

纳米级超顺磁性氧化铁的制备及其对小鼠急性毒性作用的观察

文 明¹, 宋 琳², 柏 玮², 李少林^{2*}, 李必波³

(1. 重庆医科大学附属第一医院放射科, 重庆 400016; 2. 重庆医科大学基础医学院放射医学教研室; 3. 重庆医科大学药学院)

[摘要] **目的:** 自制纳米级超顺磁性氧化铁(superparamagnetic iron oxide, SPIO), 观察其对小鼠的急性毒性作用, 为进一步研究其长期毒性及将其作为载体应用于磁共振(magnetic resonance, MR)基因成像奠定基础。**方法:** 采用共沉淀法制备纳米级 SPIO, 应用透射电镜、原子力显微镜及 1.5 T 超导型 MR 仪等测定其相关理化指标。90 只小鼠按纳米级 SPIO 给药方式和剂量随机分为口服灌胃、静脉注射、腹腔注射组($n=30$), 分别按总剂量 2 104.8 mg/kg、给药容积 40 ml/kg 口服灌胃; 总剂量 438.5 mg/kg、给药容积 25 ml/kg 静脉注射; 以及总剂量 1 578.6 mg/kg, 给药容积 30 ml/kg 腹腔注射; 各组另设 10 只小鼠按相应方式给予等量生理盐水作为对照($n=10$)。给药后饲养 14 d, 观察饲养期间小鼠的一般情况, 检测小鼠血清主要生化指标; 观察主要脏器的病理学改变。**结果:** 成功制备纳米级 SPIO, 其核心颗粒为 Fe_3O_4 晶体, 颗粒大小 20~35 nm, T_2 弛豫率 $0.155 \times 10^6 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$, 比饱和磁化强度 68.395 68 emu/g, 剩磁 21.463 74 Gs。观察期间各组小鼠均未见死亡; 各组小鼠血清生化指标无显著差异; H-E 染色及 Wright 骨髓染色见各组小鼠肝、脾、肾、心、肺和骨髓细胞均无水腫、变性、坏死等改变; 普鲁士蓝染色见给药组小鼠肝、脾内分布少许铁蓝色颗粒, 而对照组未见。**结论:** 自制的纳米级 SPIO 符合作为 MR 成像对比剂的要求, 对小鼠无明显急性毒性, 值得进一步研究以用于磁共振基因成像。

[关键词] 超顺磁性氧化铁; 纳米技术; 毒性试验

[中图分类号] R 455.2

[文献标识码] A

[文章编号] 0258-879X(2007)10-1104-05

Preparation of superparamagnetic iron oxide nanoparticles and its acute toxicity to mice

WEN Ming¹, SONG Lin², BO Wei², LI Shao-lin^{2*}, LI Bi-bo³ (1. Department of Radiology, The First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China; 2. Department of Radiological Medicine, the College of Basic Medicine, Chongqing Medical University; 3. College of Pharmacology, Chongqing Medical University)

[ABSTRACT] **Objective:** To prepare superparamagnetic iron oxide (SPIO) nanoparticles and to observe its acute toxicity on mice, so as to pave a way for further study on its long-term toxicity and on its role as a carrier in magnetic resonance gene imaging. **Methods:** The SPIO nanoparticle was obtained by means of co-precipitation, and its physical and chemical parameters were determined by transmission electron microscope, atomic force microscope, and 1.5 T super conduct MR, etc. According to the administration pathway and doses of SPIO, 90 mice were divided into oral administration (with a total dose of 2 104.8 mg/kg and a volume of 40 ml/kg, $n=30$), intravenous injection (a total dose of 438.5 mg/kg and a volume of 25 ml/kg, $n=30$) and intraperitoneal injection (with a total dose 1 578.6 mg/kg and a volume of 30 ml/kg, $n=30$) groups. Another 10 mice in each group receiving the same dose of normal saline *via* the same pathway served as the controls ($n=10$). The general condition, the major serologic parameters, and the pathological changes of major organs were observed 14 d after administration in each group. **Results:** We have successfully prepared SPIO, and its core component was Fe_3O_4 crystal, with a size of 20-35 nm, a T_2 relaxivity of $0.155 \times 10^6 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{sec}^{-1}$, a specific saturated magnetization of 68.395 68 emu/g, and a retentivity of 21.463 74 Gs. There was no death of mice during the observation. There was no significant difference in serological parameters between mice of different groups and between each experiment group and their corresponding control group. No edema, degeneration and necrosis were seen in the liver, spleen, kidney, heart, and lungs by H-E staining and marrow by Wright staining; only a few blue particles were observed in the liver and spleen in the administration groups by Prussian blue staining, none observed in the control groups. **Conclusion:** SPIO prepared in the present study meets the requirement of MR imaging, with no acute toxicity to mice, and warrants further study for future MR gene imaging.

[KEY WORDS] superparamagnetic iron oxide; nanotechnology; toxicity tests

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2007, 28(10):1104-1108]

纳米级超顺磁性氧化铁(superparamagnetic iron oxide, SPIO)具有磁力矩, 体积小, 且具有生物可降解性, 能使周围质子的磁场梯度出现巨大的微观相位差, 导致组织的 T_2 加权相信号显著降低, 能明显增加磁共振(magnetic resonance, MR)对于细

[基金项目] 重庆市卫生局医学科科研项目(062025), 重庆医科大学优秀博士基金(重医大文 2006-182 号). Supported by Medicine Scientific Research Project of Chongqing Health Bureau (062025) and Excellent Doctor's Funds of Chongqing Medical University (2006-182).

[作者简介] 文 明, 博士, 副主任医师. E-mail: liuyucun65@163.com

* Corresponding author. E-mail: lishaolin@cqums.edu.cn

胞的发现率,且在极低浓度(mmol 级)即可在 MR 上造成明显的信号对比,因而具有广阔的应用前景和潜在的市场价值。目前国外已有商品化的相关产品上市,但该产品价格昂贵,国内引进成本很高,且相关产品核心颗粒的大小从几十到几百纳米不等,颗粒外包被物也各不相同,这不利于相关产品的规范化和标准化^[1-2],而自主合成纳米级 SPIO 不失为解决以上问题的办法。

本研究采用共沉淀法自制纳米级 SPIO,通过不同的给药方式注入小鼠体内,观察小鼠主要脏器的病理学变化及血清生化指标的改变,评价其急性毒性,探讨其应用于 MR 基因成像的可行性,为进一步的 MR 分子影像学研究奠定基础。

1 材料和方法

1.1 材料和试剂 葡聚糖 T-40 购自国药集团化学试剂公司,三氯化铁、二氯化铁、氨水、冰乙酸和染色试剂(H-E、Wright 染色)均为国产分析纯,色谱柱购自美国 Amersham Biosciences 公司,CL-2 型恒温磁力搅拌器为河南巩义予华仪器厂产品,高效液相色谱仪为美国 AKTA prime plus 生物分离纯化系统。

1.2 纳米级 SPIO 的制备及理化特性观察 参照文献^[1,3-4],采用共沉淀一步法制备 SPIO,具体步骤如下:将 2.5 g 葡聚糖 T-40、1.14 g 三氯化铁和 0.43 g 二氯化铁(二者摩尔比接近 2:1)混合,充氮气条件下(避免接触氧气产生氧化反应)搅拌并加入氨水 4 ml 及超纯水 11 ml,保持 pH 值 >9.2 ;之后在恒温磁力搅拌器中以 800 r/min、65℃的条件反应 1 h,加入适量冰乙酸,调节 pH 值至中性;再将反应物 $1000\times g$ 离心 15 min,取上清液,超纯水稀释 100 倍,放置透析袋过滤 24 h,0.22 μm 滤膜再过滤,超声振荡 5 min,高效液相色谱纯化并分装后,置于 4℃冰箱备用。

参照文献^[5],取适量样品,应用 X 射线粉末衍射法、透射电镜、原子力显微镜及振动样品磁强计和 1.5 T 超导型 MR 仪检测其相关理化指标,包括核心粒径、颗粒大小、 T_2 弛豫率、比饱和磁化强度、比剩磁强度和剩磁等。

1.3 实验动物分组及处理 健康清洁级昆明种小鼠 120 只,1.5~2 月龄,体质量(15 \pm 2)g,雌雄不限,由重庆医科大学实验动物中心提供。随机选择其中 90 只小鼠按照给药方式和剂量的不同,随机分为口服灌胃、静脉注射、腹腔注射组,每组 30 只。参照文献^[6]采用最大给药量法进行给药:口服灌胃组

总剂量为 2 104.8 mg/kg,12 h 内分 3 次给药(8:00 a. m、1:00 p. m、6:00 p. m),以给药容积 40 ml/kg 调整给药浓度,3 次共灌药 1 ml;静脉注射组总剂量为 438.5 mg/kg,以给药容积 25 ml/kg 调整给药浓度,从小鼠尾静脉一次性注射 0.4 ml;腹腔注射组总剂量为 1 578.6 mg/kg,12 h 内注射 3 次(9:00 a. m、2:00 p. m、7:00 p. m),以给药容积 30 ml/kg 调整给药浓度,3 次共注射 0.8 ml。

各组另设 10 只小鼠按相应方式(口服灌胃、静脉注射和腹腔注射)给予等量生理盐水作为对照($n=10$)。所有小鼠均在(20 \pm 2)℃室温下自由摄食、饮水。

1.4 小鼠急性毒理学观察

1.4.1 给药后小鼠一般情况观察 饲养期间观察并记录每只小鼠的食欲及活动状况,有无饮水增加、呕吐、腹泻、便血、嗜睡或死亡等出现。

1.4.2 给药后小鼠生化指标的测定 给药后饲养 14 d,饲养期末从每只小鼠眼球采集血液,置于 1 ml 试管,离心后取上清液,采用连续检测法,应用 Olympus AU5400 型全自动生化分析仪检测主要生化指标,包括:天冬氨酸转氨酶(AST)、丙氨酸转氨酶(ALT)、肌酐(Cr)、尿素氮(BUN)、乳酸脱氢酶(LDH)、尿酸(UA)、总胆红素(TBIL)、总胆汁酸(TBA)等。

1.4.3 给药后小鼠各脏器的病理学变化 给药后饲养 14 d 后处死,根据统计学上的样本估计,随后在每组中随机抽取 4 只小鼠,取其肝、脾、肾、心、肺、骨髓(取自股骨)组织进行病理组织学检查:大体标本观察脏器颜色、形态,并计算脏器系数(脏器湿质量/体质量,脏器系数计算时针对 120 只小鼠);H-E 染色(骨髓为 Wright 染色)和普鲁士蓝染色观察细胞有无水肿、变性、坏死以及铁颗粒沉着等情况。

1.5 统计学处理 计量指标以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用多变量的 Hotelling T^2 检验,数据处理均在 SAS 8.0 软件上完成, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 自制纳米级 SPIO 的理化特性 结果表明:样品的核心颗粒为 Fe_3O_4 晶体,核心粒径 5 nm 左右,整个颗粒大小 20~35 nm;样品的 T_2 弛豫率 $0.155\times 10^6 \text{ mol}^{-1}\cdot \text{s}^{-1}$,比饱和磁化强度 68.395 68 emu/g,比剩磁强度 30.464 8 emu/g,剩磁 21.463 74 Gs。结果提示所制备的样品符合作为 MR 成像对比剂的要求。

2.2 给药后小鼠的一般情况 给药后连续饲养 14 d 内小鼠均未出现死亡;口服灌胃组给药当日 12 只小鼠出现食欲下降和饮水量增多,7 只腹泻,4 只嗜睡,次日全部恢复正常;静脉注射组和腹腔注射组小鼠分别有 25 只、23 只给药当日出现活动增加、烦躁,次日亦全部恢复正常;对照组小鼠各亚组均未出

现异常。

2.3 给药后小鼠血清主要生化指标的观察 结果(表 1)表明:3 种给药方式对小鼠主要生化指标的影响不明显,各对照组与给药组比较均无显著差异,组间亦无显著差异。

表 1 各组小鼠血清主要生化指标的测定
Tab 1 Main biochemical indices of mice in each group

Index	Oral administration		Intravenous administration		Intraperitoneal administration	
	Saline control (n=10)	SPIO (n=30)	Saline control (n=10)	SPIO (n=30)	Saline control (n=10)	SPIO (n=30)
	AST($\mu\text{mol/L}$)	143.52±8.76	151.70±9.79	140.50±7.62	143.20±7.35	144.09±9.37
ALT($\mu\text{mol/L}$)	40.42±6.86	40.20±5.35	38.43±4.33	43.20±4.57	37.46±5.83	42.30±3.27
Cr($\mu\text{mol/L}$)	9.25±0.32	9.68±0.77	9.19±0.18	9.46±0.62	9.10±0.56	9.26±1.03
BUN($\mu\text{mol/L}$)	8.41±0.37	8.59±0.42	8.59±0.48	8.51±0.06	8.71±0.82	8.77±0.53
LDH($\mu\text{mol/L}$)	420.30±11.31	417.60±13.60	421.20±9.54	409.90±8.79	415.60±10.27	423.60±10.18
UA($\mu\text{mol/L}$)	141.65±7.29	139.30±7.45	145.16±5.29	144.40±8.96	143.05±6.29	143.40±6.20
TBIL($\mu\text{mol/L}$)	1.87±0.05	1.83±0.15	1.91±0.12	1.85±0.14	1.93±0.09	1.78±0.11
TBA($\mu\text{mol/L}$)	1.60±0.19	1.51±0.21	1.60±0.15	1.66±0.13	1.58±0.23	1.56±0.13

2.4 给药后小鼠主要脏器的病理学观察 大体标本观察:各实验组与对照组小鼠肝、脾、肾、心、肺、骨

髓组织颜色、形态均无明显差异,未见显著异常;各组间脏器系数无显著差别(表 2)。

表 2 各组小鼠的脏器系数
Tab 2 Organ coefficient in each group

Organ	Oral administration		Intravenous administration		Intraperitoneal administration	
	Saline control (n=10)	SPIO (n=30)	Saline control (n=10)	SPIO (n=30)	Saline control (n=10)	SPIO (n=30)
	Liver	31.50±2.56	31.50±1.83	31.60±1.97	30.10±3.53	30.90±2.35
Spleen	4.49±1.01	4.74±0.71	4.60±0.78	4.41±0.92	4.65±0.63	4.33±0.87
Kindeg	7.86±0.79	8.01±1.09	7.97±0.65	7.62±0.91	7.77±0.98	7.67±0.84
Heart	3.36±0.58	3.56±1.03	3.45±0.81	3.30±0.06	3.62±0.57	3.42±0.91
Lungs	2.87±0.69	2.84±1.04	2.90±0.58	2.93±0.73	2.73±0.91	3.06±0.81

H-E 染色及 Wright 骨髓染色观察:各组小鼠肝、脾、肾、心、肺和骨髓细胞均无水肿、变性、坏死等改变(图 1);普鲁士蓝染色观察:三种给药方式的实验组小鼠肝、脾内均分布少许蓝色铁颗粒(图 2),肾、心、肺、骨髓无异常发现,而对照组各观察脏器均未见该蓝色铁颗粒。

降低,当千万个铁原子聚集后,效应更加明显,在 MR 上能引起组织间信号明显差别。此外,SPIO 还能在光学及电子显微镜下直接观察,成为继钆类对比剂之后用于 MR 成像的又一个重要对比剂^[1-4, 7-10]。鉴于 SPIO 巨大的应用前景,国外不少研究对 SPIO 进行了广泛的动物实验和人体临床试验,已有部分商业化的产品推向市场,常作为对比剂用于肝脏肿瘤的 MR 成像,或标记干细胞,或作为基因载体用于分子影像学^[1, 3, 7-11],为肝脏恶性肿瘤的鉴别诊断、显示干细胞移植后的分布或迁徙存活等,提供了可视化手段,受到研究者的高度重视。

3 讨论

纳米级 SPIO 核心为 Fe₃O₄ 晶体,外层包被多糖类、蛋白质或糖蛋白,是一种水基磁性液体,即磁流体。它既具有固体材料的磁性,又有液体的流动性,每单位的金属铁可造成组织的 T₂ 加权像信号显著

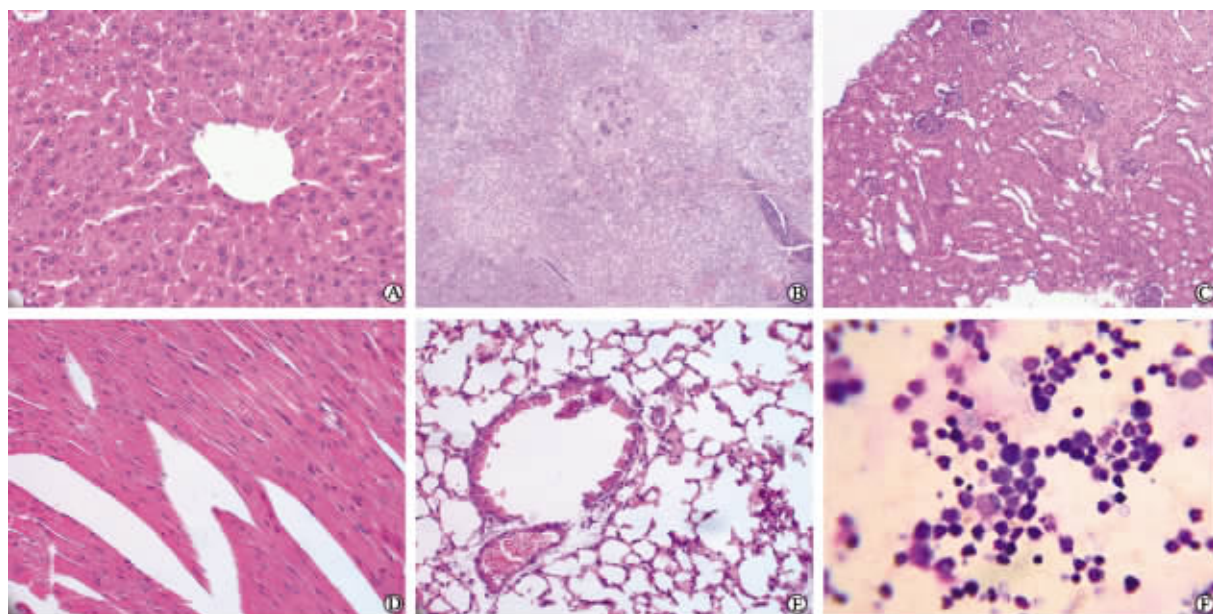


图 1 给药后小鼠肝、脾、肾、心、肺组织 H-E 染色及骨髓组织 Wright 染色无异常发现

Fig 1 No significant changes were observed in liver, spleen, kidney, heart, and lungs by H-E staining and marrow by Wright staining after administration in rats

A: Liver tissue in oral administration group (H-E, $\times 400$); B: Spleen tissue in intravenous administration group (H-E, $\times 200$); C: Kidney tissue in intraperitoneal administration group (H-E, $\times 400$); D: Heart tissue in intraperitoneal administration group (H-E, $\times 400$); E: Lung tissue in oral administration group (H-E, $\times 400$); F: Marrow tissue in intravenous administration group (Wright staining, $\times 1000$)

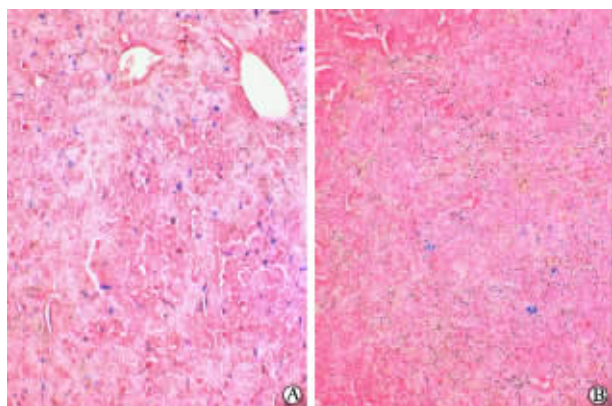


图 2 给药后小鼠肝、脾组织普鲁士蓝染色结果

Fig 2 Prussian blue staining result of liver and spleen tissue after administration

Only a few blue particles were observed in the liver in the intraperitoneal administration group (A, $\times 400$) and in the spleen in the intravenous administration group (B, $\times 200$)

但是, 该类产品价格昂贵, 国内引进成本很高, 目前 SPIO 产品在国内市场上难觅踪影, 且这些产品的核心晶体粒径大小不等 (5~49 nm), 颗粒外包被物也各不相同, 这不利于相关产品的规范化和标准化^[1-2, 5-6], 而自主合成 SPIO 不失为解决以上问题的好办法。制备 SPIO 的方法较多^[12], 本研究采用共沉淀法, 步骤简单, 价格低廉, 经检测, 其理化性质

及磁学性质完全可以满足作为载体用于 MR 成像的需要^[5]。但是, 考虑到制备方法为化学反应, 反应过程中是否会出现具有毒性特别是急性毒性的氧化产物或羟基自由基等, 还不得而知。所以, 本研究在以往研究^[2, 5, 12]的基础上进一步对 SPIO 进行急性毒理学观察, 为后续的长期毒理学研究及进一步应用奠定基础。

急性毒理试验是指使受试动物 1 次或 24 h 内数次染毒后, 观察其急性中毒表现和经过。由于染毒方式不同, 毒物进入体内被吸收的速度、吸收率和暴露量会有所不同, 可以出现不同的中毒反应。本研究选择液体试剂 3 种常见的染毒方式, 即口服灌胃、静脉注射和腹腔注射, 旨在尽可能多角度、最大限度地客观评价自制纳米级 SPIO 对靶器官的毒性作用。按照我国 2005 年版《化学药物急性毒性试验技术指导原则》(编号: [H]GPT1-1), 结合 SPIO 的代谢动力学^[1-2, 7], 本实验选择连续观察 14 d, 以能一次性观察到毒性反应出现的时间及其恢复时间、有无动物死亡及死亡时间等指标。

在常规的急性毒理试验中, 一般采用半数致死剂量 (LD₅₀)、最大无毒性反应剂量 (ED₀)、最大耐受剂量 (LD₀) 等参数来评价药物的急性毒性, 其中 LD₀ 是指在某试验总体的受试动物中, 不引起动物死亡的最大药物剂量, 是评价药物毒性的一个上限

指标,具有十分重要的药物毒理学意义^[13]。体外细胞研究^[14-16]发现,SPIO用于标记干细胞时,终浓度为25 $\mu\text{g Fe/ml}$ (在本实验相当于50 mg/kg)标记率可达100%,且对细胞的增殖活性和生存没有明显的影响,也没有出现短期或长期的毒性作用。国内王国斌等^[6]采用共沉淀法自制SPIO,分别用口服灌胃、静脉注射和腹腔注射3种给药方式,按不同给药浓度和不同给药容积给药于清洁级昆明种小鼠,发现小鼠口服 $\text{LD}_{50} > 2\ 104.8\ \text{mg/kg}$, ED_{0} 为320.10 mg/kg;静脉注射 $\text{LD}_{50} > 438.50\ \text{mg/kg}$, ED_{0} 为160.05 mg/kg;腹腔注射 $\text{LD}_{50} > 1\ 578.6\ \text{mg/kg}$, ED_{0} 为320.10 mg/kg。Bellin等^[11]发现在人体注射SPIO(商品名Ferumoxides)0.56 mg/kg(或0.075 ml/kg)即可造成MR信号强度的改变。本实验在王国斌等所取得的数据基础上,采用最大给药量法进行实验,除了增加观察的脏器标本并同时进行两种方式染色外,还从血清主要生化指标方面了解SPIO对小鼠脏器有无功能损害,且所采用的剂量远远高于临床及常见的试验所需用量。实验结果显示,给药组仅在注射早期部分小鼠出现轻度中毒症状,无1例死亡,说明SPIO的毒性较低,属于实际无毒级化合物,值得进一步研究以用于磁共振基因成像。

研究证实^[4,11],SPIO进入体内后,常为网状内皮系统摄取,经过血液循环,80%到达肝脏,5%~10%到达脾脏,一部分通过肾脏排泄,一部分被红细胞代谢后进入正常血浆铁池,参与血红蛋白、肌红蛋白、细胞色素氧化酶的合成,或参与能量代谢与造血功能。考虑到铁元素也是常见的无机类趋肝毒物,可造成多种多样的肝损害并聚集在肝实质内,故本研究除了将肝脏的病理切片采用两种不同的染色方法重点观察外,还对能反映肝损害的血清学指标进行测定,期望从形态及代谢两方面了解SPIO对肝脏的毒理。此外,为全面了解SPIO的可能毒性,本研究还观察了其对于肾、心、脾、肺及骨髓等脏器的影响。通过对上述脏器或组织的病理观察,未见明显的损伤性改变,仅见到肝、脾内少量铁颗粒沉积,提示自制的纳米级SPIO粒径非常小,多数能逃避巨噬细胞的吞噬;血清学指标检测各组间无显著差异,说明SPIO对肝、肾功能无明显影响。

本研究结果表明,自制的SPIO生物相容性较好,急性毒性低,值得进一步研究以应用于MR基因成像。

(志谢 本实验得到重庆医科大学附属第一医

院检验科毕小云老师的大力支持,实验数据的处理得到重庆医科大学公共卫生学院统计学教研室何美硕士的帮助,在此一并表示感谢!)

[参考文献]

- [1] Corot C, Robert P, Idee J M, et al. Recent advances in iron oxide nanocrystal technology for medical imaging[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2006, 58: 1471-1504.
- [2] 文明,李少林. 磁共振成像用于分子影像学研究[J]. *中国医学影像技术*, 2007, 23: 147-150.
- [3] Arbab A S, Wilson L B, Ashari P, et al. A model of lysosomal metabolism of dextran coated superparamagnetic iron oxide (SPIO) nanoparticles: implications for cellular magnetic resonance imaging[J]. *NMR Biomed*, 2005, 18: 383-389.
- [4] Mornet S, Vasseur S, Grasset F, et al. Magnetic nanoparticle design for medical applications[J]. *Progr Solid State Chem*, 2006, 34: 237-247.
- [5] 柏玮,宋琳,文明,等. 超顺磁性氧化铁纳米粒子的制备及性能检测[J]. *重庆医科大学学报*, 2007, 32: 922-925.
- [6] 王国斌,夏泽锋,陶凯雄,等. 医用纳米级 Fe_3O_4 磁流体的急性毒理学实验研究[J]. *华中科技大学学报(医学版)*, 2004, 33: 452-454, 458.
- [7] Blasberg R G, Tjuvajev J G. Molecular-genetic imaging: current and future perspectives[J]. *J Clin Invest*, 2003, 111: 1620-1629.
- [8] Unger E C. How can superparamagnetic iron oxides be used to monitor disease and treatment[J]? *Radiology*, 2003, 229: 615-616.
- [9] Thrall J H. Nanotechnology and medicine[J]. *Radiology*, 2004, 230: 315-318.
- [10] Cheng F Y, Su C H, Yang Y S, et al. Characterization of aqueous dispersions of Fe_3O_4 nanoparticles and their biomedical applications[J]. *Biomaterials*, 2005, 26: 729-738.
- [11] Bellin M F. MR contrast agents, the old and the new[J]. *Eur J Radiol*, 2006, 60: 314-323.
- [12] 文明,柏玮,李少林. SPIO磁共振对比剂的制备与应用现状[J]. *实用放射学杂志*, 2007, 23: 983-985.
- [13] 顾祖维. 现代毒理学概论[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 215-224.
- [14] Daldrup-Link H E, Rudelius M, Oostendorp R A, et al. Targeting of hematopoietic progenitor cells with MR contrast agents[J]. *Radiology*, 2003, 228: 760-767.
- [15] Himes N, Min J Y, Lee R, et al. *In vivo* MRI of embryonic stem cells in a mouse model of myocardial infarction[J]. *Magn Reson Med*, 2004, 52: 1214-1219.
- [16] Matuszewski L, Persigehl T, Wall A, et al. Cell tagging with clinically approved iron oxides: feasibility and effect of lipofection, particle size, and surface coating on labeling efficiency[J]. *Radiology*, 2005, 235: 155-161.

[收稿日期] 2007-02-05

[修回日期] 2007-09-12

[本文编辑] 贾泽军