

# 磁性碳纳米管载附5-氟尿嘧啶对结肠癌淋巴结转移的靶向抑制作用☆

金彦召, 谭敏

## Target inhibitory effect of magnetic carbon nanotubes loaded with 5-fluorouracil on lymph node metastasis of colon cancer

Jin Yan-zhao, Tan Min

Department of Minimal Invasive Surgery, First Affiliated Hospital of Sun Yat-Sen University, Guangzhou 510080, Guangdong Province, China

Jin Yan-zhao☆, Studying for doctorate, Physician, Department of Minimal Invasive Surgery, First Affiliated Hospital of Sun Yat-Sen University, Guangzhou 510080, Guangdong Province, China  
 jyz998152@126.com

Corresponding author: Tan Min, Professor, Doctoral supervisor, Department of Minimal Invasive Surgery, First Affiliated Hospital of Sun Yat-Sen University, Guangzhou 510080, Guangdong Province, China  
 tantommy@163.com

Received: 2011-09-09  
 Accepted: 2011-10-03

中山大学附属第一医院微创外科, 广东省广州市 510080

金彦召☆, 男, 1981年生, 河南省漯河市人, 汉族, 中山大学附属第一医院在读博士, 医师, 主要从事外科微创手术学研究。  
 jyz998152@126.com

通讯作者: 谭敏, 教授, 博士生导师, 中山大学附属第一医院微创外科, 广东省广州市 510080  
 tantommy@163.com

中图分类号: R318  
 文献标识码: B  
 文章编号: 1673-8225 (2012)16-02884-05

收稿日期: 2011-09-09  
 修回日期: 2011-10-03  
 (20110815001/GW · G)

### Abstract

**BACKGROUND:** Carbon nanotubes are prepared by magnetic targeting drug carrier in the magnetic field to better drug delivery to target organs or tissues *in vivo*.

**OBJECTIVE:** To evaluate the inhibitory effect of the magnetic carbon nanotubes as a new chemotherapy carrier on lymph node metastasis of colon cancer.

**METHODS:** The inhibitory effects of different concentrations of 5-fluorouracil (5-FU), magnetic multi-walled carbon nanotubes-5-fluorouracil (mMWNTs-5-FU) and magnetic multi-walled carbon nanotubes (mMWNTs) (0.000 3, 0.003, 0.03, 0.3, 3 g/L 5-FU) on the growth of SW480 cells *in vitro* were measured by 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide assay. 5-FU, mMWNTs-5-FU and mMWNTs were injected into subcutaneous footpad of Sprague-Dawley rats and lymph node metastasis of colon cancer nude mice.

**RESULTS AND CONCLUSION:** Treatment of the cancer cells with various concentrations (0.000 3, 0.003, 0.03, 0.3, 3 g/L 5-FU) of mMWNTs-5-FU caused a dose-dependent decrease in cell viability relative to the control culture, with the same 5-FU levels. The *in vitro* inhibition of SW480 cells had no significant difference, showing the main ingredient of mMWNTs-5-FU is 5-FU. High pressure liquid chromatography detection *in vivo* showed that mMWNTs-5-FU could effectively gather in the lymph nodes and prolong release. Lymph concentration was better than 5-FU ( $P < 0.05$ ), and adverse reactions were less, visually easy to identify, cell-penetrating good; terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP-biotin nick end labeling method detected clear apoptosis of lymph node metastasis cells after the mMWNTs-5-FU chemotherapy. This shows colon cancer lymph node metastasis is significantly inhibited by mMWNTs-5-FU chemotherapy.

Jin YZ, Tan M. Target inhibitory effect of magnetic carbon nanotubes loaded with 5-fluorouracil on lymph node metastasis of colon cancer. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2012;16(16): 2884-2888. [http://www.crter.cn http://en.zgckf.com]

### 摘要

**背景:** 将碳纳米管制成磁靶向药物载体后, 在磁场作用下能更好地把药物运送至体内靶器官或靶组织。

**目的:** 观察磁性碳纳米管新化疗载体对结肠癌淋巴结转移的抑制效果。

**方法:** MTT法检测5-氟尿嘧啶、磁性多壁碳纳米管-5-氟尿嘧啶、磁性多壁碳纳米管(每种药物分别含0.000 3, 0.003, 0.03, 0.3, 3 g/L 5-氟尿嘧啶)对结肠癌SW480细胞的抑制作用。将含相同浓度5-氟尿嘧啶的5-氟尿嘧啶、磁性多壁碳纳米管-5-氟尿嘧啶、磁性多壁碳纳米管分散液分别注入SD大鼠足垫皮下及结肠癌淋巴结转移裸鼠体内。

**结果与结论:** 体外各质量浓度的5-氟尿嘧啶和磁性多壁碳纳米管-5-氟尿嘧啶对癌细胞的毒性存在剂量依赖性, 相同5-氟尿嘧啶质量浓度时两者对体外SW480细胞的抑制作用无明显差异, 说明磁性多壁碳纳米管-5-氟尿嘧啶的主要药效成分为5-氟尿嘧啶。体内研究高效液相检测显示磁性多壁碳纳米管-5-氟尿嘧啶能有效聚集在淋巴结, 长时间持久释放, 淋巴结浓集效果明显优于5-氟尿嘧啶( $P < 0.05$ ), 且不良反应小, 肉眼容易辨识, 细胞穿透性好; TUNNEL检测见磁性多壁碳纳米管-5-氟尿嘧啶化疗后结肠癌淋巴结转移灶细胞有明显凋亡现象, 在磁场作用下效果更显著。说明磁性多壁碳纳米管-5-氟尿嘧啶对结肠癌SW480细胞淋巴结转移有明显抑制作用。

**关键词:** 磁性碳纳米管; 5-氟尿嘧啶; 淋巴化疗; 结肠癌; 淋巴结转移; 生物材料与纳米技术

**缩略语注释:** 5-FU: 5-fluorouracil, 5-氟尿嘧啶; mMWNTs: multi walled carbon nanotubes, 磁性多壁碳纳米管  
 doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2012.16.008

金彦召, 谭敏. 磁性碳纳米管载附5-氟尿嘧啶对结肠癌淋巴结转移的靶向抑制作用[J]. 中国组织工程研究, 2012, 16(16):2884-2888. [http://www.crter.org http://cn.zgckf.com]

## 0 引言

术后肿瘤转移是造成复发和死亡的主要原因。对于上皮来源的结直肠癌, 淋巴转移是最主要的转移途径。临床广泛应用的抗肿瘤药物多数为非选择性药物, 局部淋巴结中药物浓度很低, 不能完全解决淋巴结转移的问题, 为了提高药物疗效, 减少不良反应, 淋巴靶向化疗成为当今的研究热点<sup>[1]</sup>, 而淋巴化疗的关键是需要有与淋巴组织有亲和性的药物载体<sup>[2]</sup>。在

此基础上人们对其超微粒子靶向控释体系进行探索。20世纪70年代Widder等提出磁控靶向药物传递系统概念, 并首先开展了载药磁性微粒的研究, 进入21世纪, 磁性纳米微球载体体系成为研究热点, 磁性炭铁复合物作为药物载体行靶向化疗的研究常见报道<sup>[2-3]</sup>。目前用于药物载体的磁性微粒主要由磁性微粒、高分子材料和治疗药物3部分组成。

多壁碳纳米管是新近研究较热的高分子材料, 由于电子顺磁共振波谱效用及本身很大的比表面积, 载附抗癌药物后易于通过淋巴系统

并在淋巴结聚集, 中空的管腔载附化疗药物能长时间缓慢释放到淋巴结, 近年来有文献报道将其制备成磁性氧化铁碳纳米管, 实验研究证实其作为药物载体不仅具有淋巴化疗靶向性, 也有示踪导航性, 因此磁性碳纳米管成为理想的淋巴化疗药物载体<sup>[4-15]</sup>。

本实验将纳米级氧化铁磁性成分、多壁碳纳米管、抗肿瘤药物5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-FU)结合起来, 通过体外、体内实验研究其抑制肿瘤作用, 并进一步探讨磁性碳纳米管抑制肿瘤的细胞机制。

## 1 材料和方法

**设计:** 对比观察实验。

**时间及地点:** 于2010-09/2011-06在中山大学附属第一医院外科实验室、基础医学院医学检验实验室、药学院实验室及北校区动物中心完成。

**材料:**

**实验动物:** 6~8周龄SD大鼠, 雌雄各半, 体质量200~350 g; 四五周龄BALB/cA裸小鼠, 雌雄各半, 体质量18~20 g, 均购自中山大学北校区动物中心。

**主要试剂与仪器:**

试剂与仪器	来源
5-FU	德国 Ruibio(进口分装)
磁性多壁碳纳米管(multi walled carbon nanotubes, mMWNTs)	中国科学院成都有机化学有限公司定制
PVP k30	德国 BASF(进口分装)
结肠癌 SW480 细胞株	中山大学北校区细胞库
高效液相色谱分析仪 LC AB	岛津

**实验方法:**

**载药体系的构建:** 因 $\text{Fe}_3\text{O}_4$ 具有磁性, 又名磁性氧化铁, 根据文献通过化学共沉淀法制备mMWNTs:  $2\text{Fe}^{3+} + \text{Fe}^{2+} + 8\text{OH}^- \rightarrow \text{Fe}_3\text{O}_4 + 4\text{H}_2\text{O}$ , 由中国科学院成都有机化学有限公司根据本实验要求制备。磁性碳纳米管、PVP-K30, 按实验要求比例加入去离子水, 35 °C, 40 kHz超声分散4 h, 得到黑色稳定的磁性碳纳米管混悬液。磁性碳纳米管、PVP-K30、5-FU按实验要求比例加入5 mL去离子水, 35 °C, 40 kHz超声分散4 h, 得到黑色稳定的磁性碳纳米管载附5-FU混悬液。以下实验用药均按以上方法配制。

**体外研究mMWNTs-5-FU对结肠癌细胞的抑制:** 分别制备5-FU、mMWNTs-5-FU 和mMWNTs测试药物, 每种药物按5-FU含量设置0.000 3, 0.003, 0.03, 0.3, 3 g/L 5个质量浓度, 每个质量浓度设置3个复孔。mMWNTs与mMWNTs-5-FU按相同的药物配比配制, 按相同容量加药。

SW480结肠癌细胞传代培养后, 取对数生长期细

胞, 加入96孔板, 100  $\mu\text{L}$ /孔(约 $2 \times 10^3$ ), 置37 °C、体积分数5% $\text{CO}_2$ 细胞培养箱培养24 h。加入上面3种药物的5个不同质量浓度, 设置空白对照组和无药对照组, 培养箱中孵育适当时间。每孔加50  $\mu\text{L}$  MTT, 37 °C孵育4 h, 使MTT还原为甲臜。吸出上清液, 每孔加150  $\mu\text{L}$  DMSO使甲臜溶解, 用平板摇床摇匀。酶标仪在490 nm波长处检测每孔的吸光度。

$$\text{细胞存活率} \% = \frac{\text{加药细胞 } A}{\text{对照细胞 } A} \times 100$$

**体内研究mMWNTs-5-FU 对SD大鼠淋巴示踪性及裸小鼠的肿瘤抑制:** 配制5-FU、mMWNTs-5-FU实验药物, 使5-FU含量均为12 g/L。

**实验分组:** 将96只SD大鼠随机分为5-FU组、mMWNTs-5-FU组和mMWNTs-5-FU加外磁场组, mMWNTs-5-FU加外磁场组注射药物前1 d于左侧下肢腠窝处植入3.0 mm $\times$ 0.6 mm的钕铁硼磁铁。左下肢足垫按10 mg/kg 5-FU剂量给药, 分别于给药后1~8 d每个时间点每组处死4只, 取(腠窝、腹股沟、髂血管旁)淋巴结、心肺等脏器, 血液检测白细胞和肌酐, 淋巴结玻璃研钵研磨后, 乙酸乙酯萃取, 高效液相色谱仪检测药物浓度。淋巴结行透射电镜检测, 并行病理苏木精-伊红检测。

**BALB/cA裸小鼠成瘤:** 研究磁性碳纳米管对体内结肠癌淋巴转移作用时, 先用对数生长期的SW480左侧足垫种植于BALB/cA裸小鼠足垫, 观察成瘤及腠窝淋巴结转移情况, 当触及黄豆大小淋巴结, 并病理CK20免疫组织化学检测阳性, 证实结肠癌淋巴结转移模型建立成功。选择建模合格裸鼠30只备用。

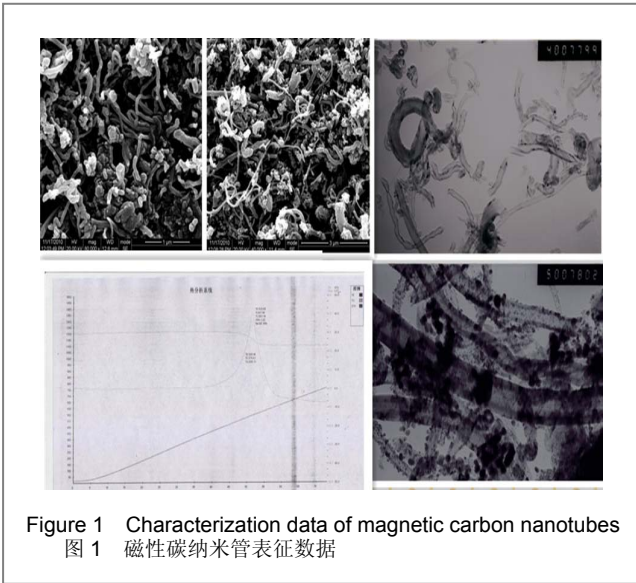
**将模型鼠随机分为5组:** 生理盐水组、5-FU组、mMWNTs组、mMWNTs-5-FU组和mMWNTs-5-FU组加外磁场组, 按60 mg/kg 5-FU剂量1, 7 d给药方案化疗, 左下肢足垫皮下给药, 化疗14 d处死裸鼠, 取腠窝淋巴结及血液, TUNNEL法检测腠窝淋巴结转移癌细胞凋亡情况, 并检测血白细胞和肌酐。

**主要观察指标:** mMWNTs-5-FU在体内外对SW480细胞的影响。

**统计学分析:** 研究数据统计分析用SPSS 13.0软件, 数据表示为 $\bar{x} \pm s$ ,  $P < 0.05$ 被认为差异有显著性意义。统计图形用GraphPad Prism 5.0绘制。

## 2 结果

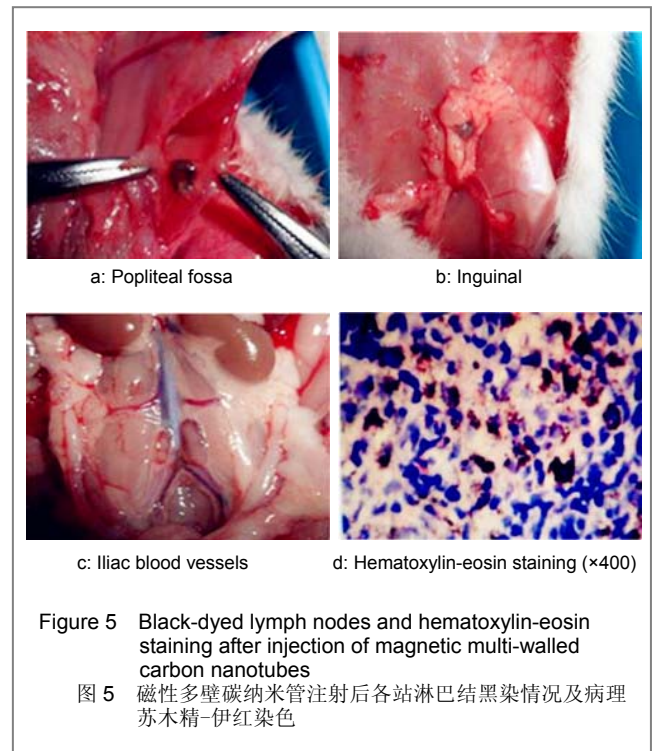
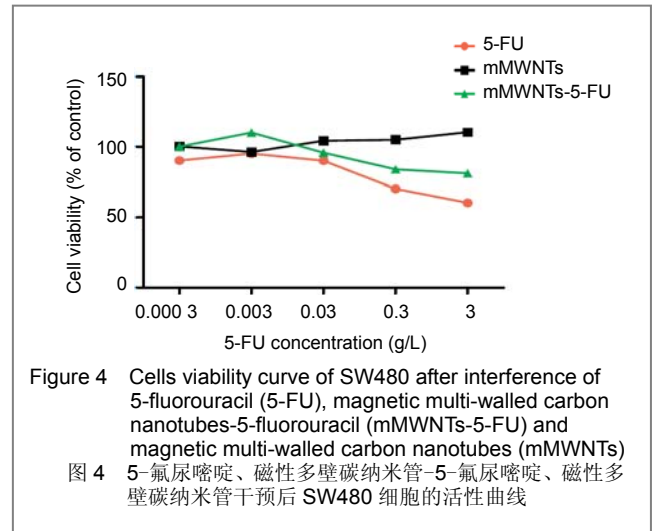
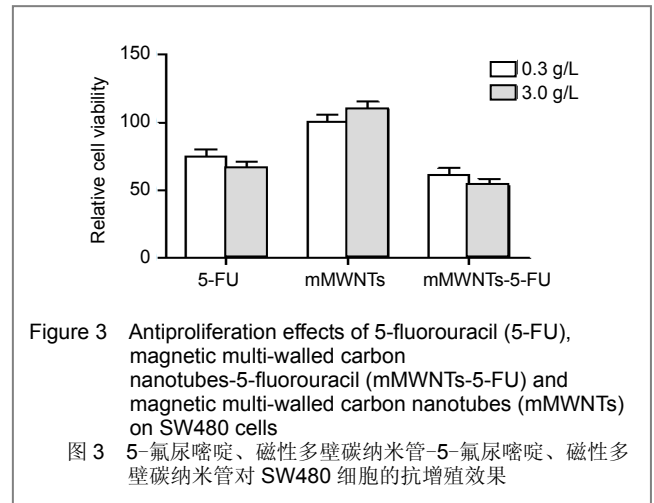
**2.1 mMWNTs的制备及分散情况** 定制的磁性碳纳米管经扫描电镜、透射电镜、以及热测试提示为氧化铁均匀包覆碳纳米管, 外磁场作用下磁顺应性好, 配置的混悬液性质均匀, 静置约30 d才出现轻度的分层现象, 轻微震动又立刻均匀分散。施加外磁场后出现明显的磁流体运动, 见图1, 2。



**2.2 mMWNTs、mMWNTs-5-FU体外对SW480细胞的抑制作用** 体外SW480细胞的毒性抑制实验以单用5-FU作为阳性对照，一系列不同剂量的5-FU组、mMWNTs组和mMWNTs-5-FU组，48 h后观察细胞抑制率情况：相对于5-FU组和mMWNTs-5-FU，mMWNTs对SW480结肠癌肿瘤细胞具有最小的作用，甚至高剂量3 g/L亦无明显毒性作用。mMWNTs-5-FU组和5-FU组各剂量对癌细胞的毒性存在剂量依赖性，但相同5-FU剂量组对体外SW480细胞的抑制作用差异无显著性意义 ( $P > 0.05$ )，所有这些表明在mMWNTs-5-FU药物配制过程中，5-FU的药物活性未受到影响，对体外SW480细胞起抑制作用的主要成分为5-FU，见图3，4。

**2.3 mMWNTs、mMWNTs-5-FU体内对SW480细胞的抑制作用** 将药物经皮下注射后，SD大鼠经解剖，三站淋巴结(腠窝、腹股沟、髂血管旁)染色肉眼清晰可辨，有较好的手术导航效果。黑染淋巴结行透射电镜检查，磁性碳纳米管被细胞内化吸收，位于细胞核周围，放大

15 000倍后磁性碳纳米管清晰可见，见图5，6。





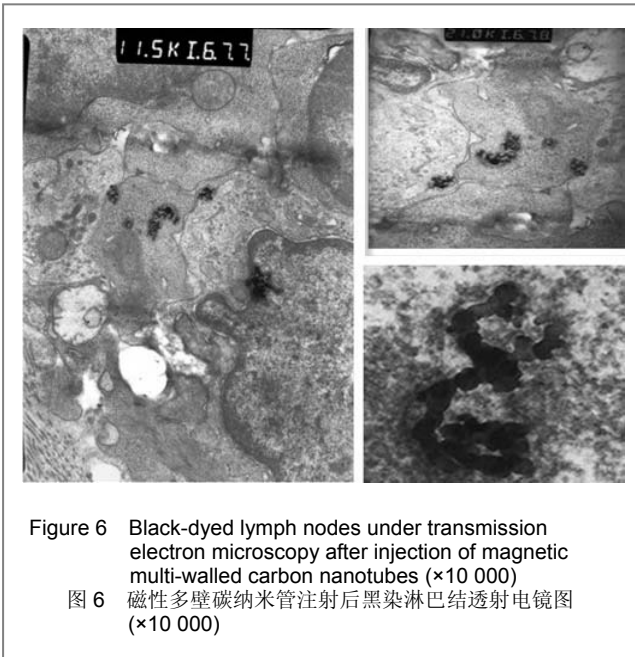


Figure 6 Black-dyed lymph nodes under transmission electron microscopy after injection of magnetic multi-walled carbon nanotubes ( $\times 10\ 000$ )  
图6 磁性多壁碳纳米管注射后黑染淋巴结透射电镜图 ( $\times 10\ 000$ )

心、肝脏、脾脏、肾脏等脏器病理未见碳纳米管沉积, 血白细胞、肌酐未见异常。

实验发现单独将5-FU爪垫皮下注射后, 淋巴结内的药物浓度非常低 $<2\ \mu\text{g/g}$ , 120 h后的浓度接近测不出; mMWNT-5-FU皮下注射后, 淋巴结内的药物浓度较单纯5-fu组要高( $P < 0.05$ ), 24时达高峰, 随后淋巴结内的浓度逐渐下降, 至第8天浓度为 $1.3\ \mu\text{g/g}$ , 在有外磁场的作用下, mMWNTs-5-FU组淋巴结的药物更高, 与未加磁场mMWNTs-5-fu组相比差异有显著性意义( $P < 0.05$ )。

裸鼠淋巴结转移模型建立后, 足垫处原发灶及三站转移淋巴结经免疫组化CK20检测确认结肠癌原发灶和淋巴结转移灶, 生理盐水组、5-FU组、mMWNTs组、mMWNTs-5-FU组、mMWNTs-5-FU组加外磁场组转移灶结肠癌细胞指数分别为 $(0.034\pm 0.006)\%$ ,  $(0.139\pm 0.031)\%$ ,  $(0.077\pm 0.017)\%$ ,  $(0.163\pm 0.032)\%$ ,  $(0.230\pm 0.073)\%$ 。在足垫原发灶处注射mMWNT-5-FU药物化疗后, 淋巴结凋亡检测提示转移灶结肠癌细胞有明显的凋亡现象。mMWNT-5-FU加外磁场组较无外磁场mMWNT-5-FU组凋亡现象更明显( $P < 0.05$ ), 见图7。血白细胞和肌酐检测结果优于单用5-FU组( $P < 0.05$ )。

### 3 讨论

本实验结果提示磁性四氧化三铁在碳纳米管表面均匀分布, 超声分散后形成稳定的混悬液, 其在外磁场下磁性碳纳米管磁流体运动, 去除外磁场后稍微振荡即又均匀分散。这与Yang等<sup>[2]</sup>制备的磁性碳纳米管及其混悬液结果相近。Jia等<sup>[4]</sup>也曾报道合成的蝌蚪状磁性碳纳米管复合物也具有超顺磁性和磁响应性, 并且在外磁场的作用下, 这种蝌蚪状的复合物会沿着外磁场方向自

组装成一维线性结构。

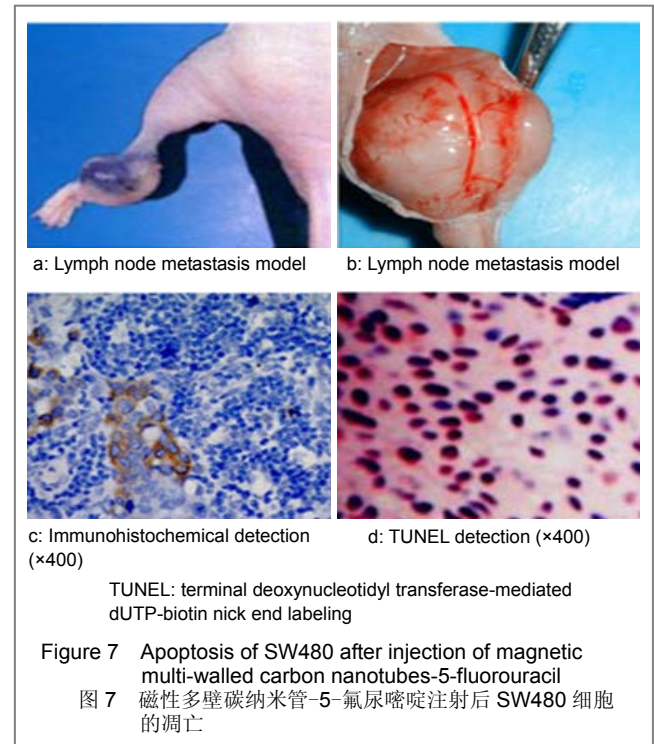


Figure 7 Apoptosis of SW480 after injection of magnetic multi-walled carbon nanotubes-5-fluorouracil  
图7 磁性多壁碳纳米管-5-氟尿嘧啶注射后 SW480 细胞的凋亡

体外实验显示磁性碳纳米管载药体系能有效抑制结肠癌SW480细胞的增殖, 起主要抑制肿瘤的成分为5-FU, 说明磁性碳纳米管对抑瘤起协助作用; 体内实验表明磁性碳纳米管能有效聚集在淋巴结, 长时间持久释放, 抑制结肠癌的生长和淋巴结转移。Yang等<sup>[12-13]</sup>用磁性碳纳米管载附吉西他滨进行了胰腺癌淋巴化疗的动物实验研究, 也表明其可以优先进入淋巴道, 在外磁场作用下可以在淋巴结靶向聚集, 化疗药物可以长时间缓慢释放。Liu等<sup>[16]</sup>将紫杉醇共轭结合在碳纳米管上, 并在乳腺癌鼠模型上实验, 发现碳纳米管可以提高紫杉醇在血循环和肿瘤部位的药物浓度, 是单用紫杉醇的6~10倍。Wu等<sup>[17]</sup>用碳纳米管载附羟基喜树碱, 较临床单用羟基喜树碱血循环时间长, 肿瘤部位特异聚集, 低毒性和抗肿瘤效果好。

体内实验说明制备的磁性碳纳米管载附抗癌药物5-FU能有效抑制结肠癌的淋巴结转移, 血白细胞和肌酐检测结果提示淋巴结靶向化疗全身不良反应小。这与Yang等<sup>[12-13]</sup>的相关研究一致。但也有研究报道小鼠静脉注射CNTs后, 可以经胆道和肾脏排出, 但主要器官诸如肝脏和肺脏的药物累积仍会造成毒副作用<sup>[13, 18]</sup>。磁性碳纳米管在淋巴结的累积不免会引起人们对它免疫毒性的担忧。Meng等<sup>[19]</sup>将mMWNTs分散液对BALB/c裸鼠皮下注射后, 发现早期mMWNTs诱导补体激活和炎症细胞因子的产生, 但随之又恢复正常, 除了淋巴结mMWNTs聚集, 主要器官和淋巴结未见损害。这些研究表明皮下注射碳纳米管可能会引起短期的免疫反应, 较静脉注射安全。

磁性碳纳米管载附化疗药物进入细胞并诱导细胞死亡的确切机制尚不清楚, 体内研究透射电镜证实其被细胞内化, 以及淋巴结内有少数凋亡的结肠癌SW480细胞, 证实磁性碳纳米管具有良好的细胞穿透性。Raffa等<sup>[20]</sup>报道称离散度、超分子聚合物的形式及纳米管的长度是决定其被细胞摄取机制的关键因素, 吞噬、扩散、内吞是碳纳米管被细胞内化的3个主要机制, 吞噬主要是纳米管簇或1 mm以上长度单个纳米管的摄取方式, 内吞是纳米管超分子聚合物的细胞内化方式, 而扩散适用于其非超分子聚合物。Kostarelos等<sup>[21]</sup>称功能化碳纳米管的细胞摄取与结合功能化集团及作用的细胞类型有关。Romero等<sup>[22]</sup>用共聚焦拉曼光谱显微镜研究证实氧化的碳纳米管位于肝癌细胞的细胞质区域。Al-Jamal等<sup>[23]</sup>用3D断层扫描观察人巨噬细胞内化功能化碳纳米管的过程发现, 早期细胞被转运聚集在很多细胞内结构, 但14 d后再观察发现其逃脱吞噬进入细胞浆。Serag等<sup>[24]</sup>用共聚焦成像和透射电镜观察碳纳米管进入植物原生质细胞的内化机制, 发现其主要通过内体逃逸模式被摄取, 100 nm以下的短碳纳米管特异靶向细胞核、质体及液泡等细胞器。

研究还发现磁性碳纳米管在术中可以轻易发现黑染淋巴结, 说明其有比较好的手术示踪效果。Pramanik等<sup>[25]</sup>用碳纳米管增强的光声成像检测鼠乳腺癌的前哨淋巴结, 辨识效果好, 去除皮肤后, 染色淋巴结清晰可见。Kim等<sup>[26]</sup>用镀金碳纳米管作为光声和光热成像的对比剂, 能很好的靶向显示鼠淋巴管。Li等<sup>[27]</sup>制备碳纳米管作为淋巴结示踪剂, 辨识率高。

总之, 磁性碳纳米管由于其独特的性能和结构得到了越来越多的关注, 但是人们对其的实际应用还处于起步阶段。近年来主要被研究用于传递生物分子进入细胞的工具、MRI对比剂、细胞标记物、造血干细胞追踪监测、癌症热疗等。磁性碳纳米管具有淋巴趋向性和磁顺应性等特性, 属于新的磁靶向药物载体。这种载体系统将提供一种将化疗药物控释在区域癌转移的淋巴结, 为人们提供一个全身不良反应小, 局部治愈癌症的机会<sup>[3]</sup>。

致谢: 对本实验提供技术支持和帮助的中山大学基础医学院医学检验实验室、动物实验中心、外科实验室的各位老师表示衷心的感谢。

#### 4 参考文献

[1] Xie Y, Bagby TR, Cohen MS, et al. Drug delivery to the lymphatic system: importance in future cancer diagnosis and therapies. *Expert Opin Drug Deliv.* 2009;6(8):785-792.  
 [2] Yang F, Jin C, Yang D, et al. Magnetic functionalised carbon nanotubes as drug vehicles for cancer lymph node metastasis treatment. *Eur J Cancer.* 2011;47(12):1873-1882.  
 [3] Chen YX, Xiao WC, Gu HC. Dongnan Daxue Xuebao. 2011;30(1):240-247.  
 陈玉新, 肖旺钊, 古宏晨. 碳纳米管/磁性氧化铁纳米颗粒复合研究的进展[J]. 东南大学学报:医学版, 2011, 30(1):240-247.

[4] Jia SR, Liu C, Zhang B, et al. Carbon nanotubes in cancer diagnosis and therapy. *Biochim Biophys Acta.* 2010;1806(1):29-35.  
 [5] Vittorio O, Quaranta P, Raffa V, et al. Magnetic carbon nanotubes: a new tool for shepherding mesenchymal stem cells by magnetic fields. *Nanomedicine (Lond).* 2011;6(1):43-54.  
 [6] Raffa V, Vittorio O, Ciofani G, et al. Cell creeping and controlled migration by magnetic carbon nanotubes. *Nanoscale Res Lett.* 2009;5(1):257-262.  
 [7] Zhao G, Li Y, Wang J, et al. Reversible immobilization of glucoamylase onto magnetic carbon nanotubes functionalized with dendrimer. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2011;91(3):591-601.  
 [8] Vermisoglou EC, Pilatos G, Romanos GE, et al. Magnetic carbon nanotubes with particle-free surfaces and high drug loading capacity. *Nanotechnology.* 2011;22(35):355602.  
 [9] Hao Y, Xu P, He C, et al. Impact of carbondiimide crosslinker used for magnetic carbon nanotube mediated GFP plasmid delivery. *Nanotechnology.* 2011;22(28):285103.  
 [10] Gul H, Lu W, Xu P, et al. Magnetic carbon nanotube labeling for haematopoietic stem/progenitor cell tracking. *Nanotechnology.* 2010;21(15):155101.  
 [11] Cohen MS, Forrest ML. Lymphatic drug delivery: therapy, imaging and nanotechnology. *Adv Drug Deliv Rev.* 2011;63(10-11):865-866.  
 [12] Yang F, Hu J, Yang D, et al. Pilot study of targeting magnetic carbon nanotubes to lymph nodes. *Nanomedicine (Lond).* 2009;4(3):317-330.  
 [13] Yang F, Jin C, Jiang Y, et al. Liposome based delivery systems in pancreatic cancer treatment: From bench to bedside. *Cancer Treat Rev.* 2011;37(8):633-642.  
 [14] Prakash S, Malhotra M, Shao W, et al. Polymeric nanohybrids and functionalized carbon nanotubes as drug delivery carriers for cancer therapy. *Adv Drug Deliv Rev.* 2012;63(14-15):1340-1351.  
 [15] Vittorio O, Duce SL, Pietrabissa A, et al. Multiwall carbon nanotubes as MRI contrast agents for tracking stem cells. *Nanotechnology.* 2011;22(9):095706.  
 [16] Liu Z, Chen K, Davis C, et al. Drug delivery with carbon nanotubes for in vivo cancer treatment. *Cancer Res.* 2008;16:6652.  
 [17] Wu W, Li R, Bian X, et al. Covalently combining carbon nanotubes with anticancer agent: preparation and antitumor activity. *ACS Nano.* 2009;9:2740-2750.  
 [18] Liu Z, Davis C, Cai W, et al. Circulation and long-term fate of functionalized, biocompatible single-walled carbon nanotubes in mice probed by Raman spectroscopy. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2008;105(5):1410-1415.  
 [19] Meng J, Yang M, Jia F, et al. Immune responses of BALB/c mice to subcutaneously injected multi-walled carbon nanotubes. *Nanotoxicology.* 2011;5(4):583-291.  
 [20] Raffa V, Ciofani G, Vittorio O, et al. Physicochemical properties affecting cellular uptake of carbon nanotubes. *Nanomedicine (Lond).* 2010;5(1):89-97.  
 [21] Kostarelos K, Lacerda L, Pastorin G, et al. Cellular uptake of functionalized carbon nanotubes is in dependent of functional group and cell type. *Nat Nanotechnol.* 2007;2(2):108-113.  
 [22] Romero G, Rojas E, Estrela-Lopis I, et al. Spontaneous confocal Raman microscopy—a tool to study the uptake of nanoparticles and carbon nanotubes into cells. *Nanoscale Res Lett.* 2011;6:429.  
 [23] Al-Jamal KT, Nerl H, Müller KH, et al. Cellular uptake mechanisms of functionalised multi-walled carbon nanotubes by 3D electron tomography imaging. *Nanoscale.* 2011;3(6):2627-2635.  
 [24] Serag MF, Kaji N, Gaillard C, et al. Trafficking and subcellular localization of multiwalled carbon nanotubes in plant cells. *ACS Nano.* 2011;5(1):493-499.  
 [25] Pramanik M, Song KH, Swierczewska M, et al. In vivo carbon nanotube-enhanced non-invasive photoacoustic mapping of the sentinel lymph node. *Phys Med Biol.* 2009;54(11):3291-3301.  
 [26] Kim JW, Galanzha EI, Shashkov EV, et al. Golden carbon nanotubes as multimodal photoacoustic and photothermal high-contrast molecular agents. *Nat Nanotechnol.* 2009;4(10):688-894.  
 [27] Li JJ, Yang F, Guo GQ, et al. Preparation of biocompatible multi-walled carbon nanotubes as potential tracers for sentinel lymph nodes. *Polym Int.* 2010;59(2):169-174.

#### 来自本文课题的更多信息—

**作者贡献:** 谭敏进行实验设计、实验评估、审校, 实验实施、资料收集、成文为金彦召, 谭敏、金彦召对文章负责。

**利益冲突:** 课题未涉及任何厂家及相关雇主或其他经济组织直接或间接的经济或利益的赞助。

**伦理要求:** 实验中对动物处置符合动物伦理学标准。