

血管正常化提高肿瘤治疗疗效

张 静, 张文超, 钱子君, 高蓓莉, 项 轶

上海交通大学附属瑞金医院呼吸科, 上海 200020

[摘要] 抗血管生成治疗作为肿瘤靶向治疗方式已得到临床广泛应用。抗血管生成治疗诱导的血管正常化效应机制, 可以逆转肿瘤内部结构和功能异常的新生血管, 改善肿瘤微环境的组织间隙高压、低氧和酸中毒, 提高放化疗及免疫治疗的疗效。

[关键词] 抗血管生成治疗; 血管正常化; 提高; 肿瘤治疗

DOI: 10.3969/j.issn.1007-3969.2016.02.012

中图分类号: R730.5 文献标志码: A 文章编号: 1007-3639(2016)02-0188-05

Tumor vascular normalization improves cancer treatment efficacy ZHANG Jing, ZHANG Wenchao, QIAN Zijun, GAO Beili, XIANG Yi (Department of Pulmonary Medicine, Rui Jin Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200020, China)

Correspondence to: XIANG Yi E-mail: xiangyiht@163.com

[Abstract] Therapeutic strategies targeting tumor angiogenesis have been approved for cancer therapy. Vasculature normalization induced by anti-angiogenic drugs can restore abnormal tumor vessels, and improve the tumor microenvironment characterized by hypoxia, extracellular acidosis, and high interstitial fluid pressure, improve the cancer treatment results by chemoradiotherapy and immunotherapy.

[Key words] Anti-angiogenesis therapy; Vascular normalization; Improvement; Cancer treatment

实体肿瘤的生长和转移依赖新血管的形成。和正常血管不同, 肿瘤新生血管表现出结构和功能上的异常, 形成以组织间隙高压、低氧和酸中毒为特征的肿瘤微环境, 从而影响放化疗及免疫治疗的疗效。抗血管生成治疗应用于临床已有10余年。大量的研究结果显示, 血管生成抑制剂可使肿瘤现有肿瘤血管系统退化、抑制新血管生成, 其中最重要的机制之一是诱导血管正常化^[1]。本文将回顾复习相关文献, 重点对抗血管生成治疗诱导肿瘤血管正常化, 进而提高肿瘤治疗进行综述。

1 异常的新生血管影响肿瘤治疗疗效

实体肿瘤通过新生血管为其生长和转移提供营养和途径。肿瘤新生血管迂曲、易渗漏, 血管间交错随机连接, 周细胞连接松散或缺失, 基底膜厚度不一。结构和功能的异常导致肿瘤内部血流灌注不均衡。低灌注区血容量不足, 不能获得足够的氧, 局部产生的酸性代谢产物无法及时清

除, 而产生低氧和细胞外酸中毒。新生血管易渗漏引起组织间隙压(interstitial fluid pressure, IFP)升高, 最终形成以IFP升高、低氧和酸中毒为特征的肿瘤微环境^[2]。

放化疗抵抗是肿瘤治疗失败的最主要原因, 其中肿瘤微环境的异常与放化疗抵抗密切相关^[3]。首先, 肿瘤内部低氧是肿瘤细胞对放疗和化疗药物产生抵抗的首要诱因^[4]。低氧时, 肿瘤微环境中产生的低氧诱导因子-1a等不能正常降解而作为转录基因, 上调与细胞生长、血管生成相关基因的表达, 使肿瘤细胞侵袭性更强, 产生化疗抵抗。其次, 放疗依赖肿瘤微环境产生的氧自由基对肿瘤细胞进行杀伤, 而低氧可减少氧自由基的产生从而影响放疗疗效^[5-6]。再者, 肿瘤内部灌注的不均衡阻碍了随血液输送的药物及免疫效应细胞抵达低灌注区。

2 抗血管生成治疗诱导肿瘤血管正常化

2.1 抗血管生成治疗的提出

鉴于新血管生成是促进肿瘤生长和转移的关键

性事件。随着血管内皮抑素的发现, Folkman^[7]正式提出抗血管生成治疗并推广。迄今, 已有数十种血管生成抑制剂获得美国食品和药物管理局(Food and Drug Administration, FDA)认可并得到临床应用。根据血管生成抑制剂作用于肿瘤血管生成阶段的不同, 可分为直接血管抑制剂及间接血管抑制剂。所谓直接血管抑制剂是通过直接抑制促血管生成因子如血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)起作用。而间接血管抑制剂则通过作用于促血管生成因子上游的原癌基因, 调控促血管生成因子的水平而抑制血管生成。临床上常用的直接血管抑制剂有贝伐珠单抗和恩度。间接血管抑制剂有易瑞沙、特罗凯、索拉非尼、帕唑帕尼和AZD9291, 主要通过抑制表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)酪氨酸激酶活化而抑制血管生成^[1]。

贝伐珠单抗是首个在国内得到广泛应用的血管生成抑制剂。肿瘤微环境分泌大量促血管生成因子, 其中, VEGF起着重要作用。贝伐珠单抗通过拮抗VEGF与其受体结合, 从而抑制内皮细胞的增殖和血管生成。有临床试验表明, 贝伐珠单抗联合化疗安全性良好, 国内现已获批用于治疗转移性结直肠癌和非小细胞肺癌^[8-9]。

2.2 血管正常化及其分子机制

抗血管生成治疗最初基于的原理是使肿瘤现有血管系统退化、抑制新血管形成。早期的动物实验良好地验证了这一原理。研究人员在接受抗血管生成抑制剂治疗的荷瘤小鼠中发现血管密度的减少及对肿瘤生长的抑制。然而, 贝伐珠单抗单药应用的临床试验并未明显提高患者的生存期且药物有效性一般。但将贝伐珠单抗与化疗药物联合应用却取得了良好的治疗效果, 病人的无疾病进展生存期(progression-free survival, PFS)及总生存期(overall survival, OS)均明显提高。化疗药物依靠血流输送到肿瘤内部, 抗血管生成抑制剂与化疗药物联合, 改善了化疗药物灌注状况, 这说明抗血管生成抑制剂对肿瘤血管可能存在其他的调控机制。

2001年Jain^[10]提出合理地使用血管生成抑制剂可诱导结构和功能异常的肿瘤血管正常化, 使化疗药物和氧更有效地运输到肿瘤内部, 从而提高放疗及化疗敏感性。他在大量的动物实验中使用血管生成抑制剂验证了血管正常化这一设想。为了排除动物模型和人体的差异性, 有研究人员在贝伐珠单抗治疗的临床肾癌患者中也证实拮抗VEGF可诱导血管正常化^[11]。自Jain提出血管正常化的假设以来, 已有100多项研究使用直接或间接的血管生成抑制剂, 在不同类型的肿瘤中证明了血管正常化这一设想^[11-12]。

目前调控肿瘤血管正常化的分子和细胞机制尚未明了, 现有的观点认为肿瘤病理性血管形成是促血管生成因子和抑血管生成因子失衡的过程, 纠正这一平衡失调可能达到血管正常化的目的。已经得到证实的血管正常化机制之一是阻断VEGF信号通路, 通过抑制VEGF可以暂时性地恢复促血管和抑血管信号通路的平衡。随着对血管正常化机制研究的开展, 越来越多的血管因子和基因被证实发生在肿瘤异常血管的发生及血管正常化过程中起关键作用。最新研究显示, 血管紧张素-1(angiotensin-1, Ang-1)和血管紧张素-2(angiotensin-2, Ang-2)与血管稳定性有关, 过表达Ang-1可以增加血管的稳定性, 抑制Ang-2可以改善血管内皮细胞之间的连接, 从而诱导肿瘤血管正常化^[13]。另外, R-Ras作为Ras家族中一种小分子的GTP酶, 与血管的完整性及功能密切相关。在小鼠中敲除R-Ras可以严重影响肿瘤血管成熟, 而过表达R-Ras不仅可以改善血管结构及血液灌注, 还可通过增强内皮细胞之间的连接与周细胞覆盖率来阻断血浆渗漏。这些基因的发现为更深入地了解血管正常化过程及肿瘤治疗提供了重要参考^[14]。

3 血管正常化的应用及前景

3.1 血管正常化提高肿瘤治疗疗效

正常化的肿瘤血管表现为: 血管内皮细胞连接紧密, 周细胞覆盖率增加, 渗漏减少, 血管分支减少, 基底膜相对正常。肿瘤血管正常化也可以使肿瘤微环境正常化。首先, 功能

同质性的血管密度的增加以及血管更有序地排列可以减少肿瘤内不同区域血流的异质性。再者, 邻近的内皮细胞连接和有周细胞覆盖的血管比例的增加以及周细胞和内皮细胞之间更紧密地连接可以减少血管渗透性, 导致肿瘤内IFP的降低^[15]。传统肿瘤治疗的疗效依赖于肿瘤微环境。血管生成抑制剂可通过诱导血管正常化, 改善肿瘤微环境从而增加渗透到肿瘤的药物量并提高肿瘤组织含氧量, 提高化疗或放疗疗效。由于肿瘤侵袭性强且肿瘤细胞对单一治疗容易产生耐药, 联合治疗已成为遏制肿瘤的必然趋势。众多的临床试验显示, 抗血管生成治疗与化疗和(或)放疗相结合, 可以显著提高抗肿瘤治疗疗效^[16-18]; 而且最新的研究发现, 抗血管生成治疗联合化疗可改善卵巢癌患者的PFS及转移性晚期宫颈癌患者的OS^[19-20]。

免疫治疗是目前肿瘤治疗的新热点。有动物实验发现, 酪氨酸激酶抑制剂(tyrosine kinase inhibitor, TKI)在诱导血管正常化的同时, 还可提高免疫细胞的浸润, 减少抑制性T细胞及骨髓来源的抑制细胞^[21]。Rolny等^[22]研究发现, 富组氨酸糖蛋白(histidine-rich glycoprotein, HRG)可以诱导血管正常化并通过肿瘤相关巨噬细胞的极化提高抗肿瘤免疫功能。HRG可以诱导周细胞覆盖率的增加, 内皮细胞间的连接屏障更加紧密, 从而促进血管正常化并改善肿瘤组织灌注及含氧量。和血管正常化改变相符的是: HRG的过表达不仅增加了抗原递呈树突状细胞, 细胞毒性的NK细胞和细胞毒性T淋巴细胞的肿瘤浸润, 也增强抗原递呈和肿瘤细胞溶菌作用, 从而抑制肿瘤的生长^[22-23]。诸多的试验反复证实了血管生成抑制剂在诱导血管正常化的同时可以调节患者的抗肿瘤免疫功能^[24-26], 因此有理由相信血管生成抑制剂诱导的血管正常化联合免疫疗法可能会为未来肿瘤治疗开拓新途径。

某些良性病变也伴有血管结构或功能的异常, 且通过使用血管生成抑制剂诱导血管正常化能达到治疗目的, 如在银屑病的动物模型上

通过抑制VEGF可以减少血管迂曲。另外, 通过阻断胎盘生长因子可以减少激光损伤诱导的脉络膜新生血管的密度和通透性, 使其结构重塑^[27]。目前FDA已经批准了两种可用于治疗湿性老年性视网膜黄斑性病变的血管生成抑制剂。

3.2 多靶点血管生成抑制剂成为趋势

肿瘤中促血管生成因子的产生可能受癌基因、低氧、代谢和炎性反应通路共同驱动, 针对单一靶点的治疗不足以完全抑制新血管的生成, 而且长期应用也会导致耐药及代偿机制的出现。例如近期一项实验发现, 神经胶质瘤患者抗VEGF治疗后出现高水平的Ang-2。于是研究人员在U87胶质瘤细胞中过表达Ang-2, 结果显示, Ang-2可引起异常血管密度增加及血管内皮细胞覆盖减少, 与抗VEGF结合时, 过表达Ang-2可以阻断抗VEGF治疗引起的血管正常化效应。而在移植瘤模型中同时阻断Ang-2和VEGF可加强血管正常化效应^[28-29]。

一项涵盖20个II/III期随机对照试验的Meta分析结果显示, 多靶点抗血管生成的酪氨酸激酶抑制剂(multi-targeted antiangiogenic tyrosine kinase inhibitors, MATKIs)治疗晚期非小细胞肺癌对于以往接受过化疗的患者, MATKIs联合标准治疗组的客观缓解率显著优于对照组(无MATKI)并延长了患者的PFS^[30]。现阶段临床上应用较多的血管生成抑制剂多针对单一靶点, 未来多靶点的血管生成抑制剂将成为研发趋势。

3.3 应用的局限性

抗血管生成治疗是肿瘤治疗的重要手段, 血管正常化也逐渐成为研究热点。虽然抗血管生成治疗在基础及临床试验中显示出优越性, 但其临床应用却存在一定限制。

首先, 抗血管生成治疗对肿瘤的作用备受争议。少数的动物实验发现肿瘤可以适应抗血管生成疗法并产生耐受, 停药后可引起反弹而使肿瘤变得更有侵袭性。耐药是目前抗血管治疗发展受限的主要原因, 可能是肿瘤血管减少后, 激活了血管旁路途径如HIF通路, 补充了

血管生成的能力,形成了新的失平衡状态,因此抗血管治疗的同时也应关注如何抑制血管旁路^[31]。

其次,不少学者提出血管正常化存在一定的时间窗。在这个时间窗内,血管达到最佳的“正常化”状态,肿瘤组织的含氧量和化疗药物的输送最大化地提高,肿瘤细胞更易受到化疗药物的攻击,对放疗也更加敏感^[10]。但支持血管正常化存在时间窗的证据甚少,是否存在血管正常化时间窗尚待确定。不同的抗血管药物诱导同一或不同的实体肿瘤血管正常化时间是否一致,掌握这一时间窗有利于肿瘤的个体化治疗及临床医师制定出最优化的联合治疗方案。

再者,由于无法在治疗过程中及时获得患者肿瘤组织活检以掌握血管正常化程度,在血管正常化应用于临床前,需要找到更精密的影像学及循环依据来实时了解治疗过程中血管正常化的程度,过度使用血管生成抑制剂不仅会加速耐药的出现,而且可能会增加出血、高血压等风险,因此如何合理有效地达到血管正常化的研究仍需大规模开展。

[参 考 文 献]

- [1] GOEL S, DUDA D G, Xu L, et al. Normalization of the vasculature for treatment of cancer and other diseases [J] . *Physiol Rev*, 2011, 91(3): 1071-1121.
- [2] JAIN R K. Normalizing tumor microenvironment to treat cancer: bench to bedside to biomarkers [J] . *J Clin Oncol*, 2013,31(17): 2205-2218.
- [3] SHREE T, OLSON O C, ELIE B T, et al. Macrophages and cathepsin proteases blunt chemotherapeutic response in breast cancer [J] . *Genes Dev*, 2011,25(23): 2465-2479.
- [4] AKTIPI S A, KWAN V S, JOHNSON K A, et al. Overlooking evolution: a systematic analysis of cancer relapse and therapeutic resistance research [J] . *PLoS One*, 2011, 6(11): e26100.
- [5] VERDUZCO D, LLOYD M, XU L, et al. Intermittent hypoxia selects for genotypes and phenotypes that increase survival, invasion, and therapy resistance [J] . *PLoS One*, 2015,10(3): e0120958.
- [6] FLEMING I N, MANAVAKI R, BLOWER P J, et al. Imaging tumour hypoxia with positron emission tomography. *Br J Cancer*, 2015, 112(2): 238-250.
- [7] FOLKMAN J. Antiangiogenesis in cancer therapy—endostatin and its mechanisms of action [J] . *Exp Cell Res*, 2006, 312(5): 594-607.
- [8] LEE S H, JEONG D, HAN Y S, et al. Pivotal role of vascular endothelial growth factor pathway in tumor angiogenesis [J] . *Ann Surg Treat Res*, 2015, 89(1): 1-8.
- [9] SAMANT R S, SHEVDE L A. Recent advances in anti-angiogenic therapy of cancer [J] . *Oncotarget*, 2011, 2(3): 122-134.
- [10] JAIN R K. Normalization of tumor vasculature: an emerging concept in antiangiogenic therapy [J] . *Science*, 2005, 307(5706): 58-62.
- [11] BATCHELOR T T, DUDA D G, DI TOMASO E, et al. Phase II study of cediranib, an oral pan-vascular endothelial growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor, in patients with recurrent glioblastoma [J] . *J Clin Oncol*, 2010, 28(17): 2817-2823.
- [12] LAURO S, ONESTI C E, RIGHINI R, et al. The use of bevacizumab in non-small cell lung cancer: an update [J] . *Anticancer Res*, 2014, 34(4): 1537-1545.
- [13] FALCON B L, HASHIZUME H, KOUMOUTSAKOS P, et al. Contrasting actions of selective inhibitors of angiopoietin-1 and angiopoietin-2 on the normalization of tumor blood vessels [J] . *Am J Pathol*, 2009, 175(5): 2159-2170.
- [14] SAWADA J, URAKAMI T, LI F, et al. Small GTPase R-Ras regulates integrity and functionality of tumor blood vessels [J] . *Cancer Cell*, 2012, 22(2): 235-249.
- [15] FITZPATRICK D, BRADY J A, MAGUIRE D. Prehospital improvisation of standard oxygen therapy equipment to facilitate delivery of a bronchodilator in a supine patient [J] . *Emerg Med J*, 2012, 29(11): 921-922.
- [16] HERBST R S, SUN Y, EBERHARDT W E, et al. Vandetanib plus docetaxel versus docetaxel as second-line treatment for patients with advanced non-small-cell lung cancer (ZODIAC): a double-blind, randomised, phase 3 trial [J] . *Lancet Oncol*, 2010, 11(7): 619-626.
- [17] RAYMOND E, DAHAN L, RAOUL J L, et al. Sunitinib malate for the treatment of pancreatic neuroendocrine tumors [J] . *N Engl J Med*, 2011, 364(6): 501-513.
- [18] STERNBERG C N, DAVIS I D, MARDIAK J, et al. Pazopanib in locally advanced or metastatic renal cell carcinoma: results of a randomized phase III trial [J] . *J Clin Oncol*, 2010, 28(6): 1061-1068.
- [19] PERREN T J, SWART A M, PFISTERER J, et al. A phase 3 trial of bevacizumab in ovarian cancer [J] . *N Engl J Med*, 2011, 365(26): 2484-2496.
- [20] FRIEDLANDER M L. Incorporation of bevacizumab in the treatment of recurrent and metastatic cervical cancer: a phase III randomized trial of the Gynecologic Oncology Group [J] . *Chin Clin Oncol*, 2014, 3(1): 6.
- [21] CARMELIET P, JAIN R K. Principles and mechanisms of vessel normalization for cancer and other angiogenic diseases [J] . *Nat Rev Drug Discov*, 2011, 10(6): 417-427.

- [22] ROLNY C, MAZZONE M, TUGUES S, et al. HRG inhibits tumor growth and metastasis by inducing macrophage polarization and vessel normalization through downregulation of PlGF [J] . *Cancer Cell*, 2011, 19(1): 31–44.
- [23] HUANG Y, GOEL S, DUDA D G, et al. Vascular normalization as an emerging strategy to enhance cancer immunotherapy [J] . *Cancer Res*, 2013, 73(10): 2943–2948.
- [24] SHRIMALI R K, YU Z, THEORET M R, et al. Antiangiogenic agents can increase lymphocyte infiltration into tumor and enhance the effectiveness of adoptive immunotherapy of cancer [J] . *Cancer Res*, 2010, 70(15): 6171–6180.
- [25] HSU Y F, AJONA D, CORRALES L, et al. Complement activation mediates cetuximab inhibition of non-small cell lung cancer tumor growth *in vivo* [J] . *Mol Cancer*, 2010, 9: 139.
- [26] LEE S C, SRIVASTAVA R M, LOPEZ-ALBAITERO A, et al. Natural killer (NK): dendritic cell (DC) cross talk induced by therapeutic monoclonal antibody triggers tumor antigen-specific T cell immunity [J] . *Immunol Res*, 2011, 50(2–3): 248–254.
- [27] VAN DE VEIRE S, STALMANS I, HEINDRYXKX F, et al. Further pharmacological and genetic evidence for the efficacy of PlGF inhibition in cancer and eye disease [J] . *Cell*, 2010, 141(1): 178–190.
- [28] CHAE S S, KAMOUN W S, FARRAR C T, et al. Angiopoietin-2 interferes with anti-VEGFR2-induced vessel normalization and survival benefit in mice bearing gliomas [J] . *Clin Cancer Res*, 2010, 16(14): 3618–3627.
- [29] COUTELLE O, SCHIFFMANN L M, LIWSCHITZ M, et al. Dual targeting of angiopoietin-2 and VEGF potentiates effective vascular normalisation without inducing empty basement membrane sleeves in xenograft tumours [J] . *Br J Cancer*, 2015, 112(3): 495–503.
- [30] LIANG W, WU X, HONG S, et al. Multi-targeted antiangiogenic tyrosine kinase inhibitors in advanced non-small cell lung cancer: meta-analyses of 20 randomized controlled trials and subgroup analyses [J] . *PLoS One*, 2014, 9(10): e109757.
- [31] GIULIANO S, PAGES G. Mechanisms of resistance to anti-angiogenesis therapies [J] . *Biochimie*, 2013, 95(6): 1110–1119.

(收稿日期: 2015-08-04 修回日期: 2015-12-29)