

肿瘤血管生成的分子机制及治疗策略

韩翠翠 杨莹 马立威 简白羽 岳丽玲 刘吉成

摘要 血管生成在肿瘤的生长、侵袭和转移过程中起重要作用,以肿瘤血管生成作为治疗靶点已经成为肿瘤治疗的重要策略。肿瘤血管生成的分子机制十分复杂,很多生长因子及其信号通路在肿瘤血管生成中起重要作用。

关键词 肿瘤血管生成 抗血管生成 治疗策略

中图分类号 R73

文献标识码 A

DOI 10.3969/j.issn.1673-548X.2015.02.003

1971年 Folkman 首次提出“肿瘤生长依赖于血管生成”,并且描述了抗血管生成在肿瘤治疗中的潜在前景。Hanahan 等^[1]认为血管生成作为肿瘤的生物能力之一,能够影响肿瘤的发展速度,是癌症治疗的重要靶点,也是肿瘤治疗预后的重要指标之一。因此,研究肿瘤血管生成的分子机制,从而为临床治疗提供靶点,已经成为肿瘤治疗的一种有效途径。本文就肿瘤血管生成的分子机制及抗血管生成治疗策略做一综述。

一、肿瘤与血管生成

血管生成即从已经存在的微血管芽生或分枝形成新的血管。成人的血管结构通常是相对静止的,但在伤口愈合、器官再生以及女性生殖系统排卵和月经期则需要短暂的新血管生成。在肿瘤发展过程中,像正常的组织一样,也需要营养物质和氧,同时清除代谢废物和二氧化碳,这时正常休眠的血管系统会不断萌芽出新的血管来帮助维持肿瘤生长^[1]。肿瘤生长分为两个时期,其中,第一个时期称为无血管时期,仅形成直径不超过 1~2mm 的隐型血管。当肿瘤体积增至 1~2mm³时,如没有血管生成,肿瘤将处于休眠状态甚至退化。一旦肿瘤释放大量的促血管生长因子则会导致局部稳定的血管床信号失调,大量新生血管开始生长即为血管期,新生血管也为肿瘤提供足够的营养物质和大量的生长因子,随之肿瘤也进入快速增长期。这时肿瘤呈指数增长,更适于转移。

二、肿瘤血管生成的分子机制

肿瘤血管生成的机制十分复杂且尚不清楚,很多

生长因子及其受体信号通路在肿瘤介导的血管生成中起着重要作用。目前认为肿瘤血管生成促进因子与抑制因子失衡是肿瘤血管生成的主要因素之一^[2]。促进血管生成的因子主要包括血管内皮细胞生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF),成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor, bFGF),血小板去衍生生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF),转化生长因子(transforming growth factor, TGF),血管生成素(angiopoietin, ANG)及多种趋化因子。抗血管生成因子包括凝血酶敏感蛋白-1(thrombospondin-1, TSP-1),内皮抑素(endostatin, ES)和血管抑素(angiostatin, AS)等^[3]。

1. VEGF 家族:业已证实,VEGF 是目前所知的最强的直接作用于血管内皮细胞的生长因子,是多种血管生成因子信号通路中最为重要的因子,与肿瘤的发展关系密切^[4]。VEGF 及 VEGFR 在多种肿瘤组织的表达明显高于正常组织,且与肿瘤组织血管密度正相关^[5]。VEGF 家族主要包括 VEGF-A、B、C、D、E、F 和胎盘生长因子(placental growth factor, PLGF)。其受体为 VEGFR-1、2、3。VEGF 与 VEGFR-2 结合起主要作用。有研究认为二者结合引起受体二聚化,从而激活下游的信号转导通路,包括 PI₃K-AKT 和 PLC-g/ERK 级联,共同支持内皮细胞的生存和刺激其增殖,从而促进血管生成^[6]。VEGF-C 和 VEGF-D 与 VEGFR-3 结合介导淋巴管生成,也可结合 VEGFR-2 诱导血管生成^[7]。Das 等^[8,9]的研究表明多种调节因子能通过直接或间接影响 VEGF 及其受体而影响肿瘤的血管生成。由于 VEGF 在血管生成中的重要作用,并且在多种肿瘤组织中表达,因此以 VEGF 家族为靶点设计抗血管生成药物已成为研究的重点。

2. ANG 和 TIE 家族:TIE1 受体的发现开启了对

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81374021)

作者单位:150040 哈尔滨,黑龙江中医药大学(韩翠翠、杨莹);

161006 齐齐哈尔医学院(马立威、简白羽、岳丽玲、刘吉成)

通讯作者:刘吉成,教授,电子信箱:jichengliu12@163.com

ANG-TIE 系统的研究,此系统为第 2 个内皮特异性生长因子受体系统,是一个既能够使健康血管保持静止状态,同时也能够对血管生成刺激做出反应的二元系统^[10]。ANG-TIE 系统由 2 个细胞表面酪氨酸激酶受体(TIE1 和 TIE2)和 3 个配体(ANG1、ANG2 和 ANG3/ANG4)组成。TIE2 主要在内皮细胞表达,为 ANG1、ANG2 和 ANG3/ANG4 生长因子的受体。而 TIE1 是一个孤儿受体,通过与 TIE2 异源二聚化调节 TIE2 活性,可能是 TIE2 的负调节子,但是其确切作用尚不清楚。ANG1 和 ANG2 与 TIE2 具有相似的亲和性,却表现出明显不同的效应。ANG1 主要在壁细胞和肿瘤细胞表达^[10],与 TIE2 结合,激活 TIE2,导致其自身磷酸化,通过 PI_3K -AKT 信号通路激活内皮细胞存活信号,使血管成熟并且保持其完整性^[11]。而 ANG2 由处于血管重构组织中有活性的内皮细胞分泌,它通过拮抗 ANG1 介导的内皮细胞休眠,竞争性与 TIE2 结合,在没有 VEGF 的情况下引起血管消退,而在有 VEGF 时,促进血管生成^[12]。综上所述,ANG1 通过促进内皮细胞存活和血管成熟而刺激肿瘤生长,但它也抑制肿瘤细胞的外渗并保持肿瘤外部血管健康和完整性。鉴于这些互相矛盾的生物活性,当考虑以 ANG1 为抗癌治疗的靶点时应当慎重。而以 ANG2 作为治疗靶点更具吸引力,其可抑制血管内皮标志物(tumor endothelial markers, TEMs)活性而抑制肿瘤血管生成及发展^[13]。另外 ANG2 和 VEGF 具有促进血管生成的协同作用,共同阻滞 VEGF 和 ANGs 在抑制肿瘤血管生成,转移和渗漏更具优势^[14]。各种抑制 TIE2 或 ANG2 的药物正在进行临床前实验研究。

3. 成纤维细胞生长因子(FGFs):FGF-2(basic fibroblast growth factor, bFGF)是第一个被确定的血管生成促进因子,参与促进血管内皮细胞的增殖、迁移和分化。FGF 结合蛋白可以作为不同肿瘤细胞血管生成的开关。抑制静态内皮细胞中 FGFR 的信号会导致血管破裂,由此可见低水平的 FGF 能够维持血管的完整性。FGF 家族包括 18 个配体,主要与 4 种受体(FGFRs)相互作用。FGF 与 FGFRs 结合导致受体二聚化,随后胞质内特定的酪氨酸残基磷酸转移,激活细胞内信号级联,进而促进肿瘤血管生成^[15]。FGF 与 VEGF 能够产生协同作用增强促肿瘤血管生成的作用。然而,也有报道称 FGFs 能够独立于 VEGF,促进血管生成^[16]。另外,FGF 可与整合素 $\alpha v \beta 3$ 相互作用,形成整合素-FGF-FGFR 三元复合

物,诱导肿瘤血管生成^[17]。FGFs 也可以间接诱导其他细胞释放促血管生成因子从而刺激血管生成。由于 FGFs 在肿瘤发展中表现出重要的促血管生成活性,FGFs 可能成为肿瘤血管生成治疗的靶点。FGF2 血管生成抑制剂在肾癌 2 期临床已取得一定的疗效。模拟肝素干扰 FGF 信号的药物(如 suramin)应用在膀胱癌、肾癌和前列腺癌的治疗中也取得了一定的疗效。另外 FGF 能够与 VEGF 协同增强促肿瘤血管效应,因此共同以 FGF 和 VEGF 通路为靶点,可能比以单一因子为靶点,更有效地抑制肿瘤生长和血管生成。

4. 血小板衍生生长因子(PDGF):PDGF 及其受体 PDGFR 在肿瘤血管生成过程中起重要的调控作用。PDGF 家族包括 PDGF-A、B、C、D,可形成具有生物活性的二聚体:PDGF-AA、BB、AB、CC、DD。受体包括 PDGFR- α 和 PDGFR- β ,可形成 3 个二聚物受体(PDGFR- $\alpha\alpha$ 、 $\beta\beta$ 、 $\alpha\beta$)。PDGF-BB 二聚体能与三种二聚物受体结合,具有多功能性,也是目前研究较多的二聚体。PDGF 有助于肿瘤血管生成和重塑。PDGF-BB 通过上调间质细胞衍生因子-1 α (stromal cell derived factor-1 α , SDF-1 α)募集周细胞和血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cell, VSMC)到新生的血管网络,促进血管生成和重塑。也有报道认为 PDGF-BB 可直接诱导内皮细胞增殖、迁移、萌芽和形成管状结构等旁分泌机制刺激肿瘤血管生成^[18]。以 PDGF/PDGFR 信号通路为靶点,将为抗肿瘤血管生成提供新的治疗途径。PDGFR 抑制剂能够引起周细胞分离,抑制肿瘤生长,但同时也导致不成熟的血管消退。而 PDGF- β 抑制剂可使周细胞减少,血管消退,其结合化疗能更有效的抑制肿瘤生长^[19]。因此,PDGF 抑制剂与化疗药物合并使用,将为抑制肿瘤的生长和转移提供一个有效的治疗策略。总体而言,未来的研究需要综合考虑 PDGF 抑制剂用于癌症治疗的利益和风险。

5. 转化生长因子- β (TGF- β):转化生长因子- β (TGF- β)及其信号在血管生成过程中起重要的调节作用,可促进肿瘤的发展。但是其分子机制目前尚不清楚。TGF- β 能够维持内皮细胞的静止状态,并诱导血管成熟,促进基膜沉积,增强内皮细胞和壁细胞之间的相互作用。有研究表明,TGF- β 激活巨噬细胞产生的 VEGF,同时 Smad 3/4 与 HIF-1 α 共同介导了这一反应。另外,TGF- $\beta 1$ 可通过 JNK 通路增强其诱导肿瘤血管生成的作用^[20]。所以,TGF

- β 因子也可成为抗血管生成治疗的靶点。目前,一些 TGF - β 受体阻滞剂正处于早期的临床试验阶段^[10]。

6. 其他:除了以上几种主要的肿瘤血管促进因子,还有很多其他的因子。如内皮生长因子(endothelial growth factor, EGF)、胰岛素样生长因子(insulin-like growth factor, IGF)、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor, TNF - α)、白细胞介素 28(interleukin 28, IL - 28)、肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)等,在肿瘤血管生成的过程中也起着重要的调控作用。

三、血管生成抑制因子

肿瘤血管生成同时受血管生成抑制因子调控,目前已经确认的内源性血管生成抑制因子主要有凝血酶敏感蛋白-1(TSP-1)、内皮抑素(ES)和血管抑素(AS)等^[21]。TSP-1 是最早发现的内源性血管生成抑制因子,可与其受体 CD36 结合抑制血管内皮细胞的生长及运动,进而抑制肿瘤侵袭和转移^[22]。另外,其可抑制 VEGF 活性发挥抗肿瘤血管生成作用。ES 可抑制内皮细胞及 FGF 的分泌,从而抑制内皮细胞增殖、侵袭和转移,其也可直接诱导内皮细胞的凋亡,抑制肿瘤血管生成^[23,24]。血管抑素(AS)可通过与内皮细胞表面的 ATP 酶及相应的蛋白抗体结合抑制内皮细胞的增殖和迁移^[25]。其他血管生成抑制因子有血管能抑素(canstatin)、肿瘤抑素(tumstain)、干扰素 IFN - α 、IFN - β 、IFN - γ 等。

四、血管生成的治疗策略及存在的问题

目前抗肿瘤血管生成治疗的策略主要为干预肿瘤血管生成相关调控基因的表达及受体通路。包括抑制促血管生成因子的表达及其受体转导通路和促进抑制因子的表达及其信号转导通路。

1. 抑制促血管生成因子的表达:VEGF 是最强的直接作用于血管内皮细胞的生长因子,其他多种调节因子则是通过直接或间接影响 VEGF 和(或)其受体而影响肿瘤的血管生成。鉴于 VEGF 及其受体在血管生成中的重要作用及其临床前研究结果,目前针对血管生成通路的治疗方法主要集中于发展抗 VEGF 药物,并且已经取得了一些可喜的成果。目前 FDA 已经批准了 13 种抗血管生成药物^[20]。贝伐单抗是第 1 个被 FDA 批准用于治疗癌症的血管生成抑制剂,并已经广泛用于多种癌症的联合治疗^[10]。还有一些其他的抗体如 HuMV833(结合 VEGF121 和 VEGF165 亚型)、IMC - 18F1、IMC - 1121B、ImClone

等正处于临床试验的各阶段^[26]。

2. 促进血管生成抑制因子的表达:除了促进血管生成的因子及受体,人体内同时也产生抑制血管生成的因子,包括凝血酶敏感蛋白 1、血管他汀和内皮他汀。与促血管生成抑制剂相比,由身体产生的内源性血管生成抑制剂毒性小于特定受体合成化合物^[7]。也有研究者认为这些内源性的血管生成抑制剂与促血管生成通路抑制剂或与传统的放化疗结合用于治疗肿瘤血管生成,可能会取得更好的疗效^[27]。

3. 存在的问题与展望:VEGF 不仅在肿瘤血管生成中起重要作用,在成人生理性血管生成(如月经期,排卵和伤口愈合)中也起重要作用,同时在非血管生成的正常成人组织中也有广泛的表达。由于 VEGF 通路的多效性活性,抗 VEGF 治疗也表现出一些不良反应,如高血压、蛋白尿、甲状腺功能减退、腹泻、血栓栓塞及出血并发症等,其性质和严重程度在各抗 VEGF 药物中有所不同^[28]。另外,有证据表明癌细胞能够对单一的抗血管生成治疗药物产生抵抗作用,而产生耐药性^[29]。在肿瘤小鼠模型中,应用抗 VEGF 抗体治疗,在肿瘤晚期,肿瘤再次生长,表明其可能开启了其他促血管生成机制从而产生耐药性。由于单一靶点药物可能产生耐药性,而多靶点药物可能更有效且产生较少的耐药性,所以多靶点药物也可能成为抗血管生成药物的研究重点。然而,多靶点药物抑制多个生长因子信号通路,而这些生长因子信号通路在正常细胞功能中也起重要作用,所以多靶点药物也可能产生更多的不良反应。

研究表明,肿瘤血管内皮标志物 8(tumor endothelial marker 8, TEM8),由于其对肿瘤的生长尤为重要,而对正常发展的和生理性的血管生成可有可无,其胞外域特异性功能阻滞性抗体抑制了肿瘤诱导的血管生成,从而抑制了肿瘤生长,表现出广泛的抗肿瘤活性,而不会影响同样需要血管的正常愈合过程,没有额外的毒性,同时增强了包括 VEGFR 抑制剂在内的抗癌药物活性^[30]。因此,以肿瘤血管 TEM8 为靶点,使选择性抑制病理性血管生成成为可能。在研究抗肿瘤血管生成药物的过程中,寻找特异性作用于肿瘤血管生成过程,而对正常生理没有影响或影响较小的药物,将成为未来研究的重点。

综上所述,肿瘤血管生成涉及诸多方面,其分子机制还有待于进一步研究。此外,发展多靶点药物及联合放化疗治疗目前也成为临床前研究及临床治疗的主要策略。但由于目前尚未明确肿瘤血管的特异

性标志,即肿瘤血管与正常血管的差异性标志,以致很多抗血管生成药物表现出不良反应,肿瘤对血管生成抑制剂产生耐药性等问题,所以发现肿瘤血管的特异性标志已成为未来亟待解决的问题之一。

参考文献

- 1 Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation [J]. Cell, 2011, 144(5): 646 – 674
- 2 Plate KH, Scholz A, Dumont DJ. Tumor angiogenesis and anti – angiogenic therapy in malignant gliomas revisited[J]. Acta Neuropathologica, 2012, 124(6): 763 – 775
- 3 Sakurai T, Kudo M. Signaling pathways governing tumor angiogenesis [J]. Oncology, 2011, 81(Suppl 1): 24 – 29
- 4 Saharinen P, Eklund L, Pulkki K, *et al.* VEGF and angiopoietin signaling in tumor angiogenesis and metastasis[J]. Trends in Molecular Medicine, 2011, 17(7): 347 – 362
- 5 Yoo SY, Kwon SM. Angiogenesis and its therapeutic opportunities [J]. Mediators of Inflammation, 2013, 2013
- 6 Djordjevic S, Driscoll PC. Targeting VEGF signalling via the neuropilin co – receptor[J]. Drug Discovery Today, 2013, 18(9): 447 – 455
- 7 Cao Y. Tumor angiogenesis and molecular targets for therapy [J]. Front Biosci, 2009, 14(1): 3962 – 3973
- 8 Das SK, Bhutia SK, Azab B, *et al.* MDA – 9/Syntenin and IGFBP – 2 promote angiogenesis in human melanoma [J]. Cancer Research, 2013, 73(2): 844 – 854
- 9 Tavora B, Batista S, Reynolds LE, *et al.* Endothelial FAK is required for tumour angiogenesis [J]. EMBO Molecular Medicine, 2010, 2(12): 516 – 528
- 10 Carmeliet P, Jain RK. Molecular mechanisms and clinical applications of angiogenesis[J]. Nature, 2011, 473(7347): 298 – 307
- 11 Saharinen P, Bry M, Alitalo K. How do angiopoietins Tie in with vascular endothelial growth factors? [J]. Current Opinion in Hematology, 2010, 17(3): 198 – 205
- 12 Huang H, Bhat A, Woodnutt G, *et al.* Targeting the ANGPT – TIE2 pathway in malignancy[J]. Nature Reviews Cancer, 2010, 10(8): 575 – 585
- 13 De Palma M, Naldini L. Angiopoietin – 2 TIEs up macrophages in tumor angiogenesis[J]. Clinical Cancer Research, 2011, 17(16): 5226 – 5232
- 14 Koh YJ, Kim HZ, Hwang SI, *et al.* Double antiangiogenic protein, DAAP, targeting VEGF – A and angiopoietins in tumor angiogenesis, metastasis, and vascular leakage [J]. Cancer Cell, 2010, 18(2): 171 – 184
- 15 Mori S, Tran V, Nishikawa K, *et al.* A dominant – negative FGF1 mutant (the R50E mutant) suppresses tumorigenesis and angiogenesis [J]. PLoS One, 2013, 8(2): e57927
- 16 Cao Y, Cao R, Hedlund EM. Regulation of tumor angiogenesis and metastasis by FGF and PDGF signaling pathways[J]. Journal of Molecular Medicine, 2008, 86(7): 785 – 789

- 17 Mori S, Takada Y. Crosstalk between fibroblast growth factor (FGF) receptor and integrin through direct integrin binding to FGF and resulting integrin – FGF – FGFR ternary complex formation [J]. Medical Sciences, 2013, 1(1): 20 – 36
- 18 Xue Y, Lim S, Yang Y, *et al.* PDGF – BB modulates hematopoiesis and tumor angiogenesis by inducing erythropoietin production in stromal cells[J]. Nature Medicine, 2012, 18(1): 100 – 110
- 19 Gacche RN, Meshram RJ. Angiogenic factors as potential drug target: Efficacy and limitations of anti – angiogenic therapy [J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Reviews on Cancer, 2014, 1846(1): 161 – 179
- 20 Yang X, Chen G, Yu S, *et al.* TGF – β 1 enhances tumor – induced angiogenesis via JNK pathway and macrophage infiltration in an improved zebrafish embryo/xenograft glioma model[J]. International Immunopharmacology, 2013, 15(2): 191 – 198
- 21 Belotti D, Foglieni C, Resovi A, *et al.* Targeting angiogenesis with compounds from the extracellular matrix [J]. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology, 2011, 43(12): 1674 – 1685
- 22 Kalas W, Swiderek E, Switalska M, *et al.* Thrombospondin – 1 receptor mediates autophagy of RAS – expressing cancer cells and triggers tumour growth inhibition [J]. Anticancer Research, 2013, 33(4): 1429 – 1438
- 23 Zhang G, Jin G, Nie X, *et al.* Enhanced antitumor efficacy of an oncolytic herpes simplex virus expressing an endostatin – angiostatin fusion gene in human glioblastoma stem cell xenografts [J]. PloS one, 2014, 9(4): e95872
- 24 Wan YY, Tian GY, Guo HS, *et al.* Endostatin, an angiogenesis inhibitor, ameliorates bleomycin – induced pulmonary fibrosis in rats [J]. Respir Res, 2013, 14(1): 56
- 25 Hutzen B, Bid HK, Houghton PJ, *et al.* Treatment of medulloblastoma with oncolytic measles viruses expressing the angiogenesis inhibitors endostatin and angiostatin [J]. BMC Cancer, 2014, 14(1): 206
- 26 Fan F, Schimming A, Jaeger D, *et al.* Targeting the tumor microenvironment; focus on angiogenesis [J]. Journal of Oncology, 2011, 2012
- 27 Fernando NT, Koch M, Rothrock C, *et al.* Tumor escape from endogenous, extracellular matrix – associated angiogenesis inhibitors by up – regulation of multiple proangiogenic factors [J]. Clinical Cancer Research, 2008, 14(5): 1529 – 1539
- 28 Schmidinger M, Bellmunt J. Plethora of agents, plethora of targets, plethora of side effects in metastatic renal cell carcinoma [J]. Cancer Treatment Reviews, 2010, 36(5): 416 – 424
- 29 Sennino B, McDonald DM. Controlling escape from angiogenesis inhibitors [J]. Nature Reviews Cancer, 2012, 12(10): 699 – 709
- 30 Chaudhary A, Hilton MB, Seaman S, *et al.* TEM8/ANTXR1 blockade inhibits pathological angiogenesis and potentiates tumoricidal responses against multiple cancer types [J]. Cancer Cell, 2012, 21(2): 212 – 226

(收稿日期:2014 – 06 – 03)

(修回日期:2014 – 06 – 23)