

血管生成抑制剂研究进展

范柏林,刘增路,唐玫,周黎敏,毛振民* (上海交通大学药学院,上海 200240)

摘要:目的 介绍近年来血管生成抑制剂的研究进展。方法 查阅相关文献进行总结、归纳。结果 血管生成抑制剂的研究取得很大进展。结论 对寻找高效、低毒副作用的血管生成抑制剂具有重要意义。

关键词:新血管生成;血管内皮生长因子;表皮生长因子;血管生成抑制剂

中图分类号:R979.1 文献标识码:A 文章编号:1007-7693(2009)01-0022-04

Advances in Research on Angiogenesis Inhibitor

FAN Bolin, LIU Zenglu, TANG Mei, ZHOU Limin, MAO Zhenmin* (*School of pharmacy, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200240, China*)

ABSTRACT:OBJECTIVE To introduce advances in research on angiogenesis inhibitor in recent years. **METHODS** Literature on angiogenesis inhibitor was summarized. **RESULTS** Recently, much progress has been made in the research of angiogenesis inhibitor. **CONCLUSION** The advances in the research on angiogenesis inhibitor are of significance for developing anti-tumor agents with high efficiency and low side effect.

KEY WORDS: angiogenesis; VEGF; EGF; angiogenesis inhibitor

目前认为,实体瘤的生长取决于两类细胞的数量,即肿瘤细胞和肿瘤血管内皮细胞,两者相互依存,任何一种细胞群的增减必然会导致另一细胞群的相应增减。因而,抑制任何一类细胞生长的药物都具有抗肿瘤作用。前者即以细胞毒药物为主的肿瘤化学治疗,而后者是新近发展的抗血管生成疗法。由于肿瘤化疗带来的严重不良反应和肿瘤细胞对细胞毒药物耐药问题无法解决,使得肿瘤的血管系统已成为一个崭新的、有希望的抗肿瘤靶点。人们已经致力于开发和研究能破坏或抑制血管生成、有效地阻止肿瘤的生长和转移的方法。因此,血管生成抑制剂作为新的治疗肿瘤的方法,正被越来越多的国家和地区所重视。2004年2月,美国药品食品监督管理局(FDA)批准了用于治疗直肠癌的血管生成抑制剂 Avastin,其他血管生成抑制剂也相继被美国和其他国家批准上市,见表1^[1]。笔者就近年来血管生成抑制剂的研发及临床应用作一综述。

1 肿瘤新血管生成相关因子

肿瘤的生长、转移与新生血管关系密切。肿瘤生长首先需要建立一个新生血管网络,缺少血供的

表1 美国及其他国家批准上市的血管生成抑制剂

Tab 1 Angiogenesis inhibitors approved in USA and other countries

药品名	适应证	国家(地区)	批准日期
Thalidomide	多发性骨髓瘤	澳大利亚	2003.12
Avastin	直肠癌	美国	2004.02
Tarceva	肺癌	美国	2004.11
Avastin	直肠癌	瑞士	2004.12
Macugen	黄斑变性	美国	2004.12
Avastin	直肠癌	欧洲联盟	2005.01
Endostatin	肺癌	中国	2005.09

肿瘤其直径一般只能维持在1~2 mm以内,肿瘤的转移及在转移部位的生长也有赖于新生血管的形成。肿瘤血管生成(angiogenesis)是指血管内皮细胞从现存的血管系统中分化、迁移而形成新的微血管的复杂生物学过程^[2],其基本步骤为:①肿瘤血管生成因子与血管生成抑制因子失衡,血管生成表型形成;②血管内皮基底膜降解;③内皮细胞向肿瘤组织迁移及在迁移中增殖;④内皮细胞管道化、分支化形成血管环;⑤形成新的基底膜。血管生成受血

作者简介:范柏林,男,在读博士,工程师 Tel: (021)34204794
生导师 Tel: (021)34204794 E-mail: zmmao@sjtu.edu.cn

E-mail: fanberlin75@sina.com *通信作者:毛振民,男,教授,博士

管生长刺激因子和抑制因子等因素的调控。这些血管生长刺激因子和抑制因子作用于血管内皮细胞,两者间的平衡决定了血管的生成或抑制,通常是抑制血管生成的因子缺失或失活,促进血管生成的因子占主导地位并作用于内皮细胞的结果。实验证明多数实体肿瘤内有血管内皮细胞生长因子(VEGF)和表皮生长因子(EGF)的异常高表达,是作用最强,特异性最高的两种促血管生长因子。

VEGF 是一类糖蛋白,主要由六种分子组成,它们分别是 VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E 及胎盘生长因子(placenta growth factor, PLGF)。其中 VEGF-A 有六种异构体: VEGF₁₂₁, VEGF₁₄₅, VEGF₁₆₅, VEGF₁₈₃, VEGF₁₈₉, VEGF₂₀₆。异构体之间功能上的差异表现为它们与细胞表面和细胞外基质中肝素结合活性的不同^[3]。

VEGF 受体(VEGFRs)主要有两种:fms 样酪氨酸激酶(fms-like tyrosine kinase, FLT)、胎儿肝激酶-1/含激酶插入功能区受体(fetal liver kinase-1 / kinase insert domain-containing receptor, FLK/KDR)。其表达基本局限于血管内皮细胞上,都为穿膜蛋白,含有 7 个细胞外免疫球蛋白样功能区,一个跨膜区和一个细胞内酪氨酸激酶功能区^[4]。

表皮生长因子受体(EGFR)是一种穿膜蛋白,其家族属于 I 型受体酪氨酸激酶家族,不但普遍表达于人表皮细胞和基质细胞中,而且在多种人恶性肿瘤细胞中高表达,并能诱导肿瘤细胞自分泌因子和旁分泌因子刺激肿瘤细胞的生长。EGFR 酪氨酸激酶家族又称 ErbB 受体家族,包括 4 个成员: EGFR (HER1/ErbB-1), ErbB-2 (HER2/neu), ErbB-3 (HER3), ErbB-4 (HER4)。它们定位于细胞膜上,结构相似,均由胞外的配体结合区、单链跨膜区和胞内的蛋白酪氨酸激酶区三部分组成。ErbB 家族介导的信号转导途径参与调控细胞的增殖、分化、迁移等细胞反应,与肿瘤的发生、发展密切相关^[5]。

2 血管生成抑制剂及其临床应用

血管生成抑制剂主要包括两大类:一类是单克隆抗体(Monoclonal antibodies, MoAb),这类血管生成抑制剂是通过与受体细胞的外部键合起作用;另一类是小分子的酪氨酸激酶抑制剂(Tyrosine kinase inhibitors, TKIs)这类抑制剂通过与受体细胞的内部键合而起作用的。

2.1 单克隆抗体(Monoclonal antibodies, MoAb)

Bevacizumab 又名 Avastin, VEGF 的拮抗剂,属

于重组人源化单克隆抗体,由美国 Genentech 和瑞士 Roche 公司研发,用于治疗结肠癌、乳腺癌及非小细胞型肺癌。2004 年,基于该单抗在转移的结肠癌中良好的疗效,美国首次批准 Bevacizumab 用于癌症治疗的血管生成抑制剂。但用药后发现患者伴随着高血压、蛋白尿、出血等不良反应^[6]。另外,在对转移乳腺癌患者的临床 III 期研究表明,Bevacizumab 和卡培他滨(capecitabine)的联合用药比卡培他滨单独用药明显延长患者的存活时间^[7]。

Cetuximab, IMC-225, Erbitux™ 是由 Imclone 公司和百时美施贵宝公司联合研发,针对 EGFR 的人源化人鼠嵌合性单克隆抗体。体外研究资料表明, Cetuximab 与 EGFR 有很强的亲和力,能够竞争性地抑制 EGFR 与其配体 EGF 和 TGF- α 等的结合,从而阻断 EGFR 的激活及其下游信号蛋白的磷酸化。另外, Cetuximab 可促发 EGFR 的内吞降解,减少细胞表面的受体密度,减弱细胞生长信号的转导,抑制肿瘤的生长^[8]。Cetuximab 不但可以下调 EGFR 水平,也可以在体内、体外抑制非小细胞型肺癌,而且可以抑制 H1975 肺癌细胞的生长。Cetuximab 的抗肿瘤活性包括:直接抑制肿瘤的生长,诱导癌细胞凋亡及改善放疗、化疗的敏感性等^[9]。Foon 等^[10]证实了 Cetuximab 可以阻断 EGFR 进入细胞核,与蛋白激酶形成复合物来激活 DNA 的修复机制,这种修复机制可以修复因放疗或化疗所致的损伤。Cetuximab 与多种化疗药物有相加或协同作用,临床试验数据表明, Cetuximab 能明显增强紫杉醇、顺铂、卡铂、吉西他滨等的临床疗效,显示 Cetuximab 与化疗联合可以获得比单独化疗更好的治疗效果。另外, Cetuximab 还可增强肿瘤细胞的放疗敏感性^[11]。Panitumumab(ABX-EGF)是一种针对人类 EGFR 的 IgG2 型单克隆抗体。ABX-EGF 与 EGFR 有高度亲和性,能够阻断 EGF 和 TGF α 与不同表达 EGFR 的人类肿瘤细胞相结合,从而抑制 EGF 依赖的肿瘤细胞活化,包括 EGFR 酪氨酸磷酸化及细胞增殖。体外试验证实 ABX-EGF 能完全阻止经异种转移的表皮样癌细胞株在无胸腺小鼠的肿瘤形成,更为重要的是没有辅助化疗等干预措施单独注射 ABX-EGF 也能完全消灭所形成的肿瘤,而且在相当长时期内无肿瘤复发,进一步表明了这些抗体杀灭肿瘤的彻底性^[12]。

另外,目前正在进行临床研究的一些单克隆抗体药物有,人源化的抗体 EMD-72000(matuzumab)和 hR3(nimotuzumab)及针对 EGFR 和 CD64 拮抗剂

的 MDX-447 等^[13-14]。

2.2 酪氨酸激酶抑制剂 (Tyrosine kinase inhibitors, TKIs)

酪氨酸激酶抑制剂可以抑制 VEGFR 细胞内的酪氨酸激酶区,使下游的信号转导终止。SU5416 与 SU6668 是 VEGFR-2 的小分子酪氨酸激酶抑制剂,多个试验表明单药 SU5416 或 SU6668 在异体移植肿瘤治疗中有效,而在人类原发肿瘤中均没有明显作用^[15]。目前,SU5416 及 SU6668 已被认为不适用于肿瘤治疗。PTK787/ZK222584 是一种新的、口服小分子酪氨酸激酶抑制剂,它是由瑞士的 Basel 和 Novartis pharmaceuticals 公司联合研发的。PTK787/ZK222584 能抑制所有 VEGFR 的酪氨酸激酶,它仅影响微血管及淋巴管内皮细胞的增殖,而对正常组织细胞及肿瘤细胞无影响^[16]。

细胞膜上同时存在 EGFR 及 VEGFR 两种受体的信号转导通路,其下游均为酪氨酸激酶区。由 Astra-Zeneca 公司研发的 Zactima (ZD6474) 和 pfizer 公司研发的 Sunitinib malate (SU11248) 均为多靶点酪氨酸激酶抑制剂,它们可以同时阻断 EGFR 及 VEGFR 两种信号转导通路。临床试验结果显示,多靶点酪氨酸激酶抑制剂在治疗方面优于单靶点抑制剂,是今后肿瘤治疗及药物开发的新方向。SU11248 临床 II/III 期的研究结果表明,SU11248 具有很强的抑制肾细胞癌的活性。SU11248 对肾细胞癌患者单药治疗的临床 II 期实验中,有效率达到 40%,有 25% 的患者稳定病情达三个月之久。临床 III 期实验中,将两组肾细胞癌患者分别单独服用 SU11248 和干扰素后,发现这两组患者的平均存活时间是 47.3 周和 24.9 周^[17],提示 SU11248 可以作为晚期肾癌一线治疗的新方案。ZD6474 在体外有很强的抑制血管生长因子诱导的内皮细胞增殖活性,也可以抑制异种移植人肿瘤的生长^[18]。在对 77 位实体瘤患者增加 ZD6474 剂量的临床 I 期实验中,300 mg · d⁻¹ 的给药量表现出良好的耐受性。达到极限剂量时,大多数患者表现出腹泻、高血压和麻疹等的副反应^[19]。

BAY93-4006 是由 Bayer 公司研发的一种口服、多靶点酪氨酸激酶抑制剂。异种移植模型实验表明 BAY93-4006 具有很强的抗肿瘤活性^[20]。在对 69 位晚期呼吸道实体瘤患者的临床 I 期试验中,每天一次或两次的给药量 50 ~ 800 mg 不等,发现过半的患者有腹泻的不良反应,最大的耐受量是一天两次 400 mg^[21]。BAY93-4006 已于 2005 年 12 月经 FDA

批准正式上市,用于治疗晚期肾细胞癌。

CP-547,632 是由 Pfizer 公司研发的一种选择性抑制 VEGFR2 酪氨酸激酶抑制剂。CP-547,632 (200 mg · d⁻¹) 与卡铂/紫杉醇联合用药治疗晚期非小细胞肺癌的临床 I 期实验表明,这种联合用药的耐受性很好^[22]。

AZD2171 是 Astra-Zeneca 公司研发的一种抑制 VEGFR2 酪氨酸激酶抑制剂,可以抑制不同肿瘤的异种移植模型的生长。AZD2171 (45 mg · d⁻¹) 与卡铂/紫杉醇联合用药作为治疗晚期非小细胞型肺癌的临床 I 期试验,表明这种联合用药的耐受性很好^[23]。

ZD1839 是由 Astra-Zeneca 公司研发的一种口服有活性、选择性和可逆性的表皮生长因子受体 (EGFR) 酪氨酸激酶抑制剂,它能阻断肿瘤细胞增殖和生存中包含的信号传导途径,抑制肿瘤细胞的增殖和血管生成^[24]。它的基础研究已经证实 ZD1839 有抗多种肿瘤活性,不论是间断给药还是持续给药,都具有很好的耐受性。在细胞系和异种移植物的研究中已经证实 ZD1839 同放疗或化疗联合应用具有协同作用,可以提高抗肿瘤活性,为进一步联合治疗的临床试验提供了理论依据。

沙利度胺 (thalidomide) 是一种同时具有免疫调节、抗血管生成及抗肿瘤作用的化合物,在多发性骨髓瘤治疗方面的效果较好。研究表明沙利度胺诱导的抗新生血管生成作用由神经酰胺和磷酸鞘氨醇调节,神经酰胺可以耗竭 VEGFR,从而抑制血管生成,而磷酸鞘氨醇则有拮抗神经酰胺的作用^[25]。

3 展望

综上所述,VEGF 和 EGF 是诱导血管生成的两种主要调节因子。EGF,VEGF 与其受体相结合通路上的每个环节都可能成为开发血管生成抑制剂的靶点。一批以这两种生长因子为靶点的药物正在研究中,其中某些药物已在临床肿瘤治疗中取得一定的疗效。阻断 EGF、VEGF 信号转导通路上的某个或某些环节从而阻断这两种生长因子刺激血管生长的信号途径,对于抑制肿瘤血管生长的靶向治疗具有广阔的前景。

REFERENCES

- [1] FOLKMAN J. ANGIOGENESIS [J]. Annu Rev Med,2006,57:1-18.
- [2] PANDYA N M, DHALLA N S, SANTANI D D. Angiogenesis- a new target for future therapy [J]. Vasc Pharma,2006,44(5):

- [3] STIMPFL M, TONG D, FASCHING B, et al. Vascular endothelial growth factor splice variants and their prognostic value in breast and ovarian cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2002, 8 (7): 2253-2259.
- [4] VEIKKOLA T, ALITALO K. VEGFs, receptors and angiogenesis [J]. *Semin Cancer Biol*, 1999, 9(3): 211-220.
- [5] NG K, ZHU A X. Targeting the epidermal growth factor receptor in metastatic colorectal cancer [J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2008, 65(1): 8-20.
- [6] HURWITZ H, FEHRENBACHER L, NOVOTNY W, et al. Bevacizumab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin for metastatic colorectal cancer [J]. *N Eng J Med*, 2004, 350(23): 2335-2342.
- [7] MILLER K D, CHAP L, HOLMES F A, et al. Randomized phase III trial of capecitabine compared with bevacizumab plus capecitabine in patients with previously treated metastatic breast cancer [J]. *J Clin Oncol*, 2005, 23(4): 799.
- [8] CIARDIELLO F, TORTORA G. A novel approach in the treatment of cancer targeting the epidermal growth factor receptor [J]. *Clin Cancer Res*, 2001, 7 (10): 2958-2970.
- [9] PEREZ T M, GUIX M, GONZALEZ A, et al. EGF receptor antibody downregulates mutant receptors and inhibits tumors expressing EGFR mutations [J]. *J Biol Chem*. 2006, 281(52): 40183-40192.
- [10] FOON K A, YANG X D, WEINER L M, et al. Preclinical and clinical evaluations of ABX-EGF, a fully human anti-epidermal growth factor receptor antibody [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2004, 58(3): 984-990.
- [11] RABEN D, HELFRICH B, CHAN D C, et al. The effects of cetuximab alone and in combination with radiation and/or chemotherapy in lung cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2005, 11 (2 Pt 1): 795-805.
- [12] YANG X D, JIA X C, CORVALAN J R, et al. Development of ABX-EGF, a fully human anti-EGF receptor monoclonal antibody, for cancer therapy [J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2001, 38(1): 17-23.
- [13] SEIDEN M V, BURRIS H A, MATULONIS U, et al. A phase II trial of EMD72000 (matuzumab), a humanized anti-EGFR monoclonal antibody, in patients with platinum-resistant ovarian and primary peritoneal malignancies [J]. *Gynecol Oncol*, 2007, 104(3): 727-31.
- [14] FURY M G, LIPTON A, SMITH K M, et al. A phase- I trial of the epidermal growth factor receptor directed bispecific antibody MDX-447 without and with recombinant human granulocyte-colony stimulating factor in patients with advanced solid tumors [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2008, 57(2): 155-163.
- [15] DAVIS D W, TAKAMORIR, RAYTCO, et al. Pharmacodynamic analysis of target inhibition and endothelial cell death in tumors treated with the vascular endothelial growth factor receptor antagonists SU5416 or SU6668 [J]. *Clin Cancer Res*, 2005, 11 (2 Pt 1): 678-89.
- [16] HESS-STUMPP H, HABEREY M, Thierauch KH. PTK787/ ZK 222584, a tyrosine kinase inhibitor of all known VEGF receptors, represses tumor growth with high efficacy [J]. *Chembiochem*, 2005, 6 (3): 550-557.
- [17] MOTZER R J, MICHAELSON M D, REDMAN B G, et al. Activity of SU11248, a multitargeted inhibitor of vascular endothelial growth factor receptor and platelet-derived growth factor receptor, in patients with metastatic renal cell carcinoma [J]. *J Clin Oncol*, 2006, 24(1): 16-24.
- [18] WEDGE S R, OGILVIE D J, DUKES M, et al. ZD6474 inhibits vascular endothelial growth factor signaling angiogenesis, and tumor growth following oral administration [J]. *Cancer Res*, 2002, 62(16): 4645-4655.
- [19] HOLDEN S N, ECKHARDT S G, BASSER R, et al. Clinical evaluation of ZD6474, an orally active inhibitor of VEGF and EGF receptor signaling, in patients with solid malignant tumors [J]. *Ann Oncol*, 2005, 16(8): 1391-1397.
- [20] WILHELM S M, CARTER C, TANG L, et al. BAY 43-9006 exhibits broad spectrum oral antitumor activity and targets the RAF/MEK/EPK pathway and receptor tyrosine kinases involved in tumor progression and angiogenesis [J]. *Cancer Res*, 2004, 64(19): 7099-7109.
- [21] STRUMBERG D, RICHLY H, HILGER R A, et al. Phase I clinical and pharmacokinetic study of the novel Raf kinase and vascular endothelial growth factor receptor inhibitor BAY 43-9006 in patients with advanced refractory solid tumors [J]. *J Clin Oncol*, 2005, 23(5): 965-972.
- [22] BEEB J S, JANI J P, KNAUTH E, et al. Pharmacological characterization of CP-547, 632, a novel vascular endothelial growth factor receptor-2 tyrosine kinase inhibitor for cancer therapy [J]. *Cancer Res*, 2003, 63(21): 7301-7309.
- [23] WEDGE S R, KENDREW J, HENNEQUIN L F, et al. AZD2171: a highly potent, orally bioavailable, vascular endothelial growth factor receptor-2 tyrosine kinase inhibitor for the treatment of cancer [J]. *Cancer Res*, 2005, 65(10): 4389-4400.
- [24] BELLEZZA I, BRACARDA S, CASERTA C, et al. Targeting of EGFR tyrosine kinase by ZD1839 ("Iressa") in androgen-responsive prostate cancer in vitro [J]. *Mol Genet Metab*, 2006, 88(2): 114-122.
- [25] YABU T, TOMIMO H, TAGUCHI Y, et al. Thalidomide induced antiangiogenic action is mediated by ceramide through depletion of VEGF receptors, and is antagonized by sphingosine-1-phosphate [J]. *Blood*, 2005, 106 (1): 125-134.

收稿日期: 2008-01-03