·综 述·

血管生成拟态的研究进展

Research progress in vasculogenic mimicry

张 昱[1],崔 涛[1],李锦濯[1],田衍平[2] (第三军医大学:1. 学员旅 13 队;2. 基础部组织学与胚胎学教研室,重庆 400038)

[关键词] 血管生成拟态;调节因子;肿瘤
[中图分类号] R364.3;R318 [文献标识码] B [文章编号] 1672-5042(2012)03-0311-02

1971 年 Folkman[1] 提出了肿瘤生长依赖血管新生的假说,由此拉开了近代关于肿瘤血管生成研究的序幕。在深入的研究中发现,肿瘤直径达到 1 ~ 2 mm 后,若无新生血管生成来提供营养,则不能继续增长。因此,抑制肿瘤血管生成可望成为治疗肿瘤的新途径。事实上,有一种不同于经典血管生成的肿瘤血管形成方式,管道内壁没有血管内皮细胞,肿瘤细胞在管壁外表面排列,血液可在这无内皮细胞管道中流动。这是一种不依赖于内皮细胞的全新的肿瘤血供模式,在肿瘤的生长、侵袭和转移过程中扮演着重要的角色,即血管生成拟态(vasculogenic mimicry,VM)。本文就 VM 的研究进展综述如下。

1 肿瘤血管生成拟态的发现

1999 年,Maniotis 等[2] 在研究眼葡萄膜色素瘤及转移性皮肤黑色素瘤的组织切片时发现一种相互连接的、规律的环袢状网络结构,这些结构被 PAS 阳性的细胞外基质包绕,管道中可见红细胞,血管造影看到血流通过,证实为血管样结构。但经光镜、透射电镜及血管内皮细胞标志物(组织因子Ⅷ相关抗原、CD31、CD34、Ulex、Flk-1)的免疫组化检测,均没有发现血管内皮细胞的存在。于是将这种新的不依赖于内皮细胞的肿瘤内血管生成模式称为血管生成拟态。在随后的研究中,VM 又在不同部位的肿瘤中被发现[3-5]。血管生成拟态是具有微循环功能的类血管样结构,与血管相比有如下特征:①光镜、电镜、免疫组化的方法均未发现血管腔内层有内皮细胞衬覆,而是一层基底膜样结构;②VM 周围包绕有高侵袭性的肿瘤细胞;③VM 是 PAS 染色阳性的管网状结构;④可与肿瘤边缘长入的静脉相连;⑤存在于高侵袭性肿瘤而非低侵袭性肿瘤或良性肿瘤。

2 VM 生成的分子机制

在 VM 现象提出后,越来越多的人希望通过寻找 VM 生成的分子机制来寻找抑制其生成的办法。虽然 VM 生成的分子调节机制还未完全研究清楚,但已报道的一些因子可能在该机制中扮有重要角色。如:血管上皮钙粘附素(VE-cadherin)、上皮细胞激酶(Eck)、生促红素人肝细胞(Eph)受体酪氨酸激酶 A2(EphA2)、金属基质蛋白酶(MMPs)、磷脂酰肌醇-3 激酶(PI3K)、环氧化酶-2(COX-2)和组织因子通路抑制物(TF-PI)[6] 等。血管生成拟态机制见图 1[7]。

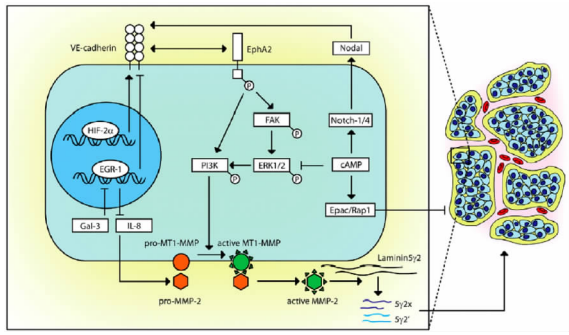


图 1 血管生成拟态机制

2.1 血管上皮钙粘附素

VE-cadherin 是较早鉴定的对 VM 生成有重要作用的调节因子。VE-cadherin 介导细胞与细胞间相互粘附。正常情况下 VE-cadherin 只在内皮细胞中表达,但该蛋白出现于高侵袭性的黑色素瘤细胞中。体外研究显示,用反义寡核苷酸特异下调 VE-cadherin 表达水平,黑色素瘤细胞失去在培养基上形成拟态血管的能力,认为 VE-cadherin 可能在 VM 中起"开关"作用[7]。

2.2 EphA2

EphA2 属于受体酪氨酸激酶的一种,能够调节细胞的生长、生存、迁移及血管生成。EphA2 与 VE-cadherin 共同聚集在细胞与细胞间的粘附点,现已证实,EphA2 与 VE-cadherin 的相互作用是启动 VM 的关键。EphA2 与其配体结合后磷酸化,磷酸化后的 EphA2 与 PI3K 结合并激活 PI3K,再调节金属基质蛋白的表达,水解 laminin5γ2 链,生成的水解片段释放的分子信号促进了 VM 的形成,从而促进黑色素瘤的形成。当敲除 EphA2基因后,高侵袭性黑色素瘤细胞不能形成 VM[8]。

2.3 粘着斑激酶(FAK)

FAK 是细胞质中的非受体酪氨酸蛋白激酶,包含 6 个可以被磷酸化的酪氨酸,即 Tyr397,Tyr407,Tyr576,Tyr577,Tyr861,Tyr925。在侵袭性黑色素瘤细胞中,FAK 磷酸化,尤其是其酪氨酸残基 Tyr397 和 Tyr576 磷酸化明显增加,与肿瘤的侵袭行为和 VM 的增加有关。而且,破坏 FAK 信号的 FAK 相关非激酶表达可下调 Erk1/2 磷酸化,导致 MMP-2 下调,从而抑制 VM

[收稿日期] 2012-01-7 [修回日期] 2012-02-25

的形成,并伴随肿瘤细胞侵袭和迁移能力下降[6]。

2.4 磷脂酰肌醇-3 激酶(PI3K)

PI3K 是一种脂类激酶,与肿瘤细胞的迁移、粘附、血管生成以及细胞外基质降解等相关。磷脂酰肌醇-3 激酶(PI3K)/蛋白激酶 B(PKB)信号转导通路参与调节细胞增殖、分化、血管形成等过程。近年来研究发现,其是 VM 形成的枢纽信号分子,抑制该通路能够抑制 VM 管道样结构形成[7]。Kadkol 等[8]发现,在恶性黑色素瘤的组织切片中,有 VM 存在的区域 opn 基因的表达增加。opn 基因可促进肿瘤细胞的粘附、移行、浸润和血管新生,PI3K 被激活后可上调 opn 基因表达[8-9],这提示黑色素瘤 VM 形成与 PI3K/PKB 信号转导通路有关。

2.5 基质金属蛋白酶(MMPs)

能形成 VM 的恶性黑色素瘤细胞基质金属蛋白酶在形成 VM 的区域内表达水平增高,MMP-2 对恶性黑色素瘤细胞形成 VM 起重要作用。VM 形成过程中,肿瘤细胞与细胞外基质作用,使细胞外蛋白水解,重塑成可以运送血液的微循环管道样结构基质。MMP-2 是一种细胞外蛋白水解酶,主要由肿瘤细胞、成纤维细胞和炎性细胞分泌,在肿瘤介导的细胞外基质降解中起关键作用,与肿瘤细胞侵袭转移能力密切相关。Sood 等[10]用免疫组织化学分析显示卵巢癌细胞形成的网络样结构散在表达金属基质蛋白酶 MMP-1,MMP-2,MMP-9,模型金属基质蛋白酶 MTI-MMP,应用 MMP 抑制剂可阻止 VM 形成。

2.6 Nodal/Notch

最近研究显示,Nodal 的表达涉及到黑色素瘤的形成与侵袭。在胚胎发育中,Nodal 维持未分化胚胎干细胞的自我更新的能力,在分化的人胚胎干细胞不表达,但是在侵袭性强的黑色素瘤细胞中又重新表达。Nodal 调节 VE-cadherin 蛋白的表达而作用于 VM 的形成。Notch 信号转导过程包括 Notch 受体与配体的结合、Notch 受体的酶切活化、可溶性 NICD 转移至细胞核并与 CSL DNA 结合蛋白相互作用,从而调控靶基因的表达。Notch 途径是一种众所周知的胚胎血管发育和血管生成的关键途径,在高侵袭黑色素瘤细胞中,Notch-4 的表达会增加 Nodal 的表达,涉及到 VM 的形成。因此 Nodal/Notch 信号通路在 VM 的形成中起重要作用[4]。

3 VM 研究的临床意义

生长迅速的恶性肿瘤单靠血管生成不能满足生长的需求,而 VM 没有内皮细胞屏障这一特殊形态,不但可以为肿瘤的生长提供血流灌注,而且肿瘤细胞分泌的蛋白水解酶直接降解基膜利于转移。它补充了经典的血管生成,为恶性肿瘤的生长提供了更加有利的条件。这也恰恰解释了为什么单纯抑制血管生成在肿瘤治疗中效果并不满意的原因。van der Schaft 等[11]对 Anfinex、TNP-470、内皮抑制蛋白三种血管生成抑制剂的研究发现,三者均抑制血管生成,而对恶性黑色素瘤细胞中的 VM 结构无影响,这提示抑制 VM 的作用与抑制血管的生成有所不同,为抗血管生成治疗肿瘤的疗法提出了新挑战,同时也提供了新方向。

VM 的发现让我们意识到在抗肿瘤血管生成治疗中也应考虑非内皮细胞依赖性血管途径,如 VM。VM 形成的信号通路的初步研究提示,可以抑制其信号通路的调节因子,从而阻断 VM 形成的途径,为 VM 的靶向治疗提供了新思路,带来了新希望。除此之外,运用光镜、电镜、免疫组化的方法观察到某些肿瘤组织内 VM 形成的环状或网络状结构图像,可以为肿瘤的诊断和预后判断提供依据。

4 问题与展望

VM 的发现让我们重新认识了肿瘤血管生成,其生成分子调节机制的研究进展,也为肿瘤的治疗提供了新靶点。通过抑制 MMPs 的活性,下调 EphA2 的表达,阻断 PI3K/PKB 信号转导通路,可抑制肿瘤 VM 的形成,从而抑制高侵袭性肿瘤的生长和扩散。然而,VM 形成机制的研究还不成熟,上述在黑色素瘤 VM 形成中看到的分子现象,是不是会在所有不同部位肿瘤中有相同表现也是亟待解决的问题。相信随着对 VM 形成的进一步深入研究,会为临床肿瘤治疗提供重要指导。

[参考文献]

[1] Folkman J. Tumor angiogenesis therapeutic implications[J]. N Engl J Med,1971,285(21):1182 - 1186.

[2] Maniotis AJ, Folberg R, Hess A, et al. Vascular channel formation by human melanoma cells in vivo and in vitro: vasculogenic mimicry[J]. Am J Pathol,1999,155(3):739 - 752.

[3] 蒋金玲,于颖彦. 血管生成拟态是对经典肿瘤血管生成理论的补充[J]. 内科理论与实践,2010,5(2):183 - 186.

[4] Paulis YW, Soetekouw PM, Verheul HM, et al. Signalling pathways in vasculogenic mimicry[J]. Biochim Biophys Acta,2010,1806(1):18 - 28.

[5] Hess AR, Seftor EA, Seftor RE, et al. Phosphoinositide 3-kinase regulates membrane type 1-matrix metalloproteinase(MMP) and MMP-2 activity during melanoma cell vasculogenic mimicry[J]. Cancer Res, 2003,63(16):4757 - 4762.

[6] Hess AR, Postovit LM, Margaryan NV, et al. Focal adhesion kinase promotes the aggressive melanoma phenotype[J]. Cancer Res, 2005, 65(21):9851 - 9860.

[7] Junaid A, Amara FM. Osteopontin: correlation with interstitial fibrosis in human diabetic kidney and PI3-kinase-mediated enhancement of expression by glucose in human proximal tubular epithelial cells[J]. Histopathology,2004,44(2):136 - 146.

[8] Kadkol SS, Lin AY, Barak V, et al. Osteopontin expression and serum levels in metastaticuveal melanoma: a pilot study[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci,2006,47(3):802 - 806.

[9] Zhang G, Huang Z, Shi R, et al. Osteopontin regulation by protein kinase B(Akt) in HepG2 cells[J]. Exp Oncol,2006,28(1):36 - 39.

[10] Sood AK, Seftor EA, Fletcher MS, et al. Molecular determinants of ovarian cancer plasticity[J]. Am J Pathol,2001,158(4):1279 - 1288.

[11] van der Schaft DW, Seftor RE, Seftor EA, et al. Effects of angiogenesis inhibitors on vascular network formation by human endothelial and melanoma cells[J]. J Natl Cancer Inst,2004,96(19):1473 - 1477.

(编辑:左艳芳)