

# 生物医学光子学

## Biomedical Photonics

### 生物医学信息工程教育部重点实验室

张镇西

生命科学与技术学院

生物医学分析技术与仪器研究所

The Institute of Biomedical Analytical Technology & Instrumentation

The School of Life Science & Technology

Xi'an Jiaotong University

2012年10月8日



## 光療法 (Phototherapy)

37

- 光療法 (Phototherapy) 最早是由丹麥醫師 Finsen 在 1895 年成功地以紫外線治療狼瘡後提出。他因此成為光療法的先驅，並且在 1903 年得到諾貝爾醫學獎，自此開啟光學醫療之門。
- 光療法可應用於治療皮膚相關疾病、情緒及睡眠方面疾病、初生兒黃疸等
- 光源種類
  - 鐳射可用於拉皮、脂肪分解。
  - 脈衝光用於除斑、除毛、美白、改善粉刺。
  - LED 光照則可應用於醫學美容、傷口癒合等領域上。



# 【诺贝尔生理学及医学奖得主名录】

## 1903年

尼尔斯 吕贝里 芬森

芬森 (Finsen, Niels Ryberg) 丹麦医生。1860年12月15日生于弗罗群岛的托尔沙温；1904年9月24日卒于哥本哈根。芬森的父母是冰岛人，他小时对岛的雷克雅未克上学，后来到丹麦去上大学（当时冰岛和费罗群岛都属丹麦）。1890年获哥本哈根大学医学学位。



【个人简介】 他还是个大学生的时侯，就对光的治病效力发生兴趣，因为他自己患有慢性病，觉得日光对他的病很有益处。1893年他宣称红光能够减轻天花的后果，引起了广泛注意。他把病室的窗子挂上红窗帘，让较长的“热波”进入，挡住较短的“化学波”。1896年他在哥本哈根成立了一个光研究所，经费先是由私人筹集，后来由丹麦政府拨款。他在这里研究“化学波”，发现从太阳或从强力聚光电灯得到的短波光能杀死培养基上或皮肤上的细菌。他还指出，这是光本身的作用而不是由于热的作用。特别能用强力短波光照射以治疗由结核菌引起的皮肤病真性狼疮，为此目的他设计了一种大型强力弧光灯，叫做芬森灯。芬森对于光的研究有些是很难以置信的，因而被废弃，如用红色光治疗天花。然而，对于蓝光和紫光（特别是紫外光）对细菌的效果的发现是很有价值的，它为力量更大的X射线和伽马射线用于医疗奠定了基础，伦琴和贝克勒耳在芬森实验他的化学射线的几乎同一时期分别发现了这两种射线。



由于芬森在利用光辐射治疗狼疮及其他皮肤方面所做出的贡献，1903年诺贝尔医学与生理学奖授给了芬森，他把奖金的半数赠给光研所。芬森成年后身体一直虚弱多病，在获奖的第二年就死去了。1899年，他写出了大量的论文，出版了《光线治疗》的专著，系统总结了多年来的研究成果。他的一生是与病魔斗争的一生，他是坚韧不拔为人类造福的一生。1899年成为丹麦王国的勋爵，同年获得了银十字勋章和金质勋章。1904年获爱丁堡大学卡麦隆奖。主要著作：《光学光线和天花》(1894)；《光线作为刺激物》(1895)；《论集中化学光辐射在医学上的应用》(1896)。【我的看法】坚持不懈是真理！



## 第4章2节 光动力疗法

**光动力疗法 (Photodynamic Therapy, PDT)**，是一种基于光敏剂对肿瘤细胞和正常组织细胞有不同的亲和性，利用适当波长的光及光剂量辐照含有光敏剂的靶向细胞或组织，通过光动力效应，实现光敏剂诱发的光生化反应选择性地在肿瘤细胞或组织内进行，从而实现灭活肿瘤细胞的一种治疗方法。选择合适的光敏剂及作用条件，PDT可以对正常细胞基本不产生或产生较小的影响。利用PDT也可以实现肿瘤的诊断。

光动力疗法 (PDT) 由于具有选择性灭活肿瘤细胞、抗癌谱广、适应症广、可与其它治疗方法联合使用等诸多优点，近年成为医学界、生物医学工程领域和光生物学领域的一个重要研究方向。



## 4.2.1 光动力反应的基本机制

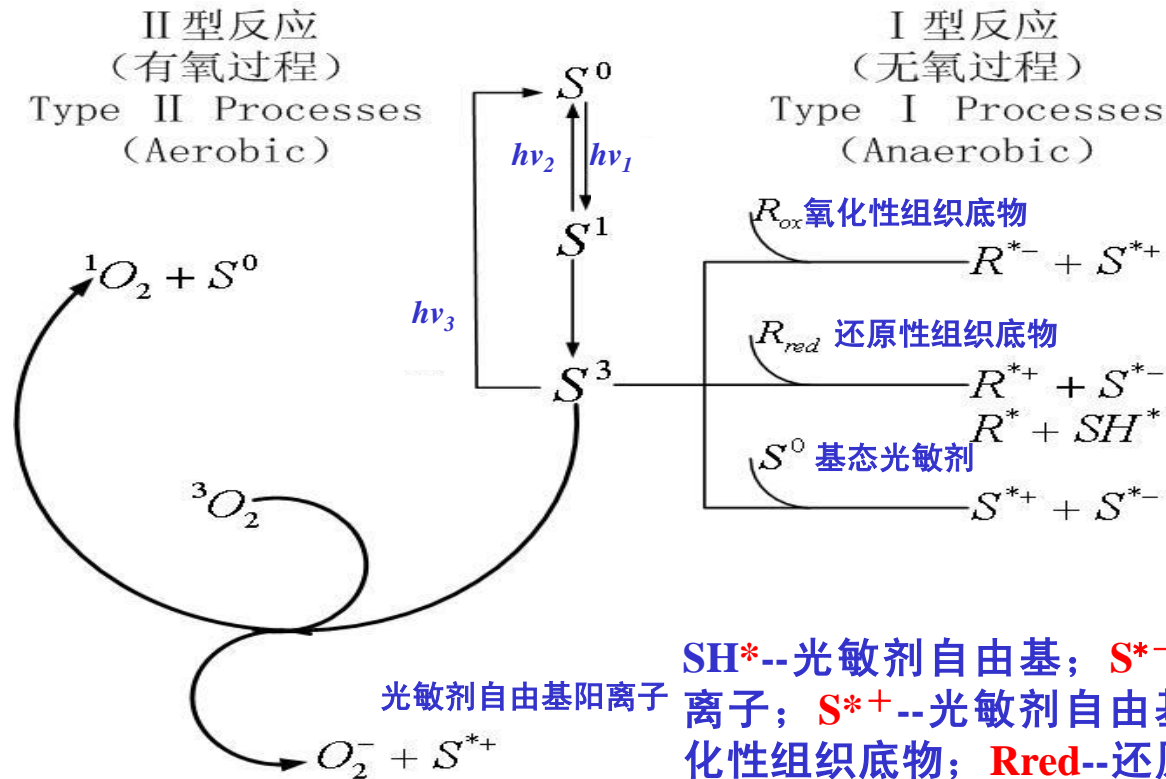
光动力反应中的光敏剂吸收特定波长的光后,可由基态 ( $S^0$ ) 被激发至寿命极短 ( $1\text{ns--}1\mu\text{s}$ ) 的单重态 ( $S^1$ ),后者或通过辐射荧光释放出能量而返回基态,或经系间跃迁至三重态 ( $S^3$ )。三重态具有较长的寿命 ( $1\mu\text{s--}10\text{s}$ ),从而有机会与周围的分子相互作用。

光敏剂的三重态可经 I 型反应,即与底物分子间直接发生电子转移或抽氢作用,产生底物和光敏剂的自由基或自由基离子,并进一步与周围的氧反应生成氧化产物;

或经 II 型反应与基态氧分子之间发生能量传递,产生单重态氧 ( $^1\text{O}_2$ )。单重态氧是一种高反应活性的物质,它具有亲电子性,能高效氧化生物分子,与不饱和脂肪酸、蛋白质、核酸等反应而产生损伤效应,并最终导致细胞死亡。



# 光动力反应基本机制示意图



$S^0$ --基态光敏剂;  $S^1$ --激发单重态光敏剂;  
 $S^3$ --激发三重态光敏剂;  $^1O_2$ --单态氧分子;  
 $O_2^-$ --超氧阴离子自由基;  $^3O_2$ --基本态氧分子;  
 $h\nu_1$ --激发光;  $h\nu_2$ --荧光发射;  
 $h\nu_3$ --磷光发射;

$SH^*$ --光敏剂自由基;  $S^{*-}$ --光敏剂自由基阴离子;  
 $S^{*+}$ --光敏剂自由基阳离子;  $R_{ox}$ --氧化性组织底物;  
 $R_{red}$ --还原性组织底物;  $R^*$ --组织自由基;  
 $R^{*-}$ --组织自由基阴离子;  $R^{*+}$ --组织自由基阳离子;  
 $^1O_2$ --单态氧分子;  $O_2^-$ --超氧阴离子自由基;  
 $^3O_2$ --基本态氧分子





## 4.2.2 影响光动力效果的主要因素

### 1 光源

光动力学疗法中，光照条件是否得当，对于疗效的影响至关重要。在临床治疗中，通常通过照射光的功率来推算出它的功率密度，由于光照射到生物组织会发生反射、折射、透射和吸收等现象，因此被照射组织吸收的光能通常只能估算。在实际工作中，常常通过调整照射光的功率，照射的时间以及照射光斑的大小三个参数来调控照射光的功率密度。



## 4.2.2 影响光动力效果的主要因素

作为光动力疗法的光源，在肿瘤治疗中应用较多的激光器有：氮离子泵浦染料激光器（发光波长630 nm），铜蒸汽泵浦染料激光器（发光波长630 nm），金蒸汽泵浦染料激光器（发光波长627.8 nm），氦氖激光器（发光波长632.8 nm），KTP倍频的Nd:YAG激光器（发光波长532 nm）和氩离子激光器（发光波长488 nm, 514 nm）等。事实上，光源的选择与光敏剂的吸收特性密切相关。近年由于新光敏剂的出现，也有利用半导体激光器或半导体发光二极管作为光源的报道，半导体光源效率高，性能稳定，但普通的半导体光源功率较小，少数国家也能够生产功率足够大的半导体激光器（2000-3000mW）供光动力学治疗之用，但价格较昂贵。



## 4.2.2 影响光动力效果的主要因素

### 2 光敏剂

光敏剂是光动力学治疗的最基本的要素之一。在杀伤肿瘤细胞的过程中,光敏剂作为能量的载体和反应的桥梁起着决定性的作用。研究发现,一些亲脂性的光敏剂易于附着在低密度脂蛋白上,而肿瘤细胞比正常细胞具有更多的低密度脂蛋白受体 ( low density lipoprotein receptor, LDLR) ,所以此类光敏剂容易在肿瘤组织上聚集,从而直接杀伤肿瘤细胞。而亲水性的光敏剂则更多地通过白蛋白和血清蛋白的运输,聚集在肿瘤的间质和血管组织,破坏肿瘤的血管,切断肿瘤的氧和营养物质的供应,起到杀伤肿瘤的作用。



## 4.2.2 影响光动力效果的主要因素

PDT光敏剂的研究经历了逐步发展的过程，至今已较成熟的有以HpD (hematoporphyrin derivative 简称HpD) 为代表的第一代光敏剂以及以ALA (5- aminolaevulinic acid, 简称ALA) 为代表的第二代光敏剂或光敏剂前体物。实践表明第二代光敏剂比第一代光敏剂性能有所提高，例如以ALA作为光敏剂前体物的PDT，克服了基于第一代光敏剂 (HpD) 实施PDT后需要患者避光4-8周等缺点，外加光辐照后，灭活肿瘤细胞的效率也较高。但第二代光敏剂也还存在一些不足，如吸收光谱较窄，不利于吸收更多的外来辐照光能增强PDT疗效；发射光谱太弱，不利于探测分析PDT过程。以光敏剂前体物ALA为例，其激发光波段很窄，只在几个有限的峰值处有较强的吸收，且其发生光敏作用的主要激发光波长在405nm处，正好落在生物组织的高漫反射和散射区，不利于把外加的光辐照能量尽可能多地传递给光敏剂，因而影响对靶向肿瘤细胞能产生灭活作用的单态氧的产出，不利于提高对靶向肿瘤细胞的灭活效率。其次，以ALA作为光敏剂前体物在细胞内内源生成的光敏剂卟啉IX (protoporphyrin IX, 简称PpIX) 的荧光辐射强度较弱，不利于作为示踪观察病灶等。



## 4.2.2 影响光动力效果的主要因素

对新的光敏剂的寻求及设法提高现有光敏剂的效能仍然是相当长时间内，光动力疗法研究领域的一个重要研究方向。

临床上比较理想的光敏剂应当具备或基本满足的要求：

- ① 化学结构明确的单一物质，在水溶液中能较好地保持单体状态而很少聚合；
- ② 单线态氧量子产率高，三线态寿命长；
- ③ 性质稳定，不易发生淬灭；
- ④ 光对组织的穿透深度大，光的吸收峰位于波长偏长的红光或近红外区；
- ⑤ 肿瘤组织的选择性吸收好，滞留时间长；但在体内存留时间短，代谢清除快；
- ⑥ 使用安全，毒性低微，副作用少，无致癌、致突变、致畸作用；
- ⑦ 稳定性好，便于长期保存；
- ⑧ 制备工艺简单，生产成本低廉。



## 4.2.2 影响光动力效果的主要因素

### 3 氧浓度

目前，在光动力疗法研究中所指的氧浓度通常包含两层意思，一是指作用环境中的氧浓度，另一是指在靶向细胞中产生的单态氧浓度。

研究发现，PDT在缺氧区不易达到理想的治疗效果。有学者将这种光动力疗法的细胞杀伤效应随介质中氧浓度降低而减弱的现象称为氧效应。以氧浓度为横坐标,以光敏剂的细胞杀伤率为纵坐标绘制的曲线，称为光敏剂的氧效应曲线。氧效应曲线是一种双相曲线，其特点是当氧分压从0上升至10%左右时，光敏剂的细胞杀伤率很快增高，而氧分压进一步增至20%以上时，细胞杀伤率增高却十分缓慢，基本处于坪值。各种光敏剂的氧效应曲线的形态有所不同，反映了光敏剂杀伤效应对氧的依赖程度。光敏剂的氧增强比（oxygen enhancement ratio, OER）是指在缺氧条件下光敏剂的细胞半数致死量与在有氧条件下光敏剂的细胞半数致死量的比值,用以衡量光敏剂氧效应的大小。



## 4.2.2 影响光动力效果的主要因素

如果光敏剂主要是通过 II 型机制发挥作用,则对缺氧敏感,氧效应曲线的斜率和氧增强比的数值大; 如果光敏剂主要通过 I 型机制发挥作用,则对缺氧的耐受性好,氧效应曲线的斜率和氧增强比数值小。文献表明大多数光敏剂特别是卟啉类衍生物的PDT 主要是由 II 型机制起作用, 因此对O<sub>2</sub>有强烈的依赖性。



## 4.2.2 影响光动力效果的主要因素

为明确各参数对PDT作用效果的影响，有学者建议引入光动力损伤剂量（photodynamic damage dose, PDD）的概念对PDT损伤效应给予量化的评价。在已知某一点各治疗参数的条件下，PDD可由公式表达：

$$\frac{\partial}{\partial t} PDD(t, \lambda, r) = K_D(\lambda) \cdot I(t, \lambda, r) \cdot [P(t, r)] \cdot [O(t, r)]$$

其中t—时间，r—定位， $\lambda$ —波长， $PDD(t, r, \lambda)$ —光动力损伤剂量， $I(t, r, \lambda)$ —功率密度， $[O(t, r)]$ —氧浓度， $[P(t, r)]$ —光敏剂浓度， $K_D(\lambda)$ —光动力损伤常数。





## 4.2.2 影响光动力效果的主要因素

由上面的公式可见，在光动力反应中，氧的存在是发生光动力作用的要素之一，是产生光动力效应的必然要求和重要条件。实验表明，在PDT作用过程中或者作用后，会出现显著的氧分压改变，说明氧是PDT中一个重要的治疗参数，且其含量与PDT效应的强度呈正相关。

$O_2$ 的存在也是影响单态氧 ( $^1O_2$ ) 生成率的决定性因素。尽管其他活性氧物质也可能与PDT的生物效应有关，但许多证据表明单态氧是PDT灭活靶向肿瘤细胞的重要因素。单态氧是一种带电的氧的激活态物质，可以与多种生物分子有高反应性并极易与其化学结合，将自身电子传递给底物分子，使底物分子处于激发态，而单态氧本身则回到基态，该过程被称为氧淬灭。光动力反应中生成的活性氧物质有很高的化学反应活性，能与多种细胞成分相互作用，如蛋白质，脂质和核酸等对单态氧都很敏感，某些有机酸，醇，胺，碳水化合物，含氮杂环分子，激素，吡咯，维生素和细胞因子也能与单态氧发生反应，最终导致细胞杀伤效应。



## 4.2.3 PDT对肿瘤细胞及实体肿瘤的作用效果

### 1 对肿瘤细胞的作用效果

近年来，在PDT灭活肿瘤细胞方面，国内外均做了许多有效的基础性研究工作。例如美国Kessel小组的研究指出，定位于亚细胞膜的光敏剂，例如Photofrin、m-THPC、Porphycene可以将抗凋亡的BCL-2作为光损伤的作用靶，引起细胞的迅速凋亡。而一些对质膜亲和的光敏剂，则对某些胞质酶（caspases）的光损伤起催化作用，引起细胞坏死。

美国新泽西Rutgers大学的Almeida RD教授小组则通过研究细胞间的信号传递来试图解释了PDT中单态氧的产生机制。日本大阪医学院的Inoue H, Kajimoto Y等人的研究表明，通过控制线粒体通道的活性，PDT可以诱导大量的恶性神经胶质瘤细胞凋亡。

在国内，张镇西小组用基于ALA的PDT对一系列白血病肿瘤细胞进行了研究，结果表明：

- ① ALA-PDT能够灭活K562、HL60、U937、MOLT-4和6T-CEM等多种白血病细胞株。
- ② 较理想的体外灭活白血病肿瘤细胞的实验条件是：2 mmol/L ALA避光孵育 $2 \times 10^5$  /ml细胞，4h、光源波长为410nm。PDT对外周血单个核细胞无灭活作用，对外周血造血干细胞、脐血、骨髓单个核细胞影响较小。



## 4.2.3 PDT对肿瘤细胞及实体肿瘤的作用效果

- ③PDT的剂量可通过基本数学模型计算。该数学模型的基本参量均是实验或临床中的可观测、可调控的量，它们分别是：光功率密度（ $E$ ）、ALA的细胞孵育量（ $P$ ）和光照持续时间（ $T$ ）。根据模型模拟得出的数据表明采取以下措施可以降低光动力的剂量：第一，对光敏剂的前体物来说，可以通过提高其向PpIX的转化积聚效率，从而降低光动力反应中药品的使用剂量（ $P$ ），可用ALA的脂类衍生物来代替ALA；第二，寻找具有较高量子产率的光敏剂；第三，寻找能定位于细胞要害部位的光敏剂。
- ④不同细胞株对ALA-PDT的敏感程度不同，依次为U937 < MOLT-4 < 6T-CEM < K562 < HL60。在ALA和光照共同作用下，细胞的存活率明显低于单一因素作用引起的细胞存活率。



## 4.2.3 PDT对肿瘤细胞及实体肿瘤的作用效果

- ⑤ 在最佳试验条件下，凋亡是ALA-PDT杀伤白血病细胞K562和HL60细胞的最初模式，而凋亡后坏死为其主要模式，不同细胞的死亡方式不同，其中MOLT-4和U937细胞以早期凋亡为主，K562和HL60细胞以晚期凋亡为主，而6T-CEM细胞以坏死为主。
- ⑥ ALA-PDT使白血病细胞阻滞于S期，在白血病细胞死亡的过程中，细胞内钙离子浓度的增加可能起着重要的作用。
- ⑦ ALA在白血病细胞株中产生的原卟啉含量随着孵育时间的延长而增加，但是在动物体内随孵育时间的延长其含量无明显变化，K562、HL60中原卟啉含量明显高于U937，与PDT后细胞的生存率呈正比。



## 4.2.3 PDT对肿瘤细胞及实体肿瘤的作用效果

### 2 对实体肿瘤的作用效果

许多研究表明细胞的细胞质膜和线粒体是细胞对PDT最敏感的细胞器，其它细胞器如溶酶体，内质网，微管，核糖体，细胞核等也可能在PDT中受到损伤破坏。PDT反应产生的单态氧，很容易与蛋白质中的半胱氨酸、蛋氨酸、甲硫氨酸、酪氨酸，色氨酸、组氨酸等氨基酸残基以及脂质中的不饱和脂肪酸和核酸中的鸟嘌呤发生作用；PDT初始反应的光氧化产物还可以继发引起肽链内、肽链间及DNA-蛋白质的交联，从而引起细胞的膜损伤、酶失活、受体丧失、细胞骨架破坏、能量代谢降低、细胞内运输中断、损伤修复能力丧失、不能增殖等一系列改变，最终导致细胞死亡及组织破坏。



## 4.2.3 PDT对肿瘤细胞及实体肿瘤的作用效果

光动力学对实体肿瘤的疗效虽已肯定，但关于它的确切作用方式，至今未有一个普遍适用、得到公认的详尽的解释。就肿瘤本身而言，实体肿瘤本身的许多因素可能影响PDT治疗的效果。肿瘤组织不是单纯和均一的肿瘤细胞群体，除肿瘤细胞外，还有间质，血管，炎症细胞等多种成分，都可因PDT作用而发生改变，又可互相发生影响。肿瘤细胞的坏死、凋亡是各种因素作用的共同结果。光动力学对实体肿瘤作用的效果，一般认为体现在以下几个方面：



## 4.2.3 PDT对肿瘤细胞及实体肿瘤的作用效果

### ① 光敏作用对微血管和血小板的影响

越来越多的证据表明，肿瘤内微循环损伤后的缺血缺氧，可能对光动力作用引起的肿瘤细胞坏死起关键作用，其意义可能大于对肿瘤细胞的直接杀伤作用。有报道认为，大鼠皮下接种的膀胱癌于PDT后10分钟血流明显减少，小鼠肿瘤HpD-PDT后一小时内氧电极测定显示组织内缺氧。阻断小鼠肿瘤或下肢、尾、大鼠肛门的血运后再做PDT，发现PDT作用显著降低或完全不能引起坏死。提示光动力学治疗对肿瘤组织中微血管和微循环的损伤作用，对于肿瘤细胞的最终死亡有着非常重要的影响。通过电镜直接观察人膀胱癌，小鼠正常皮肤和小鼠脑，Chopp等发现上述样品在PDT后都迅速出现血管损伤，特别是内皮细胞损伤，血管周围迅速出现水肿。PDT后微循环改变为：微血管变细-微血管扩张-血细胞聚集-血流缓慢-血流完全停止。对于血管损伤和微循环障碍，一般还需要考虑到血小板的影响，在许多情况下，内皮细胞损伤或血小板破坏都可能启动血管内凝血过程。血小板的光敏激活可能就与内皮细胞损伤有关，同时在微循环障碍中起重要作用，两者之间也可能互相影响。这一作用的确切机理和意义仍需要进一步深入研究。



## 4.2.3 PDT对肿瘤细胞及实体肿瘤的作用效果

### ②光敏作用对肿瘤细胞的直接影响

早年对宫颈癌诊断的研究中，人们通过肉眼观察到机体注射血卟啉后肿瘤部位发生荧光，与周围正常组织分界明显，许多体外培养细胞的实验也显示血卟啉衍生物（HpD）选择性进入肿瘤细胞内，被光激发而杀伤肿瘤细胞。肿瘤细胞的坏死常出现在肿瘤细胞微循环改变之后，故认为肿瘤细胞的坏死是肿瘤微循环受损的一种继发性改变。PDT引起的肿瘤细胞凋亡最早由Agarwal报道，随后许多学者在体外培养的或体内的肿瘤细胞中也观察到细胞凋亡的现象，并发现细胞凋亡是PDT作用的早期重要变化，并发现了许多引起细胞凋亡的相关因素，如Ca<sup>2+</sup>、神经酰胺、表皮生长因子、肿瘤相关基因等的作用。





## 4.2.3 PDT对肿瘤细胞及实体肿瘤的作用效果

### ③光敏作用对肿瘤其它成分的影响

在肿瘤组织中占相当大比例的间质，对肿瘤细胞的代谢和生长有重要影响。但有关PDT对肿瘤间质影响的研究还不是很多，而肿瘤间质对于物质扩散，运输和新生血管的形成都有重要影响。有实验表明，光敏处理彻底破坏肿瘤的瘤床间质，对于防止肿瘤残留或复发很重要，这就提示间质PDT损伤在肿瘤光敏杀伤机理中的作用不容忽视。肿瘤组织中常有数量不等的各种免疫细胞存在。PDT可使人的中性粒细胞迅速失去运动能力，肿瘤周围巨噬细胞，粒细胞增多，大量钾离子外渗，琥珀酸脱氢酶，乳酸脱氢酶，胱氨酸脱氢酶失活，继而酸性磷酸酶也失活。粒细胞受损后释出的氧自由基可能损伤邻近的内皮细胞，释放出的蛋白酶，弹性蛋白酶，胶原酶也可能破坏近旁的结缔组织和血管基底膜。

多数学者认为，在光动力学治疗杀伤肿瘤细胞的过程中，主要是先引起微血管的功能障碍和结构损伤，由于局部的微循环障碍和缺血缺氧，导致肿瘤细胞的继发死亡，但这并不排除PDT对肿瘤细胞有一定的直接作用。



## 4.2.4 PDT的临床应用

光动力疗法主要应用于肿瘤疾病的诊断和治疗。选择适当的光敏剂及相关作用条件，可使PDT的光动力反应主要发生于癌细胞内，而对正常细胞基本无损伤。目前PDT已经广泛应用于肺癌、食道癌、口腔癌、膀胱癌和皮肤癌的治疗。由于光在组织中穿透深度有限，单纯的PDT治疗适用范围较小，通常作为辅助手段结合常规方法以提高疗效。



## 4.2.4 PDT的临床应用

### 1 PDT用于肿瘤诊断

一般地，患者先做光敏剂皮肤划痕试验，无过敏反应者可静脉给药。几种已经在临床上得到应用光敏剂的参考剂量是：光敏素II为2~3mg/kg体重，HpD为2.5~5.0mg/kg体重，可以静脉滴注，也可将二甲基亚砷和HpD按1:4混合涂于病变部位，12、24、48小时后用氩离子激光，氩离子激光或He-Cd激光照射病变部位。通过黄色滤光片观察病变部位的荧光情况进行诊断，为了克服人眼亮度微差阈和色度微差阈的影响，可以采用图像增强系统和荧光光谱分析系统。研究表明，通过分析含有肿瘤细胞荧光的光谱信号可以早期发现一些肿瘤。例如，以HpD作为光敏剂时，测得的从600nm~700nm波长范围内荧光光谱曲线积分中显示出HpD的特征荧光强度与正常区域的HpD特征荧光强度相比，肿瘤区为12.5倍，糜烂区为4.5倍以上，显示出明显的差异，因此可以发现早期胃癌和支气管肺癌。



## 4.2.4 PDT的临床应用

### 2 PDT用于肿瘤治疗

(1) 给药方法：可以经静脉，动脉注射给药，也可行肿瘤组织内注射或肿瘤表面敷贴给药。

- ① 静脉注射：先以皮肤划痕法作过敏试验，阴性反应者可静脉注射给药。HpD可按 $2.5\sim 5.0\text{mg/kg}$ 体重给药，加入5%葡萄糖液 $250\sim 500\text{ml}$ 中，稀释后慢滴。患者在注射药物后应避光， $48\sim 72$ 小时后可选用 $405\text{nm}$ 波长的激光对肿瘤局部照射，进行荧光诊断，然后根据肿瘤的大小及部位选用合适的激光进行照射。
- ② 动脉给药：根据肿瘤的血液供应，选取其主要动脉，顺行或逆行注药，用药后24小时进行照光。
- ③ 肿瘤组织内注射：稀释HpD为0.5%溶液，在肿瘤组织基底多点注射，让HpD浸润肿瘤组织中，注射药物后1小时可光照。体表，粘膜外生性肿瘤一般采用此法。



## 4.2.4 PDT的临床应用

④ 肿瘤表面敷贴：用HpD原液纱布敷贴溃疡或浅表病灶，3—4小时后局部照射，对浅表性皮肤癌效果好。

至于照射剂量，对于各种不同脏器的不同肿瘤的合适照射剂量仍在探索研究中。一般地，光照功率密度为 $100\text{—}250\text{mW/cm}^2$ ，能量密度为 $100\text{—}500\text{J/cm}^2$ 。具体剂量，视肿瘤的类型、大小、部位等情况而定。例如，气管肺癌照光剂量为 $495\text{J/cm}^2$ （ $630\text{nm}$ ， $30\text{mW}$ ，25分钟），照光后手术切除肿瘤，发现肿瘤组织深度在 $3\text{cm}$ 以内有明显的退行性变化，正常组织无此改变。因而认为 $495\text{J/cm}^2$  是 $630\text{nm}$ 的红光对肿瘤组织合适的光作用剂量。



## 4.2.4 PDT的临床应用

### 3 PDT对其他病种的临床应用

事实上，PDT不仅对肿瘤类疾病有治疗效果，对其他病种的治疗也有良好的作用。

#### (1) PDT治疗银屑病

使用波长为320—400nm的紫外线照射与光敏物质相结合是治疗银屑病非常有效的方法。其作用机理是光敏物质（补骨脂）在紫外线协同作用下，在DNA链中形成交叉联合，抑制银屑病表皮细胞分裂增殖，同时也减少皮肤炎症反应，包括减少真表皮抗原递呈细胞和抑制淋巴因子释放。

具体作用包括：在DNA水平阻止、调节、抑制、消除细胞增殖的病理机制，打断银屑病的增殖期，干扰真表皮细胞的生存、功能、代谢和动力学；影响循环白细胞和侵入皮肤组织的炎症细胞，改变炎症细胞的功能。

目前广泛用于临床的光敏剂有8-甲氧补骨脂素、5-甲氧补骨脂素和3-甲氧补骨脂素等。



## 4.2.3 PDT对肿瘤细胞及实体肿瘤的作用效果

### (2) PDT治疗内膜增生

PDT治疗内膜增生的机理是蓄积较多光敏物质的组织接受光辐射时，血卟啉衍生物等光敏物质因光动力学作用而被激活，并将能量转移给分子氧，形成单态氧，再产生一系列自由基，作用于细胞膜、线粒体或核酸，改变其表面电荷，破坏结构完整性，从而产生细胞毒作用。由于灭活了细胞质、线粒体并造成溶酶体的释放，从而减少细胞内ATP浓度，影响酶参与的跨膜物质运输和DNA调节，抑制细胞增殖，以此抑制内膜增生。



## 4.2.3 PDT对肿瘤细胞及实体肿瘤的作用效果

### (3) PDT治疗动脉粥样硬化

动脉粥样硬化 (AS) 斑块对光敏剂有特异性吸收和滞留作用, PDT对AS具有消退和稳定作用, 原发性AS的形成与脂质浸润、血栓形成和血小板聚集、内膜损伤以及血管平滑肌细胞增殖有关。PDT对AS的作用机理主要通过以下环节实现: 抑制血管平滑肌细胞增殖、迁移、分泌功能; 促进血管壁适应性重构避免管腔狭窄; 保护内皮细胞, 维持内皮结构完整。该方法还处在研究阶段。





## 4.2.5 PDT研究现状

近年来，PDT一直是国际医学领域、生物医学工程、生物医学光子学等领域关注的热点，如SPIE（The International Society for Optical Engineering, 国际光学工程学会）、EOS（European Optics Society，欧洲光学学会）、OSA（Optics Society of America，美国光学学会）等都设立有PDT专题组或分支研究组织。每两年一度的美国、欧洲、国际光生物学年会都有大量的PDT论文交流与发表。而国际光动力协会（International Photodynamic Association）更是每两年轮流在欧洲、美洲、亚洲国家举行一届年会，专题讨论PDT的基础及应用研究。在我国，PDT也成为国家自然科学基金“十一五发展计划”信息科学内的子项“生物、医学光学”内鼓励重点发展的领域之一。

目前PDT的研究主要围绕机理研究及相关生物效应测试手段探索等基础研究以及PDT疗效改善与提高等应用研究两个大方向展开。对于影响PDT疗效的三个重要因素而言，PDT光源已相对成熟，所以研究热点更多的是集中在新光敏剂的研制及增强现有光敏剂效能上，单态氧的测量手段也是关注的目标。



## 4.2.5 PDT研究现状

### 1 PDT基础研究现状

在PDT的基础研究方面，以细胞、亚细胞器和分子为模型，研究光敏剂在细胞内的分布和结合位点及其光动力作用的分子和基因水平的机制、以及细胞对PDT的反应，是当今光动力学疗法基础研究的一个关注焦点。

美国新泽西Rutgers大学的Almeida RD教授小组就通过研究细胞间的信号传递来试图解释了解PDT中单态氧的产生机制。

而日本大阪医学院的Inoue H, Kajimoto Y等人则考察了神经胶质瘤细胞的线粒体通道，他们的研究表明，ALA-PDT可以诱导大量的恶性神经胶质瘤细胞凋亡主要原因可能是线粒体通道的活性引起的。



## 4.2.5 PDT研究现状

比利时勒芬Catholic大学的Agostinis P、挪威奥斯陆大学的 Peng Q、奥地利萨尔茨堡大学的Plaetzer K等人的工作则证明了PDT诱发的和细胞凋亡相关的细胞水平的变化主要是：线粒体细胞色素C释放、线粒体膜势能丧失、Caspase-3、6、7、8和9形成和活化、磷脂酰丝氨酸外翻后与Annexin V的结合、多聚ADP核糖聚合酶裂解和DNA片断化等。

在PDT的机理研究及相关PDT生物效应测试手段方面，近年来，国内也做了不少很好的工作，有学者利用生物光子学成像技术和单态氧化学发光探针（fluoresceinyl cypridina luminescent analog, FCLA）建立了一套单态氧实时检测手段，在离体实验条件下进行单态氧检测的方法取得较好的进展，并对HpD-PDT进行了测量，证明他们建立的方法是检测单态氧含量的有效方法。按目前认同的PDT机理说，在PDT诱发的各种细胞毒性产物中，单态氧具有很强的氧化能力，是大部分目前所用光敏剂的致细胞毒性的关键产物。因而对单态氧的准确测量对在细胞或亚细胞水平上进行光动力学机制以及光敏过程引起细胞凋亡机制的研究将会有较好的帮助。

也有学者把激光散斑成像技术应用于实时监测PDT过程中血管结构、血流速度的变化，得出血液灌注率可用于评估PDT对肿瘤周围血管的损伤效应的结论。



## 4.2.5 PDT研究现状

张镇西小组则研究了光动力疗法中肿瘤细胞死亡受体、线粒体和介导的凋亡信号转导路径并建立了光动力作用效果与光敏药物剂量、光剂量、氧浓度以及组织光学参数的关联，同时对光敏剂前体物ALA在细胞内内源诱导生成PpIX的条件、ALA在不同环境下的最佳激发谱、发射谱等进行了较深入的研究，所得到的定量关系对设计合理的光动力治疗方案及对PDT机理的阐明均有较好的参考意义。



## 4.2.5 PDT研究现状

### 2 PDT应用研究现状

作为可能的新型光敏剂，比较受人关注的候选药物有卟啉类，叶绿素类，酞菁类以及它们的衍生物等，此外5-氨基酮戊酸（5-aminolevulinic acid,ALA）也以其独特的性能引起了许多研究者的注意。鉴于对HpD等混合卟啉制剂的化学组成及肿瘤光生物活性成分研究进展缓慢，近年来将光敏剂的研究重点转向了在600-700 nm波长处，吸收系数比HpD约高一个数量级的新型光敏剂探求。我国独创了癌光啉（PsD-007）和从蚕砂中提取的叶绿素CPD-4两种新光敏剂。其他几类光敏剂或可能成为光敏剂的药物的特点如下所述。



## 4.2.5 PDT研究现状

新型卟啉类：如四羟基苯卟啉（tetra-hydroxyphenyl-porphyrins, THPP）及苯并卟啉衍生物，加拿大和美国临床试用苯卟啉单酸环A衍生物（benzoporphyrinderivative mono-acidring A, BPD-MA），以脂质体结合的形式，用药剂量0.15-0.5 mg/kg，以690 nm激光照射25-150J/cm<sup>2</sup>，试用于人皮肤肿瘤的治疗，已取得较满意的疗效。此外，第二军医大学研制的癌光卟啉，其肿瘤的光生物活性至少不低于光敏素II，而明显高于HpD，对正常组织的光毒作用则远低于光敏素II和HpD。后来又改进研制成功的血卟啉单甲醚，是一种单体卟啉，化学纯度达98%，初步临床试用作用显著，毒副作用低，机体清除较快，避光时间缩短，可能有良好的应用前景。



## 4.2.5 PDT研究现状

叶绿素类：这类光敏剂是植物叶绿素的衍生物，较重要的有以下几类：单天冬氨酞二氢卟啉（monoaspartyl-chlorin, MACE，又名 Npe6），脱镁叶绿素甲脂一酸（pheophribide a, Phd a），红紫素（purpurins），四-（m-羟苯）二氢卟吩（tetra-m-hydrophenyl-chlorin, THPC）。浙江省中医药研究院从中药蚕砂中（蚕吞食桑叶后排出物）提取制成的叶绿素光敏剂CPD-4，机体吸收快，排除迅速，吸收峰波长为565 nm，可以口服，经临床试用，显示对肿瘤荧光诊断和光动力学治疗都有显著效果。



## 4.2.5 PDT研究现状

金属酞菁类：又称酞花菁或四苯并四氮杂卟啉，由多个四吡咯环单位构成的大环，中央还可以配位一个金属原子形成金属酞菁，其特点是理化性质稳定，在红光区的吸收系数较HpD高 $10^3$ ~ $50$ 倍，目前锌酞菁已进入临床试验。

5-氨基酮戊酸（5-aminolevulinic acid, ALA）：与传统概念的光敏剂不同，ALA本身不是光敏剂，没有光敏活性。ALA是机体许多细胞的正常成分，是血红素的前体，经ALA脱水酶及其它一系列酶促作用，生成具有强光敏作用原卟啉IV（protoporphyrin IV, PpIV）。在正常情况下，机体通过负反馈调节机制严格控制ALA的合成，如给予大量外源性ALA，代谢旺盛的肿瘤细胞吸收ALA明显增加，产生大量的原卟啉IV，并蓄积在细胞内，经激光照射后发生光动力学反应，杀伤肿瘤细胞。由于ALA本身是细胞的正常成分，毒性很低。ALA的半衰期短，一般在3-6小时原卟啉IV的浓度达到高峰，24小时后各器官已很少显示原卟啉IV的荧光。





## 4.2.5 PDT研究现状

此外，作为一种可能的光敏剂，量子点值得引起关注。量子点因其具有许多特殊的光学特征，近年来，在离体细胞标记,活体细胞成像,细胞结构与受体标记,免疫荧光标记,活体动物荧光显微成像,多组分检测,编码等方面都取得了重大进展。这些特征包括量子点的激发光谱宽而且连续呈连续分布，同时荧光发射光谱的半宽峰高（FWHM）窄且对称分布；量子点的荧光发射波长可充分利用其“量子限制”（quantum confinement）效应，通过控制其合成时的直径大小和材料组分来进行连续调谐，因此合成不同直径大小的量子点就能获得多种可以辨别的不同颜色荧光；有较高的荧光寿命和量子产额等。



## 4.2.5 PDT研究现状

最近，日本国家高等工业与技术研究院的Bakalova等分析了量子点的特点及PDT光动力疗法对光敏剂的要求，提出了以量子点作为光敏剂的可能性，并利用CdSe量子点结合白血病细胞的特异性抗体（anti2CD90），实验证实了与传统光敏剂trifluoper相比，基于量子点的光动力疗法有较高的效率。

PDT领域的权威人士之一，美国Case Western Reserve大学的Burda C教授也在2006年发表论文进一步从理论上论述了量子点直接作为PDT的光敏剂是可能的。至于量子点改善PDT中光敏剂的效能方面，美国海军研究实验室的Clapp AR等则在2006年撰文指出，可以量子点作为中间物把外界施加的能量（例如光能）转移给光敏剂，使光敏剂得到较高的活化能，从而提高光敏剂的效能。

虽然在PDT的基础研究及应用研究方面，已经做了许多有效的工作，也获得了许多有意义的参数和结论，但在PDT领域还有许多工作需要进一步深入研究，事实上，国内外许多学者正在从事着相关的研究工作，PDT研究方兴未艾。

