

## 血管生成及靶向治疗

阎锡蕴

中国科学院生物物理研究所 北京市, 100101



阎锡蕴, 医学博士, 中国科学院生物物理研究所研究员。中国生物物理学会秘书长, 中国国家药品监督管理局药品审评专家。本刊常务编委。1993年在德国海德堡大学获医学博士, 1995年在美国 Sloan-Kettering 癌症研究中心完成博士后。1997年入选中国科学院“百人计划”。主要从事肿瘤和肿瘤新生血管靶分子及其抗体的研究。现已发表学术论文50余篇, 国内外发明专利10项及2项成果转化。2005年获北京市科技进步二等奖和第13届世界妇女科学家大会优秀论文奖。

**【摘要】** 血管是胚胎发育第一器官并形成人体最大网络系统。正常血管生成受到各种细胞因子的严格控制。异常的血管生成导致各种疾病, 例如肿瘤、糖尿病、免疫病、先兆子痫、肢体缺血等。因此, 血管生成已成为治疗这些疾病的药物靶点。2004年, 第一个抗血管生成药物用于结肠癌的治疗, 标志着抗血管生成疗法的成功。然而, 随着血管生成药物的临床应用, 新的问题也逐渐显露出来。这不仅给我们提出了新的挑战, 而且展现出新的希望。

**【关键词】** 血管生成; 抗血管生成疗法; 治疗性血管新生

**【中图分类号】** R730.51

## Angiogenesis—A Novel Therapeutic Target

YAN Xiyun

*Institute of Biophysics, Chinese Academy of Sciences, Beijing, 100101, China*

**【Abstract】** Blood vessels constitute the first organ in the embryo and form the largest network in our body. When angiogenesis is dysregulated, it contributes to a variety of diseases including tumorous, ischemic, inflammatory and immune diseases. Despite its early discovery over centuries ago, angiogenesis research had not been fully studied till 1971 when Judah Folkman proposed the hypothesis that tumor growth is angiogenesis-dependent. Through more than 30-years of studies, the first antiangiogenesis drug has been approved in 2004 by FDA for the treatment of colorectal cancer. The achievement has validated the notion that angiogenesis is an important target for cancer and other diseases. Meanwhile the problems with angiogenesis therapy have been emerged. The studies of angiogenesis not only poses new challenge but also give us new hope for treatment of ischaemic disorders.

**【Key words】** angiogenesis; therapeutic angiogenesis; antiangiogenesis

早在几个世纪前, 有学者就提出肿瘤可能是一个与脉管系统有着密切关系的疾病。1787年, John Hunter就用血管生成 (angiogenesis) 一词描述血管新生过程<sup>[1]</sup>。1939年, Ide等<sup>[2]</sup>发现肿瘤细胞分泌促血管新生因子; 1945年, Algire等<sup>[3]</sup>观察到肿瘤血管与正常血管的差异。然而, 直到1971年Folkman<sup>[4]</sup>提出肿瘤生长依赖于血管生成的观点之

后, 血管生成研究才真正启动并逐渐成为一个引人关注的研究热点。经过30多年的研究, 第一个抗血管生成药物 Avastin (一个抗血管内皮生长因子抗体) 在2004年通过美国食品药品监督管理局 (FDA) 批准用于结肠癌的治疗。这是抗肿瘤血管生成疗法最直接的证据。我国科学家首次将重组内皮抑素 (endostatin, 商品名: 恩度) 开发成抗肿

瘤新药, 于 2005 年 9 月获中国国家药品监督管理局签发的新药证书。

然而, 随着越来越多血管生成药物的临床研究, 问题也逐渐地显露出来。这不仅给研究者提出了新的挑战, 而且展现出新的希望——促血管生成疗法。后者将加深人们对血管生成与疾病的认识, 拓宽血管生成的临床应用。

### 1 血管生成

广义的血管生成 (neovascularization) 大致可分为血管建成 (vascubgenesis) 和血管生成 (angiogenesis)。前者是指中胚层来源的内皮前体细胞或干细胞经过分化形成血管网的过程。狭义的血管生成 (angiogenesis) 则是在原有血管的基础上, 内皮细胞增殖和迁移以发芽或嵌入的方式形成新血管的过程。一般认为, 血管建成仅发生在胚胎早期, 可伴随血管生成。血管生成发生在生理 (如胚胎发育、产后组织修复、成年女性子宫内膜血管的周期性重建) 和病理过程 (肿瘤、感染、免疫紊乱)。

血管生成可分为两种模式<sup>[5]</sup>, 一种是比较常见的出芽式, 其过程可分 3 个步骤: 血管外基质发生降解, 这个过程需要蛋白水解酶如基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinases, MMPs) 的参与; 血管内皮细胞增殖和迁移, 这一过程需要血管

内皮细胞生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 和碱性成纤维细胞生长因子 (basic fibroblast growth factor, bFGF) 等促血管生成因子的参与; 在新生内皮细胞形成的血管外补充基质、周细胞和平滑肌细胞。另一种血管新生的模式是分隔式, 即增殖后的内皮细胞向原血管腔内迁移形成新的血管。

### 2 血管生成的调节

血管是胚胎发育第一器官并形成人体最大网络系统, 其正常活动是通过血管生成激活因子和抑制因子之间的动态平衡而维持 (表 1)。促血管生成因子 (pro-angiogenic factors) 主要是由血管内皮细胞、肿瘤细胞和基质细胞分泌的细胞因子, 通过与受体的结合促进血管内皮细胞增殖、迁移和血管生成, 了解较多的主要有 VEGF<sup>[6]</sup>和 bFGF<sup>[7]</sup>等。目前的研究表明, 肿瘤细胞不仅分泌促血管生成因子, 而且在静止状态时也分泌血管生成抑制因子 (antiangiogenic factors), 包括内皮抑素 (endostatin)<sup>[8-9]</sup>、血管抑素 (angiostatin)<sup>[10]</sup>和血小板反应蛋白 (thrombospondin, TSP) 等<sup>[11]</sup>, 在维系血管系统正常活动中发挥着与同样重要的作用, 不过相对于激活因子而言, 目前对于血管生成抑制因子调节功能的了解有限。

表 1 血管生成调节因子

促血管生成因子	血管生成抑制因子
腺苷 (adenosine)	血管抑素 (angiostatin)
血管生成素 (angiogenin)	抗血管生成的抗凝血酶 (antiangiogenic antithrombin)
血管生成因子-1 (angiopoietin-1)	钙网素 (calreticulin)
造血干细胞标记 AC133	癌抑素 (canstatin)
甘油一丁酸酯 (1-butanyl glycerol)	软骨源抑制因子 (cartilage derived inhibitor, CD I)
developmentally regulated endothelial locus 1, Del-1	CD59补体片断 (CD59 complement fragment)
雌二醇 (estradiol)	核心蛋白聚糖 (decorin)
ephrins	活性维生素 D3 (1, 2, 5-Dihydroxyvitamin D3)
成纤维细胞生长因子 (fibroblast growth factor, FGF- )	内皮抑素 (endostatin)
卵泡抑制素 (folliculin)	纤黏连蛋白片断 (fibronectin fragment)
粒细胞集落刺激因子 (granulocyte colony stimulating factor, G-CSF)	骨黏连蛋白片断 (fragment of SPARC)
肝细胞生长因子 (hepatocyte growth factor, HGF)	肝素酶 (Heparinases)
kl1 / kl3	人绒毛膜促性腺激素 (human chorionic gonadotrophin, HCG)
胶原 (collagen)	干扰素 (Interferon, IFN- )
副层连蛋白 (entactin)	干扰素诱导蛋白 (Interferon inducible protein, IP-10)
整合素 (integrins, V 3, V 5, 5 1)	白介素-4, 12, 18 (L4, L12, L18)
白介素-8 (L-8)	2-甲基雌二醇 (2-methoxyestradiol)
层黏连蛋白 (laminin)	Maspin
瘦素 (leptin)	纤溶酶原饼环区 5 (plasminogen kringle-5)

续表 1

促血管生成因子	血管生成抑制因子
巨噬细胞趋化蛋白 (macrophage chemoattractant protein, MCP-1)	骨桥蛋白片断 (osteopontin fragment)
基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinases, MMPs)	胎盘核糖核酸酶抑制因子 (placental ribonuclease inhibitor)
妊娠中肾细胞因子 (midkine)	血纤维蛋白溶酶原激活物抑制因子 (plasminogen activator inhibitor)
烟酰胺 (nicotinamide)	色素上皮源生长因子 (pigment epithelium derived growth factor, PEDF)
一氧化氮合酶 (nitric oxide synthase, NOS)	血小板因子 (platelet factor 4, PF4)
基底膜蛋白聚糖 (perlecan)	催乳素片断 (prolactin 16 kDa fragment)
磷脂 (phospholipids)	类维生素 A (retinoids)
胎盘生长因子 (placental growth factor, PLGF)	四氢可的索 (tetrahydrocortisol-S)
血小板衍生生长因子 (platelet derived growth factor-BB, PDGF-BB)	金属蛋白酶组织抑制因子 (tissue inhibitor of metalloproteinases, TIMPs)
多效蛋白 (pleiotrophin, PTN)	血小板反应蛋白 (thrombospondin-1, TSP-1)
血小板源内皮细胞生长因子 (platelet derived endothelial cell growth factor, PD-ECGF)	血管抑制素 (vasculostatin)
增殖蛋白 (proliferin)	血管抑制因子 (vasostatin)
前列腺素 (prostaglandins E1 and E2)	
离散因子 (scatter factor, SF)	
转化生长因子 (transforming growth factor, TGF- $\beta$ )	
肿瘤坏死因子 (tumour necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )	
血管内皮钙粘素 (vascular endothelial cadherin, VE cadherin)	
血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF)	

此外, 血管生成还受到多种信号的调控, 包括代谢压 (如低 pH, 缺氧, 低血糖)、机械压迫 (如细胞增殖产生的压力)、免疫/炎症反应 (如免疫/炎症细胞浸润) 和遗传突变 (控制血管生成调节因子表达的原癌基因的激活和抑癌基因缺失)<sup>[12-13]</sup>。

### 3 血管生成调节失衡与疾病

正常血管系统处于相对稳定的动态平衡。只有在某些特殊的情况下 (如女性的月经周期或伤口愈合), 机体在一段时间内上调血管生成, 之后迅速关闭, 整个过程受到严格的调控。然而当血管生成失调时, 无论是血管生成过度还是不足都会导致疾病的发生, 例如肿瘤、糖尿病、哮喘、各种自身免疫病、先兆子痫、肢体缺血等<sup>[14]</sup>。

肿瘤是一种与血管生成过度相关的疾病。如果没有血管生成, 实体瘤的直径不会超过 2 mm, 这正是血流中氧和营养物质通过扩散所能达到的距离。事实上, 许多肿瘤细胞都分泌促血管生成因子, 诱发其周围的血管生成, 为肿瘤细胞的生长和转移提供了微环境。

外基质等多种分子的调节失衡。理论上讲, 每个环节所涉及的分子都可能成为促/抗血管生成治疗的靶标。目前研究最多的靶分子是 VEGF 及其受体。

类风湿性关节炎 (rheumatoid arthritis, RA) 也是一种与血管生成过度相关的疾病, 其病理改变为持久性滑膜炎及血管翳形成。血管翳具有类似于肿瘤组织的侵蚀性, 可侵蚀和破坏关节软骨组织, 最终造成不可逆的关节僵直和功能丧失。研究发现 RA 的滑液细胞高表达 VEGF<sup>[15]</sup>, 抗血管生成治疗可缓解 RA<sup>[16]</sup>。另外, 临床研究表明 RA 患者关节内血管增生与其病情的严重程度呈正相关, 抑制血管新生药物可缓解 RA 的病情<sup>[17]</sup>。

先兆子痫是一种血管生成不足相关的妊娠疾病<sup>[18]</sup>。在大多数患者体内, 促血管内皮生长因子 (如 PlGF 和 VEGF) 和血管内皮细胞黏附分子表达水平低下<sup>[19]</sup>, 而可溶性 VEGF 受体 (sFlt1) 升高异常<sup>[20]</sup>。由于体内过多的 sFlt1 与较少的 PlGF 和 VEGF 竞争结合, 引起血管内皮功能异常, 造成胎盘供血不足。

### 4 药物的新靶标

血管生成是一个复杂的过程, 涉及血管生成因子及其受体、细胞黏附分子、血管内皮细胞和细胞

VEGF 是在 1983 年发现并命名为血管渗透因子 (vascular permeability factor, VPF)<sup>[21]</sup>。1989 年, VEGF 得到分离纯化和鉴定<sup>[22]</sup>。人 VEGF 有 4 种形

式, 分别由 206、189、165 与 121 个氨基酸残基组成, 是目前已知最强的血管通透剂, 能促进血管内皮增生、纤维蛋白沉积于细胞外基质和血管生成<sup>[6]</sup>。因此, 阻断 VEGF 与其受体的结合是抗血管生成靶向治疗的首选策略。围绕 VEGF 靶点, 目前抑制血管生成药物设计的原理包括以下几个方面:

VEGF 中和抗体; 抗 VEGF 受体的抗体;  
可溶性 VEGF 受体; 人工合成特异结合 VEGF 的识体, (aptamers, 一种 RNA 分子); VEGFR 酪氨酸激酶小分子抑制剂, 阻断 VEGF 信号通路;  
合成干扰 VEGF 的 siRNA。

成纤维细胞生长因子 (bFGF) 及其受体, 血管生成因子 1 (ang-1) 及其受体 Tie-2, 血管生成素 (angiogenin) 和血小板衍生生长因子 (PDGF) 也是重要的血管生成靶分子。这些因子相互协同, 在血管生成的不同阶段发挥作用。例如, bFGF 主要参与初期过程, 而 PIGF 和 PDGF 主要影响血管的成熟与稳定。VEGF 在血管生成的起始和维持阶段都有作用。另外, 同类因子的不同亚型在血管生成中的作用不同。如血管生成因子 (angiopoietin) 是由血管周细胞产生的一类蛋白分子, 包括 4 个亚型 Ang-1、Ang-2、Ang-3、Ang-4。其中 Ang1 特异地作用于血管内皮受体 Tie-2, 促进周细胞和平滑肌细胞形成血管壁, 维持血管的稳定和完整性。然而, Ang-2 的功能与 Ang-1 相拮抗, 可阻止 Ang-1 与 Tie-2 的结合<sup>[23-25]</sup>。

体内存在一些天然的血管生成抑制剂, 如内皮抑素 (Endostatin) 是 Folkman 实验室从小鼠血管内皮瘤细胞的培养上清中分离得到的一种强效血管生长抑制因子, 它是型胶原 C 端 20 ku 片断, 可封闭内皮细胞上丝裂原活化的蛋白激酶途径 (MAPK)<sup>[8-9]</sup>。重组内皮抑素已作为治疗肺癌的药物在中国获得新药证书。血管抑素 (angiostatin) 是另一个内源性血管生成抑制剂, 它是多种蛋白水解酶水解纤溶酶原的产物, 相对分子质量为 38 ku, 特异结合血管内皮细胞, 抑制血管生成。有研究表明, 血管抑素分子中的 Kringle 区是其抗血管生成作用的关键结构域<sup>[10]</sup>。重组血管抑素联合 paclitaxel 和 carboplatin 治疗晚期非小细胞肺癌已进入临床期实验<sup>[26]</sup>。血小板反应蛋白 (thrombospondin-1, TSP-1) 是一种多功能的胞外基质蛋白, 也是最早发现的内源性血管生成抑制因子, 其 N 末端具有抗血管生成活性<sup>[27]</sup>。目前已经有多种 TSP-1 的类似物进入临床试验<sup>[28]</sup>, ABT-510 就是其中之一, 显示出了较好的抗血管生成效果。

细胞黏附分子及细胞外基质在血管生成中对内皮细胞的黏附、迁移和增殖具有重要作用, 因此也成为一类重要的血管生成靶分子。整合素 (integrin) 是目前研究最多的一类黏附分子。各种整合素抑制剂 (如 canstatin、tumstatin 和 vitaxin) 都显示出良好的抗肿瘤效果, 并开始进入临床实验<sup>[29-31]</sup>。另外, 血管内皮钙粘素 (VE-cadherin) 也是一种靶分子<sup>[32]</sup>。动物实验表明, 抗 VE-cadherin 单抗在治疗荷人胶质母细胞瘤的裸鼠, 抑制肿瘤生长的作用<sup>[33]</sup>。最近, 作者实验室发现黏附分子 CD146 是一个肿瘤血管新靶标, 抗 CD146 抗体 AA98 能够显著抑制小鼠体内多种肿瘤的生长<sup>[34]</sup>。Mills 等<sup>[35]</sup>也证明抗 CD146 抗体 ABXMA1 可能通过抑制血管生成阻碍黑色素瘤的生长和转移。

## 5 抗血管生成治疗

### 5.1 抑制血管生成药物

抗血管生成主要是通过缓解和抑制血管生成, 改善由于血管增生过度所致疾病的微环境。抗肿瘤血管的临床研究始于 1989 年, 最初应用 IFN- 治疗婴儿血管瘤, 使肿瘤明显消退。1992 年, TNF-470 应用于临床研究并治愈 1 例转移性宫颈癌患者<sup>[36]</sup>。随后 Avastin、VEGF-trap、Endostatin 等 60 多种抗血管生成的药物进入临床研究。2004 年 2 月, 第一个抗血管生成药物 Avastin 通过了美国 FDA, 用于结肠癌的治疗。之后其它抗血管生成药物陆续在美国及其他国家上市 (表 2)<sup>[37-38]</sup>。

Avastin 是一种抗 VEGF 的人源化抗体 (IgG1)<sup>[39]</sup>, 特异结合并阻断 VEGF 与内皮细胞受体 Flt-1 及 KDR 结合, 从而抑制血管内皮细胞的功能和肿瘤血管生成, 阻断供给肿瘤生长所需的血液、氧气和其他营养物质, 导致肿瘤生长延缓或停止。Avastin 与 IFL (irinotecan/5-fluorouracil / leucovorin) 联合应用临床治疗效果好。在接受治疗的 800 多例转移性结直肠癌患者中, 412 例接受 Avastin 和 IFL 联合用药, 另外 403 例接受 IFL 治疗。实验结果表明, 联合用药组的平均缓解率 45%、生存时间 20.3 个月、无进展生存时间为 10.6 个月。这些指标都明显高于单独使用 IFL 治疗组 (35%、15.6 个月和 6.2 个月)<sup>[39]</sup>。目前 Avastin 联合 IFL 已成为转移性结直肠癌的一线化疗方案。

Avastin 对于乳腺癌的治疗没有显示出预期的效果。这可能是不同肿瘤依赖 VEGF 的程度不同。结直肠癌患者的肿瘤的血管生成主要依赖于 VEGF 诱导, 而乳腺癌的早期依赖于 VEGF, 晚期主要依

表 2 目前在美国及其他 28个国家上市的药物

药物名称	作用机理	适应证	批准国家	批准日期
Thalidomide	降低 TNF- $\alpha$ , bFGF, VEGF分泌, 间接抑制血管生成	多发性硬化	澳大利亚	2003. 12.
Avastin	VEGF-A人源化抗体	结肠癌	美国 瑞士 / 欧盟 (25个国家)	2004. 2. /2004. 12. / 2005. 1.
Tarceva	抑制 EGFR小分子化合物	肺癌	美国	2004. 11.
Macugen	特异结合 VEGF的寡聚核苷酸 (aptamer)	黄斑性视力退化	美国 欧洲	2004. 12. /2006. 2.
Endostatin (恩度)	靶向内皮细胞的蛋白激酶途径	肺癌	中国	2005. 9.
Lenalidomide/ Revlimid	Thalidomide衍生物	多发性骨髓瘤	美国	2005. 12.
Nexavar/ sorafenib	一种靶向某些丝氨酸/苏氨酸和受体酪氨酸激酶的多激酶抑制剂	晚期肾细胞癌	美国	2005. 12.
Sunitinib malate/ SUTENT/ SU11248	酪氨酸激酶抑制剂	标准治疗无效或不能耐受的恶性胃肠道间质瘤或转移性肾细胞癌	美国 欧洲	2006. 1. /2006. 7.

赖于 FGF和 PlGF。临床接受治疗的病人大多是乳腺癌晚期。因此, 对 Avastin治疗不敏感。这些现象提示, 药物的治疗效果不仅取决于药物的作用靶点, 而且取决于肿瘤的类型、分期和病人的个体情况。

Macugen是第一个抗血管生成的 RNA 核酸药物。它特异结合 VEGF165并封闭其功能, 从而抑制血管生成<sup>[40]</sup>。2004年 12月, 美国 FDA 批准 Macugen上市, 应用于眼科疾病新生血管型(湿性)老年黄斑病变(age-related macular degeneration, AMD)的治疗。目前认为, 血管过度生长和血管渗漏又是湿性 AMD 导致失明的主要病理, Macugen通过抑制 VEGF功能而减少眼内血管过度生长和血管渗漏, 在治疗湿性 AMD 患者的视力减退方面具有良好的疗效。

Tarceva是一种小分子酪氨酸激酶抑制剂, 选择性地抑制表皮生长因子受体(EGFR-TK)的磷酸化。此外, 它还可以阻断 VEGF, bFGF和 TNF- $\alpha$ 的产生。Tarceva于 2004年 11月通过美国 FDA 批准用于至少一轮化疗失败的晚期或转移的非小细胞肺癌患者。临床实验结果显示, 接受 Tarceva治疗的病人的平均存活期为 6.67个月, 而使用安慰剂治疗的病人的平均存活期为 4.7个月<sup>[41]</sup>。

除了已经上市的药物之外, 目前有几十种血管生成抑制剂正处于临床试验阶段(表 3), 并显示出令人鼓舞的抑肿瘤效果<sup>[42]</sup>。

自 20世纪 90年代起, 我国越来越多的学者关注血管生成研究领域并取得了一系列引人注目的研究成果。例如, 发现新的血管生成因子 VG5Q, 抑

制该基因的表达可抑制内皮细胞的增殖和血管生成<sup>[43]</sup>。发现血管内皮细胞黏附分子 CD146参与血管生成, 抗 CD146抗体能够抑制血管生成和肿瘤生长<sup>[34]</sup>。来自不同实验室的各种抗 VEGF抗体、寡肽和异源血管内皮疫苗等都显示出抑制血管生成和阻止肿瘤生长和转移的作用<sup>[44-47]</sup>。此外, 亦发现我国不少传统中药(如姜黄素、去甲斑蝥素、鲨鱼软骨)的提取物是通过抑制新生血管而发挥其抗肿瘤效果<sup>[48-50]</sup>。2005年 9月, 我国科学家首次将重组人内皮抑素(endostatin, 商品名: 恩度)开发成抗肿瘤新药物, 获得中国国家药品监督管理局签发的新药证书。这些研究成果标志着我国血管生成的研究和应用已经达到了国际先进水平。

## 5.2 抗血管生成鸡尾酒疗法

肿瘤和血管生成都是十分复杂的过程, 并随着病人的不同、肿瘤类型的不同以及同类肿瘤的分期不同而发生着不同的变化。因此, 深入了解血管生成在各种相关疾病中的分子机理, 不仅有助于发现新的药物靶点, 而且有利于指导临床用药, 提高疗效。从这个意义上讲, 抗血管生成疗法也需要个体化治疗。

通过大量抗血管生成药物的临床实验, 目前普遍认为抗血管生成药物与化疗药物或其它抗癌药物联合使用效果最佳。我们称之为抗血管生成鸡尾酒疗法。这种联合用药可以有不同的组合: 与化疗药物联合——目前使用最多的是抗血管生成药物 Avastin与化疗药物 IFL联合, 这已经成为转移性结肠癌患者的一线治疗方案; 与放疗联合——VEGFR抑制剂 SU5416结合放疗治疗移植性多形性

表 3 血管新生抑制剂的临床研究

抑制剂	作用机制	临床试验情况	生产公司和参考文献
PTK787/ZK225	抑制 VEGF 受体酪氨酸激酶活性	临床 期: 治疗晚期癌症, 胶质母细胞瘤、卡波西式肉瘤 临床 / 期: 治疗 Von Hippel Lindau 病	Novartis, East Hanover, NJ
SU6668	多靶点酪氨酸激酶抑制剂, 阻断 VEGF-R2, FGF-R, PDGF-R	目前处于临床 期试验	Sugen, S. San Francisco, CA
MC-1121b	针对 VEGF-R2	临床 期试验	InCone, Branchburg, NJ
Cp-547, 632	阻断 VEGF 信号通路	临床 期治疗晚期实体瘤	OSI Pharmaceuticals, Melville, NY
Angiozyme	靶标 VEGF-R2 和 R1	临床 期治疗乳腺癌和结肠癌	Ribozyme Pharmaceuticals, Boulder, CO
Angiostatin	ATP 合酶, 抑制内皮细胞增殖	临床 期试验	EntreMed, Rockville, MD <a href="http://entremed.com">http://entremed.com</a>
Panzem	天然化合物 2-甲基雌二醇, 血管生成抑制剂	临床 期治疗晚期实体瘤和 期治疗多发硬化的试验正在进行, 临床 期治疗前列腺癌的试验已完成	EntreMed, Rockville, MD <a href="http://entremed.com">http://entremed.com</a>
BMS-275291	MMP 的抑制剂	临床 / 期治疗卡波西式肉瘤; 临床 / 期治疗晚期或转移性非小细胞肺癌	BristolMyers Squibb New York, NY
Thalidomide	降低 TNF- $\alpha$ , bFGF, VEGF 分泌	临床 期: 恶性神经胶质瘤; 临床 / 期: 晚期黑色素瘤; 临床 期: 卵巢癌, 转移性前列腺癌, 临床 期联合化疗: 实体瘤, 辅佐研究复发或转移性结肠癌, 骨髓异常增生等; 临床 期: 非小细胞肺癌, 非转移前列腺癌, 难愈多发硬化, 肾癌	Celgene Warren, NJ
CA I	抑制钙流	临床 期研究联合治疗实体瘤, 临床 期治疗卵巢癌, 转移性肾细胞癌	National Cancer Institute, Bethesda, MD
Celecoxib	COX-2 抑制剂	临床 期治疗前列腺癌; 临床 / 期治疗宫颈癌; 临床 期治疗转移性乳腺癌	Pharmacia Peapack, NJ

胶质母细胞瘤比单独使用放射治疗或 SU5416 治疗效果好<sup>[51]</sup>。实验结果表明, 联合治疗提高了肿瘤的局部控制率, 延长了荷瘤小鼠的生存期。作用机理可能是 SU5416 抑制了由放射治疗所诱导的血管新生, 增加了肿瘤血管内皮细胞的凋亡; 两种抗血管生成药物联合——同时使用两种或多种针对不同靶点的抗血管生成药物, 通过其协同作用提高疗效。如在基因治疗的同时导入 angiostatin K1-3, endostatin 以及 saxatilin 基因相对于单独转入一种基因可以更加明显地抑制小鼠黑色素瘤的生长和肺转移<sup>[52]</sup>; 与各种具有抗肿瘤效果的细胞因子联合使用。

给药剂量是影响治疗效果的另一个重要因素。临床研究表明, 抗血管生成药物的给药剂量并非越大越好, 给药量与肿瘤治疗效果之间呈现一种 U 型的曲线, 即在较低或较高剂量时, 抗肿瘤的效果均不显著, 只有在中间某个合适的浓度才有明显的抗肿瘤效果。目前对于这种 U 型曲线的解释是: 当剂量较低时, 体内没有达到有效的药物浓度而效果不佳。然而当使用高剂量药物时, 则会因为高浓

度药物持续刺激受体使其出现脱敏现象, 从而降低了对药物的敏感性。另外, 使用高浓度药物会对机体产生毒性, 还可能刺激机体产生针对药物的抗体, 从而降低其药效。这种给药量与效果的 U 型曲线在 endostatin<sup>[53]</sup>、angiostatin<sup>[454]</sup>、和 IFN- $\gamma$ <sup>[55]</sup> 等多种药物治疗中都存在, 有可能是抗血管生成药物普遍存在的现象, 提示在抗血管生成治疗中药物剂量的重要性。

## 6 促血管生成疗法

促血管生成疗法 (therapeutic angiogenesis) 是近年来用于治疗缺血性疾病的新策略<sup>[56]</sup>。我们知道当组织发生缺血缺氧时, 机体会出现应激反应, 即通过促进血管新生和建立侧支循环使缺血有所改善。如在冠状动脉进行性狭窄患者心脏的缺血部位, 可以观察到 VEGF 及其受体的表达增加。这可能是由于组织缺氧而上调缺氧诱导因子 (HIF-1) 表达增多, 进而激活 VEGF、FGF 及其受体的表达, 后者促进缺血区血管新生和增加毛细血管密度

并建立有效的侧支循环,从而部分缓解缺血所造成的后果<sup>[57]</sup>。

然而,这种生理性的代偿功能对于改善严重缺血的意义是微不足道的,需要通过不同途径引入促血管生长因子或其基因以促进缺血区的血管新生,通过建立侧支循环改善供血,从而达到治疗疾病的目的。这种方法称为促血管新生疗法。早在1994年, Takeshita等<sup>[58]</sup>用兔下肢缺血模型开展研究,经髂动脉注入 VEGF,发现这种方法能够促进侧支血管形成,改善缺血。Isner等<sup>[59]</sup>开展了促血管生成基因治疗。他们通过球囊导管将 VEGF基因导入缺血部位治疗下肢闭塞性动脉硬化症。多数患者在接受治疗后疼痛明显减轻。血管造影与核磁共振造影显示,患者在治疗后第4~8周缺血部位出现新的血管阴影,循环得到了改善。另外,有报道在糖尿病小鼠中使用 VEGF可以使损伤修复加快50%<sup>[60]</sup>。VEGF基因治疗有望作为糖尿病相关的组织损伤新的治疗方案<sup>[61]</sup>。令人鼓舞的是1997年重组人血小板源生长因子- $\beta\text{B}$  (rhPDGF- $\beta\text{B}$ , 商品名: Regranex) 已通过FDA批准用于治疗糖尿病造成的足部溃疡<sup>[62]</sup>。

除了基因和生长因子之外,血管内皮祖细胞 (endothelial progenitor cells, EPC) 在促血管新生治疗中的作用开始受到重视。EPC是血管内皮的前体细胞,亦称血管母细胞 (angioblast)。这种细胞具有游走特征和能进一步增殖分化的能力,缺乏成熟内皮细胞的特征表型而且不能形成血管腔样结构<sup>[63-64]</sup>。近年研究发现, EPC不仅参与胚胎期的血管发育,也在成年的血管新生中起作用<sup>[65-66]</sup>。此外, EPC具有分泌 Ang-1等血管新生诱导因子的功能。因此它可以作为携带促生长因子的载体,用于缺血性疾病的治疗。例如,将人脐血 EPC移植到裸鼠后腿的缺血部位,结果发现移植后缺血组织的血流量和微血管密度增加,缺血症状改善。最近, Edelberg等<sup>[67]</sup>发现年轻小鼠 (3月龄) 的骨髓 EPC能促进老年小鼠 (18月龄) 心肌的血管新生,改善老年小鼠的心功能。这为治疗老年性缺血性心血管病提供了重要线索。

虽然促血管新生疗法取得了长足的进展,但由于此项技术开展时间相对较短,其安全性及远期疗效仍有待于进一步的探讨,整个研究尚处于从实验向临床治疗过渡的阶段<sup>[68]</sup>。然而, rhPDGF- $\beta\text{B}$  通过美国FDA批准用于治疗糖尿病造成的足部溃疡的事实说明促血管新生治疗的可行,并具有广阔的应用前景。

## 7 展望

无论是 Avastin治疗结肠癌,还是 rhPDGF- $\beta\text{B}$ 治疗糖尿病足部溃疡都标志着抗促血管生成疗法的成功,并将激励着越来越多的药物从实验室走向临床应用。然而,我们必须认识到抗促血管生成药物的应用刚刚开始,仍有许多问题等待解决。例如,寻找新的更有效的血管生成靶标;解决抗血管生成药物的耐药性;确定病人对药物的敏感程度,确定有效的给药时机、给药剂量及方式;寻找用于监测和评价血管生成的标志分子,用以指导抗促血管生成的治疗。相信在血管生成研究成为生命科学热点的今天,中药和基因疗法也将发挥其作用,抗促血管生成将会成为人类战胜肿瘤、感染和心血管疾病的有效治疗手段之一。

## 参考文献

- [1] FERRARA N, KERBEL RS. Angiogenesis as a therapeutic target [J]. *Nature*, 2005, 438: 967-974.
- [2] DE A G, BAKER N H, WARREN S L. Vascularization of the brown pearce rabbit epithelioma transplant as seen in the transparent ear chamber [J]. *Am J Roentgenol*, 1939, 42: 891-899.
- [3] ALGIRE G H, CHALKLEY H W, LEGALLA S F Y, et al. Vascular reactions of normal and malignant tissues in vivo. I. Vascular reactions of mice to wounds and to normal and neoplastic transplants [J]. *J Natl Cancer Inst*, 1945, 6: 73-85.
- [4] FOLKMAN J. Tumor angiogenesis: therapeutic implication [J]. *N Engl J Med*, 1971, 285: 1182-1186.
- [5] TOMANEK R J, SCHATTEMAN G C. Angiogenesis: new insights and therapeutic potential [J]. *J Anat Rec*, 2000, 261: 126-135.
- [6] HOEBEN A, LANDUYT B, HIGHLEY M S, et al. Vascular endothelial growth factor and angiogenesis [J]. *Pharmacol Rev*, 2004, 56: 549-580.
- [7] PRESTA M, DELLERA P, MIOLA S, et al. Fibroblast growth factor/fibroblast growth factor receptor system in angiogenesis [J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2005, 16: 159-178.
- [8] ABDOLLAH IA, HLATKY L, HUBER P E. Endostatin: the logic of antiangiogenic therapy [J]. *Drug Resist Updat*, 2005, 8: 59-74.
- [9] MARNEROS A G, OLSEN B R. Physiological role of collagen XV III and endostatin [J]. *FASEB J*, 2005, 19: 716-728.
- [10] JURASZ P, SANTOSMARTNEZ M J, RADOMSKA A, et al. Generation of platelet angiostatin mediated by urokinase plasminogen activator: effects on angiogenesis [J]. *J Thromb Haemost*, 2006, 4: 1095-1106.
- [11] REN B, YEE KO, LAWLER J, KHOSRAVIFAR R. Regulation of tumor angiogenesis by thrombospondin-1 [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2006, 1765: 178-188.
- [12] KLAGSBRUN M, EICHMANN A. A role for axon guidance receptors and ligands in blood vessel development and tumor angiogenesis [J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2005, 16: 535-548.
- [13] ALB N IA, TOSETTI F, BENELLIR, et al. Tumor inflammatory angiogenesis and its chemoprevention [J]. *Cancer Res*, 2005, 65: 10637-10641.
- [14] CARMEL ET P. Angiogenesis in life, disease and medicine [J]. *Nature*, 2005, 438: 932-936.
- [15] MARUOTTIN, CANTATORE F N P, CRIVELLATO E, et al. Angiogenesis in rheumatoid arthritis [J]. *Histol Histopathol*, 2006, 21: 557-566.
- [16] LANER D T, BRAHN E. New antiangiogenic strategies for the treatment of proliferative synovitis [J]. *Expert Opin Inv Drug*, 2005, 14: 1-17.
- [17] ROCCARO A M, RUSSO F, CIRULLIT, et al. Antiangiogenesis for rheumatoid arthritis [J]. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy*, 2005, 4: 27-30.
- [18] GRANGER J P, ALEXANDER B T, LLNASM T, et al. Pathophysiology of preeclampsia: linking placental ischemia/hypoxia

- with microvascular dysfunction [J]. *Microcirculation*, 2002, 9: 147-160.
- [19] LU Q, LI Y, YAN, X Y, et al. Preeclampsia is associated with the failure of melanoma cell adhesion molecule (MCAM/CD146) expression by intermediate trophoblast. *Lab Invest*, 2004, 84: 221-228.
- [20] LEV NE R J, MAYNARD S E, QIAN C, et al. Circulating angiogenic factors and the risk of preeclampsia [J]. *N Engl J Med*, 2004, 350: 672-683.
- [21] SENGER D R, GALL I S J, DVORAK A M, et al. Tumor cells secrete a vascular permeability factor that promotes accumulation of ascites fluid [J]. *Science*, 1983, 219: 983-985.
- [22] FERRARA N, HENZEL W J. Pituitary follicular cells secrete a novel heparin-binding growth factor specific for vascular endothelial cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1989, 161: 851-858.
- [23] KOBAYASHI H, LINDEN P C. Angiopoietin/Tie2 signaling, tumor angiogenesis and inflammatory diseases [J]. *Front Biosci*, 2005, 10: 666-674.
- [24] PLANK M J, SLEEMAN B D, JONES P F. The role of the angiopoietins in tumor angiogenesis [J]. *Growth Factors*, 2004, 22: 1-11.
- [25] METHENY-BARLOW L J, LIL Y. The enigmatic role of angiopoietin-1 in tumor angiogenesis [J]. *Cell Res*, 2003, 13: 309-317.
- [26] KURUP A, LINDEN C W, MURRY D J, et al. Recombinant human angiostatin (rhAngiostatin) in combination with paclitaxel and carboplatin in patients with advanced non-small-cell lung cancer: a phase II study from Indiana University [J]. *Ann Oncol*, 2006, 17: 97-103.
- [27] 宋忻, 韩忠朝. 凝血酶敏感蛋白-1 (TSP-1) 的结构与功能研究进展 [J]. *医学分子生物学杂志*, 2005, 2: 45-48.
- [28] GIETEMA J A, HOEKSTRA R, DE VOS F Y, et al. A phase I study assessing the safety and pharmacokinetics of the thrombospondin-1 mimetic angiogenesis inhibitor ABT-510 with gemcitabine and cisplatin in patients with solid tumors [J]. *Ann Oncol*, 2006, 17: 1320-1327.
- [29] NARAZAKI M, TOSATO G. Canstatin: an inhibitor of angiogenesis and tumor growth revisited [J]. *Cancer J*, 2006, 12: 110-112.
- [30] HAMANO Y, KALLURI R. Tumstatin, the NC1 domain of alpha3 chain of type IV collagen, is an endogenous inhibitor of pathological angiogenesis and suppresses tumor growth [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 333: 292-298.
- [31] GUTHRIE L J, CAMPBELL T N, PIERCE P R, et al. Targeted antiangiogenic therapy for cancer using vitaxin: a humanized monoclonal antibody to the integrin avb3 [J]. *Clin Cancer Res*, 2000, 6: 3056-3061.
- [32] WU J, SHEBAN I N. Modulation of VE-cadherin and PECAM-1 mediated cell-cell adhesions by mitogen-activated protein kinases [J]. *J Cell Biochem*, 2003, 90: 121-137.
- [33] LAMSZUS K, BROCKMANN M A, ECKERICH C, et al. Inhibition of Glioblastoma Angiogenesis and Invasion by Combined Treatments Directed Against Vascular Endothelial Growth Factor Receptor-2, Epidermal Growth Factor Receptor, and Vascular Endothelial-Cadherin [J]. *Clin Cancer Res*, 2005, 11: 4934-4940.
- [34] YAN X, LINDEN Y, YANG D, et al. A novel anti-CD146 monoclonal antibody, AA98, inhibits angiogenesis and tumor growth [J]. *Blood*, 2003, 102: 184-191.
- [35] MILLS L, TELLEZ C, HUANG S, et al. Fully human antibodies to MCAM/MUC18 inhibit tumor growth and metastasis of human melanoma [J]. *Cancer Res*, 2002, 62: 5106-5114.
- [36] KUDELKA A P, VERSCHRAEGEN C F, LOYER E. Complete remission of metastatic cervical cancer with the angiogenesis inhibitor TNP-470 [J]. *N Engl J Med*, 1998, 338: 991-2.
- [37] FOLKMAN J. Angiogenesis [J]. *Annu Rev Med*, 2006, 57: 1-18.
- [38] <http://www.fda.gov/>
- [39] ZONDOR S D, MEDINA P J. Bevacizumab: An angiogenesis inhibitor with efficacy in colorectal and other malignancies [J]. *Ann Pharmacol*, 2004, 38: 1258-1264.
- [40] RUCKMAN J, GREEN L S, BEESON J, et al. 2'-Fluoropyrimidine RNA-based aptamers to the 165-amino acid form of vascular endothelial growth factor (VEGF165). Inhibition of receptor binding and VEGF-induced vascular permeability through interactions requiring the exon 7-encoded domain [J]. *J Biol Chem*, 1998, 273: 20556-20567.
- [41] COHEN M H, JOHNSON J R, CHEN Y F, et al. FDA drug approval summary: erlotinib (Tarceva) tablets [J]. *Oncologist*, 2005, 10: 461-466.
- [42] GUPTA K, ZHANG J. Angiogenesis: a curse or cure? [J]. *Postgrad Med J*, 2005, 81: 236-242.
- [43] TIAN X L, KADABA R, YOU S A, et al. Identification of an angiogenic factor that when mutated causes susceptibility to Klippel-Trenaunay syndrome [J]. *Nature*, 2004, 427: 640-645.
- [44] HETIAN L, PNG A, SHUMEIS, et al. A novel peptide isolated from a phage display library inhibits tumor growth and metastasis by blocking the binding of vascular endothelial growth factor to its kinase domain receptor [J]. *J Biol Chem*, 2002, 277: 43137-43142.
- [45] 董志伟, 石瑜琳, 冉宇靓, 等. 抗人 VEGF 的单克隆抗体对乳腺癌生长及转移的影响 [J]. *中华微生物学和免疫学杂志*, 1999, 19: 282-285.
- [46] 孙立新, 刘军, 王贵齐, 等. 抗 VEGF165 的嵌合抗体在小鼠骨髓瘤细胞中的表达 [J]. *中华微生物学和免疫学杂志*, 2000, 20: 45-48.
- [47] WEI Y Q, WANG Q R, ZHAO X, et al. Immunotherapy of tumors with xenogeneic endothelial cells as a vaccine [J]. *Nat Med*, 2000, 6: 1160-1166.
- [48] 张前, 赵言群, 解华, 等. 中药对肿瘤血管生成的影响 [J]. *中华中医药杂志*, 2006, 21: 242-245.
- [49] 黄兆明, 何小琴. 中药抗肿瘤血管生成研究 [J]. *实用中西医结合临床*, 2006, 6: 83-84.
- [50] 张三印, 陈士林, 沈映君, 等. 中药与血管生成 [J]. *中草药*, 2006, 37: 474-476.
- [51] SHUURNG J, BUSSNK J, BERNSEN H J J, et al. Irradiation combined with SU5416: microvascular changes and growth delay in a human xenograft glioblastoma tumor line [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2005, 61: 529-534.
- [52] KM K S, KM D S, CHUNG K H, et al. Inhibition of angiogenesis and tumor progression by hydrodynamic cotransfection of angiostatin K1-3, endostatin, and saxatilin genes [J]. *Cancer Gene Ther*, 2006, 13: 563-571.
- [53] TJN THAM SJN R M, NASPNSKI J, BRUNER A E, et al. Endostatin therapy reveals a U-shaped curve for antitumor activity [J]. *Cancer Gene Ther*, 2006, 13: 619-627.
- [54] LALANIA S, CHANG B, LINDEN J, et al. Anti-tumor efficacy of human angiostatin using live-mediated adenovirus-associated virus gene therapy [J]. *Mol Ther*, 2004, 9: 56-66.
- [55] SLATON J W, PERROTTE P, NOUE K, et al. Interferon-alpha-mediated down-regulation of angiogenesis-related genes and therapy of bladder cancer are dependent on optimization of biological dose and schedule [J]. *Clin Cancer Res*, 1999, 5: 2726-2734.
- [56] MADEDDU P. Therapeutic angiogenesis and vasculogenesis for tissue regeneration [J]. *Exp Physiol*, 2005, 90: 315-326.
- [57] MEHRABIM R, EKMEKCDGLU C, STANEK B, et al. Angiogenesis stimulation in explanted hearts from patients pre-treated with intravenous prostaglandin E1 [J]. *J Heart Lung Transplant*, 2001, 20: 465-473.
- [58] TAKESHITA S, ZHENG L, BROGIE, et al. Therapeutic angiogenesis. A single intra-arterial bolus of vascular endothelial growth factor augments re-vascularization in a rabbit ischemic hind limb model [J]. *J Clin Invest*, 1994, 93: 662-670.
- [59] ISNER J M, WALSH K, et al. Arterial gene therapy for therapeutic angiogenesis in patients with peripheral artery disease [J]. *Circulation*, 1995, 91: 2687-2692.
- [60] KIRCHNER L M, MEERBAUM S O, GRUBER B S, et al. Effects of vascular endothelial growth factor on wound closure rates in the genetically diabetic mouse model [J]. *Wound Repair Regen*, 2003, 11: 127-131.
- [61] GALIANO R D, TEPPER O M, PELO C R, et al. Topical vascular endothelial growth factor accelerates diabetic wound healing through increased angiogenesis and by mobilizing and recruiting bone marrow-derived cells [J]. *Am J Pathol*, 2004, 164: 1935-1947.
- [62] ANGIOGENESIS RESEARCH LIBRARY. <http://www.angio.org/researcher/library/library.html>
- [63] LIEW A, BARRY F, O'BRIEN T. Endothelial progenitor cells: diagnostic and therapeutic considerations [J]. *Bioessays*, 2006, 28: 261-270.
- [64] 金惠铭. 治疗性血管新生研究中的若干进展 [J]. *国外医学·生理、病理科学与临床分册*, 2003, 23: 331-333.
- [65] KHURANA R, SMONSM. Endothelial progenitor cells: precursors for angiogenesis [J]. *Semin Thorac Cardiovasc Surg*, 2003, 15: 250-258.
- [66] WLLERSOR J T, COHN J N. *Cardiovascular Medicine 2nd[M]*. Churchill Livingstone, 2000.
- [67] EDELBERG J M, TANG L, HATTON K, et al. Young adult bone marrow derived endothelial precursor cells restore aging-impaired angiogenesis function [J]. *Cir Res*, 2002, 90: 89-93.
- [68] FOLKMAN J. From the lab to the clinic: one investigator's journey [J]. *J Law Med Ethics*, 2002, 30: 361-366.

(2006-08-15 收稿)