

·综述·

儿童血管瘤的分子生物学研究进展

李基伟 综述 吴学伟 审核

血管瘤是小儿常见病,由胚胎时期血管网增生所形成。胚胎早期,原始血管是一种单纯由内皮细胞组成的管状物。它们在间质中形成一个致密的网,以后随着各器官和组织的发育,原始血管网逐渐分化成为器官与组织间相互联系的血管丛,根据原始血管内的流量和压力,形成供应血管或引流血管。体表和皮下组织的血管网易发生不规则的局部增生,日后即形成血管瘤。血管瘤可生长于身体的任何部位。以皮肤和皮下组织占绝大多数,其次为口腔粘膜和肌肉。较少见于骨骼、肝、脾和颅内,偶尔发生在消化道、肾、心、肺等部位^[1]。基础学科的进步推动了对该病的研究,且已经进入分子水平,国内外学者针对儿童血管瘤在细胞增殖和细胞周期中的现代分子生物学研究有了大量报道,现综述如下。

一、儿童血管瘤的分型

1、传统分型:①毛细血管瘤。毛细血管瘤可分为新生儿斑、葡萄酒斑及草莓状血管瘤。新生儿斑是由于毛细血管扩张所致,是一种淡红色或淡蓝色的表皮病变,出生时即存在,一般在数月内逐渐消失。葡萄酒斑是由于毛细血管扩张所致,不高出皮肤表面,出生即存在,很难消失。草莓状血管瘤由增生的毛细血管组成,可随年龄增长而逐渐增大,也可因为血管栓塞而自行消失。②海绵状血管瘤。由扩张的血管腔隙或血管窦组成(以静脉为主),腔隙被纤维结缔组织分隔成海绵状,自行消失的可能性小。③蔓状血管瘤。由极度扩张的小动脉与小静脉互相交通而成,不能自行消失。④混合型血管瘤。海绵状血管瘤与毛细血管瘤成分同时存在。

2、组织学分型,传统的血管瘤命名和分类方法非常繁杂,且与血管瘤的自然病程及临床特征无直接关系,对临床治疗及预后判断难以起到指导意义。1982 年 Mulliken 搜集 49 例样本,依据血管瘤生理特性、血管瘤显微镜下组织学特征、血管瘤内皮细胞免疫组织化学标记将血管瘤分为两类:①血管瘤

(Hemangiomas)。血管瘤内皮细胞增生活跃,其血管内皮下形成多层基底膜,血管瘤在患儿出生后有明显的增长及消退病史,血管瘤消退期有胶原纤维及脂肪组织沉积,其特征性的分化表达物有 Weibel-Palade bodies (怀布尔-帕拉德体内皮细胞特有的一种小体)、碱性磷酸(酯)酶、VIII 因子。②血管畸形(Vascular malformations)。血管畸形内皮细胞不表现为活跃的增殖状态,为正常的血管内皮细胞,血管畸形出生后即存在,随年龄成比例生长,无消退迹象,可由扩张的小动脉、小静脉、毛细血管和淋巴管或混合成分构成^[2]。

二、血管瘤内皮细胞细胞周期关卡及分裂增殖的核心机制

自 Mulliken 将血管瘤分为血管瘤、血管畸形以来,国内外学者普遍采用此分类方法对血管瘤进行课题研究,这一分型方法后被国际血管异常研究协会(International Society for the Study of Vascular Anomalies, ISSVA)采纳^[3]。此分型方法使临床医务人员对血管瘤有了新的认识,并对临床治疗有一定的指导意义。迄今为止对血管瘤的分子生物学研究重点放在血管瘤内皮细胞及其与人体正常血管内皮细胞所表达小分子物质的对比研究方面。

正常血管内皮细胞属于稳定型细胞,血管内皮细胞增殖按 G₁ 期(DNA 合成前期)→S 期(DNA 合成期)→G₂ 期(DNA 合成后期)→M 期(细胞有丝分裂期)→G₁ 期或进入 G₀ 期(静止期)的方式进行,细胞周期中不同时相转换的调控十分精确。一个时相结束,下一个方能开始^[4]。在细胞周期中存在 3 个关键的转折点或关卡(check-point),即 G₁-S 期转折点、G₂-M 期转折点和 M 中期/M 后期转折点。这个过程不可逆,因此就决定了细胞周期是单向性进行的^[5]。当细胞处于特殊情况下,如 DNA 受损伤时,就会停下来对其进行修复,修复成功后进入下一个阶段。目前对血管瘤的研究主要集中于细胞增殖周期的 3 个关卡。

根据细胞调控蛋白的作用以及作用靶事件(DNA 合成和细胞分裂)的不同,细胞周期调控基因

作者单位:大理学院附属医院小儿外科(云南省,671000),
通讯作者:吴学东,E-mail:nick00114321@163.com

编码蛋白可分为胞周期素(cyclins)、细胞周期素依赖蛋白激酶(cyclin-dependent kinases,CDK)及细胞周期素依赖蛋白激酶抑制因子(CDK inhibitor,CDI)三大类。三大物质驱动细胞通过G₁期→S期→G₂期→M期,细胞一分为二,实现忠实于亲代的细胞复制分裂。cyclin与CDK以Cyclin-CDK复合物的形式发挥作用,Cyclin为调节亚基,CDK为催化亚基。CKIS能竞争性的与CDK结合,抑制其活性,从而调整细胞周期的进展速度。cyclins与CDI竞争与CDK结合,影响其活性,以调节血管内皮细胞增殖活性。

在血管内皮细胞4个不同的时期,人体细胞需要经过DNA的合成、染色体的凝聚、核膜破裂、核染色体分离、细胞的分裂等细胞事件,上述细胞过程均受到不同细胞周期调控蛋白的精确调控。在正常情况下,促进血管内皮细胞增殖的信号与抑制细胞增殖的信号处于一种动态平衡。无论是促进细胞的信号增强还是抑制细胞增殖的信号减弱到某种程度,细胞所表现最显著的特点是生长的失控和幼稚化,当血管瘤内皮细胞的增殖信号作为一个优势信号时可促进内皮细胞的生长,反之细胞就可表现为退化凋亡。

1、细胞增殖信号的异常:根据cyclins在细胞增殖的不同周期,把cyclins分成G₁期细胞周期素和M期细胞周期素。研究较多的G₁细胞周期素有cyclin C、cyclin D、cyclin E;M细胞周期素在G₂/M交界处发挥作用,包括cyclin A、cyclin B。上述cyclins与CDK结合,cyclins作为调节亚基参与细胞周期的调节作用。

目前研究发现的细胞周期素D至少有3种,cyclin D1、cyclin D2、cyclin D3。目前研究较多的是cyclin D1,基因位于11q13,可与CDK2、CDK4、CDK6等CDK结合,促进血管瘤内皮细胞从G₁期进入S期^[4]。研究发现cyclin D1基因的异常与临床结果密切相关,大量文献报道许多人类肿瘤中,均有cyclin D1基因的扩增,可作为预测肿瘤预后的一个重要指标。cyclin D1在血管瘤内皮细胞中以细胞核表达为主,在增生期的血管瘤内皮细胞中高表达,而在退化期血管瘤内皮细胞中及人体正常血管内皮中表达极弱或无表达^[5]。

cyclin B是有丝分裂期细胞周期蛋白,与CDK1结合,促进细胞从G₂期进入M期,是一种典型的有丝分裂期细胞周期素。在细胞分裂间期,cyclin B分布于细胞浆中,但到了有丝分裂开始时,快速转位到细胞核中。相关报道cyclin B可使酵母细胞在缺乏G₁期cyclins的情况下发生细胞增殖,促进细胞通

过细胞周期本身关卡,使细胞细胞部首控制的进入下一个周期^[6]。由此可见当细胞发生基因的突变,若突变基因不能在细胞关卡进行修复,细胞的增殖即可能在某些情况下变的不稳定。cyclin B1可在儿童血管瘤内皮细胞胞核和胞浆中表达,增生期呈高表达,在退化期及人体正常的血管内皮细胞中表达极弱或无表达^[6]。

Cyclin A与人类肿瘤发生关系密切,在儿童血管瘤的研究当中未发现相关报道。

2、细胞抑制信号的异常:与cyclins相互竞争结合CDK的CDI依照其结构可分为两个家族:p21和p16家族。前者主要包括p21、p27、p27。后者主要包括例如p15、p16、p18、p19、p20。国内外学者对血管瘤内皮细胞所表达CDI进行了大量研究。

p15基因位于9p21区域,在许多肿瘤的研究当中发现该区域的基因突变或丢失,在正常人体细胞中该区域的基因至少有一个是正常的等位基因,纯和性的基因突变或丢失可导致肿瘤的发生^[8]。所以p15纯合子的丢失,细胞会出现细胞的非正常的分裂和选择性的生长优势,应用免疫组织化学技术可显示p15蛋白在内皮细胞的胞膜和胞浆中表达,在血管瘤内皮细胞的增生期低表达,在退化期高表达,在正常血管内皮细胞中呈低表达状态^[9]。

p16基因与p15基因位置靠近,均位于9p21区域,p16主要作用在于能够抑制CDK4、CDK6介导的Rb基因的磷酸化,阻止细胞从G₁期进入S期^[9]。正常情况下G₁期CDK活性增加可使Rb失活性,进而导致E2F的过度表达;而后者反过来抑制CDK的活性,并诱导p16相关基因的转录。因此p16、CDK、cyclins、Rb形成一个反馈调节环路,p16的失活将导致细胞的过度增殖^[10]。p16在血管瘤内皮细胞的表达定位于细胞核和细胞浆中,对其研究尚有不同结论^[11]。

对p16家族的研究主要集中在p15与p16,p16经常在各种肿瘤和癌细胞系缺失^[12]。p16家族其余小分子蛋白在血管瘤方面的研究相对较少。

p27基因位于12p12~12p13.1,p27有198个氨基酸,分子量22257D,抑制cyclinE-CDK2、cyclinA-CDK2和cyclinD-CDK4的活性,使细胞停滞在G₁期。在大多数的肿瘤研究中,未发现p27基因的变化,因此认为p27与肿瘤的关系决定于p27蛋白的表达量的水平上^[9]。p27在增生期血管瘤内皮细胞胞核、细胞浆中低表,而在血管瘤的退化期高表达,在正常皮肤血管内皮细胞中表达极强^[13]。

3、其他:包括抑癌基因、细胞生长因子、转化生

长因子。

1) 抑癌基因 RB,p53: 人类 p53 基因定位于 17p13.1 上,编码一种由 393 个氨基酸残基组成的分子量为 53×1000 的核磷酸化蛋白^[8]。在实验研究当中,细胞中的 DNA 受到损伤后,p53 蛋白出现积聚现象,并诱导细胞出现细胞周期 G₁ 期阻滞或细胞的程序化死亡^[9]。作为一种肿瘤抑制因子,p53 保护基因组的完整性以及抑制肿瘤细胞的生长。如人体正常细胞发生 p53 基因失活,细胞周期的调节失去一种具有抑制作用的调节因子,细胞获得不断分裂,但不死亡的生长特性,这是肿瘤发生的一种机制,在人体肿瘤研究中 p53 基因有较高的突变度,研究报道较多^[9]。在儿童血管瘤的研究中,p53 在细胞核中表达,在血管瘤的增生期高表达,而在血管瘤的退化期和正常皮肤血管内皮细胞中低表达^[9]。与 p53 同一家族的 p63,p73 在血管瘤的增生期高表达,在血管瘤的退化期呈低表达状态^[7]。

RB 基因位于染色体 13q14,pRB 等位基因的突变失活^[10],在视网膜乳头瘤中十分常见,pRB 基因是所发现的第一种肿瘤抑制基因,在血管瘤研究当中目前未见报道。

2) 细胞生长因子: 生长因子是一类由细胞分泌的、类似于激素的信号分子,多数为肽类(含蛋白质)物质,具有调节细胞生长与分化的作用。

血管瘤研究中,针对血管内皮生长因子(VEGF)的研究相对较多,VEGF 基因定位于染色体 6p21.3,包括 8 个外显子和 7 个内含子。VEGF 是一种糖蛋白,是一种外分泌二聚体蛋白,由两条相同肽链通过二硫键构成二聚体。通过与其特异受体结合,经信息传递最终作用于与细胞增殖相关的基因^[10]。在增生期血管瘤内皮细胞中,VEGF 呈现高表达,退化期血管瘤、血管畸形和正常人体血管中 VEGF 低表达^[20]。

3) 转化生长因子(TGF):TGF 在血管瘤的研究当中相对较少,TGF- α 在血管瘤中高表达,在血管畸形和正常血管瘤内皮细胞中低表达,与血管畸形和正常血管瘤内皮细胞中表达有差异;TGF- β_1 在血管瘤、血管畸形和正常血管内皮内表达均呈现阴性,其具体作用机制需进一步研究。

三、问题与展望

国内外学者对儿童血管瘤的病因学已经做了大量研究,提出关于血管瘤的发生机制的学说也较多,分别有肥大细胞学说、雌激素受体学说、“血管生成”异常学说等,分别从不同的方向研究血管瘤的发生机制,但对其发生机制的阐述仍未完全明确^[1]。

目前的研究主要集中在血管瘤内皮细胞,通过对内皮细胞所表达的上述小分子物质的测定,发现增生期、退化期血管瘤和血管畸形内皮细胞相关小分子物质存在表达量的差别。研究大都发现了在不同的细胞增殖阶段,血管瘤内皮细胞所表达的小分子物质存在表达量的差别,分子之间的相互之间联系的研究较少,以及这种联系对血管瘤内皮细胞增殖状态影响的研究不多,且各种病因学假说之间有着相互渗透和联系。所以对儿童血管瘤的研究不仅要从不时期调控内皮细胞增殖的小分子物质表达量的变化方面去研究,还要研究各小分子物质之间的联系以及这些小分子物质之间的联系对内皮细胞增殖状态影响。所以对于血管瘤的研究,不仅要单独认识在该疾病发生发展过程中起作用的每一个小分子物质的结构、功能,还要把握它们之间的联系,这些小分子物质所构成的信息系统的流动和整合,如何导致该疾病的发生发展,是目前需要进一步解决的问题。

参 考 文 献

- 1 余亚雄,应大明. 小儿肿瘤学[M]. 上海:上海科技出版社,1997,191-201.
- 2 Mulliken JB, Glowacki J. Hemangiomas and vascular malformations in infants and Children: a classification based on endothelial characteristics [J]. Plast Reconstr Surg, 1982, 69(3):412-412.
- 3 药立波,冯作化,周春燕. 医学分子生物学[M]. 北京:人民卫生出版社,2005,117-129.
- 4 中山大学生化教研室. 医学分子生物学[M]. 2005,210-230.
- 5 施诚仁. 儿童肿瘤外科学[M]. 北京:科学技术出版社,2006,322-331.
- 6 沈鹏,陕国声,张端莲,等. Cyclin D1 在人皮肤血管瘤不同时期的表达 [J]. 中国组织化学与细胞化学杂志,2003,12(4):361-366.
- 7 陈志雄,张端莲,陕国声,等. Cyclin B1 蛋白在人血管瘤组织中的表达 [J]. 中国组织化学与细胞化学杂志,2003,12(3):260-262.
- 8 成军. 肿瘤相关基因[M]. 北京:北京医科大学出版社,2000,184-197.
- 9 李华,王育斌,张端莲,等. 皮肤血管瘤组织中 p15 基因产物表达及意义[J]. 数理医药学杂志,2004,17(6):491-492.
- 10 张秋实,其木格. 抑癌基因 p16 与细胞周期调控[J]. 肿瘤研究及临床,2000,12(3):208-210
- 11 黄莺,王康敏,李恭才,等. 婴幼儿血管瘤及血管畸形中 p16 及 TRAIL 的表达及其意义 [J]. 中华小儿外科杂志,

- 2003, 24(1):49-51.
- 12 N Soufir, M Ribojad, T Magnaldo, *et al.* Germline and Somatic Mutations of the INK4a-ARF Gene in a Xeroderma Pigmentosum Group C Patient [J]. *J Invest Dermatol*, 2002, 119(6): 1355-1360.
- 13 沈鹏, 陕国声, 张端莲, 等. p27 在人皮肤血管瘤不同时期的表达及意义[J]. *武汉大学学报*, 2005, 26(1):42-44.
- 14 Iwata J, Sonbe H, Furihata M, *et al.* High frequency of apoptosis in infantile capillary haemangioma [J]. *J Pathol*, 1996, 179(4):403-408.
- 15 Hirata A, Tsukamoto T, Yamamoto M, *et al.* Organ-specific susceptibility of p53 knockout mice to N-bis (2-hydroxypropyl)nitrosamine carcinogenesis[J]. *Cancer Lett*, 2006, 238(2):271-283.
- 16 杨虹, 张端莲, 余瑛, 等. p53 在人皮肤血管瘤不同时期的表达及意义[J]. *华中科技大学学报*, 2005, 34(5):647-649.
- 17 杨虹, 张端莲, 陕国声, 等. p53、p63、p73 在皮肤血管瘤组织中的表达[J]. *解剖学研究*, 2003, 25(3):187-190.
- 18 Domfeh AB, Fichera M, Hunt JL. Allelic loss of 3 different tumor suppressor gene loci in benign and malignant endothelial tumors of the head and neck[J]. *Arch Pathol Lab Med*, 2006, 130(8):1184-1187.
- 19 Giatromanolaki A, Arvanitidou V, Hatzimichael A, *et al.* The HIF-2alpha/VEGF pathway activation in cutaneous capillary haemangiomas[J]. *Pathology*, 2005, 37(2):149-151.
- 20 林文雄, 苏振民. Ang-1、Ang-2、Tie2 及 VEGF 在血管瘤发病机制中的作用[J]. *中国美容医学*, 2006, 15(2):92-194.
- 21 刘嘉锋, 张一鸣, 孙家明, 等. VEGF、TGF- α 、TGF- β 在血管瘤和血管畸形中的表达 [J]. *中国美容医学*, 2004, 13(6): 655-657.

·消息·

中华小儿外科学分会小儿泌尿外科手术演示及学术交流会征文

经中华医学会批准, 小儿外科学分会泌尿学组拟定于 2008 年 10 月在广西省南宁市召开全国小儿泌尿外科手术演示及学术交流会, 此活动以转播国内知名小儿泌尿外科医生手术演示及手术录像为重点, 达到经验交流和提高小儿泌尿外科疾病治疗技巧的目的, 同时进行临床经验及手术治疗技巧的交流和讨论。现特向全国同仁征集会议论文及手术录像。

一、论文要求: 稿件必须是未在杂志及全国性学术会议上发表的论文, 文章要求主题突出, 具有科学性和创新性, 摘要 500~800 字左右, 应包括: 目的、方法、结果、结论等内容。稿件需用 Word 电子文档录入, 题目用宋体 4 号字, 正文宋体小 4 号字, 电子版投寄。手术录像以光盘方式邮寄。

二、征文内容:

- 1、小儿泌尿外科临床诊疗与临床应用;
- 2、小儿泌尿系统肿瘤、创伤及微创外科等领域的新进展;
- 3、小儿尿道下裂手术方法的选择临床经验总结;
- 4、小儿泌尿外科常见及疑难手术演示、手术录像;
- 5、小儿泌尿外科基础研究方面的新成果、新技术。

三、投稿方式: 稿件采用 E-mail 投稿, 稿件务必注明作者姓名、单位、邮编、联系电话。并注明“小儿泌尿外科会议”。手术录像采用光盘邮寄。

四、投稿地址: E-mail: Jiamp@tom.com 或 Jiampyk@126.com, 邮寄地址: 北京市西城区南礼士路 56 号 北京儿童医院外科, 邮政编码: 100045

五、联系电话: (010)68029251 或 68028401 转 2418 联系人: 孙宁、贾美萍

六、截稿日期: 2008 年 7 月 10 日 (以电子邮件发送时间为准)

中华医学会小儿外科学分会

2008 年 1 月

作者: 李基伟, 吴学伟
作者单位: 大理学院附属医院小儿外科, 云南省, 671000
刊名: 临床小儿外科杂志 ISTIC
英文刊名: JOURNAL OF CLINICAL PEDIATRIC SURGERY
年, 卷(期): 2008, 7(1)
被引用次数: 0次

参考文献(21条)

1. 成军 肿瘤相关基因 2000
2. 陈志雄;张端莲;陕国声 Cyclin B1蛋白在人血管瘤组织中的表达[期刊论文]-中国组织化学与细胞化学杂志 2003(03)
3. 沈鹏;陕国声;张端莲 Cyclin D1在人皮肤血管瘤不同时期的表达[期刊论文]-中国组织化学与细胞化学杂志 2003(04)
4. 施诚仁 儿童肿瘤外科学 2006
5. 中山大学生化教研室 医学分子生物学 2005
6. 药立波;冯作化;周春燕 医学分子生物学 2005
7. 刘嘉锋;张一鸣;孙家明 VEGF、TGF- α 、TGF- β 在血管瘤和血管畸形中的表达[期刊论文]-中国美容医学 2004(06)
8. 林文雄;苏振民 Ang-1、Ang-2、Tie2及VEGF在血管瘤发病机制中的作用[期刊论文]-中国美容医学 2006(02)
9. 李华;王育斌;张端莲 皮肤血管瘤组织中p15基因产物表达及意义[期刊论文]-数理医药学杂志 2004(06)
10. 沈鹏;陕国声;张端莲 p27在人皮肤血管瘤不同时期的表达及意义[期刊论文]-武汉大学学报 2005(01)
11. N Soufir;M Ribojad;TMagnaldo Germline and Somatic Mutations of the INK4a-ARF Gene in a Xeroderma Pigmentosum Group C Patient 2002(06)
12. 黄莺;王康敏;李恭才 婴幼儿血管瘤及血管畸形中p16及TRAIL的表达及其意义[期刊论文]-中华小儿外科杂志 2003(01)
13. 张秋实;其木格 抑癌基因p16与细胞周期调控 2000(03)
14. Domfeh AB;Fichera M;Hunt JL Allelic loss of 3 different tumor suppressor gene loci in benign and malignant endothelial tumors of the head and neck 2006(08)
15. 杨虹;张端莲;陕国声 p53、p63、p73在皮肤血管瘤组织中的表达[期刊论文]-解剖学研究 2003(03)
16. 杨虹;张端莲;余璞 p53在人皮肤血管瘤不同时期的表达及意义[期刊论文]-华中科技大学学报 2005(05)
17. Hirata A;Tsukamoto T;Yamamoto M Organ-specific susceptibility of p53 knockout mice to N-(2-hydroxypropyl)nitrosamine carcinogenesis 2006(02)
18. Iwata J;Sonbe H;Furihata M High frequency of apoptosis in infantile capillary haemangioma 1996(04)
19. Mulliken JB;Glowacki J Hemangiomas and vascular malformations in infants and children: a classification based on endothelial characteristics 1982(03)
20. 余亚雄;应大明 小儿肿瘤学 1997
21. Giatromanolaki A;Arvanitidou V;Hatzimichael A The HIF-2 α /VEGF pathway activation in cutaneous capillary haemangiomas 2005(02)

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_lcxewkzz200801018.aspx

授权使用: 黔南民族师范学院 (gnnzsfxy), 授权号: dd10332c-8cd1-4654-a4e7-9ed301269f92

下载时间: 2011年4月28日