

ФАКТОР РОСТА ЭНДОТЕЛИЯ СОСУДИСТОГО РУСЛА В ЛИМФОАНГИОГЕНЕЗЕ ПРИ ПОЧЕЧНО-КЛЕТОЧНОМ РАКЕ

Рахимов Н.М., Бойко Е.В., Тилляшайхова Р.М., Аьлов Б.Б.

БУЙРАК САРАТОНИНИНГ ЛИМФОАНГИОГЕНЕЗИДА ҚОН ТОМИР ЭНДОТЕЛИЯСИНИНГ ЎСИШ ФАКТОРИ

Рахимов Н.М., Бойко Е.В., Тилляшайхова Р.М., Аьлов Б.Б.

VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR IN LYMPHANGIOGENESIS AT RENAL CELL CARCINOMA

Rakhimov N.M., Boyko E.V., Tilliashaykhova R.M., Aloyev B.B.

Республиканский онкологический научный центр

Бугунги кунда буйрак саратонини аниқланган прогностик маркерлари кам специфик ва оз миқдорда. Буйрак саратони нур ва химиотерапияга сезгир эмаслигини ҳисобга олиб янги маркерларни аниқлаш ва валидациялаш ҳамда таргет терапия учун юқори специфик нишонларни яратиш ҳозирги замон давр талаби бўлиб қолмоқда. Мақолада ўсма билан боғлиқ янги лимфатик томирларни пайдо бўлишида қатнашувчи молекуляр ва ҳужайра патомеханизмлари тўғрисида замонавий қарашлар баён этилади. Лимфоген метастазланишда қатнашадиган VEGFC/D лимфоангиогенез факторини ўрни ва лимфоангиогенез цитокинларига алоҳида эътибор қаратилган.

Калит сўзлар: VEGFC/D, буйрак саратони, лимфоангиогенез, лимфоген метастаз

Existing to date markers of prognosis and target therapy for renal cell carcinoma are few and low specific. In this regard, the search and validation of new markers, especially new specific targets, for the treatment of kidney oncopathologies seem to be an extremely topical problem. The article analyzes modern concepts of molecular and cellular mechanisms involved in the regulation of tumor-associated formation of new lymphatic vessels. Particular attention is paid to the regulation of lymphangiogenesis by VEGFC/D cytokines and the role of these factors in lymphogenous metastasis. Pathophysiology of neolymphogenesis and mechanisms of lymphogenous metastasis are determined.

Key words: VEGFC/D, kidney cancer, lymphangiogenesis, lymphogenous metastasis.

Первые сведения о существовании лимфатических сосудов появились еще в XVII ст. В 1627 г. была опубликована книга известного итальянского хирурга Гаспаро Азелли, в которой среди других анатомических данных впервые были описаны лимфатические («молочные») сосуды брыжейки тонкой кишки у собаки. Длительное время лимфатическую систему считали пассивным переносчиком жиров и других веществ, источником клеток, обеспечивающих иммунитет, а также дренажной системой, способствующей возвращению избытка тканевой жидкости в кровь.

Согласно современным представлениям, лимфоангиогенез является процессом образования новых лимфатических сосудов, который происходит в нормальных и патологически измененных тканях и органах под воздействием паракринных регуляторов. В отличие от эмбриогенеза, когда первые лимфатические сосуды образуются из кардиальной вены, во взрослом организме лимфоангиогенез осуществляется за счет формирования отростков уже имеющихся лимфатических сосудов. При этом реализация лимфоангиогенеза не зависит от образования новых кровеносных сосудов. Феномен диссеминации опухолевых клеток (ОК) по лимфатическим сосудам известен давно, но многие аспекты, касающиеся механизмов попадания ОК внутрь сосудов, миграции с лимфотоком и пролиферации в лимфатическом узле, до недавнего времени оставались неизвестными.

Процесс лимфоангиогенеза имеет решающее значение для инициации лимфогенного метастазирования. Многие из недавно открытых лимфоангиогенных факторов (как прямого, так и опосредованного действия) способны обеспечивать проникновение ОК в интра- и/или перитуморальные лимфатические капилляры (ЛК) и стимулировать перемещение ОК по лимфатической системе, блокируя при этом их гибель [4,5,23].

Для ранней диагностики и прогнозирования течения рака почки (РП), помимо лучевых методов диагностики, в последнее время применяются молекулярные генетические маркеры. Показано, что в сочетании с современными методами визуальной диагностики они могут значительно повысить эффективность диагностики начальных стадий заболевания [2,3,17,24,26]. Считается, что вместе с современными методами визуальной диагностики определение уровня онкомаркеров имеет значение при неопределенности органной принадлежности забрюшинного новообразования: паренхима или чашечно-лоханочная система, опухоль верхнего сегмента почки с инвазией надпочечника или первичное новообразование надпочечника с прорастанием в почку [1].

Появление современной панели молекулярных генетических маркеров связано с развитием генетических исследований, по результатам которых выяснилось, что развитие РП происходит вследствие серии генетических нарушений, приводящих к инактивации генов-супрессоров и стимуляции онкогенов. Ген VHL (von Hippel – Lindau) подвергается инактивации из-за соматических мутаций, аллельных делеций и метилирования в подавляющем количестве светлоклеточного РП.

Синдром Гиппеля – Ландау – аутосомно-доминантное заболевание, причиной которого является инактивация одноименного супрессорного гена (3p25) вследствие эмбриональной мутации. У 2% больных РП является одним из проявлений наследственного синдрома Гиппеля – Ландау (von Hippel – Landau – VHL). Риск развития почечной карциномы при синдроме Гиппеля – Ландау повышается до 35%. Опухоли почки при синдроме Гиппеля – Ландау, как правило, множественные, двусторонние (75%) или односторонние (25%), часто рецидивируют. Белковый продукт VHL-гена в нормальных условиях регулирует уровень HIF (hypoxia inducible factor – фактор, ин-

дуцируемый гипоксией), связываясь с последним и инактивируя его. Если функциональная активность VHL-гена падает, уровень HIF повышается. Это приводит к активации ряда генов, экспрессия которых служит ценным прогностическим фактором при РП [1]. Для несветлоклеточных гистологических форм РП мутации VHL-гена не характерны [6].

Среди всех ангиогенных факторов семейство сосудистых эндотелиальных факторов роста (VEGF) считается основным в новообразовании сосудов [12]. Белки, относящиеся к семейству VEGF, представляют собой гликопротеины, стимулирующие формирование новых кровеносных и лимфатических сосудов и увеличивающие проницаемость сосудов. VEGF секретируются как ковалентно связанные гомодимеры, стабилизированные дисульфидными мостиками. Семейство включает 6 факторов роста: VEGF-A; VEGF-B; VEGF-C; VEGF-D; VEGF-E и плацентарный фактор роста (PLGF). Одним из активаторов VEGF является гипоксия-индуцибельный фактор-1 (HIF-1) [25]. Наиболее изучаемым в последние годы биологическим маркером у больных РП стал фактор активации ангиогенеза VEGF (vascular endothelial growth factor – фактор роста эндотелия сосудистого русла), который был открыт и клонирован доктором N. Ferrara в 1989 г. [11]. VEGF представляет собой мультифункциональный цитокин. Он вызывает подъем активности урокиназы и коллагеназы. Это приводит к лизису эндотелиального матрикса, повышает способность эндотелиальных клеток к миграции, вызывает усиление способности опухолевых клеток к инвазии и метастазированию [3,7].

Начало изучению механизмов лимфоангиогенеза было положено установлением факта, что специфическим рецептором для VEGF С-типа является белок VEGFR-3, который у взрослого человека экспрессируется преимущественно в эндотелиальных клетках лимфатических сосудов ЭКЛС [15]. Позже был выявлен еще один лиганд VEGFR-3 – VEGF D-типа, а также показана способность VEGF-C и VEGF-D специфически связываться с рецепторным белком VEGFR-2 [30].

При опухолевом лимфоангиогенезе отмечается выбрасывание филоподий ЭКЛС в направлении ОК, которые продуцируют VEGF-C, и таким образом осуществляется миграция ЭКЛС. Кроме того, в результате активации рецептора VEGFR-3 происходит фосфорилирование и активация киназ Akt и JNK1/2, которые блокируют апоптоз и поддерживают жизнеспособность ЭКЛС [21,27]. Выживанию клеток, опосредованному VEGFR-3, может также содействовать киназа MKK4 [19]. Следует отметить, что на поверхности ЭКЛС выявляются гетеродимерные комплексы VEGFR-3/VEGFR-2, что в значительной степени затрудняет идентификацию внутриклеточных регуляторных сигналов, инициируемых собственно VEGFR-3. К индукторам лимфоангиогенеза относятся также VEGF-A, щелочной фактор роста фибробластов (bFGF), инсулиноподобные факторы роста (IGF-I и IGF-II), фактор роста гепатоцитов (HGF), тромбоцитарный фактор роста (PDGF) и некоторые другие. Действие VEGF-A на ЛК может быть опосредованным, например, при участии макрофагов, которые продуцируют лимфоангиогенные факторы, либо путем повышения экспрессии VEGF-C. Вывод об участии VEGF-A в реализации механизмов лимфоангиогенеза подтверждают также данные, полученные на модели рака молочной железы (РМЖ) [31]. Оказалось, что нейтрализующие анти-VEGF-A-антитела способны существенно снижать плотность ЛК в опухоли и образование метастазов в лимфатических узлах. PDGF, как известно, высвобождается тромбоцитами и регулирует пролиферацию и миграцию клеток мезенхимального происхождения. Кроме того, этот фактор роста повышает проницаемость сосудов.

Следует остановиться на двух важных моментах. Во-первых, понятно, что лимфоангиогенные факторы не

функционируют изолированно, а способны модулировать действие друг друга, в том числе через трансактивацию соответствующих рецепторов. Во-вторых, существование такой сложной системы регуляции образования новых ЛК указывает на то, что ингибирование активности только одного из группы лимфоангиогенных факторов вряд ли будет достаточным для блокирования лимфоангиогенеза с терапевтической целью. Поскольку ЛК фактически не содержат перититов или гладкомышечных клеток, главной мишенью для лимфоангиогенных факторов служат ЭКЛС. В процессе лимфоангиогенеза, помимо ЭКЛС, участвуют ОК и клетки стромы, которые продуцируют VEGF-C/D [28]. Кстати, макрофаги, с одной стороны, могут стимулировать пролиферацию ЭКЛС, а с другой, способны к трансдифференцировке и последующему встраиванию в стенку образующегося ЛК [22].

Процесс метастазирования включает в себя каскад последовательных и взаимосвязанных этапов: инвазию злокачественных клеток вглубь окружающих тканей, стимуляцию лимфоангиогенеза и ангиогенеза, проникновение ОК в лимфатические и кровеносные сосуды (интравазация), продвижение ОК с током лимфы или крови, задержку в ближайших или в отдаленных органах и тканях в результате адгезии к сосудистому эндотелию, выход ОК из сосудов (экстравазация), адаптацию к условиям нового микроокружения, образование и рост вторичного (метастатического) опухолевого узла. Приблизительно 80% солидных опухолей формируют метастазы преимущественно путем проникновения ОК в лимфатическую систему, и только 20% – через кровеносные сосуды. Как правило, карциномы метастазируют лимфогенным (значительно реже – гематогенным) путем, тогда как саркомы образуют вторичные опухолевые узлы, главным образом, после попадания ОК в кровеносное русло. Через лимфатические сосуды чаще всего распространяются клетки при таких формах злокачественных новообразований как рак предстательной железы, рак почки, меланома, РМЖ, рак желудка и тонкой кишки, а также опухоли головы и шеи [16].

Известно, что задержка ОК, которые мигрируют лимфогенным путем, чаще всего происходит в одном или нескольких регионарных лимфатических узлах, называемых «сторожевыми» (СЛУ), первых на пути оттока лимфы. Более того, образование метастазов в регионарных лимфатических узлах считается одним из прогностических маркеров и важным критерием для выбора стратегии лечения [23]. Однако, сравнивая 2 способа диссеминации ОК, следует отметить, что лимфогенный путь представляется более благоприятным для распространения и колонизации ОК. Во-первых, при отсутствии перититов, гладкомышечных клеток и базальной мембраны характерным признаком новых ЛК является повышенная проницаемость стенки капилляра [14]. Во-вторых, миграция по сосудистому руслу одиночных ОК и их кластеров осуществляется намного эффективнее, благодаря большему диаметру ЛК по сравнению с кровеносными капиллярами (20-120 vs 7-9 мкм). И, в-третьих, в лимфатических сосудах практически отсутствуют стрессовые эффекты так называемой силы гидродинамического сдвига, которая действует в системе циркуляции крови. Благодаря этому значительно повышается выживание клеток с метастатическим фенотипом в условиях их субстрат-независимой диссеминации.

Ранее считалось, что лимфогенное метастазирование представляет собой лишь пассивный процесс, при котором ОК, случайно попав в лимфатические сосуды, имеющиеся вблизи первичного опухолевого очага, с током лимфы заносятся в лимфатические узлы. Однако данные последних лет убедительно свидетельствуют, что стиму-

ляция лимфоангиогенеза и последующая интраваскулярная окклюзия в лимфатические сосуды являются важным условием для метастазирования ОК в лимфатические узлы.

Существенную роль в этих процессах играют, соответственно, лимфоангиогенные факторы и протеиназа MMP-2. Эксперименты с использованием рекомбинантного белка sVEGFR-3-Ig, вектора с малыми интерферирующими РНК против гена VEGF-C или антител против VEGF-D свидетельствуют о непосредственной связи между экспрессией VEGF-C или VEGF-D и образованием метастазов [8,13,29]. Механизм участия лимфоангиогенеза в процессах метастазирования состоит в стимуляции образования новых ЛК в СЛУ [19].

Отмечена зависимость уровня экспрессии сосудисто-эндотелиального фактора и гистологического строения почечной карциномы. У больных папиллярным РП уровень экспрессии сосудисто-эндотелиального фактора выше среднего ассоциируется с плохим прогнозом, агрессивным течением заболевания и высокой смертностью. При светлоклеточной почечной карциноме неблагоприятный прогноз подозревается, если уровень VEGF ниже среднего [20].

Несмотря на то, что роль VEGF-C и VEGF-D и их рецептора VEGFR-3 в индукции лимфоангиогенеза признана давно, их предиктивная ценность в метастазировании опухолей в регионарные лимфатические узлы противоречива. Показано, что лимфоангиогенез, оцениваемый по плотности лимфатических сосудов, является предиктором метастазирования протоковой карциномы *in situ* с микроинвазией [19].

По мнению некоторых авторов, соотношение VEGF-C/VEGF-D является прогностическим маркером поражения лимфатических узлов (значение 317 ± 167 выявляется при вовлечении лимфатических узлов и 45 ± 19 при интактных; $p=0.0369$) [9].

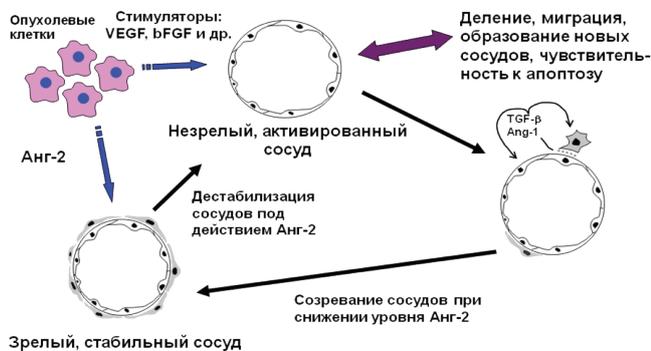


Рисунок. Механизм опухолевого ангиолимфоангиогенеза.

Формирование лимфатических сосудов, происходящее в опухолевых тканях, также является критическим фактором для развития рака и его прогрессирования. Существует необходимость изучения лимфоангиогенеза вместе с ангиогенезом как прогностического фактора течения патологического процесса [5,10].

Проявления опухолевого ангиогенеза в регионарных лимфатических узлах. Несмотря на многочисленные исследования, посвященные изучению формирования кровеносных и лимфатических сосудов при раке, были найдены только единичные публикации с данными об ангиогенезе в регионарных к опухоли лимфатических узлах. Причем в большинстве таких работ только косвенно отмечаются изменения васкуляризации данных органов [18].

Заключение

Резюмируя вышеизложенное, следует отметить, что результаты изучения экспрессии фактора роста эндоте-

лия лимфососудов у больных с различными гистологическими вариантами новообразований почек подтверждают высказанную выше гипотезу о существовании прямой связи между экспрессией VEGF-с, степенью злокачественности опухоли и процессами метастазирования, что в свою очередь свидетельствует о существенной роли этого фактора в биологии опухоли-трансформированных тканей. Последующее наблюдение за группами больных и изучение их выживаемости с учетом выявленных метастазов позволит проверить и обосновать указанные представления. С учетом этих обстоятельств дальнейшие исследования должны быть направлены на разработку патогенетических методов лечения рака почки, в частности, на применение анти лимфоангиогенной терапии в сочетании с другими методами активного воздействия на опухоли.

Литература

1. Аляев Ю.Г., Винаров А.З., Крапивин А.А., Гафаров Н.З. Современные технологии в диагностике и лечении рака почки // Онкоурология. – 2005. – №2. – С. 3-7.
2. Буйлов В.М. Трудности и ошибки ультразвуковой и рентгеновской диагностики псевдоопухолей почек // Sono Ace-Ultrasound. – 2003. – №11. – С. 3-9.
3. Глыбочко П.В., Дурнов Д.А., Понукалин А. и др. Диагностическое значение метаболического онкомаркера TuM2Pк и фактора роста эндотелия сосудов в стадировании опухолевого процесса при раке почки // Мед. вестн. Башкортостана. – 2011. – Т. 6, №2. – С. 234-239.
4. Горелов А.И., Солдатенков А.В., Горелов Д.С., Селиванов А.С. Современные аспекты прогнозирования рака почки (обзор литературы) // Вестн. СПб ун-та. – 2008. – Сер.11, вып. 4. – С. 153-165.
5. Майбородин И.В., Красильников С.Э., Козьяков А.Е. и др. Целесообразность изучения опухолевого ангиогенеза как прогностического фактора развития рака // Новости хирургии. – 2015. – Т. 23, №3.
6. Носов Д.А., Яковлева Е.С., Атаева Д.А. и др. Молекулярно-биологические факторы прогноза и эффективности лекарственного лечения при диссеминированном раке почки // Онкоурология. Р. 2010. – №4. – С. 23-31.
7. Трапезникова М.Ф., Глыбин П.А., Морозов А.П. и др. Ангиогенные факторы при почечно-клеточном раке // Онкоурология. – 2008. – №4. – С. 82-87.
8. Chen Z., Varney M.L., Backora M.W. et al. Down-regulation of vascular endothelial cell growth factor-C expression using small interfering RNA vectors in mammary tumors inhibits tumor lymphangiogenesis and spontaneous metastasis and enhances survival // Cancer Res. – 2005. – Vol. 65. – P. 9004-9011.
9. Cannick G.H., Jiang W.G., Douglas-Jones T. et al. Lymphangiogenesis and lymph node metastasis in breast cancer // Mol Cancer. – 2008. – Vol. 7. – P. 23.
10. Dębiński P. et al. The clinical significance of lymphangiogenesis in renal cell carcinoma // Med. Sci. Monit. – 2013. – Vol. 19. – P. 606-611.
11. Ferrara N. Molecular and biological properties of vascular endothelial growth factor // J. Mol. Med. – 1999. – Vol. 77 №7. – P. 527-543.
12. Ferrara N. VEGF-A: a critical regulator of blood vessel growth // Europ. Cytokine Netw. – 2009. – Vol. 20, №4. – P. 158-163.
13. He Y., Rajantie I., Pajusola K. et al. Vascular endothelial cell growth factor receptor 3-mediated activation of lymphatic endothelium is crucial for tumor cell entry and spread via lymphatic vessels // Cancer Res. – 2005. – Vol. 65. – P. 4739-4746.
14. Ji R.C., Kato S. Lymphatic network and lymphangiogenesis in the gastric wall // J. Histochem. Cytochem. – 2003. – Vol. 51. – P. 331-338.
15. Joukov V., Pajusola K., Kaipainen A. et al. A novel vascular endothelial growth factor, VEGF-C, is a ligand for the Flt4 (VEGFR-3) and KDR (VEGFR-2) receptor tyrosine kinases // EMBO J. – 1996. – Vol. 15. – P. 290.
16. Kaiserling E., Krober S., Geleff S. Lymphatic vessels in the colonic mucosa in ulcerative colitis // Lymphology. – 2003. – Vol. 36. – P. 52-61.
17. Lam J.S., Leppert J.T., Figlin R.A., Belldegrun A.S. Role of molecular marker in the diagnosis and therapy of renal cell carcinoma // Urology. – 2005. – Vol. 66. – P. 1-9.
18. Lee E., Pandey N.B., Popel A.S. Pre-treatment of mice with tumor-conditioned media accelerates metastasis to lymph nodes and lungs: a new spontaneous breast cancer metastasis model // Clin. Exp. Metastasis. – 2014. – Vol. 31, №1. – P. 67-79.
19. Lee S.K., Cho E.Y., Kim W.W. et al. The prediction of lymph node metastasis in ductal carcinoma in situ with microinvasion by assessing

- lymphangiogenesis // J. Surg. Oncol. – 2010. – Vol. 102, №3. – P. 225-229.]
20. Ljungberg B., Jacobsen J., Haggstrom-Rudolfsson S. et al. Tumor vascular endothelial growth factor (VEGF) mRNA in relation to serum VEGF protein levels and tumor progression in human renal cell carcinoma // Urol. Res. – 2003. – Vol. 31. – P. 335-340.
21. Makinen T., Veikkola T., Mustjoki S. et al. Isolated lymphatic endothelial cells transduce growth, survival and migratory signals via the VEGF-C/D receptor VEGFR-3 // EMBO J. – 2001. – Vol. 20. – P. 4762-4773.
22. Maruyama K., Li M., Cursiefen C. et al. Inflammation-induced lymphangiogenesis in the cornea arises from CD11b-positive macrophages // J. Clin. Invest. – 2005. – Vol. 115. – P. 2363-2372.
23. Pepper M.S., Tille J.C., Nisato R., Skobe M. Lymphangiogenesis and tumor metastasis // Cell Tissue Res. – 2003. – Vol. 314. – P. 167-177.
24. Pfister C., Yaroun M., Brisset J. M. Kystesa typiques renaux // Prog. Urol. – 1993. – Vol. 3. – P. 453.
25. Potente M., Gerhardt H., Carmeliet P. Basic and therapeutic aspects of angiogenesis // Cell. – 2011. – Vol. 146, №6. – P. 873-887.
26. Rankin S.C., Webb J.A., Reznick R.H. Spiral computed tomography in the diagnosis of renal masses // Brit. J. Urol. Int. – 2000. – Vol. 26 (Supl. 1). – P. 48-57.
27. Salameh A., Galvagni F., Bardelli M. et al. Direct recruitment of CRK and GRB2 to VEGFR-3 induces proliferation, migration, and survival of endothelial cells through the activation of ERK, AKT, and JNK pathways // Blood. – 2005. – Vol. 106. – P. 3423-3431.
28. Schoppmann S.F., Birner P., Stockl J. et al. Tumor-associated macrophages express lymphatic endothelial growth factors and are related to peritumoral lymphangiogenesis // Amer. J. Pathol. – 2002. – Vol. 161. – P. 947-956.
29. Stacker S.A., Caesar C., Baldwin M.E. et al. Vascular endothelial growth factor-D promotes the metastatic spread of cancer via the

lymphatics // Nature Med. – 2001. – Vol. 7. – P. 186-191.

30. Taipale J., Makinen T., Arighi E. et al. Vascular endothelial growth factor receptor-3 // Curr. Top. Microbiol. Immunol. – 1999. – Vol. 237. – P. 85-96.

31. Whitehurst B., Flister M.J., Bagaitkar J. et al. AntiVEGF-A therapy reduces lymphatic vessel density and expression of VEGFR-3 in an orthotopic breast tumor model // Int. J. Cancer. – 2007. – Vol. 121. – P. 2181-2191.

ФАКТОР РОСТА ЭНДОТЕЛИЯ СОСУДИСТОГО РУСЛА В ЛИМФОАНГИОГЕНЕЗЕ ПРИ ПОЧЕЧНО-КЛЕТОЧНОМ РАКЕ

Рахимов Н.М., Бойко Е.В., Тилляшайхова Р.М., Алюев Б.Б.

Существующие на сегодняшний день маркеры прогноза и мишени терапии почечно-клеточного рака малочисленны и низкоспецифичны. В связи с этим поиск и валидация новых маркеров, особенно новых специфических мишеней, для лечения онкопатологий почки представляются чрезвычайно актуальной проблемой. В статье проанализированы современные представления о молекулярных и клеточных механизмах, участвующих в регуляции опухоль-ассоциированного образования новых лимфатических сосудов. Особое внимание уделено регуляции лимфоангиогенеза цитокинами VEGFC/D и роли этих факторов в лимфогенном метастазировании. Определена патофизиология нелимфоангиогенеза и механизмы лимфогенного метастазирования.

Ключевые слова: VEGFC/D, рак почки, лимфоангиогенез, лимфогенный метастаз.