

# VEGF 家族及其在肿瘤生长中作用的研究\*

李京佳 林相国 许涛 徐万海 王晓民<sup>△</sup>

(哈尔滨医科大学附属第四医院泌尿外科 黑龙江 哈尔滨 150001)

**摘要** :血管内皮生长因子(Vascular Endothelial Growth Factor, VEGF)家族是一类多功能的细胞因子,在血管生成和淋巴管生成中具有直接和间接的调控作用,可促进内皮细胞增殖、促进血管生成以及增加血管的通透性。VEGF/VEGFR 轴由多重配基和受体质量叠加交错组成,并且受体与配基结合具有专一性,在不同的细胞中具有不同的细胞类型表达和功能。启动 VEGF 信号通路,触发了一个网状的信号过程,从而促进血管内皮细胞生长、转移和存活。近来研究发现,VEGF 的一个重要作用表现为可动员内皮祖细胞从骨髓向远处转移从而形成新生血管,因而有必要设计和发展针对这一途径的抑制因子。随着研究的深入,VEGF 促进肿瘤血管生成的作用与人类癌症的发病机制的关系是确定的,因此,抑制 VEGF 途径被确认为是一种重要的有效的抗癌模式

**关键词** :VEGF ;肿瘤 ;血管生成

中图分类号 :R730.231 文献标识码 :A 文章编号 :1673-6273(2012)04-777-03

## VEGF and the Role of VEGF in Tumor Growth\*

LI Jing-jia, LIN Xiang-guo, XU Tao, XU Wan-hai, WANG Xiao-min<sup>△</sup>

(Department of Urology, the Fourth Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150001, China)

**ABSTRACT**: Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) family is a multifunctional kind of cytokine, which has direct or indirect effect in angiogenesis and lymphangion generation. It can promote proliferation of endothelial cells, angiogenesis and increase the permeability of blood vessels. The VEGF/VEGF-receptor axis is composed of multiple ligands and receptors with overlapping and distinct ligand-receptor binding specificities, cell-type expression, and function. Activation of the VEGF signaling pathway triggers a network of signaling processes that promote endothelial cell growth, migration, and survival from pre-existing vasculature. A recently research show an important role of VEGF has emerged in mobilization of endothelial progenitor cells from the bone marrow to distant site neovascularization. So, it is necessary to design and develop the inhibitory factors against the target pathway. With the research going on, the role of VEGF promoting angiogenesis in tumor is related to the mechanism of cancer in human, and inhibiting the pathway of VEGF is seemed an important effective way to resist cancer.

**Key Words**: VEGF; Tumor Growth; Angiogenesis

Chinese Library Classification: R730.231 Document code: A

Article ID:1673-6273(2012)04-777-03

### 1 VEGF 家族

#### 1.1 VEGF-A

VEGF-A 基因位于染色体 6p21.3 上,全长 28 kb,8 个外显子和 7 个内含子组成了 VEGF-A 的编码区域,经转录、剪接等步骤后形成了 5 种单体,因单体中所含氨基酸数目不同,分别被命名为 VEGF121、VEGF145、VEGF165、VEGF189 和 VEGF206<sup>[1,2]</sup>,相应的含有 121 个、145 个、165 个、189 个和 206 个氨基酸。在 8 个外显子中,1~5 被认为具有重要意义,因其能够编码 VEGF 受体识别的结构域。VEGF-A 不同单体的主要区别有两方面,一方面是氨基酸数目的差异,另一方面是外显子 6 和 7 编码的肽段存在与否。共同点是所有的单体中均可出现由外显子 8 编码的肽段。VEGF 分子量为 34 000~45 000,在空间结构中,将同源二聚体糖蛋白连接起来的主要是二硫键。VEGF121、VEGF145、VEGF165 三种单体是分泌性蛋白

质,可以从细胞浆中分泌到细胞外<sup>[3]</sup>。VEGF145 和 VEGF165 可以和所有内皮细胞的 KDR / flk-1 受体结合。在实验和临床上,cDNA VEGF145 的研究最为广泛,相应的报导也最多。

#### 1.2 VEGF-B

VEGF-B 基因位于 11q13 染色体上,全长 4 kb,由 7 个外显子和 6 个内含子组成。内含子大小分别为 565,312,244,756,197,700 bp,将 7 个外显子间隔开来。由于编码 VEGF-B mRNA 的剪接方式不尽相同,因而产生了 2 种不同的转录子,根据其含有的氨基酸残基数目分别被命名为 VEGF-B167 和 VEGF-B186,蛋白分子量分别为 21 KD 和 32 KD。VEGF-B167 可由胞浆分泌到细胞外,但需具备特定的条件,用肝素或高渗盐液对细胞进行刺激,可促进分泌;而 VEGF-B186 不需任何条件,就可以被分泌到细胞外。VEGF-B 的相关受体为 VEGFR-1 /FLT-1<sup>[4]</sup>,在血管生成的过程中可起到促进作用。

#### 1.3 VEGF-C

\* 基金项目:黑龙江省科技攻关计划(GC07C35105)

<sup>△</sup>通讯作者:王晓民(1956-),男,主任医师,主要研究方向:泌尿系统肿瘤的诊治,电话:0451-82576896

E-mail: Xiaomin-Wang20001@yahoo.com.cn

(收稿日期:2011-09-06 接受日期:2011-09-30)

VEGF-C 又称相关蛋白 (VRP), 其基因位于染色体 4q34 上, VEGF-C cDNA 编码含有 419 个氨基酸残基, 分子量为 46.9 KD。在人类的胚胎及成熟的组织中, 均有 VEGF-C mRNA 表达, 成人的 VEGF-C 除少量表达于脑、肝、胸腺及外周血白细胞外, 其余大部分在胎盘、卵巢、心脏及小腺体中表达。VEGF-C 与淋巴管的关系较为密切, 包括对淋巴管增生的诱导及对淋巴管内皮进行有效的调节, 而肿瘤往往最先通过淋巴管进行转移, 因此, VEGF-C 与肿瘤转移密切相关<sup>[5]</sup>。VEGF-C 在发育的胚胎中即能促进血管进行分化、生长, 因此, 与其他促进血管生成的因子相比, 其发挥作用的时间的更早。VEGF-C 可作用于 VEGFR-2 和 VEGFR-3, 诱导内皮细胞增生, 尤其是微血管细胞增生<sup>[6]</sup>。

#### 1.4 VEGF-D

VEGF-D 基因位于染色体 Xp22.23 位置, 含有 8 个光胱氨酸残基, VEGF-D mRNA 在人体内的表达部位与 VEGF-C 类似, 尤其在骨骼肌与结肠中表达较为丰富, 但在胎盘中少见其表达。VEGF-D 具有促进内皮细胞迁移的作用, 可作为 VEGF 受体 (VEGFRs)、VEGFR-2 (Flk-1) 及 VEGFR-3 (Flt-4) 的配体, 这些配体与 VEGF-D 结合后发挥促内皮迁移作用, 从而促进血管生成。

#### 1.5 胎盘生长因子

胎盘生长因子 (placenta growth factor, PIGF) 是一种由 Maglione 等<sup>[7]</sup>从人的胎盘 cDNA 文库中分离纯化而得到的二聚体, 为分泌型糖蛋白, 其基因位于 14q24-q31 上, 其 mRNA 的剪接方式有所不同, 据此有 4 种异构体: 分别命名为 PIGF-1、PIGF-2、PIGF-3、PIGF-4。之所以命名为胎盘生长因子, 就是由于其在胎盘中高表达, 特别是在绒毛膜滋养层中, 表达最高, 且持续表达于妊娠全过程。有研究小组报道了 PIGF 在多种肿瘤中均有表达, 且能够导致这些肿瘤的血管加速生长。

## 2 VEGF 的生物学特性

VEGF 可以与血管内皮细胞受体进行紧密的、特异性的结合, 进而促进血管内皮细胞进行有丝分裂, 导致内皮细胞大量增生, 逐渐形成了血管雏形, 最后形成新的血管。VEGF 与血管内皮细胞结合后, 可以改变局部的微环境, 引起大量钙离子通道开放, 这样钙离子大量内流, 导致细胞内钙离子浓度在短时间内迅速上升到一定水平, 形成细胞内外的钙离子浓度差, 进而引发一系列生理过程。VEGF 可增加微血管的通透性, 有报导单次注射可引起血管通透性增高, 虽然单次注射的作用时间较短, 且非持续作用, 故该过程呈可逆性, 但作用效果却十分惊人。由于此种作用是通过特异性的与受体结合发挥的, 所以不会被组织胺或其他炎症因子抑制剂阻断。

## 3 VEGF 在内皮细胞中的作用

### 3.1 血管渗透性

VEGF 因其对小静脉有较为强烈的作用, 故又名 VPF, 其作用要远远强于组胺等血管活性物质。VEGF 对微血管的作用表现在能够增强其渗透性, 血管渗透性增高后可导致血液成分的外漏, 包括纤维蛋白原及其他凝固蛋白。当纤维蛋白在血管外聚积后, 可使细胞间水液体的吸收与清除速度明显减

慢, 不仅改变了正常组织周围的环境, 降低了其抗血管生成的功能, 而且相反的使其具备了促血管生成的作用。VEGF 还可增加皮肤、胸膜、腹膜、肠系膜等的血管床渗透性, 是导致恶性胸腹水的重要原因。目前来看, VEGF 的此种作用精确机制还有待于进一步研究。Dvorak 等<sup>[8]</sup>发现 VEGF 诱导大分子从内皮细胞中渗出是通过跨膜途径完成的。最近的研究证明  $N_2O$ 、Akt 通路等出现在 VEGF 诱导血管渗透性增加过程中, 但主要作用可能是通过钙离子通路来实现的, 这是一条新途径。

### 3.2 细胞的激活与增殖

VEGF 可促使细胞骨架发生变化, 从而改变细胞形态。释放氧化亚氮和前列腺素是 VEGF 激活内皮细胞的重要方式。内皮细胞被激活后即可进行生长与迁移。VEGF 是一种上皮细胞分裂素, 可促进细胞进行有丝分裂, 其原理可能涉及到蛋白激酶 C 途径及氧化亚氮调节途径。VEGF 虽然可促使上皮细胞激活与分裂, 但是有报导称, 另有一种缺乏 VEGF 活性的血管生成因子, 其促进细胞分裂增殖的作用可能比上皮细胞分裂素更强。

### 3.3 浸润和迁移

在血管生成的早期, 最关键的变化是降解基底膜。降解过程中需要的酶和蛋白, 大部分可由 VEGF 诱导生成。包括基质降解金属蛋白酶, 金属蛋白酶间质胶原酶及丝氨酸蛋白酶, 激活这些物质, 可改变局部的微环境, 创造出了适宜内皮细胞的迁移的条件。研究证明 VEGF 可促进内皮细胞 uPA 受体的表达。此种受体表达增加, 可加强蛋白水解作用和组织重塑, 这些发现从侧面也证明了 VEGF 具有促血管生成的作用。此外, uPA 本身也可诱导 VEGF 表达的增加, 这就形成了一个表达环路。目前, VEGF 促进上皮细胞转移的机制还不太清楚, 但有研究表明与 FAK 途径有关, 此途径可是肌动蛋白丝重新组建。此外, 在 VEGF 诱导上皮细胞迁移过程中, 还发现了 NO 的参与, NO 能调节 FAK 酪氨酸磷酸化, 被认为是 VEGF 诱导细胞迁移所需要的。

## 4 VEGF 与肿瘤血管生成

肿瘤的生长需要源源不断的血供, 而 VEGF 因其能促进血管生成, 故在肿瘤生长中必不可少。VEGF 是介导新生血管生成的重要因素, 可强烈促使血管内皮细胞进行有丝分裂, 进而形成新的血管, 已被认为是促进肿瘤血管生成最强的细胞因子, 对于新生血管是必要的<sup>[9]</sup>。Fang 等人<sup>[10]</sup>研究证明, 在活体内三羟黄酮可明显抑制肿瘤血管的发生。这种抑制血管发生的作用与降低肿瘤组织内 HIF-1 和 VEGF 的表达有关。有研究表明 HIF-1 可促进 VEGF 的表达, 从而通过增加 VEGF 来间接促进肿瘤血管的发生。Chang 等<sup>[11]</sup>报道分泌型的血管内皮生长因子 (VEGF-A164) 是启动肿瘤的血管生成的第一步。他们采用小鼠进行研究, 在小鼠组织内用菌体及肿瘤诱导血管生成。发现在毛细血管中出现了大量的组织蛋白酶, 同时蛋白酶抑制剂减少, 这是导致最初血管形成的原因。Cao 等<sup>[12]</sup>报道了用 VEGF-A 和 VEGF-C 诱导的血管和淋巴管的实验。实验结果显示 VEGF-A 可刺激细胞分裂, 促进邻近血管融合成血管丛, 血管丛再相互连接形成新的血管网络。通过对超微结构进行分析, 发现 VEGF-A 诱导血管形成与内皮穿透介导对铁蛋白的高渗

透性密切相关。VEGF-C 诱导的血管和淋巴管数量几乎相同,内皮穿透仅存在于毛细血管,表明 VEGF-C 不仅在促血管生成方面起作用,在促淋巴管方面也具有同样的作用,同时在 VEGF-A 和 VEGF-C 诱导的淋巴管中均无内皮穿透现象。这些发现对于研究肿瘤的生长是非常重要的。Ouchi 等<sup>[13]</sup>报道 VEGF 在新血管形成中起主导作用,缺氧等其他因素也可导致 VEGF 表达增加。Ouyang 等<sup>[14]</sup>用无胸腺小鼠皮下移植人类结肠癌细胞进行实验,与对照组小鼠进行比较,结果显示 NO-ASA 可使 VEGF 表达明显减少。Schwarz 等用大鼠左冠状动脉来进行实验,在实验组大鼠心肌梗塞 33 天后注射 phVEGF165,注射部位采用特定的位点,对照组注射对照质粒和盐水。33 天后解剖大鼠心脏进行分析,结果表明:在实验组大鼠心脏,于注射位点处有血管瘤样物质形成,而其余对照组无上述情况出现。实验表明,phVEGF165 可促使已经发生梗死的心肌产生新的血管。

## 5 VEGF 与肿瘤淋巴管形成

过去认为在肿瘤生长过程中只有血管发生发挥着作用,忽视了淋巴管的作用,现在的观点认为淋巴管生成在肿瘤扩散过程中发挥的作用更具有意义。在临床上,淋巴转移是肿瘤最常见的转移途径,尤其在早期。Ebos 等<sup>[15]</sup>和 Pà ez-Ribes 等<sup>[16]</sup>的研究表明,VEGF 通路和转移密切相关。Salven 等<sup>[17]</sup>报道在淋巴管发育较好的区域,往往有 VEGF-C 的存在,VEGF-C 在肿瘤细胞和淋巴管上皮细胞之间起到了一定的作用,使两者进行相互调节。Benest 等<sup>[18]</sup>发现在出现生长的淋巴网络后,VEGF-C 的促血管生成作用较前明显的减弱了。这表明淋巴管与 VEGF-C 介导的血管生成之间有相互关联,也从侧面说明了两者的生成机制是不同的。Hirakawa 等<sup>[19]</sup>发现在淋巴结内部,VEGF-C 也可促使新的淋巴管生成,淋巴管的增加是肿瘤更容易进行转移。因此 VEGF-C 被认为是一个新的靶点,为研究肿瘤转移提供了新的方向。Pradeep 等<sup>[20]</sup>报道除 VEGF-C 外,VEGF-D 也可促进淋巴管形成,二者在某些受体的存在下,可直接介导生成淋巴管。Breier 等<sup>[21]</sup>用缺乏 VEGF-C 基因的小鼠进行实验,发现在缺少 VEGF-C 的情况下,内皮细胞无法最终形成淋巴管。

## 6 结论

大量研究证明 VEGF 可增加内皮细胞的渗透性,促进内皮细胞进行分裂、增殖,并有利于细胞进行迁移,在体内所表现出了特异性促血管生成作用,参与肿瘤血管生成和淋巴管形成。过去一直认为 VEGF 只与血管的生成有关,现在认为 VEGF 在淋巴管生成中也起到关键作用。在许多实体瘤中,肿瘤的恶性程度与瘤体内血管化程度呈正相关。过量表达 VEGF 与多种肿瘤病情及预后相关,包括结肠癌、乳腺癌、前列腺癌、肺癌和黑色素瘤等<sup>[22]</sup>。通过阻断 VEGF 信号途径,可从血管、淋巴管两方面抑制肿瘤的生长和转移。VEGF 已成为一种重要的抗血管生成的治疗靶点<sup>[23]</sup>。然而,对 VEGF 具体的作用过程,尚未了解完全,仍有大量的未知空间等待去探索。因此,详细阐明 VEGF 在血管生成及淋巴管生成两方面的确切机制,有助于为临床提供新的治疗方法,也必将是有前景、有价值的研究。

## 参考文献(References)

- [1] Neufeld G, Cohen T, Gengrinovitch S, et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors [J]. *FASEB*,1999, 13: 9-22
- [2] Yla-herttua S, Martin JF. Cardiovascular gene therapy [J]. *lancet*, 2000, 355: 213-222
- [3] Jia HY, Jezequal S, Lohr M. Peptides Encoded by Exon6 of VEGF inhibit Endothelial cell Biological response and Angiogenesis induced by VEGF [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2001,283(1): 164-173
- [4] Ofsson B, Pajusola K, Euler G, et al. Genomic organization of Themouse and human genes for vascular endothelial growth factor B (VEGF-B) and characterization of a second splice isoform [J]. *Biol Chem*, 1996, 271: 19310-19317
- [5] Joukov V, Pajusola K, Kaipainen A, et al. A novel vascular endothelial growth factor, VEGF-C, is a ligand for the Flt4 (VEGFR-3) and KDR (VEGFR-2) receptor tyrosine kinases [J]. *EMBO*, 1996, 15: 1751
- [6] Cao Y, Linde P, Farnebo J, et al. Vascular endothelial growth factor C induces angiogenesis in vivo [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95: 14389-14394
- [7] Maglione S, Leonidas DD, Swaminathan GJ, et al. The crystal structure of human placenta growth factor-1 (PlGF-1), an angiogenic protein, at 2.0 Å resolution [J]. *J Biol Chem*, 2001, 276: 12153-1216
- [8] Dvorak HF, Brown LF, Detmar M, et al. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor, microvascular hyperpermeability, and angiogenesis [J]. *Am J Pathol*, 1995, 146: 1029-1039
- [9] Fan X, Krieg S, Kuo CJ, et al. VEGF blockade inhibits angiogenesis and reepithelialization of endometrium [J]. *FASEB J*, 2008, 22: 3571-3580
- [10] Fang J, Zhou Q, Liu LZ, et al. Apigenin inhibits tumor angiogenesis through decreasing HIF-1α and VEGF expression [J]. *Carcinogenesis*, 2007, 28: 858-864
- [11] Chang SH, Kanasaki K, Gocheva V, et al. VEGF-A induces angiogenesis by perturbing the cathepsin-cysteine protease inhibitor balance in venules, causing basement membrane degradation and mother vessel formation [J]. *Cancer Res*, 2009, 69: 4537-4544
- [12] Cao R, Eriksson A, Kubo H, et al. Comparative evaluation of FGF-2-, VEGF-A-, and VEGF-C-induced angiogenesis, lymphangiogenesis, vascular fenestrations, and permeability [J]. *Circ Res*, 2004, 94: 664-670
- [13] Ouchi N, Shibata R, Walsh K. AMP-activated protein kinase signaling stimulates VEGF expression and angiogenesis in skeletal muscle [J]. *Circ Res*, 2005, 96: 838-846
- [14] Ouyang N, Williams JL, Rigas B. NO-donating aspirin inhibits angiogenesis by suppressing VEGF expression in HT-29 human colon cancer mouse xenografts [J]. *Carcinogenesis*, 2008, 29: 1794-1798
- [15] Ebos JM, Lee CR, Cruz-Munoz W, et al. Accelerated metastasis after short-term treatment with a potent inhibitor of tumor angiogenesis. *Cancer Cell*, 2009, 15: 232-239
- [16] Pà ez-Ribes M, Allen E, Hudock J, et al. Antiangiogenic therapy elicits malignant progression of tumors to increased local invasion and distant metastasis. *Cancer Cell*, 2009, 15: 220-231
- [17] 段泽星,谢立群. VEGF 在肿瘤生长和血管生成中的作用 [J]. *世界华人消化杂志*, 2010, 18(27): 2894-2900

(下转第 701 页)

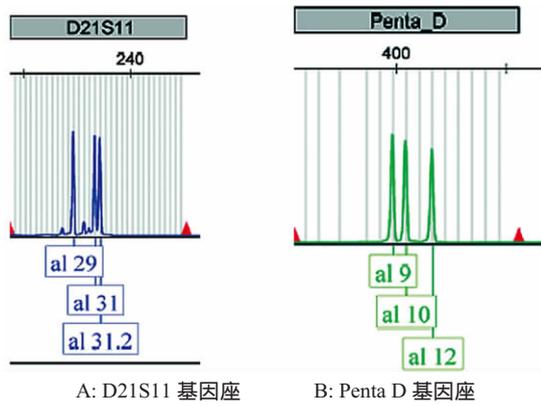


图 1 孩子 D21S11 基因座和 Penta D 基因座分型图

Fig. 1 Genotyping pictures of locus of D21S11 and Penta D

三带型等位基因现象比较少见，在亲子鉴定时需引起重视。可通过重复试验、排除污染和采用其他扩增体系验证等方法保证分型结果的可靠性。

参考文献(References)

[1] 曾艳红,孙宏钰,童大跃,等.亲子鉴定中检出 21 三体综合征一例[J].中华医学遗传学杂志,2005,22(1):115-116  
Zeng Yan-hong,Sun Hong-yu,Tong Da-yue, et al. 1 case of trisomy 21 was checked in parentage testing [J]. Chinese Journal of Medical Genetics,2005,22(1):115-116

[2] 李海燕,台运春,陆惠玲,等.中国汉族人群 15 个 STR 基因座的等位基因频率调查[J].中国法医学杂志,2004,19(6):330-333  
Li Hai-yan,Tai Yun-chun,Lu Hui-ling, et al. Gene frequency investigation of 15 STR loci in Chinese Han population [J]. Chinese Journal of Forensic Medicine, 2004,19(6): 330-333

[3] 陆惠玲,吕德坚.常染色体 STR 突变基因座父权指数计算[J].中国



图 2 孩子染色体图谱(箭头标示染色体为 21 号染色体)

Fig. 2 Child's chromosome map(Chromosome indicated by arrow is 21)

司法鉴定,2009,45(4):32-70

Lu Hui-ling,Lv De-jian. Paternity index calculation of STR mutated locus in autosome[J]. China Judicial Expertise,2009, 45(4):32-70

[4] Lukka M ,Tasa G ,Ellonen P ,et al. Triallelic patterns in STR loci used for paternity analysis: Evidence for a duplication in chromosome 2 containing the TPOX STR locus[J]. Forensic Sci Int. 2006, 164: 3-9

[5] 陈海艳,辛军平,李宁,等. DNA 分析法快速诊断 21 三体综合征[J]. 华西医科大学学报,2002,331(1):125-128  
Chen Hai-yan, Xin Jun-ping, Li Nin, et al. Trisomy 21 syndrome was rapidly diagnosed by DNA analytical method [J]. Journal of West China Medical University ,2002,331(1):125-128

[6] 左俊.医学遗传学[M].北京:人民卫生出版,2008:170  
Zuo Ji. Medical Genetics [M]. Bei Jing: People's Health Publishe , 2008:170

(上接第 779 页)

Duan ZX, Xie LQ. Role of the vascular endothelial growth factor signaling pathway in tumor growth and angiogenesis [J]. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi, 2010, 18(27): 2894-2900

[18] Benest AV, Harper SJ, Herttuala SY, et al .VEGF-C induced angiogenesis preferentially occurs at a distance from lymphangiogenesis[J]. Cardiovasc Res, 2008, 78: 315-3231

[19] Hirakawa S, Brown LF, Kodama S, et al .VEGF-C-induced lymphangiogenesis in sentinel lymph nodes promotes tumor metastasis to distant sites[J]. Blood, 2007, 109: 1010-1017

[20] Pradeep CR, Sunila ES, Kuttan G. Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and VEGF receptors in tumor angiogenesis and

malignancies[J]. Integr Cancer Ther, 2005,4: 315-321

[21] Breier G. Lymphangiogenesis in regenerating tissue: is VEGF-C sufficient? [J]. Circ Res, 2005, 96: 1132-1134

[22] 刘臻臻,罗琪. 肿瘤血管靶向治疗策略的新进展[J].世界华人消化杂志,2010,18(27):2889-2893  
Liu ZZ, Luo Q. Recent advances in research of vascular targeting strategy for tumor therapy [J]. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi, 2010, 18 (27): 2889-2893

[23] Vlahakis NE, Young BA, Atakilit A ,et al. Integrin alpha9beta1 directly binds to vascular endothelial growth factor (VEGF)-A and contributes to VEGF-A-induced angiogenesis [J]. Biol Chem, 2007, 282: 15187-15196