

· 论 著 ·

# 脂质体共载紫杉醇与二氢卟吩 e6 协同介导 PDT 治疗肺癌的实验研究

龙景婷<sup>1</sup> 王妮<sup>2</sup> 巨薇<sup>1</sup> 王晓旭<sup>3</sup> 冯玫<sup>3\*</sup> 张宽收<sup>1\*</sup>

## 摘要

**目的** 研究二氢卟吩 e6 (chlorin e6, Ce6) 负载于脂质体共载紫杉醇 (paclitaxel, PTX) 协同介导的光动力疗法 (photodynamic therapy, PDT) 对裸鼠肺癌模型的治疗效果。

**方法** 实验分为三部分: (1) 采用薄膜蒸发法制备 PTX&Ce6-LP 并进行表征观察。(2) 建立裸鼠肺癌 A549 肿瘤模型, 经活体荧光成像观察 PTX&Ce6-LP 进入荷瘤裸鼠体内的代谢情况, 获得 PDT 治疗给药后激光照射的最佳时间点。(3) PDT 瘤内治疗。将 40 只裸鼠分为 3 大组, PDT 组 24 只、模型组 8 只和正常对照组 8 只。其中 PDT 组, 再根据 PTX&Ce6-LP 中 Ce6 的浓度 (1.25、2.5 和 3.75 mg/kg) 分为 3 个亚组, 每组各 8 只。PDT 组经皮穿刺将光纤导入瘤内进行激光照射治疗, 每次照射功率 108 mW, 照射时间 10 min, 每 3 d 治疗一次。第 4 次 PDT 治疗后 3 d, 各组中 5 只取其瘤体进行组织病理学检测, 包括 HE 染色、Bax 和 Bcl-2 免疫组化分析; 每组中剩余的 3 只继续进行 PDT 治疗, 直至肿瘤治愈, 记录 PDT 治疗次数, 并取其治疗区域进行组织病理学检测。

**结果** (1) 实验制得的 PTX&Ce6-LP 的粒径约为 176.6 nm, Ce6 的包封率为 50.1%、PTX 包封率为 69.3%, PTX&Ce6-LP 吸收峰位于 403 nm 和 665 nm。(2) PTX&Ce6-LP 进入裸鼠体内后 1 h 在肿瘤部位富集, 24 h 时体内富集浓度明显减少。(3) PDT 不同浓度 (1.25、2.5 和 3.75 mg/kg) 组 4 次治疗后 3 d, 抑瘤率分别为 11.0%、35.3%、62.3%。HE 染色结果显示: 各组呈现不同程度的坏死, 且 PTX&Ce6-LP 浓度越高坏死程度越高。PDT 三个亚组随着 PTX&Ce6-LP 浓度的增加, Bax 的表达增强, Bcl-2 的表达减弱。各组 Bax 的表达水平: 模型组 < 1.25 mg/kg 组 < 2.5 mg/kg 组 < 3.75 mg/kg 组; Bcl-2 的表达水平: 模型组 > 1.25 mg/kg 组 > 2.5 mg/kg 组 > 3.75 mg/kg 组。(4) 2.5 mg/kg 组第 9 次 PDT 治疗和 3.75 mg/kg 组第 7 次 PDT 治疗实现对肿瘤治愈。

**结论** 本研究通过 PTX&Ce6-LP 所介导的 PDT 治疗肺癌 A549 肿瘤模型, 有效地抑制了其瘤体生长, 实现对肿瘤的完全清除。

**关键词** 光动力疗法; 肺癌; 二氢卟吩 e6; 脂质体

中国分类号: R318.51; R734.2

文献标识码: A

文章编号: 1003-9430(2022)02-0076-06

## Joint Treatment of Lung Cancer with Liposome Co-Loaded Paclitaxel and Chlorin E6-Mediated PDT: an Experimental Study

LONG Jingting<sup>1</sup>, WANG Ni<sup>2</sup>, JU Wei<sup>1</sup>, WANG Xiaoxu<sup>3</sup>, FENG Mei<sup>3\*</sup>, ZHANG Kuanshou<sup>1\*</sup>

1. State Key Laboratory of Quantum Optics and Quantum Optics Devices, Institute of Shanxi University Opto-Electronics, Taiyuan 030006, China 2. School of Basic Medicine, Shanxi Medical University 3. Department of

DOI: 10.13480/j.issn1003-9430.2022.0076

**基金项目:** 国家自然科学基金资助项目(61875113) 量子光学与光量子器件国家重点实验室开放课题(KF202002)

**作者单位:** 1. 山西大学光电研究所量子光学与光量子器件国家重点实验室(太原市, 030006) 2. 山西医科大学基础医学院 3. 山西医科大学第三医院·山西白求恩医院全科医学科

**作者简介:** 龙景婷(1996~), 女, 山西太原人, 在读硕士, 主要从事光动力疗法的研究。

\*通信作者

## ABSTRACT

**Objective** To study the efficacy to treat lung cancer jointly with the chemotherapy based on liposome co-loaded Paclitaxel (PTX) and Chlorin e6 (Ce6) and photodynamic therapy (PDT).

**Methods** The experiment was conducted in three steps. Firstly, PTX&Ce6-LP was prepared via thin film evaporation and the characteristics concerned were observed. Secondly, three nude mice were inoculated with lung cancer A549 cells. The metabolism of PTX&Ce6-LP into tumor-bearing nude mice was analyzed with *in vivo* fluorescence imaging and the best time point for light irradiation was determined. Thirdly, 40 nude mice were divided into three groups: the PDT group ( $n=24$ ), model group ( $n=8$ ) and normal control group ( $n=8$ ). The 24 nude mice in the PDT group were further divided into 3 groups by the concentration of Ce6 in PTX&Ce6-LP photosensitive drug (1.25, 2.5 and 3.75 mg/kg), 8 mice in each group. For the PDT group, optical fibers were introduced into tumor tissues via percutaneous puncture for laser irradiation. The irradiation power was set at 108 mW, and the irradiation lasted for 10 min. The treatment was conducted once every 3 days. On the third day after the 4th PDT treatment, 5 mice in each group were collected for histopathological examinations on tumor tissues, including HE staining, Bax and Bcl-2 immunohistochemical analysis. The remaining 3 mice in each group were given PDT treatment continually until the tumor disappeared. The times of the PDT treatment were recorded, and the treated areas were taken for histopathological examination.

**Results** (1) The particle size of the PTX & Ce6-LP prepared in the experiment was about 176.6 nm, the encapsulation efficiency of Ce6 50.1%, the encapsulation efficiency of PTX 69.3%, and the absorption peak positions of PTX&Ce6-LP 403 nm and 665 nm. (2) PTX&Ce6-LP clustered in tumor sites 1h after entering nude mice, and decreased significantly *in vivo* 24 h after entering nude mice. (3) After four treatments, the tumor inhibition rates of three PDT groups were 11%, 35.3% and 62.3% respectively. The HE staining results showed that the necrosis degrees of the three groups differed, and the higher the concentration of photosensitive drugs, the higher the degree of necrosis. The expression level of Bax of the groups climbed in the following order: model group, 1.25 mg/kg group, 2.5 mg/kg group and 3.75 mg/kg group. The expression level of Bcl-2 of the groups dropped in the following order: model group, 1.25 mg/kg group, 2.5 mg/kg group and 3.75 mg/kg group. With the increase of PTX&Ce6-LP concentration, the expression of Bax was enhanced and the expression of Bcl-2 weakened in PDT group. (4) The tumor disappeared upon 9 PDT treatments in the 2.5 mg/kg group and 7 PDT treatments in the 3.75 mg/kg group.

**Conclusions** The A549 therapy model for lung cancer based on the PDT mediated by PTX&Ce6-LP and designed in this study will effectively inhibit tumor growth and achieve complete tumor removal.

**Key words** Photodynamic therapy; Lung cancer; Chlorin e6; Liposomes

恶性肿瘤严重威胁着人类的健康,寻找有效的治疗方法是必要的,也是一个具有挑战性的任务<sup>[1]</sup>。肺癌是世界上高发病率和高死亡率的恶性肿瘤之一,在患有癌症的人群中 1/4 死于肺癌<sup>[2,3]</sup>。癌症的常规治疗方法包括化疗、放疗和手术治疗,其中化疗是一线治疗方法之一,对肿瘤的生长控制起着重要作用,但存在癌细胞可能产生耐药性,使得化疗方案的有效性降低,甚至使癌症有复发的可能性<sup>[4,5]</sup>。因此,找到一种主动靶向给药途径,避免化疗药物在健康组织中的累积损害,减少不良反应发生,最大限度地抑制肿瘤细胞生长已成为临床观察重点。

PDT 的治疗机制<sup>[6]</sup>为光敏剂经特定波长的光源照射后,基态光敏剂(PS)吸收光子跃迁到激发态

(<sup>1</sup>PS\*),激发态除了可通过发射荧光衰减回基态,还能够通过系间穿越转变为三重激发态(<sup>3</sup>PS\*),然后通过 Type I (电子转移)反应产生自由基和自由基阴离子或 Type II (能量转移)反应产生单线态氧,产物具有超强的氧化能力,能够损伤细胞从而达到清除肿瘤细胞的目的。PDT 与传统疗法相比有不良反应小、可重复治疗、微创性、靶向性等许多优点。美国食品和药物管理局(Food and Drug Administration, FDA)已经批准了几种不同的光敏剂用于治疗包括癌症在内的多种疾病<sup>[6,7]</sup>。在天然或合成的光敏剂中,Ce6 由于具有高效性和极低的毒性,成为最有前途的光敏剂之一,但由于它具有疏水性和容易在水中积累的性质,导致它的药代动力学行为较差<sup>[8]</sup>。因此,选择合适的药物载体来改善 Ce6 的缺

陷是十分必要的。

随着纳米技术的发展,各种纳米给药系统得到了广泛应用,不仅可改善包括光敏剂在内的许多疏水性药物的生物利用度,还能够通过肿瘤的通透性和保留效应(enhanced permeability and retention effect, EPR)增强光敏剂在肿瘤中积聚,从而使得对癌症的治疗更加有效<sup>[9]</sup>。脂质体是双层囊泡磷脂,具有良好的药物包封性、良好的血液稳定性、易于靶向肿瘤组织和可控的药物释放特性等独特优势,被广泛应用于递送抗肿瘤药物,是一种很有前途的药物载体<sup>[10]</sup>。

本研究将二氢卟吩 e6(chlorin e6, Ce6)负载于脂质体共载紫杉醇(paclitaxel, PTX),进行了动物实验研究,观察了两者协同介导 PDT 的疗效,现报道如下。

## 材料与方 法

### 一、材料

1. 实验对象 裸鼠 Balb/c-nu 43 只,雄性;7~8 周龄,重量 16~20 g,饲养于中国辐射防护研究院药物安全评价中心。肺癌 A549 细胞,购于丰辉生物科技有限公司。

2. 主要试剂 Ce6 和 PTX,购于北京百灵威科技有限公司。F12K 培养基,购于博士德生物工程有限公司。胎牛血清,购于杭州四季青生物材料科技有限公司。HE 染色试剂盒,购于南昌雨露实验器材有限公司。Bax 和 Bcl-2 细胞凋亡分析试剂盒,购于北京博奥森生物技术有限公司。水合氯醛,购于上海酶联生物科技有限公司。

3. 主要仪器 FC-665-500-MM 型温控多模光纤耦合激光器,波长 665 nm,输出功率 0~500 mW,连续可调,购于上海熙隆光电科技有限公司。透射电子显微镜,日本 JEOL 公司产。紫外分光光度计,日本 Agilent 公司产。Mastersizer 3 000 型马尔文激光粒度仪,马尔文帕纳科公司产。

### 二、方法

1. PTX&Ce6-LP 的制备和表征检测 (1)薄膜蒸发法制备:取 20 mg 的卵磷脂、4 mg 胆固醇和 2 mg 二硬脂酰基磷脂酰乙醇胺-聚乙二醇(DSPE-PEG2000)和 1.5 mg PTX 溶解于 2 ml 无水甲醇中;另外称取 2 mg Ce6 溶解于 1 ml 无水甲醇中,振荡使其完全溶解。于 60℃减压旋蒸溶剂使类脂溶液形成一层均匀薄膜,向薄膜中加入 2 ml 的纯净水(pH=7.4),轻摇水化获得含药多室脂质体,再经过 400、

200、100 和 80 nm 滤膜过滤,过 Sephadex G25 凝胶柱除去游离状态药物,获得 PTX&Ce6-LP,超滤浓缩后置于冰箱 4℃保存备用。

(2)PTX&Ce6-LP 形态学观察:铜网蘸取少量的 PTX&Ce6-LP 悬液,以 2% 磷钨酸负染,干燥后通过透射电子显微镜观测形态。将制得的 PTX&Ce6-LP 以纯水 1:150 稀释,采用马尔文激光粒度仪检测样品在纯水中的粒径大小和与表面 Zeta 电位。

(3)PTX&Ce6-LP 的吸收光谱检测:经分光光度计在波长 200~1 000 nm 检测 Ce6、没有负载药物的空白脂质体以及 PTX&Ce6-LP 样品的紫外-可见吸收光谱。

(4)PTX&Ce6-LP 样品中 Ce6 与 PTX 包封率检测:称取 PTX 标准品约 10 mg,精密称定,用甲醇配制成 100 μg/ml 的对照品储备液。用流动相稀释成浓度 0.1, 0.2, 0.5, 0.8 和 1 μg/ml 的系列对照品溶液,各取 20 μl 进样,用高效液相色谱测定不同浓度下 PTX 的峰面积,然后以峰面积对质量浓度进行线性回归,得到 PTX 的标准曲线。采用同样的方法,得到 Ce6 标准曲线。PTX&Ce6-LP 经超声破碎膜过滤后,用高效液相色谱分别测定 PTX&Ce6-LP 中 PTX 和 Ce6 的峰面积。根据标准曲线分别计算出 PTX 和 Ce6 的浓度与包封率。

2. 肿瘤模型建立和活体荧光成像 (1)肿瘤模型建立:对肺癌 A549 细胞进行常规细胞培养与传代,待细胞生长到对数生长期时进行肿瘤模型构建。加入适量培养基使对数生长期的肺癌 A549 细胞成为 3×10<sup>5</sup> 个/ml 单细胞悬液,取 0.1 ml 单细胞悬液注射在裸鼠的右前肢下方。经过 1 周的潜伏期,接种位置皮下出现圆形、椭圆形等不规则形状的结节,说明荷瘤模型裸鼠构建成功。待肿瘤长至体积 400 mm<sup>3</sup> 左右,开始进行实验。

(2)活体荧光成像:取 3 只肺癌 A549 肿瘤模型裸鼠,尾部静脉注射 1.25 mg/kg PTX&Ce6-LP。分别在给药后 0 min、10 min、30 min、1 h、2 h、4 h 和 24 h,使用 IVIS Lumina III 成像系统进行活体荧光成像。

3. 经皮穿刺下 PTX&Ce6-LP 介导 PDT 瘤内治疗 (1)实验分组:将 40 只裸鼠分为 3 个大组 PDT 组 24 只、模型组 8 只和正常对照组 8 只。其中 PDT 组,再根据 PTX&Ce6-LP 中 Ce6 的浓度(1.25、2.5 和 3.75 mg/kg)分为 3 个亚组,每组各 8 只。模型组和正常对照组裸鼠,正常喂养不行任何处理。模型组裸鼠接种肿瘤后不给予 PTX&Ce6-LP 注射,也不给

予激光照射。PDT 组接种肿瘤后进行 PDT 治疗,每 3 d 治疗一次。

(2) PDT 治疗方法:将点状光纤前端剥离露出 8 cm 左右的石英光纤,插入 10 ml 注射器针芯内,构成照射所用的经皮穿刺针<sup>[11]</sup>。根据裸鼠体重静脉给予不同浓度 PTX&Ce6-LP 后,按照活体荧光成像显示结果在药物富集于肿瘤的时间点麻醉裸鼠。使用经皮穿刺针经皮穿刺进入瘤体后给予激光照射,治疗功率 108 mW,照射时间 10 min。照射完成后,将裸鼠放回笼中饲养,一次 PDT 治疗完成。第 4 次 PDT 治疗后 3 d,各组取 5 只裸鼠脱臼处死,取其肿瘤进行组织病理学检测包括 HE 染色、Bax 和 Bcl-2 免疫组化染色。各组中其余 3 只裸鼠继续接受治疗,直到肉眼观察不到肿瘤后收集治疗区域组织行组织病理学检测,并记录治疗次数。

### 三、观察指标

1. 抑瘤率 治疗过程中每日用游标卡尺测量并记录肿瘤长度(L)和宽度(W),计算肿瘤体积(V)和抑瘤率。

$$V = \frac{LW^2}{2}$$

$$\text{抑瘤率}(\%) = \frac{\text{模型组瘤体体积} - \text{PDT 组瘤体体积}}{\text{模型组瘤体体积}} \times 100\%$$

2. Bax 和 Bcl-2 表达 采用免疫组化染色,取 3 个区域的图像,使用 Image-Pro Plus 6.0 图像分析系统测定 Bax 和 Bcl-2 免疫组化染色图像的光密度(integrated optical density, IOD)和面积(area),并计算每张图像的平均光密度(mean density, MD)取 3 次平均数,得出每例样本的平均光密度。

### 四、统计学方法

使用统计学软件 SPSS 17.0 分析实验结果,数据以均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示。用单因素分析法处理实验结果,多组均数多重比较方差齐时采用 SNK 法,方差不齐时采用 Dunnett T3 法, $P < 0.05$  表示差异具有统计学意义。

## 结 果

### 一、PTX&Ce6-LP 的表征

透射电镜观察到 PTX&Ce6-LP 具有球形结构(见图 1);使用激光粒度仪测得 PTX&Ce6-LP 的大小为 176.6 nm, Zeta 电位为 -30.7 mV;使用分光光度计测得紫外-可见吸收光谱图,PTX&Ce6-LP 与 Ce6 在 403 nm 和 665 nm 处有明显的吸收峰(图 2 见第 119 页)。因人体的光学组织窗口在 600~1 200

nm<sup>[12]</sup>,为此本研究 PDT 治疗中的光照射波长为 665 nm。

以峰面积对质量浓度进行线性回归,得到 PTX 线性回归方程为: $y = 10\,496x + 8.8163$  ( $r^2 = 0.9992$ ), Ce6 的线性回归方程为: $y = 52\,013x - 340.9$  ( $r^2 = 0.9984$ )。r<sup>2</sup> 的值接近于 1,说明 PTX 的质量浓度在 0.1~1 μg/ml 时,与峰面积的线性关系很好可以用该回归方程表示;Ce6 的药物浓度在 0.1~0.5 μg/ml 时,与峰面积的线性关系很好,可以用该回归方程表示。将高效液相色谱测得 PTX 和 Ce6 的峰面积分别代入各自的回归方程,计算出 PTX 的包封率为 69.3%,PTX 的浓度为 0.52 mg/ml, Ce6 的包封率为 50.1%,Ce6 的浓度为 0.50 mg/ml。PTX 和 Ce6 的标准曲线(图 3 见第 119 页)。

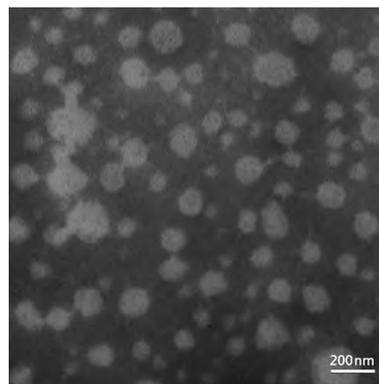


图 1 PTX&Ce6-LP 形态 (TEM, × 200)

Fig. 1 Morphology of the PTX&Ce6-LP (TEM, × 200)

### 二、活体荧光成像

PTX&Ce6-LP 注射 1 h 时在肿瘤部位富集最多,而在 24 h 时裸鼠体内整体减少,逐渐代谢出体外(图 4 见第 119 页)。因此,进行 PDT 治疗时,应在裸鼠注射 PTX&Ce6-LP 1 h 后进行光照射治疗。

### 三、肺癌 A549 模型裸鼠的抗肿瘤效果

1. PDT 抑瘤效果 4 次 PDT 治疗后 3 d,随着光敏剂浓度的增加,抑瘤率呈线性上升变化(图 5 见第 120 页)。其中,1.25 mg/kg 组、2.5 mg/kg 组和 3.75 mg/kg 组的抑瘤率分别为 11.0%、35.3% 和 62.3%。1.25 mg/kg 组经 5 次治疗后抑瘤率为 15.3%,效果不佳未进行 HE 染色分析。2.5 mg/kg 组经 9 次 PDT 后抑瘤率为 100.0%;3.75 mg/kg 组经 7 次 PDT 抑瘤率为 100.0%。

2. HE 染色结果 4 次 PDT 治疗后,光镜下观察 HE 染色结果,与模型组比较,1.25 mg/kg 组癌细胞呈灶性坏死,周围组织出血、慢性炎细胞浸润癌细

胞; 2.5 mg/kg 组核分裂象可见, 癌细胞呈片状坏死; 3.75 mg/kg 组核分裂象偶见, 可见癌细胞片状坏死。2.5 mg/kg 组与 3.75 mg/kg 组继续治疗结束后经组织解剖, 皮下未找到肿瘤组织, 取原肿瘤接种位置的组织进行 HE 染色, 结果均显示未发现癌细胞(图 6 见第 120 页)。

3. Bax 与 Bcl-2 免疫组化结果 4 次 PDT 治疗后 3 d, Bax 蛋白含量变化: 模型组 < 1.25 mg/kg 组 < 2.5 mg/kg 组 < 3.75 mg/kg 组; Bcl-2 蛋白含量变化: 模型组 > 1.25 mg/kg 组 > 2.5 mg/kg 组 > 3.75 mg/kg 组(图 7 见第 120 页)。PDT 组随着 PTX&Ce6-LP 浓度的增加, Bax 的表达增强, Bcl-2 的表达减弱。PDT 组 Bax 蛋白含量显著高于模型组, 差异具有统计学意义( $P < 0.05$ ); PDT 组中, 2.5 mg/kg 组和 3.75 mg/kg 组的 Bcl-2 蛋白含量显著低于模型组, 差异具有统计学意义( $P < 0.05$ ); 1.25 mg/kg 组 Bcl-2 蛋白含量变化不明显, 差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

## 讨 论

目前, 恶性肿瘤的发病率与死亡率不仅居高不下, 而且还呈现上升的趋势<sup>[2,3]</sup>。化疗作为治疗肿瘤的重要方式之一, 存在着化学药物选择性差、毒副作用大等缺点。PDT 作为一种靶向治疗肿瘤的方法, 虽然有许多优点但也存在靶向性有待提高、光穿透深度浅等缺点。而纳米材料拥有优良的生物相容性、更好的靶向能力、可代谢或可降解等优点。将纳米材料作为载药体系, 负载其他治疗药物<sup>[13]</sup>, 不仅能够精准的杀死肿瘤细胞, 减少对正常组织的损害, 还能结合多种治疗方式, 提高恶性肿瘤治疗的效果。为此, 本实验合成了纳米复合物 PTX&Ce6-LP, 将纳米材料、化疗和 PDT 相结合, 通过建立肺癌 A549 肿瘤模型, 观察了 PTX&Ce6-LP 介导的 PDT 治疗效果。

巨薇等<sup>[13]</sup>开展了单纯激光组(0 mg/kg)的实验, 单纯激光组经 4 次光照后抑瘤率为 10.54%(图 5 见第 120 页)。可以看出, 在多次治疗后(2 次、3 次、4 次), 随着不同 PDT 组使用的光敏剂浓度的增加, 抑瘤率呈线性变化。同时, 单纯激光组的抑瘤率与 1.25 mg/kg PDT 组的结果非常相近。

本研究在进行动物体内实验时, 为了使治疗效果达到最佳, 笔者采用的方法包括: (1) 将制备的 PTX&Ce6-LP 粒径控制在 100~200 nm 范围内, 使其能够在肿瘤部位大量富集。(2) 通过分析 PTX&Ce6-

LP 的吸收峰, 结合人体的光学组织窗口<sup>[12]</sup> 选择出最佳光照波长 665 nm。(3) 进行活体荧光成像找到 PTX&Ce6-LP 富集于肿瘤的时间为 1 h, 并将其作为激光照射治疗的最佳时间点。(4) 使用光纤经皮穿刺引入肿瘤内进行光照射治疗, 减小由于光散射、反射所造成的损失。

细胞凋亡是一种细胞自身的程序化死亡, 而线粒体是整个细胞自我程序化死亡过程中重要的核心细胞器之一。线粒体膜间隙已经发现了多种凋亡相关蛋白<sup>[14]</sup>, 其中 Bcl-2 家族蛋白可以抑制和促进细胞凋亡, 是细胞凋亡的关键调节因子。Bcl-2 家族蛋白中, Bcl-2 是抗凋亡蛋白, Bax 是促凋亡蛋白。因此本实验将 Bax 和 Bcl-2 的表达水平作为 PTX&Ce6-LP 影响细胞凋亡的衡量指标。4 次治疗后检测肿瘤组织中 Bax 和 Bcl-2 的表达水平, 发现 PDT 组随着 PTX&Ce6-LP 浓度的增加, Bax 的表达增强, Bcl-2 的表达减弱。本实验结果表明 PTX&Ce6-LP 可能是通过上调 Bax 和下调 Bcl-2 的表达水平, 促进肿瘤细胞凋亡, 进而达到清除肿瘤的目的。

笔者认为, 本研究存在的不足为: (1) 实验采用经皮穿刺光纤引入肿瘤内照射虽然减小了光照射引起的损失, 但易出现光纤断裂的问题, 所以光纤导入瘤内的工具有待进一步优化。(2) 本实验为在体动物水平的研究, 而针对人体的临床治疗有效性和安全性评价还有待于下一步实验的观察。

综上所述, 本研究采用薄膜蒸发法成功制备了 PTX&Ce6-LP, 其介导的 PDT 能够有效地抑制肿瘤的生长, 实现完全清除, 为肺癌的临床治疗提供了一种新的思路, 也为临床 PDT 治疗寻找最佳光敏剂剂量的量效研究提供了一定的参考价值。

## 参 考 文 献

- [1] Li M, Lin H, Qu F. FeS<sub>2</sub>@ C-ICG-PEG nanostructure with intracellular O<sub>2</sub> generation for enhanced photo-dynamic/thermal therapy and imaging [J]. Chem Eng J, 2020, 384: 123374.
- [2] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2016 [J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66: 7-30.
- [3] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2019 [J]. CA Cancer J Clin, 2019, 69: 7-34.
- [4] Vieira L, Castilho ML, Ferreira I, et al. Synthesis and characterization of gold nanostructured Chorin e6 for Photodynamic therapy [J]. Photodiagnosis Photodyn Ther, 2017, 18: 6-11.
- [5] Larue L, Myrzakhmetov B, Ben-Mihoub A, et al. Fight-

- ing hypoxia to improve PDT [J]. Pharm Res, 2019, 12: 163.
- [6] Fan W, Huang P, Chen X. Overcoming the Achilles' heel of photodynamic therapy [J]. Chem Soc Rev, 2016, 45: 6488-6519.
- [7] Dolmans DE, Fukumura D, Jain RK. Photodynamic therapy for cancer [J]. Nat Rev Cancer, 2003, 3: 380-387.
- [8] Panzarini E, Inguscio V, Dini L. Immunogenic cell death: can it be exploited in Photodynamic therapy for cancer [J]? Biomed Res Int, 2013.
- [9] Zhen Z, Tang W, Chuang YJ, *et al.* Tumor vasculature targeted photodynamic therapy for enhanced delivery of nanoparticles [J]. ACS Nano, 2014, 8: 6004-6013.
- [10] Crucho C. Stimuli-responsive polymeric nanoparticles for nanomedicine [J]. Chem Med Chem, 2015, 10: 24-38.
- [11] 刘彩平, 李怡, 乔文文, 等. 经皮穿刺光纤导入瘤内光动力疗法治疗肺癌的实验研究 [J]. 中国激光医学杂志, 2018, 27: 248-252.
- [12] Agostinis P, Berg K, Cengel KA, *et al.* Photodynamic therapy of cancer: an update [J]. CA Cancer J Clin, 2011, 61: 250-281.
- [13] 巨薇. 基于纳米光敏剂的光动力疗法治疗肺癌的实验研究 [D]. 山西大学, 2021.23-24.
- [14] 张芮铭. 老年急性髓系白血病发热患者舌象分析及雄黄对 NB4 白血病细胞线粒体凋亡因子 Bcl-2、Bax、Cyt-C、AIF 表达的影响 [D]. 山东中医药大学, 2019.
- (收稿日期: 2021-08-20)

## · 启事 ·

### 欢迎投稿 欢迎订阅

《中国激光医学杂志》1992 年创刊至今已 31 年, 1999 年第 9 卷起扩版增容, 信息量大大增加, 使本刊的学术地位进一步提高, 在国内外的影响日益增强。2004 年已被国际检索系统俄罗斯《文摘杂志》收录, 2007 年被美国《化学文摘》收录。从 2003 年起, 本刊改为铜版纸印刷、可刊印彩色图片, 使杂志载文更加清晰、美观。从 2005 年起改为双月刊。目前本刊已成为“中国学术期刊综合评价数据库来源期刊”、“中国科学引文数据库来源期刊”, 被《中国期刊网》、《中国学术期刊(光盘版)》、《中国科技论文统计与引文分析数据库》(CSTC)、《中国学术期刊文摘》全文收录, 同时加入了国家科技部中国科技信息所、万方数据公司开发的 CHINAINFO 网络信息资源系统电子期刊和数字化期刊群, 被科技部“中国科技论文统计源课题组”定为“核心期刊”。为满足广大读者的需求, 本刊从 2000 年起由全国各地邮局统一发行(邮发代号: 82-251)。

本刊编辑部同时常年办理邮购(每期每册 25 元, 全年 150 元, 免费邮寄), 经邮局汇款至本刊编辑部, 款到即寄。

**本刊地址:**北京市海淀区学院南路 86 号 201 室 **邮政编码:** 100081

**电 话:** 010-66937194

**传 真:** 010-68222584 **投稿邮箱:** laser7194@vip.163.com

龙景婷等 脂质体共载紫杉醇与二氢卟吩 e6 协同介导 PDT 治疗肺癌的实验研究(见正文第 76 页)

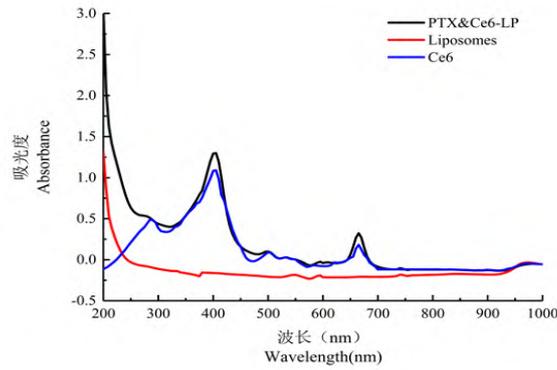


图2 紫外—可见吸收光谱

Fig.2 Absorption spectrum of UV-Vis

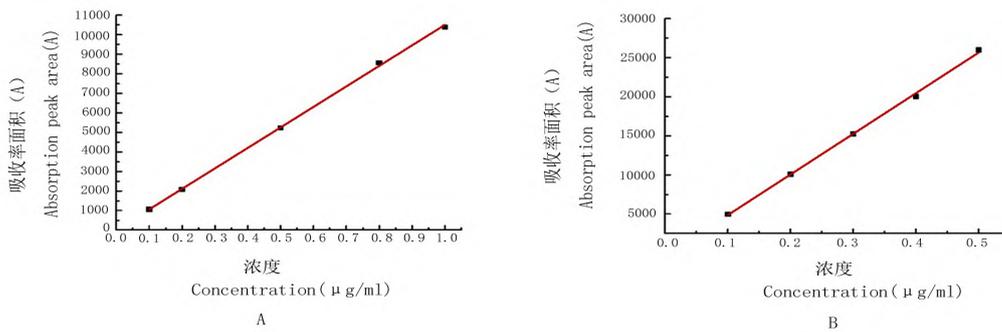


图3 标准曲线

Fig.3 Standard curve

A. PTX B. Ce6

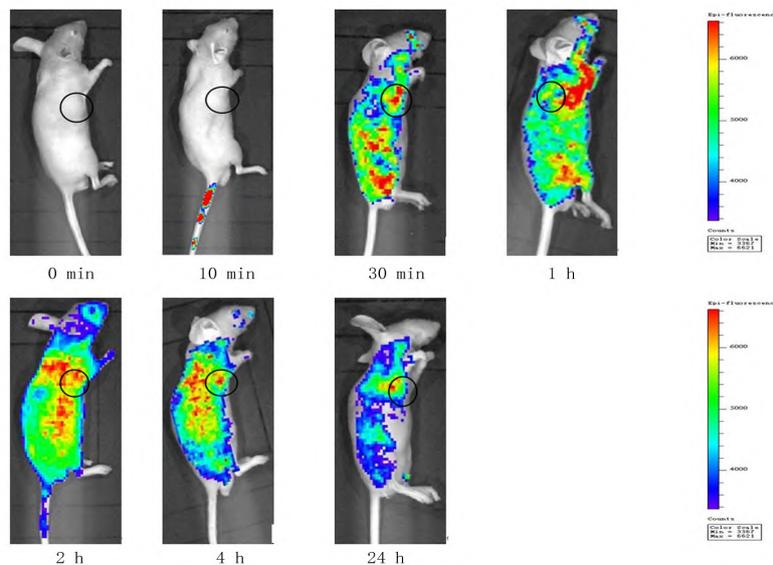


图4 PTX&Ce6-LP 静脉注射后在不同时间点的荧光图像

Fig.4 Fluorescence image of PTX&Ce6-LP at different time points

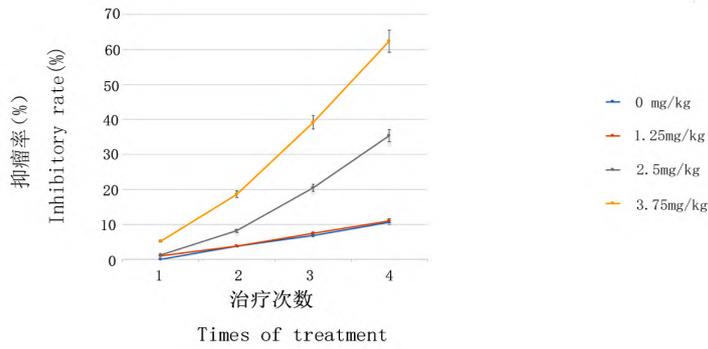


图5 各组PDT处理后肿瘤组织的抑瘤率<sup>[13]</sup>

Fig.5 Tumor inhibition rate of tumor tissue after PDT in each group<sup>[13]</sup>

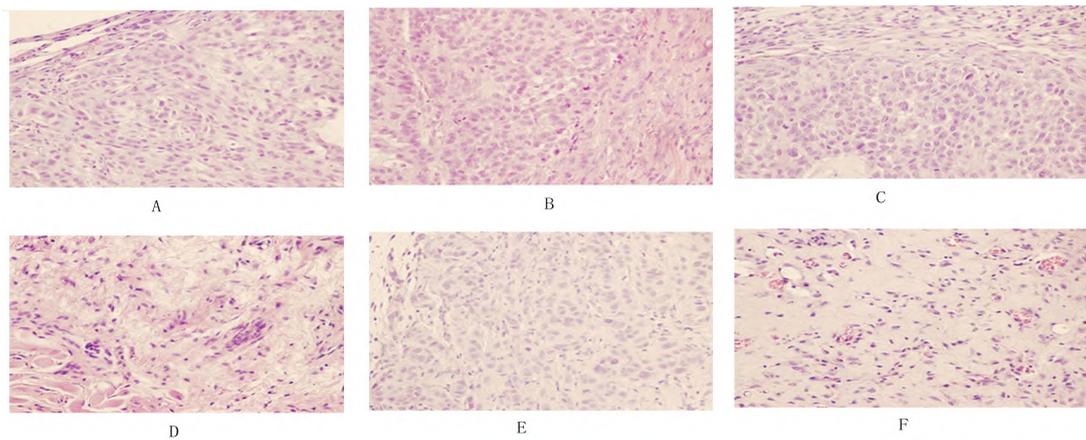


图6 PDT治疗后各组肿瘤组织病理结果 HE×200

A. 模型组 B. 1.25 mg/kg组 4次PDT后 3 d C. 2.5 mg/kg组 4次PDT后 3 d  
D. 2.5 mg/kg组 9次PDT后 E. 3.75 mg/kg组 4次PDT后 3 d F. 3.75 mg/kg组 7次PDT后

Fig.6 Tumor histopathological results after PDT HE×200

A. Model group B. 1.25 mg/kg group 3 days after 4 times PDT C. 2.5 mg/kg group 3 days after 4 times PDT  
D. 2.5 mg/kg group after 9 times PDT E. 3.75 mg/kg group 3 days after 4 times PDT F. 3.75 mg/kg group after 7 times PDT

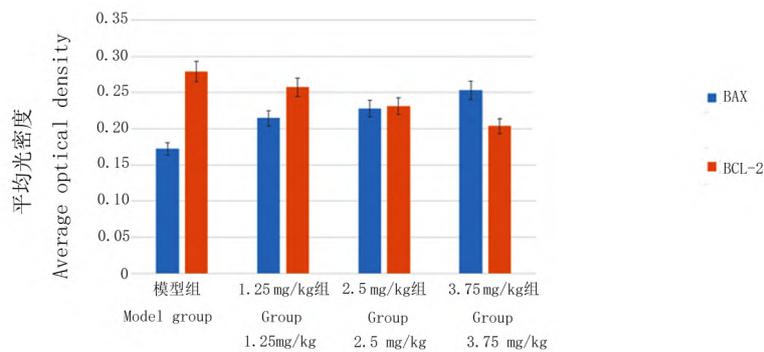


图7 各组Bax和Bcl-2蛋白含量变化

Fig.7 Change of Bax and Bcl-2 protein in each group