

肿瘤血管生成拟态的分子病理和影像学研究进展

刘巧遇 综述 李若坤, 强金伟 审核

【摘要】 血管生成拟态(VM)是多种恶性肿瘤的血液供应模式之一。VM的发生机制复杂,肿瘤微环境的改变、肿瘤细胞的可塑性及多种分子调节机制共同导致VM的形成。VM管壁由肿瘤细胞直接围绕形成,不含内皮细胞,与肿瘤的侵袭和转移等生物学行为密切相关。影像学是活体状态下VM量化评估的重要方法,主要包括超声造影、MRI、分子成像、光学成像等,可显示瘤内微循环,可为肿瘤的术前分级、预测靶向治疗疗效及预后提供依据。

【关键词】 血管生成拟态;恶性肿瘤;超声检查;磁共振成像;分子成像;光学成像

【中图分类号】 R730.3;R445.2;R445.1 **【文献标识码】** A

【文章编号】 1000-0313(2019)05-0565-04

DOI:10.13609/j.cnki.1000-0313.2019.05.017

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



血管生成拟态(vasculogenic mimicry, VM)的概念由美国病理学家 Maniotis 于 1999 年首次提出,指肿瘤细胞通过自身塑形获得内皮细胞特性,形成可传输血液的管道样结构,是独立于内皮依赖性血管(endothelium-dependent vessel)的肿瘤微循环模式^[1]。VM管壁由肿瘤细胞直接围绕形成,管腔无内皮细胞衬覆,腔外无炎性细胞浸润及坏死,腔内极少形成血栓^[2-4]。VM广泛存在于黑色素瘤、肺癌、乳腺癌、肝癌、结肠癌、卵巢癌等恶性肿瘤中。本文就VM的影像学研究进展进行综述。

VM的发生机制

VM的形成与以下多种机制相关:①肿瘤微环境。肿瘤的快速生长和血供不足可导致微环境缺氧,可使缺氧诱导因子(hypoxia-inducible factor, HIF)1 α 高表达^[5]。Zhu等^[6]将2种卵巢癌细胞三维培养于缺氧和正常氧环境中,置于缺氧环境的卵巢癌细胞HIF-1 α mRNA明显高表达,形成VM。Su等^[7]研究发现HIF-1 α 的抑制剂雷帕霉素可阻止卵巢癌细胞形成VM。②肿瘤细胞的“可塑性”。Mourad-Zeidan等^[8]发现高侵袭性黑色素瘤细胞能发生表型改变,呈现出多潜能胚胎干细胞的属性,从而形成VM。膀胱癌细胞在三维培养下可形成网状类血管结构,模拟内皮细胞形成肿瘤微循环结构^[9]。目前研究表明可形成VM

的神经胶质瘤细胞同时也具有某些干细胞特性,表现出多向分化的能力^[10]。③VM形成分子机制。钙黏蛋白(VE-cadherin)是促进VM形成的重要因子之一,侵袭性黑色素瘤高表达VE-cadherin,而非侵袭性黑色素瘤阴性表达^[11-12]。VE-cadherin是通过介导EphA2发挥作用^[13],EphA2与细胞膜表面配体相互作用使EphA2磷酸化,之后通过调节细胞外调节蛋白激酶(extracellular regulated protein kinases, ERK1/2)和黏着斑激酶(focal adhesion kinase, FAK)激活磷酸肌醇3-激酶(phosphatidylinositol 3'-OH kinase, PI3-K),PI3K/Akt信号通过调节细胞膜I类基质金属蛋白酶(MT I-MMP)、基质金属蛋白酶2(MMP-2)和5层黏连蛋白 γ 2链(Ln-5 γ 2)的裂解参与VM的形成^[14]。细胞组织因子(tissue factor, TF)、半乳糖素3(galectin 3, Gal-3)、环腺苷酸单磷酸(cyclic adenosine monophosphate, cAMP)及环氧酶2(cyclooxygenase 2, Cox2)均与VM的形成有重要关系^[15]。

VM的形态学特征

VM是肿瘤细胞自身变形模拟血管内皮细胞与细胞外基质相互作用形成的类血管样结构,几乎只见于高度恶性的肿瘤。VM管壁由肿瘤细胞直接围绕形成,管腔无内皮细胞衬覆,腔外无炎性细胞浸润及坏死,腔内极少形成血栓,并少见红细胞漏出^[16]。VM与内皮依赖性血管在免疫学和形态学上均存在明显差异。在免疫学上,VM细胞外基质富含层粘连蛋白、IV型和VI型胶原、黏多糖、硫酸肝素糖蛋白等成分,血管内皮标记物(CD31、CD34、VEGF等)染色阴性,过碘酸希夫(periodic acid-schiff stain, PAS)染色则呈阳性。在形态学上,VM特有的管腔结构面积是内皮依

作者单位: 201508 上海,复旦大学附属金山医院(刘巧遇,强金伟);200025 上海,上海交通大学医学院附属瑞金医院(李若坤)

作者简介: 刘巧遇(1993-),女,四川成都人,硕士研究生,住院医师,主要从事肝脏肿瘤血管生成等方面的诊断和研究工作。

通讯作者: 李若坤, E-mail: lrk12113@rjh.com.cn
基金项目: 国家自然科学基金资助项目(项目编号: 81501433)

赖性血管的 11.6 倍,可为肿瘤获取更多营养;由肿瘤细胞和内皮细胞共同参与构成的血管称为马赛克血管,属于广义的 VM 范畴。在结直肠癌移植瘤中,马赛克血管直径 $10.8 \mu\text{m}$, 占有灌注血管的 15%, 马赛克区域约占所在血管周径的 25%, 占整个肿瘤血管总面积的 4%, 80% 存在基底膜缺如^[17,18]。

VM 的病理生理学

VM 是肿瘤组织内的一个功能性微循环,为肿瘤提供丰富的营养支持。Maniots 等^[1]研究葡萄膜黑色素瘤时发现直径 $>1\text{cm}$ 的瘤体中央无坏死也无内皮依赖性血管存在的组织学依据,但可见大量 PAS 染色阳性的图案存在,并在该图案中见到红细胞串;经葡萄膜黑色素瘤患者的肘前静脉注入吲哚卡因绿,利用共聚焦激光显微镜可见吲哚卡因绿分布于该图案中。张诗武等^[19]将活性炭注入恶性黑色素瘤小鼠模型体内,亦可见活性炭颗粒分布于 VM 结构和内皮依赖性血管中央,证实 VM 是肿瘤组织内的功能性微循环,这为影像学检查时对比剂的使用提供了组织学依据。

VM 的临床意义

VM 与肿瘤生物学行为密切相关。一方面,VM 几乎只存在于高侵袭性恶性肿瘤,如黑色素瘤、胶质瘤、乳腺癌、小细胞肺癌、肝癌、结直肠癌等;另一方面,VM 丰富了肿瘤组织的血供,并且因无血管内皮的屏障作用,肿瘤细胞直接构成血管壁,更有利于肿瘤细胞的侵袭和转移。Wang 等^[20]对 86 例胶质瘤患者进行 PAS、CD34 检测,证实其中 23 例含 VM 血管,VM 阳性患者的中位生存期(11.17 个月)明显短于 VM 阴性患者(16.1 个月),差异有统计学意义($P=0.017$),表明 VM 可能是影响胶质瘤患者预后的独立因素。Shen 等^[21]发现乳腺癌中 VM 阳性率约为 24%,VM 阳性组较阴性组的肿瘤体积更大($>2\text{cm}$)($P=0.02$)、淋巴结转移更常见($P=0.0005$)、总体生存期更短($P=0.003$),表明 VM 与乳腺癌的高侵袭性、不良预后密切相关。Williamson 等^[22]对 41 例晚期小细胞肺癌患者进行研究,发现 VM 水平越高,总生存率越低($P<0.025$),并且 VM 可降低肿瘤潜伏期和顺铂的疗效。Chen 等^[23]对 44 例肝癌切除标本中 VM 与门静脉受侵的相关性进行分析,发现门静脉受侵患者中 VM 阳性率为 72%,阴性率为 15%,表明 VM 与门静脉受侵呈明显正相关($r=0.574, P<0.001$)。牛多山等^[24]发现,在 156 例结直肠癌中 VM 阳性率为 20%,在低分化组、伴有血管及神经侵犯组、伴有淋巴结转移组中阳性率更高,说明 VM 形成与结直肠癌的侵袭或远处转移相关。VM 的发现可能为肿瘤的治

疗干预提供新的靶点,因此寻求一种能早期活体定量肿瘤 VM 存在及数目的技术方法对指导临床治疗具有重大意义。

VM 的影像学评估

病理学免疫组化检查是评价 VM 的“金标准”,但因其有创性、存在取材误差等局限未能在临床上广泛运用。影像学是活体状态 VM 量化评估的重要方法,可显示瘤内微循环,为术前分级、预测靶向治疗疗效及预后提供依据,主要包括超声、MRI、分子成像、光学成像等。

1. 超声

赵小琪等^[25]利用超声造影即对比增强超声(contrast-enhanced ultrasound, CEUS)对裸鼠卵巢癌移植瘤模型进行检测,比较不同时间点(21 天、28 天)肿瘤中 VM 密度、微血管密度(microvessel density, MVD)及超声造影参数[峰值强度(peak intensity, PI)、达峰时间(time to peak, TTP)、持续时间(time to duration, TTD)]的关系,发现 21 天组的 PI 与 VM 密度、MVD 均呈正相关(r 值分别为 0.657、0.652, P 值均 <0.05),28 天组的 PI 与 MVD 呈正相关($r=0.687, P=0.03$)。说明 CEUS 定量参数有助于评估卵巢癌不同生长时期的 VM 及 MVD 表达。Silverman 等^[26]发现肿瘤的转移与其特殊的细胞外基质模式相关,利用高频超声波对 117 例术前经病理证实存在特殊细胞外基质模式的黑色素瘤患者进行检查,得出其相关的声学后散射参数,利用标准波谱分析[分析标准为线性判别分析(LDA)和径向基函数网络(RBN)],发现和散射浓度相关的特征与富含基质的模式的组织学存在相关,而这种模式又与葡萄膜黑色素瘤的转移风险有很强的相关性,故可根据肿瘤散射浓度的高低早期预测瘤体内是否存在 VM,为临床治疗和疾病预后提供帮助。

2. MRI

动态对比增强磁共振成像(dynamic contrast-enhanced MRI, DCE-MRI)可揭示肿瘤内血管分布状况,量化病变部位的血管生成,为临床提供病理生理学信息。龚威等^[27]运用 DCE-MRI 评价兔 VX2 骨肿瘤抗血管生成疗效,发现实验组 VX2 骨肿瘤外周区域与中心区域的 Ktrans 值差异有统计学意义($P<0.05$);实验组治疗后肿瘤外周和中心区域的 VEGF 表达、MVD 值与 Ktrans 值间均呈正相关关系(r 值分别为 0.924、0.945、0.848 和 0.909, P 值均 <0.05),表明 DCE-MRI 可反映肿瘤血管的生成特点。Shirakawa 等^[28]利用可形成 VM 血管的 WIBC-9 肿瘤细胞(实验组)和 MC-5 肿瘤细胞(对照组)建立裸鼠乳腺癌模型,

采用MRI大分子对比剂行多时间点MRI动态灌注增强扫描,发现对比剂到达WIBC-9瘤内的速度及浓聚速度快于MC-5组,WIBC-9瘤体表现为中央强化程度逐渐增强,且与肿瘤周边强化程度大体一致;对照组MC-5表现为中央无明显强化。病理上WIBC-9瘤体中央无血管内皮样结构,也无明显坏死及纤维化,电镜及免疫组化发现WIBC-9瘤体内存在VM-新生血管通路。以上研究结果表明DCE-MRI可检测炎性乳癌中VM血管的存在。

3. 分子影像

分子影像学是将特异性分子探针导入体内,通过影像学技术显示组织、细胞及亚细胞水平的特定分子,反映活体状态下分子水平的变化,根据影像学参数对其生物学行为进行定量、定性分析。Fang等^[29]于体外三维条件下培养HCCLM9细胞96h后,可见该细胞排列成基质骨架,通过细胞紧密连接形成管状、环形和网状结构,即VM,并且利用量子点分子成像可清晰显示VM。

4. 光学成像

光学成像(fluorescence imaging, NIRF)是以特定波谱范围的激发光源照射荧光分子,被激发的荧光分子发出不同光谱特性的光子信号,此信号通过滤光片后由超敏照相机采集,然后通过高级数据处理技术将光子信号转换为图像。目前NIRF已较多地应用于肿瘤微血管生成研究^[30]。Yang等^[31]建立裸鼠胰腺癌原位移植瘤模型,利用全身光学成像可清晰显示原位和转移瘤中微血管密度;将表达荧光蛋白的肺癌细胞注射入裸鼠爪垫,利用光学成像发现肿瘤微血管密度于10d内直线上升;同样将绿色荧光蛋白阳性的人乳腺癌细胞移植入小鼠乳腺脂肪垫内,光学成像检测到肿瘤新生血管密度在20周内直线上升,表明光学成像可实时评估药物疗效和肿瘤新生血管的形成。Camorani等^[32]发现抗表皮生长因子受体CL4抗体可通过阻碍整合素 α 的功能来抑制乳腺癌中VM的形成,注入特定的IntegriSense成像剂后,通过荧光分子断层摄影术(fluorescent molecular tomography, FMT)进行成像研究,CL4-处理组较对照组而言肿瘤中IntegriSense信号量减少了48%($P=0.0091$)。

光学层析成像(optical tomography, OT)是根据生物组织对光的吸收分布反映组织结构的一种新兴的无创性成像方式。生物组织吸收光能量后产生超声波,不同组织产生不同强度的超声波,因此可以区分正常组织与病变组织。OT对氧化和脱氧血红蛋白、脂肪组织和水含量敏感性高,能够显示肿瘤血管生成的特点。Quiros-Gonzalez等^[33]利用多光谱OT研究雌激素依赖性(MCF-7)与雌激素非依赖性(MDA-MB-

231)原位乳腺癌移植瘤模型的血管特征,结果显示MCF-7肿瘤含有更多的CD31+/ α SMA+的成熟血管,具有更高的VEGF和iNOS,NO血清水平增高,而MDA-MB-231肿瘤中更多见VM,表明OT可以敏感地鉴别乳腺癌血管表型的差异。

VM的发现丰富了人们对肿瘤微循环的认识,解释了部分抗肿瘤血管生成靶向药物疗效不佳的原因,为肿瘤的治疗提供了指导性意见。但关于VM还有很多问题需要研究探索,例如VM与肿瘤内皮依赖性血管怎样相互连接,两者是否有共同靶点,VM数量、结构与肿瘤恶性程度的具体关系。随着对VM的深入研究,其解剖、功能、调控机制及与肿瘤生物学行为的相关关系都会逐步明确。

参考文献:

- [1] 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.
- [2] Seftor RE, Hess AR, Seftor EA, et al. Tumor cell vasculogenic mimicry from controversy to therapeutic promise [J]. *Am J Pathol*, 2012, 181(4): 1115-1124.
- [3] Fan YL, Zheng M, Tang YL, et al. A new perspective of vasculogenic mimicry EMT and cancer stem cells[J]. *Oncol Lett*, 2013, 6(5): 1174-1180.
- [4] Cao Z, Shang B, Zhang G, et al. Tumor cell-mediated neovascularization and lymphangiogenesis contrive tumor progression and cancer metastasis[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1836(2): 273-286.
- [5] Folberg R, Maniotis AJ. Vasculogenic mimicry[J]. *APMIS*, 2004, 112(7-8): 508-525.
- [6] Zhu P, Ning Y, Yao L, et al. The proliferation, apoptosis, invasion of endothelial-like epithelial ovarian cancer cells induced by hypoxia[J]. *Exp Clin Cancer Res*, 2010, 29(10): 124.
- [7] Su M, Feng YJ, Yao LQ, et al. Plasticity of ovarian cancer cell SK-OV3ip and vasculogenic mimicry in vivo[J]. *Int J Gynecol Cancer*, 2008, 18(3): 476-486.
- [8] Mourad-zeidan AA, Melnikova VO, Wang H, et al. Expression profiling of Galectin-3-depleted melanoma cells reveals its major role in melanoma cell plasticity and vasculogenic mimicry[J]. *Am J Pathol*, 2008, 173(6): 1839-1852.
- [9] Fujimoto A, Onodera H, Mori A, et al. Tumour plasticity and extravascular circulation in ECV304 human bladder carcinoma cells [J]. *Anticancer Res*, 2006, 26(1): 59-69.
- [10] Ei Hallani S, Boisselier B, Peglion F, et al. A new alternative mechanism in glioblastoma vascularization: tubular vasculogenic mimicry[J]. *Brain*, 2010, 133(4): 973-982.
- [11] Zhang P, Fu C, Bai H, et al. CD44 variant, but not standard CD44 isoforms, mediate disassembly of endothelial VE-cadherin junction on metastatic melanoma cells [J]. *FEBS Lett*, 2014, 588(24): 4573-4582.
- [12] Hendrix MJ, Seftor EA, Meltzer PS, et al. Expression and functional significance of VE-cadherin in aggressive human melanoma cells: role in vasculogenic mimicry[J]. *Proc Natl Acad Sci*

- USA, 2001, 98(14):8018-8023.
- [13] Lu XS, Sun W, Ge CY, et al. Contribution of the PI3K/MMPs/Ln-5 γ 2 and EphA2/FAK/Paxillin signaling pathways to tumor growth and vasculogenic mimicry of gallbladder carcinomas[J]. *Int J Oncol*, 2013, 42(6):2103-2115.
- [14] 白驹, 徐志杰, 廖朝亮. 血管形成拟态在肿瘤中的研究进展[J]. *中南大学学报(医学版)*, 2017, 42(3):357-364.
- [15] Hendrix MJ, Sefter EA, Hess AR, et al. Molecular plasticity of human melanoma cells[J]. *Oncogene*, 2003, 22(20):3070-3075.
- [16] 张诗武, 高欣, 孙保存, 等. 血管生成拟态和血管生成及其意义[J]. *国外医学(肿瘤学分册)*, 2003, 30(3):180-182.
- [17] Chang YS, di Tomaso E, McDonald DM, et al. Mosaic blood vessels in tumors: frequency of cancer cells in contact with flowing blood[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97(26):14608-14613.
- [18] di Tomaso E, Capen D, Haskell A, et al. Mosaic tumor vessels: cellular basis and ultrastructure of focal regions lacking endothelial cell markers[J]. *Cancer Res*, 2005, 65(13):5740-5749.
- [19] 张诗武, 郭华, 张丹芳, 等. 恶性黑色素瘤血管生成拟态的形态学观察[J]. *中国肿瘤临床*, 2005, 32(23):1329-1332.
- [20] Wang SY, Ke YQ, Lu GH, et al. Vasculogenic mimicry is a prognostic factor for postoperative survival in patients with glioblastoma[J]. *J Neurooncol*, 2013, 112(3):339-345.
- [21] Shen Y, Quan J, Wang M, et al. Tumor vasculogenic mimicry formation as an unfavorable prognostic indicator in patients with breast cancer[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(34):56408-56416.
- [22] Williamson S, Trapani F, Abbott B, et al. The role of vasculogenic mimicry in small cell lung cancer[J]. *Eur Jour Cancer*, 2016, 61(1):S56-S59.
- [23] Chen J, Wu Z, Zhang Z, et al. Vasculogenic mimicry in hepatocellular carcinoma contributes to portal vein invasion[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(47):77987-77997.
- [24] 牛多山, 杨杰, 姚丰, 等. 结直肠癌腺瘤血管生成拟态的形态学观察及其临床病理意义[J]. *现代肿瘤医学*, 2016, 24(20):3233-3235.
- [25] 赵小琪, 刘慧, 向红. 卵巢癌超声造影与血管生成拟态和MVD的相关性分析[J]. *中国医学影像技术*, 2014, 30(12):1792-1796.
- [26] Silverman RH, Folberg R, Rondeau MJ, et al. Spectral parameter imaging for detection of prognostically significant histologic features in uveal melanoma[J]. *Ultrasound med Biol*, 2003, 29(7):951-959.
- [27] 龚威, 查云飞, 闫力永, 等. DCE-MRI评价Endostar对兔VX2骨肿瘤模型抗血管生成的疗效[J]. *放射学实践*, 2015, 30(4):313-318.
- [28] Shirakawa K, Kobayashi H, Sobajima J. Inflammatory breast cancer: vasculogenic mimicry and its hemodynamics of an inflammatory breast cancer xenograft model[J]. *Breast Cancer Res*, 2003, 5(3):136-139.
- [29] Fang M, Peng CW, Liu SP, et al. In vitro invasive pattern of hepatocellular carcinoma cell line HCCLM9 based on three-dimensional cell culture and quantum dots molecular imaging[J]. *J Huazhong Univ Sci Technol Med Sci*, 2013, 33(4):520-524.
- [30] 郭易萍, 李子樵, 练子富, 等. 肿瘤新生血管检测的研究进展[J]. *国际生物医学工程杂志*, 2011, 34(5):314-317.
- [31] Yang M, Baranov E, Li XM, et al. Whole-body and intravital optical imaging of angiogenesis in orthotopically implanted tumors[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(5):2616-2621.
- [32] Camorani S, Crescenzi E, Gramanzini M, et al. Aptamer-mediated impairment of EGFR-integrin α v β 3 complex inhibits vasculogenic mimicry and growth of triple-negative breast cancers. [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1):46659.
- [33] Quiros-gonzalez I, Tomaszewski MR, Aitken SJ, et al. Optoacoustics delineates murine breast cancer models displaying angiogenesis and vascular mimicry[J]. *Br J Cancer*, 2018, 118(8):1098-1106.

(收稿日期:2018-07-18 修回日期:2018-10-16)