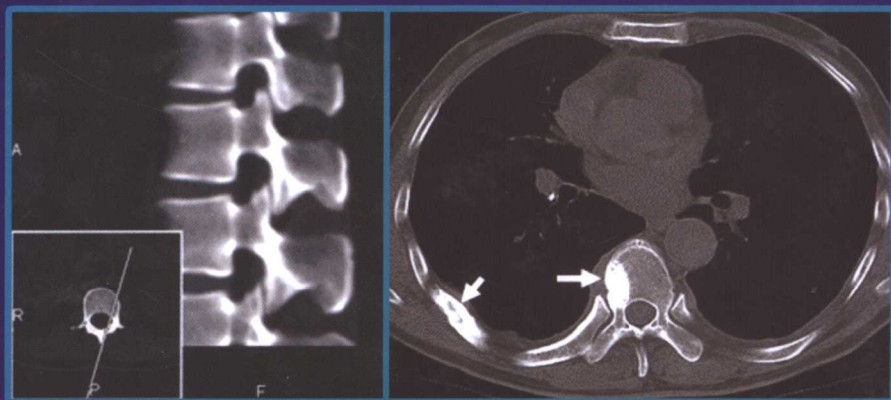


现代骨转移瘤诊治学

李林法 主编



科学出版社
www.sciencep.com

现代骨转移瘤诊治学

李林法 主编

科学出版社

北京

内 容 简 介

本书主要阐述了肿瘤骨转移研究领域的国内外最新进展和诊治手段,全书共分十五章,涵盖了肿瘤转移、肿瘤骨转移的分子机制、流行病学、临床表现、诊断、药物治疗、手术治疗、放射治疗、内放射导向治疗、疼痛的治疗、护理、预防及实验研究方法等诸方面的内容。本书内容全面系统而又突出重点,观点新颖,图文并茂,理论与实践相结合,对临床医学及研究人员进一步了解和研究肿瘤骨转移以及在现代医学技术条件下预防、诊断和治疗骨转移瘤具有重要的参考价值,同时也适合医学院校学生及科研人员使用。

图书在版编目(CIP)数据

现代骨转移瘤诊治学/李林法主编. —北京:科学出版社,2006.3
ISBN 7-03-016384-2

I. 现… II. 李… III. 骨肿瘤-肿瘤转移-诊疗 IV. R738.1

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2005)第 123340 号

责任编辑:农 芳 黄 敏/责任校对:朱光光

责任印制:刘士平/封面设计:黄 超

版权所有,违者必究;未经本社许可,数字图书馆不得使用

科 学 出 版 社 出 版

北京东黄城根北街16号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

中国科学院印刷厂印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2006年3月第 一 版 开本:787×1092 1/16

2006年3月第一次印刷 印张:22 3/4

印数:1—4 000 字数:522 000

定价:59.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换〈科印〉)

《现代骨转移瘤诊治学》编写人员

主 编 李林法

编 者(按姓氏拼音排序)

陈晓钟 冯智英 林向进 沈文华 石根明

王昌兴 王 薇 王 跃 吴福生 吴国琳

徐 农 徐 勤 徐三中 严森祥 余国友

张鸿未 张 鑫 赵 葵 祝胜美

编写秘书 朱阳军

前 言

恶性肿瘤已日益成为危害人类健康和生命的主要疾病之一。据统计,在我国大城市中,恶性肿瘤已成为第一位死亡原因。骨转移瘤是原发于其他脏器的恶性肿瘤经血运或者其他途径转移到骨骼的肿瘤,是最常见的肿瘤合并症之一。近年来,随着癌症发病率的上升以及癌症治疗水平提高后病人生存期的延长,骨转移瘤的发病率也在逐年上升。70%~80%的肿瘤均可以发生骨转移。骨转移瘤已成为影响癌症病人生存质量、威胁病人生命的主要问题,也是临床研究的一大难题。

在前列腺癌、肺癌、乳腺癌、肾癌、甲状腺癌等肿瘤中,骨是最常见的转移部位。发生骨转移后,病人常有许多并发症,如严重的疼痛、病理性骨折、高钙血症、骨髓抑制等,严重影响病人的生活质量和生活信心。同时,在临床上一旦出现骨转移,将影响临床治疗方案的制定。因此,对骨转移的发生机制进行研究,早期诊断,积极治疗,对于控制肿瘤病程的发展、提高病人生活质量、延长生存时间是很有意义的。

一直以来,临床医务工作者及患者本人与家属对骨转移瘤认识不足,认为肿瘤一旦出现骨转移已属终末期,治疗上往往采取消极的态度,甚至视为“绝症晚期”而放弃治疗。但近年来,随着综合治疗的广泛开展以及医疗诊治技术的发展和进步,对骨转移瘤的治疗理念得到了更新,从而认识到骨转移瘤并不都是肿瘤的终末期。大量实践表明,肿瘤骨转移不同于肿瘤内脏器官的转移,适宜的综合治疗对减轻疼痛、提高生存质量、延长生存时间等方面有确切的效果,有些患者可长期带瘤生存,甚至少数患者能无瘤生存,达到“治愈”。

多年来,国内外医务工作者及研究人员对肿瘤转移,尤其是肿瘤骨转移的发生机制、诊治方法等方面进行了不懈的努力,积累了丰富的经验,在国外已得到相当的重视。但是,国内至今没有一部系统的有关肿瘤骨转移的专著,大多只在相关章节中进行简单的介绍。有感于此,我们参阅了国内外大量文献,并结合自己多年来的临床实践经验,组织编写了《现代骨转移瘤诊治学》,希望对国内肿瘤临床及基础研究工作者进一步深入研究肿瘤转移,特别是肿瘤骨转移有所裨益。

本书共分十五章,主要讨论了肿瘤骨转移研究领域的国内外最新研究进展和诊治手段,涵盖了肿瘤转移、肿瘤骨转移的分子机制、流行病学、影像学与实验诊断、药物治疗、手术治疗、放射治疗、内放射导向治疗、疼痛的处理及护理、预防、实验研究方法等诸方面内容。

在本书的编写过程中,得到了同行许多老师的关心、鼓励、支持和指导;也得到了浙江大学医学院附属第一医院领导和科学出版社领导及编辑的支持和帮助;另外,本书参考了许多有关专著、文献、图表,在此一并表示衷心的感谢和崇高的敬意。

尽管我们尽了最大努力,但限于学术水平和编写能力,加之时间仓促,本书错误之处在所难免,恳请指正,以便进一步修订。

李林法

2005年3月

• i •

目 录

第一章 肿瘤转移概述	1
第一节 肿瘤转移的概念	1
第二节 肿瘤转移机制	2
第三节 肿瘤转移过程	17
第四节 肿瘤转移的方式	20
第二章 骨骼解剖与生理	28
第一节 骨骼解剖	28
第二节 骨的血管、淋巴管和神经	39
第三节 骨的生长和代谢	41
第三章 骨转移瘤发生机制及病理生理	48
第一节 肿瘤转移至骨内的途径	48
第二节 骨转移瘤的形成	49
第三节 恶性肿瘤骨转移发生和分布的可能因素	55
第四节 骨转移的特征	60
第五节 骨转移的分子机制	64
第四章 中医中药在骨转移性肿瘤中的应用	80
第一节 古代医家对转移性骨肿瘤的认识	80
第二节 骨转移肿瘤的病因病机	81
第三节 骨转移肿瘤的中医证候	85
第四节 骨转移肿瘤的治则、治法	86
第五节 骨转移肿瘤的常用方药	87
第六节 骨转移肿瘤的辨证论治	88
第七节 骨转移肿瘤现代研究进展	89
第八节 转移性骨肿瘤的预防	93
第九节 中医药抗转移的可能途径和相关机制	94
第五章 骨转移瘤的临床表现	97
第一节 概述	97
第二节 骨转移瘤的临床表现	98
第三节 骨转移瘤并发症	101
第四节 骨髓转移瘤	111
第六章 骨转移瘤流行病学及特性	118
第一节 概述	118

第二节 乳腺癌骨转移	121
第三节 前列腺癌骨转移	122
第四节 肺癌骨转移	124
第五节 消化系恶性肿瘤骨转移	124
第六节 其他肿瘤骨转移	127
第七章 骨转移瘤的诊断	133
第一节 X线诊断	133
第二节 CT诊断	146
第三节 MRI诊断	151
第四节 DSA诊断	160
第五节 超声检查	162
第六节 穿刺活检	165
第七节 良性和恶性骨肿瘤的鉴别诊断	167
第八节 骨转移瘤的实验室诊断	168
第八章 核素功能分子影像在骨转移瘤诊断中的应用	177
第一节 核素骨显像原理及显像剂	177
第二节 核素骨显像方法	180
第三节 骨转移瘤在核素骨显像的特征	181
第四节 核素骨显像的临床应用	186
第五节 PET在骨转移瘤诊断中的应用	188
第九章 骨转移瘤的外科治疗	193
第一节 概述	193
第二节 脊柱转移瘤的治疗	197
第三节 四肢骨转移瘤的治疗	205
第四节 骨盆转移瘤的治疗	219
第五节 影响疗效的因素分析	228
第十章 骨转移瘤的放射治疗	234
第一节 放射物理学基础	234
第二节 放射生物学基础	239
第三节 骨转移瘤的放射治疗	247
第十一章 骨转移瘤的药物治疗	254
第一节 概述	254
第二节 内分泌治疗	254
第三节 双膦酸盐类药物对骨转移瘤的治疗	264
第四节 骨转移瘤并发症的处理	268
第五节 心理治疗	276
第十二章 骨转移瘤核素内放射治疗	282
第一节 核素内放射治疗骨转移瘤的基础	282

第二节	用于骨转移瘤治疗的放射性核素	285
第三节	^{153}Sm -EDTMP 治疗骨转移瘤	286
第四节	$^{89}\text{SrCl}_2$ 治疗骨转移瘤	289
第五节	^{186}Re 及 ^{188}Re 治疗骨转移瘤	293
第六节	其他治疗骨转移瘤的放射性药物	295
第十三章	骨转移瘤疼痛的处理	298
第一节	概述	298
第二节	骨转移瘤疼痛发生的机制	298
第三节	骨转移瘤疼痛综合征	300
第四节	疼痛的评估	304
第五节	疼痛的治疗	310
第六节	疗效评估与注意事项	325
第十四章	骨转移瘤病人的护理	329
第一节	转移性肿瘤病人的一般护理	329
第二节	骨转移瘤病人的护理	335
第十五章	骨转移瘤常用实验模型及实验方法进展	345
第一节	骨转移瘤实验模型的基本概况	345
第二节	前列腺癌骨转移动物模型	345
第三节	乳腺癌骨转移动物模型	349
第四节	骨转移动物模型活体内评价方法	351

第一章 肿瘤转移概述

第一节 肿瘤转移的概念

具有局部浸润和远处转移的能力是恶性肿瘤区别于良性肿瘤的基本特征,是恶性肿瘤致病人死亡的主要原因,是医学界面临的一个有待攻克的难题。侵袭、浸润是肿瘤转移的前提条件。肿瘤侵袭是指肿瘤细胞脱离原发瘤向周围组织突破,其标志是肿瘤细胞突破基底膜。肿瘤浸润是指肿瘤细胞进入组织间隙,并在其中生长、繁殖。肿瘤转移是指肿瘤细胞从原发部位侵入淋巴管、血管或体腔,迁移到另一远隔部位或器官而在该处继续生长,形成与原发肿瘤同样类型的肿瘤,这一过程称为肿瘤的转移,所形成的肿瘤称为转移瘤或继发瘤。肿瘤转移包括三个内容:①瘤细胞在远隔部位形成与原发瘤相同的转移瘤;②转移瘤继续生长、繁殖;③转移瘤可再侵袭、转移。与肿瘤浸润导致的直接蔓延不同,转移瘤与原发瘤不具连续性,它们之间相隔一定的距离。肿瘤侵袭、浸润不一定发生转移,但肿瘤转移必定有肿瘤的侵袭和浸润过程。

肿瘤转移的全过程包括瘤细胞的脱离、转运和生长三个环节:①瘤细胞自原发灶脱离,向周围组织浸润,穿过局部毛细血管或淋巴管壁,或突入腔道;②进入血管、淋巴管中的肿瘤细胞继续存活并被转运;③被转运的肿瘤细胞黏附于某一处的血管或淋巴管内皮细胞,并穿透管壁,向周围间质浸润、生长、繁殖,形成新的肿瘤。上述任一环节受到干扰,转移瘤都不能形成。由于受到肿瘤细胞本身的生物学行为及宿主免疫状态等因素的影响,进入血管或淋巴管中的瘤细胞并非都能形成转移灶,实际上,在恶性肿瘤患者体内,肿瘤细胞经常进入血管或淋巴管内,但能真正发生转移的并不多见。

恶性肿瘤在生长过程中变得越来越富有侵袭性的现象称为肿瘤的进展,包括生长速度加快、浸润周围组织和远处转移等。这些生物学现象的出现与肿瘤的异质化有关,肿瘤的异质化是指由一个克隆来源的肿瘤细胞在生长过程中形成的在侵袭能力、生长速度、对激素的反应、对抗肿瘤药物的敏感性等方面有所不同的亚克隆的过程。其原因是在单克隆性肿瘤的生长过程中,可能有附加的基因突变作用于不同的瘤细胞,使得瘤细胞的亚克隆获得不同的特性。例如,依赖生长因子的亚克隆可因生长因子的缺乏而停止生长,而那些需要较少生长因子的亚克隆仍可继续生长;具有较高抗原性的亚克隆被宿主的免疫防御系统所杀死,而抗原性低的亚克隆则可躲避宿主的免疫攻击。由于这些原因,肿瘤在生长过程中能保留那些适应生长繁殖、浸润与转移的亚克隆。

临床上,转移灶常为多发性,其生物学特性与原发瘤相似,如 AFP 阳性肝细胞癌转移灶亦有分泌 AFP 的功能,可见胆汁分泌;黏液腺癌保留有黏液分泌功能。必要时,可

借助免疫组织化学分析来鉴别是否为转移灶。转移瘤发生变异者不在少数,多数转移瘤分化更差,以致特殊结构散失。原发肿瘤中有分化程度不同的肿瘤细胞合并存在,而发生转移的那部分细胞常为分化差、侵袭性高者,因此,多数转移瘤的生物学行为表现比原发瘤更差,其生长速度更快,这一现象在临床上常能见到,但亦有分化反而高者。并非所有的恶性肿瘤都会发生转移,在皮肤恶性肿瘤中,除恶性黑素瘤易于发生远处转移外,其他肿瘤如皮肤基底细胞癌、皮肤鳞癌等很少发生转移。据临床资料统计,皮肤基底细胞癌发生转移的仅有 0.0028%,皮肤鳞癌约 2%~6%。

第二节 肿瘤转移机制

关于肿瘤转移的机制,目前认为具有说服力的是 Paget 提出的“种子和土壤(seed and soil)”学说和 Fidler 提出的肿瘤细胞的异质性理论。Paget 对 700 多例乳腺癌的转移进行分析后,发现了明显的器官亲和性,并提出了“种子和土壤”学说。Paget 学说的主要论点为:肿瘤细胞(“种子”)生长在某种特定靶器官(“土壤”)提供的局部环境及亲和性条件中,一定的“种子”只在一定的“土壤”中才能生长。这就是器官特异性转移的原因。1973 年,Willis 通过大量肿瘤尸检资料为该学说提供了依据。临床资料显示,很多不同部位的原位肿瘤高度选择性地 在一些部位形成肿瘤转移灶,如临床上的黑色素瘤很多能形成中枢神经系统转移,而从动力学上分析,肿瘤是较难到达中枢神经系统的。部分实验结果也支持这一理论。如小鼠淋巴瘤 RAW117 静脉注射到小鼠体内,肿瘤多数形成肝转移而非在先期到达的肺部形成转移。20 世纪 70 年代后,基础医学的迅速发展,极大丰富了这一学说。1989 年 3 月在美国休斯敦召开的“癌的演进和转移中的决定因素”国际专题研讨会,对这一学说做了重点讨论。器官特异性转移的机制目前不是很明确,以下两个原因可能与其有关:①黏附分子以及它的相应配体在宿主器官和肿瘤细胞中的特定表达可能与器官特异性有关。肿瘤细胞在宿主器官的黏附是特异和高度选择的过程,主要通过选择素介导的肿瘤细胞-内皮细胞黏附以及通过整合素介导的肿瘤细胞-细胞外基质相互作用。②肿瘤细胞的运动能力及趋化性是 与器官特异性转移灶形成有关的另一个原因。

Fidler 等对肿瘤转移的系统研究提出肿瘤细胞的异质性理论:同一肿瘤组织中各肿瘤细胞间转移能力存在很大的差异,通过体内转移灶的再接种,即能筛选出不同转移能力的细胞系,如同一种肿瘤(小鼠黑色素瘤 B16)可分离出高转移性的 B16-F10 细胞系和弱转移性的 B16-F1 细胞系。这些差异表现在不同的肿瘤细胞对外部环境的适应性存在很大的差异。因此,我们在谈及肿瘤转移的各外界环境及分子的同时,不能忽视肿瘤细胞的内部作用。通过这些研究,人们发现一些细胞内因(如细胞因子和生长因子)和一些虽然看上去似与肿瘤转移过程无关的因素,如细胞代谢、细胞钙状态、细胞内与钙相关的酶活性、蛋白磷酸化等均可能是肿瘤细胞最终是否表达转移特性的因素。细胞异质性是细胞对外界环境做出最后反应的基础,即内因。因此,肿瘤转移异质性的研究对肿瘤本身特性的了解及深入揭示细胞特性与肿瘤转移这一显性特征间的深层联系是非常有用的。

现已证明,原发瘤并不是单一类型的细胞构成,而是含有多个不同的肿瘤细胞亚群。在肿瘤发展过程中,这些亚群的侵袭能力、转移能力并不一致,并非所有瘤细胞都具有侵袭和转移潜能。这也是 20 世纪 70 年代提出的肿瘤侵袭与转移的异质性的依据。侵袭性、转移性是肿瘤细胞与宿主组织或细胞相互作用、不断消长和选择过程中最具有侵袭和转移性肿瘤细胞竞争存活与发展的结果。转移的形成,并不仅仅是由于肿瘤细胞对某器官环境有适应性,还包括原发瘤中具有不同转移潜能的肿瘤细胞亚群的存在。因此,转移的形成应指具有高转移潜能的细胞亚群与相应的微环境相互作用的结果。

肿瘤转移是癌细胞与宿主细胞相互作用的连续复杂过程,肿瘤转移的每一过程均需要各种生物分子、酶类参与,涉及多因素、多步骤的分子生物学变化过程。因此,要研究肿瘤转移的机制,必须从分子生物学水平来讨论。首先,黏附性差的肿瘤细胞从原部位脱落,然后侵入细胞外基质(ECM),与基底膜(BM)中大分子蛋白黏附,激活肿瘤细胞合成并分泌各种降解酶类,降解 ECM 与 BM 后,穿过脉管壁进入循环系统,最后在循环中逃避免疫系统攻击的肿瘤细胞而黏附于内皮细胞。在一系列细胞因子及酶的作用下,穿出脉管壁外至周围间质内,在生长因子、血管生成因子的作用下,肿瘤血管形成,肿瘤细胞继续生长、繁殖,形成转移瘤。

以下从分子生物学水平来讨论肿瘤转移的机制。

一、细胞黏附机制与转移

肿瘤细胞黏附包括肿瘤细胞与肿瘤细胞之间的同质型黏附和肿瘤细胞与基质细胞之间的异质型黏附。一方面肿瘤细胞间的附着减弱,使肿瘤细胞脱离与周围细胞的附着,这是肿瘤浸润及转移的第一步;另一方面,肿瘤细胞黏附于基质和血管内皮细胞,并进入血循环造成血行转移,这一过程需要黏附因子的参与。细胞黏附因子(cell adhesion molecules, CAMs)是介导细胞和细胞、细胞和细胞外基质间黏附和相互作用的转膜糖蛋白,它们不仅参与细胞黏附,还可以介导信号传导、细胞生长、分化、特定部位基因表达及细胞异形性的产生、细胞运动、炎症反应等。迄今,研究发现的 CAMs 不下几十种,按其基因家族可将它们分类为免疫球蛋白超家族、选择整合蛋白超家族和钙黏附蛋白超家族、蛋白家族四大类以及其他,如 CD44 等。

1. 免疫球蛋白家族 包括细胞间黏附分子-1(intercellular-adhesion molecule, ICAM-1)、ICAM-2、ICAM-3、VCAM-1(vascular CAM)、CD31 等。其共同特点是胞膜外部分的结构是免疫球蛋白的功能区。此家族的黏附分子与整合蛋白家族成员可互为配体-受体。这一组分子在内皮细胞上表达,与白细胞上的相应受体结合,在白细胞游走、外渗过程和淋巴细胞的激活、增殖中起着关键的作用。

细胞间黏附分子-1(ICAM-1)又称 CD54,是分子质量为 70~110kDa 的糖蛋白,它是由 7 个外显子编码而成。ICAM-1 在人体正常组织中表达十分局限,仅限于淋巴细胞、某些上皮细胞、内皮细胞等。血清 ICAM-1(sICAM-1)主要来源于肿瘤细胞,是由 ICAM-1 膜外区脱落进入体液的,仍具有与淋巴细胞功能相关抗原-1 结合的功能,参与细胞-细胞、细胞-细胞外基质的黏附,从而促进肿瘤细胞侵袭和转移。高表达的 CD54 的癌细胞

可能通过淋巴细胞功能相关抗原-1(LFA-1)与浸润肿瘤细胞结合,导致癌细胞间黏附力降低,从而使肿瘤细胞容易进入血液。sICAM-1 可通过以下机制促进肿瘤细胞发生侵袭和转移:①肿瘤细胞产生的 sICAM-1 通过与白细胞、淋巴细胞的淋巴细胞功能相关抗原-1 结合,增强肿瘤细胞与白细胞、淋巴细胞间的异质型细胞黏附,导致肿瘤细胞间同质型黏附减弱,肿瘤细胞从肿瘤原发母体脱离,进而发生浸润和迁移。②sICAM-1 可增强肿瘤细胞与细胞外基质的黏附作用。③血清中大量 CD54 的存在封闭了循环中 T 淋巴细胞表面的 LFA-1 和巨噬细胞的 MAC-1 受体,使其丧失了对肿瘤抗原的提呈作用和对肿瘤细胞的细胞毒性作用,抑制自然杀伤细胞及细胞毒 T 细胞的细胞杀伤作用,使肿瘤细胞得以逃避机体的免疫监视,抗肿瘤作用减弱。

2. 选择蛋白与肿瘤转移 选择蛋白(selectin)是一种和白细胞的运行密切相关的 C 类动物凝集素,包括 E-选择蛋白、P-选择蛋白、L-选择蛋白三个成员。他们的基因簇集在一号染色体上的一个小区间内,有高度的同源性。在炎症过程中,选择蛋白通过与配体的结合介导白细胞在血管内皮细胞表面的滚动。一般来说,糖蛋白、糖脂和蛋白聚糖上唾液酸化的、糖基化的和硫酸化的糖基是选择蛋白的结合位点。Sle^x 是三种选择蛋白的共同配体。唾液酸化的 Lewis X 和 Lewis A 是选择蛋白识别的最小配体。

选择蛋白主要介导异型细胞黏附,如血细胞与内皮细胞黏附。内皮细胞、血小板上选择素受体通过识别癌细胞上相应配体 Lewis 抗原而起介导作用。与转移关系较为密切的是 E-选择蛋白,又称 ELAM-1(endothelial cell leukocyte adhesion molecule-1),是存在于血管内皮细胞表面的一种黏附分子。在生理条件下,ELAM-1 可通过分布在粒细胞、单核细胞及 NK 细胞表面的糖基配体 Sle^x 或 Sle^a 介导内皮细胞与白细胞的黏附。在肿瘤细胞表面也分布有 Sle^x 或 Sle^a,从而促进肿瘤细胞与内皮细胞的黏附。选择蛋白通过介导内皮细胞、血小板与癌细胞黏附,在肿瘤转移中起重要作用。Gianna 等用可溶性 E-选择蛋白封闭于 HT-29 细胞的表面,可阻断其由细胞因子诱导的肺转移。E-选择蛋白免疫印迹则表明,可溶性 E-选择蛋白阻断了 HT-29 细胞与激活的血管内皮细胞表面 E-选择蛋白依赖的结合,且阻止了 HT-29 细胞在肺部的停留。P-选择蛋白在肿瘤转移中的作用与 E-选择蛋白相类似,均是直接介导肿瘤细胞与血管内皮细胞间的黏附。Pottratz 等报道表明,小细胞肺癌细胞 H82 黏附于激活的血管内皮细胞表面是由 P-选择蛋白的表达量增加所导致的。Kaytes 等的研究表明,P-选择蛋白介导了人黑色素瘤细胞的黏附,而且这种黏附可被 P-选择蛋白的抗体所阻断。在人的胰腺癌细胞株 SUIT 上有 P-选择蛋白的表达,但其表达量与转移的关系尚未被确定。令人感兴趣的是,该瘤株上同时又有 P-选择蛋白配体 Sle^x 的表达,且 P-选择蛋白的表达量可由刺激血小板上 P-选择蛋白表达增加的相同的刺激因素所导致。因此,有可能由此导致同种肿瘤细胞间的黏附,进而产生肿瘤栓子,而肿瘤栓子的产生正是胰腺癌的重要临床特点之一。

目前,尚不十分清楚 L-选择蛋白是否直接参与肿瘤的转移,尽管其作为淋巴细胞的归巢受体在淋巴细胞生理功能的执行上发挥着重要的功能。Roos 等人发现,在 T 细胞杂交瘤中,那些专一性向周围淋巴结转移的肿瘤细胞表面有强的 L-选择蛋白表达,但不能确定它们之间的必然联系。在非霍奇金淋巴瘤中,肿瘤细胞向淋巴结的扩散被认为是肿瘤细胞扩散的重要环节,而在淋巴结中定植的非霍奇金淋巴瘤细胞表面经常有 L-选

择蛋白的表达,那些优先在周围组织中定植的淋巴瘤表面则少有 L-选择蛋白的表达。

除 L-选择蛋白外,在人体的正常生理状态下并无 E-选择蛋白、P-选择蛋白的表达,因此,可以利用 E-选择蛋白、P-选择蛋白配体的类似物封闭其与配体间的结合,以达阻断肿瘤细胞与血管内皮细胞间的黏附、抑制肿瘤转移之目的。总之,选择蛋白在正常的生理状态和炎症过程中发挥重要作用,而肿瘤则由机体的正常细胞经长期、逐步演化发展而来,在机体免疫系统的选择压力之下,致使那些发生有利于生存的突变积累,其中有一些可能便是利用了选择蛋白与配体间的识别与黏附,以有利于肿瘤的浸润与转移。因此,对选择蛋白生理机能的深入研究有利于防治肿瘤转移,而对肿瘤细胞如何诱导选择蛋白表达以及自身携带选择蛋白配体增加的机制研究则有助于找出其特异性,在抑制肿瘤转移的同时不影响机体正常生理功能的发挥,而这可能正是肿瘤治疗的方向所在。

3. 整合素(integrin)与肿瘤转移 整合素是一类细胞膜表面的糖蛋白受体家族分子,主要介导细胞与细胞外基质(extracellular matrix, ECM)、细胞与细胞的黏附,使细胞内骨架与细胞外基质得以整合形成整体,并参与调控细胞分化、增殖及凋亡等过程。整合素分子是由 α 和 β 亚基通过非共价键连接构成的二聚体分子,目前认为, α 亚单位与基质特异性黏附有关, β 亚单位则可能与细胞的信号传导功能有关。尽管整合素配体多是大分子质量的 ECM 蛋白,如胶原(collagen, CO)、层粘连蛋白(laminin, LN)、纤维连接蛋白(fibronectin, FN)等,但是大多数整合素只是识别配体蛋白中相当短的一段多肽序列,如 RGD 序列中的任何一个氨基酸或进行甲基化、亚甲基化修饰,则会大大减弱整合素与 ECM 的结合。因此,含 RGD 的合成肽与整合素结合可抑制肿瘤细胞浸润、血行转移。

整合素在肿瘤的进展中有双重作用:在肿瘤早期,整合素表达降低可导致瘤细胞与基底膜或 ECM 成分的黏附作用减弱,有利于肿瘤的扩散;在肿瘤进展期,当瘤细胞进入血循环后,整合素表达增高有利于肿瘤细胞黏附于血管内皮。

整合素与肿瘤转移的关系主要表现在以下几个方面:①整合素可使同质性黏附下降,促进肿瘤细胞从瘤体上脱落下来。Whittard 等发现,整合素在调节纤维肉瘤细胞同质型黏附方面起重要作用。用整合素单克隆抗体 12G10 处理后的细胞,细胞之间的黏附性增强 5~10 倍,从而抑制了肿瘤的转移。②整合素使肿瘤细胞异质型黏附增加。整合素能与基质中 I、IV 型胶原及 LN、FN 等结合,因此,在异质型黏附中起着关键作用。Guo 等通过细胞切片和免疫组化法发现,胶质瘤 SH44 细胞膜表面表达整合素 β_1 ,抗整合素 β_1 抗体可明显抑制 SH44 细胞与胶原蛋白 I、IV 的黏附。③整合素可与基质金属蛋白酶(MMPs)直接结合,并且可正向调控金属蛋白酶的表达,而 MMPs 在基质降解、破坏中起重要作用。④整合素作为血管内皮与细胞外基质的桥梁,在血管生成过程中起重要作用。在体外和体内实验中, $\alpha_1\beta_1$ 、 $\alpha_2\beta_1$ 、 $\alpha_v\beta_3$ 、 $\alpha_v\beta_5$ 均影响血管生成。整合素表达于血管内皮细胞,介导内皮细胞的转移和毛细血管腔的形成,其中 $\alpha_v\beta_3$ 、 $\alpha_v\beta_5$ 整合素的作用尤为重要。ECM 是整合素的配体,内皮细胞侵入基质组织之前,ECM 降解;微血管形成之后,新的 ECM 是整合素的配体,新的 ECM 如胶原和层粘连蛋白的沉积形成新的血管腔。另外,体外实验发现,整合素诱导内皮细胞形成毛细血管样结构与基质成分的选择有关,如 $\alpha_2\beta_1$ 主要调控 I 型胶原中内皮细胞的形态变化, $\alpha_v\beta_1$ 整合素参与 FN 基质中血管的

生成。

4. 钙黏附蛋白(cadherin, CD)与肿瘤转移 钙黏附蛋白是一类介导细胞间黏附作用的跨膜糖蛋白,其功能执行依赖于钙的存在。近年来已发现 30 余种钙黏附蛋白,可分为上皮性钙黏附蛋白(E-钙黏附蛋白)、神经细胞钙黏附蛋白(N-钙黏附蛋白)和胎盘钙黏附蛋白(P-钙黏附蛋白)等三个亚型。不同的钙黏附蛋白具有相同的结构,均具有相似的、含有 723~748 个氨基酸组成的一级结构,为 I 型膜蛋白,可分为信号肽序列、细胞外片段、高度疏水的跨膜片段和细胞内片段。钙黏附蛋白分子在分子与分子连接方面具有特异性,并参与选择性细胞黏附。钙黏附蛋白的失活引起细胞-细胞连接的破坏,而以 cDNA 转染引起的 E-钙黏附蛋白过度表达,则导致细胞间更紧密的黏附。在肿瘤形成过程中,细胞黏着现象虽然各有某些特征,但同样需要钙黏附蛋白的参与。

上皮钙依赖黏附素(E-cadherin, E-CD)见于成人上皮细胞,主要介导同质性细胞黏附,如瘤细胞与瘤细胞之间的黏附。因为同质型细胞间的黏附使瘤细胞之间保持密切的接触,难以脱离原发瘤侵入周围组织和血管,故 E-CD 表达减少,有助于肿瘤侵袭转移。在人体肿瘤的研究中发现,食管、胃、乳腺、前列腺以及头颈部等恶性肿瘤中 E-CD 表达降低的肿瘤往往呈浸润性生长,发生广泛的淋巴结转移。在人类的恶性肿瘤中,钙黏附蛋白系统失活表达的可能机制有三个方:①肿瘤基因突变时,钙黏附蛋白的表达下调;②黏附蛋白的基因丢失或异常;③生物化学结构的改变,如钙黏附蛋白的磷酸键结构改变。肠癌的研究发现,50%以上显现其细胞上 E-钙黏附蛋白第 8 或 9 外显子缺失,这种缺失直接影响钙结合区。

E-钙黏附蛋白的表达及结构方面的改变可导致肿瘤分化的散失以及侵袭性肿瘤表型的发展。在人癌细胞株体外研究中,E-钙黏附蛋白介导细胞黏附的消失与侵袭性、分化差的细胞表型有关。用 E-钙黏附蛋白的 cDNA 转染去分化的癌细胞,增加了细胞间的黏附性,并能抑制侵袭表型。不同肿瘤 E-钙黏附蛋白表达的研究表明,分化较好的低侵袭性肿瘤中 E-钙黏附蛋白表达较强,而分化差的具有较强侵袭能力的肿瘤 E-钙黏附蛋白表达下降。体内 E-钙黏附蛋白表达的下降导致 E-钙黏附蛋白介导的侵袭抑制系统失活。

大量的临床和实验研究表明:E-钙黏附蛋白具有抑制肿瘤转移的功能,E-钙黏附蛋白基因为一个重要的肿瘤抑制基因。

5. CD44 与肿瘤转移 透明质酸受体 CD44 是一类重要的黏附分子,与肿瘤转移密切相关。CD44 基因位于人类第 11 号和小鼠第 2 号染色体上,其外显子按表达方式可分为两类:一类为组成型外显子(constructive exon, CE),其编码肽段存在于所有 CD44 分子中;另一类是变异型外显子(variant exon, VE),它们可被选择性剪接。CD44 基因中至少有 10 个变异型外显子,依次编码为 V1~10。一般将不含 V 编码序列的 CD44 称为标准 CD44(standard isoform, CD44s),而将含有不同 V 编码序列的 CD44 称为 CD44 剪接变异体(splicing variant, CD44v 或 hematopoietic form, CD44h)。近来发现,CD44 与肿瘤转移之间的关系十分复杂,与 CD44 的分子类型及肿瘤组织类型皆有关。

在许多恶性肿瘤细胞中,CD44 的表达均表现为上调或类型转化,表明 CD44 与肿瘤细胞的转移密切相关,确实促进了某些肿瘤的转移。而且,在不同组织类型的恶性肿瘤

中,高表达的或者恶性肿瘤特异的 CD44 的类型也有所不同,因此,CD44 促进转移的作用还可能与肿瘤组织类型有关。但是,在有些恶性肿瘤中,CD44 的表达不是上调而是下降,CD44 似乎能抑制这些肿瘤的转移。例如,在典型性支气管类癌病人中,CD44v9 阳性的人群发生远处转移或肝转移的几率,要远远低于 CD44v9 阴性的人群。

CD44 可能通过影响肿瘤细胞的黏附而促进转移。一方面,某些 CD44(如含 V10 的 CD44)可能促进肿瘤细胞间较弱的同质黏附,从而促进肿瘤微栓的形成,相对于单个细胞,肿瘤微栓更易在循环系统中存活并着床;另一方面,CD44 可能直接促进肿瘤细胞与血管内皮细胞的黏附,因为这些内皮细胞组成型地表达 CD44s,在适当刺激下,可能转而表达其他 CD44 分子(如含 V10 的 CD44)与肿瘤细胞表面 CD44 相互黏附;或者 CD44 分子间交联,引起信号转导,影响了肿瘤细胞表面其他转移相关的黏附分子(如整合蛋白 LFA-1)的表达和活性。CD44 可能通过降解透明质酸(HA)、上调 MMP-2 的表达或将 MMP-9 锚定于膜上,促进肿瘤细胞外基质的降解。HA 的降解产物还有刺激新生血管形成的相互作用。而 ECM 的降解和新血管生成则是肿瘤侵袭过程的重要步骤,因此,CD44 促进了肿瘤细胞的侵袭。CD44 可能通过与细胞骨架的相互作用促进细胞的运动,或者通过自身的裂解造成旧的黏附的解体,使细胞向前运动。

二、细胞外基质的降解机制与转移

肿瘤细胞必须穿过细胞外基质(extracellular matrix, ECM)才能向周围浸润、转移,ECM 包括基底膜、间质及基质等屏障,主要组成成分为各型胶原、非胶原性糖蛋白、蛋白多糖和糖胺多糖。分布于上皮细胞和内皮细胞基底膜的主要成分为 VI 型胶原。非胶原糖蛋白中主要有层粘连蛋白(LN)、纤维粘连蛋白(FN)、弹力蛋白(elastin)等;糖胺多糖类包括透明质酸、软骨素、硫酸肝素、肝素、硫酸角质素等。不同的 ECM 成分由不同的蛋白水解酶降解。蛋白水解酶可分为四大类:丝氨酸蛋白酶类、半胱氨酸蛋白酶类、天冬氨酸蛋白酶类及基质金属蛋白酶类(MMPs)。

(1) 丝氨酸蛋白酶类:主要包括纤维蛋白溶解酶原激活剂(PA)及其所激活的产物纤溶酶、白细胞弹力蛋白酶及组织蛋白酶 G。其中对 PA 研究较多,可分为尿激酶型(u-PA)和组织型(t-PA)。PA 的功能是将无活性的纤溶酶原激活为有活性的纤溶酶,纤溶酶除直接降解细胞外基质成分外,还可激活金属蛋白酶,参与细胞外蛋白水解作用。t-PA 通过激活纤溶酶原而降解纤维蛋白以溶解血栓,主要参与生理性溶栓。

(2) 半胱氨酸蛋白酶类:包括组织蛋白酶 B、H、L 等,以组织蛋白酶 B(cathepsin B, CB)较有意义。CB 是一种硫基刺激性的蛋白水解酶,可活化某些胶原酶及 u-PA 的前体,正常情况下只存在于溶酶体内,最适宜 pH 为酸性,在中性或碱性 pH 下无活性,而来自肿瘤组织的 CB 大多存在于细胞膜上,在中性或弱碱性 pH 下活性更高。

(3) 天冬氨酸蛋白酶类:主要包括组织蛋白酶 D(cathepsin D, CD)。CD 可由体外培养的乳腺癌细胞所分泌,CD 可降解细胞外基质和基底膜,并激活其他蛋白酶,如组织蛋白酶 B、L 及胶原酶等,从而促进肿瘤的浸润与转移。

(4) 基质金属蛋白酶类(matrix metalloproteinases, MMPs):在参与破坏细胞外基

质的酶中,基质金属蛋白酶类(MMPs)是重要的一类。基质金属蛋白酶(MMPs)是蛋白水解酶,几乎能降解除多糖外细胞外基质的所有成分。

与肿瘤侵袭、转移关系最为密切的是基质金属蛋白酶类和丝氨酸蛋白酶类中的尿激酶型纤溶酶原激活物(u-PA)及纤溶酶原激活剂(PA),以下重点论述这两个酶类。

1. 基质金属蛋白酶 自1962年Gross等人首先发现第一种间质胶原酶并命名为MMP-1至今,按发现顺序已命名到MMP-28。除个别被发现与已知的MMPs重复而被取消外,在MMPs家族中至少已发现23个成员。根据作用底物的不同,把MMPs分为胶原酶(collagenases)、明胶酶(gelatinase,又称Ⅵ型胶原酶)、基质溶解素(stromalysins)、膜型MMPs(membrane type MMPs)和其他MMPs等5类。MMPs多为以酶原形式分泌的锌依赖型肽链内切酶。除了含有信号肽、前导肽、一个高度保守的含锌结合位点的催化域和类血红蛋白结构域等共有结构外,不同的MMPs还有各自的特征性结构。MMPs是一个大的蛋白水解酶家族,它能降解各类胶原、纤维粘连蛋白、层粘连蛋白、弹力蛋白等,所有这些均为基底膜的骨架成分。目前大量研究证实,细胞外基质的降解在肿瘤转移连锁步骤中是关键的一步。

基质金属蛋白酶的主要功能:

(1) 降解细胞外基质:细胞外基质是细胞生存的重要内环境,不仅含有胶原、糖蛋白、蛋白多糖等成分,而且含有大量的蛋白酶、细胞因子、黏附分子。ECM尤其是其中的基底膜,是肿瘤转移过程中必须克服的生理屏障。在肿瘤侵袭过程中,肿瘤细胞首先与基底膜表面受体,如纤维连接蛋白和层粘连蛋白结合,然后分泌MMPs等降解酶或诱导基质细胞分泌酶类,降解基底膜和基质,最终肿瘤细胞沿基底膜缺损和基质空隙向周围生长。

(2) 在新生血管形成中的作用:新生血管形成的过程包括毛细血管内皮层下基底膜降解、内皮细胞迁移和增殖、新生血管形成和新的基底膜形成等一系列过程。体外实验表明,在血管形成与肿瘤转移的过程中,血管内皮细胞与肿瘤均能分泌蛋白水解酶,降解ECM。Fang等研究证实,在肿瘤结节内新生血管形成的早期,MMP-2有重要的作用。MMP-2外源性抑制物或反义核酸均能导致肿瘤蛋白水解能力及新生血管能力的丧失。

(3) 调节细胞生长:MMP-7能降解细胞膜上的Fas配体,从而抑制Fas介导的细胞凋亡,促进肿瘤生长。间质溶素-3(MMP-11)可能通过分解胰岛素样生长因子结合蛋白,释放胰岛素样生长因子I(IGF-I),抑制肿瘤细胞凋亡。研究表明,TIMP-1与TIMP-2有促进细胞生长的作用。TIMP-1能抑制B细胞小无裂细胞性淋巴瘤(Burkitt淋巴瘤)凋亡,TIMP-2参与MMP-2的激活,TIMP-3高表达能诱导一些肿瘤细胞及正常细胞凋亡,TIMP-4可抑制接种于裸小鼠的人乳腺癌MDAMB435细胞凋亡而促进肿瘤生长。

(4) MMPs的调控机制:机体正常的生理过程,如胚胎发育、组织塑性、血管再生、子宫延伸以及骨的重吸收等都依赖于细胞外蛋白水解的调控。真核细胞分泌的金属蛋白酶可通过降解细胞外基质中的大分子,诸如胶原和蛋白糖胺等引起组织改型。恶性细胞则利用该作用促进肿瘤的侵袭和转移。目前发现机体内MMPs活性至少受5种形式的调节,包括转录水平的调节、酶原的活化、特异性组织抑制因子、其他抑制因子和负反馈调节等。近年研究证实,许多因素均可影响酶原的合成与分泌。所有MMPs酶原在体外

均可被有机汞化合物或烷化剂通过半胱氨酸开关机制所激活,在体内可被纤溶酶等激活。其确切的活化机制至今尚未完全阐明。较为公认的是蛋白分解瀑布机制,即纤溶酶原在尿激酶-纤溶酶原激活剂或组织纤溶酶原激活剂的催化下变成纤溶酶,从而活化潜伏的间质胶原酶、基质溶解素和明胶酶B。酶原的激活及其与特异组织抑制因子(TIMPs)的相互作用决定了酶的净活力,TIMPs家族成员与MMPs家族各成员之间存在共同调节的特征,使得MMPs-TIMPs在一定程度上保持协调平衡的关系。

2. 尿激酶型纤溶酶原激活物(urokinase-type plasminogen activator, u-PA)及其受体(u-PAR) 尿激酶型纤溶酶原激活物(u-PA)介导的纤维蛋白溶解系统在肿瘤转移中是一个重要因素,u-PA系统包括u-PA、u-PA受体(u-PAR)及纤溶酶原激活物抑制剂1和2(PAI-1、PAI-2)。

u-PA及其受体u-PAR不仅在机体的许多生理过程中,如胚胎形成、血管增生和创口愈合等发挥重要作用,而且在肿瘤的侵袭和转移中也起着关键作用。u-PA是以无活性的u-PA前体通过自分泌或旁分泌的形式分泌的,u-PA对纤溶酶原的激活是通过与u-PAR的结合和其专一性抑制剂PAI-1、PAI-2相互作用而调节的。纤溶酶原的激活是一系列连续的级联放大的过程,此过程的中心环节是u-PAR。u-PAR使u-PA激活并定位于细胞表面,提供了在细胞之间、细胞与基质连接处的局部集中机制,使所有表达u-PAR的细胞(包括肿瘤细胞)有了u-PA介导的蛋白质水解的必要环境。在此过程中,阻断u-PA和纤溶酶中的任何一个,即能消除u-PA介导的蛋白质水解作用。

u-PA系统与肿瘤的浸润、转移密切相关,肿瘤细胞通过产生和表达u-PAR,激活相应的蛋白酶,破坏正常的组织屏障,从而发生浸润与转移。u-PA被证实是在细胞通过基质的运动中所需要的,而且u-PA也在血管形成过程中内皮细胞的迁移中发挥中心作用。u-PA可以启动细胞外蛋白的水解,包括纤溶酶原的激活和基质的降解,这个水解过程使ECM和基底膜重新构建允许细胞通过的屏障,而且这些蛋白水解过程释放多种生长和分化因子于细胞表面,这也有助于细胞表型侵袭和迁移的进展。研究表明,很多肿瘤细胞均有u-PAR的过度表达。Nieto报道,u-PA不仅是肝癌转移的标志,而且与肝癌的形成、血管和胆管的增殖相关,是纤维蛋白溶解酶原激活剂(PA)系统中影响肝癌侵袭最敏感的指标。u-PA受体u-PAR分布于肿瘤与基质交界部,可能与肝癌细胞向周围基质侵袭性生长有关。裸鼠人肝癌转移模型LCI-D20局部肿瘤及肺转移灶均见u-PA的表达。

三、肿瘤细胞运动与转移

肿瘤细胞的积极活动性是其穿透间质以及进入和移出脉管的双向运动的前提。运动能力是肿瘤细胞侵袭性的基本条件,高侵袭性的肿瘤细胞往往具有活跃的细胞运动能力。目前,已发现许多因素可影响肿瘤细胞的运动能力,如生长因子、ECM成分以及宿主细胞与肿瘤细胞自身分泌的因子等。这些因子与相应的受体结合,通过信息传递而引发肿瘤细胞的运动,称为运动因子。大部分运动因子既影响细胞运动,又能影响细胞生长,如自分泌运动因子(AMF)、肝细胞生长因子(HGF/SF);某些运动因子仅影响细胞的运动,如迁移刺激因子(MSF)。