

胰腺癌微血管的研究进展及诊疗启示

刘林勋 吴敬 张庆欣 杨金煜 叶成杰 吴新民 徐正光 欧宏宇 吴刚

潘洪帅 万成飞 王永珍 张莲香 武金都 马澍

青海省人民医院普通外科, 西宁 810007

通信作者: 刘林勋, Email: 147599835@.com

【摘要】 近年来,胰腺癌的治疗并未取得良好的收效,全基因组测序及诊断的微解剖技术使我们发现胰腺癌的分子分型的多样性,诊疗策略均无法套用其他肿瘤的模式,但可以肯定的是由于胰腺癌肿瘤组织和间质的部分独立性发展及相互联系制约,使得肿瘤相关的微血管以及肿瘤微环境亦有其独特性,肿瘤微环境更像是一个微生态,干预微血管的生理可以使肿瘤、微环境的特性发生改变,机械性的过度干预或者不适时的干预则会干扰了机体自身对肿瘤的免疫。目前针对胰腺癌微血管的生理特性的认识较前有所提高,但其对肿瘤发生、发展及转移的影响机制仍需要进一步研究。

【关键词】 胰腺肿瘤; 胰腺微血管; 胰腺癌微血管健康化

基金项目: 青海省卫健委指导项目(2020-wjzdx-28)

DOI:10.3760/cma.j.cn112137-20200321-00873

胰腺癌是最具破坏性的恶性肿瘤之一,也是最富间质的癌症,其复杂的炎性微环境通常支配着肿瘤实质。该病在美国每年死亡人数超过 4.3 万人,位列癌症死亡所有原因第 4^[1]。在过去 20 年内我国发病率增加了 4 倍。胰腺癌预后极差,其 5 年生存率仅为 5%~8%^[2],而且数十年来,预后没有得到很好改善^[3],其原因主要是没有对胰腺癌的分子分型及相应的治疗形成一个正确的认识。因此不管是原来倡导的“surgery first”理念,还是新辅助化疗的应用,以及多学科会诊(MDT)的治疗施行,都未能改善该病的预后,甚至由于间质细胞的参与,使得胰腺癌合理的分子分型也一直都在争论^[4],这也使得只有 10%~15% 的患者可以得到合理的诊断^[5]。间质与肿瘤细胞之间的错综复杂的互联,使肿瘤细胞促使了间质的纤维化反应^[6],这种相互促进的生长方式,使得胰腺癌微环境变为血供少、血管分布不均衡、低氧的状态。目前关于胰腺癌周围纤维结缔是否有癌细胞浸润对预后影响报道不多^[7],而间质的分化程度以及间质的量对胰腺癌的预后已成为研究热点^[8]。因此本文就以胰腺癌微血管与肿瘤特性之间的关系来阐述其特点。

一、胰腺癌间质化与肿瘤微血管之间的关系

胰腺癌间质成分约占整个肿块体积的一半^[9],由于间质的稠厚及纤维化使得位于其内的肿瘤微血管被高度压缩^[10],化疗药物很难通过“屏障”达到肿瘤局部,因此理论上消除这一屏障,可极大地提高药物的疗效。研究发现五大机制参与了胰腺癌间质纤维化,其中 Notch 通路和透明质酸在间质广泛沉积以及 Hedgehog 通路激活胰腺星状细胞或肿瘤相关的成纤维细胞促进间质化的发展参与了血管壁的塌陷、重构,从而影响血管的正常功能。通过 Notch 通路阻

断剂、人工合成的透明质酸酶等均可导致小鼠胰腺癌的去间质化,恢复肿瘤微血管的结构与功能,显著增加肿瘤内化疗药物的灌注浓度,从而抑制肿瘤生长,延长荷瘤小鼠的生存时间^[9]。但是在临床试验中,除了 2012 年 Provenzano 等首次报道人工合成透明质酸酶制剂(PEGPH20)在 I b 期临床试验结果显示可显著延长患者的中位生存期并进入 III 期临床试验外^[11],较为经典的 Hedgehog 通路抑制剂 IPI-926 (saridegib)和 vismodegi 的临床研究均宣告失败^[12]。究其原因既往一直认为胰腺癌间质促进肿瘤的进展。而去间质化由于减少了间质对肿瘤的束缚能力,使得肿瘤的侵袭性增加。我们期望通过减轻间质纤维化从而使塌陷的血管复张或微血管形成,增加化疗药物的肿瘤内分布,这种思路虽在肝脏恶性肿瘤中实践后显示出良好的结果^[13],但在血管化程度较差的胰腺癌中并未得到预期的疗效。Hedgehog 通路抑制后肿瘤的间质含量降低,但肿瘤细胞的侵袭性显著增强,同时肿瘤相关的血管生成也显著增加,小鼠生存时间缩短。应用血管内皮细胞生长因子受体阻滞剂可部分逆转以上进程,延长小鼠生存时间^[14]。Wang 等^[15]的研究结果显示拥有着更高的微血管完整度的胰腺癌,患者术后的预后越好。由此可以看出胰腺癌微血管在性质上应该存有“好”、“坏”之分,我们在去间质的同时并没有保留这些“好”的成分,反而增加了肿瘤血管的生成,破坏了“好”血管的完整性,甚至像胰腺癌这种高度侵袭的肿瘤,肿瘤细胞本身存在拟态血管(VM)使其并不依赖于血管内皮细胞的成血管模式。VM 高表达的胰腺癌无论在肿瘤的分化程度、肿瘤分期及肿瘤的侵袭性以及治疗的反应和预后方面均表现突出的特性^[16]。因此考虑到胰腺癌整体存在上述病理特征,是

否可以推测出 VM 的成血管方式是胰腺癌肿瘤细胞的主要血供和转移通道?相应的治疗上针对“抗 VM 的”辅助治疗可能成为治疗的另一靶点。

二、胰腺癌血管分布特点及调控因素

笼统地讲,胰腺癌或其微环境是少血供的似乎并不严谨。通过数字显微成像和计算机分析发现,胰腺癌瘤内区微血管密度(MVD)明显高于肿瘤周围间质组织。此外与同一标本的正常胰腺组织相比,瘤周组织有更高的MVD。但是,Di Maggio等^[17]观察到紧邻肿瘤旁间质(距上皮癌成分 $<100\ \mu\text{m}$)是少血供分布的,而间质外周正常胰腺组织相较于肿瘤旁间质组织是富血供的。进一步在测量总血管面积(TVA)时发现尽管 $<100\ \mu\text{m}$ 处肿瘤旁间质比 $>100\ \mu\text{m}$ 处的间质^[18]及正常胰腺间质少,而 $<100\ \mu\text{m}$ 处的间质组织其血管的MVD与正常胰腺组织的间质组织类似,但TVA在正常胰腺及 $<100\ \mu\text{m}$ 处肿瘤旁间质是没有差异的。造成这种差异可能是因为这两个区域内血管的管径不同。在正常胰腺组织中,血管的管径是基本均匀的,但在 $<100\ \mu\text{m}$ 处肿瘤旁间质中,其血管管径有明显的差异性,而且由于胰腺癌间质组织中纤维的大量沉积,造成血管结构紊乱。在显微镜下看似还保留正常胰腺腺泡肿瘤旁组织的间质中,比起一些肿瘤周围间质其具有较多的血管分布,并且不管是这部分区域MVD还是TVA均比正常胰腺组织的血供多^[17],这部分可能是新发的肿瘤组织,其处于肿瘤病程的早期,较少间质沉积,血管较为丰富。因此我们可以看出胰腺癌血管分布并不是均质的,在不同的区域、不同的时期胰腺癌微血管具有不同的特点。不同亚型的胰腺癌其血管的分布存有差异性,而同一分子亚型的胰腺癌中,血管分布的差异性依然存在。在小鼠的动脉环实验以及3D器官培养模型中已证实,活化的星形细胞促进血管的生成,并且在放射学研究中也发现,血管的灌注指数存在自肿瘤中心到外周差异,因此可以推测出活化的星形细胞参与了血管差异分布^[17]。此外,活化的星形细胞还参与了与肿瘤的发生、肿瘤的生长和转移以及胰腺癌的免疫抑制等诸多过程^[19],但由于机制复杂,其对血管生成的影响在不同的研究中心得出不同的结果,可以看出,单就星形细胞对血管生成的影响就已经错综复杂,而瘤体、微血管以及整个微环境处在时间及空间上动态的变化中,而我们目前所进行胰腺癌,其肿瘤的分级几乎都处于晚期。因此,在病理变化过程中,胰腺癌微环境已经经历了无数次动态演变,其微环境复杂程度更高,相互影响和制约的因素更难以梳理清楚。尽管靶向的星形细胞可以改变肿瘤及其周围血管密度,但在这种复杂的胰腺癌微环境中,直接或间接诱导单个的作用于血管内皮细胞的细胞、蛋白或因子并确定哪一种占主导地位是相当困难的^[20],这也造成了多年来对于胰腺癌的诊断、治疗几乎没有进展。事实上,很多研究中存在一些的偏差和悖逆,包括以不同的血管生成量化方法以及不同的标记物来识别内皮细胞、以及“去间质”治疗等。这些研究多数是基于胰腺癌晚期状态,间质内大量纤维沉积后使得胰腺癌已经适应了低氧环

境而呈现少血管、“均质”的病理表现。而胰腺癌早期其血管已经呈现差异性分布,因此对于胰腺癌血管生成的研究,特别是早期血管的发生及分布的研究可能是治疗胰腺癌的关键环节。

三、胰腺癌微血管相关的预后

应用胰腺癌微血管特点来预测胰腺癌生存率及预后的理论也是有争议的。在Di Maggio的研究中指出,以MVD和TVA作为整个肿瘤组织内的微血管或者整个间质内的微血管是无法作为胰腺癌预测指数,但他对肿瘤旁和正常边界处的微血管分析后发现,随着肿瘤旁血管生成的增加可以延长其生存率,而正常边界处的微血管指数较高的则预后极差。因此他认为胰腺癌的恶性程度越高,其呈现出较少的肿瘤内血管和较多的正常边界处血管,而且应该说这种特征同我们目前达成的纤维化程度越高的胰腺癌其恶性程度越高这一共识是类似的^[17]。但其他学者则认为MVD同胰腺癌的预后无相关性^[21]。这些争论最终还是因为胰腺癌分子分型目前仍然混淆不清,不同的学者采用不同的纳入标准、不同的血管量化方法以及不同的肿瘤、血管上皮标记物所致。因此制定统一的纳入标准及研究入路,胰腺癌微血管的分布特点可能是另一个预测预后的关键因素。

四、胰腺癌微血管相关的治疗

目前已经认识到对胰腺癌去间质化治疗的弊端,也认识到了重构间质是更有效的治疗策略^[22]。抗血管治疗后使胰腺癌更具侵袭性,更容易发生远处转移。虽然其原因还无法阐明,但有一点可以确定的是,抗血管治疗后胰腺癌组织缺氧更为严重,而随着血管生成的抑制,组织缺氧进一步加重,导致肿瘤细胞中抗缺氧能力的细胞得以筛选。而这些细胞更容易在以星形细胞为主诱导的稠厚纤维化环境中得以生存,并以我们目前还不知道的形式获得能量并远处转移,此外抗血管生成治疗的过程中使得血管内皮细胞发育不良,血管渗透性增高,从而使得肿瘤细胞更容易发生侵蚀及远处转移。抗血管生成治疗还会导致了胰腺癌微环境中的MVD降低,这使得化疗药物在肿瘤组织中的浓度降低^[23]。因此去间质化产生的血管复张和抗血管生成的治疗最终都未能带来收益,由此萌生了以胰腺癌微血管健康化的治疗策略^[24],已有临床研究证实靶向抑制STAT3联合吉西他滨可以使得胰腺癌肿瘤血管健康化并且在干预胰腺癌间质的重构情况下提高化疗药物局部浓度^[25],此外健康化血管更可以减少肿瘤细胞侵蚀及远处转移。但就何时进行胰腺癌微血管健康化干预以及何时终止这个过程仍然需要进一步研究。

五、展望

目前针对胰腺癌微血管的研究主要是基于增加化疗药物在肿瘤组织中的分布以期增加化疗效果为目的。但是影响药物的分布及疗效还包括血流动力学、药物代谢甚至肿瘤局部微生物的参与,并且微血管的生成伴随肿瘤的始终,以物理学的思维来解决药物动力学显然是行不通的。因此我们仍需要进行如下进一步研究,包括:(1)弄清胰腺癌分

子亚型的分型,为临床指导并依据不同分型区分胰腺癌微血管特点;(2)胰腺癌早期诊断仍然是亟待解决的问题,早期发现胰腺癌所处的微环境较为单纯,利于后期治疗;(3)胰腺癌微血管健康化是区别于以往治疗的新策略,有可能解决目前所面临的预后差的问题。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2017[J]. *CA Cancer J Clin*, 2017; 67(1): 7-30. <https://corg/10.3322/caac.21387>.
- [2] Conway JR, Herrmann D, Evans TJ, et al. Combating pancreatic cancer with PI3K pathway inhibitors in the era of personalised medicine[J]. *Gut*, 2019, 68(4): 742-758. DOI: 10.1136/gutjnl-2018-316822.
- [3] 郭青松, 王鹏, 黄隼, 等. 微小 RNA-30b 对胰腺癌干细胞迁移和侵袭的调控作用[J]. *中华医学杂志*, 2019, 99(38): 3019-3023. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2019.38.011.
- [4] Maurer C, Holmstrom SR, He J, et al. Experimental microdissection enables functional harmonisation of pancreatic cancer subtypes[J]. *Gut*, 2019, 68(6): 1034-1043. DOI: 10.1136/gutjnl-2018-317706.
- [5] Oettle H, Neuhaus P, Hochhaus A, et al. Adjuvant chemotherapy with gemcitabine and long-term outcomes among patients with resected pancreatic cancer: the CONKO-001 randomized trial[J]. *JAMA*, 2013, 310(14): 1473-1481. DOI: 10.1001/jama.2013.279201.
- [6] Whatcott CJ, Diep CH, Jiang P, et al. Desmoplasia in primary tumors and metastatic lesions of pancreatic cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2015, 21(15): 3561-3568. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-14-1051.
- [7] 方乐平, 徐晓燕, 姬玉, 等. 胰腺癌术后影响患者预后的相关因素分析[J]. *中华医学杂志*, 2018, 98(8): 606-611. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2018.08.011.
- [8] Bolm L, Cigolla S, Wittel UA, et al. The role of fibroblasts in pancreatic cancer: extracellular matrix versus paracrine factors [J]. *Transl Oncol*, 2017, 10(4): 578-588. DOI: 10.1016/j.tranon.2017.04.009.
- [9] Moffitt RA, Marayati R, Flate EL, et al. Virtual microdissection identifies distinct tumor-and stroma-specific subtypes of pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. *Nat Genet*, 2015, 47(10): 1168-1178. DOI: 10.1038/ng.3398.
- [10] Albrecht Neesse, Christian Alexander Bauer, Duniel Öhlund, et al. Stromal biology and therapy in pancreatic cancer: ready for clinical translation? [J]*Gut*, 2019, 68(1): 159-171. DOI: 10.1136/gutjnl-2018-31645.1.
- [11] Hingorani SR, Harris WP, Beck JT, et al. Phase I b study of PEGylated recombinant human hyaluronidase and gemcitabine in patients with advanced pancreatic cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2016, 22(12): 2848-2854. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-15-2010.
- [12] Ko AH, LoConte N, Tempero MA, et al. A Phase I study of FOLFIRINOX Plus IPI-926, a hedgehog pathway inhibitor, for advanced pancreatic adenocarcinoma[J]. *Pancreas*, 2016, 45(3): 370-375. DOI: 10.1097/MPA.0000000000000458.
- [13] Vennin C, Chin VT, Warren SC, et al. Transient tissue priming via ROCK inhibition uncouples pancreatic cancer progression, sensitivity to chemotherapy, and metastasis[J]. *Sci Transl Med*, 2017, 9(384): eaa18504. DOI: 10.1126/scitranslmed.aai8504.
- [14] Rhim AD, Oberstein PE, Thomas DH, et al. Stromal elements act to restrain, rather than support, pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. *Cancer Cell*, 2014, 25(6): 735-747. DOI: 10.1016/j.ccr.2014.04.021.
- [15] Wang WQ, Liu L, Xu HX, et al. Intratumoral alpha-SMA enhances the prognostic potency of CD34 associated with maintenance of microvessel integrity in hepatocellular carcinoma and pancreatic cancer[J]. *PLoS One*, 2013, 8(8): e71189. DOI: 10.1371/journal.pone.0071189.
- [16] Yang J, Zhu DM, Zhou XG, et al. HIF-2 α promotes the formation of vasculogenic mimicry in pancreatic cancer by regulating the binding of Twist1 to the VE-cadherin promoter [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(29): 47801-47815. DOI: 10.18632/oncotarget.17999.
- [17] Di Maggio F, Arumugam P, Delvecchio FR, et al. Pancreatic stellate cells regulate blood vessel density in the stroma of pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. *Pancreatol*, 2016, 16(6): 995-1004. DOI: 10.1016/j.pan.2016.05.393.
- [18] Iacobuzio-Donahue CA, Maitra A, Shen-Ong GL, et al. Discovery of novel tumor markers of pancreatic cancer using global gene expression technology[J]. *Am J Pathol*, 2002, 160(4): 1239-1249. DOI: 10.1016/S0002-9440(10)62551-5.
- [19] Qian D, Lu Z, Xu Q, et al. Galectin-1-driven upregulation of SDF-1 in pancreatic stellate cells promotes pancreatic cancer metastasis[J]. *Cancer Lett*, 2017, 397: 43-51. DOI: 10.1016/j.canlet.2017.03.024.
- [20] Carapuça EF, Gemenetzidis E, Feig C, et al. Anti-stromal treatment together with chemotherapy targets multiple signalling pathways in pancreatic adenocarcinoma[J]. *J Pathol*, 2016, 239(3): 286-296. DOI: 10.1002/path.4727.
- [21] Jureidini R, José Eduardo Monteiro da Cunha, Takeda F, et al. Evaluation of microvessel density and p53 expression in pancreatic adenocarcinoma[J]. *Clinics (São Paulo, Brazil)*, 2016, 71(6): 315-319. DOI: 10.6061/clinics/2016(06)05.
- [22] Froeling FE, Kocher HM. Homeostatic restoration of desmoplastic stroma rather than its ablation slows pancreatic cancer progression[J]. *Gastroenterology*, 2015, 148(4): 849-850. DOI: 10.1053/j.gastro.2015.02.043.
- [23] Banerjee S, Modi S, McGinn O, et al. Impaired synthesis of stromal components in response to minnelide improves vascular function, drug delivery, and survival in pancreatic cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2016, 22(2): 415-425. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-15-1155.
- [24] Huang Y, Goel S, Duda DG, et al. Vascular normalization as an emerging strategy to enhance cancer immunotherapy[J]. *Cancer Res*, 2013, 73(10): 2943-2948. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-12-4354.
- [25] Nagathihalli NS, Castellanos JA, Shi C, et al. Signal transducer and activator of transcription 3, mediated remodeling of the tumor microenvironment results in enhanced tumor drug delivery in a mouse model of pancreatic cancer[J]. *Gastroenterology*, 2015, 149(7): 1932-1943. e9. DOI: 10.1053/j.gastro.2015.07.058.

(收稿日期: 2020-03-21)

(本文编辑: 陈新石)