

放射性纤维化的临床干预现状及靶向治疗前景

王 琪, 胡伟国, 宋启斌, 魏 嘉
(武汉大学人民医院, 湖北 武汉 430060)

摘 要:放射性纤维化是放射性损伤的重要组成部分,而目前临床中仍缺乏有效方法预防治疗放射性纤维化。现有的干预放射性纤维化的方法包括抗炎治疗、高压氧疗、抗氧化治疗,已有临床资料证实其有效性,但仍需大型随机对照试验的进一步证实。随着人们对放射性纤维化病理过程的认识,许多潜在的治疗靶点被发现,包括 TGF β 1、CTGF、酪氨酸激酶抑制剂。全文对放射性纤维化的临床现状及可选择的治疗靶点进行系统综述。

关键词:放射性纤维化;分子靶向治疗;转化生长因子;酪氨酸激酶抑制剂

中图分类号:R730.55 文献标识码:A 文章编号:1004-0242(2014)09-0765-05
doi:10.11735/j.issn.1004-0242.2014.09.A013

Current Status of Clinical Intervention and Targeted Therapy for Radiation Fibrosis

WANF Qi, HU Wei-guo, SONG Qi-bin, et al.
(Renming Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, China)

Abstract: Radiation fibrosis is an important component of radiation injury, and the current clinical treatment still lacks effective methods to prevent radiation fibrosis. Clinical therapeutic interventions for radiation fibrosis includes: anti-inflammatory treatment, hyperbaric oxygen therapy and antioxidant treatment. Although some clinical trials have provided effective evidence for therapeutic efficacy, but it remains to be confirmed in large randomized controlled trials. As people's awareness of radiation fibrosis pathological process, many potential therapeutic targets are found, including: TGF β 1, CTGF, tyrosine kinase inhibitors. Clinical status and therapeutic target for radiation fibrosis are systematic reviewed in this paper.

Key words: radiation fibrosis; molecular targeted therapy; TGF; tyrosine kinase inhibitor

放射治疗在现今肿瘤治疗中发挥重要作用。近年来,放射治疗在设备和技术上都已有长足发展,却仍不能避免治疗过程中对正常组织的损伤。随着肿瘤患者生存时间的延长,放射治疗带来的慢性损伤——放射性纤维化作为影响患者生活质量的重要因素已成为放射治疗医师所关注的热点之一。放射性纤维化是一复杂的病理过程,主要病理特点为细胞外基质的沉积和成纤维细胞的过度增生,尽管人们对这一病理生理改变的研究已取得不小进展,但临床实践中仍缺少有效方法预防、缓解和治疗放射性纤维化。本文就放射性纤维化的临床现状及可选

择的治疗靶点进行综述。

1 放射性纤维化临床干预研究

人们所认同的放射性纤维化治疗策略可概括为以下三种:(1)抗炎治疗,包括皮质类固醇类药物的使用;(2)血管治疗,如己酮可可碱的使用、高压氧疗;(3)抗氧化治疗,包括超氧化物歧化酶治疗、维生素E的使用,以及己酮可可碱与维生素E联合治疗。

炎性细胞的聚集和内源性炎症因子的产生被认为是放射治疗导致损伤的关键。动物实验也证明甾体类抗炎药、非甾体类抗炎药可减轻急性放射性炎

收稿日期:2014-02-19;修回日期:2014-03-30
通讯作者:宋启斌,E-mail:qibinsong@163.com

症反应和放射性纤维化的发生,但抗炎治疗的确切疗效缺乏临床资料的支持。

高压氧疗对晚期放射性损伤的缓解作用在多个研究中被证实。Clarke 等^[1]证实高压氧疗组患者较空白对照组患者可明显改善放射性直肠炎症状、提高生活质量。Shilo 等^[2]招募 32 例放射治疗导致的出血性膀胱炎的患者对其进行高压氧疗,其中 16 例患者的血尿症状完全缓解,10 例患者血尿症状改善、无需进一步治疗。Hampson 等^[3]为证实高压氧疗在慢性放射性损伤中的治疗作用进行了一项单中心临床研究,结果表明高压氧疗可显著性改善放射治疗导致的骨坏死、皮肤坏死、膀胱炎等症状。Bennett^[4]综合 11 项研究进行了高压氧疗对晚期放射性损伤的 meta 分析,结果显示:对于放射治疗引起的头颈部、肛管直肠部晚期损伤,高压氧疗可明显改善患者症状;但对于放射治疗引起的神经系统症状,其治疗作用并不显著。上述分析证实了高压氧疗对直肠炎、膀胱炎、放射性皮肤坏死、放射性骨坏死等晚期放射性损伤的疗效,虽未强调其在晚期放射性纤维化中的作用,但为高压氧疗可能改善放射性纤维化提供了依据。Gothard^[5]就高压氧疗对放射性纤维化的治疗作用进行了临床研究,19 例患者中有 3 例患者上臂体积缩小、8 例患者硬结软化,但此研究病例数过少、缺少对照组,高压氧疗对放射性纤维化的确切疗效仍需进一步的随机对照试验证实。

抗氧化治疗通过清除氧、防止细胞膜脂质过氧化、保护细胞膜完整性发挥抗放射性损伤的作用。目前研究最多的抗氧化治疗方法为已酮可可碱与维生素 E 的联合治疗,这一治疗方案已被多个研究证实对放射性损伤有预防和改善作用^[6-9]。Magnusson 等^[10]进行的一项二期临床试验探索了已酮可可碱与维生素 E 的联合治疗方案对放射性纤维化的疗效,招募的 83 例乳腺癌放射治疗后患者随机分为两组,试验组接受已酮可可碱和维生素 E 的联合治疗,对照组则使用安慰剂和维生素 E。经过为期 12 个月的治疗后,试验组和对照组的肩关节被动活动度均有改善,但两组间差异无统计学意义。Jacobson 等^[11]募集了 53 例乳腺癌患者随机分为对照组和试验组,试验组接受了 6 个月的已酮可可碱与维生素 E 的治疗,通过组织顺应性测量评价胸壁纤维化改善程度。结果显示试验组较对照组胸壁纤维化程度轻,且差

异具有统计学意义。Jacobson 由此认为已酮可可碱和维生素 E 联合治疗方案安全有效、耐受性好,可预防高危人群放射治疗后组织纤维化。

越来越多的临床医师开始关注放射性纤维化的临床治疗研究,但已报道的研究中参与患者病例数少,鲜有双盲随机对照试验,尚缺乏有力的证据来证实各类方法的有效性,有待大规模随机对照试验进一步证实。另外,虽然研究结果提示高压氧疗、已酮可可碱和维生素 E 的联合方案对放射性纤维化可能有效,但具体的作用机制仍需人们进一步探索。

2 放射性纤维化的治疗靶点

正常组织接受放射线照射后,基因表达、分子生物学改变的发生远早于病理学纤维化改变,特别是在照射发生数小时后细胞因子的级联激活被认为与纤维化反应的发生密切相关。细胞因子是一组参与不同细胞间相互调节的蛋白质,在细胞间相互作用、细胞的生长分化中发挥重要作用。细胞因子通过募集、激活炎性细胞参与到纤维化的发生过程中。已有实验证明,细胞因子的改变贯穿于放射线照射的即刻至数周、数月后。对接受放射治疗的乳腺癌患者进行基因表达芯片检测,发现 I 型、III 型胶原蛋白、结缔组织生长因子(connective tissue growth factor,CTGF)、纤连蛋白等 mRNA 水平升高。参与纤维化激活过程的细胞因子是潜在的放射性纤维化治疗靶点。同时,患者诊断为放射性纤维化时往往已处于纤维化的稳定期,因此在纤维化稳定期发挥作用的靶点较起始期发挥作用的靶点更有临床意义。部分前纤维化细胞因子不仅在纤维化起始阶段发挥重要作用,也参与纤维化稳定期的多条信号通路,如 CTGF、转化生长因子 $\beta 1$ (transforming growth factor $\beta 1$, TGF $\beta 1$)放射性纤维化可选择的治疗靶点见 Table 1。

2.1 TGF β

TGF β 被认为在放射性纤维化中发挥重要作用,也是被人们研究最多的前纤维细胞因子。TGF 包括 3 种亚型:TGF $\beta 1$ 、TGF $\beta 2$ 、TGF $\beta 3$,其中 TGF $\beta 1$ 被认为在伤口愈合及纤维化过程中起关键作用。TGF $\beta 1$ 参与细胞外基质调节,通过激活成纤维细胞、诱导其他前纤维细胞因子合成、分泌、促进纤维化过程。放射线照射使 TGF $\beta 1$ 表达增加。同时,由于

Table 1 Therapeutic target for radiation fibrosis

Therapeutic target	Drug	Therapy and action	Radiation model	References
TGFβ1	1D11	Antibody against TGF β1	Rat lung radiation injury	[13]
	SM16	TGF β1 inhibitor	Rat lung radiation injury	[14]
CTGF	Pravastatin	Rho/ROCK inhibitor	Rat radiation enteropath	[18]
	Pravastatin	Rho/ROCK inhibitor	Rat radiation skin damage	[20]
	Pravastatin	Rho/ROCK inhibitor	Bleomycin-induced acute lung injury	[21]
Receptor tyrosine kinase	SU9518	PDGF receptor tyrosine kinase inhibitor	Rabbit retina fibrosis	[23]
	imatinib	c-kit kinase inhibitor	Rat lung radiation injury	[24]
	imatinib	c-kit kinase inhibitor	Rat radiation skin damage	[25]
	imatinib	c-kit kinase inhibitor	Nephrogenic systemic fibrosis	[26]
	imatinib	c-kit kinase inhibitor	Idiopathic pulmonary fibrosis	[27]

放射线产生的活性氧增加了 TGFβ1 前体的水解,使活化 TGFβ1 增多。动物模型证实 TGFβ1 在肺、皮肤、乳腺、小肠组织放射性纤维化过程中发挥重要作用^[12]。人们期望通过设计靶向针对 TGFβ1 的抗体及 TGFβ1 受体激酶抑制剂,阻断 TGFβ1 信号通路以防止甚至逆转放射性纤维化。靶向针对 TGFβ1 的抗体 1D11 已在动物实验中证明对放射性肺损伤的发生有预防作用^[13]。在放疗结束后即刻静脉给予 1D11,通过肺的组织学、巨噬细胞激活聚集、TGFβ1 表达等改变以评价放疗结束 6 周、26 周后肺的放射性损伤情况。放疗结束 6 周后,在接受 1D11 治疗高剂量组(1mg/kg),巨噬细胞聚集、肺泡壁厚度、TGFβ1 表达较对照组明显下降。而在接受 1d11 治疗低剂量组(0.1mg/kg),并未观察到上述改变。而在放疗结束 26 周后,接受治疗组较对照组放射性肺损伤改变均明显改善,提示靶向针对 TGFβ1 是可行的预防放射性肺损伤的治疗方式。另外靶向 TGFβ1 受体的小分子激酶抑制剂 SM16 已在动物实验中证实了其对放射性肺损伤的预防作用^[14]。在放疗开始 7d 前开始给予实验组小鼠 SM16,结果表明,SM16 可以明显降低 TGFβ1 的激活、减少肺组织学改变、减轻炎症反应、改善肺功能状态,同时长期用药较短期用药可更好地预防远期放射性纤维化的发生。尽管临床前试验的结果提示了靶向针对 TGFβ1 药物的有效性,但 TGFβ1 生物学功能的多样性却使其临床应用受限。TGFβ1 与免疫细胞激活和内皮细胞增生相关,亦在抑癌基因调节的信号通路中发挥作用。阻滞 TGFβ1 是否会带来免疫功能下降、肿瘤细胞恶性增殖能力增强亟需进一步研究。Suzuki 等^[15]发现体外实验中 SM16 可抑制肿瘤细胞增殖,并进一步在动物实验

中证实 SM16 可能通过激活 CD8⁺T 细胞以发挥抗肿瘤作用。Garrison 等^[16]则将 SM16 与抗 TNFα 受体抗体 OX40 合用,在动物实验中两药的联合应用可以增强抗肿瘤效应。但靶向 TGFβ1 药物的药效、副作用等方面仍有待人们的进一步研究。

2.2 CTGF

CTGF 为 TGFβ1 信号通路的下游分子,与 TGFβ1 协同参与纤维化过程。CTGF 被认为与纤维化稳定阶段密切相关,在纤维化慢性期可观察到 CTGF 的持续表达而 TGFβ1 表达无变化^[17]。TGFβ1 依赖的 CTGF 激活主要依赖 Rho/ROCK 激酶途径,因此为阻滞 TGFβ1-CTGF 信号通路提供了临床干预靶点。Pravastatin 通过抑制 Rho 激酶途径而降低 CTGF、TGFβ1 基因表达,并已在体外实验和动物实验中证实可有效降低放射性纤维化的发生。Haydont 等^[18]将 Pravastatin 与人类放射性纤维化外移植物共培养,发现间质细胞表性改变,I 型胶原蛋白、纤维连接蛋白表达减少。而后的动物实验证明,经放射线照射的小鼠,使用 Pravastatin 减少了放射性肠纤维化的发生。该作者通过克隆源细胞存活实验和肿瘤生长延迟时间证实 Pravastatin 可在不干扰放疗抗肿瘤效应的基础上发挥保护作用^[19]。Holler^[20]则通过动物实验证明 Pravastatin 可预防放射性皮肤损伤的发生。Kim 等^[21]则发现 Pravastatin 可预防博来霉素引起的肺损伤和肺纤维化,提示了 Pravastatin 在急性肺损伤和肺纤维化中的应用前景。

2.3 酪氨酸激酶抑制剂

受体酪氨酸激酶是一组参与多条细胞内信号通路的蛋白家族。配体与受体的结合使细胞内区域的酪氨酸激酶激活并由此将细胞外信号传至细胞内。

受体酪氨酸激酶参与细胞外基质纤维化过程,被认为是治疗纤维化疾病的可能靶点之一。已有小分子受体酪氨酸激酶抑制剂被用于临床肿瘤治疗和纤维化疾病的治疗。将SU9518、伊马替尼用于放射性纤维化治疗的研究正在进行。SU9518是靶向血小板源生长因子受体(platelet-derived growth factor receptor, PDGFR)的小分子酪氨酸激酶抑制剂。Li等^[22]在体外实验中发现,放射线照射使成纤维细胞、内皮细胞的PDGF信号通路持续激活,PDGFR持续磷酸化,成纤维细胞、内皮细胞增殖活跃,而SU9518可显著性抑制放射线诱导的细胞增殖。已有动物实验证实SU9518对视网膜纤维化、神经胶质增生的治疗作用^[23],显示了SU9518在放射性纤维化治疗中的应用前景。伊马替尼则靶向针对c-kit激酶,主要通过抑制肥大细胞内的c-kit激酶活性达到降低肥大细胞增殖活性、减少前纤维化细胞因子产生的作用。研究发现在接受了放射线照射的小鼠中,接受伊马替尼治疗可显著性减少放射性肺纤维化的发生,即使在已有急性炎症反应后开始治疗,伊马替尼缓解放射性肺纤维化的作用仍然明显^[24]。提示伊马替尼及类似小分子化合物用于放射性纤维化临床治疗的可行性。Horton等^[25]则通过动物实验证实了伊马替尼对放射性皮肤纤维化的预防治疗作用,经35Gy照射的小鼠,实验组在照射结束后接受伊马替尼治疗,通过免疫组织化学、生化检测发现,伊马替尼可减少放射导致的PDGFR持续磷酸化、TGFβ1高表达和胶原蛋白沉积。虽然伊马替尼用于放射性纤维化治疗仅处于动物实验阶段,但伊马替尼用于纤维化疾病的治疗备受人们关注。Elmholdt等^[26]募集25例患者进行的临床试验证实了伊马替尼对肾源性多发性纤维化的治疗作用,即使在低剂量下,伊马替尼仍可缓解肾源性多发性纤维化患者的皮肤反应症状。Daniels等^[27]进行的随机对照试验却并未发现伊马替尼对特发性肺纤维化患者的治疗作用,对募集的119例患者进行为期96周的追踪回访发现,伊马替尼治疗组的患者较对照组患者并未取得显著的临床获益。针对伊马替尼用于纤维化疾病治疗或阴性或阳性的结果,更多的基础研究、临床试验正在进行阶段,伊马替尼对放射性纤维化的作用仍需更多动物实验、临床资料的支持。

3 小结与展望

现有的临床前试验、临床资料都表明放射性纤维化一定程度上是可逆的。然而,现在尚无切实有效的临床方法预防改善放射性纤维化。近年来,随着放射性纤维化病理过程、病理生理机制的研究深入,特别是参与放射性纤维化细胞信号通路的信号分子的发现,重新定义了放射性纤维化的治疗方式。许多靶向药物仍处于临床前阶段,如何有效地将临床前药物成功转入临床试验研究是最大的挑战。从不同研究思路和途径研发不同的靶向药物是今后抗放射性纤维化药物的努力方向,而设计严谨合理的临床试验有助于评价药物的治疗疗效、推广药物的临床应用。

参考文献:

- [1] Clarke RE, Tenorio LM, Hussey JR, et al. Hyperbaric oxygen treatment of chronic refractory radiation proctitis: a randomized and controlled double-blind crossover trial with long-term follow-up[J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2008, 72(1): 134-143.
- [2] Shilo Y, Efrati S, Simon Z, et al. Hyperbaric oxygen therapy for hemorrhagic radiation cystitis [J]. *Isr Med Assoc J*, 2013, 15(2): 75-78.
- [3] Hampson NB, Holm JR, Wreford-Brown CE, et al. Prospective assessment of outcomes in 411 patients treated with hyperbaric oxygen for chronic radiation tissue injury[J]. *Cancer*, 2012, 118(15): 3860-3868.
- [4] Bennett MH, Feldmeier J, Hampson N, et al. Hyperbaric oxygen therapy for late radiation tissue injury[J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2012, 5: D5005.
- [5] Gothard L, Stanton A, Maclaren J, et al. Non-randomised phase II trial of hyperbaric oxygen therapy in patients with chronic arm lymphoedema and tissue fibrosis after radiotherapy for early breast cancer [J]. *Radiother Oncol*, 2004, 70(3): 217-224.
- [6] Brennan S, Salib O, O'Shea C, et al. A randomized prospective study of extended tocopherol and pentoxifylline therapy, in addition to carbogen, in the treatment of radiation late effects[J]. *Ecancermedicalscience*, 2008, 2: 81.
- [7] Williamson R, Kondziolka D, Kanaan H, et al. Adverse radiation effects after radiosurgery may benefit from oral vitamin E and pentoxifylline therapy: a pilot study [J]. *Stereotact Funct Neurosurg*, 2008, 86(6): 359-366.
- [8] Venkitaraman R, Price A, Coffey J, et al. Pentoxifylline to

- treat radiation proctitis;a small and inconclusive randomised trial[J]. Clin Oncol (R Coll Radiol),2008,20(4): 288-292.
- [9] Delanian S,Lefaix JL,Maisonobe T,et al. Significant clinical improvement in radiation-induced lumbosacral polyradiculopathy by a treatment combining pentoxifylline,tocopherol, and clodronate(Pentoclo)[J]. J Neurol Sci,2008,275(1-2): 164-166.
- [10] Magnusson M,Hoglund P,Johansson K,et al. Pentoxifylline and vitamin E treatment for prevention of radiation-induced side-effects in women with breast cancer;a phase two,double-blind,placebo-controlled randomised clinical trial (Ptx-5)[J]. Eur J Cancer,2009,45(14):2488-2495.
- [11] Jacobson G,Bhatia S,Smith BJ,et al. Randomized trial of pentoxifylline and vitamin E vs standard follow-up after breast irradiation to prevent breast fibrosis,evaluated by tissue compliance meter[J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2013,85(3):604-608.
- [12] Martin M,Lefaix J,Delanian S. TGF-beta1 and radiation fibrosis;a master switch and a specific therapeutic target? [J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys,2000,47(2):277-290.
- [13] Anscher MS,Thrasher B,Rabbani Z,et al. Antitransforming growth factor-beta antibody 1D11 ameliorates normal tissue damage caused by high-dose radiation[J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys,2006,65(3):876-881.
- [14] Anscher MS,Thrasher B,Zgonjanin L,et al. Small molecular inhibitor of transforming growth factor-beta protects against development of radiation-induced lung injury[J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys,2008,71(3):829-837.
- [15] Suzuki E,Kim S,Cheung HK,et al. A novel small-molecule inhibitor of transforming growth factor beta type I receptor kinase (SM16) inhibits murine mesothelioma tumor growth in vivo and prevents tumor recurrence after surgical resection[J]. Cancer Res,2007,67(5):2351-2359.
- [16] Garrison K,Hahn T,Lee WC,et al. The small molecule TGF-beta signaling inhibitor SM16 synergizes with agonistic OX40 antibody to suppress established mammary tumors and reduce spontaneous metastasis [J]. Cancer Immunol Immunother,2012,61(4):511-521.
- [17] Leask A,Abraham DJ. TGF-beta signaling and the fibrotic response[J]. FASEB J,2004,18(7):816-827.
- [18] Haydont V,Bourgier C,Pocard M,et al. Pravastatin inhibits the Rho/CCN2/extracellular matrix cascade in human fibrosis explants and improves radiation-induced intestinal fibrosis in rats[J]. Clin Cancer Res,2007,13(18 Pt 1):5331-5340.
- [19] Haydont V,Gilliot O,Rivera S,et al. Successful mitigation of delayed intestinal radiation injury using pravastatin is not associated with acute injury improvement or tumor protection [J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys,2007,68(5): 1471-1482.
- [20] Holler V,Buard V,Gaugler MH,et al. Pravastatin limits radiation-induced vascular dysfunction in the skin [J]. J Invest Dermatol,2009,129(5):1280-1291.
- [21] Kim JW,Rhee CK,Kim TJ,et al. Effect of pravastatin on bleomycin-induced acute lung injury and pulmonary fibrosis[J]. Clin Exp Pharmacol Physiol,2010,37(11):1055-1063.
- [22] Li M,Ping G,Plathow C,et al. Small molecule receptor tyrosine kinase inhibitor of platelet-derived growth factor signaling (SU9518) modifies radiation response in fibroblasts and endothelial cells[J]. BMC Cancer,2006,6:79.
- [23] Velez G,Weingarden AR,Lei H,et al. SU9518 inhibits proliferative vitreoretinopathy in fibroblast and genetically modified Muller cell-induced rabbit models [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci,2013,54(2):1392-1397.
- [24] Li M,Abdollahi A,Grone HJ,et al. Late treatment with imatinib mesylate ameliorates radiation-induced lung fibrosis in a mouse model[J]. Radiat Oncol,2009,4:66.
- [25] Horton JA,Chung EJ,Hudak KE,et al. Inhibition of radiation-induced skin fibrosis with imatinib [J]. Int J Radiat Biol,2013,89(3):162-170.
- [26] Elmholt TR,Buus NH,Ramsing M,et al. Antifibrotic effect after low-dose imatinib mesylate treatment in patients with nephrogenic systemic fibrosis;an open-label non-randomized,uncontrolled clinical trial[J]. J Eur Acad Dermatol Venereol,2013,27(6):779-784.
- [27] Daniels CE,Lasky JA,Limper AH,et al. Imatinib treatment for idiopathic pulmonary fibrosis;Randomized placebo-controlled trial results [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2010,181(6):604-610.