

【文献综述】

时毅 崔红平

2.1.1 类固醇 局部应用类固醇药物是目前临床上活跃期 CNV 的标准治疗方式。有文献报道的治疗 CNV 类固醇药物包括可的松、氢化可的松、地塞米松、甲基强的松龙、泼尼松龙、甲羟孕酮、曲安奈德等^[3,4]。类固醇的抗炎作用包括抑制血管内皮细胞增

殖和迁移;抑制促炎性细胞因子合成;抑制炎性细胞趋化作用。MICHELIS 等^[5]发现临床局部应用激素联合肝素治疗进展性 CNV 显效良好且迅速。但类固醇可使角膜缘血管扩张、基质炎性细胞浸润^[6],长期应用可导致二重感染、白内障、眼压升高等。

2.1.2 非甾体类抗炎药物 目前文献报道的对 CNV 有抑制作用的非甾体类抗炎药物(nonsteroidal anti-inflammatory agents, NSAIDs)包括氟比洛芬、吡罗昔酮、酮咯酸、双氯芬酸钠和奈帕芬胺^[4]。新生血管中能够表达诱导型环氧合酶 COX-2,其催化产生的类花生酸能刺激炎症反应,促进内皮细胞迁移,诱导新生血管中 VEGF 的表达^[7]。选择性 NSAIDs 能够抑制 COX-2 活性,进而抑制炎症反应及血管生成。其副作用为可能导致角膜溃疡与角膜溶解的发生^[8]。

2.2 抗 VEGF 药物 VEGF 能够特异性作用于血管内皮细胞,促进血管内皮细胞的增殖、迁移及管腔的形成。目前,用于眼科临床的抗 VEGF 药物包括贝伐单抗(Bevacizumab)、雷珠单抗(Ranibizumab)、哌加他尼钠(Pegaptanib sodium)^[9],但其疗效及安全性仍在临床试验探索阶段。

2.2.1 贝伐单抗 贝伐单抗是一种新型的人源化抗 VEGF 单克隆抗体,最初被 FDA 批准作为结肠癌的治疗用药,在治疗新生血管性 AMD 及眼表新生血管性疾病的临床试验中取得良好疗效^[9]。KRIZOVA 等^[10]将不同病因导致 CNV 患者分为两组,一组结膜下注射 0.2~0.5 mL 贝伐单抗($25\text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$),另一组应用贝伐单抗($2.5\text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)每天 2 次滴眼治疗,随访 6 个月以上,结果证明两组患者 CNV 面积均减少。CHEN 等^[11]将 CNV 动物模型分为两组,早期治疗组在 CNV 形成后立即结膜下注射贝伐单抗(5.0 mg)治疗,每周 1 次,持续 1 个月,晚期治疗组在 CNV 长出 1 个月后予以相同给药方式治疗,结果发现早期治疗组疗效显著优于晚期治疗组,晚期注射贝伐单抗并不影响巨噬细胞浸润,对角膜 VEGF 的表达没有抑制作用。尽管已有大量实验证实贝伐单抗治疗 CNV 的有效性^[12-13],但尚无大样本的临床报道,其临床应用的剂量及安全性仍有待研究。目前报道的不良反应主要为角膜上皮缺失和角膜变薄^[14],这可能是由于 VEGF 与神经修复有关,抑制 VEGF 导致角膜对刺激性伤害的生理反应减弱,从而引起角膜上皮的缺损。

2.2.2 雷珠单抗 雷珠单抗是与贝伐单抗同源的抗体片段,已被批准用于 AMD 的治疗。其作用机理与贝伐单抗相似,但分子大小、渗透力及药代动力学均存在差异^[15],因此二者疗效比较尚不能得到一致结论。有学者认为雷珠单抗与 VEGF-A 有更高的亲和力,因此治疗效果优于贝伐单抗^[16]。也有研究发现^[17],结膜下注射雷珠单抗和贝伐单抗对缝线诱导的兔 CNV 的生长抑制作用差异并不明显。FERRARI 等^[18]在了一项前瞻性研究中,对 9 例(10 眼)稳定

期 CNV 患者给予 $10\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 雷珠单抗每天 4 次滴眼治疗 3 周,随访 16 周,结果发现,雷珠单抗能够收缩成熟血管,使 CNV 面积减小,但并不能改变侵入角膜的血管长度,使血管回退,证明雷珠单抗的治疗效果与给药时间相关。

2.2.3 哌加他尼钠 哌加他尼钠是一种与 VEGF165 特异性结合的 RNA 适配子,已被 FDA 批准用于 AMD 的脉络膜新生血管的治疗,对 CNV 的治疗研究较少。LIPP 等^[19]发现其对缝线诱导的小鼠炎症性 CNV 有抑制作用。

2.3 实验研究阶段的药物

2.3.1 以血管生长因子及抑制因子为治疗靶点的药物

2.3.1.1 白细胞介素 6 白细胞介素 6(interleukin 6, IL-6)由巨噬细胞、单核细胞、成纤维细胞产生,是重要的炎性因子。IL-6 能刺激角膜成纤维细胞中 VEGF 的释放,抑制 IL-6R 能够减少角膜炎症反应中 VEGFR 的表达^[20]。SARI 等^[21]实验证实结膜下注射 IL-6R 单克隆抗体托珠单抗能治疗碱灼伤诱导的大鼠 CNV。

2.3.1.2 ES ES 能够抑制 MMP-2 和 MMP-9 活性,也能够通过抑制 VEGF 与其受体的结合来抑制细胞迁移和增殖。YOSHIDA 等^[22]发现包含免疫球蛋白 Fc 片段的内皮抑素半衰期延长,更为稳定,结膜下注射内皮抑素能安全有效地抑制兔 CNV,且浓度 $2\text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 与 $20\text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 相比,作用更为持久有效。

2.3.1.3 轴突导向因子 轴突导向因子在细胞诱导、黏附、分化及血管生成等多种生物过程中发挥重要作用。其中 Netrin-1 和 Netrin-4 是目前该家族中研究最为广泛的成员。HAN 等^[23-24]先后报道了二者在大鼠 CNV 模型治疗中的作用。研究发现,二者均能抑制中性粒细胞和巨噬细胞浸润,进而抑制细胞凋亡,重建角膜中 VEGF 和 PEDF 平衡,从而减少 CNV 形成。

2.3.2 免疫抑制剂 环孢霉素 A 对 T 淋巴细胞有高度特异性并能抑制细胞免疫反应,雷帕霉素是一种新型大环内酯类免疫抑制剂,ZAPATA 等^[25]通过 I 型单纯疱疹病毒诱导动物基质性角膜炎模型,并分别给予地塞米松、环孢霉素 A 和雷帕霉素滴眼治疗,结果表明三种药物均能减缓炎症反应,减少新生血管,且 $0.5\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 雷帕霉素比 $5\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 环孢霉素 A 效果更好。

2.3.3 抗生素 目前有研究证实对 CNV 具有治疗作用的抗生素包括替加环素、多西环素和米诺环素。三者均为广谱四环素类抗生素,对 CNV 的抑制作用可能与其下调 MMP-9 表达有关。研究发现局部滴眼及结膜下注射 $1\text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 替加环素均能减少化学灼伤导致的大鼠 CNV 的形成,且结膜下注射给药方式疗效更为显著^[26]。XIAO 等^[27]证实每天 2 次腹腔注射米诺环素($60\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)可显著抑制碱烧伤

诱导的小鼠 CNV 形成,并提出其可能的机制为米诺环素促进角膜上皮修复,减少了促血管生成因子、炎症因子及 MMPs 的表达。JOVANOVIĆ 等^[28]对 6 例 6 眼 CNV 患者给予 $10\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 多西环素每天 4 次滴眼治疗,持续 3 周,其中 5 例患者 CNV 明显消退,且无并发症发生,这是多西环素用于人 CNV 治疗的首次报道。

2.3.4 天然提取物 许多药物及提取成分具有治疗新生血管的作用。雷公藤红素是一类传统中药,其抗炎及抗血管生成作用已被证实,但由于水溶性较差其临床应用受到限制。LI 等^[29]通过纳米粒装载雷公藤红素(CNPs)治疗缝线诱导的大鼠 CNV 的形成,实验发现 CNPs 能下调角膜中 VEGF 和 MMP-9 的表达,抑制巨噬细胞浸润,从而抑制 CNV 的形成。最近,有研究发现口服柿子提取物能有效抑制碱烧伤诱导的大鼠 CNV 的形成,且口服剂量 $200\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 治疗组疗效显著优于剂量 $100\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 治疗组^[30]。此外,茶多酚^[31]、拉格唑拉^[32]等也被实验证明对 CNV 有抑制作用。这些研究发现为 CNV 的治疗提供了新的方向。

2.3.5 其他 由于新生血管与肿瘤生长密切相关,不少抗肿瘤药物成为潜在的治疗方式,如拉帕替尼、曲妥珠单抗^[33]等。一些新型多肽类也被用来尝试 CNV 的治疗并在动物实验中取得较好的效果,如肝细胞生长因子衍生肽 H-RN^[34]等。此外,抗过敏药曲尼司特^[35]、 β -受体阻滞剂普萘洛尔^[36]也被证明有抑制 CNV 的作用。

3 CNV 的外科治疗

3.1 激光

3.1.1 氩激光 血管化的角膜中血红蛋白对氩激光能量吸收率很高,可使血液凝固,进而闭塞血管。氩激光应用的安全性仍有待探索,能量不足新生血管易复发,能量过高可导致周边部出血、角膜变薄、虹膜萎缩和坏死性巩膜炎等^[4]。

3.1.2 Nd:YAG 激光 Nd:YAG 激光目前广泛应用于眼科其他疾病的治疗中。有研究比较 Nd:YAG 激光、黄激光和氩激光在动物 CNV 模型上的治疗效果发现,若应用 Nd:YAG 激光达到闭塞血管的目的,常导致组织坏死^[37],因此不作为首选治疗。

3.1.3 光动力疗法 光动力疗法(photodynamic therapy, PDT)作用原理是借助静脉注射光敏剂被新生血管摄取保存,经激光照射后产生短暂的氧自由基活化,导致血管内皮细胞损伤,继而管壁血栓形成,新生血管萎缩。有关适合的光敏剂的研究是 PDT 研究的关键。理想的光敏剂要求毒副作用小、组织特异性高、产生的活性氧足、代谢快等特点。AL-ABDULLAH 等^[38]应用 PDT 联合维替泊芬($6\text{ mg} \cdot \text{m}^{-2}$ 体表面积)治疗 1 例双眼 CNV 伴角膜脂质沉积患者,689 nm 激光照射 15 min,2 个月后由于血管再通重复治疗 1 次,

3 个月后 CNV 成功闭塞,双眼视力显著提高,随访 4 a CNV 无复发及其他并发症发生。

3.2 电凝法 电凝法是通过电解针烧灼新生血管使之闭合。一种类似的治疗是细针透热疗法(fine-needle diathermy, FND)。FND 具体方法是用带有 10-0 单丝尼龙线的 3/8 弧形不锈钢针置于角膜缘平行于新生血管处,将一单极透热探头与针接触,使血管凝固闭塞。近年来,有学者提出在血管造影引导下 FND 选择性阻断角膜新生小动脉,能够更加安全高效地治疗 CNV^[39]。

3.3 眼表重建术 由于角膜本身“免疫赦免”特性及器官移植技术的进展,已发展出多种移植术式,包括角膜缘干细胞移植、结膜移植、羊膜移植、板层或穿透性角膜移植等。根据 CNV 范围及程度不同,上述术式可单一或联合选择应用。目前,已有不少动物或临床研究证明眼表重建术可不同程度治疗 CNV。但由于移植手术并发症较多,常作为最后的治疗手段^[3]。

4 CNV 的基因治疗

基因治疗是将目的基因借助各种载体转移到角膜,通过目的基因的表达来达到治疗 CNV 的目的。目前与 CNV 治疗有关的基因导入方式有两类:病毒载体和非病毒载体。主要的病毒载体包括:腺病毒、腺相关病毒、慢病毒、反转录病毒、单纯疱疹病毒。非病毒载体包括:直接注射裸 DNA、脂质体介导的 DNA 转移、受体-配体或抗原-抗体介导的基因转移、阳离子聚合物介导的基因转移等^[40]。促血管生成因子与抗血管生成因子在 CNV 形成中的重要作用已得到广泛认可,是目前研究的主要治疗靶点。目前有研究报道的靶点包括 VEGF、ES、白细胞介素、PEDF、尿激酶型纤溶酶原激活剂等^[4,40-42]。MOHAN 等^[43]以腺相关病毒为载体,将核心蛋白多糖导入至兔 CNV 模型中,成功抑制了 CNV,并无明显副作用。尽管基因治疗尚有安全性、可控性、复杂性、低效及伦理等问题的存在,但为 CNV 治疗提供了新的方向。

5 小结

CNV 可由多种病因导致,且不同病因导致的新生血管发生机制也不尽相同。在治疗方面,尽管 CNV 的治疗手段众多,但效果仍不甚理想,药物治疗、尤其是以 VEGF 为靶向的治疗仍是临床和实验研究的重点。进一步研究 CNV 形成的分子基础,探寻针对发病机制的有效治疗是未来面临的重大难题。

参考文献

[1] CHANG JH, GABISON EE, KATO T, AZAR DT. Corneal neovascularization[J]. *Curr Opin Ophthalmol*, 2001, 12(4): 242-249.
[2] MA DH, CHEN JK, KIM WS, HAO YX, WU HC, TSAI RJ, et al.

- Expression of matrix metalloproteinases 2 and 9 and tissue inhibitors of metalloproteinase 1 and 2 in inflammation-induced corneal neovascularization [J]. *Ophthalmic Res*, 2001, 33(6):353-362.
- [3] DAVID E, AZAR DT. Novel aspects of corneal angiogenic and lymphangiogenic privilege [J]. *Prog Retin Eye Res*, 2010, 29(3):208-248.
- [4] GUPTA D, ILLINGWORTH C. Treatments for corneal neovascularization; a review [J]. *Cornea*, 2011, 30(8):927-938.
- [5] MICHELS R, MICHELS S, KAMINSKI S. Effect of combined-topical heparin and steroid on corneal neovascularization in children [J]. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging*, 2012, 43(6):452-458.
- [6] MIRABELLI P, PEEBO BB, XEROUDAKI M, KOULIKOVSKA M, LAGALI N. Early effects of dexamethasone and anti-VEGF therapy in an inflammatory corneal neovascularization model [J]. *Exp Eye Res*, 2014, 125(2):118-127.
- [7] CASTRO MR, LUTZ D, EDELMAN JL. Effect of COX inhibitors on VEGF-induced retinal vascular leakage and experimental corneal and choroidal neovascularization [J]. *Exp Eye Res*, 2004, 79(2):275-285.
- [8] BEKENDAM PD, NARVAEZ J, AGARWAI M. Case of corneal melting associated with the use of topical nepafenac [J]. *Cornea*, 2007, 26(8):1002-1003.
- [9] VOICULESCU OB, VOINEA LM, ALEXANDRESCU C. Corneal neovascularization and biological therapy [J]. *J Med Life*, 2015, 8(4):444-448.
- [10] KRIZOVA D, VOKROJOVA M, LIEHNEOVA K, STUDENY P. Treatment of corneal neovascularization using anti-VEGF Bevacizumab [J]. *J Ophthalmol*, 2014, 2014(4):178132.
- [11] CHEN WL, CHEN YM, CHU HS, LIN CT, CHOW LP, CHEN CT, et al. Mechanisms controlling the effects of bevacizumab (Avastin) on the inhibition of early but not late formed corneal neovascularization [J]. *PLoS One*, 2014, 9(4):e94205.
- [12] KADAR T, AMIR A, COHEN L, COHEN M, SAHAR R, GUTMAN H, et al. Anti-VEGF therapy (bevacizumab) for sulfur mustard-induced corneal neovascularization associated with delayed limbal stem cell deficiency in rabbits [J]. *Curr Eye Res*, 2014, 39(5):439-450.
- [13] YOU IC, KANG IS, LEE SH, YOON KC. Therapeutic effect of subconjunctival injection of bevacizumab in the treatment of corneal neovascularization [J]. *Acta Ophthalmol*, 2009, 87(6):653-658.
- [14] KIM SW, HA BJ, KIM EK, TCHAH H, KIM TI. The effect of topical bevacizumab on corneal neovascularization [J]. *Ophthalmology*, 2008, 115(6):e33-38.
- [15] EKINCI M, CAGATAY HH, YAZAR Z, BINGOL SA, KAPLAN A. Inhibition of corneal neovascularization by subconjunctival injection of ranibizumab and bevacizumab in rabbit cornea [J]. *Kafkas Univ Vet Fak*, 2013, 19(2):125-132.
- [16] STEVENSON W, CHENG SF, DASTJERDI MH, FERRARI G, DANA R. Corneal neovascularization and the utility of topical VEGF inhibition: ranibizumab (Lucentis) vs bevacizumab (Avastin) [J]. *Ocul Surf*, 2012, 10(2):67-83.
- [17] KIM EK, KONG SJ, CHUNG SK. Comparative study of ranibizumab and bevacizumab on corneal neovascularization in rabbits [J]. *Cornea*, 2014, 33(1):60-64.
- [18] FERRARI G, DASTJERDI MH, OKANOBO A, CHENG SF, AMPARO F, NALLASAMY N, et al. Topical ranibizumab as a treatment of corneal neovascularization [J]. *Cornea*, 2013, 32(7):992-997.
- [19] LIPP M, BUCHER F, PARTHASARATHY A, HOS D, ONDERKA J, CURSIEFEN C, et al. Blockade of the VEGF isoforms in inflammatory corneal hemangiogenesis and lymphangiogenesis [J]. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 2014, 252(6):943-949.
- [20] SAKIMOTO T, SUGAYA S, ISHIMORI, SAWA M. Anti-inflammatory effect of IL-6 receptor blockade in corneal alkali burn [J]. *Exp Eye Res*, 2012, 97(1):98-104.
- [21] SARI ES, YAZICI A, AKSIT H, YAY A, SAHIN G, YILDIZ O, et al. Inhibitory effect of sub-conjunctival tocilizumab on alkali burn induced corneal neovascularization in rats [J]. *Curr Eye Res*, 2015, 40(1):48-55.
- [22] YOSHIDA J, WICKS RT, ZAMBRANO AI, TYLER BM, JAVAHIRIAN K, GROSSMAN R, et al. Inhibition of corneal neovascularization by subconjunctival injection of Fc-Endostatin, a novel inhibitor of angiogenesis [J]. *J Ophthalmol*, 2015, 2015:137136.
- [23] HAN Y, SHAO Y, LIN Z, QUYANG L, WANG H, ZHOU Y, et al. Netrin-1 simultaneously suppresses corneal inflammation and neovascularization [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2012, 53(3):1285-1295.
- [24] HAN Y, SHAO Y, LIU TT, QU YL, LI W, LIU ZG. Therapeutic effects of topical Netrin-4 inhibits corneal neovascularization in alkali-burn rats [J]. *PLoS One*, 2015, 10(4):e0122951.
- [25] ZAPATA G, RACCA L, TAU J, BERRA A. Topical use of rapamycin in herpetic stromal keratitis [J]. *Ocul Immunol Inflamm*, 2012, 20(5):354-359.
- [26] GOKTAS S, ERDOGAN E, SAKARYA R, SAKARYA Y, YILMAZ M, OZCIMEN M, et al. Inhibition of corneal neovascularization by topical and subconjunctival Tigecycline [J]. *J Ophthalmol*, 2014, 2014(1):452685.
- [27] XIAO O, XIE ZL, LIN BW, YIN XF, PI RB, ZHOU SY. Minocycline inhibits alkali burn-induced corneal neovascularization in mice [J]. *PLoS One*, 2012, 7(7):e41858.
- [28] JOVANOVIĆ V, NIKOLIC L. The effect of topical doxycycline on corneal neovascularization [J]. *Curr Eye Res*, 2014, 39(2):142-148.
- [29] LI ZR, YAO L, LI JG, ZHANG WX, WU XH, LIU Y, et al. Celastrol nanoparticles inhibit corneal neovascularization induced by suturing in rats [J]. *Int J Nanomed*, 2012, 7(9):1163-1173.
- [30] YANG SJ, JO H, KIM KA, AHN HR, KANG SW, JUNG SH. Diospyros kaki extract inhibits alkali burn-induced corneal neovascularization [J]. *J Med Food*, 2016, 19(1):106-109.
- [31] SANCHEZ-HUERTA V, GUTIERREZ-SANCHEZ L, FLORESTRADA J. (-)-Epigallocatechin 3-gallate (EGCG) at the ocular surface inhibits corneal neovascularization [J]. *Med Hypotheses*, 2011, 76(3):311-313.
- [32] ZHOU HY, JIANG S, CHEN JP, REN XR, JIN JY, SU SB. Largazole, an inhibitor of class I histone deacetylases, attenuates inflammatory corneal neovascularization [J]. *Eur J Pharmacol*, 2014, 740:619-626.
- [33] KAYA MK, DEMIR T, BULUT H, AKPOLAT N, TURGUT B. Effects of lapatinib and trastuzumab on vascular endothelial growth factor in experimental corneal neovascularization [J]. *Clin Exp Ophthalmol*, 2015, 43(5):449-457.
- [34] SUN Y, SU L, WANG ZX, XU Y, XU X. H-RN, a peptide derived from hepatocyte growth factor, inhibits corneal neovascularization by inducing endothelial apoptosis and arresting the cell cycle [J]. *BMC Cell Biol*, 2013, 14(1):1-10.
- [35] NOROOZNEZHAD AH, NOROOZNEZHAD F, AHMADI K. Next target of ranilast: Inhibition of corneal neovascularization [J]. *Med Hypotheses*, 2014, 82(6):700-702.
- [36] SIMAVLI H, ERDURMUS M, TERZI EH, BUCAK YY, ONDERHI, KUKNER AS. The effect of beta receptor blockade through propranolol on corneal neovascularization [J]. *J Ocul Pharmacol Therapeut*, 2014, 30(8):650-656.
- [37] KRASNICK NM, SPIGELMAN AV. Comparison of yellow dye, continuous wave Nd:YAG, and argon green laser on experimentally induced corneal neovascularization [J]. *J Refract Surg*, 1995, 11(1):45-49.
- [38] AL-ABDULLAH AA, AL-ASSIRI A. Resolution of bilateral corneal neovascularization and lipid keratopathy after photodynamic therapy with verteporfin [J]. *Optometry*, 2011, 82(4):212-214.
- [39] SPITERI N, ROMANO V, ZHENG YL, YADAV S, DWIVEDI R, CHEN J, et al. Corneal angiography for guiding and evaluating fine-needle diathermy treatment of corneal neovascularization [J]. *Ophthalmology*, 2015, 122(6):1079-1084.
- [40] MENZEL-SEVERING J. Emerging techniques to treat corneal neovascularization [J]. *Eye*, 2012, 26(26):2-12.
- [41] QAZI Y, STAGG B, SINGH N, ZHANG X, LUO L, SIMONIS J, et al. Nanoparticle-mediated delivery of shRNA. VEGF-a plasmids regress corneal neovascularization [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2012, 53(6):2837-2844.
- [42] GUZMAN-ARANGUEZ A, LOMA P, PINTOR J. Small-interfering RNAs (siRNAs) as a promising tool for ocular therapy [J]. *Br J Pharmacol*, 2013, 170(4):730-747.
- [43] MOHAN RR, TOVEY JCK, SHARMA A, SCHULTZ GS, COWDEN JW, TANDON A. Targeted decorin gene therapy delivered with adeno-associated virus effectively retards corneal neovascularization *in vivo* [J]. *PLoS One*, 2011, 6(10):e26432.