

- 11) Hurwitz, H., Fehrenbacher, L., Novotny, W., Cartwright, T., Hainsworth, J., Heim, W., Berlin, J., Baron, A., Griffing, S., Holmgren, E., Ferrara, N., Fyfe, G., Rogers, B., Ross, R. and Kabbinavar, F.: *N Engl J Med*, **350**(23), 2335-42 (2004).
- 12) Hudis, C. A.: *Oncology (Williston Park)*, **19** (4 Suppl 3), 26-31 (2005).
- 13) Lenz, H. J.: *Oncology (Williston Park)*, **19**(4 Suppl 3), 17-25 (2005).
- 14) Jain, R. K.: *Oncology (Williston Park)*, **19**(4 Suppl 3), 7-16 (2005).
- 15) Benouchan, M. and Colombo, B. M.: *Int J Oncol*, **27**(2), 563-71 (2005).
- 16) Harper, J. and Moses, M. A.: *Exs*, (96), 223-68 (2006).
- 17) Milkiewicz, M., Ispanovic, E., Doyle, J. L. and Haas, T. L.: *Int J Biochem Cell Biol*, **38** (3), 333-57 (2006).
- 18) Folkman, J. and Kalluri, R.: *Nature*, **427** (6977), 787 (2004).
- 19) Hanahan, D. and Folkman, J.: *Cell*, **86**(3), 353-64 (1996).
- 20) Asahara, T., Masuda, H., Takahashi, T., Kalka, C., Pastore, C., Silver, M., Kearne, M., Magner, M. and Isner, J. M.: *Circ Res*, **85** (3), 221-8 (1999).
- 21) Lyden, D., Hattori, K., Dias, S., Costa, C., Blaikie, P., Butros, L., Chadburn, A., Heissig, B., Marks, W., Witte, L., Wu, Y., Hicklin, D., Zhu, Z., Hackett, N. R., Crystal, R. G., et al.: *Nat Med*, **7**(11), 1194-201 (2001).
- 22) Rak, J., Filmus, J. and Kerbel, R. S.: *Eur J Cancer*, **32A**(14), 2438-50 (1996).
- 23) Brooks, P. C., Stromblad, S., Klemke, R., Visscher, D., Sarkar, F. H. and Cheresch, D. A.: *J Clin Invest*, **96**(4), 1815-22 (1995).
- 24) Skobe, M., Rockwell, P., Goldstein, N., Vosseler, S. and Fusenig, N. E.: *Nat Med*, **3**(11), 1222-7 (1997).
- 25) Folkman, J.: *Adv Cancer Res*, **43**, 175-203 (1985).
- 26) Cavallaro, U. and Christofori, G.: *J Neurooncol*, **50**(1-2), 63-70 (2000).
- 27) Fidler, I. J.: *J Nail Cancer Inst Monogr*, (28), 10-4 (2001).
- 28) Hasan, J., Byers, R. and Jayson, G. C.: *Br J Cancer*, **86**(10), 1566-77 (2002).
- 29) Dvorak, H. F.: *J Clin Oncol*, **20**(21), 4368-80 (2002).
- 30) Patan, S., Munn, L. L. and Jain, R. K.: *Microvasc Res*, **51**(2), 260-72 (1996).
- 31) Patan, S., Tanda, S., Roberge, S., Jones, R. C., Jain, R. K. and Munn, L. L.: *Circ Res*, **89** (8), 732-9 (2001).
- 32) Patan, S., Munn, L. L., Tanda, S., Roberge, S., Jain, R. K. and Jones, R. C.: *Circ Res*, **89** (8), 723-31 (2001).
- 33) 新見伸吾, 原島 瑞, 日向昌司, 野間誠司, 川西 徹, 早川堯夫: *医薬品研究*, **37**(10), 641-670 (2006).
- 34) Jain, R. K.: *Nat Med*, **7**(9), 987-9 (2001).
- 35) Carmeliet, P.: *Nat Med*, **6**(4), 389-95 (2000).
- 36) Jain, R. K., Schlenger, K., Hockel, M. and Yuan, F.: *Nat Med*, **3**(11), 1203-8 (1997).
- 37) Jain, R. K.: *Nat Med*, **9**(6), 685-93 (2003).
- 38) Isner, J. M.: *Nature*, **415**(6868), 234-9 (2002).
- 39) Rafii, S., Lyden, D., Benezra, R., Hattori, K. and Heissig, B.: *Nat Rev Cancer*, **2**(11), 826-35 (2002).
- 40) Duda, D. G., Cohen, K. S., Scadden, D. T. and Jain, R. K.: *Nat Protoc*, **2**(4), 805-10 (2007).
- 41) Stoll, B. R., Migliorini, C., Kadambi, A., Munn, L. L. and Jain, R. K.: *Blood*, **102**(7), 2555-61 (2003).
- 42) Jain, R. K.: *Science*, **307**(5706), 58-62 (2005).
- 43) Jain, R. K.: *Sci Am*, **271**(1), 58-65 (1994).
- 44) Bottaro, D. P. and Liotta, L. A.: *Nature*, **423** (6940), 593-5 (2003).
- 45) Semenza, G. L.: *Nat Rev Cancer*, **3**(10), 721-32 (2003).
- 46) Ferrara, N.: *Oncologist*, **9**, Suppl 1, 2-10 (2004).
- 47) Padro, T., Bieker, R., Ruiz, S., Steins, M., Retzlaff, S., Burger, H., Buchner, T., Kessler, T., Herrera, F., Kienast, J., Muller-Tidow, C., Serve, H., Berdel, W. E. and Mesters, R. M.: *Leukemia*, **16**(7), 1302-10 (2002).
- 48) Yoshiji, H., Gomez, D. E., Shibuya, M. and Thorgeirsson, U. P.: *Cancer Res*, **56**(9), 2013-6 (1996).
- 49) Guidi, A. J., Abu-Jawdeh, G., Tognazzi, K., Dvorak, H. F. and Brown, L. F.: *Cancer*, **78** (3), 454-60 (1996).
- 50) Harada, Y., Ogata, Y. and Shirouzu, K.: *Int J Clin Oncol*, **6**(5), 221-8 (2001).
- 51) Fontanini, G., Faviana, P., Lucchi, M., Boldrini, L., Mussi, A., Camacci, T., Mariani, M. A., Angeletti, C. A., Basolo, F. and Pingitore,

- R.: *Br J Cancer*, **86**(4), 558-63 (2002).
- 52) Yuan, A., Yu, C. J., Kuo, S. H., Chen, W. J., Lin, F. Y., Luh, K. T., Yang, P. C. and Lee, Y. C.: *J Clin Oncol*, **19**(2), 432-41 (2001).
- 53) Bando, H., Weich, H. A., Brokelmann, M., Horiguchi, S., Funata, N., Ogawa, T. and Toi, M.: *Br J Cancer*, **92**(3), 553-61 (2005).
- 54) Tanigawa, N., Amaya, H., Matsumura, M. and Shimomatsuya, T.: *J Clin Oncol*, **15**(2), 826-32 (1997).
- 55) Fine, B. A., Valente, P. T., Feinstein, G. I. and Dey, T.: *Gynecol Oncol*, **76**(1), 33-9 (2000).
- 56) Kim, K. J., Li, B., Winer, J., Armanini, M., Gillett, N., Phillips, H. S. and Ferrara, N.: *Nature*, **362**(6423), 841-4 (1993).
- 57) Gerber, H. P. and Ferrara, N.: *Cancer Res*, **65**(3), 671-80 (2005).
- 58) Warren, R. S., Yuan, H., Matli, M. R., Gillett, N. A. and Ferrara, N.: *J Clin Invest*, **95**(4), 1789-97 (1995).
- 59) Ignoffo, R. J.: *Am J Health Syst Pharm*, **61**(21 Suppl 5), S21-6 (2004).
- 60) Borgstrom, P., Gold, D. P., Hillan, K. J. and Ferrara, N.: *Anticancer Res*, **19**(5B), 4203-14 (1999).
- 61) Presta, L. G., Chen, H., O'Connor, S. J., Chisholm, V., Meng, Y. G., Krummen, L., Winkler, M. and Ferrara, N.: *Cancer Res*, **57**(20), 4593-9 (1997).
- 62) Fernando, N. H. and Hurwitz, H. I.: *Semin Oncol*, **30**(3 Suppl 6), 39-50 (2003).
- 63) Holash, J., Davis, S., Papadopoulos, N., Croll, S. D., Ho, L., Russell, M., Boland, P., Leidich, R., Hylton, D., Burova, E., Ioffe, E., Huang, T., Radziejewski, C., Bailey, K., Fandl, J. P., et al.: *Proc Natl Acad Sci U S A*, **99**(17), 11393-8 (2002).
- 64) Konner, J. and Dupont, J.: *Clin Colorectal Cancer*, **4**, Suppl 2, S81-5 (2004).
- 65) Kim, E. S., Serur, A., Huang, J., Manley, C. A., McCrudden, K. W., Frischer, J. S., Soffer, S. Z., Ring, L., New, T., Zabski, S., Rudge, J. S., Holash, J., Yancopoulos, G. D., Kandel, J. J. and Yamashiro, D. J.: *Proc Natl Acad Sci U S A*, **99**(17), 11399-404 (2002).
- 66) Huang, J., Frischer, J. S., Serur, A., Kadenhe, A., Yokoi, A., McCrudden, K. W., New, T., O'Toole, K., Zabski, S., Rudge, J. S., Holash, J., Yancopoulos, G. D., Yamashiro, D. J. and Kandel, J. J.: *Proc Natl Acad Sci U S A*, **100**(13), 7785-90 (2003).
- 67) Byrne, A. T., Ross, L., Holash, J., Nakanishi, M., Hu, L., Hofmann, J. I., Yancopoulos, G. D. and Jaffe, R. B.: *Clin Cancer Res*, **9**(15), 5721-8 (2003).
- 68) Fukasawa, M. and Korc, M.: *Clin Cancer Res*, **10**(10), 3327-32 (2004).
- 69) Inai, T., Mancuso, M., Hashizume, H., Baffert, F., Haskell, A., Baluk, P., Hu-Lowe, D. D., Shalinsky, D. R., Thurston, G., Yancopoulos, G. D. and McDonald, D. M.: *Am J Pathol*, **165**(1), 35-52 (2004).
- 70) Frischer, J. S., Huang, J., Serur, A., Kadenhe-Chiweshe, A., McCrudden, K. W., O'Toole, K., Holash, J., Yancopoulos, G. D., Yamashiro, D. J. and Kandel, J. J.: *Int J Oncol*, **25**(3), 549-53 (2004).
- 71) Lin, P., Polverini, P., Dewhirst, M., Shan, S., Rao, P. S. and Peters, K.: *J Clin Invest*, **100**(8), 2072-8 (1997).
- 72) Lin, P., Sankar, S., Shan, S., Dewhirst, M. W., Polverini, P. J., Quinn, T. Q. and Peters, K. G.: *Cell Growth Differ*, **9**(1), 49-58 (1998).
- 73) Wang, E. S., Teruya-Feldstein, J., Wu, Y., Zhu, Z., Hicklin, D. J. and Moore, M. A.: *Blood*, **104**(9), 2893-902 (2004).
- 74) Prewett, M., Huber, J., Li, Y., Santiago, A., O'Connor, W., King, K., Overholser, J., Hooper, A., Pytowski, B., Witte, L., Bohlen, P. and Hicklin, D. J.: *Cancer Res*, **59**(20), 5209-18 (1999).
- 75) Zhu, Z., Rockwell, P., Lu, D., Kotanides, H., Pytowski, B., Hicklin, D. J., Bohlen, P. and Witte, L.: *Cancer Res*, **58**(15), 3209-14 (1998).
- 76) Lu, D., Shen, J., Vil, M. D., Zhang, H., Jimenez, X., Bohlen, P., Witte, L. and Zhu, Z.: *J Biol Chem*, **278**(44), 43496-507 (2003).
- 77) Zhu, Z., Hattori, K., Zhang, H., Jimenez, X., Ludwig, D. L., Dias, S., Kussie, P., Koo, H., Kim, H. J., Lu, D., Liu, M., Tejada, R., Friedrich, M., Bohlen, P., Witte, L., et al.: *Leukemia*, **17**(3), 604-11 (2003).
- 78) Jimenez, X., Lu, D., Brennan, L., Persaud, K., Liu, M., Miao, H., Witte, L. and Zhu, Z.: *Mol Cancer Ther*, **4**(3), 427-34 (2005).
- 79) Brekken, R. A., Overholser, J. P., Stastny, V. A., Waltenberger, J., Minna, J. D. and Thorpe, P. E.: *Cancer Res*, **60**(18), 5117-24 (2000).

- 80) Kunkel, P., Ulbricht, U., Bohlen, P., Brockmann, M. A., Fillbrandt, R., Stavrou, D., Westphal, M. and Lamszus, K.: *Cancer Res*, **61**(18), 6624-8 (2001).
- 81) Hicklin, D. J., Witte, L., Zhu, Z., Liao, F., Wu, Y., Li, Y. and Bohlen, P.: *Drug Discov Today*, **6**(10), 517-528 (2001).
- 82) Zhu, Z., Bohlen, P. and Witte, L.: *Curr Cancer Drug Targets*, **2**(2), 135-56 (2002).
- 83) Arora, N., Masood, R., Zheng, T., Cai, J., Smith, D. L. and Gill, P. S.: *Cancer Res*, **59**(1), 183-8 (1999).
- 84) Veenendaal, L. M., Jin, H., Ran, S., Cheung, L., Navone, N., Marks, J. W., Waltenberger, J., Thorpe, P. and Rosenblum, M. G.: *Proc Natl Acad Sci U S A*, **99**(12), 7866-71 (2002).
- 85) Frankel, A. E.: *Clin Cancer Res*, **8**(4), 942-4 (2002).
- 86) O'Reilly, M. S., Holmgren, L., Shing, Y., Chen, C., Rosenthal, R. A., Moses, M., Lane, W. S., Cao, Y., Sage, E. H. and Folkman, J.: *Cell*, **79**(2), 315-28 (1994).
- 87) Holmgren, L., O'Reilly, M. S. and Folkman, J.: *Nat Med*, **1**(2), 149-53 (1995).
- 88) Claesson-Welsh, L., Welsh, M., Ito, N., Anand-Apte, B., Soker, S., Zetter, B., O'Reilly, M. and Folkman, J.: *Proc Natl Acad Sci U S A*, **95**(10), 5579-83 (1998).
- 89) Lucas, R., Holmgren, L., Garcia, I., Jimenez, B., Mandriota, S. J., Borlat, F., Sim, B. K., Wu, Z., Grau, G. E., Shing, Y., Soff, G. A., Bouck, N. and Pepper, M. S.: *Blood*, **92**(12), 4730-41 (1998).
- 90) Parsons-Wingter, P., Lwai, B., Yang, M. C., Elliott, K. E., Milaninia, A., Redlitz, A., Clark, J. I. and Sage, E. H.: *Microvasc Res*, **55**(3), 201-14 (1998).
- 91) Moser, T. L., Stack, M. S., Asplin, I., Enghild, J. J., Hojrup, P., Everitt, L., Hubchak, S., Schnaper, H. W. and Pizzo, S. V.: *Proc Natl Acad Sci U S A*, **96**(6), 2811-6 (1999).
- 92) Moser, T. L., Kenan, D. J., Ashley, T. A., Roy, J. A., Goodman, M. D., Misra, U. K., Cheek, D. J. and Pizzo, S. V.: *Proc Natl Acad Sci U S A*, **98**(12), 6656-61 (2001).
- 93) Tarui, T., Miles, L. A. and Takada, Y.: *J Biol Chem*, **276**(43), 39562-8 (2001).
- 94) Troyanovsky, B., Levchenko, T., Mansson, G., Matvijenko, O. and Holmgren, L.: *J Cell Biol*, **152**(6), 1247-54 (2001).
- 95) Griscelli, F., Li, H., Bennaceur-Griscelli, A., Soria, J., Opolon, P., Soria, C., Perricaudet, M., Yeh, P. and Lu, H.: *Proc Natl Acad Sci U S A*, **95**(11), 6367-72 (1998).
- 96) Wajih, N. and Sane, D. C.: *Blood*, **101**(5), 1857-63 (2003).
- 97) O'Reilly, M. S., Boehm, T., Shing, Y., Fukai, N., Vasios, G., Lane, W. S., Flynn, E., Birkhead, J. R., Olsen, B. R. and Folkman, J.: *Cell*, **88**(2), 277-85 (1997).
- 98) Shichiri, M. and Hirata, Y.: *Faseb J*, **15**(6), 1044-53 (2001).
- 99) Dhanabal, M., Ramchandran, R., Waterman, M. J., Lu, H., Knebelmann, B., Segal, M. and Sukhatme, V. P.: *J Biol Chem*, **274**(17), 11721-6 (1999).
- 100) Yamaguchi, N., Anand-Apte, B., Lee, M., Sasaki, T., Fukai, N., Shapiro, R., Que, I., Lowik, C., Timpl, R. and Olsen, B. R.: *Embo J*, **18**(16), 4414-23 (1999).
- 101) Kim, Y. M., Hwang, S., Kim, Y. M., Pyun, B. J., Kim, T. Y., Lee, S. T., Gho, Y. S. and Kwon, Y. G.: *J Biol Chem*, **277**(31), 27872-9 (2002).
- 102) Bergers, G., Javaherian, K., Lo, K. M., Folkman, J. and Hanahan, D.: *Science*, **284**(5415), 808-12 (1999).
- 103) Boehm, T., Folkman, J., Browder, T. and O'Reilly, M. S.: *Nature*, **390**(6658), 404-7 (1997).
- 104) Dixelius, J., Cross, M. J., Matsumoto, T. and Claesson-Welsh, L.: *Cancer Lett*, **196**(1), 1-12 (2003).
- 105) Kim, Y. M., Jang, J. W., Lee, O. H., Yeon, J., Choi, E. Y., Kim, K. W., Lee, S. T. and Kwon, Y. G.: *Cancer Res*, **60**(19), 5410-3 (2000).
- 106) Lee, S. J., Jang, J. W., Kim, Y. M., Lee, H. I., Jeon, J. Y., Kwon, Y. G. and Lee, S. T.: *FEBS Lett*, **519**(1-3), 147-52 (2002).
- 107) Abdollahi, A., Hahnfeldt, P., Maercker, C., Grone, H. J., Debus, J., Ansorge, W., Folkman, J., Hlatky, L. and Huber, P. E.: *Mol Cell*, **13**(5), 649-63 (2004).
- 108) Eriksson, K., Magnusson, P., Dixelius, J., Claesson-Welsh, L. and Cross, M. J.: *FEBS Lett*, **536**(1-3), 19-24 (2003).
- 109) Schuch, G., Heymach, J. V., Nomi, M., Machluf, M., Force, J., Atala, A., Eder, J. P.,

- Jr., Folkman, J. and Soker, S.: *Cancer Res*, **63**(23), 8345-50 (2003).
- 110) Taddei, L., Chiarugi, P., Brogelli, L., Cirri, P., Magnelli, L., Raugeri, G., Ziche, M., Granger, H. J., Chiarugi, V. and Ramponi, G.: *Biochem Biophys Res Commun*, **263**(2), 340-5 (1999).
- 111) Furumatsu, T., Yamaguchi, N., Nishida, K., Kawai, A., Kunisada, T., Namba, M., Inoue, H. and Ninomiya, Y.: *J Biochem (Tokyo)*, **131**(4), 619-26 (2002).
- 112) Olsson, A. K., Johansson, I., Akerud, H., Einarsson, B., Christofferson, R., Sasaki, T., Timpl, R. and Claesson-Welsh, L.: *Cancer Res*, **64**(24), 9012-7 (2004).
- 113) Wickstrom, S. A., Alitalo, K. and Keski-Oja, J.: *Cancer Res*, **62**(19), 5580-9 (2002).
- 114) Karumanchi, S. A., Jha, V., Ramchandran, R., Karihaloo, A., Tsiokas, L., Chan, B., Dhanabal, M., Hanai, J. I., Venkataraman, G., Shriver, Z., Keiser, N., Kalluri, R., Zeng, H., Mukhopadhyay, D., Chen, R. L., et al.: *Mol Cell*, **7**(4), 811-22 (2001).
- 115) Lawler, J. W., Slayter, H. S. and Coligan, J. E.: *J Biol Chem*, **253**(23), 8609-16 (1978).
- 116) Rastinejad, F., Polverini, P. J. and Bouck, N. P.: *Cell*, **56**(3), 345-55 (1989).
- 117) Good, D. J., Polverini, P. J., Rastinejad, F., Le Beau, M. M., Lemons, R. S., Frazier, W. A. and Bouck, N. P.: *Proc Natl Acad Sci U S A*, **87**(17), 6624-8 (1990).
- 118) Lawler, J.: *J Cell Mol Med*, **6**(1), 1-12 (2002).
- 119) Taraboletti, G., Roberts, D., Liotta, L. A. and Giavazzi, R.: *J Cell Biol*, **111**(2), 765-72 (1990).
- 120) Bagavandoss, P. and Wilks, J. W.: *Biochem Biophys Res Commun*, **170**(2), 867-72 (1990).
- 121) Taraboletti, G., Belotti, D. and Giavazzi, R.: *Exs*, **61**, 210-3 (1992).
- 122) Tolsma, S. S., Volpert, O. V., Good, D. J., Frazier, W. A., Polverini, P. J. and Bouck, N.: *J Cell Biol*, **122**(2), 497-511 (1993).
- 123) Jimenez, B., Volpert, O. V., Crawford, S. E., Febbraio, M., Silverstein, R. L. and Bouck, N.: *Nat Med*, **6**(1), 41-8 (2000).
- 124) Nor, J. E., Mitra, R. S., Sutorik, M. M., Mooney, D. J., Castle, V. P. and Polverini, P. J.: *J Vasc Res*, **37**(3), 209-18 (2000).
- 125) Asch, A. S., Liu, I., Briccetti, F. M., Barnwell, J. W., Kwakye-Berko, F., Dokun, A., Goldberger, J. and Pernambuco, M.: *Science*, **262**(5138), 1436-40 (1993).
- 126) Dawson, D. W., Pearce, S. F., Zhong, R., Silverstein, R. L., Frazier, W. A. and Bouck, N. P.: *J Cell Biol*, **138**(3), 707-17 (1997).
- 127) Lawler, J., Weinstein, R. and Hynes, R. O.: *J Cell Biol*, **107**(6 Pt 1), 2351-61 (1988).
- 128) Ashton, A. W., Cheng, Y., Helisch, A. and Ware, J. A.: *Circ Res*, **94**(6), 735-42 (2004).
- 129) Gao, A. G., Lindberg, F. P., Finn, M. B., Blystone, S. D., Brown, E. J. and Frazier, W. A.: *J Biol Chem*, **271**(1), 21-4 (1996).
- 130) Freyberg, M. A., Kaiser, D., Graf, R., Vischer, P. and Friedl, P.: *Biochem Biophys Res Commun*, **271**(3), 584-8 (2000).
- 131) Lawler, J., Miao, W. M., Duquette, M., Bouck, N., Bronson, R. T. and Hynes, R. O.: *Am J Pathol*, **159**(5), 1949-56 (2001).
- 132) Rodriguez-Manzaneque, J. C., Lane, T. F., Ortega, M. A., Hynes, R. O., Lawler, J. and Iruela-Arispe, M. L.: *Proc Natl Acad Sci U S A*, **98**(22), 12485-90 (2001).
- 133) Bergers, G., Brekken, R., McMahon, G., Vu, T. H., Itoh, T., Tamaki, K., Tanzawa, K., Thorpe, P., Itohara, S., Werb, Z. and Hanahan, D.: *Nat Cell Biol*, **2**(10), 737-44 (2000).
- 134) Haviv, F., Bradley, M. F., Kalvin, D. M., Schneider, A. J., Davidson, D. J., Majest, S. M., McKay, L. M., Haskell, C. J., Bell, R. L., Nguyen, B., Marsh, K. C., Surber, B. W., Uchic, J. T., Ferrero, J., Wang, Y. C., et al.: *J Med Chem*, **48**(8), 2838-46 (2005).
- 135) Maeshima, Y., Manfredi, M., Reimer, C., Holthaus, K. A., Hopfer, H., Chandamuri, B. R., Kharbanda, S. and Kalluri, R.: *J Biol Chem*, **276**(18), 15240-8 (2001).
- 136) Hamano, Y., Zeisberg, M., Sugimoto, H., Lively, J. C., Maeshima, Y., Yang, C., Hynes, R. O., Werb, Z., Sudhakar, A. and Kalluri, R.: *Cancer Cell*, **3**(6), 589-601 (2003).
- 137) Maeshima, Y., Sudhakar, A., Lively, J. C., Ueki, K., Kharbanda, S., Kahn, C. R., Sonenberg, N., Hynes, R. O. and Kalluri, R.: *Science*, **295**(5552), 140-3 (2002).
- 138) Sudhakar, A., Sugimoto, H., Yang, C., Lively, J., Zeisberg, M. and Kalluri, R.: *Proc Natl Acad Sci U S A*, **100**(8), 4766-71 (2003).
- 139) Moses, M. A., Wiederschain, D., Wu, I., Fernandez, C. A., Ghazizadeh, V., Lane, W.

- S., Flynn, E., Sytkowski, A., Tao, T. and Langer, R.: *Proc Natl Acad Sci U S A*, **96** (6), 2645-50 (1999).
- 140) Feldman, L. and Rouleau, C.: *Microvasc Res*, **63**(1), 41-9 (2002).
- 141) Kern, B. E., Balcom, J. H., Antoniu, B. A., Warshaw, A. L. and Fernandez-del Castillo, C.: *J Gastrointest Surg*, **7**(8), 961-8; discussion 969 (2003).
- 142) Egeblad, M. and Werb, Z.: *Nat Rev Cancer*, **2**(3), 161-74 (2002).
- 143) Fang, J., Shing, Y., Wiederschain, D., Yan, L., Butterfield, C., Jackson, G., Harper, J., Tamvakopoulos, G. and Moses, M. A.: *Proc Natl Acad Sci U S A*, **97**(8), 3884-9 (2000).
- 144) Heissig, B., Hattori, K., Friedrich, M., Rafii, S. and Werb, Z.: *Curr Opin Hematol*, **10**(2), 136-41 (2003).
- 145) Mook, O. R., Frederiks, W. M. and Van Noorden, C. J.: *Biochim Biophys Acta*, **1705** (2), 69-89 (2004).
- 146) Nelson, A. R., Fingleton, B., Rothenberg, M. L. and Matrisian, L. M.: *J Clin Oncol*, **18**(5), 1135-49 (2000).
- 147) Moses, M. A., Sudhalter, J. and Langer, R.: *Science*, **248**(4961), 1408-10 (1990).
- 148) Moses, M. A. and Langer, R.: *J Cell Biochem*, **47**(3), 230-5 (1991).
- 149) Moses, M. A.: *Stem Cells*, **15**(3), 180-9 (1997).
- 150) Takigawa, M., Nishida, Y., Suzuki, F., Kishi, J., Yamashita, K. and Hayakawa, T.: *Biochem Biophys Res Commun*, **171**(3), 1264-71 (1990).
- 151) Hayakawa, T., Yamashita, K., Tanzawa, K., Uchijima, E. and Iwata, K.: *FEBS Lett*, **298** (1), 29-32 (1992).
- 152) Murphy, A. N., Unsworth, E. J. and Stetler-Stevenson, W. G.: *J Cell Physiol*, **157**(2), 351-8 (1993).
- 153) Stetler-Stevenson, W. G. and Seo, D. W.: *Trends Mol Med*, **11**(3), 97-103 (2005).
- 154) Seo, D. W., Li, H., Guedez, L., Wingfield, P. T., Diaz, T., Salloum, R., Wei, B. Y. and Stetler-Stevenson, W. G.: *Cell*, **114**(2), 171-80 (2003).
- 155) Murphy, G., Houbrechts, A., Cockett, M. I., Williamson, R. A., O'Shea, M. and Docherty, A. J.: *Biochemistry*, **30**(33), 8097-102 (1991).
- 156) Muskett, F. W., Frenkiel, T. A., Feeney, J., Freedman, R. B., Carr, M. D. and Williamson, R. A.: *J Biol Chem*, **273**(34), 21736-43 (1998).
- 157) Fernandez, C. A., Butterfield, C., Jackson, G. and Moses, M. A.: *J Biol Chem*, **278**(42), 40989-95 (2003).
- 158) O'Reilly, M. S., Wiederschain, D., Stetler-Stevenson, W. G., Folkman, J. and Moses, M. A.: *J Biol Chem*, **274**(41), 29568-71 (1999).
- 159) Zucker, S., Cao, J. and Chen, W. T.: *Oncogene*, **19**(56), 6642-50 (2000).
- 160) Coussens, L. M., Fingleton, B. and Matrisian, L. M.: *Science*, **295**(5564), 2387-92 (2002).
- 161) Wen, W., Moses, M. A., Wiederschain, D., Arbiser, J. L. and Folkman, J.: *Cancer Res*, **59**(24), 6052-6 (1999).
- 162) Levi, E., Fridman, R., Miao, H. Q., Ma, Y. S., Yayon, A. and Vlodavsky, I.: *Proc Natl Acad Sci U S A*, **93**(14), 7069-74 (1996).
- 163) Frater-Schroder, M., Risau, W., Hallmann, R., Gautschi, P. and Bohlen, P.: *Proc Natl Acad Sci U S A*, **84**(15), 5277-81 (1987).
- 164) Gearing, A. J., Beckett, P., Christodoulou, M., Churchill, M., Clements, J., Davidson, A. H., Drummond, A. H., Galloway, W. A., Gilbert, R., Gordon, J. L. and et al.: *Nature*, **370**(6490), 555-7 (1994).
- 165) Brooks, P. C., Silletti, S., von Schalscha, T. L., Friedlander, M. and Cheresch, D. A.: *Cell*, **92**(3), 391-400 (1998).
- 166) Silletti, S., Kessler, T., Goldberg, J., Boger, D. L. and Cheresch, D. A.: *Proc Natl Acad Sci U S A*, **98**(1), 119-24 (2001).
- 167) Ciardiello, F. and Tortora, G.: *Clin Cancer Res*, **7**(10), 2958-70 (2001).
- 168) Kim, E. S., Khuri, F. R. and Herbst, R. S.: *Curr Opin Oncol*, **13**(6), 506-13 (2001).
- 169) Mendelsohn, J.: *J Clin Oncol*, **20**(18 Suppl), 1S-13S (2002).
- 170) Wu, X., Rubin, M., Fan, Z., DeBlasio, T., Soos, T., Koff, A. and Mendelsohn, J.: *Oncogene*, **12**(7), 1397-403 (1996).
- 171) Mandal, M., Adam, L., Mendelsohn, J. and Kumar, R.: *Oncogene*, **17**(8), 999-1007 (1998).
- 172) Petit, A. M., Rak, J., Hung, M. C., Rockwell, P., Goldstein, N., Fendly, B. and Kerbel, R. S.: *Am J Pathol*, **151**(6), 1523-30 (1997).

- 173) Prewett, M. C., Hooper, A. T., Bassi, R., Ellis, L. M., Waksal, H. W. and Hicklin, D. J.: *Clin Cancer Res*, **8**(5), 994-1003 (2002).
- 174) Brooks, P. C., Montgomery, A. M., Rosenfeld, M., Reisfeld, R. A., Hu, T., Klier, G. and Cheresch, D. A.: *Cell*, **79**(7), 1157-64 (1994).
- 175) Kim, S., Bell, K., Mousa, S. A. and Varner, J. A.: *Am J Pathol*, **156**(4), 1345-62 (2000).
- 176) Sipkins, D. A., Cheresch, D. A., Kazemi, M. R., Nevin, L. M., Bednarski, M. D. and Li, K. C.: *Nat Med*, **4**(5), 623-6 (1998).
- 177) Senger, D. R., Perruzzi, C. A., Streit, M., Kotliensky, V. E., de Fougères, A. R. and Detmar, M.: *Am J Pathol*, **160**(1), 195-204 (2002).
- 178) Mitjans, F., Meyer, T., Fittschen, C., Goodman, S., Jonczyk, A., Marshall, J. F., Reyes, G. and Piulats, J.: *Int J Cancer*, **87**(5), 716-23 (2000).
- 179) Matsumoto, K. and Nakamura, T.: *Cancer Sci*, **94**(4), 321-7 (2003).
- 180) Cao, D. J., Guo, Y. L. and Colman, R. W.: *Circ Res*, **94**(9), 1227-34 (2004).
- 181) Colman, R. W., Jameson, B. A., Lin, Y., Johnson, D. and Mousa, S. A.: *Blood*, **95**(2), 543-50 (2000).
- 182) Zhang, J. C., Claffey, K., Sakthivel, R., Darzynkiewicz, Z., Shaw, D. E., Leal, J., Wang, Y. C., Lu, F. M. and McCrae, K. R.: *Faseb J*, **14**(15), 2589-600 (2000).
- 183) Colman, R. W., Pixley, R. A., Sainz, I. M., Song, J. S., Isordia-Salas, I., Muhamed, S. N., Powell, J. A., Jr. and Mousa, S. A.: *J Thromb Haemost*, **1**(1), 164-70 (2003).
- 184) Espinola, R. G., Uknis, A., Sainz, I. M., Isordia-Salas, I., Pixley, R., DeLa Cadena, R., Long, W., Agelan, A., Gaughan, J., Adam, A. and Colman, R. W.: *Am J Pathol*, **165**(3), 969-76 (2004).
- 185) Stewart, J. M.: *Peptides*, **25**(3), 527-32 (2004).
- 186) Wohlfart, P., Dedio, J., Wirth, K., Scholkens, B. A. and Wiemer, G.: *J Pharmacol Exp Ther*, **280**(2), 1109-16 (1997).
- 187) Figueroa, C. D., Marchant, A., Novoa, U., Forstermann, U., Jarnagin, K., Scholkens, B. and Müller-Esterl, W.: *Hypertension*, **37**(1), 110-120 (2001).
- 188) Watanabe, K., Hasegawa, Y., Yamashita, H., Shimizu, K., Ding, Y., Abe, M., Ohta, H., Imagawa, K., Hojo, K., Maki, H., Sonoda, H. and Sato, Y.: *J Clin Invest*, **114**(7), 898-907 (2004).
- 189) Broggin, M., Marchini, S. V., Galliera, E., Borsotti, P., Taraboletti, G., Erba, E., Sironi, M., Jimeno, J., Faircloth, G. T., Giavazzi, R. and D'Incalci, M.: *Leukemia*, **17**(1), 52-9 (2003).
- 190) Taraboletti, G., Poli, M., Dossi, R., Manenti, L., Borsotti, P., Faircloth, G. T., Broggin, M., D'Incalci, M., Ribatti, D. and Giavazzi, R.: *Br J Cancer*, **90**(12), 2418-24 (2004).
- 191) Gordon, M. S., Margolin, K., Talpaz, M., Sledge, G. W., Jr., Holmgren, E., Benjamin, R., Stalter, S., Shak, S. and Adelman, D.: *J Clin Oncol*, **19**(3), 843-50 (2001).
- 192) Margolin, K., Gordon, M. S., Holmgren, E., Gaudreault, J., Novotny, W., Fyfe, G., Adelman, D., Stalter, S. and Breed, J.: *J Clin Oncol*, **19**(3), 851-6 (2001).
- 193) Takahashi, Y., Kitadai, Y., Bucana, C. D., Cleary, K. R. and Ellis, L. M.: *Cancer Res*, **55**(18), 3964-8 (1995).
- 194) Takahashi, Y., Tucker, S. L., Kitadai, Y., Koura, A. N., Bucana, C. D., Cleary, K. R. and Ellis, L. M.: *Arch Surg*, **132**(5), 541-6 (1997).
- 195) Kabbinar, F., Hurwitz, H. I., Fehrenbacher, L., Meropol, N. J., Novotny, W. F., Lieberman, G., Griffing, S. and Bergsland, E.: *J Clin Oncol*, **21**(1), 60-5 (2003).
- 196) Saltz, L. B., Cox, J. V., Blanke, C., Rosen, L. S., Fehrenbacher, L., Moore, M. J., Maroun, J. A., Ackland, S. P., Locker, P. K., Pirog, N., Elfring, G. L. and Miller, L. L.: *N Engl J Med*, **343**(13), 905-14 (2000).
- 197) Kabbinar, F. F., Schulz, J., McCleod, M., Patel, T., Hamm, J. T., Hecht, J. R., Mass, R., Perrou, B., Nelson, B. and Novotny, W. F.: *J Clin Oncol*, **23**(16), 3697-705 (2005).
- 198) Kabbinar, F. F., Hambleton, J., Mass, R. D., Hurwitz, H. I., Bergsland, E. and Sarkar, S.: *J Clin Oncol*, **23**(16), 3706-12 (2005).
- 199) de Gramont, A., Figer, A., Seymour, M., Homerin, M., Hmissi, A., Cassidy, J., Boni, C., Cortes-Funes, H., Cervantes, A., Freyer, G., Papamichael, D., Le Bail, N., Louvet, C., Hendler, D., de Braud, F., et al.: *J Clin Oncol*, **18**(16), 2938-47 (2000).
- 200) Goldberg, R. M., Sargent, D. J., Morton, R.

- F., Fuchs, C. S., Ramanathan, R. K., Williamson, S. K., Findlay, B. P., Pitot, H. C. and Alberts, S. R.: *J Clin Oncol*, **22**(1), 23-30 (2004).
- 201) Giantonio, B. J., Catalano, P. J., Meropol, N. J., O'Dwyer, P. J., Mitchell, E. P., Alberts, S. R., Schwartz, M. A. and Benson, A. B., 3rd: *J Clin Oncol*, **25**(12), 1539-44 (2007).
- 202) Emmanouilides, C., Sfakiotaki, G., Androulakis, N., Kalbakis, K., Christophylakis, C., Kalykaki, A., Vamvakas, L., Kotsakis, A., Agelaki, S., Diamandidou, E., Touroutoglou, N., Chatzidakis, A., Georgoulis, V., Mavroudis, D. and Souglakos, J.: *BMC Cancer*, **7**, 91 (2007).
- 203) Scappaticci, F. A., Fehrenbacher, L., Cartwright, T., Hainsworth, J. D., Heim, W., Berlin, J., Kabbinnavar, F., Novotny, W., Sarkar, S. and Hurwitz, H.: *J Surg Oncol*, **91**(3), 173-80 (2005).
- 204) Chen, H. X., Mooney, M., Boron, M., Vena, D., Mosby, K., Grochow, L., Jaffe, C., Rubinstein, L., Zwiebel, J. and Kaplan, R. S.: *J Clin Oncol*, **24**(21), 3354-60 (2006).
- 205) Giantonio, B. J., Levy, D. E., O'Dwyer P. J., Meropol, N. J., Catalano, P. J. and Benson, A. B., 3rd: *Ann Oncol*, **17**(9), 1399-403 (2006).
- 206) Lonser, R. R., Glenn, G. M., Walther, M., Chew, E. Y., Libutti, S. K., Linehan, W. M. and Oldfield, E. H.: *Lancet*, **361**(9374), 2059-67 (2003).
- 207) Rini, B. I. and Small, E. J.: *J Clin Oncol*, **23**(5), 1028-43 (2005).
- 208) Shuin, T., Kondo, K., Torigoe, S., Kishida, T., Kubota, Y., Hosaka, M., Nagashima, Y., Kitamura, H., Latif, F., Zbar, B., et al.: *Cancer Res*, **54**(11), 2852-5 (1994).
- 209) Rini, B. I., Halabi, S., Taylor, J., Small, E. J. and Schilsky, R. L.: *Clin Cancer Res*, **10**(8), 2584-6 (2004).
- 210) Hainsworth, J. D., Sosman, J. A., Spigel, D. R., Edwards, D. L., Baughman, C. and Greco, A.: *J Clin Oncol*, **23**(31), 7889-96 (2005).
- 211) 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.: *Hum Pathol*, **26**(1), 86-91 (1995).
- 212) Relf, M., LeJeune, S., Scott, P. A., Fox, S., Smith, K., Leek, R., Moghaddam, A., Whitehouse, R., Bicknell, R. and Harris, A. L.: *Cancer Res*, **57**(5), 963-9 (1997).
- 213) Sledge, G. W., Jr.: *Semin Oncol*, **29**(3 Suppl 11), 104-10 (2002).
- 214) Foekens, J. A., Peters, H. A., Grebenchtchikov, N., Look, M. P., Meijer-van Gelder, M. E., Geurts-Moespot, A., van der Kwast, T. H., Sweep, C. G. and Klijn, J. G.: *Cancer Res*, **61**(14), 5407-14 (2001).
- 215) Miller, K. D., Chap, L. I., Holmes, F. A., Cobleigh, M. A., Marcom, P. K., Fehrenbacher, L., Dickler, M., Overmoyer, B. A., Reimann, J. D., Sing, A. P., Langmuir, V. and Rugo, H. S.: *J Clin Oncol*, **23**(4), 792-9 (2005).
- 216) Scott, L. J.: *Drugs*, **67**(12), 1793-9 (2007).
- 217) Ramaswamy, B., Elias, A. D., Kelbick, N. T., Dodley, A., Morrow, M., Hauger, M., Allen, J., Rhoades, C., Kendra, K., Chen, H. X., Eckhardt, S. G. and Shapiro, C. L.: *Clin Cancer Res*, **12**(10), 3124-9 (2006).
- 218) Rugo, H. S.: *Oncologist*, **9**, Suppl 1, 43-9 (2004).
- 219) Johnson, D. H., Fehrenbacher, L., Novotny, W. F., Herbst, R. S., Nemunaitis, J. J., Jablons, D. M., Langer, C. J., DeVore, R. F., 3rd, Gaudreault, J., Damico, L. A., Holmgren, E. and Kabbinnavar, F.: *J Clin Oncol*, **22**(11), 2184-91 (2004).
- 220) Sandler, A., Gray, R., Perry, M. C., Brahmer, J., Schiller, J. H., Dowlati, A., Lilienbaum, R. and Johnson, D. H.: *N Engl J Med*, **355**(24), 2542-50 (2006).
- 221) Herbst, R. S. and Sandler, A. B.: *Oncologist*, **9**, Suppl 1, 19-26 (2004).
- 222) Herbst, R. S., Johnson, D. H., Mininberg, E., Carbone, D. P., Henderson, T., Kim, E. S., Blumenschein, G., Jr., Lee, J. J., Liu, D. D., Truong, M. T., Hong, W. K., Tran, H., Tsao, A., Xie, D., Ramies, D. A., et al.: *J Clin Oncol*, **23**(11), 2544-55 (2005).
- 223) Itakura, J., Ishiwata, T., Shen, B., Kornmann, M. and Korc, M.: *Int J Cancer*, **85**(1), 27-34 (2000).
- 224) Seo, Y., Baba, H., Fukuda, T., Takashima, M. and Sugimachi, K.: *Cancer*, **88**(10), 2239-45 (2000).
- 225) Kindler, H. L., Friberg, G., Singh, D. A., Locker, G., Nattam, S., Kozloff, M., Taber, D. A., Karrison, T., Dachman, A., Stadler,

- W. M. and Vokes, E. E.: *J Clin Oncol*, **23** (31), 8033-40 (2005).
- 226) Monk, B. J., Han, E., Josephs-Cowan, C. A., Pugmire, G. and Burger, R. A.: *Gynecol Oncol*, **102**(2), 140-4 (2006).
- 227) Wright, J. D., Viviano, D., Powell, M. A., Gibb, R. K., Mutch, D. G., Grigsby, P. W. and Rader, J. S.: *Gynecol Oncol*, **103**(2), 489-93 (2006).
- 228) Zhu, A. X., Blaszkowsky, L. S., Ryan, D. P., Clark, J. W., Muzikansky, A., Horgan, K., Sheehan, S., Hale, K. E., Enzinger, P. C., Bhargava, P. and Stuart, K.: *J Clin Oncol*, **24**(12), 1898-903 (2006).
- 229) Shah, M. A., Ramanathan, R. K., Ilson, D. H., Levnor, A., D'Adamo, D., O'Reilly, E., Tse, A., Trocola, R., Schwartz, L., Capanu, M., Schwartz, G. K. and Kelsen, D. P.: *J Clin Oncol*, **24**(33), 5201-6 (2006).
- 230) Vredenburgh, J. J., Desjardins, A., Herndon, J. E., 2nd, Dowell, J. M., Reardon, D. A., Quinn, J. A., Rich, J. N., Sathornsumetee, S., Gururangan, S., Wagner, M., Bigner, D. D., Friedman, A. H. and Friedman, H. S.: *Clin Cancer Res*, **13**(4), 1253-9 (2007).
- 231) Hainsworth, J. D., Spigel, D. R., Farley, C., Thompson, D. S., Shipley, D. L. and Greco, F. A.: *J Clin Oncol*, **25**(13), 1747-52 (2007).
- 232) Posey, J. A., Ng, T. C., Yang, B., Khzaeli, M. B., Carpenter, M. D., Fox, F., Needle, M., Waksal, H. and LoBuglio, A. F.: *Clin Cancer Res*, **9**(4), 1323-32 (2003).
- 233) Cunningham, D., Humblet, Y., Siena, S., Khayat, D., Bleiberg, H., Santoro, A., Bets, D., Mueser, M., Harstrick, A., Verslype, C., Chau, I. and Van Cutsem, E.: *N Engl J Med*, **351**(4), 337-45 (2004).
- 234) Saltz, L. B., Meropol, N. J., Loehrer, P. J., Sr., Needle, M. N., Kopit, J. and Mayer, R. J.: *J Clin Oncol*, **22**(7), 1201-8 (2004).
- 235) Folprecht, G., Lutz, M. P., Schoffski, P., Seufferlein, T., Nolting, A., Pollert, P. and Kohne, C. H.: *Ann Oncol*, **17**(3), 450-6 (2006).
- 236) Vincenzi, B., Santini, D., Rabitti, C., Coppola, R., Beomonte Zobel, B., Trodella, L. and Tonini, G.: *Br J Cancer*, **94**(6), 792-7 (2006).
- 237) Gebbia, V., Del Prete, S., Borsellino, N., Ferrau, F., Tralongo, P., Verderame, F., Leonardi, V., Capasso, E., Maiello, E., Bordonaro, R., Stinco, S., Agostara, B. and Barone, C.: *Clin Colorectal Cancer*, **5**(6), 422-8 (2006).
- 238) Meyerhardt, J. A., Heseltine, D., Ogino, S., Clark, J. W., Enzinger, P. C., Ryan, D. P., Earle, C. C., Zhu, A. X. and Fuchs, C. S.: *Clin Colorectal Cancer*, **6**(1), 59-65 (2006).
- 239) Lenz, H. J., Van Cutsem, E., Khambata-Ford, S., Mayer, R. J., Gold, P., Stella, P., Mirtsching, B., Cohn, A. L., Pippas, A. W., Azarnia, N., Tsuchihashi, Z., Mauro, D. J. and Rowinsky, E. K.: *J Clin Oncol*, **24**(30), 4914-21 (2006).
- 240) Souglakos, J., Kalykaki, A., Vamvakas, L., Androulakis, N., Kalbakis, K., Agelaki, S., Vardakis, N., Tzardi, M., Kotsakis, A. P., Gioulbasanis, J., Tsetis, D., Sfakiotaki, G., Chatzidaki, D., Mavroudis, D. and Georgoulis, V.: *Ann Oncol*, **18**(2), 305-10 (2007).
- 241) Xiong, H. Q., Rosenberg, A., LoBuglio, A., Schmidt, W., Wolff, R. A., Deutsch, J., Needle, M. and Abbruzzese, J. L.: *J Clin Oncol*, **22**(13), 2610-6 (2004).
- 242) Chan, A. T., Hsu, M. M., Goh, B. C., Hui, E. P., Liu, T. W., Millward, M. J., Hong, R. L., Whang-Peng, J., Ma, B. B., To, K. F., Mueser, M., Amellal, N., Lin, X. and Chang, A. Y.: *J Clin Oncol*, **23**(15), 3568-76 (2005).
- 243) Herbst, R. S., Arquette, M., Shin, D. M., Dicke, K., Vokes, E. E., Azarnia, N., Hong, W. K. and Kies, M. S.: *J Clin Oncol*, **23**(24), 5578-87 (2005).
- 244) Baselga, J., Trigo, J. M., Bourhis, J., Tortochaux, J., Cortes-Funes, H., Hitt, R., Gascon, P., Amellal, N., Harstrick, A. and Eckardt, A.: *J Clin Oncol*, **23**(24), 5568-77 (2005).
- 245) Burnett, B., Goldwasser, M. A., Flood, W., Mattar, B. and Forastiere, A. A.: *J Clin Oncol*, **23**(34), 8646-54 (2005).
- 246) Bourhis, J., Rivera, F., Mesia, R., Awada, A., Geoffrois, L., Borel, C., Humblet, Y., Lopez-Pousa, A., Hitt, R., Vega Villegas, M. E., Duck, L., Rosine, D., Amellal, N., Schueler, A. and Harstrick, A.: *J Clin Oncol*, **24**(18), 2866-72 (2006).
- 247) Vermorken, J. B., Trigo, J., Hitt, R., Koralewski, P., Diaz-Rubio, E., Rolland, F., Knecht, R., Amellal, N., Schueler, A. and Basel-

- ga, J.: *J Clin Oncol*, **25**(16), 2171-7 (2007).
- 248) Hanna, N., Lilienbaum, R., Ansari, R., Lynch, T., Govindan, R., Janne, P. A. and Bonomi, P.: *J Clin Oncol*, **24**(33), 5253-8 (2006).
- 249) Thienelt, C. D., Bunn, P. A., Jr., Hanna, N., Rosenberg, A., Needle, M. N., Long, M. E., Gustafson, D. L. and Kelly, K.: *J Clin Oncol*, **23**(34), 8786-93 (2005).
- 250) Robert, F., Blumenschein, G., Herbst, R. S., Fossella, F. V., Tseng, J., Saleh, M. N. and Needle, M. N.: *J Clin Oncol*, **23**(36), 9089-96 (2005).
- 251) Pinto, C., Di Fabio, F., Siena, S., Cascinu, S., Rojas Llimpe, F. L., Ceccarelli, C., Mutri, V., Giannetta, L., Giaquinta, S., Funaioli, C., Berardi, R., Longobardi, C., Piana, E. and Martoni, A. A.: *Ann Oncol*, **18**(3), 510-7 (2007).
- 252) Kollmannsberger, C., Schittenhelm, M., Honecker, F., Tillner, J., Weber, D., Oechsle, K., Kanz, L. and Bokemeyer, C.: *Ann Oncol*, **17**(6), 1007-13 (2006).
- 253) Graeven, U., Kremer, B., Sudhoff, T., Killing, B., Rojo, F., Weber, D., Tillner, J., Unal, C. and Schmiegel, W.: *Br J Cancer*, **94**(9), 1293-9 (2006).
- 254) Gutheil, J. C., Campbell, T. N., Pierce, P. R., Watkins, J. D., Huse, W. D., Bodkin, D. J. and Chesh, D. A.: *Clin Cancer Res*, **6**(8), 3056-61 (2000).
- 255) Posey, J. A., Khazaeli, M. B., DelGrosso, A., Saleh, M. N., Lin, C. Y., Huse, W. and LoBuglio, A. F.: *Cancer Biother Radiopharm*, **16**(2), 125-32 (2001).
- 256) McNeel, D. G., Eickhoff, J., Lee, F. T., King, D. M., Alberti, D., Thomas, J. P., Friedl, A., Kolesar, J., Marnocha, R., Volkman, J., Zhang, J., Hammershaimb, L., Zwiebel, J. A. and Wilding, G.: *Clin Cancer Res*, **11**(21), 7851-60 (2005).
- 257) Eskens, F. A., Dumez, H., Hoekstra, R., Perschl, A., Brindley, C., Bottcher, S., Wyndaele, W., Dreys, J., Verweij, J. and van Oosterom, A. T.: *Eur J Cancer*, **39**(7), 917-26 (2003).
- 258) Friess, H., Langrehr, J. M., Oettle, H., Raedle, J., Niedergethmann, M., Ditttrich, C., Hossfeld, D. K., Stoger, H., Neyns, B., Herzog, P., Piedbois, P., Dobrowolski, F., Scheithauer, W., Hawkins, R., Katz, F., et al.: *BMC Cancer*, **6**, 285 (2006).
- 259) Beerepoot, L. V., Witteveen, E. O., Groenewegen, G., Fogler, W. E., Sim, B. K., Sidor, C., Zonnenberg, B. A., Schramel, F., Gebbink, M. F. and Voest, E. E.: *Clin Cancer Res*, **9**(11), 4025-33 (2003).
- 260) Kurup, A., Lin, C. W., Murry, D. J., Dobrolecki, L., Estes, D., Yiannoutsos, C. T., Mariano, L., Sidor, C., Hickey, R. and Hanna, N.: *Ann Oncol*, **17**(1), 97-103 (2006).
- 261) Herbst, R. S., Hess, K. R., Tran, H. T., Tseng, J. E., Mullani, N. A., Charnsangavej, C., Madden, T., Davis, D. W., McConkey, D. J., O'Reilly, M. S., Ellis, L. M., Pluda, J., Hong, W. K. and Abbruzzese, J. L.: *J Clin Oncol*, **20**(18), 3792-803 (2002).
- 262) Thomas, J. P., Arzoomanian, R. Z., Alberti, D., Marnocha, R., Lee, F., Friedl, A., Tutsch, K., Dresen, A., Geiger, P., Pluda, J., Fogler, W., Schiller, J. H. and Wilding, G.: *J Clin Oncol*, **21**(2), 223-31 (2003).
- 263) Kulke, M. H., Bergsland, E. K., Ryan, D. P., Enzinger, P. C., Lynch, T. J., Zhu, A. X., Meyerhardt, J. A., Heymach, J. V., Fogler, W. E., Sidor, C., Michelini, A., Kinsella, K., Venook, A. P. and Fuchs, C. S.: *J Clin Oncol*, **24**(22), 3555-61 (2006).
- 264) Hoekstra, R., de Vos, F. Y., Eskens, F. A., Gietema, J. A., van der Gaast, A., Groen, H. J., Knight, R. A., Carr, R. A., Humerickhouse, R. A., Verweij, J. and de Vries, E. G.: *J Clin Oncol*, **23**(22), 5188-97 (2005).
- 265) Hoekstra, R., de Vos, F. Y., Eskens, F. A., de Vries, E. G., Uges, D. R., Knight, R., Carr, R. A., Humerickhouse, R., Verweij, J. and Gietema, J. A.: *Eur J Cancer*, **42**(4), 467-72 (2006).
- 266) Gietema, J. A., Hoekstra, R., de Vos, F. Y., Uges, D. R., van der Gaast, A., Groen, H. J., Loos, W. J., Knight, R. A., Carr, R. A., Humerickhouse, R. A. and Eskens, F. A.: *Ann Oncol*, **17**(8), 1320-7 (2006).
- 267) Nguyen, Q. D., Shah, S. M., Hafiz, G., Quinlan, E., Sung, J., Chu, K., Cedarbaum, J. M. and Campochiaro, P. A.: *Ophthalmology*, **113**(9), 1522 e1-1522 e14 (2006).
- 268) Faivre, S., Chieze, S., Delbaldo, C., Ady-Vago, N., Guzman, C., Lopez-Lazaro, L., Lozahic, S., Jimeno, J., Pico, F., Armand, J. P., Martin, J. A. and Raymond, E.: *J Clin*

- Oncol*, 23(31), 7871-80 (2005).
- 269) Maroun, J. A., Belanger, K., Seymour, L., Matthews, S., Roach, J., Dionne, J., Soulières, D., Stewart, D., Goel, R., Charpentier, D., Goss, G., Tomiak, E., Yau, J., Jimeno, J. and Chiritescu, G.: *Ann Oncol*, 17(9), 1371-8 (2006).
- 270) Winkler, F., Kozin, S. V., Tong, R. T., Chae, S. S., Booth, M. F., Garkavtsev, I., Xu, L., Hicklin, D. J., Fukumura, D., di Tomaso, E., Munn, L. L. and Jain, R. K.: *Cancer Cell*, 6(6), 553-63 (2004).
- 271) Ansiaux, R., Baudalet, C., Jordan, B. F., Beghein, N., Sonveaux, P., De Wever, J., Martinive, P., Gregoire, V., Feron, O. and Gallez, B.: *Clin Cancer Res*, 11(2 Pt 1), 743-50 (2005).
- 272) Miller, K. D.: *Breast Cancer Res Treat*, 75, Suppl 1, S45-50; discussion S57-8 (2002).
- 273) Garber, K.: *Nat Biotechnol*, 20(11), 1067-8 (2002).
- 274) Stadler, W. M., Cao, D., Vogelzang, N. J., Ryan, C. W., Hoving, K., Wright, R., Karrison, T. and Vokes, E. E.: *Clin Cancer Res*, 10(10), 3365-70 (2004).
- 275) Folkman, J.: *Apmis*, 112(7-8), 496-507 (2004).
- 276) Izumi, Y., Xu, L., di Tomaso, E., Fukumura, D. and Jain, R. K.: *Nature*, 416(6878), 279-80 (2002).
- 277) Kerbel, R. S. and Kamen, B. A.: *Nat Rev Cancer*, 4(6), 423-36 (2004).
- 278) Bergsland, E. and Dickler, M. N.: *Oncologist*, 9, Suppl 1, 36-42 (2004).
- 279) Bergers, G. and Benjamin, L. E.: *Nat Rev Cancer*, 3(6), 401-10 (2003).
- 280) de Fraipont, F., Nicholson, A. C., Feige, J. J. and Van Meir, E. G.: *Trends Mol Med*, 7(9), 401-7 (2001).
- 281) Yu, J. L., Rak, J. W., Coomber, B. L., Hicklin, D. J. and Kerbel, R. S.: *Science*, 295(5559), 1526-8 (2002).
- 282) Sugimoto, H., Hamano, Y., Charytan, D., Cosgrove, D., Kieran, M., Sudhakar, A. and Kalluri, R.: *J Biol Chem*, 278(15), 12605-8 (2003).
- 283) Kasahara, Y., Tuder, R. M., Taraseviciene-Stewart, L., Le Cras, T. D., Abman, S., Hirth, P. K., Waltenberger, J. and Voelkel, N. F.: *J Clin Invest*, 106(11), 1311-9 (2000).
- 284) Baffert, F., Thurston, G., Rochon-Duck, M., Le, T., Brekken, R. and McDonald, D. M.: *Circ Res*, 94(7), 984-92 (2004).
- 285) Zelzer, E., Mamluk, R., Ferrara, N., Johnson, R. S., Schipani, E. and Olsen, B. R.: *Development*, 131(9), 2161-71 (2004).
- 286) Brewer, G. J., Dick, R. D., Grover, D. K., LeClaire, V., Tseng, M., Wicha, M., Pienta, K., Redman, B. G., Jahan, T., Sondak, V. K., Strawderman, M., LeCarpentier, G. and Merajver, S. D.: *Clin Cancer Res*, 6(1), 1-10 (2000).
- 287) Herbst, R. S., Mullani, N. A., Davis, D. W., Hess, K. R., McConkey, D. J., Charnsangavej, C., O'Reilly, M. S., Kim, H. W., Baker, C., Roach, J., Ellis, L. M., Rashid, A., Pluda, J., Bucana, C., Madden, T. L., et al.: *J Clin Oncol*, 20(18), 3804-14 (2002).
- 288) Eder, J. P., Jr., Supko, J. G., Clark, J. W., Puchalski, T. A., Garcia-Carbonero, R., Ryan, D. P., Shulman, L. N., Proper, J., Kirvan, M., Rattner, B., Connors, S., Keogan, M. T., Janicek, M. J., Fogler, W. E., Schnipper, L., et al.: *J Clin Oncol*, 20(18), 3772-84 (2002).
- 289) Deplanque, G., Madhusudan, S., Jones, P. H., Wellmann, S., Christodoulos, K., Talbot, D. C., Ganesan, T. S., Blann, A. and Harris, A. L.: *Br J Cancer*, 91(9), 1645-50 (2004).
- 290) Wulfkuhle, J., Espina, V., Liotta, L. and Petricoin, E.: *Eur J Cancer*, 40(17), 2623-32 (2004).
- 291) Aubert, B., Barate, R., Boutigny, D., Couderc, F., Gaillard, J. M., Hicheur, A., Karyotakis, Y., Lees, J. P., Tisserand, V., Zghiche, A., Palano, A., Pompili, A., Chen, J. C., Qi, N. D., Rong, G., et al.: *Phys Rev Lett*, 92(22), 221803 (2004).
- 292) Roy, R., Wewer, U. M., Zurakowski, D., Pories, S. E. and Moses, M. A.: *J Biol Chem*, 279(49), 51323-30 (2004).
- 293) Chan, L. W., Moses, M. A., Goley, E., Sproull, M., Muanza, T., Coleman, C. N., Figg, W. D., Albert, P. S., Menard, C. and Camphausen, K.: *J Clin Oncol*, 22(3), 499-506 (2004).
- 294) Yamashita, J., Itoh, H., Hirashima, M., Ogawa, M., Nishikawa, S., Yurugi, T., Naito, M., Nakao, K. and Nishikawa, S.: *Nature*, 408(6808), 92-6 (2000).

- 295) Reyes, M., Dudek, A., Jahagirdar, B., Koodie, L., Marker, P. H. and Verfaillie, C. M.: *J Clin Invest*, **109**(3), 337-46 (2002).
- 296) Bertolini, F., Mingrone, W., Alietti, A., Ferrucci, P. F., Cocorocchio, E., Peccatori, F., Cinieri, S., Mancuso, P., Corsini, C., Burlini, A., Zucca, E. and Martinelli, G.: *Ann Oncol*, **12**(7), 987-90 (2001).
- 297) Dowlati, A., Robertson, K., Cooney, M., Petros, W. P., Stratford, M., Jesberger, J., Rafie, N., Overmoyer, B., Makkar, V., Stambler, B., Taylor, A., Waas, J., Lewin, J. S., McCrae, K. R. and Remick, S. C.: *Cancer Res*, **62**(12), 3408-16 (2002).
- 298) Stevenson, J. P., Rosen, M., Sun, W., Gallagher, M., Haller, D. G., Vaughn, D., Giantonio, B., Zimmer, R., Petros, W. P., Stratford, M., Chaplin, D., Young, S. L., Schnall, M. and O'Dwyer, P. J.: *J Clin Oncol*, **21**(23), 4428-38 (2003).

癌に対する抗血管新生療法の現状と展望 (その2)

新見 伸吾*, 原島 瑞*, 日向 昌司*, 山口 照英*, 早川 堯夫**

(受付:平成20年1月23日, 受理:平成20年5月12日)

State and Perspective of Anti-Angiogenic Therapy to Cancer 2

Shingo NIIMI*, Mizuho HARASHIMA*, Masashi HYUGA*,
Teruhide YAMAGUCHI* and Takao HAYAKAWA**

はじめに

血管新生は腫瘍の成長と進行において重要な役割を果たしていることが明らかになり¹⁾, ヒト癌治療の新しい治療法として抗血管新生治療が注目されている。これまで多くの非臨床及び臨床研究が行われているが、最適な治療法は確立されていない。現在、Bebacizumabに代表される血管新生促進因子に対する抗体による治療とともに注目されているのは遺伝子治療である。遺伝子治療はこれら各種抗体を含めたタンパク質による治療に比べて以下の点で優れた特徴を有することから将来の治療法として期待されている。

- (1) 遺伝子の安定性-内皮細胞は腫瘍細胞よりもはるかに遺伝的に安定であるため、治療薬に対して抵抗性を与えるような変異の蓄積が起りにくい²⁾。したがって、遺伝的に安定な内皮細胞をターゲティングして抗血管新生タンパク質を持続的に発現する遺伝子治療の戦略は効果的であると考えられる。
- (2) 選択的な低レベルの持続的な投与-病理的な血管新生を効果的に抑制するには最終的に長期

間におわたる治療が必要となる。抗血管新生タンパク質を投与した場合よりも遺伝子治療による抗血管新生タンパク質の発現レベルが低い場合もありうるがその発現は恒常的である。したがって、遺伝子治療のほうがタンパク質よりも治療効果が高い可能性がある^{3,4)}。また、遺伝子治療は治療が必要とされる組織に対して選択的にデリバリーできるという点でも有用である⁵⁾。特にこの点は小型非開裂細胞リンパ腫及び卵巣癌のような局所的な治療に効果的であり、抗血管新生効果を限定させることにより生体において必須の生理的な機能の望ましくない抑制を回避し有害効果を減少できる⁶⁾。

- (3) 血管新生のスイッチ-正常細胞が癌細胞に形質転換するには遺伝的及びエピジェネティックな要因が関与する。しかし、これら以外に血管新生のスイッチと呼ばれる腫瘍血管のスイッチが腫瘍の伝搬と進行における重要なステップである⁷⁾。この観点において、腫瘍が致死的なレベルまで発達するには生体における血管新生の助けが必要となる⁷⁾。したがって、遺伝子治療は内在性の血管新生防御能を持続的に高めるこ

* 国立医薬品食品衛生研究所生物薬品部 東京都世田谷区上用賀 1-18-1 (〒158-8501)
Division of Biological Chemistry and Biologicals, National Institute of Health Sciences, 1-18-1
Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan

** 独立行政法人医薬品医療機器総合機構 東京都千代田区霞ヶ関 3-3-2 新霞ヶ関ビル (〒100-0013)
Pharmaceuticals and Medical Devices Agency, Shinkasumigaseki Bldg., 3-3-2 Kasumigaseki, Chiyoda-
ku Tokyo 100-0013, Japan

とにより腫瘍の発達を抑制することができる。

- (4) 生産コスト-機能を有するタンパク質を組換えにより産生するには多額の費用がかかるため使用に十分な量が供給できない場合がありうる。例えば、非臨床研究において最も広く研究されその有用性が指摘されている血管新生阻害剤である Angiostatin 及び Endostatin はそのため生産が最近中止されている⁹⁾。一方、遺伝子治療では患者自身が抗血管新生タンパク質生産の工場となるためこのような危惧は回避される。
- (5) 正確なフォールディングと安定性-投与された遺伝子治療薬は生理的な条件でタンパク質を発現するため、発現タンパク質は正確なフォールディングを受け *in vivo* において安定であることが期待できる^{9),10)}。

本稿では癌に対する抗血管新生療法としての遺伝子治療の動物モデル及び臨床試験における現状及び今後克服すべき課題について概説する。なお、本総説では遺伝子治療ばかりではなく“small interfering RNA” (siRNA) 及びアンチセンスなどの核酸医薬を用いた治療も含む。本稿ではふれませんが、血管新生の詳細及びそれに関与する促進因子、タンパク質及びペプチド単独あるいは化学療法剤との併用を用いた抗血管新生療法の非臨床及び臨床研究の現状及び展望、腫瘍における血管新生の詳細については著者の総説を参考にされたい^{11),12)}。なお、本稿は成書を参考にした¹³⁻²¹⁾。

1. 癌に対する抗血管新生療法としての 遺伝子治療の非臨床研究

本稿では“RNA interference” (RNAi) などによる血管新生促進因子の発現及び機能抑制、抗血管新生タンパク質の遺伝子治療及び自殺遺伝子療法などの癌に対する抗血管新生療法の非臨床研究の結果について述べる。以下に示すように各種担癌モデル動物などを用いた試験では多くの場合で有効性を示す結果が得られている。

1.1 VEGF 及び VEGF 受容体を標的とする

RNAi は二本鎖 RNA により誘導される配列特異的な遺伝子のサイレンシングである。21-23 mer の siRNA のヌクレオチドを導入することにより特定の遺伝子の発現をノックダウンできる。VEGF 受容体に対する siRNA は血管新生をブロックするこ

とにより腫瘍の容積を減少できる²²⁾。転写抑制に作用する zinc finger タンパク質の発現と VEGF-A に対する siRNA を組み合わせることにより VEGF-A が転写及び翻訳レベルで抑制される²³⁾。ユーイング肉腫に VEGF “short hairpin RNA” (shRNA) 発現ベクターを導入し、無胸腺マウスに投与すると血管密度が低下する²⁴⁾。腫瘍内にポリエチレンイミン/VEGF siRNA を投与すると腫瘍の成長が抑制される。VEGF siRNA 発現ベクター系の導入によりヒト白血病皮下異種移植モデルマウスにおける腫瘍の血管新生及び腫瘍の成長が劇的に抑制される²⁵⁾。マウスの皮下で生着した腫瘍に対する VEGF siRNA の治療効果が2つのグループにより同じヒト前立腺癌モデルで評価されている。アテアロコラーゲンと複合体を形成させた siRNA を40日にわたり10日ごとに腫瘍内に投与すると、腫瘍の血管新生及び成長が劇的に抑制される²⁶⁾。ヒト線維肉腫細胞を VEGF-A に対する siRNA とともに無胸腺マウスに投与すると、腫瘍の成長が遅くなり、血管密度が減少し、アポトーシスが增加する²⁷⁾。悪性黒色腫細胞に VEGF siRNA 発現プラスミドを導入し、マウスに移植すると、腫瘍の成長が阻害され、微小血管密度が減少し、腫瘍のアポトーシスが增加する²⁸⁾。VEGF-A siRNA を発現する裸のプラスミドを難治性前立腺癌モデルマウスに投与すると、微小血管密度が減少し、腫瘍の成長が長期間にわたり遅くなる²⁹⁾。VEGF siRNA と cholesteryl oligo-d-arginine の非共有結合複合体を皮下腫瘍マウスモデルに投与すると、腫瘍が退行する³⁰⁾。VEGF siRNA を網膜芽腫マウスモデルに投与すると、腫瘍の成長及び血管新生が抑制される³¹⁾。

“Antisense oligodeoxynucleotide” (ASO) は mRNA の翻訳をブロックする合成分子である。VEGF に対する ASO を頭頸部扁平上皮癌モデルマウスに投与すると、腫瘍の成長が抑制される³²⁾。肝癌の治療薬である lipiodol と VEGF に対する ASO を混合して投与すると、肝癌の成長の抑制、微小血管密度の阻害がそれぞれ単独に比べてより効果的に起きる³³⁾。VEGF に対する ASO をリンパ腫モデルマウスに投与すると、微小血管密度が低下する³⁴⁾。膵臓癌ドナー腫瘍の断片をヌードマウスの膵臓に投与後 VEGF に対する ASO を投与すると、腫瘍の容積及び転移の速度が低下するとともに微小血管密度が低

下する³⁵。カチオンリポソームで処方した VEGF に対する ASO をルイス肺腫瘍モデルマウスに投与すると、血管新生が阻害され腫瘍の血流が損傷される³⁶。VEGF-C に対する ASO を膵臓癌モデルマウスに投与すると、微小血管密度は低下しないがリンパ管の密度は低下する³⁷。VEGF に対する ASO と低分子ヘパリンを肺腫瘍モデルマウスに投与すると、それぞれ単独に比べて腫瘍の成長速度が遅くなり、微小血管密度が減少する³⁸。VEGF 受容体に対する ASO を docetaxol と共に頭頸部扁平上皮癌モデルマウスに投与すると、それぞれ単独に比べ腫瘍の容積がより抑制される³⁹。VEGF 受容体に対する ASO を腎細胞癌細胞である Caki-1 細胞に導入しヌードマウスに投与すると腫瘍血管の数が半分に低下する⁴⁰。同細胞を用いた腎細胞癌モデルマウスに VEGF 受容体に対する ASO を投与すると、腫瘍の大きさが低下し腫瘍の成長速度が低下する。VEGF の受容体である KDR/Flk-1 に対する ASO を胃癌モデルマウスに投与すると、腫瘍の腹膜への播種が減少すると共にアポトーシス細胞が増加し微小血管密度が低下する⁴¹。

“Soluble FMS-like tyrosine kinase receptor 1” (sFlt-1) は VEGF の受容体であり、*in vitro* 及び *in vivo* で VEGF を遮蔽し、他の膜貫通 VEGF 受容体と不活性のヘテロダイマーを形成する⁴²。“Adeno-associated virus vector” (AAV) を介して sFlt-1 遺伝子を導入したヒト卵巣癌細胞をヌードマウスの腹腔に投与すると、癌細胞の数が減少し、生存期間も延長する⁴³。“Adenovirus vector” (AV) を介して sFlt-1 遺伝子を導入したヒト卵巣癌細胞を無胸腺マウスの皮下に投与すると、腫瘍小結節が小さくなり、生存期間も延長する⁴⁴。AV を介して sFlt-1 あるいは Flk-1 遺伝子をルイス肺癌、繊維肉腫、膵癌モデルマウスに静脈投与すると、腫瘍の成長が 80% 阻害される⁴⁵。AAV を介して sFlt-1 遺伝子をマウスの骨格筋に投与後卵巣癌細胞を皮下及び腹腔に投与すると、腫瘍の成長が抑制される⁴⁶。sFlt-1 遺伝子を AAV を介してヌードマウスの筋肉内に投与すると、ヒト卵巣癌細胞に対して防御反応を示し、無病生存率を増加させる⁴⁷。pCMV ベクターに組み込んだ sFlt-1 遺伝子と PEI-g-PEG-RGD の複合体を皮下腫瘍モデルに尾静脈投与すると、腫瘍の成長が抑制される⁴⁸。一方、RGD を除いた同様

の複合体ではこの効果は観察されない。多発性骨髄腫モデルマウスに AV を介して sFlt-1 遺伝子を静脈投与すると、骨髄腫の容積及び微小血管密度が低下する⁴⁹。

FLK は VEGF 受容体である。“Retrovirus vector” (RV) を介してドミナントネガティブの FLK 遺伝子をグリア芽腫モデルマウスに投与すると、腫瘍の成長が阻害される⁵⁰。RV を介して可溶性 FLK 遺伝子を S180 及び B16 細胞に導入しマウスに投与すると、腫瘍の重さ及び大きさが小さくなり微小血管密度も低下する⁵¹。RV を介して可溶性 FLK 遺伝子を S180, MCF-7, B16 細胞担癌マウスに局所的に投与すると、腫瘍の大きさ、転移病巣の数、微小血管密度が低下する⁵²。AV を介して可溶性 FLK 遺伝子を卵巣癌モデルマウスに投与すると、腫瘍の成長及び微小血管密度が低下する⁵³。この効果は cis-diamminedichloroplatinum の共投与により増強される。

1.2 FGF-4 を標的とする

アテアロコラーゲンと FGF-4 siRNA 複合体を腫瘍内に投与すると、ヒト胚細胞腫瘍の異種移植モデルにおいて腫瘍の成長が効果的に抑制される⁵⁴。

1.3 CD31/Platelet endothelial cell adhesion molecule-1 を標的とする

CD31/“Platelet endothelial cell adhesion molecule-1” (PECAM-1) は血液循環血漿、単球、好中球、T 細胞の一部の表面に発現する 130-kDa のタンパク質であり、内皮細胞間の接合の主要な構成要素である⁵⁵。二つの異なった異種移植モデルマウスにおいて、生着した腫瘍を有するマウスの皮下に抗 CD31 siRNA lipoplex を投与すると、血管の長さが減少し、リンパ節転移の容積及び腫瘍の成長が抑制される⁵⁶。

1.4 Thrombospondin 1 及び 2

“Thrombospondin 1” (TSP-1) 及び TSP-2 は内在性の血管新生阻害剤である。TSP-1 のフラグメントの遺伝子及び p53 遺伝子をリポソームと複合体を形成させ、大腸癌モデルマウスに投与すると、それぞれ単独に比べて腫瘍の成長が阻害され微小血管密度が低下する⁵⁷。TSP-1 を過剰発現させたヒト扁平上皮癌細胞である A431 及び SCC-13 細胞をマウスに移植し、血管新生の抑制効果が検討されている⁵⁸。その結果、コントロールの細胞と比べ A431

異種移植の腫瘍の成長は阻害され、腫瘍血管の数及び大きさが減少する。SCC-13細胞の腫瘍形成は完全に消失する。TSP-1遺伝子発現ベクターをトランスフェクション試薬であるSOSPERTと混合しヒト膀胱癌異種移植モデルマウスの腫瘍内に投与すると、腫瘍の成長の抑制及びアポトーシスの促進が起り、微小血管密度が低下する⁶⁹。RVを介してTSP-2を繊維芽細胞に導入後細胞を生分解性の高分子足場に播種しヒト扁平上皮癌、悪性黒色腫、Lewis肺腫瘍モデルマウスの腹腔内に投与すると、腫瘍の成長及び血管新生が阻害される⁶⁰。TSP-1遺伝子をLN-229ヒト神経グリオーマ細胞に導入し免疫不全マウスに投与すると、コントロールの細胞と比べ腫瘍の成長が抑制され血管の容積及び血管の数が低下するが、腫瘍へのかん流は変化しない⁶¹。AVを介してTSP-1の抗血管新生フラグメント遺伝子を白血病モデルマウスの腫瘍内に投与すると、腫瘍の容積及び微小血管密度が低下する^{62,63}。RVを介してTSP-2 N末端領域の遺伝子をマウス不死化細胞に導入し腫瘍担癌マウスに投与すると、腫瘍の容積が低下し、腫瘍が40%まで根絶する。AVを介してTSP-2 N末端領域の遺伝子を扁平上皮癌モデルマウスの腫瘍内に投与すると腫瘍の成長及び容積、腫瘍血管の面積及び大きさが低下する⁶⁴。Salmonella choleraesuisベクターを介してTSP-1遺伝子を原発性黒色腫及び実験的肺転移モデルマウスに投与すると、腫瘍の成長が阻害され腫瘍内微小血管密度が低下し生存期間が延長する⁶⁵。

1.5 Mapsin

Mapsин 遺伝子は p35 及び DNA methyltransferase により転写調節される腫瘍抑制遺伝子である。その発現レベルは悪性腫瘍で減少し、転移性の細胞では消失する^{66,67}。Mapsин 遺伝子を導入した乳癌細胞をヌードマウスに移植すると、コントロールの細胞に比べて腫瘍誘導能及び転移能が低下する⁶⁸。また、AAV-2を介してヒト Mapsин 遺伝子を発現すると、前立腺癌における血管新生を阻害され腫瘍の成長が効果的に抑制される⁶⁷。乳癌細胞を乳腺に同種移植して乳腺の中で腫瘍を成長させるとともに他の器官に転移させる同系転移モデルマウスにおいて、非ウイルスリボソームをキャリアとして用いた Mapsин 遺伝子デリバリーの効果が検討されている⁶⁹。その結果、コントロールの細胞に比べて原発

性腫瘍の成長と転移が抑制され、腫瘍のアポトーシスが增加する。AAVを介して Mapsин 遺伝子を前立腺癌モデルマウスの腫瘍内にデリバリーすると、腫瘍の成長が抑制され、生存期間が延長する⁶⁷。

1.6 ヒト ribonuclease inhibitor

ヒト "ribonuclease inhibitor" (RI) は分子量 50-kDa の酸性タンパク質であり、膵臓の RNase 活性を阻害する⁷⁰。ヒト RI は血管新生促進因子である Angiostatin と強い複合体を形成し血管新生を阻害すると考えられている⁷¹。RI 遺伝子を造血細胞に導入しマウスに移植すると、腫瘍の成長が47%まで阻害され、微小血管密度が低下する⁷⁰。RVを介して RI 遺伝子を導入した黒色腫細胞をマウスに投与すると、コントロールの細胞に比べて腫瘍重量の低下を伴う腫瘍成長の阻害、微小血管密度の低下、潜伏期間の延長、生存期間の延長が観察される⁷²。RVを介して RI 遺伝子を黒色腫モデルマウスに投与すると、コントロールの細胞に比べ血管の低下を伴い腫瘍の成長が低下する⁷³。RI 遺伝子を pcDNA 発現ベクターに組み込み黒色腫細胞に導入しマウスに静脈投与すると、コントロールの細胞に比べ腫瘍の転移性進行が抑制され血管の数が低下し、生存期間が延長する⁷⁴。

1.7 Survivin を標的とする

Survivin は癌及びリンパ種で過剰発現する抗アポトーシス遺伝子である⁷⁵。Survivin は正常皮膚の非増殖性毛細血管の内皮ではほとんど発現しないが、*in vivo* の肉芽組織において新しく形成された血管で高発現している。したがって、内皮に Survivin を発現させると腫瘍の血管新生が促進される可能性がある⁷⁶。AAVを介して Survivin Cys84Ala 変異体を発現させると結腸癌における血管新生が抑制される⁷⁷。"Lentivirus vector" (LV) を介して Survivin shRNA を口腔扁平上皮癌モデルマウスに投与すると、腫瘍の成長が抑制される⁷⁸。膀胱癌モデルマウスの腫瘍内に Survivin siRNA を投与すると、腫瘍の成長が抑制される⁷⁹。Survivin に対する ASO を肝臓癌モデルマウスに静脈内投与すると、腫瘍の成長が抑制される⁸⁰。AVを介してドミナントネガティブ Survivin 遺伝子を肝臓癌モデルマウスに投与すると、腫瘍の成長が阻害され生存期間が延長される⁸¹。プラスミドを介して Survivin shRNA を横紋筋肉腫モデルマウスに皮下投与する

と、腫瘍の成長が70%低下する⁸²⁾。

1.8 Interferon

“Interferon” (IFN) が血管新生の阻害剤として作用することが明らかになったきっかけは1980年にIFN- α と内皮細胞の傷害の関連が発見されたことであり、その後血管新生の阻害剤としての特性解析がなされた⁸³⁾。

1.8.1 IFN- α

IFN- α 遺伝子をRVの1つであるLXNベクターに挿入し、GP+envAml2パッケージング細胞に導入し、その細胞を高い血管新生能を有するカボシ肉腫細胞と同時にヌードマウスに投与すると、コントロールの細胞に比べ腫瘍の成長が強く抑制される⁸⁴⁾。その効果はIFN- α cDNAを発現させるレトロウイルスを直接投与した場合と同じである。RVを介してIFN- α 遺伝子を発現させたヒト乳癌細胞をヌードマウスに移植すると、コントロールの細胞に比べて腫瘍の血管新生が低下し腫瘍の成長が長期間阻害される⁸⁵⁾。LVを介してIFN- α 遺伝子を卵巣癌モデルマウスに投与すると、生存が延長される⁸⁶⁾。RVを介してIFN- α 遺伝子を導入した結腸直腸癌細胞を免疫不全マウスに移植すると、コントロールの細胞に比べ腫瘍原性が低下する⁸⁷⁾。同じ結腸直腸癌細胞を用いて作成された結腸直腸癌モデルマウスに先のIFN- α 遺伝子を導入した細胞を投与すると、コントロールの細胞に比べ腫瘍の成長が抑制される。RVを介してIFN- α を導入した繊維芽細胞あるいはRapamycin類似体であるAP 21967により誘導されるプロモーターでIFN- α 遺伝子を産生する繊維芽細胞を卵巣癌モデルマウスの腫瘍内に投与し、抗腫瘍効果が比較検討されている⁸⁸⁾。IFN- α 遺伝子を恒常的に発現する繊維芽細胞を用いた場合は、腫瘍の血管新生が阻害され生存期間が延長される。一方、誘導性プロモーターでIFN- α を発現する繊維芽細胞ではこれらの効果は弱い。AVを介してIFN- α 遺伝子を膵臓癌モデルマウスの皮下腫瘍に投与すると、投与部位の腫瘍だけでなく腹膜及び離れた領域における腫瘍も成長が抑制される⁸⁹⁾。

1.8.2 IFN- β

AVを介してIFN- β 遺伝子を乳癌モデルマウスに投与すると、腫瘍の成長が阻害され多くの場合で腫瘍が完全に退行する⁹⁰⁾。RVを介してIFN- β 遺

伝子を前立腺癌細胞に導入し、ヌードマウスの前立腺あるいは皮下組織に移植すると、コントロールの細胞に比べ腫瘍の成長及び局所的なリンパ節転移が抑制される⁹¹⁾。また、同細胞によるバイスタンダー効果で、非導入前立腺癌細胞の腫瘍形成も抑制される。AVを介してIFN- β 遺伝子を前立腺癌モデルマウスに投与すると、腫瘍の成長及び転移の広がりが抑制され微小血管の数が低下する⁹²⁾。AVを介してIFN- β 遺伝子を結腸直腸癌肝臓転移モデルマウスに投与すると、肝臓の腫瘍のアポトーシスが促進され腫瘍が退行し生存が延長する⁹³⁾。AVを介してIFN- β 遺伝子を膀胱移行上皮癌細胞に導入しヌードマウスの膀胱に移植すると、コントロールの細胞に比べ腫瘍の形成及び突発性リンパ節転移が阻害される⁹⁴⁾。同遺伝子を膀胱移行上皮癌モデルマウスに投与すると、腫瘍のネクローシスが起き微小血管密度が低下する。皮下及び後腹膜神経芽腫細胞をマウスに移植し、5日後にAAVを介してIFN- β 遺伝子を投与すると、腫瘍の発達はみられない⁹⁵⁾。AVを介してIFN- β 遺伝子を5-Fluorouracilとともに結腸直腸癌肝臓転移モデルマウスに投与すると、腫瘍の退行及びアポトーシスが起き生存期間が延長する⁹⁶⁾。この場合、治療効果に必要なベクター量はベクターのみを投与する場合に比べて少ない。AAVを介してIFN- β 遺伝子を神経芽細胞腫の同所局後腹膜及び播種モデルマウスに投与し肝臓でIFN- β を持続的に発現させると、腫瘍の成長が抑制され微小血管密度が低下し生存期間が延長される⁹⁷⁾。これと併用して低濃度でCyclophosphamideを投与すると腫瘍が退行する。AVを介してIFN- β 遺伝子を前立腺癌モデルマウスの腫瘍内に投与すると、腫瘍の成長が阻害され生存期間が延長する⁹⁸⁾。

1.8.3 IFN- γ

パッケージング細胞を用いてIFN- γ 遺伝子を発現させるレトロウイルスを産生させ、その細胞を頭蓋内神経膠腫モデルマウスに投与すると腫瘍の根絶がみられ生存期間が延長する⁹⁹⁾。

1.9 TNF- α

TNF- α は抗血管新生因子であり抗腫瘍効果を有する¹⁰⁰⁾。AVを介してTNF- α 遺伝子をDoxorubicinとともにDoxorubicinに抵抗性の前立腺癌及び結腸癌モデルマウスに投与すると、腫瘍の微小血管密度が低下して血管新生が阻害され抗腫瘍効果を

示す¹⁰¹⁾。

1.10 Interleukin-12

“Interleukin-12” (IL-12) は強力な抗血管新生及び抗腫瘍活性を有する^{102,103)}。

セムリキ森林熱ウイルスベクターを介して IL-12 遺伝子を黒色腫モデルマウスに投与すると、腫瘍のネクロシスが起きるとともに血管新生が抑制され腫瘍の成長が阻害される¹⁰⁴⁾。AV を介して IL-12 遺伝子を乳癌モデルマウスの腫瘍に投与すると、微小血管密度が減少し腫瘍の退行が起きる¹⁰⁵⁾。この効果は AV を介して Angiostatin 遺伝子を共投与することにより増強される。AV を介して IL-12 遺伝子を肝癌モデルマウスの腫瘍内に投与すると、腫瘍の成長が阻害され腫瘍の 50% で完全な退行が起き生存期間が延長される¹⁰⁶⁾。裸の DNA を介して IL-12 遺伝子をカボジ肉腫及び乳癌モデルマウスに投与すると、腫瘍の血管新生及び成長が阻害される¹⁰⁷⁾。発現ベクターを介して IL-12 遺伝子を Polyvinylpyrrolidone とともに肝癌モデルマウスに投与すると、腫瘍血管の数が少なくなりアポトーシスが增加し腫瘍の成長が阻害される¹⁰⁸⁾。この効果は発現ベクターを介して Endostatin 遺伝子を Polyvinylpyrrolidone とともに共投与することにより増強される。エレクトロポレーション法を用いて IL-12 遺伝子を免疫不全肝癌モデルマウスの腫瘍内に投与すると、微小血管の数が低下し腫瘍の成長が抑制される¹⁰⁹⁾。この効果は免疫応答性を有するモデルマウスでも同じようにみられる。RV を介して IL-12 遺伝子を頭頸部扁平上皮癌モデルマウスに投与すると、血管密度の低下及びアポトーシスの増加を伴い腫瘍が退行し腫瘍の成長が阻害される¹¹⁰⁾。非ウイルスベクターを介して IL-12 遺伝子を頭頸部癌モデルマウスの腫瘍内に投与すると、血管密度が減少し腫瘍細胞の増殖が抑制されアポトーシスが增加する¹¹¹⁾。この効果は Flk-1 をコードする *Salmonella typhimurium* DNA ワクチンを経口で共投与することにより増強される。エレクトロポレーション法を用いて IL-12 遺伝子を転移性乳癌モデルマウスの腫瘍内に投与すると、腫瘍の容積及び微小血管密度が低下しリンパ管及び肺への転移が阻害される¹¹²⁾。

1.11 Tissue inhibitors of metalloproteinase

“Matrix metalloproteinase” (MMP) は細胞外

マトリックスの再構成に重要な役割を果たしており、生理的及び病理的な血管新生、病理的な腫瘍の成長及び転移に必須の成分である¹¹³⁾。“Tissue inhibitors of metalloproteinase” (TIMP) はこれら MMP の作用を阻害する¹¹⁴⁻¹¹⁶⁾。

パッケージング細胞を用いて TIMP-2 遺伝子を発現させるレトロウイルスを産生させ、その細胞と腫瘍原性を有する Ha-ras 導入ラット胎児繊維芽細胞をともにヌードマウスに移植すると、コントロールの細胞に比べ腫瘍の成長が遅れる¹¹⁷⁾。また、その腫瘍の結合組織膜は厚く局所的な浸潤は見られない。AV を介して TIMP-1 あるいは TIMP-2 遺伝子を腹腔内臓癌モデルマウスに投与すると、浸潤が低下し生存期間が延長される¹¹⁸⁾。TIMP-1 遺伝子を膵臓癌細胞に導入しその細胞をマウスの皮下あるいは膵臓に投与し抗腫瘍効果が検討されている¹¹⁹⁾。膵臓に投与した場合、コントロールの細胞に比べ移植の効率は低く成長した腫瘍及び転移の数は少ない。また、アポトーシスが增加し、血管新生が減少する。皮下投与した場合は、腫瘍の発現が遅れる。RV を介して TIMP-2 遺伝子を乳癌細胞に導入しその細胞をヌードマウスに投与すると、コントロールの細胞に比べ腫瘍の成長が遅れる¹²⁰⁾。TIMP-2 RV 産生細胞を乳癌モデルマウスの腫瘍内に投与すると、肺転移腫瘍の大きさ及び数が劇的に減少する。AV を介して TIMP-3 遺伝子を肺癌モデルマウスに投与すると、腫瘍の成長が阻害される¹²¹⁾。またその治療効果は TIMP-1 あるいは TIMP-2 遺伝子を用いた場合よりも高い。ヒトカボジ肉腫細胞に AAV を介して TIMP-1 遺伝子を導入し、ヌードマウスに移植するとコントロールの細胞に比べ腫瘍の成長が顕著に抑制される¹²²⁾。同様に、腫瘍担癌モデルにおいて直接腫瘍に投与すると腫瘍容積の拡大が顕著に抑制される。

1.12 Platelet factor 4

“Platelet factor 4” (PF4) は *in vitro* で内皮細胞の増殖を阻害し *in vivo* の実験モデルで血管新生及び腫瘍の成長を阻害する¹²³⁻¹²⁵⁾。AV を介して可溶性 PF4 遺伝子を大脳内神経腫瘍モデルマウスに投与すると、腫瘍内の血管が低下し成長が遅くなるとともに血管新生が阻害され生存期間が延長する¹²⁶⁾。RV を介して PF-4 遺伝子あるいは PF-4 遺伝子の 17~70 番目までの遺伝子を扁平上皮癌細胞

あるいは頭頸部扁平上皮癌細胞に導入しそれらの細胞をヌードマウスに投与すると、コントロールの細胞に比べて血管の数及び腫瘍の容積が低下するとともに腫瘍の成長が阻害され生存期間が延長する¹²⁷⁻¹²⁹。

1.13 Interferon-inducible protein 10

“Interferon-inducible protein 10” (IP-10) は *in vivo* において強力な抗血管新生活性を有することが明らかになった免疫調節ケモカインである¹³⁰。

RV を介して IP-10 遺伝子を皮下腫瘍モデルマウスに投与すると、腫瘍の血管形成及び増殖能が低下し皮下腫瘍及び転移領域における腫瘍の成長が阻害される¹³¹。RV を介して IP-10 遺伝子を黒色腫瘍モデルマウスの静脈及び腫瘍内に投与すると腫瘍の拒絶が起き生存期間が延長する¹³²。この効果は Endostatin 遺伝子よりも高い。RV を介して IP-10 遺伝子を黒色腫瘍細胞に導入しその細胞をヌードマウスの皮下に投与すると、コントロールの細胞に比べて微小血管密度が低下し腫瘍の成長が阻害される¹³³。

1.14 16-kDa Prolactin fragment

“16-kDa Prolactin fragment” (16-kDa PRL) は野生型である 23-kDa prolactin のタンパク質の分解的切断により生じたものであり、抗血管新生活性を有する¹³⁴。

AV を介して 16-kDa PRL 遺伝子を膀胱癌細胞に導入しその細胞をマウスに投与すると、腫瘍の形成能が減少する¹³⁵。

1.15 Tumstatin

Tumstatin は 4 型コラーゲン $\alpha 3$ 鎖の非コラーゲン領域である。Tumstatin は血管新生を抑制し¹³⁶、いくつかの異なるモデルマウスにおいて腫瘍の成長を抑制する¹³⁷⁻¹³⁹。

Tumstatin 遺伝子の全長 (1-232) あるいは C 末端領域 (183-203) の遺伝子を黒色腫瘍細胞に導入しその細胞を皮下に投与すると、コントロールの細胞に比べて腫瘍の成長が減少する¹⁴⁰。プラスミドを介して Tumstatin 遺伝子を Gemcitabine とともに結腸癌及びルイス肺腫瘍モデルマウスの腫瘍内に投与すると、腫瘍の血管新生が阻害されアポトーシスが促進され腫瘍の成長が阻害される。その抑制効果はそれぞれ単独で投与した場合に比べて強い¹⁴¹。ヒトテロメラーゼ遺伝子のプロモーターを有する AV を介して RGD-tumstatin 遺伝子を皮下腫瘍の

モデルマウスに投与すると、腫瘍の血管密度が低下し腫瘍の成長が阻害される¹⁴²。

1.16 Canstatin

Canstatin は 4 型コラーゲンの $\alpha 2$ 鎖の非コラーゲン領域である。Canstatin は担癌モデルマウスにおいて腫瘍の成長を抑制する抗血管新生因子である¹⁴³。9 コピーの低酸素応答配列を有する発現ベクターを介して Canstatin 遺伝子を導入した肺癌細胞をヌードマウスに移植すると、コントロールの細胞に比べて腫瘍は小さく微小血管は少ない¹⁴⁴。Canstatin 遺伝子発現ベクターをヒト血清アルブミンとカップリングさせ眼癌モデルマウスに投与すると、腫瘍の転移が少なく転移した腫瘍の成長が阻害され平均生存期間が延長される¹⁴⁵。

1.17 Vasostatin

Vasostatin は Calreticulin の N 末端領域 (1-180) であり担癌マウスにおいて腫瘍の成長を抑制する抗血管新生因子である¹⁴⁶。プラスミドを介して Vasostatin 遺伝子を繊維肉腫あるいはルイス肺癌モデルマウスの筋肉内に投与すると、腫瘍の血管新生及び成長が阻害されアポトーシスが増加し生存期間が延長する¹⁴⁷。エレクトロポレーション法を用いて Vasostatin 遺伝子を黒色腫瘍モデルマウスの筋肉内に Cyclophosphamide と共投与すると、腫瘍の成長が阻害され生存期間が延長する¹⁴⁸。AV を介して Vasostatin 遺伝子を膵臓癌モデルマウスに投与すると、腫瘍の容積が小さく微小血管密度が低下する¹⁴⁹。プラスミドを介して B7H3 及び Vasostatin 遺伝子を皮下肝臓癌モデルマウスの腫瘍内に投与すると、腫瘍は根絶されて複数の異なる領域における腫瘍結節が完全に退行する¹⁵⁰。なおこの効果は単独ではみられない。

1.18 Angiostatin

Angiostatin は Plasminogen の 38-kDa の断片でありマウス腫瘍モデルにおいて腫瘍の成長及び転移を抑制する抗血管新生因子である¹⁵¹⁻¹⁵³。

AV を介して Angiostatin 遺伝子を導入したグリオーマ細胞をヌードマウスに移植すると、コントロールの細胞に比べて腫瘍の成長及び血管新生が抑制され、腫瘍細胞のアポトーシスが促進され、その結果腫瘍の成長が抑制される¹⁵⁴。マウスにおいて生着したグリオーマあるいは乳癌の腫瘍内に AV を介して Angiostatin 遺伝子を導入すると腫瘍の中にある

いは近傍で血管新生が抑制され腫瘍の成長が停止する¹⁵⁴。肺転移性乳癌モデルマウスにおいてAVを介してAngiostatin遺伝子をデリバリーすると腫瘍の成長が抑制される¹⁵⁵。Angiostatin遺伝子を導入したマウス肺転移性乳癌細胞をマウスに移植すると、コントロールの細胞に比べ腫瘍の成長が抑制され、血管が顕著に減少しアポトーシスを起こした腫瘍細胞が多くみられる¹⁵⁶。白血病及び黒色腫モデルマウスにRVを介してAngiostatin及びEndostatin遺伝子の両方を導入すると腫瘍形成が抑制される。特に白血病モデルでは投与を受けた動物の40%で完全に腫瘍の形成が抑制される。Angiostatin遺伝子を導入したマウス腎臓癌細胞をマウスの皮下に移植すると、コントロールの細胞に比べて腫瘍の容積が低下し、腫瘍血管の形成が抑制される¹⁵⁷。また離れた部位に同時に移植した遺伝子非導入マウス腎臓癌細胞の増殖も抑制される。AAVを介してAngiostatin遺伝子を投与するとヌードマウスの脳に生着したグリオーマの成長が抑制される。また、血管密度が低下し、新生血管を取り囲む腫瘍細胞のアポトーシスが增加する¹⁵⁸。AAVを介してAngiostatin遺伝子を門脈から投与すると肝臓に生着した結節性及び転移性白血病腫瘍の成長が抑制される¹⁵⁹。新生血管の成長は抑制され腫瘍細胞の広範囲にわたるアポトーシスがみられる。AngiostatinとEndostatin遺伝子を低電圧エレクトロポレーション法によりマウス結腸癌モデルに導入すると微小血管密度が減少し、腫瘍の成長が抑制される¹⁶⁰。AVを介して導入したAngiostatinのkringle領域1-3(K1-3)あるいはEndostatin遺伝子の結腸直腸癌、肝細胞癌、ルイス肺癌マウスモデルに対する効果が調べられている¹⁶¹。両遺伝子は免疫能を有するマウスのルイス肺癌モデルでは同様な抗腫瘍効果を示すが、無胸腺マウスではAngiostatinのK1-3遺伝子の阻害効果が高い。AngiostatinのK1-3遺伝子はマウス結腸直腸癌モデル及びヒト肝細胞癌モデルでは腫瘍の成長を抑制するが、ヒトの結腸直腸癌モデルでは効果がない。ヒトEndostatinとAngiostatinの融合タンパク質を発現するAVである可溶性のAd-hEndo-angioと内皮特異的なテロシンキナーゼTie2を発現するAd-sTie2の腫瘍抑制効果が両側の前立腺癌マウスモデルで比較検討されている¹⁶²。Ad-hEndo-angioはAd-sTie2よりも腫瘍の成長

を強く抑制する。両方の遺伝子を導入すると投与した部位における腫瘍だけでなく投与していない反対側の腫瘍も完全に退行する。sFlt-1及びAngiostatin-Endostatin融合遺伝子(stain-AE)のSleeping beauty transposonを用いた非ウイルス遺伝子導入による腫瘍抑制効果がグリア芽腫異種移植マウスモデルで検討されている¹⁶³。皮下の異種移植に両方の遺伝子を投与すると顕著な抗腫瘍活性が示され、腫瘍血管密度、グリア芽腫の成長の阻害あるいは撲滅が起こる。頭蓋内移植モデルでは両方の遺伝子を導入した場合においてのみ持続した腫瘍の退行が示されている。AngiostatinのK1-3, Endostatin, Saxatillin遺伝子をhydrodynamic法により共導入すると、黒色腫モデルにおいて腫瘍の成長及び肺転移が約90%抑制される¹⁶⁴。他の組み合わせにおける抑制効果は上記の組み合わせよりも低い。AngiostatinのK1-3遺伝子を組み込んだAVをヒト血清アルブミンに結合させ転移性眼癌のトランスジェニックマウスに導入すると、腫瘍の転移が抑制される¹⁶⁵。

一方、マウス（ルイス肺癌腫瘍、繊維肉腫）及びヒト（膵臓癌）の担癌マウスモデルにおいては、AVを介してAngiostatinあるいはEndostatin遺伝子を導入しても腫瘍の成長抑制効果はあまりみられない¹⁶⁶。また、AngiostatinのK1-3の遺伝子を組み込んだAVをヒト血清アルブミンと結合させ神経芽細胞腫異種移植マウスモデルに投与したが、腫瘍の成長抑制作用はみられていない¹⁶⁷。

1.19 Endostatin

Endostatinはマウスの腫瘍モデルにおいて腫瘍の成長を顕著に抑制する抗血管新生因子である^{166,167}。

AVを介してEndostatin遺伝子を乳癌及びルイス肺腫瘍モデルマウスに導入すると、腫瘍の成長速度及び体積が低下する¹⁶⁸。ルイス肺腫瘍モデルマウスでは血管の数が減少し、肺への微小転移の形成が完全に阻止される。AVを介してEndostatin遺伝子を結腸/肝臓腫瘍転移モデルマウスに投与すると、マウスの25%で腫瘍の成長が完全に抑制される¹⁶⁹。AVを介してEndostatin遺伝子を膵臓内癌マウスモデルに導入すると腫瘍の成長が40%まで抑制される¹⁷⁰。Semliki Forest Virus (SFV)あるいはRVを介したEndostatin遺伝子の腫瘍抑制効

果が悪性脳腫瘍モデルマウスで検討されている¹⁷¹⁾。RVよりもSFVを用いた場合のほうがより顕著に腫瘍の成長が阻害され、腫瘍内血管新生が低下する。RVを介してEndostatin遺伝子を導入した肝癌細胞をヌードマウスに皮下投与すると、コントロールの細胞に比べて腫瘍の容積が顕著に低下する¹⁷²⁾。RVを介してIFN- α 、Angiostatin、Endostatin遺伝子を導入したヒト乳癌細胞MCF7及びMDA-MB435をヌードマウスに移植し腫瘍成長に対する効果が調べられている¹⁷³⁾。両細胞にIFN- α 遺伝子を導入した場合はコントロールの細胞に比べて血管新生が低下し、腫瘍の成長が長期間顕著に阻害される。MCF-7細胞にEndostatin遺伝子を導入した場合は、コントロールの細胞に比べて腫瘍の成長が抑制される。一方、MDA-MB435細胞の場合はコントロールの細胞と比べて阻害されない。両細胞にAngiostatin遺伝子を導入してもコントロールの細胞と比べて腫瘍の成長は阻害されない。浸潤が起こる以前の段階まで乳癌腫瘍が発達したC3(1)/T抗原トランスジェニックマウスにAVを介してEndostatin遺伝子を導入すると、腫瘍の成長が抑制される¹⁷⁴⁾。RVを介したEndostatin遺伝子と放射線照射による腫瘍抑制効果が膵癌モデルマウスで検討されている¹⁷⁵⁾。Endostatin遺伝子により腫瘍の形成速度が遅れ、微小血管密度及び腫瘍の大きさが低下する。更に放射線照射を行うことにより、微小血管密度及び腫瘍の大きさの低下はより顕著になる。Herpes simplex virus 1 (HSV-1) ベクターを介してEndostatin遺伝子をマウス結腸癌モデルマウスの腫瘍部位に直接導入すると、腫瘍の破壊が起こり、血管の数が低下する¹⁷⁶⁾。AVを介してEndostatin遺伝子を悪性腹水マウスに導入すると、腹水の蓄積、腹膜の毛細血管の透過性、腫瘍組織の微小血管密度が減少し、腹水の腫瘍細胞数が減少する¹⁷⁷⁾。これらの治療効果はCisplatinとの組み合わせにより増加する。AAVを介してEndostatin遺伝子を鼻咽腔癌モデルマウスに導入すると、腫瘍の抑制、肺への転移の抑制、微小血管密度の低下がおこる¹⁷⁸⁾。ヌードマウスにおいて右脇腹に皮下移植あるいは舌に同所性移植されたヒト口腔扁平上皮癌の成長はAVを介したEndostatin遺伝子の導入により阻害される¹⁷⁹⁾。Endostatin遺伝子は同所性移植されたリンパ節の転移も阻害する。AVを介してEndos-

tin遺伝子が導入された舌の腫瘍の周囲では血管及びリンパ管の数が低下する。ヒト卵巣癌細胞を卵巣に同所移植したマウスにAAVを介して125番目のアミノ酸をプロリンからアラニンに置換したヒトEndostatin変異遺伝子を導入すると、卵巣癌の成長が抑制され、33%の動物が腫瘍の無い状態で長期間生存する¹⁸⁰⁾。Carboplatinと組み合わせると、60%の動物が腫瘍の無い状態で200日以上生存し、その生存期間はCarboplatin単独よりも長い。共投与により40%の動物で腫瘍の発現が遅れ、移植部位の腫瘍の大きさは小さく、腹膜に転移していない場合もある。AVを介してEndostatin遺伝子を鼻咽腔癌モデルマウスの腫瘍内に導入すると、腫瘍の成長及び血管新生が阻害される¹⁸¹⁾。

一方、RVを介してEndostatin遺伝子を導入した造血幹細胞をマウスに移植しても抗腫瘍活性はみられない¹⁸²⁾。

1.20 Melanoma differentiation-associated-7 遺伝子あるいは IL-24

"Melanoma differentiation-associated-7" (mda-7) 遺伝子はヒトメラノーマの分化、増殖、進行を調節する新規のメラノーマの分化関連遺伝子である。mda-7 遺伝子はアポトーシスを促進し血管新生を阻害する^{183,184)}。

肺癌細胞であるp53野生型A549細胞及びp53欠損H1299細胞にAVを介してmda-7遺伝子を導入し、その細胞を皮下に移植するとコントロールの細胞に比べてアポトーシスが誘導され腫瘍の成長が阻害される¹⁸⁵⁾。A549細胞を用いた異種移植腫瘍モデルマウスの腫瘍内にAVを介してmda-7遺伝子を投与するとともに放射線を照射すると、腫瘍の成長が阻害される¹⁸⁶⁾。腫瘍における微小血管密度の低下及びアポトーシスの促進は、併用処置のほうがそれぞれ単独処置よりも顕著である。コレステロールナノ粒子を介してmda-7遺伝子を原発性及び播種性肺癌モデルマウスに投与すると、腫瘍の成長が抑制され血管新生が低下する¹⁸⁷⁾。肺癌モデルマウスにAVに組み込んだmda-7遺伝子を抗炎症薬であるSulindacとともに投与すると、それぞれを単独投与した場合に比べて腫瘍の成長がより抑制される¹⁸⁸⁾。乳癌モデルマウスにAVを介してmda-7遺伝子を投与するとともに放射線照射を行うと腫瘍の成長が抑制される¹⁸⁹⁾。肺癌移植モデルマウスに