

识到,只有同时抑制内皮细胞依赖性血管和血管生成拟态,才能达到良好的治疗效果<sup>[11-12]</sup>。

IGF1R 是参与肿瘤增殖、分化、侵袭等生物学行为的关键因子,在 NSCLC 中 IGF1R 表达越高,患者疾病生存期则越短<sup>[13]</sup>。近年来的研究发现,IGF1R 在肿瘤 VM 形成中的作用,与其参与调控肿瘤细胞外基质重塑有关<sup>[14]</sup>。Hess 等<sup>[11]</sup>研究发现,在黑色素瘤细胞形成 VM 的过程中,IGF1R/PI3K/Akt 调节膜型基质金属蛋白酶 1 (MT1-MMP) 的功能,其在金属蛋白酶组织抑制因子-2 (TIMP-2) 的协同作用下活化 MMP-2,分解层黏连蛋白 5 $\gamma$ 2 链为  $\gamma$ 2' 和  $\gamma$ 2X 片段,沉积于肿瘤细胞外基质中,促进 VM 形成。Li 等<sup>[12]</sup>研究结果表明,高侵袭性胶质瘤细胞中 VM 的形成与 MT1-MMP、MMP2 和 MMP9 的高表达相关。

本研究我们在 NSCLC 组织中也发现 IGF1R 表达呈阳性,且随着肺癌级别的升高而递增。实验中采用特异性抑制剂抑制 IGF1R/PI3K/Akt 通路活化后,肺癌 A549 细胞的侵袭性相关蛋白 MMP2 和 MMP9 表达随之减少,同时肿瘤 VM 的形成受到抑制。该实验结果表明,IGF1R/PI3K/Akt 通路与肺癌 VM 的形成存在一定的关系。同时我们在研究中还发现,作为调控基因表达的转录因子 KLF16,在肺癌组织中的表达明显低于癌旁组织,并且肿瘤级别越高,KLF16 的表达越低。这一趋势与 IGF1R 在肺癌组织中的表达情况相反,两者之间是否存在相关的调控关系需进一步验证。

综上所述,本项目以人 NSCLC 及细胞系为研究对象,是基于 IGF1R/PI3K/Akt 信号通路与血管生成拟态相关机制的研究。探索 KLF16 与 IGF1R/PI3K/Akt 信号通路及肺癌血管生成拟态形成的关系,有望成为肺癌肿瘤血管生成研究的新思路,为抗肿瘤血管生成的治疗提供理论基础和分子靶点。

### 参考文献

- [1] Williamson S C, Metcalf R L, Trapani F, et al. Vasculogenic mimicry in small cell lung cancer [J]. Nat Commun, 2016, 7: 13322.
- [2] Hendrix M J, Sefter E A, Sefter R E, et al. Tumor cell vascular mimicry: Novel targeting opportunity in melanoma [J]. Pharmacol Ther, 2016, 159: 83-92.
- [3] Sefter R E, Hess A R, Sefter E A, et al. Tumor cell vasculogenic mimicry: from controversy to therapeutic promise [J]. Am J Pathol, 2012, 181 (4): 1115-1125.
- [4] Ding J, Jia X, Zuo B, et al. A novel monoclonal antibody targeting a novel epitope of VE cadherin inhibits vasculogenic mimicry of lung cancer cells [J]. Oncol Rep, 2018, 39 (6): 2837-2844.
- [5] Kim T R, Cho E W, Paik S G, et al. Hypoxia-induced SM22 $\alpha$  in A549 cells activates the IGF1R/PI3K/Akt pathway, conferring cellular resistance against chemo- and radiation therapy [J]. FEBS Lett, 2012, 586 (4): 303-309.
- [6] Park B R, Lee S A, Moon S M, et al. Anthracycline-induced caspase-dependent apoptosis through IGF1R/PI3K/AKT pathway inhibition in A549 human non-small lung cancer cells [J]. Oncol Rep, 2018, 39 (6): 2769-2776.
- [7] Srivastava A K, Wang Y, Huang R, et al. Human genome meeting 2016: Houston, TX, USA. 28 February-2 March 2016 [J]. Hum Genomics, 2016, 10 (Suppl 1): 12.
- [8] Spiliopoulos K, Peschos D, Batistatou A, et al. Vasculogenic mimicry: lessons from melanocytic tumors [J]. In Vivo, 2015, 29 (3): 309-317.
- [9] Maniotis A J, Folberg R, Hess A, et al. Vascular channel formation by human melanoma cells in vivo and in vitro: vasculogenic mimicry [J]. Am J Pathol, 1999, 155 (3): 739-752.
- [10] Frisch C M, Zimmermann K, Zilleßen P, et al. Non-small cell lung cancer cell survival crucially depends on functional insulin receptors [J]. Endocr Relat Cancer, 2015, 22 (4): 609-621.
- [11] Hess A R, Sefter E A, Sefter R E, et al. Phosphoinositide 3-kinase regulates membrane Type 1-matrix metalloproteinase (MMP) and MMP-2 activity during melanoma cell vasculogenic mimicry [J]. Cancer Res, 2003, 63 (16): 4757-4762.
- [12] Li Y, Sun B, Zhao X, et al. MMP-2 and MMP-13 affect vasculogenic mimicry formation in large cell lung cancer [J]. J Cell Mol Med, 2017, 21 (12): 3741-3751.
- [13] Zhao S, Qiu Z, He J, et al. Insulin-like growth factor receptor 1 (IGF1R) expression and survival in non-small cell lung cancer patients: a meta-analysis [J]. Int J Clin Exp Pathol, 2014, 7 (10): 6694-704.
- [14] Gest C, Mirshahi P, Li H, et al. Ovarian cancer: Stat3, RhoA and IGF-1R as therapeutic targets [J]. Cancer Lett, 2012, 317 (2): 207-217.

## • 基础研究 •

# 复合麻醉剂对衰老大鼠认知能力及神经细胞凋亡的影响

福建省福州市第二医院麻醉科 (福州 350001) 林 辉

**【摘 要】 目的** 探讨复合麻醉剂对衰老大鼠认知能力及神经细胞凋亡的影响。**方法** 构建 D-半乳糖致衰老大鼠模型,通过腹腔镜注射的方式对实验大鼠进行戊巴比妥钠、氯胺酮及复合麻醉剂 (盐酸右旋美托咪定+咪达唑仑+盐酸羟考酮) 干预,通过水迷宫及平衡木实验测试不同实验组的大鼠的运动及认知能力,通过原位末端转移酶标记技术 (TUNEL)

法检测大鼠脑皮质区原位神经细胞凋亡情况。**结果** 与对照组比较, 3 个麻醉组始动时间、过杆时间、逃避潜伏期、有效区停留时间都明显增加 ( $P < 0.05$ ); 戊巴比妥钠组与氯胺酮组比较, 在始动时间、过杆时间、逃避潜伏期、目标象限游泳时间、有效区停留时间及经过平台次数差异均无统计学意义 (均  $P > 0.05$ ); 复合麻醉组较戊巴比妥钠组、氯胺酮组在始动时间、过杆时间上、逃避潜伏期、有效区停留时间上均明显缩短, 目标象限游泳时间、经过平台次数明显增加。3 个麻醉组的凋亡细胞数较对照组均明显增加, 差异均有统计学意义 (均  $P < 0.05$ ); 其中氯胺酮组细胞的凋亡阳性细胞数最多, 与戊巴比妥钠组及复合麻醉组比较, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 与氯胺酮组、戊巴比妥钠组比较, 复合麻醉组的凋亡细胞数明显下降 ( $P < 0.05$ )。**结论** 复合麻醉剂较传统的单一麻醉剂对衰老大鼠模型神经细胞的损伤更加轻微。

**【关键词】** 复合麻醉剂; 衰老; 细胞凋亡

**【中图分类号】** R3; R614 **【文献标识码】** B **【文章编号】** 1002-2600(2023)03-0115-04

大鼠作为现代生物及医学使用最广泛的造模动物之一, 被广泛应用于基础医学、药物代谢、行为学、康复医学、肿瘤、感染性疾病及心血管疾病等方面研究及模型制备<sup>[1]</sup>。对大鼠进行适宜、安全、有效的麻醉对于保证实验安全性及数据可靠性具有重要意义, 麻醉剂的选择也成为了目前的研究热点<sup>[2-4]</sup>。本研究通过构建 D-半乳糖致衰老大鼠模型, 将大鼠分为对照组、复合麻醉剂 (右旋美托咪定+咪达唑仑+羟考酮) 组、戊巴比妥钠组、氯胺酮组, 通过水迷宫及平衡木实验测试不同实验组的大鼠运动及认知能力, 通过原位末端转移酶标记技术 (TUNEL) 法观察大鼠脑皮质区原位神经细胞凋亡情况, 考察复合麻醉剂对 D-半乳糖致衰老大鼠认知能力及神经细胞凋亡的影响, 为衰老大鼠模型优势麻醉剂的选择奠定基础。

## 1 材料与方法

**1.1 材料:** 清洁级 SD 成年雄性大鼠 80 只, 体质量 ( $350 \pm 50$ ) g, 福建医科大学实验动物中心提供, 许可证号 SYXK (闽) 2022-0005, 质量合格证号 0070054。盐酸右旋美托咪定注射液 (批号: 16012317, 江苏恒瑞制药公司)、咪达唑仑 (批号: 15013325, 江苏恩华药业股份有限公司)、盐酸羟考酮注射液 (批号: 20130214, 东北制药集团沈阳第一制药有限公司)、戊巴比妥钠 (批号: WS20051230, 国药集团化学试剂有限公司)、氯胺酮 (批号: 200518BL, 江苏恒瑞医药股份有限公司)、TUNEL 细胞凋亡检测试剂盒 (瑞士 Roche 公司)、多聚甲醛/PBS 缓冲液 (上海碧云天生物技术有限公司)、WMT-100 Morris 水迷宫视频分析系统 (成都泰盟软件公司)、BX53-LV2000 荧光成像系统显微镜 (日本奥林巴斯公司)。整个动物实验过程均严格遵守国家及部委相关实验动物道德准则, 并经本院动物实验伦理委员会批准。

## 1.2 方法:

**1.2.1 衰老大鼠模型的构建:** 清洁级 SD 成年雄性大鼠在动物房内以 ( $21 \pm 2$ ) °C、相对湿度 50%~60% 条件, 常规分笼自然饲养 1 周。随后行连续 7 d 的水迷宫实验及平衡木实验<sup>[5]</sup>。完成上述试验后 1 周, 对 SD 大鼠按 100 mg/kg 的剂量每天皮下注射 D-半乳糖, 连续注射 10 周。以文献 [6] 所述作为模型构建成功与否的判定标准。

**1.2.2 实验分组及干预方式:** 按照随机数字表法将 80 只大鼠随机分成 4 组, 每组 20 只, 分别为对照组、戊巴比妥钠组、氯胺酮组及复合麻醉组。各组的干预方式是: 1) 对照组: 模型大鼠不予处理; 2) 戊巴比妥钠组: 使用体积分数为 3% 的戊巴比妥钠以 0.3 mL/kg 的剂量对衰老大鼠模型

行腹腔注射, 每天 1 次, 连续注射 1 周; 3) 氯胺酮组: 使用体积分数为 10% 的氯胺酮以 0.3 mL/kg 的剂量对衰老大鼠模型行腹腔注射, 每天 1 次, 连续注射 1 周; 4) 复合麻醉组: 以 0.15 mg/kg 盐酸右旋美托咪定、1.35 mg/kg 咪达唑仑及 0.07 mg/kg 盐酸羟考酮组成大鼠复合麻醉剂, 以 0.3 mL/kg 的剂量对衰老大鼠模型行腹腔注射, 每天 1 次, 连续注射 1 周。

**1.2.3 平衡木实验:** 自制长 100 cm、宽 1.5 cm、高 50 cm 的平衡木, 下端放置软垫防止实验大鼠跌落摔伤。平衡木人为设置长为 10 cm 的始动距离及 90 cm 的过杆距离, 实验过程中将各组大鼠放置于平衡木上, 分别记录大鼠通过始动时间和过杆距离的时间。

**1.2.4 水迷宫实验:** 结合 WMT-100 Morris 水迷宫视频分析系统携带的使用说明书及文献 [7] 所述方法进行定位巡航实验及空间搜索实验, 注意可以在水迷宫附近实验室墙壁粘贴不同图形, 以帮助实验动物进行方位确定, 采用系统携带软件记录实验过程中实验大鼠的逃避潜伏期、目标象限游泳时间、有效区停留时间及经过平台次数。

**1.2.5 实验大鼠脑皮质区原位神经细胞凋亡的检测:** 平衡木及水迷宫实验结束后将各组大鼠断头处死, 于无菌动物手术操作台上取脑组织, 采用 4% 多聚甲醛/PBS 溶液固定, 经脱水、透明、浸蜡及组织包埋后进行切片。取切片按照 TUNEL 细胞凋亡检测试剂盒说明书步骤在荧光显微镜下进行脑皮质区原位神经细胞凋亡阳性细胞计数。

**1.3 统计学方法:** 使用 SPSS 22.0 统计学软件进行分析。计量资料以均数±标准差表示, 组间比较采用单因素方差分析, 组间多重比较采用 LSD-*t* 检验。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 不同组大鼠的运动能力比较:** 采用平衡木实验比较不同组大鼠的运动能力, 结果表明与对照组比较, 3 个麻醉组始动时间、过杆时间都明显延长 ( $P < 0.05$ ), 戊巴比妥钠组与氯胺酮组比较在始动时间、过杆时间上差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 复合麻醉组较戊巴比妥钠组、氯胺酮组在始动时间、过杆时间上均明显缩短 ( $P < 0.05$ )。见表 1。

**2.2 不同组大鼠的认知能力比较:** 采用水迷宫实验比较不同组大鼠的认知能力。在定位巡航实验中, 3 个麻醉组的逃避潜伏期均要明显大于对照组 ( $P < 0.05$ ), 戊巴比妥钠组与氯胺酮组比较, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 复合麻醉组较戊巴比妥钠组、氯胺酮组在逃避潜伏期上明显降低 ( $P < 0.05$ ); 在空间搜索实验中, 3 个麻醉组的有效区停留

表 1 不同组大鼠运动能力情况 ( $n=20$ ,  $s$ ,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	始动时间	过杆时间
对照组	4.25±2.21	15.27±4.13
戊巴比妥钠组	8.78±4.42*	27.78±8.26*
氯胺酮组	7.69±4.05*	31.69±9.62*
复合麻醉组	5.75±2.38*#△	5.15±2.38*#△

注：与对照组比较，\* $P<0.05$ ；与戊巴比妥钠组比较，# $P<0.05$ ；与氯胺酮组比较，△ $P<0.05$ 。

时间均要明显大于对照组 ( $P<0.05$ )，目标象限游泳时间、经过平台次数均要小于对照组 ( $P<0.05$ )，戊巴比妥钠组与氯胺酮组比较，在目标象限游泳时间、有效区停留时间、经过平台次数上差异均无统计学意义 ( $P>0.05$ )，复合麻醉组较戊巴比妥钠组、氯胺酮组在目标象限游泳时间、经过平台次数上均明显提升，有效区停留时间明显下降，差异均有统计学意义 ( $P<0.05$ )。见表 2。

表 2 不同组大鼠认知能力情况 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	定位巡航实验	空间搜索实验		
	逃避潜伏期/s	目标象限游泳时间/s	有效区停留时间/s	经过平台次数/例
对照组	27.41±3.26	34.38±3.54	31.52±3.87	14.03±2.24
戊巴比妥钠组	38.53±4.75*	26.69±2.92*	40.11±4.96*	7.47±1.83*
氯胺酮组	37.68±4.08*	25.63±3.88*	41.20±4.14*	6.55±1.76*
复合麻醉组	33.24±3.99*#△	30.95±2.71*#△	35.64±4.03*#△	10.28±3.09*#△

注：与对照组比较，\* $P<0.05$ ；与戊巴比妥钠组比较，# $P<0.05$ ；与氯胺酮组比较，△ $P<0.05$ 。

**2.3 不同组大鼠脑皮质区神经细胞凋亡情况比较：**对照组、戊巴比妥钠组、氯胺酮组及复合麻醉组阳性细胞数分别为  $6.05 \pm 2.52$ 、 $18.39 \pm 4.61$ 、 $22.49 \pm 5.07$ 、 $14.03 \pm 3.16$ ，经统计学比较后发现 3 个麻醉组的凋亡细胞数较对照组均明显增加 ( $P<0.05$ )，其中氯胺酮组细胞的凋亡阳性细胞数最多，与戊巴比妥钠组及复合麻醉组比较，差异有统计学意义 ( $P<0.05$ )。与氯胺酮组、戊巴比妥钠组比较，复合麻醉组的凋亡细胞数明显下降 ( $P<0.05$ )。

### 3 讨论

动物麻醉技术作为动物实验的基本组成部分受到广大研究者的普遍重视<sup>[8]</sup>。有研究表明选用戊巴比妥钠、速眠新对大鼠进行麻醉时，会对心血管、神经系统、呼吸系统产生一定程度的抑制作用，严重时还会导致动物死亡<sup>[9]</sup>。衰老是生物体随着年龄增长到成熟期后出现的自然性生理性退化，通过衰老大鼠模型来探索人类衰老的机理及药物开发对于延续人类生命、增加寿限、提高生活质量具有重要意义<sup>[10]</sup>。目前衰老大鼠复合麻醉剂的研究多集中于肝脏、肾脏等器官的病理性损伤，而对神经系统的影响鲜有报道。

平衡木实验常用于检测大鼠平衡能力、肌力以及运动协调力，水迷宫实验则常用于测试模型动物对空间位置感和方向感（空间定位）的学习记忆能力，上述两种实验被广泛的应用到学习记忆、海马/外海马研究、智力与衰老等多个生物学领域，在世界上已获得广泛认可，是开展行为学研究尤其是学习与记忆研究的首选经典实验。因此本研究通过平衡木实验及水迷宫实验测试了不同实验组的大鼠的运动能力和认知能力，结果表明经麻醉后的大鼠在运动功能及认知能力上均要低于对照组，这与陈红燕<sup>[11]</sup>、Jr 等<sup>[12]</sup>的研究结果保持一致。同时也可以观察到采用复合麻醉剂较传统的单一麻醉剂对大鼠的运动能力和认知能力影响要小，这与李建男<sup>[13]</sup>的研究结果是一致的。本研究通过 TUNEL 法进一步观察了大鼠脑皮质区原位神经细胞的凋亡情况，结果表明复合麻醉组的凋亡细胞数也低于传统的单一麻醉剂，这与实验

动物的运动及记忆功能检测结果是保持一致的，说明由右旋美托咪定、盐酸咪达唑仑、盐酸羟考酮组成的复合麻醉剂较传统的单一麻醉剂戊巴比妥钠、氯胺酮对衰老大鼠模型神经细胞的伤害更加轻微。目前对于复合麻醉剂的研究多集中于大型动物，如小型猪、鹿、兔、犬<sup>[14]</sup>，对于啮齿类动物，如大鼠、小鼠方面的研究很少，因此本研究有助于进一步丰富啮齿类动物模型麻醉剂的选择，具有广泛的适用意义。

### 参考文献

- [1] 杨亚南, 舒晴, 陈丽, 等. 不同麻醉方法在大鼠脑室置管术中的效果及其对存活率的影响 [J]. 中国比较医学杂志, 2018, 28 (6): 89-95.
- [2] Ckinley E C, Richardson E J, Mcgwin G, et al. Evaluating the effectiveness of antidepressant therapy adjuvant to gabapentin and pregabalin for treatment of SCI-related neuropathic pain [J]. J Spinal Cord Med, 2018, 41 (6): 637-644.
- [3] Pietro F, Macey P M, Rae C D, et al. The relationship between thalamic GABA content and resting cortical rhythm in neuropathic pain [J]. Hum Brain Mapp, 2018, 39 (5): 1945-1956.
- [4] 尤国兴, 王瑛, 王波, 等. 麻醉方法对大鼠生理、血气及血流变学的影响 [J]. 中国输血杂志, 2013, 26 (5): 417-420.
- [5] 韩小改, 李建斌, 戚正. 两种状态脐间充质干细胞移植对脑梗死大鼠神经功能恢复的对比研究 [J]. 中国组织工程研究, 2018, 22 (9): 1395-1401.
- [6] 欧芹, 张鹏霞, 范慧晗, 等. 山茱萸多糖对 D-半乳糖致衰老大鼠学习记忆能力及 Klotho/Akt 信号通路的影响 [J]. 中成药, 2022, 44 (5): 1641-1644.
- [7] 李斌, 谢淑玲, 彭丽燕, 等. 3 种拟痴呆动物模型在 Morris 水迷宫行为学测试中 学习记忆行为的差异 [J]. 医学研究生学报, 2014, 27 (7): 683-685.
- [8] Cao D, Liu Y, Li J, et al. Isoflurane: an ideal anesthetic for rodent orthotopic liver transplantation surgery? [J]. Transplant Proc, 2016, 48 (8): 2815-2820.
- [9] 徐珊, 张超, 朱昭琼. 七氟烷对大鼠近期空间回忆能力、海马



- APOE、A $\beta$  表达的影响 [J]. 中国现代医学杂志, 2018, 28 (5): 1-6.
- [10] 刘焕奇, 侯振中, 王洪斌. 动物复合麻醉的研究进展 [J]. 中国兽医学报, 2003, 23 (3): 309-312.
- [11] 陈红燕, 庞凤舜, 陈经宝. 10% 水合氯醛与 2% 戊巴比妥钠在建立术后疲劳综合征大鼠模型中的麻醉效果比较 [J]. 广东医学, 2017, 38 (12): 1805-1808.
- [12] Jr W S, Fang L, Rainosek S W, et al. Ketamine-Induced Toxicity in Neurons Differentiated from Neural Stem Cells [J]. Molecular Neurobiology, 2015, 52 (2): 959.
- [13] 李建男. 大鼠复合麻醉剂的研制及其麻醉效果观察 [D]. 黑龙江: 东北农业大学, 2016.
- [14] Nishimura L T, Auckburally A, Santilli J, et al. Effects of dexmedetomidine combined with commonly administered opioids on clinical variables in dogs [J]. Veterinary Research, 2018, 79 (3): 267-275.

## • 基础研究 •

# 生姜囊泡包载金纳米粒子的构建及用于骨肉瘤治疗的实验研究

福建省福州市第二医院骨科研究所 (福州 350007) 何文慧 吴冬枝 张 韬 陈冬冬<sup>1</sup>

**【摘要】 目的** 构建一种生物相容性好、创伤小、疗效好的光热治疗方法, 用于骨肉瘤的治疗。**方法** 分别利用差速离心法和柠檬酸盐还原法制备生姜囊泡和金纳米粒子。通过孵育法使生姜囊泡包被金纳米粒子, 形成生姜囊泡-金纳米粒子复合物。利用 CCK8 法考察生姜囊泡-金纳米粒子复合物的生物毒性。通过 CCK8 法评估生姜囊泡-金纳米粒子复合物对骨肉瘤治疗的疗效。**结果** 成功制备了生姜囊泡和金纳米粒子, 通过生姜囊泡包载金纳米粒子成功构建了一种光热治疗方法。**结论** 生姜囊泡包载金纳米粒子的光热治疗方法, 具有简单、生物相容性好、生物毒性低、疗效好等优点, 有望用于骨肉瘤的治疗。

**【关键词】** 生姜囊泡; 金纳米粒子; 光热治疗; 骨肉瘤

**【中图分类号】** R738.1 **【文献标识码】** B **【文章编号】** 1002-2600(2023)03-0118-03

骨肉瘤是一种原发于骨髓腔的高度恶性实体肿瘤, 常见于青少年, 高居青少年癌症死亡的第 2 位, 具有局部破坏性强, 致死率和死亡率高, 易转移、易复发的特点, 严重威胁患者的生命, 并降低患者生存质量。因此, 探索一种无创或微创、不良反应少、治疗效果好的方法对骨肉瘤的治疗具有重大意义, 也是肿瘤研究领域的热点。

## 1 材料与方法

**1.1 试剂和仪器:** 1) 主要试剂: 细胞来源于中国科学院细胞库; 生姜来源于蔬菜市场; 柠檬酸钠购自麦克林公司; 氯金酸购自 Sigma 试剂公司; 胎牛血清、PBS、胰酶、MEM 培养基均购自 Thermo Fisher 科技公司; 浓盐酸、浓硝酸等其他试剂来自国药集团。2) 主要仪器: 红外光激光器 ( $\lambda=808$  nm, 北京纽比特科技有限公司) 作为实验光热治疗中光源。九阳榨汁机用于生姜粗提液提取。iD3 多功能酶标仪 (美国 Molecular Devices 公司) 用于实验中所有紫外-可见吸收光谱和吸光度的采集。

## 1.2 方法:

**1.2.1 生姜囊泡的制备:** 根据文献采用差速离心法制备生姜囊泡<sup>[1]</sup>。具体步骤如下: 1) 将新鲜的生姜洗净去皮, 切成小块。2) 利用榨汁机将生姜榨成汁液, 纱布过滤, 取其汁液即获得生姜囊泡粗提液。3) 依次通过 3 000 g 离心 20 min, 10 000 g 离心 40 min, 150 000 g 离心 2 h 后获得纳米

级的生姜囊泡。4) 重悬于 PBS 溶液中, 用于后续实验。

**1.2.2 金纳米粒子的合成:** 利用柠檬酸钠还原法合成金纳米粒子, 具体步骤如下: 首先, 取 45 mL 浓度为 1 mmol/L 四氯金酸溶液于 100 mL 圆底烧瓶中, 加热搅拌至沸腾; 随后快速加入 5 mL 浓度为 38.8 mmol/L 的柠檬酸钠溶液, 持续搅拌, 加热至沸腾后, 反应 10 min, 形成深红色溶液, 即金纳米粒子溶液。

**1.2.3 金纳米粒子-生姜囊泡治疗骨肉瘤的可行性分析:** 利用 CCK8 法验证包被金纳米粒子的生姜囊泡的光热效应。将实验随机分成空白组 (只有细胞)、金纳米粒子组 (加入金纳米粒子孵育)、生姜囊泡组 (加入生姜囊泡孵育)、金纳米粒子-生姜囊泡组 (加入包被有金纳米粒子的生姜囊泡孵育), 分别孵育人骨肉瘤 HOS 细胞系 4 h 后, 进行红外光光照 10 min, 观察各组溶液的光照前后细胞存活情况和温度变化。

## 2 结果

**2.1 生姜囊泡和金纳米粒子的表征:** 采用透射电镜和流式细胞技术考察生姜囊泡的形貌大小。如图 1 所示, 经差速离心法获得的生姜囊泡呈椭圆形或盘状磷脂双分子层, 粒径分布在 60~150 nm 范围。图 2 结果显示, 金纳米粒子大小约 15 nm (图 2A), 其最大紫外吸收波长为 530 nm (图 2B)。

基金项目: 福建省科技厅引导性项目 (2021D003); 福州市科技计划项目 (2020-WS-44)

<sup>1</sup> 通信作者, Email: 13860693398@163.com