

· 论 著 ·

铝酞菁对 SMMC-7721 肝癌细胞的光敏作用机理

李建峰 李 忌 廖 翔 高清祥 李东辉*

目的 探讨铝酞菁光敏剂对人肝癌细胞 SMMC-7721 的作用及其机制。**方法** 以碘钨灯为光源,采用台盼兰拒染法观察铝酞菁对人肝癌细胞的光敏作用。**结果** 随着铝酞菁浓度的增加,对细胞光敏作用增强;避光组对细胞无毒害作用。羟自由基($\cdot\text{OH}$)清除剂 L-组氨酸可明显抑制铝酞菁对癌细胞的光敏作用。**结论** 铝酞菁是一种理想的治癌光敏剂,其光敏作用与 $\cdot\text{OH}$ 有关。

关键词 铝酞菁 光敏反应 人肝癌细胞 SMMC-7721 羟自由基

PHOTOSENSITIZATION OF SULFONATED ALUMINUM PHTHALOCYANINE (AIPCS) ON HUMAN HEPATOMA SMMC-7721 CELL AND ITS MECHANISM Li Jianfeng, Li Ji, Liao Xiang, Gao Qinxiang, Li Donghui. Department of Biology, Lanzhou University, Lanzhou 730000, * Cancer Research Center, Xiamen University, Xiamen 361005

Objective To investigate the effect and mechanism of photosensitization of sulfonated aluminum phthalocyanine (AIPCS) on human hepatoma SMMC-7721 cell. **Methods** Using iodine-tungsten lamp as a light source, the cytotoxicity of AIPCS on cancer cell was estimated by trypan blue exclusion method. **Results** The role of photosensitized cytotoxicity increased with the concentration of AIPCS, while AIPCS alone without light has no any toxicity to hepatoma cells. The L-histidine, one hydroxyl radical scavenger, could inhibit the phototsensitization of AIPCS obviously. **Conclusion** AIPCS is an ideal photosensitizer for cancer therapy and the photocytotoxicity of AIPCS is due to hydroxyl radical.

Key words Sulfonated aluminum phthalocyanine (AIPCS) Photosensitization Human hepatoma SMMC-7721 cell Hydroxyl radical
TUMOR(Shanghai) 1998, 18: 262

光敏剂用于肿瘤治疗研究最多的是血卟啉衍生

物 (HPD), HPD 对癌细胞有很强的杀伤力,但从血清中不易制备,且在肝脏中积聚太甚,对体表皮肤还有光毒反应,特别是在临床上,由于其主吸收峰位于身体组织穿透力差的紫外区,HPD 的应用大受限制。为此,人们开始将目光转向主吸收峰在红外光区的替代物,酞菁类染料便成人们关注的光敏剂。本文研究磺化铝酞菁对肝癌 SMMC-7721 细胞的光敏反应条件及机理

材料和方法

1. 试剂 铝酞菁按文献^[1]方法自行合成。L-组氨酸为上海生化所产品,分析纯;超氧化物歧化酶(SOD)购自甘肃夏河生化制剂厂(3000 U/ml);过氧化氢酶 CAT 为 Sigma 公司产品(14000 U/mg); β -胡萝卜素为 Fluka 公司产品,分析纯

2. 光源: 1000W 碘钨灯,光距 37 cm,用水隔热,水层厚 16 cm,玻璃厚 0.5 cm,照光强度 130.2 W/m,室温 20°C 左右,所用铝酞菁的最大吸收波长为 695 nm(见图 1)

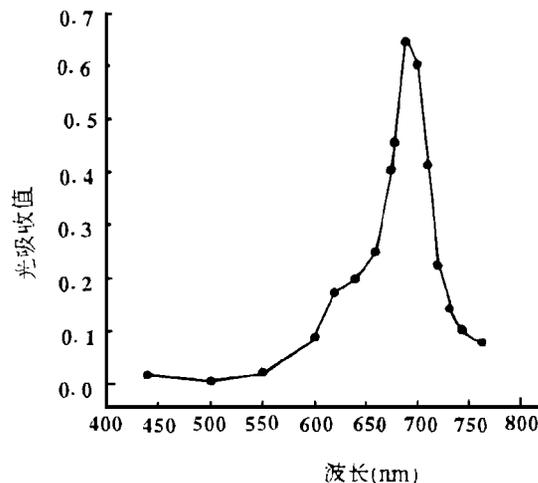


图 1 铝酞菁的吸收波长

作者单位: 兰州大学生物系(兰州 730000)

* 厦门大学抗癌中心

3. 铝酞菁对细胞光敏作用检测 人肝癌细胞 SMMC-7721 培养于含 10% 小牛血清的 RPMI-1640 培养液中, 每瓶 3 ml, 细胞 3×10^5 瓶, pH 为 7.3, 加青霉素和链霉素, 使终浓度为 100 U/ml 和 $100 \mu\text{g/ml}$, 置 37°C , CO_2 培养箱 36 h 后, 换成无血清 RPMI-1640 培养基, 加不同浓度铝酞菁, 光照 10 min, 继续温育 12 h 后, 胰酶-EDTA 消化, 台盼兰染色, 计数 避光组的细胞培养瓶外包一层黑纸。

结 果

一、铝酞菁的光敏作用 在铝酞菁作用时间 (2 h) 和照光时间 (10 min) 相同的条件下, 照光组随着铝酞菁浓度的增加, 细胞死亡率增加, 说明铝酞菁光敏反应对癌细胞有明显的杀伤作用 (见图 2)。而避光组细胞形态与对照组相近。

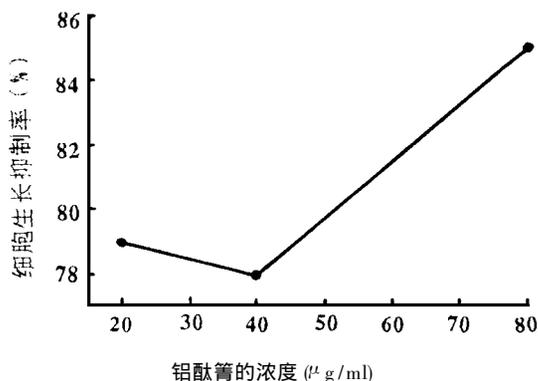


图 2 不同浓度铝酞菁光照后对 SMMC-7721 细胞生长的影响

二、照光后铝酞菁对细胞生长的影响 当铝酞菁浓度 ($20 \mu\text{g/ml}$) 和作用时间 (2 h) 固定后, 照光 10 min 后随时间的延长死亡率不断增加, 10~20 h 之间细胞死亡率迅速增加, 20 h 后变化不大, 有一段平台期。

三、铝酞菁的光敏作用机制 将 β 胡萝卜素、SOD 和 CAT 分别与已加入铝酞菁的 SMMC-7721 细胞温育 2 h 照光 10 min 后, 24 h 对细胞存活率无影响; 在加入铝酞菁的同时, 加入 L-组氨酸, 则对细胞有明显的保护作用, 而且随着 L-组氨酸浓度的增加, 对铝酞菁光敏作用抑制效应增强 (见图 3)。

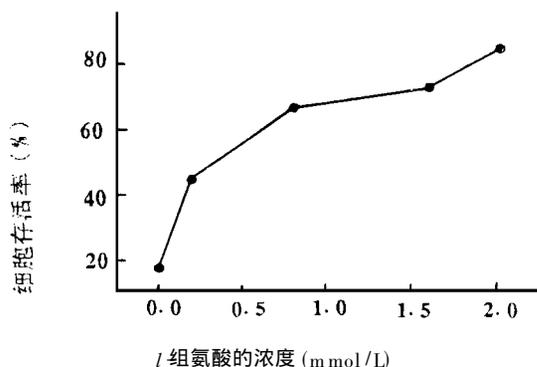


图 3 不同浓度 L-组氨酸对铝酞菁光敏作用的抑制效应

讨 论

铝酞菁光敏剂呈明显的浓度依赖关系, 浓度愈高对 SMMC-7721 细胞的光敏杀伤作用愈强, 且铝酞菁的光敏作用存在后效应, 光照后细胞死亡率迅速增加, 一段时间后出现平台期, 可能是细胞的抗氧化系统激活的缘故^[2]。避光组细胞形态与对照组相近, 可见铝酞菁本身对细胞无毒害作用。

SOD、CAT 和 β -胡萝卜素分别是 O_2^- 、 H_2O_2 和 $^1\text{O}_2$ 的有效清除剂^[3,4], 它们对 SMMC-7721 肝癌细胞的存活率没有什么影响, 说明铝酞菁光敏反应与 O_2^- 、 H_2O_2 和 $^1\text{O}_2$ 无关, 而羟自由基 ($^{\circ}\text{OH}$) 的有效清除剂 L-组氨酸对细胞有明显的保护作用, 且呈浓度依赖关系。可见铝酞菁光敏反应与 $^{\circ}\text{OH}$ 密切相关。

参 考 文 献

- 1 Ambroz M, Beeby A, Macrobot AJ, Simpson MSC, et al. Preparative, analytical and fluorescence spectroscopic studies of sulfonated aluminum phthalocyanine photosensitizers. *J Photochem Photobiol (B): Biol*, 1991, 9(1): 87
- 2 Crawford DR, Davies KJA. Adaptive response and oxidative stress. *Environ Health Perspect*, 1994, 102: 25
- 3 Ccastranova V, Kang JH, Moore MD, et al. Inhibition of stimulant-induced activation of phagocytic cells with tetrandrine. *J Leukoc Biol*, 1991, 50: 412
- 4 Rosato N, Mei G, Gratton E. A time-resolved fluorescence study of human copper-zinc superoxide dismutase. *Biophys Chem*, 1990, 36: 41

(收稿: 1997-10-10 修回: 1998-01-09)