

## · 综述 ·

## 血管生成抑制因子与肿瘤治疗

张峰 王小林

肿瘤血管形成是肿瘤生长、转移的关键。恶性肿瘤细胞团在获得血供之前仅  $1 \sim 2 \text{ mm}^3$  大小,并无侵袭性生长能力,其氧气和营养的获得主要依赖于周围组织间液的弥散。此时肿瘤促血管生成和抑制血管生成两种因子处于平衡状态。Folkman 等<sup>[1]</sup>提出“血管生成开关”假说:原位癌生长到一定阶段,氧气和营养的获得靠组织间液弥散远不能适应生长需要,就会改变血管生成促进因子和血管生成抑制因子之间的平衡,上调血管生成促进因子的表达,下调血管生成抑制因子的表达,促进肿瘤血管生成。肿瘤血管生成是个多步骤过程,内皮细胞起至关重要作用(1)促血管生成因子激活内皮细胞(2)内皮细胞向趋化因子所在部位迁移(3)基底膜降解允许内皮细胞侵入周围组织(4)内皮细胞分化、出芽并逐步形成微血管<sup>[2]</sup>。近年来发现的强大的内源性血管生成抑制因子血管他丁(angiotatin)和内皮他丁(endostatin)对血管内皮细胞生长、增殖及迁移具有明显抑制作用<sup>[3,4]</sup>,可以抑制肿瘤生长,无疑为肿瘤治疗开辟了一条新途径,给肿瘤患者带来新希望。

## 一、血管他丁和内皮他丁的基本结构

血管他丁是 O'Reilly 等从荷 Lewis 肺癌 C57BL/6 小鼠血浆和尿中分离出的强大的内源性血管生成抑制因子,与血浆纤维蛋白溶酶原高度同源,分子相对质量为  $38 \times 10^3 \text{ u}$ 。氨基酸序列分析表明,血管他丁含有纤维蛋白溶酶原 5 个三环结构(Kringle 区)中的前 4 个,4 个 Kringle 区之间以 3 个二硫键相连接<sup>[3]</sup>。起初研究表明,对血管内皮细胞有抑制作用的主要是前 3 个 Kringle 区,而且不同 Kringle 片段对内皮细胞的增殖有不同的抑制作用。Kringle 1(K1)区有整个血管他丁 50% 以上的抑制效能,但 Kringle 4 区基本无抑制作用<sup>[5]</sup>。含前 3 个 Kringle 区的血管他丁和含前 4 区的血管他丁对内皮细胞的抑制作用相当,表明维持血管他丁抗肿瘤活性并不具有所有前 4 个 Kringle 区<sup>[6]</sup>。研究表明, Kringle 5(K5)区有特异的且较血管他丁更强的抑制内皮细胞增殖作用。Cao 等<sup>[7]</sup>用尿激酶激活纤维

蛋白溶酶,用纤维蛋白溶酶裂解纤维蛋白溶酶原生成 K1-5,能特异抑制血管内皮细胞的增殖。K1-5 半数最大抑制内皮细胞增殖浓度为  $50 \text{ pm}$ ,最大抑制浓度为  $200 \text{ pm}$ ,提高浓度并不增强 K1-5 的抑制效果。其半数最大抑制浓度是 Agiostatin 的  $1/50$ ,同浓度的 K1-5 是血管他丁抑制效能的 50 倍。血管他丁与 K5 具有协同作用,其作用效能与 K1-5 相当。

内皮他丁是 O'Reilly 等<sup>[4]</sup>从荷血管内皮瘤 C57BL/6J 小鼠血浆中分离而来,是另一种强大的内源性血管内皮生成抑制因子。氨基酸序列分析表明,内皮他丁和胶原蛋白 XV Ⅲ的 C 端片段有高度同源性。胶原蛋白 XV Ⅲ由 N 端的 3 个裂解可变区,一系列不连续的胶原类似区,和 C 端的一个分子质量为  $35 \times 10^3 \text{ u}$  的非胶原区(NC1)组成。分析纯化的内皮他丁 N-端 18 个氨基酸序列,证实内皮他丁和 NC1 区的 C 端高度同源。

## 二、血管他丁作用的分子机制

目前对血管他丁抑制内皮细胞增殖和迁移的具体分子机制还不完全明了。一般情况下,缺氧细胞不能合成足够的 ATP 以维持存活,但是在恶性肿瘤坏死区域仍可见毛细血管蜿蜒匍匐其间。究其原因与血管内皮细胞具有特殊能量合成机制有关(1)内皮细胞膜表面具有只存在于其他细胞线粒体表面的 ATP 合成酶(2)线粒体 ATP 合酶的活性靠跨膜离子梯度驱动,而这种离子梯度的维持依赖于有氧代谢。在乏氧条件下,血管内皮细胞膜内较膜外酸度高,可以维持 ATP 合酶活性(3)在乏氧条件下,红细胞产生大量 ADP,内皮细胞有足够的原料用以合成 ATP<sup>[8]</sup>。

Pizzo 等研究了血管他丁抑制内皮细胞增殖的作用机制,证实其能特异结合在血管内皮细胞表面,结合位点正是存在于内皮细胞膜表面的 ATP 合成酶  $\alpha$  和  $\beta$  亚单位。他们还从内皮细胞膜表面分离纯化出 ATP 合成酶  $\alpha$  和  $\beta$  亚单位,首次证实 ATP 合成酶存在于线粒体外。Moser 等<sup>[9,10]</sup>进一步研究证实(1)ATP 合成酶  $\alpha$  和  $\beta$  亚单位存在于人脐静脉内皮细胞(HUVEC)膜表面(2)血管他丁可以和牛  $F_1$  ATP 合成酶结合,且具有剂量依赖性(3)血管他

丁抑制纯化牛  $F_1$  ATP 合成酶生物活性 (4) 内皮细胞膜表面存在 ATP 合成酶  $\alpha$ 、 $\beta$  和  $\gamma$  亚单位所组成的催化复合体, 且具有合成 ATP 功能, 血管他丁能阻断其合成 ATP 作用 (5) 血管他丁和 ATP 合成酶  $\alpha$  和  $\beta$  亚单位多克隆抗体均能抑制 HUVEC 增殖。

### 三、血管他丁和内皮他丁抗肿瘤特性

(一) 血管他丁和内皮他丁抑制原发瘤生长 血管他丁和内皮他丁抑制血管内皮细胞的增殖、迁移, 促进内皮细胞凋亡, 抑制肿瘤血管生成, 以达到抗肿瘤作用。Lannutti 等<sup>[11]</sup>用人血浆纯化血管他丁皮下注射治疗荷恶性血管内皮瘤裸鼠 ( $40\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ), 治疗组肿瘤体积较对照组明显缩小, 分别为 ( $66 \pm 12$ )  $\text{mm}^3$  和 ( $825 \pm 67$ )  $\text{mm}^3$ , 肿瘤重量也较对照组明显降低 ( $P < 0.05$ )。O'Reilly 等用重组小鼠内皮他丁皮下注射治疗荷 Lewis 肺癌、T241 纤维肉瘤和 B16F10 黑色素瘤 C57BL/6J 小鼠, 增加剂量能明显提高治疗效果。 $2.5\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$  组肿瘤抑制与对照组相比达 53%,  $10\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$  组达 97%,  $20\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$  组达 99%, 肿瘤几乎完全退化。免疫组化分析残余肿瘤微血管密度, 发现肿瘤血管明显受到抑制, 治疗组肿瘤细胞调亡指数上升 7 倍。持续用药肿瘤维持在休眠状态。停药后肿瘤血管再次生成, 肿瘤在 5~14d 复发, 小鼠很快死亡<sup>[4]</sup>。他们的研究结果提示, 血管生成抑制治疗是一个终生过程。Patricio 等<sup>[12]</sup>用重组人血管他丁治疗裸鼠颅内种植恶性神经节瘤, 剂量为  $0.5\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ , 皮下注射, 连续 10d, 与对照组相比肿瘤抑制达 85%。Yumi 等<sup>[13]</sup>研究发现血管他丁和内皮他丁均能抑制小鼠的种植性卵巢癌生长, 血管他丁要优于内皮他丁, 两者合用有明显的协同作用, 作用效果显著优于单用两者之一, 这可能与两者的作用机制不同有关。

(二) 血管他丁和内皮他丁抑制肿瘤转移 肿瘤血管生成是肿瘤扩张转移的关键。外科手术切除、放化疗及其他针对原发瘤的治疗可以加速肿瘤的转移<sup>[3, 13]</sup>。为什么原发瘤会抑制转移瘤的生长而不抑制其本身? O'Reilly 等认为原发瘤激活血管生成促进因子同时也生成血管生成抑制因子, 当原发瘤产生的血管生成促进因子超过血管生成抑制因子时, 原发瘤生长就会启动。但是血管生成抑制因子在血循环中存在时间明显长于促进因子, 在继发瘤内抑制因子的量超过促进因子, 能抑制继发性肿瘤的生长。他们研究证实, 皮下种植突变型 Lewis 肺癌 (低转移型) 的明显抑制肿瘤肺转移, 切除原发瘤后, 转移很快出现。SCID 小鼠种植性 Lewis 肺癌

也能明显抑制肺转移, 证实原发瘤抑制转移与完整的免疫系统无关<sup>[3]</sup>。Camphausen 等放射治疗荷 Lewis 肺癌 C57BL/6J 小鼠, 每次 20GY, 2 个疗程, 原发瘤明显缩小, 但肺转移明显增多, 而且还伴有尿中巨噬细胞其质金属蛋白酶 (MMP-2) 降低, 血管他丁合成减少, 放疗 (5 个疗程, 10GY/次) 和血管他丁 ( $20\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ , 连用 21d) 联合治疗, 肺转移明显减少<sup>[14]</sup>。Sim 等<sup>[15]</sup>用血管他丁治疗荷 Lewis 肺癌 C57BL/6J 小鼠 (连用 14d,  $1.5\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ), 与对照组相比, 双肺转移数目、肺重、转移瘤微血管密度明显降低。O'Reilly 等用内皮他丁治疗荷 Lewis 肺癌小鼠 ( $0.3\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ) 肺转移数目明显降低, 分别为 ( $7 \pm 3$ ) 个和 ( $77 \pm 7$ ) 个<sup>[4]</sup>。

(三) 对肿瘤发展各阶段的作用 Gabriele 等<sup>[16]</sup>研究发现血管生成抑制因子对肿瘤发展不同阶段均有作用。他们研究了转基因胰岛细胞癌小鼠 (RIP1-tag2) 模型肿瘤发展不同阶段的血管生成抑制因子的作用。这种小鼠肿瘤发展表现出多阶段过程, 而且有明确的肿瘤血管生成特征。5 周左右细胞增生期, 肿瘤血管还未生成, 应用血管生成抑制剂阻断血管生成开关打开。血管他丁和 AGM-1470 仅有轻度作用, 内皮他丁单用或和血管他丁联用抑制肿瘤血管 61% 和 63%; 在 10 周左右实体肿瘤形成期, 荷瘤小鼠无明显症状, 肿瘤较小, 血管他丁和内皮他丁减轻肿瘤负荷 60% 和 88%; 在 12 周左右肿瘤进展期, 荷瘤小鼠表现出明显病态, 肿瘤较第二阶段明显增大, 预期寿命 2 周, 内皮他丁和血管他丁联用明显促进肿瘤退化, 减轻肿瘤负荷, 延长小鼠生存期。本研究第一次证实不同血管生成抑制剂对不同发展阶段肿瘤有不同效果, 所有受试药物都不能完全阻断血管生成, 但能通过阻断血管生成来诱导肿瘤退化。

(四) 与放疗具有协同作用 肿瘤放射治疗是目前肿瘤治疗的主要手段之一, 但放疗可加速肿瘤转移且易形成放疗耐受。Mauceri 等<sup>[17]</sup>联合血管他丁 ( $25\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ) 和放射治疗荷 Lewis 肺癌、鳞癌、恶性神经节瘤及前列腺癌 C57BL/6J 小鼠, 联合治疗较单用有更明显的肿瘤抑制作用, 放疗和血管他丁对血管内皮细胞有协同抑制作用, 并能降低放疗的不良反应。Gorski 等<sup>[18]</sup>联合放射治疗和血管他丁治疗荷 Lewis 肺癌小鼠, 并着重研究了联合治疗的时间窗。单用血管他丁及放射治疗, 与对照组相比, 均能明显抑制肿瘤生长。在不同时间窗内联合治疗疗效也有明显差别, 放射治疗同时短期应用血管他丁能取得较长期应用和放疗后应用更明显的效果。

(五) 血管他丁和内皮他丁抑制肿瘤血管生成无耐药 与肿瘤细胞不同, 血管内皮细胞含正常染色体, 基因具有相对稳定性、均一性和低突变率的特点。Boehm 等<sup>[19]</sup>用内皮他丁治疗荷 Lewis 肺癌、T241 纤维肉瘤、B16F10 黑色素瘤 C57BL/6J 小鼠 ( $20\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ), 直至肿瘤退化进入休眠状态。停药后肿瘤会再次生长, 重复用药, 可取得与首次用药同样效果, 反复用药可达 6 个疗程(185d)。与之对照, 荷相同肿瘤小鼠应用细胞毒性药物—环磷酰胺, 1 个疗程后肿瘤明显缩小, 第 2 个疗程继续用药出现明显获得性耐药, 治疗失败, 小鼠短期内死亡。本研究提示, 血管生成抑制治疗明显优于细胞毒性药物治疗, 突出优点在于应用血管生成抑制治疗没有细胞毒性药物难以克服的获得性耐药, 可以长期应用。

总之, 血管他丁和内皮他丁具有抗瘤谱广、无耐药、无不良反应、易通过血脑屏障等特点。

#### 四、问题和展望

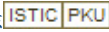
目前, 虽然血管他丁和内皮他丁治疗小鼠肿瘤取得非常显著的效果, 但是仍存在很多困难: (1) 血管生成抑制治疗需长期用药, 停药肿瘤会再度生长; (2) 内皮他丁和血管他丁是蛋白质, 半衰期及有效作用时间短, 必须长期用药, 而且目前还不能大量制备; (3) 虽然重组血管他丁和内皮他丁经证实有很好的抑制血管生成作用, 但大规模临床应用还需时日; (4) 目前针对血管他丁和内皮他丁的研究仅证实对小鼠肿瘤有作用, 推广用于人类还有很长的路要走; (5) 现在重组血管生成抑制剂也开始进入临床试验阶段, 通过介入的方法经动脉直接将药物送到肿瘤部位, 有可能克服血管生成抑制剂半衰期短、肿瘤部位血药浓度低的缺点。但是血管他丁和内皮他丁毕竟是强大的血管生成抑制剂, 前景广阔, 但作用机制及对入肿瘤的作用研究还有待进一步深入, 研制有抑制内皮细胞膜表面 ATP 合成酶功能的小分子物质将是未来的方向。

#### 参考文献

- Folkman J. Fighting cancer by attacking its blood supply. *Sci Amer*, 1996, 275: 150-154.
- Amin H, Nor-Eddine S, Devy L, et al. Down-regulation of vascular endothelial growth factor by tissue inhibitor of metalloproteinase-2: Effect on in vivo mammary tumour growth and angiogenesis.

- Cancer Res, 2001, 61: 3450-3457.
- O'Reilly, Hoemgren L, Shing Y, et al. Angiostatin: A novel angiogenesis inhibitor that mediate the suppression of metastases by a Lewis carcinom. *Cell*, 1994, 79: 315-328.
- O'Reilly Michael, Boehm T, Shing Y, et al. endostatin: An Endogenous inhibitor of angiogenesis and tumour growth. *Cell*, 1997, 88: 277-285.
- Cao Y, Ji RW, Davidson D, et al. Kringle domains of human angiostatin: Characterization of the anti-proliferation activity on endothelial cells. *J Biol Chem*, 1996, 271: 29461-29467.
- Macdonald Nicholas J, Murad AC, Fogler WE, et al. The tumor-suppressing activity of angiostatin protein resides within Kringles 1 or 3. *Biochem Biophys Res Com*, 1999, 264: 469-477.
- Cao Renhai, WL, Veitonmaki N, et al. Suppression of angiogenesis and tumor Growth by the inhibitor K1-5 generated by plasmin-mediated proteolysis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96: 5728-5733.
- Barinaga M. A surprising partner for angiostatin. *Science*, 1999, 283: 1831.
- Moser T L, Stack, et al. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96: 2811-2866.
- Moser T L, Kenan DJ, Ashley TA, et al. Endothelial cell surface F1-F0 ATP synthesis and is inhibited by angiostatin. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98: 6656-6661.
- Lannutti BJ, Gately ST, Quevedo ME, et al. Human angiostatin Inhibitor murine hemangioendothelioma tumor growth in vivo. *Cancer Res*, 1997, 57: 5277-5280.
- Patricio MI, Lauren EA, Klajiar KA, et al. Simoplied production of recombinant human angiostatin derivative that Suppresses intracerebral glial tumor growth. *Clin Cancer Res*, 1999, 5: 3689-3694.
- Yumi Y, Mohanraj D, Griffioen AW, et al. Synergy between angiostatin and endostatin: inhibitor of ovarian cancer growth. *Cancer Res*, 2000, 60: 2190-2196.
- Kevin C, Moses MA, Beecken WD, et al. Radiation therapy to a primary tumor accelerates metastatic growth in mice. *Cancer Res*, 2001, 61: 2207-2211.
- Sim B, Kim Lee, O'Reilly MS, et al. A recombinant human angiostatin protein Inhibits experimental primary and metastatic cancer. *Cancer Res*, 1997, 57: 1329-1334.
- Chriele B, Kashi J, Lo KM, et al. Effects of agiogenesis inhibitor on multistage carcinogenesis in mice. *Science*, 1999, 284: 808-812.
- Mauceri H J, hanna NN, Beckett MA, et al. Combined effects of angiostatin and ionizing radiation in antitumor therapy. *Nature*, 1998, 394: 287-289.
- Gorski DH, Mauceri HJ, Salloum RM, et al. Potentiation of the antitumor effect of ionizing radiation by brief concomitant exposures to angiostatin. *Cancer Res*, 1998, 58: 5686-5689.
- Boehm T, Judah F, Browder T, et al. Antiangiogenic therapy of experimental cancer does not induce acquired drug resistance. *Nature*, 1997, 390: 404-407.

(收稿日期: 2001-10-31)

作者: 张峰, 王小林  
作者单位: 200032, 上海复旦大学中山医院介入放射科  
刊名: 介入放射学杂志   
英文刊名: JOURNAL OF INTERVENTIONAL RADIOLOGY  
年, 卷(期): 2002, 11 (4)  
被引用次数: 0次

参考文献(19条)

1. Folkman J [Fighting Cancer by attacking its blood supply](#) 1996
2. Amin H. Nor-Eddine S. Devy L [Down-regulation of vascular endothelial growth factor by tissue inhibitor of metalloproteinase-2: Effect on in vivo mammary tumour growth and angiogenesis](#) 2001
3. O'reilly. Hoemgren L. Shing Y [Angiostatin: A novel angiogenesis inhibitor that mediate the suppression of metastases by a Lewis carcinom](#) 1994
4. O'Reilly Michael. Boehm T. Shing Y [endostatin: An Endogenous inhibitor of angiogenesis and tumour growth](#) 1997
5. Cao Y. Ji RW. Davidson D [Kring domains of human angiostatin: Characterization of the anti-proliferation activity on endothelial cells](#) 1996
6. Macdonald Niccholas J. Murad AC. Fogler WE [The tumorsuppressing activity of angiostatin protein resides within kringles 1 to 3](#) 1999
7. Cao Renhai WL. Veitonmaki N [Suppression of angiogenesis and tumor Growth by the inhibitor K1-5 generated by plasmin-mediated proteolysis](#) 1999
8. Barinaga M A [Surprising Partner for Angiostatin](#) 1999
9. Moser T L. Stack [查看详情](#) 1999
10. Moser T L. Kenan DJ. Ashley TA [Endothelial cell surface F1-F0 ATP synthesis and is inhibited by angiostatin](#) 2001
11. Lannutti BJ. Gately ST. Quevedo ME [Human angiostatin Inhibitor murine hemangioendothelioma tumor growth in vivo](#) 1997
12. Patricio MI. Lauren EA. Klajiar KA [Simoplied production of recombinant human angiostatin derivative that Suppresses intracerebral glial tumor growth](#) 1999
13. Yumi Y. Mohanraj D. Griffioen AW [Synergy between angiostatin and endostatin: inhibitor of ovarian cancer growth](#) 2000
14. Kevin C. Moses MA. Beecken WD [Radiation therapy to a primary tumor accelerates metastatic growth in mice](#) 2001
15. Sim B. Kim Lee. 'Reilly MS [A recombinant human angiostatin protein Inhibits experimental primary and metastatic cancer](#) 1997
16. Cbriele B. Kashi J. Lo KM [Effects of agiogenesis inhibitor on multistage carcinogenesis in mice](#) 1999
17. Mauceri H J. hanna NN. Beckett MA [Combined effects of angiostatin and ionnizing radiation in antitumor therapy](#) 1998
18. GorskiDH. Mauceri HJ. Salloum RM [Potentiation of the antitumor effect of ionizing radiation by brief](#)

concomitant exposures to angiostatin 1998

19. Boehm T. Judah F. Browder T Antiangiogenic therapy of experimental cancer does not induce acquired drug resistance 1997

本文链接: [http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical\\_jrfsxzz200204031.aspx](http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_jrfsxzz200204031.aspx)

授权使用: qkayh(qkayh), 授权号: 3c2bd382-a41e-4260-a90c-9e3801655fd9

下载时间: 2010年11月24日