

热刺激对肿瘤血管作用的研究现状*

杜乐辉 王晓文^① 综述 廖遇平 唐劲天^{①**} 审校

(中南大学湘雅医院肿瘤科 34 病室,长沙 410008)

中图分类号:R73; R454

文献标识:A

文章编号:1009-6604(2009)03-0258-03

热疗是通过载能的电磁波(红外线,可见光)、机械波(声波)或特定媒介的热效应机制(电热效应、磁热效应等)实现对病灶的靶向热能投送和聚集,升高靶区温度,控制特定的温度和时间实现特定剂量的物理热刺激。近年来,热刺激对血管尤其是肿瘤血管的作用越来越受关注,本文就近年来热刺激对肿瘤血管、血管细胞及血管再生调控等方面的研究进行综述。

1 热刺激与肿瘤血管网络的关系

近年来,热刺激对血管的研究主要集中在对肿瘤血管的破坏作用和抑制肿瘤血管再生。肿瘤是细胞异常分化、增殖形成的疾病,其进行性的生长依赖于自身新生血管网的产生。如果肿瘤不血管化,生长到 1~2 mm³ 后便不再生长,因为血管化不仅能为肿瘤提供足够的营养,还带走代谢废物,利于肿瘤的持续快速生长,而且为肿瘤进入循环系统向远处转移提供窗口和道路。在许多肿瘤中,血管的多少与肿瘤转移、临床预后直接相关,即肿瘤血管越丰富,转移的概率越高,临床预后越差。因此,破坏肿瘤营养血管,改变肿瘤内微循环的结构和功能,可以起抗肿瘤作用。最近研究报道微血管破坏在热刺激杀瘤效应中发挥了重要作用^[1]。

1.1 肿瘤血管的热敏感性

Nikfarjam 等^[2]用激光对肝组织和结直肠转移性肝癌局部热刺激,结果表明在正常肝组织中血管破坏或闭塞程度明显小于组织坏死程度,但在肿瘤组织中两者程度相当,进行性增加的微血管和组织损伤均在热刺激后 72 h 达高峰,且此时微血管和组织损伤程度正常肝组织显著大于肿瘤组织。Nikfarjam 认为局部热刺激后组织损伤的增加可能是进行性微血管损伤的结果,而肿瘤血管似乎比肝血窦更易受热的直接破坏。肿瘤血管易受热损伤可能是由于肿瘤血管的自身特点所致。肿瘤血管在发育、组织和功能上均比正常血管差^[3],加热可使本来血流缓慢的肿瘤组织血管发生淤滞甚至阻塞,加重肿瘤组织缺氧,使肿瘤血管较正常血管更易受热

的损伤^[4]。

1.2 热刺激对肿瘤血管结构的损伤

Wu 等^[5,6]对肿瘤患者体外高强度聚焦超声(high intensity focused ultrasound, HIFU)治疗后表明肿瘤微血管明显减少,肿瘤内血流绝大部分中断。在治疗的肿瘤组织中心,肿瘤血管损伤更严重,血管断裂,内皮细胞核消失,边界不清,细胞与细胞间的连接中断,意味着内皮细胞死亡。同时血管平滑肌中膜断裂,血管壁弹力纤维和胶原纤维塌陷崩解,血管内微血栓形成。Kennedy 等^[7]研究后结果表明患者治疗后瘤内血流灌注减少,但在治疗的瘤结节中心血管近乎正常,完整未闭塞,内皮细胞形态正常,但Ⅷ因子标记阴性,意味着肿瘤中心治疗后内皮细胞的Ⅷ因子抗原全部丢失,内皮细胞发生凝固性坏死,而在未治疗的肿瘤周边可见内皮细胞及血管结构破坏。Luo 等^[8]采用 HIFU 治疗兔 VX2 瘤细胞株肝癌,治疗后肿瘤内血流明显减少。以上研究结果说明热刺激可破坏血管壁,使血管通透性增加,血管壁断裂,血管闭塞,肿瘤微循环血流减少,加重肿瘤组织缺血缺氧。

1.3 热刺激对不同管径血管的作用

Lu 等^[9]对猪肝脏进行射频治疗观察射频区域毗邻血管的散热效应,结果表明管径 > 3 mm 的血管大部分保持通畅,能观察到散热效应,且随着管径增大,血管壁损伤程度减少;而 < 3 mm 的血管部分闭塞,均未观察到散热效应,全部显示以内皮细胞坏死和管腔内血栓形成为特征的部分血管壁损伤。Wu 等^[6]研究表明 HIFU 治疗肿瘤时,直径 < 200 μm 的肿瘤血管严重破坏。关利铭等^[10]报道超声对兔肝肿瘤营养血管的损伤作用,血管完全破坏,血管内有血栓形成,管壁破裂出血。血管弹力纤维出现崩解、分布不均、断裂及分层等现象,而邻近组织大血管未受损伤。同时研究表明兔肝 VX2 肿瘤营养血管 < 200 μm,管径越小破坏效果越好,管径 < 50 μm 的血管破坏效果最好。可见一定强度的热刺激对不同管径血管的损伤作用不同,大血管管径粗,血流速度快,对热有致冷作用,而小血管管径细,血流

* 基金项目:国家自然科学基金(10775085);国家自然科学基金(30571799);北京市科委(Z07000200540704);清华大学裕元基金

** 通讯作者

① (清华大学工程物理系 医学物理与工程研究所 粒子技术与辐射成像教育部重点实验室,北京 100084)

慢,散热功能差,热积蓄使其更易受热损伤,故血管管径可能是影响热效应的一个主要因素。

1.4 热刺激对血管管径、流速、血液灌注的影响

在一项关于肿瘤氧合状态的动物实验中观察到^[11]:温度 <44 ℃ 时有助于促进血液灌注,提高氧合作用;温度 >44 ℃ 时肿瘤血管破坏,缺氧态加重。在肿瘤组织缺氧状态下,血流减少的结果是组织冷却时间延迟,继而使肿瘤获得更多的热能。Zhang 等^[12]、Weng 等^[13]对大鼠肠系膜微血管不同温度下分别加热 30 min 和 60 min,加热 30 min 时,血流速率、血管管径和血流量在 49 ℃ 以下均不断增加,最后逐渐趋于恒定;49 ℃ 时先升高后降低,但最后仍高于初始值;49 ℃ 以上时先升高后下降,最后均低于初始值;加热 60 min 时,45 ℃ 即出现先增加后降低的变化,且血流速率和管径的变化趋势相似,但前者的变化幅度明显小于后者。以上实验证明热刺激可引起血管管径大小、血流速率、血液灌注量的变化,且不同强度的热刺激对其影响程度不同,随加热时间的延长,血管损伤越严重,随加热温度的升高,血管损伤发生越快越早。

2 热刺激对血管细胞的影响

2.1 热刺激对血管内皮细胞的损伤及机制

冉娜等^[14]在体外实验 43 ℃ 水浴处理 HepA 肿瘤细胞和血管内皮细胞 25 min,显示热疗可明显抑制两者的增殖,但对内皮细胞的增殖抑制率高于对肿瘤细胞的抑制率,且热疗亦明显抑制内皮细胞的迁移。形态学观察可见热疗组血管内皮细胞密度降低,细胞表面微绒毛减少或消失,并可见染色质浓缩边聚、细胞出芽和凋亡小体形成等变化。Chen 等^[15]用细胞外基质 625 凝胶模拟肿瘤微环境,对体外培养的人脐静脉内皮细胞 43 ℃ 加热 1 h,大而多核的 S-G2 期细胞热疗后形态改变更显著,对热更敏感。贾思远等^[16]对血管内皮细胞 43 ℃ 加热 2 h,结果表明细胞 DNA 产生显著损伤,p21mRNA、p53mRNA 表达增高,细胞出现 G₁ 期停滞。以上实验均证明内皮细胞对热中度敏感,增殖过程的内皮细胞更敏感,而后者正是肿瘤微血管的主要部分,故肿瘤微血管应比正常血管更易受热损伤。加热后内皮细胞形态和超微结构的改变及 DNA 损伤可能是热刺激损伤血管内皮细胞的机制之一。

2.2 热刺激抑制血管平滑肌细胞增殖

一定强度的热刺激可诱导或促进平滑肌细胞凋亡,抑制其增殖。李春江等^[17,18]对体外培养的原代平滑肌细胞在不同温度 37~54 ℃ 下加热 10 min,结果表明在温度 <45 ℃ 时,细胞生长未受明显影响,45 ℃ ≤ 温度 ≤ 50 ℃ 时细胞脱落但未失去活力,形态学改变提示为细胞凋亡; >50 ℃ 时脱落的细胞均失去活力,且形态上不再发生改变,细胞死亡。Orihara 等^[19]对体外培养的主动脉血管平滑肌细胞和内皮细胞分别 43 ℃ 加热 2 h,结果表明此热剂量仅抑制平滑肌细胞的增殖,而血管内皮细胞的增殖并未受抑制。Michael 等^[20]在体外用人工血管模拟体内血液循环,将不锈钢支架植入人工血管内,用不

同强度和频率的电磁场加热支架,当支架温度升至 44 ℃ 时,经过加热血管区域流出的血流温度仅升高 0.5 ℃,加热 20 min 后未见明显的细胞坏死,超过 65 ℃ 时,流出的血流温度升至 42 ℃ 及以上,升至 80 ℃ 发现支架周围广泛的细胞坏死。可见,一定强度的热刺激可抑制血管平滑肌细胞的增殖,为加热血管内支架以防治血管再狭窄的可行性提供一定的实验依据,但目前这方面研究报道尚不多,且仅限于体外实验。

3 热刺激与血管再生的关系

肿瘤血管生成包括内皮细胞的增殖、迁移、细胞外基质溶解及募集周围细胞形成成熟血管,涉及到血管生成因子如血管内皮生长因子家族、成纤维细胞生长因子、血管生成素等与血管抑制因子如蛋白酶抑制物、血小板反应素、干扰素等之间的调节失衡。而热刺激可改变一些因子的表达水平,从而在一定程度上影响肿瘤血管的生成。

3.1 热刺激抑制某些因子的表达

Sawaji 等^[21]给人纤维肉瘤 HT-1080 细胞株 42 ℃ 持续加热 4 h 后,37 ℃ 孵育 24 h,结果表明血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 121、165、189 的基因表达和蛋白合成明显受抑,且培养基中 VEGF 依赖的细胞活性也下降,基质金属蛋白酶-1 活性也下降。同时给 6 例晚期肿瘤 42 ℃ 的全身热疗 2~3 周后,患者血清中 VEGF 水平由治疗前的 (177.0 ± 77.5) pg/ml 明显降低至 (49.9 ± 36.5) pg/ml。Zhou 等^[22]用 HIFU 治疗肿瘤患者,治疗后无转移患者血清中的 VEGF 水平亦下降。体外对人胶质瘤 A172 细胞进行一定强度的热刺激后肿瘤细胞分泌的 VEGF 水平也下降^[23]。Wu 等^[6,24]报道 HIFU 肿瘤患者基质金属蛋白酶-9 明显较为治疗者降低。说明热刺激可通过抑制肿瘤源性 VEGF 及其产物的表达而阻碍肿瘤血管内皮细胞增生及其细胞外基质的再塑性,使肿瘤血管生成减少。此外,在体内外实验中热刺激还可促进血纤维蛋白溶酶原激活抑制因子 1 的表达^[25],减少纤维蛋白溶酶的形成,抑制细胞外基质的降解,使肿瘤微血管数目减少,从而抑制肿瘤的生长和转移。

3.2 热刺激促进一些因子的表达

最近研究表明热刺激可促进一些血管再生相关因子的表达。Frich 等^[26]报道对结肠癌肝转移瘤进行射频消融治疗,结果表明基质金属蛋白酶-2 和 9 的活性反而升高,这可能是射频消融后患者出现高复发率的潜在机制。Nikfarjam 等^[27]对鼠结直肠癌肝转移模型进行 HIFU 治疗,结果表明消融区临近肝组织的 VEGF 及成纤维细胞生长因子 2 表达增高,故 Nikfarjam 认为 HIFU 治疗加速肝癌微转移的进展。同时 Du 等^[28]报道射频能增强体内外源性 VEGF 的转染。Gong 等^[29]给鼠 42 ℃ 全身加热 15 min 后心肌组织 VEGF 表达在热疗后 4 h 显著升高,左室右室均在热刺激后 12 h 升至最高,右室表达升高更显著,且 VEGF 主要表达在毛细血管及小血管的内皮及间质细胞,但并未发现 VEGF 受体 Flk-1 和

Flt-1 表达的明显变化;热刺激后 48 h 和 72 h 时可见右室外膜多个区域有广泛的新生血管而未发现心肌细胞坏死和凋亡的证据。这说明亚致死量的热刺激可上调 VEGF 的表达,使血管生成增多,而不伴有心肌组织的损伤,也不下调 VEGF 受体的表达。Yoko 等^[30]经瞳孔透热治疗鼠视网膜及脉络膜组织,结果显示诱导内皮细胞凋亡的血管生成抑制因子血小板反应蛋白-1 和促血栓形成的血管内皮细胞蛋白 C 受体表达上调,而诱导血管生成的因子白介素-1 β 和单核细胞趋化蛋白-1 表达也上调,但未发现 VEGF 和纤维蛋白溶酶原激活抑制因子 1 及其它血管生成因子和血管生成抑制因子表达的明显变化。

不同研究得出的结论不一致甚至相反,目前机制不清,可能原因是因为血管再生的调节是多因素多步骤的过程,对不同组织的热刺激可引起不同基因的表达改变,从而从不同方面调控血管的再生过程^[30],亦或是不同的研究水平即整体水平和残存肿瘤局部造成,具体机制还需进一步探索。

4 结语

热刺激对肿瘤血管网络的破坏,新生血管形成的抑制是多因素多阶段的过程,受诸多因素的影响,确切的生物学机制尚不很清楚,尚须进一步的探索。

参考文献

- Li K, Shen SQ, Xiong CL. Microvessel damage may play an important role in tumoricidal effect for murine H22 hepatoma cells with hyperthermia in vivo. *J Surg Res*, 2008, 145(1):97-104.
- Nikfarjam M, Muralidharan V, Malcontenti-Wilson C, et al. Progressive microvascular injury in liver and colorectal liver metastases following laser induced focal hyperthermia therapy. *Lasers Surg Med*, 2005, 37(1):64-73.
- Fukumura D, Jain RK. Tumor microvasculature and microenvironment: Targets for anti-angiogenesis and normalization. *Microvas Res*, 2007, 74(2-3):72-84.
- Nikfarjam M, Muralidharan V and Christophi C. Mechanisms of focal heat destruction of liver tumors. *J Surg Res*, 2005, 127(2):208-223.
- Wu F, Wang, ZB, Cao, Y, et al. A randomised clinical trial of high-intensity focused ultrasound ablation for the treatment of patients with localised breast cancer. *Br J Cancer*, 2003, 89(12):2227-2233.
- Wu F, Wang, ZB, Chen WZ, et al. Extracorporeal high intensity focused ultrasound ablation in the treatment of 1038 patients with solid carcinoma in China: an overview. *Ultrason Sonochem*, 2004, 11(3-4):149-154.
- Kennedy JE, Wu F, Gleeson FV, et al. Contrast-enhanced ultrasound assessment of tissue response to high intensity focused ultrasound. *Ultrasound Med Biol*, 2004, 30(6):851-854.
- Luo W, Zhou X, He G, et al. Ablation of high intensity focused ultrasound combined with SonoVue on rabbit VX2 Liver tumors: Assessment with conventional gray-scale US, conventional color/power Doppler US, contrast-enhanced color Doppler US, and contrast-enhanced pulse-inversion harmonic US. *Ann Surg Oncol*, 2008, 5(10):2943-2963.
- Lu DS, Raman SS, Vodopich DJ, et al. Effect of vessel size on creation of hepatic radiofrequency lesions in pigs: assessment of the "heat sink" effect. *AJR*, 2002, 178(1):47-51.
- 关利铭,王智彪,白晋,等.高强度超声对兔肝肿瘤营养血管损伤作用的病理观察. *中国超声医学杂志*, 2006, 28(7):453-

- 455.
- Vujaskovic Z, Poulson JM, Gaskin AA, et al. Temperature-dependent changes in physiologic parameters of spontaneous canine soft tissue sarcoma after combined radiotherapy and hyperthermia in treatment. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2000, 46(1):179-185.
- Zhang T, Zhu D, Luo QM, et al. Dynamic measurement of blood flow with optical methods. *SPIE*, 2003, 4961:165-173.
- Yang W, Zhu D, Liu Q, et al. Monitoring thermally induced blood flow change of rat mesentery by laser speckle imaging. *SPIE*, 2005, 6026:73-82.
- 冉娜,杨泽然,冯振中,等.热疗对血管内皮细胞增殖和迁移的影响及其在肿瘤热疗中的意义. *实用肿瘤杂志*, 2005, 20(2):144-147.
- Chen BG, Zhou MJ, Xu LX. Study of vascular endothelial cell morphology during hyperthermia. *J Thermal Biol*, 2005, 30(2):111-117.
- 贾思远,贾豫东,罗向东.热应激对血管内皮细胞 DNA 损伤效应的研究. *西南国防医药*, 2003, 13(3):263-265.
- 李春江,李耀平,刘健,等.加热对血管平滑肌细胞影响的实验研究. *航空航天医药*, 2001, 12(1):1-5.
- 李春江.血管支架术后再狭窄的防治. *中国人民解放军军医进修学院*, 2002, 1-68.
- Orihara K, Biro S, Hamasaki S, et al. Hyperthermia at 43°C for 2h inhibits the proliferation of vascular smooth muscle cells, but not endothelial cells. *J Mol Cell Cardiol*, 2002, 34(9):1205-1215.
- Michael G, Floren MD, Rolf W, et al. Noninvasive inductive stent heating: Alternative approach to prevent instant restenosis?. *Invest Radiol*, 2004, 39(5):264-270.
- Sawaji Y, Sato T, Takeuchi A, et al. Anti-angiogenic action of hyperthermia by suppressing gene expression and production of tumour-derived vascular endothelial growth factor in vivo and in vitro. *Br J Cancer*, 2002, 86(10):1597-1603.
- Zhou Q, Zhu XQ, Zhang J, et al. Changes in circulating immunosuppressive cytokine levels of cancer patients after high intensity focused ultrasound treatment. *Ultrasound Med Biol*, 2008, 34(1):81-87.
- Baeka SY, Kimb SR, Baeb MK, et al. Trichostatin A increases the thermosensitivity of human glioblastoma A172 cells. *Neuroscience Letters*, 2006, 393(3):230-234.
- Wu F, Wang ZB, Cao YD, et al. Changes in biologic characteristics of breast cancer treated with high-intensity focused ultrasound. *Ultrasound Med Biol*, 2003, 29(10):1487-1492.
- Roca C, Primo L, Valdembrì D, et al. Hyperthermia inhibits angiogenesis by a plasminogen activator inhibitor 1-dependent mechanism. *Cancer Res*, 2003, 63(7):1500-1507.
- Frich L, Björnland K, Pettersen S, et al. Increased activity of matrix metalloproteinase 2 and 9 after hepatic radiofrequency ablation. *J Surg Res*, 2006, 135(2):297-304.
- Nikfarjam M, Muralidharan V, Christophi C. Altered growth patterns of colorectal liver metastases after thermal ablation. *Surgery*, 2006, 139(1):73-81.
- Du XY, Qiu BS, Zhan XC, et al. Radiofrequency-enhanced vascular gene transduction and expression for intravascular MR imaging-guided therapy: feasibility study in pigs. *Radiology*, 2005, 236(3):939-944.
- Gong B, Asimakis GK, Chen Z, et al. Whole-body hyperthermia induces up-regulation of vascular endothelial growth factor accompanied by neovascularization in cardiac tissue. *Life Sci*, 2006, 79(19):1781-1788.
- Yoko NI, Ito M, Takita H, et al. Transpupillary thermotherapy-induced modification of angiogenesis and coagulation-related gene expression in the rat posterior fundus. *Mol Vision*, 2006, 12:802-810.

(收稿日期:2008-09-16)

(修回日期:2008-11-11)

(责任编辑:李贺琼)