

以血管内皮生长因子及其受体为靶点的抗肿瘤药的研究进展^Δ

吕 畅*,王红芳,阎雪莹^Δ(黑龙江中医药大学药学院,哈尔滨 150040)

中图分类号 R966 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)13-1851-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.13.36

摘 要 目的:为进一步研究以血管内皮生长因子(VEGF)及其受体(VEGFR)为靶点的抗肿瘤药提供参考。方法:以“血管内皮生长因子”“血管内皮生长因子受体”“抗肿瘤”“VEGF”“VEGFR”“Antitumor”等为关键词,组合检索1971年1月—2016年1月在ScienceDirect、PubMed、Elsevier、中国知网、万方等中英文数据库中关于以VEGF/VEGFR为靶点的抗肿瘤药的作用机制文献并进行综述。结果与结论:共查阅到相关文献200余篇,其中有效文献为34篇。以VEGF/VEGFR为靶点的抗肿瘤药包括单克隆抗体如贝伐单抗、重组融合蛋白VEGF-Trap如阿柏西普、酪氨酸激酶抑制剂如索拉非尼、天然化合物如鼠李素等,该类药均通过抑制肿瘤新血管生成而达到抗肿瘤的效果,但应用数月后存在易产生耐药性、单一靶点治疗疗效有限的问题。针对以上问题,建议开发抑制多靶点、多通路的抗肿瘤血管生成药,并综合应用放化疗、中草药及其他治疗方法及与P-gp蛋白抑制剂联合应用。
关键词 VEGF/VEGFR;抗肿瘤;靶点;血管生成;新药

肿瘤组织的生长必须依靠新血管生成来提供足够的氧气和营养物质来维持。针对这一特点,开发以抗血管生成的抗肿瘤药物已成为热点。血管生成的过程是复杂的,从预先存在的血管中通过出芽形态发生、套叠的生长、分裂和分化成毛细血管而形成新血管^[1]。该过程涉及多因子多信号,包括成纤维细胞生长因子(FGF)、血管生成营养素、白细胞介素(IL)-1、IL-8以及一些小分子的脂类、核苷酸及维生素等,其中血管内皮生长因子(VEGF)家族在该过程中起着关键作用^[2]。美国哈佛大学Folkman J博士提出著名的Folkman理论:一旦切断肿瘤新血管生成所需的营养供给,肿瘤将停止生长、萎缩直至死亡^[3]。该理论被认为是VEGF临床应用的基础。

笔者以“血管内皮生长因子”“血管内皮生长因子受体”“抗肿瘤”“VEGF”“VEGFR”“Antitumor”等为关键词,组合检索1971年1月—2016年1月在ScienceDirect、PubMed、Elsevier、中国知网、万方等中英文数据库中关于以VEGF/VEGFR为靶点的抗肿瘤药的作用机制文献并进行分析。结果,共查阅到相关文献200余篇,其中有效文献为34篇。现就VEGF家族生物学特性及针对VEGF及其受体(VEGFR)为靶点的抗肿瘤化学药、抗肿瘤天然化合物及靶向VEGF/VEGFR的抗肿瘤药物、与其他药物及治疗方法联合应用的研究进展作介绍。

1 VEGF家族的生物学特性

VEGF是受体酪氨酸激酶(RTKs)家族的成员,是最重要的促血管形成和增加血管通透性的诱导因子之一^[4]。VEGF目前认为有5个成员,即VEGF-A、VEGF-B、VEGF-C、VEGF-D和胎盘生长因子(PGF);3个受体,即VEGFR1、VEGFR2、VEGFR3^[5]。VEGFR是一类酪氨酸激酶跨膜蛋白,VEGFR1能够结合VEGF-A、VEGF-B和PGF;VEGFR2主要被VEGF激活;VEGFR3由VEGF-C和VEGF-D激活^[6]。其中VEGFR2是血管生成和有丝分裂过程主要的VEGF信号转导受体^[7]。VEGF与VEGFR在内皮细胞表面上的结合可激活细胞内酪氨酸激酶,导致酪氨酸磷酸化和磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)的激活,其次是丝氨酸/苏氨酸激酶和3个丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)成

员(ERK1/2、P38和JNK/SAPK)的活化,刺激肿瘤血管内皮细胞的增生,增加肿瘤血管通透性,为肿瘤浸润和转移提供适宜的基础^[8]。

2 以VEGF为靶点的抗肿瘤化学药

2.1 单克隆抗体

临床上一些VEGF抑制剂已经开发并用于抗肿瘤。第一个血管生成抑制剂贝伐单抗系由瑞士罗氏公司生产,是抗VEGF人源化单克隆抗体,2004年2月经美国FDA批准用于一线治疗结直肠癌、非小细胞肺癌(NSCLC)和转移的肾细胞癌^[9]。近年来研究发现其还可以用于治疗卵巢癌。Smerdel MP等^[10]研究贝伐单抗在多重耐药卵巢癌患者体内的作用效果,以及在VEGF、VEGFR1、VEGFR2和VEGF基因多态性患者中的可预测水平值,结果发现所有治疗患者的无进展生存期(PFS)为5.9个月,总生存期(OS)为8.6个月,血清VEGF水平下降。这证明贝伐单抗具有一定的抗癌活性,由此为肿瘤治疗提供了新思路。近年来,人们着眼于贝伐单抗新剂型的研究,2011年纪艳丽^[11]将贝伐单抗制成贝伐单抗聚乳酸-羟基乙酸共聚物(PLGA)缓释微球,用于治疗新生血管性眼病。贝伐单抗的生物类似药FKB238也已被开发用于治疗结直肠癌、乳腺癌、Ⅱ期NSCLC等多种实体瘤,并于2014年12月在欧洲开始了Ⅰ期临床试验^[12]。

2.2 VEGF-Trap

VEGF-Trap也是一种血管生成抑制剂,是一种重组融合蛋白,对人类和鼠VEGF-A、VEGF-B及PGF具有高亲和性。美国FDA批准VEGF-Trap可与亚叶酸(亚叶酸钙)、5-氟尿嘧啶和伊立替康联合使用治疗转移性结直肠癌^[13]。该类药物有Regeneron公司研发的阿柏西普(Aflibercept)、成都康弘生物科技公司研发的KH903等。注射剂阿柏西普在2011年11月18日获得美国FDA批准用于治疗湿性老年黄斑变性^[14]。不同于人源化的单克隆抗体,阿柏西普完全由人类蛋白质序列构成,对比贝伐单抗,能够特异性抑制VEGF-A。临床前研究已经证实阿柏西普在不同类型的肿瘤范围内有活性^[15]。与其他VEGF抑制剂相比,其具有以下几个潜在的优点:相比于人源化单克隆抗体有更强的VEGF-A结合力,还能结合具有独立促血管生成作用的VEGF-B和PGF;与在其他动物体内研究的可溶性受体相比,有更长的循环半衰期^[16]。KH903在2008年进入Ⅰ期临床试验,在小鼠肝癌Hep3B模型上,KH903的抗肿瘤效果比已上市的贝伐单抗更为显著^[17]。

尽管抗VEGF疗法在临床上抗肿瘤比较成功,但应用抗

Δ 基金项目:黑龙江省教育厅科学技术研究重点项目(No. 12521z022)

* 硕士研究生。研究方向:缓控释制剂。E-mail:857201374@qq.com

通信作者:教授,硕士生导师。研究方向:缓控释制剂、中药体内代谢、中药新药研发。电话:0451-87266907。E-mail:15159267@qq.com

VEGF 制剂数月后,晚期癌症患者常会对治疗产生耐药性^[18]。因此,肿瘤针对抗 VEGF 疗法的抗性已经成为抗血管生成的一大挑战。研究表明,对抗 VEGF 抑制剂的机制可能涉及到多种信号传导途径,例如 FGF、Dll4、PGF/VEGFR1 和 VEGF-C/VEGFR2,至少抑制其中的一些途径,可以增加 VEGF 抑制剂的疗效,临床试验正在进行该假设的测试^[19]。

3 以 VEGFR 为靶点的抗肿瘤化学药

3.1 酪氨酸激酶抑制剂

索拉非尼(Sorafenib)是由德国拜耳公司和 Onyx 药业公司从肿瘤的发生机制和肿瘤生长需要新生血管提供营养入手联合研制的多靶点新药,是首个口服多激酶抑制剂,2005 年 12 月经美国 FDA 批准作为治疗肿瘤的一线药物上市。索拉非尼具有双重的抗肿瘤作用,既可通过阻断由 Raf/MEK/ERK 介导的细胞信号传导通路而直接抑制肿瘤细胞的增殖,还可通过作用于 VEGFR/血小板衍生生长因子受体(PDGR),抑制新生血管的形成和切断肿瘤细胞的营养供应而达到遏制肿瘤生长的目的^[20]。Lim SM 等^[21]将索拉非尼与厄洛替尼合用治疗晚期 NSCLC,Ⅱ期临床试验显示出抗肿瘤效果和良好的耐受性。但 Paz-Ares L 等^[22]指出三/四线索拉非尼治疗复发/难治 NSCLC 显著增加患者的 PFS,并没有显著增加 OS。目前,人们着眼于索拉非尼新剂型的研究,Lin TT 等^[23]制备装载索拉非尼的 PLGA 纳米粒用于治疗肝纤维化,以降低毒性和改善生物利用度。

3.2 VEGFR 抑制剂

VEGFR2 已成为抗血管生成治疗癌症的重要靶点,已上市的 VEGFR2 抑制剂有凡德他尼(Vandetanib)以及雷莫芦单抗(Ramucirumab)。凡德他尼是 VEGFR 和表皮生长因子受体(EGFR)信号传导的口服抑制剂,在之前一系列治疗晚期 NSCLC 患者的Ⅲ期临床试验中已证明,凡德他尼作为单用以及与化疗联合均显示较好的抗肿瘤活性^[24-25]。雷莫芦单抗是一种新型的人 IgG1 单克隆抗体,其选择性地抑制 VEGFR2 和阻滞 VEGFR2 相关的信号和激活通路,在许多不同的肿瘤类型,包括胃癌中均有潜在的治疗作用。多个试验结果表明,雷莫芦单抗单用以及与化疗联合使用都显示出较高活性^[26]。

目前还有几种口服小分子 VEGFR2 抑制剂正处于临床试验^[27],例如尼达尼布[Nintedanib(BIBF1120)],是一种 6-甲氧基羰基取代的吡啶酮衍生物,该化合物能作用于 VEGFR、PDGR 和 FGFR 三重血管激酶,对 VEGF 敏感的膀胱内皮细胞和平滑肌内皮细胞均具有良好的抑制细胞增殖作用。目前正在进行关于尼达尼布的Ⅲ期临床试验,考察其治疗 NSCLC、卵巢癌及其他恶性实体瘤的疗效^[28]。Foretinib(GSK1363089)是一种多靶点酪氨酸激酶抑制剂,对 VEGFR 具有特异性抑制作用,在与舒尼替尼联用治疗肾细胞癌的Ⅰ期临床试验中发现,其可以增强肾细胞癌对舒尼替尼的响应^[29]。

4 以 VEGF/VEGFR 为靶点的抗肿瘤天然化合物

由于中草药具有较低的毒副作用及抗耐药等特点,从中草药中挖掘抗血管生成活性成分正在吸引越来越多人的关注。鼠李秦素(Rharnazin)是从青天葵(*Nervilia fordii* Schltr)中发现的可能干预肿瘤血管生成的一种天然化合物。多项研究已经报道,鼠李秦素能显著地抑制 VEGF 诱导的 VEGFR2 磷酸化和下游信号转导途径的激活,明显减轻磷酸化 MAPK、磷酸化蛋白激酶 B(Akt)和磷酸化转录活化因子 3(STAT3)在肿瘤组织中的表达,可以作为一种新颖、有效的 VEGFR2 抑制剂,用于抑制肿瘤血管生成和增长^[30]。

马钱子碱也可抑制 VEGFR2 的下游蛋白激酶,其中包括局部黏着斑激酶(FAK)、细胞外信号反应激酶(ERK)、Akt 和

雷帕霉素靶蛋白(mTOR),并进一步下调内皮细胞 VEGF、一氧化氮(NO)、IL-6、IL-8、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)和干扰素的水平。研究表明,马钱子碱可通过靶向作用于 VEGFR2,抑制血管生成,从而有望成为一种有效的抗肿瘤候选药^[31]。

5 与其他药物及治疗方法的联合应用

Volk LD 等^[32]证明,白蛋白-紫杉醇和贝伐单抗在消除大鼠原位乳腺肿瘤和预存转移有协同作用。白蛋白-紫杉醇能瞬时抑制 MDA-MB-231 荷瘤小鼠原发肿瘤,使抑制率由 70% 增长到 90%,但对转移没有影响,贝伐单抗与之合用能够使应答率达 99%。此组合方案能显著减少或消除在 MDA-MB-231 和 MDA-MB-435 肿瘤模型中先前存在的淋巴结和远处转移。

Ducreux M 等^[33]进行了一项Ⅱ期临床试验,将贝伐单抗与氟尿嘧啶联合应用治疗渐进转移性分化良好的胰腺内分泌肿瘤。患者 34 例,平均 PFS 为 23.7 个月,88% 的患者 OS 达 24 个月,没有观察到预期之外的毒性。这种组合对肿瘤的治疗是有益的,表明化疗药与抗 VEGF 抗体合用疗效更好,值得Ⅲ期临床试验进一步观察。

放射治疗作为抗肿瘤的手段之一,对肿瘤细胞有直接或间接杀伤作用,但也可引起肿瘤血管生成活跃、VEGF 分泌增加。考虑到将肿瘤血管生成抑制剂与放疗结合应用可以降低放疗的不利作用,Becker S 等^[34]将贝伐单抗联合放疗用于抗肿瘤治疗,发现在放疗前 2 h 给予贝伐单抗比单一放疗有更好的效果。组织学结果证实了在该组合治疗中肿瘤坏死的百分比增加,新血管的生成显著减少。

6 结语

根据 Folkman J 博士及过去十年内相关领域研究,见证了单克隆抗体和酪氨酸激酶抑制剂等对肿瘤的抑制效果,但同时也发现临床上这些药物的应用效果已小于预期值。部分原因是由于此前未料到的反馈回路引发的不良反应、单一用药的不理想治疗效果以及耐药情况的发生。针对以上问题,提示对肿瘤治疗的研究可从以下几个方面展开:(1)开发抑制多靶点、多通路的抗肿瘤血管生成药物,避免针对单一靶点或通路而引起其他通路的代偿性增强。例如舒尼替尼为口服小分子多靶点受体酪氨酸激酶抑制剂,具有抑制肿瘤血管生成和抗肿瘤细胞生长的多重作用。(2)着眼于抗肿瘤新血管生成药物与放疗、中草药及其他治疗方法的综合应用,协同增强药效,以降低毒副作用。(3)针对抗肿瘤血管生成药物连续数月应用产生的耐药性,可以考虑将其与 P 糖蛋白抑制剂联合应用,提高患者的生存率。相信在不久的将来,在开发特异性更强、疗效和安全性更好的肿瘤靶向药物上会取得更大进展。

参考文献

- [1] Zhang LD, Chen L, Zhang M, *et al.* Downregulation of ERK α inhibits angiogenesis in human umbilical vein endothelial cells through regulating VEGF production and PI3K/Akt/STAT3 signaling pathway[J]. *Eur J Pharmacol*, 2015, doi:10.1016/j.ejphar.2015.11.014.
- [2] Ebos JM, Kerbel RS. Antiangiogenic therapy: impact on invasion, disease progression, and metastasis[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2011, 8(4):210.
- [3] Folkman J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications[J]. *N Engl J Med*, 1971, 285(21):1 182.
- [4] Li Y, Fu SY, Wang LH, *et al.* Copper improves the anti-angiogenic activity of disulfiram through the EGFR/Src/VEGF pathway in gliomas[J]. *Cancer Lett*, 2015, 369(1): 86.

- [5] Andraweera PH, Dekker GA, Laurence JA, *et al.* Placental expression of VEGF family mRNA in adverse pregnancy outcomes[J]. *Placenta*, 2012, 33(6): 467.
- [6] Rapisarda A, Melillo G. Role of the VEGF/VEGFR axis in cancer biology and therapy[J]. *Adv Cancer Res*, 2012, doi: 10.1016/B978-0-12-386503-8.00006-5.
- [7] Li CM, Man XY, Li W, *et al.* Regulation of adhesion by vascular endothelial growth factor in HaCaT cells[J]. *Mol Cell Biochem*, 2011, 346(1/2): 173.
- [8] Behl T, Kotwani A. Exploring the various aspects of the pathological role of vascular endothelial growth factor (VEGF) in diabetic retinopathy[J]. *Pharmacol Res*, 2015, doi: 10.1016/j.phrs.2015.05.013.
- [9] Eichholz A, Merchant S, Gaya AM. Anti-angiogenesis therapies: their potential in cancer management[J]. *Oncol Targets Ther*, 2010, 3(1): 69.
- [10] Smerdel MP, Steffensen KD, Waldstrøm M, *et al.* The predictive value of serum VEGF in multiresistant ovarian cancer patients treated with bevacizumab[J]. *Gynecol Oncol*, 2010, 118(2): 167.
- [11] 纪艳丽. 贝伐单抗-PLGA缓释微球兔眼玻璃体腔注射的药代动力学及药物分布研究[D]. 大连: 大连医科大学, 2011.
- [12] 生物谷. 阿斯利康与富士胶片携手共同开发罗氏贝伐单抗(Avastin)生物类似药[EB/OL]. [2015-07-27]. <http://www.yigoonet.com/article/22317167.html>.
- [13] Syed YY, McKeage K. Aflibercept: a review in metastatic colorectal cancer[J]. *Drugs*, 2015, 75(12): 1 435.
- [14] 徐蓓, 赵志刚, 刘桂英. 治疗黄斑疾病的新型血管内皮生长因子抑制剂阿柏西普[J]. *中国新药杂志*, 2013, 22(6): 617.
- [15] Teng LS, Jin KT, He KF, *et al.* Clinical applications of VEGF-trap (aflibercept) in cancer treatment[J]. *J Chin Med Assoc*, 2010, 73(9): 449.
- [16] Twardowski P, Stadler WM, Frankel P, *et al.* Phase II study of aflibercept (VEGF-trap) in patients with recurrent or metastatic urothelial cancer, a California cancer consortium trial[J]. *Urology*, 2010, 76(4): 923.
- [17] 赵小峰, 董浩, 黄晓平, 等. 以VEGF/VEGFR为靶点的肝癌药物研究进展[J]. *海峡药学*, 2009, 21(7): 22.
- [18] Li D, Xie K, Ding G, *et al.* Tumor resistance to anti-VEGF therapy through up-regulation of VEGF-C expression[J]. *Cancer Lett*, 2014, 346(1): 45.
- [19] Ferrara N. Pathways mediating VEGF-independent tumor angiogenesis[J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2010, 21(1): 21.
- [20] Chen Y, Huang Y, Reiberger T, *et al.* Differential effects of sorafenib on liver versus tumor fibrosis mediated by stromal derived factor 1 alpha/C-X-C receptor type 4 axis and myeloid differentiation antigen-positive myeloid cell infiltration in mice[J]. *Hepatology*, 2014, 59(4): 1 435.
- [21] Lim SM, Cho BC, Kim SW, *et al.* A multicenter phase II study of sorafenib in combination with erlotinib in patients with advanced non-small cell lung cancer (KCSG-0806) [J]. *Lung Cancer*, 2016, doi: 10.1016/j.lungcan.2015.12.005.
- [22] Paz-Ares L, Hirsh V, Zhang L, *et al.* Monotherapy administration of sorafenib in patients with non-small cell lung cancer (MISSION) trial: a phase III, multicenter, placebo-controlled trial of sorafenib in patients with relapsed or refractory predominantly nonsquamous non-small-cell lung cancer after 2 or 3 previous treatment regimens[J]. *J Thorac Oncol*, 2015, 10(12): 1 745.
- [23] Lin TT, Gao DY, Liu YC, *et al.* Development and characterization of sorafenib-loaded PLGA nanoparticles for the systemic treatment of liver fibrosis[J]. *J Control Release*, 2016, doi: 10.1016/j.jconrel.2015.11.003.
- [24] de Boer RH, Arrieta Ó, Yang CH, *et al.* Vandetanib plus pemetrexed for the second-line treatment of advanced non-small-cell lung cancer: a randomized, double-blind phase III trial[J]. *J Clin Oncol*, 2011, 29(8): 1 067.
- [25] Natale RB, Thongprasert S, Greco FA, *et al.* Phase III trial of vandetanib compared with erlotinib in patients with previously treated advanced non-small-cell lung cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2011, 29(8): 1 059.
- [26] Spratlin J, Mulder K, Mackey J. Ramucirumab (IMC-1121B): a novel attack on angiogenesis[J]. *Future Oncol*, 2010, 6(7): 1 085.
- [27] Fontanella C, Ongaro E, Bolzonello S, *et al.* Clinical advances in the development of novel VEGFR2 inhibitors [J]. *Ann Transl Med*, 2014, 2(12): 123.
- [28] Girard N. Antiangiogenic agents and chemotherapy in advanced non-small cell lung cancer: a clinical perspective [J]. *Expert Rev Anticancer Ther*, 2013, 13(10): 1 193.
- [29] Xie M, He CS. P025 Dual Met/VEGFR-2 inhibitor foretinib overcomes acquired resistance to sunitinib in metastatic renal cell carcinoma (mRCC) [J]. *European Urology Supplements*, 2013, 6(12): 138.
- [30] Yu Y, Cai W, Pei C, *et al.* Rhamnazin, a novel inhibitor of VEGFR2 signaling with potent antiangiogenic activity and antitumor efficacy[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 458(4): 913.
- [31] Saraswati S, Agrawal SS. Brucine, an indole alkaloid from *Strychnos nux-vomica* attenuates VEGF-induced angiogenesis via inhibiting VEGFR2 signaling pathway in vitro and in vivo[J]. *Cancer Lett*, 2013, 332(1): 83.
- [32] Volk LD, Flister MJ, Chihade D, *et al.* Synergy of nab-paclitaxel and bevacizumab in eradicating large orthotopic breast tumors and preexisting metastases[J]. *Neoplasia*, 2011, 13(4): 327.
- [33] Ducreux M, Dahan L, Smith D, *et al.* Bevacizumab combined with 5-FU/streptozocin in patients with progressive metastatic well-differentiated pancreatic endocrine tumours (BETTER trial): a phase II non-randomised trial [J]. *Eur J Cancer*, 2014, 50(18): 3 098.
- [34] Becker S, Bohn P, Bouyeure-Petit AC, *et al.* Bevacizumab enhances efficiency of radiotherapy in a lung adenocarcinoma rodent model: role of $\alpha v \beta 3$ imaging in determining optimal window[J]. *Nucl Med Biol*, 2015, 42(12): 923.

(收稿日期: 2015-11-12 修回日期: 2016-02-24)
(编辑: 余庆华)