

# 奈米粒子在生物醫學的應用

## The Application of Nano Particles in Biomedicine

張家靖、陳佩欣、葉奕辰、蔡娟美、蘇健穎、陳至信

Chia-Ching Chang, Pei-Hsin Chen, Yi-Chen Yeh, Chuan-Mei Tsai, Chien-Ying Su, Jyh-Shin Chen

奈米粒子之尺寸介於數奈米至數百奈米之間，致使其量子侷限效應已成為不可忽視的因素，其理、化特性亦與一般塊材有著截然不同的改變。這些特性的改變使得奈米粒子之應用性大為增加。經結合物理、化學、生物及光電工程等科技，開啟了奈米粒子在生物醫學上分子層級的偵測、診斷及治療之應用。本文將簡介奈米粒子在生醫檢測、基因與藥物載體和光動力療法的應用原理，及現今常用之奈米粒子特性。最後討論各種奈米粒子所遇到之瓶頸及未來的發展。

The diameter of nanoparticles varies from few nanometer to hundred nanometers. Within this scale, the quantum confinement effects are dominant and they can not be ignored. Therefore, their physical and chemical properties are different from the block material. These intrinsic properties change of nanoparticles make them fit in many applications. By integrating the techniques of physics, chemistry, biology and electro-phonic technology with nanotechnology, these nanoparticles can be used in bio-medical monitoring, diagnosis and therapy in molecular level. In this article we introduce the principles of biomedical detection, gene/drug carrier and chemical/physical photo dynamic therapy (PDT) briefly. Meanwhile, the characteristics of nanoparticles are introduced. Finally, the limitation of these particles and their possible application in the near further are discussed.

### 一、前言

奈米科技是現今最熱門的科技之一，其涵蓋的領域甚廣，從基礎科學橫跨至應用科學。由於奈米粒子的大小約為數奈米至數百奈米之間，在如此小的尺度下，古典理論已不敷使用，而其量子侷限效應 (quantum confinement effect) 已成為不可忽視的因素，再加上表面積所佔的比例大增，其物質的物理、化學和生物性質與巨觀尺度下所觀察到之塊材性質截然不同<sup>(1)</sup>。

隨著現今科學的進步，使得許多疾病在發生初期時就能夠被察覺，並給予適當的治療，因此病人能夠獲得更高的生存率。其中生物醫學科技的發展扮演著極重要的角色。現今已有科學家將目前最熱門的兩大科技：「奈米科技」與「生物醫學科技」結合在一起，發展出許多的應用，將為人類生活品質提昇做出更多的貢獻。本文將介紹奈米粒子在生物醫學上的應用，並將其分為四類，分別為奈米粒子在生物醫學檢測上的應用、運用奈米粒子作為基因及藥物之載體、運用奈米粒子作為化學反應媒介

以破壞細胞或組織，以及運用奈米粒子物理效應作為破壞細胞或組織之工具等四部分，俾能為讀者做簡要的解說。

## 二、奈米粒子在生醫檢測方面的應用

### 1. 有機螢光染劑 (Chemical Fluorophore)

受高能量 (短波長、高頻率) 光線激發而釋放出較低能量 (長波長、低頻率) 光線 (螢光) 之物質被稱為螢光物質 (fluorophore)，該物質在化學結構上通常具有共振之雙鍵結構，可以吸收特定波長的激發光並釋放出較長波長的螢光。而螢光的強度與波長會因其微觀環境 (micro environment) 的不同而有所變化，例如紅位移<sup>(2)</sup> 與藍位移<sup>(3)</sup> 等。故可以利用奈米粒子與環境交互作用之螢光變化特性，進行生物樣品的研究，例如：免疫螢光法 (immunofluorescence)<sup>(4)</sup>、免疫組織化學法 (immunohistochemistry) 等<sup>(5)</sup>。

可釋放螢光的有機染劑 (organic dyes) 則常應用於生物檢測及醫學影像的診斷上。例如：DAPI (4',6-diamidino-2-phenylindole)，此一化合物是一個可以吸收特定波長 (358 nm) 而在波長 461 nm 釋放出螢光的染劑。由於它的分子極小又可以穿透細胞膜與細胞內雙股 DNA 的小溝區 (minor groove) 結合，故當細胞以此一染劑染色後，可利用螢光顯微鏡或流式細胞儀觀測細胞凋亡之情形<sup>(6)</sup>。

但是，這一類有機染劑仍具有許多缺點，例如：(1) 有機染劑通常具有毒性對生物及環境皆具有不良之影響<sup>(7)</sup>。(2) 在一般成像條件下，有機染劑是非常容易受強光作用而淬熄 (quench) 或稱光漂白之效應 (photobleaching)<sup>(8)</sup>。(3) 有機染劑並不適

用於多重顏色的顯影，因為有機染劑具有較寬的釋放 (emission) 光譜，故當使用多重染劑時，在光譜上會發生重疊的情形，而且各種有機染劑其最適當之激發波長皆不相同，若使用單一波長來激發與觀測，則不同有機染劑螢光釋放強度不一而不易分辨<sup>(9)</sup>。

### 2. 量子點

基於上述有機螢光染劑的缺點，科學家們發展出一個新型的螢光技術—量子點 (quantum dot)，目前多為半導體材料所組成。所謂的量子點是指一定數量的原子按照某種方式組成的聚集體，其三維尺寸約小於 100 nm，外觀恰似一極小的點狀物。由於其量子侷限效應，使得其間電子能階分離產生類似原子的不連續電子能階結構，因此量子點又被稱為「人造原子」(artificial atom)<sup>(10)</sup>。而當量子點粒子變大時，不論吸收或釋放出的波長皆會有紅位移的現象。此類半導體量子點在生醫檢測或分離等方面應用的典型結構為核—殼 (core-shell) 結構，核—殼結構即是具有特殊光學效應的量子點核心以及外部 (殼) 包覆功能性的分子，而這些分子的功能通常具有分子識別、阻止核心氧化以及改善生物相容性等特性<sup>(11)</sup>。量子點核心材料的選擇與其發光波長範圍有著極密切的關聯；例如：硒化鎘 (CdSe) 的發光波長約在可見光之範圍，碲化鎘 (CdTe) 則在紅光偏紅外 (infrared) 波段，如表 1 所示。

由於量子點的大小小於其波爾半徑 (bohr radius)，其能量間隙為  $\Delta E \propto (1/a^2)$ ，其中  $a$  為量子點之直徑，因此不同尺寸的量子點之物理性質差異很大，此稱為尺寸效應 (size effect)<sup>(12)</sup>。例如 3 nm 的硒化鎘的螢光波長為 520 nm，而當量子點大小

表 1. 常見量子點尺度與放光範圍<sup>(13)</sup>。

量子點	CdS	CdSe	CdTe	CdHg Te/ZnS	CdTe/ CdSe	InP	InAs	PbSe
*量子點 大小 (nm)	2.8–5.4	2–8	3.3–9.2	5	3.8–9.3	2.6–4.5	2.4–7	2.4–10
*螢光釋放 波長 (nm)	404–460	461–622	534–740	630–870	640–862	622–720	860–1350	1250–3600

\* 每一均勻大小之量子點其釋放之螢光半高寬約為 20–30 奈米

提升至 5.5 nm 後，硒化鎘的螢光波長則為 630 nm，若是量子點大小介於 3–5 nm，則其螢光波長會落在 520–630 nm 之間。因此量子點的螢光波長寬度則取決於樣品中量子點大小的分布。若量子點大小越均勻，則發光波長的寬度越窄，通常量子點發光的半高寬 (full width at half maximum, FWHM) 則為 20–30 nm<sup>(11,13)</sup>。

在生物醫學檢測方面，為了增加量子點的水溶性及減少非專一性的鍵結 (nonspecific binding)，必須在量子點外的殼層表面進行修飾，方可幫助量子點與生物分子 (蛋白質、核酸等) 結合或是增加水溶性。目前量子點與生物分子結合的方式可以歸納為四種：(1) 利用以雙功能式的聯接鍵結 (biofunctional linkage)、(2) 矽烷化鍵結 (silanization)、(3) 疏水性吸附作用力鍵結 (hydrophobic attraction) 及 (4) 靜電性吸附作用力 (electrostatic attraction)，如圖 1 所示。這些被組裝在殼層表面上的各種生物分子擴大了該類量子點材料在生醫檢測方面的應用範圍，例如免疫學檢測、生物微陣列晶片 (bio micro array chip) 與生物探針等等<sup>(9)</sup>。

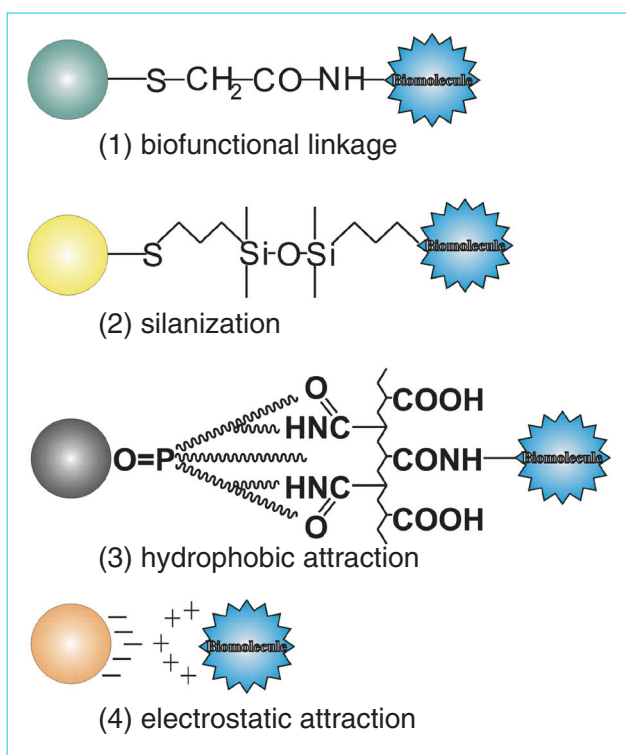


圖 1. 各式量子點的表面修飾法<sup>(9)</sup>。

承上所述，量子點則擁有相當好的光學特性。但由於量子點的核心是以無機化合物所組成，通常具有極高的毒性如鎘、硒等材料，所以包覆核心的殼層材質的選擇變得非常重要。目前較常使用的材質為低或無毒性的有機分子／高分子材質 PEG，或是無機分子材質 ZnS 或 silica 等<sup>(14)</sup>。

除了量子點的核心具有高毒性外，有時量子點可能轉移所吸收的光能給週遭的氧分子，使氧分子變成活性氧 (reactive oxygen species, ROS)，例如：氫氧自由基 (hydroxyl radical,  $\cdot\text{OH}$ )、超氧陰離子 (superoxide,  $\cdot\text{O}^{2-}$ ) 等，此類自由基會造成細胞損害及死亡。目前研究指出核心為 CdSe、CdSe/ZnS 的量子點會產生自由基，進而造成 DNA 斷裂<sup>(15)</sup>。

綜合以上所言，量子點應用在生物分子識別與檢測方面具有極佳的優勢：(1) 量子點可以在較寬的波長範圍的激發光下激發，產生波長範圍狹窄的螢光。(2) 螢光的波長與量子點核心材質有直接關係。(3) 針對殼層的表面修飾，可以連接不同的生物分子，則增加量子點在生醫影像及檢測的應用。但是量子點目前仍具有高毒性及不易代謝的缺點，因此新型的殼層材料的研發在未來會是一個相當重要的課題。

### 三、以奈米粒子作為載體之應用

#### 1. 微脂體

脂質為含有非極性疏水基及親水基的離子性雙性分子 (amphiphile)。親水基主要為極性基團，而疏水性的部分則為長碳氫鏈部分。因此在水溶液中，脂質會有序地擠密排列形成雙層膜狀結構，疏水性長碳氫鏈位在雙層膜狀結構中，而親水性極性基團則暴露在外。當雙層膜結構彎曲形成中空球體時，即稱為微脂體 (liposome)，如圖 2 所示<sup>(16)</sup>。

微脂體若要釋放基因或是藥物則可利用下列方式與細胞作用：(1) 膜與膜之間的轉換 (inter-membrane transfer)。當微脂體與細胞膜靠得很近時，兩者的磷脂質便有轉換的情形發生，這種轉換現象並不涉及微脂體的水層，只是單純的脂質轉換，該轉換方式與細胞膜上的蛋白質有關。(2) 吸附作用 (adsorption)。微脂體可藉著物理性吸附或



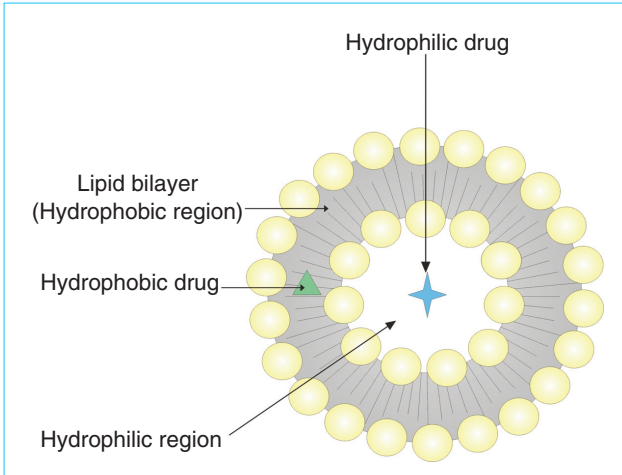


圖 2. 微脂體的典型結構<sup>(12)</sup>。藍色星號為親水性藥物 (hydrophilic drug)，綠色三角形則為疏水性藥物 (hydrophobic drug)，黃色圓型則為脂質的極性端 (polar head)，灰色區域為疏水性長碳氫鏈所形成之雙層結構為疏水性環境，由黃色圓球所組成之白色空間為親水性環境。

是與細胞膜上的受器作用來和細胞接合。一般而言，微脂體與細胞膜的吸附接合在低溫下即可以進行，但是要在溫度 37 °C 時，細胞才會進行攝入微脂體的動作。(3) 膜融合 (fusion)，微脂體具有與細胞膜幾乎一樣的磷脂雙分子層，因此微脂體與細胞膜很容易相互融合，進而將目標物釋放至細胞中。(4) 胞飲作用 (endocytosis) 或胞噬作用 (phagocytosis)，胞飲是微脂體主要作用的機制，有些細胞將微脂體內吞至細胞質中形成內質體 (endosome)，此時溶小體 (lysosome) 會和內質體融合，在 pH 4.5 的條件下進行細胞內的同化作用，分解微脂體進而釋放出內含物<sup>(17)</sup>。

而微脂體依型態大小分類可分為：多層微脂體 (multilamellar vesicle, MLV)、單層大微脂體 (large unilamellar vesicle, LUV) 及單層小微脂體 (small unilamellar vesicle, SUV)。MLV 是只含有多層磷脂雙分子層的囊泡，其直徑約在 1000–5000 nm 之間。LUV 和 SUV 都是屬於單層磷脂雙分子層囊泡，LUV 的直徑大於 200 nm，SUV 則是小於 200 nm<sup>(18)</sup>。而作為基因載體最常用的是 SUV。

單使用 SUV 作為基因載體，其基因轉殖率較差，因此後來發展出了正電荷 SUV，便改善了基因轉染效果較差的缺點。其原理為帶有正電荷的陽離子微脂體 (cationic liposome) 可與帶有負電荷的 DNA 結合在一起形成 DNA-微脂粒複合體。此外，陽離子微脂體可與帶有負電的細胞表面有很強的親和作用<sup>(19)</sup>。上述的兩個特性都使得陽離子微脂體比傳統微脂體更有利於目標基因的釋放及轉殖。但是亦有文獻指出以微脂體作為基因載體，亦可能會造成微脂體將 DNA 遞送至宿主細胞內之前，就與其他生物物質反應而造成 DNA 的流失，減少 DNA 進入細胞的數量<sup>(20)</sup>。

即便如此，以微脂體作為基因載體仍具有許多優點，例如：微脂體幾乎不具毒性、減少投入之藥物或是基因對非目標細胞之作用、可被生物降解、保護內含物不被降解等。因此微脂體仍是未來基因治療中的一個不可或缺的工具。

## 2. 碳球及其衍生物

承前所述，利用微脂體作為基因載體可能會造成 DNA 進入細胞的數量過少的缺點。因此便有科學家嘗試以碳球 (fullerene, C<sub>60</sub>) 作為攜帶 DNA 的載體，並且發現當載體材質改為碳球後，DNA 在宿主細胞內的表現效率與用微脂體作為載體的效率相差無幾，但是在轉殖 (transfection) 的穩定度方面，則明顯優於使用微脂體作為基因載體，推測其原因可能是碳球形成一個保護層，使 DNA 在內質體擁有較長的生命期，進而增加 DNA 併入宿主細胞染色體的機會<sup>(20)</sup>。



圖 3. 碳球的結構圖。

碳球又可稱為碳六十 ( $C_{60}$ )，碳球是在 1985 年由 Smalley、Curl、Jr. 和 Kroto 等學者所發現。該化合物是具有 60 個碳原子、32 個面，組成 12 個五角型及 20 個六角形的巨大分子<sup>(21)</sup>，如圖 3 所示。

也正因碳球是由 60 個碳原子所組成，故極性相當低而水溶性不佳，因此必須針對碳球的表面進行修飾，方可增加其水溶性及其他功能。碳球除了可以當作 DNA 載體外，另外包含了其他的應用：(1) 碳球的衍生物可以作為自由基之清除劑<sup>(22)</sup>。碳球具有許多的芳香環結構，而使其擁有豐富的  $\pi$  電子軌域。而眾多的  $\pi$  電子軌域可以吸收單電子物質，例如氫氧自由基、超氧陰離子等自由基，故碳球具有清除自由基之能力，而細胞凋亡一般與自由基有關，同時碳球亦具有成為抗細胞凋亡之可能藥物。(2) 碳球可以使 DNA 光裂解<sup>(23)</sup>。碳球在經由光照射後，會由原先的基態提升至單重態 (single state) 再轉變成三重態 (triplet state)，繼而碳球會立即由三重態回到基態，而中間喪失的能量則會轉移給氧分子，使其形成單態氧 (singlet oxygen,  $^1O_2$ ) 自由基。此外，碳球亦可使用另外一種方法形成自由基，由於含有高能量的單重態及三重態的碳球是一個優秀的電子接受者 (acceptor)，故當單重態或三重態的碳球接受一電子會形成  $C_{60}^{\cdot-}$ ，而  $C_{60}^{\cdot-}$  會因不穩定而轉移電子給氧分子形成超氧陰離子，如圖 4 所示。而 singlet oxygen 與超氧陰離子都屬於自由基，故可以氧化 DNA 的鳥糞嘌呤 (guanosine)，最後造成 DNA 斷裂。(3) 碳球可以抑制 HIV 蛋白酶 (HIV protease, HIV-P) 活性。人類免疫缺陷病毒

(human immunodeficiency virus, HIV) 是一種感染人類免疫系統細胞的慢性病毒 (lentivirus)，屬反轉錄病毒 (retrovirus) 的一種。普遍認為愛滋病 (acquired immunodeficiency syndrome, AIDS) 的產生是來自於人類免疫缺陷病毒的感染，而 HIV-P 的活性高低直接掌控 HIV 病毒的存活<sup>(24)</sup>。HIV-P 的活性中心是像一個疏水性 (hydrophobic) 的洞穴。而該洞穴直徑約 10 Å，與碳球相似，故碳球可以進入 HIV-P 的活性中心，擔任 HIV-P 抑制劑的角色，因此碳球是極具有成為治療愛滋病新藥的潛力<sup>(25)</sup>。

綜合上述所言，單態氧除了具有擔任 DNA 載體的能力外，在未來亦可以成為清除自由基、光治療及治療愛滋病的新藥，成為人類健康的一大助手。

## 四、以奈米粒子作為化學反應物

### 1. 光敏藥劑

光動力療法 (photo dynamic therapy) 於 1970 年代始由 Thomas J. Dougherty (Roswell Park Cancer Institute, USA) 開始研究，直到現今已有許多不同種類的光敏藥劑 (photosensitizer) 在各地政府的核可下使用於人體治療，也有許多新型的光敏藥劑正積極的進行臨床試驗。

由化學反應主導的光動力療法主要包含三個部分：(1) 光敏藥劑，(2) 特定波長的激發光源，(3) 生物體內的氧分子。這三個部分在單獨存在的狀況下，對細胞並不會產生任何毒性，一旦將此三部分連結起來卻可造成毒殺細胞的結果。其原理是進入

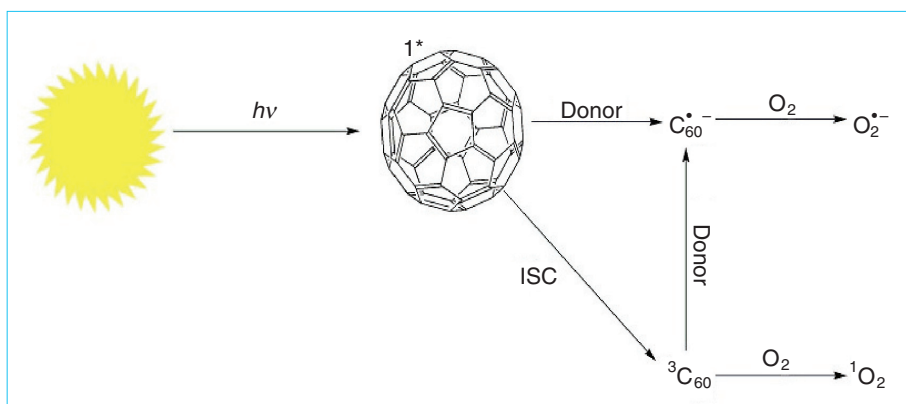


圖 4. 碳球產生自由基之機制圖<sup>(19)</sup>。

人體並聚集於患部的光敏藥劑，在經由特定波長的光源照射後，光敏藥劑將由原本的基態 (ground state) 轉變為激態 (exciting state)，這些激態的感光劑將直接或間接的和氧分子進行交互作用，造成細胞的氧化壓力 (oxidative stress)。

而光敏藥劑又分為兩類。第一型 (type I) 光敏藥劑是利用激態的型式先與細胞中的有機分子作用，進而形成自由基離子 (radical ion)，再由自由基離子和細胞內的氧分子作用形成許多活性氧化物質 (reactive oxygen species, ROS)。(2) 第二型 (type II) 光敏藥劑則是將處於激態所得的能量直接傳遞給氧分子，使氧分子轉變為高活性的單態氧分子 (singlet oxygen)。不論光敏藥劑最後是引發活性氧化物質或是單一氧原子的生成，都會造成特定的氨基酸分子和不飽和的脂質 (unsaturated lipid) 進行修改或是導致 DNA 受損，一旦這些損害未能經由修補機制而導正，就會造成細胞壞死 (necrosis) 或凋亡 (apoptosis)<sup>(26)</sup>，達成殺死不正常細胞的最終目的。此外，光敏藥劑經光照射後也會產生螢光，可以協助腫瘤的定位。

舉例來說，Photofrin 是第一代的光敏藥劑，並於 1993 年率先被加拿大健康保護局核准用於膀胱癌病患人體試驗，陸續又被各國政府用於治療肺癌、子宮頸癌和食道癌，在皮膚、氣道或消化道的表淺病變甚至能夠達到痊癒。唯一的缺點是患者在治療時，仍然有少量光敏藥劑存在於皮膚，所以患者在治療後四至六星期必須避免照射陽光或強光，以免引起皮膚過敏<sup>(27)</sup>。

而經改良後的第二代的光敏藥劑 Visudyne 則被用於治療老年黃斑退化 (neovascular age-related macular degeneration)。Visudyne 是一會選擇性積聚於不正常新增血管內的光敏藥劑，在靜脈注射後配合激發光活化，只會阻塞並破壞不正常血管，而不會影響黃斑區內其他健康組織。其主要功能是控制病情惡化、保持現有視力，但並不能恢復已被破壞的視力<sup>(28)</sup>。相較於 Photofrin 有為期 4—6 週的皮膚過敏之副作用，使用 Visudyne 的病患僅需於治療後首二十四小時內，避免眼睛和皮膚被強光照射，在二十四小時後即可以恢復戶外活動。

除了改良光敏藥劑降低其副作用外，光敏藥劑

能否被激發是光動力療法成功的關鍵，而光的物理性質，決定了治療的深度及效果。光的穿透深度僅達數公分深，因激發光照射患部時，會因組織的吸收、折射及反射而導致光的穿透力下降。相較於表層細胞，位於較深層的腫瘤細胞，所獲得的光劑量不足以有效的激發光敏藥劑，而僅使腫瘤細胞獲得輕微的傷害，受傷輕微的腫瘤細胞經由血紅素氧化酵素-1 (heme oxygenase-1) 所主導的細胞保護機制而存活下來，並迅速的增生導致病症再度復發<sup>(29)</sup>。對位於體表的皮膚癌來說，使用單一波長的可見光即可達到良好的療效，但欲治療食道癌、肺癌與子宮頸癌時，必須經由光纖及內視鏡的協助，才能將光線導入體內。

一般而言，為了減少病人不適感及副作用，照射時間愈短愈好，且照射時間愈短，在臨床治療上就可在較短時間內作較大範圍的照射，這時高能量單一波長的雷射光便是最佳選擇。基於上述原因，新光源不斷被開發出來，包括二極體雷射 (diode laser)、發光二極體 (light emitting diode, LED)、弧光 (arc) 及白熱燈 (incandescent lamp) 等，相較於早期用於光動力療法的雷射裝置，這些新光源具有較便宜、較可靠、結構簡單且易於搬動的特性。

光動力療法更可解決多重抗藥性癌細胞 (multi-drug resistance cancer cell) 已無法由傳統的化學投藥療法治癒的難題。多重抗藥性癌細胞不易治療的原因是有許多藥物運輸幫浦 (drug pump) 位於細胞表面，這些藥物幫浦會將進入細胞質中的藥物重新送回到細胞外，使藥物無法進入細胞中發揮作用。而光化學內部化療法 (photochemical internalization)<sup>(30)</sup> 則結合了光動力療法和藥物運送的兩種概念，此方法是一種新型的藥物遞送模式，可用來遞送大分子藥物、蛋白質和基因療法的載體 (gene therapy vectors)，其原理是將藥物經由胞飲作用 (endocytosis) 包在內質體 (endosome) 或溶小體 (lysosome) 的空腔，並使光敏藥劑坐落在內質體或溶小體的膜上。一旦感光藥劑經由內吞作用進入細胞內，再經特定波長的激發光激發，膜的完整性即被破壞，貯存於空腔中的藥物或蛋白質被釋出，進而達到治療的目的。



## 五、以奈米粒子作為物理反應物

### 1. 奈米鑽石

奈米鑽石 (nano-diamond) 應用於光動力療法是一項發展中的創新科技，不同於傳統的光動力療法，奈米鑽石取代了光敏藥劑的角色，藉著多重光子的吸收效應 (multiphoton absorption) 而產生物理性爆炸<sup>(31)</sup>。

奈米鑽石是無細胞毒性的奈米球，且具有螢光特性，但若將奈米鑽石運用於醫療方面，首先需將高度厭水性 (hydrophobic) 的表面經由強酸氧化過程<sup>(32,33)</sup>，轉變為親水性 (hydrophilic) 的表層，如此特殊的腫瘤辨識分子 (例如：生長激素、生長因子、葉酸…等) 才能標定在奈米鑽石上，如圖 5 所示。

被腫瘤辨識分子標定的奈米鑽石僅能為其相對應的腫瘤或癌症細胞所捕捉，故具有高度專一特性。被捕捉到的奈米鑽石會固定於細胞表面，藉由高能的脈衝雷射 (pulse laser) 照射細胞，位於表面的奈米鑽石一方面會吸收雷射的能量使細胞免於高熱損傷，另外，當奈米鑽石所吸收的能量達  $1 \times 10^8 \text{ W/cm}^2$  時，奈米鑽石會爆炸而於細胞表面產生許多孔洞，受傷嚴重的細胞將走入死亡的途徑。其作用如圖 6 所示。

不同於傳統的光動力療法會牽涉到細胞中氧化壓力的生成，奈米鑽石所引發的爆炸和光動力療法所引發的氧化壓力並不相干，故不會有血紅素氧化酵素保護受傷細胞的現象。因此與傳統的光動力療法相比之下其療效更佳。

### 2. 高能雷射光源 (High Energy Laser Source)

前述用以激發光敏藥劑與奈米鑽石等奈米粒子的雷射光源，於生物醫學領域的應用廣泛，其效應依據光通量的大小以及照射時間的長短，可分為光機械作用、光熱作用與光化學作用。光機械作用分為光分裂 (photodisruption) 與光剝離 (photoablation)，光熱作用分為光汽化 (photovaporization)、光碳化 (photocarbonization)、光凝固 (photocoagulation)、光血栓 (photothrombosis) 與光高溫 (photohyperthermia)，而光化學作用則分為光動力療法 (photodynamic therapy)、藥物光活化 (drug photoactivation)、光生物調節作用 (photobioregulation) 與光激發 (photoinduction) 等。若以產生實際效應所需的光通量 (fluence,  $\text{J/cm}^2$ ) 大小作比較，光機械作用 > 光熱作用 > 光化學作用；若依照所需照射時間的長短作比較，光機械作用 < 光熱作用 < 光化學作用，照射時間從數奈秒 (nanoseconds) 到數分鐘不等。醫療級雷射一般為 class III (b) 或 class IV 等級，平均輸出功率 5 mW 以上。因此雷射操作安全規範之訂定，配合紮實的教育訓練與考核制度，實為確保臨床使用上安全性與醫療技術品質的重點。

雷射最基本的原理應該回溯到 1900 年普朗克所提出的能量不連續概念，與愛因斯坦於 1905 年提出光的量子理論以及 1917 年提出的受激輻射 (stimulated emission) 的概念，進而奠定了原始的理論基礎；而直到 1958 年雷射才首次被實驗製造出來。雷射之所以被廣泛應用是因為具備四種基本特性：(1) 高方向性／光束平行性 (collimation)；(2)

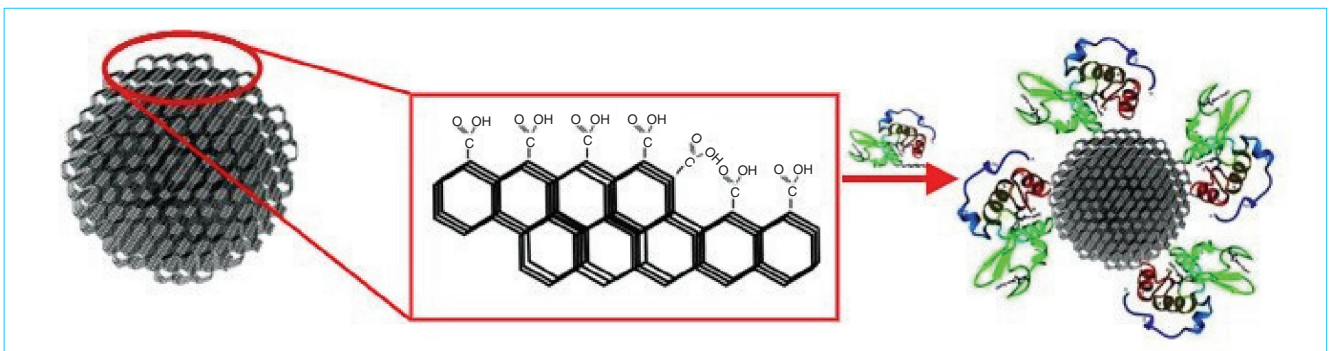
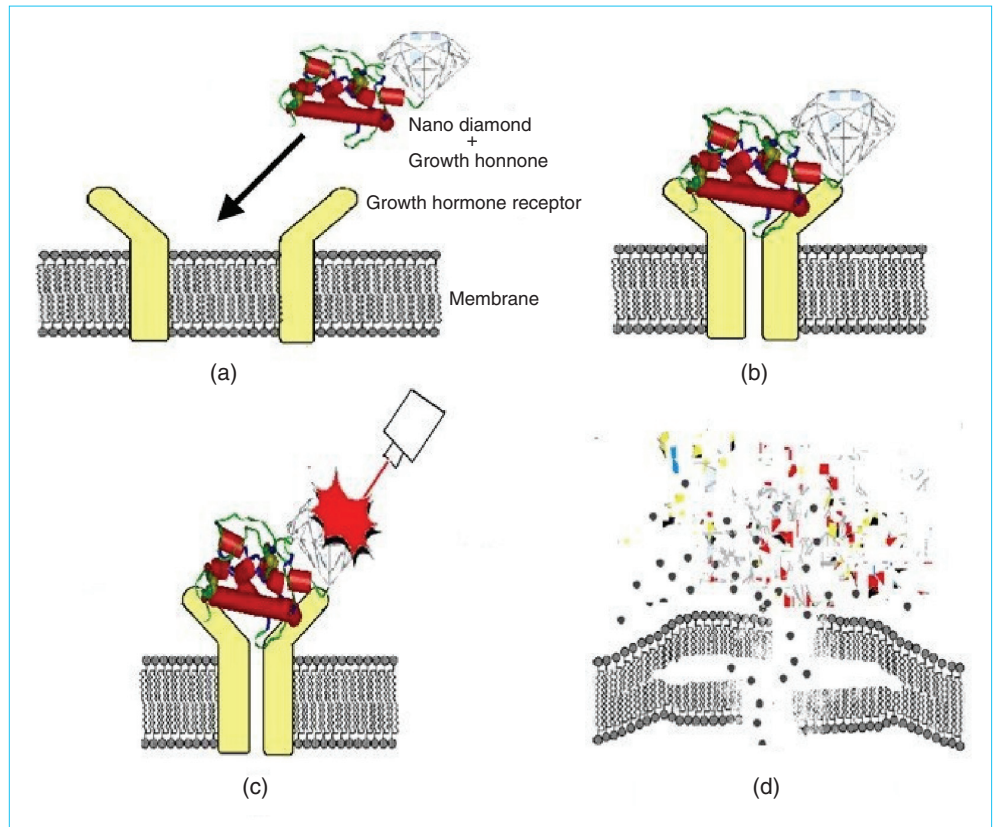


圖 5. 將腫瘤辨識分子標定在奈米鑽石上。在奈米鑽石的表面進行化學修飾後，可以將腫瘤辨識分子 (例如：生長激素、生長因子等) 結合至奈米鑽石的表面。

圖 6.

奈米鑽石造成細胞爆炸之機制。(a) 加入奈米鑽石與蛋白質之複合體於細胞中，(b) 奈米鑽石與蛋白質之複合體的蛋白質端與細胞表面受器結合，(c) 利用雷射光照射，複合物的奈米鑽石部份會吸收能量，(d) 當能量高於  $1 \times 10^8 \text{ W/cm}^2$  以上時，奈米鑽石因為多重光子的吸收效應產生爆炸，而對細胞表面造成約一百奈米之創傷。



高亮度／能量集中性 (brightness)；(3) 高單色性／波長單一性 (monochromaticity)；(4) 高相干性／在時間與空間上的相干程度高 (coherence)<sup>(34-35)</sup>。

根據雷射的增益介質 (gain medium)，可分為固態 (ruby、Nd:YAG、Er:YLF 等)、液態 (染料雷射)、氣態 (He-Ne、CO<sub>2</sub>、Ar<sup>+</sup> 等) 及半導體 (Ga:As、AlGaAs 等) 等類別。由於固態增益介質在物理性質上具有穩定的原子結構，而且有較寬的有效吸收光譜帶，因此普遍被採用。醫學上所使用的雷射可分為遠紅外光 (far-infrared)、紅外光 (infrared)、近紅外光 (near-infrared)、可見光 (visible-light) 與紫外光 (ultraviolet)，輸出雷射光波長與所採用的增益介質種類有關，而且人體組織內的組成分子對於不同的照射波長會有不同的吸收率。以佔人體比重最多的水分子而言，會隨著不同光波長的照射而產生吸收率的分布變化，如圖 7 所示。因此如何選擇適當的雷射光波長進行治療，並且避免傷害正常細胞或組織，實為醫療雷射技術最關鍵的主題之一。

目前在外科手術<sup>(36)</sup>、腫瘤治療<sup>(37)</sup>、皮膚病療程、眼科手術、美容醫學與前瞻研究等領域，也因為雷射技術的發展突飛猛進而實質受惠。

結合奈米粒子的應用可以進一步使得多光子吸收機制驟增，而所需的雷射基本照射能量可以大幅降低。因為表面電漿共振與其他相干共振效應，具有大幅度增加侷域場強度的特性。根據 Lorenz-Mie 理論得知，若粒子的尺寸小於與其交互作用的光波長，理論上當粒子的介電常數為周圍介質的 -2 倍時，散射效率會產生顯著的變化<sup>(38)</sup>。第一個滿足條件的共振頻率稱為 Frohlich 頻率，亦即對應第一個表面電漿共振條件。如圖 8 所示，為奈米粒子於 Frohlich 頻率條件下侷域場分布示意圖，入射光場有效吸收範圍顯然大於粒徑<sup>(39)</sup>。此時在粒子周圍的侷域場增強現象，已證實會促使拉曼散射 (Raman scattering) 與超拉曼散射 (hyper Raman scattering) 訊號增強。對於進一步激發離子或染料分子的螢光訊號，部分已驗證確實有增強的效果。



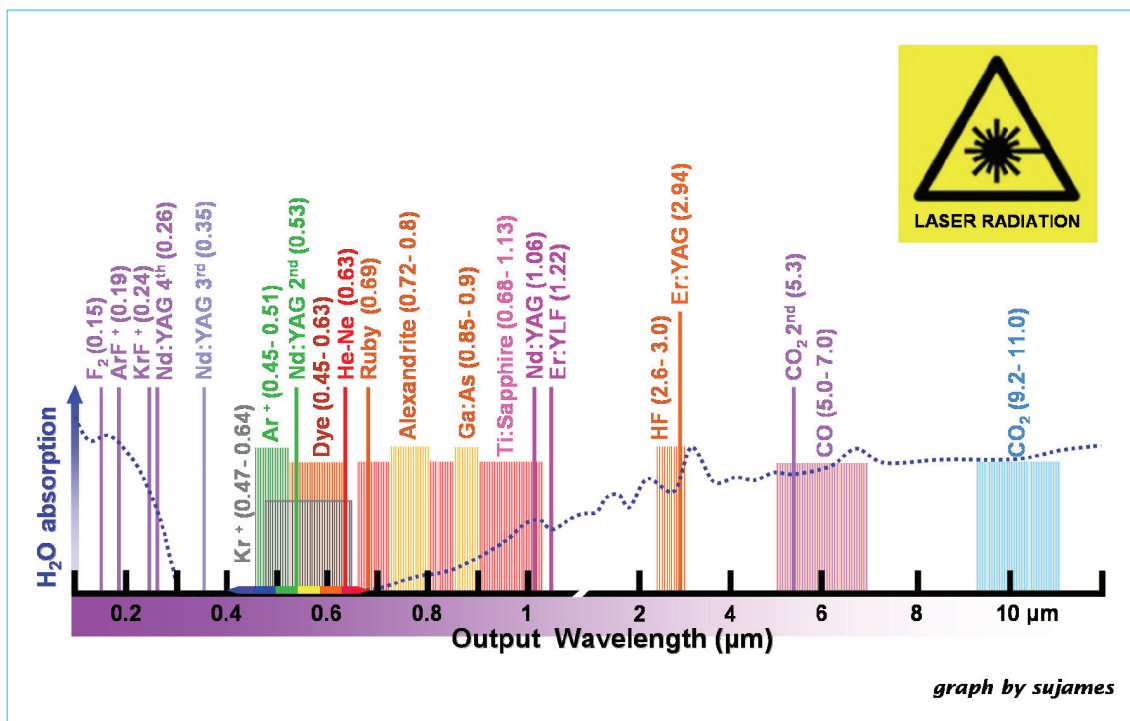


圖 7. 各種雷射波長分布圖與相對應水分子吸收率變化。

藉由拉曼散射等微小訊號的檢測技術，表面電漿共振效應對於單一分子光譜學的研究應用已產生重大影響，侷域場增強的結果使得引發多光子吸收所需的照射能量可以降低一個數量級以上<sup>(40)</sup>。因此較低的照射能量需求適合投入更多新的應用領域，而且比較低廉的設備費有助於將奈米粒子於多光子吸收機制的應用推廣到業界使用。

## 六、結論

奈米粒子因本身特殊性質，使得它具有相當良好的光學特性，在生醫檢測、基因攜帶以及光動力療法方面極具潛力。但是現今奈米粒子的研究仍多為實驗室層級，在生醫檢測及藥物開發方面的實際應用仍有部分限制。例如：部分奈米粒子是由無機物組成(如：量子點)，具有極高的毒性，如何針對奈米粒子表面進行修飾方可讓奈米粒子與生物進行作用，以及有些奈米粒子本身的結構可能會產生自由基(如：量子點、碳球)等問題。然而現今奈米科技的進步可說是以幾何級數成長，許多針對奈米粒子的表面修飾法也已經發展出來，相信上述所提

及的限制因素在不久的未來也會一一的被克服，大大地增加奈米粒子在生醫檢測及診斷治療上的應用，成為維護人類的健康的一大利器。

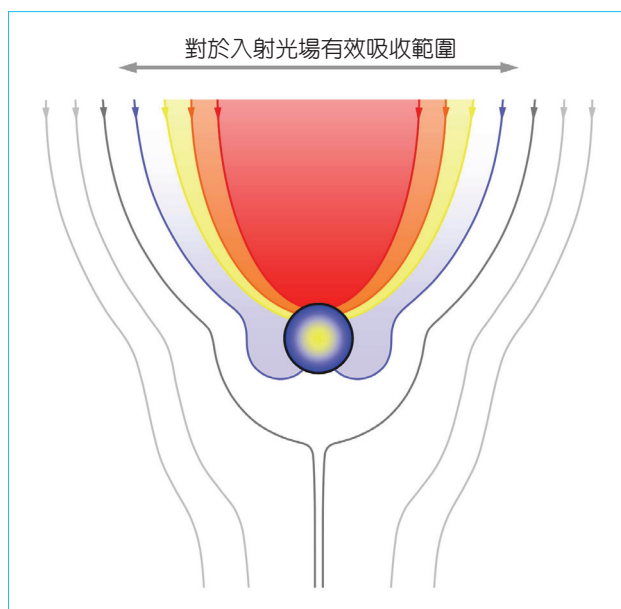


圖 8. 金屬奈米粒子對於入射光場有效吸收範圍截面示意圖。

## 誌謝

作者在此要感謝國科會對本文中相關研究之支持與補助 (95-2120-M-259-003)。

## 參考文獻

1. 高逢時, 科學發展, **386**, 66 (2005).
2. S. Sumathi and D. Dasgupta, *Indian J. Biochem. Biophys.*, **43**, 148 (2006).
3. S. Roufik, S. F. Gauthier, E. Dufour, and S. L. Turgeon., *J. Agric. Food Chem.*, **54**, 4962 (2006).
4. N. I. Chalmers, R. J. P. Jr., L. Du-Thumm, R. Sullivan, W. Shi, and P. E. Kolenbrander, *Appl. Environ. Microbiol.*, **73**, 630 (2006).
5. N. Deb-Joardar, G. Thuret, J. M. Dumollard, L. Absi, L. Campos-Guyotat, M. Peoc'h, O. Garraud, and P. Gain, *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, **47**, 1339 (2006).
6. Y. Kataoka, V. P. Bindokas, R. C. Duggan, J. S. Murley, and D. J. Grdina, *J. Radiat. Res.*, **47**, 245 (2006).
7. W. W. Yu, E. Chang, R. Drezek, and V. L. Colvin, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 348, 781 (2006).
8. C. C. Fu, H. Y. Lee, K. Chen, T. S. Lim, H. Y. Wu, P. K. Lin, P. K. Wei, P. H. Tsao, H. C. Chang, and W. Fann, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **104**, 727 (2007).
9. T. Liu, B. Liu, H. Zhang, and Y. Wang, *J. Fluoresc.*, **15**, 729 (2005).
10. O. Millo, D. Katz, Y. Cao, and U. Banin, *Phys. Rev. Lett.*, **86**, 5751 (2001).
11. 李玉寶, 奈米生醫材料, 初版, 台北市: 五南, 323 (2006).
12. 謝嘉民, 賴一凡, 林永昌, 枋志堯, 奈米通訊, **12**, 28 (2005).
13. X. Michalet, F. F. Pinaud, L. A. Bentolila, J. M. Tsay, S. Doose, J. J. Li, G. Sundaresan, A. M. Wu, S. S. Gambhir, and S. Weiss, *Science*, **307**, 538 (2005).
14. I. D. Tomlinson, A. P. Gies, P. J. Gresch, J. Dillard, R. L. Orndorff, E. Sanders-Bush, D. M. Hercules, and S. J. Rosenthal, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **16**, 6262 (2006).
15. M. Green and E. Howman, *Chem. Commun. (Camb.)*, **20**, 121 (2005).
16. P. Tyagi, P. C. Wu, M. Chancellor, N. Yoshimura, and L. Huang, *Mol. Pharm.*, **3**, 369 (2006).
17. R. R. C. New, *Liposome: A practical Approach*, New York: Oxford University Press, 221 (1990).
18. 李玉寶, 奈米生醫材料, 初版, 台北市: 五南, 172 (2006).
19. S. D. Patil, D. G. Rhodes, and D. J. Burgess, *AAPS J.*, **7**, E61 (2006).
20. H. Isobe, W. Nakanishi, N. Tomita, S. Jinno, H. Okayama, E. Nakamura, and L. Becker, *Mol. Pharm.*, **3**, 124 (2006).
21. J. L. Bada, R. E. Winans, J. E. Hunt, T. E. Bunch, and B. M. French, *Science*, **265**, 642 (1994).
22. T. Sun and Z. Xu, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **16**, 3731 (2006).
23. T. D. Ros, G. Spalluto, M. Prato, and G. Spalluto, *Croat. Chem. Acta*, **74**, 743 (2001).
24. A. Boasso, M. Vaccari, J. Nilsson, G. M. Shearer, J. Andersson, V. Cecchinato, C. Chougnet, and G. Franchini, *AIDS Rev.*, **8**, 141 (2006).
25. S. Bosi, T. D. Ros, and G. Spalluto, *Eur. J. Med. Chem.*, **38** (11-12), 913 (2003).
26. Y. Miyamoto, Y. Umebayashi, and T. Nishisaka, *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.*, **53**, 53 (1999).
27. Q. Peng, T. Warloe, J. Moan, A. Godal, F. Apricena, K.-E. Giercksky, and J. M. Nesland, *Cancer Res.*, **61**, 5824 (2001).
28. E. Ergun, N. Maar, S. Ansari-Shahrezaei, B. Wimpissinger, K. Krepler, A. Wedrich, and M. Stur, *Am. J. Ophthalmol.*, **142**, 10 (2006).
29. D. Nowis, *et al.*, *Oncogen.*, **25**, 3365 (2006).
30. P. K. Selbo, A. Høgset, L. Prasmickaite, and K. Berg, *Tumour Biol.*, **23**, 103 (2002).
31. K.-W. Lin, C.-L. Cheng, and H.-C. Chang, *Chem. Mater.*, **10**, 1735 (1998).
32. X. L. Kong, L. C. L. Huang, C.-M. Hsu, W.-H. Chen, C.-C. Han, and H.-C. Chang, *Anal. Chem.*, **77**, 259 (2005).
33. M. Mikhaylova, D. K. Kim, C. C. Berry, A. Zagorodni, M. Toprak, A. S. G. Curtis, and M. Muhammed, *J. Am. Chem. Soc.*, **16**, 2344 (2004).
34. W. T. Silfvast and A. E. Siegman, *Lasers*, University Science Books (1986).
35. O. Svelto, *Principles of Lasers*, 4th Ed., Plenum Pub. Corp. (1998).
36. A. T. Brillhart, *Arthroscopic Laser Surgery: Clinical Applications*, New York: Springer-Verlag (1995).
37. M. H. Niemz, *Laser-Tissue Interactions: Fundamentals and Applications*, New York: Springer (1996).
38. D. W. Pohl, *Topics Appl. Phys.*, **81**, 1 (2001).
39. C. F. Bohren, *Am. J. Phys.*, **51**, 323 (1983).
40. I. Cohanoschi and F. E. Hernandez, *J. Phys. Chem. B*, **109**, 14506 (2005).

- 
- 張家靖先生為國立清華大學生命科學博士, 現任國立交通大學生物科技學系副教授、中央研究院物理研究所合聘副研究員與國家奈米元件實驗室合聘副研究員。
  - 陳佩欣小姐為國立交通大學生物工程研究所碩士班學生。
  - 葉奕辰先生為國立交通大學生物工程研究所博士班學生。
  - 蔡娟美小姐為國立清華大學生命科學碩士, 現任國家奈米元件實驗室助理技術師。

- 蘇健穎先生為國立中正大學物理碩士，現任國家實驗研究院儀器科技研究中心助理研究員。
- 陳至信先生為國立清華大學電機工程博士，現任國家實驗研究院儀器科技研究中心真空技術組組長。
- Chia-Ching Chang received his Ph.D. in life sciences from National Tsing Hua University. He is currently an associate professor in the Department of Biological Science and Technology at National Chiao Tung University. He is co-appointment associate research fellow of Institute of Physics, Academia Sinica and co-appointment associate research fellow of National Nano Device Laboratories.
- Pei-Hsin Chen is a M.S. student in the Institute of Biochemical Engineering at National Chiao Tung University.
- Yi-Chen Yeh is a Ph.D. student in the Department of

Biological Science and Technology at National Chiao Tung University.

- Chuan-Mei Tsai received her M.S. in life sciences from National Tsing Hua University. She is currently an assistant technician at National Nano Device Laboratories, National Applied Research Laboratories.
- Chien-Ying Su received his M.S. in physics from National Chung Cheng University. He is currently an assistant researcher at Instrument Technology Research Center, National Applied Research Laboratories.
- Jyh-Shin Chen received his Ph.D. in electrical engineering from National Tsing Hua University. He is currently the director of Vacuum Technology Division at Instrument Technology Research Center, National Applied Research Laboratories.