DOI:10.16016/j.1000-5404.2004.16.031
第26卷第16期 第三军医大学学报 Vol. 26, No. 16
2004年8月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Aug. 2004

文章编号:1000-5404(2004)16-1501-03

综述

淋巴管生成与肿瘤转移研究进展

Advances in lymphangiogenesis and metastasis of tumor

李剑明 综述,杨和平 审校 (第三军医大学西南医院呼吸内科,重庆 400038)

肿瘤转移是恶性肿瘤危及患者生命最主要的恶性行为特征。自上世纪70年代开始,肿瘤诱导的血管生成(angiogenesis)对肿瘤转移的影响已为越来越多的肿瘤研究者所重视。众所周知,淋巴转移是肿瘤转移的重要方式之一,也是影响患者预后至关重要的因素。近年来,人们已逐渐认识到,淋巴管生成(lymphangiogenesis)在肿瘤的淋巴转移过程中可能起着不容忽视的作用。现将有关淋巴管生成及其促肿瘤转移作用的有关文献综述如下。

1 淋巴管生成的识别——淋巴管内皮细胞的特异性染色

研究表明,心脏静脉的部分内皮细胞在特异性调控因子的作用下定向分化为淋巴管内皮细胞表型,然后再以出芽方式形成原始淋巴管系统。由于淋巴管系统起源于血管内皮细胞,故而正确识别淋巴管内皮细胞是研究淋巴管生成的前提条件之一。由于淋巴管内皮细胞的识别与分离技术方面的困难,有关生理性及病理性淋巴管生成及其调控机制的研究长期以来一直进展迟缓。近年来,淋巴管内皮细胞特异性调控因子以及特异性表达受体的相继发现,极大地推进了淋巴管系统的研究速度。现在,淋巴管生成在胎胚发育、炎症、伤口愈合以及恶性肿瘤等生理和病理过程中的作用已引起了国内外众多研究者的广泛关注。目前,免疫组化染色法被认为是鉴别淋巴管内皮细胞尤其是与血管内皮细胞相区别的最佳方法。研究表明,以下几种物质可以作为淋巴内皮细胞的特异性标志物。

Desmoplakin:是一种表达于细胞间连接处的桥粒蛋白,又称为桥粒相关转膜糖蛋白。1992年,Virata等发现desmoplakin只表达于淋巴管内皮细胞而不表达于血管内皮细胞。Noriyuki Ebata等[1]采用免疫组化及免疫电镜等方法比较了desmoplakin、5′-核苷酸酶、层粘连蛋白及第Ⅷ因子等物质在淋巴管内皮与血管内皮上表达的差异性,结果显示,淋巴管内皮细胞可特异性表达desmoplakin。Fukuda等[2]采用免疫组化技术结合免疫透射电镜技术在阴茎包皮切片标本中观察了desmoplakin在淋巴管内皮细胞上的表达,发现desmoplakin抗原表达于内皮细胞胞膜上,且表达desmoplakin的内皮细胞具有淋巴管内皮细胞的超微结构特点,认为desmoplakin作为淋巴管内皮细胞标志物具有可靠性及特异性,可用于研究人体正常组织中淋巴管的分布特点。

血管内皮生长因子受体-3(VEGFR-3):VEGFR-3,又称Flt-4,是血管内皮生长因子受体家族中的第3位成员,主要表达于淋巴管内皮细胞的腔膜面。VEGFR-3是目前应用最多的淋巴管内皮细胞标志物。研究表明,在胚胎发育早期,VEGFR-3、淋巴管内皮透明质酸酶受体LYVE-1及神经蛋白NP-2均一过性表达于静脉血管内皮细胞表面,但在成年个体,则只表达于淋巴管内皮细胞上。但有研究表明,它也可以表达于部分正常组织中的血管内皮细胞,如肺血管内皮细胞,因此认为其特异性并不很理想。另外,Valtola等[3]的免疫组化实验研究表明,VEGFR-3在正常乳腺组织和乳腺纤维瘤组织中的血管内皮细胞上有弱表达,在乳腺导管癌灶中的肿瘤血管内皮细胞上有显著表达。

转录因子prox-1:是一种同源框基因转录因子。Wilting等[4]采用免疫荧光技术观察了prox-1在人胚胎、成人正常组织及病理组织中淋巴管内皮细胞上的表达,发现19周的人胚胎组织中prox-1与VEGFR-3共同表达于淋巴干和毛细淋巴管的内皮细胞上;在成人血管瘤和淋巴血管瘤组织的淋巴管内皮细胞上prox-1则与CD31共同表达,同时发现部分血管内皮细胞可表达VEGFR-3,因此,作者认为prox-1是一种特异性高于VEGFR-3的淋巴管内皮细胞标志物。

淋巴管内皮透明质酸酶受体LYVE-1:新近发现,LYVE-1是一种比较可靠的淋巴管内皮细胞标志物,特异性好[5]。LYVE-1表达于淋巴管内皮细胞表面,与CD44同源,其主要功能是介导细胞外基质中的透明质酸酶通过淋巴管内皮而进入淋巴液。David等[6]在免疫荧光实验中发现,LYVE-1、VEGF-C及VEGFR-3共同表达于淋巴管内皮细胞,继之又采用免疫电镜技术证实表达上述三者的内皮细胞具有淋巴管内皮细胞的超微结构特征。Cursiefen等[7]采用透射电镜及免疫电镜技术探讨了LYVE-1和podoplanin在新生淋巴管内皮细胞上的特异性表达,认为二者均可作为研究淋巴管生成的特异性标志物。

然而,Mouta等[8]的实验研究则表明,LYVE-1除表达于淋巴管内皮细胞外,也表达于正常肝窦内皮细胞上,故而认为LYVE-1与prox-1联合检测会更好地标志淋巴管内皮细胞。

Podoplanin:是分子量为43×10^3的一种完整穿膜糖蛋白,最先发现其表达于肾小球足细胞胞膜上[9]。Cursiefen等[7]采用免疫金标记技术及免疫电镜技术研究了角膜的淋巴管生成,发现表达LYVE-1及pldoplanin的内皮细胞具有淋巴管内皮细胞的超微结构特点,因而认为二者可以作为淋巴管内皮细胞的特异性标志物。

作者简介:李剑明(1965-),男,河北省滦县人,博士研究生,主治医师,主要从事姜黄属中药抗肿瘤血管生成作用方面的研究,发表论文5篇。电话:13042386961

收稿日期:2003-10-12;修回日期:2004-01-05

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

2 淋巴管生成的调控

由于淋巴管生成的研究刚刚起步，对其调控机制还不十分清楚，有关淋巴管调控方面的文献报道不是很多。目前认为，促淋巴管生成的细胞因子主要通过以下几种受体实施其调控作用。

VEGFR-3：是最先发现的淋巴管特异性调控受体。VEGFR-3是血管生成因子家族中的两个成员VEGF-C和VEGF-D的特异性受体，介导淋巴管内皮细胞的增殖、分化与移行。VEGF-C既可与VEGFR-3结合从而发挥其促淋巴管生成作用，同时又可与VEGFR-2结合而发挥其促血管生成作用，但与VEGFR-3结合的亲合力远高于VEGFR-2。血管内皮生长因子VEGF-D是新近发现的一种细胞因子。在血管内皮生长因子家族中，VEGF-D与VEGF-C的同源性最高。有研究认为，VEGF-D的功能特点与VEGF-C相近[10]。Yoon等[11]的研究表明，阻断VEGFR-3介导的信号传导途径可有效抑制肿瘤淋巴管生成及淋巴结转移。另有研究认为，VEGFR-3功能异常会导致淋巴水肿[12]。Szuba等[13]曾采用兔耳淋巴水肿模型观察了重组VEGF-C对淋巴管生成的促进作用，发现经皮下注射VEGF-C后，不但出现兔耳淋巴管显著增生，而且淋巴管功能明显得到改善。He等[14]则采用转染表达人VEGF-C的质粒DNA的基因疗法证实了VEGF-C在兔耳淋巴水肿模型及鼠尾模型中的促进淋巴管生成、缓解淋巴水肿作用。Achen等[15]在人非小细胞肺癌、乳腺导管癌病理标本及小鼠肿瘤转移模型中发现，肿瘤细胞和内皮细胞中VEGF-D均为阳性，但内皮细胞中却无VEGF-D的mRNA，故而认为，VEGF-D是由肿瘤细胞合成、而后定位于内皮细胞的，即VEGF-D是由肿瘤细胞分泌后再通过旁分泌的方式促进肿瘤血管生成以及诱导肿瘤淋巴管生成的。Nagy等[16]的实验则表明，VEGF-A也有促淋巴管生成作用。Kubo等[17]发现，成纤维细胞因子FGF-2也可通过VEGFR-3的介导而促进淋巴管生成，且其作用可因VEFGR-3失活而受阻。

Prox-1：Wigle等[18,19]采用基因敲除技术观察了prox-1在淋巴系统发生进程中的作用，发现敲除prox-1基因后，静脉内皮细胞无法向淋巴内皮细胞定向分化；胚胎发育时以出芽方式自静脉内皮细胞生成淋巴管的过程受阻；所有内皮细胞均不表达VEGFR-3或LYVE-1等淋巴管内皮细胞标志物，但似乎并未影响血管形成过程，表明prox-1是淋巴管生成最基本的调控因子。Hong等[20]采用基因转染等实验技术也证明，prox-1单一基因即可促成血管内皮细胞定向分化为淋巴管内皮细胞表型，是淋巴管生成调控机制中的关键因子，故而作者称其为淋巴管生成过程中的“总开关”。

Tie2：是首先在血管内皮细胞上发现的一种酪氨酸激酶受体，以血管生成素为配体，其主要功能是调控血管生成过程。Veikkola等[21]认为，血管生成素Ang2（Angiopoietin-2）可作用于淋巴管内皮细胞上的Tie2受体而促进淋巴管发展和维护其正常生理功能。

NP-2：即neuropilin-2，是一种神经蛋白受体。NP-2受体是以与VEGFR-3形成二聚体的方式发挥其调控功能的。Yuan等[22]的研究结果表明，NP-2是维持淋巴管正常形态结构及功能的一个重要因素。

3 肿瘤淋巴管生成与淋巴转移

淋巴转移是乳腺癌、肺癌、食管癌等多种实体瘤的主要转移方式，也是影响此类肿瘤的临床、病理分期以及患者预后的至关重要因素[23~27]。

关于肿瘤淋巴转移具体是如何发生的问题，一直以来就存在着两种观点：一种观点认为肿瘤是以侵袭肿瘤病灶周边原有淋巴管系统的方式进入淋巴液进而形成淋巴结转移的；另一种观点则认为肿瘤是通过诱导肿瘤淋巴管生成继而由此进入淋巴液并进而发生淋巴结转移的。由于肿瘤中是否存在淋巴管生成的问题长期以来未能在动物模型和人体肿瘤病理学研究中得到证实，因此，长期以来第一种观点始终占据着绝对的主导地位。然而，随着淋巴管生成特异调控因子以及淋巴管内皮细胞特异性标志物的发现，近年来已有大量的实验研究表明，淋巴管生成在肿瘤转移过程中起着不容忽视的作用[28~31]。

Beasley等[32]采用免疫组化及实时PCR等技术分析了人头颈癌标本的癌灶中淋巴管生成与颈淋巴结转移的关系；分析结果表明，人恶性肿瘤确能诱导肿瘤淋巴管生成，而瘤灶内淋巴管计数与肿瘤的颈淋巴结转移相关。

Mattila等[33]在VEGF-C基因转染实验中发现，将VEGF-C过表达的人乳腺癌MCF-7细胞移植到裸鼠爪底脂肪垫后，有62%~75%的荷瘤鼠出现局部淋巴结转移，而空栽体转染组的荷瘤鼠则未出现淋巴结转移；VEGF-C基因转染组的肿瘤灶内淋巴管及瘤旁淋巴管数均较阴性对照组明显增加。作者认为VEGF-C过表达能够刺激肿瘤淋巴管生成并促进了低转移潜能的人乳腺癌MCF-7细胞在荷瘤鼠体内发生局部淋巴结转移。

Baldwin等[12]的实验则进一步表明，阻断VEGFR-3受体介导的信号传导途径可以明显抑制淋巴管生成及局部淋巴结转移，但却不能影响肺转移发生率。

4 结语

综上所述，淋巴管生成及其调控机制、淋巴管生成的促肿瘤转移作用等已成为恶性肿瘤研究领域中的一项重要课题。有关淋巴管制调控机制目前所知不多，可以肯定的促淋巴管生成因子仅限于血管生成因子家族的部分成员、bFGF以及同源框转录因子prox-1；而有关的抑制因子却几近空白，有待进一步研究和探索。抗淋巴管生成能否成为肿瘤临床治疗中的另一项新策略以及抗淋巴管生成应从何入手等问题也是研究者将要面临的新课题。

关键词：淋巴管生成；淋巴转移；VEGF-C；VEGFR-3；prox-1；LYVE-1

中图法分类号：R73-37 文献标识码：A

参考文献：

[1] Ebata N, Nodasaka Y, Sawa Y, *et al*. Desmoplakin as a specific marker of lymphatic vessels[J]. Microvasc Res, 2001, 61(1): 40—48.

[2] Fukuda H, Yamada T, Kamata S, *et al*. Immuno-histochemical identification of initial lymphatics: the contour and distribution pattern of initial lym-

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

phatics in the human foreskin of the penis[J]. Nippon Hinyokika Gakkai Zasshi, 2000, 91(2): 49—54.

[3] Valtola R, Salven P, Heikkila P, *et al*. VEGFR-3 and its ligand VEGF-C are associated with angiogenesis in breast cancer[J]. Am J Pathol, 1999, 154(5): 1381—1390.

[4] Wilting J, Papoutsi M, Christ B, *et al*. The transcription factor prox1 is a marker for lymphatic endothelial cells in normal and diseased human tissues [J]. FASEB J, 2002, 16(10): 1271—1273.

[5] Banerji S, Ni J, Wang S X, *et al*. LYVE-1, a new homologue of the CD44 glycoprotein, is a lymph-specific receptor for hyaluronan[J]. J Cell Biol 1999, 144(4): 789—801.

[6] Jackson D G, Prevo R, Clasper S, *et al*. LYVE-1, the lymphatic system and tumor lymphangiogenesis[J]. Trends Immunol, 2001, 22(6): 317—321.

[7] Cursiefen C, Schlotzer Schrehardt U, Kuchle M, *et al*. Lymphatic vessels in vascularized human corneas: immunohistochemical investigation using LYVE-1 and podoplanin[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2002, 43(7): 2127—2135.

[8] Mouta Carreira C, Nasser S M, di-Tomaso E, *et al*. LYVE-1 is not restricted to the lymph vessels: expression in normal liver blood sinusoids and down-regulation in human liver cancer and cirrhosis[J]. Cancer Res, 2001, 61(22): 8079—8084.

[9] Breiteneder Geleff S, Matsui K, Soleiman A, *et al*. Podoplanin, a novel 43 kD membrane protein of glomerular epithelial cells, is down-regulated in puromycin nephrosis[J]. Am J Pathol, 1997, 151(4): 1141—1152.

[10] Achen M G, Jeltsch M, Kukk E, *et al*. Vascular endothelial growth factor D (VEGF-D) is a ligand for the tyrosine kinases VEGF receptor 2 (Flk1) and VEGF receptor 3 (Flt4)[J]. Proc Natl Acad Sci USA,, 1998, 95(2): 548—553.

[11] He Y, Kozaki K, Karpanen T, *et al*. Suppression of tumor lymphangiogenesis and lymph node metastasis by blocking vascular endothelial growth factor receptor 3 signaling[J]. J Natl Cancer Inst, 2002, 94(11): 819—825.

[12] Baldwin M E, Stacker S A, Achen M G. Molecular control of lymphangiogenesis[J]. Bioessays, 2002, 24(11): 1030—1040.

[13] Szuba A, Skobe M, Karkkainen M J, *et al*. Therapeutic lymphangiogenesis with human recombinant VEGF-C[J]. FASEB J, 2002, 16(14): 1985—1987.

[14] Yoon Y S, Murayama T, Gravereaux E, *et al*. VEGF-C gene therapy augments postnatal lymphangiogenesis and ameliorates secondary lymphedema[J]. J Clin Invest, 2003, 111(5): 717—725.

[15] Achen M G, Williams R A, Baldwin M E, *et al*. The angiogenic and lymphangiogenic factor vascular endothelial growth factor-D exhibits a paracrine mode of action in cancer[J]. Growth Factors, 2002, 20(2): 99—107.

[16] Nagy J A, Vasile E, Feng D, *et al*. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor induces lymphangiogenesis as well as angiogenesis [J]. J Exp Med, 2002, 196(11): 1497—1506.

[17] Kubo H, Cao R, Brakenhielm E, *et al*. Blockade of vascular endothelial growth factor receptor-3 signaling inhibits fibroblast growth factor-2-induced lymphangiogenesis in mouse cornea[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2002, 99(13): 8868—8873.

[18] Wigle J T, Oliver G. Prox1 function is required for the development of the murine lymphatic system[J]. Cell, 1999, 98(6): 769—778.

[19] Wigle J T, Harvey N, Detmar M, *et al*. An essential role for Prox1 in the induction of the lymphatic endothelial cell phenotype[J]. EMBO J, 2002, 21(7): 1505—1513.

[20] Hong Y K, Harvey N, Noh Y H, *et al*. Prox1 is a master control gene in the program specifying lymphatic endothelial cell fate[J]. Dev Dyn, 2002, 225(3): 351—357.

[21] Veikkola T, Alitalo K. Dual role of Ang2 in postnatal angiogenesis and lymphangiogenesis[J]. Dev Cell, 2002, 3(3): 302—304.

[22] Yuan L, Moyon D, Pardanaud L, *et al*. Abnormal lymphatic vessel development in neuropilin 2 mutant mice[J]. Development, 2002, 129(20): 4797—4806.

[23] Rivadeneira D E, Simmons R M, Christos P J, *et al*. Predictive factors associated with axillary lymph node metastases in T1a and T1b breast carcinomas: analysis in more than 900 patients[J]. J Am Coll Surg, 2000, 191(1): 1—6.

[24] Naruke T, Goya T, Tsuchiya R, *et al*. The importance of surgery to non-small cell carcinoma of lung with mediastinal lymph node metastasis[J]. Ann Thorac Surg, 1988, 46(6): 603—610.

[25] Vansteenkiste J F, De Leyn P R, Deneffe G J, *et al*. Survival and prognostic factors in resected N2 non-small cell lung cancer: a study of 140 cases. Leuven lung cancer group[J]. Ann Thorac Surg, 1997, 63(5): 1441—1450.

[26] Regnard J F, Santelmo N, Romdhani N, *et al*. Bronchioloalveolar lung carcinoma: results of surgical treatment and prognostic factors[J]. Chest. 1998, 114(1): 45—50.

[27] Fu X L, Zhu X Z, Shi D R, *et al*. Study of prognostic predictors for non-small cell lung cancer[J]. Lung Cancer, 1999, 23(2): 143—152

[28] Karpanen T, Egeblad M, Karkkainen M J, *et al*. Vascular endothelial growth factor C promotes tumor lymphangiogenesis and intralymphatic tumor growth[J]. Cancer Res, 2001, 61(5): 1786—1790.

[29] Mandriota S J, Jussila L, Jeltsch M, *et al*. Vascular endothelial growth factor-C-mediated lymphangiogenesis promotes tumour metastasis[J]. EMBO J, 2001, 20(4): 672—682.

[30] Krishnan J, Kirkin V, Steffen A, *et al*. Differential *in vivo* and *in vitro* expression of vascular endothelial growth factor (VEGF)-C and VEGF-D in tumors and its relationship to lymphatic metastasis in immunocompetent rats [J]. Cancer Res, 2003, 63(3): 713—722.

[31] Straume O, Jackson D G, Akslen L A. Independent prognostic impact of lymphatic vessel density and presence of low-grade lymphangiogenesis in cutaneous melanoma[J]. Clin Cancer Res, 2003, 9(1): 250—256.

[32] 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.

[33] 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.

（编辑　刘洪娥）

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