

血管内皮生长因子及其受体系统与肿瘤生长相关性的研究进展

任卫华¹, 仝甲钊²

(1.新疆阿勒泰地区人民医院,新疆 阿勒泰 836500;

2. 河南大学第一附属医院,河南 开封 475001)

摘要:血管内皮生长因子(VEGF)属于血小板源生长因子超基因家族成员,其在调节血管和淋巴管的生成中起重要作用。由于肿瘤的生长极度依赖血管供氧,因此血管内皮生长因子在其中的作用就显得尤其重要,而通过抑制肿瘤生长中的血管内皮生长因子—血管内皮生长因子受体(VEGF-VEGFR)系统无疑是治疗肿瘤性疾病的一个重要突破口。文章就 VEGF-VEGFR 系统的结构和功能及其在治疗肿瘤中作用的进展作一综述。

主题词:血管内皮生长因子;血管生成;肿瘤;治疗

中图分类号:R730.53 **文献标识码:**A **文章编号:**1671-170X(2015)07-0611-04

doi:10.11735/j.issn.1671-170X.2015.07.B016

Research Advance on the Correlation Between VEGF-VEGFR System and Tumor Growth

REN Wei-hua¹, TONG Jia-zhao²

(1.The Regional People's Hospital of Altai in Xinjiang,Altai 836500,China;2. The First Affiliated Hospital of Henan University,Kaifeng 475001,China)

Abstract: Vascular endothelial growth factors (VEGF) belongs to the platelet-derived growth factor supergene family, and plays important roles in the regulation of angiogenesis and lymphangiogenesis. Because tumor growth extremely depends on vessel oxygen supply, the role of VEGF is particularly important, and it is undoubtedly an important part of the tumor's treatment to suppress the VEGF-VEGFR system of the tumor growth. In this paper, the research advance on the structure and function of VEGF-VEGFR system and their roles in the treatment of tumor are reviewed.

Subject words: vascular endothelial growth factor; angiogenesis; neoplasms; treatment

血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)属于血小板源生长因子超基因家族成员,其在调节血管和淋巴管的生成中起重要作用。VEGF-A 是血管生成的关键分子,通过和两个酪氨酸激酶(TK)受体 VEGFR-1(Flt-1)和 VEGFR-2(KDR/Flk-1)结合,从而调节内皮细胞增殖、迁移、血管的渗透性和分泌功能。VEGFR-2 能较强地促进 TK 激活,进而促进前血管生成信号的产生。VEGF-VEGFR 系统在肿瘤血管生成中起主要作用,通过抑制 VEGF-VEGFR 系统的药物在临床领域治疗肿瘤患

者已经得到了广泛应用。这些药物在延长患者的总生存期的方面是值得肯定的,然而对某些癌症的疗效却并不理想,可能是由于在经过长期治疗后会降低肿瘤对血管内皮生长抑素的敏感性。本文就 VEGF-VEGFR 的结构和功能,及作用于 VEGF-VEGFR 信号的抗癌药物的研究进展及目前存在的问题作一综述。

1 VEGF 的结构和功能

VEGF 是高度保守的同源二聚体糖蛋白,N-末端存在 6 个极性氨基酸组成的疏水性基团,本身由分子量各为 24kD 的单链以二硫键组成二聚体。哺

通讯作者:任卫华,主治医师,学士;新疆阿勒泰地区人民医院内一科,新疆阿勒泰地区阿勒泰市公园路 25 号(836500);E-mail: 610577710@qq.com

收稿日期:2014-05-22;**修回日期:**2014-07-18

哺乳动物的基因组编码 5 个 VEGF 家族成员: VEGF-A (即通常所指的 VEGF), 胎盘生长因子(PLGF), VEGF-B, VEGF-C 和 VEGF-D, 其中 VEGF-A 在早期胚胎的血管形成中起关键作用。VEGF-A 纯合子基因敲除小鼠和杂合小鼠(VEGF-A^{+/-})能抑制成熟血管的形成而造成胚胎死亡, 并且 VEGF 在胚胎的局部浓度必须受到严格的控制才能适合血管的生成^[1]。通过可变剪接产生 VEGF-A 的几个亚型, 其中 VEGF-A165 的生物活性最高, 其通过与受体 neuropilin-1(Nrp1)结合发挥作用。Pritchard 等^[2]报道了 VEGF-A 的另外一个选择性剪接形式 VEGF_{xxx}b, 其与相应受体的亲和力低, 通过和 VEGF-A 竞争而抑制血管的生成。VEGF-C 和 VEGF-D 通过加工处理后获得与 VEGFR-3 的高度亲和力, 并能刺激淋巴管的再生。VEGF-C 在胚胎形成时期就已经开始表达, 对于 VEGF-C 缺失的小鼠(VEGF-C^{-/-}) 在胚胎时期由于淋巴管的生成障碍而造成组织间的积水而导致胚胎死亡^[3]。PLGF 和 VEGF-B 只能与 VEGFR-1 结合并被激活。PLGF 可以刺激内皮细胞产生生存信号并促进血管生成而不会产生严重的炎症反应^[4]。Aase 等^[5]通过研究发现 VEGF-B 在刺激和修复的冠状动脉系统中发挥着重要作用。

2 VEGFR 在血管再生中的双重作用

VEGFR 是具有高度特异性的跨膜受体, 结构包含有胞外的含有 7 个免疫球蛋白样的功能区, 胞内含有 1 个插入片段的酪氨酸蛋白激酶及跨膜区, VEGFR 在结构上与血小板源性生长因子受体(PDGFR)家族有关, 而 PDGFR 家族成员在 TK 结构域有一个长激酶插入序列, 这和 VEGFR 在细胞内的信号通路不同。PDGFR/Fms/Kit 家族在插入的激酶序列中有一个或多个 tyr(Y)-x-x-met(M)基序, 自身磷酸化就发生在这个酪氨酸上, 该序列与磷脂酰肌醇-3 激酶的 p85 亚单位上的 SH2 结构域结合, 能显著地激活 PI3K-Akt 通路和 Ras 通路从而刺激细胞增殖和转化^[6]。但是 VEGFR 的激酶插入序列没有 Y-x-x-M 基序, 因此 VEGF 通常不会刺激 PI3K 通路的高表达。

目前已经发现了 VEGFR-2 上的两个主要的自身磷酸化位点, 其中 1175-PY 位点在 VEGF-A 诱导

的内皮细胞增殖中是必不可少的。VEGFR-2 中 1175-苯基丙氨酸(F)的突变或是通过细胞内注射抗 1175-PY 特定抑制性抗体, 能够明显地抑制 VEGF 依赖细胞的增殖。此外, 1175-PY 能够通过绑定和激活 PLC- γ 从而激活 PKC-Ca²⁺-c-Raf-MEK-MAPK 途径^[7]。VEGFR-2 上 1173-F 单氨基酸的突变还能导致小鼠在胚胎 E8.5-9.0 期由于缺少血管生成而死亡, 这一点和 VEGFR-2(flk-1)^{-/-}小鼠相似^[8], 这说明 VEGFR-2 下游的 1175-PY-PLC γ 途径在胚胎早期的血管生成中是必不可少的。Sase 等^[9]认为在体外胚胎干细胞—内皮细胞分化系统中, VEGFR-2 1175-PY-PLC γ 途径在祖细胞向血管内皮细胞的分化过程中是必须的, 且 Xiong 等^[10]也发现 VEGFR-2 1175-PY-PLC γ -Ca²⁺途径和蛋白激酶-A 途径在内皮细胞分泌血管假性血友病因子的过程中是非常重要的, 其可以触发血管的炎症反应。

然而, VEGFR-1 与 VEGF 的亲和力较强, 其亲和力至少比 VEGFR-2 强一个数量级。而 VEGFR-1 激酶活性较低, 大约是 VEGFR-2 的十分之一, VEGFR-1 基因生成两种主要的蛋白质, 未删节的受体和 sFlt-1, 这意味着 VEGFR-1 在某种条件下可以抑制血管的再生, 事实上 VEGFR-2(flk-1)基因敲除小鼠(flk-1^{-/-}小鼠)由于缺乏血管再生能力在 E8.5-9.0 期死亡, 而 VEGFR-1(flt-1)基因敲除小鼠(flt-1^{-/-})几乎在同一时期(E8.5-9.0)由于内皮细胞的过度生长和在胚胎期血管的不规则生长而死亡^[11]。这说明在早期胚胎中, 两种 VEGFR 在血管再生过程中起不同的作用: VEGFR-2 促进血管再生, 而 VEGFR-1 则能够抑制 VEGFR-2 的信号传递。

为了区分 VEGFR-1 是通过产生一个负信号来抑制血管再生, 还是 VEGFR-1 的配体结合位点通过捕获 VEGF 来降低 VEGF 的活性, 有学者成功培育了 flt-1 TK-deficient(TK^{-/-})小鼠, 并发现 flt-1 TK^{-/-}小鼠的血管再生能力几乎正常, 并且这些小鼠基本上健康, 这说明 VEGFR-1 在早期胚胎通过捕获 VEGF 而抑制血管再生并且能够降低 VEGFR-2 的前血管生成信号的传递, 通过对 flt-1 TK^{-/-}小鼠的研究, 发现 VEGFR-1 在肿瘤的生长、转移和小鼠的慢性关节炎中扮演着重要的角色^[12-15]。此外, 有 op/op 遗传背景的 flt-1 TK^{-/-}小鼠, 其骨髓重建明显受抑制, 这意味着 VEGFR-1 在一定程度上参与骨髓的

形成^[16]。最近有报道表明 VEGFR 信号在感觉和运动神经系统中起一定的作用,因而 VEGF-VEGFR 系统可能会成为在治疗神经系统疾病如肌萎缩侧索硬化中一个非常有吸引力的靶点^[17,18]。

3 抑制 VEGF-VEGFR 系统在癌症治疗中的重要意义

在 1970 年,Flokman 等提出抑制肿瘤血管的生成在治疗癌症中是很有吸引力的靶点。到目前为止,VEGF-VEGFR 系统一直被认为是控制肿瘤血管生成的主要调控因素。实体肿瘤细胞常由于生长过快而导致缺氧,缺氧应激是稳定和激活 VEGF 基因中低氧诱导因子转录的一个关键诱导剂。在 VEGFR 中,特别是 VEGFR-2 在缺氧的时候也会被上调。Kim 等^[19]发现一种抗人 VEGF 抗体可以有效地抑制移植到免疫缺陷小鼠体内肿瘤的生长,并且这种抗体只能够抑制人肿瘤细胞产生的 VEGF 而不能抑制肿瘤周围小鼠细胞产生的 VEGF,因此肿瘤的生长受到明显的抑制。这些结果说明肿瘤细胞来源的 VEGF 在肿瘤血管的再生中起重要作用。

到目前为止,VEGF 中和抗体(如贝伐单抗)和小分子的激酶抑制剂(如舒尼替尼、索拉非尼)已经成功开发和应用于临床,然而也观察到了一些副作用如高血压、尿蛋白、血栓形成、出血等。贝伐单抗已经批准应用于实体肿瘤的治疗,包括结直肠癌、肺癌、乳腺癌、恶性胶质瘤等。激酶抑制剂已经应用于治疗肾癌、肝细胞癌和胃肠道间质瘤。在美国,FDA 已于 2008 年批准贝伐单抗用于治疗乳腺癌,然而到 2011 年末在大规模的三期临床研究中发现其在提高总生存期上缺乏明确的证据。基于其能够在统计学上显著地提高无进展生存期,在欧盟和日本等国也已经批准贝伐单抗用于治疗乳腺癌。

这些作用于 VEGF-VEGFR 信号系统的抗血管生成药物可能是通过以下几个途径抑制肿瘤的生长:①直接抑制血管再生;②促进肿瘤组织内已存在的内皮细胞的凋亡;③降低非正常的血管渗透性和肿瘤内的压力,从而增强化疗药物的作用;④抑制前血管生成的炎症反应。

其它抗 VEGF-VEGFR 的药物,例如 VEGF-Trap(一种 VEGFR1-VEGFR2 融合蛋白),VEGFR 中和

抗体,用于免疫疗法的 VEGFR 源多肽等已经开发出来,现在正应用于临床实验。

4 当前抗血管生成在治疗癌症方面未解决的问题

从本质上讲,当前所有抗血管生成在治疗癌症方面大都通过作用于 VEGF-VEGFR 系统。尽管在治疗恶性胶质瘤方面,在改善总生存期或是无进展生存期方面具有统计学意义^[20],但仍然存在欠缺,直到现在,对胰腺癌和胃癌都没有表现出明显的治疗反应。此外,在乳腺癌一个大规模的三期试验中也没有发现能明显地提高总生存期。

另一个重要的问题是当患者癌症复发时是否应该继续应用抗 VEGF-VEGFR 类药物。最近在结直肠癌的三期临床研究中发现贝伐单抗在联合新的化疗药物比不用贝伐单抗在提高总生存率方面是值得肯定的,这说明至少在结直肠癌复发方面,VEGF-VEGFR 系统是继续发挥作用的。

在乳腺癌病人大规模三期研究中发现抗血管生成能提高乳腺癌患者无进展生存期,但在总生存期方面无明显差异。这意味着抗 VEGF-VEGFR 系统治疗后期,肿瘤细胞可能获得了更强的浸润性,导致肿瘤的生长加速。肿瘤细胞生长速度加快可能是通过以下几个方面机制:①肿瘤血管生成依赖的 VEGF-VEGFR 系统减少,但是其他信号系统如 FGF-FGFRs 和 HGF-c-Met 等可以继续刺激肿瘤血管生成^[21,22];②肿瘤生长所依赖的血管减少,导致肿瘤细胞变得更有浸润性^[23];③肿瘤细胞在抗血管生成治疗的过程中变得对低氧和低营养条件更有耐受力^[24,25]。这些反应可能在大多数肿瘤中存在,包括乳腺癌。这些问题的解决,肿瘤和肿瘤微环境中这些潜在反应的分子基础应当被阐明。

5 展 望

包括 VEGF-VEGFR 系统在内的血管生成信号系统能够促进新生血管的形成,从而在肿瘤的发生中为肿瘤细胞提供丰富的营养物质,因此抑制肿瘤的新生血管形成已经成为治疗癌症的一个新的领域^[26]。这种疗法大大改善了患者的生活质量,但是疗效仍

然不够。因此,血管生成的信号系统和抗血管生成的调节机制仍然需要更深入广泛的探究,而这也许将成为治疗肿瘤性疾病的一个重要突破口。

参考文献:

- [1] Carmeliet P, Ferreira V, Breier G, et al. Abnormal blood vessel development and lethality in embryos lacking a single VEGF allele[J]. *Nature*, 1996, 380(6573):435-439.
- [2] Pritchard-Jones RO, Dunn DB, Qiu Y, et al. Expression of VEGF (xxx)b, the inhibitory isoforms of VEGF, in malignant melanoma[J]. *Br J Cancer*, 2007, 97(2):223-230.
- [3] Karkkainen MJ, Haiko P, Sainio K, et al. Vascular endothelial growth factor C is required for sprouting of the first lymphatic vessels from embryonic veins [J]. *Nat Immunol*, 2004, 5(1):74-80.
- [4] Luttun A, Tjwa M, Moons L, et al. Revascularization of ischemic tissues by PlGF treatment, and inhibition of tumor angiogenesis, arthritis and atherosclerosis by anti-Flt1 [J]. *Nat Med*, 2002, 8(8):831-840.
- [5] Aase K, von Euler G, Li X, et al. Vascular endothelial growth factor-B-deficient mice display an atrial conduction defect[J]. *Circulation*, 2001, 104(3):358-364.
- [6] Heldin CH, Westermark B. Mechanism of action and in vivo role of platelet-derived growth factor[J]. *Physiol Rev*, 1999, 79(4):1283-1316.
- [7] Takahashi T, Ueno H, Shibuya M. VEGF activates protein kinase C-dependent, but Ras-independent Raf-MEK-MAP kinase pathway for DNA synthesis in primary endothelial cells[J]. *Oncogene*, 1999, 18(13):2221-2230.
- [8] Sakurai Y, Ohgimoto K, Kataoka Y, et al. Essential role of Flk-1 (vascular endothelial growth factor receptor-2) tyrosine residue-1173 in vasculogenesis in mice [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2005, 102(4):1076-1081.
- [9] Sase H, Watabe T, Kawasaki K, et al. VEGFR2-PLCgamma1 axis is essential for endothelial specification of VEGFR2+ vascular progenitor cells [J]. *J Cell Sci*, 2009, 122(pt18):3303-3311.
- [10] Xiong Y, Huo Y, Chen C, et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) receptor-2 tyrosine 1175 signaling controls VEGF induced von Willebrand factor release from endothelial cells via phospholipase C-gamma 1- and protein kinase A-dependent pathways [J]. *J Biol Chem*, 2009, 284(35):23217-23224.
- [11] Fong GH, Rossant J, Gertsentein M, et al. Role of the Flt-1 receptor tyrosine kinase in regulating the assembly of vascular endothelium[J]. *Nature*, 1995, 376(6535):66-70.
- [12] Kaplan RN, Riba RD, Zacharoulis S, et al. VEGFR1-positive haematopoietic bone marrow progenitors initiate the pre-metastatic niche[J]. *Nature*, 2005, 438(7069):820-827.
- [13] Murakami M, Iwai S, Hiratsuka S, et al. Signaling of vascular endothelial growth factor receptor-1 tyrosine kinase promotes rheumatoid arthritis through activation of monocytes/macrophages[J]. *Blood*, 2006, 108(6):1849-1856.
- [14] Muramatsu M, Yamamoto S, Osawa T, et al. VEGF-1 signaling promotes mobilization of macrophage-lineage cells from bone marrow and stimulateolid tumor growth [J]. *Cancer Res*, 2010, 70:8211-8221.
- [15] Kerber M, Reiss Y, Wickersheim A, et al. Flt-1 signaling in macrophages promotes glioma growth in vivo[J]. *Cancer Res*, 2008, 68(18):7342-7351.
- [16] Niida S, Kondo T, Hiratsuka S, et al. Vascular endothelial growth factor receptor-1 signaling is essential for osteoclast development and bone-marrow formation in CSF-1-deficient mice [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2005, 102(39):14016-14021.
- [17] Storkebaum E, Lambrechts D, Dewerchin M, et al. Treatment of motoneuron degeneration by intracerebroventricular delivery of VEGF in a rat model of ALS [J]. *Nat Neurosci*, 2005, 8(1):85-92.
- [18] Dhondt J, Peeraer E, Verheyen A, et al. Neuronal FLT1 receptor and its selective ligand VEGF-B protect against retrograde degeneration of sensory neurons [J]. *FASEB J*, 2011, 25(5):1461-1473.
- [19] Kim KJ, Li B, Winer J, et al. Inhibition of vascular endothelial growth factor-induced angiogenesis suppresses tumour growth in vivo[J]. *Nature*, 1993, 362(6423):841-844.
- [20] Peak SJ, Levin VA. Role of bevacizumab therapy in the management of glioblastoma [J]. *Cancer Manag Res*, 2010, 2:97-104.
- [21] Casanovas O, Hicklin DJ, Bergers G, et al. Drug resistance by evasion of antiangiogenic targeting of VEGF signaling in late-stage pancreatic islet tumors [J]. *Cancer Cell*, 2005, 8(4):299-309.
- [22] You WK, Sennino B, Williamson CW, et al. VEGF and c-Met blockade amplify angiogenesisinhibition in pancreatic islet cancer[J]. *Cancer Res*, 2011, 71(14):4758-4768.
- [23] Zuniga RM, Torcuator R, Jain R, et al. Efficacy, safety and patterns of response and recurrence in patients with recurrent high-grade gliomas treated with bevacizumab plus irinotecan[J]. *J Neurooncol*, 2009, 91(3):329-336.
- [24] Osawa T, Muramatsu M, Wang F, et al. Increased expression of histone demethylase JHDM1D under nutrient starvation suppresses tumor growth via downregulating angiogenesis [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011, 108(51):20725-20729.
- [25] Awale S, Lu J, Kalauni S.K, et al. Identification of arctigenin as an antitumor agent having the ability to eliminate the tolerance of cancer cells to nutrient starvation [J]. *Cancer Res*, 2006, 66(3):1751-1757.
- [26] Jiang YL, Yan XY, Di Y, et al. The relationship of vascular endothelial growth factor and the development of several kinds of cancers [J]. *Journal of Jilin Medical College*, 2013, 34(4):286-288. [姜亚磊, 闫晓英, 狄烱, 等. 血管内皮生长因子与几种肿瘤发生发展的关系[J]. 吉林医药学院学报, 2013, 34(4):286-288.]