naval Facilities Engineering Command. Available http://www.frtr.gov/pdf/meetings/l--mach_09jun04.pdf [accessed 16 March 2005].

Malmgren L, Olsson Y, Olsson T, Kristensson K. 1978. Uptake and retrograde axonal transport of various exogenous macromolecules in normal and crushed hypoglossal nerves. Brain Res 153:477-493.

Maynard AD, Baron PA, Foley M, Shvedova AA, Kisin ER, Castranova V. 2004. Exposure to carbon nanotube material: aerosol release during the handling of unrefined single-walled carbon nanotube material. J Toxicol Environ Health A 67:87-107.

McMurry PH, Woo KS. 2002. Size distributions of 3 to 100 nm urban Atlanta aerosols: measurement and observations. J Aerosol Med 15(2): 169-178.

Mehta D, Bhattacharya J, Matthay MA, Malik AB. 2004. Integrated control of lung fluid balance. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 287:L1081-L1090.

Monteiro-Riviere N, Nemanich R, Inman A, Wang Y, Riviere J. 2005. Multi-walled carbon nanotube interactions with human epidermal keratinocytes. Toxicol Lett 155:377-384.

Nagaveni K, Sivalingam G, Hegde M, Madras G. 2004. Photocatalytic degradation of organic compounds over combustion-sized nano-TiO2. Environ Sci Technol 38:1600-1604.

Nemmar A, Delaunois A, Nemery B, Dessy-Doize C, Beckers JF, Sulon J, et al. 1999. Inflammatory effect of intratracheal instillation of ultrafine particles in the rabbit: role of C-fiber and mast cells. Toxicol Appl Pharmacol 160:250-261.

Nemmar A, Hoet PHM, Vanquickenborne B, Dinsdale D, Thomeer M, Hoylaerts MF, et al. 2002a. Passage of inhaled particles into the blood circulation in humans. Circulation 105:411-414.

Nemmar A, Hoylaerts MF, Hoet PHM, Dinsdale D, Smith T, Xu H, et al. 2002b. Ultrafine particles affect experimental thrombosis in an in vivo hamster model. Am J Respir Crit Care Med 166:998-1004.

Nemmar A, Hoylaerts MF, Hoet PHM, Vermylen J, Nemery B. 2003. Size effect of intratracheally instilled particles on pulmonary inflammation and vascular thrombosis. Toxicol Appl Pharmacol 186:38-45.

Nghiem LD, Schäfer AI, Elimelech M. 2004. Removal of natural hormones by nanofiltration membranes: measurement, modeling, and mechanisms. Environ Sci Technol 38: 1888-1896.

Nikula KJ, Avila KJ, Griffith WC, Mauderly JL. 1997. Lung tissue responses and sites of particle retention differ between rats and cynomolgus monkeys exposed chronically to diesel exhaust and coal dust. Fundam Appl Toxicol 37: 37-53.

NNI (National Nanotechnology Initiative). 2004. What Is Nanotechnology? Available: http://www.nano.gov/html/facts/whatIsNano.html [accessed 16 March 2005].

NRC (National Research Council). 1983. Risk Assessment in the Federal Government: Managing the Process. Washington, DC:National Academy Press.

Nuttall JB, Kelly RJ, Smith BS, Whiteside CK Jr. 1964. Inflight toxic reactions resulting from fluorocarbon resin pyrolysis. Aerospace Med 35:676-683.

Oberdörster E. 2004a. Manufactured nanomaterials (fullerenes, C60) induce oxidative stress in brain of juvenile largemouth bass. Environ Health Perspect 112: 1058-1062.

Oberdörster E. 2004b. Toxicity of nC60 fullerenes to two aquatic species: Daphnia and largemouth bass [Abstract]. In: 227th American Chemical Society National Meeting, 27 March-1 April 2004, Anaheim, CA. Washington, DC:American Chemical Society, IEC 21.

Oberdörster G. 2000. Toxicology of ultrafine particles: in vivo studies. Philos Trans R Soc Lond A 358:2719-2740.

Oberdörster G, Ferin J, Finkelstein J, Wade P, Corson N. 1990. Increased pulmonary toxicity of ultrafine particles? II. Lung lavage studies. J Aerosol Sci 21: 384-387.

Oberdörster G, Ferin J, Gelein R, Soderholm SC, Finkelstein J. 1992a. Role of the alveolar macrophage in lung injury: studies with ultrafine particles. Environ Health Perspect 97:193-197.

Oberdörster G, Ferin J, Morrow PE. 1992b. Volumetric loading of alveolar macrophages (AM): a possible basis for diminished AM-mediated particle clearance. Exp Lung Res 18:87-104.

Oberdörster G, Finkelstein JN, Johnston C, Gelein R, Cox C, Baggs R, et al. 2000. Acute pulmonary effects of ultrafine particles in rats and mice. Res Rep Health Eff Inst 96:5-74.

Oberdörster G, Gelein RM, Ferin J, Weiss B. 1995. Association of particulate air pollution and acute mortality: involvement of ultrafine particles? Inhal Toxicol 7:111-124.

Oberdörster G, Morrow PE, Spurny K. 1988. Size dependent lymphatic short term clearance of amosite fibers in the lung. Ann Occup Hyg 32(suppl 4):149-156.

Oberdörster G, Sharp Z, Atudorei V, Elder A, Gelein R, Kreyling W, et al. 2004. Translocation of inhaled ultrafine particles to the brain. Inhal Toxicol 16(6/7): 437-445.

Oberdörster G, Sharp Z, Atudorei V, Elder A, Gelein R, Lunts A, et al. 2002. Extrapulmonary transloction of ultrafine carbon particles following whole-body inhalation exposure of rats. J Toxicol Environ Health 65A: 1531-1543.

Oberdörster G, Yu CP. 1990. The carcinogenic potential of inhaled diesel exhaust: a particle effect? J Aerosol Sci 21(suppl 1):S397-S401.

Ohl L, Mohaupt M, Czeloth N, Hintzen G, Kiafard Z, Zwirner J, et al. 2004. CCR7 governs skin dendritic cell migration under inflammatory and steady-state conditions. Immunity 21:279-288.

Oldfors A, Fardeau M. 1983. The permeability of the basal lamina at the neuromuscular junction. An ultrastructural study of rat skeletal muscle using particulate tracers. Neuropathol Appl Neurobiol 9: 419-432.

Olsson T, Kristensson K. 1981. Neuronal uptake of iron: somatopetal axonal transport and fate of cationized and native ferretin, and iron-dextran after intramuscular injections. Neuropath Appl Neurobiol 7: 87-95.

Patton JS. 1996. Review--mechanisms of macromolecule absorption by the lungs. Adv Drug Deliv Rev 19: 3-36.

Pekkanen J, Peters A, Hoek G, Tiittanen P, Brunekreef B, de Hartog J, et al. 2002. Particulate air pollution and risk of ST-segment depression during repeated submaximal exercise tests among subjects with coronary heart disease. The Exposure and Risk Assessment for Fine and Ultrafine Particles in Ambient Air [ULTRA] study. Circulation 106:933-938.

Pekkanen J, Timonen KL, Ruuskanen J, Reponen A, Mirme A. 1997. Effects of ultrafine and fine particles in urban air on

peak expiratory flow among children with asthmatic symptoms. Environ Res 74:24-33.
Penttinen P, Timonen KL, Tiittanen P, Mirme A, Ruuskanen J, Pekkanen J. 2001. Ultrafine particles in urban air and respiratory health among adult asthmatics. Eur Resp J 17:428-435.
Peters A, Doring A, Wichmann H-E, Koenig W. 1997a. Increased plasma viscosity during an air pollution episode: a link to mortality? Lancet 349:1582-1587.
Peters A, Wichmann HE, Tuch T, Heinrich J, Heyder J. 1997b. Respiratory effects are associated with the number of ultrafine particles. Am Respir Crit Care Med 155: 1376-1383.
Pietropaoli AP, Frampton MW, Oberdörster G, Cox C, Huang L-S, Marder V, et al. Blood markers of coagulation and inflammation in healthy human subjects exposed to carbon ultrafine particles. In: Effects of Air Contaminants on the Respiratory Tract - Interpretations from Molecular to Meta Ananlysis (Heinrich U, ed). INIS Monographs. Stuttgart, Germany:Fraunhofer IRB Verlag, 181-194.
Plattig K-H. 1989. Electrophysiology of taste and smell. Clin Phys Physiol Meas 10:91-126.
Rancan F, Rosan S, Boehm F, Cantrell A, Brellreich M, Schoenberger H, et al. 2002. Cytotoxicity and photocytotoxicity of a dendritic C(60) mono-adduct and a malonic acid C(60) tris-adduct on Jurkat cells. J Photochem Photobiol B 67(3):157-162.
Rejman J, Oberle V, Zuhorn IS, Hoekstra D. 2004. Size-dependent internalization of particles via the pathways of clathrin- and caveolae-mediated endocytosis. Biochem J 377:159-169.
Rodoslav S, Laibin L, Eisenberg A, Dusica M. 2003. Micellar nanocontainers distribute to defined cytoplasmic organelles. Science 300:615-618.
Sato K, Imai Y, Irimura RT. 1998. Contribution of dermal macrophage trafficking in the sensitization phase of contact hypersensitivity. J Immunol 161: 6835-6844.
Sayes C, Fortner J, Guo W, Lyon D, Boyd AM, Ausman KD, et al. 2004. The differential cytotoxicity of water-soluble fullerenes. Nano Lett 4:1881-1887.
Schlesinger RB, Ben-Jebria A, Dahl AR, Snipes MB, Ultman J. 1997. Disposition of inhaled toxicants. In: Handbook of Human Toxicology (Massaro EJ, ed). New York:CRC Press, 493-550.
Schultheiss-Grassi PP, Wessiken R, Dobson J. 1999. TEM investigations of biogenic magnetite extracted from the human hippocampus. Biochim Biophys Acta 1426: 212-216.
Seaton A, MacNee W, Donaldson K, Godden D. 1995. Particulate air pollution and acute health effects. Lancet 345:176-178.
Semmler M, Seitz J, Erbe F, Mayer P, Heyder J, Oberdörster G, et al. 2004. Long-term clearance kinetics of inhaled ultrafine insoluble iridium particles from the rat lung, including transient translocation into secondary organs. Inhal Toxicol 16:453-459.
Shi JP, Evans DE, Khan AA, Harrison RM. 2001. Sources and concentration of nanoparticles (< 10 nm diameer) in the urban atmosphere. Atmos Environ 35: 1193-1202.
Shvedova AA, Kisin E, Keshava N, Murray AR, Gorelik O, Arepalli S, et al. 2004a. Cytotoxic and genotoxic effects of single wall carbon nanotube exposure on human keratinocytes and bronchial epithelial cells [Abstract]. In: 227th American Chemical Society National Meeting, 27 March-1 April 2004, Anaheim, CA. Washington, DC:American Chemical Society, IEC 20.
Shvedova AA, Kisin E, Murray A, Schwegler-Berry D, Gandelsman V, Baron P, et al. 2004b. Exposure of human bronchial cells to carbon nanotubes caused oxidative stress and cytotoxicity. In: Proceedings of the Meeting of the SFRR Europe 2004, Ioannina, Greece. Philadelphia: Taylor & Francis Group, 91-103.
Silva VM, Corson N, Elder A, Oberdörster G. In press. The rat ear vein model for investigating in vivo thrombogenicity of ultrafine particles (UFP). Toxicol Sci.
Simionescu N, Simionescu M, Palade GE. 1975. Permeability of muscle capillaries to small heme-peptides. J Cell Biol 64:586-607.
Smith AE, Helenius A. 2004. How viruses enter animal cells. Science 304:237-242
Terasaki S, Kameyama T, Yamamoto S. 1997. A case of zoster in the 2nd and 3rd branches of the trigeminal nerve associated with simultaneous herpes labialis infection--a case report. Kurume Med J 44(1):61-66.
Tiittanen P, Timonen KL, Ruuskanen J, Mirme A, Pekkanen J. 1999. Fine particulate air pollution, resuspended road dust and respiratory health among symptomatic children. Eur Resp J 13(2):266-273.
Tinkle SS, Antonini JM, Rich BA, Roberts JR, Salmen R, DePree K, et al. 2003. Skin as a route of exposure and sensitization in chronic beryllium disease. Environ Health Perspect 111:1202-1208.
Tran CL, Buchanan D, Cullen RT, Searl A, Jones AD, Donaldson K. 2000. Inhalation of poorly soluble particles. II. Influence of particle surface area on inflammation and clearance. Inhal Toxicol 12:1113-1126.
Tran CL, Jones AD, Cullen RT, Donaldson K. 1998. Influence of particle characteristics on the clearance of low toxicity dusts from lungs. J Aerosol Sci 29(suppl 1): S1269-S1270.
Tungittiplakorn W, Lion LW, Cohen C, Kim J-Y. 2004. Engineered polymeric nanoparticles for soil remediation. Environ Sci Technol 38(5):1605-1610.
Turetsky BI, Moberg PJ, Arnold SE, Doty RL, Gur RE. 2003. Low olfactory bulb volume in first-degree relatives of patients with schizophrenia. Am J Psychiatry 160(4):703-708.
U.S. EPA. 1994. 10-Day Chronic Daphnia magna or Daphnia pulex. SOP 2028. Washington DC:U.S. Environmental Protection Agency. Available: http://www.ert.org/products/2028.pdf [accessed 16 March 2005].
U.S. EPA. 2004. Air Quality Criteria for Particulate Matter. Vol 3. 600/P-95-001cF. Washington DC:U.S. Environmental Protection Agency, Office of Research and Development.
Utell M, Frampton M, Zareba W, Devlin R, Cascio W. 2002. Cardiovascular effects associated with air pollution: potential mechanisms and methods of testing. Inhal Toxicol 14:1231-1247.
Veronesi B, Makwana O, Pooler M, Chen LC. In press. Effects of subchronic exposure to CAPs in ApoE-/- mice: VII. Degeneration of dopaminergic neurons. Inhal Toxicol.
von Klot S, Wolke G, Tuch T, Heinrich J, Dockery DW, Schwartz J, et al. 2002. Increased asthma medication use in association with ambient fine and ultrafine particles. Eur Respir J 20:691-702.
Warheit DB, Hartsky MA. 1993. Role of alveolar macrophage chemotaxis and phagocytosis in pulmonary clearance responses to inhaled particles: comparisons among rodent species. Microsc Res Tech 26:412-422.
Warheit DB, Hill LH, George G, Brody AR. 1986. Time course of chemotactic factor generation and the corresponding macrophage response to asbestos inhalation. Am Rev Respir Dis 134:128-133.
Warheit DB, Laurence BR, Reed KL, Roach DH, Reynolds GAM, Webb TR. 2004. Comparative pulmonary toxicity assessment of single-wall carbon nanotubes in rats. Toxicol Sci 77:117-125.
Warheit DB, Overby LH, George G, Brody AR. 1988. Pulmonary macrophages are attracted to inhaled particles on alveolar surfaces. Exp Lung Res 14:51-66.
Waritz RS, Kwon BK. 1968. The inhalation toxicity of pyrolysis products of polytetrafluoroethylene heated below 500 degrees centigrade. Am Ind Hyg Assoc J 29: 19-26.
WHO. 1985. Reference Methods for Measuring Airborne Man-Made Mineral Fibers. Environmental Health Series 4. Copenhagen:World Health Organization.
Wichmann H-E, Cyrys J, Stölzel M, Spix C, Wittmaack K, Tuch T, et al. 2002. Sources and elemental composition of ambient particles in Erfurt, Germany. In: Fortschritte in der Umweltmedizin (Wichmann HE, Schlipköter HW, Fülgraff G, eds). Erfurt, Germany: Ecomed Publishers.
Wichmann H-E, Spix C, Tuch T, Wolke G, Peters A, Heinrich J, et al. 2000. Daily Mortality and Fine and Ultrafine Particles in Erfurt, Germany. Part I: Role of Particle Number and Particle Mass. Res Rep Health Eff Inst 98: 5-86.
Widmaier EP, Raff H, Strang KT. 2004. Vander, Sherman & Luciano's Human Physiology: The Mechanisms of Body Functions. 9th ed. New York:McGraw Hill.
Williams N, Atkinson G, Patchefsky A. 1974. Polymer fume fever: not so benign. J Occup Med 16: 519-522.
Wilson M, Lightbody J, Donaldson K, Sales J, Stone V. 2002. Interactions between ultrafine particles and transition metals in vivo and *in vitro*. Toxicol Appl Pharmacol 184(3):172-179.
Woo KS, Chen D-R, Pui D, McMurry P. 2001. Measurement of Atlanta aerosol size distributions: observations of ultrafine particle events. Aerosol Sci Technol 34: 75-87.
Yamago S, Tokuyama H, Nakamura E, Kikuchi K, Kananishi S, Sueki K, et al. 1995. *In vivo* biological behavior of a water-miscible fullerene: 14C labeling, absorption, distribution, excretion and acute toxicity. Chem Biol 2:385-389.
Yamakoshi Y, Umezawa N, Ryu A, Arakane K, Miyata N, Goda Y, et al. 2003. Active oxygen species generated from photoexcited fullerene (C60) as potential medicines: O2-* versus 1O2. J Am Chem Soc 125:12803-12809.
Zhou Y-M, Zhong C-Y, Kennedy IM, Leppert VJ, Pinkerton KE. 2003. Oxidative stress and NFKappaB activation in the lungs of rats: a synergistic interaction between soot and iron particles. Toxicol Appl Pharmacol 190:157-169.
Zhu Y, Hinds WC, Kim S, Shen SK, Sioutas C. 2002. Study of ultrafine particles near a major highway with heavy-duty diesel traffic. Atmos Environ 36:4323-4335.