



Sveriges lantbruksuniversitet  
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

# **Angiogeneshämmare som behandling mot metastaser**

*Var forskningen är idag och vart den är på väg*

*Carl Johan Grevby*

---

Självständigt arbete i veterinärmedicin, 15 hp

Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen Nr. 2013:71

Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Uppsala 2013

---





Sveriges lantbruksuniversitet  
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

## **Angiogeneshämmare som behandling mot metastaser**

Angiogenesis inhibitors as treatment against metastases

*Carl Johan Grevby*

**Handledare:**

Eva Hellmén, SLU, Institutionen för anatomi, fysiologi och biokemi

**Examinator:**

Eva Tydén, SLU, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

**Omfattning:** 15 hp

**Kurstitel:** Självständigt arbete i veterinärmedicin

**Kurskod:** EX0700

**Program:** Veterinärprogrammet

**Nivå:** Grund, G2E

**Utgivningsort:** SLU Uppsala

**Utgivningsår:** 2013

**Serienamn, delnr:** Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen Nr. 2013:71  
Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap, SLU

**On-line publicering:** <http://epsilon.slu.se>

**Nyckelord:** tumör, angiogenes, metastasering, angiogeneshämmare

**Key words:** tumour, angiogenesis, metastasis, angiogenesis inhibitors



## INNEHÅLLSFÖRTECKNING

Sammanfattning .....	1
Summary .....	2
Inledning.....	3
Material och metoder .....	3
Litteraturöversikt.....	5
Ordlista .....	5
Angiogenes.....	5
Pro-angiogenetiska faktorer .....	6
Angiogenesens betydelse för tumörer .....	7
Hur angiogenesen påverkar tumörer .....	7
Hur tumören påverkar angiogenesen.....	7
Tumören och pro-angiogenetiska faktorer .....	7
Angiogeneshämmare .....	8
Angiogenesen som angreppspunkt – faktorer och hur man angriper.....	8
Mediciner .....	9
Resistens – Tumören kringgår behandling.....	9
Kombinationsbehandlingar .....	11
Diskussion .....	12
Slutsats .....	13
Litteraturförteckning .....	14

## **SAMMANFATTNING**

Syftet med denna litteraturöversikt är att göra en utvärdering över de mekanismer som är viktiga vid tumörmetastasens nybildning av kärl s.k. angiogenes och med vilka metoder man kan hindra dem.

Tumörceller som prolifererar ohämmat utan att stimulera angiogenes begränsas av brist på näring och ineffektiv bortförel av slaggprodukter och kan därför sällan växa och bli större än cirka 1mm. Detta medför att även om det kliniskt finns många små metastaser i en patient så innebär det sällan något problem för patienten. Om tumörcellerna däremot muterar så att de kan stimulera angiogenes så tillåts tumörerna växa sig större och förstör då kringliggande vävnad vilket tillslut resulterar i patientens död.

Mycket forskning görs i nuläget inom ämnesområdet och man har som mål att med hjälp av angiogeneshämmare göra cancer till en kronisk men hanterbar sjukdom istället för den sjukdom med dödlig utgång som den ofta är idag.

Den första angiogeneshämmaren som godkändes för medicinskt bruk i USA var Avastin (Bevacizumab) som är en antikropp som binder till och oskadliggör vascular endothelial growth factor (VEGF), vilket är en av de faktorer som stimulerar angiogenes. Detta får som följd att de tumörer (60 % av alla humana) som uttrycker denna faktor hämmas i sin tillväxt. Resterande 40 % uttrycker istället andra faktorer som t ex basic fibroblast growth factor (bFGF) och transforming growth factor alpha (TGF- $\alpha$ ) och då behövs andra hämmare.

Den här litteraturgranskningen tittar närmare på angiogeneshämmande metoder och bakomliggande mekanismer, ser var forskningen är idag och vart den är på väg.

## **SUMMARY**

The purpose of this literature review is to evaluate the important mechanisms involved in the creation of new vessels i.e. angiogenesis, its involvement in tumour metastasis and the different methods used to prevent this.

Tumour cells proliferating uncontrollably without inducing angiogenesis are limited in growth by lack of nutrients and ineffective removal of waste products and therefore seldom grow beyond a diameter of 1 mm. This is of clinical importance for the patient because even though the metastasis are numerous, their small size limits the damage in the affected tissue. If and when the cells mutate and acquire the ability to induce angiogenesis they can grow in size and number and destroy the surrounding tissue, which eventually will result in death of the patient.

Therefore, research conducted today is targeting tumour angiogenesis and how to prevent it. This in turn will hopefully turn cancer into a chronic but manageable disease instead of the deadly disease it so often is today.

The first angiogenesis inhibitor approved for clinical use in the United States was Avastin (Bevacizumab), an antibody that binds and inactivates vascular endothelial growth factor (VEGF), which is one of the factors involved in angiogenesis. Given this fact, tumours expressing VEGF to promote its growth (60% of all human tumours) is inhibited, with slow growth as a result. The remaining 40% expresses different factors e.g. basic fibroblast growth factor (bFGF) and transforming growth factor alpha (TGF- $\alpha$ ) and thus require alternative inhibitors.

This literary review takes a closer look upon methods of inhibiting angiogenesis, their mechanisms of action, where the research is today and where it is heading.

## **INLEDNING**

I takt med att vi och våra husdjur lever längre blir tumörsjukdomar ett allt mer påtagligt problem hos såväl människor som djur. En tumör är en samling celler i kroppen som inte längre svarar på de styr- och regleringsmekanismer som kroppen har utan kan dela sig ohindrat. Detta beror på mutationer i cellernas arvs massa och kan få förödande konsekvenser för individen som drabbas.

En tumör kan vara antingen godartad (benign) eller elakartad (malign). Benigna tumörer växer oftast långsamt, avgränsat och cellerna har en hög differentieringsgrad. Detta gör att om de inte växer på en plats där de genom tryck skadar kringliggande vävnad sällan är direkt farliga för patienten. Maligna tumörer särskiljer sig genom att växa fort och invasivt, cellerna har en lägre differentieringsgrad samt att de tumörerna sprider sig i kroppen (metastaserar). Detta får till följd att skadorna på den som drabbas är större, obehandlat oftast med dödlig utgång. Man talar då om 'cancer'.

En metastas är en dottertumör i en vävnad skild från den ursprungliga tumören, en "avknoppning" från primärtumören (Zeidman, 1957). Det är framförallt metastaser som dödar den cancersjuka (Chambers et al., 2002), och självklart vill man därför bekämpa dem. Men för att bekämpa dem så måste man förstå de bakomliggande mekanismerna för hur cancer kan sprida sig.

För att en metastas skall uppstå måste primärtumören ha genomgått ett antal specifika förändringar. Den skall ha utvecklat angiogenes, d.v.s. nybildningen av kärl från befintliga kärl, för att få kärlförsörjning. Den skall bryta ner kringliggande vävnad för att växa invasivt och sprida sig. När tumören sedan växer in i blod- eller lymfkärl så kan cellkolonier lossna från den och spridas med vätskeflödet. Om cellerna överlever turbulens och immunförsvar i kärlet så kan de lämna kärlet genom kärlväggen och etablera sig i ny vävnad. I vävnaden växer sedan den så kallade mikrometastasen till (Fidler, 2003). Det som till slut blir begränsande för tumören är tillgång på i huvudsak syre, men även näring och borttransporterandet av slaggprodukter (Zetter, 1998). Utan kärlförsörjning kan inte tumören växa sig större än ca 1 mm i diameter (Folkman, 2006).

Om man kan hindra angiogenesen så hindras alltså tumörernas tillväxt och organskador blir inte lika omfattande samt att man i kombination med annan behandling kan bekämpa och eventuellt bota cancer.

Den här studien fokuserar därför på hur angiogenes påverkar metastasering och hur man skall hindra detta, vilket är ett lovande område inom cancerforskningen.

## **MATERIAL OCH METODER**

Till denna litteraturstudie har Google Scholar använts som sökverktyg för att hitta artiklar, då den ger relevanta resultat där man tydligt ser om man har tillgång till artikeln eller inte. Sökord som använts är t ex tumour, metastasis, angiogenesis, VEGF, resistance och olika



kombinationer av dem. Till att börja med så har moderna översiktsartiklar valts ut för att skapa en översikt över området. Sedan har referenserna följts i de artiklar som hittats med Google Scholar. Därifrån valdes bra och relevanta artiklar ut.

## LITTERATURÖVERSIKT

### Ordlista

Nedan följer en kort ordlista med förklaring till alla förkortningar

bFGF	Basic Fibroblast growth factor
BMDC	Bone marrow-derived cells
cGMP	Cyclic guanosin monophosphate
CTR	Concomitant tumour resistance
EGF	Epidermal growth factor
EGFR	Epidermal growth factor receptor
FGF	Fibroblast growth factor
IFNAR	Interferon alfa receptor
IGF-1	Insulin like growth factor-1
MMP	Matrix metalloproteinase
NO	Nitrogen oxide
PDGFB	Platelet derived growth factor subunit b
PIGF	Placental growth factor
TGF- $\alpha$	Transforming growth factor alpha
VEGF	Vascular endothelial growth factor
VEGFR	Vascular endothelial growth factor receptor

### Angiogenes

Angiogenes är processen då nya kärl bildas från redan befintliga kärl. Det sker antingen genom en avknoppning från det befintliga kärlet eller inväxt där kärlet delar sig och blir två eller flera kärl. Denna process är beroende av att flera olika mekanismer samordnas och kan delas upp i ett antal olika steg.

Angiogenesen inleds med vasodilatation via stimulans av kväveoxid, 'NO' (Rapoport and Murad, 1983). Kärlets permeabilitet ökar också tack vare stimulans av VEGF. Detta skapar ett läckage av plasmaproteiner som lägger grunden för cellmigration ut i vävnaden (Dvorak et al., 1995).

Proteinaser, exempelvis matrix metalloproteinase (MMP) kommer ut i det extracellulära matrixet och börjar bryta ner det. I matrixet så finns det många bundna faktorer som stimulerar angiogenes, exempelvis bFGF, VEGF och IGF-1, som frisätts och får möjlighet att interagera med kringliggande vävnad (Wang et al., 2005).

Endotelcellerna lämnar nu kärnen och kan i den uppluckrade vävnaden skapa förstadiet till de kärl de snart ska bli. Endotelcellerna lägger sig i strängar som sedan blir ihåliga, varvid lumen bildas. Fler celler ansluter till strängarna och i takt med att cellerna tunnas ut så ökar kärlets längd och diameter och det ansluter till befintliga kärl (Carmeliet, 2000).

Väl på plats i nya kärl så är endotelcellerna i behov av en basnivå av stimulerande substanser för att inte gå i apoptos. Mesenkymala celler prolifererar och omsluter kärlet. Detta gör så att kärlet får en normal diameter och ett minskat läckage (Gerhardt and Betsholtz, 2003).

Beroende på interaktioner med omgivningen så kan endotelcellerna differentiera på olika sätt. I njurarnas glomeruli är kärlen fenestrerade och genomsläppligheten hög medan motsatsen gäller i blod-hjärnbarriären (Risau, 1998). När kärlen har bildats så kommer de som inte gör någon nytta att tillbakabildas på grund av bristande stimulans (Gerber et al., 1998).

### ***Pro-angiogenetiska faktorer***

#### **Kväveoxid**

Kväveoxid hindrar apoptos hos blodkärlens endotel och stimulerar proliferation och migration (Cooke, 2003). Frisättning av kväveoxid får den glatta muskulaturen i kärlen att dilatera genom aktivering av guanlylcyklas och detta ger förhöjda nivåer av cGMP i muskelcellerna vilket får dem att relaxera (Rapoport and Murad, 1983).

#### **Vascular endothelial growth factor**

Hos däggdjur finns fem typer av vascular endothelial growth factor, VEGFA, VEGFB, VEGFC, VEGFD, och placental growth factor PlGF. VEGF binder till VEGFR-1 respektive VEGFR-2. Dessa är receptortyrosinkinaser vilka påverkar genuttrycket i de celler som uttrycker dem (Ferrara et al., 2003).

VEGF stimulerar tillväxt och proliferation hos endotelceller både in vitro och in vivo. Utan kontinuerlig stimulans från VEGF så har endotelcellerna i nya kärl en ökad benägenhet att gå i apoptos (Gerber et al., 1999). VEGF orsakar även ökad kärlpermeabilitet vilket har betydelse exempelvis vid inflammationer (Dvorak et al., 1995). En av de faktorer som reglerar uttrycket av VEGF är syretrycket i den omgivande vävnaden (Dor et al., 2001).

#### **Basic fibroblast growth factor**

Basic fibroblast growth factor är en av medlemmarna i Fibroblast growth factor-familjen och de delas upp i fem isoformer efter sin molekylvikt. Basic FGF binder till sin receptor FGFR-1 och har då en mitotisk effekt på endotelceller och är en potent induktor av angiogenes (Bremnes et al., 2006).

#### **Platelet derived growth factor**

Platelet derived growth factor (PDGF) stimulerar proliferation av pericyter och glatta muskelceller som omsluter och stabiliserar kärl (Forsberg et al., 1993).

#### **Matrix Metalloproteinaser**

Matrix metalloproteinaser (MMPs) är en familj med närbesläktade, zinkberoende endoproteinaser. De kan bryta ner alla delar av det extracellulära matrixet och genom detta påverka många cellprocesser som t ex proliferation, differentiering, migration, apoptos och cell till cell interaktion. Detta beror dels på uppluckringen av vävnad, dels på frisättning av proangiogenetiska faktorer som ligger uppbundna i det extracellulära matrixet (Van Lint and Libert, 2007, Zucker et al., 2000).

#### **Angiopoietin**

Angiopoietin styr mognad och underhåll av däggdjurens blod- och lymfkärlssystem. De binder till en tyrosinkinaserceptor, Tie2, och beroende på vilken typ av angiopoietin det är så

har den antingen en stimulerande eller hämmande effekt på angiogenesen (Barton et al., 2005). Angiopoietin 1 (Ang1) stimulerar kärnbildning och stabilisering. Till skillnad från VEGF är kärll stimulera av Ang1 sammandragna och med begränsat läckage (Thurston et al., 1999, Suri et al., 1996). Angiopoietin 2 (Ang2) är en antagonist till Angiopoietin 1 i Tie2 receptorn (Maisonpierre et al., 1997).

### **Epidermal growth factor receptor**

Epidermal growth factor receptor (EGFR) är en receptor för EGF och TGF- $\alpha$ . När receptorn aktiveras så utövar den en mitogen effekt på endotelceller (Dunn et al., 2000).

## **Angiogenesens betydelse för tumörer**

### ***Hur angiogenesen påverkar tumörer***

Angiogenes är en grundförutsättning för att tumörer skall växa sig större än ca 1mm<sup>3</sup> (Folkman, 2006). Hastigheten med vilken tumörcellerna delar sig är oberoende av angiogenesen men utan kärlförsörjning så har tumörcellerna centralt i tumören varken syre eller näring nog och nekros blir resultatet (Folkman, 2006).

### ***Hur tumören påverkar angiogenesen***

Tumören kan påverka angiogenesen på flera olika sätt. Den kan själv utsöndra proangiogenetiska faktorer eller så kan kringliggande vävnad reagera på hypoxin som uppstår och agera proangiogenetiskt. Myeloida celler ditlockade med kemotaxi, utövar en proangiogenetisk effekt (Murdoch et al., 2008). Till skillnad från normala kärll så är de kärll som bildas i och kring tumörer onormalt stora och väldigt permeabla men blodflödet i dem är långsamt, kaotiskt och det möter sällan vävnadens behov på näringstillförsel (Helmlinger et al., 1997). Endotelcellerna i tumörkärll är också de onormala på flera sätt; de kan ligga i flera lager, det kan finnas celler som sticker ut både i och utanför kärll, det finns hål både i cellerna som bygger upp kärll och i kärll som sådant, och de ändrar sin uppbyggnad konstant. Kärll är oerhört permeabla tack vare fenestrering, dålig cell-cell-kontakt och avsaknad av ett fullständigt basalmembran (Ausprunk and Folkman, 1977). I kärllväggen kan det även finnas insprängda tumörceller (Chang et al., 2000). Tumörcellerna kan även bilda egna kärllliknande strukturer med förmåga att transportera näring och syre, så kallat 'vascular mimicry' (Maniotis et al., 1999).

## ***Tumören och pro-angiogenetiska faktorer***

### **Vascular endothelial growth factor**

Tumören kan genom att uppreglara utsöndring av VEGF påverka kärllbädden på många sätt, såsom endotelcellers proliferering, migration, invasion och överlevnad samt kemotaxi av myeloida celler, kärllpermeabilitet och vasodilatation. (Ellis and Hicklin, 2008)

### **Fibroblast growth factor**

FGF är viktigt för att nybildade kärll skall kvarstå och har även synergieffekt med VEGF då de verkar pro-angiogenetiskt (Compagni et al., 2000).

## **Angiopoietin**

Ett uttryck av angiopoietin 2 induceras i endotelceller i befintliga kärl när tumörer växer runt dem vilket leder till att kärnen tillbakabildas. När näringsbehovet från tumören ökar i takt med att den växer bildas istället nya kärl där uttrycket av angiopoietin 2 gör kärnen mer ”plastiska” och känsligare för VEGF-stimulans (Maisonpierre et al., 1997). Ang1 utövar en stabiliserande effekt på kärl och när de blockeras av Ang2 resulterar det i läckage och strukturellt svaga kärl (Papetti and Herman, 2002).

## **Matrix Metalloproteinaser**

En tumör som uttrycker MMP bryter ner kringliggande vävnad och ökar därmed sin förmåga att växa invasivt, metastasera samt öka sin kärlförsörjning (John and Tuszynski, 2001).

## **Epidermal growth factor receptor**

När epidermal growth factor receptor (EGFR) uttrycks av tumörcellen är det oftast i samband med mera aggressiv tillväxt. Om receptorn blockeras så leder det till minskad angiogenes och metastasering (Mendelsohn and Baselga, 2000).

## **Ephrin A1**

Ephrin A1 utsöndras av tumörceller och binder till EphA-receptorer på endotelceller med ökad angiogenes som följd (Brantley-Sieders et al., 2006, Ogawa et al., 2000).

## **Concomitant tumor resistance (Concomitant – Åtföljande)**

Något som knappast är nyupptäckt men relevant i sammanhanget är det faktum att primärtumörer kan påverka metastaser genom att hämma deras tillväxt. Detta beror på att primärtumörerna utsöndrar systemiska angiogeneshämmande faktorer som lokalt övervinns av lokala pro-angiogenetiska faktorer men hos de mindre metastaserna blir balansen åt andra hållet och de hämmas i sin tillväxt. Tar man sedan bort primärtumören så slutar metastaserna att hämmas och de kan växa till. (Chiarella et al., 2012)

## **Angiogeneshämmare**

### ***Angiogenesen som angreppspunkt – faktorer och hur man angriper***

Det finns två olika typer av angiogeneshämmare; direkta och indirekta. De direkta agerar hämmande på endotelcellerna i kärnen och de indirekta hindrar tumörcellernas uttryck av pro-angiogenetiska faktorer (Kerbel and Folkman, 2002). De senare tas upp mer i detalj nedan under ”Mediciner”.

Många tumörer har ett förhöjt interstitiellt tryck vilket förhindrar transport från kärnen ut i vävnaden. Detta blir ett hinder när man försöker behandla tumörerna då läkemedel inte går ut i vävnaden ordentligt (Heldin et al., 2004). En direkt positiv följd av att hämma kärlnybildning i och omkring tumörer är att befintlig kärlvävnad normaliseras, och därmed också blodflödet, vilket underlättar för konventionella läkemedel, exempelvis cytostatika, att nå ut i vävnaderna. En annan positiv effekt av detta är att hypoxin i vävnaden minskar och därmed också selektionen för aggressiva egenskaper, exempelvis invasivitet och metastasering, hos tumörceller (Jain, 2005).

Regelbundna, mindre doser av cytostatika har visat sig ha angiogeneshämmande effekter. Kärllävnaden i och kring tumörer som aktivt delar sig går istället in i apoptos (Kerbel and Kamen, 2004).

### **Mediciner**

De mediciner som finns i dagsläget kan delas i tre undergrupper efter hur de verkar.

#### **Hämna endotelcellernas tillväxt**

Endostatin interagerar specifikt med endotelceller och är en mycket potent angiogeneshämmare. Endostatin nedreglerar de gener som styr kontrollen över cellcykeln samt hindrar apoptos, vilket leder till celledöd (O'Reilly et al., 1997, SHICHIRI and HIRATA, 2001).

Combretastatin A4 binder till microtubuli i celler vilket omöjliggör uppbyggnaden av ett fungerande cellskelett. Detta får nya kärl att förlora sin struktur och näringstillförseln i tumörer hindras (Galbraith et al., 2003).

Thalidomid är en potent angiogeneshämmare vars verkningsmekanism fortfarande är okänd. Man har dock visat att VEGF-inducerad angiogenes hämmas (D'Amato et al., 1994, Vacca et al., 2005).

#### **Blockera angiogenesstimulerande signalering**

Monoklonala antikroppar binder till signalsubstans eller receptor och förhindrar därmed signalering. Ett flertal preparat är godkända för kliniskt bruk som utnyttjar denna metod, till exempel Bevacizumab och Cetuximab. Bevacizumab (Avastin) binder till biologiskt aktivt VEGF och gör det inaktivt. Detta får till följd att obundet, biologiskt aktivt VEGF minskar och därmed också käriltillväxt, kärilvolym, antal kärl etc. (Willett et al., 2004). Cetuximab binder till och blockerar EGFR, en receptor dit bland annat TGF-alfa och EGF binder. I endotelceller får detta som följd att mängden positiv signalering minskar och därmed även angiogenesen (Cunningham et al., 2004).

Interferon alfa binder till sin receptor, interferon alfa receptor (IFNAR) på tumörcellen och hämmar genuttrycket av VEGF. (Von Marschall et al., 2003, Wang et al., 2003, Chill et al., 2003)

#### **Hindra nedbrytningen av extracellulärt matrix**

MMP-hämmare t ex batimastat och marimastat hämmar tumörcellernas förmåga att uttrycka MMP och detta hindrar angiogenes, invasivitet och metastasering (Drummond et al., 1999).

#### **Resistens – Tumören kringgår behandling**

I takt med att nya behandlingar utvecklats så har också nya problem uppstått. Tumörer kan antingen undvika angiogeneshämmande behandling genom att anpassa sig eller redan vara okänslig mot behandlingen.

### **Uppreglering av alternativa angiogenesstimulerande signalvägar**

Ett exempel på detta är när VEGF blockeras. Tumörens tillväxt avstannar och kärlen tillbakabildas. Detta gäller dock bara i 10-14 dagar innan tumören åter börjar växa då den genom alternativa vägar börjat stimulera angiogenes. Istället så uppregleras FGF, Ephrin A1 och Angiopoietin (Ang1) när cellerna inte får tillräcklig syretillförsel (Casanovas et al., 2005). I en studie så visade Ebos et al., 2009 att möss som under en kortare period behandlades med VEGFR-hämmaren sutinib/SU11248 hade en ökad grad av metastasering. Man påvisade även att behandling innan injektion med tumörceller ökade graden av metastasering vilket tyder på att vävnaderna på grund av behandlingen blir mer mottagliga för tumörcellerna.

### **Rekrytering av omogna endotelceller och pericyter från benmärgen**

Om hypoxi uppstår i och omkring tumören, till exempel vid behandling med angiogeneshämmare, så kan tumören rekrytera bone marrow-derived cells (BMDCs) vilka differentierar till endotelceller och pericyter som bildar nya blodkärl (Du et al., 2008).

### **Rekryterade pericyter skyddar tumörkärlen**

Tumörceller kan uppreglera uttrycket av PDGFB och på så sätt rekrytera pericyter. När större delen av tumörkärlen tillbakabildas vid behandling med angiogeneshämmande preparat så kvarstår ett fåtal kärl, täckta med pericyter som utsöndrar VEGF till intilliggande endotelceller vilket förhindrar kär regressionen. Dessa kärl skiljer sig markant mot de vanliga tumörkärlen som är dilaterade och fenestrerade och med betydligt färre pericyter runt sig (Jain and Booth, 2003).

### **Ökad förmåga till invasion utan angiogenes**

När tumörer inte kan tillgodose sitt närings- och syrebehov så kan de invadera kringliggande vävnad. Antingen genom att växa längs med befintliga blodkärl eller helt enkelt invasivt i det extracellulära matrixet. Oavsett metod så används den normala kärnbädden som näringsförsörjning (Rubenstein et al., 2000, Pàez-Ribes et al., 2009).

### **Redan vara okänslig mot behandlingen**

Tumören kan också vara okänslig mot behandling då den redan innan haft egenskaper som gör den okänslig, till exempel uttryck av alternativa proangiogenetiska faktorer (Relf et al., 1997).

### **Hypovaskularitet och likgiltighet mot angiogeneshämmare**

Tumörceller med defekt p53-gen uppvisar en minskad benägenhet att gå i apoptos i en syrefattig miljö. Detta gör dem mindre beroende av angiogenes och okänsliga vid behandling med angiogeneshämmare (Yu et al., 2001, Joanne et al., 2002).

### **Invasivt (och metastatisk) användande av befintliga kärl utan angiogenes**

Tumörer som redan tidigt i utvecklingen börjat växa invasivt längs med kärl kan på så vis undvika behovet av angiogenes då de hela tiden sprider sig till syre- och näringsrika miljöer (Kaur et al., 2004).

## **Kombinationsbehandlingar**

### **Kombinera med cytostatika**

I en studie av Kabbinavar et al., 2005 så kombinerades en angiogeneshämmare, bevacizumab, med traditionell cellgiftsbehandling. Detta förlängde levnadstiden för patienter med metastaserande colorektalt carcinom.

### **Kombinera flera olika angiogeneshämmare**

Kombinationen av flera olika angiogeneshämmare öppnar upp för möjligheten att behandlingen ger resultat trots att resistens mot ett av preparaten uppstår. I en studie av Abdollahi et al., 2003 används en direkt och en indirekt angiogeneshämmare med bättre resultat än om de hade använts var för sig. Även om tumörcellerna muterar och kan använda sig av alternativa angiogenesstimulatorer så kan den direkta angiogeneshämmaren motverka detta.

### **Metronomic Therapy**

Metronomic Therapy eller ”regelbunden administrering av små doser cytostatika” är metoden som precis som namnet antyder, innebär regelbundna mindre doser av cytostatika. Detta har visat sig ha angiogeneshämmande effekter. Kärlevnaden i och kring tumörer som aktivt delar sig går istället in i apoptos (Glode et al., 2003, Kerbel and Kamen, 2004)



## DISKUSSION

Forskningen kring angiogenes och dess inverkan på tumörer har kommit långt sedan Judah Folkman postulerade sambandet på 1970-talet. Men det man länge trodde var en enkel fråga om att hitta något som blockerar angiogenesen visade sig vara betydligt mer komplext än vad man kunnat ana.

Det första preparat som togs fram för kliniskt bruk var Bevacizumab, en monoklonal antikropp som binder till aktivt VEGF och hindrar det från att binda till sin receptor. Detta gav resultat och kärlbädden i tumörerna tillbakabildades. Det visade sig dock att cancer hade flera sätt att komma runt detta. Reduktionen i tillväxt varar bara i ca 10 – 14 dagar innan tumören börjar växa igen. Ibland genom uppregulering av andra pro-angiogenetiska faktorer, ibland genom att växa mera invasivt med förödande resultat. Att blockera bara en faktor fungerar ett tag innan tumörcellerna muterar och kan ta sig runt hindret (Casanovas et al., 2005, Yu et al., 2001, Jain, 2005).

Man fick gå tillbaka till ritbordet och försöka komma på alternativa metoder. I takt med att området utforskats så har många nya behandlingsmetoder föreslagits och provats med lovande resultat. Kabbinavar et al., 2005 kombinerade Bevacizumab med traditionell cellgiftsbehandling vilket förlängde levnadstiden för patienter med metastaserande colorektalt carcinom. Abdollahi et al., 2003 visade att kombinationer av angiogeneshämmare gav bättre resultat än samma substanser var för sig.

Metronomic therapy utnyttjar det faktum att endotelcellerna är känsliga för cytostatika redan i små doser. Glode et al., 2003 visade att detta förlängde patientens överlevnadstid när patientens prostatacarcinom inte längre svarade på cellgiftsbehandlingen.

Att få kärl att normalisera är ett effektivt sätt att öka möjligheterna för mediciner att nå ut i målvävnaden och därmed öka effekten av exempelvis cellgiftsbehandlingar (Jain, 2005). En annan positiv effekt av detta är att hypoxin i vävnaden minskar och därmed också selektionen för aggressiva egenskaper, exempelvis invasivitet och metastasering, hos tumörceller.

Om tumörcellerna redan har förmåga att växa invasivt så är matrix metalloproteinase-hämmare ett lovande sätt att hindra dem. Metastasering hindras, invasion av kringliggande vävnad saktas ner och angiogenesen minskar (Drummond et al., 1999).

Concomitant tumour resistance är ett intressant fenomen där en primärtumör som utsöndrar systemiska angiogeneshämmande faktorer hämmar tillväxten av metastaserna. Om primärtumören sedan opereras bort så hämmas inte metastasernas tillväxt längre (Chiarella et al., 2012). Man vet fortfarande inte hur detta fungerar och det kan ge ödesdigra följder för patienten så vidare forskning krävs.

Ebos et al., 2009 visade att metastasering kan öka som följd av korttidsbehandling med VEGF-hämmare. Det visade sig även att behandling innan sjukdom gav samma resultat. Behandling kan vara ett tveeggat svärd där oförsiktighet och oförståelse gör att man kan få precis motsatt avsedd effekt.

Förhållandet mellan tumörer och angiogenes är mycket komplext och det är fortfarande mycket man inte förstår. Därför krävs det mer forskning och fler kliniska försök där man provar olika kombinationer av angiogeneshämmare och cellgifter och olika doseringsintervall för preparaten för att uppnå önskad effekt.

### **Slutsats**

Slutsatser som kan dras från den här litteraturöversikten är att angiogenes är ett tydligt och viktigt steg i tumörutveckling och metastasering och därför ett viktigt mål i cancerbehandling. Dock så lämnar resultaten av de nuvarande behandlingarna mycket att önska och behovet av vidareutveckling är stort. Mer effektiva behandlingsmetoder och kombinationer med konventionella metoder så som strål- och cellgiftsbehandlingar behövs.

## LITTERATURFÖRTECKNING

- ABDOLLAHI, A., LIPSON, K. E., SCKELL, A., ZIEHER, H., KLENKE, F., POERSCHKE, D., ROTH, A., HAN, X., KRIX, M. & BISCHOF, M. 2003. Combined therapy with direct and indirect angiogenesis inhibition results in enhanced antiangiogenic and antitumor effects. *Cancer research*, 63, 8890-8898.
- AUSPRUNK, D. H. & FOLKMAN, J. 1977. Migration and proliferation of endothelial cells in preformed and newly formed blood vessels during tumor angiogenesis. *Microvascular research*, 14, 53-65.
- BRANTLEY-SIEDERS, D. M., FANG, W. B., HWANG, Y., HICKS, D. & CHEN, J. 2006. Ephrin-A1 facilitates mammary tumor metastasis through an angiogenesis-dependent mechanism mediated by EphA receptor and vascular endothelial growth factor in mice. *Cancer research*, 66, 10315-10324.
- BREMNES, R. M., CAMPS, C. & SIRERA, R. 2006. Angiogenesis in non-small cell lung cancer: the prognostic impact of neoangiogenesis and the cytokines VEGF and bFGF in tumours and blood. *Lung cancer*, 51, 143-158.
- CARMELIET, P. 2000. Mechanisms of angiogenesis and arteriogenesis. *Nature medicine*, 6, 389-396.
- CASANOVAS, O., HICKLIN, D. J., BERGERS, G. & HANAHAN, D. 2005. Drug resistance by evasion of antiangiogenic targeting of VEGF signaling in late-stage pancreatic islet tumors. *Cancer cell*, 8, 299-309.
- CHAMBERS, A. F., GROOM, A. C. & MACDONALD, I. C. 2002. Metastasis: dissemination and growth of cancer cells in metastatic sites. *Nature Reviews Cancer*, 2, 563-572.
- CHANG, Y. S., DI TOMASO, E., MCDONALD, D. M., JONES, R., JAIN, R. K. & MUNN, L. L. 2000. Mosaic blood vessels in tumors: frequency of cancer cells in contact with flowing blood. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97, 14608-14613.
- CHIARELLA, P., BRUZZO, J., MEISS, R. P. & RUGGIERO, R. A. 2012. Concomitant tumor resistance. *Cancer letters*, 324, 133-141.
- CHILL, J. H., QUADT, S. R., LEVY, R., SCHREIBER, G. & ANGLISTER, J. 2003. The human type I interferon receptor: NMR structure reveals the molecular basis of ligand binding. *Structure*, 11, 791-802.
- COMPAGNI, A., WILGENBUS, P., IMPAGNATIELLO, M.-A., COTTEN, M. & CHRISTOFORI, G. 2000. Fibroblast growth factors are required for efficient tumor angiogenesis. *Cancer Research*, 60, 7163-7169.
- COOKE, J. P. 2003. NO and angiogenesis. *Atherosclerosis Supplements*, 4, 53-60.
- CUNNINGHAM, D., HUMBLET, Y., SIENA, S., KHAYAT, D., BLEIBERG, H., SANTORO, A., BETS, D., MUESER, M., HARSTRICK, A. & VERSLYPE, C. 2004. Cetuximab monotherapy and cetuximab plus irinotecan in irinotecan-refractory metastatic colorectal cancer. *New England Journal of Medicine*, 351, 337-345.
- D'AMATO, R. J., LOUGHNAN, M. S., FLYNN, E. & FOLKMAN, J. 1994. Thalidomide is an inhibitor of angiogenesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 91, 4082-4085.
- DOR, Y., PORAT, R. & KESHET, E. 2001. Vascular endothelial growth factor and vascular adjustments to perturbations in oxygen homeostasis. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 280, C1367-C1374.
- DRUMMOND, A. H., BECKETT, P., BROWN, P. D., BONE, E. A., DAVIDSON, A. H., GALLOWAY, W., GEARING, A. J., HUXLEY, P., LABER, D. & MCCOURT, M. 1999. Preclinical and clinical studies of MMP inhibitors in cancer. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 878, 228-235.

- DU, R., LU, K. V., PETRITSCH, C., LIU, P., GANSS, R., PASSEGUE, E., SONG, H., VANDENBERG, S., JOHNSON, R. S. & WERB, Z. 2008. HIF1 $\alpha$  induces the recruitment of bone marrow-derived vascular modulatory cells to regulate tumor angiogenesis and invasion. *Cancer cell*, 13, 206-220.
- DUNN, I. F., HEESE, O. & BLACK, P. M. 2000. Growth factors in glioma angiogenesis: FGFs, PDGF, EGF, and TGFs. *Journal of neuro-oncology*, 50, 121-137.
- DVORAK, H. F., BROWN, L. F., DETMAR, M. & DVORAK, A. M. 1995. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor, microvascular hyperpermeability, and angiogenesis. *The American journal of pathology*, 146, 1029.
- EBOS, J. M., LEE, C. R., CRUZ-MUNOZ, W., BJARNASON, G. A., CHRISTENSEN, J. G. & KERBEL, R. S. 2009. Accelerated metastasis after short-term treatment with a potent inhibitor of tumor angiogenesis. *Cancer cell*, 15, 232-239.
- ELLIS, L. M. & HICKLIN, D. J. 2008. VEGF-targeted therapy: mechanisms of anti-tumour activity. *Nature Reviews Cancer*, 8, 579-591.
- FERRARA, N., GERBER, H. P. & LECOUTER, J. 2003. The biology of VEGF and its receptors. *Nat Med*, 9, 669-76.
- FIDLER, I. J. 2003. The pathogenesis of cancer metastasis: the 'seed and soil' hypothesis revisited. *Nature Reviews Cancer*, 3, 453-458.
- FOLKMAN, J. 2006. Angiogenesis. *Annu. Rev. Med.*, 57, 1-18.
- FORSBERG, K., VALYI-NAGY, I., HELDIN, C.-H., HERLYN, M. & WESTERMARK, B. 1993. Platelet-derived growth factor (PDGF) in oncogenesis: development of a vascular connective tissue stroma in xenotransplanted human melanoma producing PDGF-BB. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 90, 393-397.
- GALBRAITH, S. M., MAXWELL, R. J., LODGE, M. A., TOZER, G. M., WILSON, J., TAYLOR, N. J., STIRLING, J. J., SENA, L., PADHANI, A. R. & RUSTIN, G. J. 2003. Combretastatin A4 phosphate has tumor antivascular activity in rat and man as demonstrated by dynamic magnetic resonance imaging. *Journal of clinical oncology*, 21, 2831-2842.
- GERBER, H.-P., HILLAN, K. J., RYAN, A. M., KOWALSKI, J., KELLER, G.-A., RANGELL, L., WRIGHT, B. D., RADTKE, F., AGUET, M. & FERRARA, N. 1999. VEGF is required for growth and survival in neonatal mice. *Development*, 126, 1149-1159.
- GERBER, H.-P., MCMURTREY, A., KOWALSKI, J., YAN, M., KEYT, B. A., DIXIT, V. & FERRARA, N. 1998. Vascular Endothelial Growth Factor Regulates Endothelial Cell Survival through the Phosphatidylinositol 3'-Kinase/Akt Signal Transduction Pathway REQUIREMENT FOR Flk-1/KDR ACTIVATION. *Journal of Biological Chemistry*, 273, 30336-30343.
- GERHARDT, H. & BETSHOLTZ, C. 2003. Endothelial-pericyte interactions in angiogenesis. *Cell and tissue research*, 314, 15-23.
- GLODE, L. M., BARQAWI, A., CRIGHTON, F., CRAWFORD, E. D. & KERBEL, R. 2003. Metronomic therapy with cyclophosphamide and dexamethasone for prostate carcinoma. *Cancer*, 98, 1643-1648.
- HELDIN, C.-H., RUBIN, K., PIETRAS, K. & ÖSTMAN, A. 2004. High interstitial fluid pressure—an obstacle in cancer therapy. *Nature Reviews Cancer*, 4, 806-813.
- HEMLINGER, G., YUAN, F., DELLIAN, M. & JAIN, R. K. 1997. Interstitial pH and pO<sub>2</sub> gradients in solid tumors in vivo: high-resolution measurements reveal a lack of correlation. *Nature medicine*, 3, 177-182.
- JAIN, R. K. 2005. Normalization of tumor vasculature: an emerging concept in antiangiogenic therapy. *Science*, 307, 58-62.
- JAIN, R. K. & BOOTH, M. F. 2003. What brings pericytes to tumor vessels? *The Journal of clinical investigation*, 112, 1134-1136.

- JOANNE, L. Y., RAK, J. W., COOMBER, B. L., HICKLIN, D. J. & KERBEL, R. S. 2002. Effect of p53 status on tumor response to antiangiogenic therapy. *Science*, 295, 1526-1528.
- JOHN, A. & TUSZYNSKI, G. 2001. The role of matrix metalloproteinases in tumor angiogenesis and tumor metastasis. *Pathology oncology research*, 7, 14-23.
- KABBINAVAR, F. F., SCHULZ, J., MCCLEOD, M., PATEL, T., HAMM, J. T., HECHT, J. R., MASS, R., PERROU, B., NELSON, B. & NOVOTNY, W. F. 2005. Addition of bevacizumab to bolus fluorouracil and leucovorin in first-line metastatic colorectal cancer: results of a randomized phase II trial. *Journal of Clinical Oncology*, 23, 3697-3705.
- KAUR, B., TAN, C. & BRAT, D. J. 2004. Genetic and hypoxic regulation of angiogenesis in gliomas. *Journal of neuro-oncology*, 70, 229-243.
- KERBEL, R. & FOLKMAN, J. 2002. Clinical translation of angiogenesis inhibitors. *Nature Reviews Cancer*, 2, 727-739.
- KERBEL, R. S. & KAMEN, B. A. 2004. The anti-angiogenic basis of metronomic chemotherapy. *Nature Reviews Cancer*, 4, 423-436.
- MAISONPIERRE, P. C., SURI, C., JONES, P. F., BARTUNKOVA, S., WIEGAND, S. J., RADZIEJEWSKI, C., COMPTON, D., MCCLAIN, J., ALDRICH, T. H. & PAPADOPOULOS, N. 1997. Angiopoietin-2, a natural antagonist for Tie2 that disrupts in vivo angiogenesis. *Science*, 277, 55-60.
- MANIOTIS, A. J., FOLBERG, R., HESS, A., SEFTOR, E. A., GARDNER, L. M., PE'ER, J., TRENT, J. M., MELTZER, P. S. & HENDRIX, M. J. 1999. Vascular Channel Formation by Human Melanoma Cells in Vivo and in Vitro: Vasculogenic Mimicry. *The American journal of pathology*, 155, 739-752.
- MENDELSON, J. & BASELGA, J. 2000. The EGF receptor family as targets for cancer therapy. *Oncogene*, 19, 6550-6565.
- MURDOCH, C., MUTHANA, M., COFFELT, S. B. & LEWIS, C. E. 2008. The role of myeloid cells in the promotion of tumour angiogenesis. *Nature Reviews Cancer*, 8, 618-631.
- O'REILLY, M. S., BOEHM, T., SHING, Y., FUKAI, N., VASIOS, G., LANE, W. S., FLYNN, E., BIRKHEAD, J. R., OLSEN, B. R. & FOLKMAN, J. 1997. Endostatin: an endogenous inhibitor of angiogenesis and tumor growth. *cell*, 88, 277-285.
- OGAWA, K., PASQUALINI, R., LINDBERG, R. A., KAIN, R., FREEMAN, A. L. & PASQUALE, E. B. 2000. The ephrin-A1 ligand and its receptor, EphA2, are expressed during tumor neovascularization. *Oncogene*, 19, 6043-6052.
- PÀEZ-RIBES, M., ALLEN, E., HUDOCK, J., TAKEDA, T., OKUYAMA, H., VIÑALS, F., INOUE, M., BERGERS, G., HANAHAH, D. & CASANOVAS, O. 2009. Antiangiogenic therapy elicits malignant progression of tumors to increased local invasion and distant metastasis. *Cancer cell*, 15, 220-231.
- PAPETTI, M. & HERMAN, I. M. 2002. Mechanisms of normal and tumor-derived angiogenesis. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 282, C947-C970.
- RAPOPORT, R. M. & MURAD, F. 1983. Agonist-induced endothelium-dependent relaxation in rat thoracic aorta may be mediated through cGMP. *Circulation Research*, 52, 352-357.
- RELIF, M., LEJEUNE, S., SCOTT, P. A., FOX, S., SMITH, K., LEEK, R., MOGHADDAM, A., WHITEHOUSE, R., BICKNELL, R. & HARRIS, A. L. 1997. Expression of the angiogenic factors vascular endothelial cell growth factor, acidic and basic fibroblast growth factor, tumor growth factor  $\beta$ -1, platelet-derived endothelial cell growth factor, placenta growth factor, and pleiotrophin in human primary breast cancer and its relation to angiogenesis. *Cancer research*, 57, 963-969.

- RISAU, W. 1998. Development and differentiation of endothelium. *Kidney International*, 54, S3-S6.
- RUBENSTEIN, J. L., KIM, J., OZAWA, T., ZHANG, M., WESTPHAL, M., DEEN, D. F. & SHUMAN, M. A. 2000. Anti-VEGF antibody treatment of glioblastoma prolongs survival but results in increased vascular cooption. *Neoplasia*, 2, 306-314.
- SHICHIRI, M. & HIRATA, Y. 2001. Antiangiogenesis signals by endostatin. *The FASEB Journal*, 15, 1044-1053.
- SURI, C., JONES, P. F., PATAN, S., BARTUNKOVA, S., MAISONPIERRE, P. C., DAVIS, S., SATO, T. N. & YANCOPOULOS, G. D. 1996. Requisite role of angiopoietin-1, a ligand for the TIE2 receptor, during embryonic angiogenesis. *Cell*, 87, 1171-1180.
- THURSTON, G., SURI, C., SMITH, K., MCCLAIN, J., SATO, T., YANCOPOULOS, G. & MCDONALD, D. 1999. Leakage-resistant blood vessels in mice transgenically overexpressing angiopoietin-1. *Science*, 286, 2511-2514.
- VACCA, A., SCAVELLI, C., MONTEFUSCO, V., DI PIETRO, G., NERI, A., MATTIOLI, M., BICCIATO, S., NICO, B., RIBATTI, D. & DAMMACCO, F. 2005. Thalidomide downregulates angiogenic genes in bone marrow endothelial cells of patients with active multiple myeloma. *Journal of clinical oncology*, 23, 5334-5346.
- VAN LINT, P. & LIBERT, C. 2007. Chemokine and cytokine processing by matrix metalloproteinases and its effect on leukocyte migration and inflammation. *Journal of leukocyte biology*, 82, 1375-1381.
- VON MARSCHALL, Z., SCHOLZ, A., CRAMER, T., SCHÄFER, G., SCHIRNER, M., ÖBERG, K., WIEDENMANN, B., HÖCKER, M. & ROSEWICZ, S. 2003. Effects of interferon alpha on vascular endothelial growth factor gene transcription and tumor angiogenesis. *Journal of the National Cancer Institute*, 95, 437-448.
- WANG, D., ANDERSON, J. C. & GLADSON, C. L. 2005. The role of the extracellular matrix in angiogenesis in malignant glioma tumors. *Brain pathology*, 15, 318-326.
- WANG, L., WU, W.-Z., SUN, H.-C., WU, X.-F., QIN, L.-X., LIU, Y.-K., LIU, K.-D. & TANG, Z.-Y. 2003. Mechanism of interferon alpha on inhibition of metastasis and angiogenesis of hepatocellular carcinoma after curative resection in nude mice. *Journal of gastrointestinal surgery*, 7, 587-594.
- WILLETT, C. G., BOUCHER, Y., DI TOMASO, E., DUDA, D. G., MUNN, L. L., TONG, R. T., CHUNG, D. C., SAHANI, D. V., KALVA, S. P. & KOZIN, S. V. 2004. Direct evidence that the VEGF-specific antibody bevacizumab has antivascular effects in human rectal cancer. *Nature medicine*, 10, 145-147.
- YU, J. L., RAK, J. W., CARMELIET, P., NAGY, A., KERBEL, R. S. & COOMBER, B. L. 2001. Heterogeneous vascular dependence of tumor cell populations. *The American journal of pathology*, 158, 1325-1334.
- ZEIDMAN, I. 1957. Metastasis: A review of recent advances. *Cancer research*, 17, 157-162.
- ZETTER, P., BRUCE R 1998. Angiogenesis and tumor metastasis. *Annual review of medicine*, 49, 407-424.
- ZUCKER, S., CAO, J. & CHEN, W.-T. 2000. Critical appraisal of the use of matrix metalloproteinase inhibitors in cancer treatment. *Oncogene*, 19, 6642-6650.