

条件,它并不能最终决定材料的倍频性能。表 2 中的数据说明了这一点,有许多样品尽管具有较理想的分子结构,但其倍频效率并不高。当然,出现这一现象的原因很复杂,除了晶体结构中产生了对称中心以外,也许还有一些尚未发现的因素在起作用。这需要我们更进一步地探索和研究晶体中的微观相互作用情况。

参 考 文 献

- 1 S. K. Kurtz, T. T. Perry, *J. Appl. Phys.*, **39**(8), 3798 (1968)
- 2 D. J. Williams, *Nonlinear Optical Properties of Organic and Polymeric Materials*, ACS symposium series (1983)
- 3 F. T. Arecchi, E. O. Schutz-Dubois, *Laser Handbook*, North-Holland, 1972

(收稿日期:1990年4月26日;修改稿收到日期:1990年8月27日)

新光敏剂磺化铝酞菁在小鼠移植瘤中分布的激光荧光研究

陈暨耀 陈文 谢荣 蔡怀新 余宏宇 董荣春

(复旦大学物理系,上海 200433)

(第二军医大学病理解剖教研室,上海 200433)

Fluorescence study on aluminum sulfonated phthalocyanine distribution in a transplanted mouse sarcoma

Chen Jiyao, Chen Wen, Xie Rong, Cai Huaixin

(Department of Physics, Fudan University, Shanghai)

Yu Hongyu, Dong Rongchun

(Department of Pathology and Anatomy, Second Military Medical College, Shanghai)

Abstract: The fluorescence quantum yield of new photosensitizer-aluminum sulfonated phthalocyanine (AISPC) was measured as 0.53, 21 times higher than that of HPD, which shows that AISPC has potential usage in tumor detection. In vivo measurement on mouse by using He-Ne laser induced fluorescence showed that, AISPC can selectively retain in S-180 sarcoma, and the maximum tumor: normal tissue ratio achieved 24-36 h after AISPC injection is about 2.5:1.

Key words: aluminum sulfonated phthalocyanine, transplanted sarcoma, fluorescence, photosensitizer

血卟啉衍生物(HPD)对肿瘤的亲合滞留特性,是肿瘤光敏治疗的首要条件。HPD在肿瘤中的分布,大多采用荧光法测量,但由于HPD的荧光产额太低,活体的探测只得使用像增强器等设备,加之激发用的氦离子激光器,使得整套探测系统复杂、昂贵^[1]。虽然Potter曾尝试用简便的氦氖激光作为激发光源^[2],以探测HPD 690 nm的第二个荧光峰,(其主荧光峰在630 nm,氦氖激光无法激发),但由于690 nm的荧光效率更低,而未见进一步的报道。近年来对新光敏剂的探索,活跃了肿瘤光敏诊治的研究,其中以酞菁类化合物最为突出,它们性能稳定,主

吸收峰位于组织最佳透射的红光区,在对小鼠移植瘤的光敏治疗中已有优于 HPD 的报道^[2]。本组在肯定了自制磺化铝酞菁对人癌细胞的有效光敏杀伤后^[3],发现铝酞菁具有较高的荧光产额,且其荧光主峰位于 685 nm 左右,使简便的氩氦激光器作为探测光源成为可能。为进一步研究铝酞菁对肿瘤的光敏诊治,本文首次应用氩氦激光感生荧光法,对铝酞菁在 S-180 小鼠移植肿瘤中的分布动力学进行活体探测。

实 验 方 法

光敏剂为本组自制的磺酸基铝酞菁(AlSPO),为水溶性的结晶体,其结构见[3]。作比较用的 HPD,代号 PSD-007,由第二军医大学抗疟药研究室提供。

AlSPO 荧光量子产额的测定采用比较法^[4]。因荧光总强度(F)正比于光敏剂所吸收的激发光光子数(N)及其荧光量子产额(ϕ),可由对已知荧光量子产额(ϕ_0)的参比物荧光强度(F_0)的比较测定,得出待测物的荧光量子产额:

$$\frac{F}{F_0} = \frac{N\phi}{N_0\phi_0}$$

调整待测物与参比物的浓度,使其对激发光的吸收相同,则 $F = F_0\phi/\phi_0$ 。本实验参比物选用若丹明 B,其在乙醇溶液中的荧光量子产额为 0.69^[5]。激发光采用汞灯的 365 nm(干涉滤光片带宽为 8 nm),荧光测量用美国 Spex 1403 型光谱仪,后接 IBM PC 微机,对系统光谱响应校正后,将荧光光谱积分得出相对的荧光总强度。

实验动物选用昆明品系小白鼠,将 S-180 移植瘤接种于小鼠后肢皮下,待肿瘤长至直径为 6~10 mm 时,注射 AlSPO 光敏剂 20 mg/kg,然后进行活体荧光探测,激发光分别采用 632.8 nm He-Ne 激光及 4880 nm Ar⁺ 激光,激光由光纤束引至肿瘤表面(接触为止),荧光由并列的另一束光纤送至光谱仪狭缝,荧光光谱及相对荧光强度由 Spex 光谱仪记录。肿瘤内外 AlSPO 分布动力学,由 He-Ne 激光感生荧光测定。自 AlSPO 光敏剂注射后,对每只小鼠的肿瘤及肢部正常组织,间隔一定时间反复跟踪测量,由荧光强度的相对变化,探测 AlSPO 在小鼠活体内的集聚代谢过程。

结 果 与 讨 论

1. 荧光量子产额

AlSPO(水溶液)、HPD(水溶液)及参比物若丹明 B(乙醇溶液)的荧光光谱(经光谱校正)示于图 1。实验前,调整样品浓度,使它们对 365 nm 的激发光有相同的吸收(等光密度),AlSPO 浓度为 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$,HPD 浓度为 6 $\mu\text{g}/\text{ml}$,若丹明 B 浓度为 14 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。对各自荧光光谱积分,由荧光总强度之比,得 HPD 与 AlSPO 的荧光量子产额分别为 0.025 ± 0.002 与 0.53 ± 0.04 。HPD 的荧光量子产额报道多在 0.02~0.03 之间^[1],本实验结果与之相符,虽然此处 HPD(PSD-007)的组份与 Photrin II(美国第二代 HPD)差异很大^[6],但基本的卟啉结构决定了它的低荧光产额,这为 HPD 对肿瘤的荧光诊断及定位带来一定的困难。AlSPO 的荧光产额则比 HPD 高出 20 余倍,显示出其在诊断定位上的潜在优势,酞菁类化合物一般具有较高的荧

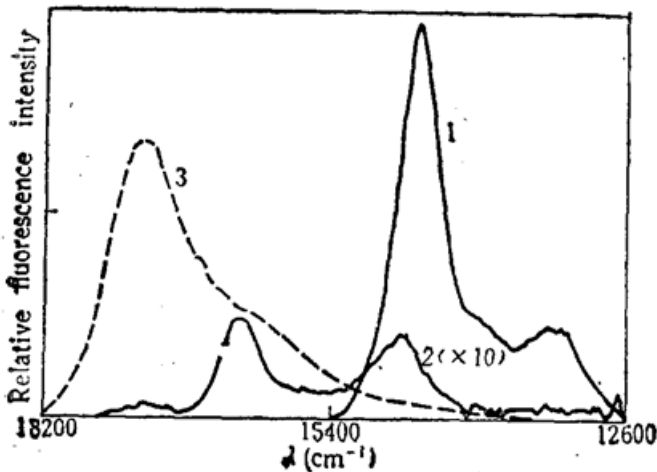


Fig. 1 Fluorescence spectra (corrected) of AlSPC(1), HPD(2) and Rhodamine B(3)

光效率, Brannon 报道铝酞菁 (AlPO) 的荧光量子产额为 0.58^[7], 但由于其非水溶性, 不能直接应用于医学生物领域, 本文对水溶性碘化铝酞菁 (AlSPC) 荧光量子产额进行了测定, 由于化合物中基团的替代将影响荧光效率, 故磺酸基的添加使 AlSPC 的荧光量子产额略低于 AlPO, 但基本结构不变使其仍具有较高的值。图 1 还显示 AlSPC 的荧光主峰位于 685.0 nm (14600 cm^{-1}) 左右 (受 pH 值等溶剂效应影响较大, ± 10 nm), 长于 632.8 nm, 便于以 He-Ne 激光作为激发光源。

2. He-Ne 与 Ar⁺ 激光激发比较

图 2 为小鼠注射 AlSPC 45 小时后, 肿瘤与正常后肢部组织的荧光光谱, 在 He-Ne 激光激发下, 肿瘤与正常组织有相同的荧光峰值, 且与 AlSPC 的特征荧光峰一致, 表明两组织内都含有 AlSPC, 但肿瘤的荧光强度高, 反映肿瘤内有较多的 AlSPC 集聚, 在 15 mW 的等功率激发条件下 (LW-1 型热电偶功率计测量), He-Ne 激光荧光与 Ar⁺ 激光荧光的差异 (同一肿瘤) 由图显示, 虽然 Ar⁺ 激光激发肿瘤仍可见 AlSPC 的荧光谱, 但荧光强度比 He-Ne 激发低 60 倍之多。在以往 HPD 肿瘤荧光定位中, 亦有用 Ar⁺ 激光作为激发光源, 但对 AlSPC, 则 He-Ne 激光明显有优势。这是由于在肿瘤内 AlSPC 集聚浓度下 (约 5 $\mu\text{g}/\text{g}$ 量级^[8]), 经实验测定 AlSPC 在 632.8 nm 处的吸收比 488 nm 大 5~8 倍; 其次在皮下 2 mm, 632.8 nm 的穿透能力已比 488 nm 大一个量级^[9], 吸收高、穿透深从两不同侧面保证了 He-Ne 激光对组织内 AlSPC 的有效激发。

3. AlSPC 在肿瘤内外的分布

图 3 为用 He-Ne 激光荧光法测得的 AlSPC 在肿瘤内外的分布、代谢过程 (6 只小鼠平均结果)。在 AlSPC 注射后最初几小时, 肿瘤内外的荧光强度均较强, 这是由于 AlSPC 是靠血液运输, 而初期表皮毛细血管中 AlSPC 含量较高, 图 3 中曲线 3 显示了一组小鼠血浆 (每时间点取材 3 只小鼠) 的离体测量结果。随着时间延长, AlSPC 被逐步排泄, (初期小鼠的尿液呈明显 AlSPC 蓝绿色), 正常肢部的荧光单调减少, 而肿瘤部位则在 24 小时至 36 小时有一平缓区。在注药后的 10 小时至 60 小时区间内, 肿瘤部位的荧光值与正常部位存在显著性的统计学差异 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$); 说明肿瘤部位集聚了更多的 AlSPC。

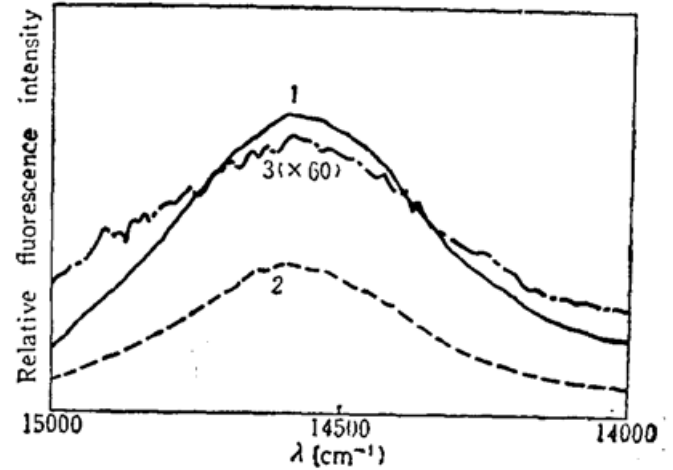


Fig. 2 Fluorescence comparison of S-180 sarcoma and normal tissue ($\Delta\lambda = 5 \text{ cm}^{-1}$)

1—sarcoma (excitation: 632.8 nm); 2—normal tissue (excitation: 632.8 nm); 3—sarcoma (excitation: 488.0 nm)

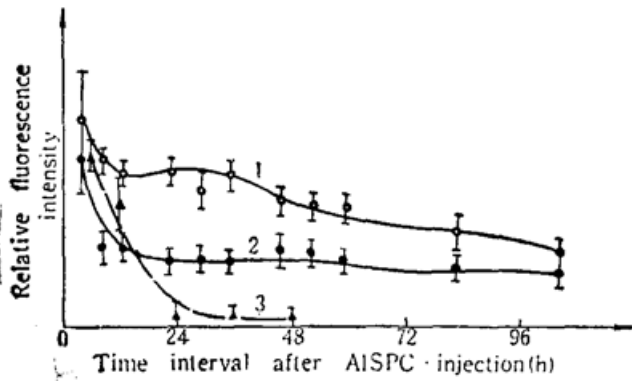


Fig. 3 AISPC distribution dynamics in mouse

1. sarcoma (in vivo); 2. normal tissue (in vivo) 3. mouse serum (extraction)

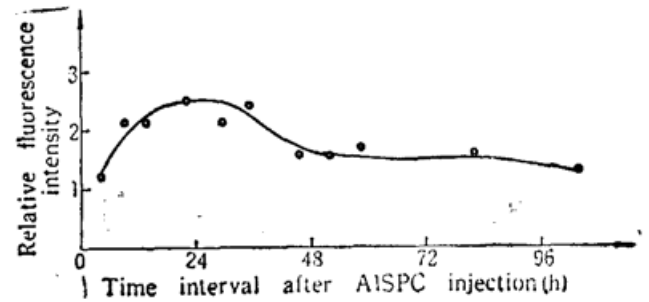


Fig. 4 Relative AIspe concentration, contrast between sarcoma and normal tissue

光敏剂的肿瘤亲合性常用肿瘤内外光敏剂含量的反差表示, 将图3中1、2两曲线相除, 得肿瘤内外反差随时间的变化过程(图4)。由图可见 AISPC 在肿瘤中的积聚有一个过程, 自 AISPC 注射后, 肿瘤内含量逐渐增高, 至 24 小时左右达到峰值, 然后逐步下降, 但可在一较低的值维持相当长的时间。AISPC 在肿瘤中的选择性滞留显示它可作光敏剂用于肿瘤光敏治疗。

Tralau 等^[8]用离体取材、匀浆荧光测量的方法研究了 AISPC 在小鼠胰腺瘤及结肠瘤中的分布动力学, 发现肿瘤内 AISPC 的集聚峰值在光敏剂注射后的 24~48 小时, 肿瘤与正常组织的最大反差为 2~3 倍, 本实验对 S-180 移植瘤的结果与其基本一致, 表明 AISPC 对不同的肿瘤均有滞留、亲合特性。但本文是在活体条件下首次对 AISPC 在肿瘤内外的分布进行跟踪测定, 对光敏治疗的参量选择更具有实际意义, 在研究了 AISPC 在肿瘤中的集聚滞留特性后, 我们对 16 只小鼠的 S-180 移植瘤进行了 AISPC 光敏治疗, 其中有 9 只完全治愈(观察 3 个月以上, 另文发表)。此结果优于同类工作中 Chen^[10]的报道, 与 Brasseur^[2]的疗效相当。

Dougherty^[1]总结 HPD 在皮下肿瘤与正常皮肤中的反差为 2:1 (活体测量), 此值与 AISPC 相近, Moan^[11]又报道 AISPC 与 HPD 在肿瘤中的积聚浓度相仿。但 AISPC 荧光量子产额高, 便于进行肿瘤荧光诊断及定位。

参 考 文 献

- 1 Dougherty T. J., *Photochem. Photobiol.*, **45**, 879 (1987)
- 2 Brasseur N. et al., *Photochem. Photobiol.*, **47**, 705 (1988)
- 3 蔡怀新 et al., *生物化学生物物理学报*, **20**, 562 (1988)
- 4 郭尧君, *荧光实验技术及其在分子生物学中的应用*, 科学出版社, 北京, 1979, 27~33
- 5 Parker O. A. et al., *Analyst.*, **85**, 587 (1960)
- 6 许德余 et al., *中国医药工业*, **20**, 440 (1989)
- 7 Brannon J. H. et al., *J. Am. Chem. Soc.*, **102**, 62 (1980)
- 8 Tralau G. J. et al., *Photochem. Photobiol.*, **46**, 777 (1987)
- 9 陈暨耀 et al., *应用激光*, **8**, 135 (1988)
- 10 Chen W. S. et al., *Photochem. Photobiol.*, **46**, 867 (1987)
- 11 Moan J. et al., *Photochem. Photobiol.*, **46**, 713 (1987)