

新光敏剂磺化铝酞菁对 615 纯系小鼠 移植瘤的诊断研究

徐基铨 陈 瑛 李金梅 敖华飞

(大连医学院耳鼻喉科教研室, 大连 116011)

张志麟 丁建华 林钧岫

王大庆

(大连理工大学应用物理研究所, 大连 116023)

(大连医学院病理生理教研室, 大连 116023)

Research on a new photosensitizer — Aluminium sulf-phonated phthalocyanine (AlSPc) in mice

XU Jiquan, CHEN Tian, LI Jinmei, AO Huafei

(Department E. N. T., Dalian Medical College, Dalian 116011)

ZHANG Zhilin, DING Jianhua, LIN Junxiu

(Dalian University of Technology, Dalian 116023)

WANG Daqing

(Department of Pathophysiology, Dalian Medical College, Dalian 116011)

Abstract Fluorescence spectrum of transplanted tumour (mammary cancer), normal skin and gastric mucosa injected with AlSPc plus excited by dye laser ($\lambda = 607$ nm) were studied in 18 mice. The main fluorescence peak of the tumour tissues spectra are located at about 681.9 nm, whereas this peak of normal skin are located around 682.7 nm, and the gastric muosa are at 682.2 nm. The fluorescence intensity of the tumour than normal akin is 7.5 : 1 and the fluorescence intensity of the tumour than normal gastric mucosa. It has demonstrated selective localization and retention of AlSPc in cancerous tissues and AlSPc was less cytotoxic to cells. It may become a new potential photosensitizer in PDT of cancers.

Key words aluminium sullphphonated phthalocyanine AlSPc, transplanted tumour, fluorescence spectra

1 引言

光敏诊治恶性肿瘤,目前临床上普遍使用的光敏剂是血卟啉衍生物(HPD),但它滞留于皮

肤中的量较多,排出缓慢,患者容易产生皮肤光毒反应。1985 年 Ben-Hur 等^[1]在中国仓鼠细胞实验中表明氯铝酞菁是一种有效的哺乳动物细胞光敏剂,并指出已有二种酞菁衍生物(铜酞菁和铈酸基酞菁)被选作小鼠脑瘤定位之用。国内蔡怀新^[2]等人于 1988 年研制出新光敏剂磺化铝酞菁,并对具光敏特性及其对人体肝癌细胞的杀伤作用做了实验研究。本文为进一步研究磺化铝酞菁对癌的光敏诊断价值,用磺化铝酞菁对 615 近交系小鼠移植瘤——乳腺癌(Ca761)及小鼠正常皮肤、正常胃粘膜的荧光光谱做了分析研究,以探索恶性肿瘤的早期诊断。

2 材料与方 法

2.1 荧光光谱检测系统

实验装置如图 1 所示。选用 Ar⁺ 激光器泵浦的染料激光器作激发光源,输出波长为 607 nm,功率为 100 mW,光束直射在小鼠被测部位的表面上,用透镜将荧光信号会聚在双光栅单色仪(Jobin Yvon HRD1 型)的入口狭缝处,狭缝宽 0.2 mm,高 20 mm,单色仪的出口狭缝处放置光电倍增管(R456 型),将荧光信号转换成电信号反馈至锁相放大器(Ithaco Dynatrac 391A 型)的输入端,最后由 x-y 记录仪(Z3-204 型)记录锁相放大器的输出结果。

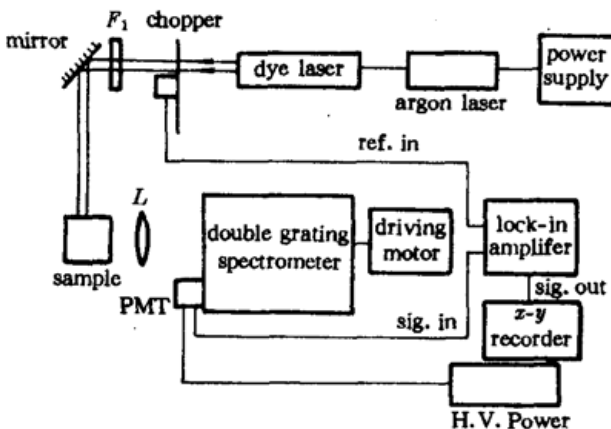


Fig. 1 Experimental setup for CW fluorescence spectra excited at 607 nm by a CW dye laser

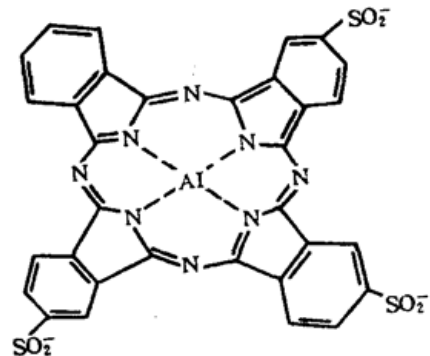


Fig. 2 The structure of AlSPc

2.2 光敏剂

磺化铝酞菁(Aluminium Sulphonated phthalocyanine)简称 AlSPc,为水溶性颗粒状晶体,其结构见图 2。我们用 Shimadzu UV-260 型双光束扫描分光光度计测定了它的吸收谱,如图 3 所示。

2.3 实验动物

选用 615 纯系小鼠 18 只,每只重 25~35 g,将乳腺癌(Ca761)瘤苗以悬液法常规接种于小鼠的右腋皮下,待移植瘤长至 1.0~1.5 cm 直径时,经小鼠尾静脉注入磺化铝酞菁,注射量为 10 mg/kg 体重。将 17 只小鼠分成两组,分别在注射后 24 h 与 48 h 检测移植瘤、正常皮肤、正常胃粘膜三处的荧光光谱。第 18 只小鼠未注射磺化铝酞菁作为对照。实验时将小鼠处死,切开皮肤将肿瘤暴露出来;测皮肤处荧光时,将毛剃去;测胃粘膜时,切开腹腔将胃粘膜暴露出来。测这三处荧光时实验条件均保持一致。

3 结果与讨论

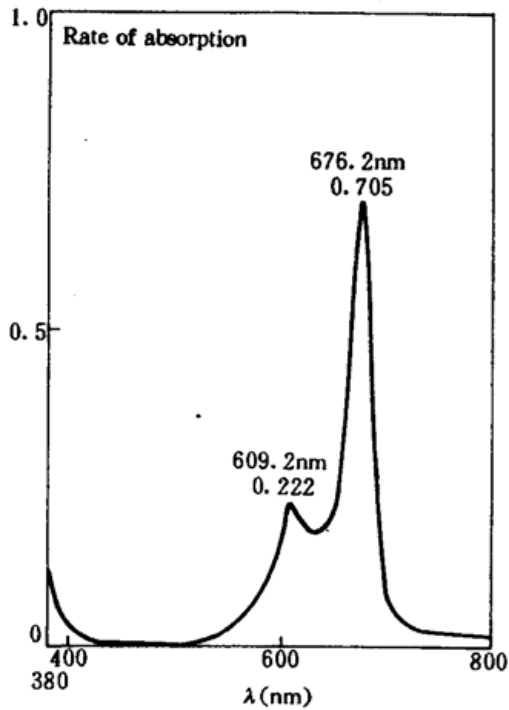


Fig. 3 The absorption spectrum of AISPc

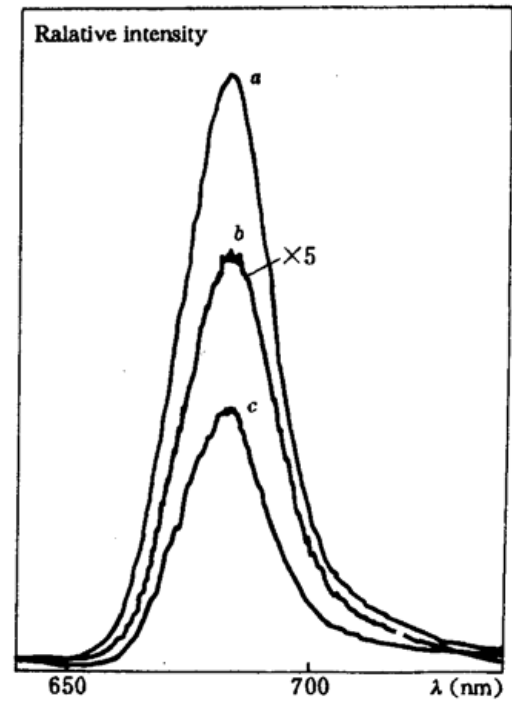


Fig. 4 The fluorescence spectrum of the seventeenth rat 48 h after injection (a) tumor; (b) skin; (c) stomach mucosa

实验结果如表 1 所示。其中第 1 至第 11 只小鼠为注射 AISPc 后 24 h 所测结果,其余均为注射后 48 h 的结果。由于整个实验系统的波长准确度为 1 nm,因此三种组织中的 AISPc 特征峰位置基本一致,无显著差别。图 4 为第 17 只小鼠的三种组织的荧光光谱图,由图可见这三条曲线的半宽度大致相等,特征峰的位置基本一致,其它的注药小鼠的荧光光谱具相似的结果。对照组第 18 只小鼠未注射 AISPc,以同样条件测其肿瘤及正常皮肤和胃粘膜的荧光光谱,结果在所观察的波长范围(640~740 nm)内,未测得 AISPc 的特征峰,仅见一平滑水平线,说明 AISPc 的光敏作用可视为肿瘤光敏定位诊断的实验基础。

Table 1 Experimental data

No. of rat	Peak wave length (nm)			Relative intensity			I_t/I_s	I_t/I_g
	tumor	skin	stomach mucosa	tumor (I_t)	skin (I_s)	stomach mucosa (I_g)		
1	682	683	681	38	4.5	20.0	8.50	1.90
2	681	683	681	23	3.0	12.3	7.68	1.87
3	682	683	682	203	21.0	133.0	9.80	1.53
4	682	684	683	68	10.8	39.0	6.30	1.75
5	682	683	683	98	13.5	76.0	7.28	1.29
6	682	682	682	81	12.3	37.0	6.60	2.19
7	682	683	682	104	10.7	23.0	9.75	4.52
8	682	683	683	57	12.0	42.0	4.75	1.43
9	682	683	683	103	13.1	28.0	7.84	3.68
10	682	683	683	92	13.0	26.6	7.08	3.46
11	683	683	683	108	16.2	47.0	6.66	2.30
12	681	683	682	100	19.0	30.7	5.26	3.26
13	681	683	681	393	22.3	78.0	17.6	5.04
14	683	683	683	130	38.8	40.0	3.35	3.25
15	682	682	682	69	12.4	26.3	5.56	2.62
16	682	683	682	86	13.6	21.4	6.32	4.02
17	683	682	682	136	19.0	59.0	7.16	2.31
average	682	683	682	120	16.3	44.3	7.50	2.73

3.1 由表 1 及图 4 可见,注射 AISPc 24~48 h 测得小鼠肿瘤组织中的相对荧光强度是正常皮肤的 7.5 倍,是胃粘膜的 2.7 倍,Chan 等已报道肿瘤内 AISPc 的集聚峰值出现在光敏剂注射 24~48 h,肿瘤与正常组织反差最大,为 2~3 倍,本文结果与其基本一致。这种荧光强度的差异证明 AISPc 注入机体后,在肿瘤中的选择性滞留,反映了肿瘤与正常组织吸收、贮存、排泄 AISPc 在数量上的差别。

3.2 酞菁化合物与血卟啉衍生物有相似的环状结构,不能直接溶于水。四个吡咯核上的氮原子可和金属元素螯合生成含不同金属的酞菁化合物,如铝酞菁、锌酞菁、铜酞菁等。在四个苯环上可以磺酸基取代,使金属酞菁磺化,每个酞菁分子取 2~3 个磺酸基团,则成为水溶性的颗粒状结晶。蔡怀新等报道磺化铝酞菁化学性质稳定,易于合成,能选择性地滞留于肿瘤中。并发现不照光时 AISPc 加到 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 浓度,对细胞存活无影响^[2]。说明对细胞的暗毒性很低。本组 17 只小鼠注射 AISPc 后,在室内自然光线下 48 h,皆未发现皮肤反应。傅乃武等的研究表明酞菁类化合物从皮肤清除的速度也远较血卟啉衍生物迅速,约 5~10 天。而且酞菁类化合物一般具有较高的荧光效率,其荧光量子产额比血卟啉衍生物高出 21 倍,使其用于肿瘤荧光诊断定位的可能性优于血卟啉衍生物。用于肿瘤光敏治疗也优于血卟啉衍生物,因其主吸收峰位于可见红光区(见图 3),且人体组织透射的最佳波段也在此区域。因而使新光敏剂用于恶性肿瘤诊断的同时,又可用于癌的光敏治疗。且光敏毒副反应很弱,是一种有发展前途的新光敏剂。

莫斯科染料及中间体科研生产联合体鲁克扬涅茨教授为本项工作提供了 AISPc;大连理工大学化工学院测试中心王璧仁副教授测试 AISPc 的吸收谱。

参 考 文 献

- 1 Ben-hur, E. *et al.*, *Int. J. Radiat. Biol.*, **47**, 145(1985)
- 2 蔡怀新 *et al.*, *生物化学与生物物理学报*, **20**, 562(1988)

(收稿日期:1992 年 7 月 4 日)