

· 药学前沿 ·

肿瘤的光动力治疗研究进展

董虹,武瑞雪,刘佳琦,黄晴,周雅,胡一桥*

(南京大学医学院,南京 210008)

摘要 肿瘤光动力治疗(photodynamic therapy, PDT)是一种对恶性肿瘤细胞选择性杀伤并获得临床批准的非侵入性肿瘤治疗方法。该疗法主要原理是利用特定波长的光激发光敏剂,传递能量给氧气进而产生活性氧,造成肿瘤细胞死亡、微血管损伤以及诱导局部免疫等反应。本文针对目前光动力治疗存在的3个主要瓶颈——光动力光源的穿透深度较弱、光敏剂非特异性靶向导致的皮肤毒性以及肿瘤部位乏氧导致的光动力降低,对肿瘤光动力治疗的前沿研究进行综述。

关键词 肿瘤;光动力治疗;穿透深度;氧气;可激活光动力;进展

中图分类号 R730.5 **文献标志码** A **文章编号** 1000-5048(2016)04-0377-11

doi:10.11665/j.issn.1000-5048.20160401

引用本文 董虹,武瑞雪,刘佳琦,等. 肿瘤的光动力治疗研究进展[J]. 中国药科大学学报,2016,47(4):377-387.

Cite this article as: DONG Hong, WU Ruixue, LIU Jiaqi, et al. Advances in cancer photodynamic therapy[J]. J China Pharm Univ, 2016, 47(4): 377-387.

Advances in cancer photodynamic therapy

DONG Hong, WU Ruixue, LIU Jiaqi, HUANG Qing, ZHOU Ya, HU Yiqiao*

Medical School of Nanjing University, Nanjing 210008, China

Abstract Photodynamic therapy (PDT) is a minimal invasive therapy that have been clinically approved for the cancer treatment with selective cell toxicity. When activated by appropriate wavelength of light, photosensitizers transfer the absorbed photon energy to the surrounding molecular oxygen to generate reactive oxygen species, which result in cell death, vessel damage and immune activation of tumor site. This paper summarize the main challenges and recent solutions for PDT application, such as the low tissue penetration of light, toxicity induced by nonspecific accumulation of skin and poor PDT effect of hypoxia tumor.

Key words tumor; photodynamic therapy; penetration depth; oxygen; activatable photodynamic; advances

This work was supported by China National Key High-Tech Innovation Project for R&D of Novel Drugs (No. 2014ZX09507005004); the National Natural Science Foundation of China (No. 81273464); the Natural Science Foundation of Jiangsu Province (No. BE2015674)

肿瘤治疗的传统方法主要包括外科手术切除、化疗、放疗以及分子靶向治疗等,这些方法能够有效治疗部分肿瘤并且控制肿瘤转移,然而仍然存在一些缺陷,例如手术切除复发率高,化疗易诱导全身性的不良反应,电离辐射线对肿瘤周围正常组织损伤严重等。与传统治疗方法相比,肿瘤光动力治疗(photodynamic therapy, PDT)利用光源靶向性,选择性消灭原发、复发肿瘤,避免正常组织损伤;可

缩小手术范围,改善患者愈后,安全、微创,提高患者生活质量;能够激活免疫功能,减少复发;另外,该方法可作用于各种类型的肿瘤细胞因而应用广泛。因此,PDT 凭借其潜在的巨大优势成为临床治疗肿瘤的新方法。

近年临床研究表明,PDT 对浅表性膀胱癌、肺癌、食管癌、头颈部癌和皮肤癌具有治疗效果,同时作为肿瘤手术切除后辅助治疗手段,减少残留肿瘤

收稿日期 2016-06-30 * 通信作者 Tel:025-83596143 E-mail:huyiqiao@nju.edu.cn

基金项目 国家“重大新药创制”科技重大专项资助项目(No. 2014ZX09507005004);国家自然科学基金资助项目(No. 81273464);江苏省自然科学基金资助项目(No. BE2015674)

细胞的存活。PDT 主要由 3 个重要部分组成:特定波长的光、光敏剂(photosensitizer, PS)和氧气。在治疗过程中,三者相互作用,产生具备细胞毒性的活性氧(reactive oxygen species, ROS),通过凋亡或坏死机制杀死肿瘤细胞。主要的作用原理包括:直接作用于肿瘤细胞,损伤肿瘤血管和引起全身免疫应答^[1-2]。理想的 PDT 肿瘤杀伤效果取决于光敏剂的种类(量子产率和剂量)、光照(时间及间隔)以及肿瘤部位氧气浓度等。因此本文对近年来光动力治疗的发展以及现阶段遇到的问题和前沿研究进行总结。

1 光动力治疗的要素

1.1 光敏剂

现阶段美国食品药品监督管理局(FDA)批准

用于临床治疗的光敏剂主要包括一代光敏剂血卟啉及其衍生物等混合物和二代光敏剂内外源性卟啉及其衍生物、酞菁类物质等(表 1)。其主要的工作原理见图 1^[4],光敏剂接受特定波长光激发时产生能量的跃迁,从基态到激发态并转化为三重激发态^[3]。三重激发态的能量传递给周围环境产生光动力反应,主要包括两种反应类型:其一,三重激发态能量直接与细胞膜或一些生物大分子等底物发生反应,形成自由基,杀伤目标细胞(I 型反应)。其二,三重激发态能量直接传递给周围环境的氧气,形成单线态氧来杀伤目标细胞(II 型反应)^[4]。在光动力反应过程中,光敏剂作为催化剂传递光源能量从而产生具备活性效应的自由基(单线态氧)。因此选择量子产率高、波长合适的光敏剂是光动力治疗的首要因素。

表 1 美国 FDA 批准用于临床治疗的光敏剂

种 类	光敏剂	商品名	适应证	目前状态	λ_{\max}/nm	
第一代光敏剂	血卟啉	血卟啉衍生物 (HpD)	Photofrin	支气管非小细胞性肺癌;食道癌;膀胱癌;胃癌;宫颈癌	1995 年 FDA 批准, 现有 40 多个国家批准	630
第二代光敏剂	原卟啉前体药物	5-氨 基 乙 酰 丙 酸 (5-ALA)	Levulan	光化角质病;基底细胞癌;头颈部癌;妇科肿瘤;脑、头颈部、膀胱癌诊断	1999 年 FDA 批准, 2001 年 EU 批准	635
		5-氨基乙酰丙酸乙酯 (5-ALA 乙酯)	Hexvix	膀胱癌诊断	2010 年 FDA 批准	
		5-氨基乙酰丙酸甲酯 (5-ALA 甲酯)	Metvixia	光化角质病;博文氏病;基底细胞癌	2004 年 FDA 批准, 2001 年 EU 批准	
	苯并卟啉	苯并卟啉衍生物单环酸 A	Visudyne	治疗湿性年龄相关性黄斑变性(AMD);病理性近视;组织胞浆菌病	2000 年 US FDA、EU 批准	689 – 693

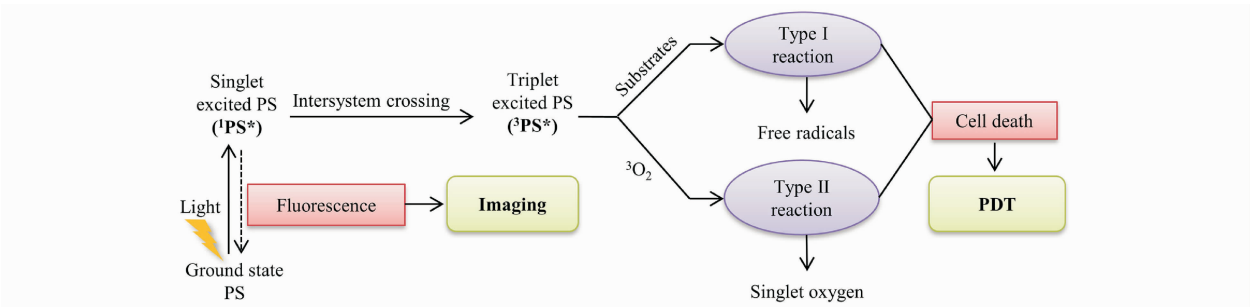


图 1 典型光动力反应示意图^[4]

1.2 光源

传统光敏剂的激发波长大多在紫外光或可见光区域,其穿透深度低并且容易被组织内源性物质干扰,无法用于深部肿瘤的光动力治疗。而近红外光(700~1300 nm)具备较高的穿透深度(10~15 mm),能够避免体内干扰并能达到深层次治疗。

然而,激发波长大于 800 nm 的近红外光,其单光子能量较低,无法达到光敏剂激发的能量需求,从而使得单线态氧产率低,光动力效果差^[5]。同时影响临床光动力的光源因素还包括光源的输出强度,光源的照射频率等。因此,必须根据肿瘤和光敏剂的类型,选择特定波长的激发光源进行光动力治疗。

1.3 氧 气

光动力治疗过程中,具备肿瘤杀伤活性最强的为单线态氧,是光敏剂将能量传递给氧气产生能态跃迁产生的,因此氧气是光动力不可或缺的一部分。但是由于肿瘤部位血管的不完整导致供氧不足,肿瘤部位乏氧限制了光动力的应用。同时在光动力过程中光敏剂得到光照后,肿瘤部位的氧气被迅速消耗,氧分压迅速下降,无法得到补充从而进一步限制了 PDT 的杀伤效果^[6-7]。因此改善肿瘤部位乏氧的特性是光动力治疗肿瘤急需克服的问题。

2 光动力作用机制

2.1 直接杀死肿瘤细胞

光动力反应过程中产生的活性单线态氧能够作用于细胞内的蛋白巯基和氨基等基因使得蛋白质变性,细胞内的酶活性降低;同时单线态氧还能够攻击细胞膜等脂质双分子层,引起脂质过氧化,导致膜的生物结构和生物性能发生改变;活性氧能够直接作用于 DNA 分子,造成损伤。由于单线态氧存在时间特别短(约 10 ~ 320 ns),细胞内扩散距离短(10 ~ 50 nm)^[8],因此,光动力促细胞凋亡途径或方式主要取决于光敏剂在细胞内的蓄积部位^[9]。通常来说,细胞凋亡(细胞程序性死亡)是光动力过程中杀伤肿瘤细胞的主要方式。例如,光敏剂蓄积于内质网或线粒体,细胞经由凋亡途径死亡;而蓄积于细胞膜或溶酶体则可延缓细胞凋亡时间^[10]。

2.2 血管破坏

实体瘤的生长依赖于它们诱导生成的血管所提供的氧气和营养物质,其组织中血管壁间隙较宽、结构完整性差、淋巴回流缺失,有利于光敏剂的富集^[11]。另外,内皮细胞和肿瘤微血管内皮结构中有大量特异性受体,光敏分子与特异性载体(白蛋白、高密度脂蛋白或低密度脂蛋白)结合后,增强受体亲和性,提高内皮细胞的光敏剂富集^[12]。当光敏剂被激活产生的单线态氧作用于内皮细胞和血管壁,会导致血栓形成^[13],并产生一系列的生理应答(如血小板聚集、血管活性分子释放、白细胞黏附、血管渗透性增加和血管收缩)^[14]。这些效应最终导致肿瘤血管堵塞、血流停滞、组织出血,肿瘤缺乏氧气和营养物质,从而达到光动力治疗治疗肿瘤的效果^[15]。

2.3 炎症和免疫反应

直接杀伤肿瘤细胞和血管损伤是消融原位实体瘤的主要方式,现代研究表明 PDT 杀伤肿瘤的同时能够激发机体的免疫反应产生肿瘤清除的效应。肿瘤部位 PDT 效应使得炎症介质(蛋白酶、过氧化物酶、细胞因子、生长因子和其他免疫调节剂)^[16]从治疗部位释放,刺激各种白细胞(中性粒细胞和巨噬细胞)在肿瘤部位富集。巨噬细胞通过吞噬作用清除受损癌细胞,呈递肿瘤抗原到 CD4⁺ T 淋巴细胞,随后激活 CD8⁺ T 淋巴细胞。CD8⁺ T 淋巴细胞能够诱导附近的肿瘤细胞坏死和凋亡,激活的免疫系统能够达到长期控制肿瘤的免疫效应^[17]。因此,相对于手术和化疗的免疫抑制作用,PDT 呈现出激活免疫应答和控制肿瘤复发的优势。

3 光动力治疗的局限性及可能解决方案

3.1 组织穿透深度

FDA 批准的光敏剂大多适用于紫外或者可见光激发,其穿透程度较低(1 ~ 3 mm)只适用于表皮组织部位的治疗。同时大多数组织的有色体(血红蛋白等)能强烈吸收可见光,大大地干扰了光敏剂对光能的转化^[18]。因此,PDT 的疗效随着组织深度增加而显著降低,导致治疗不彻底和复发。因此,寻求有效的方法克服组织穿透深度成为现阶段研究光动力急需解决的问题。

3.1.1 近红外激发光动力治疗 为了增加组织穿透深度,近红外光(700 ~ 1 300 nm)能够有效穿透皮肤到达 10 ~ 15 mm^[19]。本课题组运用白蛋白自组装技术制备了近红外光敏剂 IR780 的白蛋白纳米粒(HSA-IR780 NPs)^[20](图 2)。与游离的 IR780 相比,HSA-IR780 NPs 溶解性提高(1 000 倍),耐受性增加(从 2.5 mk/kg 到 25 mk/kg)。808 nm 近红光波长激光照射,HSA-IR780 NPs 产生光热和光动力效应。还有一些学者试图利用无机金属纳米粒吸收近红外光增加组织渗透深度。Hwang 小组制备一种新的多枝状“金纳米海胆”,其具备卓越的 NIR 单光子吸收,能够作为深层肿瘤 PDT 治疗的光敏剂,近红外光激发后,植入性黑色素瘤被完全破坏^[21]。虽然一些研究利用吸收 NIR 的 PSs 改善光源的组织渗透,但是低能量的 NIR 在单波长下不能提供足够的能量激发 PSs 产生高效的 ROS 杀伤作用^[22]。

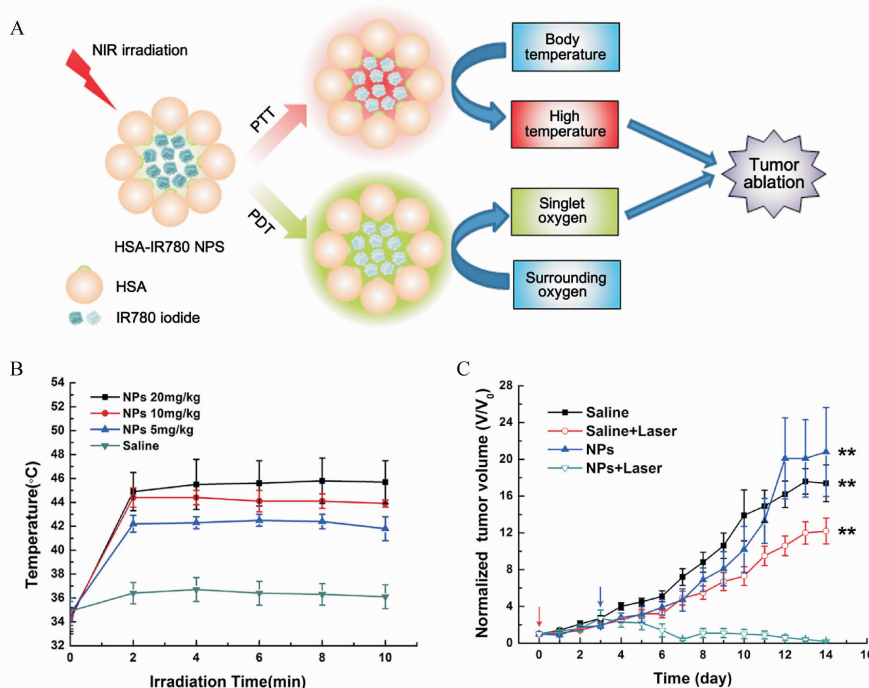


图 2 NIR 照射 HSA-IR780NPs 用于肿瘤治疗^[20]

A: HSA-IR780NPs 近红外激发治疗肿瘤的原理图; B: 不同给药剂量下肿瘤升温曲线; C: HAS-IR780NPs 抑瘤曲线

3.1.2 双光子光敏剂 双光子吸收 (two-photon absorption, TPA) 光敏剂能够同时吸收近红外区域的两个低能量光子, 产生与可见光单光子相同的能量, 能够克服近红外光敏剂因能量低而无法达到光动力效果的缺陷。双光子光敏剂被高度集聚的脉冲激光激发, 其激发光区较小, 增强了深层次肿瘤的 3D 选择性, 有效避免了对周围组织的损伤。Starkey 等^[23]报道 TP-PDT 在移植瘤部位能够达到 2 cm 的有效治疗深度, 远高于单光子吸收 PDT。Ventura 课题组研制出基于卟啉结构的 TPA PSs, 具备较大的双光子吸收截面 (1×10^3 GM) 和理想的单线态氧产生能力, 有效激发双光子毒性^[24]。其他研究发现, PSs 通过共价作用封装到介孔二氧化硅纳米粒 (MSNPs) 中, 每个纳米粒子都具有双光子吸收截面 (TPACS) (8×10^6 GM)。MSNPs 与靶向分子作用后, 可特异性识别肿瘤表面过度表达的受体, 产生光动力效应^[25]。

3.1.3 上转换纳米粒 上转换纳米粒 UCNs 是一种能量转换体, 能将两种或多种低能量的光子转换成高能量光子, 并表现出强烈的上转换荧光。与下转换纳米粒相比, UCNs 能够吸收 NIR 光, 具备相对较高的组织穿透深度, 同时能够将光转化为能量较强的紫外或者可见光。基于这种特性, 以 UCNs

为基础的 PDT 被广泛研究用于肿瘤治疗, 用于改善组织穿透深度。有课题组运用两亲性 PEG 聚合物修饰 UCNs, Ce6 位于聚合物疏水层, 制备成 UCNs-Ce6 纳米复合体 (图 3)^[26]。体外应用发现, UCNs-Ce6 纳米复合体在 980 nm 激发后, 可强烈抑制 4T1 细胞增殖扩散。动物体内试验表明, 静脉注射 UCNs-Ce6 纳米复合体到 4T1 乳腺癌 BABL/C 小鼠体内, 肿瘤生长被抑制, 存活时间延长。众所周知, UCNs 在 NIR 照射后, 表现出多重发射光。为了充分利用光上转换转移能量, 光敏剂 MC540 和酞菁锌 (ZnPc) 同时嵌入到介孔二氧化硅 UCNs^[27]。NIR 照射后, 两种光敏剂被 UCNs 多重发射光激活。与单光敏剂 UCNs 相比, 双光敏剂 UCNs 单线态氧生成增加, 细胞活力降低, 光动力效果显著提升。

3.1.4 X 射线激活的纳米粒 X 射线比 NIR 光具备更强的组织穿透能力, 可高效率地从身体的任何部位激活 PDT^[28]。Chen 课题组率先在体外利用 X 射线激活光动力杀伤肿瘤细胞^[29-30]。近期, 该小组将铜-半胱胺子混合物作为 X 射线在体内的感光剂产生单线态氧^[31]。然而, 激发 PDT 需要 5Gy 的 X 射线照射, 才能达到预期的治疗效果, 与临床放射疗法中使用的剂量相当甚至更高^[32-34]。为了解决 X 射线强度较高的问题, 载有光敏剂 MC540,

SAO 核和二氧化硅涂层的 X 射线高转化纳米系统被研究^[35] (图 4)。SAO 是一种发冷光材料,能将 X 射线光子量子转变为可见光子,这种现象被称为 X 射线激发冷光 (XEOL)^[36-37]。XEOL 激发 MC540 产生单线态氧,低剂量(0.5Gy)X 射线就能有效杀伤肿瘤细胞。小鼠体内外研究表明,SAO

启动的 X-PDT 显著抑制肿瘤细胞生长,甚至导致肿瘤萎缩,且正常组织不受影响^[36]。SAO 纳米粒是高水溶性的,在 PDT 后被还原为低毒离子,2 周内从体内清除干净,对机体没有长期影响^[35]。这些结果表明,X-PDT 在肿瘤的临床治疗中具有良好的发展前景。

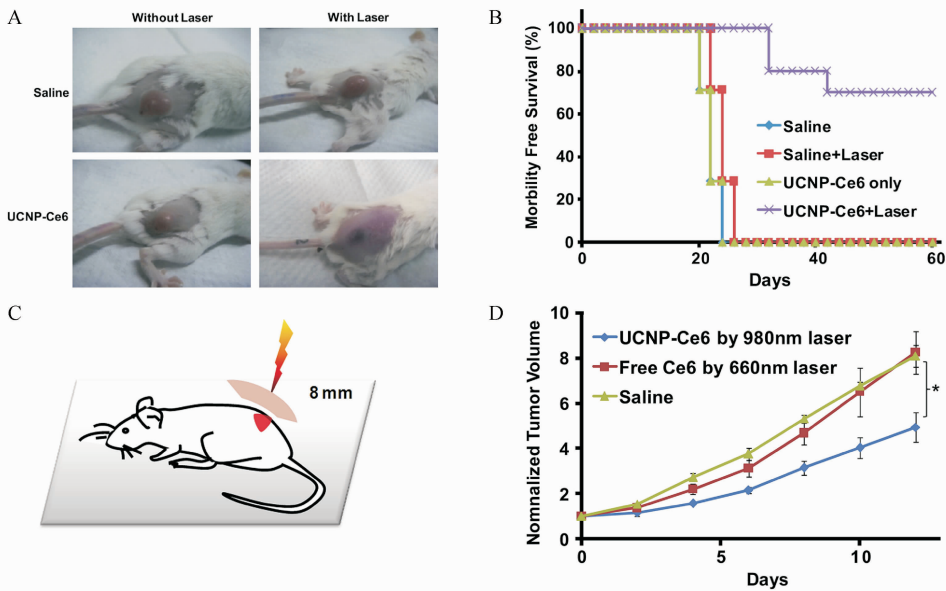


图 3 基于 UCNP-Ce6 上转换纳米粒的 PDT 治疗^[26]
A:UCNP-Ce6 纳米粒 PDT 治疗 6 天后荷瘤小鼠图;B:各治疗组 60 天后生存曲线;C:上转换纳米粒肿瘤穿透示意图;D:各治疗组抑瘤归一化曲线

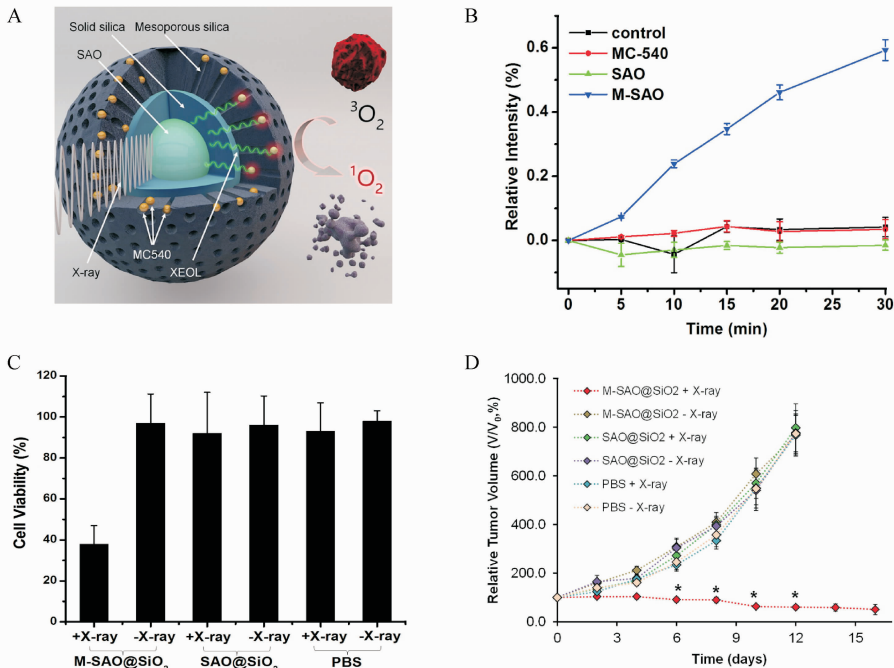


图 4 纳米发光闪烁体介导 X 射线诱导体内 PDT 肿瘤治疗^[35]
A:SAO@SiO₂-MC540 纳米复合物结构和工作原理;B:X 射线照射下不同组¹O₂ 能力比较;C:SAO@SiO₂-MC540 纳米复合物、SAO@SiO₂ 纳米复合物细胞生存图;D:荷瘤小鼠瘤内注射 SAO@SiO₂-MC540 纳米复合物、SAO@SiO₂ 纳米复合物 X 射线照射 0 min、30 min 抑瘤曲线

3.1.5 切伦科夫光动力 有学者用放射性核素发射的切伦科夫射线激活二氧化钛 (TiO₂) 纳米粒,产生 ROS 自由基用于肿瘤治疗^[38](图 5)。其主要方式是利用转铁蛋白覆盖的 TiO₂ 和临床应用的放射性核素共同定位在小鼠肿瘤组织,利用切伦科夫

光动力治疗肿瘤,症状完全缓解,存活期显著延长。研究结果发现肿瘤细胞选择性死亡和大量淋巴细胞浸润,表明自由基和免疫系统激活介导肿瘤细胞破坏。该研究提供了一种利用低辐射敏感的纳米光敏剂,实现切伦科夫射线介导的 PDT 深入疗法。

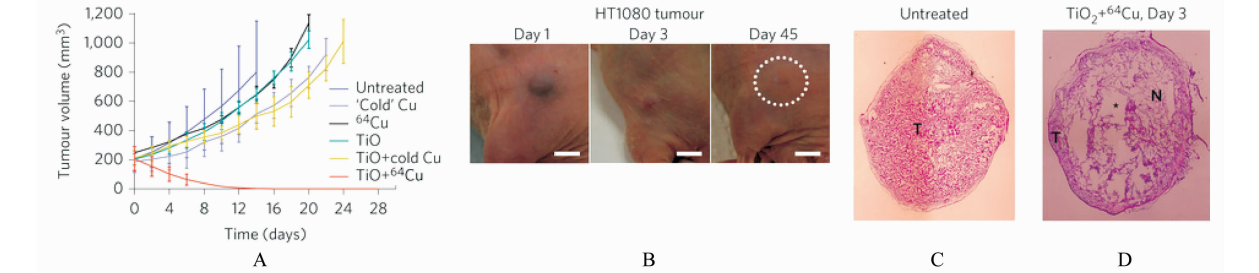


图 5 切伦科夫射线激活二氧化钛 (TiO₂) 纳米粒用于肿瘤治疗^[38]
A:各治疗组小鼠肿瘤体积生长曲线;B:HT1080 肿瘤小鼠注射单剂量 2.5 μg/mL TiO₂-PEG 和 0.5 mCi/0.1 mL⁶⁴Cu 后 1,3,45 天后效果图;C、D 分别是对照组和实验组肿瘤组织切片

3.1.6 内源性光激发 PDT (ILE-PDT) 内源性光激发 PDT (ILE-PDT) 被认为是对深层次肿瘤治疗的一种方式。在 ILE-PDT 中,PSs 由化学或生物反应产生的发射光激活。在合适底物和催化剂条件下,发光物质 (像发光氨和荧光素) 发射 UV-VIS 荧光,被邻近 PSs 吸收,触发 PDT 反应。许多光敏剂在 UV-VIS 区域具有很强的消光系数,所以在没有外部光照射的情况下,发光氨和荧光素是理想的触发 PDT 的催化剂^[39-41]。有学者提出利用发光氨-

H₂O₂-HRP 化学发光系统作为内部光源,激发 m-THPC PDT 和肿瘤成像^[42]。通过 HRP 和半导体聚合物点整合作用,m-THPC 被化学发光能量转移 (CRET) 激活。发光氨为基础的 ILE-PDT 对多种细胞都表现出极强的毒性。还有学者以荧光素为基础制备 ILE-PDT。荧光素固定化的 QDs 最为内部光源,在腔肠素存在下,QDs 被生物荧光能量转移激活,随后 QDs 能量激活 Foscan 药物分子,PDT 触发,单线态氧产生,抗肿瘤效应产生^[43](图 6)。

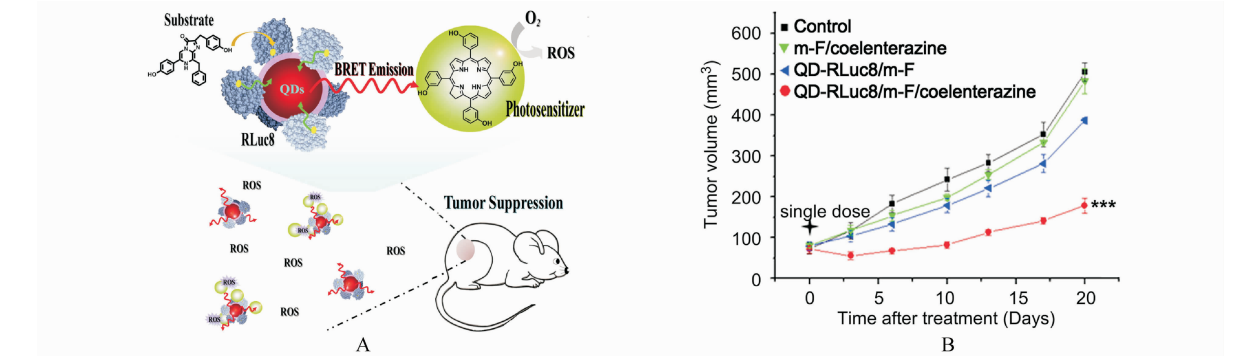


图 6 荧光素酶量子点 ILE-PDT^[43]
A:RLuc8-量子点 655 用于 ILE-PDT 原理图;B:各治疗组 A459 肿瘤体积变化曲线

3.2 光敏剂的选择性

临床批准的第一代和第二代光敏剂,大多数为水溶性,除了为可见光激发限制了它们的应用外,其肿瘤靶向性也是急需解决的问题。第一代光敏剂为复杂的卟啉混合物,在体内代谢速度缓慢,在皮肤蓄积较多,导致患者接受光动力治疗后需要

在暗室避光休息,患者耐受性差,拒绝接受 PDT 治疗。为了克服这一缺陷,第二代光敏剂取得了较大的进步,能够在一定程度上克服皮肤毒性,比如 5-ALA 其本身并没有光敏效应,只有在癌变的细胞内由于转化酶高表达才能够将其转化为具备光敏毒性的原卟啉 PPIX,在光的激发下产生单线态氧,

大大地降低了皮肤毒性,患者的避光时间也大大缩短(仅需要 2 天左右)。因此现阶段的光动力研究的热点,在于如何提高光敏剂的靶向性,克服皮肤光毒性。正常组织中的微血管内皮间隙致密、结构完整,大分子和脂质颗粒不易透过血管壁;而实体瘤组织中血管壁间隙较宽、结构完整性差,淋巴回流缺失,对大分子物质和脂质颗粒具有选择性高通透性和滞留性,这种现象被称作实体瘤组织的高通透性和滞留效应(增强的渗透性和滞留,EPR)^[44]。利用 EPR 效应将疏水酞菁(PSs)与脂质体、纳米粒等相连,制备合适粒径的运输载体,将 PSs 被动靶向运输至病变部位。主动靶向载体对脂质体,纳米粒,胶束等载体进行改造,或直接将 PSs 与肿瘤细胞可特异性识别的受体或受体片段、抗体等载体相连,主动靶向运输至病变部位^[45]。然而研究发现,尽管利用纳米粒的 EPR 效应能够增加肿瘤部位的富集,但是光毒性的存在仍然困扰着患者。

3.2.1 可激发光敏剂 传统光敏剂肿瘤细胞选择性差,具备较强的光毒性,容易导致正常细胞死亡。因此需要增强肿瘤细胞蓄积,减少对正常组织的损

失,保证患者使用的安全性和良好的适应性。可激发光敏剂是一种新型光敏剂能够增强肿瘤部位富集,并且在正常组织处于淬灭状态而减少伤害,增加光动力治疗的安全性。有学者设计了新型双靶向可激活的 PS,可高度选择性识别和治疗肿瘤^[46](图 7)。此探针具备聚集诱导发光功能(AIE)的发色团,用于成像;其光敏淬灭部位在遇到生物硫醇后裂开,并通过环精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸(CRGD)三肽靶向过度表达的整合素蛋白 $\alpha_v\beta_3$ 从而靶向肿瘤细胞。探针本身无荧光,无产单线态氧能力,然而其可被选择性激活产生特异性荧光,在聚合物状态下能有效地产生单线态氧切除肿瘤细胞。与传统 PSs 相比,该探针的双选择过程增强荧光强度和 ROS 的产生。还有学者将二乙基引入到光敏剂结构中,用于 pH 激活和单线态氧产生,溴苯基引入用于提高单线态氧生成效率^[47]。这些方式能够有效地增强肿瘤部位的光敏剂的蓄积,并且在体内循环时光敏分子处于淬灭状态,能够有效克服皮肤毒性,增加光动力治疗的安全性。

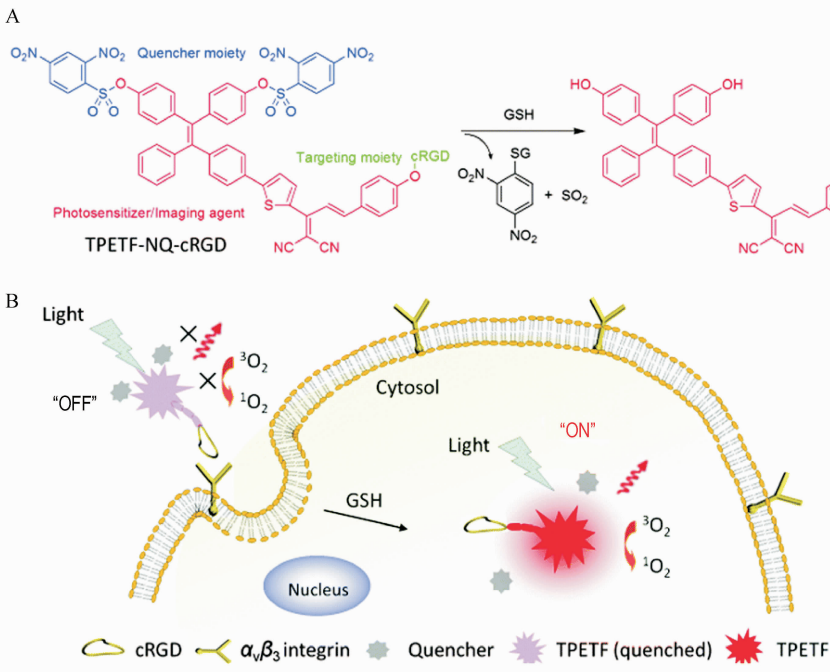


图 7 双靶向可激活荧光探针用于光动力治疗^[46]
A:谷胱甘肽(GSH)激活探针 TPETF-NQ-cRGD 释放猝灭剂的原理图;B:双靶向可激活荧光探针光动力激发的原理图

3.2.2 可激活光敏纳米粒 多功能光敏纳米粒能够增强光敏剂在肿瘤部位富集,从而增加光动力治疗的效果。然而大多数光敏纳米粒体循环时,会由

于外界光的刺激产生单线态氧对皮肤产生毒性,这是目前光动力治疗遇到的挑战。为了克服光敏剂的光毒性,可激活光敏纳米粒成为现在的研究

热点。

Ce6 是一种¹O₂ 量子产率高和暗毒性低的光敏剂,其激发波长为 660 nm,暴露在日光照射下能被激发产生¹O₂ 从而诱发皮肤光毒性并损伤正常组织细胞。本题组研制出载有 Ce6 和 ICG 的脂质体,利用光敏剂分子之间的相互作用,Ce6 光毒性被 ICG 抑制,处于“关闭”状态^[49] (图 8)。当激光

660 nm 照射脂质体,Ce6 无产¹O₂ 能力;近红外 808 nm 照射脂质体,ICG 被分解,Ce6 单线态氧能力恢复。另外,ICG 在 NIR 照射下产生热量杀伤肿瘤细胞,可用于 PTT。因此,本课题组设计的包含 Ce6 和 ICG 的脂质体作为可激活 PDT 光敏纳米粒,联合 PTT 用于抗肿瘤治疗。

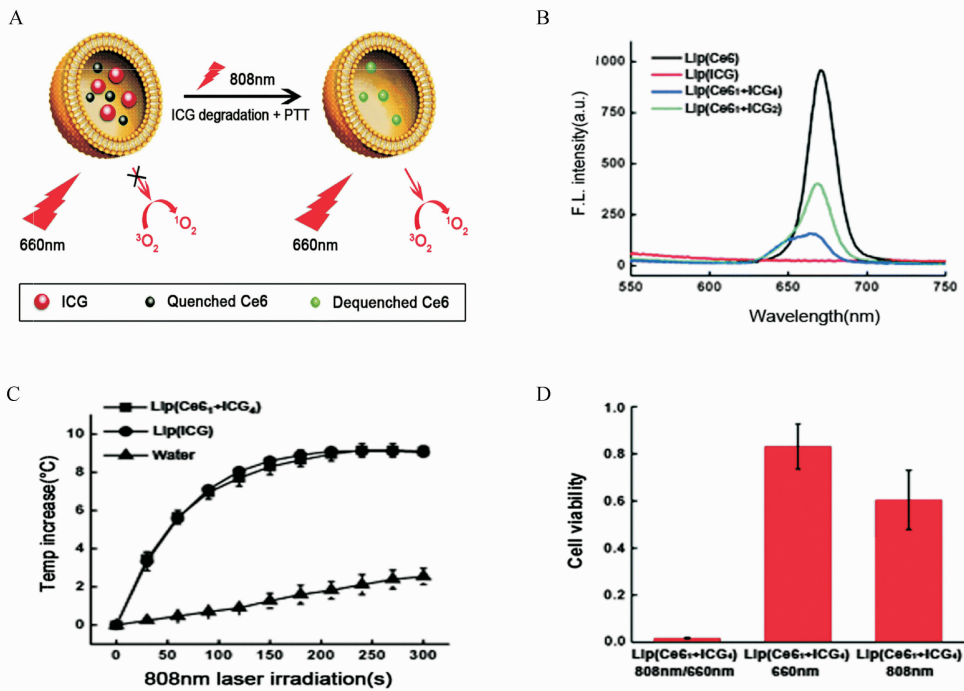


图 8 近红外照射可激活脂质体用于肿瘤治疗^[49]
A: 含 ICG- Ce6 脂质体用于可激活 PDT 的示意图; B: 脂质体 (Ce6), (ICG), (Ce6₁ + ICG₂), (Ce6₁ + ICG₄) 荧光光谱; C: 808 nm 激光照射 5 min 后脂质体 (ICG), (Ce6₁ + ICG₄), 水的光热效应; D: 脂质体 (Ce6₁ + ICG₄) 808 nm/660 nm, 660 nm, 808 nm 曝光后细胞活力

3.3 肿瘤缺氧

PDT 三要素之一为氧气,因此光动力反应的过程中,组织部位的氧气浓度限制了光动力反应的进行。因此肿瘤组织缺氧将严重影响 PDT 的疗效。肿瘤快速生长使血液供应不足产生低氧细胞,而 PDT 过程中快速关闭肿瘤血管和局部氧气供应消耗都加重肿瘤缺氧^[48]。因此改善肿瘤部位乏氧是提高光动力效果的一个重要手段。

3.3.1 自供氧光动力 为了解决肿瘤缺氧这个问题,本课题组研制出了自供氧 PDT (Oxy-PDT)^[50] (图 9)。由于全氟化碳有较高的氧容量^[51] 和较长的单线态氧存活时间^[52],将光敏剂包裹在全氟化碳纳米粒里,PDT 的疗效显著增加,单线态氧生成加快和细胞毒性增加^[53]。体内研究结果显示,

Oxy-PDT 直接注射到小鼠肿瘤部位,肿瘤生长被抑制,而传统的 PDT 则没有此效果。因此 Oxy-PDT 为光动力发展提供了一个思路。

3.3.2 H₂O₂ 激活的产氧 PDT 纳米粒 H₂O₂ 激活的产氧 PDT 纳米粒 (HAOP NP) 可运用于解决肿瘤缺氧问题^[53] (图 10)。该纳米粒由包含光敏剂、过氧化氢酶的水溶性核,连接淬灭剂的多聚物壳组成,携带有功能化的肿瘤靶向配体 c (RGDfK),可高效率、高选择性的用于肿瘤治疗。一旦 HAOP NP 被高表达整合素 αVβ3 的肿瘤细胞捕获,胞内的 H₂O₂ 从壳渗透到核内,在过氧化物酶的作用下产生 O₂,导致壳破裂,并释放光敏剂。光照条件下,释放的光敏剂在高氧的存在下,诱导产生¹O₂ 杀伤肿瘤。

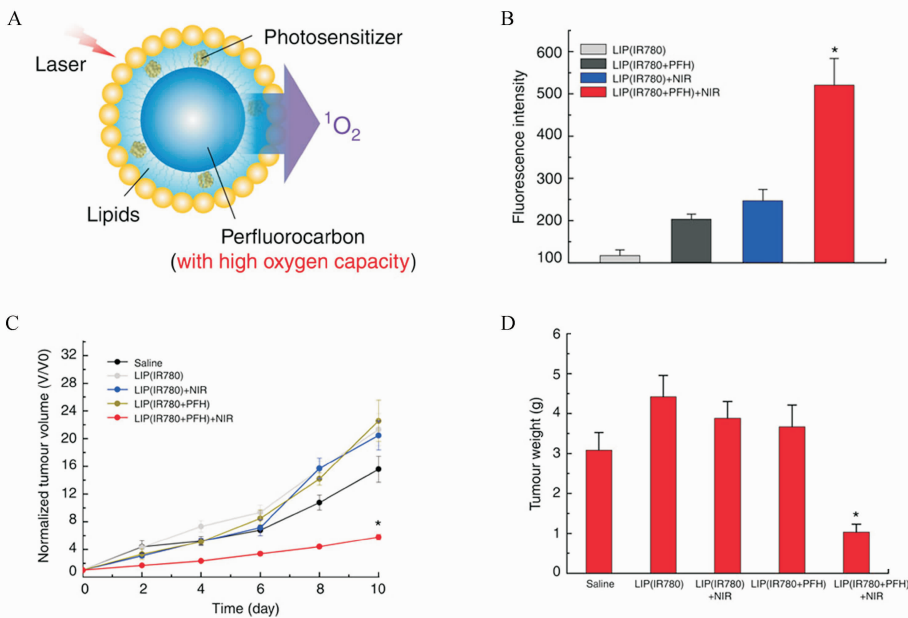
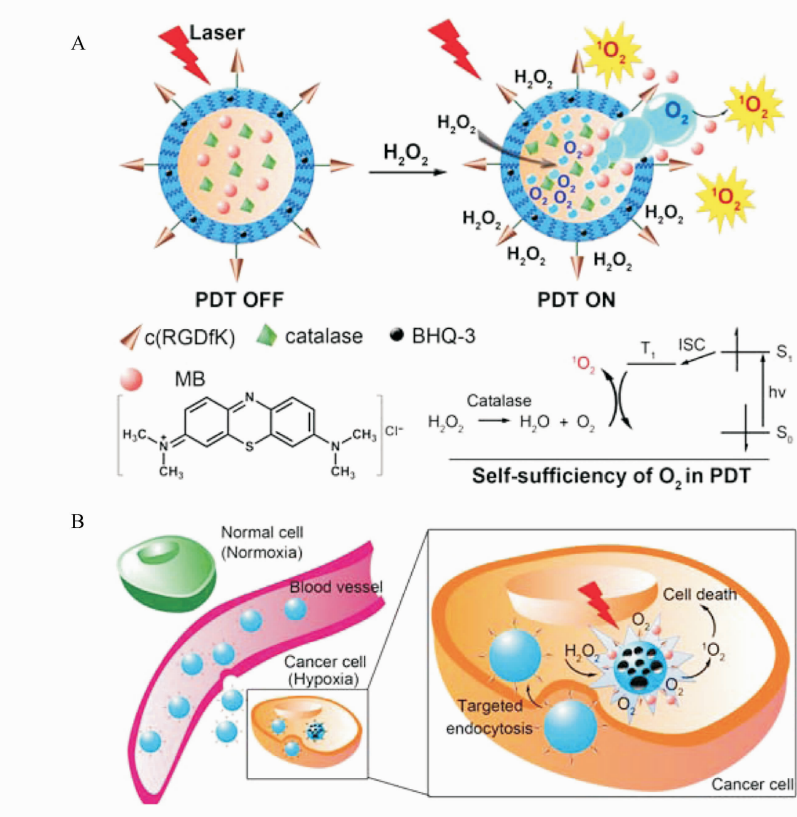


图 9 Oxy-PDT 用于肿瘤治疗^[50]
A:Oxy-PDT 结构和设计原理图;B:808 nm 照射各组产 $^1\text{O}_2$ 荧光性比较;C:肿瘤体积变化评价 Oxy-PDT 瘤内注射药效曲线;D:治疗 10 天后肿瘤重量变化图



有效的克服实体瘤低氧的治疗方法。

4 总结与展望

光动力治疗因其独特的靶向作用和较低的全身毒性成为肿瘤治疗的有效策略。目前光动力治疗的前沿研究主要涉及光敏剂的量子产率、光的穿透深度以及治疗部位氧气含量等方面。研究者希望通过利用近红外光和内源性光来改善光源的穿透强度,从而能够使得光动力在深层次肿瘤得以应用。此外,因为大部分肿瘤内部处于乏氧状态,光动力治疗只能应用于浅表肿瘤或其他疾病的治疗。因此,研究者有效地利用氧气递送等手段来增强乏氧部位的光动力治疗效果。还有研究者通过构建可激活的光敏剂来降低其皮肤毒性,提高患者的用药安全。随着纳米医学、生物和光学等学科的前沿技术的发展和融合,相信光动力治疗会在多种恶性肿瘤治疗中发挥越来越重要的作用,并将成为临床治疗中的重要手段之一。

参考文献

- [1] Dougherty TJ, Gomer CJ, Henderson BW, *et al.* Photodynamic therapy[J]. *JNCI Cancer Spectrum*, 1998, **90**(12): 889-905.
- [2] Dolmans DE, Fukumura D, Jain RK. Photodynamic therapy for cancer[J]. *Nat Rev Cancer*, 2003, **3**(5): 380-387.
- [3] Castano AP, Demidova TN, Hamblin MR. Mechanisms in photodynamic therapy: part one-photosensitizers, photochemistry and cellular localization [J]. *Photodiagn Photodyn Ther*, 2004, **1**(4): 279-293.
- [4] Lucky SS, Soo KC, Zhang Y. Nanoparticles in photodynamic therapy[J]. *Chem Rev*, 2015, **115**(4): 1990-2042.
- [5] Juzeniene A, Nielsen KP, Moan J. Biophysical aspects of photodynamic therapy[J]. *J Environ Pathol Toxicol Oncol*, 2006, **25**(1/2): 7-28.
- [6] Henderson BW, Fingar VH. Relationship of tumor hypoxia and response to photodynamic treatment in an experimental mouse tumor[J]. *Cancer Res*, 1987, **47**(12): 3110-3114.
- [7] Mitchell JB, McPherson S, DeGraff W, *et al.* Oxygen dependence of hematoporphyrin derivative-induced photoinactivation of Chinese hamster cells [J]. *Cancer Res*, 1985, **45**(5): 2008-2011.
- [8] Dysart JS, Patterson MS. Characterization of photofrinphotobleaching for singlet oxygen dose estimation during photodynamic therapy of MLL cells *in vitro* [J]. *Phys Med Biol*, 2005, **50**(11): 2597-2616.
- [9] Moan J, Berg K, Kvam E, *et al.* Intracellular localization of photosensitizers[J]. *Ciba Found Symp*, 1989, **146**: 95-107; discussion 107-111.
- [10] Mroz P, Yaroslavsky A, Kharkwal GB, *et al.* Cell death pathways in photodynamic therapy of cancer[J]. *Cancers*, 2011, **3**(2): 2516-2539.
- [11] Baluk P, Hashizume H, McDonald DM. Cellular abnormalities of blood vessels as targets in cancer[J]. *Curr Opin Genet Dev*, 2005, **15**(1): 102-111.
- [12] Chen B, Pogue BW, Hoopes PJ, *et al.* Vascular and cellular targeting for photodynamic therapy[J]. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr*, 2006, **16**(4): 279-305.
- [13] Huang Z, Xu H, Meyers AD, *et al.* Photodynamic therapy for treatment of solid tumors--potential and technical challenges[J]. *Technol Cancer Res Treat*, 2008, **7**(4): 309-320.
- [14] Dolmans DE, Kadambi A, Hill JS, *et al.* Vascular accumulation of a novel photosensitizer, MV6401, causes selective thrombosis in tumor vessels after photodynamic therapy[J]. *Cancer Res*, 2002, **62**(7): 2151-2156.
- [15] Abels C. Targeting of the vascular system of solid tumours by photodynamic therapy (PDT) [J]. *Photochem Photobiol Sci*, 2004, **3**(8): 765-771.
- [16] Allison RR, Moghissi K. Photodynamic therapy (PDT): PDT mechanisms[J]. *Clin Endosc*, 2013, **46**(1): 24-29.
- [17] van Duijnhoven FH, Aalbers RI, Rovers JP, *et al.* The immunological consequences of photodynamic treatment of cancer, a literature review[J]. *Immunobiolog*, 2003, **207**(2): 105-113.
- [18] Frangioni JV. *In vivo* near-infrared fluorescence imaging[J]. *Curr Opin Chem Biol*, 2003, **7**(5): 626-634.
- [19] Ronald WW, Marwood NE. In *Electro-Optics Handbook* [M]. 2nd ed, McGraw Hill: New York, 2000; Professional Access Engineering.
- [20] Jiang C, Cheng H, Yuan A, *et al.* Hydrophobic IR780 encapsulated in biodegradable human serum albumin nanoparticles for photothermal and photodynamic therapy [J]. *Acta biomaterialia*, 2015, **14**: 61-69.
- [21] Vijayaraghavan P, Liu CH, Vankayala R, *et al.* Designing multi-branched gold nanoechinus for NIR light activated dual modal photodynamic and photothermal therapy in the second biological window[J]. *Adv Mater*, 2014, **26**(39): 6689-6695.
- [22] Lu T, Shao P, Mathew I, *et al.* Synthesis and photophysics of benzotetraphyrin; a near-infrared emitter and photosensitizer[J]. *J Am Chem Soc*, 2008, **130**(47): 15782-15783.
- [23] Starkey JR, Rebane AK, Drobizhev MA, *et al.* New two-photon activated photodynamic therapy sensitizers induce xenograft tumor regressions after near-IR laser treatment through the body of the host mouse[J]. *Clin Cancer Res*, 2008, **14**: 6564-6573.
- [24] Schmitt J, Heitz V, Sour A, *et al.* Diketopyrrolopyrrole-porphyrin conjugates with high two-photon absorption and singlet oxygen generation for two-photon photodynamic therapy [J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2015, **54**(1): 169-173.
- [25] Gary-Bobo M, Mir Y, Rouxel C, *et al.* Mannose-functionalized

- mesoporous silica nanoparticles for efficient two-photon photodynamic therapy of solid tumors [J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2011, **50**(48):11425–11429.
- [26] Wang C, Tao H, Cheng L, *et al.* Near-infrared light induced *in vivo* photodynamic therapy of cancer based on upconversion nanoparticles [J]. *Biomaterials*, 2011, **32**(26):6145–6154.
- [27] Idris NM, Gnanasamandhan MK, Zhang J, *et al.* *In vivo* photodynamic therapy using upconversion nanoparticles as remote-controlled nanotransducers [J]. *Nat Med*, 2012, **18**(10):1580–1585.
- [28] Lim CK, Heo J, Shin S, *et al.* Nanophotosensitizers toward advanced photodynamic therapy of cancer [J]. *Cancer Lett*, 2013, **334**(2):176–187.
- [29] Zou X, Yao M, Ma L, *et al.* X-ray-induced nanoparticle-based photodynamic therapy of cancer [J]. *Nanomedicine*, 2014, **9**(15):2339–2351.
- [30] Ma L, Zou XJ, Bui B, *et al.* X-ray excited ZnS:Cu, Co afterglow nanoparticles for photodynamic activation [J]. *Appl Phys Lett*, 2014, **105**:013702.
- [31] Ma L, Zou X, Chen W. A new X-ray activated nanoparticle photosensitizer for cancer treatment. [J] *J Biomed Nanotechnol*, 2014, **10**(8):1501–1508.
- [32] Oh SB, Park HR, Jang YJ, *et al.* Baicalein attenuates impaired hippocampal neurogenesis and the neurocognitive deficits induced by γ -ray radiation [J]. *Br J Pharmacol*, 2013, **168**(2):421–431.
- [33] Thariat J, Marcy PY, Lagrange JL, *et al.* Trends in radiation therapy for the treatment of metastatic and oligometastatic disease in 2010 [J]. *Cancer*, 2010, **97**(12):1467–1476.
- [34] Kaščáková S, Giuliani A, Lacerda S, *et al.* X-ray-induced radio-photodynamic therapy (RPDT) using lanthanide micelles: Beyond depth limitations [J]. *Nano Res*, 2015, **8**(7):2373–2379.
- [35] Chen H, Wang GD, Chuang YJ, *et al.* Nanoscintillator-mediated X-ray inducible photodynamic therapy for *in vivo* cancer treatment [J]. *Nano Lett*, 2015, **15**(4):2249–2256.
- [36] Chen HY, Rogalski MM, Anker JN. Advances in functional X-ray imaging techniques and contrast agents [J]. *Phys Chem Chem Phys*, 2012, **14**(39):13469–13486.
- [37] Osseni SA, Lechevallier S, Verelst M, *et al.* Gadolinium oxysulfide nanoparticles as multimodal imaging agents for T2-weighted MR, X-ray tomography and photoluminescence [J]. *Nanoscale*, 2014, **6**(1):555–564. doi:10.1039/c3nr03982j.
- [38] Kotagiri N, Sudlow GP, Akers WJ, *et al.* Breaking the depth dependency of phototherapy with Cerenkov radiation and low-radiance-responsive nanophotosensitizers [J]. *Nat Nanotechnol*, 2015, **10**(4):370–379.
- [39] Laptev R, Nisnevitch M, Siboni G, *et al.* Intracellular chemiluminescence activates targeted photodynamic destruction of leukemic cells [J]. *Br J Cancer*, 2006, **95**(2):189–196.
- [40] Carpenter S, Fehr MJ, Kraus GA, *et al.* Chemiluminescent activation of the antiviral activity of hypericin: a molecular flashlight [J]. *Petrich Proc Natl Acad Sci*, 1994, **91**(25):12273–12277.
- [41] Theodossiou T, Hothersall JS, Woods EA, *et al.* Firefly luciferin-activated rose bengal: *in vitro* photodynamic therapy by intracellular chemiluminescence in transgenic NIH 3T3 cells [J]. *Cancer Res*, 2003, **63**(8):1818–1821.
- [42] Zhang Y, Pang L, Ma C, *et al.* Small molecule-initiated light-activated semiconducting polymer dots: an integrated nanoplatfrom for targeted photodynamic therapy and imaging of cancer cells [J]. *Anal Chem*, 2014, **86**(6):3092–3099.
- [43] Hsu CY, Chen CW, Yu HP, *et al.* Bioluminescence resonance energy transfer using luciferase-immobilized quantum dots for self-illuminated photodynamic therapy [J]. *Biomaterials*, 2013, **34**(4):1204–1212.
- [44] Mei M. Exploration in passive targeting therapy of solid tumor based on the EPR effect (EPR效应在实体瘤被动靶向性治疗中的应用探讨) [D]. Beijing: Academy of Military Medical Sciences, 2008.
- [45] Mei M, Yuan SJ. EPR effect and treatment strategy of solid tumors [J]. *Pharm J Chin PLA* (解放军药学报), 2008, **24**(4):345–346.
- [46] Yuan Y, Xu S, Zhang CJ, *et al.* Dual-targeted activatable photosensitizers with aggregation-induced emission (AIE) characteristics for image-guided photodynamic cancer cell ablation [J]. *J Mater Chem*, 2016, **4**(1):169–176.
- [47] Tian J, Zhou J, Shen Z, *et al.* A pH-activatable and aniline-substituted photosensitizer for near-infrared cancertheranostics [J]. *Chem Sci*, 2015, **6**(10):5969–5977.
- [48] Fuchs J, Thiele J. The role of oxygen in cutaneous photodynamic therapy [J]. *Free Radic Biol Med*, 1998, **24**(5):835–847.
- [49] Yuan A, Tang X, Qiu X, *et al.* Activatable photodynamic destruction of cancer cells by NIR dye/photosensitizer loaded liposomes [J]. *Chem Commun*, 2015, **51**(16):3340–3342.
- [50] Cheng Y, Cheng H, Jiang C, *et al.* Perfluorocarbon nanoparticles enhance reactive oxygen levels and tumour growth inhibition in photodynamic therapy [J]. *Nat Commun*, 2015, **6**:8785.
- [51] Castro CI, Briceno JC. Perfluorocarbon-based oxygen carriers: review of products and trials [J]. *Artif Organs*, 2010, **34**(8):622–634.
- [52] Fuchs J, Thiele J. The role of oxygen in cutaneous photodynamic therapy [J]. *Free Radic Biol Med*, 1998, **24**(5):835–847.
- [53] Chen H, Tian J, He W, *et al.* H₂O₂-activatable and O₂-evolving nanoparticles for highly efficient and selective photodynamic therapy against hypoxic tumor cells [J]. *J Am Chem Soc*, 2015, **137**(4):1539–1547.