

细胞对纳米材料的胞吞及其胞内定位 相关机制的研究进展

罗伟东^{1#} 王 野^{1,2,3#} 朱海英^{2,3*}

(¹第二军医大学学员旅学员九队, 上海 200433; ²第二军医大学基础部细胞生物学教研室, 上海 200433;
³第二军医大学研究生院干细胞与医学研究中心, 上海 200433)

摘要 纳米材料具有独特的理化性质, 其在纳米生物医药技术中得到广泛的研究, 有着良好的应用前景。纳米材料的尺寸分布在纳米级, 使其入胞途径和转运方式与一般尺寸的物质略有不同。细胞可通过网格蛋白介导胞吞、陷窝小泡介导胞吞、吞噬作用和巨胞饮等胞吞方式摄取纳米颗粒。吞噬的方式及后续的转运和定位受细胞的类型、状态, 以及纳米颗粒的理化性质如元素组成、尺寸、形状、电荷、表面修饰等多种因素共同影响。

关键词 纳米材料; 摄取; 胞吞; 胞内定位; 靶词

Advances in the Researches on Endocytosis and Cellular Localization of Nanomaterials and Associated Mechanisms

Luo Weidong^{1#}, Wang Ye^{1,2,3#}, Zhu Haiying^{2,3*}

(¹Company 9, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China; ²Department of Cell Biology, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China; ³Center for Stem Cell and Medicine, the Graduate School, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

Abstract In recent years, with the rapid development of nanoscience and nanotechnology, the pharmacological activity and potential value of clinic application have been attracting more and more people to explore the mechanism of the interaction between cells and nanoparticles. The current researches have uncovered that nanoparticles and bulk materials are uptaken by cells in different ways including clathrin-mediated endocytosis, caveolae-mediated endocytosis, phagocytosis and macropinocytosis, which are highly dependent on cell-types and physicochemical properties of particles such as size, charge, elemental composition, surface area and surface chemistry. This review will focus on the advances of the researches on the mechenism of endocytosis and cellular localization of nanoparticles.

Key words nanomaterials; uptake; endocytosis; cellular localization; target

收稿日期: 2013-04-17 接受日期: 2013-09-29

上海市科委基础研究重点项目(批准号: 13JC1401402)、上海市教委科研创新项目(批准号: 14ZZ078)、第二军医大学大学生创新能力培养计划(批准号: ZD2012028、MS2012025)资助的课题

#共同第一作者

*通讯作者。Tel: 021-81870944, E-mail: zinnia69@163.com

Received: April 17, 2013 Accepted: September 29, 2013

This work was supported by Basic Research Key Foundation of Science and Technology Commission of Shanghai Municipality (Grant No.13JC1401402), the Innovation Program of Shanghai Municipal Education Commission (Grant No.14ZZ078), and the Creativity and Innovation Training Program of Second Military Medical University(Grant No.ZD2012028, MS2012025)

#These authors contributed equally to this work

*Corresponding author. Tel: +86-21-81870944, E-mail: zinnia69@163.com

网络出版时间: 2013-11-22 10:53

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20131122.1053.003.html>

1 前言

随着纳米生物医药的不断发展, 纳米科学和纳米技术将在医学领域带来一场影响深刻的变革, 理解和阐明纳米颗粒(nanoparticles, NPs)跨细胞和胞内定位的相关机制有着重要意义, 相关研究将为纳米给药系统研发、纳米药物制备、纳米材料生物安全性研究、纳米生物技术等提供理论基础和研究思路^[1]。

许多NPs具有不同于传统理解的生物学活性, 提示NPs的胞吞和胞内转运具有尚未被认识的复杂性。不同NPs被摄取、胞内转运和靶向运输至细胞器的过程以及不同细胞对同种NPs的摄取过程均受到诸多因素的影响。其中, NPs的尺寸、表面性质、电荷、晶型、电磁学性质等均可影响其摄取和转运; 另外, 细胞的状态、细胞的类型、细胞的表面分子也影响NPs的摄取和转运活动。涉及转运的载体被发现有多种不同的成分, 各种成分对NPs的转运发挥不同的作用。

纳米材料的吞噬方式及胞内定位的研究为常规治疗药物纳米化、药物的靶向递释系统的开发, 以及纳米药物治疗效果的提高提供重要参考和指导。

2 影响纳米颗粒摄取的因素

细胞对NPs的摄取受细胞和NPs共同影响, 不同表型的细胞对NPs的摄取方式具有特异性, NPs的性质也影响细胞对NPs的摄取方式。影响细胞对NPs的摄取的因素包括NPs的尺寸、表面性质、电荷、晶型、电磁学性质等; 细胞的状态、细胞的类型、细胞的表面分子以及酸碱度等亦与NPs的摄取和转运相关。

细胞对不同尺寸物质的反应是不同的, NPs的粒径对其摄取活性起到十分重要的影响。多数研究表明, 细胞极易摄取粒径分布于20~50 nm的NPs, 对于尺寸小于20 nm或大于50 nm的NPs, 细胞对其摄取能力则明显下降^[2]。

NPs表面效应带来的高表面能提高了NPs与生物分子之间的结合能力和结合数量, 尤其与生物大分子如蛋白质之间有强烈的吸附作用。因此, 具有高反应活性的NPs可与特定的膜蛋白产生交联反应, 从而影响细胞对其摄取行为, 同时也可能干扰相关细胞信号的转导, 进而影响细胞的生命活动。

NPs所带的电荷也对摄取NPs产生一定影

响。例如, 人表皮角质形成细胞(human epidermal keratinocytes, HEKs)对带有负电荷的NPs(80 nm)的摄取效率比带正电的高4倍^[3]。但是, 目前有关NPs所带电荷对摄取的影响的研究结果不尽相同, 尚无确切定论。

不同类型和状态的细胞对NPs的摄取、吞噬能力有显著差异。Xu等^[4]在关于顺磁性氧化铁NPs被摄取的研究中发现, 该NPs的摄取数量与细胞吞噬能力有关, NPs很难进入无吞噬能力的红细胞, 可进入具有强吞噬功能的RAW264.7细胞和弱吞噬能力的3T3 L1细胞, 而且前者的吞噬速度较后者快。

最新研究发现, 组织环境pH值可影响NPs在细胞间的富集和扩散过程。一种新型的携带有抗癌药物的低聚乙二醇栓剂基质构成的pH敏感NPs, 可以在肿瘤组织高酸性环境下(pH约为6.5)实现药物在肿瘤组织的特异性释放, 同时还观察到NPs可被高效转运进入细胞。这种现象被称为pH携运(pH phoresis), 提示组织环境pH值可影响细胞对NPs的转运^[5]。

综上所述, 纳米粒的摄取与纳米粒自身性质、细胞特性和细胞所处状态共同决定, 摄取过程具有细胞特异和纳米粒特异性, 这些特异性提示细胞在应对外界干扰时具有多元的响应机制。深入研究和探讨将为纳米药物的研发提供新的指导。

3 纳米材料的入胞机制

NPs入胞机制的研究是纳米材料生物学作用研究中的关键, 阐明不同类型纳米材料的入胞机制将为药物研发和作用靶点的寻找提供依据。

根据NPs的状态、尺寸及摄入机制的不同, 对其胞吞作用可分为: (1)吞噬作用(phagocytosis)和巨胞饮作用(macropinocytosis): 胞膜突出伪足和皱褶, 形成吞噬体和多泡小体, 然后与溶酶体融合, 进入经典降解路径。(2)受体介导的胞吞作用: 其中对网格蛋白介导的胞吞作用(clathrin mediated endocytosis, CME)研究地最为广泛和深入。特异性受体、网格蛋白和发动蛋白(dynamin)参与形成小泡, 然后与溶酶体结合进行降解, 最后参与质膜和受体再循环。(3)陷窝蛋白介导的胞吞作用(caveolae mediated endocytosis): 与受体介导的胞吞作用相似, 是质膜内陷形成的陷窝小泡, 表面覆被有陷窝蛋白。

早期的研究普遍认为, 只存在吞噬作用、巨胞饮、CME和陷窝蛋白介导的胞吞机制。然而近期有

研究报道了网格蛋白及陷窝蛋白非依赖性胞吞作用 (clathrin & caveolae independent endocytosis) 等数种胞吞机制, 可分为发动蛋白依赖性和非发动蛋白依赖性两大类^[6]。有研究人员将Cdc42/Arf1依赖性的摄取过程称为CLIC/GEEC (clathrin-independent carrier/glycosyl-phosphatidylinositol-anchored proteins) 途径。因此, 根据对受体的研究结果显示, “受体介导的胞吞”包含了多种不同胞吞机制, 不应与CME相混淆, CME仅是其中的一种较为普遍的情况。

近年来, 有许多关于陷窝蛋白的新进展。SV40病毒是通过陷窝小泡介导的胞吞进入细胞的, 现发现其通过网格蛋白-陷窝蛋白1非依赖性 (clathrin-caveolae1 independent) 胞吞作用进入细胞的效率更高^[7]。有研究报道, 陷窝小体 (caveosome) 可能是超量分泌陷窝蛋白-1 (caveolin-1) 的细胞形成的一种伪像^[8]。这对于完善NPs胞内定位和降解的基础理论有一定的意义。

纳米材料的自身性质可影响摄取途径和分布, 不同成分纳米材料可通过不同的摄取途径和胞吞机制进入细胞。对于纳米金的研究表明, 用甲基- β -环糊精 (methyl- β -cyclodextrin, m- β -CD) 去除HeLa细胞膜胆固醇后, 纳米金颗粒的胞吞受到抑制, 而用蔗糖抑制网格蛋白介导的胞吞后纳米金颗粒的摄取未受到抑制, 说明纳米金颗粒的胞吞主要由陷窝小泡介导^[9]。在对多种肿瘤细胞的研究中发现, 纳米金颗粒的尺寸是影响胞吞最主要的因素, 纳米金颗粒的粒径为45 nm时摄取效率最高^[10]。需要注意的是, 胆固醇脱除剂可能对其他胞吞机制造成影响, 如: (1) 胆固醇可影响陷窝小泡依赖的摄取活动; (2) 影响甚至抑制非依赖性胞吞如巨胞饮和网格蛋白依赖性转运机制; (3) m- β -CD可损伤细胞膜和膜离子通道^[11]。

与NPs相比, 碳纳米管 (carbon nanotube, CNT) 的入胞机制有许多不同之处。Xiao等^[12]在单壁碳纳米管 (single-walled nanotube, SWNT) 与人白血病系细胞K562和K562S共培养的实验中发现, 37 °C培养条件下进入细胞的SWNT数量比4 °C时显著增加, 表明肿瘤细胞需要消耗能量将SWNT摄入, 即胞吞是CNT进入细胞的一种方式。也有研究者提出了CNT入胞的不同机制。在Pantarotto等^[13]的研究中发现, 荧光标记的碳纳米管 (FITC-CNT) 和荧光标记且表面连接多肽的碳纳米管 (FITC-peptide-CNT) 能够穿过细胞膜主要分布于胞浆, FITC-peptide-CNT甚

至穿过核膜而分布于细胞核。但是不同的培养温度 (4 °C和37 °C) 以及是否加入叠氮钠对CNT的入胞过程都不产生影响。据此推测, CNT可通过非经典的胞吞途径进入细胞。因此, CNT入胞可能存在胞吞、扩散等多途径、多种机理共存的现象。还有一些研究显示, CNT-核酸复合物进入细胞机制有两种: 能量依赖型胞吞途径和能量非依赖的机械穿胞作用^[14]。此特点已在基因转染、靶向给药方面表现出独特的优势。

而对富勒烯纳米材料的研究表明, 其可能存在特定的入胞机制。Li等^[15]发现, 在3T3L1和RH-35细胞中, $[C_{60}(C(COOH)_2)_2]_n$ 纳米颗粒是通过网格蛋白介导而非陷窝蛋白介导的胞吞机制入胞。该过程具有时间、温度和能量依赖等特点。

值得注意的是, NPs经过某种修饰后可避开细胞的胞吞机制而不被摄入。有研究报道, 利用人细胞膜上CD47蛋白中被称为“Self”肽的短片段对NPs进行表面修饰, 修饰后的NPs可逃逸巨噬细胞的吞噬作用, 使得其在鼠血中的含量是非修饰NPs的4倍^[16]。

4 纳米材料的胞内定位

大多数纳米材料本身可能并不具备直接细胞器靶向功能, 但对其进行功能化修饰则可克服各种屏障作用, 使其进入细胞后发挥对溶酶体、线粒体、胞质、细胞核等的靶向定位作用^[17]。在定位研究中, 电击穿孔术和微注射技术是体外实验观察NPs在胞质中转运情况的常用方法。

溶酶体: 很多研究都证实CNT可以穿过细胞膜进入细胞并分布在溶酶体中。例如, Kam等^[18]在SWNT表面连接荧光分子 (FITC), 将其与HL60细胞共培养, 通过观察荧光分布发现SWNT分布于胞质, 且主要集中至溶酶体, 而不进入细胞核。Bottini等^[19]在急性T细胞白血病细胞系 (Jurkat细胞) 的实验中发现, SWNT复合物 (SWNT-SA-QD) 并没有进入细胞核而是进入溶酶体。

线粒体: 靶向序列、蛋白转导域等具有使NPs靶向到线粒体达到浓集的效果。某些颗粒也可能具有线粒体靶向定位的特性。笔者所在课题组, 使用氧化亚铜纳米粒 (cuprous oxide nanoparticles, Cu₂O NPs) 处理人宫颈癌上皮HeLa细胞后, 通过透射电镜等方法观察到Cu₂O NPs聚集到线粒体周围, 破坏线

粒体膜结构完整性, 启动线粒体凋亡信号通路, 诱导肿瘤细胞凋亡^[20]。另外, CTAB修饰的金纳米棒也观察到了具有类似的线粒体靶向作用^[21]。

胞质: 内体逃逸(endosomal escape)中常用的阳离子转染试剂聚乙酰胺(polyethylenimine, PEI)是代表性聚合物, 利用其吸附质子H⁺导致渗透压升高的酸化效应, 导致内体膜破裂, 使携载分子重新进入胞浆^[17]。NPs还可通过光化学内化(photochemical internalization, PCI)反应从内体释放入胞质。在反应中, 位于内体中的卟啉受到光线照射时产生自由基, 后者对膜产生损伤、破裂, 从而释放出NPs。

细胞核: 核定位信号(nuclear localization signal, NLS)是核质蛋白的一个信号序列, 可直接修饰DNA/RNA或修饰载体如超顺磁氧化铁NPs, 使其靶向至细胞核。关于CNT是否进入细胞核, 有文献显示出完全相反的实验结果。部分研究报道, 通过连接荧光分子发现, CNT没有进入细胞核; 另有研究认为, 通过透射电子显微镜观察到了CNT进入了细胞核。不同结果的产生可能与不同研究体系和处理方法有关。被特定DNA序列修饰的星型纳米金颗粒可以携带抗肿瘤药物, 进入肿瘤细胞, 进而起到肿瘤杀伤的作用^[22]。

随着对新型传递系统和胞内靶向定位的深入研究, 细胞渗透肽(cell-penetrating peptides, CPPs)作为一类能携带大分子物质进入细胞的短肽, 具有穿过细胞膜生物屏障、跨膜不依赖经典胞吞作用的特点。CPPs大多为带有正电荷的长短不等的多肽片段。Meyer等^[23]根据不同CPPs的序列特点, 发现将外源分子导入细胞后可定位于不同的细胞器。如含有核定位信号的CPPs(如transactivator protein, Tat)可定位于细胞核, 巨细胞病毒糖蛋白B的DRLRHR序列可将CD8定位于细胞核膜。Lundberg等^[24]构建并表达了CPPs VP22、Tat-CPPs、多聚精氨酸和多聚赖氨酸与绿色荧光蛋白的融合蛋白质, 发现CPPs紧密黏附于活细胞表面, 经细胞内吞作用进入胞内, 但是并不进入任何细胞器或细胞核内。因此, CPPs在携带生物大分子穿透生物膜到达靶器官、靶细胞发挥生物学作用方面有着广阔的应用空间, 特别是在生物医药和给药系统的研发方面具有重要的意义。

5 NPs对胞内运输等细胞活动的干扰

有研究指出, NPs对细胞具有一定的毒性。NPs

的毒性效应应从三种状态评测: 完整颗粒、部分降解的颗粒和完全降解的颗粒。另外, NPs可通过对细胞信号转导的干扰来影响细胞相关活动。研究人员使用携带有pDrive-sh AnxA2质粒DNA的聚乳酸-羟基乙酸(poly lactide-co-glycolide, PLGA)纳米颗粒, 通过siRNA介导使前列腺上皮细胞持续低表达Annexin A2而抑制肿瘤生长^[25]。某些金属氧化物NPs也可影响信号转导水平, 如纳米银颗粒和纳米金颗粒可降低人上皮细胞表皮生长因子介导的Akt和Erk的磷酸化水平^[26]。NPs表面的高反应活性位点能诱导细胞膜表面蛋白发生交联, 使细胞表面受体的亲和力增加, 从而影响相应配体的作用效果。但在低pH微环境下, NPs则可诱导细胞表面的配体和受体分离, 从而干扰细胞生理活动^[27]。

6 NPs入胞方式和定位方法

研究不同胞吞机制的经典方法是, 通过降低K⁺浓度从而阻止网格蛋白附着于胞膜, 或者用高渗蔗糖溶液孵育细胞的方法阻断网格蛋白依赖性胞吞。但是这些方法缺乏特异性, 对正常细胞功能影响也大。因此, 现今特异性更强的方法已基本取代上述两种方法, 并可联合数种方法应用于研究工作中, 以克服单一方法的弊端, 达到互补的效果。常用于研究的有: 胆固醇抽提剂如M- β -CD和非律平(filipin): 可阻断陷窝蛋白介导的内吞; 松胞菌素D: 用于降解微丝、抑制吞噬泡形成; 氯丙嗪: 通过p-GTP酶抑制CME。经基因敲低的内源性蛋白质、突变蛋白或小干扰RNAs(siRNAs)也可用于胞吞机制的研究^[28]。

近年来的研究工作中, 某些不同领域的技术也被应用于胞吞机制的研究。膜片钳技术可用于检测细胞膜电容的改变来了解胞吐或胞吞时细胞膜表面积的变化。利用表面增强拉曼光谱(surface-enhanced raman spectroscopy, SERS)效应, 可获得研究对象的SERS散射信号, 为研究其入胞的过程和机理提供依据。

荧光标记、激光扫描共聚焦显微镜、电子显微镜、荧光显微镜、相关的细胞器标志物和流式细胞术在NPs定位研究中发挥重要作用, 但各有不足, 在实际工作中应依据实验要求和目的灵活应用。

7 总结与展望

胞吞是细胞生理代谢、进行物质交换的一个极

为重要而复杂的过程, 纳米药物入胞及其亚细胞定位也是目前纳米医学研究的一个热点。尽管纳米生物学发展时间还不长, 但已经取得了令人瞩目的成绩。许多纳米材料被设计成靶向的抗肿瘤药物或能定向运载药物到达靶器官靶细胞的载体, 可提高药物生物利用率和疗效, 减小药物毒副作用等。

有关NPs胞吞和转运的研究已经取得了很大进展, 但仍存在一些尚未完全解决的问题。例如, 细胞对NPs的胞吞和转运在分子层面的机制尚无确切的结论, 目前应用的转运通道阻滞剂和细胞器标记物仍不具有严格特异性, 不同细胞和不同NPs之间相互作用的复杂性也增加了研究难度。其中, 与生物体的相互作用仍然是一个充满挑战的领域, 尤其是纳米药物的胞吞机制仍未被系统、深入的探讨。例如, 已有许多工作研究抗癌纳米药物靶向运载到病灶, 从而提高病变组织的药物浓度而降低药物毒副作用并提高治疗效果。但如果未来工作能加强对靶向纳米药物进入特定组织细胞的途径和机制的研究和了解, 则可以指导纳米药物的开发和合成, 从而进一步提高纳米药物的肿瘤靶向性和肿瘤特异性。这种有关细胞对纳米材料胞吞的具体机制, 以及寻找出其确切通路和靶点并开发出相应药物以应用于纳米生物学和医药领域的研究, 将会使更多领域受益。

此外, 具有特定亚细胞结构定位的纳米药物, 为细胞器靶向给药体系、亚细胞操作工具的开发提供了可能的方法和思路, 具有十分重要的基础研究价值与临床应用意义, 所以有必要对这类亚细胞纳米药物的性质、表面特征、修饰分子和胞内转运机制进行系统、深入的研究。

综上所述, 本文通过论述细胞对纳米颗粒的摄取与胞内定位的相关机制, 表明纳米材料在纳米生物医学中具有巨大的应用价值。纳米材料在生物医学领域的研究工作可以成为未来研究纳米材料的一个方向点。这些工作需要不同领域的研究人员共同努力, 结合高等化学和细胞生物等学科的相关知识, 科学客观地得出结论, 为纳米材料更好、更快地应用于临床打下坚实的基础。

参考文献 (References)

1 王野, 杨峰. 纳米氧化亚铜的制备及其应用的研究进展. 化学世界(Wang Ye, Yang Feng. Preparation and application of cuprous oxide nanoparticles and research advance. Chemical World) 2011; 52(9): 573-6.

2 Chithrani BD, Chan WC. Elucidating the mechanism of cellular uptake and removal of protein-coated gold nanoparticles of different sizes and shapes. *Nano Lett* 2007; 7(6): 1542-50.

3 Albanese A, Tang PS, Chan WC. The effect of nanoparticle size, shape, and surface chemistry on biological systems. *Annu Rev Biomed Eng* 2012; 14: 1-16.

4 Xu H, Dai W, Han Y, Hao W, Xiong F, Zhang Y, *et al.* Differential internalization of superparamagnetic iron oxide nanoparticles in different types of cells. *J Nanosci Nanotechnol* 2010; 10(11): 7406-10.

5 Won YY, Lee H. "pH phoresis": A new concept that can be used for improving drug delivery to tumor cells. *J Control Release* 2013; 170(3): 396-400.

6 Kumari S, Mg S, Mayor S. Endocytosis unplugged: Multiple ways to enter the cell. *Cell Res* 2010; 20: 256-75.

7 Bastiani M, Parton RG. Caveolae at a glance. *J Cell Sci* 2010; 123(22): 3831-36.

8 Hayer A, Stoeber M, Ritz D, Engel S, Meyer H H, Helenius A. Caveolin-1 is ubiquitinated and targeted to intraluminal vesicles in endolysosomes for degradation. *J Cell Biol* 2010; 191: 615-29.

9 Hao X, Wu J, Shan Y, Cai M, Shang X, Jiang J, *et al.* Caveolae-mediated endocytosis of biocompatible gold nanoparticles in living Hela cells. *J Phys Condens Matter* 2012; 24(16): 164-207.

10 Wang SH, Lee CW, Chiou A, Wei PK. Size-denystatinindependent endocytosis of gold nanoparticles studied by three-dimensional mapping of plasmonic scattering images. *J Nanobiotechnology* 2010; 8: 33-47.

11 Putters J, da Silva, Almeida AC, van Kerkhof P, van Rossum AG, Gracanic A, *et al.* Jak2 is a negative regulator of ubiquitin-dependent endocytosis of the growth hormone receptor. *PLoS One* 2011; 6(2): 1371-83.

12 Xiao H, Yang L, Zou H, Yang L, Le XC. Analysis of oxidized multi-walled carbon nanotubes in single K562 cells by capillary electrophoresis with laser-induced fluorescence. *Anal Bioanal Chem* 2007; 387: 119-26.

13 Pantarotto D, Briand JP, Prato M, Bianco A. Translocation of bioactive peptides across cell membranes by carbon nanotubes. *Chem Commun* 2004; 7(1): 16-17.

14 Serag MF, Kaji N, Venturelli E, Okamoto Y, Terasaka K, Tokeshi M, *et al.* Functional platform for controlled subcellular distribution of carbon nanotubes. *ACS Nano* 2011; 5(11): 9264-70.

15 Li W, Chen C, Ye C, Wei T, Zhao Y, Lao F. The translocation of fullerene nanoparticles into lysosome via the pathway of clathrin-mediated endocytosis. *Nanotechnology* 2008; 19(14): 145102.

16 Rodriguez PL, Harada T, Christian DA, Pantano DA, Tsai RK, Discher DE. Minimal "Self" peptides that inhibit phagocytic clearance and enhance delivery of nanoparticles. *Science* 2013; 339(6122): 971-75.

17 孙晓译, 魏丽丽, 陈海靓, 梁文权. 纳米载体细胞器靶向的研究进展. *药学报*(Sun Xiaoyi, Wei Lili, Chen Hailiang, Liang Wenquan. Advances in the study of organelles targeting nanocarriers. *Acta Pharmaceutica Sinica*) 2009; 44(8): 838-44.

18 Kam N W S, Dai H, J Am. Carbon nanotubes as intracellular protein transporters: generality and biological functionality. *Chem Soc* 2005; 127: 6021-26.

19 Bottini M, Cerignoli F, Dawson M I, Magrini A, Rosato N, Mus-

- telin T. Full-length single-walled carbon nanotubes decorated with streptavidin-conjugated quantum dots as multivalent intracellular fluorescent nanoprobe. *Biomacromolecules* 2006; 7(8): 2259-63.
- 20 Wang Y, Zi XY, Su J, Zhang HX, Zhang XR, Zhu HY, *et al.* Cuprous oxide nanoparticles selectively induce apoptosis of tumor cells. *Int J Nanomedicine* 2012; 7: 2641-52.
- 21 Wang L, Liu Y, Li W, Jiang X, Ji Y, Wu X, *et al.* Selective targeting of gold nanorods at the mitochondria of cancer cells: Implications for cancer therapy. *Nano Lett* 2011; 11(2): 772-80.
- 22 Dam DH, Lee JH, Sisco PN, Co DT, Zhang M, Wasielewski MR, *et al.* Direct observation of nanoparticle-cancer cell nucleus interactions. *ACS Nano* 2012; 6(4): 3318-26.
- 23 Meyer GA, Radsak KD. Identification of a novel signal sequence that targets transmembrane proteins to the nuclear envelope inner membrane. *J Biol Chem* 2000; 275(6): 3857-66.
- 24 Lundberg M, Wikstrom S, Johansson M. Cell surface adherence and endocytosis of protein transduction domains. *Mol Ther* 2003; 8(1): 143-50.
- 25 Comfort KK, Maurer EI, Braydich-Stolle LK, Hussain SM. Interference of silver, gold, and iron oxide nanoparticles on epidermal growth factor signal transduction in epithelial cells. *ACS Nano* 2011; 5(12): 10000-8.
- 26 Braden AR, Kafka MT, Cunningham L, Jones H, Vishwanatha JK. Polymeric nanoparticles for sustained down-regulation of annexin A2 inhibit prostate tumor growth. *J Nanosci Nanotechnol* 2009; 9(5): 2856-65.
- 27 Tore-Geir Iversen, Tore Skotland, Kirsten Sandvig. Endocytosis and intracellular transport of nanoparticles: Present knowledge and need for future studies. *Nano Today* 2011; 6: 176-85.
- 28 孙芳, 李玉霞, 凌焱, 梁龙, 陈珊, 陈惠鹏. 病毒入胞机制研究方法及其研究进展. *微生物学通报*(Sun Fang, Li Yuxia, Ling Yan, Liang Long, Chen Shan, Chen Huipeng. Experimental approaches and the development of virus entry. *Microbiology China*) 2010; 37(1): 103-11.