J. Fd Hyg. Safety
Vol. 26, No. 1, pp. 43~48 (2011)

Journal of Food Hygiene and Safety
Available online at http://www.foodhygiene.or.kr

이산화규소 나노입자의 마우스 복강 내 주입에 의한 급성독성

차춘남[1] · 정원철 · 이여은[2] · 유창열[3] · 김곤섭 · 김의경 · 김석 · 이후장*

경상대학교 수의과대학 생명과학연구소, [1]경상대학교 산업시스템공학부 공학연구원
[2]경상대학교 보건대학원 환경보건학과, [3]경남도립남해대학 인터넷정보학과

In vivo Acute Toxicity of Silicon Dioxide Nanoparticle to Mice after Intraperitonial Injection

Chun Nam Cha[1], Won Chul Jung, Yeo Eun Lee[2], Chang-Yeul Yoo[3],
Gon Sup Kim, Euikyung Kim, Suk Kim, and Hu Jang Lee*

Research Institute of Life Sciences, College of Veterinary Medicine, Gyeongsang National University, Chinju 660-701, Korea
[1]Engineering Research Institute, Department of Industrial Systems Engineering, Gyeongsang National University, 900 Gajwa-dong, Chinju 600-701, Korea
[2]Department of Environmental Health, Graduate School of Public Health, Gyeongsang National University, Chinju 660-751, Korea
[3]Department of Computer Information, Gyeongnam Provincial Namhae College, Namhae 668-801, Korea
(Received February 15, 2011/Revised February 28, 2011/Accepted March 7, 2011)

ABSTRACT - For the application of nano-sized material in various fields, the evaluation of nano-sized material toxicity is important. In the present study, various concentrations of 200 nm-sized silicon dioxide nanoparticle suspension were intraperitonially injected into mice to identify the toxicity of silicon dioxide nanoparticle in vivo. In the hematological analysis of group II treated with silicon dioxide nanoparticle 100 mg/kg body weight, lymphocytes and monocytes were significantly different compared to the control group. In group III treated with silicon dioxide nanoparticle 200 mg/kg body weight, lymphocytes, monocytes and hemoglobin were significantly different compared to the control group. In blood biochemical analysis of group III, the concentration of AST, ALT, BUN, and creatinine were significantly different compared to the control group. Histopathologic examination of the kidney indicated a mild injury only in mice received 200 mg/kg silicon dioxide nanoparticle. According to the results of the present study, the significant differences in the hematological and blood biochemical analyses and abnormal histopathological findings in the mouse kidney may have been related to exposure to silicon dioxide nanoparticle.

Key words : Silicon Dioxide nanopaticle, Acute toxicity, ICR mouse

나노기술(Nanotechnology)은 21세기의 차세대 산업혁명을 주도할 핵심기술로 전자통신 산업, 재료 제조업, 의료 생명공학, 식품, 항공우주 등 산업 전반에 걸쳐 다양한 분야에서 개발과 활용이 증대되고 있다[1)]. 나노기술은 나노 규모의 크기에서 나타나는 물질 즉, 나노물질의 특이한 성질을 이용하는 기술을 지칭하며, 나노물질은 100 nm 이하의 크기를 갖는 입자, 결정체, 섬유, 필름 혹은 합성물을 의미한다[2)]. 나노(nm)는 10억분의 1을 나타내는 단위로 고대 그리스어인 나노스(Nanos)에서 유래되었으며, 1나노미터(nm)의 크기는 10억분의 1 m로 머리카락의 굵기의 약 8만분의 1에 해당된다[1)].

전 세계적으로 미국을 비롯한 유럽연합, 일본, 독일, 영국 등에서는 국가나노기술개발 정책을 수립해 진행 중에 있으며, 우리나라도 2001년 '국가나노종합 발전계획'을 수립해 진행 중에 있다[3)].

세계 모든 나라들에서는 경쟁적으로 국가나노기술개발 전략을 수립하고 막대한 정부연구지원과 개발을 본격화하고 있다. 2006년에 전 세계적으로 나노기술의 연구와 개발에 총 4조 6,810억 달러를 지출하였으며, 이 중, 미국, 유럽연합, 그리고 일본이 각각 1조 3,510억 달러, 1조 1,500억 달러, 그리고 9,800억 달러를 지출했던 것으로 보고되었다[4)]. 우리나라의 경우, 2007년도에 나노기술분야에 대한

*Correspondence to: Hu Jang Lee, College of Veterinary Medicine, Gyeongsang National University, Chinju, 660-701, Korea
Tel: 82-55-751-6642, Fax: 82-55-751-5803
E-mail: hujang@gnu.ac.kr

정부의 투자는 총 2,814억 원으로 선진국들에 비해 아직은 매우 부족한 형편이다[3].

나노기술은 이미 전자기기, 자외선 차단크림, 화장품, 식품 그리고 의료 등에 상용되고 있어 우리 일상생활과 밀접한 관련을 맺고 있다[5].

미국의 우드로윌슨 국제센터(WWICS)의 보고서에 따르면[6], 나노기술이 적용된 소비제품은 580여개에 달하며 이들 제품들 중 건강 및 운동 관련 제품은 356개(61.4%)로 가장 높은 비율을 차지하고 있으며, 가정 및 정원 관련 제품은 67개(11.6%), 식품 및 음료 관련 제품은 66개(11.4%)로 나타나 있다. 식품 및 음료 관련 나노제품들 중, 보충제, 저장제, 요리용 제품, 그리고 식품이 각각 58, 23, 14, 그리고 5%를 차지하고 있는 것으로 보고하였다.

나노기술 개발이 전 세계적으로 본격화되고, 다양한 분야에 적용 가능한 나노물질의 연구개발 및 생산 가속화가 진행됨에 따라 나노기술의 사회적 영향문제가 최근의 주요 이슈로 떠오르고 있다. 이중에서도 특히 나노물질의 인체 및 환경에 대한 유해성 문제는 가장 핵심적인 사안으로 대두되고 있다[7].

나노입자는 의학적으로 그리고 환경적으로 위험성을 내포하고 있다[8]. 최근, 인체 면역세포에 미치는 산화아연 나노입자의 영향에 대한 연구에서 세포독성이 확인되었으며[9], 몇몇 나노입자들은 동물실험에서 뇌를 포함하여 전신에 분포하며, 세포와 조직 내에 침투하여 생화학적 손상을 유발하는 것으로 보고되고 있다[10-12]. 현재, 미국식품의약품안전청은 화장품이나 자외선 차단크림에 함유된 나노물질들이 건강상에 미치는 위해들에 대해 연구를 진행하고 있다[13].

이산화규소 나노입자는 화학 광택제, 약물, 화장품, 프린터 토너, 니스, 그리고 식품 등의 부형제 등에 적용되고 있는 가장 일반적인 나노물질 중의 하나이다[14,15]. 이산화규소 나노입자는 생물의학 분야에서 피복제로 사용되고 있는데, 이는 이산화규소 나노입자가 독성이 없고, 기능성 부여와 생체분자결합과 같은 물질표면의 변경이 용이하기 때문인 것으로 알려져 있다[16-20]. 그렇지만, 대부분의 제조된 나노입자들과 마찬가지로 이산화규소 나노입자의 독성평가에 대한 연구는 아직 초기 상태에 있다.

따라서 본 연구에서는 식품 및 음료 관련 나노제품들에 사용되고 있어 식품위생과 안전성에 영향을 미칠 수 있는 이산화규소 나노입자의 마우스에서의 급성독성을 확인하기 위해 이산화규소 나노입자를 마우스에 투여하여 독성영향을 평가하였다.

재료 및 방법

실험물질

이산화규소 나노입자의 표준품으로는 입자크기가 100 nm인 silicon dioxide를 (주)바이테리얼즈 (서울)에서 구입하여 사용하였다.

이산화규소 나노입자는 멸균생리식염수를 이용하여 25 mg/ml 농도로 현탁시켜 냉장 보관하였다. 현탁액은 사용 전에 초음파를 이용하여 균질화시킨 다음 멸균생리식염수를 이용하여 적정한 농도로 희석하여 사용하였다.

실험동물

5주령(평균체중, 18 ± 1.7 g)의 ICR 마우스 수컷 40마리를 (주)양성 (용인)에서 구입하여 실험에 사용하였다. 마우스는 5마리씩을 임의로 선택하여 케이지에 분리하여, 1주일간의 적응기간을 거친 후 실험에 사용하였다. 사육온도와 습도는 각각 22 ± 1.0ºC과 50 ± 10%로 하였으며, 12시간 간격으로 조명을 조절하였으며, 환기는 자동으로 조절되는 실험동물 사육장치((주)쓰리샤인, 대전)에서 사육하였다. 사료는 설치류형 고형사료(삼양사료(주), 서울)를 자유 급여하였고, 물은 상수도를 자유 섭취시켰다.

본 연구에서 모든 동물실험은 경상대학교 동물실험윤리위원회의 승인(승인번호, GNU-LA-36)을 얻어, '실험동물의 사용과 윤리에 관한 규정'에 따라 연구를 수행하였다.

실험군 및 약물투여

실험군의 구성은 마우스 40마리를 무작위법으로 각 군당 10마리씩으로 분류한 다음, 각 군간의 체중을 고르게 하여 대조군, 실험군 I, 실험군 II 그리고 실험군 III으로 구성하였고, 대조군은 생리식염수를, 실험군은 이산화규소 나노입자 현탁액을 각각 50, 100, 그리고 200 mg/kg의 3 용량 단계로 복강에 투여하였다.

혈액학적 검사

혈액학적 검사를 위해, 시험물질을 투여한 다음, 24시간 후에 심장천공법으로 혈액을 채혈하여 EDTA tube (BD vaccutainer, USA)에 넣어 보관하면서 자동혈구계산기(Advia 120 hematology analyzer, Bayer, USA)를 이용하여 적혈구수(RBC, red blood cell), 총 백혈구수(WBC, white blood cell), 적혈구용적율(HCT, hematocrit), 혈색소(Hb, hemoglobin), 호중구(neutrophils), 호산구(eosinophils), 호염기구(basophils), 림프구(lymphocytes), 단핵구(monocytes)의 백분율, 평균적혈구용적(mean corpuscular volume, MCV), 평균적혈구혈색소량(mean corpuscular hemoglobin, MCH), 평균적혈구혈색소농도(mean corpuscular hemoglobin concentration, MCHC), 그리고 혈소판수(platelets) 등을 측정하였다.

혈액생화학적 검사

혈액생화학적 검사를 위해 심장천공법으로 채혈한 혈액으로부터 혈청을 분리하여 자동생화학분석기(Hitachi 911 chemistry analyzer, Hitachi, Japan)를 이용하여 간세포와 근육손상의 지표인 AST (aspartate amino-transferase), 간세포

손상의 지표인 ALT (alanine transaminase), 신장기능 지표인 BUN (blood urea nitrogen)과 Cr (creatinine)을 측정하였다.

병리조직학적 검사

부검 시 이산화규소 나노입자의 target 장기인 간과 신장에 대한 육안검사를 실시하였으며, 이들 장기를 적출하여 10% formalin 용액에 고정하였다. 통상적인 조직처리 과정을 거쳐 paraffin에 포맷한 다음, 포맷조직을 박절한 후, Hematoxylin & Eosin 염색을 실시하여 광학현미경 하에서 병리조직학적 검사를 실시하였다.

통계학적 분석

결과에 대한 통계적 처리는 Sigma plot (Systat Software Inc., USA)을 이용하여 student's t-test로 실시하였으며, $p < 0.05$일 때, 유의한 차이가 있는 것으로 간주하였다.

결과 및 고찰

일반증상

시험물질인 이산화규소 나노입자를 농도별(0, 50, 100, 200 mg/kg)로 복강내 투여한 마우스에서 시험물질 투여로 인한 일반증상은 관찰되지 않았으며, 사망 및 빈사동물 또한 발생하지 않았다.

혈액학적 변화

Table 1은 대조군과 이산화규소 나노입자를 투여한 실험군의 혈액 중 혈액학적 지표들에 대한 변화를 나타낸 것이다.

Group I은 대조군과 같이 혈액지표들이 모두 정상범위 내의 값을 나타내었다. Group II와 III의 경우, lymphocyte는 정상범위를 벗어나 대조군과 비교하여 통계적으로 유의성 있게 감소하였으며($p < 0.05$), monocyte는 대조군과 비교하여 통계적으로 유의성 있게 증가하였다($p < 0.05$). Hemoglobin은 group III에서 만 대조군과 비교하여 통계적으로 유의성 있게 증가하였다($p < 0.05$).

이산화규소 나노입자를 100 mg/kg 농도로 투여한 group II에서 마우스의 혈액학적 수치는 lymphocyte와 monocyte를 제외하고는 대부분 정상범위 내의 수치를 나타내어 용량상관성을 확인할 수 없는 관계로, 실험물질 투여로 인한 독성학적 변화로 판단되지 않았으며, 이산화규소 나노입자 200 mg/kg 농도로 투여한 group III에서의 마우스의 혈액학적 수치도 lymphocyte, monocyte, 그리고 hemoglobin을 제외한 대부분의 혈액학적 지표들은 모두 정상범위 내의 값을 나타내어 실험물질 투여로 인한 독성학적 영향이 미약한 것으로 판단되었다[21].

혈액생화학적 변화

Table 2는 무투여 대조군과 이산화규소 나노입자를 투여한 실험군의 혈액 중 간과 신장에 관련된 혈액생화학적 지표들에 대한 변화를 나타낸 것이다.

Group I은 혈액생화학적 지표들이 모두 정상범위 내의 값을 나타내어, 대조군과 유의한 차이를 보이지 않았다. Group II의 경우에는 혈액생화학적 지표들의 대부분이 정

Table 1. Hematology of mice treated with SiO_2 nanoparticle for 24h

Parameters[1)]	Normal range	Experimental group[2)]			
		Control	Group I	Group II	Group III
WBC(10^3/μL)	4.00-15.00	4.53 ± 0.32	5.17 ± 0.62	6.77 ± 0.45	8.15 ± 0.83
Eosinophils(%)	< 10.0	0.05 ± 0.02	0.05 ± 0.01	0.03 ± 0.02	0.05 ± 0.04
Basophils(%)	-	1.3 ± 0.27	1.2 ± 0.18	1.1 ± 0.12	0.6 ± 0.08
Lymphocytes(%)	70.0-81.0	78.9 ± 5.45	75.6 ± 4.53	63.5 ± 3.25*	60.0 ± 6.53*
Monocytes(%)	1.0-5.0	3.32 ± 0.84	3.71 ± 0.68	10.4 ± 3.25*	8.9 ± 2.41*
RBC(10^6/μL)	6.00-11.00	7.09 ± 0.73	7.36 ± 0.44	8.35 ± 1.82	8.64 ± 2.69
Hematocrit(%)	35.0-45.0	37.1 ± 1.12	36.9 ± 1.23	38.7 ± 1.59	38.1 ± 1.47
Hemoglobin(g/dL)	14.0-18.0	15.2 ± 0.36	14.8 ± 0.41	16.7 ± 0.65	19.4 ± 0.51*
MCV(fL)	35.0-50.0	41.1 ± 2.47	42.4 ± 2.29	42.7 ± 1.83	39.9 ± 2.34
MCH(pg)	13.0-22.0	16.5 ± 0.39	16.1 ± 0.28	15.9 ± 0.52	16.3 ± 0.41
MCHC(g/dL)	24.0-40.0	32.2 ± 1.55	31.8 ± 1.67	30.1 ± 2.49	32.7 ± 1.68
Platelets(10^3/μL)	600-1,000	695.2 ± 59.3	690.3 ± 61.8	699.4 ± 71.2	763.5 ± 64.7

[1)]WBC, white blood cells; RBC, red blood cells; MCV, mean corpuscular volume; MCH, mean corpuscular hemoglobin; MCHC, mean corpuscular hemoglobin concentration

[2)]Control, group I, group II and group III are intraperitonially administered with the concentration of SiO_2 nanoparticle 0, 50, 100, and 200 mg/kg body weight, respectively

*$p < 0.05$ compared to control

Table 2. Blood biochemistry of mice treated with SiO_2 nanoparticle for 24h

Parameters[1)]	Normal range	Experimental group[2)]			
		Control	Group I	Group II	Group III
AST(IU/L)	59-247	129.1 ± 13.7	137.3 ± 15.9	227.5 ± 34.7	258.1 ± 53.4*
ALT(IU/L)	28-132	35.1 ± 2.1	32.2 ± 2.7	18.0 ± 2.43*	19.4 ± 3.06*
BUN(mg/dl)	18-29	26.0 ± 0.98	26.5 ± 0.79	26.8 ± 1.26	35.4 ± 1.72*
Creatinine(mg/dl)	0.2-0.8	0.32 ± 0.14	0.31 ± 0.23	0.31 ± 0.27	0.17 ± 0.18*

[1)]AST, aspartate transaminase; ALT, alanine transaminase; BUN, blood urea nitrogen.
[2)]Control, group I, group II and group III are intraperitonially administered with the concentration of SiO_2 nanoparticle 0, 50, 100, and 200 mg/kg body weight, respectively.)
*$p < 0.05$ compared to control

상범위 내의 값을 나타내었으나, 간 기능진단 지표인 ALT 값이 정상범위 이하로 나타나 대조군과 비교하여 통계적으로 유의한 차이를 보였다($p < 0.05$). Group III의 경우에는 모든 혈액생화학적 지표들이 정상범위 내의 값을 벗어났으며, 대조군과 비교하여 통계적으로 유의한 차이를 나타내었다($p < 0.05$).

Nishimori 등 (2009)[22)]는 70 nm 크기의 이산화규소 나노입자를 각각 30, 50 mg/kg 농도로 마우스의 정맥을 통해 하루에 두 번 4주 동안 투여하여 마우스에서 이산화규소 나노입자에 의한 만성독성에 따른 조직학적 분석을 수행하였다. 이 결과, 70 nm 크기의 이산화규소 나노입자를 각각 30, 50 mg/kg 농도로 투여한 군에서 모두 간 기능지표인 ALT 값이 대조군과 비교하여 통계적으로 유의한 차이를 보여, 본 연구의 결과와 일치하는 경향을 나타내었다.

이산화규소 나노입자 100과 200 mg/kg 농도로 투여한 group II와 III에서 간의 기능진단 지표인 ALT의 농도가 대조군과 비교하여 통계적으로 유의한 차이를 보여 이산화규소 나노입자 투여로 인한 독성학적 변화로 판단된다. 또한, group III의 경우, 간과 신장 기능진단 지표인 AST, ALT, BUN, 그리고 creatinine의 농도가 정상범위를 벗어나 이산화규소 나노입자의 투여에 따른 독성학적 변화로 판단된다[21)].

Cho 등 (2009)[23)]은 입자크기가 다른 이산화규소 나노입자

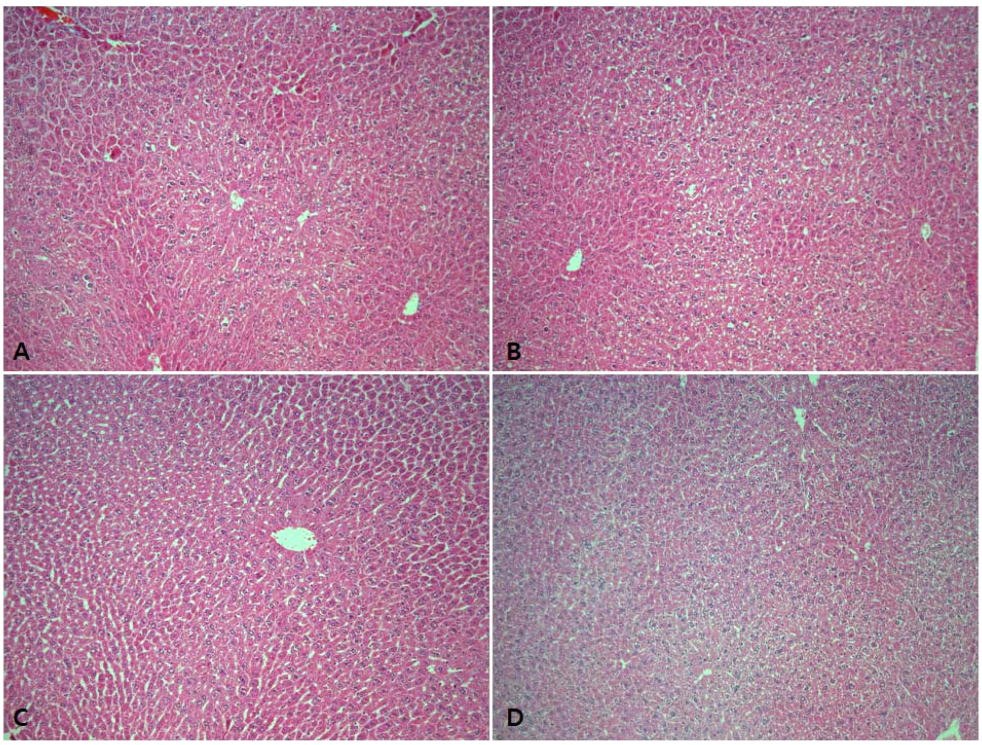

Fig. 1. Histopathological findings of liver after silicon dioxide nanoparticle administration at 24 h. H & E, × 100. A, control group, showing normal structure; B, group I administrated with 50 mg/kg silicon dioxide nanoparticle. Notice no obvious changes; C, group II administrated with 100 mg/kg silicon dioxide nanoparticle. Notice no obvious changes; D, group III administrated with 200 mg/kg silicon dioxide nanoparticle. Notice mild hepatocytes swelling.

를 마우스의 정맥을 통해 50 mg/kg의 농도로 투여한 후, 이산화규소의 조직내 분포와 배설에 미치는 입자크기의 영향을 확인하기 위한 실험을 수행하였다. 이 결과, 100 nm 크기의 이산화규소 나노입자를 투여한 실험군에서, 12시간 후에 간에서 염증반응이 대조군과 비교하여 통계적으로 유의성 있게 증가하여, 본 연구의 결과와 일치하는 경향을 나타내었다.

병리조직학적 관찰

Fig. 1은 이산화규소 나노입자의 급성독성을 확인하기 위해 여러 농도로 복강에 투여한 후, 투여 농도 group 별로 간 조직에 대해 병리조직학적 관찰을 나타낸 것이다. 무투여 대조군(A)과, 이산화규소 나노입자 50 mg/kg을 투여한 group I (B) 그리고 이산화규소 나노입자 100 mg/kg을 투여한 group II (C) 사이에서는 아무런 차이를 발견할 수 없었다. 반면에, 이산화규소 나노입자 200 mg/kg을 투여한 group III (D)의 경우에서는 간 조직의 미약한 부종이 관찰되었으나, 이산화규소 나노입자의 독성작용에 의한 급격한 변화는 관찰되지 않았다.

Fig. 2는 이산화규소 나노입자의 급성독성을 확인하기 위해 여러 농도로 복강에 투여한 후, 투여 농도 group 별로 신장 조직에 대해 병리조직학적 관찰을 나타낸 것이다. 정상조직의 구조와 같은 형태를 나타내는 무투여 대조군(A)과, 이산화규소 나노입자 50 mg/kg을 투여한 group I (B) 그리고 이산화규소 나노입자 100 mg/kg을 투여한 group II (C) 사이에서는 아무런 차이를 발견할 수 없었다. 반면에, 이산화규소 나노입자 200 mg/kg을 투여한 group III (D)의 경우에서는 상피조직의 팽대와 미약한 출혈소견 등이 관찰되었다. 이는 이산화규소 나노입자의 급성독성작용에 의한 것으로 사료된다.

이상의 연구 결과로부터, 이산화규소 나노입자의 마우스 복강 투여에 따른 혈액학적, 혈액생화학적 검사에서 group II와 III에서 일부지표들이 대조군과 비교하여 통계적으로 유의한 차이를 보였으며, 간과 신장의 병리조직학적 검사에서는 group III에서 미약한 독성영향을 나타내었다.

따라서 향후, 이산화규소 나노입자에 대한 장기적인 연구를 통해 독성영향 및 작용기전을 규명할 필요가 있는 것으로 사료된다.

요 약

본 연구는 이산화규소 나노입자의 급성독성을 확인하기 위해 여러 농도로 마우스의 복강에 주사한 다음 24시간 후에, 혈액학적, 혈액생화학적, 그리고 병리조직학적인 검사

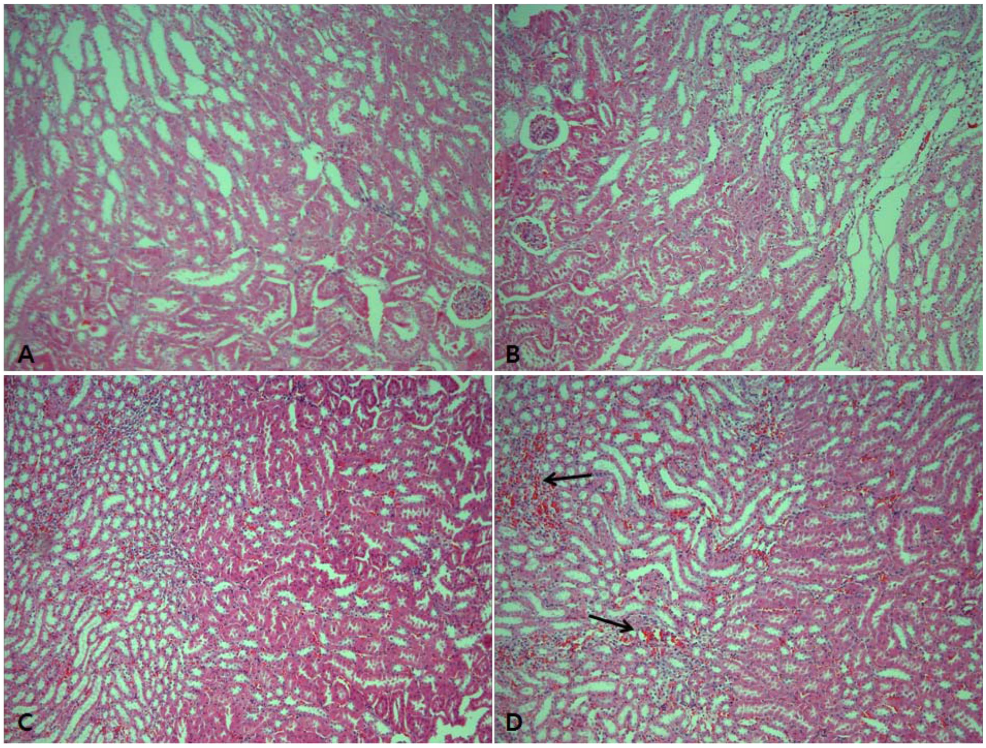

Fig. 2. Histopathological findings of kidney after silicon dioxide nanoparticle administration at 24 h. H & E, × 100. A, control group, showing normal structure; B, group I administrated with 50 mg/kg silicon dioxide nanoparticle. Notice no obvious changes; C, group II administrated with 100 mg/kg silicon dioxide nanoparticle. Notice no obvious changes; D, group III administrated with 200 mg/kg silicon dioxide nanoparticle. Notice mild tubules dilatation and hemorrhage (arrow points) in some areas.

를 수행하였다. 혈액학적 검사에서, group II (100 mg/kg 이산화규소 나노입자)에서는 lymphocyte와 monocyte의 수치가 대조군과 비교하여 통계적으로 유의한 차이를 나타내었으며($p < 0.05$), group III (200 mg/kg 이산화규소 나노입자)에서는 lymphocyte, monocyte, 그리고 hemoglobin의 수치가 대조군과 비교하여 통계적으로 유의한 차이를 나타내었다($p < 0.05$). 혈액생화학적 검사에서, group II의 경우에는 ALT가, group III의 경우에는 AST, ALT, BUN, 그리고 creatinine이 대조군과 비교하여 통계적으로 유의한 차이를 나타내었다($p < 0.05$). 병리조직학적 관찰에서는, group III의 간과 신장 조직에서 미약한 독성작용이 관찰되었다. 향후, 이산화규소 나노입자에 대한 장기적인 연구를 통해 독성영향 및 작용기전을 규명할 필요가 있는 것으로 사료된다.

참고문헌

1. 임종환. 식품포장과 나노기술. 식품과학과 산업, **41**, 46-58 (2008).
2. Lison, D., Thomassen, L.C., Rabolli, V., Gonzalez, L., Napierska, D., Seo, J.W., Kirsch-Volders, M., Hoet, P., Kirschhock, C.E. and Martens, J.A. Nominal and effective dosimetry of silica nanoparticles in cytotoxicity assays. *Toxicol. Sci*. **104**, 155-162 (2008).
3. 이호성. 우리나라 나노기술분야 정책 및 발전계획. 물리학과 첨단기술, **17**, 48-50 (2008).
4. Roco, M.C. National nanotechnology initiative - past, present, future. I*n*: *Handbook of nanoscience, engineering and technology*, 2nd Ed., Goddard, W., Brenner, D., Lyshevski, S. and Iafrate, G. (eds.), CRC Press, Florida, pp. 15-18 (2007).
5. Nel, A., Xia, T., Madler, L. and Li, N. Toxic potential of materials at the nanolevel. *Science* **311**, 622-627 (2006).
6. Woodrow Wilson International Center for Scholars (WWICS). A nanotechnology consumer products inventory, WWICS, Project on emerging technologies. 2007. Available from: http://www.nanotechproject.org. Accessed September 24, 2007.
7. Kim, J.S., Yoon, T.J., Yu, K.N., Kim, B.G., Park, S.J., Kim, H.W., Lee, K.H., Park, S.B., Lee, J.K. and Cho, M.H. Toxicity and tissue distribution of magnetic nanoparticles in mice. *Toxicol. Sci*. **89**, 338-347 (2006).
8. Mnyusiwalla, A., Daar, A.S. and Singer, P.A. Mind the gap : science and ethics in nanotechnology. *Nanotechnology* **14**, R9–R13 (2003).
9. Hanley, C., Thurber, A., Hanna, C., Punnoose, A., Zhang, J. and Wingett, D.G. The influences of cell type and ZnO nanoparticle size on immune cell cytotoxicity and cytokine induction. *Nanoscale Res. Lett.* **4**, 1409-1420 (2009).
10. Das, S., Mandal, A.K., Ghosh, A., Panda, S., Das, N. and Sarkar, S. Nanoparticulated quercetin in combating age related cerebral oxidative injury. *Curr. Aging Sci.* **1**, 169-174 (2008).
11. Sharma, H.S., Hussain, S., Schlager, J., Ali, S.F. and Sharma, A. Influence of nanoparticles on blood-brain barrier permeability and brain edema formation in rats. *Acta Neurochir. Suppl.* **106**, 359-364 (2010).
12. Liu, H., Ma, L., Zhao, J., Liu, J., Yan, J., Ruan, J. and Hong, F. Biochemical toxicity of nano-anatase TiO2 particles in mice. *Biol. Trace Elem. Res.* **129**, 170-180 (2009).
13. U. S. Food and Drug Administration (FDA). Nanotechnology: A report of the U. S. Food and Drug Administration nanotechnology tesk force. Food and Drug Administration, Rockville, Maryland, pp. 12-18 (2007).
14. Vallet-Regi, M., Balas, F., and Arcos, D. Mesoporous materials for drug delivery. Angew. *Chem. Int. Ed. Engl*. **46**, 7548-7558 (2007).
15. Lin,W., Huang, Y.W., Zhou, X.D. and Ma, Y. *In vitro* toxicity of silica nanoparticles in human lung cancer cells. *Toxicol. Appl. Pharmacol*. **217**, 252-259 (2006).
16. Yang, X., Liu, J., He, H., Zhou, L., Gong, C., Wang, X., Yang, L., Yuan, J., Huang, H., He, L., Zhang, B. and Zhuang, Z. SiO_2 nanoparticles induce cytotoxicity and protein expression alteration in HaCaT cells. *Part. Fibre. Toxicol*. **7**, 1-12 (2010).
17. Slowing, I.I., Trewyn, B.G., Giri, S. and Lin, V.S.-Y. Mesoporous silica nanoparticles for drug delivery and biosensing applications. *Adv. Funct. Mater*. **17**, 1225–1236 (2007).
18. Wei, H., Zhou, L., Li, J., Liu, J. and Wang, E. Electrochemical and electrochemiluminescence study of Ru(bpy)(2+)3-doped silica nanoparticles with covalently grafted biomacromolecules. *J. Colloid Interface Sci*. **321**, 310–314 (2008).
19. Loo, C., Lowery, A., Halas, N., West, J. and Drezek, R. Immunotargeted nanoshells for integrated cancer imaging and therapy. *Nano Lett*. **5**, 709-711 (2005).
20. Santra, S., Zhang, P., Wang, K., Tapec, R. and Tan, W. Conjugation of biomolecules with luminophore-doped silica nanoparticles for photostable biomarkers. *Anal. Chem*. **73**, 4988-4993 (2001).
21. Wolford, S.T., Schroer, R.A. and Gohs, F.X. Reference range data base for serum chemistry and hematology values in laboratory animals. *J. Toxicol. Environ. Health* **18**, 161-188 (1986).
22. Nishimori, H., Kondoh, M., Isoda, K., Tsunoda, S., Tsutsumi, Y. and Yagi, K. Histological analysis of 70-nm silica particles-induced chronic toxicity in mice. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **72**, 626-629 (2009).
23. Cho, M., Cho, W.S., Cho, M., Kim, S.J, Han, B.S., Kim, S.H., Kim, H.O., Sheen Y.Y and Jeong, J. The impact of size on tissue distribution and elimination by single intravenous injection of silica nanoparticles. *Toxicol. Lett.* **189**, 177-183 (2009).