

· 综述 ·

光动力学作用与白血病

肖谧, 苗丽霞 综述, 张宝琴 审校

(西安交通大学第一医院儿科, 陕西 西安 710061)

[中图分类号] R733.7 [文献标识码] A [文章编号] 1008-8830(2005)01-0092-03

光动力学作用(photodynamic effect, PDE)是一种在敏化剂参与下,经一定波长光激发,使有机体细胞或生物分子发生机能或形态的变化,甚至凋亡或坏死,由于这种作用必须有氧参加,所以又称为光敏化作用。在生物医学上称之为光动力作用。用该方法诊断疾病称为光动力诊断(photodynamic diagnosis, PDD);治疗疾病称为光动力疗法(photodynamic therapy, PDT)。光动力作用是诊断、治疗恶性肿瘤的一个新领域。早在上世纪60年代,人们就发现血卟啉衍生物(hematoporphyrin derivative, HPD)可用于肿瘤的定位诊断,70年代用HPD-PDT治疗动物肿瘤。近年来许多研究证实PDT在临床肿瘤治疗中已取得了令人瞩目的成就^[1],白血病是严重危害人类健康的十大恶性肿瘤之一,其总的发病率在2/10万~12/10万之间,我国为2~4/10万,在恶性肿瘤中是威胁儿童生命的第一位杀手,目前对白血病的诊断主要是通过末梢血与骨髓的瘤细胞光镜或电镜检测以及免疫组化、分子细胞学、遗传学诊断,但对残留微小病灶诊断尚有困难。由于敏化剂在一定波长光激发下能产生特征性荧光,在肿瘤部位集聚,能够检测血液、骨髓中微量的瘤细胞。因而,光动力作用对体内残留肿瘤细胞的检测具有潜在的应用价值。光动力疗法给白血病的治疗也带来了研究前景,特别是血液净化、杀灭残留的骨髓白血病细胞,为自体骨髓移植高成功率、低复发率提供保证,为白血病的治疗提供了新的领域。

1 光敏剂的药代动力学

光敏剂是影响光动力作用的决定因素。由于它能选择性地使瘤细胞中集聚,在特定波长的光照下启动光动力作用引起瘤细胞破坏,所以我们又把它称作“生物导弹”。目前临床上使用的光敏剂主要

有HPD、Photofrin、meso-tetrahydroxyphenyl chlorin (mTHPC)、Purpurin 18 (Pu18)、Merocyanine 540 (MC 540)、及 δ -aminolaevulinic acid (ALA),它们均能杀死白血病细胞或诱导其凋亡。然而除ALA外,其它的光敏剂在白血病细胞与正常组织中集聚的反差不大,一般只有2~3倍,因此在清除白血病细胞时,正常血细胞将受到损伤,加之有的光敏剂有皮肤光毒性,用药后需避免日光照射1个月左右,否则会引起日光性皮炎^[2]。

ALA是人体血红素代谢的前体,它在酶的激活下生成原卟啉-IX (protoporphyrin-IX, Pp-IX),然后在亚铁螯合酶的激活下与二价铁(Fe^{2+})结合成血红素,而原卟啉-IX是一种非常有效的光敏剂。实验发现^[3]ALA引起的皮肤光致敏作用只需要2d就可以被消除掉,从而ALA被广泛用于治疗皮肤癌、食道癌、肺癌及胃肠道肿瘤。由于ALA为水溶性,不易透过细胞膜,人们将目光移向它的各种酯类衍生物。Brunner^[4]发现ALA的己酯衍生物和苯甲酯类衍生物更易于进入细胞膜,在肾癌细胞中产生显著高水平的Pp-IX,而且能减少30~150倍所需药量并且达到相应水平Pp-IX量的集聚,发挥光动力作用。目前有关ALA在血浆与组织中衍生Pp-IX的研究报告不多,有文献报告^[5]ALA形成的Pp-IX在不同细胞的排泄率受ALA在体内不同组织、细胞内衍生Pp-IX的影响。Lofgren^[6]研究兔血浆中,ALA转化Pp-IX的浓度在静脉注射50~100 mg/kg ALA后1h达高峰,24h Pp-IX浓度下降到对照组水平,半衰期为60 min。Henderson^[7]观察了鼠在静脉注射280~1000 mg/kg ALA后,得出相似的结果。最近Webber^[8]研究了4个癌症病人口服60 mg/kg ALA后衍生的Pp-IX的药代动力学,发现外源性ALA衍生的Pp-IX的半衰期为8h。狗在静脉注射100 mg/kg ALA后也得到相似结果。使用非侵入电子荧光仪、

[收稿日期] 2003-09-24; [修回日期] 2004-03-08

[作者简介] 肖谧(1979-),女,在读硕士,主攻方向:光动力作用在白血病中的应用。

荧光显微镜、化学侵取技术测定皮肤表面 Pp-IX 含量,发现鼠、狗和人在全身应用 ALA 后,皮肤中的 Pp-IX 的高峰值为 3~8 h,此后,大多数 Pp-IX 很快被代谢为无荧光的血红素,或从皮肤中释放,或从肝和血液中转化,肝脏中的 Pp-IX 和血红素进一步代谢进入肠道从粪便中排出体外^[9]。24 h 内几乎完全排出体外。因此,外源 ALA 衍生的 Pp-IX 在 24 h 后不能测出。

2 光动力作用诊断白血病的机制

迄今尚未见光动力作用诊断白血病方面的研究报告。由于白血病细胞是循环于全身各个系统并存在于骨髓中,因此,光敏剂集聚在上述广泛部位,激光不易照射,也无法记录荧光光谱。实体瘤的荧光定位诊断是利用肿瘤组织能特异吸收和集聚光敏剂的特点,在适当波长的激光激发下产生荧光,可用多光导荧光光谱仪或时间分辨荧光光谱技术诊断肿瘤部位,具有高灵敏度和选择性^[10]。目前已广泛应用于皮肤癌、口腔癌、鼻咽癌、子宫颈、阴道等部位恶性肿瘤的诊断,还可通过内镜使光导纤维传导激光进入支气管、胃肠道、泌尿道,用于这些部位肿瘤的定位诊断。其方法是先向患者注射光敏剂,数小时后,用低功率的氧化离子、氩离子或其它黄绿激光照射病变部位及其周围组织,发出红色荧光为阳性区,在阳性区活检并做病理诊断后显示一次阳性符合率可达 26.3%~94.0%^[10]。近年来在实体瘤的诊断取得良好效果的基础上,有些研究人员试图研究用光动力学方法检测白血病微小残留病灶,为白血病的诊断提供新的途径。

3 光动力作用治疗白血病的机制

在实体瘤中,光敏剂在光的激发下,通过生物光敏化作用损伤肿瘤组织而达到治疗目的。积聚于肿瘤组织中的光敏剂在特定波长的光的照射下,基态的光敏剂经过短暂存在的激发态光敏剂转变成激发状态的三线态光敏剂。三线态光敏剂一方面作用于组织底物或氢原子或电子,产物与氧作用形成各种氧化物,另一方面它直接将能量转移给氧,形成单线态氧。氧化物与单线态氧都具有细胞毒性,它们与生物大分子中的氧化敏感基团作用导致其氧化而失活,最终引起细胞凋亡或死亡。它还能破坏肿瘤中的微血管,造成局部缺血引起细胞死亡。

有关光动力作用杀伤白血病细胞株的研究报道

不少,其作用机制尚处于探讨阶段。Grebena^[12]研究了 ALA-PDT 对白血病细胞、淋巴瘤细胞以及正常人淋巴细胞的影响。发现 1 mmol/L ALA 孵育细胞 4 h 后,用 18 J/cm² 光照射,可减少 HL 60 细胞、B 淋巴细胞以及 T 淋巴细胞的数量并抑制其增殖,对正常人淋巴细胞作用很小。光动力学敏感性与细胞代谢率有关,正常静止淋巴细胞对 ALA-PDT 有抵抗力。Pp-IX 在恶性细胞中集聚可能与血色素合成途径中某些酶的活性改变有关,有资料表明色质原氨酸酶活性升高,亚铁螯合酶水平下降可使 Pp-IX 在细胞中集聚。2000 年 Belickova^[13]观察了受到 ALA 诱导 Pp-IX 的合成和光动力过程的刺激以后,HEL 和 HL 60 细胞株的基因表达发生了改变,除了参与细胞凋亡和 DNA 修复的基因发生改变外,发现在其他一些基因中亦有转录活性的改变,这些凋亡基因活性改变说明了 ALA 的毒性作用。

同年 Smetana^[14]用实验证明了 ALA-PDE 作用于 HL 60 细胞株后,大多数细胞出现凋亡小体,大块的核染色质浓集,而没有核分裂,核生物合成活性和细胞增殖发生改变,有丝分裂消失,然而,还发现有少量细胞对 ALA-PDT 不敏感。

4 PDT 在白血病治疗中的作用

在我国,光敏剂 HPD 已经应用于临床治疗中。2000 年孙晓红^[15]研究了骨髓光敏疗法对急性淋巴细胞白血病化疗缓解期的作用,结果发现光敏剂组(初治缓解后骨髓 PDT 2~4 疗程,继以 6 MP、MTX 维持治疗 1 年)完全缓解 14 例,部分缓解 9 例,总缓解率 82%;对照组(初治缓解后交替使用各种联合化疗方案,巩固治疗 2~4 疗程,之后 6 MP、MTX 维持治疗 1 年)完全缓解 10 例,部分缓解 6 例,总缓解率 51%,差异有显著性($P < 0.05$)。同时观察到光敏剂组可明显减少骨髓抑制的发生。作者认为骨髓光敏疗法有助于骨髓造血功能恢复,可杀伤白血病细胞、提高机体免疫力、减少感染及出血的发生,无明显毒副作用。其方法是在骨髓完全缓解后取 250 mL,加入敏化剂经抗凝处理后置入双层中空特制的石英玻璃器中,并于 XZY-II 型光照血疗机光照后回输患者体内,每日 1 次,连续 6 d 为 1 疗程,间隔 2~4 周后进行第 2 疗程治疗共治疗 2~4 疗程。

总之,PDT 治疗白血病有以下优点:①PDT 避免了全身化疗产生的毒副作用,如脱发、严重的恶心、呕吐、感染、出血、水电解质紊乱及免疫低下等;②PDT 可选择性地破坏瘤细胞,而不损伤正常组织细

胞;③PDT可用于不能耐受强化疗、手术的患者,或失去手术机会的患者;④PDT花费低;⑤PDT可重复使用。PDT可反复使用光敏剂,因此对那些短期不能治愈的白血病患者可反复治疗,从而达到治愈。

5 展望

PDD与PDT对白血病的诊断与治疗将起到积极的作用,有望用于白血病微小残留病灶的诊断和自体骨髓移植的净化。随着光敏剂的纯化以及与之配套的具有足够输出功率的稳定单色光源的研究,光动力作用将有广泛的应用前景。在白血病的治疗中目前有PDT+化疗药物、光免疫治疗等。近年来随着分子生物学的迅速发展,以基因治疗为主的新技术、新方法如反义技术已被广泛地引入自体骨髓细胞体外净化领域,特别是随着寡核苷酸修饰技术(TFO)的不断完善,将卟啉衍生物等小分子光敏剂与寡核苷酸偶联已完全可行。许川山等人^[16]在实验研究中发现转染野生型P53基因和反义bcl-2特异序列可显著提高光敏剂的抑癌毒性,增强对凋亡的易感性,极大地减少了光敏剂的用法,降低其毒副作用。在此基础上,将光敏剂与TFO偶联在一起构建一类新型的基因靶向PDT药物,可定向到达癌组织;而且该PDT药物具有TFO的特异性靶向作用,又能在结合处附近发挥其特异性断裂作用,既特异性抑制癌基因的表达,又利用光子+光敏剂产生的光化学反应破坏癌细胞,从而达到靶基因治疗和光动力学疗法的双重目的。因此,认为:PDT联合基因治疗有利于提高体外净化肿瘤细胞(白血病细胞)的效果。

[参 考 文 献]

- [1] 许德余. 光动力治疗学的临床应用[J]. 基础医学与临床, 1997, 17(3): 173-176.
- [2] 李峻亨. 光动力学疗法发展状况[J]. 基础医学与临床, 1997, 17(3): 167-172.

- [3] Peng, Q, Warloe T, Berg K, Moan J, Kongshaug M, Giercksky KR, et al. 5-aminolevulinic acid-based photodynamic therapy: clinical research and future challenges [J]. Cancer, 1997, 79(12): 2282-2308.
- [4] Brunner H, Hausmann F, Krieg RC, Endlicher E, Scholmerich J, Knaechel R, et al. The effects of 5-aminolevulinic acid esters on protoporphyrin IX production in human adenocarcinoma cell lines [J]. Photochem Photobiol, 2001, 74(5): 721-725.
- [5] Chen JY, Mak NQ, Cheung NH, Leung RN, Peng Q. Endogenous production of protoporphyrin IX induced by 5-aminolevulinic acid in leukemia cells [J]. Acta Pharmacol Sin, 2001, 22(2): 163-168.
- [6] Lofgren LA, Ronn AM, Nouri M, Lee C, Yoo D, Steinberg BM. Efficacy of intravenous δ -aminolevulinic acid photodynamic therapy on rabbit papillomas [J]. Br J Cancer, 1995, 72(4): 857-864.
- [7] Henderson BW, Vaughan L, Bellnier DA, Van Leengoed H, Johnson PG, Oseroff AR. Photosensitization of murine tumor vasculature and skin by using 5-aminolevulinic acid-induced porphyrin [J]. Photochem Photobiol, 1995, 62(4): 780-789.
- [8] Webber J, Kessel D, Fromm D. Plasma levels of protoporphyrin IX in humans after oral administration of 5-aminolevulinic acid [J]. Photochem Photobiol B, 1997, 37(1): 151-153.
- [9] Egger NG, Motaamedi M, Pow-sang M, Qrihuela E, Anderson KE. Accumulation of porphyrins in plasma and tissues of dogs after δ -aminolevulinic acid administration: Implications for photodynamic therapy [J]. Pharmacology, 1996, 52(6): 362-370.
- [10] 杨宜, 李正佳, 朱长虹. 光动力学疗法概述及前景 [J]. 激光杂志, 2001, 22(5): 68-70.
- [11] Bartosova J, Hrkál Z. Accumulation of protoporphyrin-IX (Pp-IX) in leukemia cell lines following induction by 5-aminolevulinic acid (ALA) [J]. Comp Biochem Physiol C: Toxicol Pharmacol, 2000, 126(3): 245-252.
- [12] Grebenova D, Cajthamlova H, Bartosova J, Marinov J, Klamova H, Fuchs O, et al. Selective destruction of leukemic cells by photo-activation of 5-aminolaevulinic acid-induced protoporphyrin-IX [J]. Photochem Photobiol B, 1998, 47(1): 74-81.
- [13] Belickova M, Bruchova H, Cajthamlova H, Hrkál Z, Bedicka R. Genes involved in the destruction of leukemia cells by induced photosensitivity [J]. Folia Biol (Krakow), 2000, 46(4): 131-135.
- [14] Smetana K, Cajthamlova H, Grebenova D, Zbynek H. The 5-aminolaevulinic acid-based photodynamic effects on nuclei and nucleoli of HL-60 leukemic granulocytic precursors [J]. Photochem Photobiol B, 2000, 59(1-3): 80-86.
- [15] 孙晓红, 孙晓明. 骨髓光敏疗法防治急性淋巴细胞性白血病复发观察 [J]. 中华理疗杂志, 2000, 23(6): 340-342.
- [16] 许川山, 余茜, 吴士明. 光子+敏化剂修饰TFO净化白血病细胞的新设想 [J]. 激光杂志, 2002, 23(1): 79-80.

(本文编辑: 吉耕中)