

# 激光免疫疗法——一种新型肿瘤治疗方法

罗芳洪 曾超英 黄萍

## 摘要

激光免疫疗法是一种新型肿瘤治疗方法,治疗过程中包括三个基本要素:激光、光敏剂(光吸收剂)和免疫佐剂。该疗法可通过光化学作用在一定范围内破坏肿瘤组织;免疫佐剂还能诱导机体产生免疫反应,杀灭原发性肿瘤和转移瘤,并产生肿瘤特异性免疫力,表现出很好的远期疗效。目前应用于激光免疫治疗的有 630、652、671、690 和 810 nm 波长激光,光敏剂(光吸收剂)有吲哚菁绿、血卟啉衍生物及酞菁类化合物等,免疫佐剂有糖基化聚氨基葡萄糖、OK-432、MCWE、福氏佐剂及细胞因子等。

**关键词** 激光免疫疗法; 激光; 光敏剂; 免疫佐剂

**中图分类号:** R454.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1003-9430(2006)05-0327-03

## Laser Immunotherapy: a Novel Modality for Cancer Treatment

LUO Fang-hong ZENG Chao-ying HUANG Ping

Cancer Research Center, Medical College, Xiamen University, Xiamen, Fujian 361005, China

## ABSTRACT

Laser immunotherapy is a novel approach for the treatment of cancer, which consists of three components: a laser, a photosensitizer and an immunoadjuvant. Laser immunotherapy combines a selective photochemical interaction for direct tumor destruction and an immunoadjuvant-directed stimulation for the host's immune responses. It results in the eradication of both, treated primary tumors and untreated metastases at remote sites. It can also induce a tumor-specific immunity and demonstrates long-term anti-cancer effect. Presently, laser used in laser immunotherapy includes 630, 652, 671, 690 or 810 nm wave length. Photosensitizer used includes indocyanine green, Photofrin or metatetrahydroxy-phenylchlorin (mTHPC), etc. Immunoadjuvant used includes glycosylated chitosan, streptococcal preparation OK-432, mycobacterium cell-wall extract (MCWE), Freund's adjuvant or cytokine, etc.

**Key words** Laser immunotherapy; Laser; Photosensitizer; Immunoadjuvant

激光免疫疗法(laser immunotherapy)是将特定波长的激光、光敏剂和免疫佐剂相结合的一种肿瘤综合治疗新方法。近年来国外文献相继报道这一疗法,其所采用的激光波长、光敏剂和免疫佐剂不尽相同<sup>[1-5]</sup>。由于该疗法在远期疗效方面表现出独有的优势,已逐渐成为恶性肿瘤治疗一个新的研究热点。作者将激光免疫疗法的基本概念、进展概况、治疗要素、作用机制及其应用前景简要综述如下。

### 一、基本概念

激光免疫疗法一词于 1997 年由美国俄克荷马州大学的 Chen 等<sup>[6]</sup>首次提出。该疗法的基本原理是将特定波长的半导体激光通过光纤定向辐照肿瘤组织,注射于肿瘤组织中的光敏剂将产生光热、光化学作用,在一定范围内破坏、杀死肿瘤细胞;同时注射于肿瘤组织中的免疫佐剂能够与从破坏的肿瘤细胞中释放出来的抗原结合形成疫苗,从而诱导针对肿

作者单位: 厦门大学医学院抗癌研究中心(厦门市,361005)

作者简介: 罗芳洪(1974~),男,福建连城人,硕士,讲师,主要从事肿瘤激光免疫治疗研究。

瘤细胞的免疫反应,最后杀灭原发肿瘤和转移瘤,产生肿瘤特异性免疫力。

## 二、进展概况

1995 年 Chen 等<sup>[7,8]</sup>以化学诱导的 DMBA-4 转移性大鼠乳腺癌为实验对象,在瘤体局部注射光敏剂吡啶菁绿(indocyanine green, ICG)后,以 805 nm 激光照射瘤体表面,发现治疗局部能产生光热和光化学作用,杀死肿瘤细胞。随后的研究还发现,激光照射治疗前在瘤体局部注射免疫佐剂糖基化聚氨基葡糖(glycated chitosan, GC)能增强抗癌效果,部分荷瘤鼠的原发瘤和转移瘤甚至得以治愈,并产生肿瘤特异性抗体;用治愈大鼠的脾脏细胞还能过继免疫治疗荷瘤大鼠<sup>[9,10]</sup>。Chen 等称该肿瘤综合治疗方法为激光免疫疗法。

1998 年 Korbelik 等<sup>[3]</sup>分别以 Photofrin、BPD、mTHPC、ZnPC 为光敏剂,不同波长激光为光源与免疫佐剂分支杆菌细胞壁提取物(mycobacterium cell-wall extract, MCWE)协同治疗 EMT6 小鼠乳腺癌。结果发现 MCWE 能刺激单核细胞和中性粒细胞向肿瘤组织聚集,增强抑瘤效果,提高动物生存率。2000 年日本 Uehara 等<sup>[4]</sup>采用血卟啉衍生物(HpD)为光敏剂,630 nm 激光为光源与免疫佐剂 OK-432 结合。发现 OK-432 亦能起协同作用显著扩大 NR-S1 大鼠鳞状细胞癌的肿瘤杀伤面积,提高抑瘤率,并延长动物生存期。

最近本中心以 H22 小鼠皮下移植性肝细胞癌为实验对象, HpD 为光敏剂, 630 nm 激光为光源, GC 为免疫佐剂, 观察比较单纯 HpD + 630 nm 激光(PDT)组、单纯 GC 组和激光免疫治疗组(PDT 联合 GC 组)的抑瘤效果和免疫效应, 三治疗组均能明显抑制肿瘤生长, 但激光免疫治疗组抑瘤作用显著增强, 部分激光免疫治疗组小鼠瘤体消失并长期存活<sup>[11]</sup>。免疫组化实验结果证明, 治愈小鼠血清含有肿瘤细胞特异性抗体。这表明, HpD + 630 nm 激光和 ICG + 805 nm 激光一样都能与 GC 起协同作用, 诱导机体免疫反应, 从而抑制、杀灭肿瘤, 并对肿瘤产生生长久持续的免疫力。

此外还有研究结果表明, 激光免疫疗法能在不同程度上增强对恶性肿瘤的疗效<sup>[12]</sup>。

## 三、治疗要素

激光免疫疗法治疗过程中包括三个基本要素: 激光、光敏剂、免疫佐剂。它们之间的选择匹配和剂量参数对抗瘤谱和抗癌效果有着重要的影响, 也是激光免疫疗法成功的关键所在。

激光是该疗法的启动因素, 当激光能量被传送、定位于肿瘤组织时, 将引发肿瘤组中的光敏剂产生局部的光热反应和光化学作用。目前应用于这一领域的有 630、652、671、690 和 810 nm 波长激光, 其中处于红光区激光对组织具有较好的穿透深度。选择激光波长时应注意, 激光波长要与光敏剂的吸收峰相匹配。激光照射方式采用瘤体表面照射或瘤体内照射。瘤体表面照射时激光能量通过光纤以非接触的方式传送到治疗部位, 光纤尖端与瘤体表面保持一定距离并缓慢移动使激光辐照到整个瘤体。瘤体内照射时光纤尖端插入瘤体中央, 激光从瘤体中央向四周辐照, 对于瘤体较大者

可行多点照射。激光辐照剂量因肿瘤组织来源、瘤体大小和激光波长而异。目前使用的激光器多为半导体激光器、倍频 Nd:YAG 激光、铜激光和泵浦染料激光。

目前常用的光敏剂有吡啶菁绿、血卟啉衍生物及酞菁类化合物等。

吡啶菁绿是一种暗绿色三碳吡啶染料, 相对分子质量为 775, 吸收波长在 800 nm 左右。它进入血液后能立刻和血清蛋白结合, 随血循环迅速均匀地被肝细胞摄取, 随胆汁排泄至肠, 无肝肠循环, 不被肝外组织吸收, 不参与体内化学反应, 几乎无毒副作用。由于 ICG 物理化学性质与药代动力学特性清楚, 多年前美国食品与药物管理局已批准其应用于临床作为诊断用药, 应用于人类肝脏、胆管、心血管以及眼科疾病的研究。有研究发现 ICG 具有光敏特性, 能杀伤体外培养肿瘤细胞<sup>[13]</sup>。Chen 等正是利用它的这一光敏特性首次将它作为光敏物质用于肿瘤的激光免疫治疗。

血卟啉衍生物是多种成份的聚合物, 主要从血红蛋白中提取, 本身对机体并无毒性, 是一种经典的光敏物质。当用适当波长激光照射时, 可以使 HpD 由低能态转为高能态, 这种高能态 HpD 和组织内氧作用形成对细胞有杀伤性的单态氧, 使细胞膜蛋白质凝聚, 细胞内溶酶体、线粒体受到破坏, 从而破坏癌细胞。HpD 易于在肿瘤组织中滞留, 长期以来作为光敏剂用于多种恶性肿瘤的光动力诊断和治疗。

酞菁类化合物是卟啉类配合物, 易于合成, 化学性质稳定, 最大光吸收在红外(640~850 nm)部分, 在红光激发下三重态量子产率高, 寿命长, 表现出强的光动力学特性; 对自然光吸收弱, 对皮肤的光敏反应小。

免疫佐剂又称免疫调节剂, 目前用于激光免疫治疗的有糖基化聚氨基葡糖、OK-432、MCWE、卡介苗(BCG)、弗氏佐剂及细胞因子等。

糖基化聚氨基葡糖是在聚氨基葡糖上偶联半乳糖而成, 在体内生物降解性好, 毒性低, 具有很强的免疫刺激作用, 是目前激光免疫治疗中疗效较好的一种新型免疫佐剂。它由 Chen 教授实验室化学合成, 已获取专利。

OK-432 为 A 型溶血性链球菌生物制剂, 是一种作用最强的免疫调节剂, 近年来用于各种癌症的免疫治疗, 能明显改善患者症状, 延长生存期。研究表明, OK-432 杀伤癌细胞不是直接的, 而是通过激活宿主的免疫反应; 它能促使 T 淋巴细胞在肿瘤病灶浸润, 增强正常人和癌症患者 NK 和 LAK 细胞活力, 杀伤癌细胞; 同时还能促进骨髓、肝、肺、脾中 NK 细胞的产生和成熟速率, 将静止中的末梢淋巴细胞激活成肿瘤杀伤细胞<sup>[14]</sup>。

此外 BCG 和 MCWE 也是有效的免疫佐剂, 但作为活细菌, BCG 具有较大的毒副作用。

## 四、作用机制

激光免疫疗法抗肿瘤的具体机制目前尚不十分清楚, Uehara 等<sup>[15]</sup>认为是光热、光化学杀伤和免疫佐剂的免疫刺激作用协同作用的结果。Chen 等<sup>[16-20]</sup>进行了较为深入的研究认为可能机制有如下几点: (1) 光热、光化学杀伤; 激光照

射后肿瘤局部产生的光热、光化学作用在一定范围内杀死肿瘤细胞；(2) 免疫佐剂的协同作用：糖基化聚氨基葡萄糖可作为吡啶菁绿的载体延长其在注射部位的存留时间，增强光化学杀伤；(3) 免疫佐剂的免疫刺激作用：糖基化聚氨基葡萄糖能诱导淋巴细胞、巨噬细胞向肿瘤周围聚集，杀死肿瘤细胞；(4) 免疫佐剂诱导的免疫反应：免疫佐剂能够与从破坏的肿瘤细胞中释放出来的抗原结合形成疫苗，并诱导针对肿瘤细胞的免疫反应，从而彻底杀灭肿瘤。支持这一机理的依据有：肿瘤生长抑制大约在治疗后 4 周出现；治愈大鼠的原发瘤和转移瘤均消失；治愈大鼠对再次移植肿瘤的产生免疫反应，不再生长；肿瘤病理检查可见淋巴细胞和巨噬细胞增多；治愈大鼠血清中存在肿瘤特异性抗体。

### 五、前景和展望

激光免疫疗法作为一种新型肿瘤治疗方法，既利用了激光光热、光化学作用的局部破坏作用又激发了宿主的免疫防御系统；诱导宿主对肿瘤产生长久持续的免疫力；远期疗效好，在恶性肿瘤治疗上展现出很好的应用前景。但激光免疫疗法作为一种新兴疗法，要真正广泛应用于临床还需做大量研究工作，继续寻找高效低毒的免疫佐剂、光敏剂和与之匹配的激光光源。继续优化各治疗要素的选择匹配并确定各治疗要素的最佳剂量参数。进一步探讨该疗法的抗肿瘤免疫机制。进行免疫佐剂、光吸收剂（光敏剂）的药理、药代和毒理学研究，这是该疗法能否应用到临床的关键所在。令人欣喜的是 630 nm 激光联合 HpD（即光动力学疗法）在临床上已应用于多种肿瘤治疗，为本疗法向临床过渡奠定了基础。相信随着对该疗法的不断深入研究，它将在恶性肿瘤治疗上起着重要作用。

### 参 考 文 献

- [1] Chen WR, Carubelli R, Liu H, *et al.* Laser immunotherapy—a novel treatment modality for metastatic tumors [J]. *Mol Biotech*, 2003, 25:37-43.
- [2] Chen WR, Korbek M, Barteis KE, *et al.* Enhancement of laser cancer treatment by a chitosan-derived immunoadjuvant [J]. *Photochem Photobiol*, 2005, 81:190-195.
- [3] Korbek M, Cecic I. Enhancement of tumour response to photodynamic therapy by adjuvant mycobacterium cell-wall treatment [J]. *J Photochem Photobiol*, 1998, 44:151-158.
- [4] Uehara M, Sano K, Wang Z-L, *et al.* Enhancement of the photodynamic antitumor effect by streptococcal preparation OK-432 in the mouse carcinoma [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2000, 49:401-409.
- [5] Korbek M, Sun J. Cancer treatment by photodynamic therapy combined with adoptive immunotherapy using genetically altered natural killer cell line [J]. *Int J Cancer*, 2001, 93:269-274.
- [6] Chen WR, Adams RL, Carubeli RL, *et al.* Laser-photosensitizer assisted immunotherapy: a novel modality in cancer treatment [J]. *Cancer Lett*, 1997, 115:25-30.
- [7] Chen WR, Adams RL, Bartels KE, *et al.* Chromophore-enhanced *in vivo* tumor cell destruction using an 808 nm diomed laser [J]. *Cancer Lett*, 1995, 94:125-131.
- [8] Chen WR, Adams RL, Heaton S, *et al.* Chromophore-enhanced laser-tumor tissue photothermal interaction using 808 nm diomed laser [J]. *Cancer Lett*, 1995, 88:15-19.
- [9] Chen WR, Zhu W-C, Joseph RD, Long-term tumor resistance induced by laser photo immunotherapy [J]. *Int J Cancer*, 1999, 81:808-812.
- [10] Chen WR, Jeong SW, Lucroy MD, *et al.* Induced antitumor immunity against DMBA-4 metastatic mammary tumors in rats using laser immunotherapy [J]. *Int J Cancer*, 2003, 107:1053-1057.
- [11] 罗芳洪, 黄萍, 曾超英. 激光免疫疗法对小鼠 H22 肝癌的长期抗癌和免疫效应 [J]. *中华实验外科杂志*, 2005, 22:625.
- [12] Korbek M, Sun JH, Posakony ZZ. Interaction between photodynamic therapy and BCG immunotherapy responsible for the reduced recurrence of treated mouse tumors [J]. *Photochem Photobiol*, 2001, 73:403-409.
- [13] Fickweiler S, Szeimies RM, Baumler W, *et al.* Indocyanine green: intracellular uptake and phototherapeutic effects *in vitro* [J]. *J Photochem Photobiol B: Biology*, 1997, 38:178-183.
- [14] Kirwood JM, Wilson J, Whiteside TL, *et al.* Phase I B trial of picibamil (OK-432) as an immunomodulator in patients with resected high risk melanoma [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 1997, 44:137.
- [15] Uehara M, Inokuchi T. Hyperthermic photodynamic therapy combined with topical administration of OK-432 in the mouse carcinoma [J]. *Oral Oncol*, 2003, 39:184-189.
- [16] Chen WR, Adams RL, Carubeli RL, *et al.* Laser-tissue photobiological interaction: a new mechanism for laser-sensitizer treatment of lesions [J]. *SPIE*, 1997, 2975:290-297.
- [17] Chen WR, Liu H, Nordquist JA, *et al.* Tumour cell damage and leucocyte infiltration after laser immunotherapy treatment [J]. *Lasers Med Sci*, 2000, 15:43-48.
- [18] Chen WR, Liu H, Ritchey JW, *et al.* Effect of different components of laser immunotherapy in treatment of metastatic tumors in rats [J]. *Cancer Res*, 2002, 62:4295-4299.
- [19] Chen WR, Singhal AK, Liu H, *et al.* Antitumor immunity induced by laser immunotherapy and its adoptive transfer [J]. *Cancer Res*, 2001, 61:459-461.
- [20] Chen WR, Carubelli R, Liu H, *et al.* Detection of anti-tumor immunity induced by laser immunotherapy [J]. *Mol Biotech*, 2003, 25:45-51. (收稿日期:2006-07-04)