

PIGF 在湿性黄斑变性中的作用探讨

汪瑞昕, 徐国兴

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No. 81271026)
作者单位:(350005)中国福建省福州市,福建医科大学附属第一医院 福建省眼科研究所
作者简介:汪瑞昕,女,硕士研究生,研究方向:晶状体、视网膜疾病。
通讯作者:徐国兴,男,教授,主任医师,博士研究生导师,研究方向:晶状体、视网膜病。 fjmuxuguoxing@hotmail.com
收稿日期:2014-12-25 **修回日期:**2015-04-27

Role of placental growth factor in neovascularage-related macular degeneration

Rui-Xin Wang, Guo-Xing Xu

Foundation item: National Natural Science Foundation of China (No. 81271026)
Fujian Institute of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Fujian Medical University, Fuzhou 350005, Fujian Province, China
Correspondence to: Guo-Xing Xu. Fujian Institute of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Fujian Medical University, Fuzhou 350005, Fujian Province, China. fjmuxuguoxing@hotmail.com
Received: 2014-12-25 Accepted: 2015-04-27

Abstract

• Choroidal neovascularization is the primary pathogenesis of neovascularage-related macular degeneration (nAMD), and the role of vascular endothelial growth factor (VEGF) in neovascularization has been widely recognized. Currently, drugs target different targets of VEGF have been widely used in the treatment of nAMD. As a subtype of VEGF, placental growth factor (PIGF) has synergistic effects with VEGF-A on promoting angiogenesis, stimulating the migration of endothelial cell proliferation and mediating immune inflammatory response. There is no expression of PIGF in mature blood vessels so PIGF has high specificity. In this paper, the role of PIGF in the pathogenesis and treatment of nAMD is reviewed.

• **KEYWORDS:** placental growth factor; neovascularage-related macular degeneration; pathogenesis; Aflibercept; Conbercept

Citation: Wang RX, Xu GX. Role of placental growth factor in neovascularage-related macular degeneration. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2015;15(5):796-798

摘要

脉络膜新生血管是湿性黄斑变性(neovascularage-related macular degeneration, nAMD)的主要发病机制,而血管内皮

生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)促进新生血管的作用已受到广泛认可,目前针对 VEGF 不同靶点的药物已广泛运用于治疗 nAMD。胎盘生长因子(placental growth factor, PIGF)是抗 VEGF 的一个新靶点,与 VEGF-A 有协同作用,可促进新生血管,刺激内皮细胞迁移增殖,介导免疫炎症反应,且在已成熟血管上无表达,特异性较高。本文就 PIGF 在 nAMD 中的作用进行探讨。
关键词: 胎盘生长因子;湿性黄斑变性;机制;阿柏西普;康柏西普

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2015.5.13

引用:汪瑞昕,徐国兴. PIGF 在湿性黄斑变性中的作用探讨. 国际眼科杂志 2015;15(5):796-798

0 引言

视网膜疾病已成为我国继白内障之后的第二大致盲原因,其中老年性黄斑变性(age-related macular degeneration, AMD)是公认的最难治疗的眼病之一,在干、湿两型 AMD 中,又以 nAMD 者视力损伤更甚,其中脉络膜新生血管(choroidal neovascularization, CNV)是其导致视力减退的最重要原因。在 CNV 分子机制中可见由缺氧引起的视网膜细胞上调 HIF-1 活性,从而刺激一系列因子及其受体的表达,如 VEGF, PDGF-B, PIGF, SDGF-1 以及缺氧相关的基因表达。各因子之间相互关联又相对独立,阻断其中之一都有可能抑制新生血管的形成。VEGF 的新生血管及血管渗漏等作用已受到广泛认可,近年来抗 VEGF 药物显示出对 CNV 明确的抑制作用。PIGF 作为 VEGF 的一个亚型,与 VEGF-A 具有协同作用,同时它能够病理性新生血管中特异性表达,是继 ranibizumab 抗 VEGF-A 后出现的新的靶点,2011 年起出现的 Aflibercept 和 Conbercept 就是结合 VEGF-A, VEGF-B, PIGF 三个靶点的新型抗 VEGF 药。但 PIGF 还具有视网膜神经细胞的保护作用,其双刃剑的作用在药物治疗中尚待研究。

1 PIGF 概要

1.1 PIGF 及其受体 PIGF 是 VEGF 家族的一员,最早由 Persico 从人胎盘 cDNA 中分离纯化而出,因此命名为胎盘生长因子^[1]。PIGF 是一种分泌性同二聚体糖蛋白,有四种异构体:PIGF-1, PIGF-2, PIGF-3, PIGF-4, 能与各个亚型结合的受体有 VEGFR-1(flt-1)、硫酸类肝素蛋白多糖(heparan sulfate proteoglycans, HSPG)、neuropilin-1 受体(NRP-1)、neuropilin-2 受体(NRP-2)。其中 VEGFR-1 是其特异性受体,能与四种亚型结合,提示 PIGF 主要通过结合 VEGFR-1 发挥作用;此外,PIGF-2, PIGF-4 可与肝素(HSPG)结合;PIGF-2 还可以与 NRP-1, NRP-2 结合参加血管生成。

1.2 PIGF 和 VEGF 的联系与区别 目前主要的 VEGF 家族成员有 VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E,

VEGF-F, PIGF。VEGF 的受体有 VEGFR-1 (flt-1), VEGFR-2 (flk-1/KDR), VEGFR-3 (flt-4), neuropilin (NPR1/NPR2)。该家族的成员可以选择性地增强血管和/或淋巴管内皮细胞的有丝分裂,刺激内皮细胞增殖并促进血管生成,提高血管特别是微小血管的通透性,使血浆大分子外渗沉积在血管外的基质中,并促进新生毛细血管网的建立^[2]。PIGF 与 VEGF 具有协同作用。VEGF-A (通常所说的 VEGF)在 VEGF 家族中最为关键,从晶状体结构方面来看,VEGF 与 PIGF 高度同源,其碱基相似率达 50%左右,并以相似的方式结合在 VEGFR-1 上,可推测二者功能相似^[3],但 VEGF 不仅能结合 VEGFR-1 还能结合 VEGFR-2,而 PIGF 则主要通过 VEGFR-1 发挥作用。VEGFR-2 具有促进血管内皮细胞增殖、迁移、存活,从而促进新生血管,VEGF 与 VEGFR-2 结合越多则促新生血管作用越强,因此,当 PIGF 竞争性结合 VEGFR-1 时,可增强 VEGF 结合 VEGFR-2 发挥作用^[4];同时,PIGF 结合 VEGFR-1 后还可通过分子间转磷酸化作用于 VEGFR-2,从而加强 VEGF-VEGFR-2 的作用^[5];此外 PIGF 还可促进其他血管因子表达(VEGF、FGF2、基质金属蛋白)。但还有研究发现 PIGF 和 VEGF 结合 VEGFR-1 上不同的络氨酸残基,而且二者下游基因不同^[5],这提示 PIGF 与 VEGF 之间既相互联系又有所区别。VEGF 广泛表达在各种生理条件下,与之不同的是,PIGF 不影响正常的发育和健康。有 *plgf* 基因缺陷的小鼠可以健康的生存,但在细胞激活或病理状态下,如缺氧、伤口愈合、组织缺血、炎症反应、恶性肿瘤等,可引起 PIGF 可高表达^[6],说明 PIGF 对生理性血管的生成影响不大,而对病理性新生血管具有关键作用,因此,抗 PIGF 治疗可能更具安全性。

1.3 PIGF 的其他生物学功能 促进血管生长是 PIGF 的主要作用,同时它还可以募集骨髓干细胞至特定位置生成内皮祖细胞,从而促进新生血管^[7,8]。另外,PIGF 还可能具有神经保护作用,Inoue 等^[9]发现 PIGF 对丁胱亚磺酰亚胺(buthioninesulfoxine,BSO)损伤的视网膜神经节细胞以及光损伤的光感受器细胞(661W)具有保护作用,其机制可能是通过 MEK 和 PI3K 途径抑制 Caspase-3/7 活性而来。

2 PIGF 在 nAMD 中的可能机制 nAMD 的特征为 CNV,脉络膜新生血管穿过 Bruch 膜,波及视网膜外层,新生的幼稚血管发生渗出、出血、炎症等造成严重的视力损害。PIGF 是 CNV 形成的关键因素。研究^[10,11]发现,PIGF 在实验诱导的小鼠及人的 CNV 中均有表达。敲除 *plgf* 基因或特异性阻断 PIGF 受体的小鼠,经激光诱导形成 CNV 的发生率较正常组明显减少,且严重程度降低。他们发现,在小鼠神经视网膜层可检测到 PIGF,PIGF 往往与 IV 型胶原蛋白共存,这与 VEGF-A 不同,而且发现在脉络膜及脉络膜新生血管的头端 PIGF 浓度较高。

2.1 PIGF 与血管生成细胞 在病理性新生血管中,PIGF 可从不同层面发挥作用,它可与 VEGF 协同直接刺激局部病变部位细胞的有丝分裂,促进血管生长、成熟、存活,还可募集远处骨髓细胞迁移,例如内皮祖细胞可趋化至缺氧的脉络膜,进一步分化成为新的内皮细胞或血管平滑肌细胞^[7]。PIGF 能动员骨髓中此祖细胞迁移,可通过直接募集 VEGFR-1 阳性者或间接作用于基质金属蛋白酶-9 促进祖细胞增殖运动^[12]。此外,PIGF 还可通过促进增殖、募集平滑肌细胞、支持纤维母细胞发挥作用^[8]。

2.2 PIGF 可介导 CNV 中的免疫炎症反应 PIGF 可通过 PI3-K/ AKT 和 ERK-1/2 途径激活 VEGFR-1 从而促进单核巨细胞系统的激活和分化^[13]。巨噬细胞在 AMD 纤维血管组织增生中扮演了重要角色^[14]。巨噬细胞可来自骨髓细胞迁移或病变部位本身,分为 M1 和 M2 两型,M1 主要表现为炎症细胞,M2 用于清除细胞碎片,若 M1 增强而 M2 减弱,可导致 AMD 的发生^[15]。在炎症反应中,活化的巨噬细胞通过自身分泌 VEGF 等因子诱导血管内皮细胞活化及迁徙,同时 VEGF 等细胞因子又可趋化巨噬细胞,从而放大了局部的 VEGF 反应。Cao 等^[16]对视网膜下注射基质胶诱发 CNV 发生的大鼠模型进行 VEGF-Trap 治疗,发现不仅减缓并抵消了部分 CNV 的生长,更极大地减少了 CNV 合并的白细胞浸润和纤维生长。Van de Veire 等^[17]发现在 PIGF 抑制的 CNV 小鼠中脉络膜血管渗漏、巨噬细胞浸润均有所减少。

2.3 PIGF 影响新生血管成熟 Van de Veire 等^[17]发现,在抗 PIGF 处理的 CNV 小鼠中新生血管的分支减少且仅仅形成不成熟的短树桩样血管,在抗 Flk1 处理的 CNV 小鼠中血管缺陷亦十分显著,表现为少量分支及钉样突起,且血管内皮细胞几乎冻结。说明 PIGF 可影响新生血管的成熟,所以在抗 PIGF 后,主要影响的是血管成熟程度而不是密度。此外,PIGF 的类似作用在乳头状瘤及缺血性视网膜病变中亦有发现。

3 PIGF 在治疗 nAMD 的运用

3.1 阿柏西普 阿柏西普(Aflibercept, VEGF Trap-Eye)为可溶性重组 VEGFR 蛋白,包含 VEGFR-1 的第 2 免疫球蛋白域、VEGFR-2 的第 3 免疫球蛋白域以及人类免疫球蛋白 Fc 融合而成,可诱导 VEGF-A 的所有亚型、VEGF-B 及 PIGF 与其结合,从而阻断 VEGFR 下游信号通路,抑制新生血管及血管渗漏。与传统的抗 VEGF-A 药物雷珠单抗(Lucentis)不同,其新增了 VEGF-B 和 PIGF 两个靶点,具有更高的亲和力、穿透力及较稳定的药代动力学。虽然大量研究表明 Aflibercept 亲和力明显高于 ranibizumab 或 bevacizumab:Aflibercept 与 VEGF165 的亲和力为 1pmol/L,而 ranibizumab 为 46pmol/L^[18]。但也有研究^[19]运用 Biacore 和 SV-AUC 技术对几种药物进行研究,发现 ranibizumab 可以置换 Aflibercept/VEGF 免疫复合物中的 Aflibercept 而同等剂量的 Aflibercept 却不能,说明 Aflibercept 有可能并没有比 ranibizumab 拥有更高的亲和力。Aflibercept 具有较好的药代/药动性能。目前抗 VEGF 药物面临的主要问题是每月给药和检查引起的一系列问题,如频繁的玻璃体内注射使眼内炎风险增加,耐药性增高,患者经济负担加重,所以需要药物具有更长的半衰期和稳定性,以减少注射频次。药物半衰期长短与其分子量相关,Aflibercept 分子量为 110kD,较 ranibizumab 的 48kD 高,具有更长的半衰期,且 Aflibercept 中的 Fc 段可增加其稳定性、减慢清除速率^[20]。研究发现^[21]每月或连续 3mo 注射 Aflibercept 后每 2mo 注射一次 Aflibercept 的效果和安全性同每月注射 ranibizumab 相似。对 ranibizumab、bevacizumab 耐药的部分患者,Aflibercept 治疗有效^[22,23]。此外,虽然 Aflibercept 分子量较大,但仍能穿透视网膜全层,有效扩散至病变部位^[24],同时它在控制眼内压方面具有更高的安全性^[25]。

3.2 康柏西普 康柏西普(Conbercept)于 2013 年年底上市,用于治疗 nAMD 等。其结构与 Aflibercept 相似,是分

子量为142kD的重组人融合蛋白,但与Aflibercept不同的是它包含了VEGFR-2的第4免疫球蛋白域(KDR-d4)。KDR-d4是受体二聚化必不可少的重要区域,可使结合更加紧密,同时它也可减少VEGF与受体的解离速率,降低细胞外基质的附着力。与Aflibercept相比等电点更低,从而延长了清除时间。因此,基于以上分子基础,Conbercept可能存在更高的亲和力和更长的半衰期^[26]。临床研究^[27]显示,Conbercept核心治疗期每月注射一次连续3mo,可明显提高视力,随后延长治疗期每3mo注射一次(3+Q3M)或每月注射一次(3+Q1M)或按需给药(3+PRN),结果显示患者12mo视力分别提高9.9,9.31,14.3个字母数,说明延长治疗期不同给药方案,均可保持稳定疗效,且较其他抗VEGF药可降低注射频次。在临床实践中可根据不同病情,满足个性化治疗需求。

3.3 安全性及目前存在的问题 Conbercept或Aflibercept在治疗过程中出现的不良反应有结膜充血、注射部位出血、眼压升高等,大多由玻璃体腔内注射引起,偶见的严重眼部及全身不良事件有:视网膜脱离、眼内炎、脑梗塞、心肌梗塞、动脉栓塞。这些不良反应是否与药物本身有关尚不清楚,由于这两种药物用于临床治疗nAMD的时间并不长,仍需长期观察评判期有效性和安全性。

4 展望

PIGF是抗VEGF治疗nAMD药物的新靶点,其与VEGF-A具有协同作用,阻断PIGF与受体结合,可增强抗VEGF效果,但另一方面,PIGF本身又具有视网膜神经细胞的保护作用,抗PIGF治疗是否对视功能造成潜在影响尚不清楚^[28]。对于解决多次注射带来的不良反应风险增加和患者经济负担加重的问题,Aflibercept或Conbercept是否能达到理想的延长期内2mo或3mo注射一次,尚需长期的临床应用加以验证。

参考文献

- 1 Ribatti D. The discovery of the placental growth factor and its role in angiogenesis; a historical review. *Angiogenesis* 2008;11(3):215-221
- 2 陈珊,金伟,闵平,等.血管内皮生长因子家族及其受体与肿瘤血管生成研究进展. *生命科学* 2004;16(1):19-23
- 3 Christinger HW, Fuh G, de Vos AM, et al. The crystal structure of placental growth factor in complex with domain 2 of vascular endothelial growth factor receptor-1. *J Biol Chem* 2004;279(11):10382-10388
- 4 Ferrara N, Gerber HP, LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors. *Nat Med* 2003;9(6):669-676
- 5 Autiero M, Waltenberger J, Communi D, et al. Role of PIGF in the intra- and intermolecular cross talk between the VEGF receptors Flt1 and Flk1. *Nat Med* 2003;9(7):936-943
- 6 Dewerchin M, Carmeliet P. Placental growth factor in cancer. *Expert Opin Ther Targets* 2014;18(11):1339-1354
- 7 De Falco S. The discovery of placenta growth factor and its biological activity. *Exp Mol Med* 2012;44(1):1-9
- 8 Carmeliet P, Moons L, Luttun A, et al. Synergism between vascular endothelial growth factor and placental growth factor contributes to angiogenesis and plasma extravasation in pathological conditions. *Nat Med* 2001;7(5):575-583
- 9 Inoue Y, Shimazawa M, Nakamura S, et al. Protective effects of placental growth factor on retinal neuronal cell damage. *J Neurosci Res* 2014;92(3):329-337
- 10 Rakic JM, Lambert V, Devy L, et al. Placental growth factor, a

member of the VEGF family, contributes to the development of choroidal neovascularization. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003;44(7):3186-3193

- 11 Nourinia R, Soheili ZS, Ahmadi H, et al. Knockdown of the placental growth factor gene inhibits laser induced choroidal neovascularization in a murine model. *J Ophthalmic Vis Res* 2013;8(1):4-8
- 12 Hattori K, Heissig B, Wu Y, et al. Placental growth factor reconstitutes hematopoiesis by recruiting VEGFR1(+) stem cells from bone-marrow microenvironment. *Nature medicine* 2002;8(8):841-849
- 13 Selvaraj SK, Giri RK, Perelman N, et al. Mechanism of monocyte activation and expression of proinflammatory cytochemokines by placenta growth factor. *Blood* 2003;102(4):1515-1524
- 14 Apte RS. Regulation of angiogenesis by macrophages. *Adv Exp Med Biol* 2010;664:15-19
- 15 Cao X, Shen D, Patel MM, et al. Macrophage polarization in the maculae of age-related macular degeneration: a pilot study. *Pathol Int* 2011;61(9):528-535
- 16 Cao J, Zhao L, Li Y, et al. A subretinal matrigel rat choroidal neovascularization (CNV) model and inhibition of CNV and associated inflammation and fibrosis by VEGF trap. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010;51(11):6009-6017
- 17 Van de Veire S, Stalmans I, Heindryckx F, et al. Further pharmacological and genetic evidence for the efficacy of PIGF inhibition in cancer and eye disease. *Cell* 2010;141(1):178-190
- 18 Papadopoulos N, Martin J, Ruan Q, et al. Binding and neutralization of vascular endothelial growth factor (VEGF) and related ligands by VEGF Trap, ranibizumab and bevacizumab. *Angiogenesis* 2012;15(2):171-185
- 19 Yang J, Wang X, Fuh G, et al. Comparison of binding characteristics and *in vitro* activities of three inhibitors of vascular endothelial growth factor a. *Mol Pharm* 2014;11(10):3421-3430
- 20 Holash J, Davis S, Papadopoulos N, et al. VEGF-Trap: a VEGF blocker with potent antitumor effects. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002;99(17):11393-11398
- 21 Heier JS, Brown DM, Chong V, et al. Intravitreal aflibercept (VEGF trap - eye) in wet age-related macular degeneration. *Ophthalmology* 2012;119(12):2537-2548
- 22 Bakall B, Folk JC, Boldt HC, et al. Aflibercept therapy for exudative age-related macular degeneration resistant to bevacizumab and ranibizumab. *Am J Ophthalmol* 2013;156(1):15-22
- 23 Yonekawa Y, Andreoli C, Miller JB, et al. Conversion to aflibercept for chronic refractory or recurrent neovascular age-related macular degeneration. *Am J Ophthalmol* 2013;156(1):29-35
- 24 Semeraro F, Morescalchi F, Duse S, et al. Aflibercept in wet AMD: specific role and optimal use. *Drug Des Devel Ther* 2013;7:711-722
- 25 Rusu IM, Deobhakta A, Yoon D, et al. Intraocular pressure in patients with neovascular age-related macular degeneration switched to aflibercept injection after previous anti-vascular endothelial growth factor treatments. *Retina* 2014;34(11):2161-2166
- 26 Shinkai A, Ito M, Anazawa H, et al. Mapping of the sites involved in ligand association and dissociation at the extracellular domain of the kinase insert domain-containing receptor for vascular endothelial growth factor. *J Biol Chem* 1998;273(47):31283-31288
- 27 Li X, Xu G, Wang Y, et al. Safety and efficacy of conbercept in neovascular age-related macular degeneration: results from a 12-month randomized phase 2 study: AURORA study. *Ophthalmology* 2014;121(9):1740-1747
- 28 雷春燕.眼科新一代抗血管内皮生长因子药物的基础研究及临床试验进展. *中华实验眼科杂志* 2014;32(10):938-942