



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	血管新生阻害療法の展望
Author(s)	樋田, 京子
Citation	北海道歯学雑誌, 39(2), 151-155
Issue Date	2019-03
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/73685
Type	journal article
File Information	39_02_09 Hida.pdf



最新の歯学

血管新生阻害療法の展望

Prospect of antiangiogenic therapy

北海道大学大学院歯学研究院 口腔病態学講座 血管生物分子病理学教室

樋田 京子

抄 録

従来、栄養や酸素を運ぶ管と考えられてきた血管は様々な形で周囲組織と相互作用し、発生、臓器形成・維持にも重要な役割を果たしている。内科医William Oslerが「人は血管とともに老いる」という名言を残しているように、血管はヒトの生老病死の全ての過程に深く関与している。血管新生とは、既存の血管から出芽や嵌入などにより新たな血管網が形成され、リモデリングを経て成熟した血管構造が構築されることをいう。血管新生は生理的環境では創傷治癒や、月経周期に伴う子宮内膜増殖の過程においてみられる。また、血管新生はさまざまな病態とも深く関わっている。例えば、癌細胞は自らの増殖のために血管新生因子を分泌し、周囲組織から血管を誘導、また新たに形成させる。血管はがん組織に栄養や酸素を供給し、転移の経路にもなっており、その悪性化に重要な役割を果たしている。そのため、今から50年ほど前にがんを兵糧攻めにする目的でがんの新生血管を標的とする血管新生阻害療法が提唱された。以降、腫瘍血管の内側を構成する血管内皮細胞は癌治療における「2番目に重要な標的」となった。現在の血管新生阻害療法は血管新生因子vascular growth factor (VEGF) とその受容体VEGF receptor (VEGFR) とそのシグナル伝達系の分子を標的としたものが中心であるが、近年、がん微小環境においてはVEGF/VEGFR以外の様々な因子が、腫瘍血管に多様でより複雑な性質をもたらしていることもわかってきた。また、血管新生はがん幹細胞や腫瘍免疫との関連性も報告されている。血管新生阻害剤は多くのがん治療に用いられているが、残念ながら頭頸部領域においては血管新生阻害剤は現在承認されているものが存在しない。

しかし、わが国は超高齢化社会を迎え、国民の2人に1人ががん罹患する。歯科医療の現場においても闘病中ががん患者の治療の機会は今後ますます増えるであろうし、また血管新生阻害剤による治療をうけている患者も増加することは明らかである。本稿では現在臨床で用いられている血管新生阻害剤について、その開発の歴史、その標的分子や治療的意義、問題点などについて解説する。

1. 腫瘍血管新生と血管新生阻害療法

血管は生体内のあらゆる組織に張り巡らされ、動脈・静脈・毛細血管からなるネットワークを形成している。成人においては全身の血管を全てつなぐと地球2周半(10万km)の長さにもおよぶ。血管は、組織に酸素や栄養を運ぶだけでなく、組織の代謝物を排出し、細胞の恒常性を維持している。胎生期や創傷治癒、がんの進展時など、組織における血流が不十分になると、既存の血管から新たな分枝が伸長し血管が形成され、その過程は血管新生と呼ばれる。

がんや虚血性疾患、動脈硬化などが国の死因のトップを占める疾患の発症ならびに病態の進展にも血管が深く関与している。1971年ハーバード大学Folkman博士は外科医として臨床の現場でがん治療に携わるなかで「がんの成長は血管新生に依存しており、血管新生を制御できればがんも制御することができるのではないか」と着想した。これが腫瘍血管新生阻害療法のはじまりである¹⁾。がんは大きさが1~2 mm程度までは周囲からの拡散により酸素と栄養分を得ることができる。このようながんは転移をすることもなくそのまま休眠状態(tumor dormancy)になり、生命を奪うことはない。実際にかん以外の死因で亡くなった患者の剖検では、休眠状態のがんが見つかることが少なくない²⁾。

一方、がんが休眠状態を脱し、大きくなる際には血管新生が必須である。がん細胞が血管新生因子を分泌しはじめ(血管新生スイッチ)、血管新生がおこるとがんは急速に増大し悪性度を増す。従来の抗がん剤の多くががん細胞自体を標的としたものであったのに対し、この血管新生阻害のコンセプトはがんに栄養や酸素を供給する新生腫瘍血管を標的とした「兵糧攻め」の戦略であり、理論的には副作用はほとんどないきわめて斬新なものであり、がん治療におけるパラダイムシフトのひとつとなった。

血管新生スイッチは組織内の複数の血管新生因子と血管新生抑制因子(表1)のバランスによって制御されているが(図1)、がんでは血管新生促進因子が過剰となっているため、血管新生が盛んとなっている。

最も代表的な血管新生因子はVEGF(vascular endothelial

表1

血管新生因子
Angiopoietin (ANGPT)
Basic fibroblast growth factor (bFGF)
Granulocyte-colony-stimulating factor (G-CSF)
Hepatocyte growth factor (HGF)
Interleukin-8 (IL-8)
Platelet-derived growth factor (PDGF)
Transforming growth factor- α (TGF- α)
Transforming growth factor- β (TGF- β)
Tumor necrosis factor- α (TNF- α)
Vascular endothelial growth factor (VEGF)
血管新生抑制因子
Angiostatin
Down syndrome critical region 1 (DSCR1)
Delta-like4(Dll4)
Endostatin
Thrombospondin 1
Tumstatin
Vasohibin (VASH)

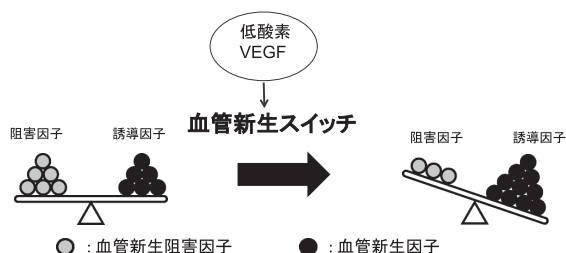


図1 血管新生促進因子と抑制因子のバランス

血管新生促進因子と抑制因子のバランスがとれている通常状態では血管内皮細胞は分裂しない。低酸素などによりVEGFなどの血管新生因子の方が多くなると血管新生スイッチが入り血管新生がおこる。

growth factor)-A (VEGF-A) で、低酸素刺激や細胞増殖シグナルなどで遺伝子発現が誘導される。そのため、VEGF-Aとその受容体VEGF receptor (VEGFR) は血管・リンパ管新生に中心的な役割を担いがん治療における重要な標的分子となっている。VEGFRはチロシンキナーゼ型受容体に属し、VEGFR1 (Flt-1), VEGFR2 (KDR/Flk-1) は血管内皮細胞に発現する。中でもVEGFR2は血管新生シグナル伝達で最も重要である。VEGF-Aは内皮細胞のVEGFR1, VEGFR2と結合し、その遊走・増殖を促進して血管新生を惹起するとともに、内皮細胞の生存因子としても機能する。また、血管透過性亢進作用も併せ持っている。VEGF-Aは低酸素のほか、がん遺伝子の活性化や腫瘍抑制遺伝子の変異によっても発現は亢進する。

その他の血管新生促進因子としてはAngiopoietin (ANGPT)、血小板由来増殖因子、Platelet-derived growth factor (PDGF)、胎盤成長因子Placental growth factor (PlGF) などがある。ANGPTは、主にペリサイトの血管内皮細胞への接着を

調節する。特に重要なのはANGPT-1とANGPT-2であり、ANGPT-1は主にペリサイトが、ANGPT-2は主に内皮細胞が産生する。ANGPT-1は内皮細胞が発現するTIE-2受容体に結合して、その細胞内チロシンキナーゼドメインをリン酸化するアゴニストである。一方、ANGPT-2はTIE-2受容体のリン酸化作用がきわめて弱く、結果的にANGPT-1と拮抗するアンタゴニストと考えられている。ANGPT-1はペリサイトを血管内皮細胞に接着させて成熟した血管を構築するのに対し、ANGPT-2はペリサイトを離脱させる。一方、血管新生阻害因子としてはthrombospondin-1 (TSP-1), Vasohibin, Delta-like4 (Dll4) などがある。TSP-1の遺伝子発現は、がん抑制遺伝子のP53によって調節されており、その遺伝子変異によりさまざまながんにおいて発現が低下している³⁾。さらに、従来血管新生とは無関係な分子が代謝・分解されることにより生ずる内因性血管新生抑制因子も存在する。それらのうち、EndostatinとTumstatinは基底膜を構成するコラーゲンの分解産物であり、Endostatinは18型コラーゲンより、またTumstatinは4型コラーゲンより生じる。18型コラーゲンは、ヒト21番染色体にコードされている。Down症候群は21番染色体のトリソミーによって発症するが、Down症候群ではEndostatinの血中濃度が健常者よりも1.5倍高く、そのことがDown症候群におけるがんの発生頻度の低さの一因であろうと考えられている。p53はEndostatinやTumstatinなどの内因性血管新生抑制因子がタンパク分解によって生成される過程にも関与し、休眠状態のがんに血管新生が誘導されることを抑制する⁴⁾。

2. 血管新生阻害療法

血管新生阻害療法が提唱された当時は、本治療法は以下の点で優位であると考えられてきた。がん細胞そのものを標的とする治療と比べて、がん細胞の不均一性 (heterogeneity) に影響されず治療効果が得られる可能性が高いこと、さらに血管内皮細胞は遺伝子が安定なため、遺伝子不安定性をもつがん細胞と異なり、薬剤耐性はおこりづらいだろうというものである。

現在の血管新生阻害剤はVEGFとそのシグナル伝達系を分子標的としたものが中心で、VEGFシグナル遮断による腫瘍血管に対する増殖抑制 (がんの兵糧攻め) だけではなく、脆弱で漏れやすい腫瘍血管を壁細胞で被覆された正常の構造に戻して (血管の正常化: vascular normalization)、血流の改善をもたらす抗がん剤のがん組織への送達改善、低酸素の改善などが指摘されている。この作用により併用する抗がん剤の作用の上乗せ効果が期待されると考えられている。世界初の血管新生阻害剤として2004年にFDAに承認されたベバシズマブ (商品名アバスタ) はヒトVEGFに対するモノクローナル抗体であり、VEGFの働きを抑制し、血管新生阻害作用を持つ。これまで国内外で

多くの患者の予後を改善してきた。しかし、残念ながらこうした血管新生阻害剤にも問題点がないわけではない。VEGFが正常血管内皮細胞の生存にも必須なことからこのシグナルの遮断による正常血管への傷害による副作用（消化管出血、肺出血といった出血）も報告されている。このことは本剤の投与量を制限しなくてはならない因子のひとつとして考えられている。またがん腫によってはその治療効果は限定的で全生存期間（overall survival；OS）の延長効果がわずかであるといった問題もある。

3. 現在臨床応用されている血管新生阻害剤

血管新生阻害剤として現在臨床で用いられているものは大きく分けるとVEGFやVEGFRに対するモノクローナル抗体、VEGFに対する遺伝子組み換えタンパク質、VEGFRに対する小分子チロシンキナーゼ阻害薬（TKI）であり、薬剤開発とともにその数は増加している。抗体医薬としては前述の様にVEGFに対するモノクローナル抗体ベバシズマブがもっと有名である。国内では大腸がん、非小細胞肺癌、卵巣癌、子宮頸癌、再発乳癌、悪性神経膠腫の治療に用いられている。

現在、がん治療には多くの小分子チロシンキナーゼ阻害薬（小分子TKI）が用いられているが、一般的に複数の分子のキナーゼを阻害するマルチキナーゼ阻害剤として用いられている。血管新生阻害作用を有する薬剤も開発され、これらのうちスニチニブはVEGFR-1、-2、-3、c-KIT、PDGFR、FLT-2、RETを阻害し国内では腎細胞がん、イマチニブ抵抗性消化管間質腫瘍、腓神経内分泌腫瘍の治療薬とし適応承認されている。ソラフェニブはVEGFR1、VEGFR2、VEGFR3、PDGFR、c-KIT、FLT-3、RET、RAFのキナーゼを阻害し、血管新生阻害作用のみならず、MAPKシグナルの抑制を介した腫瘍細胞のアポトーシス誘導をおこすことも知られている。転移性の腎癌、肝細胞癌、甲状腺がんの治療薬として承認されている。

その他の血管新生阻害剤としてアフリベルセプトがある。これは2017年にわが国において承認された新しい血管新生阻害剤で、VEGFトラップともよばれ、VEGFR1とVEGFR2のVEGF結合領域とIgG抗体のFc部分とのリコンビナント融合タンパク質であり、抗VEGFモノクローナル抗体よりもVEGFに対する結合が強いという特徴がある。

4. 腫瘍血管の異常

前述の様な血管新生阻害剤の中心となっているVEGF/VEGFRシグナル阻害剤は多くの患者の予後を改善してきたが、これら薬剤には、副作用やさらに当初予想されなかった薬剤耐性といった問題も報告されている。こうした薬剤は従来、正常血管内皮細胞を用いて開発された経緯がある。しかし、正常血管と腫瘍血管は異なることが現在では広く認知されており、特に解剖学的な違いは古くから知ら

れている。正常血管は動脈、毛細血管、静脈の走行が一定しており、秩序のある階層構造をとっているのに対し、腫瘍血管は不規則な枝分かれや蛇行により走行が乱れており、不均等な血管径と不均一な血管密度により階層構造は完全に失われている。急激に増大するがんにおいてVEGFをはじめとする血管新生因子が大量に放出され、血管新生が急速に誘導される一方で、その活発な血管新生に血管のリモデリングが追いついていないことが要因としてあげられる。毛細血管は、血管内皮細胞と呼ばれる単層扁平上皮細胞が内腔を一層覆い、ペリサイトがそれを裏打ちし、基底膜がそれらを包む構造をとっている。腫瘍血管では血管内皮細胞同士の結合が弱く、ペリサイトの被覆が不完全であり、基底膜を構成するIV型コラーゲンの厚みが不規則になっており、未熟な血管構造を呈する。その結果、血管透過性が亢進し、血液成分が血管外に漏れやすく組織間圧が亢進する。このような異常な血管構造により、がんでは血管が豊富にあるにもかかわらず血液循環状態は不良で、低酸素・低栄養状態に陥っている。また、この状態が持続すると、さらに血管新生因子の産生が誘導されて血管新生が亢進するという悪循環になっている。

5. 腫瘍血管内皮細胞の異常

近年、血管の異常ばかりではなく、癌においては腫瘍血管内皮細胞Tumor endothelial cell（TEC）の性質も正常血管内皮細胞（NEC）とは異なることが明らかになってきた。TECにおいてNECに比べ発現が亢進している分子（TECマーカー）がいくつか報告されている⁵⁾。これまで、腫瘍血管内皮細胞の分離培養が一般的ではなく、その性質は不明なままであったが近年、TECの病態も明らかになってきた。TECは、NECに比べ、増殖能や遊走能が高く血管新生能が亢進している⁶⁾。また、TECの一部には、幹細胞・前駆細胞様の性質を示す細胞が存在することも報告されている。腫瘍血管新生における貢献は未だ詳細には不明であるが、骨髄由来の血管内皮前駆細胞（endothelial progenitor cell：EPC）由来のものや⁷⁾、組織幹細胞由来のものが同定されている⁸⁾。さらにABCB1、ALDHなどの幹細胞マーカーを発現し血管新生能が高い集団も報告されている^{9、10)}。ABCB1は最も有名な薬剤排出トランスポーターであり、これを高く発現しているTECには薬剤耐性があることも報告されている^{9、11)}。さらにわれわれのグループをはじめとし、TECの染色体異常も報告¹²⁾されており、TECはがん間質に存在するとはいえ、異常性を有していることが徐々にわかってきている。こうしたTECの異常性のメカニズムとしては細胞の由来の違いも示唆されている。実際、腫瘍血管新生を含む、成体における血管新生時の血管内皮細胞の供給源として、組織中に存在する組織幹細胞の存在が示唆されている。われわれも、マウスTECが幹細胞マーカーであるSca-1(Stem cell antigen-1)⁶⁾、

MDR1(multidrug resistance 1)⁹⁾, CD90, CD133など¹³⁾を高発現し、一部にはALDH活性の高い細胞集団が存在することを報告した¹⁰⁾。また、前立腺癌を発症するTRAMPマウスから分離された腫瘍血管内皮細胞が骨・軟骨誘導培地で培養すると骨や軟骨に分化するなど、その多分化能を示す結果も報告されている¹⁴⁾。これらのことからTECは再生能力の高い血管内皮細胞ともいえるのかもしれない。

一方、TECの異常性には、上記で述べた様々な起源の細胞が混在しているだけではなく、がん微小環境の因子も関与すると考えられている。われわれは、高転移性腫瘍と低転移性腫瘍からそれぞれTECを分離・培養し、それらの性質を比較した。高転移性腫瘍の内の血管内皮細胞は低転移性の腫瘍内の血管内皮細胞よりも血管新生能が高く、また幹細胞性、染色体異常、薬剤耐性の程度も高いことが見出された。これらのことは、がんの悪性度によりTECが多様な性質を獲得しうること示唆している¹³⁾。また、腫瘍血管内皮マーカーの発現が、がん細胞の培養上清処理や低血清培地・低酸素環境下の培養により引き起こされることから、がん微小環境のがん細胞由来液性因子⁹⁾やエクソソーム¹⁵⁾、低酸素¹⁶⁾等がその異常な性質に関与することが示唆された。また、活性酸素などにより引き起こされる酸化ストレスに対して、ATM (ataxia telangiectasia mutated) キナーゼがTECにおいて強く活性化しており、自己防衛機能として働いていることも報告されている¹⁷⁾。われわれも活性酸素や過剰なVEGFが血管内皮細胞に染色体異数性をもたらすことを報告している^{16, 18)}。このように、がん微小環境の様々な要因が、血管内皮細胞に複雑かつ多様な性質をもたらしていることが示されている。血管新生阻害剤が承認され10数年経過した現在、副作用が少なく、より腫瘍血管に特異的な治療薬の開発の必要性が認識されはじめています。そのためにはTECの分子生物学的な特徴の理解が不可欠であり、ますますこの分野における研究の進歩が望まれている。

参 考 文 献

- 1) Folkman J : Tumor angiogenesis: therapeutic implications. *N Engl J Med* 285 : 1182-1186, 1971.
- 2) Nielsen M, Thomsen JL, Primdahl S, Dyreborg U, Andersen JA : Breast cancer and atypia among young and middle-aged women: a study of 110 medicolegal autopsies. *British journal of cancer* 56 : 814-819, 1987.
- 3) Dameron KM, Volpert OV, Tainsky MA, Bouck N : Control of angiogenesis in fibroblasts by p53 regulation of thrombospondin-1. *Science* 265 : 1582-1584, 1994.
- 4) Teodoro JG, Parker AE, Zhu X, Green MR : p53-

mediated inhibition of angiogenesis through up-regulation of a collagen prolyl hydroxylase. *Science* 313 : 968-971, 2006.

- 5) Hida K, Kawamoto T, Ohga N, Akiyama K, Hida Y, Shindoh M : Altered angiogenesis in the tumor microenvironment. *Pathol Int* 61 : 630-637, 2011.
- 6) Matsuda K, Ohga N, Hida Y, Muraki C, Tsuchiya K, Kurosu T, Akino T, Shih SC, Totsuka Y, Klagsbrun M, Shindoh M, Hida K : Isolated tumor endothelial cells maintain specific character during long-term culture. *Biochem Biophys Res Commun* 394 : 947-954, 2010.
- 7) Asahara T, Murohara T, Sullivan A, Silver M, van der Zee R, Li T, Witztenbichler B, Schatteman G, Isner JM : Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. *Science* 275 : 964-967, 1997.
- 8) Naito H, Kidoya H, Sakimoto S, Wakabayashi T, Takakura N : Identification and characterization of a resident vascular stem/progenitor cell population in preexisting blood vessels. *EMBO J* 31 : 842-855, 2012.
- 9) Akiyama K, Ohga N, Hida Y, Kawamoto T, Sadamoto Y, Ishikawa S, Maishi N, Akino T, Kondoh M, Matsuda A, Inoue N, Shindoh M, Hida K : Tumor endothelial cells acquire drug resistance by MDR1 up-regulation via VEGF signaling in tumor microenvironment. *Am J Pathol* 180 : 1283-1293, 2012.
- 10) Ohmura-Kakutani H, Akiyama K, Maishi N, Ohga N, Hida Y, Kawamoto T, Iida J, Shindoh M, Tsuchiya K, Shinohara N, Hida K : Identification of tumor endothelial cells with high aldehyde dehydrogenase activity and a highly angiogenic phenotype. *PloS one* 9 : e113910, 2014.
- 11) Naito H, Wakabayashi T, Kidoya H, Muramatsu F, Takara K, Eino D, Yamane K, Iba T, Takakura N : Endothelial Side Population Cells Contribute to Tumor Angiogenesis and Antiangiogenic Drug Resistance. *Cancer Res* 76 : 3200-3210, 2016.
- 12) Hida K, Hida Y, Amin DN, Flint AF, Panigrahy D, Morton CC, Klagsbrun M : Tumor-associated endothelial cells with cytogenetic abnormalities. *Cancer Res* 64 : 8249-8255, 2004.
- 13) Ohga N, Ishikawa S, Maishi N, Akiyama K, Hida Y, Kawamoto T, Sadamoto Y, Osawa T, Yamamoto K, Kondoh M, Ohmura H, Shinohara N, Nonomura K, Shindoh M, Hida K : Heterogeneity of tumor endothelial cells : comparison between tumor endothelial cells isolated from high- and low-metastatic tumors. *Am J Pathol* 180 : 1294-1307, 2012.

- 14) Dudley AC, Khan ZA, Shih SC, Kang SY, Zwaans BM, Bischoff J, Klagsbrun M : Calcification of multipotent prostate tumor endothelium. *Cancer Cell* 14 : 201-211, 2008.
- 15) Kawamoto T, Ohga N, Akiyama K, Hirata N, Kitahara S, Maishi N, Osawa T, Yamamoto K, Kondoh M, Shindoh M, Hida Y, Hida K : Tumor-Derived Microvesicles Induce Proangiogenic Phenotype in Endothelial Cells via Endocytosis. *PloS one* 7 : e34045, 2012.
- 16) Kondoh M, Ohga N, Akiyama K, Hida Y, Maishi N, Towfik AM, Inoue N, Shindoh M, Hida K : Hypoxia-induced reactive oxygen species cause chromosomal abnormalities in endothelial cells in the tumor microenvironment. *PloS one* 8 : e80349, 2013.
- 17) Okuno Y, Nakamura-Ishizu A, Otsu K, Suda T, Kubota Y : Pathological neoangiogenesis depends on oxidative stress regulation by ATM. *Nat Med* 18, 2012.
- 18) Hojo T, Maishi N, Towfik AM, Akiyama K, Ohga N, Shindoh M, Hida Y, Minowa K, Fujisawa T, Hida K : ROS enhance angiogenic properties via regulation of NRF2 in tumor endothelial cells. *Oncotarget* 8 : 45484-45495, 2017.