

肝靶向纳米制剂的药效学研究

熊梦兰 刘琪 贾鹏 李勇霸 汪锦燕 李艳辉*

(长沙医学院 湖南长沙 410219)

摘要: 目的: 探讨肝靶向纳米制剂的药效学研究。方法: 随机挑选雄性小鼠 30 只, 均分为 5 组, 每组 6 只, 分别为阴性对照 0.9% 氯化钠注射液, 阳性对照组 MAT (0.20mg/kg), MAT-PBCA-NP 高 (0.60mg/kg)、中 (0.20mg/kg)、低 (0.05mg/kg) 剂量组, 实验持续时间为 2 周, 每 3 天 1 次, 连续 5 次。检测小鼠瘤重抑制率、肿瘤细胞病理组织学观察以及细胞毒性。结果及结论: MAT-PBCA-NP 高、中、底剂量组的瘤重明显低于阳性对照组 ($P < 0.05$); MAT-PBCA-NP 高剂量组: 镜下可见肿瘤细胞大片坏死; 毒性试验结果表明, 与阳性对照组相比 MAT-PBCA-NP 高剂量组的小鼠肝脏病理片, 可见肝窦充血程度轻。MAT-PBCA-NP 作为 MAT 的靶向制剂具有减毒增效的作用。

关键词: 肝靶向; 纳米粒; 药效学; 细胞毒性

肝癌属恶性肿瘤, 其死亡率在所有癌症中高居第三, 尽管我们已经获得了一系列关于肝癌的早期研究和医学医疗的重要发展, 但仍然存在数十万的患者死于肝癌^[1]。为了解决这一问题, 靶向给药管理系统(targeted drug delivery system; TDDS)已作为当今医药科技发展的重点, 它能够准确地将药物传递到肝脏的特定区域, 从而实现更加精准的医疗, 从而减少癌细胞的扩散, 提高生存质量^[2]。苦参碱(matrine, MAT)系从豆科槐属植物苦参、山豆根和苦豆子中提取分离得到的生物碱, 具有抗病毒、抗肝纤维化、升高白细胞、增强免疫力等药理作用和功效, 临床主要用于治疗病毒性肝炎^[3]。本文以 VX₂ 瘤株肿瘤细胞为动物模型, 研究 MAT-PBCA-NP 在小鼠体内各组织药物浓度变化的规律, 为抗癌疗效作出科学评价。

1 材料与方法

1.1 实验动物

选择健康清洁, 大小等量的 SPF 级雄性小鼠, 共 30 只, 所有小鼠饲养于长沙医学院实验室动物房, 室温 25°C 左右, 湿度 50%~70%, 一周内完全适应实验条件。实验材料和试剂: VX₂ 瘤株; 培养基 RPMI-1640; 小牛血清; 青霉素; 链霉素; 显微镜等。

1.2 方法

1.2.1 动物模型的制作

VX₂ 瘤株肿瘤细胞经过复苏, 细胞在含 10~15% 小牛血清 (56°C 热灭活 1h) 10x10⁴ U/L 青霉素, 100mg/L 链霉素的 RPMI-1640 培养液中, 置于 37°C、CO₂、95% 湿度的 CO₂ 孵箱中培养生长^[4]。调整细胞浓度至 1 X 10⁶ 个/ml, 抽取组织肿瘤用 1ml 注射器种植于肝包膜下。

1.2.2 实验分组及处理

将 SPF 级雄性小鼠 30 只, 均分为 5 组, 每组动物数为 6 只, 分别为阴性对照 0.9% 氯化钠注射液 (1ml/只), 阳性对照组 MAT (0.20mg/kg), MAT-PBCA-NP 高 (0.60mg/kg)、中 (0.20mg/kg)、低 (0.05mg/kg) 剂量组, 给药频次每 3 天 1 次, 连续 5 次, 观察时间为 2 周。

1.3 检测指标

1.3.1 检测小鼠瘤重抑制率

治疗 2 周后处死小鼠, 剥离肿瘤, 称重。瘤重抑制率 (%) =

(1-实验组平均瘤重/阴性对照组平均瘤重) × 100%。

1.3.2 肿瘤细胞病理组织学观察

治疗 2 周后, 处死小鼠, 剥取肿瘤, 制片, 固定, 包埋, 染色。

1.3.3 毒性试验观察

治疗 2 周后, 处死小鼠, 取肝组织, 制片, 固定, 包埋, 染色。

1.4 统计学处理

应用采用 SPSS23.0 软件进行处理。

2 结果

2.1 瘤重抑制率

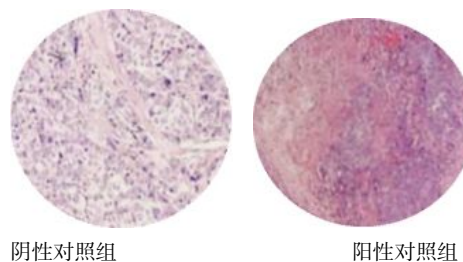
结果表明, MAT-PBCA-NP 不同剂量组瘤重均小于对照组, 且高剂量组瘤重抑制率高达 82.01%, 组间对比具有统计学意义 ($P < 0.05$)。

表 1 各组小鼠瘤重抑制率比较

组别	剂量 (mg/kg)	瘤重 (g)	抑制率 (%)
阴性对照组	-	3.28 ± 1.02	-
阳性对照组	0.20	1.71 ± 0.65	47.87
低剂量组	0.60	1.04 ± 0.27	68.29
中剂量组	0.20	0.68 ± 0.34	79.27
高剂量组	0.05	0.59 ± 0.15	82.01

2.2 肿瘤细胞病理组织学变化

结果表明, 阴性对照组: 光镜下显示细胞呈圆形、梭形或不规则形, 核大、深染, 细胞排列紊乱, 呈浸润性生长。阳性对照组: 镜下可见肿瘤细胞片状坏死。MAT-PBCA-NP 低剂量组: 镜下可见肿瘤细胞点状坏死; MAT-PBCA-NP 中剂量组: 镜下可见肿瘤细胞片状坏死; MAT-PBCA-NP 高剂量组: 镜下可见肿瘤细胞大片坏死。具体见图 1。



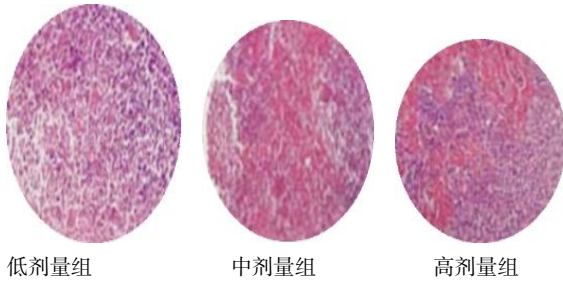


图1 各组肿瘤细胞病理组织学变化比较 (x100)

2.3 毒性试验结果

结果表明,与阳性对照组相比MAT-PBCA-NP高剂量组的小鼠肝脏病理片,可见肝窦充血程度轻。具体见图2。

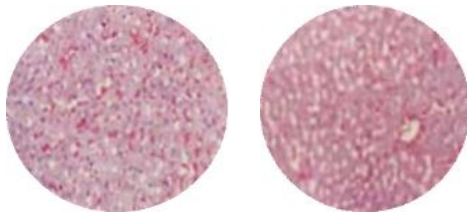


图2 MAT-PBCA-NP高剂量组与阳性对照组毒性试验对比

3 讨论

随着现代药剂学、生物医用高分子学科的发展。纳米粒的发展进入高速发展阶段,纳米粒给药系统进入体内后,主要实现被动靶向,其机制在于^[5]:体内的网状内皮系统(RES,包括肝、脾、肺和骨髓等组织)具有丰富的吞噬细胞,可将一定大小的微粒作为异物而摄取,较大的微粒由于不能滤过毛细血管床而被机械截留于某些部位^[6]。研究证实,0.1~3 μm的微粒可被动靶向到肝脏和脾脏,7~30 μm的微粒可被动靶向到肺部,而小于50nm的微粒可靶向骨髓^[7-8]。微粒给药系统的靶向性可通过控制粒径的大小,控制表面电荷、选择不同表面化学性质的载体材料等来实现^[9]。

VX₂肿瘤细胞株起源于 Shope 病毒诱发,经过72次移植传代后正式建立株,命名为 VX₂,20世纪50年代由 Smith 和 Rous 等在第四届国际癌症大会上报告并获得承认它是一种可移植的肿瘤细胞株,可接种到动物的肝脏,制成原位肿瘤动物模型,接近于人类原发性肝癌[10-11]。本文以 VX₂ 瘤株肿瘤细胞为动物模型,研究 MAT-PBCA-NP 在小鼠体内各组织药物浓度变化的规律,结果表明, MAT-PBCA-NP 高剂量组镜下可见肿瘤细胞大片坏死。 MAT-PBCA-NP 作为 MAT 的靶向制剂具有减毒增效的作用。

参考文献:

[1]尹光忍,何世举.原发性肝癌的诊断及治疗现状[J].检验医学与临床.2010,7(17):1900-1901.
[2]管庆霞,华晓丹,李伟男等.载中药肝靶向纳米给药系统的研究

进展[J].中国药房.2015,26(07):1002-1005.

[3]万旭英,罗明,贺平等.苦参碱和氧化苦参碱体外对肝细胞癌细胞的诱导分化作用[J].中国药理学通报.2009,25(07):977-979.

[4]张月东,尉继伟.放射治疗与加温疗法对荷 VX₂ 瘤动物细胞因子的影响[J].临床医药实践杂志.2007(02):92-94.

[5]张洪敏,莫舒,刘晓谦等.介孔二氧化硅纳米粒在抗肿瘤药物靶向给药系统中的应用[J].中国中药杂志.2015,40(17):3450-3455.

[6]李光华.微粒给药系统在体内分布的特点及制剂研究进展[J].天津药学.2013,25(02):47-49.

[7]Li S, Zhang Y, Liu X, Tian Y, Cheng Y, Tang L, Lin H. Smart NIR-II croconaine dye-peptide for enhanced photo-sonotheranostics of hepatocellular carcinoma. *Theranostics*. 2022 Jan 1;12(1):76-86.

[8]付淑军,黄芳华,顾景凯,等.纳米药物非临床药代动力学的研究策略及关注要点[J].中国临床药理学与治疗学.2021,26(08):842-850.

[9]Alavi M, Hamidi M. Passive and active targeting in cancer therapy by liposomes and lipid nanoparticles. *Drug Metab Pers Ther*. 2019 Feb 1;34(1).

[10]Swistel AJ, Bading JR, Raaf JH, et al. Intraarterial versus intravenous adriamycin in the rabbit VX₂ tumor system[J]. *Cancer*.1984; 53: 1397-404.

[11]Prat ECentarti M, Sibille A, et al. Extracorporeal high-intensity ultrasound for VX₂ liver tumors in the rabbit[J]. *Hepatology*.1995; 21:832-6

[12]74, Okada M, Kudo S, Miyazaki O, et al. Antitumor efficacy and pharmacokinetic properties of pirarubicin upon hepatic intra-arterial injection in the rabbit VX₂ tumor model[J]. *Br J Cancer*.1995; 71:518-24.

第一作者:熊梦兰(2002-)女,汉族,湖南长沙,本科在读,临床医学专业

通讯作者:李艳辉(1980-)女,汉族,湖南衡阳,硕士,副教授,研究方向:药物新剂型与新技术

项目基金:湖南省大学生创新创业训练计划项目:湘教通[2022]-174号-4598