

·技术研究·

外加磁场诱导超顺磁氧化铁标记骨髓间充质干细胞迁移的体外研究

黄国庆¹, 李欣¹, 廖晓星^{1*}, 邓宇斌²

(中山大学 1. 附属第一医院急诊科; 2. 中山医学院病理生理教研室, 广东 广州 510080)

摘要:【目的】观察外加磁场能否诱导用超顺磁氧化铁标记的大鼠骨髓间充质干细胞在体外条件下定向迁移。【方法】使用超顺磁氧化铁标记大鼠骨髓间充质干细胞,采用普鲁士蓝染色鉴定其标记率。台盼蓝染色检测标记细胞生存能力,MTT 法检测标记干细胞的增殖活力。外加磁场进行划痕试验及 Transwell 试验验证磁场对标记细胞的定向诱导迁移作用。【结果】普鲁士蓝染色显示骨髓间充质干细胞的超顺磁氧化铁标记率接近 100%,台盼蓝染色标记细胞生存率与对照组无差异($P > 0.05$),MTT 检测标记干细胞的增殖活力与未标记干细胞无差异($P > 0.05$)。外加磁场可加速标记细胞填补划痕试验空白区的速度,同时可增加 transwell 试验跨膜的细胞数($P < 0.05$),而未加磁场情况下标记细胞与未标记细胞迁移速率无差异($P > 0.05$)。【结论】外加磁场可在体外条件下诱导超顺磁氧化铁标记的骨髓间充质干细胞定向迁移。

关键词: 超顺磁氧化铁; 骨髓间充质干细胞; 磁场; 迁移

中图分类号:R338 文献标志码:A 文章编号:1672-3554(2011)05-0683-06

In Vitro Study on Effect of Magnetic Field on Superparamagnetic Iron Oxide Labeled Mesenchymal Stem Cells Migration

HUANG Guo-qing¹, LI Xin¹, LIAO Xiao-xing¹, DENG Yu-bin²

(1.Department of Emergency, The First Affiliated Hospital; 2.Department of Pathophysiology, Zhongshan School of Medicine, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, China)

Abstract: 【Objective】The study aims to label rat bone marrow mesenchymal stem cells with superparamagnetic iron oxide, then observe whether the magnetic field could induce labeled cells targeted migration in vitro. 【Method】Rat bone marrow mesenchymal stem cells were labeled with superparamagnetic iron oxide and evaluated the labeling efficiency by Prussian blue staining. The viability and proliferation activity of labeled stem cells were evaluated with trypan blue staining and MTT assay respectively. Wound healing assay and transwell culture system were used to test the migration effect of external magnetic field on labeled stem cells. 【Results】Prussian blue staining showed that mesenchymal stem cells labeled superparamagnetic iron oxide close to 100%. Trypan blue staining and MTT assay were no significant difference between labeled group and control group ($P > 0.05$). External magnetic field can accelerate the labeled stem cells to fill the blank areas in the wound healing and increase the number of cells crossing the membrane in the transwell culture system ($P < 0.05$), while without the magnetic field labeled cells and unlabeled cells were no difference in migration rate ($P > 0.05$). 【Conclusion】External magnetic field can induce bone marrow mesenchymal stem cells labeled with superparamagnetic iron oxide to migrate with target in vitro.

Key words: superparamagnetic iron oxide; bone marrow mesenchymal stem cells; magnetic field; immigration

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2011, 32(5): 683-688]

1976年由Friedenstein等发现^[1],骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMSC)是骨髓中除造血干细胞外的另一干细胞成

分。因其便于采集,培养扩增容易,免疫源性低,近年来成为干细胞移植治疗的研究热点。已有大量文献报道,将其应用于脑梗死、心肌梗死、脊髓损

收稿日期:2011-05-18

基金项目:国家自然科学基金(81071030);广东省科技计划项目(2010B031600089);中山大学青年培育基金(09ykpy31)

作者简介:黄国庆,博士研究生,E-mail:hqg97@126.com; *通信作者:廖晓星,博士生导师,教授,E-mail:liaoawns@163.com

伤等疾病的治疗。以往 BMSC 移植治疗通常采用局灶部位注射的方式进行,这虽然可直接作用于病灶部位,但这种种植方式本身可造成组织损伤,尤其是在脑、脊髓等神经组织,同时,局灶注射亦不便于多次种植或追加剂量^[2]。此外,在某些特殊病理过程如心搏骤停等全身缺血再灌注损伤的情况下,局灶干细胞移植方式显然也不适合于治疗,而需全身输入 BMSC。但通过静脉途径种植细胞需要更大的种植量才能在病灶部位达到与局部注射相似的细胞浓度^[3]。干细胞移植治疗的效果与迁移到达损伤区域的细胞量直接关系,这限制了干细胞移植的应用。故有必要通过某种定向诱导方式来促使移植的干细胞向病灶局部迁移以增加病灶部位的细胞量达到治疗效果。本研究拟利用磁共振造影剂超顺磁氧化铁 (superparamagnetic iron oxide, SPIO) 标记 BMSC 后,在体外培养条件下验证外加磁场对标记细胞的定向迁移作用,为后期的体内研究和临床应用提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

健康雄性 SD 大鼠,体质量 60 ~ 80 g,购自中山大学动物实验中心,用于骨髓间充质干细胞取材培养。动物实验遵照 2006 年版《关于善待实验动物的指导性意见》^[4]的要求进行,并获得中山大学动物伦理委员会的批准。

1.2 大鼠 BMSC 的体外分离、培养和传代

超净工作台无菌条件下分离 SD 大鼠大腿肌肉,取其两只股骨,剪除股骨骺端,暴露骨髓腔,用一次性 10 mL 注射器吸取 1 ~ 1.5 mL 完全培养液反复冲洗骨髓腔,冲出其中的骨髓细胞于平皿中,将收集的细胞悬液用注射器轻轻抽吸数次,打散成单细胞悬液,然后收集细胞悬液 1 000 r/min ($r = 18 \text{ cm}$) 离心 5 min,弃尽上清,用 DMEM/F12 (Gibco, New York, USA) 培养液(加入 10% FBS 和 100 单位/mL 青、链霉素)重新悬浮细胞,接种于 25 cm² 的塑料培养瓶中,密度为每瓶 2×10^7 个细胞,略旋松瓶口,放置体积分数 5% CO₂、37 °C、饱和湿度的培养箱中静置原代培养。48 h 后首次换液,根据细胞生长代谢情况,2 ~ 3 d 换液 1 次,逐渐去除悬浮细胞。待 BMSC 贴壁细胞约 80% ~ 90% 融合时,弃尽培养液,并用 PBS 液洗涤 2 次,

2.5 g/L 胰酶 37 °C 消化 1 : 3 传代后继续培养,培养过程中使用倒置显微镜动态观察细胞形态并照相记录。

1.3 超顺磁氧化铁标记 BMSC

按照文献方法^[5],将铁浓度为 50 μg/mL SPIO (Resovist, Schering, Germany, 1.4 mL/支,铁浓度 0.5 mol/L) 和 1.5 μg/mL 多聚赖氨酸(PLL, Sigma 公司,分子质量 388 100)加入无血清 DMEM/F12 中,室温振荡 60 min,加等体积的 DMEM/F12,添加胎牛血清,最后成为铁、多聚赖氨酸和胎牛血清的终质量浓度分别为 25 μg/mL、0.75 μg/mL、体积分数 10% 的混合液。将上述溶液加入吸掉培养基的第 3 代 BMSC。37 °C,体积分数 5% CO₂ 条件下孵育 24 h。

1.4 普鲁士蓝染色

取标记好的 BMSC,吸除培养液,PBS 冲洗 3 次,加入 40 g/L 多聚甲醛液固定 20 min,倒掉后加入新鲜 Perls 溶液(A 液:2% 亚铁氰化钾;B 液:2% 盐酸;临用前 A、B 液等量混合,静置 5 min)作用 30 min,PBS 冲洗 3 次,加入 0.5% 中性红水溶液对比染色 10 min,观察结果,核呈红色,Fe³⁺呈蓝色。

1.5 台盼蓝染色法检测 SPIO-BMSC 的生存能力

SPIO 标记 BMSC 后继续培养 6、12 和 24 h,分别消化、离心后,用 DMEM/F12 完全培养液制成细胞悬液。取细胞悬液,滴加等量 0.4% 台盼蓝染液,混匀后,吸取部分加入细胞计数板中进行计数。显微镜下 200 倍视野随机选取 5 个视野计数总细胞数和着色细胞数,细胞存活率的计算采用 $[(\text{总细胞数} - \text{着色细胞数}) / \text{总细胞数}] \times 100\% = \text{存活率}$ 。对照组为正常 BMSC。

1.6 MTT 法检测 SPIO-BMSC 的增殖能力

标记细胞组培养基中 SPIO 浓度为 25 μg/mL,对照组为未标记的 BMSC,均以 5×10^3 /孔的密度接种于 96 孔中,空白对照组只加培养基不加细胞,每组设复孔 7 个。标记后 24、36 和 48 h 后,分别取一培养皿(共 3 个培养皿)每孔加入 20 μL 的 MTT (5 mg/mL)。37 °C,体积分数 5% CO₂ 的培养环境下继续培养 4 h,每孔加入 150 μL DMSO。全自动酶标仪在 570 nm 处读取各孔光密度值(OD 值),减去空白对照孔的 OD 均值后进行比较。

1.7 磁场强度检测

用钕铁硼(Nd-Fe-B)强磁铁(250 mT, 60 mm × 20 mm × 10 mm)产生磁场,高斯计在永磁体 0 ~ 50

mm 范围内依次测定不同距离的磁场强度。

1.8 划痕实验

将第3~5代 BMSC 种植于6孔板中,待细胞融合达到80%以上时实验组按上述比例添加 SPIO 标记细胞,空白对照组细胞继续培养,不加入 SPIO。24 h 后各组用 PBS 清洗2次,完全培养基换液,用10 μ L 枪头在培养皿各孔同一区域(离6孔板边距约10 mm)划痕,并在各划痕底部标记3个观察点以利于同一视野观测拍照。磁场组在6孔板侧面外置磁场(60 mm \times 20 mm 面朝上,紧贴培养板壁,磁体范围完全覆盖实验孔),对照组及空白对照组未加磁场。每3 h 倒置相差显微镜下观测并拍照,按文献方法以划痕空白面积进行比较^[6],本实验重复3次,每次各组均设立1孔。

1.9 Transwell 实验

以 1×10^6 /mL 密度 SPIO-BMSC 细胞悬液 100 μ L 加入 24 孔板 8 μ m 的 transwell 嵌套小室中,下层为无血清培养基 600 μ L,实验组培养皿正下方放置永磁体(60 mm \times 20 mm 面朝上,磁体范围完全覆盖实验孔),对照组未加永磁体,同时用未标记 BMSC 细胞设立空白对照组。各组在 37 $^{\circ}$ C,体积分数 5% CO₂ 的培养环境下继续培养 24 h 后用 40 g/L 多聚甲醛溶液固定 20 min,棉签擦去上层细胞,0.1% 结晶紫染色,10 倍物镜下随机数 5 个视野进行对比。本实验重复 2 次,每次各组均设立 2 个孔。

1.10 统计学处理

实验数据用 SPSS 13.0 软件进行处理,计量资料采用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,用成组 *t* 检验,以 $P < 0.05$ 确定为有统计学意义。

2 结果

2.1 SPIO 标记对 BMSC 的形态没有影响

原代 BMSC 细胞呈梭形或多角形,少量呈短棒状,并呈集落生长(图 1A);第3代后表现为细胞形态均一,成纤维样,排列成漩涡状,极性明显(图 1B)。标记 24 h 后普鲁士蓝染色,几乎每个细胞的胞质内均可见到染成蓝色的铁颗粒,标记率近 100%,标记后的细胞形态没有明显变化(图 1C)。

2.2 台盼蓝染色法检测 SPIO 标记 BMSC 后对细胞的生存能力无影响

标记 6 h 后,对照组 BMSC 的细胞存活率是 (95.12 \pm 1.86)%,SPIO-BMSC 组的存活率是 (93.87 \pm

1.89)%;12 h 后,两组的存活率分别是 (94.29 \pm 2.03)%和(92.01 \pm 2.94)%;24 h 后两者的存活率分别为(92.65 \pm 2.32)%和(91.49 \pm 1.67)%(图 2),两组 3 个时间点生存率比较均无统计学意义($P > 0.05$)。

2.3 MTT 法检测 SPIO 标记 BMSC 后对细胞增殖能力无影响

标记 BMSC 24 h 后,SPIO-BMSC 组与对照组 OD 值分别为 0.295 \pm 0.05 与 0.297 \pm 0.033;36 h OD 值分别为 0.309 \pm 0.016 与 0.318 \pm 0.026;48 h OD 值分别为 0.391 \pm 0.048 与 0.415 \pm 0.024(图 3)。两组 3 个时间点 OD 值比较均无统计学意义($P > 0.05$)。

2.4 磁场强度分布

永磁体周围磁场强度随距离增加而迅速衰减,呈指数曲线分布(图 4)。

2.5 划痕实验外加磁场诱导 SPIO-BMSC 迁移

以初始划痕空白面积为基础值 100%,比较 3 次重复实验每组各 9 个观察视野的划痕情况:划痕 3 h 后,SPIO-BMSC 加磁场组划痕空白面积为 (62.00 \pm 4.00)%,SPIO-BMSC 未加磁场组划痕空白面积为 (80.67 \pm 6.03)%,无标记对照组划痕空白面积为 (78.33 \pm 7.64)%;6 h 后三组划痕空白面积分别为 (26.33 \pm 3.51)%、(49.67 \pm 3.51)%与 (46.00 \pm 3.61)%。与磁场组比较,SPIO-BMSC 未加磁场组及无标记对照组在 3 h 和 6 h 划痕剩余空白面积均有统计学差异($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),而 SPIO-BMSC 未加磁场组与无标记对照组比较无明显差异($P > 0.05$,图 5),3 次重复实验同一组间比较无明显差异($P > 0.05$)。

2.6 Transwell 实验外加磁场诱导 SPIO-BMSC 迁移

孵育 24 h 后,比较 2 次重复实验每组各 4 个实验孔,20 个观察视野的细胞跨膜迁移情况:SPIO-BMSC 加磁场组聚酯膜下层细胞数为(112 \pm 10)个/视野,SPIO-BMSC 未加磁场组为 (56 \pm 4)个/视野,无标记对照组为(60 \pm 6)个/视野。SPIO-BMSC 加磁场组与未加磁场组及无标记对照组比较均有统计学差异($P < 0.01$),而未加磁场组与无标记组比较无统计学差异($P > 0.05$,图 6)。两次重复实验同一组间比较无统计学差异($P > 0.05$)。

3 讨论

BMSC 是一类存在于骨髓网状间质内的非造

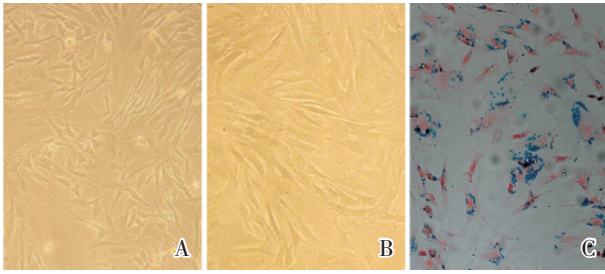


图 1 大鼠骨髓基质干细胞形态

Fig.1 Morphology of BMSC

A: Primary BMSC; B: P3 BMSC; C: Prussian blue stain for BMSC labeled with SPIO; × 100

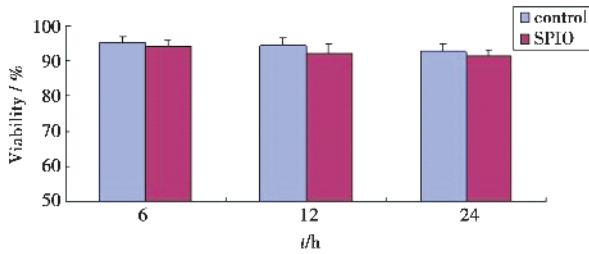


图 2 SPIO 标记对 BMSC 生存能力的影响

Fig.2 Effect of viability on the BMSC labeled by SPIO

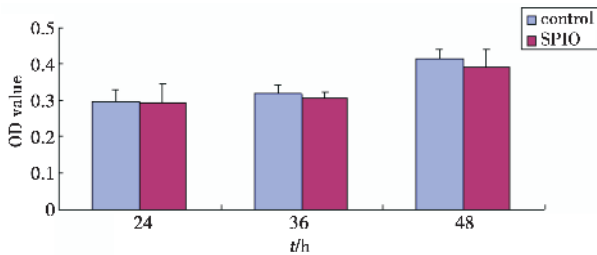


图 3 SPIO 对 BMSC 增殖能力的影响

Fig.3 Effect of proliferation on the BMSC labeled by SPIO

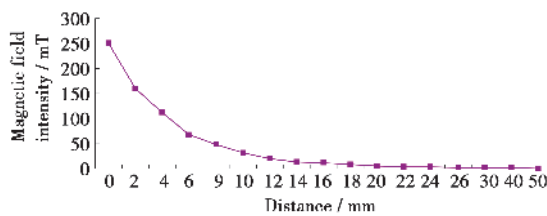


图 4 磁场强度与距离的关系

Fig.4 The relationship between the magnetic field strength and distance

血干细胞,它具有分化成各胚层组织细胞的潜能,在特定的培养条件下可自我复制并能分化成多种类型细胞,如骨、软骨、肌肉、心肌组织、神经组织^[7]等。同时它不表达主要组织相容性复合体(MHC)II类分子,免疫耐受良好,而且可取自自

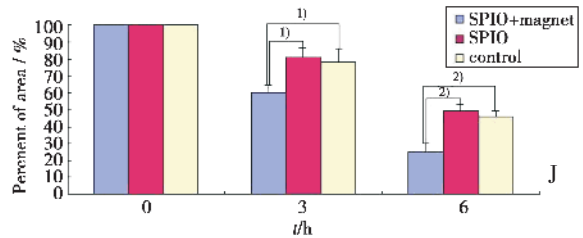
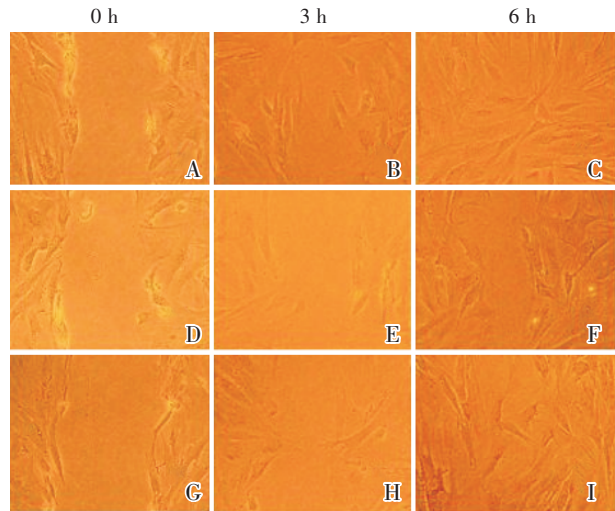


图 5 划痕试验空白面积比较

Fig.5 Wound healing assay with a confluent monolayer of BMSC

After scratching, the surrounding cells migrated into the scratched area (time after scratching is indicated). (A,B,C): the group of SPIO-BMSC under external magnetic field; (D,E,F): the group of SPIO-BMSC without external magnetic field; (G,H,I): the group of BMSC without external magnetic field. (J)The time-dependent percentage of blank areas were calculated and compared each other (n = 3). 1)P < 0.05, 2)P < 0.01. × 100

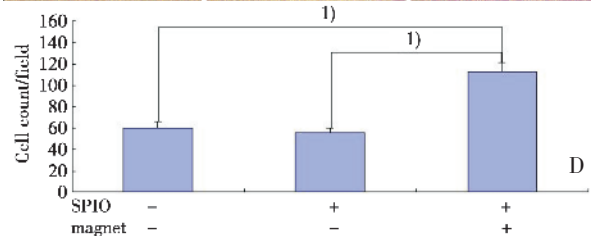
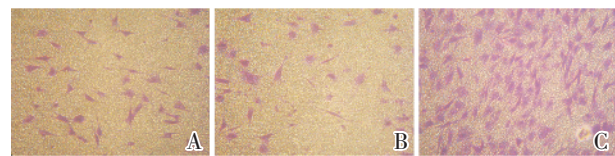


图 6 各组 transwell 细胞形态比较

Fig.6 Morphology of BMSC at the underlayer of polyester membrane in transwell culture system

A: the group of BMSC without external magnetic field, × 100; B: the group of SPIO-BMSC without external magnetic field, × 100; C: the group of SPIO-BMSC under external magnetic field, × 100; D: The number of cells at the underlayer of polyester membrane in transwell culture system were calculated and compared each other (n = 5), 1)P < 0.01.

体,取材方便,体外扩充容易,使得 BMSC 成为理想的组织工程的种子细胞。众多实验和临床研究的结果肯定了 BMSC 移植在组织修复治疗中的安全性和有效性^[8-9]。其治疗机制可能与 BMSC 在体内分泌营养因子改善损伤病灶局部微环境,促进内源性干细胞分化、减少凋亡^[10]及 BMSC 在体内的定向分化修复损伤^[11]有关。

要达到较好的干细胞移植效果,需要使移植干细胞在病灶局部有较大的存活量,无疑病灶局部注射是较为直接和有效的方式。但对于一些大面积的损伤,如心跳骤停后全脑缺血缺氧等情况下,原位注射则无法进行,同时局部注射本身可造成一些组织损伤,尤其在中枢神经系统,故通过体循环注射或脑脊液注射种植干细胞成为另一移植途径^[12]。但在此情况下如何使移植细胞向病灶部位定向迁移以更好地达到治疗效果成为一新的难题。在体内, BMSC 的迁移受多种趋化因子的影响,尤其是与间质细胞来源的因子-1/趋化因子受体 4(SDF-1/CXCR4)轴关系密切^[13],但局部增加这些趋化因子浓度却作用有限^[14]。在肿瘤化疗领域,已经有许多学者通过磁性纳米粒结合化疗药物实现磁场引导下的药物局部浓聚,以达到增强化疗作用的效果^[15]。故若能通过磁性材料标记 BMSC 进而诱导其定向迁移则可以对于干细胞移植治疗起到极大的促进作用。目前应用于磁性标记的对比剂主要有两类:产生较强的 T2 负性对比效应的以氧化铁为基础的铁(Fe)类对比剂和产生 T1 正性对比效应的钆(Gadolinium, Gd)类对比剂。其中铁类对比剂以超顺磁氧化铁(SPIO)为代表,已被广泛用于干细胞的标记示踪研究,其标记干细胞技术成熟、稳定^[5,16]。同时 SPIO 具有铁磁性的特点,可在外加磁场作用下产生定向牵引力,故可利用其标记细胞后再诱导细胞迁移,达到活体示踪和定向迁移的双重作用。

通过将 SPIO 与阳离子聚合物 PLL 结合,可以促进 SPIO 转染进入各种非吞噬细胞、非分裂细胞体内。本研究按文献报道方法^[5]采用 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ SPIO 联合 0.75 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 多聚赖氨酸进行对 BMSC 进行磁标记,结果表明通过 24 h 孵育,可高效标记 BMSC 细胞,标记率达到 100%。同时通过台盼蓝染色比较标记后细胞与对照组 6、12、24 h 生存率及 MTT 实验比较两组细胞 24、36、48 h 的增殖能力,我们证实 SPIO 标记对细胞存活及增殖能力

无明显影响,与文献报道一致^[17]。

通过比较 SPIO-BMSC 与未标记细胞填补划痕空白区域的能力,我们证实 SPIO 标记对 BMSC 的迁移能力并无明显影响,两组迁移速率没有明显差异($P > 0.05$),而外加磁场后 SPIO-BMSC 组迁移速率较未加磁场的两个对照组均明显增快($P < 0.05$),提示磁场可诱导加速 SPIO-BMSC 的迁移。同时,通过 transwell 趋化实验,我们证实外置磁场可大大加速 SPIO-BMSC 的跨膜速率,与两个对照组比较均有显著差异($P < 0.01$)。磁场对标记细胞的定向牵引力除受永磁体的磁强影响外,还与磁性纳米粒在细胞内的浓度、分布,细胞的大小,细胞外环境介质的粘滞度等因素相关。Wilhelm 等^[18]证实在 0.3T 的磁场强度下,每个标记细胞内含铁约 8 μg 时可在培养基环境下产生 18 ~ 40 $\mu\text{m}/\text{s}$ 的驱动力,而许杰华等^[5]按照本实验的标记方法,孵育 48 h 后测定细胞内铁含量为 (16.37 ± 3.10) $\mu\text{g}/\text{cell}$,故应可产生足够的迁移驱动力。

本试验在体外培养条件下证实了 SPIO-BMSC 可以在外置磁场的作用下定向迁移,但在体内环境中其作用强度和效果尚有待进一步确认。国外已有学者通过动物实验验证了植入体内的永磁体可诱导经蛛网膜下腔注射的 BMSC 向脊髓损伤节段迁移^[12],而体外放置磁场可诱导静脉途径注射的 BMSC 向肝脏迁移^[19]。目前更多的研究将 BMSC 用于中枢神经损伤的修复,在 BMSC 移植治疗脑损伤的实验研究中,已证实多种途径移植 BMSC 均可促进实验动物神经功能恢复^[20-21]。而颅脑的解剖位置决定了其更容易完整准确地暴露于外置磁场中,与胸腹腔脏器相比对其他器官的影响更小,因此若能诱导 SPIO-BMSC 向脑部定向迁移则可为众多中枢神经损伤和脑复苏患者提供更好的干细胞移植治疗方案。当然,高强度磁场暴露对于机体尤其是神经系统的影响尚需要进一步研究评估。

参考文献:

- [1] Friedenstien AJ, Gorskaja JF, Kulagina NN. Fibroblast precursors in normal and irradiated mouse hematopoietic organs[J]. *Exp Hematol*, 1976, 4(5): 267-274.
- [2] Bakshi A, Hunter C, Swanger S, et al. Minimally invasive delivery of stem cells for spinal cord injury: advantages of the lumbar puncture technique [J]. *J Neurosurg Spine*, 2004, 1(3): 330-337.
- [3] Inoue M, Honmou O, Oka S, et al. Comparative

- analysis of remyelinating potential of focal and intravenous administration of autologous bone marrow cells into the rat demyelinated spinal cord [J]. *Glia*, 2003, 44(2): 111-118.
- [4] 中华人民共和国科学技术部. 关于善待实验动物的指导性意见. 2006.
- [5] 许杰华, 李丹, 于春鹏, 等. SPIO 标记下大鼠骨髓间充质干细胞生物学特性及多向分化潜能及体外 MR 成像[J]. *中山大学学报: 医学科学版*, 2009, 30(2): 142-147, 164.
- [6] Schmidt A, Ladage D, Schinkothe T, et al. Basic fibroblast growth factor controls migration in human mesenchymal stem cells[J]. *Stem Cells*, 2006, 24(7): 1750-1758.
- [7] 冯英, 王会军, 黄锦涛, 等. β -巯基乙醇和 bFGF 分别诱导大鼠骨髓基质干细胞成神经元样细胞的生物学性状[J]. *中山大学学报: 医学科学版*, 2010, 31(1): 28-32.
- [8] Wang T, Tang W, Sun S, et al. Improved outcomes of cardiopulmonary resuscitation in rats with myocardial infarction treated with allogenic bone marrow mesenchymal stem cells[J]. *Crit Care Med*, 2009, 37(3): 833-839.
- [9] Sobajima S, Vadala G, Shimer A, et al. Feasibility of a stem cell therapy for intervertebral disc degeneration[J]. *Spine J*, 2008, 8(6): 888-896.
- [10] Bao X, Wei J, Feng M, et al. Transplantation of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells promotes behavioral recovery and endogenous neurogenesis after cerebral ischemia in rats[J]. *Brain Res*, 2011, 1367(8): 103-113.
- [11] Mezey E, Chandross KJ, Harta G, et al. Turning blood into brain: cells bearing neuronal antigens generated in vivo from bone marrow[J]. *Science*, 2000, 290(5497): 1779-1782.
- [12] Nishida K, Tanaka N, Nakanishi K, et al. Magnetic targeting of bone marrow stromal cells into spinal cord: through cerebrospinal fluid[J]. *Neuroreport*, 2006, 17(12): 1269-1272.
- [13] 李士勇. SDF-1/CXCR4 轴在缺氧缺血性脑损伤中的研究进展[J]. *生命科学*, 2008, 20(3): 463-466.
- [14] Robin AM, Zhang ZG, Wang L, et al. Stromal cell-derived factor 1alpha mediates neural progenitor cell motility after focal cerebral ischemia[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2006, 26(1): 125-134.
- [15] Nobuto H, Sugita T, Kubo T, et al. Evaluation of systemic chemotherapy with magnetic liposomal doxorubicin and a dipole external electromagnet[J]. *Int J Cancer*, 2004, 109(4): 627-635.
- [16] Guo J, Shen JK, Wang L, et al. In vivo evaluation of cerebral transplantation of resovist-labeled bone marrow stromal cells in Parkinson's disease rats using magnetic resonance imaging[J]. *Appl Biochem Biotechnol*, 2011, 163(5): 636-648.
- [17] Arbab AS, Bashaw LA, Miller BR, et al. Characterization of biophysical and metabolic properties of cells labeled with superparamagnetic iron oxide nanoparticles and transfection agent for cellular MR imaging[J]. *Radiology*, 2003, 229(3): 838-846.
- [18] Wilhelm C, Gazeau F, Bacri JC. Magnetophoresis and ferromagnetic resonance of magnetically labeled cells [J]. *Eur Biophys J*, 2002, 31(2): 118-125.
- [19] Arbab AS, Jordan EK, Wilson LB, et al. In vivo trafficking and targeted delivery of magnetically labeled stem cells[J]. *Hum Gene Ther*, 2004, 15(4): 351-360.
- [20] Bao X, Wei J, Feng M, et al. Transplantation of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells promotes behavioral recovery and endogenous neurogenesis after cerebral ischemia in rats[J]. *Brain Res*, 2011, 1367(9): 103-113.
- [21] 薛洪利, 刘洋, 刘民培, 等. 骨髓间充质干细胞自体移植治疗大鼠脑冷冻伤的实验研究[J]. *中国临床神经外科杂志*, 2008, 13(11): 673-677.

(编辑 孙慧兰)