Współczesna Onkologia (2004) vol. 8; 1 (1–4)

Naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu (vascular endothelial growth factor – VEGF), zwany również czynnikiem przepuszczalności naczyń (vascular permeability factor – VPF) lub waskulotropiną (vasculotropin), jest uważany obecnie za kluczowy czynnik regulujący fizjologiczną i patologiczną angiogenezę. VEGF jest czynnikiem mitogennym dla komórek śródbłonka naczyń pochodzących z tętnic, żył i naczyń limfatycznych. Powstanie unaczynienia jest warunkiem niezbędnym do wzrostu nowotworu i powstawania przerzutów nowotworowych. Zwiększoną ekspresję VEGF, zarówno w tkance nowotworowej, jak i w osoczu, surowicy czy w moczu, stwierdzono w wielu nowotworach, m.in. jelita grubego, żołądka, piersi, niedrobnokomórkowego raka płuca, prostaty, nerki, pęcherza moczowego. Ekspresja VEGF oznaczana w tkance nowotworowej raka trzustki koreluje z ilością naczyń krwionośnych w obrębie guza, z obecnością przerzutów w wątrobie i całkowitym przeżyciem chorych. W raku jelita grubego zwiększona ekspresja VEGF w tkance nowotworowej koreluje z obecnością zmian przerzutowych. Podwyższone stężenie VEGF oznaczanego w osoczu u pacjentów z niedrobnokomórkowym rakiem płuca jest związane z obecnością przerzutów odległych. Zwiększoną ekspresję VEGF odnotowuje się również w rozrostach hematologicznych, m.in. w ostrej białaczce szpikowej i zespołach mielodysplastycznych. Ścisła zależność pomiędzy rozwojem nowotworu a angiogenezą nasunęła koncepcję, iż hamowanie angiogenezy może zostać wykorzystane w terapii chorób nowotworowych. Wyniki badań przedklinicznych z wykorzystaniem inhibitora VEGF czy też przeciwciał monoklonalnych przeciw VEGF w leczeniu rozrostów nowotworowych są bardzo obiecujące. Jak dotychczas jednak nie potwierdziły się w badaniach klinicznych. W najbliższych latach regulacja ekspresji VEGF przypuszczalnie będzie przedmiotem wielu badań.

Słowa kluczowe: VEGF, angiogeneza, nowotwór.

Naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu a angiogeneza w chorobach nowotworowych

Vascular endothelial growth factor in tumor angiogenesis

Anna Łojko, Mieczysław Komarnicki

Katedra i Klinika Hematologii i Chorób Rozrostowych Układu Krwiotwórczego Akademii Medycznej w Poznaniu

WSTĘP

Już na początku XX w. zaobserwowano, iż wzrost nowotworu wiąże się ze zwiększeniem ilości naczyń krwionośnych w obrębie guza [1]. W prowadzonych na myszach badaniach stwierdzono wówczas ścisłą zależność pomiędzy ilością nowo powstałych naczyń a wielkością guza [1]. Wykazano również, że im większa jest odległość komórek nowotworowych od komórek śródbłonka, tym niższy jest indeks mitotyczny komórek guza [1]. Krew dostarcza komórkom nowotworowym niezbędnych do życia składników odżywczych oraz tlenu, a więc unaczynienie jest podstawowym, kluczowym warunkiem rozwoju guza. Uważa się, iż dla wzrostu guza powyżej 10^6 komórek konieczny jest rozwój naczyń krwionośnych. Istnienie unaczynienia jest również warunkiem niezbędnym do powstania przerzutów nowotworowych. Wiele badań potwierdziło ten związek pomiędzy rozwojem nowotworu a rozwojem jego unaczynienia. W pierwotnym raku piersi ilość i gęstość naczyń krwionośnych koreluje z obecnością przerzutów do węzłów chłonnych i obecnością przerzutów odległych [2]. W raku jelita grubego gęstość naczyń krwionośnych w obrębie guza koreluje z obecnością przerzutów odległych [3].

Ścisła zależność rozwoju nowotworu od angiogenezy sugerowała, iż komórki nowotworowe muszą produkować jakiś czynnik stymulujący wzrost naczyń. Jednakże żaden z odkrytych czynników indukujących angiogenezę (*fibroblast growth factor, transforming growth factor, tumor necrosis factor* i inne) nie wydawał się odgrywać kluczowej roli w tym procesie – nie udało się wykazać korelacji poszczególnych czynników z fizjologiczną czy patologiczną angiogenezą [4]. Dopiero w 1989 r. Ferrara i Henzel oraz niezależnie Plouet i wsp. wyizolowali białko o właściwościach mitogennych dla komórek śródbłonka i nazwali go odpowiednio: naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu (*vascular endothelial growth factor* – VEGF) i waskulotropina (*vasculotropin*) [5].

Obecnie VEGF jest uważany za kluczowy czynnik, regulujący zarówno fizjologiczną i patologiczną angiogenezę [6]. Fizjologicznie angiogeneza zachodzi podczas życia płodowego, w trakcie gojenia się ran, oraz podczas cyklu owulacyjnego. Do patologicznej angiogenezy dochodzi podczas proliferacyjnej retinopatii cukrzycowej, w przebiegu łuszczycy, reumatoidalnego zapalenia stawów i w chorobie nowotworowej [5]. VEGF jest czynnikiem mitogennym

Vascular endothelial growth factor (VEGF), also known as vascular permeability factor (VPF) or vasculotropin, is a key factor in normal and pathological angiogenesis. VEGF is a mitogen for vascular endothelial cells derived from arteries, veins, and the lymphatic system. The formation of the vascular system is essential for tumor growth and metastasis. Increased levels of VEGF in urine, serum, plasma, or malignant tissue have been recorded in many tumor types, including colorectal, gastric, breast, non-small cell lung, prostate, kidney and bladder cancers. VEGF expression is closely correlated with microvessel density and seems to be an important predictor for both liver metastases and poor prognosis in ductal pancreatic cancer. Expression of VEGF in malignant tissue correlates with metastases in patients with colon cancer. An increased plasma VEGF level in patients with non-small cell lung cancer is associated with distant metastasis presence. VEGF is also overexpressed in hematologic malignancies. Increased levels of plasma VEGF have been found in acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndromes. In the context of the close relation between tumor and angiogenesis it was suggested that inhibiting angiogenesis would have an antitumor effect. Preclinical models with the use of VEGF inhibitors or monoclonal anti-VEGF antibody are very promising. However, to date, clinical models have not confirmed these results. In the near future the regulation of VEGF expression seems to be the subject matter of many researches.

Key words: VEGF, angiogenesis, tumor.

dla komórek śródbłonka naczyń pochodzących z tętnic, żył i naczyń limfatycznych, promuje jednocześnie ich proliferację [6]. O tym, jak istotna jest jego rola w tym procesie świadczy fakt, iż zarodki myszy pozbawione jednego allelu genu VEGF giną w 10. dobie życia płodowego z powodu zupełnego braku struktur naczyniowych [5]. VEGF jest wydzielany przez wiele komórek: makrofagi, płytki po aktywacji, a w szczególności przez komórki nowotworowe.

WŁAŚCIWOŚCI BIOLOGICZNE VEGF

Biochemicznie VEGF jest homodimeryczną glikoproteiną, zdolną do wiązania heparyny, o masie cząsteczkowej pomiędzy 34 a 64 kDa [5, 6]. Gen dla VEGF znajduję się na chromosomie 6, w prążku 21.3 i składa się z 8 eksonów, przedzielonych 7 intronami [7, 5]. Na drodze alternatywnego dojrzewania mRNA powstaje 5 różnych izoform VEGF posiadających odpowiednio 121, 145, 165, 189 i 206 aminokwasów ($VEGF_{121}$, $VEGF_{145}$, $VEGF_{165}$, i $VEGF_{189}$, $VEGF_{206}$). Izoformy różnią się od siebie właściwościami biochemicznymi i biologicznymi [8]. $VEGF_{121}$, i $VEGF_{165}$ są białkami rozpuszczalnymi, występującymi pozakomórkowo. Część $VEGF_{165}$ pozostaje również związana z powierzchnią komórek i macierzą pozakomórkową. Natomiast $VEGF_{189}$, i $VEGF_{206}$ występują niemal wyłącznie w połączeniu z macierzą pozakomórkową [5, 8]. Dominującą izoformą jest $VEGF_{165}$, większość charakterystyk biochemicznych odnosi się do tej izoformy.

VEGF, określany również jako VEGF-A należy do rodziny płytkowych czynników wzrostu. Do rodziny tej obok VEGF-A należą również: VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, łożyskowy czynnik wzrostu (*placenta growth factor* – PIGF) [9]. Zostały one odkryte później niż VEGF i wiedza o nich jest mniej obszerna.

VEGF wywiera działanie poprzez wiązanie ze specyficznymi receptorami kinazy tyrozynowej: VEGFR1 i VEGFR2. Receptory te znajdują się głównie, choć nie wyłącznie, na komórkach śródbłonka [4, 9]. W następstwie wiązania VEGF przez receptor, ulega on zależnej od ATP fosforyzacji, wywołując różnicowanie, proliferację i migrację komórek.

REGULACJA EKSPRESJI VEGF

Ekspresja VEGF jest regulowana poprzez szereg mechanizmów. Najważniejszym wydaje się być hipoksja. W warunkach zmniejszonego stężenia tlenu gwałtownie zwiększa się w komórce ilość czynnika transkrypcyjnego, indukowanego niedotlenieniem, tzw. HIF (*hypoxia-inducible factor*), który aktywuje promotor genu VEGF [9, 10].

Poza hipoksją w regulacji ekspresji VEGF biorą udział onkogeny hamujące transkrypcję VEGF, wymienia się również cytokiny, inne czynniki wzrostu, hormony oraz gen supresorowy nowotworów von Hippel Lindau (vHL) [9]. Mutacja genu vHL występująca w chorobie von Hippel Lindau powoduje nadekspresję VEGF i w wyniku tego występowanie mnogich nowotworów (mnogie naczyniaki, rak jasnokomórkowy nerki, rak nadnercza). Mutacje genu vHL obserwuje się również często w spontanicznym raku nerki [11].

VEGF W CHOROBIE NOWOTWOROWEJ

Zwiększoną ekspresję VEGF, zarówno mRNA w tkance nowotworowej, jak i samego białka (w osoczu, surowicy, moczu), stwierdzono w wielu nowotworach, m.in. jelita grubego [3], żołądka, piersi [12], niedrobnokomórkowego raka płuca [13], prostaty [14], nerki, pęcherza moczowego. Ekspresja VEGF oznaczana w tkance nowo-

tworowej raka trzustki koreluje z ilością naczyń krwionośnych w obrębie guza, z obecnością przerzutów w wątrobie i całkowitym przeżyciem chorych [15]. W raku jelita grubego zwiększona ekspresja VEGF w tkance nowotworowej koreluje z obecnością zmian przerzutowych [3]. Podwyższone stężenie VEGF oznaczanego w osoczu u pacjentów z niedrobnokomórkowym rakiem płuca jest związane z obecnością przerzutów odległych [13].

Zwiększoną ekspresję VEGF odnotowuje się również w rozrostach hematologicznych, m.in. w ostrej białaczce szpikowej i zespołach mielodysplastycznych. W białaczce szpikowej podwyższony poziom VEGF koreluje z krótszym okresem przeżycia i niższym wskaźnikiem osiąganych remisji całkowitych [16].

INNE WŁAŚCIWOŚCI VEGF

Kilka lat przed odkryciem Ferrary i Henzela, w 1983 r. Senger i wsp., badając właściwości naczyń krwionośnych w obrębie nowotworu zidentyfikowali białko o właściwościach zwiększających przepuszczalność drobnych naczyń krwionośnych dla białek osocza. W normalnych warunkach przepuszczalność ścian naczyń dla białek osocza jest niska [17]. Pod wpływem VEGF dochodzi do fenestracji śródbłonka drobnych naczyń, co umożliwia przechodzenie białek osocza do przestrzeni pozanaczyniowej [18]. VEGF zwiększa przepuszczalność naczyń krwionośnych 50 razy silniej niż histamina [9], jednocześnie nie powodując zwiększonego napływu komórek zapalnych [17]. Zwiększona przepuszczalność naczyń dla białek osocza umożliwia powstanie w przestrzeni pozakomórkowej żelu fibrynowego, co jest prawdopodobnie pierwszym krokiem na drodze neoangiogenezy [17]. VEGF jednocześnie zwiększa ekspresję enzymów proteolitycznych na komórkach śródbłonka [6], co powoduje degradację fibryny w miejscu tworzenia nowych naczyń.

Senger i wsp. nazwali odkryte przez siebie białko czynnikiem przepuszczalności naczyń (*vascular permeability factor* – VPF) [19]. Późniejsze badania wykazały, iż VPF i VEGF to ta sama cząsteczka.

VEGF prawdopodobnie odgrywa również znaczącą rolę w fizjologicznej i patologicznej hematopoezie. Może być produkowany nie tylko przez komórki podścieliska w szpiku kostnym, ale również przez komórki hematopoetyczne. Jego ekspresja może podlegać regulacji poprzez auto- i parakrynną pętlę zwrotną i prawdopodobnie również poprzez wewnętrznej pętlę autokrynną [6].

PERSPEKTYWY

Ścisła zależność nowotworu, jego wzrostu oraz powstawania przerzutów od unaczynienia nasunęła koncepcję leczenia chorób nowotworowych poprzez hamowanie angiogenezy. Wyniki badań przedklinicznych z wykorzystaniem przeciwciał przeciw VEGF są bardzo obiecujące. Jak dotychczas jednak nie potwierdziły się w badaniach klinicznych. Yang i wsp. w przeprowadzonym randomizowanym badaniu klinicznym II fazy zastosowali Bevacizumab, przeciwciało mysie przeciw VEGF w leczeniu chorych z rozsianym rakiem nerki. W grupie otrzymujących Bevacizumab uzyskano znamienne przedłużenie czasu do progresji choroby, w porównaniu do grupy otrzymującej *placebo*. Niestety, nie wykazano istotnych statystycznie różnic pomiędzy czasem całkowitego przeżycia w obydwu grupach chorych [11]. W najbliższych latach regulacja ekspresji VEGF przypuszczalnie będzie przedmiotem wielu dalszych badań.

PIŚMIENNICTWO

1. Ferrara N. *VEGF and the quest for tumour angiogenesis factors.* Nature Reviews 2002; 2: 795-803.
2. Weidner N, Semple JP, Welch WR, Folkman J, et al. *Tumor angiogenesis and metastasis – correlation in invasive breast cancer.* NEJM 1991; 324: 1-8.
3. Takahashi Y, Kitadai Y, Bucana CD, Cleary KR, Ellis LM. *Expression of vascular endothelial growth factor and its receptor, KDR correlates with vascularity, metastasis and proliferation of human colon cancer.* Can Res 1995; 55: 3964-8.
4. Ferrara N, Davis-Smyth T. *The biology of Vascular Endothelial Growth Factor. Endocrine Reviews* 1997; 18: 4-25.
5. Ferrara N. *Molecular and biological properties of vascular endothelial growth factor.* J Mol Med 1999; 77: 527-43.
6. Gerber HP, Ferrara N. *The role of VEGF In norma amd neoplastic hematopoiesis.* J Mol Med 2003; 81: 20-31.
7. Vincenti V, Cassano C, Rocchi M, Persico G. *Assignment of the vascular endothelial growth factor gene to human chromosom 6p21.3.* Circulation 1996; 93: 1493-149.
8. Loch T, Michalski B, Mazurek U, Graniczka M. *Naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu (VEGF) i jego rola w angiogenezie nowotworów.* Post Hig Med 2001; 55: 257-74.
9. Dvorak HF. *Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor: a critical cytokine in tumor angiogenesis and potential target for diagnosis and therapy.* J Clin Oncol 2002; 20: 4368-80.
10. Maxwell PH, Wiesener MS, Chang GW, Clifford SC, Vaux EC, et al. *The tumor suppressor protein VHL targets hypoxia-inducible factors for oxygen--dependent proteolysis.* Nature 1999; 399: 271-5.
11. Yang JC, Haworth L, Sherry RM, Hwu P, Schwartzentruber DJ, et al. *A randomized trial of Bevacizumab an anti--vascular endothelial growth factor antibody for metastasis renal cancer.* NEJM 2003; 349: 427-34.
12. Brown LF, Berse B, Jackam RW, Tognazzi K, Guidi AJ, et al. *Expression of vascular permeability factor (vascular endothelial growth factor) and its receptors in breast cancer.* Hum Pathol 1995, 26: 86-91.
13. Roselli M, Mineo TC, Basili S, Mariotti S, Martini F, et al. *Vascular endothelial growth factor (VEGF-A) plasma levels in non-small cell lung cancer: relationship with coagulation and platelet activation markers.* Thromb Haemost 2003; 89: 177-84.
14. Lind ST, Caprini JA, Goldshteyn S, Dohnal JC, Vesely SK, et al. *Correla-*

tes of thrombin generation in patients with advanced prostate cancer. Thromb Haemost 2003; 89: 185-9.
15. Seo Y, Baba H, Fakuda T, Takashima M, Sugimachi K. *High expression of vascular endothelial growth factor is associated with liver metastasis san poor prognosis with ductal pancreatic adenocarcinoma.* Cancer 2000, 88: 2239-45.
16. Aguayo A, Kantarjian HM, Estey EH, Giles FJ, Verstovsek S, et al. *Plasma vascular endothelial growth factor levels have prognostic significance in patients with acute myeloid leukemia but not in patients with myelodysplastic syndromes.* Cancer 2002; 95: 1923-30.
17. Dvorak HF. *Tumors: wounds that do not heal.* NEJM 1986; 315: 1650-59.
18. Roberts WG, Palade GE. *Increased microvascular permeability and endothelial fenestration induced by vascular endothelial growth factor.* J Cell Sci 1995; 108: 2368-79.
19. Dvorak HF, Brown LF, Detmar M, Dvorak AM. *Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor, microvascular hyperpermeability and angiogenesis.* Am J Path 1995; 146: 1029-39. 20.

ADRES DO KORESPONDENCJI
lek. med. Anna Łojko
Katedra i Klinika Hematologii
i Chorób Rozrostowych
Układu Krwiotwórczego
Akademii Medycznej
ul. Szamarzewskiego 84
60-569 Poznań
tel. 0 (prefiks) 61 854 95 83
faks 0 (prefiks) 61 854 93 56
e-mail: anna.lojko@onco.am.poznan.pl