

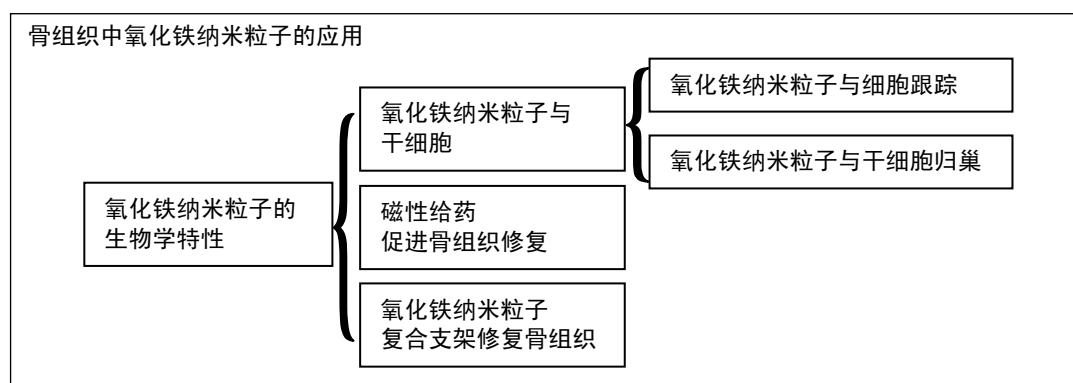
氧化铁纳米粒子在骨组织修复再生中的研究与应用

沈梦杰, 杨 琨, 刘 琪(遵义医学院附属口腔医院牙周科, 贵州省遵义市 563003)

DOI:10.3969/j.issn.2095-4344.1652

ORCID: 0000-0002-1600-6357(沈梦杰); 0000-0001-8041-6978(刘琪)

文章快速阅读:



沈梦杰, 女, 1990 年生, 汉族, 安徽省阜阳市人, 遵义医学院在读硕士, 主要从事牙周组织再生研究。

通讯作者: 刘琪, 博士, 教授, 遵义医学院附属口腔医院牙周科, 贵州省遵义市 563003

文献标识码:A

稿件接受: 2018-12-17



文题释义:

磁性纳米粒子: 是近年来发展迅速且极具应用价值的新型材料, 目前磁性纳米粒子主要应用在磁性分离、磁性转染、核酸/蛋白质/病毒/细菌等的检测、免疫分析、磁性药物靶向、肿瘤热疗、核磁共振成像和传感器等生物医药方面。与其他材料相比, 磁性纳米粒子具有生产成本低、物理和化学稳定性好、生物相容性好等独特优势。

氧化铁纳米粒子: 是一种纳米级别的磁性材料, 具有优良的生物相容性、良好的化学稳定性, 而且无内在毒性, 是应用于骨组织工程中良好的生物材料。

摘要

背景: 氧化铁纳米粒子是一种磁性纳米材料, 具有优良的特性, 使其在医学上的应用越来越广泛, 尤其在骨组织再生修复方面起到了积极作用。

目的: 综述氧化铁纳米粒子在骨组织修复再生中的研究进展及应用。

方法: 应用计算机检索中国生物医学文献数据库、CNKI 数据库、PubMed 数据库及 Elsevier 数据库中发表的相关文献, 检索词为“骨修复, 骨再生, 氧化铁纳米粒子, 磁性纳米粒子; IONPs, bone repair, bone regenerate, iron oxide nanoparticles, osteogenesis, stem cell”, 查阅 2004 年 5 月至 2018 年 1 月期间收录的氧化铁纳米粒子在骨组织再生医学方面的相关文章。

结果与结论: 近年来, 磁性纳米粒子在医学研究中得到了广泛应用, 例如靶向给药、磁共振成像(MRI)、局部组织热疗和肿瘤治疗、生物分离和生物传感等, 目前较为常用的磁性纳米粒子是氧化铁纳米粒子。研究已证明氧化铁纳米粒子与干细胞归巢有密切关系, 并且能够携带药物进入特定的靶向部位及促进骨组织再生修复。虽然氧化铁纳米粒子促进骨组织修复研究取得了初步成效, 但对于其促进骨愈合机制尚未完全阐明, 大部分研究仅局限于基础研究, 未来还需加强关于氧化铁纳米粒子促进骨组织愈合通路机制的研究及临床研究。

关键词:

氧化铁纳米粒子; 磁性纳米粒子; 骨修复; 干细胞; 成骨; 磁性给药

主题词:

骨再生; 纳米粒; 四氧化三铁; 磁铁矿纳米颗粒; 组织工程

中图分类号: R459.9; R318.08

基金资助:

2017 年国家自然科学基金(81760199), 项目负责人: 杨琨; 2018 年国家自然科学基金(81860196), 项目负责人: 刘琪

Application and research of iron oxide nanoparticles in bone tissue repair

Shen Mengjie, Yang Kun, Liu Qi (Department of Periodontology, Stomatological Hospital Affiliated to Zunyi Medical University, Zunyi 563003, Guizhou Province, China)

Abstract

BACKGROUND: Iron oxide nanoparticles are a kind of magnetic nanomaterial. Their excellent characteristics make them more and more widely used in medicine, especially in bone tissue regeneration and repair.

OBJECTIVE: To review the research progress and application of iron oxide nanoparticles in bone tissue repair and regeneration.

Shen Mengjie, Master candidate, Department of Periodontology, Stomatological Hospital Affiliated to Zunyi Medical University, Zunyi 563003, Guizhou Province, China

Corresponding author: Liu Qi, MD, Professor, Department of Periodontology, Stomatological Hospital Affiliated to Zunyi Medical University, Zunyi 563003, Guizhou Province, China

METHODS: A computer-based search of CBM, CNKI, PubMed and Elsevier was performed for retrieving articles concerning iron oxide nanoparticles for bone tissue regeneration published from May 2004 to January 2018. The keywords were “bone repair; bone regeneration; iron oxide nanoparticles; magnetic nanoparticles” in Chinese and “IONPs; bone repair; bone regenerate; iron oxide nanoparticles; osteogenesis; stem cell” in English.

RESULTS AND CONCLUSION: In recent years, magnetic nanoparticles have been widely used in medical research, such as targeted drug delivery, magnetic resonance imaging, local tissue thermotherapy and tumor therapy, biological separation and biological sensors. The magnetic nanoparticles commonly used at present are iron oxide nanoparticles. Studies have proven that iron oxide nanoparticles have a close relationship with stem cell homing, and they are able to carry drugs into a specific target area, promoting bone tissue regeneration and repair. Although initial results have been achieved in the research on iron oxide nanoparticles in promoting bone tissue repair, the mechanism by which iron oxide nanoparticles promote bone healing has not been fully elucidated, and most studies are only limited to basic research. Future basic and clinical studies on the mechanism of iron oxide nanoparticles in promoting bone tissue healing need to be strengthened.

Subject headings: Bone Regeneration; Nanoparticles; Ferrosoferric Oxide; Magnetite Nanoparticles; Tissue Engineering

Funding: the National Natural Science Foundation of China in 2017, No. 81760199 (to YK); the National Natural Science Foundation of China in 2018, No. 81860196 (to LQ)

0 引言 Introduction

近年来,磁性纳米粒子在医学研究中得到了广泛应用,例如靶向给药、磁共振成像(MRI)、局部组织热疗和肿瘤治疗、生物分离和生物传感等^[1]。与其他材料相比,磁性纳米粒子具有生产成本低、物理和化学稳定性好、生物相容性好等独特优势^[2],因此磁性纳米粒子的生物应用越来越受到广泛重视。目前较为常用的磁性纳米粒子是氧化铁纳米粒子,它主要包括三氧化二铁(Fe_2O_3)和四氧化三铁(Fe_3O_4)。很多研究证明,磁性纳米粒子的应用有望成为一种临床治疗方法。近年来,应用氧化铁纳米粒子修复骨缺损的研究越来越多,而且得到了比较理想的结果。未来,氧化铁纳米粒子在骨组织工程中的应用有望为骨缺损修复提供一种新策略。

1 资料和方法 Data and methods

1.1 资料来源 应用计算机检索中国生物医学文献数据库(CBM)、CNKI数据库、PubMed数据库及Elsevier数据库,2004年5月至2018年1月期间收录的氧化铁纳米粒子在骨组织再生医学方面的相关文章,检索词为“骨修复,骨再生,氧化铁纳米粒子,磁性纳米粒子;IONPs, bone repair, bone regenerate, Iron oxide nanoparticles, Osteogenesis, stem cell”。

1.2 入选标准

纳入标准: ①有关氧化铁纳米粒子理化特性的相关文献;②氧化铁纳米粒子与骨再生修复具有相关性的文献;③同一领域中论点、论据可靠的文献。

排除标准: ①重复性研究且与研究目的无相关性的文章;②资料无法提取的部分文献。

1.3 数据的提取 研究内容由3人独立提取并通过讨论解决分歧。信息记录侧重于氧化铁纳米粒子在骨组织再生修复方面的相关文献。

1.4 文献证据综合提炼 计算机初检得到232篇文献,通过阅读文题和摘要进行初步筛选,排除与文章主题不相关的文献,根据纳入标准和排除标准,最后纳入55篇文献进行综述,见图1。

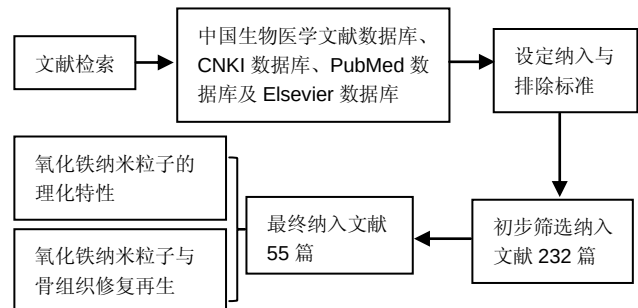


图1 文献检索流程图

2 结果 Results

2.1 氧化铁纳米粒子的基本特性 氧化铁纳米粒子具有优良生物相容性、良好的化学稳定性,而且无内在毒性^[3]。通常,纳米材料的毒性取决于其物理化学性质,如粒径、表面性质和化学成分^[4],因此在评价纳米颗粒的体内外毒性之前,必须准确地确定其理化特性。到目前为止,许多研究报告低剂量的氧化铁纳米颗粒对生物体是无毒的^[5]。Paik等^[6]也证明了氧化铁纳米粒子在体内外具有生物安全性。另外,氧化铁本身是人体内自然存在的一种金属,并且对于外源性氧化铁,机体也能够通过代谢途径处理降解铁离子。然而有研究发现,裸露的氧化铁纳米粒子可能因其表面聚集发生化学反应,具有毒性,所以氧化铁纳米粒子表面常需要涂布有机或无机涂层,这样可减少氧化铁氧化、防止纳米粒子的聚集和团聚、提高生物相容性^[7]。目前有机涂层包括柠檬酸盐、葡聚糖、壳聚糖等^[8],无机涂层包括二氧化硅、磷酸钙等^[9]。氧化铁纳米粒子的性质可随涂层的改变而改变,这些涂层可通过与靶向分子(即配体、抗体)结合进而与特异性受体结合,达到某些治疗目的^[10]。另外氧化铁纳米粒子会对外加磁场作出响应,即使没有外加磁场,氧化铁纳米粒子本身也可被认为是一个磁畴,在纳米尺度上提供磁场^[11]。氧化铁纳米粒子与外加磁场的相互作用,以及纳米粒子之间的相互作用,会在系统中产生能量变化,这种能量变化将为氧化铁纳米粒子在生物学中的应用奠定坚实基础^[12-13]。氧化铁纳米粒子的磁性质,与纳米颗粒的大小、形貌及结构相关,有学者发

现这些因素能够影响氧化铁纳米粒子在生物体内的分布和血液循环时间^[14-15]。因此,在构建氧化铁纳米粒子的过程中,应考虑细胞或组织靶向性、细胞摄取速率、功能分子或药物等影响因素。

2.2 氧化铁纳米粒子与干细胞 近年来,干细胞治疗为骨缺损修复提供了一种策略,尤其是在修复大面积骨缺损方面^[16-17]。目前,虽然干细胞移植在治疗动物骨缺损模型中取得了成功,但这些传统的干细胞移植并没有达到理想效果。如何保持持久有效的干细胞特性是治疗成功的关键,因此对于体外扩增的细胞,保持稳定的细胞表型,体内移植后减少缺损部位细胞的坏死和丢失,是骨缺损修复所必须的。随着材料学和化工生物学的发展,多年来人们一直尝试应用氧化铁纳米粒子作为研究和控制干细胞的工具^[18]。氧化铁纳米粒子通过与外加磁场结合在一起,它将对细胞黏附、增殖、运动和分布及干细胞成骨分化等都产生影响,另外也可用氧化铁纳米粒子标记细胞进行体内追踪和监测^[19]。

2.2.1 氧化铁纳米粒子与细胞跟踪 细胞的迁移、分布、存活、分化对干细胞治疗疗效起着至关重要的作用^[20]。了解这些参数可优化细胞选择、给药途径及治疗剂量,为特定的临床应用提供细胞基础治疗。为解决这一问题,研究人员一直在寻找工具,允许实时、定量和长期监测细胞在体内的行为,这种现象称为细胞跟踪。氧化铁纳米粒子作为一种核磁共振对比剂,可用于细胞跟踪^[21]。有学者发现,将氧化铁纳米粒子标记的骨髓间充质干细胞植入SD大鼠颅骨缺损中,通过MRI对标记的细胞进行了体内跟踪,结果表明,氧化铁纳米粒子标记不会影响骨髓间充质干细胞的存活和分化能力。同样在绵羊肌腱炎模型中,使用氧化铁纳米粒子标记的间充质干细胞进行治疗,术后7 d, MRI检测发现标记的细胞仍然可被检测到^[22]。这些结果与纳米颗粒介导的磁效应有关,这将有利于干细胞技术的深入研究和广泛应用。

2.2.2 氧化铁纳米粒子与干细胞归巢 氧化铁纳米粒子在干细胞治疗中的应用之一,是将干细胞磁性靶向到合适的部位。有学者采用体外磁靶向系统来吸引兔骨髓间充质干细胞,结果发现这项技术显著促进了氧化铁纳米粒子标记的细胞渗透到移植于兔尺骨缺损的多孔羟基磷灰石陶瓷中,并促进骨形成^[23]。同样Ito等^[24]也报道了一种以 Fe_3O_4 纳米粒子为核心的磁铁矿阳离子脂质体(MCLS)和柱状磁磁体进行间充质干细胞扩增,结果发现磁铁矿阳离子脂质体标记的骨髓间充质干细胞经过培养后,密度和数量明显高于常规培养的细胞,这些就表明氧化铁纳米粒子能够吸引干细胞归巢,而且发现氧化铁纳米粒子还能够促进间充质干细胞的体内外成骨分化。Mahmoud等^[25]利用磁标记的间充质干细胞,借助外部磁性装置,研究了一种用于修复严重慢性骨缺损的磁性靶向系统,结果发现以 2×10^5 个细胞移植就能够

完全修复严重的慢性骨缺损。除了通过控制干细胞促进骨再生的策略外,氧化铁纳米粒子本身,特别是在外加磁场的刺激下会诱导干细胞的成骨分化。Wang等^[26]制备了聚葡萄糖山梨醇羧甲基醚包覆的氧化铁纳米粒子,并探讨了其对骨髓间充质干细胞的影响,结果表明氧化铁纳米粒子在骨髓间充质干细胞中结构稳定,并促进了骨髓间充质干细胞的成骨分化。基因微阵列分析和生物信息学分析表明,氧化铁纳米粒子可激活经典的丝裂原活化脯氨酸激酶(MAPK)信号通路,其下游基因被调控,以促进成骨分化。此外,氧化铁纳米粒子可上调长链非编码RNA INZEB2,可调控ZB2表达和BMP/Smads途径^[27]。在静态磁场下, Fe_3O_4 /BSA颗粒能显著促进间充质干细胞中碱性磷酸酶、I型胶原及骨钙蛋白在mRNA和蛋白水平的表达^[28]。通过纳米粒子与间充质干细胞结合后的磁效应及促进成骨分化的特性,初步说明了氧化铁纳米粒子在骨再生修复中具有很大的潜力。

2.3 磁性给药促进骨生长 抗生素、生长因子及与成骨相关的microRNA和siRNA等药物,可提高骨缺损修复效果^[29-30]。然而,这些药物往往不能针对特定部位,不能产生直接的修复作用。近年来,人们一直致力于寻找最佳给药系统,以减少药物的不良反应和毒性,减少药效的丧失,提高治疗效果。研究发现,氧化铁纳米粒子可作为一种运载工具,在外部磁场的作用下可有效携带药物分子,靶向体内的特定部位。将药物分子悬浮在磁性载体上或分散在磁性纳米颗粒上,是一种简单而直接的磁性靶向给药途径。例如有研究采用溶剂蒸发和冻干法制备了可降解的聚乳酸-羟基乙酸共聚物辣椒素包被的磁性纳米粒子,此磁性纳米粒子提供了辣椒素的持续释放,在外部磁场作用下,该磁性纳米粒子能够到达特定的位置,提高对特定部位的治疗效果。除了磁靶向外,磁加热也被用于控制热反应药物载体释放治疗药物。Karazisis等^[31]使用双磷酸盐与葡聚糖包被氧化铁纳米粒子,得到了双磷酸盐/葡聚糖/ Fe_3O_4 纳米粒子,然后使用射频系统对其进行热分解,结果发现其对破骨细胞吞噬有很强的破坏作用。另有学者将磁性多壁碳纳米管、羟基磷灰石和氯磷酸盐制备成纳米复合体,同样发现氯磷酸盐可从系统中不断释放,并抑制破骨细胞的形成^[32]。利用氧化铁纳米粒子嵌入到脂质体膜中获得磁脂质体,当外部施加交变磁场时,产生的热量会破坏细胞膜,进而释放脂质体中包裹的药物,达到治疗目的^[33]。氧化铁纳米粒子除了促进成骨分化外,还具有良好的骨传导能力^[34]。目前在骨再生医学领域,氧化铁纳米粒子复合物常被用作药物控释的载体。有研究在多功能磁性介孔生物活性玻璃中装入庆大霉素,多功能磁性介孔生物活性玻璃中的 Fe_3O_4 纳米颗粒改善了庆大霉素的持续释放,有利于减少细菌的黏附,防止生物膜的形成。复合材料中的 Fe_3O_4 纳米颗粒除了能治疗感染外,还能促进骨髓

间充质干细胞的黏附、增殖和成骨分化。纳米材料作为载体在细胞内传递治疗药物,包括蛋白质、生长因子、小分子化学物质和DNA/RNA等,这种磁性药物传递系统,将为骨缺损修复提供一个有用的支撑平台。

2.4 氧化铁纳米粒子复合支架修复骨缺损 组织工程是一种在受损部位重建功能性组织的方法,通常包括种子细胞、生长因子和三维(3D)生物降解支架。组织工程复合体的构建,对促进组织再生或愈合具有重要意义。目前面临的问题是细胞通常停留在材料表面,不能进入支架内。近年来的研究发现,利用磁-机械驱动可将细胞驱动到三维支架的中心。Shimizu等^[35]报道了一种利用磁力进行细胞播种的技术,使用一种猪脱细胞颈总动脉支架,然后将猪脱细胞颈总动脉支架浸没在磁性标记细胞的悬浮液中,结果发现几乎所有的细胞都附着在猪脱细胞颈总动脉支架上,并且发现随着对氧化铁纳米粒子的吸收,细胞黏附逐渐增强。另外,也有学者发现涂有壳聚糖的氧化铁纳米粒子可增强人成骨细胞进入3D支架的深度,并且可利用磁力增加细胞间相互作用,缩短细胞增殖周期^[36]。这种磁性技术的应用,在促进骨组织修复再生方面具有重要价值,也为研究人员及临床医生提供了重要的理论依据。近年来,基于磁力组织工程的应用,其可构建多层细胞膜片,这将对骨组织修复有很大的推动作用^[37]。Shimizu等^[38]将磁性标记的人骨髓间充质干细胞接种到低附着培养皿表面,在其背面放置柱状钕磁体,培养24 h后,骨髓间充质干细胞可形成多层片状结构。另外,将骨髓间充质干细胞膜片移植到裸鼠颅骨5 mm缺损中,组织学观察显示,移植14 d后缺损区周围有新骨形成,对照组未发现骨细胞的形成。另外也有学者发现,磁力组织工程不仅能诱导多功能干细胞膜片形成,而且还可促进修复性血管的生成^[39]。磁力组织工程的应用,可为骨组织工程提供新的方法。

磁性支架能够通过磁性驱动吸引体内的生长因子、干细胞迁移,或者通过磁性氧化铁纳米粒子结合其他生物制剂,进而促进骨修复和再生。目前,磁性支架促进细胞增殖和新生骨组织生长的作用已被证实^[40]。该支架具有广泛的组成成分,主要包括生物大分子、合成聚合物、聚乙二醇、无机材料等^[41]。Russo等^[42]将超顺磁性氧化铁纳米粒子加入到羟基磷灰石中,制备成了磁性羟基磷灰石支架,结果发现其能显著改善骨细胞的黏附和增殖,促进骨组织再生。关于氧化铁纳米粒子复合支架的合成有很多种方法,现对于不同技术合成的氧化铁纳米粒子复合支架总结于表1。另外有学者发现在静磁场作用下,磁性复合支架材料对MC3T3-E1细胞的增殖、分化及细胞外基质分泌具有明显的促进作用^[44],此外在体内也有很好的修复作用^[48]。同样Singh等^[50]制备了氧化铁纳米粒子与聚己内酯磁性纳米复合支架,结果发现与单纯聚己内酯支架相比,磁性纳米复合支架的细胞黏

附、穿透纳米纤维的能力、碱性磷酸酶活性及成骨相关基因(I型胶原、骨桥蛋白和骨唾液蛋白)表达明显提高。此外,氧化铁纳米粒子纳米纤维支架能促进桡骨节段缺损的骨再生。

表1 氧化铁纳米粒子复合物合成方法的比较

合成方法	优点	缺点	参考文献
传统方法(物理吸附)	简单、廉价、性能稳定	缺乏磁场梯度的控制措施	[43-44]
氧化铁纳米粒子与其他成分混合	稳定性好、力学性能优良	难以控制支架表面的特性	[45-48]
静电纺丝技术	易操作、易控制支架表面特性	产量低、强度低	[49-51]
3D 打印技术	稳定性好、三维空间结构好、效率高	昂贵、材料局限性	[52]

关于氧化铁纳米粒子在体内外增强成骨作用的潜在机制还在探索中。Zhu等^[53]在体内实验中发现与单纯的羟基磷灰石支架相比,磁性羟基磷灰石支架上的钙离子、G蛋白偶联受体和MAPK/ERK级联蛋白相关蛋白浓度升高,并且发现磁性羟基磷灰石支架上富集的功能蛋白可有效激活MAPK/ERK信号通路,导致MC3T3-E1细胞增殖增加,加快成骨分化。Yun等^[54]也研究了磁性聚己内酯/ Fe_3O_4 纳米粒子复合支架对成骨功能和骨形成的联合作用,发现静态磁场与磁性支架可促进小鼠颅骨成骨细胞的成骨分化,增强骨相关基因(Runx2和Osterix)表达和碱性磷酸酶活性。虽然越来越多的实验数据证实,氧化铁纳米粒子对骨细胞的存活和分化作用明显,特别是在外部磁场作用下,但氧化铁纳米粒子与复合支架、磁性支架,磁场及磁性支架和磁场与骨细胞之间的相互作用,还需要进一步的研究。氧化铁纳米粒子在医学中的应用,见图2^[55]。

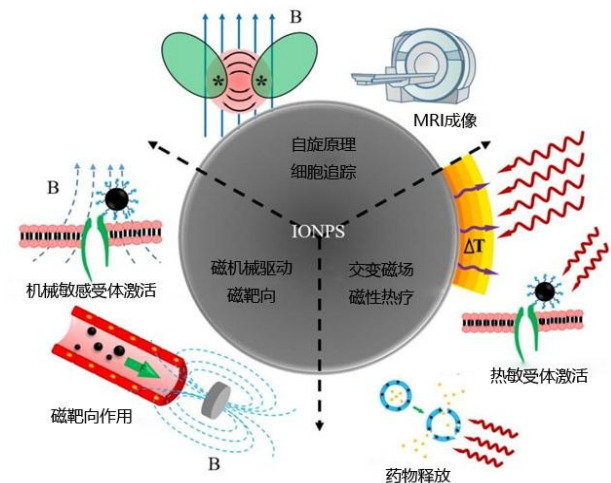


图2 氧化铁纳米粒子在医学中的应用

3 总结与展望 Conclusions and prospects

目前,关于氧化铁纳米粒子应用于成骨方面的研究越来越多,氧化铁纳米粒子在骨再生中的应用开辟了骨

缺损修复的新途径。氧化铁纳米粒子独特的性质加速了其在医学上的应用,特别是在磁性方面,磁场能够提供药物释放和生物分子激活的远程控制,产生包括细胞分化、组织生长和器官重建在内的生物反应。因此,开发适合某一特定应用的磁场,将有利于氧化铁纳米粒子安全、方便、有效地控制所需的生化反应过程。虽然氧化铁纳米粒子在骨再生中的应用取得了初步成功,但关于氧化铁纳米粒子、磁场及成骨细胞之间的相互作用机制还不是很清楚,未来还需要更加深入的阐明其作用机制和原理。

致谢: 感谢遵义医学院附属口腔医院刘琪教授及杨琨副教授对文章修改提出的宝贵意见和无私帮助。

作者贡献: 文章全部作者均参与了文章的撰写和评估。

经费支持: 该文章接受了“2017年国家自然科学基金(81760199)、2018年国家自然科学基金(81860196)”的资助。所有作者声明,经费支持没有影响文章观点和对研究数据客观结果的统计分析及其报道。

利益冲突: 文章的全部作者声明,在课题研究和文章撰写过程中不存在利益冲突。

写作指南: 文章的撰写与编辑修改后文章遵守了《系统综述和荟萃分析报告规范》(PRISMA指南)。

文章查重: 文章出版前已经过专业反剽窃文献检测系统进行3次查重。

文章外审: 文章经小同行外审专家双盲外审,同行评议认为文章符合期刊发稿宗旨。

文章版权: 文章出版前杂志已与全体作者授权人签署了版权相关协议。

开放获取声明: 这是一篇开放获取文章,根据《知识共享许可协议》“署名-非商业性使用-相同方式共享4.0”条款,在合理引用的情况下,允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展,同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献,并为之建立索引,用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

4 参考文献 References

- [1] Ferreira RV, Silva-Caldeira PP, Pereira-Maia EC, et al. Bio-inactivation of human malignant cells through highly responsive diluted colloidal suspension of functionalized magnetic iron oxide nanoparticles. J Nanopart Res. 2016; 18(4):92.
- [2] Özbey A, Karimzadehkhoei M, Yalçın SE, et al. Modeling of ferrofluid magnetic actuation with dynamic magnetic fields in small channels. Microfluid Nanofluid. 2015; 18(3):447-460.
- [3] Salehiabar M, Nosrati H, Davaran S, et al. Facile Synthesis and Characterization of L-Aspartic Acid Coated Iron Oxide Magnetic Nanoparticles (IONPs) For Biomedical Applications. Drug Res (Stuttg). 2018; 68(5):280-285.
- [4] Huang YW, Cambre M, Lee HJ. The Toxicity of Nanoparticles Depends on Multiple Molecular and Physicochemical Mechanisms. Int J Mol Sci. 2017; 18(12):2702.
- [5] Pariti A, Desai P, Maddirala SKY, et al. Superparamagnetic Au-Fe₃O₄ nanoparticles: one-pot synthesis, biofunctionalization and toxicity evaluation. Mater Res Exp. 2014; 1(3):035023.
- [6] Paik SYR, Kim JS, Shin SJ, et al. Characterization, Quantification, and Determination of the Toxicity of Iron Oxide Nanoparticles to the Bone Marrow Cells. Int J Mol Sci. 2015; 16(9): 22243-22257.
- [7] Setyawan H, Fajaroh F, Pusfitasari MD, et al. A facile method to prepare high - purity magnetite nanoparticles by electrooxidation of iron in water using a pulsed direct current. Asia-Pac J Chem Eng. 2015; 9(5):768-774.
- [8] Iyer SR, Xu S, Stains JP, et al. Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles in Musculoskeletal Biology. Tissue Eng Part B Rev. 2017; 23(4):4578-4578.
- [9] Manchón A, Alkhraisat MH, Rueda-Rodriguez C, et al. A new iron calcium phosphate material to improve the osteoconductive properties of a biodegradable ceramic: a study in rabbit calvaria. Biomed Mater. 2015; 10(5):055012.
- [10] Polo E, Collado M, Pelaz B, et al. Advances toward More Efficient Targeted Delivery of Nanoparticles in Vivo: Understanding Interactions between Nanoparticles and Cells. ACS Nano. 2017; 11(3):2397-2402.
- [11] Guo X, Li W, Luo L, et al. External Magnetic Field Enhanced Chemo-Photothermal Combination Tumor Therapy via Iron Oxide Nanoparticles. ACS Appl Mater Interfaces. 2017; 9(19): 16581-16593.
- [12] Soika AK, Sologub IO, Shepelevich VG, et al. Magnetoplastic effect in metals in strong pulsed magnetic fields. Phys Solid State. 2015; 57(10):1997-1999.
- [13] Milyaev VA, Binh VN. On the physical nature of magnetobiological effects. Quantum Electron. 2006; 36(8): 691-701.
- [14] Veisheh O, Gunn J, Zhang M. Design and fabrication of magnetic nanoparticles for targeted drug delivery and imaging. Adv Drug Deliv Rev. 2010; 62(3):284-304.
- [15] Corot C, Robert P, Idée JM, et al. Recent advances in iron oxide nanocrystal technology for medical imaging. Adv Drug Deliv Rev. 2007; 58(14):1471-1504.
- [16] Sniadecki NJ. A tiny touch: activation of cell signaling pathways with magnetic nanoparticles. Endocrinology. 2010; 151(2):451.
- [17] Watanabe Y, Harada N, Sato K, et al. Stem cell therapy: is there a future for reconstruction of large bone defects? Injury. 2016; 47:S47-S51.
- [18] Michael B, Arthur T, Patricia M, et al. Design considerations for the synthesis of polymer coated iron oxide nanoparticles for stem cell labelling and tracking using MRI. Chem Soc Rev. 2015; 44(19):6733-6748.
- [19] Meng J, Zhang Y, Qi X, et al. Paramagnetic nanofibrous composite films enhance the osteogenic responses of pre-osteoblast cells. Nanoscale. 2010; 2(12):2565-2569.
- [20] Silva AH, Lima E Jr, Mansilla MV, et al. Superparamagnetic iron-oxide nanoparticles mPEG350- and mPEG2000-coated: cell uptake and biocompatibility evaluation. Nanomedicine. 2016; 12(4):909-919.
- [21] Hua P, Wang Y, Liu L, et al. In vivo magnetic resonance imaging tracking of transplanted superparamagnetic iron oxide-labeled bone marrow mesenchymal stem cells in rats with myocardial infarction. Mol Med Rep. 2015; 11(1):113-120.
- [22] Scharf A, Holmes S, Thoresen M, et al. Superparamagnetic iron oxide nanoparticles as a means to track mesenchymal stem cells in a large animal model of tendon injury. Contrast Media Mol Imaging. 2015; 10(5):388-397.

- [23] Chen Y, Bose A, Bothun GD. Controlled release from bilayer-decorated magnetoliposomes via electromagnetic heating. *Acs Nano*. 2010;4(6):3215-3221.
- [24] Ito A, Hibino E, Honda H, et al. A new methodology of mesenchymal stem cell expansion using magnetic nanoparticles. *Biochem Eng J*. 2004;19(2):119-125.
- [25] Mahmoud EE, Kamei G, Harada Y, et al. Cell magnetic targeting system for repair of severe chronic osteochondral defect in a rabbit model. *Cell Transplant*. 2016;25(6):1073-1083.
- [26] Wang Q, Chen B, Cao M, et al. Response of MAPK pathway to iron oxide nanoparticles in vitro treatment promotes osteogenic differentiation of hBMSCs. *Biomaterials*. 2016;86:11-20.
- [27] Wang L, Wu S. The National Center for Nanoscience and Technology, China (NCNST): an international innovation engine for nano research. *Nati Sci Rev*. 2017;(3):500-509.
- [28] Jiang P, Zhang Y, Zhu C, et al. Fe₃O₄/BSA particles induce osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells under static magnetic field. *Acta Biomaterialia*. 2016;46:141-150.
- [29] Canadian Paediatric Society, Infectious Diseases and Immunization Committee. The use of antibiotic therapy as an adjunct in treatment of bone and joint infections. *Can J Infect Dis*. 1994;5(1):10.
- [30] Shi CH, Wang WS, Chang-Jun LI, et al. Construction of uPA-siRNA lentiviral vector and its promotion on proliferation of rabbit chondrocytes. *Basic Clin Med*. 2014;7(8):678-698.
- [31] Karazisis D, Ballo AM, Petronis S, et al. The role of well-defined nanotopography of titanium implants on osseointegration: cellular and molecular events in vivo. *Int J Nanomedicine*. 2016;11:1367-1382.
- [32] Afroze JD, Abden MJ, Islam MA. An efficient method to prepare magnetic hydroxyapatite-functionalized multi-walled carbon nanotubes nanocomposite for bone defects. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2018;86:95-102.
- [33] Liu Y, Yin JJ, Nie ZH. Harnessing the collective properties of nanoparticle ensembles for cancer theranostics. *Nano Res*. 2014;7(12):1719-1730.
- [34] Prodan AM, Iconaru SL, Ciobanu CS, et al. Iron Oxide Magnetic Nanoparticles: Characterization and Toxicity Evaluation by In Vitro and In Vivo Assays. *J Nanomater*. 2013;2013(47):5.
- [35] Shimizu K, Ito A, Arinobe M, et al. Effective cell-seeding technique using magnetite nanoparticles and magnetic force onto decellularized blood vessels for vascular tissue engineering. *J Biosci Bioeng*. 2007;103(5):472-478.
- [36] Sasaki T, Iwasaki N, Kohno K, et al. Magnetic nanoparticles for improving cell invasion in tissue engineering. *J Biomed Mater Res A*. 2010;86(4):969-978.
- [37] Gonçalves AI, Rodrigues MT, Gomes ME. Tissue-Engineered Magnetic Cell Sheet Patches For Advanced Strategies in Tendon Regeneration. *Acta Biomater*. 2017;63(8):456-467.
- [38] Shimizu K, Ito A, Yoshida T, et al. Bone tissue engineering with human mesenchymal stem cell sheets constructed using magnetite nanoparticles and magnetic force. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2010;82B(2):471-480.
- [39] Kito T, Shibata R, Ishii M, et al. iPS cell sheets created by a novel magnetite tissue engineering method for reparative angiogenesis. *Sci Rep*. 2013;3(3):1418.
- [40] Xia Y, Chen H, Zhang F, et al. Injectable calcium phosphate scaffold with iron oxide nanoparticles to enhance osteogenesis via dental pulp stem cells. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*. 2018;1-11.
- [41] Bramhill J, Ross S, Ross G. Bioactive Nanocomposites for Tissue Repair and Regeneration: A Review. *Int J Environ Res Public Health*. 2017;14(1):66.
- [42] Russo A, Bianchi M, Sartori M, et al. Bone regeneration in a rabbit critical femoral defect by means of magnetic hydroxyapatite macroporous scaffolds. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2018;106(2):546-554.
- [43] Bock N, Riminucci A, Dionigi C, et al. A novel route in bone tissue engineering: Magnetic biomimetic scaffolds. *Acta Biomater*. 2010;6(3):786-796.
- [44] Usov NA, Gudoshnikov SA, Serebryakova N, et al. Properties of Dense Assemblies of Magnetic Nanoparticles Promising for Application in Biomedicine. *J Supercond Nov Magn*. 2013;26(4):1079-1083.
- [45] Akaraonye E, Filip J, Safarikova M, et al. Composite scaffolds for cartilage tissue engineering based on natural polymers of bacterial origin, thermoplastic poly(3 - hydroxybutyrate) and micro - fibrillated bacterial cellulose. *Polym Int*. 2016;65(7):780-791.
- [46] Bhowmick A, Jana P, Pramanik N, et al. Multifunctional zirconium oxide doped chitosan based hybrid nanocomposites as bone tissue engineering materials. *Carbohydr Polym*. 2016;151:879-888.
- [47] Aliramaji S, Zamanian A, Mozafari M. Super-paramagnetic responsive silk fibroin/chitosan/magnetite scaffolds with tunable pore structures for bone tissue engineering applications. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2017;70(Pt 1):736-744.
- [48] Huang JH, Xiong JY, Wang DP, et al. Performance of magnetic nanocomposite artificial bone scaffolds prepared by low-temperature rapid prototyping 3D printing. *Hainan Med J*. 2017;6(7):678-687.
- [49] Meng J, Xiao B, Zhang Y, et al. Super-paramagnetic responsive nanofibrous scaffolds under static magnetic field enhance osteogenesis for bone repair in vivo. *Sci Rep*. 2013;3(6151):2655.
- [50] Singh RK, Patel KD, Lee JH, et al. Potential of magnetic nanofiber scaffolds with mechanical and biological properties applicable for bone regeneration. *Plos One*. 2014;9(4):e91584.
- [51] Li Y, Chen H, Wu J, et al. Preparation and characterization of APTES modified magnetic MMT capable of using as anisotropic nanoparticles. *Appl Surf Sci*. 2018;9(7):112-117.
- [52] Zhao S, Zhu M, Zhang J, et al. Three dimensionally printed mesoporous bioactive glass and poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate) composite scaffolds for bone regeneration. *J Mater Chem B*. 2014;2(36):6106-6118.
- [53] Zhu Y, Yang Q, Yang M, et al. Protein Corona of Magnetic Hydroxyapatite Scaffold Improves Cell Proliferation via Activation of Mitogen-Activated Protein Kinase Signaling Pathway. *Acs Nano*. 2017;11(4):3690.
- [54] Yun HM, Ahn SJ, Park KR, et al. Magnetic nanocomposite scaffolds combined with static magnetic field in the stimulation of osteoblastic differentiation and bone formation. *Biomaterials*. 2016;85:88-98.
- [55] Li Y, Ye D, Li M, et al. Adaptive Materials Based on Iron Oxide Nanoparticles for Bone Regeneration. *Chemphyschem*. 2018;19(16):1965-1979.