

不同修饰磁性纳米粒子生物安全性比较

杨欣^{1,2}, 王晓文¹, 陈本科^{1,2}, 阳兵^{1,2}, 赵凌云¹, 唐劲天¹

1. 清华大学工程物理系; 粒子技术与辐射成像教育部重点实验室, 北京 100084
2. 北京中医药大学中药学院生物制药系, 北京 100102

摘要 为了研究不同表面修饰的磁性纳米粒子(MNPs)的细胞毒性作用,评价其生物安全性,选用小鼠成纤维细胞(L929),使用MTT比色法,对3-氨基丙基三乙氧基硅烷(APTS)修饰和溴化双十二烷基二甲基铵修饰的两种磁性纳米粒子不同剂量、时间对细胞的影响进行研究。结果发现,不同修饰的两种MNPs的浸提液的毒性分级试验中,APTS修饰的MNPs主要为1级,2级,合格;而高浓度DMAB修饰的MNPs的浸提液在48h组中为4级,有较强的毒性。MNPs的体外细胞毒性检测显示,APTS修饰的MNPs与DMAB修饰的MNPs相比,对细胞的生存率抑制较小。结果表明,APTS修饰的磁性纳米粒子生物相容性更好,磁性纳米粒子在不同剂量、时间对细胞毒性表现出一定的差异,存在一定剂量的剂量、时间依赖性,且对细胞增殖抑制较低。

关键词 磁性纳米粒子;氨基硅烷;DMAB;细胞毒性

中图分类号 R312, R730.58

文献标识码 A

文章编号 1000-7857(2010)15-0026-05

Comparison Between Different Modified Magnetic Nanoparticles in Biosafety

YANG Xin^{1,2}, WANG Xiaowen¹, CHEN Benke^{1,2}, YANG Bing^{1,2}, ZHAO Lingyun¹, TANG Jintian¹

1. Key Laboratory of Particle & Radiation Imaging, Ministry of Education; Department of Engineering Physics, Tsinghua University, Beijing 100084, China
2. Department of Biopharmaceuticals, School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China

Abstract L929 cells are used to study the effects of Magnetic Nano-Particles (MNPs) on cytotoxicity and evaluate the biological safety. MTT colorimetric assay was used to study the effects of different doses and durations of MNPs on the cells, and to evaluate the toxic effects of MNPs on cells and bio-safety. The results show that the leaching liquor with the MNPs modified with APTS is mainly of the first and the second grades well within the standard of cytotoxicity, but that of the MNPs modified by DMAB for 48h reaches the level of the fourth grade with a fair cytotoxicity. Compared with DMAB modified MNPs, the research *in vitro* reveals that the APTS modified MNPs have fewer inhibitions on the cell survival rate. Different doses and durations of MNPs see some differences in their effects on cytotoxicity, a certain dose may be found for MNPs with time-dependent lower inhibition of cell proliferation.

Keywords magnetic nano-particles; APTS; DMAB; cytotoxicity

0 引言

磁感应热疗是肿瘤治疗的新型加温治疗方法,该方法将磁性介质如磁性纳米粒子(Magnetic Nano-Particles, MNPs)植入肿瘤组织,在外加交变磁场的作用下,磁性介质通过产生磁滞、弛豫或涡流效应而加热。由于生物体内没有磁性物质,当体内肿瘤组织植入磁性纳米介质后,在交变磁场作用下可

将电磁能转换成热能,实现定位和适形的磁感应热疗。目前,磁感应热疗发展出动脉栓塞热疗^[1]、直接注射热疗^[2]和细胞内热疗^[3] 3种策略。

磁感应热疗作为一种新的肿瘤加热治疗方法,能够适形地将肿瘤组织加热到有效治疗温度范围内,并维持一段时间,以达到对肿瘤细胞的毁灭性打击,尽可能避免靶区外正

收稿日期: 2010-04-14

基金项目: 国家自然科学基金项目(30973439)

作者简介: 杨欣,硕士研究生,研究方向为磁性介质的安全性,电子信箱:yx317bj@163.com;唐劲天(通信作者,中国科协所属全国学会个人会员登记号:S090800253M),教授,研究方向为肿瘤学,电子信箱:tangjt@mail.tsinghua.edu.cn

常组织的过热损伤, 极力扩大肿瘤组织与正常组织的温差。磁感应热疗应用于临床的关键是磁性介质, 其中磁性纳米粒子除应用于磁感应热疗外, 在磁性药物载体、肿瘤靶向定位诊断的研究中也已广泛开展, 其中较为常用的有 Fe_2O_3 、 Fe_3O_4 磁体、磁铁矿等。磁性纳米粒子由于其独特性质和潜在的应用价值, 在各种领域吸引了越来越多的关注, 特别是在生物医学和生物工程领域, 如磁辅助药物输送^[4]、细胞分离^[5]、MRI 诊断(核磁共振成像)造影剂^[6]、生物大分子的分离纯化^[7]等。

磁性纳米粒子是临床应用的关键, 生物相容性决定了磁性纳米粒子的使用范围和应用前景^[8], 对于需要使用的磁性纳米粒子, 必须经过评价达到一定的标准要求后才可以在临床上应用。在 MNPs 的合成方式、大小、形状等影响毒性^[9]的要素相同的情况下, 使用表面修饰剂进行 MNPs 的表面功能化就成为改变其生物相容性的首要方式。为了解不同表面修饰的磁性纳米粒子对细胞是否产生毒性影响, 本文对不同修饰的 MNPs 体外细胞毒性进行了比较。

1 材料与方法

1.1 实验材料和仪器

1.1.1 磁性纳米粒子的预处理

由清华大学工程物理系研制的 3-氨基丙基三乙氧基硅烷(3-aminopropyltriethoxysilane, APTS)修饰的磁性纳米粒子和溴化双十二烷基二甲基铵(Didodecyltrimethylammonium bromide, DMAB)修饰的磁性纳米粒子, 蒸馏水、无水乙醇分别清洗 3 次, 121℃、33MPa 蒸汽灭菌。

1.1.2 细胞株

小鼠 L929 成纤维细胞, 购自中国科学院上海生命科学研究院细胞资源中心。

1.1.3 实验试剂

RPIM-1640 培养液(主要含 1640 培养基 100g/1000mL, (美国 GIBCO 公司); 青霉素 100U/mL(美国 INALCON 公司); 链霉素 100U/mL(北京拜尔迪生物制品有限公司); 10%胎牛血清, Sigma 公司); 磷酸盐缓冲液(Phosphate Buffered Saline, PBS, pH 7.2); 0.25%胰酶消化液(北京拜尔迪生物制品有限公司); MTT(3-(4,5-二甲基噻唑-2)-2,5-二苯基四氮唑溴盐, 北京拜尔迪生物制品有限公司); 二甲基亚砜(DMSO, 北京北化精细化学品有限公司); 台盼蓝(染液, 北京拜尔迪生物制品有限公司)。

1.1.4 实验仪器

Bio-Rad 680 酶联免疫检测仪, 超净工作台(ESCO 科技有限公司); 细胞培养箱, 微量加样器(吉尔森精密移液器服务中心); 电子分析天平(梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 样品制备

将 MNPs 悬浮液灭菌处理, 用磁铁吸附, 弃上清液, 用 RPMI-1640 培养液重悬, 小瓶分装, 4℃保存。MNPs 浸提液制

备^[5]; 取 MNPs, 灭菌处理, 加入 1640 培养液(按 1g MNPs 加入 10mL 培养基), 放置于 37℃、5%CO₂ 的培养箱中 72h, 取上清液离心(10000r/min, 5min), 留上清液分装, 作原液(浓度: 100%), 4℃保存待用。

1.2.2 细胞培养

小鼠 L929 成纤维细胞培养于含 10%小牛血清、1%青霉素和 1%链霉素的 RPMI1640 培养基中, 于 37℃、5%CO₂ 的培养箱中培育至对数生长期。

1.2.3 MNPs 浸提液对细胞的作用

取对数生长期的 L929 细胞, 调整细胞数为 5×10^4 /mL, 按 200μL/孔加入 96 孔板, 每实验浓度设复孔 6 个, 待细胞贴壁后, 吸去培养基, 加入 MNPs 浸提液(设浓度梯度 0%、25%、50%、75%、100%, 0%为对照组), 置于培养箱继续培养, 分别在 24, 48, 72h 做 MTT 检测(波长 570nm), 计算细胞生存率和 MNPs 浸提液的细胞毒级。

1.2.4 MNPs 对吸光度的影响

将两种 MNPs 悬浮液配制不同浓度(0.5, 1.0, 2.5, 5.0, 10.0, 20.0, 50.0μg/mL), 以 200μL/孔, 加入 96 孔板, 置于 37℃、5% CO₂ 培养箱中 24h。取出加入 30μL MTT 染液, 避光放入培养箱, 4h 后取出, 吸去液体, 再加入 150μL DMSO, 转速 4000r/min 的摇床振荡 10min, 酶标仪波长 570nm, 检测各组吸光度值。

1.2.5 MNPs 对细胞的作用

对数生长期的 L929 细胞, 调整细胞数为 5×10^4 /mL, 按 200μL/孔加入 96 孔板, 每实验浓度设复孔 6 个, 待细胞贴壁后, 吸去培养基, 加入 MNPs 悬浮液(设浓度梯度: 0, 0.5, 2.5, 5.0, 10.0, 50.0μg/mL)(图 1), 置于培养箱继续培养, 分别在 24, 48, 72h 做 MTT 检测(波长 570nm), 检测吸光度值, 与单纯 MNPs 的吸光度值相减, 计算细胞的相对生存率。

相对生存率=(实验组加入 MNPs 的吸光度值-

单纯 MNPs 组的吸光度值)/单纯细胞组的吸光度值

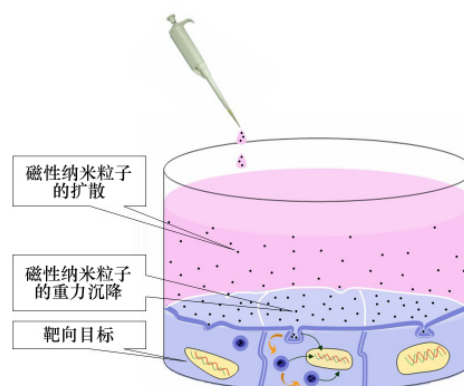


图 1 细胞中加入 MNPs 悬浮液
Fig. 1 MNPs fluid in cells

1.2.6 统计学处理

用 SPSS 10.0 统计软件中的 F 检验对数据进行统计学处理, 显著性检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 不同修饰 MNPs 浸提液体外细胞毒性的测定

2.1.1 倒置相差显微镜下细胞形态观察

在 MTT 测试前(细胞接种 96 孔板后培养 24,48,72h),对细胞的形态及增殖情况进行观察,发现随着培养时间的延长,细胞数量下降,不同 MNPs 浸提液组及不同浓度分组之间的细胞生长出现差异(图 2,图 3)。由图 2 可见,使用 APTS 修饰 MNPs 的浸提液(浓度为 100%)培养的 L929 细胞,随着培养时间的延长,细胞数量有所降低,细胞形态发生改变(其余浓度结果相似)。而图 3 中,DMAB 修饰 MNPs 的浸提液(浓度

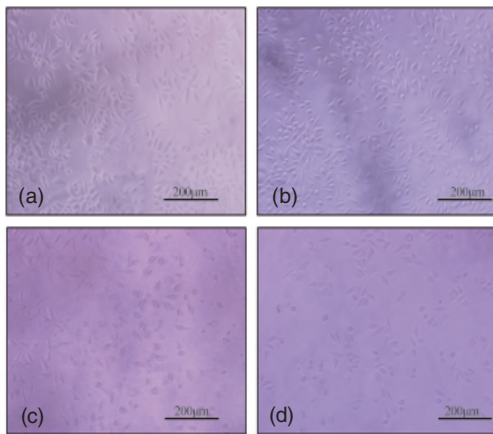


图 2 APTS 修饰 MNPs 浸提液组

Fig. 2 Leaching liquor groups of APTS modified MNPs

注: (a)~(d) 分别为 100×倒置显微镜下观察到的阴性对照组,100%浸提液 24h 组,100%浸提液 48h 组,100%浸提液 72h 组的细胞。

Notes: (a)~(d) indicate the negative control group observed in inverted microscope for 100× and the 100% leaching liquor groups for 24, 48 and 72h, respectively.

表 1 APTS 修饰 MNPs 的浸提液组 24h 的 OD 值、细胞增殖度和细胞毒级 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 1 OD, cell relative growth rate and cytotoxicity grade for each group with leaching liquor of APTS modified MNPs for 24h ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	OD 值	RGR/%	细胞毒级
100%浸提液组	1.393±0.105	70.01	2
75%浸提液组	1.549±0.229	76.35	1
50%浸提液组	1.581±0.191	77.91	1
25%浸提液组	1.819±0.098	89.64	1
阴性对照	2.030±0.190	100	0

2.2 不同修饰的 MNPs 体外细胞毒性测定

2.2.1 不同修饰 MNPs 对吸光度影响的测定

将 APTS 修饰的 MNPs 重悬液和 DMAB 修饰的 MNPs 重悬液在无细胞空白组中做 MTT 检测,得到不同浓度和 MNPs 的 OD 值(图 4(a)),用于分析在细胞试验中的影响。图 4(a)显示两种 MNPs 均有一定的 OD 值,对 MTT 检测存在影响。

2.2.2 不同修饰 MNPs 的 MTT 检测

将不同浓度 APTS 修饰的 MNPs 重悬液和 DMAB 修饰的

为 100%)培养的 L929 细胞,与 APTS 修饰的 MNPs 浸提液组相比,随着培养时间的延长,细胞数量降低明显,细胞形态发生较大改变,死亡细胞增多(其余浓度结果相似)。

2.1.2 细胞增殖度和细胞毒级

利用 MTT 法测定不同 MNPs 浸提液组吸光度(OD)值,计算其细胞增殖度(RGR)和细胞毒级,结果如表 1~表 6 所示。其中 0 或 1 级反应为合格;2 级反应应结合细胞形态分析综合评价;3~5 级反应为不合格。结果表明,APTS 修饰的 MNPs 主要为 1 和 2 级,合格;而高浓度 DMAB 修饰的 MNPs 的浸提液在 48h 组中为 4 级,有较强的毒性。

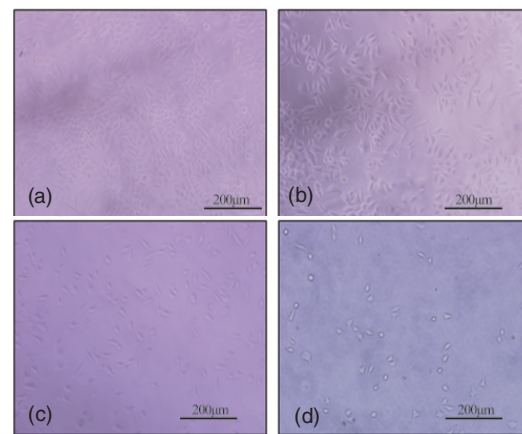


图 3 DMAB 修饰 MNPs 浸提液组

Fig. 3 Leaching liquor groups of DMAB modified MNPs

注: (a)~(d) 分别为 100×倒置显微镜下观察到阴性对照组,100%浸提液 24h 组,100%浸提液 48h 组,100%浸提液 72h 组的细胞。

Notes: (a)~(d) indicate the negative control group observed in inverted microscope for 100× and the 100% leaching liquor groups for 24, 48 and 72h, respectively.

表 2 DMAB 修饰 MNPs 的浸提液组 24h 的 OD 值、细胞增殖度和细胞毒级 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 2 OD, cell relative growth rate and cytotoxicity grade for each group with leaching liquor of DMAB modified MNPs for 24h ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	OD 值	RGR/%	细胞毒级
100%浸提液组	0.890±0.045	59.91	2
75%浸提液组	0.972±0.167	65.45	2
50%浸提液组	0.903±0.306	60.81	2
25%浸提液组	1.040±0.274	70.56	2
阴性对照	1.485±0.099	100	0

MNPs 重悬液加入细胞培养体系中,按不同接触时间(24,48,72h)分组做 MTT 检测细胞的 OD 值,与上述结果比较,计算细胞生存率(图 4(b)~4(d))。

比对结果表明,加入 MNPs 重悬液的细胞,随着接触时间的延长与 MNPs 重悬液浓度的增加,其生存率下降;加入 APTS 修饰的 MNPs 的细胞,其生存率受到的抑制较小,与 DMAB 修饰的 MNPs 相比,具有良好的生物相容性,且毒性较低。

表 3 APTS 修饰 MNPs 的浸提液各组 48h 的 OD 值、细胞增殖度和细胞毒级 ($\bar{x}\pm s, n=6$)

Table 3 OD, cell relative growth rate and cytotoxicity grade for each group with leaching liquor of APTS modified MNPs for 48h ($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	OD 值	RGR/%	细胞毒级
100%浸提液组	0.945±0.186	53.09	2
75%浸提液组	1.217±0.160	68.37	2
50%浸提液组	1.347±0.154	75.67	1
25%浸提液组	1.602±0.227	90	1
阴性对照	1.780±0.078	100	0

表 5 APTS 修饰 MNPs 的浸提液各组 48h 的 OD 值、细胞增殖度和细胞毒级 ($\bar{x}\pm s, n=6$)

Table 5 OD, cell relative growth rate and cytotoxicity grade for each group with leaching liquor of APTS modified MNPs for 72h ($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	OD 值	RGR/%	细胞毒级
100%浸提液组	1.324±0.082	81.04	1
75%浸提液组	1.143±0.225	69.97	2
50%浸提液组	1.252±0.181	76.62	1
25%浸提液组	1.286±0.225	78.72	1
阴性对照	1.634±0.144	100	0

表 4 DMAB 修饰 MNPs 的浸提液各组 48h 的 OD 值、细胞增殖度和细胞毒级 ($\bar{x}\pm s, n=6$)

Table 4 OD, cell relative growth rate and cytotoxicity grade for each group with leaching liquor of DMAB modified MNPs for 48h ($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	OD 值	RGR/%	细胞毒级
100%浸提液组	0.477±0.048	38.86	3
75%浸提液组	0.884±0.042	72.02	2
50%浸提液组	0.817±0.179	66.54	2
25%浸提液组	0.985±0.182	80.25	1
阴性对照	1.227±0.119	100	0

表 6 DMAB 修饰 MNPs 的浸提液各组 48h 的 OD 值、细胞增殖度和细胞毒级 ($\bar{x}\pm s, n=6$)

Table 6 OD, cell relative growth rate and cytotoxicity grade for each group with leaching liquor of DMAB modified MNPs for 72h ($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	OD 值	RGR/%	细胞毒级
100%浸提液组	0.207±0.043	13.14	4
75%浸提液组	0.939±0.163	59.62	2
50%浸提液组	1.103±0.052	70.03	2
25%浸提液组	1.307±0.050	82.98	1
阴性对照	1.575±0.4345	100	0

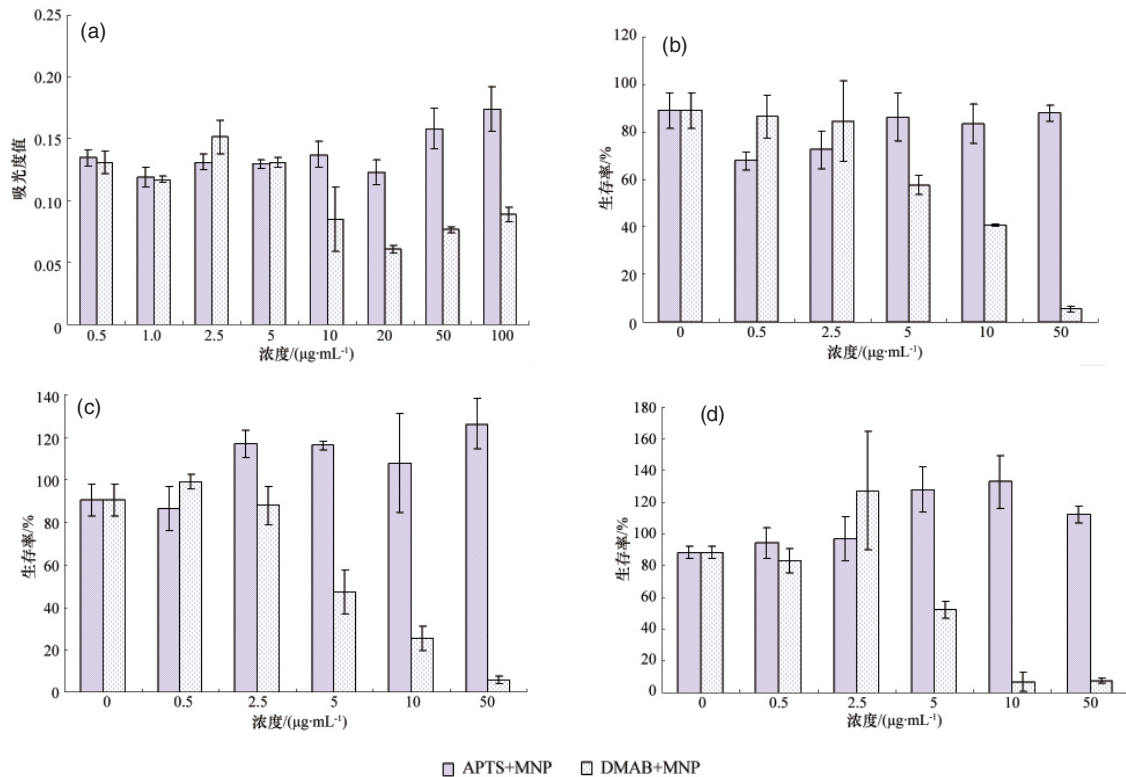


图 4 不同修饰 (APTS 修饰, DMAB 修饰) 的 MNPs 体外细胞毒性测定

Fig. 4 Results of different modified MNPs for cytotoxicity *in vitro*

注: (a)为空白组不同修饰的 MNPs 重悬液 OD 值, (b)~(d)分别为加入 MNPs 重悬液后 24, 48, 72h 的细胞生存率。

Notes: (a) is for the OD of different modified MNPs suspension as a control, (b)~(d) are the cell survival rate after adding different modified MNPs suspension for 24, 48, 72h, respectively.

3 讨论

磁感应热疗是肿瘤治疗的一种新方法,主要使用的磁性介质为 Fe_2O_3 或 Fe_3O_4 ^[1],多为表面修饰的纳米级粒子。本试验以两种不同修饰的 MNP_s 为研究对象,在体外研究了其细胞毒性、生物相容性,分析了表面修饰对 MNP_s 生物相容性的影响。体外细胞毒性试验可检测医疗器械和材料接触生物体组织后的生物学反应,在离体状态下模拟生物体生长环境,能在短期内检测出受试材料对细胞生存状况及代谢功能的影响,可对毒性物质进行快速筛选,是鉴定并筛选具有良好生物相容性材料的一种公认方式。

新材料应用于临床前,需要系统地对其进行实验研究。国际标准化组织(ISO)制定的 ISO 10993《医疗器械生物学评价》系列标准中,在体外细胞毒性试验方面(ISO 10993—5),提出 3 类试验,即浸提液试验、直接接触试验和间接接触试验。本研究主要采用前两种体外细胞毒性检测试验。

在浸提液试验中,将两种不同修饰(APTS 和 DMAB)的 MNP_s 的浸提液以不同浓度分别进行细胞毒性评价(表 1~表 6)。用不同浓度的两种 MNP_s 浸提液对小鼠成纤维细胞 L929 进行培养,24,48,72h 后,APTS 修饰的 MNP_s 100%和 75%浸提液组培养细胞毒级主要为 1 或 2 级;通过细胞形态学观察(图 2),未发现细胞有明显的形态改变(合格),而其他浓度的浸提液组细胞毒级均为 1 级。DMAB 修饰的 MNP_s 浸提液组在各浓度及不同时间组中培养细胞毒级主要为 2,3 或 4 级,在细胞形态学观察中(图 3),发现细胞变形、脱落等现象,并有细胞皱缩、变圆(不合格),且随浸提液浓度增加和培养时间的延长,上述细胞异变现象增多。由此说明,APTS 修饰的 MNP_s 与 DMAB 修饰的 MNP_s 相比,基本无细胞毒性作用,具有良好的细胞相容性,符合生物体应用的基本要求。

MNP_s 做体外细胞毒性试验时,其与染色剂之间的相互作用可影响毒性评价试验结果的可靠性。有研究报道^[10]在中性红(Neutral Red, NR)检测试验中,纳米粒子在无细胞的对照组中,NR 吸光度显著增加了 978.5%,是导致出现假阳性结果的原因。本研究将上述两种不同修饰的 MNP_s 的重悬液以不同浓度加入细胞培养(图 1)。在 MNP_s 对吸光度的影响试验中(图 4(a))发现,两种 MNP_s 在 MTT 试验中对吸光度均有一定的影响,DMAB 修饰的 MNP_s 对吸光度的影响较小,但均需要在体外细胞毒性试验中排除该影响。通过计算加入 MNP_s 重悬液培养的细胞在 24,48 和 72h 的生存率(图 4(b)~4(d)),结果表明,APTS 修饰的 MNP_s 与 DMAB 修饰的 MNP_s 相比,其对细胞生存率的抑制较低,细胞毒性作用不明显,具有良好的细胞相容性。

通过浸提液试验和直接接触试验,能较系统地说明不同的表面修饰也能影响 MNP_s 的生物相容性。为了有效地评价 MNP_s 的毒性,可以将浸提液试验和直接接触试验作为体外细胞试验的基础检测,再加入活性氧簇(Reactive Oxygen Species, ROS)表达检测、乳酸脱氢酶(Lactate Dehydrogenase, LDH)检测提高结果的准确性^[12]。在评测要求高的情况下,还

应加入新的敏感细胞系用于检测,如 Mahmoudi 等^[13]使用 L929 和 K562(慢性粒细胞白血病细胞)两种细胞系进行体外细胞毒性试验,以不断完善 MNP_s 的生物安全性评价,为临床使用提供可靠依据。

4 结论

对两种不同表面修饰的 MNP_s,在体外细胞毒性检测中,采用浸提液试验和直接接触试验证明,APTS 修饰的磁性纳米粒子生物安全性更好,且该 MNP_s 在不同剂量、时间对细胞毒性表现出一定的差异,存在一定程度的剂量、时间依赖性,但是对细胞增殖抑制较低。

参考文献 (References)

- [1] Minamimura T, Sato H, Kasaoka S, *et al.* Tumor regression by inductive hyperthermia combined with hepatic embolization using dextran magnetite incorporated microspheres in rats[J]. *Int J Oncol*, 2000, 16: 1153-1158.
- [2] Shinkai M, Yanase M, Suzuki M, *et al.* Intracellular hyperthermia for cancer using magnetic cationic liposomes [J]. *J Magn Magn Mater*, 1999, 194(1-3): 176-184.
- [3] Moroz P, Johns S K, Gray B N, *et al.* Magnetically mediated hyperthermia: Current status and future direction [J]. *Int J Hyperthermia*, 2002, 18(4): 267-284.
- [4] Lubbe A S, Alexiou C, Bergemann C, *et al.* Clinical applications of magnetic drug targeting[J]. *Journal of Surgical Research*, 2001, 95(2): 200-206.
- [5] Zigeuner R E, Riesenberger R, Pohla H, *et al.* Immunomagnetic cell enrichment detects more disseminated cancer cells than immunocytochemistry in vitro[J]. *The Journal of Urology*, 2000, 164(5): 1834-1837.
- [6] Baio G, Fabbi M, Salvi S, *et al.* Two-step *in vivo* tumor targeting by biotin-conjugated antibodies and superparamagnetic nanoparticles assessed by magnetic resonance imaging at 1.5 T [J]. *Molecular Imaging and Biology*, 2010, 12(3): 305-315.
- [7] Christopher R L. Nanobiotechnology: The fabrication and applications of chemical and biological nanostructures [J]. *Current Opinion in Structural Biology*, 2000, 10(4): 428-434.
- [8] 郝和平. GB/T 16886.10—20050 医疗器械生物学评价第 5 部分: 体外细胞毒性试验[S]. 北京: 中国标准出版社, 2000.
- [9] Hao Heping. GBT 16886.10—20050 The Fifth Part of Medical Instruments Biological Evaluation: Cytotoxicity Test *in vitro* [S]. Beijing: China Standard Press, 2000.
- [9] Guptat A K, Naregalkar R R, Vaidya V D, *et al.* Recent advances on surface engineering of magnetic iron oxide nanoparticles and their biomedical applications[J]. *Nanomedicine*, 2007, 2(1): 23-39.
- [10] Monteiro-Riviere N A, Inman A O, Zhang L W. Limitations and relative utility of screening assays to assess engineered nanoparticle toxicity in a human cell line[J]. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2009, 234(2): 222-235.
- [11] Jones S K, Winter J, Gray B N. Treatment of experimental rabbit liver tumors by selectively targeted hyperthermia [J]. *Int J Hyperthermia*, 2002, 18(2): 129-140.
- [12] 杨欣, 王晓文, 唐劲天. 磁性纳米介质的毒理学研究进展 [J]. 国际病理科学与临床杂志, 2009, 29(5): 407-411.
- [12] Yang Xin, Wang Xiaoweng, Tang Jingtian. *Journal of Pathology and Clinical Medicine*, 2009, 29(5): 407-411.
- [13] Mahmoudi M, Shokrgozar M A, Simchi A. Multiphysics flow modeling and *in vitro* toxicity of iron oxide nanoparticles coated with Poly(vinyl alcohol)[J]. *J Phys Chem C*, 2009, 113(6): 2322-2331.

(责任编辑 吴晓丽)