琉球大学学術リポジトリ

[総説] 血管内皮細胞成長因子(VEGF)と癌の浸潤,転移

メタデータ	言語: 出版者: 琉球医学会 公開日: 2010-07-02 キーワード (Ja): キーワード (En): vascular endothelial growth factor (VEGF), vascular permeability factor (VPF), endothehal cell proliferation, tumor invasion, metastasis 作成者: 金城, 紀代彦, 花城, 和彦, 渡慶次, 賀博, 小杉, 忠誠, Kinjoh, Kiyohiko, Hanashiro, Kazuhiko, Tokeshi, Yoshihiro, Kosugi, Tadayoshi メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12000/0002016158

血管内皮細胞成長因子（VEGF）と癌の浸潤，転移

金城紀代彦，花城和彦，渡慶次賀博，小杉忠誠

琉球大学医学部生理学第一講座

（2000年1月26日受付，2000年4月25日受理）

Vascular endothelial growth factor (VEGF) and tumor invasion/metastasis

Kiyohiko Kinjoh, Kazuhiko Hanashiro, Yoshihiro Tokeshi and Tadayoshi Kosugi

The First Department of Physiology, Faculty of Medicine, University of the Ryukyus, Okinawa, Japan

ABSTRACT

The mechanism of invasion and metastasis of malignant tumors have been investigated in many reports especially on the blood coagulation-fibrinolysis system. Recently, on the other hand, it has been clarified that vascular endothelial growth factor (VEGF) plays important roles in tumor invasion and metastasis through the specific action on endothelial cells in tumor tissue. VEGF is known as an angiogenesis factor from tumor tissues, and it is thought to be an important endothelial mitogen for tumor growth; while, a vascular permeability factor (VPF) secreted from tumor tissues has been isolated, whose chemical and biological properties has been studied. Results show that VPF has been identified as VEGF; since VEGF increases vascular permeability and induces endothelial cell proliferation. VEGF also induces the expression of plasminogen activators, plasminogen activator inhibitor-1 or interstitial collagenase in endothelial cells. Platelet derived growth factor has proved to be an inducer of the transcription of VEGF gene by mediating protein kinase C. Hypoxia induces VEGF upregulation and protein expression, that could evoke the angiogenesis on tumor growth. Mutant *ras* oncogene upregulates VEGF expression. In addition, the expression of VEGF receptor on the endothelial cells in tumor tissues has increased. It has therefore been considered that the inhibitors of VEGF-induced angiogenesis should be useful materials for tumor therapy. Moreover, it has been found that antagonists against the VEGF-receptor, protein kinase C activity and blockers of VEGF-mediated signal transduction should be hopeful means for inhibition of tumor angiogenesis. *Ryukyu Med. J., 19(4)193～201, 2000*

Key words: vascular endothelial growth factor (VEGF), vascular permeability factor (VPF), endothelial cell proliferation, tumor invasion, metastasis

はじめに

悪性腫瘍の浸潤と転移は，悪性腫瘍の重要な予後因子の一つである．一方，悪性腫瘍の浸潤，転移の機序や過程は，多段階過程であり，単一要因に基づくものではなく，複雑な生体反応の関与が知られている．これらの機序を明確にする一端として，血液凝固線溶系因子と悪性腫瘍の浸潤と転移に関する数多くの研究がなされた．特に，カテプシン-ウロキナーゼ型プラスミノーゲンアクチベーター（u-PA）-プラスミン/マトリックスメタロプロテアーゼ反応系が細胞外マトリックスの破壊を引き起こして癌浸潤の引金になることが明かにされた[1-3]．さらに，癌細胞と結合した活性化血小板が血行性転移と転移巣の形成に関与する可能性も，多くの臨床経験から支持されている[4,5]．しかしながら，血小板，血液凝固線溶系による機構のみでは，悪性腫瘍の浸潤と転移の機序を説明し得ないこともさらに明白になってきた．一方近年，血管新生が腫瘍の増殖，浸潤，転移に重要な役割を演じているとの証拠が数多く呈示されてきた．さらに，その血管新生の抑制や，生成された血管の退縮を惹起させ，浸潤，転移の防止が可能となれば悪性腫瘍の予後改善を目論むことが可能である．動物実験段階ではあるが，血管新生抑制剤の開発も進んでいる．そこで本総説では，血管新生と浸潤，転移の関係を，血管内皮細胞成長因子（vascular endothelial growth factor, VEGF）の実態を中心として論じ，浸潤，転移抑制の新機軸にも言及したい．

Table 1 N-terminal sequence of VPF from tumor cells of guinea-pig

Cycle	Residue	Yield (pmol)
1	Ala	838
2	Pro	598
3	Met	358
4	Ala	463
5	Glu	456
6	Gly	434
7	Glu	537
8	Gln	276
9	Lys	179
10	Pro	354
11	Arg	n.d.[a]
12	Glu	325
13	Val	278
14	Val	347
15	Lys	166
16	Phe	113
17	Met	137
18	Asp	n.d.
19	Val	177
20	Tyr	146
21	Lys	124
22	Arg	n.d.
23	Ser	n.d.
24	Tyr	60

[a]n.d.. not determined

(from Ref. 15)

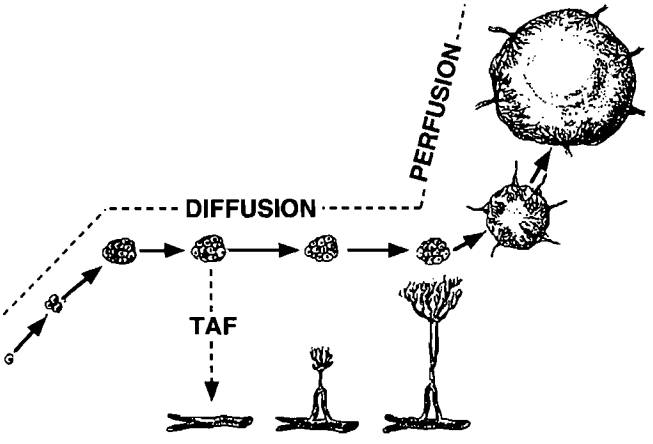

Fig. 1 Concept of the existence and function of tumor-angiogenesis factor (TAF). (from Ref. 13)

1）血管内腫瘍細胞と転移

血管性転移過程には，循環内への腫瘍細胞の侵入が重要であり，その腫瘍細胞ないし細胞塊の大きさや分布が，特に血行性転移の成立、拡大を規定している要因であるとされてきた[6-9]．腫瘍細胞ないし細胞塊の大きさには，原発腫瘍内の血管径が反映される．何故ならば，大循環系に腫瘍細胞が侵入するためには，血管叢を通過しなければならない．血行性転移の初期段階では，腫瘍血管床内の局所に腫瘍細胞の出現するのが必須である[10]．これらの実験結果は，腫瘍細胞が，血管内に侵入する何らかの機序の存在を示唆している．

2）腫瘍血管新生の意義

一般に腫瘍では，常に血管の新生を伴っている．この血管新生は，創傷部位や炎症部位にもみられるものであり，多くの研究者は，腫瘍の増大と血管新生の程度が相関すると報告している[11]．また，腫瘍発現と同時に，血管新生状態へのスイッチングが行われている．すなわち，腫瘍初期ではprevascular phaseであり，この時期では腫瘍の成長と血管新生の関係は際だってはいない．しかしながら癌化と血管新生が指数関数的に増強する[12]．このような観察結果から，腫瘍組織，細胞には，血管新生を引き起こす物質の存在が予想され，またtumor-angiogenesis factor (TAF) の分離が試みられた[13]（Fig. 1）．その後，腫瘍細胞からの生化学的手法による分離，精製が行われ，ある種の血管透過性因子（vascular permeability factor, VPF）が同定され，腫瘍細胞からの分泌も証明された[14]．

3）腫瘍細胞由来血管透過性因子

腫瘍細胞由来の血管透過性物質の物理化学的特性の検討では，N末端アミノ酸配列分析の結果から，既に報告されている血管透過性物質とは異なるものであることが判明した[15]（Table 1）．一方，この腫瘍由来血管透過性因子は，血管内皮細胞増殖と血管新生を促進するのも明らかになってきた[16]．すなわち，VPFの作用としては，肥満細胞の脱顆粒を伴うものではなく，血管内皮

Table 2　Amino acid sequences of bovine and human VEGF, A and B chain of human PDGF

h VEGF	-26	M N F L L S W V H W S L A L L L Y L H H A K W S Q A A P M A E G G G Q N H H E V V K F M D V Y Q R S
b VEGF	-26	M N F L L S W V H W S L A L L L Y L H H A K W S Q A A P M A E - G G Q K P H E V V K F M D V Y Q R S
PDGF-B	-21	R L L H G D P G E E D G A E L D L N M T R S H S G G E L E S L A R G R R S L G S L T I A E P A M I A
PDGF-A	-45	Q R L L E I D S V G S E D S L D T S L R A H G V H A T K H V P E K R P L P I R R K R S I E E A V P A
h VEGF	25	Y C H P I E T L V D I F Q E Y P D - - E I E Y I F K P S C V P L M R C G G C C N D E G L E C V P T E
b VEGF	24	F C R P I E T L V D I F Q E Y P D - - E I E F I F K P S C V P L M R C G G C C N D E S L E C V P T E
PDGF-B	-71	E C K T R T E V F E I S R R L I D R T N A N F L V W P P C V E V Q R C S G C C N N R N V Q C R P T Q
PDGF-A	-95	V C K T R T V I Y E I P R S Q V D P T S A N F L I W P P C V E V K R C T G C C N T S S V K C Q P S R
h VEGF	73	E S N I T M Q I M R I K P H Q G Q H I - - - G E M S F L Q H N K C E C R P K K D R A R Q E N P C G P
b VEGF	72	E F N I T M Q I M R I K P H Q S Q H I - - - G E M S F L Q H N K C E C R P K K D K A R Q E N P C G P
PDGF-B	121	V Q L R P V Q V R K I E I V R K K P I F K K A T V T L E D H L A C K C E T V A A A R P V T R S P G G
PDGF-A	145	V H H R S V K V A K V E Y V R K K P K L K E V Q V R L E E H L E C A C A T T S L N P D Y R E E D T G
h VEGF	120	C S E R R K H L F V Q D P Q T C K C S C K N T D S R C K A R Q L E L N E R T C R C D K P R R
b VEGF	119	C S E R R K H L F V Q D P Q T C K C S C K N T D S R C K A R Q L E L N E R T C R C D K P R R
PDGF-B	171	S Q E Q R A K T P Q T R V T I R T V R V R R P P K G K H R K F K H T H D K T A L K E T L G A
PDGF-A	195	R P R E S G K K R K R K R L K P T

(from Ref. 18)

細胞へ一過性に迅速に作用し，内皮細胞自身は損傷を受けないのも明らかにされた．さらには，このVPFは内皮細胞に直接作用し，二次的には，血漿蛋白のフィブリノーゲンを血管外に漏出させ，フィブリン沈着を細胞外マトリックスに生じさせる作用も有しているのが判明した．同時に，Connollyらは，VPFの作用による内皮細胞の増殖を明らかにした．すなわち，VPFは血管透過性の亢進作用と同時に，血管内皮細胞の増殖も引き起こす性質をもつことが判明した．VPFの物理化学的性質が，その後さらに詳細に調べられた．分子量40 kDaのジスルファイド結合を有する2量体の糖蛋白質であり，ヒト組織球性リンパ腫由来U937細胞からクローニングされたVPFのcDNAの塩基配列から，189アミノ酸から成るポリペプチド鎖をcodeしており，PDGF-βとの相同性が18%にみられた．VPFはplatelet-derived growth factorのβ chain（PDGF-β）やPDGF-β関連蛋白の構造に相似であるのが明らかとなり，PDGF/v-*cis*ファミリーに属するのが判明した[17]．従来VPFは，血管透過性因子として同定されていたが，細胞増殖因子としての性格が明確になってきた．ウシ下垂体folliculostellate cells（FC）の培養液中から，VEGFが精製された．このVEGFは，ヘパリン結合性増殖因子であり，血管内皮細胞に特異的に作用するのが明らかにされた．さらに，cDNA塩基配列の解析結果から，分子構造には数種類のものの存在が明らかにされた．ウシ，ヒトVEGFのcDNAを組込んだ発現ベクターで遺伝子をトランスフェクトされたヒト293細胞は，内皮細胞細胞分裂促進因子を分泌するのが明らかにされた．このようにしてVEGFは，内皮細胞の細胞分裂促進因子としての作用をもつのが同定された[18]（Table 2）．

4）VEGFと悪性腫瘍

胃癌患者の予後判定にVEGFが有効であり，また，再発型の予想にもVEGFが重要な因子となっている[19]．消化管腺癌には，VEGFの発現と共に，レセプターの発現もみられている[20]．この研究は，VEGFによるシグナル伝達への研究の糸口を開いた．さらに，乳癌においてもVEGF mRNAとそれに対するレセプターmRNAの発現もみられている[21]．また乳癌では，腫瘍細胞の増殖，微小血管の腫瘍内密度，腫瘍内血管内皮細胞増殖の関連

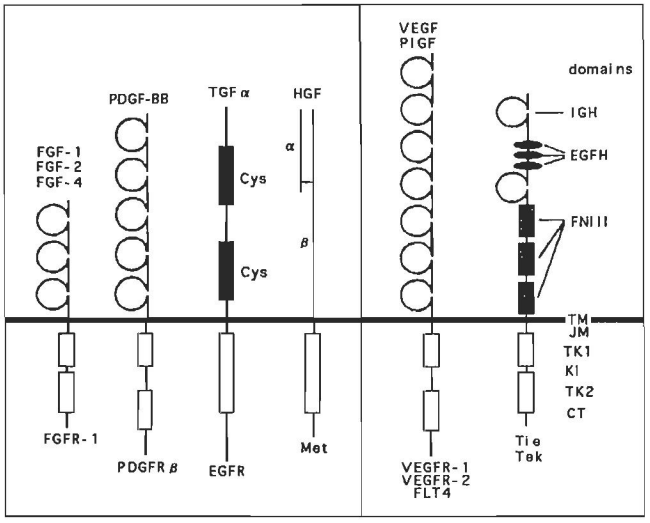

Fig. 2　Endothelial cell receptor, tyrosine kinases and growth factor. Abbreviations used: CT, carboxiterminal tail; Cys, cysteine-rich domain; EGFR, epidermal growth factor receptor; EGFH, epidermal growth factor; FGF, fibroblast growth factor; FGFR, FGF receptor; FLT, fms-like tyrosinekinase; FN III, fibronectin type III homology domain; HGF, hepatocyte growth factor; IGH, immunoglobulin homology domain; JM, juxtamembane domain; KI, kinase insert; Met, Met oncoprotein; PDGFR β, PDGF receptor-β; PDGF-BB, platelet-derived growth factor-BB; PIGF, placenta growth factor; Tek, tunica interna endothelial cell kinase; TGF α, transforming growth factor-α; Tie, tyrosine kinase with immunoglobulin and epidermal growth factor homology domains; TK, tyrosine kinases catalytic domain; TM, transmembrane domain; VEGF, vascular endothelial growth factor; VEGFR, VEGF receptor. VEGFR-1 is also called FLT-1; VEGFR-2 is also called KDR (kinase insert domain containing receptor) or Flk-1 (fetal liver kinase-1). (from Ref.25)

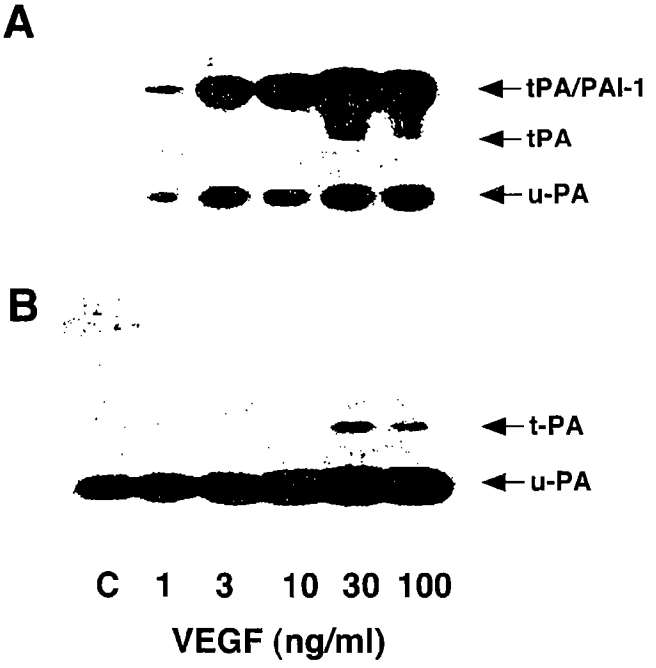

Fig. 3 Expression of plasminogen activators and plasminogen activator inhibitor-1 analyzed by zymography. Abbreviations: t-PA, tissue-type plasminogen activator; u-PA, urokinase-type plasminogen activator; PAI-1, plasminogen activator inhibitor-1. (from Ref. 26)

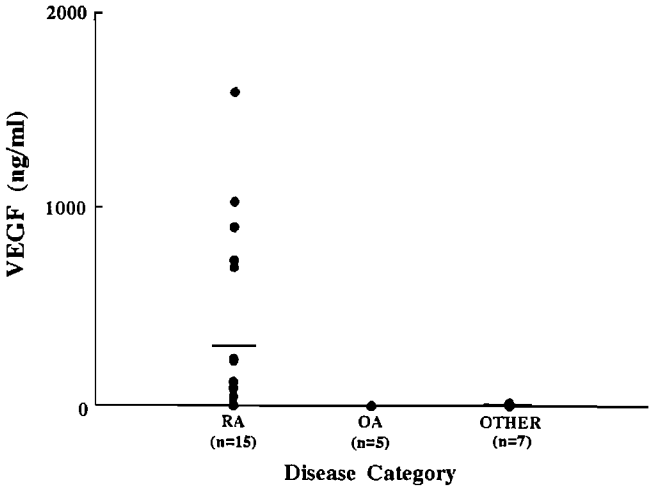

Fig. 4 Quantitative analysis of VEGF antigen in synovial fluid from rheumatoid arthritis (RA) and osteoarthritis (OA). (from Ref. 28)

性が追求された．その結果，これらの現象は別々な機序により調節されている可能性も示された[22]．皮膚悪性黒色腫の血管分布についての検討では，再発群で腫瘍基底部の血管分布量が，非再発群に比して2倍であった．腫瘍基底部の血管構築程度が悪性黒色腫の予後を左右しているのを明らかにした[23]．

5）VEGFとレセプター

ヒト大腸癌の血管構築，転移，増殖とVEGFおよびそれのレセプター発現との関連性が追求された．血管構築の程度を把握するために，VIII因子のポリクローナル抗体を用いて，免疫染色を行っている．腫瘍組織中の細胞増殖因子としては，VEGFの他にbFGFも存在しているが，VEGFに対する特異的レセプターであるKDRの検索も行われている．また，bFGFのレセプターとして*flt-1, bek, flg*の発現も調べられている．KDRの発現は，内皮細胞にみられており，VEGF, KDRの発現は，転移性腫瘍においては非転移性腫瘍に比して多いが，bFGF, *flt-1, bek, flg*の発現は腫瘍の性質との間に相関はみられなかったと報告されている[24]．内皮細胞表面には，細胞膜貫通型レセプターが存在しており，このレセプターはチロシンキナーゼに連動している．VEGFには4つのサブタイプが存在しており，レセプターに対する親和性の強いものと弱いものとに分類される[25]（Fig. 2）．内皮細胞はレセプターを介して，細胞内情報伝達系を活性化し，細胞内カルシウムの増加を引き起こす．これらと連動する形で，プラスミノーゲンアクチベーター（PA），u-PAレセプター（UPAR），プラスミノーゲンアクチベーターインヒビター-1（PAI-1）等の産生の生じるのが知られている[26]（Fig. 3）．また，ヒト血管内皮細胞のVEGF刺激により，間質コラゲナーゼ（matrix

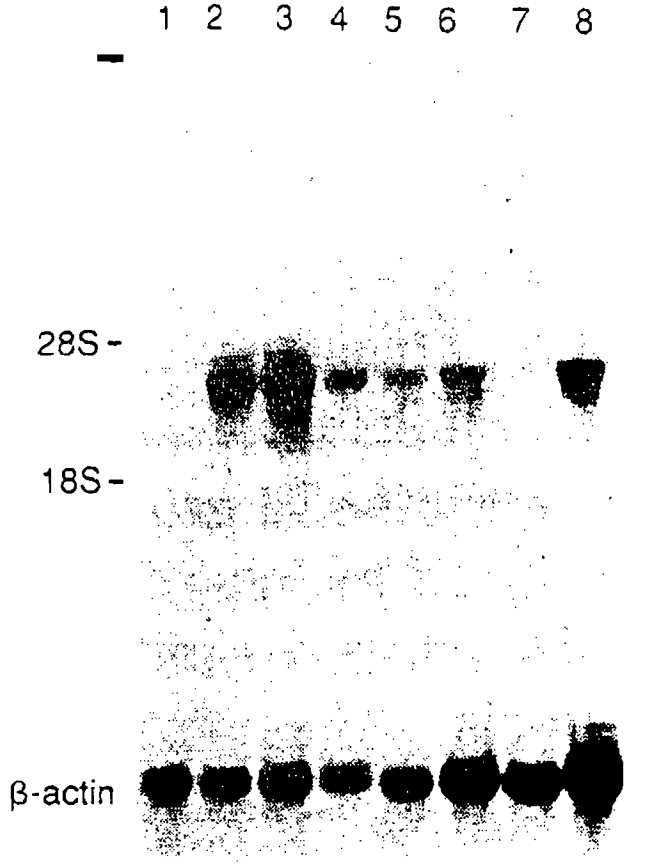

Fig. 5 Expression of VEGF mRNA in cultured cells under hypoxic conditions. (from Ref. 32)

metalloprotease-1）mRNAの発現量の増加を招くのも知られている[27]．さらには，VEGFの投与により，tissue inhibitor of metalloproteinase mRNAの発現量の減少もみられている．VEGFによる血管新生過程には，metalloproteinase mRNA

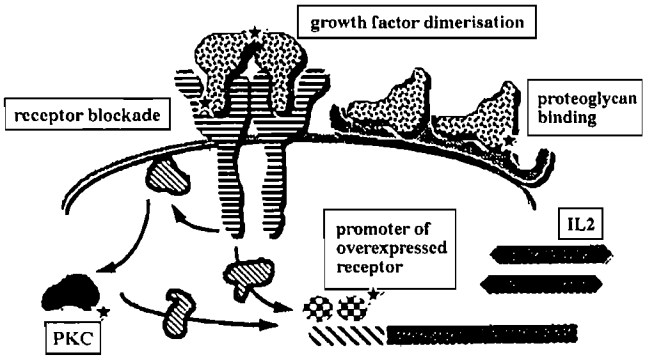

Fig. 6 Sites of action of suramin (★), on which suramin blockades receptors of growth factors. (from Ref. 40)

発現増加，間質コラゲナーゼの増加，tissue inhibitorの減少がみられる．

6）VEGFの発現

ある種のサイトカイン（IL-8, TNF-α）が内皮細胞機能を調整し，これらのサイトカインは血管新生作用を有しているのは既に知られている[27]．関節リウマチの症例においては，VEGFが滑膜細胞に多く発現している例が示されている[28]（Fig. 4）．サイトカインIL-8, TNF-αは滑膜組織のマクロファージ由来であろうとされている[29]．ヒトVEGFの遺伝子クローニングが行われ，スプライシングの違いによりVEGFのサブタイプができあがるとされている．また，培養平滑筋細胞でのVEGF転写は，12-O-tetradecanoyl-phorbol-13-acetateにより，促進されるのも報告されている[30]．マウス胎児由来線維芽細胞NIH 3T3を用いた実験において，PDGFとphorbol esterはVEGF mRNAの発現を増加させる．とくに，プロテインキナーゼCの多量発現を行った細胞においては，VEGF mRNAの発現量は増大するのが示されている．これらの結果から，プロテインキナーゼCの刺激は，VEGF mRNAの発現量を増加させる事実が判明した[31]．低酸素状態では，VEGF mRNAの発現がみられる（Fig. 5）．この現象は，低酸素が引き金となりVEGFを誘導し，最終的には血管新生を惹起し，組織の低酸素状態からの脱出を計る生体防御の一方法であろう[32]．VEGF mRNAの発現は血管内皮細胞以外では，線維芽細胞にも認められる．ヒト乳癌組織では，腫瘍の増大，進展に伴い，腫瘍周辺組織は血管新生を随伴しなければ低酸素状態になる．このような状態下の線維芽細胞では，VEGF mRNAの発現増強，VEGF蛋白のアップレギュレーションが生じる．これらの機序を介して，乳癌の血管新生には乳腺組織線維芽細胞が，重要な役割を演じているのが明らかにされた[33]．

女性生殖器系の生殖生理学においては，血管新生にかかわる4つの過程が知られている．

i） 卵胞の血管新生
ii） 黄体の血管新生
iii） 子宮内膜血管の修復
iv） 胎児の着床

である．これらの過程には，VEGFの関与による血管新生が予想される．生殖生理学領域におけるVEGFの発現はホルモンにより調節されている．ステロイドホルモン，とりわけゴナドトロピンによる発現調節がみられる[34]．臨床的には，ovarian hyperstimulation syndrome（OHSS）では，血管新生の過度の増生，血管透過性亢進による漏出液の貯留がみられる．一方，メラノーマの異種移植にみられる腫瘍血管新生には，VPFのmRNA発現が重要であると報告されている[35]．

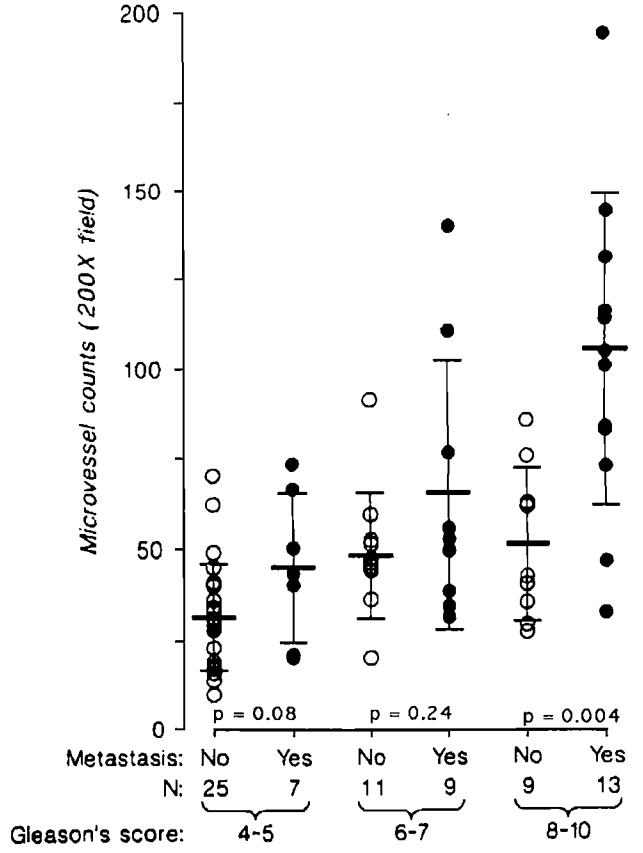

Fig. 7 Correlation of the microvessel counts and tumor metastasis. Plot showing the microvessel counts increasing with the presence of metastasis. (from Ref. 50)
● : Carcinomas that metastasized
○ : Carcinomas that remained localized

7）Vascular permeability factor（VPF）/VEGFの透過性の特性

従来より，血管透過性亢進を引き起こす物質としては，ヒスタミン，ブラジキニン，zymosan-activated PGE_2，補体C5a，血小板活性化因子（PAF）等が知られている．VPFはPGE_2と相乗作用を有し，血管透過性の増強を示す．透過亢進に至るまでの時間経過は，C5aは2.5時間であるのに対してVPFは30分間である．VPFは血管内皮細胞に作用すると，遅延性，一過性の細胞内カルシウム量の増加，イノシトール3リン酸の形成，von Willebrand因子放出の亢進がみられる．さらには，VPF/VEGFはヘパリン存在下で血管内皮細胞への結合が強くなる等の特徴を有している[36]．VPF/VEGFは，微小血管の透過性を有するだけではなく，血管新生内皮細胞の増殖を惹起する．腫瘍においては，血管新生が顕著にみられる．その機序としては，VPF/VEGFが特に作用しやすい腫瘍血管の特徴的

構造の存在が想定される.腫瘍血管は,高い透過性を有した構造的基盤を有している.細静脈および 微小血管の標本をみると,腫瘍血管内皮細胞では高分子トレーサーの細胞内輸送が生じ,細胞内小器官様構造のvesiculo-vascular organellesが良く発達している.そのために,高分子トレーサーが腫瘍血管以外のものと比して,3～10倍漏出しやすいとの結果が得られている.正常な微小血管では,漏出機序の主役は,cytoplasmic vesicle, transendothelial channel, intercellular cleftであり,腫瘍血管のそれとは大きく異なっている[37].これが,腫瘍における血管新生へのVPF/VEGFの関与を最大限生かすことにもなる.さらには,腫瘍の治療へモノクローナル抗体,高分子量のサイトカインを使用できる根拠となる.すなわち,腫瘍組織の血管は高分子量の物質が血行性に組織へと移行可能となる血管構造を有しているためである.VPF/VEGFは,培養血管内皮細胞に対して以下の6点の作用を示す.i)一過性の細胞内カルシウム量の増加,ii)形態変化,iii)細胞分裂,iv)細胞の遊走,v)t-PA, u-PA, PAI-1,間質コラゲナーゼmRNAの発現,vi)血管新生である.特に,血管新生は4つの過程を経るのが知られている.第一に内皮細胞の分裂,第二に血管基底膜の選択的破壊,第三には血管外周囲のマトリックスの分解,第四には血管内皮細胞の遊走の過程である.これらの全過程にVPF/VEGFが関与している.内皮細胞には,VEGFのもつ成長因子作用を受けるレセプターとVEGFのもつVPF作用を受けるレセプターの2種が存在すると想定される.血管透過性と血管新生とが直接的に連なった過程ではないが,血管透過性は血管新生過程に重要な意味をもっている[38].

8)VEGF発現抑制と腫瘍進展・転移の抑制

癌遺伝子*ras*の変異はVPF/VEGFの発現を促進させるのが知られている.変異*ras*は腫瘍発生,血管新生を引き起こす.特に変異*ras*のK-*ras*, H-*ras*はVPF/VEGFの蛋白質,mRNAの発現量を増加させる.対立遺伝子の片方のK-*ras*のみが活性化されていてもヒト大腸癌由来細胞株ではVPF/VEGF活性の増加が引き起こされるが,活性化K-*ras*が破壊されている細胞株ではVPF/VEGF活性の減少が引きおこされるのも知られている.さらには,*ras*蛋白機能の破壊を薬物を用いて行うのが可能である.すなわち,L-739.749 (protein farnesyltransferase inhibitor)が,*ras*蛋白機能の破壊をおこすのを,H-ras遺伝子をトランスフェクトしたラットの腸管上皮細胞を用いて証明している[39].VEGFのレセプターと競合する薬物により細胞内情報伝達を遮断し,VEGFの作用を抑制するものとしてsuramin (poly sulfonated compound)がある.また,プロテインキナーゼCに対するアンタゴニストとしてbryostatinがあり,これらは腫瘍増大や血管新生を抑制する[40] (Fig. 6).VEGFに対するモノクローナル抗体は,*in vivo*で腫瘍の増大を抑制した.しかしながら,*in vitro*では腫瘍細胞の成長率に何らの影響も示さなかった.また,このモノクローナル抗体で処置された腫瘍は,血管密度が減少していた.腫瘍細胞から作られる血管新生因子の抑制は,生体内では腫瘍増大を抑制する可能性が示された.すなわち,VEGFの抑制は腫瘍増大および進展を抑制する可能性が示唆された[41].レトロウイルスを用いてFlk-1/VEGFレセプターのdominant-negative mutantを内皮細胞に導入し,ヌードマウスの腫瘍増大を調べた.その結果から,Flk-1/VEGF系が血管新生と腫瘍増大の中心的役割を演じているのが明らかになった[42].p53 (phosphoprotein 53)は.癌抑制遺伝子産物であり,*p53*は本来は正常細胞の成長,分化の調節に関与している遺伝子である.しかしながら,*p53*遺伝子の変異がしばしばヒト腫瘍にみられる.この変異により機能しない蛋白分子の半減期が延長し,腫瘍細胞核に蓄積する.そのため,腫瘍の進展が生じるとされている.臨床的に進行期の腫瘍にはp53変異蛋白質の出現頻度が高くみられる[43].VEGFは,チロシンキナーゼレセプターを介して血管新生を促進している.また,fms様 チロシンキナーゼレセプターのcDNAが,内皮細胞ライブラリーからクローン化されているが,このcDNAとは異なるmRNAコード領域が内皮細胞に存在するのが確認されている.次いで細胞内チロシンキナーゼドメイン,膜貫通ドメイン部を欠除した可溶型fms様 チロシンキナーゼレセプターmRNAが作製された.これを用いて作製されたリコンビナント可溶型レセプターは,高い結合性を有してVEGFと結合し,VEGFのもつ増殖促進活性を抑制するのがみられた.この可溶型レセプターは,VEGFに対する効率的なアンタゴニストとして生体内においても有効であろうと報告されている[44].VEGFは,ヘパリンへの結合性が非常に強いのが知られている.特に,血管内皮細胞はVEGFとの結合後に,増殖促進活性が発揮される.suraminはヘパリン/ヘパラン硫酸の類似化合物であり,VEGFのヘパリン結合性血管新生活性を抑制する.しかしながら,PDGF等非ヘパリン結合性血管新生活性因子に対しては,suraminは抑制作用を有しないのが明らかになっている[45].真菌由来のTNP-470は,血管新生に対する抑制物質として作用する.これを用いた動物実験では,肺転移を強く抑制するのがみられている.TNP-470は腫瘍細胞の転移を防止するために,臨床的に有効な投与薬剤となるであろうと期待されている[46].

9)VEGFの血管新生作用と転移

1980年代後半には,血管からの一過性の血液成分漏出と内皮細胞の分裂を引きおこす物質の存在が知られていた.アミノ酸分析やcDNA塩基配列解析の結果から,VPFとVEGFは同一物質であるのが判明した.そうして,VEGFは選択的血管新生因子であるとされた[47].癌の浸潤,転移の成立は,単一遺伝子により支配されているのではなく,effecter geneのセットとして関与しているとの考えが一般的である.セリン/スレオニンキナーゼはv-*mos*, v-*raf*, A-*raf*,チロシンキナーゼはv-*src*, v-*fes*, v-*fms*, *p53*変異等が1セットとして癌転移に関与している[48].腫瘍がある一定以上の大きさになるためには,血管新生が必須である.臨床的には,腫瘍の血管新生の程度を把握することは,治療法の選択のための情報となる[49, 50] (Fig. 7).non-small-cell lung cancerにおいては,腫瘍内の新生血管密度が高ければ,転移の可能性が高いとされている[51].ヒト神経膠芽腫においても,腫瘍血管新生因子としては,VEGFがその主役を担っているのが明らかにされた.また,正常内皮細胞にはVEGFレセプターファミリー(Flt)の存在はみられないが,腫瘍の血管内皮細胞では,Fltの発現の多いのが知られている[52].

おわりに

本稿ではVPF/VEGFの癌の浸潤,転移との関係を中心に述べてきたが,近年,VPF/VEGFが癌の浸潤,転移以外の種々

の病態形成に関与する可能性が露呈されている．アレルギー炎症におけるVEGFの役割がその一例である．I型アレルギー炎の標的細胞として，代表的なものは肥満細胞である．この肥満細胞には高親和性IgEレセプターの存在が知られている．標的細胞周囲でのIgEの増加により，肥満細胞膜上のFcεレセプターIのアップレギュレーションが生じる[53]．このアップレギュレーション後に肥満細胞からのVPF/VEGF放出の増強がみられる[54]．肥満細胞からのVPF/VEGFの分泌は，アレルギー炎症巣，特に慢性化した炎症巣の組織再構築，血管新生の引き金となるであろう．一方，VPF/VEGFによる血管透過性亢進により，循環血中のIgEが血管外に漏出し，再度IgEレセプターのアップレギュレーションを引きおこし，その後に引き続く血管透過性亢進により，アレルギー炎症の増悪が一層強まる．このような悪循環の引き金を，肥満細胞由来のVPF/VEGFが担っている可能性がある．

VEGFの由来については，内皮細胞，線維芽細胞，肥満細胞であるのが知られている．しかしながら，これら以外からのものも知られている．hair dermal papilla cellにも細胞増殖因子が存在する．この細胞増殖因子に対する抗体を用いると，内皮細胞の分裂，増殖が抑制されることから，VEGFと同定されている．毛の発生には，VEGFによる血管新生が必要であるのがみられている[55]．VEGFに関する研究は，腫瘍の進展，転移との関わりだけではなく，多くの生理的，病態生理的現象との関わりにおいても更に深化されるであろう．

文 献

1) Kosugi T., Huang G.W., Nakamura M., Koja S. and Nong H.T.: Identification of a plasminogen activator derived from nasopharyngeal carcinoma. Eur. Arch. Otorhinolaryngol. 247: 374-378, 1990.

3) Schmitt M., Willhelm O., Janicke F., Magdolen V., Reuning U., Ohi H., Moniwa N., Kobayashi H., Weidle U. and Graeff H.: Urokinase-type plasminogen activator (uPA) and its receptor (CD87): a new target in tumor invasion and metastasis. J. Obstet. Gynecol. 21: 151-165, 1995.

3) Lijnen H.R. and Collen D.: Matrix metalloprotease system deficiencies and matrix degradation. Thromb. Haemost. 82: 837-845, 1999.

4) Huang G.W., Nong H.T., Yu Q.S., Kinjoh K., Nakamura M. and Kosugi T. Platelet aggregation in head and neck tumors in China. Laryngoscope 107: 1142-1145, 1997.

5) Gastper H., Ambrus J.L. and Amburus C.M.: Platelet cancer cell interaction in metastasis formation. Platelet aggregation inhibitors: a possible approach to metastasis prevention. Prog. Clin. Biol. Res. 89: 63-82, 1982.

6) Watanabe S.: The metastasizability of tumor cells. Cancer 7: 215-223, 1954.

7) Knisely W.H. and Mahaley M.S. Jr.: Relationship between size and distribution of "spontaneous" metastasis and three sizes of intravenously injected particles of VX2 carcinoma. Cancer Res. 18: 900-905, 1958.

8) Nadel E.M.: Prefatory remarks for symposium issue of Acta Cytologica. Acta Cytol. 9: 3, 1965.

9) Fidler I.J.: The relationship of embolic homogeneity, number, size and viability to the incidence of experimental metastasis. Eur. J. Cancer 9: 223-227, 1973.

10) Liotta L.A., Kleinerman J. and Saidel G.M.: The significance of hematogenous tumor cell clumps in the metastatic process. Cancer Res. 36: 889-894, 1976.

11) Warren B.A.: The ultrastructure of capillary sprouts induced by melanoma transplants in golden hamster. J. R. Microsc. Soc. 86: 177-187, 1966.

12) Folkman J.: What is the evidence that tumors are angiogenesis dependent? J. Natl. Cancer Inst. 82: 4-6, 1990.

13) Folkman J. Tumor angiogenesis: Therapeutic implications. New Eng. J. Med. 285: 1182-1186, 1971.

14) Senger D.R., Galli S.J., Dvorak A.M., Perruzzi C.A., Harvey V.S. and Dvorak H.F.: Tumor cells secrete a vascular permeability factor that promotes accumulation of ascites fluid. Science 219: 983-985, 1983.

15) Senger D.R., Connolly D.T., Van De Water L., Feder J. and Dvorak H.F.: Purification and NH_2-terminal amino acid sequence of guinea pig tumor-secreted vascular permeability factor. Cancer Res. 50: 1774-1778, 1990.

16) Connolly D.T., Heuvelman D.M., Nelson R., Olander J.V., Eppley B.L., Delfino J.J., Siegel N.R., Leimgruber R.M. and Feder J.: Tumor vascular permeability factor stimulates endothelial cell growth and angiogenesis. J. Clin. Invest. 84: 1470-1478, 1989.

17) Keck P.J., Hauser S.D., Krivi G., Sanzo K., Warren T., Feder J. and Connolly D.T.: Vascular permeability factor, an endothelial cell mitogen related to PDGF. Science 246: 1309-1312, 1989.

18) Leung D.W., Cachlanes G., Kuang W.-J., Goeddel D.V. and Ferrara N.: Vascular endothelial growth factor is a secreted angiogenic mitogen., Science 246: 1306-1309, 1989.

19) Maeda K., Chung Y.-S., Ogawa Y., Takatsuka S., Kang S.-M., Ogawa M., Sawada T. and Sowa M.: Prognostic value of vascular endothelial growth factor expression in gastric carcinoma. Cancer 77: 858-863, 1996.

20) Brown L.F., Berse B., Jackman R.W., Tognazzi K., Mansean E.J. Senger D.R. and Dvorak H.F.: Expression of vascular permeability factor (vascular endothelial growth factor) and its receptors in adenocarcinomas of the gastrointestinal tract. Cancer Res. 53: 4727-4735, 1993.

21) Brown L.F., Berse B., Jackman R.W., Tognazzi K., Guidi A.J., Dvorak H.F. Senger D.R., Connolly J.L. and Schnitt S.J.: Expression of vascular permeability factor (vascular endothelial growth factor) and its receptors in breast cancer. Human Path. 26: 86-91, 1995.

22) Vartanian R.K. and Weidner N.: Correlation of intratumoral endothelial cell proliferation with microvessel density (tumor angiogenesis) and tumor cell prolifera-

tion in breast carcinoma. Am. J. Path. 144: 1188-1194, 1994.
23) Srivastava A., Laidler P., Davies R.P., Horgan K. and Hughes L.: The prognostic significance of tumor vascularity in intermediate-thickness (0.76-4.0 mm thick) skin melanoma. A quantitative histologic study. Am. J. Path. 133: 419-423. 1988.
24) Takahashi Y., Kitadai Y., Bucana C.D., Cleary K.R. and Ellis L.M.: Expression of vascular endothelial growth factor and its receptor, KDR, correlates with vascularity, metastasis, and proliferation of human color cancer. Cancer Res. 55: 3964-3968 1995.
25) Mustonen T. and Alitalo K.: Endothelial receptor tyrosine kinases involved in angiogenesis. J. Cell. Biol. 129: 895-898, 1995.
26) Pepper M.S., Ferrara N., Orci C. and Montesano R.: Vascular endothelial growth factor (VEGF) induces plasminogen activators and plasminogen activator inhibitor-1 in microvascular endothelial cells. Biochem. Biophys. Res. Commun. 181: 902-906, 1991.
27) Unemori E.N., Ferrara N., Bauer E.A. and Amento E.P.: Vascular endothelial growth factor induces interstitial collagenase expression in human endothelial cells. J. Cell. Physiol. 153: 557-562, 1992.
28) Koch A.E., Harlow L.A., Haines G.K., Amento E.P., Unemori E.N., Wong W.L., Pope R.M. and Ferrara N.: Vascular endothelial growth factor. A cytokine modulating endothelial function in rheumatoid arthritis. J. Immunol. 152: 4149-4156, 1994.
29) Koch A.E., Polverini P.J., Kunkel S.L., Harlow L.A., DiPietro L.A., Elner V.M., Elner S.G. and Strieter R.M.: Interleukin-8 as a macrophage-derived mediator of angiogenesis. Science 258: 1798-1801, 1992.
30) Tischer E., Mitchell R., Hartman T., Silva M., Gospodarowicz D., Fiddes J.C. and Abraham J.A.: The human gene for vascular endothelial growth factor. Multiple protein forms are encoded through alternative exon splicing. J. Biol. Chem. 266: 11947-11954, 1991.
31) Finkenzeller G., Marmé D., Weich H.A. and Hug H.: Platelet-derived growth factor-induced transcription of the vascular endothelial growth factor gene is mediated by protein kinase C. Cancer Res. 52: 4821-4823, 1992.
32) Shweiki D., Itin A., Soffer D. and Keshet E.: Vascular endothelial growth factor induced by hypoxia may mediate hypoxia-initiated angiogenesis. Nature 359: 843-845, 1992.
33) Hlatky L., Tsionou C., Hahnfeldt P. and Coleman C.N.: Mammary fibroblasts may influence breast tumor angiogenesis via hypoxia-induced vascular endothelial growth factor up-regulation and protein expression. Cancer Res. 54: 6083-6086, 1994.
34) Shweiki D., Itin A., Neufeld G., Gitay-Goren H. and Keshet E.: Patterns of expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and VEGF receptors in mice suggest a role in hormonally regulated angiogenesis. J. Clin. Invest. 91: 2235-2243, 1993.
35) Pötgens A.J.G., Lubsen N.H., Van Altena M.C., Schoenmakers J.G.G., Ruiter, D.J. and De Waal, R.M.W.: Vascular permeability factor expression influences tumor angiogenesis in human melanoma lines xenografted to nude mice. Am. J. Pathol. 146: 197-209, 1995.
36) Collins P.D., Connolly D.T. and Williams T.J.: Characterization of the increase in vascular permeability induced by vascular permeability factor *in vivo*. Br. J. Pharmacol. 109: 195-199, 1993.
37) Kohn S., Nagy J.A., Dvorak H.F. and Dvorak A.M.: Pathways of macromolecular tracer transport across venules and small veins. Structural basis for the hyperpermeability of tumor blood vessels. Lab. Invest. 67: 596-607, 1992.
38) Dcorak H.F., Brown L.F., Detmar M. and Dvorak A.M.: Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor, microvascular hyperpermeability, and angiogenesis. Am. J. Path. 146: 1029-1039, 1995.
39) Rak J., Mitsuhashi Y., Bayko L., Filmus J., Shirasawa S., Sasazuki T. and Kerbel R.S.: Mutant *ras* oncogenes upregulate VEGF/VPF expression: Implications for induction and inhibition of tumor angiogenesis. Cancer Res. 55: 4575-4580, 1995.
40) Harris A.L., Fox S., Bicknell R., Leek R., Relf M., Lejeune S. and Kaklamanis L.: Gene therapy through signal transduction pathway and angiogenic growth factor as therapeutic targets in breast cancer. Cancer (Suppl.) 74: 1021-1025, 1994.
41) Kim K.J., Li B., Winer J., Armanini M., Gillett N., Phillips H.S. and Ferrara N.: Inhibition of vascular endothelial growth factor-induced angiogenesis suppresses tumor growth *in vivo*. Nature 362: 841-844, 1993.
42) Millauer B., Shawver L.K., Plate K.H., Risau W. and Ullrich A.: Glioblastoma growth inhibited *in vivo* by a dominant-negative Flk-1 mutant. Nature 367: 576-579, 1994.
43) Gasparini G., Weidner N., Maluta S., Pozza F., Boracchi P., Mezzetti M., Testolin A. and Bevilacqua P.: Intratumoral microvessel density and p53 protein: correlation with metastasis in head-and-neck squamous-cell carcinoma. Int. J. Cancer 55: 739-744, 1993.
44) Kendall R.L. and Thomas K.A.: Inhibition of vascular endothelial cell growth factor activity by an endogenously encoded soluble receptor. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 10705-10709, 1993.
45) Hu D.E. and Fan T.-P.D.: Suramin inhibits the angiogenic activity of vascular endothelial growth factor *in vivo*. Br. J. Pharmocol. 112 (Suppl.): 581P, 1994.
46) Yanase T., Tamura M., Fujita K., Kodama S. and Tanaka K.: Inhibitory effect of angiogenesis inhibitor

TNP-470 on tumor growth and metastasis of human cell lines *in vitro* and *in vivo*. Cancer Res. 53: 2566-2570, 1993.

47) Thomas K.A.: Vascular endothelial growth factor, a potent and selective angiogenic agent. J. Biol. Chem. 271: 603-606, 1996.

48) Liotta L.A. and Stetler-Stevenson W.G.: Tumor invasion and metastasis: An imbalance of positive and negative regulation. Cancer Res. 51 (Suppl.): 5054s-5059s, 1991.

49) Weidner N., Semple J.P., Welch W.R. and Folkman J.: Tumor angiogenesis and metastasis-correlation in invasive breast carcinoma. New Eng. J. Med. 324: 1-8. 1991.

50) Weidner N., Carroll P.R., Flax J., Blumenfeld W. and Folkman J.: Tumor angiogenesis correlates with metastasis in invasive prostate carcinoma. Am. J. Path. 143: 401-409, 1993.

51) Macchiarini P., Fontanini G., Hardin M.J., Squartini F. and Angeletti C.A.: Relation of neovascularisation to metastasis of non-small-cell lung cancer. Lancet 340: 145-146, 1992.

52) Plate K.H., Breier G., Weich H.A. and Risau W.: Vascular endothelial growth factor is a potential tumor angiogenesis factor in human gliomas *in vivo*. Nature 359: 845-848, 1992.

53) Yamaguchi M., Lantz C.S., Oettgen H.C., Katona I.M., Fleming T., Miyajima I., Kinet J.-P. and Galli S.J.: IgE enhances mouse mast cell Fcε RI expression *in vitro* and *in vivo*: evidence for a novel amplification mechanism in IgE-dependent reactions. J. Exp. Med. 185: 663-672, 1997.

54) Boesiger J., Tsai M., Mauer M., Yamaguchi M., Brown L.F., Claffey K.P., Dvorak H.F. and Galli S.J.: Mast cells can secrete vascular permeability factor/vascular endothelial cell growth factor and exhibit enhanced release after immunoglobulin E-dependent uprequlation of Fcε receptor 1 expression. J. Exp. Med. 188: 1135-1145, 1998.

55) Lachgar S., Moukadiri H., Jonca F., Charveron M., Bouhaddioui N., Gall Y., Bonafe J.L. and Plouët J.: Vascular endothelial growth factor is an autocrine growth factor for hair dermal papilla cells. J. Invest. Dermatol. 106: 17-23, 1996.