

【引文格式】李志嘉,冯颖君,肖紫璇,等.5-氨基酮戊酸光动力疗法治疗尖锐湿疣的机制研究进展[J].皮肤性病诊疗学杂志,2019,26(5):315-318. DOI:10.3969/j.issn.1674-8468.2019.05.013.

· 综述 ·

5-氨基酮戊酸光动力疗法治疗尖锐湿疣的机制研究进展

李志嘉, 冯颖君, 肖紫璇, 王晶莹, 曾抗

(南方医科大学南方医院皮肤性病科,广东 广州 510515)

【摘要】尖锐湿疣(CA)是一种常见的性传播疾病,由人乳头瘤病毒(HPV)感染引起。5-氨基酮戊酸光动力疗法(ALA-PDT)是近年来治疗CA的一种效果良好的替代疗法,具有组织选择性好、安全性高等特点,相较于传统的治疗手段,在预防CA复发、消除潜伏感染、改善预后等方面也有一定优势。目前认为ALA-PDT治疗CA的机制与产生细胞毒性、诱导细胞凋亡有关。近年研究表明ALA-PDT还能通过损伤疣体新生血管、抑制过度增殖细胞、调节机体免疫反应以及降低病毒载量等不同机制达到治疗目的。本文就ALA-PDT治疗CA的机制研究进展作一综述,旨在为今后更深入地研究相关机制,为临床提供参考。

【关键词】尖锐湿疣; 5-氨基酮戊酸光动力疗法; 机制; 降低病毒载量

【中图分类号】R752.5⁺3 【文献标识码】A DOI:10.3969/j.issn.1674-8468.2019.05.013

尖锐湿疣(condyloma acuminata, CA)是一种常见的性传播疾病,由人乳头瘤病毒(human papillomavirus, HPV)感染引起。迄今已发现226种HPV类型,高达90%的CA由HPV 6型、11型引起,HPV 16、18等高危型也可在CA中检测到。现临床针对CA的基础治疗主要包括局部外用药物、免疫疗法、物理疗法(激光、手术等)。局部外用治疗(如咪喹莫特等)需长期使用药物,尚有较高的复发率。其他有创疗法(如手术切除)虽可直接去除病灶,但具有破坏性,可能导致瘢痕形成甚至功能障碍。5-氨基酮戊酸光动力疗法(topical photodynamic therapy with 5-aminolaevulinic acid, ALA-PDT)是近年来治疗CA的一种效果良好的替代疗法^[1]。2012年欧洲《PDT临床应用指南》中,PDT治疗CA的推荐/证据等级已上升到B/I级,2014年,国内学者也就ALA-PDT治疗包括CA在内的多种疾病达成了专家共识^[2]。目前,ALA-PDT已成为腔道内(包括尿道、阴道、子宫颈、肛管)CA的一线治疗方法。因治疗后病灶周围组织损伤小,避免了传统物理疗法可能导致的腔道穿孔、瘢痕和狭窄等情况^[3]。此外,相较于传统的治疗手段,ALA-PDT具有组织选择性好、安全性高等特点,在

预防CA复发、消除潜伏感染、改善预后等方面也有一定优势^[4],但目前其治疗CA的机制仍需进一步研究和探讨。本文就ALA-PDT治疗CA的机制研究进展作一综述,旨在为今后更深入地研究相关机制,为临床提供参考。

1 ALA-PDT的基本原理

PDT治疗CA的原理是,光敏剂作用于局部疣体后,选择性地富集于病毒感染的异常增殖性病灶,经一定波长的光照,光敏剂通过能量传递在摄取光敏剂的细胞内生成活性氧,从而对该细胞产生杀伤作用,选择性地去除疣体,而对周围正常组织不造成损伤^[5]。5-ALA是强光敏剂原卟啉IX(protoporphyrin IX, PpIX)的前体,并参与血红素生物合成过程,但因体内细胞自身合成量少,故一般情况下不发生光敏反应^[6]。当进行PDT治疗CA时,5-ALA可富集于增殖旺盛的细胞内,生成大量PpIX,介导能量从光转移到分子氧,进而产生活性氧。这些活性氧具有非常短的寿命和扩散半径,迅速引发细胞毒性作用,造成细胞死亡。

2 ALA-PDT治疗CA的可能机制

近年研究表明ALA-PDT还能通过细胞、血管和免疫途径等不同机制,高效达到治疗目的^[7]。

2.1 血管损伤作用

真皮毛细血管增生、扩张是CA的主要病理改变之

一。PDT 治疗对血管的影响明确,其可损伤组织中的新生血管及抑制血管内皮细胞的增殖。PDT 过程中产生大量活性氧,造成病灶的氧化应激损伤,导致 TNF- α 、IL-1、热休克蛋白(heat shock proteins, HSPs)等大量炎症因子释放^[8],而这些炎性介质对中性粒细胞有强烈的趋化作用,最终形成炎性放大效应,使得血管壁通透性增强并造成血管内皮损伤,因而破坏病灶血管以抑制疣体生长^[9]。此外,血管本身直接参与对 PDT 的应答也可能是其引起血管损伤的原因。De Bruijn 等^[10]研究结果显示,内皮细胞参与组织对 ALA-PDT 的反应,并产生明显的血管破坏及组织水肿效应。

血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)相关通路与新生血管的形成及成熟密切相关,其中 VEGF-A 的促血管生成以及增加血管通透性的作用尤为明显^[11]。研究表明,VEGF-A 在 HPV 感染的细胞系或 CA 组织中的表达明显增强,提示 VEGF 的高表达促进了 CA 的发生发展^[12]。Kawczyk-Krupka 等^[13]研究显示,与对照组相比,ALA-PDT 治疗组 VEGF 表达量明显下降,抗血管生成作用明显。以上结果均提示,PDT 治疗可多方面损伤病灶处血管,且一定程度上抑制新生血管的形成,从而抑制疣体进一步增生和病情恶化。

2.2 促进角质形成细胞凋亡,抑制增殖

细胞凋亡是宿主细胞清除病毒的一种重要机制,病毒对于细胞凋亡的逃逸是其存活的关键。研究表明,HPV 病毒编码的早期蛋白(E)参与其 DNA 的转录、翻译,现已证实 E2、E5、E6、E6*、E7 能够干扰细胞的凋亡途径,同时其激活的通路可引发众多细胞增殖相关基因的表达,通过调控细胞周期从而诱导细胞的增殖和转化,这也是疣体生长旺盛以及 CA 复发率较高的原因之一^[14]。目前研究显示主要存在两种经典的凋亡途径:外源途径(或死亡受体途径)以及内源途径(或线粒体途径),且两条途径之间相互关联,最终由胱天蛋白酶家族的裂解引发,导致 DNA 片段化,形成凋亡小体,线粒体膜表面的凋亡抑制蛋白 Bcl-2 能够抑制促凋亡因子 Bax 的寡聚化从而对抗细胞凋亡^[15]。ALA 作为定位于线粒体的光敏剂,进行 PDT 治疗时,可造成 Bcl-2 的光损伤。Guo 等^[16]用不同浓度的 ALA 处理宫颈癌 HeLa 细胞,PDT 治疗 24 小时后,与空白对照组相比,HeLa 细胞增殖受到了明显的抑制,并出现了细胞毒性和凋亡现象,且 Bcl-2 和 Bax 的表达水平分别下调和上调。Miao 等^[17]用 HR-HPV 16 型(HPV-16)E7 基因转染人绒毛膜角质形成细胞,PpIX 的生成在实验组与对照组中无统计学差异,PDT 治疗后 3 小时,Caspase-9 和 Caspase-3 的表达达峰值,显示细胞凋亡发生完全,且凋亡细胞数与照射强度成正比。以上结果证明,ALA-PDT 治疗可作用于多种重要的凋亡途径,引发病灶细胞的凋亡。

细胞周期蛋白(Cyclin)是调控细胞周期变化的关键因子,Cyclin D 与 Cyclin E 可缩短细胞周期 G1 期,当两者过表达时,细胞过度增殖。对病灶组织与正常组织进行对照研究,发现 CA 病灶中 Cyclin D 阳性率上升,同时 HPV 转录表达的蛋白如 HPV E7 能够引起 Cyclin E 表达上调^[18]。有研究表明,ALA-PDT 可能通过影响细胞周期的转化抑制 CA 角质形成细胞增殖。在对 42 例 CA 患者 PDT 治疗一周后,比较同一患者疣体角质形成细胞中 Cyclin D1 及 Cyclin E 的表达率,发现 Cyclin D1 表达阳性率从 54.76% 降至 14.28%,Cyclin E 表达阳性率从 85.71% 降至 59.52%^[19]。因而,PDT 可能通过多种途径,影响 CA 细胞的周期转化进而干扰 CA 细胞的大量增殖。

2.3 调节机体免疫反应

近年来研究发现,由 HPV 感染引起的免疫应答与 T 淋巴细胞亚群、树突状细胞(dendritic cells, DC)的抗原提呈作用、Toll 样受体相关通路等密切相关,同时与机体全身及局部的免疫环境密切相关。

许多病毒的免疫逃逸与调节性 T 细胞(regulatory T cells, Treg)有关。Yuan 等^[20]研究了 CA 的免疫逃逸机制,发现在 CA 病灶组织处有大量 Foxp3⁺ Treg 浸润;而 CA 患者的外周血中 Treg 细胞有明显增加的趋势。作为细胞免疫中的主要效应细胞,T 淋巴细胞各亚群间的平衡是维持机体正常免疫的重要因素。现已明确,感染 HPV 后,辅助性 T 细胞 Th1/Th2 的比例失衡,将导致机体免疫受抑制。临床研究发现,其对应的 CD4⁺/CD8⁺ 分子比值也随之降低^[21]。作为皮肤和黏膜处的树突状细胞,朗格汉斯细胞(Langerhans cell, LC)在抗原呈递作用中发挥了重要作用,而 HPV 感染后,其数量和形态均发生了明显变化。同一患者的 CA 病灶和正常组织处的 LC 数量相比,病灶处的 LC 明显减少^[22]。Toll 样受体(Toll-like receptors, TLRs)作为一种病原体识别受体,在免疫应答中占重要地位,被认为是维系天然免疫和获得性免疫之间的重要桥梁,且多种 Toll 样受体介导的通路均可引起炎性介质的大量释放^[21]。有研究显示,TLR9 在低危型和高危型 HPV 感染的宫颈细胞中均明显升高,并且在 HPV 持续感染过程中过度表达^[23]。在 CA 皮损处,TLR4 等表达亦见上调^[24]。若 TLR 受体通路过度激活,会通过诱导下游炎症损伤因子过量分泌,最终造成机体的免疫损伤。

在 ALA-PDT 治疗的初期,CA 组织中即可明显检测到 CD4⁺/CD8⁺ 上升,因此,Giomi 等^[25]认为 CD4⁺、CD8⁺ 细胞是 PDT 发挥效应的主要靶点之一。张云凤等^[26]采集了 10 例 CA 患者的皮损组织,经 PDT 处理 48 h 后,发现 CD4⁺ 及 CD8⁺ 细胞数量均增加,且 CD4⁺ 细胞数量增加更明显,而 CD8⁺ 细胞活化后的细胞毒反应也对 HPV 感染的细胞起着重要的杀伤作用,与 Giomi 等^[25]的研究结果一

致。Ma 等^[27] 的离体实验表明,表皮细胞中过表达的 TLR2、TLR4 经 PDT 治疗后有所下调,同时体外实验结果提示,受体介导通路下游的 IL-1 α 、TNF- α 和 IL-8 等炎症因子的过度表达受到抑制。越来越多的研究表明,ALA-PDT 可能通过多靶点的作用调节免疫反应,从而抑制 CA 的增殖和复发。

2.4 降低病毒载量

HPV 表达的某些蛋白,如 HPV E7 对局部细胞免疫有抑制作用,通过降低细胞表面 MHC- I 类分子水平,降低机体对病毒抗原肽的提呈作用,从而逃避宿主 T 细胞免疫。因而,高载量的 HPV 对局部细胞免疫抑制作用较强,使机体难以有效清除病毒。国内有学者研究表明 HPV 载量的高低与 CA 复发有明显关系^[28]。Hu 等^[29] 对 15 例年龄不等的 HPV 活动性感染患者进行 PDT 治疗(每周 1 次,共 3 次),在 1 次 PDT 治疗后,HPV DNA 阴性率为 80%;在 3 次 PDT 治疗后病毒载量明显降低,HPV DNA 阴性率为 93.33%。Ao 等^[30] 入组了 19 例肛管 CA 患者,所有患者在最后进行一次 PDT 治疗后的一周内,达到完全临床缓解,与治疗前相比,HPV 载量明显下降;治疗结束后 6 个月随访,无 1 例患者复发。CA 的复发因素众多,而 HPV 的高病毒载量与其预后密切相关,HPV 表达的部分蛋白可抑制局部细胞免疫,载量的增高使其免疫抑制相对加强^[4],因而,机体难以有效清除病毒。故 PDT 治疗对于病毒载量一定程度上的控制可相对改善预后。

3 总结与展望

尖锐湿疣是常见的性传播疾病之一,近年来 HPV 感染者数量居高不下,且高危型 HPV 持续感染易引发癌变。目前仍未找到公认的根除 HPV 感染的方法,CA 的感染率和复发率持续上升。相较于传统的治疗手段,光动力治疗因其较为准确的靶向性和较高的安全性逐渐成为治疗 CA 的有效策略,近年来在临床上得以迅速推广。越来越多的研究表明,ALA-PDT 治疗除了能够诱导细胞凋亡,产生细胞毒性外,对于疣体新生血管的损伤、过度增殖细胞的抑制、局部免疫的调节以及病毒载量的控制等方面有一定的优势。随着纳米医学、生物和光学等学科前沿技术的发展和融合,光动力治疗的方式和方案也愈加精准和高效,相信随着其作用机制的不断阐明和新技术的不断融合,ALA-PDT 的临床应用将会越来越广泛。

[参考文献]

[1] DU J, CHENG Q, ZHANG Z, et al. 5-aminolevulinic acid photodynamic therapy stimulates local immunity in patients with condylomata acuminata via activation of T lymphocytes[J]. Eur Rev Med Pharmacol, 2017, 21(5): 1125-1135.

[2] 中华医学会皮肤性病学会光动力治疗研究中心. 氨基酮戊酸光动力疗法临床应用专家共识[J]. 中华皮肤科杂志, 2015, 48(10):675-678.

[3] 方惠君,梅册芳,温景. 5-氨基酮戊酸光动力疗法联合 CO₂ 激光治疗肛周尖锐湿疣疗效观察[J]. 皮肤性病诊疗学杂志,2017,24(3):194-196.

[4] 黄美兴,朱璐,张远红,等. 光动力联合 CO₂ 激光治疗尖锐湿疣的复发观察[J]. 皮肤性病诊疗学杂志,2016, 23(5):327-328,345.

[5] YNAG Y, ZHANG Y, ZOU X, et al. Perspective clinical study on effect of 5-aminolevulinic acid photodynamic therapy (ALA-PDT) in treating condylomata acuminata in pregnancy[J]. Photodiagnosis Photodyn Ther, 2019,25: 63-65.

[6] JAIN A K, LEE C H, GILL H S. 5-aminolevulinic acid coated microneedles for photodynamic therapy of skin tumors[J]. J Control Release, 2016, 239:72-81.

[7] VAN LEEUWEN-VAN ZAANE F, DE BRUIJN H S, VAN DER PLOEG-VAN DEN HEUVEL A, et al. The effect of fluence rate on the acute response of vessel diameter and red blood cell velocity during topical 5-aminolevulinic acid photodynamic therapy [J]. Photodiagnosis Photodyn Ther, 2014, 11(2):71-81.

[8] WEN X, LI Y, HAMBLIN M R. Photodynamic therapy in dermatology beyond non-melanoma cancer: an update [J]. Photodiagnosis Photodyn Ther, 2017, 19:140-152.

[9] MILLA SANABRIA L, RODRIGUEZ M E, COGNO I S, et al. Direct and indirect photodynamic therapy effects on the cellular and molecular components of the tumor micro-environment [J]. Biochim Biophys Acta, 2013, 1835 (1):36-45.

[10] DE BRUIJN H S, MEIJERS C, VAN DER PLOEG-VAN DEN HEUVEL A, et al. Microscopic localisation of protoporphyrin IX in normal mouse skin after topical application of 5-aminolevulinic acid or methyl 5-aminolevulinate [J]. J Photochem Photobiol B, 2008, 92(2):91-97.

[11] 段泽星,谢立群. VEGF 在肿瘤生长和血管生成中的作用[J]. 世界华人消化杂志, 2010, 18(27):2894-2900.

[12] YIN G W, GUO Y, JIN B. Expressions of NDRG1, VEGF and Ki-67 in condyloma acuminatum [J]. J Biol Regul Homeost Agents, 2016, 30(3):773-776.

[13] KAWCZYK-KRUPKA A, SIEROŃ-STOŁTNY K, LATOS W, et al. ALA-induced photodynamic effect on vitality, apoptosis, and secretion of vascular endothelial growth factor (VEGF) by colon cancer cells in normoxic environ-

- ment in vitro[J]. Photodiagnosis Photodyn Ther, 2016, 13:308-315.
- [14] SONGOCK W K, KIM S M, BODILY J M. The human papillomavirus E7 oncoprotein as a regulator of transcription[J]. Virus Res, 2017, 231:56-75.
- [15] FAN D, FAN T J. Clonidine induces apoptosis of human corneal epithelial cells through death receptors-mediated, mitochondria-dependent signaling pathway[J]. Toxicol Sci, 2017,156(1):252-260.
- [16] GUO Q, DONG B, NAN F, et al. 5-aminolevulinic acid photodynamic therapy in human cervical cancer via the activation of microRNA-143 and suppression of the Bcl-2/Bax signaling pathway[J]. Mol Med Rep, 2016, 14(1):544-550.
- [17] MIAO F, LV T, ZHANG Y, et al. Induction of apoptosis in HPV 16 E7 transfected human keratinocyte by ALA-mediated photodynamic therapy[J]. Photodiagnosis Photodyn Ther, 2016,13:205-210.
- [18] KOPPARAPU P K, BOORJIAN S A, ROBINSON B D, et al. Expression of cyclin d1 and its association with disease characteristics in bladder cancer[J]. Anticancer Res, 2013, 33(12):5235-5242.
- [19] 沙珂. ALA-PDT 对尖锐湿疣组织角质形成细胞 Cyclin D1 和 Cyclin E 表达的影响[D]. 郑州:郑州大学, 2017:6-7.
- [20] YUAN J, NI G, WANG T, et al. Genital warts treatment;beyond imiquimod[J]. Hum Vaccin Immunother, 2018,14(7):1815-1819.
- [21] 白娟. 光动力治疗对尖锐湿疣患者免疫系统影响的初步研究[D]. 杭州:浙江大学, 2015.
- [22] WANG X, GAO X H, HONG Y, et al. Local hyperthermia decreases the expression of CCL-20 in condyloma acuminatum[J]. Virol J, 2010, 7(1):301.
- [23] CANNELLA F, PIERANGELI A, SCAGNOLARI C, et al. TLR9 is expressed in human papillomavirus-positive cervical cells and is overexpressed in persistent infections[J]. Immunobiology, 2015, 220(3):363-368.
- [24] WENG H, LIU H, DENG Y, et al. Effects of high mobility group protein box 1 and toll like receptor 4 pathway on warts caused by human papillomavirus[J]. Mol Med Rep, 2014, 10(4):1765-1771.
- [25] GIOMI B, PAGNINI F, CAPPUCINI A, et al. Immunological activity of photodynamic therapy for genital warts[J]. Br J Dermatol, 2011, 164(2):448-451.
- [26] 张云凤, 缪飞, 王宏伟, 等. 氨基酮戊酸光动力治疗尖锐湿疣局部免疫反应的研究[J]. 中华皮肤科杂志, 2013, 46(5):309-312.
- [27] MA Y, CHEN Q, LIU Y, et al. Effects of 5-aminolevulinic acid photodynamic therapy on TLRs in acne lesions and keratinocytes co-cultured with P. acnes[J]. Photodiagnosis Photodyn Ther, 2016, 15:172-181.
- [28] 古东, 梁春梅, 赖嘉希, 等. 光动力疗法对肛管内尖锐湿疣患者 HPV DNA 载量的影响[J]. 皮肤性病诊疗学杂志, 2016, 23(4):243-245.
- [29] HU Z, LI J, LIU H, et al. Treatment of latent or subclinical Genital HPV Infection with 5-aminolevulinic acid-based photodynamic therapy[J]. Photodiagnosis Photodyn Ther, 2018,23:362-364.
- [30] AO C, XIE J, WANG L, et al. 5-aminolevulinic acid photodynamic therapy for anal canal condyloma acuminatum: a series of 19 cases and literature review[J]. Photodiagnosis Photodyn Ther, 2018,23:230-234.

[收稿日期] 2019-07-23

[修回日期] 2019-09-15

欢迎投稿 欢迎订阅