

组织型纤溶酶原激活剂的联合治疗

柴 丽 张忠玲

摘 要 急性缺血性脑卒中严重影响着人类的健康和生活,组织型纤溶酶原激活剂(t-PA)是迄今为止唯一被美国FDA批准用于治疗急性缺血性脑卒中的溶栓药物,但其临床应用受到狭窄时间窗和不良反应的限制。研究表明,tPA主要通过MMPs及tPA-LRP、tPA-APC/PAI-1、tPA-PDGF-CC、tPA-NMDAR通路介导神经毒性作用,因此,tPA与这些途径的靶向药物联合治疗,可以减少tPA的神经毒性,降低出血性转化,延长tPA的溶栓时间窗,改善临床疗效,具有重要意义。本文对tPA的联合治疗策略及其相关机制进行综述。

关键词 组织性纤溶酶原激活剂 联合治疗 脑卒中 出血性转化 时间窗

中图分类号 R451 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2015.10.052

随着临床应用及基础研究的逐步开展和完善,发现tPA静脉溶栓治疗的时间窗短,仅有3.0~4.5h,患者只有百分之几符合此治疗,并且在脑缺血再灌注时,可能出现次级血栓形成、炎性反应、血脑屏障破坏、出血性转化等不良反应,这些问题严重制约着tPA的临床应用及推广。因此,有必要寻找新的治疗靶点,以增加tPA的治疗时间窗,并保护神经元免受缺血性损伤。

一、MMPs抑制剂

基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs),尤其是MMP-9和MMP-3,降解基膜蛋白,在急性脑卒中tPA溶栓治疗介导的神经毒性和出血性转化中发挥核心作用^[1,2]。体内实验显示,在栓塞性局部脑缺血后,tPA与基质金属蛋白酶抑制剂的联合给药减少了出血性转化和脑损伤。因此,在急性缺血性脑卒中,MMPs的药物抑制(在适当的时候)有望成为安全有效的tPA辅助治疗。

1. 米诺环素:一种广谱四环素类抗生素,米诺环素治疗后通过抑制MMP-9的活性,介导神经保护作用,并且米诺环素的神经保护作用是剂量依赖性的,认为只有低剂量的米诺环素能同时降低脑梗死和梗死周围区域的缺血。Murata等的研究表明,在雄性自发性高血压大鼠的血栓凝块模型,在脑卒中开始后6h,与tPA联合给药时,米诺环素减少梗死面积,改善tPA相关的出血性转化,降低血浆MMP-9的水平。表明米诺环素的辅助给药抑制了tPA增效的血浆

MMP-9水平上调和出血性并发症,从而延长了溶栓时间窗至脑卒中发病后6h^[3]。最近对1型糖尿病大鼠局灶性缺血性模型的研究表明,米诺环素联合tPA治疗后24h显著减少缺血性脑梗死、半球肿胀及tPA相关的脑内出血性转化,并且这些有益作用可能部分由抑制MMP-9活性,降低脑组织炎症及防止脑血管损伤所介导^[4]。

基于这些临床前研究结果,米诺环素的临床疗效目前正在调查。临床表明在脑卒中发病后24h内(急性期),米诺环素治疗与更好的临床结果相关。最近完成的米诺环素早期阶段、开放标签试验、改善脑卒中(MINOS)神经学结果表明,在脑卒中患者米诺环素单独或与tPA联合已被证明是安全可行的^[5]。另一项临床试验表明,米诺环素能降低血浆中MMP-9的水平,即使在脑卒中后72h,并能改善tPA治疗的急性缺血性脑卒中患者的神经功能预后^[6]。因此,米诺环素在脑卒中急性期给药的有效性及安全性,使之成为溶栓辅助治疗的理想药物。

2. 他汀类药物:是HMG-CoA还原酶抑制剂,可以降低脑血管事件风险,发挥多效性。在大鼠脑卒中开始后4h,rt-PA与阿托伐他汀的联合治疗是神经保护性的,阿托伐他汀阻断tPA上调的蛋白酶活化受体1和组织因子表达,抑制次级血栓形成。此外,阿托伐他汀还下调内皮细胞中MMP-2和MMP-9的表达,从而保护脑血管的通畅性和完整性^[7]。随后的研究证明,在大鼠栓塞性脑卒中模型,阿托伐他汀和tPA联合治疗延长脑卒中的治疗窗至6h,而且联合治疗取消了tPA诱导的MMP-9上调以及IV型胶原的降解,从而导致出血性转化的发生率(10%)降

作者单位:150001 哈尔滨医科大学附属第一医院神经内科

通讯作者:张忠玲,电子邮箱:zhangzhongling@outlook.com

低,与 tPA 组单一疗法的发生率相比(40%)^[8]。因此,体内、外的研究证明,他汀类药物预防 tPA - 介导的神经血管单元功能障碍,从而延长脑卒中的治疗时间窗。

然而,只有少数临床研究讨论了他汀类药物是否可以改善溶栓治疗后脑卒中结果的问题,并且结果是有争议的。Alvarez - Sabin^[9]对 145 例患者的一项观察性研究显示,脑卒中发病前给予他汀类药物治疗的患者,接受静脉 tPA 溶栓后提供了长期的功能性益处,而不增加出血性转化。另一些报道表明,在 tPA 治疗的脑卒中患者,他汀类药物的预防性使用没有改善临床结果,也不增加出血性转化的风险^[10]。近期对 178 例患者的回顾性研究表明,静脉溶栓后 24h 内开始他汀类药物治疗改善脑卒中短期和长期疗效,而预防性他汀类药物治疗与出血性转化风险的增加相关^[11]。总之,鉴于其对神经血管单元的作用机制,他汀类药物可能代表溶栓治疗的理想辅助药物,其临床可行性需要进一步严格的调查。

3. 蛋白酶体抑制剂:硼替佐米(万珂),一种选择性的蛋白酶体抑制剂。研究表明,硼替佐米和 tPA 的联合治疗增强血管通畅性和完整性,显著减少梗死体积和神经功能缺损,同时延长了治疗时间窗到脑卒中后至少 6h,而不增加出血性转化和炎症反应^[12]。随后在老年脑卒中大鼠的一些研究证明,万珂和 tPA 联合治疗提供强效的神经保护作用^[13,14]。Zhang^[13]的研究表明,在栓塞性脑卒中的老年大鼠中,万珂与低剂量的 tPA 联合治疗降低血浆纤维蛋白/纤维蛋白原的外渗,协同阻断 tPA 诱导的 MMP - 9 上调,维持血脑屏障的完整性。并且能够进一步减少病灶体积和神经功能缺损,防止微血管继发性血栓形成,由此放大了 tPA 的血栓溶解作用。此外,联合治疗还增加 eNOS 活性,从而增加缺血后的脑血流量,表明 eNOS 也参与万珂介导的神经保护机制^[12]。另一研究表明,在脑卒中后老年大鼠,万珂与 tPA 联合治疗后直接抑制 toll 样受体(TLR),同时上调 miR - 146a,从而多方面抑制 TLR 信号通路,减少 NF - κ B 激活并降低 tPA 诱导的 ICAM1 和 MMP9 基因表达,从而减轻炎症反应,在急性脑卒中的治疗中发挥更大的神经保护作用^[12,14]。总的来说,体内研究表明,蛋白酶体抑制剂作用于多个神经血管保护机制,它不仅抵消 tPA 增效的血脑屏障破坏,同时也增强了 tPA 的溶栓作用。

4. 自由基清除剂:依达拉奉,具有强大的抗氧化

和清除自由基的特性,已证明在急性缺血性脑卒中中提供安全、有效的神经保护作用。某些体内、外的研究已经报道,依达拉奉联合 tPA 给药提高了存活率,抑制 tPA 诱导的 MMP9 表达上调及出血性转化,并抑制血脑屏障损伤和氧化应激,显著减少 tPA 的外渗^[15]。这些结果表明,依达拉奉与 tPA 联合治疗可以保护脑微血管的完整性,导致随后的出血性转化减少,并提高存活率。迄今为止,一些自由基清除剂处于临床试验的各个阶段。Isahaya 等^[16]报道,急性缺血性脑卒中患者依达拉奉治疗后,导致血清 MMP - 9 水平较低。最近,一项多中心、随机、开放标记的研究指出,与 tPA 单独治疗的患者相比,依达拉奉和低剂量 tPA (0.6mg/kg)联合给药与急性脑卒中患者的早期血管再通和良好的临床结果相关,表明自由基清除剂可以增强 tPA 的溶栓疗效^[17]。总之,在急性脑卒中患者依达拉奉与 tPA 联合可能是一种有效的治疗策略,显示出神经保护作用,减少梗死面积及出血性转化,因此依达拉奉联合治疗有望延长 tPA 使用的时间窗。

二、APC

活化蛋白 C (activated protein C, APC) 是一种血浆丝氨酸蛋白酶,具有抗凝、抗炎、抗细胞凋亡和直接的细胞保护活性。实验研究表明,重组 APC 可以显著降低 tPA 诱导的脑缺血损伤。在缺血性脑血管内皮细胞,APC 通过蛋白酶活化受体 1 (PAR - 1),抑制 tPA 诱导的 NF - κ B 依赖性 MMP - 9 通路。这些结果表明,APC 可通过减少 tPA 介导的出血性转化,提高脑卒中的溶栓疗效。体内研究表明,在短暂脑缺血的小鼠模型中,晚期 APC 给药(在缺血后 6 ~ 72h 或 72 ~ 144h)也是神经保护性的,通过 PAR - 1 促进新生血管形成和神经发生,并阻断 tPA 的血管和神经毒性。总之,这些数据表明了缺血后的大脑中,APC 干预有一个显著延长的治疗时间窗。

目前,APC 不能用于治疗缺血性脑卒中的患者,然而,人重组 APC 已被 FDA 批准用于严重败血症的治疗。具有降低抗凝活性的活化蛋白 C 类似物,3K3A - APC,与 tPA 的联合治疗减少梗死体积,显著改善行为结果,并且消除了 tPA 诱导的脑微出血,显示明显的神经保护作用,表明了啮齿类缺血性脑卒中模型,3K3A - APC 能增强 tPA 的治疗效果,扩大 tPA 的治疗窗^[18]。这些研究结果表明,tPA 和 APC 的联合治疗对阻止 tPA 的血管神经毒性及促进脑卒中恢复可能是有益的,但这些基于动物模型的 APC 治疗策略仍有待将来的临床研究来确定。

三、LRP 拮抗剂

低密度脂蛋白受体相关蛋白 (low density lipoprotein receptor - related protein, LRP), 在缺血的细胞和动物实验研究表明, LRP 在 tPA 诱导的 MMP - 9 和 MMP - 3 的表达和活化中起着重要作用。在人脑内皮细胞, 通过干扰 RNA 来抑制 LRP, 可以减弱 tPA 诱导的 MMP - 9 上调^[19]。在非缺血条件下, 向小鼠的脑室中注入 tPA, 导致血脑屏障通透性的快速剂量依赖性增加, 并且这种作用可以被 LRP 拮抗剂 (RAP) 和 LRP 抗体所抑制。这些研究表明, tPA 所造成的颅内出血可以通过 LRP 拮抗来抑制。总之, 在大脑中, 靶向 tPA - LRP - MMPs 通路的联合治疗可能提供减少 tPA 神经毒性及改善脑卒中治疗的新方法, 但是, LRP 拮抗剂是否抑制脑卒中患者 tPA 治疗后的颅内出血还有待证明。

四、PDGFR - α 受体拮抗剂

伊马替尼, 即血小板衍生长因子受体 - α (PDGFR - α) 拮抗剂, 一个 FDA 批准用于治疗慢性粒细胞性白血病的药物, 最近提出, 可以防止 tPA 治疗相关的并发症^[20]。体内及临床研究表明, 在缺血性脑卒中 tPA 通过 PDGF - CC 的激活, 损害血脑屏障的完整性, 导致出血性转化^[20]。在缺血性脑卒中后的小鼠, 活性 PDGF - CC 刺激 PDGFR - α 的磷酸

化, 而用 PDGF - CC 的中和抗体或 PDGFR - α 拮抗剂伊马替尼治疗, 降低了脑血管通透性及延迟 tPA 给药相关的出血并发症, 这些研究结果表明, tPA - PDGF - CC / PDGFR - α 通路调节血脑屏障通透性^[20], 而且伊马替尼延长急性缺血性脑卒中溶栓的治疗时间窗, 这提示了新的治疗策略, 以减少 tPA 的神经毒性, 改善脑卒中治疗^[20]。

五、NMDAR 受体抗体

研究表明, tPA 加重 NMDA (NR1) 受体介导的神经毒性, 在体外, ATD - NR1 抗体阻止 tPA 与 NMDA 受体的 NR1 亚基相互作用, 抑制 tPA 的促神经毒性作用, 而不改变 NMDA 介导的神经传递。在体内, 抗体单独给药或与延迟的 tPA 溶栓联合, 可以显著减少脑损伤和血脑屏障渗漏, 因此改善了长期的神经功能结果, 扩大了 tPA 介导的溶栓治疗时间窗。

六、膜联蛋白 A2

在大鼠局灶性缺血性脑卒中模型, 重组膜联蛋白 A2 联合低剂量的 tPA (2.5mg/kg) 在缺血后 4h 给药, 显著增强纤维蛋白溶解, 减少脑梗死和出血性转化, 降低病死率, 表明加入“tPA 的放大器”重组膜联蛋白 A₂, 可以减少 tPA 的有效溶栓剂量, 延长脑卒中的再灌注时间窗。这些发现可能提供增强 tPA 溶栓治疗的新方法 (表 1)。

表 1 脑卒中中的联合治疗

tPA 的联合药物	脑卒中模型	结果
米诺环素	人类实验	改善患者的神经功能且安全
他汀类药物	大鼠栓塞性脑卒中模型	降低血浆 MMP - 9, 减少脑梗死、脑出血, 扩大 tPA 治疗的时间窗
	大鼠栓塞性脑卒中模型	保持血脑屏障的通透性和完整性, 减少出血性转化
硼替佐米	老年大鼠栓塞性脑卒中模型	阻断 MMP9 上调, 减少病灶体积和神经功能缺损, 防止微血管继发性血栓形成, 放大了 tPA 的血栓溶解作用, 延长时间窗
依达拉奉 (自由基清除剂)	大鼠 MCAO 模型	减少 tPA 的外渗
APC	大鼠和小鼠 MCAO 模型	减少脑出血
伊马替尼 (PDGFR - α 拮抗剂)	小鼠 MCAO 模型	降低脑血管通透性, 减少出血性转化
LRP 拮抗剂	小鼠 MCAO 模型	减少 MMP9 上调、tPA 神经毒性及颅内出血
NMDAR (NR1) 抗体	小鼠 MCAO 模型	显著减少脑损伤和血脑屏障渗漏, 改善长期的神经功能结果, 扩大 tPA 介导的溶栓治疗时间窗
膜联蛋白 A2	大鼠栓塞性脑卒中模型	卒中的再灌注时间窗延长, 减小脑梗死、出血性转化、病死率, 促进纤维蛋白溶解

MCAO. 大脑中动脉闭塞

综上所述, 在急性缺血性脑卒中针对 MMPs 及其他 tPA 相关通路的联合治疗, 可能会限制 tPA 的神经毒性作用, 减少出血性转化, 延长 tPA 的治疗时间窗, 具有重要的临床意义。虽然溶栓的联合治疗是一种合理的策略, 在临床研究也得到一定的证实, 但仍需

要严格的调查研究, 将其成功的应用于临床, 使脑卒中患者获益。

参考文献

1 Yasuhiro S. Tissue - type plasminogen activator (t - PA) induces stromelysin - 1 (MMP - 3) in endothelial cells through activation of lipoprotein receptorrelated protein[J]. Blood, 2009, 114(15): 3352

- 3358

- 2 Inzitari D, Giusti B, Nencini P, *et al.* MMP-9 variation after thrombolysis is associated with hemorrhagic transformation of lesion and death[J]. *Stroke*, 2013, 44(10):2901-2903
- 3 Murata Y. Extension of the thrombolytic time window with minocycline in experimental stroke[J]. *Stroke*, 2008, 39(12):3372-3377
- 4 Fan X, Lo EH. Effects of minocycline plus tissue plasminogen activator combination therapy after focal embolic stroke in type 1 diabetic rats[J]. *Stroke*, 2013, 44(3):745-752
- 5 Fagan SC. Minocycline to improve neurologic outcome in stroke (MINOS): a dose-finding study[J]. *Stroke*, 2010, 41(10):2283-2287
- 6 Switzer JA. Matrix metalloproteinase-9 in an exploratory trial of intravenous minocycline for acute ischemic stroke[J]. *Stroke*, 2011, 42(9):2633-2635
- 7 Zhang L. Multitargeted effects of statin-enhanced thrombolytic therapy for stroke with recombinant human tissue-type plasminogen activator in the rat[J]. *Circulation*, 2005, 112(22):3486-3494
- 8 Zhang L, Chopp M. Atorvastatin extends the therapeutic window for tPA to 6 h after the onset of embolic stroke in rats[J]. *J Cereb Blood F Met.* 2009, 29(11):1816-1824
- 9 Alvarez-Sabin J. Prior statin use may be associated with improved stroke outcome after tissue plasminogen activator[J]. *Stroke*, 2007, 38(3):1076-1078
- 10 Miedema I. Statin use and functional outcome after tissue plasminogen activator treatment in acute ischaemic stroke[J]. *Cerebrovasc Dis*, 2010, 29(3):263-267
- 11 Cappellari M. Does statin in the acute phase of ischemic stroke improve outcome after intravenous thrombolysis?. A retrospective study[J]. *J Neurol Sci*, 2011, 308(1-2):128-134
- 12 Zhang L. Treatment of embolic stroke in rats with bortezomib and re-

- combinant human tissue plasminogen activator[J]. *Thromb Haemost*, 2006, 95(1):166-173
- 13 Zhang L. Combination treatment with VELCADE and low-dose tissue plasminogen activator provides potent neuroprotection in aged rats after embolic focal ischemia[J]. *Stroke*, 2010, 41(5):1001-1007
- 14 Zhang L, Chopp M. Combination therapy with VELCADE and tPA is neuroprotective in aged rats after stroke and targets miRNA-146a and the toll-like receptor signaling pathway[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2012, 32(8):1856-1864
- 15 Yamashita T. Dissociation and protection of the neurovascular unit after thrombolysis and reperfusion in ischemic rat brain[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2009, 29(4):715-725
- 16 Isahaya K, Yamada K, Yamatoku M, *et al.* Effects of edaravone, a free radical scavenger, on serum levels of inflammatory biomarkers in acute brain infarction[J]. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2012, 21(2):102-107
- 17 Kimura K. Administration of edaravone, a free radical scavenger, during t-PA infusion can enhance early recanalization in acute stroke patients - a preliminary study[J]. *J Neurol Sci*, 2011, 313(1-2):132-136
- 18 Wang Y. An activated protein C analog with reduced anticoagulant activity extends the therapeutic window of tPA for ischemic stroke in rodents[J]. *Stroke*, 2012, 43(9):2444-2449
- 19 Wang X. Lipoprotein receptor-mediated induction of matrix metalloproteinase by tissue plasminogen activator[J]. *Nat Med*, 2003, 9(10):1313-1317
- 20 Su EJ. Activation of PDGF-CC by tissue plasminogen activator impairs blood-brain barrier integrity during ischemic stroke. *Nat Med*, 2008, 14(7):731-737

(收稿日期:2015-01-24)

(修回日期:2015-02-25)

(上接第 120 页)

参考文献

- 1 王维治. 神经病学[M]. 4 版. 北京:人民卫生出版社, 2001:130-131
- 2 Wardlaw JM. Diagnosis of stroke on neuroimaging[J]. *BMJ*, 2004, 328:655-656
- 3 Elkind MS. Epidemiology and risk factors[J]. *Stroke Prevention*, 2011, 17:1213-1232
- 4 徐建辉, 元小冬, 张楠楠, 等. 血浆纤维蛋白原 B β 链 4 个基因多态性位点单体型与其功能表达和脑梗死的关联性分析[J]. *血栓与止血学*. 2011, 3:105-111
- 5 陈国军, 于永娜, 张燕柳, 等. 青年缺血性脑卒中 55 例危险因素分析[J]. *中国实用神经疾病杂志*, 2012, 1:45-46
- 6 李波, 徐世成, 汪毅宏, 等. 尿酸水平与缺血性脑卒中的相关性[J]. *中国实用神经疾病杂志*, 2012, 5:3-5
- 7 Gretarsdottir S, Thorleifsson G, Reynisdottir ST, *et al.* The gene encoding phosphodiesterase 4D confers risk of ischemic stroke. *Nat Genet*, 2003, 35(2):131-138
- 8 Helgadottir A, Manolescu A, Thorleifsson G, *et al.* The gene encoding 5-lipoxygenase activating protein confers risk of myocardial infarction and stroke[J]. *Nat Genet*, 2004, 36(3):233-239
- 9 Baird TA, Parsons MW, Phan T, *et al.* Persistent poststroke hyperglycemia is independently associated with infarct expansion and worse clinical outcome[J]. *Stroke*, 2003, 34:2208-2214

- 10 孙新芳, 冯琳, 肖桂荣. 不同时期血压控制对脑梗死预后的影响[J]. *中华急诊医学杂志*, 2006, 2:176-178
- 11 朱以诚, 崔丽英. 临床特征、影像和血管病变分型对脑梗死预后的预测[J]. *中华神经科杂志*, 2006, 1:16-21
- 12 邓晓玲, 赵斌, 汪健, 等. C 反应蛋白、白细胞计数与脑梗死体积及近期预后的关系[J]. *现代生物医学进展*, 2012, 3:591-593
- 13 Liu XD, Lv YL, Wang B, *et al.* Prediction of functional outcome of ischemic stroke patients in northwest China. *Clinical[J]. Neurology and Neurosurgery*, 2007, 109(4):571-577
- 14 中华医学会神经病学分会脑血管病学组急性缺血性脑卒中诊治指南撰写组. 中国急性缺血性脑卒中诊治指南 2010[J]. *中华神经科杂志*, 2010, 43(2):146-153
- 15 杜敢琴, 黄丽娜, 富奇志, 等. 脑卒中预后的影响因素[J]. *中华神经医学*, 2005, 1(4):57-59
- 16 李富康, 郭毅, 付学军, 等. 脑梗死急性期预后因素分析[J]. *中国医药*, 2006, 1(1):27-28
- 17 刘学东, 吕亚丽, 王波, 等. 老年缺血性脑卒中患者预后及其影响因素的研究[J]. *中华老年心脑血管病杂志*, 2007, 9(4):240-243
- 18 杨翠英, 郑华光, 王立英, 等. 代谢综合征对急性脑梗死早期预后的影响[J]. *中国卒中杂志*, 2007, 2(7):581-585

(收稿日期:2015-01-24)

(修回日期:2015-02-26)