

DOI: 10.13376/j.cblls/2022074

文章编号: 1004-0374(2022)06-0644-09

血管生成在恶性肿瘤中作用及靶向治疗策略的研究进展

宗如月, 罗新鹏, 路小超, 李雅倩, 赵同军*

(河北工业大学理学院生物物理研究所, 天津 300401)

摘要: 大量研究表明, 恶性肿瘤发生发展伴随着高水平的血管生成 (angiogenesis)。血管生成过程极其复杂且所生成的血管结构具有特异性, 在恶性肿瘤的增殖和侵袭转移过程中有十分重要的作用。血管生成信号通路的激活可增强肿瘤细胞的侵袭转移能力。本文总结了血管生成在恶性肿瘤中的作用, 论述了恶性肿瘤血管生成相关的重要信号通路, 分析了血管生成相关信号通路在恶性肿瘤中的多种调控机制, 讨论了与此相关的抗 VEGF/VEGFR 信号通路的大分子单抗类药物、抗 VEGFR 等受体的小分子多靶点酪氨酸激酶抑制剂和抑制血管内皮细胞增殖迁移的重组人血管内皮抑制素等多种抗血管生成靶向药物, 为进一步深入探究与血管生成相关的恶性肿瘤的靶向治疗提供参考。

关键词: 血管生成; 肿瘤; 信号调节通路; 靶向治疗

中图分类号: R730

文献标志码: A

Progress of angiogenesis and targeted therapy strategies in human cancer

ZONG Ru-Yue, LUO Xin-Peng, LU Xiao-Chao, LI Ya-Qian, ZHAO Tong-Jun*

(Institute of Biophysics, School of Science, Hebei University of Technology, Tianjin 300401, China)

Abstract: Numerous studies have demonstrated that angiogenesis is a precondition of tumor development. Tumor angiogenesis is an extremely complex dynamic process, and there are significant differences in vascular structure. So angiogenesis plays a critical role in the proliferation, invasion and metastasis of malignant tumors. In this article, we review recent studies on the role of angiogenesis in human cancer, discuss the mechanisms of action of malignant tumor angiogenesis signaling pathways, and analyze various regulatory mechanisms of angiogenesis-related signaling pathways in malignant tumors. According to the above signaling mechanisms, three types of anti-angiogenesis targeted drugs are summarized, including macromolecular monoclonal antibodies of anti-VEGF/VEGFR signaling pathway, small molecule multi-target tyrosine kinase inhibitors against receptors such as VEGFR, and recombinant human endostatin inhibiting the proliferation and migration of vascular endothelial cells (ECs), providing a reference for further exploration of targeted therapy for malignant tumors related to angiogenesis.

Key words: angiogenesis; tumor; signaling pathway; targeted therapy

血管生成 (angiogenesis) 在恶性肿瘤发生发展中起关键作用。1971 年, Folkman^[1] 研究了实体瘤的新血管生成, 认为肿瘤增殖、侵袭、转移均与血管新生密切相关, 并据此提出抗血管生成治疗的概念。随后几十年的研究发现, 在结直肠癌、肺癌、甲状腺癌以及乳腺癌等多种恶性肿瘤发生发展中总是伴随着高水平的血管生成, 相关的肿瘤治疗策略也有了长足的进展。进一步的研究揭示出高水平的血管生成离不开血管生长因子的表达及多种血管生

成相关信号通路的调控, 使人们认识到血管生成相关信号通路在抗肿瘤治疗策略中至关重要。

1 血管生成水平在多种恶性肿瘤中上调

血管生成是恶性肿瘤发展的特征之一^[2]。血管

收稿日期: 2021-12-01; 修回日期: 2022-02-02

基金项目: 国家自然科学基金项目(11735006)

*通信作者: E-mail: zhaotj66@126.com

生成是指从现有血管长出新血管的过程, 包括血管基底膜的降解, 血管内皮细胞 (endothelial cells, ECs) 的激活、增殖和迁移以及新血管生成等多种复杂过程。与正常细胞一样, 肿瘤细胞需要通过血管输送氧气和营养物质, 同时排出代谢废物。在正常生理情况下, 当生物体发育成熟后, 血管系统会长期处于静息状态, 只有当机体受到损伤时才会出现短暂性的血管生成。而在恶性肿瘤演进过程中, 血管生成则是一种常态。随着肿瘤不断生长, 其对氧气和营养物质的需求也逐渐增加, 持续的新血管生成使肿瘤细胞的代谢需求得以满足, 因此肿瘤血管生成对肿瘤生长和转移至关重要^[3-4]。

肿瘤血管与正常组织中的血管在结构上也有很大差别^[5]。在正常组织中, 血管 ECs 排列整齐, 周细胞 (pericytes, PCs) 与 ECs 紧密结合。而在恶性肿瘤中, 肿瘤血管 ECs 排列松散, PCs 与 ECs 结合疏松, 周围肿瘤细胞和间质细胞压迫血管壁。恶性肿瘤的这种特异性结构会导致多种后果, 其中包括 (1) ECs 形态异常, 细胞连接减少; (2) 血管 PCs 连接疏松甚至缺失, 覆盖率低; (3) 基底膜不完整, 厚度不均匀; (4) 血管系统结构出现紊乱, 血管扭曲, 血管壁结构异常, 薄而多裂。正是由于肿瘤血管这些异常的结构, 导致肿瘤血管更易被肿瘤细胞穿透并随血液转移至其他器官, 从而促进恶性肿瘤的转移。

血管生成在多种肿瘤中促进了肿瘤的增殖、侵袭与转移。Folkman^[1]在研究肿瘤生长与血管生成关系时发现, 切断肿瘤的血液供应, 肿瘤会因缺血而缩小或消退。此后, Dhar 等^[6]发现在分化型甲状腺癌中血管生成水平明显升高。Mohammed 等^[7]的研究发现, 高水平的血管生成与结直肠癌的转移和复发以及高死亡率密切相关。Gojkovic 等^[8]的研究证实高水平的血管生成促使乳腺癌细胞增殖能力

提高, 转移时间缩短。此外, 目前已有多个独立的研究小组利用免疫组化技术对多种肿瘤组织样本中的血管生成水平进行检测, 发现血管生成水平在多种常见恶性肿瘤中均明显上调 (表 1)^[9-15]。

ECs 从静息状态向活化状态转化在肿瘤生长与血管生成相互影响过程中非常关键。ECs 是血管生成过程的主要参与者, 可塑性强, 长期处于静息状态。近年来研究发现, 一旦受到血管生成相关信号的刺激, ECs 就会立即切换至活化、高度增殖和迁移的状态。

在这种活化状态下, ECs 旺盛的代谢过程为 ECs 增殖和迁移提供能量, 促进新血管生成。肿瘤血管生成相关的 ECs 代谢途径包括糖酵解途径、脂肪酸氧化途径和谷氨酰胺代谢途径^[4, 16]。糖酵解 (glycolytic) 是 ECs 最主要的代谢途径之一^[17]。与静息状态的 ECs 相比, ECs 活化伴随着高水平糖酵解, 从而为肿瘤血管生成提供能量。与正常组织不同, 肿瘤细胞高水平糖酵解造成的低糖环境导致肿瘤组织的血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 表达上调。此外, 当组织缺氧时, 肿瘤细胞也会分泌 VEGF 等促血管生成因子, 上调 ECs 中的糖酵解关键酶 6-磷酸果糖-2-激酶/果糖-2,6-二磷酸酶 3 (6-phosphofructo-2-kinase/fructose-2,6-biphosphatase 3, PFKFB3) 的表达, 活化糖酵解途径, 促进新血管中尖端细胞 (tip cells, TCs) 的形成, 提高其迁移能力; 活化的糖酵解途径还可增强干细胞 (stalk cells, SCs) 的增殖能力, 进而促进管腔的形成。因此, 肿瘤血管生成受到 ECs 代谢和血管生成相关信号通路的共同驱动。

近期研究显示, 肿瘤血管生成相关信号通路的激活和 ECs 的代谢对于恶性肿瘤血管生成同等重要。陆续发现多种与肿瘤血管生成相关的细胞生长因子及其参与的信号通路^[18]。

表1 血管生成在多种肿瘤中表达上调

肿瘤类型	病例数(高水平血管生成的病例数)	血管生存水平上调百分比(%)	文献
结直肠癌	104(30)	28.8%	[7]
结直肠癌	21(7)	33%	[9]
甲状腺癌	71(3)	49%	[6]
非小细胞肺癌	107(55)	51.4%	[10]
非小细胞肺癌	147(65)	44.2%	[11]
非小细胞肺癌	55(34)	61.8%	[12]
小细胞肺癌	35	78% (瘤内血管)、73% (瘤周血管)	[13]
甲状腺乳头状癌	125(9)	71.2%	[14]
前列腺癌	170	74%	[15]

2 恶性肿瘤中的血管生成相关信号通路

信号通路是近年来细胞生物学、分子生物学以及临床医学的热点研究领域。恶性肿瘤的发生发展与信号通路异常直接相关。这些信号通路包括肿瘤血管生成相关信号通路和肿瘤免疫相关信号通路。

随着研究的深入,人们对肿瘤血管生成相关信号通路机制及其对肿瘤生长、转移和侵袭的影响的认识不断深化^[18]。有两类信号通路的研究非常广泛,分别为调控血管通透性的信号通路和参与血管重塑与血管成熟相关的信号通路。在调控血管通透性的信号通路中,最为重要的是 VEGF/VEGFR 信号通路。在参与血管重塑和成熟的调节通路中,血管生成素(angiotensins)/Tie-2 信号通路是最重要的。除此以外,还有其他一些血管生成相关信号通路也参与调控血管通透性和/或血管成熟。这些信号通路彼此关联、相互影响、相互作用,共同促进血管 ECs 的增殖,诱导肿瘤血管生成,进而为恶性肿瘤的增殖、侵袭与转移提供了有利条件^[5]。

2.1 VEGF/VEGFR信号调节通路

VEGF 是一种具有血管通透性活性的二聚体糖蛋白^[19],其相对分子量为 35~45 kDa^[20]。VEGF 家族作为一类促血管生成的细胞因子,包含 VEGF-A、VEGF-B、VEGF-C、VEGF-D、VEGF-E 和胎盘生长因子(placental growth factor, PLGF)等多个成员^[21]。其中,VEGF-A 在调节恶性肿瘤血管生成机制中起到较为重要的作用^[22]。另外,VEGF 的表达受到很多因素影响,如缺氧、癌基因表达和多种生长因子等均会导致 VEGF 的表达上调^[23]。

VEGF 主要表达于血管 ECs、肿瘤细胞、某些炎症细胞和间质细胞中,必须同其受体特异性结合才能发挥作用。VEGFR 受体有 VEGFR-1、VEGFR-2 和 VEGFR-3 三种亚型,且均为酪氨酸激酶受体,与 VEGF 结合后引起受体自身磷酸化,激活一系列的信号转导通路从而发挥生物学效应^[24]。这三种受体在体内的分布也不同,其中 VEGFR-1 和 VEGFR-2 选择性表达在血管 ECs 中,而 VEGFR-3 主要表达在淋巴 ECs 中^[24]。

VEGF 通过特异性结合其相应的 VEGFR 刺激 ECs 的增殖和迁移,在肿瘤的血管生成中具有重要作用。研究表明,VEGF-A/VEGFR-2 信号通路是诱导肿瘤血管生成的主要控制者^[25]。在研究 VEGF/VEGFR 信号通路时,常用 VEGF-A、VEGFR-2 来反映血管生成的整体水平。当 VEGF-A 与 ECs 表面

的 VEGFR-2 结合后,激活下游的 p38/MAPK、PI3K/AKT 和 PLC γ /MAPK 通路,使得 ECs 增殖和迁移,并产生大量促血管生成蛋白酶,增加血管壁的通透性。另外,VEGF-A/VEGFR-2 促进血管 ECs 增殖和迁移的功能是 VEGF-A/VEGFR-1 所没有的。在体外实验中,用 VEGFR-1 特异的配体处理 ECs,或在缺少 VEGFR-2 的 ECs 中过量表达 VEGFR-1,都不能促进 ECs 增殖和迁移^[26]。还有研究发现,VEGF-A 与 VEGFR-1 结合后会阻碍 VEGF-A 与 VEGFR-2 的结合^[24],这表明 VEGFR-1 可能是 VEGFR-2 的负反馈调节因子,通过结合 VEGF-A 从而阻断 VEGF-A/VEGFR-2 的信号转导通路,最终抑制恶性肿瘤血管生成。

2.2 Ang/Tie信号调节通路

血管生成素 Ang/Tie 受体是调控肿瘤血管重塑和成熟的一种重要的信号调节通路。Ang/Tie 信号不能直接作用于肿瘤细胞,而通过诱导肿瘤细胞和 ECs 相互作用间接调控血管的稳定性,影响肿瘤发生发展。到目前为止,血管生成素家族是唯一既具有促进作用又具有抑制作用的促血管生成因子,包含 Ang-1、Ang-2、Ang-3 和 Ang-4 四个成员,其受体均为 ECs 酪氨酸激酶受体 Tie-2^[27-28]。其中 Ang-1 和 Ang-2 是两种主要的血管生成素调节因子,在血管的发育、内皮萌出、血管壁重塑和壁细胞募集中起重要作用^[29]。

血管生成素与 VEGF 在血管生成中的相互作用关系是目前研究的热点。在大脑缺血早期,VEGF mRNA 的含量增加,而 Ang-1 mRNA 的含量减少;但在后期,VEGF 和 Ang-1 的表达均增强,这表明 Ang-1 主要作用于血管形成后期^[30]。在血管形成后期,Ang-1 主要通过 PCs 的旁分泌作用,与 ECs 上的 Tie-2 受体特异性结合,并刺激 Tie-2 磷酸化,维系 ECs 的存活,促进血管的成熟稳定,降低血管的通透性。而 Ang-2 通常在血管生成中作为 Ang-1 的内源性拮抗剂^[31]。Ang-2 主要在新生血管中表达,由血管 ECs 合成并通过自分泌作用与 Ang-1 竞争,并特异性与自身细胞膜上的 Tie-2 受体结合,抑制 Tie-2 受体磷酸化,减弱 PCs 与 ECs 间的相互作用,松散血管结构,促进 ECs 增殖和迁移,破坏血管的稳定性,增强血管的通透性^[31]。此外,也有研究表明,Ang-2 还有促血管生成作用,这可能与 VEGF 等促血管生成因子的存在有关。体内实验发现,当 VEGF 存在时,Ang-2 拮抗 Ang-1,抑制 Tie-2 磷酸化,促进新生血管增加;当缺乏 VEGF 时,Ang-2

则抑制 Ang-1 引起的 Tie-2 磷酸化, 从而导致 ECs 凋亡及血管退化, 这表明 Ang-2 与 VEGF 可协同促进新血管的生成。另外, 在肿瘤血管新生的早期阶段, Ang-2 的表达早于 VEGF^[32]。在血管结构异常的恶性肝癌中, ECs 中含有高水平的 Ang-2^[32]。

事实上, Ang/Tie 信号通路和 VEGF/VEGFR 信号通路彼此关联, 相互协调, 共同调控肿瘤血管生长、成熟及退化的过程。在恶性肿瘤血管生成时, 只表达 Ang-2 可导致恶性肿瘤血管的退化, 进而引起肿瘤细胞缺氧; 缺氧信号诱导肿瘤细胞表达 VEGF, VEGF 与 Ang-2 协同作用于已被 Ang-2 破坏的血管上, 促进肿瘤血管生成。刚形成的肿瘤血管结构异常且不成熟, 在血管形成后期随着 Ang-1 的表达增强, 肿瘤新生血管在 Ang-1/Tie-2 信号转导通路下逐步成熟, 最终为肿瘤生长、侵袭和转移提供有利条件^[30-32]。

2.3 其他信号调节通路

肿瘤血管生成过程非常复杂, 包含多种信号调节通路。有些信号通路会通过上调 VEGF 信号通路的表达, 间接促进恶性肿瘤血管生成, 如肝细胞生长因子 (hepatocyte growth factor, HGF)/C-Met、内皮素系统 (endothelin, ET) 等信号调节通路。此外, VEGF 信号通路还可以上调细胞跨膜 Notch 配体 4 蛋白 (delta-like ligand 4, DLL4) 的表达。高表达的 DLL4 激发邻近细胞的 Notch 信号, 促进 TCs 附近的血管 ECs 向 SCs 分化, 从而促进新血管的形成。研究还发现, 当 VEGF/VEGFR 信号通路被阻断后, 肿瘤可以通过血小板源生长因子 (platelet derived growth factor, PDGF)/PDGFR、成纤维细胞生长因子 (fibroblast growth factor, FGF)/FGFR 和转化生长因子 β (transforming growth factor β , TGF- β) 等生长因子及其受体信号通路来调控血管通透和血管重塑及成熟等过程^[5, 18]。

2.3.1 HGF/C-Met信号调节通路

HGF/C-Met 信号通路可通过诱导 VEGF 增加的方式, 间接促进恶性肿瘤的血管新生。HGF 的生物学活性主要是由 C-Met 受体介导的。C-Met 是由胞外区的 α 亚基和跨膜的 β 亚基通过二硫键组成的异二聚体, 其胞外区域可识别并结合 HGF, 胞内区域具有蛋白酪氨酸激酶活性, 是多种调控信号分子相互作用的结合部位^[33]。肿瘤细胞可分泌具有活性的 HGF 与 ECs 表面的 C-Met 结合并激活受体酪氨酸激酶, 导致 α 亚基磷酸化, 诱导 VEGF 的高表达并与 VEGFR 受体特异性结合, 刺激血管 ECs 的增

殖和迁移, 促进肿瘤血管新生^[34]。Horiguchi 等^[35]发现在 HGF 转基因小鼠实验中, HGF 通过自分泌激活 HGF/C-Met 信号通路, 使肝癌组织中微血管密度明显增加, VEGF 表达水平提高。这表明 HGF 本身可以诱导或通过诱导产生 VEGF 的方式, 间接刺激肿瘤血管新生。在体内实验中使用 C-Met 抑制剂能有效抑制晚期直肠癌细胞的增殖^[36]。

2.3.2 ET信号调节通路

ET 信号通路可以通过上调 VEGF 的表达来促进肿瘤的血管生成。ET 家族包括 ET-1、ET-2 和 ET-3 三种异构体, 与两种亚型的 G 蛋白偶联受体 ETA 和 ETB 结合后, 参与肿瘤的生长。ET-1 与 ETA 受体的亲和力强于 ET-2 和 ET-3, 而 ET-1、ET-2 和 ET-3 对 ETB 受体的亲和力相当。在整个家族中, ET-1 是研究最为广泛的, 它可直接刺激 ECs、PCs、成纤维细胞和血管平滑肌细胞的增殖^[37]。实验还发现, 通过 ET-1/ETA 信号通路可增加 VEGF 的表达, 从而促进恶性肿瘤的血管生成^[38-39]。因此, 选择性阻断内皮素系统以抑制肿瘤血管生成可能是对抗肿瘤治疗的新途径之一。

2.3.3 DLL4/Notch信号调节通路

DLL4/Notch 信号通路通过与 VEGF 信号通路相互作用, 影响 TCs 和 SCs 的增殖和迁移。DLL4 蛋白是一种膜结合的 Notch 配体, 其信号通路促进 TCs 附近的血管 ECs 向 SCs 分化, 在肿瘤血管的出芽分支中起着关键的调控作用^[40]。Notch 受体为单跨膜受体, 该家族包括 Notch-1、-2、-3 和 -4 共 4 个成员, 其配体有 DLL1、DLL3、DLL4、Jagged1 和 Jagged2。其中, DLL4 配体蛋白是研究最为广泛的, 它表达于肿瘤血管 ECs 上, 但在正常血管 ECs 中的表达却很微弱。DLL4 在肿瘤血管 ECs 中的表达主要受 VEGF-A 的调节。VEGF-A 可以上调 DLL4 的表达, 高水平的 DLL4 激活邻近细胞的 Notch 信号, 负反馈调节 VEGFR-2、VEGFR-3 的表达, 抑制 ECs 向 TCs 分化, 从而促进 ECs 向 SCs 分化并形成血管^[40]。因此, 抑制 DLL4/Notch 信号转导通路可促进 TCs 形成和分支, 增加血管生成和血管密度, 介导产生化疗耐药性^[40-41]。

2.3.4 PDGF/PDGFR信号调节通路

PDGF/PDGFR 也是促进肿瘤血管成熟的信号通路, 在多种恶性肿瘤中过表达, 并与肿瘤血管生成密切相关^[42-44]。PDGF 是一种由多种细胞产生, 并且能够刺激胶质细胞、平滑肌细胞增殖的多肽。PDGF 家族包含 4 种不同的多肽链成员: PDGF-A、

PDGF-B、PDGF-C 及 PDGF-D，它们通过二硫键连接可形成 4 种同源二聚体 PDGF-AA、PDGF-BB、PDGF-CC 和 PDGF-DD 以及 1 种异源二聚体 PDGF-AB。当 PDGF 与 PDGFR 受体特异性结合后，引起受体不同亚型的 PDGFR- α 和 PDGFR- β 的二聚化，即 PDGFR- $\alpha\alpha$ 、PDGFR- $\beta\beta$ 和 PDGFR- $\alpha\beta$ ^[42]，进一步导致胞内酪氨酸残基位点发生受体自身磷酸化，并激活下游特定的 PI3K/AKT、Ras/MAPK、PLC γ /PBC、p38/MAPK^[43] 和 STAT 等信号转导通路，引起不同通路的级联反应，产生相应的病理变化^[44]。PDGFR- α 通过募集表达 VEGF 的成纤维细胞来间接促进肿瘤血管生成^[42]。PDGFR- β 表达于 PCs，在 ECs 上不表达，因此，PDGFR- β 通路通过募集 PCs 使肿瘤血管成熟，而不是通过增加肿瘤血管数量或血管密度，从而促进肿瘤生长^[42]。所以，仅阻断 VEGFR 信号转导通路，可能导致早期不成熟的肿瘤新生血管缺少 PCs 的覆盖，但对于 PCs 覆盖良好的后期肿瘤血管则影响不大；而阻断 PDGFR- β 信号转导通路后，可以减少 PCs 的募集，降低 PCs 的覆盖率，从而破坏肿瘤血管的稳定。

2.3.5 FGF/FGFR 信号调节通路

FGF/FGFR 信号通路在促进肿瘤血管生成中也发挥着重要作用。FGF 是一种促血管生成因子，可与 VEGF 等协同促进 ECs 的存活、增殖和迁移，诱导肿瘤血管生成^[45-46]。FGF 家族有 23 个成员：FGF-1~FGF-23^[47]，其中以 FGF-2 与肿瘤血管生成的关系较为密切，它可与 VEGF 协同诱导 ECs 增殖和迁移，增加血管通透性，促进肿瘤血管新生^[48-49]。FGFR 家族包括 4 种有酪氨酸激酶结构域的 FGFR1~FGFR4 和一种缺失酪氨酸激酶结构域的 FGFR5，且与 FGF 有高度亲和力。已有研究表明，FGFR5 作为 FGFR1 的辅助受体，可促进炎症的上调^[50-51]。当 FGF 和 FGFR 结合后，FGFR 自身发生磷酸化，可激活下游 PI3k/AKT、PLC γ 、JAK/STAT 等信号通路，调控肿瘤血管生成。因此，阻断 FGF/FGFR 信号通路在多种恶性肿瘤中均表现出抑制血管生成^[52] 及肿瘤生长^[53-54] 的结果。

2.3.6 TGF- β 及其受体信号调节通路

TGF- β 已被证实能够刺激血管生成，并作为促血管生成因子在肿瘤血管生成中发挥作用^[55-57]。到目前为止，人们发现 TGF- β 有 T β R I、T β R II 和 T β R III 型 3 类受体。激活素受体样激酶 (activin receptor-like kinase, ALK) 是 TGF- β 的 I 型受体，其中，研究最多的是 ALK1 和 ALK5。Smads 蛋白介

导 TGF- β 的细胞内信号转导。TGF- β 与 ALK1 结合诱导 Smad1/5/8 磷酸化，促进 ECs 增殖、迁移以及新生血管生成；TGF- β 与 ALK5 结合则诱导 Smad2/3 磷酸化，拮抗 ALK1 的信号转导通路，抑制 ECs 增殖和肿瘤血管生成^[55-56]。因此，ECs 的最终活化状态可能与以上 2 种信号通路的平衡密切相关。抑制 ALK1 的信号通路能明显减少肿瘤血管生成^[57]。所以，通过敲除 ALK1 基因来抑制肿瘤生长和转移可能成为肿瘤靶向治疗的策略之一^[57]。在胶质母细胞瘤 (glioblastoma, GBM)、肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 和结直肠癌 (colorectal cancer, CRC) 模型中，使用 TGF- β 信号通路抑制剂的靶向治疗降低了微血管密度，并抑制了肿瘤血管生成^[57-58]。而在弥漫型胃癌模型中，TGF- β 信号通路的破坏可能通过增加肿瘤血管生成而促进肿瘤生长^[58]。因此，TGF- β 在恶性肿瘤中的作用取决于肿瘤类型及其微环境。

3 血管生成与恶性肿瘤靶向治疗

血管生成在恶性肿瘤增殖、侵袭与转移中起关键作用，抗血管生成一直是肿瘤治疗最有效的策略之一。通过对肿瘤 ECs 高水平糖酵解的调控，降低肿瘤 ECs 糖酵解量来减少肿瘤血管生成是抗血管生成的方法之一。实验表明，敲除 ECs 中的 PFKFB3 可降低 ECs 糖酵解的能力，有效抑制了血管生成^[59]。

更为重要的是，信号通路在抗血管生成靶向治疗中起重要作用。抗血管生成靶向治疗通过破坏肿瘤细胞和 ECs 之间的促血管生成信号转导，遏制恶性肿瘤的增殖、侵袭和转移。血管生成相关信号通路与恶性肿瘤生长、侵袭与转移过程关系的研究已证实 VEGF/VEGFR 信号通路在血管生成中的作用非常关键，因此该信号通路在抗肿瘤血管生成治疗中成为重要的靶点之一^[60]。截至目前，FDA 已批准上市多种涉及血管生成信号通路的药物，其中就有抗血管生成的靶向药物，如抗 VEGF/VEGFR 信号通路的大分子单抗类药物、抗 VEGFR 等受体的小分子多靶点酪氨酸激酶抑制剂以及抑制血管 ECs 增殖与迁移的重组人血管内皮抑制素等^[5,61]。

大分子单抗类药物中最典型的是贝伐单抗 (bevacizumab)，它是一种血管内皮生长抑制剂，也是首个被批准用于临床的抗肿瘤血管生成的药物。贝伐单抗可结合 VEGF，阻止其与 ECs 表面的受体结合，从而抑制恶性肿瘤的血管生成^[5]。在临床应用中，贝伐单抗因未见显著疗效很少单独使用，所

以大多与细胞毒性药物联合使用。在治疗晚期非鳞非小细胞肺癌的临床实践中, 贝伐单抗联合培美曲塞和顺铂的治疗方案延长了患者生存时间, 且耐受性较好^[62]。贝伐单抗联合卡培他滨 (capecitabine) 在晚期转移性结直肠癌^[63] 以及人表皮生长因子受体 2 (human epidermal growth factor receptor-2, HER2) 阴性转移性乳腺癌^[64] 的治疗中均取得较好的疗效。由此可见, 大分子单抗类药物通过阻断血管生成中的 VEGF/VEGFR 信号通路在抑制恶性肿瘤增殖、侵袭与转移中起着重要作用。

作为靶向 VEGFR、PDGFR、FGFR 和 C-Met 等受体信号通路的小分子多靶点酪氨酸激酶抑制剂, 安罗替尼、呋喹替尼和吡咯替尼等药物也被广泛用于恶性肿瘤的治疗^[65-68]。在临床应用中, 安罗替尼联合 AP 方案 (注射用培美曲塞二钠和顺铂注射液) 治疗晚期非小细胞肺癌疗效显著^[65]; 在甲状腺髓样癌、转移性肾细胞癌等软组织肉瘤 (soft tissue sarcoma, STS) 的治疗上也有良好的疗效和安全性^[66]。呋喹替尼和吡咯替尼都是我国自主研发的抗肿瘤血管生成的新型药物。呋喹替尼在治疗晚期转移性结直肠癌的 III 期临床试验中效果显著^[67]。基于以上结果, 2018 年, 国家药品监督管理局批准该药用于治疗转移性结直肠癌。吡咯替尼联合化疗可延长 HER2 阳性乳腺癌肝转移患者的生存期^[68], 于 2018 年上市以来也被密切关注。

重组人血管内皮抑制素是首个血管抑制素, 也是抗肿瘤血管生成的靶向药物。它通过抑制血管 ECs 的迁移来实现抑制肿瘤血管生成。在恶性非小细胞肺癌中, 重组人血管内皮抑制素联合化疗方案的疗效和安全性均有所提高^[69-70]; 重组人血管内皮抑制素联合放疗对抑制肺腺癌 A549 细胞的增殖和 TGF- β 1、HIF-1 信号的表达有显著效果^[71]。综上, 血管生成在恶性肿瘤中的作用及靶向治疗策略如图 1 所示。

4 结语

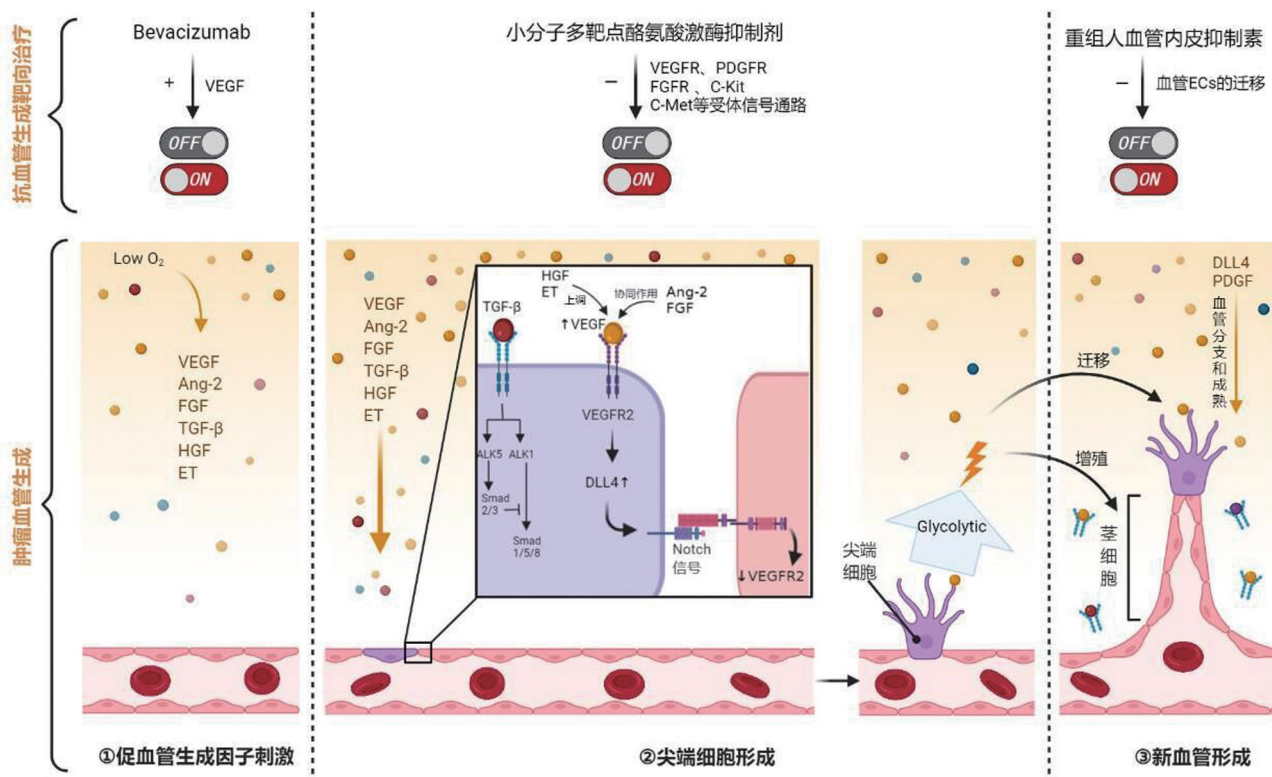
血管生成水平在多种恶性肿瘤中上调, 这一过程的实现需要多种血管生成信号通路的调控。通过刺激血管生成可以促进恶性肿瘤的增殖、侵袭与转移等过程。在诸多恶性肿瘤中, VEGF-A/VEGFR-2 是主要的肿瘤血管生成调控信号通路, 其他信号通路如 PDGF/PDGFR、FGF/FGFR 和 TGF- β /T β R I 等也是重要的肿瘤血管生成调控信号通路。这些通路可以通过激活下游的多个信号通路, 调控肿瘤血管生

成。此外, VEGF 与 Ang-2 的协同作用也能促进肿瘤血管生成。与此同时, HGF/C-Met、ET-1/ETA 也会诱导 VEGF 水平的升高, 间接促进肿瘤血管生成。VEGF-A 还可以通过上调 DLL4 的表达来激活 DLL4/Notch 信号通路, 该通路与 VEGF 信号通路相互作用调节肿瘤血管出芽和分支过程。

随着人们对血管生成信号通路调控机制的了解不断深入, 针对抗肿瘤血管生成的靶向治疗也受到广泛关注。以血管生成信号通路为治疗靶点研制出的血管生成抑制剂, 能够遏制恶性肿瘤的增殖、侵袭与转移。近年来, 多靶点信号通路的联合治疗策略为抗肿瘤血管生成提供了一个崭新的研究方向。然而, 目前对血管生成与恶性肿瘤调控关系和抗肿瘤治疗的研究大多仍集中在 VEGF/VEGFR 信号通路上, 对其他信号通路的研究还不够深入。血管生成调控肿瘤生长的信号通路机制非常复杂, 在不同恶性肿瘤中的作用机制也不尽相同, 进一步研究肿瘤血管生成的调控网络和作用靶点可以为抗肿瘤靶向治疗提供新思路, 并具有一定的理论研究价值和应用前景。

[参 考 文 献]

- [1] Folkman J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications. *N Engl J Med*, 1971, 285: 1182-6
- [2] Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*, 2011, 144: 646-74
- [3] Carmeliet P, Jain RK. Molecular mechanisms and clinical applications of angiogenesis. *Nature*, 2011, 473: 298-307
- [4] 安南, 陈子琦, 黄敏. 血管内皮细胞代谢与肿瘤血管新生研究进展. *药学报*, 2020, 55: 1373-81
- [5] Al-Ostoot FH, Salah S, Khamees HA, et al. Tumor angiogenesis: current challenges and therapeutic opportunities. *Cancer Treat Res Commun*, 2021, 28: 100422
- [6] Dhar DK, Kubota H, Kotoh T, et al. Tumor vascularity predicts recurrence in differentiated thyroid carcinoma. *Am J Surg*, 1998, 176: 442-7
- [7] Mohammed AA, Arif SH, Pity IS. P53 expression and micro-vessel density in relation with 5-year survival in patients with colorectal cancer. *Ann Med Surg*, 2020, 57: 311-4
- [8] Gojkovic Z, Jakovljevic B, Maksimovic S, et al. Correlation between microvascular density (MVD) with the time to appearance of the metastasis in the patients with breast cancer. *Breast*, 2011, 20: S26
- [9] Rajaganeshan R, Chalmers R, Toogood G, et al. The relationship between invasive phenotype and microvessel density (MVD) in colorectal cancers and their liver metastases. *J Gastrointest Surg*, 2005, 9: 579
- [10] Ushijima C, Tsukamoto S, Yamazaki K, et al. High vascularity in the peripheral region of non-small cell lung



VEGF、Ang-2、FGF、TGF-β、HGF和ET等血管生成因子通过与相应的受体结合，激活相关的信号通路，ECs的糖酵解途径促使TCs迁移和SCs增殖，DLL4和PDGF等信号通路的激活刺激血管分支和成熟。因此，针对血管生成相关信号通路，可选取适当靶点，进行肿瘤靶向治疗。大分子单抗药物贝伐单抗能与VEGF结合，阻止其与VEGFR受体的信号转导，起到抗血管生成的作用。小分子多靶点酪氨酸激酶抑制剂通过抑制受体信号通路来阻断血管生成。重组人血管内皮抑制素抑制ECs迁移，阻止血管生成。

图1 血管生成在恶性肿瘤中的作用及靶向治疗的策略

- cancer tissue is associated with tumor progression. Lung Cancer, 2001, 34: 233-41
- [11] Kadota K, Huang CL, Liu D, et al. The clinical significance of lymphangiogenesis and angiogenesis in non-small cell lung cancer patients. Eur J Cancer, 2008, 44: 1057-67
- [12] Li C, Ma X, Tan C, et al. IL-17F expression correlates with clinicopathologic factors and biological markers in non-small cell lung cancer. Pathol Res Pract, 2019, 215: 152562
- [13] Takase Y, Kai K, Masuda M, et al. Endoglin (CD105) expression and angiogenesis status in small cell lung cancer. Pathol Res Pract, 2010, 206: 725-30
- [14] Akslen LA, Livolsi VA. Increased angiogenesis in papillary thyroid carcinoma but lack of prognostic importance. Human Pathol, 2000, 31: 439-42
- [15] Lekas A, Lazaris A, Nakopoulou L, et al. The expression of microvessel density (MVD), vascular endothelial growth factor (VEGF) and hypoxia inducible factor (HIF-1a) in hyperplastic and malignant prostate tissue. Urology, 2006, 68: 103
- [16] Bock KD, Georgiadou M, Carmeliet P. Role of endothelial cell metabolism in vessel sprouting. Cell Metab, 2013, 18: 634-47
- [17] Falkenberg KD, Rohlenova K, Luo Y, et al. The metabolic engine of endothelial cells. Nat Metab, 2019, 1: 937-46
- [18] Wang K, Chen Q, Liu N, et al. Recent advances in, and challenges of, anti-angiogenesis agents for tumor chemotherapy based on vascular normalization. Drug Discov Today, 2021, 26: 2743-53
- [19] Qin XY, Wang YN, Yang XP, et al. Synthesis, characterization, and anticancer activity of two mixed ligand copper(II) complexes by regulating the VEGF/VEGFR2 signaling pathway. Dalton Trans, 2017, 46: 16446-54
- [20] 贾月欣, 杨光路. 血管内皮生长因子(VEGF)与神经系统疾病相关性研究进展. 世界最新医学信息文摘(连续型电子期刊), 2020, 20: 130-1
- [21] Nakamura M, Abe Y, Tokunaga T. Pathological significance of vascular endothelial growth factor A isoform expression in human cancer. Pathol Int, 2010, 52: 331-9
- [22] Tozuka T, Yanagitani N, Sakamoto H, et al. Association between continuous decrease of plasma VEGF-A levels and the efficacy of chemotherapy in combination with anti-programmed cell death 1 antibody in non-small cell

- lung cancer patients. *Cancer Treat Res Commun*, 2020, 25: 100249
- [23] Hernández-Morales J, Hernández-Coronado CG, Guzmán A, et al. Hypoxia up-regulates VEGF ligand and downregulates VEGF soluble receptor mRNA expression in bovine granulosa cells *in vitro*. *Theriogenology*, 2021, 165: 76-83
- [24] Mariotti V, Fiorotto R, Cadamuro M, et al. New insights on the role of vascular endothelial growth factor in biliary pathophysiology. *JHEP Rep*, 2021, 3: 100251
- [25] Zhang PC, Liu X, Li MM, et al. AT-533, a novel Hsp90 inhibitor, inhibits breast cancer growth and HIF-1 α /VEGF/VEGFR-2-mediated angiogenesis *in vitro* and *in vivo*. *Biochem Pharmacol*, 2019, 172: 113771
- [26] Hiratsuka S, Minowa O, Kuno J, et al. Flt-1 lacking the tyrosine kinase domain is sufficient for normal development and angiogenesis in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1998, 95: 9349-54
- [27] He Y. Angiopoietins and TIE receptors in lymphangiogenesis and tumor metastasis [M]//Marmé D. Tumor angiogenesis: a key target for cancer therapy. Cham: Springer, 2019
- [28] Bilimoria J, Singh H. The Angiopoietin ligands and Tie receptors: potential diagnostic biomarkers of vascular disease. *J Recept Signal Transduct Res*, 2019, 39: 1-7
- [29] Gu A, Shively JE. Angiopoietins-1 and -2 play opposing roles in endothelial sprouting of embryoid bodies in 3D culture and their receptor Tie-2 associates with the cell-cell adhesion molecule PECAM1. *Exp Cell Res*, 2011, 317: 2171-82
- [30] Thomas M, Augustin HG. The role of the Angiopoietins in vascular morphogenesis. *Angiogenesis*, 2009, 12: 125-37
- [31] Alawo D, Tahir TA, Fischer M, et al. Regulation of angiopoietin signalling by soluble Tie2 ectodomain and engineered ligand trap. *Sci Rep*, 2017, 7: 3658
- [32] Parmar D, Apte M. Angiopoietin inhibitors: a review on targeting tumor angiogenesis. *Eur J of Pharmacol*, 2021, 899: 174021
- [33] Giordano S, Ponzetto C, Renzo MF, Di, et al. Tyrosine kinase receptor indistinguishable from the c-met protein. *Nature*, 1989, 339: 155-6
- [34] Joosten SPI, Spaargaren M, Clevers H, et al. Hepatocyte growth factor/MET and CD44 in colorectal cancer: partners in tumorigenesis and therapy resistance. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 2020, 1874: 188437
- [35] Horiguchi N, Takayama H, Toyoda M, et al. Hepatocyte growth factor promotes hepatocarcinogenesis through c-Met autocrine activation and enhanced angiogenesis in transgenic mice treated with diethylnitrosamine. *Oncogene*, 2002, 21: 1791-9
- [36] Cuneo KC, Mehta RK, Kurapati H, et al. Enhancing the radiation response in KRAS mutant colorectal cancers using the c-Met inhibitor Crizotinib. *Transl Oncol*, 2018, 12: 209-16
- [37] Davenport AP, Hyndman KA, Dhaun N, et al. Endothelin. *Pharmacol Rev*, 2016, 68: 357-418
- [38] Yu YL, Wang CP, Chang YH, et al. Endothelin-1 promotes vascular endothelial growth factor (VEGF) expression through regulating snail of human oral cancer. *Biomark Genomic Med*, 2014, 6: 190
- [39] Bagnato A, Spinella F. Emerging role of endothelin-1 in tumor angiogenesis. *Trends Endocrin Met Tem*, 2003, 14: 44-50
- [40] Zeng A, Wang SR, He YX, et al. Progress in understanding of the stalk and tip cells formation involvement in angiogenesis mechanisms. *Tissue Cell*, 2021, 73: 101626
- [41] Luo Z, Shang X, Zhang H, et al. Notch signaling in osteogenesis, osteoclastogenesis, and angiogenesis. *Am J Pathol*, 2019, 189: 1495-500
- [42] Manzat SRM, Loredana B, Claudia G, et al. The role of PDGFs and PDGFRs in colorectal cancer. *Mediators Inflamm*, 2017, 2017: 4708076
- [43] Pan S, Hu Y, Hu M, et al. Platelet-derived PDGF promotes the invasion and metastasis of cholangiocarcinoma by upregulating MMP2/MMP9 expression and inducing EMT via the p38/MAPK signalling pathway. *Am J Translational Res*, 2020, 12: 3577-95
- [44] Wang C, Liu Y, He D. Diverse effects of platelet-derived growth factor-BB on cell signaling pathways. *Cytokine*, 2019, 113: 13-20
- [45] Chen Z, Qian XH, Xu YF, et al. C11, a novel fibroblast growth factor receptor 1 (FGFR1) inhibitor, suppresses breast cancer metastasis and angiogenesis. *Acta Pharmacol Sin*, 2019, 40: 823-32
- [46] Presta M, Chiodelli P, Giacomini A, et al. Fibroblast growth factors (FGFs) in cancer: FGF traps as a new therapeutic approach. *Pharmacol Ther*, 2017, 179: 171-87
- [47] Itoh N, Ornitz DM. Evolution of the Fgf and Fgfr gene families. *Trends Genet*, 2004, 20: 563-69
- [48] 朱华锋, 汪春兰, 赵宇. VEGF和FGF-2在血管生成中的协同作用研究进展. *中华整形外科杂志*, 2006, 22: 72-4
- [49] Laddha AP, Kulkarni YA. VEGF and FGF-2: promising targets for the treatment of respiratory disorders. *Resp Med*, 2019, 156: 33-46
- [50] 杨丹, 田海山, 李校堃. 成纤维细胞生长因子5的研究进展. *中国生物工程杂志*, 2020, 40: 117-24
- [51] Romario R, Silva PN, Chang HH, et al. Fibroblast growth factor receptor 5 (FGFR5) is a co-receptor for FGFR1 that is up-regulated in β -cells by cytokine-induced inflammation. *J Biol Chem*, 2018, 293: 17218-28
- [52] Giacomini A, Chiodelli P, Matarazzo S, et al. Blocking the FGF/FGFR system as a "two-compartment" antiangiogenic/antitumor approach in cancer therapy. *Pharmacol Res*, 2016, 107: 172-85
- [53] Li Q, Alsaidan OA, Ma Y, et al. Pharmacologically targeting the myristoylation of the scaffold protein FRS2 α inhibits FGF/FGFR-mediated oncogenic signaling and tumor progression. *J Biol Chem*, 2018, 293: 6434-48
- [54] Hoshi T, Miyano SW, Watanabe H, et al. Lenvatinib induces death of human hepatocellular carcinoma cells harboring an activated FGF signaling pathway through inhibition of FGFR-MAPK cascades. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 513: 1-7
- [55] Dijke PT, Baker D. Fine-tuning ALK1 linear polyubiquitination to control angiogenesis. *Trends Cell Biol*,

- 2021, 31: 705-7
- [56] Goumans MJ, Valdimarsdottir G, Itoh S, et al. Activin receptor-like kinase (ALK) 1 is an antagonistic mediator of lateral TGF β /ALK5 signaling. *Mol Cell*, 2003, 12: 817-28
- [57] Cunha SI, Pietras K. ALK1 as an emerging target for antiangiogenic therapy of cancer. *Blood*, 2011, 117: 6999-7006
- [58] Huang CY, Chung CL, Hu TH, et al. Recent progress in TGF- β inhibitors for cancer therapy. *Biomed Pharmacother*, 2021, 134: 111046
- [59] Cantelmo AR, Conradi LC, Brajic A, et al. Inhibition of the glycolytic activator PFKFB3 in endothelium induces tumor vessel normalization, impairs metastasis, and improves chemotherapy. *Cancer Cell*, 2016, 30: 968-85
- [60] Mawalla B, Yuan X, Luo X, et al. Treatment outcome of anti-angiogenesis through VEGF-pathway in the management of gastric cancer: a systematic review of phase II and III clinical trials. *BMC Res Notes*, 2018, 11: 21
- [61] Zhang X, Zhang Z, Cao M, et al. A randomized parallel controlled phase II trial of recombinant human endostatin added to neoadjuvant chemotherapy for stage III breast cancer. *Clin Breast Cancer*, 2020, 20: 291-9
- [62] 虞中平, 黄雪峰. 贝伐单抗作为抗VEGFR通路药物应用于晚期非鳞非小细胞肺癌的临床价值. *中国实用医刊*, 2021, 48: 105-7
- [63] Bang YH, Kim JE, Ji SL, et al. Bevacizumab plus capecitabine as later-line treatment for patients with metastatic colorectal cancer refractory to irinotecan, oxaliplatin, and fluoropyrimidines. *Sci Rep*, 2021, 11: 7118
- [64] Schneeweiss A, Förster F, Tesch H, et al. First-line bevacizumab-containing therapy for HER2-negative metastatic breast cancer: final results from a prospective German study. *Anticancer Res*, 2016, 36: 967-74
- [65] 谷耀伟, 李箬, 宋丽杰. 安罗替尼联合AP方案治疗晚期非小细胞肺癌的临床研究. *现代药物与临床*, 2020, 35: 143-7
- [66] 韩骐蔓, 侯和磊, 张晓春. 国产创新药安罗替尼抗肿瘤治疗的研究进展. *中国新药与临床杂志*, 2020, 39: 65-70
- [67] 呋喹替尼(Fruquintinib)三线治疗晚期结直肠癌的III期临床研究疗效显著. *临床合理用药杂志*, 2017, 20: 164
- [68] 周守兵, 刘宇, 刘虎, 等. 吡咯替尼联合化疗在曲妥珠单抗耐药乳腺癌肝转移患者中的疗效. *安徽医学*, 2019, 41: 33-5
- [69] 王季颖, 蔡勇. 恩度联合NP方案治疗晚期复治非小细胞肺癌的临床随机对照研究. *实用临床医药杂志*, 2009, 13: 34-6,38
- [70] 秦叔逵, 苗静, 韩宝惠, 等. 重组人血管内皮抑制素联合常用含铂化疗方案治疗晚期非小细胞肺癌的IV期临床研究. *临床肿瘤学杂志*, 2019, 24: 289-98
- [71] 介芳芳, 曹德东, 戈伟, 等. 重组人血管内皮抑制素联合放疗对肺腺癌A549细胞TGF- β 1、HIF-1 α 表达的影响. *亚洲肿瘤科病例研究*, 2012, 1: 5-10