

## 参 考 文 献

- [1] 但汉雷, 赵燕, 张积仁. 肝细胞癌骨转移的诊断和治疗[J]. 国外医学外科学分册, 2000, 27(5): 261-263.
- [2] Cronhjort M, Johansson L, Jacobsson H, et al. Hydration does not influence the image quality in bone scintigraphy: an investigation using  $^{99m}\text{Tc}$ -HDP[J]. Nucl Med Commun, 1997, 18(10): 932-936.
- [3] 高文萍, 屈婉莹, 姚稚明, 等. 检查前未大量饮水对骨显像图像质量的影响[J]. 中国临床医学影像杂志, 2003, 14(3): 195-196.
- [4] 孙达. 放射性核素骨显像[M]. 浙江: 浙江大学出版社, 2000: 12-13.

(收稿日期: 2007-08-14)

## 以血管内皮生长因子及其受体为靶向的肺癌放射性核素显像

夏俊勇 王火强

**【摘要】** 肺癌的持续生长、侵袭转移与新生血管生成密切相关, 在新生血管生成过程中, 血管内皮生长因子(VEGF)是作用最强、特异性最高的调控因子。因此, 通过对其表达、活性及效应等方面进行有效抑制而达到治疗肺癌的目的, 是近年来抗肺癌治疗的新方法和手段之一。同时, 以VEGF及其受体为靶向的放射性核素显像, 不仅可以显示肺癌的血管生成, 而且在肺癌的早期诊断、正确分期及预后等方面均具有重要意义。

**【关键词】** 新生化血管, 病理性; 肺肿瘤; 放射性核素显像; 内皮生长因子; 受体, 血管内皮生长因子

### Lung cancer radionuclide imaging targeting at vascular endothelial growth factor and its receptor

XIA Jun-yong<sup>1</sup>, WANG Huo-qiang<sup>2</sup>

(1. Master of Nuclear Medicine, Clinical Medicine College of Soochow University, Suzhou 215006, China; 2. Department of Nuclear Medicine, Shanghai Pulmonary Hospital, Tongji University, Shanghai 200433, China)

**【Abstract】** The lung cancer must establish an angiogenesis to grow, to invade, and to metastasize, in which vascular endothelial factor (VEGF) is the most functional and special adjusting factor and play an important role. So anticancer by inhibiting the expression, activity and signal conduction of VEGF become one of the new and effective methods. Meanwhile, radionuclide imaging targeting at VEGF and its receptor not only can display the angiogenesis of lung cancer, but also has profound meaning in the early diagnosis, the correct staging, and the prognosis of lung cancer.

**【Key words】** Neovascularization, pathologic; Lung neoplasms; Radionuclide imaging; Endothelial growth factor; Receptor, vascular endothelial growth factor

肺癌的发病率和死亡率居高不下, 是严重危害人类生命的常见多发病, 多数患者就诊时已属晚期, 从而丧失了手术根治的机会。近年来, 以血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)及其受体(VEGF receptor, VEGFR)为靶向的肿瘤血管生成核素显像, 为肺癌的分子诊断开辟

了新的途径。

### 1 VEGF 和 VEGFR 概述

#### 1.1 VEGF 和 VEGFR 的结构

人类 VEGF 基因位于染色体的 6p21.3, 全长 28 kb, 是一种同型二聚体, 由 8 个外显子和 7 个内含子构成, 其编码分子质量为  $35 \times 10^3 \sim 45 \times 10^3$  的糖蛋白。现已发现的 VEGF 家族成员包括 VEGF-A、VEGF-B、VEGF-C、VEGF-D、VEGF-E 和胎盘

作者单位: 1. 215006, 苏州大学临床医学院核医学专业(夏俊勇); 2. 200433 上海, 同济大学附属肺科医院核医学科(王火强)

通讯作者: 王火强 (E-mail: whq2216@163.com)

生长因子。根据 VEGF mRNA 的剪接方式不同,可得到 7 种不同的同工型,其氨基酸残基数分别为 121、145、148、165、183、189、206。这 7 种异构体在生物化学和生物学上具有不同的特征,在组织中的表达也不同,其中,VEGF<sub>121</sub>、VEGF<sub>165</sub> 和 VEGF<sub>189</sub> 三者的表达最为广泛。

VEGF 是通过与内皮细胞膜上的 VEGFR 结合,激活蛋白激酶 C 信号转导通路而发挥生物学作用的。现已发现的 VEGFR 有 3 种,即 VEGFR-1 (亦称 Flt-1)、VEGFR-2 (亦称 Flk-1)、VEGFR-3 (亦称 Flt-4),它们均由 7 个免疫球蛋白样结构的细胞外区、膜区及酪氨酸激酶区组成,均为跨膜受体。它们的共同特点是催化域内有酪氨酸激酶插入区,该酪氨酸激酶的活性通过受体与配体结合而激活,由受体自身磷酸化而引起细胞内级联反应。VEGFR-1 与 VEGF 配体具有最高的亲和力。VEGFR-2 与内皮细胞增殖和血管生成关系最为密切,它在胚胎血管内皮细胞中表达较高,在成熟血管内皮细胞则表达下降;在肿瘤组织中,VEGFR-2 主要表达于肿瘤血管内皮细胞,而在肿瘤上皮细胞中则不表达或低表达。VEGFR-3 与淋巴管内皮细胞的增殖有关<sup>[1]</sup>。

## 1.2 VEGF 的生物学活性

实体瘤的生长和转移有赖于新生血管生成。VEGF 是目前已知作用最强的肿瘤血管生成诱导因子之一。其诱导血管生成的机制如下:①增加血管的通透性。主要增加毛细血管后静脉及小静脉的通透性(有效浓度 $<1$  nmol/L,是组胺的 1000 倍),结果导致癌性胸腹水或肿瘤间质水肿,以及血浆蛋白、纤维蛋白原、液体经血管外渗,引起细胞外基质改变,促进血管和新基质形成。②促进血管形成。VEGF 是选择性有丝分裂原,可以通过与内皮细胞上的 VEGFR-1 和 VEGFR-2 作用,促使血管内皮细胞增殖。③促进淋巴内皮细胞的生长。

此外,VEGF 的生物学活性尚表现在:①改变内皮细胞基因的活化形式,使尿激酶型纤溶酶原激活物、组织型纤溶酶原激活物和纤溶酶原激活物抑制物 1 的表达上调,诱使内皮细胞表达蛋白水解酶、间质胶原酶及组织因子而促进血管生成。② VEGF 过度表达诱导了肿瘤组织新生血管生成增加,提高肿瘤细胞的增殖率而降低细胞凋亡。③

VEGF 还可以结合造血细胞表面的 VEGFR-1,进而抑制细胞核因子  $\kappa$ B 活化并阻止其分化成熟为树突状细胞,导致功能缺陷的树突状细胞无法诱导有效的抗肿瘤免疫反应,而促进肿瘤的浸润和转移。④诱导 Bcl-2 等抗凋亡因子的表达,抑制血管内皮细胞凋亡,促进肿瘤生长。⑤在肺癌组织,VEGF 可以通过促进癌内淋巴管形成,使肺癌发生淋巴转移。

## 1.3 VEGF 与肺癌的关系

新生血管生成是肺癌发展和转移的基本特征。肺癌生长大于  $1\text{ mm}^3$  后,被激活的肺癌组织能通过旁分泌或自分泌机制分泌 VEGF,诱导新生血管生成。新生血管的生成与肺癌组织的微血管密度(microvascular density, MVD)密切相关。McDonnell 等<sup>[2]</sup> 研究发现,肺癌患者的 VEGF 表达明显高于健康人,其癌组织中的 VEGF 表达亦显著高于良性及正常组织。O'Byrne 等<sup>[3]</sup> 报道,VEGF 表达与肺癌组织内 MVD 呈正相关,VEGF 表达者其 MVD 明显高于不表达者。MVD 与肿瘤的大小、浸润及复发密切相关,Song 等<sup>[4]</sup> 研究发现,MVD 与远处转移的风险呈明显正相关,而与患者的生存率呈明显负相关。VEGF 的表达尚与肺癌的预后显著相关,高表达者预后差,这种关系在鳞癌中尤为明显,故 VEGF 可以作为肺癌患者预后的预测因子。多数研究显示,VEGF 的表达与肺癌的淋巴结及远处转移密切相关。

## 2 VEGF 及其受体相关的肺癌核素显像

### 2.1 VEGF 受体显像

肺癌受体显像是利用放射性核素标记的配体与存在于肺癌的特异性受体相结合,显示肺癌受体的空间分布、密度及亲和力。目前,诸多内皮细胞膜上的 VEGFR 均被克隆并研究清楚,其中以 VEGFR-1 及 VEGFR-2 的研究最多。放射性核素因其特异性和敏感性使其能被用作肿瘤显像,如 VEGF<sub>165</sub> 和 VEGF<sub>121</sub> 均能被 <sup>125</sup>I 标记,且均能与肺癌等多种肿瘤的 VEGFR 发生特异性结合。与 <sup>125</sup>I-VEGF<sub>121</sub> 相比,<sup>125</sup>I-VEGF<sub>165</sub> 显像效果更佳。徐清华等<sup>[5]</sup> 采用 <sup>131</sup>I 标记 K237 (一种从噬菌体展示肽库中筛选获得的多肽,能高亲和性结合 VEGFR-2,竞争性抑制 VEGF 与 VEGFR 的结合),行荷人 A549

肺腺癌裸鼠显像,结果显示肿瘤部位有明显的放射性浓聚。Li等<sup>[6]</sup>用<sup>125</sup>I标记VEGF,通过免疫组化染色及体外结合实验,亦证实肺癌、乳腺癌及肝癌等肿瘤组织放射性浓聚部位表达的VEGFR数目较肿瘤临近组织及正常外周血细胞显著增高,从而认为<sup>125</sup>I-VEGF是一种潜在的肺癌显像剂。

## 2.2 放射免疫显像

放射免疫显像是将放射性核素标记的特异性抗体引入机体,标记抗体与相应肿瘤表面的抗原产生抗原抗体免疫结合反应,从而可以特异性地对肿瘤及其转移灶进行定性、定位诊断。Bouziotis等<sup>[7]</sup>用<sup>153</sup>Sm和<sup>99m</sup>Tc标记抗内皮单克隆抗体VG76e进行了荷瘤裸鼠放射免疫显像,实验显示两种核素标记的单抗均能在肺癌组织部位浓聚。肺癌病理类型较为复杂,虽然不同的病理类型可选用不同的抗体,但放射免疫显像的效果有差别,以鳞癌摄取单克隆抗体最高,其次为小细胞肺癌,而腺癌摄取单克隆抗体较低。

## 2.3 肿瘤前哨淋巴结显像

前哨淋巴结被定义为实体瘤首站引流淋巴结,是最常见的微小转移部位。明确前哨淋巴结有无转移对肺癌分期、手术方式的确定及淋巴结清扫范围意义重大,同时前哨淋巴结的识别和定位还是活检成功与否的关键<sup>[8]</sup>,前哨淋巴结若无肺癌转移灶,则不必行淋巴结清扫术,从而使早期肺癌患者免除了不必要的手术创伤。

VEGF-C是淋巴管内皮细胞增殖和趋化的特异性诱导因子,可以诱导淋巴上皮细胞增殖和淋巴窦的新生。国内外大量研究表明,在人类许多原发恶性肿瘤组织中,VEGF-C的表达与区域淋巴结转移显著相关。VEGFR-3是一种细胞膜受体蛋白,成年动物只有淋巴内皮细胞表达,是淋巴内皮细胞特异的分子标志物,李生娇等<sup>[9]</sup>应用<sup>125</sup>I标记VEGFR-3多抗,注入SD大鼠后不同时间分批处死大鼠,并观察标记物的生物学分布,结果发现<sup>125</sup>I标记VEGFR-3多抗于腋窝淋巴结内分布较高,与同时时间点的血液、心脏、肝、肺、脾、肾的分布相比差异有显著性( $P<0.001$ ),证实<sup>125</sup>I标记VEGFR-3多抗能够特异性地在淋巴结浓聚。

## 2.4 肿瘤乏氧显像

细胞乏氧是肿瘤组织的重要生物学特征之一。

乏氧细胞对放、化疗均不敏感,是肿瘤转移和复发的根源<sup>[10,11]</sup>。乏氧可刺激许多血管生成因子的释放,促进血管生成。在乏氧的条件下,乏氧诱导因子1(hypoxia-inducible factor-1, HIF-1)启动或加强VEGF基因的转录,从而使VEGF mRNA水平增加;此外,乏氧时VEGF mRNA的生物半衰期明显延长<sup>[12]</sup>。乏氧引起HIF-1转录并与VEGF基因结合,致使VEGF释放,直接刺激血管内皮细胞增殖及血管生成。因此,肿瘤乏氧程度与其血管生成的程度密切相关。乏氧显像可动态检测肿瘤组织的整体乏氧状态,是当前乏氧检测的研究热点。

乏氧显像剂主要包括硝基咪唑类和非硝基咪唑类化合物。<sup>99m</sup>Tc-4,9-二氮杂-3,3,10,10-四甲基十二烷-2,11-二酮二肟(<sup>99m</sup>Tc-4,9-diaza-3,3,10,10-tetramethyldodecan-2,11-dione dioxime,<sup>99m</sup>Tc-HL91)是一种较为理想的显像剂,其乏氧选择性与肿瘤的血流有关。临床研究表明,<sup>99m</sup>Tc-HL91乏氧显像在正常肺组织本底较低,因而利于对肺癌进行乏氧显像并测定乏氧程度。利用<sup>99m</sup>Tc-HL91对肺癌的乏氧状况进行显像,不仅可以诊断肺癌,而且可以动态监测肺癌治疗过程中的乏氧状况,有助于临床治疗方案的确和疗效评价。李永军等<sup>[13]</sup>对63例晚期非小细胞肺癌患者行<sup>99m</sup>Tc-HL91显像,结果显示,<sup>99m</sup>Tc-HL91显像有较高的灵敏度,并对预测某些化疗药物近期疗效有一定的临床价值。李玲等<sup>[14]</sup>通过对非小细胞肺癌行<sup>99m</sup>Tc-HL91乏氧显像,观察放疗过程中肺癌组织乏氧的变化情况,结果显示放疗前、放疗中和放疗后显像的靶/非靶比值差异有统计学意义,说明<sup>99m</sup>Tc-HL91乏氧显像可以为研究肺癌再氧合提供有价值的信息。

## 2.5 报告基因显像

用以监测治疗基因表达的基因片段称为报告基因。与血管生成相关的VEGF的基因表达可用报告基因显像监测。Fukumura等<sup>[15]</sup>研究证实,可以用绿色荧光蛋白报告基因系统在体外监测VEGF的转录活动。他们将包含VEGF启动子顺序片段插入在绿色荧光蛋白表达基序前,这样既能与VEGF启动子结合并激活VEGF转录的内源性转录因子,又能与绿色荧光蛋白报告基因的启动子结合并引起该基因的转录。他们的研究显示,转移瘤分泌的细胞因子可致肿瘤周围基质中的VEGF转录,后者又同时

激活绿色荧光蛋白报告基因, 故在肿瘤周围基质中可以看到清晰的绿色荧光, 肺癌组织 VEGF 呈明显高表达, 故采用绿色荧光蛋白报告基因显像同样可以在体外监测其癌组织中 VEGF 的转录活动, 这对研究肺癌病理演变过程中 VEGF 诱导的新生血管生成的分子机制具有重要意义。如何采用高灵敏度、特异性的报告基因, 对活体肺癌组织中 VEGF 的转录活动进行显像或在体内予以定量分析, 将非常有助于肺癌的早期诊断、临床分期、预后及治疗方案的确定, 但未能检索到相关的文献报道, 有待于进一步研究。

### 3 展望

以 VEGF 及其受体为靶向的肺癌放射性核素显像作为一种非侵入性的功能显像, 以其显示肺癌代谢活性的特点展示了其重要的临床价值: 不仅可以用于肺癌的早期诊断和鉴别诊断, 而且对肺癌的分期、预后、治疗方案制定、指导靶向治疗及疗效监测等均具有重要意义。同时, 限于放射性核素显像本身的特点, 其影像质量相对较差, 对小于 1 cm 的病灶常不能正确诊断。应该指出的是, 这类显像只能用于 VEGF 高表达的肺癌组织学类型, 存在一定的不良反应, 有些显像效果尚不显著, 而且这些放射性核素标记的 VEGF 或 VEGFR 药物对体内正常血管的影响也需要更多的临床试验来说明。相信随着对肺癌 VEGF、VEGFR 的深入研究及其相关学科的发展, 以及新的以 VEGF 及其受体为靶向的肺癌放射性核素显像剂的问世, 这类显像必将广泛应用于临床, 从而成为肺癌临床诊断的新策略和有益补充。

### 参 考 文 献

- [ 1 ] Gerber HP, Ferrara N. The role of VEGF in normal and neoplastic hematopoiesis [J]. *J Mol Med*, 2003, 81(1): 20-31.
- [ 2 ] McDonnell CO, Hill AD, McNamara DA, et al. Tumor micrometastases: The influence of angiogenesis [J]. *Eur J Surg Oncol*, 2000, 26(2): 105-115.
- [ 3 ] O'Byrne J, Koukourankim I, Giamanolaki A, et al. Vascular endothelial growth factor, platelet-derived endothelial cell growth factor and angiogenesis in non-small-cell lung cancer [J]. *Br J Cancer*, 2000, 82(8): 1427-1432.
- [ 4 ] Song ZJ, Gong P, Wu YE. Relationship between the expression of iNOS, VEGF, tumor angiogenesis and gastric cancer [J]. *World J Gastroenterol*, 2002, 8 (4): 591-595.
- [ 5 ] 徐清华, 粟波, 赵印敏, 等. <sup>125</sup>I 标记血管靶向分子在肿瘤显像中的应用 [J]. *肿瘤防治研究*, 2007, 34(11): 860-863.
- [ 6 ] Li S, Peck-Radosavljevic M, Koller E, et al. Characterization of <sup>125</sup>I-vascular endothelial growth factor-binding sites expressed on human tumour cells: possible implication for tumour scintigraphy [J]. *Int J Cancer*, 2001, 91(6): 789-796.
- [ 7 ] Bouziotis P, Fani M, Archimandritis SC, et al. Samarium-153 and technetium-99m-labeled monoclonal antibodies in angiogenesis for tumor visualization and inhibition [J]. *Anticancer Res*, 2003, 23 (3A): 2167-2171.
- [ 8 ] Liptay MJ, Groundin SC, Fry WA, et al. Intraoperative sentinel lymph node mapping in non-small-cell lung cancer improves detection of micrometastases [J]. *Clin Oncol*, 2002, 20 (8): 1984-1988.
- [ 9 ] 李生娇, 吕春堂, 郭伟, 等. <sup>125</sup>I 标记的血管内皮细胞生长因子受体 3 多抗在大鼠体内的分布研究 [J]. *国际放射医学核医学杂志*, 2007, 31(2): 65-67.
- [ 10 ] Menon C, Fraker DL. Tumor oxygenation status as a prognostic marker [J]. *Cancer Lett*, 2005, 221(2): 225-235.
- [ 11 ] Evans SM, Koch CJ. Prognostic significance of tumor oxygenation in humans [J]. *Cancer Lett*, 2003, 195(1): 1-16.
- [ 12 ] Folkman J, Shing Y. Angiogenesis [J]. *J Biol Chem*, 1992, 267(16): 10931-10934.
- [ 13 ] 李永军, 徐兆强, 卢凯华, 等. <sup>99m</sup>Tc-HL91 用于晚期非小细胞肺癌化疗疗效预测 [J]. *中华核医学杂志*, 2005, 25(6): 353-354.
- [ 14 ] 李玲, 邢力刚, 于金明, 等. 非小细胞肺癌放疗中 <sup>99m</sup>Tc-HL91 SPECT 乏氧显像研究 [J]. *中华核医学杂志*, 2005, 25(4): 222-223.
- [ 15 ] Fukumura D, Xavier R, Sugiura T, et al. Tumor induction of VEGF promoter activity in stromal cells [J]. *Cell*, 1998, 94 (6): 715-725.

(收稿日期: 2007-11-29)