

630 nm激光对血卟啉衍生物介导的裸鼠肺腺癌A549移植瘤杀伤效应实验研究

邵明菊, 曹艺巍, 崔世超, 肖宝红, 林存智*

青岛大学附属医院呼吸与危重症医学科, 山东 青岛
Email: *lindoc@126.com

收稿日期: 2021年3月19日; 录用日期: 2021年4月15日; 发布日期: 2021年4月22日

摘要

目的: 探讨630 nm激光对血卟啉衍生物介导的裸鼠肺腺癌移植瘤杀伤效应, 为临床肺癌光动力治疗(HPD-PDT)提供理论依据。方法: 构建A549人肺腺癌皮下移植瘤裸鼠模型并分组, 实验组注射光敏剂后用630 nm激光照射, 每2天照射一次, 共3次。同时设立空白对照组、单纯光敏剂组、单纯光照组, 四组分别于最后一次照射2周后, 剥取肿瘤标本, 完整取出瘤体, 分别计算瘤体体积变化及抑瘤率, 对瘤体组织行HE、TUNEL染色, PCR及Western-blot实验。结果: HPD-PDT治疗组肿瘤抑制率明显高于对照组, HE染色显示模型建立成功; TUNEL染色结果显示治疗组凋亡阳性细胞明显增多, 凋亡现象明显。PCR检测结果显示与其他三组相比较, 光动力治疗组Bcl-2 mRNA的表达下降, 而Bax mRNA的表达增高($P < 0.05$), 差异均具有统计学意义。Western-blot结果显示光动力治疗组Bcl-2蛋白相对表达下降, 而Bax蛋白表达增高($P < 0.05$), 差异均具有统计学意义。结论: HPD-PDT治疗能抑制肺腺癌移植瘤细胞的生长增殖, 可以诱导肿瘤细胞的凋亡、坏死, 进而杀伤肿瘤细胞, 对肿瘤组织具有杀伤和抑制作用, 表明光动力疗法对于肺癌的治疗有很好的疗效。

关键词

光动力疗法, 血卟啉衍生物, A549细胞, 移植瘤, 凋亡

The Experimental Study of Effect and Mechanism of 630-nm Laser on Human Lung Adenocarcinoma Cell Xenograft Model in Nude Mice Mediated by Hematoporphyrin Derivatives

Mingju Shao, Yiwei Cao, Shichao Cui, Baohong Xiao, Cunzhi Lin*

*通讯作者。

Department of Respiratory & Critical Care Medicine, The Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao Shandong
Email: *lindoc@126.com

Received: Mar. 19th, 2021; accepted: Apr. 15th, 2021; published: Apr. 22nd, 2021

Abstract

Objective: To explore the efficacy of photodynamic therapy on the transplantation tumor of lung adeno-carcinoma in mice, and to provide theoretical basis for clinical photodynamic therapy. **Methods:** The human lung adeno-carcinoma A549 subcutaneous transplantation mouse model was successfully constructed and randomly grouped. The experimental group was injected with photosensitizer and irradiated with a laser of 630 nm. Meanwhile, blank control group, single photosensitizer group and single light group were set up. Photodynamic therapy was given every 2 days and total 3 times. Tumor specimens were removed from the four groups 2 weeks after the last irradiation, and the tumor was completely removed. The tumor volume changes were compared and the tumor inhibition rate was calculated. HE and Tunnel staining, PCR and Western-blot experiments were performed on tumor tissues. **Results:** The tumor inhibition rate of the HPD-PDT group was significantly higher than that of the other three groups. HE staining pathological sections showed that all tumor cells in the treatment group had different degrees of necrosis. TUNEL staining results showed that most of the cells in the treatment group were expanded, the nuclei were fragmented, and the apoptotic positive cells were significantly increased, with the most obvious apoptosis. PCR results showed that compared with the other three groups, the expression of Bcl-2 mRNA in the photodynamic treatment group decreased, while the expression of Bax mRNA increased ($P < 0.05$), and the differences were statistically significant. Western-blot results showed that the relative expression of Bcl-2 protein decreased in the photodynamic treatment group, while the expression of Bax protein increased ($P < 0.05$), and the differences were statistically significant. **Conclusion:** HPD-PDT can inhibit the growth and proliferation of lung adenocarcinoma cells transplanted tumor, induce the apoptosis and necrosis of tumor cells, and finally kill tumor cells. It has a killing and inhibiting effect on tumor tissues, indicating that photodynamic therapy has a good effect on the treatment of lung cancer.

Keywords

Photodynamic Therapy, Hematoporphyrin Derivative, A549 Cell, Transplantation Tumor, Apoptosis

Copyright © 2021 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

肿瘤是目前公认的威胁人类生命健康的一大类疾病，癌症已成为全球最主要的致死原因之一，肺癌是临床中比较常见的恶性肿瘤，近几十年来，以快速增长的趋势成为我国人口中确诊率和死亡率最高的恶性肿瘤[1] [2]。因此，肺癌的治疗显得非常重要，虽然有手术治疗、放疗、化疗、靶向治疗、免疫治疗等综合治疗手段，并且治疗也取得一定效果，但在我国肺癌5年生存率仍低于15% [3]，所以探索研究新的肺癌治疗方法很有临床意义。光动力疗法(photodynamic therapy, PDT)是近些年来兴起的一种治疗肿瘤

的微创技术,是一种经过临床认可的、具有良好临床应用前景的治疗方法,以其创伤性小[4]、靶向性准、毒性低微[5]和相对成本低等优点脱颖而出,且在各种肿瘤的治疗方法中显现出了很大的优势,已被逐渐应用于呼吸道恶性肿瘤的治疗中,这一新型的创伤小的治疗方法正引起人们的广泛关注和研究,成为肿瘤治疗领域的一个新方向。本实验通过构建小鼠肺腺癌转移瘤模型探究光动力治疗对肿瘤细胞的杀伤效应,为临床光动力学治疗提供理论依据。

2. 材料与方法

2.1. 材料

1) 实验动物雌性 BALB/c 裸鼠 24 只, 5~6 周龄, 体质量 14~16 g, SPF 级, 购自北京维通利华实验动物技术有限公司。实验过程中动物的使用符合动物伦理委员会的要求。饲养环境温度 26℃~28℃, 湿度 40%~60%, 湿度控制在 40%~60%, 并予以 12 h 明-暗循环照明; 裸鼠所需的饮用水、饲料、垫料以及其他用具都经过高压蒸汽灭菌处理; 鼠笼每周清洁。

2) 实验用细胞株人肺腺癌 A549 细胞株, 购自美国菌种保藏中心

3) 主要试剂 RPMI-1640 培养基 以色列 BI 公司

HE 染色试剂盒 北京索莱宝科技有限公司

TUNEL 试剂盒 瑞士罗氏(Roche)公司

DAB 显色试剂盒 北京索莱宝科技有限公司

4) 仪器 LED-IB 光动力治疗仪, 武汉亚格光电技术有限公司产。

5) 光敏剂血卟啉衍生物, 购于北京索莱宝科技有限公司, 用含 10% 胎牛血清和 1% 青链双抗的 RPMI-1640 完全培养液稀释至所需浓度, 现配现用。

2.2. 方法

1) 肺癌动物模型的建立: 在无菌条件下收集肺癌 A549 细胞株, 置于培养基中进行培养。在细胞对数期生长期收集细胞, 加入 PBS 重悬细胞, 根据细胞计数结果, 调整加入的 PBS 量, 使之稀释, 维持最终细胞浓度在 $1\sim 2 \times 10^7$ 个/ml, 每 200 μ l 细胞悬液装入 1.5 ml 小离心管内, 取 0.2 ml 细胞悬液注射于裸鼠肩胛骨处, 接种完成后的皮下可以看到细胞悬液聚集形成的包, 用手触摸有波动感, 重复以上操作, 直到 24 只裸鼠全部处理完毕。裸鼠在接种肿瘤细胞后, 大约经过 5~7 天的潜伏期, 可见皮下有移植瘤出现, 呈圆形或椭圆形结节, 用游标卡尺测量瘤体大小, 其长径均在 4~5 mm 之间, 表明裸鼠肺癌模型造模成功, 成瘤率 100% (24/24)。每隔 3 天测量一次瘤体长径与短径, 绘制生长曲线图。以公式肿瘤体积(V) = $1/2 \times ab^2$ 计算体积, 其中 a 代表瘤体长径(cm), b 代表短径(cm), 待体积达 0.150~0.200 cm^3 时进行分组 [6]。

2) 分组将 24 只荷瘤裸鼠随机分成 4 组, 每组 6 只: 空白对照组, 即不做任何处理; 单纯光敏剂组, 只给以光敏剂而无激光照射; 单纯光照组, 不注射光敏剂只给以 630 nm 激光照射; 光动力治疗组, 即注射光敏剂后 630 nm 激光照射。光动力治疗采用低剂量多次照射的方式, 即按照 10 mg/kg 剂量在瘤体内直接注射光敏剂, 从肿瘤的三个方向分三点式注射尽量让其均匀分布, 避光 4 小时后, 每只裸鼠注 100 微升 10% 的水合氯醛, 大约 2~3 分钟裸鼠进入麻醉状态, 然后用 630 nm 激光照射, 功率密度 80 mw/cm^2 , 光圈直径 5 cm, 照射 10 分钟。光动力治疗时, 精确摆位, 仅暴露裸鼠肿瘤部分, 其余部分用黑布覆盖, 以防止裸鼠正常皮肤受到辐射, 肿瘤部位全部包含在光斑内。每 2 天照射一次, 共 3 次。

3) 实验观察: 通过颈椎脱臼法处死裸鼠, 剥取肿瘤标本, 完整取出瘤体, 分别测量瘤体质量体积变化, 标本部分剪切成小块置于 4% 多聚甲醛溶液中固定 24 小时后用于 HE 及 TUNEL 染色, 对抑瘤率、瘤

体组织病理学进行分析对比, 观察瘤体内肿瘤细胞增殖活性和凋亡情况。

a) 肿瘤大体形态及体积变化的观察以游标卡尺测量并详细记录治疗前和治疗后小鼠皮下移植瘤的长径(a)、宽径(b)及高(c), 计算肿瘤体积(V) = $1/2 \times ab^2$ 。

b) 抑瘤率测算 治疗后 14 天, 每组随机抽取 5 只荷瘤裸鼠, 颈椎脱臼处死荷瘤小鼠, 完整剥离肿瘤组织, 电子天平称取瘤重并记录数据, 计算抑瘤率:

体积生长抑制率 = $(1 - \text{实验组平均体积}/\text{对照组平均体积}) \times 100\%$ 。

c) 肿瘤组织病理检测剥离出的小鼠肿瘤组织, 切取厚度不超过 5 mm 的组织切片经 10% 福尔马林溶液固定 24 h, 常规石蜡包埋、切片, 做 HE 染色, 以中性塑胶封片, 光镜下观察病理切片, 通过细胞坏死情况评价瘤体组织的损伤程度。

d) 肿瘤组织细胞凋亡水平检测检测肿瘤细胞凋亡情况, 取各组肿瘤组织石蜡切片, 二甲苯脱蜡(二甲苯 I 10 min、二甲苯 II 5 min), 然后由高浓度到低浓度乙醇漂洗, 再由 PBS 冲洗 2 次后晾干, 滴加蛋白酶 K 工作液(100 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 37 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育 30 min, 再次冲洗后晾干, 切片上滴加 50 μl TUNEL 工作液(含平衡液 98 μl 、TdT 1 μl 、生物素标记的 dUTP 1 μl), 为防止样本干燥和确保反应液分布均匀在反应液区域盖上塑料盖玻片使标本于 37 $^{\circ}\text{C}$ 避光 1 h, PBS 液洗涤, DAB 显色, 400 倍光镜下观察和控制反应时间, 镜下背景出现浅棕色时用蒸馏水冲洗终止显色, 苏木素复染数秒后用自来水水洗返蓝, 再经梯度乙醇脱水、二甲苯透明后利用中性树脂胶封片, 晾干的切片方可在显微镜下观察凋亡细胞或者采集图像, 显微镜下组织切片上棕褐色棕色或棕黄色为凋亡细胞, 随机选择 5 个视野, 计算细胞凋亡率。

e) 荧光定量 PCR 各组取适量肿瘤组织加入 1 ml Trizol 充分研磨行总 RNA 提取。测定浓度后, 参照反转录试剂盒说明书经去除基因组 DNA 反应和反转录反应将提取的总 RNA 反转录为模板 cDNA, 用于 SYBER Green 法荧光定量 PCR, 以 β -actin 作为内参, 检测 Bax、Bcl-2 的 mRNA 相对表达情况。引物由北京睿博兴科生物技术有限公司合成。通过 CT 值计算各组 Bax、Bcl-2 mRNA 的相对表达量, 相对表达量用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 表示。

f) Western blot 取适量肿瘤组织剪碎, 按照试剂盒说明书操作加入 RIPA 裂解液提取各组裸鼠肿瘤组织内总蛋白, 采用 BCA 法测定蛋白浓度。于聚丙烯酰胺凝胶电泳(5%浓缩胶, 12.5%及 10%分离胶)进行蛋白分离, 加样后电泳, 转至 0.45 μm PVDF 膜, 封闭后 PBST 洗膜并分别孵育一抗 4 $^{\circ}$ 过夜, 选用 GAPDH 用作内参。次日, PBST 洗膜后加入二抗室温孵育 1 h, 再次洗膜后 ECL 发光法显色, 使用 Fusion Fx 凝胶成像系统采集图像。结果用 image-J 图像分析系统测定各条带的灰度值, 以目的条带与内参条带平均灰度值的比值作为目的蛋白的相对表达量。

2.3. 统计学方法

用 SPSS23.0 统计软件进行统计学分析, 绘图采用 GraphPad Prism 5 软件, 每组实验重复 3 次, 实验数据均以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 多组组间数据总体比较用单因素方差分析法, 组间两两比较采用 LSD-t 检验进行分析; $P \leq 0.05$ 提示差异具有统计学意义。

3. 结果

1) 肿瘤的体积生长情况观察及肿瘤抑制率

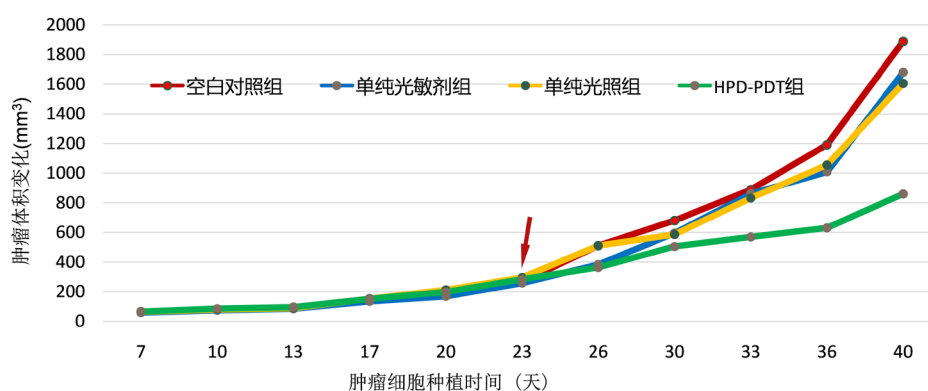
接种后约 5~7 天, 所有裸鼠接种部位均出现 5~7 mm 圆形或椭圆形等不规则形状的结节, 瘤体触摸偏硬, 证明造模成功。随后肿瘤逐渐增大, 各组裸鼠肿瘤体积随时间呈不同程度的增长趋势, 后期空白组、单纯光敏剂组、单纯光照组肿瘤增长速度较之前相比无明显改变, 肿瘤生长明显, 而治疗组裸鼠肿瘤增长速度明显变慢, 生长抑制作用显著, 裸鼠运动、进食、反应力和之前相比无明显改变。光动力治疗前及治疗后 5 天各组裸鼠生长无显著差异, 治疗后第 7 天开始治疗组肿瘤体积与空白组、单纯光敏剂

组和单纯光照组相比较明显减小, 差异具有统计学意义($P < 0.05$), 而空白组、单纯光敏剂组、单纯光照组肿瘤生长无明显差异, 治疗前后各组裸鼠肿瘤体积生长变化如表 1 所示, 肿瘤生长曲线如图 1 所示:

Table 1. Changes of tumor volume in nude mice before and after treatment

表 1. 治疗前后各组裸鼠肿瘤体积生长变化(mm^3) ($\bar{x} \pm s$)

天数	空白对照组	单纯光敏剂组	单纯光照组	HPD-PDT 组
7	63.03 ± 5.45	59.13 ± 3.81	62.95 ± 0.56	64.13 ± 3.88
10	78.09 ± 5.81	73.45 ± 5.05	78.83 ± 5.95	76.61 ± 5.49
13	94.61 ± 7.85	85.45 ± 5.11	89.30 ± 5.58	85.01 ± 5.31
17	150.01 ± 15.53	153.03 ± 13.15	152.05 ± 18.00	152.30 ± 9.56
20	180.30 ± 17.68	168.68 ± 2.10	186.86 ± 33.08	198.31 ± 54.36
23	262.00 ± 18.51	258.35 ± 0.53	295.38 ± 12.16	282.69 ± 50.89
26	511.53 ± 67.58	383.10 ± 38.15	512.08 ± 19.85	363.05 ± 57.06
30	675.19 ± 38.60	585.59 ± 80.88	585.89 ± 58.03	515.01 ± 36.58
33	878.90 ± 54.35	840.70 ± 98.90	831.15 ± 105.19	527.03 ± 83.81
36	1189.63 ± 123.88	1318.60 ± 152.68	1254.08 ± 90.38	631.65 ± 103.05
40	1785.65 ± 148.03	1570.61 ± 166.38	1405.09 ± 82.61	860.13 ± 120.16



注: 箭头表示 PDT 治疗的时间点。

Figure 1. Effect of HPD-PDT on the volume of subcutaneous transplanted tumor in nude mice

图 1. HPD-PDT 对裸鼠皮下移植瘤体积的影响

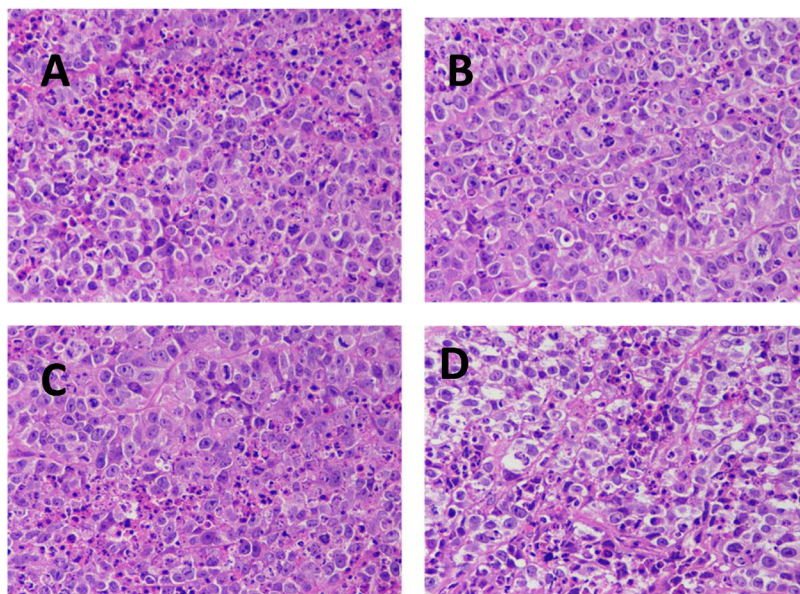
2) HE 染色结果

肿瘤组织经 HE 染色后, 细胞核呈蓝色, 胞浆及间质呈红色, 显微镜下观察切片, 四组切片内均可见肺癌细胞, 肿瘤细胞形成大小、形态不一的巢团状、条索状、腺样结构, 血管扩张、充血、出血, 部分腺腔内可见粉染的物质, 排列紧密整齐, 核大深染, 病理性核分裂象多见间质较为疏松, 染色偏粉色。与其它三组相比较, 光动力治疗组肿瘤细胞数量明显减少, 细胞排列紊乱, 极性消失, 且细胞核固缩、染色质淡染坏死, 分裂像多见(见图 2)。

3) TUNEL 染色结果

各组裸鼠移植瘤组织切片内均可见凋亡细胞, 凋亡细胞散在于瘤细胞之间, 胞浆减少, 核内可见棕黄色颗粒物质, 呈核碎裂、核固缩或核溶解现象。与其它三组相比较, 光动力治疗组棕褐色的凋亡阳性细胞明显增多, 凋亡现象最为明显(见图 3)。每组 TUNEL 切片选取 5 个阳性细胞数量最多的高倍

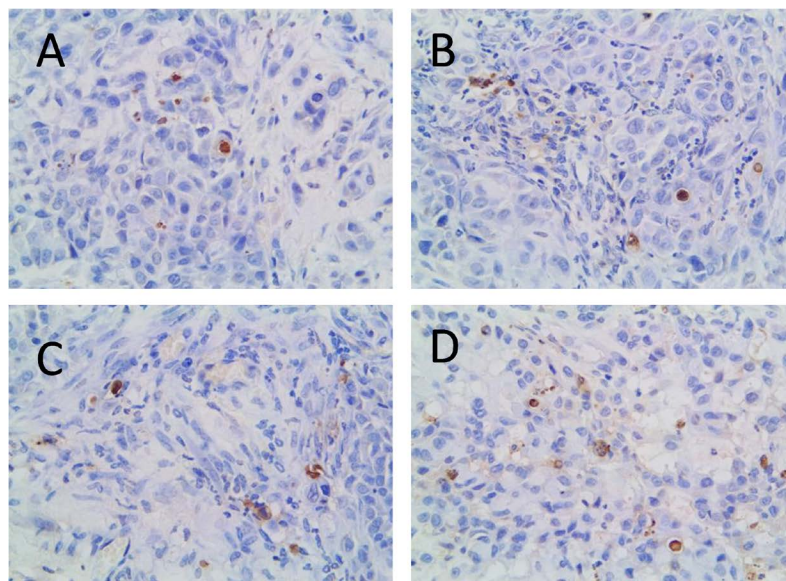
视野计算凋亡指数，即凋亡细胞占视野中所有细胞的百分比。对照组、单纯光敏剂组、单纯光照组和 PDT 组的细胞凋亡指数分别为 5%、6.2%、6.9%和 30.2%。PDT 组明显高于对照组、单纯光敏剂组和单纯光照组($P < 0.05$)，差异具有统计学意义。



A. 空白对照组; B. 单纯光敏剂组; C.单纯光照组; D.HPD-PDT 组

Figure 2. HE staining was used to observe the morphological structure of tumor tissue ($\times 400$)

图 2. HE 染色观察各组肿瘤组织形态结构($\times 400$)



A. 空白对照组; B. 单纯光敏剂组; C.单纯光照组; D.HPD-PDT 组

Figure 3. TUNEL staining was used to observe apoptosis of each group ($\times 400$)

图 3. TUNEL 染色观察各组细胞凋亡情况($\times 400$)

4) PCR 法检测裸鼠移植瘤组织内 Bax、Bcl-2 mRNA 表达水平

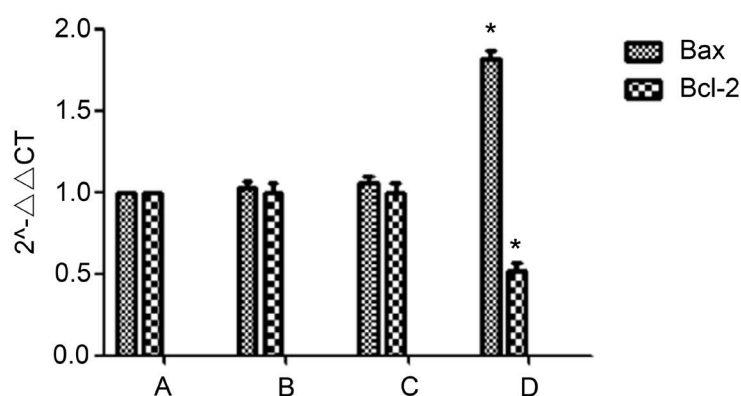
与空白组、单纯光敏剂组、单纯光照组相比较，HPD-PD 组 Bcl-2 mRNA 相对表达量显著下降，与

其他三组相比较, 差异均具有统计学意义($P < 0.05$); Bax mRNA 相对表达量显著上升, 差异具有统计学意义($P < 0.05$); 而其它三组 Bax、Bcl-2 mRNA 表达水平均无统计学差异, 具体表达水平如表 2、图 4:

Table 2. Relative expression of Bcl-2 and Bax $2^{-\Delta\Delta CT}$ in nude mice xenografts ($x \pm s$)

表 2. 各组裸鼠移植瘤组织内 Bcl-2、BAX $2^{-\Delta\Delta CT}$ 相对表达量($x \pm s$)

分组	BAX	Bcl-2
对照组	1.000	1.000
光敏剂组	1.051 ± 0.089	0.977 ± 0.027
光照组	1.033 ± 0.072	0.892 ± 0.036
联合组	$1.558 \pm 0.045^*$	$0.560 \pm 0.017^*$

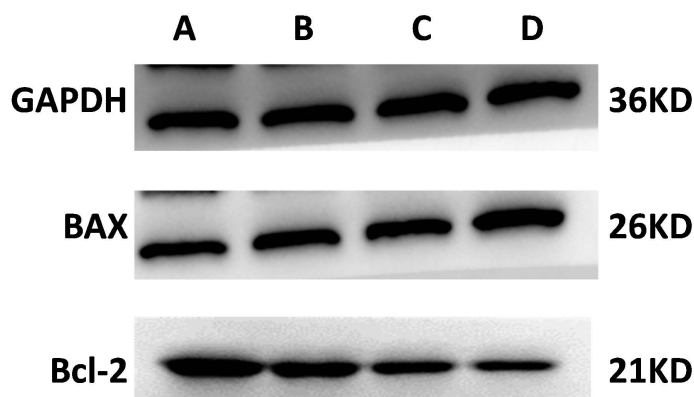


A. 空白对照组; B. 单纯光敏剂组; C. 单纯光照组; D. HPD-PDT 组($P < 0.05$)

Figure 4. Relative expression levels of Bax and bcl-2 mRNA after PDT treatment

图 4. PDT 治疗后 Bax、Bcl-2 的 mRNA 相对表达水平

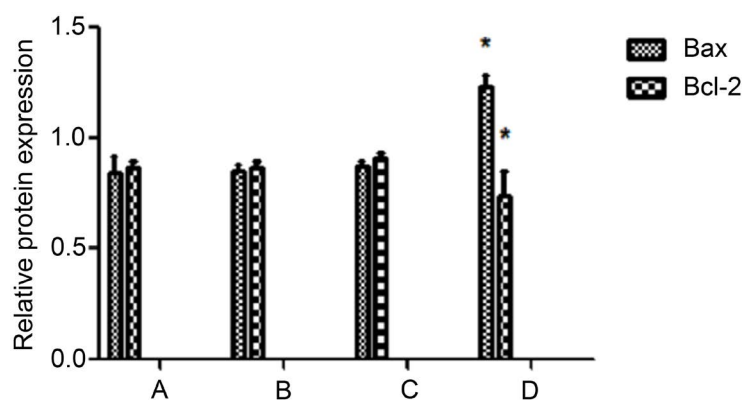
5) Western blot 检测裸鼠移植瘤组织内 Bax、Bcl-2 的蛋白表达变化与空白组、单纯光敏剂组、单纯光照组相比较, HPD-PDT 组 Bax 蛋白相对表达量显著上升, 差异具有统计学意义($P < 0.05$); Bcl-2 蛋白相对表达量显著下降, 与其他三组相比较, 差异均具有统计学意义($P < 0.05$); 而其它三组 Bax、Bcl-2 蛋白表达水平均无统计学差异, 结果如下(见图 5、图 6)。



A. 空白对照组; B. 单纯光敏剂组; C. 单纯光照组; D. HPD-PDT 组

Figure 5. Protein development results of Bax and Bcl-2 proteins

图 5. Bax、Bcl-2 蛋白显影结果



A. 空白对照组; B. 单纯光敏剂组; C. 单纯光照组; D. HPD-PDT 组

Figure 6. Relative protein expression of Bax and Bcl-2

图 6. Bax、Bcl-2 蛋白相对表达量

4. 讨论

光动力疗法(photodynamic therapy, PDT)对于多种肿瘤都有很好的治疗效果,随着肺脏介入医学的发展,光动力治疗的优势逐渐突出,因其具有微创、可重复、低成本、低免疫原性、局部高选择性等优点[7]被逐渐应用于呼吸系统恶性肿瘤的治疗中。临床各项研究表明,光动力疗法的临床优势在于破坏肿瘤组织的同时能够最大限度地保护正常组织不受破坏,PDT对人体几乎无损伤或轻微损伤后易于恢复,也可协同其他传统的治疗方式提高疗效并减少副作用,并具有实施简便、微创、可反复实施等优点,所以PDT被越来越多地认为是治疗多种癌症的非侵入性治疗方法,其选择性杀瘤作用在现有的各种肿瘤微创治疗手段中属于最强的[8][9]。有研究表明PDT可直接杀伤癌细胞、促进细胞凋亡,并可调节荷瘤小鼠的免疫功能[10],并且能激活机体的免疫反应,损伤肿瘤组织脉管系统,抑制新生血管,从而达到治疗肿瘤的目的[11]。光动力疗法也可启动机体免疫系统杀伤肿瘤细胞,诱导肿瘤细胞凋亡而起到治疗作用[12][13]。所以细胞凋亡被认为是PDT杀伤肿瘤过程中的重要机制,一般来说,细胞凋亡有两种途径,死亡受体途径和细胞应激途径,这两条通路都与Caspase-3的激活密切相关,因此Caspase-3是细胞凋亡的关键酶[14][15]。B淋巴细胞瘤-2基因(B-cell lymphoma-2, Bcl-2)家族蛋白主要有两类,一是抗凋亡蛋白Bcl-2,二是Bcl-2相关X蛋白(Bcl-2 Associated X Protein, Bax),二者均在细胞凋亡的调节中起重要作用[16]。Bcl-2家族蛋白可以改变线粒体膜通透性,调节转运孔开放从而影响线粒体的跨膜电位,而线粒体跨膜电位的崩塌开启了细胞凋亡的第一步并且意味着细胞凋亡的不可逆发生[17]。正常情况下,Bax与Bcl-2通过形成同源或异源二聚体来调节细胞凋亡,但当某些因素导致Bax高表达或Bcl-2低表达所致其比值上升,则会导致细胞凋亡的发生[18]。本实验中结果显示光动力疗法治疗后第8天时对于荷瘤小鼠的肿瘤组织具有抑制作用,单纯光敏剂或单纯激光照射对肿瘤组织无明显杀伤作用,根据HE染色结果的分析显示,光动力疗法治疗组肿瘤细胞坏死,明显降低肺癌细胞存活率,TUNEL染色结果治疗组凋亡细胞明显增多,凋亡指数较对照组明显升高,HPD-PDT处理后裸鼠肺腺癌移植瘤组织中Bax表达水平升高,Bcl-2表达水平降低致Bax/Bcl-2比值增高,从而促进了移植瘤的凋亡发生,进一步证实通过诱导肿瘤细胞凋亡从而实现了HPD-PDT治疗的抗肿瘤作用。

作为新兴的肿瘤治疗方法,光动力治疗对肿瘤细胞的杀伤效应具备传统治疗方法所无法企及的优势,在临床上治疗肺癌也得到了广泛的应用并取得一定的成效,已被列入肿瘤治疗的五大基本方法之一,但是光动力疗法的治疗范围以及治疗稳定性仍然不足,治疗效果没有明显的优势,而且光动力治疗不够方便,不能大范围普及,这是我们亟待解决的问题。本文在抑制体积变化和组织病理学上观察

到光动力治疗能显著抑制瘤体生长,促进细胞凋亡,从而确定了光动力疗法对肿瘤细胞的杀伤效应,其机制与通过上调 Bax 下调 Bcl-2 基因表达从而促进组织细胞凋亡,达到抑制移植瘤生长的目的,但确切的信号转导通路有待进一步研究,这将为临床 PDT 的治疗提供更有力的证据。目前 PDT 的治疗尚处于研究阶段,缺乏规范的治疗方案,因此还需要进一步加强基础及临床研究,明确其对疾病的疗效,随着 PDT 的广泛开展,对其研究逐步深入,相信未来光动力疗法在肿瘤的治疗领域会有着更为广阔的应用前景。

基金项目

青岛市黄岛区科技局项目(2014-1-77)。

参考文献

- [1] Chen, W., Zhang, S. and Zou, X. (2010) Evaluation on the Incidence, Mortality and Tendency of Lung Cancer in China. *Thoracic Cancer*, **1**, 35-40. <https://doi.org/10.1111/j.1759-7714.2010.00011.x>
- [2] Chen, W., et al. (2016) Cancer Statistics in China. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, **66**, 115-132. <https://doi.org/10.3322/caac.21338>
- [3] Pope, C.A., Burnett, R.T., et al. (2011) Lung Cancer and Cardiovascular Disease Mortality Associated with Ambient Air Pollution and Cigarette Smoke: Shape of the Exposure-Response Relationships. *Environmental Health Perspectives*, **119**, 1616-1621. <https://doi.org/10.1289/ehp.1103639>
- [4] Hopper, C. (2000) Photodynamic Therapy: A Clinical Reality in the Treatment of Cancer. *The Lancet Oncology*, **1**, 212-219. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(00\)00166-2](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(00)00166-2)
- [5] Sanfilippo, N.J., et al. (2010) Toxicity of Photodynamic Therapy after Combined External Beam Radiotherapy and Intraluminal Brachytherapy for Carcinoma of the Upper Aerodigestive Tract. *Lasers in Surgery & Medicine*, **28**, 278-281. <https://doi.org/10.1002/lsm.1051>
- [6] Song, Y., et al. (2013) Antitumor Effects of Dasatinib on Laryngealsquamous Cell Carcinoma *in Vivo* and *in Vitro*. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology*, **270**, 1397-1404. <https://doi.org/10.1007/s00405-013-2394-3>
- [7] Huang, Q., Ou, Y.S., Tao, Y., et al. (2016) Apoptosis and Autophagy Induced by Porphyrin-Mediated Photodynamic Therapy in Human Osteosarcoma MG-63 Cells. *Apoptosis*, **21**, 749-760. <https://doi.org/10.1007/s10495-016-1243-4>
- [8] El-Daly, S.M., Abba, M.L. and Gamal-Eldeen, A.M. (2017) The Role of microRNAs in Photodynamic Therapy of Cancer. *European Journal of Medicinal Chemistry*, **142**, 550-555. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.10.011>
- [9] Duan, X., Chen, B., Cui, Y., et al. (2018) Ready Player One? Autophagy Shapes Resistance to Photodynamic Therapy in Cancers. *Apoptosis*, **23**, 587-606. <https://doi.org/10.1007/s10495-018-1489-0>
- [10] Yow, C.M., Wong, C.K., Huang, Z., et al. (2007) Study of the Efficacy and Mechanism of ALA-Mediated Photodynamic Therapy on Human Hepatocellular Carcinoma Cell. *Liver International*, **27**, 201-208. <https://doi.org/10.1111/j.1478-3231.2006.01412.x>
- [11] Sazgarnia, A., Montazerabadi, A.R., Bahreyni-toosi, M.H., et al. (2013) *In Vitro* Survival of MCF-7 Breast Cancer Cells Following Combined Treatment with Ionizing Radiation and Mitoxantrone-Mediated Photodynamic Therapy. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, **10**, 72-78. <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2012.06.001>
- [12] Chen, Y., Li, W., Zhou, J., et al. (2014) Molecular Mechanism of Photodynamic Therapy. *Journal of Central South University*, **39**, 102-108.
- [13] 孟斌, 温博贵, 李冠武, 等. 肿瘤光动力疗法诱导细胞凋亡机制研究进展[J]. 生理科学进展, 2002, 33(3): 269-272.
- [14] Cao, L.Q., et al. (2007) Upregulation of PTEN Involved in Rosiglitazone-Induced Apoptosis in Human Hepatocellular Carcinoma Cells. *Acta Pharmacologica Sinica*, **28**, 879-887. <https://doi.org/10.1111/j.1745-7254.2007.00571.x>
- [15] Kim, S.C., et al. (2003) Caspase-3-Dependent Apoptosis in Vascular Smooth Muscle Cell by Proteasome Inhibition. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, **42**, 554-560. <https://doi.org/10.1097/00005344-200310000-00014>
- [16] Soriano, M.E. and Scorrano, L. (2010) The Interplay between BCL-2 Family Proteins and Mitochondrial Morphology in the Regulation of Apoptosis. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, **687**, 97-114. https://doi.org/10.1007/978-1-4419-6706-0_6

- [17] Martinou, J.C. and Youle, R.J. (2011) Mitochondria in Apoptosis: Bcl-2 Family Members and Mitochondrial Dynamics. *Developmental Cell*, **21**, 92-101. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2011.06.017>
- [18] Liu, L., Zhang, Z. and Xing, D. (2011) Cell Death via Mitochondrial Apoptotic Pathway Due to Activation of Bax by Lysosomal Photodamage. *Free Radical Biology & Medicine*, **51**, 53-68. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2011.03.042>