

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

Ключевые слова:

лимфангиогенные факторы, эндотелиальные клетки, лимфатические сосуды, интегрин, маркерные белки, опухолевые клетки, хемокины, солидные опухоли, лимфатические узлы, метастазирование, прогноз.

ВВЕДЕНИЕ

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

Согласно современным представлениям лимфангиогенез является процессом образования новых лимфатических сосудов, который происходит в нормальных и патологически измененных тканях и органах под воздействием паракринных регуляторов. Лимфангиогенез активируется во время эмбрионального и раннего постнатального периода развития. Во взрослом организме временная инициация этого процесса наблюдается при воспалении, регенерации тканей и заживлении ран. В отличие от эмбриогенеза, когда первые лимфатические сосуды образуются из кардиальной вены, во взрослом организме лимфангиогенез осуществляется за счет формирования отростков уже имеющихся лимфатических сосудов. При этом реализация лимфангиогенеза не зависит от образования новых кровеносных сосудов. Открытие лимфангиогенных факторов и расшифровка механизмов их действия позволили с новых позиций взглянуть на патогенез ряда воспалительных заболеваний (включая астму), лимфедемы, лимфангиоматоза, диабета, ожирения и других. Примечательно, что даже название капитальной монографии («The Lymphatic Continuum Revisited»), которая увидела свет в мае 2008 г. [1], свидетельствует о пересмотре интереса к проблемам лимфологии.

В последнее время начали активно раскрываться сложные механизмы, регулирующие образование и рост лимфатических сосудов. В значительной мере этому способствовало развитие методов, по-

ЛИМФАНГИОГЕНЕЗ И МЕТАСТАЗИРОВАНИЕ ОПУХОЛЕЙ

Резюме. В лекции проанализированы современные представления о молекулярных и клеточных механизмах, участвующих в регуляции опухолеассоциированного образования новых лимфатических сосудов. Особое внимание уделено регуляции лимфангиогенеза цитокинами VEGF-C/D и роли этих факторов в лимфогенном метастазировании. Охарактеризованы основные методы оценки уровня VEGF-C, VEGF-D, а также плотности лимфатических сосудов. Обсуждается перспективность определения указанных показателей у больных с различными формами солидных опухолей с целью прогнозирования течения заболевания.

звляющих идентифицировать и выделять эндотелиальные клетки лимфатических сосудов (ЭКЛС). Новейшие успехи молекулярной лимфологии (открытие лимфангиогенных цитокинов, рецепторов ЭКЛС, факторов транскрипции, генов и белковых маркеров лимфангиогенеза) свидетельствуют о подобию процессов образования новых лимфатических и кровеносных сосудов. Как оказалось, регуляторами лимфангиогенеза и ангиогенеза могут выступать одни и те же молекулы, например фактор роста эндотелия сосудов (VEGF) или матриксная металлопротеиназа-2. Более того, недавно было показано, что антиангиогенный препарат рецентин (AZD2171) также ингибирует лимфангиогенез [2].

Феномен диссеминации опухолевых клеток (ОК) по лимфатическим сосудам известен давно, но многие аспекты, касающиеся механизмов попадания ОК внутрь сосудов, миграции с лимфотоком и пролиферации в лимфатическом узле, до недавнего времени оставались неизвестными. Процесс лимфангиогенеза имеет решающее значение для инициации лимфогенного метастазирования. Многие из недавно открытых лимфангиогенных факторов (как прямого, так и опосредованного действия) способны обеспечивать проникновение ОК в интра- и/или перитуморальные лимфатические капилляры (ЛК) и стимулировать перемещение ОК по лимфатической системе, блокируя при этом их гибель. Вместе с тем накапливается все больше данных о том, что продукция отдельных лимфангиогенных факторов или высокая плотность ЛК могут служить критериями, прогнозирующими появление метастазов.

Цель данной лекции — дать читателю представление об общих принципах формирования опухолеассоциированных ЛК, о ключевых молекулярных и клеточных компонентах лимфангиогенеза. Будут также рассмотрены особенности лимфогенного метастазирования солидных опухолей. За рамками анализа остались вопросы разработки лекарственных препаратов, способных блокировать лимфангиогенез и развитие лимфогенных метастазов, которые освещены в ряде недавних обзорных работ [3, 4].

МОЛЕКУЛЫ И КЛЕТКИ, УЧАСТВУЮЩИЕ В ЛИМФАНГИОГЕНЕЗЕ

Начало изучению механизмов лимфангиогенеза было положено установлением факта, что специфическим рецептором для VEGF С-типа является белок VEGFR-3, который у взрослого человека экспрессируется преимущественно в ЭКЛС [5]. Позже был выявлен еще один лиганд VEGFR-3 — VEGF D-типа, а также показана способность VEGF-С и VEGF-D специфически связываться с рецепторным белком VEGFR-2 [6]. Опыты по блокированию лиганд-индуцированной активации VEGFR-3 в период эмбриогенеза убедительно свидетельствуют о необходимости VEGFR-3 для образования новых лимфатических сосудов [7]. Долгое время главным медиатором образования новых ЛК считался рецептор VEGFR-3, а не VEGFR-2, который опосредует стимуляцию ангиогенеза. Однако теперь установлено, что VEGFR-2 и VEGFR-3 принимают участие в регуляции как ангиогенеза, так и лимфангиогенеза (рис. 1). Оба фактора VEGF-С и VEGF-D способны инициировать лимфангиогенез *in vivo* [8, 9]. Причем для реализации их лимфангиогенных эффектов необходим двухэтапный процессинг про-VEGF-С и про-VEGF-D с участием плазмина и пропротеинконвертаз.

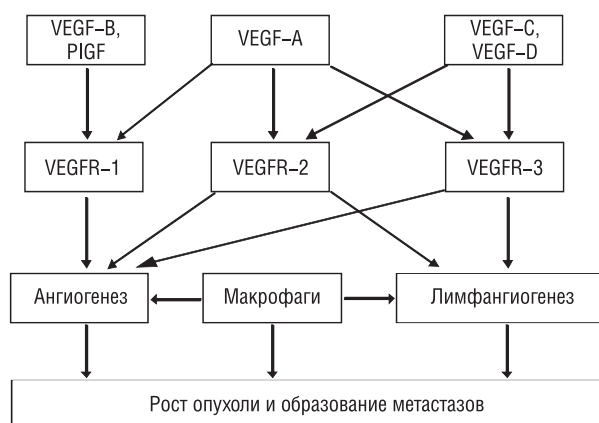


Рис. 1. Лиганд-рецепторные взаимодействия различных представителей семейства VEGF и их возможное участие в стимуляции ангиогенеза и лимфангиогенеза в опухолях. PIGF — плацентарный фактор роста

Помимо VEGFR-3 и VEGFR-2, VEGF-С способен специфически взаимодействовать с нейропилином-2 и $\alpha_9\beta_1$ -интегрином, которые также присутствуют на поверхности ЭКЛС [10, 11]. Считается, что нейропилин-2 может поддерживать миграцию ЭКЛС, образуя комплексы с рецепторами VEGFR-3 и VEGFR-2. Антитела против нейропилина-2, которые препятствуют связыванию VEGF-С, подавляют миграцию, но не пролиферацию ЭКЛС [12]. Следует отметить, что такое действие антител против нейропилина-2 лишь частично зависит от активации рецептора VEGF-С.

Роль интегринов, в частности гетеродимера $\alpha_9\beta_1$, в регуляции лимфангиогенеза связывают с адгезией, миграцией и выживанием ЭКЛС. В отличие

от рецепторов факторов роста, интегрин лишены собственной киназной активности, но способны активировать регуляторные сигналы, образуя комплексы фокальной адгезии с внутриклеточными киназами и адаптерными белками. Как оказалось, белки внеклеточного матрикса, такие как коллаген и фибронектин, способны через активацию β_1 -интегрин существенно усиливать фосфорилирование киназы VEGFR-3. Интересно, что все животные, «нокаутированные» (то есть лишены обеих аллелей гена) по $\alpha_9\beta_1$ -интегрину, погибают в первые 2 нед после рождения с признаками лимфедемы и хилоторакса [13]. Активация специфичного для ЭКЛС фактора транскрипции PROX1 приводит к повышению экспрессии $\alpha_9\beta_1$ -интегрин, VEGFR3 и подвижности ЭКЛС *in vivo*. Более того, данный интегрин способствует миграции клеток, индуцированной VEGF-С и VEGF-D, путем прямого связывания с указанными цитокинами [11]. При этом антитела против $\alpha_9\beta_1$ -интегрин подавляют клеточную подвижность, индуцированную VEGF-С, что подтверждает значимость $\alpha_9\beta_1$ -интегрин для реализации процессов лимфангиогенеза. Аналогичную роль играют некоторые другие интегрин ($\alpha_1\beta_1$, $\alpha_2\beta_1$ и $\alpha_4\beta_1$). Вместе с тем получены свидетельства различий в интегрин-опосредуемой регуляции лимфангиогенеза и ангиогенеза. Установлено, например, что α_V -интегрин, которые, как известно, являются значимыми регуляторами ангиогенеза, не участвуют в образовании новых ЛК [14].

В результате связывания специфических лигандов с VEGFR-3 активируется киназа этого рецептора, что приводит к стимуляции пролиферации и миграции ЭКЛС, опосредованной MAP-киназой p42/p44 [15]. При опухолевом лимфангиогенезе отмечается выбрасывание филоподий ЭКЛС в направлении ОК, которые продуцируют VEGF-С, и таким образом осуществляется миграция ЭКЛС. Кроме того, в результате активации рецептора VEGFR-3 происходит фосфорилирование и активация киназ Akt и JNK1/2, которые блокируют апоптоз и поддерживают жизнеспособность ЭКЛС [15, 16]. Выживанию клеток, опосредованному VEGFR-3, может также содействовать киназа MKK4 [16]. Следует отметить, что на поверхности ЭКЛС выявляются гетеродимерные комплексы VEGFR-3/VEGFR-2, что в значительной степени затрудняет идентификацию внутриклеточных регуляторных сигналов, инициируемых собственно VEGFR-3.

К индукторам лимфангиогенеза также относятся VEGF-A, щелочной фактор роста фибробластов (bFGF), инсулиноподобные факторы роста (IGF-I и IGF-II), фактор роста гепатоцитов (HGF), тромбоцитарный фактор роста (PDGF) и некоторые другие (табл. 1). J.A. Nagy и соавторы [17] сообщили о формировании новых лимфатических сосудов у бестимусных животных после трансфекции геном VEGF-A в составе аденовирусного вектора. Следовательно,

VEGF-A является не только главным стимулятором ангиогенеза, но и лимфангиогенным фактором.

Таблица 1
Лимфангиогенные факторы и их специфические рецепторы

Лиганд	Рецептор
VEGF-C/D	VEGFR-3, VEGFR-2, нейропиплин-2
VEGF-A	VEGFR-2, нейропиплин-1
bFGF	FGFR-3
IGF-I/II	IGF-1R
HGF	c-Kit
Ангиопоэтин-1/2	Tie2
Интерлейкин-7	IL-7R
Эфрин В2	ErbB4
PDGF-BB	PDGFR α / β
Гормон роста	GHR
Адреномедуллин	CALCRI

FGFR-3 – рецептор bFGF 3 типа; IGF-1R – рецептор IGF 1 типа; IL-7R – рецептор интерлейкина-7; GHR – рецептор гормона роста; CALCRI – рецептор, подобный рецептору кальцитонина; другие сокращения см. в тексте.

В то же время между указанными биологическими эффектами этого цитокина существуют определенные отличия. Например, для образования у бести-мусных животных новых кровеносных сосудов необходимо постоянное присутствие VEGF-A, тогда как для последующего развития сформированных ЛК это не обязательно [17]. Кроме того, действие VEGF-A на ЛК может быть опосредованным (см. рис. 1), например, при участии макрофагов, которые продуцируют лимфангиогенные факторы, либо путем повышения экспрессии VEGF-C. Вывод об участии VEGF-A в реализации механизмов лимфангиогенеза подтверждают также данные, полученные на модели рака молочной железы (РМЖ) [18]. Оказалось, что нейтрализующие анти-VEGF-A-антитела способны существенно снижать плотность ЛК в опухоли и образование метастазов в лимфатических узлах.

PDGF, как известно, высвобождается тромбоцитами и регулирует пролиферацию и миграцию клеток мезенхимального происхождения. Кроме того, этот фактор роста повышает проницаемость сосудов. Опыты с использованием «нокаутированных» мышей показали абсолютную необходимость PDGF для нормального эмбрионального развития. Приводятся [19] следующие доказательства прямого участия PDGF в лимфангиогенезе: 1) антагонисты VEGF-C/D или VEGFR-3 не могут блокировать образование новых лимфатических сосудов, индуцированное PDGF-BB; 2) PDGF способствует миграции ЭКЛС; 3) на поверхности ЭКЛС выявляются рецепторы PDGF (α - и β -PDGFR); 4) PDGF-BB стимулирует фосфорилирование киназ Akt, Src, Erk в ЭКЛС и 5) ЛК, формирующиеся при действии PDGF, также экспрессируют PDGFR. Следует остановиться на двух важных моментах. Во-первых, понятно, что лимфангиогенные факторы не функционируют изолированно, а способны модулировать действие друг друга, в том числе через трансактивацию соответствующих рецепторов. Во-вторых, существование такой сложной системы регуляции образования новых ЛК указывает на то, что ингибирование активности только одного из группы лимфангиогенных факторов вряд ли будет достаточным для блокирования лимфангиогенеза с терапевтической целью.

Поскольку ЛК фактически не содержат перицитов или гладкомышечных клеток, главной мишенью для лимфангиогенных факторов служат ЭКЛС. В процессе лимфангиогенеза, помимо ЭКЛС, участвуют ОК и клетки стромы, которые продуцируют VEGF-C/D, а также ассоциированные с опухолью макрофаги [20]. Кстати, макрофаги, с одной стороны, могут стимулировать пролиферацию ЭКЛС, а с другой — способны к трансдифференцировке и последующему встраиванию в стенку образующегося ЛК [21].

Обсуждая вопрос о клеточных механизмах формирования новых ЛК, следует отметить участие в этом процессе предшественников ЭКЛС, которые могут с периферической кровью поступать в опухолевые очаги из костного мозга. Впервые о существовании таких клеток-предшественников сообщили P. Salven и соавторы [22]. Они показали, что субпопуляция CD34-положительных клеток содержит клетки, которые коэкспрессируют маркер стволовых клеток CD133 и рецептор VEGFR-3. В присутствии лимфангиогенных факторов происходит дифференцировка предшественников ЭКЛС в зрелые VEGFR-3⁺CD133⁻ ЭКЛС. Субпопуляцию CD14-положительных моноцитов также можно рассматривать в качестве клеток-предшественников, поскольку после стимуляции *in vitro* на них появляются маркеры ЭКЛС.

МЕТОДЫ ВЫЯВЛЕНИЯ ЛИМФАНГИОГЕННЫХ ФАКТОРОВ И ЭКЛС

Не останавливаясь на инструментальных неинвазивных методах исследования лимфатических сосудов и лимфатических узлов¹, рассмотрим лабораторные методы, применяемые для выявления лимфангиогенных факторов и ЭКЛС. Для оценки показателей лимфангиогенеза у онкологических больных чаще всего используется ряд методов, основанных на взаимодействии антиген — антитело (иммуногистохимия, твердофазный иммуноферментный анализ (ELISA) и проточная цитометрия (ПЦ)), а также метод полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Высококочувствительные варианты иммуногистохимического анализа позволяют с помощью моноклональных антител выявлять VEGF-C, VEGF-D, VEGFR-3, а также характерные для ЭКЛК антигены в срезах опухолевой ткани, в отпечатках и мазках, полученных при тонкоигольной аспирационной биопсии. При этом удается не только идентифицировать указанные молекулы, но и установить их тканевую и клеточную локализацию. Сегодня в мире используется много коммерческих препаратов антител против VEGF-C, VEGF-D или VEGFR-3 с разной чувствительностью и специфичностью, что не позволяет стандартизировать метод.

¹Особенности методов лимфосцинтиграфии, магнитно-резонансного исследования, компьютерной томографии, ультразвукового сканирования, инфракрасной спектроскопии и лимфангиографии детально обсуждаются в уже цитируемой монографии [1] на стр. 13–36.

Биомаркер LYVE-1, позволяющий дифференцировать лимфатические и кровеносные капилляры, был открыт в 1999 г. [23]. Большая часть исследований, посвященных изучению лимфангиогенеза в опухолевой ткани, была проведена с применением анти-LYVE-1 антител. Однако снижение экспрессии LYVE-1 в некоторых тканях при воспалительных реакциях, а также отсутствие этого маркера в отдельных опухолясоциированных ЭКЛС показывает, что для более адекватной оценки лимфангиогенеза необходимо использовать LYVE-1 в комбинации с другими маркерами ЭКЛС [24]¹. В последнее время выявлено более 30 белков, экспрессия которых является характерной для клеток, формирующих эндотелий лимфатических или кровеносных сосудов. Некоторые из этих маркерных молекул приведены в табл. 2.

Для оценки плотности ЛК чаще других (помимо LYVE-1) используют такие биомаркеры, как подоплаин² и Prox-1 либо их комбинации с другими специфическими для ЭКЛС молекулами в зависимости от типа исследуемой ткани. Их выявление может иметь прогностическое значение для онкологических больных (см. следующий раздел). В то же время, использование биомаркеров лимфангиогенеза и ангиогенеза позволило получить из кожи человека культуры ЭКЛС и эндотелиальных клеток кровеносных сосудов (ЭККС). Поскольку ЭКЛС сохраняют свои фенотипические признаки при длительном культивировании и их можно выращивать в виде трехмерных культур, стало возможным изучать интимные механизмы лимфангиогенеза без применения экспериментальных животных.

¹В указанной работе приведено много других полезных рекомендаций по использованию иммуногистохимического анализа для оценки лимфангиогенеза у онкологических больных.

²Рекомендуется использовать антитела D2-40, которые выявляют резистентный к фиксации эпитоп подоплаина с высокой специфичностью и чувствительностью (соответственно 98,8 и 97,3%) [25].

К существенным недостаткам метода иммуногистохимии следует отнести субъективизм оценки конкретного врача-морфолога и использование различных критериев учета антиген-положительных клеток, что затрудняет сравнение результатов, полученных разными исследователями.

Метод ELISA позволяет проводить точную количественную оценку содержания исследуемого белка в биологических пробах. Достаточно информативным показателем в оценке прогноза заболевания считается определение (как правило, дооперационное) уровня лимфангиогенных факторов в сыворотке крови онкологических больных. Например, показано, что повышенный уровень VEGF-C в крови пациентов с мелкоклеточным раком легкого, папиллярной карциномой щитовидной железы или раком пищевода коррелирует с наличием метастазов в лимфатических узлах [26–28]. Имеется сообщение о выявлении подобной коррелятивной зависимости в отношении сывороточного VEGF-D у больных раком предстательной железы [29]. Более того, в случаях рака пищевода или желудка у больных с высокой концентрацией VEGF-C в крови прогноз более неблагоприятен, а риск рецидивирования повышен [30, 31]. Интересно, что средний уровень VEGF-C в сыворотке крови больных с меланомой кожи [32], у которых метастазы были выявлены вблизи первичного очага, оказался намного меньше такового у больных с отдаленными метастазами.

Применительно к лимфангиогенезу метод ПЦ позволяет выявлять популяции клеток, экспрессирующих антигены ЭКЛК либо антигены, которые специфичны для предшественников таких клеток. Получение суспензии одиночных клеток из солидных опухолей связано с определенными (хотя и преодолимыми) трудностями. При этом не представляется возможным отифференцировать интра- и перитуморальные ЛК. Наиболее перспективным, на

Таблица 2

Биомаркеры ЭКЛС и ЭККС

Маркер	Синоним	Функция	Наличие/отсутствие	
			ЭКЛС	ЭККС
LYVE-1	CRSBP-1	Рецептор гиалуронана	++	–
Подоплаин	Gp38, T1α, AGGRUS, D2-40	Трансмембранный гликопротеин	++	–
Prox1	Prospero-related homeobox protein-1	Фактор транскрипции	++	–
VEGFR-3	Flt-4 (fms-like tyrosine kinase 4)	Рецептор VEGF-C и VEGF-D	+	–/+
Нейропелин-2		Корецептор VEGF-C и семафорина-IIIIF	+	–/+
CCL21	6Ckine, SLC, Exodus-2	Хемокин	+	–
α _v -интегрин		Молекула адгезии	+	–
Lyp-1		Пептидный маркер ЭКЛС опухолевой ткани	+	–
Десмоплакин		Белок, взаимодействующий с кадгеринами	+	–
FOXС2	FKHL14, MFH-1	Фактор транскрипции	+	–
D6		Рецептор-«ловушка» для хемокинов	+	–
5'-нуклеотидаза	5'-nase, CD73		+	–
CD34	Сиаломуцин	Рецептор α-селектина; молекула адгезии	++	+++
CD44		Рецептор гиалуронана, остеопонтина, фибронектина	–	+
CD54		Молекула адгезии	–	+
CD105	Эндоглин	Низкоаффинный рецептор β ₁ - и β ₂ -TGF	–	+
VEGFR-1		Рецептор VEGF-A, VEGF-B и PlGF	–	+
α _v -интегрин		Рецептор фибронектина и инвазина; молекула адгезии	–	+
Версикан		Хондроитинсульфат протеогликан	–	+
Нейропелин-1		Корецептор VEGF ₁₆₅ и семафорина-IIIА	–	+
N-кадгерин		Молекула адгезии	–	+
PAL-E	Pathologische anatomie Leiden-endothelium	Гликопротеин, ассоциированный с кавеолой	–	+

*Экспрессия в опухоль-ассоциированных, но не нормальных ЭКЛС.

**Экспрессия в предшественниках ЭККС.

наш взгляд, является выявление с помощью ПЦ различных предшественников ЭКЛК, циркулирующих в периферической крови, хотя с данной целью метод пока используется редко. Однако практическое значение ПЦ может возрасти, если будет установлена корреляция между уровнем циркулирующих предшественников ЭКЛК и клинико-патологическими характеристиками опухоли либо выживаемостью онкологических больных.

ПЦР предназначена для выявления в образце ткани заданной мРНК, а модификация этого метода, называемая «ПЦР в реальном времени», позволяет определять содержание мРНК количественно. Следует отметить высокую специфичность выявления продуктов амплификации за счет использования специально подобранных праймеров, а также быстроту метода. С помощью метода ПЦР в реальном времени была выявлена корреляция между экспрессией VEGF-C в опухолевой ткани пищевода и наличием метастазов в лимфатических узлах [33]. Следует, однако, заметить, что анализ методом ПЦР не позволяет определить, в каких именно клетках экспрессируется выявляемый ген (ОК или примыкающие к ним клетки нормальных тканей). Кроме того, как известно, экспрессия гена на уровне мРНК не всегда отражает реальное содержание его белкового продукта.

ЗНАЧЕНИЕ ЛИМФАНГИОГЕНЕЗА ДЛЯ МЕТАСТАЗИРОВАНИЯ

Процесс метастазирования включает в себя каскад последовательных и взаимосвязанных этапов: инвазию злокачественных клеток вглубь окружающих тканей, стимуляцию лимфангиогенеза и ангиогенеза, проникновение ОК в лимфатические и кровеносные сосуды (интравасация), продвижение ОК с током лимфы или крови, задержку в ближайших или в отдаленных органах и тканях в результате адгезии к сосудистому эндотелию, выход ОК из сосудов (экстравазация), адаптацию к условиям нового микроокружения, образование и рост вторичного (метастатического) опухолевого узла. Приблизительно 80% солидных опухолей формируют метастазы преимущественно путем проникновения ОК в лимфатическую систему, и только 20% — через кровеносные сосуды. Как правило, карциномы метастазируют лимфогенным (и значительно реже — гематогенным) путем, тогда как саркомы образуют вторичные опухолевые узлы главным образом после попадания ОК в кровеносное русло. Через лимфатические сосуды чаще всего распространяются клетки при таких формах злокачественных новообразований как рак предстательной железы, меланома, РМЖ, рак желудка и тонкой кишки, а также опухоли головы и шеи [34]. Известно, что задержка ОК, которые мигрируют лимфогенным путем, чаще всего происходит в одном или нескольких регионарных лимфатических узлах, называемых «сторожевыми» (СЛУ), первых на пути оттока лимфы. Более того, образование метастазов

в регионарных лимфатических узлах считается одним из прогностических маркеров и важным критерием для выбора стратегии лечения [35].

На рис. 2 представлены основные этапы лимфогенного метастазирования.

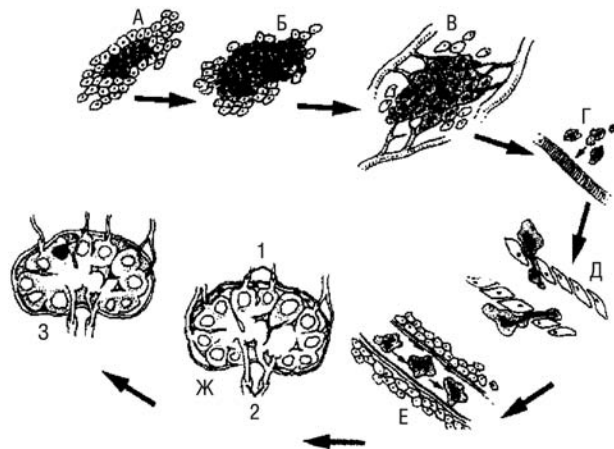


Рис. 2. Основные этапы лимфогенного метастазирования: А — образование первичного опухолевого узла; Б — рост опухоли и секреция лимфогенных факторов; В — лимфангиогенез в интра- и перитуморальной зоне; Г — отделение ОК от первичной опухоли и их миграция в направлении лимфатических капилляров; Д — интравасация ОК в лимфатическую систему; Е — циркуляция ОК в лимфатическом сосуде с током лимфы; Ж — оседание ОК в субкапсулярном синусе лимфатического узла (1, 2 — приносящие и выносящие лимфатические сосуды); 3 — формирование и рост метастазов в лимфатическом узле (адаптировано по [36]).

Как можно видеть, они подобны соответствующим этапам гематогенного метастазирования. Однако, сравнивая 2 способа диссеминации ОК, следует отметить, что лимфогенный путь представляется более благоприятным для распространения и колонизации ОК. Во-первых, при отсутствии перицитов, гладкомышечных клеток и базальной мембраны характерным признаком новых ЛК является повышенная проницаемость стенки капилляра [37]. Во-вторых, миграция по сосудистому руслу одиночных ОК и их кластеров осуществляется намного эффективнее, благодаря большому диаметру ЛК по сравнению с кровеносными капиллярами (20–120 vs 7–9 мкм). И, в-третьих, в лимфатических сосудах практически отсутствуют стрессовые эффекты так называемой силы гидродинамического сдвига, которая действует в системе циркуляции крови. Благодаря этому значительно повышается выживание клеток с метастатическим фенотипом в условиях их субстрат-независимой диссеминации.

Ранее считалось, что лимфогенное метастазирование представляет собой лишь пассивный процесс, при котором ОК, случайно попав в лимфатические сосуды, имеющиеся вблизи первичного опухолевого очага, с током лимфы заносятся в лимфатические узлы. Однако данные последних лет убедительно свидетельствуют, что стимуляция лимфангиогенеза и последующая интравасация ОК в лимфатические сосуды являются важным условием для метастазирования ОК в лимфатические узлы. Существенную роль в этих

Примеры корреляции между уровнем VEGF-C/-D, плотностью лимфатических капилляров, выявлением метастазов в лимфатических узлах и прогнозом

Тип опухоли	Экспрессия		Высокая плотность ЛК	Метастазы в лимфатических узлах	Неблагоприятный прогноз
	VEGF-C	VEGF-D			
РМЖ	+			+	+
— “ —		+		+	+
— “ —			+	+	+
Рак шейки матки	+		+	+	+
Рак эндометрия	+			+	+
— “ —		+		+	+
— “ —			+		+
Рак яичника	+	+		+	+
Немелкоклеточный рак легкого	+			+	+
— “ —			+	+	+
Мелкоклеточный рак легкого			+	+	
Плоскоклеточный рак ротовой полости	+	+		+	
— “ —	+		+	+	
Рак языка	+			+	+
Рак пищевода	+			+	+
— “ —	+		+	+	
Рак желудка	+			+	+
— “ —		+		+	+
— “ —			+	+	+
Рак толстой и прямой кишки	+	+		+	+
— “ —			+	+	+
Рак поджелудочной железы	+	+		+	+
— “ —	+	+	+	+	
Гепатоцеллюлярная карцинома	+		+	+	
Холангиокарцинома			+	+	+
Рак желчного пузыря	+			+	+
Рак мочевого пузыря	+			+	+
— “ —			+	+	
— “ —		+	+		+
Рак предстательной железы	+			+	
— “ —		+		+	
— “ —			+	+	
Папиллярный рак щитовидной железы	+			+	
— “ —		+		+	
Опухоли головы и шеи	+				+
— “ —			+	+	
Меланома			+	+	+
— “ —	+	+	+	+	+

*При одновременном определении с плотностью кровеносных микрососудов.

На экспериментальных моделях было показано, что процесс может активироваться еще до момента попадания ОК в лимфатический узел, и в роли основных инициаторов лимфангиогенеза в СЛУ выступают лимфангиогенные факторы, продуцируемые клетками первичной опухоли. Образование новых ЛК внутри и вокруг подмышечных лимфатических узлов у больных РМЖ было подтверждено недавно в одной из работ [45].

Предполагается, что активация лимфангиогенеза в СЛУ благоприятствует дальнейшему метастазированию в отдаленные органы и ткани. Однако этот вопрос продолжает оставаться малоизученным. Исследования в эксперименте свидетельствуют, что индукция новых ЛК способствует появлению метастазов не только в лимфатических узлах, но и в легком [46, 47]. На основании этих и некоторые других данных справедливо заключить, что формиро-

процессах играют, соответственно, лимфангиогенные факторы и протеиназа MMP-2. Эксперименты с использованием рекомбинантного белка sVEGFR-3-Ig, вектора с малыми интерферирующими РНК против гена VEGF-C или антител против VEGF-D свидетельствуют о непосредственной связи между экспрессией VEGF-C или VEGF-D и образованием метастазов [38–40]. Кроме того, экспрессия VEGF-C в клетках хирургически удаленных опухолей желчного пузыря достоверно ($p < 0,001$) коррелирует с образованием лимфогенных метастазов и худшей выживаемостью после операции [41]. Выявлена связь между уровнем мРНК и белка VEGF-C в ткани рака желудка и инвазией ОК в лимфатические сосуды, а также формированием метастазов в лимфатических узлах [42]. Больные с высоким уровнем экспрессии VEGF-C имели значительно худший показатель 5-летней выживаемости. Более того, уровень VEGF-C оказался независимым прогностическим фактором риска смерти у больных раком желудка [42]. В другой работе [43] экспрессия VEGF-C была зарегистрирована у 72,3% пациентов с немелкоклеточным раком легкого, а рецептора VEGFR3 — в 52,6% случаев. При этом коэкспрессия VEGF-C и VEGFR3 достоверно ($p < 0,05$) коррелировала с выявлением ОК в лимфатических сосудах и метастазов в лимфатических узлах. У больных с VEGF-C-позитивными опухолями легкого прогноз был более неблагоприятным по сравнению с теми, у кого VEGF-C в ткани опухоли отсутствовал. Результаты экспериментов по изучению прогностического значения VEGF-C или VEGF-D при разных формах солидных опухолей суммированы в табл. 3.

Другой механизм участия лимфангиогенеза в процессах метастазирования состоит в стимуляции образования новых ЛК в СЛУ [44] (рис. 3).

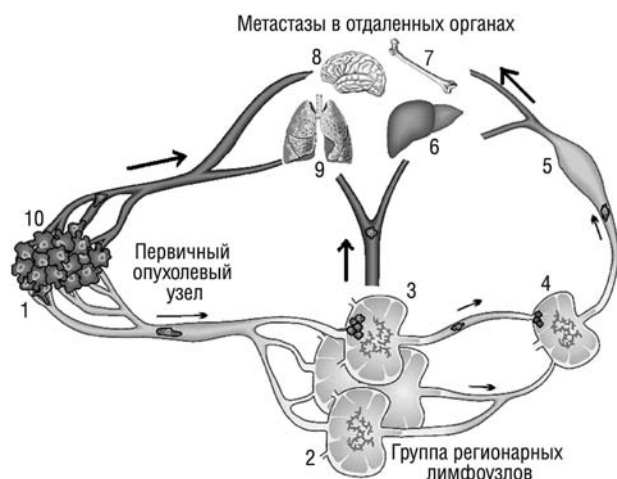


Рис. 3. Лимфогенное и гематогенное метастазирование опухолей: 1 — лимфангиогенез в первичном опухолевом узле; 2 — лимфангиогенез в регионарном лимфатическом узле; 3 — сторожевой лимфатический узел; 4 — отдаленный лимфатический узел; 5 — правый лимфатический проток; 6 — печень; 7 — кость; 8 — головной мозг; 9 — легкие; 10 — ангиогенез в первичном опухолевом узле. Тонкими стрелками указано направление тока лимфы, толстыми стрелками — тока крови

вание метастазов в лимфатических узлах может быть плацдармом для последующей колонизации метастатическими ОК легкого, печени, мозга и других органов. Более того, при солидных опухолях определенных локализаций резекция опухоли, проведенная одновременно с удалением региональных лимфатических узлов (в случае выявления в них метастатических очагов), является стандартом лечения, которое обеспечивает повышение продолжительности жизни больных без рецидивов и отдаленных метастазов.

Общеизвестно, что определенные типы опухолей преимущественно метастазируют в определенные органы или ткани. Например, метастазы РМЖ чаще всего выявляют в костях, печени, легком или мозге, метастазы меланомы — в легком, метастазы рака толстой и прямой кишки — в печени, а метастазы опухолей предстательной железы — в костях. Остается неясным, зависит ли такая избирательность от путей диссеминации ОК в организме. В онкологии уже больше столетия существует теория «семян и почвы», согласно которой опухоль метастазирует в органы с наиболее благоприятными для ее роста условиями. Альтернативная точка зрения придает решающее значение анатомическим особенностям локализации первичного опухолевого очага. Например, у больных раком толстой и прямой кишки ОК чаще всего проникают именно в печень по портальной системе (более чем у 55% больных) [48]. Скорее всего оба представления о преимущественном месте расположения метастазов следует признать обоснованными.

В последнее время получены данные, проливающие свет на один из механизмов реализации теории «семян и почвы». Оказалось, что органоспецифическому метастазированию содействуют рецепторы хемокинов, экспрессирующиеся на поверхности ОК. Как известно, хемокины представляют собой семейство секретлируемых цитокинов, необходимых для активации нейтрофилов и моноцитов и их привлечения в очаг воспаления. Установлено, что клетки РМЖ человека экспрессируют рецептор хемокинов CXCR4, тогда как его специфический лиганд CXCL12 продуцируется клетками тканей (костный мозг, легкое и лимфатические узлы), в которых чаще всего выявляют метастазы РМЖ [49]. При этом в системе *in vitro* клетки РМЖ способны мигрировать по направлению к CXCL12, а антитела, нейтрализующие CXCR4, ингибируют образование метастазов в лимфатических узлах у экспериментальных животных. Клетки СЛУ продуцируют и другие (например CCL21) специфические хемокины, привлекающие к ним ОК из первичной опухоли, что коррелирует с наличием метастазов в СЛУ [50]. Важные аспекты механизма, связанного с хемотаксической активностью хемокинов, были недавно раскрыты J.D. Shields и соавторами [51]. Показано, что секретлируемые клетками перевиваемых опухолевых линий хемокины CCL19 и CCL21 способствуют при-

влечению ОК к эндотелию лимфатических сосудов. Такая направленная миграция ОК обеспечивается за счет распознавания градиента концентрации хемокинов их рецептором CCR7, имеющимся на ОК. Следовательно, клетки первичной опухоли (то есть «семена») способны участвовать в подготовке «почвы» для формирования будущих метастазов. Такой вывод подтверждается данными клинических исследований. Установлена связь между повышенной экспрессией хемокинового рецептора CCR7 на клетках опухолей толстой и прямой кишки, метастазированием в лимфатические узлы и снижением у таких больных показателей выживаемости [52].

Взаимодействие ОК с ЭКЛС не ограничивается только секретлируемыми факторами, как, например VEGF, хемокины или другие цитокины. Молекулы адгезии, экспрессирующиеся на апикальной поверхности ЭКЛС, усиливают способность ОК мигрировать внутри сосуда по направлению к лимфатическим узлам [53]. Среди структур, непосредственно участвующих в таких межклеточных взаимодействиях, особый интерес вызывает рецептор маннозы, специфичный для ЭКЛС, а также CLEVER-1, присутствующий как на ЭКЛС, так и на ЭККС. Механизмы узнавания ЭКЛС, способствующих миграции ОК, заслуживают дальнейшего исследования.

Состояние лимфатических узлов — наиболее важный критерий для определения категории риска у больных с I/II стадией солидных новообразований. При этом отсутствие метастазов в регионарных лимфатических узлах (включая СЛУ) рассматривается как особенно значимый фактор для отнесения случая к низкой категории риска. Выявление микрометастазов в регионарных лимфатических узлах имеет неблагоприятное прогностическое значение в случаях РМЖ, меланомы, рака толстой и прямой кишки, пищевода, желудка, легкого, головы и шеи, органов женской половой сферы и некоторых других (цит. по [54]). Другим ухудшающим прогностическим фактором является инвазия лимфатических сосудов, особенно у больных с отсутствием метастазов в лимфатических узлах. Выявление инвазии лимфатических сосудов коррелирует с выживаемостью больных РМЖ, раком желудка, мочевого пузыря и предстательной железы. В последнее время плотность лимфатических сосудов также стали рассматривать в качестве фактора прогноза, на чем мы остановимся детальнее.

Поскольку при увеличении плотности ЛК повышается вероятность проникновения ОК в лимфатическую систему, следует ожидать, что существует корреляция между плотностью ЛК и частотой образования метастазов в лимфатических узлах. Например, Q. Li и соавторы [43] выявили достоверную зависимость между плотностью ЛК в ткани опухоли (немелкоклеточный рак легкого) и стадией заболевания, проникновением ОК в лимфатические сосуды, а также образованием лимфогенных метастазов. Для больных немелкоклеточным раком лег-

кого с метастазами в лимфатических узлах и с худшим показателем общей выживаемости, количество ЛК в зоне, которая окружает опухоль, значительно превышало таковое у больных без метастазов и с более благоприятным прогнозом [55]. Другие примеры выявления коррелятивной связи между повышенной плотностью ЛК и негативным прогнозом приведены в табл. 3.

Возможны 2 пути лимфогенной диссеминации ОК: либо через ЛК, предсуществующие в окружении опухолевого узла, либо через ЛК, которые формируются внутри него. Вопрос о функциональной значимости интрамуральных ЛК до сих пор остается дискуссионным. Предполагалось, что интрамуральные ЛК не могут участвовать в транспорте ОК с лимфотоком, поскольку они находятся в сдавленном состоянии из-за повышенного гидростатического давления внутри опухоли. Однако в ряде работ сообщается о выявлении четкой корреляционной зависимости между плотностью интрамуральных ЛК и наличием метастазов в лимфатических узлах и/или неблагоприятным прогнозом. В частности, при опухолях головы и шеи, раке поджелудочной железы, папиллярном раке щитовидной железы, раке почки или меланоме образование ЛК происходит внутри опухолевого узла. Проллиферативная активность ЭКЛС, которая оценивалась с помощью моноклональных антител против ядерного антигена Ki-67, а также наличие внутри ЛК опухолевых эмболов свидетельствуют об участии новых ЛК в диссеминации ОК. Более того, у пациентов с плоскоклеточным раком головы и шеи плотность интрамуральных (но не перитуморальных) ЛК рассматривается в качестве независимого фактора неблагоприятного прогноза [56]. В то же время, согласно данным, полученным М.И. Koukourakis и соавторами [57], интрамуральные ЛК отсутствуют при раке легкого. Хорошо развитые ЛК у таких больных, а также при раке эндометрия, выявляют лишь в зоне, которая окружает опухоль [57, 58].

Вырабатывая лимфогенные факторы, ОК инициируют лимфангиогенез не только внутри опухоли, но и в ее ближайшем окружении. Лимфогенные факторы также обладают сосудорасширяющими свойствами в отношении перитуморальных ЛК [38]. Все это свидетельствует о важности перитуморального лимфангиогенеза для распространения метастатических ОК. Такая ситуация характерна для больных РМЖ, меланомой, раком желудка, шейки матки и предстательной железы. Причем в последнем случае [59] была установлена корреляция между плотностью перитуморальных ЛК и уровнем 5-летней безрецидивной выживаемости. Напротив, ряд авторов [60, 61] показали, что активация перитуморального лимфангиогенеза является маркером более благоприятного течения заболевания и большей продолжительности жизни онкологических больных. Таким образом, проблема участия интра- и перитуморальных ЛК в метастазировании окон-

чательно не решена и продолжает оставаться предметом интенсивных исследований.

Что касается становления локального иммунного ответа на антигены оседающих в СЛУ метастатических ОК, то существенная роль в этих процессах отводится СЛУ. Известно несколько иммуносупрессирующих механизмов, реализующихся на разных этапах метастазирования. Один из них связан с поступлением в СЛУ ряда цитокинов, продуцируемых клетками первичного опухолевого узла. Важно, что перенесенные с током лимфы цитокины проявляют свои эффекты еще до колонизации лимфатических узлов ОК. В частности, показано, что у больных РМЖ или с меланомой содержание IL-10 в СЛУ значительно превышает таковое в других регионарных лимфатических узлах у тех же больных [62, 63]. При этом IL-10 может ингибировать противоопухолевую активность моноцитов, в том числе за счет подавления продукции IL-12. IL-10 также способен блокировать секрецию Th1-клетками таких цитокинов как гамма-интерферон и TNF-альфа и предохранять ОК от лизиса, вызванного цитотоксическими Т-лимфоцитами. Кроме того, IL-10 способствует увеличению локальной продукции других регуляторов иммунного ответа, например, TGF- β и простагландина E₂, которые участвуют в подавлении антиген-презентирующей активности дендритных клеток. Другой механизм индуцированной иммуносупрессии в СЛУ связан с лимфоцитами, инфильтрирующими ткань опухоли. Оказалось, что CD8⁺CD28⁻ Т-лимфоциты способны ингибировать пролиферацию и цитотоксическое действие цитотоксических Т-лимфоцитов [64]. Причем CD8⁺CD28⁻ Т-лимфоциты выявляют только в СЛУ, которые содержат микрометастазы и не обнаруживают в интактных лимфатических узлах. Таким образом, иммуносупрессию, которая имеет место в СЛУ, следует рассматривать в качестве важного фактора, способствующего формированию метастазов в лимфатических узлах. ОК не только стимулируют лимфангиогенез в опухоли и дренирующих ее лимфатических узлах, но и обеспечивают в последних эффективное подавление локального иммунного ответа. При этом образование новых лимфатических сосудов и иммуносупрессия нередко происходят до выявления метастатических очагов в регионарных лимфатических узлах, что согласуется с гипотезой о формировании первичной опухоли в СЛУ так называемой предметастатической ниши.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ приведенных в лекции данных свидетельствует о том, что за последнее десятилетие достигнут определенный прогресс в раскрытии механизмов, которые регулируют образование новых лимфатических сосудов. В частности, были выявлены основные цитокины, которые непосредственно или опосредованно стимулируют миграцию, пролиферацию и выживание ЭКЛС (VEGF-C/D, bFGF, IGF,

HGF, PDGF), а также маркерные белки (LYVE-1, подоплатин, Прох-1 и другие), с помощью которых можно дифференцировать ЭКЛС и ЭККС. Важно, чтобы биомаркеры ЭКЛС определялись в комбинации, а ЛК учитывались как внутри, так и по периферии опухолевого узла. Были также получены данные об участии лимфангиогенеза в диссеминации ОК в регионарные лимфатические узлы и отдаленные органы или ткани. Более того, была установлена корреляционная связь между высоким уровнем VEGF-C/D или плотностью ЛК и выявлением метастазов, а также меньшей продолжительностью жизни больных с солидными опухолями разного генеза. Дальнейшее выяснение роли лимфангиогенеза в метастазировании опухолей важно как для прогноза онкологического заболевания, так и для разработки новых лекарственных препаратов, обладающих антиметастатической активностью.

ЛИТЕРАТУРА

1. The Lymphatic Continuum Revisited. Rockson SG, Ed. Ann N Y Acad Sci 2008; 1131, 243 pp.
2. Heckman CA, Holopainen T, Wirzenius M, et al. The tyrosine kinase inhibitor cediranib blocks ligand-induced vascular endothelial growth factor receptor-3 activity and lymphangiogenesis. Cancer Res 2008; 68: 4754–62.
3. Stacker SA, Hughes RA, Williams RA, Achen MG. Current strategies for modulating lymphangiogenesis signalling pathways in human disease. Curr Med Chem 2006; 13: 783–92.
4. Facchetti F, Monzani E, La Porta CA. New perspectives in the treatment of melanoma: anti-angiogenic and anti-lymphangiogenic strategies. Recent Patents Anticancer Drug Discov 2007; 2: 73–8.
5. Joukov V, Pajusola K, Kaipainen A, et al. A novel vascular endothelial growth factor, VEGF-C, is a ligand for the Flt4 (VEGFR-3) and KDR (VEGFR-2) receptor tyrosine kinases. EMBO J 1996; 15: 290–8.
6. Taipale J, Makinen T, Arighi E, et al. Vascular endothelial growth factor receptor-3. Curr Top Microbiol Immunol 1999; 237: 85–96.
7. Makinen T, Jussila L, Veikkola T, et al. Inhibition of lymphangiogenesis with resulting lymphedema in transgenic mice expressing soluble VEGF receptor-3. Nat Med 2001; 7: 199–205.
8. Enholm B, Karpanen T, Jeltsch M, et al. Adenoviral expression of vascular endothelial growth factor-C induces lymphangiogenesis in the skin. Circ Res 2001; 88: 623–9.
9. Rissanen TT, Markkanen JE, Gruchala M, et al. VEGF-D is the strongest angiogenic and lymphangiogenic effector among VEGFs delivered into skeletal muscle via adenoviruses. Circ Res 2003; 92: 1098–106.
10. Karpanen T, Heckman CA, Keskitalo S, et al. Functional interaction of VEGF-C and VEGF-D with neuropilin receptors. FASEB J 2006; 20: 1462–72.
11. Vlahakis NE, Young BA, Atakilit A, Sheppard D. The lymphangiogenic vascular endothelial growth factors VEGF-C and -D are ligands for the integrin alpha9beta1. J Biol Chem 2005; 280: 4544–52.
12. Caunt M, Mak J, Liang WC, et al. Blocking neuropilin-2 function inhibits tumor cell metastasis. Cancer Cell 2008; 13: 331–42.
13. Huang XZ, Wu JF, Ferrando R, et al. Fatal bilateral chylothorax in mice lacking the integrin alpha9beta1. Mol Cell Biol 2000; 20: 5208–15.
14. Garmy-Susini B, Makale M, Fuster M, Varner JA. Methods to study lymphatic vessel integrins. Methods Enzymol 2007; 426: 415–38.
15. Makinen T, Veikkola T, Mustjoki S, et al. Isolated lymphatic endothelial cells transduce growth, survival and migratory signals via the VEGF-C/D receptor VEGFR-3. EMBO J 2001; 20: 4762–73.
16. Salameh A, Galvagni F, Bardelli M, et al. Direct recruitment of CRK and GRB2 to VEGFR-3 induces proliferation, migration, and survival of endothelial cells through the activation of ERK, AKT, and JNK pathways. Blood 2005; 106: 3423–31.
17. Nagy JA, Vasile E, Feng D, et al. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor induces lymphangiogenesis as well as angiogenesis. J Exp Med 2002; 196: 1497–506.
18. Whitehurst B, Flister MJ, Bagaitkar J, et al. Anti-VEGF-A therapy reduces lymphatic vessel density and expression of VEGFR-3 in an orthotopic breast tumor model. Int J Cancer 2007; 121: 2181–91.
19. Cao Y. Direct role of PDGF-BB in lymphangiogenesis and lymphatic metastasis. Cell Cycle 2005; 4: 228–30.
20. Schoppmann SF, Birner P, Stockl J, et al. Tumor-associated macrophages express lymphatic endothelial growth factors and are related to peritumoral lymphangiogenesis. Am J Pathol 2002; 161: 947–56.
21. Maruyama K, Ii M, Cursiefen C, et al. Inflammation-induced lymphangiogenesis in the cornea arises from CD11b-positive macrophages. J Clin Invest 2005; 115: 2363–72.
22. Salven P, Mustjoki S, Alitalo R, et al. VEGFR-3 and CD133 identify a population of CD34+ lymphatic/vascular endothelial precursor cells. Blood 2003; 101: 168–72.
23. Banerji S, Ni J, Wang S-X, et al. LYVE-1, a new homologue of the CD44 glycoprotein, is a lymph-specific receptor for hyaluronan. J Cell Biol 1999; 144: 789–801.
24. Van der Auwera I, Cao Y, Tille JC, et al. First international consensus on the methodology of lymphangiogenesis quantification in solid human tumours. Br J Cancer 2006; 95: 1611–25.
25. Evangelou E, Kyzas PA, Trikalinos TA. Comparison of the diagnostic accuracy of lymphatic endothelium markers: Bayesian approach. Mod Pathol 2005; 18: 1490–7.
26. Tamura M, Oda M, Tsunozuka Y, et al. Chest CT and serum vascular endothelial growth factor-C level to diagnose lymph node metastasis in patients with primary non-small cell lung cancer. Chest 2004; 126: 342–6.
27. Yu XM, Lo CY, Lam AK, et al. Serum vascular endothelial growth factor C correlates with lymph node metastases and high-risk tumor profiles in papillary thyroid carcinoma. Ann Surg 2008; 247: 483–9.
28. Krzystek-Korpacka M, Matusiewicz M, Diakowska D, et al. Up-regulation of VEGF-C secreted by cancer cells and not VEGF-A correlates with clinical evaluation of lymph node metastasis in esophageal squamous cell carcinoma (ESCC). Cancer Lett 2007; 249: 171–7.
29. Kaushal V, Mukunyadzi P, Dennis RA, et al. Stage-specific characterization of the vascular endothelial growth factor axis in prostate cancer: expression of lymphangiogenic markers is associated with advanced-stage disease. Clin Cancer Res 2005; 11: 584–93.
30. Kimura H, Kato H, Tanaka N, et al. Preoperative serum vascular endothelial growth factor-C (VEGF-C) levels predict recurrence in patients with esophageal cancer. Anticancer Res 2008; 28: 165–9.
31. Wang TB, Deng MH, Qiu WS, Dong WG, et al. Association of serum vascular endothelial growth factor-C and lymphatic vessel density with lymph node metastasis and prognosis of patients with gastric cancer. World J Gastroenterol 2007; 28: 1794–8.
32. Vihinen PP, Hilli J, Vuoristo MS, et al. Serum VEGF-C is associated with metastatic site in patients with malignant melanoma. Acta Oncol 2007; 46: 678–84.
33. Loges S, Clausen H, Reichelt U, et al. Determination of microvessel density by quantitative real-time PCR in esophageal cancer: correlation with histologic methods, angiogenic growth factor expression, and lymph node metastasis. Clin Cancer Res 2007; 13: 76–80.

34. **Kaiserling E, Krober S, Geleff S.** Lymphatic vessels in the colonic mucosa in ulcerative colitis. *Lymphology* 2003; **36**: 52–61.
35. **Pepper MS, Tille JC, Nisato R, Skobe M.** Lymphangiogenesis and tumor metastasis. *Cell Tissue Res* 2003; **314**: 167–77.
36. **Nathanson SD.** Insights into the mechanisms of lymph node metastasis. *Cancer* 2003; **98**: 413–23.
37. **Ji RC, Kato S.** Lymphatic network and lymphangiogenesis in the gastric wall. *J Histochem Cytochem* 2003; **51**: 331–8.
38. **He Y, Rajantie I, Pajusola K, et al.** Vascular endothelial cell growth factor receptor 3-mediated activation of lymphatic endothelium is crucial for tumor cell entry and spread via lymphatic vessels. *Cancer Res* 2005; **65**: 4739–46.
39. **Chen Z, Varney ML, Backora MW, et al.** Down-regulation of vascular endothelial cell growth factor-C expression using small interfering RNA vectors in mammary tumors inhibits tumor lymphangiogenesis and spontaneous metastasis and enhances survival. *Cancer Res* 2005; **65**: 9004–11.
40. **Stacker SA, Caesar C, Baldwin ME, et al.** Vascular endothelial growth factor-D promotes the metastatic spread of cancer via the lymphatics. *Nature Med* 2001; **7**: 186–191.
41. **Nakashima T, Kondoh S, Kitoh H, et al.** Vascular endothelial growth factor-C expression in human gallbladder cancer and its relationship to lymph node metastasis. *Int J Mol Med* 2003; **11**: 33–9.
42. **Duff SE, Li C, Jeziorska M, et al.** Vascular endothelial growth factors C and D and lymphangiogenesis in gastrointestinal tract malignancy. *Br J Cancer* 2003; **89**: 426–30.
43. **Li Q, Dong X, Gu W, et al.** Clinical significance of co-expression of VEGF-C and VEGFR-3 in non-small cell lung cancer. *Chin Med J (Engl)* 2003; **116**: 727–30.
44. **Achen MG, Stacker SA.** Molecular control of lymphatic metastasis. *Ann NY Acad Sci* 2008; **1131**: 225–34.
45. **Van den Eynden GG, Van der Auwera I, Van Laere SJ, et al.** Induction of lymphangiogenesis in and around axillary lymph node metastases of patients with breast cancer. *Br J Cancer* 2006; **95**: 1362–6.
46. **Skobe M, Hawighorst T, Jackson DG, et al.** Induction of tumor lymphangiogenesis by VEGF-C promotes breast cancer metastasis. *Nat Med* 2001; **7**: 192–8.
47. **Krishnan J, Kirkin V, Steffen A, et al.** Differential in vivo and in vitro expression of vascular endothelial growth factor (VEGF)-C and VEGF-D in tumors and its relationship to lymphatic metastasis in immunocompetent rats. *Cancer Res* 2003; **63**: 713–22.
48. **Scheele J, Stangi R, Altendorf-Hofmann A.** Hepatic metastases from colorectal carcinoma: impact of surgical resection on the natural history. *Br J Surg* 1990; **77**: 1241–6.
49. **Muller A, Homey B, Soto H, et al.** Involvement of chemokine receptors in breast cancer metastasis. *Nature* 2001; **410**: 50–6.
50. **Takeuchi H, Fujimoto A, Tanaka M, et al.** CCL21 chemokine regulates chemokine receptor CCR7 bearing malignant melanoma cells. *Clin Cancer Res* 2004; **10**: 2351–8.
51. **Shields JD, Fleury ME, Yong C, et al.** Autologous chemotaxis as a mechanism of tumor cell homing to lymphatics via interstitial flow and autocrine CCR7 signaling. *Cancer Cell* 2007; **11**: 526–38.
52. **Günther K, Leier J, Henning G, et al.** Prediction of lymph node metastasis in colorectal carcinoma by expression of chemokine receptor CCR7. *Int J Cancer* 2005; **116**: 726–33.
53. **Farnsworth RH, Achen MG, Stacker SA.** Lymphatic endothelium: an important interactive surface for malignant cells. *Pulm Pharmacol Ther* 2006; **19**: 51–60.
54. **Takeuchi H, Kitajima M, Kitagawa Y.** Sentinel lymph node as a target of molecular diagnosis of lymphatic micrometastasis and local immunoresponse to malignant cells. *Cancer Sci* 2008; **99**: 441–50.
55. **Renyi-Vamos F, Tovari J, Fillinger J, et al.** Lymphangiogenesis correlates with lymph node metastasis, prognosis, and angiogenic phenotype in human non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 2005; **11**: 7344–53.
56. **Kyzas PA, Geleff S, Batistatou A, et al.** Evidence for lymphangiogenesis and its prognostic implications in head and neck squamous cell carcinoma. *J Pathol* 2005; **206**: 170–7.
57. **Koukourakis MI, Giatromanolaki A, Sivridis E, et al.** LYVE-1 immunohistochemical assessment of lymphangiogenesis in endometrial and lung cancer. *J Clin Pathol* 2005; **58**: 202–6.
58. **Stefansson IM, Salvesen HB, Akslen LA.** Vascular proliferation is important for clinical progress of endometrial cancer. *Cancer Res* 2006; **66**: 3303–9.
59. **Kuroda K, Horiguchi A, Asano T, et al.** Prediction of lymphatic invasion by peritumoral lymphatic vessel density in prostate biopsy cores. *Prostate* 2008; **68**: 1057–63.
60. **Straume O, Jackson DG, Akslen LA.** Independent prognostic impact of lymphatic vessel density and presence of low-grade lymphangiogenesis in cutaneous melanoma. *Clin Cancer Res* 2003; **9**: 250–6.
61. **Wong SY, Haack H, Crowley D, et al.** Tumor-secreted vascular endothelial growth factor-C is necessary for prostate cancer lymphangiogenesis, but lymphangiogenesis is unnecessary for lymph node metastasis. *Cancer Res* 2005; **65**: 9789–98.
62. **Woo SU, Bae JW, Yang JH, et al.** Overexpression of interleukin-10 in sentinel lymph node with breast cancer. *Ann Surg Oncol* 2007; **14**: 3268–73.
63. **Lee JH, et al.** Quantitative analysis of melanoma-induced cytokine-mediated immunosuppression in melanoma sentinel nodes. *Clin Cancer Res* 2005; **11**: 107–12.
64. **Filaci G, Fenoglio D, Fravega M, et al.** CD8⁺CD28⁻ T regulatory lymphocytes inhibiting T cell proliferative and cytotoxic functions infiltrate human cancers. *J Immunol* 2007; **179**: 4323–34.

LYMPHANGIOGENESIS AND TUMOR METASTASIS

A.A. Philchenkov

Summary. *Current knowledge concerning both molecular and cellular mechanisms controlling tumor-associated de novo formation of lymphatic vessels is analyzed. The special attention is focused on regulation of lymphangiogenesis by VEGF-C/D and their involvement in lymphatic metastasizing. The principal techniques used for the assessment of VEGF-C and VEGF-D content as well as the density of the lymphatic vessels are outlined. The prognostic/predictive potential of the above-mentioned parameters in the patients with different solid tumors is also discussed.*

Key Words: lymphangiogenic factors, endothelial cells, lymphatic vessels, integrins, marker proteins, tumor cells, chemokines, solid tumors, lymph nodes, metastasis, prognosis.

Адрес для переписки:

Фильченков А.А.

03022, Киев, ул. Васильковская, 45

Институт экспериментальной патологии,

онкологии и радиобиологии

им. П.Е. Кавецкого НАН Украины