

磁性铁纳米材料的细胞学效应和膜转运机制

王璐^{1,2} 相法伟³ 韩玉萍^{1,4} 汪婷^{1,3} 王坤¹ 王文锋¹ 陈楠¹

¹ (中国科学院上海应用物理研究所 物理生物学成像中心上海同步成像光源 张江园区 上海 201204)

² (中国科学院大学 北京 100049) ³ (潍坊市人民医院放射科 潍坊 261000)

⁴ (四川大学生命科学学院 成都 610064)

摘要 总结和讨论了针对 Fe_3O_4 纳米颗粒的生物相容性、细胞内吞和转运过程及其自身酶活性对自噬和细胞代谢的研究, 对于磁性纳米材料在体内抗氧化、自噬调控、疾病和辐射治疗等相关研究具有重要的参考和启发意义。

关键词 磁性铁纳米材料, Fe_3O_4 纳米颗粒, 模拟酶效应, 自噬, 细胞内吞

中图分类号 O611, Q291

DOI: 10.11889/j.1000-3436.2016.rj.34.050101

Cellular effects and membrane trafficking of magnetic iron nanoparticles

WANG Lu^{1,2} XIANG Fawei³ HAN Yuping^{1,4} WANG Ting^{1,3}

WANG Kun¹ WANG Wenfeng¹ CHEN Nan¹

¹(Division of Physical Biology and Bioimaging Center, Shanghai Synchrotron Radiation Facility, Shanghai Institute of Applied Physics, Chinese Academy of Sciences, Zhangjiang Campus, Shanghai 201204, China)

²(University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

³(Radiology Department, Weifang People's Hospital, Weifang 261000, China)

⁴(School of Life Science, Sichuan University, Chengdu 610064, China)

ABSTRACT Research progress on biocompatibility, endocytosis and intracellular trafficking, as well as their intrinsic enzymatic activity-related cellular effects of magnetic iron nanoparticles (Fe_3O_4 NPs) were summarized. These comprehensive researches provide valuable insights for anti-oxidation, autophagy regulation, theranostics, radiation treatment and other biomedical applications of magnetic iron nanoparticles.

KEYWORDS Magnetic iron nanoparticles, Fe_3O_4 NPs, Enzyme-like activity, Autophagy, Endocytosis

CLC O611, Q291

磁性铁纳米材料具有独特的性质和功能, 因而得到了纳米研究和技术领域的普遍关注。磁性存储、分离纯化、核磁成像和热疗等技术已经被应用于音像制品生产、生化分析和医学临床等领域。以 Fe_3O_4

基金资助: 国家重大科学研究计划(No.U1332119、No.31371015、No.31470970)资助

第一作者: 王璐, 女, 1988年6月出生, 2013年于四川大学获硕士学位, 现为中国科学院上海应用物理研究所博士研究生, 研究领域为纳米生物学, E-mail: lwangsinap@163.com

通讯作者: 陈楠, 博士, 研究员, E-mail: chennan@sinap.ac.cn

收稿日期: 收稿 2016-04-26

Supported by National Natural Science Foundation of China (No.U1332119, No.31371015, and No.31470970)

First author: WANG Lu (female) was born in June 1988 and received her master degree from Sichuan University in 2013. Now she is a doctor candidate in Shanghai Institute of Applied Physics, Chinese Academy of Sciences, majoring in nanobiology. E-mail: lwangsinap@163.com

Corresponding author: Ph.D. CHEN Nan, professor, E-mail: chennan@sinap.ac.cn

Received and accepted 26 April 2016

纳米颗粒为代表的磁性铁纳米材料普遍具有良好的生物相容性,能够与生物体系发生长时间的相互作用。随着相关研究的深入,磁性铁纳米材料的细胞摄取、 Fe_3O_4 的模拟酶活性及自噬诱导等生物学效应逐渐被发现和报道,进一步扩展了其在神经退行性疾病和放射治疗中潜在的应用价值。纳米材料和纳米技术已经渗透到人类生活的各个方面,并扮演着越来越重要的角色^[1-3]。磁性铁纳米材料在整个纳米材料家族中的地位举足轻重,其相关的应用涉及了多个领域,发展前景广阔。磁性铁纳米材料的种类繁多,自然界中就存在氧化态的单金属铁和铁与其它元素形成的二元金属结构^[4-5]。目前,已经为人类所知的磁性纳米材料按照其自身性质和应用范围的不同可以分为3类:(1)常规型。该种类型的磁性纳米颗粒多为自然状态下形成,呈现纳米颗粒的形态,例如 Fe_3O_4 纳米颗粒。另一方面,具有超顺磁性的纳米颗粒诸如(Superparamagnetic iron oxide, SPIO)等,其潜在的应用性已经得到了广泛的关注。(2)人工合成的纳米结构形态。人类出于自身需求而合成的纳米微晶结构或者膜状结构。例如,在 Fe 基中添加少量 Cu 和 Nb 等元素,能够合成具有高磁通密度的磁性纳米晶体,并能够运用于影像资料存储和电器元件制造等领域^[6-7]。(3)矿化磁性纳米材料。Fe 元素在自然界的矿化效应较为常见,且 Fe 元素在矿化过程中与其它化合物相互融合形成具有磁性效应的纳米矿化晶体。例如,某些具有趋磁效应的细菌能够在代谢过程中将含有铁元素的纳米颗粒进行矿化,形成矿化晶体。

由于不同磁性铁纳米材料的天然蕴藏状态和理化性质存在较大差异,其磁效应也各不相同。在对于不同种类磁性铁纳米材料长期的认知过程中,人们逐步明确了其相关性质,并将之应用于相关的研究和生产领域。在以往的研究实践中,人们对于磁性铁纳米材料的关注范围往往局限于工业化生产和应用。例如, CoFe_2O_4 的磁化度高,稳定性好,目前主要应用于存储原件和音像制品的制造; FeS 在实际检验中表现出对 H_2O_2 较强的催化能力,并已应用于极低浓度 H_2O_2 的电化学检测; $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ 磁性较差,但其在高温和极端酸碱条件下具有极强的稳定性,已被应用于工业废水的无害化处理^[7-11]。

随着纳米科学和相关技术的不断发展,磁性铁纳米材料的功能和潜在用途正在不断拓展,尤其在生物医药领域引起了研究者的广泛关注。例如,

磁性铁纳米颗粒的磁热效应已经应用于临床,在肿瘤治疗方面取得了显著的效果^[12-13]。而超顺磁铁纳米颗粒则被证明不仅具有药物载体的性质,还能够作为外源基因的载体^[14-16]。除此之外,近年来,对于多种磁性铁纳米材料所表现出的模拟酶性质,也有大量的相关报道予以论述^[17-18]。

Fe_3O_4 纳米颗粒是自然界中最常见的磁性铁纳米材料,其性质稳定,分布广泛,易于开采,并且具有悠久的应用历史。因此,人们在具体的实践中积累了丰富的对于 Fe_3O_4 纳米颗粒的认知。目前,已经有多种成熟的工艺流程应用于 Fe_3O_4 纳米颗粒的制备和纯化之中,并由此获得一系列粒径均一的 Fe_3O_4 纳米颗粒^[19-22]。由于 Fe_3O_4 纳米颗粒的良好生物相容性,其在细胞乃至整个生物体内的效应和功能成为研究者关注的焦点。因此,研究人员对于 Fe_3O_4 纳米颗粒的认知较其它磁性纳米颗粒更为全面和深刻。在本文中,我们将介绍磁性铁纳米材料的独特性质,并以 Fe_3O_4 纳米颗粒为代表,对其生物学效应和细胞膜转运过程和机制进行阐述,并对 Fe_3O_4 纳米颗粒目前在生物医药领域的应用探索进行总结。

1 磁性铁纳米材料的理化性质

较之于其它纳米材料,磁性纳米材料因其独特的磁性效应,易于在外界磁场的作用下发生聚集和沉淀。因此,磁性纳米材料易于分离和纯化^[23-25]。Cui 等^[26-28]利用这种性质将磁珠表面修饰纳米金,利用纳米金与抗体蛋白的共轭效应,首先实现了与细胞表面特殊抗原的互作,并在此基础上成功分离了 CD_3 细胞。除此之外,磁性纳米材料还具有诸如磁热效应、超顺磁效应、模拟酶效应等特征,并已应用于实践中。某些特殊粒径的磁性纳米颗粒能够在一定的温度范围内(高于居里点)表现出具有波动性的磁效应,即超顺磁性(图 1(a))^[29-30]。Yu 等^[31]利用超顺磁性氧化铁纳米颗粒在不同温度下磁性不同的性质发展了基于此种原理的生物体内温度热成像方式。近年来,研究者围绕着 Fe_3O_4 纳米颗粒的细胞相容性、模拟酶效应、细胞摄取与转运以及其在生物医药方面的潜在应用性展开了一系列具有高度前瞻性的研究,并且取得丰硕的成果^[32-34]。这些研究不仅使得生物酶家族增添了新的成员,而且进一步明确了特定纳米材料对细胞内氧化还原作用的机制。此外,磁性纳米颗粒在外界交替变化的磁

场干涉下, 由于弛豫损耗而吸收感应电磁波的辐射能量继而转化产生热效应, 这一现象被称为磁热效应(图 1(b))^[35-36]。研究表明, Fe_3O_4 和 $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ 纳米颗粒会在外界磁场作用下产生较为明显的磁热效应。

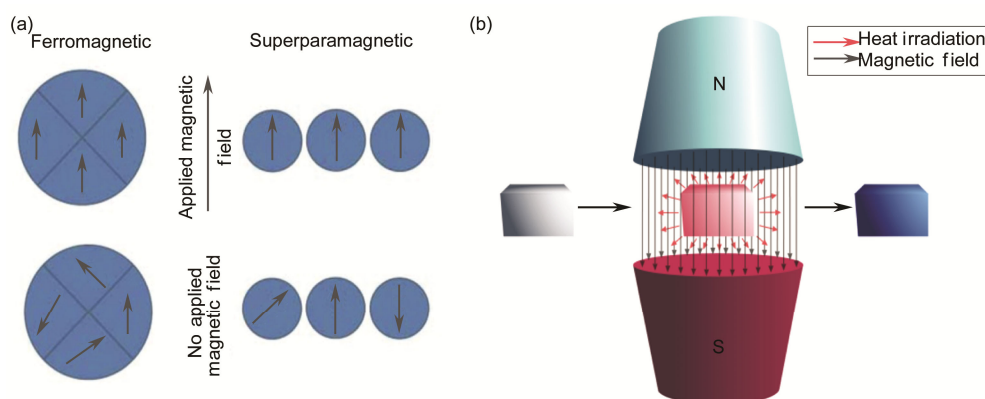


图 1 磁性铁纳米材料的特殊理化性质: (a)超顺磁性^[30], (b)磁热效应^[35]

Fig.1 Special physicochemical properties of magnetic iron nanoparticles
(a) superparamagnetism^[30], (b) magnetothermal effect^[35]

2 磁性铁纳米材料的细胞学效应

纳米材料的生物相容性往往与材料本身的性质密切相关。材料的物理性质包括尺寸、形状和表面修饰等, 对其细胞摄取和效应有着至关重要的影响。而近年来的研究表明, 多种磁性纳米材料自身具有模拟酶性质, 因此, 考察其细胞相容性时, 不应忽视其模拟酶特性在生物体系中所起的作用。

模拟酶是一类具有某些生物酶催化性质的非蛋白类化合物, 具有对于某一种或某一类物质的高效、稳定催化活性^[38]。模拟酶可以是高分子化合物, 也可以是物质构成相对简单的无机物^[39-42]。目前的研究表明, Fe_3O_4 、 $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ 、 FeS 、 CoFe_2O_4 等磁性铁纳米材料均具有较显著和稳定的过氧化物酶活性, 能够在一定条件下催化环境中的 H_2O_2 分解^[43-44]。目前, 针对磁性纳米材料模拟酶性质的研究已经从体外扩展至体内, 并在细胞和个体两个层面都取得了重要的成果^[45]。 Fe_3O_4 纳米颗粒作为磁性铁纳米颗粒的典型代表, 其与细胞、生物体相互作用的过程和机理均得到了较为深入的研究。

2.1 Fe_3O_4 纳米颗粒的细胞相容性

大量研究表明, 纳米材料的细胞毒性除与材料本身性质相关外, 还与材料本身的粒径关系密切。 Fe_3O_4 纳米颗粒的粒径分布从几纳米到几百纳米不等, 其生物相容性也不尽相同。Zhao 等^[46]和

Samanta 等^[37]利用这一热性质作用于肿瘤细胞, 发现肿瘤细胞在吞噬了 Fe_3O_4 磁性纳米颗粒后, 由于磁热效应而出现了显著的细胞凋亡。这一研究结果为治疗癌症提供了积极的思路。

Ankamwar 等^[47]对 Fe_3O_4 纳米颗粒的粒径与细胞毒性之间的关系进行了对比后发现, Fe_3O_4 纳米颗粒是一种在较大范围粒径尺度内具有良好细胞相容性的磁性铁纳米材料。尽管如此, Fe_3O_4 纳米颗粒的细胞毒性也随着平均粒径的减小而逐渐上升, 这也是一般的纳米材料所共有的毒性特征^[47]。此外, Ge 等^[48]对不同浓度条件下 Fe_3O_4 纳米颗粒的细胞毒性进行了检测。结果显示, 在 $200\text{ }\mu\text{g/mL}$ 浓度范围内, 平均粒径为 20 nm 的 Fe_3O_4 纳米颗粒均没有明显的细胞毒性。因此, Fe_3O_4 纳米颗粒的生物相容性良好, 而这种良好的细胞相容性也决定了其能够作为一种功能化分子参与多种细胞内效应。

有研究认为^[49-50], Fe_3O_4 分子中的 Fe 存在+2 价和+3 价两种价态, 这种价态分布使电子能在 Fe 原子间自由传递, 从而对于细胞内的氧化还原反应具有一定的缓冲性, 这种缓冲效应是平衡细胞内氧化应激水平的因素之一, 也是形成 Fe_3O_4 纳米颗粒的良好细胞相容性的前提。而在 CoFe_2O_4 、 MnFe_2O_4 等磁性纳米颗粒中, Fe 原子的价态为+3 价, 仅具有氧化性, 因而表现出较为明显的细胞毒性。

Chen 等^[51]则从 Fe_3O_4 纳米颗粒的模拟酶性质入手, 探讨了 Fe_3O_4 纳米颗粒在不同条件下的细胞相容性。 Fe_3O_4 纳米颗粒在不同 pH 值环境下表现出不同的模拟酶性质。酸性环境下, Fe_3O_4 纳米颗粒呈现过氧化物酶活性(图 2(a))。He 等^[52]研究了 Fe_3O_4 纳米颗粒在不同细胞状态下所呈现的模拟酶差异

性。当 Fe_3O_4 纳米颗粒所处的细胞内环境为酸性时, Fe_3O_4 纳米颗粒能够催化细胞内的 H_2O_2 分解产生 $\cdot\text{OH}$, 造成细胞内活性氧簇(Reaction oxygen species, ROS)水平上升, 继而引发细胞凋亡。而当细胞内环境为中性时, Fe_3O_4 纳米颗粒则表现出过氧化氢酶的活性, 将 H_2O_2 分解为 H_2O , 从而降低了细胞内的氧化应激水平, 维持了细胞的正常生理状态。

利用这种性质, 研究者探究和验证了模拟酶一系列相关的体内效应。Zhang 等^[45]发现, 摄入细胞内的 Fe_3O_4 纳米颗粒(20 nm)在一定剂量范围内能显

著降低由 H_2O_2 或神经毒素诱导的 ROS 水平上升和细胞凋亡(图 2(b))。同时, 摄入含 Fe_3O_4 纳米颗粒的食物能显著改善阿尔茨海默氏症果蝇模型的症状。该模型在果蝇神经系统中过量表达人的 Abeta 蛋白, 虽然不影响果蝇的发育, 但会导致成年果蝇逐渐丧失行动能力和过早死亡(图 2(c))。这项研究表明, Fe_3O_4 纳米颗粒能够缓解由外界刺激、衰老或基因功能异常造成的氧化应激, 在对抗代谢性疾病、神经退行性疾病和衰老方面有潜在的治疗用途。

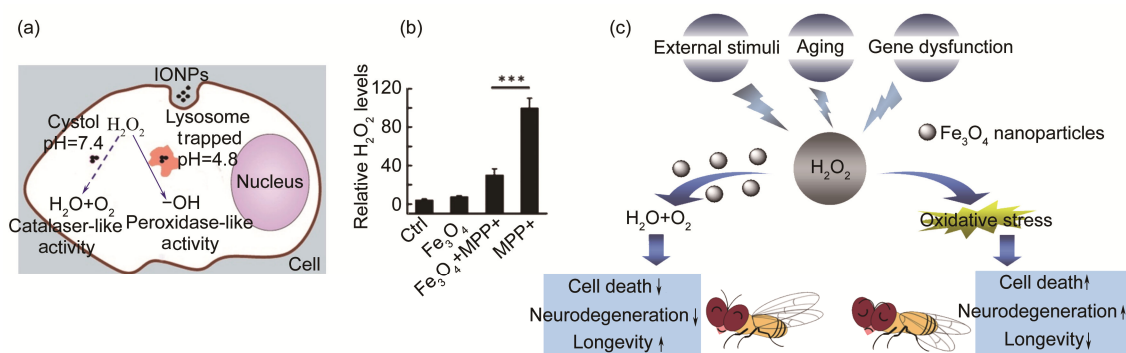


图2 Fe_3O_4 纳米颗粒的模拟酶性质
(a)双酶活性性质^[51], (b) Fe_3O_4 纳米颗粒在细胞内的过氧化氢酶性质^[45], (c) Fe_3O_4 纳米颗粒对神经退行性疾病的缓解效应^[45]
Fig.2 Enzyme mimetic activity of Fe_3O_4 NPs
(a) dual enzyme-like activity^[51], (b) catalase-like activity of Fe_3O_4 NPs in cells^[45], (c) protection against neurodegeneration^[45]

2.2 Fe_3O_4 纳米颗粒对细胞自噬效应的诱导

细胞自噬是细胞质中的膜结构包裹部分衰老, 有一定细胞毒性的胞质以及细胞器、蛋白质等形成自噬小体, 而后通过与内体、溶酶体融合形成自噬溶酶体, 进而将内容物降解的过程。自噬是细胞通过自我调节, 维持代谢稳定的重要过程^[53-55]。通过自噬现象, 细胞能够及时清除代谢产物, 并且形成了自身组成物质的循环再利用。

随着研究的进一步深入, 自噬效应的另一个方面也逐渐被人们所认识。适当的自噬是细胞调节自身代谢的重要方式, 但是细胞在某些状态下的过度自噬则可能会引起细胞的程序性死亡^[56-57]。Suzuki 等^[56]发现, 饥饿等非正常状态下的细胞通常会采取强烈自噬的方式完成营养物质的代偿性补给。而这种自噬效应的持续能够导致细胞在自身营养完全耗尽的情况下启动程序性死亡机制。因此, 越来越多的研究者认为, 自噬效应是自我代谢过程中发展出的“一把双刃剑”^[58-60]。研究证明, 多种纳米材料都能引起细胞不同程度的自噬效应, 某些甚至能够

引起细胞的自噬性死亡^[61-62]。

本课题组发现, Fe_3O_4 纳米颗粒随着细胞内化作用在 PC12 细胞内逐渐富集和分散, 其对于 PC12 细胞具有的自噬诱导效应也随之逐步体现。这种诱导效应具有浓度依赖性和时间依赖性。即不同浓度的 Fe_3O_4 纳米颗粒对于 PC12 细胞的自噬诱导效果, 具体表现为代表自噬水平的 LC-3II 型蛋白在不同浓度的 Fe_3O_4 纳米颗粒诱导下, 表达水平存在显著性差异。具体而言, 经过 48 h 的诱导, 一定浓度的 Fe_3O_4 纳米颗粒能够显著诱导 LC-3II 型蛋白的表达, 而在 24 h 则无显著的细胞自噬效应。这说明 Fe_3O_4 纳米颗粒对细胞自噬的诱导是一个缓慢、累积的过程。与此同时, Khan 等^[61]则报道了 $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ 纳米颗粒通过引发细胞内 ROS 水平的上升, 继而在 24 h 内诱导了细胞自噬。我们认为, $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ 纳米颗粒不具有磁性效应, 更不具有模拟酶的性质, 无法在细胞内进行酶活反应; 而 Fe_3O_4 纳米颗粒则能在细胞内发挥过氧化氢酶性质。两种纳米颗粒在这种性质方面的差异是否是诱导自噬差异性的重要原因呢? 对此, 本研究组从 $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ 纳米颗粒和 Fe_3O_4

纳米颗粒在细胞内化后的自噬诱导效应入手，进行了一系列的对比性工作。

我们经过对比性实验发现，细胞内过量的 ROS 不仅是造成细胞内环境氧化应激压力升高的因子，也是引起细胞过度自噬的重要原因。不具有模拟酶效应的 Fe_2O_3 纳米颗粒通过引发细胞内 ROS 的迅速积累而导致高强度的自噬，不仅使细胞的内环境在短时间内发生了剧烈的变化，也对细胞的呼吸代谢造成了不可逆转的损伤，最终导致细胞凋亡。因此， $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ 纳米颗粒所代表的诱导自噬材料不具备维持细胞内环境平衡与稳定的功能。其对于细胞自噬的诱导始终处于“超负荷”状态，由此产生了显著的且不可逆转的细胞程序性死亡。比较而言， Fe_3O_4 纳米颗粒则基于其细胞内的模拟酶性质分解了部分细胞内的 H_2O_2 ，从而延缓了 ROS 的积累，在一定程度上延迟和抑制了细胞自噬的诱导条件，因而降低了细胞自噬的程度，使细胞处于一个相对平缓的状态（图 3）。因此，细胞内的 ROS 浓度在短时间内无法迅速上升，造成了其对自噬的缓慢诱导效应。由此可见， Fe_3O_4 纳米颗粒基于模拟酶性质的自噬诱导效应是保证细胞内在性稳定的因素之一，也是其良好细胞相容性的重要体现。本项工作将磁性纳米颗粒的模拟酶性质与其对自噬的诱导效应结合，从酶促反应的角度阐述了纳米材料诱导自噬的机制，首次明确了具有模拟酶性质的纳米材料对自噬诱导的特殊性。这对于进一步研究纳米材料与细胞的相互作用具有重要意义。

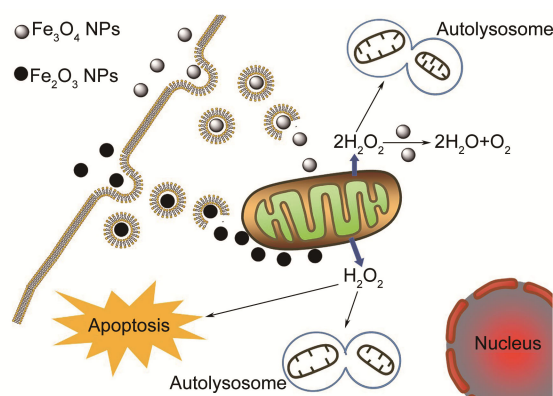


图 3 Fe_3O_4 纳米颗粒基于模拟酶性质的自噬诱导效应
Fig.3 Autophagy induction of Fe_3O_4 NPs based on enzyme mimetic activity

2.3 Fe_3O_4 纳米颗粒在肿瘤放射治疗中的作用

放射治疗是临床上应对恶性肿瘤快速扩增的重要手段。但是，放射治疗缺乏靶向性，使得正常机

体细胞在治疗过程中大量死亡，因而形成无法避免的副作用^[62]。王伟鹏等^[63]研究发现，放射治疗后正常细胞内 ROS 显著升高，这可能是导致细胞凋亡的主要原因。另一方面，肿瘤细胞内的 pH 值明显低于正常细胞，即肿瘤细胞内环境为酸性^[64]。因此，我们认为，利用 Fe_3O_4 纳米颗粒在不同 pH 值环境下的不同酶活性，可以达到同时诱导肿瘤细胞凋亡并降低正常细胞内氧化应激效应的目的。即 Fe_3O_4 纳米颗粒在肿瘤细胞中表现为过氧化物酶活性，能够进一步催化产生更多 ROS，由此诱导细胞凋亡；而在正常细胞中则表现为过氧化氢酶活性，能够降低细胞内氧化应激压力，维持细胞生理状态。因此，将 Fe_3O_4 纳米颗粒与放疗联用，可有效降低放疗的副作用，并提高疗效。

3 磁性铁纳米颗粒的膜转运过程

在研究纳米材料与细胞相互作用的过程中，一个问题始终无法回避，即细胞对于纳米材料的细胞内吞和胞内转运过程以及相关的机制。纳米材料首先要通过细胞的内吞作用进入细胞，进而产生细胞学效应。而纳米材料在细胞内往往被膜结构包裹，形成一些囊泡，在不同的亚细胞结构间进行运输。这一过程统称为纳米材料的细胞膜转运过程。对于膜转运过程的研究至关重要，作为一种重要的物质跨膜运输方式，膜转运的过程和调控很大程度上决定了纳米材料的细胞学命运和效应。2013 年诺贝尔生理学 and 医学奖就授予了在“揭开细胞内的物质运输机制”方面做出贡献的 3 位科学家。近年来研究人员也对包括磁性铁纳米材料在内的多种材料的膜转运过程进行了多角度的分析和研究。细胞摄取磁性铁纳米材料的过程包括纳米颗粒与细胞的粘附、跨膜转运以及胞内分布等过程^[65-66]。在这一完整的过程中，细胞自身的膜体系以及代谢过程也随之发生了变化。因此，研究转运过程之中磁性纳米材料与细胞之间的相互作用有助于研究者充分认识转运过程中每个环节的特点，继而有针对性地设计具有靶向性、安全性、便捷性的基于磁性铁纳米材料的细胞内运输体系，为智能性纳米药物的研发做出有益的探索。

Xu 等^[66]研究发现，大量纳米颗粒能够通过细胞膜内吞作用跨膜吸收。对纳米材料内吞作用的研究一般认为，纳米颗粒被细胞内吞的第一步是其被细胞的识别，并附着在细胞膜上。在这一过程之中，

附着纳米颗粒的细胞膜内陷形成囊状结构,而纳米颗粒就被包围在囊状结构之中。随之,包含有纳米颗粒的囊状结构从细胞膜上分离形成小泡,继而进入细胞内部。这一事件的结束标志着纳米颗粒完成细胞内的转运(图4(a))^[67]。由于囊状结构的形成是耗能过程,因此,这一过程涉及了细胞的能量代谢。在细胞膜表面,网格蛋白、小窝蛋白等参与了不同形式的介导。网格蛋白是细胞形成囊泡的重要组成部分,在其介导 Fe_3O_4 纳米颗粒转运的过程中需要衔接蛋白的牵引作用 Fe_3O_4 以及含有 GTP 酶的动力蛋白的协同^[66]。Schuler 等^[68]针对这一协同效应进行了较为完整的阐述,并使用阻断方法对不同蛋白的作用进行了验证。

研究表明, Fe_3O_4 纳米颗粒等磁性铁纳米材料可进入内皮细胞和肠上皮细胞中,甚至能够通过血脑屏障进入脑组织中。因此,对于磁性纳米颗粒在细胞内转运过程的研究具有重要的意义。Ma 等^[69]研究人肺腺癌细胞(SPC-A1)对 Fe_3O_4 纳米颗粒转运过程时发现, Fe_3O_4 纳米颗粒在内吞过程中,网格蛋白参与了 SPC-A1 细胞质膜上受体与配体的特异性结合。经过网格蛋白的装配作用,质膜逐渐形成了具有牵动效应的机械力。在机械力的不断作用下,质膜出现凹陷型小窝,以此捕获膜上的 Fe_3O_4 纳米颗粒。而 Huang 等^[70]进一步的研究表明,这种内化过程的实现与 Fe_3O_4 纳米颗粒本身的粒径存在密切的关联。即细胞对于 Fe_3O_4 纳米颗粒的内化存在一个最适的粒径范围。小于或者大于这个粒径范围, Fe_3O_4 纳米颗粒的内化过程都会出现降低的趋势。Chithrani 等^[71]在进一步的研究中指出,包括 Fe_3O_4 纳米颗粒在内的多种纳米颗粒在不同的粒径尺度范

围内与细胞膜上识别受体的结合效力存在显著的差别。这种差异性影响了膜转运体系的转运效力,造成纳米颗粒的内化过程的显著差异性。

另一方面,研究着重于纳米颗粒电荷性与转运之间的关系。大量研究表明,纳米颗粒的表面电荷性质与其在细胞中的转运具有密切联系^[72]。由于细胞膜自身的极性性质,其对于电负性的纳米颗粒具有较高的互作频率。Calatayud 等^[73]通过对比性实验证明,表面电负性的 Fe_3O_4 纳米颗粒能够更为容易地通过细胞膜的转运过程完成内化。在这一过程中,细胞膜表面的正电荷区域对于电负性纳米颗粒形成了较为定向性的吸引,从而造成了纳米颗粒的聚集,增大了与细胞相互作用的概率。基于这种实验结果, Yang 等^[74]设计了基于 Fe_3O_4 和石墨烯纳米颗粒偶联的纳米空心球状结构,进一步改善了纳米材料的表面电荷性质,能够对某些不易进入细胞的小分子进行有效的载带。

纳米颗粒所具有蛋白吸附效应使其可以通过表面修饰的方式进一步提高与细胞相互作用的效率,并且在一定程度上改变细胞对磁性铁纳米颗粒的摄取方式^[75]。例如,当磁性铁纳米颗粒进入血液等蛋白环境中时,纳米颗粒周围的蛋白分子能够与纳米颗粒互作,并最终对纳米颗粒形成包裹。而经过包裹后的纳米材料不能直接与细胞膜表面发生接触,转而变为包裹蛋白与细胞的相互作用^[37]。利用这一现象,研究者设计了多种对磁性纳米颗粒的表面修饰,以此达到更好的细胞识别效应。如 Jiang 等^[76]将 Fe_3O_4 纳米颗粒的表面修饰了叶酸分子,依靠细胞表面叶酸受体蛋白对叶酸分子的识别和结合完成了 Fe_3O_4 纳米颗粒的细胞内化过程(图4(b))。

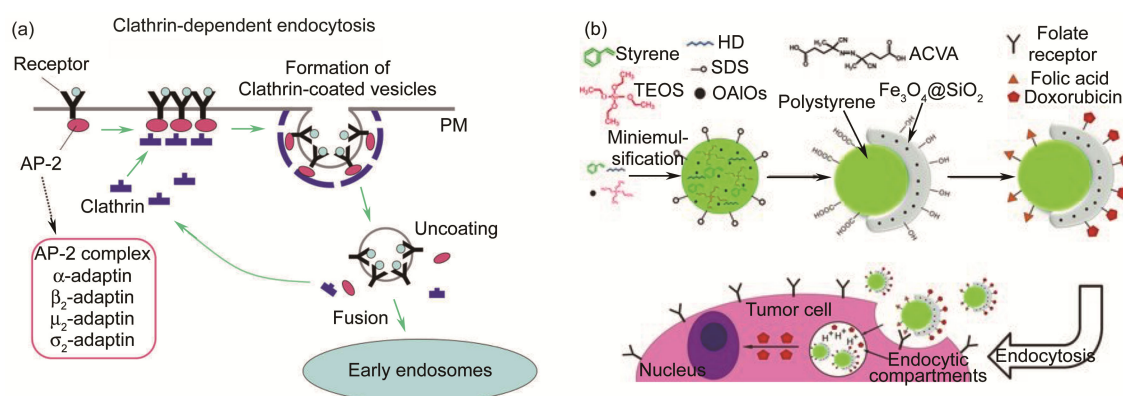


图4 纳米颗粒在细胞中的内吞和转运
(a)网格蛋白介导的内吞过程^[64], (b) Fe_3O_4 纳米颗粒识别叶酸分子后的转运过程^[75]

Fig.4 Endocytosis and intracellular transport of nanoparticles
(a) clathrin-mediated endocytosis^[64], (b) transportation of Fe_3O_4 NPs on recognition of folic acid^[75]

4 磁性铁纳米颗粒的膜转运过程

以 Fe_3O_4 纳米颗粒为代表的磁性铁纳米材料具有的优越的生物兼容性和多种细胞学效应使得磁性铁纳米材料在生物医学领域取得了广泛的应用。磁性铁纳米材料所具有的磁性以及酶活性已经使这一类纳米颗粒成为公认的功能性纳米粒子，其应用的范围也会随着其潜在性质的不断挖掘而不断延伸。

4.1 磁性铁纳米材料基于磁热性质的抗肿瘤效应

Hirsch 等^[12]将超顺磁 Fe_3O_4 纳米材料置于电磁场中，利用电磁场方向不断变化的原理，使超顺磁 Fe_3O_4 纳米接收到来自于外界磁场的磁感热，继而以热效应促进病态细胞和肿瘤细胞的凋亡。由于肿瘤细胞对温度具有较强的敏感性，Zhang 等^[77]改进和提高了超顺磁纳米颗粒的传热方式，以阳离子脂质体和葡聚糖包裹超顺磁纳米颗粒，实现细胞的摄取。这种复合型的超顺磁纳米颗粒能够增强自身对热辐射的吸收，从而提高了肿瘤细胞内环境的温度，加剧了细胞的凋亡。该方法的主要优势在于，肿瘤细胞对于高温的低耐受性导致了其在热辐射后率先出现凋亡，而正常细胞则保持了良好的状态。因此，这种方法具有显著的治疗靶向性。

4.2 磁性铁纳米材料的靶向药物输送

在外加磁场的作用下，磁性铁纳米材料能够偶联目标药物分子，并实现细胞内的靶向性投送。Chen 等^[78]将 Fe_3O_4 纳米颗粒结合抗癌药物 Doxorubicin，成功实现了药物分子的细胞摄取和细胞内的靶向性分布。在这种策略下，肿瘤细胞的成活率显著下降。由于 Fe_3O_4 纳米颗粒本身不具有抗肿瘤效应和明显的细胞毒性，因此，可以认为肿瘤细胞在该策略下凋亡显著上升的原因完全在于抗肿瘤药物本身靶向性的提升。此外， Fe_3O_4 纳米颗粒的生产成本和药物偶联成本均较低，因此，以 Fe_3O_4 纳米颗粒为载体的复合型、靶向性抗肿瘤药物的生产成本不会有明显提升。

4.3 磁性铁纳米材料在医学检验中的应用

磁性纳米颗粒作为造影剂运用于核磁共振检测的相关技术已经非常成熟。而且，超顺磁纳米材料所具有的良好质子弛豫现象也为其作为新型的造影剂提供了先决条件^[79]。Polito 等^[80]通过相关研究表

明，由超顺磁纳米材料组成的造影剂能够显著提升正常组织和病患组织之间的视觉对比度，能够更好地指导医务人员对患者病情的评估与判断。因此，使用超顺磁纳米颗粒作为造影剂，能够降低患者的摄入量，进一步减轻医疗药剂对患者身体的影响。目前，已经报道出多种超顺磁纳米探针，在临床中的潜在应用性是非常值得期待的^[81-82]。近些年来，随着 Fe_3O_4 纳米颗粒等磁性材料所具有的良好细胞相容性被大量研究证明，其运用于临床检验的时机也越发成熟。

结合以上的论述可知，以 Fe_3O_4 纳米颗粒为代表的磁性铁纳米颗粒在细胞乃至整个生物体内具有非常广阔的潜在应用价值。因此，针对这一种类纳米材料潜在功能性的研究和开发也将是功能性纳米材料发展的重要方向。

5 总结与展望

以 Fe_3O_4 纳米颗粒为代表的磁性铁纳米材料所具有的超顺磁性和磁热效应已经在生物体系内得到应用，并已作为治疗相关疾病的重要发展方向。而其具有的模拟酶性质以及由此衍生的 Fe_3O_4 纳米颗粒在细胞内外双酶活性特性得到了越来越多的关注。并且，磁性纳米材料的模拟酶性质以及相关的抗氧化、抗衰老功能仍值得探索。磁性铁纳米材料引发的细胞内的自噬效应具有显著的特征性。对于相关诱导机制的进一步研究将会不断揭示模拟酶在细胞内的催化效应与细胞代谢之间的相互关系。

在辐射生物学和辐射化学领域， Fe_3O_4 纳米颗粒有望大幅度提高放射疗法的治疗效果，并显著降低其副作用。因此， Fe_3O_4 纳米颗粒在辐射生物学中的应用将得以持续的关注。此外，不同形状、粒径和分子组成的磁性铁纳米材料在细胞中的内化和转运方式也是研究者关注的焦点。针对磁性铁纳米材料转运过程、方式、特点的研究对于设计新型纳米靶向性药物具有重要的理论和指导意义。

参考文献

- 1 Chen X, Mao S S. Titanium dioxide nanomaterials: Synthesis, properties, modifications, and applications[J]. Chemical Reviews, 2007, 107(7): 2891-2959. DOI: 10.1021/cr0500535.
- 2 Sanchez C, Belleville P, Popall M, et al. Applications of advanced hybrid organic-inorganic nanomaterials: from

- laboratory to market[J]. Chemical Society Reviews, 2011, **40**(2): 696-753. DOI: 10.1039/c0cs00136h.
- 3 Barreto J A, O'malley W, Kubeil M, *et al.* Nanomaterials: applications in cancer imaging and therapy[J]. Advanced Materials, 2011, **23**(12): H18-H40. DOI: 10.1002/adma.201100140.
- 4 Hu L, Zhang R, Chen Q. Synthesis and assembly of nanomaterials under magnetic fields[J]. Nanoscale, 2014, **6**(23): 14064-14105. DOI: 10.1039/c4nr05108d.
- 5 Rossi L M, Costa N J S, Silva F P, *et al.* Magnetic nanomaterials in catalysis: advanced catalysts for magnetic separation and beyond[J]. Green Chemistry, 2014, **16**(6): 2906-2933. DOI: 10.1039/c4gc00164h.
- 6 He S, Shi W, Zhang X, *et al.* Beta-cyclodextrins-based inclusion complexes of CoFe₂O₄ magnetic nanoparticles as catalyst for the luminol chemiluminescence system and their applications in hydrogen peroxide detection[J]. Talanta, 2010, **82**(1): 377-383. DOI: 10.1016/j.talanta.2010.04.055.
- 7 Ren S, Zhao X, Chen R, *et al.* A facile synthesis of encapsulated CoFe₂O₄ into carbon nanofibres and its application as conversion anodes for lithium ion batteries[J]. Journal of Power Sources, 2014, **260**: 205-210. DOI: 10.1016/j.jpowsour.2014.03.012.
- 8 Kim E J, Kim J H, Azad A M, *et al.* Facile synthesis and characterization of Fe/FeS nanoparticles for environmental applications[J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2011, **3**(5): 1457-1462. DOI: 10.1021/am200016v.
- 9 Perrillat J P, Mezouar M, Garbarino G, *et al.* In situ viscometry of high-pressure melts in the Paris-Edinburgh cell: application to liquid FeS[J]. High Pressure Research, 2010, **30**(3): 415-423. DOI: 10.1080/08957959.2010.494844.
- 10 Kim T, Sharp A, Guo B. Effect of synthesis condition and annealing on the sensitivity and stability of gas sensors made of Zn-doped gamma-Fe₂O₃ particles[J]. Korean Journal of Chemical Engineering, 2010, **27**(3): 1003-1009. DOI: 10.1007/s11814-010-0154-2.
- 11 Erathodiyil N, Ying J Y. Functionalization of inorganic nanoparticles for bioimaging applications[J]. Accounts of Chemical Research, 2011, **44**(10): 925-935. DOI: 10.1021/ar2000327.
- 12 Hirsch L R, Stafford R J, Bankson J A, *et al.* Nanoshell-mediated near-infrared thermal therapy of tumors under magnetic resonance guidance[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2003, **100**(23): 13549-13554. DOI: 10.1073/pnas.2232479100.
- 13 Cheng F. Characterization of aqueous dispersions of Fe₃O₄ nanoparticles and their biomedical applications[J]. Biomaterials, 2005, **26**(7): 729-738. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2004.03.016.
- 14 Scherer F, Anton M, Schillinger U, *et al.* Magnetofection: enhancing and targeting gene delivery by magnetic force *in vitro* and *in vivo*[J]. Gene Therapy, 2002, **9**(2): 102-109. DOI: 10.1038/sj/gt/3301624.
- 15 Dobson J. Gene therapy progress and prospects: magnetic nanoparticle-based gene delivery[J]. Gene Therapy, 2006, **13**(4): 283-287. DOI: 10.1038/sj.gt.3302720.
- 16 McBain S C, Yiu H H, Dobson J. Magnetic nanoparticles for gene and drug delivery[J]. International Journal of Nanomedicine, 2008, **3**(2): 169-180.
- 17 Bhuyan D, Arbuj S S, Saikia L. Template-free synthesis of Fe₃O₄ nanorod bundles and their highly efficient peroxidase mimetic activity for the degradation of organic dye pollutants with H₂O₂[J]. New Journal of Chemistry, 2015, **39**(10): 7759-7762. DOI: 10.1039/c5nj01918d.
- 18 Lee J W, Jeon H J, Shin H J, *et al.* Superparamagnetic Fe₃O₄ nanoparticles-carbon nitride nanotube hybrids for highly efficient peroxidase mimetic catalysts[J]. Chemical Communications, 2012, **48**(3): 422-424. DOI: 10.1039/c1cc15725f.
- 19 Kang Y S, Risbud S, Rabolt J F, *et al.* Synthesis and characterization of nanometer-size Fe₃O₄ and gamma-Fe₂O₃ particles[J]. Chemistry of Materials, 1996, **8**(9): 2209-2211. DOI: 10.1021/cm960157j.
- 20 Zhang D H, Liu Z Q, Han S, *et al.* Magnetite (Fe₃O₄) core-shell nanowires: synthesis and magnetoresistance[J]. Nano Letters, 2004, **4**(11): 2151-2155. DOI: 10.1021/nl048758u.
- 21 Muraliganth T, Murugan A V, Manthiram A. Facile synthesis of carbon-decorated single-crystalline Fe₃O₄ nanowires and their application as high performance anode in lithium ion batteries[J]. Chemical Communications, 2009, **47**: 7360-7362. DOI: 10.1039/76j.
- 22 Peng S, Sun S. Synthesis and characterization of monodisperse hollow Fe₃O₄ nanoparticles[J]. Angewandte Chemie-International Edition, 2007, **46**(22): 4155-4158. DOI: 10.1002/anie.200700677.
- 23 Shieh D B, Su C H, Chang F Y, *et al.* Aqueous nickel-nitrilotriacetate modified Fe₃O₄-NH³⁺ nanoparticles for protein purification and cell targeting[J]. Nanotech-

- nology, 2006, **17**(16): 4174-4182. DOI: 10.1088/0957-4484/17/16/030.
- 24 Wang X, Wang S, Yang W, *et al.* Ultrasonic synthesis of $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ nano-composite magnetic particles for plasmid DNA purification[J]. *Acta Chimica Sinica*, 2009, **67**(1): 54-58.
- 25 Gai L, Li Z, Hou Y, *et al.* Preparation of core-shell $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$ microspheres as adsorbents for purification of DNA[J]. *Journal of Physics D-Applied Physics*, 2010, **43**(44): 1-8. DOI: 10.1088/0022-3727/43/44/445001.
- 26 Cui Y R, Hong C, Zhou Y L, *et al.* Synthesis of orientedly bioconjugated core/shell $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Au}$ magnetic nanoparticles for cell separation[J]. *Talanta*, 2011, **85**(3): 1246-1252. DOI: 10.1016/j.talanta.2011.05.010.
- 27 Lu W, Ling M, Jia M, *et al.* Facile synthesis and characterization of polyethylenimine-coated Fe_3O_4 superparamagnetic nanoparticles for cancer cell separation[J]. *Molecular Medicine Reports*, 2014, **9**(3): 1080-1084. DOI: 10.3892/mmr.2014.1906.
- 28 Mohapatra S, Sahu S, Nayak S, *et al.* Design of $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{carbon}$ quantum dot based nanostructure for fluorescence sensing, magnetic separation, and live cell imaging of fluoride ion[J]. *Langmuir*, 2015, **31**(29): 8111-8120. DOI: 10.1021/acs.langmuir.5b01513.
- 29 Tauxe L, Mullender T A T, Pick T. Potbellies, wasp-waists, and superparamagnetism in magnetic hysteresis[J]. *Journal of Geophysical Research-Solid Earth*, 1996, **101**(B1): 571-583. DOI: 10.1029/95JB03041.
- 30 Mikhaylova M, Kim D K, Bobrysheva N, *et al.* Superparamagnetism of magnetite nanoparticles: dependence on surface modification[J]. *Langmuir*, 2004, **20**(6): 2472-2477. DOI: 10.1021/la035648e.
- 31 Yu F, Zhang L, Huang Y, *et al.* The magnetophoretic mobility and superparamagnetism of core-shell iron oxide nanoparticles with dual targeting and imaging functionality[J]. *Biomaterials*, 2010, **31**(22): 5842-5848. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2010.03.072.
- 32 Zhang S, Niu H, Cai Y, *et al.* Arsenite and arsenate adsorption on coprecipitated bimetal oxide magnetic nanomaterials: MnFe_2O_4 and CoFe_2O_4 [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2010, **158**(3): 599-607. DOI: 10.1016/j.cej.2010.02.013.
- 33 Khalil W K B, Girgis E, Emam A N, *et al.* Genotoxicity evaluation of nanomaterials: DNA damage, micronuclei, and 8-hydroxy-2-deoxyguanosine induced by magnetic doped CdSe quantum dots in male mice[J]. *Chemical Research in Toxicology*, 2011, **24**(5): 640-650. DOI: 10.1021/tx20000015.
- 34 Wu W, Jiang C, Roy V A L. Recent progress in magnetic iron oxide-semiconductor composite nanomaterials as promising photocatalysts[J]. *Nanoscale*, 2015, **7**(1): 38-58. DOI: 10.1039/c4nr04244a.
- 35 Pecharsky V K, Gschneidner K A. Magnetocaloric effect and magnetic refrigeration[J]. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 1999, **200**(1-3): 44-56. DOI: 10.1016/S0304-8853(99)00397-2.
- 36 Pecharsky V K, Gschneider K A, Pecharsky A O, *et al.* Thermodynamics of the magnetocaloric effect[J]. *Physical Review B*, 2001, **64**(14): 15-22. DOI: 10.1103/PhysRevB.64.144406.
- 37 Samanta B, Yan H, Fischer N O, *et al.* Protein-passivated Fe_3O_4 nanoparticles: low toxicity and rapid heating for thermal therapy[J]. *Journal of Materials Chemistry*, 2008, **18**(11): 1204-1208. DOI: 10.1039/b718745a.
- 38 Gao L, Zhuang J, Nie L, *et al.* Intrinsic peroxidase-like activity of ferromagnetic nanoparticles[J]. *Nature Nanotechnology*, 2007, **2**(9): 577-583. DOI: 10.1038/nnano.2007.260.
- 39 Perez-Baena I, Barroso-Bujans F, Gasser U, *et al.* Endowing single-chain polymer nanoparticles with enzyme-mimetic activity[J]. *ACS Macro Letters*, 2013, **2**(9): 775-779. DOI: 10.1021/mz4003744.
- 40 Du Mont W W, Mugesh G, Wismach C, *et al.* Reactions of organoselenenyl iodides with thiouracil drugs: an enzyme mimetic study on the inhibition of iodothyronine deiodinase[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2001, **40**(13): 2486-2489. DOI: 10.1002/1521-3773(20010702)40:13<2486:AID-ANIE2486>3.0.CO;2-N.
- 41 Chen Z, Xu L, Liang Y, *et al.* pH-sensitive water-soluble nanospheric imprinted hydrogels prepared as horseradish peroxidase mimetic enzymes[J]. *Advanced Materials*, 2010, **22**(13): 1488-1492. DOI: 10.1002/adma.200903122.
- 42 Zhang Y, Li Z, Sun W, *et al.* A magnetically recyclable heterogeneous catalyst: cobalt nano-oxide supported on hydroxyapatite-encapsulated $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ nanocrystallites for highly efficient olefin oxidation with H_2O_2 [J]. *Catalysis Communications*, 2008, **10**(2): 237-242. DOI: 10.1016/j.catcom.2008.08.030.
- 43 Dutta A K, Maji S K, Srivastava D N, *et al.* Synthesis of FeS and FeSe nanoparticles from a single source precursor: a study of their photocatalytic activity, peroxidase-like behavior, and electrochemical sensing of

- H₂O₂[J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2012, **4**(4): 1919-1927. DOI: 10.1021/am300408r.
- 44 Feng X, Mao G Y, Bu F X, *et al.* Controlled synthesis of monodisperse CoFe₂O₄ nanoparticles by the phase transfer method and their catalytic activity on methylene blue discoloration with H₂O₂[J]. Journal of Magnetism and Magnetic Materials, 2013, **343**: 126-132. DOI: 10.1016/j.jmmm.2013.05.001.
 - 45 Zhang Y, Wang Z, Li X, *et al.* Dietary iron oxide nanoparticles delay aging and ameliorate neurodegeneration in drosophila[J]. Advanced Materials, 2015, **28**(7): 1387-1393. DOI: 10.1002/adma.201503893.
 - 46 Zhao J, Deng M, Zeng J, *et al.* Preparation of Fe₃O₄ and CoFe₂O₄ nanoparticles with cellular compatibility via the histidine assistance[J]. Colloids and Surfaces A-Physicochemical and Engineering Aspects, 2012, **401**: 54-60. DOI: 10.1016/j.colsurfa.2012.03.011.
 - 47 Ankamwar B, Lai T C, Huang J H, *et al.* Biocompatibility of Fe₃O₄ nanoparticles evaluated by *in vitro* cytotoxicity assays using normal, glia and breast cancer cells[J]. Nanotechnology, 2010, **21**(7): 7-12 DOI: 10.1088/0957-4484/21/7/075102.
 - 48 Ge G, Wu H, Xiong F, *et al.* The cytotoxicity evaluation of magnetic iron oxide nanoparticles on human aortic endothelial cells[J]. Nanoscale Research Letters, 2013, **8**(1): 11-16. DOI: 10.1186/1556-276X-8-215.
 - 49 Zhu M T, Feng W Y. ENVR 254-iron oxide nanoparticles induced dysfunction and cytotoxicity in human endothelial cells[J]. Abstracts of Papers of the American Chemical Society, 2008, **235**(27): 62-68.
 - 50 Xu M, Fujita D, Kajiwar S, *et al.* Contribution of physicochemical characteristics of nano-oxides to cytotoxicity[J]. Bio-materials, 2010, **31**(31): 8022-8031. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2010.06.022.
 - 51 Chen Z, Yin J J, Zhou Y T, *et al.* Dual enzyme-like activities of iron oxide nanoparticles and their implication for diminishing cytotoxicity[J]. ACS Nano, 2012, **6**(5): 4001-4012. DOI: 10.1021/nn300291r.
 - 52 He W, Zhou Y T, Warner W G, *et al.* Intrinsic catalytic activity of Au nanoparticles with respect to hydrogen peroxide de-composition and superoxide scavenging[J]. Biomaterials, 2013, **34**(3): 765-773. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2012.10.010.
 - 53 Mizushima N, Levine B, Cuervo A M, *et al.* Autophagy fights disease through cellular self-digestion[J]. Nature, 2008, **451**(7182): 1069-1075. DOI: 10.1038/nature06639.
 - 54 Levine B, Kroemer G. Autophagy in the pathogenesis of disease[J]. Cell, 2008, **132**(1): 27-42. DOI: 10.1016/j.cell.2007.12.018.
 - 55 Shimizu S, Kanaseki T, Mizushima N, *et al.* Role of Bcl-2 family proteins in a non-apoptotic programmed cell death dependent on autophagy genes[J]. Nature Cell Biology, 2004, **6**(12): 1221-1228. DOI: 10.1038/ncb1192.
 - 56 Suzuki S W, Onodera J, Ohsumi Y. Starvation induced cell death in autophagy-defective yeast mutants is caused by mito-chondria dysfunction[J]. PLoS One, 2011, **6**(2): 1-9. DOI: 10.1371/journal.pone.0017412.
 - 57 Kimura T, Takabatake Y, Takahashi A, *et al.* Chloroquine in cancer therapy: a double-edged sword of autophagy[J]. Cancer Research, 2013, **73**(1): 3-7. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-12-2464.
 - 58 Shintani T, Klionsky D J. Autophagy in health and disease: a double-edged sword[J]. Science, 2004, **306**(5698): 990-995. DOI: 10.1126/science.1099993.
 - 59 Dobson J. Gene therapy progress and prospects: magnetic nanoparticle-based gene delivery[J]. Gene Therapy, 2006, **13**(4): 283-287. DOI: 10.1038/sj.gt.3302720.
 - 60 Hackenberg S, Scherzed A, Gohla A, *et al.* Nanoparticle-induced photocatalytic head and neck squamous cell carcinoma cell death is associated with autophagy[J]. Nanomedicine, 2014, **30**(1): 21-33. DOI: 10.2217/nmm.13.41.
 - 61 Khan M I, Mohammad A, Patil G, *et al.* Induction of ROS, mitochondrial damage and autophagy in lung epithelial cancer cells by iron oxide nanoparticles[J]. Biomaterials, 2012, **33**(5): 1477-1488. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2011.10.080.
 - 62 申琳, 赵琳, 马亮, 等. 四环素衍生物 CMT-8 对人类宫颈癌细胞 HeLa 的生长及其放射敏感性的影响[J]. 辐射研究与辐射工艺学报, 2012, **30**(4): 42-47.
 - SHEN Linling, ZHAO Lin, MA Liang, *et al.* Anticancer activity and radiosensitization of CMT-8 in human cervical cancer HeLa cells[J]. Journal of Radiation Research and Radiation Processing, 2012, **30**(4): 42-47.
 - 63 王伟鹏, 孙静, 陈玉之, 等. 线粒体 DNA 减少在氢及其子体致人支气管上皮细胞凋亡中的作用[J]. 辐射研究与辐射工艺学报, 2014, **32**(1): 010204(5).
 - WANG Weipeng, SUN Jing, CHEN Yuzhi *et al.* Role of mitochondrial DNA decrease in apoptosis of human bronchial epithelial cells induced by radon and its progeny[J]. Journal of Radiation Research and Radiation Processing, 2014, **32**(1): 010204(5).

- 64 邹琼, 丁巧灵, 徐小雅, 等. 辐照骨髓淋巴细胞对成骨细胞的影响[J]. 辐射研究与辐射工艺学报, 2014, **32**(3): 030202(6). DOI: 10.11889/j.1000-3436.2014.rj.32.030202. ZOU Qiong, DING Qiaoling, XU Xiaoya, *et al.* Effects of radiated lymphocyte on the osteoblast[J]. Journal of Radiation Research and Radiation Processing, 2014, **32**(3): 030202(6). DOI: 10.11889/j.1000-3436.2014.rj.32.030202.
- 65 Ruan G, Agrawal A, Marcus A I, *et al.* Imaging and tracking of tat peptide-conjugated quantum dots in living cells: new insights into nanoparticle uptake, intracellular transport, and vesicle shedding[J]. Journal of the American Chemical Society, 2007, **129**(47): 14759-14766. DOI: 10.1021/ja074936k.
- 66 Xu X H, Brownlow W J, Kyriacou S V, *et al.* Real-time probing of membrane transport in living microbial cells using single nanoparticle optics and living cell imaging[J]. Biochemistry, 2004, **43**(32): 10400-10413. DOI: 10.1021/bi036231a.
- 67 Qaddoumi M G, Gukasyan H J, Davda J, *et al.* Clathrin and caveolin-1 expression in primary pigmented rabbit conjunctival epithelial cells: role in PLGA nanoparticle endocytosis[J]. Molecular Vision, 2003, **9**(68-69): 559-568.
- 68 Schuler D, Baeuerlein E. Dynamics of iron uptake and Fe₃O₄ biomineralization during aerobic and microaerobic growth of *Magnetospirillum gryphiswaldense*[J]. Journal of Bacteriology, 1998, **180**(1): 159-162.
- 69 Ma Y J, Gu H C. Study on the endocytosis and the internalization mechanism of aminosilane-coated Fe₃O₄ nanoparticles *in vitro*[J]. Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 2007, **18**(11): 2145-2149. DOI: 10.1007/s10856-007-3015-8.
- 70 Huang J, Bu L, Xie J, *et al.* Effects of nanoparticle size on cellular uptake and liver MRI with polyvinylpyrrolidone-coated iron oxide nanoparticles[J]. ACS Nano, 2010, **4**(12): 7151-7160. DOI: 10.1021/nn101643u.
- 71 Chithrani B D, Ghazani A A, Chan W C W. Determining the size and shape dependence of gold nanoparticle uptake into mammalian cells[J]. Nano Letters, 2006, **6**(4): 662-668. DOI: 10.1021/nl052396o.
- 72 He C, Hu Y, Yin L, *et al.* Effects of particle size and surface charge on cellular uptake and biodistribution of polymeric nanoparticles[J]. Biomaterials, 2010, **31**(13): 3657-3666. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2010.01.065.
- 73 Calatayud M P, Sanz B, Raffa V, *et al.* The effect of surface charge of functionalized Fe₃O₄ nanoparticles on protein adsorption and cell uptake[J]. Biomaterials, 2014, **35**(24): 6389-6399. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2014.04.009.
- 74 Yang X, Zhang X, Ma Y, *et al.* Superparamagnetic graphene oxide-Fe₃O₄ nanoparticles hybrid for controlled targeted drug carriers[J]. Journal of Materials Chemistry, 2009, **19**(18): 2710-2714. DOI: 10.1039/b821416f.
- 75 Gu H W, Xu K M, Xu C J, *et al.* Biofunctional magnetic nanoparticles for protein separation and pathogen detection[J]. Chemical Communications, 2006, **9**: 941-949. DOI: 10.1039/b514130c.
- 76 Jiang Q L, Zheng S W, Hong R Y, *et al.* Folic acid-conjugated Fe₃O₄ magnetic nanoparticles for hyperthermia and MRI *in vitro* and *in vivo*[J]. Applied Surface Science, 2014, **307**: 224-233. DOI: 10.1016/j.apsusc.2014.04.018.
- 77 Zhang Y, Kohler N, Zhang M Q. Surface modification of superparamagnetic magnetite nanoparticles and their intracellular uptake[J]. Biomaterials, 2002, **23**(7): 1553-1561. DOI: 10.1016/S0142-9612(01)00267-8.
- 78 Chen F H, Zhang L M, Chen Q T, *et al.* Synthesis of a novel magnetic drug delivery system composed of doxorubicin-conjugated Fe₃O₄ nanoparticle cores and a PEG-functionalized porous silica shell[J]. Chemical Communications, 2010, **46**(45): 8633-8635. DOI: 10.1039/c0cc02577a.
- 79 Roch A, Muller R N, Gillis P. Theory of proton relaxation induced by superparamagnetic particles[J]. Journal of Chemical Physics, 1999, **110**(11): 5403-5411. DOI: 10.1063/1.478435
- 80 Polito L, Colombo M, Monti D, *et al.* Resolving the structure of ligands bound to the surface of superparamagnetic iron oxide nanoparticles by high-resolution magic-angle spinning NMR spectroscopy[J]. Journal of the American Chemical Society, 2008, **130**(38): 12712-12724. DOI: 10.1021/ja802479n.
- 81 Thorek D L J, Chen A, Czupryna J. Superparamagnetic iron oxide nanoparticle probes for molecular imaging[J]. Annals of Biomedical Engineering, 2006, **34**(1): 23-38.
- 82 Lee H, Yu M K, Park S, *et al.* Thermally cross-linked superparamagnetic iron oxide nanoparticles: synthesis and application as a dual imaging probe for cancer *in vivo*[J]. Journal of the American Chemical Society, 2007, **129**(42): 12739-12745.