

蛇毒蛋白的學術研究和藥物之開發

文・圖／黃德富

蛇毒蛋白由許多活性蛋白和多肽組成，可概分為神經毒和出血毒兩種，臺灣常見的神經性毒蛇有飯匙倩（Cobra）和雨傘節，而龜殼花、百步蛇和赤尾鮫屬出血毒，鎖鏈蛇則為混和型。臺大藥理學科創始期在杜聰明博士領導下，開始研究蛇毒蛋白之毒理作用和機轉，由李鎮源院士接續發揚光大，李院士與張傳炯院士探討神經性雨傘節蛇毒蛋白 α -BuTx, β -BuTx 在神經-肌肉傳導之作用機制，而受到國際毒理學會之肯定， α -BuTx 目前仍為研究神經末梢 Nicotinic receptor 之利器，而 β -BuTx 在神經前突觸（presynapse）影響神經性化學傳遞物質乙醯膽鹼（ACh）之釋放依然廣為被引用。另歐陽兆和院士和鄧哲明教授對出血性蛇毒蛋白的探討，就精製凝血酶（一種 Serine protease）抗凝血成分和纖維蛋白溶解成分的作用機轉發表了數十篇論文。這些前輩樹立了臺大藥理學科在蛇毒蛋白領域的國際學術地位。

本人在1972年初入研究所就讀碩士班，師承歐陽兆和院士，且有幸接受師兄鄧哲明教授之啟蒙，展開了本土出血性蛇毒蛋白之研究。畢業後獲得美國國家衛生院獎助前往 Temple 大學血栓研究所在 Dr. Niewiarowski 實驗室做博士後研究兩年，這期間發表了多篇 Disintegrin 關鍵性系列論文，更加深了我對蛇毒蛋白的癡迷和研究的執著。

研究蛇毒蛋白的目的為：（1）蛇毒的作用方式與機制。（2）如何設計解毒劑以中和其毒性。（3）利用蛇毒蛋白作用之專一性探討正常之細胞和分子層次的生理過程。（4）循蛇毒蛋白分子之結構設計藥物作診斷或治療。早期蛇毒研究偏重前兩項，如神經性蛇毒蛋白如何導致呼吸麻痺或血液性蛇毒蛋白如何影響血液凝固系統導致血栓或出血。目前臺灣已有4種抗蛇毒血清可供咬傷治療使用，包括抗神經性蛇毒血清（雨傘節、眼鏡蛇），抗百步蛇血清，抗龜殼花和赤尾鮫血清（血液毒）和抗鎖鏈蛇血清。近期研究在探討蛇毒蛋白之作用分子機轉和如何利用這些高專一性來發展臨床應用。重大發現簡述如下：

（1）Ancrod：屬於 Thrombin-like protease，活體使用可降低血液中之 fibrinogen，拮抗靜脈血栓和栓塞性中風之臨床實驗中。

（2）Captopril：一種 Angiotensin converting enzyme inhibitor (ACEI)，使用於抗高血壓。（1965年 Dr. S. Ferreira 發現，1977年上市）。

（3）Aggrastat 和 Integrilin：對於血小板 Integrin α IIb β 3 拮抗劑，使用於心肌梗塞置放冠狀動脈支架。（1987年，本人和 Dr. Niewiarowski 發現，1998 上市）。

臺灣赤尾鮫抗血栓成分 Trigramin 即為國際上首次被揭露之 Disintegrin（1987），這是本所發

現之強力抗血小板凝集成分，我們闡明了其抑制血小板凝集作用的機轉，揭示其分子中含有活性不可或缺之Arg-Gly-Asp (RGD)序列和特殊立體結構。證實這類抗血栓蛋白是血小板纖維蛋白原受體（即Integrin α IIb β 3）的拮抗劑，及其在動物活體之抗血栓活性。由於纖維蛋白原結合到活化之血小板 α IIb β 3是血小板凝集反應的最終共同步驟，其專一性之結合引發強力之拮抗血小板凝集活性。在國際大藥廠研發下，已有Aggrastat和Integrilin製劑上市被應用於冠狀動脈血栓之防治（圖1&2）。其中Merck藥廠所生產的Aggrastat，即以Trigramin專利合約為基礎。這類Disintegrin除

了作用於血小板之 α IIb β 3外，也首度發現可透過作用於Integrin α v β 3來拮抗血管內皮細胞和胞外基質（Extracellular matrix）的附著、移行和增生而導致內皮細胞凋亡，並在動物活體內抑制生長因子或腫瘤細胞引發之血管新生作用、血小板凝集反應，從而抑制腫瘤移轉。國際藥廠亦正積極開發Integrin拮抗劑（如LM609， α v β 3單株抗體）。

我們與成功大學莊偉哲教授、本校符文美教授合作，利用莊教授基因工程表現之 α v β 3專一性之Rhodostomin (Rn)進行其在骨質疏鬆，老人黃斑部病變和腫瘤等適應症之開發，且與安成製藥公司簽約技轉並已獲得美國專利。近期更發現Rhodostomin可透過monocyte/macrophage表現之 α v β 3之拮抗作用來減輕細菌LPS感染所引發之敗血症，此抗發炎作用和其拮抗血小板凝集活性有協同作用，可望成為有潛力之藥物開發策略。因為Activated Protein C因藥效不佳已下市，目前缺乏緩解敗血症之藥物。近來發現蛇毒

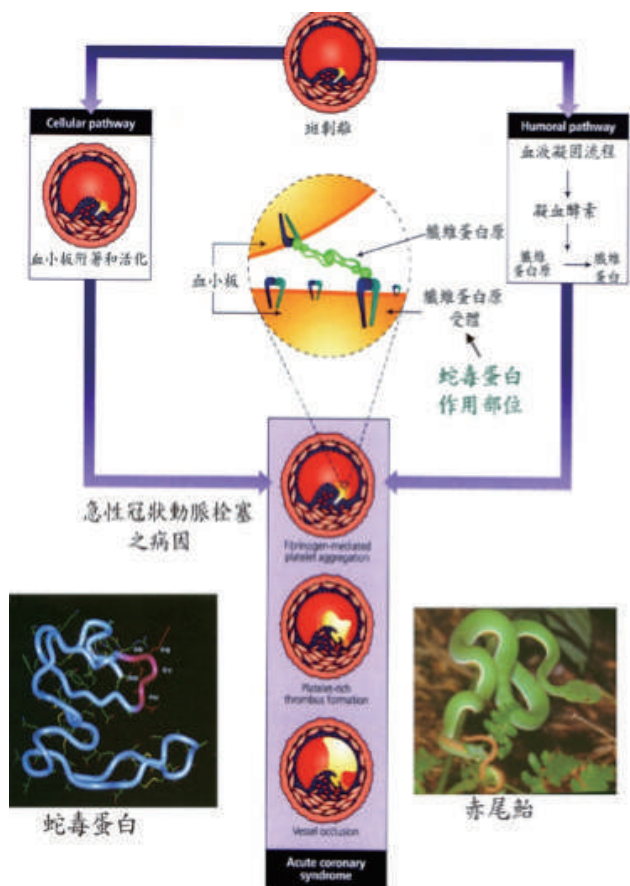


圖1：抗血栓蛇毒蛋白能專一性拮抗纖維蛋白原結合在醣蛋白IIb/IIIa受體上，因此能抑制血小板的凝集作用。



圖2：Aggrastat，由蛇毒成分的Disintegrin衍生而來，一種非蛋白結構的化學衍生物，但同樣具備與醣蛋白IIb/IIIa結合之基本結構，在1998年核准上市。

蛋白Snaclecs或Metalloproteinase（一種出血毒主要成分），具有多種作用標的，尤其對於大分子頗具專一性。例如血管內皮細胞 $\alpha 2 \beta 1$ 、中性球（Neutrophil）之PSGL-1、血小板細胞膜之GPIb（一種von Willebrand factor受體）和GPVI（膠原蛋白Collagen之受體）。尤其我們首度發表之Aggretin（一種Snaclec分子，由 α -和 β -鏈組成之蛋白）不但可作用於血小板上之 $\alpha 2 \beta 1$ ，還有CLEC-2（C-type lectin like receptor 2）而產生血小板活化、凝集，亦可作用於吞噬細胞上CLEC-2產生發炎反應。同時期日本學者Suzuki Inoue等人也發表同成分之Rhodocytin，探討CLEC-2/Podoplanin交互作用之生理意義。此外，我們從Aggretin分子衍生之C端片斷來探討對肝腫瘤細胞如HepG2引發之血小板凝集之抑制作用，初步發現它可抑制肝腫瘤細胞HuH-7在小鼠引發之轉移作用。而另外類似於Convulxin作用於GPVI之Trawaglerix，可強力活化血小板，分析後發現其 α -鏈之C端組成6~10個胺基酸組成之胜肽（Hexa-，Decapeptide）可專一性抑制collagen引發之血小板凝集，由於其屬小分子之GPVI拮抗劑，少有出血不良作用，不過如何提高其活性和轉換成Non-peptide的小分子化合物則需仰賴化學研發來協助達成。

近期最為興奮的發現是研發第二代之Disintegrin，由於其拮抗血小板活性乃目前抗血小板藥物之最，因此臨床只保留給嚴重動脈血栓患者使用，這類Integrin α IIb β 3

拮抗劑藥物對造成人體出血的危險性高。我們在許多種disintegrin中，找到相對不易出血的disintegrin，經過結構比對，找到了其重要之序列（sequence），現與莊偉哲教授合作，可望改造成為安全性高的第二代抗血栓藥物。

Disintegrin和ADAM分子

在研發Disintegrin過程中，歐樂君教授發現Disintegrin與Metalloproteinase(MP)有共同基因，MP可能是Disintegrin之先驅物；而ADAM分子是一種Membrane-anchored disintegrin，其ADAM名稱乃來自A Disintegrin And Metalloproteinase，分子結構包括Disintegrin/MP/Cysteine-rich/Transmembrane (TM) domain-cytosolic tail（圖3）。其Disintegrin結構乃與胞外基質或細胞上Integrin結合之重要結構，而MP大多具有切除蛋白之酵素活性。ADAM分子表現於多種細胞上，目前已知它對細胞間之附著和融合扮演重要角

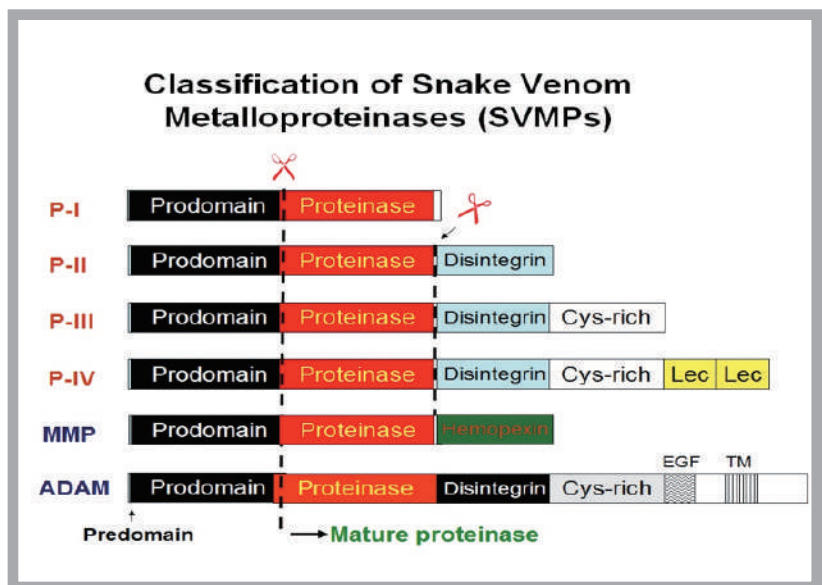


圖3：出血蛇毒蛋白（SVMP）Disintegrin和ADAM分子之結構和演化之相關圖。

色，與體內發炎反應，粥狀動脈硬化、腫瘤細胞病因有關，因此發展ADAM分子之拮抗劑具有相當潛力。

蛇毒蛋白的研究讓人認識到生物的奧妙，瞭解其結構—功能之相關性，再經過適度改造，將毒轉換成藥來造福人類。我們執著於蛇毒研究40年，去年獲頒40年資深教師獎牌，可體會The Birth of a scientific idea is like the birth of a baby. What one woman can do in nine months can not be done by nine women in a month.感謝研究團隊的辛勤努力，請大家繼續向前邁進。📖（本期專欄策畫／醫技系方偉宏教授）

參考資料：

[1] Huang T.F. The discovery of Disintegrins. In Toxins and Haemostasis: From Bench to Bedside. Chapter 17, P.269~284. Springer ISBN 978-90-481-9294-6. Kini RM, Clemetson KJ, Markland FS, McLane MA &

Morita T(eds), 2010.

[2] Chung C.H. and Huang T.F. The Biological activity of Aggretin/Rhodocytin, a Snake Venom C-type Lectin protein(Snaclec). In Toxins and Haemostasis: From Bench to Bedside. Chapter 34, P.607~620. Springer ISBN 978-90-481-9294-6. Kini RM, Clemetson KJ, Markland FS, McLane MA & Morita T(eds), 2010.

[3] Hsu C.C. and Huang T.F. Biological activities of Snake Venom Metalloproteinases on Platelets, Neutrophils, Endothelial cells and Extracellular Matrices. In Toxins and Haemostasis: From Bench to Bedside. Chapter 41, P.723~734. Springer ISBN 978-90-481-9294-6. Kini RM, Clemetson KJ, Markland FS, McLane MA & Morita T(eds), 2010.

[4] McCleary RJR and Kini, R M (2013) Non-enzymatic proteins from snake venoms: A gold mine of pharmacological tools and drug leads. Toxicon, 62, 56-74, 2013.



黃德富小檔案

1991 迄今臺大醫學院藥理學科暨研究所教授
2002-2008 臺大醫學院藥理學科暨研究所教授兼主任
1985-1987 美國 TEMPLE 大學血栓中心 NIH FOGARTY FELLOW
1977-1984 臺大醫學院藥理學研究所博士

榮譽事項：

2014-2017 國際止血 / 血栓學會 Exogenous Hemostatic Factors Subcommittee 之 Co-chair
2009 臺大研發創新傑出獎
2006 臺大特聘教授
2001 行政院傑出科技榮譽獎