

# Nowa broń onkologii



Profesor Czesław Cierniewski zajmuje się badaniami adhezji i migracji komórek

**CZESŁAW S. CIERNIEWSKI**  
Uniwersytet Medyczny w Łodzi;  
Centrum Biologii Medycznej  
Polskiej Akademii Nauk, Łódź  
cciern@zdn.am.lodz.pl

**Angiogeneza (tworzenie nowych naczyń krwionośnych) jest ważnym dla naszego organizmu procesem, który może zostać zawieszony przez nowotwory**

Wiele różnych chorób ma związek z tworzeniem nowych naczyń krwionośnych. Wśród tych patologii są m.in. uszkodzenia tkanek w wyniku niedokrwienia (np. w przypadku zawału serca). Angiogeneza jest wówczas niewystarczająca i jej zwiększenie mogłoby pozwolić choremu na szybszy powrót do zdrowia. W innych chorobach, przeciwnie: źródłem kłopotów jest nadmierna angiogeneza. Tak dzieje się np. podczas miażdżycy, dolegliwości związanych z przewlekłym stanem zapalnym (reumatoidalne zapalenie stawów, choroba Crohna), powikłań cukrzycy czy endometriozy. Jednak najbardziej spektakularnym przykładem choroby zależnej od tworzenia nowych naczyń krwionośnych jest wzrost nowotworów w formie litych guzów. Nie mają one nawet 1-2 mm wielkości, a już zaczynają wywoływać proces rozrostu naczyń włosowatych w swoim otoczeniu. Same komórki nowotworu „przełączają się” wówczas na tzw. fenotyp angiogeniczny - zaczynają wytwarzać VEGF (czynnik wzrostu śródbłonna naczyń krwionośnych) i inne cząsteczki aktywne biologicznie, które nasilają proces angiogenezy wokół nowotworu. Dlatego właśnie angiogeneza jest obecnie przedmiotem zainteresowania przede wszystkim onkologów. Uważa się, że badania nad terapią prowadzącą do zahamowania tworzenia nowych naczyń mogą doprowadzić do przełomu w leczeniu raka i innych chorób związanych z nadmierną angiogenezą.

## Etapy tworzenia naczyń

Wzrost i funkcjonowanie każdej tkanki zależą od tworzenia nowych naczyń krwiono-

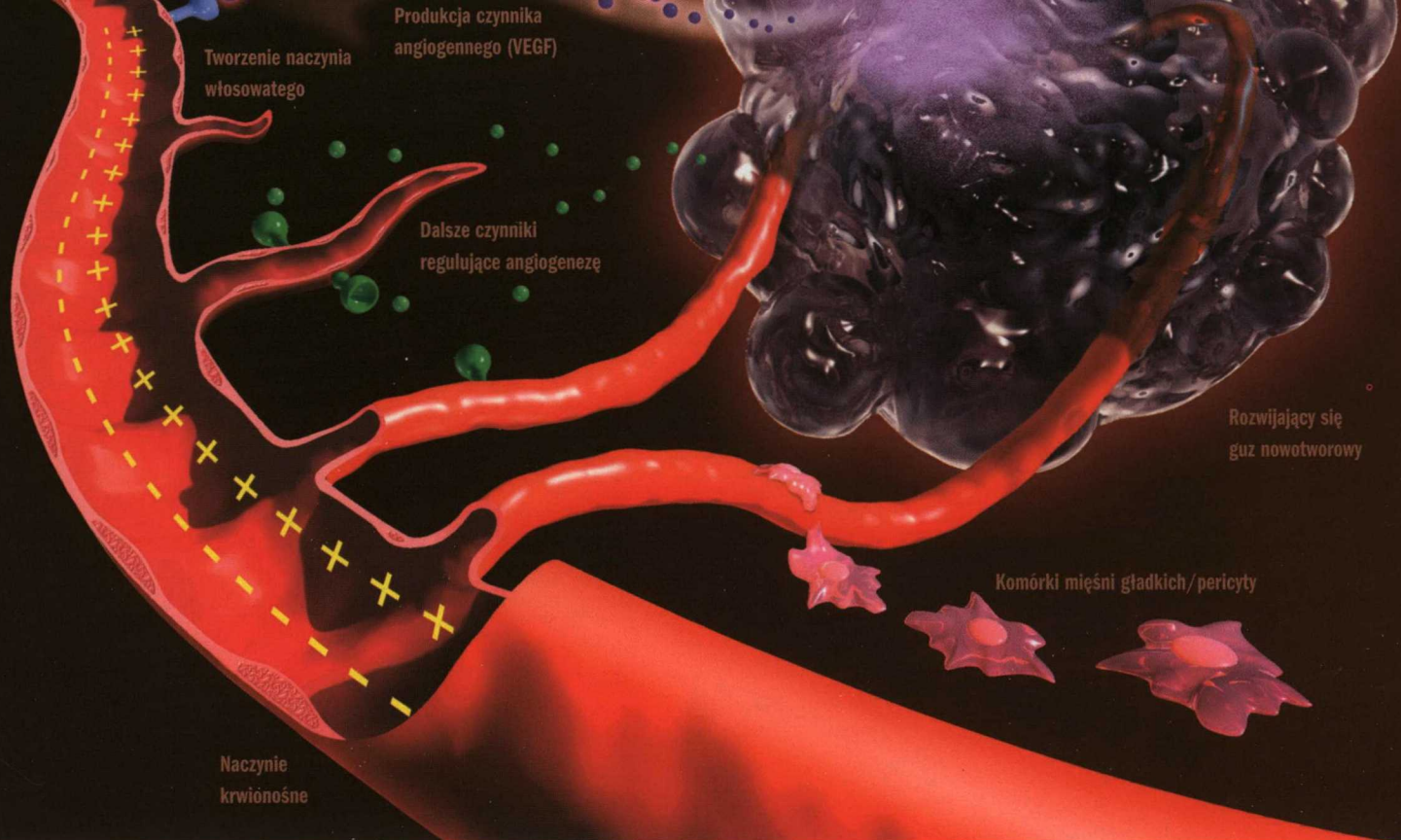
śnych, które zapewniają dostawę tlenu i substancji odżywczych oraz usuwanie produktów przemiany materii. Naczynie krwionośne jest konstrukcją dość złożoną, składa się z kilku warstw: nabłonka, który ma bezpośredni kontakt z krwią, położonych pod nim pericytów, mięśni gładkich, fibroblastów, błony podstawnej i macierzy pozakomórkowej (ECM). Proces angiogenezy nie może więc przebiegać jednoetapowo, zazwyczaj dzieli się go przynajmniej na fazy aktywacji i dojrzewania. Tworzenie nowych naczyń z istniejących wcześniej wymaga migracji komórek śródbłonna, ich namnożenia, a w końcu ponownego złożenia w rurkę, która ma zdolność do regulowania przepływu składników krwi ze światła naczynia do przestrzeni międzykomórkowej w tkankach i odwrotnie.

Podobnie jak większość procesów w naszym organizmie, angiogeneza zależy od precyzyjnie kontrolowanych oddziaływań między komórkami a macierzą. W tym procesie uczestniczą wyspecjalizowane białka w błonie komórkowej, w szczególności tzw. integryny. Działają one jak czujniki (receptory) odpowiedzialne za komunikację między ECM a wne-

**Próby rozszyfrowania tajemnic procesu angiogenezy mogą doprowadzić nas do nowych metod walki z rakiem**

trzem komórek. Integryny przesyłają sygnały, utrzymują komórkę w odpowiednim położeniu. Mają wpływ na jej kształt i wspomagają jej migrację. Podczas angiogenezy integryny odgrywają więc kluczową rolę w wędrówce komórek i tworzeniu nowych naczyń.

Uzbrojeni w tę wiedzę, opracowaliśmy ostatnio nowy sposób hamowania angiogenezy zależnej od nowotworów. Wykorzystujemy w nim DNAzyny (cząsteczki DNA wykazujące własności enzymatyczne), dzięki którym kontrolujemy produkcję 2 typów integryn w komórkach śródbłonna. Podczas doświadczeń *in vitro* nasze DNAzyny, w obecności jonów magnezu, wybiórczo cięły swoje cele - fragmenty cząsteczki mRNA integryn. W używanym przez nas modelu mysim



Wawrzyniec Święcicki

aktywność DNAzymów prowadziła do zahamowania tworzenia naczyń włosowatych i znaczącego ograniczenia wzrostu nowotworu. Wydaje się więc, że DNAzyny mogą być użyteczne jako czynniki „wyłączające” geny i mogą w przyszłości stać się elementem terapii hamującej angiogenezę *in vivo*.

### Równowaga molekularna

Angiogeneza jest kontrolowana dzięki równowadze między cząsteczkami nasilającymi tworzenie nowych naczyń i takimi, które hamują ten proces. Komórki śródbłonnka mogą „przełączyć się” w tryb angiogenezy wskutek obecności pozytywnego regulatora lub wskutek braku regulatora negatywnego. Do tej pierwszej kategorii należą cząsteczki z grupy wspomnianego już VEGF i czynnika wzrostu fibroblastów (FGF) oraz ich receptory. Zidentyfikowano już także szereg endogennych negatywnych czynników regulacyjnych. Należą do nich m.in. inhibitory proteaz zewnątrzkomórkowych, trombospondyny 1 i 2 oraz aktywne biologicznie fragmenty macierzy zewnątrzkomórkowej. Ponadto wydaje się, że podczas większości etapów angiogenezy niezbędna jest także zewnątrzkomórkowa proteoliza (niszczenie białek). Jest ona konieczna zwłaszcza podczas rozkładania błony podstawnej, migracji komórek

i przenikania ich do ECM oraz przy tworzeniu światła naczyń włosowatych. Większość enzymów proteolitycznych uczestniczących w tych procesach należy do jednej z dwóch grup: proteaz serynowych i metaloproteaz macierzy (MMPs).

Podczas wszystkich etapów angiogenezy utrzymywana jest precyzyjnie kontrolowana równowaga między aktywnością enzymów proteolitycznych i czynników je hamujących. Oznacza to, że nawet gdy obserwujemy nasiloną aktywność tych pierwszych (np. podczas migracji komórek śródbłonnka), to inhibitory („hamulce”) proteaz nadal odgrywają ważną rolę. Są one często lokalizowane w komórkach otaczających tworzące się naczynia, gdzie pełnią rolę strażników broniących przed niekontrolowanym niszczeniem białek macierzy. Ten mechanizm kontrolny ma kluczowe znaczenie, ponieważ nadmierna proteoliza mogłaby uszkodzić rusztowanie, jakim jest ECM, a niedostateczna uniemożliwiłaby z kolei np. tworzenie światła nowego naczynia.

### Angiogenne cząsteczki

Interesujące jest spostrzeżenie, że na tworzenie naczyń wpływa – pobudzająco lub hamująco – wiele fragmentów ECM i innych cząsteczek powstających podczas pozakomórkowego niszczenia białek. Najwięcej uwagi

Substancje wydzielane przez rozwijający się nowotwór pobudzają komórki śródbłonnka (oznaczone plusami na ścianie naczyń). Zaczynają one dzielić się, wędrować w kierunku guza i tworzyć nowe naczynia włosowate. Do powstania dojrzałych naczyń krwionośnych konieczna jest jeszcze obecność komórek mięśni gładkich i pericytów

## Regulacja angiogenezy

poświęcono angiostatynom i endostatynom, które są negatywnymi regulatorami powstającymi w wyniku degradacji, odpowiednio, plazminogenu i kolagenu XVIII. Fragmenty innych składników ECM wpływają na angiogenezę zarówno hamująco, jak i stymulująco. Spośród niepowiązanych z ECM substancji cząsteczki o antyangiogennej aktywności udało się uzyskać m.in. z prolaktyny, czynnika płytkowego 4, MMP-2, antytrombiny, wysokocząsteczkowego kininogenu czy kalretikuliny. Na ich znaczenie w kontroli angiogenezy wskazują porażki prób klinicznych z syntetycznymi inhibitorami metaloproteaz macierzy (MMPs). Ponieważ udowodniono, że MMPs pełnią ważną funkcję w pozakomórkowej proteolizie towarzyszącej tworzeniu nowych naczyń, uważano je za ważny cel w terapii mającej hamować angiogenezę. Niestety, próby kliniczne z inhibitorami MMPs rozczarowały naukowców i większość z nich przerwano. Jednym z możliwych wyjaśnień porażki jest teza, że MMPs są zaangażowane w tworzenie licznych naturalnych cząsteczek o właściwościach antyangiogennych. Jeśli więc „wyłączymy” MMPs, to zamiast zahamować proces tworzenia naczyń, możemy go nasilić wskutek zahamowania produkcji naturalnych elementów ograniczających angiogenezę. Innym możliwym wyjaśnieniem problemów napotkanych podczas prób klinicznych jest to, że syntetyczne inhibitory metaloproteaz nie oddziałują precyzyjnie wyłącznie z jednym typem MMP.

## Angiogeneza kontrolowana

Naukowcy badają obecnie różnorodne strategie regulowania angiogenezy. Chcą opracować metody hamowania różnych funk-



Grzegorz Suwalski

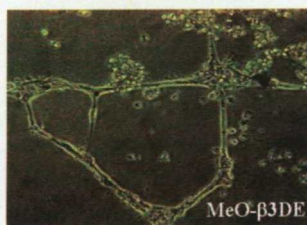
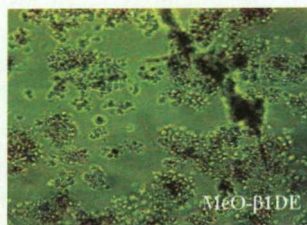
cji komórek śródbłonna podczas tworzenia nowych naczyń. Największe sukcesy osiągnięto dotychczas wykorzystując czynniki precyzyjnie hamujące wzrost tych komórek. Jednak proces angiogenezy zależy także od przylegania komórek śródbłonna do macierzy zewnątrzkomórkowej oraz od ich migracji przez macierz. Trwają poszukiwania sposobów regulowania także i tych zjawisk. Inny mechanizm, związany z hamowaniem adhezji i migracji komórek śródbłonna, związany jest z użyciem inhibitorów enzymów (proteaz), które rozpuszczają tkankę łączną. W ten sposób ułatwiają wędrówkę komórek i następujące dzięki niej powstawanie nowych naczyń.

Rosnąca wiedza o złożonej roli układów metaloproteaz macierzy i plazminy w regulacji angiogenezy otwiera przed nami nowe możliwości terapeutyczne.

Można się też spodziewać znaczących korzyści z różnych podejść klinicznych do kwestii pozakomórkowego rozkładu białek podczas tworzenia naczyń krwionośnych. ■

Obecnie największe zainteresowanie angiogenezą przejawiają onkolodzy, którzy mogą zablokować wzrost nowotworu hamując ten proces. Już dziś prowadzi się jednak próby o odwrotnym charakterze. Metodami terapii genowej naukowcy próbują nasilić tworzenie nowych naczyń krwionośnych np. w przypadkach choroby wieńcowej. Czy takie podejście zastąpi kiedyś wszczepianie by-pasów?

Podczas naszych doświadczeń DNAzyny (cząsteczki DNA wykazujące aktywność enzymatyczną) skutecznie hamowały tworzenie naczyń włosowatych (górne zdjęcie) w porównaniu z kontrolą (poniżej)



Czesław Cierniewski

## Chcesz wiedzieć więcej?

Griffioen A.W., Molema G. (2000). Angiogenesis: Potentials for Pharmacologic Intervention in the Treatment of Cancer, Cardiovascular Diseases, and Chronic Inflammation. *Pharmacol. Rev.* 52:237-268.

Cieslak M., Niewiarowska J., Nawrot M., Koziolkiewicz M., Stec W.J., Cierniewski C.S. (2002). DNAzymes to b1 and b3 mRNA downregulate expression of the targeted integrins and inhibit cell capillary tube formation in fibrin and Matrigel. *J. Biol. Chem.* 277: 6779-87.

De S., Razorenova O., McCabe N.P., O'Toole T., Qin J., Byzova T.V. (2005). VEGF-integrin interplay controls tumor growth and vascularization. *PNAS* 102: 7589-7594.