ยายับยั้งการสร้างหลอดเลือด: แนวทางใหม่ในการรักษามะเร็ง

นงนิตย์ ธีระวัฒนสุข[1], บังอร ศรีพานิชกุลชัย[2]
[1]กลุ่มวิชาชีวเภสัชศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี
[2]ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

Antiangiogenic Agents: A New Approach to Cancer Treatment

Nongnit Teerawatanasuk[1], Bung-Orn Sripanidkulchai[2]
[1]Biopharmacy Discipline, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Ubonratchathani University
[2]Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Khon Kaen University

บทนำ

ในระยะเวลาที่ผ่านมากว่า 50 ปี ทิศทางการวิจัยและพัฒนายารักษามะเร็ง มุ่งเน้นไปที่การค้นหาสารที่มีฤทธิ์ทำลายเซลล์มะเร็งโดยตรง ที่เรียกว่า cytotoxic agents แม้ว่ายาเหล่านี้จะมีประสิทธิภาพในการทำลายเซลล์มะเร็งได้ดี สามารถลดอัตราการเสียชีวิตหรือทำให้ผู้ป่วยมีอายุยืนนานขึ้น แต่เนื่องจากยาจะทำลายเซลล์ปกติของร่างกายด้วย จึงก่อให้เกิดผลข้างเคียงที่รุนแรงต่าง ๆ มากมาย ซึ่งบางครั้งเป็นอุปสรรคในการรักษา นอกจากนี้เซลล์มะเร็งเป็นเซลล์ที่มีความแปรปรวนทางพันธุกรรมสูง (genetic instability) ดังนั้นเมื่อใช้ยาไปสักระยะหนึ่งก็มักจะเกิดปัญหาการดื้อยาตามมา แนวคิดใหม่ในการวิจัยและพัฒนายารักษามะเร็ง มีรากฐานมาจากสมมุติฐานของ Judah Folkman[1] ที่ว่า เมื่อมะเร็งแบ่งตัวเจริญเติบโตจนมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางมากกว่า 1-2 มิลลิเมตร การแพร่กระจายของสารอาหารและออกซิเจนจากหลอดเลือดเดิมที่มีอยู่จะไม่เพียงพอกับความต้องการ จึงต้องมีการเหนี่ยวนำให้สร้างหลอดเลือดใหม่ (tumor angiogenesis) เพื่อไปเลี้ยงก้อนมะเร็งนั้น ดังนั้นถ้ายับยั้งมิให้มีการสร้างหลอดเลือดก็จะทำให้มะเร็งหยุดเจริญเติบโตและอาจตายไปในที่สุด อย่างไรก็ดีแนวความคิดนี้ไม่ได้รับความสนใจเท่าที่ควรจนถึงปี ค.ศ. 1990 จึงเกิดกระแสความสนใจอย่างกว้างขวางในการศึกษากลไกและปัจจัยต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการเกิด angiogenesis และนำไปสู่การค้นพบยาที่มีฤทธิ์ยับยั้งการสร้างหลอดเลือดใหม่ (antiangiogenic agents) มากมายหลายกลุ่ม ในปัจจุบันมียาไม่น้อยกว่า 24 ชนิด ที่กำลังอยู่ในขั้นตอนการศึกษาวิจัยทางคลินิก[2]

Angiogenesis เป็นกระบวนการสร้างหลอดเลือดขึ้นมาใหม่ (neovascularization) โดยการงอกจากหลอดเลือดที่มีอยู่เดิม ปกติการสร้างหลอดเลือดใหม่จะเกิดในช่วงพัฒนาการของตัวอ่อน ซึ่งกำลังมีการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อและอวัยวะต่างๆ จึงต้องมีการสร้างหลอดเลือดไปเลี้ยงอวัยวะเหล่านั้น สำหรับในคนหรือสัตว์ที่เติบโตเต็มที่แล้วการสร้างหลอดเลือดจะเกิดขึ้นในบางสภาวะเท่านั้น เช่นเมื่อมีการซ่อมแซมเนื้อเยื่อของระบบสืบพันธุ์ของสตรีระหว่างรอบประจำเดือนหรือหลังการคลอด และการซ่อมแซมเนื้อเยื่อที่บาดเจ็บ (wound healing)

การสร้างหลอดเลือดใหม่มีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการเจริญเติบโตของมะเร็งเพราะเป็นเส้นทางลำเลียงสารอาหาร ออกซิเจน และของเสียที่เกิดขึ้น มาสู่และออกไปจากเนื้อเยื่อมะเร็ง นอกจากนี้การที่มีหลอดเลือดมาเลี้ยงจำนวนมากเป็นการเพิ่มโอกาสที่เซลล์มะเร็งจะกระจายเข้าสู่กระแสเลือด ประกอบกับผนังหลอดเลือดที่สร้างใหม่นั้นมีลักษณะค่อนข้างหลวมและแตกต่างจากหลอดเลือดของร่างกาย กล่าวคือ หลอดเลือดที่สร้างใหม่จะมีแต่ endothelial lining ไม่มี basement membrane ทำให้เซลล์มะเร็งแทรกผ่านได้ง่าย ดังนั้น tumor angiogenesis จึงเป็นปัจจัยส่งเสริมให้มะเร็งสามารถแพร่กระจายได้ดี ผลการศึกษาวิจัยจำนวนมากแสดงให้เห็นความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ angiogenic factors และความหนาแน่นของหลอดเลือดในก้อนมะเร็งกับความสามารถในการแพร่กระจายของมะเร็ง ความรุนแรงของโรค และพยากรณ์โรคที่เลว[3-5]

กลไกควบคุมการสร้างหลอดเลือดใหม่

การสร้างหลอดเลือดใหม่ถูกควบคุมอย่างรัดกุมด้วยกลไกที่ค่อนข้างซับซ้อน กลไกนี้เกี่ยวข้องกับสารในร่างกายซึ่งมีฤทธิ์ตรงกันข้ามกันสองกลุ่ม คือ กลุ่มที่มีฤทธิ์กระตุ้นการสร้างหลอดเลือดใหม่ (angiogenic factors) ได้แก่ growth factors ต่างๆซึ่งจะกล่าวต่อไป และกลุ่มที่มีฤทธิ์ต้านการสร้างหลอดเลือดใหม่ (antiangiogenic factors) เช่น thrombospondins, angiostatin, และ endostatin เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีสารอื่นๆ ซึ่งมีบทบาทเกี่ยวข้องในกระบวนการนี้ ได้แก่ เอนไซม์ matrix metalloproteinases ซึ่งทำหน้าที่ย่อย extracellular matrix proteins (ECM) และ integrins ซึ่งเป็นตัวจับ (receptor) ของ ECM ในภาวะปกติร่างกายมีการควบคุมให้เกิดสมดุลในการทำงานของสารเหล่านี้ ภาวะที่มีการกระตุ้นการสร้างหลอดเลือดใหม่ซึ่งผิดปกติเนื่องจากสูญเสียการควบคุม จะเป็นผลให้เกิดโรคต่าง ๆ ได้มากมาย อาทิ arthritis, inflammatory bowel disease, psoriasis, diabetic retinopathy และ cancer[6]

ดังที่ได้กล่าวมาข้างต้น การควบคุมการสร้างหลอดเลือดใหม่เกี่ยวข้องกับสารหลายชนิด สารเหล่านี้ทำงานสัมพันธ์กันอย่างจำเพาะต่อชนิดของเนื้อเยื่อและระยะเวลาที่กระบวนการดำเนินไป ในระยะสิบปีที่ผ่านมาได้มีการศึกษาเรื่องนี้อย่างกว้างขวาง ทำให้ทราบข้อมูลพื้นฐานที่เป็นประโยชน์ต่อการวิจัยและพัฒนายาเพื่อยับยั้งการสร้างหลอดเลือดใหม่ซึ่งอาจนำมาใช้รักษาโรคต่าง ๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งโรคมะเร็ง เพื่อที่จะเข้าใจกลไกการออกฤทธิ์ของยาเหล่านี้ จะขอกล่าวถึงบทบาทของสารสำคัญต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องดังนี้

Angiogenic factors: สารหลายชนิดในร่างกายมีคุณสมบัติกระตุ้นเซลล์เยื่อบุหลอดเลือด (endothelial cells, EC) ให้แบ่งตัวเจริญเติบโตและเคลื่อนย้ายมารวมกันเป็นท่อหลอดเลือดอันใหม่ เรียกสารเหล่านี้ว่า angiogenic factors ที่สำคัญได้แก่ vascular endothelial growth factor (VEGF), basic fibroblast growth factor (bFGF หรือ FGF1), platelet-derived growth factor (PDGF), epidermal growth factor (EGF), และ transforming growth factor (TGF) สารเหล่านี้ถูกสร้างและหลั่งออกมาโดยเซลล์มะเร็ง และเซลล์อื่นๆซึ่งอยู่บริเวณใกล้เคียง เช่น เม็ดเลือดขาว และ stromal cells[6-7]

ในบรรดาสารที่กล่าวข้างต้น VEGF เป็นสารที่มีฤทธิ์แรงและจำเพาะที่สุดต่อเซลล์เยื่อบุหลอดเลือด ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม พบ VEGF 6 ชนิด คือ VEGF (หรือ VEGF-A), PlGF (Placenta growth factor), VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, และ VEGF-E[8] การศึกษาในมะเร็งหลายชนิด พบว่าปริมาณของ VEGF, VEGF-B และ VEGF-C สูงกว่าในเซลล์ปกติมาก[9-10] นอกจากนี้ปริมาณ VEGF และ VEGF-C ที่เพิ่มขึ้นนั้นสัมพันธ์กับความหนาแน่นของหลอดเลือดที่ไปเลี้ยงมะเร็งด้วย[11-12] แม้ว่าจะไม่มีหลักฐานว่า VEGF-B เกี่ยวข้องโดยตรงกับการสร้างหลอดเลือดใหม่ แต่การที่เนื้อเยื่อมะเร็งหลายชนิดมีปริมาณ VEGF-B เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเช่นนี้ ทำให้ VEGF ทั้งสามชนิดที่กล่าวมาเป็นเป้าหมายสำคัญในการพัฒนายารักษามะเร็งตัวใหม่[13]

VEGF ออกฤทธิ์โดยจับกับ receptor ประเภท cell surface receptor tyrosine kinases (RTKs) ปัจจุบันพบ VEGF receptors (VEGFR) 3 ชนิด ได้แก่ VEGFR-1/Flt-1, VEGFR-2/Flk-1/KDR, และ VEGFR-3/Flt-4[8] โดย VEGF จับกับ VEGFR1, VEGFR2 ส่วน VEGF-B จับกับ VEGFR-1 และสำหรับ VEGF-C นั้นจับกับ VEGFR-2 และ VEGFR-3[13] เมื่อ VEGF จับกับ receptor จะกระตุ้นการรวมกันของ receptors 2 โมเลกุล และเกิด auto-phosphorylation คือการเติมหมู่ฟอสเฟตเข้าไปที่ตำแหน่งธัยโรซีนใน cytoplasmic domain ของ receptor จากนั้นก็จะมี signaling proteins ต่าง ๆ มาจับและเกิดปฏิกิริยาต่อเนื่องหลายขั้นตอน ซึ่งเป็นผลให้มีการส่งทอดสัญญาณ (signal transducion) เข้าสู่เซลล์ต่อไป

จากหลักฐานที่พบในปัจจุบัน VEGFR-2/Flk-1/KDR เป็น receptor ที่มีบทบาทสำคัญในการเกิด tumor angiogenesis และมีความสัมพันธ์โดยตรงกับการเจริญเติบโตและการแพร่กระจายของมะเร็ง[14-15] ดังนั้น receptor นี้จึงเป็นเป้าหมายสำคัญอันหนึ่งในการวิจัยและพัฒนายารักษามะเร็ง

Matrix metalloproteinase (MMP): การสร้างหลอดเลือดใหม่และการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งเป็นกระบวนการที่ต้องมีการสลาย ECM เพื่อเปิดทางให้เซลล์เยื่อบุหลอดเลือดเคลื่อนย้ายมารวมกันเป็นท่อหลอดเลือดใหม่ หรือทำให้เซลล์มะเร็งสามารถเจริญรุกเข้าไปในเนื้อเยื่อข้างเคียงได้ ในขณะที่กระบวนการเหล่านี้ดำเนินไปจำเป็นต้องมีการสร้าง ECM ขึ้นมาใหม่แทนส่วนที่ถูกสลายไป เรียกว่า ECM remodeling เอนไซม์ที่ทำหน้าที่สลาย ECM คือ matrix metalloproteinases (MMP) ซึ่งจัดเป็น endopeptidases ในปัจจุบันพบ MMP แล้วกว่า 20 ชนิด16 แบ่งเป็น 5 กลุ่ม คือ collagenases, gelatinases, stromelysins, membrane-type (MT) MMP และกลุ่มอื่นๆ (ตารางที่ 1) เอนไซม์เหล่านี้มีความแตกต่างกันทั้งปริมาณที่พบ การกระจายตัวในเนื้อเยื่อต่าง ๆ และบทบาทหน้าที่

ในเนื้อเยื่อปกติทั่วไปจะมี MMP ในปริมาณน้อยและ/หรืออยู่ในสภาพที่ไม่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ แต่จะมีปริมาณเพิ่มสูงขึ้นและ/หรือมีฤทธิ์เพิ่มขึ้นในภาวะที่เกิดพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อ เช่น ปฏิกิริยาการอักเสบ การซ่อมแซมบาดแผล ปฏิกิริยาภูมิคุ้มกันต่อเนื้อเยื่อตัวเอง การสร้างหลอดเลือดใหม่ การรุกรานและการแพร่กระจายของมะเร็ง เป็นต้น

ตารางที่ 1 การแบ่งกลุ่ม Matrix metalloproteinases[16,71]

MMP number	Enzyme	Principal substrates
Collagenases		
MMP-1	Interstitial collagenase	ProMMP-2, proMMP-9 fibrillar collagens, types I, II, III
MMP-8	Neutrophil collagenase	fibrillar collagens, types I, II, III
MMP-13	Collagenase-3	Type I collagen
MMP-18	Collagenase-4 (Xenopus)	not defined
Gelatinase		
MMP-2	Gelatinase A	ProMMP-9, gelatin, elastin, fibronectin, laminin, nonfibrillar collagens
MMP-9	Gelatinase B	gelatin, elastin, nonfibrillar collagens
Stromelysins		
MMP-3	Stromelysin-1	ProMMP-1, ProMMP-7, ProMMP-8, ProMMP-9, ProMMP-13, laminin, proteoglycan, nonfibrillar collagens, aggrecan,
MMP-10	Stromelysin-2	aggrecan, fibronectin, laminin, proteoglycan, nonfibrillar collagens
MMP-11	Stromelysin-3	serine protease inhibitors (Serpins)
Membrane-type MMPs		
MMP-14	MT1-MMP	ProMMP-2, ProMMP-13, fibrillar collagen
MMP-15	MT2-MMP	not defined
MMP-16	MT3-MMP	ProMMP-2
MMP-17	MT4-MMP	not defined
Others		
MMP-7	Matrilysin	proMMP-9, aggrecan, fibronectin, laminin, nonfibrillar collagens
MMP-12	Metalloelastase	elastin, nonfibrillar collagens
MMP-19	(Unnamed)	not defined
MMP-20	Enamelysin	enamel matrix

บทบาทของ MMP ต่อการเกิด tumor angiogenesis เป็นเรื่องที่มีการศึกษาวิจัยอย่างกว้างขวาง พบว่าอาจมี MMP หลายชนิดเกี่ยวข้องกับการสร้างหลอดเลือดใหม่ แต่ที่มีหลักฐานพิสูจน์แน่ชัด คือ MMP-2 หรือ gelatinase จากการศึกษาของ Schnaper และคณะ[17] พบว่าในขณะที่มีการสร้างท่อหลอดเลือดใหม่ เซลล์เยื่อบุหลอดเลือดจะมีปริมาณ MMP-2 เพิ่มสูงขึ้นมาก ซึ่งทำให้หลอดเลือดใหม่เจริญเติบโตได้ดี การศึกษาในหนูทดลองซึ่งไม่มียีน MMP-2 (MMP2 -/- mice) พบว่าการเติบโตและแพร่กระจายของมะเร็งชนิดเมลาโนมาและมะเร็งปอดจะน้อยลงและความหนาแน่นของหลอดเลือดที่ไปเลี้ยงมะเร็งก็ลดลงด้วย[18] การศึกษาใน chrondosarcoma nodules พบว่าการยับยั้งฤทธิ์ของ MMP-2 ด้วย MMP-2 antisense oligonucleotides สามารถยับยั้งการสร้างหลอดเลือดใหม่ในก้อนมะเร็งและยับยั้งการเจริญเติบโตของมะเร็งกว่าร้อยละ 70[19]

อย่างไรก็ดี บทบาทของ MMP มีความซับซ้อนมากกว่าที่เคยเข้าใจว่าทำหน้าที่เพียงย่อยสลาย ECM เพื่อเปิดทางให้มีการเคลื่อนย้ายเซลล์และการงอกของหลอดเลือดใหม่ มีรายงานว่า MMP หลายชนิด เช่น MMP-2, MMP-7, MMP-9, MMP-12 สามารถย่อยสลาย plasminogen ได้สาร angiostatin ซึ่งมีฤทธิ์ antiangiogenesis[20-22] ดังนั้น MMP จึงอาจมีสองบทบาทคือ กระตุ้นและ/หรือยับยั้งการสร้างหลอดเลือดใหม่ ทั้งนี้ขึ้นกับปัจจัยต่าง ๆ อาทิ ชนิดของมะเร็งและเซลล์ที่อยู่รอบข้าง ชนิดของ MMP ที่พบในมะเร็งชนิดนั้น และอาจขึ้นกับระยะของโรคด้วย[23]

เนื่องจาก MMP มีบทบาทสองด้านที่ตรงกันข้ามกันเช่นนี้ จึงทำให้การพัฒนายาซึ่งออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงาน MMP เพื่อนำมาใช้รักษามะเร็ง มีความซับซ้อน เพราะต้องคำนึงถึงชนิดของมะเร็งและระยะของโรค นอกจากนี้ยังต้องศึกษาให้รู้แน่ชัดถึงบทบาทหน้าที่ของ MMP แต่ละชนิดด้วย

Integrins: เป็นไกลโคโปรตีนซึ่งพบที่ผิวเซลล์ ทำหน้าที่เป็นตัวจับของ ECM ทำให้เกิดการยึดเกาะของเซลล์ กับ ECM และการยึดกันระหว่างเซลล์ และนอกจากนี้ integrins ยังทำหน้าที่ในการส่งทอดสัญญาณเข้าออกเซลล์สองทิศทาง ซึ่งมีผลควบคุมการแบ่งตัวและการเจริญเติบโตของเซลล์ โมเลกุลของ integrins ประกอบด้วยโปรตีน 2 สาย คือ α และ β subunits ในปัจจุบันพบ α subunit จำนวน 16 isoforms และ β subunit จำนวน 8 isoforms และ isoforms เหล่านี้สามารถรวมกันเป็นโมเลกุลของ integrins ได้ไม่น้อยกว่า 22 ชนิด[24]

สารที่จับกับ integrins (ligands) ส่วนใหญ่ได้แก่ ECM proteins เช่น collagens, laminin, vitronectin, fibronectin, intercellular adhesion molecule (ICAM) และ vascular cell adhesion molecule (VCAM)[25] โดย integrins จะจับกับบริเวณเปปไทด์สั้น ๆ ซึ่งอยู่ในสายโปรตีนนั้น เช่นบริเวณที่มีลำดับกรดอมิโนเป็น RGD (Arg-Gly-Asp) เป็นต้น นอกจากนี้ integrins บางชนิดยังสามารถจับกับ adhesion receptors อื่น ๆ เช่น Ig-CAMs และ cadherins

Integrins เป็นสารที่มีบทบาทสำคัญตัวหนึ่งในกระบวนการสร้างหลอดเลือดใหม่ ในหลอดเลือดปกติจะมีชนิดและปริมาณของ integrins ในชั้นต่าง ๆ แตกต่างกันออกไป และในหลอดเลือดที่กำลังสร้างใหม่ก็จะมี integrins แตกต่างไปจากหลอดเลือดปกติ Integrins ที่มีบทบาทสำคัญในการสร้างหลอดเลือดใหม่คือ $\alpha v\beta 3$ และ $\alpha v\beta 5$ ซึ่งปกติมีปริมาณน้อยมากในเซลล์เยื่อบุและเซลล์กล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือด แต่จะมีปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างมากในหลอดเลือดที่กำลังสร้างใหม่[26-27]

จากการศึกษาวิจัยซึ่งทำใน chick chorioallantoic membrane (CAM), quail embryo, mouse retina, rabbit cornea, และ arthritic knee[27-31] พบว่าถ้าให้ antibody หรือ RGD peptide antagonist ไปยับยั้งการทำงานของ $\alpha v\beta 3$ integrin จะทำให้ไม่มีการสร้างหลอดเลือดในตัวอ่อนหรือเนื้อเยื่อที่ศึกษา แสดงให้เห็นว่า $\alpha v\beta 3$ มีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตและการอยู่รอดของเซลล์หลอดเลือดที่สร้างใหม่ นอกจากนี้พบว่า $\alpha v\beta 3$ จะจับกับ MMP-2 ทำให้เอนไซม์นี้ถูกตรึงไว้ที่หลอดเลือดส่วนที่งอกใหม่ซึ่งจะช่วยทำให้เกิด ECM remodeling และเพิ่มความสามารถของหลอดเลือดในการเจริญรุกเข้าไปในก้อนมะเร็ง[32]

นอกจาก $\alpha v\beta 3$ ที่กล่าวข้างต้นแล้ว ยังมี integrins ชนิดอื่นที่อาจมีบทบาทเกี่ยวข้องการสร้างหลอดเลือดใหม่ เช่น $\alpha v\beta 5$ และ $\alpha 5\beta 1$ เนื่องจากมีรายงานว่า anti- $\alpha v\beta 5$ antagonist สามารถยับยั้งการสร้างหลอดเลือดใหม่ซึ่งเกิดจากการกระตุ้นของ VEGF[33] และการศึกษาผลของ $\alpha 5\beta 1$ ต่อพัฒนาการของตัวอ่อนในหนู พบว่าถ้าทำลายยีน $\alpha 5\beta 1$ จะทำให้ลูกหนูมีความผิดปกติของหลอดเลือดและตายก่อนคลอด[34] อย่างไรก็ตามบทบาทของ integrins ชนิดอื่นนั้นไม่เป็นที่ยืนยันแน่ชัด ดังนั้นการพัฒนายาเพื่อยับยั้งการสร้างหลอดเลือดใหม่ในมะเร็งจึงเน้นการต้านการทำงานของ $\alpha v\beta 3$ integrin เป็นสำคัญ

สารยับยั้งการสร้างหลอดเลือดใหม่ (Inhibitors of Angiogenesis)

จากที่ได้กล่าวมาข้างต้น การสร้างหลอดเลือดใหม่ถูกควบคุมโดยสารต่าง ๆ ในร่างกายหลายชนิด ซึ่งทำงานสัมพันธ์กันอย่างสมดุล การวิจัยและพัฒนาสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งการสร้างหลอดเลือดใหม่จึงมุ่งไปที่การหาสารซึ่งออกฤทธิ์ยับยั้งที่ขั้นตอนต่าง ๆ ในการควบคุมการสร้างหลอดเลือดใหม่ ในปัจจุบันพบสารหลายชนิดทั้งที่ถูกสร้างขึ้นในร่างกาย

หรือได้จากภายนอกที่มีประสิทธิภาพยับยั้งการสร้างหลอดเลือดใหม่ ซึ่งอาจจำแนกกลุ่มได้ดังนี้ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 สารยับยั้งการสร้างหลอดเลือดใหม่

1. **Angiogenic inhibitors**
   1.1 Endogenous inhibitors
   - Thrombospondins
   - Angiostatin
   - Endostatin

   1.2 Synthetic inhibitors
   - Small molecule antiangiogenic agents: e.g. ZD4190, ZD6474, SU5416, SU6668, ST1412, CGP41251
2. **Antibodies to growth factor or growth factor receptor**
   - Antibody to vascular endothelial growth factor: rhumAB-anti VEGF antibody
   - Antibody to vascular growth factor receptor: anti-Flk-1 antibody
3. **Matrix metalloproteinase inhibitors**
   - Marimastat
   - AG3340
   - Bay12-9566
4. **Integrin blocking agents**
   - Antibodies to integrin $\alpha v\beta 3$
   - Small molecule nonpeptide antagonists: SB223245, SB265123, SB267268, SC65811, SC68448, SM256
5. **Other compounds**
   - Thalidomide
   - Carboxyamidotriazole (CAI)
   - Interferons

1. Angiogenic inhibitors

1.1) Endogenous inhibitors: ได้แก่

- Thrombospondins (TSP) เป็นโปรตีนที่หลั่งจากเซลล์หลายชนิด เช่น endothelial cells, fibroblasts, keratinocytes, glial, smooth muscle cells โปรตีนกลุ่มนี้มีประมาณ 5 ชนิด ที่สำคัญคือTSP-1 และ TSP-2 ซึ่งมีฤทธิ์แรงในการยับยั้งการสร้างหลอดเลือดใหม่และการเจริญเติบโตของมะเร็ง35-36 TSP ออกฤทธิ์โดยจับกับ CD36 (glycoprotein IV) ซึ่งเป็น transmembrane protein พบที่เซลล์เยื่อบุหลอดเลือด เมื่อ TSP จับกับ CD36 จะเกิดการส่งทอดสัญญาณเข้าสู่เซลล์และยับยั้งการแบ่งตัวและเคลื่อนย้ายเซลล์เยื่อบุหลอดเลือดซึ่งเป็นกระบวนการที่จำเป็นเมื่อเริ่มมีการสร้างหลอดเลือดใหม่ สารในกลุ่มนี้ยังอยู่ในระหว่างการศึกษาวิจัยในสัตว์ทดลอง

- Angiostatin เป็นเปปไทด์ตัวแรกที่พบว่ามีฤทธิ์ยับยั้ง tumor angiogenesis[37] เปปไทด์นี้เป็นชิ้นส่วนที่ได้จากการย่อยสลาย plasminogen โดยเอนไซม์ serine protease ซึ่งเชื่อว่าถูกสร้างจากเนื้อเยื่อมะเร็งนั่นเอง[38] สารนี้มีฤทธิ์จำเพาะในการยับยั้งการแบ่งตัวและการเคลื่อนที่ของ endothelial cells เพื่อมารวมเป็นหลอดเลือดใหม่ กลไกการออกฤทธิ์ไม่เป็นที่ทราบแน่ชัดแต่เข้าใจว่า angiostatin ไปจับกับ ATP synthase มีผลลดการสร้าง ATP ของเซลล์หลอดเลือด ทำให้เซลล์ไวต่อการถูก ทำลาย[39] ปัจจุบัน angiostatin กำลังอยู่ในระหว่างการศึกษาวิจัยทางคลินิกระยะที่ 1 เพื่อนำมาใช้ในการรักษามะเร็ง

- Endostatin เป็นเปปไทด์อีกตัวหนึ่งที่มีฤทธิ์ยับยั้ง tumor angiogenesis เปปไทด์นี้เป็นชิ้นส่วนที่ได้จากการย่อย collagen XVII ซึ่งพบบริเวณใกล้หลอดเลือด Endostatin มีฤทธิ์แรงในการยับยั้งการแบ่งตัวของเซลล์หลอดเลือด ทำให้เซลล์หลอดเลือดตาย (apoptosis) และสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตและการแพร่กระจายของมะเร็งได้ พบว่าการใช้ endostatin ร่วมกับ angiostatin มีฤทธิ์เสริมกันและทำให้ก้อน

มะเร็งฝ่อและหยุดการเจริญเติบโต กลไกการออกฤทธิ์ของ endostatin ไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด แต่เข้าใจว่าไปยับยั้ง MAP kinase activation ที่เซลล์ของหลอดเลือด[40] ปัจจุบัน angiostatin กำลังอยู่ในระหว่างการศึกษาวิจัยทางคลินิกระยะที่ 1

1.2) Synthetic inhibitors: เป็นสารเคมีที่มีโมเลกุลขนาดเล็ก ออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของ angiogenic factors โดยการปิดกั้นที่ receptors[41] สารในกลุ่มนี้มีสูตรโครงสร้างทางเคมีแตกต่างกันหลายชนิด ซึ่งจะขอกล่าวเฉพาะสารที่น่าสนใจ ดังนี้

- Quinazolines: ได้แก่ ZD4190 และ ZD6474 (AstraZeneca, Pharmaceuticals, Macclesfield, UK) ZD4190 ออกฤทธิ์จำเพาะต่อทั้ง Flt-1 และ Flk-1/KDR จากการศึกษาในหนูซึ่งถูกปลูกถ่ายด้วยเนื้อเยื่อมะเร็งต่าง ๆ ของคน (human tumor xenografts) เช่น มะเร็งลำไส้ ปอด เต้านม รังไข่ และต่อมลูกหมาก พบว่ายานี้สามารถลดการเจริญเติบโตของมะเร็งที่ถูกปลูกถ่ายเหล่านี้ได้และฤทธิ์ต้านมะเร็งจะสัมพันธ์กับการยับยั้งการสร้างหลอดเลือดไปเลี้ยงก้อนมะเร็ง[42-43] สำหรับ ZD6474 ซึ่งมีฤทธิ์จำเพาะต่อ Flk-1/KDR พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของมะเร็งชนิดต่าง ๆ ที่ปลูกถ่ายเข้าไปในหนูทดลองเช่นกัน ปัจจุบันยานี้กำลังอยู่ในขั้นตอนการศึกษาวิจัยทางคลินิกระยะที่ 1[41]

- Indolin-2-ones: ได้แก่ SU5416 และ SU6668 (SUGEN, San Francisco, CA, USA)SU5416 ออกฤทธิ์จำเพาะต่อ Flk-1/KDR[44] สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของมะเร็งชนิดต่างๆ ที่ปลูกถ่ายเข้าไปในหนูทดลอง และยับยั้งการสร้างหลอดเลือดใหม่[45] ยานี้อยู่ในขั้นตอนการวิจัยทางคลินิกระยะท้าย พบว่ายามีประสิทธิภาพดีต่อมะเร็งลำไส้ มะเร็งปอด และ Kaposi's sarcoma ในผู้ป่วยโรคเอดส์ ส่วน SU6668 ออกฤทธิ์ต่อทั้ง Flk-1/KDR, FGFR, และ PDGFR46 ผลการศึกษาในหนูทดลองพบว่ายานี้สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของมะเร็งชนิดต่าง ๆ ที่ปลูกถ่ายเข้าไปในหนูทดลองและลดการสร้างหลอดเลือดใหม่ได้เช่นกัน[45] ปัจจุบัน SU6668 อยู่ในขั้นตอนการศึกษาวิจัยทางคลินิกระยะที่ 1

- Staurosporine derivatives: ได้แก่ ST1412 หรือ CGP41251 (Novartis AG, Basel, Switzerland) ออกฤทธิ์ปิดกั้น Flk-1/KDR ผลการศึกษาในเซลล์มะเร็งเพาะเลี้ยงพบว่ายานี้สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งหลายชนิด[47] และผลการศึกษาในสัตว์ทดลองพบว่ายาสามารถลดการเจริญเติบโตของมะเร็งและลดการสร้างหลอดเลือดใหม่ด้วย ปัจจุบันยานี้อยู่ในขั้นตอนการศึกษาวิจัยทางคลินิกระยะที่ 2 เพื่อประเมินประสิทธิภาพในการรักษามะเร็งลำไส้ มะเร็งเต้านม และมะเร็งเม็ดเลือดขาว

2. Antibodies to growth factor or growth factor receptor:

- rhumAb-anti VEGF antibody (Genetech, South San Francisco, CA, USA) เป็น recombinant humanized monoclonal antibody ต่อ VEGF อยู่ในระหว่างการศึกษาวิจัยทางคลินิกระยะที่ 2 ในผู้ป่วยมะเร็งต่อมลูกหมาก[48]

- Anti-Flk-1 antibody (Imclone, Somerville, NJ, USA) เป็น monoclonal antibody ต่อ Flk-1/KDR จากการศึกษาพบว่ายานี้สามารถลดการเจริญเติบโตของมะเร็งโดยการไปยับยั้งการสร้างหลอดเลือดใหม่[49] ยานี้อยู่ในขั้นการศึกษาวิจัยทางคลินิกระยะที่ 1

3. Matrix metalloproteinase (MMP) inhibitors:

MMP inhibitors ที่มีฤทธิ์ยับยั้งการสร้างหลอดเลือดใหม่ซึ่งถูกพัฒนามาเพื่อใช้เป็นยารักษามะเร็ง ได้แก่ marimastat (British Biotech, Oxford, UK), AG3340 (Agouron Pharmaceutical, La Jolla, CA, USA), Bay 12-9566 (Bayer Corporation, West Haven, CT, USA)[16,50]

ยา marimastat มีฤทธิ์ยับยั้ง MMP หลายชนิด รวมทั้ง MMP-2 ผลการศึกษาวิจัยทางคลินิกระยะที่ 1-2 ในผู้ป่วย 371 ราย ซึ่งเป็นมะเร็งของอวัยวะต่าง ๆ เช่น ต่อมลูกหมาก รังไข่ ลำไส้ใหญ่และทวารหนัก พบว่ายามีประสิทธิภาพทำให้อัตราการดำเนินโรคช้าลง[51] แต่ผลการศึกษาในผู้ป่วยมะเร็งตับอ่อนระยะรุนแรง พบว่าอัตราการรอดชีวิตของผู้ที่ได้รับการรักษาด้วยยานี้ไม่ได้ดีกว่า gemcitabine ซึ่งเป็นยามาตรฐานที่ใช้ในการรักษามะเร็งชนิดนี้[50] อย่างไรก็ดีการศึกษาวิจัยทางคลินิกระยะที่ 3 ในผู้ป่วย advanced gastric cancer จำนวน 369 ราย พบว่าผู้ป่วยที่ได้รับยา marimastat มีอัตราการรอดชีวิตสูงกว่าผู้ที่ได้รับยาหลอกอย่างมีนัยสำคัญ[52] Marimastat มีฤทธิ์ข้างเคียงไม่รุนแรง ที่พบบ่อยได้แก่อาการปวดบวมที่ข้อ ข้อติดขัดและเคลื่อนไหวได้ช้า ซึ่งส่วนใหญ่เกิดกับข้อขนาดเล็ก อาการข้างเคียงนี้ขึ้นกับขนาดยาที่ผู้ป่วยได้รับและหายไปเมื่อหยุดยา

ยา AG3340 นั้น อยู่ในระหว่างการศึกษาวิจัยทางคลินิกระยะที่ 3 ในการรักษามะเร็งปอดและมะเร็งต่อมลูกหมาก โดยใช้ร่วมกับยาสูตรมาตรฐานประเภท cytotoxic drugs

สำหรับยา Bay12-9566 นั้น ผลการศึกษาวิจัยทางคลินิกระยะที่ 3 ในผู้ป่วยมะเร็งตับอ่อนและมะเร็งปอด (small cell lung cancer) ปรากฏว่าผู้ที่ได้รับยานี้มีอัตราการรอดชีวิตต่ำกว่าผู้ที่ได้รับยาหลอก ในปัจจุบันจึงไม่มีการนำยานี้มาศึกษาอีก[53]

4. Integrin blocking agents:

สารยับยั้งการทำงานของ integrins ซึ่งถูกพัฒนาเป็นยา

ที่สำคัญมี 2 กลุ่ม คือ anti-integrin antibody และ nonpeptide antagonists จากการศึกษาวิจัยที่ผ่านมาพบว่าสารเหล่านี้สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของมะเร็งได้[54-57]

- Anti-integrin antibody: ได้แก่ anti $\alpha v\beta 3$ monoclonal antibody (VitaxinR, Monsanto/ Searle, Chesterfield, MO, USA) ผลการศึกษาวิจัยทางคลินิกระยะที่ 1 ซึ่งทำการศึกษาในผู้ป่วยโรคมะเร็งระยะสุดท้ายจำนวน 14 ราย พบว่าผู้ป่วยจำนวน 8 รายมีอาการทรงตัวและบางรายก้อนมะเร็งมีขนาดเล็กลง โดยที่ไม่ปรากฏพิษที่รุนแรงแม้ว่าจะใช้ยาติดต่อกันนานถึง 22 เดือน[58] ผลที่น่าพึงพอใจนี้ ทำให้ยาตัวนี้ผ่านเข้าสู่การศึกษาวิจัยทางคลินิกระยะที่ 2

- Nonpeptide antagonists: เป็นสารเคมีโมเลกุลขนาดเล็กที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของ integrins ซึ่งมีการจดสิทธิบัตรไว้แล้วกว่า 80 ชนิด[57] สารเหล่านี้หลายตัวมีความจำเพาะต่อ $\alpha v\beta 3$ integrin เช่น SB223245, SB265123, SB267268 (SmithKline Beecham, King of Prussia, PA, USA), SC65811 และ SC68448 (Monsanto/Searle) SM256 (DuPont, Wilmington, DE, USA) ปัจจุบันยากลุ่มนี้ยังอยู่ในขั้นตอนการศึกษาวิจัยในสัตว์ทดลอง (Preclinical study) เพื่อทดสอบประสิทธิภาพและความปลอดภัยในการนำมารักษาโรคในคน

5. Other compounds:

- Thalidomide: เคยนำมาใช้เป็นยาทำให้ง่วงและใช้ลดอาการคลื่นไส้อาเจียนในหญิงมีครรภ์ แต่ถูกถอนทะเบียนเพราะทำให้เกิดความพิการแก่ทารกในครรภ์ (teratogenic effect) ต่อมามีรายงานว่า thalidomide สามารถยับยั้งการสร้างหลอดเลือดใหม่[59] ซึ่งอาจทำให้ยาตัวนี้มีประโยชน์ในการรักษามะเร็งได้ กลไกการยับยั้งการสร้างหลอดเลือดใหม่ของ thalidomide เกิดจากการที่ยาไปยับยั้งการทำงานของ angiogenic factors ที่สำคัญคือ VEGF และ bFGF นอกจากนี้ยังสามารถยับยั้งการสร้าง cytokines ต่างๆ เช่น TNF-α, IL-12, IL-6 แต่กระตุ้นการสร้าง IL-2 และ IFN-γ[60]

Thalidomide ได้รับความสนใจอย่างกว้างขวางในการศึกษาวิจัยทางคลินิกเพื่อทดสอบฤทธิ์ต้านมะเร็งชนิดต่างๆ ทั้ง solid tumors และ hematologic malignancies พบว่ามะเร็งที่ตอบสนองดีต่อ thalidomide คือ multiple myeloma[61] และ glioblastoma multiforme (GBM)[62] นอกจากนี้ thalidomide อาจจะมีประโยชน์ในการรักษามะเร็งชนิดอื่นๆ ซึ่งจะต้องรอประเมินผลจากการศึกษาวิจัยที่กำลังดำเนินการ

ขนาดยา thalidomide ที่ใช้ในการรักษามะเร็ง มีฤทธิ์ข้างเคียงที่ไม่รุนแรงที่พบบ่อยได้แก่ ง่วงนอน คลื่นไส้อาเจียน ผื่นคันตามผิวหนัง นอกจากนี้อาจพบอาการข้างเคียงของระบบประสาทส่วนปลาย เช่น ปวดชาที่นิ้ว กล้ามเนื้อเป็นตะคริว อ่อนเพลีย เป็นต้น แต่เนื่องจากยานี้ทำให้ทารกในครรภ์พิการจึงห้ามใช้ในสตรีตั้งครรภ์

- Carboxyamidotriazole (CAI): เป็นยาปิดกั้น calcium channels ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งการสร้างหลอดเลือดใหม่ ยานี้สามารถยับยั้งการแบ่งตัวและลดการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งในสัตว์ทดลองได้ ปัจจุบันกำลังอยู่ในระหว่างการศึกษาวิจัยทางคลินิกระยะที่ 1 พบว่าการให้ยานี้ในผู้ป่วยมะเร็ง สามารถลดการดำเนินโรคในผู้ป่วยร้อยละ 49[63]

- Interferon-alpha: เป็น cytokines ที่มีฤทธิ์ยับยั้งการสร้างหลอดเลือดใหม่โดยไปลดการสร้าง bFGF และ VEGF การศึกษาทางคลินิกพบว่ายานี้ให้ผลดีในการรักษา hemangioma ซึ่งเป็น benign tumor ของเซลล์เยื่อบุหลอดเลือด[64] และจัดว่าเป็นยาที่ดีที่สุดสำหรับการรักษาโรคนี้แต่ต้องใช้ติดต่อกันนาน 9-12 เดือน นอกจากนี้พบว่า interferon alpha-2a สามารถลดขนาดของมะเร็งชนิด giant-cell ของกระดูกขากรรไกรและลดอัตราการกลับมาเป็นใหม่อย่างมีนัยสำคัญ[65]

บทสรุป

ยายับยั้งการสร้างหลอดเลือดใหม่ที่กล่าวมาข้างต้นส่วนใหญ่ยังอยู่ในระหว่างการศึกษาวิจัยทางคลินิก และยังไม่มียาที่ได้รับการรับรองจากคณะกรรมการอาหารและยาของสหรัฐให้วางจำหน่าย จากการศึกษาวิจัยทางคลินิกซึ่งเป็นการใช้ยาในระยะสั้น ไม่พบว่ายากลุ่มนี้ก่อให้เกิดพิษหรือฤทธิ์ที่ไม่พึงประสงค์ที่รุนแรง อย่างไรก็ตามยังไม่มีข้อมูลเพียงพอที่จะยืนยันถึงความปลอดภัยเมื่อใช้ในระยะยาว ที่ต้องระวังคือ ยาอาจมีผลต่อการซ่อมแซมบาดแผลและมีผลต่อระบบสืบพันธุ์สตรี เช่น ทำให้แท้ง และตั้งครรภ์ยาก (contraceptive activity)[66] นอกจากนี้อาจมีผลเสียต่อพัฒนาการของอวัยวะต่าง ๆ ในเด็กและทารก ทำให้เกิดความพิการได้

การยับยั้งการสร้างหลอดเลือดใหม่ เป็นการทำลายเซลล์มะเร็งทางอ้อม โดยการตัดเส้นทางลำเลียงสารอาหารและออกซิเจน เป้าหมายการออกฤทธิ์ของยาคือเซลล์เยื่อบุหลอดเลือดที่กำลังสร้างใหม่ ด้วยกลไกการออกฤทธิ์ค่อนข้างจำเพาะ จึงทำให้ยากลุ่มนี้มีข้อดีเหนือกว่า cytotoxic drugs คือ ไม่เป็นอันตรายต่อเซลล์อื่น ๆ ของร่างกาย นอกจากนี้เซลล์เยื่อบุหลอดเลือดนั้นจัดเป็นเซลล์ที่มีพันธุกรรมปกติ จึงไม่ค่อยมีการดื้อต่อยา[67-69] ซึ่งต่างจาก cytotoxic drugs ที่มักเกิดการดื้อยาได้บ่อยเพราะยาออกฤทธิ์โดยตรงที่เซลล์มะเร็งซึ่งเป็นเซลล์มีความแปรปรวนทางพันธุกรรมสูง

แม้ว่าโดยทฤษฎีแล้วยายับยั้งการสร้างหลอดเลือดใหม่จะเป็นความหวังใหม่ในการรักษามะเร็งซึ่งสร้างความตื่นเต้นให้กับวงการแพทย์เป็นอย่างมาก แต่ผลการศึกษาวิจัยที่ผ่าน

มาพบว่ายาส่วนใหญ่ออกฤทธิ์ค่อนข้างช้าต้องใช้ยานานหลายเดือนจึงจะเห็นผลในการทำให้เนื้อเยื่อมะเร็งหยุดเจริญเติบโตและฝ่อเล็กลง (tumor regression) และการออกฤทธิ์ทำให้ก้อนมะเร็งยุบลงของยากลุ่ม antiangiogenesis ค่อนข้างน้อย กล่าวคือเพียงทำให้ก้อนมีขนาดคงที่ ดังนั้นแนวทางในอนาคตน่าจะมีการนำยากลุ่มนี้มาใช้ร่วมกับ cytotoxic drugs เพื่อเสริมประสิทธิภาพการรักษามากกว่าจะนำมาใช้เดี่ยว ๆ (monotherapy)[2,70]

บรรณานุกรม

1. Folkman J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications. N Engl J Med 1971;285:1182-6.
2. Kerbel RS. Tumor angiogenesis: past, present and the near future. Carcinogenesis 2000;21:505-15.
3. Weidner N, Semple JP, Welch WR, Folkman J. Tumor angiogenesis and metastasis-correlation in invasive breast carcinoma. N Engl J Med 1991;324:1-8.
4. Nanus DM, Schmitz-Drager BJ, Motzer RJ, Lee AC, Vlamis V, Cordon-Cardo C, et al. Expression of basic fibroblast growth factor in primary human renal tumors: correlation with poor survival. J Natl Cancer Inst 1993;85:1597-9.
5. Relf M, Lejeune S, Scott PA, Fox S, Smith K, Leek R, et al. Expression of the angiogenic factors, vascular endothelial growth factor, acidic and basic fibroblast growth factor, tumor growth growth factor beta-1, platelet-derived growth factor, endothelial cell growth factor, and pliotrophin in human primary breast cancer and its relation to angiogenesis. Cancer Res 1997;57:963-9.
6. Haroon Z, Peters KG, Greenberg CS, Dewhirst MW. Angiogenesis and blood flow in the solid tumors. In: Teicher BA, ed. Antiangiogenic Agents in Cancer Therapy. New Jersey: Humana Press Inc., 1999:3-21.
7. Zetter BR. Angiogenesis and tumor metastasis. Annu Rev Med 1998;49:407-24.
8. McMahon G. VEGF receptors signaling in tumor angiogenesis. Oncologist 2000;5 (suppl 1):3-10.
9. Ferrara N, Davis-Smyth T. The biology of vascular endothelial growth factor. Endocrine Rev 1997;18:4-25.
10. Salven P, Lymboussaki A, Heikkila P, Jaaskela-Saari H, Enholm B, Aase K, et al. Vascular endothelial growth factors VEGF-B and VEGF-C are expressed in human tumor cells. Am J Pathol 1998;153:103-8.
11. Viglietto G, Romano A, Maglione D, Rambaldi M, Paoletti I, Lago CT, et al. Neovascularization in human germ cell tumors correlates with a marked increase in the expression of vascular endothelial growth factor but not placenta growth factor. Oncogene 1996;13:577-87.
12. Valtola R, Salven P, Heikkila P, Taipale J, Joensuu H, Rehn M, et al. VEGFR-3 and its ligand VEGF-C are associated with angiogenesis in breast cancers. Am J Pathol 1999;154:1381-90.
13. Olofsson B, Jeltsch M, Eriksson U, Alitalo K. Current biology of VEGF-B and VEGF-C. Curr Opin Biotech 1999;10:528-35.
14. Millauer B, Shawver LK, Plate KH, Risau W, Ullrich A. Glioblastoma growth inhibited in vivo by a dominant-negative Flk-1 mutant. Nature 1994;367:576-9.
15. Bernatchez PN, Soker S, Sirois MG. Vascular endothelial growth factor effect on endothelial cell proliferation, migration, and platelet-activating factor synthesis is Flk-1 dependent. J Biol Chem 1999;274:31047-54.
16. Johnson LL, Dyer R, Hupe DJ. Matrix metalloproteinases. Curr Opin Chem Biol 1998;2:466-71.
17. Schnaper HW, Grant DS, Stetler-Stevenson WG, Fridman J, D'Orazi G, Murphy AN. et al. Type IV collagenase(s) and TIMPs modulate endothelial cell morphogenesis in vitro. J Cell Physiol 1993;156:235-46.
18. Itoh T, Tanioka M, Yoshida H, Nishimoto H, Itohara S. Reduced angiogenesis and tumor progression in gelatinase A-deficient mice. Cancer Res 1998;58:1048-51.
19. Fang J, Shing Y, Wiederschain D, Yan L, Butterfield C, Jackson G, et al. Matrix metalloproteinase-2 is required for the switch to the angiogenic phenotype in a tumor model. Proc Natl Acad Sci USA 2000;97:3884-9.
20. Patterson BC, Xiang Q, Sang A. Angiostatin-converting enzyme activities of human matrilysin (MMP-7) and gelatinase B/type IV collagenase (MMP-9). J Biol Chem 1997;272:28823-5.
21. Dong Z, Kumar R, Yang X, Fidler IJ. Macrophage-derived metalloproteinase is responsible for the generation of angiostatin in Lewis lung carcinoma. Cell 1997;88:801-10.
22. O'Reilly MS, Wiederschain D, Stetler-Stevenson WG, Folkman J, Moses MA. Regulation of angiostatin production by matrix metalloproteinase-2 in a model of concomitant resistance. J Biol Chem 1999;274:29568-71.
23. Shapiro SD. Matrix metalloproteinase degradation of extracellular matrix: biological consequences. Curr Opin Cell Biol 1998;10:602-8.
24. Aplin AE, Howe A, Alahari SK, Juliano RL. Signal transduction and signal modulation by cell adhesion receptors: the role of integrins, cadherins, immunoglobulin-cell adhesion molecules, and selectins. Pharmacol Rev 1998;50:197-258.
25. Albelda SM, Buck CA. Integrins and other cell adhesion molecules. FASEB J 1990; 4:2868-80.
26. Brooks PC, Clark RA, Cheresh DA. Requirement of vascular integrin $\alpha v\beta 3$ for angiogenesis. Science 1994a;264:569-71.
27. Hammes HP, Brownlee M, Jonczyk A, Sutter A, Preissner KT. Subcutaneous injection of a cyclic peptide antagonist of vitronectin receptor-type integrins inhibits retinal neovascularization. Nature Med 1996;2:529-33.
28. Brooks PC, Montgomery MP, Rosenfeld M, Feisfeld RA, Hu T, Klier G, et al. Integrin ?v?3 antagonists promote tumor regression by inducing apoptosis angiogenic blood vessels. Cell 1994b;79:1157-64.
29. Brooks PC, Stromblad S, Klemke D, Sarkar FH, Cheresh DA. Anti-integrin $\alpha v\beta 3$ blocks human breast cancer growth and angiogenesis. J Clin Invest 1995;96:1815-22.

30. Drake CJ, Cheresh DA, Little CD. An antagonist of integrin αvβ3 prevents maturation of blood vessels during embryonic neovascularization. J Cell Sci 1995;108:2655-61.
31. Storgard CM, Stupack DG, Jonczyk A, Goodman SL, Fox RI, Cheresh DA. Decreased angiogenesis and arthritic disease in rabbits treated with an αvβ3 antagonist. J Clin Invest 1999;103:47-54.
32. Brooks, PC, Stromblad S, Sanders LC, von Schalscha TL, Aimes RT, Stetler-Stevenson WG, et al. Localization of matrix metalloproteinase MMP-2 to the surface of invasive cells by interaction with integrin αvβ3. Cell 1996;95:683-93.
33. Friedlander M, Brooks PC, Shaffer RW, Kincaid CM, Varner JA, Cheresh DA. Definition of two angiogenic pathways by distinct αv integrins. Science 1995;270:1500-2.
34. Yang JT, Rayburn H, Hynes RO.Embryonic mesodermal defects in a α5 integrindeficient mice. Development 1993;119:1093-105.
35. Streit M, Riccadi L, Velasco P, Brown LF, Hawighorst T, Bornstein P, et al. Thrombospondin-2: A potent endogenous inhibitor of tumor growth and angiostasis. Proc Natl Acad Sci USA 1999;96:14888-93.
36. Dawson DW, Bouck NP. Thrombospondin as an inhibitor of angiogenesis. In: Teicher BA, ed. Antiangiogenic Agents in Cancer Therapy. New Jersey : Humana Press Inc., 1999:185-203.
37. O'Reilly MS, Holmgren L, Shing Y, Chen C, Rosenthal RA, Moses MA, et al. Angiostatin: a novel angiogenesis inhibitor that mediates the suppression of metastases by a Lewis lung carcinoma. Cell 1994;79:315-28.
38. Gately S, Twardowski SP, Stack MS, Patrick M, Boggio L, Cundiff DL, et al. Human prostate carcinoma cells express enzymatic activity that converts human plasminogen to the angiogenesis inhibitor, angiostatin. Cancer Res 1996;56:4887-90.
39. Moser TL, Stack MS, Asplin I, Enghild JJ, Hojrup P, Everitt L, et al. Angiostatin binds ATP synthase on the surface of human endothelial cells. Proc Natl Acad Sci USA 1999;96:2811-16.
40. Knebelmann B, Dhanabal M, Ramchandran R, Waterman M, Lu H, Sukhatme VP. Endostatin inhibits VEGF and bFGF induced MAPK activation in endothelial cells. Proc Am Assoc Cancer Res 1999;40:414.
41. Sun L, McMahon G. Inhibition of tumor angiogenesis by synthetic receptor tyrosine kinase inhibitors. Drug Discov Today 2000;5:344-53.
42. Hennequin LF, Thomas AP, Johnstone C, Stokes ES, Ple PA, Lohmann JJ et al. Design and structure-activity relationship of a new class of potent VEGF receptor tyrosine kinase inhibitors. J Med Chem 1999;42:5369-89.
43. Wedge SR, Ogilive DJ, Dukes M, Kendrew J, Curwen JO, Hennequin LF, et al. ZD4190: an orally active inhibitor of vascular endothelial growth factor signaling with broad-spectrum antitumor efficacy. Cancer Res 2000;60:970-5.
44. Fong TA, Shawver LK, Sun L, Tang C, App H, Powell TJ, et al. SU5416 is a potent and selective inhibitor of the vascular endothelial growth factor receptor (Flk-1/KDR) that inhibits tyrosine kinase catalysis, tumor vascularization, and growth of multiple tumor types. Cancer Res 1999;59:99-106.
45. Shaheen RM, Davis DW, Liu W, Zebrowski BK, Wilson MR, Bucana CD, et al. Antiangiogenic therapy targeting the tyrosine kinase receptor for vascular endothelial growth factor inhibits the growth of colon cancer liver metastasis and induced tumor and endothelial cell apoptosis. Cancer Res 1999;59:5412-6.
46. Laird AD, Vajkoczy P, Shawver LK, Thurnher A, Liang C, Mohammadi M, et al. SU6668 is a potent antiangiogenic and anti-tumor agent which induces regression of established tumors. Cancer Res 2000;60:4152-60.
47. Fabbro D, Buchdunger E, Wood J, Mestan J, Hofmann F, Ferrari S, et al. Inhibitors of protein kinases: CGP41251, a protein kinase inhibitor with potential as an anticancer agent. Pharmacol Ther 1999;82:293-301.
48. Reese D, Frohlich M, Bok R, et al. A phase II trial of humanized monoclonal anti-vascular endothelial growth factor antibody (rhumAb) in hormone refractory prostate cancer. Proc Am Soc Clin Oncol 1999;18:315a.
49. Prewett M, Huber J, Li Y, Santiago A, O'Connor W, King K, et al. Antivascular endothelial growth factor receptor (fetal liver kinase I) monoclonal antibody inhibits tumor angiogenesis and growth of several mouse and human tumor. Cancer Res 1999;59:5209-18.
50. McCawley LJ, Matrisian LM. Matrix metalloproteinases: multifunctional contributors to tumor progression. Mol Med Today 2000;6:149-56.
51. Rasmussen HS, Rugg T, Brown P, Baillet M, Millar A. 371 patient meta-analysis of studies of marimastat in patients with advanced cancer. Proc Am Soc Clin Oncol 1997; 16:429a.
52. Fielding J, Scholefield J, Stuart R. A randomized double-blind placebo-controlled study of marimastat in patients with inoperable gastric adenocarcinoma. In: Program and abstracts of the American Society of Clinical Oncology 36th Annual Meeting; May 20-23, 2000; New Orlenes, Louisiana. Abstract 929.
53. Bergers G, Coussens LM. Extrinsic regulators of epithelial tumor progression: metalloproteinases. Curr Opin Gen Develop 2000;10:120-7.
54. Friedlander M, Theesfeld CL, Sugita M, Fruttiger M, Thomas MA, Chang S, et al. Involvement of integrins alphavbeta3 in ocular neovascular diseases. Proc Natl Acad Sci USA 1996;93:9764-9.
55. Kerr JS, Wexler RS, Mousa SA, Robinson CS, Wexler EJ, Mohamed S, et al. Novel small molecule αv integrin antagonists: comparative anti-cancer efficacy with known angiogenesis inhibitors. Anticancer Res 1999;19:959-68.
56. Westlin WF, Carron CP, Meyer DM, Nickols MA, Pegg JA, Rodgers TE, et al. Inhibition of angiogenesis and tumor growth with a potent and selective oral antagonist of the integrin αvβ3. Proc Am Assoc Cancer Res 1999;40:413.
57. Miller WH, Keenan RM, Willette RN, Lark MW. Identification and in vivo efficacy of small-molecule antagonists of integrin

αvβ3 (the vitronectin receptor). Drug Discov Today 2000;5:397-408.

58. Eliceiri BP and Cheresh DA. The role of αv integrins during angiogenesis: insights into potential mechanisms of action and clinical development. J Clin Invest 1999;103:1227-30.
59. D'Amato RJ, Loughnan MS, Flynn E, Folkman J. Thalidomide is an inhibitor of angiogenesis. Proc Natl Acad Sci USA 1994;91:4082-5.
60. Deborah A, Thomas MD, Hagop M, Kantarjian MD. Current role of thalidomide in cancer treatment. Curr Opin Oncol 2000;12:564-73.
61. Alexanian R, Anderson KC, Barlogie B, et al. Thalidomide in hematologic malignancies: future directions. Semin Hematol 2000;37(suppl 3):35-9.
62. Fine HA, Figg WD, Jaeckle K, Wen PY, Kyritsis AP, Loeffler JS, et al. Phase II trial of the angiogenic agent thalidomide in patients with recurrent high-grade gliomas. J Clin Oncol 2000;18:708-15.
63. Kohn EC, Reed E, Sarosy G, Christian M, Link CJ, Cole K, et al. Clinical investigation of a cytostatic calcium influx inhibitor in patients with refractory cancer. Cancer Res 1996; 56:569-73.
64. Ezekowitz RAB, Mulliken JB, Folkman J. Interferon alpha 2a therapy for life threatening hemangiomas of infancy. N Engl J Med 1992;326:1456-563.
65. Kaban LB, Mulliken JB, Ezekowitz RA et al. Antiangiogenic therapy of a recurrent giant cell tumor of the mandible with interferon alpha-2a. Pediatrics 1999;103:1145-9.
66. Klauber N, Rohan RM, Flynn E, D'Amato RJ. Critical components of the female reproductive pathway are suppressed by the angiogenesis inhibitor AGM-1470. Nature Med 1997;3:443-6.
67. Boehm T, Folkman J, Browder T, O'Reilly MS. Antiangiogenic therapy of experimental cancer does not induce acquired drug resistance. Nature 1997;390:404-7.
68. Keshet E, Ben-Sasson SA. Anticancer drug targets: approaching angiogenesis. J Clin Invest 1999;104:1497-501.
69. Hayes AJ, Li LY, Lippman ME. Antivascular therapy: a new approach to cancer treatment. British Med J 1999;318: 853-6.
70. Carter SK. Clinical strategy for the development of angiogenesis inhibitors. Oncologist 2000;5 (Suppl 1):51-4.
71. Brownd PD. Whittaker M. Matrix metalloproteinase inhibitors. In Teicher BA, ed. Angiogenic Agents in Cancer Therapy. New Jersey : Humana Press Inc., 1999;205-23.