

多聚赖氨酸表面改性后同种异体骨的骨传导能力研究

笪虎¹, 陈伟²

[摘要] **目的:**探讨多聚赖氨酸表面改性兔同种异体骨后骨传导能力的变化。**方法:**采用冻干法,将多聚赖氨酸覆盖在实验组兔同种异体骨的微孔表面,对其进行表面改性,并将未经表面改性的同种异体骨设为对照组。兔骨髓基质干细胞(BMSCs)种植于2组的微孔表面,进行培养,并向成骨方向诱导。采用扫描电镜观察、MTT法检测BMSCs在同种异体骨微孔表面黏附、增殖情况,检测2组细胞表达的碱性磷酸酶的活性;将2组复合自体BMSCs的同种异体骨回植入兔双侧桡骨缺损处,1、2、3和4个月后分别对标本进行螺旋CT三维重建,观察新骨生成情况。**结果:**实验组中BMSCs在同种异体骨微孔表面黏附、增殖以及表达碱性磷酸酶的情况明显优于对照组($P < 0.01$),实验组兔桡骨缺损处的修复情况优于对照组($P < 0.01$)。**结论:**同种异体骨经多聚赖氨酸表面改性后,其在体内和体外的骨传导能力得到了显著的增强。

[关键词] 同种异体骨;骨传导;多聚赖氨酸;表面改性

[中图分类号] R 687.34

[文献标志码] A

DOI:10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2018.04.009

Study on the osteoconduction of the allograft bone surface-modified by polylysine

DA Hu¹, CHEN Wei²

(1. Department of Orthopaedics, The 82nd Hospital of PLA, Huai'an Jiangsu 223001;

2. Department of Orthopaedics, Yanghe People's Hospital, Suqian Jiangsu 223800, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the osteoconduction of the rabbit's allograft bone surface-modified by polylysine. **Methods:** The surface of the micropores of the rabbit allograft bone was modified with polylysine using the lyophilization method (experimental group), and the un-modified surface of the micropores of the rabbit allograft bone was set as control group. The rabbits' BMSCs were implanted into the surface of the micropores of the allograft bone in two groups, cultured and induced to osteoblasts. The attachment and proliferation of the cells on the surface of the micropores in the allograft bone in two groups were detected using SEM and MTT method, respectively. The activity of the alkaline phosphatase in two groups were evaluated. The allograft bone complicated with autologous cell was implanted into the bilateral radiuses defect of rabbits. The specimens were reconstructed by spiral CT after 1, 2, 3 and 4 months of treatment, and the regenerated bone was observed. **Results:** The attachment, proliferation and expression of ALP in experimental group were obviously better than those in control group ($P < 0.01$). The recovery of defect lesion in experimental group was better than that in control group ($P < 0.01$). **Conclusions:** The osteoconduction of the allograft bone surface-modified by polylysine can be significantly strengthened *in vivo* and *in vitro*.

[Key words] allograft bone; osteoconduction; polylysine; surface modification

骨传导是同种异体骨的重要功能,即同种异体骨植入受体骨缺损区后,受体的破骨细胞、成骨细胞、毛细血管等细胞和组织可长入其三维孔隙中,爬形替代后形成新骨^[1-2]。然而,当前骨移植所使用的同种异体骨的骨传导能力不强,在受体内难以产生较多的新骨,并且长期不能被吸收,不能完全满足临床的需要^[3]。究其原因,是因为其微孔表面对细胞的亲和力不强,宿主的细胞难以在其表面贴附、增殖、分化,毛细血管等组织难以长入^[4]。本研究就

同种异体骨经多聚赖氨酸表面改性后,其在体内、体外的骨传导能力的变化作一探讨。

1 材料与方法

1.1 材料 20只新西兰大白兔(南京清龙山实验动物中心);兔同种异体骨(第四军医大学西京骨科医院骨库);左旋多聚赖氨酸(相对分子质量为150 000~300 000, Sigma, 美国);DMEM培养基、D-Hank's液、转化生长因子-β2(TGF-β2)(Gibico, 美国);胎牛血清(杭州四季青生物工程材料有限公司);戊巴比妥(军事医学科学院);胰蛋白酶、地塞米松、L-抗坏血酸(Sigma, 美国);ITS(其中含有牛胰岛素、转铁蛋白、亚硒酸钠, Sigma, 美国);丙酮酸钠、ALP活性测定试剂盒(上海化学试剂集团);β-甘油磷酸钠(Sigma, 美国);50 mL一次性塑料培养瓶、6

[收稿日期] 2016-02-29 [修回日期] 2017-12-03

[基金项目] 江苏省淮安市科技计划项目(HAS2013034)

[作者单位] 1. 解放军第八二医院 骨科, 江苏 淮安 223001; 2. 江苏省洋河人民医院 骨科, 江苏 宿迁 223800

[作者简介] 笪虎(1974-),男,博士,副主任医师。

孔培养板 (Coster, 美国); CO₂ 恒温培养箱 (Hereus, 德国); 超净工作台 (苏州安泰空气技术有限公司); 倒置相差显微镜 (Zeiss, 德国); 扫描电子显微镜 (Hitachi, 日本); 冷冻干燥机 (Alpha 2-4 Chaist, 德国); 酶联免疫检测仪 (Sunrise, 瑞士); 螺旋 CT (Siemens, 德国)。

1.2 方法

1.2.1 兔同种异体骨的表面改性 将取自兔椎体松质骨的同种异体骨切割成边长为 3 mm 的立方体, 然后于 3% 的多聚赖氨酸溶液内振荡 2 h, 使溶液充分浸透同种异体骨的微孔表面。取出置于 6 孔培养板内, -20 °C 下预冷 2 h, -80 °C 下冷冻 1 h, 转移至冷冻干燥机中干燥 24 h。20 kGy Co 60 辐照灭菌, 4 °C 条件下密封保存。

1.2.2 兔骨髓基质干细胞 (BMSCs) 的分离和扩增 麻醉、消毒后, 持 20 mL 无菌注射器从 2.5 kg 新西兰大白兔的一侧股骨大粗隆处抽取 0.5 mL 骨髓, 置于低糖 DMEM 培养基 (10% 胎牛血清) 的 50 mL 培养瓶中, 37 °C、5% CO₂ 培养箱内培养。以全骨髓贴壁法提纯 BMSCs, 3 d 后进行首次全量换液, 去除未贴壁的细胞。此后每 2~3 d 半量换液 1 次, 待细胞达 80%~90% 融合时消化传代。

1.2.3 BMSCs 种植于同种异体骨内并进行诱导、培养 将第 3 代 BMSCs 置于成骨培养基 (含 10⁻⁸ mol/L 地塞米松、50 mg/L L-抗坏血酸、10 mmol/L β-甘油磷酸钠和 10% 胎牛血清的高糖 DMEM) 内, 制成密度为 1 × 10⁷ 个/mL 的细胞悬液。将 BMSCs 悬液接种在同种异体骨内, 最终控制接种的细胞数量为 2 × 10⁴ 个/块左右。然后置于细胞培养箱中孵育 4 h, 再添加成骨培养基, 此后每 2~3 d 半量换液 1 次。

1.2.4 扫描电镜 (SEM) 观察细胞在同种异体骨内黏附和增殖的情况 于培养的第 3、9 和 15 天, 每次 2 组各自随机取出 2 个标本。经 2.5% 的戊二醛、1% 锇酸先后固定, 利用乙醇依次梯度脱水, 接着使用乙腈依次置换出乙醇, 然后在真空内干燥。在同种异体骨与细胞表面喷金后, 放置于 SEM 内, 观察细胞在同种异体骨微孔表面贴附与增殖情况。

1.2.5 检测 2 组同种异体骨内细胞增殖的情况 于培养、诱导的第 3、5、7、9、11、13、15 和 17 天, 每次 2 组各自随机取出 10 个标本, PBS 液分别轻柔漂洗 3 遍, 以清除同种异体骨内未贴附的细胞。然后, 采用 MTT 法检测 BMSCs 增殖的情况。以时间为横轴、吸光度 (A) 值为纵轴, 绘制细胞生长曲线。

1.2.6 测定 2 组同种异体骨内黏附细胞所表达的碱性磷酸酶 (ALP) 的活性 于培养、诱导第 3、6、9 和 12 天, 每次 2 组分别随机取出 8 个标本。D-Hank's 液漂洗后, 依次添加 ALP 活性测定试剂盒内试剂。使用酶标仪在 520 nm 波长处测定 A 值, 代表细胞 ALP 的活性。

1.2.7 2 组同种异体骨植入兔桡骨骨缺损处 距离上次抽取骨髓约 5 周左右, 兔再次被麻醉。消毒、铺无菌巾后, 于双侧前臂桡侧中段作一长约 1.5 cm 的纵切口, 逐层切开皮肤、皮下组织、深筋膜, 钝性分离肌肉, 显露桡骨中段。钝性分离并保留骨膜, 剪除 1 cm 长桡骨干。仔细检查细胞与兔编号, 将结合自体向成骨细胞诱导的 BMSCs 的实验组同种异体骨回植于左侧桡骨缺损处, 对照组回植于右侧。逐层缝合深筋膜、皮肤, 术毕。实验兔清醒后, 笼内自由活动。20 只兔的 40 个桡骨被平均分在实验组与对照组中。

1.2.8 2 组桡骨缺损处新生骨螺旋 CT 扫描 于术后 1、2、3 和 4 个月分次取材, 每次处死 5 只兔。将尺桡骨做好分组标记, 以 4% 多聚甲醛固定 3 d, 然后将标本置于螺旋 CT 内进行扫描。扫描完成后, 以桡骨缺损修复区为中心, 选取直径 2 cm、高度 5 cm 的圆柱形区域作为兴趣区 (region of interest, ROI), 进行精细三维重建, 并观察三维重建影像。

1.3 统计学方法 采用 *t* 检验。

2 结果

2.1 BMSCs 在 2 组同种异体骨微孔表面的贴附、增殖情况的 SEM 观察 在 BMSCs 种植于 2 组同种异体骨微孔表面并培养的第 3、9 和 15 天, 使用 SEM 观察 BMSCs 在微孔表面贴附、增殖情况 (见图 1)。培养后的第 3 天, 细胞已完全平铺, 同时伸出长长伪足附着在微孔表面, 实验组同种异体骨微孔表面的细胞数目明显大于对照组 (见图 1 A、D); 培养后的第 9 天, 2 组细胞数量均增多, 而实验组增加更明显 (见图 1 B、E); 培养后的第 15 天, 实验组细胞之间发生接触抑制, 数量难以增加, 近于铺整个微孔表面, 而对照组的细胞数量显著少于实验组 (见图 1 C、F)。

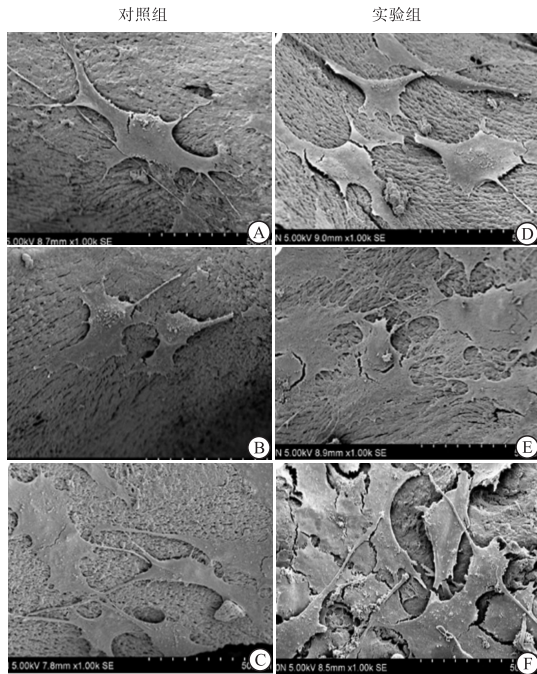
2.2 BMSCs 在 2 组同种异体骨微孔表面增殖情况 根据 MTT 实验结果绘制的细胞生长曲线显示: 从诱导、培养的第 3 天至第 17 天, BMSCs 在 2 组同种异体骨微孔表面的数量均持续上升, 至第 11 天左右时增殖速度减缓, 第 15 天左右时进入平台期, 生长

曲线呈抛物线样。BMSCs 在实验组同种异体骨内增殖迅速,细胞数量较多。而对照组的 BMSCs 增殖

缓慢,在每个时间点上的数量均明显少于对照组,2组差异有统计学意义($P < 0.01$)(见图 2)。

表 1 2 组同种异体骨微孔表面的 BMSCs 增殖情况($\bar{x} \pm s$)

分组	n	3 d	5 d	7 d	9 d	11 d	13 d	15 d	17 d
实验组	8	0.138 ± 0.062	0.229 ± 0.040	0.289 ± 0.036	0.329 ± 0.046	0.371 ± 0.054	0.387 ± 0.046	0.397 ± 0.040	0.399 ± 0.032
对照组	8	0.035 ± 0.020	0.072 ± 0.023	0.104 ± 0.047	0.132 ± 0.038	0.159 ± 0.043	0.175 ± 0.049	0.192 ± 0.057	0.195 ± 0.062
t	—	4.48	9.62	4.67	4.11	3.78	4.31	4.51	5.26
P	—	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01



A、D: 培养3 d; B、E: 培养9 d; C、F: 培养15 d
图1 BMSCs在2组同种异体骨表面的贴附与增殖

2.3 BMSCs 在 2 组同种异体骨内培养与诱导后所表达的 ALP 活性的比较 BMSCs 所表达的 ALP 活性的结果表明:2 组细胞经过成骨诱导液培养后,所表达的 ALP 的活性逐渐增加。实验组在第 6 天时 ALP 活性值与对照组差异无统计学意义($P > 0.05$);而在第 3、9、12 天时,实验组的 ALP 活性值均明显高于对照组($P < 0.01$)(见表 2)。

表 2 BMSCs 在微孔表面培养与诱导后,表达的 ALP 活性比较($\bar{x} \pm s$)

分组	n	3 d	6 d	9 d	12 d
实验组	8	0.083 6 ± 0.005 2	0.116 2 ± 0.033 5	0.380 9 ± 0.003 7	0.417 4 ± 0.041 0
对照组	8	0.069 1 ± 0.003 1	0.101 7 ± 0.074 4	0.150 4 ± 0.005 2	0.163 6 ± 0.029 4
t	—	6.77	0.50	55.79	6.00
P	—	<0.01	> 0.05	<0.01	<0.01

2.4 2 组桡骨缺损处新生骨螺旋 CT 扫描结果 于

术后 1、2、3 和 4 个月,对 2 组桡骨缺损处新生骨进行螺旋 CT 扫描并三维重建(见图 2)。术后 1 个月,实验组桡骨缺损处所植入的同种异体骨有轻度的吸收,并有少许新骨形成(见图 3A);而对照组的同种异体骨被吸收的较多(见图 2E)。术后 2 个月,2 组桡骨缺损处所植入的同种异体骨均被大部分吸收,实验组有较多的新生骨形成,基本上填充了骨缺损区,而对照组无明显的新生骨形成(见图 2B、F)。术后 3 个月,2 组同种异体骨均完全被吸收,实验组形成了骨痂将两骨折断端相连(见图 2C);而对照组骨缺损区仍呈骨缺损状(见图 2G)。术后 4 个月,2 组同种异体骨被完全吸收,实验组骨痂塑形改造,完全修复了骨缺损区(见图 2D);而对照组骨缺损区无修复迹象,呈骨不连的表现(见图 2H)。

3 讨论

组织工程骨支架是受体细胞生长与增殖的载体,细胞通过静电吸引、分子间范德华力、阴阳离子交联等方式,在支架材料的微孔表面进行黏附,进而扩增与分化。对支架材料进行表面改性,以增强其对细胞的亲和力,是提高骨组织工程支架的骨传导性的主要手段之一,有学者^[5-7]使用诸多方法在若干动物实验中获得了一定的成功。然而,目前临床上所使用的同种异体骨均未经过表面改性,骨传导性不强,在许多病例中难以完成受体骨缺损区修复的任务^[8]。因此,对同种异体骨进行表面改性具有十分重要的意义。

细胞实验中所使用的细胞培养瓶(板)、玻片的表面,均经过涂抹多聚赖氨酸的处理,能大大提高其对细胞的亲和力^[9-11]。受此启发,为提升同种异体骨的骨传导性,本实验采用冻干法将多聚赖氨酸均匀地覆盖在同种异体骨微孔表面,以对其进行表面改性,目的是在微孔表面构建一个有利于细胞附着



A, E: 术后1个月; B, F: 术后2个月; C, G: 术后3个月; D, H: 术后4个月
图2 2组的桡骨缺损处新生骨的三维重建图

本研究中,SEM 观察和 MTT 实验检测 2 组细胞的结果显示:BMSCs 在接受了多聚赖氨酸表面改性的实验组同种异体骨微孔表面上贴附、增殖的数量明显多于对照组;ALP 活性测定试剂盒检测结果显示,诱导、培养 9 d 后,实验组 BMSCs 所表达的 ALP 活性明显高于对照组;2 组桡骨缺损处新生骨的螺旋 CT 三维重建结果表明,实验组桡骨缺损处的修复情况明显优于对照组。提示使用多聚赖氨酸对同种异体骨表面改性,能大大促进 BMSCs 在其微孔表面进行黏附、增殖和分化,显著提升其骨传导性。

多聚赖氨酸对同种异体骨进行表面改性的作用机制,分析可能是以下几点:(1)其残基所带的多种阳离子,与细胞表面的部分阴离子发生交联作用,可利于细胞在其表面的黏附^[12]; (2)多聚赖氨酸覆盖在同种异体骨微孔表面后,使微孔表面呈正电荷状态,能通过静电吸引的作用,促进细胞在微孔表面黏附^[13]; (3)多聚赖氨酸所具有胺基、羟基等,能吸附血清中层黏蛋白、糖胺聚糖和纤维黏连蛋白等,可增强异体骨微孔表面的亲水性,从而利于细胞的黏附^[14-15]; (4)多聚赖氨酸能稳定细胞外基质,促进细胞的生长和分化^[16-17]。

本研究中,未发现有明显的细胞凋亡现象;在动物体内实验中,未发现有动物死亡以及其他并发症出现,提示经多聚赖氨酸表面改性后的同种异体骨植入受体后,对受体的细胞与机体无害。此外,此表面改性的方法与步骤较简单,成本低廉,大多数科研院所均可操作。本研究证明,使用多聚赖氨酸对同种异体骨进行表面改性后,同种异体骨的骨传导性能够得到显著提升,为提高同种异体骨治疗骨缺损的效果提供了坚实的理论与实验基础。

[参 考 文 献]

[1] 赵丹,李同林,马勇,等. 同种异体骨移植的研究进展[J]. 安

徽医科大学学报,2013,48(5):577.

- [2] 冯仕明,高顺红,焦成,等. 同种异体骨移植的研究进展[J]. 中国矫形外科杂志,2011,19(21):1797.
- [3] DA H, JIA SJ, MENG GL, *et al.* The impact of compact layer in biphasic scaffold on osteochondral tissue engineering [J]. PLoS One, 2013, 8(1):e54838.
- [4] 方小魁,华栋,李光早,等. 同种异体脂肪干细胞复合脱钙骨材料修复兔尺骨缺损[J]. 蚌埠医学院学报,2014,39(3):297.
- [5] LEWANDROWSKI KU, BONDRE S, HILE DD, *et al.* Porous poly(propylene fumarate) foam coating of orthotopic cortical bone grafts for improved osteoconduction [J]. Tissue Eng, 2002, 8(6):1017.
- [6] PAPPALARDO S, MASTRANGELO F, REALE MARROCCIA D, *et al.* Bone regeneration: in vitro evaluation of the behaviour of osteoblast-like MG63 cells placed in contact with polylactic-co-glycolic acid, deproteinized bovine bone and demineralized freeze-dried bone allograft [J]. J Biol Regul Homeost Agents, 2008, 22(3):175.
- [7] FASSINA L, SAINO E, SBARRA MS, *et al.* In vitro electromagnetically stimulated SAOS-2 osteoblasts inside porous hydroxyapatite [J]. J Biomed Mater Res A, 2010, 93(4):1272.
- [8] 李剑勇,殷潇凡,徐俊. 磷酸三钙植骨治疗跟骨骨折的疗效和组织学观察[J]. 蚌埠医学院学报,2014,39(6):741.
- [9] 李丽,杨桂芳. HE 染色切片褪色后再进行免疫组化染色方法的比较[J]. 数理医药杂志,2015,12(11):1618.
- [10] 付先利,支月莹,郑芳,等. 四种制作多聚赖氨酸免疫组化黏附载玻片方法的比较[J]. 临床与实验病理学杂志,2016,32(3):347.
- [11] WATAHA JC, MALCOM CT, HANKS CT. Correlation between cytotoxicity and elements related by dental casting alloys [J]. Int J Prothodont, 1995, 8(11):9.
- [12] 路坦,李小伟,张江峰,等. 多聚赖氨酸对脂肪来源干细胞立体条件下生物学特性的影响[J]. 中国组织工和研究与临床康复,2011,15(40):7489.
- [13] 龚志钰,李章政. 材料力学[M]. 北京:科学出版社,1999:75.
- [14] 刘曦明,王锋,汪国栋,等. 多聚赖氨酸表面修饰的脱钙骨基质富集材料的细胞相容性研究[J]. 中华创伤骨科杂志,2015,17(11):982.

基质金属蛋白酶基因在兔关节软骨细胞 体外损伤后不同时间点的表达变化

白笙君, 王伟, 陈传好

[摘要] **目的:**检测基质金属蛋白酶(MMPs)在兔膝关节软骨细胞损伤后不同时间点的表达变化。**方法:**无菌条件下获取兔膝关节软骨细胞,原代体外培养软骨细胞,6孔板内制备细胞损伤模型。显微镜观察正常细胞和划伤后1、3和7 d的软骨细胞的增殖情况。实时荧光定量PCR检测正常软骨细胞和损伤后1、3和7 d MMPs的mRNA表达水平。**结果:**成功分离关节软骨细胞,原代培养后成功建立细胞损伤模型。MMP-2 mRNA表达水平在损伤后1、3、7 d比正常组均升高,其中损伤后7 d最高($P < 0.05 \sim P < 0.01$)。MMP-3 mRNA表达水平在细胞损伤后1、3、7 d与正常组均明显下降,损伤后7 d最低($P < 0.01$)。MMP-9 mRNA表达水平在损伤后1、3、7 d均比正常组升高,划伤后3 d最高,随后开始下降($P < 0.01$)。**结论:**MMPs在细胞损伤后的不同时间点表达不同,可为调节细胞外基质基因治疗关节软骨损伤提供实验依据。

[关键词] 关节软骨;基质金属蛋白酶;划伤模型;原代培养

[中图分类号] Q 954.657

[文献标志码] A

DOI:10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2018.04.010

The expression levels of MMPs mRNA in the rabbit articular chondrocyte at different time points after injury *in vitro*

BAI Sheng-jun, WANG Wei, CHEN Chuan-hao

(Department of Anatomy, Bengbu Medical College, Bengbu Anhui 233030, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the mRNA expressions of matrix metalloproteinases (MMPs) in rabbit articular chondrocytes at different time-points after injury. **Methods:** The rabbit knee joint cartilage cells were obtained under sterile condition, primarily cultured *in vitro*, and established the cell scratch model in six-well plates. The proliferation of chondrocytes after 1, 3 and 7 days of scratching and normal cells were observed under the microscope. The MMPs mRNA expression levels in normal cells and different time-points after injury were detected using real-time PCR. **Results:** The articular chondrocyte was successfully isolated, the scratch model of chondrocytes was established after primary culture. Compared with normal cells, the mRNA expression levels of MMP-2 gene in chondrocytes increased at 1, 3 and 7 days after injury, and which was the highest on the seventh day ($P < 0.05$ to $P < 0.01$). Compared with normal cells, the mRNA expression levels of MMP-3 gene in chondrocytes decreased significantly at 1, 3 and 7 days after injury, and which was the lowest at on the seventh day ($P < 0.01$). Compared with normal cells, the mRNA expression levels of MMP-9 gene in chondrocytes increased at 1, 3 and 7 days after injury, and which was the highest on the third day and then began to decrease ($P < 0.01$).

Conclusions: The mRNA expression levels of MMPs are different after injury, which can provide the experimental evidence in gene therapy of articular cartilage injury.

[Key words] chondrocyte; matrix metalloproteinase; scratch model; primary culture

[收稿日期] 2016-01-15 [修回日期] 2016-11-17

[基金项目] 蚌埠医学院研究生科研创新计划项目(Bycx1401); 博士研究生科研启动基金(2010BR030); 安徽省高校省级自然科学研究重点项目(KJ2014A157)

[作者单位] 蚌埠医学院 人体解剖学教研室, 安徽 蚌埠 233030

[作者简介] 白笙君(1988-), 男, 硕士研究生。

[通信作者] 陈传好, 硕士研究生导师, 教授。E-mail: cch711124@sina.com

骨关节炎和缺损在临床上很常见,病理改变是不可逆的。骨关节炎(OA)发病病因很多,可能与年龄、肥胖、机械压力以及关节创伤史有关^[1]。关节软骨缺少血管、淋巴管及神经,其损伤后的再生能力有限^[2]。细胞外基质(extra cellular matrix, ECM)是软骨细胞存活必要条件,其可以结合许多因子调节细胞功能。基质金属蛋白酶(matrix

[15] ZHANG RY, MA PX. Porospoly(L-lactic acid)/apatite composite created by biomimetic process [J]. J Biomed Mater Res, 1999, 45(4):285.

[16] 何玲, 刘露, 陈国俊. 多聚左旋赖氨酸对大脑皮层星形胶质细胞体外培养的影响[J]. 中国医药导报, 2016, 13(13):4.

[17] 仲智勇, 时保军, 周辉, 等. 多聚赖氨酸修饰 γ -Fe₂O₃纳米颗粒标记不影响神经母细胞瘤干细胞的活化和增殖[J]. 中国组织工程研究, 2016, 20(10):1419.