

文章编号:1004-7220(2013)06-0629-07

# VEGF 分泌量及分泌来源对肿瘤血管生长影响的数值模拟

时玉娟, 蔡彦, 陈强, 李志勇

(东南大学 生物科学与医学工程学院, 生物力学实验室, 南京 210096)

**摘要:** **目的** 数值模拟研究血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)分泌量及分泌来源对肿瘤血管生成的影响。**方法** 建立肿瘤内外血管生成的二维离散数学模型。围绕 VEGF 的分泌及其诱导新生血管形成肿瘤富血管区的过程,考虑细胞外基质的旁分泌作用以及对内皮细胞运动的趋触作用,以微血管密度作为定量指标,探讨 VEGF 的分泌量及不同的分泌来源对血管生成的影响。**结果** 肿瘤增殖细胞区、VEGF 高浓度区、富血管区三者统一,微血管密度与 VEGF 的表达有关,随着增殖细胞区域的扩大,即 VEGF 的表达越来越多,微血管密度也越来越大,但在不同类型的肿瘤中,VEGF 不同分泌来源的比重与微血管密度无明显相关性。**结论** 模型探讨了 VEGF 分泌量及分泌来源对肿瘤血管生成的影响,其中对 VEGF 的不同分泌来源的考虑可作为研究靶向 VEGF 治疗肿瘤模型的基础。

**关键词:** 肿瘤; 血管生成; 血管内皮生长因子; 分泌量; 分泌来源; 数值模拟

中图分类号: R 318.01 文献标志码: A

## Study on effect of VEGF expression level and sources on tumor-induced angiogenesis by numerical simulation

SHI Yu-juan, CAI Yan, CHEN Qiang, LI Zhi-yong (*Biomechanics Laboratory, School of Biological Science and Medical Engineering, Southeast University, Nanjing 210096, China*)

**Abstract:** **Objective** To investigate the effect of vascular endothelial growth factor (VEGF) expression level and sources on tumor-induced angiogenesis by numerical simulation. **Methods** A two-dimensional discrete mathematical model of tumor-induced angiogenesis was developed to simulate the growth of microvascular networks inside and outside of the tumor, focusing on endothelial cell proliferation, degradation, random motility, chemotaxis, haptotaxis and stromal-derived VEGF and tumor-derived VEGF. The relationship between VEGF derived by each compartment and tumor microvessel density was discussed. **Results** The high VEGF region was consistent with proliferating cell and tumor periphery regions in which microvascular density was also high. The simulation demonstrated that an enlargement of proliferating cell region could lead to higher VEGF expression level and higher microvascular density. However, for different types of tumors, the correlations between different VEGF expression sources and microvascular density were not significant. **Conclusions** The effect of VEGF expression level and source on VEGF-mediated angiogenesis can be investigated by the proposed model. Particularly, taking VEGF expression from different sources into consideration could be a useful modeling tool for anti-VEGF targeted therapies.

**Key words:** Tumor; Angiogenesis; Vascular endothelial growth factor (VEGF); Expression level; Expression source; Numerical simulation

收稿日期:2012-12-26; 修回日期:2013-01-26

基金项目:国家重点基础研究发展计划 973 资助项目(2013CB733800), 国家自然科学基金资助项目(11272091)。

通信作者:李志勇, 教授, 博士研究生导师, Tel: (025)83792620; E-mail:zylicam@gmail.com。

肿瘤尤其是恶性肿瘤是人类死亡最重要的杀手之一。近几十年来,肿瘤生长受到众多学者的关注,尤其是分子生理学新技术的出现使得关于肿瘤生长各个病理生理过程的研究进展迅速。但由于CT、MRI、超声等成像技术空间分辨率的限制,图像还无法完全显示微观的肿瘤新生血管的网络结构形态。因此,必须借助数学建模及数值模拟的手段,探索病理生理现象背后的理论依据,从而为临床治疗提供新思路、新方法。

早期的肿瘤属于无血管期,生长到一定时期后,肿瘤进入另一个阶段——血管期。1971年,Folkman<sup>[1]</sup>首次系统地提出肿瘤新生血管生成假说,认为“肿瘤生长依赖于血管生成”。血管生成相当于肿瘤生长的“源泉”,因为它提供了必要的氧、营养、生长因子、蛋白水解酶、凝固和纤溶因子。肿瘤血管生成是一个复杂的过程,由一些促血管生成分子和抗血管生成分子共同调节,这些分子在病理状况下可以维持体内平衡和启动血管生成过程<sup>[2]</sup>。肿瘤血管生成首先是肿瘤细胞分泌一系列的化学物质——肿瘤血管生成因子(tumor angiogenic factors, TAFs),这些因子向周围扩散,在肿瘤和邻近血管之间形成浓度差,诱导蛋白水解酶降解血管周围的基质。随后母血管内皮细胞聚积形成毛细血管芽尖,逐步朝着肿瘤生长,形成微血管网。

在肿瘤血管生成的相关化学因子中,最重要的元素之一就是血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)<sup>[4-7]</sup>。VEGF的高表达和肿瘤发展及不良预后有着密切关系,这种关系在多种人类的恶性肿瘤中都有体现,包括乳腺癌、结肠癌、肾癌、肝癌、肺癌、胰腺癌、前列腺癌以及胃癌<sup>[8-9]</sup>。在肿瘤的生长过程中,VEGF的活化作用触发多个信号网络,进而导致血管通透性的增加,内皮细胞有丝分裂、迁移、存活,并调动各种各样的前驱细胞使其从骨髓向肿瘤生长和转移的地方迁移<sup>[5,8,10]</sup>。随后大量的实验证实干扰VEGF可以有效抑制肿瘤生长和血管生成<sup>[8,10-11]</sup>。VEGF在肿瘤血管生成中起到关键作用,故抑制VEGF途径仍然是目前研究肿瘤病理和新型治疗策略的焦点。

在肿瘤和基质区域中都发现了VEGF的表达,故探寻不同类型肿瘤的VEGF分泌来源成为一个重要的研究课题<sup>[12]</sup>。早期实验发现,肿瘤细胞VEGF

表达升高同肿瘤组织缺氧产生缺氧诱导因子有关,后者能上调VEGF的表达。随着对肿瘤微环境不断地认识与研究,发现基质细胞在肿瘤形成过程中的重要作用,基质细胞也能分泌VEGF。Liang等<sup>[13]</sup>对3种人类移植瘤(骨骼肌、结肠、胰腺)进行实验,发现在胰腺移植瘤中,由基质产生的VEGF比重较大。

在过去的几十年,对肿瘤诱发血管生成的数值模型研究得到广泛关注。Anderson等<sup>[14]</sup>将拉格朗日和欧拉描述结合,建立肿瘤血管生成的“连续-离散混合模型”(continuous-discrete hybrid models),生成具有形态学的肿瘤新生血管网。随后,McDougall等<sup>[15-16]</sup>建立同时耦合血液流动与血管生长的动态自适应肿瘤诱导血管生成(dynamic adaptive tumor-induced angiogenesis, DATIA)模型。事实上,肿瘤的发生发展是一个及其复杂、迅速变化的病理过程,肿瘤血管生成的同时影响肿瘤细胞的生长变化,反过来肿瘤细胞又通过改变肿瘤内部的微环境,对肿瘤新生血管产生作用。因此,应运而生的就是现在研究较多的耦合模型<sup>[17,24,27]</sup>。基于解耦模型,以肿瘤内部化学物质微环境的改变及血液动力学的动态平衡作为耦合部分,建立耦合肿瘤生长、血管生成及血液灌注的动态耦合模型。

上述这些模型都只考虑肿瘤细胞分泌的VEGF,而忽略基质细胞所分泌的VEGF。然而,Liang等<sup>[13]</sup>的实验结果发现,胰腺瘤基质分泌的VEGF不容忽视。本文结合这一生理现象,利用连续-离散混合建模的方法,提出一个肿瘤血管生成的二维数学模型,考虑不同类型肿瘤的VEGF分泌量及来源,及其对肿瘤血管生成的影响。引入微血管密度这一临床诊断判别工具<sup>[18]</sup>的概念,规定模型研究区域内的内皮细胞的离散个数作为微血管密度。根据实验数据进行参数分析,定量研究VEGF分泌与微血管密度之间的影响关系。

## 1 数学模型及基本方程

考虑基质细胞分泌VEGF的作用,而细胞外基质(extracellular matrix, ECM)包含基质细胞,故引入ECM并认为ECM可分泌VEGF。至此,用流程图来描述本文提出的模型机制(见图1)。由图1可知,内皮细胞(endothelial cells, ECs)的趋化性和趋触性作用分别由VEGF和ECM引起。VEGF由肿瘤细

胞(tumor cells, TCs)和ECM分泌,基质降解酶(matrix degrading enzyme, MDE)由肿瘤细胞和内皮细胞分泌,MDE的作用即降解ECM。

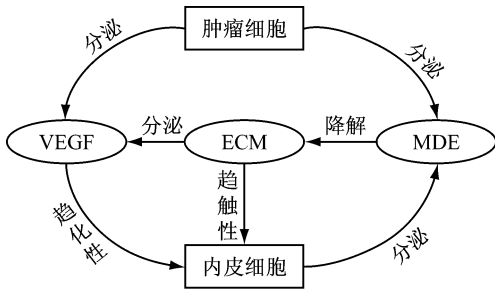


图1 模型中5个重要因素及其相互关系示意图  
 Fig.1 Flowchart showing the relationship between five key factors in the model

模拟区域为矩形 $[0,2] \times [0,2]$ ,相当于实际大小 $[0,2 \text{ mm}] \times [0,2 \text{ mm}]$ 。肿瘤考虑为圆形,其中心位于(1,1)。肿瘤区域被划分为两层,增殖细胞区 $T_p$ (黑色环形区),休眠坏死细胞区 $T_n$ (中心白色圆形)。宿主血管位于模拟区域四周,初始设定的芽尖位于四周的宿主血管(见图2)。

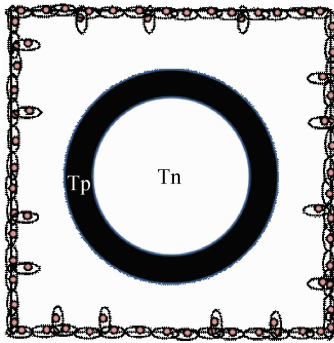


图2 肿瘤血管生成模型示意图  
 Fig.2 Schematic diagram of the tumor-induced angiogenesis model

假设内皮细胞的运动形式主要包括自身的扩散运动、趋化运动及趋触运动<sup>[14]</sup>。记内皮细胞浓度为 $n$ ,细胞外基质ECM浓度为 $f$ ,血管内皮生长因子VEGF浓度为 $c$ ,基质降解酶MDE浓度为 $C_m$ ,则内皮细胞的守恒控制方程为:

$$\frac{\partial n}{\partial t} = \overbrace{Dn \nabla^2 n}^{\text{扩散}} - \nabla \cdot \left( \frac{\chi k_1}{k_1 + c} n \nabla c \right) - \overbrace{\nabla \cdot (\rho n \nabla f)}^{\text{趋触性}} \quad (1)$$

式中:方程右侧第1项反映内皮细胞的扩散运动, $D_n$ 是扩散系数,为正常数;第2、3项分别表示内皮细胞趋化性运动和趋触性运动。

模型在VEGF的时空演化方程中引入了不同类型肿瘤的VEGF分泌来源:

$$\frac{\partial c}{\partial t} = \overbrace{-\lambda n c}^{\text{EC吸收项}} + \overbrace{D_v \nabla^2 c}^{\text{扩散}} - \overbrace{\sigma_c c}^{\text{耗散项}} + \overbrace{\alpha_c T_p}_{\text{TC生成项}} + \overbrace{\theta_c f}_{\text{ECM生成项}} \quad (2)$$

式中: $D_v$ 是扩散系数,为正常数; $\sigma_c$ 为耗散系数,表示内皮细胞与VEGF作用的吸收系数; $\alpha_c$ 和 $\theta_c$ 分别为由肿瘤细胞和基质细胞分泌VEGF的系数; $T_p$ 表示肿瘤增殖细胞,为离散矩阵,有增殖细胞为1,反之为0。

考虑ECM能被MDE降解,ECM的浓度控制方程为:

$$\frac{\partial f}{\partial t} = - \overbrace{\delta_f c m f}^{\text{MDE吸收项}} \quad (3)$$

式中, $\delta_f$ 为降解系数。

基质降解酶MDE由肿瘤细胞和内皮细胞分泌,并扩散到周围组织中经历衰退等过程。因此,MDE浓度的方程为:

$$\frac{\partial c_m}{\partial t} = \overbrace{D_m \nabla^2 c_m}^{\text{扩散项}} - \overbrace{\sigma_m c_m}^{\text{耗散项}} + \overbrace{\alpha_m T_p}_{\text{TC生成项}} + \overbrace{\mu_m A_n}_{\text{EC生成项}} \quad (4)$$

式中:方程右侧第1项为扩散项, $D_m$ 为正常数,即扩散系数; $\sigma_m$ 为衰退系数;第3、4项中 $\alpha_m$ 、 $\mu_m$ 分别为由肿瘤细胞和内皮细胞产生MDE的生成系数; $A_n$ 表示内皮细胞,为离散矩阵,有细胞为1,反之为0。

模型中内皮细胞和ECM均保持在模拟的组织区域中,故在区域边界采用不可穿透的边界条件。初始时除母管及芽尖外,其他区域内皮细胞密度设为0,ECM有均一密度 $f(\vec{x},0) = 1$ 。VEGF在初始状态下浓度的方程为:

$$c(x,y,0) = \begin{cases} 0, & 0 \leq r \leq R \\ \frac{(v-r)^2}{v-0.4771}, & R \leq r \end{cases} \quad (5)$$

式中: $v$ 为正常数, $r = \sqrt{(x-1)^2 + (y-0.5)^2}$ , $R$ 表示增殖细胞与休眠细胞的分界。

对方程(1)~(4)采用有限差分法离散。空间步长为 $\Delta x$ ,时间步长为 $\Delta t$ ,内皮细胞运动方程离散为:

$$n_{l,m}^{q+1} = n_{l,m}^q P_0 + n_{l+1,m}^q P_1 + n_{l-1,m}^q P_2 + n_{l,m+1}^q P_3 + n_{l,m-1}^q P_4 \quad (6)$$

式中:下标  $l, m$  表示二维网格中的具体位置,上标  $q$  表示时间步,即  $x = l\Delta x, y = m\Delta y, t = q\Delta t$ 。

内皮细胞的运动方向由静止( $P_0$ )、向右( $P_1$ )、向左( $P_2$ )、向上( $P_3$ )、向下( $P_4$ )5个系数决定,它们与内皮细胞运动的方向的概率成正比例。当芽尖到达肿瘤并穿越肿瘤边界时, $P_n$  将会根据肿瘤内部的复杂特性被调整<sup>[22]</sup>。

## 2 数值模拟结果

模拟区域示意图见图2,所有模拟在  $200 \times 200$  网格中。模拟区域边界上采用无流动边界条件,四周母血管上最初存在15个芽尖。部分参数值为<sup>[14]</sup>:  $\Delta x = 10^{-2}, \Delta t = 10^{-2}, D_n = D_m = D_v = 3.5 \times 10^{-4}, \sigma_c = 1.7 \times 10^{-4}, \alpha_c = 15 \times 10^{-3}, \theta_c = 5 \times 10^{-3}, \lambda = 2 \times 10^{-2}, \delta_f = 0.29, \sigma_m = 10^{-4}, \alpha_m = 5 \times 10^{-3}, \mu_m = 5 \times 10^{-3}, \nu = 1.07, \chi = 0.38, \rho = 0.22$ 。

根据上述参数和文献[14]中的描述,本模型的时间尺度  $t = 9$  h。

图3(a)是肿瘤血管生成的结果图,时间约为22 d。图中的色条背景是 VEGF 的相对浓度分布图(已归一化)。蓝色曲线则是新生血管示意图。模拟中由于随机性,并不是所有血管芽尖均发展成为血管网络。

由图3(a)可知,在肿瘤外围区域 VEGF 浓度最高,肿瘤中心区域浓度相对降低。这是由于 VEGF 是由乏氧的肿瘤细胞分泌,外围是活跃的增殖细胞,耗氧量最大,所以分泌 VEGF 最多,而中心区域细胞已经休眠甚至死亡。肿瘤的富血管区域也在肿瘤外

围,中心区域血管数远远少于外围,但仍存在血管。这与病理事实<sup>[19]</sup>相一致(见图3(b))。Holash 等<sup>[23]</sup>在老鼠 C6 胶质瘤模型上发现约4周之后 VEGF 和血管都集中在肿瘤边缘区域,中心只有少量的厚血管。Döme 等<sup>[25]</sup>也在老鼠黑色素瘤上发现了同样的血管分布特点。

从图3(c)、(d)可见,ECM 的浓度分布是肿瘤增殖细胞区域较低,四周较高;与之相反,MDE 的浓度分布是增殖细胞区较高,四周较低。这是因为肿瘤细胞和内皮细胞所产生基质降解酶 MDE 的作用就是降解细胞外基质 ECM,这与方程(3)的机理相符合。

由上述模型的结果可知,VEGF 的高浓度区、肿瘤新生血管的富血管区与模型设定的增殖细胞区三者统一。为考察肿瘤增殖细胞区与微血管密度的定量关系,以此模型为基准模型,改变基准模型中的增殖细胞区域的面积。

模型定义增殖细胞面积比率(见图2),增殖细胞所在的环形面积记为  $S_p$ ,肿瘤总面积记为  $S$ ,则增殖细胞面积比率  $= S_p/S$ 。模型定义微血管密度为整个模拟区域中内皮细胞离散后的点数。

图4所示为增殖细胞面积比率和微血管密度的关系图,具体数据见表1。在每个肿瘤半径  $R$  保持不变的区间内,随着增殖细胞面积比率的降低,微血管密度也随之减少。图5所示为基准模型(与图3(a)一致)所在区间内的3个模型结果,直观显示出随着增殖细胞面积逐步减少,微血管密度也随之减小。然而,肿瘤血管分布仍然出现分层分布的病理特征,即肿瘤边缘区域呈现富血管区,肿瘤中心区域血管明显减少,但仍存在血管。由上述分析结果可

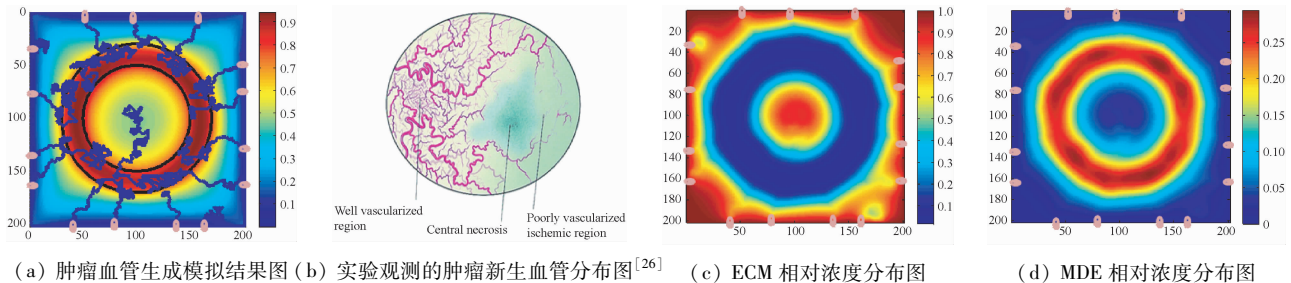


图3 数值计算结果

Fig.3 Simulation results (a) Simulation results of tumor-induced angiogenesis, (b) Vascular supply in solid tumors<sup>[26]</sup>, (c) Concentration contour of ECM, (d) Concentration contour of MDE

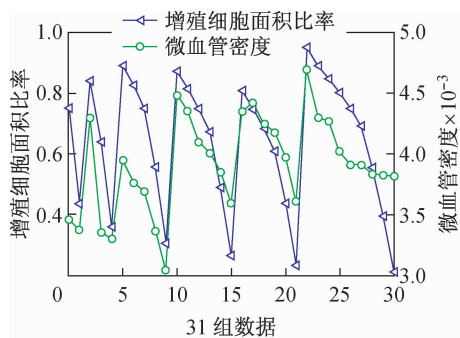


图4 增殖细胞面积比率和微血管密度的关系  
 Fig.4 Relationship between the area ratio of proliferation cells and microvessel density

表1 不同肿瘤半径及不同休眠坏死区半径对应的微血管密度值

Tab.1 Corresponding microvessel density for different tumor radius and different dormant and necrotic region radius

$R$	$r$	$S_p/S$	微血管密度	$R$	$r$	$S_p/S$	微血管密度
0.4	0.2	0.750 000	3 454.50	0.8	0.35	0.808 594	4 353.00
0.4	0.3	0.437 500	3 373.00	0.8	0.4	0.750 000	4 430.00
0.5	0.2	0.840 000	4 305.00	0.8	0.45	0.683 594	4 254.86
0.5	0.3	0.640 000	3 350.75	0.8	0.5	0.609 375	4 175.21
0.5	0.4	0.360 000	3 298.60	0.8	0.6	0.437 500	3 975.25
0.6	0.2	0.888 889	3 948.00	0.8	0.7	0.234 375	3 605.00
0.6	0.25	0.826 389	3 762.43	0.9	0.2	0.950 617	4 699.00
0.6	0.3	0.750 000	3 693.50	0.9	0.3	0.888 889	4 299.00
0.6	0.4	0.555 556	3 366.00	0.9	0.35	0.848 765	4 273.00
0.6	0.5	0.305 556	3 039.00	0.9	0.4	0.802 469	4 021.50
0.7	0.25	0.872 449	4 491.00	0.9	0.45	0.750 000	3 911.00
0.7	0.3	0.816 327	4 355.94	0.9	0.5	0.691 358	3 912.67
0.7	0.35	0.750 000	4 102.14	0.9	0.6	0.555 556	3 831.50
0.7	0.4	0.673 469	4 009.67	0.9	0.7	0.395 062	3 828.00
0.7	0.5	0.489 796	3 850.38	0.9	0.8	0.209 877	3 824.00
0.7	0.6	0.265 306	3 590.50				

注: $R$ 为肿瘤的半径, $r$ 为休眠坏死区的半径

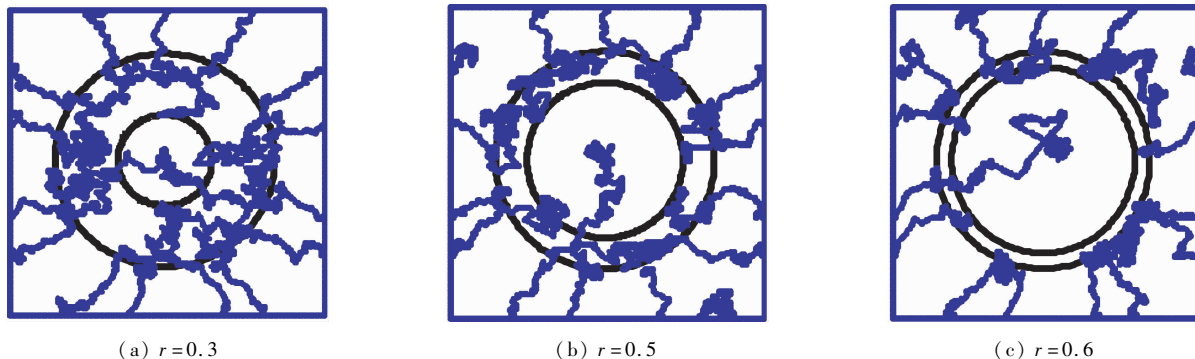


图5 肿瘤半径  $R=0.7$  时,不同休眠坏死区半径  $r$  下的肿瘤血管生成模拟结果图((b)为基准模型)

Fig.5 Simulation results of tumor-induced angiogenesis with different radius of the dormant and necrotic region when tumor radius  $R=0.7$

以推论,肿瘤增殖细胞区对应着 VEGF 高浓度区,其面积的增大意味着 VEGF 分泌总量的增加,故其所占面积比例对微血管密度有重要影响作用。

Liang 等<sup>[13]</sup>发现,不同类型肿瘤 VEGF 分泌来源不同,为探讨 VEGF 分泌来源对微血管密度的影响,以图 3(a)为基准模型,改变方程(2)中 VEGF 的两个生成项系数,即改变肿瘤生成的 VEGF 和基质细胞生成的 VEGF 的比例。由于模型本身存在的随机性问题,故每个比值均做 10 次计算。

图6中横坐标表示肿瘤生成的 VEGF 和基质细胞生成的 VEGF 的比例,共有6个数值,其中有3个数值从实验<sup>[13]</sup>得到,它们是51.63对应结肠癌,10.76对应骨骼肌瘤,0.82对应人胰腺癌。3是基准模型的比值,30.25和1是模型估算值。折线表示对应于每一种比例而进行的10次运算的平均值。由图6可知,除基准模型的微血管密度偏高以外,其余各组结果相差不大;尽管肿瘤生成的 VEGF 与基质细胞产生的 VEGF 的比例相差悬殊,但对最终微血管密度的影响却不明显。

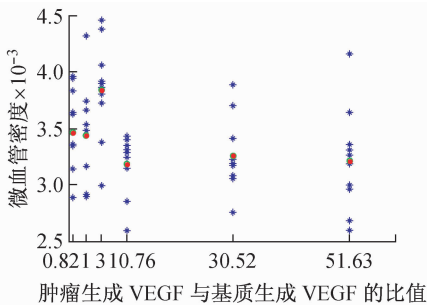


图6 VEGF 不同分泌来源的比值与微血管密度的关系  
(红点表示平均值)

Fig. 6 Relationship between the ratio of two VEGF expression sources and microvessel density (the red dots are the mean values)

### 3 分析与讨论

肿瘤血管生成是一个很复杂的病理过程,其中涉及多个系统多种因素的相互作用。目前数值模拟工作的模型已经相当复杂,但仍未包括很多病理事实,例如不同类型肿瘤的 VEGF 分泌量及分泌来源对肿瘤血管生成的影响。本文围绕 VEGF 的分泌及其诱导新生血管形成肿瘤富血管区的过程,考虑细胞外基质的旁分泌作用以及对内皮细胞运动的趋触作用,以微血管密度作为定量指标,探讨 VEGF 的分泌量及不同的分泌来源对血管生成的影响。模拟结果表明,微血管密度与 VEGF 的表达有关,随着增殖细胞区域的扩大,即 VEGF 的表达越来越多,微血管密度也越来越大,这与临床数据符合<sup>[20-21]</sup>。同时,VEGF 不同分泌来源的比重与微血管密度无明显相关性。

Liang 等<sup>[13]</sup>对3种人类移植瘤(骨骼肌、结肠、胰腺)进行实验。经检测,在结肠的肿瘤提取物中,肿瘤分泌的 VEGF 为 $(1\ 802 \pm 35)$  pg/mg,而基质细

胞分泌的 VEGF 为 $(35 \pm 9)$  pg/mg;在骨骼肌的肿瘤提取物中,肿瘤分泌的 VEGF 水平适量,为 $(163 \pm 39)$  pg/mg,而基质细胞分泌的 VEGF 则更少,为 $(15 \pm 4)$  pg/mg。与此相反,人类胰腺癌肿瘤含有几乎等量的肿瘤分泌 VEGF 和基质分泌 VEGF,分别为 $(116 \pm 30)$ 、 $(147 \pm 60)$  pg/mg。图6的5个比值其中有3个都是根据上述结果计算而得,从模拟结果可知,不同的分泌来源对微血管密度的影响不明显。由于微血管密度一般用来研究肿瘤组织学分级、临床分期、转移复发等,所以实验中对于不同肿瘤同一时期的横向 MVD 对比很难操作。但是生理实验已证实,VEGF 不同的分泌来源对肿瘤治疗是有影响的。Liang 等<sup>[13]</sup>对上述3种移植瘤进行实验,靶向肿瘤分泌 VEGF 的药物阿瓦斯汀对骨骼肌瘤和结肠癌有约90%的有效性,但是对胰腺癌却只有小于50%的有效性,这正是因为胰腺癌中基质分泌的 VEGF 比其他肿瘤多。因此,本文对 VEGF 的不同分泌来源的考虑可作为研究靶向 VEGF 治疗肿瘤的模式基础。

本文仅针对肿瘤血管生成形成富血管区后的相对稳定状态进行讨论,模型本身存在一些局限性。首先,模型未考虑肿瘤生长与血管生成间的耦合动态作用。其次,肿瘤血管生成中还有很多其他影响因素未考虑,例如一些整合素对内皮细胞的迁移和存活也起到了显著作用<sup>[3]</sup>。在今后的工作中,对上述因素的考虑会使得本模型更加接近真实生理情况。

### 参考文献:

- [1] Folkman J. Tumor angiogenesis: Therapeutic implication [J]. N Engl J Med, 1971, 285(1): 1182-1186.
- [2] Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer [J]. Cell, 2000, 100(1): 57-70.
- [3] Jin H, Varner J. Integrins: Roles in cancer development and as treatment targets [J]. Br J Cancer, 2004, 90(3): 561-565.
- [4] Ferrara N, Davis-Smyth T. The biology of vascular endothelial growth factor [J]. Endocr Rev, 1997, 18(1): 4-25.
- [5] Ferrara N, Gerber HP, LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors [J]. Nat Med, 2003, 9(6): 669-676.
- [6] Carmeliet P, Ferreira V, Breier G, et al. Abnormal blood

- vessel development and lethality in embryos lacking a single VEGF allele [J]. *Nature*, 1996, 380(6573): 435-439.
- [7] Ferrara N. Molecular and biological properties of vascular endothelial growth factor [J]. *J Mol Med(Berl)*, 1999, 77(7): 527-543.
- [8] Hicklin DJ, Ellis LM. Role of the vascular endothelial growth factor pathway in tumor growth and angiogenesis [J]. *J Clin Oncol*, 2005, 23(5): 1011-1027.
- [9] Wey JS, Stoeltzing O, Ellis LM. Vascular endothelial growth factor receptors: Expression and function in solid tumors [J]. *Clin Adv Hematol Oncol*, 2004, 2(1): 37-45.
- [10] Rafii S, Lyden D. Therapeutic stem and progenitor cell transplantation for organ vascularization and regeneration [J]. *Nat Med*, 2003, 9(6): 702-712.
- [11] Ferrara N, Kerbel RS. Angiogenesis as a therapeutic target [J]. *Nature*, 2005, 438(7070): 967-974.
- [12] Dong J, Grunstein J, Tejada M, *et al.* VEGF-null cells require PDGFR a signaling-mediated stromal fibroblast recruitment for tumorigenesis [J]. *EMBO J*, 2004, 23(14): 2800-2810.
- [13] Liang WC, Wu X, Peale FV, *et al.* Cross-species vascular endothelial growth factor (VEGF)-blocking antibodies completely inhibit the growth of human tumor xenografts and measure the contribution of stromal VEGF [J]. *J Biol Chem*, 2006, 281(2): 951-961.
- [14] Anderson AR, Chaplain MA. Continuous and discrete mathematical models of tumor-induced angiogenesis [J]. *Bull Math Biol*, 1998, 60(5): 857-899.
- [15] McDougall SR, Anderson AR, Chaplain MA. Mathematical modeling of dynamic adaptive tumor-induced angiogenesis: Clinical implications and therapeutic targeting strategies [J]. *J Theor Biol*, 2006, 241(3): 564-589.
- [16] McDougall SR, Chaplain MA, Stephanou A, *et al.* Modelling the impact of pericyte migration and coverage of vessels on the efficacy of vascular disrupting agents [J]. *Math Model Nat Phenom*, 2010, 5(1): 163-202.
- [17] Cai Y, Xu SX, Wu J, *et al.* Coupled modelling of tumour angiogenesis, tumour growth and blood perfusion [J]. *J Theor Biol*, 2011, 279(1): 90-101.
- [18] Hlatky L, Hahnfeldt P, Folkman J. Clinical application of antiangiogenic therapy: Microvessel density, what it does and doesn't tell us [J]. *Natl Cancer Inst*, 2002, 94(12): 883-893.
- [19] Döme B, Paku S, Somlai B, *et al.* Vascularization of cutaneous melanoma involves vessel co-option and has clinical significance [J]. *J Pathol*, 2002, 197(3): 355-362.
- [20] 王粉荣, 李荣, 宋政军. 肿瘤微血管密度和血管内皮生长因子的表达与胃癌病理及临床分期的关系[J]. *西安交通大学学报:医学版*, 2006, 27(6): 578-581.
- [21] Weider N, Folkman J, Pozza F, *et al.* Tumor angiogenesis: A new significant independent prognostic indicator in early-stage breast carcinoma [J]. *Natl Cancer Inst*, 1992, 84(24): 1875-1887.
- [22] Cai Y, Gulnar K, Zhang HY, *et al.* Numerical simulation of tumor-induced angiogenesis influenced by the extra cellular matrix mechanical environment [J]. *Acta Mechanica Sinica*, 2009, 25(6): 889-895.
- [23] Holash J, Maisonpierre PC, Compton D, *et al.* Vessel co-option, regression, and growth in tumors mediated by angiopoietins and VEGF [J]. *Science*, 1999, 284(5422): 1994-1998.
- [24] 吴洁, 许世雄, 龙泉, 等. 实体肿瘤内微循环及药物传递的三维数值模拟[J]. *医用生物力学*, 2010, 25(2): 129-135.
- Wu J, Xu SX, Long Q, *et al.* Three-dimensional numerical simulation of microcirculation and drug delivery in solid tumors [J]. *J Med Biomech*, 2010, 25(2): 129-135.
- [25] Döme B, Paku S, Somlai B, *et al.* Vascularization of cutaneous melanoma involves vessel co-option and has clinical significance [J]. *J Pathol*, 2002, 197(3): 355-362.
- [26] Kuszyk BS, Corl FM, Franano FN, *et al.* Tumor transport physiology: Implications for imaging and imaging-guided therapy [J]. *AJR Am J Roentgenol*, 2001, 177(4): 747-753.
- [27] 吴洁, 许世雄, 龙泉, 等. 肿瘤微循环血管网的数值模拟及后期处理[J]. *医用生物力学*, 2010, 25(2): 136-142.
- Wu J, Xu SX, Long Q, *et al.* Numerical simulation and post-processing of tumor microvasculature [J]. *J Med Biomech*, 2010, 25(2): 136-142.