

## 缺氧、血管生成与胰腺癌治疗研究进展

费 健, 韩天权, 张圣道

[关键词] 胰腺肿瘤; 血管生成因子; 缺氧; 综述

[中国图书资料分类法分类号] R 735.9; Q 58 [文献标识码] A

胰腺癌是恶性程度极高的消化道实体肿瘤, 具有早期诊断困难、易于局部浸润和早期转移以及放疗不敏感等特征。在美国, 胰腺癌仅占每年新发恶性肿瘤的 2%, 但却占死亡病例的 5%<sup>[1]</sup>。诊断胰腺癌时能被切除的不足 20%, 而根治性切除后的 5 年生存率仅为 15%<sup>[2]</sup>。因此, 研究胰腺癌发生发展的分子机制, 寻找胰腺癌的治疗靶点成为当前的热点。本文对胰腺癌缺氧导致的病理改变、肿瘤血管生成以及抗血管生成治疗的进展作一综述。

## 1 胰腺癌发生的缺氧机制

肿瘤缺氧往往由许多不同因素所致。研究提示<sup>[3,4]</sup>, 距离毛细血管越远, 肿瘤的增殖系数越低, 且肿瘤细胞的指数性增殖与肿瘤血供成正相关。组织中氧弥散距离仅为 1~2 mm, 如果没有血管的形成, 肿瘤细胞的生长将因此受限。当肿瘤生长到一定阶段, 氧的需求超过供给或肿瘤内未成熟血管因间质压力而塌陷时, 局部微环境处于缺氧状态, 刺激肿瘤细胞与宿主细胞合成分泌多种促血管生成因子, 主要是血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF), 促进新生血管形成。进一步研究发现<sup>[5]</sup>, 由于肿瘤细胞快速生长导致的氧耗增加, 局部淋巴循环不足导致的组织间压力增高, 以及新生血管不成熟导致的血流短路, 使缺氧更加严重。缺氧往往导致一些不利的情况, 如放疗不敏感, 部分细胞分化成更具侵袭性的类型<sup>[6]</sup>。

通过 CT 可以观察到胰腺癌的乏血管表现<sup>[7]</sup>, 而且经测量肿瘤组织间的氧张力, 证实胰腺癌的缺氧状况<sup>[8]</sup>。胰腺癌的缺氧影响 DNA 转录水平, 改变细胞代谢和刺激血管生成。研究证实<sup>[9]</sup>, 胰腺癌细胞株的缺氧使肿瘤细胞抵抗吉西他滨诱导的凋亡, 可能的途径有 NF- $\kappa$ B 和有丝分裂激活蛋白激酶 (MAPK) 的激活。

1.1 缺氧诱导因子 缺氧诱导因子包含有缺氧反应元素, 其碱基与缺氧导致的转录因子相结合。最具代表的转录因子是缺氧诱导因子-1 (hypoxia-induced factor-1, HIF-1)<sup>[10]</sup>。HIF-1 蛋白是异质二聚物, 由两个亚单位构成: HIF-1 $\alpha$  和 HIF-1 $\beta$ 。HIF-1 $\beta$  在细胞内有表达, 但 HIF-1 $\alpha$  在正常氧含量的细胞却无法找到。其原因是细胞内氧压力正常时, HIF-1 $\alpha$  将被快速降解, 仅在细胞缺氧时与 HIF-1 $\beta$  形成二聚体, 逐渐聚集并移位于细胞核<sup>[11]</sup>。其结果是通过基因激活导致一系

列蛋白产物增多: 促红细胞生成素、糖分解途径系列酶、血红素氧化酶、碳酸酐酶和 VEGF<sup>[12]</sup>。

Buchler 等<sup>[13]</sup>发现胰腺癌中 HIF-1 $\alpha$  mRNA 表达上调, 且与 VEGF mRNA 表达呈正相关, 表示 HIF-1 $\alpha$  通过上调 VEGF 表达来促进血管生成, 促进胰腺癌生长。缺氧状态还促进运动因子的表达, 增加胰腺癌细胞的运动。将 HIF-1 $\alpha$  转染胰腺癌细胞后, 发现缺氧使运动因子表达增强, 提示 HIF-1 能促进肿瘤的转移<sup>[14]</sup>。

上述现象说明, HIF-1 $\alpha$  保护缺氧状态下的胰腺癌细胞, 胰腺癌细胞株通过大量表达 HIF-1 $\alpha$ , 提高了在缺氧和营养不良状态下的生存率<sup>[15]</sup>。进一步研究还发现<sup>[16]</sup>, 缺少 HIF-1 $\alpha$  表达的胰腺癌细胞株对缺氧和葡萄糖缺乏引起的凋亡相当敏感。临床研究发现<sup>[17]</sup>, III 期和 IV 期胰腺癌患者的 HIF-1 $\alpha$  mRNA 表达显著高于 I 期和 II 期患者。HIF-1 $\alpha$  的表达与 VEGF 表达、转移潜能和肿瘤大小呈正相关, 与预后呈负相关<sup>[18]</sup>。抑制 HIF-1 $\alpha$  可能成为胰腺癌的靶向治疗<sup>[19,20]</sup>。

1.2 血红素氧化酶-1 血红素氧化酶系统控制血红素的降解, 并导致胆绿素的生成, 后者在胆绿素还原酶的作用下还原成胆红素。血红素氧化酶有 3 种异构体: 血红素氧化酶-1 (haeme oxygenase-1, HO-1)、HO-2 和 HO-3。HO-2 和 HO-3 尽管在细胞内广泛表达, 但作用尚不清楚<sup>[21]</sup>。HO-1 通常由紫外线、热休克、一氧化氮和缺氧因素诱导产生。由于胆绿素具有结合自由基的活性, 因此 HO-1 能保护缺氧的细胞。实体肿瘤 HO-1 的过表达有助于肿瘤细胞凋亡和应激反应减少<sup>[22]</sup>, 从而保护肿瘤细胞。HO-1 除了拮抗缺氧, 还诱导血管生成。诱导血管生成的作用最早发现于冠状血管内皮细胞。HO-1 转染胰腺癌细胞株后刺激血管生成, 在免疫缺陷小鼠实验中能刺激肿瘤生长<sup>[23]</sup>。

1.3 碳酸酐酶 碳酸酐酶 (carbonic anhydrase, CA) 属含锌的转膜酶, 催化 CO<sub>2</sub> 转变为碳酸, 具有调节酸碱平衡及呼吸、影响骨质再吸收、促进糖原再生、形成尿素、产生胃酸、使上皮细胞相互作用以及细胞增生的作用<sup>[24]</sup>。

目前已发现 CA 有 14 种异构体, 尽管在肿瘤生成方面的作用尚不清楚, 但已经了解对肿瘤耐受缺氧的作用。研究发现, CA-IX 异构体在肾细胞癌、子宫癌和卵巢癌中均有过表达<sup>[25]</sup>。CA-IX 通常表达于血供差的癌肿。应用 Western blot 分析, 未发现 CA-IX 在胰腺癌表达的差异, 而且与 p53 表达和微血管密度 (MVD) 不相关, 但用乙酰唑胺抑制 CA-IX 后, 发现胰腺癌细胞株的细胞增殖速度显著下降<sup>[26]</sup>。Covelard 等<sup>[27]</sup>发现, 仅少部分胰腺癌组织切片中存在微弱的 CA-IX 染色, 细胞膜上 CA-IX 的表达与胰腺内分泌肿瘤的预后不良相关。因此, CA-IX 在胰腺导管腺癌缺氧及血管生成方面的确切作用需要进一步研究。

[收稿日期] 2008-08-15

[作者单位] 上海交通大学医学院附属瑞金医院 外科; 上海消化外科研究所, 上海 200025

[作者简介] 费 健 (1972-), 男, 博士, 副主任医师。

[通讯作者] 韩天权, 博士, 博士生导师, 教授, 研究方向: 胆道外科和胰腺外科。

## 2 胰腺癌的血管生成

血管生成是在原先的血管外建立一套新的血液供应系统的过程,新的血管通常是从已有的毛细血管或毛细血管后静脉发展形成<sup>[28]</sup>。通过CT观察到胰腺癌血管不足的情况<sup>[7]</sup>,重要的是还在肿瘤内发现微血管的形成,表现为内皮细胞过度增殖的异型性血管形成、血管形态及分布不均匀<sup>[29]</sup>。血管生成和微血管生长对胰腺癌的生长和侵袭具有重要意义。MVD是通过肿瘤特定位置的血管计数,定量分析血管生长的评分方法。胰腺癌组织切片的MVD显著高于正常对照,其数值与行根治性切除的患者预后呈负相关<sup>[30]</sup>,与胰腺癌的转移潜能呈正相关<sup>[31]</sup>。胰腺肿瘤的血管生成取决于促血管生成因子和抗血管生成因子的平衡。

**2.1 VEGF** VEGF家族包括6种细胞因子<sup>[1]</sup>: VEGF-A、VEGF-B、VEGF-C、VEGF-D、VEGF-E和胎盘生长因子(placenta growth factor, PGF)。VEGF-A是分子量为34~45 kDa的二硫聚糖蛋白,其编码基因位于染色体6p,由于mRNA的不同拼接方式,产生出5种VEGF-A的异构体: VEGF-121、VEGF-145、VEGF-165、VEGF-189、VEGF-205,它们对肿瘤的血管生成有不同影响,以VEGF-165在肿瘤中最为常见<sup>[32]</sup>。

VEGF-A有3种酪氨酸激酶受体: VEGFR-1、VEGFR-2、VEGFR-3。它们存在于内皮细胞上,但受体功能不同,VEGF-A一旦与之结合便形成二聚体,发生磷酸化,通过复杂的细胞间途径进行信号传递<sup>[33]</sup>。尽管VEGF受体通常在内皮细胞上表达,但研究发现胰腺癌细胞上也有表达。VEGFR-1的表达最为普遍,已发现11种胰腺癌细胞株中有它的表达,刺激该受体能促进癌细胞的移位和侵袭<sup>[34]</sup>。Vosseler等<sup>[35]</sup>应用VEGFR-2单克隆抗体DC101将鳞状细胞癌转化为非浸润肿瘤表型。Buchler等<sup>[36]</sup>报道,VEGFR-2在胰腺癌组织和细胞系的表达与预后密切相关,并在VEGF介导的胰腺癌细胞增殖中发挥作用。

体外培养胰腺癌细胞发现,VEGF能促进其生长<sup>[37]</sup>。动物实验显示,敲除VEGFR-A基因后,胰腺癌的生长遭严重破坏,其血管生成也明显减少<sup>[38]</sup>。研究还证实,VEGF与胰腺癌病理分期、术后复发、淋巴结和远处转移以及术后生存时间呈负相关<sup>[39]</sup>。血清VEGF-A的水平与胰腺癌患者生存时间呈负相关<sup>[40]</sup>。VEGF-C被证明能促进淋巴上皮细胞的移位,并进一步导致淋巴管的形成<sup>[41]</sup>。尽管有研究认为在胰腺癌中,VEGF的表达与微血管密度以及预后无关,但VEGF作为一种重要的细胞因子,能影响胰腺癌细胞的生长,这一点毋庸置疑。

**2.2 类胰岛素生长因子及受体** 类胰岛素生长因子受体(insulin-like growth factor receptor, IGF-1R)是一种异四聚化酪氨酸激酶受体,由两个 $\alpha$ 亚单位和两个 $\beta$ 亚单位组成。 $\alpha$ 亚单位位于细胞外,负责配体连接; $\beta$ 亚单位由细胞内外的两个部分组成<sup>[42]</sup>。IGF-1R及其配体IGF-1在胰腺癌中过表达,与疾病的进展及转移呈正相关<sup>[43]</sup>。研究发现IGF-1和IGF-1R通过上调VEGF的表达来促进胰腺癌细胞株的血管生成,其它胃肠道实体肿瘤的研究结果也相似<sup>[44]</sup>。

**2.3 基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMP)** MMP由一个含锌的酶家族组成,其表达与肿瘤转移危险的

增加相关。在胰腺癌小鼠模型的研究中发现,抑制MMP能减缓肿瘤生长、减少血管生成及转移<sup>[45]</sup>。Juuti等<sup>[46]</sup>用免疫组化检测127例胰腺癌患者的MMP-2,发现其表达与胰腺癌的分级分期相关。

**2.4 碱性成纤维细胞生长因子(base fibroblast growth factor, bFGF)** bFGF是最早被明确的促血管生长因子,由155个氨基酸组成,主要存在于细胞外基质,在MMP作用下释放,通过刺激其酪氨酸激酶受体起作用。它具有多种功能,如诱导包括内皮细胞在内的多种细胞增生分化,影响内皮细胞迁移,促进管腔形成,刺激内皮细胞分泌胶原酶,降解基底膜,以利于新生血管生长<sup>[47]</sup>。研究胰腺癌切除的病例提示,bFGF的高表达与生存时间呈负相关<sup>[32]</sup>。

**2.5 血小板衍生内皮细胞生长因子(platelet-derived endothelial cell growth factor, PD-ECGF)** PD-ECGF即胸腺嘧啶脱氧核苷磷酸化酶,分子量为55 kDa的蛋白,也是内皮细胞的化学引诱剂,在小鼠的肿瘤模型中能促进血管生长<sup>[48]</sup>。胰腺癌的临床研究发现PD-ECGF有过表达,且与预后负相关<sup>[49]</sup>。

## 3 以血管生成作为靶向的胰腺癌治疗

抑制血管生成在抗癌治疗的发展中是一个合理的方向,也是当今肿瘤研究的热点。由于MVD在胰腺癌中与预后密切相关,因此应用抗血管生成药物应该能改善胰腺癌的预后<sup>[26,30]</sup>。鉴于创伤及内膜均存在增生的内皮细胞,所以抗血管生成的药物应当具有特异性。

抗血管生成药物可分为两大类,受体拮抗剂及针对促血管生成物质或其受体的抗体。抗血管生成药物直接应用于胰腺癌的临床研究目前还非常少,因此需要借助于这些药物在其它恶性肿瘤中的应用结果来分析。此外,随着肿瘤血管形成研究的深入,基因治疗抗肿瘤血管形成越来越受到关注。Fleming等<sup>[50]</sup>应用RNA干扰技术抑制胰腺癌细胞株突变的K-ras基因,显示在抑制肿瘤细胞增殖、迁移的同时,它能升高内源性血管形成抑制因子TSP-A的表达。

VEGF在肿瘤血管生成中起着关键性的作用<sup>[51]</sup>。Wey等<sup>[34]</sup>研究证实,胰腺癌细胞合成分泌VEGF的同时,自身也表达VEGFR-1,刺激或削弱这一机制可增强或抑制胰腺癌细胞Panc-1侵袭和转移能力。该现象提示,抗VEGF治疗对基质细胞和肿瘤细胞同时发挥作用。VEGF及其信号传导通路已成为胰腺癌抗血管生成治疗研究的主要靶点<sup>[52]</sup>。

抗VEGFR的抗体包括DC-101和贝伐单抗(bevacizumab)。DC-101在胰腺癌的动物模型上取得了理想的结果,它能降低MVD,并减少了吉西他滨的细胞毒性<sup>[53]</sup>。贝伐单抗是临床应用最广泛的抗VEGFR的抗体,它系重组人抗VEGF单克隆IgG1抗体,2004年获美国FDA批准上市,用于一线治疗晚期结肠直肠癌,为世界上第一个批准上市的VEGF抑制剂。随机对照研究显示,它在结肠直肠癌和转移性肾细胞癌中取得显著的生存改善<sup>[54]</sup>。它与吉西他滨或卡培他滨联合应用治疗胰腺癌,目前仍在临床实验中<sup>[55]</sup>。

Zhang等<sup>[56]</sup>利用血小板反应素-1的抗血管形成功能区I型重复区(three thrombospondin-1 type repeats)构建重组蛋白3TSR,通过胰腺癌模型的研究证实,它能明显抑制肿瘤血管形成及生长。动物实验<sup>[57]</sup>显示,3STR治疗组增加肿瘤血

管内皮凋亡和降低 MVD, 吉西他滨组抑制肿瘤细胞增殖, 并促进凋亡, 然而, 两者结合较单独治疗并无明显差异。

其它一些药物是通过抑制酪氨酸激酶来阻断 VEGFR 的信号传递, 如 SU-5416 和 SU-6668, 它们尚处于临床前期的药物实验阶段。相类似的药物有 PTK-166, 它与吉西他滨联合用药能增加胰腺癌动物模型的肿瘤细胞凋亡和降低 MVD<sup>[58]</sup>。PTK787 与吉西他滨联合应用后, 不但使胰腺癌动物模型的肿块显著缩小, 还能减少淋巴结侵犯和肝脏转移的发生<sup>[59]</sup>。ZD6474 是一种新型的口服酪氨酸激酶抑制剂, 它在胰腺癌动物模型的应用中, 无论对缩小肿块、减少淋巴结转移和肝转移都取得了较好的效果<sup>[60]</sup>。

#### 4 结束语

缺氧是导致血管生成、细胞增生以及胰腺癌侵袭和转移的刺激因素, 理解这一过程及其分子机制, 有助于发现新的胰腺癌预后标志物和新的治疗方法。目前, 仍需要临床研究来比较抗血管生成药物、常规化疗药物以及联合用药的效果。抑制血管生成已在抗癌治疗中带来令人兴奋的效果。我们相信, 胰腺癌靶向治疗血管生成的研究进展也将成为胰腺癌治疗的曙光。

#### [ 参 考 文 献 ]

- Miller BA, Koloen LN, Berstein L. Racial/ethnic patterns of cancer in the United States 1998-92. Bethesda, MD: National Cancer Institute, 1996. NIH Publication No. 96-4104.
- Knaebel HP, Marten A, Schmidt J, et al. Phase III trial of postoperative cisplatin, interferon alpha-2b, and 5-Fu combined with external radiation treatment versus 5-Fu alone for patients with resected pancreatic adenocarcinoma - CapRI: study protocol [ISRCTN62866759] [J]. *BMC Cancer*, 2005, 5(1): 37.
- Folkman J. How is blood vessel growth regulated in normal and neoplastic tissue? G. H. A. Clowes memorial award lecture [J]. *Cancer Res*, 1986, 46(2): 467-473.
- Folkman J. Angiogenesis in cancer, vascular, rheumatoid and other disease [J]. *Nat Med*, 1995, 1(1): 27-31.
- Giatromanolaki A, Harris AL. Tumour hypoxia, hypoxia signaling pathways and hypoxia inducible factor expression in human cancer [J]. *Anticancer Res*, 2001, 21(6B): 4 317-4 324.
- Koong AC, Denko NC, Hudson KM, et al. Candidate genes for the hypoxic tumor phenotype [J]. *Cancer Res*, 2000, 60(4): 883-887.
- Megibow AJ. Pancreatic adenocarcinoma: designing the examination to evaluate the clinical questions [J]. *Radiology*, 1992, 183(2): 297-303.
- Koong AC, Mehta VK, Le QT, et al. Pancreatic tumours show high levels of hypoxia [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2000, 48(4): 919-922.
- Yokoi K, Fidler IJ. Hypoxia increases resistance of human pancreatic cancer cells to apoptosis induced by gemcitabine [J]. *Clin Cancer Res*, 2004, 10(7): 2 299-2 306.
- Semenza GL, Jiang BH, Leung SW, et al. Hypoxia response elements in the aldolase A, enolase 1, and lactate dehydrogenase A gene promoters contain essential binding sites for hypoxia-inducible factor 1 [J]. *J Biol Chem*, 1996, 271(51): 32 529-32 537.
- Semenza GL. HIF-1 and tumor progression: pathophysiology and therapeutics [J]. *Trends Mol Med*, 2002, 8(4 Suppl): S62-S67.
- Wenger RH, Gassmann M. Oxygen ( $\epsilon$ s) and the hypoxia-inducible factor-1 [J]. *Biol Chem*, 1997, 378(7): 609-616.
- Buchler P, Hines OJ, Reber HA. HIF-1 alpha and VEGF in pancreatic cancer [J]. *Pancreas*, 2003, 26(1): 1-5.
- Niizeki H, Kobayashi M, Horiuchi I, et al. Hypoxia enhances the expression of autocrine motility factor and the motility of human pancreatic cancer cells [J]. *Br J Cancer*, 2002, 86(12): 1 914-1 919.
- Akakura N, Kobayashi M, Horiuchi I, et al. Constitutive expression of hypoxia-inducible factor alpha renders pancreatic cancer cell resistant to apoptosis induced by hypoxia and nutrient deprivation [J]. *Cancer Res*, 2001, 61(17): 6 548-6 554.
- Chen J, Zhao S, Nakada K, et al. Dominant-negative hypoxia-inducible factor-1 alpha reduces tumorigenicity of pancreatic cancer cells through the suppression of glucose metabolism [J]. *Am J Pathol*, 2003, 162(4): 1 283-1 291.
- Wei HY, Chen LB, Wang CY. Correlation of mRNA expression of hypoxia inducible factor-1 alpha to biological features of pancreatic cancer [J]. *Ai Zheng*, 2005, 24(2): 184-188.
- Shibaji T, Nagao M, Ikeda N, et al. Prognostic significance of HIF-1 alpha overexpression in human pancreatic cancer [J]. *Anticancer Res*, 2003, 23(6C): 4 721-4 727.
- Yang L, Kang WK. The effect of HIF-1alpha siRNA on growth and chemosensitivity of MIA-paca cell line [J]. *Yonsei Med J*, 2008, 49(2): 295-300.
- Miyake K, Yoshizumi T, Imura S, et al. Expression of hypoxia-inducible factor-1 alpha, histone deacetylase 1, and metastasis-associated protein 1 in pancreatic carcinoma: correlation with poor prognosis with possible regulation [J]. *Pancreas*, 2008, 36(3): E1-E9.
- Garcea G, Doucas H, Steward WP, et al. Hypoxia and angiogenesis in pancreatic cancer [J]. *ANZ J Surg*, 2006, 76(9): 830-842.
- Motterlini R, Foresti R, Bassi R, et al. Endothelial heme oxygenase-1 induction by hypoxia. Modulation by inducible nitric-oxide synthase and S-nitrosothiols [J]. *J Biol Chem*, 2000, 275(18): 13 613-13 620.
- Sunamura M, Duda DG, Ghattas MH, et al. Heme oxygenase-1 accelerates tumor angiogenesis of human pancreatic cancer [J]. *Angiogenesis*, 2003, 6(1): 15-24.
- Nishimori I, Fujikawa Adachi K, Onishi S, et al. Carbonic anhydrase in human pancreas: hypotheses for the pathophysiological roles of CA isozymes [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 1999, 880: 5-16.
- Lancaster JA, Harris AL, Davidson SE, et al. Carbonic anhydrase (CA IX) expression, a potential new intrinsic marker of hypoxia: correlations with tumor oxygen measurements and prognosis in locally advanced carcinoma of the cervix [J]. *Cancer Res*, 2001, 61(17): 6 394-6 399.
- Juhász M, Chen J, Lendeckel U, et al. Expression of carbonic anhydrase IX in human pancreatic cancer [J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2003, 18(8): 837-846.
- Couvelard A, O'Toole D, Turley H, et al. Microvascular density and hypoxia-inducible factor pathway in pancreatic endocrine tumours: negative correlation of microvascular density and VEGF expression with tumour progression [J]. *Br J Cancer*, 2005, 92(1): 94-101.
- McNamara DA, Harmey JH, Walsh TN, et al. Significance of angiogenesis in cancer therapy [J]. *Br J Surg*, 1998, 85(8): 1 044-1 055.
- Korc M. Pathways for aberrant angiogenesis in pancreatic cancer [J]. *Mol Cancer*, 2003, 2: 8.
- Khan AW, Dhillon AP, Hutchins R, et al. Prognostic significance of

- intratumoural microvessel density (IMD) in resected pancreatic and ampullary cancers to standard histopathological variables and survival [J]. *Eur J Surg Oncol*, 2002, 28(6): 637-644.
- [31] Fujioka S, Yoshida K, Yanagisawa S, *et al*. Angiogenesis in pancreatic carcinoma: thymidine phosphorylase expression in stromal cells and intratumoural microvessel density as independent predictors of overall and relapse-free survival [J]. *Cancer*, 2001, 92(7): 1 788-1 797.
- [32] Cheung N, Wong MP, Yuen ST, *et al*. Tissue-specific expression pattern of vascular endothelial growth factor isoforms in the malignant transformation of lung and colon [J]. *Hum Pathol*, 1998, 29(9): 910-914.
- [33] Dvorak HF. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor: a critical cytokine in tumor angiogenesis and a potential target for diagnosis and therapy. [J]. *J Clin Oncol*, 2002, 20(21): 4 368-4 380.
- [34] Wey JS, Fan F, Gray MJ, *et al*. Vascular endothelial growth factor receptor-1 promotes migration and invasion in pancreatic carcinoma cell lines [J]. *Cancer*, 2005, 104(2): 427-438.
- [35] Vosseler S, Mirancea N, Bohlen P, *et al*. Angiogenesis inhibition by vascular endothelial growth factor receptor-2 blockade reduces stromal matrix metalloproteinase expression, normalizes stromal tissue, and reverts epithelial tumor phenotype in surface heterotransplants [J]. *Cancer Res*, 2005, 65(4): 1 294-1 305.
- [36] Büchler P, Reber HA, Büchler MW, *et al*. VEGF-RII influences the prognosis of pancreatic cancer [J]. *Ann Surg*, 2002, 236(6): 738-749.
- [37] Tsuzuki Y, Mouta Carreira C, Bockhorn M, *et al*. Pancreas microenvironment promotes VEGF expression and tumor growth: novel window models for pancreatic tumor angiogenesis and microcirculation [J]. *Lab Invest*, 2001, 81(10): 1 439-1 451.
- [38] Inoue M, Hager JH, Ferrara N, *et al*. VEGF-A has a critical, nonredundant role in angiogenic switching and pancreatic beta cell carcinogenesis [J]. *Cancer Cell*, 2002, 1(2): 193-202.
- [39] Niedgerthmann M, Hildenbrand R, Wostbrock B, *et al*. High expression of vascular endothelial growth factor predicts early recurrence and poor prognosis after curative resection for ductal adenocarcinoma of the pancreas [J]. *Pancreas*, 2002, 25(2): 122-129.
- [40] Karayiannakis AJ, Bolanaki H, Syrigos KN, *et al*. Serum vascular endothelial growth factor levels in pancreatic cancer patients correlate with advanced and metastatic disease and poor prognosis [J]. *Cancer Lett*, 2003, 194(1): 119-124.
- [41] Ochi N, Matsuo Y, Sawai H, *et al*. Vascular endothelial growth factor-C secreted by pancreatic cancer cell line promotes lymphatic endothelial cell migration in an in vitro model of tumor lymphangiogenesis [J]. *Pancreas*, 2007, 34(4): 444-451.
- [42] Baserga R, Hongo A, Rubini M, *et al*. The IGF-I receptor in cell growth, transformation and apoptosis [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1997, 1 332(3): F105-F126.
- [43] Tanno S, Tanno S, Mitsuuchi Y, *et al*. AKT activation up-regulates insulin-like growth factor I receptor expression and promotes invasiveness of human pancreatic cancer cells [J]. *Cancer Res*, 2001, 61(2): 589-593.
- [44] Bauer TW, Somcio RJ, Fan F, *et al*. Regulatory role of c-Met in insulin-like growth factor-I receptor-mediated migration and invasion of human pancreatic carcinoma cells [J]. *Mol Cancer Ther*, 2006, 5(7): 1 676-1 682.
- [45] Hotz HG, Hines OJ, Hotz B, *et al*. Evaluation of vascular endothelial growth factor blockade and matrix metalloproteinase inhibition as a combination therapy for experimental human pancreatic cancer [J]. *J Gastrointest Surg*, 2003, 7(2): 220-227.
- [46] Juuti A, Lundin J, Nordling S, *et al*. Epithelial MMP-2 expression correlates with worse prognosis in pancreatic cancer [J]. *Oncology*, 2006, 71(1-2): 61-68.
- [47] Cavallaro U, Christofori G. Molecular mechanisms of tumor angiogenesis and tumor progression [J]. *J Neurooncol*, 2000, 50(1-2): 63-70.
- [48] Moghaddam A, Zhang HT, Fan TP, *et al*. Thymidine phosphorylase is angiogenic and promotes tumor growth [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, 92(4): 998-1 002.
- [49] Kuwahara K, Sasaki T, Kuwada Y, *et al*. Expressions of angiogenic factors in pancreatic ductal carcinoma: a correlative study with clinicopathologic parameters and patient survival [J]. *Pancreas*, 2003, 26(4): 344-349.
- [50] Fleming JB, Shen GL, Holloway SE, *et al*. Molecular consequences of silencing mutant K-ras in pancreatic cancer cells: justification for K-ras-directed therapy [J]. *Mol Cancer Res*, 2005, 3(7): 413-423.
- [51] Chang YT, Chang MC, Wei SC, *et al*. Serum vascular endothelial growth factor/soluble vascular endothelial growth factor receptor 1 ratio is an independent prognostic marker in pancreatic cancer [J]. *Pancreas*, 2008, 37(2): 145-150.
- [52] Tong Z, Kunnumakkara AB, Wang H, *et al*. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin: a novel suppressor of invasion and angiogenesis in pancreatic cancer [J]. *Cancer Res*, 2008, 68(15): 6 100-6 108.
- [53] Bruns CJ, Shrader M, Harbison MT, *et al*. Effect of the vascular endothelial growth factor receptor-2 antibody DC101 plus gemcitabine on growth, metastasis and angiogenesis of human pancreatic cancer growing orthotopically in nude mice [J]. *Int J Cancer*, 2002, 102(2): 101-108.
- [54] Yang JC, Haworth L, Sherry RM, *et al*. A randomized trial of bevacizumab, an anti-vascular endothelial growth factor antibody, for metastatic renal cancer [J]. *N Engl J Med*, 2003, 349(5): 427-434.
- [55] Ducreux M, Boige V, Malka D. Treatment of advanced pancreatic cancer [J]. *Semin Oncol*, 2007, 34(2 Suppl 1): S25-S30.
- [56] Zhang X, Galardi E, Duquette M, *et al*. Antiangiogenic treatment with the three thrombospondin-1 type 1 repeats recombinant protein in an orthotopic human pancreatic cancer model [J]. *Clin Cancer Res*, 2005, 11(6): 2 337-2 344.
- [57] Zhang X, Galardi E, Duquette M, *et al*. Antiangiogenic treatment with three thrombospondin-1 type 1 repeats versus gemcitabine in an orthotopic human pancreatic cancer model [J]. *Clin Cancer Res*, 2005, 11(15): 5 622-5 630.
- [58] Baker CH, Solorzano CC, Fidler IJ. Blockade of vascular endothelial growth factor receptor and epidermal growth factor receptor signaling for therapy of metastatic human pancreatic cancer [J]. *Cancer Res*, 2002, 62(7): 1 996-2 003.
- [59] Solorzano CC, Baker CH, Bruns CJ, *et al*. Inhibition of growth and metastasis of human pancreatic cancer growing in nude mice by PTK 787/ZK222584, an inhibitor of the vascular endothelial growth factor receptor tyrosine kinases [J]. *Cancer Biother Radiopharm*, 2001, 16(5): 359-370.
- [60] Conrad C, Ischenko I, Köhl G, *et al*. Antiangiogenic and antitumor activity of a novel vascular endothelial growth factor receptor-2 tyrosine kinase inhibitor ZD6474 in a metastatic human pancreatic tumor model [J]. *Anticancer Drugs*, 2007, 18(5): 569-579.