

鬼臼毒素固体脂质纳米粒凝胶治疗复发性尖锐湿疣的随机双盲对照研究

谢方明¹, 曾抗¹, 陈志良², 李国锋², 林中方¹, 朱晓亮¹, 孙乐栋¹ (南方医科大学南方医院¹ 皮肤科,² 药学部, 广东广州 510515)

摘要:目的 评价鬼臼毒素固体脂质纳米粒凝胶治疗复发性尖锐湿疣的疗效和安全性。方法 选择适当的复发性尖锐湿疣患者, 采用鬼臼毒素脂质纳米粒凝胶与普通鬼臼毒素凝胶进行随机双盲、对照研究, 主要观察近期治疗效果、抗复发情况及局部不良反应。结果 鬼臼毒素脂质纳米粒凝胶对尖锐湿疣的首次清除率 (97.1%) 与普通的鬼臼毒素凝胶剂 (90.6%) 相近 ($P>0.05$), 但复发率和不良反应发生率明显偏低 ($P<0.01$)。结论 鬼臼毒素脂质纳米粒凝胶局部外用不良反应轻微, 耐受性好, 并能降低尖锐湿疣复发率。

关键词: 鬼臼毒素; 固体脂质纳米粒; 尖锐湿疣

中图分类号: R752.53 文献标识码: A 文章编号: 1673-4254(2007)05-0657-03

Treatment of recurrent condyloma acuminatum with solid lipid nanoparticle gel containing podophyllotoxin: a randomized double-blinded, controlled clinical trial

XIE Fang-ming¹, ZENG Kang¹, CHEN Zhi-liang², LI Guo-feng², LIN Zhong-fang¹, ZHU Xiao-liang¹, SUN Le-dong¹

¹Department of Dermatology, ²Department of Pharmacy, Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China

Abstract: Objective To observe the clinical efficacy and safety of podophyllotoxin delivered via solid lipid nanoparticle gel for topic treatment of recurrent condyloma acuminatum. **Methods** In a randomized double-blinded study, podophyllotoxin solid lipid nanoparticles gel and routine podophyllotoxin gel preparation was applied respectively for treatment of 97 volunteer patients with recurrent condyloma acuminatum. The therapeutic effect, condyloma acuminatum relapse following the treatment and adverse effect were evaluated. **Results** The wart clearance rate in the condyloma acuminatum patients in the first treatment course with podophyllotoxin solid lipid nanoparticle gel reached 97.1%, close to that with the routine preparation of 90.6%, but the nanoparticle preparation significantly reduced the recurrence rate and adverse effect ($P<0.01$). **Conclusion** Podophyllotoxin delivered via solid lipid nanoparticle gel can effectively clear condyloma acuminatum and reduce its recurrence rate with only mild, tolerable adverse effect.

Key words: podophyllotoxin; solid lipid nanoparticles; condyloma acuminatum

尖锐湿疣又称生殖器疣、性病疣、肛门生殖器疣, 是目前国内外最常见的性传播疾病之一。尖锐湿疣的治疗方法很多, 但由于缺乏有效的抗病毒手段, 目前所有治疗手段均有较高的复发率。反复发作的尖锐湿疣给患者精神上、身体上带来巨大痛苦, 而且部分尖锐湿疣还可转化为阴茎癌或宫颈癌。固体脂质纳米粒 (SLN) 是一种新型载药技术^[1], 目前主要用于恶性肿瘤的治疗, 以发挥其靶向性并减少毒副作用。有研究发现 SLN 经皮给药能减少局部刺激, 促进药物渗透并在表皮蓄积, 增加药物的生物利用度, 同时减少系统吸收, 这些特性对尖锐湿疣的外用药物治疗非常有利^[2-4]。结合以往及相关研究^[5,6], 本实验通过以 SLN 为载体, 包裹鬼臼毒素, 将发挥 SLN 制剂的特殊优势, 为治疗 HPV 潜伏感染、减少尖锐湿疣复发及预防

HPV 相关肿瘤的发生提供一个全新的思路。

1 材料和方法

1.1 制剂

鬼臼毒素 SLN 凝胶为自制^[7]。鬼臼毒素凝胶剂由鬼臼毒素的酒精溶液加入卡波姆-940 凝胶基质中形成, 两种凝胶剂中鬼臼毒素浓度均为 0.5%。凝胶剂制备条件和工艺相同, 外观一致。将受试凝胶剂使用盲法随机分为 I 和 II 号凝胶。经南方医院伦理委员会和药事委员会批准, 同意临床试验。病人签署知情同意书。

1.2 病例选择

入选标准: (1) 年龄 18~65 岁, 男女不限; (2) 病程 3 个月以上; (3) 半年内反复发作 3 次以上, 排除再感染的可能^[8]; (4) 均为外阴尖锐湿疣; (5) 本次复发后及半月内未接受局部治疗, 且 1 个月内未用过干扰素、胸腺肽、转移因子等免疫调节剂及其他全身治疗; (6) 局部无合并其他性传播性疾病或感染性皮肤病; (7) 全身无合并糖尿病、甲亢或肿瘤, 无心肺肝肾等重要器官功能障碍, 女性患者无妊娠; (8) 自愿受试并可定期复诊。排除标准: 已知对研究药物中的任何一种成分过敏者; 妊娠 (有怀孕可能的妇女先进行妊娠试

收稿日期: 2006-11-28

基金项目: 广东省科技计划项目 (2003C104034)

Supported by Scie-tech Research Development Program of Guangdong Province (2003C104034)

作者简介: 谢方明 (1971-), 男, 在读博士研究生, 主治医师, 主要从事皮肤及性传播疾病、银屑病的研究, 电话: 020-62787322, E-mail: Pfk303@163.com

验);癍痕体质者;恶性疾病;肾移植及自身免疫病后。

1.3 病历资料

所有病例皆为我院皮肤性病科门诊病人,共 97 人。根据随机数字表将入选的患者随机分为 A、B 两组:A 组患者使用 I 号凝胶,B 组患者使用 II 号凝胶。所有入选患者记录年龄、性别、病程、皮损数目、大小等资料,并进行方差齐性检验。

1.4 用药方法^[9]

两组患者用药方法相同。先进行治疗性用药:皮损部位以 70%酒精清洗,酒精挥发后涂药,两次/d,2~7 d 为 1 个治疗周期,皮损逐渐萎缩、变色或脱落。皮损完全清除后停药 4 d。此后再进行防复发用药,即每周涂药 2 次,1 次/d,涂药范围超过原皮损约 2 cm。期间若无新皮损,则 3 个月后停止用药。若出现新皮损则改为涂药 2 次/d,连续 2~7 d,至皮损消失。用药期间记录皮损变化情况及不良反应的发生。所有受试患者治疗开始前及结束后抽血查血常规、肝肾功能。

1.5 观察与随访

两组患者用药后,每月复诊 1 次以上。出现新皮损时随时复诊。有特殊情况如局部糜烂、水肿或在用药后出现中毒症状,如头痛、恶心、呕吐、腹痛、腹泻等,随时就诊,视情况决定是否退出试验。总随访时间 6 个月以上,对不符合要求的病例,进行分析和评估后剔除。

1.6 疗效及不良反应评估^[10]

疣体清除例数:指经治疗后疣体完全消失,局部醋酸白实验阴性的患者。经过 1 个周期即达到清除的记为 1,依次类推。复发:排除再感染的情况下,疣体清除后 1 个月至半年内有新的尖锐湿疣皮损出现,包括出现可疑的皮损,醋酸白实验阳性者,必要时通过病理检查证实。不良反应:局部反应主要为瘙痒、烧灼感、疼痛、水肿等。疣体脱落时皮损处的浅表创面不作为不良反应。系统中毒症状如头痛、恶心、呕吐、腹痛、腹泻等。

1.7 统计学处理

采用 SPSS10.0 统计软件,对两组病例的首次疣体清除率、复发率和不良反应的发生率进行四格表资料的卡方检验进行统计学处理, $P < 0.05$ 为具有统计学意义。

2 结果

2.1 随访情况

A 组:符合入选条件进行观察者 47 例,B 组:符合入选条件进行观察者 50 例。A 组完成随访的患者 32 例,男 24 例、女 8 例;年龄 17~48 岁,平均 28.5 岁,病程 6~38 个月,平均 8.3 个月。皮损数目 1~16 个,平均 3.3 个;皮损直径 1~8 mm,平均 3.5 mm。B 组完成

随访的患者 34 例,男 25 例、女 9 例;年龄 15~47 岁,平均 27.3 岁;病程 6.2~34 个月,平均 8.1 个月;皮损数目 1~18 个,平均 3.5 个;皮损直径 1~8.4 mm,平均 3.7 mm。两组患者一般资料经统计学检验,年龄、性别、病程、疣体大小及部位等差异无显著性,具有可比性。随访结束后进行揭盲,结果 I 号凝胶为普通鬼臼毒素凝胶,II 号凝胶为鬼臼毒素 SLN 凝胶。即 A 组为对照组,B 组为治疗组。

2.2 疗效观察

A 组患者 32 例中第 1 次治疗连续涂药 2~7 d,疣体完全清除者 29 例,清除率为 90.6%;B 组患者中首次疣体清除例数 33 例,清除率为 97.1%。涂药后一般 2~3 d 起局部皮损变白或褐色,并逐渐萎缩脱落,用药适当者,皮肤脱落而无局部糜烂,仅有局部潮红或色素沉着。两组患者疣体首次清除率经统计学处理, $\chi^2=1.199, P=0.274$,疗效差异无显著性。

2.3 抗复发观察

A 组 32 例中 12 例在观察期内复发,复发率为 37.5%,B 组 34 例中复发 3 例,复发率为 8.8%。经统计学处理, $\chi^2=7.719, P=0.008$,说明两组复发率差异有显著性。结合临床资料,B 组复发率明显低于 A 组。

2.4 安全性评价

整个试验过程中,两组均未出现系统不良反应。治疗后血常规、肝肾功能均未见异常。局部不良反应主要为触痛和烧灼感,少数患者出现疼痛和水肿。两组不良反应发生率分别为 65.6%和 26.5%。经统计学分析, $\chi^2=10.193, P=0.003$,两组不良反应差异有显著性。结合临床资料,B 组不良反应发生率明显低于 A 组。

3 讨论

鬼臼毒素的作用机制是通过作用于哺乳动物细胞的 DNA 拓扑异构酶 II,抑制细胞有丝分裂而产生细胞毒作用,其酊剂和乳膏剂具有对疣体清除率高、毒副作用小的特点,可供患者自行用药。文献报道鬼臼毒素无致畸、致突变、致肿瘤的作用^[11],长期使用较安全。但普通的鬼臼毒素制剂只能用于肉眼可见的皮损,治疗中容易遗漏微小的亚临床感染;同时,由于其缺乏良好的表皮靶向性及缓释性不佳,不能持续对 HPV 潜伏感染进行抑制;而且由于对治疗部位、使用面积都有诸多限制等原因,导致鬼臼毒素治疗尖锐湿疣的复发率较高。

病灶及其周围 2 cm 范围的邻近组织的 HPV 潜伏感染通常是尖锐湿疣复发的主要原因,针对其进行治疗也成为防止尖锐湿疣复发的重点^[12-13]。我们对疣体清除后的病灶及其邻近 2 cm 范围的组织进行抗复发治疗。SLN 制剂特有的靶向和缓释作用使鬼臼毒素在局部的作用维持较长时间,有效抑制了受

HPV感染后有丝分裂活跃的细胞的生长及分裂、增殖,因此明显降低了复发率;而且鬼臼毒素 SLN 制剂包封率较高,游离的鬼臼毒素较少,使得对表皮的刺激性较小,因此更加安全。相比于鬼臼毒素酊剂和传统的冷冻、激光、微波等治疗,鬼臼毒素 SLN 凝胶使用更加方便,尤其是对可疑的皮损和成片皮损,可以适当扩大使用面积和范围。疣体清除彻底,损伤小,治疗中不良反应轻微。不良反应主要表现为局部的灼热感和红斑,面积较大的皮损可有局限的浅糜烂面,用高锰酸钾液浸泡后,一般 2~3 d 即可痊愈。疣体清除后局部创面清洁,无瘢痕。

由于时间和样本量等条件的限制,我们只是初步观察了鬼臼毒素 SLN 的临床应用疗效和不良反应,积累了一些初步的经验和体会。

参考文献:

- [1] Muller RH, Mader K, Gohla S, et al. Solid lipid nanoparticles (SLN) for controlled drug delivery: a review of the state of the art[J]. Eur J Pharm Biopharm, 2000, 50(1): 161-77.
- [2] Wissing SA, Muller RH. Solid lipid nanoparticles as carrier for sunscreens: *in vitro* release and *in vivo* skin penetration [J]. J Controlled Release, 2002, 81(3): 225-33.
- [3] Chen H, Chang X, Du D, et al. Podophyllotoxin-loaded solid lipid nanoparticles for epidermal targeting [J]. J Controlled Release, 2006, 110(2): 296-306.
- [4] Liu J, Hu W, Chen H, et al. Isotretinoin-loaded solid lipid

nanoparticles with skin targeting for topical delivery [J]. Int J Pharm, 2007, 328(2): 191-5.

- [5] 江彬彬, 曾抗, 张三泉, 等. 鬼臼毒素二棕榈酸磷脂胆碱脂质体局部外用的实验研究 [J]. 第一军医大学学报, 2002, 22 (10): 875-7.
- Jiang BB, Zeng K, Zhang SQ, et al. Experimental study of podophyllotoxin dipalmitoylphosphatidylcholine liposome for topical skin application [J]. J First Mil Med Univ/Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao, 2002, 22(10): 875-7.
- [6] Pople PV, Singh KK. Development and evaluation of topical formulation containing solid lipid nanoparticles of vitamin A [J]. AAPS Pharm Sci Tech, 2006, 7(4): 91-9.
- [7] 谢方明, 曾抗, 李国锋, 等. 鬼臼毒素硬脂酸固体脂质纳米粒的制备 [J]. 第一军医大学学报, 2005, 25(1): 99-101.
- Xie FM, Zeng K, Li GF, et al. Preparation of stearic acid solid lipid nanoparticles containing podophyllotoxin [J]. J First Mil Med Univ/Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao, 2005, 25(1): 99-101.
- [8] 杨琼芬, 李强, 王建华, 等. 丝裂霉素治疗复发性尖锐湿疣近期疗效探讨 [J]. 中华皮肤科杂志, 2002, 35(3): 230.
- [9] 曾抗, 李国锋, 许重远. 鬼臼毒素脂质体软膏治疗尖锐湿疣的双盲随机对照试验 [J]. 第一军医大学学报, 1998, 18(3): 246.
- [10] 吴志华. 现代性病学 [M]. 广州: 广东人民出版社, 2002: 208-9.
- [11] Berenblum I. The effects of podophyllotoxin on the skin of the mouse, with reference to carcinogenic, cocarcinogenic, and anticarcinogenic action [J]. J Nat Cancer Inst, 1951, 11: 839-41.
- [12] 郭华阳, 李文维, 赵莉蓉. 激光治疗后尖锐湿疣复发情况调查及原因探讨 [J]. 第三军医大学学报, 1995, 17(4): 361-2.
- [13] 周华, 杨帆, 熊礼宽. 尖锐湿疣人乳头瘤病毒潜伏感染的研究 [J]. 中华皮肤科杂志, 1995, 28(3): 168-9.

(上接 656 页)

应^[4]。表达载体经多年发展已有较多选择,常用的病毒载体有腺病毒、腺相关病毒、逆转录病毒和疱疹病毒等,其中腺病毒由于具有易于制备和纯化,可转染分裂和非分裂细胞以及外源基因表达效率高等特点而备受关注^[6,7],但是腺病毒在治疗部位所致的体液免疫和细胞免疫反应及易造成病毒播散在一定程度上限制了其应用^[8]。我们采用的真核表达载体 pcDNA3.1 克服了上述缺点,电穿孔介导的基因转染通过增加细胞膜的通透性提高外源基因转染至体内的效率,阳离子聚合物作为基因转染载体,能浓缩 DNA,促进细胞吞噬聚合物/DNA 复合物,并使其在细胞核内释放,从而提高 VEGF 基因的表达水平^[9-11];且质粒 DNA 和载体容易制备,稳定性好,转基因细胞合成分泌的内源性蛋白不仅表达产物活性高,还能更有效地同细胞表面受体结合,免疫排斥反应小^[5]。本实验为组织工程膀胱血管化的进一步研究提供了一定的实验基础。

参考文献:

- [1] 徐小鹏, 王共先, 袁铿, 等. 兔膀胱平滑肌细胞体外培养初探 [J]. 实用临床医学, 2003, 4(1): 24-7.

- [2] 陈文明. 血管内皮生长因子的生物学及其在临床的初步应用 [J]. 基础与临床, 2003, 23(5): 471-7.
- [3] Lerman OZ, Galiano RD, Armour M, et al. Cellular dysfunction in the diabetic fibroblast: impairment in migration, vascular endothelial growth factor production, and response to hypoxia [J]. Am J Pathol, 2003, 162: 303-7.
- [4] 黄晨晟, 沈祖尧. 血管内皮生长因子的研究及其在组织修复中的作用 [J]. 中国修复重建外科杂志, 2002, 16(1): 64-9.
- [5] Gurunluoglu R, Ozer K, Skugor B, et al. Effect of transfection time on the survival of epigastric skin flaps pretreated with adenovirus encoding the VEGF gene [J]. Ann Plast Surg, 2002, 49(2): 161-9.
- [6] Volpers C, Kochanek S. Adenoviral vectors for gene transfer and therapy [J]. J Gene Med, 2004, 6(Suppl 1): s164-71.
- [7] 刘秉文, 陈俊杰. 医学分子生物学 [M]. 北京: 中国协和医科大学出版社, 2000: 396.
- [8] Jooss K, Chirmule N. Immunity to adenovirus and adeno-associated viral vectors: implications for gene therapy [J]. Gene Ther, 2003, 10 (11): 955-63.
- [9] Thomas D, Suthanthiran M. Optimal modes and targets of gene therapy in transplantation [J]. Immunol Rev, 2003, 196(3): 161-75.
- [10] Leclere PG, Panjwani A, Docherty R, et al. Effective gene delivery to adult neurons by a modified form of electroporation [J]. J Neurosci Methods, 2005, 142(1): 137-43.
- [11] Brown MD, Schatzlein AG, Uchegbu IF. Gene delivery with synthetic (non-viral) carriers [J]. Int J Pharm, 2001, 229(1-2): 1-21.