

# 血管新生因子の癌と炎症への関与

----- VEGF系を中心に -----

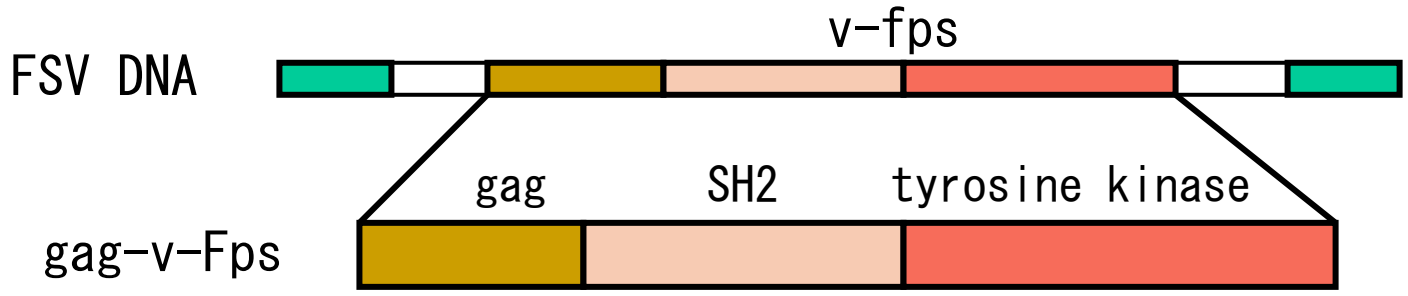
平成19年3月9日

渋谷正史

‡:このマークが付してある著作物は、第三者が有する著作物ですので、同著作物の再使用、同著作物の二次的著作物の創作等については、著作権者より直接使用許諾を得る必要があります。

1、藤浪肉腫ウイルス ----- v-fps がん遺伝子

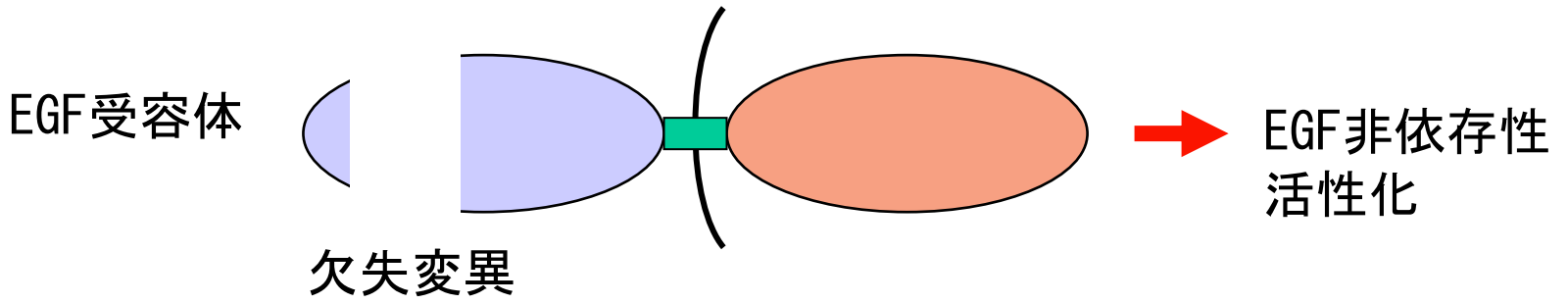
1913年(大正2年) Prof. Hanafusa 1980 Shibuya et Cell,



2、ヒト脳腫瘍(グリオブラストーマ)における

c-ErbB (EGFR) 遺伝子の構造異常の発見。

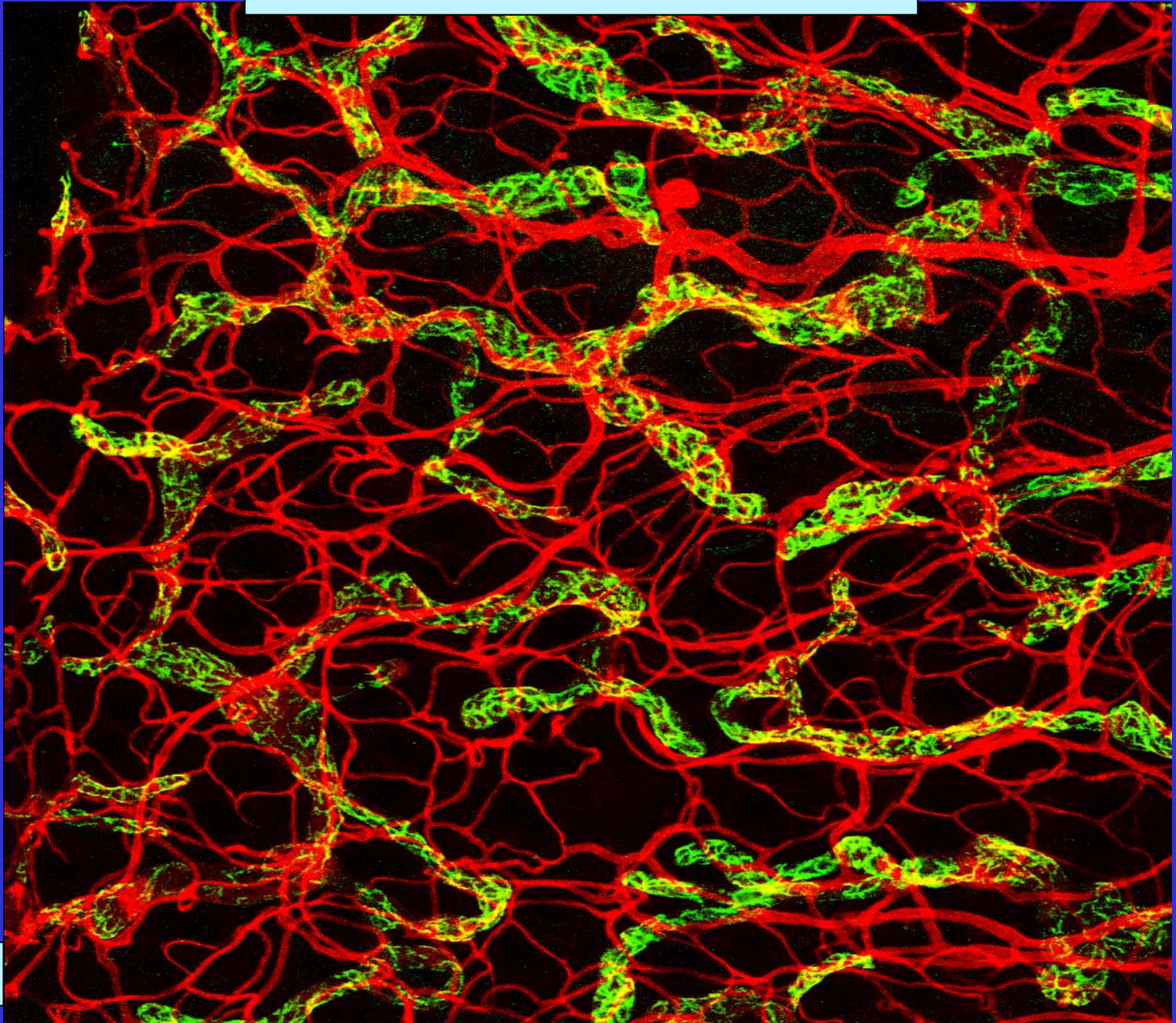
Yamazaki et al. Mol Cell Biol, 1988; Yamazaki et al Jpn. J. Cancer Res. . 1990.



# VEGF依存性および非依存性の血管系制御

- 1、VEGF系の特徴。他の血管新生因子との比較。受容体VEGFR2の性質。
- 2、VEGFR1のがん転移、炎症性疾患、妊娠中毒症、への関与。
- 3、血管再生へ向けて。VEGF-Eの特徴。血管透過性の機構。
- 4、VEGF非依存性の制御。
- 5、血管障害療法のまとめ。

# 皮膚の血管とリンパ管



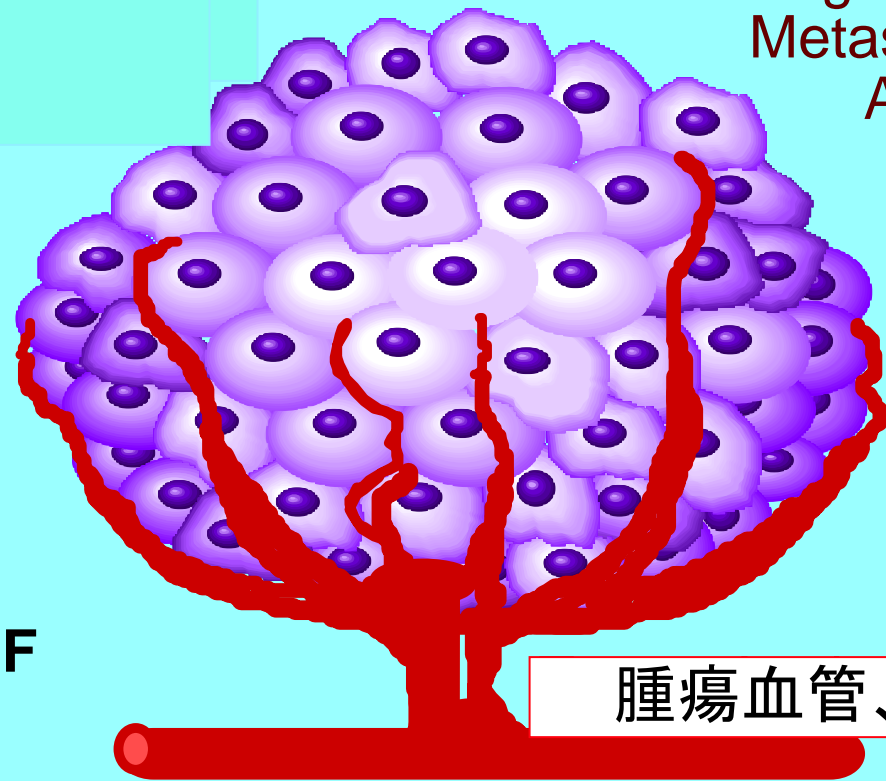
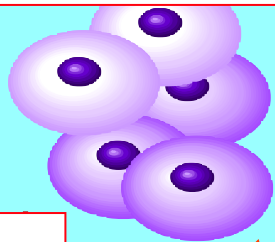
巾 1 mm

# がんの悪性化と血管：増殖、転移、腹水

- 1、腫瘍血管の形成
- 2、血管透過性の異常亢進
- 3、血行性転移
- 4、血管内皮細胞のがん化

Tumor growth  
Metastasis  
Ascites

がん細胞



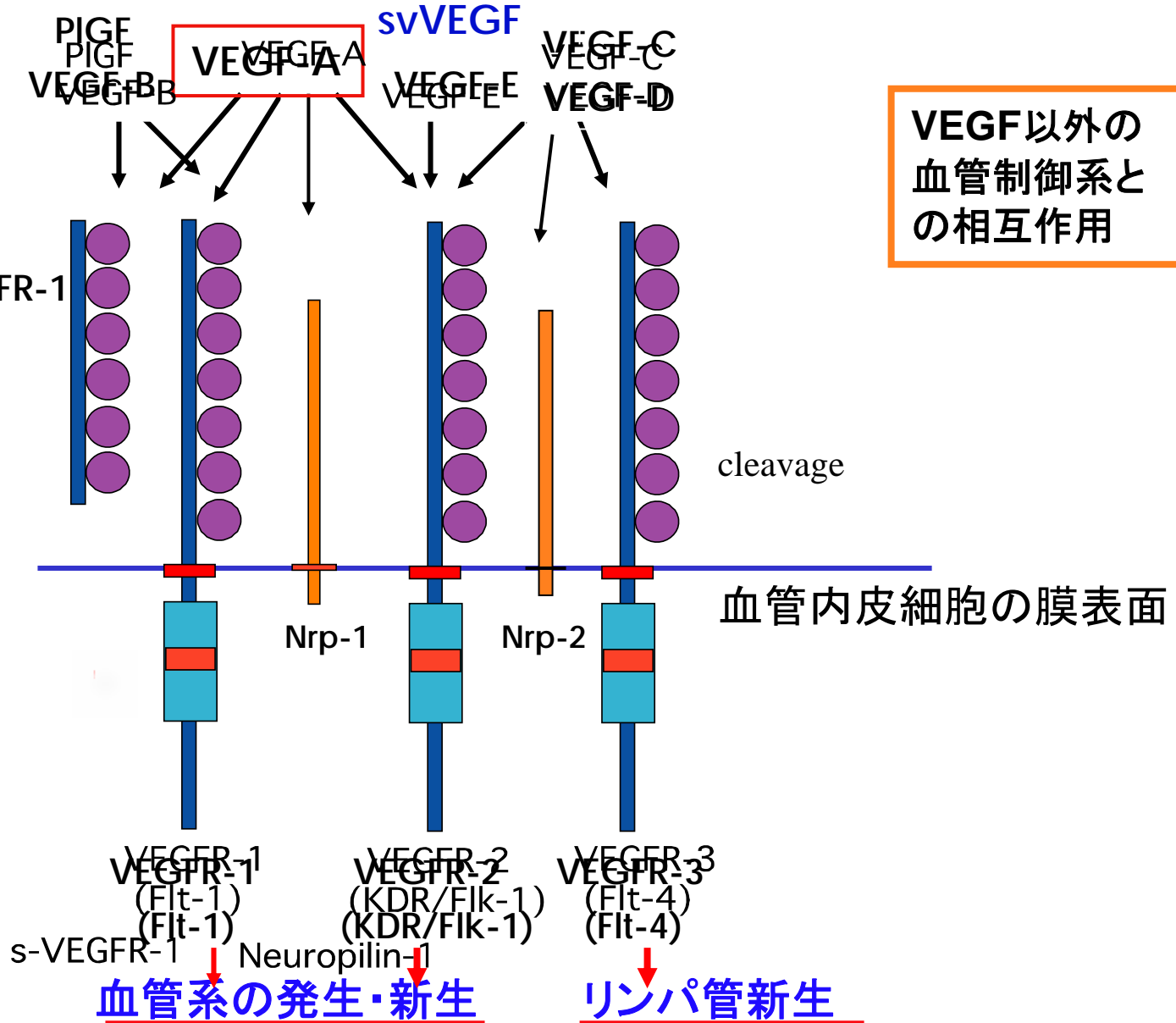
血管新生  
因子

VEGF  
basic FGF  
etc.

腫瘍血管、転移

リンパ管新生・リンパ節転移

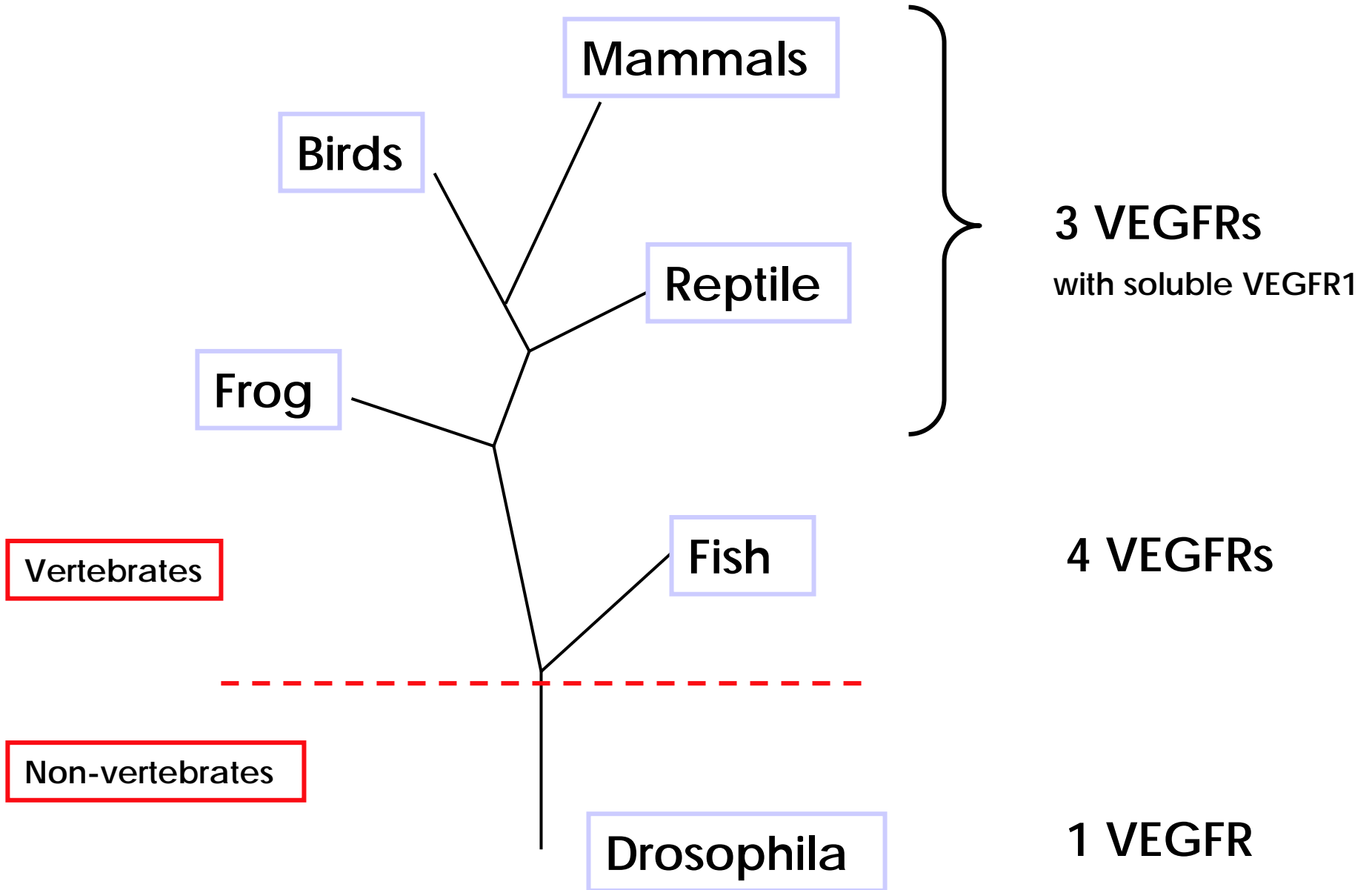
# VEGF-VEGF Receptor System



VEGF以外の血管制御系との相互作用

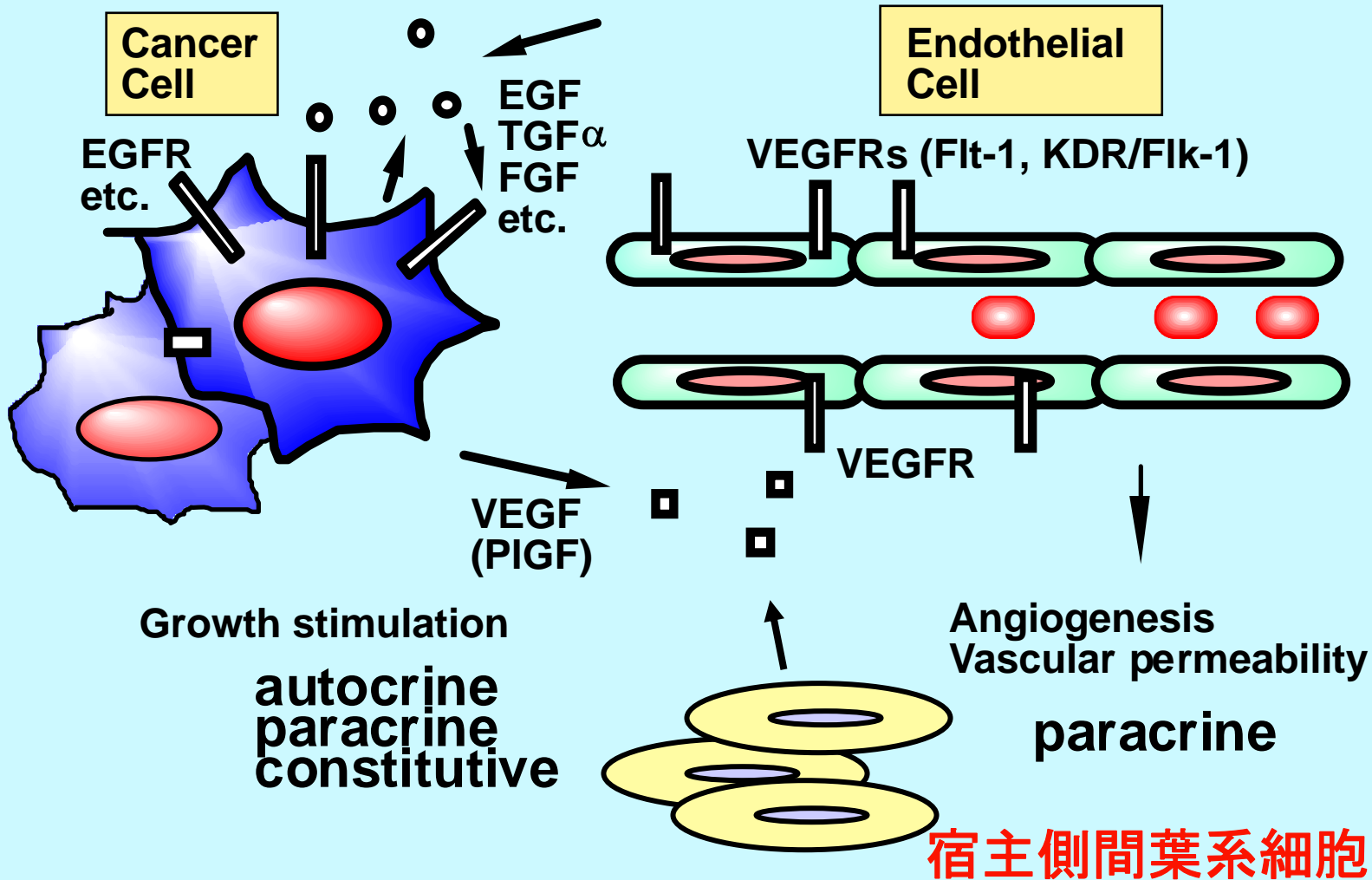
**Birds:**  
3VEGFR system  
**Drosophila:**  
1VEGFR system

# 7 Ig-チロシンキナーゼ受容体(VEGFRファミリー)の系統発生



# がんにおけるチロシンキナーゼの役割

## VEGFとその受容体のパラクリン作用

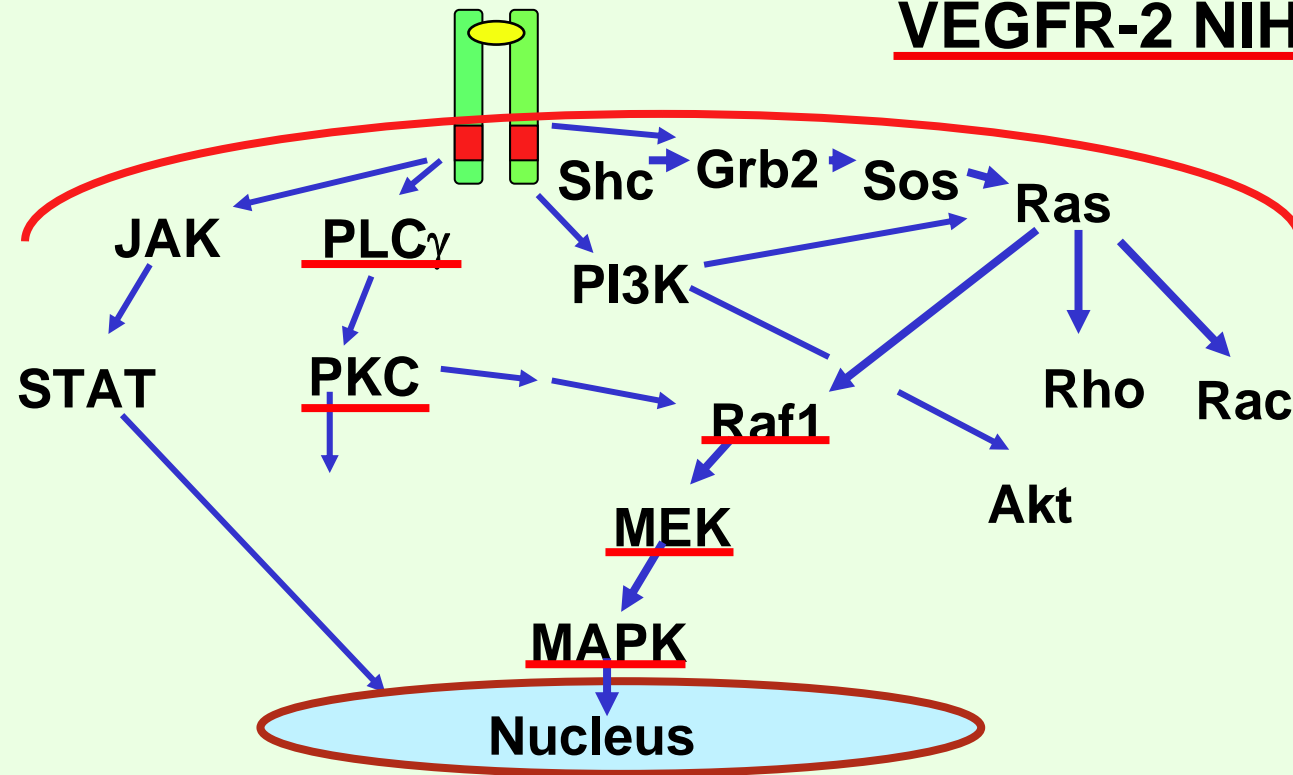


# Tyrosine Kinase Receptors and Intracellular Signaling

Transform DNA synth  
with ligand

EGFR NIH3T3:	+++	+++
VEGFR-1 NIH3T3:	-	-/(+)
VEGFR-2 NIH3T3:	-	+

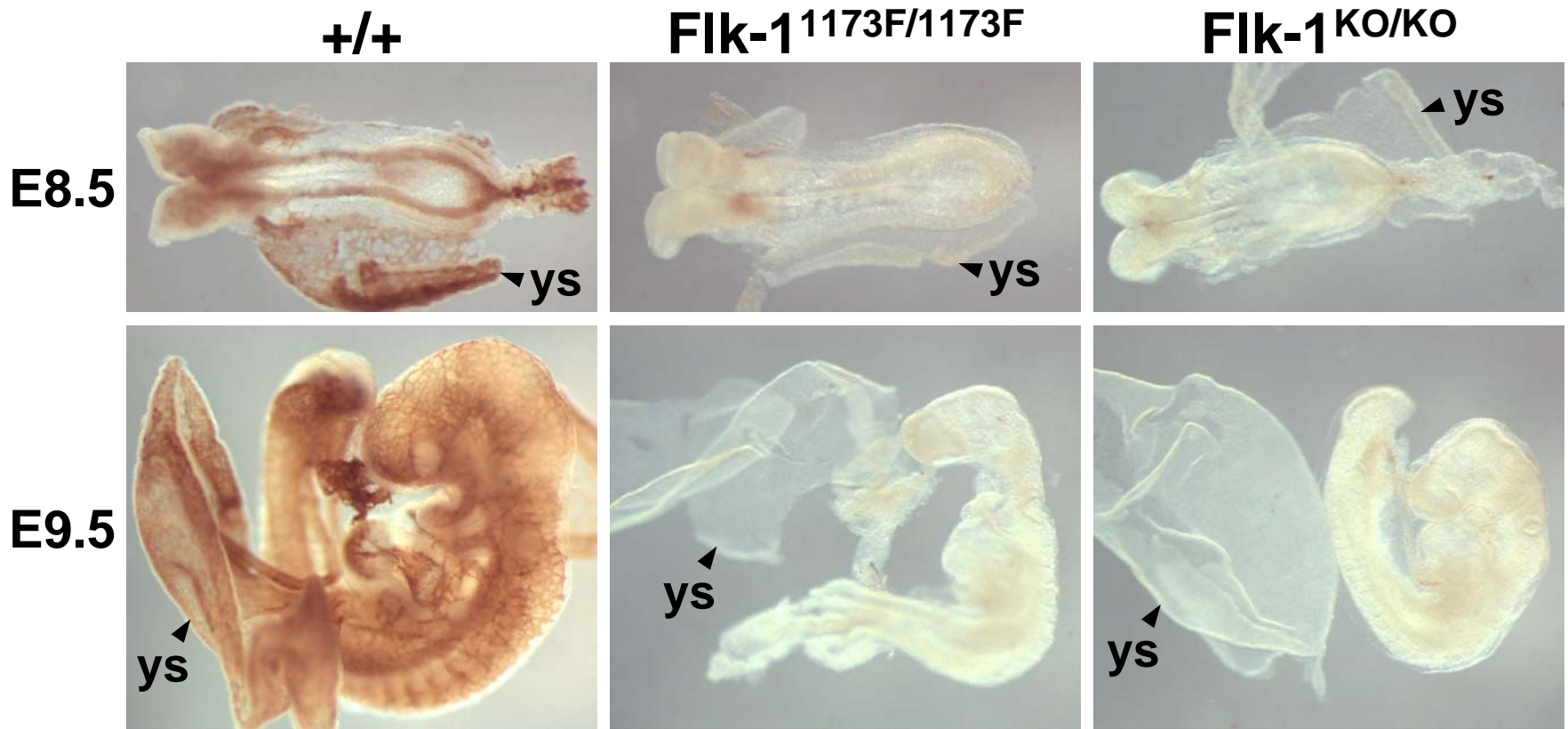
VEGFR-2 (KDR/Flk-1)



VEGFR-2のシグナル伝達の特徴:  
C-キナーゼ系を主に利用し、Ras系にはあまり依存しない。

# PECAM-1-positive blood vessels were absent in *Fik-1*<sup>1173F/1173F</sup> and *Fik-1*<sup>KO/KO</sup> embryos

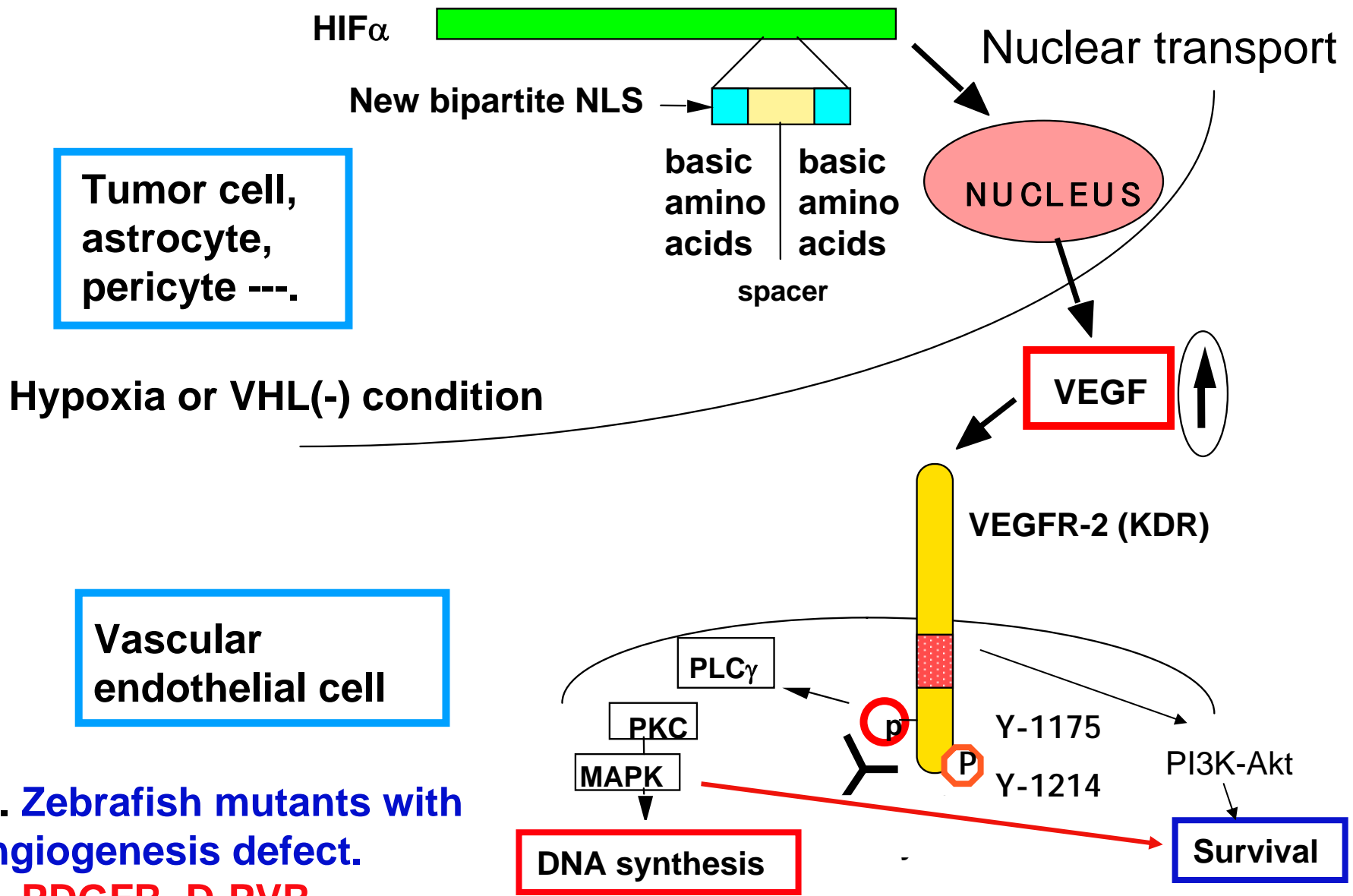
## PECAM-1 immunostaining



ys, yolk sac

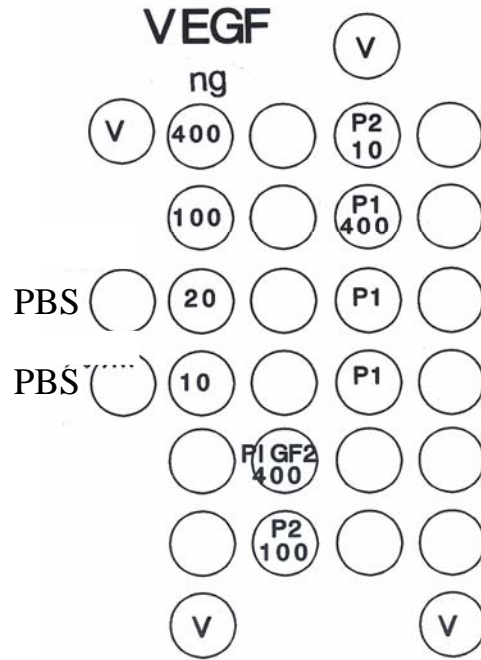
# VEGFの発現誘導とVEGF受容体-2からの細胞増殖シグナル

pY1175 - PLC $\gamma$  - PKC - MAPK をDNA合成に利用



cf. Zebrafish mutants with angiogenesis defect.  
cf. PDGFR, D-PVR

# VEGFの血管透過性亢進作用 --- マイルズアッセイ



## 腹水貯留

すべてのマウス腹水がんで、腹水中にVEGFが大量に蓄積.



マウス腹水がん細胞MM2

(8日目)

右: コントロール

左: 抗-VEGF 中和抗体投与



# マウス腹水がん

## MM2乳がん由来細胞株.

VEGF: 85 ng/ml 腹水

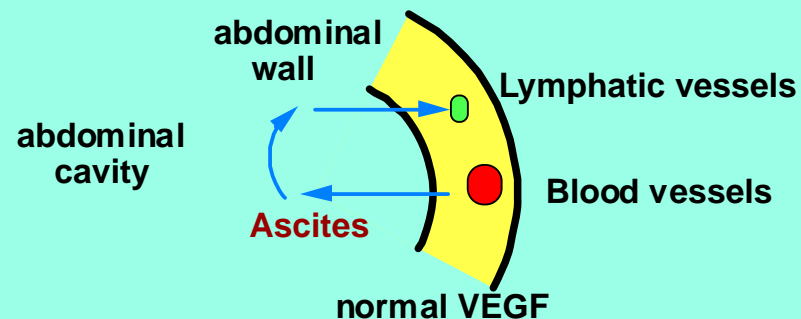
抗マウスVEGF抗体治療 (1w)

腹水量の減少 (to 35%)

腫瘍細胞数の減少 (to 35%)

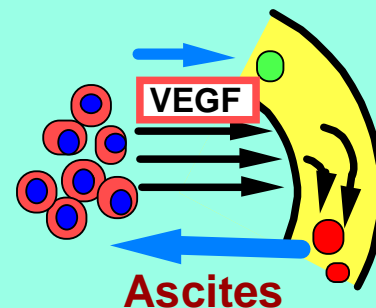
出血量の減少 (to 10%)

### Models for Ascites Formation



**Carcinoma & Sarcoma**

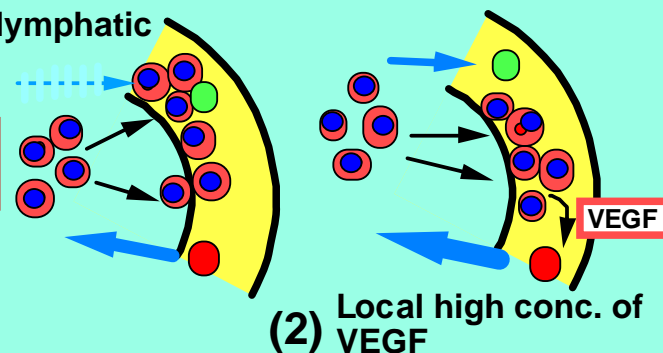
Sensitive to Neutralizing Antibody



(1) Block of lymphatic vessels

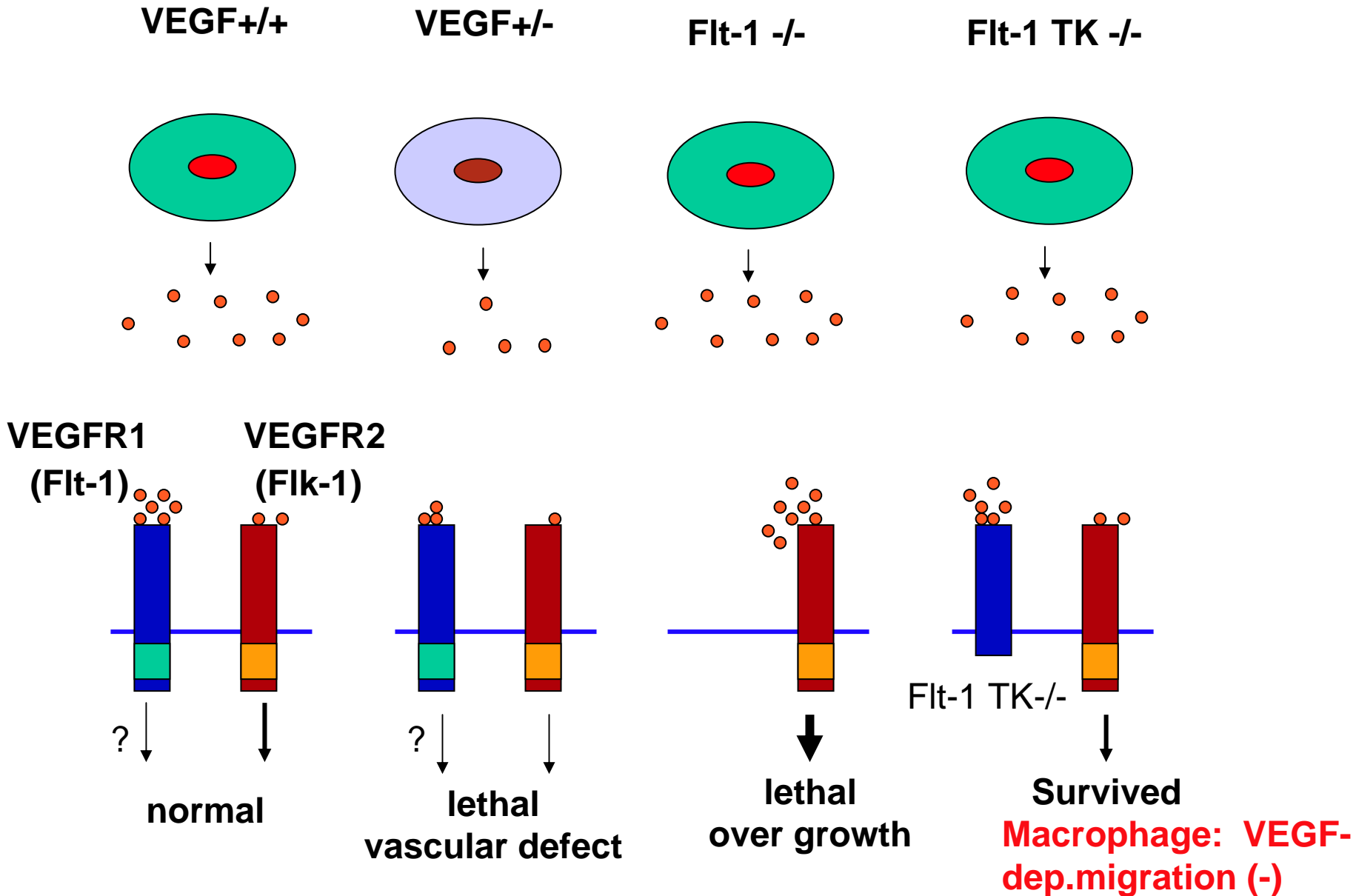
**Lymphoma & Leukemia**

Resistant to Neutr. Ab ?



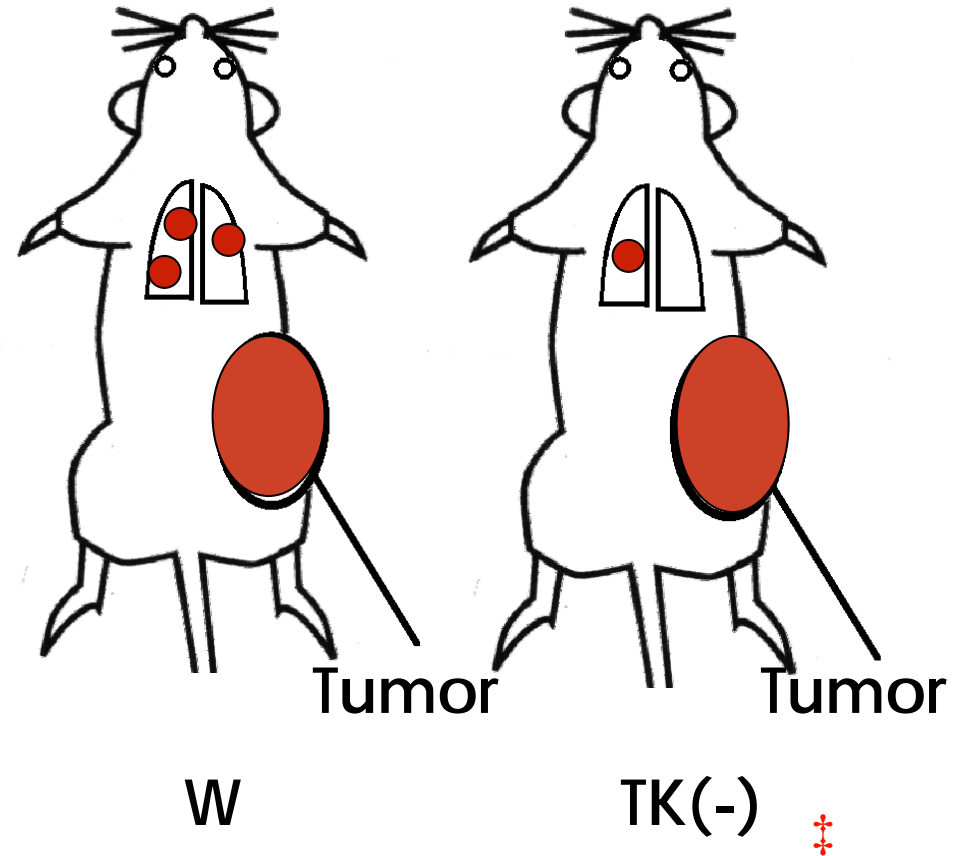
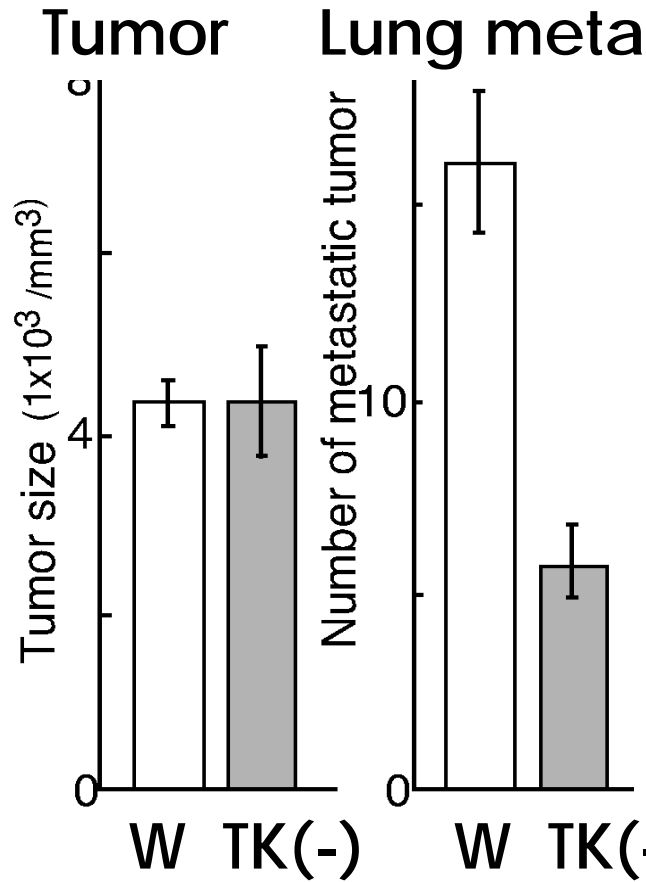
1. other VPFs (Bradykinin, Histamin etc.)
2. Suppression of absorption by cytokines
3. Abnormal coagulation

# VEGF, VEGF受容体遺伝子のノックアウトマウス解析



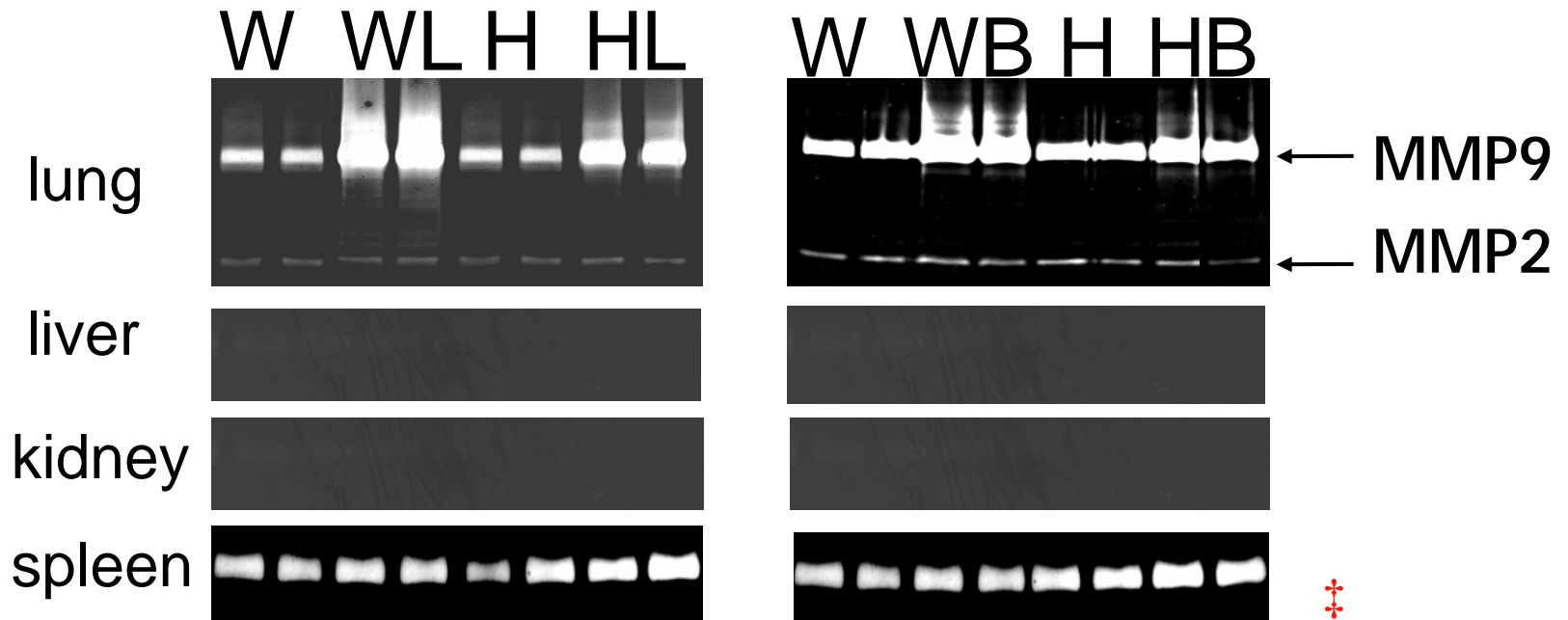
# 腫瘍の肺転移に関するマウスモデル

VEGFR-1(Flt-1)シグナルの欠損したマウスでは、肺への転移が減少する。



W, wild type; TK(-), VEGFR-1 TK(-/-); Tumor: Lewis lung ca

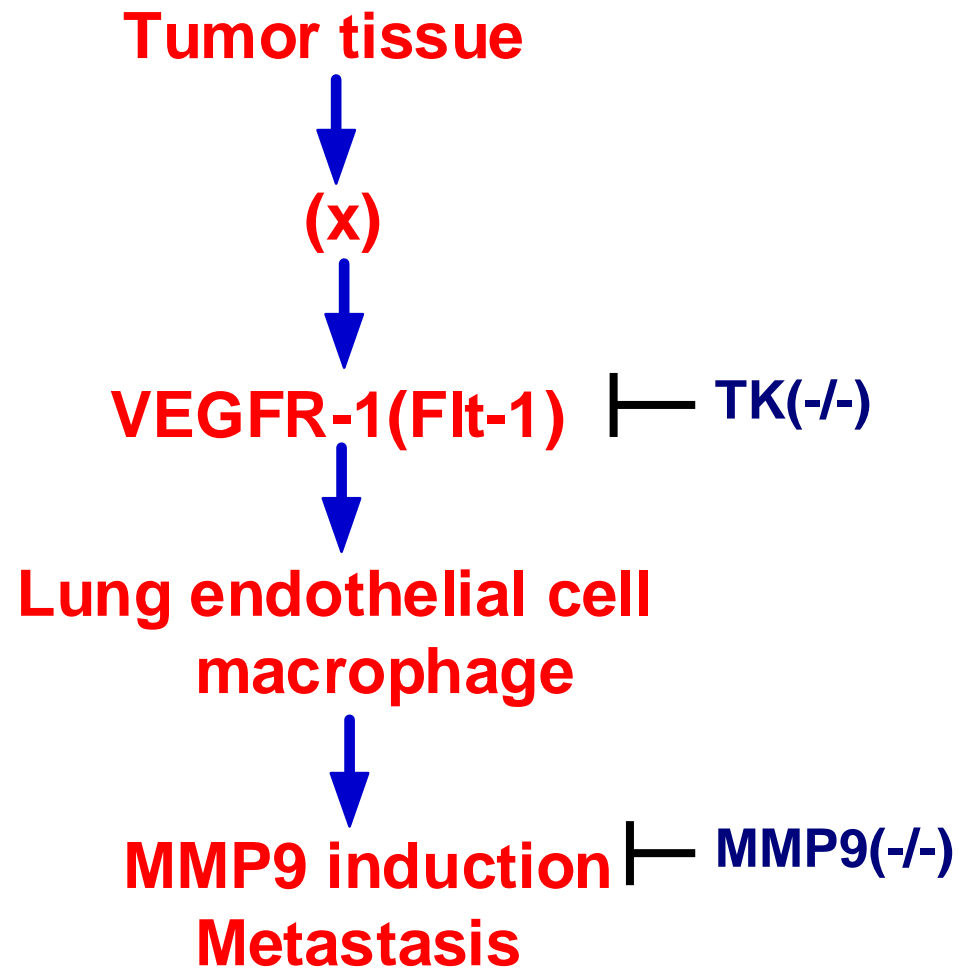
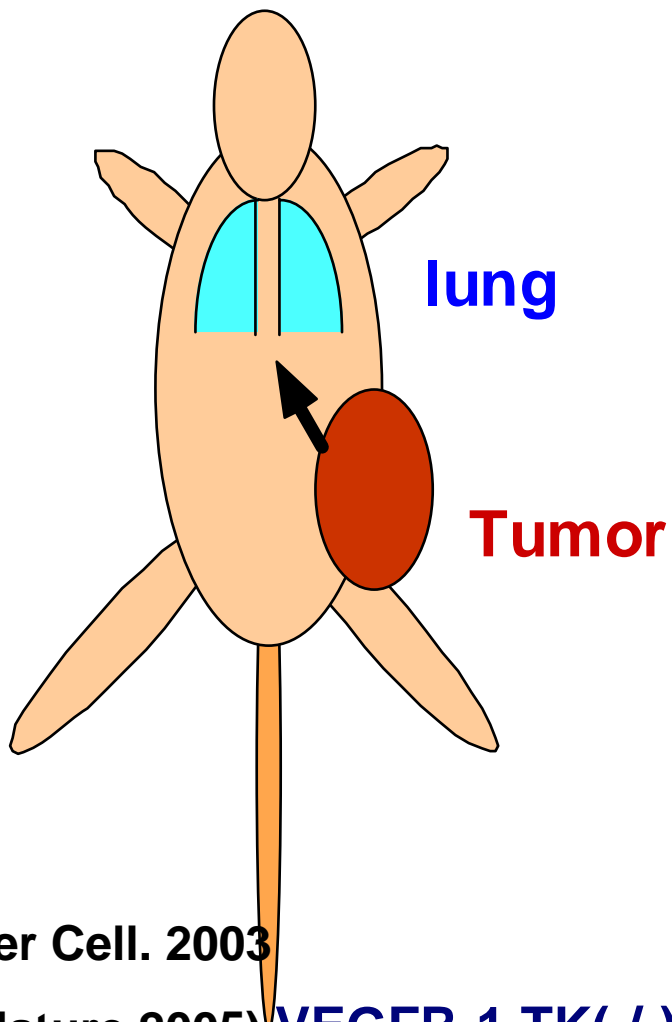
Pulmonary induction of MMP9 via primary tumor is significantly decreased in *VEGFR1* (*flt-1*) *TK*(-/-) mice.



W: wild type; H: *VEGFR-1* (*flt-1*) *TK*(-/-)

L: Lewis lung carcinoma; B: B16 melanoma

# VEGF受容体-1 (Flt-1)のキナーゼに 依存する新しい癌転移機構

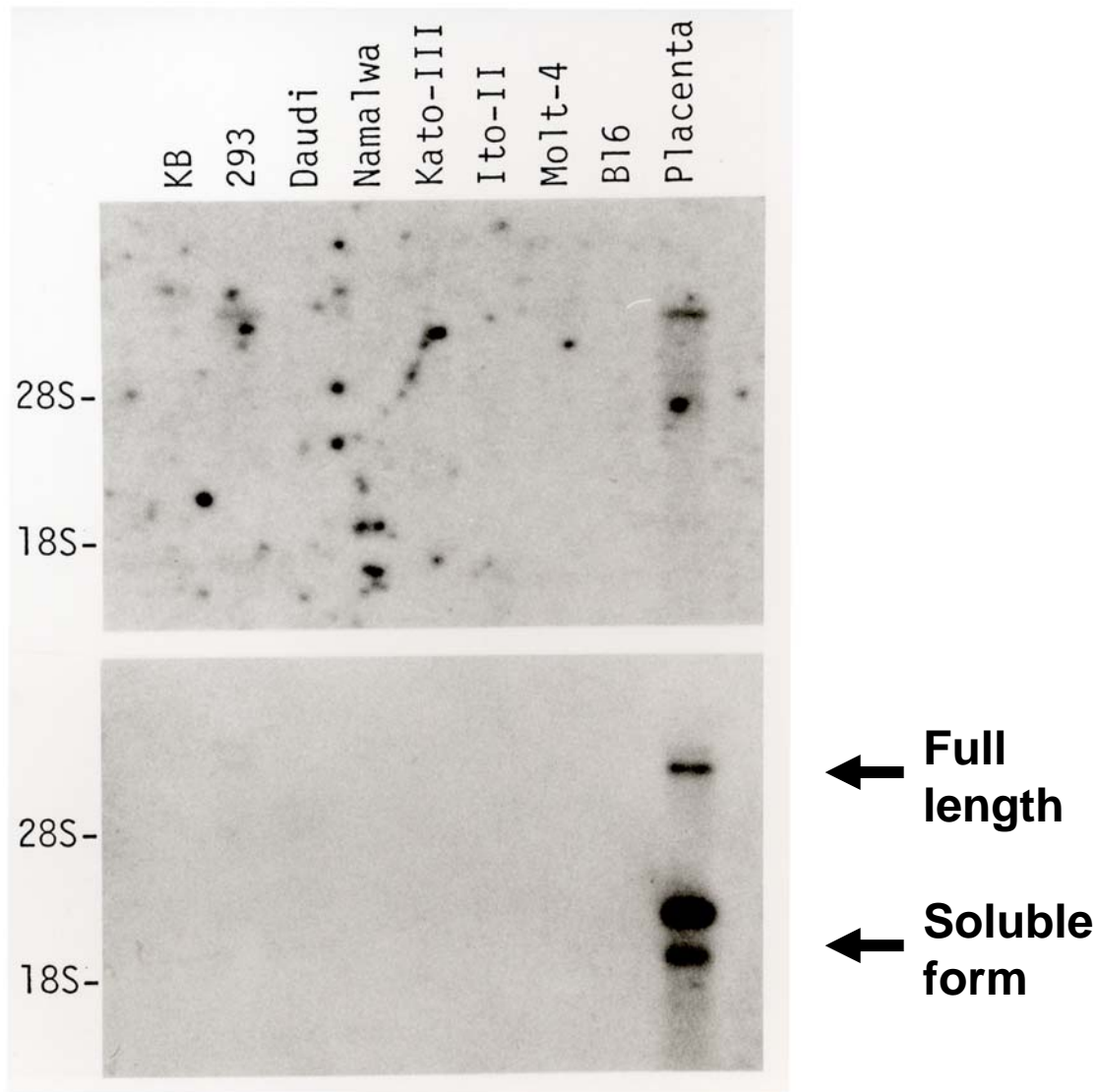
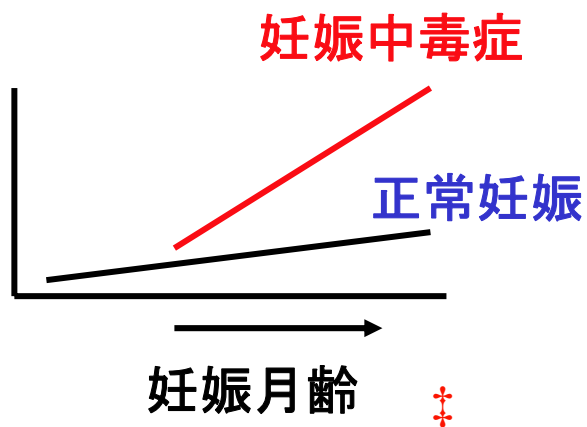


Cancer Cell. 2003

(c.f. Nature 2005) VEGFR-1 TK(-/-) and MMP9(-/-) block this phenotype.

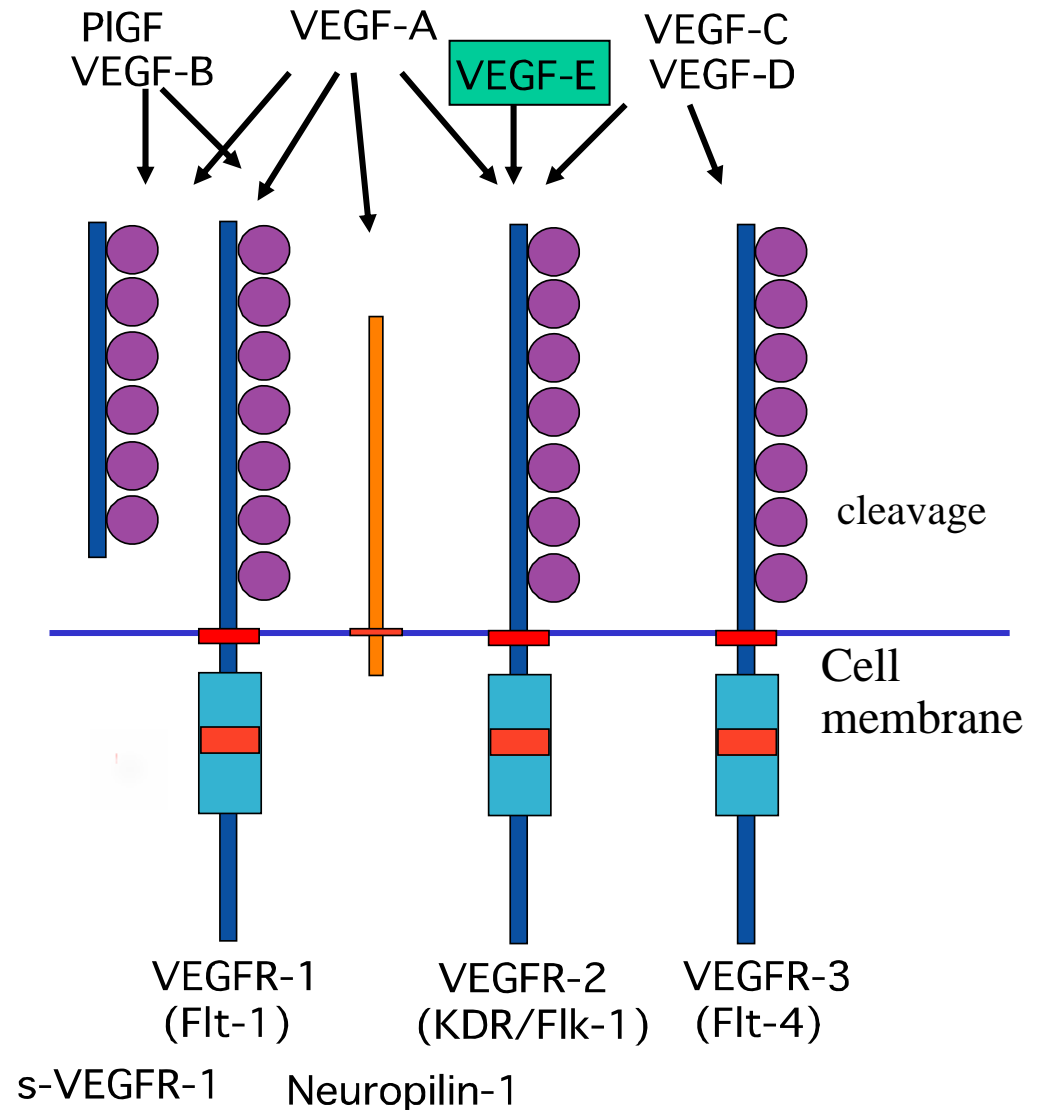
# 胎盤における soluble VEGFR1 (flt-1) mRNAの発現

妊娠中毒症では、母体血液中の sol. Flt-1 異常増加。



# 新しいタイプの血管新生因子 VEGF-E

VEGFR-2のみに結合  
In vivoで強い血管新生  
周皮細胞の接着良好  
浮腫(一)  
出血斑(一)



# Phenotypes of Human VEGF-A<sub>165</sub> Transgenic mouse

VEGF-A<sub>165</sub> Tg

control



VEGF-A<sub>165</sub> Tg

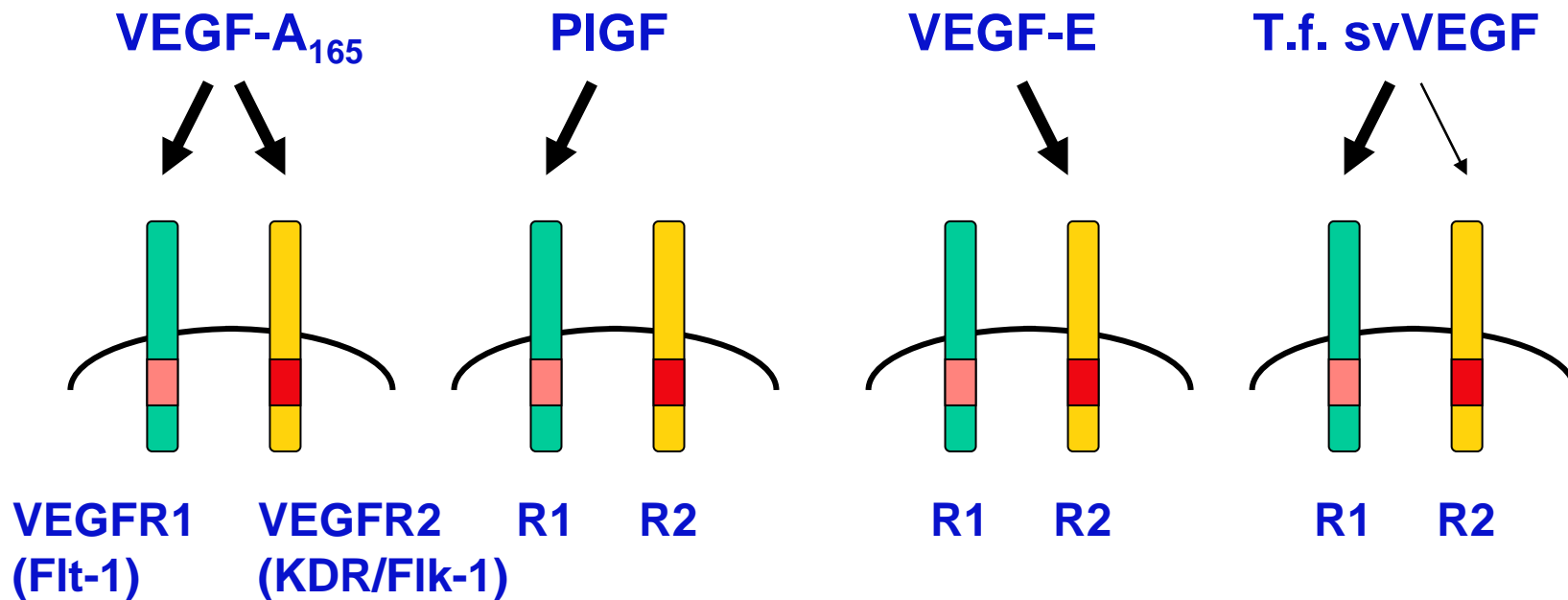
control



	<u>blood vessels</u>	<u>leakiness</u>	<u>inflamm.</u>	<u>body w. loss</u>
VEGF-A165	+++ (thin)	+++	+++	+++ (2nd, +)
VEGF-E (NZ7)	+++	+	-	-
PIGF	+	-	-	-

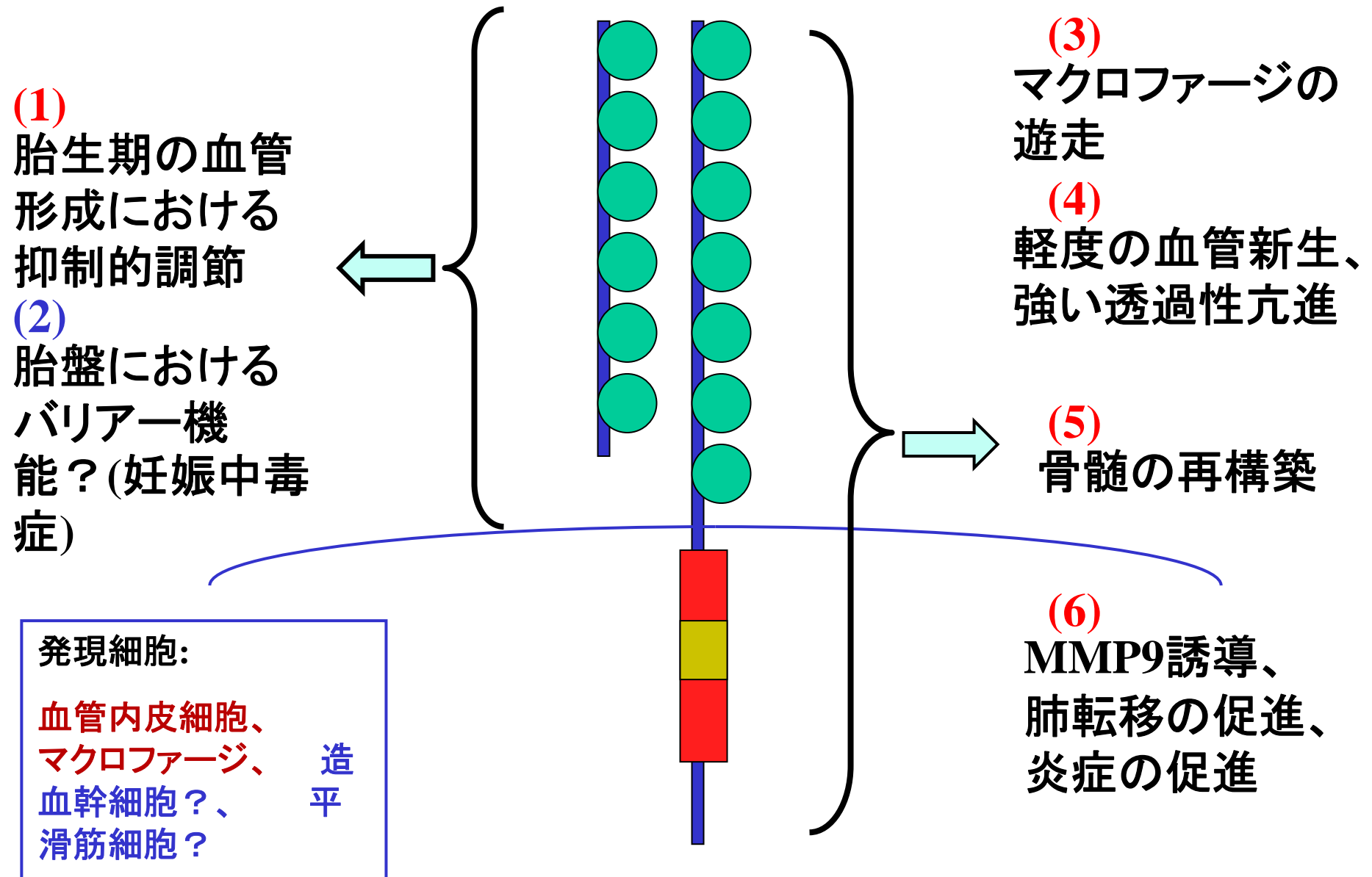
VEGFR1とVEGFR2を同時に活性化すると、血管透過性亢進活性のシグナルが上昇する。

---



<b>VEGF activity</b>	<b>+++</b>	<b>+/-</b>	<b>+++</b>	<b>+</b>
<b>VPF activity</b>	<b>+++</b>	<b>+</b>	<b>+</b> (++ in acute phase)	<b>+++</b>

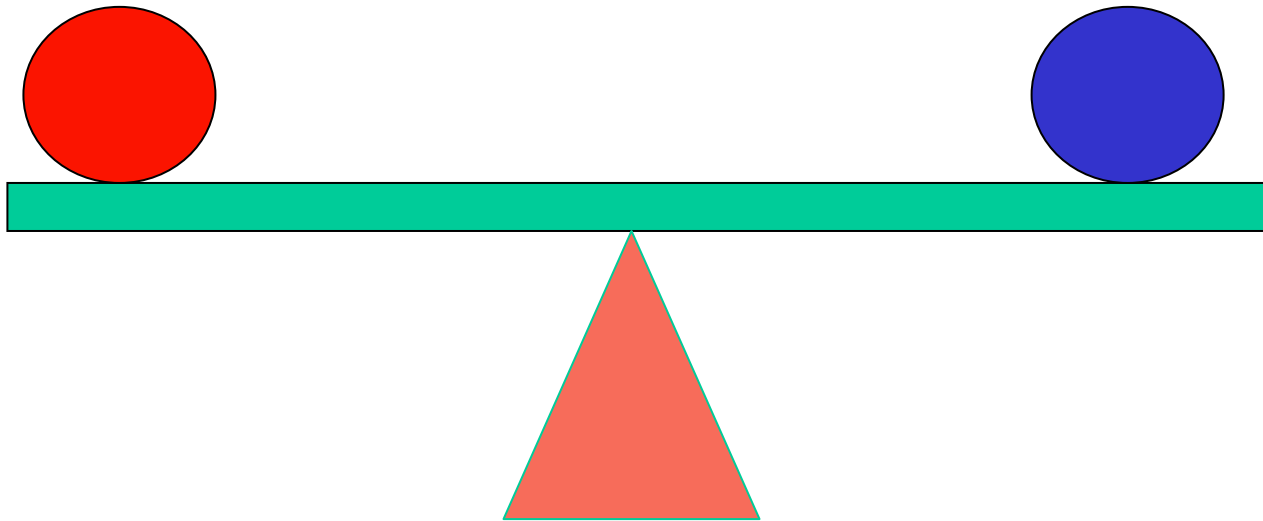
# 哺乳類におけるVEGFR-1 (Flt-1) の生物学的機能



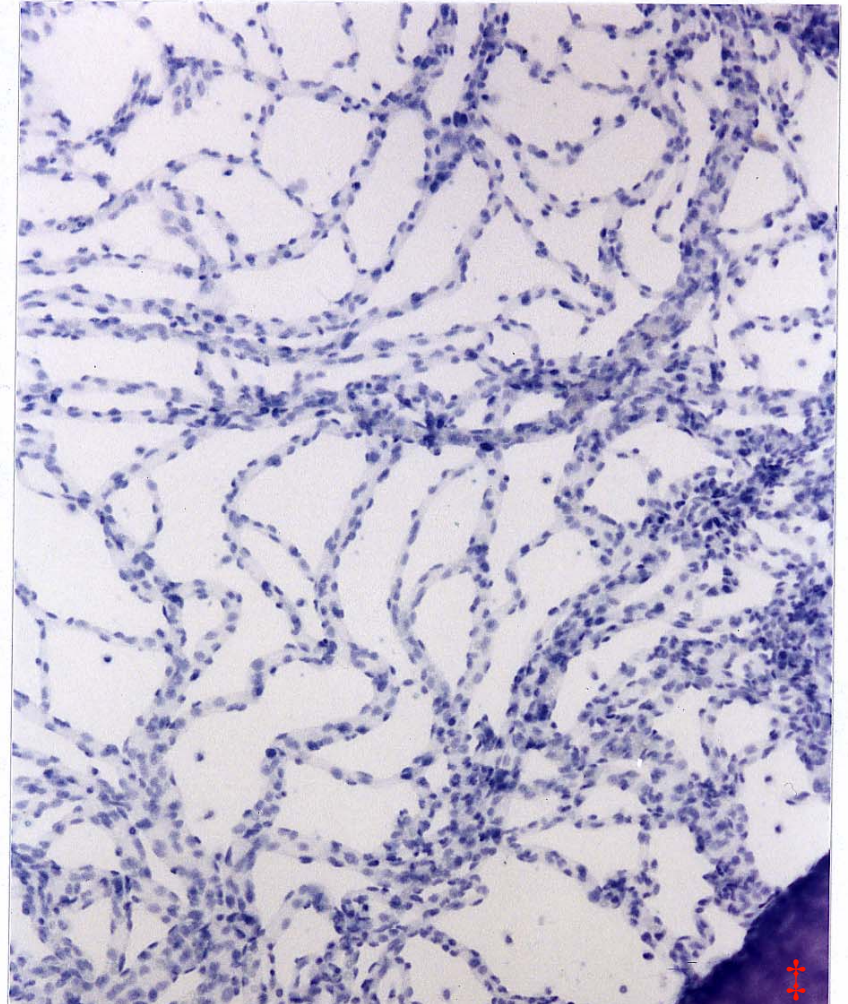
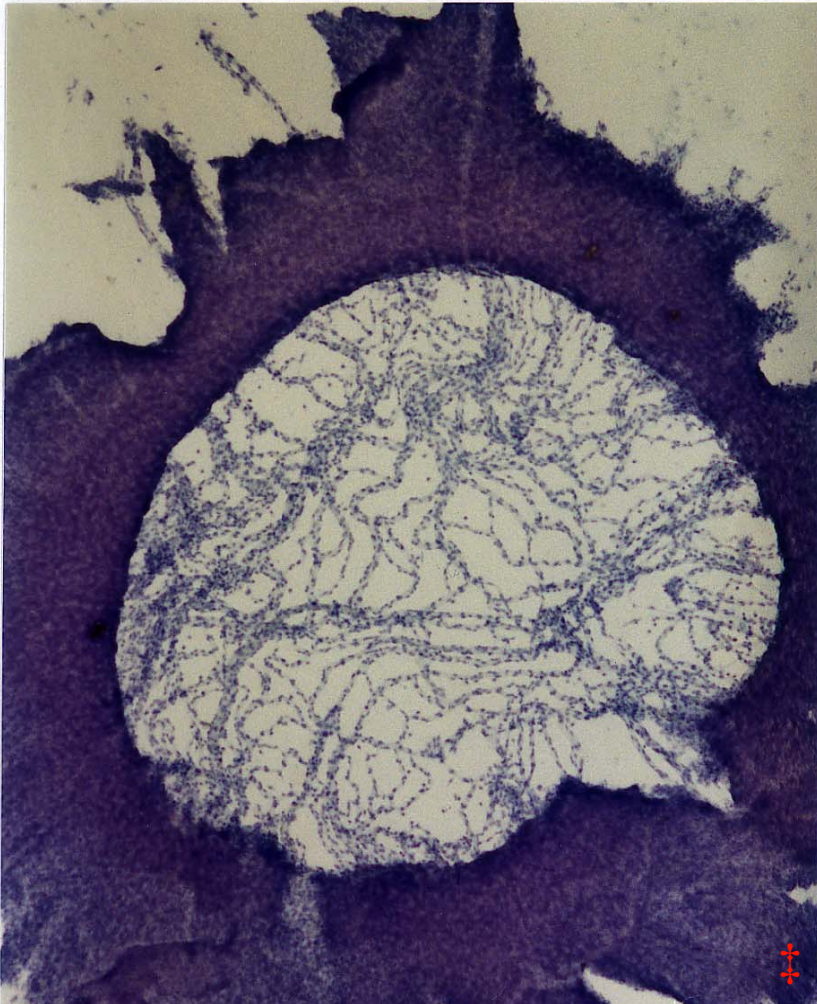
# 血管新生の総和

Pro-angiogenic

Anti-angiogenic

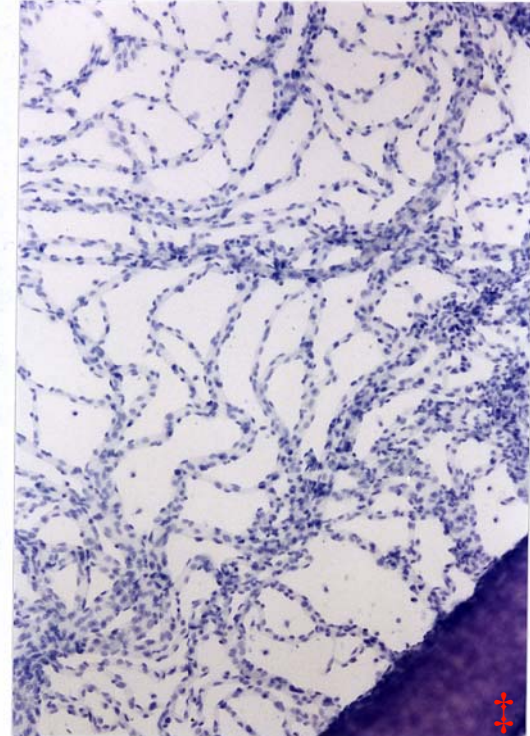
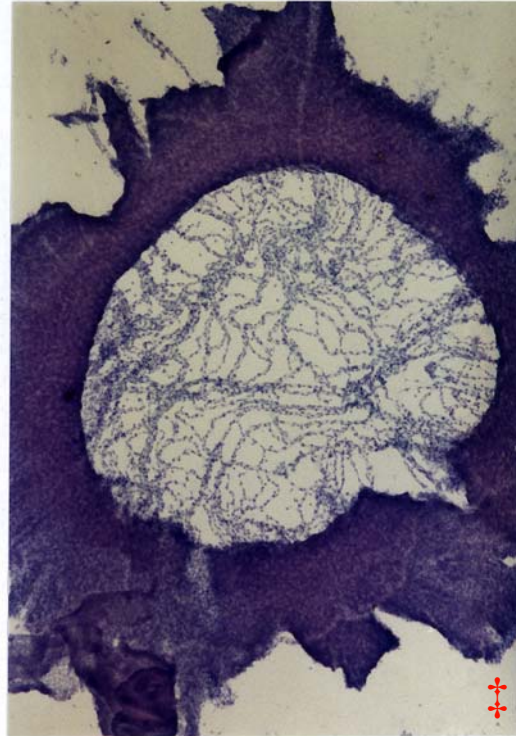
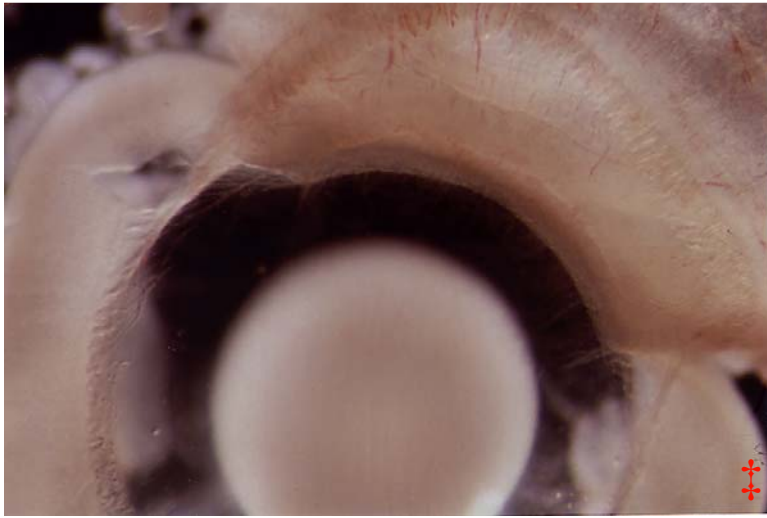


## Capillary Network in Rat Pupillary Membrane at Day-8.

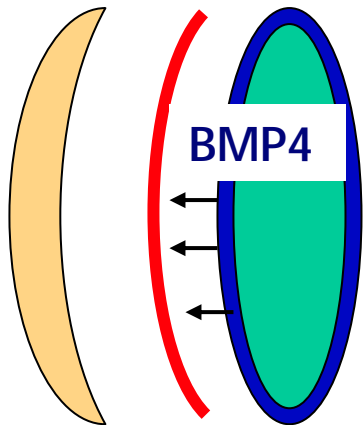


レンズ上皮細胞がBMP4を産生し、血管のアポトーシスを誘導する。

# Rat Pupillary Membrane with Vascular Network

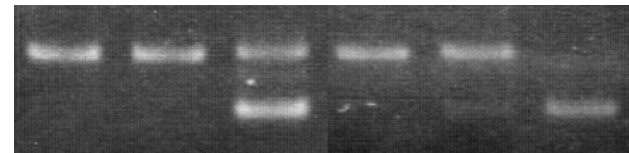


Cornea PM Lens



Day-8  
rat

Day-8			One day culture		
L	C	PM	L	C	PM



← BclXL  
← BclXs

外科療法

放射線療法

化学療法  
分子標的療法(一部)

免疫療法

抗血管新生療法

# VEGF (VEGF-A) 中和抗体

## 臨床第3相試験

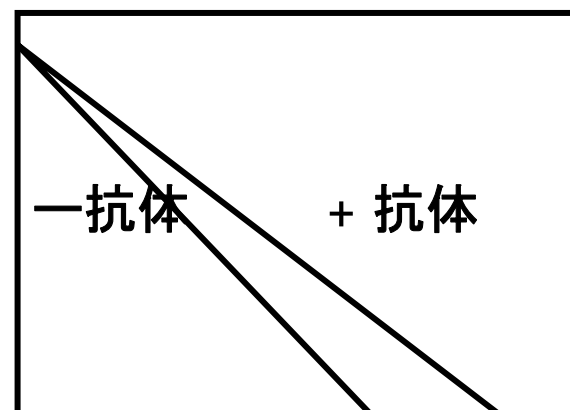
Stage-3, -4 大腸がん患者: randomized trial (400 名 x 2)

化学療法 ± 抗VEGF抗体

生存期間: -抗体、15.6M; + 抗体、20.3M

副作用: 軽度高血圧(出血ほとんどなし)

腎臓への負担



cf. 乳がん、肺がん(NSCLC)でも延命効果。

N. Ferrara et al. (Genentech Inc.), Gordon Conf. 2003, etc.

# 研究室(ベンチ)から臨床(ベッドサイド)へ、 ----- 腫瘍血管阻害によるがん治療 -----(1)

## VEGF-VEGFR系ではなぜ創薬に成功したか。

1. VEGF-VEGFR系が、ほ乳類血管制御のほぼ中心的システムだった。
2. 基礎研究者の研究と企業側研究者の応用研究がよく噛み合った。
3. 抗VEGF抗体なしでも、sol-Flt-1(s-VEGFR1)で同様の効果が確認できた。
4. がん患者の積極的な参加により、臨床試験が着実に進行した。
5. 副作用が重篤でないことは、動物実験のみならず、妊娠中毒症の症例からも、ある程度予測できた。

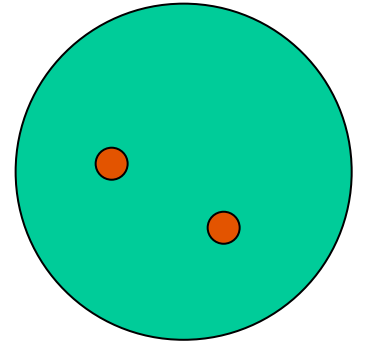
# 研究室(ベンチ)から臨床(ベッドサイド)へ、 ----- 腫瘍血管阻害によるがん治療 ----- (2)

## 日本と世界における今後の課題。

1. 日本・アジアにおいても速やかにVEGF-VEGFR阻害剤の臨床試験を進める必要がある。
2. 効果について、人種差があるのか。胃がん、肝がんでは？ スキルス胃がんには効果は期待できるのか。
3. 抗VEGF抗体に抵抗性のがん患者は存在する？ 腫瘍血管阻害剤についての個別化医療は必要か。副作用の個人差は？
4. 抗VEGF抗体の効果が低下した時の問題点と解決策？  
VEGF-VEGFR系への別の阻害剤(TK-inhibitorなど)？  
VEGF以外の系への依存？ ---- FGF, PDGF etc.  
血管に非依存的な、がんの増殖？ 新たな評価系？

# 若手研究者へ ----私の経験から ----

---



1、個体で使われるルールを

見つけてほしい。----- cyclic GMP

2、集中すべき時には集中を。--- がん遺伝子から  
血管へ。

3、研究の基本は個人的なもの、しかし、多くの人に  
支えられて出来るもの。

日本のTR, 内科での経験。患者さんの積極的な参加  
が必須。

4、国際的なセンスを。----- 留学(花房研)で学んだ事。

## 謝辞: 共同研究者

### VEGFR-1(Flt-1)

松七五三仁  
山口幸子  
沢野朝子  
池田敏男  
山根 章  
脇谷健司  
田中啓二  
平塚佐千枝  
丸 義朗  
岩井しのぶ  
近藤久二夫  
Lata Seetharam  
小林さつき  
村上雅人  
小出 麗  
渡辺 誠  
永瀬剛司  
岩田久美  
村松 昌

### VEGFR-2(KDR/FIk-1)

高橋知子、桜井佳子  
矢花直幸  
扇本かおり  
増田あこ  
上 順子  
神賀貴大  
Saeed Samarghandian

### VEGF/VEGF-E/svVEGF /BMP

Jin-Cai Luo  
小川幸代  
木場 篤  
清野真理  
斎藤桃実  
高橋宏行  
Yujuan Zheng  
山内麻衣  
山本誠士

### 外部機関・研究室

野田哲生(東北大)  
吉田進昭(東大医科研)  
新飯田俊平(長寿研)  
中畑龍俊(京都大)  
西川伸一(理研)  
佐藤幹二(東京女子医大)  
吉治仁志(奈良医大)  
小野真弓(九州大)  
江頭健輔(九州大)  
Kari Alitalo (Helsinki U.)  
Peter Carmeliet (Belgium)  
J. Waltenberger (Germany)

### 協和発酵研究所

(設楽研也、他)

### キンビール研究所

(中村一英、他)

第一製薬(田中紀子、他)

## 謝辞：共同研究者(2)

### がん遺伝子・チロシンキナーゼ関係

後藤典子

Lu-Hai Wang

横田 淳

山崎 等

有泉清志

世喜利彦

金子義保

広沢信作

林 雪芬

佐藤三佐子

Bertrand Pain

東條有伸

福井泰久

土屋輝昌

神野厚志

三沢幸子

日野雅之

山本克也

木戸道子

豊田雅士

渡辺 卓

### 外部機関・研究室

上山義人(東海大)

玉置憲一(東海大)

森 茂郎(東大医科研)

上代淑人先生、杉村 隆先生、菅野晴夫先生  
花房秀三郎先生、豊島久真男先生、小高 健先生