低分子血管新生阻害薬とベバシズマブ何が違う？

血管新生阻害薬を用いた併用治療の現状と展望 —新規血管新生阻害薬 E7820 の腫瘍血管正常化作用—

仙波 太郎

要約：VEGF（血管内皮増殖因子）抗体ベバシズマブが、がん化学療法薬との併用治療により転移性大腸がんに対して臨床有用性を示し、新たながん治療として承認された。また、VEGF 受容体チロシンキナーゼ阻害薬（VEGFR-TKI）も臨床有用性が確認され、VEGF を中心とする血管新生阻害薬の臨床治療における重要性が拡大している。VEGFR-TKI は、単剤で抗腫瘍効果を示す一方で、現時点でがん治療の主軸である併用療法において適応を取得した薬剤はない。低分子血管新生阻害薬のための併用治療法の確立が今後のがん治療のひとつの課題と考える。併用治療確立のためには新たな研究仮説や併用治療に長けた VEGFR-TKI 以外の血管新生阻害薬の創出も必要と考えられる。E7820 は VEGF シグナル阻害とは異なる作用機序を有する臨床開発中の血管新生阻害薬である。E7820 は前臨床の種々の移植がんモデルにおいて、様々な化学療法剤との併用投与で効果を示すことが確認された。その作用機序は、腫瘍血管正常化の誘導によることが、腫瘍血管のイメージング手法 DCE-MRI を用いた検討によって明らかになった。近年、バイオマーカーを用いた化学療法の早期効果判断が求められている。血管新生阻害薬の併用療法確立には、腫瘍血管イメージングを応用した効果判別手法の進展など、今後の臨床での新たな展開に期待したい。

1. はじめに

1970 年代に Folkman により提案された血管新生阻害のコンセプト (1) は、2004 年に VEGF（血管内皮増殖因子）抗体ベバシズマブが、がん化学療法薬との併用治療により転移性大腸がんに対して臨床有用性を示し (2)、新たながん治療として結実した。その後、ベバ

シズマブは併用治療として非小細胞肺癌および腎細胞がんへ適応を拡大し、今日のがん治療において重要な役割を担っている。続いて、VEGF 受容体チロシンキナーゼ阻害薬（VEGFR-TKI）であるスニチニブ、ソラフェニブが、単剤療法として腎細胞がんあるいは肝細胞がんへの臨床有用性を示し承認に至った。現在、さらなる新規 VEGFR-TKI の臨床開発が展開され、VEGF を中心とする血管新生阻害薬の開発競争が激化している。ベバシズマブに比べてマルチな作用によって効果が増強された VEGFR-TKI は、単剤で血管新生阻害作用を示す一方で、化学療法薬との併用では副作用が増加する可能性も考えられている。実際に現時点では VEGFR-TKI の使用は、単剤療法に限定的であり、併用治療にまで拡大するに至っていない。

血管新生阻害薬と化学療法薬との併用は、これまで前臨床において広く研究されてきた。血管新生阻害のコンセプトでは、腫瘍の退縮効果よりも増殖休止 (tumor dormancy) を目標とするため、より強い抗腫瘍効果を求めて、多くの血管新生阻害薬が種々動物モデルにおいて併用効果を試され、ポジティブな結果が示されている。しかし、前臨床の研究とは異なり、臨床での現状は上述のように限定的である。血管新生阻害薬を用いた併用療法を確立する上では、VEGF 抗体と VEGFR-TKI の相違を説明する仮説が必要である。そして、その仮説に沿った併用治療に長けた新たな低分子血管新生阻害薬の創出をもって、40 年を越える血管新生阻害薬の長年の取り組みが最終化すると考える。

本稿では、血管新生阻害薬の現状、および血管新生阻害薬による併用効果を説明する新たな腫瘍血管正常化仮説について概説するとともに、E7820 の血管新生阻害作用と前臨床研究における併用治療を含めた抗腫

キーワード：血管新生阻害薬, DCE-MRI, 血管正常化作用

エーザイ株式会社 プロダクトクリエーションシステムズオンコロジー創薬ユニット (〒300-2635 つくば市東光台 5-1-3)

E-mail: t-semba@esai.co.jp 原稿受領日：2012 年 9 月 13 日, 依頼原稿

Title: Current status of combination therapies of angiogenesis inhibitors: vascular normalization activity of a novel angiogenesis inhibitor E7820. Author: Taro Semba

瘍効果，併用作用機序研究について紹介する。

2. 血管新生

がんは多種多様な細胞により構成され，それら細胞の相互ネットワークにより増殖，浸潤，転移といった腫瘍の悪性化の進行や抗がん薬への耐性化などが複雑に調節されていることがわかってきた(3)．これに呼応して抗がん薬についても直接的にがん細胞に作用する薬剤に加えて，微小環境に影響を与えて間接的に抗腫瘍効果を発揮する薬剤も登場してきた．その代表的なものが血管新生阻害薬である．腫瘍は1 mm 以上の大きさになると栄養を得るため，あるいは老廃物を排泄するために血管を必要とする．そのため，がん細胞は様々な血管新生因子を産生し，自ら血管を誘導することが知られている．これが腫瘍による血管新生であり，腫瘍の増殖に必須の生命現象である．そこにおいて，血管新生阻害薬は腫瘍による新たな血管誘導やすでに腫瘍の内部にある血管を特異的に壊すことで腫瘍を兵糧攻めにし，抗腫瘍効果を発揮する(図1)．また，がんが遠く離れた場所へ移動するためには，周囲から血管を引き込んでその中に潜り込み血液の流れに乗る必要がある．従って，血管新生を阻害することは，転移の抑制にも働く可能性がある．

この腫瘍血管新生のコンセプトは古く1970年代初期にFolkmanにより提案されて以来多くの研究がなされ，当初の血管新生阻害薬像から期待通りであったこと，または理想からの相違点も数多くわかってきた．Folkmanの仮説の要点は，①固形がんが発育増殖するには栄養と酸素の確保が必要であり，がん組織は血管を誘発する物質を分泌し宿主から新生血管を誘導する．②固形がんでは絶えず血管新生が起こっている一方で，成人では「創傷治癒の過程」や「月経周期の過程」に限定的である．③血管新生を阻害すれば，副作用が少

なく選択的にがんの発育増殖を阻止できる．このようなコンセプトのもと，一般的に，血管新生の阻害の標的は，多様性の少ない正常な内皮細胞であり多様性が豊富で遺伝子の不安定性も高いがん細胞を薬剤の直接の標的としないことから，血管新生阻害に基づく抗がん薬では，特定のがんに限定しない広範囲のがんに対する効果と薬剤に対する耐性が生じにくいことが期待された．臨床試験や承認薬の治療などが進むにつれて，実際に臨床試験において血管新生阻害薬が効果を示すがん腫の数は増加しており，比較的広範囲な効果を示すことが証明されつつある一方で，実際には獲得耐性の存在が示唆されており，生存期間の長期延長の妨げとなっていること，血管新生阻害薬に特有の注意すべき副作用があることなども明らかとなった．今後は，血管新生阻害薬においても他の分子標的薬と同様にバイオマーカー研究をもとに層別化治療へ移行していくものと考えられる．

3. 承認を取得した血管新生阻害薬と治療効果の特性

現在，抗がん薬として承認を取得した血管新生阻害薬を表1にまとめた．

現在開発されている血管新生阻害薬のほとんどが，抗体・デコイ・低分子阻害薬を問わずVEGFシグナル経路を標的とするVEGF標的治療薬である．VEGFRのリガンドの中和抗体であるベバシズマブ，および可溶性VEGFRであるアフリベルセプトは，ともにVEGFリガンドに特異的に結合し受容体への結合を阻害することでVEGFシグナルを抑制する．また，これらの2薬剤がともに併用療法において承認を取得したことは特徴的である．一方，これまでにFDAに承認されている血管新生阻害薬は7剤のうち5剤がVEGFR阻害薬，低分化化合物のVEGFR-TKIである．こ

図1 腫瘍血管新生阻害のコンセプト

表1 承認を取得した血管新生阻害薬

一般名	開発番号	阻害薬	標的		治療法	適応がん
ベバシズマブ	—	抗体	VEGF-A	—	併用	大腸がん 乳がん 非小細胞肺癌 腎がん 脳腫瘍
ソラフェニブ	Bay 93-4006	低分子	VEGFR2	BRAF	単剤	腎がん 肝がん
スニチニブ	SU11248	低分子	VEGFR2 —	— KIT	単剤	腎がん GIST
パゾパニブ	GW786034	低分子	VEGFR2	—	単剤	腎がん
バンデタニブ	ZD6474	低分子	VEGFR2	RET	単剤	甲状腺がん
アフリベルセプト	VEGF trap	デコイ	VEGFs PLGF	—	併用	大腸がん
アキシチニブ	AG-013736	低分子	VEGFR2	—	単剤	腎がん

れら VEGFR-TKI は、いずれも単剤で承認されており、抗体と低分子阻害薬で共通に承認されている腎細胞がんにおいても、ベバシズマブはインターフェロン α との併用療法で、スニチニブ、ソラフェニブは単剤で承認されている。スニチニブ、ソラフェニブは VEGFR 阻害作用の他に、他のキナーゼに対しても阻害作用を有しており、スニチニブの KIT 阻害を介した GIST への適応取得のように、VEGFR 以外のキナーゼ阻害に基づくがん細胞への直接的な効果によっても治療効果を発揮する。その一方で、副作用の懸念もあり、ベバシズマブ、アフリベルセプトに比した選択性の課題が併用治療への使用の拡大の阻害要因となっているかもしれない。一方で、パゾパニブやアキシチニブのような、より選択性の高い第二世代の VEGFR-TKI も承認を取得するに至っており、今後、臨床において血管新生阻害薬を含んだ併用治療法の確立が進むことを期待したい。また、併用薬剤を腫瘍へ導くのも腫瘍血管であり、血管新生阻害薬によって強力に腫瘍血管をたたくことで、かえって抗がん薬が効きにくくなるかもしれないという血管新生の仮説提唱の当初からの疑問もある。しかし、現にベバシズマブ、アフリベルセプトは、併用治療で優れた効果を発揮している。血管新生阻害薬を用いた治療を究極化するためには、併用におけるベバシズマブとスニチニブ、ソラフェニブの間の相違を説明する新たな仮説とそれを充足する新たな薬剤の登場が切望される。

4. 血管新生阻害薬による腫瘍血管正常化作用

血管新生阻害薬による併用治療効果を説明する一つの仮説に tumor vascular normalization (腫瘍血管の正常化作用) がある。血管正常化作用は、Jain らによって提唱された血管新生阻害のアウトプットの一つであ

り、現在広く認知されている(4)。血管新生阻害により、機能的に未熟な腫瘍血管が一過性に正常血管の性質を示すようになるという仮説である。通常の腫瘍組織は、血管が脆弱でリーキーであるがゆえに、恒常的な血管から腫瘍組織に漏れ出しがあるため、血管内圧に比べて腫瘍組織液圧が高くなっており、投与薬剤の腫瘍組織への移行が悪い状況と考えられる。つまり抗がん薬が正常組織に比べて行き渡らない状況となっている。そこにおいて、血管新生阻害薬の投与は血管の正常化を誘導することで、抗がん薬の腫瘍組織への分布を改善し、併用薬剤の治療効果を向上させるというのが、本仮説に基づく血管新生阻害薬による併用治療効果の説明である。Jain らを含め、多くの研究者によってその作用が確認され(5)、ベバシズマブの大腸がんの臨床試験においても、薬剤投与における血管正常化が、投与前後の腫瘍組織を解析することにより確認されている。また、血管新生阻害薬が腫瘍血管の正常化作用を発揮するためには、normalization window が存在し、血管新生阻害薬の過剰、もしくは長期的な投与は、腫瘍血管への強力なダメージを起こすために、腫瘍血管の正常化作用を誘導、あるいは維持ができないと言われている。適度な血管への作用によって誘導され、比較的短期的に見られる現象と考えられている。スニチニブは、VEGFRに加えて PDGFR への阻害作用を有することで、強力な血管への作用を示すことが知られている。強力な血管新生阻害が、単剤治療における効果を保証する代わりに、腫瘍血管の正常化誘導を介した併用効果を犠牲にしている可能性が考えられる。また、数多くの血管新生因子の中で VEGF は最も重要な血管新生因子として認識されている(6) が、VEGF 以外を作用機序にもつ血管新生阻害薬の中に、VEGF 阻害薬よりも優れた腫瘍血管の正常化作用を示す薬剤が存在

する可能性も考えられる。腫瘍血管の正常化作用を切り口とした新たな薬剤の開発に興味を持たれる。

5. E7820 の開発研究

E7820 はスルホンアミド・インドール骨格を有する新規血管新生阻害薬である (図 2)。

血管新生が、基底膜の崩壊、血管の出芽、増殖、成熟化と多段階のプロセスを経る複雑な現象であること (7)、そこには多数の因子、シグナルメカニズムが存在することから、我々は、よりクルードな評価システムを求め、rat aorta tube formation assay (RATF assay) を選択し、フェノティピックスクリーニングにて創薬研究を進めた。RATF assay は、ラットアオロタ組織片をコラーゲングル内で培養することでできる内皮管腔の形成を評価する系であり、血管新生の多段階のプロセスや因子の多様性を網羅するアッセイとして知られている。そこで見出された E7820 は VEGF のみならず FGF により誘導される内皮細胞の増殖と管腔形成を抑制するユニークな薬剤であり、特に管腔形成の抑制メカニズムとしては、接着分子の integrin $\alpha 2$ の発現抑制を介したものであることがわかっている (8)。E7820 はマウス背部皮下空気嚢血管新生モデルで経口投与において、大腸がん細胞により誘導された皮膚の血管新生を明確に抑制した。また、E7820 は種々の *in vivo* モデルで優れた抗腫瘍効果を示した (9)。E7820

N-(3-cyano-4-methyl-1H-indol-7-yl)-3-cyanobenzenesulfonamide

図 2 E7820 の分子構造

は 50~200 mg/kg 1 日 2 回投与で膀胱がん、大腸がん、乳がんなどの腫瘍皮下移植モデルにおいて明確な抗腫瘍効果を示した。さらに大腸がん colo320DM の同所移植モデルにおいても、移植腫瘍の盲腸での増殖を 50~200 mg/kg にわたり抑制した (図 3)。また、MDA-MB435 メラノーマのモデルにおいて、皮膚の原発腫瘍の増殖とともに肺への遠隔転移を明確に抑制した。

6. E7820 の併用治療の効果と作用機序

E7820 は様々な抗がん薬と併用効果を示すことがわかってきた。表 2 に E7820 の前臨床併用試験の結果をまとめた。殺細胞性抗がん薬 CPT-11, Oxaliplatin, Gemcitabine の併用では、興味深いことに、それぞれの最大耐量 MTD 付近の投与に、E7820 を毒性の増強無しに上乗せして投与することが可能であった。また、併用における抗腫瘍効果は相乗的であった。

我々は *in vivo* における E7820 のこれら併用効果の作用メカニズムのヒントを、イメージング技術を用い

図 3 ヒト大腸がん同所移植モデルにおける E7820 の抗腫瘍効果
Colo320DM ヒト大腸がん細胞の腫瘍組織をヌードマウス盲腸に移植し生育後に、E7820 を 14 日間、1 日 2 回経口投与した。

表 2 E7820 の前臨床併用試験の結果まとめ

Drug	Tumor type	Cell line	Dose	Combination
CPT-11	Colorectal	Colo320DM	100 mg/kg (MTD) Q4D3	Synergistic
Oxaliplatin	Colorectal	Colo320DM	10 mg/kg (5/6 MTD) Q4D3	Synergistic
Gemcitabine	Pancreatic	KP-1	200 mg/kg (MTD) Q3D4	Synergistic
Tarceva	NSCLC	A549	100 mg/kg (60% MTD) QD	Synergistic
Iressa	NSCLC	PC-9	75 mg/kg (1/2 MTD) QD	Synergistic
Erbixux	NSCLC	PC-9	100 mg/kg (MED) Twice a week	Additive

たバイオマーカー研究から偶然に得ることができた。現在の抗がん薬開発には、バイオマーカーを用いた効率的、効果的な臨床試験の推進が必須である。我々もトランスレーショナルリサーチ研究の一環として、イメージング技術を用いた効果判定手法の確立を目的に、DCE-MRIを用いたE7820の血管機能への作用解析を行っていた。DCE-MRIでは造影剤の分布を画像測定することで、血管機能を評価することが可能である。DCE-MRIで用いるパラメーターにはKtransがある。Ktransは血中から腫瘍組織への移行の速度定数を表し(10)、血管のperfusionやpermeability機能のパラメーターとして知られている。VEGFR-TKIやvascular disrupting agentなどの血管作用薬の投与でKtransが減少することが報告されている(11)。

我々も当初はE7820がKtransの減少を示すのではないかと考え、大腸がん、および腎がんの皮下移植モデルにおいてDCE-MRIによるE7820の評価を行った。興味深いことに、大腸がんモデルにおいて、E7820は抗腫瘍効果を示した用量で、その他の血管新生阻害薬で報告されていることと異なり、腫瘍内部のKtransを有意に上昇させた。E7820によるKtransの上昇作用は腎がんモデルでも同様に確認された。

我々はE7820が腫瘍血管の正常化を誘導してDCE-MRIでみられたKtransの上昇を引き起こし、併用抗がん薬のperfusionあるいはpermeabilityを高め、最終的に種々の抗がん薬と併用効果を示したのではないかと考えた。E7820による腫瘍血管正常化の誘導を確認するために、E7820を投与した腫瘍を用い、血管の免疫染色により組織解析を行った。E7820の投与は腫瘍において血管数を減少させていた。この状況において、E7820の投与は腫瘍血管の正常化作用の指標である成熟血管の数を増加させた。成熟血管は、血管へのペリサイトのカバーリングを指標に評価可能である。ペリサイトによる血管外壁のカバーにより、血管内皮細胞間の接着性が補強され成熟した血管になると言われている。E7820の投与は、ペリサイトカバー血管の数を増加させており、E7820は腫瘍血管の正常化を誘導することが証明された。

7. おわりに

2004年のベバシズマブの承認から血管新生阻害薬を用いたがんの治療が開始された。これまで多くの抗がん薬が、FOLFOXを例とするように、併用における治療パートとしての最適化を、臨床研究と数多くのがん患者様の生を賭した貢献により図られてきた。血管新生阻害薬を用いた治療も例外なくその道をたどり、今後さらに多くのがん治療へ寄与するものと思われる。本稿では、併用治療を例に血管新生阻害薬の今後の治療への期待を綴った。しかし、血管新生阻害薬によるがんの治療には、併用治療の課題の他にも、治療を通して明らかとなったVEGF標的薬に対する耐性化ならびに抵抗性などの問題へも答えを必要としている。血管正常化の誘導に優れたVEGF標的薬とは異なる作用を有する新たな薬剤の創出に加えて、耐性化を回避するためにメカニズムの異なる血管新生阻害薬同士の併用も今後研究されることと思われる。また、一過性の血管正常化の作用時期を逃さないバイオマーカーの提案も、今後の併用治療の確立には重要な課題と思われる。今後、血管新生阻害薬の把握がさらに進むことで、がん患者様のベネフィット向上につながることを心から期待したい。

謝辞：エーザイ・プロダクトクリエーションシステムズ・オンコロジー創薬ユニットの関係者の皆さま、バイオマーカー&パーソナライズド・メディシン機能ユニットの船橋泰博博士の御校閲に深謝いたします。

文 献

- 1) Folkman J. N Engl J Med. 1971;285:1182-1186.
- 2) Hurwitz H, et al. N Engl J Med. 2004;350:2335-2342.
- 3) Joyce JA, et al. Nature Rev Cancer. 2009;9:239-252.
- 4) Jain RK. Science. 2005;307:58-62.
- 5) GOEL S, et al. Physiol Rev. 2011;91:1071-1121.
- 6) Hicklin D, et al. J Clin Oncol. 2005;23:1011-1027.
- 7) Fidler IJ, et al. Cell. 1994;79:185-188.
- 8) Funahashi Y, et al. Cancer Res. 2002;62:6116-6123.
- 9) Semba T, et al. Clin Cancer Res. 2004;10:1430-1438.
- 10) Padhani AR. Br J Radiol. 2003;76:585-586.
- 11) Nakamura K. Cancer Res. 2006;66:9134-9142.