

肿瘤防治研究

Cancer Research on Prevention and Treatment

海发菜提取物脱镁叶绿素酸盐A对六种癌细胞的光毒性

黄细香, 蔡晓璇, 王天吉, 黄妙恩, 李立, 吕应年

引用本文:

黄细香,蔡晓璇,王天吉,黄妙恩,李立,吕应年. 海发菜提取物脱镁叶绿素酸盐A对六种癌细胞的光毒性[J]. 肿瘤防治研究, 2022, 49(8): 780–785.

HUANG Xixiang, CAI Xiaoxuan, WANG Tianji, HUANG Miaoen, LI Li, LYU Yingnian. Phototoxicity of Pheophorbide A Extracted from Gracilaria Lemaneiformis on Six Kinds of Cancer Cells[J]. *Zhong Liu Fang Zhi Yan Jiu*, 2022, 49(8): 780–785.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.3971/j.issn.1000-8578.2022.22.0172>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

携带人端粒酶反转录酶启动子的溶瘤腺病毒RCA-TERT-Ad35对乳腺癌干细胞的靶向作用

Oncolytic Adenovirus RCA-TERT-Ad35 Carrying Human Telomerase Reverse Transcriptase Promoter Targets Breast Cancer Stem Cells
肿瘤防治研究. 2019, 46(11): 971–976 <https://doi.org/10.3971/j.issn.1000-8578.2019.18.1987>

丹参酮 II A对乳腺癌细胞阿霉素化疗敏感度的影响及相关机制

Tanshinone II A Enhances Chemosensitivity of Breast Cancer Cells to Doxorubicin and Related Mechanism
肿瘤防治研究. 2019, 46(07): 594–599 <https://doi.org/10.3971/j.issn.1000-8578.2019.19.0098>

SCD1抑制剂对乳腺癌细胞增殖凋亡的影响及其机制

Effect of SCD1 Inhibitor on Proliferation and Apoptosis of Breast Cancer Cells and Related Mechanism
肿瘤防治研究. 2018, 45(12): 943–948 <https://doi.org/10.3971/j.issn.1000-8578.2018.18.0707>

阿帕替尼逆转P-gp转运体介导的乳腺癌化疗多药耐药性的作用及其机制

Reversal Effect of Apatinib on P-gp-mediated Multidrug Resistance of Human Breast Cancer and Its Mechanisms
肿瘤防治研究. 2018, 45(04): 210–214 <https://doi.org/10.3971/j.issn.1000-8578.2018.17.1112>

SNAI2基因对低转移潜能乳腺癌细胞恶性特征的影响及机制

Effects and Regulatory Mechanisms of SNAI2 on Malignant Hallmarks of Non-Invasive Breast Tumor Cells
肿瘤防治研究. 2018, 45(08): 528–532 <https://doi.org/10.3971/j.issn.1000-8578.2018.17.1408>



杂志官网



微信公众号

海发菜提取物脱镁叶绿素酸盐A对六种癌细胞的毒光性

黄细香^{1,2}, 蔡晓璇^{1,3}, 王天吉^{1,2}, 黄妙恩^{1,3}, 李立^{1,2}, 吕应年^{1,2,3}

Phototoxicity of Pheophorbide A Extracted from Gracilaria Lemaneiformis on Six Kinds of Cancer Cells

HUANG Xixiang^{1,2}, CAI Xiaoxuan^{1,3}, WANG Tianji^{1,2}, HUANG Miao'en^{1,3}, LI Li^{1,2}, LYU Yingnian^{1,2,3}

1. School of Pharmacy, Guangdong Medical University, Zhanjiang 524023, China;

2. Guangdong Key Laboratory for Research and Development of Natural Drugs, Guangdong Medical University, Zhanjiang 524023, China; 3. Southern Marine Science and Engineering Guangdong Laboratory, Zhanjiang 524023, China

Corresponding Author: LYU Yingnian, E-mail: lyn7591@hotmail.com

Abstract: Objective To investigate the photodynamic antitumor activity and chemical characteristics of pheophorbide A (PPBa) *in vitro*. **Methods** Breast cancer cells (MCF-7), lung cancer cells (A549), cervical cancer cells (HeLa), and three kinds of hepatoma cells (HepG2, hep3B and sk-Hep1) were planted in 96-well plates. The effects of light and dark toxicity, light intensity, and drug concentration on the phototoxicity of PPBa were investigated by MTT, and the uptake of PPBa was observed by Hoechst staining under a confocal microscope. The production of singlet oxygen was observed by flow cytometry and confocal microscopy with the reactive oxygen species detection kit. The photobleaching of PPBa was investigated by measuring the absorbance by a microplate reader according to the luminescence characteristics of PPBa. **Results** PPBa showed strong phototoxicity and low dark toxicity to six kinds of cancer cells, and IC_{50} values to cancer cells were as follows: MCF-7: 1.033 $\mu\text{mol/L}$, A549: 1.911 $\mu\text{mol/L}$, HeLa: 2.319 $\mu\text{mol/L}$, HepG2: 2.015 $\mu\text{mol/L}$, Hep3B: 2.089 $\mu\text{mol/L}$, sk-Hep1: 2.467 $\mu\text{mol/L}$. The main uptake site of PPBa was the cytoplasm. The production of singlet oxygen was strongly dependent on the administration concentration, and photobleaching was very low. **Conclusion** For the six kinds of cancer cells, PPBa has the highest phototoxicity to breast cancer cells (MCF-7), with excellent properties and ideal photosensitizer characteristics.

Key words: Pheophorbide A; Photodynamic therapy; Anti-tumor effect; Phototoxicity

Funding: Fund of Southern Marine Science and Engineering Guangdong Laboratory (No. ZJW-2019-07); Science and Technology Program of Guangdong Province (No. 2019B090905011)

Competing interests: The authors declare that they have no competing interests.

摘要: 目的 探讨脱镁叶绿素酸盐A (PPBa) 的体外光动力抗肿瘤活性及化学特性。**方法** 将乳腺癌细胞 (MCF-7)、肺癌细胞 (A549)、宫颈癌细胞 (HeLa) 和3种肝癌细胞 (HepG2、hep3B、sk-Hep1) 接种于96孔板中, MTT法观察PPBa的光毒性和暗毒性大小, 光照强度和药物浓度对PPBa光毒性的影响, Hoechst染色在共聚焦显微镜观察PPBa的摄取, 活性氧检测试剂盒通过流式检测和共聚焦显微镜下观察单线态氧的产生, 根据PPBa自身的发光特性通过酶标仪测吸光度观察PPBa的光漂性。**结果** PPBa对6种癌细胞都有

极强的光毒性和极低的暗毒性, PPBa的主要摄取部位是细胞质, 单线态氧的产生与给药浓度具有强依赖性, 光漂性极低。**结论** 脱镁叶绿素酸盐A对乳腺癌细胞 (MCF-7) 的光毒性最强, 各种性质优良, 具有理想的光敏剂特性。

关键词: 脱镁叶绿素酸盐A; 光动力疗法; 抗肿瘤; 光毒性

中图分类号: R283.6; R979.1

开放科学(资源服务)

标识码(OSID):



收稿日期: 2022-02-28; 修回日期: 2022-05-18

基金项目: 南海海洋大健康产业关键技术体系研发与示范项目 (ZJW-2019-07); 广东省科技计划项目 (2019B090905011)

作者单位: 1. 524023 湛江, 广东医科大学药学院; 2. 524023 湛江, 广东医科大学广东天然药物研究与开发重点实验室; 3. 524023 湛江, 南方海洋科学与工程实验室

通信作者: 吕应年 (1975-), 男, 博士, 副研究员, 主要从事天然药物新制剂与新剂型的研究, E-mail: lyn7591@hotmail.com

作者简介: 黄细香 (1994-), 女, 硕士在读, 主要从事海洋活性化合物抗肿瘤剂型研究

0 引言

癌症是严重危害人民健康的一种疾病,传统治疗方式有手术、放疗及化疗,随着医学发展,靶向与内分泌治疗取得了良好效果^[1]。光动力治疗(photodynamic therapy, PDT)是一种新兴非侵入性治疗方式,在肿瘤辅助治疗中发挥重要作用^[2]。PDT是将光敏剂聚集在肿瘤部位,用特定波长进行照射产生大量多线态氧,从而对肿瘤细胞产生杀伤作用^[3]。光敏剂是光动力治疗不可缺少的关键因素,脱镁叶绿素酸盐A (pheophorbide a, PPBa)是第二代光敏剂,在光动力抗肿瘤治疗中引起了广泛关注。PPBa是一种叶绿素的降解产物,在植物光合作用和光转化过程中起着至关重要的作用^[4]。PPBa具有抗癌^[5]、抗病毒^[6]、抗炎^[7]、抗氧化^[8]、免疫刺激和抗寄生虫等活性^[9]。有研究报道,PPBa毒性低、单线态氧产率高并且在650~700 nm有强吸收,使PPBa有较强的组织穿透力,能更好发挥光动力治疗效果^[10]。由于PPBa水溶性差、肿瘤靶向性不足,在产生治疗作用的同时也会对正常组织产生不良反应;为了克服PPBa的不足,研究者对PPBa进行剂型改造。已有研究表明,将PPBa载入纳米材料中形成纳米粒,并在纳米粒表面进行靶向修饰,能有效改善PPBa的溶解性和靶向性,使PPBa高浓度聚集在肿瘤部位,从而得到理想疗效,并降低不良反应^[11-15]。本课题组前期研究从一种大型海洋红藻海发菜中提取并纯化PPBa^[16],但尚未进行抗肿瘤药理活性研究。

为提高海藻资源的利用价值,探索新型药用化合物,本实验将从海发菜中提取鉴定的PPBa进行抗肿瘤活性的筛选,研究PPBa对不同癌细胞的杀伤力和使用安全性、光照强度和给药浓度对其活性的影响、药物在细胞中的摄取部位、单线态氧产生情况及光漂性大小,为后期的药物活性研究及剂型改造提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料

实验细胞均购自上海ATCC细胞库,PBS、DMEM培养基、胰蛋白酶、血清(批号分别为8121049、8121412、20210602、2176404)均购自上海慧颖生物科技有限公司;活性氧检测试剂盒、4%多聚甲醛固定液MTT、Hoechst33342染色液(批号分别为061521210827、P0099、060321210713)均购自上海自碧云天生物技术有限公司。

1.2 方法

1.2.1 高效液相确定照射波长

精密称取5 mg

PPBa,置于50 ml容量瓶中,用甲醇溶解并定容,取相应体积PPBa甲醇溶液将其配制成80 $\mu\text{g/ml}$ 的PPBa溶液,用高效液相色谱仪进行全波长扫描。

1.2.2 MTT法检测PPBa对癌细胞的光毒性与暗毒性 将乳腺癌细胞(MCF-7)、肺癌细胞(A549)、宫颈癌细胞(HeLa)和3种肝癌细胞(HepG2、hep3B、sk-Hep1)接种于96孔板中,每种细胞分为光反应组和暗反应组,5%CO₂、37℃培养箱培养过夜,加入浓度梯度药物(0、0.313、0.625、1.250、2.500、5.000、10.000 $\mu\text{mol/L}$)PPBa处理细胞,继续培养4 h,光反应组给予3 J/cm²波段为670~680 nm的红光进行照射,暗反应组不进行光照处理,继续培养24 h,MTT法检测细胞活性。

1.2.3 光MTT法检测照强度对药物光毒性的影响 将MCF-7细胞接种于96孔板中,8 000个/孔,设6个复孔,于37℃、5%CO₂培养箱中培养24 h,加入浓度为10 $\mu\text{mol/L}$ 的PPBa,培养4 h,670~680 nm红外光照射0、1.5、3、6、12 J/cm²,继续培养24 h,加入MTT,每孔20 μl ,培养4 h,吸去培养基,加入DMSO溶解,每孔150 μl ,490 nm处测吸光度值。

1.2.4 MTT法检测药物浓度对光毒性的影响 将MCF-7细胞接种于96孔板中,8 000个/孔,设6个复孔,于37℃、5%CO₂培养箱中培养24 h,加入浓度梯度为0、1.250、2.500、5.000、10.000、20.000、40.000 $\mu\text{mol/L}$ 的PPBa,培养4 h,670~680 nm红外光照射10 min,继续培养24 h,加入MTT,每孔20 μl ,培养4 h,吸去培养基,加入DMSO溶解,每孔150 μl ,490 nm处测吸光度值。

1.2.5 Hoechst染色观察PPBa的体外摄取 PPBa在细胞中的摄取主要通过Hoechst细胞核染色剂对细胞进行染色,并且利用PPBa自身荧光进行摄取部位的观察:将MCF-7细胞接种于6孔板中,每孔 5×10^5 个,培养箱培养过夜,加入PPBa,继续培养4 h,吸去培养基,用PBS洗三遍,洗掉未进入细胞的药物,用4%的多聚甲醛溶液固定30 min,用PBS洗三遍,加入Hoechst染色液,每孔1 ml,染色20 min,用PBS洗三遍,每次3~5 min,用共聚焦显微镜观察细胞摄取情况。

1.2.6 流式检测单线态氧(ROS)的产生 ROS的产生主要通过荧光共聚焦显微镜进行拍摄观察和流式进行定量检测,将MCF-7细胞接种于6孔板中,每孔 7×10^5 个,培养箱培养过夜,加入PPBa,继续培养4 h,用活性氧检测试剂盒的染液孵育20 min,给予3 J/cm² 670~680 nm红外光照射,继续培养1 h,进行样品处理之后上机观察或测试。

1.2.7 NAC单线态氧抑制剂对PPBa光毒性的影

响 MTT法观察N-乙酰半胱氨酸(NAC)单线态氧抑制剂对PPBa光毒性的影响,将MCF-7细胞接种于96孔板中,每孔 5×10^3 个,实验组分别是PPBa单独处理组和PPBa与NAC(PPBa+NAC)共同处理组,培养箱培养过夜,加入药物,继续培养4 h,给予670~680 nm红外光照射,继续培养24 h,加入MTT,每孔20 μ l,培养4 h,吸去培养基,加入DMSO溶解,每孔150 μ l,490 nm处测吸光度值。

1.2.8 吸光度法观察PPBa的光稳定性 光漂白性是指光敏剂药物在光照射下发生分解而失去活性。光漂白性高说明在光作用下光敏剂迅速分解而失去作用,因此理想的光敏剂一般要求具有极低的光漂白性。本实验测定PPBa在常用浓度范围内的光漂白性,取高、低两个浓度(20 μ g/ml、2.5 μ g/ml)用酶标仪在660 nm处测其吸光度值,每隔10 min检测一次,测定50 min。

1.3 统计学方法

本研究采用GraphPad软件进行单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 照射光波长的确定

实验结果表明,PPBa在350~400 nm和650~680 nm两个波段有强吸收,并且在350~400 nm波段的吸收较强,见图1。但由于350~400 nm波段属于紫外光区,紫外光本身对细胞有杀伤抑制作用,将干扰实验药物对细胞存活率的影响,而650~680 nm处于可见光区,对细胞没有杀伤抑制作用,因此本研究选择650~680 nm波段的光进行实验。

2.2 PPBa对癌细胞的光毒性与暗毒性

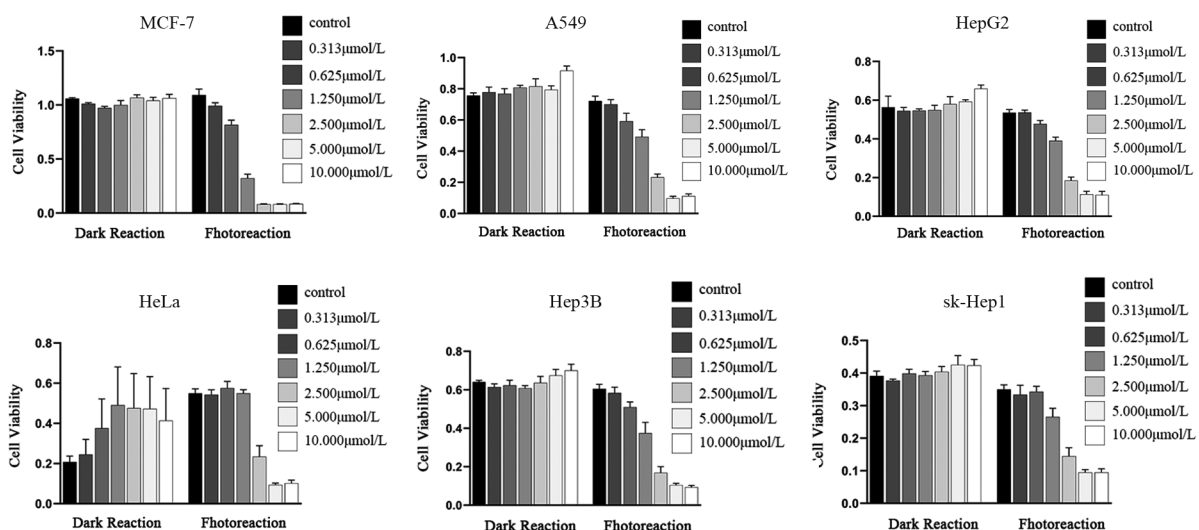


图2 PPBa对不同癌细胞的暗毒性和光毒性

Figure 2 Dark toxicity and phototoxicity of PPBA to different cancer cells

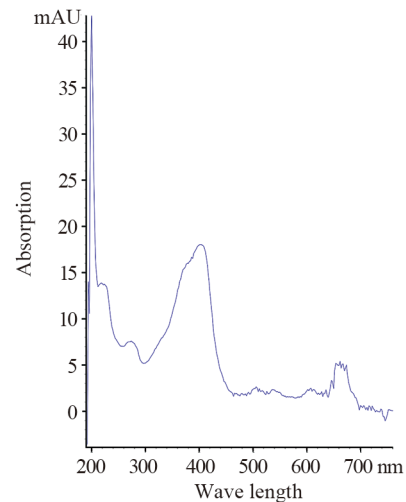


图1 PPBa的高效液相全波长扫描图

Figure 1 Full wavelength scanning diagram of PPBA

光反应组的6组细胞在药物浓度达到2.500 μ mol/L时存活率均低于50%,各组细胞的 IC_{50} 分别为MCF-7: 1.033 μ mol/L、A549: 1.911 μ mol/L、HeLa: 2.319 μ mol/L、HepG2: 2.015 μ mol/L、Hep3B: 2.089 μ mol/L、sk-Hep1: 2.467 μ mol/L,而暗反应的6组细胞存活率都很高,甚至有些高浓度还具有促增殖作用。PPBa对各种癌细胞都具有很强的光毒性杀伤力,其中对乳腺癌细胞杀伤力最强,而对各种细胞极低暗毒性则保证了PPBa在治疗过程中良好的安全性。相对其他癌细胞而言,PPBa对MCF-7的光毒性相对较强,因此后续实验在MCF-7细胞上进行,见图2。

2.3 光照强度对药物光毒性的影响

在无光照时,PPBa没有毒性,甚至在5.000、10.000 μ mol/L两个高浓度出现了明显的促增殖作用,细胞存活率升高;在有光照时,PPBa都表现

出光毒性,细胞存活率降低;且在同一光照强度下,光毒性随药物浓度增加而增加。当光照强度在 3 J/cm^2 及以上时,药物在 2.500 、 5.000 、 $10.000\text{ }\mu\text{mol/L}$ 的给药浓度都有很大的光毒性,细胞的存活率小于 50% 。当光照强度在 12 J/cm^2 时, $1.250\text{ }\mu\text{mol/L}$ 与后面三个给药浓度对癌细胞光毒性杀伤力相当,细胞抑制率都达到了 85% 左右,分别为 $1.250\text{ }\mu\text{mol/L}$: 84.640% 、 $2.500\text{ }\mu\text{mol/L}$: 86.570% 、 $5.000\text{ }\mu\text{mol/L}$: 85.960% 、 $10.000\text{ }\mu\text{mol/L}$: 84.780% 。当光照强度 $<12\text{ J/cm}^2$ 的另外三个光照强度在给药浓度为 $1.250\text{ }\mu\text{mol/L}$ 时细胞抑制率分别为 1.5 J/cm^2 : 29.639% 、 3 J/cm^2 : 49.890% 、 6 J/cm^2 : 71.050% ,而 $0.313\text{ }\mu\text{mol/L}$ 、 $0.625\text{ }\mu\text{mol/L}$ 在所选光照强度下没有明显变化。PPBa需达到一定药物浓度才能产生较强的光毒性,并且可通过控制光照强度最大地发挥药物的光毒性。因此在进行光动力抗肿瘤研究时,探索并确定适合光敏剂发挥药效的光照强度,对发挥光敏剂的理想效果尤其关键,见图3。

2.4 药物浓度对光毒性的影响

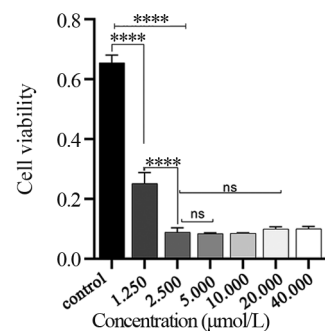
当浓度在 $2.500\text{ }\mu\text{mol/L}$ 以下时PPBa的光毒性随药物的浓度增加而增大,具有浓度依赖性,当药物浓度达到 $2.500\text{ }\mu\text{mol/L}$ 及以上时,PPBa的光毒性不再随药物的浓度增加而变化,而是趋于稳定,见图4。

2.5 PPBa的体外摄取

Hoechst染色的细胞核呈蓝色,PPBa在激光激发下呈现紫色,从三张图结合分析可以看出,PPBa的主要摄取部位是在细胞质中,因此在后期的剂型改造中可以通过对剂型进行靶向癌细胞细胞质的表面修饰增强药物的靶向能力,从而提高药物在目标部位的积累量,见图5。

2.6 单线态氧 (ROS) 产生情况

根据PPBa对肿瘤细胞的光毒性实验结果可以看出, 1.250 、 2.500 和 $5.000\text{ }\mu\text{mol/L}$ 这三个浓度对肿瘤细胞的杀伤作用的梯度性比较强,因此,流式细胞实验选择这三种浓度进行。图6A为荧光共聚焦显微镜拍摄的细胞荧光图,随着药物浓度的



****: $P<0.0001$; ns: no significance.

图4 药物浓度对PPBa光毒性的影响

Figure 4 Relationship between phototoxicity of PPBa and drug concentration

增加,荧光强度增强,说明单线态氧的产生量在增加。实验结果表明单线态氧的产生量与药物浓度成正相关。图6B是细胞流式的结果,FITC的阳性率随着药物浓度的增加显著上升,分别为Control: 0.120% 、 $1.250\text{ }\mu\text{mol/L}$: 1.660% 、 $2.500\text{ }\mu\text{mol/L}$: 22.200% 、 $5.000\text{ }\mu\text{mol/L}$: 40.100% 。这一结果表明同一光照强度下,随着药物浓度的增加,产生的ROS的量也在增加,而光敏剂对肿瘤细胞的杀伤作用就是由于在光照下产生大量的ROS,这与2.2药物对肿瘤细胞的光毒性随药物浓度增加而增强结果相符。因此根据这一结果,可以用于评价药物剂型改造对活性氧产生的影响,从而评价剂型改造对药物治疗作用的影响。

2.7 NAC单线态氧抑制剂对PPBa光毒性的影响

结果表明,单独用PPBa对细胞进行处理时,PPBa对细胞产生明显的光毒性,而PPBa与单线态氧抑制剂NAC联合处理细胞时,PPBa没有对细胞产生光毒性,反而表现出一定的促增殖作用,见图7。说明PPBa的光毒性主要是PPBa在光照下生成大量ROS产生的。

2.8 PPBa的光漂白性

结果表明,PPBa在常用浓度范围内(低浓度)的光漂白性很低,在 50 min 内日光灯下都小于 10% ,可见PPBa是一种理想的光敏剂,可用于光动力抗肿瘤治疗的后续研究,见图8。

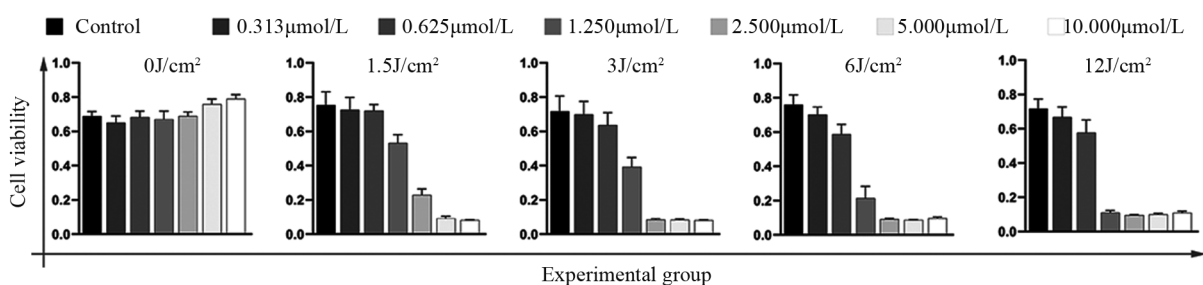


图3 PPBa光毒性与光照强度的关系图

Figure 3 Relationship between phototoxicity of PPBa and light intensity

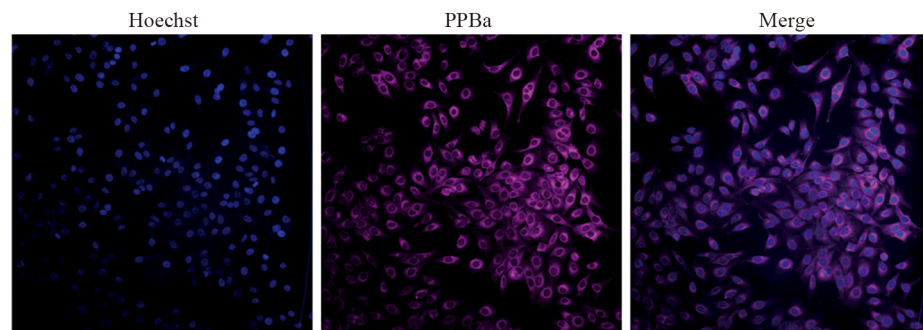


图5 PPBa细胞摄取
Figure 5 PPBa cell uptake diagram

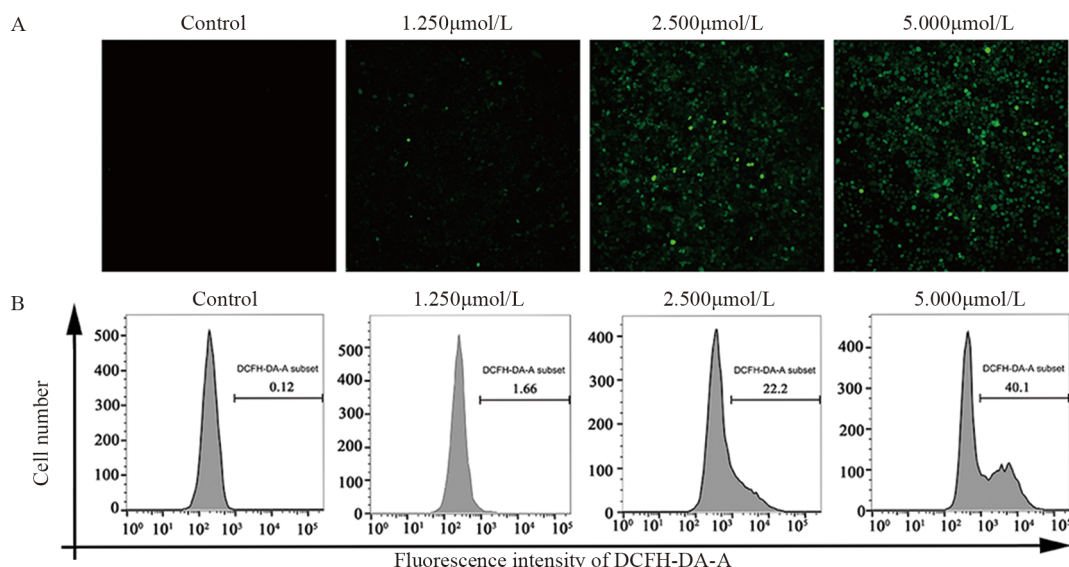
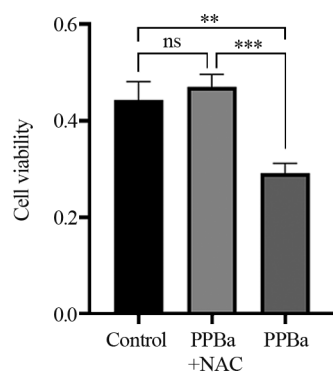


图6 单线态氧(ROS)的产生情况: 荧光共聚焦图(A)和细胞流式图(B)

Figure 6 ROS production diagram of PPBa: fluorescence confocal diagram(A) and cell flow cytometry diagram(B)



: $P < 0.01$; *: $P < 0.001$; ns: no significance; NAC: n-acetyl cysteine.

图7 NAC对PPBa光毒性的影响

Figure 7 Effect of NAC on phototoxicity of PPBa

3 讨论

光毒性和暗毒性是评价光动力治疗效果的两个重要指标, 光毒性主要评价的是在适当波长光的激发下对肿瘤组织杀伤力的大小, 而暗毒性大小则评价在没有进行光处理时药物对细胞的影响, 主要考察药物在用于治疗时的安全性^[17]。本研究结果显示, 各种癌细胞加入PPBa处理后, 具有很强的光毒性, 而暗毒性都极低, 相反有些浓度还具有促增殖作用。

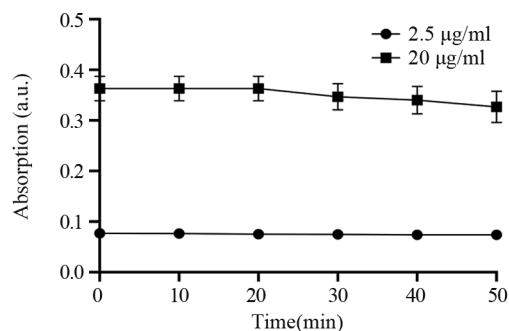


图8 PPBa在660nm处吸光度与时间的关系

Figure 8 Relationship between absorbance of PPBa at 660 nm and time

光动力疗法有三个必不可少的要素: 光敏剂、氧气和光, 如何将这三者进行合理的使用, 对发挥出理想的光动力效果十分重要^[18]。本研究显示, PPBa的光照强度和给药浓度对PPBa的光毒性都有不同程度的影响, 当PPBa的给药浓度达到一定量时, 在规范范围内加强光照强度可以增强药物的光毒性杀伤力得到更好的治疗效果; PPBa在所选浓度范围内暗毒性都极低, 光毒性则在PPBa浓度 $< 2.5 \mu\text{mol/L}$ 时具有显著的浓度依赖性, 当浓度 $> 2.5 \mu\text{mol/L}$ 时光毒性

趋于平稳,不再随浓度增加而产生显著的变化。

药物能否进入细胞是药物发生疗效的重要影响因素,如果一个药物不能有效被细胞摄取,则不能很好发挥药物原有的疗效,据药物摄取部位不同可以对药物进行相应的改造,使其更好地被细胞摄取,从而发挥更好的疗效^[19]。研究表明,PPBa发挥光动力治疗效果是通过PPBa在特定波段的光照射产生单线态氧对细胞产生强大的杀伤作用来杀灭肿瘤细胞^[20]。光漂性是光敏剂的一个特性,一个理想光敏剂应该具有极低的光漂性,光漂性低说明具有良好的稳定性。本研究结果显示,PPBa的光漂性很低,在50 min内仅仅光漂了10%左右,具有较强的抗光漂能力。

综上所述,PPBa具备作为光敏剂的优良特性,在光动力抗肿瘤方面有很大的潜力,本研究只是初步对PPBa的体外抗肿瘤活性做了简单的探索,PPBa产生作用的机制十分复杂,需要进一步的实验探索和验证。后续实验中,本课题组将对PPBa进行剂型改造,并在本研究基础上考察剂型改造对PPBa光毒性暗毒性、细胞内摄取、单线态氧的产生及光漂白性的影响。

参考文献:

- [1] 王志高,方祁琪,高飞,等. 肿瘤整合治疗中免疫联合治疗的机制与策略[J]. 肿瘤防治研究, 2020, 47(11): 811-816. [Wang ZG, Fang QQ, Gao F, *et al.* Mechanism and Strategy of Combination Immunotherapy in Integrated Tumor Therapy[J]. Zhong Liu Fang Zhi Yan Jiu, 2020, 47(11): 811-816.]
- [2] 元文霞,王胜兰,杨桁,等. 基于乳腺癌化疗-光动力联合治疗的负载紫杉醇白蛋白纳米给药系统的制备及其体外评价[J]. 中草药, 2022, 5(34): 993-1003. [Qi WX, Wang SL, Yang H, *et al.* Preparation and in vitro evaluation of human serum albumin nano-drug delivery system loaded with paclitaxel for chemophotodynamic combined therapy of breast cancer[J]. Zhong Cao Yao, 2022, 53(4): 993-1003.]
- [3] 何普毅,李雪梅,王云鹏,等. 光动力联合治疗在不可切除肝外胆管癌中的应用进展[J]. 肿瘤防治研究, 2021, 48(9): 893-897. [He PY, Li XM, Wang YP, *et al.* Advances in Application of PDT Combined with Multiple Therapies on Unresectable Extrahepatic Cholangiocarcinoma[J]. Zhong Liu Fang Zhi Yan Jiu, 2021, 48(9): 893-897.]
- [4] Yang J, Zhang WB, Lin NL, *et al.* Key factors affecting photoactivated fungicidal activity of sodium pheophorbide a against Pestalotiopsis neglecta[J]. Pestic Biochem Physiol, 2020, 167: 104584.
- [5] Aksel M, Bozkurt-Girit O, Bilgin MD. Pheophorbide a-mediated Sonodynamic, Photodynamic and Sonophotodynamic Therapies Against Prostate Cancer[J]. Photodiagnosis Photodyn Ther, 2020, 31: 101909.
- [6] Jimenez-Aleman GH, CastroV, Longdaitsbehere A, *et al.* SARS-CoV-2 Fears Green: The Chlorophyll Catabolite Pheophorbide A Is a Potent Antiviral[J]. Pharmaceuticals(Basel), 2021, 14(10): 1048.
- [7] Qiu S, Khan SI, Wang M, *et al.* Chemometrics-Assisted Identification of Anti-Inflammatory Compounds from the Green Alga Klebsormidium flaccidum var. Zivo[J]. Molecules, 2020, 25(5): 1048.
- [8] Kandagatla SK, Uhl RT, Graf TN, *et al.* Pheophorbide Derivatives Isolated from Açai Berries (Euterpe oleracea) Activate an Antioxidant Response Element *in vitro*[J]. Nat Prod Commun, 2019, 14(6): 1934578X1985244.
- [9] Saide A, Lauritano C, Lanora A, *et al.* Pheophorbide a: State of the Art[J]. Mar Drugs, 2020, 18(5): 257.
- [10] Rapozzi V, Miculan M, Xodo LE. Evidence that photoactivated pheophorbide a causes in human cancer cells a photodynamic effect involving lipid peroxidation[J]. Cancer Biol Ther, 2009, 8(14): 1318-1327.
- [11] Cai H, Xiang Y, Zeng Y, *et al.* Cathepsin B-responsive and gadolinium-labeled branched glycopolymer-PTX conjugate-derived nanotheranostics for cancer treatment[J]. Acta Pharm Sin B, 2020, 11(2): 544-559.
- [12] Hu X, Hou B, Xu Z, *et al.* Supramolecular Prodrug Nanovectors for Active Tumor Targeting and Combination Immunotherapy of Colorectal Cancer[J]. Adv Sci(Weinh), 2020, 7(8): 1903332.
- [13] Moret F, Menilli L, Battan M, *et al.* Pheophorbide A and Paclitaxel Bioresponsive Nanoparticles as Double-Punch Platform for Cancer Therapy[J]. Pharmaceuticals, 2021, 13(8): 1130.
- [14] Son J, Yang SM, Yi G, *et al.* Folate-modified PLGA nanoparticles for tumor-targeted delivery of pheophorbide a *in vivo*[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2018, 498(3): 523-528.
- [15] Bouramtane S, Bretin L, Pinon A, *et al.* Porphyrin-xylan-coated silica nanoparticles for anticancer photodynamic therapy. Acetyl-xylan-pheophorbide-a[J]. Carbohydr Polym, 2021, 213: 168-175.
- [16] Yuan SL, Duan ZH, Lu YN, *et al.* Optimization of decolorization process in agar production from Gracilaria lemaneiformis and evaluation of antioxidant activities of the extract rich in natural pigments[J]. 3 Biotech, 2018, 8(1): 8.
- [17] Kudina NV, Berezov TT. Photodynamic therapy: Search for ideal photosensitizer[J]. Biomed Khim, 2009, 55(5): 558-569.
- [18] Hu JJ, Lei Q, Zhang XZ. Recent advances in photodynamic therapy for enhanced cancer photodynamic therapy[J]. Prog Mater Sci, 2020, 114: 100685.
- [19] Grüner MC, Leite IS, Inada NM, *et al.* Photosensitizing nanoclays for efficient cell uptake and in vitro photodynamic therapy[J]. Photodiagnosis Photodyn Ther, 2021, 35: 102384.
- [20] Escudero A, Carrillo-Carrión C, Castille MC, *et al.* Photodynamic therapy: photosensitizers and nanostructures[J]. Materials Chem Front, 2021, 5(10): 3788-3812.

[编辑: 黄园玲; 校对: 杨卉]

作者贡献:

黄细香: 实验执行、数据收集与处理、论文撰写
蔡晓璇、王天吉、黄妙恩: 文章校对
李立: 实验指导
吕应年: 实验设计与指导、论文修改