

総 説

腫瘍細胞由来血管内皮成長因子 (VEGF) による 血管新生の役割および抗 VEGF/VEGFR 療法について

大沼俊名

はじめに

血管新生は、全身および局所の栄養と酸素需要を満たすために必要な生理学的現象である。したがって、不十分または過剰な血管新生は、病的状態の進行に密接に関連している。異常な血管新生のより効果的な治療法の探索が進むにつれ、病気の再発を避けるためには、血管新生を早期に完全停止するのが最も有効であることが明らかとなった [1, 2]。1970 年代初頭、Judah Folkman は、腫瘍細胞数の増加に伴い、腫瘍を栄養する毛細血管も増加するという、血管新生と腫瘍成長の密接な関連性を明らかにした [3]。正常組織と腫瘍組織に分布する血管では管腔構造、ならびに内皮細胞の形態、分子プロファイルの点で大きく異なることが知られている [4]。腫瘍は他の正常組織よりも成長速度が速く、成長に伴い近傍の組織を侵害する [5]。固形腫瘍のこの急速な成長には、代謝ストレス（グルコースの不足、低酸素など）、機械的ストレス（腫瘍細胞数の急速な増加によって発生する内圧上昇）、炎症反応、および遺伝子変異などが伴い、それらによって血管新生促進因子と抗血管新生因子のバランスが損なわれる [6, 7]。複数知られている血管新生誘導因子の中でも、血管内皮成長因子 (VEGF) は、VEGF 受容体 2 (VEGFR2) との相互作用により、細胞内皮細胞の分化、血管拡張、血管透過性などの作用をもつ [8, 9]。本稿では、腫瘍細胞の分泌する VEGF がどのような影響をもたらすのか、また、腫瘍の進展における VEGF の役割と腫瘍血管新生阻害療法の課題に関して概略を述べる。

1. 腫瘍血管異常

血管新生の誘導は、がんの特徴の 1 つである。腫瘍血管と正常血管では形態的、機能的に大きな違いがあ

ることが明らかになるにつれ、腫瘍血管を形態的、機能的に正常化 (normalize) することが腫瘍の治療に有効であるという考え方へとつながっていった [10]。正常な循環では、血管はすべての細胞に酸素と栄養素を均等に分配する。一方で異常な腫瘍血管は動脈→細動脈→毛細血管→細静脈→静脈というような階層構造が破綻しており、また、血管内腔は拡張し高い透過性を示す。これらの異常は、内皮細胞および血管平滑筋細胞の機能不全と、ECM との相互作用の変化に起因する [11, 12]。腫瘍組織中の低酸素は、腫瘍血管内皮細胞 (tumor endothelial cells: TEC) による血管新生活性をさらに増加させる。さらなる血管新生因子の過剰発現は、血管異常を悪化させ、抗腫瘍薬の送達を低下させることとなる。TEC を正常な血管内皮細胞と比較すると、TEC では VEGF 受容体が過剰発現することで VEGF への感受性が高まっていることが知られ、そのことがさらに腫瘍血管の異常を助長する [13]。

2. 血管新生のメカニズム

血管の形成は受精卵から個体が形成される発生時に血管が誘導される脈管形成 (血管発生) と、既存の血管から新しい血管が分岐して新調する血管新生に大別することができる。子宮内膜の増成や創傷治癒時を除き、生理的状态では成体において血管新生は起こらず、厳密な制御を受けていることがうかがわれる。血管新生は、既存の血管網からの発芽 (budding) により開始する [12]。VEGF のような血管新生を促進する成長因子が血管内皮細胞膜上の受容体に結合すると、活性化し先端細胞 (先端細胞) となる。この先端細胞は後続の血管内皮細胞の増殖を促しつつ牽引し、結果として新規血管網が形成されることになる。それ

と同時に血管内皮を取り囲む周皮細胞（ペリサイト）も増成し、最終的に成熟した機能血管となる [14].

3. 血管新生調節因子

血管新生は、血管新生促進因子の過剰発現と阻害因子の発現低下によって生じる。具体的な促進因子としては、血管内皮成長因子（VEGF）、線維芽細胞成長因子（FGF）、血小板由来成長因子（PDGF）、インスリン様成長因子（IGF）、アンジオポエチン、肝細胞成長因子（HGF）などがある [15]。それらの受容体である受容体型チロシンキナーゼ（receptor tyrosine kinase: RTK）の過剰な活性化は、生理学および病理学的血管新生における最も重要な因子であるといえる。したがって、血管新生阻害剤の大部分は、これらのリガンドと受容体の相互作用を標的として開発されている。

3.1 VEGF と HIF-1

VEGF は血管新生を引き起こすさまざまな因子の中で最も強力な因子である。VEGF の発現を調節する転写因子として低酸素誘発因子 1- α （HIF-1 α ）が重要である。HIF-1 α は VEGF のプロモーターに結合し、VEGF 遺伝子転写を直接誘導する。HIF-1 α は、低酸素暴露によって最も早期に発現が誘導される遺伝子の 1 つであり、低酸素によって血管新生が強力に誘導される原動力となる。 α サブユニットは、HIF-1 α 、HIF-2 α 、HIF-3 α を含む 3 つのアイソフォームに分けられ、低酸素状態の急性期では HIF-1 α が、慢性期では HIF-2 α が重要とされる [16]。

3.2 VEGF 以外の血管新生促進因子

腫瘍における血管新生には、多様な成長因子が関与している。したがって、阻害薬によって VEGF を阻害した場合には、腫瘍細胞は他の調節因子を利用して血管新生を促す。VEGF に次いで重要な因子としてアンジオポエチンとその受容体である Tie2 がある。アンジオポエチン/Tie2 系は、血管新生、血管内皮細胞の静止状態から活性状態への変化、および血管リモデリングを調節する上で重要な役割を果たす [17]。Tie2 は、アンジオポエチン（ヒトでは Ang 1, Ang 2, Ang 4）と結合する。Tie 1 のリガンドはまだ明らかとなっていない。Ang 1 は、内皮細胞の接着、移動、生存に関与する。Ang 2 は、既存の血管系からのサイト膜解離を誘発することにより、血管の安定性を低下させる。これにより、血管新生という動的な生体内反応の進行が促進される。血管内皮細胞における Ang 2 の発現は、VEGF のような他の成長因子と組織低酸素症の影響を大きく受けることが知られている。興味

深いことに、VEGF が存在しない場合、Ang 2 は血管退行を引き起こし、一方で VEGF の存在下では血管新生を刺激することが知られる [18]。

FGF2 は、それぞれ内皮細胞上の FGFR1 および周皮細胞上の FGFR2 を介して血管新生と血管リモデリングに関与する。周皮細胞での FGF2/FGFR2 シグナルは、周皮細胞の増殖を促進する。一方、血管内皮細胞の FGF2/FGFR1 シグナルは、血管内皮細胞における PDGF 産生を促進し、周皮細胞を局所に呼び寄せる働きを持つ [19]。PDGF はまた、血管内皮細胞の増殖、移動、管腔構造形成を著しく促進する [20]。PDGF は、他の血管新生因子と協調して、新生血管の安定性を向上させる。

4. がん治療における VEGF/VEGFR を標的とする抗血管新生療法

腫瘍の血管新生を強力に促進する因子としての VEGF は、さまざまな種類の腫瘍において高発現していることが明らかとなっており、分子標的療法のターゲットとして最も有望である [21]。

VEGF あるいは VEGFR 経路を標的とする阻害薬は、主に 2 つのグループに分類される。

- (i) VEGF に結合し、リガンド／受容体の相互作用を阻害する薬剤。具体的には中和モノクローナル抗体であるベバシズマブなどが代表例である。
- (ii) 受容体の活性化を阻害する薬剤。VEGFR に対するモノクローナル抗体（ramucirumab など）、またはレセプターチロシンキナーゼ阻害剤（RTKI）などが挙げられる。

これまでヒト医療においては多数の VEGF あるいは VEGFR の阻害剤が臨床応用され、一定の効果を上げている。しかしながら、当初期待されたほどの劇的な治療効果を得るには至っていないのが現状である。それどころか、実験動物を用いた腫瘍モデルにおいて、血管新生阻害薬の投与が腫瘍の悪性化（浸潤性や転移性）を助長するという報告が相次いでなされた [22, 23]。この血管新生阻害薬による腫瘍の悪性化という現象を、臨床的に直接裏付ける報告はまだ多くはないものの、大規模な疫学調査によって大腸がん患者のうち、ベバシズマブの投与を受けた患者の再発率・死亡率が有意に高いということが示された [24]。さらに、臨床的に重要なこととして、副作用や全身症状の悪化によって、血管新生阻害薬の投与を中断した直後に、腫瘍の再成長と同時多発的な遠隔転移巣の成長が急速に起こることが報告されている [25, 26]。この現象はリバウンドと呼ばれ、そのメカニズムについて

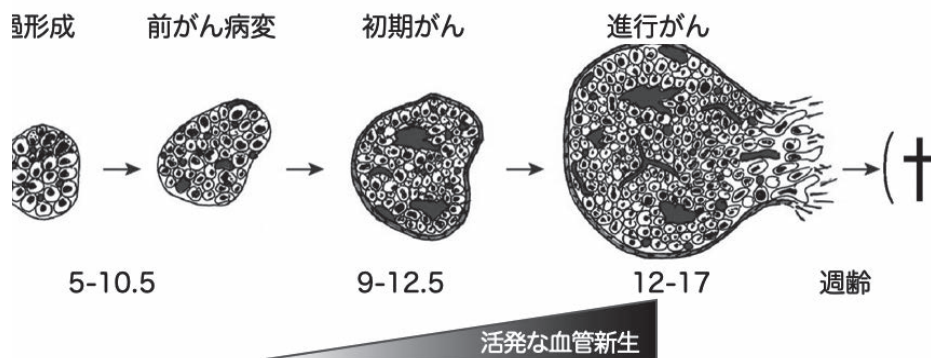


図1 RIP-Tag2 マウスの膵島におけるB細胞がん進行過程の模式図. 生後から5週齢にかけては異常ないが、それ以降活発な血管新生を伴い12週齢以降には進行がんとなる。

はほとんどわかっていない。モデル動物を用いた解析により、血管新生阻害薬の休薬後、腫瘍血管が急速に再成長することが明らかとなっているものの、腫瘍細胞そのものにどのような変化が起こるかについては、ほとんど解析されていないのが現状である [27, 28]。一方で、そもそも血管新生阻害薬は、腫瘍の悪性を助長しないと主張する研究グループも存在し [29, 20]、リバウンドそのものの有無を含めて、腫瘍および腫瘍血管に対する血管新生阻害薬の休薬効果についての詳細な解析は急務となっている。筆者は血管新生阻害薬 (VEGFR2 阻害薬) の投与が腫瘍血管と腫瘍細胞に与える影響について腫瘍モデルマウス (RIP-Tag2 マウス, 図1) を用いて研究を進めてきた。その中で、血管新生阻害薬を投与すると腫瘍血管は減少し、それに伴って腫瘍組織が低酸素状態となることで腫瘍細胞における c-Met の発現が上昇し、それが腫瘍細胞の悪性化 (浸潤性の上昇, 転移の増加) を促進することを明らかにした [31, 32]。それらの解析を進める過程で、血管新生阻害薬を一定期間投与した後に休薬した場合 (投与後休薬群) にも、その後の腫瘍細胞の血管内への侵入と遠隔臓器への転移が助長されることを見出した。その悪性化の度合いは血管新生阻害薬を休薬せずに投与し続けた場合 (投与継続群) よりも、より一層顕著なものであった (図2)。この現象のメカニズムの詳細については目下鋭意解析中であり、それを明らかにすることで、より効果的な新規抗 VEGF/VEGFR 療法の開発へつながると考える。

5. おわりに

腫瘍の抗血管新生療法は腫瘍血管のみを標的とするため、副作用のほとんどない有効な治療法として当初期待されていた。現在では主に化学療法との併用という形で、ヒトの臨床現場では採用されている。しかしながら、実際には今のところ予想されたほどの劇的な

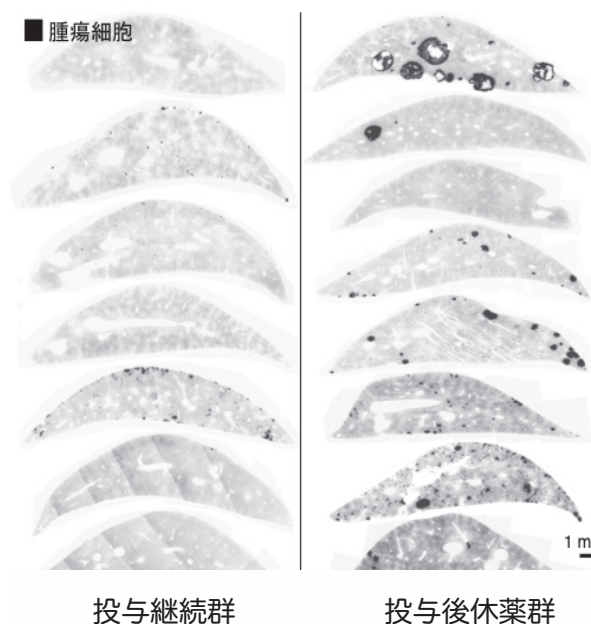


図2 RIP-Tag2 マウスにおける休薬後の肝臓への転移促進 (リバウンド)。左: 投与継続群 (11 週齢より4週間連続して血管新生阻害薬を投与した群)。右: 投与後休薬群 (2 週間投与→2 週間休薬した群)。投与後休薬群では、肝転移が顕著に促進されている。

効果をもたらす治療法とまではいえない状況である。リバウンドのメカニズム解明はもちろん、抗血管新生療法と組み合わせるべき適切な分子標的薬の探索など、多くの課題を解決することにより安全で効果的な治療法の開発が可能になるであろう。

引用文献

- [1] P. Carmeliet : Angiogenesis in health and disease, Nat. Med., 9, 653 (2003)
- [2] A.E. German, T. Mammoto, E. Jiang, D.E. Ingber, A. Mammoto : Paxillin controls endothelial cell migration and tumor angiogenesis by altering

- neuropilin 2 expression, *J. Cell Sci.*, 127, 1672-1683 (2014)
- [3] J. Folkman : Tumor angiogenesis: therapeutic implications, *N. Engl. J. Med.*, 285, 1182-1186 (1971)
- [4] L. Treps, A. Ager, K. Hida : Editorial: tumor vessels as Directors of the tumor microenvironment: new findings, current challenges & perspectives, *Front. Cell Dev. Biol.*, 10, Article 885670 (2022)
- [5] H.O. Adami, P. Csermely, D.V. Veres, L. Emilsson, M. Loberg, M. Bretthauer, M. Kalager : Are rapidly growing cancers more lethal? *Eur. J. Cancer*, 72, 210 (2017)
- [6] P. Carmeliet, R.K. Jain : Angiogenesis in cancer and other diseases, *Nature*, 407, 249 (2000)
- [7] M. Kopec, H. Abramczyk : The role of pro- and antiangiogenic factors in angiogenesis process by Raman spectroscopy, *Spectrochim. Acta Mol. Biomol. Spectrosc.*, 268, Article 120667 (2022)
- [8] A. Amini, S. Masoumi Moghaddam, D.L. Morris, M.H. Pourgholami : The critical role of vascular endothelial growth factor in tumor angiogenesis, *Curr. Cancer Drug Targets*, 12, 23 (2012)
- [9] C.S. Melincovici, A.B. Bosca, S. Susman, M. Marginean, C. Mihiu, M. Istrate, I.M. Moldovan, A.L. Roman, C.M. Mihiu : Vascular endothelial growth factor (VEGF) - key factor in normal and pathological angiogenesis, *Rom. J. Morphol. Embryol.*, 59, 455 (2018)
- [10] R.K. Jain : Normalization of tumor vasculature: an emerging concept in antiangiogenic therapy, *Science*, 307, 58 (2005)
- [11] N.M. Ayoub, S.K. Jaradat, K.M. Al-Shami, A.E. Alkhalifa : Targeting angiogenesis in breast cancer: current evidence and future perspectives of novel anti-angiogenic approaches, *Front. Pharmacol.*, 13, Article 838133 (2022)
- [12] R. Lugano, M. Ramachandran, A. Dimberg : Tumor angiogenesis: causes, consequences, challenges and opportunities, *Cell. Mol. Life Sci.*, 77, 1745 (2020)
- [13] K. Matsuda, N. Ohga, Y. Hida, C. Muraki, K. Tsuchiya, T. Kurosu, T. Akino, S.C. Shih, Y. Totsuka, M. Klagsbrun, M. Shindoh, K. Hida : Isolated tumor endothelial cells maintain specific character during long-term culture, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 394, 947 (2010)
- [14] G. Eelen, L. Treps, X. Li, P. Carmeliet : Basic and therapeutic aspects of angiogenesis updated, *Circ. Res.*, 127, 310 (2020)
- [15] I. Marech, C. Leporini, M. Ammendola, M. Porcelli, C.D. Gadaleta, E. Russo, G. De Sarro, G. Ranieri : Classical and non-classical proangiogenic factors as a target of antiangiogenic therapy in tumor microenvironment, *Cancer Lett.*, 380, 216 (2016)
- [16] Q. Zhang, Y. Lou, J. Zhang, Q. Fu, T. Wei, X. Sun, Q. Chen, J. Yang, X. Bai, T. Liang : Hypoxia-inducible factor-2alpha promotes tumor progression and has crosstalk with Wnt/beta-catenin signaling in pancreatic cancer, *Mol. Cancer*, 16, 119 (2017)
- [17] M. Thomas, H.G. Augustin : The role of the Angiopoietins in vascular morphogenesis, *Angiogenesis*, 12, 125-137 (2009)
- [18] D. Hanahan : Signaling vascular morphogenesis and maintenance, *Science*, 277, 48-50 (1997)
- [19] K. Hosaka, Y.L. Yang, T. Seki, Q.Q. Du, X. Jing, X.K. He, J.Y. Wu, Y. Zhang, H. Morikawa, M. Nakamura, M. Scherzer, X.T. Sun, Y.F. Xu, T. Cheng, X.R. Li, X.L. Liu, Q. Li, Y.Z. Liu, A. Hong, Y.G. Chen, Y.H. Cao : Therapeutic paradigm of dual targeting VEGF and PDGF for effectively treating FGF-2 off-target tumors, *Nat. Commun.*, 11 (2020)
- [20] M. Raica, A.M. Cimpan : Platelet-derived growth factor (PDGF) /PDGF receptors (PDGFR) Axis as target for antitumor and antiangiogenic therapy, *Pharmaceuticals*, 3, 572-599 (2010)
- [21] P. Kapoor, R. Deshmukh : VEGF : a critical driver for angiogenesis and subsequent tumor growth: an IHC study, *J. Oral Maxillofac. Pathol.*, 16, 330-633 (2012)
- [22] J.M. Ebos, C.R. Lee, W. Cruz-Munoz, G.A. Bjarnason, J.G. Christensen, R.S. Kerbel : Accelerated metastasis after short-term treatment with a potent inhibitor of tumor angiogenesis, *Cancer Cell.*, 15, 232-239 (2009)
- [23] M. Pàez-Ribes, E. Allen, J. Hudock, T. Takeda, H. Okuyama, F. Viñals, M. Inoue, G. Bergers, D. Hanahan, O. Casanovas : Antiangiogenic therapy

- elicits malignant progression of tumors to increased local invasion and distant metastasis, *Cancer Cell*, 15, 220-231 (2009)
- [24] A. de Gramont, E. Van Cutsem, H.J. Schmoll, J. Tabernero, S. Clarke, M.J. Moore, D. Cunningham, T.H. Cartwright, J.R. Hecht, F. Rivera, S.A. Im, G. Bodoky, R. Salazar, F. Maindrault-Goebel, E. Shacham-Shmueli, E. Bajetta, M. Makrutzki, A. Shang, T. André, P.M. Hoff : Bevacizumab plus oxaliplatin-based chemotherapy as adjuvant treatment for colon cancer (AVANT): a phase 3 randomised controlled trial, *Lancet Oncol.*, 12, 1225-1233 (2012)
- [25] P. Wolter, B. Beuselinck, S. Pans, P. Schöffski : Flare-up: an often unreported phenomenon nevertheless familiar to oncologists prescribing tyrosine kinase inhibitors, *Acta Oncol.*, 48, 621-624 (2009)
- [26] I.M. Desar, S.F. Mulder, A.B. Stillebroer, D.J. van Spronsen, W.T van der Graaf, P.F. Mulders, C.M. van Herpen : The reverse side of the victory: flare up of symptoms after discontinuation of sunitinib or sorafenib in renal cell cancer patients. A report of three cases, *Acta Oncol.*, 48, 927-931 (2009)
- [27] A.W. Griffioen, L.A. Mans, A.M.M de Graaf, P. Nowak-Sliwinska, C.L.M.M. de Hoog, T.A.M. de Jong, F.A. Vyth-Dreese, J.R. van Beijnum, A. Bex, E. Jonasch : Rapid angiogenesis onset after discontinuation of sunitinib treatment of renal cell carcinoma patients, *Clin Cancer Res*, 18, 3961-3971 (2012)
- [28] M. Paez-Ribes, S. Man, P. Xu, R.S. Kerbel : Potential Proinvasive or Metastatic Effects of Preclinical Antiangiogenic Therapy Are Prevented by Concurrent Chemotherapy, *Clin Cancer Res*, 21, 5488-5498 (2015)
- [29] J.C. Welti, T. Powles, S. Foo, M. Gourlaouen, N. Preece, J. Foster, S. Frentzas, D. Bird, K. Sharpe, A. van Weverwijk, D. Robertson, J. Soffe, J.T. Erler, R. Pili, C.J. Springer, S.J. Mather, A.R. Reynolds : Contrasting effects of sunitinib within in vivo models of metastasis, *Angiogenesis*, 15, 623-641 (2012)
- [30] S.P. Robinson, J.K.R. Boulton, N.S. Vasudev, A.R. Reynolds : Monitoring the Vascular Response and Resistance to Sunitinib in Renal Cell Carcinoma In Vivo with Susceptibility Contrast MRI, *Cancer Res.*, 77, 4127-4134 (2017)
- [31] B. Sennino, T. Ishiguro-Oonuma, Y. Wei, R.N. Naylor, C.W. Williamson, V. Bhagwandin, S.P. Tabruyn, W.K. You, H.A. Chapman, J.G. Christensen, D.T. Aftab, D.M. McDonald : Suppression of tumor invasion and metastasis by concurrent inhibition of c-Met and VEGF signaling in pancreatic neuroendocrine tumors, *Cancer Discov.*, 2, 270-287 (2012)
- [32] B. Sennino, T. Ishiguro-Oonuma, B.J. Schriver, J.G. Christensen, D.M. McDonald : Inhibition of c-Met reduces lymphatic metastasis in RIP-Tag2 transgenic mice, *Cancer Res.*, 73, 3692-3703 (2013)