

doi: 10.3872/j.issn.1007-385X.2015.05.018

· 综 述 ·

血管生成在肝细胞癌发病机制中的作用研究进展

The study of angiogenesis in the development of hepatocellular carcinoma

张相 综述;韩岩梅 审阅(第二军医大学免疫学研究所,医学免疫学国家重点实验室,上海 200433)

[摘要] 肝细胞癌是原发性肝癌中最常见的一种,其全球发病率和病死率分别位居恶性肿瘤中的第六位和第三位。血管生成是促进肝细胞癌发生、发展的关键生物学过程,其涉及多种肿瘤微环境的细胞和分子组分。其中细胞组分包括肝细胞癌内皮细胞、周皮细胞、肝脏星形细胞和肿瘤浸润的淋巴细胞等;分子组分则包括 VEGF、FGF、血管生成素等生长因子和细胞因子。这些血管生成相关的细胞和分子机制的阐明,不仅可以加深对肝细胞癌生物学特征的理解,也能为肝细胞癌的抗血管生成治疗提供潜在的药物靶标和新的生物治疗标记物,从而完善或建立新的肝细胞癌治疗方案。本文就目前血管生成在肝细胞癌发生、发展过程中的作用及其相关的细胞、分子机制做一综述,同时简述肝细胞癌治疗的相关进展。

[关键词] 肝细胞癌;血管生成;肿瘤微环境;VEGF;肿瘤治疗

[中图分类号] R735.7; R730.2

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2015)05-0657-06

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是最常见的原发性肝癌,其全球发病率和病死率分别位居恶性肿瘤中的第六位和第三位,且其发病率仍然呈上升趋势^[1]。尽管过去几十年在肝细胞癌的预防与治疗方面取得了显著的进展,但针对晚期肝细胞癌的治疗方案与技术手段仍然极其有限,迫切需要发展新的治疗方法。

近年来,肿瘤微环境逐渐成为肝细胞癌治疗的新靶标^[2]。肿瘤微环境是指肿瘤发展过程中所处的局部微环境,一般分为细胞组分与非细胞组分。其中细胞组分包括各种基质细胞、浸润的淋巴细胞、血管内皮细胞等;非细胞组分则包括各类生长因子、炎性细胞因子、细胞外基质等^[3,4]。肿瘤血管生成是肿瘤微环境相关的关键性生物学过程之一,而这一过程与肿瘤微环境各个组分密切相关。肝细胞癌的一个重要特征就是其病灶具有丰富的血管,在肝细胞癌的发展过程中存在大量的血管新生以及血管异常,并导致肝细胞癌的高转移率与极差的预后^[5],因此,抑制血管生成是一种很有潜力的肝细胞癌的治疗途径,目前也有很大一部分治疗肝细胞癌的药物是基于抗血管生成这一策略研发的^[6-8]。本文将主要讨论近期关于血管生成在肝细胞癌发生发展过程中发挥的作用及其相关的细胞、分子机制,并简单涉及肝细胞癌治疗的相关进展。

1 肿瘤内血管生成的生物学特征

正常机体内促血管生成因子与抑血管生成因子之间的动态平衡处于一种严格调控之下。除了伤口

愈合等过程之外,正常成体组织器官内的血管生成基本上处于一种静止状态。然而肿瘤细胞基因的改变以及肿瘤局部的低氧环境使得机体分泌大量促血管生成因子,导致肿瘤内的血管生成处于一种异常激活状态^[9]。

肿瘤血管生成主要包括血管内皮细胞及其祖细胞的活化、增殖、迁移以及重新组装与成熟等过程^[10]。具体过程如下:(1)促血管生成因子能够活化肿瘤周围的血管内皮细胞,并使得活化的内皮细胞之间的联系变得松弛;(2)肿瘤周围的血管基底膜和细胞外基质被肿瘤细胞分泌的蛋白酶所降解,内皮细胞即以此为突破口开始迁移,形成出芽;(3)来自骨髓的内皮祖细胞以及周皮祖细胞等新生血管的组分也被招募过来,参与新生血管的形成^[11-12]。与正常的血管相比,肿瘤血管的来源更加复杂,比如肿瘤细胞自身具有形成管腔的能力,称之为血管拟态,姜黄素可以抑制这一过程^[13]。肿瘤干细胞样来

[基金项目] 国家科技重大专项课题资助项目(No. 2012ZX10002014-001);国家自然科学基金资助项目(No. 31170843);高等学校全国优秀博士学位论文作者专项资金资助项目(No. 201071)。Project supported by the National Major Project of Science and Technology Program of China(No. 2012ZX10002014-001), the National Natural Science Foundation of China(No. 31170843), and the National Excellent Doctorial Dissertation Foundation of Higher Education of China(No. 201071)

[作者简介] 张相(1989-),男,湖南省娄底市人,博士生,主要从事肿瘤微环境研究,E-mail:sunwenzhix@126.com

[通信作者] 韩岩梅(Han Yanmei, Corresponding author), E-mail:hanyanmei@immunol.org

源的内皮细胞主要来源于正常组织而不是来源于肿瘤组织, 暗示肝细胞癌的情况具有一定的特异性^[16]。此外, 肿瘤内血管由于其发育调控通路的紊乱而存在很大结构与功能方面的异常^[17]。例如肿瘤内的血管直径是不规则的, 其分支方式也是杂乱的, 并缺乏完整的基底膜, 周皮细胞的覆盖也不完全, 会出现轻微出血以及渗漏等情况^[18]。

2 肝细胞癌血管生成相关的肿瘤微环境组分

如上所述, 肝细胞癌是血流供应量很丰富的实体瘤, 肝脏独特的血液供应模式使得肝细胞癌的血管生成具有区别于其他肿瘤的特点^[5]。比如正常肝实质的血液主要由门静脉供给, 而在肝细胞癌的发生、发展过程中存在一个主要由门静脉供血向主要由肝动脉供血的转变^[19-20]。与此相对应的是肝细胞癌在发展过程中伴随着大量的动脉生成以及肝血窦的毛细血管化^[7]。肝细胞癌独特的血管生成模式与其独特的肿瘤微环境密切相关, 下面就选择一些重要的细胞组分和分子组分分别进行讨论。

2.1 细胞组分

2.1.1 内皮细胞 是肿瘤血管的主要缔造者, 对肿瘤血管生成发挥关键作用。肝细胞癌的内皮细胞与正常肝脏内皮细胞存在行为和功能上的差异, 比如肝细胞癌的内皮细胞具有更快的更替速率和更强的运动能力, 高表达 CD105 以及 TGF- β 1。而 TGF- β 1 又反馈性地趋化 CD105 阳性的内皮细胞, 从而促进肝细胞癌血管生成^[21]。同时, 与正常内皮细胞相比, 肝细胞癌内的 CD105 阳性内皮细胞有着更强的血管生成能力和抗药性^[22]。此外, 肝细胞癌内皮细胞还表达一系列血管生成相关受体包括 VEGFR、EGFR、Tie-2、PDGFR 以及趋化因子受体等^[23-24]。这些受体与相应的配体作用后, 可以开启一系列与细胞活化、存活、增殖及迁移相关的信号通路, 从而促进血管生成。近期研究^[25]发现, MiR-146a 可以上调内皮细胞表面 PDGFR 的表达, 从而促进血管生成, 提示新的调控方式和潜在药物靶点。此外, 肝细胞癌内皮细胞表达的 CD31、CD34、CD105 等分子能作为免疫组化的生物标记, 指示肿瘤血管的位置^[18]。

2.1.2 周皮细胞 是一种血管支持细胞, 参与新生血管的成熟。其包绕在内皮细胞周围, 与内皮细胞共同参与血管基底膜的形成, 同时对内皮细胞有营养和机械支持作用^[26]。肝细胞癌肿瘤血管外的周皮细胞包绕松散且不规则, 这种形态可能可以促进肝细胞癌的血道转移^[27]。

2.1.3 肝脏星形细胞 其表达内皮细胞的一系列受体如 VEGFR、PDGFR 和 Tie-2 等, 暗示其在血管生成过程中发挥作用^[28]。有报道^[29]称肝细胞癌细胞与星形细胞共培养可以刺激其产生促血管生成因子如 VEGF 和基质金属蛋白酶 2 (matrix metalloproteinases-2, MMP-2) 的表达。星形细胞还可以通过与肝细胞癌细胞相互作用, 促进血管生成炎症环境的形成^[30]。近期研究^[31]表明, VEGF 激活的肝脏星形细胞在体内外均可以促进肝细胞癌的血管生成, 并促进其转移。此外, 星形细胞还可以通过促进免疫负向调控细胞来间接促进肝细胞癌的发展^[32]。

2.1.4 肿瘤相关巨噬细胞

是肝细胞癌内一种重要的微环境组成细胞, 一般分为 M1 型和 M2 型^[33]。其中主要是 M2 型发挥促血管生成作用, 且其大多表达促血管生成素受体 Tie-2^[34]。这些巨噬细胞具备多种功能包括免疫调节、分泌生长因子以及促血管生成因子等^[35]。肿瘤相关巨噬细胞还能迁移至低氧和血管缺乏区域, 通过释放 VEGF、EGF 等因子促进肿瘤血管生成^[35-36]。

2.2 分子组分

2.2.1 VEGF 是目前在肝细胞癌研究方面最为清楚, 也是最为有效的促血管生成因子。其受体属于酪氨酸耦联受体家族, VEGF 与其受体相互作用, 可以激活数条信号转导通路, 如 PI3K /Akt /MAPK 等, 促进血管内皮细胞的活化、增殖和迁移而发挥血管生成功能^[37-38]。VEGF 在肝细胞癌早期就处于表达逐渐上调状态, 并与肝细胞癌血管密度呈正相关^[39]。尽管肝细胞癌血管丰富, 但肿瘤血管通常发生渗漏以及异常的血流供应, 这会导致肿瘤局部的低氧和坏死。而低氧、坏死和原癌基因活化等因素均能导致 VEGF 的表达上调^[40]。近期发现, 一种 E3 泛素连接酶 Cbx4 在低氧诱导因子 1 α (HIF1- α) 介导的 VEGF 表达上调中发挥关键作用^[41], 并且干扰 HIF1- α 的表达能显著抑制肝细胞癌的血管生成。肝细胞癌病人血清中的 VEGF 水平与肝细胞癌的 VEGF 表达量显著相关, 因而还可以作为肝细胞癌的预后指标^[42-43], 其基因型还能预测肝细胞癌病人的临床治疗效果^[44]。此外, VEGF 还能够以一种非活性状态吸附于细胞外基质上, 当细胞外基质被 MMP-9 等蛋白酶降解时便释放出来发挥作用^[45]。而肝细胞癌的增殖和侵袭经常会导致细胞外基质的降解, 从而增加微环境内的 VEGF 浓度, 进一步促进新生血管形成。最近还有报道^[46], 增加细胞外基质的硬化程度能上调肝细胞癌细胞 VEGF 的表达, 从而促进肿瘤血管生成。与之相应的, 可溶性的

VEGF 诱饵受体 FP3 则由于能阻断 VEGF 而具有很强的抗血管生成作用^[47]。

2.2.2 血管生成素(angiopoietin) 是另一种重要的血管生成相关因子,其不同的亚型有不同的功能,血管生成素及其受体 Tie 这条信号通路一般控制血管的静止。Angiopoietin-1 和 Angiopoietin-2 结合同一个受体;Tie-2。Angiopoietin-1 促进内皮细胞存活并招募周皮细胞促进血管成熟;而 Angiopoietin-2 则拮抗 Angiopoietin-1 的作用,起到激活血管细胞组分^[48]。有文献报道^[49],Angiopoietin-2 与 VEGF 能够协同作用,从而促进肝细胞癌的血管生成。因而 Angiopoietin-2/1 之间的比例可以作为肝细胞癌血管生成状态的一个临床病理参数^[50]。此外,有临床研究^[51]指出,肝细胞癌患者 +/- 肿瘤内高水平的 Angiopoietin-2 是一个预后不良的指标,提示患者生存期的缩短。此外,近期有研究^[52]显示,Angiopoietin-2 能够提高肝细胞癌细胞的阿霉素治疗抵抗。

2.2.3 成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor,FGF) FGF 是一类肝素结合生长因子,其在肝细胞癌肿瘤血管生成中也发挥一定作用^[53]。FGF2 能够通过自分泌的方式促进肝细胞癌侵袭和血管生成^[54]。有报道^[55]FGF2 在人肝细胞癌标本中的表达与肝细胞癌的血管生成程度呈正相关。有研究^[56]表明,FGF2 可以通过调节 MiR-101 促进血管生成,提示 microRNA 可能成为肝细胞癌潜在的治疗靶点。此外,FGF2 还能够协同其他促血管生成因子如 VEGF、Angiopoietin-1、2 等共同促进内皮细胞的增殖、迁移以及血管形成。

2.2.4 内皮抑素 是一种常见的广谱抗血管生成因子,主要通过干扰 VEGF 与 FGF 等促血管生成因子的功能来发挥作用。内皮抑素实际上是一种血管基底膜成分,通过弹性蛋白酶等组织蛋白水解释放出来,可以抑制内皮细胞对 VEGF 和 FGF2 的反应性,并能激活半胱氨酸蛋白酶 caspase3 从而诱导内皮细胞的凋亡^[57-58]。此外,血清中的内皮抑素的水平能够作为肝细胞癌患者的肿瘤血管发生的预测因子^[59]。

3 肝细胞癌抗血管生成治疗

鉴于血管生成在肝细胞癌发生、发展中发挥着重要作用,因此很多治疗肝细胞癌的药物是以抗血管生成为目的研发的,下面选择介绍几种重要的药物。

索拉非尼(sorafenib)是一种口服多重激酶抑制剂,是 FDA 批准的第一个晚期肝细胞癌系统性治疗

药物,也是目前治疗晚期肝细胞癌患者的一线药。索拉非尼靶向 VEGFR、PDGFR 等促血管生成受体以及一些相关的信号转导分子如 Raf 等^[60],但其发挥治疗效应的确切分子机制以及其药物抵抗机制仍然没有得到完全阐明^[61-62]。最近有研究^[63]表明,索拉非尼可以通过阻断 HIF1- α /VEGF 途径发挥作用。肝动脉栓塞化疗会导致肝细胞癌严重缺氧而高表达 VEGF,因而索拉非尼也被应用于经过肝动脉栓塞化疗后肝细胞癌患者的联合治疗^[64-65],此外,最近有报道^[66]称,SL1122-37 作为一种索拉非尼的衍生物,具有比索拉非尼更强的治疗效果。

布立尼布(Brivanib)是 VEGFR 和 FGFR 的双重抑制剂。临床前研究证实其可以在小鼠移植模型中抑制肝细胞癌的生长^[67-68]。目前布立尼布正处于 III 期临床试验阶段,并有希望与索拉非尼一样成为肝细胞癌治疗的一线药物^[69]。然而非特异性的多重激酶抑制剂很可能具有更大的副作用,比如导致高血压、出血、血栓形成和蛋白尿等症状。因此特异性更高的酪氨酸激酶抑制剂如 AZD4547 等正处于研发状态^[70]。

靶向 VEGF 的单克隆抗体药如贝伐单抗(bevacizumab)等也被开发出来,已有研究^[71-73]将贝伐单抗作为单独的或者与其他药物联合用药治疗晚期肝细胞癌。不同靶点药物的联合用药是一种很有前景的肝细胞癌治疗方案,其可以有效降低药物抵抗,目前已经有包括动物模型实验及临床试验等不同层面的尝试性研究被报道^[74-76]。

4 展望

肝细胞癌是一种高度血管化的肿瘤,抗血管生成治疗方案也在肝细胞癌的治疗中发挥着重要作用。但是肝细胞癌仍然是一种治疗手段有限且高病死率的恶性肿瘤,因此急需发展新的治疗方案,如开发能靶向多重血管生成因子的抗血管生成药物和抗血管生成药物与化疗、分子靶向治疗等联合治疗的方案。目前索拉非尼治疗肝细胞癌的分子机制尚不清楚,进一步阐明其分子机制对发现新靶标以及降低其治疗抵抗具有重要意义。此外,指示抗血管生成治疗效果的新生物标志也亟待发现和证实,以便更好地了解肝细胞癌的治疗效果,降低临床成本。有关肝细胞癌的血管生成的研究正在积极深入地展开,相信抗血管治疗在未来肝细胞癌的临床治疗中将会发挥更重要的作用。

[参考文献]

[1] Jemal A, Bray F, Center MM, et al. Global cancer statistics [J].

- CA Cancer J Clin, 2011, 61(2): 69-90.
- [2] Psyrri A, Arkadopoulos N, Vassilakopoulou M, et al. Pathways and targets in hepatocellular carcinoma [J]. *Expert Rev Anticancer Ther*, 2012, 12(10): 1347-1357.
- [3] Hernandez-Gea V, Toffanin S, Friedman SL, et al. Role of the microenvironment in the pathogenesis and treatment of hepatocellular carcinoma [J]. *Gastroenterology*, 2013, 144(3): 512-527.
- [4] Swartz MA, Iida N, Roberts EW, et al. Tumor microenvironment complexity: emerging roles in cancer therapy [J]. *Cancer Res*, 2012, 72(10): 2473-2480.
- [5] Muto J, Shirabe K, Sugimachi K, et al. Review of angiogenesis in hepatocellular carcinoma [J]. *Hepatol Res*, 2015, 45(1): 1-9.
- [6] Folkman J. Angiogenesis: An organizing principle for drug discovery? [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2007, 6(4): 273-286.
- [7] Zhu AX, Duda DG, Sahani DV, et al. HCC and angiogenesis: possible targets and future directions [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2011, 8(5): 292-301.
- [8] Wu SD, Ma YS, Fang Y, et al. Role of the microenvironment in hepatocellular carcinoma development and progression [J]. *Cancer Treat Rev*, 2012, 38(3): 218-225.
- [9] Baeriswyl V, Christofori G. The angiogenic switch in carcinogenesis [J]. *Semin Cancer Biol*, 2009, 19(5): 329-337.
- [10] Hanahan D, Folkman J. Patterns and emerging mechanisms of the angiogenic switch during tumorigenesis [J]. *Cell*, 1996, 86(3): 353-364.
- [11] Patenaude A, Parker J, Karsan A. Involvement of endothelial progenitor cells in tumor vascularization [J]. *Microvasc Res*, 2010, 79(3): 217-223.
- [12] Zhu H, Shao Q, Sun X, et al. The mobilization, recruitment and contribution of bone marrow-derived endothelial progenitor cells to the tumor neovascularization occur at an early stage and throughout the entire process of hepatocellular carcinoma growth [J]. *Oncol Rep*, 2012, 28(4): 1217-1224.
- [13] Chiablaem K, Lirdprapamongkol K, Keeratichamroen S, et al. Curcumin suppresses vasculogenic mimicry capacity of hepatocellular carcinoma cells through STAT3 and PI3K/AKT inhibition [J]. *Anticancer Res*, 2014, 34(4): 1857-1864.
- [14] Ricci-Vitiani L, Pallini R, Biffoni M, et al. Tumour vascularization via endothelial differentiation of glioblastoma stem-like cells [J]. *Nature*, 2010, 468(7325): 824-828.
- [15] Wang R, Chadalavada K, Wilshire J, et al. Glioblastoma stem-like cells give rise to tumourendothelium [J]. *Nature*, 2010, 468(7325): 829-833.
- [16] Ghanekar A, Ahmed S, Chen K, et al. Endothelial cells do not arise from tumor-initiating cells in human hepatocellular carcinoma [J]. *BMC Cancer*, 2013, 13: 485-487.
- [17] Balzarini P, Benetti A, Invernici G, et al. Transforming growth factor-beta1 induces microvascular abnormalities through a down-modulation of neural cell adhesion molecule in human hepatocellular carcinoma [J]. *Lab Invest*, 2012, 92(9): 1297-309.
- [18] Yang Z F, Poon R T. Vascular changes in hepatocellular carcinoma [J]. *Anat Rec (Hoboken)*, 2008, 291(6): 721-734.
- [19] Matsui O, Kobayashi S, Sanada J, et al. Hepatocellular nodules in liver cirrhosis: hemodynamic evaluation (angiography-assisted CT) with special reference to multi-step hepatocarcinogenesis [J]. *Abdom Imaging*, 2011, 36(3): 264-272.
- [20] Choi BI. The current status of imaging diagnosis of hepatocellular carcinoma [J]. *Liver Transpl*, 2004, 10(2 Suppl 1): S20-S25.
- [21] Benetti A, Berenzi A, Gambarotti M, et al. Transforming growth factor-beta1 and CD105 promote the migration of hepatocellular carcinoma-derived endothelium [J]. *Cancer Res*, 2008, 68(20): 8626-8634.
- [22] Xiong YQ, Sun HC, Zhang W, et al. Human hepatocellular carcinoma tumor-derived endothelial cells manifest increased angiogenesis capability and drug resistance compared with normal endothelial cells [J]. *Clin Cancer Res*, 2009, 15(15): 4838-4846.
- [23] Ryschich E, Lizdenis P, Ittrich C, et al. Molecular fingerprinting and autocrine growth regulation of endothelial cells in a murine model of hepatocellular carcinoma [J]. *Cancer Res*, 2006, 66(1): 198-211.
- [24] Yu Q. The dynamic roles of angiopoietins in tumor angiogenesis [J]. *Future Oncol*, 2005, 1(4): 475-484.
- [25] Zhu K, Pan Q, Zhang X, et al. MiR-146a enhances angiogenic activity of endothelial cells in hepatocellular carcinoma by promoting PDGFRA expression [J]. *Carcinogenesis*, 2013, 34(9): 2071-2079.
- [26] Leonardi GC, Candido S, Cervello M, et al. The tumor microenvironment in hepatocellular carcinoma (review) [J]. *Int J Oncol*, 2012, 40(6): 1733-1747.
- [27] Raza A, Franklin MJ, Dudek AZ. Pericytes and vessel maturation during tumor angiogenesis and metastasis [J]. *Am J Hematol*, 2010, 85(8): 593-598.
- [28] Novo E, Cannito S, Zamara E, et al. Proangiogenic cytokines as hypoxia-dependent factors stimulating migration of human hepatic stellate cells [J]. *Am J Pathol*, 2007, 170(6): 1942-1953.
- [29] Sancho-Bru P, Juez E, Moreno M, et al. Hepatocarcinoma cells stimulate the growth, migration and expression of pro-angiogenic genes in human hepatic stellate cells [J]. *Liver Int*, 2010, 30(1): 31-41.
- [30] Couloarn C, Corlu A, Glaise D, et al. Hepatocyte-stellate cell cross-talk in the liver engenders a permissive inflammatory microenvironment that drives progression in hepatocellular carcinoma [J]. *Cancer Res*, 2012, 72(10): 2533-2542.
- [31] Lin N, Chen Z, Lu Y, et al. Role of activated hepatic stellate cells in proliferation and metastasis of hepatocellular carcinoma [J]. *Hepatol Res*, 2015, 45(3): 326-336.
- [32] Zhao W, Zhang L, Xu Y, et al. Hepatic stellate cells promote tumor progression by enhancement of immunosuppressive cells in an orthotopic liver tumor mouse model [J]. *Lab Invest*, 2014, 94(2): 182-191.
- [33] Movahedi K, Laoui D, Gysemans C, et al. Different tumor microenvironments contain functionally distinct subsets of macrophages derived from Ly6C(high) monocytes [J]. *Cancer Res*, 2010, 70(14): 5728-5739.
- [34] Lucas T, Abraham D, Aharinejad S. Modulation of tumor associated macrophages in solid tumors [J]. *Front Biosci*, 2008, 13:

- 5580-5588.
- [35] Lewis CE, Pollard JW. Distinct role of macrophages in different tumor microenvironments [J]. *Cancer Res*, 2006, 66(2): 605-612.
- [36] Biswas SK, Mantovani A. Macrophage plasticity and interaction with lymphocyte subsets: Cancer as a paradigm [J]. *Nat Immunol*, 2010, 11(10): 889-896.
- [37] Carmeliet P, Jain RK. Angiogenesis in cancer and other diseases [J]. *Nature*, 2000, 407(6801): 249-257.
- [38] Vogel C, Bauer A, Wiesnet M, et al. Flt-1, but not Flk-1 mediates hyperpermeability through activation of the PI3-K/Akt pathway [J]. *J Cell Physiol*, 2007, 212(1): 236-243.
- [39] Park YN, Kim YB, Yang KM, et al. Increased expression of vascular endothelial growth factor and angiogenesis in the early stage of multistep hepatocarcinogenesis [J]. *Arch Pathol Lab Med*, 2000, 124(7): 1061-1065.
- [40] Carmeliet P. VEGF as a key mediator of angiogenesis in cancer [J]. *Oncology*, 2005, 69(Suppl 3): 4-10.
- [41] Bertolini F, Shaked Y, Mancuso P, et al. The multifaceted circulating endothelial cell in cancer: towards marker and target identification [J]. *Nat Rev Cancer*, 2006, 6(11): 835-845.
- [42] Poon RT, Lau CP, Cheung ST, et al. Quantitative correlation of serum levels and tumor expression of vascular endothelial growth factor in patients with hepatocellular carcinoma [J]. *Cancer Res*, 2003, 63(12): 3121-3126.
- [43] Zhan P, Qian Q, Yu LK. Prognostic significance of vascular endothelial growth factor expression in hepatocellular carcinoma tissue: A meta-analysis [J]. *Hepatobiliary Surg Nutr*, 2013, 2(3): 148-155.
- [44] Scartozzi M, Faloppi L, SvegliatiBaroni G, et al. VEGF and VEGFR genotyping in the prediction of clinical outcome for HCC patients receiving sorafenib: The ALICE-I study [J]. *Int J Cancer*, 2014, 135(5): 1247-1256.
- [45] Kessenbrock K, Plaks V, Werb Z. Matrix metalloproteinases: regulators of the tumor microenvironment [J]. *Cell*, 2010, 141(1): 52-67.
- [46] Dong Y, Xie X, Wang Z, et al. Increasing matrix stiffness upregulates vascular endothelial growth factor expression in hepatocellular carcinoma cells mediated by integrin beta1 [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014, 444(3): 427-432.
- [47] Yu DC, Lee JS, Yoo JY, et al. Soluble vascular endothelial growth factor decoy receptor FP3 exerts potent antiangiogenic effects [J]. *Mol Ther*, 2012, 20(5): 938-947.
- [48] Tanaka S, Mori M, Sakamoto Y, et al. Biologic significance of angiopoietin-2 expression in human hepatocellular carcinoma [J]. *J Clin Invest*, 1999, 103(3): 341-345.
- [49] Yoshiji H, Kuriyama S, Noguchi R, et al. Angiopoietin 2 displays a vascular endothelial growth factor dependent synergistic effect in hepatocellular carcinoma development in mice [J]. *Gut*, 2005, 54(12): 1768-1775.
- [50] Zhang ZL, Liu ZS, Sun Q. Expression of angiopoietins, Tie2 and vascular endothelial growth factor in angiogenesis and progression of hepatocellular carcinoma [J]. *World J Gastroenterol*, 2006, 12(26): 4241-4245.
- [51] Wada H, Nagano H, Yamamoto H, et al. Expression pattern of angiogenic factors and prognosis after hepatic resection in hepatocellular carcinoma: Importance of angiopoietin-2 and hypoxia-induced factor-1 alpha [J]. *Liver Int*, 2006, 26(4): 414-423.
- [52] Li T, Liu Z, Jiang K, et al. Angiopoietin2 enhances doxorubin resistance in HepG2 cells by upregulating survivin and Ref-1 via MSK1 activation [J]. *Cancer Lett*, 2013, 337(2): 276-284.
- [53] Sandhu DS, Baichoo E, Roberts LR. Fibroblast growth factor signaling in liver carcinogenesis [J]. *Hepatology*, 2014, 59(3): 1166-1173.
- [54] Kin M, Sata M, Ueno T, et al. Basic fibroblast growth factor regulates proliferation and motility of human hepatoma cells by an autocrine mechanism [J]. *J Hepatol*, 1997, 27(4): 677-687.
- [55] El-Assal ON, Yamanoi A, Ono T, et al. The clinicopathological significance of heparanase and basic fibroblast growth factor expressions in hepatocellular carcinoma [J]. *Clin Cancer Res*, 2001, 7(5): 1299-1305.
- [56] Presta M, Dell'Era P, Mitola S, et al. Fibroblast growth factor/fibroblast growth factor receptor system in angiogenesis [J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2005, 16(2): 159-178.
- [57] O'reilly MS, Boehm T, Shing Y, et al. Endostatin: An endogenous inhibitor of angiogenesis and tumor growth [J]. *Cell*, 1997, 88(2): 277-285.
- [58] Dixelius J, Larsson H, Sasaki T, et al. Endostatin-induced tyrosine kinase signaling through the Shb adaptor protein regulates endothelial cell apoptosis [J]. *Blood*, 2000, 95(11): 3403-3411.
- [59] Dhar DK, Ono T, Yamanoi A, et al. Serum endostatin predicts tumor vascularity in hepatocellular carcinoma [J]. *Cancer*, 2002, 95(10): 2188-2195.
- [60] Sampat KR, O'neil B. Antiangiogenic therapies for advanced hepatocellular carcinoma [J]. *Oncologist*, 2013, 18(4): 430-438.
- [61] Lee JK, Abou-Alfa GK. An update on clinical trials in the treatment of advanced hepatocellular carcinoma [J]. *J Clin Gastroenterol*, 2013, 47(Suppl): S16-S19.
- [62] Germano D, Tinessa V, Barletta E, et al. Targeted therapy for advanced hepatocellular cancer in the elderly: focus on sorafenib [J]. *Drugs Aging*, 2013, 30(11): 887-892.
- [63] Xu M, Zheng YL, Xie XY, et al. Sorafenib blocks the HIF-1alpha/VEGFA pathway, inhibits tumor invasion, and induces apoptosis in hepatoma cells [J]. *DNA Cell Biol*, 2014, 33(5): 275-281.
- [64] Dufour JF, Hoppe H, Heim MH, et al. Continuous administration of sorafenib in combination with transarterial chemoembolization in patients with hepatocellular carcinoma: results of a phase I study [J]. *Oncologist*, 2010, 15(11): 1198-1204.
- [65] Sergio A, Cristofori C, Cardin R, et al. Transcatheter arterial chemoembolization (TACE) in hepatocellular carcinoma (HCC): The role of angiogenesis and invasiveness [J]. *Am J Gastroenterol*, 2008, 103(4): 914-921.
- [66] Qin Y, Lu Y, Wang R, et al. SL1122-37, a novel derivative of sorafenib, has greater effects than sorafenib on the inhibition of human hepatocellular carcinoma (HCC) growth and prevention of an-

- giogenesis [J]. Biosci Trends, 2013, 7(5): 237-244.
- [67] Huynh H, Ngo VC, Fargnoli J, et al. Brivanibalaninate, a dual inhibitor of vascular endothelial growth factor receptor and fibroblast growth factor receptor tyrosine kinases, induces growth inhibition in mouse models of human hepatocellular carcinoma [J]. Clin Cancer Res, 2008, 14(19): 6146-6153.
- [68] Yang J, Song KD, Kim J H, et al. Characterization of brivanib therapy response in hepatocellular carcinoma xenografts using (1) H HR-MAS spectroscopy and histopathology [J]. Mol Med Rep, 2013, 8(5): 1425-1431.
- [69] Llovet JM, Decaens T, Raoul JL, et al. Brivanib in patients with advanced hepatocellular carcinoma who were intolerant to sorafenib or for whom sorafenib failed: results from the randomized phase III BRISK-PS study [J]. J Clin Oncol, 2013, 31(28): 3509-3516.
- [70] Gavine PR, Mooney L, Kilgour E, et al. AZD4547: an orally bioavailable, potent, and selective inhibitor of the fibroblast growth factor receptor tyrosine kinase family [J]. Cancer Res, 2012, 72(8): 2045-2056.
- [71] Hsu CH, Yang TS, Hsu C, et al. Efficacy and tolerability of bevacizumab plus capecitabine as first-line therapy in patients with advanced hepatocellular carcinoma [J]. Br J Cancer, 2010, 102(6): 981-986.
- [72] Sun W, Sohal D, Haller DG, et al. Phase 2 trial of bevacizumab, capecitabine, and oxaliplatin in treatment of advanced hepatocellular carcinoma [J]. Cancer, 2011, 117(14): 3187-3192.
- [73] Thomas MB, Morris JS, Chadha R, et al. Phase II trial of the combination of bevacizumab and erlotinib in patients who have advanced hepatocellular carcinoma [J]. J Clin Oncol, 2009, 27(6): 843-850.
- [74] Yoshiji H, Noguchi R, Namisaki T, et al. Combination of sorafenib and angiotensin- II receptor blocker attenuates preneoplastic lesion development in a non-diabetic rat model of steatohepatitis [J]. J Gastroenterol, 2014, 49(10): 1421-1429.
- [75] Nasr M, Selima E, Hamed O, et al. Targeting different angiogenic pathways with combination of curcumin, leflunomide and perindopril inhibits diethylnitrosamine-induced hepatocellular carcinoma in mice [J]. Eur J Pharmacol, 2014, 723: 267-275.
- [76] Shen J, Sun H, Meng Q, et al. Simultaneous inhibition of tumor growth and angiogenesis for resistant hepatocellular carcinoma by Co-delivery of sorafenib and survivin small hairpin RNA [J]. Mol Pharm, 2014, 11(10): 3342-3351.
- [收稿日期] 2015 - 05 - 22 [修回日期] 2015 - 09 - 10
[本文编辑] 阮芳铭

· 科技动态 ·

肥大细胞表面受体 MRGPRB2 介导药物引起的类过敏反应

MRGPRB2 属于 MAS-相关 G 蛋白偶联受体超家族,该家族在人类中只有四个基因: *MrgX1-X4*。但是在小鼠得到了扩增,增加到 32 个基因: *MrgprA1-A22*, *MrgprB1-B13*, *MrgprC1-C14*, and *MrgprD-G*。其主要表达在小鼠的背根神经节中感知伤疼痛的神经元表面。目前研究较清楚的是 *MrgX1*(小鼠体内的同源基因为 *A3*, *C11*)主要介导了抗疟疾药氯喹引起的瘙痒反应。

早在 2006 年,已经研究证明人类 *MrgX2* 主要分布在肥大细胞上,其可能是基础促分泌素的受体,介导肥大细胞的活化。那么在小鼠体内又是怎么样呢?

作者首先在小鼠的肥大细胞中找到 *MrgX2* 的同源基因 *Mrgprb2*。在 HEK293 细胞中过表达 *Mrgprb2* 和 *Gal5* 后,当受到基础促分泌素刺激时,HEK293 细胞可以检测到钙离子的内流。作者构建了 *Mrgprb2* 启动子后插入 eGFP-Cre 重组酶的转基因小鼠,将该小鼠和 Cre 重组酶报告小鼠杂交后,荧光蛋白的表达指示 *Mrgprb2* 的表达。通过该实验证实了 *Mrgprb2* 特异性表达在结缔组织肥大细胞表面,它可以作为鉴定结缔组织肥大细胞的一个标志。

进而,作者通过锌指核酸酶(Zinc-finger nuclease, ZFN)技术构建了 *Mrgprb2* 基因移码突变的小鼠,该小鼠无法表达完整的 *Mrgprb2* 蛋白,等同于 *Mrgprb2* 基因缺失小鼠。当用基础促分泌素刺激突变小鼠腹腔肥大细胞时,无法引起肥大细胞的钙离子内流。但是突变小鼠腹腔肥大细胞可以对 IGE 交联或者分泌素正常应答。因此说明 *Mrgprb2* 特异性识别基础促分泌素。当对 *Mrgprb2* 突变小鼠足垫注射肥大细胞激动剂 48/80 时,无法诱导小鼠足垫的肿胀;但是当对突变小鼠体内注射 ANTI-IGE 时,可以诱导和 WT 小鼠等同的过敏反应;当用临床上有过敏反应的肽能类药物如艾替班特(缓激肽拮抗药)等刺激突变小鼠腹腔肥大细胞时,肥大细胞无应答;最后作者证明一些小分子治疗药如氟喹诺酮类抗生素也是通过 *Mrgprb2* 活化肥大细胞的。当运用 siRNA 干扰技术降低人类肥大细胞系 LAD2 细胞中 *Mrgprb2* 表达时,将会降低细胞对基础促分泌素和药物的反应。

总之,该研究鉴定了肥大细胞特异性膜表面分子 *Mrgprb2* 是基础促分泌素和众多引起类过敏反应药物的受体,使得该受体成为吸引人的药物靶点,制备出在人体中阻断 *Mrgprx2* 的小分子化合物,将能够抑制多种药物的过敏反应。

[李志清摘译,刘书逊审阅. Benjamin D. McNeil, Priyanka Pundir, Sonya Meeker, et al. Nature, 2015, 519(7542): 237-241.]