

## 7.0 T MRI体外标记Gd-DTPA对骨髓间充质干细胞的实验研究

耿宽, 贾岩龙, 黄得校, 易美芝, 杨忠现, 林艳, 吴仁华\*

### 基金项目:

国家自然科学基金重点项目(编号: 30930027); 国家自然科学基金青年基金(编号: 81101102); 广东省自然科学基金(编号: s2011010004973)

### 作者单位:

汕头大学医学院第二附属医院影像中心, 汕头 515041

### 通讯作者:

吴仁华, E-mail: rhwu@stu.edu.cn

收稿日期: 2013-08-22

接受日期: 2013-10-10

中图分类号: R445.2; R318

文献标识码: A

DOI: 10.3969/j.issn.1674-8034.2013.06.007

耿宽, 贾岩龙, 黄得校, 等. 7.0 T MRI体外标记Gd-DTPA对骨髓间充质干细胞的实验研究. 磁共振成像, 2013, 4(6): 431-436.

**[摘要]** 目的 研究MRI对比剂钆-二乙烯三胺五乙酸(Gd-DTPA)标记骨髓间充质干细胞(BMSCs)的可行性及标记之后体外MR成像示踪的可能性。**材料与方** 骨髓间充质干细胞由SD大鼠双侧股骨骨髓中获取, 培养、传代并纯化细胞, 采用临床通用Gd-DTPA增强剂标记骨髓间充质干细胞; 透射电子显微镜观察标记情况, 并用台盼蓝染色方法及噻唑蓝(MTT)法测定标记细胞的活力及增殖能力; 对标记的细胞进行体外7.0 T MR成像。**结果** 透射电子显微镜可清晰观察到Gd-DTPA颗粒大部分存在于骨髓间充质干细胞细胞浆中, 少许贴附于细胞膜上。台盼蓝染色方法证实标记之后细胞的存活率没有受到影响, MTT法证实标记之后对BMSCs增殖能力没有影响。体外试管扫描示标记细胞呈高T1WI信号强度, 并且持续时间较长。**结论** Gd-DTPA标记细胞之后, BMSCs的活性及增殖能力没有受到影响, 并且透射电镜结果证实Gd-DTPA颗粒存在于细胞胞浆内, 在细胞膜上也有Gd-DTPA颗粒存在。标记的BMSCs在体外检测到明显的MRI信号强度改变。Gd-DTPA可以作为示踪剂用来MRI示踪研究。

**[关键词]** 间质干细胞; 磁共振成像; 染色与标记; 钆DTPA; 动物, 实验

### Study of Gd-DTPA labeled bone marrow mesenchymal stem cells in vitro with 7.0 T MRI

GENG Kuan, JIA Yan-long, HUANG De-xiao, YI Mei-zhi, YANG Zhong-xian, LIN Yan, WU Ren-hua\*  
Medical Imaging Center, the 2nd Affiliated Hospital, Medical College of Shantou University, Shantou 515041, China

\*Correspondence to: Wu RH, Email: rhwu@stu.edu.cn

Received 22 Aug 2013, Accepted 10 Oct 2013

**Abstract Objective:** The aim of this study was to explore the possibility of the rat bone mesenchymal stem cells (BMSCs) labeled with standard contrast agents (Gd-DTPA) for stem cell tracking. **Materials and Methods:** BMSCs from bilateral femur of rats were cultured and propagated. The BMSCs uptaked Gd-DTPA. Electron microscopy was performed to detect the distribution of Gd-DTPA particles in BMSCs. Viability and proliferation of labeled BMSCs were evaluated using trypan blue exclusion assays and MTT assay. Labeled BMSCs were detected with T1-weighted MR imaging in vitro. **Results:** The presence of Gd-DTPA particles inside the BMSCs was definitely detected by transmission electron microscopy. There was no difference in viability and proliferation between the labeled and unlabeled cells. The labeled BMSCs demonstrated the high signal intensity on T1-weighted MRI in vitro. **Conclusion:** Gd-DTPA shows no evident adverse effect on the function of labeled BMSCs. Gd-DTPA can be used for the MR imaging tracking of labeled BMSCs.

**Key words** Mesenchymal stem cells; Magnetic resonance imaging; Staining and labeling; Gadolinium DTPA; Animals, laboratory

骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs)是来源于胚胎发育早期中胚层的具有多向分化潜能成体干细胞, 在一定的诱导条件下, BMSCs可定向分化为各胚层来源的组织细胞(例如成骨细胞、软骨细胞、肌肉细胞、脂肪细胞和神经细胞等)。体外培养的BMSCs体积小,

呈梭形, 核质比大, 表达间质细胞、内皮细胞和表皮细胞的表面标记物, 不表达造血干细胞系的表面标记物。BMSCs具有来源广泛、易于分离与扩增、低免疫原性等特点, 在组织工程、细胞移植和基因治疗等领域的应用前景十分广阔<sup>[1-4]</sup>。但移植后如何从受体辨别供体细胞, 并观察其在活体内的

生存迁徙情况一直是困扰其临床应用的瓶颈<sup>[5-7]</sup>, 利用MRI技术对磁性对比剂标记的细胞进行可视化示踪可以克服其他标记方法需要离体观察细胞在体内变化情况的缺点<sup>[8]</sup>。笔者用钆-二乙烯三胺五乙酸(Gd-DTPA)颗粒标记大鼠BMSCs, 检测标记后细胞的生物学特性及体外7.0 T MRI示踪的可行性, 为BMSCs移植活体MR成像奠定实验基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

所用6只SD大鼠由汕头大学医学院实验动物中心提供。实验试剂购自Gibico、Qiagen、四季青、碧云天等公司。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 BMSCs分离纯化与培养

SD大鼠(体质量150~200 g)水合氯醛腹腔麻醉处死后, 将尸体浸泡于75%酒精15 min, 在超净台上取出大鼠的双侧股骨及胫骨, 尽可能地分离附着在骨上的肌肉、筋膜等软组织, 剪去骨的两端, 用完全培养液(DMEM/F12, 10% FBS, 双抗)冲洗, 离心(1000 r/min, 3 min), 弃取上清液, 加入适量完全培养液(1~2 ml)吹打均匀, 分装至培养瓶中, 加入适量完全培养液(4 ml/25 cm<sup>2</sup>培养瓶)。在37℃、5%CO<sub>2</sub>培养箱中培养, 24~72 h更换培养液, 去除未贴壁细胞。之后每2~3 d更换培养液, 当细胞80%~90%融合后, 胰蛋白酶-EDTA消化后传代培养。

#### 1.2.2 BMSs流式细胞仪鉴定

取第3代BMSCs用胰蛋白酶消化后, 磷酸缓冲液(PBS)洗涤2次, 细胞计数, 样品管和对照管各加入100 μl细胞悬液, 含约1×10<sup>6</sup>个细胞, 样品管各加1 μg/ml抗体PE-CD90、抗体PE-CD45和抗体FITC-CD29, 避光孵育30 min, PBS洗涤3次, 流式细胞仪检测。

#### 1.2.3 Gd-DTPA体外标记BMSCs

取3~4代BMSCs, 以5×10<sup>6</sup>/ml的密度接种于25 cm<sup>2</sup>培养瓶中, 加入4 ml DMEM/F12完全培养液培养24 h。对BMSCs进行Gd-DTPA标记前, 先配制标记液, 按照30 μl Gd-DTPA(Magnevist, Schering, German)、25 μl Effectene转染剂(Qiagen, CA, USA)的配比<sup>[9]</sup>遵照Qiagen公司的说明配制而成, 将标记液加入BMSCs的培养液中,

37℃, 5%CO<sub>2</sub>的培养环境下继续培养24 h。弃去培养液, 0.25%胰酶消化, 离心(1000 r, 3 min)、PBS洗脱3次, 去上清液, 所得细胞沉淀根据需求或加入培养液继续培养供后续增殖、持久性实验用, 或供体外MRI检测用。

#### 1.2.4 MRI体外检测

(1)标记细胞的MRI检测: 将标记好的细胞消化、离心, 并计数约5×10<sup>5</sup>个, 然后将收集的细胞转入1.5 ml的EP管中, 并离心以便细胞沉淀成团, 然后进行体外MRI检测。其余组别细胞分别为未加入Effectene转染剂(单独Gd-DTPA标记)、未加入Gd-DTPA(标记液只有Effectene)以及未加入任何标记液, 其余操作同标记细胞。(2)MRI参数设置: 利用本实验室的安捷伦7.0 T(Agilent 7.0 T MRI)扫描, 采用序列为SE序列T1WI TR 400 ms, TE 9 ms, 层厚1.0 mm, 层距0.5 mm, 视野(FOV)30 mm×30 mm, 矩阵128×128, 信号平均次数4次; T2WI TR 2000 ms, TE 48 ms。(3)标记持久性的检测: 取10<sup>6</sup>个标记BMSCs, PBS洗脱3次, 加入新鲜培养液继续培养、正常传代。每传1代分别再取10<sup>6</sup>个BMSCs, 胰酶消化后收集于1.5 ml的EP管内, 离心, 将含有细胞沉淀的EP管进行MRI检测。了解随细胞的增殖分裂Gd-DTPA标记细胞的持久性。

#### 1.2.5 标记MSCs生物学性状测定

(1)细胞活力测定: 分别取5×10<sup>6</sup>个刚标记24 h的BMSCs标记与未标记的BMSCs, 分别孵育24 h、48 h、72 h后, 对细胞进行台盼蓝排斥实验, 计数存活的细胞比例, 观察标记后细胞的活力。以上每个时间点实验重复3次。(2)细胞增殖能力测定: Gd-DTPA标记的BMSCs的增殖能力测定采用MTT(噻唑蓝)法, 将BMSCs消化、离心制成细胞悬液, 以每孔10<sup>4</sup>个细胞接种于96孔细胞培养板, 按照上述的标记试剂与细胞比例标记, 标记后培养12 h、24 h、48 h后, 每孔加入MTT溶液(5 g/L)20 μl, 继续孵育4 h, 吸弃孔内上清液, 每孔加入150 μl DMSO, 振荡10 min, 置于酶联免疫检测仪下, 于570 nm波长下检测各孔光密度值(OD值), 每个时间点分别测7组数据。

#### 1.2.6 电镜观察及标记率测定

取1×10<sup>6</sup>个Gd-DTPA标记的BMSCs, PBS洗涤3次, 加入2.5%冷戊二醛(0.1 M二甲胍酸钠缓

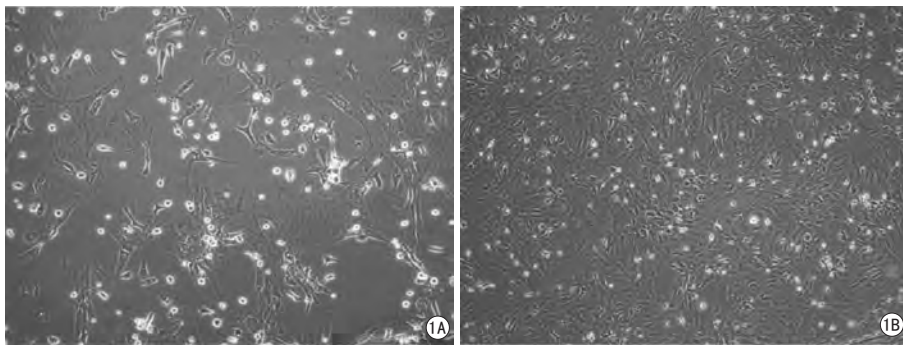


图1 BMSCs形态图(×200)。A: 原代BMSCs呈集落形态生长; B: 传代后的BMSCs形态均一, 呈梭形生长  
**Fig. 1** Morphology of BMSCs(×200). A: Primary BMSCs grew like colonies. B: Passaged BMSCs grew like fusiformis.

冲液配制), 4℃固定过夜。0.1 M二甲胍酸钠缓冲液洗涤, 用细胞刮取细胞, 离心, 富集细胞于1.5 ml EP管中。用1%锇酸进行后固定, 于4℃下持续1 h, 梯度丙酮脱水, Spur树脂包埋, 超薄切片, 醋酸双氧铀和橘橼酸铅双染色, 透射电镜下观察。标记率测定采用原子吸收光谱仪测定, 具体参照Shyu等<sup>[10]</sup>的方法。

## 2 结果

### 2.1 BMSCs的分离培养

原代BMSCs接种于培养皿后呈球形悬浮于培养液中, 10 h左右开始贴壁, 48 h后贴壁细胞伸展, 呈短梭形或三角形, 细胞核居中, 折光性强, 并迅速呈现集落性扩增(图1A)。随着培养时间延长, 悬浮的造血细胞逐渐坏死或随换液次数的增多而被清除, 细胞分布均匀, 呈梭形的成纤

维状形(图1B)。

### 2.2 BMSCs纯化鉴定

BMSCs表达间质细胞、内皮细胞和表皮细胞的表面标记物, 不表达造血干细胞表面的标记物, 选取BMSCs高表达的CD29和CD90, 以及BMSCs不表达的造血干细胞表面标记物CD45, 取第3代的BMSCs, 用流式细胞仪分析检测, 结果

见图2。由图2可见, CD29和CD90阳性率分别为84.69%和90.28%, CD45的阳性率为0.72%, 表明利用贴壁培养法分离得到的BMSCs纯度较高。

### 2.3 标记对干细胞生物学性状的影响

标记组细胞和未标记组的细胞在24 h、48 h、72 h各时间点活性差异无统计学意义( $P>0.05$ , 图3)。MTT法的结果(表1)表明Gd-DTPA标记并没有影响MSCs的存活和增殖能力。Gd-DTPA标记完成后12 h、24 h和48 h, MTT法测得的OD值(光密度值)在BMSCs和Gd-DTPA-BMSCs的差异均没有统计学意义( $P$ 值均 $>0.05$ )。

### 2.4 透射电镜下观察Gd-DTPA磁性颗粒及标记率测定

透射电镜图清晰可见Gd颗粒进入BMSCs内。Gd颗粒主要分布在胞浆的胞器(如高尔基体)周围及附着在细胞膜上(图4)。经原子吸收能谱仪测

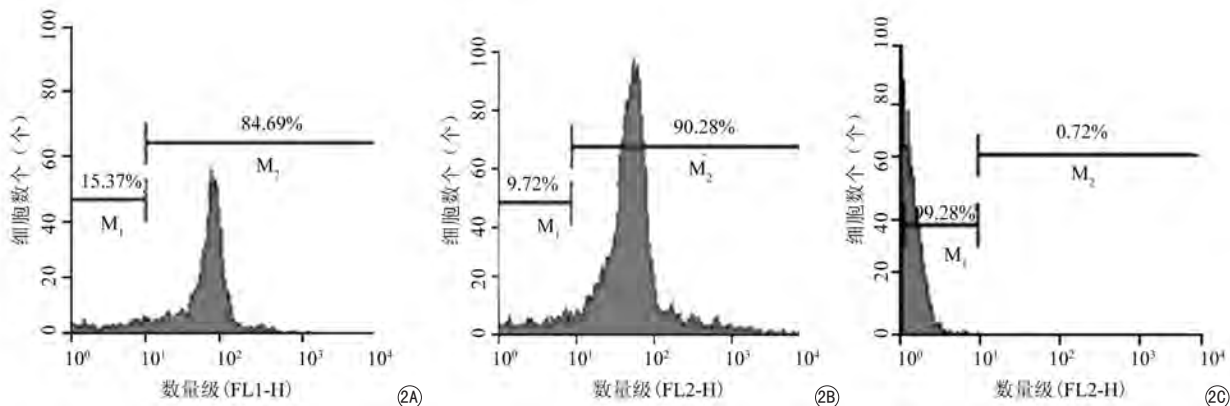


图2 BMSCs纯度的鉴定。第3代BMSCs CD29(A)、CD90(B)和CD45(C)阳性表达率分别为84.69%、90.28%和0.72%(其中FL1-H、FL2-H分别代表使用的不同的通道。M1、M2代表细胞荧光的阴性及阳性的表达率)

**Fig. 2** BMSCs were analysed by FACS and differentiation assays. The positive expression rates of 3rd generation BMSCs CD29(A), CD90(B) and CD45(C) were 84.69%, 90.28% and 0.72%. (FL1-H and FL2-H represent the different channels. M1 and M2 represent negative and positive rate of cells fluorescence staining).

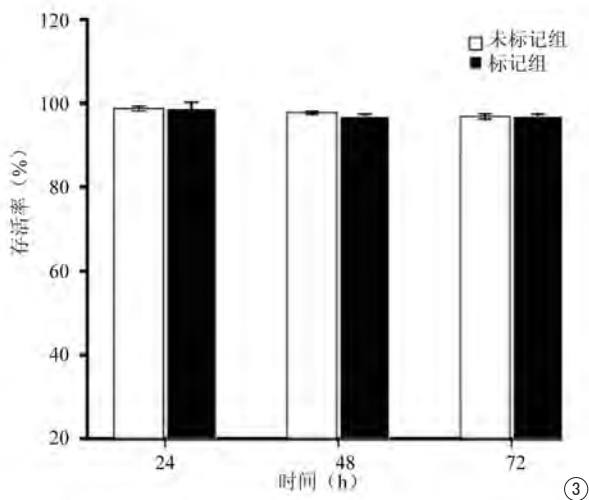


图3 细胞存活率的测定。标记组和未标记组细胞在24 h、48 h、72 h测定细胞存活率无明显区别

Fig. 3 Determination of cell viability. There is no significant difference between labeled BMSCs and the unlabeled BMSCs for 24 h, 48 h, 72 h.

表1 细胞活性测定结果(MTT法)

Tab. 1 The results of cell activity assay (MTT assay)

Groups	12 h		24 h		48 h	
	Labeled group	Unlabeled group	Labeled group	Unlabeled group	Labeled group	Unlabeled group
1	0.293	0.256	0.516	0.491	0.458	0.606
2	0.370	0.408	0.591	0.546	0.286	0.246
3	0.389	0.353	0.631	0.609	0.392	0.439
4	0.362	0.388	0.440	0.516	0.374	0.347
5	0.295	0.353	0.561	0.559	0.348	0.380
6	0.381	0.349	0.622	0.588	0.293	0.433
7	0.257	0.262	0.437	0.515	0.286	0.249

定标记率达86%。

### 2.5 MR体外成像

标记组细胞(图5A)与未标记组细胞(图5B)相比, T1WI上信号增高, T2WI信号稍减低; 不含Effectene组(图5C)信号于T1WI较未标记组信号稍高, 较标记组T1WI稍低; 不含Gd-DTPA组(图5D)信号与未标记组信号相近。1 × 10<sup>6</sup>个细胞经标记后, 进行正常传代, 随着细胞的分裂增殖, MR T1WI信号逐渐由高减低, 传代到第4代时, 其信号强度与未标记细胞接近(图5E~I)。

## 3 讨论

### 3.1 干细胞磁标记技术

干细胞是一类具有自我更新和分化潜能的细胞, 根据来源可分为胚胎干细胞和成体干细胞。

在许多中枢神经系统疾病的灵长类动物模型, 如帕金森病, 阿尔茨海默氏病, 脊髓损伤和缺血性中风, 骨髓间充质干细胞<sup>[11]</sup>、神经干细胞<sup>[12]</sup>替代疗法已初见成效。但是, 干细胞广泛应用于临床尚需解决较多问题, 其中关键的是如何监测移植的干细胞在体内存活、迁移及分化情况。运用Fe类或Gd类顺磁性对比剂, 通过不同的载体如多聚赖氨酸、葡聚糖、脂质体等, 将Fe或Gd引入干细胞内, 对干细胞进行顺磁性标记, MRI能利用细胞弛豫特性的改变而对干细胞进行无创性地检测及示踪<sup>[13]</sup>。Fe或Gd标记的干细胞由于Gd明显的T1缩短效应和Fe明显的T2缩短效应, 使得细胞在MRI上出现特征性信号变化, 从而在体外或活体内为MRI所显示<sup>[14]</sup>。其中氧化铁类中超顺磁性氧化铁(SPIO)和超微超顺磁性氧化铁因其粒径小及弛豫率高等优点, 而被广泛应用。但是, 氧化铁纳米颗粒标记的细胞与出血组织和坏死组织区在T2加权像上均显示为低信号, 难以清晰地区分, 容易形成假阳性图像。与铁剂不同, Gd-DTPA标记的细胞在T1加权像上显示为高信号影, 强度为高信号改变, 易于把所标记细胞与细胞周围的低信号的组织区分开来。笔者选用临床普及型Gd对比剂Gd-DTPA, 利用Effectene转染剂作为载体, 对骨髓间充质干细胞进行标记, 探讨一种体外检测BMSCs状态的新思路。透射电镜及体外MR成像结果均证实Gd-DTPA成功标记了BMSCs, 电镜下可见Gd-DTPA颗粒存于细胞胞浆, 尤其是高尔基体内。笔者采用的转染方法在分子生物学研究中已经广泛应用<sup>[15-16]</sup>, 且所用的载体已商品化, 易得, 不需自行合成, 具有进一步普及应用的优势。

### 3.2 高场MRI(7.0 T)的优势

7.0 T高场动物MR扫描仪具有高达100 μm的空间分辨率和300 mT/m的梯度磁场强度, 组织分辨率高, 高场强MR成像系统则提高了空间分辨率且缩短了成像时间, 本技术对研究组织器官微观结构, 以及其生化代谢过程等有十分重要的作用。7.0 T高场磁场MR成像扫描仪比临床上场强更高、匀场更均匀, 配有两路射频通道、四路接收通道、多种体线圈和表面线圈。在本实验中, 更容易清晰显示出标记之后的干细胞的高亮信号, 甚至能显示到更微弱的T1高信号, 这样显示出来

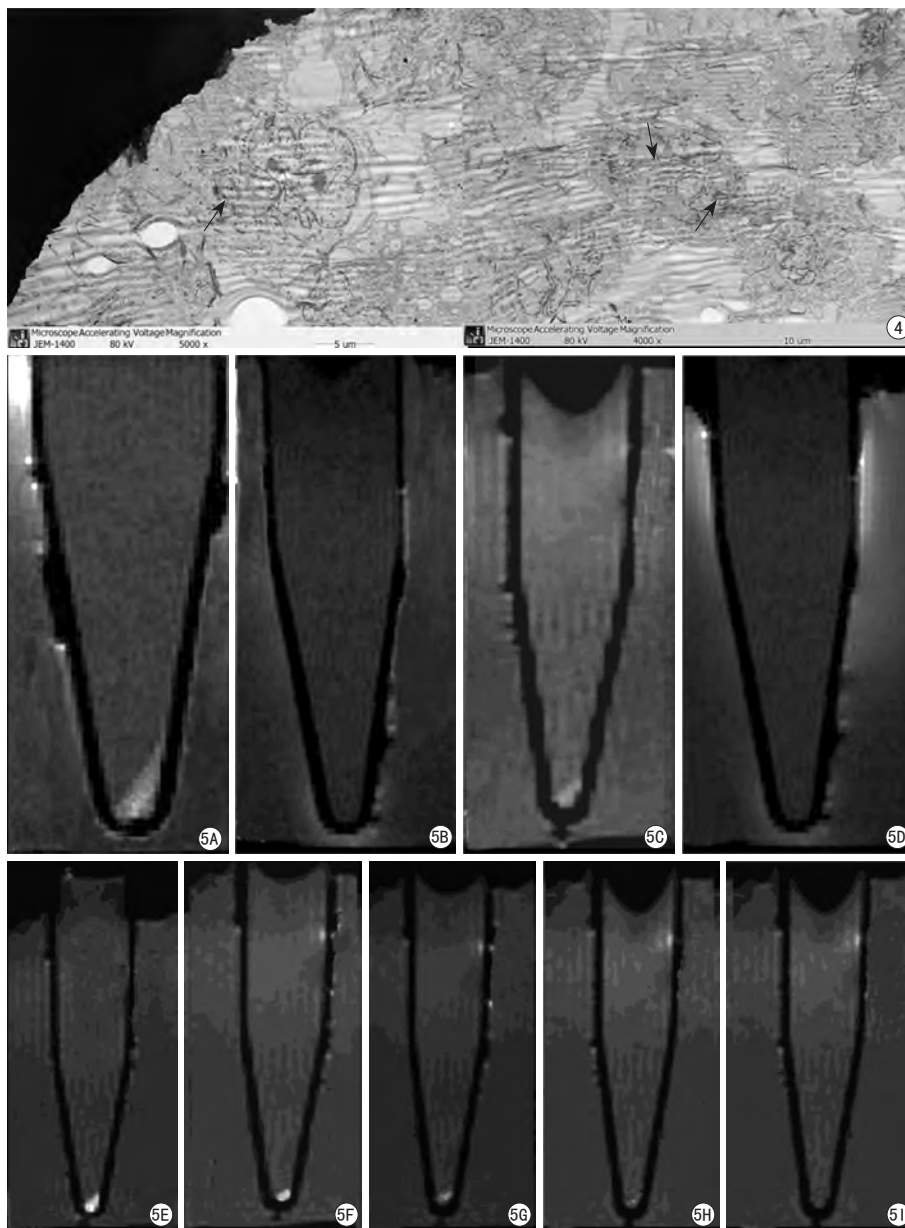


图4 BMSCs标记后电镜观察,显示致密的钆(Gd)颗粒主要位于细胞浆内(箭头) 图5 A~D为不同组别细胞MRI的体外显像,标记组的信号明显高亮。E~I为骨髓间充质干细胞(BMSCs)Gd-DTPA标记持久性的MRI检测,1×10<sup>6</sup>个细胞标记后,正常传代,随着细胞的增殖,T1WI显示细胞的信号强度逐渐减低,至第5代时,其信号强度与未标记细胞相似;自左往右分别为标记的第1、2、3、4代标记细胞和未标记细胞

**Fig.4** Transmission electron microscopy showed labeled BMSCs. Gd-DTPA particles exist within cytoplasm (arrow). **Fig5** A—D: Different groups of cells MRI imaging in vitro. The T1-weighted SE image shows that the signal intensity of Gd-DTPA+Effectene+BMSCs is obviously higher than another group. E—I: The tag persistence of BMSCs after labeling. As the cell proliferation, T1WI signal intensity of BMSCs cells reduced gradually. At the 5th generation, the signal intensity were similar to unlabeled cells. The order of cells were first, second, third, fourth generation cellular and unlabeled cells from left to right.

的标记信号持续更久。

### 3.3 Gd-DTPA干细胞标记的安全性

磁标记对干细胞的安全性是干细胞磁标记体

内应用的前提, Gd-DTPA已经为美国食品与卫生监督局批准用于临床数十年<sup>[17]</sup>。大多数体外、动物活体实验表明,使用适当浓度的示踪剂,标记的干细胞其活性及增殖能力并不受影响,能够正常分化,且顺磁性对比剂亦不会发生细胞外漏<sup>[18-20]</sup>。反映了干细胞磁性标记的安全性及可靠性。本实验结果显示,骨髓间充质干细胞标记后,在不同时间点分别对比标记组和未标记组细胞活性,可以看到细胞标记之后活性并没有受到影响。同样,在不同时间点标记之后细胞的增殖能力亦没有受到影响。

### 3.4 Gd-DTPA标记干细胞MR成像的持久性

目前所标记的细胞大都能被MRI监测到,对比剂在细胞内存在的时间长短与细胞的分裂速度、对比剂种类及细胞数量等因素有关。Gd因为其生物代谢的特点,在细胞内不能降解<sup>[21]</sup>,其T1加权正性增强作用能持续保持。Daldrop-Link等<sup>[22]</sup>随访结果表明,用马根维显(Gd类)标记的细胞在MRI T1加权上持续正性增强,而Fe类标记的细胞在标记后7 d其负性增强信号逐渐减弱。Modo等<sup>[13]</sup>发现Gd双能标记细胞后,活体内14 d

内与1 d均可发现标记的细胞,两者无差别。本研究结果显示, Gd-DTPA标记细胞后,标记的细胞可持续到传代第4代(约12~15 d)仍可被MRI检测

出, 显示Gd-DTPA标记细胞后利用MRI示踪干细胞在活体内的迁徙、归位具有较好的应用前景。

总之, 本研究结果表明使用Gd-DTPA对骨髓间充质干细胞进行标记, 能使标记细胞在体外为MRI所显示, 且Gd-DTPA对细胞的生物学性状并无影响, 是一种具有良好前景的间充质干细胞示踪的方法。

#### 参考文献 [References]

- [1] Vaz, AP, Ponnusamy MP, Batra SK. Cancer stem cells and therapeutic targets: an emerging field for cancer treatment. *Drug Deliv Transl Res*, 2013, 3(2): 113-120.
- [2] Barry F, Murphy M. Mesenchymal stem cells in joint disease and repair. *Nat Rev Rheumatol*, 2013, 9(10): 584-594.
- [3] Detante O, Valable S, De Fraipont F, et al. Magnetic resonance imaging and fluorescence labeling of clinical-grade mesenchymal stem cells without impacting their phenotype: study in a rat model of stroke. *Stem cells translational medicine*, 2012, 1(4): 333-340.
- [4] Chen XW, Zhu DJ, Ju YL, Zhou SF. Therapeutic effect of transplanting magnetically labeled bone marrow stromal stem cells in a liver injury rat model with 70%-hepatectomy. *Med Sci Monit*, 2012, 18(10): BR375-382.
- [5] Itrich H, Lange C, Tögel F, et al. In vivo magnetic resonance imaging of iron oxide-labeled, arterially-injected mesenchymal stem cells in kidneys of rats with acute ischemic kidney injury: detection and monitoring at 3 T. *J Magn Reson Imaging*, 2007, 25(6): 1179-1191.
- [6] Cao J, Wang YN, Shi XL, et al. In vivo and in vitro imaging tracing of dual-labeled bone mesenchymal stem cells transplanted into myocardium of F344 rats. *Zhongguo yi xue ke xue yuan xue bao*, 2012, 34(5): 474-479.
- [7] Drey F, Choi YH, Neef K, et al. Noninvasive in vivo tracking of mesenchymal stem cells and evaluation of cell therapeutic effects in a murine model using a clinical 3.0 T MRI. *Cell Transplant*, 2012[Epub ahead of print].
- [8] Wang JD, Hu QJ, Zhu FP, et al. Ferritin coordinates with SPIO in tracking C6 rat glioma cells by MRI. *Chin J Magn Reson Imaging*, 2010, 1(4): 299-304.  
王建东, 胡秋菊, 朱飞鹏, 等. 铁蛋白与 SPIO在磁共振细胞活体示踪中的增效作用. *磁共振成像*, 2010, 1(4): 299-304.
- [9] Shen J, Cheng LN, Zhong XM, et al. Efficient in vitro labeling rabbit neural stem cell with paramagnetic Gd-DTPA and fluorescent substance. *Eur J Radiol*, 2010, 75(3): 397-405.
- [10] Shyu WC, Chen CP, Lin SZ, et al. Efficient tracking of non-iron-labeled mesenchymal stem cells with serial MRI in chronic stroke rats. *Stroke*, 2007, 38(2): 367-374.
- [11] Corti R, Badimon J, Mizsei G, et al. Real time magnetic resonance guided endomyocardial local delivery. *Heart*, 2005, 91(3): 348-353.
- [12] Walczak P, Kedziorek DA, Gilad AA, et al. Applicability and limitations of MR tracking of neural stem cells with asymmetric cell division and rapid turnover: the case of the shiverer dysmyelinated mouse brain. *Magn Reson Med*, 2007, 58(2): 261-269.
- [13] Modo M, Cash D, Mellodew K, et al. Tracking transplanted stem cell migration using bifunctional, contrast agent-enhanced, magnetic resonance imaging. *Neuroimage*, 2002, 17(2): 803-811.
- [14] Chen CQ, Wang XY, Chen C, et al. In vivo MR tracking imaging of SPIO-labeled adipose-derived stem cells transplantation in rat models of brain infarction. *China J Magn Reson Imaging*, 2010, 1(1): 50-54.  
陈长青, 王小宜, 陈晨, 等. SPIO 标记脂肪干细胞移植治疗大鼠脑梗死的磁共振示踪成像研究. *磁共振成像*, 2010, 1(1): 50-54.
- [15] Chen XG, Wang N, Yao JH, et al. Gene delivery to mice spermatogenic stem cells by Effectene. *Chin Med J (Engl)*, 2004, 117(4): 630-632.
- [16] Shyu WC, Chen CP, Lin SZ, et al. Efficient tracking of non-iron-labeled mesenchymal stem cells with serial MRI in chronic stroke rats. *Stroke*, 2007, 38(2): 367-374.
- [17] Syková E, Jendelová P, Urdzřiková L, et al. Bone marrow stem cells and polymer hydrogels: two strategies for spinal cord injury repair. *Cell Mol Neurobiol*, 2006, 26(7-8): 1113-1129.
- [18] Hoehn M, Küstermann E, Blunk J, et al. Monitoring of implanted stem cell migration in vivo: a highly resolved in vivo magnetic resonance imaging investigation of experimental stroke in rat. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2002, 99(25): 16267-16272.
- [19] Guenoun J, Koning GA, Doeswijk G, et al. Cationic Gd-DTPA liposomes for highly efficient labeling of mesenchymal stem cells and cell tracking with MRI. *Cell Transplant*, 2012, 21(1): 191-205.
- [20] Tran LA, Krishnamurthy R, Muthupillai R, et al. Gadonanotubes as magnetic nanolabels for stem cell detection. *Biomaterials*, 2010, 31(36): 9482-9491.
- [21] Modo M, Mellodew K, Cash D, et al. Mapping transplanted stem cell migration after a stroke: a serial, in vivo magnetic resonance imaging study. *Neuroimage*, 2004, 21(1): 311-317.
- [22] Daldrup-Link HE, Rudelius M, Oostendorp RA, et al. Targeting of hematopoietic progenitor cells with MR contrast agents I. *Radiology*, 2003, 228(3): 760-767.