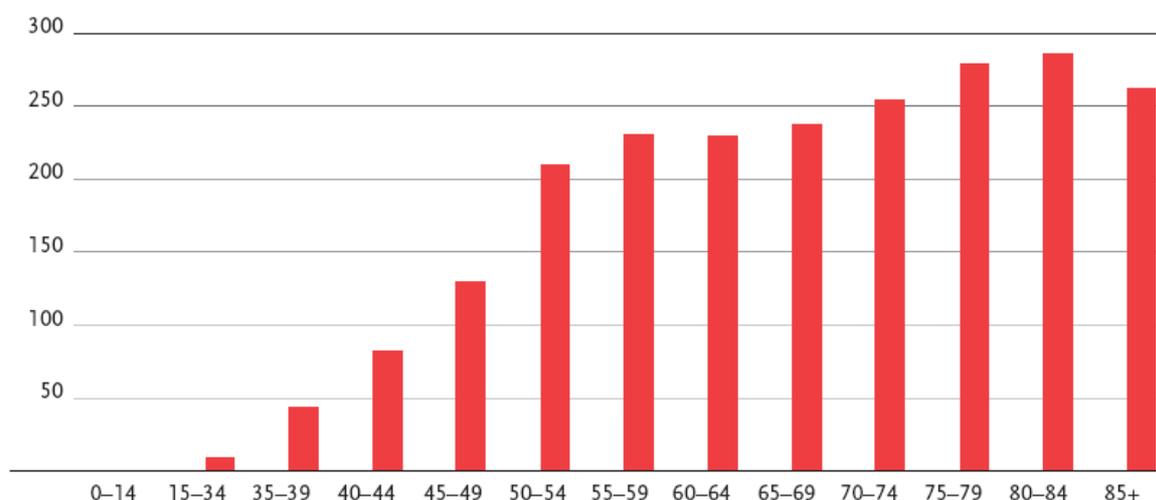


## 1 Einleitung

### 1.1 Epidemiologie des Mammakarzinoms

Brustdrüsenkrebs ist die häufigste Krebstodesursache bei Frauen in Europa und Nordamerika. Etwa 25 % aller bösartigen Neubildungen entfallen dabei auf das Mammakarzinom. In Deutschland erkranken jährlich 194.700 Frauen an Krebs, von denen etwa 47.500 Brustdrüsenkrebs aufweisen. 19.300 dieser Erkrankungsfälle treten bereits vor dem 60. Lebensjahr auf, welches mehr als einem Drittel (34 %) aller Neuerkrankungen bei Frauen in dieser Altersgruppe entspricht. Das durchschnittliche Erkrankungsalter liegt etwas über 63 Jahre. Die Prognose für die relative 5-Jahres-Überlebensrate beträgt 76 % (Quelle: Robert Koch Institut).



**Abb. 1:** Schätzung der altersspezifischen Inzidenz in Deutschland 2000 (Quelle: Robert Koch Institut)

Erkrankungen pro 100.000 in Altersgruppen

Alter in Jahren	Frauen	
	Inzidenz	Mortalität
bis unter 45	20,8	4,1
45 bis unter 60	186,7	47,3
60 bis unter 75	238,5	86,0
75 und älter	274,7	172,5
<b>Insgesamt</b>	<b>112,9</b>	<b>42,3</b>

**Tab. 1:** Inzidenz und Mortalität nach Altersgruppen, Deutschland 2000 (Quelle: Robert Koch Institut)

Fälle pro 100.000

### 1.2 Früherkennung und Diagnostik

Eine frühzeitige Erkennung des Mammakarzinoms ist von entscheidender Bedeutung, da sie die Anwendung weniger eingreifender Behandlungsformen erlaubt und die Überlebenschancen erhöht. Durch eine vollständige operative Tumorentfernung in einem frühen Stadium sind nahezu alle Krebskrankheiten heilbar.

Der Verdacht auf die Diagnose Mammakarzinom erfolgt meist aufgrund eines verdächtigen Tastbefundes oder im Rahmen einer Früherkennungs-Mammographie. Jeder unklare Befund muss abgeklärt werden. Das diagnostische Optimum dabei wird durch die klinische Untersuchung mit Palpation, Mammographie und Mammasonographie erreicht. Die hierbei eingesetzten bildgebenden Verfahren stellen eine komplementäre Untersuchungskonstellation dar, welche durch andere Untersuchungen derzeit kaum zu übertreffen ist. Ein qualitätsgesichertes Mammographie-Screening Programm ist in Deutschland allerdings nicht etabliert. Dafür sind neben ökonomischen Gründen auch die zunehmenden Zweifel am Nutzen dieser Reihenuntersuchung verantwortlich.

Die Mammographie besitzt eine hohe Spezifität (94 %) und Sensitivität (90 %). Die Prävalenz des Mammakarzinoms beträgt aber nur 0,8 %, welches auch der Grund für den schlechten Vorhersagewert (positiver prädiktiver Wert, ppV) von nur 10 % ist. Dieser bedeutet, dass im Screening auf einen identifizierten Brustkrebs fast 10 falsch positive Befunde kommen, bei einer Rate von nur 6 % falsch positiver Mammographie-Befunde (Quelle: Poster Senologie 2000, Ch-Lugano 5/2000).

Weiterhin ergab eine neue Auswertung der „Million Woman Study“ im britischen Ärzteblatt (Banks 2004), dass eine Hormontherapie nach der Menopause, ein Body-Mass-Index (BMI) unter 25 sowie frühere Operationen an der Brust, zu einer Verschlechterung der Sensitivität und Spezifität der Mammographie führen und damit auch des positiv prädiktiven Wertes.

Ein weiteres Verfahren, welches in der Diagnostik des Mammakarzinoms eingesetzt wird, ist die Kernspintomographie (MRT). Das MRT gehört nicht zur Routinediagnostik, da es zeitaufwendig, kostenintensiv und nicht flächendeckend verfügbar ist. Die Sensitivität dieses Verfahrens ist hoch (>90 %), aber die Spezifität erreicht nur ca. 50 %. Es wird hauptsächlich zur Differenzierung zwischen narbigen und karzinomatösen Läsionen, insbesondere bei brusterhaltend operierten Patientinnen, sowie zur Abklärung von verdächtigen Befunden bei Prothesenimplantaten eingesetzt. Nach einer Empfehlung der Deutschen Krebshilfe könnte dieses Verfahren in Zukunft bei der erweiterten Früherkennungsuntersuchung bei Hochrisikopatientinnen, die wegen einer BRCA1- oder BRCA2-Mutation ein erhöhtes

Brustkrebsrisiko besitzen, eingesetzt werden. In einer Vergleichsstudie im amerikanischen Ärzteblatt (Robson 2004) war die Sensitivität der Magnetresonanztomographie doppelt so hoch wie bei der konventionellen Röntgenuntersuchung der Brust innerhalb dieses Patientenkollektivs. Die beim Mammakarzinom verwendbaren Tumormarker, CA 15-3 und CEA, sind wegen mangelnder Sensitivität und Spezifität nicht zur Früherkennung sondern nur zur Verlaufskontrolle und Rezidivfrüherkennung verwendbar. Vor allem durch die geringe Sensitivität von lediglich 15-20 % sind sie für den Einsatz als Screening-Parameter ungeeignet. Ein Tumormarker mit höherer Sensitivität und ausreichender Spezifität ist noch nicht identifiziert worden.

### **1.3 Der Aufbau des Blutgefäßsystems**

#### **1.3.1 Allgemeines**

Das Gefäßsystem besteht aus dem arteriellen und venösen System, das über ein weit verzweigtes Kapillarnetz, der sogenannten Endstrombahn, in Verbindung steht. Jedes Gefäß besteht aus einer Tunica interna, media und adventitia, wobei die Übergänge der einzelnen Schichten in den venösen Gefäßen unscharf sind. Das gesamte Blutgefäßsystem ist mit einer Schicht Endothelzellen ausgekleidet. Bei den Gefäßen der Endstrombahn besteht der Wandaufbau lediglich aus der Endothelschicht, der umgebenden Basalmembran und den außen anliegenden Perizyten.

#### **1.3.2 Endothel**

Aufgrund seiner Lage zwischen dem zirkulierenden Blutfluss und dem umgebenden Gewebe ist die Endothelschicht für eine Vielzahl von Aufgaben zuständig. Zu diesen gehören die Regulation des Gefäßtonus, die Kontrolle über die Aktivierung der glatten Muskelzellen, der Gefäßpermeabilität und –thrombogenität sowie die Fähigkeit zur Modulation inflammatorischer und immunologischer Prozesse. Zur Steuerung der Aufgaben des Endothels befinden sich auf der Oberfläche der Endothelzellen Rezeptoren für Wachstumsfaktoren, Anti- und Koagulantien, LDL, Metabolite und Hormone. Einige Moleküle, die an der Regulation der Endothelfunktion beteiligt sind, werden von den Endothelzellen selbst gebildet (siehe Tab. 2).

- *Vasodilatoren:* Stickstoffmonoxid (NO), Prostacyclin (Pgl<sub>2</sub>)
- *Vasokonstriktoren:* Endothelin, Angiotensin II
- *Wachstumsfaktoren und Zytokine:* platelet-derived growth factor (PDGF), vascular endothelial growth factor (VEGF-A), basic fibroblast growth factor (bFGF), transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ), monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1)
- *Adhäsionsmoleküle:* intracellular adhesion molecule (ICAM), vascular cell adhesion molecule (VCAM)
- *Antigene:* major histocompatibility complex II (MHC-II)
- *Hämostatische und Thrombolytische Faktoren:* tissue plasminogen activator (t-PA), plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1), tissue factor (Gewebsthromboplastin)

**Tab. 2: Substanzen, deren Bildung durch Endothelzellen erfolgt (Kroll 2000)**

### **1.3.3 Basalmembran**

Die Basalmembran ist Grenzfläche zwischen dem Endothel und dem umgebenden Bindegewebe. Sie besteht aus Kollagen Typ IV, Glykoproteinen (Laminin, Fibronectin, Entaktin) sowie sauren Proteoglykanen, wie Heparansulfat. Die Synthese und Sekretion dieser Bestandteile erfolgt hauptsächlich durch die Endothelzellen, aber auch Perizyten und Fibroblasten sind dazu befähigt (Ribatti 2001 , Hirschi 1996). Neben der Funktion als Grundgerüst für die Endothelzellen besitzt die Basalmembran auch die Fähigkeit zur selektiven Filtration, z.B. von hochmolekularen Plasmaproteinen.

### **1.3.4 Perizyten**

Perizyten, auch bekannt als Rouget-, periendotheliale Zellen oder Adventitiazellen, liegen der Basalmembran von Kapillaren und postkapillären Venolen von außen an oder sind in diese eingebettet. Sie weisen morphologische Ähnlichkeiten mit glatten Muskelzellen auf. Sie können vasoaktive Substanzen produzieren sowie auch auf diese reagieren. Durch diese kontraktile Fähigkeit beeinflussen sie die Stabilität der Gefäßwand wie auch den Blutfluss in der Mikrozirkulation (Hirschi 1996). Einfluss auf die Permeabilität, Proliferation, Migration, Überleben und Reifung der Endothelzellen wird ebenfalls den Perizyten zugeschrieben (Lindahl

1998, Hellstrom 2001). Diese stehen über feine Fortsätze durch die Basalmembran mit den Endothelzellen in Verbindung. Außerdem besitzen Perizyten die Möglichkeit zu Adipozyten, Osteoblasten und Phagozyten zu differenzieren. Anfangs wurden Perizyten an ihrer typischen Form und Lokalisation identifiziert, heute erfolgt die Identifizierung über molekulare Marker wie  $\alpha$ -SMA ( $\alpha$ -smooth muscle actin), nichtmuskuläres Myosin, Tropomyosin, Desmin, Nestin, PDGFR- $\beta$ , Aminopeptidase A, Aminopeptidase N (CD13), Sulfatide und NG2 (melanom-assoziiertes Antigen). Allerdings gibt es keinen Marker, mit dem man alle Perizyten identifizieren kann, denn die Expression dieser Marker variiert mit der Art der Gefäße (Morikawa 2002).

### **1.4 Entstehung des Blutgefäßsystems**

#### **1.4.1 Blutgefäßentstehung in der Embryonalentwicklung**

Das Blutgefäßsystem ist das erste Organ, welches im Rahmen der Embryonalentwicklung entsteht. Es ist essentiell für die weitere Organentwicklung und Nährstoffversorgung des Embryos. Verantwortlich dafür sind zwei unterschiedliche Mechanismen, die Vaskulogenese und die Angiogenese.

Als Vaskulogenese bezeichnet man den Prozess der Entstehung primärer Blutgefäße aus sich in situ differenzierenden endothelialen Vorläuferzellen, sogenannten Angioblasten, zu Endothelzellen (Reyes 2002, Peichev 2000).

Sie beginnt mit der Differenzierung von Hämangioblasten aus den mesodermalen Zellen des Dottersacks, die sich zu sogenannten Blutinseln formieren. Diese Hämangioblasten bilden den gemeinsamen Ursprung für die hämatopoetischen Stammzellen als auch die endothelialen Vorläuferzellen. Die Existenz dieser gemeinsamen bipotenziellen Ursprungszelle ist zwar allgemein anerkannt, allerdings steht der Beweis noch aus und ist das Ziel intensiver Forschung. Aus der inneren Schicht der Blutinseln entwickeln sich dabei die hämatopoetischen Stammzellen, während sich die endothelialen Vorläufer aus den Zellen der Peripherie differenzieren (Risau 1995, Asahara 1997, Kroll 2000).

Im weiteren Verlauf kommt es zum Zusammenschluss der ersten sich entwickelnden primitiven Endothelzellen und damit zur Ausbildung eines vaskulären Netzwerkes (Asahara 1999).

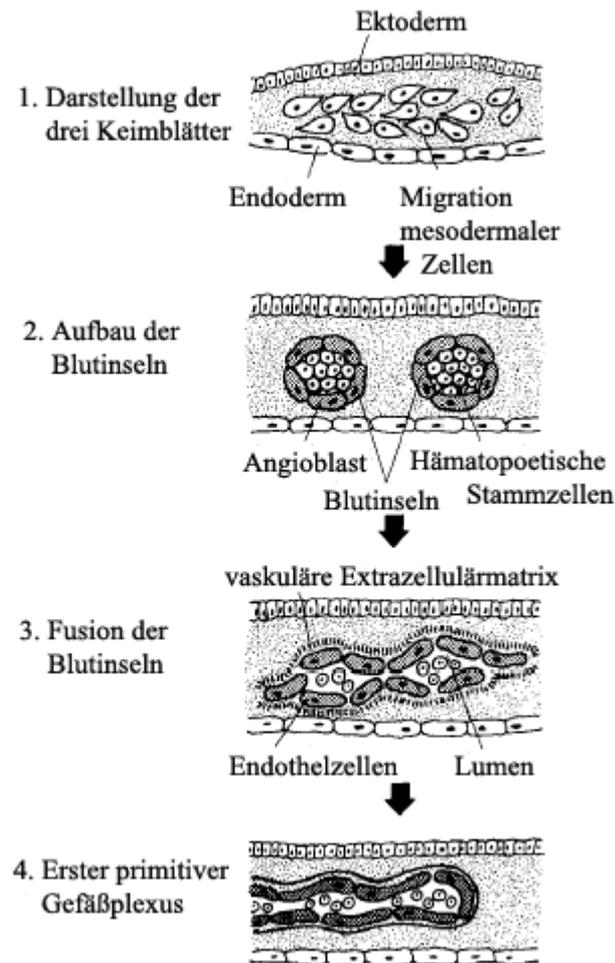


Abb. 2: Schematische Darstellung der bei der Vaskulogenese stattfindenden Prozesse (Risau 1995)

Als Angiogenese bezeichnet man die Neubildung von Gefäßen aus bereits bestehenden Kapillaren und postkapillären Venolen durch differenzierte Endothelzellen. Dieser komplexe Vorgang umfasst die Aktivierung, Migration und Proliferation von Endothelzellen. Im Rahmen der Embryonalentwicklung führt dieser Prozess zur Ausweitung des primitiven Gefäßsystems zu einem komplexen vaskulärem System (Kalka 1999).

### 1.4.2 Neubildung von Blutgefäßen nach der Embryonalentwicklung

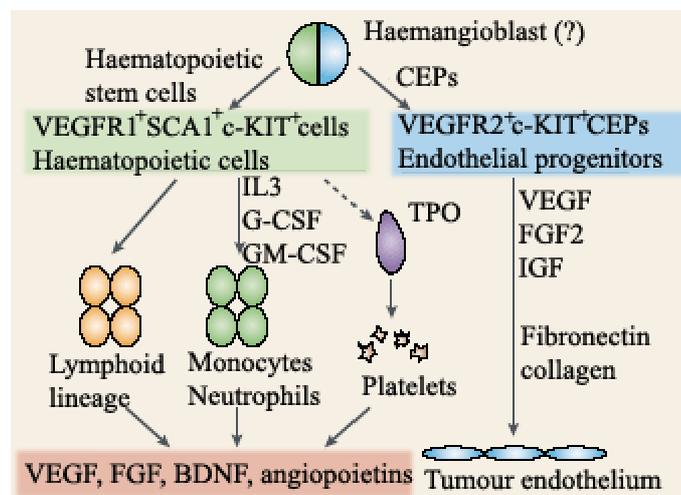
Unter physiologischen Bedingungen kommt es zu Änderungen des Gefäßsystems im Rahmen des weiblichen Reproduktionszyklus (Hanahan 1996) sowie der Entwicklung der weiblichen Milchdrüse (Risau 1997). Alle weiteren Gründe, die zu angiogenetischen Prozessen führen, sind pathologischer Natur, wie zum Beispiel die Wundheilung oder das Tumorwachstum.

Weitere Beispiele bei denen man sogar eine überschießende Angiogenese findet, sind Krankheitszustände wie die rheumatoide Arthritis, die diabetische Retinopathie, Psoriasis oder das Hämangiom (Heits 1998).

Lange Zeit war man davon ausgegangen, dass die Entstehung neuer Blutgefäße beim Erwachsenen nur durch Teilung oder Sprossung bereits existierender Gefäße zustande kommt. Neuere Studien haben aber belegt, dass endotheliale Vorläuferzellen (CEP's, Circulating Endothelial Precursors) ebenfalls im adulten Organismus existieren und die Entwicklung neuer Gefäße beeinflussen (Gehling 2000, Rafii 1994, Asahara 1997).

CEP's sind undifferenzierte Zellen des Knochenmarkes, welche die Fähigkeit besitzen in die Blutbahn überzutreten und an Orte stattfindender Angiogenese zu wandern. Dort differenzieren sie zu Endothelzellen und werden in neuentstandene Blutgefäße integriert.

Diese aus dem Knochenmark stammenden Zellen sind unter anderem an der Neoangiogenese der Wundheilung, der Vaskularisation bei ischämischen Prozessen, wie der koronaren Gefäßerkrankung und Arteriosklerose, der Neovaskularisation der Netzhaut sowie dem Wachstum einiger Tumore beteiligt (siehe Abb.3).



**Abb. 3: Darstellung der Interaktion hämatopoetischer Stammzellen und endothelialer Vorläuferzellen am Beispiel der Tumorangiogenese (Rafii 2002)**

Für die Entwicklung einer funktionierenden Tumorvaskularisation scheint die Beteiligung beider Vorläuferzelllinien (hämatopoetischer wie endothelialer) notwendig zu sein. Abgebildet ist die gemeinsame Ursprungszelle hämatopoetischer Stamm- und endothelialer Vorläuferzellen, der Hämangioblast. Die zelllinienspezifische Differenzierung der hämatopoetischen Stammzellen ist abhängig von Zytokinen, welche die jeweilige selektive Differenzierung unterstützen. G-CSF und GM-CSF fördern die Entwicklung myelo-monozytärer Zellen, während TPO ein spezifischer Wachstumsfaktor für Megakaryozyten und somit verantwortlich für die Produktion der Thrombozyten ist. Die Zellen sind in der Lage Wachstumsfaktoren zu sezernieren, die zusammen mit Proteinen der Extrazellulärmatrix (Fibronectin, Kollagen), die Differenzierung von CEP's und deren Inkorporation in die Tumorvaskularisation fördern (Rafii 2002).

## **1.5 Blutgefäßentstehung beim Tumor**

### **1.5.1 Allgemeines**

Schon seit längerem hat man die Induktion der Angiogenese mit dem Auftreten von Tumoren in Verbindung gebracht (Carmeliet 2000, Goldman 1907, Ide 1939, Algire 1945). Die Hypothese, dass Tumore angiogene Substanzen sezernieren geht auf das Jahr 1968 zurück (Greenblatt 1968, Ehrmann 1968). Die Abhängigkeit des Tumorwachstums und der Metastasierung von der Angiogenese wurde schon 1971 von Folkman festgestellt (Folkman 1971). Er schlussfolgerte daraus, dass die Blockade der Angiogenese eine mögliche Strategie ist, ein Fortschreiten des Tumorwachstum zu verhindern.

Man sollte allerdings nicht vergessen, dass die Entstehung eines Tumors ein komplexes Geschehen ist. In den letzten 50 Jahren ist man dabei den grundlegenden Prinzipien der Tumorphathogenese ein ganzes Stück näher gekommen. Trotz aller Prozesse die während der Transformation stattfinden, gibt es einen Schritt, der für das Wachstum und die Verbreitung des Tumors notwendig ist – die Induktion der Tumorangiogenese, auch als „angiogenic switch“ bezeichnet.

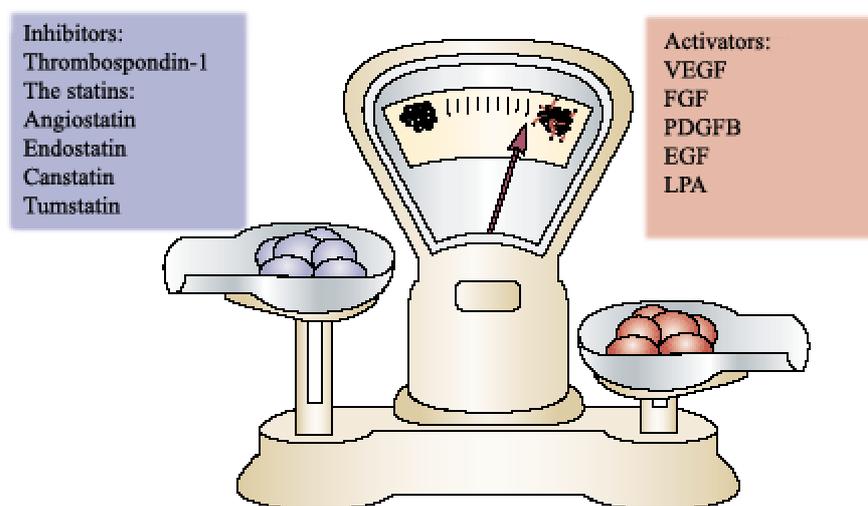
### **1.5.2 Angiogenic switch**

Dieser bezeichnet den Wechsel vom avaskulären zum neovaskulären Zustand des Tumors. Wie gesundes Gewebe benötigt auch Tumorgewebe eine ausreichende Versorgung mit Sauerstoff und Nährstoffen. Diese notwendigen Erfordernisse variieren zwar zwischen den verschiedenen Tumortypen und den jeweiligen Wachstumsstadien, aber ein Zugang zum Blutgefäßsystem sowie die Neubildung eigener Gefäße, sind der limitierende Schritt des Tumorwachstums. Dieser Schritt kann in den unterschiedlichsten Stadien der Tumorprogression stattfinden und ist abhängig von Tumortyp und Wachstumsumgebung.

Physiologisch vorkommende Angiogenese unterliegt einer eng regulierten Balance aus pro- und anti-angiogenen Signalen. Im Gegensatz dazu kommt es bei tumor-induzierter Angiogenese durch das Überwiegen pro-angiogener Stimuli zur Störung dieser Balance und damit der Auslösung des „angiogenic switch“.

Die Induktion dieses Prozesses ist unter anderem durch folgende Stimuli bedingt (Folkman 2003):

1. Onkogene, welche die Expression proangiogener Faktoren fördert, sowie die Expression angiogener Inhibitoren senkt
2. Aktivierung des hypoxie-induziertem Transkriptionsfaktors-1 (HIF-1), bedingt durch den Anstieg der Tumormasse
3. Freisetzung proangiogener Proteine durch Fibroblasten des Tumorbettes
4. sowie endotheliale Vorläuferzellen aus dem Knochenmark



**Abb. 4: Modell zur Regulation der Tumorangiogenese (Bergers 2002)**

Eine klassische Vorstellung von der Regulation der Tumorangiogenese ist die einer Waage, bei der sich pro-angiogene und anti-angiogene Faktoren gegeneinander aufwiegen. Kommt es zu einem Überwiegen pro-angiogener Stimuli wird der „angiogenic switch“ eingeleitet.

Faktoren mit proangiogener Wirkung:

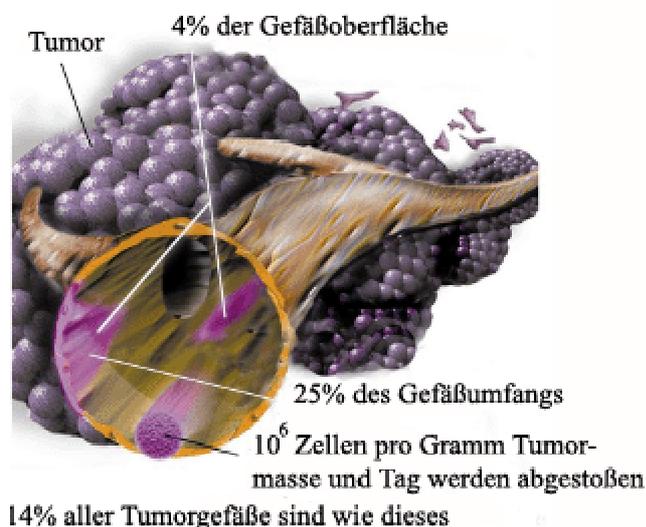
- Angiogenin, Angiopoietin-1 (Ang1), Angiotropin, Erythropoietin, Granulocyte-Monocyte Colony Stimulating Factor (GM-CSF), Granulocyte Colony Stimulating Factor (G-CSF), Hepatocyte Growth Factor (HGF), Insulin-like Growth Factor 1 (IGF-1), Interleukine (IL 1,2,6 und 8), Placenta Growth Factor (PIGF), Platelet Derived Growth Factor (PDGF), Prostaglandine (E1 und E2), Substanz P, Transforming Growth Factor (TGF  $\alpha$  und  $\beta$ ), Tumor Necrosis Factor  $\alpha$  (TNF $\alpha$ )

Faktoren mit inhibitorischer Wirkung:

- Angiopoietin-2 (Ang2), Arresten, Chemokine gro- $\beta$ , Chemokine IP-10, Heparin, Interferone  $\alpha$  und  $\gamma$ , Interleukine (4,12 und 18), Maspin, Pigment Epithelium-derived Factor (PEDF), Platelet Factor-4 (PF-4), Restin, Serpin Antithrombin, Thrombospondin (TSP 1-4), Tissue Inhibitors of Metalloproteinase (TIMP), Troponin-1, Vasostatin

### 1.5.3 Struktur und Funktion von Tumorgefäßen

Tumorgefäße unterscheiden sich strukturell und funktionell von physiologisch entstandenen Blutgefäßen. Ursächlich scheint hierfür die gestörte Balance von positiven und negativen Kontrollen zu sein, welches durch die schlechtere Koordination von zeitlich und räumlich begrenzt ausgeschütteten regulativen Faktoren bedingt ist. Tumorgefäßentstehung ist ein sehr dynamischer Prozess bezüglich der Entstehung neuer als auch dem Umbau schon existierender Gefäße. Durch den konstanten Wachstumsprozess dem sie unterliegen, haben sie nicht die Möglichkeit, sich wie physiologisch entstandene Blutgefäße zu stabilisieren und entwickeln daher eigene typische Charakteristika (Bergers 2002, Carmeliet 2000, Morikawa 2002, Gilead 1999).



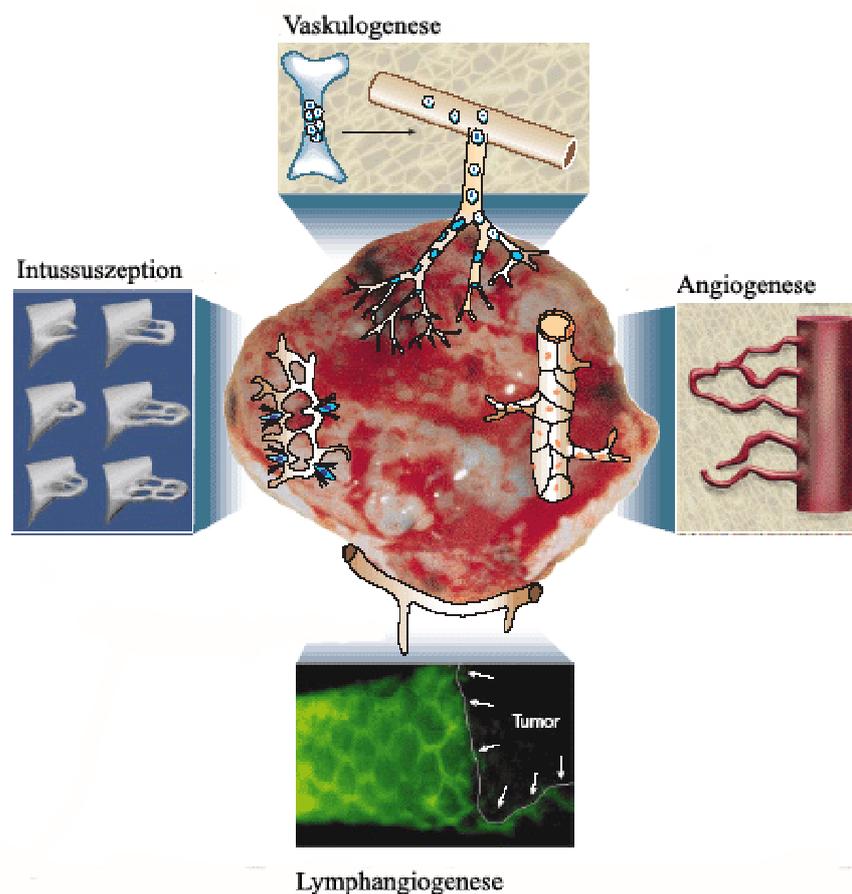
**Abb. 5: Wandaufbau von Tumorgefäßen**  
(Carmeliet 2000)

An dem Beispiel des humanen Kolon-Karzinoms wurde gezeigt, dass rund 15 % aller Tumorgefäße aus solch einem Mosaik bestehen (Chang 2000).

Typische tumoröse Blutgefäße weisen starke Schängelungen, Verzweigungen und Dilatationen, mit wechselnden Durchmessern und toten Enden auf. Sie sind nicht so klar unterteilt in Venolen, Arteriolen und Kapillaren wie ihre gesunden Gegenstücke. Der Wandaufbau tumoröser Gefäße ist ebenso inhomogen wie deren äußere Form. Sie sind mit einem Mosaik aus Endothelzellen und Tumorzellen ausgekleidet (siehe Abb. 5).

Bedingt durch die lokale VEGF-Überproduktion kommt es zu einer Erhöhung der Gefäßpermeabilität und damit verbundenen Hämorrhagien. Der Rückgang der perizytären Schicht ist für einen herabgesetzten Zellkontakt der Endothelzellen untereinander und damit einem Stabilitätsverlust verantwortlich. So unregelmäßig wie der Aufbau der Gefäße ist auch der Blutfluss in ihnen. Dieser verläuft langsamer und teilweise auch oszillierend, was wiederum zur Entstehung von hypoxischen und azidosischen Regionen innerhalb des Tumors führt und darüber hinaus die Angiogenese verstärkt (Helmlinger 1997).

### 1.5.4 Mechanismen der Gefäßentstehung bei Tumoren



**Abb. 6: Mechanismen der Entstehung von Blutgefäßen in Tumoren (Carmeliet 2000)**

Darstellung der für die Blutgefäßentstehung in Tumoren verantwortlichen zellulären Mechanismen: Angiogenese, Vaskulogenese und Intussuszeption

Die Entstehung neuer Blutgefäße (Neoangiogenese) ist ein Attribut aller Tumore und entscheidend für deren Formierung, Wachstum und Metastasierung (Folkman 2000, Kerbel 2002). Es beruht auf verschiedenen Mechanismen: der Sprossung aus bereits bestehenden Blutgefäßen, Intussuszeption, der Aktivierung endothelialer Vorläuferzellen oder der Übernahme bereits bestehender Blutgefäße.

Ebenso wichtig wie die Versorgung des Tumorgewebes mit Nährstoffen und Sauerstoff ist die Ableitung seiner Abfallstoffe. Diese erfolgt über Lymphgefäße, die außerdem einen möglichen Ausgangspunkt für eine Metastasierung darstellen. Für die tumor-induzierte Lymphangiogenese fehlt derzeit noch der Beweis, aber bei den sich in der Peripherie des Tumors befindlichen Lymphgefäßen kommt es im Rahmen des Tumorwachstums zu einer Dilatation. Wahrscheinlich weisen diese auch strukturelle Unregelmäßigkeiten auf, bleiben aber funktionstüchtig (Leu 2000). Trotz des Vorhandenseins lymphangiogener Moleküle, wie VEGF-C (Vascular Endothelial Growth Factor C), existieren keine funktionierenden Lymphgefäße im Tumorgewebe. Es wird angenommen, dass diese durch den massiven Druck, welcher durch die wachsenden Tumorzellen ausgeübt wird, kollabieren.

### 1.5.5 Angiogenese

Als Angiogenese bezeichnet man den Prozess der Gefäßsprossung (Sprouting) aus bereits bestehenden Blutgefäßen, das Einwachsen von Bindegewebssepten sowie die Formierung der neugebildeten Blutgefäße.

Die meisten Tumore beginnen ihr Wachstum als avaskuläre Knötchen (siehe Abb. 7a). Wenn der Tumor eine Größe von etwa  $3\text{mm}^3$  erreicht hat, ist die Ernährung der Tumorzellen durch Diffusion nicht mehr gewährleistet (Fiedler 2001). Er beginnt mit der Ausschüttung von proangiogener Wachstumsfaktoren, unter anderem VEGF, die zu den benachbarten Endothelzellen diffundieren und diese aktivieren (Kroll 2000, Rafii 2002).

Als Antwort auf den vascular endothelial growth factor (VEGF) kommt es zu einer Dilatation und Permeabilitätserhöhung der Gefäße (siehe Abb. 7b) und damit zum Austreten von Plasmaproteinen (Heits 1998). Erleichtert wird dieser Vorgang durch die von Angiopoietin-2 (Ang2) vermittelte Lockerung der stabilisierenden Perizyten-Schicht. Unter dem Einfluss von Mitogenen kommt es zur Sezernierung von Plasminogen-Aktivatoren und Metalloproteasen, welche wiederum eine proteolytischen Zerstörung der Basalmembran und des Zytoskeletts und damit eine Lockerung des Zellkontaktes zur Folge haben. Zahlreiche Moleküle, einschließlich

VEGF, Ang1 und bFGF, sind bei der anschließenden Migration der Endothelzellen in Richtung des Tumors, deren Proliferation und Versorgung beteiligt (siehe Abb. 7c). Zellteilung und Migration werden durch Rezeptoren der Zellmatrix, wie  $\alpha_v$ ,  $\beta_3$  und  $\alpha_5$  Integrine, vermittelt.

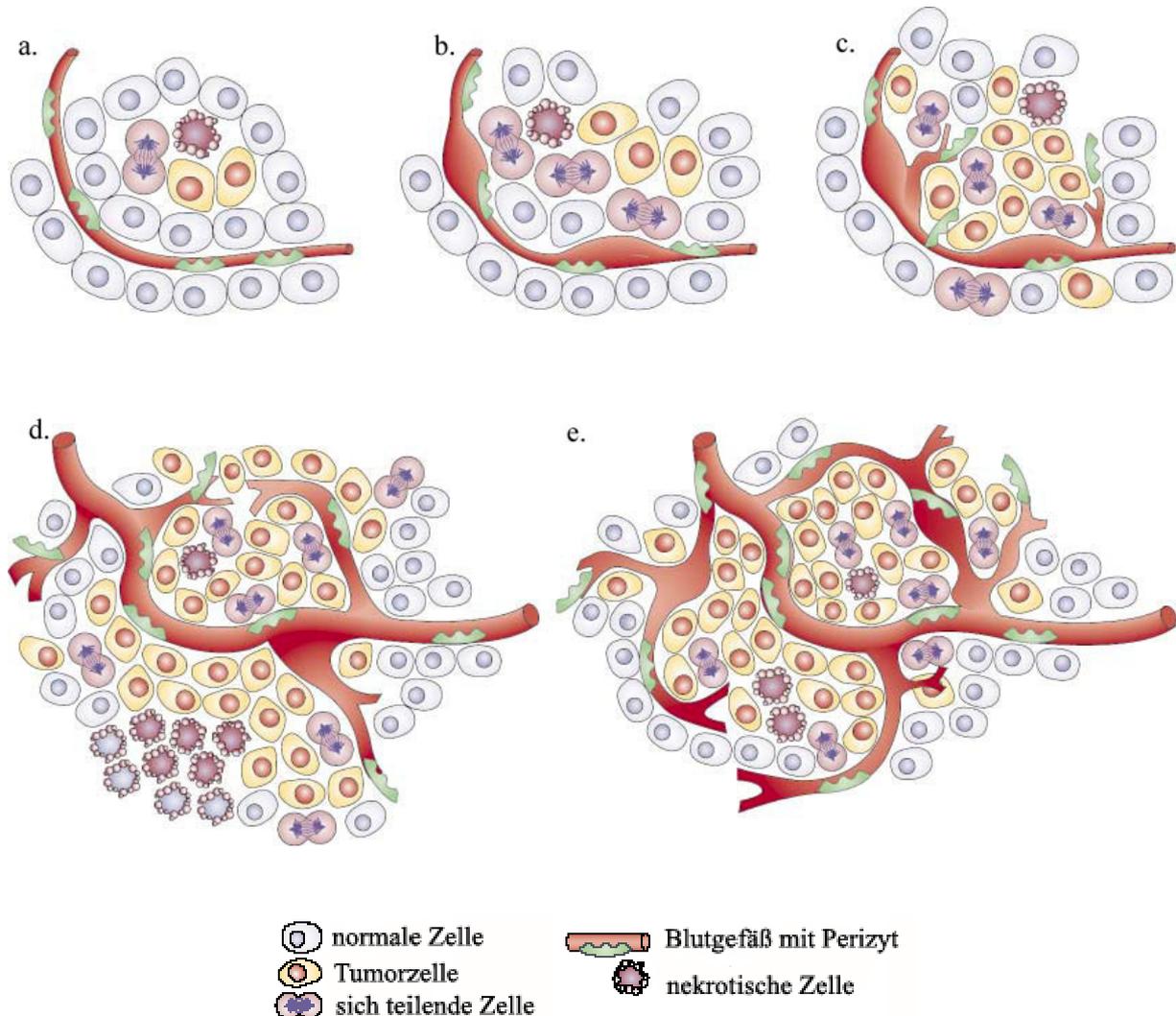


Abb. 7: Schritte der Tumorangiogenese (Bergers 2002)

- avaskuläres Tumorwachstum
- Lockerung der umgebenden Perizyten-Schicht, Dilatation und Permeabilitätserhöhung der Gefäße
- Einsetzen der Gefäßsprossung in die Richtung des angiogenen Stimulus
- Entwicklung und Reifung der neuen Blutgefäße, sowie Rekrutierung und Integrierung von Perizyten und glatten Muskelzellen
- Anhaltender Ausbau der Tumorvaskularisation

Für die beginnende Entwicklung und Reifung der neuen Blutgefäße ist die Anlage einer neuen Basalmembran, sowie Integrierung von Perizyten und glatten Muskelzellen notwendig (siehe Abb. 7d). Für die Rekrutierung Letzterer ist der PDGF-BB zuständig. Die Interaktion mit den

Endothelzellen wird von TGF- $\beta$ 1 vermittelt und Ang1/Tie2 stabilisieren diese Verbindung. Proteinase-Inhibitoren, wie PAI-1 schützen die provisorische Zellmatrix der sich neu entwickelnden Gefäße (Carmeliet 2000).

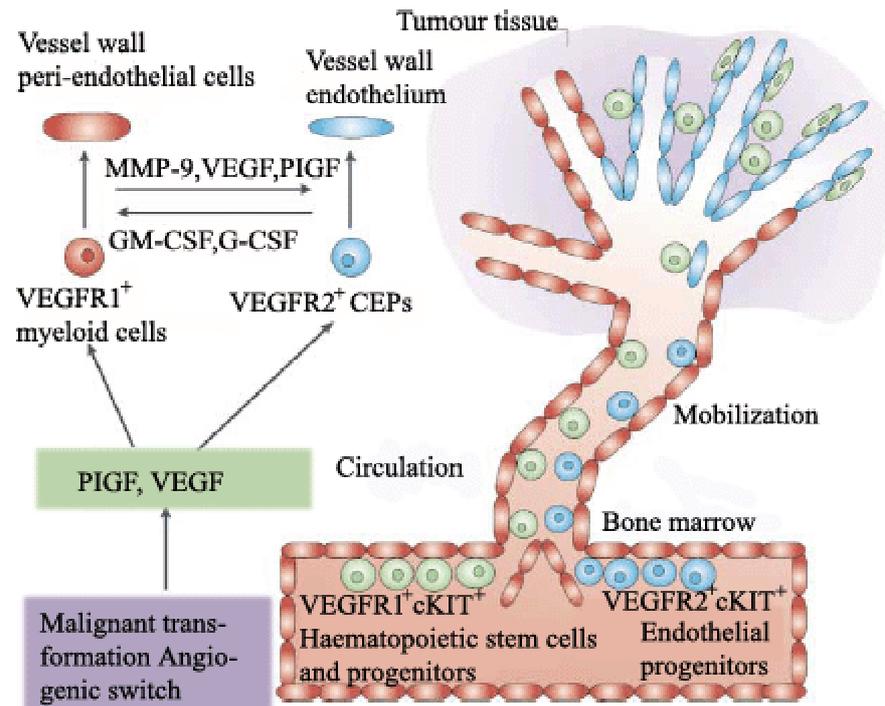
Am Rand von nekrotisierendem und hypoxischem Gewebe kommt es durch die weitere Ausschüttung von VEGF durch den Tumor zu anhaltender Gefäßsprossung, welche die Versorgung des Tumors sicherstellen (siehe Abb. 7e).

### 1.5.6 Vaskulogenese

Vom Tumor ausgeschüttete angiogene Faktoren stimulieren die Freisetzung von VEGFR1<sup>+</sup>-hämatopoetischer Stammzellen und VEGFR2<sup>+</sup>-endothelialer Vorläuferzellen aus dem Knochenmark. Anhand von Mausmodellen wurde gezeigt, dass die Rekrutierung der Vorläufer beider Zelllinien (hämatopoetischer wie endothelialer) für die Entstehung einer funktionierenden Tumolvaskularisation notwendig zu sein scheint. Die Blockade von nur einem Rezeptor, VEGFR1 oder VEGFR2, war allein nicht ausreichend für eine Regression des Tumorstwachstums. So kommt es bei einer alleinigen Hemmung des VEGF-Rezeptors-2 (VEGFR2, Flk1, KDR) zu einer Permeabilitätserhöhung der Gefäße und damit verbundenen diffusen Hämorrhagien, wohingegen die Blockade des VEGF-Rezeptors-1 (VEGFR1, Flt1) die Anzahl perivaskulärer hämatopoetischer Zellen innerhalb des Tumors herabsetzt. Eine Inhibition beider Rezeptoren hingegen führte zu einer ausreichenden Blockade des Wachstums und beginnender Nekrose des Tumors (Lyden 2001, Luttun 2002).

Die Ergebnisse aus diesen Versuchen lassen vermuten, dass die Eingliederung so rekrutierter Endothelzellen in das Gefäßnetz des Tumors durch VEGFR1<sup>+</sup> hämatopoetischen Zellen begünstigt wird (siehe Abb. 8).

Die Differenzierung der hämatopoetischen Stammzellen in Lymphozyten, Megakaryozyten oder Myelozyten ist abhängig von der Verfügbarkeit bestimmter Zytokine. So fördern unter anderem GM-CSF (granulocyte-monocyte colony-stimulating factor) und G-CSF (granulocyte colony-stimulating factor) die Entwicklung von Monozyten und neutrophilen Granulozyten. Trombopoietin (TPO) ist ein megakaryozyten-spezifischer Faktor, der die Ausbildung der Thrombozyten fördert.



**Abb. 8: Darstellung der Ko-Mobilisation von hämatopoetischen Stammzellen und endothelialen Vorläuferzellen (Rafii 2002)**

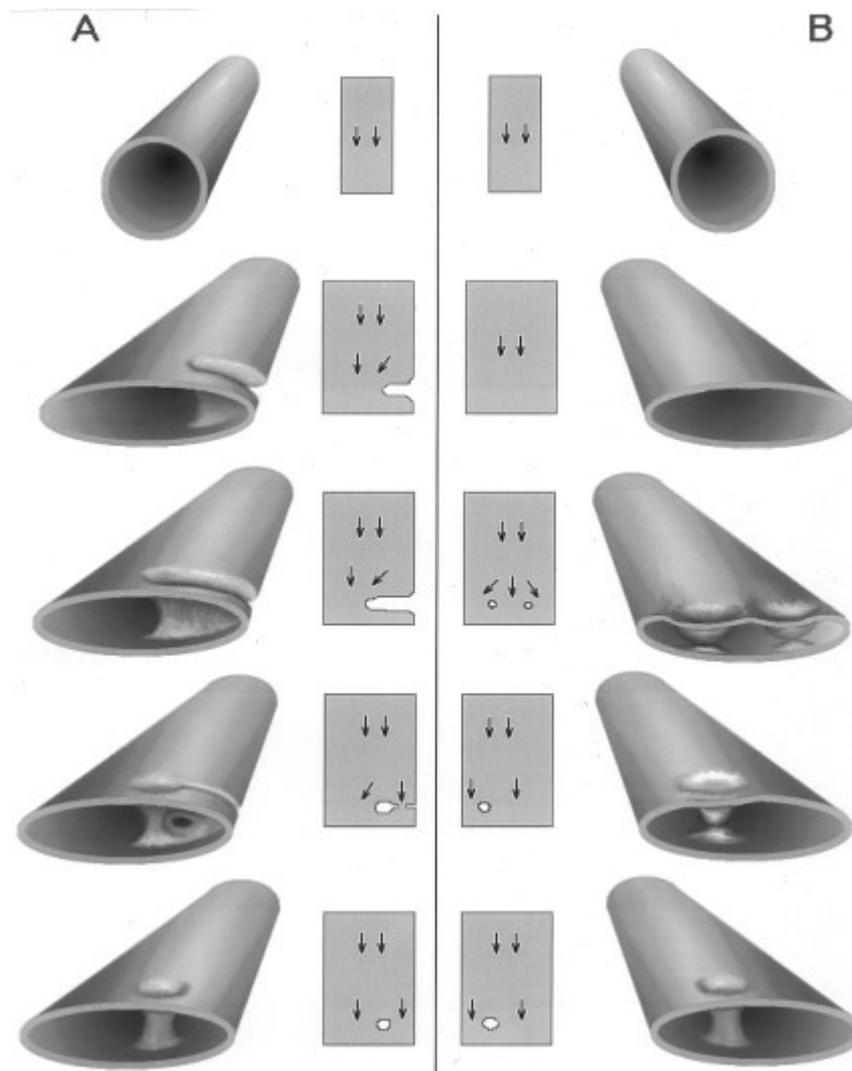
Durch die vom Tumor freigesetzten angiogenen Faktoren kommt es zur Ko-Mobilisation VEGFR1<sup>+</sup> hämatopoetischer Stammzellen und VEGFR2<sup>+</sup> endothelialer Vorläuferzellen (CEP) aus dem Knochenmark. Die Rekrutierung beider Zelllinien ist für die Entstehung einer funktionierenden Tumolvaskularisation notwendig. Angiogene Faktoren, wie VEGF und MMP-9, werden ebenfalls von hämatopoetischen Zellen sezerniert, welche im Gegenzug Faktoren freisetzen, die für die Differenzierung hämatopoetischer Vorläuferzellen in proangiogene Monozyten und Makrophagen verantwortlich sind (Rafii 2002).

Die hämatopoetischen Stammzellen sowie die Tumorzellen können angiogene Faktoren, wie VEGF (vascular endothelial growth factor), FGF (fibroblast growth factor), BDNF (brain derived nerve growth factor) als auch Angiopoietin, produzieren und freisetzen.

Diese Faktoren unterstützen zusammen mit Proteinen der Extrazellulärmatrix, wie Fibronectin und Kollagen, die Ausdifferenzierung VEGFR2<sup>+</sup>-endothelialer Vorläuferzellen zu Endothelzellen, welche dann in die Tumorgefäße integriert werden. Rekrutierte Endothelzellen sind in der Lage Wachstumsfaktoren auszuschütten, welche wiederum bei hämatopoetischen Vorläuferzellen eine Differenzierung zu proangiogenen Monozyten und Makrophagen zur Folge haben (Rafii 2003).

### 1.5.7 Intussuszeption

Intussuszeption oder „non-sprouting“-Angiogenese ist ein Prozess, bei dem bereits existierende Gefäße durch das Einwachsen von interstitiellen Gewebesäulen geteilt werden. Ein Vorgang der physiologisch bei der Entwicklung von Lunge, Herz und Dottersack stattfindet.



**Abb. 9: Varianten der Entstehung interstitieller Gewebesäulen (Patan 1996)**

Varianten der Entstehung interstitieller Gewebesäulen im Rahmen der Intussuszeption durch:

A) seitliches Einfalten der Gefäßwand oder B) der Verbindung sich gegenüberliegender Wandanteile bei kollabierenden Gefäßen. Die Pfeile zeigen die Flussrichtung in den Gefäßen.

Eine vorangegangene verstärkte Endothelzellproliferation innerhalb eines Gefäßes führt zur Lumenvergrößerung. An einigen dieser Stellen der Gefäßwand stülpt sich nun die Basalmembran in das angrenzende Gewebe und wird dann dort abgebaut. Daraufhin migrieren

Endothelzellen in diese Aussackung und es kommt zur Abschnürung dieser und zur Bildung von Endothelzellpfeilern mit extrazellulärer Matrix (Patan 1996, Risau 1997).

### **1.6 Charakteristika endothelialer Vorläuferzellen (EPC)**

#### **1.6.1 Allgemeines**

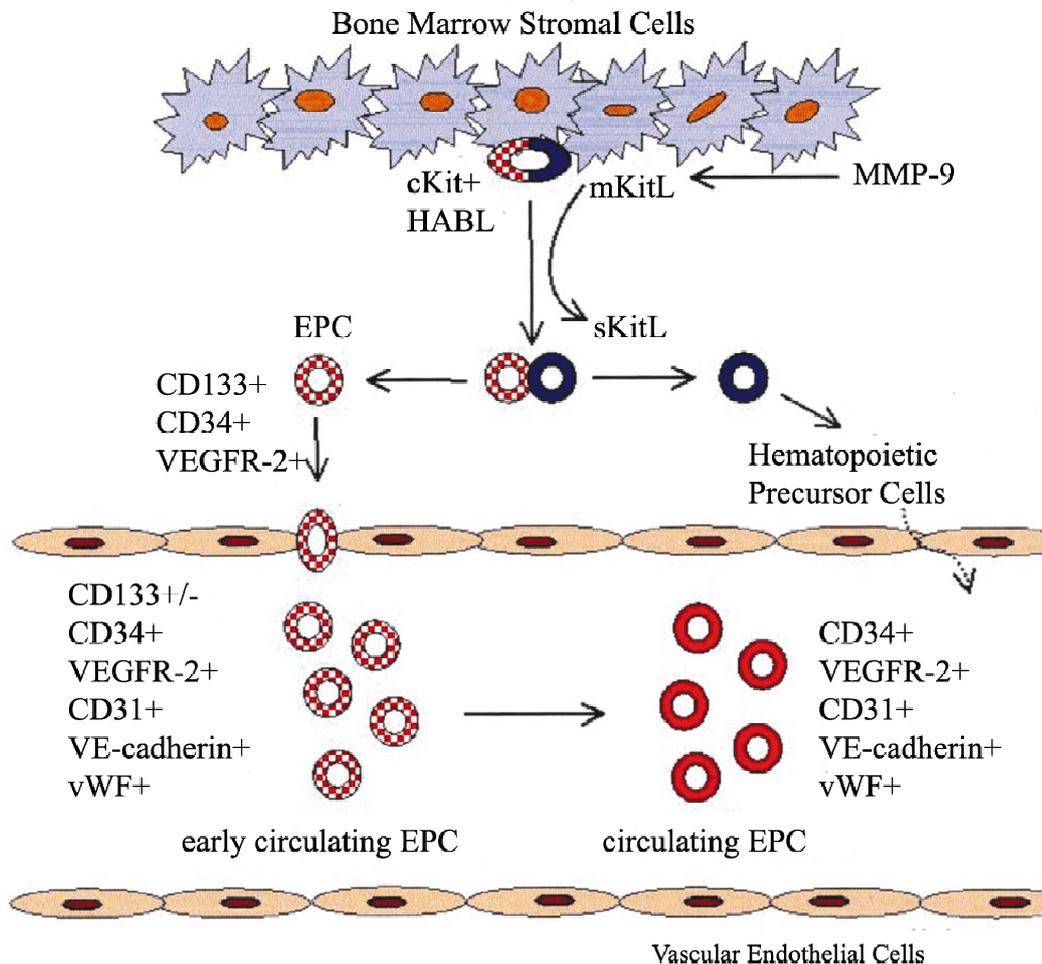
Endotheliale Vorläuferzellen (endothelial progenitor cells, EPC), auch als zirkulierende endotheliale Vorläuferzellen (Circulating endothelial precursor cells, CEP) bezeichnet, besitzen das Potential zur Proliferation und Differenzierung in ausgereifte Endothelzellen. Wie schon angeführt (siehe Punkt 1.4.2) haben zurückliegende Studien gezeigt, dass endotheliale Vorläuferzellen nicht nur bei der Vaskulogenese im Rahmen der Embryonalentwicklung sondern auch im adulten Organismus nachgewiesen werden konnten. In diesem stellen sie 0,1 bis 0,5 % der zirkulierenden mononukleären Zellen dar (Kalka 1999). Sie besitzen die Fähigkeiten zur Induktion und Modulation postnataler Vaskulogenese und Angiogenese in ischämischen Regionen und sind an der Reparatur verletzter Gefäße beteiligt (Asahara 1997, Lin 2000). So kommt es zum Beispiel durch vaskuläre Traumata, wie Verbrennungen oder mechanische Einwirkungen, zu einem messbar schnellen Anstieg dieser Zellfraktion (Gill 2001). Dieses Potential endothelialer Vorläuferzellen macht ihre Rekrutierung zu einem wichtigen Faktor für das Tumorwachstum, da eine Endothelzelle in Lage ist zwischen 50-100 Tumorzellen zu versorgen (Folkman 2001).

#### **1.6.2 Identifizierung**

Nach dem heutigen Stand der Forschung geht man davon aus, dass hämatopoetische Stammzellen und endotheliale Vorläuferzellen von der gleichen Ursprungszelle, dem Hämangioblasten, abstammen.

Nach der Trennung dieser beiden Zelllinien können die ersten funktionellen endothelialen Vorläuferzellen durch drei Oberflächenmarker, CD133, CD34 und dem VEGF-Rezeptor-2 (VEGFR-2, KDR, Flk-1), charakterisiert werden. Diese Zellen befinden sich überwiegend im Knochenmark und exprimieren weder VE-cadherin (vascular endothelial cadherin) noch den von Willebrand Faktor. Im Vergleich dazu zeigen reifere EPC's eine starke Expression von

VE-cadherin, vW-Faktor, VEGFR-2 und CD34, wohingegen CD133 als Oberflächenmarker nicht mehr vorhanden ist (siehe Abb. 10).



**Abb. 10: Differenzierung endothelialer Vorläuferzellen (EPC) (Hristov 2003)**

Die Mobilisation endothelialer Vorläuferzellen ist komplex und wird durch eine Vielzahl verschiedener Faktoren reguliert. Die Aktivierung der Matrixmetalloproteinase 9 (MMP-9) führt zur Umwandlung des membrangebundenen Kit-Liganden (mKitL) in einen löslichen Kit-Liganden (sKitL). Dieser fördert das Austreten der Hämangioblasten (HABL) in die vaskuläre Zone des Knochenmarks und damit den Wechsel dieser Zellen aus einem ruhenden in einen proliferativen Zustand. Nach dem die endothelialen Vorläuferzellen das Knochenmark verlassen haben, ändert sich auch deren Oberflächenproteine. Zeitgleich mit dem Auftreten von VE-cadherin und dem vW-Faktor auf der Zelloberfläche lässt die Expression von CD133 nach.

CD133 ist ein 120-kDa transmembranes Glykoprotein unbekannter Funktion, welches auf hämatopoetischen Stamm- und Vorläuferzellen aus dem Knochenmark, der fetalen Leber und im peripheren Blut exprimiert wird (Yin 1997). Der Verlust von CD133 und die beginnende Expression des vW-Faktors reflektieren den Reifungsprozess endothelialer Vorläuferzellen. Es konnte gezeigt werden, dass es nach der Isolation von EPC's und einer anschließender Inkubation mit VEGF, fibroblast growth factor (FGF)-2 und insulin-like growth factor (IGF), die

Expression von CD133 herabreguliert wurde und zirkulierende endotheliale Vorläuferzellen sich in ausgereifte adherente Endothelzellen differenzierten (Rafii 2002). Der Zeitpunkt, an dem CD133 in vivo nicht mehr exprimiert wird, während der Transmigration aus dem Knochenmark oder in der peripheren Zirkulation, ist heute noch unklar.

Nach dem Austreten der EPC's in die Peripherie eines adulten Organismus lässt sich auf ihrer Oberfläche, außer den schon erwähnten Markern, zusätzlich CD31 (platelet endothelial cell adhesion molecule-1) nachweisen.

Zusammenfassend kann man sagen, dass endotheliale Vorläuferzellen direkt nach ihrer Migration aus dem Knochenmark positiv für CD133, VEGFR-2 und CD34 sind, während zirkulierende EPC's CD34, VEGFR-2, CD31, VE-cadherin und den vW-Faktor auf ihrer Oberfläche exprimieren. Letztendlich deutet alles darauf hin, dass diese zwei Typen endothelialer Vorläuferzellen zeitgleich in der Peripherie existieren, und dass der Wechsel ihrer Vorläufereigenschaften in eben dieser peripheren Blutzirkulation stattfindet (Hristov 2003, siehe Abb. 10).

### 1.6.3 Mobilisation

Die Freisetzung endothelialer Vorläuferzellen aus dem Knochenmark unterliegt einer Vielzahl von Wechselwirkungen zwischen verschiedenen Liganden und ihren Oberflächenrezeptoren. Durch hämatopoetische Zellen und Tumorzellen kommt es zur Freisetzung angiogenetischer Faktoren, wie VEGF und PlGF (placenta growth factor). Diese aktivieren wiederum die Matrixmetalloproteinase 9 (MMP-9), durch die der membran-gebundenen Kit-Ligand (mKitL) in einen löslichen Kit-Ligand (sKitL) umgewandelt wird. Dieser unterstützt die Migration cKit-positiver Stamm- und Vorläuferzellen, einschließlich der gemeinsamen hämatopoetischen und endothelialen Vorläuferzelle (des Hämangioblasten) in die vaskuläre Zone des Knochenmarkes (Rafii 2003, Heissig 2002, siehe Abb. 10). Welche Faktoren allerdings zur weiteren Differenzierung der Hämangioblasten in endotheliale Vorläuferzellen verantwortlich sind, ist heute noch weitgehend unbekannt. Aber Prozesse die mit einem schnellen Anstieg von EPC's verbunden sind, wie z.B. Gefäßverletzungen durch operative Eingriffe oder Verbrennungen, gehen mit einem Anstieg des VEGF-Spiegels einher (Kalka 2000, Gill 2001). Diese Untersuchungen zeigen, dass der vascular endothelial growth factor VEGF in der Lage ist, die Freisetzung endothelialer Vorläuferzellen zu stimulieren.

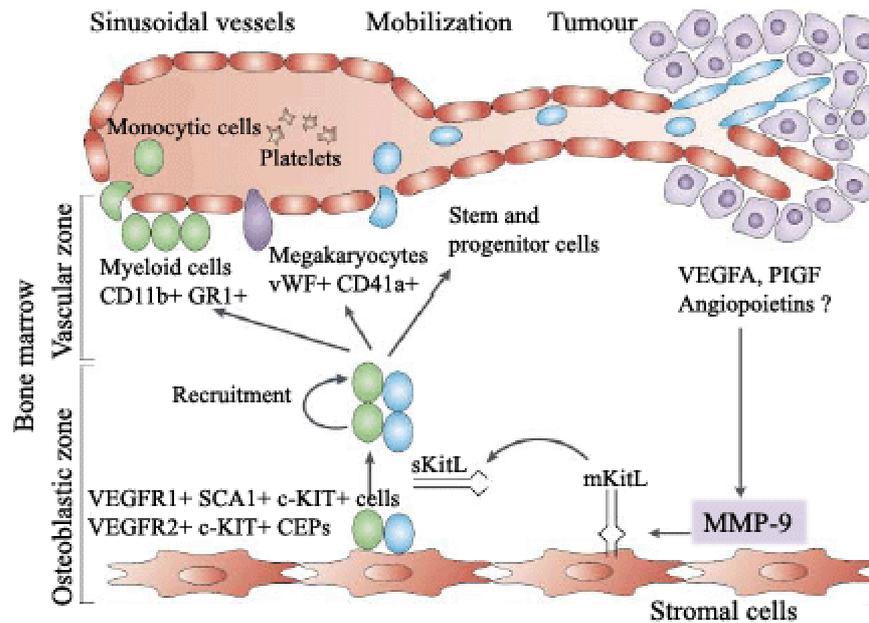


Abb. 11: MMP-9 vermittelte Freisetzung des löslichen Kit-Liganden (sKitL) (Rafii 2002)

Der erhöhte Spiegel dieses löslichen Kit-Liganden innerhalb des Knochenmarks führt zur Translokation von Stammzellen, eingeschlossen der hämatopoetischen und endothelialen Vorläuferzellen, aus der osteoblastischen in die vaskuläre Zone des Knochenmarkes. Dort proliferieren sie, differenzieren sich und beginnen in die Peripherie überzutreten.

## 1.7 Die VEGF - Familie

### 1.7.1 Allgemeines

Zur VEGF-Proteinfamilie gehören neben VEGF (genauer VEGF-A) auch VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E und der placenta growth factor (PlGF).

Anfangs wurde VEGF-A aufgrund seiner Fähigkeit zur Erhöhung der Gefäßpermeabilität auch als Vascular Permeability Factor (VPF) bezeichnet. Erst später erkannte man, dass VPF mit dem von mehreren Arbeitsgruppen gleichzeitig identifizierten VEGF identisch war (Heits 1998).

Über die Funktion und Bedeutung des VEGF-B gibt es momentan nur wenige Daten. Nennenswert ist die starke Expression im Herzen, die Fähigkeit mit VEGF-A Heterodimere zu bilden sowie die Koexpression mit diesem in vielen Geweben.

VEGF-C ist ein Wachstumsfaktor für vaskuläre und lymphatische Endothelzellen und damit bedeutend für die Entwicklung der Lymphgefäße. Im Mausmodell zeigte sich, dass eine Überexpression von VEGF-C zu lymphatischen Hyperplasien führte (Yancopoulos 2000, Olofsson 1999, Leu 2000).

Die Expression von VEGF-D erfolgt hauptsächlich in Herz und Lunge. Dieser, dem VEGF-C sehr ähnliche Faktor, ist in der Lage, die Proliferation von Endothelzellen einzuleiten.

Der Wachstumsfaktor VEGF-E ist ebenfalls in der Lage die Proliferation von Endothelzellen und die Gefäßpermeabilität zu beeinflussen. Außerdem wird dieser Faktor von *Orf*-Viren exprimiert, welche bei einigen Tieren stark-vaskularisierte Läsionen verursachen können. Beim Menschen sind sie die Erreger des Ecthyma contagiosum, der Schafpocken.

Die Migration proangiogener Monozyten als auch die Expression von Gewebstromboplastin (Tissue Factor) sind Folge der Wirkung von PIGF. Als VEGF-A/PIGF Heterodimer ist er auch in der Lage die Angiogenese direkt zu stimulieren.

### 1.7.2 VEGF (oder VEGF-A)

VEGF-A ist der bedeutendste Vertreter aus der VEGF-Familie in Bezug auf die Stimulation der Endothelzellproliferation und seiner Wirkung auf die Gefäßpermeabilität. Er wirkt als ein endothelspezifisches Mitogen und ist somit einer der wichtigsten Regulatoren der Blutgefäßfunktion sowie der Angiogenese. Aufgrund dieser Fähigkeiten spielt er eine bedeutende Rolle bei der Entwicklung des embryonalen Gefäßsystems und bei angiogenen Prozessen im adulten Organismus.

VEGF-A ist ein basisches, homodimeres Glykoprotein mit einer Molekülmasse von 46 kDa. Das humane Gen, bestehend aus 8 Exons und 6 Introns, ist auf dem Chromosom 6 p12-p21 lokalisiert (Heits 1998). Durch alternatives Splicing kommt es zur Entstehung von 6 Isoformen mit Sequenzen von 121, 145, 165, 183, 189 und 206 Aminosäuren (Kroll 2000). VEGF<sub>165</sub> ist dabei die im Serum vorherrschende Form. VEGF<sub>121</sub> und VEGF<sub>145</sub> werden nur in geringen Mengen sezerniert. VEGF<sub>189</sub> und VEGF<sub>206</sub> besitzen eine so starke Bindungsaffinität zu Heparansulfat, dass sie sofort nach ihrer Freisetzung an der Zelloberfläche gebunden werden und kaum im Serum nachweisbar sind. Diese Bindungsfähigkeit an Heparin und Heparansulfat ist ein wichtiges Unterscheidungsmerkmal der verschiedenen Isoformen, denn die Bindung an die VEGF-Rezeptoren wird durch Heparansulfate gefördert und stabilisiert, ebenso wie die Sekretion synergistisch wirkender Wachstumsfaktoren dadurch unterstützt wird. Von denen im Serum nachweisbaren Isoformen besitzt VEGF<sub>165</sub> im Gegensatz zu VEGF<sub>121</sub> z.B. eine heparinbindende Sequenz, wodurch sich auch seine stärkere biologische Aktivität erklären lässt. Zu dieser gehört die Freisetzung von Metalloproteasen, Serin-Proteasen, Gewebstromboplastin sowie Plasminogen-Aktivatoren als auch -Inhibitoren.

Die bisherigen Erkenntnisse über die verschiedenen Isoformen sind allerdings noch unzureichend. Man vermutet, dass ihre Bedeutung in der unterschiedlichen Verfügbarkeit für die Endothelzellen zu finden ist (Kroll 2000).

### **1.7.3 VEGF – Produktion und – Regulation**

Eine Vielzahl von Zellen, wie z.B. Muskelzellen, Makrophagen, T-Lymphozyten, Fibroblasten, Keratinozyten, Trophoblasten, Astrozyten, renale Mesangiumzellen sowie glomeruläre Endothelzellen, sind zur Produktion von VEGF befähigt. Die Expression wird durch verschiedene inflammatorische Zytokine und Wachstumsfaktoren reguliert. Einige dieser Modulatoren sind z.B. Hypoxie, PDGF, FGF-2, TGF  $\alpha$  und  $\beta$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, PGE<sub>2</sub>, IGF-1, Östrogen sowie Glukose. Der stärkste Induktor für die VEGF-Expression ist aber die Hypoxie. Gesteuert wird der Mechanismus unter anderem über den hypoxie-induzierten Transkriptionsfaktor-1 (HIF-1), welcher durch die Interaktion mit dem Promoter des VEGF-A-Gens zu einer verstärkten Transkription führt. Des Weiteren kommt es durch einen verringertem Sauerstoffpartialdruck im Gewebe zur Stabilisierung der VEGF-m-RNA und damit zu einer vermehrten VEGF-Bildung (Ikeda 1995).

### **1.7.4 VEGF – Rezeptoren**

Die Signaltransduktion von VEGF-A erfolgt über die Rezeptoren VEGFR-1 (*fms*-like tyrosine kinase receptor Flt-1) und VEGFR-2 (kinase-insert domain containing receptor KDR /fetal liver kinase-1 Flk-1). Bei letzterem bezeichnet KDR das humane und Flk-1 das murine Gen. Beide Rezeptoren sind sich strukturell sehr ähnlich (44 % ihrer Aminosäuresequenzen sind identisch), unterscheiden sich aber deutlich in ihren biochemischen Eigenschaften. Bindungsstudien haben gezeigt, dass VEGF eine höhere Affinität zum Flt-1 Rezeptor besitzt. Demgegenüber zeigt der KDR-Rezeptor eine vielfach höhere Kinase-Aktivität (Sawano 2001). Zusammen mit dem auf Lymphgefäßen vorkommenden Rezeptor VEGFR-3 (Flt-4) bilden sie die Familie der VEGF-Rezeptoren (siehe Abb. 12). Die zu dieser Familie gehörenden Rezeptoren setzen sich aus 7 extrazellulär gelegenen Immunglobulin-ähnlichen Domänen, einer Transmembrandomäne sowie die intrazellulär liegenden Juxtamembran- und Tyrosinkinasedomäne zusammen. Die VEGF-Rezeptoren gehören zu der großen Gruppe der Rezeptor-Tyrosin-Kinasen, zu der unter anderem

auch die Rezeptoren der PDGF- und FGF-Familie sowie Insulin gehören. Wie man in der Abbildung (Abb. 12) erkennen kann, ist VEGF-A auch in der Lage sich an Neuropilin zu binden. Neuropiline sind Ko-Rezeptoren die zwar nicht zur Signaltransduktion befähigt sind, aber in der Lage die VEGF-A vermittelten Bindung an KDR zu modulieren.

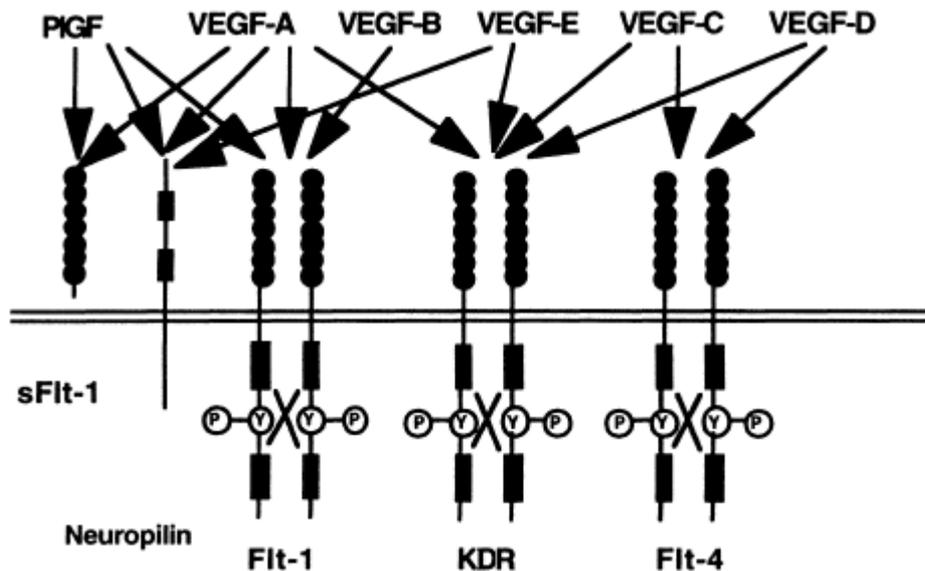


Abb. 12: Die VEGF – Familie und ihre Rezeptoren (Kroll 2000)

Die Bindung der verschiedenen VEGF-Isoformen an die drei Tyrosinkinase-Rezeptoren sowie an den akzessorischen, isoformspezifischen Neuropilin-Rezeptor ist in dieser Abbildung dargestellt.

### 1.8 basic Fibroblast Growth Factor (bFGF, FGF-2)

Eine bedeutende Rolle unter den Wachstumsfaktoren besitzt neben VEGF auch der basic fibroblast growth factor (bFGF, FGF-2). Dieses Zytokin ist ein Induktor der Angiogenese. Es besitzt die Fähigkeit die Proliferation und Migration von Endothelzellen zu stimulieren. Beide Faktoren, VEGF sowie bFGF, werden von einer Vielzahl von Tumoren exprimiert und weisen synergetische Wirkung auf. bFGF gehört zu einer Gruppe von neun strukturell verwandten Proteinen, die zusammen die FGF-Familie bilden: FGF-1 (acidic FGF), FGF-2 (basic FGF), FGF-3 und 4 (onkogene Translationsprodukte *hast* und *int 2*), FGF-5, 6 und 7 (keratinocyte growth factor), FGF-8 (androgen-induced growth factor) und FGF-9 (Glia-activating factor). Ebenso wie die Mitglieder der VEGF-Familie werden sie in vielen Geweben exprimiert. Zusammen mit dem acidic Fibroblast Growth Factor (aFGF, FGF-1) ist der bFGF eine der am besten charakterisierten Isoformen aus dieser Familie. In gesundem Gewebe ist bFGF in der

Basalmembran und der subendothelialen Extrazellulärmatrix von Blutgefäßen allgegenwärtig vorhanden. Physiologisch ist bFGF membranständig bis es im Rahmen der Matrixdegradation durch Heparanase an Heparansulfat gebunden wird. Durch diese Bindung kommt es zur Freisetzung und Umwandlung des basic Fibroblastic Growth Factor in seine aktive Form (Slutz 1995). Die Signalübertragung erfolgt über Membranrezeptoren sowie einer direkten Wirkung am Zellkern. Es sind derzeit 2 Membranrezeptoren bekannt. Diese gehören zu den Tyrosin-Kinasen und weisen eine unterschiedlich hohe Affinität gegenüber bFGF auf.