

^{99m}Tc 紫杉醇脂质体的抑瘤作用及体内分布研究

卫凤英 成文彩 陈

【摘要】 目的: 观察 ^{99m}Tc 紫杉醇脂质体抑瘤作用及其体内分布, 为临床应用提供依据。方法: 采用逆相蒸发法制备紫杉醇脂质体, 小鼠艾氏癌实体型为实验肿瘤模型。经腹腔分别注入生理盐水、紫杉醇注射液和紫杉醇脂质体, 观察抑瘤率和体重变化率; 经尾静脉分别注入 ^{99m}Tc -紫杉醇脂质体和 $^{99m}\text{TcO}_4^-$ 洗脱液观察体内分布情况。结果: 紫杉醇脂质体与紫杉醇注射液两组抑瘤率差异无显著性; 同生理盐水组相比, 紫杉醇脂质体组的体重变化率无统计学意义, 紫杉醇注射液组体重变化率有统计学意义, 两组体重变化差异有显著性; ^{99m}Tc -紫杉醇脂质体主要分布于肝脾, 同对照组相比, 差异有显著性。结论: 紫杉醇脂质体与紫杉醇注射液有相同的抗瘤活性, 且降低了药物毒副作用。 ^{99m}Tc -紫杉醇脂质体主要分布于肝脾, 对肿瘤无靶向性。

【关键词】 紫杉醇 脂质体 显像 分布

Studies of ^{99m}Tc -paclitaxel-liposome: antitumor effect and biodistribution Wei Fengying, Cheng Wencai, Chen Jing. Department of Obstetric and Gynecology, Tongji Hospital of Tongji Medical University, Wuhan 430030

【Abstract】 Purpose: To observe the antitumor activity and biodistribution of ^{99m}Tc -paclitaxel-liposome. **Methods:** Paclitaxel-liposome was prepared by reverse-phase evaporation method. Ehrlich tumor xenografts in mice were established for studies. The weight changes of the mice and tumors weight, after injection of saline, paclitaxel, paclitaxel liposome via i. p., were analyzed. ^{99m}Tc labeled paclitaxel liposome and $^{99m}\text{TcO}_4^-$ solution was injected through tail vein into the mice. Biodistribution was investigated under SPECT after 2hr, and the uptake rates of tumor, liver, spleen and lung were calculated. **Results:** The difference in antitumor activity between the free and liposomal paclitaxel was not statistically significant, but weight changes were statistically significant. A high uptake was found in the liver and spleen. **Conclusion:** Free and liposomal paclitaxel showed similar antitumor effect, but the toxicity of paclitaxel liposome was lower. The accumulation of radioactive paclitaxel was mainly in liver and spleen without targeting on tumor mass.

【Key words】 Paclitaxel Liposome Imaging Biodistribution.

紫杉醇是一类新的抗癌制剂, 对难治性卵巢癌和乳腺癌等有很强的抗瘤活性。然而目前临床使用的紫杉醇制剂由于其严重的毒副反应而限制了它的使用, 脂质体作为抗癌药物载体具有能增加与癌细胞的亲和力, 克服耐药性, 提高疗效, 降低毒副作用的特点。为减少紫杉醇毒副作用而又达到明显治疗效果, 我们制备了紫杉醇脂质体, 对其抑瘤作用及体内分布进行了初步研究。

材料与方法

1. 材料、仪器及动物

药品和试剂 卵磷脂、胆固醇、20% 甘露醇和 0.9% 氯化钠注射、二氯甲烷、乙醚和氯化亚锡、紫杉醇注射液、紫杉醇晶体、硅胶 G(200~260 目)。

仪器 SK-1 型快速混匀器, RE-52C 旋转蒸发器。

SHB-④循环水式多用真空泵, CX-250 超声波清洗器, 美国 STARCAM XR/T 4000 型 SPECT 仪。

动物 清洁级雌性昆明种小鼠, 体重 18.0~21.0g, 平均 19.2g。

2. 紫杉醇脂质体的制备及其粒径大小的测定

采用逆相蒸发法制备紫杉醇脂质体^[1]。步骤如下: 称取卵磷脂 200mg, 胆固醇 50mg, 紫杉醇 4mg, 置于 50ml 圆底烧瓶中, 加入有机溶剂(二氯甲烷: 乙醚=1:1(V/V) 6ml 溶解; 将烧瓶置于 40℃温水中, 用旋转蒸发器旋转烧瓶除去二氯甲烷和乙醚制成均匀的脂膜; 加入有机溶剂 24ml 溶解脂膜, 加入 20% 甘露醇 1.0ml 及 0.9% 氯化钠 8.0ml, 用混匀器混匀溶液, 用水浴式超声波超声处理溶液使成乳状; 将烧瓶置于 40℃温水中, 用旋转蒸发器旋转烧瓶除去二氯甲烷和乙醚, 即得紫杉醇脂质体水悬液。将脂质体用磷钨酸负染后滴在有支持膜的铜网上, 干燥后用 JEM-200 透射电镜观察并摄影^[2], 测定脂质体的粒径为 0.3~0.5 μm 。

表 1 紫杉醇和紫杉醇脂质体对小鼠艾氏癌实体型的抑制作用结果

组别	剂量 (mg/kg)	给药 途径	动物数 (始/末)	瘤重(g) ($\bar{X} \pm \text{sd}$)	抑瘤率 (%)	P 值
A	0.2ml	i. p $\times$ 8	10/ 10	1. 12 $\pm$ 0. 23	—	—
B	5	i. p $\times$ 8	10/ 10	0. 70 $\pm$ 0. 25	36. 86	< 0. 01
C	5	i. p $\times$ 8	10/ 10	0. 75 $\pm$ 0. 31	32. 47	< 0. 01

表 2 紫杉醇和紫杉醇脂质体对荷艾氏癌小鼠体重的影响结果

组别	剂量 (mg/kg)	给药 途径	动物数 (始/末)	平均体重(g) 开始 结束		体重变化率(%)	P 值
A	0.2ml	i. p. $\times$ 8	10/ 10	19. 25	24. 33	26. 39	—
B	5	i. p. $\times$ 8	10/ 10	19. 17	21. 33	11. 24	< 0. 01
C	5	i. p. $\times$ 8	10/ 10	19. 22	23. 47	22. 11	> 0. 05

表 3 $^{99\text{m}}\text{TcO}_4^-$ 洗脱液和 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -紫杉醇脂质体体内分布

组别	肝($\bar{X} \pm \text{sd}$)	脾($\bar{X} \pm \text{sd}$)	肺($\bar{X} \pm \text{sd}$)	肿瘤($\bar{X} \pm \text{sd}$)
A	0. 037 $\pm$ 0. 022	0. 008 $\pm$ 0. 005	0. 009 $\pm$ 0. 012	0. 019 $\pm$ 0. 009
B	0. 166 $\pm$ 0. 055	0. 035 $\pm$ 0. 003	0. 005 $\pm$ 0. 005	0. 013 $\pm$ 0. 007
P 值	< 0. 01	< 0. 01	> 0. 05	> 0. 05

注:A 代表 $^{99\text{m}}\text{TcO}_4^-$ 洗脱液组,B 代表 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -紫杉醇脂质体组

3. 紫杉醇脂质体的标记及其放射化学纯度的测定^[2]

室温下,取氯化亚锡冻干品 2mg,先后加入等体积的 $^{99\text{m}}\text{TcO}_4^-$ 洗脱液和紫杉醇脂质体,充分振摇 1min,静置 15min,即可备用。采用硅胶薄板层析法对其放射化学纯度进行测定,展开剂为正丁醇 冰醋酸 水= 4: 1 : 1(V/V),层析后用 SPECT 分段测其放射性, $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -紫杉醇脂质体留在原点。紫杉醇脂质体的标记率为 99. 78%,游离 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 的 Rf 值为 0. 85。

4. 抑瘤试验

参考方法^[3]建立小鼠艾氏癌实体型模型,小鼠艾氏癌腹水型模型购自同济医科大学药学院药物研究室,接种成功率为 100%。接种后随机分 3 组,每组 10 只,按 5mg/kg 腹腔给药,从接种后 24h 开始,连续 8 天,A 为对照组,注入生理盐水 0. 2ml,B 组和 C 组为实验组,分别注射紫杉醇注射液和紫杉醇脂质体,观察 10 天,处死小鼠称体重,取出肿瘤组织称重。

5. $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -紫杉醇脂质体体内分布试验

取接种艾氏癌实体型后 10 天小鼠 12 只,分 2 组,分别尾静脉注射 0. 2ml(300uci) $^{99\text{m}}\text{TcO}_4^-$ 洗脱液和 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -

紫杉醇脂质体,2h 后处死小鼠,在 SPECT 下全身总计数及小鼠各脏器总计数,计算各脏器总计数占全身总计数的百分比。

结 果

1. 抑瘤试验

从表 1 可看到,B 组抑瘤率为 36. 86%,C 组抑瘤率为 32. 47%,用 A 组相比,差异均有极显著性 ($P < 0. 01$),B 组与 C 组抑瘤率差异无显著性 ($P > 0. 05$);从表 2 可看到,A、B、C 组体重变化率分别为 26. 39%,11. 24%和 22. 11%,同 A 组相比,B 组体重变化率有极显著性差异 ($P < 0. 01$),C 组体重变化率无差异 ($P > 0. 05$),B 组和 C 组体重变化差异有显著性 ($P < 0. 05$)。

2. 体内分布

从表 3 可看到,同 $^{99\text{m}}\text{TcO}_4^-$ 洗脱液相比, $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -紫杉醇脂质体主要在肝脾显像,且差异有极显著性,两组肺脏和肿瘤分布无差异。

讨 论

脂质体作为抗癌药物载体,能降低药物毒性,提高疗效。本文报道的紫杉醇脂质体的研究表明,紫杉醇脂质体对艾氏癌实体型有抑制作用,与紫杉醇注射液有相同的抗癌活性,且降低了药物的毒副反应。Sharma A 等^[4]研究了紫杉醇脂质体和紫杉醇注射液对人卵巢移植瘤(A121a)的抗癌效果,发现在同一剂量水平,两者抗癌活性相同,且脂质体制剂的最大耐受剂量高于紫杉醇注射液,提示前者毒性低于后者,与实验结果一致。

Izumi OU 等报道^[5],由富含胆固醇和硬性磷脂的小脂质体(直径 80nm)对肿瘤的亲和力增强,并认为放射性标记脂质体制剂作为肿瘤显像剂有临床实用价值,一是可检出各种肿瘤的原发灶和转移灶,二是使特异性肿瘤显像,如脂质体组装特异性肿瘤抗体,那么脂质体将在特异性肿瘤中高度聚积,这对放疗也是有价值的,因为原则上脂质体能够被任何核素标记,在肿瘤高度聚积的放射性核素发挥放疗作用。本研究显示,两组肿瘤组织中放射性聚积无差异,对肿瘤无靶向性,这可能与脂质体的膜材、粒径大小有关,有待于通过对脂质体进行修饰、改变给药途径等方法以增加靶向性作进一步研究。

脂质体对网状内皮系统有很强的亲和力,尤其是肝脾淋巴结等。Mayhew EG 等报道^[6],用脂质体包封

阿霉素后,可显著增加阿霉素对肝脏的靶向性,使 85%~90% 的药物被在单核巨噬细胞系统释放,阿霉素脂质体的毒性较游离阿霉素降低 50%~70%,其抗癌活性高得多,多次给药可显著抑制肝肿瘤的生长和转移。本实验利用脂质体对网状内皮系统的被动靶向性,制备^{99m}Tc-紫杉醇脂质体进行艾氏癌小鼠体内放射性分布研究,显示^{99m}Tc-紫杉醇脂质体主要聚集于肝脾,可以推测这将对肝脏原发性肿瘤及肿瘤肝脾淋巴结转移的治疗和随访有重大意义,有待进一步研究证实。

参考文献

- 1 Koketsu M, Suzuki K, Yotsuyanagi T, et al. Studies of succinate dehydrogenase inhibition (SDI) test with cisplatin encapsulated liposome against cancer cells. *Acta Otolaryngol Suppl (Stockh)*, 1996, 25: 120-124.
- 2 顾学裘. 中国多相脂质体研究. 北京: 中国医药科技出版社, 1991. 87-286.
- 3 徐叔云. 药理实验方法学. 北京: 人民卫生出版社, 1982. 1126.
- 4 Sharma A, Mayhew E, Bolcsak L, et al. Activity of paclitaxel liposome formulations against human ovarian tumor xenografts. *Int J Cancer*, 1997, 71: 103-107.
- 5 Izumi OU, Toru S, Shuji K, et al. Optimal radiolabeled liposomes for tumor imaging. *J Nucl Med*, 1996, 37(2): 326-332.
- 6 Mayhew EG, Goldrosen MH, Vaage J, et al. Effect of liposome-entrapped doxorubicin on liver metastases of mouse colon carcinomas 26 and 38. *JNCI*, 1987, 78: 707-712.

(1998-11-16 收稿)