

DOI:10.12025/j.issn.1008-6358.2017.20170195

超顺磁性氧化铁纳米颗粒应用于干细胞定向归巢中的研究进展

Yerkintay Guliya, 黄浙勇*, 王齐兵

复旦大学附属中山医院心内科, 上海 200032

〔摘要〕 干细胞在组织器官的自我更新和修复过程中起重要作用。在外加磁场的作用下,用纳米磁铁颗粒标记干细胞,可增加干细胞的定向归巢和存留,从而放大干细胞的修复效应。本文就纳米磁铁颗粒靶向干细胞的原理,以及其在各种病理模型应用的研究进展作一综述。

〔关键词〕 超顺磁性氧化铁纳米颗粒;磁靶向;干细胞;移植;磁性纳米离子

〔中图分类号〕 R 445.2 〔文献标志码〕 A

Research progress in magnetically targeted stem cell delivery with SPIONs

YERKINTAY Guliya, HUANG Zhe-yong*, WANG Qi-bing

Department of Cardiology, Zhongshan Hospital, Fudan University, Shanghai 200032, China

〔Abstract〕 Stem cells play an important role in self-renewal and repair of tissues and organs. Under the influence of the external magnetic field, labeling the stem cells with magnetic nanoparticles can increase the directional homing and retention of the stem cells, thereby amplifying the repair effect of the stem cells. In this paper, the principle of magnetic nanoparticles targeting stem cells and its progress in the application of various pathological models are reviewed.

〔Key Words〕 superparamagnetic iron oxide nanoparticles; magnetic targeting; stem cell; transplantation; magnetic nanoparticle

干细胞治疗是再生医学继受损组织自我修复或者药物治疗失败后的一种治疗途径。如何有效地将干细胞聚集于病灶是干细胞治疗进展最大的障碍之一。在特定条件下,干细胞可以通过其多能性特点,诱导未分化的细胞分化为特定细胞。干细胞可以在心肌梗死模型中诱导心肌细胞再生,也可在支架术后血管中诱导内皮细胞再生及新生血管形成^[1-2],还可应用于视网膜变性、脊髓损伤、脑部创伤等^[3-4]。随着细胞疗法在医学中的应用,干细胞修复损伤器官和重建器官也得到发展,给在积极等待器官移植的患者带来希望。本文将讨论磁靶向的基本原理及其应用进展作一综述。

1 超顺磁性氧化铁纳米颗粒

随着时间推移,细胞在损伤部位停留的数量越来越少。这是目前细胞治疗面临的重要问题之一。而给药困难、药物剂量缺乏个体化等均可导致干细胞的低效植入^[5]。磁性纳米颗粒在诊断和治疗疾病方面

起重要作用^[6-7]。此外,对于临床应用来说,MRI因无辐射,且不使用放射性造影剂,所以比起CT、PET-CT或X线,更有利于同一患者数据的纵向采集,且能够提高软组织和硬组织在不同生理或病理状态下的成像,而其高分辨率有助于细胞的定量^[7]。

2 磁靶向定位的基本原理

干细胞的磁靶向归巢依赖于磁场的内部或外部磁场和其对磁活性载体的影响力。磁性反应性粒子的原子可以平行排列于所施加的磁场^[8]。超顺磁性不存在磁滞现象,即去掉外磁场后,磁性很快就消失,这一现象可以防止颗粒在磁场消失后继续聚集。在室温下,铁磁体的磁化率较超顺磁体高,而超顺磁性纳米颗粒聚集时的粒子相对较少,在处理和给药中也可以很好的进行控制^[6,8-9]。

2.1 磁性纳米颗粒相关理化性质 超顺磁性氧化铁纳米颗粒(superparamagnetic iron oxide nanoparticles, SPIONs)结构的核心层通常由磁铁

〔收稿日期〕 2017-03-09 〔接受日期〕 2017-04-05

〔基金项目〕 国家自然科学基金(81370003, 81570223, 81000043). Supported by National Natural Science Foundation of China(81370003, 81570223, 81000043).

〔作者简介〕 Yerkintay Guliya, 硕士生. E-mail:guliya_yer@126.com

*通信作者(Corresponding author). Tel: 021-64041990, E-mail:zheyonghuang@126.com

矿(Fe_3O_4)或磁赤铁矿($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$)构成。两者均为自然磁铁,这意味着 SPIONs 可以被永磁体吸引。超顺磁性磁铁颗粒小于临界尺寸时具有单畴结构。一般将超顺磁性磁铁颗粒分类为:50~180 nm 的 SPIONs,10~50 nm 的超小型超顺磁性氧化铁纳米粒子(USPIONs),小于 10 nm 的超顺磁性氧化铁纳米粒子(VSPIONs)^[10-11]。

SPIONs 的不良反少^[12],导致血管闭塞的危险小。由于体内有铁蛋白有,故 SPIONs 的生物相容性较好,也可以通过用有机或无机聚合物涂层包裹核心层来进一步实现生物相容性。Gastromark (50 nm)也被称为 Lumirem,在 1996 年被美国食品和药物管理局(FDA)批准用作口服造影剂。有关 Ferumoxytol(20~50 nm)干细胞的磁性靶向归巢递送的研究较深入。其也被称为 Feraheme,在 2009 年被美国 FDA 批准用于治疗成人肾脏疾病伴缺铁性贫血。1996 年,FDA 也批准另一类适用于在肝脏病变 MRI 的造影剂——菲立磁(Feridex),但后来因其市场需求低逐渐被淘汰^[13]。

磁性纳米颗粒的合成途径有多种,包括共沉淀法、热液合成法、热分解法、水热法、微乳化法等。目前,临床用磁性纳米颗粒最常用的的制备方法是共沉淀法。共沉淀法的原理是在封闭无氧条件下,采用化学计量比的二价和三价铁离子,在特定 pH 值及稳定剂存在的情况下,通过水解等反应完成制备,然后用高温热分解制备技术,使磁性氧化铁纳米颗粒结晶度更高、磁响应性更强、单分散性更好、表面修饰结构更清晰^[14]。

2.2 磁场梯度 磁场梯度的作用是将干细胞/SPIONs 复合物吸引至在靶向病理位点并定位于此。磁场和磁场梯度常由外部放置的磁体来产生,但是这种设置有局限性,即磁流密度在磁极面处最大,并随着磁体的距离而越来越小^[15]。因此,如果靶向治疗范围超出磁场(深部组织)范围,转染

SPIONs 的细胞就不会被吸引。这种限制促使了可磁化植入物的发展,将磁体放置在组织内并使植入物周围产生高梯度磁场,但在心脏、肝脏、肾脏等较深的组织仍不可行^[16]。

复旦大学和上海大学的联合课题组曾开发一种将磁场聚焦在离磁体一定距离处的磁性系统^[15-16]。该课题组利用小直径试管模仿血管,以不同速度注射磁性标记的骨髓间充质干细胞(MSC),当细胞流过管中磁性带时,特定的磁性装置可以捕获距离磁场起源 5 mm 处的细胞。其中,SPIONs 标记的细胞数量随着磁通密度呈正向变化,而随着流动速度呈负向变化。外部永久磁场的另一个固有特征是沿其切向轴不均匀性分布。在圆柱形磁体中,磁场在远离磁体中心的特定距离处产生圆形吸引环,这种均匀性和耗散现象若可被操控,便有利于使用 SPIONs 标记的细胞实现临床治疗^[17]。

2.3 纳米颗粒的稳定化 为了更好地调控纳米颗粒,需要对其表面进行修饰。表面修饰之前的纳米颗粒在空气中的不稳定性导致其极易氧化。纳米颗粒的高表面能极易使其发生沉积团聚,导致其在体内易被网状内皮系统清除^[8,10,18-19]。高浓度的铁离子仍可产生局部毒性。对 SPIONs 的表面进行修饰后,能够更好地稳定纳米颗粒、增加其生物相容性和反应活性。目前已经有多种聚合物材料和无机材料用于包被纳米颗粒,如表面活性剂、稀有金属、二氧化硅、碳涂层、纤维素、壳聚糖等^[8]。其中,最常见的 3 种 SPIONs 涂层类型为:聚乙烯乙二醇(PEG)、淀粉、葡聚糖^[20-21]。

3 SPIONs 在靶器官和病理模型中的应用

近年来,多项研究^[22-28]将 SPIONs 包括 VSPIONs、菲立磁、多聚-L-赖氨酸(PLL)通过多种干细胞应用于脊髓损伤、心肌梗塞、血管损伤等的大鼠模型,证实其促进细胞再生的效果(表 1)。

表 1 SPIONs 标记干细胞治疗的病理模型

细胞类型	疾病模型	动物	SPION 种类
骨髓间充质干细胞	脊髓损伤	大鼠	多聚-L-赖氨酸(PLL) ^[22]
	心肌梗死	Sprague-Dawley 大鼠	SPIONs 和 PLL ^[23]
	冠状动脉栓塞	Sprague-Dawley 大鼠	铁羧葡胺 ^[23]
神经祖细胞	脊髓损伤	Sprague-Dawley 大鼠	RGDS 肽珠复合物 ^[24]
心肌球源性干细胞	心肌梗死	Wistar-Kyoto 大鼠	纳米氧化铁 ^[25]
外源性骨髓源性干细胞(CD45 阳性)	心肌梗死	Wistar-Kyoto 大鼠	纳米氧化铁 ^[25]
外源性干细胞(CD34 阳性)	心肌梗死	Wistar-Kyoto 大鼠	纳米氧化铁 ^[26]
内皮祖细胞	颈总动脉损伤	Sprague-Dawley 大鼠	菲立磁 ^[27]
牛动脉内皮细胞	颈总动脉损伤后的再内皮化不足	Sprague-Dawley 大鼠	聚交酯 MNP ^[27]
视网膜上皮细胞	脉络膜新生血管	体外模型	磁性阳离子脂质体 ^[28]

3.1 间充质干细胞与脊髓损伤 对于人类脊髓损伤,目前尚无有效的治疗方法。肢体瘫痪、疼痛、痉挛、自主运动和(或)感觉能力缺失与脊髓损伤相关^[22]。Tukmachev 等^[22]将 MSC 鞘内注射于大鼠脊髓损伤部位,并分为 3 个实验组:PLL-SPIONs 标记的 MSC 加磁场组、未标记的 MSC 加磁场组和无磁场的标记 MSC 组。研究人员将两个圆柱形 NdFeB 磁体的相同磁极面面向彼此,将磁场聚焦于目标区“捕获区域”,并有效地诱导聚焦的细胞迁移到中性磁场区。最终计算在损伤位点的细胞数目与在脊髓手术范围内的细胞总数的比值,标记的 MSC 加磁场组为 45%,而未标记的 MSC 加磁场组为 14%、无磁场的标记的 MSC 组为 13%。

3.2 循环祖细胞与血管损伤 血管内皮损伤是心血管疾病的主要起因之一。Kyrtatos 等^[27]通过应用外部磁性装置,使祖细胞靶向至血管内皮损伤部位,以帮助内皮层再生。研究人员将参与血管内皮再生和缺血后新生血管形成的 CD133⁺内皮祖细胞(EPCs)靶向注入至 SD 大鼠的颈总动脉中导管的插入部位,以期预防或减少血管成形术后再狭窄或由于瘢痕组织形成而导致的血管再闭塞的发生率^[29]。结果表明,与不使用 SPIONs 的细胞相比,CD133⁺细胞植入到损伤部位的系数增加了 5.4 倍。

3.3 干细胞与心脏再生 目前应用于干细胞治疗心脏病的障碍之一是难以将干细胞长期停留在所需部位。干细胞短期在心脏靶位点的停留率仅为 10%,并且随着时间的延长逐渐下降。干细胞移位主要由冠状动脉血流和心脏收缩而造成^[30]。Gutova 等^[30]将 Feraheme、硫酸肝素(H)和硫酸鱼精蛋白(P)结合形成 FHP 复合物,再将这些复合物与心脏来源的干细胞(CDC)共培养后,注射至已进行心脏缺血再灌注处理大鼠的冠状动脉内。结果显示,磁化 CDC 细胞组在靶位点的细胞停留率比未磁化组高 3 倍,且磁化 CDC 细胞组心脏形态、心肌存活活力较其他组更佳。

4 磁性双功能细胞衔接器

双特异性抗体和可生物降解铁纳米颗粒的组合近年来成为靶向干细胞治疗的新热点。双特异性抗体的双重特异性使其可结合多种标志物。Luma 等^[31]用造血细胞标志物 CD45 和缺血性损伤标志物肌球蛋白轻链(MLC)-1 标记双特异性抗体,使用该抗体制备的干细胞增强了对损伤心肌的特

异性归巢,并可显著改善心脏功能。

磁性双功能细胞衔接器(MagBICE)同样有两种类型的抗体^[31-32],其核心为 Feraheme。抗体-纳米颗粒结合物可以结合损伤细胞或目的细胞的表面抗原,从而起到靶向治疗的目的,同时也有利于磁靶向和 MRI 成像。相对于其他铁纳米颗粒,Feraheme 的游离铁含量非常少,使其生物相容性增加,且其表面的羧化葡聚糖涂层能增加 MagBICE 与抗体结合的反应活性^[41]。Cheng 等^[26]将抗 CD34(干细胞标志物)和抗 MLC 抗体(缺血损伤标志物)结合于超顺磁纳米颗粒,使内源性 CD34⁺干细胞归巢至损伤的心肌,并用 1.3 T 磁场 MRI 观察。结果表明,干细胞作用处心肌功能得到改善、心肌瘢痕减少,且梗死后室壁厚度未减小。上述说明 MagBICE 是可以将分子、物理靶向和无创成像结合为一体,既可自由组合,也容易合成。

5 总结与展望

由于磁性粒子在体内易聚集,从而影响粒子的磁性与分散性,且磁场作用强度和时间等不可控,如何促进磁靶向干细胞的归巢和其在靶器官的长期停留还需进一步研究。在该技术应用于临床前,必须保证磁性纳米颗粒无毒、环保、可生物降解、与表面修饰相容,在体内保持稳定性,不影响干细胞功能,且在足够的剂量下有望有效诊断或治疗疾病。因此,将磁性纳米颗粒应用于临床前还须进行大量动物研究和进行长期的生物相容性评估。目前大多数磁性纳米颗粒动物研究为小鼠等小动物模型,为了更准确地反映其在人体内的反应、磁场大小、干细胞剂量等问题,还需要进行与人类生理特征相似的大型动物的模型研究。与其他金属纳米颗粒相比,SPIONs 具有较好的生物相容性及可降解性。但是,SPIONs 治疗剂量及其体内的免疫反应、炎症反应等报道较少^[9,11]。

综上所述,为患者提供多样的、个体化的干细胞靶向治疗和诊断是再生医学最前沿的研究之一。由于 SPIONs 的多功能性以及其 MRI 兼容性,其有解决干细胞治疗后靶位点细胞存活数量少及拓宽干细胞疗法临床应用范围的潜能。

参考文献

- [1] KRISHNA K A, KRISHNA K S, BERROCAL R, et al. Myocardial infarction and stem cells[J]. J Pharm Bioallied Sci, 2011, 3(2):182-188.

- [2] LEEPER N J, HUNTER A L, COOKE J P, et al. Stem cell therapy for vascular regeneration: adult, embryonic, and induced pluripotent stem cells[J]. *Circulation*, 2010, 122(5):517-526.
- [3] YANAI A, HÄFELI U O, METCALFE A L, et al. Focused magnetic stem cell targeting to the retina using superparamagnetic iron oxide nanoparticles [J]. *Cell Transplant*, 2012, 21(6): 1137-1148.
- [4] SHINOZUKA K, DAILEY T, TAJIRI N, et al. Stem cell transplantation for neuroprotection in stroke[J]. *Brain Sci*, 2013, 3(1): 239-261.
- [5] VERFAILLIE C M. Optimizing hematopoietic stem cell engraftment: a novel role for thrombopoietin[J]. *J Clin Invest*, 2002, 110(3): 303-304.
- [6] SENSENIG R, SAPIR Y, MACDONALD C, et al. Magnetic nanoparticle-based approaches to locally target therapy and enhance tissue regeneration in vivo [J]. *Nanomedicine*, 2012, 7(9):1425-1442.
- [7] FRANGIONI J V, HAJJAR R J. *In vivo* tracking of stem cells for clinical trials in cardiovascular disease [J]. *Circulation*. 2004, 110(21):3378-3383.
- [8] ARBAB A L, JORDAN E K, WILSON L B, et al. *In vivo* trafficking and targeted delivery of magnetically labeled stem cells[J]. *Hum Gene Ther*, 2004, 15(4):351-360.
- [9] MARKIDES H, ROTHERHAM M, EI HAJ A J. Biocompatibility and toxicity of magnetic nanoparticles in regenerative medicine[J]. *Nanomater*. 2012, 2012:1-11.
- [10] AITZIBER L C, DANIEL O, SANDRA M O, et al. Engineering iron oxide nanoparticles for clinical settings[J]. *Nanobiomedicine*, 2014, 1(2):1-20.
- [11] SINGH N, JENKINS G J, ASADI R, et al. Potential toxicity of superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPION)[J]. *Nano Rev*, 2010, 1(7):10.
- [12] MAHMOUDI M, SANT S, WANG B, et al. Superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPIONs): development, surface modification and applications in chemotherapy[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2011, 63(1-2): 24-46.
- [13] BULTE J W. *In vivo* MRI cell tracking: clinical studies[J]. *AJR Am J Roentgenol*, 2009, 193(2):314-325.
- [14] XIE J, CHEN K, LEE H Y, et al. Ultrasmall c(RGDyK)-coated Fe₃O₄ nanoparticles and their specific targeting to integrin $\alpha(v)\beta_3$ -rich tumor cells[J]. *J Am Chem Soc*, 2008, 130(24):7542-7543.
- [15] PEI N, HUANG Z, MA W, et al. *In vitro* study of deep capture of paramagnetic particle for targeting therapeutics [J]. *Magn Mater*, 2009, 321(18):2911-2915.
- [16] HUANG Z, PEI N, WANG Y, et al. Deep magnetic capture of magnetically loaded cells for spatially targeted therapeutics [J]. *Biomaterials*, 2010, 31(8):2130-2140.
- [17] HUANG Z, SHEN Y, PEI N, et al. The effect of nonuniform magnetic targeting of intracoronary-delivering mesenchymal stem cells on coronary embolisation [J]. *Biomaterials*, 2013, 34(38):9905-9916.
- [18] CHEN J, HUANG N, MA B, et al. Guidance of stem cells to a target destination in vivo by magnetic nanoparticles in a magnetic field[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2013, 10, 5(13):5976-5985.
- [19] SUN S N, WEI C, ZHU Z Z, et al. Magnetic iron oxide nanoparticles : synthesis and surface coating techniques for biomedical applications[J]. *Chin Phys*, 2014, 23(3):13-31.
- [20] Umut E. Surface modification of nanoparticles used in biomedical applications[J]. *Mod Surf Eng Treat*. 2013, 5(8):185-208.
- [21] HUONG N T, GIANG L T K, BINH N T, et al. Surface modification of iron oxide nanoparticles and their conjunction with water soluble polymers for biomedical application[J]. *Phys Conf Ser*, 2009, 6(1):187-191.
- [29] DANGAS G, KUEPPER F. Cardiology patient page. Restenosis: repeat narrowing of a coronary artery: prevention and treatment[J]. *Circulation*, 2002, 105(22): 2586-2587.
- [30] GUTOVA M, FRANK J A, D'APUZZO M, et al. Magnetic resonance imaging tracking of ferumoxytol-labeled human neural stem cells: studies leading to clinical use[J]. *Stem Cells Transl Med*, 2013, 2(10): 766-775.
- [31] LUMA L G, DAVOLA P A, LEE R J, et al. The new face of bispecific antibodies: targeting cancer and much more[J]. *Exp Hematol*. 2006, 34(1):1-6.
- [32] TANG J, SHEN D, ZHANG J, et al. Bispecific antibodies, nanoparticles and cells: bringing the right cells to get the job done[J]. *Expert Opin Biol Ther*, 2015, 15(9):1251-1255.

[本文编辑] 姬静芳