

· 综 述 ·

血管内皮生长因子-C 与乳腺癌淋巴管生成及淋巴结转移关系研究进展*

高峰综述,孙治君[△]审校

(重庆医科大学附属第二医院乳腺甲状腺腺外科 400010)

关键词:血管内皮生长因子-C;乳腺癌;淋巴管生成;淋巴结转移

中图分类号:R737.9;R73-37

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2010)07-0819-03

乳腺癌(breast cancer)是严重威胁女性健康的主要恶性肿瘤,占女性恶性肿瘤死亡率的第2位^[1]。乳腺癌常早期发生淋巴结转移,淋巴结转移的有无及淋巴结受累的程度是决定乳腺癌分期和临床治疗方案选择的关键,也是临床评估乳腺癌患者病情及预后的重要指标。因此,研究乳腺癌淋巴结转移机制具有重要的意义。研究表明血管内皮生长因子-C(vascular endothelial growth factor-C, VEGF-C)与乳腺癌淋巴管生成和淋巴结转移密切相关。本文综合近年文献,就 VEGF-C 与乳腺癌淋巴管生成及淋巴结转移关系综述如下。

1 VEGF-C 概述

VEGF-C 于 1996 年从人前列腺癌细胞系 PC3 中分离纯化,是最早发现的促淋巴管生成因子,具有调节血管生成、淋巴管生成和脉管通透性等作用,参与多种生理和病理过程。

1.1 VEGF-C 基因及表达 VEGF-C 属于血管内皮生长因子/血小板源生长因子(VEGF/PDGF)家族成员,是一个高度糖基化的生长因子,与 VEGF-A 有大约 30% 的同源性。人类 VEGF-C 基因定位于染色体 4q34,长度为 40kb,含有 7 个外显子。其中外显子 3 和 4 编码 VEGF 同源区,外显子 5 和 7 编码富含半胱氨酸的 C6C10CRC 型基序,外显子 6 编码丝蛋白典型的 C10CXXC 基序。VEGF-C 基因的上游启动序列包括 SP-1、AP-2、NF- κ B 等转录因子的结合位点,但无 TATA 盒。

VEGF-C mRNA 主要表达于胚胎及成人淋巴结、心脏、胎盘、小肠、甲状腺和卵巢,少量表达于肺、胸腺、前列腺和外周白细胞等。此外,VEGF-C 广泛表达于多种人类肿瘤。研究证实,在胃癌、胰腺癌、口腔癌、非小细胞肺癌、淋巴瘤、结直肠癌、肝细胞癌、肾透明细胞癌、部分肉瘤、恶性黑色素瘤、白血病细胞及乳腺癌组织中均有 VEGF-C 表达。

1.2 VEGF-C 分子结构特征 人类 VEGF-C 由 419 个氨基酸残基构成,包括 N-端信号序列区、N-端前肽区、VEGF 同源区和 C-端前肽区。VEGF-C 属分泌性多肽,经蛋白水解加工,形成以一个多肽链的 C-端前肽和另一个多肽链的 N-端经二硫键连接的同源二聚体,可与相应的受体结合发挥生物学效应。

1.3 VEGF-C 分泌的调控 研究表明 PDGF、EGF、TNF- α 、IL-1 α 、IL-6、HIF-1 α 、COX-2 等可上调肿瘤组织 VEGF-C 的表达。研究表明缺氧可诱导高水平 VEGF-C 在静脉内皮细胞表达。Zhang 等^[2]研究发现 VEGF-C 在 COX-2 介导下过度表达,促进胃癌患者淋巴管生成、淋巴结转移。Katsuta 等^[3]研究表明 HIF-1 α 通过诱导食管鳞癌(ESCC)中 VEGF-C 的表达而促进淋巴结转移。研究表明糖皮质激素可下调肿瘤组织 VEGF-C 表达。Yano 等^[4]研究发现糖皮质激素通过糖皮质激素受体途径显著下调雄激素非依赖型前列腺癌细胞 VEGF-C 基因表达及蛋白生成,从而抑制肿瘤淋巴管生成。

1.4 VEGF-C 受体 VEGF-C 受体有 VEGFR-2 和 VEGFR-3 两类,均属于酪氨酸激酶家族成员。VEGFR-2 在血管、淋巴管内皮细胞上均有表达,VEGF-C 与 VEGFR-2 结合参与血管生成的调控;VEGF-C 与 VEGFR-3 特异结合调控肿瘤淋巴管生成。VEGF-C 与 VEGFR-3 结合的亲和力远高于与 VEGFR-2 的亲和力。因此,VEGF-C 对淋巴管的影响比对血管的影响更为重要。VEGFR-3 属于内皮受体型酪氨酸蛋白激酶,位于细胞膜表面,为 VEGFR 家族成员,其结构特征为细胞外部分含有 7 个 Ig 样环状结构域,细胞内部含有 2 个酪氨酸激酶结构域;VEGFR-3 在胚胎时期主要表达在淋巴管丛胚胎静脉发芽处,在胚胎发育后期以及正常成体中,VEGFR-3 几乎特异性地表达在淋巴管内皮细胞上。在某些肿瘤组织中,VEGFR-3 主要表达于淋巴管内皮细胞,少数表达于血管内皮细胞。

2 VEGF-C 与肿瘤淋巴管生成及淋巴结转移机制

VEGF-C 及其受体 VEGFR-3 是目前为止发现的惟一一组调节胚胎组织淋巴管生成和成熟个体淋巴管生理功能的调节因子,与淋巴管的生成密切相关^[5]。多数研究证实 VEGF-C 通过与其受体 VEGFR-3 特异性结合诱导肿瘤淋巴管生成是各类肿瘤淋巴结转移的重要机制。研究认为肿瘤细胞分泌出 VEGF-C,经丝氨酸蛋白纤溶酶等蛋白酶作用水解,形成 VEGF-C 的活性形式,与表达于淋巴管内皮细胞上的受体 VEGFR-3 的亲和力可增加 400 倍。VEGF-C 以旁分泌形式与其受体 VEGFR-3 特异性结合后:(1)经丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)和磷脂酰肌醇-3 激酶(phosphatidylinositol-3 kinase)途径调控淋巴管内皮细胞增生,促进淋巴管生成。(2)使肿瘤细胞免于血清来源诱导的凋亡,激活淋巴管内皮细胞蛋白激酶 B,保护淋巴管内皮细胞增殖和迁移,从而发挥促进肿瘤淋巴管的增生;增生的淋巴管增加了与肿瘤细胞接触的面积,从而促进肿瘤的转移。

3 VEGF-C 与乳腺癌淋巴管生成及淋巴结转移关系及机制

3.1 VEGF-C 在乳腺癌组织中的表达及调控 研究表明,VEGF-C 由乳腺癌细胞分泌,主要表达于乳腺癌细胞胞质;正常乳腺及乳腺良性病变不表达或仅少量表达 VEGF-C^[6-7]。大多数研究表明乳腺癌 VEGF-C 蛋白的表达与患者年龄、不同月经状态、肿瘤大小、组织学类型、病理分级、激素受体状态等无关($P>0.05$)^[8-9]。

乳腺癌细胞分泌 VEGF-C 受多种因子调控。研究表明 COX-2 可上调乳腺癌细胞 VEGF-C 的表达^[10];COUP-TF II 可刺激乳腺癌细胞分泌 VEGF-C^[11];体外实验研究表明 NO 可刺激乳腺癌细胞 VEGF-C 表达^[12];Tsai 等研究表明神经生长因子- β 1(HRG- β 1)通过 MAPK 信号途径上调人乳腺癌细胞 VEGF-C 的表达;Schoppmann 等^[13]研究表明乳腺癌中 HIF-

* 基金项目:重庆市科学技术委员会科技攻关资助项目(CSCT,2008AC5082)。 [△] 通讯作者,E-mail:ch.sunzj@yahoo.com.cn。

1a 与 VEGF-C 表达显著相关($P=0.026$, $r=0.204$),且可上调 VEGF-C 的表达;最近研究表明乳腺癌 VEGF-C 表达与 C-erbB-2 表达呈正相关^[8,14] ($P<0.05$), C-erbB-2 或许作为 VEGF-C 上游诱导因子刺激乳腺癌细胞分泌 VEGF-C^[15]。

3.2 VEGF-C 与乳腺癌淋巴管生成及淋巴结转移的关系 研究表明 VEGF-C 与乳腺癌淋巴管生成及淋巴结转移密切相关:(1)乳腺癌组织中 VEGF-C 阳性率及表达水平明显高于乳腺良性病变;(2)乳腺癌 VEGF-C 表达阳性组淋巴管密度(lymphatic vessel density, LVD)及腋窝淋巴结转移率显著高于 VEGF-C 表达阴性组;(3)乳腺癌淋巴结转移阳性组 VEGF-C 表达阳性率及水平显著高于淋巴结转移阴性组;(4)乳腺癌组织 VEGF-C 表达与 LVD 及腋窝淋巴结转移呈正相关;(5)乳腺癌组织中 VEGF-C 与 VEGFR-3 表达呈显著正相关;(6)VEGF-C 诱导的乳腺癌淋巴管生成主要发生于肿瘤间质。

Huang 等^[16]用免疫组化及原位杂交法检测 89 例原发性乳腺癌发现 VEGF-C mRNA 阳性表达率为 55.06%。VEGF-C mRNA 表达与 LVD 及腋窝淋巴结转移呈正相关;VEGF-C mRNA 表达阳性组 LVD 及腋窝淋巴结转移率显著高于 VEGF-C mRNA 表达阴性组($P<0.05$)。所有乳腺癌病例均有不同程度的淋巴管生成,主要位于肿瘤基质,在癌巢中未发现成熟淋巴管;LVD 与临床分期及腋窝淋巴结转移正相关。Li 等^[17]检测 40 例浸润性微乳头状乳腺癌,发现 VEGF-C 与 VEGFR-3 表达呈显著正相关($P<0.05$);VEGF-C 的表达与癌周 LVD、淋巴管侵袭及淋巴结转移数目显著相关($P<0.05$)。表明 VEGF-C 能促进肿瘤周围淋巴管增殖、侵袭及淋巴结转移。Hu 等^[18]用免疫组化法检测 98 例乳腺癌发现 VEGF-C 表达阳性率为 90.8%,且淋巴结转移组 VEGF-C 表达阳性率显著高于淋巴结转移阴性组($P<0.05$)。表明 VEGF-C 与乳腺癌淋巴结转移相关。Schoppmann 等^[19]用免疫组化和原位杂交法研究 107 例淋巴结转移阳性乳腺癌患者,发现微淋巴管密度(LMVD)与淋巴管浸润(LVI)、LMVD 与乳腺癌组织 VEGF-C 表达均显著相关($P<0.05$)。表明 VEGF-C 与乳腺癌淋巴管生成及 LVI 有关。Nakamura 等^[20]研究表明乳腺癌组织中 LVD 与淋巴结转移显著相关($P<0.0001$);VEGF-C mRNA 转录水平与淋巴结转移($P=0.0074$)、LVD($P=0.0409$)相关。高 LVD 是乳腺癌患者远期生存预后不良的指标。梁运霞等研究 21 例乳腺增生组和 68 例乳腺浸润性导管癌组发现乳腺浸润性导管癌组 VEGF-C 表达和 LVD 都明显高于乳腺增生组($P<0.01$);乳腺浸润性导管癌中 VEGF-C 阳性组中 LVD 与 VEGF-C 阴性组中的 LVD 差别有统计学意义($P<0.01$);乳腺浸润性导管癌中 VEGF-C 蛋白的表达和 LVD 都与有无腋窝淋巴结转移及淋巴结转移个数有关($P<0.05$)。表明 VEGF-C 在乳腺浸润性导管癌淋巴管生成中起重要作用;VEGF-C 的高表达和 LVD 的升高是促进乳腺浸润性导管癌淋巴结转移的重要影响因素。盛薇等用免疫组化法研究 60 例乳腺浸润性导管癌及 15 例乳腺纤维腺瘤发现乳腺癌组 VEGF-C 阳性表达率明显高于对照组($P<0.01$)。VEGF-C 表达与乳腺癌 LVD 和腋窝淋巴结转移相关;VEGF-C 表达阳性组肿瘤 LVD 大($P<0.05$),腋窝淋巴结转移组 VEGF-C 表达水平高。LVD 与乳腺癌腋窝淋巴结转移呈正相关,腋窝淋巴结转移组肿瘤 LVD 比无淋巴结转移组高($P<0.05$)。乳腺癌中存在淋巴管生成,且主要发生在肿瘤间质组织中。研究认为,LMVD 与乳腺癌区域淋巴结转移有相关性,可能是因为 LMVD 高则乳腺癌细胞更易侵犯淋巴管。但也有学者研究认为 LMVD 与乳腺癌区域淋巴结转移无相关性^[21]。

3.3 VEGF-C 与乳腺癌淋巴管生成及淋巴结转移机制 目前越来越多的学者认同肿瘤淋巴管生成与淋巴结转移关系密切^[22]。同其他恶性肿瘤淋巴管生成及淋巴结转移机制一样,乳腺癌组织中 VEGF-C 主要通过与其特异性受体 VEGFR-3 结合促进乳腺癌淋巴管生成,进而引起淋巴结转移。研究表明,乳腺癌组织中 VEGF-C 与 VEGFR-3 表达呈正相关,VEGF-C 可上调 VEGFR-3 表达。王虎霞等研究表明乳腺癌组 VEGF-C、VEGFR-3 阳性表达率及表达程度均明显高于乳腺纤维腺瘤组($P<0.05$)。乳腺癌淋巴结转移阳性组 VEGF-C、VEGFR-3 表达率及表达程度高于淋巴结转移阴性组($P<0.05$),VEGF-C、VEGFR-3 的表达与乳腺癌腋窝淋巴结转移呈正相关($P<0.05$)。乳腺癌 VEGF-C 与 VEGFR-3 的表达呈正相关($P<0.05$)。表明乳腺癌组织中 VEGF-C、VEGFR-3 表达水平增高,VEGF-C、VEGFR-3 表达促进乳腺癌淋巴结转移。刘芳等研究发现乳腺癌组织高表达 VEGF-C 及 VEGFR-3,且二者表达显著正相关($P=0.816$, $P<0.01$);随着 VEGF-C 表达强度的增强,VEGFR-3 阳性脉管数也增加($P<0.01$);VEGF-C 阳性指数及 VEGFR-3 阳性脉管数在乳腺癌淋巴结转移组均明显高于未转移组($P<0.05$);提示 VEGF-C/VEGFR-3 调控系统与乳腺癌组织淋巴管生成密切相关。

VEGF-C/VEGFR-3 系统促进乳腺癌淋巴管转移的作用可能与以下机制有关:(1)乳腺癌细胞分泌 VEGF-C 使淋巴管通透性增加。(2)VEGF-C 与淋巴管内皮细胞上 VEGFR-3 特异性结合,刺激淋巴管内皮细胞增殖,形成新生淋巴管,导致癌周组织中 LVD 增高,为肿瘤的淋巴道转移创造有利条件。(3)新生淋巴管管壁较薄,基底膜不连续或缺少基底膜,很难构成肿瘤细胞进入淋巴管的屏障;此外,淋巴液流速缓慢、剪切力低,淋巴液与组织液组成基本相同,因而有利于肿瘤细胞播散、存活及转移。(4)VEGF-C 可能改变了表达于淋巴管内皮细胞的粘附分子和原有淋巴管功能,使之对肿瘤细胞的趋化性、淋巴管侵入和播散变得活跃。(5)肿瘤细胞过度增殖导致癌巢中央张力增大,肿瘤间质液压升高,促使毛细淋巴管腔扩大,疏松的内皮细胞连接被拉开,形成开放性内皮通道,肿瘤细胞随组织液一同经开放通道进入淋巴管,使肿瘤细胞易于侵入肿瘤间质的脉管,发生淋巴转移。(6)VEGF-C 不仅可促进癌周及癌内形成新生淋巴管,而且可促进原有淋巴管增生,管径增加,并诱导淋巴管间及淋巴管与血管相互融合,从而促进淋巴转移。(7)VEGF-C 的分泌有上调 VEGFR-3 的作用,这使肿瘤周围新生淋巴管数量进一步增加。(8)VEGF-C 为一种趋化因子,使肿瘤细胞以淋巴管为靶向转移,一定程度上导致了肿瘤的特异器官亲和性。(9)对于 VEGF-C 高表达的病例未发生淋巴结转移可能是转移处于亚临床状态或肿瘤的转移还受其他因素调控。(10)对于 VEGF-C 低表达的病例发生淋巴结转移可能由于除了 VEGF-C/VEGFR-3 调控系统外,尚存在其他调控因子介导的淋巴转移机制。

参考文献:

- [1] Mohinta S, Wu H, Chaurasia P, et al. Wnt pathway and breast cancer[J]. Front Biosci, 2007, 12: 4020.
- [2] Zhang J, Ji J, Yuan F, et al. Cyclooxygenase-2 expression is associated with VEGF-C and lymph node metastases in gastric cancer patients[J]. Biomed Pharmacother, 2005, 59 Suppl 2: S285.
- [3] Katsuta M, Miyashita M, Makino H, et al. Correlation of hypoxia inducible factor-1alpha with lymphatic metastasis

- via vascular endothelial growth factor-C in human esophageal cancer[J]. *Exp Mol Pathol*, 2005, 78(2):123.
- [4] Yano A, Fujii Y, Iwai A, et al. Glucocorticoids suppress tumor lymphangiogenesis of prostate cancer cells[J]. *Clin Cancer Res*, 2006, 12(20Pt1):6012.
- [5] Garvin S, Dabrosin C. In vivo measurement of tumor estradiol and vascular endothelial growth factor in breast cancer patients[J]. *BMC Cancer*, 2008, 8:73.
- [6] Mylona E, Alexandrou P, Mpakali A, et al. Clinicopathological and prognostic significance of vascular endothelial growth factors (VEGF)-C and -D and VEGF receptor 3 in invasive breast carcinoma[J]. *Eur J Surg Oncol*, 2007, 33(3):294.
- [7] Zhang GH, Zeng Y, Yang WT, et al. Study of mRNA expression of vascular endothelial growth factor-(A, C, D) genes and its effect on prognosis of breast cancer[J]. *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi*, 2006, 35(8):473.
- [8] Fu JM, Shi J, Zhou J. Correlation analysis of vascular endothelial growth factor-C expression and clinicopathology in breast cancer[J]. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao*, 2009, 29(11):2266.
- [9] Watanabe O, Kinoshita J, Shimizu T, et al. Expression of a CD44 variant and VEGF-C and the implications for lymphatic metastasis and long-term prognosis of human breast cancer[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2005, 24(1):75.
- [10] Timoshenko AV, Chakraborty C, Wagner GF, et al. COX-2-mediated stimulation of the lymphangiogenic factor VEGF-C in human breast cancer[J]. *Br J Cancer*, 2006, 94(8):1154.
- [11] Nagasaki S, Suzuki T, Miki Y, et al. Chicken ovalbumin upstream promoter transcription factor II in human breast carcinoma: possible regulator of lymphangiogenesis via vascular endothelial growth factor-C expression[J]. *Cancer Sci*, 2009, 100(4):639.
- [12] Nakamura Y, Yasuoka H, Tsujimoto M, et al. Nitric oxide in breast cancer: induction of vascular endothelial growth factor-C and correlation with metastasis and poor prognosis[J]. *Clin Cancer Res*, 2006, 12(4):1201.
- [13] Schoppmann SF, Fenzl A, Schindl M, et al. Hypoxia inducible factor-1alpha correlates with VEGF-C expression and lymphangiogenesis in breast cancer[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2006, 99(2):135.
- [14] Teramoto S, Arihiro K, Koseki M, et al. Role of vascular endothelial growth factor-C and -D mRNA in breast cancer[J]. *Hiroshima J Med Sci*, 2008, 57(2):73.
- [15] Schoppmann SF, Tamandl D, Roberts L, et al. HER2/neu expression correlates with vascular endothelial growth factor-C and lymphangiogenesis in lymph node-positive breast cancer[J]. *Ann Oncol*, 2009, 25:176.
- [16] Huang JH, Li Y, Liu L, et al. Lymphangiogenesis and location of tumor lymphatic vessels induced by VEGF-C in primary breast cancer[J]. *Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*, 2006, 31(1):36.
- [17] Li YS, Kaneko M, Amatya VJ, et al. Expression of vascular endothelial growth factor-C and its receptor in invasive micropapillary carcinoma of the breast[J]. *Pathol Int*, 2006, 56(5):256.
- [18] Hu SE, Zhang YJ, Cui YM, et al. Expression of vascular endothelial growth factor A and C in human breast cancer and their significance[J]. *Ai Zheng*, 2005, 24(9):1076.
- [19] Schoppmann SF, Fenzl A, Nagy K, et al. VEGF-C expressing tumor-associated macrophages in lymph node positive breast cancer: impact on lymphangiogenesis and survival[J]. *Surgery*, 2006, 139(6):839.
- [20] Nakamura Y, Yasuoka H, Tsujimoto M, et al. Lymph vessel density correlates with nodal status, VEGF-C expression, and prognosis in breast cancer[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2005, 91(2):125.
- [21] Longatto FA, Martins A, Costa SM, et al. VEGFR-3 expression in breast cancer tissue is not restricted to lymphatic vessels[J]. *Pathol Res Pract*, 2005, 201(2):93.
- [22] Nakaya H, Kawashiri S, Tanaka A, et al. Influences of angiogenesis and lymphangiogenesis on cancerous invasion in experimentally induced tongue carcinoma[J]. *J Oral Pathol Med*, 2005, 34(2):87.

(收稿日期:2009-09-23 修回日期:2009-12-23)

• 综 述 •

血小板活化因子在乳腺癌中的研究进展*

王 宏 综述, 孙治君[△] 审校

(重庆医科大学附属第二医院乳腺甲状腺胰腺外科 400010)

关键词: 血小板活化因子; 乳腺癌

中图分类号: R737.9

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2010)07-0821-03

乳腺癌发病率不断增高, 已经成为女性最常见的恶性肿瘤之一, 乳腺癌的转移是病死率增加的重要原因, 而肿瘤血管的形成是肿瘤发展、肿瘤转移首要条件。血小板活化因子(plate-

let activating factor, PAF, 1-烷-2-乙酰基-SN-甘油-3 磷酸胆碱), 是一种具有生物活性的脂质递质, 1972 年由 Battlor 等人发现^[1]。最初被认为与血小板的聚集和分泌有关, 其诱导的血

* 基金项目: 重庆市科学技术委员会科技攻关资助项目(CSCT, 2008AC5082)。 [△] 通讯作者, E-mail: sunzhijun888@sina.com。