

磷酸胆碱修饰的氧化石墨烯经导管动脉化疗栓塞治疗肝癌

戴海涛¹, 黄勇慧¹, 林润¹, 周酥², 陈斌¹, 张弢³, 李楠¹, 唐可禹¹, 温春勇¹, 杨建勇¹
(1. 中山大学附属第一医院放射介入科, 广东广州 510080; 2. 中山大学新华学院生物医学工程系, 广东广州 510520;
3. 南京大学现代工程与应用科学学院生物医学工程系, 江苏南京 210093)

摘要:【目的】研究磷酸胆碱修饰的氧化石墨烯作为药物载体经导管动脉化疗栓塞治疗肝癌的安全性和有效性。【方法】制备阿霉素负载的叶酸靶向的磷酸胆碱修饰氧化石墨烯(DOX@GO-PCn-FA)。经新西兰大白兔的耳缘静脉分别注射氧化石墨烯(GO)和DOX@GO-PCn-FA以研究GO和DOX@GO-PCn-FA经静脉注射的安全性和生物分布。取10只雄性新西兰大白兔建立VX2肝癌模型并以动态增强CT扫描明确肿瘤情况。以股动脉入路选择性插管至肝叶或肝段动脉,以数字减影血管造影(DSA)明确肿瘤供血动脉。通过导管注射DOX@GO-PCn-FA对肝癌行选择性栓塞化疗(TACE)。TACE术后第7天行动态增强CT扫描以及主要组织和器官的病理学检查以研究DOX@GO-PCn-FA对肝癌的栓塞效果以及生物分布和安全性。【结果】经静脉注射GO引起显著的血栓形成和肺动脉栓塞,而同等剂量的DOX@GO-PCn-FA未出现这些现象。DOX@GO-PCn-FA用于TACE能有效减少肝脏肿瘤血供。病理学检查可见DOX@GO-PCn-FA主要沉积于肿瘤内,未见明显并发症。【结论】GO-PCn具有良好的生物相容性并能有效地对肝脏肿瘤进行化疗栓塞。

关键词: 肝癌; 氧化石墨烯; 磷酸胆碱; 经导管动脉化疗栓塞

中图分类号: R814

文献标志码: A

文章编号: 1672-3554(2018)01-0018-08

Phosphorylcholine Oligomer-Grafted Graphene Oxide for the Transcatheter Arterial Chemoembolization of Liver Cancer

DAI Hai-tao¹, HUANG Yong-hui¹, LIN Run¹, ZHOU Su², CHEN Bin¹, ZHANG Tao³, LI Nan¹, TANG Ke-yu¹, WEN Chun-yong¹, YANG Jian-yong¹

(1. Department of Interventional Radiology, The First Affiliated Hospital of Sun Yat-Sen University, Guangzhou 510080, China; 2. Department of Biomedical Engineering, Xinhua College of Sun Yat-Sen University, Guangzhou 510520, China; 3. Department of Biomedical Engineering, College of Engineering and Applied Sciences, Nanjing University, Nanjing 210093, China)

Corresponding to: YANG Jian-yong; E-mail: cjr.yangjianyong@vip.163.com

Abstract: 【Objective】 To investigate the safety and efficacy of phosphorylcholine oligomer grafted graphene oxide as a drug carrier for transcatheter arterial chemoembolization in the treatment of liver cancer. 【Methods】 Doxorubicin loaded folic acid labeled phosphorylcholine oligomer grafted graphene oxide (DOX@GO-PCn-FA) was prepared. Graphene oxide (GO) and DOX@GO-PCn-FA were injected intravenously via marginal ear vein in New Zealand white rabbits respectively to assess their safety and biodistribution for intravenous administration. Ten male New Zealand rabbits were used to establish the VX2 liver cancer model and the tumor characteristics were confirmed by dynamic contrast enhanced CT scan. Catheter was inserted via femoral artery and advanced into hepatic lobar or segmental artery. Digital subtraction angiography (DSA) was performed to validate the tumor feeding vessels. DOX@GO-PCn-FA was injected through the catheter to carry out selective transcatheter arterial chemoembolization (TACE). Dynamic enhanced CT scan and pathological examinations of major tissues and organs were implemented 7 days post TACE to evaluate the efficacy of embolization

收稿日期: 2017-10-25

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(81671792); 广东省医学科学技术研究基金(A2017025)

作者简介: 戴海涛, 博士研究生, E-mail: daiht3@mail2.sysu.edu.cn; 杨建勇, 通信作者, 教授, 主任医师, 博士研究生导师, E-mail: cjr.yangjianyong@vip.163.com

effect of DOX@GO-PCn-FA against liver tumor as well as the biodistribution and safety. 【Results】 Intravenous injection of GO resulted in significant thrombosis and pulmonary embolism whereas DOX@GO-PCn-FA of same dosage did not. DOX@GO-PCn-FA was capable of effectively diminishing the blood supply of liver tumors when applied in TACE. Pathologic exploration revealed that DOX@GO-PCn-FA mainly deposited in the tumor, and no obvious complications were observed. 【Conclusions】 GO-PCn presented superior biocompatibility and exerted effective chemoembolization against liver cancer.

Key words: liver cancer; graphene oxide; phosphorylcholine; transcatheter arterial chemoembolization

[J SUN Yat-sen Univ (Med Sci), 2018, 39(1): 18-25]

原发性肝癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 是我国的常见病和多发病; HCC 起病隐匿, 多数患者确诊时已处于中晚期, 已无治愈性治疗的指征^[1-2]。经导管动脉化疗栓塞 (transcatheter arterial chemoembolization, TACE) 是进展期肝癌的首选治疗方法^[1-2]。传统的 TACE 采用碘化油作为药物载体和栓塞材料, 通过阻断肿瘤血供并在肿瘤区域释放化疗药物使肿瘤坏死^[3-4]。然而传统药物载体碘化油与水溶性化疗药物形成的乳化液不稳定, TACE 术后化疗药物迅速释出, 导致其在肿瘤内的浓度降低, 进入体循环增多, 进而造成肿瘤细胞坏死不彻底、全身副作用增大; 另一方面, 乳化液内部的化疗药物分布不均匀, 使化疗药物在肿瘤内部的分布亦不均衡, 从而造成肿瘤坏死的不均匀^[5-7]。因此, 研究新型的药物载体以改善 TACE 的疗效已经成为临床工作中的迫切需求。近年来, 氧化石墨烯 (graphene oxide, GO) 因其特殊的理化性质成为生物医学工程等领域的研究热点。GO 具有极高的比表面积, 在药物输送方面具有成为优秀载体的潜力^[8-9]。然而, 未经表面修饰的 GO 的强烈促凝作用等缺点极大地限制了 GO 的实际应用^[10-12]。磷酰胆碱 (phosphorylcholine, PC) 是生物膜的重要组成部分, 可赋予材料亲水性和生物相容性, 并且 PC 分子上的氨基等基团偶联特定的靶向配体^[13-14]。此外, 研究显示叶酸受体 (folate receptors, FR) 在多种肿瘤包括肝癌的表达增高, 因此叶酸 (folic acid, FA) 成为一个理想的靶向配体, 常与不同的药物和载体偶合以改善其功能和安全性^[15-18]。因此课题组在前期工作中以 PC 修饰 GO (得到 GO-PCn)、偶联 FA 作为靶向配体, 并负载阿霉素 (doxorubicin, DOX) 作为模式抗癌药物, 制备了阿霉素负载的叶酸靶向的磷酰胆碱修饰氧化石墨烯 (doxorubicin loaded folic acid labeled phosphorylcholine oligomer grafted graphene

oxide, DOX@GO-PCn-FA), 提高了 GO 的生物相容性并获得主动靶向性, 研究显示 DOX@GO-PCn-FA 对 FR 阳性肿瘤细胞的杀伤作用增强^[19]。本研究将在前期工作的基础上, 比较 GO 与 DOX@GO-PCn-FA 经静脉注射在体内应用的安全性和生物分布, 并初步探索 DOX@GO-PCn-FA 经导管动脉化疗栓塞治疗肝癌的安全性和有效性。

1 材料与方法

1.1 主要实验材料

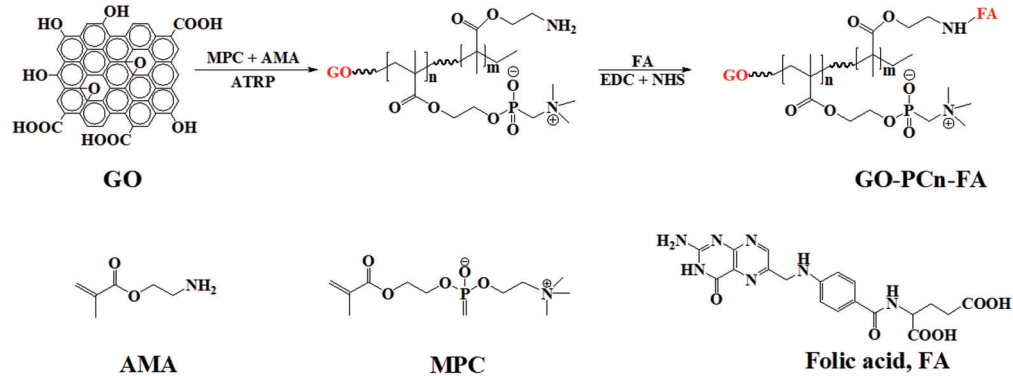
戊巴比妥钠 (>99%)、DSA 对比剂碘帕醇注射液 (典比乐, 含碘 370 mg/mL)、CT 对比剂碘普罗胺注射液 (优维显, 含碘 370 mg/mL) 分别购自 Merck 公司、Bracco 公司和 Bayer 公司。2.2 F 微导管得自泰尔茂株式会社 (Progreat[®], β 3, Terumo[®], Tokyo, Japan)。VX2 细胞株购于中山大学实验动物中心, 体质量 2.5 ~ 3.0 kg 雄性新西兰白兔购于广东省医学实验动物中心。

1.2 制备阿霉素负载的叶酸靶向的磷酰胆碱修饰氧化石墨烯

制备氧化石墨烯 (graphene oxide, GO) 以及阿霉素负载的叶酸靶向的磷酰胆碱修饰氧化石墨烯 (doxorubicin loaded folic acid labeled phosphorylcholine oligomer grafted graphene oxide, DOX@GO-PCn-FA) 所需材料、方法与表征见课题组所发表文章 (图 1)^[19]。将 GO 或 DOX@GO-PCn-FA 分散于无菌蒸馏水 (5.0 mg/mL), 并用超声震荡 5 min 后备用^[19]。

1.3 GO 以及 DOX@GO-PCn-FA 的生物相容性和生物分布实验

取健康兔各 2 只, 经兔耳缘静脉以 6.25 mg/kg 的剂量注射 GO 或 DOX@GO-PCn-FA 悬浮液 (5.0



MPC: 2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine; AMA: 2-aminoethyl methacrylate; EDC: 1-ethyl-3-(3'-dimethylaminopropyl) carbodiimide; NHS: N-hydroxysuccinimide; GO: graphene oxide; GO-PCn-FA: folic acid labeled phosphorylcholine oligomer grafted graphene oxide.

图1 GO-PCn-FA的合成路线

Fig.1 Synthesis route of GO-PCn-FA

mg/mL)。在实验动物死亡或注射 48 h 后处死动物,取主要组织和器官包括肺脏、心脏、肝脏等,行苏木精-伊红染色法(hematoxylin-eosin, HE)染色,并在镜下观察 GO 或 DOX@GO-PCn-FA 的分布。

1.4 制备兔 VX2 肝癌模型

采用 2 只新西兰大白兔为荷瘤兔,用浓度为 30 mg/mL 戊巴比妥钠以 40 mg/kg 的剂量静脉注射麻醉。将 1.0×10^7 个 VX2 肿瘤细胞均匀分散于 0.5 mL PBS 中,经注射器将肿瘤细胞接种于兔腹股沟区皮下使之成瘤。接种约 20 d 后腹股沟区可扪及一实质性包块,直径约 1.0 cm。

取荷瘤兔 2 只,术前禁食 12 h,不禁水。用 30 mg/mL 戊巴比妥钠以 40 mg/kg 的剂量静脉注射麻醉荷瘤兔后,腹股沟区备皮、消毒,在无菌条件下分离并剥离肿瘤,剔除坏死部分以及纤维、脂肪等结缔组织,切取肿瘤边缘生长旺盛的鱼肉样组织,置于盛有生理盐水的培养皿中,将肿瘤组织剪碎成 1.0 mm^3 大小的瘤块备用(以冰水浴保持 0°C)。将待接种兔 10 只用 30 mg/mL 戊巴比妥钠以 40 mg/kg 的剂量静脉注射麻醉后,以仰卧位固定四肢于自制兔手术台上,常规剑突下及上腹部备皮、消毒。行腹部正中切口,暴露肝脏各叶,常规选择左内叶种植。以 20 mL 注射器针头穿刺肝脏形成隧道,宽度和深度分别约为 3~5 mm 和 10 mm,将 2~4 个瘤块置入隧道内,然后将事先剪好的明胶海绵片置于种植部位以减少瘤块脱出。

种植肿瘤 2 周后,肝脏内肿瘤的直径约为 1.0~1.5 cm,适合进行 CT 扫描以及介入治疗,故种

植肿瘤 2 周后对接种兔进行动态增强 CT 扫描,以明确肝脏内肿瘤的情况并选择合适的 VX2 瘤兔进行 TACE 治疗。动态增强 CT 扫描的方法如下所述。采用 320 排动态容积 CT 扫描仪(Aquilion ViSION, Toshiba Medical Systems, Japan)进行检查。经瘤兔耳静脉穿刺放置静脉留置管,用 30 mg/mL 戊巴比妥钠以 40 mg/kg 的剂量静脉注射麻醉,并连接高压注射器(MEDRAD, USA)。瘤兔取俯卧位,脚先进,扫描范围从双肺下叶包至下腹部,先行平扫再行动态增强扫描,扫描参数为管电压 80 kV,管电流 80 mA,重建场宽 S,扫描层厚 0.5 mm,单圈旋转时间 0.3 s,窗位 60,窗宽 400。

1.5 经导管动脉化疗栓塞治疗肝癌

取 2 只 VX2 瘤兔麻醉后手术取肿瘤标本行病理检查,将其余 8 只 VX2 瘤兔用 30 mg/mL 戊巴比妥钠以 40 mg/kg 的剂量静脉注射全麻后,以仰卧位固定四肢于自制兔手术台上,常规双侧腹股沟区备皮、消毒、铺巾。在腹股沟区沿股动脉走形纵行切开皮肤以及皮下筋膜,暴露股动脉鞘,小心分离股动脉,直视下对股动脉行 Seldinger 穿刺,通过套管针引入 0.018 导丝后,插入 2.2 F 微导管,选择性插管至腹腔干,在飞利浦平板血管造影系统(Allura Xper FD20, Philips, the Netherlands)上行数字减影血管造影(digital subtraction angiography, DSA),观察血管形态以及肿瘤供血动脉。超选择性插管至肝叶动脉或肝段动脉,DSA 下造影,观察血管形态以及肿瘤供血动脉。证实肿瘤染色后在 DSA 透视下经肿瘤供血动脉缓慢注入

DOX@GO-PCn-FA 悬浮液对肿瘤进行化疗栓塞,直至肿瘤染色明显减少或消失或对比剂出现返流现象。DOX@GO-PCn-FA 用量约为 0.5~1.0 mg。术毕拔管,以可吸收缝线结扎股动脉止血,包扎,待荷瘤兔苏醒后送返动物中心。另行正常动物的 DSA 下选择性肝动脉造影以与荷瘤兔对比。

1.6 疗效及副作用评估

本研究在动物模型上评估 TACE 对肝癌的疗效以及副作用的方法包括影像学检查以及肿瘤和主要组织器官的病理学检查。

1.6.1 影像学检查 本研究采用动态增强 CT 扫描评估 TACE 的疗效。在 TACE 术前 3 d 内以及术后第 7 天对 8 只行 TACE 治疗的 VX2 瘤兔行动态增强 CT 检查并比较 TACE 治疗前后的病灶强化等情况,扫描方法同上所述。

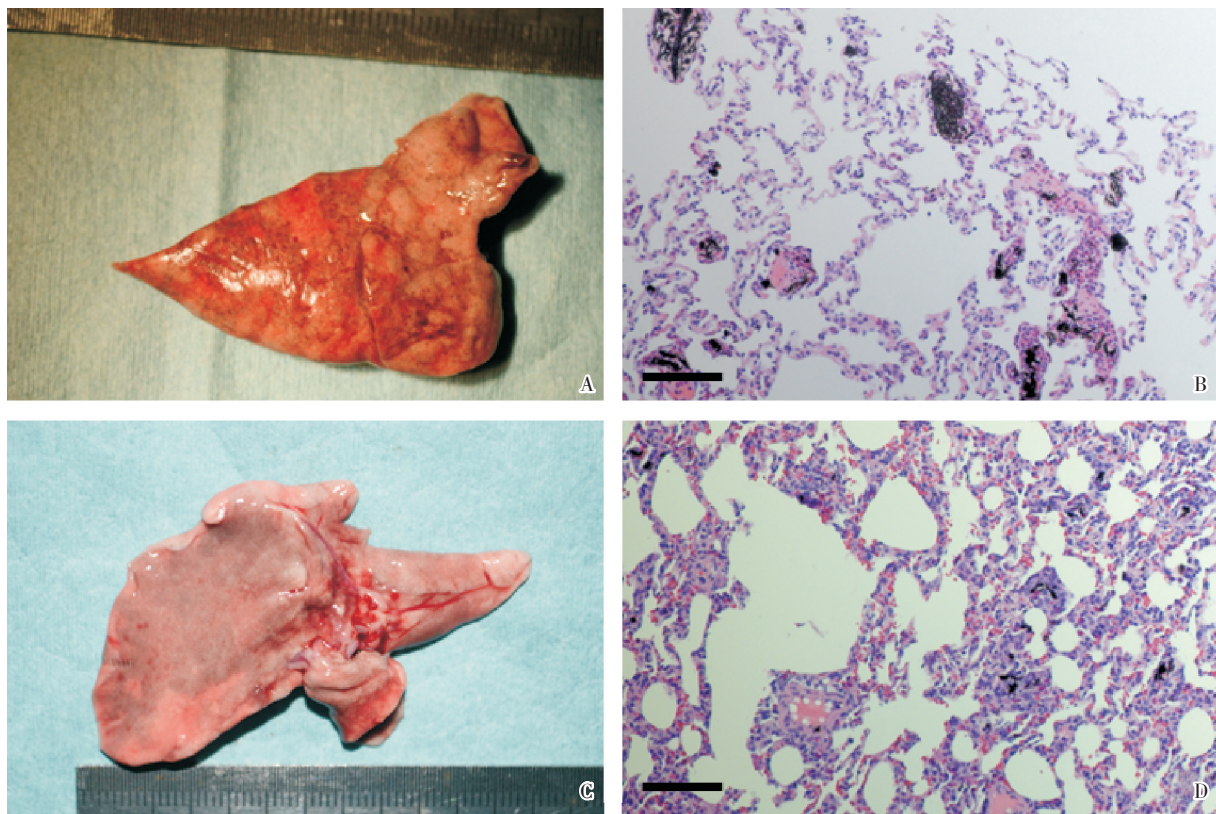
1.6.2 肿瘤及主要器官的病理学检查 在设 TACE 术前 3 d 内以及术后第 7 天处死相应实验动物(行增强 CT 检查后,各 1~2 只),取肿瘤组织及主要器官包括脑、肺、心脏、肝脏、脾脏、肾脏等,

行 HE 染色并在显微镜下观察肿瘤和各器官的病理变化以及 DOX@GO-PCn-FA 的沉积与分布。

2 结果

2.1 GO 以及 DOX@GO-PCn-FA 的生物相容性和生物分布

制备 GO 以及 DOX@GO-PCn-FA 所需的材料、方法与表征见课题组所发表文章^[19]。经静脉注射 GO 的 2 只新西兰兔均在短时间内(1~5 min)死亡。取主要组织器官检查发现其肺脏出现明显的梗死灶(图 2A)。HE 染色病理学检查可见肺血管内有大量的 GO 沉积,并有明显的血栓形成(图 2B)。而注射 DOX@GO-PCn-FA 的 2 只新西兰兔未见明显异常,48h 后处死实验动物并取主要器官行病理学检查可见 DOX@GO-PCn-FA 主要沉积在肺实质,肺血管内未见明显沉积或血栓形成;其余主要组织和器官均未见明确的 DOX@GO-PCn-FA 聚集(图 2)。



A: gross image of the lung treated with GO; B: HE staining of the lung treated with GO, $\times 200$; C: gross image of the lung treated with DOX@GO-PCn-FA; D: HE staining of the lung treated with DOX@GO-PCn-FA, $\times 200$. Scale bars: 100 μm .

图2 GO和DOX@GO-PCn-FA经静脉注射的生物分布

Fig.2 Biocompatibility of GO and DOX@GO-PCn-FA post intravenous administration

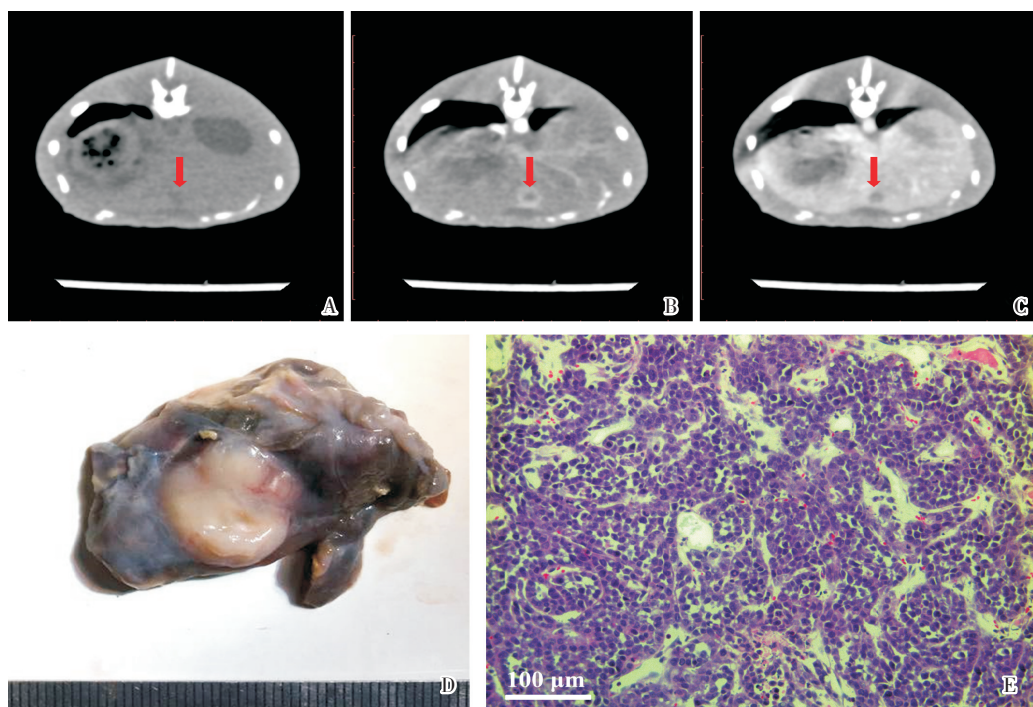
2.2 制备兔 VX2 肝癌模型

兔 VX2 肝癌模型由动态增强 CT 扫描明确肿瘤的情况。10 只接种兔均成功建模, VX2 肝癌在 CT 平扫上为类圆形低密度区; 在动态增强 CT 扫描中, 肿瘤中心为无强化区, 动脉期呈环形强化, 强化部分在门脉期呈低密度, 为典型的“快进快出”模式(图 3)。取 2 只瘤兔麻醉后剖腹观察并取肿瘤标本行病理检查, 大体标本可见肿瘤为边界清晰的类圆形的白色病灶, 切面呈鱼肉状(图 3)。病理学检查 HE 染色可见核大深染的

肿瘤细胞、中心坏死区以及丰富的肿瘤血管等(图 3)。

2.3 经导管动脉化疗栓塞治疗肝癌

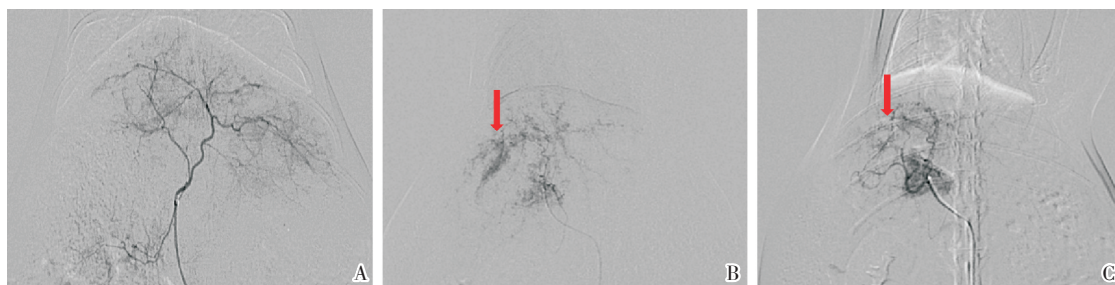
正常肝脏的 DSA 选择性造影可见腹腔干和各级分支动脉显影良好, 未见紊乱扭曲等肿瘤血管征象(图 4A)。VX2 肝癌在 DSA 选择性腹腔干以及肝动脉造影中表现为增粗、紊乱扭曲的肿瘤血管, 周围血管呈弧形“抱球征”, 并可见小的血管池影(图 4B)。经 TACE 治疗后, DSA 造影可见肿瘤血供明显减少(图 4C)。



A-C: low density lesions, hypervascularity and washout pattern in routine, arterial phase and venous phase of dynamic contrast enhanced CT scan of VX2 tumor, respectively; D: gross image of the liver cancer showing a fish-like tumor lesion; E: HE staining of the VX2 tumor, $\times 100$.

图3 制备兔 VX2 肝癌模型

Fig.3 Preparation of VX2 rabbit liver cancer model



A: digital subtraction angiography (DSA) of normal liver; B: DSA of VX2 tumor showing the tumor vessels (red arrow); C: DSA showing a substantial decrease in tumor enhancement post TACE treatment (red arrow).

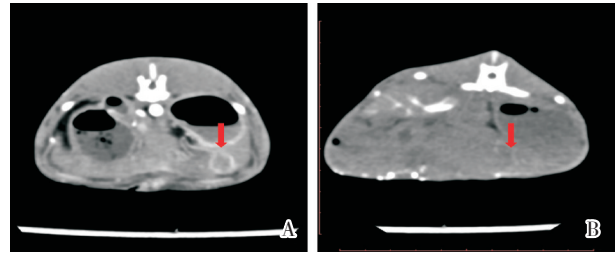
图4 经导管动脉化疗栓塞治疗肝癌

Fig.4 Treatment of liver cancer with transcatheter arterial chemoembolization

2.4 疗效及副作用评估

2.4.1 TACE术前和术后的动态增强CT检查 VX2 肿瘤在CT平扫上表现为肝内类圆形低密度病灶。动态增强CT扫描的动脉期肿瘤显著强化,静脉期时肿瘤组织相对周围正常肝组织为低密度;肿瘤中央坏死区一直为低密度,总体呈典型的“快进快出”模式(图4)。以DOX@GO-PCn-FA对肝癌行TACE治疗后动态增强CT扫描显示肿瘤病灶的血供明显减少(图5)。

2.4.2 TACE术后的病理学检查 TACE术后实验动物的病理学检查显示肿瘤内有大量DOX@GO-PCn-FA沉积,分布在肿瘤血管内以及肿瘤实质,肿瘤周围正常肝实质仅有少量沉积,其他正常组织和器官内未见明确分布(图6)。值得注意的是,肿瘤组织与周围正常肝组织的DOX@GO-PCn-FA分

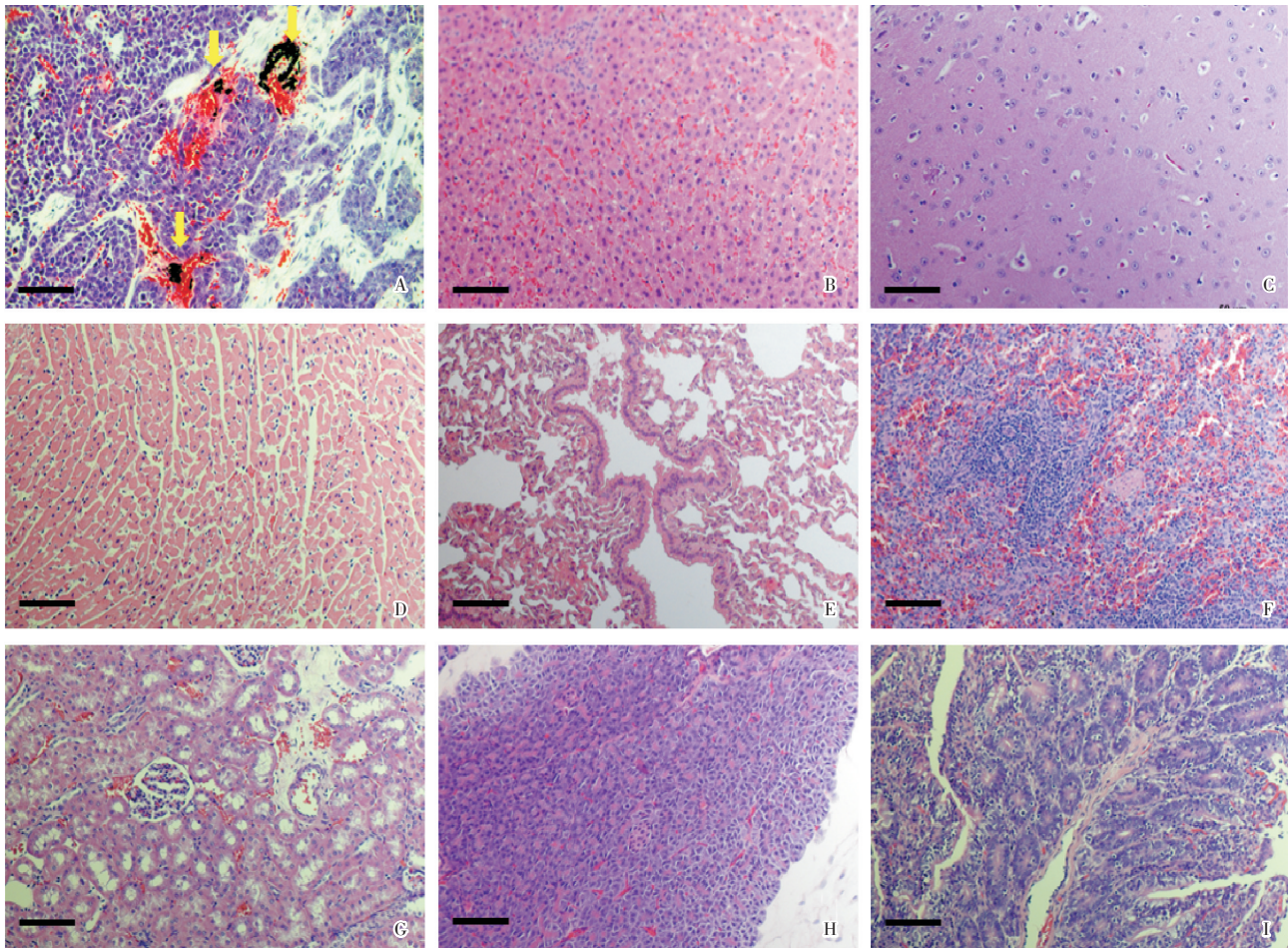


A: dynamic contrast enhanced CT of VX2 tumor before TACE; B: dynamic contrast enhanced CT of VX2 tumor after TACE showing a substantial decrease in tumor enhancement (red arrow).

图5 TACE治疗前后的动态增强CT扫描

Fig.5 CT examinations before and after TACE treatment

布对比,即肿瘤组织内的DOX@GO-PCn-FA沉积显著高于周围正常肝脏组织,提示经叶酸标记的DOX@GO-PCn-FA的靶向特异性效应(图6)。



A: HE staining image of the tumor treated with DOX@GO-PCn-FA indicating the massive deposition of DOX@GO-PCn-FA (yellow arrows) × 400; HE staining images of the region of normal liver(B), brain(C), heart(D), lung(E), spleen(F), kidney(G), pancreat(H) and small intestine(J) of the rabbits treated with DOX@GO-PCn-FA, respectively, ×200. Scale bars: 100 μm.

图6 TACE后的病理学检查

Fig.6 Pathological examinations after TACE treatment

3 讨论

新型栓塞材料和药物载体的研发是TACE治疗肝癌研究的重点。GO独特的理化性质使其具备优秀药物载体的潜力。然而GO明显的促凝作用等缺点限制了GO在生物医学领域的应用。在本研究中,经静脉注射的GO造成了显著的血栓形成和肺动脉栓塞(图2)。因此,提高GO的生物相容性是其在实际应用需要解决的主要问题之一。表面修饰是设计和制备生物医学材料的重要方法,可以使底物获得诸如靶向特异性、不同的溶解性、条件响应控释等特殊性质。磷酰胆碱(PC)是卵磷脂和各种生物膜的重要组成部分,可以赋予材料稳定的亲水性和生物相容性,并且PC分子上的氨基等基团可以偶联特定靶向的配体,使GO-PCn具备多功能载体平台的能力^[13-14]。实验结果显示,经过PC修饰,经静脉注射DOX@GO-PCn-FA引起的血栓形成明显比减少,未发现明确的肺栓塞情况,显著提高了其体内应用的安全性。

基于纳米微粒的药物载体系统可以通过增强渗透滞留效应(enhanced permeability and retention effect, EPR effect)以及主动靶向作用将药物输送至靶区^[20-21]。叶酸受体(folate receptors, FR)在多种肿瘤包括肝细胞癌中高表达^[17-18, 22],因此叶酸常与不同的药物和载体偶联以改善其功能和安全性^[15-16]。课题组在前期工作中证实了DOX@GO-

PCn-FA对FR阳性肿瘤细胞的杀伤作用增强^[19]。本研究的体内实验结果显示,叶酸标记的DOX@GO-PCn-FA主要分布于肿瘤区域,证明了其对肿瘤细胞的靶向特异性。

兔VX2肝癌模型是研究TACE疗效的重要模型^[3]。在本研究中,其成功构建通过动态增强CT扫描、病理学检查以及后续的DSA造影等方法得到确认(图3-6)。影像学检查肿瘤活性的判断是TACE疗效的主要评估方法之一,具有非常重要的临床意义。肿瘤病灶活性(动态增强CT扫描中的强化区域)减少是疗效的重要评估指标^[23-24]。本研究的结果显示,应用DOX@GO-PCn-FA进行栓塞化疗后,肝癌病灶的强化较术前明显减少,提示肿瘤活性的显著下降(图5)。另外,病理学检查结果显示栓塞化疗后DOX@GO-PCn-FA主要沉积于肿瘤病灶内,肿瘤周围正常肝脏组织内仅有少量沉积,主要组织和器官内未发现明确的DOX@GO-PCn-FA聚集,证明GO-PCn-FA作为药物载体可将化疗药物(DOX)选择性输送至肿瘤靶区,从而可增强疗效并降低全身副作用(图6)。

综上所述,本研究初步验证了阿霉素负载的叶酸靶向的磷酰胆碱修饰氧化石墨烯(DOX@GO-PCn-FA)具有良好的生物相容性;以DOX@GO-PCn-FA对肝癌行经导管化疗栓塞,能有效减少肝脏肿瘤的血供,未见明显的不良反应和并发症,具备作为TACE栓塞材料的基本条件。本结果可为TACE治疗肝癌的研究提供新的方向与思路。

参考文献:

- [1] El-Serag HB. Hepatocellular carcinoma [J]. *N Engl J Med*, 2011, 365(12): 1118-1127.
- [2] Forner A, Llovet JM, Bruix J. Hepatocellular carcinoma [J]. *Lancet*, 2012, 379(9822): 1245-1255.
- [3] Lewandowski RJ, Geschwind JF, Liapi E, et al. Transcatheter intraarterial therapies: Rationale and overview [J]. *Radiology*, 2011, 259(3): 641-657.
- [4] European Association For The Study Of The Liver; European Organisation For Research And Treatment Of Cancer. EASL-EORTC clinical practice guidelines: Management of hepatocellular carcinoma [J]. *J Hepatol*, 2012, 56(4): 908-943.
- [5] Favoulet P, Cercueil JP, Faure P, et al. Increased cytotoxicity and stability of Lipiodol-pirarubicin emulsion compared to classical doxorubicin-Lipiodol: Potential advantage for chemoembolization of unresectable hepatocellular carcinoma [J]. *Anti-Cancer Drug*, 2001, 12(10): 801-806.
- [6] Idee JM, Guiu B. Use of Lipiodol as a drug-delivery system for transcatheter arterial chemoembolization of hepatocellular carcinoma: A review [J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2013, 88(3): 530-549.
- [7] Struk D, Rankin RN, Karlik SJ. Stability studies on chemoembolization mixtures: Dialysis studies of doxorubicin and lipiodol with Avitene, Gelfoam, and Angiostat [J]. *Invest Radiol*, 1993, 28(11):

- 1024-1027.
- [8] Ferrari AC, Bonaccorso F, Fal'ko V, et al. Science and technology roadmap for graphene, related two-dimensional crystals, and hybrid systems [J]. *Nanoscale*, 2015, 7(11):4598-4810.
- [9] Zhu Y, Murali S, Cai W, et al. Graphene and graphene oxide: Synthesis, properties, and applications [J]. *Adv Mater*, 2010, 22(35):3906-3924.
- [10] Liao KH, Lin YS, Macosko CW, et al. Cytotoxicity of graphene oxide and graphene in human erythrocytes and skin fibroblasts [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2011, 3(7):2607-2615.
- [11] Bianco A. Graphene: Safe or toxic? The two faces of the medal [J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2013, 52(19):4986-4997.
- [12] Singh SK, Singh MK, Nayak MK, et al. Thrombus inducing property of atomically thin graphene oxide sheets [J]. *ACS Nano*, 2011, 5(6):4987-4996.
- [13] Chen H, Yuan L, Song W, et al. Biocompatible polymer materials: Role of protein-surface interactions [J]. *Prog Polym Sci*, 2008, 33(11):1059-1087.
- [14] Liu Y, Zhang Y, Zhang T, et al. Synthesis, characterization and cytotoxicity of phosphorylcholine oligomer grafted graphene oxide [J]. *Carbon*, 2014, 71(15):166-175.
- [15] Ledermann JA, Canevari S, Thigpen T. Targeting the folate receptor: Diagnostic and therapeutic approaches to personalize cancer treatments [J]. *Ann Oncol*, 2015, 26(10):2034-2043.
- [16] Lu Y, Low PS. Folate-mediated delivery of macromolecular anticancer therapeutic agents [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2012, 64(Supplement):342-352.
- [17] Li W, Shi J, Zhang C, et al. Co-delivery of thioredoxin 1 shRNA and doxorubicin by folate-targeted gemini surfactant-based cationic liposomes to sensitize hepatocellular carcinoma cells [J]. *J Mater Chem B*, 2014, 2(30):4901-4910.
- [18] Li M, Zhang W, Wang B, et al. Ligand-based targeted therapy: A novel strategy for hepatocellular carcinoma [J]. *Int J Nanomedicine*, 2016, 11(9):5645-5669.
- [19] Qin Y, Wang C, Jiang Y, et al. Phosphorylcholine oligomer-grafted graphene oxide for tumor-targeting doxorubicin delivery [J]. *RSC Advances*, 2017, 7(66):41675-41685.
- [20] Bertrand N, Wu J, Xu X, et al. Cancer nanotechnology: The impact of passive and active targeting in the era of modern cancer biology [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2014, 66(9):2-25.
- [21] Danhier F, Feron O, Preat V. To exploit the tumor microenvironment: Passive and active tumor targeting of nanocarriers for anti-cancer drug delivery [J]. *J Control Release*, 2010, 148(2):135-146.
- [22] Varshosaz J, Farzan M. Nanoparticles for targeted delivery of therapeutics and small interfering RNAs in hepatocellular carcinoma [J]. *World J Gastroenterol*, 2015, 21(42):12022-12041.
- [23] Bruix J, Reig M, Sherman M. Evidence-based diagnosis, staging, and treatment of patients with hepatocellular carcinoma [J]. *Gastroenterology*, 2016, 150(4):835-853.
- [24] Lencioni R, Llovet JM. Modified RECIST (mRECIST) assessment for hepatocellular carcinoma [J]. *Semin Liver Dis*, 2010, 30(1):52-60.

(编辑 王晓鹰)