

MR 成像活体示踪 SPIO-shRNA 分子探针的生物分布^{*}

邓小林, 吴晓凤, 廖蓁蓁, 曾丹妮, 文 明[△], 李少林

重庆医科大学附属第一医院 放射科 (重庆 400016)

【摘要】 目的 探讨磁共振成像(MR 成像)能否示踪超顺磁性氧化铁(superparamagnetic iron oxide, SPIO)-shRNA 分子探针在活体动物主要脏器的生物分布。方法 6 只新西兰大白兔, 注射 SPIO-shRNA 分子探针(含铁量为 9.6 mg/kg), 原子吸收光谱法(atomic absorption spectrometry, AAS)测量注射前 30 min 及注射后 1 min、3 min、5 min、10 min、15 min、30 min、1 h、2 h、3 h、6 h、12 h、24 h 的血浆铁质量浓度以分析其药代动力学。6 只昆明(KM)小鼠于尾静脉注射含铁量为 4.8 mg/kg 的 SPIO-shRNA 分子探针, MR 成像活体示踪探针在小鼠体内主要脏器的生物分布。96 只 KM 小鼠于未给药及给药后 1 d、3 d、5 d、7 d、9 d、11 d、14 d, 取肝、脾、肾、脑及肌肉组织, AAS 测定各脏器组织探针铁含量, 同时行普鲁士蓝染色并与 MR 结果对照分析。结果 本探针的药代动力学符合二室模型, 半衰期为(3.692±0.196) h。MR 显示探针在正常小鼠体内主要分布于肝脏与脾脏, 代谢缓慢, 于 2 周左右完全从肝、脾代谢清除; AAS 对脏器探针铁含量的测定与普鲁士蓝染色证实了 MR 成像结果。结论 本研究明确了 MR 成像可用于活体示踪 SPIO-shRNA 分子探针在动物体内主要脏器的生物分布, 为进一步利用 MR 无创监测探针在动物体内的治疗作用提供了依据。

【关键词】 分子探针 超顺磁性氧化铁 磁共振成像 生物分布 药代动力学

Magnetic Resonance Imaging Tracing the Biodistribution of SPIO-shRNA Molecular Probe *in vivo* DENG Xiao-lin, WU Xiao-feng, LIAO Rui-kun, ZENG Dan-ni, WEN Ming[△], LI Shao-lin. Department of Radiology, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China

[△] Corresponding author, E-mail: 13883669699@163.com

【Abstract】 Objective To investigate the biodistribution of superparamagnetic iron oxide (SPIO)-shRNA molecular probe by magnetic resonance imaging (MRI) *in vivo*. **Methods** Six New Zealand white rabbits were injected intravenously with SPIO-shRNA molecular probe (9.6 mg Fe/kg) via ear edge vein. The blood samples were collected to analyse the pharmacokinetic parameters through measuring the iron content by atomic absorption spectrometry (AAS) method at 30 min before and 1 min, 3 min, 5 min, 10 min, 15 min, 30 min and at 1, 2, 3, 6, 12, and 24 h after the injection. Six Kun Ming (KM) mice were injected intravenously with SPIO-shRNA molecular probe (4.8 mg Fe/kg). The biodistribution of SPIO-shRNA molecular probe was traced by MRI *in vivo*. Ninety six KM mice were randomly divided into control group and experimental group: each mouse in experimental group was injected intravenously with SPIO-shRNA molecular probe (4.8 mg Fe/kg). The liver, spleen, kidney, brain and muscle of the control group and the experimental group on 1, 3, 5, 7, 9, 11 and 14 d after the injection were collected. The organ iron content were measured by AAS method and Prussian blue staining in order to observe the distribution of the SPIO-shRNA molecular probe in the main organ. **Results** Our results demonstrated that the pharmacokinetics of the molecular probe complied with two-compartment model, and the blood half-life was (3.692±0.196) h. The data of MRI showed that the probe were distributed in liver and spleen, and the signs were reduced in accord with the increase of probe's doses in liver and spleen. The probe's metabolism was slow, and the probe was cleared from liver and spleen at 2 weeks after the injection. The results of AAS and Prussian blue staining further testified the results of MRI. **Conclusion** Our data showed the biodistribution of SPIO-shRNA molecular probe in main organs can be traced by MRI *in vivo*. Meanwhile, it provides important information for the effectiveness of the probe by MRI at tumor *in vivo*.

【Key words】 Molecular probe Superaramagnetic iron oxide Magnetic resonance imaging Biodistribution Pharmacokinetics

超顺磁性氧化铁(superparamagnetic iron oxide, SPIO)-shRNA 分子探针是结合 RNA 干扰(RNAi)技术与分子影像学各自的优势, 采用多聚左旋赖氨酸(poly-L-lysine, PLL)修饰 SPIO, 生成

^{*} 国家自然科学基金(No. 81171366)和国家临床重点专科建设项目[国卫办医函(2013)544]资助

[△] 通信作者, E-mail: 13883669699@163.com

SPIO-PLL,再以最佳比例连接靶向卵巢癌表皮生长因子受体的 shRNA 而成^[1]。探针中的 PLL 具有高的生物安全性和生物相容性,免疫原性低,其作为非病毒载体,被广泛应用于基因传递和基因络合,相对于免疫原性高的病毒载体,安全性更高^[2-4]。经离体细胞实验,该探针一方面可抑制肿瘤基因的表达,达到治疗肿瘤的目的,一方面可采用磁共振成像(MR 成像)动态监测基因的干扰效果^[5]。

了解探针在动物体内的生物分布,是药理学研究的重要内容。本实验通过 MR 成像活体示踪 SPIO-shRNA 分子探针在动物体内主要脏器的生物分布,期望在了解探针药理学信息的同时,明确动物体内的探针能否被 MR 成像动态、可视化监测,为进一步利用 MR 成像监测探针在动物体内的治疗作用提供依据。

1 材料及方法

1.1 主要实验材料及仪器

SPIO-shRNA 分子探针由本课题组制备^[1]。新西兰大白兔 6 只〔体质量(2.5 ± 0.5) kg,雌雄各半〕,昆明(KM)小鼠 102 只〔体质量(25 ± 1.7) g,雌雄兼用〕,重庆医科大学实验动物中心提供;铁标准溶液(1 mg/mL,上海试剂研究所);Z-5000 型原子吸收光谱仪(日本 HITACHI 公司);WX-4000 型温压双控微波消解仪(上海屹尧仪器科技发展有限公司);戊巴比妥钠(德国 Merck 公司);硝酸(优级纯,国药集团化学试剂有限公司);3.0 T 超导型 MR 成像仪及腕关节线圈(美国 GE 公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 方法学考察 SPIO-shRNA 分子探针的精确定量检测采用原子吸收光谱法(atomic absorption spectrometry, AAS),其方法学考察如下:①标准溶液的配制:取系列铁标准溶液,蒸馏水稀释,配制成质量浓度为 0、0.50、1.00、3.00、5.00、10.00 mg/L 的标准曲线工作液。②标准曲线:原子吸收光谱仪在波长 248.3 nm 处测定上述溶液的吸光度值,绘制校准曲线,采用加权($1/\rho^2$)最小二乘法进行回归,获得回归方程。③回收率实验:新西兰大白兔空白血浆 0.2 mL 或 KM 小鼠的肝、脾、肾、脑、肌肉(人为确定左侧大腿)各 50 mg,分别放入消化罐中,加入 5 mL 浓硝酸后,置于微波消解仪内进行消解,消解条件与步骤为:150 ℃、15 MPa、1 000 W 消化 4 min 后,再行 180 ℃、25 MPa、1 000 W 消化 10 min。消化完成后取出样品,超纯水分别定容至

10 mL,加入铁标准溶液,配制成标准铁质量浓度为 0、1.00、5.00、10.00 mg/L 的血浆或组织样品,用测得的铁质量减去空白血浆或组织铁质量所得的值与加入铁质量的比值,计算回收率。④精密度实验:上述不同铁质量浓度的血浆或组织样品,于 1 d 内重复测定 5 次,计算日内精密度的相对标准偏差(relative standard deviation, RSD);连续测定 3 d,计算日间 RSD。

1.2.2 探针药代动力学实验 6 只新西兰大白兔,于耳缘静脉(统一确定为左侧)分别注射 SPIO-shRNA 分子探针(含铁量为 9.6 mg/kg)^[6]。于注射前 30 min(空白对照)及注射后 1 min、3 min、5 min、10 min、15 min、30 min、1 h、2 h、3 h、6 h、12 h、24 h 从右侧耳缘静脉采血 0.5 mL,置肝素抗凝离心管,3 000 r/min 离心 10 min,吸取上层血浆 0.2 mL, AAS 测定血浆中探针铁质量浓度(注射后各时间点铁质量浓度与空白对照铁质量浓度之差)。

1.2.3 MR 成像监测探针在小鼠体内主要脏器的生物分布 在 6 只 KM 小鼠的尾静脉分别注射含铁量为 4.8 mg/kg 的 SPIO-shRNA 分子探针^[7-8],MR 扫描选择在给药前(0 d)与给药后 1 d、3 d、5 d、7 d、9 d、11 d、14 d 进行。具体扫描方法为:小鼠腹腔注射 1%戊巴比妥钠(剂量为 60 mg/kg)麻醉后,仰卧位固定于自制泡沫板,置于腕关节表面线圈,3.0 T 超导型 MR 扫描仪行冠状位扫描。参考相关文献^[9]及预实验,确定最终的实验用扫描参数为:梯度回波 T2 * WI 序列,重复时间/回波时间(TR/TE) 300 ms/MinFull,激励次数 3,矩阵 320×224,翻转角为 20°,层厚 2 mm,视野(FOV)12 cm。获得的图像传至 GE ADW4.6 工作站,选择感兴趣区(region of interest, ROI)大小 30 mm²,分别测量肝、脾、肾、脑及肌肉(人为确定为左侧大腿)的信号强度,重复测量 3 次并取平均值。

1.2.4 AAS 测定小鼠体内主要脏器的探针铁含量 取 48 只 KM 小鼠,随机选取 6 只未注射探针的小鼠为空白对照组;其余 42 只为实验组,每只注射含铁量为 4.8 mg/kg 的 SPIO-shRNA 分子探针,于给药后 1 d、3 d、5 d、7 d、9 d、11 d、14 d 处死小鼠,每个时间点 6 只,完整切取肝、脾、肾、脑及左侧大腿肌肉组织,生理盐水洗净,滤纸吸干水分后准确称量上述各组织 50 mg,采用 AAS 测定相应脏器铁含量。

1.2.5 病理学检查 另取 48 只 KM 小鼠,实验分组及处理同 1.2.4,分别完整切取肝、脾、肾、脑及左侧大腿组织,置于体积分数为 10%的中性缓冲甲醛

固定液。2 d 后制作石蜡切片行 HE 与常规普鲁士蓝染色,光学显微镜下观察。

1.3 统计学方法

计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示。药-时变化值分析使用 WinNonlin 5.2 药代动力学软件。不同时间点 MR 信号强度比较采用重复测量设计的方差分析,两两比较采用配对样本 t 检验;主要脏器铁含量的比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 Dunnett- t 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 AAS 方法学考察结果

探针铁质量浓度在 0.00~10.00 mg/L 范围内具有良好的线性关系($y = 0.030\ 3\rho - 0.001\ 5, r = 0.999\ 5$)。测得铁质量浓度分别为 1.00、5.00、10.00 mg/L 的兔血浆和小鼠各组织样品的回收率均在 95%~105% 之间;日内 RSD 均 $< 5\%$, 日间 RSD 均 $< 6\%$ 。

2.2 探针在兔体内的药代学

使用 WinNonlin 5.2 药代动力学软件绘制的药-时曲线见图 1。经该软件分析,探针的代谢符合

二室模型,消除代谢符合一级消除动力学。选用二室模型进一步分析,获得的探针药代学参数见附表。

2.3 MR 示踪探针在小鼠主要脏器的生物分布

结果见图 2、图 3。分析注射探针前、后不同时间点的 MR 扫描图像及信号强度,结果显示,探针注射前,肝、脾信号强度分别为 579.50 ± 24.82 、 565.83 ± 21.55 ,注射探针后 1 d,肝、脾的信号明显

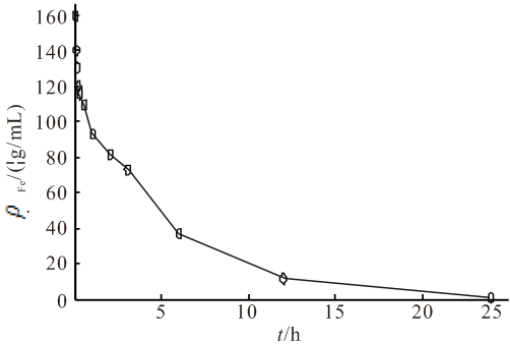


图 1 兔静脉注射含铁量为 9.6 mg/kg 的 SPIO-shRNA 分子探针的
药-时曲线 ($n = 6$)

Fig 1 Mean plasma concentration-time curve of SPIO-shRNA
molecular probe after intravenous administration of SPIO-
shRNA to rabbits ($n = 6$)

附表 兔静脉注射含铁量为 9.6 mg/kg 的 SPIO-shRNA 分子探针的药动力学参数 ($n = 6$)

Table The pharmacokinetic parameters of SPIO-shRNA molecular probes after intravenous administration of SPIO-shRNA to rabbits ($n = 6$)			
Parameter	$\bar{x} \pm s$	Parameter	$\bar{x} \pm s$
$t_{1/2\alpha}/h$	0.042 ± 0.008	$AUMC/\lceil(mg \cdot h^2)/L\rceil$	$3\ 371.532 \pm 319.181$
$t_{1/2\beta}/h$	3.692 ± 0.196	K_{10}/h^{-1}	0.270 ± 0.015
$V_1/(L/kg)$	0.056 ± 0.002	K_{12}/h^{-1}	4.979 ± 1.232
$CL/\lceil L/(h \cdot kg)\rceil$	0.015 ± 0.001	K_{21}/h^{-1}	11.529 ± 2.197
$AUC/\lceil(mg \cdot h)/L\rceil$	636.113 ± 27.384	MRT/h	5.300 ± 0.279

$t_{1/2\alpha}$: Half-life in absorption phase; $t_{1/2\beta}$: Half-life in elimination phase; V_1 : Volume of distribution in the central compartment; CL : Clearance; AUC : Area under the plasma concentration-time curve; $AUMC$: Area under the first moment curve; K_{10} : The rate at which drug leaves the system from the central compartment; K_{12} : The rate from compartment 1 to compartment 2; K_{21} : The rate from compartment 2 to compartment 1; MRT : Mean residence time

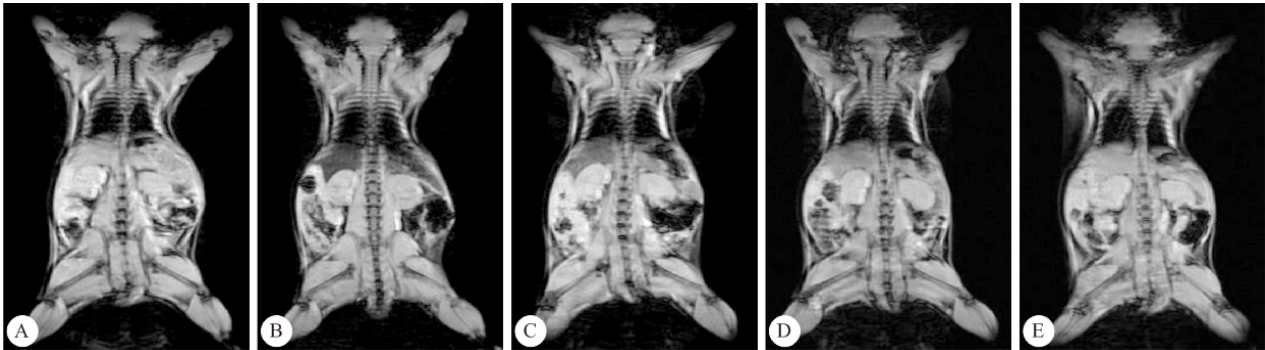


图 2 小鼠静脉注射 SPIO-shRNA 分子探针后不同时间点主要脏器生物分布的 MR 图像
Fig 2 MRI results at before and after intravenous administration of SPIO-shRNA molecular probe to mice
A: Pre; B: 1 d; C: 3 d; D: 7 d; E: 14 d

降低,信号强度分别为 218.17 ± 15.22 、 303.83 ± 17.38 ,与探针注射前比较,差异有统计学意义(t 值分别为 29.744 、 20.879 , P 均 <0.05);之后肝、脾信号缓慢回升,直至 14 d 恢复至注射前水平(与注射前比较, P 均 >0.05);脑、肾及肌肉信号在观察的不同时间点均无明显变化,差异无统计学意义(P 均 >0.05)。

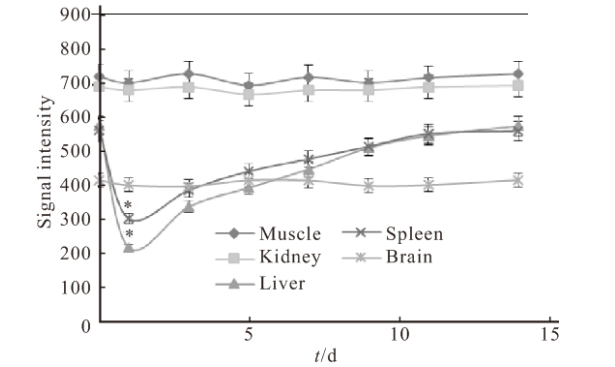


图 3 小鼠静脉注射 SPIO-shRNA 分子探针后主要脏器生物分布的 MR 信号强度-时间曲线($n=6$)

Fig 3 The MR signal intensity-time curves of liver, spleen, kidney, brain and muscle before and after intravenous administration of SPIO-shRNA molecular probe to mice ($n=6$)

* $P<0.05$, vs. 0 d (pre-administration)

2.4 小鼠体内主要脏器的探针铁含量测定结果

AAS 测定结果显示(图 4):空白对照组肝、脾铁含量分别为 $(77.11 \pm 3.09) \mu\text{g/g}$ 、 $(151.10 \pm 4.89) \mu\text{g/g}$;注射探针后 1 d,肝、脾铁含量分别为 $(121.49 \pm 3.49) \mu\text{g/g}$ 、 $(193.52 \pm 7.79) \mu\text{g/g}$,与空白对照组相比,铁含量增加,差异有统计学意义(P 均 <0.05)。之后,随着时间的延长,肝、脾中铁含量

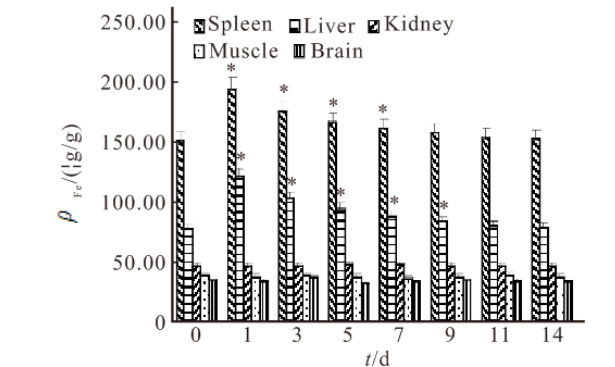


图 4 SPIO-shRNA 分子探针静脉注射前与注射后不同时间点小鼠主要脏器 Fe 含量

Fig 4 The iron conten of liver, spleen, kidney, brain, muscle before and after intravenous administration of SPIO-shRNA molecular probe to mice

* $P<0.05$, vs. 0 d (control group)

逐渐减少,至约 14 d 时恢复到注射前水平。而肾、脑及肌肉组织于注射探针前后铁含量无明显变化,差异无统计学意义(P 均 >0.05)。

2.5 病理学检查结果

HE 检查结果显示,注射探针后各时间点小鼠的肝、脾、肾、脑、肌肉组织细胞无明显变性、坏死。普鲁士蓝染色结果显示,注射探针后 1 d,探针铁阳性区(蓝染颗粒沉淀)位于肝、脾组织(图 5),且随着时间的延长,蓝染颗粒逐渐消失;而肾、脑、肌肉在各时间点均未见明显蓝染颗粒沉淀。

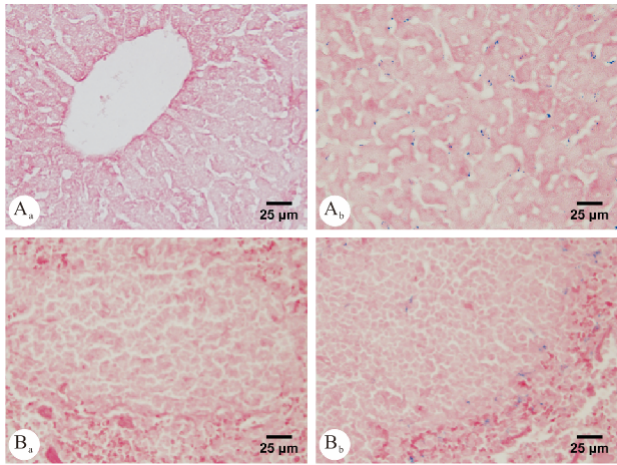


图 5 空白对照组小鼠与 SPIO-shRNA 分子探针静脉注射 1 d 后小鼠肝、脾普鲁士蓝染色结果

Fig 5 Prussian blue staining of liver and spleen at 1 d after intravenous administration of SPIO-shRNA molecular probe to mice

A: Liver; B: Spleen; a: Control group; b: Experimental group

3 讨论

要了解 SPIO-shRNA 分子探针在血液中的药代学参数和主要脏器的生物分布等药理学信息,需要有可靠的检测方法。对 SPIO 中铁的检测,目前常用的有 AAS、普鲁士蓝染色、MR 成像等。由于 AAS 法具有较高的精度,多篇文献采用 AAS 法对 SPIO 中铁进行精确定量检测^[10-11]。本实验对 AAS 进行方法学考察,所考察的兔血浆和小鼠脏器组织样品回收率高,日内 RSD 与日间 RSD 较低,说明检测方法可靠。但 AAS 需切取动物脏器组织,属有创性检查方法,难以用于临床。而 MR 成像属于无创性检查方法,被广泛用于临床疾病的诊断。因此,本实验拟采用 AAS 精确定量探针在动物体内的生物分布,在了解探针药理学信息的同时,作为参考标准,探讨探针在体内的生物分布能否被

MR 成像动态、可视化监测。同时采用普鲁士蓝染色病理学方法进一步直观验证研究结果,希望为进一步的研究提供数据支撑。目前,对 SPIO 的 MR 成像监测,常采用快速自旋回波序列和梯度回波序列两种。两种序列中,梯度回波序列对 SPIO 的监测更敏感,但易受呼吸、心跳等运动伪影干扰^[12-13]。因此,本实验为更可靠地监测探针中 SPIO 在小鼠体内的生物分布,选择了梯度回波序列;同时,为尽量减少运动伪影对成像质量的影响,采用了冠状位扫描来观察多个脏器的信号改变,较横断位成像而言,可大大减少扫描层数,缩短成像时间,减少运动伪影对 MRI 图像质量的干扰。结果不但获得了伪影较少的 MRI 图像,而且实现了在一个中心层面同时观察多个脏器的信号改变。

本研究之所以选择注射探针 1 d 及其以后的不同时间点进行 MR 成像、脏器铁含量测定与普鲁士蓝染色等对照研究,基于以下考虑:由于病理学标本的制作过程中将清除脏器血管内的探针,加上普鲁士蓝染色技术本身的干扰,位于血管内的探针也不能被普鲁士蓝染色证实^[14],而 MR 成像反映的是存在于脏器细胞内外的总体效果。根据药代学实验研究结果,1 d 后探针基本能从血液中清除。因此,选择这些时间点做检测,可反映探针在观察脏器细胞内的真实分布情况。

SPIO-shRNA 探针中的 SPIO 具有超顺磁性,是一种 MR 成像阴性对比剂,即在脏器中含量越多,其 MR 信号降低越明显。本实验结果显示,注射探针后 1 d,小鼠肝、脾 MR 信号强度较给药前明显降低,说明探针从循环系统消除后,主要分布在肝脏与脾脏。AAS 对注射探针后 1 d 的小鼠各脏器铁含量的检测,也显示出肝、脾中的铁含量较空白对照组明显增高;而普鲁士蓝染色同样显示,注射探针后 1 d 的小鼠蓝染颗粒(探针铁阳性区)主要位于肝、脾,从另外的角度也验证了 MR 的成像结果。这是因为,肝、脾是单核吞噬细胞系统的主要脏器,具有吞噬和排除异物的功能。我们推测,探针在活体内的清除、排泄,应该主要与肝、脾相关。TSUCHIYA 等^[15]对小鼠注射 SPIO 后的肝脏标本,进行普鲁士蓝染色与枯否氏细胞(本质为巨噬细胞)的免疫组化对比研究,也发现普鲁士蓝染色的蓝染颗粒分布区域(铁阳性区)与免疫组化的阳性区域分布一致,提示 SPIO 在体内主要被巨噬细胞吞噬。本研究结果还显示,小鼠注射探针前与注射后的不同时间点,肾、脑、肌肉的 MR 信号无明显变化,差

异无统计学意义($P>0.05$),而这些脏器的铁含量测定亦显示无明显差异,普鲁士蓝染色均未发现明显的蓝染颗粒。3 种方法结论一致,提示在本实验设置的给药剂量条件下,在所监测的时间点,肾脏、肌肉组织及血脑屏障完整的脑组织中没有明显的探针残留,此外 HE 染色也未发现这些脏器中有明显的细胞变性、坏死,说明探针对这些脏器组织短期并无明显的毒副作用。本研究与 KHANDHAR 等^[16]研究结果相似,他们认为探针中的 SPIO 的代谢经过单核吞噬细胞系统清除,没有长期肾损害。

本实验结果显示,静脉注射探针后 1 d,小鼠的肝、脾信号较给药前明显降低,之后缓慢恢复,直至 14 d 恢复到注射前水平。上述结果说明,在所观察的时间点中,1 d 时探针在肝、脾的含量最高,MR 扫描显示肝、脾信号降低最明显,之后探针被缓慢代谢后,肝、脾中的探针逐渐减少,SPIO 逐渐减少,MR 扫描显示其信号逐渐升高并恢复到注射前水平。AAS 对脏器的铁含量测量也显示,注射探针后 1 d 时,肝、脾中的铁含量最高,之后逐渐降低,同样印证了 MR 扫描结果。查阅文献,我们发现,本实验的探针在肝、脾的代谢消除相对要快一些,如国内王巧英等^[12]于小鼠静脉注射含铁量为 2.5 mg/kg 的双亲性葡聚糖/氧化铁纳米复合物后,肝脏的 MR 信号恢复至给药前水平需要 16 d,其给药剂量比本探针设置铁剂量低,而肝脏 MR 信号的恢复所需要的时间更长;国外 BARREFELT 等^[17]于大鼠尾静脉注射 0.3×10^9 个 SPIO 微泡后,发现肝脏 MR 信号需要 6 周才能恢复至正常水平。分析其原因,考虑单核吞噬细胞系统在清除被其吞噬了的 SPIO 时,更容易清除颗粒小的 SPIO,而本探针中 SPIO-PLL 核心颗粒平均粒径仅为 7.37 nm^[18],导致位于肝、脾的探针被代谢清除相对容易一些,表现为肝、脾 MR 信号的恢复比同类 SPIO 所需的时间短。

虽然本实验与多个研究报道^[15-16]均表明,SPIO 安全性高,对动物体近期无明显副作用;少数对 SPIO 远期的安全性研究报道^[17,19]也显示 SPIO 对机体无明显毒副作用,但其远期毒副作用的研究还缺乏大量数据支持。本探针在小鼠肝、脾的代谢需时相对较短,这可能有利于减轻探针中 SPIO 远期潜在的副作用。

综上所述,MR 可用于示踪 SPIO-shRNA 分子探针在小鼠体内主要脏器的生物分布,并经 AAS 与普鲁士蓝染色病理学检查证实。这为进一步利用 MR 无创监测探针在活体肿瘤组织的治疗作用提供

了依据。

参 考 文 献

- [1] 文曦琳, 李 易, 葛晓东, 等. SPIO-PLL-pshRNA 分子探针转染卵巢癌 SKOV3 细胞及 MR 成像研究. 重庆医科大学学报, 2014, 39(4): 506-510.
- [2] 陈勃江, 李为民, 刘 丹, 等. 核糖体蛋白 S6 shRNA 慢病毒载体的构建及其对肺腺癌 A549 细胞株增殖的影响. 四川大学学报(医学版), 2014, 45(2): 293-298.
- [3] SALIM A, HOSSEIN NM, TAKI T. *In vitro* labeling of neural stem cells with poly-L-lysine coated superparamagnetic nanoparticles for green fluorescent protein transfection. Iran Biomed J, 2013, 17(2): 71-76.
- [4] TOGO Y, TAKAHASHI K, SAITO K, *et al.* Aldehyded dextran and epsilon -poly(L-lysine) hydrogel as nonviral gene carrier. Stem Cells Int, 2013 (2013): 634379 [2015-05-18]. <http://www.hindawi.com/journals/sci/2013/634379/>. doi: 10.1155/2013/634379.
- [5] 葛晓东, 李妹玲, 文曦琳, 等. 超顺磁性氧化铁-短发夹 RNA 双功能分子探针体外转染卵巢癌细胞的最佳浓度. 北京大学学报(医学版), 2015, 47(05): 754-760.
- [6] 谭书德, 欧阳羽, 文 明, 等. 超顺磁性氧化铁标记的反义探针在动物体内的药动学及主要脏器分布研究. 中国药学杂志, 2011, 46(21): 1656-1660.
- [7] PITTELLA F, CABRAL H, MAEDA Y, *et al.* Systemic siRNA delivery to a spontaneous pancreatic tumor model in transgenic mice by PEGylated calcium phosphate hybrid micelles. J Control Release, 2014, 178(1): 18-24.
- [8] LIU X, HUANG H, WANG J, *et al.* Dendrimers-delivered short hairpin RNA targeting hTERT inhibits oral cancer cell growth *in vitro* and *in vivo*. Biochem Pharmacol, 2011, 82(1): 17-23.
- [9] 温志鹏, 刘海燕, 文 明, 等. SPIO 标记的 c-erbB2 反义探针用于活体荷瘤裸鼠 MR 的最佳扫描时间探讨. 四川大学学报(医学版), 2013, 44(5): 708-712.
- [10] ALLARD-VANNIER E, COHEN-JONATHAN S, GAUTIER J, *et al.* Pegylated magnetic nanocarriers for doxorubicin delivery: a quantitative determination of stealthiness *in vitro* and *in vivo*. Eur J Pharm Biopharm, 2012, 81(3): 498-505.
- [11] BOHM I. Magnetic resonance cell-tracking studies: spectrophotometry-based method for the quantification of cellular iron content after loading with superparamagnetic iron oxide nanoparticles. Mol Imaging, 2011, 10(4): 270-277.
- [12] 王巧英, 苏红莹, 林 玲, 等. 双亲性葡聚糖/氧化铁纳米复合物磁共振造影剂. 科学通报, 2009, 54(9): 1173-1180.
- [13] 吕 鑫, 聂永梅, 赵志伟, 等. SPIO 标记大鼠骨髓间充质干细胞: 生物学活性及体外 MRI 成像效应评价. 生物医学工程学杂志, 2014, 31(02): 365-372.
- [14] BEDUNEAU A, MA Z, GROTEPAS CB, *et al.* Facilitated monocyte-macrophage uptake and tissue distribution of superparamagnetic iron-oxide nanoparticles. PloS One, 2009, 4(2): e4343 [2015-05-20]. <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0004343>.
- [15] TSUCHIYA K, NITTA N, SONODA A, *et al.* Histological study of the biodynamics of iron oxide nanoparticles with different diameters. Int J Nanomed, 2011(6): 1587-1594 [2015-05-20]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3152477/>. doi: 10.2147/IJN.S22189.
- [16] KHANDHAR AP, FERGUSON RM, ARAMI H, *et al.* Monodisperse magnetite nanoparticle tracers for *in vivo* magnetic particle imaging. Biomaterials, 2013, 34(15): 3837-3845.
- [17] BARREFELT A, SAGHAFFAN M, KUIPER R, *et al.* Biodistribution, kinetics, and biological fate of SPION microbubbles in the rat. Int J Nanomed, 2013(8): 3241-3254 [2015-05-22]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3767493/>. doi: 10.2147/IJN.S49948.
- [18] 李 易, 文曦琳, 孙红武, 等. 超顺磁性氧化铁(SPIO)与多聚赖氨酸(PLL)纳米粒的制备、结构验证及其空间结构表征. 复旦学报(医学版), 2014, 41(3): 309-314.
- [19] SCHLACHTER EK, WIDMER HR, BREGY A, *et al.* Metabolic pathway and distribution of superparamagnetic iron oxide nanoparticles: *in vivo* study. Int J Nanomed, 2011(6): 1793-1800 [2015-05-26]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3184939/>. doi: 10.2147/IJN.S23638.

(2015-08-03 收稿, 2015-11-13 修回)

编辑 余 琳