

## 〈総説〉

# 腫瘍治療における血管新生抑制と酸素効果のパラドックス

酪農学園大学獣医学部

林 正信

### はじめに

血管新生が固形腫瘍の増殖や転移に不可欠の要因であることは広く認識されており(1, 2)、新たな血流の供給がなければ腫瘍は数mm程度以上には大きくならない(3)。そのため腫瘍組織における血管新生を抑制することで腫瘍増殖を制御する多くの試みがなされている。血管新生にはvascular endothelial growth factor (VEGF)やbasic fibroblast growth factor (bFGF)など多くの因子が関与している。抗VEGF抗体であるベバシズマブ(商品名アバスタチン)は2004年にFDA(米国連邦食品医薬品局)に認可されており(日本でも2007年に認可)、VEGF受容体を阻害するsunitinibやsorafenibも単独療法としてFDAに認可されている(4)。また、VEGF受容体の種々の非タンパク性の低分子量阻害物質によって移植腫瘍での実験動物モデルで効果的に腫瘍増殖が抑制されることが報告されている(5-7)。しかしながら、抗血管新生療法単独では、長期の治療後も必ずしも良好な臨床成績が得られないことも多く(8)、血管新生抑制と放射線や抗癌剤など他の治療方法を組み合わせることが多くの場合で必要と考えられる。一方、腫瘍組織は正常組織よりも血管構築が不規則で未熟であり、酸素などが十分に組織に行き渡らないため正常組織の酸素分圧が30~60mmHgであるのに対し、腫瘍組織では5~10mmHg以下と低酸素状態におかれている。低酸素細胞は酸素細胞よりも放射線抵抗性であり、腫瘍組織における血管新生が抑制されれば当然低酸素腫瘍細胞の割合が増加し、放射線に対して抵抗性となることが予想される。また、化学療法においても抗癌剤が腫瘍組織に到達することが必要であり、血管新生抑制によって腫瘍細胞への抗癌剤の到達効率が減少する(9)ことが考えられ、共にその治療効果が低下すると考えられる。しかしながら、血管新生抑制処理後、腫瘍組織の再酸素化が起り、放射線増感効果が得られることも報告されており(10)、血管新生抑制と他の治療方法との組み合わせの効果については不明な点が多く残されている。

銅イオンはVEGFやbFGFのコファクターであり、血管新生に必須の因子であることから腫瘍

---

〒069-8501 江別市文京台緑町582 酪農学園大学獣医学部放射線獣医学教室

TEL:011-388-4808 FAX:011-387-5890 e-mail:hayashi@rakuno.ac.jp

キーワード：腫瘍、血管新生、抗銅療法、放射線、酸素効果

治療における血管新生抑制を目的とした抗銅療法が試みられている。低銅食の供与や銅キレート剤処理によって動物モデルでは良好な腫瘍増殖抑制効果が報告されており(11-17)、人においても第2相の試みがなされている(18-20)。しかしながら、人の症例では銅キレート剤の単独治療では臨床的に治療効果の有意な改善は認められておらず、他の腫瘍治療方法と組み合わせることが必要であることが示唆されている。私共も銅キレート剤を用いた移植腫瘍での実験モデルにおいて組織の銅濃度減少によって腫瘍増殖が抑制され、アポトーシスが誘発されることを示しており(21)、また、放射線治療との組み合わせ効果を検討している(22)ので、その結果を紹介すると共に血管新生の抑制と酸素効果とのパラドックスについて考察したい。

### 1 腫瘍組織の銅濃度に対する銅キレート剤の効果について

人の悪性腫瘍において血清や腫瘍組織において銅濃度が異常に増加することが報告されている(23-25)。腫瘍の抗銅療法ではD-ペニシラミンやトリエンチン、テトラチオモリブデン(TM)などの銅キレート剤が用いられている。これらのキレート剤は肝臓に銅を蓄積して肝障害などを引き起こす人の遺伝子疾患であるウイルソン病の治療薬として用いられている(TMは日本ではまだ認可されていない)。これらの銅キレート剤は銅イオンと結合して腸管からの銅吸収を抑制すると共に体内からの銅排泄を促進する。私共は主として遊離型の銅イオンと親和性が強く、比較的副作用が少ない銅キレート剤であるトリエンチンを用いて検討している。マウス線維肉腫細

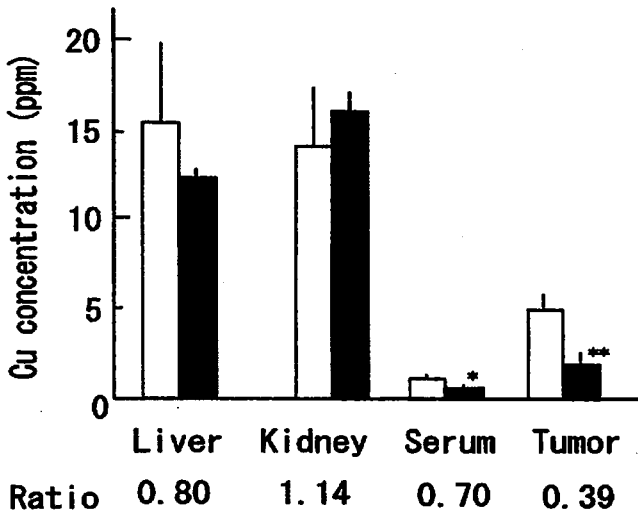


図1 マウス組織中の銅濃度

マウス線維肉腫細胞を移植後12日の肝臓、腎臓、血清、腫瘍組織の銅濃度を示す。□と■はそれぞれトリエンチンを処理していないマウスならびに処理マウスを示し、比は非処理マウス組織に対する処理マウスの濃度比。\*と\*\*は処理により有意差のあるものを示す。

胞を移植したC57BL/6マウスにトリエンチンを経口投与した場合の組織と腫瘍における銅濃度を図1に示した。肝臓や腎臓における銅濃度はトリエンチン非投与マウスと比較して有意差は見られないが、血清ならびに腫瘍組織の銅濃度はトリエンチン投与によって有意に減少した。ウイルソン病モデル動物であるLECラットにトリエンチンを投与した場合には肝臓への銅蓄積は抑制される(26)が、前述のようにトリエンチンは遊離型の銅イオンと親和性が高く、タンパク質などと結合した銅との相互作用は弱いため、正常の臓器においては銅濃度の顕著な減少を引き起こさなかったと考えられる。腫瘍組織の銅の存在様式については明らかではないが、腫瘍組織ではトリエンチン処理しない場合の約40%に減少することが示された。

## 2 腫瘍増殖に対する銅キレート剤と放射線の効果

マウス移植腫瘍におけるトリエンチンと放射線処理の腫瘍増殖に対する効果を図2に示した。腫瘍の増殖はトリエンチンあるいはX線の単独処理によって抑制され、トリエンチン処理と3 GyのX線照射がほぼ同様な増殖抑制効果を示した。トリエンチンと3 GyのX線照射を組み合わせた場合には6 Gy (3 Gyを分割して2回) 照射した場合とほぼ同程度の抑制効果が見られた。トリエンチン処理した腫瘍組織では血管内皮細胞の異常像がみられ、また、腫瘍組織に核濃縮を示す細胞集団が見られた(21)。この核濃縮細胞はアポトーシスの誘発に起因していた(表1)。アポトーシスの誘発は腫瘍サイズの影響を受けることが予想されたので、腫瘍細胞の移植後、比較的早期で、処理マウスと非処理マウスで腫瘍の大きさにあまり差のない条件で比較したが、トリエンチ

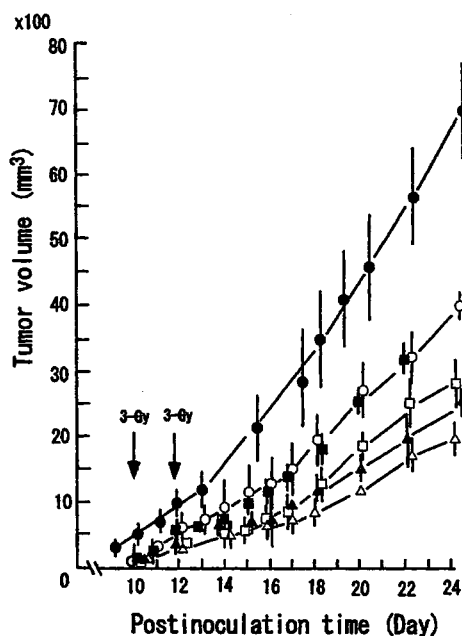


図2 腫瘍増殖に対するトリエンチンとX線照射の効果

マウス線維肉腫移植後の腫瘍増殖曲線を示す。●は対照、○はトリエンチン単独処理、■と▲はそれぞれX線3Gyと6Gyの照射のみ、□と△はトリエンチン処理と3Gyまたは6GyのX線照射を組み合わせた場合。X線は移植後10日に3Gyまたは10日と12日に3Gy (合わせて6Gy) を照射した。

表1 トリエンチン処理での腫瘍組織でのアポトーシス誘発

	Proportion of cells (%)	
	Untreated	Treated with trientine
Apoptotic cells	3.5 ± 2.0	11.96 ± 3.65
Necrotic cells	1.10 ± 0.44	3.94 ± 2.18
Normal cells	93.1 ± 1.64	83.1 ± 7.95

トリエンチン処理したマウスの腫瘍組織から移植後14日後に細胞を単離し、フローサイトメータでアポトーシス細胞とネクローシス細胞の割合を測定した。

ン処理したマウスの腫瘍組織では腫瘍サイズが小さい時期にも腫瘍細胞にアポトーシスが誘発されることが示され、このことが後期における腫瘍増殖の速度が遅いことの原因の一部であることが示唆された。銅キレート剤処理によってin vivo、in vitroにおいてアポトーシスが誘発されることは種々の腫瘍細胞で報告されているが(15, 16, 21, 27-31)、一般的には腫瘍増殖の後期で誘発されることが示されている(15, 16)。銅キレート剤でのアポトーシス誘発の機序についてはあまり明らかとはなっていないが、私共はin vitroの検討ではあるが、stress activated protein kinase (SAPK)、特にp38 mapkの活性がトリエンチン処理で増加していることを見ており(未公表データ)、銅欠乏状態がSAPKの経路を活性化することがアポトーシス誘発に関与しているのかもしれない。また、銅はCu,ZnスーパーオキシドジスムターゼやシトクロームC オキシダーゼのコファクターであり、銅欠乏状態は腫瘍組織における活性酸素の産生や抗酸化活性に影響することが考えられ、その結果として細胞にアポトーシスが誘発されるのかもしれない(32-34)。

In vivoにおいてトリエンチンと放射線の作用は見かけ上相加的であることが示された。銅欠乏と放射線との相互作用について検討するため、in vitroでX線照射後、トリエンチン処理した場合とトリエンチン処理後X線照射した場合の細胞の生存率を検討した(図3)。X線照射後、トリエンチン処理した場合には細胞の生存率はX線照射単独とトリエンチン処理単独で得られたそれぞれの場合の生存率の積にはほぼ等しく、両方の処理はそれぞれ単独で細胞に致死作用を引き起こしていることが示唆された。一方、トリエンチン処理して細胞を銅欠乏状態とした後、細胞を洗浄してトリエンチンを除いてからX線照射した場合には銅を欠乏させていない細胞の生存率の約64%の生存率を示し、銅欠乏状態は放射線に対して感受性を高めることが示された。

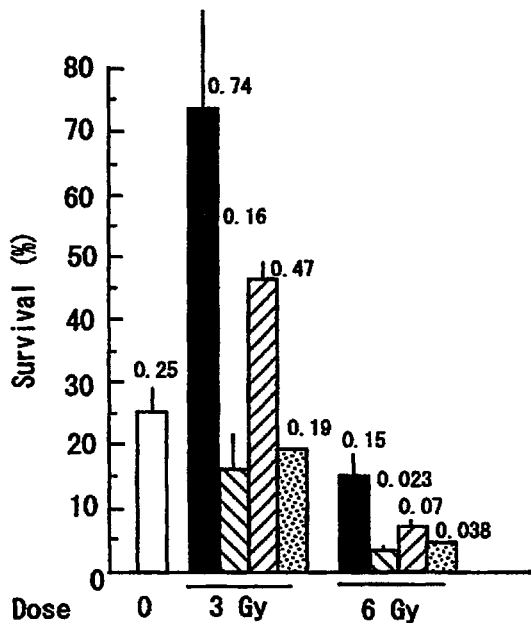


図3 腫瘍細胞の生存率に対するトリエンチンとX線照射の効果  
 トリエンチン処理単独 (□)、X線照射のみ (■)、X線照射後トリエンチン処理 (▨)、トリエンチン処理後X線照射 (▩) した細胞の生存率を図に示した。▩はトリエンチン処理した細胞の生存率とX線照射した細胞の生存率の積

### 3 血管新生抑制と酸素効果のパラドックス

腫瘍組織の増殖のためには血管新生を必要とし、血管新生を抑制することで腫瘍増殖を抑制する治療法は低酸素細胞の増加を導き、その後の放射線治療の効果を低下させると考えられるが、腫瘍組織における血管新生抑制剤の処置は再酸素化を引き起こし、放射線治療効果を高める報告がなされている(10)。この他に血管新生抑制措置が放射線の効果を高めるという多くの報告がなされている(35-40)。このパラドックスを解決するためにJainは血管新生阻害剤は腫瘍組織における病的なproangiogenicな状態を正常に戻すという仮説を提唱している(41)。すなわち、腫瘍血管は一般に幼弱で、漏出しやすく、拡張しており、無秩序なネットワークを形成している。この結果、酸素や栄養分が充分行き渡らず(42)、腫瘍組織では低酸素やアシドーシスの状態になりやすい。低酸素状態は血管新生を促すためにVEGFなどの産生を誘導する。VEGFは血管内皮細胞におけるアポトーシスの誘発に強い拮抗作用を有することが示されており(43, 44)、細胞死を阻害し、腫瘍細胞のさらなる突然変異などを引き起こし、より悪性度の高い腫瘍細胞に変化していくという悪循環が引き起こされていることが考えられる。一方、血管新生阻害剤、特にVEGFの作用を阻害する薬剤を措置した場合、過剰に産生されているVEGFレベルが低下し、血管が正常化し、再酸素化などが引き起こされ、放射線感受性や抗がん剤の効果が増加するという仮説である。本原稿を書いている最中に日経サイエンスの4月号に「血管を正してがんを治す」という総説が掲載されたので(45)、詳細はそちらをご覧くださいと思います。この考え方は非常に魅力的

ではあるが、VEGF受容体の阻害剤で腫瘍組織の全体的な低酸素細胞の割合は増加するという報告もあり(46)、また、何故血管新生阻害剤の単独使用で腫瘍増殖が抑制されるのかという点についての説明は難しく、そう簡単に血管新生の抑制と酸素効果のパラドックスは解決しないように思われる。

#### おわりに

血管新生の抑制によって腫瘍増殖を抑制するという考えは非常に魅力的で多くの試みがなされており、実験腫瘍だけでなくイヌの自然発癌での検討もなされている(47, 48)。しかしながら、血管新生抑制の単独療法では、長期の治療後も必ずしも良好な臨床成績が得られないことも多く(8)、長期間の処理によって脂肪組織障害(49)や出血、血栓栓塞症、高血圧(50)などの副作用が起こることが報告されている。したがって、良好な治療成績を得るためには血管新生抑制と放射線や抗癌剤など他の治療方法を組み合わせることが必要であると考えられる。腫瘍組織の維持に血流の保持が必要であり、血管内皮細胞の放射線感受性が組織の放射線感受性に影響することが報告され(51, 52)、腫瘍組織の血管内皮細胞を標的とした腫瘍治療の研究もなされている。一方、放射線はVEGFなど血管新生に関わるサイトカインの発現を増加させることが報告されており(53)、VEGFが血管内皮細胞について放射線防護的に作用している場合も報告されている(54, 55)。したがってより有効な治療のために治療方法を組み合わせる場合、それぞれの処理を実施した場合の相互作用について今後さらなる検討が必要と考えられる。

## 参考文献

1. Hanahan, D., and Folkman, J. Patterns and emerging mechanisms of the angiogenic switch during tumorigenesis. *Cell*, 86: 353-364, 1996.
2. 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. Angiostatin: A novel angiogenesis inhibitor that mediates the suppression of metastases by a lewis lung carcinoma. *Cell*, 79: 315-328, 1994.
3. Fox, S.B., Gatter, K.C., and Harris, A.L. Tumor angiogenesis. *J. Pathol.*, 179: 232-237, 1996.
4. Vogelzang, N.J. Treatment options in metastatic renal carcinoma: an embarrassment of riches. *J. Clin. Oncol.*, 24: 1-3, 2006.
5. Cao, C., Albert, J.M., Geng, L., Ivy, P.S., Sandler, A., Johnson, D.H., and Lu, B. Vascular endothelial growth factor tyrosine kinase inhibitor AZD2171 and fractionated radiotherapy in mouse models of lung cancer. *Cancer Res.*, 66: 11409-11415, 2006.
6. Fong, T.A.T., Sawver, L.K., Sun, L., Tang, C., App, H., Powell, T.J., Kim, Y.H., Schreck, R., Wang, X., Risau, W., Ullrich, A., Hirth, K.P., and McMahon, G. SU5416 is a potent and selective inhibitor of the vascular endothelial growth factor receptor (Flk-1/KDR) that inhibits tyrosine kinase catalysis, tumor vascularization, and growth of multiple tumor types. *Cancer Res.*, 59: 99-106, 1999.
7. Mauceri, H.J., Hanna, N.N., Beckett, M.A., Gorski, D.H., Staba, M.J., Stellato, K.A., Bigelow, K., Heinmann, R., Gately, S., Dhanabal, M., Soff, G.A., Sukhatme, V.P., Kufe, D.W., and Weichselbaum, R.R. Combined effects of angiostatin and ionizing radiation in antitumor therapy. *Nature*, 394: 287-291, 1998.
8. O'Reilly, M.S. Targeting multiple biological pathways as a strategy to improve the treatment of cancer. *Clin. Cancer Res.*, 8: 3309-3310, 2002.
9. Ma, J., Pulfer, S., Li, S., Chu, J., Reed, K., and Gallo, J.M. Pharmacodynamic-mediated reduction of temozolomide tumor concentrations by the angiogenesis inhibitor TNP-470. *Cancer Res.*, 61: 5491-5498, 2001.
10. Ansiaux, R., Baudelet, C., Jordan, B. F., Crockart, N., Martinive, P., DeWever, J., Gregoire, V., Feron, O., and Gallez, B. Mechanism of reoxygenation after antiangiogenic therapy using SU5416 and its importance for guiding combined antitumor therapy. *Cancer Res.*, 66: 9698-9704, 2006.
11. Brem, S., Tsanaclis, A.M.C., and Zagzag, D. Anticopper treatment inhibits pseudopodial

- protrusion and invasive spread of 9L gliosarcoma cells in the rat brain. *Neurosurgery*, 26: 391-396, 1990.
12. Pan, Q., Kleer, C.G., van Golen, K.L., Irani, J., Bottema, K.M., Bias, C., De Carvalho, M., Mersi, E.A., Robins, D.M., Dick, R.D., Brewer, G.J., and Merajver, S.D. Copper deficiency induced by tetrathiomolybdate suppresses tumor growth and angiogenesis. *Cancer Res.*, 62: 4854-4859, 2002.
  13. Yoshida, D., Ikeda, Y., and Nakazawa, S. Quantitative analysis of copper, zinc and copper/zinc ratio in selected human brain tumors. *J. Neurooncol.*, 16: 109-115, 1993.
  14. Yoshida, D., Ikeda, Y., and Nakazawa, S. Suppression of 9L gliosarcoma growth by copper depletion with copper-deficient diet and D-penicillamine. *J. Neurooncol.*, 17: 91-97, 1993.
  15. Yoshii, J., Yoshiji, H., Kuriyama, S., Ikenaka, Y., Noguchi, R., Okuda, H., Tsurinoue, H., Nakatani, T., Kishida, H., Nakae, D., Gomez, D.E., De Lorenzo, M.S., Tejera, A.M., and Fukui, H. The copper-chelating agent, trientine, suppresses tumor development and angiogenesis in the murine hepatocarcinoma cells. *Int. J. Cancer*, 94: 768-773, 2001.
  16. Yoshiji, H., Yoshii, J., Kuriyama, S., Ikenaka, Y., Noguchi, R., Yanase, K., Namisaki, T., Kitade, M., Yamazaki, M., and Fukui, H. Combination of copper-chelating agent, trientine, and methotrexate attenuates colorectal carcinoma development and angiogenesis in mice. *Oncol. Rep.*, 14: 213-218, 2005.
  17. Teknos, T.N., Islam, M., Arenberg, D.A., Pan, Q., Carskadon, S.L., Abarbanell, A.M., Marcus, B., Paul, S., Vancenberg, C.D., Carron, M., Nor, J.E., and Merajver, S.D. The effect of tetrathiomolybdate on cytokine expression, angiogenesis, and tumor growth in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.*, 131: 204-211, 2005.
  18. Brem, S., Grossman, S.A., Carson, K.A., New, P., Phuphanich, S., Alavi, J.B., and Mikkelsen, T. Phase 2 trial of copper depletion and penicillamine as antiangiogenesis therapy of glioblastoma. *Neuro-oncology*, 7: 246-253, 2005.
  19. Brewer, G.J., Dick, R.D., Grover, D.K., LeClaire, V., Tseng, M., Wicha, M., Pienta, K., Redman, B.G., Jahan, T., Sondak, V.G., Strawderman, M., LeCarpentier, G., and Merajver, S.D. Treatment of metastatic cancer with tetrathiomolybdate, an anticopper, antiangiogenic agent: Phase I study. *Clin. Cancer Res.*, 6: 1-10, 2000.
  20. Redman, B.G., Esper, P., Pan, Q., Dunn, R.L., Hussain, H.K., Chevevert, T., Brewer, G.J., and Merajver, S.D. Phase II trial of tetrathiomolybdate in patients with advanced kidney



- cancer. *Clin. Cancer Res.*, 9: 1666-1672, 2003.
21. Hayashi, M., Nishiya, H., Chiba, T., Endoh, D., Kon, Y., and Okui, T. Trientine, a copper-chelating agent, induced apoptosis in murine fibrosarcoma cells in vivo and in vitro. *J. Vet. Med. Sci.*, 69: 137-142, 2007.
  22. Hayashi, M., Hirai, R., Ishihara, Y., Horiguchi, N., Endoh, D., and Okui, T. Combined effects of treatment with trientine, a copper-chelating agent, and X-irradiation on tumor growth in transplantation model of a murine fibrosarcoma. *J. Vet. Med. Sci.*, 69: 1039-1045, 2007.
  23. Brem, S., Zagzag, D., Tsanaclis, A.M.C., Gatley, S., Elkouby, M.P., and Brien, S.E. Inhibition of angiogenesis and tumor growth in the brain. Suppression of endothelial cell turnover by penicillamine and the depletion of copper, an angiogenic cofactor. *Am. J. Pathol.*, 137: 1121-1142, 1990.
  24. Diez, M., Cerdran, F., Arroroyo, M., and Baibrea, J. Use of copper/zinc ratio in the diagnosis of lung cancer. *Cancer*, 63: 726-730, 1989.
  25. Honda, H., Onitsuka, H., and Kanazawa, Y. MR imaging of hepatocellular carcinoma. Correlation of metal content and signal intensity. *Acta Radiol.*, 36: 163-167, 1995.
  26. Hayashi, M., Miyane, T., Hirooka, T., Endoh, D., Higuchi, H., Nagahata, H., Nakayama, K., Kon, Y., and Okui, T. Inhibitory effects of trientine, a copper-chelating agent, on induction of DNA strand breaks in hepatic cells of Long-Evans Cinnamon (LEC) rats. *Biochim. Biophys. Acta*, 1674: 312-318, 2004.
  27. Hyun, H.J., Sohn, J.H., Ha, D.W., Ahn, Y.H., Koh, J.-Y., and Yoon, Y.H. Depletion of intracellular zinc and copper with TPEN results in apoptosis of cultured human retinal pigment epithelial cells. *Invest. Ophthalmol. Visual Sci.*, 42: 460-465, 2001.
  28. Kishimoto, S., Iwamoto, S., Masutani, S., Yamamoto, R., Jo, T., Saji, F., Terada, N., Sasaki, Y., Imaoka, S., and Sugiyama, T. Apoptosis of acinar cells in the pancreas of rats fed on copper-depleted diet. *Exp. Toxicol. Pathol.*, 45: 489-495, 1994.
  29. Lombardo, M.F., Ciriolo, M.R., Rotilio, G., and Rossi, L. Prolonged copper depletion induces expression of antioxidants and triggers apoptosis in SH-SY5Y neuroblastoma cells. *Cell. Mol. Life Sci.*, 60: 1733-1743, 2003.
  30. Moriguchi, M., Nakajima, T., Kimura, H., Watanabe, T., Takashima, H., Mitsumoto, Y., Katagishi, T., Okanoue, T., and Kagawa, K. The copper chelator trientine has an antiangiogenic effect against hepatocellular carcinoma, possibly through inhibition of interleukin-8 production. *Int. J. Cancer*, 102: 445-452, 2002.

31. Renault, E., Serrazin, S., and Deschatrette, J. Evidence for interactions between rat hepatoma cell apoptosis and differentiation. *Biochem. Genet.*, 36: 1-13, 1998.
32. Duranteau, J., Chandel, N.S., Kulisz, A., Shao, Z., and Shumaker, P.T. Intracellular signaling by reactive oxygen species during hypoxias in cardiomyocytes. *J. Biol. Chem.*, 273: 11619-11624, 1998.
33. Lombardo, M.F., Ciriolo, M.R., Rotilio, G., and Rossi, L. Prolonged copper depletion induces expression of antioxidants and triggers apoptosis in SH-SY5Y neuroblastoma cells. *Cell. Mol. Life Sci.*, 60: 1733-1743, 2003.
34. Rossi, L., Marchese, E., Lombardo, M.F., Rotillio, G., and Ciriolo, M.R. Increased susceptibility of copper-deficient neuroblastoma cells to oxidative stress-mediated apoptosis. *Free Radic. Biol. Med.*, 30: 1177-1187, 2001.
35. Cao, C., Albert, J. M., Geng, L., Ivy, P. S., Sandler, A., Johnson, D. H., and Lu, B. Vascular endothelial growth factor tyrosine kinase inhibitor AZD2171 and fractionated radiotherapy in mouse models of lung cancer. *Cancer Res.*, 66: 11409-11415, 2006.
36. Griscelli, F., Chiat, H., Cheong, C., Opolon, P., Bessaceur-Griscelli, A., Vassal, G., Soria, J., Soria, C., Lu, H., Perricaudet, M., and Yeh, P. Combined effects of radiotherapy and angiostatin gene therapy in glioma tumor model. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 97: 6698-6703, 2000.
37. Kozin, S.V., Boucher, Y., Hicklin, D.J., Bohlen, P., Jain, R.K., and Suit, H.D. Vascular endothelial growth factor receptor-2-blocking antibody potentiates radiation-induced long-term control of human tumor xenografts. *Cancer Res.*, 61: 39-44, 2001.
38. Mauceri, H.J., Hanna, N.N., Beckett, M.A., Gorski, D.H., Staba, M.-J., Stellato, K.A., Bigelow, K., Heimann, R., Gately, S., Dhanabal, M., Soff, G.A., Sukhatme, V.P., Kuf, D.W., and Weichselbaum, R.R. Combined effects of angiostatin and ionizing radiation in antitumor therapy. *Nature*, 394: 287-291, 1998.
39. Lee, C.-G., Heijin, M., Tomaso, di E., Griffon-Etienne, G., Ancukiewicz, M., Koike, C., Park, K.R., Ferrara, N., Jain, R.K., Suit, H.D., and Boucher, Y. Anti-vascular endothelial growth factor treatment augments tumor radiation response under normoxic or hypoxic conditions. *Cancer Res.*, 60: 5565-5570, 2000.
40. Wachsberger, P.R., Burd, R., Cardi, D., Thakur, M., Daskalakis, C., Holash, J., Yancopoulos, G.D., and Dicker, A. VEGF Trap in combination with radiotherapy improves tumor control in U87 glioblastoma. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 67: 1526-1537, 2007.
41. Jain, R.K. Normalization of tumor vasculature: an emerging concept in antiangiogenic ther-

- apy. *Science*, 307: 58-62, 2005.
42. Jain, R.K. Understanding barriers to drug delivery: high resolution in vivo imaging is key. *Clin. Cancer Res.* 5: 1605-1606, 1999.
  43. Benjamin, L.E., Goligianin, D., Itin, A., Podes, D., and Keshet, E. Selective ablation of immature blood vessels in established human tumors follows vascular endothelial growth factor withdrawal. *J. Clin. Invest.*, 103: 159-165, 1999.
  44. Tran, J., Master, Z., Yu, J.L., Rak, J., Dumont, D.J., and Krebel, R.S. A role for surviving in chemoresistance of endothelial cells mediated by VEGF. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 99: 4349-4354, 2002.
  45. Jain, R. K. 血管を正してがんを治す。日経サイエンス、38: 48-56, 2008.
  46. Fenton, B.M., and Paoni, S.F. The addition of AG-013736 to fractionated radiation improves tumor response without functionally normalizing the tumor vasculature. *Cancer Res.*, 67: 9921-9928, 2008.
  47. Rusk, A., McKeegan, E., Haviv, F., Majest, S., Henkin, J., and Khanna, C. Preclinical evaluation of antiangiogenic thrombospondin-1 peptide mimetics, ABT-526 and ABT-510, in companion dogs with naturally occurring cancers. *Clin. Cancer Res.*, 12: 7444-7455, 2006.
  48. Rusk, A., Cozzi, E., Stebbins, M., Vail, D., Graham, J., Valli, V., Henkin, J., Sharpee, R., and Khanna, C. Cooperative activity of cytotoxic chemotherapy with antiangiogenic thrombospondin-1 peptides, ABT-526 in pet dogs with relapsed lymphoma. *Clin. Cancer Res.* 12: 7456-7464, 2006.
  49. Rupnick, M.A., Panigrahy, D., Zhang, C.-Y., Dallabrida, S.M., Lowell, B.B., Langer, R., and Folkman, M.J. Adipose tissue mass can be regulated through the vasculature. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 99: 10730-10735, 2002.
  50. Kuenen, B.C., Levi, M., Meijers, J.C.M., von Hinsbergh, V.W.M., Berkhof, J., Kakkar, A.K., Hoekman, K., and Pinedo, H.M. Potential role of platelets in endothelial damage observed during treatment with cisplatin, Gemcitabine, and the angiogenesis inhibitor SU5416. *J. Clin. Oncol.*, 21: 2192-2198, 2003.
  51. Sakimoto, I., Ohta, K., Yamazaki, T., Ohtani, S., Sahara, H., Sugawara, F., Sakaguchi, K., and Miura, M.  $\alpha$ -sulfoquinovosymonoacylglycerol is a novel potent radiosensitizer targeting tumor angiogenesis. *Cancer Res.*, 66: 2287-2295, 2006.
  52. Ding, R.P.M., Williams, B.W., Song, C.W., Griffioen, A.W., Mayo, K.H., and Griffin, R.J. Anginex synergizes with radiation therapy to inhibit tumor growth by radiosensitizing endothelial cells. *Int. J. Cancer*, 115: 312-319, 2005.

53. Lanza-Jakoby, S., Dicker, A.P., Miller, S., Rosato, F.E., Flynn, J.T., Lavorgna, S.N., and Burd, R. Cyclooxygenase (COX)-2-dependent effects of the inhibitor SC236 when combined with ionizing radiation in mammary tumor cells derived from HER-2/neu mice. *Mol. Cancer Ther.*, 3: 417-424, 2004.
54. Moller, B.J., Cao, Y., Li, C.Y., and Dewhirst, M.W. Radiation activates HIF-1 to regulate vascular radiosensitivity in tumors: role of reoxygenation, free radicals, and stress granules. *Cancer Cell*, 5: 429-441, 2004.
55. Moller, B.J., Dreher, R.D., Rabbani, Z.N., Schroeder, T., Cao, Y., Li, C.Y., and Dewhirst, M.W. Pleiotropic effects of HIF-1 blockade on tumor radiosensitivity. *Cancer Cell*, 8: 89-110, 2005.