

石墨烯及其衍生物的生物安全性

肖秋肖^{1,2}, 王静^{1,2}, 仁莎莎^{1,2}, 杨畅¹, 郑林¹, 巩仔鹏¹, 黄勇¹, 李月婷¹

(1. 贵州医科大学贵州省药物制剂重点实验室/省部共建药用植物功效与利用国家重点实验室, 贵州 贵阳 550004;

2. 贵州医科大学药学院)

摘要:近年来石墨烯及其衍生物因其优越的性能,在生物医学工程领域有着越来越广泛的应用。研究表明,石墨烯及其衍生物可能对细胞和器官造成一定程度的损害。因此,石墨烯及其衍生物的生物安全性一直是人们关注的焦点。本文将简要介绍影响石墨烯及其衍生物毒性大小的因素及其毒性评价方法,为开发高效、安全的新型石墨烯衍生物提供参考。

关键词: 石墨烯; 氧化石墨烯 (GO); 生物安全性; 表面功能化修饰

中图分类号: R994 **文献标识码:** A **文章编号:** 1002-221X(2021)05-0411-05 **DOI:** 10.13631/j.cnki.zggyx.2021.05.009

Biosafety of graphene and its derivatives

XIAO Qiu-xiao*, WANG Jing, REN Sha-sha, YANG Chang, ZHENG Lin, GONG Zi-peng, HUANG Yong, LI Yue-ting

(* Guizhou Provincial Key Laboratory of Pharmaceutical Prepares / State Key Laboratory for Efficacy and Utilization of Medicinal Plants Jointly Built by Province and Ministry, Guizhou Medical University, Guiyang 550004, China)

Abstract: Graphene and its derivatives have been more and more widely used in biomedical engineering in recent years due to their superior performance. However, studies have shown that these chemicals may cause some damage to cells and organs. Therefore, the security of graphene and its derivatives has always been the focus of attention. This article will make a brief introduction on the factors affecting the toxicity of graphene and its derivatives and the methods for toxicity evaluation, thereby, provide a reference for the development of efficient and safe new graphene derivatives.

Keywords: graphene; graphene oxide (GO); biosafety; surface functional modification

自 2004 年英国 Manchester 大学 Novoselov 等^[1]首次采用机械剥离法从石墨中剥离出石墨烯以来,世界各国对石墨烯这一已知最薄的材料格外关注,开展了广泛深入的研究。石墨烯是一种由 sp^2 杂化碳原子组成的单原子厚片,排列成一系列连续的六角形,类似蜂巢结构。其具有高比表面积、优异的导电导热性、强大的机械强度等独特的物理化学性质^[2],不仅被应用于电子器件、能源储存、复合材料、环境治理^[3-5]等领域,在医药研究领域也被广泛应用,包括生物传感器、药物运输、基因传递、生物成像、磁共振成像、抗菌、生物检测、光热治疗、磁热疗法、肿瘤靶向治疗等^[6-11]。随着对石墨烯研究的深入,石墨烯族纳米材料 (graphene-family nanomaterials, GFNs) 即石墨烯及其衍生物,包括石墨烯、氧化石墨烯 (graphene oxide, GO)、还原氧化石墨烯 (reduced graphene oxide, RGO)、石墨烯量子点 (graphene quantum dots, GQDs)、石墨烯纳米带 (graphene nanoribbons, GNRs)、纳米石墨烯薄片 (nanographene sheets, NGS)、纳米氧化石墨烯

(nano-grapheneoxide, NGO) 等^[12]被研发利用,大规模的使用使得 GFNs 不可避免地进入人体,威胁人类的健康。基于此,本文对近年来关于 GFNs 生物安全性的研究进行简要综述,提出通过控制其颗粒大小、剂量、给药方式及表面化学性质改善 GFNs 的生物安全性,并结合方便而有力的毒性评价方法,为 GFNs 安全有效的使用提供参考。

1 GFNs 的生物安全性

目前 GFNs 的生物安全性研究主要集中于细胞毒性和动物毒性。GFNs 已被证明对细胞和动物都具有毒性,但通过控制给药剂量、调整给药方式以及合理的表面功能化修饰等途径可以降低其毒性和改善细胞的生物安全性。Yuan 等^[13]利用 MTT 法、荧光分析法评价 GO 对人肝癌 (HepG2) 细胞的毒性。HepG2 细胞与 GO (1 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 孵育 48 h 后, HepG2 细胞显示 6% 的线粒体损伤, 8% 的活性氧 (ROS) 生成增加。Lv^[14]等通过检测 GO 对人神经母细胞瘤 (SH-SY5Y) 细胞的形态、活力和分化的影响表明, GO 在低浓度 (<80 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 下不会引起 SH-SY5Y 细胞毒性或凋亡效应;此外, GO 增强了视黄酸诱导的 SH-SY5Y 细胞分化,改善了神经突起长度和神经元标记物 MAP2 的表达,表明 GO 可能适用于神经退行性疾病。Newman 等^[15]研究证明, GO 经静脉给药后,大部分通过肾脏排出,小部分被隔离于脾脏中的 GO 不会引起组织病理学

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (No. 81860323); 贵州省科技厅平台人才项目 [黔科合平台人才 (2016) 5677]

作者简介: 肖秋肖 (1998—), 女, 硕士研究生, 研究方向: 药物新剂型、新技术及药代动力学。

通信作者: 李月婷, 副教授, E-mail: 490551814@qq.com

损伤。但也有研究表明,石墨烯可能通过中断细胞膜中的疏水性蛋白质-蛋白质相互作用而导致细胞毒性。石墨烯进入疏水界面,将两种功能蛋白分离,破坏细胞的新陈代谢,甚至导致细胞死亡^[16]。RGO 具有比 GO 更大的细胞毒性,因不同的表面氧化状态,导致它们具有不同的生物和分子机制^[17]。Li 等^[18]研究了聚乙二醇 (polyethylene glycol, PEG) 化 NGO (NGO-PEG) 的分布和毒性影响,结果显示,NGO 聚集导致它们主要滞留在肝、肺、脾等脏器,而 NGO-PEG 在这些脏器的滞留减少;PEG 修饰可能减轻 NGO 诱导的急性和慢性毒性。Lu 等^[19]研究表明,PEG 化 GO (GO-PEG) 在肝脏中积累,通过肾脏排泄消除。由此可见,GFNs 的细胞毒性和动物毒性受到表面氧化状态、给药剂量和方式等因素的影响。

2 GFNs 的毒理机制

研究表明^[20,21],细胞毒性的主要机制是产生 ROS,从而产生氧化应激。GFNs 可以诱导细胞间 ROS 的产生,破坏 ROS 的动态平衡,导致 DNA 和蛋白质损伤以及细胞凋亡或坏死^[22]。ROS 相关物质在细胞质中有限,正常情况下细胞色素 C (cyt C) 存在线粒体内,在应激条件下 GO 介导的生物分子向 O₂ 的电子转移可能诱导过量 H₂O₂ 的产生,加速羟基自由基的形成;同时, cyt C 从线粒体释放到细胞质中产生显著的毒性^[23]。GO 通过氧化应激诱导小鼠巨噬细胞 (Raw 264.7) 凋亡^[24]。此外,Raw 264.7 经 100 μg/ml 高浓度 GO 处理后可引起自噬,并引发 Toll 样受体相关的炎症反应^[25]。除产生 ROS 外,还有其他途径可以诱导 GFNs 的体外毒性。有研究表明,GO 可以通过对膜通透性、流动性和离子通道的调节,损害细胞膜的完整性和功能;还可引发小鼠血小板 (PLT) 耗竭、促炎反应和肺纹理改变^[26]。此外,石墨烯可包裹细菌,将微生物从环境中分离出来,抑制其生长^[27];石墨烯纳米壁极其锋利的边缘会通过直接接触而破坏微生物的膜^[28]。Chen 等^[25]发现,因暴露于 GO 而使 8-羟基脱氧鸟苷 (8-OHdG) 和 DNA 的甲基化水平异常,DNA 甲基化水平的变化将导致基因表达的变化,使斑马鱼胚胎发育异常,出现畸形甚至死亡。

3 GFNs 的毒性评价方法

Nurunnabi 等^[29]选择人肺癌细胞 (A549) 和狗肾细胞 (MDCK) 作为体外细胞培养模型,利用 GQDs 的惰性荧光优势,通过体外光学成像研究 GQDs 不良反应。Syama 等^[30]每隔 3 d 给小鼠腹腔注射 PEG 化 RGO (RGO-PEG),于第 7、14 和 21 天取肝组织进行 HE 染色,血清天冬氨酸氨基转移酶 (AST)、丙氨酸氨基转移酶 (ALT) 升高提示 RGO-PEG 可能引起肝损伤,而 PEG 化 NGS (NGS-PEG) 在组织病理学上未见明显变化,提示 3 个月内 NGS-PEG 对小鼠无明显毒性^[31]。Chen 等^[32]用¹³C 标记 GO,研究 GO 在小麦体内的生物积累量和毒性,根据¹³C/¹²C 比值准确定量 GO 的生物积累量。GO 的体内毒性作用多种多样,可能包括炎症细胞浸润、肺水肿和静脉给药后肉芽肿的形成。因此,需要开发新的方法来确定 GO 在动物特定部位的毒性效应和时间依赖的生物分布^[33]。

Lin 等^[34]结合组织溶解程序、标记策略和分离方案,开发了一种超灵敏的方法来定量动物组织中的 GO,从而提供了静脉注射 GO 时间依赖的生物分布。此外,Xin 等^[35]建立的基于凝胶电泳细胞样品中 GO 的定量方法能准确定量 Raw 264.7、A549 和小鼠骨髓间充质干细胞 (MSC) 中 GO 含量,其摄取率由高至低依次为 MSC>Raw 264.7>A549。这一结果与 GO 细胞的荧光成像和细胞切片的透射电子显微镜 (TEM) 分析结果一致,可以进一步推广应用到其他 GFNs 材料^[33]。

4 改善 GFNs 生物安全性的途径

4.1 提高纯度 GFNs 本身无毒或低毒,但含有的杂质会在体内外产生较大的毒性。由于 GFNs 在制备和纯化的过程中总会掺杂不同的杂质,因此在推广应用 GFNs 前,有必要研究 GFNs 携带的杂质对毒性的影响^[34]。目前研究中应用较为广泛的 Hummers 法是采用高锰酸钾作为氧化剂制备 GO^[33],但可导致重金属锰污染。GO 的细胞毒理学研究表明^[36],在存在锰杂质的条件下,细胞毒性增强。有文献报道^[37],Ali-Boucetta 等制备的纯化 GO 不会引起明显的细胞毒性反应,且腹腔注射后也不会引发炎症和肉芽肿的形成。提示纯化是降低 GO 和其他 GFNs 应用风险非常重要的手段。

4.2 控制纳米材料大小 Lu 等^[38]比较了 GFNs 尺寸大小对小鼠胚胎成纤维细胞 (NIH3T3) 和结肠癌细胞 (HCT116) 的毒性作用。结果表明,GFNs<50 nm 无毒性,100~200 nm 中度毒性。对于尺寸相似 (100~200 nm) 的 GFNs,螺旋带状结构的毒性比纵向带状结构 (最大存活比为 83%:18%) 和管状结构 (氧化碳纳米管的存活率为 0) 低的多。有学者^[39]研究了 GNRs 在超声处理后的尺寸依赖性细胞毒性,即采用低能水浴超声和高能探针超声使 GNRs 均匀分散在细胞培养液中,用含低浓度 (20 μg/ml) 的 GNRs 培养液处理人乳腺癌上皮细胞 (MCF-7) 和 A549。乳酸脱氢酶和 ROS 测定结果表明,短短 1 min 探针超声处理所制备 GNRs 培养液导致细胞的代谢应激降低;在未经过探针超声和水浴超声的 GNRs 培养液中未观察到不良反应,且与体内青鳉胚胎死亡率结果保持一致。TEM 分析显示,探头超声会导致 GNRs 结构破坏并产生较小的碳质碎屑,由超声强度和时间引起的结构变化很可能是形成细胞毒性的原因。

GFNs 的尺寸大小在体内生物分布、消除等过程中起着重要作用。研究表明^[40],尺寸大的 GFNs 易嵌在毛细血管丰富的肺内而引发炎症;中等大小的 GFNs 可以避免严重的肺积聚,并减少肾小球滤过,其主要被单核吞噬细胞系统 (MPS) 清除;<5 nm 的 GFNs 会很快经尿液排出。Liu 等^[41]给小鼠静脉注射 1~10 mg/kg 由¹²⁵I 标记的 l-GO (1~5 μm) 和 s-GO (0.1~0.5 μm),通过放射性标记观察粒径对 GO 生物分布、器官蓄积和血清除率的影响。结果表明,s-GO 主要蓄积在肝脏,占 25.3%ID (每个组织中的 GO 含量表示为 %ID;注射剂量百分比),少量蓄积在肺 (4.9%ID) 和脾脏 (1.2%ID);l-GO 主要滞留在肺 (26.8%ID),其次是肝脏 (3%ID)。肺切片 TEM 分析显示,s-GO 在吞噬细胞内积聚,>1 μm 的 l-GO 滞

留在肺细胞间隙内。s-GO 和 l-GO 的大小调控生物分布归因于纳米粒子的不同聚集状态, s-GO 比 l-GO 具有更长的血液滞留时间。

4.3 调整给药途径 给药途径影响 GFNs 在体内的吸收、分布和清除。Yang 等^[42]研究了 GO-PEG 口服和腹腔注射后在体内的代谢和长期毒性。结果表明, 口服 GO-PEG 未见明显的组织摄取, 并被迅速排出体外; 腹腔注射后其在包括肝脏和脾脏在内的网状内皮系统 (reticuloendothelial system, RES) 中蓄积很高。与 GO-PEG 不同, RGO-PEG 在腹腔和静脉注射后分布于肝、脾、肾、脑等主要脏器, 重复使用 RGO-PEG 可导致严重的肝损伤、肾脏充血和脾细胞增殖增强^[30]。

4.4 控制给药剂量 GFNs 的体内毒性与给药剂量密切相关。Liu 等^[41]研究表明, GO 在小鼠体内的生物分布具有剂量依赖性, 随着给药剂量的增加, GO 在肺中的蓄积增加, 而在肝脏中的蓄积减少。Wang 等^[43]分别按低 (0.1 mg)、中 (0.25 mg)、高 (0.4 mg) 剂量给小鼠尾部静脉注射 GO, 观察其生物相容性, 结果显示低、中剂量组均未见明显的毒性反应, 高剂量组 9 只小鼠中有 4 只于 1 周后因 GO 蓄积导致气道阻塞死亡。1 d、7 d 和 30 d 的组织学分析显示, GO 可在肝脏、肾脏和脾脏中长期积聚; 肺部可见肉芽肿形成, 并伴有中性粒细胞和泡沫状的肺泡巨噬细胞, 提示出现异物免疫反应; GO 在脑内未见蓄积, 表明 GO 无法通过血脑屏障。提示低浓度 GO 无毒, 高浓度时会导致不可逆转的气道损伤和慢性肺毒性。GO 暴露于胎盘屏障和妊娠的毒性具有剂量依赖性, 并可导致怀孕小鼠肠道微生物群失调^[44]。这些研究可为评估 GO 对哺乳动物的生殖风险提供参考依据。

GFNs 的剂量对体内外毒性具有重要影响。因此, 在开发和推广 GFNs 时, 减少 GFNs 剂量可以有效减轻 GFNs 引起的不良反应。

4.5 改变表面化学性质

4.5.1 表面氧化状态 GO 的表面氧化状态对细胞间的相互作用具有重要影响。Li 等^[45]使用 GO、水合 GO (HGO) 和 RGO 研究了 GO 表面氧化状态对膜脂相互作用的影响, 其中羟基、羧基、环氧基和碳自由基的含量被用来定量评估 GO 对肺上皮细胞 (BEAS-2B) 和巨噬细胞 (THP-1) 的作用。结果显示, 具有最高碳自由基密度的 HGO 导致上述两种细胞死亡, 其机制与脂质过氧化、膜溶解和细胞死亡有关; 结果还表明, GO 的影响较小, RGO 的影响次之。表面氧化态和碳自由基含量在 GO 对哺乳动物细胞的毒性诱导中起主要作用。GO 和 RGO 不同的生物和分子机制 (摄取方式、ROS 形成、抗氧化酶、DNA 修复、凋亡相关基因表达和信号通路) 归因于它们的不同表面氧化状态 (O/C)^[17]。

4.5.2 表面功能化修饰 石墨烯、GO 和 RGO 在体内外都会产生毒性作用, 为了充分发挥 GFNs 在生物医学领域应用的优势, 克服其自身缺陷, 研究者们已提出了多个策略, 其中最方便、有效的方式是 GFNs 的表面功能化修饰, 以显著减少它们与生命系统的毒性相互作用, 提高生物相容性, 扩展 GFNs 在生物医学领域的应用范围。

4.5.2.1 PEG PEG 是一种中性、无毒且具有良好生物相容性的高分子聚合物, 已被 FDA 批准用于人体。静脉注射 NGS-PEG 后主要在 RES 中积累, 包括肝脏和脾脏, 并可能逐渐通过肾脏和粪便排泄清除^[31]。Li 等^[18]研究表明, PEG 修饰能够减少 NGO 在 RES 中的滞留, 促进 NGO 从肝、肺和脾等器官中的清除, 并减轻 NGO 引起的急性组织损伤, 包括对肝、肺、肾脏的损害以及慢性肝和肺部的纤维化。

4.5.2.2 葡聚糖 (dextran, DEX) DEX 是一种可生物降解的天然高分子材料, 可显著抑制补体系统的激活。DEX 修饰的纳米制剂具有优异的胶体稳定性, 避免与人体细胞和蛋白质的生物相互作用, 从而延长纳米制剂的半衰期。DEX 修饰 GO (GO-DEX) 可以改善 GO 在生理溶液中的稳定性和生物相容性。GO-DEX 也被捕获在包括肝脏和脾脏在内的 RES 器官, 动物实验显示了从血液中的清除, 而未见明显的短期毒性^[46]。Yue 等^[47]合成了表面功能化的 GQDs-DEX/PNIPAM [聚 N 异丙基丙烯酰胺 (PNIPAM)] 共聚物水凝胶, 并将其应用于热触发给药系统的止痛研究。TEM 分析显示 GQDs<10 nm, 分布均匀, 呈不对称、开放的均匀多孔结构, 具有良好的流动性, 有利于细胞的摄取, 是一种有效的药物载体; 组织病理学结果表明, GQDs-DEX/PNIPAM 治疗具有单纯的止痛作用而未引发炎症反应, 有明显的间质细胞浸润, 表明合成的药物载体具有更好的生物相容性, 对神经和组织无损害。

4.5.2.3 聚乙烯亚胺 (polyethyleneimine, PEI) Liu 等^[48]用 PEI 对 GQDs 和 RGO 进行功能化修饰, 提高了它们通过光固化将大分子输送到贴壁细胞和悬浮细胞中的性能。通过提高胶体稳定性, 使 GQDs 和 RGO 对细胞的光热效应更加均匀, 从而增加细胞转染效率和活力。Feng 等^[49]用 PEI 修饰 GO (GO-PEI) 得到的复合物在生理溶液中稳定存在, 细胞毒性小, 带正电的 GO-PEI 能进一步与质粒 DNA 结合, 实现增强绿色荧光蛋白 (EGFP) 基因在 HeLa 细胞内的转染; 而用 PEI 转染 EGFP 基本无效, 采用 GO-PEI 作为转染剂则能观察到 EGFP 的高表达。表明 GFNs 经过适当的表面功能化修饰后可以有效地转染细胞。

4.5.2.4 其他表面修饰 Guo 等^[50]比较了 RGO 和羧基化 (G-COOH)、羟基化 (G-OH) 和胺化 (G-NH₂) NGS 对 SH-SY5Y 细胞的影响, 结果显示 G-COOH 和 G-OH 引起的急性毒性比 RGO 和 G-NH₂更严重, 而 RGO 和 G-NH₂对细胞代谢的干扰更大; 此外, G-COOH、G-OH 和 RGO 的毒性均随暴露时间的延长而减轻, 而 G-NH₂的毒性保持不变, 表明 G-NH₂可能比其他材料引起更长的慢性神经毒性。小鼠静脉注射 GO (250 mg/kg) 仅 15 min 后便出现广泛的肺血栓栓塞现象^[51]。在后续研究中, Singh 等^[52]研究了胺修饰 GO (GO-NH₂) 体内血栓形成特性。GO 在小鼠体内有很强的血栓形成作用, 在人体 PLT 中有较强的聚集反应; 而 GO-NH₂静脉注射后对人 PLT 无刺激作用, 也未引起小鼠肺血栓, 这可能与它们的表面电荷不同有关。HE 染色显示 GO 引起 46% 的肺血管阻塞, GO-NH₂则无阻塞迹象。

为提高 GO 的生物相容性, Xu 等^[26]制备了 GO-NH₂、GO-

PEG、聚丙烯酰胺化 GO (GO-PAM)、聚丙烯酸化 GO (GO-PAA) 等一系列 GO 衍生物给小鼠灌胃染毒 (1 mg/kg), 结果发现 GO-PAM 组小鼠的生长发育迟缓程度明显高于其他 GO 衍生物组 ($P < 0.01$); GO 抑制体重增加的大小顺序依次为 GO-PAM > GO > GO-NH₂、GO-PEG > GO-PAA, NH₂-、PEG-和 PAA-修饰的总毒性低于 GO。GNFs 中以 GO-PAA 的体内生物相容性最好。生物相容性的差异取决于 GNFs 表面形成的蛋白冠, 尤其是免疫球蛋白 G (IgG) 组成的差异^[53], 并决定了它们与细胞膜相互作用、细胞摄取、PLT 耗竭的程度, 短期暴露会导致血栓形成, 长期暴露会产生促炎作用。

石墨烯和 GO 在体内外均存在不良反应, 包括 ROS 形成、DNA 损伤、细胞凋亡、肺水肿和肉芽肿形成、炎细胞浸润、血栓、子代发育迟缓等^[17,34,41,52]。GNFs 的毒性阻碍了其在生物医学工程领域的应用, 为了降低 GNFs 的毒性, 提高生物安全性尚需解决诸多难题, 如破译其毒理机制、开发更高效灵敏的毒性评价方法和更安全的 GNFs 衍生物。

参考文献

- [1] Novoselov KS, Geim AK, Morozov SV, *et al.* Electric field effect in atomically thin carbon films [J]. *Science*, 2004, 306 (5696): 666-669.
- [2] Geim AK, Novoselov KS. The rise of graphene [J]. *Nature Materials*, 2007, 6 (3): 183-191.
- [3] 魏志凯, 张焕, 郑明森, 等. 基于石墨烯的功能化复合材料及其在电化学储能中的应用 [J]. *厦门大学学报 (自然科学版)*, 2014, 53 (5): 640-651.
- [4] 徐稳, 朱雯雯, 姚楚, 等. 氧化石墨烯-氧化铈复合气凝胶光催化研究 [J]. *胶体与聚合物*, 2021, 39 (1): 41-44.
- [5] 杜佳媛, 魏永鹏, 刘菲菲, 等. 氧化石墨烯对环境污染物的吸附行为及吸附机理 [J]. *地球科学进展*, 2016, 31 (11): 1125-1136.
- [6] Mohammadi GA, Khoei S, Khoei S, *et al.* In vivo evaluation of the combination effect of near-infrared laser and 5-fluorouracil-loaded PLGA-coated magnetite nanographene oxide [J]. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2018, 46 (sup2): 25-33.
- [7] 杨伟超, 曹寅虎. 专利视角下石墨烯在生物医药领域的研究进展 [J]. *中国医药工业杂志*, 2021, 52 (1): 137-142.
- [8] Mohanta Z, Gaonkar SK, Kumar M, *et al.* Influence of oxidation degree of graphene oxide on its nuclear relaxivity and contrast in MRI [J]. *ACS Omega*, 2020, 5 (35): 22131-22139.
- [9] 刘琳, 陈泽智, 黄名湖, 等. 碳基量子点荧光传感器在环境检测中的应用研究 [J]. *化学通报 (印刷版)*, 2020, 83 (9): 777-784.
- [10] Xiong HL, Guo ZY, Zhang W, *et al.* Redox-responsive biodegradable PEGylated nanographene oxide for efficiently chemo-photothermal therapy: A comparative study with non-biodegradable PEGylated nanographene oxide [J]. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 2014 (138): 191-201.
- [11] Umar AA, Patah MFA, Abnisa F, *et al.* Rational design of PEGylated magnetite grafted on graphene oxide with effective heating efficiency for magnetic hyperthermia application [J]. *Colloids and Sur-*

- faces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 2021 (619): 126545.
- [12] Saleem J, Wang LM, Chen CY. Immunological effects of graphene family nanomaterials [J]. *NanoImpact*, 2017 (5): 109-118.
- [13] Yuan JF, Gao HC, Sui JJ, *et al.* Cytotoxicity evaluation of oxidized single-walled carbon nanotubes and graphene oxide on human hepatoma HepG2 cells: An iTRAQ-coupled 2D LC-MS/MS proteome analysis [J]. *Toxicol Sci*, 2012, 126 (1): 149-161.
- [14] Lv M, Zhang YJ, Liang L, *et al.* Effect of graphene oxide on undifferentiated and retinoic acid-differentiated SH-SY5Y cells line [J]. *Nanoscale*, 2012, 4 (13): 3861-3866.
- [15] Newman L, Jasim DA, Prestat E, *et al.* Splenic capture and in vivo intracellular biodegradation of biological-grade graphene oxide sheets [J]. *ACS Nano*, 2020, 14 (8): 10168-10186.
- [16] Luan B, Huynh T, Zhao L, *et al.* Potential toxicity of graphene to cell functions via disrupting protein-protein interactions [J]. *ACS Nano*, 2015, 9 (1): 663-669.
- [17] Chatterjee N, Eom HJ, Choi J. A systems toxicology approach to the surface functionality control of graphene-cell interactions [J]. *Biomaterials*, 2014, 35 (4): 1109-1127.
- [18] Li B, Zhang XY, Yang JZ, *et al.* Influence of polyethylene glycol coating on biodistribution and toxicity of nanoscale graphene oxide in mice after intravenous injection [J]. *International Journal of Nanomedicine*, 2014 (9): 4697-4707.
- [19] Lu YJ, Lin CW, Yang HW, *et al.* Biodistribution of PEGylated graphene oxide nanoribbons and their application in cancer chemo-photothermal therapy [J]. *Carbon*, 2014 (74): 83-95.
- [20] Wang A, Pu K, Dong B, *et al.* Role of surface charge and oxidative stress in cytotoxicity and genotoxicity of graphene oxide towards human lung fibroblast cells [J]. *Journal of Applied Toxicology*, 2013, 33 (10): 1156-1164.
- [21] Liao KH, Lin YS, Macosko CW, *et al.* Cytotoxicity of graphene oxide and graphene in human erythrocytes and skin fibroblasts [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2011, 3 (7): 2607-2615.
- [22] Stone V, Donaldson K. Nanotoxicology: Signs of stress [J]. *Nature Nanotechnology*, 2006, 1 (1): 23-24.
- [23] Zhang W, Wang C, Li Z, *et al.* Graphene: Unraveling stress-induced toxicity properties of graphene oxide and the underlying mechanism [J]. *Advanced Materials*, 2012, 24 (39): 5391-5397.
- [24] Li Y, Liu Y, Fu YJ, *et al.* The triggering of apoptosis in macrophages by pristine graphene through the MAPK and TGF-beta signaling pathways [J]. *Biomaterials*, 2012, 33 (2): 402-411.
- [25] Chen GY, Yang HJ, Lu CH, *et al.* Simultaneous induction of autophagy and toll-like receptor signaling pathways by graphene oxide [J]. *Biomaterials*, 2012, 33 (27): 6559-6569.
- [26] Xu M, Zhu J, Wang F, *et al.* Improved in vitro and in vivo biocompatibility of grapheneoxide through surface modification: Poly (Acrylic Acid)-functionalization is superior to PEGylation [J]. *ACS Nano*, 2016, 10 (3): 3267-3281.
- [27] Akhavan O, Ghaderi E, Esfandiar A. Wrapping bacteria by graphene nanosheets for isolation from environment, reactivation by sonication, and inactivation by near-infrared irradiation [J]. *Journal*

- of Physical Chemistry B, 2011, 115 (19): 6279-6288.
- [28] 刘慧肠. 基于荧光碳量子点的生物诊疗纳米材料的制备及生物应用 [D]. 上海: 上海交通大学, 2014.
- [29] Nurunnabi M, Khatun Z, Huh KM, *et al.* In vivo biodistribution and toxicology of carboxylated graphene quantum dots [J]. ACS Nano, 2013, 7 (8): 6858-6867.
- [30] Syama S, Paul W, Sabareeswaran A, *et al.* Raman spectroscopy for the detection of organ distribution and clearance of PEGylated reduced graphene oxide and biological consequences [J]. Biomaterials, 2017 (131): 121-130.
- [31] Yang K, Wan J, Zhang S, *et al.* In vivo pharmacokinetics, long-term biodistribution, and toxicology of PEGylated graphene in mice [J]. ACS Nano, 2011, 5 (1): 516-522.
- [32] Chen LY, Wang CL, Li HL, *et al.* Bioaccumulation and toxicity of ¹³C-skeleton labeled graphene oxide in wheat [J]. Environmental Science & Technology, 2017, 51 (17): 10146-10153.
- [33] Fadeel B, Bussy C, Merino S, *et al.* Safety assessment of graphene-based materials: Focus on human health and the environment [J]. ACS Nano, 2018, 12 (11): 10582-10620.
- [34] Lin JY, Lai PX, Sun YC, *et al.* Biodistribution of graphene oxide determined through postadministration labeling with DNA-conjugated gold nanoparticles and ICPMS [J]. Analytical Chemistry, 2020, 92 (20): 13997-14005.
- [35] Xin Y, Wan B. A label-free quantification method for measuring graphene oxide in biological samples [J]. Anal Chim Acta, 2019, 1079: 103-110.
- [36] 任朝秀, 胡献刚, 周启星. 降低纳米毒性的途径及其机理研究进展 [J]. 科学通报, 2016, 61 (7): 707-717.
- [37] Hummers Jr WS, Offeman RE. Preparation of graphitic oxide [J]. Journal of the American Chemical Society, 1958 (208): 1339.
- [38] Lu P, Yazdi AZ, Han XX, *et al.* Mechanistic insights into the cytotoxicity of graphene oxide derivatives in mammalian cells [J]. Chemical Research in Toxicology, 2020, 33 (9): 2247-2260.
- [39] Chowdhury SM, Dasgupta S, Mcelroy AE, *et al.* Structural disruption increases toxicity of graphene nanoribbons [J]. Journal of Applied Toxicology, 2014, 34 (11): 1235-1246.
- [40] Ma Y, Shen H, Tu X, *et al.* Assessing in vivo toxicity of graphene materials: Current methods and future outlook [J]. Nanomedicine (Lond), 2014, 9 (10): 1565-1580.
- [41] Liu JH, Yang ST, Wang H, *et al.* Effect of size and dose on the biodistribution of graphene oxide in mice [J]. Nanomedicine (Lond), 2012, 7 (12): 1801-1812.
- [42] Yang K, Gong H, Shi X, *et al.* In vivo biodistribution and toxicology of functionalized nano-graphene oxide in mice after oral and intraperitoneal administration [J]. Biomaterials, 2013, 34 (11): 2787-2795.
- [43] Wang K, Ruan J, Song H, *et al.* Biocompatibility of graphene oxide [J]. Nanoscale Research Letters, 2011, 6 (1): 8.
- [44] Liu XJ, Zhang FM, Wang ZJ, *et al.* Altered gut microbiome accompanying with placenta barrier dysfunction programs pregnant complications in mice caused by graphene oxide [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2021 (207): 111143.
- [45] Li R, Guiney LM, Chang CH, *et al.* Surface oxidation of graphene oxide determines membrane damage, lipid peroxidation, and cytotoxicity in macrophages in a pulmonary toxicity model [J]. ACS Nano, 2018, 12 (2): 1390-1402.
- [46] Zhang S, Yang K, Feng LZ, *et al.* In vitro and in vivo behaviors of dextran functionalized graphene [J]. Carbon, 2011, 49 (12): 4040-4049.
- [47] Yue JN, He LL, Tang YZ, *et al.* Facile design and development of photoluminescent graphene quantum dots grafted dextran/glycol-polymeric hydrogel for thermoresponsive triggered delivery of buprenorphine on pain management in tissue implantation [J]. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 2019 (197): 111530.
- [48] Liu J, Li CN, Brans T, *et al.* Surface functionalization with polyethylene glycol and polyethyleneimine improves the performance of graphene-based materials for safe and efficient intracellular delivery by laser-induced photoporation [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 21 (4): 1540-1556.
- [49] Feng LZ, Zhang S, Liu Z. Graphene based gene transfection [J]. Nanoscale, 2011, 3 (3): 1252-1257.
- [50] Guo ZL, Zhang P, Chetwynd AJ, *et al.* Elucidating the mechanism of the surface functionalization dependent neurotoxicity of graphene family nanomaterials [J]. Nanoscale, 2020, 12 (36): 18600-18605.
- [51] Singh SK, Singh MK, Nayak MK, *et al.* Thrombus inducing property of atomically thin graphene oxide sheets [J]. ACS Nano, 2011, 5 (6): 4987-4996.
- [52] Singh SK, Singh MK, Kulkarni PP, *et al.* Amine-modified graphene: Thrombo-protective safer alternative to graphene oxide for biomedical applications [J]. ACS Nano, 2012, 6 (3): 2731-2740.
- [53] 马明昊, 徐明, 刘思金. 氧化石墨烯的表面化学修饰及纳米-生物界面作用机理 [J]. 化学学报, 2020, 78 (9): 877-887.

(收稿日期: 2021-06-19; 修回日期: 2021-08-02)

· 声 明 ·

关于网络上出现假冒“中国工业医学杂志网站”及在线投稿的声明

《中国工业医学杂志》官网地址 <http://zggyyx.ijournals.cn>, 作者注册登录后可在线投稿。目前, 网络上出现的假冒“中国工业医学杂志网站”及在线投稿系统与本刊无关, 望广大作者和读者认真鉴别, 谨防受骗。

本刊编辑部