

脑部肿瘤的自体荧光和体内卟啉的滞留

杨远龙 李黎明 叶衍铭
(复旦大学物理系, 上海)

朱菁 张慧国
(上海仁济医院激光室)

Laser excited autofluorescence of brain tumour and accumulation of endogenous porphyrin

Yang Yuanlong, Li Liming, Ye Yanming
(Physics Department, Fudan University, Shanghai)

Zhu Qing, Zhang Huiguo
(Laser Medicine Section, Renji Hospital, Shanghai)

Abstract: Autofluorescence spectrum of the brain tumour of mice was detected after craniotomy, the autofluorescence spectrum of specimen of human glioma was measured after operation. Also found was the difference of retained time of HpD in sarcoma implanted in the brain or under the skin.

Key words: brain tumour, human glioma, autofluorescence

一、引言

自提出激光血卟啉光动力学反应治疗肿瘤以后, 人们很自然想到可否利用这种方法来治疗脑部肿瘤。在这方面的的工作有Diamond等^[1], 他们证明了人体胶质细胞瘤在试管内培养或植入小鼠皮下, 在注入血卟啉衍生物后都具有光敏杀伤作用。以后R. Hayward^[2]证明在试管内人的神经胶质瘤对血卟啉衍生物具有光敏反应而正常的脑组织却不吸收HpD。以后R. Bennett等^[3]为了进一步研究HpD对脑瘤的治疗作用, 用小白鼠做试验, 按40 mg/kg剂量注入HpD, 然后用红光(630 nm, 8~20 mw/cm²)照射10~12分钟以后, 24小时内小白鼠纷纷死亡。解剖以后发现小鼠的死亡主要是由于水肿, 但也发现照射区域有神经细胞坏死。因此他们认为HpD能否进入小鼠脑部的神经细胞还是一个问题, 这是由于脑中有血脑屏障存在, HpD只能进入血管外壁, 少量进入血管壁内。因此在活体内, 特别是在人的脑中, HpD究竟能否越过血脑屏障进入肿瘤更是值得怀疑。我们的工作在这方面作了一些探索。

我们将S180肉瘤分别植入小白鼠脑中或皮下, 在注入HpD以后, 测量它们各自的

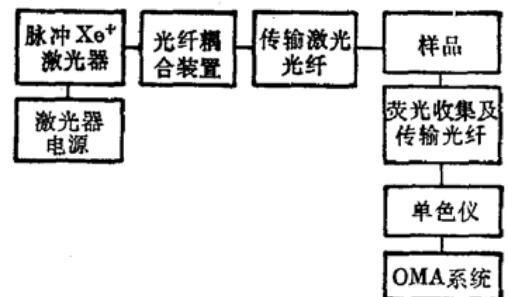


图1 测量装置示意图

H_pD 强度随时间的变化。观察 S180 肉瘤在不同环境中生长后, H_pD 在其中滞留的时间有否差别。在不注入 H_pD 情况下, 测量在脑干区生长的 S180 肉瘤的自体荧光, 并且第一次测量出人体神经胶质细胞瘤中有自体荧光存在。

二、材料及方法

将 3×10^6 S180 肉瘤细胞植入昆明小白鼠大脑脑干附近。一周以后, 肿瘤长到米粒大小进行实验。H_pD 按 5 mg/kg 剂量经眼内静脉丛注入。每隔 1、2、3、4、5、6、8、12、24、48 小时处死小白鼠, 打开颅腔用紫外激光器激发并收集 H_pD 荧光。每次取二只小鼠分别测量正常位置及肿瘤位置的荧光强度, 每个数据测量三次, 取平均值。作为对比 S180 肉瘤植入皮下, 其测量方法同上。前后共测量了近 90 只小白鼠。

激发 H_pD 的光源采用波长为 365 nm 脉冲氩离子激光器, 光源经耦合系统输入光纤, 接收的荧光同样用光纤耦合到单色仪, 经分光后由自制的光学多道分析仪贮存整个光谱, 并给出相对强度和波长。测量装置方块图见图 1。详细描述及原理见参考文献 [4]。

关于 H_pD 强度的计算, S. Pezzotta 等^[5]的方法是将器官中的 H_pD 萃取出来, 然后在分光光度计上测量 550~750 nm 范围内的光谱, 按 630 nm 强度和 550~750 nm 面积的比值来确定 H_pD 的相对强度。这样计算虽然比较精确, 但操作过程繁琐, 周期长, 不能实时测量。而我们则认为当近紫外激光器照射人体器官以后, 如果有 H_pD 成份, 则会发出红色 630 nm、690 nm 两个特征峰。此外还激发正常组织内的酶等产生的荧光, 其峰值在 500 nm 附近, 我们称之为正常组织峰。如果激光强度起伏则卟啉的二个峰和正常峰都起伏。我们就将卟啉特征峰除以正常组织峰作为估计 H_pD 的相对强度。这种方法计算简单、方便。这里用了一个基本假设, 即在一定强度的激光激发下, 正常组织和 H_pD 的荧光强度之比不变。

三、结果及讨论

1. 图 2 给出 S180 肉瘤植于脑干后, H_pD 二个峰的相对强度随时间的变化。从图中可以看出 H_pD 的极大值出现在注射后 2~3 小时之间。以后迅速下降, 到 8 小时以后基本上消失。而在正常部位 8 小时以后 H_pD 已不存在。而且肿瘤部位和正常部位中 H_pD 的含量相差也较大。值得注意的是二者的反差并不是在峰值处最大。

图 3 给出 S180 肉瘤种植于皮下后 H_pD 二个峰的相对强度随时间的变化。从图中可以看出 H_pD 强度不论在正常和肿瘤部位持续时间都超过 24 小时, 且在 20 小时以后达到最大值。同图 2 结果相对照可以看出同样是 S180 肉瘤由于在不同的环境中, H_pD 的滞留时间相差竟如此悬殊。但是根据这事实还不能肯定脑瘤中会吸收 H_pD, 而且其停留时间也会如此之短了。

2. 我们测量了脑干中 S180 肉瘤的自体荧光, 即不注入 H_pD 测量激光感生的荧光。在不同时间重复了 6 次, 每次都能测量到自体荧光的特征峰和 H_pD 光谱相类似。每次的光谱图只是在强度上有些差别。其典型的光谱图如图 4 所示。根据我们过去的工作^[6]认为是一种由内源性卟啉聚积所造成。它告诉我们 S180 肉瘤在脑干区形成后, 尽管有血脑屏障存在, 仍有

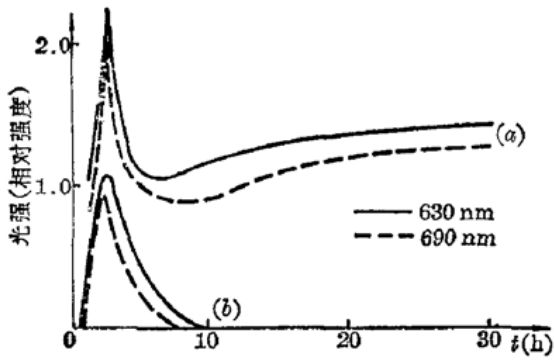


图2 S180肉瘤植于脑干后, HpD二个特征峰的相对强度随时间的变化
(a) 肿瘤位置; (b) 正常位置

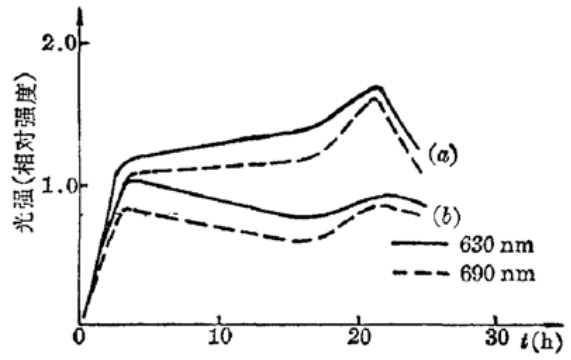


图3 S180肉瘤植于皮下后, HpD二个峰相对强度随时间的变化
(a) 肿瘤部位; (b) 正常组织

积聚内源性卟啉的特性。

3. 我们还测量了人脑纤维胶质瘤手术后离体标本的自体荧光。由于激光穿透深度的限制, 开始测不出自体荧光。但是当我们把纤维胶质瘤切开, 则在其切开的端面可测到明显的自体荧光特征峰的存在, 如图5所示。其特征峰波长稍短于卟啉的630 nm, 大约在615 nm附近。我们认为这也是吸收内源性卟啉的结果。当然我们还不能由此而导出卟啉能够越过血脑屏障而进入人脑的纤维胶质瘤的结论, 它还留待进一步实验和其它方法来验证。但是这些事实为我们利用 HpD 治疗脑肿瘤带来了信心。

上海医学工业研究院陈申、彭惠芳、周惠良同志为本实验进行了 S180 肉瘤植入小白鼠脑部工作。李郁芬教授、李富铭教授对本实验工作给了许多有益的建议和讨论, 在此一并致谢。

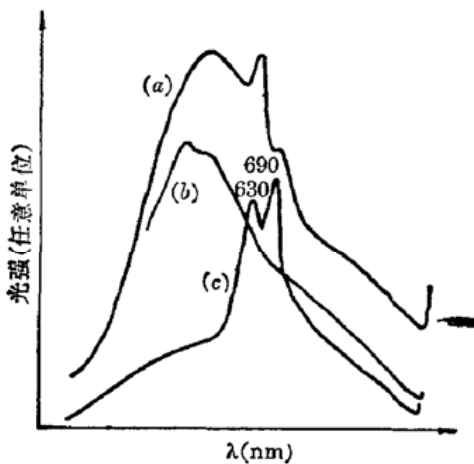


图4 S180肉瘤植入脑干后测量得到的自体荧光光谱图
(a) 肿瘤部位; (b) 正常部位;
(c) HpD 荧光光谱作为波长标准

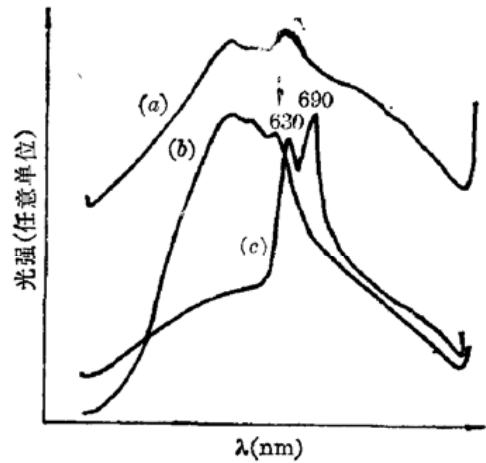


图5 人脑的纤维胶质瘤的离体标本的自体荧光光谱图
(a)、(b) 为肿瘤二个不同位置测得的自体荧光光谱;
(c) 为 HpD 荧光光谱作为波长标准

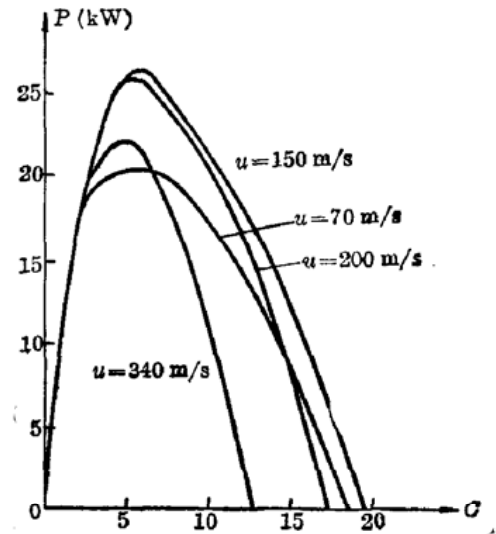
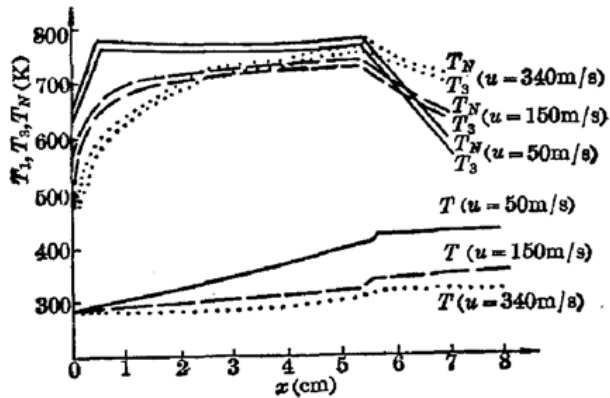
图6 不同流速时平动、振动温度沿流动方向 x 的变化

图7 不同流速下耦合度与输出功率的关系

当流速进一步增加时 ($u=200\sim 340$ m/s), 输出耦合度的范围反而随之减少, 相应的最佳耦合度和最大输出功率也减少。也就是说, 随流速的增加, 截止耦合度也有一极大值, 此极大值与最佳流速相对应。只有在最佳流速下选出最佳耦合率时, 才能得到器件的最大输出功率。

本文得到的结果和规律, 可为设计研究高压流动 CO_2 激光器提供依据和参考。

参 考 文 献

- 1 陈丽吟 *et al.*, 光学学报, **5**(2), 135(1985)
- 2 吴中祥 *et al.*, 中国激光, **15**(4), 207(1988)
- 3 吴中祥 *et al.*, 中国激光, **15**(7), 431(1988)
- 4 楚泽湘 *et al.*, 中国激光, **15**(1), 49(1988)
- 5 秋业稔先しまお, レーザ研究, **4**(3), 242~248(1976)

(收稿日期: 1988年6月28日)

(上接第320页)

参 考 文 献

- 1 Diamond I. *et al.*, *Lancet*, **2**, 1175(1972)
- 2 Hayward, *Ann. Roy. Coll. Surg.*, **54**, 272(1974)
- 3 R. Bennett *et al.*, Chemical and biological studies on hematoporphyrin derivative: an unexpected photosensitisation in brain. "Porphyrins in Tumor Phototherapy", Edited by Alessandra Andreoni, Rinaldo Cubeddu (Plenum Press, (1984), p67
- 4 叶衍铭 *et al.*, 中国激光, **14**, 241(1987)
- 5 S. Pezzotta *et al.*, Experimental ENU induced brain tumors with HpD and dye laser light. "Porphyrin in Tumor Phototherapy", Edited by Alessandra Andreoni, Rinaldo Cubeddu. (Plenum Press, (1984)), p227.
- 6 Yang Yuanlong *et al.*, *Laser in Surgery and Medicine*, **7**, 528(1987)

(收稿日期: 1988年7月13日)