

外加磁场对平阳霉素磁性微球体内分布影响的实验研究

郭 军 吴汉江 张 胜

摘要 目的: 观察在外加磁场作用下, 磁性平阳霉素微球(MPMs)在体内分布情况。方法: 设定新西兰白兔头部为一靶区, 外加磁场, 经兔耳缘静脉注射MPMs, 观察MPMs在体内分布情况。并观察外加磁场强度及时间对微球在靶区定位的影响。结果: 经外加磁场作用下的MPMs有较好的靶向分布性, 且与外加磁场作用的时间、强度相平行。结论: MPMs可能是治疗海绵状血管瘤的较为理想剂型。
关键词 磁场 微球 定位分布 海绵状血管瘤

目前负载抗癌药物的磁性微球靶向治疗技术已成为恶性肿瘤治疗的一个方向^{1,2}。通过靶向给药, 可在瘤区达到理想药物治疗浓度, 而同时减少全身用药剂量, 降低全身毒副反应。基于上述原因, 作者制备了磁性平阳霉素药物微球(magnetic-bearing microspheres, MPMs), 以^{99m}Tc标记, ECT摄像, 观察临床上常用的海绵状血管瘤治疗药物平阳霉素随磁性微球在外磁场作用下, 于靶区定位分布情况, 探讨磁性微球靶向治疗技术, 在海绵状血管瘤局部治疗中应用的可行性。

1 材料和方法

1.1 材料

超微Fe₃O₄粉(中南工业大学粉末冶金研究所)、永磁铁(中南工业大学粉末冶金研究所)、平阳霉素(河北制药厂)、药用明胶(上海明胶厂)、SnCl₂·H₂O(Signa公司)、ECT(Smons, 德国)、新西兰白兔36只。

1.2 方法

1.2.1 MPMs制备 将明胶与Fe₃O₄粉以2:1混匀, 于55℃水浴中溶解后加入平阳霉素, 在振荡器中充分混制成A液; 适量液体石蜡和Span 85混合形成B液。在55℃水浴中, 搅拌速度为1800 r/min条件下, 将A液滴加于B液中, 乳化10 min后改为冰浴, 搅拌1 h, 滴加适量甲醛, 继续搅拌1 h后加入适量异丙醇, 再继续搅拌10 min, 过滤, 用无水乙醚、丙酮各洗7次, 真空干燥, 筛分称重分装, 压盖,⁶⁰Co灭菌。取MPMs 5 mg, 混悬于1 ml乙醚中, 分别于光镜及扫描电镜下观察其形态结构, 测量一个视野中微球的直径范围, 计算其平均直径。

1.2.2 MPMs^{99m}Tc标记 称取MPMs 100 mg依次加入7.4 × 10⁸ Bq(20 mCi)^{99m}TcO₄新鲜淋洗液2 ml和SnCl₂溶

液(30 μg/ml)100 μl(作为还原剂), 室温下振动10 min。离心去上清液, 再用生理盐水洗涤游离的^{99m}TcO₄, 离心, 去除上清液, 如此重复3次, 测定同位素标记率。每隔1 h, 以生理盐水洗涤MPMs, 去上清液后, 行^{99m}Tc含量测定, 观察^{99m}Tc标记物衰减情况。

1.2.3 MPMs在新西兰白兔体内分布实验 取2组新西兰白兔, 每组6只, 实验组以100 mg MPMs溶于2 ml生理盐水, 经兔耳缘静脉缓慢注射, 并在兔头部加磁场(0.25 T)30 min, 对照组注射同样药物, 但不加磁场。分别以ECT摄全身像并计^{99m}Tc标记放射性活度在体内分布情况。再取两组新西兰白兔, 每组6只, 在注药后分别在头部加磁场(0.25 T), 持续30 min和60 min。待撤去磁场30 min后, 以ECT摄像并分别计体内各器官放射性活度(cpm)前后改变情况。给药方式同上, 分别在兔头部加磁场, 磁通量密度为0.25 T和0.125 T, 30 min后以ECT摄像并计数。观察不同磁通量密度下体内各器官放射性活度分布情况。

2 结 果

本实验中^{99m}Tc标记率为30%, 半衰期约6 h。制得的MPMs呈黑褐色粉末状, 光镜下观察其为圆形物, 中央透明, 并混有黑色铁粉颗粒。扫描电镜下观察其呈球形, 表面光滑, 粒径4.74~66.33 μm, 平均直径为32.23 μm。

各组动物注药后呼吸平稳, 无异常反应, 观察3个月均未死亡。未加磁场时, 放射性活度在体内分布分别为: 头部4.76 ± 1.52(%), 心肺71.70 ± 3.21(%), 肾4.40 ± 0.32(%), 膀胱6.19 ± 1.25

本课题由卫生部科学基金资助(编号94-2-084)
作者单位: 410011 湖南医科大学第二临床学院口腔颌面外科

(%)。外加磁场后,其分布为:头部 67.69 ± 2.75 (%),心肺 13.85 ± 3.45 (%),肾 4.10 ± 0.82 (%),膀胱 5.40 ± 1.41 (%)。在靶部位(头部加磁场的放射性活度分布是未加磁场的 14 倍,而未加磁场时放射性活度主要聚集在心肺部位(图 1, 2)。

外加磁场 30 min, 过 0.5 h 测定放射性活度,发现其已由靶区向心肺部转移,头部相应减少。而外加磁场 60 min, 过 0.5 h 测定,显示撤离磁场前后,各器官放射性活度改变较少(图 3)。外加 0.25 T 磁场后头部放射性活度分布是外加 0.125 T 磁场组的 1.5 倍,显示外加磁通量密度越大,靶部位的放射性活度越高(图 4)。

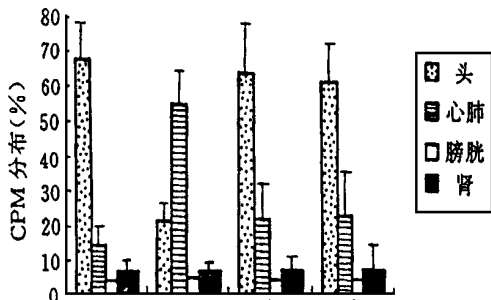


图 3 外加磁场作用时间对放射性活度在体内分布的影响
1 外加磁场 30 min, 撤除磁场前, 2 外加磁场 30 min, 撤除磁场 30 min 后, 3 外加磁场 60 min, 撤除磁场前, 4 外加磁场 60 min, 撤除磁场 30 min 后

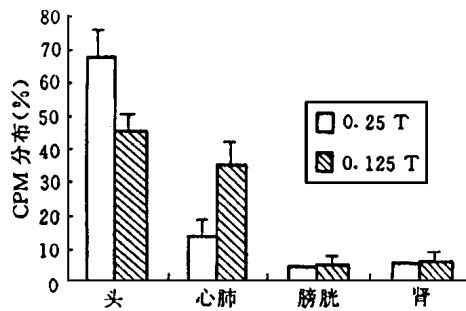


图 4 磁通量密度对放射性活度在体内分布的影响

3 讨 论

自 W idder 等³ 提出磁控靶向药物传递系统的概念以来,磁性微球的研究已成为目前药物新型制剂领域中较热门的课题,其方法是将磁性材料(如 Fe_3O_4)、骨架材料以及负载的药物集合在一起,通过磁控靶向技术,将微球聚集在靶区,通过药物的缓释作用,延长对局部瘤体组织的作用,并减轻全身毒副作用。新西兰白兔头部血循环丰富,因此本实验选择其作为磁控给药的靶区,以模拟海绵状血管瘤区域靶向给药后,磁性微球在瘤体内及机体其

它部位的分布情况。实验结果显示:经外加磁场作用下的 M P M s 有较好的靶向分布性,且与外加磁场作用的时间及磁通量密度相平行。外加磁场 60 min, 撤离磁场前后分别测靶区的放射性活度结果改变较少。可能与靶区因 M P M s 所致局部血栓形成有关。靶区放射性活度与外加磁通量密度相平行,提示在不导致动物或人体生理紊乱前提下,为达满意的作用效果,可适当加大磁通量密度。本实验设计了两极闭路式磁场,可在 0.05~ 0.25 T 之间任意调节,以供实验选用。

本实验中 M P M s 同位素标记按吴传斌等⁴ 报道的方法进行,标记率为 30%,不是很高,但完全能符合动物实验和临床用药的剂量,而且标记的微球稳定。此外,由 ^{99m}Tc 标记的微球放射活性的半衰期约为 6 h,与其它放射性元素相比,相对较短,且放射毒性较低,来源广泛,污染物易于处理。因此,此方法易于推广。

实验表明,加磁场时,微球主要集中在靶部位(头部),而不加磁场时微球主要集中在肺部,证明 ^{99m}Tc 与 M P M s 紧密结合,故外加磁场能改变其体内分布。同时也说明 M P M s 具有被动靶向心肺部的特性,这可能与平阳霉素能导致特异性肺部损伤有关⁵。提示如在临床上采用 M P M s 靶向治疗技术,由平阳霉素导致的肺部纤维化等并发症可大为减少。

本实验未做 M P M s 体内毒性试验,但实验中动物生命体征无明显变化,短期(3 个月内)均未死亡。王平康等⁶ 采用磁性微球负载抗癌药导向疗法治疗 58 例消化系统恶性肿瘤患者,认为其最显著特点是毒副作用小,对造血系统、心肝肺肾等无明显影响。因此,磁性药物微球可能是一种较为理想的剂型。

综上所述, M P M s 在外加磁场下,具有极佳的靶向分布性,海绵状血管瘤由于具有丰富的迂曲分布的血窦⁷,与实体瘤相比,将微球经局部注射后具有更佳的磁响应性,因此,在理论上疗效更佳。将磁性微球技术用于口腔颌面部海绵状血管瘤的治疗,可延长药物在瘤内停留时间,提高瘤内药物浓度,减少药物流失和对全身其它器官的毒副作用。因此,作者认为 M P M s 在海绵状血管瘤的治疗具有很大的应用前景。

(本文图 1, 2 见中心插页 10)

4 参考文献

1 Sako M. Cancer therapy by ferromagnetic microem-bolization. *J Jpn Soc Cancer Ther*, 1983, 18(1): 92~ 96

2 陈 骥 磁性微球载体——抗癌药氟尿嘧啶新剂型 *中国药学报*, 1983, 12(4): 273

3 W idder K, Fburert G. M agnetic microspheres: Synthesis of a novel parenteral drug carrier. *J Pham Sci*, 1979, 68(1): 79~ 83

4 吴传斌, 赵延乐, 何素梅 磁性明胶微球体内分布实验研究 *药学报*, 1993, 28(3): 462~ 468

5 甄永芬, 李电东, 林赴田 争光霉素A5 和争光霉素A2 的抗肿瘤作用及毒性研究 *药学报*, 1979, 14(1): 83~ 85

6 王平康, 袁青禄, 赵 玲. 磁性载体导向疗法治疗消化系统恶性肿瘤的临床研究 *肿瘤防治研究*, 1993, 20(1): 45~ 46

7 Rose JL, Pupp JB. Cavemous Hemangioma. *J Am Podiate Med A ssoc*, 1985, 75(10): 5~ 8
(1998-08-21 收稿, 1999-03-15 修回)

Studies on Distribution of Magnetic-bearing Microspheres in Rabbits

Guo Jun, Wu Hanjiang, Zhang Sheng

Department of Stomatology, the Second Affiliated Hospital, Hunan Medical University

Abstract

Objective: To evaluate the distribution of magnetic-bearing microspheres (M P M s) in rabbits. **Methods:** The distribution of intravenously injected ^{99m}Tc-labelled M P M s in rabbits at different intervals of magnetic field applied and different magnetic field intensity was investigated by using an externally applied magnetic field and measuring the radio-activity at the rabbit head and other organs. **Results:** M P M s have the properties of targeted distribution, as positive correlation between targetic radio-activity and times and intensity of magnetic field. **Conclusion:** M P M s may be better used in the therapy of cavernous hemangioma.

Key words: magnetic field microsphere cavernous hemangioma

(上接第 209 页)

4 Linberg K, Rheinwald JG. Suprabasal 40 kD keratin (K19) expression as an immunohistologic marker of premalignancy in oral epithelium. *Am J Pathol*, 1989, 134(1): 89~ 98

5 Schulz J, Emich T, Kasper M, et al. Cytokeratin pattern of clinically intact and pathologically changed oral mucosa. *Int J Oral Maxillofac Surg*, 1992, 21(1): 35~ 39

6 Heikinheimo K, Sandberg M, Happonen RP, et al. Cytoskeletal gene expression in normal and neoplastic human odontogenic epithelia. *Laboratory Investigation*, 1991, 65(6): 688~ 701
(1999-01-27 收稿)

Changes of Simple Epithelial Cytokeratin During Oral Carcinogenesis

Nie Minhui, Li Bingqi, Zeng Guangming, et al

College of Stomatology, West China University of Medical Sciences

Abstract

Objective: To investigate whether the simple epithelial cytokeratin CK18 and CK19 can be used as a marker of oral precancerous lesions. **Methods:** Formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections of normal oral mucosa, epithelial hyperplasia, mild epithelial dysplasia, moderate epithelial dysplasia, severe epithelial dysplasia and oral squamous cell carcinoma were stained with a CK18-specific antibody and CK19-specific antibody respectively by LSAB immunohistochemical method. The stained sections were observed under light microscopy. The results were described and analyzed with Rank Sum Test. **Results:** CK18 was not detected in normal and abnormal oral tissue sections. But in normal nonkeratinized mucosa, CK19 was detected in the basal cell layer dispersively. In epithelial dysplasia, CK19 was detected in the suprabasal cell layer and the number of CK19-positive cell layers was correlated with the dysplasia degree of epithelia. Furthermore, CK19 was detected in oral squamous cell carcinoma, especially in the poor-differentiated cancer cells. **Conclusion:** CK19 expression in suprabasal cell layer of oral mucosa can be used as a candidate marker for diagnosis of oral precancerous lesions and determination of the differentiation level of oral squamous cell carcinoma.

Key words: oral cavity precancerous lesion cytokeratin

细胞凋亡与bcl-2基因在颞颌关节发育中的作用

(正文见第205页)

- 图1 胎鼠(E19)髁状突增殖层软骨细胞
PCD × 200
- 图2 胎鼠(E14)髁状突浅肥厚层软骨细胞
PCD × 200
- 图3 胎鼠(E14)髁状突近关节腔形成处
软骨细胞PCD明显 × 200

单层上皮细胞角蛋白 在口腔粘膜癌变过程中的表达

(正文见第208页)

- 图1 CK19表达于正常颊粘膜的基底层 × 10
- 图2 CK19表达于中度上皮异常增生的基底上层和基底层 × 20
- 图3 CK19表达于口腔癌癌细胞中 × 40

外加磁场对平阳霉素磁性微球 体内分布影响的实验研究

(正文见第218页)

不同酸处理根面的组织学比较

(正文见第230页)

- 图1 CT处理组, 术后3d根面见线状嗜伊红无定形物(→), D 植入的牙片
HE × 150
- 图2 HA处理组, 术后3d牙片周围可见大量多形核白细胞 HE × 150
- 图3 术后14~28d, TC处理组根面见不伴吸收的骨性结合 HE × 150

- 图1 未加磁场时新西兰白兔体内放射性活度分布
H=4.76%, H+L=71.07%, K=4.40%, B=6.19%
- 图2 外加磁场后新西兰白兔体内放射性活度分布
H=67.69%, H+L=13.85%, K=4.1%, B=5.4%