

超声声动力学激活血卟啉抗肿瘤效应研究的新进展*

石焕文 尚志远

(陕西师范大学物理与信息技术学院 西安 710062)

摘要 在综合国内外有关文献的基础上,评述了超声声动力学激活血卟啉抗肿瘤效应研究的新进展.不仅阐明了超声声动力学疗法(SDT)及其离体、活体实验研究现状和杀伤肿瘤细胞的检测方法,而且提供了实验中得到的最佳声参量范围,最后指出了今后研究应注意的问题.

关键词 超声,声动力学,血卟啉,抗肿瘤效应

ANTI-TUMOR EFFECTS OF HEMATOPORPHYRIN SONODYNAMICALLY ACTIVATED BY ULTRASOUND

SHI Huan Wen SHANG Zhi Yuan

(College of Physics and Information Technique, Shaanxi Normal University, Xi'an 710062, China)

Abstract A review is presented of new advances in the study of the anti-tumor effects of hematoporphyrin sonodynamically activated by ultrasound. The methods of sonodynamic treatment, in vitro and in vivo experimental research, and the inspection of tumor cells after treatment are described. The optimum acoustic parameters determined experimentally are given. Finally, various issues which require attention in future research are pointed out.

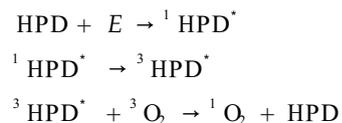
Key words ultrasound, sonodynamics, hematoporphyrin, anti-tumor effect

1 引言

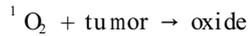
血卟啉是从血清中提取的一种光敏物质,1960年以前,人们已发现卟啉具有光敏性并用来诊断肿瘤.1960年,Lipson在光敏药物研制上取得突破,他们研制的血卟啉衍生物对恶性肿瘤有较强的亲和力,用较小的剂量就可以达到诊断和治疗的目的.20世纪70年代,随着激光和光导纤维技术的发展,人们利用激光作光源,以光纤作光路激活血卟啉可以治疗多种肿瘤.1978年,美国的Doughtery等人把这种利用光激活HPD(hematoporphyrin derivative)诊断肿瘤的方法称为光动力学疗法[简称PDT(photodynamic treatment)].至今光动力学疗法已应用于临床,主要应用于人体表面浅层肿瘤的治疗^[1].

但由于激光在生物组织中的穿透能力不及超声强,光动力学疗法对治疗深层组织肿瘤有一定困难,再加上超声容易聚焦且聚焦技术比较成熟,因此采用超声方法抑制肿瘤生长和破坏肿瘤细胞,尤其是治疗深层组织肿瘤已引起国内外的普遍关注.目前国内外超声治疗肿瘤的方法有三种:超声热疗法、聚

焦超声外科和声动力学疗法.超声热疗法是用超声将肿瘤组织加热到43℃左右来抑制肿瘤生长,而聚焦超声外科是将高强度聚焦超声能量短时间集中于患处,使肿瘤温升达70℃以上,使蛋白质凝固而杀死或破坏肿瘤细胞.这两种方法都可以叫做热效应疗法.局部加热的热效应疗法在抑制和杀死肿瘤细胞时能造成对周围组织的损坏,而且深层组织非侵入式测温困难,这是该方法推向临床应用的主要障碍.而声动力学疗法则是用超声激活某些卟啉(比如血卟啉)等光敏物质,通过光敏物质分子与氧分子之间的能量交换产生单线态氧,从而杀死肿瘤细胞.血卟啉分子是四个吡咯大环结构,形成 $p\pi$ 共轭体系,很容易接受光能或热能而产生电子跃迁.超声激活血卟啉(HPD)及杀伤肿瘤组织的过程可用以下式表示:



* 国家自然科学基金(批准号:19874042)资助项目
2001-02-23收到初稿,2001-05-08修回



式中 E 为超声空化过程中产生的能量(是热能还是光能有待于进一步研究),oxide 是单线态氧($^1\text{O}_2$)氧化肿瘤组织的产物.由于血卟啉的选择分布性和它本身的细胞无毒性,以及激活血卟啉所需超声强度较低的特点,这种方法对肿瘤周围组织几乎不产生损伤.因此,用这种方法治疗肿瘤(尤其是非表浅层组织肿瘤)具有很好的应用前景.

2 近年来研究成果概述

1989年,日本学者梅村晋一郎(S. Ume mura)等人^[2]首次在国际会议上报道了用超声激活从血红蛋白中提取的有机光敏剂——血卟啉(hematoporphyrin,简称HP)进行杀伤瘤细胞和抑制肿瘤生长的初步尝试,并把超声激活血卟啉治疗肿瘤的方法称为声动力学疗法(sonodynamic treatment,SDT).实验表明,血卟啉本身无抗肿瘤效应,但在被声、光激活后能产生强烈的抗肿瘤效应,且能选择性地聚集及长时间滞留于瘤组织中,以便用声和光激活来杀死肿瘤细胞.

近十年来,国内外许多学者就超声激活血卟啉的实验装置、实验条件、对肿瘤的作用效果、声参量的选取及测量、作用机理等进行了大量的研究工作,并取得了初步的成效.

1989年,日本的N. Yumita等人^[3]对小鼠S180和AHI30细胞在无HP和有HP(10,25,50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 三种浓度)条件下做了62s超声照射离体实验($I=1.27, 2.21, 3.18\text{ W}/\text{cm}^2, f=1.92\text{ MHz}$)细胞损伤率用胎盘蓝染色排斥法确定.实验证明,单独HP对细胞无损伤作用,而超声单独作用时(3.18 $\text{ W}/\text{cm}^2, 60\text{ s}$)S180和AHI30细胞损伤率分别达30%和50%,当HP的浓度为50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 时,超声对上述细胞的损伤率分别达99%和95%,这表明超声不仅能激活HP,而且对S180和AHI30有较强的杀伤作用.另外作者还对超声激活HP的机理作了初步探讨,认为空化是激活HP的机理之一,而另一种机理则类似于激光对HP的敏化情形(因为超声和光都是能量的携带者).

1990年,N. Yumita等人^[4]利用超声激活HP对S180在体移植肿瘤细胞进行了研究,通过测量在体肿瘤细胞的重量和直径的变化,估计肿瘤细胞生长抑制率.结果表明:声动力学疗法和单独超声对在体肿瘤细胞都有抑制作用,但在相同条件下,声动力学疗法比单独超声对在体肿瘤细胞的抑制率大大提

高,抑制率分别为74%和15%.

1990年S. Ume mura等人^[15]研究了超声激活HP杀死肿瘤细胞的机理.对小鼠S180细胞悬浮液在有、无HP和有、无活性氧捕获剂的情况下,用超声(1.8 $\text{ W}/\text{cm}^2, 1.93\text{ MHz}$)照射60s,HP对超声杀死肿瘤细胞的增强效应可以用组氨酸抑制,但不能被甘露醇抑制,用重水代替普通水可以使杀伤增强效应加倍.在类似的声条件下,在生理盐水中可观察到声致发光,并且它的谱成分可以激活HP分子.这些结果表明,细胞损伤效应的增强可能是通过声激活HP而产生的单线态氧的作用结果.他们的文章最后还讨论了超声激活HP的机理,提出了超声空化现象产生的“热点”直接激活HP还是声致发光激活HP这样一个问题.

1991年,以美国R. J. Jeffer^[6]为代表的学者,采用集落形成法分别检测了在体细胞和离体细胞的再生能力,判断超声对肿瘤的作用效果,结果证实,其检测结果比胎盘蓝染色法分析得到的结果更精确.

1993年,S. Ume mura等人^[7]研究了镓卟啉复合物ATX-70对超声损伤瘤细胞的增强效应.80 μM 的镓卟啉能将2MHz超声所致的空气饱和悬浮液中的S180细胞的杀伤率提高4倍,而同浓度的HP只能提高2倍.这一增效作用可以被悬浮液中10mM的组氨酸完全抑制掉,但不能被100mM的甘露醇所抑制.这表明细胞杀伤作用几乎是由单线态氧引起的.悬浮液中活性氧产量可以通过活性氧与Tmponc反应产生的氧化物的电子自旋共振信号进行研究.

1993年,Tachibana等人^[8]利用超声(150,300,450 $\text{ m W}/\text{cm}^2, 270\text{ kHz}$)激活卟啉II对HL60肿瘤细胞的杀伤效应进行了研究.实验表明,细胞杀伤率与声强有密切关系,声强愈大杀伤率愈明显.卟啉II在低功率低强度超声作用下对HL60肿瘤细胞杀伤效果较明显.

1994年,Tachibana^[9]又研究了光敏剂卟啉II在超声激活后对鼠肝组织的作用.结果发现,超声(频率210kHz,声强1.3 $\text{ W}/\text{cm}^2$)激活卟啉II使肝组织损伤深度达5.7 $\pm 0.9\text{ mm}$,而单纯超声使肝组织损伤深度达3.0 $\pm 0.4\text{ mm}$.

1994年,D. Kessel等人^[10]研究了超声激活HPD对培养液中鼠科白血病细胞L1210的作用,实验表明,当HPD存在于培养液中时才能增加超声对细胞的杀伤力,而当HPD存在于细胞内时超声对细胞的活性没有改变,而且一定量的HPD对光细胞杀伤率和超声细胞杀伤率的影响没有相互关系(由不同种

类 HPD 比较后得出) . 超声引起的细胞损伤仅仅发生在空化核存在的场合 .

1994 年, N. Yumita 等人^[11]通过 Te mpo 的 ESR 谱研究了超声激活 HP 效应. 在 PBS(pH = 9. 0) 缓冲液中加入 HPD 和 Te mpo 溶液, 在用超声照射后产生的叠氮氧化物产率高于无 HPD 时的情形, HPD 对氧化氮产率的提高可以用 NaN_3 和组氨酸抑制. 在用 D_2O 代替 H_2O 和采用 HPD 的情况下, 氧化氮产率提高 2 倍, 而无 HPD 情况下提高不大. 这些结果表明, HPD 水溶液中超声能产生许多活性氧分子, 由于氧化氮产率不能被甘露醇减小, 而且在氮气饱和溶液中也没有叠氮氧化物产生, 因此, OH^- 不能算作是能与 Te mpo 反应生成氧化氮的活性氧的主要成分, 而单线态氧才是超声激活 HPD 后产生的活性氧的主要成分.

另外, 在 1991—1995 年, 陕西师范大学马玉英等人^[12,13]研究了超声激活 HPD 对 S180 肿瘤细胞的作用. 实验结果表明, 声化学激活血卟啉对 S180 细胞杀伤率随作用时间、声强度的增大而增大. 超声频率在 1.8—2.0 MHz 之间, 保持一定 HPD 浓度和一定量声强就可取得 95% 以上的杀伤效果.

1999—2000 年, 我们研制了一种实现声散射声的复频聚焦换能器^[14,15], 探讨频率成简单倍数关系超声叠加加强空化效应的最佳条件^[16], 并用复频换能器产生的超声来激活血卟啉衍生物, 寻找了超声激活血卟啉的最佳作用时间、最佳血卟啉浓度、最佳超声频率^[17]. 作单、复频超声激活血卟啉的对比研究, 寻找提高复频超声激活血卟啉增强效果的途径, 为声动力学疗法能高效、方便地应用于临床提供必要的实验参数^[18].

总之, 到目前为止, 人们对超声激活血卟啉及其衍生物效应的研究还处在实验阶段, 使用的血卟啉衍生物有: 血卟啉、卟啉 II、ATX-70 等, 使用的检测手段有 ESR 谱方法, 杀死肿瘤细胞方法. 其中杀死肿瘤细胞方法包括胎盘蓝染色排斥法、光密度值法和荧光光谱法等^[19]. 取得的声参量范围为: 频率在 210 kHz—2.0 MHz, 声强在 150 W/cm^2 — 3.2 W/cm^2 . 至于超声激活血卟啉的机理, 人们普遍认为这与声空化现象有关, 到底是以热形式还是声致发光产生的光能量形式激活, 还有待于进一步的研究.

3 今后研究应注意的问题

超声声动力学激活血卟啉抗肿瘤效应的研究历

程已有十年, 而我国在这方面的研究才刚刚起步. 由于这种方法的优点以及推向临床应用的极大可能性, 这一研究已得到声学界、生物学界、医学界各方面人士的普遍关注. 现提出今后研究工作应注意的问题, 供有志于这方面的研究者参考.

(1) 由于人体肿瘤在体内存在的部位因人而异, 因此用这种方法杀死肿瘤细胞的声学辐照系统一定要设计成动态聚焦系统. 同时要用实时成像系统监控, 以便确定病灶位置.

(2) 在探知单线态氧是这种方法杀死肿瘤细胞机制的基础上, 进一步探明激活血卟啉的能量形式, 即是超声空化产生的热点以热能形式激活呢, 还是热点激发的声致发光以光能形式激活血卟啉? 这一问题的解决对于我们进一步采取措施提高激活血卟啉的效率是至关重要的.

(3) 复频超声引发的声化学产额以及声致发光在一定条件下明显优于单频超声单独作用效果之和, 因此设计复频超声辐照系统和寻找复频超声作用效果的最佳条件也是今后研究的重要课题.

(4) 在生物效应方面, 单线态氧到底破坏的是细胞膜还是线粒体还没有定论, 因此, 探明单线态氧以哪一种机制来杀死瘤细胞是生物学工作者的一个研究课题.

以上四方面问题若能得到很好的解决, 那么超声声动力学方法推向临床应用将为期不远.

参 考 文 献

- [1] 许松林等. 激光技术与医学应用. 北京: 人民卫生出版社, 1989 [Xu S L *et al.* Laser Technology and Its Medical Applications. Beijing: People's Health Press, 1989 (in Chinese)]
- [2] Ume mura S *et al.* Proc. IEEE. Ultrasonics Symposium, 1989: 955
- [3] Yumita N *et al.* Jpn. J. Cancer Res., 1989, 80: 219
- [4] Yumita N *et al.* Jpn. J. Cancer Res., 1990, 81: 304
- [5] Ume mura S *et al.* Jpn. J. Cancer Res., 1990, 81: 962
- [6] Jeffer R J. IEEE. Ultrasonics Symposium, 1991: 1367
- [7] Ume mura S *et al.* Jpn. J. Cancer Res., 1993, 84: 582
- [8] Tachibana. Cancer Letters, 1993, 72: 195
- [9] Tachibana. Cancer Letters, 1994, 74: 177
- [10] Kessel D *et al.* Int. J. Radiat. Biol., 1994, 138: 171
- [11] Yumita N *et al.* Radiation Research, 1994, 138: 171
- [12] 马玉英等. 声学技术, 1993, 12(2): 31 [Ma Y Y *et al.* Technical Acoustics, 1993, 12(2): 31 (in Chinese)]
- [13] 马玉英等. 中国生物医学工程学报, 1995, 14(4): 374 [Ma Y Y *et al.* J. Chinese Biomedical Engineering, 1995, 14(4): 374 (in Chinese)]
- [14] 石焕文, 尚志远. 陕西师范大学学报(自然科学版), 2000, 28(1): 49 [Shi H W, Shang Z Y. J. Shanxi Normal University, 2000, 28(1): 49 (in Chinese)]

- [15] 石焕文,尚志远.压电与声光,2000,22(2):98[Shi H W,Shang Z Y.Piezoelectrics & Acoustooptics,2000,22(2):98(in Chinese)]
- [16] 石焕文等.西安工程学院学报,2000,22(3):66[Shi H W et al.J.Xi'an Engineering University,2000,22(3):66(in Chinese)]
- [17] 石焕文等.声学技术,2000,19(4):193[Shi H W et al.Technical Acoustics,2000,19(4):193(in Chinese)]
- [18] 石焕文.陕西师范大学硕士研究生学位论文,2000[Shi H W. Dissertation of Shaanxi Normal University,2000(in Chinese)]
- [19] 宋存牛.陕西师范大学硕士研究生学位论文,1997[Song C N.Dissertation of Shaanxi Normal University,1997(in Chinese)]



作者简介

石焕文,男,1967年出生,长安大学讲师,现在陕西师范大学物理学与信息技术学院攻读博士学位,已发表科研论文10余篇,研究方向是超声在生物医学方面的应用。



尚志远,男,1940年出生,现为陕西师范大学物理学与信息技术学院教授,博士生导师.主要研究方向:超声生物效应、生物声学及光声学.先后发表论文70余篇,撰写专著一部,完成科研项目12项。

• 书评和书讯 •

科学出版社物理类图书精品推荐

书 名	作(译)者	定价	出版日期	发行号
薄膜生长	吴自勤	28	2001年9月	O-1341
高等原子分子物理学	徐克尊	25	2000年9月	O-1232
物理学中的群论	马中骥	42	2001年3月	OW-4271
理性力学基础	王自强	24	2000年7月	O-1180
纳米材料与纳米结构	张立德	35	2001年3月	O-1236
微米/纳米尺度传热学	刘 静	23	2001年3月	O-1289
先进陶瓷物理与化学原理及技术	高瑞平	27	2001年2月	O-1205
拉曼布里渊散射原理及应用	程兴煦	48	2001年3月	O-1301
计算流体力学基本原理	吴子牛	35	2001年1月	O-1256
非线性物理理论及其应用	周凌云	18	2000年3月	O-1133

即日起,欢迎各界人士邮购科学出版社各类图书.凡购书者免邮费,且可享受各种折扣优惠.请按以下方式与我们联系:

电 话:(010)64011127,64002234 传 真:(010)64034622

电子邮件:directselling@sina.com

通讯地址:北京东黄城根北街16号,科学出版社,邮政编码 100717

联 系 人:卢秀明

同时欢迎访问科学出版社网址: <http://www.sciencep.com.cn>