

Rola czynników wzrostu w patogenezie raka trzustki

Część III: Czynniki wzrostu śródbłonna naczyń krwionośnych (VEGF) i insulinopodobne czynniki wzrostu (IGFs)

The role of growth factors in pathogenesis of pancreatic cancer

Part III: Vascular endothelial growth factor (VEGF) and insulin-like growth factors (IGFs)

Marek Olakowski

Oddział Chirurgii Przewodu Pokarmowego Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach

Przegląd Gastroenterologiczny 2007; 2 (4): 181–184

Słowa kluczowe: rak trzustki, czynnik wzrostu śródbłonna naczyń krwionośnych, insulinopodobny czynnik wzrostu.

Key words: pancreatic cancer, vascular endothelial growth factor, insulin-like growth factor.

Adres do korespondencji: dr n. med. Marek Olakowski, Oddział Chirurgii Przewodu Pokarmowego Śląskiego Uniwersytetu Medycznego, ul. Medyków 14, 40-752 Katowice, e-mail: olakom@mp.pl

Streszczenie

Czynnik wzrostu naczyń krwionośnych (VEGF) wiąże się z 3 receptorami (VEGFR). VEGFR-1 i VEGFR-2 są obecne przede wszystkim w śródbłonku naczyń krwionośnych, podczas gdy VEGFR-3 występuje w śródbłonku naczyń limfatycznych. Ekspresję VEGF stwierdza się w komórkach nowotworowych 56–93% preparatów pochodzących z guzów usuniętych chirurgicznie u chorych na raka trzustki (RT). Istnieje korelacja między ekspresją VEGF w komórkach raka a gęstością naczyń krwionośnych w tkance nowotworowej. Niektórzy autorzy zaobserwowali związek między ekspresją VEGF w komórkach nowotworowych a różnicowaniem histologicznym guza, jego zaawansowaniem, obecnością przerzutów do wątroby oraz czasem przeżycia chorych. Rodzina insulinopodobnego czynnika wzrostu (IGF) składa się z polipeptydowych ligandów IGF-I i IGF-II, 2 typów receptorów błonowych IGF-IR i IGF-IIR oraz 6 białek wiążących (IGFBP). Nadekspresję IGF-I oraz jego receptora IGF-IR stwierdzono zarówno w komórkach RT, jak i otaczającej tkance łącznej. W komórkach RT zaobserwowano również nadekspresję receptora IGF-IIR.

Czynnik wzrostu śródbłonna naczyń krwionośnych

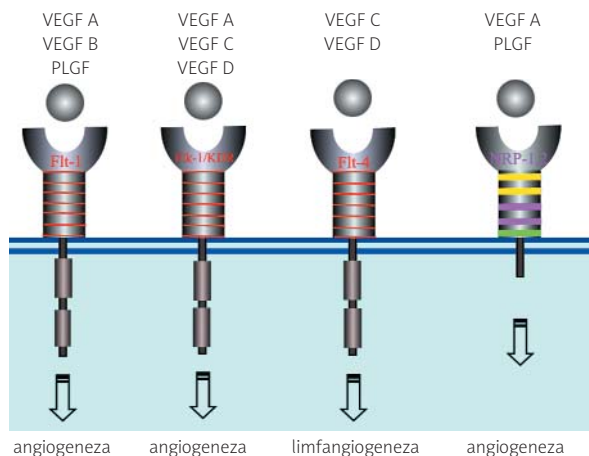
VEGF (ang. *vascular endothelial growth factor*) początkowo określano jako czynnik wzrostu śródbłonna specyficznych komórek, stymulujący angiogenezę oraz przepuszczalność naczyń. Rodzina genu VEGF składa się z 6 członków, których oznaczono literami od A do E oraz PLGF (ang. *placental growth factor*). VEGF-A uczestniczy w angiogenezie, natomiast VEGF-C i VEGF-D biorą udział w limfangiogenezie. VEGF-B to czynnik wzrostu

Abstract

Vascular endothelial growth factor (VEGF) binds with three receptors (VEGFR). VEGFR-1 and 2 are situated mainly in the vascular endothelium whereas VEGFR-3 is located in the lymphatic endothelium. Expression of VEGF is observed in cancer cells in 56-93% of specimens derived from surgically excised pancreatic tumours. There is a correlation between VEGF expression in cancer cells and vascular density in cancer tissue. Some authors have observed a relationship between VEGF expression in cancer cells and grading, staging, liver metastases and survival. The insulin-like growth factor (IGF) family consists of polypeptic ligands IGF-I and IGF-II, 2 types of cell membrane receptors, IGF-IR and IGF-IIR, and 6 binding proteins (IGFBP). Overexpression of IGF and its receptor IGF-IR was observed both in pancreatic cancer cells and in adjacent connective tissue. In pancreatic cancer cells also overexpression of IGF-IIR was demonstrated.

wiązący heparynę, który strukturalnie jest podobny do VEGF-A oraz PLGF. Jego nadekspresję obserwuje się w takich tkankach, jak mięsień sercowy, szkieletowy oraz trzustka. VEGF-E ma strukturę podobną do VEGF-A i tak jak on jest stymulatorem angiogenezy. VEGF wiąże się z 3 receptorami, tj. Flt-1 (ang. *fms-like tyrosine kinase*, VEGFR-1), Flk-1/KDR (ang. *fetal liver kinase 1/kinase insert domain containing receptor*, VEGFR-2) oraz Flt-4 (VEGFR-3). VEGFR-1 i VEGFR-2 są obecne przede wszystkim

kim w śródbłonku naczyń krwionośnych, podczas gdy VEGFR-3 występuje w śródbłonku naczyń limfatycznych. Wszystkie te receptory mają domenę zewnątrzkomórkową, pojedynczy region przezłonowy oraz sekwencję kinazy tyrozynowej (ryc. 1). W komórkach śródbłonka obserwuje się również ekspresję neuropiliny 1 i 2 (NRP-1, NRP-2), która funkcjonuje jako specyficzna izoforma receptora dla VEGF. NRP-1 nie ma wewnątrzkomórkowej domeny kinazy tyrozynowej i dlatego w przekazywaniu sygnałów musi działać w połączeniu z innymi receptorami. Wiązanie się VEGF z receptorem rozpoczyna reakcję przekazywania sygnałów do wnętrza komórki, której efektem biologicznym jest wydłużenie przeżycia, indukcja proliferacji, nasilenie migracji i inwazji komórek śródbłonka, co w sumie przyczynia się do wystąpienia zjawiska angiogenezy (ryc. 2). VEGF odgrywa znaczącą rolę w rozwoju embrionalnym, a u osób dorosłych uczestniczy w procesie angiogenezy podczas gojenia się rany



Ryc. 1. Schemat receptorów VEGF i ich ligandów wg [1] w modyfikacji własnej

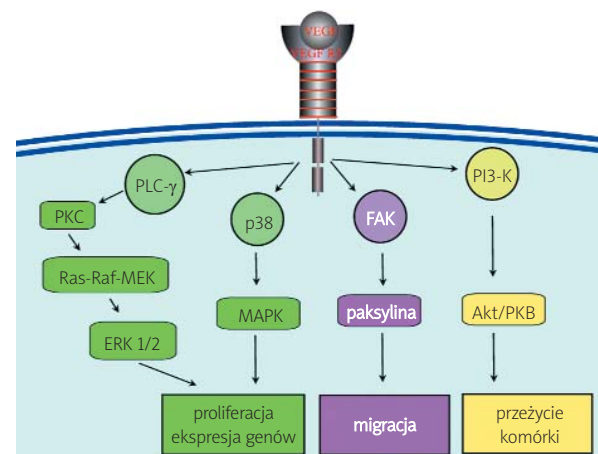
Na schemacie przedstawiono receptory VEGF, tj. Flt-1 (VEGFR-1), Flk-1/KDR (VEGFR-2), Flt-4 (VEGFR-3), neuropilinę 1 i 2 (NRP-1, NRP-2). Receptory Flt-1, Flk-1/KDR oraz NRP-1, NRP-2 uczestniczą w zjawisku angiogenezy, natomiast Flt-4 limfangiogenezy. Flt-1, Flk-1/KDR oraz Flt-4 mają aktywność kinazy tyrozynowej, która pośredniczy w przekazywaniu sygnałów w układzie VEGF. Neuropiliny nie mają domeny kinazy tyrozynowej i mechanizm przekazywania przez nie sygnałów w układzie VEGF jest obecnie nieznany. VEGFR-1, VEGFR-2 i VEGFR-3 mają domeny IgG–Neuropiliny mają domeny a1/a2, b1/b2– oraz C–

Fig. 1. Schematic structure of VEGF receptors and their ligands according to [1] in own modification. The VEGF receptors Flt-1 (VEGFR-1), Flk-1/KDR (VEGFR-2), Flt-4 (VEGFR-3), Neuropilin 1 and 2 (NRP-1, NRP-2) are shown. Flt-1, Flk-1/KDR and the NRPs play a role in angiogenesis, whereas Flt-4 is involved in lymphangiogenesis. Flt-1, Flk-1/KDR and Flt-4 all have tyrosine kinase activity which mediates VEGF signalling. NRPs have no tyrosine kinase domain and the VEGF signalling pathway via NRPs is currently unknown. VEGFR-1, VEGFR-2, VEGFR-3 have IgG domains – NRP-1, NRP-2 have a1/a2, b1/b2 – and C domains –

oraz w cyklu miesięcznym u kobiet. Wykazano udział VEGF w patogenezie wielu chorób, w tym nowotworów. VEGF wydzielany jest zarówno przez komórki nowotworowe, jak i monocyty naciekające tkanki. Stymuluje on tworzenie się nowych naczyń, zwłaszcza w odpowiedzi na hipoksję. Te nowo powstałe naczynia nie tylko dostarczają tlen i składniki odżywcze, ale również pozwalają na przedostawanie się komórek nowotworowych do układu krążenia, ułatwiając w ten sposób powstawanie przerzutów. VEGF ma również działanie autokrynne, funkcjonując jako czynnik zwiększający przeżycie komórek nowotworowych przez ochronę ich przed stresem, jakim jest hipoksja, chemioterapia i radioterapia [1].

W komórkach RT, pochodzących zarówno z hodowli komórkowych, jak i guzów trzustki od ludzi, obserwuje się nadekspresję NRP-1 i VEGF [2].

Ekspresję VEGF stwierdza się w komórkach nowotworowych 56–93% preparatów pochodzących z guzów



Ryc. 2. Uproszczony schemat przekaźnictwa sygnałów w układzie VEGF przez receptor VEGFR-2 wg [1]

VEGF wpływa na przeżycie, migrację i proliferację komórek śródbłonka naczyniowego. Wiązanie się VEGF z VEGFR-2 inicjuje kaskadę reakcji.

PLC- γ i PKC – białka kinazy C (ang. protein kinase C), ERK – kinazy regulowane sygnałami zewnątrzkomórkowymi (ang. extracellular regulated kinase), MAPK – kinazy białkowe aktywowane miogennami (ang. mitogen activated protein kinase), FAK – kinaza kontaktów adhezyjnych (ang. focal adhesion kinase), PI3K – kinaza trójfosforanu inozytolu (ang. phosphatidylinositol 3'kinase), Akt/PKB – białko kinazy B (ang. protein kinase B)

Fig. 2. Modified scheme of VEGF signalling pathway via VEGFR-2 according to [1]

VEGF plays a role in cell survival, migration and proliferation of endothelial cells. VEGF binding to VEGFR-2 initiates a signalling cascade.

PLC- γ i PKC – protein kinase C, ERK – extracellular regulated kinase, MAPK – mitogen activated protein kinase, FAK – focal adhesion kinase, PI3K – phosphatidylinositol 3'kinase, Akt/PKB – protein kinase B

usuniętych chirurgicznie u chorych na RT [3, 4]. Istnieje korelacja między ekspresją VEGF w komórkach raka a gęstością naczyń krwionośnych w tkance nowotworowej IMD (ang. *intratumoral microvessel density*) [3–7]. Niektórzy autorzy zaobserwowali związek między ekspresją VEGF w komórkach nowotworowych a zróżnicowaniem histologicznym guza [5], jego zaawansowaniem [8], obecnością przerzutów do wątroby [4] oraz czasem przeżycia chorych [3, 4, 7, 9].

Inni nie stwierdzili korelacji między ekspresją VEGF a parametrami klinicznymi, patologicznymi [10, 11] oraz czasem przeżycia chorych na RT [5, 8, 11, 12].

Ekspresję NRP-1 obserwuje się w komórkach RT w większości preparatów pochodzących zarówno z linii komórkowych, jak i z guzów nowotworowych usuniętych chirurgicznie [2].

NRP-1 działa jako koreceptor dla VEGF i w RT, podobnie jak w innych rodzajach guzów, stymuluje angiogenezę oraz zwiększa wpływ VEGF na wzrost nowotworu [13].

Według jednych autorów nie ma związku między ekspresją PD-ECGF (ang. *platelet-derived endothelial cell growth factor*) a parametrami klinicznymi, patologicznymi i przeżyciem chorych na RT [3, 6]. Inni [5] zaobserwowali skrócenie czasu przeżycia chorych na RT z ekspresją PD-ECGF w komórkach nowotworowych oraz jego korelację z IMD.

VEGFRs są receptorami typu kinazy tyrozynowej, które wiążą VEGF, i mają kluczowe znaczenie w neoangiogenezie guzów nowotworowych. Chociaż początkowo sądzono, że znajdują się one wyłącznie w komórkach śródbłonna, ostatnie badania wykazały ich obecność także w komórkach innych niż endotelialne. Ekspresję VEGFR-1 zaobserwowano m.in. w liniach komórkowych RT. Aktywacja tego receptora powoduje migrację komórek nowotworowych, co wskazuje, że może on być odpowiedzialny za inwazję RT [14].

Obecność VEGFR-1 i VEGFR-2 stwierdzono w komórkach nowotworowych pochodzących z guzów usuniętych chirurgicznie u chorych na RT. Ekspresja VEGFR-2 miała związek ze złym zróżnicowaniem guza i choroby, u których ona występowała, żyli krócej [15]. W tym samym doświadczeniu na liniach komórkowych i myszach wykazano, że blokowanie receptora VEGFR-2 hamuje progresję miejscową RT i powstawanie przerzutów odległych, co daje nadzieję na nowe możliwości terapii chorych na ten nowotwór.

Insulinopodobne czynniki wzrostu (IGFs)

IGFs (ang. *insulin-like growth factors*) są mitogenami, które odgrywają kluczową rolę w regulacji proliferacji komórki, różnicowaniu i apoptozie. Rodzina IGF składa się z polipeptydowych ligandów IGF-I (masa 7,7 kD) i IGF-II (masa 7,5 kD), 2 typów receptorów błonowych

IGF-IR i IGF-IIR, 6 białek wiążących (IGFBP 1–6), proteaz hydrolizujących białka wiążące oraz innych cząsteczek reagujących z białkami wiążącymi, które regulują działanie czynników wzrostu. Białka wiążące IGF mogą hamować lub nasilać działanie IGF – przeciwstawne efekty są zależne od ich struktury. Z kolei działanie białek wiążących jest regulowane częściowo przez proteazy hydrolizujące te białka. IGF-I i IGF-II wykazują podobieństwa strukturalne do siebie (62% homologia w strukturze aminokwasowej) oraz do proinsuliny. Gen IGF-I lokalizuje się na chromosomie 12q22-24, a IGF-II na 11p.15. Ekspresję genu IGF-I reguluje hormon wzrostu, który nie wykazuje działania regulującego ekspresję genu IGF-II. IGF-I ma właściwości mitogenne, ponieważ zwiększa syntezę DNA oraz stymuluje ekspresję cykliny D, która przyspiesza postęp cyklu komórkowego i przejście z fazy G1 do S. Wpływa on na zwiększenie ekspresji białek Bcl oraz zmniejszenie ekspresji białek Bax, co doprowadza do zahamowania apoptozy. Oba receptory (IGF-RI i IGF-RII) są glikoproteinami zlokalizowanymi na błonie komórkowej, które różnią się zupełnie pod względem struktury i funkcji. IGF-IR jest tetramerem i strukturalnie odpowiada receptorowi dla insuliny (60% homologia), natomiast IGF-IIR to monomer. Wiązanie się IGF z IGF-IR aktywuje kinazę tyrozynową receptora i zapoczątkowuje kaskadę reakcji między molekułami związanymi z układem przekazywania sygnałów. IGF-IIR nie ma aktywności kinazy tyrozynowej i wiąże się tylko z IGF-II. Wiązanie to powoduje degradację IGF-II, dlatego też receptor ten działa jako antagonistą IGF-I, zmniejszając jego biologiczną aktywność [16].

Nadekspresję IGF-I oraz jego receptora IGF-IR stwierdzono zarówno w komórkach RT, jak i otaczającej tkance łącznej. Uważa się, że IGF-I stymuluje wzrost komórek RT poprzez mechanizm autokryny i parakryny aktywacji receptora IGF-IR [17].

Ostatnie badania wykazały, że różne układy przekazywania sygnałów [18], AKT (składający się z wysoce konserwatywnych kinaz serynowo/treoninowych) [19] i białko c-Scr (będące niereceptorową kinazą tyrozynową) [20] wpływają na zwiększenie ekspresji receptora IGF-IR w komórkach nowotworowych, a tym samym przyczyniają się do wzrostu i zwiększenia inwazyjności RT. W komórkach RT stwierdzono również nadekspresję receptora IGF-IIR [21], co sugeruje, że oba typy receptorów biorą udział w kancerogenezie. We wcześniejszych badaniach [22] nie obserwowano wzrostu stężenia IGF-I, IGF-II i IGFBP-3 w surowicy chorych na RT. Jednak w ostatnich doniesieniach [23, 24] wykazano podwyższenie stężenia IGF-I i IGFBP-3 w surowicy chorych na RT i proponuje się wykorzystać ich pomiar w prognozowaniu.

Piśmiennictwo

1. Byrne AM, Bouchier-Hayes DJ, Harmey JH. Angiogenic and cell survival functions of vascular endothelial growth factor (VEGF). *J Cell Mol Med* 2005; 9: 777-94.
2. Li M, Yang H, Chai H i wsp. Pancreatic carcinoma cells express neuropilins and vascular endothelial growth factor, but not vascular endothelial growth factor receptor. *Cancer* 2004; 101: 2341-50.
3. Khorana AA, Hu YC, Ryan CK i wsp. Vascular endothelial growth factor and DPC4 predict adjuvant therapy outcomes in resected pancreatic cancer. *J Gastrointest Surg* 2005; 9: 903-11.
4. Seo Y, Baba H, Fukuda T i wsp. High expression of vascular endothelial growth factor is associated with liver metastasis and a poor prognosis for patients with ductal pancreatic adenocarcinoma. *Cancer* 2000; 88: 2239-45.
5. Fujimoto K, Hosotani R, Wada M i wsp. Expression of two angiogenic factors, vascular endothelial growth factor and platelet-derived endothelial cell growth factor in human pancreatic cancer, and its relationship to angiogenesis. *Eur J Cancer* 1998; 34: 1439-47.
6. Kuwahara K, Sasaki T, Kuwada Y i wsp. Expressions of angiogenic factors in pancreatic ductal carcinoma: a correlative study with clinicopathologic parameters and patient survival. *Pancreas* 2003; 26: 344-9.
7. Niedergethmann M, Hildenbrand R, Wolf G i wsp. Angiogenesis and cathepsin expression are prognostic factors in pancreatic adenocarcinoma after curative resection. *Int J Pancreatol* 2000; 28: 31-9.
8. Itakura J, Ishiwata T, Friess H i wsp. Enhanced expression of vascular endothelial growth factor in human pancreatic cancer correlates with local disease progression. *Clin Cancer Res* 1997; 3: 1309-16.
9. Ikeda N, Nakajima Y, Sho M i wsp. The association of K-ras gene mutation and vascular endothelial growth factor gene expression in pancreatic carcinoma. *Cancer* 2001; 92: 488-99.
10. Lim YJ, Lee JK, Park CK i wsp. Prognostic value of VEGF in human pancreatic ductal adenocarcinoma. *Korean J Intern Med* 2004; 19: 10-4.
11. Ellis LM, Takahashi Y, Fenoglio CJ i wsp. Vessel counts and vascular endothelial growth factor expression in pancreatic adenocarcinoma. *Eur J Cancer* 1998; 34: 337-40.
12. Tang RF, Wang SX, Peng L i wsp. Expression of vascular endothelial growth factors A and C in human pancreatic cancer. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 280-6.
13. Parikh AA, Liu WB, Fan F i wsp. Expression and regulation of the novel vascular endothelial growth factor receptor neuropilin-1 by epidermal growth factor in human pancreatic carcinoma. *Cancer* 2003; 98: 720-9.
14. Wey JS, Fan F, Gray MJ i wsp. Vascular endothelial growth factor receptor-1 promotes migration and invasion in pancreatic carcinoma cell lines. *Cancer* 2005; 104: 427-38.
15. Büchler P, Reber HA, Büchler MW i wsp. VEGF-R11 influences the prognosis of pancreatic cancer. *Ann Surg* 2002; 236: 738-49.
16. Yu H, Rohan T. Role of the insulin-like growth factor family in cancer development and progression. *J Natl Cancer Inst* 2000; 92: 1472-89.
17. Bergmann U, Funatomi H, Yokoyama M i wsp. Insulin-like growth factor I overexpression in human pancreatic cancer: evidence for autocrine and paracrine roles. *Cancer Res* 1995; 55: 2007-11.
18. Zeng H, Datta K, Neid M i wsp. Requirement of different signaling pathways mediated by insulin-like growth factor-I receptor for proliferation, invasion and VPF/VEGF expression in a pancreatic carcinoma cell line. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 302: 46-55.
19. Tanno S, Tanno S, Mitsuuchi Y i wsp. AKT activation up-regulates insulin-like growth factor I receptor expression and promotes invasiveness of human pancreatic cancer cells. *Cancer Res* 2001; 61: 589-93.
20. Flossmann-Kast BB, Jehle PM, Hoeflich A i wsp. Src stimulates insulin-like growth factor I (IGF-I)-dependent cell proliferation by increasing IGF-I receptor number in human pancreatic carcinoma cells. *Cancer Res* 1998; 58: 3551-4.
21. Ishiwata T, Bergmann U, Kornmann M i wsp. Altered expression of insulin-like growth factor II receptor in human pancreatic cancer. *Pancreas* 1997; 15: 367-73.
22. Evans JD, Eggo MC, Donovan IA i wsp. Serum levels of insulin-like growth factors (IGF-I and IGF-II) and their binding protein (IGFBP-3) are not elevated in pancreatic cancer. *Int J Pancreatol* 1997; 22: 95-100.
23. Karna E, Surazynski A, Orłowski K i wsp. Serum and tissue level of insulin-like growth factor-I (IGF-I) and IGF-I binding proteins as an index of pancreatitis and pancreatic cancer. *Int J Exp Pathol* 2002; 83: 239-45.
24. Lin Y, Tamakoshi A, Kikuchi S i wsp. Serum insulin-like growth factor-I, insulin-like growth factor binding protein-3 and the risk of pancreatic cancer death. *Int J Cancer* 2004; 110: 584-8.