

特约专栏

# 纳米银材料的安全性评价与管理规范现状初探

许海燕, 郭花

(中国医学科学院基础医学研究所, 北京协和医学院基础学院, 北京 100005)

**摘要:** 纳米银具有显著优于银离子化合物的杀菌性能, 近年来, 产业界和学术界在利用纳米银提高生物医药、电子、家用产品的抗菌性能方面进行了广泛的探索 and 开发。随着纳米银生产数量的增加和各种医用与日用产品进入市场, 人们接触纳米银的机会也随之增多, 纳米银对于健康、环境和安全的影响受到了学术界及政府管理机构的密切关注。纳米银的生物安全性、临床应用必要性和有效性、在产品中的结合方式与结合稳定性的检测与评价标准、以及含纳米银医疗器械的管理规范是需要认真而慎重考虑的关键问题。概要介绍了纳米银的毒理学研究进展, 总结和评述了国际上对于纳米银及其他纳米材料用于生物医药和日常生活用品的安全性评价标准和监管政策现状。

**关键词:** 纳米银; 毒理; 标准; 监管

中图分类号: R114 文献标识码: A 文章编号: 1674-3692(2016)01-0036-04

## Current Status of the Safety Evaluation and Regulation for Nanosilver-Containing Materials

XU Haiyan, GUO Hua

(Institute of Basic Medical Sciences, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100005, China)

**Abstract:** The nanosilver has been widely explored for being used as a powerful antibacterial agent in medical health-care, electronic and household products due to its much stronger antimicrobial performance than conventional silver compounds. Meanwhile, the increasing exposure of nanosilver raises the serious concern with impacts upon the health, safety, and environment of the nanosilver-containing products. In the development of nanosilver-containing products, the bio-safety, necessity and effectiveness in clinical practices, and standardization and regulation should be carefully considered. In this article, the antimicrobial mechanism and the research progress in nanosilver toxicology were introduced. The standardization for physicochemical characterization and safety evaluation for nanomaterials as well as the regulation were addressed.

**Key words:** nanosilver; toxicology; standardization; regulation

### 1 前言

大块银单质材料表面具有抑菌性质早已为人共识, 其机理是位于材料表面的银原子被环境中的氧气缓慢氧化而释放出银离子( $\text{Ag}^+$ ), 这些银离子通过与细菌壁上巯基结合, 阻断细菌的呼吸链, 最终杀死附着在材料表面的细菌。基于上述原理, 银盐化合物在临床上被用于创伤表面的抗感染, 如磺胺嘧啶银(尽管如此, 银离子

对人体的长期毒副作用也并不清楚)。“纳米银”是“银纳米颗粒”的俗称, 指由银原子组成的单质银颗粒, 其粒径通常在 1~100 nm 范围。与大块银单质材料相同, 纳米银表面也会被氧化而释放出银离子; 但其不同之处在于纳米银表面银离子的释放速率与数量显著高于大块银单质材料; 此外, 纳米银可以通过内吞途径以颗粒形式进入细胞并持续释放银离子。因此, 纳米银不仅可以其表面释放的银离子对细胞膜造成直接损伤, 而且可以在细胞内发挥作用, 因此具有明确的抗菌性和细胞毒性。

近些年来, 以医学应用为目标对纳米银的开发与应用主要包括创面的防感染、慢性炎症相关的抗菌治疗、以及抗病毒的治疗; 相关产品的应用形式涉及敷料、凝

收稿日期: 2015-07-28

基金项目: 国家重大科学研究计划项目(2011CB933504)

第一作者: 许海燕, 女, 1962年生, 教授, 博士生导师, Email: xuhy@pumc.edu.cn

DOI: 10.7502/j.issn.1674-3692.2016.01.05

胶、栓剂和洗液等；纳米银作为抗菌组分，以物理吸附的方式与产品的其他组份相结合。严重烧伤或创伤的创面通常会有大量的渗出液，引起严重的细菌感染而影响创面的愈合。含有纳米银的敷料和凝胶类产品的预期作用是有效吸收渗出液，同时，敷料中的纳米银通过释放银离子而将吸收到敷料中的细菌杀死，使创面周围形成无菌微环境，从而达到促进创面愈合的目的。但是，纳米银一旦从敷料或凝胶中脱落而进入体内，则会带来安全风险。当纳米银作为抗菌治疗产品的组份之一与粘膜组织直接接触时，则会穿过粘膜屏障而进入体内。此外，银是机体难以代谢的重金属，在体内的蓄积也是值得重视的问题。因此，纳米银的生物安全性及检测和评价的标准与规范管理是产品研发中需要考虑的关键问题。本文结合纳米银的抗菌性和细胞毒性，重点对纳米银的标准化工作和监管政策的现状进行综合评述。

## 2 纳米银的毒理学研究现状

纳米银的细胞毒性主要表现为诱导细胞凋亡或坏死，其作用机制包括：①无论是纳米银本身还是其表面的银离子均可作用于细胞膜的膜蛋白，激活信号转导通路，抑制细胞增殖<sup>[1-3]</sup>；②通过颗粒表面的高浓度银离子对细胞膜的氧化作用而引起细胞膜通透性改变，导致钙离子内流和过载，引起氧化应激和线粒体膜改变<sup>[4]</sup>；③进入细胞内的纳米银释放银离子，通过作用于线粒体而引起呼吸链功能受损，导致 ROS 产生，引起氧化应激和 ATP 合成障碍，导致 DNA 损伤<sup>[5]</sup>；④胞浆内的纳米银引起细胞周期阻滞，引起细胞凋亡<sup>[6]</sup>；⑤纳米银通过吸附蛋白分子而引起多种蛋白的结构改变，如抑制脑和肌肉细胞内肌酸激酶活性<sup>[7]</sup>；⑥由于胞浆内的纳米银持续释放银离子，导致其所引起的 DNA 损伤不能被完全修复<sup>[8]</sup>。

在严重的烧伤和创伤情况下，皮下组织会与敷料或凝胶等医疗产品直接接触，纳米银有可能从产品中游离出来而进入循环血液；而抗菌治疗产品通常需要与粘膜直接接触。因此对纳米银毒理学的研究通常选择皮下、静脉、呼吸或口服的暴露途径。在剂量选择上，为达到毒性反应的最大暴露，需要选择高剂量水平的暴露程度，并考虑单次或者重复暴露的情况。

动物体内的研究表明，无论以何种暴露途径，纳米银都会导致各器官和组织中银元素水平的显著上升，且蓄积可长达数月；特别是在主要蓄积在动物肝、脾、肺、肾中<sup>[9-12]</sup>，造成明显的肝、肾毒性和免疫毒性。例如：尾静脉注射纳米银会导致小鼠肝细胞 DNA 氧化损伤，引起明显的肝毒性<sup>[13]</sup>；皮下单次注射低剂

量纳米银即可引起小鼠血清中补体活化，导致肾细胞形态的改变和肾小球通透性的损伤<sup>[14]</sup>。与此同时，纳米银也会引起动物的免疫毒性反应，包括淋巴细胞增殖受到抑制、功能降低；过敏性分子的水平升高；与炎症和组织损伤相关的基因均上调，并引发氧化应激反应和炎症<sup>[15]</sup>。

纳米银可以跨越血睾和胎盘屏障，在小鼠胚胎和睾丸里聚集，造成明确的生殖系统毒性和遗传毒性，如：使血清和睾丸内的睾丸素水平明显增加，睾丸上皮细胞形态和睾丸间质细胞大小都有明显的改变<sup>[16]</sup>；引起胚胎细胞的 DNA 缺失、骨髓细胞不可逆转的染色体损伤、外周血或骨髓细胞中 DNA 双链断开和氧化损伤，进而导致基因序列的不稳定<sup>[17]</sup>。口服纳米银还会增加胚胎小鼠的致死率以及显著影响果蝇发育过程<sup>[18]</sup>。纳米银的遗传毒性也受到关注，体内血液微核实验和肝脏彗星实验均有阳性结果报道。在植物和动物实验中均发现有严重的 DNA 损伤现象<sup>[19-20]</sup>。此外，纳米银可以跨越血脑屏障，引起明显的中枢神经毒性<sup>[21]</sup>。

## 3 国内外监管现状

国家食品药品监督管理总局在含纳米银产品的相关安全性评价及管理规范方面做出了积极和不懈的努力，开展了大量的研究工作，一系列监管文件的制定工作正在进行中。美国食品药品监督管理局(FDA)对应用纳米技术的产品，特别是涉及公众生活和健康的产品，一贯持十分严谨的监管政策。2014年6月FDA发出系列文件，阐述其对所监管的涉及纳米技术应用的产品的态度，并对工业界给予指南。在“如何界定FDA监管产品是否涉及纳米技术的应用”这份指南中<sup>[22]</sup>，FDA提出了重要的框架，要求企业明确回答两个问题：①人造材料或终产品是否有至少一个外部或者内部或者表面结构处于纳米尺寸范围(大约1~100 nm)? ②人造材料或终产品是否表现出具有依赖于材料尺寸的物理、化学或生物学性质? 这种尺寸依赖性可以超出纳米尺度，达到1 000 nm。如果任意一点成立，则要求企业必须考虑评价产品的安全性、有效性和产品对公共健康的影响，以及产品是否充分阐明了其独特的性质和行为。FDA特别强调了敦促企业在产品设计和研发的初期就与FDA相关专家交流沟通，讨论需要证实产品安全性的测试方法和数据，包括短期毒性和其他长期毒性数据。

迄今，FDA尚未对含有纳米银的医疗器械产品给出专门的安全性评价指南，但是，在关于含纳米材料的化妆品的安全性评价指南中<sup>[23]</sup>，FDA明确指出：与具有相同化学组成但更大尺度的材料相比，纳米材料的较小

粒径能改变材料的分布和生物利用度。小尺寸增加了颗粒的表面积/质量比,从而导致生物分子相互作用的增加。此外,材料的摄取、吸收和生物分布可能会发生改变,导致潜在的全身性接触。在关于评估化妆品内纳米材料安全性的几点意见中,FDA要求:关于纳米材料表征,应该通过全面描述纳米材料性质和检测各种物理、化学性质,以及检测杂质(如果存在)来评估安全性。可通过了解接触途径、摄取、吸收和毒性测试而得知化妆品内纳米材料的毒理学和吸收、分布、代谢和排出。此外,在确定传统检测方法对含纳米材料化妆品毒性测试的适用性时,应充分考虑纳米材料所有的独特性质和生物学活性。根据需要,应改善传统毒性测试方法或开发新方法,从而评价可能影响纳米材料毒性的关键化学和物理性质以及这些性质对化妆品配方功能的影响。毒理学测试应包括主要成分和杂质的毒性、体外和体内剂量测定的毒性研究(如果需要)、临床测试(如有必要)、毒物动力学和毒效学。所有的数据和信息应确保使用条件下的产品的安全性。在指南纳米材料表征、物理与化学特性、杂质、以及接触途径、吸收和摄取、毒性测试等方面都给出了非常全面和严格的要求与提示。但是,FDA也强调了目前在技术和方法方面对于监管产品中纳米材料检测与毒性测试的局限性。FDA对于新技术和新的检测方法的开发一直十分重视,期望围绕纳米材料的发展不断研发新的测试方法<sup>[24-25]</sup>。

随着纳米银毒理学研究的不断进展,含纳米银医疗器械的监管面临诸多技术方面的挑战。纳米银以剂量依赖的方式表现出明确的细胞、器官、生殖和遗传、以及神经毒性;但由于技术手段的局限性,纳米银中长期的遗传和生殖毒性、中枢神经毒性等还难以清晰地分析与评价。因此,医疗产品中纳米银是否游离出来而进入体内是其安全应用的关键,亟需建立相应的检测方法和标准。美国FDA于2015年通过了Roosin Silver Calcium Alginate Dressing 510(K)文件<sup>[26]</sup>,其产品描述为由古罗糖酸钙和银颗粒(未给出粒径)组成的无纺布垫,用于吸收中度到高度烧伤创面渗出液。产品明确指出渗出液被无纺布垫吸入,古罗糖酸钙吸收水分后形成凝胶,将渗出液锁住在凝胶中,由此防止银颗粒通过创面进入体内。渗出液中的细菌则被无纺布中银颗粒所释放的银离子杀死。但是,对于一位美国医生推荐并销售未经美国FDA批准的纳米银产品用于治疗埃博拉,美国FDA、世界卫生组织WHO和美国CDC等多家机构表明了对于未获得FDA批准的纳米银产品用于埃博拉病毒临床的反对态度。FDA认为纳米银作为埃博拉治疗制剂使用违反了FDA条例<sup>[27]</sup>。上述文件和案例也体现了FDA对于以公

众医疗为目标的纳米技术产品所持的审慎研判态度。此外,含纳米银医疗产品的应用需要针对对于不同人群和不同的情况做相应的考虑。对于婴幼儿、青少年、适龄孕产妇女、以及大多数健康人群,纳米银的暴露有可能带来长期潜在的健康风险,而对于重大危险事件造成的面临生死的严重创伤,以及老年糖尿病患足、褥疮等,抢救生命、改善生存质量应是优先的考虑。

与此同时,纳米银的产量不断增加及相关产品的不断开发,也引起学术界的讨论。虽然纳米银几乎可以杀死任何种类的细菌,但是大量的纳米银进入人类生活环境,其对于水生动植物的影响以及对人类的长远影响值得关注,纳米银相关产品的开发应该以更加成熟和负责的方式进行<sup>[28]</sup>。

## 4 结 语

目前,在医疗产品中纳米银的相关测试方面还面临诸多技术挑战;此外,由于纳米银的小尺寸特性和化学反应性,传统的分析检测方法有可能产生假阳性或者假阴性结果;同时,也缺乏合适的动物模型来准确评价纳米银的长期、慢性风险与隐患。迄今,各国FDA及卫生组织与机构均未发布纳米银及含纳米银产品的安全性评价指南和技术规范,关于纳米银及其各种复合形式材料的动物体内毒理学和环境毒理学的研究正在广泛进行。未来应开展多方合作,不断研究和发展的科学检测技术,建立高质量、高水准的检测方法和生物安全性评价方法。

## 参考文献 References

- [1] Comfort K K, Maurer E I, Braydich-Stolle LK, et al. *ACS Nano* [J], 2011, 5(12): 10 000 - 10 008.
- [2] Kang S J, Ryoo I G, Lee Y J, et al. *Toxicology and Applied Pharmacology* [J], 2012, 258(1): 89 - 98.
- [3] Piao M J, Kim K C, Choi J Y, et al. *Toxicology Letters* [J], 2011, 207(2): 143 - 148.
- [4] Cheng X L, Zhang W Q, Ji Y L, et al. *RSC Advances* [J], 2013, 3: 2 296 - 2 305.
- [5] Hsin Y H, Chen C F, Huang S, et al. *Toxicology Letters* [J], 2008, 179(3): 130 - 139.
- [6] Park E J, Yi J, Kim Y, et al. *Toxicology in Vitro: An International Journal Published in Association with BIBRA* [J], 2010, 24(3): 872 - 878.
- [7] Marcos Marques da Silva Paula, Cláudio Sérgio da Costa, Mario César Baldin, et al. *Journal of the Brazilian Chemical Society* [J], 2009, 20(8): 1 556 - 1 560.
- [8] Lu W, Senapati D, Wang S, et al. *Chemical Physics Letters* [J], 2010, 487(1 - 3).
- [9] Tang J, Xiong L, Wang S, et al. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology* [J], 2009, 9(8): 4 924 - 4 932.

- [10] Lankveld D P, Oomen A G, Krystek P, *et al.* *Biomaterials*[J], 2010, 31(32): 8 350 – 8 361.
- [11] Kim W Y, Kim J, Park J D, *et al.* *J Journal of Toxicology and Environmental Health. Part A* [J], 2009, 72(21 – 22): 1 279 – 1 284.
- [12] Kim Y S, Kim J S, Cho H S, *et al.* *Inhalation Toxicology*[J], 2008, 20(6): 575 – 583.
- [13] Li Y, Bhalli J A, Ding W, *et al.* *Nanotoxicology*[J], 2014, 8: 36 – 45.
- [14] Meng J, Ji Y, Liu J, *et al.* *Nanotoxicology*[J], 2014, 8(6): 686 – 696.
- [15] Park E J, Choi K, Park K. *Archives of Pharmacal Research*[J], 2011, 34(2): 299 – 307.
- [16] Garcia T X, Costa G M, França L R, *et al.* *Reproductive Toxicology*[J], 2014, 45: 59 – 70.
- [17] Kovvuru P, Mancilla P E, Shirode A B, *et al.* *Nanotoxicology* [J], 2015, 9(2): 162 – 171.
- [18] Philbrook N A, Winn L M, Afroz A R, *et al.* *Toxicology and Applied Pharmacology*[J], 2011, 257(3): 429 – 436.
- [19] Kumari M, Ernest V, Mukherjee A, *et al.* *Methods Mol Biol* [J]. 2012; 926: 399 – 410.
- [20] Ghosh M, J M, Sinha S, *et al.* *Mutation Research*[J], 2012, 749(1 – 2): 60 – 69.
- [21] Yang N, Liu Y, Ji Y, *et al.* *RSC Advances* [J], 2014, 4: 59 472 – 59 480.
- [22] U S Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Food Safety and Applied Nutrition. FDA-2010-D-0530 *Guidance for Industry Considering Whether an FDA-Regulated Product Involves the Application of Nanotechnology* [S]. Maryland: Food and Drug Administration, 2014.
- [23] U S Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Food Safety and Applied Nutrition. FDA-2011-D-0489 *Guidance for Industry Safety of Nanomaterials in Cosmetic Products* [S]. Maryland: Food and Drug Administration, 2014.
- [24] Anatol R, Bauer S, Epstein S, *et al.* *Nanomedicine*[J], 2013, 9(5): 594 – 599.
- [25] Hamburg M A. *Science*[J], 2012, 336(6079): 299 – 300.
- [26] David Krause S. [EB/OL]. (2015 – 09 – 21) [2015 – 11 – 11]. [http://www.accessdata.fda.gov/cdrh\\_docs/pdf14/K143335.pdf](http://www.accessdata.fda.gov/cdrh_docs/pdf14/K143335.pdf)
- [27] Andrew Maynard. *Nanosilver and Ebola: Show Us the Data, or Remove Claims (FDA)* [EB/OL]. (2014 – 10 – 05) [2015 – 7 – 28]. <http://www.riskscience.umich.edu/nano-silver-ebola-show-us-data-remove-claims-fda>
- [28] Nate Seltnerich. *Environmental Health Perspectives* [J], 2013, 121(7): A221 – A225

(编辑 盖少飞)