

· 综 述 ·

血管内皮素生长因子及内皮抑素的表达水平与肺肿瘤分期、转移和治​​疗的关系

杜雷亚¹综述,贾钰铭²,孙广运²审校

(1. 川北医学院,四川南充 637000;2. 四川省宜宾市第二人民医院 644000)

关键词:肺肿瘤;血管内皮素生长因子;内皮抑素;血清;胸腔积液;综述

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2013.09.045

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2013)09-1063-03

肺癌位居各类肿瘤的首位,成为危害人类健康和生命的头号杀手。大部分肺癌一经临床确诊已处于中晚期,合并恶性胸腔积液和其他部位转移,治疗效果较差,预后不良。本文旨在探讨血管内皮素生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)及内皮抑素(endostatin, ES)在血清中及癌性胸水中的表达水平,与非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)分期、转移和治​​疗的关系,了解相关的规律,为肿瘤诊断治​​疗提供可靠的依据。

1 VEGF 及 ES 与肿瘤的关系

VEGF 是作用最强、特异性最高的血管生成调控因子。它能增加血管通透性,促进肿瘤血管形成,对肿瘤血管内皮细胞的迁移和增殖发挥重要作用。在癌变肿瘤的大小超过 1~2 mm³ 就需要通过形成新的血管供应营养以维持其持续增长^[1]。Donnem 等^[2] 研究发现 NSCLC 出现淋巴结转移后 VEGF 及其受体呈高表达。Yu 等^[3] 研究认为,细胞色素 P450 ω 羧化酶通过 PI3K 和 ERK1/2 信号通道上调 VEGF 等而促进肿瘤血管生成和转移。VEGF 还可以促进肿瘤淋巴结转移^[4],抑制肿瘤血管形成能够控制肿瘤生长和转移。

在体内的内源性血管生成抑制剂中,ES 具有广泛的抗癌活性,ES 对肿瘤刺激生成的血管有抑制作用,是最有效的内源性血管生长抑制剂之一^[5]。肿瘤通过基因等信号传导调节转移灶的功能状态,在肿瘤的发生阶段,癌基因的激活及抑癌基因的突变有利于促血管因子释放的变化^[6]。Shibata 等^[7] 报道 ES 与细胞毒药物联合使用可明显抑制动物模型原发肿瘤灶及转移灶,减少了血管分布,降低了肿瘤细胞 VEGF-A 等的表达,促使肿瘤细胞的凋亡。

2 VEGF 及 ES 与肺癌分期、转移的关系

2.1 肺癌患者血清 VEGF 及 ES 的表达水平

肺癌患者血清 VEGF 及 ES 较肺良性病患者明显升高,Zhang 等^[8] 研究显示,良性病患者及肺癌患者血清中的 VEGF 分别为(52.6±48.5) ng/L 和(135.5±119.7) ng/L;良性病患者及肺癌患者血清中的 ES 分别为(97.6±11.2) ng/mL 和(160.5±21.7) ng/mL,研究认为联合检测上述 2 个指标可用于良、恶性胸腔积液的鉴别。Sandler 等^[9] 研究指出,血清中 VEGF 表达较高的患者对靶向药物贝伐单抗(Bevacizumab)的应答性较好。Ustuner 等^[10] 研究认为,VEGF 的表达水平可作为 NSCLC 预后独立的预测因子。这些研究都提出血清 VEGF 及 ES 表达水平可以作为肿瘤筛查指标和抗肿瘤疗效监测指标之一。不同的观点认为 NSCLC 患者血清中高表达的 VEGF 在治​​疗是重要的协助诊断的指标,但不是独立的预后因素^[11]。血清中的 VEGF 表达水平作为预后指标可能不充分。

2.2 血清 VEGF 及 ES 与肺癌分期

朱小生等^[12] 研究报道,肿瘤直径大于 5 cm 的患者的血清 VEGF 及 ES 表达水平明显

升高($P < 0.01$),Ⅲ期患者 VEGF 水平高于 I 和 II 期($P < 0.05$),IV 期 VEGF 及 ES 水平高于 III 期及 I 和 II 期($P < 0.01$)。徐爱晖等^[13] 报道 I、II 期肺癌患者血清 ES 的水平高于 III 期($P < 0.05$),I、II 期肿瘤患者内源性血管生成抑制因子的产生多于促血管生成因子,因此,I、II 期转移发生率低于 III 期。

Folkman^[14] 研究认为,在肿瘤病灶和血液循环中都有 VEGF 及 ES 的存在。在血液循环中 VEGF 的半衰期为 3.5 min,而 ES 的半衰期只有几个小时^[15]。另外,循环中 ES 在血浆和血清的生理水平分别为(20~50) ng/mL 和(40~100) ng/mL^[11]。提示由于作用时间和表达水平的差异而造成 ES 抑制肿瘤血管生成的功效存在时间-量效窗口。

2.3 VEGF 及 ES 与肺癌的病理特征

Liu 等^[16] 研究发现,乳腺癌患者 VEGF 呈高表达,作者认为局部淋巴结转移和淋巴管生成,是由环氧合酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)依赖于内源性前列腺素 E₂ 途径通过 EP1/EP4 受体介导 VEGF-C 所调控的,阻断 COX-2 可能作为阻断肿瘤的淋巴管形成和淋巴结转移的一种有效方法。

刘颖等^[17] 研究对比不同肺组织的 ES 的表达,证实肺癌组织中 ES 的阳性表达率为(84.91±7.65)%,癌旁肺组织为(63.70±12.45)%,肺良性病变组织为(40.29±15.01)%。研究者认为 ES 表达水平与原发肿瘤的大小、有无远处转移、P-TNM 分期均呈负相关($P < 0.05$),与细胞分化程度呈正相关($P < 0.01$)。

2.4 VEGF 及 ES 与肺癌转移

熊正平等^[18] 对比分析了淋巴结转移和远处转移的患者血清 VEGF 分别为(561.50±104.55) ng/L 和(614.11±158.81) ng/L,二者之间 VEGF 浓度比较差异有统计学意义($t=5.30, P < 0.05$)。作者认为晚期肺癌患者血清 VEGF 水平显著高于早期肺癌患者;有淋巴结转移和远处转移的肺癌患者血清 VEGF 水平明显高于无淋巴结及远处转移患者;血清 VEGF 水平与肺癌患者性别、年龄和组织病理学类型无明显相关,可作为评估癌细胞发生转移潜能的重要指标之一。

Feng 等^[19] 采用聚合酶链定量反应检测发现,在 NSCLC 肿瘤的边缘较肿瘤中心 VEGF-C 及 VEGF-DmRNA 呈高表达,免疫组化分析显示 VEGF-C、D 高表达组的肿瘤边缘淋巴管浸润的发生率较高。认为 VEGF-C 和 VEGF-D 参与调节淋巴管生成和淋巴结转移。Inoue 等^[20] 研究认为,原发肿瘤病灶中 VEGF 低表达的患者可能预后良好。Hanrahan 等^[21] 研究服用 Vandetanib 受益的 NSCLC 患者 VEGF 的水平,认为血浆中的 VEGF 水平越低,则肿瘤的转移风险较小。

3 胸腔积液中的 VEGF 及 ES 与肺癌的关系

3.1 VEGF 及 ES 与胸腔积液的形成

浆膜腔积液形成的重

要机制为肿瘤细胞浸润或转移至体腔浆膜后,导致 VEGF 在局部的水平升高,新生血管形成及血管通透性增加。Ma 等^[22]研究认为重组人 ES 治疗恶性胸腔积液机制为下调 VEGF-A 和 VEGF-C 的表达,直接抑制血管生成及减低微淋巴管的密度,其疗效可以与 Bevacizumab 相媲美。提示使用 ES 阻断新生血管形成和下调 VEGF 表达可治疗恶性浆膜腔积液。

3.2 胸腔积液中 VEGF 及 ES 表达意义 Zhang 等^[8]报道了良性病患者及肺癌患者胸腔积液中的 VEGF 分别为 $(122.4 \pm 85.1) \text{ ng/L}$ 和 $(355.8 \pm 131.5) \text{ ng/L}$; 良性病患者及肺癌患者胸水中的 ES 分别为 $(138.4 \pm 98.3) \text{ ng/mL}$ 和 $(205.3 \pm 115.4) \text{ ng/mL}$ ($P < 0.01$), 作者认为检测 VEGF 及(或)ES 的表达水平可以用于良、恶性胸腔积液的鉴别。

Chen 等^[23]采用反转录聚合酶链反应检测了 92 例肺癌患者的恶性胸腔积液和 36 例肺良性疾病所致的胸腔积液,结果显示 VEGF mRNA 和 ES mRNA 表达水平在恶性胸腔积液组中明显高于良性组,联合检测 VEGF mRNA 和 ES mRNA 的灵敏度和准确度分别为 95.7% 及 93.8%, 作者认为联合检测上述 2 个指标可区分胸腔积液中上皮细胞来源的癌细胞,可用于胸膜微转移诊断,也可以为肿瘤 TNM 分期提供一些补充。

Fang 等^[24]通过胸腔注射 Lewis 肺癌细胞构建恶性胸腔积液的小鼠模型,发现重组腺病毒介导的人 ES 干预可以明显抑制胸膜肿瘤病灶数量,降低微血管密度及血管通透性,减少胸腔积液的产生,显著延长生存时间,且未观察到明显的不良反应。这也提示基因重组技术改造 ES 来治疗肿瘤,将成为一把利刃。

4 VEGF 及 ES 与肺癌治疗

4.1 VEGF 和肺癌治疗 近几年,肺癌靶向治疗和基因治疗已经成为研究热点。Khromova 等^[25]研究发现,逆转录病毒转导的 shVEGFC-3、shVEGFC-5 可明显降低 A549 肺癌裸鼠模型的 VEGF-C 的 mRNA 的表达,通过减少肿瘤干细胞的比值,从而抑制种植瘤和转移灶的生长。作者认为 VEGF-C 可以成为抗肿瘤药物的靶点。针对 VEGF 研制开发的药物 Bevacizumab 已经在全世界多个国家批准作为一线药物使用,一项 III 期临床试验(AVAiL)BO17704 报道研究 304 例 65 岁以上的老年晚期复发的非鳞 NSCLC 患者,评价了使用 Bevacizumab 联合吉西他滨/顺铂化疗的有效性和安全性,与空白组对比结果显示无进展生存时间得到了改善,但总生存时间无明显差异^[26]。另一项随机、双盲对照的 III 期试验关于索拉非尼单独或与吉西他滨/顺铂合用一线治疗晚期非鳞 NSCLC 没有达到终点的研究显示,NSCLC 患者使用一线化疗药物吉西他滨/顺铂加用索拉非尼,患者的总生存期没有明显的提高^[27]。值得思考的是使用昂贵的靶向治疗药物却没有带来明显的生存获益,提醒医务人员对患者的选择和药物适宜人群要进行甄别。当然更多的药物也在研发中,期待着能有令人振奋的研究报道。

4.2 ES 和肺癌治疗 Liu 等^[28]对 72 例 NSCLC 患者进行分组研究,发现重组人血管内皮抑素(Rh-endostatin, Rh-ES)联合 NP 方案同步化疗与先 Rh-ES 后 NP 方案及单用 NP 方案比较,两药同步使用显著延长了无疾病进展时间。作者认为肿瘤应答和疗效观察可以通过循环血管内皮细胞的数量来评判。

联合应用 ES 可增强肺癌放疗的疗效^[29-30]。Lee 等^[15]将免疫球蛋白(IG)g 的 Fc 段共轭连接到 ES 上,发现 FC-ES 用量较 ES 可减少 700 倍,而半衰期是与 VEGF 抑制剂阿瓦斯丁相似的,研究者认为改构后的 ES 半衰期和抗肿瘤疗效都得到了显著提高。Goodwin 等^[31]用溶瘤细胞单纯疱疹病毒介导的

ES(endostatin-expressing herpes simplexvirus-1 mutant, HSV-Endo)抑制小鼠肺癌模型血管生成,与对照组相比,注射了 HSV-Endo 的小鼠肺转移瘤及肿瘤周边的微血管密度明显减低。但最终所有的小鼠都死于肿瘤负荷过重,作者认为小鼠和人类血管内皮抑制素都有短暂的生物活动窗口。这也解释了肿瘤对内皮抑素产生耐药性的原因。

Wu 等^[32]研究分析认为,在中国晚期 NSCLC 患者使用 Rh-ES 联合铂类为基础的化疗可提高患者的无进展生存和总体生存时间,但是较差的成本效益也限制了药物的使用。开发高效廉价的药物才能更多地惠及广大的肿瘤患者。

5 结 语

恶性肿瘤的生长过程,受到很多因素的影响,肿瘤可通过分泌一些细胞因子抑制或刺激肿瘤生长。至少 VEGF 和 ES 是肿瘤分泌的主要调节因子,操控自身的生物学行为。针对 VEGF 和 ES 的作用靶点进行抗肿瘤治疗已经取得一些突破,相应的药物恩度、安维汀等已经广泛应用于临床,VEGF 和 ES 两者促进或者抑制肿瘤,在肺癌的发展过程中具有一定的对立和统一关系,通过研究两者在肺癌大小、分期、转移以及癌性胸腔积液的促进或者抑制关系,从而了解肺癌发生、发展机制,可以为肺癌的诊断和治疗提供新的思路。当然,肿瘤的发生和发展是一个多因素、多基因及多信号通路所介导的过程,单靶点药物阻断肿瘤的驱动信号后,肿瘤细胞可通过其他旁路调控增殖。VEGF 和 ES 不一定能够解决肺癌发生、发展中的所有问题,虽然肿瘤的未知数很多,似乎肿瘤增殖过程自身有一定的平衡能力,在治疗过程中也应该适当遵循这一规律,也许这样能够一定程度上提高目前治疗效果。传统的手术、放疗、化疗在目前肺癌治疗中提高疗效的空间不大,研究和开发多针对血管、基因的药物的药物已经成为一种趋势,也许是今后攻克肺癌研究的重要方向。

参考文献:

- [1] Karamouzis MV, Moschos SJ. The use of endostatin in the treatment of solid tumors[J]. *Expert Opin Biol Ther*, 2009, 9(5): 641-648.
- [2] Donnem T, Al-Shibli K, Al-Saad S, et al. VEGF-A and VEGFR-3 correlate with nodal status in operable non-small cell lung cancer; Inverse correlation between expression in tumor and stromal cells[J]. *Lung Cancer*, 2009, 63(2): 277-283.
- [3] Yu W, Chen L, Yang YQ, et al. Cytochrome P450 ω -hydroxylase promotes angiogenesis and metastasis by up-regulation of VEGF and MMP-9 in non-small cell lung cancer[J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2011, 68(3): 619-629.
- [4] Kawai H, Minamiya Y, Ito M, et al. VEGF121 promotes lymphangiogenesis in the sentinel lymph nodes of non-small cell lung carcinoma patients[J]. *Lung Cancer*, 2008, 59(1): 41-47.
- [5] Zambon L, Honma HN, Lourenco GJ, et al. A polymorphism in the angiogenesis inhibitor, endostatin, in lung cancer susceptibility[J]. *Lung Cancer*, 2008, 59(2): 276-278.
- [6] Birk DM, Barbato J, Mureebe L, et al. Current insights on the biology and clinical aspects of VEGF regulation[J]. *Vasc Endovasc Surg*, 2009, 42(6): 517-530.

- [7] Shibata MA, Morimoto J, Shibata E, et al. Combination therapy with short interfering RNA vectors against VEGF-C and VEGF-A suppresses lymph node and lung metastasis in a mouse immunocompetent mammary cancer model[J]. *Cancer Gene Ther*, 2008, 15(12): 776-786.
- [8] Zhang Y, Yu LK, Xia N. Evaluation of serum and pleural levels of endostatin and vascular epithelial growth factor in lung cancer patients with pleural effusion[J]. *Asian Pac J Trop Med*, 2012, 5(3): 239-242.
- [9] Sandler A, Gray R, Perry MC, et al. Paclitaxel-carboplatin alone or with bevacizumab for non-small-cell lung cancer [J]. *N Engl J Med*, 2006, 355(24): 2542-2550.
- [10] Ustuner Z, Saip P, Yasasever V, et al. Prognostic and predictive value of vascular endothelial growth factor and its soluble receptors, VEGFR-1 and VEGFR-2 levels in the sera of small cell lung cancer patients[J]. *Med Oncol*, 2008, 25(4): 394-399.
- [11] Chakra M, Pujol JL, Lamy PJ, et al. Circulating serum vascular endothelial growth factor is not a prognostic factor of non-small cell lung cancer[J]. *J Thorac Oncol*, 2008, 3(10): 1119-1126.
- [12] 朱小生, 马倩, 操乐杰, 等. 肺癌患者血管内皮生长因子和内皮抑素水平变化及意义[J]. *实用临床医药杂志*, 2008, 12(6): 1-4.
- [13] 徐爱晖, 尹岩伟, 陈飞虎. 肺癌患者血清内皮抑素水平对肺癌早期诊断价值的研究[J]. *中华医学杂志*, 2006, 86(27): 1916-1918.
- [14] Folkman J. Antiangiogenesis in cancer therapy—endostatin and its mechanisms of action[J]. *Exp Cell Res*, 2006, 312(5): 594-607.
- [15] Lee TY, Tjin T, Sjin RM, et al. Linking antibody Fc domain to endostatin significantly improves endostatin half-life and efficacy[J]. *Clin Cancer Res*, 2008, 14(5): 1487-1493.
- [16] Liu H, Yang Y, Xiao J, et al. COX-2-mediated regulation of VEGF-C in association with lymphangiogenesis and lymph node metastasis in lung cancer [J]. *Anat Rec (Hoboken)*, 2010, 293(11): 1838-1846.
- [17] 刘颖, 周清华, 张尚福, 等. 内皮抑素在非小细胞肺癌中的表达及其与肺癌临床病理生理特征的关系[J]. *中国肺癌杂志*, 2002, 5(6): 447-450.
- [18] 熊正平, 张阳德, 梁赵玉, 等. 肺癌分期的 PET/CT 表现与血清 VEGF 表达的关系[J]. *中国肿瘤临床*, 2007, 34(21): 1201-1205.
- [19] Feng Y, Wang W, Hu J, et al. Expression of VEGF-C and VEGF-D as significant markers for assessment of lymphangiogenesis and lymph node metastasis in non-small cell lung cancer[J]. *Anat Rec (Hoboken)*, 2010, 293(5): 802-812.
- [20] Inoue S, Oshiro H, Watanuki Y, et al. Metastatic brain mass caused by slow-growing small-cell lung cancer; differential vascular endothelial growth factor expression in primary and metastatic tumor [J]. *Clin Lung Cancer*, 2007, 8(7): 436-438.
- [21] Hanrahan EO, Ryan AJ, Mann H, et al. Baseline vascular endothelial growth factor concentration as a potential predictive marker of benefit from vandetanib in non-small cell lung cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2009, 15(10): 3600-3609.
- [22] Ma X, Yao Y, Yuan D, et al. Recombinant human endostatin endostar suppresses angiogenesis and lymphangiogenesis of malignant pleural effusion in mice[J]. *PLoS One*, 2012, 7(12): e53449.
- [23] Chen Y, Liang B, Zhao YJ, et al. Transcription expression and clinical significance of vascular endothelial growth factor mRNA and endostatin mRNA in pleural effusions of patients with lung cancer[J]. *Diagn Cytopathol*, 2012, 40(4): 287-291.
- [24] Fang F, Chen P, Wu X, et al. Therapeutic effects of recombinant human endostatin adenovirus in a mouse model of malignant pleural effusion[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2009, 135(9): 1149-1157.
- [25] Khromova N, Kopnin P, Rybko V, et al. Downregulation of VEGF-C expression in lung and colon cancer cells decelerates tumor growth and inhibits metastasis via multiple mechanisms[J]. *Oncogene*, 2012, 31(11): 1389-1397.
- [26] Leigh NB, Zatlouk P, Mezger J, et al. Efficacy and safety of bevacizumab-based therapy in elderly patients with advanced or recurrent nonsquamous non-small cell lung cancer in the phase III BO17704 study (AVAiL) [J]. *J Thorac Oncol*, 2010, 5(12): 1970-1976.
- [27] Paz-Ares LG, Biesma B, Heigener D, et al. Phase III, randomized, double-blind, placebo-controlled trial of gemcitabine/cisplatin alone or with sorafenib for the first-line treatment of advanced, nonsquamous non-small-cell lung cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2012, 30(25): 3084-3092.
- [28] Liu ZJ, Wang J, Wei XY, et al. Predictive value of circulating endothelial cells for efficacy of chemotherapy with Rh-endostatin in non-small cell lung cancer[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2012, 138(6): 927-937.
- [29] Wen QL, Meng MB, Yang B, et al. Endostar, a recombinant humanized endostatin, enhances the radioresponse for human nasopharyngeal carcinoma and human lung adenocarcinoma xenografts in mice[J]. *Cancer Sci*, 2009, 100(8): 1510-1519.
- [30] Jiang XD, Dai P, Wu J, et al. Inhibitory effect of radiotherapy combined with weekly recombinant human endostatin on the human pulmonary adenocarcinoma A549 xenografts in nude mice[J]. *Lung Cancer*, 2011, 72(2): 165-171.
- [31] Goodwin JM, Schmitt AD, McGinn CM, et al. Angiogenesis inhibition using an oncolytic herpes simplex virus expressing endostatin in a murine lung cancer model[J]. *Cancer Invest*, 2012, 30(3): 243-250.
- [32] Wu B, Chen H, Shen J, et al. Cost-effectiveness of adding Rh-endostatin to first-line chemotherapy in patients with advanced non-small-cell lung cancer in china[J]. *Clin Ther*, 2011, 33(10): 1446-1455.