

AMCoR

Asahikawa Medical College Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

肺癌の臨床 (2003.01) 5巻2号:149～154.

【肺がんの分子生物学・バイオセラピーの現状と将来】 血管新生と転移

大崎能伸

特集

肺がんの分子生物学・バイオセラピーの現状と将来

血管新生と転移

大崎能伸*1

Angiogenesis and Metastasis of Malignant Tumor: Ohsaki Y (1st Dept of Med, Asahikawa Med College)

Cancer is a multistep process. Recent progress in the understanding of the molecular mechanisms of the carcinogenesis revealed that cancer has a monoclonal origin and is characterized by its heterogeneity. The heterogeneity includes genetic and phenotypic heterogeneities. The multistep genetic alterations result in the loss of control of cell division, leading to the initial tumor formation, which is followed by metastatic spread. The process of metastasis includes invasion through the basement membrane, migration, cell transfer to the site of metastasis, cell adhesion, and angiogenesis. A variety of angiogenetic factors involve in the normal and carcinogenic angiogenesis. Among them, VEGF has been reported to play a key role in the carcinogenic angiogenesis. The current review discusses the process of metastasis and angiogenesis in malignant tumors.

Key words: Metastasis, Angiogenesis, Hypoxia, Angiogenetic factors, Growth factors
Jpn J Lung Cancer Clin 5(2): 149~154, 2002

はじめに

がんは単クローン性 (monoclonal) に発生すると同時に、多様性 (heterogeneity) に富むという特性を持つ。女性の個々の細胞では、どちらのX染色体が優勢になるかが発生の初期に決定される。したがって、女性のがん細胞のX染色体の機能を調べると、がんが単クローンの起源をもつか、多クローンの起源をもつかを明らかにできる。このような検討の結果、がん細胞は単クローン性であることが示された。ヒトのがんは一個の細胞を起源にして、遺伝子に複数の変異が蓄積されて発生すると考えられている¹⁾。

多段階の遺伝子突然変異によって、がん細胞は増殖を続ける能力とともに遺伝子の多様性を獲得する。増殖に有利な遺伝子変異を獲得した細胞が、やがて正常細胞を凌駕する。生体内でがん細胞が増殖を続けるためには、免疫機構の監視から逃れること、転移や血管新生を促すなどさまざまな能力を持つ必要がある。

*1 旭川医科大学第1内科

表1 がん細胞の転移に関連するプロセス

1. がん細胞の原発巣からの遊離
2. 基底膜への侵入
3. 間質内での移動
4. リンパ管や血管への侵入
5. 免疫担当細胞からの回避
6. 転移病巣細脈管への付着
7. リンパ管や血管からの遊出
8. 転移巣での増殖
9. 腫瘍血管新生

1. がんの転移と血管新生

転移巣を形成するためにはがん細胞が病巣から遊離して、標的臓器に運ばれて転移先の細胞に付着する必要がある(表1)。転移の初期段階で、がん細胞は隣接する細胞との接着性を失う。その後、レセプターを介して隣接細胞や結合組織のマトリックス構造に付着すると考えられている。E-カドヘリンは、細胞間の接着に重要な役割を持つと考えられており、E-カドヘリンを介して細胞同士が接着すると、 β -カテニンと Lef/Tcf ファミリーに属する転写因子の発現によって細胞の増殖が抑制される。がん細胞ではE-カドヘリンの不活性化や β -カテニンの不活性化により、E-カドヘリンの機能が失われている²⁾。このようながん細胞に機能的なカドヘリンを発現させると、浸潤性がみられなくなる。*Rb* 遺伝子と *c-myc* 遺伝子は AP-2 転写因子を介して E-カドヘリン遺伝子の発現を活性化すると報告されている³⁾。

腫瘍細胞と間質細胞の相互作用により、urokinase plasminogen activator (uPA)/uPA レセプター/plasminogen ネットワークと matrix metalloproteinase (MMP) による細胞外の蛋白の分解が調節されている。MMP はおよそ 17 種類の zinc-dependent endopeptidase からなるファミリーで、コラゲナーゼ、ゼラチナーゼ、ストロメリンなどが含まれる。MMP はおもに細胞外マトリックスを分解し⁴⁾、その活性は tissue inhibitors of metalloproteinase (TIMP) によって阻害される。MMP の分泌は、腫瘍組織内に浸潤するリンパ球 (tumor-infiltrating lymphocyte) や、間質細胞から分泌される成長因子やサイトカインを介したパラクリンによって刺激される。まれに腫瘍細胞自体が MMP を産生することもある。MMP は腫瘍細胞が浸潤するときに、重要な役割を果たしていると考えられている。MMP-2 と uPA は間質細胞から不活性型として産生された後に腫瘍細胞の表面で活性化され、腫瘍細胞が基底膜を破って浸潤することができる。MMP-3 が過剰産生されると E-カドヘリンが分解される⁵⁾。E-カドヘリンの機能が失われると MMP-7 の活性が高まると報告されている⁶⁾。

基底膜を越えて結合組織に侵入したがん細胞は、その後に近接する血管やリンパ管に侵入する。脈管に侵入したがん細胞は、血流やリンパ流に乗って遠隔の転移標的臓器へ運ばれる。転移巣へ運ばれたがん細胞は、血管やリンパ管から組織内に侵入して病巣を形成する。この過程は、腫瘍細胞と転移標的臓器の生物学的特性の相互作用によって規定されると考えられている。原発巣と異なる間質やマトリックス環境にがん細胞が結合できるように、インテグリン遺伝子の発現の変化が起こるとされる。実験系を用いて、MMP-2 と $\alpha\beta 3$ インテグリン間との結合を阻害すると、腫瘍の増殖が抑制されることが報告された⁷⁾。また、メラノーマ細胞表面の $\alpha\beta 3$ インテグリンは、リンパ節のマトリックス蛋白

表2 正常な血管新生に関する因子¹⁴⁾

Soluble mediators	Membrane-bound proteins
VEGF	$\alpha\beta3$ -Integrin
Ang 1	$\alpha\beta5$ -Integrin
Ang 2	$\alpha5\beta1$ -Integrin
aFGF, bFGF	VE-cadherin
PDGF	Eph-4B/Ephrin-B2
TGF- β	Ephrin-A1
TNF- α	Eph-2A
EGF, TGF- α	
G-CSF, GM-CSF	
Angiogenin	
Angiotropin	
Tissue factor	
Factor V	
Prostaglandin	
Nicotinamide	
Monobutyryl	

である vitronectin との相互作用によって MMP-2 を産生して腫瘍細胞を浸潤させると報告されている⁸⁾。

このように、転移病巣が成立する過程には種々の蛋白や酵素の働きが必要で、それぞれの産生に多様な遺伝子発現が関連すると考えられている。

2. がんの増殖に伴う血管新生

がん細胞が増殖するためには、病巣部への酸素と栄養分の供給および二酸化炭素や乳酸の排出が必要である。そのために血管新生が不可欠であり、血管が新生されなければ腫瘍は数 mm で増殖を停止する。

腫瘍内の血流を確保するために、周辺の正常組織から新生血管が腫瘍内に進入する。この過程を腫瘍内血管新生 (tumor angiogenesis) と呼ぶ。腫瘍形成の初期には、腫瘍は既存の血管に沿って増殖するために血管の新生は必ずしも必要ではない⁹⁾。腫瘍が増大すると、既存の毛細血管ネットワークから血管が病巣内部に引き込まれる。腫瘍血管の血管壁は内皮細胞と腫瘍細胞の両方から構成され¹⁰⁾、骨髄由来で成人の血流中に存在する血管内皮前駆細胞が、血管新生に関与するといわれる¹¹⁾。腫瘍内の新生血管は基底膜と pericyte を持たず¹²⁾、血管壁に孔が開いているために著しく透過性が高い¹³⁾。

3. 血管新生を促す増殖因子

生体での正常な血管新生には、表2のように多くの血管新生因子が関連している。血管新生因子は、可溶性の因子と膜結合性の因子が存在するとされる。そのなかで、腫瘍血管新生に深くかかわると考えられている因子には、VEGF, FGF, heparanase, Ang 2, IL-8, MMP-2 などが挙げられている¹⁴⁾。

1) VEGF: Vascular Endothelial Cell Growth Factor

VEGF は腫瘍血管の新生に重要な役割をもっていると考えられている。多くの培養腫瘍細胞株は VEGF を産生し¹⁵⁾、肺がん、乳がんを含めた多くのヒトがんで VEGF の mRNA 発現が亢進している¹⁶⁾。また、転移性大腸がんでは、腫瘍細胞による VEGF の発

現と、その腫瘍内の内皮細胞による VEGF レセプターである Flk-1 の発現、および、それらの発現が腫瘍内の血管新生の程度と相関することが報告されている¹⁷⁾。VEGF は腫瘍細胞から産生されるだけではなく、腫瘍細胞の刺激によって間質細胞からも産生されると報告されている¹⁸⁾。

VEGF による血管新生は、主に酸素分圧の変化により調節される。腫瘍を形成した腫瘍では血流が減少するために、中心部の酸素分圧が低くなることが知られてきた¹⁹⁾。そのような組織内では、低酸素に抵抗性の細胞や血管を新生する細胞が選択されて増殖する。グリオブラストーマでは、壊死組織に隣接した腫瘍組織内では VEGF の mRNA 発現が高まり、その周辺での血管の新生が観察されている²⁰⁾。これらの成績は、腫瘍細胞での VEGF の mRNA 発現が低酸素によって増加することを示す²¹⁾。

2) FGF: Fibroblast Growth Factor

腫瘍細胞による FGF の産生は、血管新生を誘導して腫瘍細胞の生存と増殖を促すと考えられている。VEGF は腫瘍血管の新生に、FGF はその新生血管の維持に関わると報告された²²⁾。培養血管平滑筋細胞では、FGF を添加すると VEGF の産生が誘導された²³⁾。これらの事実より、FGF による血管新生の誘導のみでは不十分で、VEGF と共同して血管新生を促進すると考えられている。

Heparanase による血管新生は bFGF を介すると考えられている。Heparanase は内皮細胞を誘導するとともに、細胞外マトリックス内で heparan sulfate に結合した bFGF の分泌を促すことで間接的に血管を新生する²⁴⁾。肺癌細胞は bFGF の mRNA を産生する²⁵⁾。

3) Ang2: Angiopoietin-2

Angiopoietin は正常組織において血管を新生する。Ang1 は Tie2 レセプターを介してシグナルを伝達し、内皮細胞や支持細胞との相互作用によって新生された血管を安定化する²⁶⁾。Ang2 は Ang1 に拮抗して血管を不安定化する。Ang2 は、VEGF が存在しないと血管を消退させるが、VEGF の存在下では血管を増生して VEGF による増殖反応を増強する。腫瘍細胞は、既存の血管周囲で増殖する初期には VEGF を産生せずに、血管に Ang2 の発現を誘導して血管を不安定化し消退させる。腫瘍が増大すると、腫瘍細胞が VEGF を産生して血管を新生し、新生血管の内皮細胞に Ang2 の発現を誘導して血管を不安定化するとともに可変性をもたらす²⁷⁾。この過程によって、腫瘍血管が増生し血管透過性が増加すると考えられている¹³⁾。

4) IL-8: Interleukin-8, MMP-2

マクロファージの産生する IL-8 が、慢性炎症での血管新生と関連することが報告された²⁸⁾。その後、IL-8 の mRNA は非小細胞肺癌²⁹⁾やメラノーマ³⁰⁾で発現が増加しており、腫瘍血管新生と相関することが報告されている。

IL-8 をメラノーマ細胞にトランスフェクションすると、MMP-2 の mRNA 発現レベルが上昇したことより³⁰⁾、IL-8 の作用は MMP-2 を介する可能性がある。しかし、MMP-2 の発現増加は VEGF や bFGF の mRNA 量とは相関しなかった³¹⁾。IL-8/MMP-2 系は腫瘍血管の新生に重要な役割を持つことが示唆されている。

5) PDGF: Platelet Derived Growth Factor, TGF- β : Tumor Growth Factor- β , Angiogenin

PDGF, TGF- β , angiogenin も腫瘍血管新生に関連すると考えられている。しかし、病理学的な検討や臨床像との関連は十分には研究されていない。腫瘍血管の新生は VEGF が中心的な役割を持ち、bFGF と IL-8, angiopoietin は VEGF とともに血管新生にかかわ

ると考えられている。その他の因子も VEGF と相互的に血管新生を誘導する可能性を持つ。

まとめ

腫瘍による血管新生は、既存の血管から転移巣が新生血管を引き込む場合と、既存の血管に沿って増殖した腫瘍がその血管をリモデリングして腫瘍血管に作り変える場合が考えられている。いずれの場合も、低酸素刺激と VEGF を初めとした血管増殖因子が重要な役割を持つ。

文 献

- 1) Varmus H, Weinberg RA: Genes and the biology of cancer. New York: Scientific American Library, 1993
- 2) Christofori G, Semb H: The role of the cell-adhesion molecule E-cadherin as a tumor-suppressor gene. *Trends Biochem Sci* 24: 73-76, 1999
- 3) Batsche E, Muchardt C, Behrens J, et al: RB and c-Myc activate expression of the E-cadherin gene in epithelial cells through interaction with transcription factor AP-2. *Mol Cell Biol* 18: 3647-3658, 1998
- 4) Kahari VM, Saarialho-Kere U: Matrix metalloproteinases and their inhibitors in tumor growth and invasion. *Ann Med* 31: 34-45, 1999
- 5) Lochter A, Galosy S, Muschler J, et al: Matrix metalloproteinase stromelysin-1 triggers a cascade of molecular alterations that leads to stable epithelial-to-mesenchymal conversion and a premalignant phenotype in mammary epithelial cells. *J Cell Biol* 139: 1861-1872, 1997
- 6) Noe V, Fingleton B, Jacobs K, et al: Release of an invasion promoter E-cadherin fragment by matrilysin and stromelysin-1. *J Cell Sci* 114(Pt 1): 111-118, 2001
- 7) Silletti S, Kessler T, Goldberg J, et al: Disruption of matrix metalloproteinase 2 binding to integrin $\alpha\beta 3$ by an organic molecule inhibits angiogenesis and tumor growth in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA* 98:119-124, 2001
- 8) Baffetti LM, Young TN, Itoh Y, et al: Intact vitronectin induces matrix metalloproteinase-2 and tissue inhibitor of metalloproteinase-2 expression and enhanced cellular invasion by melanoma cells. *J Biol Chem* 273: 143-149, 1998
- 9) Holash J, Maisonpierre PC, Compton D, et al: Vessel cooption, regression, and growth in tumors mediated by angiopoietins and VEGF. *Science* 284: 1994-1998, 1999
- 10) Chang YS, di Tomaso E, McDonald DM, et al: Mosaic blood vessels in tumors: frequency of cancer cells in contact with flowing blood. *Proc Natl Acad Sci USA* 97: 14608-14613, 2000
- 11) Rafii S: Circulating endothelial precursors: mystery, reality, and promise. *J Clin Invest* 105: 17-19, 2000
- 12) Benjamin LE, Golijanin D, Itin A, et al: Selective ablation of immature blood vessels in established human tumors follows vascular endothelial growth factor withdrawal. *J Clin Invest* 103: 159-165, 1999
- 13) Carmeliet P, Mackman N, Moons L, et al: Role of tissue factor in embryonic blood vessel development. *Nature* 383: 73-75, 1996
- 14) Papetti M, Herman IM: Mechanisms of normal and tumor-derived angiogenesis. *Am J Physiol Cell Physiol* 282: C947-C970, 2002
- 15) Senger DR, Perruzzi CA, Feder J, et al: A highly conserved vascular permeability factor secreted by a variety of human and rodent tumor cell lines. *Cancer Res* 46: 5629-5632, 1986
- 16) Ferrara N: Molecular and biological properties of vascular endothelial growth factor. *J Mol Med* 77: 527-543, 1999
- 17) Takahashi Y, Kitadai Y, Bucana CD, et al: Expression of vascular endothelial growth factor and its receptor, KDR, correlates with vascularity, metastasis, and proliferation of human colon cancer. *Cancer Res* 55: 3964-3968, 1995
- 18) Fukumura D, Xavier R, Sugiura T, et al: Tumor induction of VEGF promoter activity in stromal cells. *Cell* 94: 715-725, 1998
- 19) Thomlinson RH, Gray LH: The histological structure of some human lung cancers and the possible im-

- plivations for radiotherapy. *Br J Cancer* 9: 539-549, 1959
- 20) Shweiki D, Itin A, Soffer D, et al: Vascular endothelial growth factor induced by hypoxia may mediate hypoxia-induced angiogenesis. *Nature* 359: 843-845, 1992
 - 21) Kimura H, Weisz A, Ogura T, et al: Identification of hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1) ancillary sequence and its function in vascular endothelial growth factor gene induction by hypoxia and nitric oxide. *J Biol Chem* 276: 2292-2298, 2000
 - 22) Compagni A, Wilgenbus P, Impagnatiello MA, et al: Fibroblast growth factors are required for efficient tumor angiogenesis. *Cancer Res* 60: 7163-7169, 2000
 - 23) Stavri GT, Zachary IC, Baskerville PA, et al: Basic fibroblast growth factor upregulates the expression of vascular endothelial growth factor in vascular smooth muscle cells. Synergistic interaction with hypoxia. *Circulation* 92:11-14, 1995
 - 24) Vlodavsky I, Elkin M, Pappo O, et al: Mammalian heparanase as mediator of tumor metastasis and angiogenesis. *Isr Med Assoc J* 2, suppl: 37-45, 2000
 - 25) Toyoshima E, Ohsaki Y, Nishigaki Y, et al: Expression of syndecan-1 is common in human lung cancers independent of expression of epidermal growth factor receptor. *Lung Cancer* 31: 193-202, 2001
 - 26) Suri C, McClain J, Thurston G, et al: Increased vascularization in mice overexpressing angiopoietin-1. *Science* 282: 468-471, 1998
 - 27) Maisonpierre PC, Suri C, Jones PF, et al: Angiopoietin-2, a natural antagonist for Tie2 that disrupts in vivo angiogenesis. *Science* 277: 55-60, 1997
 - 28) Koch AE, Polverini PJ, Kunkel SL, et al: Interleukin-8 as a macrophage-derived mediator of angiogenesis. *Science* 258: 1798-1801, 1992
 - 29) Yuan A, Yang PC, Yu CJ, et al: Interleukin-8 messenger ribonucleic acid expression correlates with tumor progression, tumor angiogenesis, patient survival, and timing of relapse in non-small-cell lung cancer. *Am J Respir Crit Care Med* 162: 1957-1963, 2000
 - 30) Luca M, Huang S, Gershenwald JE, et al: Expression of interleukin-8 by human melanoma cells up-regulates MMP-2 activity and increases tumor growth and metastasis. *Am J Pathol* 151: 1105-1113, 1997
 - 31) Kitadai Y, Takahashi Y, Haruma K, et al: Transfection of interleukin-8 increases angiogenesis and tumorigenesis of human gastric carcinoma cells in nude mice. *Br J Cancer* 81:647-653, 1999