

## 血管生成拟态在直肠腺癌中的临床病理意义

慈红非<sup>1,2</sup>, 武世伍<sup>1,2</sup>, 柴大敏<sup>1,2</sup>, 马莉<sup>1,2</sup>, 秦燕子<sup>1,2</sup>, 陶仪声<sup>1,2</sup>

**[摘要]** **目的:**通过搜集相关资料研究直肠腺癌中血管生成拟态(VM)是否存在及其相关临床病理意义。**方法:**收集 176 例直肠腺癌相关临床病理资料,利用免疫组织化学 EliVision™ plus 的方法,观察其中是否存在 VM,将其分成阳性和阴性 2 组,分析 VM 的存在是否与相关临床病理指标之间有关。**结果:**176 例组织标本中 35 例 VM 为阳性,阳性率为 19.89%,不同性别、年龄组及肿瘤的长径间 VM 的形成差异均无统计学意义( $P > 0.05$ );而在低分化组、伴有血管、神经侵犯组、伴有淋巴结转移组的 VM 阳性率显著较高( $P < 0.01$ )。多因素回归分析表明 VM 的阳性表达率越高,病人的生存时间越短( $P < 0.01$ );有淋巴结转移的病人比无淋巴结转移的病人生存时间短( $P < 0.01$ );有血管、神经侵犯的病人比无血管、神经侵犯的病人生存时间短( $P < 0.05$ )。**结论:**VM 存在于直肠腺癌中,且 VM 的形成对直肠腺癌的发生、发展及其预后都具有重要的意义。

**[关键词]** 直肠腺癌;血管生成拟态;临床病理;免疫组织化学

**[中图分类号]** R 735.37 **[文献标志码]** A **DOI:**10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2019.01.006

## Clinical pathological significance of vasculogenic mimicry in rectal adenocarcinoma

CI Hong-fei<sup>1,2</sup>, WU Shi-wu<sup>1,2</sup>, CHAI Da-min<sup>1,2</sup>, MA Li<sup>1,2</sup>, QIN Yan-zi<sup>1,2</sup>, TAO Yi-sheng<sup>1,2</sup>

(1. Department of Pathology, The First Affiliated Hospital of Bengbu Medical College, Bengbu Anhui 233004;

2. Department of Pathology, Bengbu Medical College, Bengbu Anhui 233030, China)

**[Abstract]** **Objective:**To study the presence or absence of vasculogenic mimicry (VM) in rectal adenocarcinoma by some relevant data, and explore its clinical and pathological significance. **Methods:** The clinicopathological data of 176 patients with rectal adenocarcinoma were collected. The VM was detected using immunohistochemical EliVision™ plus method, and the cases were divided into the positive and negative groups. The relationship between VM and clinicopathological parameters was analyzed. **Results:** Among 176 tissue samples, the positive expression of VM in 35 cases was identified, and the positive rate of which was 19.89%. The differences of the formation of VM among different gender, age and length of tumor were not statistically significant ( $P > 0.05$ ). The positive rates of VM in poor differentiation group, vascular and nerve invasion group and lymph node metastasis group significantly increased ( $P < 0.01$ ). The results of multivariate regression analysis showed that the survival time of patients became short with the increasing of the positive rate of VM ( $P < 0.01$ ), the survival time of patients with lymph node metastasis was shorter than that in patients without lymph node metastasis ( $P < 0.01$ ), and the survival time of patients with vascular and nerve invasion was shorter than that in patients without vascular and nerve invasion ( $P < 0.05$ ). **Conclusions:** VM is present in rectal adenocarcinoma, and the formation of VM is of great significance to the occurrence, development and prognosis of rectal adenocarcinoma.

**[Key words]** rectal adenocarcinoma; vasculogenic mimicry; clinical pathology; immunohistochemistry

直肠癌是我国消化道常见的癌症之一,30 年来,直肠癌发病率年均上升 3%~4%<sup>[1-2]</sup>。因为其解剖位置深入盆腔,与周围组织关系复杂,所以手术难度大,肿瘤切除不易彻底,导致术后复发率及转移率都高。直肠癌的发生及发展是多因素相互协同作

用的结果,过程中受到多种相关基因的调控<sup>[3-4]</sup>。而血管生成拟态(vasculogenic mimicry, VM)是各种肿瘤细胞依赖自身可塑性而形成的独立于内皮血管的供血系统。目前已有大量应用免疫组织化学(免疫组化)方法研究血管生成拟态在相关肿瘤中作用的文献,研究技术已经相当成熟。本研究通过相关免疫组化技术研究 VM 的存在与直肠腺癌病人相关临床病理指标之间的联系。现作报道。

## 1 资料与方法

1.1 一般资料 本研究通过筛选后收集蚌埠医学院第一附属医院 2012-2014 年送检的直肠腺癌组织标本 176 例以及对应的癌旁正常组织,临床病理资料及随访资料皆完整,入选病人随访至其死亡或

[收稿日期] 2017-08-21 [修回日期] 2018-12-21

[基金项目] 蚌埠医学院研究生科研创新计划(Byyex1603);安徽省高等学校自然科学研究重点项目(KJ2015A269)

[作者单位] 1. 蚌埠医学院第一附属医院 病理科,安徽 蚌埠 233004;2. 蚌埠医学院 病理学教研室,安徽 蚌埠 233030

[作者简介] 慈红非(1992-),男,硕士研究生。

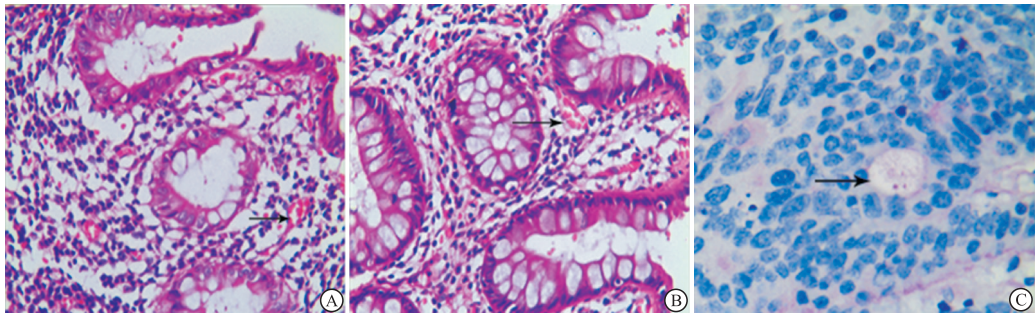
[通信作者] 陶仪声,硕士研究生导师,主任医师,教授。E-mail: 1184495828@qq.com

截至2017年1月,随访时间为3~68个月。其中男123例,女53例;年龄36~85岁。

1.2 主要试剂 鼠抗人单克隆抗体 CD34、EliVision™ plus 试剂盒及 DAB 显色试剂盒均购自中国福州迈新生物技术有限公司;高碘酸-希夫染液(PAS)购自中国上海汇长生物科技有限公司。

1.3 试验方法 免疫组化 CD34 和 PAS 双重染色:石蜡切片经过常规处理后按照试剂盒说明书的染色步骤进行 CD34 抗体染色,DAB 显色后置于镜下观察,至血管内皮细胞着色后,可停止显色反应;然后避光环境下置于 0.5% 的 PAS 溶液中反应半小时左右再次观察即可。

1.4 结果判定 VM 的结构特征:VM 结构管壁



A:箭头所示管状结构由肿瘤细胞构成,腔内可见红细胞;B:箭头所示的VM结构周围可以看到很多的微血管;C:箭头所示CD34阴性而PAS阳性的管道样结构,即VM结构  
图1 直肠腺癌中的VM结构

2.2 VM 与各相关参数之间的关系 不同性别、年龄组及肿瘤的长径间 VM 的形成差异均无统计学意义( $P > 0.05$ );而在低分化组、伴有血管、神经侵犯组、伴有淋巴结转移组的 VM 阳性率显著较高( $P < 0.01$ ) (见表 1)。

2.3 总体生存时间的多因素分析结果 以总生存率为因变量(死亡=0,生存=1),以 VM、淋巴结转移及血管、神经侵犯为自变量进行 logistic 回归分析,结果显示,VM 的阳性率越高,病人的生存时间越短( $P < 0.01$ );有淋巴结转移的病人比无淋巴结转移的病人生存时间短( $P < 0.01$ );有血管、神经侵犯的病人比无血管、神经侵犯的病人生存时间短( $P < 0.05$ ) (见表 2)。

2.4 总体生存时间的单因素分析结果 本组病例总的 5 年生存率为 27.84% (49/176)。Log-rank 分析结果显示 VM 阳性表达组与阴性表达组的平均生存时间分别为(11.3 ± 7.7)月和(41.9 ± 14.6)月,2 组差异有统计学意义( $t' = 17.09, P < 0.01$ )。

### 3 讨论

1999 年,美国 MANIOTIS 等<sup>[5]</sup>首次提出了一种

CD34 为阴性,而正常血管内皮细胞 CD34 则为阳性,表明 VM 中无正常血管内皮细胞参与其形成;VM 结构管腔中亦可见红细胞存在,红细胞与肿瘤细胞可见 PAS 阳性的基底膜样结构,上述特征性结构可判定为 VM。免疫组化结果的判定是由病理科两位高年资医生通过独立双盲法得出。

1.5 统计学方法 采用  $t'$  检验和  $\chi^2$  检验。

## 2 结果

2.1 直肠腺癌 VM 的存在情况 176 例直肠腺癌中有 35 例 VM 表达为阳性,阳性率 19.89%,典型结构见图 1。

独立于内皮血管的肿瘤血液供应模式,即 VM。其概念为:肿瘤细胞通过脉管系统表现一定的可塑性,从而形成似血管样的网络结构,并与宿主自身的血管相连<sup>[6]</sup>,为肿瘤细胞提供血供。VM 的提出对传统思维中肿瘤血供的方式提出了挑战,同时也是对肿瘤血管生成理论<sup>[7-8]</sup>重要的补充。在随后的研究中表明 VM 不仅在人眼葡萄膜黑色素瘤中存在,在肝癌、肺癌、乳腺癌等肿瘤中同样存在<sup>[9-12]</sup>,而且 VM 的存在与肿瘤的分化程度、病人的生存时间、肿瘤的侵袭和转移等因素<sup>[13]</sup>密切相关。

虽然在越来越多的肿瘤中发现了 VM 现象,但是生成 VM 的分子机制仍不清楚,获取 VM 功能最显著的分子决定因素之一是内皮细胞标志物 VE-钙黏蛋白的表达,VE-钙黏蛋白是一种常在血管内皮细胞中表达的跨膜蛋白,主要功能是促进细胞黏附<sup>[14]</sup>,研究发现 VE-钙黏蛋白通常可以在恶性程度及侵袭性高的肿瘤细胞中发现,但不能在侵袭性差的肿瘤细胞中发现<sup>[15]</sup>。研究<sup>[16]</sup>表明 VE-cadherin/EphA2/PI3K/MMP 是 VM 形成的关键通路,同时缺氧微环境、环氧化酶-2 等因素对 VM 结构的形成也起一定的促进作用。除上述机制外,仍有很多 VM 相关的

表 1 直肠腺癌临床病理参数与 VM 的关系

变量	n	VM		$\chi^2$	P
		+	-		
肿瘤长径/cm					
≤5	143	25	118	2.77	>0.05
>5	33	10	23		
年龄/岁					
≤60	81	17	64	0.11	>0.05
>60	95	18	77		
性别					
男	123	21	102	2.03	>0.05
女	53	14	39		
分化程度					
高分化	45	5	40	22.28	<0.01
中分化	89	11	78		
低分化	42	19	23		
血管、神经侵犯					
无	121	16	105	10.79	<0.01
有	55	19	36		
淋巴结转移					
无	126	11	115	34.65	<0.01
有	50	24	26		

表 2 176 例直肠腺癌病人的多因素分析

变量	B	SE	Wald $\chi^2$	P	OR(95% CI)
VM	0.93	0.31	11.24	<0.01	1.16 ~ 2.37
淋巴结转移	0.87	0.26	12.43	<0.01	1.27 ~ 3.51
血管神经侵犯	0.53	0.40	5.79	<0.05	1.24 ~ 3.71

机制有待深入研究和进一步探索,例如体外培养的成胶质细胞瘤干细胞,部分能够分化成平滑肌样细胞,可以表达内皮相关基因,进而形成血管样的结构。不同的肿瘤细胞可以在三维培养条件下形成不同结构的 VM,相关结果表明可塑性越强、侵袭性越高的肿瘤细胞更易形成 VM<sup>[5]</sup>,但是仍有部分现象有待进一步研究阐释。

目前临床上抗肿瘤血管生成的相关治疗多以促血管生成因子或相关受体为靶点,其特异性较易受到多种因素干扰,对 VM 结构的敏感性差,治疗效果也达不到预期的目标。VM 的发现是对肿瘤血管生成理论的重要补充,为临床进行抗肿瘤血管生成相关治疗提供了新的研究思路。相关研究<sup>[17]</sup>显示,存在 VM 的黑素瘤、肺癌、肝癌、乳腺癌等肿瘤的病人预后较差,存在 VM 的直肠癌总体中位生存时间更短。研究直肠腺癌的血流供应模式,找到有效的抗

血管措施,对今后的临床抗肿瘤血管药物的研制以及抗肿瘤治疗提供新的理论显得尤为重要。

## [ 参 考 文 献 ]

- [1] International Agency for Research on Cancer. Colorectal cancer estimated incidence, mortality and prevalence worldwide in 2012.
- [2] 陈万青,张思维,曾红梅,等. 中国 2010 年恶性肿瘤发病与死亡[J]. 中国肿瘤,2014,23(1):1.
- [3] SMITH SJ, TILLY H, JENNIFER H, *et al.* CD105 ( Endoglin) exerts prognostic effects via its role in the microvascular niche of paediatric high grade glioma [J]. *Acta Neuropathol*, 2012, 124(1):99.
- [4] AHMADI SA, MOINFAR M, GOHARI MOGHADDAM K, *et al.* Practical application of angiogenesis and vasculogenic mimicry in prostatic adenocarcinoma [J]. *Arch Iran Med*, 2010, 13(6):498.
- [5] 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.
- [6] CHUNG HJ, MAHALINGAM M. Angiogenesis, vasculogenic mimicry and vascular invasion in cutaneous malignant melanoma-implications for therapeutic strategies and targeted therapies [J]. *Expert Rev Anticancer Ther*, 2014, 14(5):621.
- [7] ZHU PF, NING YX, YAO LQ, *et al.* The proliferation apoptosis invasion of endothelial like epithelial ovarian cancer cells induced by hypoxia [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2010, 29:124.
- [8] MA JL, HAN SX, ZHU Q, *et al.* Role of Twist in vasculogenic mimicry formation in hypoxic hepatocellular carcinoma cells *in vitro* [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2011, 408(4):686.
- [9] CHEN YS, CHEN ZP. Vasculogenic mimicry: a novel target for gliomathery [J]. *Chin J Cancer*, 2014, 33(2):74.
- [10] LI Y, SUN B, ZHAO X, *et al.* Subpopulations of uPAR + contribute to vasculogenic mimicry and metastasis in large cell lung cancer [J]. *Exp Mol Pathol*, 2015, 98(2):136.
- [11] 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.
- [12] WANG L, LIN L, CHEN X, *et al.* Metastasis-associated in colon cancer-1 promotes vasculogenic mimicry in gastric cancer by upregulating TWIST1/2 [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(13):11492.
- [13] KARROUM A, MIRSHAHI P, FAUSSAT AM, *et al.* Tubular network formation by adriamycin-resistant MCF-7 breast cancer cells is closely linked to MMP-9 and VEGFR-2/VEGFR-3 over expressions [J]. *Eur J Pharmacol*, 2012, 685(1/3):1.
- [14] BREIER G, GROSSER M, REZAEI M. Endothelial cadherins in cancer [J]. *Cell Tissue Res*, 2014, 355:523.
- [15] WILLIAMSON SC, METCALF RL, TRAPANI F, *et al.* Vasculogenic mimicry in small cell lung cancer [J]. *Nat Commun*, 2016, 7:13322.
- [16] KIRSCHMANN DA, SEFTOR EA, HARDY KM, *et al.* Molecular pathways: vasculogenic mimicry in tumor cells: diagnostic and therapeutic implication [J]. *Clin Cancer Res*, 2012, 18:2726.
- [17] BAETEN CI, HILLEN F, PAUWELS P, *et al.* Prognostic role of vasculogenic mimicry in colorectal cancer [J]. *Dis Colon Rectum*, 2009, 52(12):2028.