

Evolution (Srinivasan, R. ed.), Vol 1, P. 43, Pergamon, Oxford, 1980.

[5] Jack, A. and Levitt, M.: *Acta Cryst.*, A34, 931, 1978.

[6] Sussman, J. L. et al.: *Acta Cryst.*, A33, 800, 1977.

[7] Hoard, L. G. and Nordman, C. E.: *Acta Cryst.*, A35, 1010, 1979.

[8] 毕汝昌: 《生物化学与生物物理进展》, 第2期, 2, 1984.

[9] Markus Marquart et al.: *Acta Cryst.*, B39, 480,

1983.

[10] Sielecki, A. R. and James, M. N. G.: *Proc. Symp. Refinement of Protein Structures*, P. 78, Daresbury Lab., Science and Engineering Research Council, U. K., 1981.

[11] Cutfield, J. F. et al.: *Structural Studies on Molecules of Biological Interest* (eds. Dodson, G. et al.) P. 527, Clarendon Press, Oxford, 1981.

[12] Bi Ru-chang et al.: *Biopolymers*, 23, 391, 1984.

[13] Sakabe, N. et al.: *See Ref. [11]*, P. 509, 1981.

[本文于1984年7月19日收到]

血卟啉光敏治癌的分子机理

纪 极 英

(中国科学院生物物理研究所, 北京)

本世纪初, 科学家们就发现了血卟啉对人和哺乳动物癌瘤的光敏治疗作用^[1]。近年来, 随着激光技术的发展, 利用血卟啉加激光诊治癌瘤, 在世界各国得到了广泛的应用。

通常用血卟啉的诊断方法是: 给患者静脉注射血卟啉, 二天后用蓝色激光照射可能的患癌部位, 渗入到癌组织中的血卟啉在蓝光的激发下, 可发出红色的荧光, 以此来诊断癌瘤的位置。治疗方法与诊断方法大体相同, 只须把照射光源改为红色激光即可。光照后, 癌瘤逐渐发黑、结痂, 然后脱落痊愈。

八十年代以来, 学者们认为, 血卟啉光敏诊治癌瘤具有安全, 简便, 诊断准确率高, 治疗效果良好, 对正常组织损伤少等优点, 是一种很有前途的诊治癌瘤方法。我国也组织了攻关组来协调国内各单位的此项研究。目前血卟啉光敏诊治癌瘤仍存在一些问题, 例如, 经光照治疗的癌瘤有一定的转移或复发率, 对内脏及深部癌瘤尚不能完全奏效等等^[2]。

为了进一步提高疗效, 推动临床研究向前发展, 近年来, 各国学者对血卟啉光敏治癌的分子机理, 作了大量深入细致的研究, 发表的论文达数百篇之多。本文仅就这方面的动向, 作一简介和评述。

有效成分

血卟啉是一种颇为复杂的混合物。确切地说, 这种生物制剂, 是具有众多组分的血卟啉衍生物(HPD)。为了弄清它的组分, 各国学者已经做了大量的工作。但是, 由于样品来源、实验

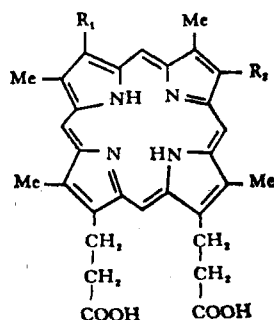


图1 九种血卟啉衍生物(HPD)的结构^[3]

1. $R_1=R_2=CH(OH)Me$ (HP)
2. $R_1=CH(OH)Me$ $R_2=CH=CH_2$ (HVD)
3. $R_1=CH=CH_2$ $R_2=CH(OH)Me$ (HVD)
4. $R_1=R_2=CH=CH_2$ (PP)
5. $R_1=CH(OAc)Me$ $R_2=CH(OAc)Me$
6. $R_1=CH(OH)Me$ $R_2=CH(OAc)Me$
7. $R_1=CH=CH_2$ $R_2=CH(OAc)Me$
8. $R_1=CH(OAc)Me$ $R_2=CH=CH_2$
9. $R_1=R_2=CH(OAc)Me$

Me—甲基; Ac—醋酸根; HP—血卟啉(此处HP系指HPD的一种组分;有时在文献中,HP也可泛指HPD); HVD—羟乙基乙烯基卟啉; PP—原卟啉; (2)和(3)、(5)和(6)、(7)和(8)分别为同分异构体

条件和测定方法的不同,得到的结果也各不相同。

通常,用高压液相色谱分离 HPD,可以得到十余个峰。如把某些峰的洗脱液再作一次色谱分析,还可以得到若干个次级峰。这样,从色谱分析来看,HPD 可能有近廿个组分。其中,已鉴定出结构的有九种。由图 1 可见,这九种 HPD 的差异仅在于 R^1 和 R^2 这二个基团的不同。其中,含量最多的三种依次为 HP(血卟啉)、HVD(羟乙基乙烯基卟啉)和 PP(原卟啉)。

在 HPD 中,哪些组分在光敏治癌过程中起主导作用?这是各国学者注视的焦点,发表的研究报告也很多,但至今仍然是众说纷纭,莫衷一是。大致有下列几种看法:

1. 从光照后 HPD 各组分的单线态氧和荧光量子产率来看,HP 最高,HVD 和 PP 次之。据此,有人推测 HP 可能是最有效的组分^[4]。

2. PP 是最有效的组分。Ito 等用快混合技术,观察 HPD 各组分对酵母细胞的光致毒性,发现毒性与组分的疏水性有关。PP 的疏水性高于 HP 和 HVD,因而被认为是最有效的组分^[5]。

3. 含醋酸根的组分最有效。其根据是从小鼠骨瘤的治疗效果来看,HP、HVD 和 PP 的疗效都很差,疗效较高的是图 1 中(5)一(9)各种含有醋酸根的组分。其中,含一个醋酸根的疗效尤高^[3]。

4. 未知组分。Moan 等观察到,有一种尚未鉴定出结构的组分,它的光敏效率比 HVD 高 4.5 倍,比 HP 高出 17 倍^[6]。Dougherty 最近也发现,有一种对光敏治癌起实效作用的未知组分^[7]。但是,两者所描述的未知组分是不一样的:前者可以用常规方法从色谱柱上洗脱下来;后者用常规方法无法洗脱,须用特种试剂洗脱处理。

总之,HPD 是一种有效的光敏治癌药物。关于其中的有效成分,至今尚无定论。而且,层析后得到的各种 HPD 的单一组分,有 50% 以上是不稳定的。这些不稳组分即使在室温下也

很容易变质。也许,这就是寻找 HPD 的有效成分,既令人神往,又很难捕捉的原因。

浓 集 机 理

癌细胞对 HPD 的亲合力比正常细胞大 10 倍。因此,HPD 在癌细胞中的浓度远大于正常细胞。而且,HPD 在癌细胞内的滞留时间也比较长。正因为如此,它才能起到光敏治癌作用。为什么 HPD 会在癌细胞中浓集?形成这种浓集分子基础是什么?

Bellnier 作了一个有趣的实验^[8]。他把癌细胞分别培养在有血清和无血清的营养液里,二者含有的 HPD 是等量的。结果发现,培养在无血清液体中的癌细胞内聚集的 HPD 反而更高。这是因为血清白蛋白能与 HPD 相结合。没有血清,也就没有竞争者,癌细胞里才能浓集更多的 HPD。奇怪的是,洗涤之后癌细胞内的 HPD 仍然很难逸出。对此,Henderson 作了进一步的实验^[9]。他认为,HPD 可能通过某种代谢途径被癌细胞捕获。而且,被捕获的 HPD 很难通过细胞膜逸出。这样,就形成了 HPD 在癌细胞内的浓集。

有人认为 HPD 的浓集与其疏水组分的多寡有关。HVD 和 PP 比 HP 多一、二个双键(图 1),它们的疏水性也就相应地大于 HP。实验表明,HVD 和 PP 在细胞内,尤其是在细胞膜中的浓度,要比 HP 大,它们的光敏作用也就优于 HP。由此可见,某种 HPD 的疏水组分越多,在癌细胞内聚集的浓度就越大,光敏作用也就越强。

各国研究者普遍注意到,溶液中的 HPD,在某个临界浓度之上会形成分子间的聚集态。这是由若干个 HPD 分子聚集起来的球形分子团。每个 HPD 分子的疏水基团朝内,亲水基团朝外,组成一种比较有序的球状聚集态结构^[10]。

最新研究表明,HPD 聚集态结构的基本单元,可能是由醚键或酯键连结起来的 $HP-HP$ 和 $HP-HVD$ 二聚体^[11]。然而,目前对 HPD 聚集态的结构、尺寸和形成条件,还缺乏更深入的

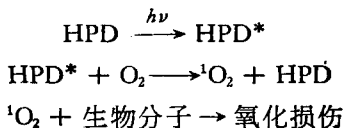
了解。显然,研究 HPD 聚集态的物理化学性质,对弄清 HPD 在细胞中滞留和浓集的分子机理,是非常重要的。

原 初 反 应

HPD 进入细胞后,在光照的一瞬间发生的化学反应,即为原初反应。显然它发生在生物学效应之前,这是弄清 HPD 光敏机制的一个关键问题。当前学者们普遍认为原初反应有二种机制:

1. 单线态氧 1O_2

HPD 受光能激发后,把它的能量交给了 O_2 ,使 O_2 变成了 1O_2 ,再由 1O_2 与癌细胞作用,引起进一步的生物学效应。生成 1O_2 的光动力学过程如下:

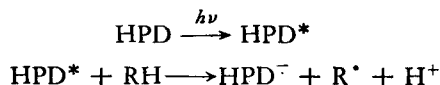


单线态氧具有强烈的氧化能力,能很快使癌细胞萎缩,细胞界限不清,发生空泡现象,直至崩溃死亡。这已为众多学者的工作所证实^[12]。

2. 自由基

这种机制是通过化学性质十分活泼的自由基,引起生物分子的一系列链锁反应,从而使癌细胞崩溃、瓦解和坏死。关于自由基的产生,有以下二种途径:

(1) 激发态 HPD 直接与生物分子作用



式中 RH 表示生物分子。这样就形成了 HPD 阴离子自由基和生物分子自由基。最近, Felix 用自旋捕捉法检测到了这些自由基^[13],从而证实了这种机制。

(2) 通过中介自由基攻击生物分子

在某些情况下,激发态 HPD 先把能量转移给氧和水,使它们形成自由基,再由这些中介自由基攻击生物分子。新近的实验已经证实,中介自由基包括超氧阴离子自由基 $O_2^{\cdot-}$ 、 $\cdot\text{OH}$ 自由基和水化电子 e_{aq}^- ^[14]。中介自由基的寿命很短,

要有高超的实验技术才能检测到它们。

最近的研究表明,单线态氧和自由基这二种原初反应机制,究竟哪一种更重要,取决于 HPD 的浓度和聚集程度。HPD 浓度较低,以单体存在时,主要通过单线态氧来起光敏作用。反之,HPD 浓度较高,在溶液中以聚集态存在时,它们实际上处于一种缺氧的微环境中。这时,主要通过自由基来起光敏作用。当然,在一种机制起主导作用时,也不能排除另一种机制的作用。

光 敏 靶 子

HPD 进入机体后,作用的靶子是什么?学者们的探讨归纳起来,有下列几种:

1. 生物膜

总的说来,现在倾向于认为,生物膜是 HPD 引起光敏损伤的重要靶子。文献中大量报道了细胞膜和各种细胞器膜(如线粒体、溶酶体、核膜和内质网等)并入 HPD 后的光致损伤。

Dougherty 等观察到,HPD 引起的膜损伤,会导致细胞的死亡^[15]。他们以中国苍鼠卵巢细胞(CHO)为实验材料,在培养液中加入 HPD,结果发现,光照时 HPD 引起细胞膜破裂,而且,CHO 细胞的死亡率与膜破裂有直接的关系。

更多的工作是用红血球膜作的。红血球膜取材方便,结构比较清楚,以它为材料来研究 HPD 的光敏作用是很有意义的。Girotti 发现,HPD 使膜的不饱和脂肪酸发生光致过氧化作用,从而导致膜脂双层的破裂。Stereninch 观察到,HPD 引起膜蛋白分子内和分子间的交联。Dubbelman 也报道,HPD 的光敏作用,引起了膜蛋白和酶,与细胞内某些组分的反应。

此外,以人工膜为材料的研究工作,也证实了上述看法。

2. DNA

DNA 作为 HPD 光敏治癌作用的靶分子,已经引起了学者们的注意。Evensen 用含有 HPD 的培养基养殖癌细胞,光照后观察到细胞中染色体的断裂和畸变。Gomer 注意到,HPD

加光照,引起 CHO 细胞染色体的突变和移位。他把 HPD 的光敏作用,与紫外线和 X 射线的效应作了比较,认为这三种因素对 DNA 的损伤有类似之处。Dubbelman 进一步观察到,HPD 的光敏作用,引起了 DNA 与蛋白质或酶的交联^[16]。

总之,目前已经认识到,DNA 是 HPD 光敏作用不可忽视的靶分子。

3. 其他靶分子

除了生物膜和 DNA 外,有些学者认为,蛋白质、抗体、抗原和溶酶体,也是 HPD 光敏作用的靶子^[17]。他们根据各自的实验,对光敏机制作了探讨。

细胞内微量金属离子的作用,也引起了学者们的研究兴趣。实验表明, Fe^{3+} 、 Mg^{2+} 和 Zn^{2+} 等金属离子,有促进光敏损伤的作用。

此外,各临床单位和研究机构都很重视光照系统的改善和光辐射剂量学的研究。显然,无论是为提高治疗效果,还是弄清 HPD 光敏机制,改善光源并准确地标定光照剂量,都是十分必要的。

参 考 文 献

[1] Hausmann, W.: *Biochem. Z.*, **30**, 276, 1911.

- [2] Kessel, D. and Dougherty, T. J. (Eds.): *Porphyrin Photosensitization*, Plenum Press, New York, 1983.
- [3] Bonnet, R. et al.: *ibid.*, p. 241.
- [4] Emiliani, C. et al.: *Photochem. Photobiol.*, **37**, 487, 1983.
- [5] Ito, T.: *Studia Biophys.* **36**, 297, 1983.
- [6] Moan, J. et al.: *Porphyrin Photosensitization* (Eds. Kessel, D. and Dougherty, T. J.), pp. 165, Plenum Press, New York, 1983.
- [7] Dougherty T. J.: *Photochem. Photobiol.*, **38**, 377, 1983.
- [8] Bellnier, D. A. et al.: *ibid.*, **36**, 43, 1982.
- [9] Henderson, B. W. et al.: *Adv. Exp. Med. Biol.*, **160**, 129, 1983.
- [10] Cadby, P. A. et al.: *ibid.*, **160**, 251, 1983.
- [11] Moan, J. et al.: *ibid.*, **160**, 165, 1983.
- [12] Pryor, W. A.: *Free Radicals in Biology*, Vol. 2, pp. 85, Academic Press, New York, 1976.
- [13] Felix, C. C. et al.: *Photochem. Photobiol.*, **37**, 141, 1983.
- [14] Rossi, E. et al.: *Photochem. Photobiol.*, **34**, 447, 1981.
- [15] Dougherty, T. J. et al.: *Cancer, Principles and Practices of Oncology* (Ed. V. DeVita), pp. 1836, Lippincott, Philadelphia, 1982.
- [16] Dubbelman, T. M. et al.: *Biochim. Biophys. Acta*, **719**, 47, 1982.
- [17] Mew, D. et al.: *J. Immunol.*, **130**, 1473, 1983.

[本文于 1984 年 4 月 27 日收到]

嗜盐菌紫膜的质子泵功能

李 庆 国

(复旦大学生物系, 上海)

嗜盐菌生活在 NaCl 含量接近饱和的自然环境中。在缺氧和充分光照条件下,它的细胞膜能长出紫色的膜斑,称为紫膜,镶嵌在整个细胞膜上。在合适条件下,紫膜面积可占整个细胞膜表面的一半。紫膜上仅含有一种蛋白,叫细菌视紫质(bR, bacteriorhodopsin)。bR 上的色素团——视黄醛(与哺乳动物视色素同一种色素团)通过质子化的席夫碱基与蛋白中赖氨酸的 ϵ -氨基相连。bR 分子在膜上排列极其

有序,三个分子以三重轴对称形成三聚体,并形成标准的六边形二维晶格。bR 分子是一种跨膜蛋白,每一个分子形成 7 个垂直于膜平面的 α 螺旋,其 N 端在膜外侧,而 C 端在细胞质内侧。bR 有特征吸收光谱;光照时,它的吸收最大值发生一系列变化,称为光循环。在光循环过程中,细胞在紫膜外表面一侧泵出质子,并在细胞膜内侧吸收质子。这样产生的质子跨膜电位能直接促进细胞的一些代谢过程,特别