科 学 通 报
第 38 卷 第 4 期 CHINESE SCIENCE BULLETIN 1993 年 2 月

对液晶态亚油酸多相脂质体抗癌机理的研究*

孙润广 王德华 张 静① 戴正华 王子浩
(陕西师范大学实验中心,西安 710062;①西安化工研究所,西安 710002)

关键词 液晶态、多相脂质体、片层六角相、片层立方相、亚油酸

脂质体作为抗癌药物载体的研究近来已引起人们关注. 目前对其抗癌药物的合成及其抗癌活性实验,主要靠动物筛选实验为依据[1]. 但对其抗癌活性的机理尚不清楚. 我们用 SAXS 法和 ^{31}P-NMR 谱技术研究了亚油酸多相脂质体液晶态的结构, 并探讨了这种结构在抑制甚至扭转癌膜不可逆相变过程中可能具有的生物学意义. 进而从结构和功能上阐明液晶态亚油酸多相脂质体抗癌活性的机理.

1 材料与方法

1.1 材料

亚油酸 (linoleic acid, AR), 胆固醇 (cholesterol, AR), 磷脂酰乙醇胺 (phosphatidylethanolamine, 缩写 PE, 上海生化试剂厂产品), 非离子表面活性剂 (non-ion surface active agentphophate), 高效分散剂 (high-efficiencg disperser, 注射用), Na_2HPO_4(AR), NaH_2PO_4(AR), 乙醚 (ether, AR).

1.2 方法

1.2.1 脂质体的制备 按照 Deamer 方法制备[2]. 脂质体的组分列表如下:

表 1 多相脂质体的组份a)

编 号	名 称	组 分
样品 A	PE 脂质体	PE, PVP、PBS
样品 B	空白脂质体	PE, 胆固醇、PVP、PBS
样品 C	亚油酸脂质体 (I)	PE、胆固醇、亚油酸、PVP、PBS
样品 D	亚油酸脂质体 (II)	PE、胆固醇、亚油酸、非离子表面活性剂、PVP、PBS

a) PVP 为高效分散剂,选用聚乙烯吡咯烷酮、PBS 为磷酸缓冲液.

1.2.2 SAXS 图谱测定 SAXS 图谱是在日本理学 D/max-γB 型旋转阳极 X 射线衍射仪小角散射附件上测得. 样品的制备和测试方法按文献[3]进行.

1992-02-25 收稿,1992-08-04 收修改稿.
* 国家自然科学基金资助项目.

1.2.3 ^{31}P-NMR 谱测定 ^{31}P-NMR 用德国 BRUKER AM500 核磁共振谱仪测定。测试方法按文献[4]进行。

2 实验结果

2.1 胆固醇、亚油酸对液晶态多相脂质体多层膜（multilayer membranes）结构的影响

X 射线衍射技术是研究液晶态生物膜多态性（polymoxphism）最可靠的方法之一[5]。我们研究发现，液晶态生物膜基本结构是片层状结构。但在外界因素影响下，除常见的六角相外，还存在一系列更复杂的中间相。片层六角相(用符号 LH 表示)的 Bragg 空间比率除具有二维六角形晶格特征外，还有片层状晶格特征，结构比较复杂。我们设想它的模型是脂质体形成圆柱筒，水或其它液体充满圆柱筒内外两边如图 1(f)。立方六角相(用符号 CH 表示)的 Bragg 空间关系比率除具有二维六角形晶格特征外，还具有立方形晶格特征。晶格是用正方形代替六角形，圆柱的横截面也可能是椭圆如图 1(e)。片层立方相(用符号 LC 表示)与二维中心矩形有所不同[6]。它的 Bragg 空间比率既有片层相晶格特征，又有立方形晶格特征。其结构特点是面心立方晶格由二维矩形构成如图 1(i)。

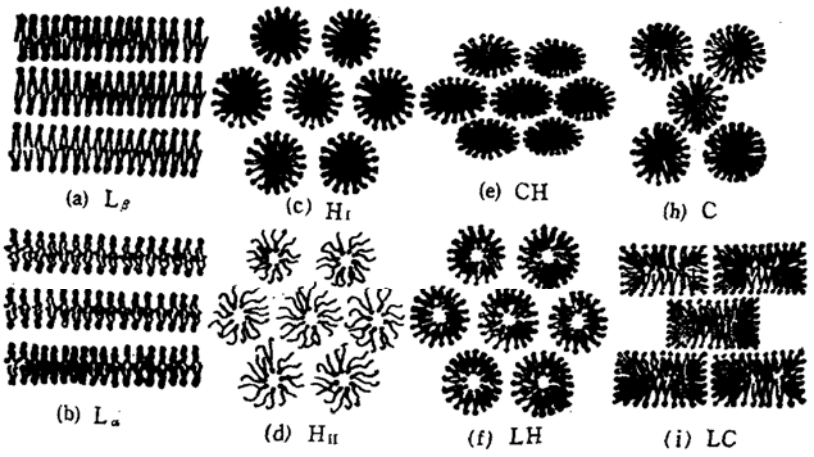


图 1 生物膜液晶态结构模型图

(a) 片层状 Lβ 相，(b) 片层状 Lα 相，(c) 六角形 H_I 相，(d) 六角形 H_{II} 相，(e) 立方六角相，(f) 片层六角相，(h) 立方相，(i) 片层立方相

胆固醇、亚油酸对 PE 多层膜影响的 SAXS 研究发现，样品A由片层六角相、立方六角相和六角形 H_{II} 相三相共存的混合相组成。样品B只有立方六角相。样品C由片层六角相和立方六角相组成。样品D由片层立方相、片层六角相组成。Bragg 关系见表 2。

2.2 胆固醇、亚油酸对液晶态多相脂质体结构多型性（pleomorphism）的影响

实验发现，样品 A 的 ^{31}P-NMR 谱(图 2-1)特征为低场峰高场肩.谱形底部较宽而顶部较锐，与六角形 H_{II} 相的 ^{31}P-NMR 谱相比[7]，在低场部位也有一较小的肩形，但形小且略低.说明该谱是由片层六角相、立方六角相和六角形 H_{II} 相三种结构谱相互叠加而成。样品B^{31}P-NMR 谱(图 2-2)的不对称性较严重，是典型立方六角形的 ^{31}P-NMR 谱。样品C和样品A相比，^{31}P-NMR 谱(图 2-3)低场部位的肩形降底，高场部位肩形抬高。说明该谱是由片层六角相和立方六角相叠加而成。样品D的 ^{31}P-NMR 谱(图 2-4)与样品C相比，低场部位

表 2　液晶态与相应的 Bragg 空间比率

编号	Bragg 空间比率	液晶态
样品 A	$183.88:103.84:88.27:72.35:59.64:50.44:38.38:33.95 \approx 1:\frac{1}{\sqrt{3}}:\frac{1}{2}:\frac{1}{\sqrt{7}}:\frac{1}{3}:\frac{1}{\sqrt{13}}:\frac{1}{5}:\frac{1}{\sqrt{31}}$	LH
	$147.11:88.27:73.35:52.54:38.38 \approx 1:\frac{1}{\sqrt{3}}:\frac{1}{2}:\frac{1}{\sqrt{7}}:\frac{1}{3}:\frac{1}{\sqrt{13}}$	LH
	$103.84:88.27:59.64:52:54:50.44:38.38 \approx 1:\sqrt{\frac{3}{4}}:\sqrt{\frac{3}{8}}:\frac{1}{\sqrt{3}}:\frac{1}{\sqrt{4}}:\frac{1}{\sqrt{7}}$	CH
	$88.27:50.44:44.13:33.95 \approx 1:\frac{1}{\sqrt{3}}:\frac{1}{\sqrt{4}}:\frac{1}{\sqrt{7}}$	H_{II}
样品 B	$160.48:100.30:91.94:78.11:58.07 \approx 1:\sqrt{\frac{3}{8}}:\frac{1}{\sqrt{3}}:\frac{1}{\sqrt{4}}:\frac{1}{\sqrt{7}}$	CH
	$147.11:91.94:78.11:73.55:55.17 \approx 1:\sqrt{\frac{3}{8}}:\sqrt{\frac{3}{11}}:\frac{1}{\sqrt{4}}:\frac{1}{\sqrt{7}}$	CH
	$119.28:100.30:73.55:65.38:58.07 \approx 1:\sqrt{\frac{3}{4}}:\sqrt{\frac{3}{8}}:\frac{1}{\sqrt{3}}:\sqrt{\frac{3}{11}}:\frac{1}{\sqrt{4}}$	CH
样品 C	$166.54:96.99:84.06:62.16:55.17 \approx 1:\frac{1}{\sqrt{3}}:\frac{1}{2}:\frac{1}{\sqrt{7}}:\frac{1}{3}$	LH
	$126.09:76.75:71.18:62.16:55.17 \approx 1:\sqrt{\frac{3}{8}}:\frac{1}{\sqrt{3}}:\frac{1}{\sqrt{4}}:\sqrt{\frac{3}{16}}$	CH
	$114.63:101.45:71.18:67.90:55.17 \approx 1:\sqrt{\frac{3}{4}}:\sqrt{\frac{3}{8}}:\frac{1}{\sqrt{3}}:\frac{1}{\sqrt{4}}$	CH
样品 D	$169.74:101.45:82.49:70.61:63.05:58.84:54.49:48.05 \approx 1:\sqrt{\frac{3}{4}}:\sqrt{\frac{3}{8}}:\frac{1}{2}:\sqrt{\frac{3}{16}}:\sqrt{\frac{3}{20}}:\sqrt{\frac{3}{24}}:\frac{1}{3}:\sqrt{\frac{3}{53}}$	LC
	$147.63:82.49:70.61:54.49:48.50 \approx 1:\frac{1}{\sqrt{3}}:\frac{1}{2}:\frac{1}{\sqrt{7}}:\frac{1}{3}$	LH
	$117.69:101.45:70.61:63.05:58.84:54.49:48:48.50 \approx 1:\sqrt{\frac{3}{4}}:\sqrt{\frac{3}{8}}:\frac{1}{2}:\sqrt{\frac{3}{19}}$	LC

的肩形略有抬高，而高场部位的肩形也略有变宽，谱线呈显出底部宽顶部窄．这进一步证实了 SAXS 的分析结果，即样品 D 由片层立方相和片层六角相组成．综上所述，两种方法分析结果是一致的．

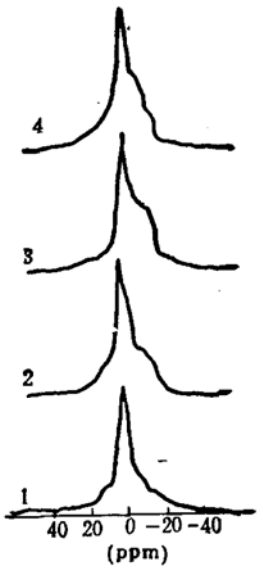


图 2　液晶态脂质体的 ^{31}P-NMR 谱

1 为 PE 脂质体，2 为空白脂质体，3 亚油酸脂质体 (I)，4 为亚油酸脂质体 (II)

3　讨　论

3.1　胆固醇的作用

许多实验发现，正常细胞的胆固醇含量总是较其相应的肿瘤细胞高[8]．在肿瘤细胞的发生，发展及转移过程中都伴随有膜胆固醇含量的变化[9]．我们研究发现，在相变温度以上，膜呈液晶态时，脂类中的胆固醇含量增加，具有增大有序性，降低流动性的作用．但在低于相变温度时，胆固醇却能扰乱脂类分子的有序排列阻止凝胶态的形成．对生物的生长和发育，前者作用是消极的，后者作用是积极的．但在治疗癌症中胆固醇却发挥了它的双重作用．对腹水瘤，胆固醇具有增大其有序性降低

流动性的作用。对实体瘤它有扰乱其有序性阻止凝胶态形成的机理。

3.2 亚油酸的抗癌作用

据文献报道[10,11]，不饱和脂肪酸在组织培养中能阻碍腹水瘤的生长，对6C3HED淋巴肉瘤也有很好的抑制作用，其中以亚油酸和亚麻酸作用较强。我们将亚油酸引入空白脂质体中，制成的亚油酸多相脂质体，经SAXS和^{31}P-NMR研究表明是片层六角相和立方六角相，说明亚油酸有诱发六角相形成的机理。

3.3 片层六角相和片层立方相与癌细胞膜之间的关系

在生理状态下，细胞膜一般是处于液晶态的片层状结构。而腹水瘤细胞一般是处于液态结构。对于片层立方相和片层六角相，既有与细胞膜类似的片层状结构的特征，又有与癌细胞非常接近的六角相和立方相结构的特征。因此，这种结构为癌细胞发生可逆相变(即从液态变成液晶态)架起了一座比较理想的"桥梁"。

研究发现，亚油酸、胆固醇、磷脂是构成生化抗癌药物的重要因素[3,11]。磷脂和胆固醇是构成生物膜的重要成分，在癌细胞发生从液态到液晶态的相变过程中起着关键性作用。胆固醇、亚油酸在阻止和抑制癌细胞的过程中起重要作用。磷脂、亚油酸对形成输送物质的生物微环境有直接影响。三者只有按一定的比例制成类似生物膜的液晶态脂质体，才能发挥各自的作用，提高其抗癌效率。更深入更全面的阐明脂质体抗癌药物与癌细胞之间的相互作用，无论在理论上，还是临床实践上都是有价值和有前途的。从生物膜的液晶态来认识，探索膜的功能及其与细胞癌变和治疗的关系是一个令人鼓舞的途径。

致谢 清华大学生物科学与技术系，生物膜与膜技术国家重点开放实验室张日清教授协助测定^{31}P-NMR谱，清华大学材料科学研究所陶琨教授、王并举工程师协助测定SAXS谱，在此表示衷心感谢。

参 考 文 献

[1] 顾学裘等，中草药，1982，**13**(4)：13—19.
[2] Deamer, D. W., Bangham, A. D., *Biochim. Biophys. Acta*, 1976, **443**: 629.
[3] 孙润广等，科学通报，1991，**36**(18)：1382—1385.
[4] 尹长城等，科学通报，1988，**33**(13)：1022—1025.
[5] Luzzati, V., Husson, F., *J. Cell. Biol.*, 1962, (12): 207—219.
[6] 孙润广等，生物化学与生物物理进展，1991，**18**(2)：123—128.
[7] Cullis, P. R. *et al.*, *Biophys. Biophys. Chem.*, 1985, (14): 211—238.
[8] 郑正炯、周桂兰，生物科学动态，1989，**143**(1)：8—13.
[9] Davis, P. J. *et al.*, *FEBS Letters*, 1984, **175**: 51.
[10] Susaki, T., *CA*, 1966, **63**: 15658f.
[11] 陈建智、顾学裘，沈阳药学院学报，1982，(16)：104—116