

光动力疗法对口腔疾病免疫调控作用的研究进展

郝昶林江

摘要 光动力疗法(photodynamic therapy, PDT)是激光联合光敏剂产生生物学效应的一种治疗手段,已被应用于各种疾病治疗和研究中。PDT 的主要机制是通过产生细胞毒性活性氧破坏病原菌的 DNA 和细胞膜,目前的主要研究集中在对微生物的直接杀伤、诱导肿瘤细胞的凋亡等领域。近年来,PDT 免疫调控机制逐渐引起研究者关注并开展了一系列的研究,认为 PDT 可能通过免疫调控途径参与了疾病的治疗。本文将从 PDT 概念、相关免疫调控机制以及对牙周炎、口腔黏膜病、口腔癌等口腔疾病的免疫调节作用的角度来介绍 PDT 对口腔疾病免疫调控作用的研究进展。

关键词 光动力疗法 牙周炎 口腔癌 免疫

中图分类号 R78

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2021.10.033

口腔中存在着一系列微生物,包括细菌、真菌和病毒,这些微生物群与口腔疾病至关重要,并影响着人类全身性疾病,如肿瘤、糖尿病、心血管疾病、菌血症、早产和婴儿低出生体重,口腔微生物间的平衡失调对致病起着至关重要的作用。由于口腔独特的解剖特点,微生物可以存在于牙齿表面、根管系统、唾液、黏膜等处,这就使得对疾病的治疗无法达到理想的效果。因此通常使用局部或口服抗生素控制和预防感染,但是抗生素的使用除了会产生不良反应外,最主要的问题是细菌对抗生素产生的耐药性。细菌感染的治疗需要敏感和渗透性良好的抗生素,以确保感染部位有足够浓度的有效抗生素,同时又不会破坏口腔的自然微生物生态,然而局部使用抗生素会被唾液快速冲洗而不能在必要的浓度下长时间保留,这就使得众多研究者探究新的治疗方式以解决这一问题^[1]。

近年来,光动力疗法(photodynamic therapy, PDT)被认为是一种很有前途的治疗方法,主要用于抗感染和肿瘤的治疗,PDT 在口腔领域的疗效得到了广泛的认可,对牙髓病、牙周病、黏膜病、口腔癌等疾病有确定的治疗效果,与传统疗法(手术、化疗和放疗)不同,PDT 具有对病变细胞的高选择性、对特定受体的靶向性、不良反应小、可以重复使用、侵袭性小、方便快捷、不产生耐药性、很少或没有瘢痕形成等优点^[2]。除了抗菌作用,PDT 还可以通过增强机体的

免疫应答反应来控制癌症、感染性疾病及自身免疫病的进展,免疫因素在口腔疾病中也发挥着重要的作用,本文将从 PDT 概念、相关免疫调控机制以及对口腔疾病的免疫调节作用的进行论述。

一、光动力疗法概述

PDT 的三大基本要素是光敏剂、光源和氧,目前应用广泛的光敏剂主要有合成染料、四吡咯类化合物和天然光敏剂三大类。合成染料常用的有亚甲基蓝(methyleneblue, MB)和甲苯胺蓝(toluidine blue, TB);四吡咯类化合物常用的有酞菁和卟啉;天然光敏剂常用的有姜黄素和二氢卟吩(chlorine e6, C e6)^[3]。PDT 光源有三大类:激光、发光二极管(LED)和卤素灯。其中,二极管激光器因其操作简单、价格低廉、携带方便,成为 PDT 中的首选光源^[4]。

PDT 是一种现代的非侵入性治疗方法,其作用机制复杂,基本原理是光敏剂在特定波长的光源吸收光子,使能量从较低的基态跃迁到能量较高的激发单重态,激发的单重态可能随着激光照射时间而衰减,或者可能转变为三重态,这种激发的三重态可以发生两种反应:在 I 型反应中,活化的光敏剂直接与底物分子(如细胞膜)反应,一个电子或氢从分子中被除去形成自由基,随后自由基与氧发生反应并产生高活性氧物种:超氧化物、羟基自由基和单线态氧,通过破坏 DNA 或者产生的毒性物质作用于细菌膜达到消除致病微生物的目的^[5]。

目前 PDT 在口腔感染性疾病中的研究主要在于其抗菌作用,并对牙髓病、牙周病、种植体周围炎及黏膜病中的抗菌作用效果显著,有研究表明 PDT 可以有效地消除原发性牙髓病变中的厌氧菌和兼性厌氧

基金项目:国家自然科学基金资助项目(面上项目)(81570984)

作者单位:150001 哈尔滨医科大学附属第四医院口腔科

通讯作者:林江,教授,博士生导师,电子信箱:kelvinperio@163.

com

菌,杀灭牙周炎中具核梭杆菌牙龈卟啉单胞菌,随着对 PDT 研究的深入,越来越多的研究者关注于 PDT 对口腔疾病的免疫调节作用,并进行了一系列的研究^[6,7]。

二、光动力疗法的免疫调控作用

肿瘤、感染及自体免疫疾病的治疗离不开机体固有免疫细胞及适应性免疫细胞的参与,机体受到肿瘤和感染危害时机体产生的免疫应答反应影响着疾病的进展,研究表明 PDT 可通过调节机体免疫反应影响疾病治疗的效果。

在肿瘤中 PDT 免疫调控作用的研究更为深入和广泛。研究表明 PDT 可通过产生活性氧(ROS)诱导肿瘤细胞坏死、凋亡或自噬,这些细胞死亡过程中产生的损伤相关分子模式(damage-associated molecular pattern, DAMPs)将由免疫细胞上的模式识别受体(pattern recognition receptor, PRR)识别,从而使免疫细胞活化^[8]。Yu 等^[9]研究发现 PDT 杀死肿瘤细胞后,激活了树突状细胞,同时 CD8⁺ 细胞毒性 T 细胞在肿瘤内的浸润,显著抑制肿瘤生长,并且通过刺激免疫记忆抑制肿瘤复发,从而防止远处转移。

研究表明在寄生虫感染中,PDT 可通过诱导 Treg 细胞及 TGF- β 的表达从而减少感染小鼠的炎症和寄生虫数量^[10];在光化性角化病中,PDT 可以激活机体的先天和适应性免疫系统,在 PDT 后 48h, Ki67 和 p53 阳性为特征的异常角质形成细胞数量减少, CD1a⁺ Langerhans 细胞数量减少^[11]。

在自身免疫疾病中,二氧化钛纳米晶须溶液介导的 PDT 能显著降低血清 IL-17 和 TNF- α 水平,改善类风湿性关节炎的炎症症状^[12]。5-氨基酮戊酸(5-aminolevulinic acid, 5-ALA)介导的 PDT 可阻断 K14-VEGF 转基因小鼠银屑病病变的发生,并减轻其组织病理学改变,此外,5-ALA-PDT 可明显减少银屑病样病变中 T 细胞、CD11c⁺ DC 和中性粒细胞的浸润^[13]。综上所述,PDT 具有调控机体免疫应答的作用,通过调节机体免疫细胞的表达调控着疾病的进展。

三、光动力疗法对口腔相关疾病的免疫调控作用

1. 光动力疗法在口腔癌中的免疫调节作用:口腔癌是发生于口腔的恶性肿瘤,生存率低,尤其是在诊断处于晚期时。尽管目前的治疗方法有所进步,但在过去 50 年中,存活率的改善微乎其微。局部复发、局部衰竭和第二原发性肿瘤的形成是这种不良预后的原因。组织氧存在的情况下,PDT 产生的细胞毒性自

由基杀死肿瘤细胞、损伤微血管的同时可以激活免疫反应,免疫系统的激活可以使机体获得对抗肿瘤细胞的能力。PDT 作为早期病变的独立治疗或晚期病例的辅助治疗,为在不同阶段控制该疾病提供了一种新的方法。

Theodoraki 等^[14]对鳞状细胞癌患者进行 PDT 治疗后发现,患者外周血中 Treg 和 NK 细胞的数量和频率增加,IL-6 和 IL-10 浓度显著升高,虽然 PDT 是一种局部治疗方案,但可以使外周免疫细胞群和细胞因子浓度改变,因此笔者认为 PDT 治疗后免疫细胞数量增加支持了鳞状细胞癌特异性免疫的假说。

Zhang 等^[15]在口腔鳞状细胞癌动物模型中,通过使用纳米材料石墨量子点(graphene quantum dots, GQDs)作为光敏剂与聚乙二醇(polyethylene glycol, PEG)偶联,探究了 GQD-PEG 在激光照射下的抗肿瘤免疫作用,无论是在体外还是在体内,均显示出对口腔鳞状细胞癌的强消融作用;同时,光激活抗肿瘤活性后,宿主免疫相关的 CD8⁺ 细胞毒性 T 细胞和促炎性细胞因子(包括 IFN- γ 和 TNF- α)显著增加, CD8⁺ 细胞毒性 T 细胞可以形成 mHcI-肽复合物,释放细胞毒素(IFN- γ 、穿孔素、颗粒酶和颗粒溶素)杀死肿瘤细胞^[15,16]。Dube 等^[17]使用 Cp6 介导的 PDT 治疗颊癌模型时发现,低剂量 Cp6 介导的 PDT 可以使免疫细胞在肿瘤中大量浸润,引起炎症反应,从而诱导肿瘤细胞坏死。在对小鼠皮肤鳞状细胞癌治疗中发现,5-ALA 介导的 PDT 可以明显增加 DCs、CD4⁺ T、CD8⁺ T 细胞数量,使局部 TNF- α 增多,诱导肿瘤间质及皮下结缔组织细胞凋亡迅速。另外 PDT 可以促进树突状细胞的数量表达增加,通过上调 MHCII、CD80 和 CD86 的表达以及促炎性细胞因子 IFN- γ 和 IL-12 的分泌来诱导树突状细胞的成熟,这使得肿瘤中抗原呈递的能力增强,更好地发挥抗肿瘤免疫^[18]。由此可见,光动力疗法在调控机体免疫应答,使疾病得到控制及维护疗效中起到了重要作用。

2. 光动力疗法在口腔黏膜病中的免疫调节作用:口腔黏膜病属于常见的口腔疾病,由多种病因引起的口腔黏膜色泽、外形、完整性、功能等发生病变,当机体免疫功能下降时容易患病^[19]。在口腔扁平苔藓(oral lichen planus, OLP)及口腔念珠菌病治疗中,光动力疗法显示出了积极的作用。

OLP 是一种常见的 T 细胞介导的慢性复发性黏膜炎症性疾病,可引起严重的不适。Cosgarea 等^[20]

通过对 20 例 OLP 患者进行 4 个疗程(第 1、3、7 及 14 天)PDT 治疗后发现,在 PDT 治疗前(第 1 天)和治疗后(第 28 天)分析外周血和炎性 T 细胞,结果显示 PDT 可以使临床参数(病灶大小、自身免疫性疱病严重程度评分)显著降低,所有评估的生活质量(QOL)项目均有改善,且黏膜 OLP 病变中 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 细胞相对数量显著减少,此外,CXCL10 血浆水平降低,活化的外周血 CD4⁺ CD137⁺ T 细胞、CD8⁺ CD137⁺ T 细胞和 IL-17⁺ T 细胞数量减少,因此笔者认为 PDT 可以通过降低 CD4⁺、CD8⁺ T 炎性细胞相对数量使 OLP 病变减少,改善生活质量,并可诱导局部和全身抗炎作用。

白色念珠菌口腔黏膜感染的最常见原因,在有利的条件下,也可能进入血液导致深层组织感染,正常的情况下它通常是一种无害的共生真菌,在免疫功能低下或免疫缺陷的个体中可以转化为机会致病菌(口腔念珠菌病)^[21]。Huang 等^[22]为了探究 PDT 是否可以通过增强宿主的体液免疫功能来降低白色念珠菌的感染,通过对大蜡螟进行 PDT 后,通过提取大蜡螟血细胞后与白色念珠菌共培养,结果显示与对照组比较,PDT 组的血细胞密度增加显著,表明 PDT 可以通过增加循环血细胞,促进机体的体液免疫反应减轻真菌感染。

3. 光动力疗法在牙周炎中的免疫调节作用:牙周炎是口腔疾病中发病率较高的疾病之一,是口腔微生物和宿主免疫系统之间的相互作用产生的慢性炎症,主要表现为牙周组织炎症和牙槽骨病理性破坏。宿主免疫反应是牙周病进展的重要原因。牙周炎中的宿主免疫反应是复杂的,有多种细胞及细胞因子共同参与,研究表明牙菌斑病原体产生内毒素、热休克蛋白等诱导大量炎性细胞积聚在牙周组织中,通过分泌炎性因子导致牙周纤维降解及牙槽骨吸收^[23]。

目前光动力对牙周炎免疫细胞作用的研究比较少,大部分只局限于对细胞因子分泌水平的影响。在牙周炎动物模型的研究中,甲苯胺蓝介导的 PDT 可以有效减轻牙周组织炎症和牙周组织中的炎性细胞浸润;通过促进骨保护素 OPG 表达,抑制促炎性细胞因子 RANKL 的表达来抑制对牙周炎的骨吸收^[24]。Zhang 等^[25]比较了 TBO 介导的 PDT 与全身抗生素(SA)治疗大鼠牙周炎的疗效,其中发现与 SA 组比较,PDT 组 COX-2 和 MMP-8 水平明显降低,OPG 的表达水平增加,PDT 能有效抑制细菌生长,降低牙周袋深度、炎症浸润和牙槽骨吸收,从而促进牙周组

织的修复。Carvalho 等^[26]研究证明曙红介导的 PDT 减轻了大鼠牙槽骨吸收,降低 TNF- α 表达,同时也观察到了中性粒细胞迁移减少。Jiang 等^[27]研究发现 MB 介导的 PDT 可以通过线粒体 caspase 途径诱导 THP-1 使巨噬细胞浸润减少,降低牙周组织中 IL-1 β 和 TNF- α 表达水平,从而减轻牙槽骨吸收及牙周炎症。在最新的报道中,Sun 等^[28]研究发现 PDT 可以通过下调巨噬细胞的 M1 极化(促炎性)和上调巨噬细胞的 M2 极化(抗炎性和再生)调节牙周炎症,这也为牙周再生提供了研究思路。

根据不同光敏剂介导的牙周炎的光动力治疗实验结果可以总结出,光动力可以通过增加骨保护素 OPG 表达,降低促炎性细胞因子 RANKL、IL-1 β 和 TNF- α 的表达,以及减少中性粒细胞和巨噬细胞在牙周组织的聚集等方面改善牙周炎。

四、展 望

光动力疗法由于靶向性好、不良反应少等特点在口腔疾病中得到了广泛的关注,并在临床治疗中取的很好的效果,在口腔癌、黏膜疾病、牙周炎都体现出多重治疗机制,尤其是对机体免疫的干预,成为研究的热点。但是目前研究的机制还不是很清楚,尤其是对于牙周炎的免疫调节知之甚少。光动力疗法是否可以通过免疫细胞发挥作用,还未可知。随着新型纳米材料光敏剂的研究,靶向调节各亚型免疫细胞的功能将成为可能。深入研究光动力对于口腔疾病的免疫调节作用及相关机制,将为口腔疾病的治疗提供新的思路。

参考文献

- 1 Kanwar I, Sah AK, Suresh PK. Biofilm-mediated antibiotic-resistant oral bacterial infections: mechanism and combat strategies[J]. *Curr Pharm Des*, 2017, 23(14): 2084-2095
- 2 Wang YY, Chen YK, Hu CS, et al. MAL-PDT inhibits oral precancerous cells and lesions via autophagic cell death[J]. *Oral Dis*, 2019, 25(3): 758-771
- 3 刘旭旭,舒萌萌,王瑞凤,等. 抗菌光动力治疗的作用机制及其在牙周炎治疗中的应用的研究进展[J]. *吉林大学学报:医学版*, 2021, 47(1): 222-228
- 4 Plotino G, Grande NM, Mercade M. Photodynamic therapy in endodontics[J]. *Int Endod J*, 2019, 52(6): 760-774
- 5 Konopka K, Goslinski T. Photodynamic therapy in dentistry[J]. *J Dent Res*, 2007, 86(8): 694-707
- 6 Pourhajbagher M, Bahador A. An in vivo evaluation of microbial diversity before and after the photo-activated disinfection in primary endodontic infections: traditional phenotypic and molecular approaches[J]. *Photodiagnosis Photodyn Ther*, 2018, 22: 19-25
- 7 Oruba Z, Labuz P, Macyk W, et al. Periopathogens differ in terms of the susceptibility to toluidine blue O-mediated photodynamic inactivation[J]. *Photodiagnosis Photodyn Ther*, 2017, 20: 28-34

- 8 Kroemer G, Galluzzi L, Kepp O, *et al.* Immunogenic cell death in cancer therapy[J]. *Annu Rev Immunol*, 2013, 31: 51–72
- 9 Yu X, Gao D, Gao L, *et al.* Inhibiting metastasis and preventing tumor relapse by triggering host immunity with tumor-targeted photodynamic therapy using photosensitizer-loaded functional nanographenes[J]. *ACS Nano*, 2017, 11(10): 10147–10158
- 10 Akilov OE, Wu MX, Jin Y, *et al.* Vaccination with photodynamic therapy-treated macrophages induces highly suppressive T-regulatory cells[J]. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*, 2011, 27(2): 97–107
- 11 Gellen E, Fidrús E, Janka E, *et al.* 5-Aminolevulinic acid photodynamic therapy with and without Er: YAG laser for actinic keratosis: changes in immune infiltration[J]. *Photodiagnosis Photodyn Ther*, 2019, 26: 270–276
- 12 Zhao C, Ur Rehman F, Yang Y, *et al.* Bio-imaging and photodynamic therapy with tetra sulphonatophenyl porphyrin (TSPP)-TiO₂ nanowhiskers: new approaches in rheumatoid arthritis theranostics[J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 11518
- 13 Chen T, Zhang LW, Fu LX, *et al.* Systemic ALA-PDT effectively blocks the development of psoriasis-like lesions and alleviates leukocyte infiltration in the K14-VEGF transgenic mouse[J]. *Clin Exp Dermatol*, 2017, 42(8): 849–856
- 14 Theodoraki MN, Lorenz K, Lotfi R, *et al.* Influence of photodynamic therapy on peripheral immune cell populations and cytokine concentrations in head and neck cancer[J]. *Photodiagnosis Photodyn Ther*, 2017, 19: 194–201
- 15 Zhang X, Li H, Yi C, *et al.* Host immune response triggered by graphene quantum-dot-mediated photodynamic therapy for oral squamous cell carcinoma[J]. *Int J Nanomedicine*, 2020, 15: 9627–9638
- 16 Rajendrakumar SK, Uthaman S, Cho CS, *et al.* Nanoparticle-based phototriggered cancer immunotherapy and its domino effect in the tumor microenvironment[J]. *Biomacromolecules*, 2018, 19(6): 1869–1887
- 17 Dube A, Sharma S, Gupta PK. Tumor regression induced by photodynamic treatment with chlorin p(6) in hamster cheek pouch model of oral carcinogenesis: dependence of mode of tumor cell death on the applied drug dose[J]. *Oral Oncol*, 2011, 47(6): 467–471
- 18 Wang H, Li J, Lv T, *et al.* Therapeutic and immune effects of 5-aminolevulinic acid photodynamic therapy on UVB-induced squamous cell carcinomas in hairless mice[J]. *Exp Dermatol*, 2013, 22(5): 362–363
- 19 王涛. 口腔溃疡药膜治疗口腔溃疡的临床价值研究[J]. *海峡药学*, 2018, 30(11): 202–203
- 20 Cosgarea R, Pollmann R, Sharif J, *et al.* Photodynamic therapy in oral lichen planus: a prospective case-controlled pilot study[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 1667
- 21 Whaley SG, Berkow EL, Rybak JM, *et al.* Azole antifungal resistance in candida albicans and emerging non-albicans candida species[J]. *Front Microbiol*, 2016, 7: 2173
- 22 Huang X, Xu M, Pan W, *et al.* Antimicrobial and immunomodulatory responses of photodynamic therapy in galleria mellonella model[J]. *BMC Microbiol*, 2020, 20(1): 196
- 23 曹国琴, 林江. B10细胞与牙周免疫调控的研究进展[J]. *口腔医学*, 2019, 39(8): 748–752
- 24 Su X, Zhuang D, Zhang Y, *et al.* Influence of photodynamic therapy on the periodontitis-induced bone resorption in rat[J]. *Lasers Med Sci*, 2021, 36(3): 675–680
- 25 Zhang J, Liang H, Zheng Y, *et al.* Photodynamic therapy versus systemic antibiotic for the treatment of periodontitis in a rat model[J]. *J Periodontol*, 2019, 90(7): 798–807
- 26 Carvalho AS, Napimoga MH, Coelho-Campos J, *et al.* Photodynamic therapy reduces bone resorption and decreases inflammatory response in an experimental rat periodontal disease model[J]. *Photomed Laser Surg*, 2011, 29(11): 735–740
- 27 Jiang C, Yang W, Wang C, *et al.* Methylene blue-mediated photodynamic therapy induces macrophage apoptosis via ROS and reduces bone resorption in periodontitis[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2019, 2019: 1529520
- 28 Sun Y, Sun X, Li X, *et al.* A versatile nanocomposite based on nanoceria for antibacterial enhancement and protection from aPDT-aggravated inflammation via modulation of macrophage polarization[J]. *Biomaterials*, 2021, 268: 120614

(收稿日期: 2021-04-26)

(修回日期: 2021-05-17)

(上接第 150 页)

- 11 王诚, 陈厚斌, 马龙, 等. 肝动脉血流阻力指数对非酒精性脂肪性肝病患者进展期肝纤维化的评估价值[J]. *临床肝胆病杂志*, 2018, 34(12): 2578–2581
- 12 Ergelen R, Yilmaz Y, Asedov R, *et al.* Comparison of Doppler ultrasound and transient elastography in the diagnosis of significant fibrosis in patients with nonalcoholic steatohepatitis[J]. *Abdom Radiol*, 2016, 41(8): 1505–1510
- 13 Cassinotto C, Boursier J, de Lédinghen V, *et al.* Liver stiffness in nonalcoholic fatty liver disease: a comparison of supersonic shear imaging, FibroScan, and ARFI with liver biopsy[J]. *Hepatology*, 2016, 63(6): 1817–1827
- 14 Lee YS, Cho Y, Burgess S, *et al.* Serum gamma-glutamyl transferase and risk of type 2 diabetes in the general Korean population: a Mendelian randomization study[J]. *Hum Mol Genet*, 2016, 25(17): 3877–3886
- 15 Wang YL, Koh WP, Yuan JM, *et al.* Association between liver enzymes and incident type 2 diabetes in Singapore Chinese men and women[J]. *BMJ Open Diabetes Res Care*, 2016, 4(1): e000296
- 16 Malenica M, Prnjavorac B, Causevic A, *et al.* Use of databases for early recognition of risk of diabetic complication by analysis of liver enzymes in type 2 diabetes mellitus[J]. *Acta Inform Med*, 2016, 24(2): 90–93
- 17 Li Q, Li Z, Lin Y, *et al.* High glucose promotes hepatic fibrosis via miR-32/MTA3-mediated epithelial-to-mesenchymal transition[J]. *Mol Med Rep*, 2019, 19(4): 3190–3200
- 18 Jing W, Yaru L, Xu H, *et al.* Serum bilirubin levels and risk of type 2 diabetes: results from two independent cohorts in middle-aged and elderly Chinese[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 1–8
- 19 Lomonaco R, Leiva EG, Bril F, *et al.* Advanced liver fibrosis is common in patients with type 2 diabetes followed in the outpatient setting: the need for systematic screening[J]. *Diabetes Care*, 2021, 44(2): 399–406

(收稿日期: 2021-05-07)

(修回日期: 2021-05-21)