

顾宁，东南大学教授、教育部长江学者特聘教授，国家杰出青年基金获得者，美国医学与生物工程学会会士(AIMBE, Fellow)。现任江苏省生物材料与器件重点实验室主任，苏州纳米科技协同创新中心纳米药物与医用材料专业中心主任。国家纳米科技协调指导委员会技术专家委员会成员、国家重大科学仪器研制专项技术专家委员会委员、国家自然科学基金委员会信息学部咨询专家组成员、教育部科技委生命与医学学部委员、中国生物医学工程学会常务理事及纳米医学与工程分会首任主任委员、中国真空学会常务理事等。从事医药铁基纳米材料的宏量制备、表征与标准、生物效应及其生物医学应用研究。承担、完成十多项国家级及省部级科研项目，已发表国内外学术期刊论文 300 余篇，主要发表于 *Nat Mat*、*Adv Mat*、*Biomaterials*、*ACS Nano*、*Cell Res*、*JCR* 等杂志上，发明专利授权 60 余项，研制纳米氧化铁获批国家弛豫率标准物质。获国家自然科学基金二等奖、国家科技进步二等奖、教育部首届青年教师奖、省部级科技进步奖数项及第七届“全国优秀科技工作者”称号等。



张宇，博士，东南大学生物科学与医学工程学院教授/博士生导师/系主任，江苏省生物材料与器件重点实验室副主任，教育部新世纪优秀人才，江苏省六大人才高峰计划入选者，南京市 321 科技领军人才。主要研究方向为纳米材料及生物医学纳米技术，在多功能磁性纳米材料构建、纳米酶机制及诊疗应用方面具有深入系统的研究。已发表 SCI 论文 100 多篇，包括 *JACS*、*ACS Nano*、*Biomaterials*、*Theranostics* 等，申请专利 10 多项，获省部级科技进步奖 3 项，主持或参与多项国家自然科学基金项目、国家重点基础研究发展计划(973)、科技支撑计划及国家重点研发计划等课题。目前担任中国装备学会 POCT 装备技术专委会委员，中国生物医学工程学会青年委员，中国生物物理学会分子影像专业委员会青年委员，中国颗粒学会青年理事，中国抗癌协会纳米肿瘤学专业委员会委员，江苏省生物医学工程学会理事等。



纳米酶及其细胞活性氧调控*

董海蛟 张弛 范瑶瑶 张薇 顾宁** 张宇**

(东南大学生物科学与医学工程学院，生物电子学国家重点实验室，江苏省生物材料与器件重点实验室，南京 210096)

摘要 随着纳米技术的不断进步，人们逐渐开发出能够模拟天然抗氧化酶催化活性的无机纳米材料。这些纳米材料能够模拟过氧化物酶、过氧化氢酶、超氧化物歧化酶等天然酶的催化过程，从而调控细胞的氧化还原水平。本文从金属化合物、贵金属以及碳基纳米酶的角度，阐述了它们对细胞内活性氧(ROS)的调控作用以及在各种氧化应激相关疾病治疗中的应用。作为一种新型的模拟酶，纳米酶有望在生物医学领域中为疾病治疗提供一种新的策略。

关键词 纳米酶，活性氧，细胞，氧化还原，肿瘤治疗

学科分类号 Q26

DOI: 10.16476/j.piBB.2017.0460

* 国家重点研发计划项目资助(2017YFA0205502)。** 通讯联系人。

顾宁. Tel: 025-83794960, E-mail: guning@seu.edu.cn; 张宇. Tel: 13851450615, E-mail: zhangyu@seu.edu.cn

收稿日期: 2017-12-15, 接受日期: 2018-01-16

1 纳米酶与活性氧

作为生物催化剂,天然酶在温和条件下对底物具有极高的特异性及催化活性,并广泛应用于生物传感、医药、环保、食品工业等众多领域.但天然酶稳定性差,在极端 pH、高温、高压以及蛋白酶存在等条件下容易失活,加之其制备、提纯工艺过程成本较高,极大地限制了它们的应用.为了克服这些缺点,人们逐渐开发出具有高稳定性和低成本的人工模拟酶^[1],同时模拟酶的设计一直以来都是化学、材料、生物领域的研究热点.近些年,纳米技术的引入与交叉结合为开发具有模拟酶性质的功能纳米材料提供了一条新的思路.

2007 年, Yan 研究组^[2]首次发现 Fe_3O_4 磁性纳米颗粒具有类似于天然辣根过氧化物酶的催化活性,并提出了“纳米酶”这一概念,即:纳米酶作为一种新型的模拟酶,是指一类既有纳米材料独特的物理性能,又有类似天然酶的高效催化功能的无机纳米材料.此后,越来越多的纳米材料或纳米复合材料被发现具有模拟酶的性质,如二氧化铈纳米颗粒^[3-9]、普鲁士蓝纳米颗粒^[10]、贵金属纳米颗粒金、银、铂等^[11-16]、双金属铋-金纳米颗粒^[17]、富勒烯及其衍生物^[18]、氧化石墨烯^[19]、碳纳米管^[20]……纳米酶现有报道主要集中在模拟氧化还原酶活性、表现出催化超氧阴离子(O_2^-)产生过氧化氢(H_2O_2)和氧气(O_2)

的超氧化物歧化酶(SOD)活性、分解 H_2O_2 产生 H_2O 和 O_2 的过氧化氢酶(CAT)活性、催化 H_2O_2 氧化还原型底物的过氧化物酶(POD)活性、氧气存在下直接氧化底物的氧化酶(OXD)活性以及一些还原酶活性等.其中 SOD、CAT 和 POD 作为生物体内的天然抗氧化酶,在清除细胞氧自由基,维持机体正常的氧化还原水平中担当着重要的角色.

活性氧(ROS)是氧气在代谢过程中产生的中间产物,主要包括超氧阴离子(O_2^-)、羟自由基($\cdot\text{OH}$)、过氧化氢(H_2O_2)等^[21].正常生理情况下,机体内 ROS 的产生和清除维持在一个动态平衡的状态(图 1).低剂量的 ROS 有信号传导,促进细胞增殖、迁移和分化的作用,但 ROS 水平的异常增高会破坏体内氧化还原稳态,引起氧化应激并对细胞大分子,如蛋白质、脂质、核酸的结构和功能造成严重损伤^[22-25].研究显示,糖尿病^[26]、心血管疾病^[27]、神经性疾病^[28]、肝炎^[29]、衰老^[30]、癌症^[31]等都与体内 ROS 的累积以及抗氧化酶水平的降低息息相关.随着纳米技术的不断发展,已经发现很多纳米材料可模拟天然抗氧化酶的活性而被用于调控各种细胞内的 ROS 水平.本文根据纳米酶材料的类型,从金属化合物纳米酶、贵金属纳米酶以及碳基纳米酶三大类总结了纳米酶调控细胞 ROS 的实例,并讨论了纳米酶应用于未来疾病治疗的可能性与广阔前景.

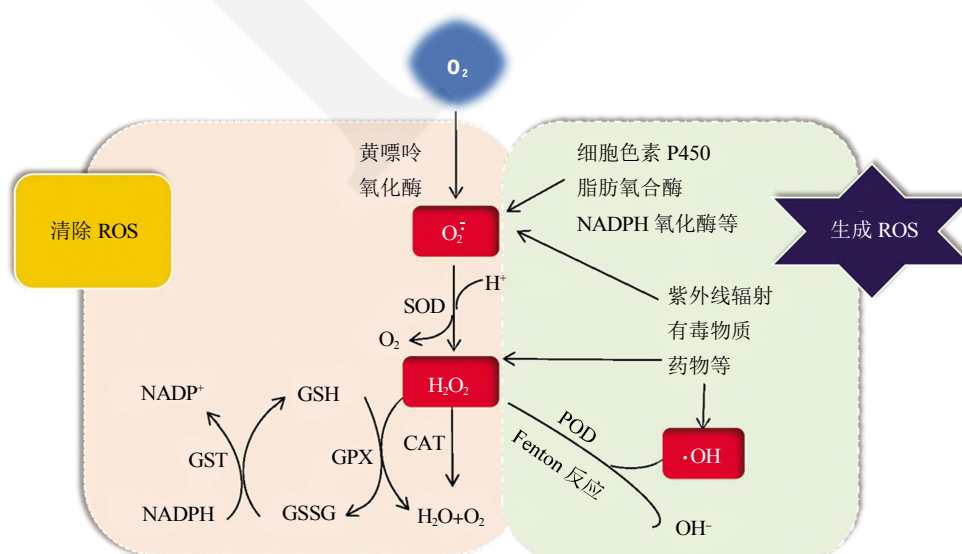


Fig. 1 Generation and elimination process of ROS in vivo

图 1 体内 ROS 的生成与清除过程

2 金属化合物纳米酶

众多金属化合物纳米材料已被证明具有模拟酶性质, 如氧化铁、四氧化三钴纳米颗粒具有类双酶(POD、CAT)的催化活性^[32-33], 二氧化铈纳米颗粒具有类多酶(SOD、CAT 以及氧化酶)活性^[4, 6-8], 普

鲁士蓝纳米颗粒能够模拟多种酶(POD、CAT、SOD)活性^[10], 硫化铁^[34]、氧化铜^[35]、二氧化锰^[36]、五氧化二钒^[37]等也可以模拟 POD 酶活性, 等等. 纳米酶在特定的条件下调控细胞 ROS 水平也被广泛报道(表 1). 下面主要围绕研究较多的氧化铁纳米酶和二氧化铈纳米酶进行阐述.

Table 1 The enzyme-like activities of various metal compounds and their regulatory effects of cell ROS levels
表 1 各种金属化合物纳米酶活性及调控细胞 ROS 水平

纳米酶类型	利用的酶活性 / 机制	作用细胞 / 组织	作用原理	应用	参考文献
氧化铁纳米颗粒	POD(酸性环境)	人神经胶质瘤	产生 $\cdot\text{OH}$, 增强细胞内氧化应激	诱导 U251 细胞损伤	[33]
Fe_3O_4 纳米颗粒	CAT(中性环境)	U251 细胞	分解 H_2O_2 为 H_2O 和 O_2	降低细胞毒性	[38]
	CAT(中性环境)	L929 细胞、PC12 细胞、果蝇	减少 PC12 细胞内 α - 突触核蛋白的聚积及 caspase-3 的活化; 降低 L929 细胞及年老果蝇体内 ROS 水平, 提高果蝇爬行能力	减少细胞内氧化应激, 延缓衰老, 延长寿命, 防止神经退化	
	类芬顿反应	U87MG 细胞	Fe^{2+} 在酸性环境下从氧化铁纳米颗粒中释放, 与亚油酸氢过氧化物反应产生单线态氧($^1\text{O}_2$), 随即引发细胞内 ROS 增加	改善光动力疗法的缺陷, 可控产生 $^1\text{O}_2$, 无需氧及其他额外刺激, 在体外 / 体内有效杀伤肿瘤细胞	
二氧化铈纳米颗粒	SOD、CAT(中性环境)	心脏祖细胞	降低细胞 ROS 水平	保护心脏祖细胞	[40]
	SOD(酸性环境)	胰腺癌细胞	催化 O_2^- 产生 H_2O_2 , 由于酸性环境其类 CAT 酶活性受到抑制, 致 H_2O_2 累积	作为肿瘤细胞的放射治疗增敏剂, 促进肿瘤细胞的死亡	[41]
叶酸修饰的二氧化铈纳米颗粒	SOD(酸性环境)	A2780 细胞	叶酸修饰, 增加细胞内吞量; 产生并累积 H_2O_2 ; 内皮细胞标志物 CD31 表达量降低, 氧化应激标志物 4- 羟基壬烯醛及 caspase-3 表达量增加	抑制卵巢癌细胞增殖和新生血管的生成, 结合顺铂化疗药物共同治疗, 可有效降低肿瘤疾病负担	[42]
PVP 修饰的普鲁士蓝纳米颗粒	POD(酸性环境)	各种氧化应激细胞模型	清除 ROS	有效控制 ROS 诱导的细胞损伤	[10]
	CAT(中 / 碱性环境)				[43]
	SOD				
	抗坏血酸氧化酶(AAO)				
	CAT(中性环境)	脂多糖诱导的小鼠肝脏炎症模型	分解 H_2O_2 为 H_2O 和 O_2	既降低了炎症组织的氧化应激, 又利用产生的 O_2 作为超声造影剂以增强超声成像和磁共振成像	
五氧化二钒纳米颗粒	谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)	哺乳动物细胞	还原 H_2O_2 、恢复细胞氧化还原水平	细胞保护	[44]
四氧化三钴纳米颗粒	SOD、CAT、GPx	帕金森病实验模型 SHSY-5Y 细胞	清除 $\cdot\text{OH}$, 维持体内氧化还原稳态	保护细胞免受神经毒素诱导的损伤	[45]

2.1 氧化铁纳米酶

氧化铁纳米颗粒(IONPs)是目前研究最多的金属氧化物纳米酶. 作为一种磁性纳米材料, IONPs 已经广泛应用于生物医学领域, 例如磁共振成像、

药物或基因递送、肿瘤热疗以及体内细胞标记等^[46-47]. 2007 年 Yan 研究组^[2]发现, Fe_3O_4 具有内在的类辣根过氧化物酶活性, 与天然酶一样也符合乒乓机制, 推测其遵循芬顿反应(式 1, 2), 即 IONPs

中的 Fe^{2+} 先催化 H_2O_2 产生高活性的 $\cdot\text{OH}$, 后者进一步氧化各种底物如 TMB 或 ABTS 产生颜色变化. 随后, Gu 研究组^[33]发现



IONPs 具有 pH 依赖的类双酶活性, 即酸性条件下表现出类 POD 活性, 中性条件下表现出类 CAT 活性.

众所周知, POD 和 CAT 是生物体内重要的氧化还原酶, 可以调控细胞内的氧化还原状态. 因此 IONPs 在细胞中与 H_2O_2 相互作用时表现出不同的类酶活性就决定了不同的生物学效应. 而 IONPs 的尺寸、结构、分布、细胞内化行为以及所处的细胞内微环境(如 pH)对其类酶活性有着显著的影响^[33, 48]. Gu 研究组^[33]发现, 当 IONPs 内化进入 U251 细胞溶酶体的酸性 pH 环境中, 可以催化 H_2O_2 生成 $\cdot\text{OH}$. 由于缺乏特异性, $\cdot\text{OH}$ 会攻击任何可以提供电子的细胞分子, 从而导致不可逆的细胞损伤, 当 IONPs 处在模拟细胞质的中性 pH 环境时, 则显示出类 CAT 酶活性, 将 H_2O_2 分解为无毒的 H_2O 和 O_2 , 具有很好的 H_2O_2 解毒作用(图 2). 在治疗癌症时, Fe_3O_4 纳米颗粒的结构效应对其类 POD 酶活性的影响也有报道, Fu 等^[40]在体外对不同结构和形态的 Fe_3O_4 纳米颗粒的类 POD 酶活性大小进行了比较, 发现其按照 Fe_3O_4 纳米簇(约 275 nm) > Fe_3O_4 纳米方块(约 8.5 nm) > Fe_3O_4 纳米花(约 108 nm)的顺序. 随后评估了它们对肿瘤细胞的杀伤能力. 将这三种 Fe_3O_4 纳米颗粒(25 mg/L)分别与 HeLa 细胞共孵育, 外源性 H_2O_2 (0.625 mol/L)刺激下, 发现与体外类 POD 酶活性大小相反, Fe_3O_4

纳米方块引起的细胞杀伤能力最强, 推测原因是具有较小尺寸的 Fe_3O_4 纳米方块能够最大限度地通过内吞作用进入细胞, 增加细胞内 ROS 的产生并诱导细胞死亡. 由此可见, IONPs 的生物学效应不仅与其自身的类酶活性有关, 环境 pH 以及细胞内吞效率等其他因素也对其类酶活性的发挥起着至关重要的复杂作用.

IONPs 的类酶活性赋予其保护正常细胞和杀伤肿瘤细胞的双重作用. Huang 等^[49]发现超顺磁性氧化铁纳米粒子(SPION)利用其固有的类 POD 酶活性剂量依赖性地减少了人间充质干细胞(hMSCs)内的 H_2O_2 , 进而促进细胞增殖与生长. 另外, SPION 还可以在溶酶体内发生降解而产生铁离子, 铁离子进一步影响了细胞周期调控因子的表达, 从而加速细胞周期进程. 另一方面, SPION 胶束联合抗癌药物 β -拉帕醌共同治疗, 则显著提高了 A549 非小细胞肺癌(NSCLC)细胞内 ROS 水平, 极大地增强了 β -拉帕醌的肿瘤杀伤效果^[50]. 非小细胞肺癌 A549 细胞中过表达的 NADPH- 醌氧化还原酶 1(NQO1)催化 β -拉帕醌与细胞中的 NAD(P)H 发生无效氧化还原循环, 产生 O_2^- 和 H_2O_2 . 作为细胞内铁供体, pH 敏感型的 SPION 胶束内化进入 A549 NSCLC 细胞后, 在酸性细胞器(如胞内体、溶酶体)中降解, 释放铁离子 $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$. 在这些 $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ 的存在下, H_2O_2 转化为高活性的 $\cdot\text{OH}$. 急剧增加的 ROS 导致了胞内大量 DNA 单链断裂及碱基损伤, 进而激活了多聚(ADP-核糖)聚合酶 1(PARP1), 促进癌细胞发生程序性死亡^[41]. 最近, 中国科学院上海硅酸盐研究所相关人员^[51]利用枝状介孔二氧化硅纳米粒子负载直径为 2 nm 的超小 Fe_3O_4 纳米颗粒和葡萄糖氧化酶. 这种结构的纳米材料进入肿瘤细胞后, 首先与细胞中的葡萄糖反应生成葡萄糖酸和 H_2O_2 . 接着超小 Fe_3O_4 纳米颗粒在微酸环境与 H_2O_2 反应生成 $\cdot\text{OH}$, 诱导肿瘤细胞凋亡. 这种联合治疗以杀伤肿瘤细胞的方法虽未明确指出 IONPs 的类酶活性, 但是究其作用原理, 则与其模拟 POD 酶类似, 都是基于芬顿反应产生的 $\cdot\text{OH}$ 的强杀伤能力.

2.2 二氧化铈纳米酶

二氧化铈(CeO_2)作为一种稀土材料, 由于铈离子可以在 Ce^{3+} 和 Ce^{4+} 之间可逆转换以及氧空位的存在而具有优异的催化特性. 已有研究表明, CeO_2 纳米颗粒具有类 SOD、CAT 以及氧化酶活性, 并且还可以清除羟自由基和一氧化氮自由基^[13-9]. 当

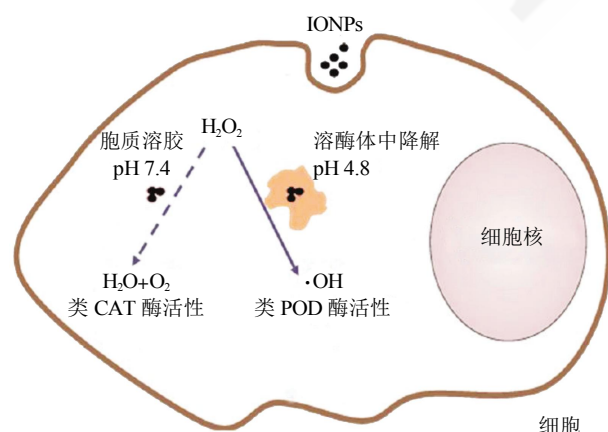
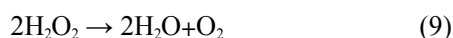
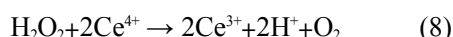
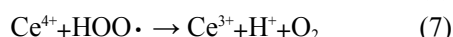
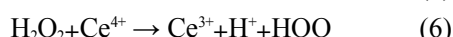
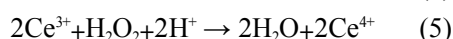
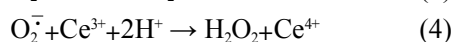
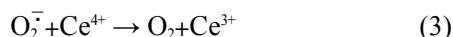


Fig. 2 pH-dependent double enzyme-like activities (CAT, POD) of IONPs^[33]

图 2 IONPs 的 pH 依赖类双酶(CAT、POD)活性^[33]

$\text{Ce}^{3+}/\text{Ce}^{4+}$ 比例较高时, CeO_2 纳米颗粒主要表现为类 SOD 酶活性; 而 $\text{Ce}^{3+}/\text{Ce}^{4+}$ 比例较低时, 则主要表现为类 CAT 酶活性^[52]. 推测其类 SOD 酶活性的机理反应如式 3、4^[6-7], 类 CAT 酶活性的机理反应式如式 5~9^[53].



与 IONPs 类似, CeO_2 纳米颗粒既可以作为抗氧化剂来保护细胞免受氧化应激损伤, 也可以充当氧化剂角色来促进肿瘤细胞的凋亡.

CeO_2 纳米颗粒的抗氧化生物应用已经得到了广泛的报道. CeO_2 纳米颗粒能够清除遗传性视网膜退化小鼠模型中的 ROS, 防止视网膜功能恶化及感光细胞的凋亡^[54]; 5~8 nm 的纳米 CeO_2 进入到心脏祖细胞(CPCs)的细胞质中, 能够有效地降低外源性 H_2O_2 的刺激, 可对 CPCs 进行长达 7 天的有效保护^[40]; 与单独的 CeO_2 纳米颗粒相比, 去铁蛋白包被的 CeO_2 纳米颗粒(AFe- CeO_2)增加了表面 $\text{Ce}^{3+}/\text{Ce}^{4+}$ 的比例, 类 SOD 酶活性显著提升, 且表现出良好的细胞相容性, 可以通过网格蛋白介导的胞吞作用进入 HepG2 细胞内有效地清除 ROS^[55]. 此外, CeO_2 纳米颗粒在神经保护、抗炎、保护正常细胞免受辐射损伤等方面也有着较好的潜在应用^[56-58].

在 pH 偏酸性的肿瘤细胞中, CeO_2 纳米颗粒则发挥其促氧化剂的作用, 抑制细胞的侵袭能力, 对肿瘤细胞产生直接毒性^[59-61]. Alili 等^[60]报道了葡聚糖包被的 CeO_2 纳米颗粒在人黑素瘤细胞(A375)中可以产生 ROS 而引起细胞毒性和氧化应激. 他们将黑素瘤细胞与 5 nm 的 CeO_2 一起孵育, 发现肿瘤细胞内皮细胞标志物 CD31 表达量下降、缺氧诱导因子 1 α (HIF1 α)的表达量增加、细胞存活率大大降低. HIF1 α 可以进入细胞核上调糖酵解酶, 从而产生较多的乳酸和 H^+ , 降低了肿瘤细胞的微环境 pH^[62]. 有趣的是, CeO_2 类 SOD 酶活性恰恰与这种偏酸的微环境有关. 通过类 SOD 酶活性使 A375 细胞产生 H_2O_2 , 进一步导致细胞色素 c 的释放、caspase-3 的活化以及 PARP 的水解, 激活细胞凋亡的内在途径, 并通过下调陷窝蛋白 1(Cav-1)的表

达来降低肿瘤细胞的侵袭能力^[60].

由于酸性环境能够抑制 CeO_2 纳米颗粒的类 CAT 酶活性, 而对其类 SOD 酶活性没有显著影响, 所以当 CeO_2 纳米颗粒作为放射治疗(RT)增敏剂时, 能够使呈酸性的胰腺癌细胞内的 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 被不断地转化为 H_2O_2 , H_2O_2 累积在细胞中无法得到有效地分解, 从而增加了辐射诱导的肿瘤细胞的凋亡效果^[41]. 由此可见, CeO_2 纳米颗粒既可以清除正常组织由于 RT 所诱导的 ROS, 保护正常细胞免受损伤, 发挥放射防护效果; 也可以增加肿瘤细胞中 ROS 的积累量和稳定性, 起到放射增敏的作用.

3 贵金属纳米酶

除了金属化合物纳米材料外, 一些贵金属纳米材料也被证明具有类多酶活性, 包括金、铂纳米颗粒具有类 POD、CAT、SOD 酶活性^[12, 14-15], 钯纳米晶具有类 CAT、SOD 双酶活性^[63], 铱纳米颗粒具有类 CAT、POD 双酶活性^[64]. 此外, 金纳米颗粒还具有模拟葡萄糖氧化酶的功能^[11]. 很多贵金属复合纳米材料, 如铂纳米点包被金纳米棒($\text{Au}@\text{Pt}$)表现出类氧化酶、POD、CAT、SOD 酶活性^[65-67]、钯-铱核壳纳米方表现出类 POD 酶活性^[67], 等等.

目前, 在对贵金属纳米材料的模拟酶活性研究中, 金和铂纳米材料占较大比例. 同前文所述的金属化合物类似, 金纳米颗粒(Au NPs)、铂纳米颗粒(Pt NPs)的催化活性同样受到反应 pH、温度、 H_2O_2 的浓度、以及纳米颗粒的尺寸、浓度、表面修饰等因素的影响^[12, 15], 例如: 5 nm 的 Pt NPs 类酶活性比 20 nm 的 Pt NPs 高; 表面修饰羧酸的 Au NPs 的类 CAT 酶活性比表面修饰 PVP 的 Au NPs 更高; 一定范围内, Au NPs 的类 POD 酶活性随 H_2O_2 及 Au NPs 的浓度增加而增强. 另外, Pt NPs 和 Au NPs 也都遵循 pH 依赖的类 POD、CAT 酶活: 在酸性 pH 下, 模拟 POD 酶活性诱导 H_2O_2 产生 $\cdot\text{OH}$; 在中 / 碱性 pH 下, 则模拟 CAT 酶活性, 分解 H_2O_2 产生 H_2O 和 O_2 ^[12, 15].

除了上述因素外, 表面原子在纳米颗粒催化活性中也起着重要的作用^[68-71]. 由不同表面包围的纳米材料具有不同的表面能, 每个面结构可能表现出不同的反应性. Ge 等^[63]就探究了同样具有类 CAT、SOD 酶活性的 {111} Pd 八面体与 {100} Pd 立方体的抗氧化活性, 发现低表面能的 {111} Pd 八面体反而比高表面能的 {100} Pd 立方体具有更强的抗氧化性能.

贵金属纳米材料的这些类酶活性赋予其能够代替天然酶, 作为抗氧化剂来治疗 ROS 介导的相关疾病的巨大潜力. 已经有相关文献报道了关于它们清除 ROS, 保护细胞的实例(表 2).

虽然这些纳米酶在清除细胞 ROS, 治疗氧化应激相关疾病以及抗肿瘤方面有着相当广泛的应用前景, 但在 ROS 介导的肿瘤细胞杀伤治疗当中, 具有抗氧化酶活性的纳米颗粒所起的作用就另当别论了. 低温等离子体疗法(CAP)是一种安全的肿瘤治疗方法, 可用于选择性杀伤各种癌细胞. CAP 诱导的细胞死亡主要归因于 ROS 的产生, 包括 $\cdot\text{OH}$ 、 H_2O_2 和 $\text{O}_2^{\cdot-}$ [72], ROS 可以损伤细胞内成分、促进或抑制细胞内相关信号通路[73-74]、损伤癌细胞 DNA [75-76]. 在研究 Pt-NPs 对氦低温等离子体(He-CAP)诱导的细胞凋亡的影响及潜在机制中[77], 发现 Pt-NPs 利用其类 SOD、CAT 活性清除了 He-CAP 诱导的 ROS, 从而抑制了淋巴瘤 U937 细

胞内游离 Ca^{2+} 的释放及 Fas 受体的活化, 导致 caspase-3 和 caspase-8 活性降低等, 阻止了线粒体膜电位的降低, 最终抑制 He-CAP 诱导的细胞凋亡(图 3). 此外, Pt-NPs 也可以以剂量依赖的方式显著抑制高热诱导的人单核细胞淋巴瘤 U937 细胞和人皮肤 T 细淋巴瘤 HH 细胞的凋亡[78], 原因同前所述, Pt-NPs 的类酶活性使细胞内的 ROS 在不同程度上受到抑制, 涉及凋亡执行的所有途径也受到不利影响. 还有研究显示, Pt NPs 还具有类抗坏血酸氧化酶活性, 体外细胞实验证实了具有抗坏血酸氧化酶活性的 Pt NPs 抑制了维生素 C 对氧化应激细胞的保护作用[79]. 可见, 当这些纳米酶与有关 ROS 参与的肿瘤治疗技术联合使用时, 可能会产生一些相反的作用. 这进一步提示我们在生物医学领域中, 选择合适的纳米材料以及巧妙地运用纳米材料模拟酶性质的重要性.

Table 2 Noble metal nanozymes as antioxidant to eliminate ROS and protect cells from oxidative stress

表 2 贵金属纳米酶作为抗氧化剂清除 ROS, 保护细胞免受氧化应激的实例

纳米酶类型	利用的酶活性	作用原理 / 催化机制	作用效果	参考文献
氨基封端的 PAMAM 树状大分子包裹的金纳米簇(AuNCs-NH ₂)	CAT(pH 4.8-7.4)	AuNCs-NH ₂ 表面的叔胺可以抑制 $\cdot\text{OH}$ 的产生, 从而抑制类 POD 酶活性; AuNCs-NH ₂ 表面的叔胺容易质子化而带正电荷, 促进 OH 在金纳米簇表面的吸附, 而在较宽的 pH 范围内表现出类 CAT 酶活性	清除 H_2O_2 , 保护小鼠神经元细胞免受氧化应激	[80]
		AuNCs-NH ₂ 的类 CAT 酶活性产生的 O_2 改善肿瘤细胞乏氧环境; AuNCs-NH ₂ 不显示类 SOD 酶活性, 不会消耗 $\text{O}_2^{\cdot-}$	自供氧抵抗肿瘤细胞乏氧, 改善光动力疗法的治疗效果	[81]
直径为 5 nm 和 20 nm 的柠檬酸封端的铂纳米颗粒(Pt NPs)	POD、CAT、SOD	在人脑海绵体畸形疾病细胞模型一小鼠胚胎成纤维细胞系中, 由于 krit1 基因的功能缺失突变而引起高水平 ROS, Pt NPs 则可以发挥其抗氧化酶活性, 降低 ROS	保护小鼠胚胎成纤维细胞免受氧化应激	[15]
直径约 2 nm 的去铁铁蛋白包裹的铂纳米粒子(Pt-apo)	CAT、SOD	通过铁蛋白受体介导进入人肠道 Caco-2 细胞, 避免与细胞膜相互作用而导致膜损伤; 去铁铁蛋白笼阻止 Pt NPs 与细胞内蛋白质的有害相互作用以及颗粒的堆积扩散, 生物相容性良好; 去铁铁蛋白不影响 Pt NPs 的类酶活性	清除 Caco-2 细胞内 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 和 H_2O_2 , 改善细胞抗氧化应激能力	[16]
钯纳米晶: {111}Pd 八面体 {100}Pd 立方体	CAT、SOD	人脐静脉内皮细胞(HUVEC)受外源 H_2O_2 刺激时, 发挥其抗氧化酶活性	清除细胞内 H_2O_2 , 维持线粒体膜电位, 降低 ROS 对脂质、蛋白质、DNA 的损害	[63]
粒径为 1.5 nm 的 PVP 修饰的铱纳米颗粒(PVP-IrNPs)	POD(酸性环境) CAT(中 / 碱性环境)	与 Fe_3O_4 不同, 其类 POD 酶反应过程中, 没有 $\cdot\text{OH}$ 的生成, 而是作为电子传递介质, 将电子从 H_2O_2 传递给氧化底物; 类 CAT 酶活性与氧化物物质 $\text{Ir}(0)/\text{IrO}_2$ 的形成有关	具有良好的生物相容性, 降低外源 H_2O_2 对 A549 肺癌细胞的氧化损伤	[64]

衍生物和精氨酸 C₆₀ 衍生物. 由于疏水相互作用, 氨基酸 C₆₀ 衍生物可以自组装形成球形聚集体. 实验表明, 这些聚集体能够穿透细胞膜, 减少 PC12 细胞中 ROS 的积累及 H₂O₂ 引起的细胞损伤. 结果显示氨基酸 C₆₀ 衍生物具有预防氧化应激诱导细胞死亡的潜力, 并且没有明显毒性^[91].

2010 年, Chen 等^[85]合成了一种新型的 C₆₀-甲硫氨酸衍生物(FMD)用以研究 FMD 对暴露于铅环境中的人 SH-SY5Y 神经母细胞瘤细胞的保护作用. 研究发现, 在 500 μmol/L 铅醋酸盐溶液孵育前, 用 FMD 进行预处理可以大大改善细胞的存活率, 减轻 DNA 损伤, 并且无明显毒性. 这些观察结果表明 FMD 可以作为预防铅中毒的潜在神经保护剂.

Quick 等^[84]对中年野生型小鼠(非转基因, 非衰老加速型)进行 C₆₀-C₃ 慢性治疗. 固定脑切片成像图显示, 经过纳米酶治疗的小鼠, 被测脑区的年龄相关氧化损伤程度显著降低, 且展示出良好的莫里斯水迷宫学习和记忆能力. 这表明 C₆₀-C₃ 纳米酶具有治疗年龄相关的认知障碍的潜力.

近年来, 金属富勒烯也开始大放异彩. 2017 年, Andrade 等^[92]研究了 2 种富勒烯(C₆₀、C₈₂)和 3 种过渡金属(铜、银、金)以及金属原子簇(4 个原子形成一个簇)加和形成的金属富勒烯. 他们从电子转移(ET)和自由基加合物形成(RAF)两个方面入手分析其自由基清除能力. 结果显示, 过渡金属原子和原子簇的存在显著提高了富勒烯清除自由基的能力, 并推断金属富勒烯将具有广阔的应用前景^[92-93].

4.2 石墨烯及其衍生物纳米酶

石墨烯, 即碳原子以 sp² 杂化方式形成的单原子厚度的新型二维材料, 近年来在材料科学与生物技术领域受到了极大关注. 目前已有许多基于石墨烯及其衍生物的纳米材料被发现具有模拟 POD 酶的活性, 并被应用于双氧水及葡萄糖的检测、DNA 传感、伤口消毒、免疫检测、肿瘤细胞检测等方面^[94-97].

Qu 研究组^[19]首次发现羧基修饰的氧化石墨烯(GO-COOH)具有类 POD 酶活性, 在 H₂O₂ 的存在下, 可以催化 3, 3', 5, 5'-四甲基联苯胺(TMB)反应生成蓝色产物. 动力学研究表明, 与天然酶辣根过氧化物酶(HRP)相比, GO-COOH 对 TMB 具有更高的催化活性. 如同 HRP, 其催化反应遵循乒乓机制. 此后, 石墨烯量子点^[95]、壳聚糖修饰的氧化石墨烯^[96]、血红素-石墨烯纳米片^[98]、石墨烯/金

纳米颗粒杂合物^[94]以及叶酸修饰的铂纳米颗粒/氧化石墨烯杂合物^[97]等也都被证明具有类 POD 酶活性.

Zhao 研究组^[99]将 5 nm 左右的 AuNPs 固定在叶酸修饰的介孔二氧化硅涂覆的还原氧化石墨烯(RGO-PMS-FA)上, 得到一种新型结构——GSF @ AuNPs. 基于 AuNPs 与石墨烯的协同效应, GSF @ AuNPs 表现出极强的浓度依赖性类 POD 酶活性, 可以在 H₂O₂ 存在下将 TMB 氧化为蓝色产物. 利用 GSF @ AuNPs 表面的叶酸及其类 POD 酶活性, 不仅可以对过表达叶酸受体的 HeLa 细胞(人宫颈癌细胞)进行准确灵敏的比色检测, 还可以特异性地进入 HeLa 细胞, 在外源性或内源性 H₂O₂ 的刺激下, 发挥类 POD 酶活性产生 ·OH, 显著增强肿瘤细胞毒性^[99]. 而用 GSF @ AuNPs 和 H₂O₂ 处理的正常细胞(人胚胎肾 HEK 293 细胞)没有表现出明显的损害^[99]. 这提示具有类酶协同效应复合纳米结构有望成为用于临床癌症诊断和治疗的纳米药物.

4.3 碳纳米管、碳纳米点纳米酶

2009 年, 研究人员通过氧自由基吸收能力测定(ORAC)发现单壁碳纳米管(SWCNT)具有很强的氧自由基清除能力, 可作为抗氧化剂^[100]. 2010 年, Qu 研究组^[20]首次报道了 SWCNT 具有类 POD 酶活性. 2015 年, Xu 等^[101]报道了碳纳米点表现出对氧化应激细胞的保护作用, 提出了 C 点可以消除细胞内 ROS 并刺激细胞内 SOD 产生的保护机制.

5 总结与展望

综上所述, 金属化合物、贵金属以及碳基纳米材料均具有模拟天然氧化还原酶的性质. 值得注意的是, 作为纳米酶, 它们的催化活性不仅像天然酶那样受 pH、温度以及底物浓度的控制, 同时又与无机纳米材料自身的独特性质有关, 如不同尺寸、形状、表面修饰或者晶面等都会影响它们的催化效果^[12, 15, 33, 48, 55, 60, 63, 80]. 此外, 这些纳米酶的催化机理也不尽相同. 金属化合物纳米酶类酶活性是基于化合物中的金属在不同价态之间的转换, 例如氧化铁纳米颗粒模拟过氧化物酶类似于 Fe²⁺/Fe³⁺ 参与的芬顿反应, 产生的 ·OH 进一步氧化各种底物分子^[2], 二氧化铈纳米颗粒中 Ce³⁺ 和 Ce⁴⁺ 的可逆转换使其能够模拟超氧化物歧化酶以及过氧化氢酶^[49], PVP 修饰的普鲁士蓝纳米颗粒^[10]、PVP 修饰的铈纳米颗粒^[64]、四氧化三钴纳米颗粒^[32]可作为 H₂O₂ 与底物

之间的电子传递介质来赋予自身类酶活性. 金属纳米酶、碳基纳米酶类酶活性则与底物的吸附、活化以及电子传递有着密切的关系^[102-103].

有趣的是, 当这些纳米酶进入细胞后, 能够清除或者产生 ROS, 进而调控细胞的氧化还原水平. 前文所提到的部分纳米材料(氧化铁纳米颗粒^[33]、普鲁士蓝纳米颗粒^[10]、金纳米颗粒^[12]、铂纳米颗粒^[15]、铱纳米颗粒^[64])都具有 pH 依赖的类 POD 和 CAT 酶活性, 这就意味着当它们进入细胞后, 可以决定 H_2O_2 向两种不同的方向转化: 酸性 pH 下, 转化为有毒性的 $\cdot\text{OH}$; 中性或碱性条件下, 分解为无毒的 H_2O 和 O_2 . H_2O_2 不同的命运一方面取决于纳米材料的催化活性, 另一方面跟 H_2O_2 本身的理化性质也有一定的关系^[104]. 例如在酸性条件下 H_2O_2 的氧化性较强, 可以氧化其他底物, 而在中、碱性环境下, 其氧化还原电位降低, 氧化性减弱, 从而倾向于分解. 具体的机制还需进一步的研究来证实. 此外还有一部分纳米材料同时具有模拟 SOD 酶活性, 在清除细胞内 O_2^- 方面有显著的效果^[10, 12, 15, 18, 40, 45, 63, 101].

ROS 在肿瘤细胞中的作用呈现两面性。如图 4 所示, 与正常细胞相比, 肿瘤细胞内的 ROS 水平相对较高, 这些增加的 ROS 能够刺激癌基因的表达, 对癌细胞的增殖、转移以及新生血管的生成有

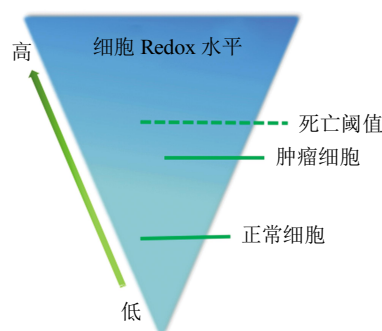


Fig. 4 Comparison of redox levels in normal and tumor cells

图4 正常细胞与肿瘤细胞内 Redox 水平比较

着重要的作用。然而，肿瘤细胞内 ROS 过量，以至超过细胞死亡阈值时，又会抑制细胞的生长，促进肿瘤细胞凋亡。这提示我们，在进行癌症治疗过程中可以从 ROS 角度出发，既可以通过抗氧化剂来清除肿瘤细胞内高反应活性的 ROS，降低细胞多药耐药性，达到治疗效果，也可以使用促氧化剂，使肿瘤细胞内 ROS 水平增加至超过死亡阈值，来达到杀伤肿瘤的目的。纳米酶的发现恰恰使其能够充当这些抗氧化剂或促氧化剂的角色，为肿瘤治疗提供一种新的策略(图 5)。

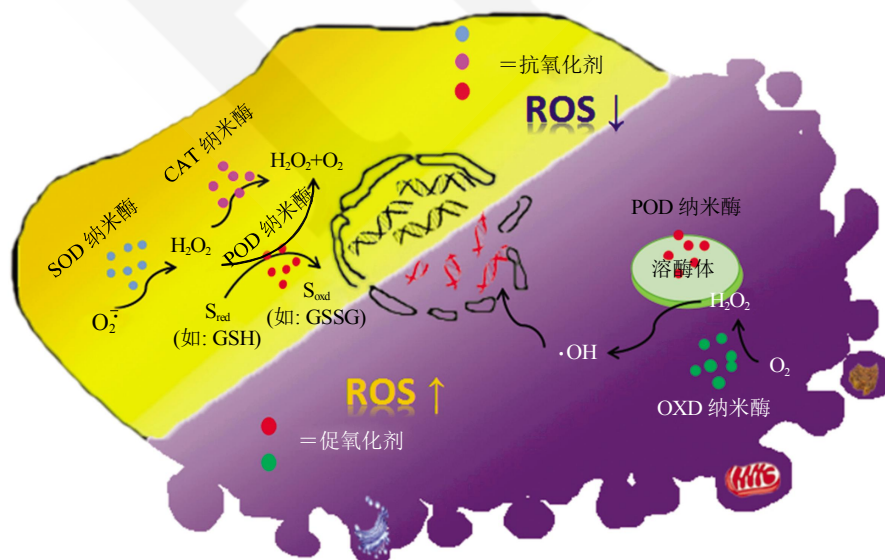


Fig. 5 Bi-directional regulation of intracellular ROS by nanozyme

图5 纳米酶双向调控细胞内 ROS

普鲁士蓝 2003 年被 FDA 批准作为铈和铈的解毒剂, 四氧化三铁纳米颗粒可作为新型补铁剂, 这为纳米颗粒未来在体内应用的成药性和安全性奠定了基础. 除了上述在肿瘤治疗中的作用, 这些纳米酶在氧化应激相关疾病(如缺血性脑卒中、阿尔茨海默病、帕金森病等)的治疗中也有着广阔的应用前景. 同样, 利用纳米酶调控细胞 ROS 也存在以下一些问题: a. 纳米酶活性的精确调控及细胞内的精确定位对其有效发挥治疗效果来说至关重要. 这需要进一步探索其催化机制来设计更加智能的纳米酶. b. 细胞内的氧化还原系统较为复杂, 存在多种自由基如 ROS、RNS 等, 研究纳米酶与这种复杂系统的相互作用较为困难. c. 纳米颗粒的毒性问题目前还存在较大争议. 材料、尺寸、修饰物、所处微环境的不同会产生不同的生物学效应. 纳米酶进入细胞后的毒性和安全性还需要更深入的分析.

总之, 随着纳米科学技术的不断发展, 纳米酶逐渐显示出可设计性、多功能性、可操作性以及应用性等优越的性能, 有望在未来代替天然酶, 开辟出一些新的疾病诊疗原理与技术, 并作为高效、精准的新型纳米药物应用于生物医学领域.

参 考 文 献

- [1] Wei H, Wang E. Nanomaterials with enzyme-like characteristics (nanozymes): next-generation artificial enzymes. *Chem Soc Rev*, 2013, **42**(14): 6060–6093
- [2] Gao L, Zhuang J, Nie L, *et al.* Intrinsic peroxidase-like activity of ferromagnetic nanoparticles. *Nat Nanotechnol*, 2007, **2**(9): 577–583
- [3] Asati A, Kaitanis C, Santra S, *et al.* pH-tunable oxidase-like activity of cerium oxide nanoparticles achieving sensitive fluorogenic detection of cancer biomarkers at neutral pH. *Analytical Chemistry*, 2011, **83**(7): 2547–2553
- [4] Asati A, Santra S, Kaitanis C, *et al.* Oxidase-like activity of polymer-coated cerium oxide nanoparticles. *Angewandte Chemie*, 2009, **48**(13): 2308–2312
- [5] Dowding J M, Dosani T, Kumar A, *et al.* Cerium oxide nanoparticles scavenge nitric oxide radical ($\cdot\text{NO}$). *Chemical Communications*, 2012, **48**(40): 4896–4898
- [6] Heckert E, Karakoti A, Seal S, *et al.* The role of cerium redox state in the SOD mimetic activity of nanoceria. *Biomaterials*, 2008, **29**(18): 2705–2709
- [7] Korsvik C, Patil S, Seal S, *et al.* Superoxide dismutase mimetic properties exhibited by vacancy engineered ceria nanoparticles. *Chemical Communications*, 2007, **10**(10): 1056–1058
- [8] Pirmohamed T, Dowding J M, Singh S, *et al.* Nanoceria exhibit redox state-dependent catalase mimetic activity. *Chemical Communications*, 2010, **46**(16): 2736–2738
- [9] Xue Y, Luan Q, Yang D, *et al.* Direct evidence for hydroxyl radical scavenging activity of cerium oxide nanoparticles. *Journal of Physical Chemistry C*, 2011, **115**(11): 4433–4438
- [10] Zhang W, Hu S, Yin J J, *et al.* Prussian blue nanoparticles as multienzyme mimetics and reactive oxygen species scavengers. *J Am Chem Soc*, 2016, **138**(18): 5860–5865
- [11] Biella S, Prati L, Rossi M. Selective oxidation of D-glucose on gold catalyst. *Journal of Catalysis*, 2002, **206**(2): 242–247
- [12] He W, Zhou Y T, Wamer W G, *et al.* Intrinsic catalytic activity of Au nanoparticles with respect to hydrogen peroxide decomposition and superoxide scavenging. *Biomaterials*, 2013, **34**(3): 765–773
- [13] Jiang H, Chen Z, Cao H, *et al.* Peroxidase-like activity of chitosan stabilized silver nanoparticles for visual and colorimetric detection of glucose. *Analyst*, 2012, **137**(23): 5560–5564
- [14] Jv Y, Li B, Cao R. Positively-charged gold nanoparticles as peroxidase mimic and their application in hydrogen peroxide and glucose detection. *Chemical Communications*, 2010, **46**(42): 8017–8019
- [15] Moglianetti M, De Luca E, Pedone D, *et al.* Platinum nanozymes recover cellular ROS homeostasis in an oxidative stress-mediated disease model. *Nanoscale*, 2016, **8**(6): 3739–3752
- [16] Zhang L, Laug L, Munchgesang W, *et al.* Reducing stress on cells with apoferritin-encapsulated platinum nanoparticles. *Nano Lett*, 2010, **10**(1): 219–223
- [17] Lien C W, Huang C C, Chang H T. Peroxidase-mimic bismuth-gold nanoparticles for determining the activity of thrombin and drug screening. *Chemical Communications*, 2012, **48**(64): 7952–7954
- [18] Ali S S, Hardt J I, Quick K L, *et al.* A biologically effective fullerene (C_{60}) derivative with superoxide dismutase mimetic properties. *Free Radical Biology & Medicine*, 2004, **37** (8): 1191–1202
- [19] Song Y, Qu K, Zhao C, *et al.* Graphene oxide: intrinsic peroxidase catalytic activity and its application to glucose detection. *Adv Mater*, 2010, **22**(19): 2206–2210
- [20] Song Y, Wang X, Zhao C, *et al.* Label-free colorimetric detection of single nucleotide polymorphism by using single-walled carbon nanotube intrinsic peroxidase-like activity. *Chemistry*, 2010, **16**(12): 3617–3621
- [21] Dickinson B C, Chang C J. Chemistry and biology of reactive oxygen species in signaling or stress responses. *Nature Chemical Biology*, 2011, **7**(8): 504–511
- [22] Finkel T. Signal transduction by reactive oxygen species. *The Journal of Cell Biology*, 2011, **194**(1): 7–15
- [23] Gibson S B. A matter of balance between life and death: Targeting reactive oxygen species (ROS)-induced autophagy for cancer therapy. *Autophagy*, 2010, **6**(7): 835–837
- [24] Roberts R A, Smith R A, Safe S, *et al.* Toxicological and pathophysiological roles of reactive oxygen and nitrogen species. *Toxicology*, 2010, **276**(2): 85–94
- [25] Wang H C, Choudhary S. Reactive oxygen species-mediated therapeutic control of bladder cancer. *Nature Reviews Urology*, 2011, **8**(11): 608–616
- [26] Rolo A P, Palmeira C M. Diabetes and mitochondrial function:

- Role of hyperglycemia and oxidative stress. *Toxicology & Applied Pharmacology*, 2006, **212**(2): 167–178
- [27] Giordano F J. Oxygen, oxidative stress, hypoxia, and heart failure. *Journal of Clinical Investigation*, 2005, **115**(3): 500–508
- [28] Bonda D J, Wang X, Perry G, *et al.* Oxidative stress in Alzheimer disease: A possibility for prevention. *Neuropharmacology*, 2010, **59**(4–5): 290–294
- [29] Jaeschke H. Reactive oxygen and mechanisms of inflammatory liver injury. *Journal of Gastroenterology & Hepatology*, 2000, **15**(7): 718–724
- [30] Bokov A, Chaudhuri A, Richardson A. The role of oxidative damage and stress in aging. *Mechanisms of Ageing & Development*, 2004, **125**(10–11): 811–826
- [31] Hirst S M, Karakoti A, Singh S, *et al.* Bio-distribution and *in vivo* antioxidant effects of cerium oxide nanoparticles in mice. *Environmental Toxicology*, 2013, **28**(2): 107–118
- [32] Dong J, Song L, Yin J J, *et al.* Co (3)O (4) nanoparticles with multi-enzyme activities and their application in immunohistochemical assay. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2014, **6**(3): 1959–1970
- [33] Chen Z W, Yin J J, Zhou Y T, *et al.* Dual enzyme-like activities of iron oxide nanoparticles and their implication for diminishing cytotoxicity. *ACS Nano*, 2012, **6**(5):4001–4012
- [34] Dai Z, Liu S, Bao J, *et al.* Nanostructured FeS as a mimic peroxidase for biocatalysis and biosensing. *Chemistry*, 2009, **15**(17): 4321–4326
- [35] Chen W, Chen J, Feng Y B, *et al.* Peroxidase-like activity of water-soluble cupric oxide nanoparticles and its analytical application for detection of hydrogen peroxide and glucose. *Analyst*, 2012, **137**(7): 1706–1712
- [36] Liu X, Wang Q, Zhao H, *et al.* BSA-templated MnO₂ nanoparticles as both peroxidase and oxidase mimics. *Analyst*, 2012, **137** (19): 4552–4558
- [37] André R, Natálio F, Humanes M, *et al.* V₂O₅ nanowires with an intrinsic peroxidase-like activity. *Advanced Functional Materials*, 2011, **21**(3): 501–509
- [38] Zhang Y, Wang Z, Li X, *et al.* Dietary iron oxide nanoparticles delay aging and ameliorate neurodegeneration in *Drosophila*. *Advanced Materials*, 2016, **28**(7): 1387–1393
- [39] Zhou Z, Song J, Tian R, *et al.* Activatable singlet oxygen generation from lipid hydroperoxide nanoparticles for cancer therapy. *Angewandte Chemie*, 2017, **56**(23): 6492–6496
- [40] Pagliari F, Mandoli C, Forte G, *et al.* Cerium oxide nanoparticles protect cardiac progenitor cells from oxidative stress. *ACS Nano*, 2012, **6**(5): 3767–3775
- [41] Wason M S, Colon J, Das S, *et al.* Sensitization of pancreatic cancer cells to radiation by cerium oxide nanoparticle-Induced ROS production. *Nanomedicine Nanotechnology Biology & Medicine*, 2013, **9**(4): 558–569
- [42] Hijaz M, Das S, Mert I, *et al.* Folic acid tagged nanoceria as a novel therapeutic agent in ovarian cancer. *BMC Cancer*, 2016, **16**(1): 220
- [43] Yang F, Hu S, Zhang Y, *et al.* A hydrogen peroxide-responsive O₂ nanogenerator for ultrasound and magnetic-resonance dual modality imaging. *Advanced Materials*, 2012, **24**(38): 5205–5211
- [44] Vernekar A A, Sinha D, Srivastava S, *et al.* An antioxidant nanozyme that uncovers the cytoprotective potential of vanadia nanowires. *Nat Commun*, 2014, **5**: 5301
- [45] Mughesh G, Singh N, Savanur M A, Shubhi Srivastava, *et al.* Redox modulatory Mn₃O₄ nanozyme with multi-enzyme activity provides efficient cytoprotection to human cells in Parkinson's disease model. *Angewandte Chemie*, 2017, **56**(45): 14267–14271
- [46] Berry C C. Progress in functionalization of magnetic nanoparticles for applications in biomedicine. *Journal of Physics D Applied Physics*, 2009, **42**(22): 224003
- [47] Pankhurst Q A, Thanh N K T, Jones S K, *et al.* Progress in applications of magnetic nanoparticles in biomedicine. *Journal of Physics D Applied Physics*, 2009, **42**(22): 220301
- [48] Fu S, Wang S, Zhang X, *et al.* Structural effect of Fe₃O₄ nanoparticles on peroxidase-like activity for cancer therapy. *Colloids & Surfaces B Biointerfaces*, 2017, **154**: 239–245
- [49] Huang D M, Hsiao J K, Chen Y C, *et al.* The promotion of human mesenchymal stem cell proliferation by superparamagnetic iron oxide nanoparticles. *Biomaterials*, 2009, **30**(22): 3645–3651
- [50] Huang G, Chen H, Dong Y, *et al.* Superparamagnetic iron oxide nanoparticles: amplifying ROS stress to improve anticancer drug efficacy. *Theranostics*, 2013, **3**(2): 116–126
- [51] Huo M, Wang L, Chen Y, *et al.* Tumor-selective catalytic nanomedicine by nanocatalyst delivery. *Nature Communications*, 2017, **8**(1): 357
- [52] Heckert E G, Seal S, Self W T. Fenton-like reaction catalyzed by the rare earth inner transition metal cerium. *Environmental Science & Technology*, 2008, **42**(13): 5014–5019
- [53] Nicolini V, Gambuzzi E, Malavasi G, *et al.* Evidence of catalase mimetic activity in Ce(3+)/Ce(4+) doped bioactive glasses. *Journal of Physical Chemistry B*, 2015, **119**(10): 4009–4019
- [54] Kong L, Cai X, Zhou X, *et al.* Nanoceria extend photoreceptor cell lifespan in tubby mice by modulation of apoptosis/survival signaling pathways. *Neurobiology of Disease*, 2011, **42** (3): 514–523
- [55] Liu X, Wei W, Yuan Q, *et al.* Apoferritin-CeO₂ nano-truffle that has excellent artificial redox enzyme activity. *Chemical Communications*, 2012, **48**(26): 3155–3157
- [56] Colon J, Hsieh N, Ferguson A, *et al.* Cerium oxide nanoparticles protect gastrointestinal epithelium from radiation-induced damage by reduction of reactive oxygen species and upregulation of superoxide dismutase 2. *Nanomedicine Nanotechnology Biology & Medicine*, 2010, **6**(5): 698–705
- [57] Das M, Patil S, Bhargava N, *et al.* Auto-catalytic ceria nanoparticles offer neuroprotection to adult rat spinal cord neurons. *Biomaterials*, 2007, **28**(10): 1918–1925
- [58] Hirst S M, Karakoti A S, Tyler R D, *et al.* Anti-inflammatory properties of cerium oxide nanoparticles. *Small*, 2009, **5** (24): 2848–2856
- [59] Alili L, Sack M, Karakoti A S, *et al.* Combined cytotoxic and anti-invasive properties of redox-active nanoparticles in tumor-stroma interactions. *Biomaterials*, 2011, **32**(11): 2918–2929

- [60] Alili L, Sack M, Montfort C V, *et al.* Downregulation of tumor growth and invasion by redox-active nanoparticles. *Antioxidants & Redox Signaling*, 2013, **19**(8): 765–778
- [61] Lin W, Huang Y, Zhou X D, *et al.* Toxicity of cerium oxide nanoparticles in human lung cancer cells. *International Journal of Toxicology*, 2006, **25**(6): 451–457
- [62] Swietach P, Vaughanjones R D, Harris A L. Regulation of tumor pH and the role of carbonic anhydrase 9. *Cancer Metastasis Reviews*, 2007, **26**(2): 299–310
- [63] Ge C, Fang G, Shen X, *et al.* Facet energy versus enzyme-like activities: the unexpected protection of palladium nanocrystals against oxidative damage. *ACS Nano*, 2016, **10**(11): 10436–10445
- [64] Su H, Liu D D, Zhao M, *et al.* Dual-Enzyme Characteristics of polyvinylpyrrolidone-capped iridium nanoparticles and their cellular protective effect against H₂O₂-induced oxidative damage. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2015, **7**(15): 8233–8242
- [65] He W, Liu Y, Yuan J, *et al.* Au@Pt nanostructures as oxidase and peroxidase mimetics for use in immunoassays. *Biomaterials*, 2011, **32**(4): 1139–1147
- [66] Xiong B, Xu R, Zhou R, *et al.* Preventing UV induced cell damage by scavenging reactive oxygen species with enzyme-mimic Au-Pt nanocomposites. *Talanta*, 2014, **120**(2): 262–267
- [67] Xia X, Zhang J, Lu N, *et al.* Pd-Ir core-shell nanocubes: a type of highly efficient and versatile peroxidase mimic. *Acs Nano*, 2015, **9**(10): 9994
- [68] And R N, Elsayed M A. Shape-dependent catalytic activity of platinum nanoparticles in colloidal solution. *Nano Letters*, 2004, **4**(7): 1343–1348
- [69] Cao S, Tao F F, Tang Y, *et al.* Size- and shape-dependent catalytic performances of oxidation and reduction reactions on nanocatalysts. *Chemical Society Reviews*, 2016, **45** (17): 4747–4765
- [70] Falicov L M, Somorjai G A. Correlation between catalytic activity and bonding and coordination number of atoms and molecules on transition metal surfaces: theory and experimental evidence. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1985, **82**(8): 2207–2211
- [71] Jia Y, Cao Z, Chen Q, *et al.* Synthesis of composition-tunable octahedral Pt-Cu alloy nanocrystals by controlling reduction kinetics of metal precursors. *Science Bulletin*, 2015, **60** (11): 1002–1008
- [72] Uchiyama H, Zhao Q L, Hassan M A, *et al.* EPR-spin trapping and flow cytometric studies of free radicals generated using cold atmospheric argon plasma and X-ray irradiation in aqueous solutions and intracellular milieu. *Plos One*, 2015, **10**(8): e0136956
- [73] Finkel T. Signal transduction by reactive oxygen species in non-phagocytic cells. *Journal of Leukocyte Biology*, 1999, **65**(3): 337–340
- [74] Slater T F. Free-radical mechanisms in tissue injury. *Biochemical journal*, 1984, **222**(1): 1–15
- [75] Vandamme M, Robert E, Dozias S, *et al.* Response of human glioma U87 xenografted on mice to non thermal plasma treatment. *Plasma Medicine*, 2012, **1**(1): 27–43
- [76] Vandamme M, Robert E, Lerondel S, *et al.* ROS implication in a new antitumor strategy based on non-thermal plasma. *International Journal of Cancer Journal International Du Cancer*, 2012, **130**(9): 2185–2194
- [77] Jawaid P, Rehman M U, Zhao Q L, *et al.* Helium-based cold atmospheric plasma-induced reactive oxygen species-mediated apoptotic pathway attenuated by platinum nanoparticles. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 2016, **20**(9): 1737–1748
- [78] Yoshihisa Y, Zhao Q L, Hassan M A, *et al.* SOD/catalase mimetic platinum nanoparticles inhibit heat-induced apoptosis in human lymphoma U937 and HH cells. *Free Radical Research*, 2011, **45**(3): 326–335
- [79] Chen C, Fan S, Li C, *et al.* Platinum nanoparticles inhibit antioxidant effects of vitamin C *via* ascorbate oxidase-mimetic activity. *J Mater Chem B*, 2016, **4**(48): 7895–7901
- [80] Liu C P, Wu T H, Lin Y L, *et al.* Tailoring enzyme-like activities of gold nanoclusters by polymeric tertiary amines for protecting neurons against oxidative stress. *Small*, 2016, **12**(30): 4127–4135
- [81] Liu C P, Wu T H, Liu C Y, *et al.* Self-supplying O₂ through the catalase-like activity of gold nanoclusters for photodynamic therapy against hypoxic cancer cells. *Small*, 2017, **13**(26): 1700278
- [82] Li R, Zhen M, Guan M, *et al.* A novel glucose colorimetric sensor based on intrinsic peroxidase-like activity of C₆₀-carboxyfullerenes. *Biosensors & Bioelectronics*, 2013, **47**(2): 502–507
- [83] Tokuyama H, Yamago S, Nakamura E, *et al.* Photoinduced biochemical activity of fullerene carboxylic acid. *Journal of the American Chemical Society*, 1993, **115**(17): 7918–7919
- [84] Quick K L, Ali S S, Arch R, *et al.* A carboxyfullerene SOD mimetic improves cognition and extends the lifespan of mice. *Neurobiology of Aging*, 2008, **29**(11): 117–128
- [85] Chen T, Li Y Y, Zhang J L, *et al.* Protective effect of C(60) - methionine derivat on lead-exposed human SH-SY5Y neuroblastoma cells. *Journal of Applied Toxicology: JAT*, 2011, **31**(3): 255–261
- [86] Gharbi N, Pressac M, Hadchouel M, *et al.* [60]fullerene is a powerful antioxidant *in vivo* with no acute or subacute toxicity. *Nano Letters*, 2005, **5**(12): 2578–2585
- [87] Krusic P J, Wasserman E, Keizer P N, *et al.* Radical Reactions of C₆₀. *Science*, 1991, **254**(5035): 1183–1185
- [88] Yu S P. Buckminsterfullerenol free radical scavengers reduce excitotoxic and apoptotic death of cultured cortical neurons. *Neurobiology of Disease*, 1996, **3**(2): 129–135
- [89] Dugan L L, Turetsky D M, Du C, *et al.* Carboxyfullerenes as neuroprotective agents. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1997, **94**(17): 9434–9439
- [90] Dugan L L, Lovett E G, Quick K L, *et al.* Fullerene-based antioxidants and neurodegenerative disorders. *Parkinsonism & Related Disorders*, 2001, **7**(3): 243–246
- [91] Hu Z, Guan W, Wang W, *et al.* Synthesis of amphiphilic amino acid C derivatives and their protective effect on hydrogen peroxide-induced apoptosis in rat pheochromocytoma cells. *Carbon*, 2008, **46**(1): 99–109
- [92] Andrade E B, Martí nez A. Free radical scavenger properties of metal-fullerenes: C₆₀ and C₈₂ with Cu, Ag and Au (atoms and

- tetramers). Computational & Theoretical Chemistry, 2017, **1115**: 127–135
- [93] Popov A A, Yang S, Dunsch L. Endohedral fullerenes. Chemical Reviews, 2013, **113**(8): 5989–6113
- [94] Liu M, Zhao H, Chen S, *et al.* Interface engineering catalytic graphene for smart colorimetric biosensing. *Acs Nano*, 2012, **6**(4): 3142
- [95] Sun H, Gao N, Dong K, *et al.* Graphene quantum dots-band-AIDS used for wound disinfection. *Acs Nano*, 2014, **8**(6): 6202–6210
- [96] Wang G L, Xu X, Wu X, *et al.* Visible-light-stimulated enzymelike activity of graphene oxide and its application for facile glucose sensing. *Journal of Physical Chemistry C*, 2014, **118** (48): 28109–28117
- [97] Zhang L N, Deng H H, Lin F L, *et al.* *In situ* growth of porous platinum nanoparticles on graphene oxide for colorimetric detection of cancer cells. *Analytical Chemistry*, 2014, **86** (5): 2711–2718
- [98] Guo Y, Liu D, Jing L, *et al.* Hemin graphene hybrid nanosheets with intrinsic peroxidase-like activity for label-free colorimetric detection of single-nucleotide polymorphism. *Acs Nano*, 2011, **5**(2): 1282–1290
- [99] Maji S K, Mandal A K, Nguyen K T, *et al.* Cancer cell detection and therapeutics using peroxidase-active nanohybrid of gold nanoparticle-loaded mesoporous silica-coated graphene. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2015, **7**(18): 9807–9816
- [100] Lucente-Schultz R M, Moore V C, Leonard A D, *et al.* Antioxidant single-walled carbon nanotubes. *Journal of the American Chemical Society*, 2009, **131**(11): 3934–3941
- [101] Xu Z Q, Lan J Y, Jin J C, *et al.* Highly photoluminescent nitrogen-doped carbon nanodots and their protective effects against oxidative stress on cells. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2015, **7**(51): 28346–28352
- [102] Li J, Liu W, Wu X, *et al.* Mechanism of pH-switchable peroxidase and catalase-like activities of gold, silver, platinum and palladium. *Biomaterials*, 2015, **48**: 37–44
- [103] Shen X, Liu W, Gao X, *et al.* Mechanisms of oxidase and superoxide dismutation-like activities of gold, silver, platinum, and palladium, and their alloys: a general way to the activation of molecular oxygen. *J Am Chem Soc*, 2015, **137**(50): 15882–15891
- [104] Rabai G, Kustin K, Epstein I R. A systematically designed pH oscillator: the hydrogen peroxide-sulfite-ferrocyanide reaction in a continuous-flow stirred tank reactor. *Jamchemsoc*, 1989, **111**(11): 3870–3874

Nanozyme and Their ROS Regulation Effect in Cells*

DONG Hai-Jiao, ZHANG Chi, FAN Yao-Yao, ZHANG Wei, GU Ning**, ZHANG Yu**

(School of Biological Science & Medical Engineering, Southeast University, State Key Laboratory of Bioelectronics, Jiangsu Key Laboratory for Biomaterials and Devices, Nanjing 210096, China)

Abstract With the development of nanotechnology, researchers have successfully constructed some inorganic nanomaterials, which can mimic the catalytic activity of natural antioxidant enzymes. These nanomaterials can regulate the redox levels of cells by mimicking the catalytic processes of natural enzymes such as peroxidase, catalase, and superoxide dismutase. This paper describes the intracellular ROS regulation and oxidative stress-related diseases treatment effects of metal compounds nanozymes, noble metal nanozymes and carbon-based nanozymes from the perspective of their enzyme-like activities. As a new type of enzyme mimic, nanozymes are expected to provide a new strategy for the treatment of diseases in the future biomedical field.

Key words nanozyme, reactive oxygen, cell, redox, tumour therapy

DOI: 10.16476/j.pibb.2017.0460

* This work was supported by a grant from National Key Research and Development Program (2017YFA0205502).

**Corresponding author.

GU Ning. Tel: 86-25-83794960, E-mail: guning@seu.edu.cn

ZHANG Yu. Tel: 86-13851450615, E-mail: zhangyu@seu.edu.cn

Received: December 15, 2017 Accepted: January 16, 2018