

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2019.02.003
文章编号: 1005-8982 (2019) 02-0014-04

白芨多糖载纳米粒对肝癌小鼠 抗肿瘤活性的实验研究*

万芳, 张冕, 李瑶瑶

(荆楚理工学院 化工与药学院, 湖北 荆门 448000)

摘要: 目的 研究白芨多糖载纳米粒对肝癌小鼠的抗肿瘤活性。**方法** 选择60只健康雌性ICR小鼠, 复制小鼠肝癌的实体瘤模型, 随机分成A、B、C3组, 每组20只。其中, A组注射生理盐水, B组注射紫杉醇溶液, C组注射白芨多糖为载体的紫杉醇纳米粒。连续给药2周后处死各组小鼠, 解剖得到肝癌肿瘤, 比较各组小鼠的瘤重、瘤体积、抑瘤率、肝脏指数、脾脏指数、胸腺指数等抗肿瘤活性指标。**结果** ①与A组相比, B、C组小鼠的瘤重、瘤体积变小, 且C组变小幅度大于B组 ($P < 0.05$)。以A组为参照, B组小鼠抑瘤率为16.86%、C组抑瘤率为45.84%, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 表明白芨多糖载体的紫杉醇纳米粒有较高的抗肿瘤活性。②与A组相比, B、C组小鼠肝脏指数降低, 且C组降低幅度更大 ($P < 0.05$); 脾脏指数、胸腺指数升高, 且C组升高幅度大于B组 ($P < 0.05$)。**结论** 以白芨多糖为载体制备的紫杉醇纳米粒对肝癌有较强的抗肿瘤活性, 可减小肝癌小鼠的瘤重、瘤体积, 提高抑瘤率, 改善携瘤小鼠的肝脏指数、脾脏指数、胸腺指数。白芨多糖可作为难溶性药物载体, 有较高的临床应用价值。

关键词: 肝肿瘤; 白芨多糖 / 多糖类; 紫杉醇 / 抗肿瘤药; 纳米粒; 抗肿瘤联合化疗方案; 小鼠
中图分类号: R735.7 **文献标识码:** A

Antitumor activity of *Bletilla striata* polysaccharide-loaded nanoparticles on liver cancer in mice*

Fang Wan, Mian Zhang, Yao-yao Li

(College of Chemical Engineering and Pharmacy, Jingchu University of Technology, Jingmen, Hubei 448000, China)

Abstract: Objective To observe the antitumor activity of *Bletilla striata* polysaccharide-loaded nanoparticles on liver cancer in mice. **Methods** Sixty healthy female ICR mice were selected to establish the solid tumor models of liver cancer in mice. They were randomly divided into groups A, B and C, with 20 mice in each group. The mice in the group A were injected with normal saline, the mice in the group B were injected with Paclitaxel solution and those in the group C were injected with *Bletilla striata* polysaccharide-carried Paclitaxel nanoparticles. After 2 weeks of continuous administration, the mice were killed and the mass of liver cancer was dissected. The tumor weight, tumor volume, tumor suppressor rate, liver index, spleen index, thymus index and other antitumor activity indexes were compared among the groups. **Results** Compared with the group A, tumor weight and tumor volume of the group B and the group C decreased, while those in the group C decreased more significantly ($P < 0.05$). Taking the group A as a reference, the inhibition rate was 16.86% in the group B and 45.84% in the group C, indicating that Paclitaxel nanoparticles in *Bletilla striata* polysaccharide carrier had higher antitumor activity. Compared with the group A, the liver index of the groups B and C decreased, and that in the group C decreased more ($P < 0.05$), the spleen index and the thymus index increased, and the increases in the group C were greater than those in the group B ($P < 0.05$). **Conclusions** The Paclitaxel nanoparticles prepared with *Bletilla striata* polysaccharide have strong antitumor activity in mice with liver cancer. It can reduce the tumor weight and tumor volume, increase the tumor

收稿日期: 2018-07-05

* 基金项目: 湖北省教育厅科学技术研究项目 (No: Q20174302); 荆楚理工院校级科研基金 (No: QN201602)

suppressor rate, and improve the liver index, spleen index and thymus index of the mice. It indicates that *Bletilla striata* polysaccharide can be used as insoluble drug carrier and has high clinical application value.

Keywords: liver neoplasms; polysaccharide b, *Bletilla striata*; Paclitaxel; nanoparticles; antineoplastic combined chemotherapy protocols; mice

白芨多糖为一种新型葡萄甘露聚糖,有抗凝血、抗感染、抗肿瘤及促进伤口愈合等作用^[1]。此外,其还具有缓释性、良好的生物相容性及自身降解性等特点,可作为各种形式的载药辅料和生物修复材料^[2]。纳米抗肿瘤药物可以使药物集中在肿瘤区域发挥作用^[3]。紫杉醇已应用于肝癌、肺癌、乳腺癌等恶性肿瘤^[4]。本研究采用白芨多糖为载体制备紫杉醇纳米粒,观察其对肝癌小鼠的抗肿瘤活性。

1 材料与方 法

1.1 主要仪器与材料

1.1.1 仪器 BX-51型光学显微镜(日本奥林巴斯公司),MDF-40型超低温冰箱(合肥中科都菱公司),DL-5000B高速冷冻离心机(上海安亭科学仪器厂),DS-8510DT超声波清洗仪(上海生析超声仪器有限公司),ME-204电子分析天平(美国Mettler Toledo公司)。

1.1.2 材料 ICR雌性小鼠60只取自荆楚理工学院实验动物中心,鼠龄6~8周,体重20~25g,平均 (23.21 ± 1.97) g。H22肝癌细胞(中国科学院上海细胞生物学研究所),紫杉醇原料药(湖南华江药业有限公司),白芨多糖紫杉醇纳米粒(自制)。

1.2 动物模型的复制

取1只小鼠在腹腔种植H22肝癌细胞,1周后处死小鼠,抽取腹水,离心取上清液,加入10倍生理盐水稀释,光学显微镜下计数并配置成 1×10^8 个/ml细胞混悬液,于低温冰箱中保存备用。量取制备的细胞混悬液0.2ml接种到60只小鼠的右腋下,得到小鼠肝癌实体瘤动物模型。

1.3 实验分组

将复制成功的60只小鼠分为A、B、C3组,每组20只。其中,A组小鼠经尾椎静脉注射0.25ml生理盐水;B组小鼠给予紫杉醇溶液0.25ml,配置方法为紫杉醇原料药+5%二甲基亚砷+95%生理盐水溶解,同样经小鼠尾椎静脉注射给药,给药剂量为10mg/kg;C组小鼠给予白芨多糖为载体的紫杉醇纳米粒注射用药,将紫杉醇纳米粒溶解在0.25ml生理盐水中,经尾椎静脉注射给药,给药剂量为10mg/kg。

3组小鼠注射1次/d,连续给药2周后进行抗肿瘤活性分析。

1.4 评价方法

给药后2周时处死3组小鼠,解剖并剥离肿瘤,测量瘤体重量和体积,计算B、C组小鼠的抑瘤率,抑瘤率 $= (\text{生理盐水组小鼠平均瘤体重量} - \text{给药组小鼠平均瘤体重量}) / \text{生理盐水组小鼠平均瘤体重量} \times 100\%$ 。同时剥离小鼠的肝脏、脾脏、胸腺组织并称重,计算小鼠的肝脏指数、脾脏指数、胸腺指数,肝脏指数 $= \text{肝脏重量}(\text{mg}) / \text{小鼠体重}(\text{g}) \times 10$,脾脏指数 $= \text{脾脏重量}(\text{mg}) / \text{小鼠体重}(\text{g}) \times 10$,胸腺指数 $= \text{胸腺重量}(\text{mg}) / \text{小鼠体重}(\text{g}) \times 10$ 。

1.5 统计学方法

数据分析采用SPSS 21.0统计软件,计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,比较用方差分析,进一步两两比较用LSD-*t*检验;计数资料以率表示,比较用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3组小鼠的瘤重、瘤体积、抑瘤率比较

3组小鼠的瘤重、瘤体积比较,经方差分析,差异有统计学意义($P < 0.05$)。进一步两两比较经LSD-*t*检验,与A组相比,B、C组小鼠的瘤重、瘤体积减小,且C组减小幅度大于B组($P < 0.05$)。以A组为参照,B组小鼠抑瘤率为16.86%、C组抑瘤率为45.84%,经 χ^2 检验,差异有统计学意义($\chi^2=7.587$, $P=0.010$),表明白芨多糖载体的紫杉醇纳米粒有较高的抗肿瘤活性。见表1。

2.2 3组小鼠的肝脏指数、脾脏指数、胸腺指数比较

3组小鼠的肝脏指数、脾脏指数、胸腺指数比较,经方差分析,差异有统计学意义($P < 0.05$)。进一步两两比较经LSD-*t*检验,与A组相比,B、C组小鼠肝脏指数降低,且C组降低幅度更大($P < 0.05$);脾脏指数、胸腺指数升高,且C组升高幅度大于B组($P < 0.05$),提示白芨多糖为载体的紫杉醇纳米粒对肝癌细胞的抑制作用更强,并能调节免疫功能。见表2。

表 1 3 组小鼠的瘤重、瘤体积比较

(n=20, $\bar{x} \pm s$)

组别	瘤重/mg	瘤体积/cm ³
A 组	21.24 ± 5.39	4.21 ± 1.29
B 组	15.02 ± 4.38	3.40 ± 0.83
C 组	8.90 ± 3.71	2.28 ± 0.68
F 值	17.093	8.762
P 值	0.000	0.000

表 2 3 组小鼠的肝脏指数、脾脏指数、胸腺指数比较

(n=20, $\bar{x} \pm s$)

组别	肝脏指数	脾脏指数	胸腺指数
A 组	6.91 ± 0.89	3.02 ± 0.57	1.01 ± 0.43
B 组	5.27 ± 0.76	4.09 ± 0.62	1.81 ± 0.53
C 组	4.01 ± 0.62	6.27 ± 0.85	2.54 ± 0.69
F 值	9.628	13.563	8.396
P 值	0.000	0.000	0.000

3 讨论

白芨多糖是兰科药用植物白芨中提取的一种天然多糖类物质,在分子结构上是由 β 葡萄糖和 β 甘露糖组成的长链分子。中药药理学研究显示,白芨多糖具有抗炎、抗病毒、抗肿瘤、促凝血、抗氧化、调节免疫等药理活性,可以发挥很好的药物活性作用^[5]。另外,白芨多糖长链的多糖结构决定其是一种性能良好的天然水凝胶,具有一定的生物黏附性和相容性,在机体内可生物降解,并有一定的亲水性,且无刺激性和毒副作用,并具有局部滞留和缓释性,可作药物载体在药物释药系统的传输过程中展现出良好的应用前景^[6-7]。肝癌是临床上最常见的恶性肿瘤,对患者的危害性巨大,对肝癌患者采用药物治疗是必不可缺的,而目前常用的肝癌化疗药物由于毒副作用较大,在杀死肿瘤细胞的同时也会对患者正常的组织细胞带来一定损伤,使患者在治疗过程中易出现严重的不良反应和副作用而影响疗效^[8]。纳米制剂的应用可以改善药物的生物利用度、水溶性,并且通过载体修饰具有靶向作用,使药物浓集于病灶处发挥局部药效,并减少对全身组织的副作用,在临床上具有显著的剂型优势,因此对抗肿瘤化疗药物采用纳米靶向给药技术,可以更好地发挥药物的治疗作用,并减轻化疗药物对全身组织的损伤,目前靶向给药技术也是抗肿瘤

药物研发的热点^[9-10]。紫杉醇是目前发现的抗肿瘤活性最好的天然抗癌药物,已广泛应用于肝癌、肺癌、乳腺癌等恶性肿瘤的治疗中,但是紫杉醇的水溶性很差,在体内的生物利用度较低,患者的全身不良反应明显,影响其在肿瘤化疗中的应用效果。为此,将紫杉醇制备出纳米制剂可以改善其在给药剂型方面的劣势^[11-12]。

本研究采用白芨多糖为药物载体材料制备紫杉醇纳米粒,通过与紫杉醇溶液比较,分析其对肝癌小鼠的抗肿瘤活性,结果显示紫杉醇纳米粒给药小鼠治疗 2 周后瘤体积、瘤重低于紫杉醇溶液小鼠,肝癌小鼠的抑瘤率提升。并且紫杉醇纳米粒给药小鼠的肝脏指数、脾脏指数、胸腺指数有改善,表明白芨多糖为载体的紫杉醇纳米粒对肝癌细胞不仅抑制作用更强,并且有调节免疫功能的作用^[13]。白芨多糖分子结构中含有大量亲水性的羟基,通过结构的修饰得到两亲性的高分子药物载体,并以此为药物载体采用透析法制备紫杉醇纳米粒,可以显著改善紫杉醇的水溶性,促进药物被吸收,提高生物利用度^[14]。另外,白芨多糖的多羟基结构还具有一定的靶向作用,使白芨多糖携带紫杉醇药物进入肝癌肿瘤细胞,集中发挥药效,从而进一步提高紫杉醇的抗肿瘤作用,减轻全身不良反应^[15]。白芨多糖还能够增强机体 T 淋巴细胞和 B 淋巴细胞的分泌功能,改善小鼠的免疫功能,使得小鼠的脾脏指数、胸腺指数提升。

综上所述,以白芨多糖为载体制备的紫杉醇纳米粒对肝癌小鼠有较强的抗肿瘤活性,可减小肝癌小鼠的瘤重、瘤体积,提高抑瘤率,改善携瘤小鼠的肝脏指数、脾脏指数、胸腺指数。白芨多糖可作为难溶性药物载体,是一种极具潜力的纳米载体材料,具有较高的临床应用价值。

参考文献:

- [1] 罗磊,杨帆,王瑶,等.白芨多糖的实验及应用研究[J].湖北中医杂志,2016,38(11):69-72.
- [2] 楼慧群.中药白芨化学成分、药理作用及临床应用研究进展[J].医药卫生:文摘版,2016,28(5):173-174.
- [3] 孔令姗.白芨多糖的提取与功效研究[D].上海:上海应用技术学院,2015.
- [4] 管清香,张广远,孙丹丹,等.白芨多糖两亲性聚合物的合成及载药纳米体系[J].高等学校化学学报,2016,37(10):1915-1920.
- [5] 董莉,董永喜,刘星星,等.白芨多糖对大鼠血小板聚集、凝血功能及 TXB₂、6-keto-PGF₁(α) 表达的影响[J].贵阳医学院

- 学报, 2014, 39(4): 238-240.
- [6] CHANG J E, CHO H J, YI E, et al. Hypocrellin B and paclitaxel-encapsulated hyaluronic acid-ceramide nanoparticles for targeted photodynamic therapy in lung cancer[J]. *Journal of Photochemistry Photobiology B Biology*, 2016, 158(2): 113-121.
- [7] 代建丽, 周斯荻, 刘铭轩, 等. 白芨多糖的抑菌作用研究 [J]. *安徽农学通报*, 2015, 21(19): 19-21.
- [8] 韩丹, 王艳萍, 毕亚静, 等. 白芨多糖提取方法的优选及其理化性质研究 [J]. *药学实践杂志*, 2013, 31(1): 35-37.
- [9] RAZI S S, REHMANI S, LI X, et al. Antitumor activity of paclitaxel is significantly enhanced by a novel proapoptotic agent in non-small cell lung cancer[J]. *Journal of Surgical Research*, 2015, 194(2): 622-630.
- [10] 洪彤彤. 疏水改性白芨多糖作为纳米药物载体的研究 [D]. 银川: 宁夏医科大学, 2014.
- [11] 成念, 赵文萃, 张琦, 等. 用疏水改性的白芨多糖制备载紫杉醇纳米粒并对其表征 [J]. *药学实践杂志*, 2017, 35(1): 48-53.
- [12] LI J A, XU X F, HAN X, et al. Nab-paclitaxel plus S-1 shows increased antitumor activity in patient-derived pancreatic cancer xenograft mouse models[J]. *Pancreas*, 2016, 45(3): 425-433.
- [13] KALEDIN V I, NIKOLIN V P, POPOVA N A, et al. Effect of paclitaxel on antitumor activity of cyclophosphamide: study on two transplanted tumors in mice[J]. *Bulletin of Experimental Biology Medicine*, 2015, 160(1): 81-83.
- [14] 张广远. 白芨多糖衍生物的制备及其作为抗癌药物多西他赛载体的研究 [D]. 长春: 吉林大学, 2017.
- [15] 赵文萃, 张琦, 刘福强, 等. 疏水改性白芨多糖自组装载紫杉醇纳米粒抗小鼠肝癌作用 [J]. *中成药*, 2017, 39(7): 1512-1514.

(童颖丹 编辑)