

聚(左旋乳酸-己内酯)/Fe₃O₄取向超细纤维的制备及生物相容性*****

邱立军¹, 王红声¹, 何创龙¹, 莫秀梅^{1,2}

Fabrication and biocompatibility of poly(lactic acid-co-caprolactone)/Fe₃O₄ orientation ultrafine fibers

Qiu Li-jun¹, Wang Hong-sheng¹, He Chuang-long¹, Mo Xiu-mei^{1,2}

Abstract

BACKGROUND: Magnetic field effect method is suitable for preparing orientation fiber carrying magnetic nanoparticle during static electrospinning. However, present studies mainly studied the electrospinning of water-soluble polymer.

OBJECTIVE: To prepare poly(lactic acid-co-caprolactone) [P(LLA-CL)] solution carrying Fe₃O₄ magnetic nanoparticle by phase transfer, to prepare P(LLA-CL)/Fe₃O₄ oriented aligned composite fibers using static electrospinning under an extraneous magnetic field, to primarily observe cell compatibility following *in vitro* incubation of porcine hip artery endothelial cells.

DESIGN, TIME AND SETTING: The controlled observation study was performed at the Laboratory of Biomaterial and Tissue Engineering, Institute of Biological Science, College of Chemistry, Chemical Engineering and Biology Engineering, Donghua University from June to October 2008.

MATERIALS: P(LLA-CL) random copolymer (50:50, M_w 30-40, 000) was provided by Nara Medical University, Japan. Porcine hip artery endothelial cells were supplied by Cell Institute, Chinese Academy of Science.

METHODS: Fe₃O₄ magnetic nanoparticle in aqueous phase was transferred into organic solvent by the phase transfer method to prepare P(LLA-CL)/Fe₃O₄ solution. Using the traction of magnetic field on Fe₃O₄ magnetic nanoparticle, orientation super-small fibers were prepared by static electrospinning.

MAIN OUTCOME MEASURES: The morphology and alignment disposition of P(LLA-CL)/Fe₃O₄ fibers were analyzed by scanning electron microscopy, and the dispersion degree of Fe₃O₄ magnetic nanoparticles in fibers was viewed by transmission electron microscopy. Porcine hip artery endothelial cells were incubated *in vitro* on the P(LLA-CL) static electrospinning fiber membrane carrying composite Fe₃O₄ magnetic nanoparticles. The biocompatibility of nanoparticles composite fibers was evaluated by detecting endothelial cell adhesion and proliferation on fiber mats using MTT.

RESULTS: Uniform Fe₃O₄ magnetic nanoparticles chloroform solvent was obtained by adding sodium oleate. Scanning electron microscope suggested that under the magnetic field smooth surface morphology of fibers without obvious bead-shaped substance by electrospinning, distributed along the magnetic lines of force, with good orientation degree. Transmission electron microscope showed that Fe₃O₄ magnetic nanoparticles had a good dispersity in ultrafine fibers. Results of biocompatibility presented that adherent rate of P(LLA-CL) ultrafine fibers carrying magnetic nanoparticles was better compared with the pure P(LLA-CL) fibers. Cell proliferation rate was close to pure P(LLA-CL) ultrafine fibers.

CONCLUSION: Well aligned fibers were obtained by electrospinning in P(LLA-CL) solution containing Fe₃O₄ magnetic nanoparticles under the external magnetic field. The fiber alignment disposition goes along with magnetic lines of force, with good orientation degree an excellent biocompatibility.

Qiu LJ, Wang HS, He CL, Mo XM. Fabrication and biocompatibility of poly(lactic acid-co-caprolactone)/Fe₃O₄ orientation ultrafine fibers. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2009;13(12): 2222-2226.

[http://www.crter.cn http://en.zglckf.com]

¹College of Chemistry, Chemical Engineering and Biology Engineering, National State Key Laboratory of Fiber and Polymer Modification, Donghua University, Shanghai 201620, China

Qiu Li-jun★, Studying for master's degree, College of Chemistry, Chemical Engineering and Biology Engineering, Donghua University, Shanghai 201620, China
qulijun@live.com

Correspondence to: Mo Xiu-mei, Doctor, Professor, College of Chemistry, Chemical Engineering and Biology Engineering, National State Key Laboratory of Fiber and Polymer Modification, Donghua University, Shanghai 201620, China

Supported by: the National Natural Science Foundation of China, No. 30570503*; the Pujiang Talent Plan of Shanghai City, No. 05PJ14013*; the Great Basic Research of Shanghai City, No. 05D14006*; the "111" Plan, No. B07024*

Received: 2008-11-12
Accepted: 2009-01-12

摘要

背景: 在静电纺过程中利用磁场效应的方法更适合制备载有磁性纳米粒子的取向纤维。但当前的研究多限于水溶性聚合物材料的电纺。

目的: 通过相转移方法制备均匀分散有 Fe₃O₄ 磁性纳米粒子的聚(左旋乳酸-己内酯)溶液, 在外加磁场作用下通过静电纺技术制备聚(左旋乳酸-己内酯)/Fe₃O₄ 定向排列复合纤维, 体外接种猪髌动脉内皮细胞, 初步观察细胞相容性。

设计、时间及地点: 对比观察实验, 于 2008-06/2008-10 在东华大学化学化工与生物工程学院生物材料研究所生物材料与组织工程实验室完成。

材料: 聚(左旋乳酸-己内酯)无规共聚物(50:50, M_w30-40 万)由日本 Nara Medical University 提供; 猪髌动脉内皮细胞由中国科学院细胞所提供。

方法: 采用相转移法将水相中的 Fe₃O₄ 磁性纳米粒子转移至有机溶剂中, 制备聚(左旋乳酸-己内酯)/Fe₃O₄ 的溶液, 利用磁场对 Fe₃O₄ 磁性纳米粒子的牵引作用, 静电纺制备取向超细纤维。

主要观察指标: 通过扫描电镜对纤维进行表面形态、取向度进行分析, 采用透射电镜分析 Fe₃O₄ 磁性纳米粒子在纤维中分散和分布情况。在复合 Fe₃O₄ 磁性纳米粒子的聚(左旋乳酸-己内酯)静电纺纤维膜上体外接种猪髌动脉内皮细胞, 采用 MTT 法检测纤维膜上细胞的黏附和增殖能力以评价其生物相容性。

结果: 通过添加乳化剂油酸钠成功得到分散均匀的 Fe₃O₄ 磁性纳米粒子三氯甲烷溶剂。扫描电镜结果表明在磁场的影响下, 静电纺得到的纤维表面光滑、无明显珠状物分布; 排列方向沿磁场磁力线分布, 取向度良好。透射电镜结果显示 Fe₃O₄ 磁性纳米粒子在静电纺超细纤维中分散度良好。细胞生物相容性结果显示制备的载有磁性纳米粒子的聚(左旋乳酸-己内酯)静电纺超细纤维细胞黏附率优于纯聚(左旋乳酸-己内酯)纤维; 其细胞增殖率与纯聚(左旋乳酸-己内酯)静电纺超细纤维接近。

结论: 含有一定浓度的 Fe₃O₄ 磁性纳米粒子的聚(左旋乳酸-己内酯)溶液, 在外加磁场的作用下, 静电纺得到的纤维排列方向沿磁场磁力线分布, 取向度极佳, 且具有良好的细胞相容性。

关键词: 磁场静电纺; 相转移; 纤维取向; 聚(左旋乳酸-己内酯)/Fe₃O₄; 生物相容性

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2009.12.003

邱立军, 王红声, 何创龙, 莫秀梅. 聚(左旋乳酸-己内酯)/Fe₃O₄ 取向超细纤维的制备及生物相容性[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2009, 13(12):2222-2226. [http://www.crter.org http://cn.zglckf.com]

0 引言

天然细胞外基质是由纳米级的纤维结构组成, 不同组织的细胞外基质纤维的三维结构不同且与其功能密切相关, 特定的三维支架结构诱导细胞在支架中生长、增殖和分化及在引导组织再生中起着重要的作用^[1-2]。近年来, 采用静电纺制备取向超细纤维的研究取得了不少进展。如在静电纺过程中采用滚轴接收装置接受静电纺纤维、利用静电场效应和辅助磁场等方法均能够获得具有一定取向度的电纺纤维^[3-9]。其中, 利用磁场效应的方法更适合制备载有磁性纳米粒子的取向纤维。但当前的研究多限于水溶性聚合物材料的电纺, 主要是因为在水相中制备的磁性纳米粒子Fe₃O₄难以在有机相中均匀分散, 且纳米粒子的包覆量难以控制。

课题组利用磁性纳米粒子Fe₃O₄磁性特征设计相转移, 并通过添加乳化剂油酸钠, 成功将水相中合成的Fe₃O₄转移至有机相氯仿中, 使Fe₃O₄粒子均匀分散于有机相内。实验采用磁场静电纺成功制备了聚(左旋乳酸-己内酯)P(LLA-CL)/Fe₃O₄定向排列复合纤维, 体外接种猪髓动脉内皮细胞, 对支架材料的细胞相容性进行初步研究。

1 材料和方法

设计: 对比观察实验。

时间及地点: 实验于2008-06/10在东华大学化学化工与生物工程学院生物科学研究所生物材料与组织工程实验室完成。

材料:

主要试剂和仪器	来源
六水合三氯化铁、七水合硫酸亚铁、氢氧化钠、三氯甲烷、乙醇、二甲亚砜、油酸钠	国药集团化学试剂有限公司
P(LLA-CL)无规共聚物(50:50, M _n 30~40万)	日本 Nara Medical University
三氟乙醇(纯度99.9%)	美国杜邦公司
猪髓动脉内皮细胞株	中国科学院细胞所
DMEM高糖培养基、2.5 g/L 胰蛋白酶	杭州吉诺生物技术有限公司
胎牛血清	美国Gibco公司
MTT试剂	美国Sigma公司
高压电源静电发生器(BGG6-358)	北京机电院高技术股份有限公司
DZF-6020真空干燥箱	上海恒科技有限公司
扫描电镜(JSM-5600LV)	JEOL Ltd., 日本
血细胞计数板	上海求精生化试剂仪器有限公司
酶标仪(MULTSIKAN MK3)	美国热电集团
二氧化碳培养箱(BB15)	德国 Heraeus 公司
透射电镜(H800)	日本Hitachi公司

实验方法:

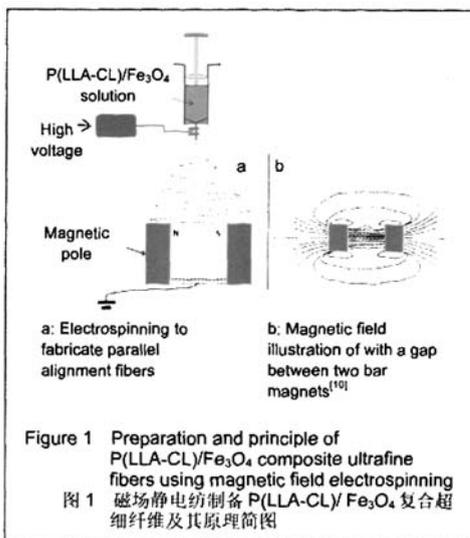
磁性纳米粒子Fe₃O₄的制备及相转移: 在氮气保护的条件下, 采用共沉淀法制备四氧化三铁纳米粒子。制备浓度为0.2 mol/L的六水合三氯化铁水溶液和浓度为0.1 mol/L的七水合硫酸亚铁水溶液, 体积比为1:1混合在一起得Fe³⁺:Fe²⁺=2:1的混合溶液, 溶液呈橙色。0.2 mol/L氢氧化钠溶液逐滴加入到Fe³⁺与Fe²⁺的混合溶液中, 在常温下搅拌, 黑色的磁性纳米粒子Fe₃O₄生成。反应方程式如下:

$$2\text{Fe}^{3+} + \text{Fe}^{2+} + 8\text{OH}^- \rightarrow \text{Fe}_3\text{O}_4 + 4\text{H}_2\text{O}$$

然后用强磁性的磁铁在反应瓶底端吸引磁性纳米粒子, 以防磁性纳米粒子的流失, 将上层液体倒掉, 用同样方法使用去氧水洗涤Fe₃O₄粒子4次。将洗涤干净的Fe₃O₄粒子转移至容量瓶中, 用去氧水定量, 超声波振荡24 h, 待用。

取定量的Fe₃O₄粒子均匀分散的去氧水悬浮液至一小玻璃瓶中, 瓶子底端加一强磁性磁铁将Fe₃O₄粒子吸附至瓶底, 将去氧水倒掉, 加入定量的三氯甲烷溶液使之Fe₃O₄的质量浓度达到0.007 4 g/mL, 移开强磁铁, 以油酸钠:Fe₃O₄为1:10的质量比加入乳化剂油酸钠, 超声波振荡24 h得到Fe₃O₄粒子均匀分散的三氯甲烷悬浮液。

磁场静电纺取向纳米纤维的制备: 以三氟乙醇/三氯甲烷(含Fe₃O₄纳米粒子)(7:3)作为P(LLA-CL)无规共聚物(50:50)的溶剂, 配制6%的含Fe₃O₄纳米粒子的P(LLA-CL)溶液, 其中Fe₃O₄纳米粒子的含量为0.2%。磁场静电纺见图1。



东华大学,¹化学化工与生物工程学院,²纤维材料改性国家重点实验室,上海市201620

邱立军★,男,1982年生,湖南省涟源市人,汉族,东华大学在读硕士,主要从事组织工程支架研究。quliujun@live.com

通讯作者:莫秀梅,博士,教授,东华大学,上海市201620

国家自然科学基金资助项目(30570503)*;上海市浦江人才计划(05PJ14013)*;上海市重大基础研究(05DJ14006)*;111计划(B07024)*

中国分类号:R318
 文献标识码:B
 文章编号:1673-8225(2009)12-02222-05

收稿日期:2008-11-12
 修回日期:2009-01-12
 (20081112010/M·Q)

静电纺过程中采用平口22G医用针头, 溶液置于2.5 mL医用注射器中, 工作电压为16 kV, 针头距下方两磁铁上端的距离为15 cm, 供液速率为1 mL/h。为验证纤维排列方向与磁力线方向的关系, 设置与磁铁大小相当的聚四氟乙烯纤维接收装置作为对照。通过改变两磁铁之间的距离调节磁场强弱, 研究磁场大小对纤维取向排列的影响, 设定的距离有3, 4, 6和7 cm。静电纺0.5 h后, 在暗背景条件下用相机开闪光模式拍摄悬挂在两平行磁铁间的纤维排列情形, 用载玻片收集悬浮在两电磁铁之间的超细纤维作为光镜的观察样本, 用覆盖有铝箔纸的载玻片收集纤维作为扫描电镜观察样本。在没有磁场存在的条件下, 当两块聚四氟乙烯块的间距超过3 cm时, 悬挂于两聚四氟乙烯块之间的纤维极少, 取沉积纤维作为对照分析样本。

纤维表征测试:

表面形态分析观察: 样品在真空干燥箱干燥48 h后, 经真空喷金处理, 采用扫描电子显微镜观测, 扫描电压为15 kV。采用图像分析软件ImageJ (National Institutes of Health, USA)对扫描电镜照片中的纤维(n≥100)进行分析, 计算纤维的直径及其分布。

取向分析: 使用倒置荧光显微镜在明场下进行光学拍照, 采用图像分析软件ImageJ进行纤维取向分析; 在暗背景条件下用相机开闪光近距离清晰模式下, 拍摄悬挂在两平行磁铁间的纤维排列情形。

磁性纳米粒子在纤维中的分布及分散度分析: 用透射电镜专用铜网接受P(LLA-CL)/Fe₃O₄复合材料静电纺超细纤维, 真空干燥箱干燥48 h后, 在100 kV工作电压下直接观察。

Fe₃O₄/P(LLA-CL)静电纺超细纤维生物相容性分析:

细胞培养与接种: 猪髓动脉内皮细胞用含体积分数为10%胎牛血清的DMEM高糖培养基, 于37 °C、体积分数为5%CO₂细胞培养箱中培养, 每48 h更换培养液, 分离传代备用。2.5 g/L胰蛋白酶消化细胞, 离心、悬浮制备细胞悬液, 用血细胞计数板计数, 将细胞悬浮液接种至覆盖有P(LLA-CL)/Fe₃O₄纤维膜和纯P(LLA-CL)膜的24孔细胞培养板和空白培养板上(每个样3个平行对照), 继续培养。采用MTT法检测细胞黏附与增殖情况。

细胞黏附: 细胞接种密度为1.2×10⁸ L⁻¹, 每孔接种细胞悬液200 μL。分别培养1, 2, 4, 6 h后(每个时间点3个平行样), 吸去培养液, 每孔加入180 μL新鲜无血清培养基, 20 μL MTT(5 g/L)继续培养4 h后, 小心吸去培养基后, 每孔加入200 μL二甲基亚砜, 振荡溶解20 min, 在492 nm波长下用酶标仪测定各孔的A值。重复实验3次。

细胞增殖: 细胞接种密度为5×10⁷ L⁻¹, 每孔接种细胞悬液200 μL, 追加200 μL的细胞培养基。分别培养1, 3, 5, 7 d后(每个时间点3个平行样, 每隔2 d换

液), 吸去培养液, 每孔加入180 μL新鲜无血清培养基, 20 μL MTT(5 g/L)继续培养4 h后, 小心吸去培养基后, 每孔加入200 μL二甲基亚砜, 振荡溶解20 min, 在492 nm波长下用酶标仪测定各孔的A值。重复实验3次。

主要观察指标: 磁场静电纺P(LLA-CL)/Fe₃O₄复合材料超细纤维形态结构、直径分布, 不同磁场大小对纤维排列取向度的影响, Fe₃O₄纳米粒子在纤维中的分布和分散度分析; 从内皮细胞在支架材料上的黏附与增殖情况分析纤维的生物相容性。

设计、实施、评估者: 设计为第一作者, 实施为所有作者, 评估为第三、四作者。

统计学分析: 由第一作者采用OriginPro 7.5软件(美国OriginLab公司), 进行单因素ANOVA分析。

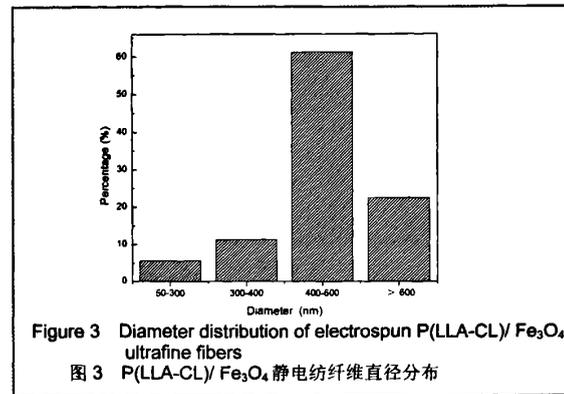
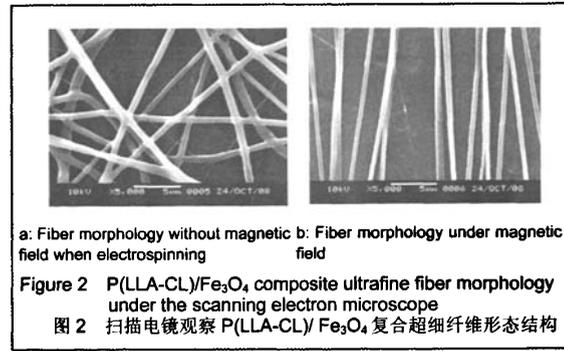
2 结果

2.1 纤维表面形态及其取向度分析

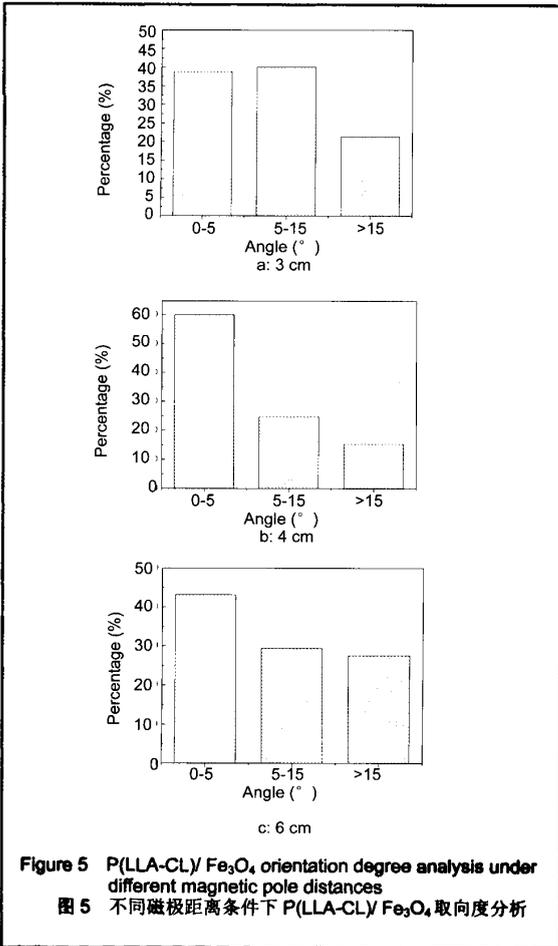
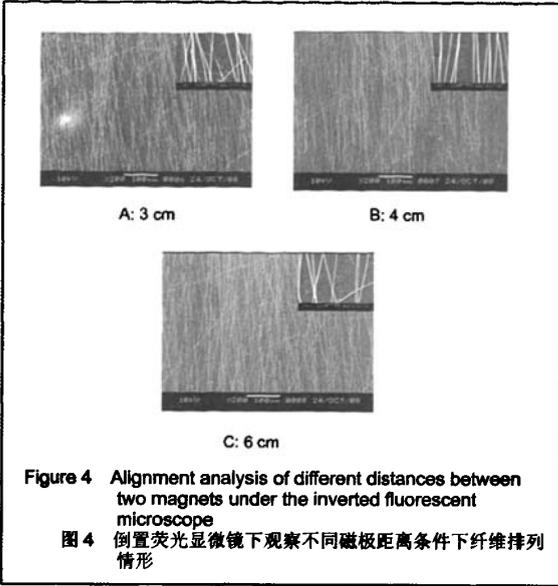
纤维表面形态:

制备的P(LLA-CL)/Fe₃O₄复合纤维膜的电镜照片见图2, 可见纤维表面光滑, 无明显珠状物分布, 未施加磁场情况下, 纤维分布无规律, 而在磁场的引导下, 纤维明显呈现平行排列。

经ImageJ软件分析, P(LLA-CL)/Fe₃O₄纤维平均直径为(547.9±198.1) nm, 大于纯P(LLA-CL)纤维(370.2±140.3) nm^[11], 直径范围在400~600 nm的纤维超过60%, 纤维直径相对较均一。纤维直径分布情况见图3。



通过改变磁极间距离来改变磁场大小, 分析磁场对磁性复合纤维取向度的影响, 见图4, 5。



从图4, 5可知:

在磁场静电纺中, 因为在条状磁极间存在一个磁力线从N极到S极的磁场^[10], 观测到磁性纤维绝大部分平行于磁力线方向分布。

当磁极间距发生变化时, 纤维的取向也会发生改变。

当磁极间距为4 cm时, 与磁力线方向平行或偏离角度小于5°的纤维数大于60%, 而偏离角大于15°的纤维不足15%。

当磁极间距为6 cm时, 磁场强度相对较弱, 偏离角大于15°的纤维接近28%, 偏离角度小于5°的静电纺纤维只有43%, 因磁场力对磁性超细纤维的引导力减弱, 纤维平行排列取向度明显下降。

当磁极间距达到7 cm时, 纤维很难沉积在磁极之间。

当磁极间距为3 cm时, 偏离角度小于5°的取向纤维所占比例仅为38%, 这可能是由于静电纺P(LLA-CL)/Fe₃O₄复合纤维弹性比较好, 纤维比较长, 尽管磁场强度大, 但难以引导长纤维在短间距的磁极间形成良好的沿磁力线方向分布的取向纤维。

磁场静电纺过程中, 微磁性超细纤维沿磁力线方向分布光学照片, 见图6。

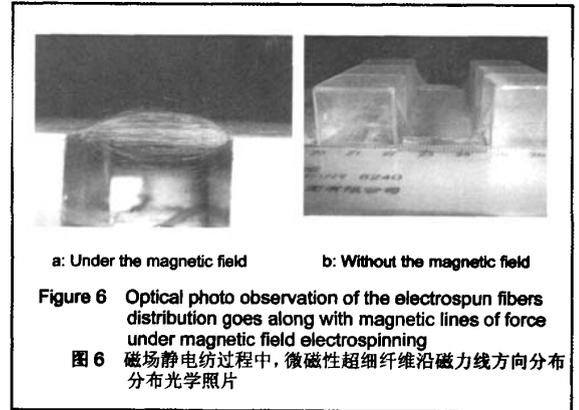


图6清晰显示了微磁性超细纤维沿磁力线方向分布的情况, 可见纤维的排列形状与磁场中磁力线的分布极其相似^[10]。

2.2 Fe₃O₄磁性纳米粒子在纤维中的分布及分散度分析 制备的磁性纤维的透射电镜照片见图7。

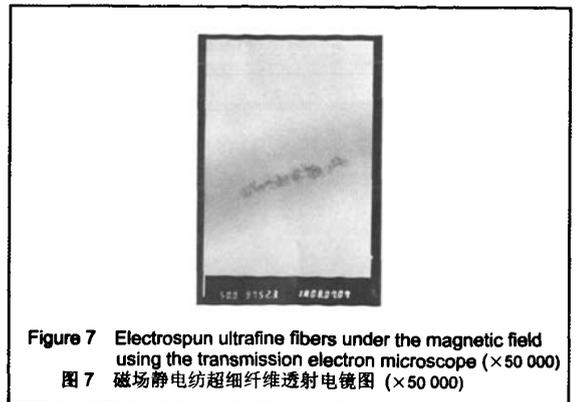
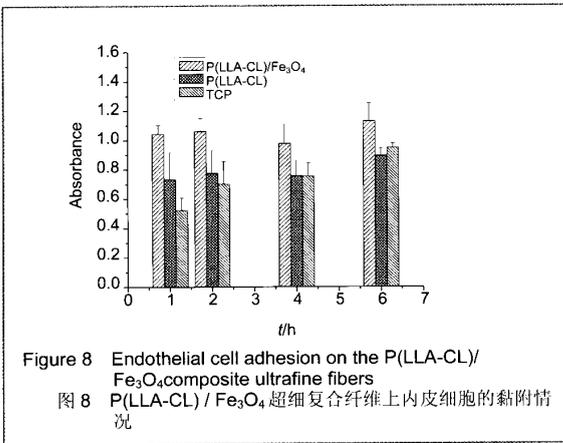


图7可见溶液中Fe₃O₄磁性纳米粒子浓度为0.2 g/L

时, 纳米粒子能够在超细纤维中间段分布, 且分散度良好。

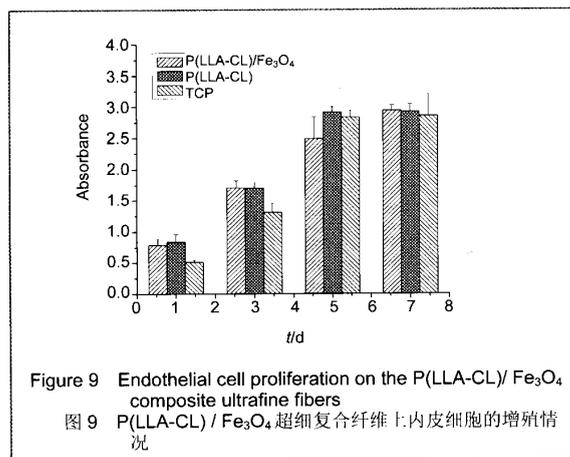
2.3 P(LLA-CL)/Fe₃O₄超细纤维生物相容性分析

细胞黏附情况: P(LLA-CL)/Fe₃O₄超细纤维上内皮细胞的黏附情况见图8。



结果表明共培养1, 2, 4和6 h后, 细胞在纤维膜上的黏附情况无明显变化; 但在各检测时间点, 复合纤维膜上的细胞黏附值均高于纯P(LLA-CL)纤维膜和24孔细胞培养板。

细胞增殖情况: 共培养1, 3, 5和7 d后, 其细胞增殖情况见图9。



P(LLA-CL)/Fe₃O₄超细复合纤维与纯P(LLA-CL)纤维膜和细胞培养板的吸光度值都随共培养时间的增加而增大, 在第1天和第3天检测时间点P(LLA-CL)/Fe₃O₄超细复合纤维与纯P(LLA-CL)纤维膜都高于培养板, 到第7天, 各组吸光度值接近。

3 讨论

实验采用相转移法, 通过添加乳化剂油酸钠, 制备

了Fe₃O₄磁性纳米粒子分散均匀的P(LLA-CL)(50 : 50)电纺溶液。在磁场的引导下, 电纺得到的大量纤维排列方向与磁场磁力线分布平行, 取向度极良好, 且Fe₃O₄磁性纳米粒子在静电纺超细纤维中分散度良好。细胞生物相容性结果表明磁场静电纺制备的P(LLA-CL)/Fe₃O₄磁性复合纤维生物相容性良好, 可望用于组织工程或其他生物医学领域。

4 参考文献

- [1] Laurencin CT, Ambrosio AM, Borden MD, et al. Tissue engineering: orthopedic applications. *Annu Rev Biomed Eng.* 1999;1:19-46.
- [2] Dunn GA, Paddock SW. Analysing the motile behaviour of cells: a general approach with special reference to pairs of cells in collision. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 1982;299(1095):147-157.
- [3] Matthews JA, Wnek GE, Simpson DG, et al. Electrospinning of collagen nanofibers. *Biomacromolecules.* 2002;3(2):232-238.
- [4] Theron A, Zussman E, Yarin AL. Electrostatic field-assisted alignment of electrospun nanofibers. *Nanotechnology.* 2001;12:384.
- [5] Bazbouz MB, Stylios GK. Alignment and optimization of nylon 6 nanofibers by electrospinning. *J Appl Polym Sci.* 2008;107:3023-3032.
- [6] Li D, Ouyang G, McCann JT, et al. Collecting electrospun nanofibers with patterned electrodes. *Nano Lett.* 2005;5(5):913-916.
- [7] Song T, Zhang YZ, Zhou TJ. Fabrication of magnetic composite nanofibers of poly(ϵ -caprolactone) with FePt nanoparticles by coaxial electrospinning. *J Magn Magn Mater.* 2006;303:286-289.
- [8] Song T, Zhang YZ, Zhou TJ, et al. Encapsulation of self-assembled FePt magnetic nanoparticles in PCL nanofibers by coaxial electrospinning. *Chem Phys Lett.* 2005;415:317-322.
- [9] Yang DY, Lu B, Zhao Y, et al. Fabrication of Aligned Fibrous Arrays by Magnetic Electrospinning. *Adv Mater.* 2007;19:3702-3706. Experiments with magnets and our surroundings. <http://www.coolmagnetman.com/field02.htm>
- [10] Chen F, Li X, Mo X, et al. Electrospun chitosan-P(LLA-CL) nanofibers for biomimetic extracellular matrix. *J Biomater Sci Polym Ed.* 2008;19(5):677-691.

来自本文课题的更多信息——

课题价值: 课题受到国家自然科学基金(30570503)、上海市浦江人才计划(05PJ14013)、111计划(B07024)等项目资助。课题组采用相转移法将水相中的Fe₃O₄磁性纳米粒子转移至有机溶剂中, 制备P(LLA-CL)/Fe₃O₄的溶液, 利用磁场对Fe₃O₄磁性纳米粒子的牵引作用, 静电纺制备取向超细纤维。为Fe₃O₄磁性纳米粒子应用于疏水性聚合物材料中提供参考研究, 为构建具有细胞生长取向诱导结构的组织工程支架提供参考。

同行评价: 文章通过相转移方法制备有Fe₃O₄磁性纳米粒子的P(LLA-CL)溶液, 在外加磁场作用下通过静电纺技术制备具有较好取向性能和生物相容性的复合P(LLA-CL)/Fe₃O₄超细纤维, 并考察了纤维的生物相容性。取向纤维在组织工程、药物释放等领域具有一定的应用前景。作者在查阅国内外该领域的研究成果的基础上, 设计了较系统的实验, 方案合理, 结果可信。

偏倚或不足: 文章未设置有磁场无Fe₃O₄磁性纳米粒子纯P(LLA-CL)溶液静电纺对照组, 对Fe₃O₄磁性纳米粒子未被包裹入纤维中细胞毒性研究未作出具体实验说明。