

## • 综 述 General review •

## 血管内皮生长因子在原发性肝癌中的诊断及预后意义

李 丁, 向 华

**【摘要】** 血管内皮生长因子(VEGF)是血管形成的重要调节因子,参与肿瘤的形成及发展的多个过程。VEGF 特异性作用于血管内皮细胞,有促进新生血管形成、增加血管通透性、促进细胞迁移和抑制核因子  $\kappa$ B 活化等生物学功能。原发性肝癌恶性程度高,预后差,其生理学特性与 VEGF 作用相关。现就 VEGF 的结构、功能及其与肝癌的诊断及预后予以综述。

**【关键词】** 血管内皮生长因子; 原发性肝癌

中图分类号: R735.7 文献标志码: A 文章编号: 1008-794X(2014)-11-1018-04

**The significance of vascular endothelial growth factor in the diagnosis and prognosis of primary hepatocellular carcinoma** LI Ding, XIANG Hua. Department of Interventional and Vascular Surgery, Hunan Provincial People's Hospital, Changsha, Hunan Province 410005, China

Corresponding author: XIANG Hua. E-mail: vipxiangh@163.com

**【Abstract】** Vascular endothelial growth factor (VEGF) is an important regulatory factor of angiogenesis, which is involved in multiple processes of the formation and development of tumors. VEGF has various specific biological effects on vascular endothelial cells such as promoting angiogenesis and cell migration, increasing vascular permeability and suppressing the activation of nuclear factor  $\kappa$ B, etc. Clinically, the primary hepatocellular carcinoma usually carries higher degree of malignancy and poorer prognosis, and its biological behavior is closely related to the functions of VEGF. This paper aims to make a review on the structure and function of VEGF, and its significance in the diagnosis and prognosis of liver cancer is also discussed. (J Intervent Radiol, 2014, 23: 1018-1021)

**【Key words】** vascular endothelial growth factor; primary hepatocellular carcinoma

原发性肝癌的发病率在所有癌症中排名第 6, 而病死率排名第 3<sup>[1]</sup>。由于目前缺少审慎、有效的诊断方法,肝癌的早期诊断十分困难。原发性肝癌预后不良,探索灵敏而特异的检测指标成为医学研究者的首要目标<sup>[2]</sup>。血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)是目前发现调控血管和淋巴管生成作用最强,特异性最高,能促进肿瘤细胞的生存、扩散、迁移和渗透的因子,其在多种肿瘤微环境中均有异常表达,并与肿瘤的发生、发展和预后等密切相关。

## 1 VEGF 的定位、结构和表达

### 1.1 VEGF 的定位和结构

VEGF 是一种功能性糖蛋白,属于一结构相似

的生长因子家族,由 Ferrara 等<sup>[3]</sup>在 1989 年首先报道。人类 VEGF 基因定位于 6p21.3,由 8 个外显子和 7 个内含子构成,基因全长 28 kb,结构类似于血小板衍生生长因子(platelet-derived growth factor),是 8 个半胱氨酸残基组成的同源二聚体。现已发现 VEGF 家族成员有,VEGF-A (就是通常所指的 VEGF)、VEGF-B、VEGF-C、VEGF-D、VEGF-E、VEGF-F 和胎盘生长因子(PlGF),其中 VEGF-A、VEGF-B、VEGF-C 和 VEGF-D 属于肝素生长因子,VEGF-E、VEGF-F 是两种类似物,分别从羊痘疮毒和蛇毒中分离。

### 1.2 VEGF 的表达

VEGF 主要表达于内皮细胞,这与 VEGF 受体(VEGFR)有关。目前已发现 3 种 VEGFR,分别是 FLT-1(VEGFR-1)、FLK/KDR(VEGFR-2)及 FLT-4(VEGFR-3)。不同受体在不同细胞表达不一致。VEGFR-1 主要表达于造血干细胞,VEGFR-2 主要

表达于血管内皮细胞, VEGFR-3 主要表达于淋巴内皮细胞。除伤口愈合和女性子宫内膜外, 一般认为正常器官的血管增殖是相对静止的<sup>[4]</sup>。因而, VEGF 在正常成人和动物中表达水平较低, 一些代谢旺盛的、血供丰富的组织 VEGF 的表达略高, 而胚胎组织、胎盘、增殖期子宫、黄体等由于生长发育和血管形成需要, VEGF 往往呈较高表达水平<sup>[5]</sup>。肿瘤组织, 尤其是肝癌细胞, 本身具有高代谢、高生长率的特点, 为满足其生长需要, 只有不断增殖新生血管, 为其输送氧和营养物质。现已知人类很多肿瘤均有 VEGF 表达, 如肝癌、肺癌、膀胱癌、甲状腺癌、脑肿瘤、神经母细胞瘤、宫颈癌、成骨肉瘤等, 以消化道肿瘤 VEGF 表达尤为明显。

## 2 VEGF 的生物学功能

VEGF 能以自分泌、旁分泌和细胞分泌的方式特异地作用于血管内皮细胞表面的 VEGFR, 并促进内皮细胞的生长、增殖、迁移、细胞外基质降解以及血管管型结构的形成<sup>[6]</sup>。研究认为, VEGF 对内皮细胞的主要生理功能几乎都是通过 VEGFR-2 来完成的。丙氨酸扫描诱变 (alanine - scanning mutagenesis) 显示 Arg<sup>82</sup>、Lys<sup>84</sup>、His<sup>86</sup> 是 VEGF 结合 VEGFR-2 的关键位点<sup>[7]</sup>。VEGF 通过与受体结合后发挥生物学效应<sup>[8]</sup>: ① 促进新生血管形成, 刺激蛋白水解酶降解微静脉周围基膜, 促进内皮细胞增生, 使毛细血管出芽并脱离母静脉, 然后迁移至附近的基质中形成新管腔; ② 增加血管通透性, 使血浆蛋白外渗; ③ 促进内皮细胞的增殖; ④ 抑制细胞凋亡, 抑制核因子  $\kappa$ B 活化, 阻止树突状细胞的分化成熟, 降低机体免疫功能, 从而使肿瘤细胞能够逃避免疫监视。

## 3 VEGF 在肝癌中的表达及临床意义

### 3.1 VEGF 在肝癌中的表达

国内外许多研究表明, 血清 VEGF 在肝癌组织的表达高于邻近正常肝组织平均水平, 同时肝组织中 VEGF mRNA 及蛋白的表达与血清 VEGF 的表达显著相关。国内有学者通过对 60 例不能手术切除的肝癌患者观察, 发现血清中 VEGF 含量平均为 285 pg/ml, 显著高于健康对照组 ( $P = 0.021$ ), 而肝癌患者中, 血清 VEGF > 285 pg/ml 者较 < 285 pg/ml 者总体生存情况差 ( $P = 0.002$ )<sup>[9]</sup>。有文献报道, 门静脉癌栓形成者血清 VEGF 水平明显高于无癌栓者 [(498.3  $\pm$  126.6)ng/L 比 (352.6  $\pm$  105.4)ng/L,  $P <$

0.05], TNM I 期、II 期的患者血清 VEGF 的水平为 [(205.3  $\pm$  89.6)ng/L 比 (212.6  $\pm$  105.9)ng/L, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )], 但当肿瘤发展到 III、IV 期时, 血清 VEGF 水平显著升高, 为 [(398.7  $\pm$  132.1)ng/ml 比 (446.2  $\pm$  135.6)ng/ml, 与 I、II 期比较差异均有统计学意义 ( $P < 0.01$ )<sup>[10]</sup>。此外, VEGF-A、VEGF-C、VEGFR-1、VEGFR-2 和 VEGFR-3 在肝癌癌周的表达要高于肿瘤中的表达, 并呈一种“向心性分布”方式, 其中 VEGFR-1 主要位于瘤周巨噬细胞, VEGF-C 和 VEGFR-3 主要位于瘤周肝细胞, 并推测缺氧是重要的诱导因素<sup>[11]</sup>。Wu 等<sup>[12]</sup>对北京、广西、江苏三地的汉族原发性肝癌患者 VEGF 基因多态性和单核苷酸多态性与肝癌易感性之间的关联进行动态分析, 发现 VEGF 启动区单核苷酸多态性可能有助于肝癌的易感性。国外有研究发现, VEGF-A 的多态性可能会使酒精性肝病患者患肝癌的风险增加<sup>[13]</sup>。在晚期肝癌中, 血清 VEGF 被确定为独立的预后因素, VEGF 水平的高低与生存期的长短显著关联, 但在早期肝癌中的意义不大<sup>[14]</sup>。总之, 目前已有大量研究表明 HCC 患者血清中 VEGF 的表达显著高于正常人及良性肝病患者。VEGF 高表达与病程晚期、肝门静脉血栓形成、治疗无效及较低的存活率有关。

目前肝癌治疗方法主要有手术切除、微创及介入治疗、肝移植、靶向治疗等, 行相关治疗前后血清 VEGF 的表达会发生改变。通过检测治疗前后血清中 VEGF 含量的变化, 不仅可从分子生物学角度观察肝癌进展, 还可以为肝癌临床治疗预后判断提供帮助。最近许多相关研究及荟萃分析表明, VEGF 可能成为肝癌治疗预后分析的预测因子<sup>[15]</sup>。夏红天等<sup>[16]</sup>通过对肝癌患者术前、术后标本检测发现, 术前血清中 VEGF 含量明显高于健康对照组, 行根治术后, 血清中 VEGF 含量则明显低于术前。因此术前及术后血清内 VEGF 含量的变化不仅可反映病灶的变化, 还能间接判断手术疗效。国内有研究发现, 经皮经肝动脉造影化疗栓塞术 (TACE) 能增加残余癌组织 VEGF 的表达, 同时肝癌组织 VEGF 表达与 TACE 后肿瘤的复发转移密切相关, VEGF 高水平可能预示着患者 TACE 术后预后不良<sup>[17]</sup>。徐涛等<sup>[18]</sup>通过对兔 VX2 肝肿瘤模型进行介入栓塞后, 碘油组血清 VEGF 含量明显高于对照组 [(1.42  $\pm$  0.29)ng/mL 比 (1.12  $\pm$  0.21)ng/mL,  $P < 0.01$ ], 同时碘油组残余肿瘤细胞 VEGF 的表达明显高于对照组 ( $P < 0.01$ ), VEGF mRNA 表达也高于对照组 ( $P <$

0.05)。陈艳等<sup>[19]</sup>在氩氦冷冻消融治疗复发肝癌的独立因素分析中发现血清中 VEGF 表达水平与患者 3 年总体生存率和 3 年无复发率显著相关。国内报道,在建立小鼠肝移植模型后,小肝移植组供肝 VEGF 的表达在各时间点均高于全肝移植组,并认为 VEGF 可能通过肝星状细胞自分泌激活途径来参与肝移植后供肝的损伤<sup>[20]</sup>。因此 VEGF 对肝移植预后具有一定指导作用,但对于人类肝移植后 VEGF 的表达与肝功能的关系,尚需进一步研究。

### 3.2 VEGF 与肝癌的抗血管生成治疗

研究表明,肝癌的典型特征就是大量新生血管的形成,VEGF 及其受体是肿瘤抗血管生成的关键目标。传统的肿瘤“饥饿疗法”认为通过抑制 VEGF 等与肿瘤异常新生相关的促血管生成活性,阻断肿瘤组织血管生成,最终可“饿死”肿瘤细胞。Jain<sup>[21]</sup>则认为,抗血管生成药物可以使肿瘤血管正常化,即促和抑血管生成因子达到平衡,肿瘤血管会在一定时间内恢复到正常水平,表现为微血管密度减少,缺氧改善,灌注增加和周细胞覆盖增加等。基于血管形成在肝癌进展中的重要作用,抗血管生成药物已成为肝癌干预的热点。已有包括贝伐单抗、索拉非尼、舒尼替尼、重组人内皮抑素等药物用于临床。研究发现,重组人内皮抑素在原发性肝癌患者中显示出抑制微血管密度等类似作用效果<sup>[22]</sup>。索拉非尼是目前常用的分子靶向药物,主要通过阻断 Raf/Mek/Erk 途径抑制 VEGF 的表达,已被证实能够改善肝癌的预后。在一项涉及 602 例患者多中心、随机、双盲、安慰剂对照 III 期临床研究中,索拉非尼组的中位存活时间为 10.7 个月,而对照组的中位存活时间为 7.9 个月<sup>[23]</sup>。国内学者通过研究索拉非尼对肝癌患者行 TACE 术后血管内皮生长因子的影响,发现单纯 TACE 组在 TACE 术后 28 d 血清 VEGF 的水平较术前 1 天的水平降低,索拉非尼联合 TACE 组术后 28 d VEGF 水平较术前 VEGF 水平也降低,但联合组较单纯 TACE 组降低的更明显。由此认为索拉非尼联合 TACE 治疗,通过降低 TACE 术后 VEGF 水平,有望取得更好的疗效<sup>[24]</sup>。然而,国内也有文献报道索拉非尼联合介入治疗,检测介入治疗前后的血清中 VEGF 含量,并与对照比较发现,低于对照时,索拉非尼治疗肝癌效果差,不建议介入术后给予索拉非尼;但高于对照时,则联合索拉非尼治疗效果良好<sup>[25]</sup>。据国外相关文献报道,口服索拉非尼的肝癌患者需要新的疗效预测指标,因为即使预后较好的患者,也较少出

现服用索拉非尼后肿块缩小的情况<sup>[26]</sup>。但使用索拉非尼 8 周后,血清中 VEGF 浓度下降患者较 VEGF 水平未下降患者的中位生存期要长 (39.9 个月比 14.4 个月),并且研究中 VEGF 水平下降的所有患者的生存期均大于 6 个月<sup>[26]</sup>。

不少患者应用索拉非尼后,表现出原发耐药或病情在稳定一段时间后发生继发耐药而病情进展。在其治疗失败后如何选择二线治疗方案是临床面临的现实难题。理论上,一种药物治疗失败后一般不推荐应用具有同类抗癌机制的药物。但抗血管生成药物存在多种不同靶点,因此索拉非尼治疗失败后是否可换用另一种抗血管生成药物来控制病情进展仍值得进一步探索。另一种小分子靶向药 Regorafenib,是一种靶向多激酶的新型双芳基尿素,其靶点众多,其中包含 VEGFR-2, VEGFR-3。基础研究显示该药可以通过活化 caspase 3/7 活性引起 HepG2 肝细胞凋亡。一项 Regorafenib 治疗索拉非尼失败的非对照、开放标签、多中心、II 期临床研究结果初步表明,在 36 例患者中,26 例患者疾病得到控制, mTTP 为 4.3 个月, mOS 13.8 个月,且安全性良好<sup>[27]</sup>。另外一项 Regorafenib 用于接受过索拉非尼治疗失败的肝癌患者的随机、双盲、安慰剂对照、多中心、III 期研究正在进行,预计全球入组 530 例患者,将按照 2:1 的比例进行随机分组,结果有待进一步观察。同时,抗血管生成药物在肝癌中的疗效评价尚无有效、准确的判断标准。目前基于肿瘤大小的 RECIST 仍是实体肿瘤疗效评价的主流标准。但随着分子靶向药的广泛应用,采集各种生物标志物的评价方法不断涌现,以期进一步观察,能更早的预测肝癌患者获益的可能性。

## 4 结语

VEGF 作为作用强、特异性高的促血管生成因子,不仅在肝癌的发展进程中发挥重要作用,还能为肝癌的临床治疗提供指导意义,对患者的预后评估也有帮助。VEGF 可能成为肝癌潜在的诊疗指标,随着相关研究的深入,VEGF 必将会为肝癌浸润、转移机制的探索 and 有效治疗开辟新的途径。只有在治疗前或治疗早期筛选出有效患者,才能真正实现抗 VEGF 的个体化治疗。

## [参考文献]

- [1] Ferlay J, Shin HR, Bray F, et al. Estimates of worldwide

- burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008 [J]. *Int J Cancer*, 2010, 127: 2893 - 2917.
- [2] Sengupta B, Siddiqi SA. Hepatocellular carcinoma: important biomarkers and their significance in molecular diagnostics and therapy[J]. *Curr Med Chem*, 2012, 19: 3722 - 3729.
- [3] Ferrara N, Henzel WJ. Pituitary follicular cells secrete a novel hepatocellular - binding growth factor specific for vascular endothelial cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1989, 161: 851 - 858.
- [4] Chung AS, Lee J, Ferrara N. Targeting the tumour vasculature: insights from physiological angiogenesis [J]. *Nat Rev Cancer*, 2010, 10: 505 - 514.
- [5] 肖建武. 血管内皮生长因子的基础和临床研究进展 [J]. *中国医疗前沿*, 2009, 4: 26, 28.
- [6] Cook KM, Figg WD. Angiogenesis inhibitors: current strategies and future prospects [J]. *CA Cancer J Clin*, 2010, 60: 222 - 243.
- [7] 刘继彦, 魏于全. 血管内皮生长因子受体 2 的结构功能与信号转导[J]. *中国病理生理杂志*, 2004, 20: 192 - 196.
- [8] Das M, Wakelee H. Targeting VEGF in lung cancer [J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2012, 16: 395 - 406.
- [9] Guo JH, Zhu X, Li XT, et al. Impact of serum vascular endothelial growth factor on prognosis in patients with unresectable hepatocellular carcinoma after transarterial chemoembolization[J]. *Chin J Cancer Res*, 2012, 24: 36 - 43.
- [10] 杨焕东, 杨桂莲, 张春元, 等. 肝癌患者血清血管内皮生长因子和内皮抑素水平的变化及意义 [J]. *中国全科医学*, 2011, 4: 2034 - 2036.
- [11] Zhuang PY, Shen J, Zhu XD, et al. Prognostic roles of cross-talk between peritumoral hepatocytes and stromal cells in hepatocellular carcinoma involving peritumoral VEGF - C, VEGFR-1 and VEGFR-3[J]. *PLoS One*, 2013, 8: e64598.
- [12] Wu X, Xin Z, Zhang W, et al. Polymorphisms in the VEGFA promoter are associated with susceptibility to hepatocellular carcinoma by altering promoter activity [J]. *Int J Cancer*, 2013, 133: 1085 - 1093.
- [13] Machado MV, Janeiro A, Mittenberger - Miltenyi G, et al. Genetic polymorphisms of proangiogenic factor seem to favor hepatocellular carcinoma development in alcoholic cirrhosis[J]. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 2014, 26: 438 - 443.
- [14] Yegin EG, Siykhymbayev A, Eren F, et al. Prognostic implication of serum vascular endothelial growth factor in advanced hepatocellular carcinoma staging [J]. *Ann Hepatol*, 2013, 12: 915 - 925.
- [15] Cervello M, Mccubrey JA, Cusimano A, et al. Targeted therapy for hepatocellular carcinoma: novel agents on the horizon [J]. *Oncotarget*, 2012, 3: 236 - 260.
- [16] 夏红天, 郭广宏, 黄晓强, 等. 肝癌患者手术前后血管内皮细胞相关细胞因子的变化 [J]. *中华肝胆外科杂志*, 2011, 17: 554 - 557.
- [17] Wang B, Xu H, Gao ZQ, et al. Increased expression of vascular endothelial growth factor in hepatocellular carcinoma after transcatheter arterial chemoembolization[J]. *Acta Radiol*, 2008, 49: 523 - 529.
- [18] 徐涛, 王金申, 苗瑞政, 等. 兔肝肿瘤介入栓塞后血清 VEGF 早期改变的实验研究 [J]. *中国现代普通外科进展*, 2011, 14: 764 - 767.
- [19] 陈艳, 王春平, 陆荫英, 等. 小肝癌氩氦刀治疗后复发独立因素预后分析[J]. *解放军医学杂志*, 2010, 2: 137 - 143.
- [20] 苏明, 万钧, 黄志强, 等. 肝星状细胞的激活和 Rho-ROCK 信号通路在纤维化大鼠小肝移植中的作用 [J]. *中华实验外科杂志*, 2005, 22: 1452 - 1454.
- [21] Jain RK. Normalization of tumor vasculature: an emerging concept in antiangiogenic therapy[J]. *Science*, 2005, 307: 58 - 62.
- [22] 向华, 孙林. 加用重组人血管内皮抑素的 TACE 治疗对肝癌组织 VEGF 和 MVD 的影响[J]. *临床肿瘤学杂志*, 2012, 8: 744 - 748.
- [23] Forner A, Llovet JM, Bruix J. Hepatocellular carcinoma [J]. *Lancet*, 2012, 379: 1245 - 1255.
- [24] 刘青然, 宋金龙. 索拉非尼对原发性肝癌 TACE 后血管内皮生长因子水平影响的研究 [J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2012, 19: 944 - 945.
- [25] 管清龙, 任伟新, 纪卫政. 肝癌治疗后血清内血管内皮生长因子对预后影响的研究进展 [J]. *介入放射学杂志*, 2013, 8: 701 - 704.
- [26] Tsuchiya K, Asahina Y, Matsuda S, et al. Changes in plasma vascular endothelial growth factor at 8 weeks after sorafenib administration as predictors of survival for advanced hepatocellular carcinoma [J]. *Cancer*, 2014; 120: 229 - 237.
- [27] Cheng AL, Finn RS, Kudo M, et al. Regorafenib (REG) in patients with hepatocellular carcinoma (HCC) progressing following sorafenib: An ongoing randomized, double-blind, phase III trial [R]. *J Clin Oncol* 31, 2013 (suppl: abstr TPS4163).

(收稿日期:2014-06-09)

(本文编辑:李欣)