

文章编号:1005-6947(2006)09-0707-03

· 综述 ·

结肠癌抗血管生成治疗研究进展

李占霞, 杨翔 综述 张国锋 审校

(上海市同济大学附属同济医院 普通外科, 上海 200065)

摘要: 结直肠癌的总体治愈率近10年来没有得到显著提高,其原因在于15%~35%的患者在原发肿瘤被发现时已出现肝转移。虽然结直肠肝转移手术切除后的5年生存率已接近40%,但是绝大多数患者确诊时由于肝转移灶过大、与大血管关系密切及肝内多发转移灶等原因,只有20%左右的肝转移患者适合于手术治疗。可见,单纯靠改进手术技巧和应用传统的化疗药物很难提高治疗效果。而肿瘤的抗血管生成治疗为结肠癌的治疗提供了新的思路。

关键词: 结直肠肿瘤/药物疗法; 抗血管生成药/治疗应用; 综述

中图分类号: R735.55; R44

文献标识码: A

结直肠癌的总体治愈率近10年来没有得到显著提高,原因在于当原发肿瘤被发现时,已有15%~35%的患者出现肝转移,结直肠癌患者在行

根治术后出现肝转移的占25%,即最终有约60%的患者出现肝转移。而结直肠肝转移手术切除后的5年生存率已接近40%。遗憾的是,绝大多数患者确诊时由于肝转移灶过大、与大血管关系密切及肝内多发转移灶等原因,只有20%左右的肝转移患者适合于手术治疗^[1]。可见,单纯靠改进手术技巧很难提高手术切除率,降低术后的复发率、转移率。传统的化疗药物针对的是异常增殖的肿瘤细胞,具有遗传不稳定性,故而易于发生突变而耐药,且毒副反应大。而肿瘤的抗血管生成治疗为结肠癌的治疗提供了

新的思路。

1 血管生成与结肠癌

在结肠肿瘤发生、侵袭、转移的多步骤过程中,无论肿瘤转移的起始或终末阶段,血管生成(tumor angiogenesis)均发挥重要作用^[2](附图)。而以结肠肿瘤血管生成的各个环节为靶点,研制血管生成抑制剂,有望为结肠肿瘤的防治提供一条新途径。因其针对血管内皮细胞,遗传性质稳定,很少发生变异,故应用于肿瘤不易产生耐药性,且无毒性反应。

基金项目: 同济大学科技发展基金(1508219021)。

收稿日期: 2005-12-12;

修订日期: 2006-03-24。

作者简介: 李占霞,女,河南人,上海市同济大学附属同济医院硕士研究生,主要从事胃肠肿瘤方面的研究。

通讯作者: 张国锋 E-mail: lijames1984@hotmail.com。

- [8] Mandriota SJ, Jussila L, Jeltsch M, et al. Vascular endothelial growth factor-C-mediated lymphangiogenesis promotes tumour metastasis [J]. *EMBO J*, 2002, 20(4): 672-682.
- [9] Karkkainen MJ, Makinen T, Alitalo K. Lymphatic endothelium: a new frontier of metastasis research [J]. *Nat Cell Biol*, 2002, 4(1): E2-5.
- [10] Cassella M, Skobe M. Lymphatic vessel activation in cancer [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2002, 979(3): 120-130.
- [11] Lee JC, Chow NH, Wang ST, et al. Prognostic value of vascular endothelial growth factor expression in colorectal cancer patients [J]. *Eur J Cancer*, 2000, 36(6): 748-753.
- [12] 李大林, 李杨, 李传祖, 等. CD105和 VEGF 在大肠癌新生血管中的表达 [J]. *中国普通外科杂志*, 2003, 11(12): 816-818.
- [13] Takahashi Y, Tucker SL, Kitadai Y, et al. Vessel counts and expression of vascular endothelial growth factors as prognostic factors in node-negative colon cancer [J]. *Arch. Surg*, 1997, 132(5): 541-546.
- [14] Onogawa S, Kitadai Y, Tanaka S, et al. Regulation of vascular endothelial growth factor (VEGF)-C and VEGF-D expression by the organ microenvironment in human colon carcinoma [J]. *Eur J Cancer*, 2004, 40(10): 1604-1609.
- [15] Morikawa K, Walker SM, Jessup JM, et al. In vivo selection of highly metastatic cells from surgical specimens of different primary human colon carcinoma implanted into nude mice [J]. *Cancer Res*, 1988, 48(7): 1943-1948.
- [16] 张国锋, 王元和, 王强. 人结肠癌裸鼠原位种植瘤及转移模型的建立 [J]. *中国普通外科杂志*, 2003, 12(11): 823-826.
- [17] Shimizu K, Kubo H, Yamaguchi K, et al. Suppression of VEGFR-3 signaling inhibits lymph node metastasis in gastric cancer [J]. *Cancer Sci*, 2004, 95(4): 328-333.
- [18] Fairouz K, Herbert IH, Louis F, et al. Phase II, Randomized Trial Comparing Bevacizumab Plus Fluorouracil (FU)/Leucovorin (LV) With FU/LV Alone in Patients With Metastatic [J]. *Colorectal Cancer*, 2003, 21(1): 60-65.

径1.5 mm的肿瘤组织块塞入凹内,并在瘤表滴上一滴OB粘胶(医用粘连剂,购于广州白云医用胶总公司),以覆盖瘤体表面,并展延至盲肠壁。结果显示肿瘤与肠壁粘贴紧密,肿瘤组织存活情况良好,且其生物学行为与临床病程非常相似,可为进一步研究结肠癌转移机制和抗转移治疗提供了理想的动物模型。

3 结肠癌抗血管生成治疗实验研究

Folkman于1971年首次提出了“肿瘤生长依赖于血管生成”的观点。并在以后的一系列研究中证实,血供的建立是直径大于1~2 mm肿瘤生长、转移的前提条件。1996年,Hanrahan等^[7]提出了血管生成切换(angio-genic switch)的概念,即将肿瘤的生长分为两期:(1)血管前期(prevascular phase)、又称无血管期(avascular stage):肿瘤细胞处于休眠状态;(2)血管期(vascular phase):肿瘤细胞分裂、生长、转移。在无血管期,由于肿瘤主要依靠周围组织的弥散来获取营养物质和排泄代谢产物,所以明显限制了其持续性的生长,肿瘤直径不超过1~2 mm。而至血管期,肿瘤内出现新生血管,获得进一步生长的能力,肿瘤从而迅速生长并可发生转移。Folkman进而提出,通过抑制实体瘤的血管生成以抑制其生长、转移与复发,即肿瘤抗血管生成治疗的理论。也有学者称之为肿瘤休眠疗法(tumor dormancy therapy)^[8]。

应用在结肠癌抗血管生成治疗实验研究的血管生成抑制剂已有十余种,按其作用机理可分为四类^[9]:(1)阻断血管生成因子的合成和释放并拮抗其作用,如SU5416、SU6668、抗VEGF单克隆抗体(Anti-VEGF antibody)等。(2)阻断内皮细胞降解周围基质的能力,如marimastat、batimastat等。(3)阻断内皮细胞表面整合素的作用,如Vita-xin。(4)直接抑制内皮细胞的增殖和(或)诱导其凋亡,如烟曲霉素及其衍生物AGM-1470/TNP-470,其中尤以新近相继发现的endostatin、angiostatin疗效最为理想。另外,有的药物尽管其确切机制目前还未明了,但通过一些体外试验或动物试验已证实其有抗血管生成的活性。如沙利度胺(thalidomide)、三羧氨基唑啉(Linomide)等^[10]。

SU6668是一种新型的血管生成抑制剂,可阻断VEGF、bFGF和PDGF受体,从而阻断血管生成因子的合成和释放,并拮抗其作用,但对肿瘤细胞无直接作用^[11]。笔者的实验研究证实,SU6668通过抗肿瘤血管生成,促进结肠癌细胞凋亡,对活体内结肠癌生长和转移具有强烈的抑制作用,且与传统化疗药物联用可起协同作用^[12]。癌细胞凋亡减少是肿瘤不断增大的主要原因,故通过SU6668诱导癌细胞凋亡,比杀死癌细胞更符合生理性细胞死亡过程,并可明显减少化疗药物所致的毒副作用。SU6668与传统化疗、放疗联合使用,将是其应用的发展方向,有可能使术后微小转移灶处于休眠状态,从而抑制残留病灶生长、甚至治愈由于微小病灶引起的临床复发或远处转移,可达到肿瘤亚临床治疗的新水平。

4 结肠癌抗血管生成治疗临床试验现状

(1)单克隆抗体LM609(vitaxin):其抗原位点为 $\alpha v\beta 3$,属于抗整合素家族^[13]。整合素 $\alpha v\beta 3$ 的配体都可含有RGD序列(rg-Gly-Asp)内皮细胞与细胞外基质(包括纤维连接蛋白、纤维原及vitronectin),粘附也因后者含有RGD序列。含RGD序列的肽进入细胞后,经激活caspase前体(rocaspases-3)活化凋亡前体蛋白(ro-apoptotic protein)导致血管内皮细胞凋亡,破坏新生血管的形成,特别已在晚期结肠癌等患者中得到证实。现已进入II期临床试验。

(2)抗VEGF单克隆抗体(Anti-VEGF antibody):可以直接抑制VEGF的作用,对结肠癌有较好的疗效^[14]。现已进入II期临床试验。

(3)SU5416:它是新合成的VEGF受体Flk-1/KDR酪氨酸激酶的抑制剂,其IC₅₀为20 nmol·L⁻¹^[15]。根据bFGF、PDGF、VEGF受体Flk-1/KDR及血管生成素(angiopoietin, Ang)的受体Tie-2都是经酪氨酸酶传递信号,故设计了该酶自我磷酸化的信号传导抑制剂SU5416。体外试验表明,它可抑制依赖于VEGF刺激的血管内皮细胞的增殖而对肿瘤细胞无作用。笔者的动物实验初步证实^[16],SU5416通过抗肿瘤血管生成,诱导结肠癌细胞凋亡,对体内结肠癌生长和转移具有强烈的抑制作用,且与传统化疗药物联用可起协同作

附图 血管生成与结肠癌生长、转移机制

肿瘤血管生成(angiogenesis)是指从已存在的微血管上芽生出新的毛细血管的过程,此过程区别于胚胎时期由早期内皮细胞分化形成新血管的血管发生(vasculogenesis)过程。生理条件下的血管发生过程是一严格受控的过程,只见于发育、再生和创伤修复等情况下;而病理性的血管生成,如在肿瘤条件下,则是一持续、无控性的过程,这种持续不规则的新生血管的形成促进了肿瘤的生长、侵袭与转移^[3]。

2 结肠癌动物模型

为探讨人结肠癌转移机制及抗转移治疗方法,需要建立一个与人结肠癌非常接近的动物模型。人结肠癌裸小鼠自发性转移模型的建立是当前国内外关注的课题。以往用新鲜人结直肠癌组织和细胞系所建立的裸鼠皮下种植模型均不能发生深部侵袭和远处转移。脾内、回肠系膜静脉或腹腔^[4]注射人结直肠癌细胞系产生的肝转移灶,是实验性转移而非自发转移,但用于结直肠癌肝转移的研究仍不理想。应用结直肠癌细胞株静脉注射制作实验性肺转移模型,也仅涉及侵袭、转移的最后几个步骤,没有原发部位播散的过程,也无淋巴转移途径,且转移部位主要在肺,故与临床病情相差甚远。

研究表明,当人类肿瘤的内在特性与其在动物体内的外环境相适应时,肿瘤得以生长转移,即“种子与土壤”学说。完整组织块原位种植恰可供观察上述复杂的病理过程,并易于向临床应用过渡^[5]。但以往将人大肠癌组织用外科手术的方法缝合于裸小鼠纤细的肠壁,操作难度大。笔者采用OB胶粘接种方法^[6],即于盲肠末端用手术刀轻轻划破浆膜面,用无齿镊将盲肠末端向内推压,使局部肠壁形成凹窝。将直

用。II期临床试验提示它对结肠癌、肝癌和非小细胞肺癌及脑胶质瘤有较好的疗效,可口服,长效,可用于防止肿瘤复发。III期临床试验正在进行中。

美国 Science 杂志评出 2003 年度十大科技突破:包括生命科学、地球环境、宇宙空间三大方面。而在生命科学领域,有一项即为:“饿死肿瘤”研究获新进展。

5 结肠癌抗血管生成治疗可能并发症研究

腹腔化疗联合抗血管生成治疗为结肠癌术后的综合治疗开辟了新的途径。但随之而来的担忧是,血管生成抑制剂单独或与腹腔化疗药物联用,是否会影响结肠癌术后肠吻合口的愈合,吻合口瘘的发生率会否提高,这是结肠癌抗血管生成治疗面临的可能并发症,将影响到该治疗的时机选择及进一步的临床推广价值。

笔者通过犬模拟结肠癌根治术模型,初步探讨 SU6668 对结肠癌术后肠吻合口愈合的影响^[18]。将 32 条犬行模拟结肠癌根治术,术后随机分为 4 组,每组 8 头。手术当天始,分别自腹腔注射:(对照组)、5-氟尿嘧啶(30 mg/kg, 5-FU 组)、SU6668 制剂(65 mg/kg, SU6668 组)、5-FU 与 SU6668 联合应用(5-FU 30 mg/kg; SU6668 65 mg/kg, 联用组),每天 1 次,共用 12d。术后第 12 天,所有动物再次剖腹探查,均无吻合口瘘的发生。对照组、5-FU 组、SU6668 组、联用组的吻合口破裂压、羟脯氨酸含量皆无显著性差异。组织病理学检查结果显示各组吻合口肠黏膜上皮移行,愈合良好。电镜下,各组吻合口组织均见胶原纤维交叉紧密排列,其间有大量成纤维细胞。研究结果显示, SU6668 单独或与腹腔化疗药物联用时,均对结肠癌术后肠吻合口愈合无不良影响。SU6668 对肿瘤的血管生成与结肠癌术后肠吻合口的血管发生作用的可能特异性,有望成为结肠癌抗血管生成治疗的重要基础。

6 展 望

目前,结肠癌的抗血管生成治疗主要存在两个问题:(1)结肠癌患者临床试验的疗效是否与对实验性动物肿瘤的疗效相似,尚待进一步临床随访、观察;(2)长期应用对患者会否产生毒副作用,包括对结肠癌术后肠吻合口愈合

有无不良影响,仍待进一步临床研究。相信随着对肿瘤转移分子机制的逐步深入了解,可供选择的作用位点已越来越多,从而为研制更高效、低毒副作用的血管生成抑制剂开辟了广阔前景。可以预见,结肠癌的抗血管生成治疗将对临床医生选择手术方式、制定综合治疗方案,提高结肠癌病人 5 年生存率都具有重要意义。

参考文献:

- [1] Ellis LM. Angiogenesis and its role in colorectal tumor and metastasis formation [J]. *Semin Oncol*, 2004, 31(6): 3-9.
- [2] Gupta K, Zhang J. Angiogenesis: a curse or cure? [J]. *Postgrad Med J*, 2005, 81(954): 236-242.
- [3] Paku S, Kopper L, Nagy P. Development of the vasculature in "pushing-type" liver metastases of an experimental colorectal cancer [J]. *Int J Cancer*, 2005, 115(6): 893-902.
- [4] Paku S, Kopper L, Nagy P. Development of the vasculature in "pushing-type" liver metastases of an experimental colorectal cancer [J]. *Int J Cancer*, 2005, 11: 893-902.
- [5] Velde EA, Reijerkerk A, Brandsma D, et al. Early endostatin treatment inhibits metastatic seeding of murine colorectal cancer cells in the liver and their adhesion to endothelial cells [J]. *Br J Cancer*, 2005, 92(4): 729-735.
- [6] 张国锋,王元和,王强. 人结肠癌裸鼠原位种植转移模型的建立[J]. *中国普通外科杂志*, 2003, 12(11): 823-826.
- [7] Hanrahan V, Currie MJ, Gunningham, et al. the angiogenic switch for vascular endothelial growth factor (VEGF)-A, VEGF-B, VEGF-C, and VEGF-D in the adenoma-carcinoma sequence during colorectal cancer progression [J]. *J Pathol*, 2003, 200(2): 183-194.
- [8] Rehman, Jayson, Molecular imaging of antiangiogenic agents [J]. *Oncologist*, 2005, 10(2): 92-103.

- [9] Aggarwal S, Chu E. Current therapies for advanced colorectal cancer [J]. *Oncology - (Williston-Park)*, 2005, 19(5): 589-595.
- [10] Wiedmann MW, Caca K. Molecularly targeted therapy for gastrointestinal cancer [J]. *Curr Cancer Drug Targets*, 2005, 5(3): 171-193.
- [11] DePrimo SE, Wong LM, Khattry DB, et al. Expression profiling of blood samples from an SU5416 Phase III metastatic colorectal cancer clinical trial: a novel strategy for biomarker identification [J]. *BMC Cancer*, 2003, 3(1): 3.
- [12] 张国锋,王元和,王强,等. SU6668 抑制结肠癌生长和转移的实验研究[J]. *中华普通外科杂志*, 2002, 17(4): 407-409.
- [13] Tucker GC. Integrins: molecular targets in cancer therapy [J]. *Curr Oncol Rep*, 2006, 8(2): 96-103.
- [14] Dreys J, Zirgibel U, Schmidt-Gersbach CI. Soluble markers for the assessment of biological activity with PTK787/ZK 222584 (PTK/ZK), a vascular endothelial growth factor receptor (VEGFR) tyrosine kinase inhibitor in patients with advanced colorectal cancer from two phase I trials [J]. *Ann Oncol*, 2005, 16(4): 558-565.
- [15] Hoff PM, Wolff RA, Bogaard K, et al. A Phase I Study of Escalating Doses of the Tyrosine Kinase Inhibitor Sema-5416 in Combination with Irinotecan in Patients with Advanced Colorectal Carcinoma [J]. *Jpn J Clin Oncol*, 2006, 36(2): 100-103.
- [16] 张国锋,王元和,张明敖,等. SU5416 对结肠癌生长和转移抑制作用的实验研究[J]. *中华胃肠外科杂志*, 2001, 4(3): 185-188.
- [17] 张国锋,王元和,王强. SU6668 对结肠癌术后吻合口愈合的影响[J]. *中华实验外科杂志*, 2003, 20(10): 877-878.