

文章编号: 1007-4627(2015)02-0230-06

金纳米粒子的放射增敏效应研究

刘玺^{1,2,3}, 刘岩^{1,2,3}, 陈卫强^{1,2}, 李强^{1,2}

(1. 中国科学院近代物理研究所, 兰州 730000;
2. 中国科学院重离子束辐射生物学重点实验室, 兰州 730000;
3. 中国科学院大学, 北京 100049)

摘要: 系统阐述了与金纳米粒子 (GNPs) 放射增敏效应相关实验的方法与结果、影响 GNPs 放射增敏的因素、GNPs 放射增敏的细胞和动物实验表现及其相关机制。同时结合相关实验, 分析和比较了 15 nm 柠檬酸钠包被的 GNPs 的放射增敏效应, 发现 GNPs 在高 LET 的碳离子束和低 LET 的 X 射线辐照下对Hela细胞的杀伤力随其浓度的增加而增大; 在 50% 的细胞存活率下, 当 GNPs 的质量浓度为 7.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时, 其 X 射线的剂量减少率和碳离子的相对生物学效应值 (RBE) 的增加率达到了最大, 分别为 65.3% 和 43.6%, 同时 GNPs 共培养细胞 24 和 48 h 后, 未出现细胞周期同步化的现象。

关键词: 金纳米粒子; 放射增敏效应; 肿瘤治疗

中图分类号: Q691 **文献标志码:** A **DOI:** 10.11804/NuclPhysRev.32.02.230

1 引言

肿瘤放射治疗的初衷是利用各种不同类型的射线尽可能多地杀死肿瘤细胞, 同时尽量减少对肿瘤周围正常组织的损伤。然而由于射线的非特异性, 其对正常组织的损害不容忽视, 这种对正常组织的毒副作用限制了放射治疗在临床治疗中的使用。

金纳米粒子 (GNPs) 作为一种新型的纳米材料, 具有浓度高、尺寸小、分散性好、胶体稳定性好等特点^[1], 而且它具有良好的生物相容性, 在生物体内毒性很小^[2]。由于体积足够的小, GNPs 能够穿透肿瘤靶区, 优先在肿瘤组织累积, 且累积量明显多于正常组织^[3], 因而说明 GNPs 具有一定的靶向特异性。

同时, GNPs 联合射线处理可以增加肿瘤细胞的死亡率, 大量的细胞实验和一些动物活体实验已经证明了 GNPs 的放射增敏效应, 而 GNPs 本身的特性又使其可以充当某些药物的载体, 其靶向药物的特性, 使 GNPs 的放射增敏效应比其他的放射增敏剂优越很多。然而, 影响 GNPs 放射增敏效应的因素仍然处在不断地探索中, 如何优化 GNPs 自身的参数, 以及 GNPs 与射线之间的最佳搭配仍然是研究人员不懈努力的方

向。此外, 尽管已有许多实验探讨过 GNPs 放射增敏效应背后的机制, 然而却无法完全解释 GNPs 的各种效应, 尤其是 GNPs 放射增敏效应的生物学机制。

相比于传统的碘成像剂, GNPs 表现出更高的质能吸收比率, 这使得它能在低的辐射剂量下表现出更好的图像对比。临床应用发现, 在 CT 成像条件下, 聚乙二醇 (PEG) 包被的 GNPs 的衰减比率比碘试剂高出 5.7 倍, 如图 1 所示。除了传统的 CT 成像外, GNPs 也可以

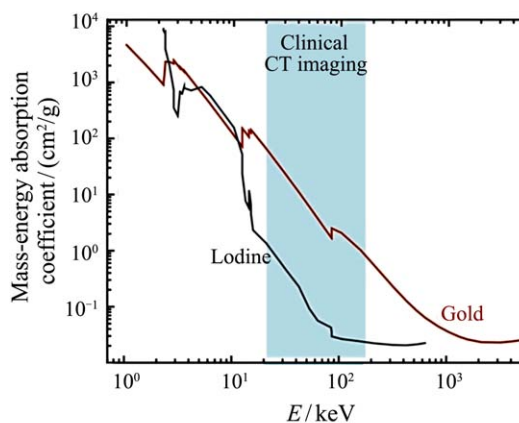


图 1 (在线彩图) 金与碘的质能吸收比率的比较^[4]

收稿日期: 2014-05-19; 修改日期: 2014-06-21

基金项目: 国家重点基础研究发展规划项目(973计划)(2010CB834203); 国家自然科学基金委员会-中国科学院大科学装置联合基金资助项目(U1232207); 国家自然科学基金资助项目(11205217); 甘肃省杰出青年基金项目(1111RJDA010)

作者简介: 刘玺(1990-), 男, 河南南阳人, 硕士研究生, 从事重离子放射生物学基础研究; E-mail: liuxi@impcas.ac.cn

通信作者: 李强, E-mail: liqiang@impcas.ac.cn.

连接上一些顺磁性的元素, 如成像铁或钆, 形成磁共振成像试剂^[4]。

除了作为成像试剂外, GNP_s还可以直接作为药物用来治疗肿瘤, CYT-6091 是第一个金纳米粒子药物, 目前已被用于 NCI、USA 的临床期试验^[5]。

2 影响GNPs放射增敏的因素

2.1 射线因素

Hainfeld 等^[6]用 1.9 nm, 1.9 g Au/kg 的 GNP_s 处理具有抗辐射性和高度侵袭性的小鼠头部和颈部鳞状癌细胞, 发现在 68 keV 的 X 射线照射下, 42 Gy 比 30 Gy 更有效; 在 X 射线能量为 157 keV 时, 50.6 Gy 比 44 Gy 更有效; 在剂量同为 42 Gy 时, 能量为 68 keV 的 X 射线比 157 keV 更有效。同时发现热疗和辐射是协同的, 而且 GNP_s 能增强这种协同效应, 因此减小了 50% 肿瘤控制所需要的剂量, 提高了长期存活率。

Rahman 等^[7]用牛主动脉内皮细胞 (BAECs) 作为研究对象, 使用 1.9 nm 的 GNP_s 处理细胞, 选用 X 射线 (能量分为 80 和 150 keV) 和电子束 (能量分为 6 和 12 MeV), 分别对细胞照射 0, 1, 2, 3, 4 和 5 Gy。实验结果表明: 在其他条件相同时, 80 keV 的 X 射线比 150 keV 的 X 射线对细胞的致死率大, 6 MeV 的电子束比 12 MeV 的电子束对细胞的损伤率大; 相同能量的射线, 5.0 Gy 剂量照射后细胞的存活率最小。

我们实验室采用 1.5, 7.5 和 15 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 3 种浓度的

柠檬酸钠包被的 15 nm GNP_s, 分别用碳离子 (LET=70 keV/ μm) 和 X 射线 (50 kVp) 两种射线, 剂量分别为 0, 1, 2 和 4 Gy 四种剂量, 处理人宫颈癌 HeLa 细胞, 实验结果如图 2 所示。可以得出: 在 50% 细胞存活水平下, GNP_s 在浓度为 7.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时, 所需 X 射线剂

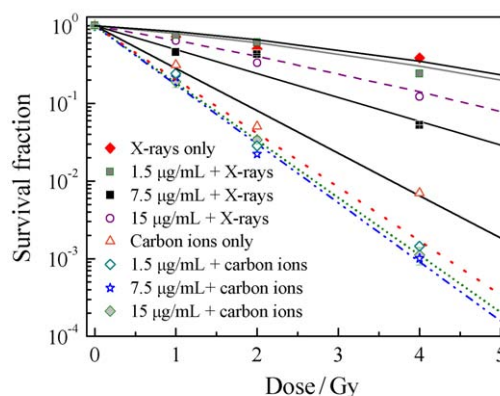


图 2 (在线彩图) 不同浓度 GNP_s 处理 HeLa 细胞后在 X 射线 (50 kVp) 和碳离子 (LET=70 keV/ μm) 照射下的细胞存活率

量的减少率和碳离子相对生物学效应 (RBE) 值的增加率都达到了最大, 分别为 65.3% 和 43.6%, 如表 1 所列。实验发现, GNP_s 的放射增敏效应并未与浓度呈正相关, 这可能与 HeLa 细胞对不同浓度的 GNP_s 的摄取量有关, 以及射线与不同浓度的 GNP_s 作用后的物理效应或是生物效应有关, 相关问题有待进一步研究。

表 1 不同浓度的 GNP_s 处理 HeLa 细胞后 50% 细胞存活水平 (SF=50%) 下所需 X 射线剂量的减少率和碳离子 RBE 值的增加率

GNP 浓度/ $\mu\text{g}/\text{mL}$	需要 X 射线的剂量/Gy	剂量减少率/%	需要碳离子的剂量/Gy	RBE	RBE 增加率/%
0	2.88		0.56	5.14	
1.5	2.52	12.5	0.44	6.55	27.4
7.5	1.00	65.3	0.39	7.38	43.6
15.0	1.55	46.2	0.42	6.86	33.5

2.2 GNP 的浓度和粒径因素

Brun 等^[8]选用质粒 DNA pGEM-3Zf 作为实验模型, 使用了 8, 20, 37.5, 74 和 91.7 nm 的 GNP_s (浓度为 5 nmol/L) 在 DNA:GNP_s=5:1 和 49 keV 的 X 射线下处理; 同时选用 DNA:GNP_s=1:1 的 37.5 nm GNP_s 在 6 种不同能量的 X 射线处理。结果发现: 最有效的参数分别为 91.7 nm 的 GNP_s, 5 nmol/L 的 GNP_s。

Huang 等^[9]用 Tiopronin 包被 GNP_s, 合成了 2, 6 和 15 nm 的 GNP_s (浓度都为 1 nmol/L), 他们用这 3 种不同粒径的 GNP_s 分别处理人乳腺癌 MCF-7 细胞 24 h, 结果发现 15 nm 的 GNP_s 只能进入细胞质中, 而 2

和 6 nm 的 GNP_s 则能进入细胞核中, 进细胞核的比例分别为 15.5% 和 16.6%。

2.3 GNP_s 的表面修饰物因素

GNP_s 的表面修饰可以改善 GNP_s 整体的物理、化学和生物特性, 成为其 GNP_s 主动式靶向肿瘤组织的一种重要手段, 对其辐射增敏性也有一定的影响。

Liu 等^[10]以小鼠结直肠腺癌 CT26 细胞为实验对象, 利用 PEG 修饰的 4.7 nm, 500 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 的 GNP_s 联合能量为 12 keV 的 X 射线处理细胞, 实验结果显示: 大量的 PEG-GNP_s 存在于细胞质中, 且长时间无胞外分泌; 同时 X 射线引发的细胞损伤明显增强。

Geng 等^[11]用 14.37 nm, 5 nmol/L 的硫醇葡萄糖-GNPs 和 GNPs 分别联合 X 射线处理人卵巢癌细胞, 实验结果显示: Glu-GNPs 处理的细胞内的纳米颗粒的含量比 GNPs 的多出近 31%, 同时发现, Glu-GNPs 联合处理组的细胞内的活性氧(ROS)水平和凋亡程度都高于单纯辐照组和单纯GNPs组; 对各个细胞周期内的细胞数量进行统计发现 Glu-GNPs 联合处理组内 G₂/M 期和 G₀/G₁ 期的细胞比例分别为 20.52% 和 27.82%, 而空白对照组内两个时期的细胞比例分别为 9.28% 和 43.35%。

Kong 等^[12]分别用巯基乙胺(AET)和 Glu 修饰 10.8 nm 的金颗粒, 分别合成了 3.5 nmol/L 的 AET-GNPs 和 15 nmol/L 的 Glu-GNPs, 用这 2 种纳米材料分别处理人乳腺癌 MCF-7 细胞系和人乳腺 MCF-10A 细胞系 24, 48 和 72 h 后, 发现 AET-GNPs 主要附着在 MCF-7 的细胞膜上, Glu-GNPs 则进入细胞并分布在细胞质内; 用 X 射线(200 kVp)单独处理后发现 MCF-7 和 MCF-10A 的存活率分别变为 115% 和 80%, 而用 Glu-GNPs 和 AET-GNPs 联合 X 射线(200 kVp)处理后, 发现 MCF-7 细胞的死亡率分别为 60% 和 30%, 而 MCF-10A 细胞则基本不变。

此外, GNPs 的形状、肿瘤细胞的类型等因素也会对 GNPs 的辐射增敏效应产生影响。

GNPs 放射增敏效应涉及的因素众多, 不同因素之间的联系也错综复杂, 这其中涉及到物理和生物方面的众多机理, 需要进一步的研究。

3 金纳米粒子的放射增敏机制的研究

3.1 物理学机制

金是高原子序数的元素, 金原子具有很高的电子密度, 当射线(X射线、电子束、质子、中子或重离子)辐照到癌细胞或组织中的 GNPs 的表面时, GNPs 的表面会发生康普顿散射(主要发生在较高的辐射能量下)或是光电效应(主要发生在较低的辐射能量下), 进而产生大量的次级电子和俄歇电子, 两者将大部分的能量作用于 GNPs 周围的组织中, 造成癌细胞 DNA 的直接或是间接损失, 最终导致癌细胞的死亡^[13], 如图 3 所示。

然而, GNPs 物理方面的机制无法通过具体的实验进行定量的验证, 只能在一定程度上进行模拟计算, 同时从 GNPs 物理吸收剂量方面不能完全解释其增敏效应, 所以其放射增敏效应的生物学机制成为重要的研究内容。

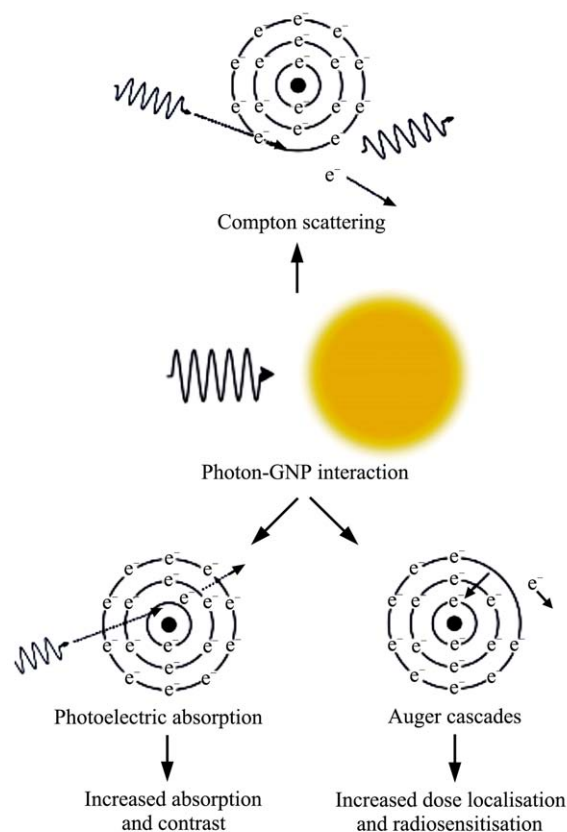


图 3 (在线彩图) 康普顿散射(上半部分)与光电效应(下半部分)^[25]

3.2 生物学机制

(1) ROS 和氧化应激的影响

Geng 等^[11]用硫代葡萄糖修饰的 GNPs(Glu-GNPs)联合 X 射线处理人类卵巢癌 SK-OV-3 细胞, 通过对样品中的 ROS 等物质和细胞凋亡情况的检测, 他们证实了低浓度(5 nmol/L)的 Glu-GNPs 在 6 MV 的 X 射线下在细胞内产生很高浓度的 ROS, 这些 ROS 产生了很高的氧分压水平, 从而提高细胞凋亡的程度。

辐射诱导细胞死亡的主要机理就是自由基所介导的 DNA 损伤, 而 GNPs 的存在进一步放大了这种损伤, 同时也诱导了细胞死亡的其他途径。

(2) 细胞周期的影响

Roa 等^[14]用 Glu-GNPs 联合 X 射线处理具有放射抗性的人前列腺癌细胞 DU-145, 发现 Glu-GNPs 能诱发 G₀/G₁ 期细胞的加速转变, 同时使细胞累积在 G₂/M 期。由此, 他们推断 Glu-GNPs 能激活 CDK 激酶的活性, 从而引起了上述变化, 而这种激活同时伴随着对电离辐射的增敏作用, 如图 4 所示。然而, Suneil 等^[26]在用 1.9 nm, 12 μmol/L 的 GNPs 处理 MDA-MB-231 细胞 24 h 后, 发现未出现 G₂/M 期的

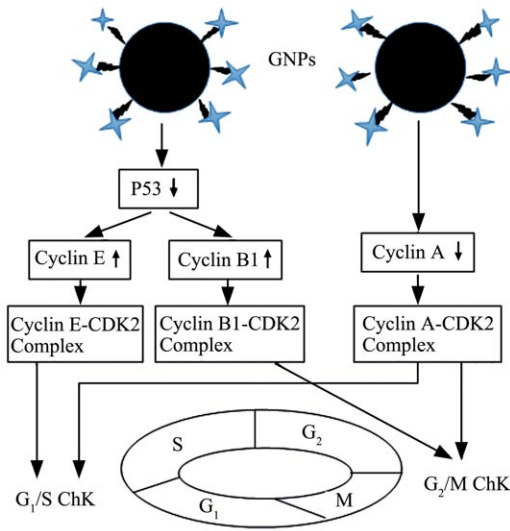


图 4 (在线彩图)GNPs 在前列腺癌 DU-145 细胞中引起的细胞周期阻滞^[14]

阻滞及其他的细胞周期同步化现象。

我们实验室利用不同浓度柠檬酸钠包被的 15 nm GNPs 分别处理 HeLa 细胞 24 和 48 h 后分析细胞周期时相, 实验结果如图 5 所示, 可以看到 GNPs 处理组与对照组无明显的细胞周期时相分布差异, GNPs 处理组未出现细胞周期同步化现象。

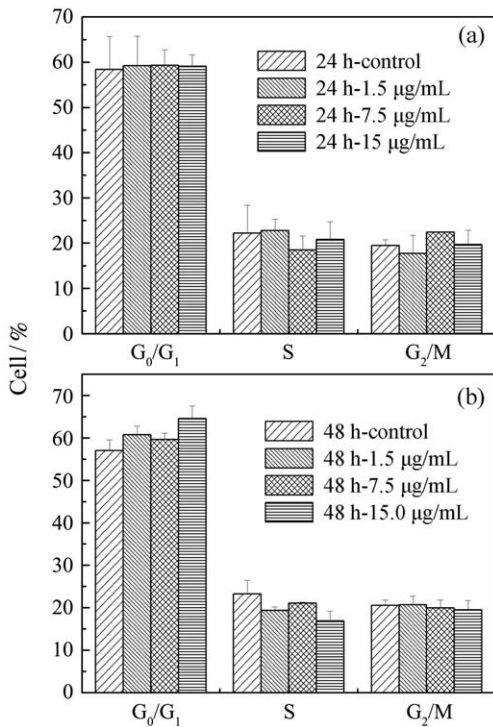


图 5 同浓度的 GNPs 分别处理 HeLa 细胞 24 h(a) 和 48 h(b) 后的细胞周期时相

GNPs 对细胞周期的影响可能是其辐射增敏的机制之一, 但是这种影响与细胞自身的属性、GNPs 的表面修饰及其他因素有关, 相关的联系有待进一步的探究。

(3) 细胞凋亡/自噬的影响

Ma 等^[15]用粒径为 10, 25 和 50 nm 的 GNPs (浓度均为 1 nmol/L) 分别培养了 NRK 细胞 24 h, 结果显示: 大量的 GNPs 累积在溶酶体中, 同时细胞内产生了大量的自噬体。通过进一步的实验, 他们发现: GNPs 进入细胞主要通过受体介导的内吞途径完成, 其在细胞内的含量与其粒径的大小密切相关 (粒径越小, 越容易进入细胞); 进入溶酶体内的 GNPs 通过碱化溶酶体内的 pH 值, 阻止自噬体与溶酶体之间的融合以及溶酶体的扩增, 从而削弱其降解能力, 达到阻止自噬流量和自噬基质蛋白的降解, 最终引发细胞死亡。

此外, 不同形状、不同粒径的 GNPs 进入细胞后的部位不同, 其增敏机制也会产生很大差异; GNPs 表面的修饰物在其进入细胞特定部位后, 也会发挥特定的功能, 其增敏机制也会因此而变得更加复杂。

4 GNPs 放射增敏效应在细胞和动物实验中的表现

4.1 细胞实验方面

Geng 等^[11]用 14.37 nm, 5 nmol/L 的 GNPs 和 Glu-GNPs 在 90 kVp 和 6 MV 辐照下处理人卵巢癌细胞 (SK-OV-3), 结果显示: 相比于单纯辐射组, Glu-GNPs 处理后, 在 90 kVp 辐照下, 细胞增殖被抑制了 30.48%, 在 6 MV 辐照下, 细胞增殖被抑制了 26.88%。

Roa 等^[14]用 50 nm, 15 nmol/L 的 Glu-GNPs 联合 X 射线处理具有辐射抗性的人前列腺癌细胞, 发现在 2 Gy 的辐照下, 相比于单纯辐照组, Glu-GNPs 联合辐照组在抑制肿瘤生长方面增强了 1.5 ~ 2.0 倍, 同时联合处理组细胞 G₀/G₁ 期的转变加快, G₂/M 期的细胞累积量明显高于对照组 (联合处理组 29.8%, 对照组 18.4%)。

Rahman 等^[7]用不同浓度的 1.9 nm 的 GNPs 结合不同能量的 X 射线处理牛主动脉内皮细胞, 结果发现: GNPs 明显增强了辐射的细胞杀伤效果, 且随着 GNPs 浓度的升高, 细胞损伤不断增加。

4.2 动物实验方面

Hainfeld 等^[16]用 1.9 nm 的 GNPs 结合 250 kVp 的 X 射线处理皮下 EMT-6 乳腺癌耐受的小鼠, 静脉注射的 GNPs 在肿瘤内的浓度可达 7 mg Au/g, 结果

发现：一年期存活率为 86%，而单纯辐照组为 20%，单纯 GNPs 组为零。

此外，Hainfeld 等^[6]又用粒径为 1.9 nm，浓度为 1.9 g Au/kg 体重的 GNPs 结合不同能量和剂量的 X 射线处理小鼠头颈部鳞状细胞癌 (SCCVII)，结果显示：在能量为 68 keV X 射线的照射下，42 Gy 时 GNPs 对肿瘤的抑制作用比 30 Gy 时更有效；在 157 keV 时，50.6 Gy 比 44 Gy 更有效；在 42 Gy 时，68 keV 比 157 keV 更有效。

Chang 等^[17]用不同粒径的纳米金结合临床电子束流处理 B16F10 黑色素瘤耐受的小鼠，实验结果显示：联合处理后，癌细胞凋亡潜力增加了，肿瘤生长明显受到抑制，同时发现对于粒径分别为 14, 30, 50, 74 和 100 nm 的 GNPs 来说，癌细胞摄取量最大的是 50 nm，摄取的 GNPs 集中在内质网和高尔基体中而非细胞核内，他们推测这种累积效应可能会引发或促进细胞辐射后的凋亡过程。

5 总结与展望

作为一种新型的纳米材料，GNPs 众多突出的优点已经受到研究人员的重视和应用，越来越多的实验都证实了 GNPs 的放射增敏效应，部分 GNPs 材料已经进入临床应用。随着研究的深入，人们对 GNPs 在生物学和医学中的作用提出了越来越多的要求，GNPs 的功能化和多样化成为其未来应用发展的趋势，尤其是 GNPs 与新型药物的联合治疗成为未来医学应用的重要领域。

然而，随着研究的复杂化和 GNPs 功能的多样化，一些亟待解决的问题已经展现在研究人员面前，例如：(1) GNPs 的粒径、浓度与射线的能量、剂量之间的搭配问题；(2) GNPs 在动物实验或临床实验时的给药、定位与消退等问题；(3) 特定 GNPs 在特定的辐射下产生的 ROS 的含量问题；(4) 功能化 GNPs 在细胞中的定位与分布及其靶向特异性机理；(5) GNPs 联合辐照处理引发 DNA 特异性损伤及细胞死亡的机理；(6) 如何最大化肿瘤细胞对 GNPs 的摄取量等。这些问题的解决需要结合多种学科的知识，采用特定的技术路线和方法来完成，相信随着相关问题的逐步解决，GNPs 在放射增敏领域的应用空间和价值将会得到巨大的提升。

参考文献：

- [1] WANG Changhai, LIU Chijin, WANG Chengliang, *et al.* Journal of Physics D: Applied Physics, 2008, **41**: 195301.
- [2] ZHANG S X, GAO Junfang, BUCHHOLZ T A, *et al.* Biomed Microdevices, 2009, **11**: 925.
- [3] BUTTERWORTH K T, MCMAHON S J, CURRELL F J, *et al.* Nanoscale, 2012, **4**: 4830.
- [4] JAY F D, LOVA S, DANIEL Y J, *et al.* Translational Cancer Research, 2013, **2**: 280.
- [5] BIN K, MEGAN A M, MOSTAFA A E. Journal of the American Chemical Society, 2010, **132**: 1517.
- [6] HAINFELD J F, DILMANIAN F A, ZHONG Z, *et al.* Phys Med Biol, 2010, **55**: 3045.
- [7] RAHMAN W N, BISHARA N, ACHERLY T, *et al.* Nanomedicine: Nanotechnology Biology and Medicine, 2009, **5**: 136.
- [8] BRUN E, SANCHE L, SICARD-ROSELLI C. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2009, **72**: 128.
- [9] HUANG Keyang, MA Huili, LIU Jian, *et al.* ACS nano, 2012, **6**: 4483
- [10] LIU Chijen, WANG Changhai, CHIEN C C, *et al.* Nanotechnology, 2008, **19**: 295104.
- [11] Geng F, Song K, Xing J Z, *et al.* Nanotechnology, 2011, **22**: 285101.
- [12] KONG Tao, ZENG Jie, WANG Xiaoping *et al.* Small, 2008, **4**: 1537.
- [13] WANG Xufei. Chinese Journal of Medical Physics, 2012, (**3**): 3337. (in Chinese)
(王旭飞. 中国医学物理学杂志, 2012, (**3**): 3337.)
- [14] ROA W, ZHANG Xiaojing, GUO Linghong, *et al.* Nanotechnology, 2009, **20**: 375101.
- [15] MA Xiaowei, WU Yanyang, JIN Shubin, *et al.* ACS nano, 2011, **5**: 8629.
- [16] HAINFELD J F, SLATKIN D N, SMILOWITZ H M. Phys Med Biol, 2004, **49**: N309.
- [17] CHANG Mengya, SHIAU A L, CHEN Yuhuang, *et al.* Cancer Sci, 2008, **99**: 1479.
- [18] ZHANG Xiaodong, GUO Meili, WU Hongying, *et al.* International Journal of Nanomedicine, 2009, **4**: 165.
- [19] LECHTMAN E, CHATTOPADHYAY N, CAI Z, *et al.* Phys Med Biol, 2011, **56**: 4631.
- [20] LIU Chijen, WANG Changhai, CHEN Shintai, *et al.* Phys Med Biol, 2010, **55**: 931.
- [21] POLF J C, BRONK L F, DRIESSEN W P, *et al.* Applied Physics Letters, 2011, **98**: 193702.
- [22] NGWA W, MAKRIGIORGOS G M, BERBECO R I. Phys Med Biol, 2012, **57**: 6371.
- [23] CHOMPOOSOR A, SAHA K, GHOSH P S, *et al.* Small, 2010, **20**: 2246.
- [24] MESBAHI A. Reports of Practical Oncology and Radiotherapy, 2010, **15**: 176.
- [25] BUTTERWORTH K T, MCMAHON S J, TAGGART L E, *et al.* Translational Cancer Research, 2013, **2**: 269.
- [26] SUNEIL J, JONATHAN A, ALAN R, *et al.* Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2011, **79**(2): 531.

Research on the Radiosensitizing Effect of Gold Nanoparticles

LIU Xi^{1,2,3}, LIU Yan^{1,2,3}, CHEN Weiqiang^{1,2}, LI Qiang^{1,2}

(1. Institute of Modern Physics, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000, China;

2. Key Laboratory of Heavy Ion Radiation Biology and Medicine of Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000, China;

3. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: This paper describes the methods and results of the previous experiments, the experimental phenomena of the cell and animal tests and the relative mechanisms on the radiosensitizing effect of GNPs. Together with our experiments, the radiosensitizing effects of 15 nm citrate-capped GNPs and related mechanisms are analyzed and compared, finding that Hela cell killing of GNPs increase along with their concentration after exposure to high- and low-LET radiation such as carbon ions and X-rays. In addition, the percentages of dose reduction of the X-rays and RBE increment of the carbon ions reached their maximums 65.3% and 43.6%, respectively, at 50% survival level when Hela cells were pre-treated with 7.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ GNPs. Moreover, Hela cells showed no cell-cycle synchronization after 24 and 48 h exposure to GNPs.

Key words: gold nanoparticles; radiosensitizing effect; tumor therapy

Received date: 19 May 2014; **Revised date:** 21 Jun. 2014

Foundation item: National Basic Research Program of China (973 Program)(2010CB834203); NSFC-CAS Joint Fund for Research based on Large-scale Scientific Facilities(U1232207); National Natural Science Foundation of China(11205217); Gansu Provincial Funds for Distinguished Young Scientists(1111RJDA010)

Corresponding author: LI Qiang, E-mail: liqiang@impcas.ac.cn.

<http://www.npr.ac.cn>