

腫瘍血管新生を標的とした新しい癌治療

つくば研究所 バイオサイエンス研究部 浅野 誠・幸田 綾子

癌が爆発的な増殖をするためには、栄養の供給路としての血管新生が必須である。われわれは、血管内皮増殖因子 (VEGF) が、癌が自ら産生する血管新生因子であることを明らかにした (S. Kondo, M. Asano and H. Suzuki, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 194, 1234-1241(1993))。VEGFの活性を阻害することで、癌の治療が可能になるかもしれないとの考えのもとでVEGF阻害剤の研究が最近活発になってきている。われわれは、中和抗体を用いてVEGFの活性を阻害することで強い抗腫瘍活性が得られるのではないかと考えてヒト腫瘍移植ヌードマウスモデルを用いて検討した。その結果、臓器の由来にかかわらず調べた限りすべての種類の癌に対して抗VEGF中和単クローン抗体 (MV833) が、その増殖を強く抑制した。MV833は、腫瘍血管新生を抑制する新しいタイプの作用機序を持った抗腫瘍スペクトルの広い制癌剤になると考えられた。また、MV833は、癌の転移や腹水の貯留の抑制に対しても有効であることが明らかとなった。MV833は、癌治療の分野において新たな1ページを作るかもしれない。

1 緒言

日本人の死亡要因で癌は現在1位であり、平成9年には3.3人に1人が癌で命を落とした。様々な癌治療法が開発されているにもかかわらず癌は、まだまだ難治性疾患である。その中で、癌に対する栄養供給路としての血管を断つ言わば「兵糧攻め」による癌治療が新しい治療法として注目を集めている。

血管新生とは、既存の血管より新しい血管が形成される現象を言い、健常人においては、個体の発生・成長、黄体形成や創傷治癒などの限られた生理的条件下においてのみ観察される。一方、血管新生を伴う疾患としては、癌の増殖を始め、増殖性糖尿病網膜症、加齢黄斑変性症、未熟児網膜症などの失明を伴うような眼内血管新生病や慢性関節リウマチ・尋常性乾癬・粥状動脈硬化症などが知られており、いずれも難治性である。こと癌の増殖において、栄養の供給路および老廃物の排出路を確保する為に血管は必須であり、固形癌は血管新生なしに増殖不可能であると言える。

近年、新規な血管新生因子として血管内皮増殖因子 (VEGF: vascular endothelial growth factor) が見出された¹⁾。VEGFは、cDNAの塩基配列の解析の結果、血管透過性因子 (VPF: vascular permeability factor) と同一因子であることが明らかになっている²⁾。VEGFの生物学的活性は、血管内皮細胞に対して極めて特異性が高く、その増殖を促進するばかりでなく血液成分の血管外への透過性も亢進する³⁾。VEGFは、癌を含む血管新生を伴う諸疾患の病巣での高発現が報告されており、それら疾患との関係が注目されている^{4) 5)}。そこで、VEGF活性を阻害することが、これら血管新生病の治療に有効であるのではないかと考えられている。また、VEGFは、血管透過性が亢進して生じる疾患 (胸腹水の貯留、水腫、浮腫)

との関連性も示唆されてきている⁶⁾。現在、VEGF活性を阻害する様々なアプローチが試みられているし、一部では、血管新生病の治療に対する有効性を示唆する報告も出始めている^{7) 8)}。

本稿では、血管新生を伴う疾患の中でも特に癌の増殖を取り上げ、そこにおけるVEGFの役割と、われわれの作製した抗VEGF中和単クローン抗体 (MV833) の抗腫瘍活性の成績を記す。また、癌の転移や癌性腹水貯留に対するMV833の効果も併せて記す。

2 実験

2.1 MV833の作製および調製

ヒトVEGF遺伝子で形質転換した酵母の培養上清より調製したヒトVEGF⁹⁾を抗原として、マウス (BALB/c, 日本SLC社) に免疫した。免疫マウスの脾臓細胞をポリエチレングリコールを用いてマウス骨髄腫細胞株 (Sp2/O-Ag14) と細胞融合させてハイブリドーマを得た。ハイブリドーマ細胞は、培養上清中への抗VEGF抗体の産生を指標に限界希釈法にてクローニングを行った。MV833 (IgG1) は、われわれの作製した100クローンを超える抗VEGF単クローン抗体の中から、抗腫瘍活性の強さを指標に選出した¹⁰⁾。MV833は、MV833産生ハイブリドーマ細胞を腹腔内移植したヌードマウス (BALB/c nu/nu, 日本チャールズリバー社) に貯留した腹水より、50%硫酸沈殿 - プロテインAカラム (MAPS- キット, バイオラド社) にアフィニティー精製により調製した。

2.2 血管内皮細胞増殖刺激活性測定法

ヒト臍帯血管内皮細胞 (HUVEC; クロネティクス社) は、同社製のE-GM培地を用い、コラーゲンコート96穴プラスチックプレート (岩城硝子社) の各wellに 3×10^3 個まで24時間前培養した。アッセイ培地 (45%D-MEM, 45%RPMI-1640, 10%FBS, 10 μ g/mlウシインスリン, 5 μ g/mlヒトトランスフェリン, 10nM亜セレン酸ナトリウム, 10 μ M 2-アミノエタノール, 10 μ M 2-メルカプトエタノール) にて2回洗浄後、50ng/mlのVEGFと各種濃度のMV833を含む同培地で5日培養した。培養終了24時間前に 3 H-チミジン (アマシャム社) を添加し生細胞を標識した。 3 H-チミジン標識細胞は、グラスフィルター上に回収して液体シンチレーションカウンターで放射活性を測定した。

2.3 *In vivo* 血管新生試験

*In vivo*血管新生試験はメンブランチャンバー法 (背部皮下法) にて行った¹¹⁾。対数増殖期のヒト線維肉腫株 (HT-1080) 細胞 (1×10^7 個) は、メンブランチャンバー (ミリポア社) に封入した。チャンバーは、ネンブタール麻酔下のBALB/cマウスの背部皮膚を切開して挿入し、切開部は連続縫合機 (夏目製作所) にて閉じた (Day0)。MV833 (100 μ g) は、尾静脈より3回投与した (Day1~3)。Day4に頸椎脱臼によりマウスを屠殺し、チャンバーに接した部分の皮膚に形成された血管を実体顕微鏡にて観察するとともに写真撮影を行った。コントロールチャンバーとしては、HT-1080細胞の代わりにPBSのみを封入したものを埋め込んだ。また、MV833に対するコントロールとしてはPBSを投与した。

2.4 抗腫瘍試験

各種ヒト腫瘍は、ヌードマウスの皮下にて移植・継代されたものを使用した。実験に際して、腫瘍は、皮膚を切開して取り出し、余分な結合組織や壊死部等を除去した。腫瘍塊は、2mm角に切り出し、実験用に用意した別のヌードマウス腹側部皮下に移植針を用いて移植した。MV833, マイトマイシンC (MMC; 協和発酵工業), シスプラチン (CDDP; 日本化薬) およびビンクリスチン (VCR; 塩野義製薬) は、すべて静脈内投与した。各薬剤の投与量・投与スケジュールは各図に記した。コントロール群にはPBSを投与した。経時的にノギスにて腫瘍の長径および短径を測定し、(短径) \times (長径) / 2の式に代入して腫瘍体積を算出した。

2.5 実験転移試験

対数増殖期のHT-1080細胞 (1×10^6 個) は、ヌードマウスの尾静脈より移植した (Day0)。MV833またはマウスIgGは、ヌードマウスあたり100 μ gをDay1より4日毎に静脈内投与した。Day25に、ヌードマウスを屠殺して肺を取り出して重量を測定することによって転移巣の増殖の程度を調べた。また、別の

実験では、屠殺せずに生存期間を観察した。

2.6 腹水治療実験

培養ヒト卵巣癌細胞株 (NOS2; 1×10^7 個) は、ヌードマウスの腹腔内に移植した。MV833は、移植翌日より4日毎に100 μ gを腹腔内投与した。細胞移植22日後に、マウスを頸椎脱臼により屠殺し、腹水をディスポシリングにて回収して容積を測定した。

3 結果および考察

3.1 培養血管内皮細胞に対するMV833の作用

VEGFは、血管内皮細胞に極めて特異性の高い増殖因子である。そこで、VEGFに依存的に増殖するヒト臍帯血管内皮細胞 (HUVEC) の増殖に対するMV833の影響を調べた。その結果、約1 μ g/mlのMV833によってVEGF (50ng/ml) 依存的なHUVECの増殖がほぼ完全に抑制された (Fig.1)。

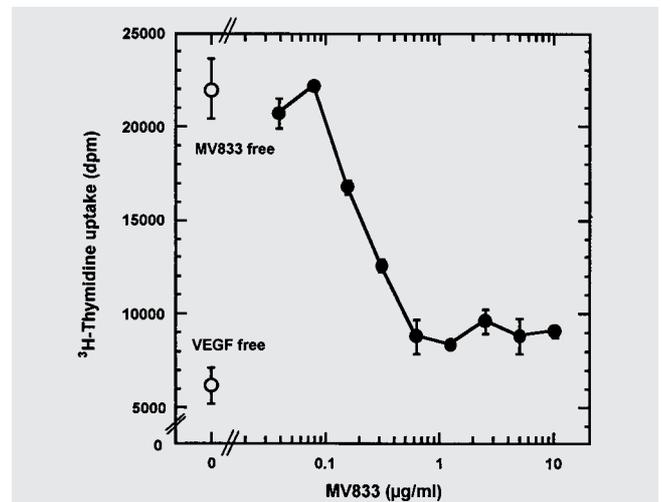


Fig.1 Effects of MV833 on the growth of HUVEC induced by VEGF *in vitro* HUVEC (3×10^3 cells/well) were cultured with 50 ng/ml of VEGF and various amount of MV833 for 5 days. The growth of HUVEC was measured by the uptake of 3 H-thymidine.

3.2 固形癌の増殖におけるVEGFの役割

固形癌の増殖におけるVEGFの役割を調べる目的で、ヒト子宮頸部癌細胞HeLaをVEGF遺伝子を発現する組換えベクターにより形質転換し、VEGF高産生株であるHeLa/v5株を作製した¹²⁾。また、ベクターのみで形質転換したHeLa/c株も作製した。両HeLa株をヌードマウスの皮下に移植し腫瘍の増殖速度を比較したところHeLa/v5株の方がHeLa/c株に比べて明らかに早かった (Fig.2)。両株の*in vitro*での細胞倍加時間に差がないことから、この結果は、VEGF産生量の違いによる腫瘍血管新生誘導活性の違いによると考えられた。つまり、VEGFは、腫瘍増殖に深く関係している腫瘍血管新生因子であることが強く示唆された。

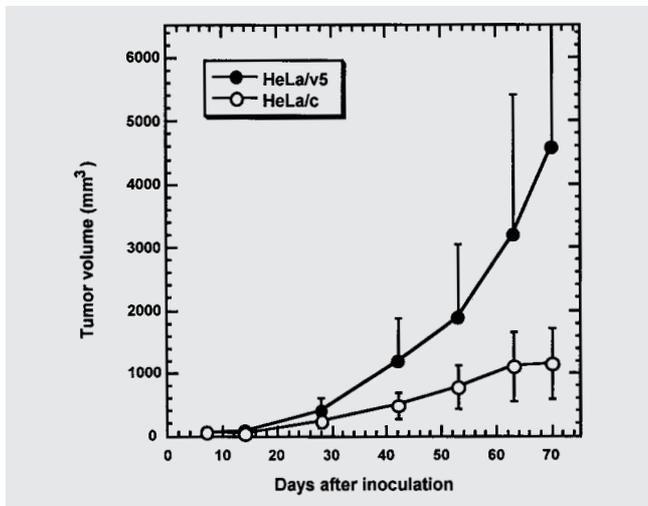


Fig.2 The tumor growth of two HeLa cell lines *in vivo*. HeLa/v5 (●) and HeLa/c (○) tumors were cut into 2 x 2 x 2-mm pieces, and transplanted into nude mice. The volumes of tumors were monitored by caliper measurement.

3.3 癌細胞依存的な血管新生に対するMV833の抑制効果
 ヒト線維肉腫細胞株, HT-1080細胞を封入したメンブランチャンパーをマウス皮下に埋め込むと、移植4日後にチャンパーに接した部分の皮膚に癌細胞に依存した血管新生が観察された (Photo.1,左) この系に, MV833を3日間100 μgずつ静脈内投与すると, この血管新生は, ほぼ完全に抑制された (Photo.1,中央) なお, HT-1080細胞の増殖に対してMV833は, 直接何等影響しないことは明らかである (Table-1) これらの結果より, HT-1080が血管新生因子としてVEGFを分泌しており, MV833の投与によって, そのVEGF依存的な血管新生が抑制できることが, 動物を用いた実験 (*in vivo*) レベルにても明らかとなった。

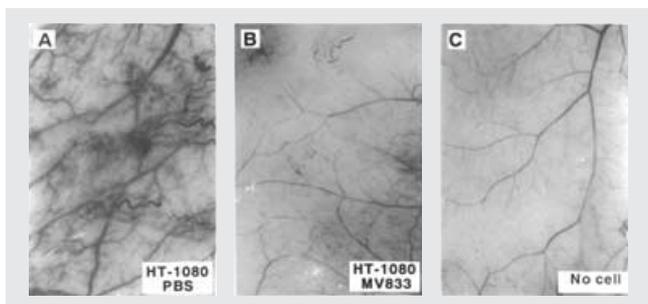


Photo.1 Inhibition of tumor cell-induced angiogenesis by MV833. Chambers packed with HT-1080 cells were implanted subcutaneously into the abdominal region of BALB/c mice on day 0. PBS (left) or 100 μg of MV833 (middle) was intravenously administered from days 1 to 3. The control chamber (right) contained PBS instead of HT-1080 cells. Mice were killed, and subcutaneous region was photographed on day 4.

3.4 MV833の抗腫瘍スペクトル

VEGFが, 固形癌の増殖に密接に関与しており, MV833によってその活性を抑制できることが明らかになったことをふまえ, 次にMV833の抗腫瘍活性を調べた。

まず, 各種ヒト癌細胞株のVEGF産生量を調べたところ, 全ての癌細胞培養上清にVEGFが検出された (Table 1) その中でHeLa/v5, HT-1080細胞が特にVEGF産生量が多かった。一方, G361, A375, LX-1, HT-29, SW480, ASPC-1, MIA PaCa-2, PC-3, NOS2, HRA及びHeLa/c細胞は, VEGF産生量が少なかった。VEGFの産生量と癌細胞の由来臓器との相関は観察されなかった。

また, VEGFレセプターの発現を¹²⁵I標識VEGFの癌細胞に対する特異的結合を指標に調べたところ, A375, WM-115およびPC-3においてその発現が確認された (Table 1)

更に, MV833が癌細胞の増殖 (*in vitro*) に対して直接影響するかについて調べたところ, 今回検討した全ての癌細胞株の増殖は, MV833 (100 μg/ml) の影響を全く受けなかった (Table 1) VEGFレセプターの発現が見られる3株はVEGF産生が観察されたことから, これらの株では, VEGFを介したオートクリン的な増殖をしているのではないかと考えられた。しかし, MV833がそれらの増殖に全く影響していないことから, これらの細胞株に発現しているVEGFレセプターは, 増殖刺激のシグナルを伝達できなくなっていると考えられた。

Table.1 Anti-tumor spectrum of MV833

Strain	Origin	VEGF Production a)	VEGF Receptor b)	<i>in vitro</i>	<i>in vivo</i>
				cell growth (%) c)	T/C _{min} d)
A375	Melanoma	+	+	101.1	0.31
G361		+	-	104.2	0.30
WM-115		++	+	101.1	0.30
MX-1	Breast carcinoma	+	-	96.3	0.13
PC-14	Lung carcinoma	+++	-	109.4	0.33
A549		++	-	107.1	0.27
LX-1		+	-	99.1	0.07
LS174T	Colon carcinoma	+++	-	89.5	0.07
LS180		+++	-	111.2	0.10
HT-29		+	-	116.6	0.39
SW480		+	-	106.4	0.10
LoVo		++	-	97.5	0.16
HCT116		++	-	106.3	0.17
PLC/PRF/5	Hepatoma	++	-	100.0	0.30
BXPC-3	Pancreas carcinoma	+++	-	102.2	0.20
ASPC-1		+	-	98.7	0.38
MIA PaCa-2		+	-	102.4	0.17
PC-3	Prostate carcinoma	+	+	102.0	0.18
SKOV-3	Ovarian carcinoma	++	-	93.6	0.18
NOS2		+	-	102.3	0.20
NOS4		++	-	119.4	0.20
HRA		+	-	106.0	0.33
A-673	Sarcoma	+++	-	96.9	0.04
HT-1080		++++	-	97.6	0.22
A431	Epidermoid carcinoma	+++	-	93.0	0.30
HeLa/v5	Cervix carcinoma	++++	-	90.5	0.07
HeLa/c		+	-	92.5	0.18

a) VEGF production was scored based on the amount of VEGF in the conditioned medium by sandwich-ELISA system. +, 0.05-0.5; ++, 0.5-1.0; +++, 1.0-1.5; +++++, >1.5ng/ml
 b) VEGF receptor was analyzed by specific binding of ¹²⁵I-VEGF to tumor cells.
 c) Effect of MV833 (100 μg/ml) on the growth of tumor cells *in vitro*.
 d) Anti-tumor activities of MV833. Minimum values of the ratio of tumor volume of treated (T) group against control (C) group.

MV833の抗腫瘍スペクトルを調べる目的で27種類のヒト腫瘍をそれぞれヌードマウスの腹側部皮下に移植した後, 100 μgのMV833を4日毎に静脈内投与した。その結果, MV833は, いずれの腫瘍に対しても強い抗腫瘍活性を示した¹³⁾ (代表例と

して結腸癌6株の結果をFig.3に示した)。また、MV833の抗腫瘍活性の強さを最小T/C値(治療群(treated)と対象群(control)群の平均腫瘍体積比)(T/Cmin)を指標にみると、いずれの株に対しても0.4を下回る強いものであった(Table 1)。LX-1, LS174T, LS180, SW480, A-673およびHeLa/v5に対する抗腫瘍活性は、特に強く、T/Cminが0.1以下であった。MV833の抗腫瘍活性の強さと、腫瘍株の由来臓器・VEGF産生量・VEGFレセプターの発現の有無等に相関関係は見出されなかった。この結果より、MV833は、如何なる癌種に対しても有効性を示すことが示唆された。また、この実験では、MV833の繰り返し投与による体重減少等の副作用はまったく観察されなかった(データ省略)。

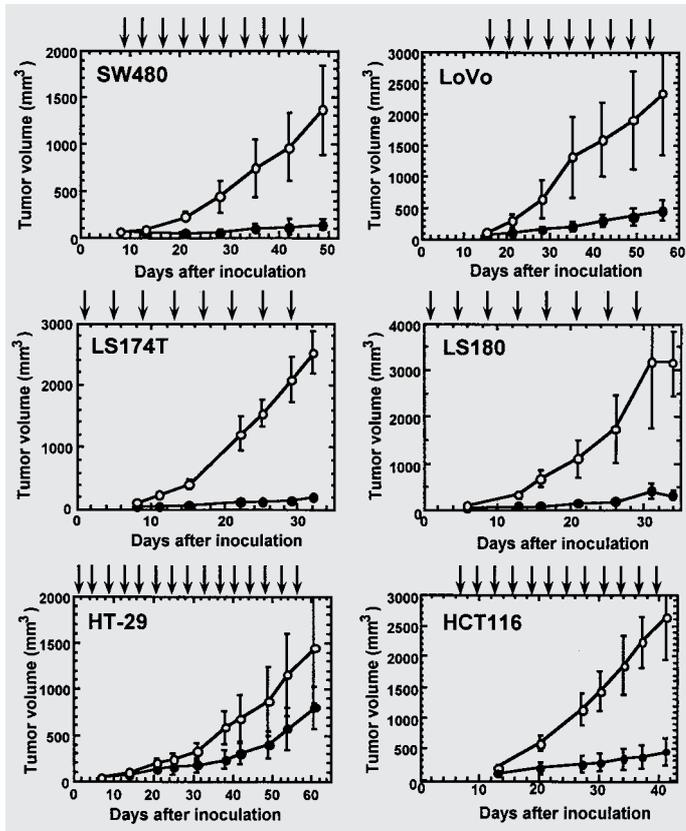


Fig.3 Inhibitory effect of MV833 on the growth of human colon tumors *in vivo*. Human colon tumors maintained subcutaneously in nude mice were cut into 2 x 2 x 2-mm pieces, and transplanted into native nude mice. MV833 (100µg;) or PBS () was intravenously administered every four days until the experiments were terminated. The volumes of tumors were monitored by caliper measurement. Arrows, times of injection.

更に、MV833の抗腫瘍活性を「進行癌モデル」においても検討した。この系は、移植した腫瘍がヌードマウスに生着して約400mm³以上に増殖してから治療を開始する系であり臨床像に近いモデルと考えられる。

結腸癌2株(LS174T, SW480)、乳癌(MX-1)および肺癌(LX-1)を用いた進行癌モデルにおけるMV833の抗腫瘍活性を検討した結果、各腫瘍の増殖はMV833投与により完全に抑制され、ほぼ横這いの増殖曲線となった(Fig.4)

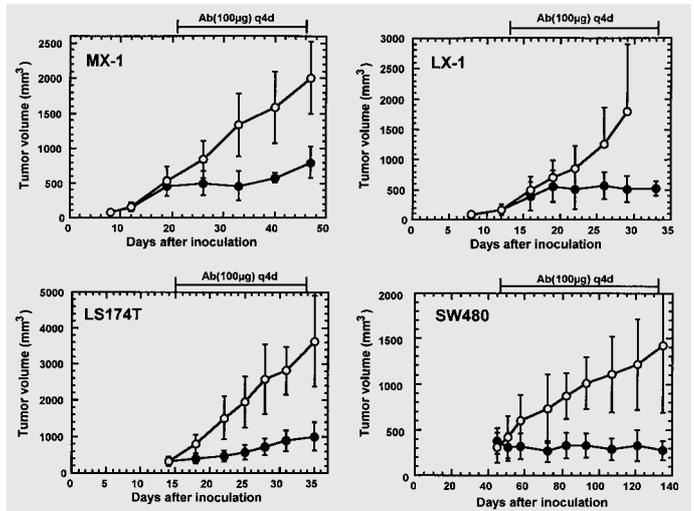


Fig. 4 Inhibition of advanced growing tumor by MV833 *in vivo*. Human tumors were transplanted into native nude mice. MV833 (100µg;) or PBS () was administered intravenously every four days from the time indicated until the experiments were terminated (above bar). The volumes of tumors were monitored by caliper measurement.

3.5 MV833と制癌剤の併用による抗腫瘍活性の増強

癌治療の臨床の場合では、効果増強・副作用軽減を目的として複数の制癌剤を併用して処方することが一般的である。そこで、MV833についても制癌剤との併用により抗腫瘍活性が増強されるかを検討した。

HT-1080およびSW480に対して体重減少が観察されない程度のMMC (3mg/kg)またはCDDP (5mg/kg)とMV833 (12.5 µg)を併用するとそれぞれ単独投与の場合と比べて抗腫瘍活性の増強が観察された⁷⁾(Fig.5)

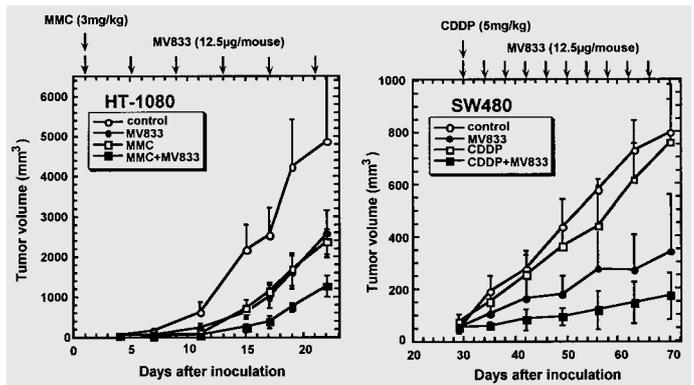


Fig.5 Growth inhibition of subcutaneously implanted human tumors by combination of MV833 and MMC or CDDP. HT-1080 (left) or SW480 (right) tumors were transplanted into native nude mice. MV833 (12.5µg) and MMC (3mg/kg) or CDDP (5mg/kg) were intravenously administered either alone or combination. The volumes of tumors were monitored by caliper measurement. Arrows, times of injection.

また最大耐量のVCR (1.6mg/kg)を投与しても腫瘍増殖がほとんど抑制されないような薬剤非感受性株であるLS174Tに対しても、MV833の併用は、抗腫瘍活性の増強効果を示した(Fig.6) この実験ではVCRの投与により顕著な体重減少が観察されたが、MV833の併用によって、それを増悪させることはなかった。このことより、MV833は、制癌剤の副作用を増悪させることなく抗腫瘍活性を増強させることができると考

えられた。MMC, CDDP, VCR以外に、サイクロフォスファミド、ミトキサントロン、エトポシドなどでもMV833と併用することで抗腫瘍活性の増強が観察された(データ省略)。これらの知見は、現在臨床にて用いられている癌化学療法の処方にもMV833を加えることで奏効率の向上を期待させるものである。MV833の併用は、化学療法のみならず、温熱療法モデルにおいても抗腫瘍活性の増強を認め(京大医・放射線との共同研究)放射線療法との併用も期待される。

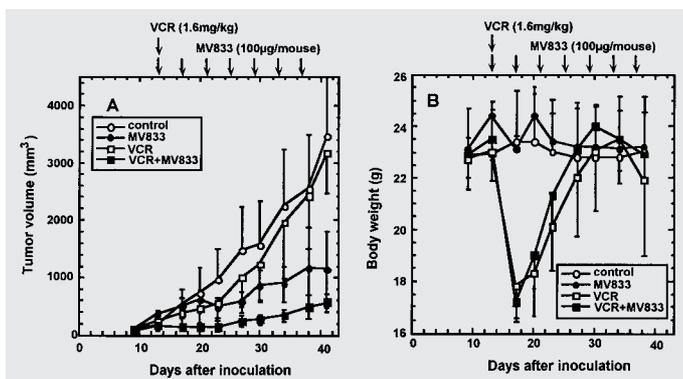


Fig.6 Growth inhibition of subcutaneously established LS174T tumors and body weight change of mice by combination treatment of MV833 with VCR. LS174T tumors were transplanted into native nude mice on day 0. When tumor size amounted to 400mm³, the mice were treated with drugs. MV833 (100µg) and VCR (1.6mg/kg) were administered either alone or combination. The volumes of tumors were monitored by caliper measurement. Arrows, times of injection.

3.6 MV833の抗転移活性

癌による死亡の多くは、遠隔臓器に癌が「転移」することにより治療不能になるためであり、「転移を制するものが癌を制す」とまで言われている。癌転移のステップの中で、遠隔臓器における再増殖に血管新生が必要となってくる。そこで、実験転移モデルにてMV833の抗転移効果を検討した。

HT-1080細胞は尾静脈より移植すると肺に転移巣を形成する性質がある。移植25日後では転移巣は胸腔いっぱいが増殖していた(正常マウス肺; 173.8±9.8mg、HT-1080移植マウス肺406.8±173.6mg)。ここに、MV833を投与すると、転移巣の増殖に伴う肺重量の増加が著しく抑制された(203.6±22.2mg, p<0.01 (t-test): Photo 2)。

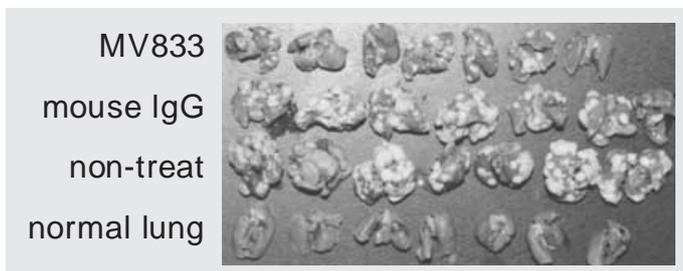


Photo.2 MV833 inhibits growth of experimental lung metastasis in nude mice. Cultured HT-1080 cells (1x10⁶) were injected into the tail vein of BALB/c nude mice on day 0. One hundred micrograms of MV833 or mouse IgG was intravenously administered on days 1, 5, 9, 13, 17 and 21. On day 25, the lungs were excised.

また、本実験転移系での生存期間を観察したところMV833投与群で有意な延命が観察された(Fig.7)。このことからMV833が転移巣における癌の増殖を抑制することによる延命効果が期待できる。

血行性転移においては、原発巣における血管新生が重要な要因となってくる。先の実験転移系では、直接癌細胞を血流中に注入するため、原発巣に相当するものがない系である。そこで、胃癌および大腸癌をそれぞれヌードマウスの胃および盲腸に移植する「同所移植法」にて肝転移モデルを構築し、MV833の抗転移活性を調べた。その結果、MV833投与により原発巣の増殖のみならず肝転移も有意に抑制された(浜松医大2外との共同研究¹⁴⁾¹⁵⁾)。このことは、複雑なステップを経て成立する癌の転移の中で、MV833が原発腫瘍における血管新生抑制およびVEGF依存的なプロテアーゼ産生抑制などの複数のステップを抑制した結果、転移を阻害していることを示すと同時に、癌治療における補助療法に対する有効性を示唆するものである。

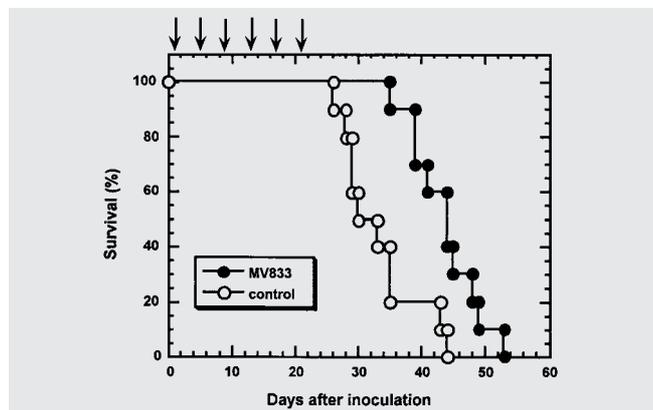


Fig.7 Prolonged survival time of HT-1080 tumor-bearing mice induced by MV833. Cultured HT-1080 cells (1x10⁶) were inoculated intravenously into nude mice on day 0. MV833 or mouse IgG (100 µg) was intravenously administered on days 1, 5, 9, 13, 17 and 21. Each group comprised 10 mice. Arrows, times of injection.

3.7 MV833による癌性腹水治療

腹腔内臓器癌の末期患者において、腹水の貯留は、腹部不快感や腹部膨満感、食欲不振、横隔膜挙上による呼吸困難などの症状を誘発し、患者自身のQuality of life(QOL)を悪化させる大きな要因となっている。現在のところ、その腹水貯留を治療する良い手段はなく予後は極めて不良である(2~3ヶ月)腹水貯留を抑制・治療する適当な方法が開発されたならば末期癌患者のQOLの改善が図れると考える。VEGFは、この腹水を誘導する因子としても知られている。そこで、腹水誘導モデルに対してMV833の効果を検討した。

ヒト卵巣癌株(NOS2)細胞を腹腔内に移植すると約3週間で腹水が誘導されてくる。ここに、MV833を投与したところ腹水の貯留が有意に抑制された(Fig.8)。このことは腹水貯留抑制を目的とした卵巣癌の補助療法にMV833が有効であることを示唆している。

略語一覧

VEGF : vascular endothelial growth factor (血管内皮増殖因子)
 VPF : vascular permeability factor (血管透過性因子)
 MMC : mitomycin-C (マイトマイシンC)
 CDDP : cis-diamminedichloroplatinum (II)(シスプラチン)
 VCR : vincristine (ビンクリスチン)
 PBS : phosphate buffered saline

引用文献

- 1) D. Leung, G. Cachianes, W.-J. Kuang, D. V. Goeddel, N. Ferrara, *Science*, 246, 1306-1309 (1989).
- 2) P. J. Keck, S. D. Hauser, G. Krivi, K. Sanzo, T. Warren, J. Feder, *Science*, 246, 1309-1312 (1989).
- 3) N. Ferrara, T. Davis-Smyth, *Endocrinol. Rev.*, 18, 4-25 (1998).
- 4) M. Shibuya, *Adv. Cancer Res.*, 67, 281-316 (1995).
- 5) B. Williams, *Vasc. Med.*, 1, 251-258 (1996).
- 6) K.-T. Yeo, H. H. Wang, J. A. Nagy, T. M. Sioussat, S. R. Ledbetter, A. J. Hoogewerf, Y. Zhou, E. M. Masse, D. R. Senger, H. F. Dvorak, T.-K. Yeo, *Cancer Res.*, 53, 2912-2918 (1993).
- 7) 浅野誠, 炎症と免疫, 4, 369-374 (1996).
- 8) 浅野誠, 幸田綾子, 鈴木日出夫, 日本眼科紀要, 48, 443-447 (1997).
- 9) S. Kondo, T. Matsumoto, Y. Yokoyama, I. Ohmori, H. Suzuki, *Biochim. Biophys. Acta*, 1243, 195-202 (1995).
- 10) M. Asano, A. Yukita, T. Matsumoto, M. Hanatani, H. Suzuki, *Hybridoma*, 17, 185-190 (1998).
- 11) M. Asano, A. Yukita, T. Matsumoto, S. Kondo, H. Suzuki, *Cancer Res.*, 55, 5296-5301 (1995).
- 12) S. Kondo, M. Asano and H. Suzuki, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 194, 1234-1241 (1993).
- 13) M. Asano, A. Yukita, H. Suzuki, *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.*, 38, 266 (1997).
- 14) T. Kanai, H. Konno, T. Tanaka, M. Baba, K. Matsumoto, S. Nakamura, A. Yukita, M. Asano, H. Suzuki, S. Baba, *Int. J. Cancer*, 77, 933-936 (1998).
- 15) H. Konno, T. Arai, T. Tanaka, M. Baba, K. Matsumoto, T. Kanai, S. Nakamura, S. Baba, Y. Naito, H. Sugimura, A. Yukita, M. Asano, H. Suzuki, *Jpn. J. Cancer Res.*, 89, 933-939 (1998).

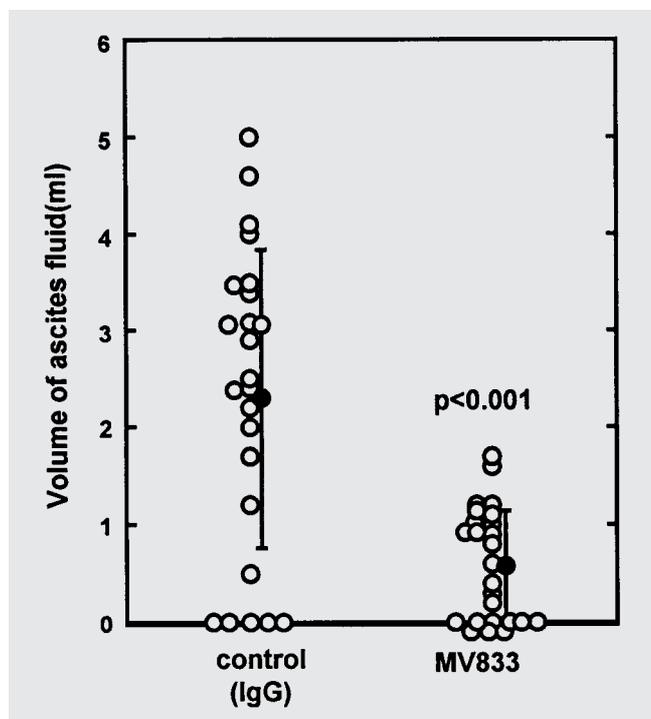


Fig.8 Inhibition of the accumulation of ascites fluid by MV833
 Cultured NOS2 cells (1×10^7) were inoculated intraperitoneally into nude mice on day0. MV833 or mouse IgG (100 μ g) was intraperitoneally administered on days 1, 5, 9, 13, 17 and 21. At day 22, mice were sacrificed and the volumes of ascites fluids were measured. Closed circles showed mean SD.

4 結 語

抗VEGF中和単クローン抗体、MV833の癌治療における有用性をヌードマウスを用いたモデル実験で検討した結果、以下のような結論を得た。

- 1) 調べた限りの全ての癌細胞は、VEGFを産生しており、これが血管新生を促し癌の増殖に関与していることが示唆された。MV833は、由来臓器・VEGF産生量の違いに関わらず全ての癌の増殖を強く抑制したことから、抗腫瘍スペクトルの広い制癌剤になると考えられる。
- 2) MV833の抗腫瘍活性は、既存の制癌剤と併用することで増強された。この場合、制癌剤の副作用をMV833が増悪させることはなかった。
- 3) MV833は、癌の転移に対しても有効であり、明らかな延命効果が観察された。
- 4) MV833は、癌性腹水の貯留に対しても顕著な抑制効果を示し、癌患者のQOL向上に貢献できるものと考えられる。

このように、MV833は、腫瘍血管新生阻害という新しい活性を有する制癌剤となりえると考えられる。また、MV833は、抗腫瘍活性のみならず、癌に伴う「転移」や「腹水貯留」に対しても有効であり、癌治療の場において、極めて有用な薬剤になるであろう。更に、固形癌の増殖ばかりでなく各種眼内血管新生病や慢性関節リウマチなどの血管新生病でもVEGFの関与が示唆されてきており、このような疾患に対してもMV833の有効性が期待される。