

悪性脳腫瘍に対する抗 VEGF 抗体療法の“温故創新”: Bevacizumab の歴史と展望



Toshihide
Tanaka

東京慈恵会医科大学附属柏病院 脳神経外科

田中 俊英

■ 学歴 ■

- 1991 年 医師免許 東京慈恵会医科大学
- 1997 年 医学博士 東京慈恵会医科大学

■ 職歴 ■

- 1991-1992 年 東京慈恵会医科大学青戸病院研修ローテーションプログラム
- 1992 年 東京慈恵会医科大学脳神経外科研修
- 1993 年 東京慈恵会医科大学柏病院麻酔科研修
- 1993-1997 年 東京慈恵会医科大学大学院
- 1993 年 東京慈恵会医科大学神経科学研究所神経病理部門
- 1994-1996 年 Visiting Research Fellow in Division of Cancer Pharmacology, Dana-Farber Cancer Institute, Harvard Medical School, Boston, MA
- 1996-1997 年 Research Associate in Department of Medicine, Division of Cancer Pharmacology and Neuro-oncology, Dana-Farber Cancer Institute, Harvard Medical School, Boston, MA
- 1997-1998 年 東京慈恵会医科大学脳神経外科助手
- 1998-2000 年 富士市立中央病院脳神経外科医長
- 2000-2003 年 神奈川県立厚木病院脳神経外科医長
- 2003 年 厚木市立病院脳神経外科医長
- 2003-2009 年 東京慈恵会医科大学附属柏病院脳神経外科診療医員
- 2009 年 東京慈恵会医科大学附属柏病院講師

■ 学会関連委員 ■

- 2004-2007 年 日本分子脳神経外科学会ジュニア世話人
- 2013 年 術中 MRI ガイドライン委員

■ 授賞歴 ■

- 1997 年 第 88 回アメリカ癌学会
Hoffmann LaRoche Inc. Young Investigator Award
第 9 回湘南 Neurosurgery English Forum Sammy's Award
(現 Japan Neurosurgery English Forum)
- 1998 年 Angiogenesis and Cancer (special meeting of American Association for Cancer Research)
Young Investigator Travel Grant Awardee

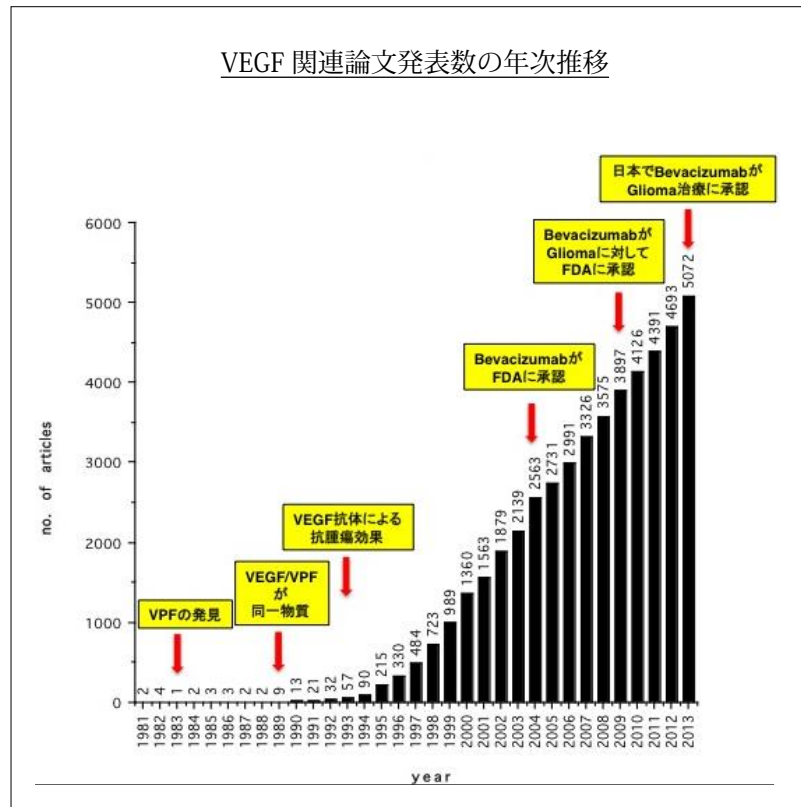
■ 研究課題・テーマ ■

1. 脳腫瘍の遺伝子治療
2. 腫瘍の血管新生
3. アポトーシス
4. 脳虚血と血管生物学
5. 低浸襲な画像ガイド下脳神経外科手術と脳腫瘍手術に対する術中 MRI



グリオーマに対する anti-VEGF 療法への道のり

1983年に腹水産生腫瘍からVPFが発見され、1989年に下垂体傍濾胞細胞からVEGFが発見された。双方は1989年に分子構造が明らかになり、同一分子であることが判明した。1992年にVEGF/VPFは虚血で発現が誘導され、グリオーマにおいてpseudopalisadingで発現していることが報告された。1993年に初めて抗体が精製され、in vivoにおいて血管新生抑制効果を介した抗腫瘍効果が示された。それ以来、VEGF/VPFの研究は飛躍的に発展した。この年のVEGF/VPFをkey wordとする年間論文数が57件であった。日本で悪性グリオーマに対する抗VEGF抗体治療が承認された2013年には5072件にのぼった。この分野が基礎研究のみならず、臨床研究に発展してきたことが窺える。



年	出来事	掲載雑誌
1971	J. Folkmanが初めて”固形腫瘍は血管新生に依存して増殖する”と提唱。	N Eng J Med
1972	S. Bremが初めてglioma組織で血管新生のgrade (MAGScore;microscopic angiogenesis grading system)を提唱。	J Natl Cancer Inst
1976	Jaffeらが血管内皮細胞の培養に初めて成功。	Nature
1983	H. Dvorakが腹水産生の要因となるVPF (vascular permeability factor)を腫瘍細胞が分泌すると発表。	Science
1989	N. Ferraraが下垂体のfolliculosatellite cellから血管内皮細胞に特異的な増殖因子としてVEGF (vascular endothelial growth factor)を発見。	Science
1989	VPFとVEGFが同一分子であることが明らかとなる。	Science
1992	VEGF/VPFがhypoxiaで誘導されることが報告。	Nature
1993	N. Ferraraがgliomaなどに対して初めてanti-VEGF療法による抗腫瘍効果を報告。	Nature
2004	Bevacizumab (Avastin)が切除不能進行性大腸癌の肝臓転移巣に対してFDAで承認。	
2009	Bevacizumab (Avastin)が再発グリオーマに対してFDAで承認。	
2013	Bevacizumab (Avastin)が初・再発グリオーマに対して日本で承認。	

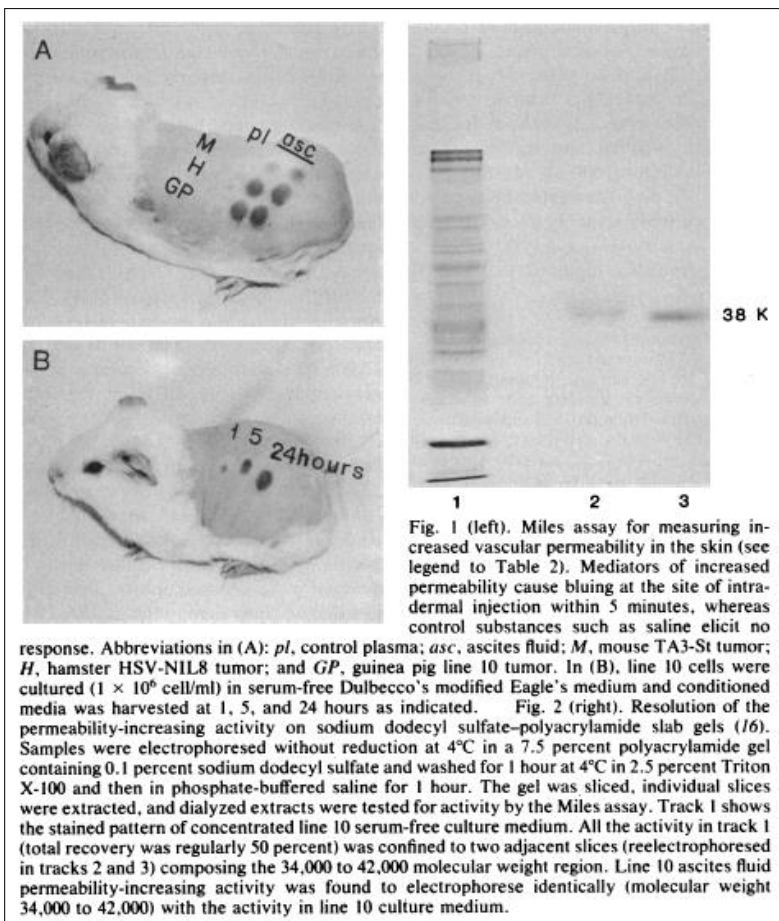
基礎編～ VEGF/VPF 発見から anti-VEGF 抗体治療の確立

論文 1

Tumor Cells Secrete a Vascular Permeability Factor That Promotes Accumulation of Ascites Fluid

Senger DR et al, *Science*. 1983; 219(4587):983-985.

マウスの乳癌細胞 TA3/ST の担癌マウスの腹水から蛋白を抽出し、それを用いて Miles assay (腹水から抽出した蛋白を皮下注射した後、尾静脈から色素を投与する。皮下に漏出する色素を定量することにより、血管透過性を定量する方法) を行った。抽出した蛋白の分子量は 34,000 から 42,000 であり、Histamine の 50,000 倍もの血管透過性効果を有することが示された。彼らはこの蛋白を VPF (vascular permeability factor) と命名した。



Substance injected intradermally	Net disintegrations per minute ¹²⁵ I-HSA extravasated (mean ± standard error) (N = 3 to 7)	Histamine equivalent* (μg)
Hamster plasma	70 ± 176	B.L.
Hamster ascites (HSV-NIL8)	15,309 ± 1,508	1.3
Guinea pig plasma	1,989 ± 1,070	B.L.
Line 1 ascites	69,609 ± 6,850	5.5
Line 1 ascites + preimmune IgG (80 μg)	70,321 ± 2,567	5.5
Line 1 ascites + immune IgG (80 μg)	3,935 ± 1,568	B.L.
Line 10 ascites	92,472 ± 4,886	10.0
Line 10 ascites + preimmune IgG (80 μg)	93,756 ± 1,171	10.0
Line 10 ascites + immune IgG (80 μg)	7,187 ± 930	B.L.
Line 10 serum-free culture supernatant†		
After 1 hour of culture	1,054 ± 60	B.L.
After 5 hours of culture	3,610 ± 295	0.7
After 24 hours of culture	21,565 ± 617	2.5

*A plot of net disintegrations per minute extravasated in response to histamine versus the logarithm of the number of micrograms of histamine injected generated a straight line (histamine range, 0.6 to 10 μg).
 †Derived from cultures containing 2.5×10^6 cells per milliliter.

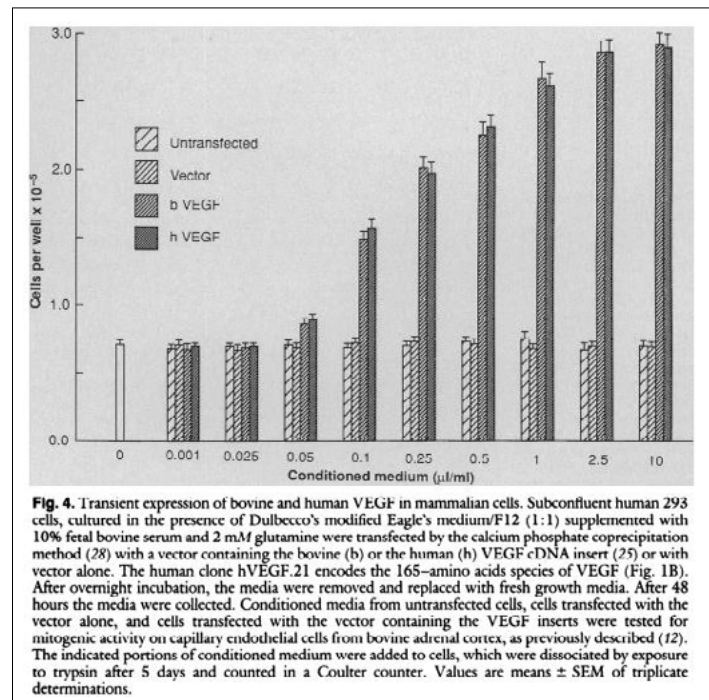
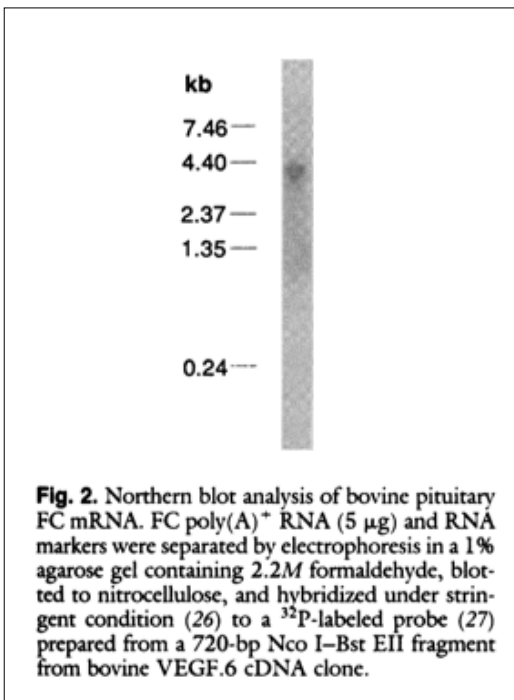


論文 2

Vascular Endothelial Growth Factor Is a Secreted Angiogenic Mitogen

Leung DW et al, *Science*. 1989; 246(4935):1306-1309.

子牛の下垂体傍濾胞細胞から抽出した分子を解析すると 720 bp の mRNA が得られた。その cDNA をクローニングし、カルシウムリン酸法にて遺伝子導入した細胞の培養上清を牛の副腎由来の血管内皮細胞に添加すると上清の量依存的に内皮細胞の増殖が促進された。彼らは、その分子を内皮特異的増殖作用を有することから VEGF (vascular endothelial growth factor) と命名した。



【文献～ VEGF 発見物語関連】

1. Pituitary follicular cells secrete a novel heparin-binding growth factor specific for vascular endothelial cells.
Ferrara N, *Biochem Biophys Res Commun*. 1989; 161(2):851-858.
2. Isolation and characterization of a vascular endothelial mitogen produced by pituitary-derived folliculo stellate cells.
Gospodarowicz D, *Proc Natl Acad Sci USA*. 1989; 86:7311-7315.
3. Vascular permeability factor, an endothelial cell mitogen related to PDGF.
Keck P, *Science*. 1989; 246:1309-1312.
4. Purification of a glycoprotein vascular endothelial cell mitogen from a rat glioma-derived cell line.
Conn G, *Proc Natl Acad Sci USA*. 1990; 87:1323-1327.
5. A novel vascular endothelial growth factor, VEGF-C, is a ligand for the Flt-4 (VEGFR-3) and KDR (VEGFR-2) receptor tyrosine kinases.
Joukov V, *EMBO J*. 1996; 15:290-298.
6. Vascular endothelial growth factor B, a novel growth factor for endothelial cells.
Olofsson B, *Proc Natl Acad Sci USA*. 1996; 93:2576-2581.
7. Vascular endothelial growth factor D (VEGF-D) is a ligand for the tyrosine kinase VEGF receptor 2 (Flk-1) and VEGF receptor 3 (Flt4).
Achen MG, *Proc Natl Acad Sci USA*. 1998; 95:548-553.

論文 3

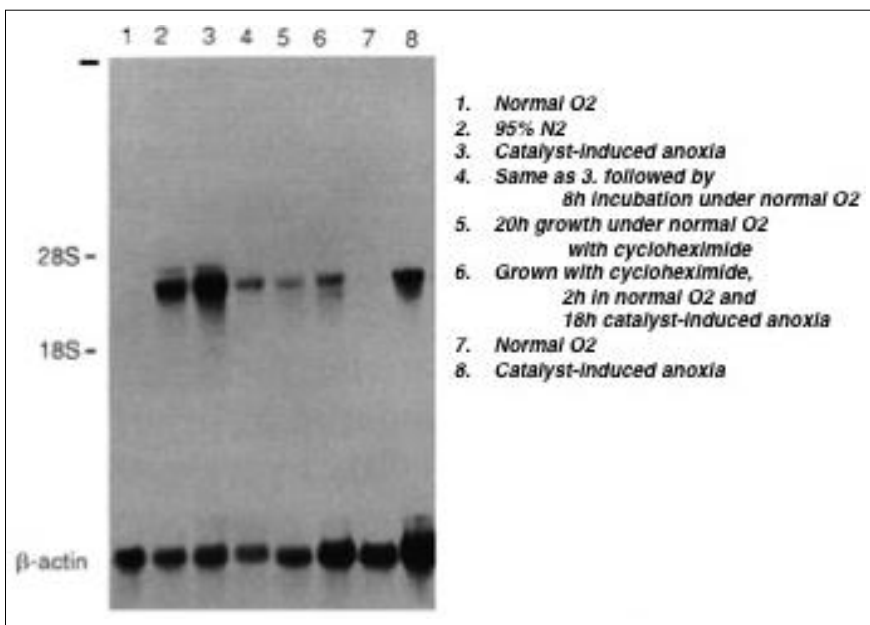
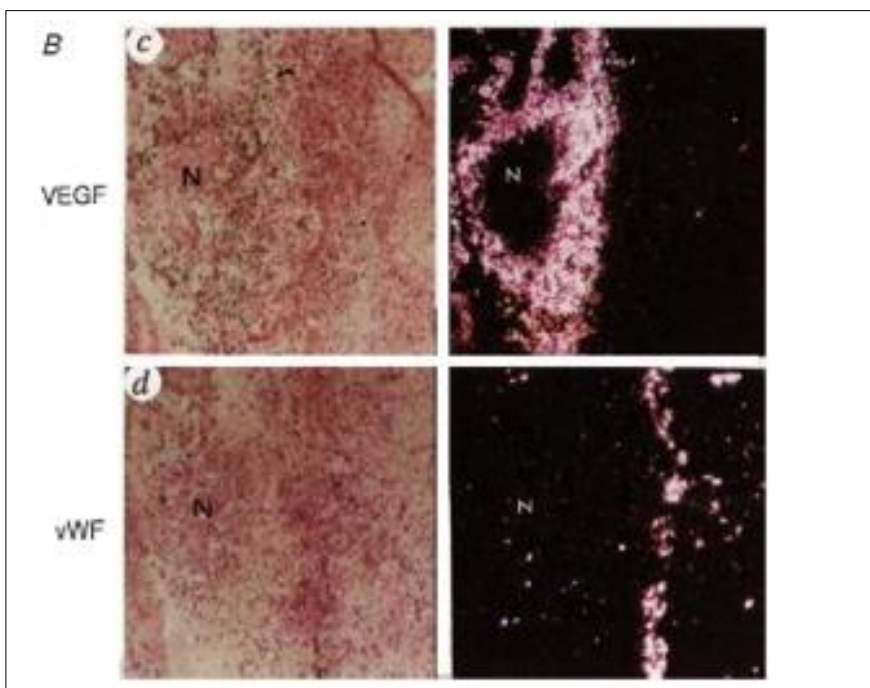
Vascular Endothelial Growth Factor Is a Potential Tumour Angiogenesis Factor in Human Gliomas in vivo

Plate K et al, *Nature*. 1992; 359:845-848.

まだ VEGF に対する抗体が精製されていなかったため、in situ hybridization 法でグリオーマ組織における VEGF の mRNA の発現を解析した。壊死巣を取り囲むように VEGF の発現がみられる。また血管内皮細胞のマーカである vWF (von Willebrand factor : 凝固第 8 因子) にて血管の分布と対比した。VEGF 発現細胞をさらに取り囲むように腫瘍血管の増殖が認められる。

またグリオーマ細胞も用いて hypoxia 条件下や、cycloheximide などの細胞毒性のある薬物を混入して培養すると VEGF の発現が誘導されることも初めて示された。

その後、VEGF は hypoxia だけでなく、癌遺伝子、癌抑制遺伝子、ホルモン、ステロイドで発現が調節されることが明らかにされた。特に VHL は hypervascular tumor で知られる血管芽種や腎細胞癌との関連が知られており、VEGF との関連は興味を持たれる。



**【文献～ VEGF 発現調節関連】**

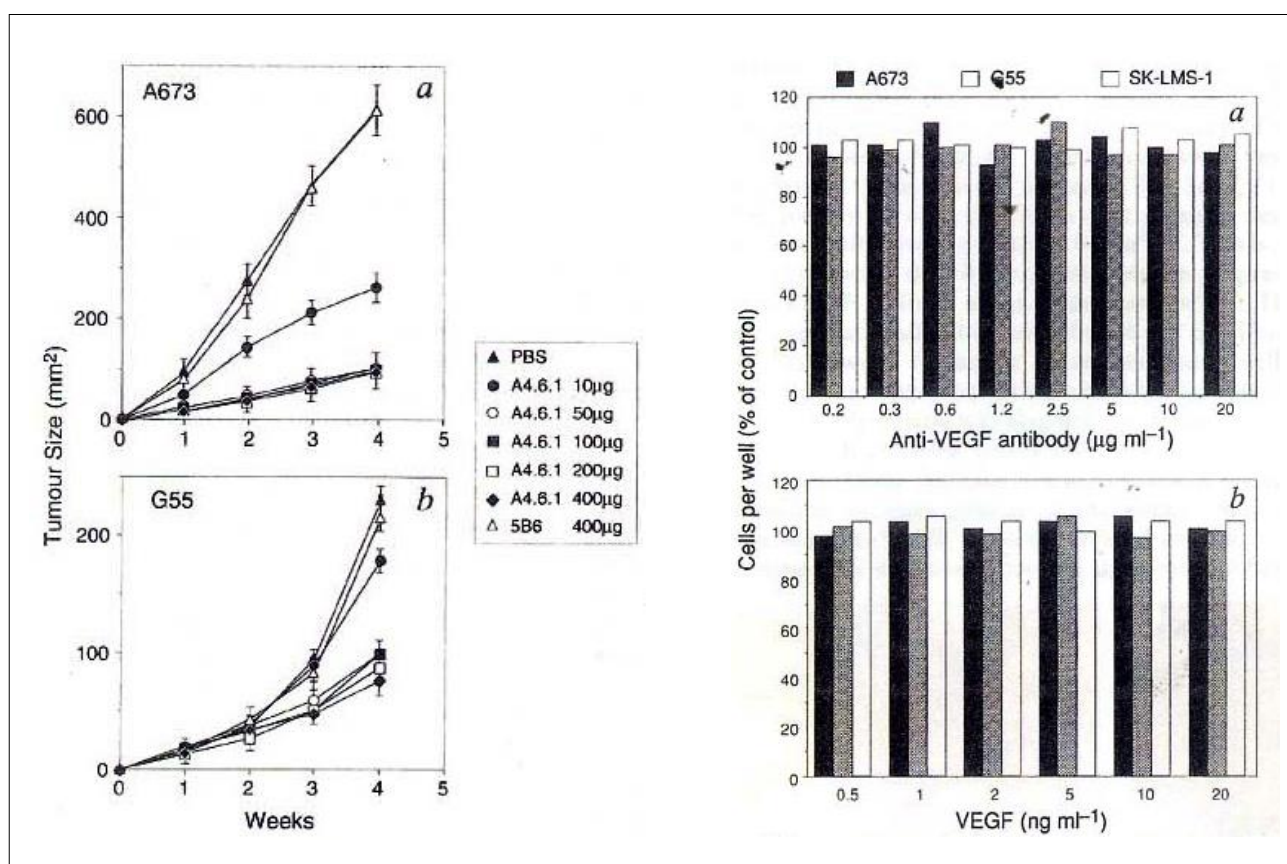
1. Vascular endothelial growth factor induced by hypoxia may mediate hypoxia-initiated angiogenesis.
Shweiki D, *Nature*. 1992; 359:843-845.
2. Wild-type p53 and v-Src exert opposing influences on human vascular endothelial growth factor gene expression.
Mukhopadhyay D, *Cancer Res*. 1995; 55:6161-6165.
3. Up-regulation of vascular endothelial growth factor and its receptors in von Hippel-Lindau disease-associated and sporadic hemangioblastomas.
Wizigmann-Voos S, *Cancer Res*. 1995; 55:1358-1364.
4. Post-transcriptional regulation of vascular endothelial growth factor mRNA by the product of the VHL tumor suppressor gene.
Gnarra JR, *Proc Natl Acad Sci USA*. 1996; 93:10589-10594.
5. Mechanism of dexamethasone suppression of brain tumor-associated vascular permeability in rats.
Heiss JD, *J Clin Invest*. 1996; 98:1400-1408.
6. Negative regulation of hypoxia-inducible genes by the von Hippel-Lindau protein.
Iliopoulos O, *Proc Natl Acad Sci USA*. 1996; 93:10595-10599.
7. Reversion of deregulated expression of vascular endothelial growth factor in human renal carcinoma cells by von Hippel-Lindau tumor suppressor protein.
Siemeister G, *Cancer Res*. 1996; 56:2299-2301.
8. Differential downregulation of vascular endothelial growth factor by dexamethasone in normoxic and hypoxic rat glioma cells.
Machein MR, *Neuropathol Applied Neurobiol*. 1999; 25:104-112.
9. Hypoxia and acidosis independently up-regulate vascular endothelial growth factor transcription in brain tumors in vivo.
Fukumura D, *Cancer Res*. 2001; 61:6020-6024.
10. Central role of p53 on regulation of vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor (VPF/VEGF) expression in mammary carcinoma.
Pal S, *Cancer Res*. 2001; 61:6952-6957.

論文 4

Inhibition of Vascular Endothelial Growth Factor-Induced Angiogenesis Suppresses Tumour Growth in vivo

Kim K et al, *Nature*. 1993; 362:841-843.

VEGF 抗体による in vivo における抗腫瘍効果が初めて示された報告。A673 (rhabdomyosarcoma), G55 (glioblastoma), SK-LMS-1 (leiomyosarcoma) の3つの細胞株を用いて in vitro および in vivo での VEGF 抗体の効果を検討した。In vitro では VEGF、抗 VEGF 抗体ともに腫瘍細胞に対して増殖または増殖抑制効果はみられなかったが、in vivo の皮下腫瘍モデルでは、抗 VEGF 抗体療法は投与量依存的に抗腫瘍効果がみられた。特に興味深いのは、腫瘍移植と同時に VEGF 抗体を投与しても、腫瘍移植後 1 週間後投与を開始しても、いずれの場合も抗腫瘍効果を示した。以上より VEGF 抗体は腫瘍細胞には直接作用せず、血管新生抑制作用を介して腫瘍増殖を抑制することが示唆された。



【文献～ anti-VEGF 療法基礎関連】

1. Glioblastoma growth inhibited in vivo by dominant negative Flk-1 mutant.
Millauer B, *Nature*. 1994; 10:576-579.
2. Suppression of glioblastoma angiogenicity and tumorigenicity by inhibition of endogenous expression of vascular endothelial growth factor.
Cheng S-Y, *Proc Natl Acad Sci USA*. 1996; 93:8502-8507.

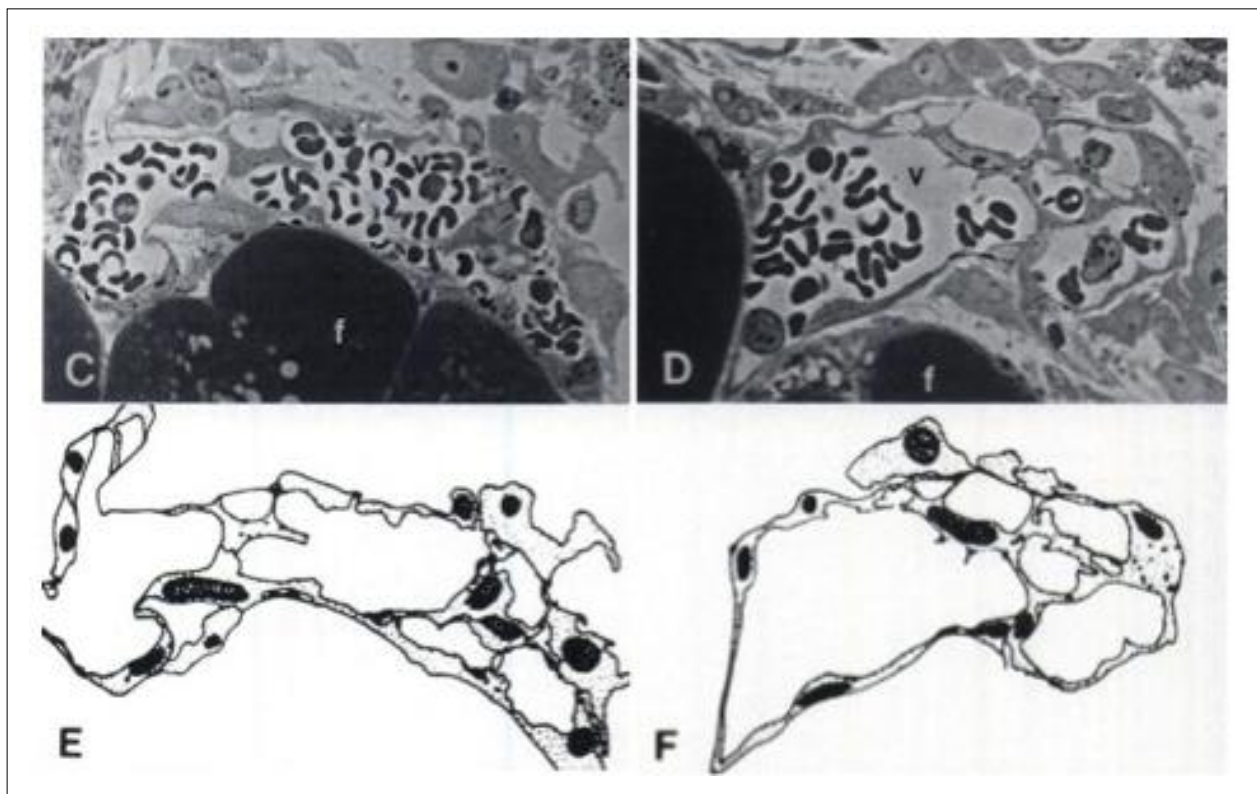


論文 5

Pathogenesis of Ascites Tumor Growth : Vascular Permeability Factor, Vascular Permeability, and Ascites Fluid Accumulation

Nagy JA et al, *Cancer Res.* 1995; 55 (2):360-368.

VPFを発見したH. Dvorakらのグループが樹立した腹水産生腫瘍モデル(TA3/ST, MOT細胞)を用いて腫瘍移植後腹壁を採取し、電子顕微鏡下に腹壁血管を解析した。腹壁血管から赤血球が漏出する様子が観察されたと同時に腹壁血管内皮細胞の細胞質に空胞形成が認められた。彼らはこれをVVO (vesiculo-vacuolar organelle)と名付けた。腫瘍細胞から分泌されるVPFにより腹壁に血管新生が誘導され、さらに血管内皮の空胞から血液成分が漏出することにより、腹水が産生されるメカニズムを初めて提唱した。



【文献～ Ascites/vascular permeability/VVO/endothelial fenestration 関連】

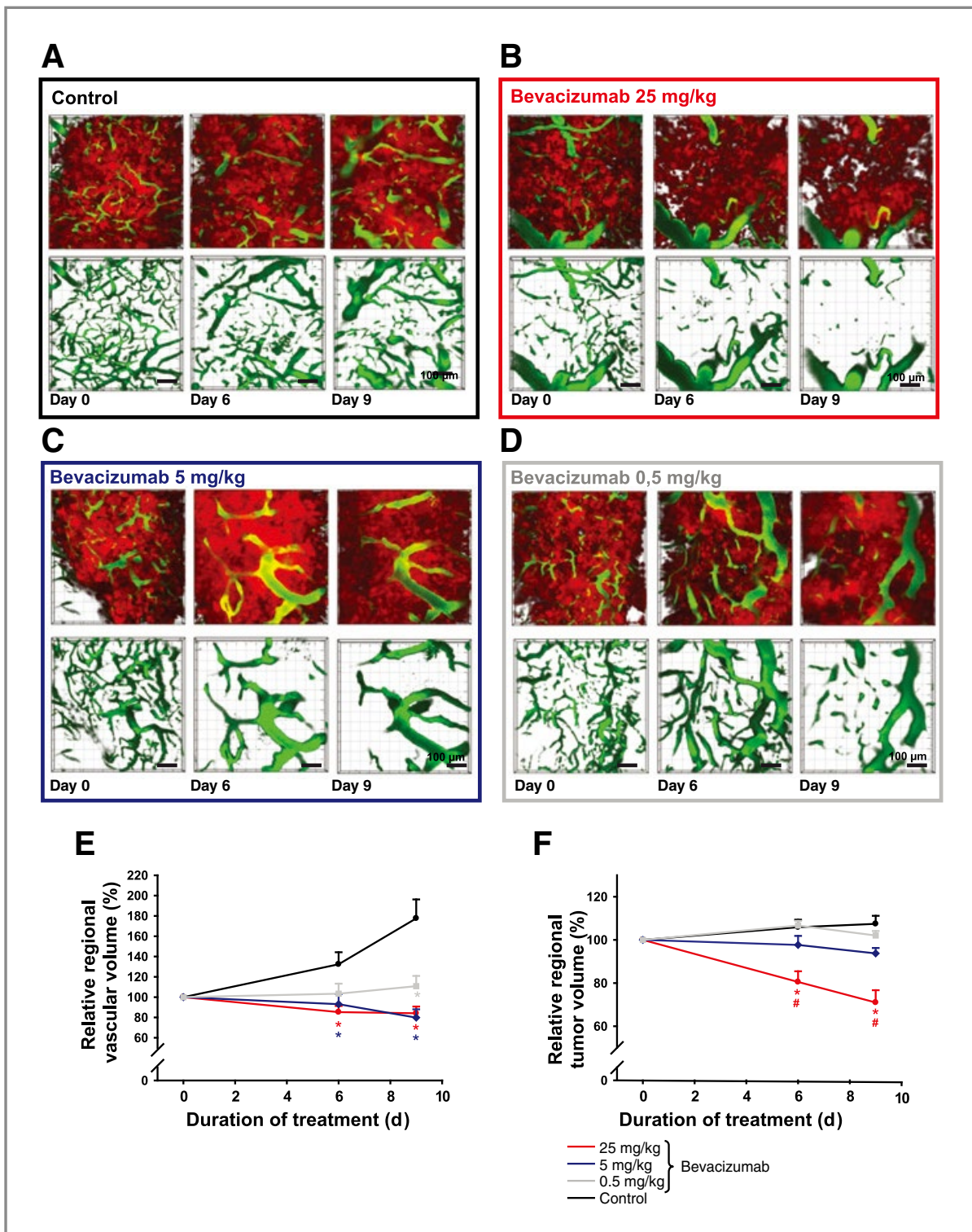
1. Pathogenesis of ascites tumor growth:fibrinogen influx and fibrin accumulation in tissues lining the peritoneal cavity.
Nagy JA, *Cancer Res.* 1995; 55(2):369-375.
2. Pathogenesis of ascites tumor growth:angiogenesis, vascular remodeling, and stroma formation in the peritoneal lining.
Nagy JA, *Cancer Res.* 1995; 55(2):376-385.
3. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor, microvascular hyperpermeability, and angiogenesis.
Dvorak HF, *Am J Pathol.* 1995; 146:1029-1039.
4. The vesiculo-vacuolar organelle (VVO): a distinct endothelial cell structure that provides a transcellular pathway for macromolecular extravasation.
Dvorak AM, *J Leukoc Biol.* 1996; 59:100-115.
5. Neovasculature induced by vascular endothelial growth factor is fenestrated.
Roberts WG, Palade GE. *Cancer Res.* 1997; 57:765-772.

論文 6

Bevacizumab Has Differentiated and Dose-Dependent Effects on Glioma Blood Vessels and Tumor Cells

von Baumgarten L et al, *Clin Cancer Res.* 2011; 17(19):6192-6205.

ヌードマウスにヒトグリオーマ細胞 (U87MG) を脳内移植したモデルを用いて、Bevacizumab を投与し、腫瘍および腫瘍血管の容積を経時的に解析した。用量依存的に腫瘍および腫瘍血管が退縮していく様子が観察される。低容量では vascularity は低下するものの抗腫瘍効果は期待できないのに対し、高用量では、vascularity の低下に加え、抗腫瘍効果が認められた。特に Bevacizumab 25mg/kg の群では day 6 以降血管密度が疎になり、腫瘍が著明に退縮している。



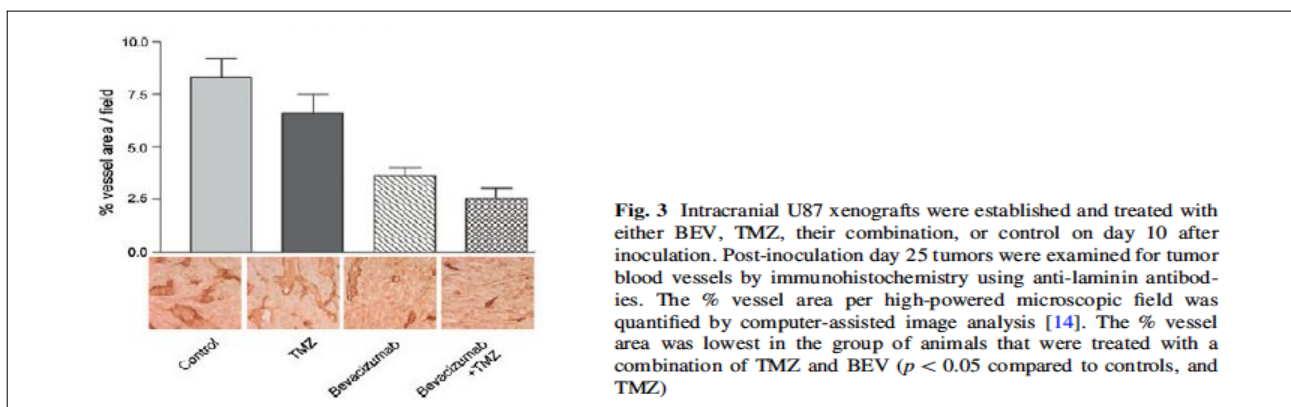
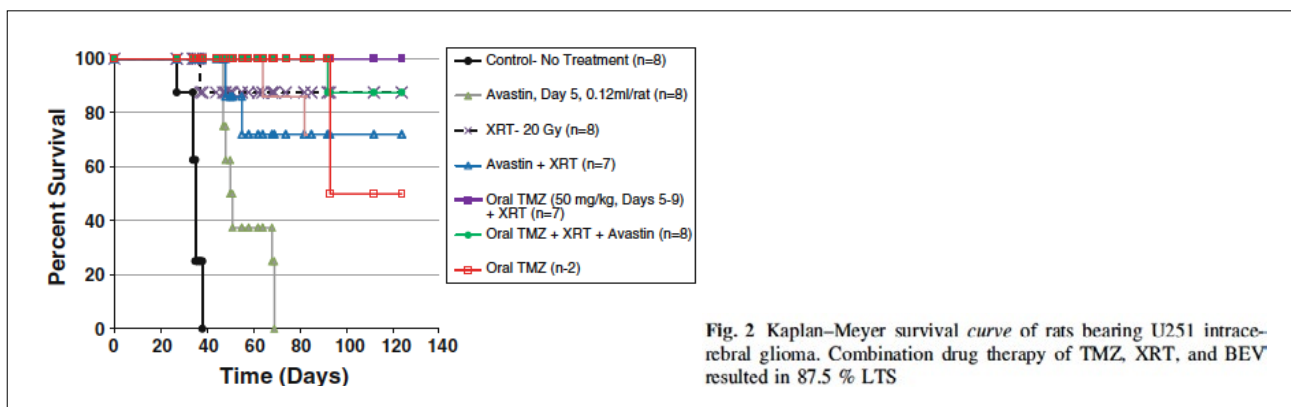
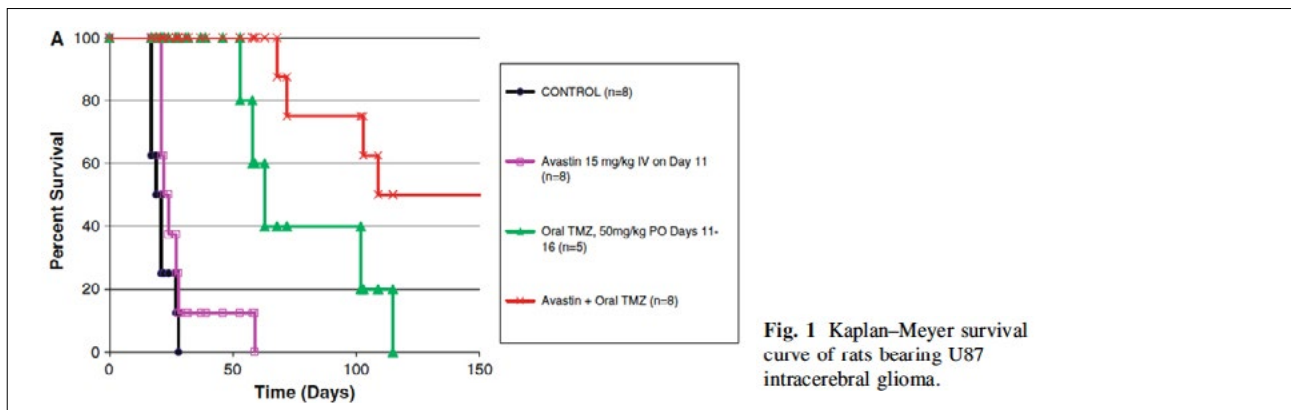


論文 7

Combination of anti-VEGF therapy and Temozolomide in Two Experimental Human Glioma Models

Grossman R et al, *J Neurooncol.* 2014; 116:59-65.

ヌードマウスにヒトグリオーマ細胞 (U87MG, U251MG) を脳内移植したモデルを用いて、temozolomide (TMZ) と Bevacizumab (Bev.) および放射線治療の併用療法を行い、マウスの生存日数を比較検討した。U87MG では Bev. に TMZ や放射線治療を併用することにより明らかに生存日数が延長していたが、U251MG では TMZ と放射線併用に Bev. の上乗せ効果は認められなかった。また U87MG において脳内移植 10 日目に腫瘍組織を採取し、抗 laminin 抗体にて血管腔を可視化することにより microvessel density を解析した。Bev. 単独群および TMZ と Bev. 併用群において血管新生抑制効果が認められた。TMZ と Bev. は互いに作用が拮抗することはないことを示唆している。但し、Bev. はヒト由来 VEGF に対する抗体であるため、ヒト由来グリオーマから分泌される VEGF に対する効果は期待できるが、宿主の血管内皮細胞に対する効果はないことを銘記する必要があると述べている。

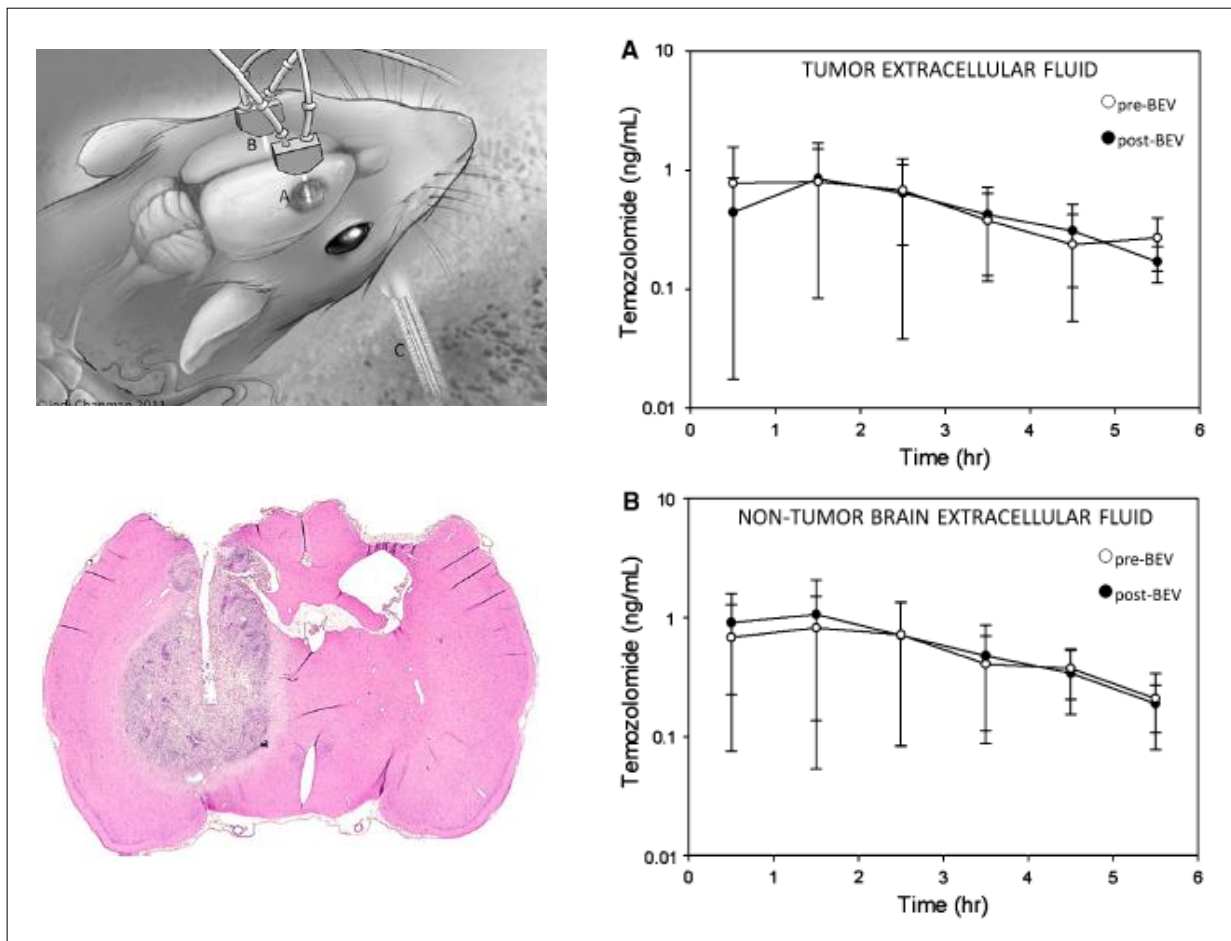


論文 8

The Impact of Bevacizumab on Temozolomide Concentrations in Intracranial U87 Gliomas

Grossman R et al, *Cancer Chemother Pharmacol.* 2012; 70 (1):129-139.

マウスにヒトグリオーマ細胞 U87MG を脳内移植したモデルを用いて、Temozolomide と Bevacizumab を併用し、病側および健常側の脳内における Temozolomide の濃度を経時的に解析した。Bevacizumab 治療前後において、また腫瘍組織の有無にかかわらず Temozolomide の局所濃度は不変であった。



【文献～ TMZ.&Bev. 併用療法 (基礎) 関連】

1. Pharmacology and pharmacodynamics of bevacizumab as monotherapy or in combination with cytotoxic therapy in preclinical studies.
Gerber H-P, *Cancer Res.* 2005; 65(3):671-680.
2. Mechanisms operative in the antitumor activity of temozolomide in glioblastoma multiforme.
Fisher T, *Cancer J.* 2007; 13:335-344.
3. Combining bevacizumab with temozolomide increases the antitumor efficacy of temozolomide in a human glioblastoma orthotopic xenograft model.
Mathieu V, *Neoplasia.* 2008; 10:1381-1392.



論文 9 (RTOG0825)

A Randomized Trial of Bevacizumab for Newly Diagnosed Glioblastoma

Gilbert M et al, *N Eng J Med.* 2014; 370:699-708.

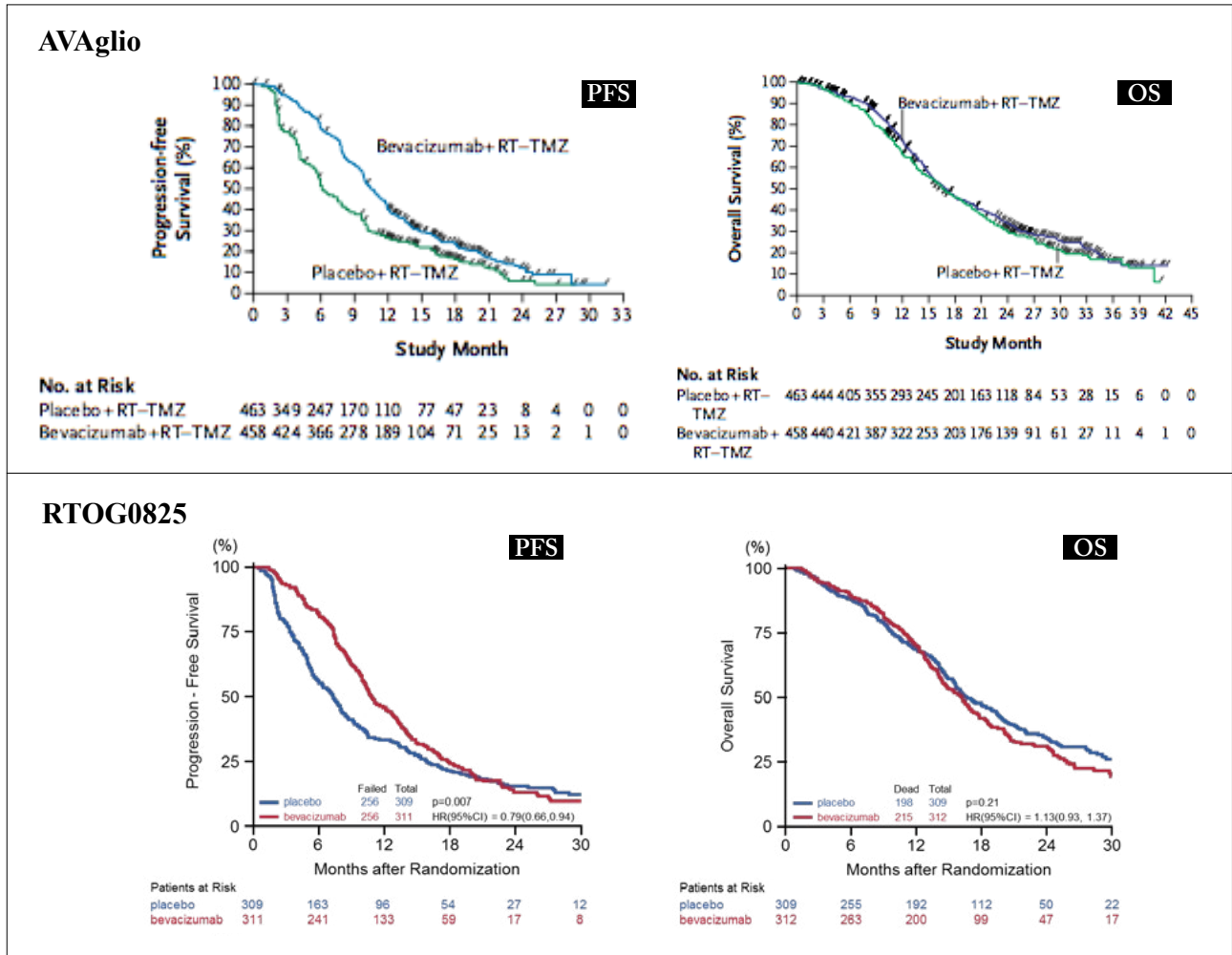
論文 10 (AVAglio)

Bevacizumab Plus Radiotherapy-Temozolomide for Newly Diagnosed Glioblastoma

Chinot O et al, *N Eng J Med.* 2014; 370:709-722.

factor	AVAglio	RTOG0825
Initiation for research	industry	NIH
eligibility	Biopsy allowed Multifocal allowed	Biopsy ineligible Multifocal ineligible
stratification	RPA ; country	MGMT;molecular profile
BEV start	Day 1 XRT/TMZ	Week 3 ; XRT/TMZ
Adjuvant TMZ cycles	6	12
Continuation of BEV/placebo	Until PD	NO
MRI evaluation	Modified Macdonald	Macdonald
PFS	10.6 m. vs. 6.2 m.	10.7 m. vs. 7.3 m.
OS	16.8 m. vs. 16.7 m.	15.7 m. vs. 16.1 m.
Unblinding and crossover of placebo at PD	Not but anticipated	planned

国際共同第 III 相ランダム化プラセボ対照比較試験 [AVAglio と RTOG0825]：初発膠芽腫に対して、放射線治療とテモゾロミドによる標準治療と併用した初の臨床治験。患者背景およびベバシズマブの開始時期は異なるが、両試験でともに無増悪生存期間 (PFS) の有意な延長が認められたが、全生存期間 (OS) の中央値は有意差がないと結論された。PFS の延長が OS の延長に反映されなかった原因として、後治療での crossover の影響が大きいこと、腫瘍摘出率の影響などが考えられると論評された。



**【文献～ Bev. 臨床試験関連】**

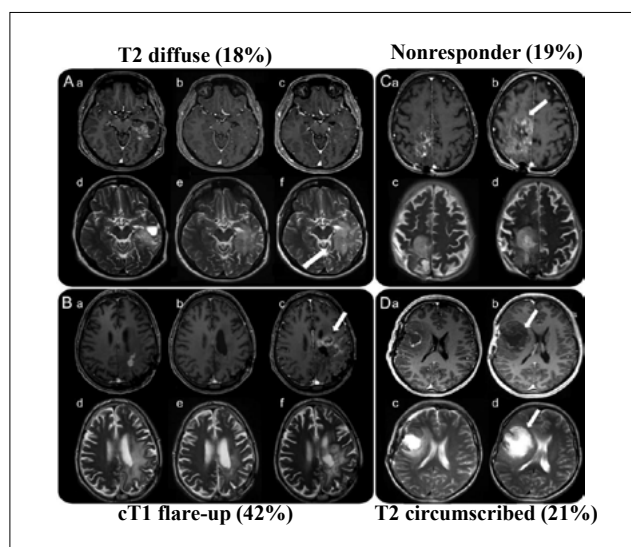
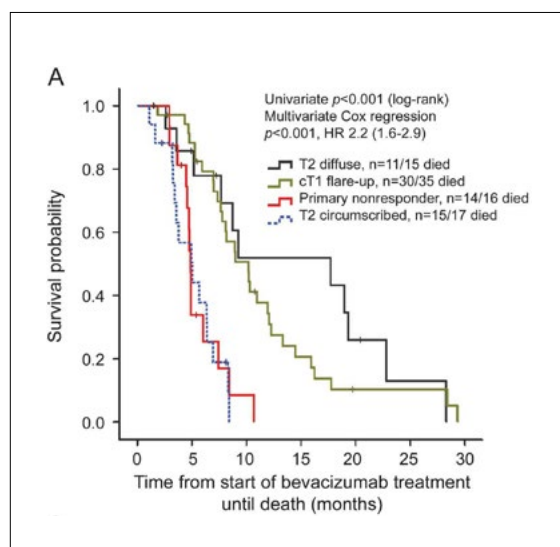
1. A randomized trial of bevacizumab, an anti-vascular endothelial growth factor antibody, for metastatic renal cancer.
Yang JC, *N Eng J Med.* 2003; 349:427-434.
2. Bevacizumab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin for metastatic colorectal cancer.
Hurwitz H, *N Eng J Med.* 2004; 350:2335-2342.
3. Bevacizumab and CPT-11 in the treatment of relapsed malignant glioma.
Stark-Vance V. *Neuro-oncol.* 2005; 7:369.
4. Bevacizumab plus irinotecan in recurrent glioblastoma multiforme.
Vredenbureg JJ, *J Clin Oncol.* 2007; 25:4722-4729.
5. Rebound tumour progression after the cessation of bevacizumab therapy in patients with recurrent high-grade glioma.
Zuniga RM, *J Neurooncol.* 2010; 99:237-242.
6. Safety and efficacy of stereotactic radiosurgery and adjuvant bevacizumab in patients with recurrent malignant gliomas.
Cuneo K, *Int J Rad Oncol Biol Phys.* 2012; 82(5):2018-2024.
7. Phase II study of single-agent bevacizumab in Japanese patients with recurrent malignant glioma.
Nagane M, *Jpn J Clin Oncol.* 2012; 42(10):887-895.
8. Outcome after bevacizumab clinical trial therapy among recurrent grade III malignant glioma patients.
Reardon DA, *J Neurooncol.* 2012; 107(1):213-221.
9. Bevacizumab continuation beyond initial bevacizumab progression among recurrent glioblastoma patients.
Reardon DA, *Br J Cancer.* 2012; 107(9):1481-1487.
10. Bevacizumab in glioblastoma-still much to learn.
Fine HA, *N Eng J Med.* 2014; 370(8):764-765.

論文 11

Progression Types After Antiangiogenic Therapy are Related to Outcome in Recurrent Glioblastoma

Nowosielski M et al, *Neurology*. 2014; 82 (19):1684-1692.

再発グリオーマに対して Bevacizumab 治療後の再発症例の MRI 画像所見を、T2 diffuse, cT1 flare-up, nonresponder, T2 circumscribed の 4 つに分類した。頻度はそれぞれ 18%, 19%, 42%, 21% であった。mOS は 17.7 ケ月、10.2 ケ月、5.0 ケ月、4.9 ケ月で、T2 diffuse が最も予後良好で、nonresponder の予後が最も不良であった。再発後の画像パターンにより、Bevacizumab 治療の予後が予測できる可能性が示唆されるとともに Bevacizumab 治療によりグリオーマが浸潤性になることが必ずしも予後を悪くしているわけではないといえる。



【文献～ Bev. 治療後 MRI 所見 / 再発様式関連】

1. Patterns of relapse and prognosis after bevacizumab failure in recurrent glioblastoma. Iwamoto FM, *Neurology*. 2009; 73:1200-1206.
2. Radiographic patterns of relapse in glioblastoma. Chamberlain MC, *J Neurooncol*. 2011; 101:319-323.
3. ADC histogram predict response to anti-angiogenic therapy in patients with recurrent high-grade glioma. Nowosielski M, *Neuroaradiology*. 2011; 53:291-302.
4. Persistent diffusion-restricted lesions in bevacizumab-treated malignant gliomas are associated with improved survival compared with matched controls. Mong S, *Am J Neuroradiol*. 2012; 33:1763-1770.
5. Advantages of high b-value diffusion-weighted imaging to diagnose pseudo-response in patients with recurrent glioma after bevacizumab treatment. Yamasaki F, *Eur J Radiol*. 2012; 81:2805-2810.
6. FLAIR-only progression in bevacizumab-treated relapsing glioblastoma does not predict short survival. Schwab C, *Oncology*. 2013; 85:191-195.
7. Concurrent bevacizumab and temozolomide alter the pattern of failure in radiation treatment of glioblastoma multiforme. Shields LB, *Radiat Oncol*. 2013; 8:101. doi: 10.1186/1748-717X-8-101



論文 12

Concentration of Vascular Endothelial Growth Factor in the Serum and Tumor Tissue of Brain Tumor Patients

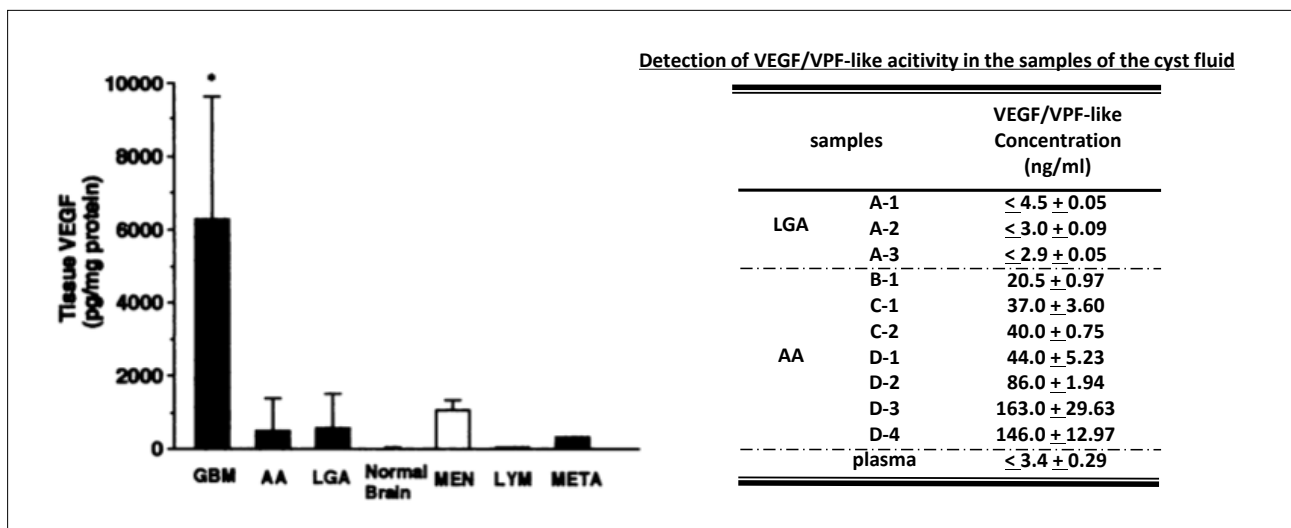
Takano S et al, *Cancer Res.* 1996; 56:2185-2190.

論文 13

Detection and Quantification of Vascular Endothelial Growth Factor/Vascular Permeability Factor in Brain Tumor Tissue and Cyst Fluid : The Key to Angiogenesis?

Weindel K et al, *Neurosurgery.* 1994; 35(3):439-448.

Weindel らは、グリオーマ 24 症例 26 検体を用いて腫瘍嚢胞液中の VEGF/VPF を初めて定量した。LGA (low grade astrocytoma) に比べ AA (anaplastic astrocytoma) の方が高濃度の VEGF/VPF が検出された。またこの論文では受容体 flt-1, KDR の解析も行っているが、両者とも嚢胞液中では同定されなかった。この論文では、グリオーマ細胞での受容体発現が認められなかったことから VEGF/VPF は paracrine 効果を示すと結論している。



【文献～各種 Biomarker/ 血清・囊胞内 VEGF 濃度関連】

1. Expression of the vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor gene in central nervous system neoplasms/
Beckman R, *J Clin Invest.* 1993; 91:153-159.
2. Vascular endothelial growth/permeability factor expression in human glioma specimens: correlation with vascular brain edema and tumor-associated cysts.
Strugar JG, *J Neurosurg.* 1995; 83:682-689.
3. Relationship between survival and edema in malignant gliomas:role of vascular endothelial growth factor and neuronal penetraxan 2.
Carlson MR, *Clin Cancer Res.* 2007; 13:2592-2598.
4. Where is VEGF in the body? A meta-analysis of VEGF distribution in cancer.
Kut C, *Br J Cancer.* 2007; 97:978-985.
5. VEGF165b, an antiangiogenic VEGF-A isoform, binds and inhibits bevacizumab treatment in experimental colorectal carcinoma:balance of pro-and antiangiogenic VEGF-A isoforms has implications for therapy.
Varey AHA, *Br J cancer.* 2008; 98:1366-1379.
6. MRI biomarkers identify the differential response of glioblastoma multiforme to anti-angiogenic therapy.
Jalali S, *Neuro-Oncology.* 2014; 16(6):868-879.
7. Association of matrix metalloproteinase 2 plasma level with response and survival in patients treated with bevacizumab for recurrent high-grade glioma.
Tabouret E, *Neuro Oncol.* 2014; 16(3):392-399.

当初、VEGF 受容体は腫瘍組織内の内皮細胞に限定して発現していると考えられていたが、近年グリオーマ細胞自身にも VEGFR2 (KDR-1) が発現している報告が散見される。また VEGFR2 受容体のシグナル伝達を阻害することにより、グリオーマ細胞やグリオーマ幹細胞のアポトーシスが誘導されることから、VEGF/VPF は autocrine 効果も有する可能性があると考えられている。

【文献～ VEGF 受容体関連】

8. Nucleotide sequence and expression of a novel human receptor-type tyrosine kinase gene (*flt*) closely related to the *fms* family.
Shibuya M, *Oncogene.* 1990; 5:519-524.1
9. The *fms*-like tyrosin kinase, a receptor for vascular endothelial growth factor.
De Vries C et al, *Science.* 1992; 255:989-991.
- 10.High affinity VEGF binding and developmental expression suggest FLK-1 as a major regulator of vasculogenesis and angiogenesis.
Millauer B, *Cell.* 1993; 72:835-846.
- 11.Levels of soluble vascular endothelial growth factor (VEGF) receptor 1 in astrocytic tumors and its relation to malignancy, vascularity and VEGF-A.
Lamszus K, *Clin Cancer Res.* 2003; 9:1399-1405.
- 12.Autocrine regulation of glioblastoma cell cycle progression, viability and radioresistance through the VEGF-VEGFR2 (KDR) interplay.
Knizetova P, *Cell Cycle.* 2008; 7(16):2553-2561.
- 13.Autocrine VEGF-VEGFR2-Neuropilin-1 signaling promotes glioma stem-like cell viability and tumor growth.
Hamarlik P, *J Exp Med.* 2012; 209(3):507-520.
- 14.Bevacizumab in Japanese patients with malignant glioma:from basic research to clinical trial.
Takano S, *Onco Targets and Therapy.* 2014; 7:1551-1562.

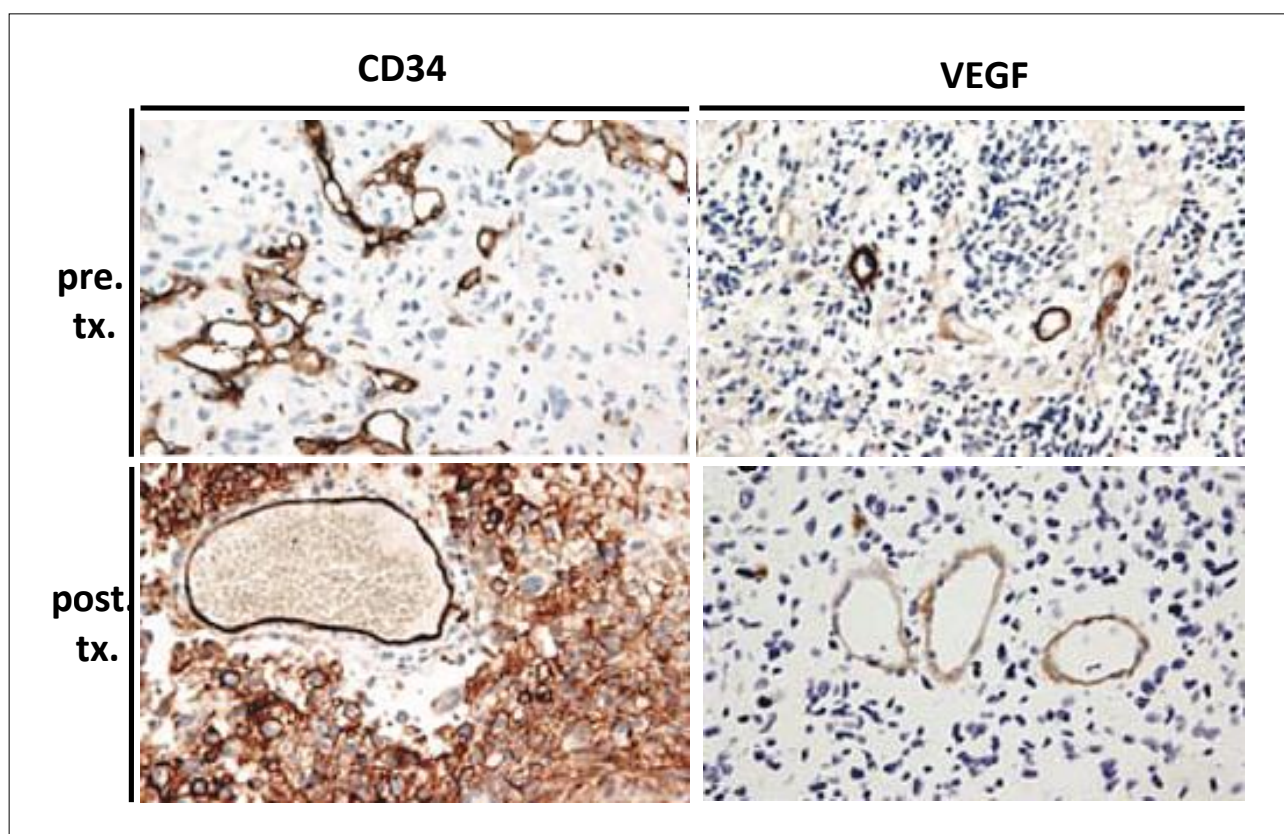


論文 14

High-grade Glioma Before and After Treatment with Radiation and Avastin: Initial Observation

Fischer I et al, *Neuro-Oncology*. 2008; 10:700-708.

Bev. 治療前後において組織学的に腫瘍組織内の血管密度、VEGF や内皮細胞のマーカー (CD34, D2-40) の発現レベルを解析した最初の報告である。Bev. に対する治療の反応性と微小血管密度は概ね相関していた。Bev. 治療前後の組織学的解析は重要ではあるものの必ずしも VEGF や内皮細胞マーカーの発現レベルに一定の見解は得られず、また平滑筋マーカー (SMA) や浸潤能のマーカー (fascin) は上昇する例もあり、抗血管新生療法は腫瘍細胞の浸潤を誘導する可能性を示唆すると述べている。



Histology Immunohistochemistry	MVD	CD34	VEGF-A	D2-40	Fascin	SMA
Patient 1	Decrease	Increase	Decrease	Increase	Increase	Increase
Patient 2	Decrease	Increase	Increase	Increase	Same	Same
Patient 3	Decrease	Same	Increase	Same	Same	Same
Patient 4	Decrease	Same	Decrease	Same	Decrease	Same
Patient 5	Increase	Same	Decrease	Same	Same	Same
Control 1	Decrease	Same	Increase	Decrease	Increase	Same
Control 2	Decrease	Decrease	Increase	Increase	Increase	Same
Control 3	Decrease	Same	Decrease	Decrease	N/A	N/A
Control 4	Increase	Increase	Decrease	Decrease	Decrease	Increase

Abbreviations: MVD, microvessel density; VEGF-A, vascular endothelial growth factor-A; SMA, smooth muscle actin; N/A, not available.

【文献～病理組織学的解析 / 免疫染色 / microvessel counting 関連】

1. Tumor angiogenesis: A quantitative method for histological grading.
Brem S, *J Natl Cancer Inst.* 1972; 48:347-356.
2. Tumor angiogenesis and metastasis-correlation in invasive breast carcinoma.
Weiner N, *N Eng J Med.* 1991; 324:1-8.
3. Microvessel count and cerebrospinal fluid basic fibroblast growth factor in children with brain tumors.
Li VW, *Lancet.* 1994; 344:82-86.
4. Microvessel density is a prognostic indicator for patients with astroglial brain tumors.
Leon SP, *Cancer.* 1996; 77:362-372.
5. Glomeruloid vascular structures in glioblastoma multiforme:an immunohistochemical and ultrastructural study.
Rojiani AM, *J Neurosurg.* 1996; 85:1078-1084.
6. Vascular endothelial growth factor expression and vascular density as prognostic markers of survival in patients with low-grade astrocytoma.
Abdulrauf SI, *J Neurosurg.* 1998; 88:513-520.
7. Vascular pattern in glioblastoma influence clinical outcome and associate with variable expression of angiogenic proteins:evidence for distant angiogenic subtypes.
Birner P, *Brain Pathol.* 2003; 13(2):133-143.
8. High-grade glioma before and after treatment with radiation and avastin:Initial observations.
Fischer I, *Neuro-Oncology.* 2008; 10:700-708.
9. Resistance to antiangiogenic therapy is directed by vascular phenotype, vessel stabilization, and maturation in malignant melanoma.
Helfrich I, *J Exp Med.* 2010; 207(3):491-503.

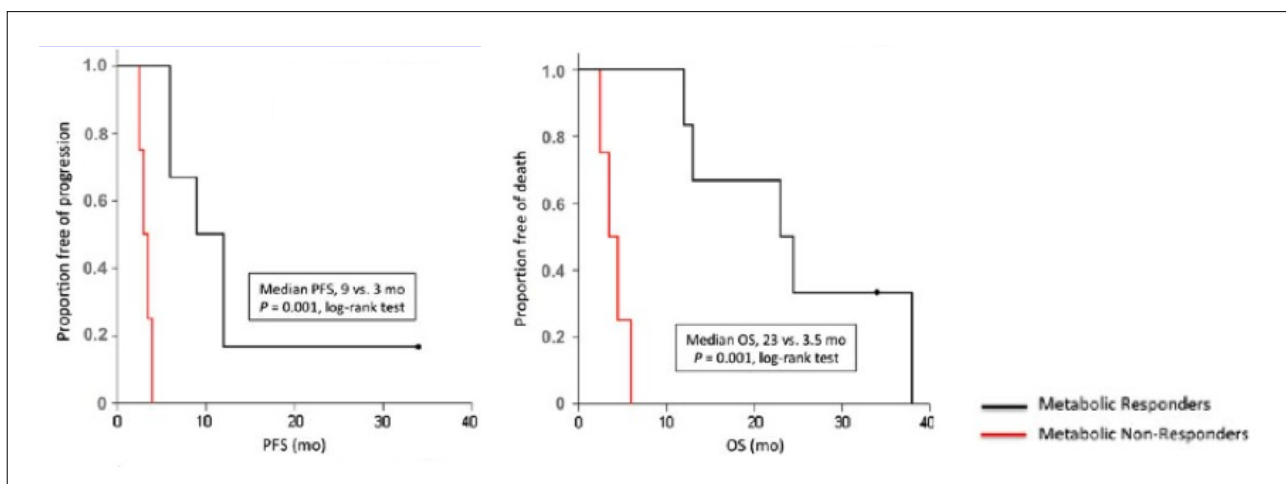
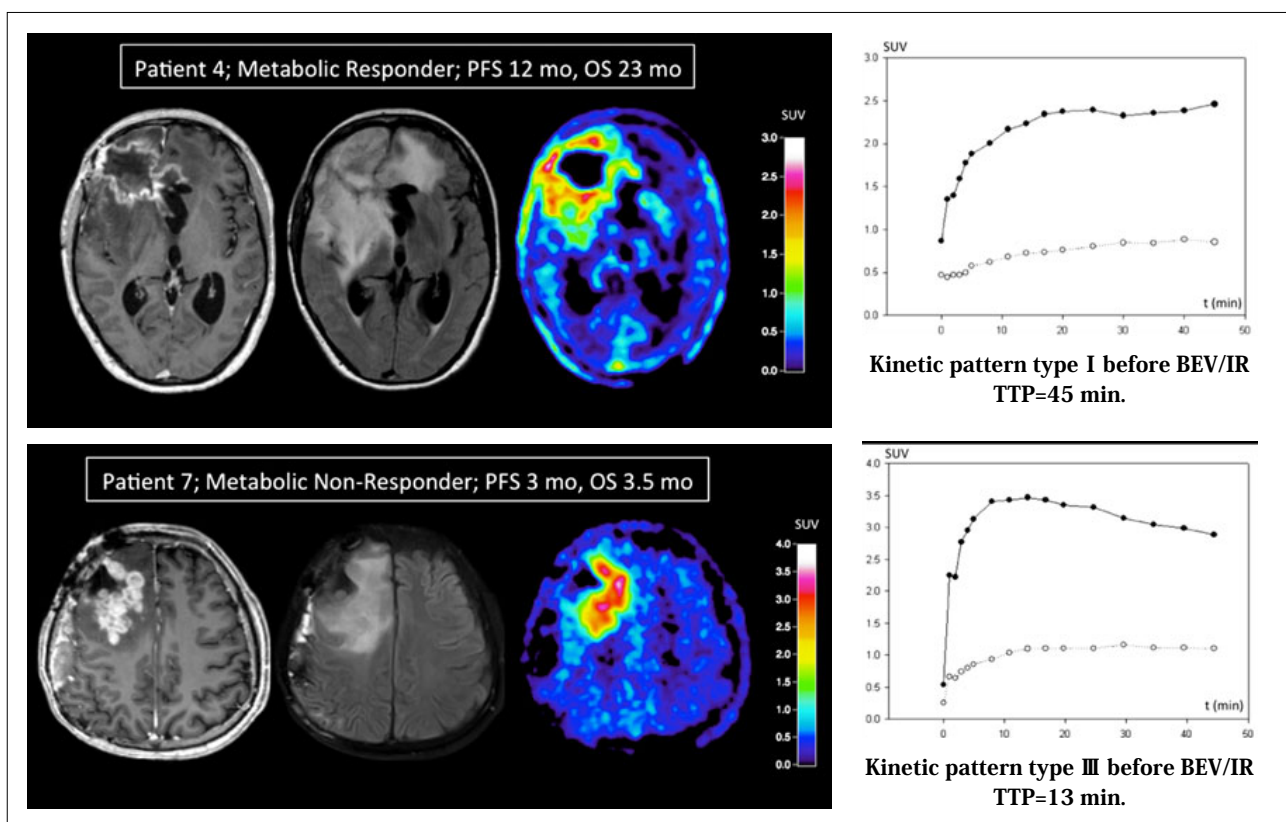


論文 15

Response Assessment of Bevacizumab in Patients with Recurrent Malignant Glioma Using [^{18}F] Fluoroethyl-L-Tyrosine PET in Comparison to MRI

Galldiks N et al, *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2013; 40:22-33.

再発グリオーマに対して、 ^{18}F -Fluoroethyl-L-tyrosine PET を用いて、腫瘍内組織におけるトレーサーの代謝されるパターンによってトレーサーの取り込みが維持される metabolic responder と取り込み能が低下する metabolic non-responder に分類し、両群間で Bevacizumab に対する治療効果を検討した。Metabolic responder 群では PFS 9 ヶ月であったのに対し、Metabolic non-responder 群では 3 ヶ月であった。また OS はそれぞれ 23 ヶ月、3.5 ヶ月でいずれも統計学的に有意差がみられた。以上から PET による腫瘍組織代謝能が、Bevacizumab に対する治療効果または予後予測因子になる可能性が示唆された。



【文献～ PET/microcirculation 関連】

1. Predicting treatment response of malignant gliomas to bevacizumab and irinotecan by imaging proliferation with [¹⁸F] fluorothymidine positron emission tomography:A pilot study.
Chen W, *J Clin Oncol.* 2007; 25:4714-4721.
2. Bevacizumab has differential and dose-dependent effects on glioma blood vessels and tumor cells.
Von Baumgarten L, *Clin Cancer Res.* 2011; 17:6192-6205.
3. Increased survival of glioblastoma patients who respond to anti-angiogenic therapy with elevated blood perfusion.
Sorensen A, *Cancer Res.* 2012; 72(2):402-407.
4. Improved tumor oxygenation and survival in glioblastoma patients who show increased blood perfusion after cediranib and chemoradiation.
Batchelor T, *Proc Natl Acad Sci USA.* 2013; 110(47):19059-19064.
5. Response assessment of bevacizumab in patients with recurrent malignant glioma using [¹⁸F] Fluoroethyl-L-tyrosine PET in comparison to MRI.
Galdiks N, *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2013; 40:22-33.
6. An intra-individual comparison of MRI, [¹⁸F]-FET and [¹⁸F]-FLT PET in patients with high-grade gliomas.
Nowosielski M, *PLoS One.* 2014; 23;9(4):e95830. doi: 10.1371/journal.pone.0095830. eCollection.

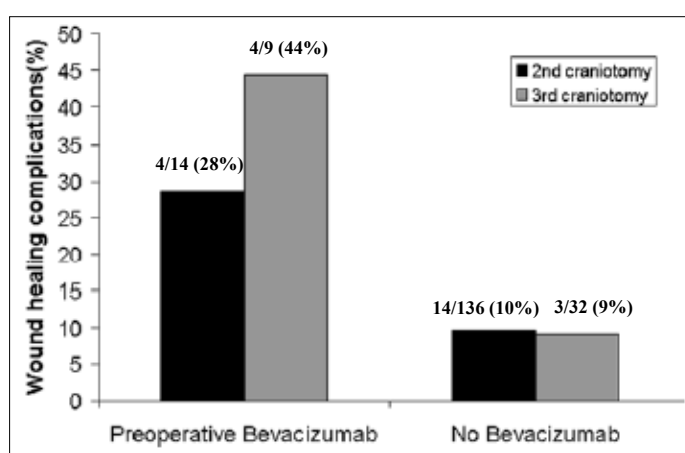


論文 16

Impact of Bevacizumab Chemotherapy on Craniotomy Wound Healing

Clark AJ et al, *J Neurosurg.* 2011; 114 : 1609-1616.

グリオーマ患者に対して開頭手術前後に投与された Bev. に伴う創傷治癒遅延に関して報告された初めての論文。創傷治癒の機転では、VEGF, VEGFR2 の発現は術後 3 日目より 24 週まで上昇していることが知られている。術前 Bev. 投与群では、複数回の開頭手術における創傷治癒に関する合併症が、Bev. 未投与群に比べ有意に多かった。創傷治癒に関する合併症の要因を解析した結果、術前の Bev. 投与の有無に有意差が認められた。Bev. の半減期は約 20 日間であることをふまえて、Bev. 投与後に開頭手術を行う際には最低でも最終投与日から 28 日間は空けるべきであると述べている。(ちなみに大腸癌、再建術が必要な乳癌手術では Bev. 最終投与日から 6 週間。)



Factor	OR (95% CI)	p Value
male sex	2.8 (0.7-10.5)	0.1
age	0.98/decade (0.94-1.02)	0.4
preop bevacizumab therapy	4.6 (1.7-50)	0.02
3rd relative to 2nd craniotomy	1.5 (0.4-4.9)	0.5
dexamethasone dose 2 wks postop	0.97/mg (0.87-1.08)	0.6
yr of op (2005-2009)	1.3/later yr (1.1-1.6)	0.2
length of op (mins)	1.1/10 mins (0.7-1.6)	0.9

【文献～創傷治癒関連】

1. Topical vascular endothelial growth factor accelerates diabetic wound healing through increased angiogenesis and by mobilizing and recruiting bone marrow-derived cells.
Galiano RD, *Am J Pathol.* 2004; 164:1935-1947.
2. Clinical pharmacokinetics of bevacizumab in patients with solid tumors.
Lu JF, *Cancer Chemother Pharmacol.* 2008; 62:779-786.
3. Angiogenesis, vascular endothelial growth factor and its receptors in human surgical wounds.
Kumar I, *Br J Surg.* 2009; 96:1484-1491.
4. Vascular endothelial growth factor targeted therapy in the perioperative setting: implication for patient care.
Bose D, *Lancet Oncol.* 2010; 11:373-382.
5. Impact of bevacizumab chemotherapy on craniotomy wound healing.
Clark AJ, *J Neurosurg.* 2011; 114:1609-1616.
6. Timing of surgery and bevacizumab therapy in neurosurgical patients with recurrent high grade glioma.
Abrams DA, *J Clin Neurosci.* 2015; 22(1):35-39.

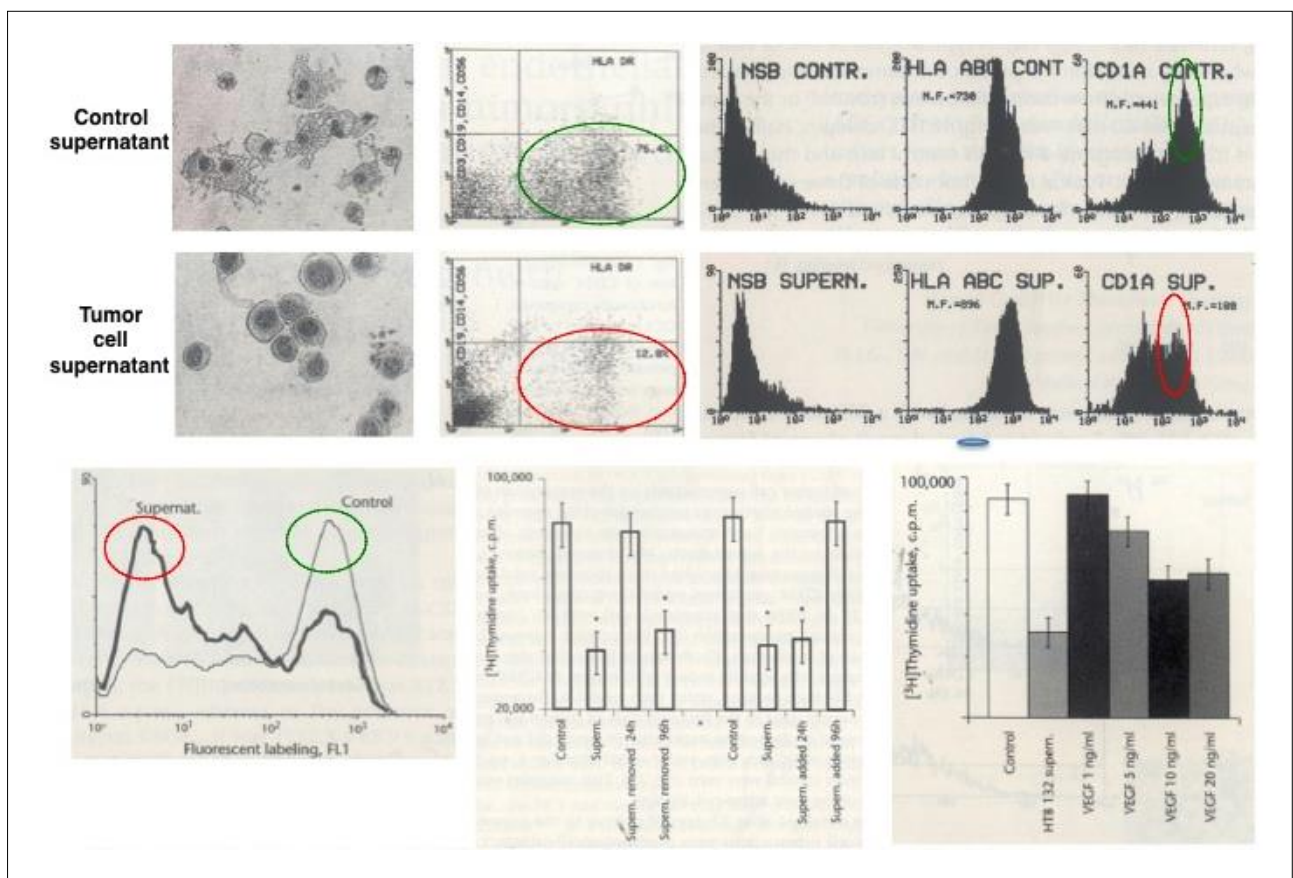
将来の展望～ Bevacizumab の応用（免疫治療との併用 / 腫瘍幹細胞への効果）

論文 17

Production of Vascular Endothelial Growth Factor by Human Tumors Inhibits the Functional Maturation of Dendritic Cells

Gabrivovich D et al, *Nat Med.* 1996; 2:1096-1103.

CD34 陽性血液幹細胞から樹状細胞が分化誘導されるが、腫瘍細胞上清中に同定された VEGF が樹状細胞の分化誘導や樹状細胞の増殖を抑制することを初めて報告した論文。血管新生因子である VEGF が腫瘍免疫監視機構を阻害する作用も有することを示した。抗 VEGF 抗体療法と樹状細胞免疫治療の併用療法の有用性を示唆する論文といえる。



**【文献～免疫治療 / 樹状細胞分化関連】**

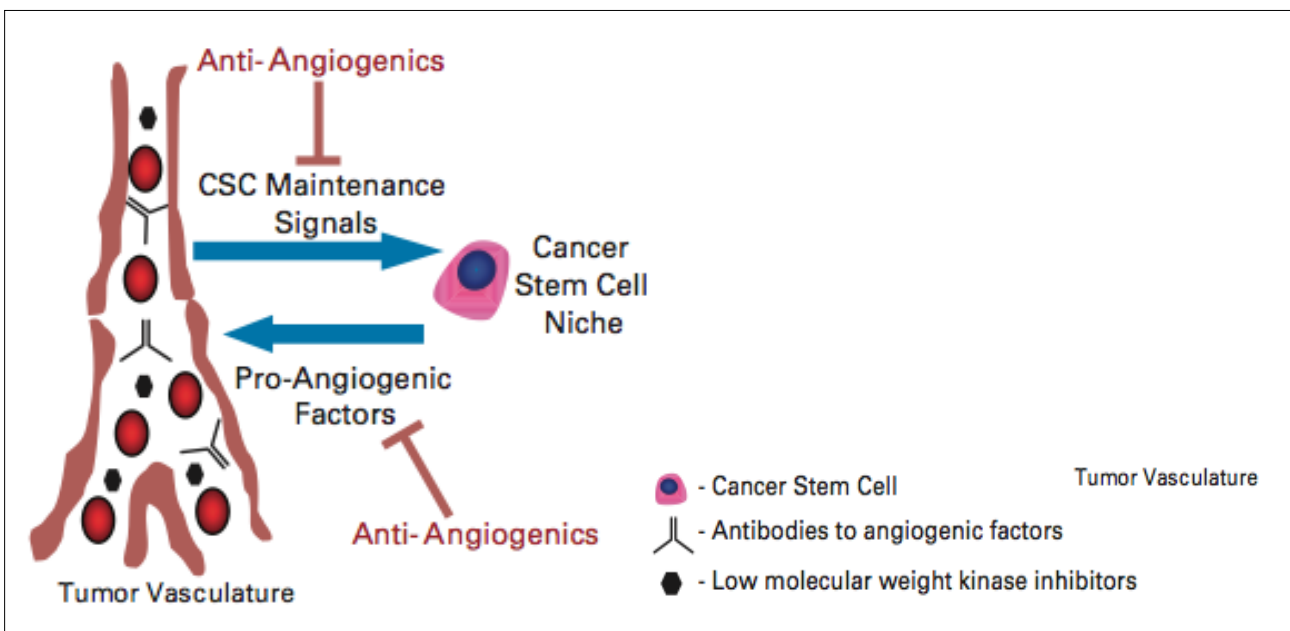
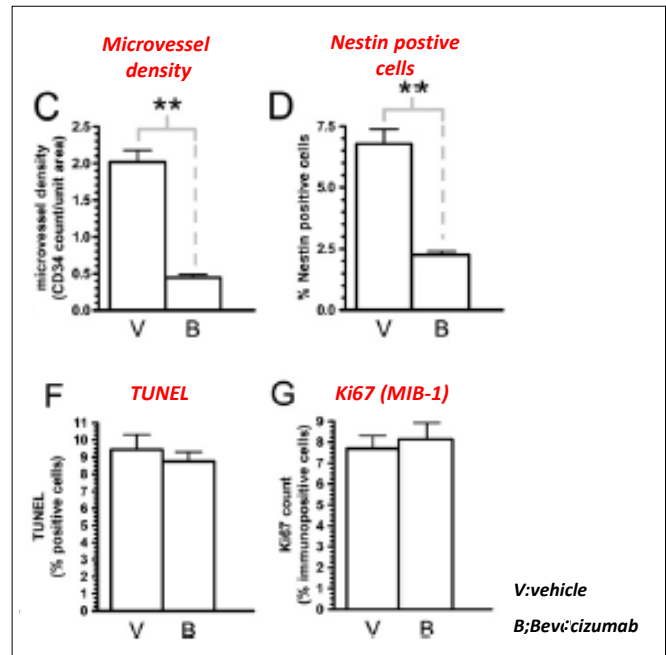
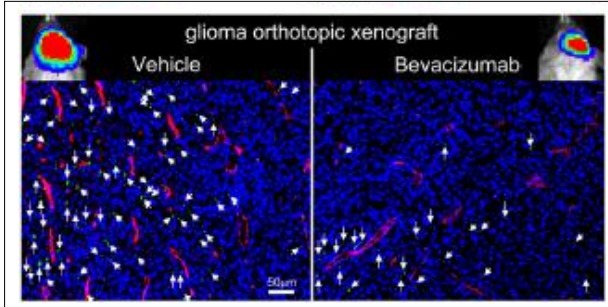
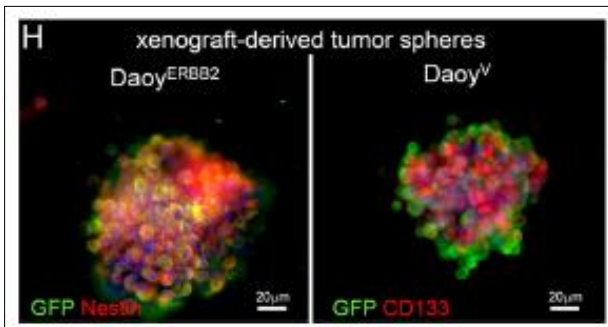
1. During angiogenesis, vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor regulate natural killer cell adhesion to tumor endothelium.
Melder RJ, *Nat Med.* 1996; 2:992-997.
2. Vascular endothelial growth factor affects dendritic cell maturation through the inhibition of nuclear factor-kB activation in hematopoietic progenitor cells.
Oyama T, *J Immunol.* 1998; 160:1224-1232.
3. Antibodies to vascular endothelial growth factor enhance the efficacy of cancer immunotherapy by improving endogenous dendritic cell function.
Gabrilovich DI, *Clin Cancer Res.* 1999; 5:2963-2970.
4. Clinical significance of defective dendritic cell differentiation in cancer.
Almand B, *Clin Cancer Res.* 2000; 6:1755-1766.
5. VEGF as a mediator of tumor-associated immunodeficiency.
Ohm J, *Immunol Res.* 2001; 23:263-272.
6. The influence of dendritic cell infiltration and vascular endothelial growth factor expression on the prognosis of non-small cell lung cancer.
Inoshima N, *Clin Cancer Res.* 2002; 8:3480-3486.
7. Vascular endothelial growth factor-trap overcomes defects in dendritic cell differentiation but does not improve antigen-specific immune responses.
Fricke I, *Clin Cancer Res.* 2007; 13(6):4840-4848.
8. The effect of anti-VEGF therapy on immature myeloid cell and dendritic cells in cancer patients.
Osada T, *Cancer Immunol Immunother.* 2008; 57:1115-1124.
9. The contribution of vascular endothelial growth factor to the induction of regulatory T-cells in malignant effusions.
Wada J, *Anticancer Res.* 2009; 29:881-888.
10. Autologous lysate-pulsed dendritic cell vaccination followed by adoptive transfer of vaccine-primed ex vivo co-stimulated T cells in recurrent ovarian cancer.
Kandalaft L, *Oncoimmunol.* 2013; 2-1:e22664.

論文 18

A Perivascular Niche for Brain Tumor Stem Cells

Calabrese C et al, *Cancer Cell*. 2007; 11:69-82.

U87MG グリオーマ細胞移植頭蓋内移植モデルに対して Bevacizumab 投与 1 週間後の組織中の Nestin と CD34 の陽性細胞の分布を解析した。Bevacizumab 投与群の方がコントロール群に比べ、CD34 陽性細胞で構成される腫瘍血管や Nestin 陽性細胞の密度が低下していた。細胞増殖能 (Ki67 陽性率やアポトーシス誘導効果 (TUNEL 陽性)) には大きな影響を与えなかった。本論文では、抗血管新生療法は、cancer stem cell の維持に重要な役割を果たしていると考えられている血管ニッチの微小環境を破壊することにより、脳腫瘍の増殖を休止させる効果があることを提唱している。





【文献～ glioma stem cell/vascular niche 関連】

1. Making a tumour's bed: glioblastoma stem cells and the vascular niche.
Gilbertson R, *Nat Rev.* 2007; 7:733-736.
2. Tumour vascularization via endothelial differentiation of glioblastoma stem-like cells.
Ricci-Vitiani L, *Nature.* 2010; 468:824-828.
3. Stem cell-like glioma cells promote tumor angiogenesis through vascular endothelial growth factor.
Bao S, *Cancer Res.* 2006; 66:7843-7848.
4. Circulating endothelial cells and endothelial progenitors as predictive markers of clinical response to bevacizumab-based first-line treatment in advanced colorectal cancer patients.
Ronconi M, *Ann Oncol.* 2010; 21:2382-2389.

今後の展望

Endpoint の設定 : いつまで治療を継続するか？

- 長期投与の必然性と弊害

治療効果・予後予測因子の判定はどうするか？

- 画像所見
- 病理組織学的所見
- 有用な Biomarker はあるのか？
- Glioma の genetic status との関連は？

Bev. の使用法やタイミングについて

- 単独投与 vs. 併用療法
- 初発例 vs. 再発例
- Neoadjuvant therapy の有用性は？

免疫治療との併用療法の有用性は？