

门脉高压的抗血管生成治疗研究进展

刘以梅, 陈世耀 (复旦大学附属中山医院 消化内科, 上海 200032)

门脉高压症 (portal hypertension) 是各种原因导致门静脉系统压力升高引起的一组临床综合征, 其基本病理生理特征是门静脉系统血流受阻和 (或) 血流量增加, 门静脉及其属支血管内静压升高并伴侧支循环形成^[1]。关于肝硬化门脉高压形成的机制有学者认为可以归纳为两个学说: “前向血流学说”和“后向血流学说”。“前向血流学说”的观点认为肝硬化门脉高压形成后, 全身血管活性物质代偿性增多, 尤其是扩血管因子明显增多而导致高动力循环状态, 出现心输出量增加、外周血管扩张, 回流入门脉的血流量增加。“后向血流学说”认为肝硬化门脉高压始动因素是各种原因导致的肝内阻力增加, 胃肠道血液经门脉回流受阻, 引发门静脉压力增高。肝内高阻力的形成可以分为机械性因素和动力性因素。机械性因素指肝硬化时肝小叶结构发生改变, 肝内纤维化, 假小叶形成, 窦周毛细血管化, 由肝内分支血管衍生而成的大量新生血管包绕肝脏再生结节, 绕过正常阻塞的血管通路, 形成肝内侧支血流及肝窦血管重构等结构性因素导致肝血窦阻力增加, 肝脏微循环障碍。动力性因素是指肝星状细胞 (hepatic stellate cells, HSC) 活化后可收缩血管平滑肌^[2,3], 同时对缩血管物质的敏感性增加, 内源性血管活性物质失衡, 均有助于形成和维持门脉高压。近年来, 新生血管的形成在门脉高压发生发展中的作用受到国内外学者越来越多的关注, 病理性血管生成反应早在肝硬化及门脉高压形成之前发生, 是疾病进展的重

要环节。对于新生血管在门静脉高压形成机制中的重要作用研究, 提示抗新生血管的药物有望成为降低门脉压力的新靶点。

1 血管新生在门脉高压形成中的机制

血管新生这一动态过程存在于几乎所有器官, 并且是组织新生、损伤、愈合及重构等生理或病理反应的关键步骤。血管生成过程一般由缺氧或缺血环境触发, 缺氧诱导因子 (hypoxia-inducible factors, HIFs) 在其中发挥重要作用, 由此可激活促血管新生的生长因子。门脉高压症是慢性肝病肝硬化患者的主要病理生理改变之一。随着门脉高压的发生, 门脉侧支循环形成, 患者出现食管胃静脉曲张和门脉高压性胃病引起的出血^[4], 还可导致门-体分流、胃肠道毒性代谢产物积聚, 从而引起肺动脉高压、败血症及肝性脑病等, 成为患者的主要死亡原因^[5]。传统观点认为, 由于内源性舒张血管物质的增多以及内脏血管对缩血管因子敏感性降低导致内脏血流增多, 门脉压力升高, 作为代偿性机制, 原先存在于门腔之间的血管通道开放, 即侧支循环形成^[6]。然而, 近年来的一些研究对此观点提出质疑, 认为新生血管的形成在其自身及侧支循环形成和维持内脏的高动力状态过程中起重要作用^[7]。近年来的研究结果显示门静脉系统侧支循环的形成与血管内皮生长因子 (VEGF)、胎盘生长因子 (placental growth factor, PLGF) 及血小板衍生生长因子 (PDGF) 信号通路诱导的血管生成相关^[8]。

2 血管内皮生长因子

动物实验证明VEGF为正常的胚胎血管发生和血管新生所必需。VEGF是关键的血管生成信号通路, 在通过NO途径增加血管通透性的同时,

还可激活PI3K通路,诱导抗凋亡蛋白表达,促进内皮细胞(endothelial cell, EC)存活、迁移和增殖,且可能促进冠脉侧支形成。目前认为VEGF诱导血管新生的作用机制有:①VEGF可促进内皮细胞迁移和增殖;②VEGF是新生血管内皮细胞的抗凋亡因子;③VEGF通过刺激NO的合成,增加血管通透性,促进血浆蛋白外渗形成纤维素支架,从而为内皮细胞的迁移和血管的生长提供支持;④VEGF还可以启动蛋白水解酶系统,包括尿激酶及基质金属蛋白酶,促进细胞外基质降解,从而促进血管新生^[9]。有研究表明门脉高压大鼠的内脏高动力循环和门腔侧支的形成是血管新生依赖的过程,通过抑制VEGF信号转导过程可以发现以上两种改变^[10]。

目前已发现的VEGF受体(VEGF receptor, VEGFR)共3种,分别为VEGFR1、VEGFR2和VEGFR3。其中VEGFR2在VEGF的血管内皮生成以及信号转导过程中起主要作用,VEGFR2是一种酪氨酸激酶受体,由胞外结构域,跨膜结构域和胞质内酪氨酸激酶结构域组成,其胞外结构域含有7个免疫球蛋白样域。VEGFR2与VEGF结合之后形成二聚体,随之酪氨酸发生自身磷酸化,将细胞膜/细胞质激酶级联反应信号传递至细胞核内,导致内皮细胞的生理功能发生一系列变化,包括Ca²⁺内流、IP3增加等,这些级联反应通过抗凋亡以及促增生机制调节内皮细胞状态与功能,促进新生血管形成并维持其完整性^[11]。

许多学者在动物模型和人体内的研究进展表明,肝硬化时VEGF表达量增加,并且与肝硬化严重程度相关。血管生成还促进内脏门体旁路循环形成,在大鼠的门脉缩窄致门脉高压模型中,检测到小肠及肠系膜组织中CD31(一种血管内皮细胞特异性标记)表达升高,并且研究发现门静脉部分缩窄模型大鼠的小肠和肠系膜内存在时间依从性的CD31表达量增加。VEGFR-2被阻断后,小鼠门脉系统的新生侧支血管数下降了50%;药物干预后内脏组织中CD31和VEGF-R2蛋白表达量出现明显下降。这提示VEGF信号通路在促进门静脉系

统侧支血管生成和维持高动力循环状态中具有重要意义^[12]。

徐珊珊等^[13]研究VEGFR-1、VEGFR-2在肝硬化门脉高压组大鼠小叶间静脉和小叶间动脉的表达时发现,肝硬化门脉高压组大鼠肝脏血管中VEGFR-2的表达显著高于VEGFR-1,提示VEGFR-2对内皮细胞的增殖以及新生血管生成较VEGF-1更为重要。有多种机制可以诱导VEGF基因的表达。缺氧可以刺激血管增生,缺氧时通过缺氧诱导的转录因子,增加VEGF基因的转录,并提高VEGF mRNA的稳定性,使得其产物蛋白水平增加。其他一些生长因子,包括表皮生长因子、转化生长因子、血小板源性生长因子等都参与上调VEGF mRNA的表达,另外多种炎性因子如IL-1 α 、IL-6也可以诱导VEGF的表达^[14]。

3 胎盘生长因子

PLGF是一种肝素结合酸性蛋白,属于VEGF家族,最早于1991年由Maglione等从人胎盘cDNA文库中分离纯化而得,通过特异性与VEGFR-1结合而发挥其生物学活性。

PLGF和VEGFR-1在缺血部位和肿瘤组织中,主要募集血液循环中的内皮祖细胞,同时促进单核细胞聚集。PLGF可与抗-Flt1结合,抑制缺血性视网膜的发生和肿瘤新血管的形成,从而抑制某些肿瘤的生长与转移。在机体正常情况下,PLGF并不影响静止血管的功能,而主要在妊娠期发挥作用^[15]。PLGF的缺失会影响正常皮肤和睫状体,也可以导致心肌缺血和肿瘤血管新生;相反,输注PLGF将促进上述病理过程中侧支血管的形成。VEGFR-1很少表达于成人正常血管,但在病理条件下,亚细胞定位发生变化,膜表达量会显著增加^[16]。

PLGF通过刺激内皮细胞和平滑肌细胞,促进侧支循环形成。有研究表明门脉高压时小鼠肠系膜的新生血管与CD31、VEGF和PLGF的表达上调有关。门静脉高压小鼠敲除PLGF基因后无肠系膜血管新生,CD31的表达量显著降低,与假手术组基本相似。这些研究证实PLGF介导的信号通路有

利于血管新生,以及维持内脏血流的高动力状态^[17,18]。由此可以推测,阻断PLGF介导的信号通路后可以抑制血管的新生。

4 血小板源性生长因子

PDGF可分为分子量为31 kD含有7%糖的PDGF I及28KD含4%糖的PDGF II。两者由高度同源的A链及B链组成,这使PDGF具有三种形式的二聚体,即PDGF-AA, PDGF-BB及PDGF-AB。PDGF主要由体内的单核/巨噬细胞合成,在生理状态下PDGF以 α 颗粒的形式储存在血小板中。在肝脏受损时,浸润的炎性细胞、巨噬细胞、血小板、受损的内皮细胞及激活的肝星状细胞均可以分泌PDGF,并以旁分泌、自分泌的方式发挥作用。

PDGF促进血管新生的作用不如VEGF强,但体内研究证实PDGF也可以刺激血管的形成^[19]。PDGF还参与调节血管的张力,在血管成熟过程起重要作用^[20]。

5 抗血管疗法-门脉高压的新治疗靶点

20多年前抗血管生成疗法被提出用于恶性肿瘤的治疗,虽然其作为对抗肿瘤的革命性疗法仍倍受争议,但目前已用于多种肿瘤的治疗,如肝癌、肾癌等实质性肿瘤^[21]。基于以上门脉高压形成过程中新生血管机制的重要作用,人们开始将目光转向抗血管治疗,进行了大量动物模型的实验研究探索。索拉菲尼是一种酪氨酸激酶受体抑制剂,可以多靶点作用于多种细胞,可通过raf、PDGF、VEGF等多种途径影响信号转导^[22]。

Thabut等^[23]研究证实索拉菲尼在治疗慢性肝病时,可以在分子水平下调血管生成素-1和纤维连接蛋白,抑制细胞基质的重构和血管重塑。服用索拉菲尼的肝癌患者不会出现额外出血,因此,索拉菲尼不仅有抗肿瘤作用,而且对于门脉循环和肝组织有保护作用,可以对抗抗VEGF药物所致的出血风险^[24]。但有研究者认为,索拉菲尼可以引起内皮损伤和血管渗漏,不适合用于治疗肝硬化和进展期肝癌伴门脉高压的患者^[25]。Ebos等^[26]研究显示,短期应用VEGF抑制剂可能促使肿瘤转

移,因此肝硬化伴有肝肿瘤的患者,短期应用索拉菲尼可促使肿瘤生长因子增加而导致肿瘤发生加速。因此,推测索拉菲尼不宜短期应用,无限期的服用可避免因抗VEGF撤药引起的不良反应。

研究者利用门脉高压动物模型进行了多种具有不同作用机制血管抑制剂的研究。其中应用VEGFR-2阻断剂,可以极大的降低门腔侧支循环的形成,并可降低门静脉血流量,减少内脏血管的生成^[10]。这些研究成果验证了血管新生参与门脉高压的形成与维持,提示干预VEGF信号转导途径可降低门脉压力,预防相应并发症的发生。

Steenkiste等^[15]研究表明,肝硬化大鼠的PLGF蛋白较对照组高4倍,肝硬化患者PLGF mRNA的水平明显高于正常人,敲除PLGF基因的肝硬化大鼠较未敲除大鼠的肠系膜动脉血流降低。门脉高压大鼠内脏微循环的PLGF上调,部分门静脉结扎大鼠PLGF缺乏时,内脏血管新生、门腔侧支、肠系膜血流均降低。通过单克隆抗体或敲除PLGF基因的肝硬化大鼠来阻断PLGF途径,可降低肝内肠系膜的血管新生,肠系膜血流,肝纤维化、炎症反应以及门静脉压力。鉴于PLGF抗体具有较好安全性,有望成为最有潜力的抗新生血管药物。

抗血管生成的药物可能存在很多不良反应,包括高血压、蛋白尿、血栓形成、伤口愈合能力下降等,肝硬化危重期患者应慎用。有研究表明,转基因大鼠敲除PLGF基因后不影响发育、繁殖及出生后的健康,但可影响抑制肿瘤或自发瘤等异常血管的生成^[27]。健康志愿者和实体瘤患者I期临床试验表明^[28],人体耐受性较好,未出现严重的不良反应。因此推测抑制PLGF的药物有较好的安全性。

由于未进行直接的临床对比试验,目前仍不确定抗PLGF药物在治疗慢性肝病时是否比索拉菲尼更安全。在评估治疗门脉高压的抗新生血管药物时,应着重注意治疗的安全性问题^[29]。

对门脉高压新生血管机制的研究,为门脉高压的治疗提供了新的治疗靶点。虽然抑制新生血管的药物有很多弊端,有待于更多基础及临床试

验的研究探索,相信抗新生血管以降低门脉压力的疗法将会具有光明的前景。

参考文献

- [1] 欧蔚妮,邢卉春. 门静脉高压症的药物治疗现状[J]. 实用医学杂志,2010,26:1087-1089.
- [2] Reynaert H, Urbain D, Geerts A, Regulation of sinusoidal perfusion in portal hypertension[J]. *Anat Rec (Hoboken)*,2008,291:693-698.
- [3] Reynaert H, Thompson MG, Thomas T, et al. Hepatic stellate cells: role in microcirculation and pathophysiology of portal hypertension[J]. *Gut*,2002,50:571-581.
- [4] Bosch J, Pizcueta P, Feu F, et al. Pathophysiology of portal hypertension[J]. *Gastroenterol Clin North Am*,1992,21:1-14.
- [5] 张影,綦盛麟,张勇. 慢性肝病血管新生研究[J]. 肝脏,2011,16:156-158.
- [6] Bosch J, Berzigotti A, Garcia-Pagan JC, et al. The management of portal hypertension: rational basis, available treatments and future options[J]. *J Hepatol*,2008,48 Suppl 1:S68-S92.
- [7] Bosch J, Abraldes JG, Fernandez M, et al. Hepatic endothelial dysfunction and abnormal angiogenesis: new targets in the treatment of portal hypertension[J]. *J Hepatol*,2010,53:558-567.
- [8] O' Reilly MS. Antiangiogenesis and vascular endothelial growth factor/vascular endothelial growth factor receptor targeting as part of a combined-modality approach to the treatment of cancer[J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*,2007,69:S64-S66.
- [9] Fernandez M, Vizzutti F, Garcia-Pagan JC, et al. Anti-VEGF receptor-2 monoclonal antibody prevents portal-systemic collateral vessel formation in portal hypertensive mice[J]. *Gastroenterology*, 2004,126:886-894.
- [10] Fernandez M, Mejias M, Angermayr B, et al. Inhibition of VEGF receptor-2 decreases the development of hyperdynamic splanchnic circulation and portal-systemic collateral vessels in portal hypertensive rats[J]. *J Hepatol*,2005,43:98-103.
- [11] Shibuya M. Vascular endothelial growth factor-dependent and -independent regulation of angiogenesis[J]. *BMB Rep*,2008,41:278-286.
- [12] Fernandez M, Mejias M, Garcia-Pras E, et al. Reversal of portal hypertension and hyperdynamic splanchnic circulation by combined vascular endothelial growth factor and platelet-derived growth factor blockade in rats[J]. *Hepatology*,2007,46:1208-1217.
- [13] 徐珊珊,赵金满,杨思贤. 门脉高压肝脏小叶间动脉与小叶间静脉血管内皮生长因子受体的分布[J]. 世界华人消化杂志,2010,18:1756-1760.
- [14] Moreau R. VEGF-induced angiogenesis drives collateral circulation in portal hypertension[J]. *J Hepatol*,2005,43:6-8.
- [15] Steenkiste CV, Ribera J, Geerts A, et al. Inhibition of placental growth factor activity reduces the severity of fibrosis, inflammation, and portal hypertension in cirrhotic mice[J]. *Hepatology*,2011,53:1629-1640.
- [16] Fischer C, Mazzone M, Jonckx B, et al. FLT1 and its ligands VEGFB and PLGF: drug targets for anti-angiogenic therapy?[J]. *Nat Rev Cancer*,2008,8:942-956.
- [17] Geerts AM, De Vriese AS, Vanheule E, et al. Increased angiogenesis and permeability in the mesenteric microvasculature of rats with cirrhosis and portal hypertension: an in vivo study[J]. *Liver Int*,2006,26:889-898.
- [18] Vanheule E, Geerts AM, Van Huysse J, et al. An intravital microscopic study of the hepatic microcirculation in cirrhotic mice models: relationship between fibrosis and angiogenesis[J]. *Int J Exp Pathol*,2008,89:419-432.
- [19] Nicosia RF, Bonanno E, Smith M, et al. Modulation of angiogenesis in vitro by laminin-entactin complex[J]. *Dev Biol*,1994,164:197-206.
- [20] Hellberg C, Ostman A, Heldin CH. PDGF and vessel maturation[J]. *Recent Results Cancer Res*,2010,180:103-114.
- [21] Llovet JM, Ricci S, Mazzaferro V, et al. Sorafenib in advanced hepatocellular carcinoma[J]. *N Engl J Med*,2008,359:378-390.
- [22] Shah VH, Bruix J. Antiangiogenic therapy: not just for cancer anymore?[J]. *Hepatology*,2009,49:1066-1068.
- [23] Thabut D, Routray C, Lomber G, et al. Complementary vascular and matrix regulatory pathways underlie the beneficial mechanism of action of sorafenib in liver fibrosis[J]. *Hepatology*,2011,54:573-585.
- [24] Coriat R, Mir O, Goldwasser F, et al. Targeting angiogenesis in chronic liver diseases with portal hypertension: anti-placenta growth factor inhibitor or multikinase inhibitor sorafenib?[J]. *Hepatology*,2011,54:1890-1891.
- [25] Adnane L, Trail PA, Taylor I, et al. Sorafenib (BAY 43-9006, Nexavar), a dual-action inhibitor that targets RAF/MEK/ERK pathway in tumor cells and tyrosine kinases VEGFR/PDGFR in tumor vasculature[J]. *Methods Enzymol*,2006,407:597-612.
- [26] Ebos JM, Lee CR, Cruz-Munoz W, et al. Accelerated metastasis after short-term treatment with a potent inhibitor of tumor angiogenesis[J]. *Cancer Cell*, 2009,15:232-239.
- [27] Van de Veire S, Stalmans I, Heindryckx F, et al. Further pharmacological and genetic evidence for the efficacy of PLGF inhibition in cancer and eye disease[J]. *Cell*,2010,141:178-190.
- [28] Martinsson-Niskanen T, Riisbro R, Larsson L, et al. Monoclonal antibody TB-403: a first-in-human, Phase I, double-blind, dose escalation study directed against placental growth factor in healthy male subjects[J]. *Clin Ther*,2011,33:1142-1149.
- [29] Coulon S, Heindryckx F, Geerts A, et al. Angiogenesis in chronic liver disease and its complications[J]. *Liver Int*,2011,31:146-162.

收稿日期: 2012-02-15