

抗击癌症之光——光动力治疗

吕鑫, 张洪星, 段凯博, 戴文惠, 文智慧, 郭炜*, 郝俊生*

山西大学化学化工学院, 太原 030006

摘要: 光动力治疗是利用“光敏剂”和“光”治疗肿瘤的一种新方法, 用特定波长的光照射肿瘤部位, 可以使聚集在肿瘤的光敏剂活化, 产生高氧化性的活性氧而破坏肿瘤。与手术治疗、化疗、辐射治疗相比, 光动力治疗具有操作简单、靶向性好、无创或微创、无耐药性、可激活全身免疫等特点。该治疗方法在发达国家已基本普及, 目前我国正处于推广阶段, 公众对光动力治疗还不甚了解, 因此急需进行科学普及。在此背景下, 我们利用实验室化学合成的靶向型“硒-罗丹明”光敏剂, 设计了肿瘤靶向的光动力治疗科普实验, 包括靶向光敏剂的酶激活, 单线态氧的可视化检测以及光动力杀死癌细胞三个环节。通过该科普实验, 生动诠释了靶向型光动力治疗的科学原理, 提高了公众对光动力治疗癌症的认知, 将大大促进光动力治疗在我国的推广, 也体现了化学在肿瘤治疗方面的重要作用。整个科普实验操作简单、形象直观, 并在科普实践中显示出良好效果。

关键词: 光动力治疗; 光敏剂; 酶激活; 单线态氧; 可视化检测

中图分类号: G64; O6

Lighting the Way Against Cancer: Photodynamic Therapy

Xin Lv, Hongxing Zhang, Kaibo Duan, Wenhui Dai, Zihui Wen, Wei Guo*, Junsheng Hao*

School of Chemistry and Chemical Engineering, Shanxi University, Taiyuan 030006, China.

Abstract: Photodynamic therapy (PDT) emerges as a novel approach to treat tumors utilizing “photosensitizers” and “light”. This method involves exposing the tumor site to specific wavelengths of light, activating photosensitizers concentrated in the tumor to generate highly oxidizing reactive oxygen species, ultimately dismantling the tumor. In comparison to surgery, chemotherapy, and radiation therapy, PDT boasts simplicity in operation, precise targeting, minimal invasiveness, lack of drug resistance, and the ability to trigger systemic immunity. While PDT has gained widespread adoption in developed nations, its promotion in China is still underway, hampered by a lack of public understanding. In response, we present a popular science experiment elucidating tumor-targeted photodynamic therapy using a laboratory-synthesized selenium-Rhodamine photosensitizer. The experiment encompasses enzyme activation of targeted photosensitizers, visual detection of singlet oxygen, and the photodynamic eradication of cancer cells. This experiment vividly illustrates the scientific principles behind targeted photodynamic therapy, enhancing public awareness of photodynamic cancer treatment. Such efforts are crucial for advancing the adoption of photodynamic therapy in our country, underscoring the pivotal role of chemistry in cancer treatment. The entire popular science experiment is straightforward, visually intuitive, and has demonstrated effective results in science outreach.

Key Words: Photodynamic therapy; Photosensitizer; Enzyme activation; Singlet oxygen; Visual detection

收稿: 2023-09-25; 录用: 2024-01-17; 网络发表: 2024-03-01

*通讯作者, Emails: jshao@sxu.edu.cn (郝俊生); guow@sxu.edu.cn (郭炜)

基金资助: 山西省高等学校教学改革创新项目(J2021097, J2021099); 国家自然科学基金(22277070)

1 引言

癌症是威胁人类生命健康的重大疾病之一，手术切除、化疗、放疗是临床治疗最多的三种手段。然而，手术切除对人体创伤大，术后并发症多，且易发生因切除不彻底而引起的癌细胞转移^[1]；化疗的副作用大，产生耐药性仍是迄今尚未克服的重大难题^[2]；放射疗法选择性低，对正常组织有明显的损伤^[3]。相比之下，光动力治疗(Photodynamic therapy)是一种新型的癌症治疗方式，仅通过光照富集光敏剂的肿瘤即可杀死癌细胞，具有操作简单、时空可控、无创、低耐药性、能够激活全身免疫的优点^[4,5]。其治疗过程分为向体内注射光敏剂、光敏剂富集于肿瘤、光照肿瘤、肿瘤消除四个环节(图1)。

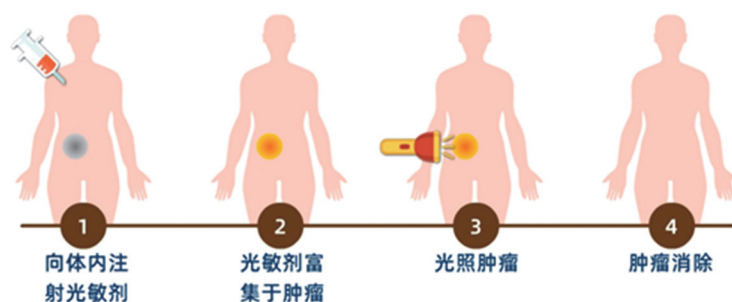


图1 光动力治疗癌症流程示意图

简单地讲，光动力治疗是一种基于光化学反应的治疗手段，由特定波段的光、氧气和光敏剂三要素组成。在光激发下，光敏剂分子吸收光能并传递给周围的氧气，使其转化为具有高细胞毒性的活性氧，即单线态氧($^1\text{O}_2$)。当上述过程发生在癌细胞内时，产生的单线态氧能够氧化损伤癌细胞内的核酸、蛋白质等生物分子，进而引起癌细胞的凋亡和坏死^[6-9](图2)。

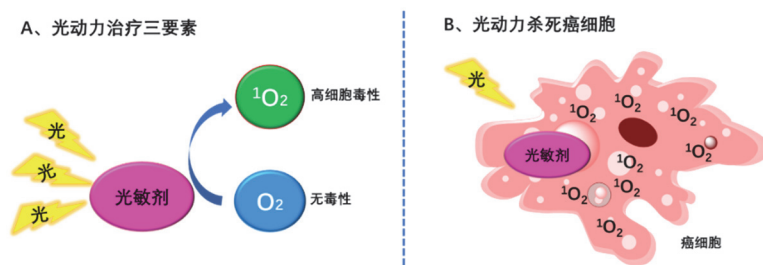


图2 (A) 光动力治疗原理: (B) 光动力治疗杀死癌细胞示意图

光敏剂产生单线态氧的具体光化学原理如图3所示^[10]，光敏剂分子受到光激发后，处于基态(S_0)的电子吸收光能跃迁至激发单重态，并在皮秒内发生振动衰减到第一激发态的最低能级(S_1)，然后 S_1 态的电子通过系间窜越(ISC)转变为长寿命的激发三重态 T_1 (10^{-6} – 10^{-4} 秒)。处于 T_1 态的光敏剂分子能通过“ T_1 – T_1 ”能量转移将能量传递给周围的氧分子，从而将氧分子转化为高氧化活性的单线态氧。

靶向光动力治疗是指采用靶向型光敏剂进行的光动力治疗。靶向型光敏剂是目前临床使用的第三代光敏剂，通常由前光敏剂和靶向基团组成，其中靶向基团起到“寻找”癌细胞的作用。靶向光敏剂特异性结合癌细胞后，能够与其特有的酶作用，产生具有光敏活性的光敏剂，并使光敏剂富集于癌细胞。接受光照后，光敏剂产生活性氧，进而杀死癌细胞(图4)。靶向光动力治疗的优点在于能够极大地降低对正常细胞的光损伤，减少治疗的副作用。

在发达国家，光动力治疗已普遍用于癌症的临床治疗，目前我国正处于推广阶段，许多新型光敏药物已进入临床研究。然而，公众对光动力治疗癌症缺乏清晰直观的认识，急需进行科学普及。

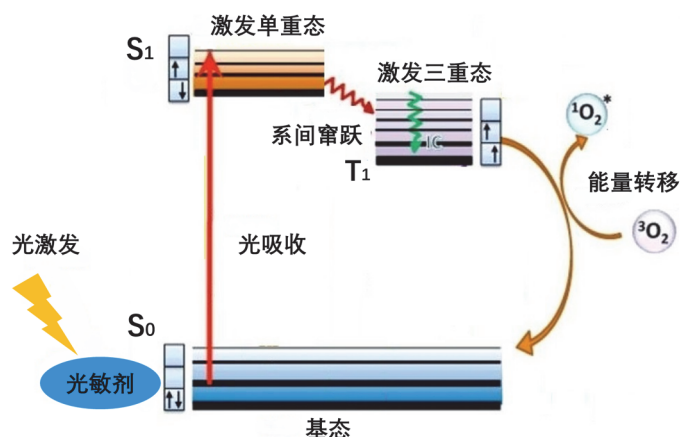


图3 单线态氧产生的光化学原理示意图

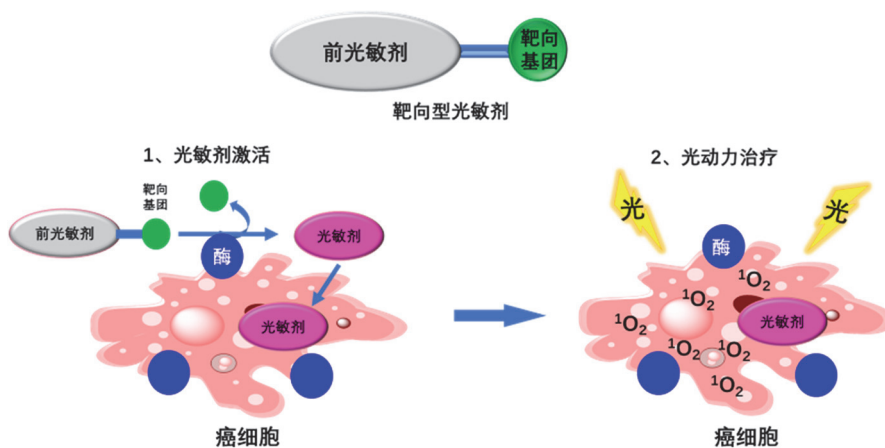


图4 靶向光动力治疗原理示意图

为了揭开光动力疗法的神秘面纱，使公众能够清晰、直观地认识光动力治疗癌症，我们在调研文献的基础上，基于实验室自制的靶向型“硒-罗丹明”光敏剂SeR-APN，设计了简单、直观、可行的科普实验，具体包括以下三个部分：

(1) 基于癌细胞过表达的“氨基肽酶”与“丙酰胺基团”发生的特异性化学反应，开展了靶向光敏剂的酶激活实验，通过反应前后的颜色变化来验证“前光敏剂”的酶激活过程。

(2) 借助活性氧指示剂，对光动力过程中产生的单线态氧进行可视化检测，通过颜色变化验证单线态氧的形成。

(3) 将靶向光敏剂用于癌细胞和肿瘤的光动力治疗，通过视频和图像方式展示光动力治疗效果。

本科普实验旨在通过简单直观的实验现象，向公众传递抽象的自然科学知识，提升公众对光动力治疗癌症的认知。

2 实验部分

2.1 实验原理

2.1.1 靶向光敏剂SeR-APN的酶激活原理

实验中用到的靶向光敏剂SeR-APN本身以螺环内酯形式存在，无光动力治疗活性，其结构中的靶向激活基团(丙酰胺基团)能够被肿瘤标志物氨基肽酶(APN)所裂解，释放出具有光动力治疗活性的紫色“硒-罗丹明”光敏剂SeR(图5)，因而通过反应前后的颜色变化即可验证光敏剂的酶激活过程。

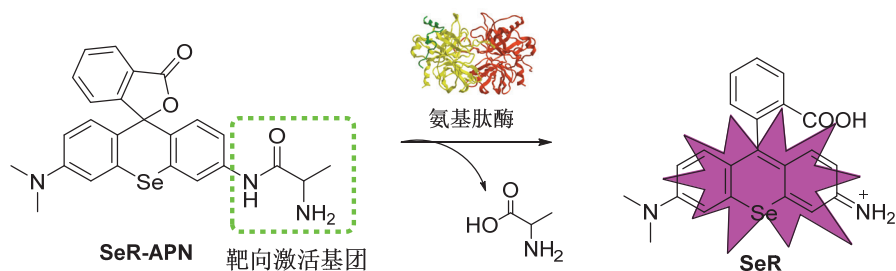


图5 光敏剂SeR-APN的激活原理示意图

2.1.2 活性氧指示剂3,3',5,5'-四甲基联苯胺(TMB)检测单线态氧的反应原理

3,3',5,5'-四甲基联苯胺(TMB)是氧化反应的常用底物,自身无色,被 $^1\text{O}_2$ 氧化后转变为阳离子自由基,后者在溶液中以二聚电荷转移复合体形式存在,呈现蓝色。这样便可以推断,在实验中如果有蓝色产生,说明体系中存在有 $^1\text{O}_2$ 。上述经氨基酸酶激活后产生的光敏剂SeR在560 nm光照射下能够高效地将氧气转变为单线态氧,进而引起3,3',5,5'-四甲基联苯胺(TMB)产生明显的颜色变化,因而通过反应的颜色变化即可证明光动力过程中单线态氧的形成(图6)。

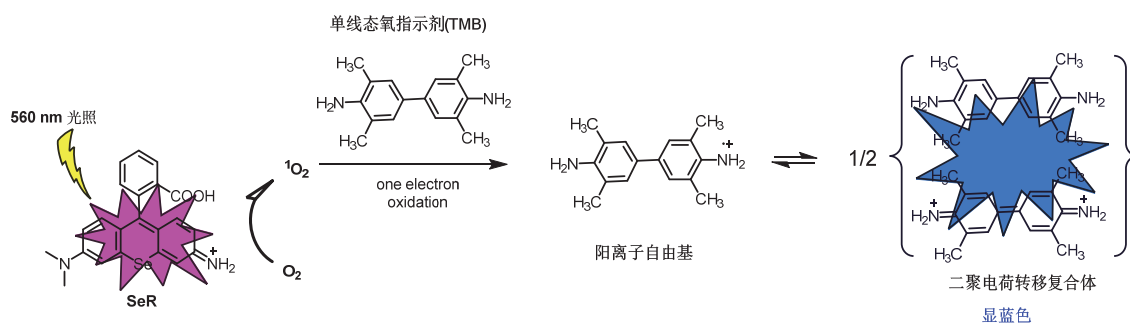


图6 活性氧指示剂TMB检测单线态氧的反应机理

电子版为彩图

2.2 原料与试剂

实验所用的靶向型光敏剂SeR-APN为自制光敏剂,实验中所需的其他试剂见表1。

表1 实验所需主要试剂

试剂	规格	生产厂家	试剂	规格	生产厂家
3,3',5,5'-四甲基联苯胺	分析纯	美国Sigma-aldrich试剂公司	磷酸缓冲溶液	分析纯	上海阿拉丁试剂公司
氨基酸酶	优级纯	美国Sigma-aldrich试剂公司	钙黄绿素	分析纯	北京伊诺凯试剂公司
二甲基亚砜	分析纯	上海阿拉丁试剂公司			

2.3 设备与仪器

实验所用主要仪器见表2。

表2 实验所用主要仪器

仪器名称	型号	生产厂家	仪器名称	型号	生产厂家
便携式LED光源	SSS	深圳雷曼光电科技	移液器	Xplorer	德国艾本德科技
分析天平	ME204E	瑞士梅特勒-托利多集团	细胞培养箱	RWD	深圳瑞沃德生命科技
超声清洗仪	SB-5200	宁波新芝生物有限公司	共聚焦显微镜(GLSM)	LSM880	德国蔡司集团公司

2.4 实验步骤

2.4.1 实验溶液的配制

称取光敏剂SeR-APN 1 mg, 将其置于2 mL离心管中, 加入1 mL二甲基亚砜(DMSO), 超声振荡溶解, 配制为 $2 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的母液; 称取3,3',5,5'-四甲基联苯胺(TMB) 2 mg, 置于2 mL离心管中, 加入1 mL二甲基亚砜(DMSO)振荡溶解, 配制为 $8 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的母液。

2.4.2 靶向型光敏剂SeR-APN的酶激活

取两根干净的玻璃试管, 向其中均加入3 mL去离子水和20 μL 含光敏剂SeR-APN的DMSO溶液, 振荡摇匀。将上述配制好的两份溶液分别标记为1组溶液和2组溶液, 接着向第2组溶液中加入10 μL 氨基肽酶溶液($50 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), 振荡摇匀。然后将上述两组溶液置于 37°C 温水浴中反应30 min, 进行酶激活, 取出后对比两组溶液颜色变化。操作流程如图7所示。

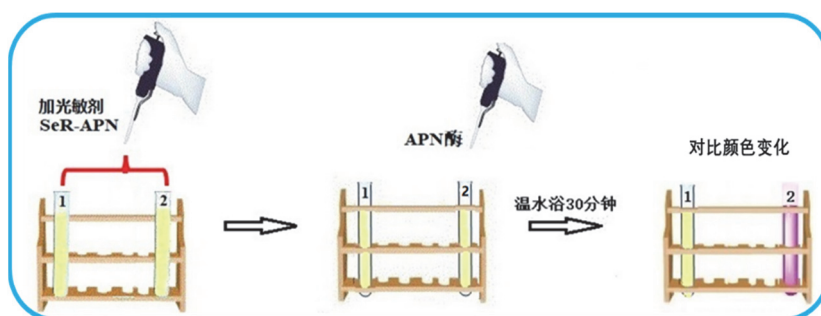


图7 光敏剂SeR-APN的酶激活实验流程

2.4.3 靶向型光敏剂SeR-APN产生单线态氧的可视化检测

向经过酶激活与未经过酶激活的上述两组实验溶液中各加入3 mL磷酸盐缓冲溶液($\text{pH} = 4$), 接着向两组溶液中均加入含有活性氧指示剂3,3',5,5'-四甲基联苯胺(TMB)的DMSO溶液各10 μL 。将以上两组溶液用LED紫外光源(光照强度为 $30 \text{ mW}\cdot\text{cm}^{-2}$)分别照射5 min, 对比观测两组溶液颜色变化。实验操作流程如图8所示。

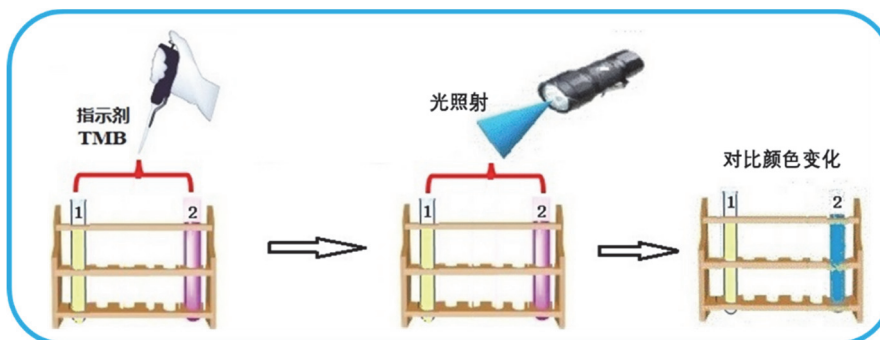


图8 光敏剂SeR-APN产生单线态氧的可视化检测实验流程

2.4.4 靶向型光敏剂SeR-APN用于癌细胞和正常细胞的光动力治疗

向孵育有宫颈癌HeLa细胞的培养皿中加入细胞染色试剂钙黄绿素(发绿色荧光), 进行细胞染色, 接着加入含有光敏剂SeR-APN ($2 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)的DMSO溶液2 μL , 然后置于培养箱中孵育细胞30 min, 接着用 $\text{pH} = 7.4$ 的磷酸盐缓冲溶液(PBS)清洗细胞3次。将上述细胞置于波长为560 nm、光照强度为 $30 \text{ mW}\cdot\text{cm}^{-2}$ 的LED光源下照射10 min, 然后置于激光共聚焦显微镜下进行拍摄, 观测癌细胞形态随时间的变化。绿色荧光通道对应的激发波长设定为488 nm, 收集波长范围设定为580–650 nm。

另取一组正常LO2肝细胞, 采用上述相同实验操作, 进行光动力治疗实验, 并采用激光共聚焦显微镜观测细胞形态随时间的变化。

2.4.5 靶向型光敏剂SeR-APN用于肿瘤的光动力治疗

活体水平的光动力治疗实验采用购买自北京维通利华实验动物技术有限公司的荷瘤裸鼠进行, 且所开展的动物实验均通过学校伦理委员会认定。

操作如下: 向裸鼠的肿瘤内注射浓度为 $100\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的靶向光敏剂SeR-APN的溶液 $100\ \mu\text{L}$, 2 h后将裸鼠的肿瘤部位置于波长为 $560\ \text{nm}$ 的LED光源下照射 $20\ \text{min}$ (光照强度为 $30\ \text{mW}\cdot\text{cm}^{-2}$), 进行光动力治疗, 然后每隔两天记录一次裸鼠的肿瘤变化情况。

2.5 实验结果与讨论

2.5.1 靶向型光敏剂SeR-APN的酶激活实验结果

通过实验发现: 含有靶向型光敏剂SeR-APN的第2组溶液在经过氨基肽酶处理后, 溶液颜色由淡黄色变为亮紫色; 相反, 未经过酶处理的第1组溶液没有明显颜色变化(图9)。颜色的明显变化表明, 在氨基肽酶作用下靶向型光敏剂SeR-APN被有效激活(机理如图5所示)。



图9 光敏剂SeR-APN的两组溶液经过不同酶处理条件后的溶液颜色变化

电子版为彩图

2.5.2 靶向型光敏剂SeR-APN产生单线态氧的可视化检测实验结果

通过实验发现: 加入活性氧指示剂TMB后, 未经氨基肽酶激活的第1组溶液在LED光源照射后并未发生明显颜色变化, 仍然接近淡黄色; 相反, 经过氨基肽酶激活的第2组溶液在经过同样光照条件后由紫色转变为明显蓝色(图10)。该实验结果表明, 靶向型光敏剂SeR-APN只有在被癌细胞过表达的氨基肽酶激活后才能产生单线态氧(机理如图6所示)。



图10 不同酶处理条件后的两组光敏剂溶液在经过光照后的颜色变化

电子版为彩图

2.5.3 靶向型光敏剂SeR-APN用于癌细胞和正常细胞的光动力治疗效果对比

宫颈癌HeLa细胞接受光动力治疗后, 细胞形态随时间明显改变, 在共聚焦显微镜下能够清楚观测到核溶解、空泡化等典型的细胞凋亡特征(图11A)。相反, 正常LO2肝细胞接受光动力治疗后, 在共聚焦显微镜下未观测到明显的细胞形态改变, 也无细胞凋亡的产生(图11B)。该实验表明, 采用靶向光敏剂SeR-APN进行光动力治疗能够选择性死癌细胞, 而对正常细胞几乎没有光动力损伤。

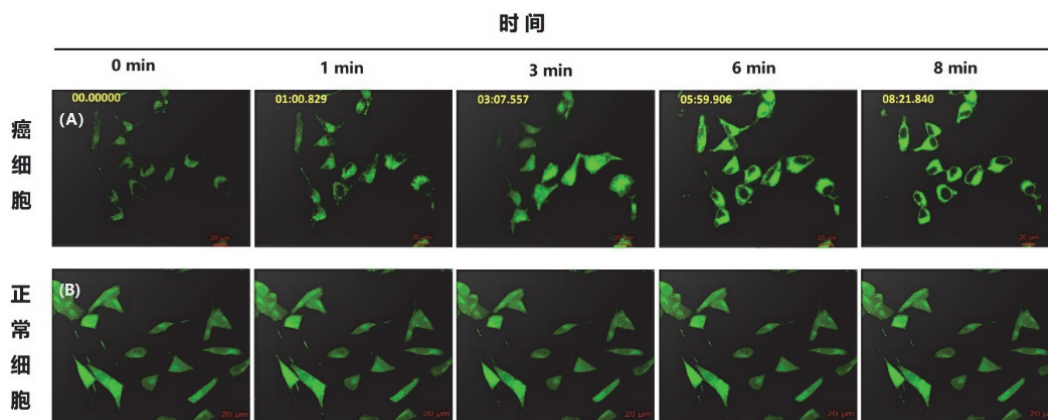


图11 癌细胞和正常细胞经过光动力治疗后的细胞形态随时间变化过程

图像标尺20 μm

2.5.4 靶向型光敏剂SeR-APN用于肿瘤的光动力治疗实验结果

图12为荷瘤裸鼠接受光动力治疗后肿瘤的消除过程。从中可以清楚看到，经过光动力治疗后，肿瘤组织逐渐坏死，5天后形成结痂，9天以后完全消除，说明靶向光动力治疗具有很好的治疗效果。

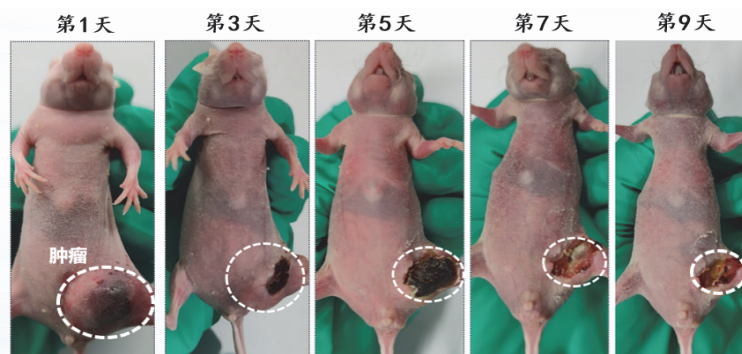


图12 光动力治疗后裸鼠肿瘤随时间消除过程

3 科普展示和互动方案

3.1 科普地点及对象

本科普实验操作简单，对科普展示地点要求低。教室、展厅、广场等宽敞室内外场所均可作为展示地点，可采用形式多样的科普方式面向社会大众进行科普宣传。

3.2 科普内容

- (1) 向公众介绍光动力治疗癌症的概念和科学原理，以及其特色优势。
- (2) 向公众展示靶向型光敏剂的酶激活及单线态氧的可视化检测科学实验，结合光动力治疗效果的视频和图像展示，让公众深入了解靶向光动力治疗。

3.3 科普方案展示

(1) 专业医生介绍。在科普开展之前，我们邀请省人民医院某主任医师对光动力治疗癌症进行介绍，以增加公众对光动力治疗癌症的认可度(图13)。

(2) 科普手册宣传。精心制作并向公众发放光动力治疗癌症的科普宣传手册，使公众对癌症的光动力治疗有了全面、清晰、直观的认识(图14)。

(3) 科普动画宣传。基于科普内容，我们制作了原创卡通动画，在动画中设置场景，巧妙融入光动力治疗癌症的原理、特点、流程等内容，生动有趣，易于接受(图15)。



图13 专业医生介绍光动力治疗癌症画面截图



科普手册内容节选

科普手册宣传

图14 科普手册宣传光动力治疗癌症



图15 科普动画截图

(4) 组织开展科技宣传周活动，现场展示光动力治疗癌症的科普实验，并邀请公众亲自参与，使公众进一步领会光动力治疗癌症的科学原理，体会化学在造福人类健康中的重要作用(图16)。

(5) 采用网络媒体，如Bilibili网站、微信公众号、抖音APP等开展线上科普宣传(图17)，一方面可克服科普活动的地域限制，另一方面又可节省公众活动的时间和费用，同时还扩大了宣传范围，使得更多公众了解、接受光动力治疗这一新型的癌症治疗方式。



图16 科普宣传场景展示



图17 网络宣传展示截图

4 结语

本科普实验安全、有趣、易操作，将光动力治疗这一复杂科学概念的核心过程，即单线态氧的生成，通过简单的实验操作传递给大众。借助活性氧指示剂，单线态氧的形成过程可以直观地通过“裸眼”观测。科普过程中，我们以有趣的动画、通俗易懂的语言诠释科学概念，揭示光动力治疗原理，多方位展现化学的魅力，助力公众树立科学理念，激发青少年学习化学的热情和兴趣。

5 特点/特色/创新声明

本作品创新点主要有：

- (1) 科普必要性强：光动力治疗作为一种新型有效的癌症治疗手段，已展示出广阔的发展前景，然而社会大众对该治疗方法不甚了解。
- (2) 实验操作简单：通过光激发光敏剂并结合指示剂颜色的变化，裸眼即可观测到光动力治疗过程中产生的可杀死癌细胞的活性氧。
- (3) 紧跟研究前沿：引入了“靶向光敏剂”前沿新概念，并通过酶反应阐明其特异性杀死癌细胞的作用原理。
- (4) 容易科普推广：癌症是尚未解决的重大疾病之一，社会关注度高，公众对新疗法的兴趣浓厚，易于作品的科普推广。

参 考 文 献

- [1] Uramoto, H.; Tanaka, F. *Transl. Lung Cancer Res.* 2014, 3, 242.
- [2] Angelis, C. *Curr. Oncol.* 2008, 15, 198.

- [3] Liu, G.; Zhang, S.; Ma, Y.; Chen, X.; Zhang, L.; Ma, F. *Pak. J. Med. Sci.* **2016**, 32, 95.
- [4] Zhou, L.; Lv, F.; Liu, L.; Wang, S. *Acc. Chem. Res.* **2019**, 52, 3211.
- [5] 闫涛, 刘振华, 宋昕玥, 张书圣. *化学学报*, **2020**, 78, 657.
- [6] Bu, Y.; Zhu, X.; Wang, H.; Zhang, J.; Wang, L.; Yu, Z.; Tian, Y.; Zhou, H.; Xie, Y. *Anal. Chem.* **2021**, 93, 12059.
- [7] Chen, D.; Wang, Z.; Dai, H.; Lv, X.-Y.; Ma, Q.; Yang, D.; Shao, J.; Xu, Z.; Dong, X. *Small Methods* **2020**, 2000013.
- [8] Chen, L.; Yang, Y.; Zhang, P.; Wang, S.; Xu, J. F.; Zhang, X. *ACS Appl. Bio. Mater.* **2019**, 2, 2920.
- [9] Feng, L.; Betzer, O.; Tao, D.; Sadan, T.; Popovtzer, R.; Liu, Z. *CCS Chem.* **2019**, 1, 239.
- [10] Wagnieres, G.; Star, W.; Wilson, B. *Photochem. Photobiol.* **1998**, 68, 603.
-

【勘误】

《大学化学》2024年第3期，390–394页发表的题目为“分析化学教学中引入动态缓冲容量‘去公式化’计算的新策略”(doi: 10.3866/PKU.DXHX202309030)一文勘误如下：

第391页第18行中的“戴明^[6,7]”替换为“戴明和李俊义^[6]、岳宣峰等人^[7]”。