

## 5-ALA 的光动力学治疗在脑胶质瘤中的应用进展

褚纪发 综述 詹仁雅 沈建 审校

浙江大学医学院附属第一医院神经外科 浙江 杭州 310000

**摘要:** 人脑胶质瘤是一种侵袭性的恶性肿瘤,其边界不清,手术难以全切,术后的放、化疗效果差,不尽人意。5-氨基乙酰丙酸(5-aminolevulinic acid, 5-ALA)是人体合成卟啉和血红素的前体。外源性的 5-ALA 诱导产生的血红素合成前体原卟啉 IX,能够选择性地聚集于人脑胶质瘤细胞内,在一定波长的光辐射下,发生荧光反应和光促氧化反应。利用这种荧光反应可以进行术中定位脑胶质瘤边界,辅助切除肿瘤残留组织并保护正常脑组织;并且进一步通过光促氧化反应产生活性氧物质杀伤肿瘤组织。近来大量临床研究表明,光动力学定位(Photodynamic diagnosis, PDD)及治疗(Photodynamic therapy, PDT)能够明显减少肿瘤复发的机会并延长患者生存时间。因此我们将就 5-ALA 在脑胶质瘤中的应用作一综述。

**关键词:** 5-氨基乙酰丙酸(5-ALA);原卟啉 IX;光动力学定位(PDD)及治疗(PDT);恶性脑胶质瘤

恶性胶质瘤是一种常见的侵袭性的脑肿瘤,目前高级别胶质瘤患者的平均生存时间不超过 12 个月,尽管目前有许多的综合治疗,如术后放疗,化疗,以及新出现的辅助治疗如肿瘤免疫治疗、基因治疗,但是手术切除仍然是提高生存期的关键,而且这些辅助治疗的疗效很大程度上依赖于肿瘤的最大切除程度。由于胶质瘤浸润性生长,其肿瘤组织和周围脑组织没有明确的边界,即使是有经验的神经外科医生,也不能达到手术全切。因此,手术治疗胶质瘤的关键在于最大限度切除周围受浸润的肿瘤组织并且保留正常脑组织,目前已经有很多影像学技术,包括术中 MRI、术中超声及术中 CT 等,来确定肿瘤边界,能够在一定程度上帮助提高肿瘤的全切除率。

20 世纪 80 年代以来,光动力定位(PDD)和治疗(PDT)被认为是癌症治疗中最具前景的一种新方法,通过光敏剂在肿瘤组织的局部聚集,并通过一定波长的光辐射后,发生荧光反应介导肿瘤定位,从而完全切除肿瘤,并且发生光促氧化反应,直接杀死肿瘤组织。在过去的 20 年内,光敏剂如血卟啉衍生物和光卟啉,已经被广泛运用于脑肿瘤光动力学治疗。但是其存在许多缺点,主要包括肿瘤的选择性差,更重要的是有长期的皮肤光敏副作用。近年来大量的临床研究表明 5-氨基乙酰丙酸(5-ALA)对脑胶质瘤边界的定位和光动力学治疗

能明显改善预后。本文对 5-ALA 光动力学定位和治疗在脑胶质瘤中的应用进展进行综述。

### 1 5-ALA 生物学特性

5-ALA 是一简单的内源性五碳化合物。正常情况下,血红素生物合成路径是从甘氨酸和琥珀酰辅酶 A 合成 5-ALA 开始的,最后经亚铁螯合酶将原卟啉 IX 转换为亚铁血红素,并通过血红素的负反馈调节,维持体内的原卟啉 IX 稳定。然而在肿瘤组织,亚铁螯合酶活性降低,上述调节机制被打乱,当给予过量的外源性 5-ALA 时,结果使肿瘤组织内原卟啉 IX 聚集浓度增高,产生累积效应<sup>[1]</sup>。5-ALA 选择性聚集于肿瘤细胞后,诱导产生的原卟啉 IX,在波长为 372 ~ 440 nm 激光照射后,发生光化学反应,导致肿瘤细胞死亡,并且在荧光显微镜下肿瘤细胞发出约 635 ~ 704 nm 波长的红光而显示出来,故临床上可用于恶性肿瘤的诊断和治疗。

在各种光敏剂中,5-ALA 是目前光动力治疗领域中最具前景,最活跃的光敏剂前体,其介导的光敏剂原卟啉 IX 对肿瘤组织敏感性高、特异性强;光敏剂吸收光谱的吸收峰值位于红光区,激光辐射波长,对组织的穿透力强;半衰期短、代谢快、毒副作用小,尤其皮肤光敏作用轻;给药途径简单,全身和局部给药均可,而且可以反复多次治疗<sup>[2]</sup>。其 5-ALA 酯类衍生物尤其是长链酯,脂溶性高,组织通透性高,更易穿过靶细胞的质膜,增加了肿瘤细

收稿日期:2013-06-15;修回日期:2013-08-28

作者简介:褚纪发(1974-),男,副主任医师,浙江大学医学院附属第一医院神经外科在职硕士研究生,现工作于浙江省平湖市第一人民医院,主要从事脑肿瘤与脑血管病的基础和临床研究。

通讯作者:詹仁雅,男,主任医师,教授,博士生导师,主要从事脑肿瘤与脑血管病的基础和临床研究。

胞对 5-ALA 的选择性吸收,从而增加原卟啉 IX 的聚集浓度<sup>[3]</sup>;并且对血脑屏障也具有通透性,研究表明 5-ALA 是通过两种转运载体,一种是 PEPT 系统转运载体<sup>[4]</sup>,另一种是依赖 Na-HCO<sub>3</sub> 的载体<sup>[5]</sup>,可以将 5-ALA 在血脑之间吸收和转运。

## 2 5-ALA 作用机制

### 2.1 5-ALA 作用于细胞信号转导通路

5-ALA 主要影响肿瘤细胞死亡、细胞周期及炎症免疫等信号转导通路,引起细胞急性应激反应,最终导致肿瘤细胞死亡。这些细胞信号转导通路包括:钙通道、脂质代谢、酪氨酸激酶、转录因子及细胞因子等。

**2.1.1 细胞凋亡信号通路** 在细胞信号通路中 PDT 最重要的靶是蛋白 Bcl 坏死家族的激活,由于在肿瘤细胞中光线破坏了 Bcl-2,诱导凋亡。Bcl-2 的表达与 PDT 的有效反应有联系,能够用来预测癌细胞对 PDT 反应的总响应<sup>[6,7]</sup>。另有报道在 PDT 后高比例的细胞死亡,在细胞溶解产物中发现半胱天冬酶(caspase) 3 和 9,标志着 PDT 在细胞的死亡过程中激活它们<sup>[8,9]</sup>。

**2.1.2 钙离子通道** 钙离子通道是细胞内重要的第二信使,细胞内钙超载是引起肿瘤细胞死亡的关键因素,细胞内钙超载作为凋亡信号启动凋亡。体外研究表明 PDT 治疗后引起内质网和线粒体内膜上的钙离子通道开放或激活离子交换通道,导致钙离子内流,引起细胞内总钙水平明显升高,最终导致细胞凋亡<sup>[10]</sup>。

**2.1.3 脂质代谢** 磷脂酶类是重要的细胞信号转导分子,PDT 治疗后,可以激活细胞膜表面的磷脂酶 A2,磷脂酶 C 及酸性磷脂酶信号通路。激活磷脂酶 A2 后产生花生四烯酸及前列腺素 E2,启动细胞凋亡。磷脂酶 C 激活后,磷脂酰肌醇二磷酸(PIP2)分解产生 1,4,5-肌醇三磷酸(IP3)和二酰甘油(DAG)两个第二信号分子。DAG 和钙离子共同作用激活蛋白激酶 c,激活细胞凋亡信号通路。酸性磷脂酶激活后产生神经酰胺,神经酰胺是一种应激诱导的第二信使,可以激活参与应激信号通路的蛋白激酶和蛋白磷酸酶等,已被证明是一个强大的二次信号效应,调节不同的细胞过程,包括分子细胞凋亡,细胞衰老,细胞周期,细胞分化;并且大多数肿瘤细胞经 PDT 治疗后,神经酰胺明显上升,参与细胞凋亡途径并且影响肿瘤代谢及转移<sup>[11]</sup>。

**2.1.4 酪氨酸激酶途径** 酪氨酸激酶是细胞生长过程中重要的细胞转导通路,MAPK/ERK1/2 细胞信号通路参与调节细胞增殖、细胞转化、细胞分化、细胞存活和死亡等过程。研究表明,PDT 后细胞信号转导分子(ERK) 1/2 表达明显下降,与细胞凋亡成正相关。表皮生长因子受体(EGFR)是一种影响肿瘤细胞发生、发展的酪氨酸激酶,尤其影响肿瘤细胞增生,血管发生,侵袭及转移。大量研究证实 PDT 后能够引起肿瘤细胞失表达 EGFR,诱导细胞凋亡,研究还证实,PDT 后 EGFR 磷酸化表达及磷酸化下调,诱导细胞凋亡及抑制肿瘤细胞转移<sup>[12]</sup>。

**2.1.5 细胞因子及转录因子** 细胞因子及转录因子被认为是细胞信号转导过程中的起始和结束阶段重要的信号分子,研究表明 PDT 后可以增加或减少细胞因子的表达,如 NF(13)、IL-10(14)及 IL-6 等,他们通过与膜受体结合,激活第二信使传递信号通路,通常是酪氨酸激酶,进而启动转录因子的表达,启动细胞凋亡途径<sup>[11]</sup>。

### 2.2 5-ALA 作用于肿瘤组织机制

5-ALA 介导的光敏剂原卟啉 IX,经过一定时间后聚集于肿瘤组织内,在特定波长的激光辐射下,基态的光敏剂由单线态变为三线态,三线态光敏剂一方面在 O<sub>2</sub> 的作用下通过能量转移途径形成单线态 O<sub>2</sub>(II 型反应)或三线态光敏剂通过电子转移途径形成各种自由基(I 型反应),I 和 II 型反应产生各种活性氧物质(ROS),能导致肿瘤组织内细胞线粒体损伤,最终引起细胞死亡<sup>[13]</sup>。5-ALA 作用于肿瘤组织主要通过三种机制<sup>[11]</sup>:①直接杀伤肿瘤细胞: PDT 治疗后肿瘤细胞产生的 ROS,激活细胞内多条信号转导通路,如激活钙离子通道,脂类代谢途径以及酪氨酸激酶途径等,引起组织器官损伤,最终直接导致细胞坏死或凋亡。②破坏肿瘤血管: PDT 治疗后肿瘤供血动脉及毛细血管内皮细胞和白细胞等损伤,前列腺素合成增加,激活血小板聚集,引起血栓形成,导致微血管变细,闭塞,血管通透性增加,血流减少,肿瘤缺血缺氧,逐渐引起肿瘤组织坏死。③肿瘤组织内炎症反应: PDT 治疗后释放细胞因子和诱导应激反应蛋白表达,导致肿瘤组织内白细胞浸润,引起肿瘤组织急性炎症反应,刺激免疫系统识别和消灭肿瘤细胞。

## 3 5-ALA 治疗胶质瘤临床应用

20 世纪 80 年代以来,PDD 和 PDT 被认为是癌

症治疗中最具前景的一种新方法,而在恶性胶质瘤病人手术治疗中采用 5-ALA 荧光引导的外科手术被认为是具有比其它方法更简单和廉价的特点<sup>[14]</sup>。在手术前口服 5-ALA,几个小时后在胶质瘤细胞内高选择性聚集原卟啉 IX,在蓝紫光的辐射下,肿瘤组织发出荧光而被识别和定位,从而与正常脑组织区分开来<sup>[15]</sup>。在胶质母细胞瘤(GBM)病人中可以观察到不同的荧光种类<sup>[16-18]</sup>,Stummer 和 Hefti 等<sup>[16,19]</sup>认为实质肿瘤组织呈现深红荧光而鉴别,而正常的脑组织染成蓝色,将介于深红荧光与蓝色荧光之间发紫红色荧光的肿瘤组织,称之为模糊效应。Diez Valle 等<sup>[18]</sup>将荧光分不同的种类,实体瘤发出边界清楚的红色荧光来区别,而肿瘤边界为粉红色荧光。Roberts 等<sup>[17]</sup>根据荧光水平不同将肿瘤组织分为:0 没有荧光,1 低荧光,2 中等荧光,3 高等荧光。Diez Valle 等<sup>[18]</sup>认为肿瘤在强荧光(明亮红色)定位诊断敏感度 85.7%,特异性 100%,而紫红色荧光敏感度为 85.4%,特异性为 92.3%。Stummer 等<sup>[16]</sup>测量肿瘤与正常脑组织在服药后 6 小时顶峰时的荧光比例范围为 6:1 到 10:1,在浸润性肿瘤的特异性为 98%。这个比例被证明是足够用以区别正常脑组织和肿瘤,甚至在肿瘤浸润地带。Zhao 等<sup>[20]</sup>共纳入 10 个随机对照及前瞻性试验研究进行 meta 分析表明,与常规的导航切除相比,5-ALA 光动力学诊断敏感性为 87%,特异性为 89%,表明光动力学对胶质瘤的定位明显高于常规手术组。

目前临床研究表明,5-ALA 引导的胶质瘤切除术显著提高了手术切除率和患者生存期。Eljamel 等<sup>[21]</sup>通过 5-ALA 引导下切除 114 例颅内肿瘤,包括胶质瘤,垂体瘤,转移瘤等,研究表明胶质瘤荧光(明亮红色)敏感度 85.7%,特异性 100%,表明 5-ALA 光动力学治疗更适合颅内胶质瘤。Panciania 等<sup>[22]</sup>通过单中心临床 III 期随机对照试验,入选 27 例多形性胶质母细胞瘤患者,分为光动力学治疗 13 例及对照组 14 例,研究表明通过反复的光动力学治疗组平均生存期达 52.8 周,而对照组为 24.6 周( $p < 0.05$ ),术后患者 KPS 明显提高,无瘤进展期大大增加。Diez Valle 等<sup>[18]</sup>通过 36 例胶质母细胞瘤的前瞻性研究表明,通过 5-ALA 引导下的手术切除术,术后 MRI 增强显示平均肿瘤体积减少 99.8%,并且术后 1 月无患者死亡。Stummer 等<sup>[23]</sup>通过 II 期临床试验主要针对 5-ALA 光动力学治疗

安全性问题,入选 243 例患者行 5-ALA 光动力学治疗联合放化疗,并未发现有严重的副作用。随后 Stummer 等<sup>[24]</sup>通过 III 期临床随机对照实验,最终入选 176 例光动力学治疗患者及 173 例对照患者,虽然研究表明广泛切除的光动力学治疗可能增加患者术后短暂神经功能缺失程度的机会,但是患者肿瘤切除体积及无瘤进展期均明显大于对照组。

#### 4 应用前景

综上所述,5-ALA PDT 选择性作用于肿瘤细胞,而对正常组织无损伤,这是其他治疗肿瘤的方法,包括手术、放疗和化疗等所不具备的优点,因此可以治愈早期肿瘤和控制晚期肿瘤的发展,为胶质瘤的治疗和辅助疗法提供了一条新的途径。但是目前仍存在许多问题,如 5-ALA 作用机制目前还尚未完全阐明,缺乏原卟啉 IX 动力学方面的研究,而且目前尚处于早期临床试验阶段,尤其对低级别胶质瘤敏感性低等问题,将有待于进一步研究。

#### 参 考 文 献

- [1] Krammer B, Plaetzer K. ALA and its clinical impact, from bench to bedside. *Photochem Photobiol. Sci*, 2008, 7(3): 283-289.
- [2] Madsen SJ, Sun CH, Tromberg BJ, et al. Development of a novel indwelling balloon applicator for optimizing light delivery in photodynamic therapy. *Lasers Surg Med*, 2001, 29(5): 406-412.
- [3] Uehlinger P, Zellweger M, Wagnieres G. 5-Aminolevulinic acid and its derivatives: physical chemical properties and protoporphyrin IX formation in cultured cells. *J Photchem Photobiol B*, 2000, 54(1): 72-80.
- [4] Rodriguez L, Batlle A, Di Venosa G, et al. Study of the mechanisms of uptake of 5-aminolevulinic acid derivatives by PEPT1 and PEPT2 transporters as a tool to improve photodynamic therapy of tumours. *Int J Biochem Cell Bio*, 2006, 38(9): 1530-1539.
- [5] Novotny A, Xiang J, Stummer W, et al. Mechanisms of 5-Aminolevulinic Acid Uptake at the Choroid Plexus. *J Neurochem*, 2000, 75(1): 321-328.
- [6] Pan M, Peng ZH, Xiao SX, et al. Apoptotic effect and mechanisms of AHPN on human skin malignant melanoma cell A375. *J Nanjing Med. Univ*, 2008, 22(1): 18-22.
- [7] Roland CL, Harken AH, Sarr MG, et al. ICAM-1 expression determines malignant potential of cancer. *J Surgery*, 2007, 141(6): 705-707.
- [8] MacCormack MA. Photodynamic therapy in dermatology: an

- update on applications and outcomes. *Semin. Cutan Med Surg* , 2008 , 27( 1 ) : 52-62.
- [9] Juzeniene A , Moan J. The history of PDT in Norway. Part two: recent advances in general PDT and ALA-PDT , *Photodiag. Photodyn. Ther* , 2007 , 4: 80-87.
- [10] Haqq C , Nosrati M , Sudilovsky D , et al , The gene expression signatures of melanoma progression , *Nat. Acad. Sci* , 2005 , 17: 6092-6097.
- [11] Robertson CA , Evans DH , Abrahamse H. Photodynamic therapy( PDT) : A short review on cellular mechanisms and cancer research applications for PDT. *J Photochem Photobiol B* , 2009 , 96( 1 ) : 1-8.
- [12] Huang YH , Lee TH , Chan KJ , et al. Anemonin is a natural bioactive compound that can regulate tyrosinase-related proteins and mRNA in human melanocytes , *J Dermatol Sci* , 2008 , 49( 2 ) : 115-123.
- [13] Lee Y , Baron ED. Photodynamic Therapy: Current Evidence and Applications in Dermatology. *Semin Cutan Med Surg* , 2011 , 30( 4 ) : 199-209.
- [14] Kubben PL , ter Meulen KJ , Schijns OE , et al. Intraoperative MRI-guided resection of glioblastoma multiforme: a systematic review. *Lancet Oncol* , 2011 , 12( 11 ) : 1062-1070.
- [15] Roberts DW , Valdes PA , Harris BT , et al. Glioblastoma multiforme treatment with clinical trials for surgical resection ( aminolevulinic Acid ) . *Neurosurg Clin N Am* , 2012 , 23( 3 ) : 371-377.
- [16] Stummer W , Novotny A , Stepp H , et al. Fluorescence-guided resection of glioblastoma multiforme by using 5-aminolevulinic acid-induced porphyrins: a prospective study in 52 consecutive patients. *J Neurosurg* , 2000 , 93( 6 ) : 1003-1013.
- [17] Roberts DW , Valdes PA , Harris BT , et al. Coregistered fluorescence-enhanced tumor resection of malignant glioma: relationships between delta-aminolevulinic acid-induced protoporphyrin IX fluorescence , magnetic resonance imaging enhancement , and neuropathological parameters. *J Neurosurg* , 2011 , 114( 3 ) : 595-603.
- [18] Diez Valle R , Tejada Solis S , Idoate Gastearena MA , et al. Surgery guided by 5-aminolevulinic fluorescence in glioblastoma: volumetric analysis of extent of resection in single-center experience. *J Neurooncol* , 2011 , 102( 1 ) : 105-113.
- [19] Hefti M , von Campe G , Moschopoulos M , et al. 5-aminolevulinic acid induced protoporphyrin IX fluorescence in high-grade glioma surgery: a one-year experience at a single institution. *Swiss Med Wkly* , 2008 , 138( 11-12 ) : 180-185.
- [20] Zhao S , Wu J , Wang C , et al. Intraoperative Fluorescence-Guided Resection of High-Grade Malignant Gliomas Using 5-Aminolevulinic Acid-Induced Porphyrins: A Systematic Review and Meta-Analysis of Prospective Studies. *PLoS One* , 2013 , 8( 5 ) : e63682.
- [21] Eljamel MS , Goodman C , Moseley H. ALA and Photofrin fluorescence-guided resection and repetitive PDT in glioblastoma multiforme: a single centre Phase III randomised controlled trial. *Lasers Med Sci* , 2008 , 23( 4 ) : 361-367.
- [22] Panciani PP , Fontanella M , Schatlo B , et al. Fluorescence and image guided resection in high grade glioma. *Clin Neurol. Neurosurg* , 2012 , 114( 1 ) : 37-41.
- [23] Stummer W , Nestler U , Stockhammer F , et al. Favorable outcome in the elderly cohort treated by concomitant temozolomide radiochemotherapy in a multicentric phase II safety study of 5-ALA. *J Neurooncol* , 2011 , 103( 2 ) : 361-370.
- [24] Stummer W , Tonn JC , Mehdorn HM , et al. Counterbalancing risks and gains from extended resections in malignant glioma surgery: a supplemental analysis from the randomized 5-aminolevulinic acid glioma resection study. *J Neurosurg* , 2011 , 114( 3 ) : 613-623.