

РОЛЬ РЕГУЛЯТОРНОЙ VEGF/VEGF-R1-СИСТЕМЫ В ОПУХОЛЕВОМ АНГИОГЕНЕЗЕ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

Е.Г. Тырсина, С.И. Никулицкий

Лаборатория экспериментальной диагностики и биотерапии опухолей,
НИИ ЭДитО ФГБУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина, Москва
e-mail: tyrsina@yandex.ru

Ангиогенез играет первостепенную роль в жизнедеятельности организма, поэтому любые сбои в его регуляции приводят к тяжелым последствиям. Подтверждением служит опухоль, где баланс проангиогенных и антиангиогенных факторов сдвинут в сторону первых. Ключевым белком, стимулирующим образование кровеносных сосудов, является васкулоэндотелиальный фактор роста (VEGF). При этом его биологические эффекты зависят от взаимодействия с соответствующим рецептором (VEGF-R1, -R2, -R3). Наиболее противоречива информация о VEGF-R1: до сих пор точно не установлена ни его тканеспецифичность, ни клеточная локализация. К тому же различные изоформы этого рецептора могут проявлять как про-, так и антиангиогенные свойства. Полноразмерный, мембрано-связанный, mVEGF-R1 способствует правильному созреванию кровеносных сосудов в процессе эмбриогенеза, в то время как «усеченный», растворимый sVEGF-R1, напротив, подавляет ангиогенез. Кроме того, функции VEGF-R1 не исчерпываются лишь «сосудистыми» эффектами. Так, рецептор 1 типа экспрессируется многими опухолевыми клетками и ответственен за их выживание, миграцию, инвазию и метастазирование.

Особый интерес представляют последние данные о ко-локализации VEGF-R1 с ядерной ламиной. Такое расположение рецептора 1 типа позволяет ему связываться с лигандом непосредственно внутри клетки, что необходимо учитывать при разработке новых антиангиогенных препаратов. Учитывая присутствие VEGF-R1 в опухолевых клетках и существенное значение для их прогрессии, рецептор 1 типа можно рассматривать в будущем как перспективную мишень в терапии злокачественных новообразований.

Ключевые слова: ангиогенез, васкулоэндотелиальный фактор роста (VEGF), VEGF-R1, тирозинкиназный рецептор, рак.

THE ROLE OF REGULATORY VEGF/VRGF-R1-SYSTEM IN TUMOR ANGIOGENESIS (A LITERATURE REVIEW)

E.G. Tyrsina, S.I. Nikulitskiy

Ph.D. in Biological Sciences, Senior Research Associate of the laboratory of Experimental Diagnosis and Biological Therapy for Cancer, Scientific Research Institute of Experimental Diagnosis and Cancer Therapy of the Federal State Budgetary Institution «N.N. Blokhin Cancer Research Center», Moscow

Angiogenesis plays a major role in the functioning of the organism, therefore any type of disruption in its regulation results in severe consequences. Tumor in which the balance between pro-angiogenic and anti-angiogenic factors is shifted in favor of the former factors, is a proof of this fact. Vascular endothelial growth factor (VEGF) is a key protein that stimulates the formation of blood vessels. Moreover, its biological effects depend on the interaction with a corresponding receptor (VEGF-R1, -R2, -R3). Findings on VEGF-R1 appear to be the most contradictory: neither its tissue specificity nor its cellular localization have been identified yet. Furthermore, different isoforms of this receptor can display both pro- and anti-angiogenic properties. Full size membrane — associated mVEGF-R1 promotes proper blood vessel maturation in the process of embryogenesis, while truncated, soluble sVEGF-R1, on the contrary, inhibits angiogenesis. In addition, VEGF-R1 functions are not limited to «vascular» effects. Thus, receptor type 1 is expressed by many tumor cells and is responsible for their survival, migration, invasion and metastasis. The most recent data on co-localization of VEGF-R1 with nuclear lamina are of particular interest. Such localization of receptor type 1 allows it to bind to a ligand directly inside the cell, and it is necessary to consider this in the development of anti-angiogenic drugs. Expression of VEGF-R1 in tumor cells and its important role in their progression strongly suggest that receptor type 1 can be considered as a prospective target in cancer therapy in the future.

Key words: angiogenesis, vascular endothelial growth factor (VEGF), VEGF-R1, tyrosine kinase receptor, cancer.

К теме ангиогенеза — образованию новых сосудов из предсуществующих — давно приковано внимание исследователей всего мира. Импульс этому направлению дала гипотеза J. Folkman о том, что рост и метастазирование солидных опухолей невозможны без собственного кровоснабжения [11]. Последующие открытия в области молекулярной онкологии и основанные на них методы терапии во многом подтвердили это предположение. Созданный таргетный антиангиогенный препарат бевацизумаб — блокатор васкулоэндотелиального фактора роста А (VEGF-A) — оказался эффективным для лечения некоторых типов опухолей, вселив надежды в ученых и клиницистов-онкологов.

Однако по мере накопления клинических данных «радужные» ожидания несколько рассеялись. Несмотря на то что в целом эта терапия приводила к увеличению общей выживаемости и замедляла прогрессирование опухоли, выяснилось, что при ее отмене эффект пропал. Более того, у некоторых пациентов наблюдались побочные реакции, связанные с токсичностью препарата, а другие оказались нечувствительными к его действию [10]. Вероятно, это обусловлено тонкой многоступенчатой регуляцией формирования сосудистой сети опухоли, где блокада одного звена не способна полностью остановить весь процесс. Кроме того, молекулярные механизмы действия даже самого VEGF-A окончательно не установлены, поскольку активация различных типов его рецепторов может приводить к диаметрально противоположным эффектам. Особенно противоречива информация о рецепторе VEGF первого типа (VEGF-R1), функция которого до конца не ясна. Ответ на вопрос о назначении этого рецептора поможет определить новые «мишени» таргетной противоопухолевой терапии.

Значение ангиогенеза

В норме ангиогенез протекает с умеренной интенсивностью при росте и развитии организма, а также в ходе различных процессов восстановления: регенерации поврежденных тканей, коллатерализации, стимулированной ишемией, и т.п. Также формирование новых сосудов играет ключевую роль при созревании фолликула, образовании желтого тела и беременности.

Нарушение ангиогенеза — важное патогенетическое звено в развитии многих заболеваний. С избыточной васкуляризацией связывают диабетическую ретинопатию, псориаз, ревматоидный артрит; со сниженной — язвенную болезнь желудка, остеопороз, невынашивание плода [5]. Кроме того, формирование сосудистой сети имеет первостепенное значение в развитии и прогрессировании солидных опухолей. При недостаточном кровоснабжении первичная неоплазма может достичь лишь 1–2 мм в диаметре, а ее дальнейший рост начинается только после образования собственных кровеносных сосудов [11]. Есть мнение, что инициация ангиогенеза происходит уже на самых ранних стадиях развития онкологического заболевания, еще до момента, когда группа клеток будет гистологически идентифицирована как опухоль. Так, с помощью иммуногистохимического окрашивания на специфический маркер эндотелия — фактор фон Виллебранда — показано, что увеличение плотности сосудов отмечается уже на стадии ранней дисплазии в шейке матки [2]. Этот факт свидетельствует о том, что ангиогенез важен не только для роста опухоли, но, возможно, является необходимым условием ее возникновения.

Доказана прямая корреляция между уровнем васкуляризации и степенью злокачественности большинства неоплазм: меланомы, карциномы молочной железы, рака легкого, простаты, шейки матки и др. В ходе иммуногистохимического выявления CD31 (другой маркер эндотелиальных клеток) была установлена следующая закономерность: риск возникновения метастазов достоверно возрастает при плотности микрососудов в опухоли более 100/мм² [2], то есть по степени васкуляризации можно судить о стадии и прогнозе онкозаболевания [13].

Обращает на себя внимание схожесть механизмов, обеспечивающих успешный процесс беременности и развитие опухоли, что дает нам, по сути, «естественную» экспериментальную модель. И в том и в другом случае формируется клеточное микроокружение, необходимое для стимуляции ангиогенеза и ускользания от иммунной системы хозяина. При беременности это происходит с участием трофобласта, а при злокачественном росте индуцируется самой опухолью [3]. Наличие указанных параллелей

логично заставляет обратить внимание на противоположный процесс — невынашивание плода. Возможно, молекулярные механизмы, ответственные за развитие преэклампсии, аналогичны таковым при отторжении неоплазмы. В этом контексте могут быть обнаружены потенциальные «точки приложения» для таргетной противоопухолевой терапии.

Васкулоэндотелиальный фактор роста (VEGF)

Ключевым регулятором ангиогенеза является VEGF-A (васкулоэндотелиальный фактор роста типа A) — гомодимерный высокогликозилированный сигнальный белок. Экспрессия этого протеина запускается как действием различных проангиогенных факторов (EGF, PDGF, FGF, интерлейкин 1b), так и условиями окружающей клетку среды (концентрация кислорода в ткани, pH) [7]. В условиях гипоксии вырабатывается гипоксия-индуцированный фактор HIF-1. Последний индуцирует экспрессию различных генов, отвечающих за выживание клеток в условиях пониженной оксигенации, в частности, васкулоэндотелиальный фактор роста [20].

Под влиянием VEGF происходит пролиферация и миграция эндотелиоцитов с образованием незрелых кровеносных сосудов. В дальнейшем этот ростовой фактор способствует выживанию эндотелиальных клеток, ингибируя апоптоз, что, в конечном счете, приводит к «созреванию» капилляров. Зрелые кровеносные сосуды, в свою очередь, более не нуждаются в стимуляции VEGF. Значение данного белка для формирования нормально функционирующей сосудистой системы столь велико, что повреждение даже одной аллели гена VEGF-A приводит к внутриутробной гибели эмбриона.

Эффекты васкулоэндотелиального фактора роста типа A во многом определяются посттранскрипционными изменениями соответствующей мРНК. Ген VEGF-A состоит из восьми экзонов. Каждый из них кодирует аминокислотную последовательность, отвечающую за какое-либо свойство протеина. В частности, экзоны 3 и 4 обеспечивают лиганд-рецепторное взаимодействие, а 6a, 6b и 7 позволяют связываться с гепарином и фиксироваться во внеклеточном матриксе. В зависимости от сайта сплайсинга 8, последнего экзона, различают две изоформы VEGF-A, диаметрально отличающиеся друг от друга по влиянию на ангиогенез. Описанные выше проангиогенные свойства характерны только для изоформ типа a (с проксимальным сайтом сплайсинга), в то время как b-изоформы (дистальный сайт) проявляют антиангиогенный эффект (рис. 1).

Кроме VEGF-A, в организме человека присутствуют еще четыре вида VEGF (-B, -C, -D, -E), кодируемые разными генами и отличающиеся спектром выполняемых функций (табл. 1).

Таблица 1

Семейство белков VEGF

VEGF-B	Васкулогенез. Нейропротекция
VEGF-C	Лимфангиогенез
VEGF-D	Формирование лимфатической системы лёгких
VEGF-E (вирусный)	Ангиогенез

Практически все новообразования вырабатывают васкулоэндотелиальный фактор роста. Продукция его осуществляется самими трансформированными клетками, на что указывает

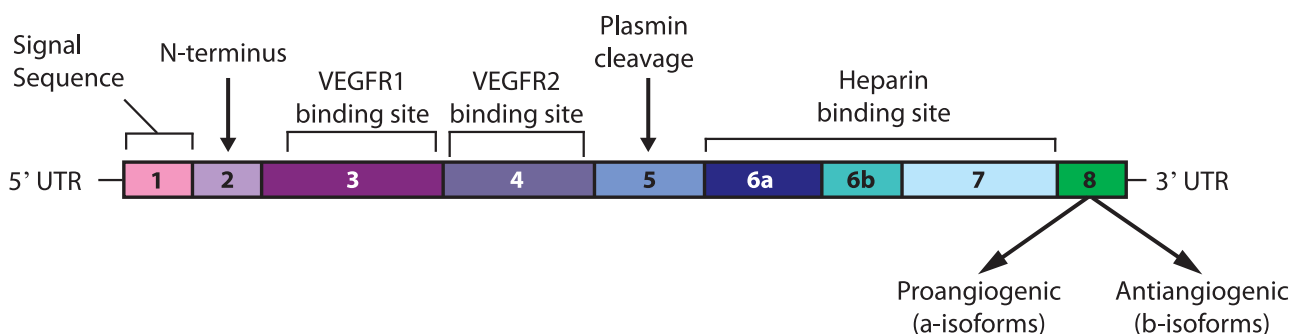


Рис. 1. На рисунке представлена структура мРНК VEGF-A. Точка терминации трансляции на восьмом экзоне определяет либо про-, либо антиангиогенные свойства синтезируемого VEGF. (По Fearnley G. W. 2013)

факт образования сосудов опухоли независимо от того, имплантирована она в участок ткани животного с высокой или низкой степенью васкуляризации. Благодаря своим разнообразным функциям, VEGF необходим для выживания и прогрессии неоплазмы, поскольку:

- 1) стимулирует ангиогенез в опухолевой ткани, что ускоряет метаболические процессы и, как следствие, повышает пролиферативный потенциал злокачественных клеток;
- 2) способствует выживанию неопластических клеток путем подавления апоптоза;
- 3) увеличивает вероятность метастазирования, индуцируя экспрессию матриксных металлопротеиназ MMP-9;
- 4) подавляет иммунитет хозяина, нарушая созревание антигенпрезентирующих клеток (дендритные, макрофаги);
- 5) повышает проницаемость сосудов, что помогает опухоли накапливать питательные вещества и создавать «маскировочный» фибриновый налет, обеспечивающий иммунное «ускользание».

Вышеперечисленные функции указывают на первостепенное значение VEGF для опухолевого роста и оправдывают выбор этого белка в качестве главной «мишени» антиангиогенной терапии.

Клеточные рецепторы к VEGF

Проявление биологического эффекта васкулоэндотелиального фактора роста зависит как от вида VEGF-лиганда, так и от того, с каким рецептором он взаимодействует. На настоящий момент известно три типа рецепторов к VEGF (-R1, -R2 и -R3). Все они являются тирозинкиназами и имеют внеклеточную рецепторную часть, состоящую из семи иммуноглобулин-подобных доменов, трансмембранный и внутриклеточный (собственно каталитический) домены. Различные типы VEGF-R связываются с определенными лигандами с неодинаковой аффинностью. Например, VEGF-A взаимодействует с EGF-R1 (Flt1) и -R2 (KDR), но практически не присоединяется к VEGF-R3 (Flt4). В то же время «лимфогенные» VEGF-C и -D не действуют на рецептор первого типа. Для него специфическими лигандами являются VEGF-B и PlGF (плацентарный фактор роста) (рис. 2).

Экспрессия каждого вида рецептора тканеспецифична. VEGF-R1 представлен на эндотелиальных, стволовых гемопоэтических клетках, моноцитах, макрофагах, остеокластах, нейронах и, как позднее выяснилось, различных опухолевых клетках. Локализация рецептора второго типа ограничивается эндотелиоцитами и мегакариоцитами. VEGF-R3 связан с лимфангиогенезом и присутствует на клетках эндотелия лимфатических капилляров.

После связывания лиганда с соответствующим рецептором происходит его димеризация с дальнейшим межмолекулярным трансфосфорилированием, что стимулирует внутриклеточные биохимические каскады. В частности, включаются Ras- и PI3K/Akt/mTORC1-пути, в результате чего усиливается биосинтез белка, пролиферация и выживание эффекторных клеток (рис. 3) [14]. Кроме того, вследствие активации протеинкиназы C увеличивается концентрация внутриклеточного Ca^{2+} , играющего важнейшую роль в процессах перестройки цитоскелета. Это необходимое условие для упорядоченного расположения эндотелиоцитов в кровеносном сосуде. Также лиганд-рецепторное взаимодействие индуцирует образование различных биологически активных веществ (простагландины, NO), влияющих на проницаемость сосудистой стенки и формирование просвета капилляра. В конечном счете возбуждение рецептора обуславливает проангиогенные эффекты васкулоэндотелиального фактора роста [26].

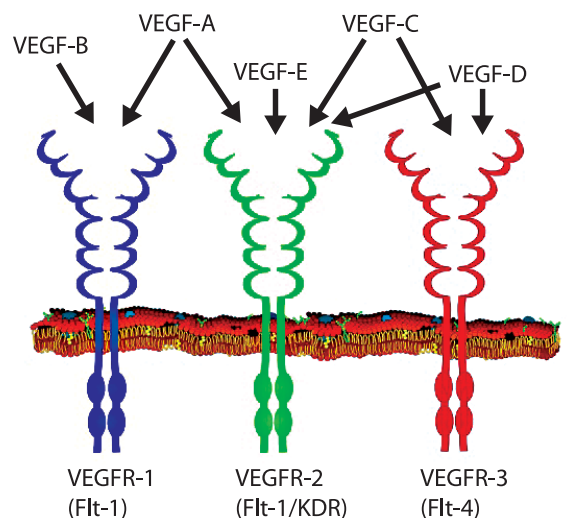


Рис. 2. Взаимодействие факторов роста семейства VEGF со своими рецепторами. (Shibuya M. 2006)

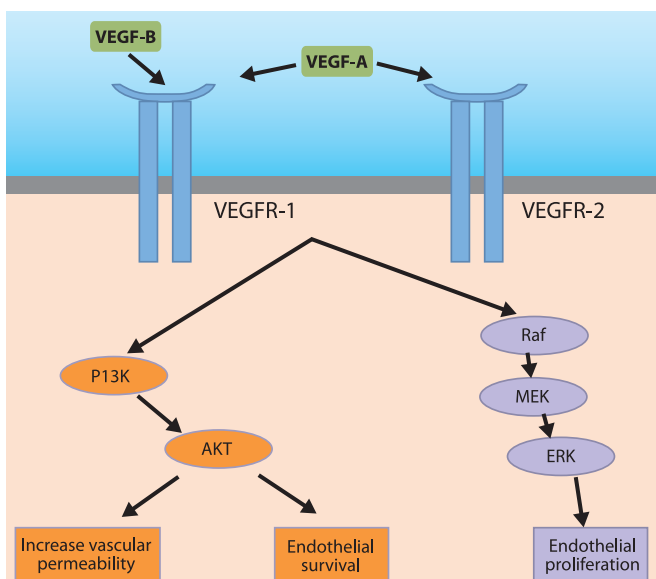


Рис. 3. Сигнальные пути, «включающиеся» при взаимодействии VEGF с рецепторами. Ras-путь (фиолетовый) индуцирует пролиферацию эндотелиоцитов, а PI3K/Akt (оранжевый) — их выживание и проницаемость сосудов (По Jitawatanarat P. 2013)

При всей схожести механизмов передачи сигнала различные типы VEGF-рецепторов характеризуются неодинаковым сродством к лиганду, каталитическим потенциалом и субстратной специфичностью. Традиционно считалось, что наиболее значимые биологические эффекты VEGF опосредованы VEGF-R2, в связи с чем он изучен наиболее полно. В отличие от него рецептор первого типа имеет самую высокую аффинность к VEGF-A, но обладает наименьшей киназной активностью и поэтому практически не участвует в пролиферации эффекторных клеток [9]. Отсутствие у VEGF-R1

ярко выраженных свойств, типичных для рецепторов ростовых факторов, в какой-то степени объясняет недостаток информации о нем.

Изоформы VEGF-R1

Структурной особенностью рецептора первого типа является существование двух форм — полноразмерной мембранно-связанной (mVEGF-R1) и усеченной растворимой (sVEGF-R1). Обе изоформы кодируются одним геном, мРНК которого состоит из 30 экзонов. Для формирования mVEGF-R1 необходима трансляция всех «смысловых последовательностей», в то время как sVEGF-R1 кодируется только первыми 13 экзонами (рис. 4) [19]. Соотношение сплайсформ регулируется в основном степенью оксигенации ткани: в условиях гипоксии показатель mVEGF-R1/sVEGF-R1 растет, а при нормальной и повышенной концентрации кислорода падает. Кроме того, по данным ряда авторов, в условиях избытка лиганда мембранный рецептор расщепляется с образованием sVEGF-R1 [4].

Полноразмерная форма VEGF-R1 является классической, т.е. состоит из внеклеточной, трансмембранной и цитоплазматической частей. Благодаря наличию киназного домена, mVEGF-R1 способен «включать» биохимический каскад, вызывая внутриклеточные эффекты. Помимо гомодимерных (R1/R1) рецепторов возможно существование и полноразмерных «химерных» форм. Как показали исследования, активные гетеродимеры образуются, если внутриклеточная концентрация субъединиц VEGF-R2 на порядок выше,

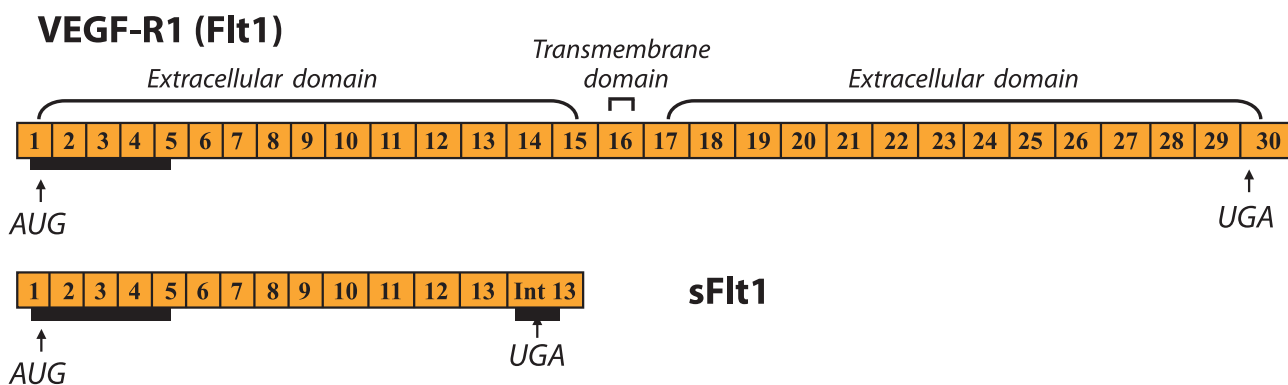


Рис. 4. Схема сплайсинга мРНК VEGF-R1 (Flt1). Удержание 13-го интрона с точкой терминации (UGA) приводит к образованию «усеченной» формы Flt1 (sVEGF-R1) с выраженными антиангиогенными свойствами. (По Sela S. et al. 2008)

чем -R1. В этой ситуации практически все протомеры рецептора первого типа принимают участие в формировании гетеродимерного комплекса. По своим функциям «химерный» VEGF-R1/R2 близок к гомодимеру R1/R1, в частности, участвует в стимуляции NO-синтазы. Это подтвердили в экспериментах на культуре ткани изолированной аорты крысы, где NO-зависимая вазорелаксация была опосредована активацией рецепторов, обязательно содержащих R1-субъединицу (гомодимер R1/R1, либо гетеродимер R1/R2) [6].

Растворимая форма рецептора первого типа (sVEGF-R1) не связана с клеточной оболочкой, состоит только из внеклеточной рецепторной части и присоединяет VEGF-лиганд без стимуляции ответа. Субъединицы sVEGF-R1 способны к гомодимеризации между собой и гетеродимеризации с мембранными протомерами VEGF-Rs, однако такие «химерные» рецепторы неактивны (в отличие от mR1/R2) [29].

К настоящему моменту антиангиогенный эффект растворимой формы -R1 сомнений не вызывает: именно она препятствует избыточному формированию сосудистой сети либо путем снижения доступности VEGF-лиганда для полноразмерных VEGF-рецепторов, либо за счет прямой «деактивации» мембранно-связанных изоформ.

Физиологические функции VEGF-R1

Рецептор -R1 был идентифицирован раньше других [25]. Несмотря на это, данных о его назначении, локализации и взаимодействии с другими участниками ангиогенеза немного, а имеющиеся весьма разноречивы.

В отличие от -R2, функция которого четко установлена и заключается в стимуляции пролиферации клеток эндотелия, вклад в васкулогенез рецептора первого типа долго оставался предметом дискуссий. Первые эксперименты по инактивации VEGF-R1 выявили его двойственную роль. Эмбрионы мышей с null-мутацией по VEGF-R2 погибали по причине фатального нарушения развития сосудистой системы из-за практически полного отсутствия эндотелиоцитов. Также погибали и животные, полностью лишённые VEGF-R1, но, наоборот, вследствие избыточного ангиогенеза [12]. Однако если в рецепторе первого типа «выключили» лишь тирозинкиназный домен, оставляя внеклеточную часть интактной, то 50% мышей выживали, имея при этом практически неизменную сосудистую сеть [17].

Эти опыты продемонстрировали уникальные свойства VEGF-R1: он может быть как негативным, так и позитивным регулятором васкулогенеза — в первом случае за счет своей лиганд-связывающей области, а во втором благодаря тирозинкиназному домену [24]. Вероятно, при полном отсутствии VEGF-R1 не синтезируется и растворимая форма sVEGF-R1 — главный антиангиогенный фактор — и, как результат, происходит избыточное формирование кровеносных сосудов. В то же время нарушение «работы» только тирозинкиназного домена приводит к снижению синтеза NO, необходимого для формирования полноценного капилляра, но не влияет на выработку sVEGF-R1. Таким образом, активность VEGF и его рецепторов критична для формирования сосудистой системы в ходе эмбриогенеза.

У взрослых ангиогенез уже не имеет столь существенного значения, так как образование новых кровеносных сосудов ограничено процессами регенерации и женским репродуктивным циклом. В зрелом организме заметную роль играют, кроме того, «неэндотелиальные» биологические эффекты VEGF и его рецепторов. Так, активация VEGF-R1 на моноцитах и макрофагах вызывает их миграцию из сосудистого русла, а стимуляция на нейронах предотвращает гибель клеток. В последнем случае, как полагают, VEGF-R1, связываясь со своим специфическим лигандом VEGF-B, приводит к антиапоптотическому эффекту за счет ингибирования каспазы-9 и белка BAD. Действительно, на клеточной модели болезни Паркинсона было показано уменьшение разрушения нейронов под влиянием экзогенно введенного VEGF-B [8].

У взрослых ангиогенез уже не имеет столь существенного значения, так как образование новых кровеносных сосудов ограничено процессами регенерации и женским репродуктивным циклом. В зрелом организме заметную роль играют, кроме того, «неэндотелиальные» биологические эффекты VEGF и его рецепторов. Так, активация VEGF-R1 на моноцитах и макрофагах вызывает их миграцию из сосудистого русла, а стимуляция на нейронах предотвращает гибель клеток. В последнем случае, как полагают, VEGF-R1, связываясь со своим специфическим лигандом VEGF-B, приводит к антиапоптотическому эффекту за счет ингибирования каспазы-9 и белка BAD. Действительно, на клеточной модели болезни Паркинсона было показано уменьшение разрушения нейронов под влиянием экзогенно введенного VEGF-B [8].

Участие VEGF-R1 в патологических процессах

С нарушением регуляции ангиогенеза связано множество патологий. Как избыток, так и недостаток проангиогенных стимулов приводят к нарушению жизненно важных процессов. Известно, что сверхэкспрессия растворимой формы VEGF-R1 является центральным звеном в развитии преэклампсии. sVEGF-R1 связывается с VEGF

и PlGF (плацентарный фактор роста), предотвращая их взаимодействие с рецепторами и подавляя тем самым формирование полноценного плацентарного кровоснабжения эмбриона [23]. С другой стороны, снижение уровня растворимой формы VEGF-R1 также имеет негативные последствия, связанные с усиленной васкуляризацией.

В онкологии избыточный ангиогенез ассоциирован с ускоренным ростом опухолей и неблагоприятным прогнозом. Отсюда логично вытекает предположение о терапевтическом потенциале sVEGF-R1. Действительно, в экспериментах на мышах линии BALB/c было продемонстрировано значительное уменьшение объема асцитической жидкости и увеличение продолжительности жизни животных при экзонном введении растворимой формы -R1 [15].

Традиционно считалось, что основной вклад в развитие сосудистой сети неоплазмы вносит VEGF-опосредованная стимуляция на эндотелиоцитах рецептора второго типа. VEGF-R1, в связи с его антиангиогенными свойствами, как казалось, должен был бы даже подавлять опухолевый рост. Однако после того как рецептор первого типа был обнаружен на различных типах злокачественных клеток, но при этом отсутствовал на соответствующих нормальных, интерес к его изучению значительно возрос [28]. Появилось множество работ, данные которых заставляют признать первостепенную роль VEGF-R1 в злокачественной прогрессии. Было показано, что скорость роста опухолей, привитых трансгенным мышам с делецией по тирозинкиназному домену -R1, замедлялась [16]. Кроме того, метастазирование в легкие перевиваемой карциномы Льюиса у таких животных (VEGF-R1 ТК^{-/-}) оказалось значительно ниже, чем у мышей «дикого типа» (VEGF-R1 ТК^{+/+}). По мнению авторов, этот эффект обусловлен тем, что стимуляция рецептора первого типа способствует миграции из костного мозга в кровотоки моноцитов, инфильтрирующих легкие и создающих «метастатическую нишу». Посредником в этом процессе выступает металлопротеиназа ММР-9, участвующая в разложении межклеточного матрикса и формировании условий для закрепления и размножения опухолевых клеток [18].

Впоследствии и в условиях *in vitro* на 11 клеточных линиях карциномы поджелудочной же-

лезы и двух линиях толстой кишки одной и той же группой авторов был подтвержден значительный вклад рецептора первого типа в прогрессию опухоли. На клетках всех исследованных линий методом вестерн-блоттинга показана экспрессия VEGF-R1 (но не VEGF-R2). Такие свойства, как миграция, инвазия и независимый от субстрата рост, при стимуляции рецептора первого типа усиливались, в то время как его блокада специфическими антителами подавляла указанные клеточные реакции [9].

Важным свойством VEGF-R1 является его антиапоптотическое действие. Это было продемонстрировано как в экспериментах *in vitro*, так и *in vivo* с использованием клеточных линий карциномы молочной железы MDA-MB-231 и MCF-7. Путем «выключения» экспрессии одного из генов (VEGF-R1 или VEGF-R2) с применением технологии РНК-интерференции было показано, что отсутствие рецептора второго типа на опухолевых клетках никак не сказывалось на их выживаемости. Напротив, нокаут гена VEGF-R1 приводил к выраженному увеличению количества апоптотически гибнущих клеток. Неожиданно, но блокада рецептора первого типа специфическими антителами не отменяла апоптоз, что навело авторов работы на мысль о возможной внутриклеточной локализации VEGF-R1. Это предположение подтвердилось в последующих экспериментах. При иммуноцитохимическом окрашивании опухолевых клеток выяснилось, что рецептор первого типа присутствовал преимущественно на ядерной мембране во взаимосвязи с ламинами А/С. Эти белки ответственны за формирование ядерной оболочки и организацию нижележащего хроматина, а их деградация приводит к апоптозу. Вероятно, VEGF-R1 в изучаемых клетках каким-то образом поддерживает целостность ламин А/С, чем способствует их выживанию. В дальнейшем возможная роль рецептора первого типа как ингибитора клеточной гибели была проверена в экспериментах *in vivo* на бестимусных мышах. Клетки MDA-MB-231 и MCF-7 с «выключенным» VEGF-R1 формировали значительно меньшие по размеру узлы по сравнению с контрольными [21].

Еще одним косвенным указанием на антиапоптотический эффект рецептора первого типа является его экспрессия на 80% миеломных клеток больных. Понятно, что для прогрессирования

гемобластоза нет необходимости стимулировать ангиогенез, поскольку клетки получают кислород и питательные вещества непосредственно из окружающей их среды. Поэтому высокий процент рецептора -R1 в данном случае, вероятнее всего, обусловлен необходимостью поддержания выживаемости опухолевой популяции [1].

Таким образом, экспериментально доказано, что эффекты VEGF-R1 не исчерпываются лишь влиянием на опухолевый ангиогенез. Преимущественное присутствие рецептора первого типа на трансформированных клетках свидетельствует о его непосредственном участии в процессах неопластической прогрессии. Не случайно экспрессия именно рецептора первого типа коррелирует со степенью злокачественности опухоли [27]. Исходя из этого, логично предположение о высоком терапевтическом потенциале лекарственного средства на основе моноклональных антител к VEGF-R1. Но в этом случае такой препарат будет блокировать, в том числе, и растворимую форму -R1, играющую главную роль в подавлении ангиогенеза. Еще одним препятствием для применения подобного средства может быть недоступность молекулы-«мишени», поскольку рецептор первого типа локализуется также на ядерной оболочке. Существуют экспериментальные доказательства, что именно внутриклеточный VEGF-R1 обеспечивает выживание опухолевых клеток [21]. Учитывая вышеперечисленные факты, терапевтическая эффективность препаратов на основе моноклональных антител к рецептору первого типа может не оправдать ожиданий.

Более перспективной кажется идея о перепрограммировании сплайсинга мРНК VEGF-R1

в сторону увеличения выхода sVEGF-R1. Таким способом можно добиться, с одной стороны, антиангиогенного эффекта за счет связывания лиганда растворимой формой, а с другой — непосредственно противоопухолевого, путем снижения антиапоптотического, инвазивного и метастатического потенциала самой злокачественной клетки. Подобный подход был недавно с успехом реализован в работе [22]. При введении бестимусным мышам с аденокарциномой молочной железы человека синтетического морфолино-олигонуклеотида («сдвигающего» сплайсинг мРНК VEGF-R1 в сторону повышенного выхода его растворимой формы) отмечена регрессия объема опухоли до 88,9%, а также снижение плотности микрососудов до 50% по сравнению с контролем. Судя по первым впечатляющим результатам, это направление действительно весьма многообещающе. Вместе с тем для подтверждения справедливости подобной стратегии требуются дальнейшие исследования.

Итак, взаимодействие VEGF с различными изоформами VEGF-R1 представляет собой тонкую регуляторную систему, необходимую как для нормального, так и патологического ангиогенеза. К сожалению, отсутствие на настоящий момент четкого понимания функций всех ее звеньев тормозит разработку более действенных методов антиангиогенной терапии онкологических заболеваний. Поэтому расширение наших знаний о молекулярных механизмах работы VEGF и его рецепторов, несомненно, откроет перспективы для создания новых лекарственных препаратов, способных увеличить продолжительность и качество жизни больных.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Голенков А.К., Буравцова И.В., Дудина Г.А. и др.* Экспрессия генов факторов роста эндотелия сосудов и их рецепторов при различных вариантах течения множественной миеломы // *Терапевтический архив.* — 2013. — Т. 7. — С. 98–102.
2. *Карамышева А.Ф.* Ангиогенез опухоли: механизмы, новые подходы к терапии // В кн. «Канцерогенез» / Под ред. Д.Г. Заридзе — М.: Медицина, 2004. — 574 стр.
3. *Чердынцева Н.В., Жордания К.И.* Иммунологические параллели при беременности и злокачественном росте // *Онкогинекология.* — 2013. — Т. 3. — С. 4–14.
4. *Cai J., Jiang W.G., Grant M.B. et al.* Pigment epithelium-derived factor inhibits angiogenesis via regulated intracellular proteolysis of vascular endothelial growth factor receptor 1 // *J. Biol. Chem.* — 2006. — V. 281. — P. 3604–3613.
5. *Carmeliet P.* Angiogenesis in health and disease // *Nat. Med.* — 2003. — V. 9. — P. 653–660.
6. *Cudmore M.J., Hewett P.W., Ahmad S.A. et al.* The role of heterodimerization between VEGFR-1 and VEGFR-2 in the regulation of endothelial cell homeostasis // *Nature Comm.* — 2012. — V. 3(7). — P. 972–984.

7. *Dorđević G., Matushan-Ilijaš K., Babarović E. et al.* Hypoxia inducible factor-1 α correlates with vascular endothelial growth factor A and C indicating worse prognosis in clear cell renal cell carcinoma // *J. Exp. Clin. Cancer Res.* — 2009. — V. 28. — P. 40–51.
8. *Falk T., Zhang S., Sherman S.J.* Vascular endothelial growth factor B (VEGF-B) is up-regulated and exogenous VEGF-B is neuroprotective in a culture model of Parkinson's disease // *Mol. Neurodegeneration.* — 2009. — V. 4. — P. 49–56.
9. *Fan F., Wey J.S., McCarty M.F. et al.* Expression of vascular endothelial growth factor receptor-1 on human colorectal cancer cells // *Oncogen.* — 2005. — V. 24. — P. 2647–2653.
10. *Fischer C., Mazzone M., Jonckx B. et al.* Flt1 and its ligands VEGF-B and PlGF: drug targets for anti-angiogenic therapy? // *Nat. Rev. Cancer.* — 2008. — V. 8. — P. 942–956.
11. *Folkman J.* Tumor angiogenesis: therapeutic implications // *N. Engl. Med.* — 1971. — V. 285. — P. 1182–1186.
12. *Fong G.H., Rossant J., Gertsentain M. et al.* Role of the flt-1 tyrosine kinase in regulating the assembly of vascular endothelium // *Nature.* — 1995. — V. 376. — P. 66–70.
13. *Fujii T., Yajima R., Hirakata T. et al.* Vascular invasion, but not lymphatic invasion, of the primary tumor is a strong prognostic factor in patients with colorectal cancer // *Anticancer Res.* — 2014. — V. 34(3). — P. 47–51.
14. *Gerber H.P., McMurtrey A., Kowalski J. et al.* Vascular endothelial growth factor regulates endothelial cell survival through the phosphatidylinositol 3'-kinase/Akt signal transduction pathway. Requirement for Flk-1/KDR activation // *N.J. Biol. Chem.* — 1998. — V. 273(46). — P. 30336–30343.
15. *Hasumi Y., Mizukami H., Urabe M. et al.* Soluble FLT-1 expression suppresses carcinomatous ascites in nude mice bearing ovarian cancer // *Cancer Res.* — 2002. — V. 62(7). — P. 2019–2023.
16. *Hiratsuka S., Maru Y., Okada A. et al.* Involvement of Flt-1 tyrosine kinase (vascular endothelial growth factor receptor-1) in pathological angiogenesis // *Cancer Res.* — 2001. — V. 61. — P. 1207–1213.
17. *Hiratsuka S., Minova O., Kuno J. et al.* Flt-1 lacking the tyrosine kinase domain is sufficient for normal development and angiogenesis in mice // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 1998. — V. 95. — P. 9349–9354.
18. *Hiratsuka S., Nakamura K., Iwai S. et al.* MMP-9 induction by vascular endothelial growth factor receptor-1 is involved in lung specific metastasis // *Cancer Cell.* — 2002. — V. 2. — P. 289–300.
19. *Kendall R.L., Thomas K.A.* Inhibition of vascular endothelial cell growth factor activity by an endogenously encoded soluble receptor // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 1993. — V. 90. — P. 10705–10709.
20. *Kurihara T., Westenskow P.D., Friedlander M.* Hypoxia-inducible factor (HIF)/vascular endothelial growth factor (VEGF) signaling in the retina // *Adv. Exp. Med. Biol.* — 2014. — V. 801. — P. 275–281.
21. *Lee T.-H., Seng S., Sekine M. et al.* Vascular Endothelial Growth Factor Mediates Intracrine Survival in Human Breast Carcinoma Cells through Internally Expressed VEGFR1/FLT1 // *PLOS Medicine.* — 2007. — V. 4(6). — P. 1001–1016.
22. *Owen L.A., Uehara H., Cahoon J. et al.* Morpholino-Mediated Increase in Soluble Flt-1 Expression Results in Decreased Ocular and Tumor Neovascularization // *PLoS ONE.* — 2013. — V. 7(3). — P. e33576.
23. *Shibuya M.* Structure and function of VEGF/VEGF-receptor system involved in angiogenesis // *Cell Struct. Funct.* — 2001. — V. 26. — P. 25–35.
24. *Shibuya M.* Differential roles of vascular endothelial growth factor receptor-1 and receptor-2 in angiogenesis // *J. Biochemistry and Molecular Biology.* — 2006. — V. 39(5). — P. 469–478.
25. *Shibuya M., Yamaguchi S., Yamane A. et al.* Nucleotide sequence and expression of a novel human receptor-type tyrosine kinase gene (flt) closely related to the fms family // *Oncogene.* — 1990. — V. 5. — P. 519–524.
26. *Singh A.J., Meyer R.D., Band H. and Rahimi N.* The carboxyl terminus of VEGFR-2 is required for protein kinase C-mediated downregulation // *Mol. Biol. Cell.* — 2005. — V. 16(4). — P. 2106–2118.
27. *Wang L., Liu X., Wang H.* Correlation of the expression of vascular endothelial growth factor and its receptors with microvessel density in ovarian cancer // *Oncology Letters.* — 2013. — V. 6. — P. 175–180.
28. *Wey J.S., Fan F., Gray M.J. et al.* Vascular endothelial growth factor receptor-1 promotes migration and invasion in pancreatic carcinoma cell lines // *Cancer.* — 2005. — V. 104. — P. 427–438.
29. *Wu F.T.H., Stefanini M.O., Gabhann F.M. et al.* A systems biology perspective on sVEGF-R1: its biological function, pathogenic role and therapeutic use // *J. Cell. Mol. Med.* — 2010. — V. 14(3). — P. 528–552.