

DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2016.06.009

· 基础研究 ·

## 金纳米棒标记的人 CIK 细胞用于胃癌靶向光声成像与免疫治疗

杨瑶<sup>1</sup>, 张春雷<sup>2</sup>, 夏芳芳<sup>2</sup>, 刘岩磊<sup>2</sup>, 杨蒙<sup>2</sup>, 张晶晶<sup>2</sup>, 方姗<sup>1</sup>, 崔大祥<sup>1,2</sup> (1. 温州医科大学 检验医学和生命科学学院, 浙江温州 325000; 2. 上海交通大学 纳米生物医学工程研究所 上海智能诊疗仪器工程技术研究中心, 上海 200240)

**[摘要]** **目的:** 利用金纳米棒标记的人细胞因子诱导杀伤细胞(CIK)主动靶向体内胃癌细胞的特性,实现胃癌的局部光声成像,观察金纳米棒在胃癌组织中的分布,测量血清中细胞因子浓度变化。**方法:** 取健康志愿者的全血提取外周血单个核细胞,在多种细胞因子的诱导下扩增出 CIK 细胞;采用种子合成法制备金纳米棒并对其表面进行二氧化硅修饰与表征;利用胃癌细胞系 MGC803 细胞建立裸鼠胃癌皮下瘤模型;制备金纳米棒标记的 CIK 细胞,尾静脉注射进入荷胃癌的裸鼠模型,注射后不同时间点,进行光声成像观察金纳米棒标记的 CIK 细胞在肿瘤部位的分布;注射后 3 d,收集裸鼠血清,测量 IL-2、IL-17、 $\gamma$ -IFN 的浓度,评判免疫治疗效果。**结果:** CIK 细胞成功制备;制备的金纳米棒长为 60 nm,宽为 8 nm,二氧化硅厚度为 20 nm;制备的金纳米棒被人 CIK 细胞内吞;金纳米棒标记的人 CIK 细胞能够主动靶向体内胃癌组织,在胃癌组织中大量聚集,呈现出增强的光声成像信号;细胞因子 IL-2、IL-17 与  $\gamma$ -IFN 的浓度显著升高( $P < 0.05$ )。**结论:** 金纳米棒标记的 CIK 细胞能够主动靶向体内胃癌组织,高效聚集并呈现出增强的光声成像信号,同时升高血液中细胞因子水平,增强免疫治疗功能。

**[关键词]** 细胞因子诱导的杀伤细胞;金纳米棒;胃癌裸鼠模型;光声成像;免疫治疗

**[中图分类号]** R730.5; R73.35<sup>+</sup>4

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1007-385X(2016)06-0789-06

## Using human CIK cells labeled with gold nanorods for targeted photoacoustic imaging and immunotherapy of gastric cancer

YANG Yao<sup>1</sup>, ZHANG Chunlei<sup>2</sup>, XIA Fangfang<sup>2</sup>, LIU Yanlei<sup>2</sup>, YANG Meng<sup>2</sup>, ZHANG Jingjing<sup>2</sup>, FANG Shan<sup>1</sup>, CUI Daxiang<sup>1,2</sup> (1. School of Laboratory Medicine and Life Science, Wenzhou Medical University, Wenzhou 325035, Zhejiang, China; 2. Institute of Nano Biomedicine and Engineering, Shanghai Intelligent Engineering Research Center for Diagnosis and Treatment Instrument, Shanghai Jiao Tong university, shanghai 200240, China)

**[Abstract]** **Objective:** Using property of human cytokine-induced killer cells (CIK) targeting gastric cancer cells to achieve local photoacoustic imaging of gastric cancer, to observe distribution of gold nanorods in gastric cancer tissues and to measure concentration changes of cytokines in serum. **Methods:** Peripheral blood mononuclear cells were extracted from whole blood of healthy volunteers and CIK cells were amplified induced under inductions of multiple cytokines. A seed synthesis method was used to prepare gold nanorods and to modify their surfaces with silicon dioxide (20 nm thick). A nude mouse model with subcutaneous xenograft of gastric tumor was established using gastric cancer MGC803 line cells. The CIK cells labeled with gold nanorods were injected into caudal vein of the nude mice with xenograft of gastric cancer and distribution of the CIK cells labeled with gold nanorods in the tumor tissues was observed with photoacoustic imaging at various time points of the injection. After 3 days of the injection, concentrations of IL-2, IL-7 and  $\gamma$ -IFN in serum of the nude mice were detected by ELISA assay. **Results:** CIK cells and gold nanorods were successfully made. The gold nanorods with 60 nm long and 8 nm wide were swallowed by the human CIK. The human CIK cells labeled with the gold

**[基金项目]** 国家 973 课题资助项目(No. 2015CB931802);国家自然科学基金资助项目(No. 81225010, 81028009);上海市科委基金资助项目(No. 13NM1401500)。Project supported by the National 973 Project Foundation (No. 2015CB931802), the National Natural Science Foundation of China (No. 81225010, 81028009), and the Shanghai Municipal Science Committee Foundation (No. 13NM1401500)

**[作者简介]** 杨瑶(1987-),女,内蒙古鄂尔多斯人,硕士生,主要从事纳米粒子标记的人细胞因子诱导杀伤细胞在胃癌诊疗中的应用研究, E-mail: crystal\_delylulu@hotmail.com

**[通信作者]** 崔大祥(CUI Daxiang, corresponding author), E-mail: dxui@sjtu.edu.cn

nanorods actively targeted gastric cancer tissues, a large number of them accumulated in the gastric cancer tissues and enhanced signaling of photoacoustic imaging was presented. Concentrations of cytokines IL-2, IL-7 and  $\gamma$ -IFN significantly increased, and were higher than those in the control group ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** The CIK cells labeled with the gold nanorods could actively target gastric cancer tissues, efficiently collect and present enhanced signaling of photoacoustic imaging. At the same time, cytokine level in blood could be elevated and curative efficacy of the immunotherapy could be enhanced.

[ **Key words** ] cytokine-induced killer cells ( CIK ); gold nanorods; nude mouse model with xenograft of gastric tumor; photoacoustic imaging; immunotherapy.

[ Chin J Cancer Biother, 2016, 23(6): 789-794. DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2016.06.009 ]

胃癌是我国常见的恶性肿瘤,发病率与病死率均较高<sup>[1]</sup>。早期胃癌症状轻微甚至无症状,而当临床症状明显时,病变多为晚期。胃癌的治疗方法主要有手术切除、放疗、化疗与生物治疗。目前仍以手术切除为主,但是大多数胃癌患者发现较晚,手术治疗效果欠佳,术后5年生存率不到25%<sup>[2-4]</sup>,如何提高中晚期胃癌患者生存率已成为一个关键问题。近年来,免疫治疗已成为一个新的研究热点,特别是细胞因子诱导的杀伤(cytokine-induced killer, CIK)细胞是一类具备抑制甚至杀伤肿瘤细胞功能的免疫活性细胞,目前已在临床应用<sup>[5-6]</sup>。部分研究表明,CIK细胞能够主动靶向体内的肿瘤细胞或组织,分泌特殊的细胞因子,调节肿瘤的微环境,杀死肿瘤细胞,是一种比较有效的免疫细胞治疗方法。但是,到目前为止,CIK细胞在体内的分布研究比较少,也是增强CIK细胞治疗效果的一个关键问题。随着纳米生物技术的快速发展,利用纳米材料的特殊效应,实现肿瘤诊断治疗一体化已成为国际上的研究热点<sup>[7-8]</sup>。金纳米棒作为一种生物安全性好的纳米材料,具有独特可调节的表面等离子共振特性,可用于光声成像与光热治疗,具有合成方法简单、化学性质稳定、产出率高等优点<sup>[9-10]</sup>。这些特点使得金纳米棒在多种疾病诊疗一体化的研究中得到应用。在本研究,笔者利用金纳米棒的光学特性,结合CIK细胞的靶向体内肿瘤特性,研究金纳米棒标记的CIK细胞靶向体内胃癌细胞的可行性,并调查CIK细胞的体内分布,以及对细胞因子浓度的影响,为进一步实现胃癌的靶向成像与免疫治疗奠定基础。

## 1 材料与方 法

### 1.1 主要材料与试剂

BALB/c (SPF级)裸鼠(雄性,4~6周龄)购自斯莱克公司(实验动物合格证号为9A336056-598971BF-F975ACB8-C5DE0AB0),人胃癌MGC803株细胞(DMEM培养基贴壁培养)购自中国科学院

细胞研究所。新鲜全血来自本实验室健康志愿者。十六烷基三甲基溴化铵(CTAB)、硝酸银、抗坏血酸、硼氢化钠、正硅酸乙酯购自阿拉丁公司。X-VIVO培养基、CCK-8试剂盒购自上海翊圣生物科技有限公司。淋巴细胞分离液购自达科为生物科技有限公司。细胞因子CD3mAb、 $\gamma$ -IFN、IL-2以及检测试剂盒分别购自德国Hyskill公司、上海凯茂生物医药有限公司及上海华新生物高技术有限公司,CD3<sup>+</sup>、CD56<sup>+</sup>等单克隆抗体购自BD公司。

### 1.2 金纳米棒(gold nanorods, GNRs)的合成、修饰及表征观察

合成金纳米晶种子反应体系:CTAB(0.1 mol/L)7.5 ml;氯金酸(24.3 mol/L)103  $\mu$ l;硼氢化钠(0.01 mol/L)600  $\mu$ l;超纯水1.8 ml。在10 ml反应瓶中加入上述反应体系,30  $^{\circ}$ C均匀搅拌后迅速加入预冷的硼氢化钠溶液并快速搅拌2 min,静置2 h。

金纳米棒生长液反应体系:CTAB(0.1 mol/L)50 ml;氯金酸(24.3 mol/L)1.03 ml;硫酸(0.5 mol/L)1.0 ml;硝酸银(0.01 mol/L)750  $\mu$ l;抗坏血酸(0.1 mol/L)400  $\mu$ l。在50 ml具塞锥形瓶中加入上述反应体系,30  $^{\circ}$ C均匀搅拌。剧烈搅拌2 min,加入金纳米晶种120  $\mu$ l后继续搅拌20 s后恒温完全静置。待变色后静置过夜。

正硅酸乙酯(tetraethylorthosilicate, TEOS)修饰金纳米棒:氢氧化钠(1 mol/L)调节10 ml金纳米棒溶液pH值至10.0,30  $^{\circ}$ C均匀搅拌;分三次加入600  $\mu$ l TEOS溶液(10 mmol/L),每次间隔30 min;恒温均匀搅拌24 h。

金纳米棒表征观察:用Varian Cary 50分光光度计检测GNR及硅修饰的金纳米棒(GNR@SiO<sub>2</sub>)纳米颗粒的可见-近红外光谱。纳米颗粒的尺寸形貌特征用高分辨透射电子显微镜观察。

### 1.3 外周血单核细胞提取及CIK细胞培养扩增

分离人外周血单核细胞(PBMC),培养扩增CIK细胞用含 $\gamma$ -IFN(2 000 U/ml)的X-VIVO培养

基,培养第 1 天加 IL-2 (1 000 U/ml)和 CD3mAb (100 ng/ml)。培养 2~3 周,利用流式细胞术分析 CIK 细胞表面 CD3、CD56 表达情况,使用 Flowjo 软件进行数据分析。

#### 1.4 GNR 标记 CIK 细胞和检测 GNR 对 CIK 细胞存活率影响

将 CIK 细胞与 GNR 在 37 °C,5% CO<sub>2</sub> 培养箱共同孵育 6 h,使 CIK 细胞内吞金纳米棒。利用 CCK-8 试剂盒测定不同浓度纳米材料对 CIK 细胞存活率的影响。暗视野显微镜观察 CIK 细胞内吞纳米材料的情况。

#### 1.5 光声成像观察纳米颗粒在裸鼠模型体内分布

裸鼠右腋皮下注射  $1 \times 10^6$  个对数生长期人胃癌 MGC803 株细胞建立裸鼠胃癌皮下瘤模型。待胃癌皮下瘤长至 150~200 mm<sup>3</sup> 时,按实验分组分别进行尾静脉注射:(A)注射 PBS;(B)注射携带 GNR@SiO<sub>2</sub> 纳米颗粒的 CIK 细胞;(C)注射 GNR@SiO<sub>2</sub> 纳米颗粒。尾静脉注射后 1、3 和 5 d,用 Endra Nexus 128 小动物光声成像系统对裸鼠模型胃癌皮下瘤及瘤周组织进行光声成像探针分布观察。光声成像采集的光声信号数据通过 Osirix 软件进行分析。每组观察 5~7 个动物。

#### 1.6 ELISA 方法测量裸鼠血清细胞因子

尾静脉注射裸鼠胃癌模型金纳米棒标记人 CIK 细胞后 3 d,收集裸鼠的血液,分离血清,同时收集正常裸鼠血清作为对照。按照 ELISA 试剂盒,说明书步骤操作,测量 IL-1、IL-4、IL-12 与 IFN- $\gamma$  细胞因子浓度。

#### 1.7 统计学处理

采用 SPSS17.0 统计分析软件,计量数据以  $\bar{x} \pm s$  表示。用 *t* 检验比较组间差异, $P < 0.05$  或  $P < 0.01$  表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 金纳米棒表征

GNR 及 GNR@SiO<sub>2</sub> 的可见光-近红外吸收光谱(图 1),显示其横向等离子体共振吸收峰在 520 nm,纵向等离子体共振吸收峰在 808 nm。其中 520 nm 是金元素的吸收峰,而处于 810 nm 左右的金纳米棒长宽比在 3~5:1 的范围内,有利于获得较好的光热治疗效果。

透射电子显微镜(图 2)显示,种子合成法制备的 GNR 及 GNR@SiO<sub>2</sub> 在蒸馏水中分散均匀、大小均一,长度为 60 nm,宽度为 8 nm,包覆的二氧化硅层厚约 20 nm。

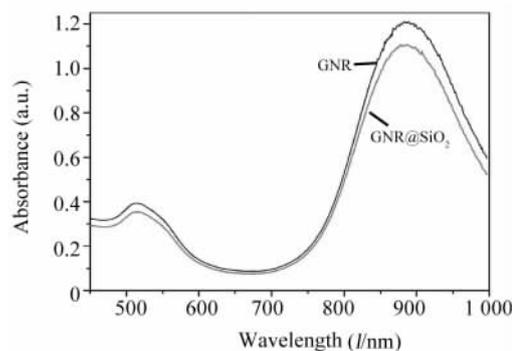


图 1 GNR 及 GNR@SiO<sub>2</sub> 纳米颗粒的可见-近红外吸收光谱

Fig. 1 The visible and near infrared absorption spectroscopy of GNR and GNR@SiO<sub>2</sub> nanoparticles

GNR:Gold nanorods;

GNR@SiO<sub>2</sub>:Gold nanorods modified with silicon

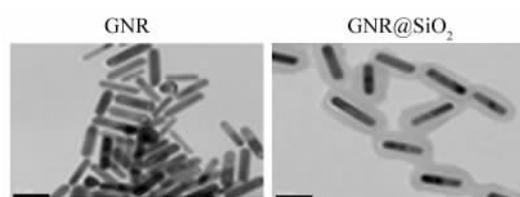


图 2 GNR 及 GNR@SiO<sub>2</sub> 纳米颗粒的透射电镜图

Fig. 2 Images of the GNR and GNR@SiO<sub>2</sub> nanoparticles with transmission electron microscope (bar value:50 nm)

### 2.2 CIK 细胞表型分析和金纳米棒成功标记 CIK 细胞

流式细胞术检测 CIK 细胞表型 Flowjo 软件分析结果(图 3)显示 CD3<sup>+</sup>T 细胞 92.68%、CD56<sup>+</sup>T 细胞 40.63%、CD3<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>T 细胞 39.26%,这一结果提示体外扩增的 CIK 细胞具备较强的杀伤靶细胞能力。与显微镜明场对比,暗视野显微镜下可见负载 GNR@SiO<sub>2</sub> 的 CIK 细胞发出荧光(图 4)。此结果表明,CIK 细胞被修饰的金纳米棒成功标记。

### 2.3 金纳米棒对 CIK 细胞和 MGC803 细胞无毒性

细胞毒性试验结果(图 5)显示,不同浓度的 GNR@SiO<sub>2</sub> 对 CIK 细胞和 MGC803 细胞的细胞活性无显著影响( $P > 0.05$ )。

### 2.4 金纳米棒标记 CIK 细胞在胃癌裸鼠体内光声成像信号增强,分布均匀

金纳米棒标记的 CIK 细胞在胃癌裸鼠模型体内能够主动靶向胃癌细胞,在注射后第 5 天,仍呈现

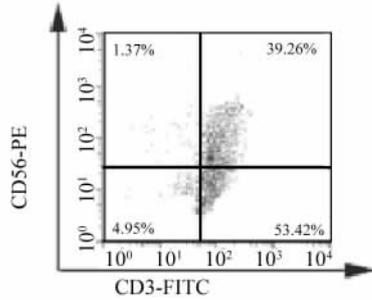


图 3 CIK 细胞表型流式分析

Fig. 3 CIK cell phenotype analyzed by flow cytometry assay

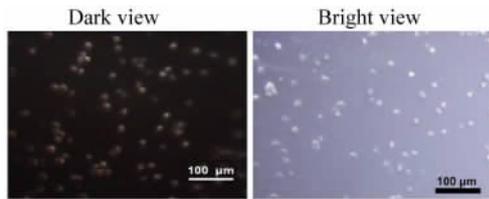


图 4 吞噬 GNR@SiO<sub>2</sub> 的 CIK 细胞暗视野显微镜观察结果( ×100 )

Fig. 4 Images of CIK cells swallowed with GNR@SiO<sub>2</sub> nanoparticles observed with dark field microscope( ×100 )

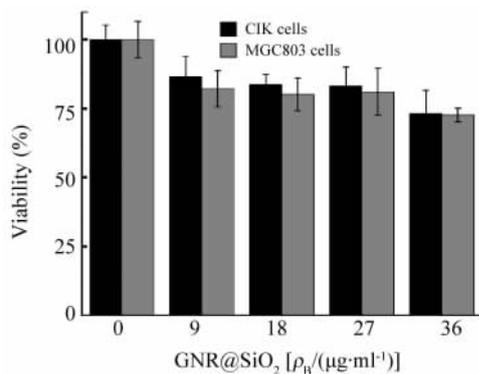


图 5 不同浓度 GNR@SiO<sub>2</sub> 对 CIK 细胞和 MGC803 细胞活性的影响

Fig. 5 Effect of GNR@SiO<sub>2</sub> nanoparticle in variety concentrations on viabilities of CIK and MGC803 cells

出增强的均匀分布的光声信号(图 6B); 单纯的 GNR@SiO<sub>2</sub> 注射组, 也能呈现出光声信号(图 6C), 但是分布不均匀, 这种现象是由于实体瘤组织的高通透性和滞留效应(简称 EPR 效应)的结果; 对照组注射 PBS, 光声信号很弱(图 6A)。此结果表明, 金纳米棒标记的 CIK 细胞能够主动靶向体内胃癌细胞, 高效聚集, 并呈现出均匀分布。上述光声信号用 Osirix 软件值标准化结果(图 7)显示, 同对照组相比, 金纳米棒标记的 CIK 细胞在动物模型体内光声

成像信号较强, 具有统计学差异( $P < 0.05$ )。

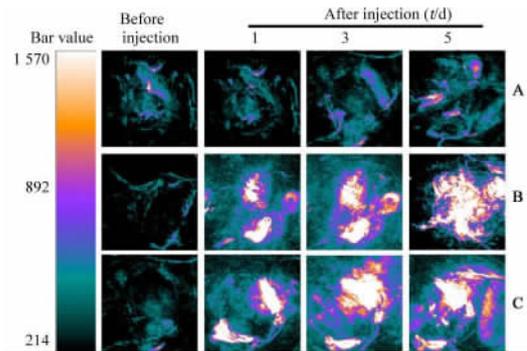


图 6 裸鼠胃癌皮下瘤光声成像图

Fig. 6 Photoacoustic imagings of subcutaneous gastric cancer in the nude mice

A: PBS control group; B: CIK cell loaded with GNR group; C: GNR@SiO<sub>2</sub> group

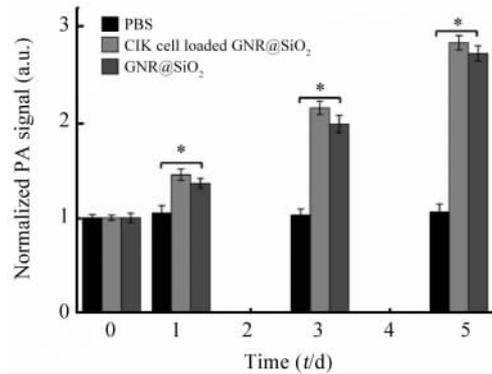


图 7 不同处理组标准化光声成像信号值

Fig. 7 Normalized photoacoustic signal values in various treatment groups(  $n = 5$  )

\*  $P < 0.05$  vs PBS group

### 2.5 金纳米棒标记 CIK 细胞升高胃癌裸鼠血清细胞因子

注射金纳米棒标记 CIK 细胞的裸鼠模型血清细胞因子测量结果(图 8)表明, 实验组中 IL-1、IL-4、IL-12 与 IFN- $\gamma$  浓度较正常裸对照血清显著升高, 有统计学差异( $P < 0.05$ )。

### 3 讨论

胃癌是我国常见的恶性肿瘤。如何实现胃癌的靶向成像与同步免疫治疗是一个挑战性难题。本研究利用金纳米棒的光学特性, 结合 CIK 细胞的靶向体内肿瘤特性, 制备了金纳米棒标记的 CIK 细胞, 通过尾静脉注射, 成功实现了胃癌裸鼠模型的靶向光声成像与免疫细胞治疗。

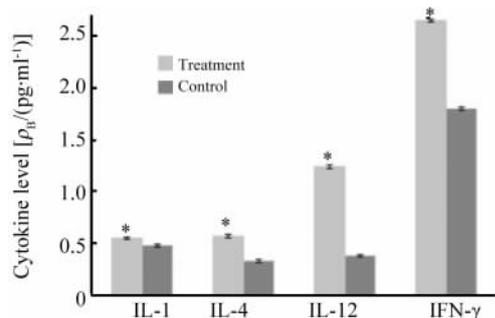


图 8 不同处理组胃癌裸鼠血清细胞因子浓度

Fig. 8 Concentrations of serum cytokines of rude mice with gastric cancer in various treatment groups

Treatment group: Serum from rude mice with gastric cancer injected with CIK cells loaded with GNR;

Control group: Serum from normal rude mice

\*  $P < 0.05$  vs control group

金纳米棒通过表面二氧化硅修饰,显著增强了其生物相容性,对 CIK 细胞与胃癌细胞的生长显示出无明显毒性,表明硅修饰的金纳米棒具有临床医学临床应用前景<sup>[10-11]</sup>。本研究结果表明,硅修饰的金纳米棒能够被 CIK 细胞内吞,实现了金纳米棒对 CIK 细胞的标记。制备胃癌裸鼠皮下瘤模型,经尾静脉注射金纳米棒标记 CIK 细胞后,利用光声成像设备,观察到金纳米棒标记 CIK 细胞能够主动靶向体内胃癌细胞,并高效聚集在胃癌组织部位,呈现均匀分布。说明利用金纳米棒标记 CIK 细胞,既可以发现体内胃癌细胞的部位,又可以直接观察 CIK 细胞在体内的分布。

CIK 细胞因其 MHC 非限制性抗肿瘤作用及主动识别并靶向体内肿瘤细胞的能力<sup>[12-13]</sup>,已被批准作为第三类治疗技术,进入临床应用。但是由于 CIK 细胞是一组异质性细胞群,其治疗机制仍比较复杂。在本研究中,我们检测了静脉注射后第 5 天的细胞因子 IL-1、IL-4、IL-12 与 IFN- $\gamma$  的浓度显著升高,说明 CIK 细胞可能通过分泌细胞因子,调节肿瘤细胞的微环境,实现对胃癌的免疫治疗<sup>[14-15]</sup>。金纳米棒标记 CIK 细胞能够升高体内细胞因子水平,具有调节细胞免疫功能。特别是 IFN- $\gamma$  浓度显著升高,具有杀伤癌细胞的功能。因此,金纳米棒标记的 CIK 细胞对体内胃癌细胞具有免疫治疗的功能。但 CIK 细胞调控免疫网络的机制,仍需要进一步研究。

总之,本研究表明:金纳米棒标记的 CIK 细胞能够主动靶向体内胃癌细胞<sup>[16-17]</sup>,并在胃癌组织中呈现均匀分布,既可以用于光声成像<sup>[18-20]</sup>,发现体

内胃癌组织的部位,又能够通过分泌细胞因子,调节免疫,对胃癌进行免疫细胞治疗,具有临床转化前景,具体机制仍在进一步研究之中。

## [参考文献]

- [1] TAKAHASHI T, SAIKAWA Y, KITAGAWA Y. Gastric cancer: current status of diagnosis and treatment [J]. *Cancers (Basel)*, 2013, 5(1): 48-63. DOI:10.3390/cancers5010048
- [2] CUI D X, ZHANG C L, LIU B, et al. Regression of gastric cancer by systemic injection of RNA nanoparticles carrying both ligand and siRNA [J/OL]. *Sci Rep*, 2015, 5: 10726 [2016-01-01]. <http://www.nature.com/articles/srep10726>. DOI:10.1038/srep10726.
- [3] CUI D, ZHANG L, YAN X J, et al. A microarray-based gastric carcinoma prewarning system [J]. *World J Gastroenterol*, 2005, 11(9): 1273-1282. DOI:10.3748/wjg.v11.i9.1273.
- [4] CHEN W Q, ZHENG R S, ZHANG S W, et al. The incidences and mortalities of major cancers in china, 2010 [J]. *Chin J Cancer*, 2014, 33(8): 402-405. DOI:10.5732/cjc.014.10084.
- [5] SCHMIDT-WOLF I, LEFTEROVA P, MEHTA B, et al. Phenotypic characterization and identification of effector cells involved in tumor cell recognition of cytokine-induced killer cells [J]. *Exp Hematol*, 1993, 21(13):1673-1679.
- [6] LU P H, NEGRIN R S. A novel population of expanded human CD3<sup>+</sup> CD56<sup>+</sup> cells derived from T cells with potent in vivo antitumor activity in mice with severe combined immunodeficiency [J]. *J Immunol*, 1994, 153(4):1687-1696.
- [7] BAO C C, CONDE J, POLO E, et al. A promising road with challenges: where are gold nanoparticles in translational research? [J]. *Nanomedicine (Lond)*, 2014, 9(15): 2353-2370. DOI: 10.2217/nmm.14.155.
- [8] LIU Y L, YANG M, ZHANG J P, et al. Human induced pluripotent stem cells for tumor targeted delivery of gold nanorods and enhanced photothermal therapy [J]. *ACS Nano*, 2016, 10(2): 2375-2385. DOI: 10.1021/acsnano.5b07172.
- [9] ZHANG C, LI C, LIU Y, et al. Gold Nanoclusters-based nano-probes for simultaneous fluorescence imaging and targeted photodynamic therapy with superior penetration and retention behavior in tumors [J]. *Advanced Functional Materials*, 2015, 25(8): 1314-1325. DOI:10.1002/adfm.201403095.
- [10] CHEN Y S, FREY W, KIM S, et al. Silica-coated gold nanorods as photoacoustic signal nanoamplifiers [J]. *Nano Lett*, 2011, 11(2):348-354. DOI: 10.1021/nl1042006.
- [11] LI Z M, HUANG P, ZHANG X J, et al. RGD-conjugated dendrimer-modified gold nanorods for in vivo tumor targeting and photothermal therapy [J]. *Mol Pharm*, 2010, 7(1): 94-104. DOI: 10.1021/mp9001415.
- [12] JIANG J, XU N, WU C, et al. Treatment of advanced gastric cancer by chemotherapy combined with autologous cytokine-induced killer cells [J]. *Anti Cancer Res*, 2006, 26(3B):2237-2242.
- [13] RETTINGER E, KUÇI S, NAUMANN I, et al. The cytotoxic potential of interleukin-15-stimulated cytokine-induced killer cells a-

- gainst leukemia cells. et al. The cytotoxic potential of interleukin-15-stimulated cytokine-induced killer cells against leukemia cells [ J ]. *Cytotherapy*, 2012, 14 ( 1 ): 91-103. DOI: 10. 3109/14653249. 2011. 613931.
- [ 14 ] LI C, LIANG S, ZHANG C, et al. Allogenic dendritic cell and tumor cell fused vaccine for targeted imaging and enhanced immunotherapeutic efficacy of gastric cancer [ J ]. *Biomaterials*, 2015, 54: 177-187. DOI: 10. 1016/j. biomaterials. 2015. 03. 024.
- [ 15 ] CAPPEL C, HUENECKE S, SUEMMERER A, et al. Cytotoxic potential of IL-15-activated cytokine-induced killer cells against human neuroblastoma cells [ J/OL ]. *Pediatr Blood Cancer*, 2016, 63( 12 ): 2230-2239 [ 2016-08-01 ]. <http://onlinelibrary. wiley. com/wol1/doi/10. 1002/pbc. 26147/full>. DOI: 10. 1002/pbc. 26147.
- [ 16 ] WANG C, BAO C, LIANG S, et al. RGD-conjugated silica-coated gold nanorods on the surface of carbon nanotubes for targeted photoacoustic imaging of gastric cancer [ J ]. *Nanoscale Res Lett*, 2014, 9( 1 ): 264. DOI: 10. 1186/1556-276X-9-264.
- [ 17 ] YANG Y, ZHANG J, XIA F, et al. Human CIK cells loaded with au nanorods as a theranostic platform for targeted photoacoustic imaging and enhanced immunotherapy and photothermal therapy [ J ]. *Nanoscale Res Lett*, 2016, 11( 1 ): 285. DOI: 10. 1186/s11671-016-1468-8.
- [ 18 ] JIA Q, GE J, LIU W, et al. Gold nanorod@ silica-carbon dots as multifunctional phototheranostics for fluorescence and photoacoustic imaging-guided synergistic photodynamic/photothermal therapy [ J ]. *Nanoscale*, 2016, 8( 26 ): 13067-13077. DOI: 10. 1039/c6nr03459d.
- [ 19 ] QIN H, ZHAO Y, ZHANG J, et al. Inflammation-targeted gold nanorods for intravascular photoacoustic imaging detection of matrix metalloproteinase-2 ( MMP2 ) in atherosclerotic plaques [ J/OL ]. *Nanomedicine*, 2016, 12( 7 ): 1765-1774 [ 2016-08-01 ]. <http://dx. doi. org/10. 1016/j. nano. 2016. 02. 016>. DOI: 10. 1016/j. nano. 2016. 02. 016.
- [ 20 ] ZHONG J, YANG S, WEN L, et al. Imaging-guided photoacoustic drug release and synergistic chemo-photoacoustic therapy with paclitaxel-containing nanoparticles [ J ]. *J Control Release*, 2016, 226: 77-87. DOI: 10. 1016/j. jconrel. 2016. 02. 010.
- [ 收稿日期 ] 2016 - 07 - 20 [ 修回日期 ] 2016 - 10 - 28  
[ 本文编辑 ] 宋关鸿

· 读者 · 作者 · 编者 ·

## 常见参考文献著录格式示例

### 1 专著

著录格式: 主要责任者. 题名[ 文献类型标志 ]. 其他责任者( 例如翻译者 ). 版本项( 1 版不著录 ). 出版地: 出版者, 出版年: 起页-止页.

- [ 1 ] ABRAMS W B, BEERS M H, BERKOW R. 默克老年病手册 [ M ]. 陈灏珠, 王赞舜, 刘厚钰, 等. 译. 第 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 1996: 22-25.

### 2 专著析出文献

著录格式: 析出文献主要责任者. 文献题名[ 文献类型标志 ]//专著主要责任者. 专著题名. 版本项. 出版地: 出版者, 出版年: 起页-止页.

- [ 1 ] WEINSTEIN L, SWARTZ M N. Pathogenic properties of invading microorganisms [ M ]//SODERMAN W A Jr, SODEMAN W A. *Pathologic physiology: mechanisms of disease*. Philadelphia: Saunders, 1974: 457-472.

### 3 期刊文献

著录格式: 主要责任者. 题名[ 文献类型标志 ]. 刊名, 出版年, 卷号( 期号 ): 起页-止页.

- [ 1 ] NOBLES K N, GUAN Z, XIAO K, et al. The active conformation of beta-arrestin 1: direct evidence for the phosphate sensor in the N-domain and conformational differences in the active states of beta-arrestins 1 and-2 [ J ]. *J Biol Chem*, 2007, 282 ( 29 ): 21370-21381. DOI: 10. 1074/jbc. M611483200.

### 4 专利文献

著录格式: 专利申请者或所有者. 专利题名: 专利国别, 专利号[ 文献类型标志 ]. 公告日期或公开日期.

- [ 1 ] 钱其军, 李琳芳, 吴红平, 等. 一种多功能免疫杀伤转基因细胞( PIK )、其制备方法及应用: 中国, 2010101496839 [ P ]. 2010-10-14.

### 5 学位论文

著录格式: 责任者. 题名[ 文献类型标志 ]. 学位授予单位所在地: 学位授予单位, 年.

- [ 1 ] 曹新广. Cathepsin L 和 Cystatin B 的表达与大肠癌生物学行为的关系 [ D ]. 郑州, 郑州大学, 2007.

### 6 电子文献

著录格式: 主要责任者. 题名[ 文献类型标志/文献载体标志 ]. 刊名, 出版年, 卷号( 期号 ): 起页-止页( 更新或修改日期 ) [ 引用日期 ]. 获取和访问路径.

- [ 1 ] KALOS M, LEVINE B L, PORTER D L, et al. T cells with chimeric antigen receptors have potent antitumor effects and can establish memory in patients with advanced leukemia [ J/OL ]. *Sci Transl Med*, 2011, 3: 95ra73 [ 2016-06-08 ]. <http://stm. sciencemag. org/content/3/95/95ra73. long>. DOI: 10. 1126/scitranslmed. 3002842.
- [ 2 ] HOPKINSON A. UNIMARC and metadata: Dublin core [ EB/OL ]. [ 1999-12-08 ]. <http://www. ifla. org/IV/ifla64/138-161e. htm>.