

## 光动力学疗法剂量学的研究进展\*

李步洪<sup>1)\*\*</sup> 谢树森<sup>1)</sup> HUANG Zheng<sup>2)</sup> WILSON Brian C<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup> 福建师范大学医学光电科学与技术教育部重点实验室, 福建省光子技术重点实验室, 福州 350007;

<sup>2)</sup> Department of Radiation Oncology, University of Colorado Denver, Colorado 80045, USA;

<sup>3)</sup> Division of Biophysics and Bioimaging, Ontario Cancer Institute and Department of Medical Biophysics, University of Toronto, 610 University Avenue, Toronto M5G 2M9, Canada)

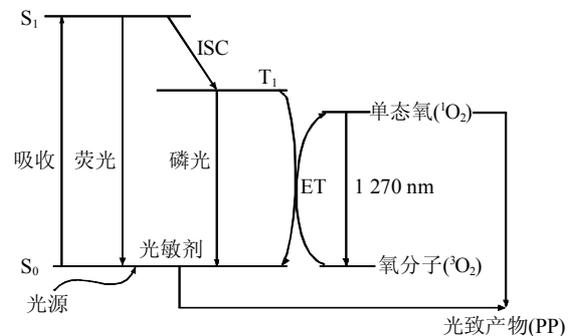
**摘要** 随着光动力学疗法 (photodynamic therapy, PDT) 基础研究的不断深入和临床应用的广泛开展, 如何精确量化光动力学剂量, 并根据患者的个体差异进行剂量的实时调整和优化已成为亟待解决的挑战性难题, 属 PDT 研究的前沿热点. 综述了现有 PDT 剂量学研究方法及其相应检测技术的研究进展, 其中包括: a. 测定光通量密度、光敏剂浓度和氧分压; b. 测量光敏剂的光漂白速率和光致产物; c. 监测 PDT 前后组织的光生物学响应; d. 检测单态氧在 1 270 nm 的近红外发光. 同时, 还分析了这些 PDT 剂量学方法的优点和局限性. 最后, 讨论了 PDT 剂量学研究中所面临的挑战.

**关键词** 光动力学疗法, 剂量学, 光敏剂, 光通量密度, 氧, 光漂白, 单态氧

**学科分类号** O43, R45

**DOI:** 10.3724/SP.J.1206.2008.00746

光动力学疗法 (photodynamic therapy, PDT) 是一种联合利用光、光敏剂和氧分子, 通过光动力学反应选择性地治疗肿瘤和癌前病变, 以及湿性老年性黄斑变性 (age-related macular degeneration, AMD) 和鲜红斑痣 (port-wine stain, PWS) 等良性疾病的新疗法<sup>[1~4]</sup>. PDT 的原理是预先给患者注射一定量的光敏剂, 经过特定时间代谢之后, 光敏剂被选择性地滞留在肿瘤或病变组织中. 如图 1 所示, 在特定波长光源的辐照下, 滞留在靶组织中的基态光敏剂 ( $S_0$ ) 吸收光子的能量, 激发跃迁到第一激发态 ( $S_1$ ), 这些激发态光敏剂分子通过体系间跨越 (intersystem crossing, ISC) 跃迁到激发三重态 ( $T_1$ ), 处在激发三重态的光敏剂分子可以和基态氧分子 ( $^3O_2$ ) 发生能量交换产生具有生物毒性的活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 或自由基等活性物质, 其中激发单态氧 ( $^1O_2$ ) 被认为是 II 型光动力学反应的主要毒性物质<sup>[5~7]</sup>. 光、光敏剂和氧是 PDT 的三个基本要素.  $^1O_2$  可以氧化其周围的生物分子, 使之造成不可逆的损伤.  $^1O_2$  也可以通过辐射跃迁返回基态, 发射出波长约为 1 270 nm 的近红外光子, 简称为  $^1O_2$  发光.  $^1O_2$  还可以和基态光敏剂发生氧化反应, 导致光敏剂的光漂白, 并产生光致产物 (photoproduct, PP)<sup>[8]</sup>.



**Fig. 1** Simplified Jablonski diagram for type II PDT

**图 1** II 型光动力学反应的简化贾布朗斯基图

临床研究结果表明: 在给定相同光敏剂剂量 (每公斤体重的给药剂量)、药物代谢时间和光照剂量 ( $J/cm^2$ ) 的情况下, PDT 的实际临床疗效往往会因为患者的个体差异而呈现显著差异<sup>[9, 10]</sup>. 这是因为 PDT 疗效在很大程度上还取决于组织的病变类型、

\* 福建省自然科学基金资助项目(2008J0001), 福建省教育厅科技计划资助项目(JA08031)和教育部科学技术研究重点资助项目(209063).

\*\* 通讯联系人.

Tel: 0591-88037959, E-mail: bhli@fjnu.edu.cn

收稿日期: 2008-10-29, 接受日期: 2009-02-24

生化特性、光学性质和氧分压, 以及光敏剂的在体分布、光漂白特性和  $^1\text{O}_2$  量子产率等因素. 随着基础研究的不断深入和临床应用的广泛开展, 如何精确量化 PDT 剂量, 并根据患者的个体差异进行 PDT 剂量的实时检测、调整和优化已成为亟待解决的挑战性难题.

## 1 PDT 剂量学

在以 II 型光动力学反应为基础的 PDT 中, 最低剂量阈值可以表示为<sup>[10]</sup>:

$$R_{th} = EK_s T b \varepsilon D \Phi f \quad (1)$$

式中  $R_{th}$  表示损害细胞所需要的  $^1\text{O}_2$  浓度 (mol/L);  $E$  是受照组织表面的辐照度 ( $\text{W}/\text{cm}^2$ );  $K_s$  是光从组织中反射的后向散射因子;  $T$  是光源辐照的治疗时间 (s);  $b$  是转化系数 ( $\lambda/hc$ );  $\varepsilon$  是光敏剂的消光系数 ( $\text{cm}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{mol}^{-1}$ );  $D$  是光敏剂的浓度 (mol/L);  $\Phi$  是光敏剂被激发后转化为  $^1\text{O}_2$  的量子产率, 它与组织或细胞中的氧分压密切相关;  $f$  是对细胞具有杀伤作用的  $^1\text{O}_2$  与所产生  $^1\text{O}_2$  总量的百分比. 从方程(1)的定义, PDT 剂量可分为 3 部分: 药物剂量 ( $D$ ), 光剂量 ( $E, K_s, T, b, \varepsilon$ ) 和光生物学剂量 ( $\Phi, f$ ). 相应地, PDT 剂量学的研究内容涉及了如何精确测量和计算治疗所需的光敏剂剂量、光剂量和光生物学剂量, 并根据临床疗效建立相应的剂量学评估标准.

## 2 PDT 剂量学的研究方法

根据上述对 PDT 剂量的定义, Wilson 和 Patterson 等首次把 PDT 剂量学的研究方法划分为 4 种类型: 显式 (explicit) 剂量法, 隐式 (implicit) 剂量法, 组织的生物效响应剂量法, 以及直接剂量法, 这种分类方法一直被沿用至今<sup>[11-13]</sup>.

### 2.1 显式剂量法

这种方法通过直接测量滞留在靶组织中的光敏剂浓度, 光通量密度和组织氧分压, 并借助一定的数学模型推算出治疗所需剂量.

**2.1.1 药物剂量.** 目前, 临床上通常只有根据患者的体重或体表面积差异给出所需的光敏剂剂量, 但研究结果却发现: 在药物剂量和代谢时间完全相同的情况下, 靶组织中所滞留的光敏剂会因为患者的个体差异, 以及不同部位的靶组织存在显著的差异<sup>[14]</sup>. 例如, 在食道癌治疗时, 滞留在靶组织中的光敏剂浓度的差异可能达到  $\pm 50\%$ <sup>[10]</sup>. 除了给药浓度之外, 光敏剂自身的药物特性, 如亲水性还是亲

脂性、细胞靶向 (含不同细胞器中的分布) 还是血管靶向分布、药物传输系统、以及靶组织的不同特性等都决定着它的滞留浓度和分布, 从而影响着 PDT 的疗效<sup>[15-18]</sup>. 理想的情况是能对靶组织中光敏剂的浓度及其分布进行动态监测, 但这在临床上往往难以实现. 对于具有荧光发射特性的光敏剂, 主要通过测量其荧光强度或成像来测定光敏剂浓度或分布. 如果光敏剂没有荧光发射特性, 如吐开 (TOOKAD), 则通过测量它的漫反射 (或吸收) 光谱来定标其浓度, 与荧光测量方法相比, 靶组织所处的微环境对测量结果的影响较小, 这种方法同时还可获得组织中氧分压等重要信息<sup>[9]</sup>.

### 2.1.2 光剂量.

PDT 光源的主要特性参数包括光源类型 (激光或非激光光源, 脉冲或连续输出)、光源的波长、输出功率或功率密度和光源传输方式 (球头、柱状或平切光纤) 等. 在给定光照条件下, 光在组织中的分布与组织的吸收和散射特性密切相关. 更为重要的是, 在 PDT 过程中, 组织的光学特性参数还会发生变化. 因此, 为了能更加有效地评估 PDT 疗效, 临床应用中需要对光通量密度进行实时测量.

随着对 PDT 光剂量学研究的深入, 光通量密度已被广泛认为是决定 PDT 疗效的关键要素. Foster 等<sup>[20]</sup>从理论上分析 PDT 中“光动力学氧消耗”的机制, 他们认为当光通量密度较高时, 靶组织中氧的消耗速率远远大于氧能从周围血管通过扩散补给的速率. 由于 PDT 本身也是个耗氧过程, 特别是在光照能流率过高时, PDT 甚至还可能导致靶组织缺氧, 从而限制 PDT 疗效. 因此, 降低光通量密度, 可以减小氧的消耗速率, 保证氧的后续供给, 从而提高  $^1\text{O}_2$  的产量和 PDT 疗效. 如图 2 所示<sup>[21]</sup>, Henderson 等给出了光通量密度对活体肿瘤和正常组织 PDT 疗效的影响, 他们采用的光通量密度分别为 3.5、7、14、28、56、112、224  $\text{mW}/\text{cm}^2$ , 相应的光剂量为 0~128  $\text{J}/\text{cm}^2$ . 当光通量密度相同时, 肿瘤的治愈率随着光剂量的增大而提高. 但在相同光剂量情况下, 肿瘤的治愈率随光通量密度的增大而降低. 实验中还发现光通量密度存在一个最低作用阈值, 不能无限制地减小. 当光通量密度为 3.5  $\text{mW}/\text{cm}^2$  时, PDT 没有显著疗效, 而 7  $\text{mW}/\text{cm}^2$  时, 疗效仅为 22%. 实验结果还表明: 光通量密度的大小与血管的生物学响应密切相关, 当光通量密度较高时, 血管灌注率基本保持

不变. 当光通量密度较低时, 容易造成血管封闭, 从而影响氧的供给, 降低 PDT 疗效.

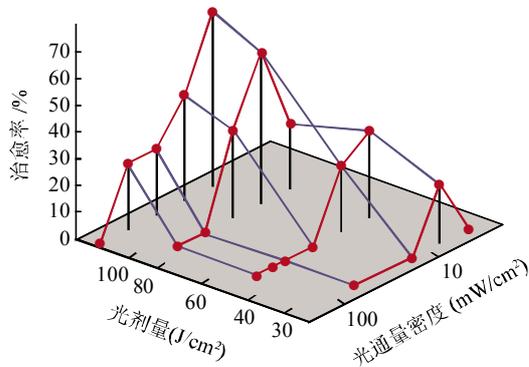


Fig. 2 Colon tumor response surface following HPPH PDT

图 2 PDT 治疗后结肠肿瘤组织的响应

●—●: Iso-fluence; —: Iso-fluence rate.

2.1.3 组织氧分压.

正常人体组织中氧的含量约为 5%, 有些实体肿瘤的血管通透性差, 组织氧分压可能更低, 甚至有可能缺氧, 从而限制了 PDT 疗效<sup>[22]</sup>. 此外, 由于脱氧血红蛋白对 600~700 nm 红光的吸收比氧合血红蛋白大得多, 所以在组织氧分压较高的情况下, 光在组织中的穿透深度明显增大, 这就是为什么要保证组织中有足够氧分压的另外一个重要原因. 如表 1 所示, 组织氧分压的检测方法主要有 3 类<sup>[23]</sup>: a. 利用基于 Clark 原理的 Eppendorf 探针, 或动态荧光猝灭极棒, 如 OxyLite 系统, 直接将探针注入组织对氧分压进行测量; b. 基于含氧血红蛋白和脱氧血红蛋白的吸收特性差异而提出的各种光学光谱检测技术, 如反射光谱频域、光子迁移光谱和傅立叶变换光谱成像等; c. 基于血氧水平依赖的核磁共振技术和电子自旋共振波谱学等.

Table 1 Oxygen monitoring techniques that can be used during PDT

表 1 PDT 中的氧分压检测技术

检测方法			是否无损	是否注射	测量对象	采集时间 /s	能否在线测量	能否重复测量
直接法	氧分压组织法	极谱法	是	否	氧分压	~1.4	能	能, 不是测量相同位置
		动态荧光猝灭极棒	是	否	氧分压	~1.0	否	能
	磷光探针	否	是	氧分压	~10	能	能	
	电子顺磁共振成像	是	是(局部)	氧分压	~30	能	能	
间接法	核磁共振血氧水平依赖		否	否	总 Hb 变化量	<60	能	能
	反射光谱		否(介入式检测除外)	否	Hb, HbO Hb 饱和度	<1	能	能
	频域光子迁移光谱		否	否	Hb, HbO Hb 饱和度	<1	能	能
	傅立叶变换光谱成像		否	否	Hb, HbO Hb 饱和度	~30	能	能

为了保证 PDT 过程中氧的供给, 人们先后提出了“间断性 PDT(light fractionation PDT)”和“节律性 PDT(metronomic PDT, mPDT)”两种新的治疗模式<sup>[24, 25]</sup>. 如图 3 所示, 在保持相同光剂量的情况下, 间断性 PDT 采用间断性的光照方式, 避免组织中氧的快速耗竭. 节律性 PDT 通过降低光通量密度和延长治疗时间来维持组织氧分压. 除此之外, 高压氧(hyperbaric oxygen, HBO)呼吸、常压氧(normobaric oxygen)呼吸, 以及结合低热疗法(hyperthermia)等 PDT 治疗模式也被相继提出. 但是, 这些 PDT 治疗模式对于不同类型光敏剂和病灶组织的有效性及其临床效果都有待于进一步研

究. Robinson 等最近在利用 methyl 5-aminolevulinate (MAL)作为光敏剂的实验中就发现, 间断性 PDT 对疗效没有显著的增强效果, 他们认为这是因为 ALA 和 MAL 所分别诱导的原卟啉 IX(PpIX)具有不同亚细胞分布所致<sup>[25]</sup>.

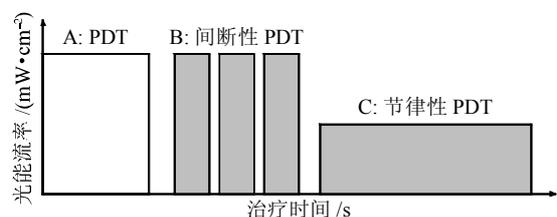


Fig. 3 Light fractionation and metronomic PDT

图 3 间断性和节律性 PDT

在显式剂量法中, 虽然测量光通量密度、光敏剂浓度和氧分压的技术比较简单, 且技术也日趋成熟, 但由于光敏剂、光和氧分子, 以及组织光学特性之间的复杂相互关系, 尚无法通过对其中某个剂量的单独测量来定量评估 PDT 剂量和预测疗效. Zhu 和 Andersson-Engels 等先后开发出了对组织中光通量密度、光敏剂和氧分压, 以及组织光学特性参数进行同时在线多点检测的 PDT 剂量监测系统, 并获得了初步应用<sup>[26~29]</sup>.

## 2.2 隐式剂量法

如图 1 所示, PDT 过程中所产生的  $^1\text{O}_2$  除了对靶组织产生杀伤作用外, 还可能与处于基态的光敏剂分子发生自敏光氧化反应, 造成其不可逆的光漂白, 并产生其他的光致产物, 从而导致反应体系中光敏剂浓度和  $^1\text{O}_2$  生成速率的减小, 这一反应过程可以描述如下<sup>[10,30]</sup>:



如果上述的反应过程是由  $^1\text{O}_2$  的扩散距离所决定的, 那么

$$\frac{d}{dt}[S_0] = -k_{os}[S_0][^1\text{O}_2] \quad (2)$$

式中  $k_{os}$  是速率常数. Dysart 等<sup>[31]</sup>的研究表明, 在计算过程中  $^1\text{O}_2$  所产生的位置还必须足够靠近光敏剂分子, 因此存在着一个与光敏剂浓度无关的有限几率. 为此, 在方程(2)中需要增加一个  $\gamma$  项来表示有效反应的最低光敏剂浓度.

$$\frac{d}{dt}[S_0] = -k_{os}([S_0] + \gamma)[^1\text{O}_2] \quad (3)$$

方程(3)对治疗时间  $t$  (起始时间  $t=0$ , 终止时间  $t=T$ ) 进行积分, 就可以计算得到 PDT 治疗过程中所产生的  $^1\text{O}_2$  的总量为:

$$\text{Dose} = \frac{1}{\tau_\Delta} \int_0^T [^1\text{O}_2] dt = \frac{1}{\tau_\Delta k_{os}} \ln \frac{[S_0]_{t=0} + \gamma}{[S_0]_{t=T} + \gamma} \quad (4)$$

式中  $\tau_\Delta$  为  $^1\text{O}_2$  的寿命. 这种计算方法在光通量密度和氧分压发生改变的情况下, 仍然有效. 与显式剂量学方法相比, 这种计算方法只需要确定 PDT 治疗前后的光敏剂浓度, 以及  $\gamma$ 、 $\tau_\Delta$  和  $k_{os}$  的数值.

基于以上的假设, 可以通过检测光敏剂的光漂白特性来间接评估所产生的  $^1\text{O}_2$  量, 即 PDT 对靶组织的光动力作用剂量. Dysart 等<sup>[31]</sup>利用这种方法对 mTHPC-PDT 进行了剂量学的研究, 结果表明: 对于不同的光通量密度、光敏剂浓度和氧分压, Mat-LyLu 细胞的存活率与(4)式计算所得到的  $^1\text{O}_2$  剂量都呈现出很好的相关性. 但是, 他们之后在应

用 Photofrin 和 ALA-PpIX 的实验研究中却发现, 在没有  $^1\text{O}_2$  介导的缺氧条件下, 光敏剂也会产生光漂白, 这时上述对  $S_0 + ^1\text{O}_2 \rightarrow \text{PP}$  的假设不再成立<sup>[32,33]</sup>. Finlay 等<sup>[34]</sup>在 EMT6 多细胞肿瘤球体的 PDT 实验中也得到了相同的结论, 即在  $^1\text{O}_2$  或三重态光敏剂介导的不同情况下都有可能产生 Photofrin 的光漂白, 不同的漂白机制主要取决于球体中的氧分压. 因此, 他们认为在这种情况下, 检测  $^1\text{O}_2$  介导所产生的光致产物更加适合于 PDT 剂量学研究. Dysart 等<sup>[31]</sup>的结果进一步表明: 在  $^1\text{O}_2$  介导的 ALA-PpIX PDT 中, 可以利用光致产物 Product II (荧光发射峰 665 nm) 的漂白特性对细胞存活率和剂量的关系进行评估.

在活体动物研究方面, Zeng 等<sup>[35]</sup>通过对 BPD 光致产物的研究首次实现了小鼠皮肤 PDT 的剂量估算. Boere 等<sup>[36]</sup>利用 ALA-PpIX 对 Barrett's 食管开展 PDT 实验结果表明: 不同的动物体内 PpIX 的荧光漂白特性不尽相同, 存在明显的差异. 但是较高的光漂白速率对应于组织的消融, 而当光漂白速率较低时, 上皮组织没有损伤. 与此同时, Sheng 和 Pogue 等<sup>[37,38]</sup>利用 ALA-PpIX PDT 诱导食道黏膜的水肿进行了实验, 结果表明, 当组织中的氧分压较高时, PpIX 荧光的光漂白速率快, 而当氧的供给受限时, PpIX 荧光没有明显的光漂白现象. 随后, 他们又进一步研究了光剂量对光敏剂光漂白特性的影响, 当光辐照度从 50 mW/cm 减小到 25 mW/cm 时, 光敏剂的光漂白速率在食道中没有显著变化, 但如果采用间断(时间间隔为 1 min)照明方式, 食道组织中光敏剂的光漂白速率将增大 10%, 而在人体 Barrett's 食道组织中增大 25%. 最近, Ascencio 等<sup>[39]</sup>在子宫癌的小鼠模型上进行了 HAL (hexaminolevulinate)-PpIX 的光漂白特性研究, 组织坏死与 PpIX 荧光的光漂白之间呈现出了很好的正相关性 ( $r^2=0.89$ ). 总之, 研究结果表明, 对于某些特定的光敏剂, 在  $^1\text{O}_2$  介导且氧分压足够高的情况下, 可以通过测量它的光漂白特性来定量预测 PDT 的疗效.

## 2.3 生物学剂量法

如表 2 所示, 许多无损和微创技术已被广泛应用于定性或定量评估 PDT 后组织所引起的生物学响应. 这些技术大致可分为非光学技术和光学技术, 它们既可以在线实时检测, 也能完成愈后疗效评估<sup>[40,41]</sup>. 监测的对象包括组织坏死的范围, 微血管和血流速度的变化, 以及细胞的存活率等.

以多普勒光学相干成像为例，它特别适合于对血管性疾病 PDT 的疗效评估。对于在线实时监测，检测结果往往只能反映 PDT 过程中的瞬时变化，而

难以根据这些变化定量预测 PDT 的最终疗效。与此同时，还有可能无法检测出组织所发生的许多潜在生物学响应。

Table 2 Techniques reported for monitoring biological responses to PDT *in vivo*

表 2 评估 PDT 生物学响应的监测技术

应用技术		测量的生物物理或生物学参数
非光学技术	X 射线 CT、MRI	组织坏死的范围(利用对比试剂)、血管损伤
	正电子发射成像	细胞新陈代谢(利用 19F-deoxyglucose)
	电阻抗光谱	细胞 / 组织损伤
	超声成像 / 高频 / 微泡沫对比	组织坏死的范围 / 细胞凋亡 / 血流速度
光学技术	激光多普勒光谱 / 成像	血管内单位体积的平均血流速度
	多普勒光学相干成像	微血管和血流速度
	近红外漫射光谱	组织的血成分, 氧饱和度
	生物发光成像	细胞存活率或特殊基因表达
	荧光蛋白成像	特殊基因表达
	组织自体荧光	细胞存活率
	光成像技术	组织损伤和微血管变化

2.4 直接剂量法

直接剂量法通过测量具有细胞毒性的 <sup>1</sup>O<sub>2</sub>，特别是 <sup>1</sup>O<sub>2</sub> 在 1 270 nm 的辐射发光来评估 PDT 的疗效。这种方法的最大优点在于可以克服其他剂量学方法中的光、光敏剂、氧分子，以及组织光学特性等因素之间的相互复杂影响关系，将 PDT 的疗效与 <sup>1</sup>O<sub>2</sub> 的产额直接联系起来<sup>[42]</sup>。

Wilson 研究小组长期从事 PDT-<sup>1</sup>O<sub>2</sub> 剂量学的研究，他们首先利用高灵敏度的锗探测器开展了活体动物的 <sup>1</sup>O<sub>2</sub> 剂量学研究。随着新型近红外光电倍增管的出现，他们又研发成功了一个用于 PDT-<sup>1</sup>O<sub>2</sub> 剂量学研究的高灵敏度 <sup>1</sup>O<sub>2</sub> 发光检测系统，并先后完成了直接利用 <sup>1</sup>O<sub>2</sub> 在 1 270 nm 的发光强度进行 PDT 疗效评估的细胞和活体动物实验，如图 4 所示<sup>[43]</sup>，检测系统采用的光源是输出波长 523 nm 的 Q 开关倍频 Nd: YLF 半导体泵浦激光器 (QG-523-500, Crystalaser Inc., USA)，脉冲输出频率为 10 kHz，脉冲宽度 10 ns。输出的激光经过一个中心波长 523 nm，带宽 20 nm 的带宽滤光片后照射到盛有测试样品的 10 mm 标准石英比色皿上。PDT 过程中所产生的各种辐射发光，其中主要包括有样品的自体荧光、光敏剂的自体荧光和磷光、光学系统的背景荧光、以及 <sup>1</sup>O<sub>2</sub> 在近红外的发光等，依次经过长波通滤光片(≥1 000 nm)、光学传输系统和滤光轮(载有 5 个带宽约为 10 nm，中心波长分别为 1 210、1 240、1 270、1 300 和 1 330 nm 的窄带滤光片)后照射到光电倍增管 H9170-45 (Hamamatsu Corp., Bridgewater, NJ, USA)的光电阴极上，经过光电信

号转换、信号预放和光子计数后将数据采集并存储在计算机。测量过程中，系统可以依次采集分别通过 1 210、1 240、1 270、1 300 和 1 330 nm 等 5 个滤光片的发光信号，其中 1 210、1 240、1 300 和 1 330 nm 滤光片主要用于鉴别 <sup>1</sup>O<sub>2</sub> 在 1 270 nm 的发光<sup>[44]</sup>。

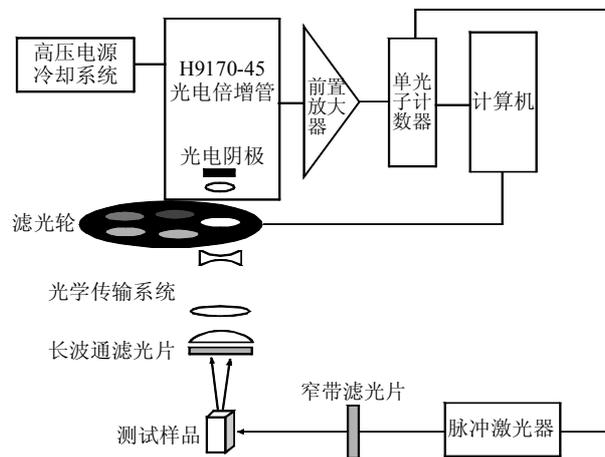


Fig. 4 Experimental system for <sup>1</sup>O<sub>2</sub> luminescence measurement  
图 4 <sup>1</sup>O<sub>2</sub> 发光检测系统

如图 5 所示，在利用具有不同亚细胞定位分布的内源性 ALA-PpIX 和外源性 PpIX 时，AML5 细胞的存活率和 PDT 中所累积的 <sup>1</sup>O<sub>2</sub> 发光光子数都呈现出很好的正相关性，细胞的存活率随着累积 <sup>1</sup>O<sub>2</sub> 发光光子数的增大而减小。系统所累计的 <sup>1</sup>O<sub>2</sub> 发光光子数能很好地应用于定量评估 PDT 疗效，这种

方法被认为是最直接的 PDT 剂量学研究方法. 不过,  $^1\text{O}_2$  发光检测系统要求光电探测器件在近红外波段有较高的响应灵敏度. 同时, 用于  $^1\text{O}_2$  发光检测的光纤传输系统正在研究和开发之中.

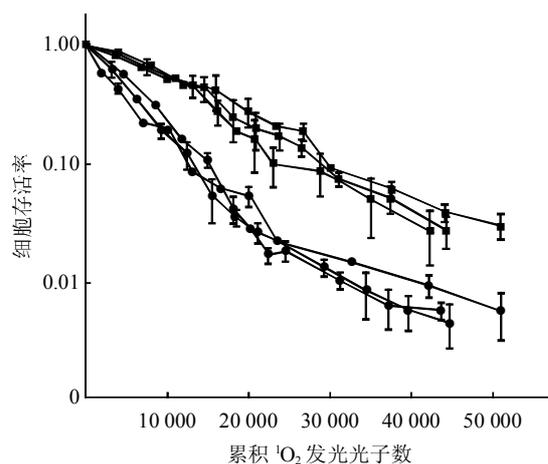


Fig. 5 AML5 cell survival versus cumulative  $^1\text{O}_2$  luminescence counts

图 5 细胞存活率与  $^1\text{O}_2$  发光强度之间的关系

●—●: ALA-induced PpIX( $n=3$ ); ■—■: Exogenous PpIX( $n=3$ ).

此外, 研究单细胞中 PDT 诱发  $^1\text{O}_2$  的寿命、分布及其扩散特性对深入了解  $^1\text{O}_2$  的生物效应也有着重要的价值<sup>[45]</sup>. 其他直接或间接地检测  $^1\text{O}_2$  的技术和方法(如电子自旋共振捕集 (EPR) 技术、化学发光法、荧光探针法等)在 PDT 剂量研究中的可行性也有待深入研究.

### 3 结 语

PDT 的应用虽然具有百年的悠久历史, 但与放射治疗剂量学相比, PDT 剂量学还仅仅处于一个起步的发展阶段, 它已成为 PDT 临床应用推广的瓶颈之一. 鉴于现有各种剂量学研究方法的优点和局限性, 同时利用多种技术进行剂量评估的新方法将是今后 PDT 剂量学研究的发展方向. 剂量学研究不仅有利于揭示 PDT 的作用机制, 而且在建立治疗剂量与疗效评估之间的定量关系后, PDT 将获得更为广泛的临床应用.

当前, PDT 剂量学研究所面临的主要挑战包括: a. 如何针对患者的个体差异、治疗组织的解剖位置和病理类型设计出一个精确的治疗剂量方案. 相对于浅表病变, 实体肿瘤由于自身的几何形状和内部组织的非均匀性, 所检测的局部信号无法

反映整个治疗范围内组织的真实情况, 导致 PDT 剂量难以得到精确控制. b. 在 PDT 的细胞作用机制中, 如何通过调整治疗剂量方案, 有效地控制细胞的坏死或凋亡等不同死亡路径, 从而有利于疗效评估. c. 以微血管为靶向的治疗病种, 如 AMD 和 PWS 等, 尚未建立相应有效的 PDT 剂量学评估标准. d. 对于新兴的 PDT 治疗模式, 如双光子激发、间断性和节律性 PDT 等, 它们的剂量学方法有待于进一步研究. e. 如何在治疗过程中通过监测 PDT 所引起的各种生物学响应, 实现在线剂量参数的调控, 如光剂量的实时调整和优化, 是得到最佳疗效的关键.

### 参 考 文 献

- 1 Dolmans D E, Fukumura D, Jain R K. Photodynamic therapy for cancer. *Nat Rev Cancer*, 2003, **3**(5): 380~387
- 2 Huang Z. A review of progress in clinical photodynamic therapy. *Technol Cancer Res Treat*, 2005, **4**(3): 283~293
- 3 Verma S, Watt G M, Mai Z, *et al.* Strategies for enhanced photodynamic therapy effects. *Photochem Photobiol*, 2007, **83**(5): 996~1005
- 4 Hamblin M R, Pawel M. *Advances in Photodynamic Therapy: Basic Translational and Clinical*. Norwood: Artech House, 2008. 1~9
- 5 Weishaupt K R, Gomer C J, Dougherty T J. Identification of singlet oxygen as the cytotoxic agent in photoinactivation of a murine tumor. *Cancer Res*, 1976, **36**(7): 2326~2329
- 6 Yamamoto J, Yamamoto S, Hirano T, *et al.* Monitoring of singlet oxygen is useful for predicting the photodynamic effects in the treatment for experimental glioma. *Clin Cancer Res*, 2006, **12**(23): 7132~7139
- 7 Krasnovsky A A. Luminescence and photochemical studies of singlet oxygen photonics. *J Photochem Photobiol A*, 2008, **196**(2~3): 210~218
- 8 Wilson B C, Patterson M S. The physics, biophysics and technology of photodynamic therapy. *Phys Med Biol*, 2008, **53**(9): R61~R109
- 9 Allison R R, Sibata C H. Photofrin<sup>®</sup> photodynamic therapy: 2.0 mg/kg or not 2.0 mg/kg that is the question. *Photodiagnos Photodynam Ther*, 2008, **5**(2): 112~119
- 10 Hetzel F W, Brahmaver S M, Chen Q, *et al.* *Photodynamic Therapy Dosimetry: Report of AAPM Task Group No.88*. Madison: Medical Physics Publishing, 2005. 1~4
- 11 Wilson B C, Patterson M S, Lilge L. Implicit and explicit dosimetry in photodynamic therapy: a new paradigm. *Lasers Med Sci*, 1997, **12**(3): 182~199
- 12 Huang Z, Xu H, Meyers A D, *et al.* Photodynamic therapy for treatment of solid tumors-potential and technical challenges. *Technol Cancer Res Treat*, 2008, **7**(4): 309~319
- 13 Zhu T C, Finlay J C. The role of photodynamic therapy (PDT) physics. *Med Phys*, 2008, **35**(7): 3127~3136
- 14 Sheng C, Pogue B W, Wang E, *et al.* Assessment of photosensitizer

- dosimetry and tissue damage assay for photodynamic therapy in advanced-stage tumors. *Photochem Photobiol*, 2004, **79**(6): 520~525
- 15 李步洪, 谢树森. 功能型光敏剂的研究进展. *中国激光医学杂志*, 2007, **16**(3): 179~185
- Li B H, Xie S S. *Chin J Laser Med Surg*, 2007, **16**(3): 179~185
- 16 Li B, Moriyama E H, Li F, *et al.* Diblock copolymer micelles deliver hydrophobic protoporphyrin IX for photodynamic therapy. *Photochem Photobiol*, 2007, **83**(6): 1505~1512
- 17 Li B H, Lin L S, Lin H Y, *et al.* Singlet oxygen quantum yields of porphyrin-based photosensitizers for photodynamic therapy. *J Innov Opt Health Sci*, 2008, **1**(1): 141~149
- 18 Collins H A, Khurana M, Moriyama E H, *et al.* Blood-vessel closure using photosensitizers engineered for two-photon excitation. *Nat Photonics*, 2008, **2**(7): 420~424
- 19 Weersink R A, Bogaards A, Gertner M, *et al.* Techniques for delivery and monitoring of TOOKAD (WST09)-mediated photodynamic therapy of the prostate: clinical experience and practicalities. *J Photochem Photobiol B*, 2005, **79**(3): 211~222
- 20 Foster T H, Murant R S, Bryant R G, *et al.* Oxygen consumption and diffusion effects in photodynamic therapy. *Radiat Res*, 1991, **126**(3): 296~303
- 21 Henderson B W, Busch T M, Snyder J W. Fluence rate as a modulator of PDT mechanisms. *Lasers Surg Med*, 2006, **38**(5): 489~493
- 22 Henderson B W, Fingar V H. Oxygen limitation of direct tumor cell kill during photodynamic treatment of a murine tumor model. *Photochem Photobiol*, 1989, **49**(3): 299~304
- 23 Woodhams J H, MacRobert A J, Bown S G. The role of oxygen monitoring during photodynamic therapy and its potential for treatment dosimetry. *Photochem Photobiol Sci*, 2007, **6**(12): 1246~1256
- 24 Framme C, Flucke B, Birngruber R. Comparison of reduced and standard light application in photodynamic therapy of the eye in two rabbit models. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 2006, **244**(7): 773~781
- 25 de Bruijn H S, de Haas E R, Hebeda K M, *et al.* Light fractionation does not enhance the efficacy of methyl 5-aminolevulinate mediated photodynamic therapy in normal mouse skin. *Photochem Photobiol Sci*, 2007, **6**(12): 1325~1331
- 26 Zhu T C, Finlay J C, Hahn S M. Determination of the distribution of light, optical properties, drug concentration, and tissue oxygenation *in-vivo* in human prostate during motexafin lutetium-mediated photodynamic therapy. *J Photochem Photobiol B*, 2005, **79**(3): 231~241
- 27 Johansson A, Johansson T, Thompson M S, *et al.* *In vivo* measurement of parameters of dosimetric importance during interstitial photodynamic therapy of thick skin tumors. *J Biomed Opt*, 2006, **11**(3): 034029
- 28 Johansson A, Axelsson J, Andersson-Engels S, *et al.* Realtime light dosimetry software tools for interstitial photodynamic therapy of the human prostate. *Med Phys*, 2007, **34**(11): 4309~4321
- 29 Li J, Altschuler M D, Hahn S M, *et al.* Optimization of light source parameters in the photodynamic therapy of heterogeneous prostate. *Phys Med Biol*, 2008, **53**(15): 4107~4121
- 30 Georgakoudi I, Foster T H. Singlet oxygen-versus nonsinglet oxygen-mediated mechanisms of sensitizer photobleaching and their effects on photodynamic dosimetry. *Photochem Photobiol*, 1998, **67**(6): 612~625
- 31 Dysart J S, Singh G, Patterson M S. Calculation of singlet oxygen dose from photosensitizer fluorescence and photobleaching during mTHPC photodynamic therapy of MLL cells. *Photochem Photobiol*, 2005, **81**(1): 196~205
- 32 Dysart J S, Patterson M S. Characterization of Photofrin photobleaching for singlet oxygen dose estimation during photodynamic therapy of MLL cells *in vitro*. *Phys Med Biol*, 2005, **50**(11): 2597~2616
- 33 Dysart J S, Patterson M S. Photobleaching kinetics, photoproduct formation, and dose estimation during ALA induced PpIX PDT of MLL cells under well oxygenated and hypoxic conditions. *Photochem Photobiol Sci*, 2006, **5**(1): 73~81
- 34 Finlay J C, Mitra S, Patterson M S, *et al.* Photobleaching kinetics of Photofrin *in vivo* and in multicell tumour spheroids indicate two simultaneous bleaching mechanisms. *Phys Med Biol*, 2004, **49**(4): 4837~4860
- 35 Zeng H, Korbelik M, McLean D I, *et al.* Monitoring photoproduct formation and photobleaching by fluorescence spectroscopy has the potential to improve PDT dosimetry with a verteporfin-like photosensitizer. *Photochem Photobiol*, 2002, **75**(4): 398~405
- 36 Boere I A, Robinson D J, de Bruijn H S, *et al.* Protoporphyrin IX fluorescence photobleaching and the response of rat Barrett's esophagus following 5-aminolevulinic acid photodynamic therapy. *Photochem Photobiol*, 2006, **82**(6): 1638~1644
- 37 Sheng C, Hoopes P J, Hasan T, *et al.* Photobleaching-based dosimetry predicts deposited dose in ALA-PpIX PDT of rodent esophagus. *Photochem Photobiol*, 2007, **83**(3): 738~748
- 38 Pogue B W, Sheng C, Benevides J, *et al.* Protoporphyrin IX fluorescence photobleaching increases with the use of fractionated irradiation in the esophagus. *J Biomed Opt*, 2008, **13**(3): 034009
- 39 Ascencio M, Collinet P, Farine M O, *et al.* Protoporphyrin IX fluorescence photobleaching is a useful tool to predict the response of rat ovarian cancer following hexaminolevulinate photodynamic therapy. *Lasers Surg Med*, 2008, **40**(5): 332~341
- 40 Wilson B C, Tuchin V V, Tanev S. *Advances in Biophotonics*. Amsterdam: IOS press, 2005. 241~266
- 41 Moriyama E H, Niedre M J, Jarvi M T, *et al.* The influence of hypoxia on bioluminescence in luciferase-transfected gliosarcoma tumor cells *in vitro*. *Photochem Photobiol Sci*, 2008, **7**(6): 675~680
- 42 Jarvi M T, Niedre M J, Patterson M S, *et al.* Singlet oxygen luminescence dosimetry (SOLD) for photodynamic therapy: current status, challenges and future prospects. *Photochem Photobiol*, 2006, **82**(5): 1198~1210
- 43 李步洪, Jarvi M T, Moriyama E H, 等. 光动力学疗法的单态氧剂量评估. *中国科学 G*, 2007, **37**(S): 153~160

- Li B H, Jarvi M T, Moriyama E H, *et al.* *Sci China G*, 2007, **37**(S): 153~160
- 44 Li B H, Jarvi M T, Moriyama E H, *et al.* Correlation between cell viability and cumulative singlet oxygen luminescence from protoporphyrin IX in varying subcellular localization. In: Kessel D ed. *Optical Methods for Tumor Treatment and Detection: Mechanisms and Techniques in Photodynamic Therapy X VI*, 6427. San Jose: The International Society for Optical Engineering, 2007. Art. No. 642707
- 45 Snyder J W, Skovsen E, Lambert J D, *et al.* Optical detection of singlet oxygen from single cells. *Phys Chem Chem Phys*, 2006, **8** (37): 4280~4293

## Advances in Photodynamic Therapy Dosimetry\*

LI Bu-Hong<sup>1)\*\*</sup>, XIE Shu-Sen<sup>1)</sup>, HUANG Zheng<sup>2)</sup>, WILSON Brian C<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup>Key Laboratory of Optoelectronic Science and Technology for Medicine, Fujian Provincial Key Laboratory for Photonics Technology, Fujian Normal University, Ministry of Education, Fuzhou 350007, China;

<sup>2)</sup>Department of Radiation Oncology, University of Colorado Denver, Colorado 80045, USA;

<sup>3)</sup>Division of Biophysics and Bioimaging, Ontario Cancer Institute and Department of Medical Biophysics, University of Toronto, 610 University Avenue, Toronto M5G 2M9, Canada)

**Abstract** Photodynamic therapy (PDT) is an emerging therapeutic modality based on the interaction of light, photosensitizer and molecular oxygen. As PDT techniques continue to develop and find more potential clinical indications, accurate dosimetry becomes a critical factor for achieving satisfied individual treatments. The current status of strategies and corresponding technologies for PDT dosimetry are reviewed. Typical PDT dosimetry estimations include the direct measurement of three critical ingredients of PDT (i.e. fluence rate, photosensitizer concentration, and tissue oxygen pressure), indirect determination of the photosensitizer fluorescence photobleaching and photoproduct formation, monitoring biological responses, and detecting singlet oxygen production with its near-infrared luminescence around 1 270 nm. The advantages and limitations of each PDT dosimetric model will be presented and the main challenges in clinical PDT dosimetry will be discussed.

**Key words** photodynamic therapy (PDT), dosimetry, photosensitizer, fluence rate, oxygen, photobleaching, singlet oxygen

**DOI:** 10.3724/SP.J.1206.2008.00746

---

\*This work was supported by grants from The Fujian Provincial Natural Science Foundation (2008J0001), The Fujian Provincial Education Department (JA08031) and The Chinese Ministry of Education (209063).

\*\*Corresponding author.

Tel: 86-591-88037959, E-mail: bhli@fjnu.edu.cn

Received: October 29, 2008 Accepted: February 24, 2009