

原发性肝癌促血管生成因子研究进展

夏凤 综述 郑传胜 审核

【中图分类号】R735.7 【文献标识码】A 【文章编号】1000-0313(2005)11-1026-03

肝癌是常见的富血管肿瘤,在我国发病率和死亡率均极高,严重危害人体健康。目前外科手术是其主要治疗方法。对不能行外科切除的肝癌,经导管动脉内化疗栓塞(transcatheter arterial chemoembolization, TACE)是首选治疗方法,但其疗效均不甚理想。肿瘤血管生成因子是影响其疗效的重要因素,在肿瘤切除术或 TACE 术后复发和转移中发挥着重要作用。

肿瘤血管生成与肿瘤生长及转移

1939 年有学者提出了肿瘤能诱发宿主新生血管形成。1971 年 Folkman^[1] 首次提出假说,认为实体肿瘤生长到一定程度后(通常为 1~2 mm³),其进一步生长要依赖于新生血管生成用于持续提供氧和营养成分,因此抑制肿瘤血管生成可抑制肿瘤生长。1996 年 Hanahan 等^[2] 提出肿瘤血管生成“开关”假说,认为肿瘤血管生成取决于血管生成因子与抑制因子之间的动态平衡,血管生成因子的增加或者抑制因子的减少都会引起“开关”趋向于开启。

在动物实验中,血管生成前肿瘤细胞几乎不能进入血液循环,但血管生成后进入血液循环的肿瘤细胞与血管密度成正比。肿瘤转移是一个复杂的过程,至少包括以下基本步骤:肿瘤细胞脱离原发灶侵入细胞外基质;粘附并穿过基底膜进入脉管系统;形成瘤栓走或转运;穿过脉管系统进入相应组织或器官;通过肿瘤血管生成和基质降解,在相应组织或器官生长形成转移性肿瘤。这些步骤都与肿瘤血管生成有着不同程度的联系,如新生血管内皮细胞基底膜不完整使血管通透性增加、某些血管生成因子使基底膜降解等均促进肿瘤转移。正是因为肿瘤血管生成与肿瘤生长和转移有着密切的联系,这一领域的研究近年来已成为肿瘤研究的热点。

促进肿瘤血管生成的因子

血管内皮细胞生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF): 目前已知最重要的血管生成因子是针对血管内皮细胞特异性最高、促血管生成作用最强的有丝分裂原之一。VEGF 家族包括 6 成员,分别是 VEGF-A(或 VEGF)、VEGF-B、VEGF-C、VEGF-D、VEGF-E、PLGF(placenta growth factor)。VEGF mRNA 外显子经不同的剪切方式产生 5 种外分泌蛋白质,分别由 121、145、165、189、206 个氨基酸残基组成。除 VEGF 121 外均与乙酰肝素结合。肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)中主要表达的是 VEGF 121 和 VEGF 165^[3]。文献^[4,5]报道 HCC 患者血清 VEGF 水平反应肿瘤血管侵犯和转

移的潜在活性,与肿瘤门静脉侵犯、肝内转移、TNM 分期及包膜形成显著相关。VEGF 直接选择性作用于血管内皮细胞膜上的 VEGFR 1(Flk-1)和 VEGFR 2(KDR/Flk-1)而发挥作用。在 HCC 中,VEGF 主要通过 VEGFR 2 起作用^[6]。VEGF 通过诱导内皮细胞增殖、迁移,调节多种蛋白酶激活因子的表达,促进细胞外基质降解,增加微血管通透性,促进肿瘤血管生成。VEGF 还能诱导 NO 产生,促进血管舒张增加血流量。VEGF 表达可通过致癌基因和低氧环境诱导。Marschall 等^[7]报道缺氧激活 VEGF 基因表达,刺激 HCC 血管生成,缺氧诱导因子 1(HIF-1)在此过程中发挥重要作用^[8]。另有作者^[9,10]认为单独 VEGF 在肝癌中作用有限,VEGF 与 Ang2 相互作用及与 bFGF 的协同作用在肝癌血管生成中发挥重要作用。

成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor, FGF): 因其对成纤维细胞增殖具有很强的促进作用而命名。现已发现 14 个家族成员,分别命名为 FGF1 到 FGF14, FGF 均通过其受体(FGFR)发挥作用。FGF1 及 FGF2 分别为较早发现的酸性成纤维细胞生长因子(aFGF)和碱性成纤维细胞生长因子(bFGF),是已知作用最强的血管生成因子,参与血管生成全过程。Poon 等^[11]研究 88 例手术切除的 HCC 患者术前血清 bFGF 浓度,发现血清 bFGF 水平大于 10.8 pg/ml,肿瘤大于 5 cm 是预测 HCC 术后早期复发的独立性术前因素。El Assal 等^[12]在研究中发现,肝素酶及 bFGF 共同表达的 HCC 患者肿瘤微血管密度(micro vessel density, MVD)高于两者单独表达时,说明了肝素酶能够增强 bFGF 的促进血管生成作用。

血小板源性内皮细胞生长因子(platelet derived endothelial cell growth factor, PD-ECGF): 是从新鲜血小板裂解产物中分离的一种蛋白质。它能刺激血管内皮细胞增生与趋化,维持和稳定现存血管系统,与肿瘤血管形成密切相关。研究^[13]发现,PD-ECGF 是一种胸腺嘧啶脱氧核苷酸磷酸化酶,Edmondson 分级 III~IV 级或伴有门脉瘤栓(portal vein tumor thrombus, PVTT)患者 HCC 标本 PD-ECGF 表达增加,PD-ECGF 表达阳性者肿瘤 MVD 明显高于 PD-ECGF 表达阴性者,提示 PD-ECGF 在 HCC 中是一种促血管生成因子,且 PD-ECGF 表达增高 HCC 细胞显示低分化和侵袭行为。另有学者^[14]研究证实 PD-ECGF 和 VEGF 与 HCC 门脉瘤栓形成有关。Morinaga 等^[15]研究发现 HCC 患者肿瘤组织和周围肝组织 PD-ECGF 浓度明显高于对照组非 HCC 患者正常肝组织,PD-ECGF 浓度肿瘤微血管密度、瘤细胞低分化程度正相关,但对患者预后(生存率)无明显影响,背景肝组织 PD-ECGF 浓度与组织活性指数评分及血清 ALT 正相关。

Ephrin: 近年来发现的一种血管生成因子,分 ephrin A(A1-A5)和 ephrin B(B1-B3)两个亚组,结合在细胞膜上,其受体

作者单位: 430022 武汉,华中科技大学同济医学院附属协和医院放射科

作者简介: 夏凤(1970-),男,湖北嘉鱼人,硕士,主治医师,主要从事肝癌介入治疗工作。

Eph 是酪氨酸受体家族成员,最初在神经系统脑发育研究中发现,后观察到其在肿瘤发生和血管生成等方面起作用。Sawai 等^[16]研究发现 HCC 患者肿瘤组织 ephrin B1 表达明显高于周围肝组织, ephrin B2 及 ephrin B3 表达无明显差别, ephrin B1 过度表达者肿瘤血管数目显著增加,肿瘤细胞发展快。他们还在体外实验中证实 ephrin B1 能诱导人脐血管内皮细胞迁移和增殖。

胰岛素样生长因子(insulin like growth factor, IGF): 主要由肝脏合成的单链多肽,包括 IGF- I 和 IGF- II, 结构均与胰岛素相似。Wang 等^[17]研究二乙基亚硝胺诱导鼠 HCC 过程发现, IGF- II 在癌前病变阶段可通过旁分泌机制促进肝细胞增殖,当肝细胞转化为恶性肿瘤细胞以后,又通过自分泌方式促进肿瘤细胞增殖。因此, IGF- II 可作为 HCC 早期诊断的生物学标志。

整合素(integrin): 整合素家族是细胞粘附分子家族重要成员之一,是细胞表面跨膜糖蛋白受体,是一种由 α 和 β 亚单位组成的异蛋白二聚体,与相应配体结合形成配体-整合蛋白-细胞骨架跨膜信息系统,在胚胎发育、创伤愈合、炎症反应及肿瘤浸润、转移、血管生成、细胞凋亡等方面发挥重要作用。 α_v 与肿瘤血管生成关系最为密切,尤以 $\alpha_v\beta_3$ 、 $\alpha_v\beta_5$ 的表达在血管中有较高的特异性,在肿瘤研究中具有较高价值。Yang 等^[18]实验中发现整合素 $\alpha_1\beta_1$ 和 $\alpha_2\beta_1$ 抗体能抑制单个生长因子诱导的肿瘤转移,提示整合素 $\alpha\beta$ 和 $\alpha_2\beta$ 是肝癌细胞穿过纤维基质微环境的主要调控者。Liu 等^[19]观察到人类 HCC 细胞膜 588 个基因位点中,有 17 种与整合素有关,其中 α_8 、 β_1 、 β_7 、 β_8 基因表达上调。

转化生长因子(transforming growth factor, TGF): 包括 TGF- α 和 TGF- β 。TGF- β 是一个超大家族,对不同种类细胞作用各异,抑制上皮类细胞生长而促进成纤维细胞生长分裂。Xu 等^[20]则认为 TGF- β 是一种多功能多肽,是肿瘤中的一把双刃剑。对于一些肿瘤细胞是一种强的生长抑制剂和凋亡诱导剂,但更多情况下失去上述作用,而刺激肿瘤细胞转移活性,其机制在于促进人 HCC SMMC-7721 细胞 $\alpha_v\beta$ 整合素表达,刺激细胞粘附于纤维粘连蛋白和层粘连蛋白,且诱导内皮细胞向间质细胞转化,促进细胞转移。Sugano 等^[21]发现人 HCC 中 TGF- β 自分泌信号畸变促进细胞生长和 VEGF 产生,促进其恶性转化。Giannelli 等^[22]也发现 TGF- β 转录水平刺激整合素 α_3 表达,导致非侵袭性 HCC 向活跃和侵袭表型转化,用抗 α_3 单克隆抗体可抑制这一活性。

基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP): MMP 家族包括胶原酶、明胶酶、间质溶素、膜型基质金属蛋白酶等,是降解细胞外基质最重要的酶类。在血管生成过程中的基底膜降解、细胞运动和管腔形成中起重要作用,与肿瘤的侵袭和转移亦密切相关。MMP 还可提高促血管生成因子如 VEGF、bFGF 等的作用。Ozaki 等^[23]报道肝细胞生长因子通过转录因子 Ets-1 诱导 MMP-1, MMP-3, MMP-7, 及 Met mRNA 过度表达,促进肿瘤进展。Ishii 等^[24]研究发现 HCC 患者肿瘤区 MMP-2, MT1-MMP, MT2-MMP 显著高于非肿瘤区, MMP-2

肿瘤区及非肿瘤区表达均增高; MMP-2, MT1-MMP 与 HCC 发生发展有关, MMP-7、MMP-9 与包膜浸润、门脉侵犯有关, MMP-3/ MMP-7 则与肿瘤进展有关。Kuyvenhoven 等^[25]亦观察到 MMP-2 与肝功能(胆红素、白蛋白、凝血酶原时间)相关, MMP-9 与肝功能负相关; HCC 患者血清 MMP-2 显著增加,但与慢性肝病而不伴肿瘤患者近似,因此 MMP-2 不能作为 HCC 诊断指标。

血管生成素(angiopoietin, Ang): 血管生成素家族有 Ang-1, Ang-2, Ang-3, Ang-4 4 个成员,其受体为内皮细胞特异性的酪氨酸激酶受体 Tie 家族,包括 Tie-1, Tie-2 两成员。Ang-1 不参与血管内皮细胞增殖的调控,但调节血管成熟,维持血管结构,通过与 Tie-2 受体结合发挥作用。Ang-2 是 Ang-1 的天然拮抗剂,当有 VEGF 等血管生成因子存在时,促进新生血管生成和重塑,缺乏这些因子时促血管退化。Zhao 等^[26]证实 HCC 患者 VEGF/ KDR, Ang-1/ Tie-2 两信号传导途径均激活,在肿瘤血管生成中起重要作用,是重要的预后及转移指标。Sugimachi 等^[27]报道 HCC 患者 68% 表达 Ang-1, 81% 表达 Ang-2, 低分化 HCC Ang-2 表达显著增加,缺氧对 Ang 表达无影响。Mitsushashi 等^[28]发现 HCC 中 Ang-2 mRNA 表达高于邻近肝组织, Ang-1 和 Tie-2 表达无差别;高 Ang-2/1 mRNA 与门脉侵犯、肿瘤直径、微血管密度密切相关;高 Ang-2/1 mRNA 组生存时间短于低 Ang-2/1 mRNA 组;认为 Ang-2/1 连同 VEGF 在 HCC 血管生成和进展中起关键作用。

在 HCC 肿瘤血管生成过程中,除上述各种因子外,尚有其它多种因子参与。其中包括 ①组织因子(tissue factor, TF): 组织因子是凝血因子 VII/ VIIa 的细胞膜受体,在肿瘤组织中可广泛表达于肿瘤细胞和血管内皮细胞、间质巨噬细胞、成纤维细胞。TF 是一种多功能生物分子,其胞外区主要与凝血功能有关而胞内区与细胞内信号传导有关,两者均参与肿瘤血管生成、浸润和转移。研究^[29]发现 HCC 患者肿瘤 TF 表达与 VEGF 水平相关,与肿瘤血管生成和侵袭力有关,可作为 HCC 患者预后的预测指标。②环氧合酶 2(cyclooxygenase 2, COX-2): COX-2 是一种双功能酶,具有环氧合酶和过氧化氢酶活性。其在 HCC 中的作用机制^[30]在于通过刺激 VEGF 和 PG 的产生,诱导肿瘤血管生成,也可通过诱导抗凋亡因子 bcl-2 及激活 Akt/ pkb 抗凋亡信号传导通路抑制肿瘤细胞凋亡。Qiu 等^[31]观察到 COX-2 在高分化 HCC 中过度表达,可能在 HCC 发生的早期阶段起作用。NO、HIF 等因子也在 HCC 血管生成中发挥一定的作用。

参考文献:

- [1] Folkman J. Isolation of a Tumor Factor Responsible to Angiogenesis[J]. J Exp Med, 1971, 133(2): 275-288.
- [2] Hanahan D, Folkman J. Patterns and Emerging Mechanisms of the Angiogenic Switch During Tumorigenesis[J]. Cell, 1996, 86(3): 353-364.
- [3] Torimura T, Stat M, Ueno T, et al. Increased Expression of Vascular Endothelial Growth Factor is Associated with Tumor Progression in Hepatocellular Carcinoma[J]. Hum Pathol, 1998, 29(6): 986-991.

- [4] Zhao J, HU J, Cai J, et al. Vascular Endothelial Growth Factor Expression in Serum of Patients with Hepatocellular Carcinoma[J]. Chin Med J (Engl), 2003, 116(5): 772-776.
- [5] Poon RT, Ng IO, Lau C, et al. Serum Vascular Endothelial Growth Factor Predicts Venous Invasion in Hepatocellular Carcinoma: a Prospective Study[J]. Ann Surg, 2001, 233(2): 227-235.
- [6] Yoshiji H, Kuriyama S, Hicklin DJ, et al. KDR/Flk-1 is a Major Regulator of Vascular Endothelial Growth Factor Induced Tumor Development and Angiogenesis in Murine Hepatocellular Carcinoma Cells[J]. Hepatology, 1999, 30(2): 1179-1186.
- [7] Marshall Z, Cramer T, Hocker M, et al. Dual Mechanism of Vascular Endothelial Growth Factor Upregulation by Hypoxia in Human[J]. Hepatocellular Carcinoma [Gut], 2001, 48(5): 87-96.
- [8] Yasuda S, Arai S, Mori A, et al. Hexokinase II and VEGF Expression in Liver Tumors: Correlation with Hypoxia Inducible Factor 1 Alpha and its Significance[J]. Hepatol, 2004, 40(1): 117-123.
- [9] Moon WS, Rhyu KH, Kang MJ, et al. Overexpression of VEGF and Angiopoietin 2: a Key to High Vascularity of Hepatocellular Carcinoma? [J] Mod Pathol, 2003, 16(6): 552-557.
- [10] Yoshiji H, Kuriyama S, Yoshii J, et al. Synergistic Effect of Basic Fibroblast Growth Factor and Vascular Endothelial Growth Factor in Murine Hepatocellular Carcinoma[J]. Hepatology, 2002, 35(4): 834-842.
- [11] Poon RT, Ng IO, Lau C, et al. Correlation of Serum Basic Fibroblast Growth Factor Levels with Clinicopathologic Features and Postoperative Recurrence in Hepatocellular Carcinoma[J]. Am J Surg, 2001, 182(3): 298-304.
- [12] El Assal ON, Yamanoi A, Ono T, et al. The Clinicopathological Significance of Heparanase and Basic Fibroblast Growth Factor Expressions in Hepatocellular Carcinoma[J]. Clin Cancer Res, 2001, 7(5): 1299-1305.
- [13] Guo L, Kuroda N, Ttoi M, et al. Increased Expression of Platelet-Derived Endothelial Cell Growth Factor in Human Hepatocellular Carcinomas Correlated with High Edmondson Grades and Portal Vein Tumor Thrombosis[J]. Oncol Rep, 2001, 8(4): 871-876.
- [14] Zhou J, Tang ZY, Fan J, et al. Expression of Platelet-Derived Endothelial Cell Growth Factor and Vascular Endothelial Growth Factor in Hepatocellular Carcinoma and Portal Vein Tumor Thrombus[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2000, 126(1): 57-61.
- [15] Morinaga S, Yamamoto Y, Noguchi Y, et al. Platelet-Derived Endothelial Cell Growth Factor (PD-ECGF) is up-Regulated in Human Hepatocellular Carcinoma (HCC) and the Corresponding Hepatitis Liver[J]. Hepatogastroenterology, 2003, 50(53): 1521-1526.
- [16] Sawai Y, Tamura S, Fukui K, et al. Expression of Ephrin B1 in Hepatocellular Carcinoma: Possible Involvement in Neovascularization[J]. J Hepatol, 2003, 39(6): 991-996.
- [17] Wang Z, Ruan YB, Guan Y, et al. Expression of IGF- II in Early Experimental Hepatocellular Carcinomas and its Significance in Early Diagnosis[J]. World J Gastroenterol, 2003, 9(2): 267-270.
- [18] Yang C, Zeisberg M, Lively JC, et al. Integrin Alpha1beta1 and alpha2beta1 are the Key Regulators of Hepatocarcinoma Cell Invasion Across the Fibrotic Matrix Microenvironment[J]. Cancer Res, 2003, 63(23): 8312-8317.
- [19] Liu LX, Jiang HC, Liu ZH, et al. Integrin Gene Expression Profiles of Human Hepatocellular Carcinoma[J]. World J Gastroenterol, 2002, 8(4): 631-637.
- [20] Xu Z, Shen MX, Ma DZ, et al. TGF-beta1 Promoted Epithelial to Mesenchymal Transformation and Cell Adhesion Contribute to TGF-beta1 Enhanced Cell Migration in SMMC-7721 Cells[J]. Cell Res, 2003, 13(5): 343-350.
- [21] Sugano Y, Matsuzaki K, Tahashi Y, et al. Distortion of Autocrine Transforming Growth Factor Beta Signal Accelerates Malignant Potential by Enhancing Cell Growth as Well as PAI-1 and VEGF Production in Human Hepatocellular Carcinoma Cells[J]. Oncogene, 2003, 22(15): 2309-2321.
- [22] Giannelli G, Fransvea E, Marinucci F, et al. Transforming Growth Factor-beta1 Triggers Hepatocellular Carcinoma Invasiveness via Alpha3beta1 Integrin[J]. Am J Pathol, 2002, 161(1): 183-193.
- [23] Ozaki I, Mizuta T, Zhao G, et al. Induction of Multiple Matrix Metalloproteinase Genes in Human Hepatocellular Carcinoma by Hepatocyte Growth Factor Via a Transcription Factor Ets-1[J]. Hepatol Res, 2003, 27(4): 289-301.
- [24] Ishii Y, Nakasato Y, Kobayashi S, et al. A Study on Angiogenesis-Related Matrix Metalloproteinase Networks in Primary Hepatocellular Carcinoma[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2003, 22(3): 461-470.
- [25] Kuyvenhoven JP, van Hoek B, Blom E, et al. Assessment of the Clinical Significance of Serum Matrix Metalloproteinases MMP-2 and MMP-9 in Patients with Various Chronic Liver Diseases and Hepatocellular Carcinoma[J]. Thromb Haemost, 2003, 89(4): 718-725.
- [26] Zhao ZC, Zheng SS, Wan YL, et al. The Molecular Mechanism Underlying Angiogenesis in Hepatocellular Carcinoma: the Imbalance Activation of Signaling Pathways[J]. Hepatobiliary Pancreat Dis Int, 2003, 2(4): 529-536.
- [27] Sugimachi K, Tanaka S, Taguchi K, et al. Angiopoietin Switching Regulates Angiogenesis and Progression of Human Hepatocellular Carcinoma[J]. J Clin Pathol, 2003, 56(11): 854-860.
- [28] Mitsuhashi N, Shimizu H, Ohtsuka M, et al. Angiopoietins and Tie-2 Expression in Angiogenesis and Proliferation of Human Hepatocellular Carcinoma[J]. Hepatology, 2003, 37(5): 1105-1113.
- [29] Poon RT, Lau CP, Ho JW, et al. Tissue Factor Expression Correlates with Tumor Angiogenesis and Invasiveness in Human Hepatocellular Carcinoma[J]. Clin Cancer Res, 2003, 9(14): 5339-5345.
- [30] Kohno H, Nagasue N, Rahman MA. COX-2: a Target for Preventing Hepatic Carcinoma[J]. Expert Opin Ther Targets, 2002, 6(4): 483-490.
- [31] Qiu DK, Ma X, Peng YS, et al. Significance of Cyclooxygenase-2 Expression in Human Primary Hepatocellular Carcinoma[J]. World J Gastroenterol, 2002, 8(5): 815-817.

(收稿日期:2004-11-08)