

DOI:10.7524/AJE.1673-5897.20150507001

李琴琴, 赵英虎, 孙友谊, 等. 纳米银材料的生物安全性研究进展[J]. 生态毒理学报, 2015, 10(6): 35-42

Li Q Q, Zhao Y H, Sun Y Y, et al. A review on the research progress of biological safety of nanosilver materials [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2015, 10(6): 35-42 (in Chinese)

纳米银材料的生物安全性研究进展

李琴琴, 赵英虎, 孙友谊, 高莉*, 邵田玉

山西省中北大学化工与环境学院, 太原 030051

收稿日期: 2015-05-07 录用日期: 2015-07-28

摘要: 纳米银材料被广泛应用到医疗、化工、生物等许多领域, 增加了与人类接触的可能性, 因此关注其生物安全性是很有必要的。本文对近年来纳米银的抗菌性和生物安全性研究进行了综述。首先分析了纳米银的皮肤毒性、呼吸系统毒性、消化系统毒性和其他组织毒性, 其次分析了体外细胞毒性和细胞内纳米银与生物大分子相互作用, 最后对纳米银材料的人群暴露生物安全性及纳米银与银离子毒性关系进行了探讨。本文旨在为纳米银的毒性作用机制研究提供参考, 为建立标准的纳米银安全性评价体系提供依据。

关键词: 纳米银; 抗菌性; 生物安全性

文章编号: 1673-5897(2015)6-035-08 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

A Review on the Research Progress of Biological Safety of Nanosilver Materials

Li Qinqin, Zhao Yinghu, Sun Youyi, Gao Li*, Shao Tianyu

School of Chemical and Environmental Engineering, North University of China, Taiyuan 030051, China

Received 7 May 2015 accepted 28 July 2015

Abstract: Nanosilver materials have been widely used in many fields, such as medicine, chemistry, biology, and etc.. With the increasing contact between nanosilver and people, the biological safety of nanosilver products needs to be concerned. In this paper, the bactericidal properties and biological security research of nanosilver in recent years are reviewed. Firstly, the skin toxicity, respiratory system toxicity, digestive system toxicity and other tissue toxicity of nanosilver are analyzed. Secondly, cell toxicity of nanosilver in vitro and the interaction between nanosilver and biomacromolecules in cell are analyzed. Finally, the biological safety of human exposure to nanosilver materials and the toxicity relationship between nanosilver and silver ions are also discussed. This paper provides reference for the toxicity mechanism research of nanosilver, and provides the basis for establishing standard safety evaluation system of silver nanoparticles.

Keywords: nanosilver; antibacterial action; biological safety

银有广谱抗菌性能, 为了抑制菌类的生长, 在古代已经出现银器放置食品^[1]。目前, 在治疗创伤方

面已大量应用纳米银, 在伤口敷贴中应用纳米银, 不仅可以控制感染, 又能加快伤口愈合的速度^[2]。

基金项目: 山西省青年科技研究基金(2012021027-3); 山西省科技攻关项目(20140311008-7)

作者简介: 李琴琴(1992-), 女, 硕士研究生, 研究方向为纳米材料生物效应及其毒理学, E-mail: 1520533431@qq.com

* 通讯作者(Corresponding author), E-mail: gaoli@nuc.edu.cn

纳米银材料性能稳定,与普通银相比在电学等诸多方面性能优异,因此在化妆品、医学和食品保鲜等众多领域得到了大量应用。银纳米材料在日常生活中的应用,包括服装、口罩、家用饮水机、杀菌喷雾、化妆品、食品添加剂、玩具等^[3]。在医学上的应用,包括纳米银抗菌辅料、纳米银外科缝线、纳米银心脏瓣膜、靶向剂等^[4]。纳米银材料进入人体的方式主要有:皮肤、饮食、呼吸、手术植入,当与体内不同组织或生物分子发生作用时可能会对人体产生危害。但是,人们注重产品的开发,忽视其可能产生的毒副作用。因此,在纳米银产品开发的同时,应关注其生物安全性。

1 纳米银材料的抗菌性研究 (Bactericidal properties research of nanosilver materials)

1.1 纳米银材料的抗菌性

纳米银材料能很好地抑制细菌、真核微生物和病毒^[5-6]。纳米银能够抑制大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、肺炎克雷伯杆菌以及铜绿假单胞杆菌的生长,且其抑菌效果明显优于其他抗菌材料^[7]。而且纳米银对不同的细菌,抑制效果可能不同。15 nm 左右的纳米银颗粒在浓度为 $25 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时就能够完全抑制大肠杆菌的生长,而对金黄色葡萄球菌的抑制效果较差^[8]。Panacek 等^[9]研究表明纳米银对真菌有较强抑制作用,测定出它对致病假丝酵母菌的最小杀菌浓度,观察到这种生长抑制作用呈时间依赖性关系。该研究还发现,纳米银能够损伤白色念珠菌的线粒体功能,诱导活性氧(ROS)的产生,最终导致细胞凋亡,从而也表现出抗真菌活性^[10]。另外纳米银对很多病毒也有抑制效果。粒径在 1~30 nm 的纳米银颗粒均能杀灭人类免疫缺陷病毒(HIV),从而阻止 HIV 病毒的繁殖^[11-12]。纳米银也能很好地抑制乙型肝炎病毒^[13]和单纯疱疹病毒-2^[14],从而保护人体健康。

1.2 纳米银材料的抗菌作用机制

目前,纳米银材料的抑菌机理尚不十分清楚。人们认为其抗菌方式主要有 4 种:(1)改变细胞膜通透性。用纳米银处理细菌后可改变细胞膜的通透性,导致很多营养物质和代谢产物流失,最终使细胞死亡^[15-16]。(2)损伤 DNA,纳米银可以释放银离子,其释放的银离子可以破坏细胞的 DNA 分子与部分蛋白酶,导致 DNA 分子产生交联,或者催化形成自由基,致使病毒蛋白质变性,同时抑制 DNA 分子上的供电子体,使 DNA 链发生断裂从而导致细胞灭

亡^[17-18]。(3)降低脱氢酶活性。纳米银颗粒可与细胞蛋白质中的很多基团发生作用,如巯基、氨基等,从而降低这些基团的活性。大肠杆菌经纳米银处理后,显著降低其呼吸链中的脱氢酶活性,并且酶活随纳米银浓度的升高而降低^[15]。(4)氧化应激。纳米银可诱导细胞产生 ROS,进一步造成还原型辅酶 II (NADPH)氧化酶类抑制剂(DPI)含量的减少,导致细胞死亡^[19]。

2 纳米银材料的生物安全性研究 (Biological security research of nanosilver materials)

由于纳米银和银离子具有良好的抗菌性能,因而在医疗环保等领域有广泛的应用,这就为其与皮肤或血液提供了更多的接触途径,其一旦进入生物体内就会蓄积^[20]。因此纳米银材料对生命体和环境安全性问题受到了广泛关注。目前,主要通过体内试验和体外试验 2 种方法来评价纳米材料的生物毒性。

2.1 纳米银材料毒性的体内试验研究

动物试验中纳米银的暴露方式主要有吸入、灌胃、气管滴注、皮下注射或静脉注射等,其暴露能够危害动物的皮肤、呼吸、消化、肝脏、神经系统、免疫系统和生殖发育等。

2.1.1 皮肤毒性

目前,纳米银材料被广泛应用到医疗、化工、生物等许多领域,增加了与人类皮肤接触的可能性。有研究表明短期暴露于纳米银环境中并不会对机体产生影响,动物试验表明,纳米银凝胶一次性接触动物皮肤无刺激性,说明纳米银不会产生毒性作用^[21]。此外,家兔皮肤经丹参纳米银复合材料贴敷后,并未显现红斑,且无水肿,表明该材料对家兔皮肤无刺激^[22]。然而有报道称纳米银的生物毒性与纳米银颗粒的大小有关。Lee 和 Jeong^[23]研究了纳米银对新西兰雄兔已磨损皮肤的毒性,他们分别用 2~3 nm 和 30 nm 银微粒处理该兔,并在 24 h 和 72 h 对其观察,研究发现皮肤出现轻微的炎症,说明纳米银对磨损皮肤的刺激性很低,具有较低的生物毒性。

2.1.2 呼吸系统毒性

纳米银可引发肺功能变化,其损伤程度与纳米银在呼吸系统沉积量和去除率有关。Kaewamatawong 等^[24]给小鼠气管滴注纳米银溶液,30 d 后发现小鼠肺组织出现急性炎症以及肺功能降低。该研究还表明,决定纳米银毒性强弱的关键因素有可能是纳米银浓度和暴露时间。Ji 等^[25]选用

18~19 nm 的银颗粒,将大鼠放置在该纳米银颗粒氛围中,连续暴露 28 d 后,发现大鼠的任何生理生化指标都未发生变化。然而,另有研究在相同的实验条件下,让大鼠连续暴露在相同的银颗粒氛围中 98 d 后发现,大鼠肺组织发生了不同程度的炎症、肺泡壁增厚等病变症状,以致大鼠肺功能下降^[26-27]。

2.1.3 消化系统毒性

因具有较高的抗菌活性,纳米银不但可以作为消毒剂用来处理饮用水,还可以保护餐饮用具表面的腐蚀。因此,纳米银可通过包含或附着在食品添加剂、粮食、餐饮品等物质中进入到消化道中,也可以通过呼吸道在吞咽时进入到消化道中。张紫虹等^[28]以雌、雄 NIH 小鼠和 SD 大鼠为实验研究对象,喂食纳米银材料的消毒凝胶进行急性毒性研究,结果表明对小鼠为无毒级。有研究也表明纳米银对小鼠生长状态无影响,钟金栋等^[29]经口灌喂小鼠纳米银材料,一次给小鼠灌喂不同剂量的纳米银材料,发现小鼠在 7 d 内没有受到任何影响,消耗的饲料量和小鼠的体重不断增加,而且小鼠的外在特征如大小、颜色、肤色、背毛和呼吸、精神状态等均表现正常。已有研究显示,纳米银灌注给小鼠后,小鼠免疫系统会受到影响,且毒性的与尺寸和剂量相关^[30]。另外,经口服含有纳米银的药物而引发的毒性,可能与存在于胃肠道内的复杂物质(如食物、肠道菌群、消化酶、电解质等)相关。所以,十分有必要研究胃肠道暴露时的动力学特性。

2.1.4 其他组织毒性

除以上所报道的纳米银毒性效应,有文献报道纳米银还可能对动物的肝脏、神经系统、免疫系统和生殖发育等产生一定的影响。

有研究采用灌胃的方式分别给予小鼠 2.5 mg 的纳米银(15 nm)和微米银(2~3.5 μm),暴露于纳米银 3 d 后,发现较高级别的肝组织炎性损害及 4 种与此症状有关的基因表达量发生改变,因此证实了纳米银会对肝脏产生毒副作用^[31]。另有研究同样表明,给动物注射不同剂量的纳米银颗粒能影响肝脏中的丙二醛、谷胱甘肽含量,诱导肝组织病理学改变,且不同的肝组织病变呈剂量依赖性^[32]。

由体内实验可知,被植入小鼠体内的纳米银伴随血液透过血脑屏障,银量随时间的增加而增加,用组织化学自显影技术分析脑室、神经胶质细胞和神经元细胞,结果表明,这些地方都出现了纳米银^[33]。体外实验也证实,PC12 细胞株的复制与分化都会受

到纳米银的影响,导致神经发育出现问题^[34],这为研究纳米银的神经毒性提供了理论基础。

刘焕亮等^[35]还发现纳米银粒子能够紊乱细胞免疫功能,首先随机将 42 只雄性 Wistar 鼠分为 3 类,分别为含纳米银 3.5 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的低剂量组,17.5 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 高剂量组和小牛血清对照组。第 2 天给所有小鼠通过非暴露式气管滴注法注射毒素,持续 5 周,随后剖腹主动脉使其死亡。实验结果表明,对照组大鼠的脾、胸腺脏器系数没有变化,含纳米银的实验组的大鼠体重明显下降($P < 0.05$),外周血辅助性 T 细胞(CD4+)下降,而细胞毒性 T 细胞(CD8+)上升,进而使得 CD4+/CD8+比值明显下降。

研究也发现纳米银对胚胎也是有危害的。用不同浓度的纳米银处理斑马鱼胚胎,结果表明胚胎的正常功能受到影响甚至死亡,并且发现损伤程度受纳米银浓度的影响,浓度越高毒性越强,从而造成细胞的发育毒性^[36]。

2.2 纳米银材料毒性的体外试验研究

目前,更加简便、经济、便于控制的体外试验的检测方法是评价纳米材料生物安全性的重要方法。这种方法对细胞的毒性影响较小;实验对象为细胞、动物组织或人体,减少了活体动物试验。

2.2.1 纳米银的细胞毒性

任何生物材料应用于人体首先都要进行生物安全性评价。目前,生物材料对细胞的毒性作用是评价其安全性标准首先要考虑的事情。对纳米材料进行细胞毒性试验研究有重要意义,它能在较短时期内检测出纳米材料对细胞的毒副作用,因此纳米材料的体外细胞毒性试验,能简便、经济、快速地筛选出大量纳米材料中可能对人体产生毒副作用的一部分,并对不同的实验条件、用不同的设备进行多次试验,为纳米材料的体内安全性使用提供一定的依据,可减少不必要的活体动物试验。

目前,对于纳米银的毒性机理尚不清楚。近年来,很多人关注纳米银对体外细胞的毒性作用。纳米银能诱导细胞产生凋亡,凋亡程度受到纳米银颗粒大小、形状、表面修饰、团聚、电荷等情况和细胞类型的影响^[37]。纳米银的细胞毒性主要有:降低细胞存活率、引起细胞膜破坏、诱导氧化应激、影响炎症因子的分泌、改变细胞间隙连接通讯功能、损伤 DNA 分子以及提高细胞凋亡速度等。

有研究对纳米银骨水泥进行体外细胞毒性检测,与对照组相比,实验组对人成骨细胞不会造成影

响,证明含有纳米银骨水泥能有效抵抗多种耐药菌,且属无毒级^[38]。然而,也有一些文献研究纳米银和单质纳米银对细胞存在一定的毒性,降低细胞存活率及诱导活性氧的生成^[39]。

Kittler 等^[40]研究发现,纳米银的细胞毒性与 Ag^+ 密切相关,纳米银在溶液中溶解释放的 Ag^+ 在细胞内部累积,导致细胞凋亡。但 Zhan 等^[41]研究认为少量的 Ag^+ 在细胞内快速通过时,不与细胞内部结构发生化学反应。细胞经过纳米银处理后,纳米银会与细胞核及线粒体等细胞器相互作用,使得细胞器的正常功能发生紊乱,进一步诱导细胞发生死亡,显示细胞毒性的敏感靶可能是线粒体,细胞凋亡是从丧失线粒体正常功能开始的。纳米银粒子会损伤鼠胚胎干细胞,破坏线粒体功能,进而破坏细胞,表现出较强的毒性作用^[42]。Hussain 等^[43]对 2 种不同颗粒的纳米银材料的细胞毒性进行了体外研究,发现这 2 种纳米银材料均能破坏鼠胚胎肝细胞,改变其外形并产生皱缩,从而显著降低细胞线粒体功能,明显增加培养液中乳酸脱氢酶(LDH)浓度,表明纳米银能够破坏细胞膜。纳米银会诱导细胞产生氧化应激,并伴随有细胞毒性的产生。有研究表明,用纳米银治疗慢性骨髓性白血病患者,其能通过并破坏患者的白血病细胞 K562 细胞膜并影响 ROS 的释放,从而导致氧化应激,最终致使细胞死亡,证明纳米银粒子对于慢性骨髓性白血病的恶化及发展起到很好的抑制作用^[44]。小鼠肺成纤维细胞瘤细胞(L-929)暴露到纳米银环境中,显著增强了 ROS 相关的金属结合蛋白家族基因水平,激活 *NF- κ B* 通路以及 *JAK-STAT* 信号通路,导致其发生改变的作用机理可能是经纳米银处理后,细胞会产生遗传毒性作用^[45]。

2.2.2 纳米银与生物大分子作用

目前对纳米银材料的毒理学和生物安全性,尚无明确的定论。因此我们应该进一步从分子水平上研究纳米银颗粒。纳米银独特的物理化学性能,使其通过内吞、吞噬和扩散等多种方式被摄入到细胞中,接触线粒体、细胞核等细胞器,破坏它们的功能,进一步结合蛋白质等生物大分子,对细胞的正常功能造成损伤^[46]。当用纳米银处理细胞时,面临的第一个障碍就是细胞蛋白质,其与细胞蛋白质作用会影响代谢机制^[47]。有研究表明,纳米银会破坏细胞内 DNA 分子,证明其会影响细胞的遗传毒性^[48]。Ahamed 等^[49]的研究表明,纳米银经不同表面修饰

后,也会影响 DNA 分子,断裂细胞中的 DNA 分子双链,进一步使抑癌蛋白(*p53 Protein*),表达受到影响。Paul 等^[50]的研究也表明,纳米银粒子能活化 *p53* 和其他与 DNA 分子修复相关蛋白,从而诱发癌变。在成年斑马鱼上发现纳米银能引起 DNA 损伤,磷酸化组蛋白(γ -*H2AX*)和 *p53* 表达增加^[51];虹鳟鱼暴露于纳米银后发生脂质过氧化(LOP),DNA 链出现断裂^[52]。此外,纳米银粒子还可以对半胱天冬酶的活性和促炎细胞因子水平造成影响,纳米银作用于细胞后,使细胞中的白细胞介素-1 和白细胞介素-6 的水平显著提高^[53]。Mishra 和 Singh^[54]的研究表明小麦用纳米银处理后,能分别明显降低小麦根腐病菌(*B. Sorokiniana*)的聚酮合酶(PKS1)和小柱孢酮脱水酶(SCD1)2 种基因的表达,这 2 种基因下调从而导致黑色素合成减少。

近年来,研究纳米银粒子与生物分子的作用成为一个热点,为纳米银分子水平上的毒性作用机制提供依据。

2.3 纳米银材料的人群暴露生物安全性

人们在很多方面都会接触到纳米银材料,由于纳米银颗粒的特殊性能,人体与外界接触部位的防御机制会被突破,所以我们日常生活中使用的纳米银材料存在很大的安全隐患。有研究报道,银中毒与长期暴露在白银相关的环境有关,皮肤和眼睛处出现硒化银和不可逆转的硫化物沉淀,皮肤和眼睛等地方的颜色会改变^[55]。含银纺织品能长时间与机体大量表面区域直接接触,可能对健康产生不良效应,穿含银产品衣服的人可能会更容易受到感染,儿童和成人会患有皮肤病。Pluut 等^[56]同样报道含银服装使皮肤受损,并且受损程度可能取决于银渗透到皮肤中的量。

有大量的研究资料表明,纳米银存在一定的毒副作用,但也有研究表明纳米银对机体的影响是相当有限的,且影响相当低。人类一生接触到的纳米银含量不足以对人体产生危害^[57]。虽然纳米银材料对人体的损害还没有明确的认识,但是我们还是应该合理地使用含纳米银的产品。

2.4 纳米银与银离子毒性的关系

银离子和银化合物可表现出优良的杀菌性能,但同时也会对生物造成一定的毒性效应,其毒性是纳米银释放出的银离子作用还是纳米级粒径的银单质的独特作用或是两者的共同作用目前还没有明确定论^[58]。

关于纳米银与银离子毒性的关系,有关研究人员做了广泛研究。van Aerle 等^[59]认为纳米银释放银离子是其重要的致毒机制之一。银离子和纳米银处理斑马鱼表现出不同程度的畸形,因此认为两者的作用方式有可能不同^[60]。周群芳等^[61]同样认为银离子和纳米银暴露都可对稀有鮕鲫产生急性毒性效应,但纳米银毒性作用远低于银离子,银离子与纳米银在水环境中可能存在着相互转化的动态平衡过程,银离子向纳米银的转化降低毒性过程相对短暂,而纳米银可以从零价银缓慢转化为银离子,成为释放银离子毒性效应的持久性释放源。目前用大肠杆菌做过的所有的化学品毒性测试结果表明银离子(添加硝酸银)的毒性作用最强,然而游离银离子(如硝酸银)和纳米银毒性对大型蚤没有显著影响^[62]。但有结果表明袜子纳米银产品和纺织纳米银产品的溶液毒性相对与纳米银来说更强^[63]。这些结果与以前研究结果不一致:纳米银相比于银粒子毒性较小^[61,62,64]。原因是在这些研究人员测试的是纯银纳米粒子,而此试验用的材料是商业银纺织产品。这些结果表明毒性是由其他元素或化合物加入以及制造工艺引起的,而不是纳米银的作用。因此,纳米银的纯度可能影响其毒性机理。Xu 等^[65]研究发现纳米银的毒性虽然主要由银离子引起,但其毒性是纳米银和银离子协同作用的结果。

3 结语 (Conclusion)

综上所述,纳米银独特的抗菌活性,人们在环保、医疗、生物等许多领域都会接触到纳米银,因此关注其生物安全性是很有必要的。基于现有的研究,纳米银的毒性及其机制尚不完全清楚,还需不断的深入研究。如何极大地发挥纳米银材料的应用潜力,又不会对人体健康产生毒害,成为摆在研究者面前的首要问题。

迄今为止对有关纳米银的毒性研究中,纳米银的制备、粒径、形态、大小、剂量和纯度等不尽相同,且纳米银的暴露方式和作用对象等也存在不同,故难以将各实验结果进行比较并形成定论。而且,纳米银在产生毒性作用中某些机制可能存在着交叉和相互作用。因此,对纳米银分子水平的毒性作用机制以及纳米银与银离子毒性关系做系统研究,必将为纳米银毒理学提供参考,进而找到相应的控制和解毒办法,为纳米银的临床应用提供全面的安全性评价资料,并在此基础上建立全面的、切实可行的纳米药物安全评价标准。

通讯作者简介:高莉(1980—),女,博士,副教授,主要研究方向为纳米材料生物效应及其毒理学。

参考文献 (References):

- [1] 程央虹. 纳米银的医学应用[J]. 中国执业药师, 2005, 2(1): 35
- [2] Li C, Fu R, Yu C, et al. Silver nanoparticle/chitosan oligosaccharide/poly (vinyl alcohol) nanofibers as wound dressings: A preclinical study [J]. International Journal of Nanomedicine, 2013, 8(1): 4131-4145
- [3] Ahamed M, Alsalthi M S, Siddiqui M K J. Silver nanoparticle applications and human health [J]. Clinica Chimica Acta, 2010, 411(23-24): 1841-1848
- [4] Wright J B, Lam K, Buret A G, et al. Early healing events in a porcine model of contaminated wounds: Effects of nanocrystalline silver on matrix metalloproteinases, cell apoptosis and healing [J]. Wound Repair and Regeneration, 2002, 10(3): 141-151
- [5] Jung R, Kim Y, Kim H S, et al. Antimicrobial properties of hydrated cellulose membranes with silver nanoparticles [J]. Journal of Biomaterials Science-Polymer Edition, 2009, 20(3): 311-324
- [6] Wani I A, Khatoun S, Ganguly A, et al. Structural characterization and antimicrobial properties of silver nanoparticles prepared by inverse microemulsion method [J]. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2013, 101: 243-250
- [7] Anisha B S, Biswas R, Chennazhi K P, et al. Chitosan-hyaluronic acid/nano silver composite sponges for drug resistant bacteria infected diabetic wounds [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2013, 62: 310-320
- [8] Shrivastava S, Bera T, Roy A, et al. Characterization of enhanced antibacterial effects of novel silver nanoparticles [J]. Nanotechnology, 2007, 18(22): 225103-225111
- [9] Panacek A, Kolar M, Vecerova R, et al. Antifungal activity of silver nanoparticles against *Candida* spp. [J]. Biomaterials, 2009, 30(31): 6333-6340
- [10] Hwang I S, Lee J, Hwang J H, et al. Silver nanoparticles induce apoptotic cell death in *Candida albicans* through the increase of hydroxyl radicals [J]. Febs Journal, 2012, 279(7): 1327-1338
- [11] Sun R W Y, Chen R, Chung N P Y. Silver nanoparticles fabricated in HEPES buffer exhibit cytoprotective activities toward HIV-1 infected cells [J]. Chemical Communications, 2005(40): 5059-5061
- [12] Elechiguerra J L, Burt J L, Morones J R, et al. Interaction of silver nanoparticles with HIV-1 [J]. Journal of Nanobiotechnology, 2005, 3(1): 1-10

- [13] Lu L, Sun R W Y, Chen R. Silver nanoparticles inhibit hepatitis B virus replication [J]. *Antiviral Therapy*, 2008, 13(2): 253-262
- [14] Hu R L, Li S R, Kong R J, et al. Inhibition effect of silver nanoparticles on herpes simplex virus 2 [J]. *Genetics and Molecular Research*, 2014, 13(3): 7022-7028
- [15] Li W R, Xie X B, Shi Q S, et al. Antibacterial activity and mechanism of silver nanoparticles on *Escherichia coli* [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2010, 85(4): 1115-1122
- [16] You J, Zhang Y Y, Hu Z Q. Bacteria and bacteriophage inactivation by silver and zinc oxide nanoparticles [J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2011, 85(2): 161-167
- [17] Park H J, Kim J Y, Kim J, et al. Silver-ion-mediated reactive oxygen species generation affecting bactericidal activity [J]. *Water Research*, 2009, 43(4): 1027-1032
- [18] Chen S, Zhang H. Aggregation kinetics of nanosilver in different water conditions [J]. *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*, 2012, 3(3): 1-4
- [19] Rinna A, Magdolenova Z, Hudecova A, et al. Effect of silver nanoparticles on mitogen-activated protein kinases activation: Role of reactive oxygen species and implication in DNA damage [J]. *Mutagenesis*, 2015, 30(1): 59-66
- [20] Sintubin L, Verstraete W, Boon N. Biologically produced nanosilver: Current state and future perspectives [J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2012, 109(10): 2422-2436
- [21] 黄美卿, 张紫虹, 钟昱文. 纳米消毒凝胶杀菌效果及毒性的试验观察[J]. *华南预防医学*, 2003, 29(2): 58-59
- [22] 张逸, 鲁双云, 高文娟, 等. 丹参纳米银复合材料的生物安全性研究[J]. *中国美容医学*, 2007, 16(5): 596-599
- Zhang Y, Lu S Y, Gao W J, et al. Study on the bio-safety of a salvia miltiorrhiza/nano-silver composite [J]. *Chinese Journal of Aesthetic Medicine*, 2007, 16(5): 596-599 (in Chinese)
- [23] Lee H J, Jeong S. Bacteriostasis and skin innocuousness of nanosize silver colloidson textile fabrics [J]. *Textile Research Journal*, 2005, 75(7): 551-556
- [24] Kaewamatawong T, Banlunara W, Maneewattanapinyo P, et al. Acute and subacute pulmonary toxicity cause by a single intratracheal instillation of colloidal silver nanoparticles in mice: Pathobiological changes and metallothionein responses [J]. *Journal of Environmental Pathology Toxicology and Oncology*, 2014, 33(1): 59-68
- [25] Ji J H, Jung J H, Kim S, et al. Twenty-eight-day inhalation toxicity study of silver nanoparticles in Sprague-Dawley rats [J]. *Inhalation Toxicology*, 2007, 19(10): 857-871
- [26] Sung J H, Ji J H, Yoon J U, et al. Lung function changes in Sprague-Dawley rats after prolonged inhalation exposure to silver nanoparticles [J]. *Inhalation Toxicology*, 2008, 20(6): 567-574
- [27] Sung J H, Ji J H, Park J D, et al. Subchronic inhalation toxicity of silver nanoparticles [J]. *Toxicological Sciences*, 2009, 108(2): 452-461
- [28] 张紫虹, 杨美玲, 杨国光, 等. 纳米银复合醋酸氯己定消毒凝胶的安全性评价[J]. *毒理学杂志*, 2005, 19(3): 286-287
- [29] 钟金栋, 夏雪山, 张若愚, 等. 纳米银材料抗菌效果研究及其安全性初步评价[J]. *昆明理工大学学报*, 2005, 30(5): 91-93
- Zhong J D, Xia X S, Zhang R Y, et al. Study on antibacterial efficacy of silver nanoparticles and its biological safety evaluation [J]. *Journal of Kunming University of Science and Technology*, 2005, 30(5): 91-93 (in Chinese)
- [30] Park E J, Base E, Yi J, et al. Repeated-dose toxicity and inflammatory responses in mice by oral administration of silver nanoparticles [J]. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 2010, 30(2): 162-168
- [31] Cha K, Hong H W, Choi Y G, et al. Comparison of acute responses of mice livers to short-term exposure to nano-sized or micro-sized silver particles [J]. *Biotechnology Letters*, 2008, 30(11): 1893-1899
- [32] El Mahdy M M, Eldin T A S, Aly H S, et al. Evaluation of hepatotoxic and genotoxic potential of silver nanoparticles in albino rats [J]. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 2015, 67(1): 21-29
- [33] Danscher G, Locht L J. In vivo liberation of silver ions from metallic silver surfaces [J]. *Histochemistry and Cell Biology*, 2010, 133(3): 359-366
- [34] Powers C M, Badireddy A R, Ryde I T, et al. Silver nanoparticles compromise neurodevelopment in PC12 Cells: Critical contributions of silver ion, particle size, coating and composition [J]. *Environmental Health Perspectives*, 2010, 119(1): 37-44
- [35] 刘焕亮, 张华山, 杨丹凤, 等. 纳米材料对大鼠外周血 T 淋巴细胞亚群的影响[J]. *解放军预防医学杂志*, 2011, 29(5): 320-324
- Liu H L, Zhang H S, Yang D F, et al. Effect of nanomaterials on peripheral blood T lymphocytes in rat [J]. *Journal of Preventive Medicine of Chinese People's Liberation Army*, 2011, 29(5): 320-324 (in Chinese)
- [36] Asharani P V, Lianwu Y, Gong Z, et al. Comparison of the toxicity of silver, gold and platinum nanoparticles in developing zebrafish embryos [J]. *Nanotoxicology*, 2011,

- 5(1): 43-54
- [37] Singh R P, Ramarao P. Cellular uptake, intracellular trafficking and cytotoxicity of silver nanoparticles [J]. Toxicology Letters, 2012, 213(2): 249-259
- [38] Vizuet M L, Venero J L. An in vitro assessment of the antibacterial properties and cytotoxicity of nanoparticulate silver bone cement [J]. Biomaterials, 2004, 25(18): 4383-4391
- [39] Arora S, Jain J, Rajwade J M, et al. Cellular responses induced by silver nanoparticles: In vitro studies [J]. Toxicology Letters, 2008, 179(2): 93-100
- [40] Kittler S, Greulich C, Diendorf J, et al. Toxicity of silver nanoparticles increases during storage because of slow dissolution under release of silver ions [J]. Chemistry of Materials, 2010, 22(16): 4548-4554
- [41] Zhan D P, Li X, Nepomnyashchii A B, et al. Characterization of Ag⁺ toxicity on living fibroblast cells by the ferrocenemethanol and oxygen response with the scanning electrochemical microscope [J]. Journal of Electroanalytical Chemistry, 2013, 688: 61-68
- [42] Braydich-Stolle L, Hussain S, Schlager J J, et al. In vitro cytotoxicity of nanoparticles in mammalian germline stem cells [J]. Toxicological Sciences, 2005, 88(2): 412-419
- [43] Hussain S M, Hess K L, Gearhart J M, et al. In vitro toxicity of nanoparticles in BRL 3A rat liver cells [J]. Toxicology in Vitro, 2005, 19(7): 975-983
- [44] Guo D, Zhao Y, Zhang Y, et al. The cellular uptake and cytotoxic effect of silver nanoparticles on chronic myeloid leukemia cells [J]. Journal of Biomedical Nanotechnology, 2014, 10(4): 669-678
- [45] 徐丽明, 陈亮, 董喆, 等. 纳米银凝胶在家兔体内的生殖器官毒性及体外细胞毒性研究 [J]. 药物分析杂志, 2012, 32(2): 194-201
- Xu L M, Chen L, Dong Z, et al. In vivo toxicity and in vitro cytotoxicity of silver nanoparticle based-hydro-gel in reproductive organs of rabbit and Hela cells [J]. Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis, 2012, 32(2): 194-201 (in Chinese)
- [46] Clift M J D, Bhattacharjee S, Brown D M, et al. The effects of serum on the toxicity of manufactured nanoparticles [J]. Toxicology Letters, 2010, 198(3): 358-365
- [47] Park H G, Yeo M K. Metabolic gene expression profiling of zebrafish embryos exposed to silver nanocolloids and nanotubes [J]. Molecular & Cellular Toxicology, 2014, 10(4): 401-409
- [48] Singh N, Manshian B, Jenkins G J S, et al. Nanogenotoxicology: The DNA damaging potential of engineered nanomaterials [J]. Biomaterials, 2009, 30(23-24): 3891-3914
- [49] Ahamed M, Karns M, Goodson M, et al. DNA damage response to different surface chemistry of silver nanoparticles in mammalian cells [J]. Toxicology and Applied Pharmacology, 2008, 233(3): 404-410
- [50] Paul A, Das S, Das J, et al. Cytotoxicity and apoptotic signaling cascade induced by chelidonine-loaded PLGA nanoparticles in HepG2 cells in vitro and bioavailability of nano-chelidonine in mice in vivo [J]. Toxicology Letters, 2013, 222(1): 10-22
- [51] Choi Ji E, Kim S, Ahn J H, et al. Induction of oxidative stress and apoptosis by silver nanoparticles in the liver of adult zebrafish [J]. Aquatic Toxicology, 2010, 100(2): 151-159
- [52] Gagne F, Andre C, Skirrow R, et al. Toxicity of silver nanoparticles to rainbow trout: A toxicogenomic approach [J]. Chemosphere, 2012, 89(5): 615-622
- [53] Suliman Y A, Ali D, Alarif S, et al. Evaluation of cytotoxic, oxidative stress, proinflammatory and genotoxic effect of silver nanoparticles in human lung epithelial cells [J]. Environmental Toxicology, 2015, 30(2): 149-160
- [54] Mishra S, Singh H B. Silver nanoparticles mediated altered gene expression of melanin biosynthesis genes in *Bipolaris sorokiniana* [J]. Microbiological Research, 2015, 172: 16-18
- [55] Lansdown A B G. A pharmacological and toxicological profile of silver as an antimicrobial agent in medical devices [J]. Advances in Pharmacological Sciences, 2010, 2010: 910686
- [56] Pluut O A, Bianco C, Jakasa I. Percutaneous penetration of silver from a silver containing garment in healthy volunteers and patients with atopic dermatitis [J]. Toxicology Letters, 2015, 235(2): 116-122
- [57] 张帅, 夏明峰, 田虎. 纳米银粒子生物安全性及医学应用 [J]. 中国现代普通外科进展, 2014, 17(9): 704-709
- [58] 辛琦, 章强, 程金平. 纳米银对鱼类的毒性效应研究进展 [J]. 生态毒理学报, 2014, 9(6): 1014-1026
- Xin Q, Zhang Q, Cheng J P. Review on the toxicology study of silver nanoparticles on fish species [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2014, 9(6): 1014-1026 (in Chinese)
- [59] van Aerle R, Lange A, Moorhouse A, et al. Molecular mechanisms of toxicity of silver nanoparticles in zebrafish embryos [J]. Environmental Science & Technology, 2013, 47(14): 8005-8014
- [60] Ribeiro F, Gallego-Urrea J A, Jurkschat K, et al. Silver nanoparticles and silver nitrate induce high toxicity to *Pseudokirchneriella subcapitata*, *Daphnia magna* and *Da-*

- nio rerio* [J]. Science of the Total Environment, 2014, 466: 232-241
- [61] 周群芳, 孙成, 刘伟, 等. 基于稀有鮡鲫模型研究水环境中纳米银的毒理学效应[J]. 科学通报, 2015, 60(7): 645-653
- Zhou Q F, Sun C, Liu W, et al. Evaluation of aquatic toxicity induced by nanosilver in aquatic environment using the Chinese rare minnow [J]. Chinese Science Bulletin, 2015, 60(7): 645 - 653 (in Chinese)
- [62] Silva T, Pokhrel L R, Dubey B, et al. Particle size, surface charge and concentration dependent ecotoxicity of three organo-coated silver nanoparticles: Comparison between general linear model-predicted and observed toxicity [J]. Science of the Total Environment, 2014, 468: 968-976
- [63] Gao J J, Sepulveda M S, Klinkhamer C, et al. Nanosilver-coated socks and their toxicity to zebrafish (*Danio rerio*) embryos [J]. Chemosphere, 2015, 119: 948-952
- [64] Massarsky A, Dupuis L, Taylor J, et al. Assessment of nanosilver toxicity during zebrafish (*Danio rerio*) development [J]. Chemosphere, 2013, 92(1): 59-66
- [65] Xu L M, Takemura T, Xu M S, et al. Toxicity of silver nanoparticles as assessed by global gene expression analysis [J]. Materials Express, 2011, 1(1): 74-79 ◆