

hydrogen peroxide in human cells [J]. *Cancer Res*, 1997, 57(18): 3963-3971.

- [10] Kroemer G. The proto-oncogene *bcl-2* and its role in regulating apoptosis [J]. *Nat Med*, 1997, 3(6): 614-620.
- [11] Mothersill C. Cell-cell contact during gamma irradiation is not required to induce a bystander effect in normal human keratinocytes: evidence for release during irradiation of a signal controlling survival into the

medium [J]. *Radiat Res*, 1998, 149(3): 256-262.

- [12] Azzam ED, Toledo SMD, Gooding T, et al. Intercellular communication is involved in the bystander regulation of gene expression in human cells exposed to very low fluences of alpha particles [J]. *Radiat Res*, 1998, 150: 497-504.
- [13] Grosovsky A. Radiation-induced mutations in unirradiated DNA [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96: 5346-5347.

Study on bystander effects induced by radiation

LU Ying

(*Institute of Radiation Medicine, Academy of Military Medical Science, Beijing 100850, China*)

Abstract Radiation can cause a lot of biological effects in irradiated cells, such as mutations, changes of gene expression, cell growth and so on. But these effects can also be observed in non-irradiated cells. This phenomenon is termed as bystander effect. Up to now, the mechanisms of bystander effects have been known very little. It is believed that extracellular factors or intercellular communications play a very important role in the process.

Key words radiation; bystander effect; extracellular factors; gap junction

文章编号: 1001-098X(2001)05-0228-05

放疗抑制血管成形术后再狭窄的研究进展

庄永志, 王俊杰

(北京大学第三医院肿瘤治疗中心, 北京 100083)

摘要: 放疗预防 PTCA 后再狭窄的临床应用取得了令人瞩目的疗效。近年来人们在基础和临床方面做了许多深入细致的研究工作。这些工作主要集中在: 放疗抑制再狭窄的机制; 放疗的时间点、剂量和剂量率; 照射方式以及放疗所产生的副作用等。

关键词: 放疗; 再狭窄; 平滑肌细胞; 经皮穿刺冠状动脉成形术

中图分类号: Q274 R817.8 文献标识码: A

近 20 年来, 经皮穿刺冠状动脉血管成形术 (percutaneous transluminal coronary angioplasty, PTCA) 得到很大发展, 但仍被 PTCA 后再狭窄所困扰, 术后 6 个月内约有 40% ~ 60% 的病人出现再狭

窄。在预防 PTCA 后再狭窄的研究中, 放疗预防再狭窄的基础与临床研究最为成功。

1 PTCA 后再狭窄的形成机制

PTCA 后再狭窄的形成机制是血管机械性损伤的修复反应, 目前认为单纯球囊扩张术后再狭窄的机制主要有以下几个方面: (1) 血管机械性损伤深达中膜和外膜, 使胶原纤维暴露, 造成炎性细胞 (单核细胞和巨噬细胞) 浸润和血小板粘附聚集, 炎性细胞和血小板释放多种生物活性物质, 激活血管平滑肌细胞 (vascular smooth muscle cells, VSMCs) 使其迁移到内膜, 增殖和分泌细胞外基质, 最终导致管性狭窄; (2) 引起动脉壁深度损伤, 导致外膜炎症和随

收稿日期: 2001-08-03

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (39900167)

作者简介: ① 庄永志 (1972-), 男, 黑龙江大庆人, 大庆油田总医院主治医师, 现为北京大学第三医院肿瘤治疗中心硕士研究生, 主要从事射线抑制再狭窄的细胞和分子生物学机制研究。

② 王俊杰 (1964-), 男, 内蒙古乌兰浩特人, 北京大学第三医院肿瘤治疗中心副主任医师, 硕士, 主要从事射线抑制再狭窄的细胞和分子生物学机制及肿瘤粒子种植治疗的研究。

审校者: 北京大学第三医院肿瘤治疗中心 贾廷珍

后的纤维化,进而导致血管弹性回缩和血管重塑;
(3)外膜肌成纤维细胞穿过受损中膜参与新生内膜形成,并使其加厚;(4)诱导附壁血栓形成,造成局部斑痕

PTCA后植入支架可降低再狭窄发生率,但是支架内也可出现再狭窄,Christen T等^[1]认为,单纯的PTCA及PTCA+支架植入术后再狭窄的主要机制都是血管中膜VSMCs迁移到内膜,增生和分泌细胞外基质所致。PTCA+支架植入术后再狭窄几乎完全是由于组织异常增生所引起的,但也有研究认为,血管重塑是引起PTCA后再狭窄的重要机制,Mintz GS等^[2]报道,PTCA后失败的病例中有73%是由于血管回缩引起的。

2 放疗抑制再狭窄的机制

目前认为,放疗抑制再狭窄的主要机制是:抑制VSMCs迁移,诱导VSMCs出现G₁期阻滞,进而抑制其增殖。另一方面放疗会影响PTCA后动脉重塑^[3],主要表现在放疗对中、外膜平滑肌细胞增殖的抑制或抑制外膜平滑肌细胞 α -actin蛋白的表达,后者表达可导致PTCA后斑痕形成。

以往人们认为,射线诱导VSMCs出现细胞周期的阻滞是通过活化p53进而激活p21及其下游基因来实现的。近来有研究^[4]证实,射线不经过p53途径也可活化p21进而激活其下游基因,对VSMCs产生抑制作用。凋亡在此过程中所起的作用仍存在争议,Mayberg MR等^[4]进行的体外实验表明,凋亡在此过程中不起作用,而Verin V等^[5]用动物模型进行的活体实验表明,射线可诱导VSMCs凋亡。

近年来人们的研究思路不断拓宽,认识到射线对VSMCs的抑制效应有可能是通过作用于其他靶细胞来实现的。如Rubin P等^[6]认为,VSMCs对射线并不敏感,射线对巨噬细胞的抑制作用是射线抑制VSMCs的主要机制。

3 外照射对再狭窄的抑制作用

与腔内照射相比,PTCA后行外照射在技术上简单易行,患者经济负担较少,但临床应用外照射时应考虑以下3点:(1)照射冠状动脉不可避免地包括周围正常组织,照射不当可引起血管弹性减退,进而形成动脉瘤或血管损伤;(2)由于心脏处于不停的跳

动之中,使照射靶区难以选择和确立;(3)冠脉病变部位难以在体表定位。

Mayberg MR等^[4]应用¹³⁷Cs源对大鼠颈动脉行外照射,剂量为1Gy、5Gy和10Gy,20d后测量内膜厚度,结果:所有剂量均可对内膜增生产生抑制作用,且这种作用随剂量增加而增大。

但是,目前尚未见到有关外照射的临床随机对照实验研究报告,其临床疗效及所带来的问题仍需进一步深入研究。

4 血管腔内放疗

临床随机对照研究实验已经证明, β 和 γ 射线内照射均可有效抑制再狭窄的发生,两者各有其优缺点。

X射线后装放疗,剂量可精确控制,放射源中心定位不需特别准确,可使血管壁均匀受照。不利之处为:达到有效照射剂量所需时间长,射线穿透力强,需一定防护措施。

β 射线穿透力弱,在局部可获得高剂量率,照射时间短,在到达组织3~4mm深度就有约90%的剂量被吸收,对照射部位临近组织和操作人员影响小,因此人们更倾向于用 β 射线进行血管内放疗。但是,由于 β 射线穿透力弱,常需中心验证系统来确保血管壁受到均匀照射。

目前有三种类型的腔内照射技术应用于临床:(1)放射性支架植入;(2)放射源做成单个金属导丝应用腔内后装系统送入;(3)放射性核素液体充装气囊。

第一种方法临床应用受到一定限制,因为有相当一部分患者行PTCA后不需植入支架,且支架的价格较昂贵。应用放射性导丝也存在自身缺陷,虽射线穿透能力较弱,但常需额外的设备确保其位于管腔中心位置,使剂量分布达到均匀一致,如果管壁上存在较大的粥样硬化斑块,就会对剂量分布产生较大的影响,有可能使剂量分布出现“冷点”,达不到预期的治疗目的,而且 γ 放射性导丝在防护方面有一定的难度。

目前最有希望普遍用于临床的是第三种治疗手段——应用 β 放射性核素液体充装气囊。这种方法的优点是能够使照射野和血管的几何构型一致,使管壁均匀受照,达到理想的剂量分布,不再需要中心

验证系统 而且可以根据管腔的大小和厚度来确定球囊大小和放射性液体充装量,与放射性导丝相比,它所需的照射时间明显缩短。但它也存在两个缺点:球囊扩张后阻断血流;球囊破裂导致放射性核素进入血液。由于球囊易于扩张和回缩,因此第一个缺点可以通过分次照射的方法加以解决。球囊破裂的发生率很低,只有 1.1%,通过选择适当的放射性核素及适宜的处置,即使球囊破裂也不会对人体造成明显的危害。液体充装球囊需要高活度的放射性核素,由于存在球囊破裂的危险,高活度的 ^{90}Y 和 ^{32}I 因亲骨性较强而使其应用受到限制。目前研究的热点为 ^{188}Re ,其优点是能量高,容易获得,安全性好,即使球囊破裂也不会对人体造成危害。另一个应用于液体球囊的核素为 ^{133}Xe ,但其价格较贵。

5 放疗的照射剂量

对于放疗抑制再狭窄的最低剂量及最适剂量目前争议较多。Powers BE等^[7]对已发表的文献进行全面总结后认为,15Gy~20Gy照射剂量的临床疗效比较肯定。低于15Gy的照射剂量能否对再狭窄起到抑制作用,目前仍存在争议。有些作者报道,10Gy及10Gy以下剂量照射非但不能抑制再狭窄的发生,反而会促进内膜增生,但结论相反的报道也屡见不鲜,如Laird JR等^[8]报道,放射性支架在2~3Gy的低剂量下也能有效抑制内膜增生。Vitali V^[9]研究发现,PTCA后用 β 射线行腔内照射可使再狭窄率呈显著的剂量依赖性减低:9Gy组为1.67mm,12Gy组为1.76mm,15Gy组为1.83mm,18Gy组为1.97mm。18Gy的剂量不但能防止管腔再狭窄,而且实际上能引起管腔增大。上述情况表明,射线抑制再狭窄的机制极为复杂,很多不确定因素都可对射线作用产生影响。剂量测定上存在误差,血管损伤程度不同以及方法学上的差异都可能是造成有关报道相互矛盾的原因。

目前尚未找到抑制再狭窄的最适剂量,但已有动物实验证明,射线对再狭窄的抑制作用虽然呈剂量依赖性,但达到一定剂量后,这种趋势就会明显减弱。Waksman R等^[10]应用猪动物模型进行研究后认为,照射剂量超过28Gy后,射线对再狭窄的抑制作用不再相应增加。这提示我们应把放疗剂量控制在一个合理范围内,使其疗效最佳,副作用最小。

6 剂量率对放疗疗效的影响

Mitchell JB^[11]应用猪动物模型对不同剂量率的放射性支架进行研究后发现,放射性活度为15cGy/h和3cGy/h的支架对再狭窄都有良好的抑制作用,放射性活度6cGy/h的支架对再狭窄没有抑制作用。Mitchell JB对这种现象的解释为:在一些特定的剂量率下,细胞被阻滞在对辐射较敏感的 G_2/M 期,从而增加了射线对细胞的杀伤作用。但是这种说法的正确性值得商榷。

尽管与 G_0 期、 G_1 早期和S期细胞相比, G_2/M 期细胞辐射敏感性更高,但这只是针对处于正常周期时相中的细胞而言。射线照射后所造成 G_2/M 期阻滞虽然可使 G_2/M 期细胞比例增加,但是从另一方面来讲,细胞周期阻滞也会给细胞内受损伤的DNA提供修复机会。如果去除 G_2/M 期阻滞,使大部分含DNA损伤的细胞在DNA未得到修复的情况下进入细胞分裂期,致使细胞增殖性死亡增加,从理论上讲能够提高辐射敏感性。

总的来说,在剂量率对PTCA后放疗疗效的影响方面,报道较少。不同剂量率在放疗疗效上产生差异的机制也未得到阐明,但是毫无疑问,剂量率对放疗疗效的影响值得进一步深入研究。

7 照射时间点对疗效的影响

有关这方面的研究报道较多,但基本上都是动物实验的研究结果。Waksman R等^[12]应用猪模型研究后认为,在血管扩张前即刻和扩张后进行血管腔内放疗都能起到抑制内膜增生的作用,扩张后48h照射效果更好,因为此时细胞分裂增殖活动达到高峰。

Abbas MA等^[13]应用兔血管模型就PTCA后5d应用外照射对再狭窄的抑制作用进行了研究,结果表明12Gy照射可显著抑制再狭窄形成,而6Gy照射对再狭窄没有抑制作用。

Mayberg M R等^[14]也就照射时间点与疗效关系进行了研究。他们用 ^{137}Cs 源在球囊扩张术前5d、3d、24h,扩张术后20min、24h、3d和5d对大鼠颈动脉行外照射,剂量为1Gy、5Gy和10Gy,20d后对内膜厚度进行测量,结果表明所有剂量在所有时间点都可对内膜增生产生抑制作用,且这种作用是剂量依

赖性的。在球囊扩张术前和后24d进行照射,对内膜增生的抑制作用最大。

从上述资料来看,在球囊扩张术前5d内和术后5d内进行放疗都可有效抑制再狭窄形成。尽管有些动物实验表明扩张术后24~48h放疗的效果更好,但目前缺乏大规模的临床随机对照实验加以证明,在没有新证据出现的情况下,目前大多采用PTCA后即刻照射。

8 副作用及安全问题的

实验和临床随访观察表明,放疗也会带来一定副作用。目前发现的副作用主要有:血栓形成,端部再狭窄,内皮化延迟和动脉瘤。有关前两种副作用的报道较多。Wakesman R^[14]对血管腔内放疗后血栓形成原因进行了归纳和总结:(1)内皮愈合时间延长;(2)纤维素沉积和血小板聚集;(3)受损血管反应性痉挛;(4)周围组织对支架发生侵蚀(有支架植入的患者);(5)血管撕裂后未愈。

PTCA后,未受照人群中出现血管闭塞的概率为4%。受照人群血管闭塞的概率各家报道不一,Costa MA等^[15]的研究结果表明,PTCA加腔内放疗后2~15个月内血管闭塞的概率升高,达6.6%;支架植入术后放疗的患者血栓出现概率高于单纯球囊扩张术后放疗的患者。

人们发现,接受腔内放疗的患者延长抗血小板治疗时间并辅以阿司匹林等药物可以取得良好的疗效,但是这种治疗需要坚持多长时间才合适,目前尚无定论。Wakesman R等^[14]对腔内放疗的患者应用6个月的噻氯匹定,结果在随访期内无一例患者出现血栓。Martin BL^[16]研究发现,PTCA后血栓形成仅发生在停止口服抗血小板药之后。尽管目前看来抗血小板药物能取得较好疗效,但Wakesman R等^[14]认为,这样做会加重患者经济负担,仍应寻找其它治疗策略,如应用促血管愈合药物。

近年发现,血管腔内放疗后,受照区域边缘部位的管腔内径反而减少,出现狭窄,Serruys PW形象地称之为“糖果纸”样现象。出现这种现象的机制目前尚不清楚,可能是由于支架边缘所受剂量较低,刺激受损伤组织发生增生所致。缺少适应性重塑反应及斑块体积增加可能也是造成这种现象的原因。单变量分析表明,血管损伤越重、管径越小的病变动

脉,发生端部再狭窄的可能性越大。针对端部再狭窄的可能机制,人们已经提出了几种针对性措施,如使用所谓的“冷端、热端支架、复合放射技术、自膨式放射性支架和方肩球囊”,其目的主要是减少血管损伤,提高端部受照剂量和改善局部血管重构情况。但是,这些方法的疗效仍有待于临床检验。

从已发表文献来看,射线照射所引起的副作用主要集中在上述几个方面,但决不意味着仅限于这几个方面。Brenner DJ等^[17]认为,射线照射后引起的严重副作用如血管纤维化要过4~5年才能出现。20世纪90年代以来对采用放疗的霍奇金病和乳腺癌病人所进行的长期随访(10年以上)研究结果发现,这些患者中的心包和冠状动脉出现病变的概率异乎寻常地增高,其相对危险比达2.6~3.8。放疗诱发冠脉病变概率增高的可能性在一定范围内具有剂量和面积依赖性,剂量和面积越大,这种可能性出现的概率越高。目前放疗抑制再狭窄多采用单次大剂量照射,根据线性平方模型,采用这种疗法照射,20Gy的照射剂量所产生的远期效应相当于常规分次照射92Gy的照射剂量^[17],因此我们不能忽视放疗预防再狭窄过程中对邻近组织所产生的远后效应,尤其当使用 γ 源时。目前大多数报道的观察时间都在1年以内,要明确照射所引起的远后效应仍需进一步随访观察。

还有一个值得关注的问题是射线照射是否会诱发肿瘤。因为即使应用腔内放疗,周围的组织也会受到少量照射。从理论上讲,这种可能性不能除外,但这项研究起步时间不长,要明确这个问题同样需要长时间的随访观察。

9 问题与展望

虽然放疗抑制再狭窄在临床应用中已经显示出较好的疗效,但仍有许多问题有待解决:(1)放疗抑制再狭窄的确切机制;(2)建立标准的剂量测定模式和治疗模式,使各研究中心之间的资料具有可比性,进行大规模多中心临床随机研究,找到放疗的最适剂量、最佳照射时间点和最合理的剂量率;(3)长期随访,观察放疗的远后效应。

与其他治疗措施相比,放疗抑制再狭窄虽然具有一定的优势,但它也存在自身局限性,并带来一些副作用。有些学者已经意识到这个问题并开始探讨

放疗同其他治疗方法如基因治疗相结合的可行性^[18],以期在增加疗效的同时减少放疗剂量进而减少并发症的出现。我们相信,随着研究的不断深入,人们会更加合理地应用放疗来预防PTCA后的再狭窄。

参考文献:

- [1] Christen T, Verin V, Bochaton-Piallat M L, et al. Mechanisms of neointima formation and remodeling in the porcine coronary artery [J]. *Circulation*, 2001, 103: 882-888.
- [2] Mintz GS, Popma JJ, Richard AD, et al. Arterial remodeling after coronary angioplasty [J]. *Circulation*, 1996, 94: 35-43.
- [3] Wilcox JN, Waksman R, King SB, et al. The role of the adventitia in the arterial response to angioplasty [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 1996, 36: 789-796.
- [4] Mayberg MR, London S, Rasey J. Inhibition of rat smooth muscle proliferation by radiation after arterial injury [J]. *Radiat Res*, 2000, 153: 153-163.
- [5] Verin V, Popowski Y, Bochaton-Piallat M L. Intraarterial beta irradiation induces smooth muscle cell apoptosis and reduces medial cellularity in a hypercholesterolemic rabbit restenosis model [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2000, 46: 661-670.
- [6] Rubin P, Williams JP, Riggs PN. Cellular and molecular mechanisms of radiation inhibition of restenosis [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 1998, 40: 929-941.
- [7] Powers BE, Thams HD, Gillette EL. Long-term adverse effects of radiation inhibition of restenosis [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 1999, 45: 753-759.
- [8] Laird JR, Carter AJ, Kufs WM, et al. Inhibition of neointimal proliferation with low-dose irradiation from a beta-particle emitting stent [J]. *Circulation*, 1996, 93: 529-536.
- [9] Vitali V. Endoluminal β -radiation therapy for the prevention of coronary restenosis after balloon angioplasty [J]. *N Engl J Med*, 2001, 344: 243-249.
- [10] Waksman R, Robinson KA, Crocker IR, et al. Intra-coronary low-dose beta-irradiation inhibits neointima formation after coronary artery balloon injury in the swine restenosis model [J]. *Circulation*, 1995, 92: 3025-3031.
- [11] Mitchell JB. Radiation biology concepts for the use of radiation to prevent restenosis [A]. Waksman R ed. *Vascular Brachtherapy* [C]. Second Edition, New York: Futura Publishing Co Inc, 1999. 268.
- [12] Waksman R, Robinson KA, Crocker IR, et al. Endovascular low-dose irradiation inhibits neointima formation after coronary artery balloon injury in swine [J]. *Circulation*, 1995, 91(5): 1533-1539.
- [13] Abbas MA, Afshari NA, Stadius ML, et al. External beam irradiation inhibits neointimal hyperplasia following balloon angioplasty [J]. *Int J Cardiol*, 1994, 44: 191-202.
- [14] Waksman R. Late thrombosis after radiation [J]. *Circulation*, 1999, 100: 780-782.
- [15] Costa MA, Sabat M, van-der-Giessen W J, et al. Late coronary occlusion after intracoronary brachytherapy [J]. *Circulation*, 1999, 100(8): 789-792.
- [16] Martin B L. Localized intracoronary γ -radiation therapy to inhibit the recurrence of restenosis after stenting [J]. *N Engl J Med*, 2001, 344: 250-256.
- [17] Brenner DJ, Miller RC, Hall EJ. The radiobiology of intravascular irradiation [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 1996, 36: 805-810.
- [18] Fortunato JE, Mauceñ HJ, Kocharyan H, et al. Gene therapy enhances the antiproliferative effect of radiation in intimal hyperplasia [J]. *J Surg Res*, 2000, 89(2): 155-162.

Advances of radiotherapy to prevent restenosis after coronary balloon angioplasty

ZHU ANG Yong-zhi, WANG Jun-jie

(Department of Oncology the Third Hospital of Beijing University, Beijing 100083, China)

Abstract Radiotherapy is a promising technique to substantially reduce the post-PTCA restenosis. Many studies have been done in recent years. These works are mainly focused on the mechanism of inhibiting restenosis by radiation: the time, dose, dose rate, the form and the side effects of radiotherapy.

Key words radiotherapy; restenosis; vascular smooth muscle cells; percutaneous transluminal coronary angioplasty