

VEGF-C 在常见消化道肿瘤淋巴转移中的作用

The Effect of Vascular Endothelial Growth Factor C on Lymphatic Metastasis in Digestive Tract Malignancy//ZHAO Zi-gang,BA Cai-xia,WANG Wei

赵紫罡,巴彩霞,王卫 (包头市肿瘤医院,内蒙古 包头 014030)

摘要:淋巴道转移是消化道恶性肿瘤的主要转移方式,是影响预后的重要因素。目前普遍认为,VEGF-C 是特异性淋巴管生成因子,可促进血管、淋巴管生成和淋巴转移。全文对 VEGF-C 的结构功能特点,及其在淋巴管生成和消化道肿瘤淋巴转移中的作用研究进展作一综述和分析。

关键词:VEGF-C;消化道肿瘤;淋巴;转移

中图分类号:R735 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-0242(2012)04-0285-04

大量临床病理研究表明,很多实体瘤早期就出现癌细胞至区域淋巴结播散,淋巴管是重要通路。肿瘤淋巴管生成增加了淋巴道转移发生的机会,肿瘤细胞通过黏附、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淋巴结,形成淋巴道转移^[1]。目前研究认为,淋巴管生成受微环境因素如静水压或肿瘤细胞增生扩散的机械压等限制,因此在肿瘤中分布是不均匀的^[2],但是仍不能肯定肿瘤内是否存在功能性淋巴管。即使肿瘤内缺乏淋巴管,癌周增生的功能性淋巴管也可以促进肿瘤淋巴转移。肿瘤内淋巴管网的形成,无论其有无淋巴转移功能,均可增加肿瘤细胞脱离原发性肿瘤的机会而促进其转移,肿瘤细胞是通过受损淋巴管还是非内皮性优势通道转移至区域淋巴结,还需进一步研究。

淋巴道转移是恶性肿瘤最主要的生物学行为之一。50%以上的肿瘤细胞经淋巴道途径转移,淋巴结受累与否,是许多类型肿瘤分期和治疗依据,也是肿瘤复发和预后的重要指标。淋巴管生长因子以及淋巴管内皮特异性标志物的相继发现,使肿瘤学研究从血管生成的领域延伸到肿瘤淋巴生成和转移领域。目前的研究普遍认为淋巴管内皮生长因子

(vascular endothelial growth factor C,VEGF-C)、VEGF-D 是特异性淋巴管生成因子,通过结合并诱导受体 VEGFR-2、VEGFR-3 自身磷酸化而发挥其生物学功能^[3]。本文就 VEGF-C 与常见消化道肿瘤淋巴转移之间研究进展作一综述。

1 VEGF-C分子生物学研究

VEGF-C 是目前所知最重要的具有淋巴管生成作用的因子。在炎症、外伤修复和肿瘤生长过程中,淋巴管内皮细胞和周围的组织细胞合成和释放 VEGF-C,VEGF-C 通过 VEGFR-3 的介导作用引起肌动蛋白重组和构型改变,可激发淋巴管内皮细胞增殖和迁移,从而促进淋巴管新生^[4]。

1.1 VEGF-C 受体

VEGF-C 主要与 VEGFR-3 (Flt-4)结合,结合后受体酪氨酸激酶被活化,其底物发生酪氨酸磷酸化^[3]。VEGF-C 还可以与 VEGFR-2(KDR)结合,近年来研究^[5,6]发现 VEGF-C 也可与 Nrp-2 结合。对于 Nrp-2,有研究^[7]认为其在淋巴管发育过程中并非必需,而是起着调节的作用。VEGFR-3 被认为与淋巴管生成关系最为密切,参与介导肿瘤细胞的迁移和浸润,并促使其向远处播散。VEGF-C 与 VEGFR-3 结合的亲

收稿日期:2011-04-01;修回日期:2011-11-19

通讯作者:巴彩霞,E-mail:bacaxia@163.com

和性明显大于 VEGFR-2。

1.2 VEGF-C 表达

用 Northern 印迹杂交方法在许多胚胎及成人组织中检测到分子量分别为 2.4kD 和 2.0kD 的两个 VEGF-C mRNA。VEGF-C mRNA 在成人组织中主要表达于心脏、胎盘、卵巢、小肠和甲状腺。肿瘤细胞几乎特异性地表达 2.4kD 的 mRNA，提示这种 mRNA 对应于从 PC-3 肿瘤细胞中获得的 VEGF-C cDNA^[3]。

1.3 VEGF-C 作用及调节

近期研究提示,VEGF-C 通过诱导淋巴管的生成促进癌细胞的转移。Vondenhoff 等^[8]研究发现,循环中率先到达淋巴结并外渗的造血干细胞充当了淋巴组织诱导生成者的角色,这些细胞经诱导后表达的淋巴毒素能激活间充质细胞的淋巴毒素 β 受体(LT β R),从而刺激其向淋巴基质细胞分化,并分泌 VEGF-C,而淋巴管生成很可能也是依赖这一过程。动物实验证实 VEGF-C 及 VEGF-D 能促使骨骼肌内新生淋巴管及血管形成^[9]。VEGF-C 以前体的形式通过一种旁分泌模式分泌,并经蛋白水解形成成熟型 VEGF-C,成熟型 VEGF-C 通过结合受体(VEGFR-2/VEGFR-3)使受体自身磷酸化,使 DNA 有丝分裂增强,导致细胞增殖^[10]。一些炎症因子,如 IL-1 β 可呈浓度及时间依赖性使 VEGF-C 增加,肿瘤坏死因子(TGF) β 可增强 VEGF-C mRNA 表达^[11]。

2 VEGF-C、VEGFR-3 促进肿瘤淋巴管生成

目前临床检测表明许多人类肿瘤表达 VEGF-C,大部分肿瘤中 VEGF-C 表达上调,且与局部淋巴结转移相关,包括乳腺癌、非小细胞肺癌、头颈部鳞癌、前列腺癌、胃癌、结肠癌、甲状腺乳头状癌、宫颈癌等。动物模型证实 VEGF-C 和 VEGFR-3 促进了肿瘤淋巴管生成,很多肿瘤异种移植中可检测到淋巴管及 VEGF-C 和 VEGFR-3 表达。

3 VEGF-C 表达与与常见消化道肿瘤淋巴转移的关系

恶性肿瘤细胞播散至局部淋巴结是许多常见实体肿瘤演进的早期步骤,是预后的重要决定性因素。

现已发现,胃肠道恶性肿瘤如胃癌、结直肠癌、食管癌中 VEGF-C、VEGF-D 表达与肿瘤内、外淋巴管密度、淋巴和静脉侵犯、淋巴结转移等呈相关性。

3.1 胃癌

免疫组化分析表明,VEGF-C 免疫反应局限于胃癌细胞,遍及整个胞浆。文献报道 VEGF-C 蛋白表达阳性率存在较大差异,在 26%~69%之间,这可能是因为各研究所采用染色方法不同所致。Kabashima 等^[12]应用免疫组化方法研究早期胃癌(early gastric carcinoma,EGC) 淋巴结转移与 VEGF-C 关系时发现,VEGF-C 阳性表达率在淋巴结受侵 EGC 者较淋巴结未受侵者明显增高,提示 EGC 淋巴结浸润和 VEGF-C 阳性表达明显相关。Amioka 等^[13]对 139 例黏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。Yonemala 等^[14]应用 RT-PCR 和免疫组化方法研究 VEGF-C 及其受体 VEGFR-3 在 85 例原发性胃癌中的表达及其相互关系,结果表明 VEGF-C 和 VEGFR-3 mRNA 在胃癌中的表达呈正相关,VEGFR-3 阳性淋巴管数在 VEGF-C mRNA 阳性病例中明显大于 VEGF-C mRNA 阴性者,且在肿瘤基质中,VEGFR-3 阳性淋巴管数与胃癌淋巴侵袭级别密切相关。证实 VEGF-C 通过表达于淋巴管内皮细胞的 VEGFR-3 诱导原发性胃癌基质中的淋巴生成,导致胃癌细胞易于经淋巴管侵袭。

VEGF-C 表达与预后的关系尚不清楚。Ichikura 等^[15]对胃癌预后的研究认为,VEGF-C 和 VEGF 均是判断胃癌预后的独立因素,而 VEGF-C 在缺乏 VEGF(不表达)时起着刺激肿瘤演进作用。

3.2 食管癌

食管癌的预后与淋巴结转移密切相关。VEGF-C 在食管癌中的作用资料有限且存在争议。Noguchi 等^[16]应用免疫组化方法对 71 例食管鳞癌(ESOC)的研究发现,只有组织学分级与 VEGF-C 表达有关,而年龄、淋巴结转移和血管侵犯与 VEGF-C 表达无关。该研究表明 VEGF-C 对食管鳞癌的预后无临床意义,但由于 VEGF-C 的表达和组织学分级之间显著相关,而组织学分级又与淋巴结转移及远处转移密切相关,故 VEGF-C 可能在 ESOC 转移中起着重要作用。Kidatani 等^[17]研究 48 例手术标本中 VEGF-C 表达,19 例细胞质中表达,10 例表达于基质中,VEGFR-3 主要表达于淋巴内皮细胞,正常和增生的

食管鳞状细胞不表达或微弱表达 VEGF-C。VEGF-C 表达和肿瘤侵犯深度、分期、血管侵犯、淋巴结转移相关,在 VEGF-C 阳性者中血管计数明显高于阴性者。该研究表明 VEGF-C 在食管癌通过淋巴和血管形成的进展中起着重要作用。

3.3 结直肠癌

结直肠癌中 VEGF-C、VEGF-D 与淋巴侵犯、淋巴转移及预后的关系存在争议。Witte 等^[18]用免疫组化及 RT-PCR 方法检测 99 例原发结直肠癌和 18 例有淋巴结转移直肠癌中 VEGF-C 的表达发现,VEGF-C 表达与淋巴受侵、淋巴结转移、浸润深度相关,但与性别、组织类型、静脉浸润、肝脏转移之间无关。原发与转移癌中的 VEGF-C 表达完全一致。VEGF-C 阳性者生存时间较阴性者短,但无统计学差异。VEGF-C 可能在结直肠癌淋巴扩散中起着重要作用。Furudoi 等^[19]对晚期结直肠癌中最远浸润部位微血管密度(MVD)和 VEGF-C 表达的研究发现,VEGF-C 表达与组织学分级、浸润深度、淋巴结浸润、淋巴结转移、血管浸润、肝脏转移以及 Duke 分期显著相关,癌中心组织和癌周组织 VEGF-C 表达与临床特征关系无明显差别,VEGF-C 在最远浸润部位的表达也与 MVD 显著相关。在手术患者中,VEGF-C 最远浸润部位表达者较不表达者预后明显差,而且既有 VEGF-C 表达又有 MVD 远处高表达者预后较低 MVD 表达、VEGF-C 阴性者明显差。手术患者 5 年生存率的多变量分析显示淋巴结转移和 VEGF-C 表达是其危险因子。该作者认为 VEGF-C 在最远肿瘤浸润部位表达可作为晚期结直肠癌预后判断的有用指标,并与血管形成密切相关。Onogawa 等^[20]在人结肠癌中发现 VEGF-C、VEGF-D 蛋白表达于肿瘤细胞浸润边缘,即肿瘤细胞与宿主细胞相连处表达最强,推测宿主间质可能通过分泌各种细胞因子和生长因子影响并调控肿瘤细胞 VEGF-C、VEGF-D 的表达,且 VEGF-C、VEGF-D 表达与结肠癌浸润深度、淋巴管侵犯、淋巴结转移相关,两者同时阳性患者生存时间明显短于阴性者。

3.4 胰腺癌

有研究表明 VEGF-C 和 VEGFR-3 在多数有淋巴结转移的胰腺癌大体标本中均有表达^[22],在常规病理检查为阳性的淋巴结中表达显著强于阴性淋巴结,表明 VEGF-C 和 VEGFR-3 的表达与胰腺癌淋巴结转移密切相关。Tang 等^[21]的研究发现 VEGF-C

mRNA 转录在 5 种实验细胞株(Capan-1, MIA-PaCa-2, PANC-1, COLO-357, T3M4)中都存在,应用一种高度特异的抗 VEGF-C 抗体,通过 Northern blot 测定发现癌标本中的 VEGF-C mRNA 转录比正常胰腺组织高 2.2 倍。免疫组化也显示肿瘤株中有 VEGF-C 和其受体 VEGFR-3 的表达(表达率 80.4%)。VEGF-C 表达与淋巴管侵犯及淋巴结转移相关,但与低生存率无关。该研究表明 VEGF-C 及其受体在胰腺癌中普遍过表达且与胰腺癌的淋巴管形成过程和淋巴结转移有关。

综上,淋巴道转移是消化道恶性肿瘤的主要转移方式,是影响治疗预后的重要因素。但由于实体瘤内并无功能性淋巴管存在,加之肿瘤转移是多因素综合作用的结果,因此肿瘤淋巴结转移的本质仍不清楚。VEGF-C 和 VEGF-D 作为 VEGF 家族成员,参与肿瘤淋巴管形成过程并具有血管和淋巴管生成的特征,虽然目前尚未完全清楚肿瘤细胞转移是应用现有的淋巴管道还是需要新的淋巴管生成,单纯淋巴管生成尚不能完全解释淋巴道转移的具体机制和全部过程,但当前研究结果将使抗淋巴管生成成为抗肿瘤研究的一个新热点。

参考文献:

- [1] McCarter MD, Clarke JH, Harken AH, et al. Lymphangiogenesis is pivotal to the trials of a successful cancer metastasis[J]. *Surgery*, 2004, 135(2):121-124.
- [2] Beasley NJ, 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.
- [3] Chilov D, Kukk E, Taira S, et al. Genomic organization of human and mouse genes for vascular endothelial growth factor C[J]. *Biol Chem*, 1997, 272(40):25176-25183.
- [4] Joukov V, Pajusola K, Yuan J, et al. A novel endothelial growth factor, VEGF-C is a ligand for the Flt-4(VEGFR-3) and KDR(VEGFR-2) receptor tyrosine kinases [J]. *EMBO*, 1996, 15(2):290-298.
- [5] Favier B, Alam A, Barron P, et al. Neuropilin-2 interacts with VEGFR-2 and VEGFR-3 and promotes human endothelial cell survival and migration [J]. *Blood*, 2006, 108(4):1243-1250.
- [6] Kim WH, Lee SH, Jung MH, et al. Neuropilin-2 expressed in gastric cancer endothelial cells increases the proliferation and migration of endothelial cells in response to VEGF [J]. *Exp Cell Res*, 2009, 315(13):2154-2164.

- [7] Caunt M, Mak J, Liang WC, et al. Blocking neuropilin-2 function inhibits tumor cell metastasis [J]. *Cancer Cell*, 2008, 13(4): 331–342.
- [8] Vondenhoff MF, Greuter M, Goverse G, et al. LTR signaling induces cytokine expression and up-regulates lymphangiogenic factors in lymph node anlagen [J]. *J Immunol*, 2009, 182(9): 5439–5445.
- [9] Anisimov A, Alitalo A, Korpisalo P, et al. Activated forms of VEGF-C and VEGF-D provide improved vascular function in skeletal muscle [J]. *Circ Res*, 2009, 104(11): 1302–1312.
- [10] Makinen T, Veikkola T. Isolated endothelial cells transduce growth, survival and migratory signals via the VEGF-C/D receptor VEGFR-3 [J]. *Em Bo J*, 2001, 20(17): 4762–4773.
- [11] Enholm B, Paavonen K, Ristimäki A, et al. Comparison of VEGF, VEGF-B, VEGF-C and Ang-1 mRNA regulation by serum growth factors, oncoproteins and hypoxia [J]. *Oncogene*, 1997, 14(20): 2475–2483.
- [12] Kabashima A, Maehara Y, Kakeji Y, et al. Overexpression of vascular endothelial growth factor-C is related to lymphogenous metastasis in early gastric carcinoma [J]. *Oncology*, 2001, 60(2): 146–150.
- [13] 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): 1412–1419.
- [14] Yenomura Y, Fushida S, Bando E, et al. Lymphangiogenesis and the vascular endothelial growth factor receptor (VEGFR-3) in gastric cancer [J]. *Eur J Cancer*, 2001, 37(7): 918–923.
- [15] Ichikura T, Tomimatsu S, Ohkura E, et al. Prognostic significance of the vascular endothelial growth factor (VEGF) and VEGF-C in gastric carcinoma [J]. *J Surg Oncol*, 2001, 78(2): 132–137.
- [16] Noguchi T, Takeno S, Shibata T, et al. VEGF-C expression correlates with histological differentiation and metastasis in human colorectal adenocarcinoma [J]. *Oncol Rep*, 2002, 9(5): 995–999.
- [17] Kitadai Y, Amioka T, Haruma K, et al. Clinicopathological significance of vascular endothelial growth factor (VEGF)-C in human esophageal squamous cell carcinomas [J]. *Int J Cancer*, 2001, 93(5): 662–666.
- [18] Witte D, Thomas A, Ali N, et al. Expression of the vascular endothelial growth factor receptor-3 (VEGFR-3) and its ligand VEGF-C in human colorectal adenocarcinoma [J]. *Anticancer Res*, 2002, 22(3): 1463–1466.
- [19] Furudoi A, Tanaka S, Haruma K, et al. Clinical significance of vascular endothelial growth factor C expression and angiogenesis at the deepest invasive site of advanced colorectal adenocarcinoma [J]. *Oncology*, 2002, 62(2): 157–166.
- [20] Onogawa S, Kitadai Y, Tanaka S, et al. Expression of VEGF-C and VEGF-D at the invasive edge correlates with lymph node metastasis and prognosis of patients with colorectal carcinoma [J]. *Cancer Sci*, 2004, 95(1): 32–39.
- [21] Tang RF, Itakura J, Aikawa T, et al. Over-expression of lymphangiogenic growth factor VEGF-C in human pancreatic cancer [J]. *Pancreas*, 2001, 22(3): 285–292.
- [22] 蒋永剑, 许文彦. 胰腺癌淋巴结中血管内皮因子-C 及其受体-3 蛋白表达及其临床意义 [J]. *上海医学*, 2010, 33(11): 1016–1018.