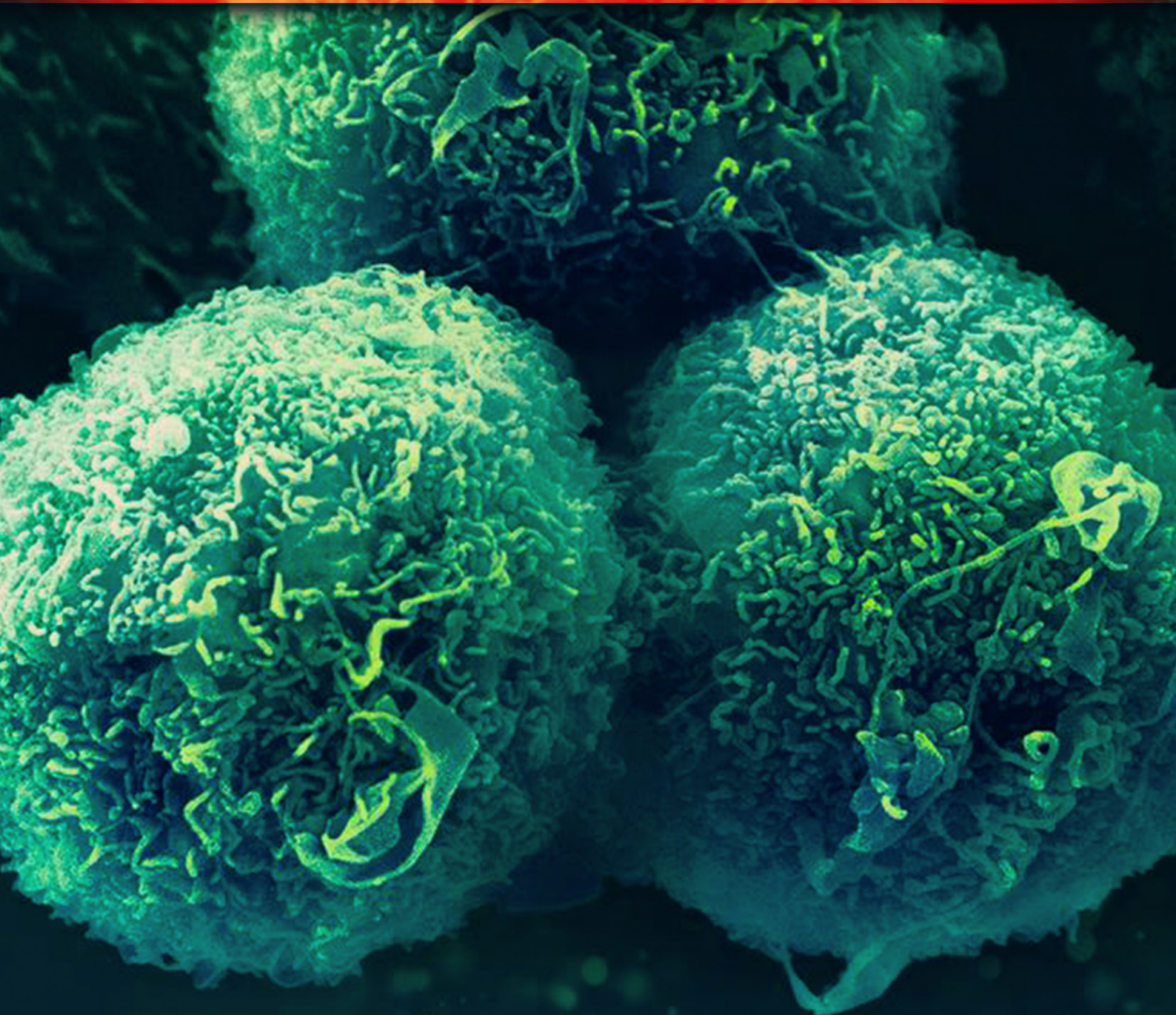


ПЕРЕВОД ИЗ **PHYSIOLOGICAL REVIEWS**

ЛИМФАТИЧЕСКИЕ СОСУДЫ

при онкологических заболеваниях



Лимфатические сосуды при онкологических заболеваниях

Перевод: Рита Савицкая

Редакция: Дарья Филатова

Оформление: Матвей Карпов

Верстка: Матвей Карпов

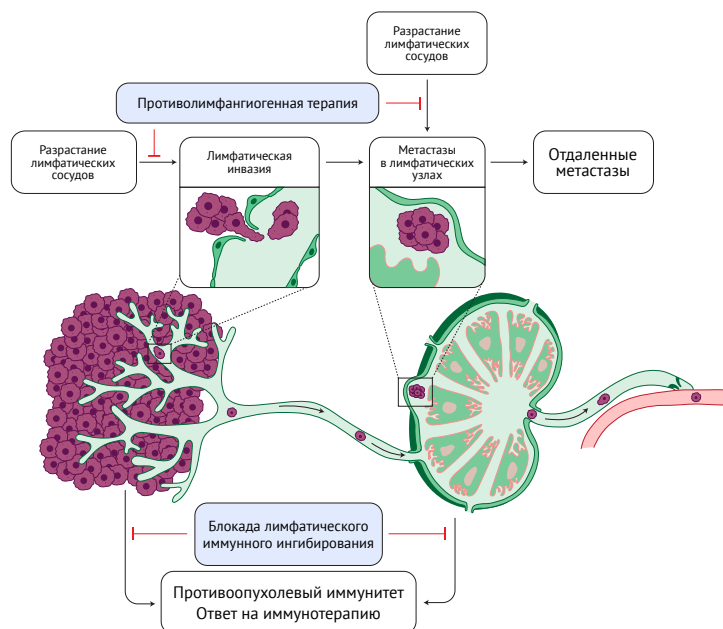
[Оригинал статьи](#)

Лимфатическая система, состоящая из начальных и собирающих лимфатических сосудов, а также лимфатических узлов, которые присутствуют почти во всех тканях человеческого тела, действует как важная система транспорта между периферическими тканями и центральным кровообращением для жидкостей, биомолекул и клеток. Таким образом, она необходима для нормальной физиологии тела, но также участвует в патогенезе различных заболеваний, в первую очередь злокачественных опухолей.

В течение последних двух десятилетий была установлена важная роль ассоциированных с опухолью лимфатических сосудов и лимфангиогенеза в формировании метастазов в лимфатических узлах, тогда как основные механизмы и связь между лимфатической и периферической диссеминацией раковых клеток изучены недостаточно.

Лимфатические сосуды также важны для взаимодействия между опухолью и хозяином: они передают молекулярную информацию от первичной или метастатической опухоли в регионарные лимфатические узлы и систему кровообращения. Недавно было показано, что лимфатические эндотелиальные клетки, особенно находящиеся в синусе лимфатических узлов, не только осуществляют транспорт антигенов, но и служат прямыми регуляторами опухолевого иммунитета и реакции на иммунотерапию, представляя опухолевые антигены и экспрессируя несколько иммуномодулирующих сигналов, включая PD-L1.

В этом обзоре суммированы недавние открытия в этой быстро развивающейся области и освещаются стратегии и проблемы терапевтического воздействия на лимфатические сосуды или определенные лимфатические функции у онкологических пациентов.



ОСНОВНЫЕ СВЕДЕНИЯ

Рост злокачественного новообразования часто связан с разрастанием лимфатических сосудов (*лимфангиогенезом*) внутри и вокруг первичной опухоли (*гистологически наиболее часто выявляется антителами к подопланину D2-40*) и лимфангиогенезом в дренирующих опухоль лимфатических узлах. Большое количество экспериментальных и клинических исследований ясно продемонстрировало, что при многих типах онкологических заболеваний плотность лимфатических сосудов, ассоциированных с опухолью, обнаружение инвазии опухолевых клеток в лимфатическую систему и внутриопухолевая экспрессия основного лимфангиогенного фактора роста VEGF-C коррелируют с метастазированием в лимфатические узлы и плохим прогнозом. Хотя лимфатические сосуды непосредственно способствуют метастазированию в лимфатические узлы, связь между лимфатическими узлами и отдаленными метастазами в настоящее время менее понятна. Важно отметить, что лимфатические сосуды играют двойственную роль в противоопухолевом иммунитете и ответе на иммунотерапию. Лимфатические эндотелиальные клетки, будучи необходимыми для опосредования транспорта опухолевых антигенов в дренирующие лимфатические узлы, где происходит праймирование лимфоцитов, экспрессируют множественные иммуноингибирующие молекулы контрольных точек, тем самым сдерживая противоопухолевые Т-клеточные ответы, как было показано в недавних исследованиях на животных. В настоящем обзоре освещаются новейшие результаты и открытые вопросы в этой динамичной области, а также обобщаются потенциальные терапевтические подходы и проблемы воздействия на лимфатическую систему и ее использования в качестве пути доставки лекарств.

1. ВВЕДЕНИЕ

Сосудистая система состоит из двух типов сосудов, которые формируют кровеносную и лимфатическую сосудистые сети. В то время как кровеносные сосуды осуществляют доставку кислорода и питательных веществ, лимфатические сосуды необходимы для всасывания липидов из кишечника, обратного транспорта холестерина и его удаления из периферических тканей, поддержания гомеостаза тканевой жидкости и иммунного надзора. Несмотря на то, что лимфатическая система опосредует в организме основные процессы, значительные усилия для изучения и характеристики ее развития, а также ее функций в норме и при патологических состояниях были предприняты лишь в последние годы.

1.1. Макро- и микроанатомия лимфатических сосудов

Система лимфатических сосудов образована сложной сетью, которая начинается на периферии ткани как начальные лимфатические сосуды, далее сливающиеся в более крупные предсобираательные и собираательные сосуды. Они несут лимфу через лимфатические узлы (ЛУ), чтобы в конце концов достичь лимфатических протоков — самых крупных лимфатических сосудов в организме, которые возвращают лимфу в венозную часть системы кровообращения (рисунок 1). У человека левый лимфатический проток, также известный как грудной проток, является наибольшим из двух протоков. Он отвечает за отток лимфы от всего тела, за исключением правых сторон

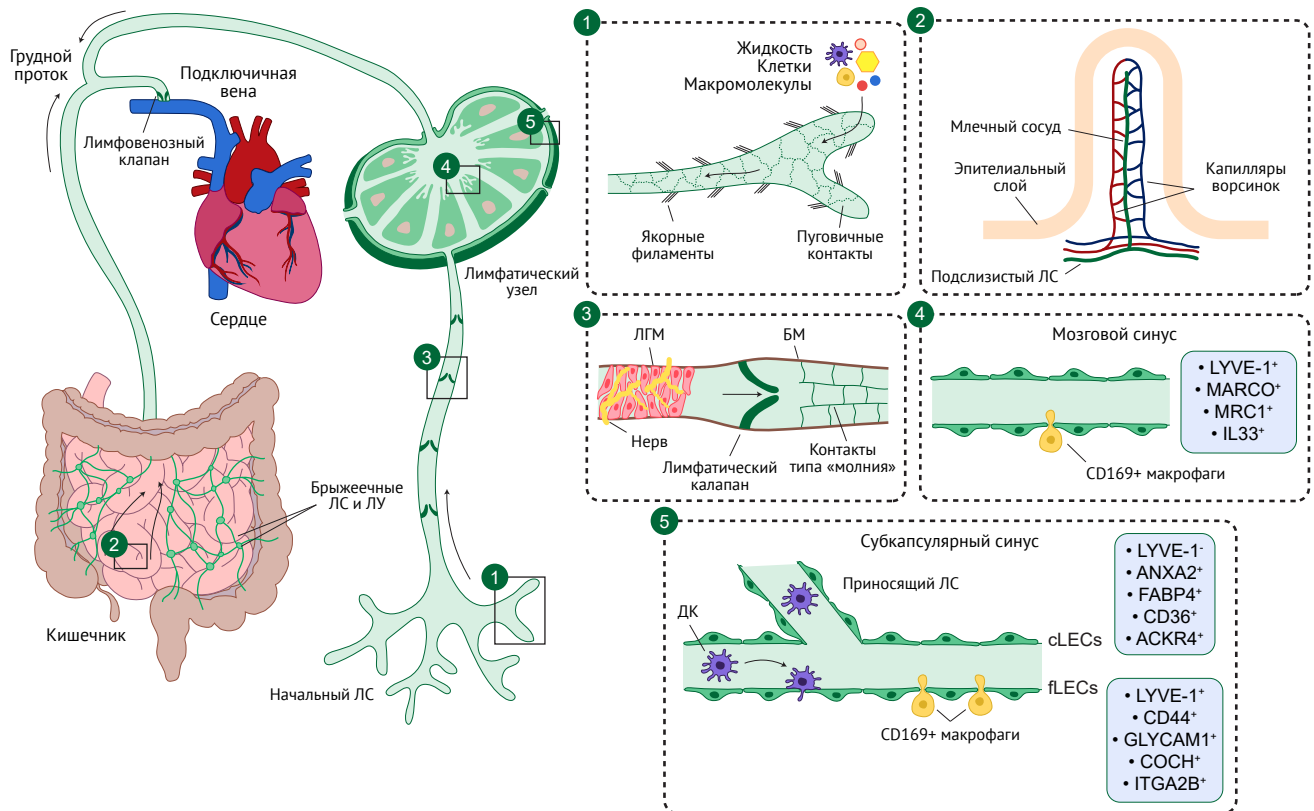


Рисунок 1 | Структура лимфатической системы млекопитающих.

Схематическое изображение лимфатической системы, состоящей из начальных лимфатических сосудов, собираательных лимфатических сосудов и лимфатических узлов (ЛУ). Начальные лимфатические сосуды поглощают жидкость и макромолекулы, накапливающиеся на периферии ткани. Затем лимфа дренируется в более крупные собираательные лимфатические сосуды (ЛС), снабженные клапанами, которые транспортируют лимфу в ЛУ. После фильтрации через несколько ЛУ лимфа возвращается в кровотока по лимфатическим протокам, сообщаясь с подключичными венами через две пары билатерально расположенных лимфенозных клапанов.

1) Начальные лимфатические сосуды состоят из одного слоя лимфатических эндотелиальных клеток (ЛЭК) в форме дубового листа; сплошная базальная мембрана отсутствует. ЛЭК свободно соединены через пуговичные межклеточные контакты, которые облегчают поглощение интерстициальной жидкости и макромолекул в периферических тканях. Якорные филаменты соединяют начальные лимфатические сосуды с внеклеточным матриксом и опосредуют открытие первичных клапанов, образованных пуговичными контактами, в ответ на повышенное интерстициальное давление.

2) Кишечные ворсинки в тонкой кишке содержат сеть кровеносных капилляров (красный/синий) и один или два центральных начальных лимфатических сосуда (зеленый), называемых млечными сосудами. Липиды и жирорастворимые витамины из пищи переупаковываются в энтероцитах, выстилающих кишечные ворсинки, в большие частицы, нагруженные триглицеридами, — хиломикроны, которые затем поступают в млечные сосуды.

3) Начальные лимфатические сосуды сливаются в более крупные собираательные сосуды. Лимфатические коллекторы образованы ЛЭК, соединенными друг с другом более плотно контактами типа «молния». Они обладают

непрерывной базальной мембраной (БМ), окружены специализированными гладкомышечными клетками (ЛГМ), обеспечивающими скоординированную сократительную активность, и иннервированы. Собираательные лимфатические сосуды снабжены внутрипросветными клапанами, обеспечивающими однонаправленный ток лимфы (стрелка указывает направление тока). Жидкость, транспортируемая с периферии через ЛС, достигает ЛУ — высокоорганизованных вторичных лимфоидных структур, которые действуют как фильтрационные барьеры и опосредуют адаптивные иммунные ответы на антигены, доставляемые с лимфой. ЛУ состоит из лимфоцитов, миелоидных клеток и стромальных клеток, включая родственные фибробластам ретикулярные клетки, эндотелиальные клетки кровеносных сосудов и ЛЭК. ЛЭК ЛУ можно классифицировать в соответствии с их расположением в ЛУ, что, в свою очередь, сильно влияет на их фенотип.

4) ЛЭК мозгового синуса образуют обращенную к синусу поверхность мозгового тая, которая содержит в основном лимфоциты и макрофаги мозгового синуса CD1691. ЛЭК мозгового синуса экспрессируют, среди прочего, MARCO, MRC1 и IL-33. Мозговые синусы в конечном итоге отводят лимфу в один эфферентный ЛС, выходящий из ЛУ.

5) ЛЭК субкапсулярного синуса делятся на потолочные (пЛЭК) и ЛЭК дна (дЛЭК). пЛЭК поддерживают структуру ЛУ и экспрессируют специфические маркеры, такие как ANXA2, FABP4, CD36 и ACKR4. дЛЭК непосредственно контактируют с антигенпредставляющими клетками (АПК), такими как дендритные клетки (ДК), которые попадают в субкапсулярный синус с афферентной лимфой. Они экспрессируют гены, связанные с воспалительными процессами, включая молекулы адгезии, такие как CD44 и Glycam1, хемокины и белок врожденного иммунитета кохлин.

головы, шеи и грудной клетки и правой верхней конечности, которые в основном дренируются правым лимфатическим протоком. Грудной проток несет не чистую лимфу, а хилус — смесь лимфы и эмульгированных жиров. Затем лимфа дренируется в большой круг кровообращения в месте слияния левой подключичной и внутренней яремной вен, откуда берет начало плечеголовная вена [1]. Начальные лимфатические сосуды, также известные как лимфатические капилляры, представляют собой высокопроницаемые, слепые тонкостенные сосуды, присутствующие почти во всех органах, за исключением бессосудистых тканей и некоторых васкуляризированных органов, таких как сетчатка и головной мозг. Начальные лимфатические сосуды состоят из одного слоя лимфатических эндотелиальных клеток (ЛЭК) и лишены непрерывной базальной мембраны или клеток сосудистой стенки, которые характерны для кровеносных капилляров (рисунки 1).

ЛЭК, образующие начальные лимфатические сосуды, имеют своеобразную форму, напоминающую дубовый лист, и слабо связаны между собой так называемыми пуговичными контактами. Это фокальные участки межклеточной адгезии, состоящие из приблизительно параллельных линейных сегментов белка адгезивных контактов сосудистого эндотелиального кадгерина (VE-кадгерина), локализованных с белками плотного контакта, такими как окклюдин, клаудин-5, zonula occludens-1 (ZO-1), молекула адгезии, селективная к эндотелиальным клеткам (ESAM), и молекула адгезии контактов (JAM)-A [2]. Пуговичные контакты могут функционировать как первичные клапаны, которые открываются в ответ на повышенное интерстициальное давление благодаря якорным филаментам, которые непосредственно соединяют начальные лимфатические сосуды с внеклеточным матриксом. По ходу лимфатического сосудистого дерева начальные лимфатические сосуды постепенно превращаются в предсобирательные сосуды, которые спорадически покрываются лимфатическими гладкомышечными клетками (ЛГМ), чтобы наконец стать собирательными сосудами. В собирательных сосудах ЛЭК теряют форму дубового листа и приобретают более плотные контакты, напоминающие застужку-«молнию», что предотвращает утечку жидкости [2]. Кроме того, собирательные сосуды имеют сплошную базальную мембрану, полностью покрыты специализированными ЛГМ и иннервированы. Для предотвращения обратного тока лимфы предсобирательные и собирательные лимфатические сосуды снабжены внутрипросветными клапанами. Они состоят из двух полулунных листочков, образованных узкоспециализированными ЛЭК, и открываются при высоком давлении лимфы перед клапаном, закрываясь, когда лимфа течет в противоположном направлении и толкает створки друг к другу; тем самым обеспечивается однонаправленный поток (рисунки 1). Вместе с активным и пульсирующим сокращением лимфатических сосудов эти структуры обеспечивают эффективный отток лимфы [3, 4].

Собирательные лимфатические сосуды заканчиваются в ЛУ. ЛУ представляют собой вторичные лимфоидные структуры, состоящие из лимфоцитов, миелоидных клеток и стромальных клеток, включая фибробластические ретикулярные клетки, эндотелиальные клетки кровеносных сосудов и ЛЭК. ЛЭК, находящиеся в лимфатических узлах, высокоспециализированы и отличаются от клеток периферического лимфатического эндотелия.

ЛЭК в ЛУ можно дополнительно классифицировать в соответствии с их расположением в ЛУ, что, в свою очередь, сильно влияет на их фенотип и функцию (см. раздел 1.2). С помощью секвенирования РНК отдельных клеток были охарактеризованы два различных типа ЛЭК, выстилающих потолок и дно субкапсулярного синуса, а также ЛЭК мозгового синуса и ЛЭК кортикальных синусов [5–7]. Из сходящихся мозговых синусов выходит единственный эфферентный лимфатический сосуд, который и соединяет лимфатический узел со следующим до достижения лимфатических протоков.

1.2. Физиологические функции лимфатических сосудов

Жидкость, макромолекулы и иммунные клетки легко попадают в русло начальных лимфатических сосудов благодаря отсутствию полноценной базальной мембраны. Сами ЛЭК дополнительно способствуют проникновению иммунных клеток за счет продукции градиента хемокина CCL21, тем самым привлекая лейкоциты, экспрессирующие CCR7 (в частности, В- и Т-лимфоциты и дендритные клетки [ДК]), которые мигрируют к начальным лимфатическим путям и проникают в них [8–10]. Сильно специализированные начальные лимфатические сосуды, располагающиеся в кишечных ворсинках и известные как млечные, ответственны за всасывание пищевых липидов из кишечника за счет поглощения хиломикронов — крупных частиц, содержащих триглицериды и богатых жирорастворимыми витаминами [11] (рисунки 1). В предсобирательных и более крупных собирательных сосудах ток лимфы регулируется внешними и внутренними факторами. Лимфа перемещается либо пассивно в ответ на сокращение поперечнополосатых мышц (например, во время ходьбы) или близлежащих артерий [12, 13] (внешние факторы), либо активно в результате спонтанных сокращений ЛГМ, окружающих лимфатические сосуды (внутренние факторы). ЛГМ сокращаются в ответ на напряжение сдвига, градиенты давления в просвете и вазоактивные факторы (например, оксид азота [NO]). Они создают согласованные волны сокращения по всей длине лимфангиона (сегмент лимфатического собирательного сосуда, содержащий два внутрипросветных клапана), тем самым продвигая лимфу вперед. Сократимость лимфатических сосудов также регулируется вегетативной нервной системой посредством прямого контакта нервов и синапсов с ЛГМ и ЛЭК, которые экспрессируют рецепторы нейромедиаторов [4].

Лимфатические сосуды постоянно подвергаются воздействию нескольких механических сил, которые регулируют поглощение интерстициальной жидкости для предотвращения образования отека. Экссудация жидкости из кровеносных сосудов создает высокое давление интерстициальной жидкости, которое постепенно снижается вблизи начальных лимфатических сосудов, которые, с другой стороны, испытывают низкое давление внутри просвета благодаря лимфатическим клапанам, расположенным ниже по ходу лимфы [14, 15]. Наличие градиента давления жидкости направляет открытие первичных клапанов в начальных лимфатических сосудах и регулирует образование лимфы. Как только лимфа сформирована, она достигает собирательных сосудов, которые также могут адаптироваться к внутрипросветному давлению, определяемому нагрузкой жидкости. Накопившаяся лим-

фа вызывает закрытие лимфатических клапанов, чтобы предотвратить обратный ток, и сокращение ЛГМ, чтобы продвигать лимфу вперед. Жидкость, транспортируемая лимфатическими сосудами с периферии, в конечном итоге достигает лимфатических узлов, где реализуются адаптивные иммунные ответы на антигены, доставляемые с лимфой. Здесь лимфа просачивается через подкапсульный и медуллярный синусы, которые сходятся в один эфферентный лимфатический сосуд.

ЛУ действуют как фильтрующие барьеры для периферических антигенов и иммунных клеток. Эта фильтрующая функция частично опосредована ЛЭК ЛУ, которые экспрессируют трансмембранный гликопротеин PLVAP, встречающийся, помимо лимфатической системы, только в фенестрированных кровеносных сосудах, и образуют сито в синусе ЛУ для регуляции проникновения лимфоцитов и антигенов в паренхиму ЛУ [16]. Хотя интегрин αIV не встречается в периферических лимфатических сосудах, некоторые ЛЭК ЛУ экспрессируют интегрин αIIb — молекулу, которая, как известно, опосредует агрегацию тромбоцитов и может участвовать в связывании фибриногена или фибрина, присутствующего в афферентной лимфе, с ЛЭК ЛУ [17–19]. Наконец, некоторые ЛЭК ЛУ имеют высокий базовый уровень экспрессии PD-L1 и также могут презентировать аутоантигены на MHC-I для предотвращения аутоиммунных реакций [20–22].

ЛЭК, выстилающие потолок ЛУ, обеспечивают его структурную поддержку, а также барьер для окружающей ткани. Они экспрессируют атипичный хемокиновый рецептор 4 (*ACKR4*, также известный как *CCRL1*), который захватывает CCL21 из просвета, что приводит к функциональному градиенту и позволяет ДК эмигрировать через дно субкапсулярного синуса [23]. Совсем недавно авторы обзора обнаружили, что потолочные ЛЭК экспрессируют гены, для которых известно, что они участвуют в поглощении модифицированных липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) (например, *CD36*) и действительно могут удалять ЛПНП из лимфы [5]. Второй тип ЛЭК, населяющих суб-

капсулярный синус, — это донные ЛЭК. Эти клетки вступают в непосредственный контакт с антигенпрезентирующими клетками (АПК), проникающими в субкапсулярный синус с афферентной лимфой. Они экспрессируют гены, связанные с воспалительными процессами, включая молекулы адгезии, такие как CD44 и Glycam1, хемокины и белок кохлин, связанный с врожденным иммунитетом [5, 24]. Донные ЛЭК также экспрессируют CCL20, который поддерживает лимфоциты врожденного иммунитета в субкапсулярном синусе [6, 25]. Следует отметить, что донные ЛЭК подкапсульного и мозгового синусов обеспечивают выживание макрофагов CD1691, секретируя колониестимулирующий фактор-1 (*CSF1*) [26]. Кроме того, макрофаги CD1691 поддерживает также взаимодействие экспрессирующих RANK ЛЭК и экспрессирующих RANKL мезенхимных клеток. Действительно, делеция RANK в LEC приводит к дефектам накопления макрофагов CD1691 при формировании ЛУ или нарушении репопуляции после истощения [27]. Макрофаги CD1691 играют важную роль в иммунитете, поскольку они ответственны за захват патогенов из лимфы для инициации специфических иммунных ответов.

Наконец, существуют также ЛЭК кортикального синуса (ранее описанные как «лимфатический лабиринт»), которые образуют лимфатические структуры со слепыми окончаниями вблизи венул с высоким эндотелием (ВВЭ) и связаны с мозговыми синусами [28]. Было описано, что эти структуры служат выходными воротами для наивных лимфоцитов, достигающих ЛУ через ВВЭ [5, 28].

1.3. Участники и факторы лимфангиогенеза

Лимфатические сосуды впервые появляются во время эмбрионального развития, когда субпопуляция эндотелиальных клеток в кардинальной вене начинает экспрессировать лимфатические маркеры, отделяется от стенки сосуда и мигрирует в мезенхиму, образуя первичные лимфатические мешки и раннее лимфатическое сосудистое сплетение, которое интенсивно пролиферирует, растет, ветвится и созревает. В то время как венозные эндотели-

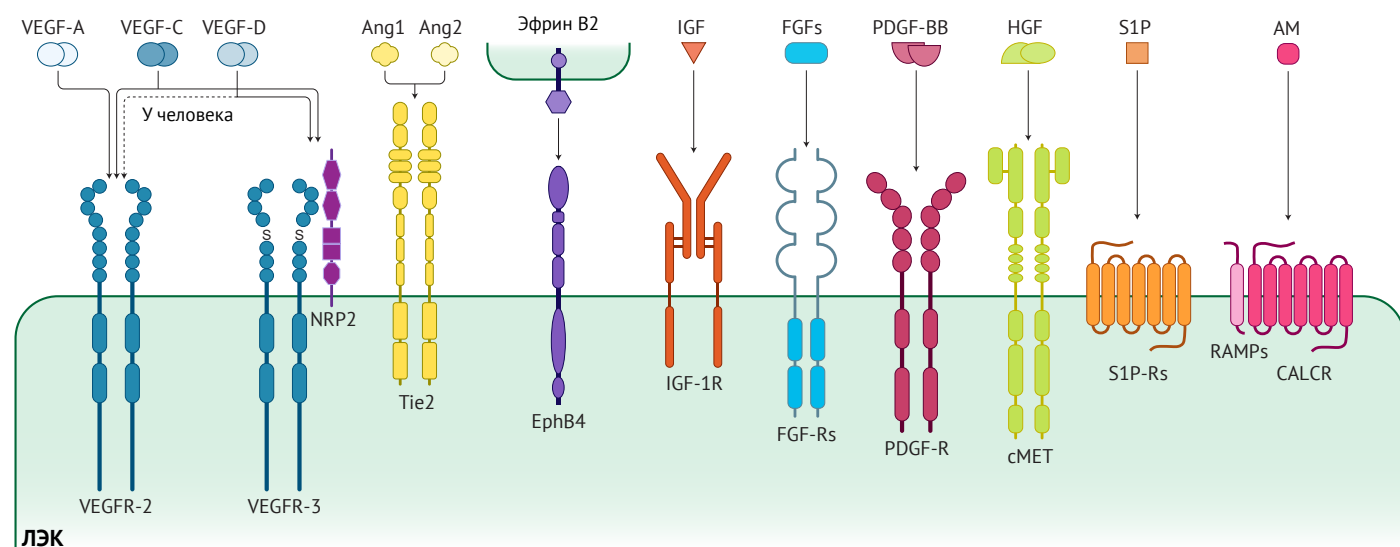


Рисунок 2 | Рецепторы, опосредующие лимфангиогенез.

Схема, показывающая основные медиаторы лимфангиогенеза с растворимыми лигандами или взаимодействующими белками, присутствующими вне клетки, и соответствующими рецепторами, экспрессируемыми на поверхности лимфатическими эндотелиальными клетками (ЛЭК). Факторы роста из воспалительных, мезенхимных клеток или других типов клеток, включая опухолевые клетки, активируют свои рецепторы на поверхности ЛЭК

и запускают несколько сигнальных каскадов, которые регулируют пролиферацию, миграцию и прорастание ЛЭК, что приводит к ремоделированию и расширению сети лимфатических сосудов. VEGF-C и VEGF-D — протеолитически процессированные биологически активные формы этих белков. CALCR — рецептор кальцитонина; HGF — фактор роста гепатоцитов; S1P — сфингозин-1-фосфат; AM — адреномедуллин.

альные клетки в ходе эмбриогенеза изначально считались единственным источником ЛЭК [31], результаты экспериментов по отслеживанию генетических клонов позволяют предположить, что формированию сети лимфатических сосудов также способствуют невенозные лимфатические предшественники, такие как вторичное сердечное поле [32–34], гемогенный эндотелий [35, 36] и кровеносные капилляры в дерме [37].

Хотя во время эмбрионального развития обычно происходит расширение лимфатической сети, лимфангиогенез — рост новых лимфатических сосудов — у здоровых взрослых практически отсутствует. Однако он может индуцироваться при патологических состояниях, когда лимфангиогенез становится активным участником патогенеза ряда заболеваний, включая хронические воспалительные заболевания, нарушение заживления ран и злокачественные опухоли. Поэтому неудивительно, что было предпринято много усилий для изучения и понимания молекул и факторов, которые активно и пассивно влияют на лимфангиогенез. В настоящем обзоре собраны данные о наиболее известных лимфангиогенных сигнальных молекулах и их рецепторах (рисунок 2).

1.3.1. VEGFR-3

Факторы роста эндотелия сосудов (VEGF)-C и VEGF-D являются наиболее мощными и лучше всего охарактеризованными лимфангиогенными факторами роста. Как VEGF-C, так и VEGF-D образуются из белков-предшественников, содержащих дополнительные последовательности на N- и C-концах, которые необходимо удалить протеолитическим расщеплением, чтобы повысить аффинность связывания белка с рецептором фактора роста эндотелия сосудов (VEGFR)-3 и VEGFR-2 [38–40]. VEGF-C необходим для формирования лимфатической системы во время эмбрионального развития, в то время как VEGF-D — нет [41–43]. Это было доказано с помощью эксперимента на мышах с нокаутом VEGF-C, у которых не развиваются какие-либо лимфатические структуры, поскольку ЛЭК не могут мигрировать из кардинальной вены для формирования первых лимфатических сосудов [41]. Напротив, у взрослых мышей абляция VEGF-C хорошо переносится существующими лимфатическими сосудами даже в течение длительных периодов времени, за исключением млечных и менингеальных лимфатических сосудов, которым необходимо постоянное поступления VEGF-C [44, 45]. Хотя основным регулятором лимфангиогенеза при физиологических и патологических состояниях служит VEGF-C [46, 47], как VEGF-C, так и VEGF-D могут связываться с VEGFR-3 и активировать его. Тем не менее, VEGF-D, по-видимому, играет незначительную роль в физиологическом лимфангиогенезе. Фактически мыши с дефицитом VEGF-D развиваются в основном нормально и имеют функциональные лимфатические сосуды; незначительные дефекты присутствуют только в коже, где начальные лимфатические сосуды меньше и менее эффективно поглощают молекулы с высокой молекулярной массой (например, декстраны массой 2000 кДа). Кроме того, немного снижено количество лимфатических сосудов, прилегающих к бронхиолам в легких [42, 48]. Следует отметить, что у мутантов рыбок данио *vegfd-null* наблюдаются дефекты лимфангиогенеза в лицевой области, не зависящие от функции *vegfc* [49], тогда как у головастиков *Xenopus* нокаунт VEGF-D нарушает рост

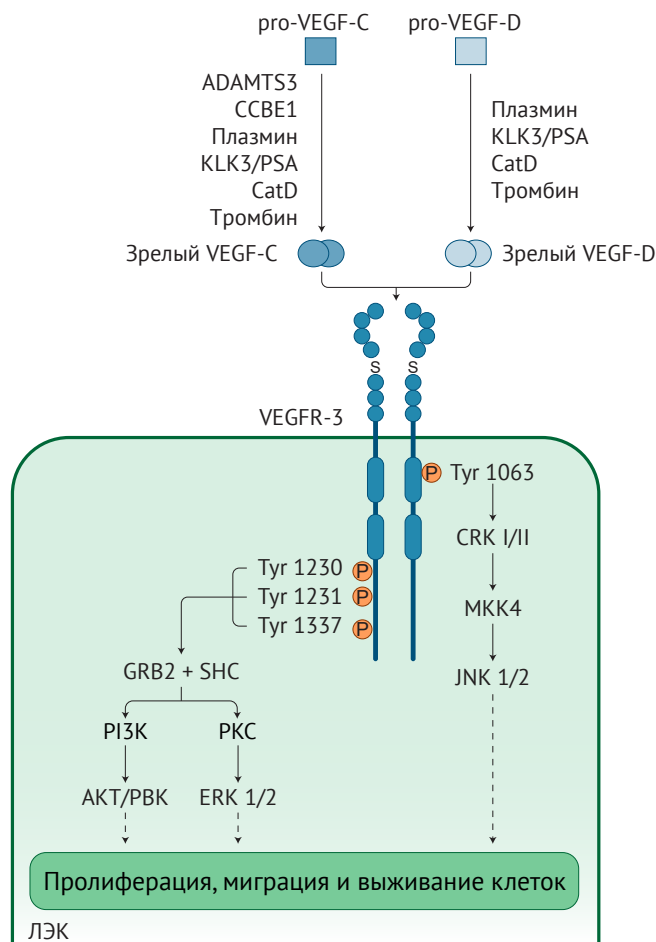


Рисунок 3 | Фосфорилирование по тирозину рецептора фактора роста эндотелия сосудов (VEGFR)-3 и передача сигналов.

Схематическое изображение опосредованной VEGF-C/VEGF-D активации VEGFR-3. Поэтапный протеолитический процессинг гомодимеров VEGF-C (с участием ADAMTS3, CCBE1, плазмينا, KLK3/PSA, CatD, тромбина) или VEGF-D (с участием плазмينا, KLK3/PSA, CatD, тромбина) приводит к постепенному увеличению сродства к VEGFR-3. Связывание VEGF-C или VEGF-D индуцирует фосфорилирование тирозина (Tyr) (P в кружке) VEGFR-3 в различных положениях и приводит к дальнейшей передаче сигнала через пути JNK1/2, фосфатидинозитол-3-киназы (PI3K)/АКТ и ERK1/2, регулирующие выживаемость, пролиферацию и миграцию клеток. ЛЭК — лимфатические эндотелиальные клетки.

лимфатических сосудов и миграцию [50]. Таким образом, хотя VEGF-D, по-видимому, необязателен для развития лимфатических сосудов, он, скорее всего, играет контекст-специфическую и/или компенсаторную роль в лимфангиогенезе [42]. Тем не менее VEGF-D действует как сильный индуктор лимфангиогенеза при патологических состояниях. Например, повышение уровня VEGF-D обнаруживается в злокачественных новообразованиях и способствует опухолевому лимфангиогенезу [51, 52].

VEGFR-3 необходим для развития сердечно-сосудистой системы до появления лимфатических сосудов, и у мышей с дефицитом VEGFR-3 наблюдается ранняя летальность [53]. Исследования мышей *Chu*, которые несут мутации в домене тирозинкиназы, или мышей с мутациями в лиганд-связывающем домене VEGFR-3 показали, что активность VEGFR-3 необходима во время онтогенетического лимфангиогенеза [54, 55]. Эти данные и важность VEGFR-3 для онтогенетического развития лимфатических сосудов подтверждается экспериментами с условной делецией VEGFR-3 [56].

VEGFR-3 в основном экспрессируют ЛЭК, хотя его экспрессия также была обнаружена в некоторых макрофа-

гах и циркулирующих моноцитах, а также в эндотелии кровеносных сосудов при различных патологических состояниях [57–61]. Связывание с лигандами вызывает димеризацию, фосфорилирование и активацию доменов тирозинкиназы в цитоплазматическом участке, что приводит к активации нижестоящих компонентов сигнальных путей (рисунки 3). Фосфорилирование по тирозину приводит к рекрутированию адаптерных белков CRK (*CT10 regulator of kinase*), SHC (*SRC homology domain containing*) и GRB2 (*growth factor receptor-bonus protein 2*). Вместе с фосфатидилинозитол-3-киназой (*PI3K*) они активируют нижестоящие сигнальные пути, которые включают консервативный путь PI3K-АКТ (*протеинкиназа B*) и пути митоген-активируемой протеинкиназы (*MAPK*), ERK1/2 и JNK (*c-Jun NH2-terminal kinase*). Активация этих сигнальных каскадов способствует пролиферации, миграции и выживанию ЛЭК [62–65].

Опосредованная VEGF-C/-D активация VEGFR-3 является характерной чертой патологического лимфангиогенеза, который наблюдается при некоторых воспалительных и онкологических заболеваниях. Важно отметить, что высокие уровни VEGF-C и/или VEGF-D обнаружены в ряде опухолей человека и положительно коррелируют с повышенной плотностью лимфатических сосудов [66–69]. Соответственно, экспериментальная индукция VEGF-C или VEGF-D сильно способствует лимфангиогенезу, ассоциированному с опухолью [51, 52, 69, 70].

1.3.2. Нейропиплин 2.

Трансмембранный гликопротеин 1 типа нейропиплин 2 (*NRP2*) в высокой степени экспрессируется лимфатическими эндотелиальными клетками. Он не только служит рецептором для семафоринов класса III, но и связывается с VEGF-C/-D и действует как корецептор для VEGFR-3 [71]. Связывание VEGF-C/-D с NRP2 индуцирует образование комплекса с VEGFR-3, который, в свою очередь, активируется и усиливает лимфангиогенез [72–74]. Данные об участии NRP2 в лимфангиогенезе получены на мышах с нокаутом NRP2, у которых недоразвиты лимфатические сосуды и капилляры [71]. Кроме того, антитело, блокирующее NRP2, ингибировало VEGF-C-индуцированную миграцию ЛЭК и снижало связанный с опухолью лимфангиогенез во многих моделях злокачественных новообразований у мышей [75–77].

1.3.3. VEGFR-2.

Другими важными участниками лимфангиогенеза являются сосудистый эндотелиальный фактор роста А (*VEGF-A*) и его рецептор VEGFR-2. Несмотря на то, что VEGFR-2 в основном известен как мощный медиатор ангиогенеза, он также экспрессируется ЛЭК и выполняет лимфангиогенные функции. Конститутивная делеция *Vegfr-2* в лимфатическом эндотелии приводит к развитию гипопластических, но функциональных лимфатических сосудов у эмбрионов и взрослых мышей [78]. *In vitro* связывание VEGF-A с VEGFR-2 способствует пролиферации, миграции и образованию капилляроподобных структур ЛЭК [79–81] с участием Notch-сигналинга [82]. Важно отметить, что VEGF-A может индуцировать лимфангиогенез в опухолях, при воспалении и заживлении ран, а также после доставки с помощью аденовирусного вектора в нормальную кожу уха мыши [83–88]. Несмотря на более низкую аффинность, чем VEGFR-3, VEGFR-2 также может связываться с протеолитически процессированными

формами VEGF-C и — у человека — VEGF-D, и активироваться ими [89–91].

1.3.4. Рецепторы.

Тирозинкиназные рецепторы Tie1 и Tie2 вместе с их лигандами, ангиопоэтинами, модулируют созревание и формирование паттерна кровеносных сосудов как в физиологических, так и в патологических условиях. Оба рецептора также экспрессируются на низком уровне в ЛЭК и, как было показано, вносят вклад в формирование паттерна лимфатических сосудов. Например, понижение уровня Tie1 вызывает нарушение формирования структуры эмбриональных лимфатических сосудов, а дефекты ангиопоэтина (Ang)2 приводят к гипоплазии начальных лимфатических сосудов. Интересно, что во взрослой ткани *in vivo* в экспериментальных моделях опухолей гиперэкспрессия Ang1, Ang2 и Ang3/Ang4 способствует лимфангиогенезу [92, 93]. Более того, Ang2-сигналинг с участием рецептора Tie2 регулирует преобразование межклеточных контактов типа застеежки-«молнии», в пуговичные в начальных лимфатических сосудах после рождения [94].

1.3.5. EphB4.

Лимфатический эндотелий экспрессирует эфрин B2 и его рецептор — EphB4 (*ephrin type B receptor 4*). Активация этого сигнального пути подавляет путь Ras, поддерживает лимфатические контакты и регулирует VEGF-C-индуцированный сигналинг путем модулирования интернализации VEGFR-3 и нижестоящих компонентов сигнальных путей [97–99]. Было показано, что сигнальный путь EphB4-EFNB2 в эндотелиальных клетках может инициировать ангиогенез и лимфангиогенез во время роста опухоли и ее метастазирования [99–101].

1.3.6. IGF-1R и IGF-2R.

Другим важным сигнальным путем, стимулирующим лимфангиогенез, является путь инсулиноподобного фактора роста (IGF)1/2-IGF-1R и IGF-2R. Оба рецептора экспрессируются человеческими и мышинными ЛЭК и реагируют на прямую стимуляцию IGF-1 и IGF-2 *in vivo*, расширяя лимфатическую сеть, а *in vitro* увеличивая пролиферацию и миграцию ЛЭК и фосфорилирование ERK, АКТ и киназы Src [102]. Сообщалось о положительной корреляции между экспрессией IGF-1R и плотностью лимфатических сосудов при колоректальном раке человека. Более того, в мышинной модели колоректального рака с ксенотрансплантатом введение IGF-1 индуцировало лимфангиогенез [103].

1.3.7. FGFR-1.

Фактор роста фибробластов-2 (*FGF-2*) может способствовать росту лимфатических сосудов путем прямого взаимодействия со своим рецептором FGFR-1 на ЛЭК. Интересно, что FGF-2 может также связываться с рецептором гиалуроновой кислоты LYVE-1 на клеточной поверхности, который на высоком уровне экспрессируется начальными лимфатическими сосудами, и такое взаимодействие может быть необходимо для оптимальной индукции лимфангиогенеза с помощью FGF-2 [104]. FGF-2 также проявляет пролимфангиогенную активность в роговице мыши, в которой при физиологических условиях сосуды отсутствуют, — вероятно, за счет индукции секреции VEGF-C эндотелиальными и периваскулярными клетками кровеносных сосудов [105, 106]. Участие FGF-2

в опухолевом лимфангиогенезе было обнаружено на мышинной модели фибросаркомы, где гиперэкспрессия FGF-2 опухолевыми клетками значительно стимулировала рост внутриопухолевых лимфатических сосудов [107]. Кроме того, в модели ксенотрансплантата рака легкого введение FGF-2-нейтрализующего антитела снижало плотность лимфатических сосудов в опухолевой ткани [108].

1.3.8. PDGFR.

Семейство тромбоцитарных факторов роста (PDGF) представляет собой еще одно семейство белков, индуцирующих рост лимфатических сосудов. Действительно, в роговице мыши он вызывается воздействием PDGF-AA, -AB и -BB, которые связываются с PDGFR-a и PDGFR-b, экспрессируемыми ЛЭК [109]. Сообщалось, что PDGF-BB является прямым лимфангиогенным фактором, действующим без участия пути VEGF-C/-D/VEGFR-3 [109]. В контексте злокачественных опухолей избыточная экспрессия PDGF-BB в сингенной мышинной модели фибросаркомы индуцирует лимфангиогенез в опухоли и метастазирование с участием лимфатической системы; оба эффекта ослабляются при блокаде PDGFR [109].

1.3.9. c-Met.

В культуре ЛЭК экспрессируют когнатный рецептор фактора роста гепатоцитов (HGF) c-Met (или рецептор фактора роста гепатоцитов), который *in vivo* активируется в лимфатических сосудах при действии воспалительных стимулов или при опухолевых состояниях [110]. Примечательно, что гиперэкспрессия HGF у трансгенных мышей или его введение в кожу индуцирует гиперплазию лимфатических сосудов, указывая на прямое участие HGF/c-Met в лимфангиогенезе [110–112]. Кроме того, HGF может способствовать экспрессии VEGF-C/-D, таким образом косвенно участвуя в лимфангиогенезе [112].

1.3.10. S1P.

Биологически активный липид сфингозин-1-фосфат (S1P) действует на рецепторы S1P, связанные с G-белком (S1PR), и регулирует различные системы органов. В ЛЭК S1P действует как медиатор лимфангиогенеза: было показано, что он индуцирует миграцию, прорастание, образование капиллярноподобных трубок и внутриклеточную мобилизацию Ca²⁺ в культивируемых ЛЭК человека *in vitro* и в тесте с матригелем *in vivo* [113]. Более того, сообщалось, что S1P способствует ангиогенезу и лимфангиогенезу и усиливает прогрессию рака молочной железы [114]. ЛЭК не только реагируют на S1P, но и сами вырабатывают его в большом количестве благодаря экспрессии сфингозинкиназ Sphk1 и Sphk2, которые опосредуют фосфорилирование сфингозина — молекулярной основы сфинголипидов — до S1P [115], и транспортера Spsn2, отвечающего за секрецию S1P [116].

1.3.11. CALCRL.

Рецептор CALCRL (*calcitonin receptor-like receptor*) представляет собой рецептор, связанный с G-белком, который принадлежит к семейству белков, связывающих секретинные пептидные гормоны [117]. CALCRL обладает высоким сродством к пептиду, связанному с геном кальцитонина (CGRP), если сам он ассоциирован с RAMP1, и преимущественно связывается с аденомедуллином (AM), если ассоциирован с RAMP2 или RAMP3 [118]. ЛЭК экспрессируют как CALCRL, так и RAMP2, а нокаут AM, CALCRL или RAMP2 у мышей приводит к образованию аномальных лимфатических сосудов во время эмбрионального развития и снижению пролиферации ЛЭК в середине беременности [119]. У взрослых мышей индуцибельная полная делеция CALCRL приводит к лимфатической недостаточности нескольких лимфатических

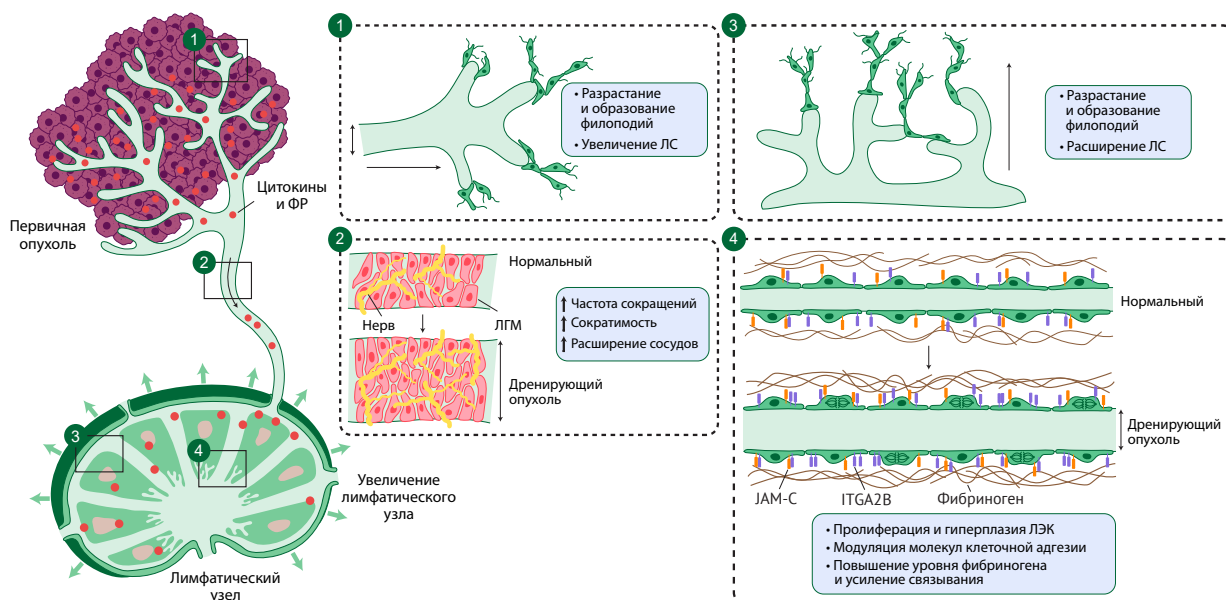


Рисунок 4 | Лимфангиогенез, индуцированный опухолью.

Факторы роста (ФР) и цитокины, продуцируемые опухолевыми клетками, ассоциированными с опухолью воспалительными клетками или мезенхимными клетками, способствуют лимфангиогенезу, что приводит к увеличению плотности перитуморальных и внутриопухолевых лимфатических сосудов (ЛС) (1), увеличению дренирующих опухоль собирательных сосудов (2) и ремоделированию лимфатических сосудов в дренирующих опухоль лимфатических узлах (ЛУ) (3, 4). 1) Расширение лимфатической сети в месте первичной опухоли приводит к повышению количества ЛС, которые могут быть увеличены и иметь филоподии.

2) Собирательные сосуды, дренирующие опухоль, увеличиваются и покрываются большим количеством гладкомышечных клеток (ЛГМ), усиливается их иннервация.

3) Как и в случае с первичной опухолью, в дренирующей опухоль ЛУ также происходит перестройка лимфатической сети, которая увеличивается, ветвится и формирует филоподии

4) Лимфатические эндотелиальные клетки (ЛЭК) пролиферируют, активируются и изменяют экспрессию молекул адгезии (например, усиление экспрессии интегрина *alb* [ITGA2B] или подавление экспрессии молекулы адгезии [JAM)-C]), что позволяет им более прочно связываться с белками внеклеточного матрикса, например, фибриногеном.

сосудов [120], тогда как индуцибельная специфическая делеция *CALCRL* в ЛЭК вызывает лимфангиэктазию в тонкой кишке [121], что указывает на важность этого белка для поддержания лимфатических сосудов. Высокий уровень AM отмечен в ряде опухолей человека [122, 123], а гиперэкспрессия AM в модели карциномы легкого у мышей коррелировала со значительным увеличением лимфангиогенеза, связанного с опухолью и ЛУ, а также способствовала метастазированию в отдаленные органы [124].

2. MORFOЛОГИЧЕСКИЕ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЛИМФАТИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ, ВЫЗВАННЫЕ ОПУХОЛЬЮ

2.1. Ремоделирование лимфатических сосудов в опухолях

У взрослых лимфатические сосуды в значительной степени пребывают в состоянии покоя. Однако при воздействии цитокинов и факторов роста, выделяемых, например, опухолевыми клетками или лейкоцитами, они активируются и могут расширяться, увеличиваться и расти [125]. Повышенная плотность лимфатических сосудов наблюдается при различных опухолях человека, таких как колоректальный рак, карцинома молочной железы, меланома и холангиокарцинома, и часто коррелирует с плохим прогнозом, низкой выживаемостью пациентов и метастазированием, как описано в разд. 3 [67]. При некоторых типах злокачественных новообразований у человека и в доклинических моделях опухолей лимфангиогенез происходит как в области, окружающей опухоль, так и в растущей опухолевой массе в результате действия факторов, секретируемых в микроокружение опухоли (МОО) (рисунок 4). Фактически сообщалось, что опухолевые клетки, а также лейкоциты, в частности, макрофаги, и стромальные клетки в МОО вырабатывают и секретируют VEGF-C и VEGF-D, которые непосредственно вызывают пролиферацию, разрастание и увеличение начальных лимфатических сосудов [126–128]. Наряду с увеличением количества этих лигандов, в некоторых исследованиях также было показано усиление экспрессии их рецептора VEGFR-3 в лимфатических сосудах при различных солидных опухолях человека, включая колоректальный рак, рак легких и рак молочной железы [57, 129, 130]; это позволяет предположить, что эти сосуды могут быть более склонными реагировать на лимфангиогенные сигналы.

Важность VEGFR-3-сигналинга в ассоциированном с опухолью лимфангиогенезе подтверждается серией исследований с использованием низкомолекулярных ингибиторов, блокирующих антител, аденовирусных векторов или моделей трансгенных мышей, продуцирующих растворимый VEGFR-3. Эти исследования выявили подавление расширения лимфатической сети при нескольких типах злокачественных опухолей у мышей, включая колоректальный рак, рак предстательной железы, меланому, рак молочной железы и плоскоклеточный рак [57, 58, 129, 131–134]. При этом опухолеспецифическая активация, аденовирусная эктопическая экспрессия и трансгенная гиперэкспрессия VEGF-C или VEGF-D эффективно стимулировали ассоциированный с опухолью лимфангиогенез в мышиных моделях [51, 57, 70, 129, 135–138].

Помимо классических факторов лимфангиогенеза, рассмотренных в разд. 1, ассоциированное с опухолью воспаление, также, вероятно, способствует лимфангиогенезу, поскольку ряд воспалительных цитокинов связан с активацией роста лимфатических сосудов. Например, сообщалось, что TNF-α положительно регулирует лимфангиогенез напрямую, индуцируя пролиферацию и миграцию ЛЭК, которые экспрессируют TNF1R [139, 140], и косвенно вызывая секрецию VEGF-C макрофагами, ассоциированными с опухолью [140]. Аналогичным образом, IL-1β индуцировал экспрессию VEGF-C в ассоциированных с опухолью макрофагах и тем самым косвенно стимулировал рост и функцию лимфатических сосудов [141, 142]. Было также обнаружено, что IL-6 — провоспалительный цитокин, секретируемый Т-клетками и макрофагами, — участвует в ассоциированном с раком лимфангиогенезе путем повышения экспрессии VEGF-C [143]. Кроме того, воспаление может привести к повышению уровня ЦОГ-2 в различных типах клеток. ЦОГ-2 представляет собой фермент, катализирующий превращение арахидоновой кислоты в простагландины, которые, в свою очередь, могут активировать VEGF-C, способствуя лимфангиогенезу, связанному с опухолями [144–146]. Источником еще одного лимфангиогенного стимула в опухоли могут стать внеклеточные везикулы (ВВ). ВВ определяются как субклеточные заключенные в мембрану частицы диаметром от 50 нм до нескольких микрометров; в организме они участвуют в молекулярной межклеточной коммуникации на больших расстояниях [147, 148]. ВВ выделяются практически из всех клеток организма, но опухолевыми клетками продуцируются в больших количествах. ВВ содержат ДНК, РНК, белок, жирные кислоты и другие метаболиты, вырабатываемые опухолевыми клетками и способные модулировать клеточную подвижность, (лимф-) ангиогенез и иммунные реакции [149].

2.1.1. Изменения лимфатических сосудов в области первичной опухоли

Ассоциированный с опухолью лимфангиогенез может происходить как в первичной опухолевой массе, так и/или на периферии опухоли, приводя к формированию внутриопухолевых и перитуморальных лимфатических сосудов, соответственно (рисунок 4). Внутриопухолевые лимфатические сосуды обычно имеют небольшой калибр и на гистологических препаратах часто выглядят спавшимися, — вероятно, из-за высокой механической силы сжатия, создаваемой пролиферирующими опухолевыми клетками, которые могут привести к коллапсу некоторых внутриопухолевых кровеносных и лимфатических сосудов [150]. Эти лимфатические сосуды предположительно образуются лимфатическими сосудами, включающимися в растущую опухоль, или теми, что растут по направлению к опухоли и внутрь нее в ответ на лимфангиогенные факторы, секретируемые в МОО. В отличие от внутриопухолевых лимфатических сосудов, перитуморальные лимфатические сосуды обычно расширенные и извитые, и иногда оказываются заполненными клетками [69]. Было высказано предположение, что в растущей опухолевой массе резко возрастает напряжение и нарушается гомеостаз тканевой жидкости из-за пролиферации опухолевых клеток, гиперпроницаемости кровеносных сосудов и нарушения функции лимфатических сосудов, что приводит к высокому давлению интерстициальной жидкости. На

периферии опухоли давление интерстициальной жидкости может падать, так что эта жидкость достигает окружающих тканей, где она дренируется перитуморальными лимфатическими сосудами [151].

Хотя начальные лимфатические сосуды имеют прерывистую базальную мембрану, как описано в разд. 1, лимфатические сосуды, связанные с опухолью, еще более проницаемы, с прерывистыми стенками, что снижает их способность удерживать лимфу [152]. VEGF-C не только стимулирует лимфангиогенез, но и может также повышать проницаемость лимфатических сосудов, что можно наблюдать *in vivo* по увеличению утечки декстрана из лимфатических сосудов мышей, трансдуцированных аденовирусным VEGF-C [153], или *in vitro* на кишечных или кожных ЛЭК человека [129, 154, 155]. С другой стороны, проницаемость эндотелия также связана с перестройкой межклеточных контактов, которая наблюдается при воспалительных состояниях, когда вновь образованные лимфатические сосуды в основном имеют контакты типа застёжки-«молнии», и в такой же тип контактов превращаются пуговичные соединения ранее существовавших лимфатических сосудов [156]. Следовательно, контакты типа застёжки-«молнии» в микроокружении воспаленной опухоли могут уменьшить поглощение интерстициальной жидкости опухолевыми лимфатическими сосудами.

Собирательные лимфатические сосуды, которые традиционно считались пассивными проводниками при метастазировании, также могут подвергаться существенному ремоделированию во время развития и прогрессии опухоли [72, 157, 158]. Во время роста опухоли собирательные лимфатические сосуды увеличиваются в ответ на действие VEGF-C или VEGF-D вследствие пролиферации ЛЭК или реакций, опосредованных простагландинами, вызывая увеличение общей объемной скорости потока [52, 88, 158, 159]. В животных моделях опухолей собирательные лимфатические сосуды также обильно покрыты ЛГМ (рисунком 4). Интересно, что эти ЛГМ не только увеличиваются в количестве, но и переориентируются вдоль дистальных лимфатических сосудов, связанных с опухолью [157]. Хотя характер распределения ЛГМ вдоль сосуда в устойчивом состоянии перекрестный, в условиях опухоли ЛГМ располагаются перпендикулярно длинной оси сосуда — сходно с паттерном, характерным для артерий [157]. Было обнаружено, что в мышинной модели меланомы, помимо более высокой плотности ЛГМ, собирательные лимфатические сосуды, дренирующие опухоли, имеют более плотную иннервацию по сравнению с таковыми у интактных мышей [4]. Однако об изменении плотности и морфологии клапана в дренирующих опухоль собирающих лимфатических сосудах не сообщалось [157]. В целом, эти исследования показывают, что в ремоделировании участвуют не только ЛЭК, но и другие типы клеток, которые составляют собирательные лимфатические сосуды (рисунком 4).

2.1.2. Изменения в лимфатических сосудах в дренирующих опухоль ЛУ и в отдаленных органах.

Лимфа, дренируемая из первичных опухолей, достигает дренирующих опухоль ЛУ или сигнальных ЛУ, которые также перестраиваются по мере прогрессирования заболевания. Действительно, опухолевый рост обычно сопровождается увеличением дренирующих опухоль ЛУ

уже на ранних стадиях развития опухоли в мышинных моделях рака молочной железы и меланомы [18]; при этом происходит разрастание лимфатических сосудов [18, 160, 161]. Недавно авторы исследовали лимфатическую сеть ЛУ на мышинных моделях опухолей и обнаружили, что лимфатическая экспансия была результатом пролиферации лейкоцитов как в подкапсульном синусе, так и в мозговом синусе дренирующих лимфатических узлов. В лимфатических сосудах дренирующих опухоль ЛУ также было показано образование филоподий и прорастание, что указывает на сильную активацию лимфатических сосудов [18]. В недавнем исследовании сообщалось о большей площади лимфатических сосудов в неметастатических лимфатических узлах, дренирующих опухоль, чем в лимфатических узлах с макростазатазами в мышинной модели рака молочной железы 4T1 [161]. Хотя в этой модели присутствие большего количества раковых клеток могло негативно повлиять на лимфангиогенез лимфатических узлов, для оценки этой концепции необходимы дальнейшие исследования.

Лимфангиогенез в ЛУ также происходит у пациентов со злокачественной меланомой и раком молочной железы, где он коррелирует с частотой метастазирования в более отдаленных, не являющихся сигнальными ЛУ [162–164].

Как упоминалось выше, лимфангиогенез в дренирующих опухоль ЛУ происходит на ранней стадии опухолевой прогрессии и наблюдался даже до метастатического распространения в экспериментальных моделях и при злокачественных новообразованиях у человека, таких как злокачественная меланома и рак молочной железы [18, 84, 135, 162, 165–168]. Поскольку экспериментальная сверхэкспрессия VEGF-A или VEGF-C в первичных опухолях приводила к лимфангиогенезу в дренирующих опухоль ЛУ, факторы роста, оттекающие из места первичной опухоли, вероятно, вносят свой вклад в это явление [84, 135, 166]. Кроме того, лимфангиогенезу в ЛУ могут способствовать находящиеся в ЛУ метастатические опухолевые клетки и иммунные клетки, включая макрофаги или В-клетки, для которых показана секреция лимфангиогенных факторов [169, 170]. Наконец, лимфангиогенез также происходит в участках метастазирования в отдаленных органах и, таким образом, может усиливать дальнейшее распространение метастазов от органа к органу или от органа к ЛУ. Действительно, авторы недавно обнаружили, что лимфангиогенез также происходит в метастатических легких в доклинических моделях рака молочной железы и меланомы у мышей, а также в метастатических легких пациентов с меланомой [171].

2.2. Дренажная и транспортная функция лимфатических сосудов, ассоциированных с опухолью

Лимфатические сосуды, ассоциированные с опухолью, дренируют жидкости, молекулы, иммунные клетки и, в конечном итоге, опухолевые клетки в дренирующие опухоль ЛУ. Хотя особая функциональная значимость внутриопухолевых лимфатических сосудов оспаривается [172–176], перитуморальные лимфатические сосуды считаются основным путем оттока жидкости и клеток из первичных опухолей [69].

При онкологических заболеваниях отток по лимфатическим сосудам значительно увеличивается из-за усиленной жидкостной нагрузки, а повышение давления ин-

терстициальной жидкости положительно коррелирует со скоростью оттока жидкости из опухолей [177]. С помощью неинвазивной визуализации в ближней инфракрасной области *in vivo* удалось оценить способность к сокращению лимфатических сосудов, дренирующих опухоль, которые, несмотря на расширение, содержали функционирующие клапаны [178]. Действительно, в мышинных моделях злокачественных новообразований было обнаружено, что лимфатические сосуды, дренирующие опухоль, имеют повышенный базовый уровень насосной активности с увеличенной частотой и амплитудой сокращений [4, 157–159, 179]. На перекачку лимфатической жидкости может влиять VEGF-C-сигналинг, поскольку блокада VEGF-C или NRP2 значительно снижает площадь, занимаемую ЛГМ, и уменьшает прокачивание жидкости по лимфатическим сосудам [157]. Кроме того, лимфатические сосуды, дренирующие опухоль, напрямую реагируют на нейромедиаторы, которые таким образом модулируют их насосную активность [4]. В другом исследовании снижалась сила сокращения собирающих лимфатических сосудов, дренирующих опухоль, по сравнению с нормальными в ответ на индуцибельную синтазу оксида азота (*iNOS*), продуцируемую миелоидными клетками CD11bGr11 [180].

Интересно, что лимфатический отток спинномозговой жидкости вдоль отходящих черепно-мозговых нервов и нижележащих шейных ЛУ снижается при экспериментальных глиомах у мышей, что, вероятно, способствует повышенному внутричерепному давлению, наблюдаемому при этом заболевании [181]. Отток жидкости по лимфатическим сосудам может перенаправляться в случае обструкции синусов дренирующей опухоли ЛУ — например, вследствие метастазирования опухоли. Сообщалось, что лимфатический поток может быть перенаправлен из опухоли в коллатеральные лимфатические сосуды, впадающие в разные ЛУ, как при опухолях человека, так и у мышей [178, 182, 183], что обеспечивает дополнительные пути для оттока лимфы из первичной опухоли.

2.3. Молекулярные изменения в лимфатических сосудах, ассоциированных с опухолью

Лимфатические сосуды, ассоциированные с опухолью, хотя и имеют общие с сосудами в физиологических условиях биологические маркеры и механизмы регуляции, демонстрируют отличные от них транскрипционные и молекулярные профили [184, 185]. Несмотря на большую актуальность проблемы, до сих пор только в нескольких исследованиях изучались сигнатуры экспрессии генов эндотелия лимфатических сосудов, ассоциированных с опухолями, — возможно, из-за недостатка ЛЭК, из образцов злокачественных новообразований. Чтобы преодолеть это ограничение, в двух исследованиях были выделены ассоциированные с опухолью ЛЭК и размножены *in vitro* для проведения транскриптомного анализа. Сравнение профилей РНК культивируемых ЛЭК, выделенных из высокозлокачественной фибросаркомы с гиперэкспрессией VEGF-C, с ЛЭК из нормальной ткани выявило значительные различия в экспрессии > 790 генов, некоторые из которых кодируют компоненты эндотелиальных межклеточных контактов, внеклеточного матрикса, регулируют рост сосудов и другие биологические процессы, связанные с воспалением и хемотаксической миграцией [184]. Интересно, что среди генов, гиперэкспрессирующихся в

ЛЭК опухолей эндотелий-специфическая молекула адгезии (*ESAM*) также обнаруживается в ассоциированных с опухолью лимфатических сосудах и коррелирует с метастазированием в ЛУ у пациентов с карциномой [184]. Второе исследование, основанное на экспансии *in vitro* ЛЭК, полученных из колоректального рака и здоровой ткани кишечника, показало, что в ассоциированных с опухолью ЛЭК изменяется экспрессия > 1000 генов. Как и в другом исследовании, было обнаружено, что в ЛЭК, полученных из опухолей, усилены процессы, связанные с ремоделированием внеклеточного матрикса и межклеточной адгезией [186]. В частности, в таких ЛЭК была значительно увеличена экспрессия фактора роста и дифференцировки GDF11 — растворимого компонента матрисомы. Более того, лимфатический GDF11 напрямую способствовал росту опухоли в доклинических моделях колоректального рака, а также был связан с прогрессированием опухоли у пациентов с таким раком [186].

Эти исследования предполагают, что, помимо обеспечения путей для распространения опухолевых клеток, ассоциированные с опухолью лимфатические сосуды приобретают различные молекулярные профили, которые усиливают прогрессирование опухоли и метастазирование. Однако ограничение этих исследований заключается в том, что при культивировании ЛЭК, полученных из опухоли, они могут терять свою специфическую транскрипционную сигнатуру, присущую этим клеткам *in vivo*. Тот факт, что культивируемые ЛЭК, полученные из опухоли, сохраняют различные транскриптомы, может указывать на то, что эти клетки приобрели эпигенетические модификации, которые поддерживали дифференциальную экспрессию некоторых генов-мишеней [187, 188]. Тем не менее, еще очень мало исследований, посвященных эпигенетическим модификациям, происходящим в лимфатическом эндотелии [189–192], и в настоящее время неясно, имеют ли они место также и в контексте опухоли.

Недавно исследовательской группе авторов настоящего обзора удалось провести транскриптомный анализ ЛЭК, свежeweыделенных из мышей с моделью рака молочной железы. В этом исследовании было показано, что ассоциированные с опухолью лимфатические сосуды имеют сигнатуру значительной экспрессии генов воспаления, которая включает усиление экспрессии многих хемокинов и молекул адгезии, в том числе VCAM-1 — молекулу, опосредующую адгезию лейкоцитов и диапедез при воспалительных состояниях [185].

Другое исследование выявило важные транскрипционные различия между свежeweыделенными ЛЭК ЛУ и наивными контрольными ЛЭК ЛУ при раке молочной железы и в мышинной модели меланомы. Хотя многие дифференциально экспрессируемые гены были опухоль-зависимыми, около трети всех дифференциально экспрессируемых генов сохранялись при двух типах опухолей. Анализ геной онтологии показал активацию генов, участвующих в клеточном делении, путях иммуномодуляции и клеточной адгезии [18]. Интересно, что ген интегрина *alb* оказался из наиболее сильно активируемых в ЛЭК, дренирующих опухоль, что подтверждается и на уровне белка; при этом интегрин *alb* опосредовал адгезию ЛЭК к фибриногену *in vitro*. Примечательно, что интегрин *alb* особенно часто встречался в лимфатических сосудах, локализованных вблизи фибриноген-положительных обла-

стей в дренирующих опухоль ЛУ [18]. Обычно фибриноген присутствует в плазме; однако он может откладываться во внеклеточном матриксе при патологических состояниях, в том числе при злокачественных новообразованиях, когда фибриноген просачивается из кровеносных сосудов с повышенной проницаемостью или вырабатывается самими опухолевыми клетками [193]. Несмотря на то, что ранее отложение фибриногена в дренирующих опухоль ЛУ не обнаруживалось, возможно, что фибриноген оттекает из первичной опухоли, поскольку в дренирующих ЛУ отмечено повышение уровня фибриногена в афферентной лимфе и удержание фибриногена [19]. Многочисленные данные указывают на то, что интегрин регулируют миграцию и выживание эндотелиальных клеток во время лимфангиогенеза [194, 195]. Усиление экспрессии *α5β1* на поверхности ЛЭК ЛУ потенциально может участвовать в перестройке дренирующих опухоль ЛУ посредством связывания с фибриногеном или другими белками межклеточного матрикса, такими как фибронектин, способствуя таким образом миграции и пролиферации ЛЭК ЛУ [196].

Для изучения многих различных типов клеток, включая эндотелиальные клетки, при онкологических заболеваниях уже применялись новые технологии, такие как секвенирование РНК отдельных клеток [197]. Однако лимфатический эндотелий не был в фокусе таких исследований, и выделяемых ЛЭК обычно слишком мало для проведения подробного анализа. Недавно были предприняты попытки специфического обогащения ЛЭК и проведения экспериментов по секвенированию отдельных клеток, что позволило охарактеризовать субпопуляции ЛЭК как в физиологическом [5–7], так и в воспалительном [7, 198] состоянии. Эти плодотворные исследования проложат путь к выявлению молекулярных изменений, происходящих в ассоциированных с опухолью лимфатических сосудах первичной опухоли, в дренирующих опухоль ЛУ и в метастазах в отдаленные органы.

3. МЕТАСТАЗИРОВАНИЕ ПО ЛИМФАТИЧЕСКОЙ СИСТЕМЕ

3.1. Лимфатические сосуды, ассоциированные с опухолью

Корреляция с метастазами в лимфатических узлах и прогнозом

При большинстве типов злокачественных новообразований, включая большинство карцином и меланому, лимфатические узлы являются первыми участками тела, где могут обнаружиться метастазы. Вместе с сильным уклоном в сторону дренирующих опухоль ЛУ по сравнению с отдаленными ЛУ это предполагает, что распространение опухолевых клеток лимфогенным путем является довольно частым событием, которое предшествует метастазированию в отдаленные органы при прогрессировании рака [67, 69]. Положительный метастазирующий статус дренирующих опухоль ЛУ является фактором, повышающим стадию и имеющим высокую прогностическую ценность при многих злокачественных новообразованиях. В то время как отдаленные метастазы могут возникать из метастазов в ЛУ, по крайней мере, в некоторых случаях [199–202], общий вклад лимфогенной диссеминации в системное распространение не совсем ясен, как обсуждалось в разд. 3.4. Тем не менее, наличие

метастазов в ЛУ является четким показателем агрессивности опухоли и способности к диссеминации в целом.

Важная роль лимфатических сосудов, ассоциированных с опухолью, в лимфатическом распространении опухоли подтверждается корреляцией между плотностью лимфатических сосудов (ПЛС) в очаге первичной опухоли и выявлением лимфатической инвазии опухолевых клеток с возникновением метастазов в ЛУ и плохим клиническим исходом при многих, но не всех типах злокачественных новообразований (таблица 1). В то время как клинические данные для некоторых типов онкологических заболеваний иногда могут быть неубедительными, недавние метаанализы, суммирующие многочисленные клинические исследования с участием сотен или даже тысяч пациентов, подтвердили четкую связь между ПЛС и неблагоприятным исходом. Например, при меланоме перитуморальная ПЛС коррелирует со скоростью метастазирования [239], при раке молочной железы ПЛС коррелирует с метастазированием в ЛУ [240] и снижением выживаемости [241, 242], при немелкоклеточном раке легкого и плоскоклеточном раке головы и шеи — со снижением выживаемости [241, 243]. Метаанализ прогностического значения ПЛС при плоскоклеточном раке языка также показал корреляцию с плохим исходом, но для подтверждения этого могут потребоваться дополнительные исследования [243].

Экспрессию лимфангиогенных факторов роста VEGF-C и VEGF-D также часто анализируют в связи с клиническим исходом, поскольку эти факторы могут выступать в качестве показателей лимфангиогенеза. Действительно, метаанализы рака шейки матки [244], немелкоклеточного рака легкого [245, 246] и рака пищевода [247–249] выявили четкую корреляцию между экспрессией VEGF-C в МОО и неблагоприятным прогнозом. Некоторые метаанализы также обнаружили такую корреляцию для рака молочной железы и рака желудка [241, 244, 250, 251], в то время в других она не выявлялась или встречалась только у отдельных групп пациентов [247, 252–254]. Причиной этих, казалось бы, противоречивых результатов может быть то, что VEGF-C, помимо его хорошо известной роли в лимфангиогенезе опухоли, может выполнять дополнительные функции вне лимфатической системы, — например, в иммунной системе, — которые связаны с благоприятным клиническим исходом. Такие функции VEGF-C обсужда-

Таблица 1 | Избранные клинические исследования, показывающие корреляцию между лимфангиогенезом опухоли и клиническим исходом при 20 наиболее распространенных типах солидных опухолей

Тип опухоли	Описание результатов
Рак молочной железы	Перитуморальная ПЛС коррелирует с метастазированием в ЛУ, снижением БВ и ОВ при инвазивной протоковой карциноме. ПЛС коррелирует с метастазированием в ЛУ и снижением БВ и ОВ.
Рак легких	Перитуморальная ПЛС коррелирует с метастазированием в ЛУ и снижением общей выживаемости при ангиогенном НМРЛ. ПЛС коррелирует с метастазированием в ЛУ при аденокарциноме легкого.

Таблица 1 | Избранные клинические исследования, показывающие корреляцию между лимфангиогенезом опухоли и клиническим исходом при 20 наиболее распространенных типах солидных опухолей (продолжение)

Тип опухоли	Описание результатов
Колоректальный рак	ПЛС коррелирует со снижением ОВ. Внутриопухолевая ПЛС коррелирует со снижением ВЗОЗ.
Рак простаты	Перитуморальная ПЛС коррелирует с метастазированием в ЛУ. ПЛС коррелирует с метастазированием в ЛУ при аденокарциноме предстательной железы.
Рак желудка	Перитуморальная ПЛС коррелирует с метастазированием в ЛУ и снижением ОВ.
Рак печени	ПЛС коррелирует с более короткими БВ и ОВ.
Рак шейки матки	ПЛС коррелирует с метастазированием в ЛУ на ранней стадии инвазивной карциномы шейки матки. Перитуморальная ПЛС коррелирует с метастазированием в ЛУ.
Рак пищевода	Наличие внутриопухолевого лимфангиогенеза коррелирует с метастазированием в ЛУ и снижением ОВ при ПР пищевода. Внутриопухолевая ПЛС коррелирует с метастазированием в ЛУ и снижением БВ и ОВ при ПР пищевода.
Рак щитовидной железы	Внутриопухолевая ПЛС коррелирует с метастазированием в ЛУ при папиллярной карциноме щитовидной железы.
Рак мочевого пузыря	Внутриопухолевая ПЛС коррелирует с метастазированием в ЛУ и снижением ОВ. Перитуморальная ПЛС коррелирует с метастазированием в ЛУ и снижением ОВ.
Рак поджелудочной железы	ПЛС коррелирует с метастазированием в ЛУ и снижением ОВ. Перитуморальная ПЛС коррелирует с метастазированием в ЛУ.
Рак почки	Внутриопухолевая ПЛС коррелирует с метастазированием в ЛУ и отдаленные органы и более низкой ВЗОЗ. Внутриопухолевая ПЛС коррелирует с метастазированием в ЛУ и отдаленные органы.
Рак матки	Перитуморальная ПЛС коррелирует с метастазированием в ЛУ и снижением ВБП и ОВ. Перитуморальная ПЛС коррелирует с метастазированием в ЛУ.
Рак полости рта	Внутриопухолевая ПЛС коррелирует с метастазированием в ЛУ и снижением выживаемости и общей выживаемости. Внутриопухолевая ПЛС коррелирует со сниженной ОВ.

Тип опухоли	Описание результатов
Меланома	Перитуморальное поражение левого желудка коррелирует с метастазированием в ЛУ, а также БВ и ОВ. Наличие внутриопухолевых ЛС коррелирует с метастазированием в ЛУ и снижением БВ. Перитуморальная оценка D2-40 (подоплаин) по шкале Чалкли коррелирует с метастазами в ЛУ, отдаленными метастазами и снижением общей выживаемости и без выживаемости.
Рак яичников	Внутриопухолевая ПЛС коррелирует со снижением БВ и ОВ. Внутриопухолевая ПЛС коррелирует с метастазированием в ЛУ и рецидивами.
Рак гортани	Внутриопухолевая ПЛС коррелирует со снижением ОВ. Внутриопухолевая ПЛС коррелирует с метастазированием в ЛУ и снижением ВЗОЗ
Рак носоглотки	Перитуморальная ПЛС коррелирует со снижением БВ.
Рак желчного пузыря	ПЛС коррелирует с метастазированием в ЛУ. ПЛС коррелирует со снижением ОВ.
Рак ротоглотки	Внутриопухолевая ПЛС коррелирует с метастазированием в ЛУ.

Избранные клинические исследования, демонстрирующие корреляцию между лимфангиогенезом в месте первичной опухоли и клиническим исходом при 20 наиболее распространенных типах солидных опухолей (за исключением опухолей головного мозга, упорядоченных по заболеваемости во всем мире в 2020 году [Международное агентство по изучению рака]). БВ — безрецидивная выживаемость; ВЗОЗ — выживаемость, зависящая от основного заболевания; ЛУ — лимфатический узел; ПЛС — плотность лимфатических сосудов; НМРЛ — немелкоклеточный рак легких; ОВ — общая выживаемость; ВБП — выживаемость без прогрессирования; ПР — плоскоклеточный рак.

ются в разд. 4.

3.2. Молекулярные и клеточные механизмы лимфатической инвазии

Как указывалось выше, многие типы опухолей, в том числе меланома и плоскоклеточный рак головы и шеи, проявляют сильную склонность к метастазированию через лимфатическую систему, а плотность лимфатических сосудов, присутствующих в строме опухоли, тесно коррелирует со скоростью метастазирования в ЛУ и плохим исходом. Лимфатическая инвазия, т. е. процесс проникновения опухолевых клеток в близлежащие лимфатические сосуды, является первым шагом к лимфатическому метастазированию (рисунки 5А). Вероятно, высокая ПЛС внутри или вокруг опухолевой массы способствует лимфатической диссеминации, просто обеспечивая увеличение поверхности раздела между опухолью и лимфатической системой. Доступ опухолевых клеток в просвет лимфатических сосудов может быть результатом пас-

сивных процессов, например, быстрого роста опухолевой массы, приводящего к механическому растяжению и в конечном итоге — к повреждению или даже разрушению лимфатического эндотелия, за которым может последовать выпячивание и последующее попадание скоплений опухолевых клеток или отдельных клеток в лимфатический просвет [255, 256]. Кроме того, по крайней мере, в случае карцином, с лимфатическим распространением опухоли может быть связан эпителиально-мезенхимный переход (ЭМТ). ЭМТ представляет собой процесс, при котором опухолевые клетки снижают экспрессию типичных эпителиальных генов и активируют мезенхимные гены, тем самым повышая свою способность к коллективной или одиночной миграции, деградации матрикса и локальной инвазии в ткани. Тем не менее, часто наблюдаемое присутствие в лимфатических сосудах эмболов из опухолевых клеток (*a ne одиночных опухолевых клеток*) и высокий уровень экспрессии эпителиальных генов в местах метастазирования позволяют предположить, что по крайней мере полный ЭМТ не является предпосылкой для лимфатической инвазии [257, 258].

Был описан ряд клеточных и молекулярных механизмов, способствующих лимфатической инвазии опухоли и включающих опухолевые клетки, ЛЭК и другие стромальные и иммунные клетки (рисунки 5В); они обсуждаются ниже. Однако следует отметить, что в большинстве исследований механизмов, доступных на сегодняшний день, использовались животные модели злокачественных новообразований, которые часто значительно отличаются от клинической ситуации по механизму инициации опухоли, гетерогенности опухолевых клеток и скорости роста, поэтому до сих пор в основном неизвестно, в какой степени

эти результаты отражают процессы, лежащие в основе лимфатической инвазии у онкологических пациентов.

3.2.1. Мимикрия под иммунные клетки: хемокины и молекулы эндотелиальной адгезии при лимфатической инвазии опухоли.

Проникновение клеток в периферические лимфатические сосуды не обязательно является патологическим процессом и может происходить при физиологических условиях. Хорошо изученным примером незлокачественного проникновения клеток в лимфатические сосуды является рециркуляция иммунных клеток, таких как антигенпрезентирующие ДК, из периферических тканей в дренирующие ЛУ. Как обсуждалось выше, лимфатические капилляры на периферии имеют несколько морфологических адаптаций для облегчения проникновения ДК и других иммунных клеток, особенно их прерывистые (*пуговичные*) соединения и относительно редкий внеклеточный матрикс. Это позволяет иммунным клеткам проскальзывать между соседними ЛЭК в лимфатический просвет без необходимости перестройки клеточных контактов, — как, например, во время диапедеза из кровеносных сосудов в периферические ткани. По крайней мере, в стационарных условиях в этом процессе в значительной степени не участвуют классические молекулы эндотелиальной адгезии, такие как ICAM-1 или VCAM-1. Однако для этого требуется хемокин CCL21, который конститутивно экспрессируется периферическими ЛЭК и, формируя градиент хемокинов в периваскулярной ткани, позволяет иммунным клеткам, экспрессирующим когнатный рецептор CCR7, перемещаться к лимфатическим сосудам путем амебоидной миграции. Напротив, при воспалительных

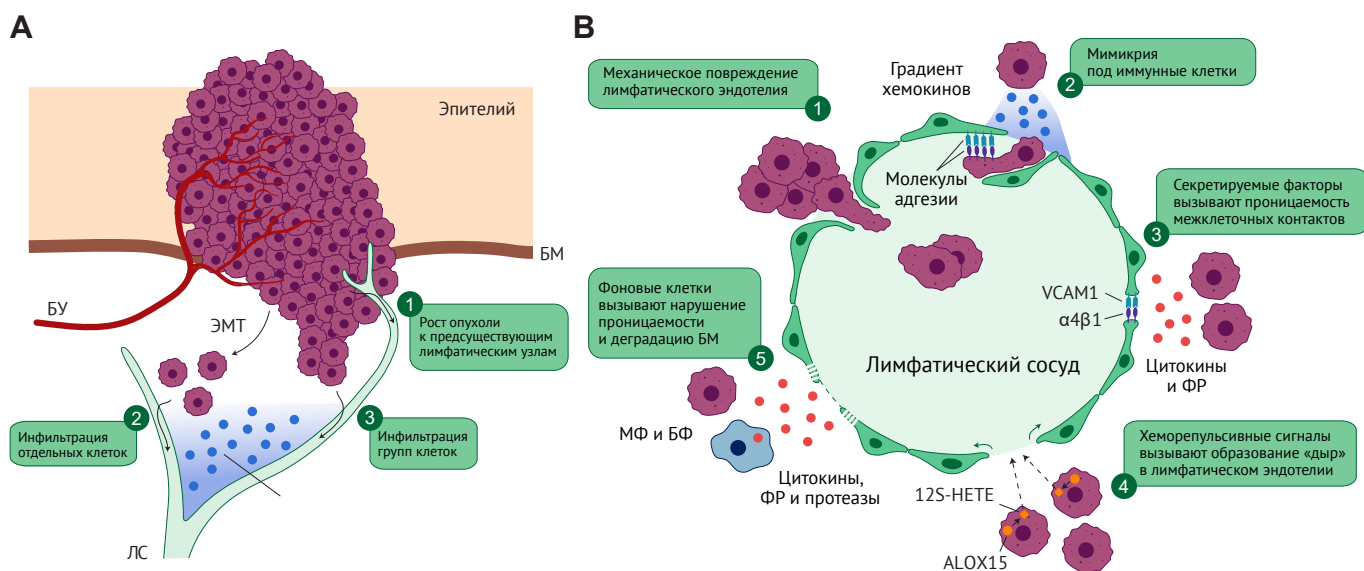


Рисунок 5 | Механизмы лимфатической инвазии.

А: Первым этапом каскада метастазирования по лимфатической системе часто является местная инвазия опухолевых клеток. В случае карцином это включает нарушение целостности базальной мембраны (БМ) и инфильтрацию опухолевых клеток в подлежащую ткань либо в виде миграции групп клеток, либо — одиночных клеток, которые претерпели эпителиально-мезенхимный переход (ЭМТ). Инфильтрирующие опухолевые клетки могут быть направлены к лимфатическим сосудам (ЛС) по градиентам хемокинов. В качестве альтернативы опухолевые клетки могут получить прямой доступ к ассимилированным или новообразованным лимфатическим сосудам, достигающим первичной опухолевой массы. КС — кровеносный сосуд.

В: Основные механизмы проникновения опухолевых клеток в ЛС.

1) Механическое напряжение из-за растущей опухолевой массы может физически повредить или разорвать лимфатический эндотелий, что приведет

к попаданию скоплений опухолевых клеток в ЛС и образованию внутрлимфатических эмболов.

2) Опухолевые клетки, мимикрируя под иммунные клетки, проникают в ЛС через межклеточные контакты в клетках эндотелия, направляемые хемокинами и/или молекулами адгезии, присутствующими на ЛЭК.

3) Секретируемые факторы, включая воспалительные цитокины и факторы роста (ФР), могут дополнительно нарушать целостность межклеточных контактов ЛЭК друг с другом, тем самым облегчая интравасацию.

4) Опухолевые клетки могут высвобождать молекулы, хеморепульсивные для ЛЭК, вызывая образование больших брешей в лимфатическом эндотелии.

5) Фоновые клетки, такие как макрофаги (МФ) или фибробласты (ФБ), могут поддерживать лимфатическую инвазию опухоли, дестабилизируя межклеточные контакты ЛЭК и разрушая внеклеточный матрикс.

12(S)-HETE — 12-гидроксисэйкозатетраеновая кислота.

состояниях молекулы адгезии, экспрессируемые ЛЭК, такие как ICAM-1 и VCAM-1, действительно способствуют проникновению ДК в лимфатические сосуды [259, 260].

В ряде работ предполагается, что опухолевые клетки могут проникать в лимфатические сосуды за счет микрии под лейкоциты, используя те же молекулярные сигналы, что и ДК и другие лейкоциты. Например, при некоторых типах злокачественных новообразований экспрессия CCR7 в опухолевых клетках коррелирует с метастазированием в ЛУ, предположительно путем направления миграции опухолевых клеток к лимфатическому CCL21 [261–264]. Этому, по-видимому, дополнительно способствует экспрессия COX2 опухолевыми клетками, индуцирующая CCR7 [265], тогда как VEGF-C из опухолевых клеток и трансмуральный поток, как сообщается, усиливают лимфатическую экспрессию CCL21 [266–268]. Было показано, что другие хемокины, такие как CXCL1, CXCL7, CXCL11 и CXCL12, способствуют лимфатическому метастазированию в экспериментальных условиях [261, 269–272]. С другой стороны, значимость адгезивных взаимодействий между опухолевыми клетками и ЛЭК для лимфатической инвазии все еще в значительной степени неясна. В модели фибросаркомы у мышей было обнаружено, что ассоциированные с опухолью ЛЭК активируют молекулы адгезии, такие как ESAM, а экспрессия ESAM в лимфатической системе коррелирует с метастазированием в ЛУ у пациентов с плоскоклеточным раком головы и шеи и колоректальным раком [184]. Однако неясно, было ли это связано с ESAM-опосредованной адгезией между опухолевыми клетками и ЛЭК или другими потенциальными ESAM-опосредованными эффектами, например, модуляцией лимфатических эндотелиальных межклеточных контактов [273], которые обсуждаются в разд. 3.2.2. Кроме того, здесь может быть задействована адгезия опухолевых клеток к компонентам внеклеточного матрикса, выделяемым ЛЭК и откладывающимся в базальной мембране лимфатических сосудов [274].

3.2.2. Индуцированное опухолью ремоделирование лимфатических эндотелиальных межклеточных контактов и повышенная проницаемость.

Хотя лимфатические сосуды на уровне капилляров уже обладают молекулярными и анатомическими адаптациями, которые облегчают проникновение клеток, дальнейшее увеличение проницаемости лимфатических сосудов, вероятно, будет способствовать инвазии опухолевых клеток в просвет. Действительно, несколько исследований показывают, что сигналы, генерируемые опухолью, могут ослаблять межклеточные контакты в эндотелии лимфатических сосудов и тем самым — сосудистый барьер. Например, подобно повышению проницаемости ассоциированных с опухолью кровеносных сосудов под действием VEGF-A [275], пролонгированное высвобождение VEGF-C и активация VEGFR-3 в лимфатических сосудах, ассоциированных с колоректальной карциномой, приводит к снижению экспрессии белка адгезии VE-кадгерина в межклеточных контактах ЛЭК и усиливает миграцию опухолевых клеток через эндотелий [129]. VEGF-C из опухолевых клеток может также запускать взаимодействие между ними и ЛЭК, что в конце концов приводит к выделению сывороточного амилоида A1, еще больше подавляющего VE-кадгерин межклеточных контактов ЛЭК

[276]. При раке молочной железы авторы обзора и другие исследователи обнаружили, что лимфатические сосуды усиливают экспрессию как $\alpha 4$ -интегрин, так и его лиганда VCAM-1 [185, 277]. Интересно, что их взаимодействие с близлежащими ЛЭК снижает лимфатическую экспрессию VE-кадгерина и усиливает лимфатическую инвазию опухоли [185]. Этот процесс напоминает ремоделирование эндотелиальных межклеточных контактов во время диапедеза лейкоцитов из кровеносных сосудов, где взаимодействие эндотелиальной VCAM-1 с лейкоцитарными $\alpha 4 \beta 1$ -интегринами индуцирует временное открытие контактов за счет вытеснения VE-кадгерина [278]. Помимо периферических лимфатических сосудов, VE-кадгерин также экспрессируется ЛЭК в дренирующей опухоли ЛУ. Недавно было высказано предположение, что возрастная потеря экспрессии VE-кадгерина в ЛЭК ЛУ связана с повышенной лимфатической проницаемостью и может привести к усилению висцерального метастазирования (*но уменьшению метастазирования ЛУ*) у пациентов с меланомой из-за повышенной экстравазации опухолевых клеток из афферентных лимфатических сосудов или лимфатических синусов ЛУ, дренирующей опухоль [279].

3.2.3. Хеморепульсия ЛЭК.

Дополнительный механизм усиления неспецифической лимфатической инвазии опухолевых клеток и образования лимфатических эмболов был впервые описан при карциноме молочной железы, особенно в метастатических ЛУ. Раковые клетки, экспрессирующие ALOX15, выделяли 12-гидроксиэйкозатетраеновую кислоту [12(S)-HETE], которая *in vitro* действовала как хеморепеллент для ЛЭК и индуцировала образование больших пор (*называемых хеморепеллент-индуцированными дефектами*) в эндотелиальной стенке лимфатического сосуда. Соответственно, экспрессия ALOX15 коррелировала со стадией опухоли и снижала выживаемость без метастазов в небольшой группе пациентов с протоковой аденокарциномой [280].

Интересно, что, как было обнаружено позже, тот же самый механизм обеспечивает проникновение нейтрофилов в лимфатические сосуды в модели воспаления у мышей [281]. Формирование хеморепеллент-индуцированных дефектов и последующая неспецифическая инвазия также были отмечены при других типах рака, таких как рак поджелудочной железы [282], но неизвестно, насколько сопоставимы лежащие в их основе механизмы.

3.3. Лимфатические ниши для распространения опухолевых клеток

Оказавшись внутри лимфатических сосудов, опухолевые клетки попадают в среду с особыми физическими и биохимическими условиями, которые способствуют их выживанию и распространению. Например, было обнаружено, что лимфа защищает метастатические клетки меланомы от ферроптоза — возможно, из-за высокого содержания в ней олеиновой кислоты и относительного недостатка железа по сравнению с кровью [290]. Кроме того, диссеминирующие опухолевые клетки в дренирующей опухоли ЛУ метаболически адаптируются, больше полагаясь на окисление жирных кислот, чем клетки первичной опухоли [291]. Наконец, силы сдвига в лимфе относительно низкие (*по сравнению с кровообращением*), и внутрилимфатические опухолевые клетки, вероятно,

защищены от атак циркулирующих эффекторных Т-клеток CD81 и NK-клеток. Важно отметить, что ЛЭК сами по себе обеспечивают нишу, которая может способствовать метастатическому росту и/или долгосрочному выживанию интра- или перилимфатических опухолевых клеток.

3.3.1. Лимфатическая премеастистическая ниша в лимфатических узлах, дренирующих опухоль, и отдаленных органах.

Как указано в разд. 2, дренирующие опухоль ЛУ претерпевают резкое ремоделирование, включая общее увеличение размера ЛУ, фолликулярную и паракортикальную гиперплазию (включая рекрутирование иммуноингибирующих миелоидных клеток и регуляторных Т-клеток), расширение узловых лимфатических пространств, фенотипические изменения в ЛЭК ЛУ и усиление лимфотока. Кроме того, при некоторых типах злокачественных новообразований описано ремоделирование и частичная дедифференцировка ВВЭ [167, 292]. Некоторые из этих изменений наблюдались у онкологических пациентов еще до появления явных метастазов в ЛУ [165, 293]. Это говорит о том, что сигналы, полученные от опухолевых клеток, могут вызывать адаптацию дренирующих ЛУ, что способствует последующей колонизации метастатическими опухолевыми клетками, например, за счет увеличения лимфатического транспорта или индукции молекул хемоаттрактантов, которые направляют опухолевые клетки к ЛУ. Эти изменения были обозначены как премеастистическая ниша, и во множестве исследований было рассмотрено ее формирование и функция стимуляции прогрессии опухоли [294, 295] (рисунки 6А).

На молекулярном уровне в образование премеастистической ниши в ЛУ вовлечены несколько факторов или сиг-

налов, либо оттекающих от МОО с афферентной лимфой, либо продуцируемых локально внутри узла. Например, на модели химически индуцированного ортотопического канцерогенеза кожи у мышей, сконструированной для гиперэкспрессии лимфангиогенных молекул VEGF-A или VEGF-C, было обнаружено, что эти факторы роста способствуют премеастистическому лимфангиогенезу в дренирующих ЛУ [84, 135]. Сходным образом, IL-6 из клеток рака молочной железы вызывает образование премеастистической ниши в дренирующих ЛУ посредством активации Stat3 и последующей экспрессии VEGF-A и CCL5 в ЛЭК ЛУ [296]. Лимфангиогенез ЛУ и фенотипические изменения дренирующих опухоль ЛЭК ЛУ также могут индуцироваться локально секретируемыми факторами. Было показано, что В-клетки выделяют VEGF-A в воспаленных ЛУ [297], а Т-лимфоциты в дренирующих опухоль ЛУ в модели спонтанного рака молочной железы MMTV-PyMT активируют набор ангиогенных генов на очень ранних стадиях опухолевой прогрессии [298]. С другой стороны, IFN- γ , который может выделяться Т- или NK-клетками, ингибирует воспалительный лимфангиогенез ЛУ [299], но участвует в усилении экспрессии лимфатического α IIb в дренирующих опухоль лимфатических узлах у мышей [18]. Наконец, также сообщалось, что ДК в субкапсулярной области дренирующих опухоль ЛУ участвуют в формировании премеастистической ниши посредством выделения простагландина E2, который индуцирует экспрессию CXCL12 [300].

В дополнение к цитокинам и факторам роста, обсуждавшимся выше, опухолевые клетки могут также индуцировать образование премеастистической ниши в дренирующих ЛУ с помощью выделения ВВ. После высвобождения

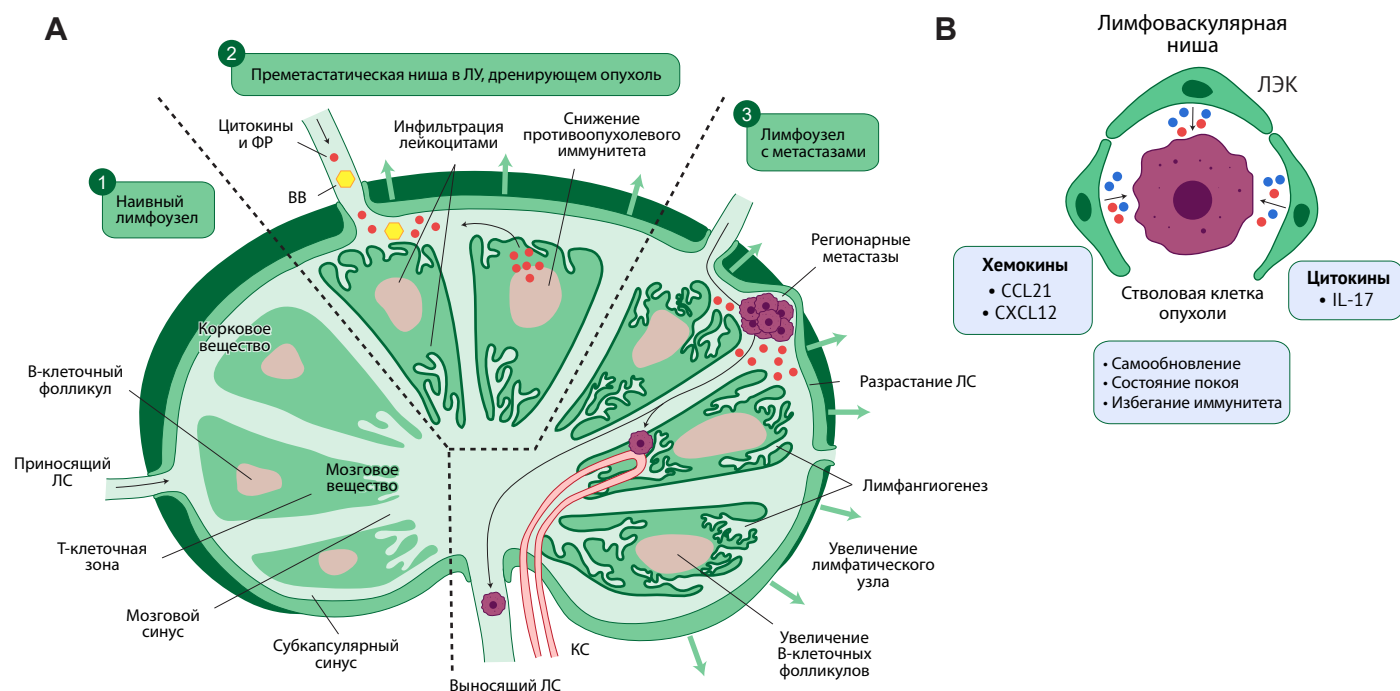


Рисунок 6 | Лимфатические ниши.

А: формирование и функция премеастистической ниши в дренирующих опухоль лимфатических узлах (ЛУ). В норме ЛУ четко разделены на субкапсулярный и мозговые лимфатические синусы, В-клеточные фолликулы и Т-клеточную зону. Формирование премеастистической ниши индуцируется факторами роста (ФР), вырабатываемым опухолью, цитокинами, матриксными белками и внеклеточными везикулами (ВВ) или факторами, локально продуцируемыми в ЛУ. Это приводит к отеку и увеличению лимфатического узла, притоку иммунных клеток, увеличению тока лимфы

и нарушению противоопухолевого иммунитета. В совокупности эти патологические изменения способствуют последующей колонизации опухолевыми клетками, которые обычно образуют метастазы в субкапсулярном синусе. Опухолевые клетки могут распространяться дальше через выносящие лимфатические сосуды (ЛС) или кровеносные сосуды ЛУ (КС). **В:** схема связи лимфатических эндотелиальных клеток (ЛЭК) и опухолевых клеток в лимфоваскулярной нише. ЛЭК могут поставлять хемокины и цитокины, которые индуцируют стволовость опухолевых клеток, состояние покоя и долгосрочное выживание внутри ЛС или рядом с ними.

в интерстиций донорскими клетками ВВ поглощаются дренирующими лимфатическими сосудами из-за их размера, который препятствует их прямому проникновению в кровеносные сосуды [301], а также из-за интерстициального потока, который направлен к дренирующим лимфатическим сосудам. Действительно, было обнаружено, что обогащенный лимфой раневой экссудат, собранный у пациентов с меланомой после лимфаденэктомии, богат ВВ меланомного происхождения [302, 303]. Кроме того, доклинические исследования на мышах показали, что введенные в интерстиций очищенные ВВ из культур опухолевых клеток, а также ВВ, выделяемые первичными опухолями у мышей, транспортировались лимфатическими сосудами в дренирующие ЛУ [304–306]. Там ВВ из опухолевых клеток индуцировали формирование преме-тастатической ниши, характеризующееся ремоделированием и воспалением ЛУ и стимуляцией последующей метастатической колонизации ЛУ [304, 307–309].

Интересно, что с помощью «лимфопортерных» на основе VEGFR-3 мышей, у которых можно визуализировать активный лимфангиогенез всего тела, Олмеда с соавт. [160] показали, что активный лимфангиогенез также предшествовал метастазированию в отдаленные участки и что системный преме-тастатический лимфангиогенез в нишах индуцировался мидкином. Хотя в настоящее время неясно, может ли преме-тастатический лимфангиогенез в отдаленных участках способствовать последующей метастатической колонизации опухолевыми клетками и каким образом это происходит, ранее авторы обзора сообщали [171], что у мышей с экспериментально повышенной плотностью лимфатических сосудов в легких наблюдалось значительное увеличение метастазирования в легкие после внутривенного введения клеток меланомы В16 и после ортотопической имплантации клеток рака молочной железы 4Т1.

3.3.2. Паракринный сигналинг в ЛЭК периваскулярной ниши.

В дополнение к опосредованию транспорта опухолевых клеток в дренирующие ЛУ, ЛЭК могут также напрямую способствовать диссеминации внутри- или перилимфатических опухолевых клеток. Эта концепция была названа лимфоваскулярной нишей и может применяться к опухолевым клеткам, присутствующим в лимфатических синусах внутри ЛУ и внутри (или вокруг) лимфатических сосудов периферических тканей [310]. По аналогии с периваскулярной нишей для раковых стволовых клеток, определяемой, например, в глиобластоме [311], было предположено, что ЛЭК обеспечивают паракринные сигналы опухолевым клеткам для поддержания их выживания, покоя или стволовости (рисунки 6В). Косвенным доказательством существования лимфоваскулярной ниши является хорошо известный феномен сателлитных или транзитных метастазов меланомы, которые развиваются по ходу лимфатических сосудов, дренирующих исходное ложе опухоли, даже спустя годы после резекции первичной опухоли. Однако прямые экспериментальные доказательства существования, а также молекулярного состава лимфоваскулярной ниши все еще ограничены. В доклинических исследованиях опухолевые клетки, экспрессирующие CD133 — маркер, связанный со стволовыми клетками опухоли, концентрировались в непосредственной близости от ЛЭК как в первичной опухоли, так и

в местах метастазирования с участием хемокина CXCL12 и адгезионных взаимодействий с ЛЭК через MRC1 [312, 313]. Подобная связь между опухолевыми клетками CD133 и лимфатическими сосудами также наблюдалась у пациентов с гепатомой [313].

Сообщалось, что в функциональном контексте ЛЭК секретируют IL-17, который способствует самообновлению и уклонению от иммунного ответа опухолевых клеток, связанных с нишей [313]; при этом было показано, что пролиферация стволовых клеток рака молочной железы зависит сигнальных путей, активирующихся через хемокиновый рецептор CCR7 [314]. Хотя это и не показано напрямую, ЛЭК, которые конститутивно экспрессируют лиганд CCR7 CCL21, могут, таким образом, способствовать сохранению пула стволовых клеток опухоли при раке молочной железы.

3.4. Каковы взаимосвязи между метастазированием в ЛУ и отдаленными метастазами?

Хотя в настоящее время имеются убедительные данные, подтверждающие активную роль лимфангиогенеза в обеспечении метастазирования ЛУ и подтверждающие отрицательное прогностическое значение метастазирования сторожевого ЛУ (обнаружение метастатических раковых клеток в первом дренирующей опухоль ЛУ), в настоящее время остается нерешенным вопрос о взаимосвязи между метастазами в ЛУ и метастазами в отдаленные органы. Были предложены две концепции. Согласно одной из них, метастазы ЛУ опосредуют опухолевую прогрессию, способствуя дальнейшему распространению опухолевых клеток в другие ЛУ и через кровоток — в отдаленные органы. Согласно второй, они просто являются индикаторами способности первичной опухоли к отдаленному распространению. Обе концепции подтверждаются рядом экспериментальных и клинических исследований.

Хотя при сравнении выживаемости, зависящей от основного заболевания, у пациентов с раком молочной железы и меланомой с гистологически подтвержденными метастазами в сигнальных ЛУ не было выявлено значительного улучшения этого показателя после завершения диссекции ЛУ, удалось достигнуть улучшения регионального контроля заболевания; подтвердилась прогностическая ценность удаления сигнальных ЛУ, что подчеркивает их актуальность для определения стадии заболевания [315–317]. Вопрос о полном удалении ЛУ имеет важное клиническое значение, учитывая значительное число пациентов, у которых часто развивается изнурительная лимфедема конечностей после диссекции ЛУ [318].

Подробное обсуждение аргументов и связанных с этим вопросов выходит далеко за рамки настоящего обзора. Тем не менее, следует отметить, что есть несколько недавних исследований, ставших возможными благодаря крупным технологическим достижениям и показывающих, что отдаленное распространение опухоли из метастатических ЛУ действительно может происходить в экспериментальных моделях злокачественных новообразований. В мышинных моделях рака молочной железы и меланомы связь между метастазами в ЛУ и отдаленными метастазами в легкие была недавно установлена с помощью сложной генетической маркировки опухолевых клеток, их отслеживания и молекулярной визуализации [319, 320]. Некоторые опухолевые клетки мигрирова-

ли из субкапсулярного синуса ЛУ в сторону ВВЭ, которые, как было установлено, представляют собой путь для выхода опухолевых клеток из метастатических ЛУ, что приводит к образованию метастатических очагов в легких.

Важно отметить, что при применении подхода полногеномного секвенирования для изучения эволюционной истории метастазов рака предстательной железы человека во многих случаях было обнаружено метастазирование из уже имеющихся метастазов, включая распространение метастазов из ЛУ в другие ЛУ и в отдаленные органы [199, 200]. Построение филогенетических деревьев для метастатических колоректальных карцином человека также выявило сходные метастатические пути и подтвердило, что может происходить из метастатических ЛУ опухоль может распространяться дальше [201, 202]. Будет заманчиво предположить, что в этих метастатических участках также происходит индукция лимфангиогенеза и что это может способствовать дальнейшему метастатическому распространению, как недавно было обнаружено в экспериментальных моделях рака молочной железы и меланомы, а также в метастазах в легких пациентов с меланомой [171]. Лимфангиогенез в местах метастазирования может способствовать выходу опухолевых клеток из метастатических поражений в дренирующие ЛУ, откуда они могут распространяться дальше. Кроме того, как обсуждается ниже, лимфатические сосуды, ассоциированные с метастазами, могут модулировать противоопухолевый иммунный ответ и, таким образом, способствовать росту метастазов.

4. ЛИМФАТИЧЕСКАЯ СИСТЕМА В ПРОТИВООПУХОЛЕВОМ ИММУНИТЕТЕ

4.1. Афферентные лимфатические сосуды как транспортный путь для антигенных и эмигрирующих из ткани иммунных клеток

Лимфатические сосуды выполняют важную функцию в адаптивном иммунитете, обеспечивая путь транспорта антигена из периферических тканей в дренирующие ЛУ. Хотя праймирование наивных лимфоцитов может изредка происходить в периферических тканях при патологических состояниях, включая злокачественные опухоли [321], ЛУ и другие вторичные лимфоидные органы являются преобладающим местом праймирования лимфоцитов. [321], Как следствие, у генетически модифицированных мышей с недостаточным лимфатическим транспортом от места первичной опухоли к дренирующим ЛУ наблюдалось снижение иммунного ответа в месте первичной опухоли и/или дренирующих ЛУ [322–324], что в некоторых случаях сопровождалось усилением роста первичной опухоли. Аналогичным образом, ПЛС в некоторой степени коррелирует с Т-клеточной инфильтрацией при меланоме, плоскоклеточном раке кожи и немелкоклеточном раке легкого [325–328]. Однако неясно, обусловлена ли эта корреляция тем, что лимфатические сосуды способствуют инфильтрации Т-клеток, или наоборот, то есть индукцией лимфангиогенеза воспалением, которое также привлекает Т-клетки. В любом случае еще предстоит выяснить, может ли полное ингибирование опухолевого лимфангиогенеза у онкологических пациентов оказывать негативное влияние на эндогенные опухолеспецифиче-

ские иммунные ответы. Следует также учитывать, что эфферентные лимфатические сосуды не менее важны для иммунитета, так как они переносят активированные лимфоциты из ЛУ в кровоток, что позволяет им вернуться к тканям-мишеням.

Иммунологически наиболее релевантным способом транспорта опухолевого антигена в дренирующие ЛУ, по-видимому, является миграция АПК, таких как ДК. ДК, присутствующие в МОО, имеют доступ к широкому спектру потенциальных опухолевых антигенов. При наличии соответствующих воспалительных сигналов эти клетки созревают, что позволяет им с участием хемокинов мигрировать к ассоциированным с опухолью начальным лимфатическим сосудам и проникать в них через прерывистые соединения между ЛЭК. Созревание ДК индуцирует представление антигена и активацию ко-стимулирующих молекул, таких как CD80 и CD86, что позволяет им праймировать антиген-специфические Т-лимфоциты, тогда как незрелые ДК, лишенные полной способности к костимуляции, ингибируют последующие адаптивные иммунные ответы и вызывают толерантность [329]. В самом деле, отсутствие в МОО сигналов, индуцирующих созревание ДК, вероятно, служит одной из важных причин частой неспособности иммунной системы эффективно устранять злокачественные клетки.

Лимфатические сосуды также могут транспортировать антигены в форме свободных молекул или молекулярных комплексов, если те достаточно малы для диффузии через интерстициальные пространства и прохождения через лоскутные соединения начальных лимфатических сосудов [330]. Затем эти молекулы поглощаются макрофагами или ДК, находящимися в дренирующих ЛУ, которые процессируют их и (*перекрестно*) представляют производные пептиды на МНС-I или МНС-II, чтобы праймировать наивные или реактивировать Т-лимфоциты памяти CD81 и CD41 в узлах. Примечательно, что сами ЛЭК ЛУ также поглощают антиген из афферентной лимфы и *перекрестно* представляют процессированные пептиды на МНС-I [331]. Кроме того, ВВ из опухолевых клеток богаты опухолевыми антигенами и транспортируются с лимфой в дренирующие ЛУ [302, 303]. Пока не совсем ясно, какие типы клеток в дренирующих опухоль ЛУ взаимодействуют с такими ВВ и, таким образом, имеют доступ к содержащимся в них потенциальным антигенам. В то время как ВВ, высвобождаемые клетками меланомы *in vivo*, взаимодействуют исключительно с синусоидальными макрофагами в дренирующих ЛУ [306], ВВ, генерируемые той же клеточной линией меланомы *in vitro* и впоследствии вводимые в кожу мышей, также поглощаются дренирующими ЛЭК ЛУ [303, 308, 309]. Захват эндогенно выделяемых ВВ меланомы ЛЭК ЛУ недавно был подтвержден на клетках меланомы с дефектом выделения ВВ. Это исследование также показало, что ВВ меланомы переносят опухолевые антигены в толерогенные ЛЭК ЛУ, тем самым нарушая Т-клеточный ответ CD81 в этих ЛУ [309].

ДК проводят значительное количество времени, ползая и исследуя свое окружение в просвете начальных лимфатических сосудов, прежде чем они продолжат свое путешествие к дренирующим ЛУ, где они встречаются с наивными лимфоцитами и взаимодействуют с ними [332]. В течение этого времени они могут связываться с ЛЭК, выстилающими сосуды, что потенциально влия-

ет на фенотип этих ДК, как обсуждается ниже. Недавно был обнаружен второй, более быстрый механизм проникновения ДК непосредственно в собирающие лимфатические сосуды при острых воспалительных состояниях, который включал экспрессию молекулы адгезии лейкоцитов VCAM-1 лимфатическими сосудами [333]. Однако в настоящее время неизвестно, происходит ли этот процесс также в дренирующих опухоль лимфатических сосудах.

Лимфатические сосуды переносят из периферических тканей в дренирующие ЛУ не только АПК, но и различные другие типы иммунных клеток, включая Т-клетки CD81 и CD41 с эффекторным, памятьным или регуляторным фенотипом. Например, с помощью фотопереключаемых мышей, которые позволяют идентифицировать клетки, вышедшие из периферических тканей в дренирующих ЛУ, было показано, что Treg были преобладающим типом клеток, выходящим из воспаленной кожи [334], тогда как среди клеток, выходящих из через лимфатическую систему первичных опухолей, чаще всего встречались эффекторные Т-клетки и Т-клетки памяти CD81 и CD41 [335]. Это может иметь важные последствия. С одной стороны, ДК и выходящие из опухоли эффекторные/Т-клетки памяти могут взаимодействовать уже внутри ассоциированных с опухолью начальных лимфатических сосудов, подобно тому, что наблюдалось при воспалительных состояниях в коже мышей [336]. Это может влиять на статус активации клеток обоих типов перед поступлением в дренирующие ЛУ. С другой стороны, начальные лимфатические сосуды могут косвенно регулировать иммунный состав МОО, контролируя выход специфических типов иммунных клеток с помощью контекстно-зависимой экспрессии хемотаксических или адгезивных молекул, которые избирательно способствуют выходу отдельных типов клеток [337, 338].

4.2. Прямая иммунная регуляция со стороны ЛЭК

В дополнение к важной роли лимфатических сосудов в транспорте антигенов и иммунных клеток между опухолями, дренировании ЛУ и системном кровообращении, ЛЭК также непосредственно взаимодействуют с различными типами иммунных клеток и в разных фазах опухолеспецифических иммунных ответов. Например, ассоциированные с опухолью ЛЭК могут взаимодействовать с лейкоцитами, находящимися в МОО или выходящими из него через лимфатические сосуды. В здоровых и воспаленных тканях мышей АПК и Т-клетки ползают по просветной поверхности ЛЭК в течение значительного времени [339, 340]. Дальнейшие взаимодействия ЛЭК и лейкоцитов могут происходить, когда лейкоциты из афферентной лимфы попадают в субкапсулярный синус дренирующих ЛУ и трансмигрируют в паренхиму ЛУ, а также когда лимфоциты покидают паренхиму ЛУ через эфферентные лимфатические сосуды. Важно отметить, что ЛЭК не только участвуют в процессах адгезии и трансмиграции лейкоцитов, но также выступают в качестве активных регуляторов фенотипа и функций иммунных клеток посредством межклеточных контактов и/или паракринных взаимодействий, что обсуждается ниже.

4.2.1. ЛЭК и регуляция клеток врожденного иммунитета.

При миграции из периферических тканей в паренхиму дренирующих ЛУ ДК сталкиваются с ЛЭК начальных и собирающих лимфатических сосудов, а также с ЛЭК дна субкапсулярного синуса. Исследования *in vitro* позволяют предположить, что взаимодействия между ДК и ЛЭК могут приводить к снижению презентации антигена и костимулирующей способности ДК, особенно при воспалительных состояниях. Было обнаружено, что с точки зрения механизма это зависит от адгезии между ДК и ЛЭК через ICAM-1 и от выделения простагландина ЛЭК [341, 342]. Другим типом АПК являются макрофаги, которые присутствуют в МОО (MAO — макрофаги, ассоциированные с опухолью), а также находятся в ЛУ. В то время как обычно считается, что MAO способствуют росту опухоли и ослабляют опухолевый иммунитет [343], резидентные синусоидальные макрофаги ДУ CD1691, как было показано, благоприятствуют противоопухолевому иммунитету, поскольку они сдерживают рост первичной опухоли и отдаленные метастазы в моделях меланомы и рака молочной железы, регулируя гуморальные и CD81 Т-клеточные ответы [306, 344, 345]. Интересно отметить, что было показано, что ЛЭК необходимы для поддержания синусоидальных макрофагов за счет выделения КСФ-1 [26]. ЛЭК ЛУ, особенно в мозговых синусах, также, по-видимому, взаимодействуют с нейтрофилами, что, по крайней мере в ЛУ человека, опосредовано лимфатической экспрессией CD209 [6, 346]. В целом, эти исследования показывают, что ЛЭК в периферических тканях и ЛУ могут взаимодействовать и регулировать фенотип ДК, макрофагов и, возможно, других клеток врожденного иммунитета (рисунок 7, слева).

4.2.2. ЛЭК регулируют миграцию, функцию и выживание Т-клеток.

ЛЭК взаимодействуют с Т-клетками несколькими способами, регулируя их миграцию в пределах ЛУ, активацию, функцию и выживание (рисунок 7, справа). Миграция и рециркуляция наивных и активированных Т-клеток из ЛУ через эфферентные лимфатические сосуды в кровеносную систему во многом зависит от S1P. Уровень S1P низок в паренхиме ЛУ, но высок в лимфатических синусах, что создает хемотаксический градиент для Т-клеток, экспрессирующих рецептор к S1P. Создание этого градиента обеспечивается ЛЭК, экспрессирующими киназы S1P Sphk1 и Sphk2, а также транспортер S1P Spns2 [115, 116, 347]. В то время как Sphk1 и Sphk2 экспрессируются повсеместно всеми ЛЭК ЛУ, недавние данные секвенирования РНК одиночных клеток показали, что Spns2 преимущественно экспрессируется небольшой подгруппой ЛЭК ЛУ, образующей синусы в коре и перимедулярной области ЛУ. Эти синусы, по-видимому, служат выходными каналами, которые направляют Т-клетки, экспрессирующие рецептор S1P, в эфферентные лимфатические сосуды [5]. В ЛУ S1P не только участвует в контроле паттернов миграции Т-клеток, но также участвует в выживании наивных Т-клеток [348] и внутриузловом позиционировании NK-клеток [349]. Остается выяснить, нарушаются ли или изменяются опосредованные ЛЭК градиенты S1P в дренирующих опухоль ЛУ, и может ли это влиять на Т- или NK-клетки, опухолевый иммунитет или метастазирование в ЛУ.

Примечательно, что ЛЭК во многом сходны с АПК, экспрессируя как МНС-I (как почти любой тип клеток), так и МНС-II, что позволяет им антиген-независимо взаимодействовать как с CD81, так и с CD41 Т-клетками. Подобно стромальным клеткам в тимусе, ЛЭК ЛУ экспрессируют несколько собственных антигенов периферических тканей (АПТ), которые экспрессируются только в определенных тканях или типах клеток [20, 21, 350]. Однако в отличие от тимуса, экспрессия АПТ в ЛЭК ЛУ не зависит от транскрипционного фактора Aire, но может управляться Deaf1 [20, 351]. В стационарных условиях презентация пептидов, полученных из этих АПТ с помощью ЛЭК ЛУ, CD81 Т-клеткам в микроокружении ЛУ приводит к делеции потенциально аутореактивных CD81 Т-клеток, которые распознают родственный антиген, представленный ЛЭК ЛУ. Этот процесс характеризуется начальной пролиферацией Т-клеток CD81, за которой следует постепенная дисфункция, апоптоз и элиминация (абортивная пролиферация) [20, 331]. Хотя этот процесс явно способствует поддержанию периферической толерантности к АПТ, он также может способствовать уклонению опухоли от иммунного ответа, поскольку АПТ, экспрессируемые ЛЭК ЛУ, включают классические опухолевые антигены. Они могут служить мишенями для эндогенных опухолевых иммунных ответов; в качестве примера можно привести тирозиназу, которая в прочих случаях экспрессируется исключительно меланоцитами и клетками меланомы [20, 350]. Интересно, что среди всех типов ЛЭК ЛУ экспрессия тирозиназы была самой высокой в ЛЭК мозгового синуса у мышей [350]. Это говорит о том, что ЛЭК в первую очередь толерантны к АПТ-специфическим Т-клеткам, которые выходят из ЛУ через эфферентные лимфатические сосуды или к наивным Т-клеткам, происходящим из афферентной лимфы, которые проникают в паренхиму ЛУ через мозговые синусы [352].

Как обсуждалось выше, ЛЭК ЛУ могут также поглощать опухолевой антиген из афферентной лимфы и перекрест-

но презентовать его на МНС-I. Сообщалось, что в мышиной модели меланомы ЛЭК в первичных опухолях и в дренирующих ЛУ перекрестно представляют модельный опухолевой антиген, в роли которого выступал куриный овальбумин [331, 353]. Это говорит о том, что ЛЭК, представляющие опухолевой антиген на МНС-I, могут вызывать толерантность CD81 Т-клеток по отношению к опухолевым антигенам непосредственно в первичном МОО, поскольку Т-клетки выходят из МОО через лимфатические сосуды и/или внутри дренирующей опухоль ЛУ.

Было высказано предположение, что делеция тех CD81 Т-клеток, которые распознают антиген, представленный ЛЭК ЛУ, происходит из-за общего отсутствия экспрессии костимулирующих молекул в сочетании с конститутивной экспрессией молекул, ингибирующих Т-клетки [21]. Из них значительный научный интерес вызывает PD-L1 — лиганд ингибиторного рецептора PD-1 на поверхности активированных Т-клеток, который снижает их эффекторные функции, пролиферацию и выживаемость [354]. В физиологических условиях PD-L1 в большом количестве экспрессируется ЛЭК ЛУ, выстилающими дно субкапсулярного синуса, а также мозговые синусы [5, 350]. Такая экспрессия, по крайней мере частично, зависит от сигнального пути LT- β и от присутствия в ЛУ В-клеток [350]. Хотя периферические ЛЭК обычно не экспрессируют PD-L1, в различных моделях опухолей у мышей экспрессия индуцируется в ассоциированных с первичной опухолью ЛЭК в ответ на IFN- γ -сигналинг [355–357]. Напротив, в дренирующей опухоль ЛЭК ЛУ экспрессия PDL1 остается неизменной [18, 355]. На мышиной модели с условным нокаутом PD-L1, специфичным для ЛУ, недавно было продемонстрировано, что лимфатический PD-L1 действительно снижает выживаемость специфичных к опухолевому антигену Т-клеток CD81 путем индукции апоптоза. Это было особенно заметно в клетках с фенотипом центральных Т-клеток памяти в дренирующей опухоль ЛУ [357]. Напротив, в физиологических условиях было об-

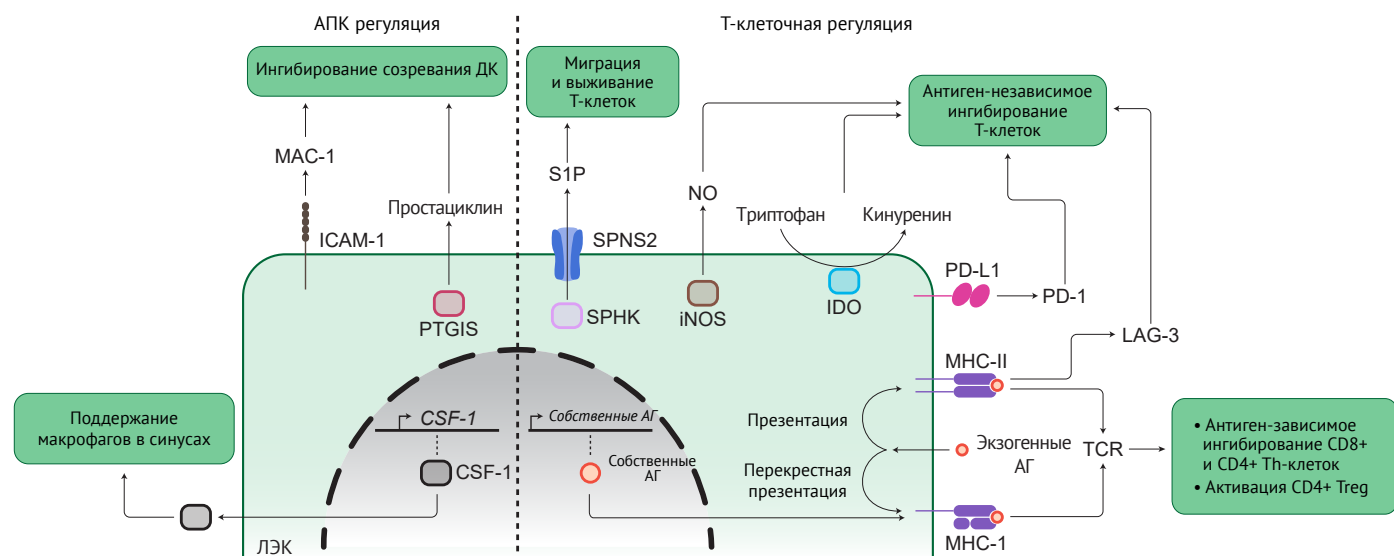


Рисунок 7 | Регуляция иммунных клеток лимфатическими эндотелиальными клетками (ЛЭК).

ЛЭК способны напрямую регулировать активное состояние нескольких типов клеток врожденного иммунитета и Т-клеток. Резидентные ЛЭК лимфатического узла (ЛУ) выделяют колониестимулирующий фактор 1 (CSF-1), который необходим для поддержания макрофагов синусов ЛУ; при этом периферические ЛЭК могут ингибировать созревание дендритных клеток (ДК) с участием адгезивных взаимодействий и выделения простаглицлина. Резидентные ЛЭК ЛУ регулируют градиенты сфингозин-1-фосфата (S1P) внутри

ЛУ, которые необходимы для миграции и выживания Т-клеток. Выделение оксида азота (NO) и расщепление триптофана до кинуренина с помощью индоламин-2,3-диоксигеназы (ИДО) может неспецифически ингибировать Т-клетки. Кроме того, ЛЭК могут представлять эндогенные и экзогенные антигены на МНС-I и МНС-II, что приводит к ингибированию Т-клеток CD81 и CD41 или активации регуляторных Т-клеток (Treg) с участием экспрессии PD-L1.

АПК — антигенпредставляющая клетка;
iNOS — индуцибельная синтаза оксида азота.

наружено, что ЛЭК ЛУ редко праймируют и индуцируют центральные Т-клетки памяти CD81 [358].

ЛЭК экспрессируют не только МНС-I, но и МНС-II, экспрессия которого в остальном в значительной степени ограничена профессиональными АПК. Хотя его стационарная экспрессия низкая, ее можно индуцировать с помощью IFN- γ [359]. В то время как способность ЛЭК загружать на МНС-II пептиды, полученные из эндогенных белков, вызвала сомнения [360], в настоящее время неясно, относится ли это также к экзогенным белкам, включая белки, полученные из опухолевых клеток, которые ЛЭК могут захватывать из лимфы. ЛЭК также могут получать молекулы МНС-II, предварительно загруженные пептидами, от фоновых АПК, таких как ДК, с помощью прямых межклеточных контактов или ВВ-опосредованного переноса, что позволяет им антиген-зависимо взаимодействовать с CD41 Т-клетками [359]. Подобно презентации антигена в комплексе с МНС-I CD81 Т-клеткам, как обсуждалось выше, сообщалось, что презентация антигена ЛЭК ЛУ в комплексе с МНС-II индуцирует апоптоз в антиген-специфических CD41 Т-клетках [359]. Кроме того, появляется все больше данных о том, что презентация антигена с участием МНС-II может способствовать образованию и/или поддержанию Treg, которые могут косвенно ингибировать ответы Т-клеток CD41 и CD81, тем самым ограничивая аутоиммунитет и хроническое воспаление у мышей [361–363]. Важно отметить, что МНС-II ЛЭК также нарушают противоопухолевый иммунитет в доклинических моделях за счет экспансии Treg, особенно в МОО [326]. Таким образом, ЛЭК можно рассматривать как полупрофессиональные АПК, которые могут презентировать антиген и регулировать активность различных типов Т-клеток как в норме, так и в контексте опухоли.

Помимо участия в презентации антигена CD41 Т-клеткам, МНС-II также служит лигандом для ингибиторного рецептора LAG-3, который присутствует на активированных Т- и NK-клетках. LAG-3 повреждает эффекторные клетки, антиген-независимо активируя ингибирующую способность Treg [364]. В соответствии с этим сообщалось, что у мышей LAG-3 способствует опосредованной ЛЭК делеции CD81 Т-клеток, специфичных к антигену, экспрессируемому ЛЭК [360]. Следует отметить, что несколько молекул, направленных на LAG-3, отдельно или в комбинации с PD-1-/PD-L1-блокаторами, в настоящее время проходят клинические испытания и были недавно одобрены для лечения поздних стадий меланомы [365–367]. Культивируемые ЛЭК ЛУ усиливают экспрессию iNOS (NOS2) в ответ на воспалительные цитокины (IFN- γ и TNF- α), выделяют NO и паракринно ингибируют пролиферацию близлежащих Т-клеток [368]. Хотя секвенирование РНК ЛЭК ЛК не выявило индукции iNOS в дренирующих опухоль ЛУ по сравнению с наивными ЛУ [18], в модели рака молочной железы у мышей iNOS индуцировалась в ЛЭК, связанных с первичной опухолью [185], это позволяет предположить, что ЛЭК могут ингибировать эффекторные Т-клетки в МОО с помощью выделения NO. В культивируемых ЛЭК ЛУ IFN- γ также индуцирует экспрессию индоламин-2,3-диоксигеназы (ИДО) — фермента, который расщепляет незаменимую аминокислоту триптофан из клеточного микроокружения для ее поступления в кинурениновый путь; это приводит к ингибированию Т-клеток [369]. Хотя недавно было показано, что экспрессия ИДО эндотелием кровеносных сосудов

нарушает противоопухолевый иммунитет и иммунотерапию [370], в настоящее время нет убедительных доказательств того, что ИДО также экспрессируется в ЛЭК, ассоциированных с первичными опухолью или дренирующей опухолью ЛУ, *in vivo* [370].

4.3. Влияние лимфатических сосудов на противоопухолевый иммунитет и иммунотерапию

Учитывая описанную выше двойственную роль лимфатической системы в противоопухолевом иммунитете, а именно ее основную функцию в качестве системы транспорта антигенов в сочетании с ингибирующей Т-клетки и толерогенной активностью ЛЭК, можно предположить, что терапевтическая модуляция опухолевого лимфангиогенеза может оказывать различное влияние на противоопухолевый иммунитет и рост первичной опухоли [371]. Действительно, доклинические исследования дали в этом плане неоднозначные результаты. В то время как в модели меланомы B16F10 ингибирование или стимуляция опухолевого лимфангиогенеза не оказывали существенного влияния на рост первичной опухоли [324, 353, 372], блокада VEGFR-3-сигналинга снижала рост опухоли в моделях колоректальной карциномы, рака молочной железы, нейроэндокринного рака поджелудочной железы и плоскоклеточного рака [57, 131, 132]. Напротив, в модели глиобластомы введение VEGF-C с аденовирусным вектором уменьшало рост опухоли и повышало выживаемость [373]. Очевидно, что эти доклинические исследования сильно различались в зависимости от типа модели опухоли, ее иммуногенности, пораженного органа, а также типа и схемы лечения, выбранных для модуляции лимфангиогенеза (*блокирующие антитела, низкомолекулярные ингибиторы, вирусная доставка VEGF-C, гиперэкспрессия VEGF-C в опухолевых клетках*). Более того, в этих исследованиях преимущественно изучали первичный рост опухоли, тогда как основными мишенями в клинических условиях служат метастатические поражения. Таким образом, чтобы сделать твердые выводы о точных условиях, при которых модуляция опухолевого лимфангиогенеза может быть полезной, необходимы дополнительные исследования.

В некоторых из вышеупомянутых исследований изучалась эффективность иммунотерапевтических подходов в контексте усиления или подавления опухолевого лимфангиогенеза, но и в этом случае представленные данные не очень убедительны. Неудивительно, что у мышей с хронической кожной экспрессией растворимого VEGFR-3 вакцинация против опухолевого антигена оказалась неэффективной, поскольку у этих мышей отсутствует большинство кожных лимфатических сосудов, что предотвращает транспорт антигена и ДК к дренирующим ЛУ [324]. С другой стороны, меланомы B16F10 показали различные ответы на антигенную вакцинацию и адоптивную Т-клеточную терапию после терапевтической блокады VEGFR-3 в зависимости от временной точки и от наличия в опухоли гиперэкспрессии VEGF-C [353, 372]. В моделях глиобластомы и внутричерепной меланомы доставка VEGF-C проявила значительную синергию с терапией ингибиторами контрольных точек (*анти-PD-1 отдельно или в комбинации с анти-CTLA4*) [373]. В соответствии с этими данными клинические испытания показали, что уровень VEGF-C в сыворотке положительно коррелирует

с эффективностью экспериментальной пептидной вакцины против меланомы и с улучшением выживаемости без прогрессирования у пациентов с меланомой, получающих комбинацию антител к PD-1 и к CTLA4 [372]. Тем не менее, в контексте иммунотерапии необходимы дальнейшие исследования для определения оптимальных комбинаций и схем лечения.

Важно иметь в виду, что уровень VEGF-C не обязательно является показателем лимфангиогенеза опухоли и что направленное воздействие на VEGF-C или VEGFR-3 может иметь дополнительные эффекты вне лимфатической системы. Например, накапливаются данные о том, что некоторые субпопуляции макрофагов экспрессируют VEGFR-3 и реагируют на VEGF-C [57, 61, 374, 375], что, возможно, способствовало эффектам экспериментальной блокады VEGFR-3 и обсуждаемой выше доставки VEGF-C. Сходным образом, VEGF-C, как сообщается, регулирует эффекторные функции NK-клеток [376] и образование тромбоцитов мегакариоцитами [377], что может по-разному влиять на противоопухолевый иммунитет и иммунотерапию. Наконец, хотя экспрессия VEGFR-3, по-видимому, достаточно ограничена определенными типами гемопоэтических клеток, корецептор VEGF-C NRP-2 широко экспрессируется в иммунной системе [378], что может иметь значение для стратегий системной терапии, действующих на VEGF-C. Таким образом, альтернативный подход к направленному воздействию через путь VEGF-C/VEGFR-3 на лимфангиогенез в целом может заключаться в избирательном подавлении иммуноингибирующих функций ЛЭК в контексте иммунотерапии опухолей. В связи с этим было показано, что подавление IFN-сигналинга в лимфатической системе ингибирует рост опухоли в модели меланомы, чувствительной к иммунным контрольным точкам, и повышает эффективность противоопухолевой вакцины [356], тогда как отсутствие лимфатического PD-L1 действует синергично с адоптивной Т-клеточной терапией [357]. Хотя эти данные выглядят многообещающе, направленное воздействие на иммуноингибирующие молекулы или пути, особенно в лимфатической системе, остается сложной задачей.

5. ЛИМФАТИЧЕСКАЯ СИСТЕМА КАК ТЕРАПЕВТИЧЕСКАЯ МИШЕНЬ И ПУТЬ ДОСТАВКИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

5.1. Разработка лимфангиогенных препаратов

Противоопухолевая терапия, направленная на блокирование ангиогенеза или на нормализацию кровеносных сосудов, разработана и используется в клинике для лечения нескольких видов злокачественных новообразований. Соответствующие препараты были созданы для ингибирования питания растущих опухолей и уменьшения проникновения жидкости из сосудов в ткани. В качестве одного из примеров можно привести бевацизумаб — гуманизированное моноклональное антитело против VEGF-A, которое было одобрено для лечения метастатического рака толстой кишки, яичников, почки и немелкоклеточного рака легкого, а также мультиформной глиобластомы [379–381]. В настоящее время в стадии клинической разработки также находится терапия, направленная на Ang2, ее основная цель — блокирование опухолевого ангиогенеза [382]. Тем не менее, стратегии

подавления опухолевого лимфангиогенеза только недавно стали привлекать внимание [383]. Главное обоснование разработки таких препаратов заключается в возможности ограничения процесса метастазирования опухоли по лимфатической системе. Учитывая иммунорегуляторные функции, выполняемые ЛЭК, антилимфангиогенная терапия потенциально может иметь дополнительные преимущества, стимулируя противоопухолевый ответ. Поскольку в физиологических условиях лимфангиогенез обычно не происходит, такая антилимфангиогенная терапия должна быть относительно безопасной и не вызывать серьезных побочных эффектов. Принимая во внимание центральную роль сигнального пути VEGF-C/-D/VEGFR-3 в стимуляции лимфангиогенеза, ассоциированного с опухолью, неудивительно, что были разработаны лекарственные средства для специфического воздействия либо на лиганды, либо на рецептор (рисунки 8). Следует отметить, что клетки, отличные от ЛЭК, — в частности, некоторые иммунные клетки, — также могут экспрессировать VEGFR-3 и, следовательно, могут стать мишенью при фармакологическом ингибировании VEGFR-3. Стратегии блокирования VEGFR-3/VEGF-C/-D, используемые в доклинических и клинических исследованиях, описаны ниже.

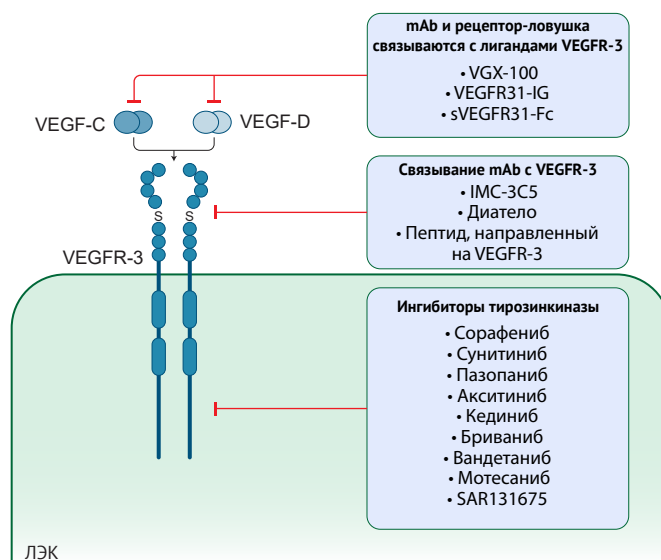


Рисунок 8 | Текущие стратегии, направленные на путь VEGF-C/VEGFR-3. Моноклональные антитела (mAb) и рецепторные ловушки связывают VEGF-C и VEGF-D и снижают их доступность. mAb или пептиды, направленные на VEGFR-3, предотвращают связывание VEGF-C и VEGF-D с рецептором, что приводит к ингибированию активации VEGFR-3. Низкомолекулярные ингибиторы тирозинкиназы блокируют, среди прочего, активацию нижестоящих компонентов сигнального пути VEGFR-3. Лекарства, которые в настоящее время используются в клинических испытаниях или были одобрены для лечения злокачественных новообразований, обозначены черным цветом, тогда как препараты, проходящие доклиническую оценку, обозначены серым цветом. ЛЭК — лимфатические эндотелиальные клетки

В целом они проявляют низкую токсичность и (по крайней мере, на доклинических моделях новообразований) демонстрируют антиметастатические, а иногда и противоопухолевые эффекты. Совсем недавно для ингибирования связанного с опухолью лимфангиогенеза также была предложена блокада Ang2, поскольку она ограничивала лимфогенное метастазирование и нарушала поддержание лимфатических сосудов в моделях опухолей у мышей [384].

5.1.1. Антитела, блокирующие VEGF-C или VEGF-D.

В настоящее время созданы гибридные белки и антитела, которые могут связываться с VEGF-C, но они все еще находятся в доклинической разработке [134, 385–387]. VEGFR-3-Ig представляет собой слитый белок из рецептора и иммуноглобулина (*Ig*), который может связываться с VEGF-C и VEGF-D. VEGFR-3-Ig, вводимый в рамках профилактической терапии, был способен снижать связанный с опухолью ангиогенез, лимфангиогенез и метастазирование в модели гепатоцеллюлярной карциномы на мышах [385]. sVEGFR3-Fc представляет собой растворимый рецептор-приманку VEGFR-3, который содержит первые три аминоконцевых иммуноглобулиноподобных домена клеточного VEGFR-3 и слит с фрагментом Fc IgG1 человека [388]. Такой укороченный sVEGFR3-Fc специфически связывается с VEGF-C и VEGF-D с высокой аффинностью и поэтому конкурирует за связывание этих лигандов с соответствующими клеточными рецепторами [388]. sVEGFR3-Fc, вводимый перед развитием опухоли, сильно ингибировал связанный с опухолью лимфангиогенез и лимфатические метастазы в моделях меланомы, почечно-клеточного рака и рака предстательной железы [134]. Было показано, что фрагмент моноклонального антитела человека (*scFv*), который специфически связывается с полностью процессированной зрелой формой человеческого VEGF-C, ингибирует VEGF-C/VEGFR-3-сигналинг, но его применение было ограничено исследованиями *in vitro* [386]. Совсем недавно было разработано 1E19 — новое антитело против VEGF-C человека — и показано, что оно эффективно блокирует сигнальный путь VEGFR3 как *in vitro*, так и *in vivo* в двух моделях светлоклеточной почечно-клеточной карциномы у мышей [387]. В этом исследовании 1E19 уменьшало рост опухоли и связанный с опухолью лимфангиогенез при верифицированной злокачественной опухоли [387]. VGX100 — полностью гуманизованное антитело против VEGF-C, которое специфически связывается с VEGF-C для предотвращения его взаимодействия с VEGFR-3, — оценивали в ходе I фазы клинических испытаний. VGX-100 вводили пациентам с солидными опухолями на поздних стадиях, рефрактерными к стандартной химиотерапии (*ClinicalTrials.gov Identifier: NCT01514123*) [389]. Пациенты, включенные в исследование, получали VGX-100 в качестве монотерапии или в комбинации с бевацизумабом. Антитело хорошо переносилось, но противоопухолевая активность была умеренной, при уровне контроля заболевания 12% [389].

Было показано, что моноклональные антитела, нейтрализующие человеческий VEGF-D, хотя и протестированы только на доклиническом уровне, эффективно ингибируют VEGF-D-индуцированный лимфангиогенез. VD1 является антагонистом человеческого VEGF-D, который связывается как с полностью процессированными, так и с непроцессированными формами VEGF-D, тем самым блокируя связывание VEGF-D как с VEGFR-2, так и с VEGFR-3 [390]. Было разработано второе моноклональное антитело против VEGF-D — cVE199 — и показано, что оно специфически связывает VEGF-D человека и специфически ингибирует взаимодействие VEGF-D человека с VEGFR-3. Обработка ЛЭК cVE199 ингибировала фосфорилирование VEGFR-3 и уменьшала пролиферацию этих клеток *in vitro*. Введение cVE199 *in vivo* снижало связанный с опухолью лимфангиогенез и лимфогенное метастазирование в мышечной модели нейробластомы [391].

5.1.2. Антитела, направленные на VEGFR-3.

Недавно специфическое моноклональное антитело против VEGFR-3 — LY3022856, также известное как IMC-3C5, — завершило испытания фазы I у пациентов с распространенными и рефрактерными солидными опухолями и прогрессирующим колоректальным раком [392]. Результаты исследования фазы I показали, что IMC-3C5 хорошо переносился вплоть до самой высокой запланированной дозы, но проявляет лишь минимальную противоопухолевую активность [392]. Рекомбинантное биспецифическое антитело против VEGFR-2 и VEGFR-3 нейтрализовало активацию VEGFR-2 и VEGFR-3, стимулированную как VEGF-A, так и VEGF-C; активацию ERK1/2 MAPK в эндотелиальных клетках и их миграцию [393]. Кроме того, были разработаны пептиды направленного действия, специально нацеленные на VEGFR-3, и показано, что они эффективно ингибируют индуцированные VEGFC сигнальные пути путем блокирования взаимодействия между VEGF-C и VEGFR-3 [394, 395]. В ряде мышечных моделей опухолей было обнаружено, что профилактическое или терапевтическое применение мышечного моноклонального антитела mF4, блокирующего VEGFR-3, ингибирует рост опухоли и/или метастазирование [57, 129].

5.1.3. Малые молекулы, блокирующие тирозинкиназную активность VEGFR-3.

VEGFR-3 содержит протеинтирозинкиназный домен (рисунок 3), который может служить мишенью для малых молекул. Несмотря на то, что они изначально разрабатывались не в качестве специфических ингибиторов опухолевого лимфангиогенеза, некоторые малые молекулы, которые также направлены на киназную активность VEGFR-3, одобрены для клинического применения Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA) и Европейским агентством по лекарственным средствам (EMA). Среди них — регорафениб, сорафениб, сунитиниб, пазопаниб, акситиниб, кабозантиниб и ленватиниб [397–399]. Однако эти небольшие молекулы блокируют не только тирозинкиназную активность VEGFR-3, но и активность других основных рецепторных тирозинкиназ, таких как VEGFR-2, PDGFR и cKit, поэтому их терапевтические эффекты могут быть связаны с подавлением других связанных с опухолью процессов, а не лимфангиогенеза. До сих пор, насколько известно, сообщалось только об одном высокоспецифичном низкомолекулярном ингибиторе VEGFR-3 — ингибиторе тирозинкиназ SAR131675. Лечение SAR131675 было способно значительно уменьшить рост первичной опухоли, индуцированной опухолью лимфангиогенез и метастазирование в мышечных моделях рака молочной железы и холангиокарциномы, когда опухоли уже были диагностированы [58, 132, 154]. Таким образом, SAR131675 может представлять собой потенциальное лекарственное средство-кандидат для дальнейшего клинического применения.

5.1.4. Подходы к активации лимфатической системы.

В то время как обсуждаемые выше антилимфангиогенные методы воздействия в основном служат для ослабления лимфатического метастазирования, при определенных условиях в контексте злокачественных новообразований также может быть полезен противоположный подход,

а именно индукция лимфангиогенеза или активация функции лимфатического транспорта. Наиболее ярко это проявляется в случае вторичной лимфедемы после хирургического удаления опухоли или дренирующих ее ЛУ. Тем не менее, как обсуждалось в разд. 5.2, усиление лимфангиогенеза может также действовать синергетично с иммунотерапией злокачественных опухолей. Хотя инъекции свободного рекомбинантного белка VEGF-C часто не очень эффективны [400], на животных моделях лимфангиогенез можно индуцировать с помощью вирусных векторов (например, аденовируса или аденоассоциированного вируса), несущих конструкции, экспрессирующие VEGF-C. Направленное воздействие таких векторов может быть достигнуто с помощью местной инъекции, хотя существует потенциальный риск того, что вирус или VEGF-C проникнет в системный кровоток и поразит отдаленные органы. Тем не менее, I фаза клинических испытаний вектора на основе аденовируса типа 5 (препарат лимфактин) для доставки VEGF-C не выявила признаков системного распространения вируса или ответа антител против вектора [401]. В этом исследовании пациенты с лимфедемой плеча, связанной с раком молочной железы, получили аутологичный трансплантат ЛУ в пораженный участок; трансплантат был предварительно *ex vivo* обработан вектором VEGF-C путем инъекций вокруг лимфатического узла. Фаза II испытаний лимфактина дала неубедительные результаты, и дальнейшая разработка этого терапевтического метода в настоящее время приостановлена [402]. Кроме того, VEGF-C был нацелен на определенные органы-мишени — например, с помощью конъюгирования с антителами [403, 404], фибрин-связывающих VEGF-C [405] или носителей наночастиц белка или мРНК VEGF-C [400, 406]. Действительно, было показано, что некоторые из этих подходов вызывают образование функциональных (дренирующих жидкость) лимфатических сосудов *in vivo* [400, 403]. Сообщалось, что вирусная доставка VEGF-C (возможно, вследствие устойчивой экспрессии VEGF-C или сопутствующей воспалительной реакции) вызывает формирование незрелых лимфатических сетей, которые впоследствии перестраиваются и созревают [153, 407].

Недавнее открытие, что вегетативная нервная система посредством мускариновой и адренергической иннервации регулирует лимфатическую сократимость и, таким образом, насосную функцию [4], может лечь в основу для другого подхода — с применением терапевтической регуляции лимфатического транспорта, а не лимфангиогенеза. Например, агонисты мускариновых и b1-адренергических рецепторов повышали сократительную способность лимфатической системы *in vivo*, тогда как b1-адреномиметики ее снижали. Однако из-за серьезных системных эффектов таких нейроактивных агентов необходимо разрабатывать методы местного введения.

5.2. Лимфангиогенез при других методах борьбы со злокачественными опухолями: возможности комбинированной терапии

Как обсуждалось в разд. 4.3, лимфангиогенез в опухоли и активность VEGF-C оказывают комплексное влияние на иммунотерапию опухоли. Общая картина, сложившаяся в результате доклинических исследований, состоит в том, что лимфангиогенез, по-видимому, способствует повышению эффективности нескольких иммунотерапевтиче-

ских подходов [372, 373]. Это позволяет предположить, что именно индукция, а не ингибирование опухолевого лимфангиогенеза может благоприятствовать иммунотерапии у онкологических пациентов, усиливая транспорт и представление опухолевых антигенов в дренирующих ЛУ. Аналогичным образом, ингибирование лимфангиогенеза снижало терапевтическую эффективность фотодинамической терапии в двух моделях рака молочной железы у мышей [408]. С другой стороны, терапевтическая стимуляция опухолевого лимфангиогенеза может увеличить риск метастазирования в ЛУ. В случае вакцинации против опухолевого антигена для повышения эффективности этого типа терапии без дополнительных рисков целесообразным вариантом может быть локальная индукция лимфангиогенеза в месте вакцинации. Действительно, недавнее исследование на мышинной модели меланомы показало, что вакцина, содержащая облученные опухолевые клетки, экспрессирующие VEGF-C, вызывает более сильный опухолеспецифический иммунный ответ и способствует контролю опухоли по сравнению со стандартными протоколами вакцинации [409].

Лимфангиогенез индуцируется несколькими видами противоопухолевой терапии, включая лучевую терапию [410, 411], химиотерапию таксанами первого поколения [375, 412] и неoadъювантную гормональную терапию при раке предстательной железы [413], но связь между лимфангиогенезом и терапевтическим исходом изучена плохо. Клинические исследования показали, что низкая плотность или площадь лимфатических сосудов, связанных с опухолью, коррелирует с менее благоприятным исходом и снижением выживаемости пациентов с раком молочной железы и пищевода, получавших химиотерапию [414, 415]. Возможно, ассоциированные с опухолью лимфатические сосуды могут поглощать и транспортировать опухолевые антигены, выделяющиеся в результате вызванной химиотерапией гибели клеток, в дренирующие ЛУ и тем самым поддерживать опухолевый иммунитет. Кроме того, лимфодренаж опухолевой ткани также может усиливать проникновение химиотерапевтических препаратов внутрь опухоли за счет снижения давления интерстициальной жидкости в МОО [416]. С другой стороны, лимфангиогенез коррелировал с неблагоприятным исходом у пациентов с раком предстательной железы, получавших гормональную терапию в неoadъювантном режиме [417], но до сих пор нет указаний на то, что в этом случае антилимфангиогенная терапия может быть полезной.

Вследствие перекрытия молекулярных путей, регулирующих как ангиогенез, так и лимфангиогенез в опухоли, ожидается, что антиангиогенные и антилимфангиогенные препараты часто могут иметь двойственные эффекты, которые могут усиливаться при комбинированном применении. Например, доклинические исследования показали, что комбинированное ингибирование путей VEGF-A/VEGFR-2 и VEGF-C/VEGFR-3 с помощью антител или опосредованного олигонуклеотидами нокдауна *in vivo* более эффективно по сравнению с монотерапией подавляет как региональное (в ЛУ), так и отдаленное метастазирование опухоли [396, 418]. Тем не менее, врожденная или приобретенная резистентность представляет собой серьезную проблему для антиангиогенной терапии, и механизмы резистентности могут аналогичным образом перекрываться [152].

5.3. Лимфатическая система как путь доставки лекарств

Помимо того, что лимфатическая система сама по себе является терапевтической мишенью, ее также можно рассматривать как способ доставки лекарств [419] — например, к опухолевым клеткам, присутствующим в лимфатической системе, или к ЛУ, до которых может быть трудно добраться при системной терапии. Лимфатическая доставка лекарств может обеспечить значительно более низкую системную токсичность, поскольку активные соединения, например химиотерапевтические агенты, концентрируются локально и оказывают гораздо более слабое системное воздействие. Потенциальные пути доставки лекарственных препаратов непосредственно в лимфатическую систему оценивались во множестве исследований, включая внутритканевые инъекции в кожу или мышцы или пероральное введение с использованием различной лекарственной формы [420]. Как правило, малые молекулы (< 16 кДа, < 10 нм), введенные через интерстициальное пространство, быстро попадают в кровоток, тогда как крупные молекулы или частицы размером до 100 нм склонны поступать в лимфатическую систему. Более крупные объекты дренируются неэффективно, так как они слишком велики для перемещения через узкие интерстициальные пространства. Другие важные биологические или сконструированные свойства, влияющие на то, эффективно ли терапевтическое средство поглощается лимфатическими сосудами и, в идеале, сохраняется в дренирующих ЛУ, включают поверхностный заряд, пегилирование и встраивание специфических молекул или фрагментов направленного действия [66]. Поэтому низкомолекулярные препараты создаются с использованием различных типов наноструктур, таких как частицы на основе синтетических или природных (декстран, гиалуроновая кислота) полимеров, мицеллы и липосомы, которые могут быть нагружены липофильными (внутри мембраны) или гидрофильными (в полости липосомы) веществами. Совсем недавно как потенциальный переносчик лекарств в лимфатическую систему также рассматривался естественный аналог липосом — ВВ. Преимущество ВВ заключается в их естественной биосовместимости и меньшей токсичности по сравнению со многими синтетическими частицами, хотя их внутренние биологические функции, производство ВВ клинического уровня и наполнение желаемым полезным содержимым остаются сложной задачей [421, 422].

Одним из примеров, когда доставка лекарств через лимфатические сосуды может быть очень эффективной, служит лимфатическая химиотерапия, направленная на уничтожение внутрилимфатических опухолевых клеток, включая транзитные метастазы и метастазы в ЛУ, которые в противном случае могли бы представлять собой резервуар для локорегионарного рецидива или отдаленного метастазирования. Несколько классических противоопухолевых препаратов, таких как доксорубицин и цисплатин мелфалан, были включены в наночастицы или липосомы, что способствовало эффективному лимфатическому поглощению и значительному увеличению концентрации препаратов в лимфе по сравнению с системной терапией в животных моделях и в клинических испытаниях [423, 424]. Кроме того, были разработаны наночастицы для медленного высвобождения лекарственного средства (например, путем нековалентной конъюгации лекар-

ственного средства с гиалуроновой кислотой [425] или с помощью pH-чувствительных мицелл в качестве носителей [426]), чтобы продлить воздействие в дренирующих ЛУ до достижения эффективного уровня препарата. Еще одну технологию воздействия на внутрилимфатические опухолевые клетки представляет собой фотодинамическая терапия с использованием липосомного фотосенсибилизатора. Этот подход эффективно вызывает разрушение связанных с опухолью лимфатических сосудов и внутрилимфатических опухолевых клеток и предотвращает локорегиональный рецидив в животных моделях меланомы и рака легких [427].

Использование афферентных лимфатических сосудов в качестве пути доступа к дренирующим опухоль ЛУ также представляет собой очень привлекательный подход. Очевидно, для работы вакцин очень важна их высокоспецифичная доставка в ЛУ; оценивались различные лекарственные формы для усиления поступления в лимфатическую систему, захвата АПК и последующего транспорта вакцин или адъювантов в ЛУ, включая связывание с альбумином или различными типами наночастиц в качестве носителей антигенов и адъювантов [429–434]. Но тот же принцип может быть полезен и для других типов иммунотерапии. Недавние исследования выявили роль дренирующих опухоль ЛУ в активации (и зависимом от контрольных точек ингибирования) опухолеспецифических иммунных реакций, а доставка ингибиторов иммунных контрольных точек конкретно к этим ЛУ в нескольких моделях опухолей у мышей была столь же или даже более эффективной для индукции Т-клеточных ответов и контроля роста опухоли, чем системная терапия [435–437]. Кроме того, доставка ингибиторов иммунных контрольных точек непосредственно в ЛУ, дренирующие опухоль, вероятно, вызовет меньше побочных эффектов у онкологических пациентов, чем одобренные в настоящее время схемы системного лечения.

6. ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ

В настоящее время выявлено несколько молекулярных факторов и сигнальных путей, которые способствуют лимфангиогенезу опухоли; также подтверждена корреляция между расширением ассоциированных с опухолью лимфатических сосудов, метастазированием в ЛУ и плохим клиническим исходом при многих различных типах злокачественных новообразований (таблица 1). Хотя понимание клеточных и молекулярных процессов, которые опосредуют роль лимфатических сосудов в прогрессировании опухолей, все еще несколько ограничено, активное участие лимфатического эндотелия в модулировании противоопухолевого иммунитета может открыть новые захватывающие возможности для разработки стратегий противоопухолевой терапии. В этом обзоре обобщены текущие знания о морфологических, молекулярных и функциональных изменениях лимфатической сосудистой системы, связанных со злокачественными новообразованиями; выделены несколько открытых вопросов и областей, которые заслуживают дальнейших научных исследований. Например, несмотря на важное значение прогностических маркеров, обычно определяемых при патологических исследованиях тканей первичной опухоли, имеется лишь фрагментарное представление о механизмах, которые способствуют инвазии опухолевых клеток в лимфатические сосуды. Очевидно, это пре-

пятаствует разработке эффективных, широко применимых терапевтических средств, чтобы воздействовать на этот ранний этап метастатического каскада. Захватывающая новая область исследований открывается для изучения лимфоваскулярной ниши в дренирующих опухоль ЛУ и, что удивительно, также в метастазах в отдаленные органы. Выявление механизмов, ответственных за создание этих (*пред*)метастатических ниш и за их содействие выживанию опухолевых клеток, метастатическому росту и дальнейшему распространению, представляет собой большую возможность для новаторских открытий, которые потенциально могут повлиять на лечение онкологических заболеваний на поздних стадиях.

Потенциально наиболее многообещающий подход к использованию физиологических функций лимфатической системы для лечения опухолей может быть основан на ее двойной роли в облегчении антиген-специфических иммунных ответов и в ослаблении иммунных ответов против собственных и опухолевых антигенов. Недавние технические достижения, такие как секвенирование отдельных клеток и пространственный транскриптомный анализ образцов тканей с высоким разрешением, открывают новые возможности и площадки для научного прогресса в этих областях. В частности, такие технологии могут помочь выявить специализированные субпопуляции ЛЭК, ассоциированных с опухолью, и резидентных ЛЭК в сигнальных ЛУ, которые имеют разные функции в модуляции противоопухолевого иммунитета, а также определить специфичные для каждого подтипа ЛЭК мишени для разработки новых противоопухолевых терапевтических стратегий. По крайней мере, одно препятствие, которое необходимо срочно преодолеть для решения этих проблем, — это нехватка клинически значимых, надежных животных моделей для метастазирования в ЛУ и отдаленные органы у иммунологически компетентных хозяев.

Еще одна важная исследовательская задача, которую предстоит решить, — взаимосвязь между метастазами в ЛУ и отдаленными метастазами у онкологических больных; другими словами, вопрос, способствуют ли при определенных типах опухолей метастазы в ЛУ распространению опухолевых клеток в отдаленные органы и с помощью каких механизмов это может происходить. В то время как появляется все больше данных, что метастатические клетки из ЛУ могут заселять отдаленные органы при раке предстательной железы и колоректальной карциноме, степень этой взаимосвязи при других типах злокачественных новообразований в настоящее время неясна.

Авторы обзора полагают, что лимфатическая система и ЛЭК представляют собой привлекательные новые мишени для противоопухолевой терапии и что они дают широкие возможности для новых исследований, результаты которых можно будет использовать в клинической практике. Поскольку лимфатическая система выполняет множество функций, включая участие в транспорте антигенов, который необходим для противоопухолевого иммунитета, глобальный, недифференцированный антилимфангиогенный подход — направленный, например, на путь VEGF-C/VEGFR-3, — не обязательно представляет собой наиболее перспективную стратегию. Наоборот, более детальное и всестороннее понимание на молекулярном уровне функций лимфатических сосудов, провоцирующих и подавляющих заболевание, может проложить путь к индивидуальной и направленной терапевтической модуляции конкретных лимфатических свойств и функций. Ее можно осуществлять с помощью селективного ингибирования инвазии опухолевых клеток в лимфатические сосуды или опосредованного ЛЭК ингибирования Т-клеток при сохранении или даже активации транспорта жидкости и антигенов через лимфатические сосуды за счет новых стратегий доставки лекарств с использованием полимерных конъюгатов биологически активных соединений.

