

УДК 612.017.1 + 616-002+611.018.74

## ФАКТОР РОСТА СОСУДИСТОГО ЭНДОТЕЛИЯ И ИММУННАЯ СИСТЕМА

© 2009 г. Е. П. Киселева, А. В. Крылов, Э. А. Старикова, С. А. Кузнецова

*Институт экспериментальной медицины РАМН, Санкт-Петербург*

Рассматриваются механизмы взаимодействия фактора роста сосудистого эндотелия (VEGF) и клеток иммунной системы. Клетки иммунной системы продуцируют VEGF и являются регуляторами ангиогенеза. Вместе с тем они имеют специфические рецепторы для взаимодействия с этим фактором и являются мишенями его действия. VEGF оказывает влияние на адгезию, миграцию и экстравазацию клеток иммунной системы. В условиях патологии, связанной с избыточной продукцией этого фактора, он вызывает нарушение регуляции гемо- и лимфопоэза, что может создавать основу для развития иммунодефицита в организме. Уровень содержания VEGF и его активность в организме являются объектами, на которые направлена ангиогенная и антиангиогенная терапия. Применение подобных препаратов в клинике для лечения различных болезней следует проводить с учетом их влияния на иммунную систему.

### ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время возникла потребность объединить знания, накопившиеся в новой области науки – сосудистой биологии, с уже сформировавшимися представлениями о функционировании иммунной системы. Не вызывает сомнения существование тесной сопряженности процессов ангиогенеза и воспаления и непосредственного участия в них реакций врожденного иммунитета. Недавно появились доказательства ангиогенной способности Т-лимфоцитов, хотя их новая функция пока никак не интегрирована со специфическим иммунитетом.

К наиболее хорошо изученным стимуляторам ангиогенеза относится фактор роста сосудистого эндотелия (VEGF) – многофункциональный белок, выполняющий важную защитную роль в организме, а именно обеспечение нарушенного кровоснабжения тканей при любом повреждении. Кроме того, VEGF оказывает иммунорегуляторное влияние и участвует в регуляции роста нервов.

Существует немного сведений о физиологической роли фактора в организме в отсутствие каких-либо повреждений. Известно, что синтез VEGF постоянно выявляется во многих органах и тканях, а также в органах иммунной системы [55], что предполагает его необходимость в норме. Считают, что он выполняет важную функцию поддержания гомеостаза эндотелиального барьера, разделяющего кровь и ткани, включающую регуляцию сосудистой проницаемости для воды и макромолекул, сосудистого тонуса, трансэндотелиальной миграции клеток, а также обладает васкулопротективными свойствами [100]. Поскольку для осуществления практически всех своих

функций клетки иммунной системы непосредственно контактируют с эндотелием как на пути из кровяного русла в ткани, так и на выходе из тканей в лимфатическую систему, VEGF должен рассматриваться и как важный фактор физиологической иммунорегуляции.

В норме VEGF содержится в тканях в незначительном количестве, но экспрессия его гена значительно активируется при гипоксии через индукцию транскрипционного фактора HIF-1 (фактора, индуцируемого гипоксией) [77]. Многие тканевые клетки синтезируют VEGF, в том числе гепатоциты [90], фибробласты [43], эпителиальные [62], тучные [65] и сами эндотелиальные клетки [54]. Кроме клеточного, существует и внеклеточный аварийный пул ангиогенных молекул, фиксированных на матриксе. Находясь в комплексе с белками внеклеточного матрикса, VEGF доступен для действия протеолитических ферментов, которые при активации способны переводить его в свободную форму. Тканевой VEGF служит для развития коллатералей и устранения ишемии в органах.

Другим источником фактора в организме является периферическая кровь, которая содержит стратегический запас VEGF, необходимый для немедленной реализации при повреждении. Как и многие другие ростовые факторы, VEGF синтезируется мегакариоцитами и содержится в  $\alpha$ -гранулах тромбоцитов, откуда они реализуются при активации тромбином. Тромбоцитарный VEGF, образующийся в процессе свертывания крови, составляет значительную часть его сывороточного уровня [39].

Клетки иммунной системы способны секретировать VEGF и регулировать процессы ангиогенеза.

неза. С другой стороны, они имеют специфические рецепторы для распознавания VEGF и сами могут подвергаться его действию, например, при росте опухолей. Известно, что практически все опухоли продуцируют VEGF и уровень его содержания в циркуляции может существенно возрастать. В организме опухоленосителей VEGF может вызывать существенные сдвиги гемо- и лимфопоэза на уровне костного мозга и тимуса. Предполагают, что повышенное содержание этого фактора создает основу для развития иммунодефицита и способствует ускользанию опухоли от иммунного надзора [40, 67].

В настоящем обзоре рассмотрены современные представления об основных эффектах VEGF в отношении эндотелия и клеток иммунной системы. Многие вопросы взаимодействия ангиогенеза и иммунных реакций требуют пристального внимания к себе и изучения. Данный аспект является актуальным еще и потому, что VEGF представляет собой главную мишень ангиогенной и антиангиогенной терапии, и при разработке новых препаратов необходимо также учитывать его взаимодействие с клетками иммунной системы.

#### VEGF И ЕГО РЕЦЕПТОРЫ, ФУНКЦИИ VEGF В ОТНОШЕНИИ ЭНДОТЕЛИЯ, ОСНОВНЫЕ ИСТОЧНИКИ СИНТЕЗА VEGF В ОРГАНИЗМЕ

Семейство VEGF состоит из пяти факторов – VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D и плацентарного ростового фактора (PlGF). Наиболее хорошо изучен VEGF-A (VEGF), являющийся основным фактором роста кровеносных сосудов. VEGF является основным ангиогенным фактором, стимулирующим рост сосудов *in vivo* и пролиферацию эндотелиальных клеток *in vitro*. Он активирует процессы миграции и адгезии эндотелиальных клеток, а также формирование капиллярноподобных структур в трехмерных гелях *in vitro*.

Ген VEGF состоит из восьми экзонов, разделенных между собой семью интронами. В результате альтернативного сплайсинга мРНК гена VEGF формируется восемь изоформ: VEGF<sub>121</sub>, VEGF<sub>145</sub>, VEGF<sub>148</sub>, VEGF<sub>162</sub>, VEGF<sub>165</sub>, VEGF<sub>183</sub>, VEGF<sub>189</sub>, VEGF<sub>206</sub>, содержащих соответствующее число аминокислотных остатков [89]. Кроме того, была идентифицирована антиангиогенная VEGF<sub>165b</sub> изоформа [59]. Изоформы VEGF<sub>121</sub>, VEGF<sub>165</sub>, и VEGF<sub>189</sub> являются доминирующими, причем VEGF<sub>165</sub> наиболее полно охарактеризован и изучен. Изоформы отличаются по своим кислотно-щелочным свойствам и способности связываться с внеклеточным матриксом. VEGF<sub>121</sub> существует только в растворимой, секретируемой форме, VEGF<sub>165</sub> – и в растворимой, и в связанной, в то время как VEGF<sub>189</sub> и VEGF<sub>206</sub> преимущественно

связаны с внеклеточным матриксом. Они могут высвободиться под действием гепарина, гепариназы или плазмина с образованием белка с молекулярной массой 34 кДа [8].

Нативный VEGF<sub>165</sub> является гепарин-связывающим гликопротеином с молекулярной массой 45 кДа и представляет собой гомодимер. Свои эффекторные функции VEGF осуществляет через два основных тирозин-киназных рецептора на клетках эндотелия – VEGFR1 (Flt1) и VEGFR2 (Flk1/KDR), которые хорошо охарактеризованы. VEGFR1 имеет молекулярную массу 180 кДа, VEGFR2 – 220–230 кДа. Оба рецептора представлены на клетках эндотелия семью иммуноглобулин подобными внеклеточными доменами, а также имеют трансмембранный и внутриклеточный тирозинкиназный домены. [29]. При связывании лиганда с рецептором происходит его димеризация с последующей активацией каталитической активности.

VEGFR2 является основным рецептором, через который осуществляется передача активационного сигнала. Этот рецептор отвечает за реализацию основных функций VEGF в отношении эндотелиальных клеток, связанных с ростом сосудов, их проницаемостью и выживаемостью [36]. Связывание VEGF с VEGFR1 не оказывает стимулирующего влияния на пролиферацию эндотелия. Функция этого рецептора не вполне ясна. Предполагают, что VEGFR1, также как и его растворимая форма, осуществляют негативную регуляцию, блокируя связывание VEGF с VEGFR2.

VEGFR-1 связывает VEGF с более высокой аффинностью (100 пкМ), чем VEGFR2 (10 пкМ), но фосфорилирование тирозин-киназных доменов рецептора проходит гораздо менее эффективно. Подобное отличие связано с различными путями передачи сигнала, при которых происходит запуск разных киназных каскадов [84].

Помимо специфических тирозин киназных рецепторов, на клетках эндотелия также существует нейропиплин 1 (Nrp-1). Это белок с молекулярной массой 120–130 кДа, который является рецептором не только VEGF, но и нейрональных факторов семейства коллапсинов/семафориннов и наиболее активно связывает семафорин 3А [89]. Nrp-1 (CD304) состоит из трех внеклеточных, одного трансмембранного и внутриклеточного доменов. Nrp-1 может связывать не все изоформы VEGF: он взаимодействует с VEGF<sub>165</sub> и VEGF<sub>145</sub>, но не с VEGF<sub>121</sub>. После связывания с лигандом происходит димеризация Nrp-1. Ранее считалось, что его короткий внутриклеточный домен (около 40 аминокислотных остатков) не проводит биологических сигналов, однако позднее обнаружили белок, взаимодействующий с нейропиплином, NIP, или синектин. Он взаимодействует с семейством

белков, активирующих ГТФазу, и может осуществлять проведение сигнала.

Nrg-1 является корецептором VEGFR-1 и 2. Предполагают, что Nrg-1 усиливает связывание VEGFR-1 и VEGFR-2 с VEGF, при этом происходит тесное соприкосновение рецепторов, поскольку Nrg-1 способен сам связывать 3 и 4-й домены VEGFR-1. Существует также короткая растворимая форма Nrg-1, функционирующая как естественный ингибитор связывания VEGF с полноразмерным рецептором.

Кроме того, VEGF может связываться с гепарансульфатами, находящимися на поверхности многих клеток [75]. Изменение плотности гепарансульфатов на мембране клетки может модулировать взаимодействие VEGF<sub>165</sub> со своими рецепторами VEGFR1 и VEGFR2.

VEGF и его рецепторы VEGFR1 и VEGFR2 имеют важное значение при развитии сосудистого русла в эмбриогенезе. Утрата одной аллели гена VEGF приводит к гибели развивающегося эмбриона на ранних стадиях развития. Похожая картина наблюдается при утрате аллелей генов рецепторов VEGF. Эмбрионы мышей с экспериментальной делецией по локусу VEGFR1 или VEGFR2 погибают на 8–9-й день развития в связи с нарушением формирования сосудистого русла. Мыши с выключенным геном Nrg-1 также нежизнеспособны и погибают между 10 и 12 днями эмбрионального развития. Анализ нарушений у таких животных указывает на важную роль этого рецептора для образования сосудов и роста нервов [89].

Во взрослом организме VEGF экспрессируется практически во всех васкуляризованных тканях, что предполагает его важную физиологическую роль для поддержания общего сосудистого гомеостаза [53]. Эффекты VEGF сильно зависят от его локальной концентрации в тканях. Считается, что низкие концентрации VEGF необходимы для гомеостаза кровеносных сосудов, выживаемости эндотелиальных клеток, а также продукции NO и простаглицлина, что выразится в вазодилатации, антитромбозе и подавлении пролиферации гладкомышечных клеток, т.е. васкулопротективных эффектах [100]. Значительно более высокие концентрации VEGF необходимы для проявления его ангиогенных эффектов. Повышение содержания VEGF при ишемии и любом повреждении сосудов способствует восстановлению нормального кровоснабжения ткани.

VEGF способствует выживаемости эндотелиальных клеток в условиях различного рода неблагоприятных воздействий и предотвращает в них развитие апоптоза. VEGFR2, но не VEGFR1, реализует анти-апоптотический эффект в отношении эндотелиальных клеток через активацию фосфатидил-инозитол-3-киназного пути [35]. При этом

VEGF активирует в эндотелиальных клетках такие факторы выживаемости как Bcl-2, A1, IAP, Akt и Erk [50].

С отменой важных гомеостатических функций ростового фактора связывают осложнения, сопровождающие применение анти-VEGF антител у больных с патологическим ангиогенезом в условиях опухолевого роста. У 5% больных, получавших подобную терапию наблюдается увеличение риска развития тромбоемболий, инфарктов, инсультов, а также повышение кровяного давления и протеинурия [100].

### РОЛЬ КЛЕТОК ИММУННОЙ СИСТЕМЫ В РЕГУЛЯЦИИ ПРОЦЕССОВ АНГИОГЕНЕЗА

Не вызывает сомнения существование тесной сопряженности процессов ангиогенеза и воспаления и непосредственного участия в них реакций врожденного иммунитета [30]. Морфологам хорошо известно, что рост сосудов всегда сопровождается развитием воспаления и лейкоцитарной инфильтрацией. Основным клеточным источником синтеза ангиорегуляторных молекул считаются мононуклеарные фагоциты. Они способны продуцировать более 20 различных молекул, активирующих и подавляющих рост сосудистой ткани, и среди них VEGF [60]. Моноциты крови привлекаются в очаг повреждения с помощью хемоаттрактантов, где и проявляют свою ангиорегуляторную активность.

Макрофаги способны конститутивно синтезировать VEGF, но эта способность значительно увеличивается при гипоксии, при активации *in vitro*, например с помощью липополисахарида или TNF- $\alpha$  [18, 24], а также при различных патологических состояниях. Например, способность перитонеальных макрофагов человека экспрессировать мРНК VEGF существенно возрастает у пациенток с эндометриозом [57]. Продукция VEGF моноцитами крови значительно повышена у больных ревматоидным артритом [18] и у пациентов со злокачественными новообразованиями [78]. Макрофаги, полученные из ран, а также макрофаги, инфильтрирующие опухоли, активно синтезируют VEGF [72].

В настоящее время существует представление о большой пластичности мононуклеарных фагоцитов, их способности по-разному реагировать на изменения микроокружения, что выражается в разнообразии их активационных фенотипов [10]. Ангиогенный фенотип макрофагов не вполне охарактеризован и до конца не ясно, под действием каких факторов он формируется. Некоторые исследователи делят тканевые макрофаги на M1 и M2 типы, из которых M1-макрофаги характеризуются цитотоксической и противоопухолевой

активностью, а М2-клетки проявляют ангиогенные и протуморогенные свойства [85]. К М2 макрофагам относят опухоль-ассоциированные макрофаги, которые характеризуются высокой экспрессией scavenger- и маннозо-фукозных рецепторов, продукцией IL-10 и способностью к фагоцитозу продуктов тканевого распада, а также к стимуляции ангиогенеза за счет продукции VEGF, bFGF, TNF и IL-4. В этом случае рекрутированные опухоль-ассоциированные макрофаги осуществляют непрямой путь усиления опухолевого неоангиогенеза, дополняющий прямую стимуляцию роста сосудов за счет VEGF, синтезируемого опухолевыми клетками. Как считают авторы, дифференцировка моноцитов в подобный тип макрофагов способствуют M-CSF, IL-4, IL-10, IL-13, а также кортикостероидные гормоны и простагландины.

Другие клетки иммунной системы также способны к синтезу VEGF, например, дендритные клетки [23]. Нейтрофилы крови человека содержат VEGF внутриклеточно и секретируют его во внеклеточное пространство в процессе дегрануляции под действием форболового эфира или TNF-а [34]. Нейтрофилы крови больных раком содержат повышенное количество VEGF [94]. Показано, что нейтрофилы животных, инфильтрирующие развивающиеся опухолевые очаги играют важную роль в активации ангиогенеза на начальных этапах канцерогенеза [66]. Базофилы крови человека экспрессируют мРНК трех изоформ VEGF, содержат его в секреторных гранулах в концентрации 144.4 пг на  $10^6$  клеток и выделяют при активации [70].

Таким образом, клетки врожденного иммунитета вносят существенный вклад в стимуляцию ангиогенеза и продукцию ангиогенных молекул.

Т-лимфоциты также способны синтезировать VEGF и участвовать в регуляции ангиогенеза, хотя, по-видимому, в меньшей степени, чем макрофаги. Следует отметить, что взаимодействие процессов ангиогенеза со специфическим иммунным ответом не изучено, однако показана способность Т-лимфоцитов человека и животных синтезировать VEGF [42, 61]. Индуктором синтеза VEGF в Т-лимфоцитах, как и в макрофагах, служит гипоксия. Синтез VEGF в Т лимфоцитах усиливается при их активации форболовым эфиром, анти-CD3 антителами, IL-2 или конканавалином A *in vitro* [42, 61]. Синтез и продукция VEGF периферическими Т-лимфоцитами может повышаться при патологических состояниях, например у больных туберкулезом [56] или в условиях опухолевого роста у людей и животных [31, 69]. Иммуногистохимическим окрашиванием было показано, что Т-лимфоциты, инфильтрирующие карциному мочевыводящих путей человека, синтезируют VEGF [51].

В экспериментальных условиях было показано, что CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> Т лимфоциты инфильтрируют ишемизированные ткани, где способствуют развитию коллатеральных сосудов [86]. При развитии церебральной ишемии CD8<sup>+</sup> Т-лимфоциты инфильтрируют периваскулярные пространства и синтезируют IL-16, который является хемоаттрактантом для CD4<sup>+</sup> мононуклеаров [87].

Недавно был охарактеризован фенотип CD3<sup>+</sup>CD31<sup>+</sup>CXCR4<sup>+</sup> ангиогенных Т-клеток, способных к активному синтезу VEGF, IL-8 и матриксных металлопротеиназ [41]. Показано, что эти клетки располагаются в центре колоний, образованных ранними эндотелиальными предшественниками, полученными из периферической крови животных. Ангиогенные Т-лимфоциты усиливали пролиферацию, способность к формированию трубок в геле и адгезию эндотелиальных клеток. Авторы считают, что специфическим маркером ангиогенных Т-лимфоцитов является CD31 – адгезионная молекула PECAM-1. Экспрессия на их поверхности CXCR4 – рецептора стромального ростового фактора – определяет их способность рекрутироваться в зоны ишемии, где уровень экспрессии этого фактора достаточно высокий.

Не только зрелые Т-лимфоциты, но и их предшественники способны синтезировать VEGF. Ранее был обнаружен синтез мРНК и белка VEGF в цельном тимусе мышей [61]. Недавно показали, что как тимоциты, так и строма тимуса мышей могут конститутивно экспрессировать мРНК VEGF [11].

#### РЕЦЕПТОРЫ VEGF НА КЛЕТКАХ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ

Рецепторы VEGF обнаружены на различных клетках, вовлеченных в иммунологические реакции. Моноциты крови человека экспрессируют мРНК VEGFR-1 и не экспрессируют VEGFR-2 [15, 22]. Появление VEGFR-1 на поверхности CD34<sup>+</sup> клеток считается характерным признаком того, что они приобретают моноцитарно-макрофагальное направление дифференцировки [80]. Помимо мембрано-ассоциированной формы VEGFR-1, моноциты периферической крови человека способны синтезировать растворимую форму этого рецептора, и эта способность существенно увеличивается в ответ на стимуляцию клеток GM-CSF [27].

Тканевые макрофаги имеют оба типа VEGF рецепторов – VEGFR-1 и VEGFR-2, что было показано для перитонеальных макрофагов человека [57]. В перитонеальных макрофагах мышей показана также экспрессия мРНК Nrp-1 [11].

Дендритные клетки мышей и человека экспрессируют мРНК VEGFR1 и VEGFR2 [23, 79]. По

мере созревания дендритных клеток из моноцитов крови человека *in vitro* было показано увеличение экспрессии Nrp-1 на мембране [91].

Базофилы крови человека экспрессируют мРНК рецепторов VEGF и около 80% этих клеток являются положительными по VEGFR-2 и Nrp-1 на мембране, что было показано с помощью проточной цитофлуориметрии [70]. В то же время в эозинофилах крови человека обнаружили наличие на мембране и экспрессия мРНК VEGFR-1 и отсутствие VEGFR-2 [28].

Единичные исследования посвящены изучению синтеза рецепторов VEGF Т-клетками. Так, в антиген-стимулированных Т-клетках лимфоузлов крыс был показан синтез мРНК только VEGFR-2 при отсутствии экспрессии мРНК VEGFR-1 [61]. С другой стороны, в Т-лимфоцитах, полученные из селезенки мышей были экспрессированы мРНК обоих рецепторов, а у мышей с опухолями наблюдали усиление их экспрессии [69]. При исследовании периферических Т-лимфоцитов крови человека была выявлена очень слабая экспрессия мРНК VEGFR-1 и VEGFR-2 в Т-регуляторных клетках и отсутствие мРНК этих рецепторов в Т-хелперах. Nrp-1 присутствует на поверхности более 80% CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Т-клеток и только на единичных Т-хелперах CD4<sup>+</sup>CD25 [79].

Недавно было установлено, что в тимоцитах интактных мышей конститутивно экспрессируются гены VEGFR-2 и Nrp-1 и не выявляется мРНК VEGFR-1 [11]. Тимоциты человека также конститутивно экспрессируют мРНК Nrp-1 и около 5% клеток окрашиваются соответствующими антителами при исследовании методом проточной цитометрии. При этом содержание Nrp-1<sup>+</sup> клеток распределено по основным четырем популяциям тимоцитов (CD4<sup>-</sup>CD8<sup>-</sup>, CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>CD8<sup>-</sup> и CD4<sup>-</sup>CD8<sup>+</sup>) приблизительно равномерно [47]. Показана также экспрессия Nrp-1 в эпителиальных клетках тимуса человека.

Таким образом, клетки иммунной системы способны взаимодействовать с VEGF с помощью рецепторов, причем их набор и экспрессия изменяются по мере дифференцировки клеток.

## ВЛИЯНИЕ VEGF НА ИММУННУЮ СИСТЕМУ

### *Участие VEGF в развитии воспаления*

VEGF играет важную роль в инициации процесса воспаления, поскольку является фактором усиления проницаемости сосудистой стенки. Это один из самых сильных индукторов сосудистой проницаемости. В сравнительных экспериментах было показано, что VEGF усиливает микроваскулярную проницаемость для коллоидных белков в 50000 раз сильнее, чем гистамин [82]. Первоначально VEGF именно так и назывался VPF – фак-

тор, усиливающий проницаемость сосудов. VEGF играет важную роль на ранних этапах ранозаживления, однако при патологии он может участвовать в накоплении жидкости в виде асцитов, плевритов, играть роль в патогенезе геморрагических инсультов и вызывать кровотоочивость сосудов в опухолях [16].

Механизм его действия не связан с участием гистамина, кинина, продуктов метаболизма арахидоновой кислоты или привлечением базофилов и тучных клеток. Однако известно, что VEGF стимулирует в эндотелиальных клетках одновременное образование оксида азота (NO) и простаглицлина [64]. Оксид азота сам вызывает вазодилатацию и усиление сосудистой проницаемости [99]. Активация NO-синтазы и увеличение сосудистой проницаемости в эндотелиальных клетках опосредуются взаимодействием VEGF с VEGFR-2, но не VEGFR-1 [36]. VEGF влияет на проницаемость посткапиллярных вен, венул и капилляров.

Как происходит усиление транспорта коллоидов, до конца неизвестно. Описаны два механизма усиления проницаемости: один – за счет образования щелей между клетками вследствие сократительной активности эндотелия, другой – за счет транцитоза вакуолей с образованием специализированных внутриклеточных структур, называемых везикуло-вакуолярными органеллами (ВВО). Последний механизм является специфичным для действия VEGF и не характерен для других известных активаторов проницаемости, таких как гистамин.

ВВО – крупные цитоплазматические структуры от 80 до 140 нм в диаметре, содержат несколько сот везикул и занимают 16–18% объема цитоплазмы эндотелиальной клетки. ВВО образуют трансцеллюлярные мембранные каналы, которые открываются на базальную, апикальную и латеральную поверхность эндотелиальных клеток, и обеспечивают повышенный транспорт макромолекул из кровеносного русла в ткани [26].

Способность VEGF влиять на сократительную способность эндотелиальных клеток с образованием межклеточных щелей не уникальна только для этого фактора и является механизмом усиления сосудистой проницаемости, характерным также для гистамина, вещества Р и других активаторов. Эндотелиальная контракция является обратимым процессом, занимает минуты, вызывает формирование щелей без разрывов и сравнима с механизмом сокращения гладкомышечной мускулатуры. Этот процесс происходит с участием АТФ, ионов кальция, кальмодулина и МЛС-киназы.

После связывания VEGF с рецептором нарушается организация межклеточных контактов эндотелиальных клеток и фокальных адгезионных контактов. Адгезионные контакты образо-

ваны гомотипическими взаимодействиями между VE-кадгеринами соседних клеток. Фокальные адгезионные контакты представляют собой комплексы интегринов на базальной поверхности эндотелиальных клеток с белками внеклеточного матрикса. И те, и другие контакты ассоциированы с актиновым цитоскелетом [17].

Показано, что обработка клеток VEGF вызывает специфическое фосфорилирование кадгерин-катениновых комплексов, диссоциацию VE-кадгеринов и белков актинового цитоскелета, что приводит к дезинтеграции адгезионных контактов, повышению проницаемости и снижению барьерной функции эндотелия [17, 58]. Кроме того, VEGF модулирует активность других белков адгезионных контактов, таких как бета-катенин, плакоглобин и p120.

VEGF также влияет и на фосфорилирование белков фокальной адгезии, происходит разрушение комплексов интегринов с белками внеклеточного матрикса [14, 58]. Фосфорилирование, активация и транслокация киназы фокальной адгезии (ФАК) являются важным механизмом координации клеточного ответа на VEGF. После стимуляции VEGF ФАК быстро рекрутируется к местам контактов  $\alpha\text{v}\beta\text{3}$ -интегринов с белками внеклеточного матрикса [58, 96]. Активация NO синтазы, MAP-киназы, фосфоинозитид 3-киназы вызывает фосфорилирование легких цепей миозина, сокращение актин-миозинового комплекса и формирование стресс-фибрилл, что в целом вызывает образование пор и фенестрацию эндотелия.

В дополнение к вышесказанному, VEGF индуцирует фосфорилирование окклюдина ZO-1, что приводит к диссоциации еще одного вида межклеточных контактов – прочных контактов [58].

VEGF не только повышает проницаемость эндотелиального барьера для воды и макромолекул, но и усиливает миграцию клеток через эндотелий. В частности этот эффект был описан для моноцитов крови человека [83], полиморфноядерных лейкоцитов [45, 102], гемопоэтических [63] и опухолевых клеток [46,95].

Миграция лейкоцитов в субэндотелиальное пространство – процесс двухсторонний, поскольку является результатом взаимодействия разных типов клеток. VEGF способен оказывать влияние как на эндотелий, так и на мигрирующие клетки. Одним из этапов экстравазации является подготовка эндотелия, которая состоит из описанного выше процесса сокращения эндотелиальных клеток.

Кроме того, активация эндотелиальных клеток сопровождается также увеличением экспрессии на них адгезионных молекул, необходимых для контакта с лейкоцитами. Обработка эндотелиальных клеток с помощью VEGF *in vitro* вызы-

вает усиление экспрессии адгезионных молекул ICAM-1 и VCAM-1 [102], а также E- и P-селектинов на поверхности эндотелия, что приводит к усилению адгезии и трансэндотелиальной миграции полиморфоядерных лейкоцитов и моноцитов [63, 76, 103]. Этот эффект опосредуется через оба рецептора – VEGFR-1 или VEGFR-2.

Показано, что VEGF регулирует экспрессию мРНК ICAM-1, VCAM-1 и селектинов посредством активации NF- $\kappa$ B и супрессии фосфоинозитид 3-киназы. Два разнонаправленных эффекта на пути передачи сигнала, влияющих на экспрессию адгезионных молекул обеспечивают тонкую регуляцию миграции лейкоцитов [44].

Другим важным этапом, необходимым для привлечения клеток к месту повреждения, или воспаления является секреция хемокинов. Показано, что инкубация различных эндотелиальных клеток в присутствии VEGF вызывает в них усиление продукции MCP-1, SDF-1 и IL-8 [45]. Описана также способность VEGF индуцировать в эндотелиальных клетках продукцию сериновых протеаз, активатора плазминогена (РА), ингибитора активатора плазминогена первого типа (РАI-1) и матриксных металлопротеиназ, опосредующих ремоделирование внеклеточного матрикса и начальные этапы ангиогенеза [25, 71].

VEGF обладает способностью стимулировать синтез матриксной металлопротеиназы MMP9 не только в эндотелиальных клетках, но и в Т-лимфоцитах [69]. Поскольку Т-лимфоциты сами продуцируют VEGF, этот эффект можно рассматривать в качестве аутокринной регуляции способности клеток мигрировать через эндотелий. Желатиназа MMP9 принимает непосредственное участие в миграции Т-лимфоцитов через базальную мембрану эндотелиальных клеток [48].

Кроме того, VEGF влияет на мигрирующие клетки, поскольку сам является для них хемоаттрактантом. Наиболее хорошо изучена способность VEGF привлекать в очаги воспаления и повреждения стволовые клетки и клетки моноцитарно-макрофагального ряда. Во взрослом организме гемопоэтические клетки могут рекрутироваться из костного мозга в ишемизированные области тканей или опухоли посредством VEGFR-1 [52, 93]. Было показано, что VEGF является хемоаттрактантом для CD34<sup>+</sup> клеток-предшественниц и привлекает их в опухолевую ткань [101]. Кроме того, VEGF мобилизует также эндотелиальные клетки-предшественницы CD34<sup>+</sup>/CD133<sup>+</sup>VEGFR-2<sup>+</sup> из костного мозга в кровь и их миграцию в область ишемизированных тканей или опухоль. Этот эффект опосредован наличием на этих клетках рецептора VEGFR-2 [93].

Привлечение мононуклеарных фагоцитов в ткани важно для осуществления воспалительных

реакций и иммунного ответа. Хемотаксический эффект и привлечение моноцитов крови обусловлены экспрессией VEGFR1 [15, 22]. Усиление миграционной способности тканевых макрофагов опосредуется обоими рецепторами, как VEGFR-1 [38], так и VEGFR2 [97].

Показано, что VEGF обладает хемотаксической активностью в отношении человеческих эозинофилов через активацию протеинкиназы C и фосфатидил инозитол 3'-киназы, причем этот эффект опосредуется через VEGFR-1, но не VEGFR-2 [28]. VEGF также индуцирует хемотаксис базофилов крови человека [70].

Локальные концентрации VEGF в тканях могут модулировать воспалительный и ангиогенный потенциал рекрутированных макрофагов. Известно, что VEGF усиливает синтез тканевого фактора, обладающего прокоагулянтной активностью, и, как большинство хемотаксических факторов, вызывает в мононуклеарных фагоцитах транзитное увеличение цитозольного  $Ca^{2+}$  [83]. Кроме того, было показано, что инкубация макрофагов мышей в присутствии VEGF оказывает стимулирующий эффект на продукцию нитроксид анионов, модулирует продукцию супероксид анионов и снижает активность фермента пуринового обмена 5'-нуклеотидазы [3]. В дополнение к этому было показано, что инкубация макрофагов в присутствии VEGF усиливает синтез мРНК собственной молекулы VEGF [7] и VEGFR-2 [97].

Известно, что нитроксид анион (NO) влияет на экспрессию гена VEGF в макрофагах, а также является медиатором сосудистой проницаемости и ангиогенеза [74]. Стимуляция синтеза VEGF, его рецепторов и продукции нитроксид анионов макрофагами может служить дополнительной петлей усиления ангиогенной активности в тканях. Тем самым VEGF может оказывать прямое действие на эндотелий и не прямое – через дополнительное привлечение макрофагов в очаг повреждения и их дальнейшую активацию. Такой механизм усиления ангиогенеза может иметь значение для ранозаживления, новообразования опухолевых сосудов, при ревматоидном артрите и других заболеваниях.

Таким образом, VEGF является важным компонентом воспалительной реакции, регулируя как сосудистую проницаемость, так и привлечение мононуклеаров к месту повреждения, их миграционную и функциональную активность.

#### УЧАСТИЕ VEGF В ПРОЦЕССАХ ИММУНОРЕГУЛЯЦИИ

Клетки иммунной системы являются одновременно и регуляторами ангиогенеза, и мишенями действия VEGF, поскольку они обладают специ-

фическими рецепторами для взаимодействия с этим фактором. VEGF может осуществлять свое влияние как локально в органах и тканях, так и проявляя свои системные эффекты.

VEGF обладает способностью регулировать синтез цитокинов, сдвигая баланс в сторону Th1 [61]. Добавление VEGF к крысиным Т-лимфоцитам, которые стимулированы митогеном или антигеном, вызывало повышение продукции  $INF_{\gamma}$  и снижение продукции IL-10. Энцефалитогенные Т-лимфоциты, обработанные *in vitro* с помощью VEGF, после их введения экспериментальным животным вызывали более тяжелое и длительное развитие аллергического энцефаломиелита, чем необработанные клетки. Как считают авторы, VEGF способен усиливать развитие аутоиммунного заболевания.

Из иммуномодулирующих эффектов VEGF следует отметить его способность влиять на пролиферацию IL-2 зависимых Т-лимфоцитов периферической крови человека [73] и митоген-индуцированных тимоцитов мышей *in vitro* [5].

Один из рецепторов VEGF – Nrp-1 принимает непосредственное участие в иммунологическом синапсе, образуемом Т-лимфоцитом и антиген-презентирующей клеткой. При этом было показано, что Nrp-1 присутствует как на дендритных клетках, так и на Т-лимфоцитах и его блокирование с помощью антител отменяет запуск первичного иммунного ответа [91]. При двухцветном анализе оказалось, что Nrp-1 на Т-лимфоцитах колокализуется с CD3.

Кроме того, этот же рецептор Nrp-1 – является поверхностным маркером Т-регуляторных клеток и присутствует на мембране 80% клеток. Экспрессия Nrp-1 на Т-регуляторных клетках сцеплена с геном Foxp3 и коррелирует со способностью Т-регуляторных клеток осуществлять супрессорные функции, а именно подавлять пролиферацию Т-хелперов [19]. Обработка Т-регуляторных клеток анти-Nrp-1 антителами полностью блокировала их супрессорную функцию [79]. Как считают авторы статьи, благодаря экспрессии Nrp-1 на мембране, Т-регуляторные клетки получают возможность более длительного контакта с антиген-презентирующими клетками по сравнению с наивными Т-хелперами, чем и обуславливают подавление развития иммунного ответа в отсутствие дополнительных сигналов, вроде “сигналов тревоги”. Иммунодепрессивные состояния, сопровождающие многие патологические процессы, в том числе и опухолевый рост, связаны с активацией Т-регуляторных  $CD4^{+}CD25^{+}$  клеток в организме. Возможно, что VEGF принимает участие в формировании этого типа иммунологического реагирования, хотя и неизвестно, какой именно лиганд взаимодействует с Nrp-1 на Т-регуляторных клетках.

## ВЛИЯНИЕ VEGF НА ДИФФЕРЕНЦИРОВКУ И СОЗРЕВАНИЕ КЛЕТОК ЦЕНТРАЛЬНЫХ ОРГАНОВ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ

VEGF может синтезироваться в значительном количестве, и уровень его содержания в циркуляции повышаться при ряде патологических состояний и, в частности, при росте опухолей у человека [12] и животных [32, 69]. VEGF продуцируется практически всеми опухолевыми клетками человека и животных [9, 13]. Состояние избыточного ангиогенеза и характерное для него патологическое повышение синтеза VEGF оказывают иммунодепрессивное действие и, как считает ряд авторов, может лежать в основе Т-клеточного иммунодефицита и неэффективности противоопухолевой защиты [40].

Повышение уровня VEGF вызывает существенные сдвиги гемопоэза и нарушение созревания клеток в центральных органах иммунитета – костном мозге и тимусе. Характерным проявлением этих нарушений является стимуляция образования миелоидных предшественников [32, 40]. Как предполагают, увеличение содержания незрелых миелоидных клеток с фенотипом Gr-1<sup>+</sup> в органах иммунной системы ингибирует специфический иммунный ответ CD8<sup>+</sup> Т клеток и является возможным фактором развития иммунодефицита при опухолевом росте [33]. Эти же клетки, имеющие фенотип Gr-1<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>, могут способствовать росту опухолевых сосудов и опухолевой прогрессии [98]. Незрелые миелоидные клетки также способны продуцировать матриксные металлопротеиназы, VEGF, PDGF и другие ангиогенные факторы, поэтому некоторые авторы считают их промежуточными клетками, ответственными за восстановительную способность организма при повреждении и способных при необходимости дифференцироваться в эндотелиальные или скелетно-мышечные клетки [20].

Параллельно со стимуляцией миелоидных клеток у животных, которым длительно вводили VEGF, и у животных-опухоленосителей развивается нарушение созревания дендритных клеток [32]. VEGF подавляет развитие дендритных клеток на ранних стадиях их дифференцировки в костном мозге посредством ингибирования транскрипционного фактора NF-κB, и этот эффект осуществляется через VEGFR-1 [23]. Снижение численности дендритных клеток и их способности презентировать антигены при росте опухолей может также способствовать развитию иммунодефицита [32].

Помимо влияния на миелоидный росток кроветворения, избыточные количества VEGF влияют также и на созревание лимфоцитов. Длительное введение VEGF в организм животных вызывает снижение содержания про-В лимфоцитов в костном мозге при нормальном содержании зре-

лых В-лимфоцитов на периферии. В то же время введение VEGF вызывает развитие инволюции тимуса, сопровождающееся снижением относительного и абсолютного количества Т-лимфоцитов в селезенке. Механизмы действия VEGF на тимус недостаточно изучены, однако показано, что этот эффект опосредован рецептором VEGFR-2, но не VEGFR-1 [40]. Развитие инволюции тимуса при опухолевом росте и связанное с ней нарушение дифференцировки Т-лимфоцитов могут формировать развитие Т-клеточного иммунодефицита при раке [4].

Было показано, что введение VEGF в организм интактных мышей вызывает инволюцию тимуса, по динамике и гистологической картине близкую к изменениям железы при росте VEGF-продуцирующей фибросаркомы D459 у мышей [67]. Те же авторы обнаружили, что при росте фибросаркомы D459 уровень VEGF в сыворотке крови животных повышался параллельно с инволюцией тимуса. Введение препарата, блокирующего действие VEGF животным-опухоленосителям, отменяло инволюцию тимуса при росте фибросаркомы.

В качестве одного из возможных механизмов действия рассматривается способность VEGF усиливать апоптоз в тимоцитах, что было показано *in vitro* [5] и *in vivo* в тимусе мышей, которым вводили экзогенный VEGF [67]. Кроме того, аналогичное усиление чувствительности тимоцитов к развитию апоптоза наблюдали при росте опухолей у животных [6]. Однако это усиление апоптоза выражено незначительно и, возможно, не является основной причиной инволюции тимуса при опухолевом росте.

Известно, что VEGF имеет существенное значение для нормального развития тимуса в эмбриогенезе. VEGF, продуцируемый клетками тимического эпителия, имеет ключевое значение для развития правильной ангиоархитектуры тимуса. При нарушении синтеза VEGF этими клетками сосудистая сеть тимуса развивается не полностью [62]. Существует ряд экспериментальных данных, указывающих на связь между снижением или отсутствием изоформы VEGF<sub>165</sub> в эмбриогенезе с развитием синдрома Ди Джорджи – первичного иммунодефицита человека, при котором отсутствует тимус [88].

В последние годы получены важные данные по влиянию VEGF не только на образование тимуса в эмбриогенезе, но и на функционирование вилочковой железы у взрослых. Показано, что один из рецепторов VEGF – Ngr-1 – играет важную роль в механизмах адгезии-деадгезии тимоцитов с эпителиальными клетками тимуса. Его экспрессия усиливалась в процессе адгезии, а также после обработки тимоцитов IL-7 или анти-TCR сывороткой. С помощью конфокального

микроскопа было показано, что Nrp-1 концентрировался на полюсе тимоцитов, ближайшем к месту контакта с эпителиальной клеткой. Авторы предполагают участие в этом процессе второго лиганда Nrp-1, а именно семафорина 3А, в качестве хеморепеллента [47].

Таким образом, VEGF является важным регулятором функций клеток иммунной системы в норме и при патологии. Он может существенным образом вмешиваться в процессы миграции клеток, образования межклеточных контактов, способствовать развитию апоптоза и нарушать дифференцировку тимоцитов и дендритных клеток.

На первый взгляд кажется неожиданным, что “профессиональный” ангиогенный фактор оказывает выраженное иммуномодулирующее действие и рецепторы к нему имеются практически на всех клетках иммунной системы. Если рассматривать процесс ангиогенеза в более широком понимании, чем просто образование новых сосудов из предсуществующих капилляров, то все эффекты VEGF взаимно дополняют друг друга и их можно вполне логично объединить в один процесс.

Процессы ангиогенеза начинаются с усиления проницаемости, отека и сопровождаются развитием воспаления и лейкоцитарной инфильтрации. Поэтому изменение сосудистой проницаемости как для жидкостей, так и для клеток можно рассматривать как этапы одного процесса. Привлечение моноцитов из крови и незрелых миелиодных клеток из костного мозга к месту ишемии или опухоли и хемотаксические эффекты можно объяснить участием этих клеток в росте сосудов.

В случае значительного повышения содержания VEGF происходит изменение направления клеточной дифференцировки в костном мозге – усиление миелиодного ростка и подавление образования дендритных клеток. Кроме того, новообразование сосудов это не просто их рост *in situ*, но еще васкулогенез, заключающийся в привлечении эндотелиальных клеток-предшественниц из костного мозга, их мобилизации, выхода в кровь, адгезии к эндотелию, трансмиграции и внедрения в поврежденную или опухолевую ткань, причем все эти этапы находятся под контролем VEGF [93]. Механизм инволюции тимуса при злокачественных новообразованиях до конца не ясен, но, возможно, также происходит привлечение пре-Т клеток в опухоль на пути из костного мозга в тимус.

Таким образом, биологическая роль VEGF может состоять в оказании полномасштабной помощи поврежденному участку ткани с привлечением самых разных клеток, участвующих в его восстановлении. Однако в патологических ситуациях повышенная активность VEGF наносит вред организму.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ. VEGF КАК МИШЕНЬ СОВРЕМЕННОЙ АНГИОГЕННОЙ И АНТИ-АНГИОГЕННОЙ ТЕРАПИИ

Вследствие важной роли VEGF в сосудистой биологии и его высокого ангиогенного потенциала этот фактор является перспективной мишенью для лечения различных заболеваний [29]. При недостаточности кровоснабжения в тканях можно проводить ангиогенную терапию с использованием VEGF. Препарат применяется в двух формах – в виде парентерально вводимого рекомбинантного препарата или с помощью переноса генов, ответственных за синтез VEGF. Проведенные рандомизированные исследования у больных с нарушениями кровоснабжения и ишемией миокарда или конечностей указывают на хорошую переносимость, но недостаточную эффективность подобного лечения [1, 100]. Важным выводом является то, что подобное лечение не усиливает развития атеросклероза.

При патологии, связанной с избыточным ангиогенезом, находит применение антиангиогенная терапия. В качестве основной ее мишени также рассматривают VEGF. Стратегия этого лечения направлена на нейтрализацию самого VEGF, ингибирование его рецепторов или ингибирование проведения сигнала. В настоящее время такие препараты проходят клинические испытания и одобрены для лечения некоторых глазных, а также ряда онкологических заболеваний [9].

Рецепторы VEGF имеются также и на опухолевых клетках, хотя VEGF не является для большинства из них ростовым фактором. Комбинация рецепторов на опухолевых клетках различна и варьирует в зависимости от гистотипа опухоли [11, 49]. Имеются данные о том, что наличие рецепторов VEGF на клетках рака молочной железы является важной клинической характеристикой опухолевого роста и имеет прогностическое значение [2, 13]. Считается, что присутствие рецепторов VEGF также играет роль в миграции и способности трансформированных клеток к метастазированию. При этом наличие рецепторов VEGF на опухолевых клетках может как способствовать их выживанию и метастазированию [95], так и опосредовать противоположные эффекты [37]. Высказывают также предположение о том, что степень ангиогенеза и дальнейшей опухолевой прогрессии зависит не столько от локальной концентрации VEGF, сколько от баланса VEGF<sub>165</sub> и семафоринов, которые имеют общий рецептор – нейропилин, но обладают противоположным действием в отношении миграции клеток [68].

Таким образом, конечной целью антиангиогенной терапии при лечении опухолевых заболеваний являются эндотелиальные клетки или их костно-мозговые предшественники [21]. Кроме того, мишенями будут являться и сами опухоле-

вые клетки. Однако необходимо учитывать, что в общий пул ангиогенных молекул, синтезируемых опухолевыми клетками, свой вклад вносят и клетки иммунной системы. Поскольку они обладают рецепторами VEGF, то подвергаются паракринному воздействию со стороны опухоли и аутокринному – в результате собственного синтеза. В условиях избыточного ангиогенеза это может приводить к нежелательным для организма последствиям с развитием иммунодепрессивных состояний, а применение антиангиогенных препаратов в этом случае будет направлено на их устранение. С другой стороны, полная отмена действия VEGF в организме может приводить и к нежелательным эффектам, поскольку будут подавлены защитно-восстановительные и физиологические функции этого важного фактора, в том числе и в отношении иммунной системы. Таким образом, изучение взаимодействия VEGF с иммунокомпетентными клетками является чрезвычайно актуальным и позволит более целенаправленно использовать новые препараты с учетом их влияния на иммунитет.

Работа была поддержана грантами Российского Фонда Фундаментальных Исследований № 06-04-48250 и 08-04-01784, а также ФЦНТП: Госконтракт Роснауки № 02.512.11.2101.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бокерия Л.А., Аракелян В.С., Еремеева М.В., Нисневич Н.Д., Плющ М.Г., Колесник Д.И., Демидова О.А. // Клет. технол. биол. мед. 2007. № 3. С.159.
2. Жукова Л.Г., Жуков Н.В., Личиницер М.Р. // Бюлл. эксперим. биол. мед. 2003. Т. 135. С. 562.
3. Киселева Е.П. Механизмы инволюции тимуса и активации системы мононуклеарных фагоцитов при росте экспериментальных опухолей : Автореф. ... дис. д-ра мед. наук. Спб.: Институт экспериментальной медицины РАМН, 2002. 38 с.
4. Киселева Е.П. // Успехи соврем. биологии. 2004. Т. 124. С. 589.
5. Киселева Е.П., Крылов А.В., Людыно В.И., Суворов А.Н. // Бюлл. эксперим. биол. мед. 2005. Т. 139. № 5. С. 533.
6. Киселева Е.П., Суворов А.Н., Огурцов Р.П. // Изв. РАН Серия Биол. 1998. № 2. С. 172.
7. Крылов А.В. Экспрессия генов фактора роста эндотелия сосудов и тромбоспондина-1 в клетках тимуса и перитонеальных макрофагах мышей при опухолевом росте: Автореф. ... дис. канд. биол. наук. Спб.: Институт экспериментальной медицины РАМН, 2008. 21 с.
8. Кузнецова О.М., Кушлинский Н.Е., Березов Т.Т. // Биомед. химия. 2003. Т. 49. С. 360.
9. Кушлинский Н.Е., Герштейн Е.С. // Бюл. Экспер. Биол. мед. 2002. Т. 133. С. 604.
10. Старикова Э.А., Киселева Е.П., Фрейдлин И.С. // Успехи соврем. биологии. 2005. Т. 125. № 5. С. 466.
11. Степанова О.И., Крылов А.В., Людыно В.И., Киселева Е.П. // Биохимия. 2007. Т. 72. № 11. С. 1468.
12. Трапезникова М.Ф., Шибяев А.Н., Казанцева И.А., Миронова О.С., Гуревич Л.Е., Морозов А.П., Уренков С.Б., Кушлинский Н.Е. // Вестн. РАМН. 2005. № 5. С. 14.
13. Щербаков А.М., Герштейн Е.С., Анурова О.А., Кушлинский Н.Е. // Вопр. онкол. 2005. Т. 51. С. 317.
14. Avraham H.K., Lee T.-H., Koh Y., Kim T.-A., Jiang S., Sussman M., Samarel A.M., Avraham S. // J. Biol. Chem. 2003. V. 278. P. 36661.
15. Barleon B., Sozzani S., Zhou D., Weich H.A., Mantovani A., Marme D. // Blood. 1996. V. 87. P. 3336.
16. Bates D.O., Harper S.J. // Vasc. Pharmacol. 2003. V. 39. P. 225.
17. Bazzoni G., Dejana E. // Physiol. Rev. 2004. V. 84. P. 869.
18. Bottomley M.J., Webb N.J., Watson C.J., Holt P.J., Freemont A.J., Brenchley P.E. // Clin. Exp. Immunol. 1999. V. 117. P. 171.
19. Bruder D., Probst-Kepper M., Westendorf A.M., Gefers R., Bessert S., Loser K., Boehmer H., Buer J., Hansen W. // Eur. J. Immunol. 2004. V. 34. P. 623.
20. Camargo F.D., Green R., Capetenaki Y., Jackson K.A., Goodell M.A. // Nat. Med. 2003. V. 9. P. 1520.
21. Carmeliet P. // Nature. 2002. V. 438. P. 932.
22. Clauss M., Weich H., Breier G., Knies U., Rockl W., Waltenberger J., Risau W. // J. Biol. Chem. 1996. V. 271. P. 17629.
23. Dikov M.M., Ohm J.E., Ray N., Tchekneva E.E., Burlinson J., Moghanaki D., Nadaf S., Carbon D.P. // J. Immunol. 2005. V. 174. P. 215.
24. Du M., Roy K.M., Zhong L., Shen Z., Meyers H.E., Nichols R.C. // FEBS J. 2006. V. 273. P. 732.
25. Dvorak A.M., Feng D. // J. Histochem. Cytochem. 2001. V. 49. № 4. P. 419.
26. Dvorak H.F., Brown L.F., Detmar M., Dvorak A.M. // Am. J. Pathol. 1995. V. 146. P. 1029.
27. Eubank T.D., Roberts R., Galloway M., Wang Y., Cohn D.E., Marsh C.B. // Immunity. 2004. V. 21. P. 831.
28. Feistritzer C., Kaneider N.C., Sturn D.H., Mosheimer B.A., Kahler C.M., Wiederman C.J. // Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol. 2004. V. 30. P. 729.
29. Ferrara N., Kerbel R.S. // Nature. 2005. V. 438. P. 967.
30. Frantz S., Vincent K.A., Feron O., Kelly R.A. // Circ.Res. 2005. V. 96. P. 15.
31. Freeman M.R., Schneck F.X., Gagnon M.L., Corless C., Soker S., Niknejad K., Peoples G.E., Klagsbrun M. // Cancer Res. 1995. V. 55. P. 4140.
32. Gabrilovich D., Ishida T., Oyama T., Ran O., Kravtsov V., Nadaf S., Carbone D.P. // Blood. 1998. V. 92. P. 4150.
33. Gabrilovich D.I., Velders M.P., Sotomayor E.M., Kast W.M. // J. Immunol. 2001. V. 166. P. 5398.

34. Gaudry M., Bregerie O., Andrieu V., Benna J., Pocidallo M.A., Hakim J. // *Blood*. 1997. V. 90. P. 4153.
35. Gerber H.P., McMurtrey A., Kowalski J., Yan M., Keyt B., Dixit V., Ferrara N. // *J. Biol. Chem.* 1998. V. 273. P. 30366.
36. Gille H., Kowalski J., Li B., LeCouter J., Moffat B., Zinoncheck T.F., Pelletier N., Ferrara N. // *J. Biol. Chem.* 2001. V. 276. P. 3222.
37. Gray M.J., Wey J.S., Belcheva, A., McCarty M.F., Trevino J.G., Evans D.B., Ellis L.M., Gallick G.E. // *Cancer Res.* 1995. V. 65. P. 3664.
38. Hiratsuka S., Minowa O., Kuno J., Noda T., Shibuya M. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1998. V. 4. P. 9349.
39. Hormbrey E., Gillespie P., Turner K., Han C., Roberts A., McGrouther D., Harris A.L. // *Clin. Exper. Metastasis*. 2002. V. 19. P. 651.
40. Huang Y., Chen X., Dikov M.M., Novitsky S.V., Mosse C.A., Yang L., Carbone D.P. // *Blood*. – 2007. V. 110. P. 624.
41. Hur J., Yang H.M., Yoon C.H., Lee C.S., Park K.W., Kim J.H., Kim T.Y., Kim J.Y., Kang H.J., Chae I.H., Oh B.H., Park Y.B., Kim H.S. // *Circulation*. 2007. V. 116. P. 1671.
42. Iijima K., Yoshikawa N., Nakamura H. // *J. Immun. Meth.* 1996. V. 196. P. 199.
43. Jackson J.K., Minton J.A., Ho M.L., Wei N., Winkler J.D. // *J. Rheumatol.* 1997. V. 24. P. 1253.
44. Kim I., Moon S.O., Kim S.H., Kim H.J., Koh Y.S., Koh G.I. // *J. Biol. Chem.* 2001. V. 276. № 10. P. 7614.
45. Lee T.H., Avraham H., Lee S., Avraham S. // *J. Biol. Chem.* 2002. V. 277. P. 10445.
46. Lee T.H., Avraham H.K., Jiang S., Avraham S. // *J. Biol. Chem.* 2003. V. 278. P. 5277.
47. Lepelletier Y., Smaniotto S., Hadj-Slimane R., Villa-Verde D.M.S., Nogueira A.C., Dardenne M., Hermine O., Savino W. // *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2007. USA. V. 104. P. 5545.
48. Leppert D., Waubant E., Galaray R., Bunnett N.W., Hauser S.L. // *J. Immunol.* 1995. V. 154. P. 4379.
49. Li M., Yuang H., Chai H., Fisher W.E., Wang X., Brunnicardi F.C. // *Cancer*. 2004. V. 101. P. 2341.
50. Liu W., Ahmad S.A., Reinmuth N., Shaheen R.M., Jung Y.D., Fan F., Ellis L.M. // *Apoptosis*. 2000. V. 5. P. 323.
51. Lummen G., Blass-Kampmann S., Rubben H., Suhr J., Otto T. // *Onkologie*. 2000. V. 23. P. 458.
52. Luttun A., Tjwa M., Moons L., Wu Y., Angelillo-Scherer A., Liao F., Nagy J.A., Hooper A., Priller J., De Klerck B., Compennolle V., Daci E., Bohlen P., Dewerchin M., Herbert J.-M., Fava R., Matthys P., Carmeliet G., Collen D., Dvorak H.F., Hicklin D.J., Carmeliet P. // *Nat. Med.* 2002. V. 8. P. 831.
53. Maharaj A.S., Saint-Geniez M., Maldonado A.E., D'Amore P.A. // *Am. J. Pathol.* 2006. V. 168. P. 639.
54. Maier J.A.M., Morelli D., Lazzerin8i D., Menard S., Colnaghi M.I., Balsari A. // *Cytokine*. 1999. V. 11. P. 134.
55. Marti H.H., Riseau W. // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 1998. V. 95. P. 15809.
56. Matsuyama W., Kubota R., Hashiguchi T., Momi H., Kawabata M., Nakagawa M., Arimura K., Osame M. // *Immunology*. 2002. V. 106. P. 96.
57. McLaren J., Prentice A., Charnock-Jones D.S., Milligan S.A., Muller K.N., Sharkey A.M., Smith S.K. // *J. Clin. Invest.* 1996. V. 98. P. 482.
58. Mehta D., Malik A. B. // *Physiol. Rev.* 2006. V. 86. P. 279.
59. Meiron M., Anunu R., Scheinman E.J., Hashmueli S., Levi B.Z. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2001. V. 282. P. 1053.
60. Moldovan L., Moldovan N.I. // *Mechanisms of angiogenesis*. 2005. V. 94. P. 127.
61. Mor F., Quintana F.J., Cohen I.R. // *J. Immunol.* 2004. V. 172. P. 4618.
62. Muller S.M., Terszowski G., Blum C., Haller C., Anquez V., Kuschert S., Carmeliet P., Augustin H.G., Rodewald H.-R. // *PNAS*. 2005. V. 102. P. 10587.
63. Naiyer A.J., Jo D.Y., Ahn J., Mohle R., Peichev M., Lam G., Silverstein R.L., Moore M.A., Rafii S. // *Blood*. 1999. V. 15. P. 4011.
64. Neagoe P.E., Lemieux C., Sirois M.G. // *J. Biol. Chem.* 2005. V. 280. P. 9904.
65. Norrby K. // *APMIS*. 2002. V. 110. P. 355.
66. Nozawa H., Chiu C., Hanahan D. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2006. V. 103. P. 12493.
67. Ohm J.E., Gabrilovich D.I., Sempowski G.D., Kisseleva E., Parman K.S., Nadaf S., Carbone D.P. // *Blood*. 2003. V. 101. P. 4878.
68. Osada R., Horiuchi A., Kikuchi N., Ohira S., Ota M., Katsuyama Y. // *Human Pathol.* 2006. V. 37. P. 1414.
69. Owen J.L., Iragavarapu-Charyulu V., Gunja-Smith Z., Herbert L.M., Grosso J.F., Lopez D.M. // *J. Immunobiol.* 2003. V. 171. P. 4340.
70. Paulis A., Prevete N., Fiorentino I., Rossi F.W., Staibano S., Montuori N., Ragno P., Longobardi A., Liccardo B., Genovese A., Ribatti D., Walls A.F., Marone G. // *J. Immunol.* 2006. V. 177. P. 7322.
71. Pepper M.S., Ferrara N., Orci L., Montesano R. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1991. V. 181. P. 902.
72. Polverini P.J. // *Eur. J. Cancer*. 1996. V. 32A. P. 2430.
73. Praloran V., Mirshahi S., Favard C., Moukadiri H., Plouet J. // *Comptes Rendus Acad. Sci., Serie Iii, Sciences de la Vie*. 1991. V. 313. P. 21.
74. Ramanathan M., Giladi A., Leibovich S.J. // *Exp. Biol. Med.* 2003. V. 228. P. 697.
75. Robinson C.J., Stringer S.E. // *J. Cell Sci.* 2001. V. 114. P. 853.
76. Rollin S., Lemieux C., Maliba R., Favier J. et al. // *Blood* 2004. V. 103. P. 3789.
77. Safran M., Kaelin W.J. // *J. Clin. Invest.* 2003. V. 111. P. 779.
78. Salven P., Orpana A., Joensuu H. // *Clin. Cancer Res.* 1999. V. 5. P. 487.
79. Sarris M., Andersen K.G., Randow F., Mayr L., Betz A.G. // *Immunity*. 2008. V. 28. P. 402.
80. Sawano A., Iwai S., Sakurai Y., Ito M., Shitara K., Nakahata T., Shibuya M. // *Blood*. 2001. V. 97. P. 785.

81. Schmeisser A., Garlichs C.D., Zhang H., Eskafi S., Graffy C., Ludwig J., Strasser R.H., Daniel W.G. // *Cardiovas. Res.* 2001. V. 49. P. 671.
82. Senger D.R., Perruzzi C.A., Feder J., Dvorak H.F. // *Cancer Res.* 1986. V. 11. P. 5629.
83. Shen H., Clauss M., Ryan J., Schmidt A.M., Tijburg P., Borden L., Connolly D., Stern D., Kao J. // *Blood.* 1993. V. 81. P. 2767.
84. Shibuya M. // *J. Biochem. Mol. Biol.* 2006. V. 39. P. 469.
85. Sica A., Schioppa T., Mantovani A., Allavena P. // *Eur. J. Cancer.* 2006. V. 42. P. 717.
86. Stabile E., Burnett M.S., Watkins C., Kinnaird T., Bachis A., Sala A., Miller J.M., Shou M., Epstein S.E., Fuchs S. // *Circulation.* 2003. V. 108. P. 205.
87. Stabile E., Kinnaird T., Sala A., Hanson S.K., Watkins C., Campia U., Shou M., Zbinden S., Fuchs S., Kornfeld H., Epstein S.E., Burnett M.S. // *Circulation.* 2006. V. 113. P. 118.
88. Stalmans I., Lambrechts D., De Smet F., Jansen S., Wang J., Matty S., Kneer P., von der Ohe M., Swillen A., Maes C., Gewillig M., Molin D.G.M., Hellings P., Boetel T., Haardt M., Compernelle V., Dewerchin M., Plaisance S., Vlietinck R., Emanuel B., Gittenberger-de Groot A.C., Scambler P., Morrow B., Driscoll D.A., Moons L., Esguerra C.V., Carmeliet G., Behn-Krappa A., Devriendt K., Collen D., Conway S.J., Carmeliet P. // *Nat. Med.* 2003. V. 9. P. 173.
89. Staton C.A., Kumar I., Reed M.W.R., Brown N.J. // *J. Pathol.* 2007. V. 212. P. 237.
90. Tanaka A., Tsuneyama K., Mikami M., Uegaki S., Aiso M., Takikawa H. // *J. Gastroenterol. Hepatol.* 2007. V. 22. P. 1993.
91. Tordjman R., Lepelletier Y., Lemarchandel V., Cambot M., Gaulard P., Hermine O., Romeo P.-H. // *Nat. Immunol.* 2002. V. 3. P. 477.
92. Tsuchihashi S.I., Ke B., Kaldas F., Flynn E., Busuttill R.W., Briscoe D.M., Kupec-Weglinski J.W. // *Am. J. Pathol.* 2006. V. 168. P. 695.
93. Urbich C., Dimmeler S. // *Circ. Res.* 2004. V. 95. P. 343.
94. Werther K., Christensen I.J., Nielsen H.J. // *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 2002. V. 62. P. 343.
95. Wey J.S., Fan F., Gray M.J., Bauer T.W., McCarty M.F., Somcio R., Liu W., Evans D.B., Wu Y., Hicklin D.J., Ellis L.M. // *Cancer.* 2005. V. 104. P. 427.
96. Wu M.H. // *J. Physiol.* 2005. V. 569. P. 359.
97. Yang F.Y., Poon R.T., Luo Y., Cheung C.K., Ho D.W., Lo C.M., Fan S.T. // *J. Immunol.* 2004. V. 173. P. 2507.
98. Yang L., DeBusk L.M., Fukuda K., Fingleton B., Green-Jarvis B., Shyr Y., Matrisian L.M., Carbone D.P., Lin P.C. // *Cancer Cell.* 2004. V. 6. P. 409.
99. Yang R., Thomas G.R., Bunting S., Ko A., Ferrara N., Keyt B., Ross J., Jin H. // *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 1996. V. 27. P. 838.
100. Yla-Herttuala S., Rissanen T.T., Vajanto I., Hartikainen J. // *J. Am. Coll. Cardiol.* 2007. V. 49. P. 1015.
101. Young M.R.I., Petruzzelli G.J., Kolesiak K., Achille N., Lathers D.M.R., Gabrilovich D.I. // *Hum. Immunol.* 2001. V. 62. P. 332.
102. Zhang H., Issekutz A.C. // *J. Leukoc. Biol.* 2001. V. 70. P. 225.
103. Zittermann S.I., Issekutz A.C. // *J. Leukoc. Biol.* 2006. V. 80. P. 247.

## Vascular Endotelian Growth Factor and Immune sistem

© 2009 г. E. P. Kisseleva, A. V. Krylov, E. A. Starikova, S. A. Kuznetsova

*Institute of Experimental Medicine, Russian Academy of Medical Sciences, St. Petersburg, Russia*

Mechanisms responsible for the interaction between the vascular endothelial growth factor (VEGF) and immune system are discussed. Cells of the immune system produce VEGF; they are regulators of angiogenesis. These cells have specific VEGF receptors and represent targets for the VEGF activity. VEGF affects the immune system by the regulation of cellular adhesion, migration, and extravasation. Under pathology related to the excessive VEGF production, this factor deregulates hemo- and lymphopoiesis creating the basis for the development of immunodeficiency in organism. The level of the VEGF content and its activity in an organism are the main objects for manipulations in the course of angiogenic and antiangiogenic therapy. Similar preparations for treatment of patients with different disorders should be used taking into account their influence on the immune system.