

综述

脱镁叶绿素 a -光动力疗法抗前列腺癌的研究进展

谢立国 谭文莉 朱国东 魏云林*

(昆明理工大学生命科学与技术学院, 昆明 650500)

摘要 脱镁叶绿素 a 是一种从高等植物和海藻中提取的化合物, 具有抗菌、抗炎、抗病毒、抗氧化和抗肿瘤的药理作用; 作为一种天然光敏剂, 其与光动力疗法联用, 对于多种肿瘤表现出良好的抑制效果。近年来, 脱镁叶绿素 a 在癌症治疗方面的研究取得了重大进展, 在抗前列腺癌方面表现出巨大的潜力。该文从脱镁叶绿素 a 结构特征、应用及抗前列腺癌作用机制方面进行简要综述。

关键词 脱镁叶绿素 a ; 光动力疗法; 抗前列腺癌; 作用机制

Research Progress of Pheophorbide a -Photodynamic Therapy Against Prostate Cancer

XIE Ligu, TAN Wenli, ZHU Guodong, WEI Yunlin*

(Faculty of Life Science and Technology, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500, China)

Abstract Pheophorbide a is the compound extracted from higher plant and marine algae. It shows antibacterial, anti-inflammatory, antiviral, antioxidant and anti-tumor effects. As a natural photosensitizer, pheophorbide a exhibits good inhibitory effect on a variety of tumors in combination with photodynamic therapy. In recent years, some great progresses have been made in cancer treatment, especially showing great potential in anti-prostate cancer. The structural characteristics, applications, and the mechanism of pheophorbide a -photodynamic therapy against prostate cancer are briefly reviewed in this paper.

Keywords pheophorbide a ; photodynamic therapy; anti-prostate cancer; mechanism

光动力疗法(photodynamic therapy, PDT)是一种基于光敏剂和光辐射的治疗手段, 较常见的方法是联合光敏剂染料, 通过靶向激光照射, 激发光敏剂, 产生具有细胞毒性的活性氧, 引发一系列生化反应, 诱导细胞凋亡或坏死, 并选择性损伤病变组织以达到治疗的目的。相比于传统手术、放疗、化疗等疗法, PDT具有创伤小、耐受性好、治疗部位创面美观、术后发病率低, 能在同一部位重复治疗、安全性好、高效且具有靶向性等优点^[1], 近年已成为国内外医

学领域的研究热点。

光动力治疗的效果取决于多种因素, 如光敏剂的化学性质和浓度、光照强度和波长、细胞种类等。最初人们研发并以血卟啉类化合物(hematoporphyrin derivative, HpD)为第一代光敏剂, 将其应用于体外和动物实验, 后应用于大规模临床治疗; 但迫于其化学纯度低、组织渗透性差、半衰期较长且易引发皮肤光敏反应^[2], 人们转向研发第二代光敏剂。

第二代光敏剂主要包括卟啉类的衍生物、酞

收稿日期: 2020-12-01 接受日期: 2021-01-07

云南省教育厅科学研究基金项目(批准号: 2020J0343)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0871-65920148, E-mail: homework18@126.com

Received: December 1, 2020

Accepted: January 7, 2021

This work was supported by the Scientific Research Fund Project of Yunnan Education Department (Grant No.2020J0343)

*Corresponding author. Tel: +86-871-65920148, E-mail: homework18@126.com

URL: <http://www.cjcb.org/arts.asp?id=5489>

菁、稠环醌类等。相比第一代而言, 它的结构组成更加明确, 组织选择性更好且更加稳定。

第三代光敏剂也被称为新型光敏剂, 主要由两大类组成, 一类是以卟啉类、酞菁类等第二代光敏剂为基础, 通过修饰特异性基团而产生的光敏剂; 另一类是光敏物质与纳米材料通过物理或者化学方式结合构建而成的复合光敏剂。脱镁叶绿素类化合物大多存在于高等植物、海洋藻类、蚕、苔藓类之中。这类化合物作为天然光敏剂, 广泛应用于光动力治疗上, 不仅在植物自身光合作用的电子转移和光转化中发挥重要功能, 还在临床治疗中起到诱导光敏化因子的作用^[3]。脱镁叶绿素类化合物能够吸收波长为670 nm及以上的光, 在靶向位点产生单线态氧、羟基自由基和超氧负离子, 从而发挥抗菌、抗炎、抗病毒、抗氧化和抗肿瘤等药理作用^[4]。

目前, 已知的脱镁叶绿素类化合物共有26种, 其中脱镁叶绿素 a (pheophorbide a , PPBa)广泛应用于癌症治疗中。PPBa联合光动力疗法治疗肿瘤是一种很有前途的非手术性治疗肿瘤的手段。

虽然目前对PPBa-PDT的研究已取得了巨大进展, 但其抗前列腺癌的具体机制尚未明确, 本综述将从脱镁叶绿素结构特征、应用、抗前列腺癌作用及其机制等几个方面来介绍PPBa。

1 PPBa的化学结构及其特征

脱镁叶绿素类化合物从结构上可分为七类, 分别为Pheophytin、Pheophorbide、Chlorophyllone、Purpurin、Corallistin、Bonellin和Benzoporph(图1)。

作为研究最广泛的叶绿素类化合物, PPBa化学结构一般由含4个甲基、1个乙基、1个乙烯基、1个甲氧羰基和1个丙酰基的四吡咯环组成。最为典型的特点是C-13和C-15之间形成五元环。

叶绿素 a 经过叶绿素酶和镁脱氢酶介导的脱植醇化反应和脱金属产物反应后形成PPBa(图2)^[5]。PPBa的UV-vis光谱Soret带位于390 nm, Q带位于500~700 nm, 可被波长大于630 nm的红光激活(图3)^[6], 因此成为光动力疗法中光敏剂的合适选择。

2 PPBa的应用

2.1 抗肿瘤活性

PPBa可抑制多种人类癌细胞生长(表1), 如肝癌细胞^[7]、子宫癌肉瘤^[8]、头颈癌^[9]、食管癌^[10]、胶质母细胞瘤^[11]、结肠癌细胞^[11]和乳腺癌细胞^[12]等。

20世纪90年代, RÖEDER等^[13]比较了多种光敏剂在Lewis肺癌小鼠体内的光动力效率和光物理性质, 发现PPBa光敏效果更强。RAPOZZI等^[14]的研究发现, PPBa在14 J/cm²光辐射下, 对不同类型的癌细胞均存在光动力效应, 其IC₅₀值约为70~200 nmol/L。

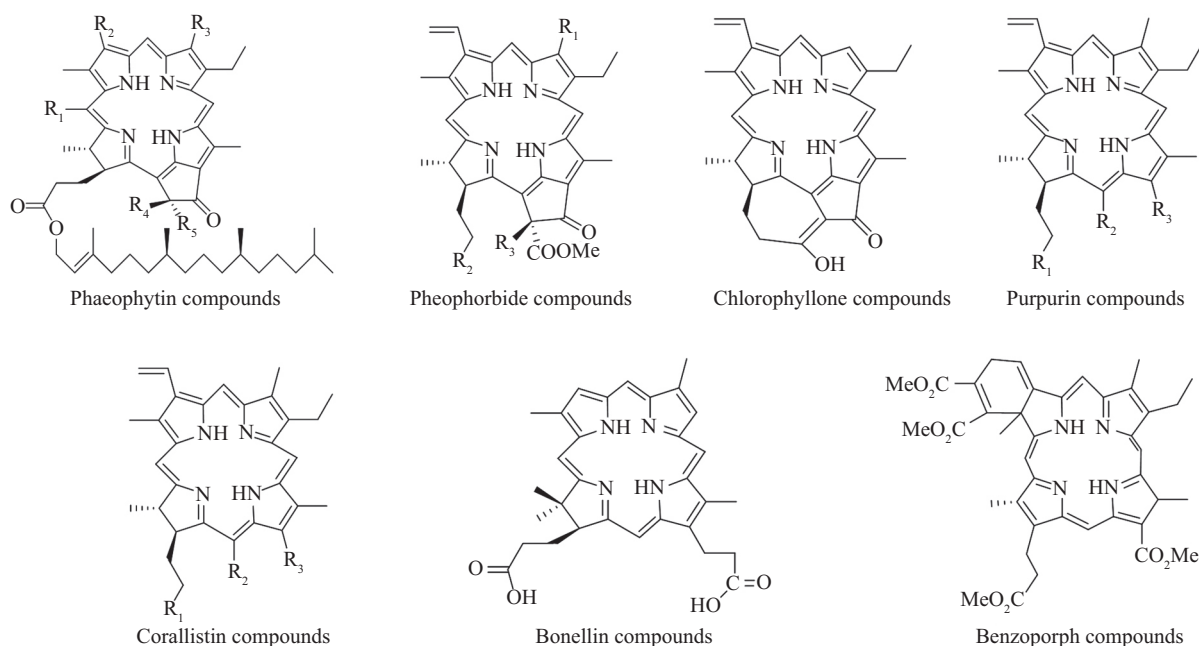


图1 脱镁叶绿素类化合物

Fig.1 Pheophytin compounds

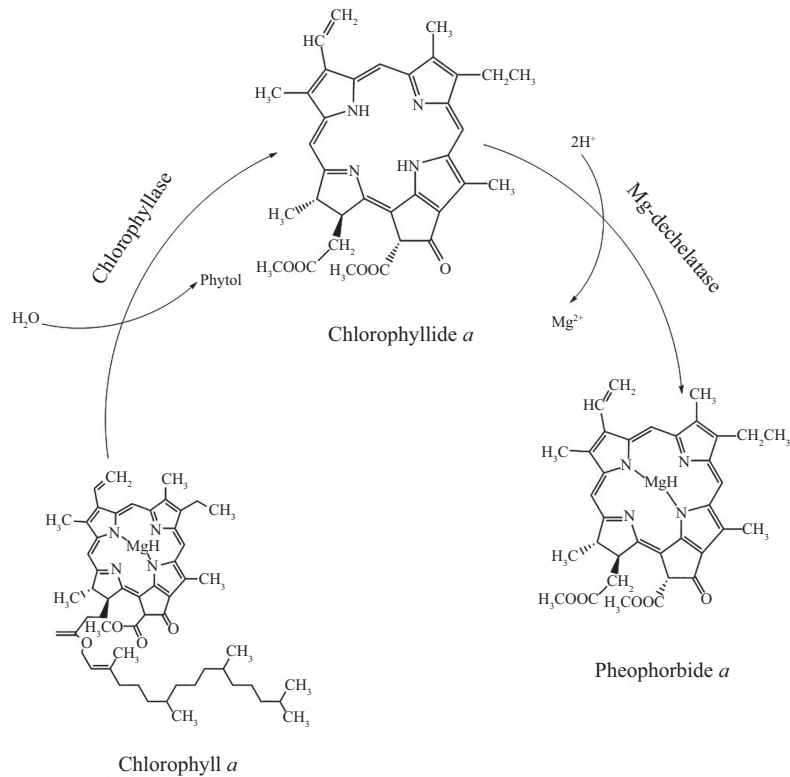
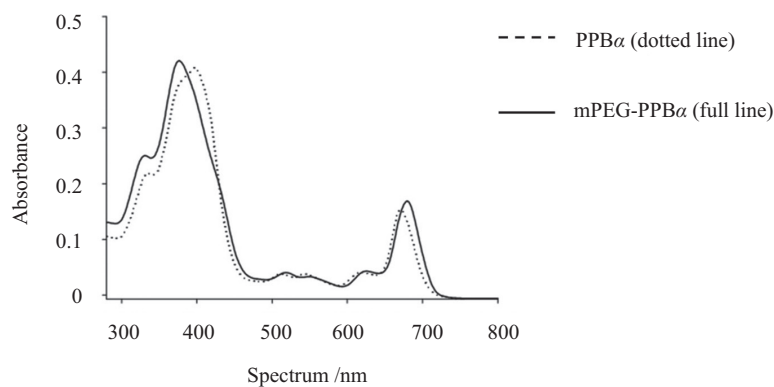
图2 脱镁叶绿素 a 合成途径Fig.2 Synthetic route of pheophorbide *a*

图3 PPBa和mPEG-PPBa在PBS/DMSO(9/1)中的吸收光谱(根据参考文献[6]修改)

Fig.3 Absorption spectra of PPBa and mPEG-PPBa in PBS/DMSO (9/1) (modified from the reference [6])

单独使用PPBa对乳腺癌细胞无明显效果,但PPBa-PDT对MD-MB-231(人乳腺癌细胞)具有明显的细胞毒性^[15]。对U87MG(人恶性胶质母细胞瘤细胞)也具有强效抗癌作用,但对正常HUVEC(人脐静脉内皮细胞)无毒性作用^[11]。同时,PPBa-PDT对雄激素依赖性前列腺癌细胞具有强效致命性,对细胞增殖具有明显抑制效果^[16]。TANG等^[17]先后证实了PPBa-PDT对Hep3B(人肝癌细胞)和MES-SA(人子宫肉瘤细胞)具有抑制效果,能够显著抑制其增殖,并

发现PPBa-PDT主要通过激活线粒体依赖性凋亡途径诱导细胞程序性死亡。

HOI等^[12]研究发现,PPBa-PDT对于不同类型人乳腺癌细胞(MCF-7/MDA-MB-231)均存在促进凋亡作用,同时他们建立了雌性荷瘤BALB/c裸鼠动物模型,证实了PPBa-PDT能显著抑制MCF-7荷瘤裸鼠肿瘤增殖。

AHN等^[18]验证PPBa-PDT在体内和体外对YD-10B(人口腔鳞状细胞癌)的作用,发现在AT-84动物

表1 PPBa对不同类型癌细胞的抗癌活性
Table 1 Anticancer activities of PPBa against different types of cancer cells

细胞系 Cell lines	作用通路 Pathway	半抑制浓度 IC ₅₀
Bruckitt lymphoma (Raji cells)	Not clear	3.30 $\mu\text{mol/L}$
Hepatocellular carcinoma (Hep3B)	Extrinsic and intrinsic apoptotic pathway	1.50 $\mu\text{mol/L}$
Uterine sarcoma (MES-SA)	Intrinsic apoptotic pathway	0.50 $\mu\text{mol/L}$
Resistant human hepatoma cell (R-HepG2)	JNK pathway	0.60 $\mu\text{mol/L}$
Human breast adenocarcinoma (MDA-MB-231)	JNK pathway	0.50 $\mu\text{mol/L}$
Human breast tumor (MCF-7)	Extrinsic and intrinsic apoptotic pathway	0.50 $\mu\text{mol/L}$
Human oral squamous cell carcinoma (YD10B)	Inactivating ERK pathway	0.50 $\mu\text{mol/L}$
Murine oral squamous cell carcinoma (AT-84)	Apoptotic pathway	0.25 $\mu\text{mol/L}$
Glioblastoma cells (U87MG)	Apoptotic pathway	2.80 $\mu\text{g/mL}$

模型中实验组肿瘤体积显著降低,最高可抑制60%肿瘤生长,同时阐明其机制,PPBa-PDT通过产生活性氧(reactive oxygen species, ROS)抑制ERK磷酸化过程,激活内源性凋亡途径,从而引起细胞凋亡。CHO等^[11]研究发现,PPBa呈剂量依赖性方式影响人胶质母细胞瘤细胞U87MG生长。

RUIZ-GONZÁLEZ等^[19]使用0.4 $\mu\text{mol/L}$ 阿霉素(doxorubicin, DOX)处理HeLa细胞(人宫颈癌细胞)24 h,洗涤后补加2 $\mu\text{mol/L}$ PPBa和0.4 $\mu\text{mol/L}$ DOX共同孵育4 h,相比常规疗法提高25%的细胞凋亡率;使用2 $\mu\text{mol/L}$ PPBa联用0.2 $\mu\text{mol/L}$ DOX处理HeLa细胞,能显著降低其细胞活力^[19]。

ZHANG等^[20]联用化学-光动力疗法,制备了DOX/F127-PPBa胶束,联合光动力疗法治疗黑色素瘤,相比单独使用而言,具有更好的治疗功效。

前列腺癌作为世界上最常见的恶性肿瘤之一,同时也是男性癌症相关死亡的第二大原因^[21]。传统治疗前列腺癌方案包括手术、放射性治疗、化疗和抗激素药物治疗等。如今前列腺切除是治疗前列腺癌的一线治疗手段,但手术切除或放射性治疗预后较差和风险较大,同时伴有严重副作用,如血尿、勃起障碍、排尿困难等,故低风险前列腺癌患者不建议采用此类疗法,并且部分前列腺癌患者往往易发展为雄激素非依赖性前列腺癌,因此,寻找有效的前列腺癌治疗手段是目前抗前列腺癌研究的热点之一。相比传统治疗手段,PDT具有特异性高、并发症少等特点,因此广泛应用于癌症治疗。

通过对11项研究中654名患者进行分析,发现了PDT对于治疗前列腺癌确实是有效的,并验证了该疗法的安全性^[22]。研究发现,PDT在根治性前列腺切除术后复发和先前放疗失败患者的后续治疗中发挥重要作用,且相比于传统疗法副作用较小^[23]。经过一系列临床研究发现,难治性膀胱癌或者原位膀胱癌,经PDT治疗后3~4个月有效率为60%~100%,治疗后1~3年内复发率仅为40%~70%。

在体外实验中,使用单纯疱疹病毒I型胸苷激酶/更昔洛韦联合焦脱镁叶绿素 a 甲酯介导的PDT,选取4 J/cm²、(670±10) nm波长光照联合治疗处理后PC-3M(人前列腺癌细胞)存活率显著降低,联合治疗组细胞存活率仅为约10%^[24]。PPBa-PDT对雄激素依赖性前列腺癌具有一定的治疗效果^[25]。实验发现,以不同浓度PPBa联合声光动力学疗法相比单独声动力学/光动力学疗法效果更好,能有效抑制LNCaP(雄激素依赖性前列腺癌细胞)和PC-3细胞系的细胞增殖率,证实PPBa介导的声光动力学疗法更能有效激活前列腺癌细胞的凋亡机制^[26]。

2.2 抗病毒活性

OHTA等^[27]通过NMR(nuclear magnetic resonance)和MS(mass spectrometry)分析发现,由藻类中提取的脱镁叶绿素化合物能显著抑制单纯疱疹病毒(herpes simplex virus, HSV)活性,纯化后5 $\mu\text{g/mL}$ 即能完全抑制细胞吞噬作用。从植物巴戟天和焦脱镁叶绿素 a 提取的PPBa对于丙型肝炎病毒具有明显的抗病毒活性,其IC₅₀分别为0.3 $\mu\text{g/mL}$ 和0.2 $\mu\text{g/mL}$ ^[28]。

2.3 抗氧化活性

1990年,采用抗氧化剂硫氰酸铁方法首次证实PPBa存在一定的抗氧化作用^[29]。通过 β -胡萝卜素漂白法进一步证实PPBa存在抗氧化活性,但其抗氧化效果低于PPBb。光谱分析表明,绿藻浒苔中有效的抗氧化活性成分物质主要为PPBa^[30]。

2.4 抗寄生虫活性

利什曼原虫是引发利什曼病的主要原因。研究发现,PPBa-PDT能有效抑制亚马逊乳杆菌前鞭毛体和拟扁桃体增殖。该处理能够增加活性氧和活性氮(reactive nitrogen species, RNS)的水平,使其产生氧化应激反应,并通过改变线粒体膜电位,使线粒体功能出现障碍,致使利什曼原虫死亡^[31]。

3 PPa-PDT抗前列腺癌作用机制

探寻抗前列腺癌相关机制对于研究PPBa-PDT抗癌作用至关重要。目前,研究发现的机制包括以下几种(图4)。

3.1 通过激活前列腺癌细胞中氧分子,增加单线态氧和活性氧释放

PPBa-PDT主要依靠光动力效应来发挥治疗作用,通过光动力反应使光、光敏剂和氧分子在目标组织中相互作用(图5),产生预期效果。

主要通过以下反应来激活氧分子:

(1) 在给予光敏剂和适当波长光的条件下,光敏

剂以某种方式进入细胞后吸收光,从单重态 S_0 转变成激发态 S_1 ,同时产生能量。部分能量以荧光形式辐射(该部分多用于光动力诊断),剩余能量引导光敏剂分子形成激发三重态 T_1 ^[32-33]。在三重激发态 T_1 下,光敏剂将能量转移至周围生物分子中,通过与靶向组织间转移氢离子或电子,形成自由基和阴离子自由基;之后电子和氧分子相互作用,生成溶于细胞内的ROS,进而引发氧化应激反应,在长期的氧化应激条件下,破坏动态平衡,激活细胞死亡机制,如凋亡、坏死、自噬等^[7-8],从而达到治疗效果。

(2) 三重激发态条件下,能量直接转移至基本态氧分子中,产生单线态氧^[32]。单线态氧具有极强的氧化性,氧化生物大分子,引起脂质过氧化物酶失活、蛋白质变性、交联和结构变化,造成靶向组织或部位损伤甚至直接死亡^[34]。

(3) 光激活后,脂质过氧化和线粒体膜的去极化开始进行,同时ROS靶向线粒体,导致细胞色素C释放,促使癌细胞凋亡。

3.2 影响线粒体膜蛋白并诱导细胞膜损伤

线粒体在细胞程序性死亡中发挥重要作用,为抑制肿瘤增殖提供了靶点。线粒体靶点通过阻碍癌细胞线粒体功能,致使癌细胞内ROS水平增加并激活内源性死亡信号通路,诱导线粒体释放细胞色素C,促进其与凋亡酶激活因子-1(apoptotic protease activating factor-1, Apaf-1)结合形成凋亡体

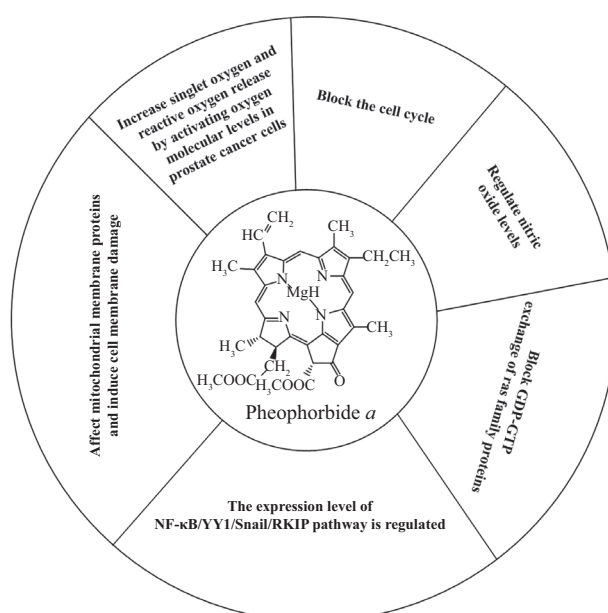


图4 脱镁叶绿素a抗前列腺癌机制

Fig.4 Mechanism of pheophorbide a against prostate cancer

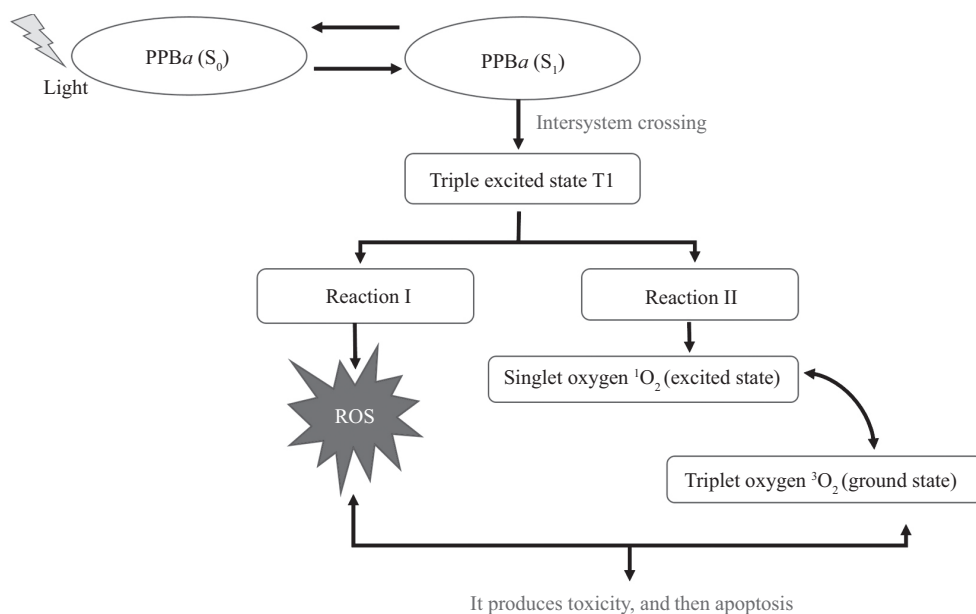


图5 活性氧作用过程

Fig.5 ROS action process

激活 caspase 9, 之后通过酶原裂解激活 caspase 3、6和7^[35]。

PPBa-PDT阻碍线粒体功能主要包括2种方式:

(1) 增加 Bcl-2(B-cell lymphoma-2)和 Bax(Bcl-2 associated X)介导的内质网来源的钙离子;

(2) 通过溶酶体酶组织蛋白酶激活 Bid, 改变线粒体通透性, 诱导凋亡、自噬等细胞死亡途径。

经透射电镜观察发现, 经 PPAa-PDT 处理的 PC-3 细胞在 12 h 后线粒体膜完整性丧失。对不同类型的前列腺癌细胞采用 PPAa-PDT 处理会明显抑制 2 种线粒体膜蛋白表达水平(热休克蛋白 HSP60、电压依赖性阴离子通道蛋白)。一方面, 抑制 HSP60 表达可激活亲环素 D(cyclophilin D, CypD)依赖性线粒体膜通透性转变, 使线粒体功能紊乱并诱导激活 caspase 介导的内源凋亡途径。另一方面, 前列腺癌细胞中线粒体膜电压依赖阴离子通道(voltage-dependent anion channel, VDAC)表达水平高于正常细胞, 其表达水平在线粒体诱导的细胞死亡中起关键作用, 能够激活 RAS-RAF-MEK 途径。PPBa-PDT 通过调节线粒体膜通透性相关蛋白, 改变细胞膜通透性, 破坏线粒体膜完整性, 同时与线粒体外膜上 VDAC 互动, 从而发挥疗效^[36]。

Hep3B、人子宫瘤和 Jurkat 白血病细胞在加入 PPAa 后, 经适当波长光照射 30~60 min, 细胞内细胞色素 C 水平显著提高。PPBa-PDT 诱导细胞膜损伤,

有利于细胞色素 C 在细胞质中释放, 促进细胞色素 C 与促凋亡蛋白酶激活因子结合形成凋亡体, 激活内源凋亡途径。

3.3 阻滞细胞周期

抑制翻译将导致短寿命蛋白表达水平下降。许多细胞周期调节蛋白本质上都是短寿命蛋白。相比正常细胞, 这些蛋白质在癌细胞中往往表达水平较高。PPBa-PDT 能够阻滞细胞周期, 抑制前列腺癌细胞增殖, 同时激活其他细胞死亡途径。用 PPAa 处理后, 添加光辐射, 能显著诱导 PC-3 细胞 G₀/G₁ 期阻滞, 增加 G₂/M 期, 同时提高 ROS 水平^[37]。PPBa 对于细胞周期的阻滞效果在乳腺癌 MCF-7、口腔鳞癌 AT-84 等不同类型的癌细胞中均得到证实^[12]。

3.4 调控一氧化氮(nitric oxide, NO)水平

一氧化氮是多种生理/病理反应的主要效应分子, 不但控制肿瘤发展, 而且可能对提高治疗效果具有重大影响。

PPBa-PDT 除了产生单线态氧和 ROS 外, 还可以通过上调一氧化氮合酶表达, 从而诱导释放 NO^[38]。研究表明, 肿瘤自身内源性 NO 和光敏剂诱导产生的 NO 水平可直接影响 PDT 抗肿瘤疗效^[39]。高水平 NO 对肿瘤生长具有阻滞作用^[40], 相反, 低水平 NO 具有细胞保护作用。PPBa 被光激活后能上调前列腺癌细胞中 NO 水平, 进而维持血管扩张, 抑制肿瘤氧合水平的降低, 持续性维持光动力治疗中氧毒性损伤^[41]。

3.5 调控NF- κ B/YY1/Snail/RKIP通路表达水平

在前列腺癌细胞中, NF- κ B(nuclear factor- κ B)因子的表达高于正常前列腺细胞^[42]。PPBa-PDT作用于NF- κ B/YY1/Snail/RKIP通路,一方面通过调节NF- κ B及其下游基因如*Snail*(抗凋亡)和*RKIP*(促凋亡)表达来控制促凋亡和抗凋亡蛋白表达能力,从而诱导细胞凋亡。相比未处理细胞而言,低剂量的PPBa处理后,细胞中NF- κ B和*Snail*表达水平上调,RKIP表达水平下降^[38]。

另一方面,PPBa-PDT通过调控NF- κ B通路表达水平,进一步控制E-钙黏素和激活素A表达水平。激活素属于TGF- β 超级家族,在维持细胞多能性、中胚层形成方面起着关键作用。同时,激活素A具有促进细胞转移功能^[43]。NF- κ B表达水平和激活素A(activin A)密切相关,通过调节NF- κ B表达水平能够抑制激活素A诱导的前列腺癌细胞转移^[44]。

E-钙黏素参与细胞黏附过程,在肿瘤侵袭和转移中发挥重要作用。NF- κ B能通过调节E-钙黏素表达水平,下调E-钙黏素和上调波形蛋白来刺激上皮间充质转化。NF- κ B还可以通过调节多种基质蛋白酶、黏附分子、血管生成因子以及侵袭因子的表达来诱导上皮-间质转化(endothelial-mesenchymal transition, EMT)。

3.6 阻滞ras家族蛋白GDP-GTP交换

前列腺癌细胞LNCaP和PC-3中均具有GDP/GTP交换相关蛋白,当蛋白质以GTP络合形式存在时,在信号转导过程中保持活跃状态,而当其以GDP络合形式存在时,保持不活跃状态。通过全细胞蛋白质组分析,发现PPBa-PDT诱导的前列腺癌细胞抑制作用与翻译控制肿瘤蛋白(translationally-controlled tumor protein, TCTP)表达水平降低密切相关。同时,TCTP表达水平降低和GDP解离抑制剂(GDP dissociation inhibitor, GDI)增加可阻滞GDP-GTP交换过程,使ras超家族成员处于不活跃的GDP络合状态,从而使癌细胞增殖信号转导链失效^[45],抑制前列腺癌细胞增殖。

4 展望

全球每年癌症死亡人数超过百万,因此,寻找抗击癌症的有效治疗手段成为目前科学研究的热点。鉴于相比传统治疗手段,光动力疗法在安全性和靶向性等方面的优点,光动力疗法具有十分广阔

的应用前景。

光敏剂作为光动力疗法中最重要的一环,发挥着关键的作用。由于部分光敏剂有生物活性差、半衰期长、副作用明显等问题,往往无法应用到实际治疗中。天然产物PPBa作为第二代光敏剂的一种,具有半衰期短、副作用较小等优点,其安全性也得到了验证。在给予适当波长光照条件下,对不同类型癌细胞均有促进癌细胞凋亡作用。但由于给药方式的局限性,大大限制了其应用范围。应该加大对光敏剂给药途径方面研究的力度,通过使用一系列物理或化学手段如纳米化、环糊精/脂质体维持光敏剂稳定性,从而提高光敏剂的应用水平。

近年来,单独使用PPBa联合光动力对于部分顽固癌症治疗效果不理想,无法达到治疗目的。因此,应考虑联合化疗药物增加对癌细胞杀伤效果,在此基础上辅以一些外部手段,如电刺激、声动力等,改变细胞所处状态以及增加药物的进胞率。

虽然PPBa-PDT在抗肿瘤方面的作用取得了一定进展,且部分研究已用于临床试验,但是PPBa-PDT抗前列腺癌的作用机制尚未明确,仍处于猜想和假设性阶段。因此,应加快对PPBa-PDT抗前列腺癌具体作用机制的研究,力求解决作用机制难题。相信不久的将来,PPBa-PDT可应用于更多不同类型的癌症的实际治疗,在癌症深入治疗方面发挥不可估量的作用。

参考文献 (References)

- [1] HAJRI A, WACK S, MEYER C, et al. *In vitro* and *in vivo* efficacy of photofrin and pheophorbide a, a bacteriochlorin, in photodynamic therapy of colonic cancer cells [J]. *Photochem Photobiol*, 2002, 75(2): 140-8.
- [2] JUZENIENE A, PENG Q, MOAN J. Milestones in the development of photodynamic therapy and fluorescence diagnosis [J]. *Photochem Photobiol Sci*, 2007, 6(12): 1234-45.
- [3] JIN P F, DENG Z W, PEI Y H, et al. Two phaeophytin type analogues from marine sponge *Dysidea* sp [J]. *Chinese Chem Lett*, 2005, 16(2): 209-11.
- [4] CHEE C F, LEE H B, ONG H C, et al. Photocytotoxic pheophorbide-related compounds from *Aglaonema simplex* [J]. *Chem Biodivers*, 2005, 2(12): 1648-55.
- [5] TAKAMIYA K I, TSUCHIYA T, OHTA H. Degradation pathway(s) of chlorophyll: what has gene cloning revealed [J]? *Trends Plant Sci*, 2000, 5(10): 426-31.
- [6] XODO L E, RAPOZZI V, ZACCHIGNA M, et al. The chlorophyll catabolite pheophorbide a as a photosensitizer for the photodynamic therapy [J]. *Curr Med Chem*, 2012, 19(6): 799-807.
- [7] TANG P M, CHAN J Y, AU S W, et al. Pheophorbide a, an

- active compound isolated from *Scutellaria barbata*, possesses photodynamic activities by inducing apoptosis in human hepatocellular carcinoma [J]. *Cancer Biol Ther*, 2006, 5(9): 1111-6.
- [8] TANG P M, LIU X Z, ZHANG D M, et al. Pheophorbide a based photodynamic therapy induces apoptosis via mitochondrial-mediated pathway in human uterine carcinosarcoma [J]. *Cancer Biol Ther*, 2009, 8(6): 533-9.
- [9] CHUNG P, HE P, SHIN J, et al. Photodynamic therapy with 9-hydroxypheophorbide alpha on AMC-HN-3 human head and neck cancer cells: induction of apoptosis via photoactivation of mitochondria and endoplasmic reticulum [J]. *Cancer Biol Ther*, 2009, 8(14): 1343-51.
- [10] QUMSEYA B J, DAVID W, WOLFSEN H C. Photodynamic therapy for Barrett's esophagus and esophageal carcinoma [J]. *Clin Endosc*, 2013, 46(1): 30-7.
- [11] CHO M, PARK G M, KIM S N, et al. Glioblastoma-specific anticancer activity of pheophorbide a from the edible red seaweed *Grateloupia elliptica* [J]. *J Microbiol Biotechnol*, 2014, 24(3): 346-53.
- [12] HOI S W, WONG H M, CHAN J Y, et al. Photodynamic therapy of Pheophorbide a inhibits the proliferation of human breast tumour via both caspase-dependent and -independent apoptotic pathways in *in vitro* and *in vivo* models [J]. *Phytother Res*, 2012, 26(5): 734-42.
- [13] ROEDER B, NAETHER D, LEWALD T, et al. Photophysical properties and photodynamic activity *in vivo* of some tetrapyrroles [J]. *Biophys Chem*, 1990, 35(2/3): 303-12.
- [14] RAPOZZI V, MICULAN M, XODO L E. Evidence that photoactivated pheophorbide a causes in human cancer cells a photodynamic effect involving lipid peroxidation [J]. *Cancer Biol Ther*, 2009, 8(14): 1318-27.
- [15] BUI-XUAN N H, TANG P M, WONG C K, et al. Photo-activated pheophorbide-a, an active component of *Scutellaria barbata*, enhances apoptosis via the suppression of ERK-mediated autophagy in the estrogen receptor-negative human breast adenocarcinoma cells MDA-MB-231 [J]. *J Ethnopharmacol*, 2010, 131(1): 95-103.
- [16] GHEEWALA T, SKWOR T, MUNIRATHINAM G. Photodynamic therapy using pheophorbide and 670nm LEDs exhibits anti-cancer effects *in-vitro* in androgen dependent prostate cancer [J]. *Photodiagnosis Photodyn Ther*, 2018, 21: 130-7.
- [17] TANG P M, CHAN J Y, AU S W, et al. Pheophorbide a, an active compound isolated from *Scutellaria barbata*, possesses photodynamic activities by inducing apoptosis in human hepatocellular carcinoma [J]. *Cancer Biol Ther*, 2006, 5(9): 1111-6.
- [18] AHN M Y, YOON H E, KWON S M, et al. Synthesized Pheophorbide a-mediated photodynamic therapy induced apoptosis and autophagy in human oral squamous carcinoma cells [J]. *J Oral Pathol Med*, 2013, 42(1): 17-25.
- [19] RUIZ-GONZALEZ R, MILAN P, BRESOLI-OBACH R, et al. Photodynamic synergistic effect of pheophorbide a and doxorubicin in combined treatment against tumoral cells [J]. *Cancers*, 2017, 9(2): 18.
- [20] ZHANG C, ZHANG J, QIN Y, et al. Co-delivery of doxorubicin and pheophorbide A by pluronic F127 micelles for chemophotodynamic combination therapy of melanoma [J]. *J Mater Chem B*, 2018, 6(20): 3305-14.
- [21] GAMAT M, MCNEEL D G. Androgen deprivation and immunotherapy for the treatment of prostate cancer [J]. *Endocr Relat Cancer*, 2017, 24(12): T297-310.
- [22] WANG L, YANG H, LI B. Photodynamic therapy for prostate cancer: a systematic review and meta-analysis [J]. *Prostate Int*, 2019, 7(3): 83-90.
- [23] ERIC B, YOUNESS A, RAFAEL S, et al. Morbidity of focal therapy in the treatment of localized prostate cancer [J]. *Eur Urol*, 2013, 63(4): 618-22.
- [24] LIANG L, BI W, CHEN W, et al. Combination of MPPa-PDT and HSV1-TK/GCV gene therapy on prostate cancer [J]. *Lasers Med Sci*, 2018, 33(2): 227-32.
- [25] GHEEWALA T, SKWOR T, MUNIRATHINAM G. Photodynamic therapy using pheophorbide and 670nm LEDs exhibits anti-cancer effects *in-vitro* in androgen dependent prostate cancer [J]. *Photodiagnosis Photodyn Ther*, 2018, 21: 130-7.
- [26] AKSEL M, BOZKURT-GIRIT O, BILGIN M D. Pheophorbide a-mediated sonodynamic, photodynamic and sonophotodynamic therapies against prostate cancer [J]. *Photodiagnosis Photodyn Ther*, 2020, 31: 101909.
- [27] OHTA S, ONO F, SHIOMI Y, et al. Anti-Herpes Simplex Virus substances produced by the marine green alga, *Dunaliella primolecta* [J]. *J Appl Phycol*, 1998, 10(4): 349-56.
- [28] RATNOGLIK S L, AOKI C, SUDARMONO P, et al. Antiviral activity of extracts from *Morinda citrifolia* leaves and chlorophyll catabolites, pheophorbide a and pyropheophorbide a, against hepatitis C virus [J]. *Microbiol Immunol*, 2014, 58(3): 188-94.
- [29] SAKATA K, YAMAMOTO K, ISHIKAWA H, et al. Chlorophyllone-a, a new pheophorbide-a related compound isolated from *Ruditapes philippinarum* as an antioxidative compound [J]. *Tetrahedron Lett*, 1990, 31(8): 1165-8.
- [30] LUPAK M I, KHOKHLA M R, HACHKOVA G Y, et al. The alkaloid-free fraction from *Galega officinalis* extract prevents oxidative stress under experimental diabetes mellitus [J]. *Ukr Biochem J*, 2015, 87(4): 78-86.
- [31] MIRANDA N, VOLPATO H, DA SILVA RODRIGUES J H, et al. The photodynamic action of pheophorbide a induces cell death through oxidative stress in *Leishmania amazonensis* [J]. *J Photochem Photobiol B*, 2017, 174: 342-54.
- [32] NOWAK-STEPNIEWSKA A, PERGOL P, PADZIK-GRACZYK A. Photodynamic method of cancer diagnosis and therapy—mechanisms and applications [J]. *Postepy Biochem*, 2013, 59(1): 53-63.
- [33] CASTANO A P, DEMIDOVA T N, HAMBLIN M R. Mechanisms in photodynamic therapy: part two-cellular signaling, cell metabolism and modes of cell death [J]. *Photodiagnosis Photodyn Ther*, 2005, 2(1): 1-23.
- [34] KESSEL D, OLEINICK N L. Photodynamic therapy and cell death pathways [J]. *Methods Mol Biol*, 2010, 635: 35-46.
- [35] RALPH S J, LOW P, DONG L, et al. Mitocans: mitochondrial targeted anti-cancer drugs as improved therapies and related patent documents [J]. *Recent Pat Anticancer Drug Discov*, 2006, 1(3): 327-46.
- [36] XU D D, YANG Y F, LAM H M, et al. The effect of photodynamic therapy on prostate cancer involving mitochondrial membrane proteins [J]. *Photodiagn Photodyn Ther*, 2020, doi: 10.1016/j.pdpdt.2020.101933.

- [37] XU D D, LAM H M, HOEVEN R, et al. Photodynamic therapy induced cell death of hormone insensitive prostate cancer PC-3 cells with autophagic characteristics [J]. *Photodiagnosis Photodyn Ther*, 2013, 10(3): 278-87.
- [38] DELLA P E, SIMONELLA F, BONAVIDA B, et al. Repeated sub-optimal photodynamic treatments with pheophorbide a induce an epithelial mesenchymal transition in prostate cancer cells via nitric oxide [J]. *Nitric Oxide*, 2015, 45: 43-53.
- [39] BHOWMICK R, GIROTTI A W. Pro-survival and pro-growth effects of stress-induced nitric oxide in a prostate cancer photodynamic therapy model [J]. *Cancer Lett*, 2014, 343(1): 115-22.
- [40] RAPOZZI V, DELLA P E, ZORZET S, et al. Nitric oxide-mediated activity in anti-cancer photodynamic therapy [J]. *Nitric Oxide*, 2013, 30: 26-35.
- [41] KORBELIK M, PARKINS C S, SHIBUYA H, et al. Nitric oxide production by tumour tissue: impact on the response to photodynamic therapy [J]. *Br J Cancer*, 2000, 82(11): 1835-43.
- [42] TORREALBA N, VERA R, FRAILE B, et al. TGF-beta/PI3K/AKT/mTOR/NF-kB pathway. Clinicopathological features in prostate cancer [J]. *Aging Male*, 2019, doi: 10.1080/13685538.2019.1597840.
- [43] ZONI E, CHEN L, KARKAMOUNA S, et al. CRIPTO and its signaling partner GRP78 drive the metastatic phenotype in human osteotropic prostate cancer [J]. *Oncogene*, 2017, 36(33): 4739-49.
- [44] CHEN L, DE MENNA M, GROENEWOUD A, et al. A NF-kB-Activin A signaling axis enhances prostate cancer metastasis [J]. *Oncogene*, 2020, 39(8): 1634-51.
- [45] XU D D, XU C B, LAM H M, et al. Proteomic analysis reveals that pheophorbide a-mediated photodynamic treatment inhibits prostate cancer growth by hampering GDP-GTP exchange of ras-family proteins [J]. *Photodiagnosis Photodyn Ther*, 2018, 23: 35-9.