

血管内皮生长因子与原发肝癌血管新生关系及抗血管治疗的进展

邹文远, 张自力 综述 胡道予 审核

【中图分类号】R735.7; R815 【文献标识码】A 【文章编号】1000-0313(2009)03-0338-03

原发性肝癌是我国和一些亚非地区常见癌症,是我国最常见的恶性肿瘤之一。我国原发性肝癌 90% 以上为肝细胞肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)^[1]。血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)是体内一种强有力的促血管生成因子,能直接或间接参与血管生成,在肝癌的发生、发展及预后中具有极其重要的地位。近年来,VEGF 已成为肿瘤抗血管治疗的热点,故本文对 VEGF 的研究现况进行综述。

肿瘤的生长代谢、浸润转移和复发均与肿瘤的血供密切相关。在肿瘤生长的血管前期,肿瘤仅能够依靠其周围组织弥散的营养物质来满足其需要^[2],因而肿瘤生长受到抑制,其直径难以超过 2 mm^[3]。当肿瘤进入血管期时,肿瘤内及其周围组织出现大量肿瘤相关血管,改善了肿瘤血供,并促进其生长。Folkman 于 1973 年首先提出了肿瘤血管生成因子(tumor angiogenesis factor, TAF)以后,已经证实肿瘤患者体内存在多种血管生成因子,其中 VEGF 是体内最强的一种血管生成因子^[4]。VEGF 在肿瘤血管生长中起着很重要的作用,它通过与 VEGF 受体结合,引起一系列信号传导,释放各种生长因子和细胞因子,促进内皮细胞的增殖与迁移,最终引起血管增殖。VEGF 及其受体与肿瘤的关系是当前的研究热点。本文以近年来对肝癌中 VEGF 及其受体(vascular endothelial growth factor receptor, VEGFR)与肝癌血管新生关系的研究和相关的肿瘤治疗为重点综述如下。

肝癌中 VEGF 及 VEGFR 的主要形式

VEGF 是由 2 条亚基间及亚基内借二硫键联结形成的二聚体糖蛋白分子。由于剪接方式不同而得出 4 种不同 VEGF 氨基酸残基:即 VEGF121、VEGF165、VEGF189、VEGF206;其中 VEGF165 被认为促血管内皮细胞分裂增生的活性最强,也是肿瘤相关血管生成最重要的因子。

VEGFR、VEGF 的生物学效应均是通过其特异性受体 VEGFR 介导来实现的,VEGFR 可导致由配体介导的二聚体化,受体的二聚体化促使相邻受体亚基自身磷酸化和去磷酸化,从而触发信号转导^[5]。VEGFR 均为酪氨酸蛋白激酶,按其功能和结构分为:fms 样酪氨酸激酶 I(VEGFR-1/Flt-1)、激酶插入区受体(VEGFR-2, Flk-1/KDR)、fms 样酪氨酸激酶 4(VEGFR-3/Flt-4)及一些低分子量 VEGFR(neuropilin-1)^[6]。Yamaguchi 等^[7]利用免疫组化对 28 例 HCC 组织标本进行研究,在 25 例中度和低分化的 HCC 标本中,20 例的 KDR/flk-1

呈连续分布,从而认为在 HCC 中 VEGFR 的表达以 KDR/flk-1 为主;对其进行定位分析发现,在癌区 KDR/flk-1 主要分布在巨噬细胞和肿瘤血管的内皮细胞上。Shimamura 等^[8]用反转录聚合酶链反应(reversed transcript polymerase chain reaction, RT-PCR)对 143 例 HCC 伴肝硬化的活检标本中 VEGF 及 VEGFR-2 进行检测,肿瘤组织与非肿瘤组织中 VEGF 浓度差别不大,而肿瘤区中 KDR 表达率为 100%,且在肿瘤区与非肿瘤区差别很大(秩和检验, $P < 0.001$),而 flt-1 表达则无此差异。所以,VEGF 诱导的血管生成和肿瘤生长与 KDR/flt-1 在 HCC 肿瘤区中的表达关系密切。以上研究表明在 HCC 中起主要作用的是 VEGF165(121)-KDR/flk-1。

VEGF 的作用机制

目前认为 VEGF 诱导肿瘤血管新生的作用机制:VEGF 与 KDR/flk-1 受体结合后,激发了相应信号转导机制,从析发挥其增加微血管通透性,诱导不同来源内皮细胞分裂、增殖、迁移的作用。同时改变内皮细胞的基因表达,产生间质胶原蛋白酶、基质降解蛋白等蛋白酶来降解基质,最终促进肿瘤血管生成。

VEGF 在肝癌中表达增高的机制

Von Marschall 等^[9]通过研究发现,缺氧可通过 2 种机制影响 VEGF 的合成:①缺氧可使 VEGF mRNA 降解速度减慢,导致 VEGF mRNA 的稳定性倍增;②缺氧可以控制 VEGF 的基因转录。在缺氧介导的 VEGF 基因转录中,它的启动子即 975 区是缺氧诱导因子 1 的结合区,该区的作用可随 1286 和 789 区的缺失而显著减小。

肝动脉插管化疗栓塞与血管内皮生长因子

近来,肿瘤血管新生对介入治疗即肝动脉插管化疗栓塞的影响成为新的研究方向。VEGF 的表达水平反映了肿瘤血管新生程度。大量实验^[9]证实缺氧是上调 VEGF 表达的最主要的因素。肿瘤供血动脉栓塞后,肿瘤组织缺血,肿瘤细胞缺氧,上调 VEGF 的表达,诱导形成新生肿瘤血管,有利于残留的肿瘤细胞生长和转移,从而影响临床介入疗效。上述结果提示,肿瘤血管形成可能为肿瘤细胞逃避临床栓塞化疗的又一新的机制。临床联合应用肿瘤血管抑制剂和栓塞化疗可望能更好地切断肝癌的血供,杀死肿瘤细胞,抑制肿瘤细胞复发和转移。

VEGF 及其受体在原发性肝癌发展中的作用

VEGF 在原发性肝癌中的作用,以往的研究认为,VEGF 可作为肿瘤转移、复发及预后判断的独立指标,但最近的研究认

作者单位:442000 湖北,十堰市郧阳医学院附属人民医院放射科(邹文远、张自力);430030 武汉,华中科技大学同济医学院附属同济医院放射科(胡道予)

作者简介:邹文远(1960—),男,湖北十堰人,主任医师,主要从事影像诊断及介入治疗工作

为, VEGF 在肝癌中不能作为一个独立的因素去考虑。LU 等^[10]认为 HCC 中血管形成的分子机制: 源于巨噬细胞金属弹性蛋白酶(HME, 基质中能有效抑制血管生成的金属蛋白酶)和 VEGF 的平衡。对 25 例 HCC 标本运用 NorthernBlot 探测两者的 mRNA 表达, 用血管造影术检测血管生成情况。在 15 例 HME 表达阳性的标本中, 11 例标本的微血管生成较少; 而 HME 表达阴性的 10 例中, 9 例标本微血管较丰富, 从而认为在肿瘤发展中, HME 与 VEGF 是两个相对独立的因子。Shyu 等^[11]运用免疫组化技术, 对 46 例 HCC、3 例结肠癌肝转移及 3 例良性肝疾病进行研究发现, HCC 患者癌区的肝细胞及内皮细胞表面 VEGF 的表达与 HCC 的复发率并没有非常密切的关系, 所以 VEGF 的表达不能作为 HCC 预后估计的独立因素, 并且发现 HCC 组织分级与丙氨酸氨基转移酶的水平与 VEGF 的水平均有关。Yoshiji 等^[12]运用 Ret-ro-Tet 系统研究发现, 虽然肿瘤的增大与 VEGF 表达有关, 但转导了 VEGF 的细胞在体外的侵袭性并未发生显著的变化, 只有在内皮细胞存在的时候, 侵袭性才显著的增加, 可见 VEGF 不能改变 HCC 细胞增殖情况, 只有与内皮细胞协调发挥作用, 才能促进 HCC 的进一步发展。Li 等^[13]用酶联接免疫吸附剂测定(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)检测血清中 VEGF(sVEGF)浓度, 发现其在 HCC 组织中显著高于良性肝病变的组织, 并且其浓度在伴有门静脉栓塞及包膜情况较差的 HCC 组织中显著高于没有门静脉栓塞及包膜较好的 HCC 组织。所以认为, sVEGF 可作为 HCC 转移的预测指标。Poon 等^[14]也发现, sVEGF 高水平与肿瘤被膜消失, 肝内转移发生及微静脉侵袭有显著关系。另有研究^[15]报道 VEGF、VEGFR 在肝细胞肝癌中均呈高表达, 分别为 74% 和 62%, 与肝硬化及正常肝组织表达相比差异有极显著意义($P < 0.01$); VEGF 与 VEGFR 的表达强度和表达率与肝癌的转移和门静脉癌栓形成率呈正相关, 与患者的生存率呈负相关($P < 0.05$)。所以, 高 sVEGF 是 HCC 静脉侵袭的预测因素, 可以作为评价肿瘤预后和转移的指标。

抗肿瘤血管生成治疗

以抑制肿瘤相关血管为中心治疗肿瘤, 已成为当今肿瘤治疗的热点。与传统抗肿瘤细胞治疗手段相比, 抗肿瘤相关血管治疗主要有以下优势: ①肿瘤血管内皮细胞为二倍体细胞, 遗传性稳定, 耐药性小; ②对肿瘤杀伤范围广泛; ③广谱抗肿瘤并且毒副作用小。近年来, 抗肿瘤血管治疗方式已发展为多途径

1. 药物治疗

直接抗血管生成药物: 该类药物可特异性直接抑制内皮细胞增殖, 如内皮抑制素(ES)。间接抗血管生成制剂: 目前此类药物中, 研究最热的当属 TNP-470。其在抗肝癌治疗中研究较多, 动物实验^[16]表明 TNP-470 通过阻断新生血管内皮细胞的 DNA 复制, 抑制微血管的增生来抑制肝癌的血管生成和癌细胞生长, TNP-470 还能阻断肝硬化向肝癌转化。

针对 VEGF 及其受体的抗瘤血管生成的抑制剂这类药物也是当前的研究热点。①VEGFR 单克隆抗体可封闭 VEGFR, 阻止其与 VEGF 结合, 抑制肿瘤相关血管生成。刘承利等^[17]

在研究 KDR 抗体对体外培养的肝癌细胞系 HHCC 的影响中发现, KDR 抗体不仅抑制肿瘤相关血管生成, 而且对 HHCC 细胞生长产生抑制作用; ②VEGF 受体酪氨酸激酶抑制剂: 这类药物大多为人工合成, 可以阻断胞内信号传导, 从而阻断 VEGF/VEGFR 信号通路, 有效降低 VEGF 生物效应的表达, 抑制肿瘤组织中的血管形成。ZD6474 是一种新的 VEGF 受体酪氨酸激酶抑制剂, 其还可抑制表皮生长因子受体的表达。Giannelli 等^[18]研究证实 ZD6474 能有效抑制肝癌细胞的增生、侵袭和转移。

2. 基因治疗

反义核苷酸: 反义核苷酸技术是目前肿瘤基因治疗应用中的热点, 以人工合成的反义寡核苷酸为主, 并已具有发展为新型抗肿瘤的基因药物。

VEGF 反义核苷酸: 在基因水平用反义寡核苷酸抑制 VEGF 基因的表达, 为许多研究提供了方向。Kang 等^[19]就建立了 VEGF cDNA 的反义核苷酸: pZeoVEGF, 并检测了它在 SK-HEP1 肝癌鼠模型中的作用, 发现它可以有效抑制 VEGF 的合成, 从而抑制肿瘤相关血管形成, 达到抑制肿瘤生长的作用。核酶也常被人们用来降低靶基因的表达。龚邦东等^[20]检测了抗 VEGF 锤头状核酶对 VEGF 基因外显子的作用, 将其导入 HLF 细胞系后, 发现这种核酶不仅降低了 VEGF mRNA 的水平, 而且降低 VEGF 分子的水平, 因而认为它能选择性地抑制 HCC 中 VEGF 的表达, 为其作为靶点治疗肿瘤提供了新思路。

VEGFR 反义核苷酸: 肿瘤细胞表达的 VEGF 通过与其自身的 VEGFR 和血管内皮细胞上 VEGFR 相结合后发生效应, 而促进肿瘤细胞增生和新生血管形成。因此, 利用 VEGFR 反义核苷酸(VEGFR-ODN)阻断 VEGF 和 VEGFR 的结合, 对于抗肿瘤相关血管生成有极积作用。

导入抑癌基因: 抑癌基因 P53 参与 VEGF 表选调控, 可使 VEGF mRNA 表达明显下降, 因此, 利用基因转染技术将野生型 P53 导入 HCC 细胞中, 从而达到抗肿瘤血管生成的作用。

采用基因重组方法以诱导可溶性受体的产生, 竞争性结合促血管生成因子, 从而使促血管生成因子与内皮细胞的相应受体结合机会大大降低, 达到抑制肿瘤生长的目的。VEGF 部分多肽(3-4 外显子)具有竞争性抑制 VEGF 和人脐静脉内皮细胞 VEGFR 相结合的作用, 在肿瘤生物靶向治疗中有潜在价值^[21]。

问题与展望

综上所述, VEGF 是诱导血管生成的强效因子, 在肝癌的发生、发展中有十分重要的作用。肝癌肿瘤的富血管化, 也意味着针对 VEGF 和内皮抑制素(ES)的抗血管生成治疗在肝癌治疗方面前景广阔, 但也存在一些问题: 如 VEGF 亚型较多, 其在肿瘤组织中的具体作用机制尚需更深入研究; 抗血管生成药需长期服用, 加之抗 VEGF/VEGFR 抗体等大分子不易口服; 长期使用胞内信号转导分子抑制剂有可能造成难以估测的损伤。所以这些抗血管生成药在肝癌治疗中的最终效果有待

进一步评价。但也应看到针对 VEGF 的抗血管生成治疗为控制肝癌的生长、转移和复发提供了新的途径及思路。相信随着相关理论的深入研究和技术的日渐成熟,肝癌抗血管治疗将会有新的突破。

参考文献:

- [1] 汤钊猷. 临床肝癌学[M]. 上海:上海科技教育出版社, 2001, 24.
- [2] Luiten RM, Fleuren GI, Warnaar SO, et al. Target-specific Activation of Mast Cells by Immunoglobulin E Reactive with a Renal Cellcarcinoma-associated Antigen[J]. Lab Invest, 1996, 74(3): 467-475.
- [3] Potgens AJ, Westphal HR, deWaal RM, et al. The Role of Vascularpermeability Factor and Basic Fibroblast Growth Factor In Tumor Angiogenesis[J]. Biol Chem HoppeSeyler, 1995, 376(1): 57-70.
- [4] Kraizer Y, Mawasi N, Seagal J, et al. Vascular Endothelial Growth Factor and Angiopoietin in Liver Regeneration[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2001, 287(1): 209-215.
- [5] 陈红辉, 孙圣刚, 童萼塘. 血管内皮细胞生长因子与缺血性脑损伤[J]. 国外医学脑血管疾病分册, 2001, 9(1): 72-74.
- [6] Shalaby F, Rossant J, Yamaguchi TP, et al. Failure of Blood-island Formation and Vasculogenesis in FLK-1-deficient Mice[J]. Nature, 1995, 376(1): 62-66.
- [7] Yamaguchi R, Yasuda S, Arii S, et al. Hexokinase II and VEGF Expression in Liver Tumors: Correlation with Hypoxia-inducible Factor-1 α and its Significance[J]. J Hepatol, 2004, 40(1): 117-123.
- [8] Shimamura T, Suginachi K, Tanaka S, et al. Angiopoietin Switching Regulates Angiogenesis and Progression of Human Hepatocellular Carcinoma[J]. J Clinical Pathology, 2003, 56(6): 854-860.
- [9] Von-Marschall Z, Cramer I, Hocker M, et al. Dual Mechanism of Vascular Endothelial Growth Factor up Regulation by Hypoxia in Human Hepatocellular Carcinoma[J]. Gut, 2001, 48(1): 87-96.
- [10] LU W, Li YH, He XF, et al. Effect of Dosage Anticancer Agents During Transcatheter Arterial Chemobolization on T Cell Subsets in Patients with Hepatocellular Carcinoma[J]. Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao, 2002, 22(6): 524-526.
- [11] Shyu KG, Chang H, Wang BW, et al. Intramuscular Vascular En-

dothelial Growth Factor Gene Therapy in Patients with Chronic Critical Legischemin[J]. Am J Med, 2003, 114(1): 85-92.

- [12] Yoshiji H, Yoshii J, Ikenaka Y, et al. Suppression of the Renin-angiotensin System Attenuates Vascular Endothelial Growth Factor-mediated Tumor Development and Angiogenesis in Murine Hepatocellular Carcinoma Cells[J]. Int J Oncol, 2002, 20(10): 1227-1231.
- [13] Li XM, Tang ZY, Qin LX, et al. Serum Vascular Endothelial Growth Factor is a Predictor of Invasion and Metastasis in Hepatocellular Carcinoma[J]. J Exp Clin Cancer Res, 1999, 18(3): 511-517.
- [14] Poon RT, Ng I O, Lan 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.
- [15] Suzuki H, Seto K, Shinoda Y, et al. Paracrine Upregulation of VEGF Receptor mRNA in Endothelial Cells by Hypoxia-exposed Hep G2 Cells[J]. Am J Physiol, 1999, 276(1): 92-97.
- [16] Kim M, Torimura T, Ueno T, et al. Angiogenesis Inhibitor TNP-470 Suppresses the Progression of Experimentally-induced Hepatocellular Carcinoma in Rats[J]. Int J Oncol, 2000, 16(2): 375-382.
- [17] 刘承利, 王宏光, 窦科峰, 等. 血管内皮生长因子反义寡核苷酸及抗 KDR 抗体对人肝癌细胞系 HHCC 的生长抑制作用[J]. 中华普通外科杂志, 2001, 16(3): 572-573.
- [18] Giannelli G, Azzariti A, Sgarra C, et al. ZD6474 Inhibits Proliferation and Invasion of Human Hepatocellular Carcinoma Cells[J]. Biochem Pharmacol, 2006, 71(3): 479-485.
- [19] Kang MA, Kim KY, Seol JY, et al. The Growth Inhibition of Hepatoma by Gene Transfer of Antisense Endothelial Growth Factor[J]. J Gene Med, 2000, 2(2): 289-296.
- [20] 龚邦东, 罗文, 杜芳腾, 等. 反义寡核苷酸抑制肝癌血管内皮生长因子表达[J]. 中华肝脏病杂志, 2004, 12(1): 35-37.
- [21] 李先茂, 曾位森, 张亚历. 血管内皮生长因子部分多肽抗血管生成的研究[J]. 中华肿瘤杂志, 2002, 24(3): 448-450.

(收稿日期: 2008-08-30 修回日期: 2008-10-09)

下期要目

肝外胆管癌的 16 层螺旋 CT 诊断研究

乳头状肾细胞癌的影像学表现

胚胎发育不良性神经上皮肿瘤的影像学表现

胼胝体肿瘤性病变 MRI 鉴别诊断

慢性酒精中毒性脑病 MRI 表现

3 例卵黄囊瘤多层螺旋 CT 表现并文献复习

胰岛素瘤的 MSCT 诊断(附 16 例报告)

原发性甲状旁腺肿瘤的影像诊断

急性闭合性创伤性脑水肿扩散加权成像的实验研究

MSCT 及 MRI 对肝脏局灶结节性增生的诊断价值

DWI 和 ADC 值测量在颅内囊性病变鉴别诊断中的价值

64 层螺旋 CT 在肺动脉闭塞合并室间隔缺损诊断中的应用

64 层螺旋 CT 冠状动脉成像诊断冠状动脉狭窄的初步探讨

磁共振 DWI 结合常规 MRI 对腹腔脓肿的诊断价值

软骨母细胞型骨肉瘤的影像学表现及病理学基础分析

低场磁共振对关节软骨损伤的评价及关节镜检查结果对照