

## 结直肠癌组织未分化微血管密度影响其对贝伐单抗联合化疗的敏感性

冯 锋<sup>1</sup>, 金时代<sup>1</sup>, 李 霄<sup>2</sup>, 汪云超<sup>1</sup>, 吴魏芹<sup>1</sup>, 卢凯华<sup>1</sup>, 张智弘<sup>2</sup>, 黄普文<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>南京医科大学第一附属医院肿瘤科, <sup>2</sup>病理科, 江苏 南京 210029)

**[摘要]** 目的:研究结直肠癌组织中微血管的分类及微血管密度(microvascular density, MVD)与贝伐单抗联合化疗敏感性的关系。方法:回顾性分析33例接受贝伐单抗联合化疗的结直肠癌患者,取手术组织的石蜡标本切片,运用免疫组化法分别对血管的CD31、CD34染色,研究肿瘤内微血管的特点,并检测MVD。结果:肠癌组织中CD31阳性的微血管多于CD34阳性的微血管,并以此鉴别出分化血管(CD31<sup>+</sup>/CD34<sup>+</sup>)和未分化血管(CD31<sup>+</sup>/CD34<sup>-</sup>)两类微血管。治疗敏感组的肠癌未分化血管MVD为 $10.6 \pm 3.1$ ,治疗不敏感组的肠癌组织未分化血管MVD为 $6.9 \pm 3.7$ ,二者差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。以MVD中位数为界值,未分化血管MVD高组的中位无进展生存期较未分化血管MVD低组长(9.5个月 vs. 3.0个月,  $P < 0.05$ )。结论:通过检测肠癌组织中未分化微血管密度可能对贝伐单抗联合化疗的疗效有一定预测作用,对指导个体化治疗有一定帮助。

**[关键词]** 结直肠癌;贝伐单抗;微血管密度

**[中图分类号]** R735.3

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2013)08-1116-06

**doi:** 10.7655/NYDXBNS20130817

## Effect of undifferentiated-vessel microvascular density on sensitivity of bevacizumab plus chemotherapy in patients with advanced colorectal cancer

Feng Feng<sup>1</sup>, Jin Shidai<sup>1</sup>, Li Xiao<sup>2</sup>, Wang Yunchao<sup>1</sup>, Wu Weiqin<sup>1</sup>, Lu Kaihua<sup>1</sup>, Zhang Zhihong<sup>2</sup>, Huang Puwen<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>Department of Oncology, <sup>2</sup>Department of Pathology, the First Affiliated Hospital of NJMU, Nanjing 210029, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study the classification of colorectal cancer tissue microvascular and the relationship between intratumoral microvascular density (MVD) and bevacizumab plus chemotherapy sensitivity in advanced colorectal cancer. **Methods:** Retrospective analysis was used to analyze 33 cases of advanced colorectal cancer treated with bevacizumab plus chemotherapy. Paraffin-embedded tumor samples were sectioned and stained immunohistochemically for the blood vessel markers CD34 and CD31 to characterize the intratumoral vasculature, then MVD were detected. **Results:** More blood vessels were stained by anti-CD31 antibody than anti-CD34 antibody. Two distinct types of microvascular were identified in colorectal cancer: differentiated (CD31<sup>+</sup>/CD34<sup>+</sup>) and undifferentiated (CD31<sup>+</sup>/CD34<sup>-</sup>). In the sensitive group, the number of undifferentiated-vessel MVD was  $10.6 \pm 3.1$ , significantly higher than  $6.9 \pm 3.7$  in the insensitive group ( $P < 0.05$ ). The median of each type of vessel was used as the cutoff value to divide the patients into high- and low-MVD groups. Increased progression-free survival was seen in patients with high undifferentiated-vessel MVD (9.5 months vs. 3.0 months,  $P < 0.05$ ). **Conclusion:** CD31<sup>+</sup>/CD34<sup>-</sup> MVD can be used as an important biology index to indicate the sensitivity to bevacizumab plus chemotherapy in metastatic colorectal cancer.

**[Key words]** colorectal cancer; bevacizumab; microvascular density (MVD)

[Acta Univ Med Nanjing, 2013, 33(8): 1116-1121]

肿瘤的生长、转移等过程都是血管依赖性的,恶性实体肿瘤瘤体超过 $2\sim 3\text{ mm}^3$ 时必须通过新生血管生成来提供其生长所需的营养物质<sup>[1-2]</sup>。微血管密

度(microvascular density, MVD)是评估肿瘤血管生成的指标,而且在多种肿瘤中MVD值高往往与不良预后相关<sup>[2-4]</sup>。然而该观点目前存在诸多争议,可能与肿瘤血管的多样性、复杂性有关。CD31和CD34是常用的血管内皮细胞标记物, Yao等<sup>[5]</sup>对肾透明细胞癌组织血管的CD31和CD34进行免疫组

**[基金项目]** 江苏省高校优势学科建设工程(JX10231801)

\*通信作者(Corresponding author), E-mail: hpwo7@yahoo.cn

化染色,可以区分两类血管,一类是 CD31<sup>+</sup>/CD34<sup>+</sup>的分化血管,另一类是 CD31<sup>+</sup>/CD34<sup>-</sup>的未分化血管。其中,未分化血管 MVD 值与不良预后相关。

姑息化疗是转移性结直肠癌最主要的治疗手段,联合分子靶向药物可进一步改善疗效并延长生存期,而且耐受性良好。美国食品药品监督管理局早在 2004 年便批准贝伐单抗(bevacizumab, BEV, 商品名安维汀)联合化疗作为晚期肠癌的一线治疗,然而到目前为止尚未发现可以预测贝伐单抗疗效的有效指标。本研究应用免疫组织化学法分别对结直肠癌标本进行 CD31、CD34 染色,目的是研究结直肠癌组织中是否也存在这两种类型的血管,并分析 MVD 与贝伐单抗疗效的关系。

## 1 对象和方法

### 1.1 对象

收集南京医科大学第一附属医院 2009 年 11 月~2012 年 11 月一线或二线使用贝伐单抗联合化疗治疗转移性结直肠癌患者 33 例,所有患者均经组织或细胞病理学确诊,至少有 1 处可供测量的病灶,治疗前心电图、血常规、肝肾功能基本正常,预计生存期超过 3 个月。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 治疗方案

贝伐单抗剂量采用美国国立综合癌症网 (NC-CN)推荐的 5 mg/kg,每 2 周重复;或 7.5 mg/kg,每 3 周重复。33 例患者中一线使用贝伐单抗联合化疗 23 例,二线使用贝伐单抗联合化疗 10 例。所有患者至少使用贝伐单抗 2 个周期,33 例患者共治疗 132 个周期,平均每例治疗 4 个周期。联合化疗方案包括 FOLFOX/FOLFIRI/CapeOx 方案,2 例使用伊立替康单药,1 例使用培美曲塞单药。

#### 1.2.2 治疗评价

参照 RECIST 疗效评价标准,每治疗 2 个周期行 CT 检查评价疗效,分为完全缓解 (complete response, CR)、部分缓解 (partial response, PR)、病变稳定 (stable disease, SD)、病变进展 (progressive disease, PD)。无进展生存期 (progress-free survival, PFS) 是自贝伐单抗用药开始到肿瘤进展或者死亡的时间。总生存期 (overall survival, OS) 是指自用药开始到死亡的时间,在死亡前失访者以最后 1 次随访时间计。客观有效率 (ORR) 为 CR+PR (%),疾病控制率 (DCR) 为 CR+PR+SD (%). 不良反应参照美国国家癌症研究所常见毒性反应标准 3.0 版进行评价。

### 1.2.3 微血管密度(MVD)计数

所有肿瘤标本均经 10%中性福尔马林固定,常规脱水、石蜡包埋,厚 4  $\mu$ m 连续切片,采用免疫组化染色 (EnVision™ 二步法)。脱蜡水化后,高温高压修复,滴加一抗,4 $^{\circ}$ C 冰箱过夜, PBS 冲洗 3 次。后滴加二抗, PBS 再冲洗 3 次。孵育 40 min 冲洗后应用 DAB 染色,苏木素复染、脱水、封片。鼠抗人 CD31、CD34 单克隆抗体均购自北京中杉金桥生物技术有限公司。实验中以 PBS 代替一抗作为阴性对照。将肠癌组织的两张连续切片分别进行 CD31、CD34 染色, CD31、CD34 阳性表达均表现为内皮细胞胞膜或胞浆出现棕黄色颗粒,任何染色的管状结构或内皮细胞簇计数为 1 个微血管,只要结构不相连,可能源于同一血管的分支也算作独立的微血管。肿瘤组织中新生血管分布不一致,在 100 倍显微镜下选取癌组织浸润生长区域微血管密度最高的 5 个“热点区”,然后在 400 倍显微镜下分别计数这 5 个区域的抗 CD34 抗体、抗 CD31 抗体标记的微血管数目, CD34<sup>+</sup>MVD 为分化微血管数, CD31<sup>+</sup>MVD 值减去 CD34<sup>+</sup>MVD 值即为未分化微血管数,各取其平均值。考虑到计数微血管的方法在不同观察者之间存在差异,为减少实验误差,由两位有经验的病理科医生分别计数,然后取两者的平均数。

### 1.3 统计学方法

应用 SPSS17.0 统计软件分析数据,计量资料以均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示,计量资料的比较采用 *t* 检验,计数资料的统计采用卡方检验。采用 Kaplan-Meier 方法计算 PFS,并经 Log-rank 检验。 $P \leq 0.05$  为差异有统计意义。

## 2 结果

### 2.1 临床特征

33 例中男 19 例,女 14 例;年龄 36~81 岁,中位年龄 62 岁;结肠癌 21 例,直肠癌 12 例。患者的一般状况 ECOG 评分均在 0~2 分。一线使用贝伐单抗联合化疗 23 例,二线使用贝伐单抗联合化疗 10 例 (表 1)。

### 2.2 疗效和不良反应

33 例患者中,无 CR 患者, PR 9 例, SD 14 例, PD 10 例。临床 ORR 为 27%, DCR 为 70%。23 例一线治疗患者中 PR 8 例, SD 10 例, PD 5 例, ORR 和 DCR 分别为 35% 和 78%; 10 例二线治疗中 PR 1 例, SD 4 例, PD 5 例, ORR 和 DCR 分别为 10% 和 50%。33 例患者中位 PFS 为 5.5 个月 [95% 可信区间

表1 贝伐单抗联合化疗治疗晚期结直肠癌33例患者的临床特征

Table 1 Clinical parameters of 33 patients with colorectal cancer treated with bevacizumab plus chemotherapy

临床特征	例数	百分比(%)
性别		
男	19	58
女	14	42
年龄(岁)		
中位年龄	62	
范围	36~81	
部位		
结肠癌	21	64
直肠癌	12	36
ECOG评分		
0~1分	29	88
2分	4	12
既往治疗情况		
一线	23	70
二线	10	30

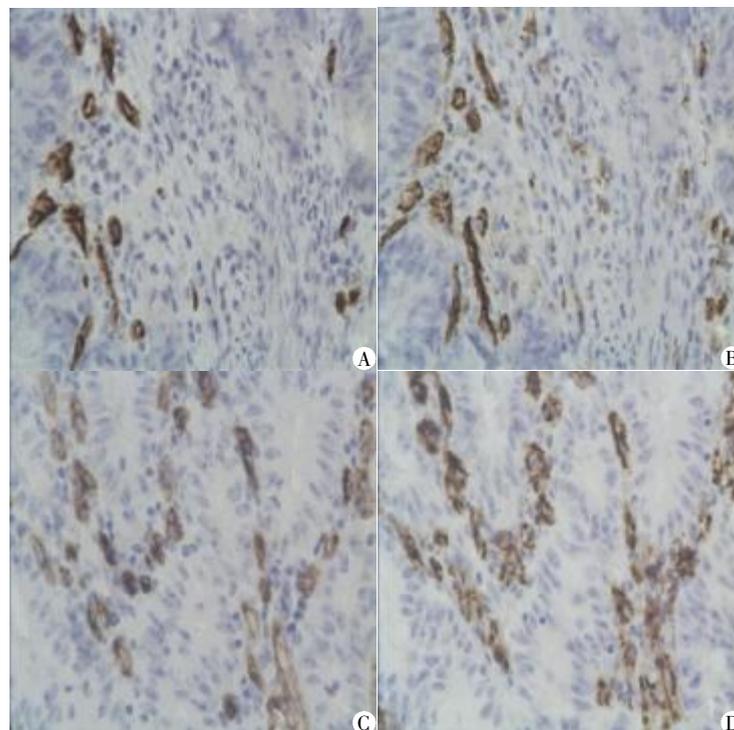
(confidence interval, CI)]为4.4~6.6个月]。一线治疗的患者中位PFS为8.0个月(95%CI为4.3~11.7个月),二线治疗的患者中位PFS为5.5个月(95%

CI为5.0~6.0个月)。

用药期间共6例患者发生Ⅲ~Ⅳ度骨髓抑制;Ⅰ度肝功能损害2例,Ⅱ度肝功能损害1例;高血压6例,均为1或2级;结膜充血1例,PICC导管处出血1例,尿隐血阳性1例;Ⅰ度蛋白尿2例;手术伤口延迟愈合1例。其他不良反应程度均较轻,主要包括乏力、呕吐、纳差、腹泻、便秘、肢端麻木等,未观察到血栓栓塞、胃肠道穿孔、充血性心力衰竭等严重不良反应。

### 2.3 结直肠癌组织中两类不同的肿瘤血管

33例患者石蜡包埋组织切片采用免疫组化染色分析,CD31、CD34主要表达于血管内皮细胞胞膜,部分内皮细胞胞浆中也有表达。抗CD31抗体染色的血管多于抗CD34抗体,CD31阳性的血管不但包括CD34标记的血管,还包括一些管腔很小(甚至没有管腔),呈散在分布的CD34阴性的幼稚血管。表明在肠癌组织中有两类血管:分化血管(CD31<sup>+</sup>/CD34<sup>+</sup>)和未分化血管(CD31<sup>+</sup>/CD34<sup>-</sup>)。分化血管的MVD为每400倍镜视野下( $17.1 \pm 5.0$ )个血管,未分化血管的MVD是每400倍镜视野下( $8.0 \pm 3.9$ )个血管(图1)。



大部分未分化血管(CD31<sup>+</sup>/CD34<sup>-</sup>)没有管腔或管腔很小,并且比分化血管(CD31<sup>+</sup>/CD34<sup>+</sup>)小。肠癌中血管类型的特点与不同的疗效有关。A、B:1例贝伐单抗联合化疗治疗后PR的患者CD34和CD31的免疫组化染色,未分化血管数目为24个;C、D:1例PD的患者CD34和CD31的免疫组化染色,未分化血管数目为3个。

图1 CD34、CD31在肠癌组织的免疫组化表达情况(×400)

Figure 1 CD34 and CD31 expression in colorectal cancer tissue (×400)

### 2.4 结直肠癌 MVD 表达与贝伐单抗联合化疗治疗敏感性的关系

在治疗敏感(CR+PR)的 9 例患者中,未分化血管 MVD 值为每个视野下( $10.6 \pm 3.1$ )个血管,24 例治疗不敏感(SD+PD)的患者未分化血管 MVD 值为每个视野下( $6.9 \pm 3.7$ )个血管,二者差别有统计学意义( $P = 0.011$ )。而分化血管 MVD 值高低与治疗敏感性无关(表 2)。

表 2 治疗敏感和不敏感的肠癌组织中分化血管及未分化血管计数

Table 2 Differentiated-vessel MVD and undifferentiated-vessel MVD in the sensitive group and the insensitive group

分 组	分化血管 MVD	未分化血管 MVD
治疗敏感组	16.3±5.0	10.6±3.1
治疗不敏感组	17.4±5.1	6.9±3.7
P 值	0.591	0.011

未分化血管的 MVD 中位数是每视野下 8.4 个血管,以中位数为界值分为高低两组进行分析。图 2 显示,未分化血管 MVD 值低组的中位 PFS 为 3.0 个月(95%CI 为 1.1~4.9 月),未分化血管 MVD 值高组的中位 PFS 为 9.5 个月(95%CI 为 6.5~12.5 个月),二者有统计学差异( $P < 0.000$ )。分化血管的 MVD 中位数是每视野下 15.3 个血管,分化血管的 MVD 值高低与患者的疗效无显著相关性(图 3)。

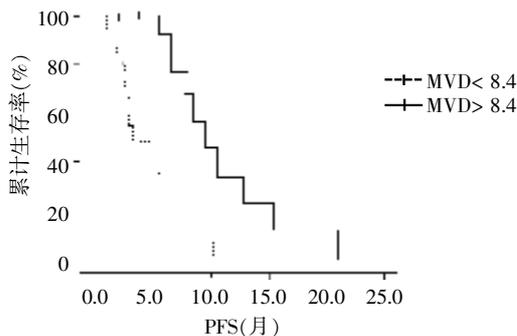


图 2 未分化微血管 MVD 高低两组患者 PFS

Figure 2 The PFS of patients with different undifferentiated-vessel MVD level

### 3 讨 论

贝伐单抗是人源化的重组血管内皮生长因子的单克隆抗体,可通过特异性地结合 VEGF,改善肿瘤内紊乱的血管结构,使其“正常化”,与化疗药物联合使用时,能增加运送至瘤内的化疗药物而起到增敏作用<sup>[6]</sup>。此外,还可抑制内皮细胞增殖和新生血管形

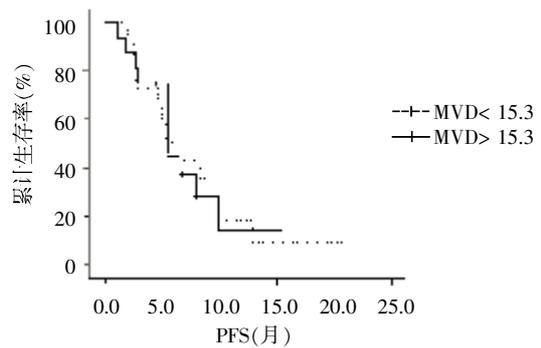


图 3 分化微血管 MVD 高低两组患者 PFS

Figure 3 The PFS of patients with different differentiated-vessel MVD level

成,从而抑制肿瘤生长、增殖及转移<sup>[7]</sup>。Hurwitz 等<sup>[8]</sup>最初报告了贝伐单抗联合化疗一线治疗转移性结直肠癌的 AVF2107g III 期临床试验,观察到 IFL 方案联合贝伐单抗后能提高近期缓解率,PFS 及 OS 也均有延长。多项随机对照研究表明,无论是一线治疗还是二线治疗,贝伐单抗联合化疗与单纯化疗相比均有显著临床获益<sup>[9-11]</sup>。但至今为止,仍没有一个公认的普遍适用的生物标记物来预测贝伐单抗在晚期结直肠癌中的疗效。

将肿瘤组织 MVD 作为判断预后的指标一直是有争议的。一些报道提出高 MVD 与肿瘤的复发、转移及不良预后有关<sup>[3-4,12-13]</sup>,然而另一些研究却得出了相反的结论<sup>[14-16]</sup>,还有些学者认为 MVD 与预后无关<sup>[17-18]</sup>,这可能与肿瘤血管的多样性、复杂性有关。目前已经在多种恶性实体肿瘤中认识到肿瘤血管的复杂性<sup>[5,19-20]</sup>。Bussolati 等<sup>[21]</sup>认为,肿瘤血管可起源于骨髓干细胞、组织干细胞或肿瘤干细胞,起源不同可能会导致内皮细胞分化的差异及血管功能的差异。研究肿瘤血管生成时常用的血管内皮细胞标记物有 VIII 因子、CD31、CD34、CD105。Yao 等<sup>[5]</sup>根据血管标记物的表达差异将透明细胞肾癌的血管分类,发现了分化血管和未分化血管两类不同的微血管,而且两类血管 MVD 与预后的关系完全相反。这表明,将肿瘤血管分类对更确切地研究血管生成在肿瘤中的作用十分必要,各类血管对抗血管生成治疗可能有不同反应。

文献报道,VEGF 特异性抗体仅能使尚未招募到周细胞的未成熟的血管退变,对成熟血管没有影响<sup>[22]</sup>。原因可能是成熟血管有周细胞覆盖,周细胞源性的 VEGF 可通过近分泌或旁分泌的方式促进血管内皮细胞的存活和稳定<sup>[23-24]</sup>,从而使成熟血管对抗血管生成药物耐药。Poblet 等<sup>[25]</sup>研究血管肉瘤时发

现CD31在分化及未分化的内皮细胞均有表达,然而CD34仅在分化的内皮细胞表达。Jubb等<sup>[26]</sup>用CD34标记肿瘤微血管,得出CD34<sup>+</sup>MVD值与贝伐单抗的疗效无关,主要原因可能是CD34标记的血管绝大部分都是有周细胞支撑的成熟血管,而成熟血管对抗VEGF治疗存在耐药性。Zhao等<sup>[19]</sup>对肺癌组织中CD34和CD31进行免疫组化染色,发现未分化微血管(CD31<sup>+</sup>/CD34<sup>-</sup>)MVD高者对含贝伐单抗的治疗方案更敏感。因此,本研究想通过回顾性研究分析肠癌中是否像肾透明细胞癌、肺癌一样存在未分化血管,其MVD值是否能成为预测贝伐单抗疗效的指标。

在本研究中,将肠癌组织的两张连续切片分别做CD31和CD34的免疫组化染色,发现抗CD31抗体染色的血管多于抗CD34抗体,证实了肠癌中也存在分化血管(CD31<sup>+</sup>/CD34<sup>+</sup>)及未分化血管(CD31<sup>+</sup>/CD34<sup>-</sup>)两类血管。分化血管MVD与贝伐单抗在结直肠癌中的疗效不相关,这与Jubb等<sup>[26]</sup>的研究结果一致。对治疗敏感组的肠癌组织未分化血管MVD为 $10.6 \pm 3.1$ ,对治疗不敏感组的肠癌组织未分化血管MVD为 $6.9 \pm 3.7$ ,二者差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),提示未分化血管较多的肠癌对贝伐单抗联合化疗更敏感,此结果与Zhao等<sup>[19]</sup>在肺癌患者中的研究结果相似。本研究还观察到未分化血管较多的肠癌在远期疗效的分析中也显示一定的生存优势,PFS较长。Yao等<sup>[5]</sup>在肾癌研究中发现未分化血管MVD与预后不良相关,但该组研究的患者均仅接受肾切除手术治疗而未使用药物处理,与本研究结果不相矛盾。由于本研究随访的期限尚不够,部分患者现在仍在治疗中,目前尚未获得患者的中位生存期数据,仍需继续随访观察。

综上所述,本研究首次在结直肠癌中鉴别出分化血管(CD31<sup>+</sup>/CD34<sup>+</sup>)和未分化血管(CD31<sup>+</sup>/CD34<sup>-</sup>)两类微血管,并且发现未分化微血管较多的患者对贝伐单抗更敏感,未分化血管MVD不失为预测贝伐单抗联合化疗治疗结直肠癌疗效的一个良好指标,对指导个体化治疗有一定帮助。由于该试验为回顾性研究,有一些无法排除的影响因素,如患者基线治疗状态及不同的化疗方案等,可能对研究结果有一定影响,而且本研究的样本量偏少,以上结论需要更大样本量的前瞻性研究进一步证实。

#### [参考文献]

[1] Folkman J. The role of angiogenesis in tumor growth[J].

Semin Cancer Biol, 1992, 3(2): 65-71

- [2] Folkman J. Tumor angiogenesis; therapeutic implications [J]. N Engl J Med, 1971, 285(21): 1182-1186
- [3] Des Guetz G, Uzzan B, Nicolas P, et al. Microvessel density and VEGF expression are prognostic factors in colorectal cancer. Meta-analysis of the literature [J]. Br J Cancer, 2006, 94(12): 1823-1832
- [4] Arnes JB, Stefansson IM, Straume O, et al. Vascular proliferation is a prognostic factor in breast cancer [J]. Breast Cancer Res Treat, 2012, 133(2): 501-510
- [5] Yao X, Qian CN, Zhang ZF, et al. Two distinct types of blood vessels in clear cell renal cell carcinoma have contrasting prognostic implications [J]. Clin Cancer Res, 2007, 13(1): 161-169
- [6] Jain RK. Molecular regulation of vessel maturation [J]. Nat Med, 2003, 9(6): 685-693
- [7] Kerbel RS. Tumor angiogenesis [J]. N Engl J Med, 2008, 358(19): 2039-2049
- [8] Hurwitz H. Integrating the anti-VEGF-A humanized monoclonal antibody bevacizumab with chemotherapy in advanced colorectal cancer [J]. Clin Colorectal Cancer, 2004, 4(Suppl 2): S62-S68
- [9] Hochster HS, Hart LL, Ramanathan RK, et al. Safety and efficacy of oxaliplatin and fluoropyrimidine regimens with or without bevacizumab as first-line treatment of metastatic colorectal cancer; results of the TREE study [J]. J Clin Oncol, 2008, 26(21): 3523-3529
- [10] Bennouna J, Borg C, Delord JP, et al. Bevacizumab combined with chemotherapy in the second-line treatment of metastatic colorectal cancer; results from the phase II BEVACOLOR Study [J]. Clin Colorectal Cancer, 2012, 11(1): 38-44
- [11] Kabbavar F, Irl C, Zurlo A, et al. Bevacizumab improves the overall and progression-free survival of patients with metastatic colorectal cancer treated with 5-fluorouracil-based regimens irrespective of baseline risk [J]. Oncology, 2008, 75(3-4): 215-223
- [12] Tsutsui S, Matsuyama A, Yamamoto M, et al. The Akt expression correlates with the VEGF-A and -C expression as well as the microvessel and lymphatic vessel density in breast cancer [J]. Oncol Rep, 2010, 23(3): 621-630
- [13] Kreuter M, Kropff M, Fischaleck A, et al. Prognostic relevance of angiogenesis in stage III NSCLC receiving multimodality treatment [J]. Eur Respir J, 2009, 33(6): 1383-1388
- [14] Chan JK, Magistris A, Loizzi V, et al. Mast cell density, angiogenesis, blood clotting, and prognosis in women with advanced ovarian cancer [J]. Gynecol Oncol, 2005, 99

- (1):20-25
- [15] Rioux-Leclercq N, Epstein JI, Bansard JY, et al. Clinical significance of cell proliferation, microvessel density, and CD44 adhesion molecule expression in renal cell carcinoma[J]. *Hum Pathol*, 2001, 32(11): 1209-1215
- [16] Sabo E, Boltenko A, Sova Y, et al. Microscopic analysis and significance of vascular architectural complexity in renal cell carcinoma[J]. *Clin Cancer Res*, 2001, 7(3): 533-537
- [17] Ferrero A, Dompè D, Ravarino N, et al. Angiogenesis and molecular markers in advanced epithelial ovarian cancer: a retrospective study[J]. *Gynecol Oncol*, 2011, 123(2): 301-307
- [18] van der Zee JA, van Eijck CH, Hop WC, et al. Angiogenesis: a prognostic determinant in pancreatic cancer? [J]. *Eur J Cancer*, 2011, 47(17): 2576-2584
- [19] Zhao YY, Xue C, Jiang W, et al. Predictive value of intratumoral microvascular density in patients with advanced non-small cell lung cancer receiving chemotherapy plus bevacizumab[J]. *J Thorac Oncol*, 2012, 7(1): 71-75
- [20] Qian CN, Huang D, Wondergem B, et al. Complexity of tumor vasculature in clear cell renal cell carcinoma[J]. *Cancer*, 2009, 115(Suppl 10): S2282-S2289
- [21] Bussolati B, Grange C, Camussi G. Tumor exploits alternative strategies to achieve vascularization[J]. *FASEB J*, 2011, 25(9): 2874-2882
- [22] Benjamin LE, Golijanin D, Itin A, et al. Selective ablation of immature blood vessels in established human tumors follows vascular endothelial growth factor withdrawal[J]. *J Clin Invest*, 1999, 103(2): 159-165
- [23] Gee MS, Procopio WN, Makonnen S, et al. Tumor vessel development and maturation impose limits on the effectiveness of anti-vascular therapy [J]. *Am J Pathol*, 2003, 162(1): 183-193
- [24] Darland DC, Massingham LJ, Smith SR, et al. Pericyte production of cell-associated VEGF is differentiation-dependent and is associated with endothelial survival[J]. *Dev Biol*, 2003, 264(1): 275-288
- [25] Poblet E, Gonzalez-Palacios F, Jimenez FJ. Different immunoreactivity of endothelial markers in well and poorly differentiated areas of angiosarcomas[J]. *Virchows Arch*, 1996, 428(4-5): 217-221
- [26] Jubb AM, Hurwitz HI, Bai W, et al. Impact of vascular endothelial growth factor-A expression, thrombospondin-2 expression, and microvessel density on the treatment effect of bevacizumab in metastatic colorectal cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2006, 24(2): 217-227

[收稿日期] 2013-03-11

本刊邮发代号 28-61

网址: <http://jnm.njmu.edu.cn>