DOI:10.16016/j.1000-5404.2004.24.001
第26卷第24期 第三军医大学学报 Vol. 26, No. 24
2004年12月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Dec. 2004

文章编号:1000-5404(2004)24-2179-03

专家论坛

重视恶性肿瘤淋巴管生成的研究

Emphasis on studies of tumor lymphangiogenesis

梁后杰,李建军 (第三军医大学西南医院肿瘤科,重庆 400038)

肿瘤的侵袭和转移是癌症患者死亡的重要原因之一,血道和淋巴道转移是癌细胞形成远处转移的主要途径。既往在肿瘤血管生成方面有较多研究,对肿瘤血管生成的分子标志、调控机制与肿瘤生长及转移的关系以及抗血管生成治疗等方面也有较为深入的研究。一些抗血管生成治疗的新药也已进入临床,但对肿瘤淋巴管生成的研究较少。近年来,随着一些关键的淋巴内皮细胞生长因子如血管内皮生长因子C、D(VEGF-C,VEGF-D)以及淋巴内皮标志物的发现,使得对肿瘤淋巴管生成的研究逐渐增多[1,2]。

1 肿瘤淋巴管生成的分子机制

近年来,淋巴内皮细胞的多种分子标志相继被发现,包括VEGFR-3、LYVE-1、Podopanin、Prox-1等,运用分子技术的手段已能纯化培养淋巴内皮细胞和血管内皮细胞,极大地促进了对淋巴管生成机制的研究[3,4]。

过去曾有人推断,淋巴管生成和血管生成很可能涉及同样的分子机制,虽然这个推断尚未完全得以证实,但人们发现两者之间确实存在许多共同之处。实验观察表明,血管和淋巴管新生时,受相应的分子介导因子吸引,淋巴管和血管的内皮细胞均出现增殖,并都朝着细胞外基质降解产生的刺激物方向迁移,在适当的部位形成管样结构,并通过产生新的产物、细胞外基质的重排和受控的细胞凋亡,完成血管和淋巴管的重塑。血管和淋巴管的密切相关性和在体内实验中同样的发育过程提示,某些分子也许既控制着血管生成,也控制着淋巴管生成[5,6]。

VEGF-C和VEGF-D是淋巴管生成的两个重要因子,它们是VEGF家族中的成员。哺乳动物VEGF家族包括VEGF-A、VEGF-B、VEGF-C、VEGF-D,均具有VEGF同源结构域(VEGF homology domain,VHD)保守序列,但VEGF-C/VEGF-D在结构上与其它成员有所不同,其N、C末端分别有一段前肽序列,前肽的蛋白酶解过程影响着VEGF-C/VEGF-D的生物活性,完全酶解的VEGF-C/VEGF-D与其特异性受体VEGFR-2或VEGFR-3的亲和力最强。VEGF-A、VEGF-B和PlGF参与血管通透性控制和诱导血管生成,而VEGF-C/VEGF-D不但可诱导血管生成,还能诱导淋巴管生成。

VEGF-C/VEGF-D是诱导血管生成还是诱导淋巴管生成受许多因素的影响,其中VEGFR-2或VEGFR-3的表达水平可能是最重要的因素。

VEGF-C/VEGF-D诱导淋巴管生成的作用已在转基因小鼠或其它动物模型上得到证实。Jeltsch等[7]将VEGF-C cDNA插入细胞角蛋白14(K14)启动子下游(K14启动子靶向表达于鳞状上皮的基底细胞),然后转入小鼠体内,在转基因小鼠皮肤的表皮与内皮细胞层之间观察到较大的扩张的管状结构,经电镜和免疫组化染色证实为新生的淋巴管,淋巴内皮细胞增生活跃,淋巴管宽度约2倍于对照组,表明VEGF-C高表达可诱导淋巴管生成。Veikkola等[8]在VEGF-C 156S(第156位半胱氨酸残基突变为丝氨酸,只能激活VEGFR-3,而不能使VEGFR-2活化)和VEGF-D转基因小鼠的研究中也表明,VEGF-C 156S或VEGF-D均可促进皮肤淋巴管增殖、管腔变大,对其功能研究发现增生淋巴管在对铁的转运和对液体的吸收上不受明显影响。提示高表达VEGF-C 156S或VEGF-D可诱导淋巴管生成,而且新生的淋巴管与正常淋巴管具有相似的功能。研究证实通过VEGFR-3信号传导足以诱导淋巴管生成,VEGF-C/VEGF-D/VEGFR-3信号传导通路是调控淋巴管生成的主要途径。

VEGFR-3二聚体胞外区第2个Ig结构域是其特异性配体VEGF-C或VEGF-D的结合部位,当逆向排列的VEGF-C或VEGF-D同源二聚体与VEGFR-3结合后,迅速使VEGFR-3活化(磷酸化),并引起下游分子Shc、Grb2磷酸化,通过MAPK信号途径促使淋巴内皮细胞增生、迁移和存活,从而形成新生的毛细淋巴管。

2 肿瘤淋巴管生成在淋巴道转移中的作用

肿瘤淋巴管生成增加了淋巴道转移发生的机会,肿瘤细胞通过粘附、迁移等过程侵入毛细淋巴管,然后聚集形成瘤栓进入下一级淋巴管和局部淋巴结,形成淋巴道转移[9]。已有临床研究显示肿瘤淋巴管生成与肿瘤淋巴道转移密切相关。Amioka等[10]在139例粘膜下侵袭性胃癌的研究中发现肿瘤组织VEGF-C表达与肿瘤浸润深度、淋巴管受侵以及淋巴结转移明显相关;Munoz Guerra等[11]采用抗PA2.26(即Podoplanin)的多克隆抗体对61例Ⅰ、Ⅱ期口腔鳞癌组织进行检测,发现33名患者有瘤内淋巴管生成,淋巴管密度明显较正常粘膜组织增高,而瘤内淋巴管生成与肿瘤的局部复发明显相关($P=0.02$),单因素分析发现瘤内淋巴管生成并不影响患者总生存期,但与无瘤生存期明显相关,多因素分析发现瘤内淋巴管生成是影响无瘤生存期的惟一独立因子,表明瘤内淋巴管生成与早期口腔癌的

作者简介:梁后杰(1964-),男,河南省商丘市人,博士,主任医师,教授,博士生导师,主要从事肿瘤耐药和肿瘤淋巴管生成方面的研究,发表论文50余篇。电话:(023)68754128

收稿日期:2004-10-11;修回日期:2004-11-15

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

局部复发有关,并是预测尚无淋巴结转移口腔癌患者预后的有用指标。本期发表的马惠文等的研究也表明食管鳞癌组织VEGFR-3表达与肿瘤淋巴管生成、淋巴结转移及临床预后均显著相关。在消化道肿瘤、头颈部鳞癌和原发性黑色素瘤的研究中也发现存在瘤内淋巴管生成[12~14]。

在动物模型上,有学者利用转基因技术获得了VEGF-C/VEGF-D可诱导肿瘤淋巴管生成、促进淋巴结转移的直接证据。Skobe等[15]首先将绿色荧光蛋白(GFP)转入人MDA-MB-435乳腺癌细胞以便于观察肿瘤微转移,再将VEGF-C cDNA导入MDA-MB-435/GFP细胞,获得稳定表达VEGFC和GFP的细胞株,然后原位移植到裸小鼠双侧乳腺颊脂垫,12周后处死小鼠进行检测,观察VEGF-C对肿瘤淋巴管生成、淋巴结转移及肺转移的影响。结果显示:表达VEGF-C组瘤周淋巴管明显扩张,且有很多淋巴管侵入瘤体内,甚至深达肿瘤中心,管腔多不连续,腔内多含有肿瘤细胞,淋巴内皮细胞增生活跃,腋窝淋巴结内可观察到转移的肿瘤细胞,肺部转移灶明显增多、增大。研究结果表明VEGF-C可促进乳腺癌淋巴管生成,增加局部淋巴结转移和远处(肺)转移的发生。Mattila等[16]在侵袭性极差的人MCF-7乳腺癌细胞内转入VEGF-C基因,然后原位移植于裸小鼠,结果显示VEGF-C组小鼠瘤内、瘤周LYVE-1+或VEGFR-3+淋巴管数目较对照组均明显增多,而对照组未发现局部淋巴结转移。人乳腺癌293EBNA细胞不表达VEGF、VEGF-C或VEGF-D,将VEGF-D基因转入该肿瘤细胞,然后原位移植到SCID/NOD小鼠,结果显示转基因组瘤内淋巴管数目明显增多,形成大量的管状结构,多呈簇状,瘤周也有较多的淋巴管,而对照组仅在肿瘤包膜结缔组织有少量LYVE-1+染色的淋巴管,转基因组局部淋巴结转移发生率为61%(14/23),明显高于对照组(0/14)。表明VEGF-D也可诱导肿瘤淋巴管生成,促进淋巴结转移[17]。

3 抗肿瘤淋巴管生成治疗

鉴于VEGF-C/VEGF-D/VEGFR-3信号传导在诱导淋巴管生成过程中的重要作用,阻断该信号通路是抗淋巴管生成治疗目前最常采用的策略。迄今用于阻断VEGF-C或VEGF-D与VEGFR-3相互作用的主要方法包括:VEGF-C、VEGF-D或VEGFR-3的功能阻断性抗体,可溶性VEGFR-3-Ig,小分子肽抑制剂、前蛋白转化酶(proprotein converase,PCs)抑制剂等。

3.1 功能阻断性抗体

VEGF-C、VEGF-D或VEGFR-3的功能阻断性抗体可特异性阻断VEGF-C或VEGF-D与其受体VEGFR-3的结合,使VEGFR-3不能被活化,故淋巴管增殖、迁移所需的信号无法进行传导,从而抑制淋巴管生成。

3.2 可溶性VEGFR-3-Ig

运用分子生物学方法,将包括与其配体结合域在内的VEGFR-3胞外区基因(通常是Ig1-3结构域)与IgG Fc基因偶联,转入合适的载体,然后转染肿瘤细胞使其表达VEGFR-3-Ig,或在某种表达系统上使其直接表达VEGFR-3-Ig蛋白。VEGFR-3-Ig虽然可与VEGF-C或VEGF-D结合,但无法进行下游的信号传导(被称作VEGF-C/VEGF-D Trap),从而达到抑制淋巴管生成的作用[18]。

3.3 小分子肽抑制剂

VEGFR-3和VEGFR-2均具有酪氨酸激酶活性,已证实酪氨酸激酶抑制剂SU 5416具有抑制肿瘤血管生成的作用,而在离体实验中,SU 5416对VEGFR-3的抑制作用大约是对VEGFR-2抑制作用的5倍,但SU 5416及其同类物是否具有抑制肿瘤淋巴管生成的作用尚未可知。利用噬菌体表面显示技术筛选出具有阻断VEGF-C/VEGF-D/VEGFR-3相互作用的小分子多肽,可能在抗肿瘤淋巴管生成治疗中具有良好的发展前景。

3.4 PCs抑制剂

PCs广泛存在于生物界,参与多种前体蛋白转化为成熟蛋白的酶解过程。VEGF-C/VEGF-D成熟过程中涉及PCs的作用,虽然其前体蛋白也能激活VEGFR-3,但作用微弱[19]。α1-PDX是一种PCs的广泛性抑制剂,通过阻止VEGF-C或VEGF-D的成熟,可能达到抑制肿瘤淋巴管生成的作用[20]。

4 问题与展望

最近的研究已证实人体肿瘤存在着肿瘤淋巴管生成,而肿瘤淋巴管生成可促进淋巴道转移,故抗肿瘤淋巴管生成治疗有可能成为阻断或抑制肿瘤淋巴道转移的有效策略。但是,在肿瘤淋巴管生成与抗淋巴管生成治疗方面仍有一些问题尚待解决。如:肿瘤转移是通过先前已存在的淋巴管还是新生的淋巴管?新生的淋巴内皮细胞是来源于周围的静脉内皮细胞还是循环中的淋巴内皮细胞前体细胞?肿瘤淋巴道转移是一个主动过程,还是一个被动的事件?其具体的调控机制是什么?抗淋巴管生成尚处于动物实验阶段,在临床上是否能达到同样效果?相信对这些问题的进一步研究不仅可为肿瘤临床预后提供可靠的指标,而且有可能为阻断肿瘤细胞的扩散转移寻找到新的靶点和提供新的途径。

关键词:肿瘤;淋巴管生成;淋巴转移
中图法分类号:R730.23 文献标识码:A

参考文献:

[1] Stacker S A, Hughes R A, Achen M G. Molecular targeting of lymphatics for therapy[J]. Curr Pharm Des, 2004, 10(1): 65-74.
[2] He Y, Karpanen T, Alitalo K. Role of lymphangiogenic factors in tumor metastasis[J]. Biochim Biophys Acta, 2004, 1654(1): 3-12.
[3] Wilting J, Schweigerer L. Development and engineering of lymphatic endothelial cells: clinical implications[J]. Curr Pharm Des, 2004, 10(1): 75-80.
[4] Nisato R E, Harrison J A, Buser R, *et al*. Generation and characterization of telomoerase-transfected human lymphatic endothelial cells with an extended life span[J]. Am J Pathol, 2004, 165(1): 11-24.
[5] Folkman J, Kaipainen A. Genes tell lymphatics to sprout or not[J]. Nat Immunol, 2004, 5(1): 11-12.
[6] Scavelli C, Vacca A, Di Pietro G, *et al*. Crosstalk between angiogenesis and lymphangiogenesis in tumor progression[J]. Leukemia, 2004, 18(6): 1054-1058.
[7] Jeltsch M, Kaipainen A, Joukov V, *et al*. Hyperplasia of lymphatic vessels in VEGF-C transgenic mice[J]. Science, 1997, 26(5317): 1423-1425.
[8] Veikkola T, Jussila L, Makinen T, *et al*. Signalling via vascular endotheli-

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

al growth factor receptor-3 is sufficient for lymphangiogenesis in transgenic mice[J]. EMBO J, 2001, 20(6): 1223—1231.

[9] McCarter M D, Clarke J H, Harken A H, *et al*. Lymphangiogenesis is pivotal to the trials of a successful cancer metastasis[J]. Surgery, 2004, 135(2): 121—124.

[10] Amioka T, Kitadai Y, Tanaka S, *et al*. Vascular endothelial growth factor-C expression predicts lymph node metastasis of human gastric carcinomas invading the submucosa[J]. Eur J Cancer, 2002, 38(10): 1413—1419.

[11] Munoz Guerra M F, Marazula E G, Martin-Villa E, *et al*. Prognostic significance of intratumoral lymphangiogenesis in squamous cell carcinoma of the oral cavity[J]. Cancer, 2004, 100(3): 553—560.

[12] Duff S E, Li C, Jeziorska M, *et al*. Vascular endothelial growth factors C and D and lymphangiogenesis in gastrointestinal tract malignancy[J]. Br J Cancer, 2003, 89(3): 426—430.

[13] Beasley N J, Prevo R, Banerji S, *et al*. Intratumoral lymphangiogenesis and lymph node metastasis in head and neck cancer[J]. Cancer Res, 2002, 62(5): 1315—1320.

[14] Shields J D, Borsetti M, Rigby H, *et al*. Lymphatic density and metastatic spread in human malignant melanoma[J]. Br J Cancer, 2004, 90(3): 693—700.

[15] Skobe M, Hawighorst T, Jackson D G, *et al*. Induction of tumor lymphangiogenesis by VEGF-C promotes breast cancer metastasis[J]. Nat Med, 2001, 7(2): 192—198.

[16] Mattila M M, Ruohola J K, Karpanen T, *et al*. VEGF-C induced lymphangiogenesis is associated with lymph node metastasis in orthotopic MCF-7 tumors[J]. Int J Cancer, 2002, 98(6): 946—951.

[17] Stacker S A, Caesar C, Baldwin M E, *et al*. VEGF-D promotes the metastatic spread of tumor cells via the lymphatics[J]. Nat Med, 2001, 7(2): 186—191.

[18] Shimizu K, Kubo H, Yamaguchi K, *et al*. Suppression of VEGFR-3 signaling inhibits lymph node metastasis in gastric cancer[J]. Cancer Sci, 2004, 95(4): 328—333.

[19] Siegfried G, Basak A, Cromlish J A, *et al*. The secretory proprotein convertases furin, PC5, and PC7 activate VEGF-C to induce tumorigenesis[J]. J Clin Invest, 2003, 111(11): 1723—1732.

[20] Bergeron E, Basak A, Decroly E, *et al*. Processing of alpha4 integrin by the proprotein convertases: histidine at position P6 regulates cleavage[J]. Biochem J, 2003, 373(Pt 2): 475—484.

（编辑 王 红）

文章编号：1000-5404(2004)24-2181-01

个案与短篇

泪腺腺癌 1 例

Adenocarcinoma of the lacrimal gland: a case report

杨 红，秦 伟 （第三军医大学西南医院眼科，重庆 400038）

患者，男性，58 岁，因“左眼球渐进性突出伴流泪 1 个月”入院。查体：左眼视力 1.0，左眼球突出度 20 mm（右眼球突出度 15 mm）。左眼眶颞上方眶缘可触及前缘约 1 cm×0.5 cm 包块，表面光滑，边界清，无压触痛。左眼及其他部位无明显异常。CT 检查显示：左侧眶上缘额骨、蝶骨骨性破坏，其内见软组织密度影，眶内可见软组织块影。考虑：左眼眶内占位，泪腺癌可能性大。泪腺超声检查提示：左眼球眼睑后方实质性包块，内部血流信号丰富。手术切除肿块。术中见肿物位于左侧泪腺窝，呈暗红色，约 2.4 cm×2.5 cm×1.5 cm，有包膜，与周围组织轻度粘连，切开后呈鱼肉状。光镜检查结果为组织中见大量癌细胞，呈立方状或高柱状，胞浆淡染，核卵圆形或多角形，染色深，异型性明显，癌组织呈腺管状排列，浸润性生长。术后辅以放疗，总量 66 Gy。随访 3 个月无复发。

讨论

泪腺腺癌是一种罕见的原发于眼眶的恶性肿瘤，在临床上容易误诊。相关文献均为个案报告[1~3]，以男性多见，平均发病年龄为 50～56 岁。泪腺腺癌可起源于泪腺腺泡的分泌细胞[1]、基底细胞[2]和泪腺导管上皮细胞[3]。泪腺腺癌的主要症状为泪腺区疼痛，眼球突出，眼球运动障碍，可出现复视或视力下降。病程进展快，倾向于沿眶外侧壁生长，易侵犯并破坏眶骨。该病恶性度高，容易复发，预后差。一经确诊，应立即手术治疗。手术不易彻底清除病灶，放疗是必不可少的，而且放疗的剂量应足够大。

关键词：泪腺腺癌
中图法分类号：R777.2 文献标识码：B

参考文献：

[1] Clauser L, Galie M, Tieghi R, *et al*. Adenocarcinoma of the lacrimal gland: report of a case[J]. J Oral Maxillofac Surg, 2002, 60(3): 318—321.

[2] Khalil M, Arthurs B. Basal cell adenocarcinoma of the lacrimal gland[J]. Ophthalmology, 2000, 107(1): 164—168.

[3] Nasu M, Haisa T, Kondo T, *et al*. Primary ductal adenocarcinoma of the lacrimal gland[J]. Pathol Int, 1998, 48(12): 981—984.

（编辑 刘洪娥）

作者简介：杨 红（1974—），女，四川省自贡市人，硕士研究生，医师，主要从事斜弱视等方面的研究。电话：(023)68753189

收稿日期：2004-10-12；修回日期：2004-11-30

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net