文章编号:1000-5404(2008)04-0275-05

论著

体外纳米磁标记骨髓间充质干细胞生物学特性及其MR成像

金旭红[1],杨 柳[1],段小军[1],陈 伟[2],李 忠[1] (第三军医大学西南医院:[1]关节外科中心,[2]放射科,重庆 400038)

摘 要:目的 研究超顺磁性氧化铁粒子(superparamagnetic iron oxide particles, SPIO)体外标记兔骨髓间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)及MR细胞成像示踪可行性。**方法** 从兔骨髓中分离培养MSCs,体外不同浓度SPIO联合硫酸鱼精蛋白标记,未标记细胞设为对照组。普鲁士蓝染色和电镜检查鉴定细胞内铁颗粒,台盼蓝染色检测细胞存活,MTT法测定细胞生长曲线的变化,磁标记MSCs转入成骨、成脂肪培养基中进行诱导培养后进行鉴定,应用1.5T MR梯度回波T2加权(GRE T_2^*WI)扫描序列和自旋回波T2加权(SE T_2WI)扫描序列对磁标记细胞成像示踪。**结果** 普鲁士蓝染色和电镜检查显示细胞质内含致密铁颗粒,磁标记对MSCs活性和增殖无统计学差异($P>0.05$),标记细胞可正常成骨、成脂肪分化。GRE T_2^*WI序列和SE T_2WI序列提示与未标记细胞信号强度(SI)相比,1×10^6(标记细胞)、5×10^5(标记细胞)SI均显著性下降($P<0.05$),其中GRE T_2^*WI的信号强度衰减率(△SI)显著高于T_2WI序列($P<0.05$)。在2个序列中1×10^6(标记细胞)△SI均高于5×10^5(标记细胞)△SI,但不具有显著性差异($P>0.05$)。**结论** SPIO联合硫酸鱼精蛋白转染剂能成功标记MSCs,磁标记对细胞存活、增殖及潜在多向分化能力无影响。磁标记细胞在MR上产生特征性的低信号改变。应用1.5T MR成像示踪标记细胞可行,以GRE T_2^*WI序列成像最为敏感。

关键词: 超顺磁性氧化铁粒子;骨髓间充质干细胞;磁标记细胞;磁共振成像
中图法分类号: R329.1;R445.2;R811.5 **文献标识码:** A

Biological characteristics and *in vitro* MRI of superparamagnetic iron-oxide labeled bone-derived mesenchymal stem cells from rabbits

JIN Xu-hong[1], YANG Liu[1], DUAN Xiao-jun[1], CHEN Wei[2], LI Zhong[1] ([1]Center of Joint Surgery, [2]Department of Radiology, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To label rabbit bone marrow-derived mesenchymal stem cells (MSCs) with superparamagnetic iron oxide particles (SPIO) and study the effects of magnetic labeling on the proliferation and differentiation of MSCs. **Methods** Rabbit MSCs were isolated, purified, expanded, then incubated with various doses of SPIO complexed to protamine sulfate (Pro) transfection agents for 12 h. Prussian blue staining and transmission electron microscopy were performed to show intracellular iron. Cell viability and differentiation were evaluated. Vials containing cells underwent 1.5T MR imaging (MRI) with GRE T_2^*WI weighted and SE T_2WI sequence, and the signal intensity were measured and statistically analyzed. **Results** Intracytoplasmic nanoparticles were confirmed by Prussian blue staining and transmission electron microscopy. As compared with the unlabeled cells, no significant difference was found in cell viability, growth rate and differentiation of the labeled MSCs. GRE T_2^*WI and T_2^*WI demonstrated significant decrease of signal intensity (SI) in vials containing 1×10^6 and 5×10^5 labeled cells, in comparison with unlabeled cells ($P<0.05$). The percentage change of SI (△SI) was significantly higher in 1×10^6 labeled cells than that in 5×10^5 labeled cells,

基金项目: 国家自然科学基金(30300079,30670527);全军医学科研"十一五"计划科技攻关项目(06G079)
Supported by the National Natural Science Foundation of China (30300079, 30670527) and the Key Projects of the "Eleventh Five-Year Plan" for Medical Science Development of PLA (06G079)

作者简介: 金旭红,女,浙江省义乌市人,博士研究生,主治医师,主要从事软骨组织工程方面的研究。电话:(023)68765293,E-mail: shiningjinxu@hotmail.com
通信作者: 杨 柳,电话:(023)68765280,E-mail: jointsurgery@163.com

收稿日期: 2007-08-30;**修回日期:** 2007-10-14

particularly on GRE T_2^* WI ($P<0.05$). Among pulse sequences, GRE T_2 demonstrated the highest △SI ut significant ($P<0.05$). **Conclusion** MSCs can be labeled with Fe-Pro efficiently witho change in cell viability and differentiation capacity. Visualization of SPIO-labeled MSCs by 1.5T MRI is feasible.

Key words: superparamagnetic iron oxide particles; bone-derived mesenchymal stem cells; magnetically labeled cell; magnetic resonance imaging

间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)因具有自我更新、多向分化潜能,已成为目前组织工程最佳的种子细胞之一[1,2],然而对于移植的 MSCs 在修复损伤方面所起的作用仍存在争议。新型的磁性纳米材料超顺磁性氧化铁粒子(superparamagnetic iron oxide particles, SPIO)具有强大的 T2 正性效应[3]。本实验旨在探讨利用 SPIO 对 MSCs 进行有效标记和用 1.5T MR 成像示踪移植细胞的可行性,以及检测磁标记对 MSCs 增殖分化的影响,为进一步应用该技术对移植细胞在活体内的分布和迁移进行动态观察提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

超顺磁性氧化铁纳米粒子由我院放射科陈伟教授惠赠,DMEM/F12 培养基(HyClone)公司,胎牛血清(Euroclone 公司),Percoll 细胞分离液(TBD 公司),TGF-β_3(Chemicon 公司),硫酸鱼精蛋白(protamine sulfate)、地塞米松、BMX(3-异丁基-1-甲基黄嘌呤)、β-甘油磷酸钠、胰岛素、吲哚美辛、抗坏血酸均购自 Sigma 公司,四甲基偶氮唑蓝 MTT、二甲基亚砜购自 Amresco 公司, ALP 试剂盒(南京建成生物工程研究所),JEN-M1220 型透射电镜、OLYMPUS-IX70 型生物倒置显微镜购自日本 Olympus 公司实验动物。1~2 月龄日本大耳白兔 5 只(由本校实验动物中心提供),雌雄不限,体质量 0.5~1.0 kg。

1.2 方法

1.2.1 MSCs 的培养和鉴定 参考文献[4],在无菌条件下,从 2 月龄日本大耳白兔胫骨近端处用骨穿针穿刺,用内含肝素钠生理盐水(1 200 U/ml)的注射器抽出骨髓 1.0~1.5 ml,DMEM 培养液稀释骨髓后,将细胞悬液缓慢加至离心管中 Percoll 梯度离心分离,用含 15% 胎牛血清的 DMEM/F12 完全培养液以 2×10^5 cm^{-2} 的细胞数接种于 35 cm^2 玻璃培养瓶,48 h 首次换液,以后每 3 天换液。孵箱内培养条件:37 ℃、5% CO_2、饱和湿度。以第 3 代细胞为实验对象。

1.2.2 磁标记 MSCs 氧化铁-鱼精蛋白复合物(Fe-Pro)磁标记液制备:自制的氧化铁颗粒核心直径为(80±5)nm,可在 4 ℃下保存 3 个月。17.4 mg/ml 的 SPIO 原液加入 DMEM/F12 无血清培养基中分别稀释为 100、50、25 μg/ml 备用;Pro 粉剂用蒸馏水稀释配制成 10 mg/ml 浓缩液,使用时加入 DMEM/F12 无血清培养基稀释为 6 μg/ml 备用;标记前取等量 SPIO 液和 Pro 液漩涡混合器间歇混合 10 min,制备成 SPIO 终浓度分别为 50、25、12.5 μg/ml 的 Fe-Pro 标记液,各磁标记液均含 Pro 3 μg/ml。

待第 3 代 MSCs 长至培养瓶底 85% 面积时,弃去原含血清的培养液,PBS 冲洗 2 遍,取 Fe-Pro 标记液予以等量换液,与含 SPIO 浓度为 50、25、12.5 μg/ml 的 Fe-Pro 标记液在 37 ℃、5% CO_2、100% 饱和湿度培养箱中孵育 12 h。

1.2.3 磁标记对 MSCs 存活、增殖的影响 台盼蓝染色:用无血清培养基把标记细胞悬液稀释到 2×10^3 ml^{-1},在 0.5 ml 细胞悬液中加 0.5 ml 0.4% 的台盼蓝溶液,吸管轻轻吹打均匀,2 min 后计数蓝染死细胞,比较各组细胞活性。磁标记对生长曲线的影响:取磁标记 MSCs(SPIO 终浓度为 50、25、12.5 μg/ml)为实验组,同期培养未标记的 MSCs 为对照组。分别调整细胞数为 5×10^3/孔,接种于 9 块 96 孔培养板,每板 3 组,每组 6 孔,150 μl/孔,每 3 天换液。每 24 小时取出 1 板,每孔加入 MTT(0.2 mg/ml)培养液 150 μl,37 ℃孵育 4 h,吸尽孔内液体,每孔加入 150 μl DMSO,震荡 10 min,自动酶联免疫检测仪测定 490 nm 吸光度,以时间为横坐标,6 孔吸光度的平均值为纵坐标,绘制生长曲线。

1.2.4 磁标记对 MSCs 多向分化能力的影响 将磁标记 MSCs(SPIO 终浓度为 25 μg/ml)分为 2 组,以约 5×10^5 ml^{-1} 接种到 6 孔培养板中,贴壁分别进行成骨、成脂肪定向分化诱导培养 3 周;未标记 MSCs 作为对照组。

成骨诱导分化参考文献[5]。磁标记 MSCs 在含 DMEM 高糖型培养液 + 10% 胎牛血清 + 地塞米松(10^{-7} mol/L) + β-甘油磷酸钠(10 mmol/L) + 维生素 C(50 μmol/L)成骨分化诱导培养液体外扩增诱导培养。2 周后进行钙结节茜素红染色和碱性磷酸酶(ALP)组化染色。

成脂肪诱导分化参考文献[6]。磁标记 MSCs 在含 DMEM 高糖型培养液 + 10% 胎牛血清 + 1,3-异丁基甲基黄嘌呤(IBMX)(0.5 mmol/L) + 地塞米松(10^{-6} mol/L) + 胰岛素(10 μg/ml) + 吲哚美辛(0.2 mmol/L)的成脂肪分化诱导培养液体外扩增诱导。2 周后油红染色鉴定脂滴,显微镜下随机计数每组细胞的阳性率。

1.2.5 磁标记 MSCs 的鉴定 磁标记细胞普鲁士蓝染色:取 1.2.2 中部分细胞爬片贴壁 1 d, PBS 冲洗 2 次,最后再用含肝素 10 U/ml 的 PBS 冲去多余的细胞外游离的铁粒子, 4% 多聚甲醛固定,2% $K_3Fe(CN)_6$ + 6% HCl 的 Perl 反应液孵育 30 min,PBS 冲洗 1 次,核固红复染。细胞质内见阳性蓝色颗粒为普鲁士蓝染色阳性。显微镜下计数阳性细胞,测定 MSCs 的磁化标记率。

磁化标记率(%) = 细胞染色阳性数/细胞总数 × 100%

同时取 1.2.2 中约 10^6 个磁标记细胞做透射电镜检查。标

记 MSCs 经 1 000 r/min 离心 10 min 后弃上清液,向细胞沉淀中加入 2.5% 戊二醛溶液固定 30 min,再用 1% 锇酸固定 30 min,0.5% 醋酸铀 4 ℃染色固定过夜,梯度乙醇脱水,EP812 包埋。超薄切片,醋酸铀复染后用 JEN-M1220 型透射电镜观察。

1.2.6　体外磁标记细胞 MR 影像　　标记细胞 PBS 洗 2 次,再用含 10 U/ml 肝素的 PBS 液冲洗 3 遍。标记细胞与未标记细胞胰酶消化,离心后重悬于装有 60 ℃ 1% 琼脂 0.5 ml 的 6 个直径为 1 cm 的 EP 管内,分为 1×10^6(标记细胞)、5×10^5(标记细胞)、1×10^6(未标记细胞)、琼脂组、培养液组、蒸馏水组共 6 组,自然冷却固化后置于 SIMENS SONATA 1.5T MR 扫描仪成像。成像序列选择为:梯度回波 T2 加权(GRE T_2^* WI)(TR/TE = 50/10, 层厚 4 mm, 翻转角 20 ℃, 矩阵 384 × 384, FOV 260 × 260)和自旋回波 T2 加权(SE T_2WI)(TR/TE 4 500/95, 矩阵 256 × 128, 层厚 2 mm, 视野 350 × 350)。利用 1.5T MR 的自动测量系统,测量每种扫描序列图像上标记细胞信号强度(signal intensity, SI)和未标记细信号强度($SI_{未标记}$),感兴趣区均设为 0.17 cm^2 类圆形游标,每个感兴趣区均测量 3 次,各取平均值,计算每种序列信号强度衰减率(percentage of SI loss, △SI)。

$$\triangle SI = (SI_{标记} - SI_{未标记})/SI_{未标记} \times 100\%$$ [7]

1.3　统计学处理

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,吸光度值应用 SPSS 13.0 统计软件验证数据符合正态分布后,采用独立样本 t 检验。标记细胞组与未标记细胞组间信号强度、不同浓度标记细胞间信号强度、序列间信号强度的比较采用单因素方差分析及 q 检验。

2　结果

2.1　MSCs 的分离培养、体外 SPIO 标记后细胞形态观察及鉴定

获取的 MSCs 经传代培养后,每只动物可获得约 1×10^8 个细胞。第 3 代培养的 MSCs 长至培养瓶底 80% 面积时,等量更换于含 SPIO 的培养基中培养,高密度增殖的 MSCs 呈长梭形逐渐融合形成漩涡状,(5 ± 2)% 细胞呈 ALP 弱阳性,CD34、Ⅰ型胶原、Ⅱ型胶原免疫组化染色呈阴性。

2.2　磁标记对 MSCs 存活、增殖的影响

2.2.1　台盼蓝染色　　50、25、12.5 μg/ml 不同剂量铁体外磁标记细胞的活性仍较高,标记组与未标记组细胞数量没有明显变化($P > 0.05$)。

2.2.2　磁标记对生长曲线的影响　　根据文献[8]公式,得出未标记的兔 MSCs 倍增时间为(32.4 ± 0.7)h, 12.5 μg/ml SPIO 磁标记后倍增时间为(29.0 ± 1.5)h, 25 μg/ml SPIO 磁标记后倍增时间为(33.0 ± 1.2)h,50 μg/ml SPIO 磁标记后倍增时间为(39.0 ± 0.5)h,4 组间无统计学差异($P > 0.05$)。

2.3　磁标记对 MSCs 潜在多向分化能力的影响

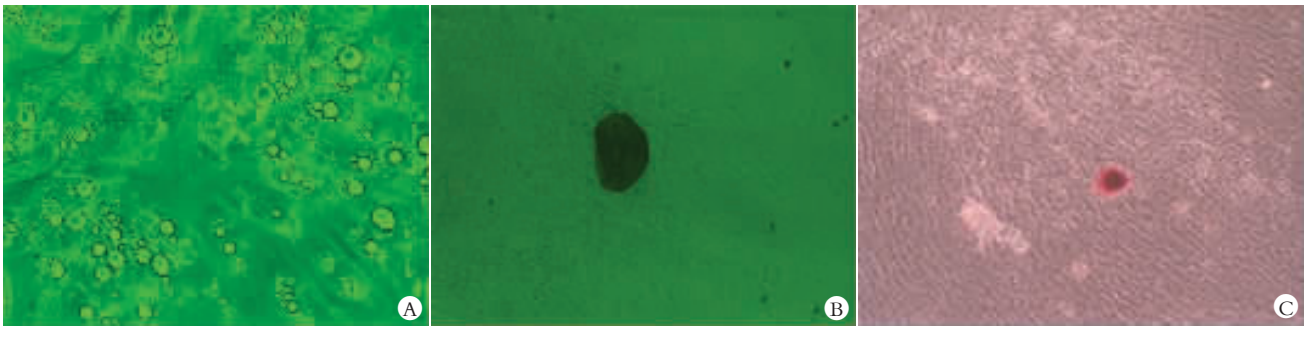
磁标记组细胞和对照组未标记细胞成脂肪诱导分化 3 ~ 5 d 后,均发现少量细胞中有小脂滴出现,约 2 周后可以看见大部分细胞胞体变大,细胞质出现大量脂肪滴,油红染色证实为脂肪滴;成骨诱导分化 2 周后细胞聚集成集落,并有少量钙盐沉积,继续培养 1 周,细胞呈现多层生长的结节状,并有大量钙盐沉积,茜素红和碱性磷酸酶组化染色分别呈阳性,证实为钙结节。见图 1。

2.4　磁标记 MSCs 的鉴定

标记细胞行普鲁士蓝染色观察到基本上每个 MSCs 细胞质内可见阳性蓝色致密颗粒分布(图 2)。显微镜下计数阳性细胞,MSCs 的磁化标记有效率达 90% 以上,而未标记的 MSCs 普鲁士蓝染色未观察到蓝染颗粒,呈阴性。电镜显示标记的 MSCs 细胞质中有高密度的铁粒子密集,细胞质中存在的小囊泡状结构内摄入高密度的铁粒子(图 3)。

2.5　体外磁标记细胞 MR 影像

选择 1.5T 磁共振扫描仪 GRE T_2^* WI、SE T_2WI 序列分别对 1×10^6(标记细胞)、5×10^5(标记细胞)、1×10^6(未标记细胞)、琼脂组、培养液组、蒸馏水组进行成像,结果显示 1×10^6(标记细胞)、5×10^5(标记细胞)在 GRE T_2^* WI 序列成像中 SI 较未标记细胞 SI 显著性降低($F = 15.395$, $P < 0.05$),SE T_2WI 序列成像 SI 亦显著性降低($F = 19.973$, $P < 0.05$)。其中 GRE T_2^* WI 的△SI 显著高于 SE T_2WI 序列($F = 349.45$, $P < 0.01$)。GRE T_2^* WI、SE T_2WI 序列 1×10^6(标记细胞)△SI 分别为(−89.2 ± 7.8)、(−73.8 ± 16.73),5×10^5(标记细胞)△SI 分别为(−44.9 ± 4.5)、(−15.9 ± 5.3),1×10^6(标记细胞)△SI 均高于 5×10^5(标记细胞)△SI,但不具有统计学差异($P > 0.05$)。见图 4。



A: 成脂肪诱导培养(倒置显微镜);B: 成骨诱导培养(倒置显微镜);C: 成骨诱导培养(茜素红染色)

图 1　SPIO 标记 MSCs 成脂肪和成骨诱导培养 3 周　(×100)

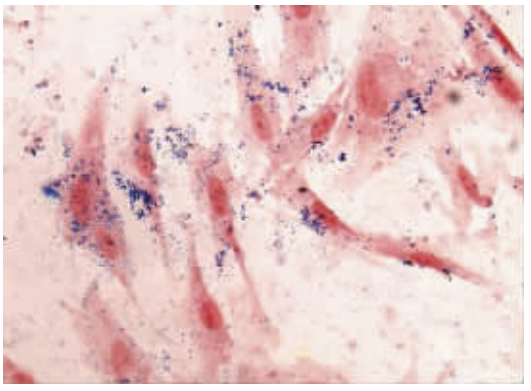


图2 磁标记的 MSCs 普鲁士蓝染色结果 （×200）

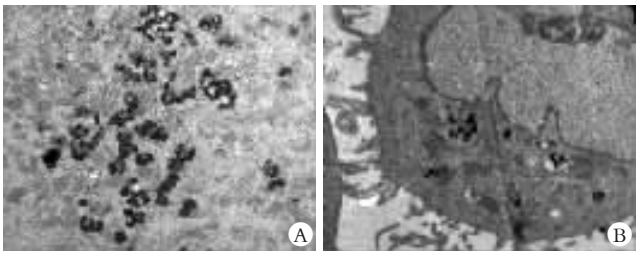
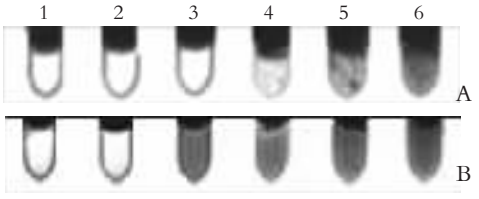


图3 磁标记的 MSCs 细胞质（A）及细胞质小囊泡（B）中的高密度的铁粒子（TEM×10 000）



1：蒸馏水组；2：培养液组；3：琼脂组；4：1×10^6（未标记细胞）；5：5×10^5（标记细胞）；6：1×10^6（标记细胞）

图4 体外磁标记细胞 GRE T_2 序列（A）与 SE T_2WI 序列（B）下 MR 影像表现

3 讨论

磁标记探针 SPIO 可磁化标记来源于不同物种的干细胞[9]，磁性 Fe_3O_4 晶体表面包裹葡聚糖形成的核壳式结构阻止了氧化铁颗粒水溶进程并保护细胞不受 Fe 的毒害。低浓度的 SPIO 即能显著地造成外加磁场的不均匀，使邻近氢质子在弛豫中很快产生相散，加速了质子去相位过程，缩短了组织的 T2 加权弛豫时间，在 MRI 梯度回波（GRE）和自旋回波（SE）序列中，使组织信号降低从而产生较强的 T2 负性对比效应；但 SPIO 对 T1 弛豫的加快作用较弱[3]。SPIO 具有小直径和强穿透性使其在很低的标记浓度就可在 MR 上有信号改变。MR 分辨率高，活体内标记细胞数量达到 5×10^4 个在常规 1.5T MR 成像即可显特征性低信号影[10]。标记细胞长达 6 周仍能在 MR 显特征性低信号影[11]。SPIO 在体内可生物降解，被细胞代谢后进入正常血浆铁池与红细胞血红蛋白结合或用于其他代谢过程[12]，因此 SPIO 是目前较理想的磁共振示踪剂。

T2 加权弛豫时间与氧化铁颗粒直径有关。大颗粒氧化铁粒子在 MR 场强下能产生较大的磁矩、降低 T2 值并增强磁敏感性，低分辨率的 MR 就能显像[13]。本实验采用的氧化铁颗粒直径约为 80 nm，明显比市售核心为 10 nm 的 Ferumoxides 大，增强了少量细胞或单个细胞显像的可能性。单独 SPIO 粒子标记活细胞有效率低[14]，带正电荷的 Pro 可通过静电作用与带负电荷的氧化铁颗粒结合，促使细胞摄其进入细胞质内涵体中从而有效地磁性标记[15]。本实验应用 25 μg/ml 微量低浓度的 SPIO 与 Pro 作为转染剂与 MSCs 孵育12 h，普鲁士蓝染色显示细胞质含有致密蓝色铁颗粒，透射电镜可见铁颗粒位于细胞质的小囊泡状结构中，标记有效率大于 90%。这种方法不需要创造新的 SPIO 合成方法或连接新的蛋白或抗体到铁粒子以提高标记有效率，使用简便，且 Pro 对细胞的生物特性影响更小。

文献[13]报道磁标记对干细胞体外增殖有一定的不良影响。本实验中 SPIO 标记液浓度达到 50 μg/ml 时干细胞倍增时间与未标记 MSCs 倍增时间无统计学差异，显示标记细胞仍然可以在较短时间进行大量扩增，因此，SPIO 标记 MSCs 不影响细胞活性、扩增能力。MSCs 具有潜在多向分化能力。本实验成功地对磁标记细胞进行了成脂肪和成骨诱导分化，这说明当 SPIO 终浓度在 50 μg/ml 以下时，磁标记并不影响干细胞的潜在多向分化能力，MR 示踪活体内磁标记细胞是安全和有效的。标记细胞组在 1.5T MR 的 GRE T_2^*WI 序列和 SE T_2WI 序列扫描中均出现显著的低信号改变，尤其在 GRE T_2^*WI 序列低信号改变更为明显，此为 SPIO 在 GRE T_2^*WI 序列磁场中的高敏感性所致。其中高数量标记细胞均比低数量标记细胞的信号强度大，提示 SI 与标记细胞数量有关，通过 MR 示踪标记细胞观察 SI 变化可大致判断移植细胞数量。这与文献[7]报道一致。

MRI 示踪移植细胞存在的主要问题是：干细胞增生分裂稀释铁将导致磁标记强度降低，进而使 MR 的敏感性降低，死亡的标记细胞可释放出铁标记物将周围未标记的细胞标记从而产生假阳性，活体组织内的巨噬细胞和单核细胞可吞噬磁标记移植细胞能使周围组织在 MR 影像上呈假阳性，移植入组织内的标记细胞所引起的低信号与病理因素所引起的信号丢失如局部出血等区分困难，不能很好的从细胞水平显示移植

细胞在活体内存活、分化情况等。因此,在干细胞移植过程中可以联合其他几种示踪方法以提高示踪效果。虽然 MRI 活体示踪移植细胞的研究才刚刚开展,但随着以上问题的不断深入研究,MRI 示踪移植细胞将显示出良好的应用前景。

总之,SPIO 是较理想的适于长时间标记细胞的磁共振示踪剂,合理应用 MRI 示踪磁标记细胞将成为研究移植细胞的有力工具。目前我们在动物模型中将已磁标记的 MSCs 移植于局部软骨缺损组织,活体下应用 MR 动态示踪移植细胞,进行评估移植细胞局部分布迁移和在软骨修复中所起的功能作用的实验研究。

参考文献:

[1] Jiang Y, Jahagirdar B, Reinhardt R L, *et al*. Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow[J]. Nature, 2002, 418(6893): 41 – 49.

[2] 李　忠, 杨　柳. 骨组织工程学间充质干细胞研究进展[J]. 中华创伤杂志, 2003, 19(12): 766 – 768.

[3] Arbab A S, Bashaw L A, Miller B R, *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.

[4] 段小军, 杨　柳, 周　跃, 等. 不同荧光蛋白标记技术对兔骨髓基质干细胞体外增殖的影响[J]. 中华创伤骨科杂志, 2004, 6(7): 731 – 734.

[5] 张　勇, 杜宏伟, 邹仲敏, 等. 人骨髓间充质干细胞的分离培养及部分生物学特性的实验研究[J]. 第三军医大学学报, 2003, 25(4): 291 – 293

[6] Sottile V, Halleux C, Bassilana F, *et al*. Stem cell characteristics of human trabecular bone-derived cells[J]. Bone, 2002, 30(5): 699 – 704.

[7] Ju S, Teng G, Zhang Y, *et al*. *In vitro* labeling and MRI of mesenchymal stem cells from human umbilical cord blood[J]. Magn Reson Imaging, 2006, 24(5): 611 – 617.

[8] 司徒镇强, 吴军正. 细胞培养[M]. 西安:世界图书出版西安公司, 1996: 186 – 187.

[9] Frank J A, Miller B R, Arbab A S, *et al*. Clinically applicable labeling of mammalian and stem cells by combining superparamagnetic iron oxides and transfection agents[J]. Radiology, 2003, 228(2): 480 – 487.

[10] Bulte J W, Douglas T, Witwer B, *et al*. Magnetodendrimers allow endosomal magnetic labeling and *in vivo* tracking of stem cells[J]. Nat Biotechnol, 2001, 19(12): 1141 – 1147.

[11] Bulte J W, Duncan I D, Frank J A. *In vivo* magnetic resonance tracking of magnetically labeled cells after transplantation[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2002, 22(8): 899 – 907.

[12] Yeh T C, Zhang W, Ildstad S T, *et al*. *In viv* dynamic MRI tracking of rat T-cells labeled with superparamagnetic iron-oxide particles[J]. Magn Reson Med, 1995, 33(2): 200 – 208.

[13] Hinds K A, Hill J M, Shapiro E M, *et al*. Highly efficient endosomal labeling of progenitor and stem cells with large magnetic particles allows magnetic resonance imaging of single cells[J]. Blood, 2003, 102(3): 867 – 872.

[14] Bulte J W, Kraitchman D L. Monitoring cell therapy using iron oxide MR contrast agents[J]. Curr Pharm Biotechnol, 2004, 5(6): 567 – 584.

[15] Arbab A S, Yocum G T, Rad A M, *et al*. Labeling of cells with ferumoxides-protamine sulfate complexes does not inhibit function or differentiation capacity of hematopoietic or mesenchymal stem cells[J]. NMR Biomed, 2005, 18(8): 553 – 559.

(编辑　邓强庭)

关于医学符号的使用

统计学符号不论用哪种字母,也不论大写或小写一律都用斜体。要注意区分拉丁字母和希腊字母。例如均数的符号是字母 $\bar{x}$,卡方的符号是希腊字母 χ^2,自由度的符号是希腊文“υ”,不是拉丁文“V”。样本的相关系数是英文“r”,不能误为希腊文“γ”。

化学元素及核素在医学写作时一般多采用符号,都是拉丁字母正体大写。离子态是在右上角用数字加“-”或“+”表示。例如 Na^+、Ca^{2+}、P^{3-}等等,不采用 Ca^{++}、P^{---}、Al^{+3}、O^{-2}表示。核素的核子素(质量数)应写在元素符号的左上角,例如:^{131}I、^{32}P。表示激发状态的 m 写在右上角,例如:$^{99}Tc^m$、$^{133}In^m$。在科技论文和专著中不应写核素的中文名称,即不能写成^{131}碘、铟^{133m}、P^{32}、Tc^{99m}。

近几年分子生物学发展很快,并已渗透到许多学科,大多数分子生物学名词术语的符号已有统一的确定形式,要对符号的来源及其内涵有深刻的了解,使用时不致发生错误,例如:RNA 有 rRNA(ribosomal RNA)、tRNA(transfer RNA)、mRNA(messenger RNA)3 类。r、t、m 是表示类型的符号应小写,RNA 应大写。

本刊编辑部