

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2020.07.035

View this article at: <http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2020.07.035>

血管生成拟态在乳腺癌中的研究进展

史珂^{1,2} 综述 陈凤³ 审校

(1. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306; 2. 上海市第六人民医院东院普外科, 上海 201306;
3. 上海健康医学院附属第六人民医院东院普外科, 上海 201306)

[摘要] 血管生成拟态(vasculogenic mimicry, VM)是肿瘤血管新生的途径之一, 与经典途径不同, 其管样结构并非由内皮细胞而是由癌细胞本身连结形成, 为肿瘤的生长和侵袭过程提供血液及营养, 并与患者预后密切相关。近些年来, 这种全新的肿瘤微循环模式受到了较为广泛的关注。本文将对VM在乳腺癌中的发现及其与乳腺癌干细胞、抗血管生成治疗的研究成果作一综述, 并探讨将VM作为癌症治疗靶点的意义以及未来的发展方向。

[关键词] 血管生成拟态; 乳腺癌; 乳腺癌干细胞

Research progress of vasculogenic mimicry in breast cancer

SHI Ke^{1,2}, CHEN Feng³

(1. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306; 2. Department of General Surgery, Shanghai Sixth People's Hospital East Campus, Shanghai 201306; 3. Department of General Surgery, Shanghai Sixth People's Hospital East Campus Affiliated to Shanghai University of Medicine & Health Sciences, Shanghai 201306, China)

Abstract Vasculogenic mimicry (VM) is one of the pathways in tumor angiogenesis, which differences from classical pathways. It is connected by cancer cell themselves, not by endothelial cells. VM offers blood and nutrition to the process of tumor progress, and relates to the patients' prognosis. Recently, this new tumor microcirculation method has received extensive attention. This review aimed to summarize the research progress of the occurrence in breast cancer and breast cancer stem cells with VM and the anti-VM treatment researches. Meanwhile we also discussed the significance of VM to be as a target of breast cancer treatments and the research orientation of it in the future.

Keywords vasculogenic mimicry; breast cancer; breast cancer stem cell

乳腺癌是一种具有高度异质性的恶性肿瘤, 是女性最常见的癌症, 也是全球癌症相关死亡的主要原因之一^[1]。肿瘤生长需要持续的营养和氧

气, 新生血管在供给营养和氧气的同时, 会带走代谢产物, 还可将肿瘤细胞转运到靶器官^[2], 这为肿瘤转移提供了必要条件。传统观点^[3]认为

收稿日期 (Date of reception): 2019-08-02

通信作者 (Corresponding author): 陈凤, Email: chenfengmail@163.com

基金项目 (Foundation item): 上海健康医学院国家级项目培育专项 (SFP-18-20-14-005)。This work was supported by the National Cultivation Project of Shanghai University of Medicine & Health Sciences, China (SFP-18-20-14-005).

癌细胞通过刺激血管内皮细胞生成新生血管, 为肿瘤的生长提供充足的营养, 从而促进其进展。研究^[4-6]表明: 在癌症中, 血管新生促进肿瘤细胞的增殖, 并与上皮-间充质转化(epithelial-to-mesenchymal transition, EMT)过程相关, 进而促进其侵袭和迁移等过程。血管新生往往伴随着不良的预后, 降低病患的存活时间和生活质量。

血管生成拟态(vasculogenic mimicry, VM)是指侵袭性恶性肿瘤在不需要内皮细胞参与的情况下, 经细胞表型转化由其自身直接形成的微循环管道^[7]。1999年Maniotis等^[8]在研究人眼葡萄膜黑色素瘤中首次发现了这种过碘酸-雪夫氏液(Periodic Acid-Schiff, PAS)阳性和CD31, CD34等多种内皮细胞标志物染色为阴性的管网状结构, 它由癌细胞间相互连结形成并与细胞外基质相互作用。VM这种不同于以往的血管生成方式可以出现在多种癌组织中, 如胃癌^[9]、肝癌^[10]、结直肠癌^[11]、乳腺癌^[12]等, 并往往伴随着癌转移^[13]、患者的不良预后^[14], 给患者的生存带来了巨大的威胁。

1 乳腺癌中 VM 的发现

近些年来, 学者在乳腺癌细胞、病理组织切片和动物实验等多个水平都观察到了VM现象。欧洁等^[15]曾提出: 营养缺乏和生长因子缺乏可诱导三阴性乳腺癌中以间充质细胞系为主的细胞系(如MDA-MB-231, BT-549等)形成VM, 而其他细胞系则表现出VM相关信号受体低表达。有学者^[16]通过对三阴性乳腺癌细胞系MDA-MB-231进行体外三维培养, 观察到乳腺癌细胞具有在体外形成管网状结构的能力, 推测其在体内可形成拟态血管并具有输送血液及营养的功能。Izawa等^[17]对敲除p53的HCC1937细胞系进行三维培养也观察到了相同的表型。而Cui等^[18]和Gong等^[19]通过对人乳腺导管癌MCF-7细胞系的研究发现: 无论是将该细胞在基质胶内还是基质胶上培养都无法形成VM, 猜测可能在MCF-7细胞中某些信号通路或VM相关蛋白未被激活。

Xing等^[12]和Liu等^[20]分别通过对202例和90例乳腺癌患者的组织切片进行PAS/CD31染色, 分别有34例(16.8%)和26例(28.6%)为VM阳性, 且与雌激素受体(estrogen receptor, ER)和孕激素受体(progesterone receptor, PR)的表达量呈负相关, 同时后者VM阳性患者中多表现出预后不良。Ju等^[21]在裸鼠成瘤实验中将乳腺癌细胞MDA-MB-435S

注射到裸鼠皮下, 对所成瘤体进行切片和PAS, CD34双重染色, 观察到VM样血管通道, 表明在动物体内存在VM。以上研究表明, 恶性程度高的乳腺癌细胞中普遍存在VM, 但在恶性程度较低的乳腺癌细胞中, VM难以形成。为何在不同类型乳腺癌细胞中会出现这样的现象也正是未来研究的方向。同时VM在三阴性乳腺癌细胞系中的高表达也提示对于三阴性乳腺癌患者而言, 靶向VM可能是潜在的治疗方案。

2 VM 与乳腺癌临床病理

VM是癌症进展和转移的重要途径之一, 新生的拟态血管成为癌细胞转移过程的天然通道, 与VM阴性恶性肿瘤病例相比, VM阳性癌症患者的5年总体生存率较差, 尤其是在转移癌中。

为探究VM与乳腺癌临床病理特征之间的联系, 诸多学者通过免疫组织化学并结合临床信息进行分析。Shen等^[6]对247例诊断为浸润性导管癌的乳腺癌组织标本相关性分析表明: VM与肿瘤分期、淋巴结转移(lymph node metastasis, LNM)分期、肿瘤分级、肿瘤淋巴结转移(tumor node metastasis, TNM)分期呈正相关, 与患者总生存率(overall survival, OS)、无病生存率(free survival, FS)呈负相关; 其中, 在247例患者中, 有79例为VM阳性(32.0%), 在VM阳性患者中, 中度分化(38, 48.1%)、高度分化(30, 38.0%)的病患均明显多于低度分化(11, 14.0%)。刘明等^[22]采用PAS/CD31双重染色法检测了120例三阴性乳腺癌患者及30例良性乳腺增生组织标本VM的表达, 同时对基质金属蛋白酶2(matrix metalloproteinase 2, MMP2)和骨桥蛋白(osteopontin, OPN)进行免疫组织化学染色观察, 结果显示: 三阴性乳腺癌组织中VM阳性率(32, 6.27%)显著高于良性乳腺增生组织($\chi^2=10.169$, $P<0.05$), 且三阴性乳腺癌组织中VM与OPN, MMP-2的表达均呈正相关($r=0.609$, $r=0.296$, $P<0.05$), 该研究也表明VM与肿瘤大小、淋巴结转移情况和临床分期相关($P<0.05$)。以上临床组织病理学研究表明VM与乳腺癌患者的分期、分型以及预后等密切相关, VM阳性乳腺癌患者往往预后更差, 组织标本中VM的检测对乳腺癌患者的治疗及预后评估具有一定的指导意义。

3 乳腺癌干细胞与 VM

癌症干细胞(cancer stem cells, CSCs)首次得到

证实是在人类急性髓性白血病中^[23], 它是一种具有自我更新和分化成构成肿瘤异质谱系能力的细胞。癌组织是由少量的癌干细胞与普通癌细胞构成。VM是癌细胞经由表型转化形成^[7], 因而可推测CSCs可能参与其形成。

醛脱氢酶(aldehyde dehydrogenase, ALDH)是CSCs的分选标志物之一。Izawa等^[17]通过对HCC1937/P53细胞系以ALDH为乳腺癌干细胞标志物来进行荧光分选, 对得到的ALDH⁺和ALDH⁻细胞分别进行3D培养, 结果显示: ALDH⁺细胞在基质胶上生成明显的管腔结构, 而ALDH⁻细胞则不形成VM, 提示人体内肿瘤组织中形成的VM可能主要由其中的CSCs形成。另外还有研究^[24]对MDA-MB-231和MCF-7进行ALDH1标记的流式分选和干细胞分离, 并对其培养, 结果显示: 在MDA-MB-231细胞中, ALDH1⁺细胞亚群在侵袭、迁移和形成管道能力即VM能力方面更强。同时MDA-MB-231中ALDH1⁺细胞即干细胞所占比例(26.87%)远高于MCF-7(3.4%), 且前者侵袭、迁移和VM能力均比后者强。以上研究均表明乳腺癌干细胞在侵袭、迁移和VM形成过程中具有重要作用, 提示乳腺癌干细胞有望成为乳腺癌治疗的主要方向。

刘营等^[25]通过对MDA-MB-231在超低吸附培养板上进行无血清悬浮培养, 从而分离获得干细胞球, 检测其干细胞与常规细胞中AURKA蛋白激酶、干细胞转录因子如c-myc, sox-2的表达和VM生成能力的差异, 并通过添加AURKA蛋白激酶抑制剂MLN8237来验证AURKA激酶在乳腺癌干细胞中的功能, 结果显示: 分离得到的乳腺癌干细胞球相较于常规培养细胞高表达c-myc, sox-2和AURKA蛋白激酶, 且其VM生成能力在加入AURKA蛋白激酶抑制剂后明显减弱, c-myc, sox-2表达被明显抑制。在裸鼠移植瘤模型中, 加入该抑制剂也明显抑制了移植瘤的生长和VM形成。

以上研究表明乳腺癌干细胞参与了VM形成, 干预乳腺癌干细胞形成过程中的关键蛋白或转录因子可以进一步减少VM的形成, 这也提示CSCs通过促进VM形成方式促进肿瘤转移, 这个也为乳腺癌的治疗提供了新的方向。

4 VM与乳腺癌治疗

血管是肿瘤生长获取所需营养的主要途径, 因此人们试图通过药物来抑制血管的生成使肿瘤处于“饥饿”状态, 从而达到对肿瘤发展的控制和治疗的目的。但是针对血管内皮细胞的抗血管

生成药物往往作用局限或出现耐药, 这表明在人体内可能存在其他用于补充血液、滋养肿瘤的方式^[26]。VM可能是抗血管生成治疗失败的主要原因之一^[21], 减少其生成是乳腺癌治疗的潜在方向。

肿瘤微环境的局部缺氧会刺激缺氧诱导因子1(hypoxia inducible factor-1, HIF-1)等细胞因子高表达, 从而激活下游通路并进一步刺激癌细胞产生VM现象^[27]。Li等^[28]通过加入连二亚硫酸钠(sodium hydrosulfite, Na₂S₂O₄)诱导细胞系MDA-MB-231和MCF-7缺氧模型, 相较于正常培养条件下, 乳腺癌细胞在缺氧条件下的侵袭、迁移和VM能力增强, 加入6,6'-双(2,3-二甲氧基苯甲酰基)- α,α -D-海藻糖[6,6'-bis(2,3-dimethoxybenzyloxy)- α,α -D-trehalose, DMBT]后发现: 由缺氧造成的表型变化得到恢复, 甚至较对照组更弱, 这表明DMBT抑制了肿瘤进展过程。在裸鼠成瘤实验中, 通过对瘤体切片进行染色观察, 与对照组相比, 加入DMBT 1 mg/kg和10 mg/kg组中所形成的拟态血管小而薄, 这表明DMBT显著抑制了VM的生成, 该研究中所使用的DMBT为海藻糖的衍生物, 由该课题组前期工作得到^[29], 通过对天然产物Brartemicin分子(一种从放线菌Nonomuraea代谢产物中分离得到的海藻糖衍生物)进行优化设计, 构建出结构多样性的衍生物并通过筛选确定出最优结构, 即DMBT。索明珠等^[30]在MDA-MB-231培养中加入不同浓度的马钱子碱, 观察到随着药物浓度的增加, VM的管道结构形成数目、节点数和血管分支数均有减少, 且当药物浓度为100 μ g/mL时, 抑制作用较为显著, 这表明马钱子碱对乳腺癌细胞VM具有明显的抑制作用, 能够较好地发挥抗肿瘤作用; 为了解该药物作用的相关分子机制, 作者通过对多个VM相关蛋白进行相对定量分析, 结果表明: VEGF, VE-cadherin, Eph A2, MMP-9和MMP-2蛋白均表现出下调的趋势。

Gong等^[19]分别对MDA-MB-231和MCF-7两种细胞稳定转染带有Nodal cDNA和sh-Nodal的慢病毒表达质粒, 构建出MDA-MB-231-shNodal细胞系和MCF-7-Nodal细胞系并进行3D培养, 结果显示: 原本可以产生VM的MDA-MB-231在敲减了Nodal基因后无VM现象, 而原本不具有VM能力的MCF-7细胞在转入Nodal cDNA质粒表达载体后出现了VM, 表明Nodal在形成VM的过程中起关键作用。在对其发生机制进行进一步的研究中, 加入转录激活因子Smad的抑制剂SB431542后, 磷酸化Smad2/3明显降低, VM现象明显低于对照组, 且VM相关蛋白如VE-Cadherin, MMP2, MMP9均出现下调现

象, 表明Nodal通过激活Smad2/3信号通路下调VM相关蛋白从而影响乳腺癌VM形成, 在裸鼠成瘤实验中也得到了同样的结论。上述研究表明: 一些天然化学产物及其衍生物(如DMBT、马钱子碱)可以减少VM的形成, 干预Nodal蛋白的表达也可以抑制VM的形成, 而这些药物或者靶点都可能是潜在的乳腺癌治疗方案, 针对VM形成的药物研发可能为乳腺癌的治疗提供新的思路。

5 结语

VM作为肿瘤血管新生的重要途径之一, 多发生在高侵袭性乳腺癌中, 同患者的病理分期密切相关, 且VM阳性的患者往往提示预后不良。CSCs可以形成VM结构, 靶向CSCs形成的关键基因可以减少VM的形成, 这为解释CSCs在肿瘤发生发展中的作用提供了新的思路。靶向VM的形成是乳腺癌治疗新的方向, 探索VM形成中的关键蛋白及重要信号通路是进一步开展针对VM治疗的重要环节。现有的研究表明多种天然化学产物及其衍生物可以减少VM表型的形成, 但是其具体的作用形式及机制需要进一步的探索。鉴于VM表型在乳腺癌中的重要作用, 我们有理由相信针对VM的进一步深入研究及靶向VM的药物探索将为乳腺癌的治疗提供新的可能。

目前, 乳腺癌的治疗现状依旧严峻, VM在乳腺癌中的研究才刚刚起步, 具体的分子机制和对VM的治疗手段还尚未成熟, 亟需医疗卫生工作人员进一步探索。癌症复发一直是我国乃至世界医疗与科研事业的一块短板, 通过对VM更深层次的机制进行研究将有助于从源头上抑制乳腺癌的扩散与转移, 将VM及其相关蛋白作为治疗靶点有望成为乳腺癌治疗探索的新方向。

参考文献

1. Kotiyal S, Bhattacharya S. Epithelial mesenchymal transition and vascular mimicry in breast cancer stem cells[J]. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr*, 2015, 25(3): 269-280.
2. Furuya M, Nishiyama M, Kasuya Y, et al. Pathophysiology of tumor neovascularization[J]. *Vasc Health Risk Manag*, 2005, 1(4): 277-290.
3. Shin EK, Kim JK. Indirubin derivative E804 inhibits angiogenesis[J]. *BMC Cancer*, 2012, 12: 164.
4. Luan YY, Liu ZM, Zhong JY, et al. Effect of grape seed proanthocyanidins on tumor vasculogenic mimicry in human triple-negative breast cancer cells[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2015, 16(2): 531-535.
5. Hulin JA, Tommasi S, Elliot D, et al. MiR-193b regulates breast cancer cell migration and vasculogenic mimicry by targeting dimethylarginine dimethylaminohydrolase 1[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 13996.
6. Shen R, Wu T, Huang P, et al. The clinicopathological significance of ubiquitin-conjugating enzyme E2C, leucine-rich repeated-containing G protein-coupled receptor, WW domain-containing oxidoreductase, and vasculogenic mimicry in invasive breast carcinoma[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2019, 98(16): e15232.
7. 邓建华, 李汉忠. 血管生成拟态和马赛克血管与肾癌的靶向治疗[J]. *中国医学科学院学报*, 2011, 33(4): 462-467.
DENG Jianhua, LI Hanzhong. Vasculogenic mimicry and mosaic vessels and targeted therapy in renal cell carcinoma[J]. *Acta Academiae Medicinae Sinicae*, 2011, 33(4): 462-467.
8. 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.
9. You X, Wang Y, Wu J, et al. Prognostic significance of galectin-1 and vasculogenic mimicry in patients with gastric cancer[J]. *Oncol Targets Ther*, 2018, 11: 3237-3244.
10. Jue C, Min Z, Zhisheng Z, et al. COE inhibits vasculogenic mimicry in hepatocellular carcinoma via suppressing Notch1 signaling[J]. *J Ethnopharmacol*, 2017, 208: 165-173.
11. 杨莹, 胡叶, 吴娜, 等. 肿瘤血管生成拟态在结肠癌中的研究进展[J]. *现代肿瘤医学*, 2018, 26(1): 149-152.
YANG Ying, HU Ye, WU Na, et al. Research development of vasculogenic mimicry in colon cancer[J]. *Journal of Modern Oncology*, 2018, 26(1): 149-152.
12. Xing P, Dong H, Liu Q, et al. ALDH1 expression and vasculogenic mimicry are positively associated with poor prognosis in patients with breast cancer[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 49(3): 961-970.
13. Sun MG, Shi JF, Li XY, et al. Targeting epirubicin plus quinacrine liposomes modified with DSPE-PEG2000-C(RGDfK) conjugate for eliminating invasive breast cancer[J]. *J Biomed Nanotechnol*, 2015, 11(8): 1339-1353.
14. 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.
15. 欧洁, 王顺超, 吴红艳. 肿瘤血管生成拟态形成的机制[J]. *中国组织化学与细胞化学杂志*, 2018, 27(5): 487-491.
OU Jie, WANG Shunchao, WU Hongyan. Mechanisms of vasculogenic mimicry formation in tumor[J]. *Chinese Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 2018, 27(5): 487-491.
16. Xu MR, Wei PF, Suo MZ, et al. Brucine suppresses vasculogenic mimicry in human triple-negative breast cancer cell line MDA-MB-

- 231[J]. *Biomed Res Int*, 2019, 2019: 6543230.
17. Izawa Y, Kashii-Magariuchi K, Yoshida K, et al. Stem-like human breast cancer cells initiate vasculogenic mimicry on matrigel[J]. *Acta Histochem Cytochem*, 2018, 51(6): 173-183.
18. Cui YF, Liu AH, An DZ, et al. Claudin-4 is required for vasculogenic mimicry formation in human breast cancer cells[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(13): 11087-11097.
19. Gong W, Sun B, Zhao X, et al. Nodal signaling promotes vasculogenic mimicry formation in breast cancer via the Smad2/3 pathway[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(43): 70152-70167.
20. Liu T, Sun B, Zhao X, et al. OCT4 expression and vasculogenic mimicry formation positively correlate with poor prognosis in human breast cancer[J]. *Int J Mol Sci*, 2014, 15(11): 19634-19649.
21. Ju RJ, Li XT, Shi JF, et al. Liposomes, modified with PTD(HIV-1) peptide, containing epirubicin and celecoxib, to target vasculogenic mimicry channels in invasive breast cancer[J]. *Biomaterials*, 2014, 35(26): 7610-7621.
22. 刘明, 郭满, 张浩, 等. 血管生成拟态及骨桥蛋白和基质金属蛋白酶2在三阴性乳腺癌组织中的表达及意义[J]. *新乡医学院学报*, 2019, 36(4): 345-349.
- LIU Ming, GUO Man, ZHANG Hao, et al. Expression and significance of vasculogenic mimicry, osteopontin and matrix metalloproteinase-2 in triple-negative breast cancer[J]. *Journal of Xinxiang Medical University*, 2019, 36(4): 345-349.
23. Lapidot T, Sirard C, Vormoor J, et al. A cell initiating human acute myeloid leukaemia after transplantation into SCID mice[J]. *Nature*, 1994, 367(6464): 645-648.
24. 刘加蒙. 乳腺癌干细胞在三阴性乳腺癌EMT发生和血管生成拟态形成中的作用[D]. 天津: 天津医科大学, 2016.
- LIU Jiameng. The effect of breast cancer stem cells in triple-negative breast cancer of inducing EMT and vasculogenic mimicry formation[D]. Tianjing: Tianjing Medical University, 2016.
25. 刘莹. AURKA蛋白激酶在三阴性乳腺癌干细胞形成血管拟态中的实验研究[D]. 天津: 天津医科大学, 2014.
- LIU Ying. The study of AURKA protein kinase in the formation of vascular mimicry in triple-negative breast cancer stem cells[D]. Tianjing: Tianjing Medical University, 2014.
26. Fan YL, Zheng M, Tang Y L, et al. A new perspective of vasculogenic mimicry: EMT and cancer stem cells (review)[J]. *Oncol Lett*, 2013, 6(5): 1174-1180.
27. Li S, Meng W, Guan Z, et al. The hypoxia-related signaling pathways of vasculogenic mimicry in tumor treatment[J]. *Biomed Pharmacother*, 2016, 80: 127-135.
28. Li S, Zhang Q, Zhou L, et al. Inhibitory effects of compound DMBT on hypoxia-induced vasculogenic mimicry in human breast cancer[J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 96: 982-992.
29. 唐琳琳. 海藻糖衍生物DMBT抗肿瘤侵袭转移作用的研究[D]. 济南: 山东大学, 2014.
- TANG Linlin. Effects of DMBT, a trehalose derivative, on tumor anti-invasion and anti-metastasis[D]. Jinan: Shandong University, 2014.
30. 索明珠, 李平, 张梅, 等. 马钱子碱抑制乳腺癌细胞体外血管生成拟态的形成及其可能机制研究[J]. *中国癌症杂志*, 2018, 28(4): 241-247.
- SUO Mingzhu, LI Ping, ZHANG Mei, et al. Brucine inhibits vasculogenic mimicry of breast cancer cell lines in vitro and the related mechanism[J]. *China Oncology*, 2018, 28(4): 241-247.

本文引用: 史珂, 陈风. 血管生成拟态在乳腺癌中的研究进展[J]. *临床与病理杂志*, 2020, 40(7): 1846-1850. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2020.07.035

Cite this article as: SHI Ke, CHEN Feng. Research progress of vasculogenic mimicry in breast cancer[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2020, 40(7): 1846-1850. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2020.07.035