

声动力学疗法治疗肿瘤的研究现状及前景*

宋存牛

(长安大学物理教研室 西安 710064)

摘要 由于光在人体组织中穿透能力差,光动力学疗法治疗肿瘤主要集中在人体表面浅层部位.为了克服光动力学疗法治疗肿瘤的局限性,利用超声激活血卟啉进行抗肿瘤效应(即声动力学疗法)已成为近几年国内外研究者关注的热点之一.文章就声动力学疗法治疗肿瘤的研究现状、研究方法、实验结果以及作用机理进行了扼要综述,分析了阻碍声动力学疗法临床应用存在的问题,并对问题的解决和未来发展趋势提出了自己的见解.

关键词 声动力学 抗肿瘤 血卟啉 研究进展

THE STATUS AND PROSPECTS OF TUMOR TREATMENT WITH SONODYNAMICS

SONG Cun-Niu

(Teach-Research Group of Physics, Chang'an University, Xi'an 710064, China)

Abstract Photodynamic treating tumors focuses on people's superficial tissue region due to the lack of laser light penetration into tissue. In order to overcome photodynamic treatment limitation, the anti-tumor effect of hematoporphyrin derivatives activated by ultrasound (namely: sonodynamic treatment) has been a hot research area which has attracted much attention both home and abroad in recent years. This paper introduces the progress of study, the research results, the experiment method and the theory of tumor treatment with sonodynamic method. Existing problem of the clinical application and the future development prospect have been discussed.

Key word sonodynamics, anti-tumor, hematoporphyrin, progress of study

1 引言

恶性肿瘤是一种直接威胁人类生命安全的疾病,每年有成千上万的人遭受此类疾病的折磨.对肿瘤的防治,尤其是恶性肿瘤,是当前国内外研究的重要课题.防治和治疗肿瘤的物理方法有:放疗(光化学的局部用药形式)、化疗(光子刀、伽玛刀等是放疗的局部应用形式)及光动力学疗法(光激活血卟啉抗肿瘤)等.这些方法各有利弊,其中放疗、化疗对人体有很强的副作用.1978年,美国学者 Dougherty 等首先提出光动力学疗法^[1](简称 PDT)诊治肿瘤已应用于临床.但由于光的穿透能力差,该法应用主要集中在人体表面浅层肿瘤治疗,对深部、中晚期肿瘤治疗具有一定困难.超声波是一种频率在

20kHz 以上的机械波,对生物组织有较强的穿透能力,并且传播具有一定的方向性.尤其是聚焦超声能无创伤地将声能聚焦于深部组织,且能激活一些药物产生抗肿瘤效应.这些特性使得声动力学疗法治疗肿瘤成为一种很有潜力和应用前景的新方法.本文就目前超声激活血卟啉治疗肿瘤的研究方法、实验结果、检测方法和作用机理加以综述.

2 声动力学疗法治疗肿瘤的研究现状

2.1 超声激活血卟啉抗肿瘤效应的研究结果

血卟啉是从血红蛋白中提取的有机光敏剂,其本

* 陕西省自然科学基金(批准号 95SL02)资助项目
2002-06-19 收到初稿 2002-08-26 修回

身无抗肿瘤效应^[2],当它被声光激活后能产生强烈的抗肿瘤效应,并且在瘤组织中排出缓慢,滞留时间长,有利于声光辐射处理^[3,4]。为了弥补光动力学治疗肿瘤的不足之处,1989年,日本 Umemura 首次报道了利用超声激活血卟啉进行抗肿瘤效应,并称之为声动力学疗法^[5](简称 SDT)。之后,国内外许多学者在此方面做了大量研究工作,就超声激活血卟啉的可行性,对肿瘤的作用效果,实验参数的选择以及作用机理等进行了探讨,并取得了初步成效。

1989年, Nagahiko, Yumita 等人^[6]利用声动力学疗法对 S_{180} 和 AH_{130} 离体肿瘤细胞进行了抗肿瘤试验,证实了超声不仅能激活血卟啉,而且对 S_{180} 和 AH_{130} 肿瘤细胞有较强的杀伤作用,其杀伤率分别达 99% 和 95%,而单纯超声作用效果仅为 30% 和 50%,单纯的血卟啉无明显抗肿瘤效应。

1990年, Koshiro, Umemura 等^[7]利用超声激活血卟啉对 S_{180} 在体移植性肿瘤细胞进行了研究,通过测量在体肿瘤细胞重量和直径的变化,估计肿瘤细胞生长抑制率。结果表明,声动力学疗法和单纯超声对在体肿瘤细胞都有抑制作用,但在相同条件下,声动力学疗法比单纯超声对肿瘤细胞的作用效果要大大提高,对肿瘤生长抑制率分别达 74% 及 15%。

1993年, Tachibana^[8]在研究超声激活卟啉 II 对 HL-60 肿瘤细胞的杀伤效应时发现,细胞杀伤率与声强度有密切关系,声强越大,杀伤率愈明显。卟啉 II 在低功率、低强度超声作用下对 HL-60 肿瘤细胞杀伤效果较明显。1994年, Tachibana 又研究了光敏剂卟啉 II 在超声激活后对鼠肝组织的作用^[9]。结果发现:在频率为 210kHz、声强为 $1.3\text{W}/\text{cm}^2$ 的超声激活卟啉 II 作用下,鼠肝组织损伤深为 $5.7 \pm 0.9\text{mm}$,而单纯超声使肝组织损伤深度达 $3.0 \pm 0.4\text{mm}$ 。

1993年, Shin-ichiro, Umemura 等^[10]用 ATX-70 作光敏药物进行声动力学疗法研究,通过对 S_{180} 离体细胞作用,结果表明,超声加 ATX-70 对离体肿瘤细胞 S_{180} 杀伤效应比单纯超声作用高 4 倍,相同条件下,利用 ATX-70 作光敏剂比用血卟啉作光敏剂杀伤率高 2 倍。他们认为,ATX-70 在声动力学疗法中是一种很有潜力的光敏药物。

1991—1993年,陕西师范大学马玉英等人研究了超声激活血卟啉对 S_{180} 肿瘤细胞的作用^[11],开创了我国在此方面的研究工作。1996—1999年,作者在完成陕西省自然科学基金项目“超声激活血卟啉抗肿瘤效应的研究”过程中,研究了聚焦超声对人体黑色素瘤细胞 LiBr 和红白血病细胞 K_{562} 的杀伤效应^[12],探索

出超声激活血卟啉抗肿瘤效应的最佳声参量和最佳血卟啉浓度,作者在文献 [12] 和 [13] 中详细讨论了这一研究情况。近年来,陕西师范大学声学研究所正在致力于如何通过复频超声激活血卟啉增强抗肿瘤效应效果的研究。

总之,目前关于超声激活血卟啉抗瘤效应还处于研究阶段,所研究的肿瘤细胞有 S_{180} , AH_{130} , HL-60, VX_2 , 肝癌细胞以及人体肿瘤细胞 LiBr 和 K_{562} , 辐射声源多为平面超声,使用的卟啉类有:血卟啉、卟啉 II、ATX-70 等;取得的声学参量范围:频率 210kHz—2.0MHz,声强度 $150\text{mW}/\text{cm}^2$ — $3.2\text{W}/\text{cm}^2$,离体作用时间 15—60s,在体作用时间 10min;所得到的结果是:声动力学疗法比单纯超声有更强杀伤作用,单纯血卟啉无影响,作用时间、声强度、声频率、血卟啉浓度与细胞杀伤率呈正相关关系^[13]。

2.2 实验装置与方法

声动力学疗法治疗肿瘤离体实验装置如图 1 所示。高频信号发生器、宽带功率放大器及超声换能器组成声发射系统。热电偶温度计用来监测肿瘤细胞悬浮液超声处理前后的温度变化。采用循环水,保持实验过程温度变化不超过 2°C 。超声换能器浸没在水中,且辐射面和水平面保持平行,距照射瓶之间有一定距离。平面声场,细胞处理保持在远场,聚焦声场应在焦区范围之内。换能器采用特殊结构,能够起到声阻抗匹配和有效冷却的作用。为了避免界面反射,保持行波声场,消声水槽壁敷有吸声材料。在体实验直接将换能器贴紧肿瘤部位的皮肤向肿瘤辐射声波即可。

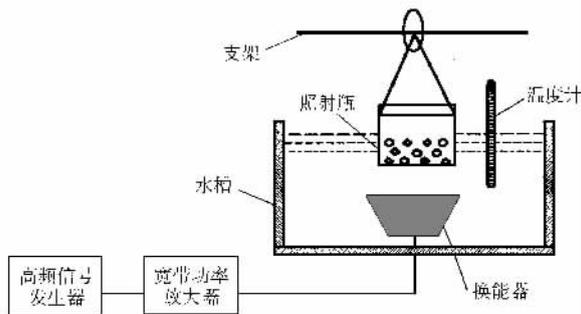


图 1 声动力学疗法治癌离体实验装置

实验准备就绪后,将培养好的细胞悬浮液稀释至实验所需要的浓度,随机分为 4 组:(1)对照组;(2)血卟啉组;(3)超声组;(4)超声加血卟啉组。分组完毕后,避光保存半小时,(1)组和(2)组进行超声处理,然后可用不同方法检测细胞死亡情况。在体实验

将肿瘤细胞植入动物体内 7 天后分组实验,方法同上。

2.3 实验声场分析

由于悬浮液样品表面为空气层,表面形成强反射面,使得声波在样品内形成混响声场,其声能密度远大于行波场的声能密度。对行波场而言,在高度为 H 的样品中,其平均声能密度为^[14]

$$\varepsilon_t = \frac{1}{H} \int_0^H \varepsilon(x) dx = \frac{I_0}{2\alpha CH} (1 - e^{-2\alpha H}),$$

式中 α 为衰减系数, I_0 为进入照射瓶底部的初始强度, C 为声速, H 为悬浮液样品高度。经过样品表面第 N 次反射后,声强 $I_1 = I_0 e^{-2\alpha NH}$ 为,其对平均声能密度的贡献为

$$\varepsilon_N = \frac{I_0 e^{-2\alpha NH}}{2\alpha CH} (1 - e^{-2\alpha H}),$$

声场内某点的能量密度是入射波和反射波的叠加,由于相位差的随机性,使得叠加成为有效值叠加,则混响声场中平均声能密度为

$$\begin{aligned} \varepsilon_h &= \frac{I_0}{2\alpha H} (1 - e^{-2\alpha H}) \sum_{N=0}^{\infty} e^{-2\alpha NH} \\ &= \frac{I_0}{2\alpha CH} = \frac{1}{(1 - e^{-2\alpha H})} \varepsilon_t \end{aligned}$$

从上式可以看到,混响声场强度为行波声场强度的 $\frac{1}{(1 - e^{-2\alpha H})}$ 倍。

2.4 判断肿瘤细胞死亡的检测方法

准确掌握声动力学疗法对肿瘤细胞的影响效果,必须有正确检测方法。综合目前文献内容,主要检测方法有:

(1) 胎盘蓝(trypan blue)^[5,11] 染色法:用胎盘蓝染料对离体细胞进行染色,再用血小板计算未染色细胞的数目,计算未染色的百分率,其值越低,细胞受损越严重。

(2) 光密度值法^[12,15] (MTT 法):用分光光度计或酶标仪,测量肿瘤细胞的光密度值(OD 值),OD 值越小,细胞受损程度愈厉害。

(3) 荧光光谱法^[5,15] (FAD 法):用荧光光谱分析仪测定光能量的吸收值,求出光的吸收能量与光的入射能量之比,其值愈低,表明细胞死亡愈多。

(4) 集落形成法^[16] 通过测定超声处理前后肿瘤细胞的增殖情况,判断超声对肿瘤细胞的作用效果。这种方法首先是由美国学者 R. Jeffer 采用,其检测结果能较精确地反映细胞损害情况。

(5) 在体实验一般是通过测量肿瘤的重量和直

径随天数的变化关系来估计细胞损伤情况^[7,8,15]。

2.5 声动力学疗法抗肿瘤效应的作用机理

探索声动力学疗法对肿瘤细胞作用机理,也是研究工作者的重要课题。他们主要通过下面几种途径进行研究:

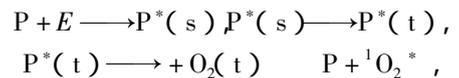
(1) 给细胞悬浮液中加入活性氧净化剂组氨酸、甘露醇、超氧歧化酶(SOD),观察它们对肿瘤细胞杀伤率抑制情况^[17,18]。由于组氨酸对羟基(OH⁻)、氧自由基(单线态氧¹O₂)均有净化效应,甘露醇对单线态氧无净化作用,SOD 主要净化超氧阴离子,所以加入组氨酸能够抑制超声激活血卟啉对细胞杀伤增强作用,加入 SOD 有部分抑制作用,而甘露醇无抑制作用。在文献[18]中,作者详细讨论了活性净化剂对肿瘤细胞 LiBr 杀伤率抑制情况。

(2) 以缓冲液 D₂O 代替 H₂O,比较它们对细胞杀伤率的结果^[8,19]。因为单线态氧在 D₂O 中寿命比在 H₂O 中寿命长 10 倍,如果采用 D₂O 作缓冲液时,对细胞杀伤率能够提高 2 倍。

(3) 采用电子自旋法研究^[19]。给悬浮液中加入捕获剂 TMP_{one} 后,用电子自旋法测定超声作用后氧化氮浓度。这种方法是在 1994 年由 Yumita 首先提出的,作者认为肿瘤细胞悬浮液经过声动力学疗法作用后,溶液中氧化氮浓度提高是由于超声激活血卟啉产生单线态氧,单线态氧再与硝酸基结合生成氧化氮的缘故。

(4) 观察细胞的微观结构^[11]。1991—1993 年,陕西师范大学声学研究所从微观结构对超声作用机理进行了研究,结果在电镜上观察到超声作用后,细胞膜破裂,细胞质丢失严重,核解体,细胞质中有许多细胞残片,研究者认为是声空化作用所致。

超声激活血卟啉抗肿瘤效应的机理尚不清楚,但大多数学者认为是声空化激活血卟啉产生单线态氧杀死肿瘤细胞,因为单线态氧具有细胞毒作用和较强的氧化能力。作用过程为:贮存在瘤细胞中血卟啉经超声处理后,吸收能量发生电子跃迁,从低能态激发到高能态,当回到低能态时,释放出大量能量,激发血卟啉产生三价态血卟啉。由于三价态血卟啉极不稳定,很快分裂为单价态血卟啉,释放出氧基自由基。产生过程如下^[20]:



其中 P 为血卟啉, E 为声能, P^* 为激发态血卟啉, s 为单价态, t 为三价态, ${}^1O_2^*$ 为激发态单线态氧。

3 声动力学疗法目前存在的问题和后期研究工作

声动力学疗法目前主要存在的问题和相应的后期研究工作如下:

(1) 要将声动力学疗法推向临床之前必须反复试验,为此需建立一套接近人体的试验模型,简称体模。通常将肿瘤细胞移植到生物组织的特定部位,让其自然长到一定尺寸,再进行超声辐射处理并与对照组比较。探索超声和生物组织作用的最佳声学参数(声功率、声频率、辐射时间、血卟啉浓度等)。

(2) 声动力学疗法的特点就是无创伤地对深部、中晚期肿瘤治疗。要使超声无创伤地导入体内,首先需要研究一种适应临床应用的聚焦超声声源。目前所用的聚焦方式有:多元非相干聚焦、多元相干聚焦、相控聚焦、单元声透镜聚焦和凹面晶片自聚焦等。不同的癌症方式要求的声聚焦情况不同,选择哪种聚焦方式根据要求而定。同时,由于不同脏器,肿瘤部位不同,同一脏器也因人而异,所以声源最好是焦距可调的聚焦声源。同时,要采取一定的措施控制温度的影响。

(3) 声动力学疗法治疗肿瘤必须使声焦点落在病变区上,因此治疗之前需要对治疗区的方位、大小做出准确定位。这就需要研究开发先进的成像手段与其配合,以便随时对治疗情况进行监视。

4 结束语

以上利用超声激活血卟啉治疗肿瘤虽未用于临床,但就其实验结果来看,特别对深部、中晚期肿瘤治疗具有很大应用前景。随着声学、图像处理、工程技术和医学专家共同努力,预计不久的将来,声动力学疗法治癌技术将会使更多患者摆脱癌症折磨。

参 考 文 献

- [1] Dougherty T J. Jpn. J. Cancer Res. 1978 38(2) 628
- [2] Dougherty T J , Grindery G B. J. Nat. Cancer Inst. 1975 55 : 115
- [3] 徐承熊. 药学报, 1985 2 94[Xu C X. Journal of Pharmacy, 1985 2 94(in Chinese)]
- [4] 彭健新等. 声学技术, 1995, 14(4): 187[Peng J X et al. Technical Acoustics, 1995 14(4) 187(in Chinese)]
- [5] Umemura S, Shin-ichiro. IEEE Ultrasonic Symposium Proc. 1989 955
- [6] Nagahiko Yumita. Jpn. J. Cancer Res. , 1989 80(1) 219
- [7] Koshiro Umemura. S. Jpn. J. Cancer Res. , 1990 81(1) 304
- [8] Tachibana. Cancer Letters 1993 , 72 195
- [9] Tachibana. Cancer Letters 1994 , 74 177
- [10] Shin-ichiro , Umemura S. Jpn. J. Cancer Res. 1993 84(2) : 582
- [11] 马玉英等. 声学技术, 1993, 12(2) 31[Ma Y Y et al. Technical Acoustics, 1993 12(2) 31(in Chinese)]
- [12] 宋存牛. 陕西师范大学学报, 1998, 26(2) 30[Song C N. Journal of Shaanxi Normal University , 1998 , 26(2) : 30(in Chinese)]
- [13] 宋存牛. 陕西师范大学硕士论文, 1997, 7[Song C N. Shaanxi Normal University Master's Degree Paper , 1997 7(in Chinese)]
- [14] 王双维. 声学学报. 1993 , 18(2) : 122[Wang S W. Journal of Acoustics , 1993 , 18(2) : 122(in Chinese)]
- [15] 马玉英等. 中国生物医学工程学报, 1995, 14(4) 374[Ma Y Y et al. Journal of China Biomedicine Engineering , 1995 , 14(4) 374(in Chinese)]
- [16] Jeffer R J. IEEE Ultrasonic Symposium Proc. 1991 1367
- [17] Shin-ichiro , Umemura S. Jpn. J. Cancer Res. 1990 81(3) : 962
- [18] 宋存牛. 陕西师范大学学报, 2002, 30(2) 38[Song C N. Journal of Shaanxi Normal University , 2002 , 30(2) : 38(in Chinese)]
- [19] Nagahiko , Yumita. Radiation Research , 1994 38(2) 171
- [20] 卢志达. 中华医学杂志, 1983 63(6) 336[Lu Z D. Journal of Chinese Medicine , 1983 63(6) 336(in Chinese)]

2003 年第 3 期《物理》内容预告

研究快讯

原子表面扩散的对称破缺对二维岛形成的控制(杨勇等)。

前沿进展

二维胶体晶体蚀法及其应用(李越等)。

人体硬组织替代材料的研究进展(郑学斌等)。

光波导开关的最新进展(王小龙等)。

物理学和高新技术

物理技术在食品贮藏与果蔬保鲜中的应用(白亚乡等);

实验技术

大气气溶胶单粒子粒径和化学成分的 LDI 测量(夏柱红等)。

量子密钥分发实验中的符合测量方法(马海强等)。

物理学史和物理学家

杨振宁学术成就——三大贡献之外:量子不可积相位因子和

规范场的积分表示(李华钟);

范德瓦尔斯和他的状态方程(钞曦旭等)。

物理教育

数字信号平均实验远程教学系统的研制(吴先球)。