

· 综 述 ·

# 肝素、抗凝血酶Ⅲ在肿瘤治疗中的应用与展望

陈 楠 综述, 徐 昆 审校

(重庆医科大学附属第二医院麻醉科 400010)

关键词: 肝素; 抗凝血酶Ⅲ; 血管生成; 肿瘤细胞

doi: 10. 3969/j. issn. 1671-8348. 2011. 20. 042

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2011)20-2062-03

恶性肿瘤是目前危害人类健康最严重的疾病之一,其侵袭性和转移性已成为肿瘤致死的主要原因。肿瘤细胞要实现侵袭和转移,必须完成 2 个关键步骤:(1)突破由细胞外基质和基底膜构成的屏障;(2)形成新生血管。研究证明,缺少血供的肿瘤其直径一般只能维持在 1~2 mm 以内,由此可见抑制血管的生成可抑制肿瘤转移,从而改善肿瘤患者的生存期和预后<sup>[1-4]</sup>。早在 1971 年 Folkman<sup>[5]</sup> 提出可以通过抑制肿瘤的血管生成达到治疗肿瘤的目的。Folkman 的观点认为肿瘤的生长依赖于新生血管的生成,当肿瘤的体积达到 2~3 mm 以上时就必须依赖新生血管为其继续增殖提供必需的氧气和营养物质。目前,以血管为靶点治疗肿瘤已成为肿瘤研究的热点之一。

## 1 肿瘤血管靶向治疗的现状

根据作用血管机制的不同,抗肿瘤血管制剂(vascular-tar-

geted agents, VTAs)分为 2 种<sup>[6-8]</sup>:(1)抗血管新生制剂(anti-angiogenic agents),即抑制肿瘤新生血管新生的过程,从而抑制肿瘤新生血管的生成。适用于处于早期阶段或无系统性转移的实体瘤的治疗。采用的策略包括抑制基底膜降解、直接抑制内皮细胞增殖、抑制血管生长因子活化、抑制内皮细胞特异性整合素/生存信号等。应用于早期阶段的肿瘤或无症状的转移瘤的预防,已有许多候选药物在进行临床各期实验。(2)选择性地破坏肿瘤血管系统,被称为肿瘤血管阻断制剂(vascular-disrupting agents, VDAs)。利用肿瘤血管和正常组织血管存在的差别选择性地破坏肿瘤血管或借助能够特异结合肿瘤血管的配体将毒素、凝血诱导剂、凋亡诱导分子等运送到肿瘤血管,快速而有选择性地损坏或堵塞已构建完成的肿瘤血管,对于治疗血管已形成肿瘤有显著的疗效(表 1、2)。但是,这 2 种效应可能会在某个药物重叠出现<sup>[9-10]</sup>。

表 1 2 种肿瘤血管靶向治疗策略的比较

比较项目	抗血管新生	肿瘤血管阻断
作用机制	抑制肿瘤新生血管新生的瀑布式生化反应过程	损坏或阻断已构建成熟的肿瘤血管
治疗时机	抑制了肿瘤新生血管的生成	肿瘤血管塌陷、闭塞、血栓形成致肿瘤血供受阻
结果	早期肿瘤或无症状转移瘤的预防,为慢性治疗	血管已构建的较大体积肿瘤的治疗,为急性治疗

表 2 肿瘤血管靶向治疗的靶点与药物举例

抗血管新生		肿瘤血管阻断	
靶点	药物举例	靶点	药物举例
VEGF/VEGF 受体 1-3 的抑制剂	Bevacizumab, PTK787, ZD6474	微管系统	ZD6126, CAAP
Tie-2/angiopoietin	A422885	细胞因子诱导	FAA, DMXAA
整合蛋白	Vitaxin	抗体毒素	VEGF-gelonin
血管内皮抑制剂	血管抑素, thrombospondin, 内皮抑素	整合蛋白	基因治疗
VE-cadherin	E4G0	其他	PDH

## 2 肝素在肿瘤靶向治疗中的应用

肝素为高度硫酸化的蛋白多糖,作为抗凝剂,已被广泛应用于临床。随着研究的进展,肝素除抗凝血及血栓形成外的其他作用,如抗平滑肌增殖活性、抗炎活性、抗肿瘤活性、抗病毒感染作用也日益成为人们关注、研究的热点。应用抗凝剂肝素治疗癌症患者的深静脉血栓并发症时发现,肝素能够提高患者的存活率<sup>[11-12]</sup>。而且低分子量肝素(low molecular weight heparin, LMWH)的作用要优于未分级肝素(unfractionated heparin, UFH)。以往的研究发现肝素的抗肿瘤作用涉及抑制肿瘤形成、癌细胞生长及转移各个环节,在这些环节中肝素与其他物质相互作用,扮演着重要的角色<sup>[13]</sup>。

2.1 抗凝 肿瘤患者往往伴发高凝血症及血管栓塞,有资料显示癌症合并静脉血栓患者,肝素的使用明显改善了患者的生存率<sup>[14]</sup>。肿瘤周围血凝的激活在肿瘤生物学上具有重要意义。纤维蛋白沉积在肿瘤细胞的周围能够促进血管新生,促进肿瘤的生长和转移。持续的纤溶和纤溶酶形成增强了肿瘤细胞的侵袭性。肝素可抑制纤维蛋白的形成,从而一定程度上抑制肿瘤生长转移。

2.2 免疫调节 体外实验表明,低剂量的肝素(100~10 000 U/L)具有免疫增强作用,可以促进小鼠同种移植混合淋巴细胞(MLR)中的细胞增生及细胞毒性 T 淋巴细胞(CTL)的产生,还可以增强小鼠对抗组织相容性肿瘤的细胞不良反应。肝

素体外可诱导 NK 细胞的产生,可协同白细胞介素-1(IL-1)产生细胞毒性 T 淋巴细胞,肝素和白细胞介素-2(IL-2)在诱导 NK 细胞产生方面具有协同作用。

**2.3 抑制细胞黏附** 研究发现,肝素及其类似物如硫酸肝素等可与 P-选择素、L-选择素结合,调节或抑制 P-、L-选择素, ICAM-1, VCAM-1, Mac-1 等黏附分子表达或功能,以此可减少白细胞滚动、黏附及迁移<sup>[15]</sup>。实验表明,肝素可抑制 P-、L-选择素与其配基 sLex 或 HL-60 细胞 P-选择素糖蛋白配体-1 (PSGL-1)的结合;也可抑制 L-、P-选择素与牛血清清蛋白的结合;以及抑制中性粒细胞与小鼠卵巢细胞表面 P-选择素的结合<sup>[16]</sup>。进一步研究发现,普通肝素的抗 P-选择素作用强于低分子量肝素,且肝素经化学修饰(减少其戊糖环中碳氧含量或增加含硫的化学基团)后,可增加抗 P-选择素效应。

**2.4 抑制肝素酶活性** 肝素酶(heparanase)是一种葡萄糖醛酸酯酶,能降解硫酸乙酰肝素的葡萄糖苷酸内切酶(endoglyconidase)。肝素与肝素酶在体内的平衡状态,对维持机体的正常生理功能有重要意义。肝素的侧链可结合多种活性因子,如表皮生长因子、血管内皮细胞生长因子,肝素结合的表皮生长因子(heparin-binding epidermal-Growth-factor-like growth factor, HB-EGF)及其他生长因子与细胞因子。肝素酶分解肝素侧链后,使这些因子释放,促进细胞分裂、增殖和血管生成<sup>[17-18]</sup>。另外,基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMP)与肝素结合,对血管基底膜起稳定作用,当肝素酶分解肝素后, MMP 被释放,基底膜的牢固度受到影响,间质组织疏松。

**2.5 抑制新生血管增生** 体外实验发现,肝素可抑制血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)和成纤维生长因子(fibroblast growth factor, FGF)刺激的血管内皮细胞的增殖和血管的形成。潘燕和李学军<sup>[19]</sup>报道通过体外人前列腺癌高转移细胞(PC-3M)与人脐静脉内皮细胞(human umbilical vein endothelial cells, HUVECs)共孵育系统,模拟体内内皮细胞生长的微环境来观察 LMWH 对肿瘤刺激的内皮细胞小管形成的影响,结果表明 500 mg/L LMWH 能够显著抑制细胞生长,并且 LMWH 能够剂量依赖性地抑制 PC-3M 刺激的 HUVECs 小管形成。肝素抑制血管形成因子介导的内皮细胞增殖,肝素还影响纤维蛋白基质的形成,影响纤维蛋白凝集的结构,改变纤溶酶原激活物的敏感性。此外,还与肝素是阴离子可结合于血管生成有关的蛋白,如 VEGF、组织因子,而抑制其活性有关。

**2.6 非特异性竞争结合促肿瘤生长因子等。**

### 3 抗凝血酶Ⅲ在肿瘤靶向治疗中的应用

血栓症是恶性肿瘤患者的一种常见并发症,直接影响患者的预后。恶性肿瘤可通过多种机制导致血栓形成,而血栓形成又促进了恶性肿瘤的生长和转移。凝血酶是止血过程中的核心因子,除了激活其他凝血因子、参与止血与血栓的形成过程,凝血酶也是一种重要的有丝分裂原,能诱导许多细胞功能。近年研究发现凝血酶在正常以及非正常血管生成过程中起明确的正调节作用,多种血管调节蛋白以及生长因子活性均可被凝血酶激活、上调,例如 VEGF、MMP-2 等,凝血酶通过诱导 VEGF、VEGFR 表达,增加 MMP-2、MMP-9 的表达等机制促进肿瘤血管新生,通过多种途径促进肿瘤的生长、转移及血管新生<sup>[20]</sup>。Hu 等<sup>[21]</sup>在小鼠模型中发现,凝血酶特异性抑制剂水蛭素能抑制经皮注射的肿瘤细胞的生长,促使肿瘤团块中心坏死,并抑制了肿瘤的血道转移。因此,抗凝治疗不仅缓解了

肿瘤的高凝状态,而且也能抑制肿瘤的生长和转移。

抗凝血酶Ⅲ(antithrombin, AT-Ⅲ)是一种重要的丝氨酸蛋白酶抑制剂,它能灭活 FXa、FIXa、FMa、凝血酶等而发挥抗凝功能。在正常情况下,AT-Ⅲ直接的抗凝作用弱且慢,但与肝素结合后,抗凝血酶的活性和抗凝作用显著增强<sup>[22-23]</sup>。近年研究发现,通过有限的水解或热变性后,它具有抗血管新生的作用<sup>[24]</sup>,能阻止细胞从 G1 向 S 转变,抑制细胞增殖;同时还能抑制内皮细胞表面促血管新生硫酸乙酰肝素蛋白多糖(proangiogenic heparan sulfate proteoglycan, HSPG)和基底膜蛋白多糖的表达。通过抑制 HSPG 介导的 FGF 家族信号通路以及 VEGF 家族信号通路<sup>[25]</sup>、阻断 HSPG 介导的血管生长因子与血管内皮细胞的黏附<sup>[26]</sup>从而抑制血管新生。Zhang 等<sup>[27]</sup>通过研究表明 AT 可以改变人脐静脉内皮细胞基因表达,有 35 种基因表达水平显著增高,其中大多数基因具有抗血管生成作用,例如半胱天冬酶-3、p21、金属蛋白酶组织抑制物-1、2、3 等;而有 93 种基因表达水平明显下降,其中超过 50% 的基因具有血管形成作用,例如基底膜蛋白多糖、丝裂原蛋白活化激酶-3、早期生长反应因子-1 等。但目前尚缺乏动物或临床前试验证明 AT-Ⅲ在体内有抗血管新生作用,如果该作用得到证实,那么联合应用标准化疗及这种抗凝药应能更好地抑制肿瘤的生长和转移,并能减少肿瘤患者的血栓并发症。另有报道,抗凝血酶的肝素结合位点在其抗血管新生活性中起关键作用<sup>[28]</sup>,肝素中一个特异的五糖序列与 AT 具有高亲和力,并且可引起 AT 构象的改变,这种结合在一定程度上说明了肝素调节 AT 抗血管新生作用的机制<sup>[29]</sup>,但其具体机制尚未明确。

总之,肿瘤血管治疗策略是一种全新的临床治疗方法,肝素在有效的治疗恶性肿瘤患者并发血栓症的同时还可以抑制肿瘤生长和转移,延长肿瘤患者的生存时间。AT-Ⅲ通过有限的水解或热变性后具有抗血管新生的作用,并且 AT-Ⅲ的肝素结合位点在其抗血管新生活性中起关键作用,虽然其具体机制尚未明确,但提供了肿瘤血管靶向治疗的新线索,这些问题的解决将进一步有助于推动肿瘤靶向治疗在临床中的应用。

### 参考文献:

- [1] Klerk CP, Smorenburg SM, Otten HM, et al. The effect of low molecular weight heparin on survival in patients with advanced malignancy[J]. Clin Oncol, 2005, 23: 2130-2135.
- [2] Castelli R, Porro F, Tarsia P. The heparins and cancer: review of clinical trials and biological properties[J]. Vasc Med, 2004, 9: 205-213.
- [3] Shinkaruk S, Bayle M, Lain G, et al. Vascular endothelial cell growth factor(VEGF), an emerging target for cancer chemotherapy[J]. Curr Med Chem Anti-Canc Agents, 2003, 3: 95-117.
- [4] Tsujitani S, Saito H, Maeta Y, et al. Neoangiogenesis in patients with gastric carcinoma in relation to the expression of vascular endothelial growth factor and thymidine phosphorylase[J]. Anticancer Res, 2004, 24: 1853-1859.
- [5] Folkman J. Tumor angiogenesis: the therapeutic implications[J]. N Engl J Med, 1971, 258(21): 1182-1186.
- [6] Dietmar WS, Michael CB, Graham GD, et al. Differentiation and definition of vascular-targeted therapies[J]. Clin Cancer Res, 2005, 416(11): 416-420.
- [7] 王晓光, 罗荣城. 抗肿瘤新生血管靶向治疗进展[J]. 临床

- 肿瘤学杂志,2006,11(2):155-158.
- [8] 任萱,孙启明,林莉萍,等. 肿瘤血管靶向药物的研究进展[J]. 生命科学,2007,19(4):427-432.
- [9] Kanthou C, Greco O, Stratford A, et al. The tubulin-binding agent combretastatin A-4-phosphate arrests endothelial cells in mitosis and induces mitotic cell death[J]. *Am J Pathol*,2004,165(4):1401-1411.
- [10] Tozer GM, Kanthou C, Bagu BC. Disrupting tumour blood vessels[J]. *Nat Rev Cancer*,2005,5(6):423-435.
- [11] Falanga A, Marchetti M. Heparin in tumor progression and metastatic dissemination[J]. *Semin Thromb Hemost*,2007,33:688-694.
- [12] Rickles FR. Mechanisms of cancer-induced thrombosis in cancer[J]. *Pathophysiol Haemost Thromb*,2006,35:103-110.
- [13] Fritzsche J, Hunerbein I, Schumacher G, et al. In vitro investigation on the selecting binding mechanisms in tumor cell metastasis and their inhibition by heparin[J]. *Int J Clin Pharmacol Ther*,2005,43(12):570-572.
- [14] Berezky B, Gilly R, Raso E, et al. Selective antimetastatic effect of heparins in preclinical human melanoma models is based on inhibition of migration and microvascular arrest[J]. *Clin Exp Metastasis*,2005,22(1):69-76.
- [15] Niers TM, Klerk CP, DiNisio M, et al. Mechanisms of heparin induced anticancer activity in experimental cancer models[J]. *Crit Rev Oncol Hematol*,2007,61:195-207.
- [16] Kawasaki H, Taira K. Hes1 is a target of microRNA-23 during retinoic-acid-induced neuronal differentiation of NT2 cells[J]. *Nature*,2003,423:838-842.
- [17] 杨鹰,史常旭. 乙酰肝素酶与肿瘤血管生成及转移的研究进展[J]. 重庆医学,2007,36(10):982-984.
- [18] 杨鹰,阎萍,韩静,等. RNA 干扰沉默乙酰肝素酶基因对卵巢癌微血管内皮细胞的影响[J]. 重庆医学,2009,38(11):1367-1369.
- [19] 潘燕,李学军. 低分子量肝素体外抗肿瘤血管新生作用[J]. 基础医学与临床,2005,25(8):717-720.
- [20] Zania P, Papaconstantinou M, Flordellis CS, et al. Thrombin mediates mitogenesis and survival of human endothelial cells through distinct mechanisms[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*,2008,294:1215-1226.
- [21] Hu L, Lee M, Campbell W, et al. Role of endogenous thrombin in tumor implantation, seeding and spontaneous metastasis[J]. *Blood*,2004,104:2746-2751.
- [22] Rau JC, Beaulieu LM, Huntington JA, et al. Serpins in thrombosis, hemostasis and fibrinolysis [J]. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*,2007,5:102-115.
- [23] Dementiev A, Dobo J, Gettins P. Active site distortion is sufficient for proteinase inhibition by serpins [J]. *The Journal of Biological Chemistry*,2006,281:3452-3457.
- [24] Richard B, Swanson R, Schedin-Weiss S, et al. Characterization of the conformational alterations, reduced anticoagulant activity, and enhanced antiangiogenic activity of prelatent antithrombin[J]. *The Journal of Biological Chemistry*,2008,283(21):14417-14429.
- [25] Zhang W, Chuang YJ, Swanson R, et al. Antiangiogenic antithrombin down regulates the expression of the proangiogenic heparan sulfate proteoglycan, perlecan, in endothelial cells[J]. *Blood*,2004,103:1185-1191.
- [26] Zhang WQ, Swanson R, Xiong Y, et al. Antiangiogenic antithrombin blocks the heparan sulfate-dependent binding of proangiogenic growth factors to their endothelial cell receptors[J]. *The Journal of Biological Chemistry*,2006,281:37302-37310.
- [27] Zhang WQ, Chuang YJ, Jin TQ, et al. Antiangiogenic antithrombin induces global changes in the gene expression profile of endothelial cells[J]. *Cancer Research*,2006,66:5047-5055.
- [28] Zhang WQ, Swanson R, Izaguirre G, et al. The heparin-binding site of antithrombin is crucial for antiangiogenic activity[J]. *Blood*,2005,106:1621-1628.
- [29] Sophia SW, Richard B, Hjelm R, et al. Antiangiogenic forms of antithrombin specifically bind to the anticoagulant heparin sequence [J]. *Biochemistry*,2008,47(51):13610-13619.

(收稿日期:2010-12-25 修回日期:2011-02-09)

• 综 述 •

## 糖尿病肾病蛋白尿形成机制

马兴杰,杨丽霞 综述,董岸莺<sup>△</sup>审校

(解放军第 273 医院心肾呼吸科,新疆库尔勒 841000)

**关键词:**糖尿病肾病;肾小球滤过膜;肾小管;蛋白尿

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2011.20.043

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2011)20-2064-04

糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)是糖尿病最常见的慢性并发症之一,是导致终末期肾衰竭的主要病因之一<sup>[1]</sup>。DN 早期为微量清蛋白尿,逐渐发展到难治性大量蛋白尿,最后出现肾衰竭。蛋白尿是糖尿病肾病的主要临床表现,也是糖

尿病肾病进展的独立危险因素<sup>[2]</sup>。因此,探讨 DN 蛋白尿发生机制具有重要的临床意义。

### 1 肾小球血流动力学异常

肾小球血流动力学异常被认为是 DN 蛋白尿发生的始动