

[文章编号] 1007-385X(2003)01-0063-03

## 抗 EGFR 单克隆抗体 cetuximab 的研究进展

代志军 综述; 王西京, 刘小旭 审阅 (西安交通大学第二医院肿瘤科, 西安 710004)

**[摘要]** 抗表皮生长因子受体(EGFR)单克隆抗体 cetuximab(C-225)特异性与 EGFR 高亲和力结合,从而阻断表皮生长因子(EGF)、转化生长因子- $\alpha$ (TGF- $\alpha$ )与 EGFR 结合及其引起的细胞增殖。体内外的临床前实验都显示 cetuximab 通过调节细胞周期、抑制血管生成和转移及促进凋亡等抑制肿瘤,而且可以增加化疗疗效。I, II 期临床试验显示,药代动力学呈剂量依赖非线性关系,半衰期长,高效低毒,在人体耐受良好。大量临床试验已证实 cetuximab 单药及联合化疗或联合放疗均取得令人鼓舞的结果。

**[关键词]** EGFR; 单克隆抗体; 肿瘤; 治疗

**[中图分类号]** R730.5 **[文献标识码]** A

EGFR 在大约 1/3 的人体肿瘤中过度表达,尤其是头颈部鳞状细胞癌(80% ~ 100%),结肠癌(25% ~ 77%)、胰腺癌(30% ~ 95%)、非小细胞肺癌(40% ~ 80%)、肾癌(50% ~ 90%)和乳腺癌(14% ~ 91%)等。以往研究发现 EGFR 过度表达与肿瘤发生、发展及预后密切相关。EGFR 高表达的肿瘤预后差,容易转移,生存时间短。许多阻滞和下调 EGFR 的方法被用来抑制肿瘤增殖以改善预后,以 EGFR 为靶的治疗可能为 EGFR 阳性患者带来福音。本文拟就抗 EGFR 单克隆抗体 cetuximab 目前研究现状作一综述。

### 1 cetuximab 特性

1983 年 Kawamoto 等<sup>[1]</sup>首先制备成功的抗 EGFR 单克隆抗体为鼠源性单抗 mAb 225,可特异性地与 EGFR 结合,而且具有比其配体 EGF、TGF- $\alpha$  更高的亲和力,从而阻止配体与受体结合。应用鼠源性单抗最主要的限制是对人体具有免疫原性,直接应用会刺激人体免疫反应。因此,长时间停留在实验室研究阶段,无法在人体应用。

cetuximab 是一种新型的人-鼠单克隆嵌合抗 EGFR 抗体,与 mAb 225 一样可特异性地与 EGFR 结合,有效阻断配体导致的酪氨酸磷酸化,而且可以抑制生长因子下游的 MAPK(有丝分裂原活性蛋白)的活性,降低肿瘤细胞生长的信号。但其免疫原性远小于 mAb 225。

### 2 cetuximab 的抗肿瘤机制

#### 2.1 调节细胞周期

细胞周期是从亲代细胞分裂结束到子代细胞分裂结束所经历的过程分为 G<sub>1</sub>、S、G<sub>2</sub>、M 期 4 个时期。细胞增殖是细胞生命现象的一个重要特征。细胞的增殖与生长发育、分化、再生、创伤修复及肿瘤发生密切相关。其机制可能与上调细胞周期抑制剂 P27<sup>kip1</sup>,抑制 EGFR 的下游传感器 cyclinD1(细胞周期蛋白 D1)有关。cetuximab 可以抑制细胞周期进展,导致细胞停留在 G<sub>1</sub> 期,进入 S 期的细胞减少。Paul 等<sup>[2]</sup>通过对头颈部鳞状细胞癌的研究发现 cetuximab 治疗组 S 期蛋白比例

为 8.0%,而对照组为 23.1%。同时发现 P27<sup>kip1</sup> 表达增高,PCNA(增殖细胞核抗原)降低。

#### 2.2 抑制血管生成及转移

肿瘤血管生成是直接反映预后的一个独立指标。cetuximab 可能通过下调血管内皮生成因子(VEGF)等血管生成相关因子抑制血管生成及转移。Perrotte 等<sup>[3]</sup>在膀胱癌细胞培养中发现高水平的 VEGF、碱性成纤维细胞生长因子(b-FGF)、白介素-8(IL-8)。经过 3 周 cetuximab 治疗后肿瘤微血管密度(MVD)明显减低,VEGF,b-FGF,IL-8 等血管生成相关因子水平随之下降。他们还发现 cetuximab 可抑制小鼠肺转移,对照组有淋巴结转移和 40% 肺转移,而治疗组无 1 例转移。这可能由于 cetuximab 直接作用于 EGFR 外区抑制基质金属蛋白酶(MMPs)表达,从而抑制转移。在非雄激素依赖性前列腺癌的研究中,Karashima 等<sup>[4]</sup>发现在体外单用 cetuximab 并没有明显的抑制肿瘤作用,然而在体内却明显地抑制了肿瘤的生长和转移。提示 cetuximab 不是直接抑制肿瘤细胞生长,而是通过抑制新生血管内皮细胞增殖,阻断血管生成。而且他们观察到,cetuximab 治疗后 IL-8 水平明显下降。

#### 2.3 促进细胞凋亡

凋亡在控制细胞增殖、调节肿瘤的发生和生长中起着关键的作用。bcl-2 是凋亡抑制基因,Bax 为凋亡促进基因,在正常人体内二者处于平衡状态。在许多肿瘤患者体内 bcl-2 过度表达,从而抑制细胞凋亡,加速肿瘤细胞增殖。cetuximab 可能通过打破 Bax 与 bcl-2 基因的平衡表达,从而影响细胞凋亡。在 EGFR 表达较高的 DiFi 人结肠癌细胞系<sup>[5]</sup>,cetuximab 治疗导致程序性细胞死亡,在此项研究中 Bax 表达增高,从而激活多种凋亡途径。同样,在鳞状癌细胞系<sup>[6]</sup>,cetuximab 治疗可提高 Bax 表达,降低 bcl-2 表达,从而促进细胞凋亡。另外在乳腺癌细胞系<sup>[7]</sup>,非活性的 bcl-2 比例增加。此外,目前研究发现,单纯 cetuximab 治疗并不足以导致程序性细胞死亡,而需要联合细胞毒作用。在与化疗结合的实验中,无论体内外,均可促进细胞凋亡<sup>[8]</sup>。与放疗结合是否促进细胞凋亡还不十分清楚。

## 2.4 增强化疗作用

许多临床前实验表明 cetuximab 可以增加化疗的疗效。Aboud-Pirak 等<sup>[9]</sup>最早将 cetuximab 与化疗联用,他们发现在口腔表皮样癌小鼠中 cetuximab 与顺铂联用疗效比任何一者单一用药效果都要好。后续研究发现,在许多肿瘤中 cetuximab 都可起到化疗增敏作用。例如:最大耐受剂量的阿霉素不能抑制 A431 肿瘤,cetuximab 单药治疗也只能部分缓解,而二者联用则可产生明显的抑制作用,40% 的实验小鼠,肿瘤都明显缩小<sup>[10]</sup>。Fan 等<sup>[11]</sup>研究甚至发现 85% 小鼠肿瘤可完全消除,而且无瘤生存期均在 6 个月以上。

除了顺铂、阿霉素, cetuximab 同样也可增强紫杉醇、拓扑替康、吉西他滨等的疗效。Karashima 等<sup>[4]</sup>作了非雄激素依赖性前列腺癌小鼠中 cetuximab 与紫杉醇联合应用的研究,单用 cetuximab 或联合紫杉醇均明显地抑制了肿瘤的生长和转移,而且联用疗效优于任何单一用药。Prewett<sup>[12]</sup>等研究发现,在耐药性裸鼠结肠癌肿瘤模型中, cetuximab 与伊立替康(CPT-11)联合应用明显抑制了肿瘤生长,而任何单独应用均没有明显作用。结果显示 cetuximab 联合化疗治疗化疗不敏感的肿瘤有良好的疗效。

## 2.5 增强放疗作用

cetuximab 与放疗联合也可起到显著的协同作用。在 Paul 等<sup>[2]</sup>对头颈部鳞状细胞癌的研究中, cetuximab 不仅可以提高放疗敏感性,减低放疗有效剂量,而且可以明显提高放疗效果。cetuximab 联合放疗组小鼠肿瘤得到完全缓解,而且缓解期在 3 个月以上;而单独放疗组和单独 cetuximab 治疗组仅仅能延缓肿瘤生长。

Nasu 等<sup>[13]</sup>研究发现在 A431 肿瘤小鼠模型中, cetuximab 可以增强放疗效果,延迟复发。他们还发现单纯放疗组 TCD<sub>50</sub> (50% 放疗有效剂量)平均值为 45.4 Gy,而单倍剂量(每只小鼠 1 mg) cetuximab 联合放疗组为 38.5 Gy,2 倍剂量 cetuximab 联合放疗组为 23.7 Gy;单倍剂量组 DMF(剂量影响因子)为 1.18,2 倍剂量组为 1.92,3 倍剂量组为 2.13。结果表明, cetuximab 可以降低 TCD<sub>50</sub>,而且其作用与剂量相关。

## 3 临床试验

### 3.1 药代动力学

临床前研究<sup>[13]</sup>及 I 期临床试验显示<sup>[14-15]</sup> cetuximab 药代动力学为非线性,呈剂量依赖性。重复用药或与顺铂等同时应用不会改变其药代动力学。有效的血药浓度在 200~400 mg/m<sup>2</sup>之间,半衰期长(7 d 左右)。目前推荐剂量为首次负荷量 400 mg/m<sup>2</sup>,每周维持剂量为 250 mg/m<sup>2</sup>。

### 3.2 安全性与耐受性

cetuximab 无论单用还是和放化疗联合都耐受良好。189 例患者的安全性实验显示 cetuximab 副反应轻微,易于控制。62% 为 1/4 级,12% 为 3/4 级,最常见的有麻木(18%)、发热(16%)、恶心(16%)、皮疹(15%)。临床报道最多的是过敏反应(4% 为 3/4 级)、唑啉样皮疹(11% 为 3/4 级)。过敏反应多发生在首次用药,通过抗组胺药或缓慢注射均可缓解<sup>[16]</sup>。

作为新型抗体,可能刺激人体产生抗嵌合抗体(HACAs),从而干扰治疗。然而仅在 3%(4/120)患者中检测到 HACAs,其中 3 例存在自身抗体,而且产生 HACAs 的患者没有过敏等不良反应<sup>[17]</sup>。

### 3.3 联合化疗

4 个肿瘤中心的上百例主要包括头颈部鳞状细胞癌(SCCHN)、非小细胞肺癌(NSCLC)、结肠癌(CRC)以及非雄激素依赖性前列腺癌的患者参加了 cetuximab 联合化疗的 I, II 期临床试验(表 1)。

在 Shin 等<sup>[15]</sup>的研究中 9 例 EGFR 阳性的进展期 SCCHN 常规化疗效果不佳,应用 cetuximab + 顺铂后 22%(2/9)取得完全缓解,另有 45%(4/9)部分缓解。在 Rubin 等<sup>[18]</sup>研究中的 63 例 SCCHN 和 CRC 患者均失去手术机会,且对放化疗不敏感。SCCHN 采用 cetuximab + 顺铂, CRC 采用 cetuximab + CPT-11,分别有 26%(6/23)和 20%(8/40)的患者取得了良好的效果。然而, Slovin 等<sup>[19]</sup>的研究并没有取得满意的结果,可能由于非雄激素依赖性前列腺癌中 EGFR 表达率相对较低的缘故。

表 1 Cetuximab 联合化疗的 I, II 期临床试验结果

试验分期	病种	治疗方案	疗效	研究者
I 期进展期	SCCHN 和 NSCLC	Cetuximab + 顺铂	58%(11/19)SD	Baselga 等 <sup>[14]</sup>
I 期进展期	SCCHN	Cetuximab + 顺铂	67%(6/9)PR + CR	Shin 等 <sup>[15]</sup>
I/II 期	非雄激素依赖性前列腺癌	Cetuximab + 阿霉素	5%(1/19)SD; 5%(1/19)PR	Slovin 等 <sup>[19]</sup>
II 期	化疗耐药的 SCCHN 和 CRC	Cetuximab + 化疗	22%(14/63)PR + CR	Rubin 等 <sup>[18]</sup>

注: cetuximab 均采用推荐剂量; CR(完全缓解); PR(部分缓解); SD(稳定)

## 3.4 联合放疗

虽然 EGFR 阳性与肿瘤放疗耐受及预后不良相关,但在进展期头颈部鳞状细胞癌的 I 期试验中<sup>[20]</sup>, cetuximab 联合放疗组有效率为 100%, 87%(13/15)得到完全缓解,其余 2 例部分缓解。而单纯放疗的有效率(CR + PR)为 50%~60%。1 年后复查,50% 以上的患者仍然在完全缓解期。而且受试组 2

年无病生存率为 60%, 而 Calais 等应用放化疗联合组不到 40%。

## 4 结语

综上所述, EGFR 过度表达的肿瘤恶性程度高,而且对放化疗不敏感,因而预后较差。cetuximab 作为以癌基因为靶的

[文章编号] 1007-385X(2003)01-0065-03

## 内皮抑素的研究进展

欣 坚 综述; 屠曾宏, 郑维君 审阅 (中国科学院上海药物研究所 新药研究国家重点实验室, 上海 200031)

[摘要] 一种能特异性抑制血管内皮细胞生长的抑制因子—内皮抑素(endostatin), 可以抑制内皮细胞的增殖和迁移, 在体内具有良好的抗肿瘤效果。内皮抑素的抗肿瘤效果可能与诱导凋亡, 以及与原肌球蛋白、黏附受体整合蛋白以及基质金属蛋白酶等重要因子有关。

[关键词] 内皮抑素; 原肌球蛋白; 黏附受体整合蛋白; 基质金属蛋白酶

[中图分类号] R73-36<sup>+</sup>2

[文献标识码] A

侵袭是指恶性肿瘤细胞离开原发生长部位, 突破基底膜和细胞外基质构成的屏障, 侵入毗邻的正常组织。侵袭、转

移是恶性肿瘤最本质的特性之一。肿瘤转移的巨大危害性是使局部病变扩散成全身多灶性、弥漫性分布的疾病。对于

治疗方式, 为 EGFR 阳性的肿瘤患者带来新的希望。不管单药治疗还是与放化疗联合都可以提高生存率, 延长缓解期。应用于头颈部鳞状细胞癌和结肠癌的 II 期临床试验已取得了可喜的效果, 特别是当 cetuximab 与放化疗联合应用时, 许多预后较差的晚期肿瘤取得了完全缓解。但目前 cetuximab 的研究还主要集中在动物实验, 尚需要大量的临床试验以确定其长期应用的价值。相信不久的将来, 更多的患者可以因此受益。

angiogenic mechanisms[ J ]. Clin Cancer Res, 2000, 6: 1936-1948.

### [参考文献]

- [1] Kawamoto TK, Sato JD, Le A, et al. Growth stimulation of A431 cells by epidermal growth factor: Identification of high-affinity receptors for epidermal growth factor by an anti-receptor monoclonal antibody[ J ]. PNAS, 1983, 80: 1337-1341.
- [2] Paul M, Harari PM, Huang SM. Head and neck cancer as a clinical model for molecular targeting of therapy: Combining EGFR blockade with radiation[ J ]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2001, 49(2): 427-433.
- [3] Perrotte P, Matsumoto T, Inoue K, et al. Anti-epidermal growth factor receptor antibody C225 inhibits angiogenesis in human transitional cell carcinoma growing orthotopically in nude mice[ J ]. Clin Cancer Res, 1999, (5): 257-265.
- [4] Karashima T, Sweeney P, Slaton JW, et al. Inhibition of angiogenesis by the anti-epidermal growth factor receptor antibody ImClone C225 in androgen-independent prostate cancer growing orthotopically in nude mice[ J ]. Clin Cancer Res, 2002, 8(5): 1253-1264.
- [5] Wu X, Fan Z, Masui H, et al. Apoptosis induced by an anti-epidermal growth factor receptor antibody in a human colorectal carcinoma cell line and its delay by insulin[ J ]. J Clin Invest, 1995, 95: 1897-1905.
- [6] Huang SM, Bock JM, Harari PM. Epidermal growth factor receptor blockade with C225 modulates proliferation, apoptosis, and radiosensitivity in squamous cell carcinoma of the head and neck[ J ]. Cancer Res, 1999, 59: 1935-1940.
- [7] Tortora G, Caputo R, Pomatigo G, et al. Cooperative inhibitory effect of novel mixed backbone oligonucleotide targeting protein kinase A in combination with docetaxel and anti-epidermal growth factor-receptor antibody on human breast cancer cell growth[ J ]. Clin Cancer Res, 1999, 5: 875-881.
- [8] Bruns CJ, Harbison MT, Davis DW, et al. Epidermal growth factor receptor blockade with C225 plus gemcitabine results in regression of human pancreatic carcinoma growing orthotopically in nude mice by anti-

- [9] Aboud-Pirak E, Hurwitz E, Pirak ME, et al. Efficacy of antibodies to epidermal growth factor receptor against KB carcinoma *in vitro* and in nude mice[ J ]. J Natl Cancer Inst, 1988, 80: 1605-1611.
- [10] Baselga J, Norton L, Masui H, et al. Antitumor effects of doxorubicin in combination with anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibodies[ J ]. J Natl Cancer Inst, 1993, 85: 1327-1333.
- [11] Fan Z, Baselga J, Masui H, Mendelsohn J. Antitumor effect of anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibodies plus cis-diamminedichloroplatinum on well established A431 cell xenografts[ J ]. Cancer Res, 1993, 53: 4637-4642.
- [12] Prewett MC, Hooper AT, Bassi R, et al. Enhanced Antitumor Activity of Anti-epidermal Growth Factor Receptor Monoclonal Antibody IMC-C225 in Combination with Irinotecan (CPT-11) against Human Colorectal Tumor Xenografts[ J ]. Clin Cancer Res, 2002, 8(5): 994-1003.
- [13] Nasu S, Ang KK, Fan Z, et al. C225 anti-epidermal growth factor receptor antibody enhances tumor radiocurability[ J ]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2001, 51(2): 474-477.
- [14] Baselga J, Pliester D, Cooper MR, et al. Phase I studies of anti-epidermal growth factor receptor chimeric antibody C225 alone and in combination with cisplatin[ J ]. J Clin Oncol, 2000, 18: 904-914.
- [15] Shin DM, Donato NJ, Perez-Soler R, et al. Epidermal growth factor receptor-targeted therapy with C225 and cisplatin in patients with head and neck cancer[ J ]. Clin Cancer Res, 2001, 7(5): 1204-1213.
- [16] Robert F, Ezekiel MP, Spencer SA, et al. Phase I study of anti-epidermal growth factor receptor antibody cetuximab in combination with radiation therapy in patients with advanced head and neck cancer[ J ]. J Clin Oncol, 2001, 19(13): 3234-3243.
- [17] Khazaeli MB, LoBuglio AF, et al. Low immunogenicity of a chimeric monoclonal antibody (MOAB), IMC-C225, used to treat epidermal growth factor receptor-positive tumors[ C ]. Proc Am Soc Clin Oncol, 2000, 19: 207.
- [18] Rubin MS, Shin DM, Pasmantier M, et al. Monoclonal antibody IMC-C225, an anti-epidermal growth factor receptor, for patients with EGFR-positive tumors refractory to or in relapse from previous therapeutic regimens[ C ]. Proc Am Soc Clin Oncol 2000, 19: 231.
- [19] Slovin SF, Kelly WK, Cohen R, et al. Epidermal growth factor receptor monoclonal antibody C225 and doxorubicin in androgen-independent prostate cancer: results of a phase Ib/IIa study[ C ]. Proc Am Soc Clin Oncol, 1997, 16: 311a.
- [20] Bonner JA, Ezekiel MP, Robert F, et al. Continued response following treatment with IMC-C225, an EGFR MoAb, combined with RT in advanced head and neck malignancies[ C ]. Proc Am Soc Clin Oncol, 2000, 19: 186.

[收稿日期] 2002-08-13

[修回日期] 2002-10-20

快速增殖、多灶性分布、异质性生长的转移瘤,目前的手术、放射治疗和化学治疗等手段常遭失败,最终患者死亡。侵袭、转移是恶性肿瘤致命性的症结所在,防治肿瘤的侵袭、转移是降低肿瘤死亡率的重要途径之一。

90年代初,Folkman等<sup>[1]</sup>发现实体肿瘤及其转移瘤的生长、维持必须依赖于新血管的形成。为了刺激血管的生成,肿瘤上调一系列血管形成因子的分泌,包括:成纤维生长因子(fibroblast growth factor, aFGF和bFGF),血管内皮生长因子(vasoular endothelial growth factor, VEGF)等<sup>[2]</sup>。然而,许多恶性的肿瘤也分泌血管生成抑制因子,包括:血管抑素(angiotatin)和血小板凝血酶敏感蛋白(thrombospodin)<sup>[3,4]</sup>。人们认识到血管生成受到正负两方面因子的调控:血管生成刺激因子和血管生成抑制因子。一些血管抑制因子与肿瘤无关,包括:血小板因子4(PF-4),INF- $\alpha$ ,INF诱导蛋白10,催乳素N端16 kD片段<sup>[5,7]</sup>。1994年,O'Reilly和Folkman从小鼠Lewis肿瘤细胞中分离出特异性抑制血管内皮细胞增殖的血管抑制因子血管抑素(angiotatin)<sup>[1,3]</sup>。1997年,他们又从小鼠内皮细胞瘤中分离到一种新的20 kD,能特异性抑制血管内皮细胞生长的抑制因子—内皮抑素(endostatin)<sup>[8]</sup>。

## 1 内皮抑素的基本生物学功能

### 1.1 内皮抑素的血管生长抑制作用

O'Reilly使用鸡胚尿囊膜血管生成试验证明内皮抑素抑制了血管的形成。体内的基底膜蛋白抽提物(Matrigel)试验也证明了它的抗血管生成作用。Blezniger等<sup>[9]</sup>证实直接肌肉注射内皮抑素表达质粒,对碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)诱导的小鼠角膜血管生长有抑制作用。

### 1.2 内皮抑素抑制血管内皮细胞增殖以及诱导凋亡的作用

内皮抑素特异性的抑制小牛毛细血管内皮细胞的增殖并且呈剂量依赖性关系<sup>[8]</sup>。对于牛肺动脉内皮细胞(C-PAE),人脐静脉内皮细胞(HUVEC)的增殖也有抑制作用。而对非血管内皮细胞系,如:牛动脉平滑肌细胞,3T3成纤维细胞,肺上皮细胞,Lewis肺癌细胞等无增殖抑制作用。在bFGF存在的条件下,内皮抑素的增殖抑制作用更加明显。

据Dhanabal等<sup>[10]</sup>报道,牛肺动脉血管内皮细胞在10  $\mu\text{g/ml}$ 的内皮抑素的作用下,细胞变圆,从基质上脱落并且细胞膜上出现小泡。在凋亡开始后,通过用荧光素FITC标记钙结合蛋白annexin-v检测到磷脂酰丝氨酸(PS)由细胞膜内层翻转至胞膜外。他们还发现细胞内的caspase-3的活性增加。TUNEL法也测到核内DNA的断裂。通过Western blot发现,细胞内的Bcl-2,Bcl-xL蛋白含量也下降,但是Bax的含量不受影响。

### 1.3 内皮抑素对内皮细胞迁移的影响

不同浓度内皮抑素下测定人脐静脉内皮细胞穿透重组基底膜Matrigel的能力,证明内皮抑素抑制这种迁移。且该抑制呈剂量依赖关系<sup>[11-12]</sup>。

### 1.4 内皮抑素对肿瘤的抑制作用

O'Reilly等<sup>[8]</sup>将Lewis肺癌移植入小鼠背部形成肿瘤模

型。每天皮下注射内皮抑素,对于其它恶性肿瘤各类如:B16F10黑素瘤、T241纤维肉瘤和EOMA血管内皮细胞瘤,内皮抑素也能抑制它们在小鼠体内的生长。持续的给药维持肿瘤处于休眠状态。停药后5~14 d内肿瘤复发,血管生长,最终导致小鼠死亡。

除了直接注射之外,肌肉注射内皮抑素表达质粒也能够抑制肿瘤的生长与转移<sup>[9]</sup>。注射之后,从肌肉中产生内皮抑素蛋白,进入血液循环并且能达到生物活性浓度。这个过程可持续2周。内皮抑素在血液中的浓度以及它的持续时间足够抑制肿瘤及其转移瘤的生长。

虽然重复注射重组内皮抑素并不引起获得性抗药性<sup>[13]</sup>。但是,这样用药毕竟不方便,而且非常昂贵。而使用肌肉注射抗血管生成基因的治疗方法将会使肿瘤的治疗更加便利。

## 2 抗肿瘤作用的可能机制

一般认为内皮抑素特异性的抑制内皮细胞的增殖,其机制可能与内皮细胞凋亡的增加或细胞周期的改变有关,而不是直接作用于肿瘤细胞的生长<sup>[10]</sup>。因为在内皮抑素的作用下肿瘤细胞的增殖并不受影响。内皮抑素通过抑制肿瘤血管的生长,导致肿瘤缺氧,再加上其它可能的间接细胞毒作用,从而使肿瘤细胞坏死、凋亡,肿瘤收缩<sup>[15]</sup>。内皮抑素的生物学功能也可能是通过直接或间接改变其它与生长相关的分子的表达而实现的。如下调促进血管生长的分子。但是肿瘤细胞、内皮细胞自身产生促进或抑制血管生长的因子,而且许多生长因子也可以被细胞外基质激活,因此由内皮抑素引起的这些因子表达的改变很难进行检测。如对VEGF的影响,Kirsch等<sup>[16]</sup>得出的结果与Ivan等<sup>[15]</sup>的结果截然相反。

E37在体内可以抑制内皮抑素的肿瘤抑制活性达87%。原因是E37与原肌球蛋白竞争结合内皮抑素。因此他们认为内皮抑素与原肌球蛋白的结合破坏了微丝结构的完整性,从而导致细胞运动功能的丧失,诱导凋亡,最终抑制肿瘤<sup>[17]</sup>。

Marko等<sup>[18]</sup>发现内皮抑素可以在人脐静脉内皮细胞表面与 $\alpha\text{v}$ , $\alpha\text{5}$ 整合蛋白结合,从而发挥生物学功能。固定的内皮抑素促进内皮细胞的迁移、存活。相反,可溶性的内皮抑素却起着相反的作用。因而,他们认为整合蛋白是内皮抑素的潜在作用位点。

还有一种理论认为内皮抑素的作用机制与基质金属蛋白酶(MMPs)有关。基质金属蛋白酶是一类含锌指结构的内源性多肽,在新血管生成和肿瘤转移的过程中有重要作用。它们可以选择性降解胞外基质,这是新血管生成开始阶段内皮细胞的迁移和侵入所必需的。间质胶原酶(MMP-1)和MMP-7在头颈表皮样癌的浸润细胞和相邻基质细胞中表达,在人前列腺癌和乳癌中表达也得到增强。在临床诊断中发现多种恶性肿瘤表达高水平的明胶酶(type IV collagenase),但在正常组织或良性组织中明胶酶表达很少或不表

达。在一些正常组织中存在一类天然的基质金属蛋白酶抑制剂(TIMPs),这种大分子物质参与调节组织中基质金属蛋白酶的活性。实验证明重组TIMPs能抑制B16-F10小鼠黑色素瘤细胞的体外侵袭能力和体内肺转移能力。由于内皮细胞可以产生MMP-1,-2,-9和MT1-MMP,而且Young-Mi等<sup>[11]</sup>发现内皮细胞中分泌的金属蛋白酶原2的激活和其催化活性可以被内皮抑素所抑制。而且,MMP-2缺陷型小鼠新血管的生成大大降低。因此,内皮抑素的抑制血管和抗肿瘤的活性可能与此相关。

总之,内皮抑素的作用机制是非常复杂的,其中涉及到很多生长调控因子、酶和受体。说明它很可能与多个信号传导通路有关,通过多种途径发挥其生物学功能。

### 3 临床试验情况

内皮抑素的首次临床试验于1999年末在Dana-Farber/Partners Cancer Care(DFPCC)开始,并有Dana-Farber Cancer Institute,Brigham and Women's hospital和Beth Israel Deaconess Medical Center参加。随后的临床试验在德克萨斯州休斯顿市MD Anderson Cancer Center和威斯康星州麦迪逊市威斯康星大学Comprehensive Cancer Center两地展开,这两处的试验由国家癌症研究所指定、在新药开发申请局(IND)的指导下进行。目前一期临床试验已经结束,正在进行二期临床试验。

尽管一期临床试验的结果并不如理想中的那么良好,但是人们推测内皮抑素不是治愈肿瘤的唯一药物,而是与其它药物联合用来稳定病情和作为一种重要的抑制肿瘤生长的辅助药物。抗血管生成治疗可能需要连续用药以维持肿瘤处于休眠状态。

### 4 展望

抗侵袭、转移药物的研究在近10年里取得了显著的进展。出现了许多有苗头的药物。早期的抗侵袭、转移的药物主要针对已经获得侵袭能力的肿瘤,阻断侵袭、转移过程中的关键步骤,以抑制肿瘤转移的发展。肿瘤侵袭、转移的分子机理还未完全明了,其防治药物的研究历史较短,很难指望在短期内即有成熟的抗侵袭、转移的药物用于临床。但针对肿瘤转移各个靶点的药物研究已经展开,并取得了令人鼓舞的实验结果。

1998年期间,世界各种媒体大量报道了两种新的内源性抗血管生成因子:内皮抑素和血管抑素。这引起了各国科学家和医学工作者的极大关注,也为肿瘤的治疗开辟了新的途径。虽然该药还不成熟,它对人的实体瘤的确切疗效,长期用药有何毒副作用,是否产生耐药性等问题尚不完全清楚。而且内皮抑素生产成本较高,治疗时必须长期大剂量使用,这可能是其成为被普遍采用的抗肿瘤药的另一大障碍。但是它为治疗恶性肿瘤提供了一条全新的道路,很可能成为人类攻克肿瘤的一个强有力的手段。

### 【参考文献】

- [1] Folkman J, Watson K, Ingber D, *et al.* Induction of angiogenesis during the transition from hyperplasia to neoplasia [J]. *Nature*, 1989, 339(6219): 58-62.
- [2] Kandel J, Bossy-Wetzel E, Radvanyi F, *et al.* Neovascularization is associated with a switch to the export of bFGF in the multistep development of fibrosarcoma [J]. *Cell*, 1991, 66(6): 1095-1021.
- [3] O'Reilly MS, Holmgren L, Shing Y, *et al.* Angiostatin: A novel angiogenesis inhibitor that mediates the suppression of metastases by a Lewis lung carcinoma [J]. *Cell*, 1994, 79(2): 315-328.
- [4] Good DJ, Polverini PJ, Rastinejad F, *et al.* A tumor suppressor-dependent inhibitor of angiogenesis is immunologically and functionally indistinguishable from a fragment of thrombospondin [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1990, 87(17): 6624-6627.
- [5] Maione TE, Gray GS, Petro J, *et al.* Inhibition of angiogenesis by recombinant human platelet factor-4 and related peptides [J]. *Science*, 1990, 247(4938): 77-82.
- [6] Angiolillo AL, Sgadari C, Taub DD, *et al.* Human interferon-inducible protein 10 is a potent inhibitor of angiogenesis *in vivo* [J]. *J Exp Med*, 1995, 182(1): 155-159.
- [7] Clapp C, Martial JA, Guzman RC, *et al.* The 16-kilodalton N-terminal fragment of human prolactin is a potent inhibitor of angiogenesis [J]. *Endocrinology*, 1993, 133(3): 1292-1296.
- [8] O'Reilly MS, Boehm T, Shing Y, *et al.* Endostatin: An endogenous inhibitor of angiogenesis and tumor growth [J]. *Cell*, 1997, 88(2): 277-285.
- [9] Blezinger P, Wang J, Gondo M, *et al.* Systemic inhibition of tumor growth and tumor metastases by intramuscular administration of the endostatin gene [J]. *Nat Biotechnol*, 1999, 17(4): 343-349.
- [10] Dhanabal M, Ramchandran R, Waterman MJ, *et al.* Endostatin induces endothelial cell apoptosis [J]. *J Biol Chem*, 1999, 274: 11721-11726.
- [11] Young-mi K, Jin-Wook J, Ok-Hee J, *et al.* Endostatin inhibits endothelial and tumor cellular invasion by blocking the activation and catalytic of matrix metalloproteinase 2 [J]. *Cancer Res*, 2000, 60: 5410-5413.
- [12] Mohanraj D, Ramani R, Ruediger V, *et al.* Endostatin: Yeast production, mutant, and antitumor effect in renal cell carcinoma [J]. *Cancer Res*, 1999, 39: 189-197.
- [13] Boehm T, Folkman J, Browder T, *et al.* Antiangiogenic therapy of experimental cancer does not induce acquired drug resistance [J]. *Nature*, 1997, 390(6658): 404-407.
- [14] Dhanabal M, Volk R, Ramchandran R, *et al.* Cloning, expression, and *in vivo* activity of human endostatin [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1998, 258: 5673-5677.
- [15] Ivan D, Jian-Zhong S, Bruce F, *et al.* Intratumoral administration of endostatin plasmid inhibits vascular growth and perfusion in Mca-4 murine mammary carcinomas [J]. *Cancer Res*, 2001 61: 526-531.
- [16] Kirsch M, Strasser J, Allende R, *et al.* Angiostatin suppress malignant glioma growth *in vivo* [J]. *Cancer Res*, 1998, 58: 4654-4659.
- [17] Nicholas JM, Wanda YS, David LN, *et al.* Endostatin binds tropomyosin a potential modulator of antitumor activity of endostatin [J]. *J Biol Chem*, 2001, 276: 25190-25196.
- [18] Marko R, Tanja V, Eola Kukk-Valdre, *et al.* Interaction of endostatin with integrins implicated in angiogenesis [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(3): 1024-1029.