

光动力疗法在动脉粥样硬化治疗中的应用

关澄宇, 刘凡光, 顾 瑛, 周宏妍¹

(解放军总医院激光科, 北京 100853; 1. 湖南医科大学湘雅医院心内科, 湖南省长沙市 410078)

[关键词] 光动力疗法; 动脉粥样硬化; 再狭窄

[摘要] 光动力疗法已成功应用于恶性肿瘤和某些非肿瘤性疾病, 其作用机制已基本明确, 靶组织对光敏剂的特异性吸收和滞留作用是光动力疗法的理论基础。近年来的研究表明动脉粥样硬化斑块对光敏剂有特异性的吸收和滞留作用。光动力疗法对实验性动脉粥样硬化斑块具有消退和稳定作用, 但其机制尚需进一步阐明, 并需筛选理想的波长、光敏剂剂量和能量密度等参数, 及追踪长期疗效, 以确定光动力疗法在临床中的应用价值。

[中图分类号] R454.2

[文献标识码] A

动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)是一种常见病、多发病。虽然经皮冠状动脉血管成形术治疗冠状动脉粥样硬化性心脏病成功率达90%以上, 但术后3~6个月内约有35%~50%的患者可出现再狭窄。常规的治疗方法如低脂饮食及降脂药等对As斑块的稳定和消退具有一定疗效, 但对经皮冠状动脉血管成形术后所致的再狭窄却疗效不佳^[1,2]。局部疗法如基因治疗、新型血管支架和血管内照射疗法等尚处于研究阶段, 且疗效不稳定, 寻找新的治疗方法仍然是临床的重要课题。

光动力疗法(photodynamic therapy, PDT)已被成功地应用于恶性肿瘤和某些非肿瘤性疾病的治疗^[3], 其特点是选择性作用于病变部位, 并且治疗剂量可控制。自经皮血管成形术用于治疗As引起的动脉阻塞性疾病以来, 针对术后并发症再狭窄的PDT应运而生, 后来发现PDT对引起再狭窄的原发As斑块也具有一定的稳定和消退作用^[4], 从而为PDT治疗As奠定了基础。

1 光动力疗法作用机理

1.1 光动力疗法的基本原理

光敏剂进入机体并被靶组织吸收后, 用一定波长和能量密度的激光进行照射, 可发生一系列光敏反应, 产生大量单态氧和活性氧物质, 引起细胞膜、线粒体和核酸的损伤或抑制, 导致病变组织细胞的坏死和凋亡^[5]。光敏剂与组织细胞的结合位点主要在脂性膜, 因此, PDT可造成溶酶体水解酶的释放, 进一步加重细胞损害^[6]。此外, 还发现PDT对细胞遗传物质也有影响, 可引起DNA的损伤^[7,8]。由此可见, PDT对靶组织的作用是多环节的。

1.2 光动力疗法的作用途径

原发性As的形成主要与脂质浸润、血栓形成和血小板聚集、内膜损伤以及平滑肌细胞(smooth muscle cell, SMC)增

殖等有关; 而经皮冠状动脉血管成形术及其它血管成形术后再狭窄则是在原有As病变基础上内膜的进一步机械性损伤所致, 表现为一种局部血管损伤后的修复反应, 是多种细胞因子和生长因子介导的局部血管重建和再塑。二者的共同之处主要表现在血管内膜损伤基础上的SMC的迁移和增殖, 但SMC的凋亡在上述两种类型As病变中的意义是有区别的, 对于急性损伤后的早期, 促进SMC的凋亡有助于防治再狭窄; 而对于已处于稳定期的As斑块, SMC凋亡过多及残体清除不足则易引起斑块破碎而诱发急性血栓形成^[9]。

由于目前的研究大都局限在球囊损伤后的内膜增生上, PDT的作用主要是通过抑制急性球囊损伤后的内膜增生加以说明。理想剂量的PDT产生的自由基不会导致血管的炎症和增生反应, 而是对SMC发挥细胞毒作用, 促进其凋亡, 从而达到抑制其迁移和增殖的目的; 同时, PDT引起转化生长因子- β 及其它生物活性分子失活, 一方面抑制了SMC增殖; 另一方面解除了对内皮细胞的抑制, 至少部分解释了PDT时内皮细胞非但不受到抑制, 反而得到修复的原因^[10~12]。由于原发性As病变早期主要表现为内膜损伤和SMC的增殖和迁移, PDT可通过同样机理发挥作用。

类似的细胞毒作用也不同程度的表现在细胞外基质中。Saito等^[13]发现PDT对单纯高脂饮食的As模型的血管弹力纤维网——基质主要成分有抑制作用, 且能保持血管内皮的正常结构。此外, 有人用球囊损伤模型静注8-甲氧沙林并紫外线照射, 细胞增殖明显减少, 认为8-甲氧沙林与细胞的DNA交联, 抑制了细胞的有丝分裂而不破坏细胞^[14,15]。以上对促进与SMC凋亡不相关的血管壁适应性重构、防止血管挛缩是有意义的; 也可能是PDT用于稳定期As病变的基础。

总之, PDT对As的作用机理十分复杂, 目前认为主要通过以下环节实现: 抑制SMC的增殖、迁移和分泌功能; ④促进血管壁的适应性重构, 抑制其挛缩, 从而避免管腔狭窄; ⑤保护内皮细胞, 维持内皮结构完整。

[作者简介] 关澄宇, 男, 33岁, 主治医师, 1991年毕业于北京医科大学

2 动脉粥样硬化斑块的光敏剂吸收特性

靶组织对光敏剂的选择性吸收和滞留作用是 PDT 产生效应的先决条件, 因此 As 斑块对光敏剂的吸收特性引起了人们的关注。

2.1 不同光敏剂的吸收特点

早在 1983 年 Spears 就报告了 As 斑块对血卟啉衍生物的吸收作用。此后人们相继证明光敏素 (porphyrin) 和苯卟啉衍生物 (BpD) 在实验组织中也有优先吸收和蓄积作用。Elder 等^[16]发现酞菁类在 As 斑块中的浓度比周围正常组织及对照组的正常动脉组织高出 1.7~2.6 倍。Hsiang 等^[17]报道苯卟啉衍生物在 As 斑块与正常动脉组织的比率为 1.1~3.5。

早期对 As 斑块的光敏剂吸收特性的研究主要集中在血卟啉衍生物等第一代光敏剂上, 由于这些光敏剂的成分复杂、稳定性差、毒性大, 以及对组织穿透力强的光吸收分数低, 限制了其在临床中的应用。新一代光敏剂如苯卟啉衍生物单环酸 A、间-四羟二氢卟吩、二氢外酚 e6 和 5-氨基酮戊酸等已试用于肿瘤和某些非肿瘤性疾病, 可不同程度避免上述缺点。国产新型光敏剂血卟啉单甲醚是一种单体卟啉, 纯度达 98%, 具有机体清除快, 毒副作用低的特点^[18], 如能证明 As 斑块对其具有亲和性且 PDT 效应可行, 将为临床治疗 As 相关疾病开辟新途径。

2.2 光敏剂的吸收机制

关于 As 斑块吸收光敏剂的可能机制, Elder 等^[16]总结如下: 与被覆于 As 斑块上的内膜对光敏剂的通透性有关; ④ As 成分中胶原和血小板对光敏剂的亲和性提高; ④As 中单核细胞对脂溶性光敏剂的吞噬作用加强; 增生组织对光敏剂的滞留作用增强。

2.3 进一步提高动脉粥样硬化组织中光敏剂含量的途径

虽然有报道^[19]光敏素 (Photofrin) 在 As 斑块与正常动脉的蓄积比率高达 8:1, 但如何提高实验组织对新一代光敏剂特异的吸收作用依然是面临的主要问题。Allison 等^[20]在应用苯卟啉衍生物时以脂质体、低密度脂蛋白及乙酰化低密度脂蛋白为运载工具, 可以增强 As 斑块对苯卟啉衍生物的吸收和蓄积, 且加快其在血浆的清除。有人根据清道夫受体机制, 把一种靶化的牛血清白蛋白 (mal-BSA) 结合到光敏剂 Cle6 上, 可以使 Cle6 在增生内膜中的蓄积明显高于中膜和外膜, 而非靶化的 BSA/Cle6 和自由形式的 Cle6 则不呈现此种特点, 认为系增生内膜中的巨噬细胞等细胞膜上表达的清道夫受体对靶化的 Cle6 的特异亲和作用所致^[21]。

总之, As 斑块对光敏剂的吸收特性主要表现在: As 斑块对光敏剂的吸收量明显高于正常动物和自身的正常动脉组织; ④斑块中光敏剂的清除时限明显滞后; ④这种吸收和蓄积作用自内膜内侧开始; 通过中介机制可以增强光敏剂在 As 斑块中的吸收和蓄积作用。

3 疗效评价

以往的研究大都集中在 As 斑块对光敏剂的吸收特性上, 至于应用 PDT 治疗 As 的报告则不多见。Spokojny 等^[22]首次

描述用血卟啉衍生物对 As 斑块进行 PDT 治疗, 术后 1~5 月通过光纤发现 As 斑块有选择性坏死和钙化。还有人观察到 PDT 可以使 As 斑块裂解, 并减少斑块数量。后来 Neave 等^[23]提供了可靠证据认为以血卟啉衍生物为光敏剂对 As 斑块进行 PDT 治疗能够使斑块消退。

目前对 As 的 PDT 治疗的研究主要是以球囊损伤内膜后加高脂饮食引起的 As 为模型。人们相继在鼠、家兔和小型猪的在体或离体标本上证明了 PDT 对 As 的作用, 认为 PDT 可以使 As 斑块不同程度地消退, 或抑制其发生发展。也有人把遗传性高血脂所致的 As 兔模型和用单纯高脂饮食的大鼠 As 模型进行研究, 发现前者的 As 斑块对光敏剂有类似的亲和性, 后者的血管弹力纤维在 PDT 后受到抑制, 提示 PDT 对非球囊损伤引起的 As 也有治疗作用^[20]。已经有人正在进行 PDT 治疗人体外周动脉阻塞性疾病的临床观察以试图评估 PDT 的安全性和有效性^[24]。

尽管多数研究肯定了 PDT 对 As 的治疗作用, 但也有不同报道。Eton 等^[25]认为 PDT 除了对血管壁的细胞毒性以外, 并未发现对抑制再狭窄有确切疗效。Hsiang 等^[26]报道, PDT 后动脉腔径扩大的变异度较大, 内膜的修复也各不相同。分析出现这些不同结果的主要原因是激光强度测定和控制不够准确。

4 光动力疗法在应用中尚需解决的问题

在选用光敏剂时, 既要考虑 As 斑块的吸收特性, 又要考虑到特定波长激光的组织穿透力和光敏剂对该波长激光的光敏性。早期认为光敏效果好的 630 nm 波长光主要在血液中被吸收, 这使 PDT 用于临床受到了限制。有人对最大吸收波长为 692 nm 的苯卟啉衍生物进行了研究, 发现动物在体及人的离体 As 斑块对其有良好的吸收特性^[17], 但尚未有其用于治疗 As 的报告。开发结构明确、理化性质稳定、As 选择性吸收率高, 具有理想作用光谱、光敏性强和毒性低的新型光敏剂依然是研究的迫切课题。

关于 PDT 照射途径, 有报道^[27,28]通过手术切开暴露血管或经腹腔镜导入光纤进行血管外照射, 但由于人类原发 As 病变的血管内膜中已存在大量 SMC, 且基于 PDT 的手术方便, 故主张血管内照射。PDT 照射时机可分别采用经皮冠状动脉血管成形术前、术中或术后的, 但根据急性损伤组织对光敏剂的吸收特点以及血管 SMC 迁移对再狭窄形成的作用, 认为应该在经皮冠状动脉血管成形术的同时进行 PDT。

对筛选 PDT 参数的研究还只是处于尝试阶段。有报道以小型猪的 As 内膜厚度和中膜的损伤为观察指标, 发现小型猪的光敏剂 photofrin 最佳用量为 2.5 mg/kg, 能量密度为 120 J/cm² 等基本参数^[29]。又有人发现只要选定一定的能量密度和光敏剂剂量范围, PDT 引起的 As 斑块消退和血管管径增大并无明显差异^[30]。

综上所述, As 斑块对光敏剂的特异性吸收作用已经肯定, 也发现 PDT 对吸收了光敏剂的 As 斑块具有一定的消退和稳定作用, 但其机制尚需阐明。目前面临的工作除在阐明机制、提高激光技术和开发新型光敏剂外, 需要把现有实验中得

到的初步结果进行动物的在体研究,以得到疗效稳定而安全的参数;此外,最好能模拟接近于人类的As模型,以尽快完成临床前实验,从而确定PDT在As临床治疗中的地位。

参考文献

- [1] Currier JW, Faxon DP. Restenosis after percutaneous transluminal coronary angioplasty: have we been aiming at the wrong target [J]. *J Am Coll Cardiol*, 1995, **25**(2): 516–520
- [2] Califf RB, Fortin DF, Harlan W, et al. Restenosis after coronary angioplasty: an overview [J]. *J Am Cardiol*, 1991, **17**: 2B–13B
- [3] Gomer CJ, Rucker N, Ferrario A, et al. Properties and application of photodynamic therapy[J]. *Radiat Res*, 1989, **120**: 1–18
- [4] Yasunaka Y, Aizawa K, Asahara T, et al. In vivo accumulation of photosensitizers in atherosclerotic lesions and blood in atherosclerotic rabbit[J]. *Lasers Life Sci*, 1991, **4**: 53–65
- [5] Henderson BW, Dougherty TJ. How does photodynamic therapy work [J]. *Photochem Photobiol*, 1992, **55**: 145–157
- [6] Bunting JR. A test of the singlet oxygen mechanism of cationic dye photosensitization of mitochondrial damage[J]. *Photochem Photobiol*, 1992, **55**: 81–87
- [7] Agarwal ML, Clay ME, Harvey EJ, et al. Photodynamic therapy induces rapid cell death by apoptosis in L5178 mouse lymphoma cells [J]. *Cancer Research*, 1991, **51**: 5 993–996
- [8] Penning LC, Lagerberg JWM, VanDierendonk JH, et al. The role of DNA damage and inhibition of poly(ADP-ribose)ylation in loss of clonogenicity of murine L929 fibroblasts, caused by photodynamically induced oxidative stress [J]. *Cancer Research*, 1994, **54**: 5 561–567
- [9] 邹飞雁, 杨和平, 涂玉林, 等. 动脉硬化时平滑肌细胞凋亡的研究进展[J]. *中国动脉硬化杂志*, 1997, **5**(1): 75–79
- [10] Gregory KW, Buckley LA, Haw TS, et al. Photodynamic therapy using psoralen and UVA light in a porcine model of intimal hyperplasia [J]. *Circulation*, 1993, **88**(4): 1–82
- [11] Statius van Eps RG, Adili F, Watkins MT, et al. Photodynamic therapy of extracellular matrix stimulates endothelial cell growth by inactivation of matrix-associated transforming growth factor- β [J]. *Lab Invest*, 1997, **76**(2): 257–266
- [12] Statius van Eps RG, Adili F, La Muraglia GM, et al. Photodynamic therapy inactivates cell-associated basic fibroblast growth factor: a silent way of vascular smooth muscle cell eradication [J]. *Cardiovasc Res*, 1997, **35**(2): 334–340
- [13] Saito T, Hayashi J, Aizawa K, et al. Acute effects of photodynamic treatment on elastic fibre network in atherosclerotic plaques of rabbit aorta[J]. *Lasers Med Sci*, 1998, **13**: 126–131
- [14] Adili F, Statius van Eps RG, Flotte TJ, et al. Differential modulation of vascular endothelial and smooth muscle cell function by photodynamic therapy of extracellular matrix: novel insights into radical-mediated prevention of intimal hyperplasia[J]. *J Vasc Surg*, 1996, **23**(4): 698–705
- [15] Spaedy TJ, March LK, Wilensky RL, et al. The combination of 8-Methoxypsoralen and Ultraviolet A light in vivo inhibits smooth muscle proliferation after angioplasty [J]. *Circulation*, 1993, **88**(1): 1–81
- [16] Elder M, Yerushalmi Y, Kessler E, et al. Preferential uptake of a water-soluble phthalocyanine by atherosclerotic plaques in rabbits [J]. *Atherosclerosis*, 1990, **84**(2–3): 135–139
- [17] Hsiang YN, Crespo MT, Richter AM, et al. In vitro and in vivo uptake of benzoporphyrin derivative into human and miniswine atherosclerotic plaque[J]. *Photochem Photobiol*, 1993, **57**(4): 670–674
- [18] 许德余, 陈文暉, 张浩. 光动力治癌新药血卟啉单甲醚(HMME)的研究[J]. *中国激光医学杂志*, 1993, **2**: 3–7
- [19] Hsiang YN, Fragosio M, Tsang V, et al. Determining the optimal dose of photofrin in miniswine atherosclerotic plaque[J]. *Photochem Photobiol*, 1993, **57**: 518–525
- [20] Allison BA, Crespo MT, Jain AK, et al. Delivery of benzoporphyrin derivative, a photosensitizer, into atherosclerotic plaque of Watanabe heritable hyperlipidemic rabbit and balloon-injured New Zealand rabbits[J]. *Photochem Photobiol*, 1997, **65**(5): 877–883
- [21] Tsuneyuki Nagae, Louie AY, Aizawa K, et al. Selective targeting and photodynamic destruction of intimal hyperplasia by scavenger-receptor mediated protein-chlorin e6 conjugates [J]. *J Cardiovasc Surg*, 1998, **39**: 709–715
- [22] Spokojny AM, Sinclair IN, Serur JR, et al. Photodynamic therapy of atheromatous plaque in the rabbit (Abstr.) [J]. *Circulation*, 1983, **78**(Suppl 4): 371
- [23] Neave V, Giannotta S, Hyman S, et al. Hematoporphyrin uptake in atherosclerotic plaques: therapeutic potentials [J]. *Neurosurgery*, 1988, **23**: 307–312
- [24] American society for laser medicine and surgery abstracts [N]. *Lasers in Surg and Med*, 1999, **11**: 53
- [25] Eton D, Shim V, Sato H, et al. Cytotoxic effect of photodynamic therapy with photofrin II on intimal hyperplasia [J]. *Ann Vasc Surg*, 1996, **10**(3): 273–282
- [26] Hsiang YN, Crespo MT, Machan LS, et al. Photodynamic therapy for atherosclerotic stenoses in Yucatan miniswine [J]. *Can J Surg*, 1994, **37**(2): 148–152
- [27] La Muraglia GM, Klyachkin ML, Adili F, et al. Photodynamic therapy of vein grafts: suppression of intimal hyperplasia of the vein graft but not the anastomosis [J]. *J Vasc Surg*, 1995, **21**(6): 882–890
- [28] Hayashi J, Kuroiwa Y, Sato H, et al. Transadventitial localisation of atheromatous plaques by fluorescence emission spectrum analysis of mono-aspartyl chlorine 6 [J]. *Cardiovasc Res*, 1993, **27**: 1 943–947
- [29] Hsiang YN, Todd ME, Bower RD, et al. Determining light dose for photodynamic therapy of atherosclerotic lesions in the Yucatan miniswine [J]. *J Endovasc Surg*, 1995, **2**(4): 365–371
- [30] Tang G, Hyman S, Schneider TH, et al. Application of photodynamic therapy to the treatment of atherosclerotic plaques [J]. *Neurosurgery*, 1993, **32**(3): 438–443

(1999年10月01收到, 2000年02月20修回)

(此文编辑 朱雯霞)