基础研究 DOI:10.13406/j.cnki.cyxb.001037

磁性抗体转染结肠癌干细胞的最佳浓度探索

王正雄[1],刘　敏[1],陈华英[2],梅雪芊[3],李学红[1],李　强[1],谭书德[1],刘元兵[1],赵　潇[1]
（重庆市綦江区人民医院 1. 放射科;2. 妇产科;3. 信息科,重庆　401420）

【摘　要】目的:通过对不同质量浓度的磁性抗体体外转染结肠癌干细胞后的系列研究,探索最佳转染浓度。**方法**:将磁性抗体含铁浓度分别设定为 5、10、25、50、75、100 mg/L,分别转染结肠癌干细胞,采用普鲁士蓝染色观察细胞内铁颗粒,原子吸收光谱仪法测定细胞铁含量并检测细胞活性,MR 成像检测细胞信号强度变化。**结果**:各组细胞内铁含量组间比较采用单因素方差分析,组间差异具有统计学意义(F=71.709,P=0.000),在 α=0.05 的检验水准下,可以认为各组间均数不完全相同,进一步采用单因素方差分析 LSD 法(双侧检验)进行组间均数多重比较,结果显示,50 mg/L 组与 5 mg/L 组、10 mg/L 组、25 mg/L 组相比,差异均有统计学意义(P=0.000,P=0.000,P=0.000),但与 75 mg/L 组、100 mg/L 组比较,差异均无统计学意义(P=0.607,P=0.419)。细胞活性检测组间比较采用单因素方差分析,组间差异具有统计学意义(F=69.306,P=0.000),在 α=0.05 的检验水准下,可以认为各组间均数不完全相同,进一步采用单因素方差分析 LSD 法(双侧检验)进行组间均数多重比较,结果显示,50 mg/L 组与 75 mg/L 比较,细胞活性差异无统计学意义(P=0.134),与 5 mg/L 组、10 mg/L 组、25 mg/L 组、100 mg/L 组比较,差异均有统计学意义(P=0.000,P=0.000,P=0.000,P=0.008)。T2WI 信号强度采用单因素方差分析进行组间比较,组间差异具有统计学意义(F=3 180.748,P=0.000),在 α=0.05 的检验水准下,可以认为各组间均数不完全相同,进一步采用单因素方差分析 LSD 法(双侧检验)进行组间均数多重比较,结果显示,50 mg/L 组与 75 mg/L、100 mg/L 各组信号强度之间差异无统计学意义(P=0.945,P=0.960),与空白对照组、细胞对照组、5 mg/L、10 mg/L、25 mg/L 各组信号强度相比,差异均有统计学意义(P=0.000,P=0.000,P=0.000,P=0.000,P=0.000)。由此可见,磁性抗体含铁浓度在一定范围内(5~25 mg/L)增加,结肠癌干细胞内铁含量逐渐增加,当磁性抗体含铁浓度为 50 mg/L 时达到饱和,且细胞活性下降,MR 成像 T2×WI 序列图像显示信号强度明显降低。**结论**:当磁性抗体含铁浓度为 50 mg/L 时,可有效转染结肠癌干细胞,能被 MR 成像可视化。

【关键词】磁性抗体;肿瘤干细胞;结肠癌;最佳浓度
【中图分类号】R378.1　　**【文献标志码】**A　　**【收稿日期】**2015-11-07

Optimal concentration of magnetic antibodies transfected into colon cancer stem cells *in vitro*

Wang Zhengxiong[1], *Liu Min*[1], *Chen Huaying*[2], *Mei Xueqian*[3], *Li Xuehong*[1], *Li Qiang*[1], *Tan Shude*[1], *Liu Yuanbing*[1], *Zhao Xiao*[1]
(*1. Department of Radiology; 2. Department of Obstetrics and Gynecology; 3. Department of Information, the People's Hospital of Qijiang District*)

【Abstract】*Objective*: To explore the optimal transfection concentration through the study of the different mass concentrations of magnetic antibody *in vitro* transfection of colon cancer stem cells. ***Methods***: The magnetic antibodies at an iron concentration of 5, 10, 25, 50, 75, 100 mg/L were transfected into colon cancer stem cells. The distribution and content of iron particles in colon cancer stem cells were determined by Prussian blue staining, atomic adsorption spectrometer. Cell viability was observed and the changes of signal intensity were measured by magnetic resonance imaging(MRI). ***Results***: Results of single factor analysis of variance showed that there were statistically significant differences between each group in the iron content of cells(F=71.709, P=0.000). It can be considered that the mean of each group was not exactly the same at the test level of α=0.05. Multiple comparisons were made between groups by the single factor analysis of variance LSD method(two-sided), the result shows that the difference between 50 mg/L group and 5 mg/L group, 10 mg/L group, 25 mg/L group was statistically significant(P=0.000, P=0.000, P=0.000), but the difference was not statistically significant between 75 mg/L group and 100mg/L group(P=0.607, P=0.419). Cell activity detection was compared

作者介绍:王正雄,Email:3592895@qq.com,
研究方向:消化系统影像诊断。
通信作者:刘　敏,Email:1214707433@qq.com。
基金项目:重庆市綦江区科委资助项目(编号:QJ[2015]124)。
优先出版:http://www.cnki.net/kcms/detail/50.1046.r.20161027.1013.018.html (2016-10-27)

using single factor analysis of variance, and the difference between each group was statistically significant (F=69.306, P=0.000). It can be considered that the mean of each group was not exactly the same at the test level of α=0.05. Multiple comparisons were made between groups by the single factor analysis of variance LSD method (two-sided); the result showed that the difference between 50 mg/L group and 75 mg/L group was not statistically significant (P=0.134); but the difference was statistically significant between 5 mg/L group, 10 mg/L group, 25 mg/L group and 100 mg/L group (P=0.000, P=0.000, P=0.000, P=0.008). T2WI signal intensity was compared using single factor analysis of variance, and the difference between each group was statistically significant (F=3 180.748, P=0.000). It can be considered that the mean of each group was not exactly the same at the test level of α=0.05. Multiple comparisons were made between groups by the single factor analysis of variance LSD method (two-sided); the result showed that the difference between 50 mg/L group and 75 mg/L group, 100 mg/L group was not statistically significant (P=0.945, P=0.960), but the difference was statistically significant between the blank group, normal cell group, 5 mg/L group, 10 mg/L group and 25 mg/L group (P=0.000, P=0.000, P=0.000, P=0.000, P=0.000). It can be seen that with the increase of the iron concentration of magnetic antibody (5 to 25 mg/L), the iron content in colon cancer stem cells increased gradually. When the iron concentration of the magnetic antibody was 50 mg/L, the iron content of the cells was saturated, cell activity was decreased, the signal intensity of T2×WI was decreased obviously. ***Conclusion***: The magnetic antibodies can effectively transfect colon cancer stem cell lines at the iron concentration of 50 mg/L, and can be detected by magnetic resonance imaging.

【Key words】magnetic antibodies; cancer stem cells; colon cancer; optimal concentration

根据肿瘤干细胞理论[1]，结肠癌干细胞具有分化和自我更新能力，能够促使肿瘤发生及异常分化，尽管这些细胞只占结肠癌的小部分，但是在结肠癌发生、复发和转移中起着重要的作用。在临床实践中，结肠癌干细胞一直是科技工作者研究的热点。

近年来，迅速发展的分子影像学研究能够可视化与定量观察靶分子的生物学信息，可望实现结肠癌干细胞的可视化观察[2]。课题组在前期成功构建了针对结肠癌干细胞表面标志物 CD44 及 CD133 的双磁性抗体（本文简称磁性抗体，有关研究结果另文报道），并进行了相关研究。

本研究在前期研究工作的基础上，利用分子生物学技术制备基因工程抗体库，筛选出特异抗体，构建特异性分子探针。为了进一步验证该磁性抗体的生物学特性，采用不同含铁量的磁性抗体，体外转染结肠癌干细胞株，检测转染后的细胞形态及MR扫描等可视化信息，以期得出最佳的细胞转染浓度。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 主要实验材料及仪器 磁性抗体由课题组自行合成，结肠癌干细胞株由课题组取自结肠癌术后标本并经过分离、干细胞特性鉴定（有关研究结果另文报道），人结肠癌 COLO320DM 细胞株（美国 ATCC 公司），细胞培养基 RPMI1640、胎牛血清及胰蛋白酶（美国 Hyclone 公司），磷酸缓冲液（PBS）及普鲁士蓝（核固红）染色试剂盒（北京贝博试剂公司），聚丙烯酰胺等相关试剂（北京碧云天公司），CO_2 恒温细胞培养箱（美国 Thermo Forma 公司），T2000U 倒置相差显微镜（日本 Nikon 公司），原子吸收光谱仪（Z-5000 日立公司），1.5T 超导型 MR 成像仪及腕关节线圈（美国 GE 公司）。

1.2 方法

1.2.1 磁性抗体转染结肠癌干细胞 结肠癌干细胞株置于含 10%胎牛血清 RPMI1640 的培养基内常规培养（37 ℃，5% CO_2 孵箱），选择对数生长期细胞用于转染实验。RPMI1640 培养液稀释磁性抗体，根据课题组以往的经验及多次预实验，最终确定本次实验中磁性抗体的含铁浓度分别为 5、10、25、50、75、100 mg/L，设置对应浓度共 6 组为实验组，以人结肠癌 COLO320DM 细胞株为对照组，各组均在相同条件下转染 24 h，用于后续实验。

1.2.2 普鲁士蓝染色 7 组细胞爬片，每组设置 3 个复孔，分别放入一个 24 孔板内，将 2.5×10^4 个/孔细胞悬液接种于爬片的 24 孔板中，4%多聚甲醛固定 30 min，PBS 冲洗 3 次，2%亚铁氰化钾与 2%稀盐酸等体积混合后孵育结肠癌干细胞 30 min，PBS 冲洗 5 次，0.1%普鲁士蓝复染 20 min，再次用 PBS 冲洗 3 次，中性树胶固封，用于光学显微镜下观察。

1.2.3 细胞铁含量测定 采用原子吸收光谱法，7 组细胞（1 000 个/mL）分别重悬于 1 mL PBS 中，采用浓度为 2 mL/L 的硝酸、70%高氯酸和去离子水溶解标本，观察其中的有机物完全溶解后，立即加热蒸发，每组取 3 个标本，放置于原子吸收光谱仪自动吸管内，在建立各个浓度的铁标准校对曲线后，测定各组细胞的平均铁含量。

1.2.4 细胞活性检测 各组细胞先采用 PBS 清洗 3 次，在 96 孔板中每孔加入 10 μL CCK-8 溶液，置 37 ℃、5% CO_2 孵箱内孵育 4 h，置于酶标仪上，调整波长为 450 nm，记录每孔的吸光度（absorbance，A）值。各组分别设立自己的空白对照组（只用培养基，不加入细胞）及细胞对照组（无磁性抗体转染的干细胞），计算各重复孔的 A 值（均数 ± 标准差），计算各

组的细胞活性，计算公式为：细胞活性%=（含不同铁浓度的磁性抗体细胞 A 值-空白对照组 A 值）/（细胞对照组 A 值-空白对照组 A 值）×100%。

1.2.5 体外 MR 扫描 鉴于 MR 对氢质子敏感，故除设置未标记结肠癌干细胞为细胞对照组外，另外增设 PBS 为空白对照组。各组依次置于 1.5 mL 含 1%琼脂糖的 EP 管内，仔细编号后，小心插于课题组自制的环形泡沫板上，置于腕关节线圈中，采用 1.5T 超导型 MR 横断位扫描，T2×WI 序列，具体的扫描参数：翻转角度为 25°、TR 280 ms、TE 10 ms、FOV 6 cm、层厚 2 mm、层间距 0.5 mm、激励次数 5，矩阵 320×220。利用 MR 扫描机上的信号自动测量系统，统一选择面积为 25 mm^2 的圆形游标作为感兴趣区，分别测量各组同层面细胞的信号强度，每个兴趣区重复测量 5 次，记录其平均值。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 19.0 统计软件，计量资料用均数 ± 标准差（$\bar{x} \pm s$）表示，组间比较采用单因素方差分析，组间均数多重比较采用单因素方差分析 LSD-t 法，检验水准为 α=0.05（双侧检验）。

2 结 果

2.1 普鲁士蓝染色

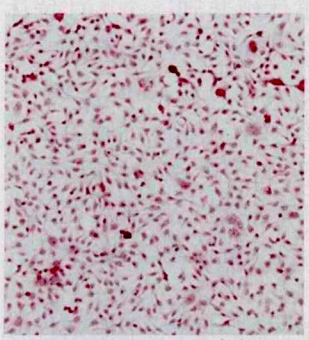
从图 1 可见，对照组（图 1A）中没有观察到蓝染颗粒，而 6 个实验组（图 1B~G）中均能发现大小各异、多少不等的蓝染颗粒。从图 1B~G 可见，随着磁性抗体铁浓度增加，蓝染颗粒也随之增加；当磁性抗体含铁浓度达到 50 mg/L 时，蓝染颗粒达到饱和状态，在 75 mg/L 组及 100 mg/L 组中没有显示出蓝染颗粒再增加。

2.2 测定细胞内含铁量

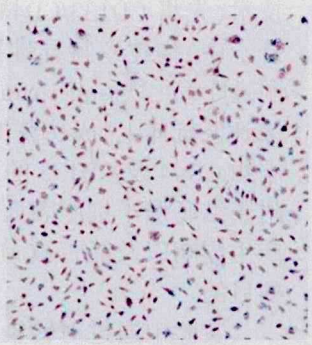
由于对照组没有磁性抗体，测得的细胞铁含量为 0 pg；另外 6 个实验组中，细胞内含铁量分别为（7.006 ± 0.247）、（8.349 ± 0.732）、（11.381 ± 2.134）、（24.427 ± 1.979）、（23.531 ± 3.621）、（25.843 ± 2.865）pg。各组间比较采用单因素方差分析，组间差异具有统计学意义（F=71.709，P=0.000），在 α=0.05 的检验水准下，可以认为各组间均数不完全相同，进一步组间均数多重比较采用单因素方差分析 LSD 法（双侧检验），50 mg/L 组与 5 mg/L 组、10 mg/L 组、25 mg/L 组相比，差异均有统计学意义（P=0.000，P=0.000，P=0.000），但与 75 mg/L 组、100 mg/L 组比较，差异均无统计学意义（P=0.607，P=0.419）。

2.3 细胞活性检测

对照组及各实验组细胞活性分别为（95.439 ± 2.764）%、（95.016 ± 0.128）%、（93.838 ± 1.071）%、（93.632 ± 3.321）%、（76.089 ± 2.531）%、（72.947 ± 3.079）%、（70.037 ± 2.276）%。组间比较采用单因素方差分析，组间差异具有统计学意义（F=69.306，P=0.000），在 α=0.05 的检验水准下，可以认为各组间均数不完全相同，进一步采用单因素方差分析 LSD-t 法



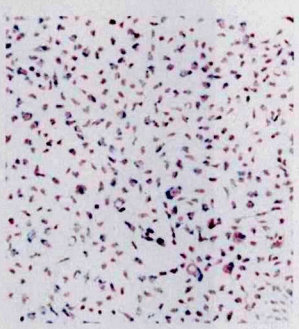
A. 磁性抗体含铁浓度 0 mg/L 组（对照组，没有见到蓝染颗粒）



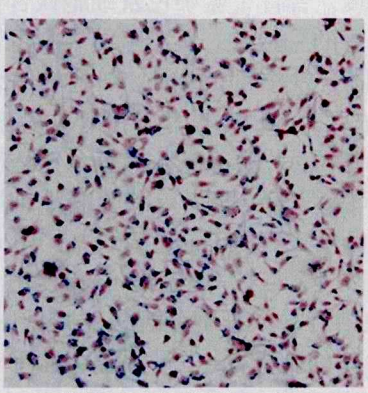
B. 磁性抗体含铁浓度 5 mg/L 组（观察到蓝染颗粒）



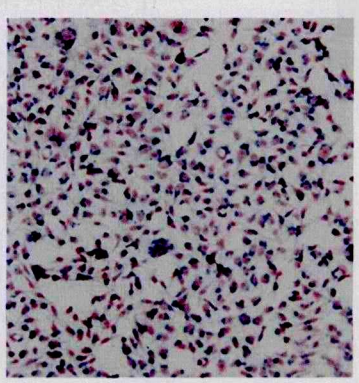
C. 磁性抗体含铁浓度 10 mg/L 组（与 5 mg/L 组比较，蓝染颗粒增多）



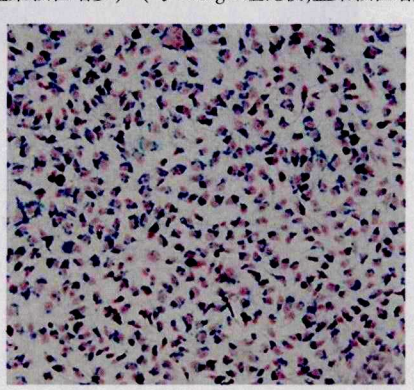
D. 磁性抗体含铁浓度 25 mg/L 组（与 10 mg/L 组比较，蓝染颗粒增多）



E. 磁性抗体含铁浓度 50 mg/L 组（与 25 mg/L 组比较，蓝染颗粒增多）



F. 磁性抗体含铁浓度 75 mg/L 组（与 50 mg/L 组比较，蓝染颗粒没有显示增加）



G. 磁性抗体含铁浓度 100 mg/L 组（与 75 mg/L 组比较，蓝染颗粒没有显示增加）

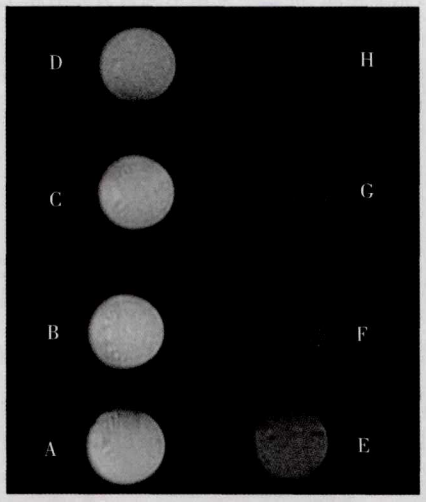
图 1 普鲁士蓝染色结果（200×）

Fig.1 Results of Prussian blue staining（200×）

（双侧检验）进行组间均数多重比较，结果显示，50 mg/L 组与 75 mg/L 比较，细胞活性差异无统计学意义（P=0.134），与 5 mg/L 组、10 mg/L 组、25 mg/L 组、100 mg/L 组比较，差异均有统计学意义（P=0.000、P=0.000、P=0.000、P=0.008）。

2.4 MR 扫描

各组具体的信号强度测定值中，空白对照组为 647.7 ± 7.75（图 2 中 A），细胞对照组为（647.4 ± 4.77）（图 2 中 B），5 mg/L 细胞组为（537.1 ± 5.28）（图 2 中 C），10 mg/L 细胞组为（451.4 ± 7.15）（图 2 中 D），25 mg/L 细胞组为（365.0 ± 7.55）（图2 中 E），50 mg/L 细胞组为（132.8 ± 7.07）（图 2 中F），75 mg/L 细胞组为（132.4 ± 7.45）（图 2 中 G），100 mg/L 细胞组为（133.1 ± 7.75）（图 2 中 H）。从图 2 可见，空白对照组的信号最高，而各实验组随着磁性抗体的含铁量增大，显示出 T2WI 信号逐渐降低。采用单因素方差分析进行组间比较，组间差异具有统计学意义（F=3180.748，P=0.000），在 α=0.05 的检验水准下，可以认为各组间均数不完全相同，进一步采用单因素方差分析 LSD 法（双侧检验）进行组间均数多重比较，结果显示，50 mg/L 组与 75 mg/L、100 mg/L 各组信号强度之间差异无统计学意义（P=0.945，P=0.960），与空白对照组、细胞对照组、5 mg/L、10 mg/L、25 mg/L 各组信号强度相比，差异均有统计学意义（P=0.000、P=0.000、P=0.000、P=0.000、P=0.000）。



A：空白对照组；B：细胞对照组；C~H：含铁浓度分别为 5 mg/L、10 mg/L、25 mg/L、50 mg/L、75 mg/L、100 mg/L，显示其 T2WI 信号强度逐渐降低

图 2 T2WI 扫描结果

Fig.2 Results of T2WI scanning

3 讨 论

尽管学界存在争议，但越来越多的研究表明，肿瘤干细胞（cancer stem cells，CSCs）是肿瘤组织中一群具有自我更新、多潜能分化、启动和重建肿瘤组织表型能力的细胞。CSCs 通过不均一分裂维系数目稳定并产生肿瘤，是形成不同分化程度肿瘤和肿瘤不断生长、转移的根源[1,3-4]。

CSCs 的分选是进一步判断肿瘤患者预后、指导治疗的重要切入点，也是近年的研究热点[4]。研究发现，虽然 CSCs 本身不具有特异的形态学特征，但具有一些特异性的细胞表面标志物，这些标志物犹如 CSCs 的“指纹”，是全面了解、鉴定、纯化与分离 CSCs 的基础，充分识别和利用它们，就可望为进一步的可视化观察与靶向治疗奠定良好的基础[1]。

在结肠癌干细胞表面标志物研究中，最先发现的是 CD133[1-4]，它是一种糖基化蛋白，分子量为 120 kD，包括 5 个跨膜结构域，细胞外有一个 N 端结构域，在胞外形成 2 个大环结构，在胞浆内形成 2 个小环结构，C 端结构域在胞浆内。随着研究的深入，人们还发现[1,4-5]结肠癌 CSCs 表面标志物存在共表达现象，即同时有不同的肿瘤标志物分子在同一 CSCs 表面表达。综合目前的研究结果[4-6]，大多数学者认为 CD133/CD44 两者联合，能更好地分选和纯化结肠癌 CSCs。根据最新研究成果，本研究选用 CD133/CD44 作为结肠癌 CSCs 的筛选标志及实验靶点，在前期研究中，课题组采用基因工程抗体库技术，先将 CD133/CD44 抗体组装到一个 IgG 抗体分子中，构建双特异性抗体，随后将 MR 示踪剂超顺磁性氧化铁（superparamagnetic iron oxide，SPIO）连接到该抗体上，成功获得针对结肠癌干细胞表面标志物 CD44 及 CD133 的双磁性抗体。磁性抗体能吸附于结肠癌干细胞表面的最大浓度，对其活性是否产生影响以及能否被 MR 扫描所检测，正是本研究的目的。

实验中通过对转染后细胞的染色、细胞活性及 MR 扫描等指标进行检测，以探索转染细胞的变化规律及最佳转染浓度。普鲁士蓝染色及细胞铁含量测定结果显示了较好的一致性。从实验结果中可以看出，随着磁性抗体含铁浓度的增加，细胞的铁含量逐渐增加，在铁浓度为 50 mg/L 时达到饱和状态。而细胞活性检测结果显示，随着磁性抗体含铁浓度的增加，细胞活性逐渐下降，推测与结肠癌干细胞表面抗体的结合逐渐增多有关，当铁浓度大于 50 mg/L 时，细胞活力明显下降。这一现象提示，可能由于抗原抗体的特异性结合导致细胞分裂程度减低，提示这是一个肿瘤治疗的新方向，也是课题组接下来的研究目标。MR 扫描可见，实验组与对照组之间的信号强度有着明显的差异，说明经过磁性抗体转染后的细胞能够被 MR 扫描显示其间的差异。此外，随着磁性抗体铁浓度的增加，测得实验组的 T2×WI 信

基础研究 DOI:10.13406/j.cnki.cyxb.001041

DNMT1在不同年龄组人群角质形成细胞中的表达及意义

刘朝东，桂万里，张恒术
（重庆医科大学附属第一医院整形外科，重庆 400016）

【摘 要】**目的**：检测不同年龄组非曝光部位表皮组织的角质形成细胞中 DNA 甲基化转移酶 1（DNA methyltransferase 1，DNMT1）蛋白和 mRNA 的表达水平，初步探讨 DNMT1 在人表皮年龄衰老过程中的意义。**方法**：收集 40 例手术患者非曝光部位的表皮标本，根据年龄分为 4 组：儿童组（0~14 岁）、青年组（15~39 岁）、中年组（40~59 岁）和老年组（60 岁及以上），用免疫组织化学、RT-PCR 及 Western blot 检测每例表皮组织中 DNMT1 蛋白和 DNMT1 mRNA 表达量，分析不同年龄组之间 DNMT1 表达水平的差异。**结果**：DNMT1 主要表达于各组人表皮角质形成细胞的细胞核内，角质形成细胞 DNMT1 蛋白及 mRNA 表达依次在儿童组、青年组、中年组和老年组中呈下降趋势。儿童组、青年组、中年组和老年组角质形成细胞 DNMT1 阳性表达率分别为 84.7%、69.4%、51.1%、12.3%，表达率得分分别为：23.10 分、19.30 分、14.40 分和 3.80 分，采用 LSD 检验法对 4 组间进行两两比较，表明角质形成细胞 DNMT1 阳性表达率随年龄的增长呈递减趋势（均 $P<0.05$）。DNMT1 mRNA 相对表达量为 1.347、0.817、0.567 和 0.202，DNMT1 蛋白的相对表达量为 1.102、0.494、0.320 和 0.088，统计学分析 DNMT1 随着年龄的增长表达量降低（两两对比，均 $P<0.05$）。**结论**：随着年龄的增长，DNMT1 的表达水平下降，推测人表皮衰老可能与 DNMT1 的表达下调有一定的关联。

【关键词】DNMT1；表皮衰老；角质形成细胞；甲基化
【中图分类号】R622.9 【文献标志码】A 【收稿日期】2015-01-06

作者介绍：刘朝东，Email：aaliuchaodong@126.com，
研究方向：伤口愈合和瘢痕。
通信作者：张恒术，Email：1390527030@qq.com。
优先出版：http://www.cnki.net/kcms/detail/50.1046.r.20161027.1054.026.html
（2016-10-27）

号值也逐渐降低，当含铁浓度为 50 mg/L 时，T2×WI 值明显降低。分析前述的检测结果，说明磁性抗体含铁浓度为 50 mg/L 是转染结肠癌干细胞的最佳浓度。

查阅文献发现，尽管有关含铁标记物转染细胞的最佳浓度，各家报道的数值均不尽相同，但范围均为 25~50 mg/L[7-9]，推测可能与标记物的粒径大小、修饰材料以及所转染细胞不同有关。本研究结果证实磁性抗体含铁浓度为 50 mg/L 时，可以有效转染结肠癌干细胞，并能被 MR 扫描所显示，也与文献报道的结果有较好的一致性。在后续研究中，课题组还将对不同时间点的细胞转染率、生物学活性以及在活体荷瘤动物体内展开一系列的深入研究。

参 考 文 献

[1] Cherciu I，Bărbălan A，Pirici D，et al. Stem cells，colorectal cancer and cancer stem cell markers correlations[J]. Curr Health Sci J，2014，40(3)：153-161.

[2] Ntziachristos V，Razansky D. Optical and opto-acoustic imaging[J]. Recent Results Cancer Res，2013，187(1)：133-150.

[3] Iovino F，Meraviglia S，Spina M，et al. Immunotherapy targeting colon cancer stem cells[J]. Immunotherapy，2011，3(1)：97-106.

[4] 李妹玲，文 明. 肿瘤干细胞的 MR 可视化研究进展[J]. 国际医学放射学杂志，2014，37(6)：568-571.

[5] Bánky B，Rásó-Barnett L，Barbai T，et al. Characteristics of CD44 alternative splice pattern in the course of human colorectal adenocarcinoma progression[J]. Mol Cancer，2012，11：83.

[6] Chen KL，Pan F，Jiang H，et al. Highly enriched CD133(+)CD44(+) stem like cells with CD133(+)CD44(high) metastatic subset in HCT116 colon cancer cells[J]. Clin Exp Metastasis，2011，28(8)：751-763.

[7] Xia T，Jiang H，Li C，et al. Molecular imaging in tracking tumor stem like cells[J]. J Biomed Biotechnol，2012，2012：420364.

[8] Chaleawlert-Umpon S，Mayen V，Manotham K，et al. Preparation of iron oxide-entrapped chitosan nanoparticles for stem cell labeling[J]. J Biomater Sci Polym Ed，2010，21(11)：1515-1532.

[9] Kaittanis C，Shaffer TM，Thorek DL，et al. Dawn of advanced molecular medicine：nanotechnological advancements in cancer imaging and therapy[J]. Crit Rev Oncog，2014，19(3-4)：143-176.

（责任编辑：冉明会）