

特约专栏

# 磁性纳米颗粒标记间充质干细胞 及其功能的调控

马思雨<sup>1,2</sup>, 王 鹏<sup>1,3</sup>, 杨玉志<sup>2</sup>, 孙剑飞<sup>1,4</sup>, 顾 宁<sup>1,4</sup>

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

(2. 南京大学医学院附属鼓楼医院 临床医学工程处, 江苏 南京 210008)

(3. 南京大学医学院附属鼓楼医院 运动医学与成人重建外科, 江苏 南京 210008)

(4. 苏州纳米科技协同创新中心, 江苏 苏州 215123)

**摘 要:** 干细胞治疗是目前组织修复领域中最有潜力的治疗方法, 但由于缺乏有效的干细胞示踪技术等原因, 目前的多数研究都还停留在实验阶段。需要利用干细胞体内示踪技术对移植到体内后干细胞的分布、活性、分化、凋亡情况进行检测。因此, 干细胞示踪技术的发展对解决上述问题起到了至关重要的作用。目前, 磁性纳米颗粒标记干细胞后, 利用磁共振成像技术(magnetic resonance imaging, MRI)有望实现体外无创、实时、安全、有效的长期示踪观察。对间充质干细胞的组织修复原理、磁性纳米颗粒参与协助间充质干细胞的组织修复以及磁性纳米颗粒标记干细胞的技术进行了系统综述。

**关键词:** 磁性纳米颗粒; 间充质干细胞; 组织修复; 标记

中图分类号: Q819 文献标识码: A 文章编号: 1674-3962(2019)06-0559-08

## Magnetic Nanoparticles for Labelling and Functional Regulation of Mesenchymal Stem Cells

MA Siyu<sup>1,2</sup>, WANG Peng<sup>1,3</sup>, YANG Yuzhi<sup>2</sup>, SUN Jianfei<sup>1,4</sup>, GU Ning<sup>1,4</sup>

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

(2. Clinical Medical Engineering Office, Nanjing Drum Tower Hospital of Nanjing University Medical School, Nanjing 210008, China)

(3. Department of Sports Medicine and Adult Reconstructive Surgery, Nanjing Drum Tower Hospital of Nanjing University Medical School, Nanjing 210008, China)

(4. Collaborative Innovation Center of Suzhou Nano-Science and Technology, Suzhou 215123, China)

**Abstract:** Stem cell therapy is the most promising treatment in the field of tissue repair. However, vast majority of current investigations still remain in the stage of laboratory. It is of great significance to detect the distribution, activity, differentiation and apoptosis of stem cells after transplantation by *in-vivo* tracing technique. Therefore, the development of the techniques for tracing stem cells has played a crucial role in solving these problems. Nowadays, magnetic resonance imaging (MRI) has been used to explore long-term *in-vitro* tracing of magnetic nanoparticles labeled stem cells. Furthermore, it is noninvasive, real-time, safe and effective. The principle of mesenchymal stem cells (MSCs) for tissue repair was systematically summarized. Also, the labeling and assistance effect of magnetic nanoparticles on MSCs for tissue repair were reviewed.

Abstract: Stem cell therapy is the most promising treatment in the field of tissue repair. However, vast majority of current investigations still remain in the stage of laboratory. It is of great significance to detect the distribution, activity, differentiation and apoptosis of stem cells after transplantation by *in-vivo* tracing technique. Therefore, the development of the techniques for tracing stem cells has played a crucial role in solving these problems. Nowadays, magnetic resonance imaging (MRI) has been used to explore long-term *in-vitro* tracing of magnetic nanoparticles labeled stem cells. Furthermore, it is noninvasive, real-time, safe and effective. The principle of mesenchymal stem cells (MSCs) for tissue repair was systematically summarized. Also, the labeling and assistance effect of magnetic nanoparticles on MSCs for tissue repair were reviewed.

**Key words:** magnetic nanoparticles; mesenchymal stem cells; tissue repair; label

收稿日期: 2018-11-30 修回日期: 2019-03-27

基金项目: 国家重点研发计划项目(2017YFA0104301)

第一作者: 马思雨, 女, 1993年生, 硕士研究生

通讯作者: 顾 宁, 男, 1964年生, 教授, 博士生导师,

Email: gunning@seu.edu.cn

孙剑飞, 男, 1978年生, 研究员, 博士生导师,

Email: 230049204@seu.edu.cn

DOI: 10.7502/j.issn.1674-3962.201811020

## 1 前 言

干细胞是一类具有自我更新能力并能够进行分化

的多功能细胞,将干细胞移植到体内后可以实现组织或器官的再生<sup>[1]</sup>。干细胞主要通过分化成为目标组织、用于基因治疗、通过旁分泌改善微环境等几种方式进行组织修复或器官再生<sup>[1]</sup>。干细胞治疗是目前组织修复领域最有前景的治疗方法之一,但是对干细胞移植后分布、活性、分化方向、作用机制等认知的缺乏,成为制约干细胞治疗进一步研究的主要瓶颈。目前运用一些方法可以对移植到体内的干细胞的分布、活性等情况进行检测,例如用磁性纳米颗粒标记干细胞后,利用磁共振成像技术(magnetic resonance imaging, MRI)有望实现体外无创、实时、安全、有效的长期示踪观察和检测。磁性纳米颗粒具有生物可降解、温和无毒的性质,并且可以通过调节粒径调控磁性<sup>[2]</sup>,磁性纳米颗粒在干细胞研究中主要作为磁共振对比剂,应用于干细胞示踪,且磁性纳米颗粒的 MRI 成像技术具有灵敏度高、副作用较少、可降解、体内留存时间长、毒性低等优点<sup>[3]</sup>。但目前标记的干细胞在体内死亡、裂解后释放的氧化铁纳米颗粒能否造成非特异成像目前尚未定论;且由于氧化铁纳米颗粒不能随细胞的分裂而进行自体复制,所以在监测移植后干细胞的增殖和分化方面存在一定不足<sup>[4]</sup>。常见的纳米颗粒标记干细胞的方式有两种,一种是将纳米颗粒依附于细胞表面,另一种是细胞将纳米颗粒内在化,主要包括直接胞吞作用、受体介导的胞吞作用及转染剂介导的胞吞作用<sup>[5,6]</sup>。此外,还可以通过外加电磁场、在磁性纳米颗粒表面修饰能与靶细胞膜上受体结合的配体等方法调控磁性纳米颗粒标记干细胞。本文对间充质干细胞的组织修复原理、磁性纳米颗粒参与协助间充质干细胞的组织修复以及现有的磁性纳米颗粒标记干细胞的技术进行了系统综述。

## 2 间充质干细胞用于组织修复

间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)是最早在骨髓中被发现的一种多能干细胞,随后在骨骼、肌肉、脂肪、肝、肺、脐带血、羊水中陆续被发现<sup>[1]</sup>。MSCs 不仅具有干细胞独特的自我更新的能力,还可以在不同的诱导条件下分化为不同的组织,如肌肉组织、骨组织、软骨组织、神经组织、脂肪组织、内皮组织、上皮组织等<sup>[7]</sup>。而且,移植到体内后可以迁移到受损组织部位,抑制促炎性细胞因子的释放,从而提高受损细胞的存活率<sup>[1]</sup>。一般 MSCs 的分离方法相对其他细胞而言较为简单,并且分离后能够在体外迅速扩增,这使得其在生物医学领域的应用更加广泛<sup>[8]</sup>。MSCs 主要通过分化成目标组织、用于基因治疗、通过旁分泌改善微环境等几种方式进行组织修复。

### (1) MSCs 分化为目标组织治疗疾病

通过系统性移植 MSCs 可以治疗一些全身性疾病或局部组织、器官的病变,如血液系统疾病、心血管疾病、自身免疫性疾病、肿瘤以及糖尿病胰岛功能缺陷等<sup>[1,9]</sup>。体外培养大鼠骨髓 MSCs 并诱导其分化,发现骨髓 MSCs 分化的细胞呈典型的胰岛样细胞增殖。已经分化的细胞内胰岛素 mRNA 蛋白呈阳性表达,而且分泌到细胞外的胰岛素水平明显高于分化前的细胞。将其注入糖尿病大鼠体内可以显著调节血糖水平,这对利用干细胞治疗糖尿病提供了新的思路<sup>[9-11]</sup>。

MSCs 在进行系统移植时,还可以通过细胞因子诱导和局部环境定位到特定的组织和器官。在多项临床前的动物实验中, MSCs 通过诱导分化为心肌细胞,重建心血管及肌肉功能,参与恢复心肌梗死后充血性心力衰竭。此外,将 MSCs 经静脉注射或直接注射到梗死区域后, MSCs 均可以定位聚集于损伤区,定向分化为心肌细胞,从而改善心功能<sup>[12-14]</sup>。

### (2) MSCs 用于基因治疗

MSCs 在基因治疗中是一种极为理想的靶细胞,在移植前可以将多种外源性目的基因整合至 MSCs 基因组 DNA,移植后能够长期表达。MSCs 不仅能稳定地转染外源性的基因,而且表达的外源基因具有生物活性。研究表明,构建 B 区缺失的 VIII 因子 cDNA 逆转录病毒载体,以人的 MSCs 为靶细胞,在优化的转导条件下可以使 MSCs 表达 VIII 因子<sup>[15,16]</sup>。

### (3) MSCs 通过自身旁分泌改善微环境

除了利用干细胞移植治疗疾病外,一些疾病还能够利用 MSCs 分泌的某些细胞活性因子进行治疗。例如成体大脑损伤后很难治愈,原因在于成体大脑很少会出现神经和轴突的再生,受到损伤后中枢神经自发修复很有限,因此可以尝试用干细胞分泌的细胞活性因子治疗中枢神经损伤。Wimpenny 等<sup>[17]</sup>发现移植的 MSCs 可以释放活性软骨形成蛋白 BMP-4,该蛋白能够促进神经祖细胞和干细胞内的星型胶质细胞的生长。

骨髓 MSCs 是目前常用于细胞移植治疗的组织工程种子细胞,很多研究都致力于利用骨髓 MSCs 修复各种缺血梗死的机体组织<sup>[18-21]</sup>。骨髓 MSCs 可以通过旁分泌生成血管生成因子及分化为血管内皮细胞等途径来促进血管再生,从而改善组织供血情况。Schumann 等<sup>[22]</sup>将乳酸乙醇酸支架结合成骨样细胞的生成血管能力与骨髓 MSCs 的进行对比,发现成骨样细胞与骨髓 MSCs 分泌的血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)相当,血管密度基本一致。近年来有学者提出,骨髓 MSCs 的旁分泌机制是促进血管再生的主要机制,

骨髓中的 MSCs 主要功能是支持造血、改善造血环境；造血干细胞和祖细胞与 MSCs、细胞外基质以及血管组成的微环境的接触可以促进骨髓中的红细胞、血小板、巨噬细胞、粒细胞等细胞的分化和成熟<sup>[23]</sup>。造血祖细胞与 MSCs 的直接接触是通过表面黏附的相关分子实现的，这

种接触能够定位造血祖细胞。血管的形成过程需要许多生长因子的参与，通过 MSCs 分泌的多种细胞因子，如促血管内皮生长因子和促动脉生成因子等，可以以旁分泌的方式调控造血细胞的分化与成熟，进而促进新血管的形成，图 1 为新血管形成机制示意图<sup>[24]</sup>。

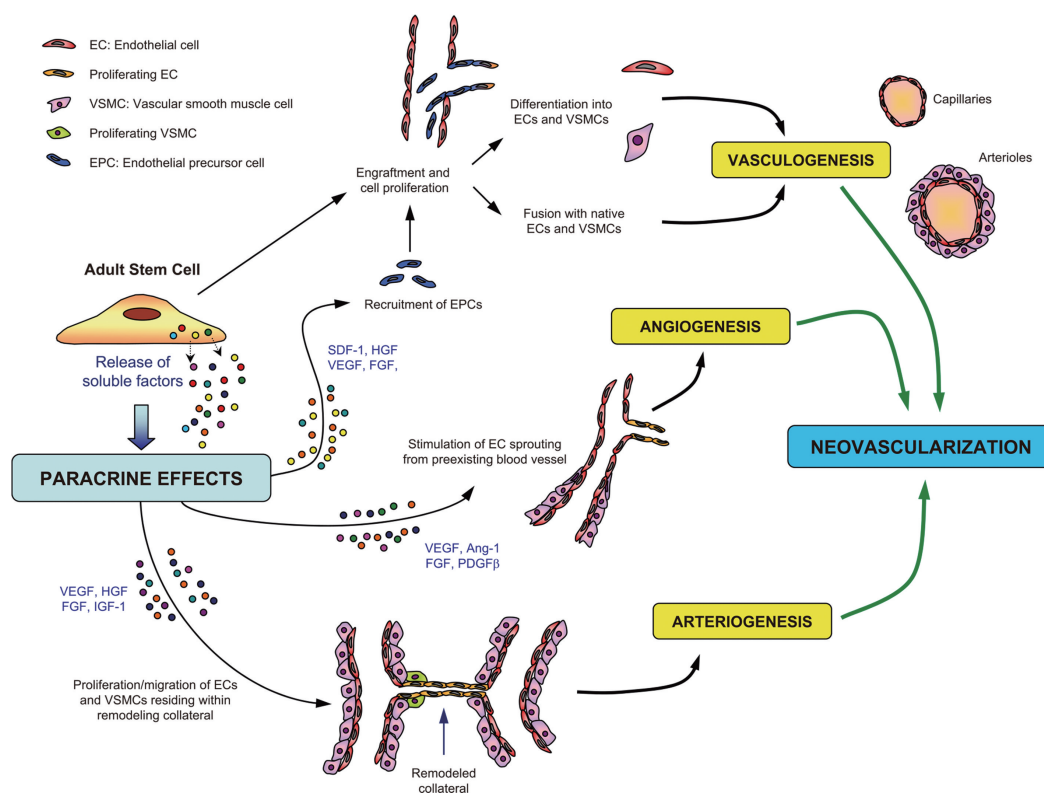


图 1 新生血管形成机制示意图<sup>[24]</sup>

Fig. 1 Schematic diagram of angiogenesis mechanism<sup>[24]</sup>

爆发性肝衰竭是一种死亡率极高的疾病，Shi 等<sup>[25]</sup>利用骨髓 MSCs 的肝内移植成功治疗了患有爆发性肝衰竭的大动物（猪）。利用多组学功能关联分析技术，发现移植的干细胞主要是通过抑制炎症介质分泌、调节免疫反应等旁分泌作用，来改变宿主对爆发性肝衰竭损伤的响应，最终促进宿主自身肝脏再生修复。

### 3 磁性纳米颗粒在干细胞研究中的应用

纳米尺度的磁性材料（即磁性纳米材料），因其具有良好的尺寸效应、表面效应、量子效应和独特的磁性效应，引起了研究人员的极大兴趣<sup>[26]</sup>。尤其是磁性氧化铁纳米颗粒，如  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  纳米材料（磁铁矿）和  $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$  纳米材料（磁赤铁矿），已被广泛应用于生物医学领域<sup>[27, 28]</sup>。磁性纳米材料并不只有人工合成的，很早之前人们就在大自然和一些生命体中发现了磁性纳米材料，尤其是氧化铁纳米颗粒，人们在趋磁细菌<sup>[29]</sup>、鱼类<sup>[30]</sup>、昆虫<sup>[31]</sup>

和鸟类<sup>[32]</sup>体内都发现了氧化铁纳米颗粒的存在。生命体可以利用自身的氧化铁纳米颗粒感知地球磁场，从而进行导航。氧化铁纳米颗粒具有生物可降解、温和无毒的性质，并且可以通过调节粒径调控磁性<sup>[2]</sup>，使其在生物医学领域中展示出了巨大的应用价值。氧化铁磁性纳米颗粒由氧化铁颗粒、生物相容性外衣、间隔臂及活性分子构成，其核心颗粒大小及表面修饰均会影响磁性氧化铁纳米颗粒的磁性及其他性能<sup>[33]</sup>。最初用于 MRI 和贫血治疗的氧化铁纳米颗粒 Ferumoxytol，是目前美国食品和药物管理局（Food and Drug Administration, FDA）批准的唯一可用于临床的无机纳米材料，因其具有良好的安全性，已被作为药物广泛用于炎症和肿瘤成像的临床实验<sup>[34]</sup>。目前，药用氧化铁纳米材料主要应用于核磁共振造影、体外生物分离、肿瘤磁流体热疗 3 大领域。氧化铁磁性纳米颗粒在干细胞研究中主要作为磁共振对比剂，应用于干细胞示踪。

### 3.1 磁共振对比剂

水占了人体质量的 2/3 左右, 人体中各个器官和组织中水含量不同, 当器官或组织发生病变时, 其水含量也会发生改变。MRI 的原理就是利用生物体内水分子质子在外加磁场作用下产生不同的射频信号, 经计算机处理后转化成图像信息, 其信号的强弱取决于生物体内含水量的多少。与计算机断层扫描 (computed tomography, CT) 等成像技术相比, MRI 无放射性, 不会对人体组织细胞产生电离辐射, 同时还可以通过不同的扫描序列和参数获得大量反映体内正常组织和各种病变的信息, 从而能够准确地定位病变部位, 判断病变性质<sup>[35]</sup>。

对于病变的组织或器官, 其含水量虽然与正常组织不同, 但有时利用这种固有的组织特性产生的对比度不能精准地确定某些病变的性质, 这就需要特殊制备的药物, 经肠胃给药或静脉注射的方式分布到生物体的病变组织, 引起病变组织和正常组织的明显不同, 从而快速准确地诊断出病变部位。这种特殊制备的药物就是 MRI 对比度增强剂, 简称对比剂。对比剂本身并不产生信号, 它是通过改变组织内的水含量, 也就是氢核系统的弛豫时间, 使病变组织与周围组织形成明显对比<sup>[36]</sup>。

目前临床中广泛使用的是顺磁性金属钆离子 ( $Gd^{3+}$ ) 的各种配合物和超顺磁性氧化铁纳米颗粒 (superparamagnetic iron oxide nanoparticles, SPIONs) 作为 MRI 对比剂<sup>[37]</sup>。 $Gd^{3+}$  对人体的毒性很高, 在体内沉积后, 影响  $Ca^{2+}$ 、 $Zn^{2+}$  等离子的代谢, 并对心脏和神经有很大的毒性<sup>[38]</sup>。虽然  $Gd^{3+}$  可以与螯合分子形成稳定的配合物降低其毒性, 但是临床许可的安全用量仍然很低。最近一些研究表明,

$Gd^{3+}$  对比剂的使用会造成肾功能不全的患者形成肾源性系统性纤维化, 从而使得该类对比剂的安全性遭到质疑<sup>[39, 40]</sup>。然而, 相较于  $Gd^{3+}$ , SPIONs 的 MRI 成像灵敏度高、副作用较少、可降解、体内留存时间长且毒性低<sup>[3]</sup>。此外, 铁是人体所需的必须微量元素之一, 成年人体内铁含量高达 3~4 g, 氧化铁纳米颗粒进入人体后半个月之内可以被人体降解吸收, 安全性远高于钆配合物<sup>[41]</sup>。图 2 为  $Gd^{3+}$  对比剂与氧化铁纳米颗粒对比剂在神经胶质瘤假性进展方面的成像效果对比图。图 2 显示氧化铁纳米颗粒对比剂没有外泄, 但  $Gd^{3+}$  对比剂有明显的泄露情况, 如图 2 中箭头所示<sup>[42]</sup>。与  $Gd^{3+}$  对比剂不同, 对氧化铁纳米颗粒不需要进行泄露校正<sup>[40]</sup>。而且, 氧化铁纳米颗粒作为对比剂时能够区分肿瘤进展和假性进展, 是良好的预后生物标志物。当有 SPIONs 存在时, 会干扰固有磁场的均匀性, 使其所在部位与周围组织产生不同的磁场敏感性, 造成周围质子的快速移相, 导致在 T2 和 T1 成像的弛豫时间减少<sup>[38]</sup>。SPIONs 作为 T2 磁共振对比剂的主要作用是改变 MRI 的 R2 弛豫, 缩短 T2 时间, 减弱 T2 加权信号。其在纳米范围内穿透能力强, 弛豫率为等浓度  $Gd^{3+}$  的 7~10 倍, 能在很低浓度下引起 MRI 成像, 表现为信号减低区域, 能与周围组织形成对比。

但是, 利用磁性氧化铁纳米颗粒标记干细胞进行 MRI 示踪也存在一些问题, 例如灵敏度相对不足, 且标记的干细胞在体内死亡、裂解后释放的氧化铁纳米颗粒能否造成非特异成像目前尚未定论; 由于氧化铁纳米颗粒不能随细胞的分裂而进行自体复制, 所以在监测移植后干细胞的增殖和分化方面存在一定不足<sup>[4]</sup>。

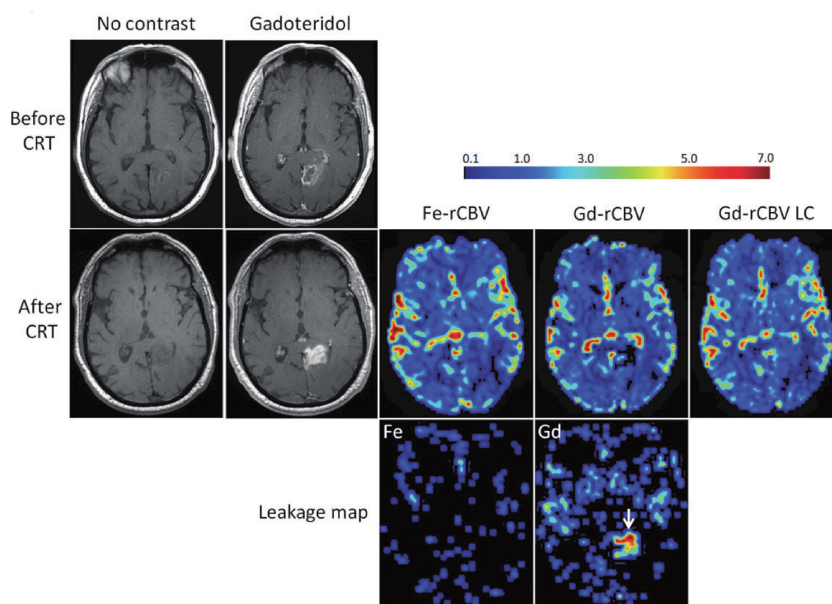


图 2  $Gd^{3+}$  对比剂与氧化铁纳米颗粒对比剂成像效果对比图<sup>[42]</sup>

Fig. 2 Comparison of imaging effects between  $Gd^{3+}$  contrast agent and iron oxide nanoparticle contrast agent<sup>[42]</sup>

### 3.2 体内细胞示踪

细胞治疗中的一个重要问题是细胞移植进入体内后如何对其进行区分和示踪,以监视它们的迁移、增殖、活性、凋亡等情况。目前,在临床应用和实验室中多采用组织分析或病理活检等有创检查方法来评价细胞的迁移、分化、增殖以及存活数量等具体情况。这两种方法都只能对所取出的部分进行检查,并不能完全反映移植细胞的动态迁移及在体内的生存情况。要阐明治疗效果的潜在机制,就必须全面评价移植到体内的 MSCs 的生存状态及迁移情况。因此,细胞水平的 MRI 无疑为无创观察体内细胞迁移和实施细胞追踪提供了一种新的思路<sup>[43]</sup>。

MRI 一般需要将移植细胞标记对比剂,以加强正常组织与移植细胞之间的明暗对比,但目前对细胞进行纳米材料的标记尚无一套标准化流程。一般将待标记细胞与纳米材料在体外进行共孵育,待纳米材料进入细胞后,收集、清洗已标记的细胞,然后将标记细胞移植入动物或人体内,借助 MRI 技术观察细胞的迁移和分布。细胞示踪常用于免疫细胞示踪和干细胞示踪。由于顺磁性金属离子,如  $Gd^{3+}$ 、 $Mn^{2+}$  标记细胞的灵敏度较低,需要大量的标记细胞,而纳米颗粒化的金属离子如 SPIONs 在磁共振扫描仪中可以产生很强的局部磁场,加速周围水质子的弛豫速率从而产生很强的阴影对比效果,在超顺磁性纳米颗粒标记细胞存在的区域明显变暗,因此常用磁性纳米颗粒标记细胞进行细胞示踪<sup>[44]</sup>。

超顺磁性纳米颗粒标记的细胞用于 MRI 示踪已经被广泛应用于多种类型的临床前研究,例如自身免疫 T 细胞的器官特异性归巢、毒性 T 细胞<sup>[45]</sup>和自然杀伤细胞<sup>[46]</sup>的肿瘤归巢以及癌症疫苗中 DC 细胞的迁移模式等研究<sup>[47]</sup>。当平均每个树突状细胞(dendritic cell, DC)细胞内的铁含量为 25 pg 时,在磁场强度 3 T 下可检测到 100 cells/mm<sup>2</sup><sup>[48]</sup>。例如,2009 年的一项研究显示,将标记了超顺磁性纳米颗粒的 DC 注射到骨髓移植的小鼠右后腿 8 d 后,利用 MRI 观察到在小鼠颈部的淋巴结有明显的信号减弱,显示出 DC 发生了定向的迁移<sup>[49]</sup>。

细胞标记中很重要的一点是任何标记都不能在本质上改变细胞的性质,如干细胞不能改变其分化功能,免疫细胞不能改变其免疫学性质。细胞功能一旦发生改变,会引起治疗效率的减弱甚至消失。而且,标记细胞的磁性纳米颗粒不能对细胞活力、数量有明显影响,不能引起明显的细胞毒性。虽然磁性纳米颗粒标记的干细胞能够达到这些细胞安全性的要求<sup>[50]</sup>,然而也存在一些局限性,例如干细胞的分裂会稀释细胞内磁性纳米颗粒的浓度,从而影响长时间的观察效果;细胞的死亡会导致磁性纳米颗粒的分散等。因此如何在保证干细胞的细胞活

性、增殖能力的前提下,提高磁性纳米颗粒的标记效率是干细胞示踪的首要问题<sup>[51]</sup>。

### 3.3 磁性纳米颗粒对干细胞生命活动的影响

目前,磁性纳米颗粒调节干细胞生命活动的研究还比较少,研究表明一些磁性纳米颗粒在某些特定条件下可以促进干细胞的增殖分化,但其作用的效果及具体原因有待进一步研究,临床应用也有待进一步开发<sup>[52]</sup>。

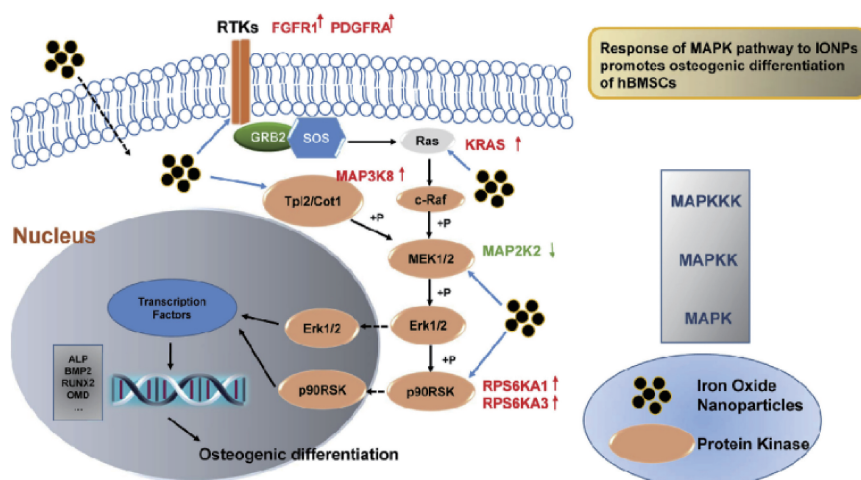
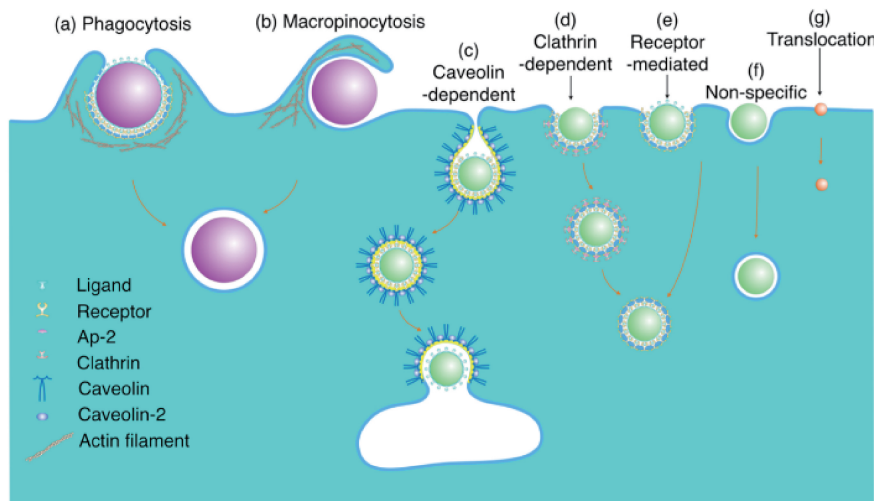
一些磁性纳米颗粒标记干细胞后,可以通过促进干细胞的生长而增强其组织修复的功效,如促进骨髓 MSCs 的成骨分化和体内骨再生<sup>[53]</sup>。Huang 等<sup>[54]</sup>报道了一种对人骨髓 MSCs 无毒性的磁性氧化铁纳米颗粒,能够促进干细胞的生长。这种磁性纳米颗粒可以通过提高细胞内过氧化物的活性从而减小细胞内的过氧化氢;此外,还通过调节细胞周期蛋白调节因子的表达,加速细胞周期,从而增强干细胞的生长<sup>[55]</sup>。

Wang 等<sup>[55, 56]</sup>利用基因芯片和生物信息学分析,更好地解释了磁性纳米颗粒促进骨髓 MSCs 成骨分化的分子机制。其结果表明,干细胞的基因表达受到磁性纳米颗粒的调控,经典的 MAPK 信号通路被激活。因此,该通路下游的基因被调控,从而增强了成骨分化。在分子水平上,磁性纳米颗粒上调了对于成骨分化至关重要的 RNA INZEB2 的表达,INZEB2 的过表达抑制了 ZEB2 的表达,而 ZEB2 是抑制成骨转录的必需因子。图 3 为磁性纳米颗粒促进成骨分化示意图。这些结果让我们在分子水平上对磁性纳米颗粒促进成骨分化的机制有了更加深入的理解,为促进磁性纳米颗粒标记干细胞的临床应用奠定了基础<sup>[53-56]</sup>。

此外,将含有超顺磁性纳米颗粒的明胶海绵植入 SD 大鼠的门牙窝中,与对照组相比,骨再生明显增强,成骨细胞和血管内皮细胞具有更好的成骨和血管生成性能<sup>[53, 57]</sup>。

## 4 磁性纳米颗粒标记干细胞的方式

纳米颗粒标记干细胞的方式主要有两种,一种是将纳米颗粒依附于细胞表面,另一种是细胞将纳米颗粒内在化,主要包括直接胞吞作用、受体介导的胞吞作用及转染剂介导的胞吞作用<sup>[5, 6]</sup>,图 4 为纳米颗粒进入细胞的不同途径。体内实验中,第一种方式有明显的局限性,网状内皮系统会识别并清除这些 SPIONs 标记的细胞。而通过内在化途径,纳米颗粒会留存在干细胞的细胞质中,并具有良好的生物相容性<sup>[58]</sup>。而对于某些非吞噬性细胞,内化纳米颗粒的效率很低,可以通过在纳米颗粒表面包裹病毒包膜或带正电的高分子聚合物提高转染效率。现阶段可用于纳米颗粒内化的转染剂有多聚赖氨酸、硫酸鱼精蛋白和脂质体转染胺等<sup>[59-61]</sup>。

图 3 磁性纳米颗粒促进成骨分化示意图<sup>[55]</sup>Fig. 3 Schematic illustration of iron oxide nanoparticles promoting osteogenic differentiation<sup>[55]</sup>图 4 纳米颗粒进入细胞的不同途径<sup>[6]</sup>Fig. 4 Different internalization pathways of nanoparticles<sup>[6]</sup>

目前, 增强 SPIONs 跨膜的方法有: 外加电磁场使磁性纳米颗粒向照射部位靶向聚集<sup>[62, 63]</sup>; 在超顺磁性纳米颗粒表面修饰能与靶细胞膜上受体结合的配体, 使得 SPIONs 与靶细胞特异性结合<sup>[64]</sup>; 促进单核-吞噬细胞吞噬 SPIONs, 促进被动转运; 将纳米颗粒与微气泡共混合或将纳米颗粒化学偶联到微气泡膜壳表面后超声辐照, 可以提高纳米颗粒的标记效率。

Yang 等<sup>[48]</sup>将细胞培养于磁控组装基底上时, 会减少磁性纳米颗粒对细胞的标记。其原因在于组装体可以促进前纤维蛋白基因过表达, 而过表达的前纤维蛋白会抑制内吞及膜循环, 造成细胞对磁性纳米颗粒摄取减少。

细胞标记率与 SPIONs 浓度呈正相关, SPIONs 浓度越高, 细胞标记效率越高, 但过高的浓度会导致细胞内

铁含量过多, 影响细胞生物学活性及增殖能力。SPIONs 标记细胞的有效安全浓度为 20~50 mg/L, 以适量浓度标记干细胞, 不会对其生物学活性、增殖能力及多向分化能力产生明显影响<sup>[57]</sup>。但无论用哪种方法进行干细胞标记, 标记效率与细胞种类都有着密不可分的关系, 在移植前需要对每种类型的细胞进行验证。其次, 在移植前必须对干细胞进行彻底的清洗以便去除过量的纳米颗粒, 避免残留在细胞外的纳米颗粒导致假阳性信号<sup>[58]</sup>。

## 5 结 语

干细胞治疗是目前组织修复领域中最有潜力的治疗方法, 但由于缺乏有效的干细胞示踪技术等原因, 对干细胞移植后的分布、活性、分化方向、作用机制等认知

较为缺乏, 目前的多数研究都还停留在实验阶段。需要利用干细胞体内示踪技术对移植到体内后干细胞的分布、活性、分化、凋亡情况进行检测。MRI 成像由于其无辐射、信号穿透衰减少、空间分辨率高、与组织对比度大等优点, 是现阶段比较合适的一种干细胞示踪方式, 且磁性纳米颗粒作为 MRI 的对比剂, 有着毒性小、生物相容性好、在体内维持循环时间长、成像质量高等优点。磁性纳米颗粒除了作为对比剂外, 还能够诱导产生多能干细胞、促进干细胞的分化。但磁性纳米颗粒依然存在其应用的一些局限性, 例如干细胞移植体内后, 其活性、分化、迁移等性质的改变可能会影响干细胞移植后在体内的治疗、安全性等问题, 因此目前多数研究仅处在体外实验及动物研究阶段。目前促进纳米颗粒标记干细胞的方法中, 将磁性纳米颗粒进行表面修饰可以提高标记量, 物理场的作用特点在于可以实现快速标记, 结合两者的优势将是未来标记方式的发展趋势。磁性纳米材料作为一种新的细胞标记途径具有广阔的前景, 相信随着干细胞标记技术和分子影像技术的不断发展, 干细胞移植体内后的治疗、安全性问题得到解决, 磁性纳米材料将在干细胞治疗这一重要领域大展身手。

#### 参考文献 References

- [1] UCCELLI A, MORETTA L, PISTOIA V. *Nature Reviews Immunology* [J], 2008, 8(9): 726-736.
- [2] LING D, LEE N, HYEON T. *Accounts of Chemical Research* [J], 2015, 48(5): 1276-1285.
- [3] GULDRIS N, ARGUBAY B, GALLO J, *et al.* *Bioconjugate Chemistry* [J], 2016, 28(2): 362-370.
- [4] WANG Y X J, WANG H H, AU D W T, *et al.* *British Journal of Radiology* [J], 2008, 81(972): 987-988.
- [5] NUCCI L P, SILVA H R, GIAMPAOLI V, *et al.* *Stem Cell Research and Therapy* [J], 2015, 6(1): 1-13.
- [6] ZHANG S, GAO H, BAO G. *ACS Nano* [J], 2015, 9(9): 8655-8671.
- [7] JIANG Y H, JAHAGIRDAR B N, REINHARDT R L, *et al.* *Nature* [J], 2002, 418(6893): 41-49.
- [8] POUNTOS I, CORSCADDEN D, EMERY P, *et al.* *Injury: International Journal of the Care of the Injured* [J], 2007, 38(4): S23-S33.
- [9] FIORINA P, JUREWICZ M, AUGELLO A, *et al.* *Journal of Immunology* [J], 2016, 183(2): 993-1004.
- [10] GARG P, MAZUR M M, BUCK A C, *et al.* *Orthopaedic Surgery* [J], 2017, 9(1): 13-19.
- [11] SHAFEI A E, ALI M A, GHANEM H G, *et al.* *Journal of Gene Medicine* [J], 2017, 19(12): 2995.
- [12] HADDAD D, HILDENBRAND M F, HILLER K H, *et al.* *NMR in Biomedicine* [J], 2012, 25(3): 402-409.
- [13] WANG T Z, XU Z Y, JIANG W H, *et al.* *International Journal of Cardiology* [J], 2006, 109(1): 74-81.
- [14] GNECCHI M, DANIELI P, CERVIO E. *Vascular Pharmacology* [J], 2012, 57(1): 48-55.
- [15] BARIL P, MARTINDUQUE P, VASSAUX G. *British Journal of Pharmacology* [J], 2010, 159(4): 761-771.
- [16] HU S, CAO W, LAN X L, *et al.* *Molecular Imaging* [J], 2011, 10(4): 227-237.
- [17] WIMPENNY I, MARKIDES H, EI HAJ, *et al.* *Stem Cell Research & Therapy* [J], 2012, 3(2): 13-25.
- [18] DHARMASAROJA P. *Journal of Clinical Neuroscience* [J], 2009, 16(1): 12-20.
- [19] WILLIAMS A R, HATZSITERGOS K E, ADDICOTT B, *et al.* *Circulation* [J], 2013, 127(2): 213-223.
- [20] SKVORTSOVA V I, GUBSKIY L V, TAIROVA R T, *et al.* *Bulletin Experimental Biology and Medicine* [J], 2008, 145(1): 122-128.
- [21] LI G H, YU F B, LEI T, *et al.* *Neural Regeneration Research* [J], 2016, 11(6): 1015-1024.
- [22] SCHUMANN P, TAVASSOL F, LINDHORST D, *et al.* *Microvascular Research* [J], 2009, 78(2): 180-190.
- [23] ABBOTT B P, ABBOTT R, ABBOTT T D, *et al.* *Physical Review Letters* [J], 2018, 120(20): 201102.
- [24] GNECCHI M, ZHANG Z P, NI A G, *et al.* *Circulation Research* [J], 2008, 103(11): 1204-1219.
- [25] SHI D Y, ZHANG J M, ZHOU Q, *et al.* *Gut* [J], 2017, 66(5): 955-964.
- [26] 陈博, 顾宁. *中国材料进展* [J], 2017, 36(3): 211-218.
- [27] CHEN B, GU N. *Materials China* [J], 2017, 36(3): 211-218.
- [28] YAVUZ C T, MAYO J T, YU W W, *et al.* *Science* [J], 2006, 314(5801): 964-967.
- [29] MOGHADDAM S, KHORASANI M T, HOSSEINKAZEMI H, *et al.* *Journal of Biomaterials Science: Polymer Edition* [J], 2016, 27(9): 793-804.
- [30] DENHAM C R, BLAKEMORE R P, FRANKEL R B. *IEEE Transactions on Magnetics* [J], 1980, 16(5): 1006-1007.
- [31] DIEBEL C E, PROKSCH R, GREEN C R, *et al.* *Nature* [J], 2000, 406(6793): 299-302.
- [32] EL-JAICK L J, ACOSTA-AVALOS D, DE SOUZA D M, *et al.* *European Biophysics Journal with Biophysics Letters* [J], 2001, 29(8): 579-586.
- [33] FALKENBERG G, FLEISSNER G, SCHUCHARDT K, *et al.* *PLoS One* [J], 2010, 5(2): e9231.
- [34] HAW C Y, MOHAMED F, CHIA C H, *et al.* *Ceramics International* [J], 2010, 36(4): 1417-1422.
- [35] CHEN B, SUN J F, FAN F G, *et al.* *Nanoscale* [J], 2018, 10(16): 7369-7376.
- [36] BASSER P J, PIEROAOILI C. *Journal of Magnetic Resonance Series B* [J], 2011, 213(2): 560-570.
- [37] NAKAMURA E, MAKINO K, OKANO T, *et al.* *Journal of Controlled Release* [J], 2006, 114(3): 325-333.

- [37] LAUFFER R B. *Chemical Reviews*[J], 1987, 87(5): 901-927.
- [38] PENFIELD J G, REILLY R F. *Nature Clinical Practice Nephrology* [J], 2007, 3(12): 654-668.
- [39] MARTIN D R, KRISHNAMOORTHY S K, KALB B, *et al.* *Journal of Magnetic Resonance Imaging*[J], 2010, 31(2): 440-446.
- [40] PERONE P A, WEBER S L, DASILVA M, *et al.* *Investigative Radiology*[J], 2010, 45(1): 42-48.
- [41] SOSNOVIL D E, NAHRENDORF M, WEISSLEDER R. *Basic Research in Cardiology*[J], 2008, 103(2): 122-130.
- [42] GAHRAMANOV S, MULDOON L L, VARALLYAY C G, *et al.* *Radiology*[J], 2013, 266(3): 842-852.
- [43] AHRENS E T, BULTE J W M. *Nature Reviews Immunology* [J], 2013, 13(10): 755-763.
- [44] ZHU W Z, LI X, TANG Z P, *et al.* *Journal of Huazhong University Science and Technology: Medical Sciences* [J], 2007, 27(1): 107-110.
- [45] FAURE P, DOAN B T, BELOEIL J C. *NMR in Biomedicine*[J], 2003, 16(8): 484-493.
- [46] DALDRUP-LINK H E, MEIER R, RUDELIN M, *et al.* *European Radiology*[J], 2005, 15(1): 4-13.
- [47] MOORE A, SUN P Z, CORY D, *et al.* *Magnetic Resonance Medicine* [J], 2002, 47(4): 751-758.
- [48] YANG Y, WANG Q W, SONG L, *et al.* *Science China: Materials* [J], 2017, 60(9): 892-902.
- [49] REICHARDT W, DURR C, VON ELVERFELDT D, *et al.* *Journal of Immunology*[J], 2008, 181(7): 4770-4779.
- [50] LONG C M, VAN LAARHOVEN H W M, BULTE J W M, *et al.* *Cancer Research*[J], 2009, 69(7): 3180-3187.
- [51] XU Y, SHI Y, DING S. *Nature*[J], 2008, 453(7193): 338-344.
- [52] BERMAN S M C, MALCZAK P, BULTE J W M, *et al.* *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology* [J], 2011, 3(4): 343-355.
- [53] XIA Y, SUN J F, ZHAO L, *et al.* *Biomaterials*[J], 2018, 183: 151-170.
- [54] HUANG D M, HSIAO J K, CHEN Y C, *et al.* *Biomaterials*[J], 2009, 30(22): 3645-3651.
- [55] WANG Q W, CHEN B, CAO M, *et al.* *Biomaterials*[J], 2016, 86: 11-20.
- [56] WANG Q W, CHEN B, MA F, *et al.* *Nano Research*[J], 2017, 10(2): 626-642.
- [57] HU S Y, ZHOU Y, ZHAO Y T, *et al.* *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*[J], 2018, 12(4): 2085-2098.
- [58] KO I K, SONG H T, CHO E J, *et al.* *Annals of Biomedical Engineering*[J], 2007, 35(1): 101-108.
- [59] YUE Z G, WEI W, LV P P, *et al.* *Biomacromolecules*[J], 2011, 12(7): 2440-2446.
- [60] JEONG H J, LEE B C, AHN B C, *et al.* *Nuclear Engineering and Technology*[J], 2016, 48(3): 597-607.
- [61] FRANK J A, MILLER B R, ARBAB A S, *et al.* *Radiology*[J], 2003, 228(2): 480-487.
- [62] WALCZAK P, RUIZ-CABELLO J, KEDZIOREK D A, *et al.* *Nanomedicine: Nanotechnology Biology and Medicine* [J], 2006, 2(2): 89-94.
- [63] KIM T, MOMMIN E, CHOI J, *et al.* *Journal of the American Chemical Society*[J], 2011, 133(9): 2955-2961.
- [64] Reddy A M, Kwak B K, Shim H J, *et al.* *Journal of Korean Medical Science*[J], 2010, 25(2): 211-219.

(编辑 惠 琼)