

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2012.06.004

· 基础研究 ·

## 仿血管通道结构在大鼠和裸鼠骨肉瘤组织微血管形成中的作用

王子凡<sup>1</sup>, 陈舰<sup>1</sup>, 梅炯<sup>2</sup> (1. 上海市普陀区人民医院 骨科, 上海 200060; 2. 同济大学附属同济医院 骨科, 上海 200065)

**[摘要]** **目的:** 研究肿瘤仿血管通道在骨肉瘤裸鼠移植瘤组织中的结构特点及其在肿瘤微血管形成中的作用。**方法:** 建立荷人骨肉瘤 MG-63 细胞裸鼠移植瘤和荷骨肉瘤 UMR106 细胞大鼠移植瘤模型, 以 CD34、CD147 免疫荧光和 GFP 荧光法观察移植瘤组织中肿瘤仿血管通道的结构特点及其与肿瘤微血管的关系。**结果:** 骨肉瘤 MG-63 细胞移植瘤和 UMR106 细胞移植瘤组织 CD147 染色均呈阳性, 血管内皮细胞 CD34 染色均阳性。肿瘤仿血管通道主要位于移植瘤组织中心区域, 主要由骨肉瘤细胞构成, 是具有功能的类血管通道; 肿瘤微血管主要位于移植瘤周边区域, 主要由宿主组织的血管内皮细胞组成, 是与肿瘤仿血管通道存在直接相通的管道样结构。**结论:** 大鼠和裸鼠骨肉瘤细胞移植瘤组织中存在的肿瘤仿血管通道具有类血管功能, 并与来源于宿主组织的肿瘤微血管相互联通, 诱导肿瘤微血管侵入肿瘤内部生长。

**[关键词]** 骨肉瘤; 仿血管生成; 微血管; 免疫荧光; CD34; CD147

**[中图分类号]** R738.1; R730.2

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-385X(2012)06-0588-06

## Function of vasculogenic mimicry in tumor angiogenesis of osteosarcoma in nude rats and mice

WANG Zi-fan<sup>1</sup>, CHEN Jian<sup>1</sup>, MEI Jiong<sup>2</sup> (1. Department of Orthopedics, People's Hospital of Putuo District, Shanghai 200060, China; 2. Department of Orthopedics, Tongji Hospital Affiliated to Tongji University, Shanghai 200065, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the structure characteristics and roles of vasculogenic mimicry in the xenografts of human osteosarcoma cells in nude mice. **Methods:** The models of xenografts of MG-63 human osteosarcoma cells in nude mice and xenografts of UMR106 osteosarcoma cells in nude rats were constructed. The construction features of vasculogenic mimicry and their relationship with tumor microvascular in transplanted osteosarcoma were observed by CD34 and CD147 immunofluorescence staining and GFP staining. **Results:** CD147 was positive for MG-63-cell-transplanted osteosarcoma tissues and CD34 was positive for vascular endothelial cells. The construction of vasculogenic mimicry was observed in the central area of transplanted osteosarcoma, which was constituted mainly by osteosarcoma cells and had the function of the blood vessel. The construction of tumor microvascular was observed in the surrounding area of transplanted osteosarcoma, which was constituted mainly by vascular endothelial cells and connected to vasculogenic mimicry by certain pipeline sample structure. **Conclusion:** Vasculogenic mimicry in osteosarcoma tissues functions as the blood vessels and can be connected to tumor microvascular so that they can induce tumor microvascular infiltrating into internal tumors.

**[Key words]** osteosarcoma; vasculogenic mimicry; microvascular; immunofluorescence; CD34; CD147

[Chin J Cancer Biother, 2012, 19(6): 588-593]

肿瘤仿血管生成(vasculogenic mimicry, VM)是 Maniotis 等<sup>[1]</sup>于 1999 年发现的一种不同于经典血管生成(angiogenesis)的微循环模式,其特点为:肿瘤细胞通过自身变形围成一种周围只有肿瘤细胞而没有血管内皮细胞包绕的、由细胞外基质界定的微循环管道,管道内可见红细胞存在<sup>[2]</sup>。肿瘤仿血管生成是对传统肿瘤血管生成理论的重要补充,不仅解释了血管生成理论难以说明的一些问题,而且为

**[基金项目]** 国家自然科学基金资助项目(No. 30471760)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 30471760)

**[作者简介]** 王子凡(1983-),男,上海市人,硕士,住院医师,主要从事骨肿瘤基础和临床方面的研究。E-mail: geluwang@126.com

**[通信作者]** 梅炯(MEI Jiong, corresponding author), E-mail: meijiong@163.com

**[网络出版]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.1725.R.20121210.1717.005.html>

抑制肿瘤血供提供了新的思路,有助于解释某些恶性肿瘤高侵袭、高转移的生物学行为,更可为该类肿瘤抗血管治疗提供新的理论依据和治疗靶标。目前国内对于骨肉瘤仿血管生成方面的研究比较缺乏,对于肿瘤瘤体内仿血管形成的病理机制尚无明确的认识。通过免疫组织化学、荧光标记的噬菌体注入鼠尾静脉,或通过 MR 影像增强剂等不同的实验手段,间接证实肿瘤仿血管管道与肿瘤微血管之间存在相互连接的关系,但一直未见有明确的直接证据的报道。本课题拟在建立裸鼠骨肉瘤模型的基础上,结合免疫荧光及荧光标记的方法,探讨肿瘤仿血管生成在骨肉瘤血管系统形成中的作用。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

BALB/c(nu/nu)裸小鼠由中科院上海实验动物研究所提供,雌雄兼用,4周龄,体重15~20g,20只;rmu/rmu裸大鼠由中科院上海实验动物研究所提供,雌雄兼用,5周龄,体重40g,10只;皆在上海交通大学医学院实验动物中心裸鼠间 SPF(specific pathogen free condition)条件下饲养[动物合格证号:SCXK(沪)2003-0003]。人骨肉瘤细胞株 MG-63 购自武汉中国典型培养物保存中心。大鼠 UMR106 成骨肉瘤细胞株购自西安第四军医大学。

小鼠抗人 CD147 单克隆抗体和大鼠抗小鼠 CD34 单克隆抗体购自 BioLegend 公司, FITC 标记山羊抗小鼠 IgG 多克隆抗体购自 MolecularProbes 公司, Cy3 标记兔抗大鼠 IgG 多克隆抗体购自 Chemicon 公司, pEGFP-N1 质粒购自 CLONTECH 公司, DAPI 试剂购自 DAKO 公司, 逆转录试剂盒(产品编号 FSK-100)购自日本 TOYOBO 公司。

### 1.2 荷 MG-63 骨肉瘤裸鼠模型的建立及免疫荧光染色

MG-63 骨肉瘤细胞复苏传代培养后,以不含血清的 RPMI 1640 培养液吹打细胞,并稀释成  $1.5 \times 10^7/\text{ml}$  单细胞悬液。用锥虫蓝法检测显示细胞活力高于 90% 时用于动物模型的建立。取吹打均匀的人骨肉瘤细胞悬液 0.2 ml, 分别注射于每只裸鼠左侧腋背部皮下,共注射 20 只。注射后在 SPF 环境中饲养观察,10 d 后成瘤率达 100%,提示动物模型建立成功。在裸鼠腋背部成瘤后 2 周时切取肿瘤,选取 12 个大小均一(约  $1.0 \text{ cm} \times 1.0 \text{ cm} \times 1.0 \text{ cm}$ ) 近似球形的移植瘤,以 8  $\mu\text{m}$  厚度进行连续冰冻切片,加入稀释度为 1:100 的小鼠抗人 CD147 单克隆抗体和稀释度为 1:100 的大鼠抗小鼠 CD34 单克隆

抗体,37  $^{\circ}\text{C}$  孵育过夜,用 TBS 洗涤 3 次后,加入 FITC 标记山羊抗小鼠 IgG 多克隆抗体和 Cy3 标记兔抗大鼠 IgG 多克隆抗体,常温孵育 1 h, TBS 洗涤 3 次,甘油缓冲液封片。分别用已知 CD147 阳性的骨肉瘤标本及 CD34 阳性的小鼠肾组织标本作阳性对照, PBS 取代一抗作阴性对照。

### 1.3 GFP 荧光骨肉瘤 UMR106 裸鼠动物模型的建立及免疫荧光染色

RPMI 1640(添加 10% 新生牛血清)在 37  $^{\circ}\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  条件下培养 UMR106 细胞,0.25% 胰酶消化细胞,1:3 传代,3 d 传代一次。转染前 2 周进行 G418 最小致死浓度实验。收获处于对数生长期且状态良好的细胞,按  $1 \times 10^5$  个/孔的密度转移至 12 孔板中,置 37  $^{\circ}\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  培养箱培养 24 h。待细胞贴壁生长达 80% 融合时,弃去细胞培养液,用无血清培养基洗涤细胞 1 次,按脂质体转染试剂盒说明书将提取并纯化的 pEGFP-N1 质粒转染 UMR106 细胞,转染后 4 h 更换培养液,用含 600 mg/L 的 G418 培养液培养,12、48 h 分别观察瞬时表达情况;3~4 d 后,当对照组细胞大部分死亡时,根据 G418 最小致死浓度实验,改用 400 mg/L 的 G418 维持筛选,每 2~3 d 换液传代,2 周后初步形成抗性克隆,在荧光显微镜下观察其绿色荧光的强度。经过 G418 抗性筛选后,收集阳性表达 GFP 的 UMR106 细胞,接种至 24 孔板中,扩大培养;接种至 6 孔板中,再扩大培养接种至 25  $\text{cm}^3$  培养瓶,使用完全培养基(RPMI 1640 + 10% 新生牛血清)在 37  $^{\circ}\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  条件下培养;待细胞长满培养瓶底部后,0.25% 胰酶消化细胞,1:3 传代,细胞 3 d 长满瓶后继续传代,扩大培养至 10 瓶。将 10 瓶长满的 UMR106 细胞用胰酶消化离心,制备成  $1 \times 10^7/\text{ml}$  的单细胞悬液。每只裸大鼠右侧腋背部皮下接种 0.2 ml,21 d 后见接种部位肿瘤生长非常明显,骨肉瘤最大达  $1.5 \sim 2 \text{ cm}^3$ 。剥离肿瘤接种传代,并用多聚甲醛固定液固定骨肉瘤组织,制作石蜡切片。先后滴加大鼠抗小鼠 CD34 单克隆抗体(1:100)、Cy3 标记兔抗大鼠 IgG 多克隆抗体(1:50),再滴加 DAPI 染色液,甘油缓冲液封片,荧光显微镜下观察。对每一切片逐个视野观察,在同一视野先用相差显微镜观察,后在荧光显微镜下观察。荧光激发条件为:FITC 488 nm(绿色),Cy3 568 nm(红色),DAPI 紫外光 356 nm,分别照相后用 Motic Med 6.0 图像处理软件进行图像合成并分析。

## 2 结果

### 2.1 裸小鼠 MG-63 种植瘤组织中存在肿瘤微血管

和仿血管通道以及两者的联通管道

低倍镜下骨肉瘤细胞显示为 CD147 染色阳性(绿色荧光)、CD34 染色阴性,具有异型性,细胞大小不一,形态多样,成簇成分分布(图 1A、B)。同一视野内无明显 CD34 强阳性染色,证明此部分 MG-63 肿瘤组织内无血管内皮细胞存在。在低倍镜下寻找肿瘤仿血管通道,再以高倍镜仔细观察仿血管通道的结构特点,可见骨肉瘤细胞之间互相紧密相连,构成仿血管通道的管壁,管壁结构完整规则。骨肉瘤细胞的胞膜呈 CD147 强阳性表达,而肿瘤细胞核与胞质不表达 CD147(图 2A)。不移动标本位置,在同一视野下以红色荧光再次观察,未见 CD34 阳性表达的细胞,提示无血管内皮细胞存在,证明此血管通道非肿瘤微血管(图 2B)。在同一视野下以相差显微镜观察,并将图 2B 与图 2A 的绿色荧光照片重叠,在这一血管通道中可观察到许多双凹盘状的红细胞存在,且沿着管道分布(图 2C),证明此为具有类血管功能的肿瘤仿血管通道,可为肿瘤组织输送血液及其他营养物质。

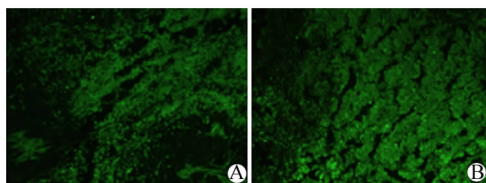


图 1 裸鼠 MG-63 种植瘤组织 CD147 免疫荧光染色结果(×100)

Fig. 1 Immunofluorescence of CD147 in MG-63 transplanted osteosarcoma in nude mice(×100)

A: Surrounding area of transplanted tumor;  
B: Central area of transplanted tumor

在肿瘤标本内还可见长梭形的血管内皮细胞,CD34 阳性表达(红色荧光)(图 3A),CD147 亦阳性表达(绿色荧光)(图 3B)。在同一视野下以相差显微镜观察拍照,将图 3A 与图 3B 重叠处理,可观察到其中有红细胞通过,提示此管道为具有功能的肿瘤微血管通道(图 3C)。经过仔细读片,在肿瘤周边区域更容易寻找到由血管内皮细胞(CD34 阴性/CD147 阳性)构成的肿瘤微血管(图 1A),在肿瘤中心区域更易寻找到由肿瘤细胞(CD147 阳性)构成的肿瘤仿血管样结构(图 1B),在肿瘤周边区域肿瘤仿血管较为少见(图 1A)。

肿瘤中央区域与周边区域的交界部存在肿瘤仿

血管与肿瘤微血管相互连接的管道结构。一部分管道为血管内皮细胞(CD34 阳性/CD147 阴性)构成的肿瘤微血管,另一部分管道为骨肉瘤细胞(CD34 阴性/CD147 阳性)构成的肿瘤仿血管,两者直接联通;因不同颜色的荧光相互重叠的效果,血管内皮细胞呈现亮黄色(图 4A),有红细胞通过这一共同的管腔(图 4B)。实验结果提示,肿瘤仿血管是具有生理功能的类血管样管道结构,在骨肉瘤组织中肿瘤仿血管与肿瘤微血管直接联通,参与骨肉瘤肿瘤血管通道的形成。

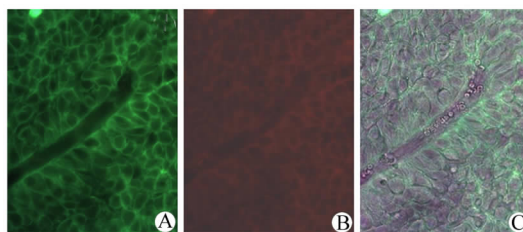


图 2 裸鼠 MG-63 种植瘤组织中存在肿瘤仿血管通道(×400)

Fig. 2 Vasculogenic mimicry in MG-63 transplanted osteosarcoma tissues in nude mice(×400)

A: CD147; B: CD34;  
C: CD147 overlapping with contrast microscope

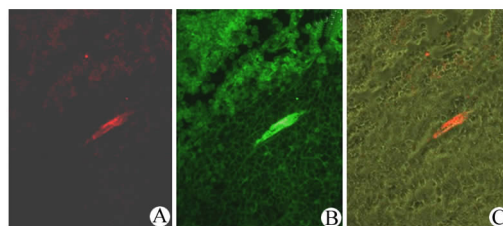


图 3 MG-63 种植瘤组织中肿瘤微血管的血管内皮细胞免疫荧光染色(×400)

Fig. 3 Immunofluorescence of vascular endothelial cells of microvascular in MG-63 transplanted osteosarcoma tissues(×400)

A: CD34; B: CD147;  
C: CD34 overlapping with contrast microscopy

### 2.2 GFP 荧光 UMR106 种植瘤组织显示肿瘤仿血管通道和肿瘤微血管分别由骨肉瘤细胞和瘤外宿主组织血管内皮细胞构成

经过筛选的 GFP 阳性表达 UMR106 骨肉瘤细胞,裸大鼠腋背部皮下接种后皆顺利成瘤。荧光显微镜下见肿瘤中心区域观察到较多血管通道样结构,UMR106 骨肉瘤组织被 GFP 标记,肿瘤细胞表达绿色荧光信号,各个细胞间难以独立区分,细胞核可

被 DAPI 标记呈蓝色。以高倍镜仔细观察肿瘤仿血管通道的结构,见视野内 GFP 阳性表达的肿瘤细胞(图 5A),红色荧光下未见 CD34 强阳性表达的细胞(背景染色弱红色荧光表达),提示无血管内皮细胞存在(图 5B)。DAPI 染色的荧光照片与图 5A 合成,可见骨肉瘤细胞核为蓝色荧光(图 5C),通过荧光染色细胞核的定位可大致分辨出肿瘤细胞,更容易观察肿瘤的组织结构。

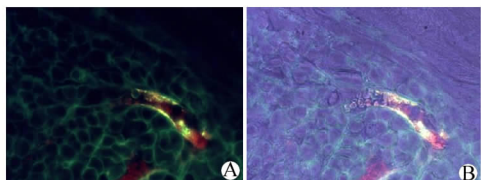


图 4 MG-63 种植组织中肿瘤仿血管与肿瘤微血管相互联通(×400)

Fig. 4 Connection of vasculogenic mimicry and microvascular in MG-63 transplanted osteosarcoma tissues(×400)

A: CD34 and CD147; B: CD34 and CD147 overlapping with contrast microscopy

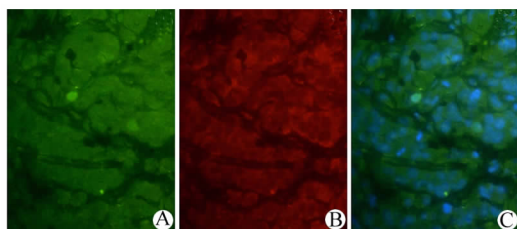


图 5 UMR106 种植瘤组织中存在肿瘤仿血管通道(×400)

Fig. 5 Vasculogenic mimicry in UMR106 transplanted osteosarcoma tissues(×400)

A: GFP; B: CD34; C: GFP and DAPI

在肿瘤内还可见另一种血管通道结构,其管道外存在被 GFP 标记的骨肉瘤细胞(图 6A),管壁内衬长梭形、CD34 阳性表达的血管内皮细胞(图 6B)。将此同一视野的 DAPI 染色照片与上述两照片重叠处理,未见 CD34 阳性表达的长梭形细胞显示亮黄色(图 6C),提示此类 GFP 阴性表达细胞为非大鼠骨肉瘤组织来源,证明此长梭形细胞即为血管内皮细胞,来源于移植瘤宿主大鼠组织,构成肿瘤微血管。在同一视野下以相差显微镜观察拍照,且与图 6C 重叠处理,可观察到其中有红细胞通过(图 6D),提示此管道为具有功能的肿瘤微血管通道。通过此实验观察到的肿瘤仿血管由 GFP 阳性表达

的肿瘤细胞构成,CD34 阴性表达(图 5A~C),细胞为大鼠移植瘤组织来源。而构成肿瘤微血管的血管内皮细胞 GFP 阴性表达,CD34 阳性表达,提示此肿瘤微血管来源于瘤外移植宿主组织。

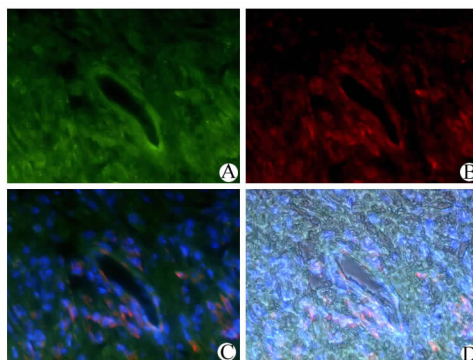


图 6 UMR106 种植骨肉瘤中存在肿瘤微血管(×400)

Fig. 6 Microvascular in UMR106 transplanted osteosarcoma tissues(×400)

A: GFP; B: CD34; C: CD34, GFP, and DAPI; D: CD34, GFP, and DAPI overlap with contrast microscopy

### 3 讨论

现已发现肿瘤仿血管生成在侵袭性肿瘤中广泛存在,黑素瘤、卵巢癌、前列腺癌、乳腺癌、滑膜肉瘤、间皮肉瘤、腺泡型横纹肌肉瘤和 Ewing 肉瘤中都证实存在肿瘤仿血管通道结构<sup>[3-4]</sup>。目前国内外关于仿血管生成的研究大都采用体外细胞三维培养的方法<sup>[5]</sup>,这对于观察瘤体内仿血管形成的状况尚欠全面。CD147 是一种细胞表面黏附分子,它广泛表达于恶性肿瘤细胞的胞膜上<sup>[6-7]</sup>,在正常细胞中不表达或仅极低表达。其可刺激肿瘤周围间质细胞产生基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP),从而降解细胞外基底膜和间质成分,在肿瘤侵袭和转移中发挥巨大作用<sup>[8]</sup>。Martin 等<sup>[9]</sup>评价了侵袭性乳腺癌中 3 种血管内皮细胞标记物(CD34、CD31 和 FVIII RA<sub>g</sub>)单抗标记微血管的效果,证实 CD34 单克隆抗体是目前较好的血管内皮细胞标记物。绿色荧光蛋白(green fluorescent protein, GFP)作为基因表达的标记物在细胞内稳定存在。本实验通过建立裸大鼠骨肉瘤同种移植瘤模型,更符合骨肉瘤细胞在人体内的病理过程,并能区分出骨肉瘤组织中非移植瘤来源的肿瘤微血管。结果表明,实验观察到的骨肉瘤肿瘤微血管是由来源于瘤外组织的血管内皮细胞侵入肿瘤内部生长形成,而骨肉瘤内的肿瘤仿血管是以骨肉瘤细胞构成的管道样结构。

本研究通过裸鼠异种移植瘤模型模拟人骨肉瘤细胞在人体的病理生理学过程, 观察到人骨肉瘤细胞形成的肿瘤仿血管结构主要分布于肿瘤中心区域, 肿瘤仿血管通道是具有生理功能的类血管样结构, 其与肿瘤微血管直接连接, 参与肿瘤的血供组成。通过裸大鼠的同种骨肉瘤移植瘤模型, 排除了移植免疫因素可能对移植瘤模型造成的影响, 更符合骨肉瘤细胞在体内的实际病理生理过程。结果显示, 肿瘤微血管可来源于瘤外宿主组织, 肿瘤仿血管来源于移植瘤肿瘤细胞, 提示此两种血管通道的联接结构具有沟通肿瘤内外血供的重要意义, 即来源于瘤外组织的肿瘤微血管与来源于瘤内组织的肿瘤仿血管直接联接, 肿瘤仿血管在沟通瘤内外血供系统中具有重要作用。肿瘤仿血管和肿瘤微血管的相互联接, 可使肿瘤内部迅速获得直接来源于瘤外血管的血液营养供应。当肿瘤内部的肿瘤细胞脱落时, 亦可沿肿瘤仿血管-微血管联接结构进入外周血液循环, 更有利于肿瘤的转移。有研究<sup>[10]</sup>提示, 肿瘤仿血管的存在与疾病发展和预后不良相关。Shirakawa 等<sup>[11]</sup>在 331 例乳腺癌手术切除标本中发现, 7.9% 的病例存在肿瘤仿血管, 存在肿瘤仿血管病例的血源性转移比不存在者更多见, 5 年生存率更低, 预后极差。最近有研究<sup>[12]</sup>表明, 肿瘤仿血管形成是前列腺癌预后不良的一个独立指标, 也有研究<sup>[13]</sup>支持肿瘤仿血管是成髓细胞瘤患者强有力的独立预后因素, 提示可根据检测肿瘤仿血管的相关数据协助肿瘤患者预后的判断。

通过黑素瘤移植动物模型, Zhang 等<sup>[14]</sup>提出肿瘤组织内不同血供模式间过渡的“三阶段现象”, 即早期血供主要来自肿瘤仿血管; 随着肿瘤体积增大, 在肿瘤仿血管和以内皮细胞构成的微血管之间出现马赛克血管; 之后前两者逐渐被内皮细胞构成的微血管替代, 并成为肿瘤血供的主要方式。也有学者<sup>[15]</sup>提出, 肿瘤仿血管与肿瘤微血管间以马赛克血管互相联接, 肿瘤仿血管以马赛克血管作为新生血管样结构融入肿瘤血管的血管内皮系统中, 参与肿瘤的血液及营养供应。通过本研究发现, 肿瘤仿血管结构主要存在于肿瘤中心部位, 而肿瘤微血管结构基本存在于肿瘤周边部位, 两者在肿瘤中心与周边交界部位存在相互直接联接的结构。但是在标本中未见血管内皮细胞与肿瘤细胞交替排列构成的马赛克血管, 这与 Zhang 等提出的肿瘤血管发生“三阶段现象”不完全相符。且本实验证明瘤内的肿瘤微血管来源于瘤外组织, 即构成肿瘤微血管管壁的血管内皮细胞来自于瘤外宿主组织, 而肿瘤微血管与

肿瘤仿血管直接联接, 证明肿瘤微血管不一定必须存在跳跃式生长现象。提示肿瘤血管发生可能的模式为: 早期肿瘤内部的血供主要源自具有类血管功能的肿瘤仿血管通道, 随着肿瘤的不断生长, 瘤外的微血管逐渐侵入肿瘤内部成为肿瘤微血管, 并与肿瘤内部的肿瘤仿血管通道联接; 同时, 构成肿瘤微血管壁的血管内皮细胞自两者的沟通处沿肿瘤仿血管通道逐渐向肿瘤中心爬行生长, 最后肿瘤仿血管通道全部被肿瘤微血管替代, 维持肿瘤的血供。因此, 肿瘤仿血管生成在肿瘤血管形成中起重要作用, 不但作为肿瘤早期发育的主要血液供应来源, 在肿瘤生长的中后期还可诱导来源于瘤外组织的微血管沿着仿血管通道进入肿瘤中心形成肿瘤微血管, 逐步替代原有的肿瘤仿血管通道。

对肿瘤仿血管生成分子调节通路的研究, 特别是对肿瘤仿血管诱导肿瘤微血管形成的分子机制研究将会对探讨更加有效的肿瘤治疗手段提供线索, 如 Notch 信号不但在黑素瘤肿瘤血管形成中起到重要作用, 同时参与肿瘤的仿血管生成<sup>[16]</sup>。有研究<sup>[17-18]</sup>发现, 针对通过 Notch 信号机制, 可在黑素瘤治疗中发现新的靶点, 黑素瘤细胞通过肿瘤仿血管形成有助于形成肿瘤微血管。在胆囊癌患者中, HIF-1 $\alpha$  的高表达与肿瘤仿血管形成及肿瘤的进展密切相关<sup>[19]</sup>。肿瘤细胞的仿血管形成表明侵袭性肿瘤细胞具有形成新血管网络的功能可塑性, 从而为肿瘤细胞的快速生长提供灌注途径, 并能与血管内皮细胞构成的肿瘤微血管互相联通<sup>[20]</sup>。有实验<sup>[21]</sup>证明, 肿瘤的短期抗血管内皮生长因子治疗可诱发肿瘤仿血管形成, 加速肿瘤转移, 因此现行的肿瘤抗血管形成疗法需进一步完善。通过对肿瘤仿血管形成的进一步研究, 可更全面评估以往的肿瘤抗血管形成治疗方案, 并能对现行的抗肿瘤治疗提供新的理论依据。

## [ 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 ] Folberg R, Hendrix MJ, Maniotis AJ. Vasculogenic mimicry and tumor angiogenesis [ J ]. *Am J Pathol*, 2000, 156(2): 361-381.
- [ 3 ] Folberg R, Maniotis AJ. Vasculogenic mimicry [ J ]. *APMIS*, 2004, 112(7/8): 508-525.
- [ 4 ] van der Schaft DW, Hillen F, Pauwels P, et al. Tumor cell plasticity in Ewing sarcoma, an alternative circulatory system stimulated by hypoxia [ J ]. *Cancer Res*, 2005, 65(24): 11520-11528.
- [ 5 ] Cai XS, Jia YW, Mei J, et al. Tumor blood vessels formation in osteosarcoma: Vasculogenesis mimicry [ J ]. *Chin Med J ( Engl )*,

- 2004, 117(1): 94-98.
- [ 6 ] Sameshima T, Nabeshima K, Toole BP, et al. Glioma cell extracellular matrix metalloproteinase inducer(EMMPBIN)(CD147) stimulates production of membrane-type matrix metalloproteinases and activated gelatinase A in co-cultures with brain-derived fibroblasts [ J ]. *Cancer Letters*, 2000, 157(2): 177-184.
- [ 7 ] Suzuki S, Sato M, Senoo H, et al. Direct cell-cell interaction promotes MMP-2 production and activation in co-culture of laryngeal cancer cells and fibroblasts: Involvement of EMMPRIN and MT1-MMP [ J ]. *Exp Cell Res*, 2004, 293(2): 259-266.
- [ 8 ] Sun J, Hemler ME. Regulation of MMP-1 and MMP-2 production through CD147/extracellular matrix metalloproteinase inducer interactions [ J ]. *Cancer Res*, 2001, 61(5): 2276-2281.
- [ 9 ] Martin L, Green B, Renshaw C, et al. Examining the technique of angiogenesis assessment in invasive breast cancer [ J ]. *Br J Cancer*, 1997, 76(8): 1046-1054.
- [ 10 ] Hendrix MJ, Sefter EA, Hess AR, et al. Vasculogenic mimicry and tumour-cell plasticity: Lessons from melanoma [ J ]. *Nat Rev Cancer*, 2003, 3(6): 411-421.
- [ 11 ] Shirakawa K, Akasugi H, Heike Y, et al. Vasculogenic mimicry and pseudo-edema formation in breast cancer [ J ]. *Int J Cancer*, 2002, 99(6): 821-828.
- [ 12 ] Liu R, Yang K, Meng C, et al. Vasculogenic mimicry is a marker of poor prognosis in prostate cancer [ J ]. *Cancer Biol Ther*, 2012, 13(7): 527-533.
- [ 13 ] Wang SY, Yu L, Ling GQ, et al. Vasculogenic mimicry and its clinical significance in medulloblastoma [ J ]. *Cancer Biol Ther*, 2012, 13(5): 341-348.
- [ 14 ] Zhang S, Guo H, Zhang D, et al. Microcirculation patterns in different stages of melanoma growth [ J ]. *Oncol Rep*, 2006, 15(1): 15-20.
- [ 15 ] Upile T, Jerjes W, Radhi H, et al. Vasculogenic mimicry in cultured head and neck tumour cell lines [ J ]. *Head Neck Oncol*, 2011, 3: 55.
- [ 16 ] Ruf W, Sefter EA, Petrovan RJ, et al. Differential role of tissue factor pathway inhibitors 1 and 2 in melanoma vasculogenic mimicry [ J ]. *Cancer Res*, 2003, 63(17): 5381-5389.
- [ 17 ] Vartanian A, Gatsina G, Grigorieva I, et al. The involvement of Notch signaling in melanoma vasculogenic mimicry [ J ]. *Clin Exp Med*, 2012 [ Epub ahead of print ].
- [ 18 ] Ribatti D, Nico B, Cimpean AM, et al. B16-F10 melanoma cells contribute to the new formation of blood vessels in the chick embryo chorioallantoic membrane through vasculogenic mimicry [ J ]. *Clin Exp Med*, 2012 [ Epub ahead of print ].
- [ 19 ] Sun W, Shen ZY, Zhang H, et al. Overexpression of HIF-1 $\alpha$  in primary gallbladder carcinoma and its relation to vasculogenic mimicry and unfavourable prognosis [ J ]. *Oncol Rep*, 2012, 27(6): 1990-2002.
- [ 20 ] Kirschmann DA, Sefter EA, Hardy KM, et al. Molecular pathways: Vasculogenic mimicry in tumor cells: Diagnostic and therapeutic implications [ J ]. *Clin Cancer Res*, 2012, 18(10): 2726-2732.
- [ 21 ] Xu Y, Li Q, Li XY, et al. Short-term anti-vascular endothelial growth factor treatment elicits vasculogenic mimicry formation of tumors to accelerate metastasis [ J ]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2012, 31: 16.
- [ 收稿日期 ] 2012-08-02 [ 修回日期 ] 2012-10-12  
[ 本文编辑 ] 王莹

· 读者 · 作者 · 编者 ·

## 文稿中计量单位使用的要求

本刊严格执行国务院颁发的《中华人民共和国法定计量单位》，全面贯彻国家标准 GB3100-3102-1993《量和单位》的规定，正确使用量和单位的名称和符号。(1)量符号以斜体拉丁和希腊字母表示(pH用正体除外)，例如*m*(质量)、*t*(时间)、*c*(浓度)、*V*(体积)、*p*(压力)、*F*(力)等。(2)单位符号一律以正体拉丁或希腊字母表示，例如kg(千克)、m(米)、h(小时)、mol/L(摩尔每升)等。(3)表示人体检验指标的量浓度或质量浓度时，一般使用L(升)作为检验组成含量单位的分母。(4)表示用药剂量单位时，不能写成mg/kg/d的形式，应写成mg/(kg·d)或mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>的形式。(5)单位符号常见书写错误：长度单位符号A°(埃)已不用，应写作0.1 nm；时间单位“小时”符号为h(不是hr)、“秒”符号为s(不是sec)；转速单位符号为r/min(不是rpm)；量浓度单位符号为mol/L(不是M、N，也不是mol/mm<sup>3</sup>)；力的单位“牛顿”符号为N(不是dyn(达因)、kgf(千克力)，换算1 dyn = 10<sup>-5</sup> N)；热量单位“焦耳”符号为J(不是cal(卡)、kcal(千卡)，换算1 cal = 4.187 J)；放射性活度单位符号为Bq(不是Ci(居里)，换算1 Ci = 3.7 × 10<sup>10</sup> Bq)。

(本刊编辑部)