

血管生成拟态在消化道肿瘤中的研究进展

张婧, 高青

张婧, 高青, 重庆医科大学附属第一医院消化内科 重庆市 400016

通讯作者: 张婧, 400016, 重庆医科大学255号信箱, 重庆医科大学附属第一医院消化内科. bbnnggz@163.com

电话: 023-68575846

收稿日期: 2006-12-19 接受日期: 2007-01-11

Research development of vasculogenic mimicry in digestive tumor

Jing Zhang, Qing Gao

Jing Zhang, Qing Gao, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China

Correspondence to: Jing Zhang, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, 225 P.O.Box, Chongqing 400016, China. bbnnggz@163.com

Received: 2006-12-19 Accepted: 2007-01-11

Abstract

Vasculogenic mimicry is a new pattern of tumor microcirculation found in recent years, which is totally different from the classic tumor angiogenesis and independent of vascular endothelial cells, and it demonstrated the gene reversion and endothelial cell-associated gene expression and in highly-invasive tumor cells, as well as the formation of tube-like or reticular structure. Studies confirmed that vasculogenic mimicry has close relationship with the growth, invasion, metastases of tumors and the prognosis of patients. In this review, we conclude the characteristics, pathogenic mechanism, and significance in therapy of vasculogenic mimicry and its research development in digestive tumors.

Key Words: Digestive tumor; Neoplasmas; Vasculogenic mimicry; Angiogenesis

Zhang J, Gao Q. Research development of vasculogenic mimicry in digestive tumor. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2007;15(7):725-728

摘要

血管生成拟态是近几年来在发现的一种与经

典的肿瘤血管生成途径完全不同、不依赖机体内皮细胞的全新肿瘤血管模式, 他描述了高度侵袭性肿瘤细胞可以发生基因逆转, 表达内皮细胞相关基因, 在三维基质中培养时形成管状结构或网络样管道的特有功能。研究证实, 与肿瘤生长、侵袭、转移及患者预后密切相关。本文就血管生成拟态的特点、发生机制、对肿瘤治疗的意义以及在消化道肿瘤中的研究进展等作一综述。

关键词: 消化道肿瘤; 血管生成拟态; 血管生成

张婧, 高青. 血管生成拟态在消化道肿瘤中的研究进展. *世界华人消化杂志* 2007;15(7):725-728

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/15/725.asp>

0 引言

实体肿瘤的生长和转移有赖于血管生成^[1]. 经典的肿瘤血管生成理论认为, 当瘤团直径大于2 mm时, 需要激活血管内皮细胞(endothelial cell, EC)构建血管获取血供, 否则肿瘤就会因为缺血缺氧发生坏死. 但在1999年美国Maniotis *et al*^[2]根据对人眼葡萄膜黑色素瘤微循环的研究, 首次提出了一种与经典的肿瘤血管生成途径完全不同、不依赖机体内皮细胞的全新肿瘤微循环模式, 即血管生成拟态(vasculogenic mimicry, VM)的概念, VM是指某些高度恶性肿瘤细胞通过自身变形模拟血管内皮细胞并与细胞外基质相互作用模仿血管壁结构形成可以运输血液(血浆, 红细胞)的管道系统, 从而重塑肿瘤微循环, 并与宿主血管相连使肿瘤获得血液供应的一种现象. 他描述了高度侵袭性肿瘤细胞可以发生基因逆转, 表达内皮细胞相关基因, 在三维基质中培养时形成管状结构或网络样管道的特有功能. VM对以内皮依赖性血管是肿瘤微循环唯一方式的传统观念提出了挑战, 同时也是对肿瘤血管生成理论的重要补充. 随后的研究证实这种营养性管道与肿瘤的生长、侵袭、转移密切相关^[3-4]. 目前的研究证明在前列腺癌、肝癌、双向分化肿瘤、卵巢癌、膀胱癌

■背景资料

血管生成拟态(简称VM)是近年来发现的一种不同于传统肿瘤血管生成的新的肿瘤微循环模式, 他与肿瘤的侵袭、转移以及患者的预后密切相关, 有望成为肿瘤治疗的一个全新的出发点, 为肿瘤的治疗提供一个新的方向.

■研发前沿

目前有关血管生成拟态的研究主要集中在其发生机制以及在治疗中的作用等方面,许多问题有待进一步解决,例如如何特异性地区分肿瘤细胞与血管内皮细胞,其发生机制究竟涉及哪些方面以及如何抑制其生成等,将会成为研究的热点。

等中存在着VM现象。本文就VM的近期研究,特别是在消化道肿瘤中的研究进展作一综述。

1 VM的解剖、生理和生物学特点

VM是一种由细胞外基质构成的互相连接的环状通路,肿瘤细胞存在于管壁的外侧,这些通路有的是实性的,有的是中空的^[3]。三维培养研究发现VM围绕在团块状肿瘤细胞的周围,并与肿瘤血管之间存在着连接。光学显微镜、电子显微镜以及针对内皮细胞的免疫组织化学染色等均未发现这些管道的基质中存在内皮细胞^[3,5]。目前研究认为^[6]:过碘酸雪夫反应(periodic acid-schiff, PAS)染色是确定VM的必须条件,这是因为:(1)目前利用血管标记物(荆豆凝集素、CD31和CD34)不能观察到VM现象;(2)PAS阳性染色的管道显示与血管直接相通;(3)荆豆凝集素标记的PAS阳性管道可用来进行三维重建以显示管道的分支和环状形态,并且主要出现于一些高侵袭性肿瘤的中心部位。

VM不仅在组织学上存在,而且还具有一定的生理功能:(1)直径>1 cm的视网膜黑色素瘤没有出现坏死,表明肿瘤具有良好的灌注;(2)PAS阳性的管道中可见红细胞;(3)静脉注射吲哚青绿后利用共焦检眼成像系统在患者的视网膜黑色素瘤中发现了环状管道存在,这些环状管道与组织切片PAS阳性染色的管道结构一致。

VM通常存在于一些高侵袭性的肿瘤中,而弱侵袭性的肿瘤在相同的条件下却不能形成类似管道,即使在培养基中加入生长因子或在低氧环境下也不能形成。用基因芯片分析显示高侵袭性黑色素瘤细胞显示出多能胚胎样的基因表型,表明这些肿瘤细胞可自主形成利于自身生长需要的营养管道并参与肿瘤的微循环^[2]。由于缺乏内皮细胞,VM管壁上的肿瘤细胞容易脱落入其管道中,进入血管向远处转移^[3]。因此,VM与肿瘤的高度侵袭性和不良预后有明显的相关性。国外研究证实,有VM的恶性黑色素瘤转移率高于无VM的患者,生存时间短,且VM对预后的影响程度大于如肿瘤大小、有丝分裂活性等因素^[2];有无VM的乳腺癌患者5 a生存率分别为65% vs 77%,前者显著短于后者^[7]。

2 VM的发生机制

目前VM的生成机制尚不明确,可能的原因主要是:(1)肿瘤细胞的可塑性机制;(2)基因表达的改变;(3)分子信号传递的改变;(4)微环境的影响。

2.1 肿瘤细胞的可塑性机制 肿瘤细胞的可塑性是VM形成的基础,可解释肿瘤细胞具有模仿内皮细胞并能形成VM的倾向^[8]。高侵袭性及转移性黑色素瘤细胞可收缩或重塑浮动的胶原,这也可能是体内VM形成的机制之一^[2]。细胞外基质(ECM)主要包括胶原、蛋白多糖、糖蛋白、糖胺多糖和弹力纤维等五大类物质,其挛缩和重塑与许多体外实验中细胞产生的索状、管状结构有关。Maniotis *et al*^[2]的体外实验表明,高侵袭性葡萄膜黑色素瘤细胞可固定漂浮的胶原凝胶。在贯穿肿瘤细胞的肌动蛋白中间丝转导力的参与下,用细胞松弛素D可阻止这种固定、挛缩。这说明,高度恶性肿瘤细胞在缺氧的条件下可以通过自身的变形模拟内皮细胞形成管道样结构,为其自身的生长和侵袭提供条件。

2.2 基因表达的改变 肿瘤细胞可表达内皮相关基因,有研究发现由内皮样和成纤维细胞样细胞亚群构成的前列腺癌细胞系表达内皮相关基因(层黏连蛋白、 $\alpha 1\beta 6$ 层黏连蛋白2结合整合素等)时,在病理分级高的肿瘤中可检测到VM生成^[9]。而TEL基因可诱导稳定的转化细胞如内皮细胞的聚集,在NIH3T32UCLA细胞中,当超过75%的构成单层细胞的细胞表达TEL基因时,这些细胞就自发形成细胞索,直径为15-25 μm 的细胞索可形成管状结构。用逆转录病毒载体将TEL和Ras基因转染内皮ES1细胞系或将TEL基因单独转导入高转化的胶质母细胞瘤细胞系EH2A, EH2B均可导致强烈的细胞聚集^[10]。

2.3 分子信号的传递的改变 最近研究发现,一些分子信号的传递,如血管内皮2钙黏素、酪氨酸蛋白激酶EphA2受体、FAK及磷脂酰肌醇-3激酶(PI3K)等可能参与VM的形成。研究发现当血管内皮2钙黏素下调时,生成VM的能力丧失,这表明血管内皮2钙黏素与VM的形成有着密切的关系^[11]。PI3K特异性地影响膜型基质金属蛋白酶-1(MT1-MMP)和基质金属蛋白酶-2(MMP-2)的活性,在VM网络结构的形成中具有重要作用^[12-13]。基质金属蛋白酶家族在肿瘤的侵袭和转移过程中起到重要的作用^[14]。免疫荧光分析发现高侵袭性黑色素瘤中酪氨酸激酶磷酸化活性特异性地集中于VM生成区,利用酪氨酸蛋白激酶抑制剂或者暂时封闭磷酸化的酪氨酸激酶受体2上皮细胞激酶即可阻止细胞形成管状结构的能力^[15]。

2.4 微环境的影响 研究认为肿瘤的微环境对VM的生成具有一定的影响。高侵袭性黑色素瘤细

胞上调组织因子(tissue factor, TF), 其抑制因子-1, -2 (TFPI-1, -2)是启动和调控凝血途径的关键因子, 弱侵袭性的黑色素瘤在含有TFPI-2复合物的三维基质中培养后能够转换为高侵袭性的细胞并呈现内皮细胞表型^[16]。有实验采用高侵袭性黑色素瘤细胞预处理后的含MMP-2和MT1-MMP蛋白水解产物Ln5γ2链碎片的基质培养低侵袭性黑色素瘤细胞, 结果发现肿瘤细胞发生了表型的改变, 具有形成VM的能力。而使用MMP抑制剂或者抗体后, 不仅高侵袭性黑色素瘤形成VM的现象减少, 而且由基质诱导的低侵袭性黑色素瘤表型的转化都可以受到抑制^[17]。这说明肿瘤微环境的变化影响了VM的形成, 在肿瘤的生长, 侵袭过程中起到重要的作用。

3 VM与肿瘤治疗

VM现象的发现为高度恶性肿瘤的治疗提供了一个新的出发点。传统的抗血管新生治疗主要针对血管内皮细胞, 而对肿瘤自身能够形成管道结构未加以考虑。故在设计抗肿瘤血管治疗方案时, 必须同时考虑对VM的作用。VM的发现既是对传统的抗肿瘤血管新生治疗的挑战, 也是对他的补充。以往在临床上使用抗体引导抗癌药物进入肿瘤组织的一个很大的问题就是由于内皮细胞的存在延缓了大分子药物在肿瘤组织中的蓄积过程。这也是抗癌药物副作用较大的原因之一。抗癌药物在存在VM现象的炎性乳腺癌中的蓄积速度较在没有VM现象的乳腺癌细胞株中要快得多, 并且浓度更大, 原因是没有了血管内皮细胞的阻挡作用。这一研究也说明了在存在VM的肿瘤中使用抗体介导的抗癌药物的治疗将是一个有效的途径^[18]。Liu *et al*^[19]在研究前列腺癌中发现, 把可溶性的组织因子细胞外结构域与前列腺特异性抗原(PSMA)催化部位结合形成由PMSA介导的选择性肿瘤细胞凝血酶原抑制剂。使用该抑制剂在小鼠前列腺癌模型中导致了选择性的具有VM现象的局部肿瘤组织坏死。将该抑制剂与低剂量的阿霉素合用导致了明显的癌细胞破坏作用, 甚至可以根除某些肿瘤组织。该实验结果为治疗肿瘤提供了一个新的途径。针对肿瘤VM的治疗策略, 可考虑以下有关环节或作用靶点: (1)拮抗肿瘤细胞黏附分子表达; (2)抑制肿瘤侵袭相关蛋白酶的合成; (3)抑制细胞外基质合成与分泌以及肿瘤细胞重塑; (4)对恶性肿瘤细胞内皮细胞相关基因的靶向治疗。

4 消化道肿瘤中VM的研究

4.1 肝癌 国内研究发现^[20]肝癌中存在VM现象。根据Edmondson病理学分期 I - II 期(高度分化组)的肝癌组织中VM的发生率(2.5%)比III-VI期(低度分化组)的肝癌组织中VM的发生率(18.64%)要低($P<0.05$)。表明VM在分化程度较低的肝癌组织中较多。VM组较对照组的肝癌患者的血行转移率要高, 两组的生存期也存在明显的差别, VM组的患者平均生存期为9 mo, 远远少于不存在VM的肝癌患者(31 mo)。因而VM是恶性程度较高的肝癌细胞的一种特性, 他可以增加肿瘤细胞侵袭转移的机会, 缩短患者的生存期。因此VM与肿瘤的侵袭、转移等生物学行为有关。VM有可能成为治疗肝癌的一个新靶点。

4.2 食管癌 恶性食管间质瘤是一种非定向分化的富含血管的间质瘤。其血行转移率明显高于淋巴转移。赵晖 *et al*^[21]在研究恶性食管间质瘤中发现, 其中也存在VM现象。并且VM存在的比例随着肿瘤恶性程度的增加而升高。患者的生存率则与肿瘤中的VM现象呈反比关系。随着VM的增加, 肿瘤组织中血管内皮生长因子(VEGF)的表达与微血管密度(VMD)也呈增加的趋势。这说明, 随着食管间质瘤恶性程度的增加, 肿瘤细胞增殖更加迅速, 导致了肿瘤细胞的缺氧, 肿瘤细胞分泌VEGF的表达来刺激血管的生成。但是当新生血管不能满足肿瘤组织生长的需要时, 部分肿瘤细胞就会通过自身的变形来模拟血管内皮细胞形成管道样结构并与内皮依赖性血管相通来保证肿瘤细胞氧和营养物质的供应。

4.3 胃癌 吴清 *et al*^[22]进行TNP-470对胃癌细胞株SGC-7901体外VM的抑制作用的研究, 发现SGC-7901在体外三维立体培养基中可以形成管道状结构, 呈单个或多个环相连的网格状。使用抗肿瘤血管生成药物TNP-470可以抑制VM的形成。但这与van der Schaft *et al*^[23]的实验结果存在一定的分歧, 其原因有待进一步的研究。而丁印鲁 *et al*^[24]在研究中使用含有est-1基因的反义寡核苷酸的培养基培养SGC-7901细胞株, 发现SGC-7901细胞株中的VM的形成受到了抑制。这两个实验都说明, 人胃癌细胞具有形成VM的能力, 因此可为胃癌的抗血管治疗提供一个新的方向。

总之, VM的发现改变了人们以往对肿瘤血供的传统观念, 使人们对肿瘤细胞的一些特殊生物学性状有了新的认识, 亦为肿瘤的治疗提供了一种极具潜在应用价值的新思路、新途径。

■应用要点

血管生成拟态是对传统肿瘤血管生成理论的重要补充, 将会为高度恶性肿瘤的治疗提供一个全新的方向和靶点, 在临床治疗中起到指导作用。

■名词解释

血管生成拟态: 是指高度恶性肿瘤细胞通过自身变形模拟血管内皮细胞形成管道样结构运输血液, 从而为肿瘤细胞的生长提供氧气和营养物质供应的一种现象。

■同行评价

血管生成拟态概念较新颖,是肿瘤血管再生理论的一大补充,本文对血管生成拟态的生物学特点、形成机制、及在消化道肿瘤中的研究作了综述,层次分明,条理清楚,有较高的参考价值。

近来, Clarijs *et al*^[8]在缺乏淋巴管的葡萄膜黑色素瘤中发现了呈高表达的VEGF- C. Laakkonen *et al*^[25]已在皮肤黑色素瘤细胞上定位淋巴管内皮透明质酸酶受体(lymphatic-vessel endothelial hyaluronan receptor 1, LYVE1),可能会因此发现能模拟淋巴管的网络结构,这为某些现象的解释提供了新的理论途径. 但仍有许多问题亟待进一步研究,如VM分子机制中的反应级联问题,是否涉及肿瘤细胞黏附、降解、移动的其他分子参与. 如何特异性区分肿瘤细胞、内皮细胞及其他外周细胞,是否还有其他肿瘤存在VM现象,等等. 相信,随着对肿瘤VM的进一步研究,对肿瘤的发生、发展、浸润、转移等恶性生物学行为的认识和防范会进一步深入.

5 参考文献

- 1 王淑红, 张在人, 李萍, 赵德利. 胃癌组织中MVD和VEGF表达与影像学表现的关系. 世界华人消化杂志 2005; 13: 2004-2006
- 2 Maniotis AJ, Folberg R, Hess A, Seftor EA, Gardner LM, Pe'er J, Trent JM, Meltzer PS, Hendrix MJ. Vascular channel formation by human melanoma cells *in vivo* and *in vitro*: vasculogenic mimicry. *Am J Pathol* 1999; 155: 739-752
- 3 Folberg R, Maniotis AJ. Vasculogenic mimicry. *APMIS* 2004; 112: 508-525
- 4 Sun B, Zhang S, Zhao X, Zhang W, Hao X. Vasculogenic mimicry is associated with poor survival in patients with mesothelial sarcomas and alveolar rhabdomyosarcomas. *Int J Oncol* 2004; 25: 1609-1614
- 5 Shirakawa K, Kobayashi H, Heike Y, Kawamoto S, Brechbiel MW, Kasumi F, Iwanaga T, Konishi F, Terada M, Wakasugi H. Hemodynamics in vasculogenic mimicry and angiogenesis of inflammatory breast cancer xenograft. *Cancer Res* 2002; 62: 560-566
- 6 Folberg R, Hendrix MJ, Maniotis AJ. Vasculogenic mimicry and tumor angiogenesis. *Am J Pathol* 2000; 156: 361-381
- 7 Shirakawa K, Wakasugi H, Heike Y, Watanabe I, Yamada S, Saito K, Konishi F. Vasculogenic mimicry and pseudo-comedo formation in breast cancer. *Int J Cancer* 2002; 99: 821-828
- 8 Clarijs R, Schalkwijk L, Ruiter DJ, de Waal RM. Lack of lymphangiogenesis despite coexpression of VEGF-C and its receptor Flt-4 in uveal melanoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001; 42: 1422-1428
- 9 Hendrix MJ, Seftor EA, Hess AR, Seftor RE. Vasculogenic mimicry and tumour-cell plasticity: lessons from melanoma. *Nat Rev Cancer* 2003; 3: 411-421
- 10 Van Rompaey L, Holland E, Grosveld G. TEL Induces Aggregation in Transformed Cells and Induces Tube Formation in NIH3T3-UCLA Cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; 291: 820-828
- 11 Hendrix MJ, Seftor EA, Meltzer PS, Gardner LM, Hess AR, Kirschmann DA, Schattelman GC, Seftor RE. Expression and functional significance of VE-cadherin in aggressive human melanoma cells: role in vasculogenic mimicry. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 8018-8023
- 12 Hess AR, Seftor EA, Seftor RE, Hendrix MJ. Phosphoinositide 3-kinase regulates membrane Type 1-matrix metalloproteinase (MMP) and MMP-2 activity during melanoma cell vasculogenic mimicry. *Cancer Res* 2003; 63: 4757-4762
- 13 孙晓杰, 黄常志. PI3K-Akt信号通路与肿瘤. 世界华人消化杂志 2006; 14: 306-311
- 14 汪丽燕, 乔镇, 关景明. 基质金属蛋白酶及其抑制剂在消化道肿瘤中的研究进展. 世界华人消化杂志 2004; 12: 2674-2678
- 15 Hess AR, Seftor EA, Gardner LM, Carles-Kinch K, Schneider GB, Seftor RE, Kinch MS, Hendrix MJ. Molecular regulation of tumor cell vasculogenic mimicry by tyrosine phosphorylation: role of epithelial cell kinase (Eck/EphA2). *Cancer Res* 2001; 61: 3250-3255
- 16 Ruf W, Seftor EA, Petrovan RJ, Weiss RM, Gruman LM, Margaryan NV, Seftor RE, Miyagi Y, Hendrix MJ. Differential role of tissue factor pathway inhibitors 1 and 2 in melanoma vasculogenic mimicry. *Cancer Res* 2003; 63: 5381-5389
- 17 Seftor RE, Seftor EA, Kirschmann DA, Hendrix MJ. Targeting the tumor microenvironment with chemically modified tetracyclines: inhibition of laminin 5 gamma2 chain promigratory fragments and vasculogenic mimicry. *Mol Cancer Ther* 2002; 1: 1173-1179
- 18 Kobayashi H, Shirakawa K, Kawamoto S, Saga T, Sato N, Hiraga A, Watanabe I, Heike Y, Togashi K, Konishi J, Brechbiel MW, Wakasugi H. Rapid accumulation and internalization of radiolabeled herceptin in an inflammatory breast cancer xenograft with vasculogenic mimicry predicted by the contrast-enhanced dynamic MRI with the macromolecular contrast agent G6-(1B4M-Gd)(256). *Cancer Res* 2002; 62: 860-866
- 19 Liu C, Huang H, Donate F, Dickinson C, Santucci R, El-Sheikh A, Vessella R, Edgington TS. Prostate-specific membrane antigen directed selective thrombotic infarction of tumors. *Cancer Res* 2002; 62: 5470-5475
- 20 Yao LQ, Feng YJ, Ding JX, Xu CJ, Jin HY, Yin LH. Primary study of vasculogenic mimicry induced by hypoxia in epithelial ovarian carcinoma. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi* 2005; 40: 662-665
- 21 赵晖, 顾晓萌, 丛波, 李希波. 恶性食管间质瘤的血管生成拟态研究. 中华消化杂志 2006; 26: 405-407
- 22 吴清, 孙启龙, 丁印鲁, 李兆亭. TNP-470对胃癌细胞株SGC-7901体外血管生成拟态的抑制作用. 中国现代普通外科进展 2005; 8: 222-223
- 23 van der Schaft DW, Seftor RE, Seftor EA, Hess AR, Gruman LM, Kirschmann DA, Yokoyama Y, Griffioen AW, Hendrix MJ. Effects of angiogenesis inhibitors on vascular network formation by human endothelial and melanoma cells. *J Natl Cancer Inst* 2004; 96: 1473-1477
- 24 丁印鲁, 李兆亭. est-1基因的反义寡核苷酸对胃癌体外血管生成拟态的影响. 外科理论与实践 2003; 8: 394-399
- 25 Laakkonen P, Porkka K, Hoffman JA, Ruoslahti E. A tumor-homing peptide with a targeting specificity related to lymphatic vessels. *Nat Med* 2002; 8: 751-755

电编 张敏 编辑 张焕兰