

# VEGF及其抗血管生成治疗的研究进展

陈曦, 刘连新

陈曦, 刘连新, 哈尔滨医科大学附属第一临床医学院普外科  
黑龙江省哈尔滨市 150001  
国家自然科学基金资助, No. 30300339  
通讯作者: 刘连新, 150001, 黑龙江省哈尔滨市南岗区邮政街 23 号, 哈尔滨  
医科大学附属第一临床医学院普外科. liulianxin@sohu.com  
电话: 0451-53670428 传真: 0451-53670428  
收稿日期: 2005-06-10 接受日期: 2005-06-13

## 摘要

近年来随着对实体肿瘤内部血管生成和功能认识的增加, 人们对肿瘤的发生、发展和转移有了更进一步的认识. 大量促血管生成因子及抗血管生成因子的发现使学者们意识到肿瘤内血管的生长具有可调节性. 血管内皮生长因子(VEGF)是其中起主要作用的细胞因子, 大量针对 VEGF 的抗血管生成药物开拓了治疗肿瘤的新途径. 目前, 多种药物正处于临床前期和临床期试验过程. 现将就 VEGF 的结构、功能、表达调节、抑制剂的临床应用及研究进展做介绍.

陈曦, 刘连新. VEGF 及其抗血管生成治疗的研究进展. 世界华人消化杂志  
2005;13(16):1996-2000  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/13/1996.asp>

## 0 引言

血管的生成是一种生理现象, 同时也是病理过程的一部分. 月经、创伤修复、风湿、糖尿病及肿瘤的生长都与血管生长有不可分割的联系. 新生血管需要细胞-细胞、细胞-基质的相互作用并由多种因子调节, 包括促血管生成因子和抗血管生成因子两种<sup>[1]</sup>. Bergers *et al*<sup>[2]</sup>将血管诱导过程中多因子相互促进或拮抗的现象形象地描述为“开关”, 用以说明生理和病理过程中血管生成具有很强的调节性. 1971 年, Folkman<sup>[3]</sup>建设性地提出肿瘤生长依赖于血管生成, 抑制血管生成将成为抑制肿瘤生长和转移的新策略. 由此, 大量学者开始对肿瘤血管尤其是促血管生成因子和抗血管生成因子进行研究. 发现了 VEGF, bFGF, PDGF, angiopoietin, HIF-1, endostatin, angiostatin, TSP, TIMP 等多种影响血管生成的细胞因子, 随后又兴起了抗肿瘤血管的治疗方法. 目前, 抗肿瘤血管疗法主要包括抗血管生成和靶向血管两种<sup>[4]</sup>. 已有多种药剂相继问世, 并处于临床实验阶段. 我们将就各种促血管生成因子中起主要作用的 VEGF 的结构、功能、表达调节、抑制剂的临床应用及研究进展做介绍.

## 1 关于 VEGF 和 VEGFR

1.1 血管内皮生长因子(VEGF)最早在 1983 年由 Senger *et al*<sup>[5]</sup>发现, 并根据其增加血管通透性的功能将其命

名为血管通透性因子(VPF). 之后在 1989 年, Ferrara *et al*<sup>[6]</sup>提纯并测定 VEGF 的序列, 同时证明 VEGF 具有促进内皮细胞有丝分裂的作用. VEGF-A 是 PDGF 超基因家族的成员之一. 该家族还包括同源基因 PlGF. VEGF-A 定位在 6 号染色体的短臂, 包括 8 个外显子和 7 个内含子<sup>[7]</sup>. 由于 mRNA 的不同拼接, 形成 5 种 VEGF 异型体. 分别是 VEGF<sub>121</sub>, VEGF<sub>145</sub>, VEGF<sub>165</sub>, VEGF<sub>189</sub>, VEGF<sub>206</sub>. Woolard *et al*<sup>[8]</sup>最近报道发现 VEGF 新的异型体 VEGF<sub>165b</sub>, 其最末 6 个氨基酸(SLTPKD)有别于传统的 VEGF<sub>165</sub>(CDKPRR). 另外, 还有一些与 VEGF-A 同源并有相似功能的基因, 分别为 VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E<sup>[9]</sup>. 机体细胞可以分泌多种 VEGF 异型体, 其中 VEGF<sub>165</sub> 和 VEGF<sub>121</sub> 是主要的功能形态. 而 VEGF<sub>165</sub> 的生物学作用强于 VEGF<sub>121</sub>. Whitaker *et al*<sup>[10]</sup>研究认为 VEGF<sub>165</sub> 能通过由第 7 个外显子所编码的 44 个氨基酸与硫酸乙酰肝素和 Npn-1 相连而固定于细胞表面. 并且 Npn-1 能特异性地与 VEGFR-2 形成其受体并介导其与配体 VEGF<sub>165</sub> 相连<sup>[11]</sup>. VEGF<sub>121</sub> 没有第 7 外显子编码的区域, 因此不能连接于细胞表面而处于游离状态, 并易于被蛋白酶分解. 大量研究表明人类肿瘤细胞普遍存在高水平的 VEGF 表达, 如膀胱癌、乳腺癌、结肠癌、肾癌等. 并且 VEGF 与肿瘤的生长、浸润、转移、预后有密切的关系.

1.2 VEGF 与其特异性受体 VEGFR 相连并发挥相应的生物学功能. 其受体主要有 VEGFR-1/flt-1, VEGFR-2/flk-1/KDR, 和 VEGFR-3/flt-4<sup>[7]</sup>. 受体和配体的搭配见表 1. 三种受体属跨膜酪氨酸激酶受体, 包括细胞外 7 个免疫球蛋白(Ig)样区域, 跨膜段和细胞内酪氨酸激酶区. 在成熟个体内, 血管生成主要是由 VEGFR-2 介导的细胞内信号传导. VEGFR-2 先形成其二聚体, 然后通过其最外侧 3 个 Ig 样区域与配体 VEGF 相连<sup>[12]</sup>. 此后细胞内酪氨酸激酶区域自磷酸化并介导进一步的细胞内信号级联反应. VEGFR-2 主要有 2 条信号传导途径: (1) PKC-Raf-MEK-MAPK 该途径影响内皮细胞的增殖<sup>[13]</sup>; (2) PI3K-AKT 该途径与内皮细胞的存活有关<sup>[14]</sup>. Shibuya<sup>[12]</sup>总结 VEGFR-1/-2 的功能主要有: 内皮细胞增殖; 管腔形成; 内皮细胞存活; 内皮细胞迁移; 血管通透性; Est-1, TF, PAI-1, MMPs 的基因表达; 单核细胞、巨噬细胞迁移. 前 6 方面主要由 VEGFR-2 介导, 最后的由 VEGFR-1 介导. 此外 VEGFR-1 主要在胚胎发育时期起作用, 在成熟个体内其作用体现在调节 VEGFR-2 的功能. VEGFR-3 主要表达在淋巴细胞和淋巴管内皮细胞表面, 其与配体 VEGF-C 相连可促进胚胎及成熟个体内淋巴管的形成.

表1 VEGF受体和配体搭配

VEGFR-1/flt-1	VEGFR-2/flk-1/KDR	VEGFR-3/flt-4	硫酸乙酰肝素
VEGF <sub>121</sub>	VEGF <sub>121</sub>	VEGF-C	VEGF <sub>145</sub>
VEGF <sub>165</sub>	VEGF <sub>145</sub>	VEGF-D	VEGF <sub>165</sub>
VEGF-B	VEGF <sub>165</sub>		VEGF <sub>165b</sub>
PlGF-1	VEGF <sub>165b</sub>		VEGF <sub>189</sub>
PlGF-2	VEGF-C		VEGF-B
	VEGF-D		PlGF-2
	VEGF-E		

## 2 VEGF的调节

VEGF作为重要的促进血管生长因子,在多种正常组织细胞和肿瘤细胞中都有表达,但是其表达水平却相去甚远。研究显示肿瘤组织内高水平VEGF受多种细胞因子、生长因子和促炎性因子的调节。这种调节作用与肿瘤细胞周围被激活的基质细胞、炎性细胞有密切的关系。已知基质细胞,如成纤维细胞,能分泌bFGF, PDGF, TNF $\alpha$ , TGF- $\beta$ , IGF- $\beta$ , EGF, HGF。这些生长因子能够促进肿瘤内血管的生成,其作用主要通过诱导VEGF表达实现。角化细胞可以分泌特异的生长因子KGF<sup>[15]</sup>。该因子在损伤修复过程中的大量表达,并能诱导角化细胞合成VEGF。另外,基质细胞和浸润入肿瘤组织的炎性细胞还可分泌多种炎性因子。已证实IL-1 $\beta$ 及IL-6均有不同程度的上调VEGF表达的作用<sup>[16-17]</sup>;相反,IL-10和IL-13则抑制VEGF的释放。Chin *et al*<sup>[18]</sup>报道VEGF与其受体结合可增加细胞内NO的生成,而NO又可促进VEGF的表达,并增进其血管通透和扩血管作用。

缺氧是肿瘤组织的明显特征。由于细胞快速地、无休止地恶性增殖使得大量肿瘤细胞远离临近血管。供养血管的氧气难以弥散至150  $\mu$ m以外的区域,使得大部分肿瘤细胞处于缺氧的环境。缺氧诱导细胞产生大量的HIF-1,而HIF-1又进行性地诱导VEGF的表达,从而促进新血管的形成。VEGF基因启动子上游存在缺氧诱导元件(HRE)。HIF-1可特异性与HRE结合,激活启动子促进mRNA转录。另外,缺氧可诱导生成一种mRNA连接蛋白HuR。HuR结合到VEGF mRNA 3'端非转录区(UTR)增加mRNA的稳定性<sup>[7]</sup>。

除细胞外因子和细胞内信号因子外,部分癌基因和抑癌基因也影响VEGF的表达。野生型p53能够抑制VEGF的表达,而p53突变或缺失则引起VEGF的上调,促进肿瘤血管生成<sup>[19]</sup>。VHL是另一种与VEGF表达有关的抑癌基因。VHL基因产物p<sup>VHL</sup>与hCUL-2形成酶复合物CBC<sup>VHL</sup>,可以特异性降解HIF-1 $\alpha$ 亚基使其失活<sup>[20]</sup>。另外,p<sup>VHL</sup>还可与转录因子Sp1结合,抑制Sp1结合VEGF基因启动子促进转录的作用。而VHL基因的突变则导致VEGF的过表达。癌基因Ras的表达产物可影响HIF-1 $\alpha$ ,经由MAPK和AKT信号途径增加HIF-1 $\alpha$ 的活性及稳定性,从而上调VEGF的表达。

## 3 基于VEGF-VEGFR的小分子抗血管生成药物

随着对肿瘤血管结构、功能及新血管生成认识的进展,尤其是对VEGF-VEGFR功能认识的加深。越来越多的学者将研究工作聚焦于研制抗VEGF途径的肿瘤血管生成。根据VEGF发挥促血管生成作用的各步骤,应运而生三大类药物(表2)。VEGFR由相应mRNA翻译生成,而细胞内mRNA的清除主要由核酶来完成。angiozyme就是一种靶向VEGFR-1/flt-1 mRNA的特异性核酶<sup>[21]</sup>。临床前和临床I期试验均显示angiozyme有一定程度的抗血管生成和抑制肿瘤生长的作用。第二类抗血管生成药物是针对VEGF受体在结合配体后的白磷酸化作用而设计的受体酪氨酸激酶抑制剂。此类药物包括:SU5416, SU6668, ZD4190, ZD6474, PTK787/ZK222584, CD547, 632, SU11248等。除VEGFR外,受体酪氨酸激酶抑制剂还可同时作用于多种细胞因子的受体,如PDGFR, EGFR, FGFR等。因此,可直接和间接地抑制VEGF的功能。临床前及临床I期试验表明酪氨酸激酶抑制剂能够抑制血管生成;降低血管通透性;减少血管密度和数量;减少肿瘤局部血供;抑制原发肿瘤和转移瘤的生长。SU5416已进入III期试验。口服广谱酪氨酸激酶抑制剂SU11248和PTK787/ZK222584分别进入II期和III期试验。Lu *et al*<sup>[22]</sup>报道其实验室合成的小分子化合物Z24与SU5416结构相似,并且其促内皮细胞凋亡,抑制肿瘤生长和转移的作用均优于SU5416。目前Z24仍处于临床前试验阶段。第三类药物以抗体形式出现,包括IMC-1C11和bevacizumab(Avastin)。IMC-1C11是VEGFR-2的单克隆抗体,其源于早期应用的鼠flk-1单克隆抗体DC101<sup>[23]</sup>。Bevacizumab是重组人VEGF的单克隆抗体。Willett *et al*<sup>[24]</sup>报道bevacizumab单剂治疗可降低通透性,血管密度和组织间液压,减少内皮细胞数量,从而抑制肿瘤生长,促进化疗药的摄取和血管形态的正常化。2004年bevacizumab已通过美国FDA的认可,作为晚期结肠癌伴转移的一线用药。值得一提的是,抗血管生成小分子药物的剂量与临床效果存在一个依赖性与非依赖性的关系。Mendel *et al*<sup>[25]</sup>分别用20, 40, 80 mg/kg的SU11248作用于裸鼠荷人肿瘤。40 mg/kg组抗癌效果优于20 mg/kg组,而80 mg/kg组却未显示出更好的作用。其他小分子药物也有类似的动态效果。因此,猜测抗血管生成的小分子药物在剂量上存在某个域值。当低于域值时,效果与剂量保持线性关系;超过域值时其作用不明显提高,反而可能增加毒副作用。

多种小分子抑制剂在肿瘤治疗方面取得可喜的成绩,然而抗血管生成的治疗策略仍是喜忧参半。Kuenen *et al*<sup>[27]</sup>在应用SU5416单剂临床试验显示肾癌和软组织肉瘤的有效率分别为25%和23%,而黑素瘤组未见明显稳定肿瘤的作用。同时观察到的副反应主要有头痛(61.3%),无力(57.5%),恶心(46.3%),静脉炎(33.8%)等。另外,还出现一些少见但严重的反应如心梗(1例),深静脉血

表2 抗血管生成药物及临床应用

药物	属性	靶向目标	肿瘤研究范围	临床期	参考文献
Bevacizumab(Avastin)	单克隆抗体	VEGF	结直肠癌	FDA 批准用药	[24]
IMC-1C11	单克隆抗体	VEGFR-2	结直肠癌、淋巴瘤、白血病	I 期	[23]
SU5416	酪氨酸激酶抑制剂	VEGFR-1/-2	前列腺癌、卵巢癌、	III 期	[27]-[29], [37]
		PDGFR	肾癌、黑素瘤、		
		C-kit	结直肠癌、		
		C-Met	肝癌		
SU6668	酪氨酸激酶抑制剂	VEGFR-1/-2	胃癌、卵巢癌、	III 期	[30],[37]
		PDGFR	结肠癌、乳腺癌、		
		C-kit	白血病		
		FGFR-1			
ZD4190	酪氨酸激酶抑制剂	VEGFR-1/-2	肺癌、前列腺癌、	临床前期	[31]
ZD6474	酪氨酸激酶抑制剂	VEGFR-2	乳腺癌、卵巢癌	临床前期	[32]
		EGFR	卵巢癌、甲状腺癌		
PTK787/ZK222584	酪氨酸激酶抑制剂	VEGFR-2/-3	结直肠癌、神经胶质瘤、	I 期	[33],[34]
			甲状腺癌、肝癌		
CP-547, 632	酪氨酸激酶抑制剂	VEGFR-2	肺癌、结肠癌、	临床前期	[35]
		FGFR	乳腺癌		
		PDGFR			
		EGFR			
SU11248	酪氨酸激酶抑制剂	VEGFR	白血病、肺癌、	I 期	[25],[26]
		PDGFR	乳腺癌、结肠癌		
		C-kit			
		flt-3			
Z24	酪氨酸激酶抑制剂	VEGFR-2	结肠癌	临床前期	[22]
Angiozyme	核酶	VEGFR-1 mRNA		II 期	[21]

栓(4例). Posey *et al*<sup>[23]</sup>在研究 IMC-1C11 对结肠癌肝转移疗效时也报道患者出现疼痛、发热、胃肠道不适、无力, 以及出血(痰、便中血丝)等副反应. 类似的许多临床试验均证实不同起源的肿瘤对抗血管生成类小分子的作用效果不尽相同. 而且, 出血、血栓形成的严重毒性反应也影响进一步的临床应用. 此外, 抗血管生成的小分子制剂主要由体外制备, 其非细胞毒性作用决定了其需长期用药. Posey *et al*<sup>[23]</sup>在临床试验中同时报道了最初用药42 d内, 检测到7例患者(共14例)体内存在IMC-1C11的抗体. 因此, 长期用药时体内抗体的生成可能也会影响抗血管生成药物的使用.

目前, 大量研究将抗血管治疗与传统的放化疗联合应用, 以弥补单剂治疗的不足. 临床试验显示单剂抗血管药物往往只能延缓肿瘤的生长, 肿瘤组织没有明显退行性变化. 而引入直接杀伤的细胞毒性化疗药可增强抗肿瘤效果. 其次, 抗VEGF治疗可以改变肿瘤内血管迂曲、渗漏的表型, 降低组织间液压(IFP), 增加大分子物质包括化疗药物的转运<sup>[36]</sup>, 使传统化疗药物更有效地渗入肿瘤组织, 从而提高疗效. 此外, 单用化疗药常出现耐药

情况. 联合用药可一定程度上延缓耐药的出现. 放疗可使分裂中的肿瘤细胞死亡. 目前认为影响放疗的因素主要有缺氧和抗凋亡基因的表达. Abdollahi *et al*<sup>[37]</sup>报道亚致死剂量的放射可以促进内皮细胞 VEGFR-2 mRNA, VEGF 和 bFGF 表达上调. 而 VEGF 和 bFGF 具有促进内皮细胞存活, 抑制凋亡作用. 此外, 过表达的 VEGF 使血管迂曲, 血流缓慢, 导致大部分肿瘤细胞处于缺氧的状态, 因而对放疗不敏感. Ferrara *et al* 证实联用抗 VEGF 制剂可有效增加放疗效果<sup>[38]</sup>.

总之, 越来越多的研究证实任何联合用药都不能消灭或完全控制肿瘤的发展. 在4-6个周期用药后, 原发和转移部位的肿瘤往往恢复继续进展的能力. Huang *et al*<sup>[39]</sup>在一个延长抗VEGF治疗的观察试验中发现肿瘤内已形成血管在形态学上发生明显的改变. 血管管腔直径增大, 血管壁细胞增殖, 整个血管趋向成熟化. 肿瘤细胞被坏死区域分割为多个以血管为中心的“岛”或“簇”. 进一步研究显示这种重塑血管PDGF-B的表达水平增加. 长期应用抗 VEGF 制剂阻断了 VEGF-VEGFR 的信号系统, 使肿瘤内血管的数量、密度降低. 残存的肿瘤细胞可能通过增加表

达其他促血管生成因子, 如PDGF-B, 来维持并改变原有血管形态和功能. 扩大管腔直径可以增加血管内表面积以增加供氧; 管壁增厚可以稳固血管, 减少药物大分子的通透性. 肿瘤组织通过重塑血管, 改变周围微环境, 逐渐适应联合治疗. 长期抗VEGF治疗可能筛选出肿瘤细胞中的特异性亚型. 该亚型除VEGF还可利用其他促血管生成因子. 另外, 肿瘤组织内部的种种变化也与其基质细胞的作用密不可分. 肿瘤表型改变、血管重塑及微环境更新可能与肿瘤细胞-基质细胞相互激活, 基质细胞的旁分泌有关. 因此, 深入了解长期应用抗VEGF药物后血管形态、功能的变化, 基质细胞、肿瘤细胞表型的改变, 将有效地指导临床治疗. 相对于正常组织来说, 肿瘤组织有背景性的VEGF分泌, 此分泌水平并不高. 但在缺氧环境中, HIF-1可诱导肿瘤细胞VEGF表达上调. 因此, 缺氧是肿瘤细胞生物学活性的强诱导因素之一. Serganova *et al*<sup>[40]</sup>通过三维球体培育系统研究实体肿瘤的缺氧表现. 在用荧光显示表达缺氧报告因子的试验中, 部分曾经表达缺氧报告因子的瘤细胞散在出现于非缺氧的瘤体外层区域. 他们认为这是由于缺氧肿瘤细胞对氧有趋向性和移动性. 应用抗VEGF药物使许多肿瘤细胞逐渐进入缺氧的状态. 而缺氧的强诱导作用使“濒死细胞”分泌大量促血管生成因子. 这其中包括MMPs家族及整合素等黏附因子. 他们不但降解周围基质而且增加了肿瘤细胞的移动性. 由于抗VEGF药物可诱导血管的重塑, 阻碍了肿瘤的外渗. 所以, 淋巴管可能逐渐成为此时肿瘤的主要转移途径. 目前认为淋巴管与血管相比基底膜更薄, 内皮细胞连接更疏松, 更适于细胞的外渗<sup>[41]</sup>. 此外, 实体肿瘤内淋巴管由于细胞的挤压往往处于封闭状态. 抗VEGF治疗后, 随大量肿瘤组织的坏死, 淋巴管可能更加通畅. 因此, 抗血管治疗的同时监测淋巴系统的变化有助于了解肿瘤的转移性. 除实体肿瘤外, VHL家族病也可长期应用抗VEGF治疗. 然而目前仍没有关于长期使用抗VEGF类药物后毒性反应的详细报告. 药物最佳剂量的选择也是有待研究的问题. 此外, 靶向血管内皮与抗血管生成的联合应用可能更有效地破坏肿瘤血管. 总之, 肿瘤的生长依赖血管的生成, 加强抗肿瘤血管生成的基础研究将有效地指导临床抗肿瘤治疗.

#### 4 参考文献

- Folkman J, Kalluri R. Cancer without disease. *Nature* 2004; 427:787
- Bergers G, Benjamin LE. Tumorigenesis and the angiogenic switch. *Nat Rev Cancer* 2003;3:401-410
- Folkman J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications. *N Engl J Med* 1971;285:1182-1186
- Eichhorn ME, Strieth S, Dellian M. Anti-vascular tumor therapy: recent advances, pitfalls and clinical perspectives. *Drug Resist Updat* 2004;7:125-138
- Senger DR, Galli SJ, Dvorak AM, Perruzzi CA, Harvey VS, Dvorak HF. Tumor cells secrete a vascular permeability factor that promotes accumulation of ascites fluid. *Science* 1983; 219:983-985
- Leung DW, Cachianes G, Kuang WJ, Goeddel DV, Ferrara N. Vascular endothelial growth factor is a secreted angiogenic mitogen. *Science* 1989;246:1306-1309
- Huang Z, Bao SD. Roles of main pro-and anti-angiogenic factors in tumor angiogenesis. *World J Gastroenterol* 2004;10:463-470
- Woolard J, Wang WY, Bevan HS, Qiu Y, Morbidelli L, Pritchard-Jones RO, Cui TG, Sugiono M, Waine E, Perrin R, Foster R, Digby-Bell J, Shields JD, Whittles CE, Mushens RE, Gillatt DA, Ziche M, Harper SJ, Bates DO. VEGF<sub>165b</sub>, an inhibitory vascular endothelial growth factor splice variant: mechanism of action, in vivo effect on angiogenesis and endogenous protein expression. *Cancer Research* 2004;64:7822-7835
- Neufeld G, Cohen T, Gengrinovitch S, Poltorak Z. Vascular endothelial growth (VEGF) and its receptors. *FASEB J* 1999; 13:9-22
- Whitaker GB, Limberg BJ, Rosenbaum JS. Vascular endothelial growth factor receptor-2 and neuropilin-1 form a receptor complex that is responsible for the differential signaling potency of VEGF<sub>165</sub> and VEGF<sub>121</sub>. *J Biol Chem* 2001;276:25520-25531
- Gu C, Limberg BJ, Whitaker GB, Perman B, Leahy DJ, Rosenbaum JS, Ginty DD, Kolodkin AL. Characterization of Neuropilin-1 structural features that confer binding to Semaphoring 3A and Vascular endothelial growth factor 165. *J Biol Chem* 2002;277:18069-18076
- Shibuya M. Vascular endothelial growth factor receptor-2: Its unique signaling and specific ligand, VEGF-E. *Cancer Sci* 2003; 94:751-756
- Takahashi T, Ueno H, Shibuya M. VEGF activates protein kinase C-dependent, but Ras-independent Raf-MEK-MAP kinase pathway for DNA synthesis in primary endothelial cells. *Oncogene* 1999;18:2221-2230
- Gerber HP, McMurtrey A, Kowalski J, Yan M, Keyt BA, Dixit V, Ferrara N. Vascular endothelial growth factor regulates endothelial cell survival through the Phosphatidylinositol 3-Kinase/Akt signal transduction pathway. *J Biol Chem* 1998; 273:30336-30343
- Frank S, Hubner G, Breier G, Longaker MT, Greenhalgh DG, Werner S. Regulation of vascular endothelial growth factor expression in cultured Keratinocytes. *J Biol Chem* 1995;270: 12607-12613
- Li J, Perrella MA, Tsai JC, Yet SF, Hsieh CM, Yoshizumi M, Patterson C, Endege WO, Zhou F, Lee ME. Induction of vascular endothelial growth factor gene expression by interleukin-1 beta in rat aortic smooth muscle cells. *J Biol Chem* 1995;270: 308-312
- Cohen T, Nahari D, Cerem LW, Neufeld G, Levi BZ. Interleukin-6 induces the expression of vascular endothelial growth factor. *J Biol Chem* 1996;271:736-741
- Chin K, Kurashima Y, Ogura T, Tajiri H, Yoshida S, Esummi H. Induction of vascular endothelial growth factor by nitric oxide in human glioblastoma and hepatocellular carcinoma cells. *Oncogene* 1997;15:437-442
- Glade Bender J, Cooney EM, Kandel JJ, Yamashiro DJ. Vascular remodeling and clinical resistance to antiangiogenic cancer therapy. *Drug Resist Updat* 2004;7:289-300
- Harris AL. von Hippel-Lindau syndrome: Target for anti-vascular endothelial growth factor (VEGF) receptor therapy. *Oncologist* 2000;5:32-36
- Weng DE, Usman N. Angiozyme, a novel angiogenesis inhibitor. *Curr Oncol Rep* 2001;3:141-146
- Lu H, Lin C, Zheng Z, Li S, Guo S, Zhang X, Fu M, Liang X, Wu M. Angiogenesis inhibitor Z24 induces endothelial cell apoptosis and suppresses tumor growth and metastasis. *J Pharmacol Sci* 2005;97:533-540
- Posey JA, Ng TC, Yang B, Khazaeli MB, Carpenter MD, Fox F, Needle M, Waksal H, LoBuglio AF. A phase I study of anti-kinase insert domain-containing receptor antibody, IMC-1C11, in patients with liver metastases from colorectal carcinoma. *Clin Cancer Res* 2003;9:1323-1332
- Willett CG, Boucher Y, di Tomaso E, Duda DG, Munn LL,

- Tong RT, Chung DC, Sahani DV, Kalva SP, Kozin SV, Mino M, Cohen KS, Scadden DT, Hartford AC, Fischman AJ, Clark JW, Ryan DP, Zhu AX, Blaskowsky LS, Chen HX, Shellito PC, Lauwers GY, Jain RK. Direct evidence that the VEGF-specific antibody bevacizumab has antivasular effects in human rectal cancer. *Nat Med* 2004;10:145-147
- 25 Mendel DB, Laird AD, Xin X, Louie SG, Christensen JG, Li G, Schreck RE, Abrams TJ, Ngai TJ, Lee LB, Murray LJ, Carver J, Chan E, Moss KG, Haznedar JO, Sukbuntherng J, Blake RA, Sun L, Tang C, Miller T, Shirazian S, McMahon G, Cherrington JM. In vivo antitumor activity of SU11248, a novel tyrosine kinase inhibitor targeting vascular endothelial growth factor and platelet-derived growth factor receptors: Determination of a pharmacokinetic/pharmacodynamic relationship. *Clin Cancer Res* 2003;9:327-337
- 26 Fiedler W, Serve H, Dohner H, Schwittay M, Ottmann OG, O'Farrell AM, Bello CL, Allred R, Manning WC, Cherrington JM, Louie SG, Hong W, Brega NM, Massimini G, Scigalla P, Berdel WE, Hossfeld DK. A phase 1 study of SU11248 in the treatment of patients with refractory or resistant acute myeloid leukemia (AML) or not amenable to conventional therapy for the disease. *Blood* 2005;105:986-993
- 27 Kuenen BC, Tabernero J, Baselga J, Cavalli F, Pfanner E, Conte PF, Seeber S, Madhusudan S, Deplanque G, Huisman H, Scigalla P, Hoekman K, Harris AL. Efficacy and toxicity of the angiogenesis inhibitor SU5416 as a single agent in patients with advanced renal cell carcinoma, melanoma, and soft tissue sarcoma. *Clin Cancer Res* 2003;9:1648-1655
- 28 Peterson AC, Swiger S, Stadler WM, Medved M, Karczmar G, Gajewski TF. Phase II study of the FLK-1 tyrosine kinase inhibitor SU5416 in advanced melanoma. *Clin Cancer Res* 2004;10:4048-4054
- 29 Heymach JV, Desai J, Manola J, Davis DW, McConkey DJ, Harmon D, Ryan DP, Goss G, Quigley T, Van den Abbeele AD, Silverman SG, Connors S, Folkman J, Fletcher CD, Demetri GD. Phase II study of the antiangiogenic agent SU5416 in patients with advanced soft tissue sarcomas. *Clin Cancer Res* 2004;10:5732-5740
- 30 Marzola P, Degraffi A, Calderan L, Farace P, Crescimanno C, Nicolato E, Giusti A, Pesenti E, Terron A, Sbarbati A, Abrams T, Murray L, Osculati F. In vivo assessment of antiangiogenic activity of SU6668 in an experimental colon carcinoma model. *Clin Cancer Res* 2004;10:739-750
- 31 Wedge SR, Ogilvie DJ, Dukes M, Kendrew J, Curwen JO, Hennequin LF, Thomas AP, Stokes ES, Curry B, Richmond GH, Wadsworth PF. ZD4190: an orally inhibitor of vascular endothelial growth factor signaling with broad-spectrum antitumor efficacy. *Cancer Res* 2000;60:970-975
- 32 Taguchi F, Koh Y, Koizumi F, Tamura T, Saijo N, Nishio K. Anticancer effects of ZD6474, a VEGF receptor tyrosine kinase inhibitor, in gefitinib("Iressa")-sensitive and resistant xenograft models. *Cancer Sci* 2004;95:984-989
- 33 Dreys J, Hofmann I, Hugenschmidt H, Wittig C, Madjar H, Muller M, Wood J, Martiny-Baron G, Unger C, Marme D. Effects of PTK787/ZK222584, a specific inhibitor of vascular endothelial growth factor receptor tyrosine kinases, on primary tumor, metastasis, vessel density, and blood flow in a murine renal cell carcinoma model. *Cancer Res* 2000;60:4819-4824
- 34 Thomas AL, Morgan B, Horsfield MA, Higginson A, Kay A, Lee L, Masson E, Laurent D, Steward WP. Phase I study of the safety, tolerability, pharmacokinetics, and pharmacodynamics of PTK787/ZK222584 administered twice daily in patients With advanced cancer. *J Clin Oncol* 2005(Abstract)
- 35 Beebe JS, Jani JP, Knauth E, Goodwin P, Higdon C, Rossi AM, Emerson E, Finkelstein M, Floyd E, Harriman S, Atherton J, Hillerman S, Soderstrom C, Kou K, Gant T, Noe MC, Foster B, Rastinejad F, Marx MA, Schaeffer T, Whalen PM, Roberts WG. Pharmacological characterization of CP-547, 632, a novel vascular endothelial growth factor receptor-2 tyrosine kinase inhibitor for cancer therapy. *Cancer Res* 2003;63:7301-7309
- 36 Heldin CH, Rubin K, Pietras K, Ostman A. High interstitial fluid pressure-an obstacle in cancer therapy. *Nature Rev Cancer* 2004;4:806-813
- 37 Abdollahi A, Lipson KE, Han X, Krempien R, Trinh T, Weber KJ, Hahnfeldt P, Hlatky L, Debus J, Howlett AR, Huber PE. SU5416 and SU6668 attenuate the angiogenic effects of radiation-induced tumor cell growth factor production and amplify the direct anti-endothelial action of radiation in vitro. *Cancer Res* 2003;63:3755-3763
- 38 Lee CG, Heijn M, di Tomaso E, Griffon-Etienne G, Ancukiewicz M, Koike C, Park KR, Ferrara N, Jain RK, Suit HD, Boucher Y. Anti-vascular endothelial growth factor treatment augments tumor radiation response under normoxic or hypoxic conditions. *Cancer Res* 2000;60:5565-5570
- 39 Huang J, Soffer SZ, Kim ES, McCrudden KW, Huang J, New T, Manley CA, Middlesworth W, O'Toole K, Yamashiro DJ, Kandel JJ. Vascular remodeling marks tumors that recur during chronic suppression of angiogenesis. *Mol Cancer Res* 2004;2:36-42
- 40 Serganova I, Doubrovin M, Vider J, Ponomarev V, Soghomonyan S, Beresten T, Ageyeva L, Serganov A, Cai S, Balatoni J, Blasberg R, Gelovani J. Molecular imaging of temporal dynamics and spatial heterogeneity of hypoxia-inducible factor-1 signal transduction activity in tumors in living mice. *Cancer Res* 2004;64:6101-6108
- 41 Stacker SA, Baldwin ME, Achen MG. The role of tumor lymphangiogenesis in metastatic spread. *FASEB J* 2002;16:922-934