

[文章编号] 1007-385X(2006)06-0401-03

· 专家论坛 ·

抗血管生成与肿瘤生物治疗

Antiangiogenesis and cancer biotherapy

寿成超 (北京大学 临床肿瘤学院 北京市肿瘤防治研究所, 北京 100036)



[作者简介] 寿成超, 博士学位, 北京大学临床肿瘤学院(北京市肿瘤防治研究所)教授、研究员。1982年在中国医科大学获学士学位, 1988年毕业于北京医科大学研究生院, 1990年赴美国波士顿 Tufts 大学医学院研修, 1994年回国工作。曾获得国家杰出青年科学基金、国家人事部优秀留学回国人员重点基金等专项人才基金的资助。近年来负责主持了国家 863 计划、国家 973 计划、国家自然科学基金重点项目等多项研究课题, 在 Ras 蛋白活性调节的分子机制、VEGF 与肿瘤发生的关系、抗 VEGF 小肽药物的筛选和抗肿瘤单抗的抗原克隆等方面取得了一系列具开创性的研究成果。E-mail: cshou@vip.sina.com

由于实体瘤的生长和转移有赖于新生血管的形成, 抗血管生成的肿瘤治疗策略从理论上讲具有抗瘤谱广、不易产生耐药及药物易于到达靶部位等特点, 因此, 以抗血管生成为主的肿瘤生物治疗研究成为近十年的研究热点^[1-2]。

正常成熟组织的血管系统是相对静止的, 内皮细胞的更新也极为缓慢(250~300 d左右), 而在肿瘤血管生成时, 内皮细胞的增殖更新周期可缩短至数天。肿瘤血管生成是一个涉及内皮细胞增殖、迁移、基底膜与细胞外基质降解、内皮细胞重塑及与周围细胞相互作用而形成管腔样结构的复杂过程。在该过程中, 一系列促血管生成因子, 尤其是血管内皮细胞生长因子(VEGF), 起到了诱导和促进血管生成的关键作用^[3]。由于在肿瘤发生时, 人体内产生的促血管生成因子和抗血管生成因子之间的平衡被打破, 由肿瘤细胞产生的许多促血管生成物质含量增加, 启动和促进了肿瘤血管的生成。与正常血管相比, 肿瘤血管的结构缺乏完整性, 内皮细胞之间存在较大缝隙, 通透性强, 血管网状结构紊乱, 有大量的血管盲端和动静脉短路, 这种结构的异常导致渗出增加及组织间高压, 同时也易于使癌细胞发生转移^[4-5]。最近在对肿瘤血管构成的研究中发现, 在黑色素瘤及前列腺癌等肿瘤中, 存在“血管生成拟态”现象, 这是一种不存在内皮细胞、但又具有管腔样结构、能模拟血管功能的营养供给系统; 同时也发现有的肿瘤血管内表面细胞可由内皮细胞和肿瘤细胞相间而成, 形成“马赛克”样血管。肿瘤血管的这些结构特点无疑给以内皮细胞或肿瘤血管内皮细胞高表达受体为靶点的生物治疗策略带来了新的挑战。

由于血管的生成是一个涉及多种细胞增殖、凋

亡及细胞外基质降解及重塑的复杂过程, 因此, 针对该过程的任一环节均可能阻断血管的生成。目前研究较多的血管生成抑制剂主要包括血管内皮细胞抑制剂(如 endostatin)、血管生成因子或相关受体的抑制剂(如 VEGF 或 VEGF 受体抗体)、细胞外基质降解抑制剂(如 MMPs 抑制剂)、黏附分子抑制剂及细胞内信号传导阻断剂等。目前已有数十种各类不同形式的抗血管生成阻断剂进入不同期的临床试验, 其中尤以针对 VEGF 及 VEGF 受体的抑制剂为多(表1)^[6]。2004年, 美国 FDA 批准了第一个抗血管生成药物(抗 VEGF 抗体 avastin)用于治疗晚期结肠直肠癌, 取得了较好的临床疗效^[7-8]。

近年来我们用 VEGF 受体作为靶分子, 通过对噬菌体肽库的筛选, 获得了 2 个能阻断 VEGF 与对应受体结合、抑制鸡胚血管形成及荷瘤小鼠肿瘤生长的活性小肽^[9-10]; 最近, 我们又在对肿瘤病人蛋白血清图谱指纹分析中, 发现一个内源性小分子小肽具有良好的抗肿瘤活性, 其机制也同抑制血管的生成有关。小肽作为抗肿瘤药物有便于合成及质控的优越性, 但同其它肽药一样, 面临着如何延长体内半衰期的问题, 对外源肽还存在免疫原性的问题。因此, 抗肿瘤血管生成的小肽药物进入临床应用尚有大量工作要做。

尽管抗血管生成的肿瘤生物治疗研究呈现出诱人的应用前景, 但仍有不少问题有待解决。如由于抗血管生成药物不同于直接杀死增殖细胞的化疗药

[基金项目] 国家高新技术发展规划(“863”计划)项目(No. 2002A A216111);
国家重大基础研究发展规划(“973”计划)项目(No. 2004CB518707)

物,显效较慢。因此,确定评价指标及其临床试用的有效性进行合理的评价尚存在一定的困难,目前尚无法使用可靠的标记物对抗血管生成药物的活性进行监控;抗血管生成可能主要适用于预防肿瘤的复发与转移,需有较长的用药周期,其长期治疗的毒副作用在短期内难以评价。又如动物实验结果与临床实际状况有较大差异,如何建立更好的动物模型

使其能更客观地反映临床实际等。最近有研究者在低分化黑色素瘤、浸润性前列腺癌和脑胶质瘤中发现,肿瘤细胞可丧失原有的组织特性,直接形成不需内皮细胞参加的“血管网”或形成血管“拟态”,将使以肿瘤血管内皮细胞为靶点的药物难以奏效,这无疑也将给抗血管生成的肿瘤生物治疗带来新的困难与挑战。

表 1 进入临床试验期的抗血管生成药物及其主要作用机制

分 类	药 物	作用机制
细胞外基质降解抑制剂	(1) Batimastat ^③ , Marimastat ^③ , AG3340 ^③ , PEX, TIMP-1, -2, -3, -4	均为 MMP 抑制剂, 阻断内皮细胞和肿瘤细胞侵袭
	(2) PAI-1, -2; uPA 抗体, uPAR 抗体, Amiloride	uPA 抑制剂, 阻断细胞外基质降解
	(3) Minocycline, Tetracyclines, TIMP (软骨来源) ^①	胶原酶抑制剂, 干扰胶原合成和沉积
黏附分子抑制剂	(1) $\alpha\gamma\beta_3$ 抗体: LM609 和 Vitaxin ^① , 含 RGD 小肽, $\alpha\gamma\beta_5$ 抗体	阻断内皮细胞黏附, 促进其凋亡
	(2) Benzodiazapine derivatives ^① , $\alpha\gamma\beta_3$ 拮抗物	
活化的内皮细胞抑制剂	(1) Endostatin ^④ , Angiostatin, aaAT, Vasostatin	阻滞内皮细胞增殖, 诱导其凋亡
	(2) IFN α/γ ^③ , IL-12 ^② , TSP-1, 氧化氮合酶抑制剂	阻滞内皮细胞迁移和/或增殖
	(3) TNP-470 ^② , Combretastin A-4 ^①	抑制内皮细胞增殖
	(4) Thalidomide ^②	抑制体内血管形成
	(5) Linomide ^②	抑制内皮细胞迁移
血管生成因子或受体抑制剂	(1) IFN- α ^③ , PF4 ^② , 催乳素片段	抑制及由 FGF-2 诱导的内皮细胞增殖
	(2) Suramin 及其模拟物	与 FGF-2、VEGF、PDGF 等生长因子结合, 抑制内皮细胞迁移和增殖
	(3) PPS, Distamycin A 模拟物, FGF-2 抗体, 反义 FGF-2	抑制 FGF-2
	(4) Protamine	结合肝素, 抑制内皮细胞迁移和增殖
	(5) SU5416 ^② , 可溶性 Flt-1 ^① , 负性 Flt-1, VEGF 及 VEGF 受体抗体 ^{③④}	阻断 VEGF 活性
	(6) Aspirin, NS0398	COX 抑制剂
	(7) 6AT, 6A5BU, 7-DX	TP 拮抗剂
细胞内信号传导阻断剂	(1) SU11348 ^③ , Baf43-9006 ^③ , AG-01376 ^② , PTK787 ^③	VEGF 受体激酶抑制剂
	(2) Genistein	酪氨酸激酶抑制剂阻断 uPA 及内皮细胞的迁移和增殖
	(3) Lavendustin A	选择性酪氨酸激酶抑制剂
	(4) Ang-2	抑制 Tie-2

注:①、②、③、④分别表示已进入临床试验 I、II、III 期及批准上市

[参 考 文 献]

[1] Siemann DW, Chaplin DJ, Horsman MR. Vascular-targeting therapies for treatment of malignant disease [J]. Cancer, 2004, 100

(12): 2491-2499.

[2] Ferrara N, Kerbel RS. Angiogenesis as a therapeutic target [J]. Nature, 2005, 438(7070): 967-974.

[3] Carmeliet P. Angiogenesis in life, disease and medicine [J]. Na-

- ture, 2005, 438(7070): 932-936.
- [4] Klagsbrun M, Eichmann A. A role for axon guidance receptors and ligands in blood vessel development and tumor angiogenesis [J]. Cytokine Growth Factor Rev, 2005, 16(4-5): 535-548.
- [5] Carmeliet P. Angiogenesis in health and disease [J]. Nat Med, 2003, 9(6): 653-660.
- [6] Coultas L, Chawenqsaksophak K, Rossant J. Endothelial cells and VEGF in vascular development [J]. Nature, 2005, 438(7070): 937-945.
- [7] Hurwitz H, Fehrenbacher L, Novotny W, *et al.* Bevacizumab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin for metastatic colorectal cancer [J]. N Engl J Med, 2004, 350(23): 2335-2342.
- [8] Jain RK. Normalization of tumor vasculature: An emerging concept in antiangiogenic therapy [J]. Science, 2005, 307(5706): 58-62.
- [9] Hetian L, Ping A, Shumei S, *et al.* A novel peptide isolated from a phage display library inhibits tumor growth and metastasis by blocking the binding of vascular endothelial growth factor to its kinase domain receptor [J]. J Biol Chem. 2002, 227(45): 43137-43142.
- [10] An P, Lei H, Zhang J, *et al.* Suppression of tumor growth and metastasis by a VEGFR-1 antagonizing peptide identified from a phage display library [J]. Int J Cancer, 2004, 111(2): 165-173.
- [收稿日期] 2006-07-23 [修回日期] 2006-09-20
[本文编辑] 王莹

[文章编号] 1007-385X(2006)06-0403-01

· 研究简报 ·

DCC 基因转染对卵巢癌细胞 HO-8910 生长及化疗药物敏感性的影响 Effects of DCC gene transfection on cell growth and chemosensitivity of ovarian carcinoma cell HO-8910

庄如锦¹, 李佩玲¹, 于海微¹, 李会明¹, 胡春杰²(1. 哈尔滨医科大学 附属第二医院妇产科, 哈尔滨 150086; 2. 哈尔滨医科大学 附属第四医院妇产科, 哈尔滨 150001)

结直肠癌缺失(deleted in colorectal carcinoma, DCC)基因是于 1990 年确定并命名的重要的肿瘤抑癌基因, 定位于人染色体 18q21.3。DCC 蛋白具有跨膜分子特征, 其胞外部分氨基酸排序与神经细胞黏附分子相似。细胞黏附分子介导细胞间、细胞与基质间的相互作用, 促进细胞与细胞间的黏附, 是维持细胞生长的重要条件之一。有研究表明, 良性卵巢肿瘤组织中 DCC 基因的表达缺失率为 20%, 恶性卵巢肿瘤组织中 DCC 基因的表达缺失率为 56%, 两者比较差异有显著意义。在临床分期晚、组织分化差、盆腹腔有转移的卵巢恶性肿瘤中 DCC 基因表达缺失率更高。

本研究采用 RT-PCR 方法及免疫组化法筛选出人卵巢癌 DCC 基因缺失细胞系 HO-8910, 以构建有外源性 DCC 基因的重组表达载体经脂质体转染法转染 HO-8910 细胞系, 经过筛选获得稳定生长的细胞系 HO-8910-DCC; 用 RT-PCR 检测 DCC mRNA, 免疫组化法鉴定 DCC 蛋白的表达; 用 MTT 法测定 HO-8910-DCC 细胞生长曲线及对顺铂和紫杉醇的敏感性, 以观察 DCC 基因对卵巢癌细胞增殖和化疗药物敏感性的影响, 以期进一步阐明 DCC 基因在卵巢癌发生、发展过程中的作用, 并为利用基因转染技术治疗卵巢癌提供实验依据。研究发现, 通过 RT-PCR 方法可在 HO-8910-DCC 细胞中扩增出 291 bp 大小的 DCC 基因片段。免疫组化染色结果可见, HO-8910-DCC 细胞内有大量的棕黄色颗粒, 为 DCC 蛋白表达阳性, 证明已将外源性 DCC cDNA 导入了人卵巢癌细胞系 HO-8910 并获稳定表达。DCC 基因转染后, HO-8910-DCC

细胞生长速度较对照组明显减慢, 差异有显著性意义, 说明转染 DCC 基因能抑制 HO-8910 细胞的生长。铂类与紫杉醇联合化疗是卵巢上皮性肿瘤的一线化疗方案。因此增强卵巢癌对铂类及紫杉醇的化疗敏感性成为研究的热点之一。本研究发现转染 DCC 基因的 HO-8910 细胞经梯度浓度的顺铂和紫杉醇处理后的细胞存活率显著低于对照组, 这说明转染 DCC 基因后的 HO-8910 细胞对顺铂和紫杉醇的敏感性增强。顺铂和紫杉醇都是通过诱导凋亡发挥抗肿瘤作用的, 因此 DCC 基因有可能通过调节细胞凋亡与化疗药物发挥协同作用。本研究表明, 采用脂质体转染的方法, 可使外源性 DCC 基因导入卵巢癌细胞内并稳定表达, 且对细胞的生长有较明显的抑制作用, 并可增强细胞对化疗药物的敏感性。由此提示 DCC 基因可作为卵巢癌基因治疗的目的基因之一。

[关键词] 结直肠癌缺失(DCC)基因; 卵巢肿瘤; 化疗敏感性

[中图分类号] R73-3 [文献标识码] D

[收稿日期] 2006-06-05 [修回日期] 2006-09-20

[本文编辑] 王莹

[作者简介] 庄如锦(1976 -), 女, 黑龙江人, 主治医师, 主要从事妇科肿瘤生物治疗方面的研究

E-mail: isabella1976@sina.com

[通讯作者] 李佩玲, E-mail: peiling@126.com