

## 壹、 前言

近年來，由於許多疾病之生成發現與血管不正常增生有十分緊密的關聯，於是血管生成的機制及其調控成為十分重要之研究課題。到目前為止，已經知道血管的內皮細胞參與下列幾項重要的生理與生化調節的功能：一、發炎反應之控制。二、凝血作用之調控。三、血管生成過程之參與。四、血液與組織間物質之交換。五、血管滲透壓的改變。其中新血管不正常增生，已經被證實與許多種疾病與腫瘤的生長與擴散密不可分。血管新生（angiogenesis或neovascularization）本是正常的生理機制之一，它發生於胚胎發育、卵巢黃體形成與組織修復的時候。在正常的組織中，新血管生成是受到控制且短期存在的，大約只維持一到兩個禮拜；病理性的新血管生成則在癌症、風濕性關節炎、慢性發炎等扮演重要的角色。

血管新生受到多種複雜機制的嚴密調控，除了血管新生促進因子，亦有血管新生抑制因子，兩者互相拮抗以調控新血管生成的反應，維持一個巧妙的平衡。其中最重要牽涉到直接刺激血管內皮細胞分裂的血管新生促進因子，包括血管內皮生長因子（vascular endothelial growth factor, VEGF）與纖維母細胞生長因子（basic fibroblast growth factor, bFGF），其它例如腫瘤壞死因子（tumor necrosis factor）、干擾素（Interleukin-8）等也都具有刺激血管新生的功能。血管新生抑制因子，包括凝血因子（thrombospondin-1）、內皮細胞抑制酵素（endostatin）及人類血管靜止蛋白angiostatin等。

VEGF是血管內皮細胞生長與存活最重要的因子之一，也是調控血管內皮細胞分裂與調節血管通透性最主要的因子。VEGF控制著血管內皮細胞的分裂，影響到兩項非常重要的生理功能：一、血管新生（angiogenesis）：由已存在的血管再長出新的血管，在過程中會形成獨立的動脈與靜脈，彼此進行交換與連結。二、脈管生成（vasculogenesis）：這是指在胚胎發育（embryogenesis）時，最初生成的新血管而言。

血管新生與腫瘤發育有著密切的關係，早在1971年Folkman就觀察到腫瘤長到1~2 mm大小時（約為 $10^6$ 個細胞），單靠擴散所取得的營養已不足以支持腫瘤細胞所需，必須依賴新生血管運輸養分才能存活，如果沒有新生血管的生成，腫瘤細胞將停止生長並死亡。同時Folkman也提出腫瘤細胞會分泌某種物質去刺激血管新生的理論（Folkman, 1971），當時此種物質命名為腫瘤血管新生因子（tumor angiogenesis factor, TAF）。到了1977年Dvorak觀察到腫瘤細胞會分泌特殊物質（vascular permeability factor, VPF），導致腫瘤周圍微血管通透性增加，血管內的纖維蛋白原（fibrinogen）會由血管內滲透到腫瘤組織附近。到了1989年Ferrara真正純化出能促進血管新生的物質，並且命名為血管內皮生長因子（Leung, 1989）。後來實驗證實不論Folkman、Dvorak或Ferrara所發現能促進血管增生的物質都是同一種物質，就是血管內皮生長因子VEGF。

內皮細胞於正常狀況下複製速度極為緩慢，基本上是處於一種最終級分化之穩定狀態。VEGF作用的位置主要是在血管內皮細胞上，能刺激內皮細胞的有絲分裂（mitosis）與遷徙（migration）。在特定條件下很多細胞皆會分泌VEGF，包括血管內皮細胞、腫瘤細胞（Xie, 2004）、T細胞、平滑肌細胞、吞噬細胞、腎小球細胞與造骨母細胞（Deckers, 2000）等，有些分泌到血漿中以循環的方式存在，有些則是與細胞外基質結合。

VEGF提供了血管內皮細胞向外擴張的營養基質，促進血管與脈管的新生之外，還牽涉到惡性腫瘤血管增生機制的啟動（angiogenic switch）以及調控血管通透性（permeability）（Roberts, 1995）。例如在發生心肌急性梗塞幾個小時之後，VEGF就會誘導原本排列緊密的血管內皮細胞產生

裂縫，導致血漿、蛋白質與紅血球滲入心肌細胞之間隙，加重組織的傷害程度與擴大梗塞的範圍。在類風濕性關節炎（Yue, Shen, Feng, Chen, Yao, Liu, Wu, & Wang, 2007）、糖尿病視網膜病變（diabetic retinopathy）及老年眼部黃斑病變（age-related macular degeneration, AMD）的病例中（Andreoli, 2007），可以偵測到高量的VEGF表現。上述各項病理與腫瘤疾病之最大特徵是新生血管的生成與組織高度血管化的現象。

## 貳、 VEGF特性與功能

VEGF是高度序列保守的同源（homologous）二連體醣蛋白，以雙硫鍵連結二條分子量各為24kDa的單鏈分子才具有生物活性。以基因序列來看，VEGF的基因由八個具有轉譯功能的基因序列片段（exon）組成，產生兩大類的VEGF分子。經由mRNA不同的裁切方式，VEGF會有不同的型式，其中五種具有促進血管內皮細胞增生（pro-angiogenic）的功能： VEGF-121、VEGF-145、VEGF-165、VEGF-185與VEGF-206，另兩種VEGF-121b和VEGF-165b則是非增生型（anti-angiogenic）的型式。其中VEGF-121、VEGF-145、VEGF-165屬於分泌型的可溶性蛋白，能直接作用於內皮細胞，促進血管內皮細胞的分裂與管腔成型，並增加血管通透性。在一般正常組織，經過mRNA裁切產生的VEGF屬於抗血管增生型（anti-angiogenesis）（VEGF-121b、VEGF-165b），並不會任意導致血管增生，因此正常人體組織產生的VEGF受到嚴格的調控（Wikipedia, 2008）。

到目前為止，所發現到的VEGF家族成員有VEGF-A、VEGF-B、VEGF-C、VEGF-D與PlGF（placenta growth factor），另外在病毒基因序列上還找到VEGF-E，在某些蛇類毒液中分離到VEGF-F，分子量從33到45kDa不等。當VEGF與受體（VEGF receptor, VEGFR）結合時，VEGFR會形成二連體，並趁機互相磷酸化（transphosphorylation）。VEGFR屬於酪胺酸激酶（tyrosine kinase, TK）家族的成員之一，我們現在已經很清楚的了解TK受體在細胞訊息傳遞（signal transduction）過程中扮演極端重要的角色，可以將細胞外導致細胞生長、繁殖、以及抗凋亡的訊號傳遞到細胞內（Soro, Orecchia, Morbidelli, Lacal, Morea, Ballmer-Hofer, Ruffini, Ziche, D' Atri, Zambruno, G., A., & Failla, 2008）。

血管內皮細胞上具有三大類VEGF的受體（receptor），分別為VEGFR-1（或稱flt-1）、VEGFR-2（或稱KDR/flk-1）與VEGFR-3（或稱flt-4）。一開始的時候以為這些VEGFR只會表現在內皮細胞上，後來發現不僅是內皮細胞可以找到這些受體，在血管平滑肌細胞、造骨細胞、心肌細胞、肌纖維母細胞、神經原細胞與各式各樣的腫瘤細胞也可以發現VEGFR的蹤跡。

不同的VEGF都會與其相對應的VEGFR作專一的結合。例如VEGF-A專一性的與VEGFR-1、VEGFR-2結合；VEGF-B則與VEGFR-1結合。然而VEGFR-1的功能似乎僅限於輔助VEGFR-2，在細胞生理上扮演誘餌受體的角色，VEGFR-2才是真正執行功能的受體，這樣的VEGFR-1與VEGFR-2之間的平衡，對於胚胎血管新生有著關鍵的影響。VEGFR-2在內皮細胞之有絲分裂、血管新生與血管滲透之改變具有關鍵的地位。VEGFR-3會與VEGF-C或VEGF-D結合，並會影響胚胎淋巴管形成（lymphangiogenesis）的過程。另外VEGFR-2還與存在於細胞間隙的細胞黏著分子（cadherin）相連結，可以調節血管的滲透。此外它還與細胞外基質的受體（integrin）結合，藉以影響細胞骨架（cytoskeleton）的移動，同時也會藉此改變血管內外側的滲透程度。

## 參、 VEGF產業應用的進展

VEGF目前在醫藥產業上被應用在藥物的開發，如治療癌症或老年眼部黃斑病變（AMD）或糖尿病視網膜病變的眼科疾病等。

以轉移性大腸直腸癌為例，使用一種專門對抗VEGF的單株抗體（商品名：Avastin），可有效抑制腫瘤的生長及轉移。因此使用單株抗體中和腫瘤血管附近的VEGF分子，等於抑制腫瘤血管新生的能力，就可以有效的抑制腫瘤細胞從血管中攝取養分，達到「餓死腫瘤細胞」的目的。

以眼科疾病老年眼部黃斑病變與糖尿病視網膜病變為例，這兩類的病患常測到VEGF的高量表現，導致眼部血管不正常增生，而這正是造成眼部黃斑

部病變惡化的主要因素。因此目前也是利用VEGF的機制抑制病理性新血管生成來治療眼科疾病，包括藥物直接抑制新血管生成；阻斷VEGF的產生或抑制其活性，如2006年FDA批准了一種專門針對濕型視網膜黃斑部病變的治療用藥，是由Genetech所發展出來叫Ranibizumab（商品名：Lucentis）（Lucentis, 2008），它是一種抗體片段（Fab片段）。Lucentis與Avastin的分子類似，但Lucentis的分子較小，故可在視網膜組織作用有更好的穿透能力且代謝快。另外無Fc區域，故滲入視網膜組織時較不會產生免疫反應。這些抗血管生長因子藥物由於效果顯著，約有近半數的患者視力獲得改善，九成以上的患者視力維持穩定，可說是黃斑部病變治療之一大突破。

此外，治療轉移性腎細胞癌的小分子藥物sunitinib，係針對抑制VEGF受體上的酪胺酸激酶。而目前在臨床試驗中藥物有 PRS-050/PRS-055，它也是屬於VEGF受體之酪胺酸激酶抑制劑。

其他未知的機轉：這類藥物目前進入臨床實驗的階段，但其作用機轉仍然不清楚。例如，一種專門抑制bFGF的藥物沙利竇邁

（Thalidomide），Thalidomide是一種老藥新用，實驗證實會抑制經由VEGF誘發的兔子角膜血管新生作用。但對於老鼠的固態腫瘤，經體內實驗卻發現Thalidomide無法抑制腫瘤及血管新生作用，因此Thalidomide的抗血管新生作用有可能是具有物種特異性，因此在人體還需要進一步進行大規模有系統的研究。

#### 肆、 結論

在血管新形成的過程中，內皮細胞扮演一個關鍵性的角色，它受到多重激素的調控，能影響血管內皮細胞分裂，其中血管內皮生長因子（VEGF）更是影響血管新生的關鍵因子。因此發展血管新生抑制劑應該包含下列四個特點：（1）阻斷會刺激血管形成的因子。（2）只抑制病理性的，而不抑制正常生理性的血管新生。（3）阻斷允許新生血管侵犯週遭組織的因子。（4）能被運送到目的地且有足夠的時間發生功用。在臨床方面，抑制血管新生療法最成功就是應用在治療癌症及視網膜與黃斑部病變的抗VEGF的單株抗體，此抗癌藥物不會有骨髓抑制、腸胃症狀或掉頭髮等現象，且不會產生抗藥性。新一代的一些臨床試驗中的藥物則是朝基因治療著手，針對VEGF及相關的關鍵基因來開發新藥，其中Bevasiranib是第一個用來抑制VEGF基因表現的藥物，已針對治療老年眼部黃斑病變、糖尿病視網膜病變與癌症的疾病證明有臨床療效，2008年已順利進入了臨床試驗第三期。但是其他與VEGF有關的血管新生的疾病用藥研究，還處於解決複雜的生理與病理過程階段，還需要大型的臨床試驗來證明。

#### 參考文獻

- Andreoli, C. M., & Miller, J. W. (2007). Anti-vascular endothelial growth factor therapy for ocular neovascular disease. *Curr. Opin. Ophthalmol.*, 18, 502-508.
- Deckers, M. M., Karperien, M., van der Bent, C., Yamashita, T., Papapoulos, S. E., & Löwik, C. W. (2000). Expression of vascular endothelial growth factors and their receptors during osteoblast differentiation. *Endocrinology*, 141, 1667-1664.
- Folkman, J., Merler, E., Abernathy, C., & Williams, G. (1971). Isolation of a tumor factor responsible for angiogenesis. *J. Exp Med.*, 133, 275-288.
- Leung, D. W., Cachianes, G., Kuang, W. J., Goeddel, D. V., & Ferrara, N. (1989). Vascular endothelial growth factor is a secreted angiogenic mitogen. *Science*, 246,

1306-1309.

Lucentis. (2008). *Lucentis*. Retrieved April 15, 2009, from <http://www.lucentis.com/lucentis/>.

Roberts, W. G., & Palade, G. E. (1995). Increased microvascular permeability and endothelial fenestration induced by vascular endothelial growth factor. *J. Cell Sci.*, 108, 2369-2379.

Soro, S., Orecchia, A., Morbidelli, L., Lacal, P. M., Morea, V., Ballmer-Hofer, K., Ruffini, F., Ziche, M., D' Atri, S., Zambruno, G., Tramontano, A., & Failla, C. M. (2008). A proangiogenic peptide derived from vascular endothelial growth factor receptor-1 acts through  $\alpha_5\beta_1$  integrin. *Blood*, 111(7), 3479-3488.

Wikipedia. (2008). *Vascular endothelial growth factor*. Retrieved April 15, 2009, from [http://en.wikipedia.org/wiki/Vascular\\_endothelial\\_growth\\_factor](http://en.wikipedia.org/wiki/Vascular_endothelial_growth_factor).

Xie, K., Wei, D., Shi, Q., & Huang, S. (2004). Constitutive and inducible expression and regulation of vascular endothelial growth factor. *Cytokine Growth Factor Rev.*, 15, 297-324.

Yue, L., Shen, Y. X., Feng, L. J., Chen, F. H., Yao, H. W., Liu, L. H., Wu, Q., & Wang, Y. (2007). Blockage of the formation of new blood vessels by recombinant human endostatin contributes to the regression of rat adjuvant arthritis. *Eur. J. Pharmacol.*, 567(1-2), 166-170.

作者：

廖玟玟 / 台灣大學動物學研究所博士後研究員

陳彥君 / 國研院科技政策研究中心助理研究員

廖美雪 / 國研院科技政策研究中心研究員

生物醫藥