

Институт экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины, Киев, Украина

Ключевые слова: ангиогенные факторы, эндотелиальные клетки, кровеносные сосуды, опухолевые клетки, солидные опухоли, гемобластозы, лечение.

ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ ИНГИБИТОРОВ АНГИОГЕНЕЗА

Резюме. В статье проанализированы современные представления о клеточных и молекулярных механизмах ангиогенеза в норме и при росте опухоли. Основное внимание уделено ангиогенным факторам, их эндогенным ингибиторам, интегринам и матриксным металлопротеиназам. Обсуждаются данные о роли ангиогенеза в развитии гемобластозов. Рассматриваются наиболее перспективные антиангиогенные препараты, включая уже используемые в клинической практике.

ВВЕДЕНИЕ

Согласно современным представлениям под ангиогенезом (А) понимают процесс образования новых кровеносных сосудов (КС), который происходит в нормальных и патологических измененных тканях эукариотических организмов под влиянием ауто- и паракринных регуляторов. Биологическое значение А состоит в поддержании в организме оптимальной плотности КС, обеспечивающих попадание в ткани и органы кислорода, питательных веществ, сигнальных молекул и циркулирующих клеток, а также выведение продуктов клеточного метаболизма. А активируется во время эмбрионального и раннего постнатального периодов развития. Во взрослом организме инициацию этого процесса отмечают редко, и он строго ограничен во времени (несколько суток при овуляции, недели при заживлении ран и месяцы в случае формирования плаценты).

Изменение степени васкуляризации ткани или органа способствует возникновению различных заболеваний. Неконтролируемый А считается необходимым условием роста опухоли и ее метастазирования. Углубление представлений о клеточных и молекулярных механизмах, регулирующих процесс А, имеет принципиальное значение для разработки и внедрения в клинику его ингибиторов. Цель обзора — анализ современного состояния изучения опухолевого А, достижений и перспектив использования антиангиогенных препаратов в онкологической практике.

КЛЕТОЧНЫЕ И МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ АНГИОГЕНЕЗА

Накоплено большое количество данных, согласно которым процесс А в физиологических условиях проходит в несколько этапов. Вначале под действием ангиогенных факторов (АФ) ослабевают межклеточные контакты и активируются эндотелиальные клетки (ЭК), находящиеся в состоянии покоя. Затем ЭК начинают продуцировать ферменты, в том числе матриксные металлопротеиназы (ММП), катепсины и активаторы плазминогена, разрушающие базальную мембрану. При расщеплении белков внеклеточного матрикса (ВМ) образуются их фрагмен-

ты, обладающие как про-, так и антиангиогенной активностью. Лизис белков ВМ регулируется ингибиторами протеаз (ТИМР или PAI). Ослабление контактов между ЭК и разрушение базальной мембраны способствуют последующей миграции ЭК, опосредуемой молекулами адгезии и интегринами. Затем ЭК начинают активно пролиферировать, формируя каналоподобные структуры, которые впоследствии превращаются в зрелые КС. На следующем этапе отдельные микрососуды объединяются в общую циркуляторную сеть, через которую кровь и питательные вещества начинают поступать к тканям, клетки которых секретировали АФ.

Опухолевый А развивается по подобному сценарию. Вначале считалось, что рост новых КС активируется после достижения опухолью размеров 1–2 мм в диаметре, когда сфероидные агрегаты содержат несколько миллионов клеток [1]. Однако впоследствии эта точка зрения изменилась. Как оказалось, новые капилляры появляются уже на ранней стадии онкогенеза (через 6 сут после имплантации опухолевых клеток (ОК) животным), когда количество их составляет лишь 100–300. Еще через двое суток, когда микроопухоль содержит более 400 клеток, формируются сосуды, которые содержат эритроциты [2]. А. Maniotis и соавторы [3] показали, что клетки меланомы человека могут самоорганизовываться в примитивную тубулярную структуру, из которой впоследствии формируется КС. Аналогичный механизм А может реализоваться и при других типах опухолей — раке молочной железы (РМЖ), раке предстательной железы (РПЖ), раке яичника, синовиосаркоме, рабдомиосаркоме и феохромоцитоме [4]. При обсуждении механизмов формирования сосудистой сети вокруг опухолевого узла следует также вспомнить о предшественниках ЭК, которые могут с периферической кровью поступать из костного мозга или стенок микрососудов. В ответ на действие некоторых цитокинов и/или ишемии тканей отмечают увеличение количества циркулирующих предшественников ЭК, способных участвовать в формировании новых КС [5].

Начальные этапы А контролируются преимущественно двумя группами биорегуляторов: АФ и их эн-

ВЗГЛЯД НА ПРОБЛЕМУ

догенными ингибиторами. Наиболее известным и наиболее изученным АФ является фактор роста эндотелия сосудов VEGF, описанный впервые как белок, который секретируется ОК и повышает проницаемость сосудов для белков плазмы крови. Из шести известных изоформ VEGF клетками преимущественно продуцируется VEGF₁₆₅, представляющий собой гликопротеин, способный связываться с гепарином [6]. В последнее время эту изоформу VEGF условились обозначать как VEGF-A. Помимо VEGF-A, в состав семейства VEGF-подобных белков входят также VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D и плацентарный фактор роста PlGF.

VEGF-A может связываться с рецепторными белками VEGFR-1 (Flt-1) и VEGFR-2 (Flk-1/KDR), обладающими тирозинкиназной активностью. Хотя первый из них имеет более высокое сродство к связыванию с VEGF-A, ангиогенные эффекты VEGF-A реализуются преимущественно через VEGFR-2 [7]. С рецептором VEGFR-1 также взаимодействуют VEGF-B и PlGF. Еще одним членом семейства VEGFR является рецептор VEGFR-3 (Flt-4), лигандами для которого служат белки VEGF-C и VEGF-D. Как известно, эти факторы участвуют главным образом в регуляции лимфангиогенеза [8]. Мембранные белки нейропилины (1 и 2) также специфически распознают и связывают несколько белков семейства VEGF. Вместе с тем нейропилины лишены киназной активности и выполняют функцию корцептора VEGFR-2, обеспечивая более эффективное взаимодействие VEGF-A с этим рецептором [9].

Опыты с «нокаутированными» (то есть лишеными обоих аллелей гена) мышами свидетельствуют об абсолютной необходимости VEGF для образования новых КС [10]. Механизмы биологического действия VEGF разнообразны и, помимо отмеченной выше способности повышать проницаемость сосудов, этот цитокин участвует в регуляции пролиферации ЭК, их объединения в каналоподобные структуры (васкулогенез), хемотаксиса и дифференцировки предшественников ЭК, а также ремоделирования ВМ. В результате повышенной проницаемости стенки КС происходит выпотевание белков плазмы крови и образование в экстраваскулярной зоне фибриноподобного геля, обеспечивающего миграцию ЭК и клеток стромы. Митогенная активность VEGF продемонстрирована на ЭК артерий, вен и лимфатических сосудов, но не других типах клеток [11]. Исключение здесь составляют перидиты, покрывающие слой эндотелия и выполняющие сократительную, синтетическую, фагоцитарную и нейрорегуляторную функции. Показано [12], что синтетические ингибиторы киназы рецептора VEGFR-2 SU6668 и SU11248 блокируют пролиферацию перидитов, полученных из образцов ткани немелкоклеточного рака легкого (НРЛ). По-видимому, стимулированная VEGF пролиферация перидитов (которые сами способны продуцировать этот белок) необходима для адекватного созревания вновь образующихся КС. VEGF также ре-

гулирует протеолитическую систему, ответственную за ремоделирование ВМ. Установлено, что этот цитокин стимулирует продукцию ЭК активаторов плазминогена (uPA и tPA), а также экспрессию рецептора uPA [13]. Являясь ключевым регулятором протеолиза белков ВМ, uPA оказывает влияние не только на пролиферацию, но и на миграцию клеток сосудистой стенки. Кроме того, VEGF способен активировать интегрины $\alpha 1\beta$, $\alpha 2\beta$, и $\alpha V\beta_3$, играющие важную роль в миграции, пролиферации ЭК, и реорганизации структуры ВМ [14, 15]. VEGF может также выступать в роли фактора выживания клеток. Например, M. Infanger и соавторы [16] установили, что VEGF защищает ЭК от апоптоза в условиях невесомости. Антиапоптотическое действие VEGF связывают с его влиянием на экспрессию фибронектина и остепонтина [16]. Кроме того, VEGF способен блокировать индукцию апоптоза ЭК через активацию PI-3K/Akt/Bcl-2-зависимого сигнального пути [17]. Перидиты также поддерживают жизнеспособность ЭК через межклеточные контакты и/или секрецию факторов выживания клеток.

Другими известными АФ являются PlGF, щелочной фактор роста фибробластов (bFGF), инсулиноподобный фактор роста (IGF-I), фактор роста гепатоцитов (HGF), фактор некроза опухоли α (TNF- α), фактор роста из тромбоцитов (PDGF), трансформирующий фактор роста (TGF- β), ангиопоэтин-1 и некоторые другие (табл. 1).

Таблица 1

Регуляторы роста микрососудов

Стимуляторы А	Ингибиторы А
Представители семейства VEGF	Ангиостатин
bFGF/aFGF	Эндостатин
HGF	Вазостатин
PDGF	Тумстатин
TGF- α	Тромбоспондин
TGF- β	Ангиопоэтин-1
IGF-I	Активин А
Тромбин	Антитромбин
TNF- α (низкие дозы)	TNF- α (высокие дозы)
Интерлейкины (IL-1, IL-6, IL-8)	Интерлейкины (IL-12)
Ангиопоэтин-2	α -Интерферон
Эритропоэтин	Ангиотензин
G-CSF	Фрагмент пролактинина с м.м. 16 кД
GM-CSF	Ламинин
MMP-1, -2 и -9	Металлоспондины
Плазмин	Макрофагальный фактор 4
Активаторы плазминогена uPA/tPA	PAI
Ангиогенин	Фибронектин
Интегрины ($\alpha V\beta_3$, $\alpha V\beta_6$, $\alpha V\beta_8$)	PEX (С-концевой фрагмент MMP-2)
Кадгерин (VE-кадгерин)	Фибулин-5
Тромбоцитарный фактор роста ЭК	ТИМР-1/2
Фрагменты ВМ (пептидные участки ламинина, коллагена I типа или фибронектина)	Фрагменты HGF (NK-1, -2, -4)
Эстрогены	2-Метоксиэстрадиол
Андрогены	Тропонин-1
Простагландины	Секретируемая форма рецептора bFGF
Фоллистатин	Секретируемая форма рецептора VEGFR-1
Пролиферин	Плацентарный белок, подобный пролиферину
Гиалуронан, олигосахариды	Гиалуронан, высокомолекулярные фракции
Ганглиозиды	Ретиноиды

Не останавливаясь на анализе прямого или опосредованного ангиогенного действия каждого

из перечисленных цитокинов, рассмотрим лишь участие в процессах образования новых КС белков семейства ангиопоэтинов. На поверхности ЭК выявлены рецепторы TIE-1 и TIE-2 (Tek), которые обладают тирозинкиназной активностью. Показано, что все 4 известные на сегодняшний день ангиопоэтина специфически связываются с TIE-2 [18]. Лиганд эндотелиального рецептора TIE-1 пока не выявлен. Активация рецептора TIE-2 ангиопоэтином-1 не вызывает усиления пролиферации ЭК, наблюдаемой при действии других АФ, однако стимулирует выживание и миграцию ЭК, а также образование и рост новых ответвлений КС [19]. Следует отметить, что ангиопоэтин-2 действует в качестве антагониста ангиопоэтина-1 [20]. Полагают, что опухолевый А стимулируется, когда баланс между ангиопоэтином-2 и ангиопоэтином-1 нарушается вследствие гиперэкспрессии первого, уменьшения продукции второго, либо комбинации этих двух событий. Тогда ангиопоэтин-2 способствует откреплению перicyтов от слоя эндотелия. После этого ЭК становятся доступными для действия АФ (в том числе VEGF и ангиопоэтина-1), которые стимулируют их пролиферацию, миграцию, межклеточные взаимодействия и в конечном счете способствуют формированию новых КС.

По мере роста и прогрессии опухоли отмечается усиление продукции ОК стимуляторов А. Роль А, индуцированного VEGF, в развитии солидных опухолей подтверждена экспериментами, в которых показано, что антитела против этого цитокина ингибируют васкуляризацию и рост РПЖ [21]. Кроме того, указанные антитела блокируют метастазирование клеток РПЖ в легкие [22]. После установления факта стимуляции опухолевого А VEGF показано, что аналогичным действием обладают многие другие АФ, причем выявлена их продукция не только ОК и ЭК, но и клетками стромы, макрофагами, лимфоцитами, тучными клетками, которые определяют в опухоли, а также компонентами ВМ [23, 24].

Экспрессия генов АФ регулируется гипоксией, которая имеет место в растущей опухоли вследствие дефектности ее сосудистой сети. Хорошо известно, что степень гипоксии в опухолевой ткани коррелирует с резистентностью к химио- и лучевой терапии, а также с более низкими показателями выживаемости больных онкологического профиля. В условиях сниженного содержания кислорода чувствительные к гипоксии факторы транскрипции HIF-1 α и HIF-2 α повышают транскрипцию генов, которые обеспечивают адаптацию клеток к гипоксии и стимулируют ангиогенез. Показано, что HIF-1 α способен связываться с промотором гена *VEGF-A* и стимулировать его транскрипцию [25]. Активация HIF-1 α также способствует усилению экспрессии генов рецепторов VEGFR-1 и VEGFR-2 [26]. Вместе с тем ингиби-

тор гистондеацетилазы FK228 подавляет не только активацию фактора HIF-1 α в ответ на гипоксию, но также продукцию VEGF и А [26].

Миграция ЭК при А осуществляется за счет взаимодействия клеток между собой и с ВМ. Контакт компонентов ВМ с белками цитоскелета осуществляется с помощью трансмембранных белков интегринов. Последние становятся активными после образования гетеродимеров из α - и β -субъединиц [27]. Существуют 18 типов β -интегринов и 8 типов α -интегринов, в результате димеризации которых формируется 24 формы активных интегриновых комплексов. Их внеклеточные домены необходимы для распознавания лиганда, тогда как цитоплазматические участки с помощью специальных белков (талин, тензин, α -актинин и др.) соединены с актиновыми филаментами цитоскелета. Лигандами интегринов служат белки ВМ (ламелин, фибронектин, витронектин), содержащие специфическую аминокислотную последовательность Arg-Gly-Asp. Интегрины опосредуют разнонаправленную (в клетку и из клетки) передачу регуляторных сигналов через плазматическую мембрану [27]. Причем для активации в ответ на присоединение клетки к ВМ экспрессии специфических генов важен не только состав, но и пространственная организация ВМ [28].

При миграции ЭК в периваскулярное пространство происходит частичное разрушение соединительнотканых элементов. Основными протеолитическими ферментами, принимающими участие в этом процессе, являются ММР, которые синтезируются в виде неактивных проформ. Охарактеризовано 25 ММР, которые объединены в группы коллагеназ, желатиназ, матрилизина, стромелизинов, металлопротеиназ мембранного типа и других ММР [29]. Матриксные металлопротеиназы, участвующие в ангиогенезе и метастазировании, приведены в табл. 2. Все указанные ферменты расщепляют компоненты ВМ, причем отдельные их эндогенные ингибиторы (TIMP) могут способствовать протеолитическому действию ММР. Например, активация ММР-2 происходит после образования на клеточной поверхности комплекса МТ1-ММР и TIMP-2 [30]. Более того, для экспрессии на поверхности инвазирующей клетки активированной ММР-2 должно произойти связывание ММР-2 с $\alpha_v\beta_3$ -интегрином [31].

Интенсивное изучение механизмов регуляции А привело к выявлению нескольких десятков эндогенных факторов, способных подавлять этот процесс (см. табл. 1). Одни ингибиторы А — это фрагменты больших белковых молекул, не обладающих антиангиогенным действием (например коллаген XVIII как предшественник эндостатина [32]), тогда как другие являются фрагментами белков, которые сами способны ингибировать А (например кальретикулин и продукт его расщеп-

ВЗГЛЯД НА ПРОБЛЕМУ

ления вазостатин [33]). При этом предшественники многих ингибиторов А относятся к белкам ВМ и базальной мембраны (тромбоспондин, коллаген XVIII) либо белкам, принимающими участие в процессе свертывания крови (плазминоген, антитромбин III) [34]. Одним из первых эндогенных ингибиторов А выявлен эндостатин [32]. Высокое сродство его взаимодействия с гепарином [35] свидетельствует о возможности связывания эндостатина гепарансульфатными протеогликанами, которые и обеспечивают его антиангиогенное действие. Специфические рецепторы эндостатина пока не выявлены. Введение эндостатина бестимульным мышам подавляет не только А, но и рост клеток перевитого им рака почки (РП) [36]. Особый интерес представляют вазостатин и канстатин, которые соответственно являются фрагментами кальретикулина и коллагена IV типа. Показано, что вазостатин ингибирует пролиферацию ЭК *in vitro*, А и рост ОК *in vivo* [33]. Канстатин также эффективно подавляет рост опухолей у бестимульных мышей, а его антиангиогенное действие сопровождается влиянием на миграцию ЭК и индукцией их апоптоза [37]. Поскольку все статины — это биологически активные фрагменты определенных высокомолекулярных предшественников, можно предположить существование универсального регуляторного механизма, благодаря которому в случае необходимости происходит активация ингибиторов А.

А необходим для роста и прогрессии не только солидных опухолей, но и гемобластозов. Повышение плотности микрососудов костного мозга выявлено у больных хроническим миелолейкозом (ХМЛ), острым миелобластным лейкозом (ОМЛ), острым лимфобластным лейкозом (ОЛЛ) и миело-

диспластическими синдромами (МДС) [38]. Увеличение плотности васкулярной сети костного мозга у таких пациентов сопровождается существенным повышением содержания в плазме крови таких АФ, как VEGF, bFGF, TNF- α и HGF. Для указанных заболеваний, как и для солидных новообразований, характерна гетерогенность стимуляторов А. Так, у больных с ХМЛ увеличивается только уровень VEGF, тогда как содержание TNF- α повышается и при других формах заболеваний, кроме ОМЛ и МДС, для которых характерна повышенная васкуляризация костного мозга [38]. Наиболее высокий уровень HGF отмечали у больных с хроническим миеломоноцитарным лейкозом. Несмотря на высокое содержание в плазме крови АФ при ХЛЛ, изменений плотности микрососудов в костном мозгу не выявлено. Для бластных клеток, выделенных из костного мозга больных с ОЛЛ, характерна гиперэкспрессия VEGF и VEGFR-2, что указывает на участие этой регуляторной системы в ауто- или паракринной регуляции пролиферации лейкозных клеток (цит. по [39]). Значение А в развитии гемобластозов не ограничивается ХМЛ, ОМЛ, ОЛЛ или МДС. Установлено, что плотность КС в костном мозге может иметь прогностическое значение при множественной миеломе (ММ) [40]. Выживаемость пациентов при низком, среднем и высоком уровне А в костном мозге составляет соответственно 77, 30 и 14 мес. После проведения курса терапии талидомидом плотность васкулярной сети костного мозга значительно снижается у больных с ММ, чувствительных к действию препарата [41]. Эти данные и обнадеживающие результаты испытаний препарата талидомид у пациентов с ММ, МДС и ОМЛ [42] не только подтверждают патогенети-

Таблица 2

MMP, участвующие в А и метастазировании, и их субстраты

Фермент	Специфические субстраты
	<i>Коллагеназы</i>
MMP-1 (интерстициальная коллагеназа)	Коллаген I, II, III, VII и X типов; энтактин; агрекан; тенасцин; предшественники MMP-1 и -2; VEGF; белок, связывающий IGF; предшественник TNF- α
MMP-13 (коллагеназа-3)	Коллаген I, II, III, VI и X типов; агрекан; ламинин; фибронектин; витронектин; тенасцин; bFGF; предшественники MMP-9 и -13; предшественник TGF- β
	<i>Желатиназы</i>
MMP-2 (желатиназа А)	Коллаген I, IV, V, VI, VII, X и XI типов; ламинин; фибронектин; витронектин; энтактин; FGFR-1; белок, связывающий IGF; предшественники MMP-1, -9 и -13; предшественник TGF- β ; VEGF; предшественник TNF- α ; эндотелин-1
MMP-9 (желатиназа В)	Коллаген I, IV, V, VI, X и XI типов; агрекан; эластин; энтактин; фибронектин; витронектин; VEGF; предшественник TGF- β ; bFGF; предшественник TNF- α ; лиганд рецептора KIT; эндотелин-1
	<i>Матрилизин</i>
MMP-7 (матрилизин, PUMP)	Коллаген III, IV, IX, X и XI типов; эластин; фибрин; ламинин; энтактин; фибронектин; тенасцин; FasL; предшественники MMP-2 и -7; витронектин; предшественник TNF- α ; предшественник TGF- β
	<i>Стромелизины</i>
MMP-3 (стромелизин-1)	Коллаген III, IV, V, VI, IX, X и XI типов; ламинин; предшественники MMP-1, -3, -7, -9 и -13; белок, связывающий IGF; остеонектин; предшественник TNF- α ; тенасцин; фибронектин; протеогликаны; предшественник TGF- β ; bFGF
MMP-11 (стромелизин-3)	Коллаген IV типа; фибронектин; ламинин; агрекан; ингибитор α 1-протеиназы
	<i>Матриксные металлопротеиназы мембранного типа (MT-MMP)</i>
MMP-14 (MT1-MMP)	Коллаген I, II и III типов; фибрин; фибронектин; предшественники MMP-2 и -13; ингибитор α 1-протеиназы; витронектин; протеогликаны; ламинин; тенасцин; агрекан; предшественник TGF- β ; VEGF; bFGF, предшественник TNF- α
MMP-16 (MT3-MMP)	Предшественник MMP-2; коллаген III типа; фибронектин; ламинин; агрекан; витронектин
	<i>Другие матриксные металлопротеиназы</i>
MMP-12 (макрофагальная металлоэластаза)	Эластин; фибронектин; коллаген I и IV типов; остеонектин; ингибитор α 1-протеиназы; рецепторы урокиназы; витронектин

ческую роль А в развитии злокачественных заболеваний кроветворной и лимфоидной тканей, но и указывают на целесообразность использования ингибиторов А для лечения больных онкогематологического профиля.

В последнее время уделяют все больше внимания *использованию ингибиторов ангиогенеза с терапевтической целью* [43, 44]. Применение этих соединений обуславливает подавление роста не только первичной опухоли, но и ее метастазов. Антиангиогенная терапия может также использоваться для предупреждения возникновения рецидивов у больных групп повышенного риска. Основные терапевтические эффекты ингибиторов А связаны с угнетением пролиферации и/или миграции ЭК; блокированием или нейтрализацией действия АФ; ингибированием активности и подавлением мобилизации клеток-предшественников ЭК из костного мозга. Использование низких доз известных противоопухолевых препаратов также может ингибировать пролиферацию ЭК. В частности, применение циклофосфамида, метотрексата или капецитабина в режиме метронормной химиотерапии, когда препараты назначаются в более низких и частых дозах, показало их антиангиогенную активность [45]. Изучается возможность комбинирования метронормной химиотерапии с ингибиторами А [46].

На данный момент в разных странах, включая Украину, уже зарегистрировано несколько фармакопейных препаратов, обладающих антиангиогенной активностью и рекомендованных к использованию в онкологической или гема-

тологической клинике (табл. 3). Среди них прямые ингибиторы А и такие, действие которых на КС является опосредованным. Например, антиангиогенный эффект препаратов, основной мишенью для которых служит EGFR на поверхности ОК, связан с ингибированием продукции такими клетками АФ [47]. Первым ингибитором А прямого действия, который вышел на фармацевтический рынок в 2004 г., оказался препарат бевацизумаб («Genentech, Inc.», США). Он представляет собой рекомбинантные моноклональные антитела (МкАТ) против VEGF, оптимизированные для применения у человека. Препарат связывается с VEGF и нейтрализует все его биологически активные формы. Одним из следствий антиангиогенного действия таких антител является индукция апоптоза ОК [48]. По отношению к ряду опухолей антитела против VEGF проявляют цитостатическую активность. В настоящее время бевацизумаб рекомендован как препарат первой и второй линии терапии больных метастатическим колоректальным раком в комбинации с иринотеканом, флуороурацилом и кальций фолинатом [49], либо для первой линии терапии пациентов с распространенным, рецидивирующим или метастатическим НРЛ в комбинации с паклитаксолом и карбоплатином [50]. Кроме того, препарат проявляет высокую терапевтическую активность у больных с РМЖ и РП.

Получены и продолжают активно разрабатываться препараты класса ингибиторов тирозинкиназ рецепторов АФ, наиболее перспективны-

Таблица 3

Ингибиторы А, зарегистрированные в Украине и проходящие клинические испытания

Препарат	Стадия клинического испытания			Основная мишень или механизм действия
	III	II	I	
Бевацизумаб	НРЛ, ГСО, КР, РМЖ, РЯ, РПЖ, РПЖЖ, РП	Глиобластома, глиома, саркома Капоши, саркома мягких тканей, мезотелиома, ОМЛ, ХЛЛ, ХМЛ, лимфомы, ангиосаркома, МРЛ, меланома, рак желчевыводящих путей, рак пищевода, РЖ, РГШ, рак прямой кишки, РПеч, НЛ, РЖП, РМП, нейроэндокринные опухоли, РШМ, РЭ и др.	Солидные опухоли, опухоли сетчатки глаза	VEGF
Рекомбинантный интерферон альфа-2b	Солидные опухоли			Подавляет продукцию VEGF и bFGF
Сунитиниб	РП, ГСО	Меланома, НРЛ, РПеч, КР, РПЖ, РМЖ, РЖ, нейроэндокринные опухоли	Солидные опухоли	VEGFR, PDGFR, KIT, FLT3, CSFR1, RET
Талидомид	ММ, метастазы в мозг, МРЛ, НРЛ, РПЖ, РП, РЯ, РПеч	Саркома мягких тканей, меланома, солидные опухоли у детей, лейкозы, РЩЖ, нейроэндокринные опухоли, КР, РЭ, глиома, глиобластома, ХЛЛ, опухоли мозга у детей, НЛ, ОМЛ, болезнь Ходжкина, РШМ и др.	Солидные опухоли	Неизвестен (возможно связан с модуляцией действия интегринов)
Целекоксиб	Рак толстой кишки, РПЖ, РМП	Солидные опухоли у детей, саркома Юинга, глиома, РПеч, рак пищевода, РШМ, КР, РГШ, РМЖ, РЩЖ, рак носоглотки	Солидные опухоли, РПЖЖ	Циклооксигеназа-2; стимулирует продукцию эндотатина
Эрлотиниб	НРЛ, КР, РПЖЖ, РЯ, РГШ, рак ротовой полости	Мезотелиома, глиобластома, РЖП, глиома, ГСО, РЭ, РПЖ, РПеч, рак желчевыводящих путей, РМЖ, РЖ, опухоли периферических нервов, рак пищевода и др.	Солидные опухоли	EGFR
Бортезомиб	НРЛ, ММ, НЛ	Лимфомы, глиома, меланома, лимфома плазмочитарная лимфома, РПрЖ, РГШ, РПЖЖ, РПеч, РЖ, РМЖ, рак носоглотки, КР, РШМ, рак влагалища	Солидные опухоли, РЯ	Протеасома

Используемые сокращения: ГСО – гастроинтестинальные стромальные опухоли; КР – колоректальный рак; ММ – множественная миелома; МРЛ – мелкоклеточный рак легкого; НРЛ – немелкоклеточный рак легкого; НЛ – неходжкинская лимфома; ОМЛ – острый миелобластный лейкоз; РГШ – рак головы и шеи; РЖ – рак желудка; РЖП – рак желчного пузыря; РМП – рак мочевого пузыря; РП – рак почки; РПеч – рак печени; РПЖЖ – рак поджелудочной железы; РПЖ – рак предстательной железы; РШМ – рак шейки матки; РЩЖ – рак щитовидной железы; РЯ – рак яичника; РЭ – рак эндометрия; ХЛЛ – хронический лимфолейкоз; ХМЛ – хронический миелоидный лейкоз; CSFR – рецептор колониестимулирующего фактора; EGFR – рецептор эпидермального фактора роста; KIT – рецептор фактора стволовых клеток; RET – рецептор нейротрофического фактора роста из глиальных клеток.

ми среди которых считают мультикиназные ингибиторы. Так, пероральные препараты сунитиниб и сорафениб способны подавлять фосфорилирование более чем 80 типов киназ, включая все 3 рецептора семейства VEGFR. В 2006 г. сунитиниб рекомендовали для терапии больных с распространенным РП и в случаях прогрессирования гастроинтестинальных стромальных опухолей либо их резистентности к препарату иматиниб. При проведении клинических испытаний была показана эффективность сунитиниба как препарата первой линии терапии у больных распространенным РМЖ в комбинации с таксанами (паклитаксел и доцетаксел), как препарата второй линии в комбинации с капецитабином либо для монотерапии пациентов с РМЖ, ОК которых лишены рецепторов эстрогенов, прогестерона и HER2 [51]. Сорафениб зарегистрирован более чем в 50 странах мира для лечения пациентов с распространенным РП. В настоящее время проходит III стадия клинических испытаний препарата у больных метастатической меланомой и раком печени. Другие антиангиогенные препараты, ингибирующие киназную активность рецепторов VEGF, представлены в табл. 3.

Не менее перспективным направлением противоопухолевой терапии является использование эндогенных ингибиторов А, в частности эндостатина. Клиническое тестирование препарата стало возможным после получения компанией «EntreMed, Inc.» (США) рекомбинантного эндостатина человека. При его внутривенных инъекциях клинический эффект отмечали у больных с резистентными формами солидных опухолей [52]. Начиная с 2005 г., препарат разрешен к применению для лечения при НРЛ в Китае.

Антиангиогенную активность талидомида связывают в первую очередь с ингибированием пролиферации ЭК [53]. Вместе с тем в клетках ММ этот препарат вызывал остановку клеточного цикла в G₁-фазе или апоптоз, а также ингибировал продукцию VEGF клетками костного мозга [54]. В Австралии талидомид был рекомендован для лечения ММ в 2003 г., а в США — в 2006 г. Препарат проходит клинические испытания у больных с разными формами солидных опухолей. При лечении талидомидом больных гормоннезависимым РПЖ выявлено стабильное снижение уровня простатоспецифического антигена, а также bFGF и VEGF в моче [55].

Известно, что антиангиогенной активностью обладают многие цитокины, однако к клиническим испытаниям пока допущены только IFN- α и IL-12. Первый из них обладает широким спектром биологического действия, включающего противовирусный, противоопухолевый, антиангиогенный и антиметастатический эффекты. Как показали недавно von Z. Marschall и соавторы [56], антиангиогенная активность IFN- α связана с его способ-

ностью ингибировать транскрипцию гена VEGF. В доступной литературе описаны случаи успешной интерферонотерапии при рецидивах гемангиоэндотелиомы [57], а также при крупноклеточной ангиобластоме у детей [58]. Важно отметить, что применение интерферона приводило к блокированию bFGF-опосредствованного А в опухолевой ткани, но при этом отсутствовали какие-либо изменения физиологического А, обусловленного ростом и развитием детей. Существуют и другие примеры успешного использования IFN- α как антиангиогенного препарата [59, 60].

Вместе с тем все отмеченные выше препараты в определенной степени токсичны, что неминуемо вытекает из их влияния на процессы формирования новых КС в организме в целом и отсутствии строгой избирательности по отношению к А, ассоциированному с опухолью. Конкретные сведения о противопоказаниях к применению каждого из препаратов и вызываемых ими побочных явлениях приводятся в соответствующих фармацевтических рекомендациях.

Таким образом, за два последних десятилетия в значительной мере прояснились молекулярные и клеточные механизмы, регулирующие образование КС *de novo*, в том числе при опухолевом росте. Общепризнано, что основными регуляторами А являются АФ, их эндогенные ингибиторы, интегрины и ММП. Раскрытие механизмов взаимодействия ЭК между собой, с ОК, а также с компонентами ВМ позволило разработать новые подходы к лечению больных онкологического профиля с использованием ингибиторов А для подавления роста первичной опухоли и ее метастазов. Многие соединения с антиангиогенными, антиадгезивными и антиинвазивными свойствами вышли за рамки лабораторных исследований. Например, только в США на различных стадиях клинических испытаний в настоящее время находятся 43 антиангиогенных препарата. Начиная с 2003 г., лекарственные формы ингибиторов А появились на фармацевтическом рынке. Поэтому есть все основания прогнозировать, что в скором времени расширится клиническое использование таких препаратов, и возрастет их эффективность.

ЛИТЕРАТУРА

1. Folkman J. Fighting cancer by attacking its blood supply. *Sci Am* 1996; **275**: 150–4.
2. Li CY, Shan S, Huang Q, *et al.* Initial stages of tumor cell-induced angiogenesis: evaluation via skin window chambers in rodent models. *J Natl Cancer Inst* 2000; **92**: 143–7.
3. Maniotis AJ, Folberg R, Hess A, *et al.* Vascular channel formation by human melanoma cells *in vivo* and *in vitro*: vasculogenic mimicry. *Am J Pathol* 1999; **155**: 739–52.
4. Hendrix MJ, Sefter EA, Hess AR, Sefter RE. Vasculogenic mimicry and tumour-cell plasticity: lessons from melanoma. *Nat Rev Cancer* 2003; **3**: 411–21.
5. Eguchi M, Masuda H, Asahara T. Endothelial progenitor cells for postnatal vasculogenesis. *Clin Exp Nephrol* 2007; **11** (1): 18–25.

6. Dvorak HF, Brown LF, Detmar M, Dvorak AM. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor, microvascular hyperpermeability, and angiogenesis. *Am J Pathol* 1995; **146**: 1029–39.
7. Gille H, Kowalski J, Li B, *et al.* Analysis of biological effects and signaling properties of Flt-1 (VEGFR-1) and KDR (VEGFR-2). A reassessment using novel receptor-specific vascular endothelial growth factor mutants. *J Biol Chem* 2001; **276**: 3222–30.
8. Фільченков ОО. Молекулярні механізми пухлинного лімфангіогенезу. Вісник наукових досліджень 2007; (3): 90–5.
9. Ferrara N, Gerber HP, LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors. *Nat Med* 2003; **9**: 669–76.
10. Ferrara N, Carver-Moore K, Chen H, *et al.* Heterozygous embryonic lethality induced by targeted inactivation of the VEGF gene. *Nature* 1996; **380**: 439–42.
11. Ferrara N. Role of vascular endothelial growth factor in regulation of physiological angiogenesis. *Am J Physiol Cell Physiol* 2001; **280**: C1358–66.
12. Bagley RG, Rouleau C, Morgenbesser SD, *et al.* Pericytes from human non-small cell lung carcinomas: an attractive target for anti-angiogenic therapy. *Microvasc Res* 2006; **71**: 163–74.
13. Behzadian MA, Windsor LJ, Ghaly N, *et al.* VEGF-induced paracellular permeability in cultured endothelial cells involves urokinase and its receptor. *FASEB J* 2003; **17**: 752–4.
14. Senger DR, Claffey KP, Benes JE, *et al.* Angiogenesis promoted by vascular endothelial growth factor: regulation through alpha1beta1 and alpha2beta1 integrins. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; **94**: 13612–7.
15. Senger DR, Ledbetter SR, Claffey KP, *et al.* Stimulation of endothelial cell migration by vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor through cooperative mechanisms involving the alphavbeta3 integrin, osteopontin, and thrombin. *Am J Pathol* 1996; **149**: 293–305.
16. Infanger M, Kossmehl P, Shakibaei M, *et al.* Vascular endothelial growth factor inhibits programmed cell death of endothelial cells induced by clinorotation. *J Gravit Physiol* 2004; **11**: P199–200.
17. Kumar P, Miller AI, Polverini PJ. p38 MAPK mediates gamma-irradiation-induced endothelial cell apoptosis, and vascular endothelial growth factor protects endothelial cells through the phosphoinositide 3-kinase-Akt-Bcl-2 pathway. *J Biol Chem* 2004; **279**: 43352–60.
18. Bach F, Uddin FJ, Burke D. Angiopoietins in malignancy. *Eur J Surg Oncol* 2007; **33**: 7–15.
19. Eklund L, Olsen BR. Tie receptors and their angiopoietin ligands are context-dependent regulators of vascular remodelling. *Exp Cell Res* 2006; **312**: 630–41.
20. Maisonpierre PC, Suri C, Jones PF, *et al.* Angiopoietin-2, a natural antagonist for Tie2 that disrupts in vivo angiogenesis. *Science* 1997; **277**: 55–60.
21. Borgstrom P, Bourdon MA, Hillan KJ, *et al.* Neutralizing anti-vascular endothelial growth factor antibody completely inhibits angiogenesis and growth of human prostate carcinoma micro tumors *in vivo*. *Prostate* 1998; **35**: 1–10.
22. Melnyk O, Zimmerman M, Kim KJ, Shuman M. Neutralizing anti-vascular endothelial growth factor antibody inhibits further growth of established prostate cancer and metastases in a pre-clinical model. *J Urol* 1999; **161**: 960–3.
23. Zetter BR. Angiogenesis and tumor metastasis. *Annu Rev Med* 1998; **49**: 407–24.
24. Fukumura D, Xavier R, Sugiura T, *et al.* Tumor induction of VEGF promoter activity in stromal cells. *Cell* 1998; **94**: 715–25.
25. Forsythe JA, Jiang BH, Iyer NV, *et al.* Activation of vascular endothelial growth factor gene transcription by hypoxia-inducible factor 1. *Mol Cell Biol* 1996; **16**: 4604–13.
26. Mie Lee Y, Kim SH, Kim HS, *et al.* Inhibition of hypoxia-induced angiogenesis by FK228, a specific histone deacetylase inhibitor, via suppression of HIF-1alpha activity. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; **300**: 241–6.
27. Humphries MJ, Travis MA, Clark K, Mould AP. Mechanisms of integration of cells and extracellular matrices by integrins. *Biochem Soc Trans* 2004; **32**: 822–5.
28. Cavalcanti-Adam EA, Micoulet A, Blümmel J, *et al.* Lateral spacing of integrin ligands influences cell spreading and focal adhesion assembly. *Eur J Cell Biol* 2006; **85**: 219–24.
29. Brauer PR. MMPs – role in cardiovascular development and disease. *Front Biosci* 2006; **11**: 447–78.
30. Hofmann UB, Westphal JR, Van Kraats AA, *et al.* Expression of integrin alpha(v)beta(3) correlates with activation of membrane-type matrix metalloproteinase-1 (MT1-MMP) and matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) in human melanoma cells in vitro and in vivo. *Int J Cancer* 2000; **87**: 12–9.
31. Brooks PS, Stromblad S, Sanders LC, *et al.* Localization of matrix metalloproteinase MMP-2 to the surface of invasive cells by interaction with integrin alpha v beta 3. *Cell* 1996; **85**: 683–93.
32. O'Reilly MS, Boehm T, Shing Y, *et al.* Endostatin: an endogenous inhibitor of angiogenesis and tumor growth. *Cell* 1997; **88**: 277–85.
33. Pike SE, Yao L, Setsuda J, *et al.* Calreticulin and calreticulin fragments are endothelial cell inhibitors that suppress tumor growth. *Blood* 1999; **94**: 2461–8.
34. O'Reilly MS, Pirie-Shepherd S, Lane WS, Folkman J. Antiangiogenic activity of the cleaved conformation of the serpin antitrombin III. *Science* 1999; **285**: 1926–8.
35. Hohenester E, Sasaki T, Olsen BR, Timpl R. Crystal structure of the angiogenesis inhibitor endostatin at 1.5 Å resolution. *EMBO J* 1998; **17**: 1656–64.
36. Dhanabal M, Ramchandran R, Volk R, *et al.* Endostatin: yeast production, mutants, and antitumor effect in renal cell carcinoma. *Cancer Res* 1999; **59**: 189–97.
37. Kamphaus GD, Colorado PC, Panka DJ, *et al.* Canstatin, a novel matrix-derived inhibitor of angiogenesis and tumor growth. *J Biol Chem* 2000; **275**: 1209–15.
38. Aguayo A, Kantarjian H, Manshoury T, *et al.* Angiogenesis in acute and chronic leukemias and myelodysplastic syndromes. *Blood* 2000; **96**: 2240–5.
39. Mesters RM, Padro T, Steins M, *et al.* Angiogenesis in patients with hematologic malignancies. *Onkologie* 2001; **24** (Suppl 5): 75–80.
40. Kumar S, Fonseca R, Dispenzieri A, *et al.* Bone marrow angiogenesis in multiple myeloma: effect of therapy. *Br J Haematol* 2002; **119**: 665–71.
41. Kumar S, Witzig TE, Dispenzieri A, *et al.* Effect of thalidomide therapy on bone marrow angiogenesis in multiple myeloma. *Leukemia* 2004; **18**: 624–7.
42. Moehler TM, Ho AD, Goldschmidt H, Barlogie B. Angiogenesis in hematologic malignancies. *Crit Rev Oncol Hematol* 2003; **45**: 227–44.
43. Новак ОЄ, Лісняк ІО, Чехун ВФ. Ангіогенез у розвитку злоякісних пухлин: теоретичні і практичні аспекти. *Онкологія* 2002; **4**: 244–51.
44. Соляник ГІ. Противоопухолева антиангіогенна терапія: принципи, проблеми, перспективи. *Онкологія* 2006; **8**: 206–8.
45. Colleoni M, Rocca A, Sandri MT, *et al.* Low-dose oral methotrexate and cyclophosphamide in metastatic breast cancer: antitumor activity and correlation with vascular endothelial growth factor levels. *Ann Oncol* 2002; **13**: 73–80.
46. Kesari S, Schiff D, Doherty L, *et al.* Phase II study of metronomic chemotherapy for recurrent malignant gliomas in adults. *Neuro Oncol* 2007; **9**: 354–63.
47. Morelli MP, Cascone T, Troiani T, *et al.* Anti-tumor activity of the combination of cetuximab, and anti-EGFR

ВЗГЛЯД НА ПРОБЛЕМУ

blocking monoclonal antibody and ZD6474, an inhibitor of VEGFR and EGFR tyrosine kinases. *J Cell Physiol* 2006; **208**: 344–53.

48. **Wedam SB, Low JA, Yang SX, et al.** Antiangiogenic and antitumor effects of bevacizumab in patients with inflammatory and locally advanced breast cancer. *J Clin Oncol* 2006; **24**: 769–77.

49. **Hurwitz H, Saini S.** Bevacizumab in the treatment of metastatic colorectal cancer: safety profile and management of adverse events. *Semin Oncol* 2006; **33**: S26–S34.

50. **Sandler A, Gray R, Perry MC, et al.** Paclitaxel-carboplatin alone or with bevacizumab for non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 2006; **355**: 2542–50.

51. <http://www.clinicaltrials.gov/ct/show>

52. **Eder JP Jr, Supko JG, Clark JW, et al.** Phase I clinical trial of recombinant human endostatin administered as a short intravenous infusion repeated daily. *J Clin Oncol* 2002; **20**: 3772–84.

53. **Moreira AL, Friedlander DR, Shif B, et al.** Thalidomide and a thalidomide analogue inhibit endothelial cell proliferation in vitro. *J Neurooncol* 1999; **43**: 109–14.

54. **Mitsiades N, Mitsiades CS, Poulaki V, et al.** Apoptotic signaling induced by immunomodulatory thalidomide analogs in human multiple myeloma cells: therapeutic implications. *Blood* 2002; **99**: 4525–30.

55. **Drake MJ, Robson W, Mehta P, et al.** An open-label phase II study of low-dose thalidomide in androgen-independent prostate cancer. *Br J Cancer* 2003; **88**: 822–7.

56. **von Marschall Z, Scholz A, Cramer T, et al.** Effects of interferon alpha on vascular endothelial growth factor gene transcription and tumor angiogenesis. *J Natl Cancer Inst* 2003; **95**: 437–48.

57. **Palmieri G, Montella L, Martignetti A, Bianco AR.** Interferon alpha-2b at low doses as long-term antiangiogenic treatment of a metastatic intracranial hemangioendothelioma: a case report. *Oncol Rep* 2000; **7**: 145–9.

58. **Marler JJ, Rubin JB, Trede NS, et al.** Successful antiangiogenic therapy of giant cell angioblastoma with interferon alfa 2b: report of 2 cases. *Pediatrics* 2002; **109**: E37.

59. **Kontzoglou G, Triaridis S, Noussios G, et al.** Subglottic hemangioma treated with interferon alpha 2A. *Acta Otorhinolaryngol Belg* 2002; **56**: 83–5.

60. **Kaban LB, Troulis MJ, Ebb D, et al.** Antiangiogenic therapy with interferon alpha for giant cell lesions of the jaws. *J Oral Maxillofac Surg* 2002; **60**: 1103–11.

THE THERAPEUTIC POTENTIAL OF ANGIOGENESIS INHIBITORS

A.A. Philchenkov

Summary. *The review deals with the modern concepts of cellular and molecular mechanisms of angiogenesis and its role in tumor growth focusing on the angiogenic factors, their endogenous inhibitors, integrins and matrix metalloproteinases. The involvement of angiogenesis in pathogenesis of hematologic malignancies is discussed. The most promising angiogenesis inhibitors including those introduced into the clinical practice are considered.*

Key Words: angiogenic factors, endothelial cells, blood vessels, cancer cells, solid tumors, hematological malignancies, therapy.

Адрес для переписки:

Фильченков А.А.

03022, Киев, ул. Васильковская, 45

Институт экспериментальной патологии,

онкологии и радиобиологии

им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины