

Rolf Christofferson, docent, avdelningsläkare, barnkirurgiska kliniken, Akademiska sjukhuset, Uppsala

Lena Claesson-Welsh, professor, institutet för genetik och patologi, Rudbecklaboratoriet, Uppsala universitet

Carin Muhr, docent, överläkare, institutet för neurovetenskap, Akademiska sjukhuset, Uppsala

Angiogeneshämmare sannolikt komplement vid cancerbehandlingar

■ Begreppet angiogeneshämning introducerades av barnkirurgen Judah Folkman på 1970-talet [1]. Folkman hade då under många år utvecklat tidigare observationer [2] att vävnader som växer antingen fysiologiskt eller patologiskt kräver blodkärlsförsörjning (Figur 1). Blodkärlen är nödvändiga för cellers metabola utbyte, varför celler längre bort än 100–200 µm från ett blodkärl blir alltmer hypoxiska och dör av. En till synes självklar extrapolering från denna kunskap är att vävnadstillväxten bör kunna stoppas genom hämning av blodkärlstillväxten, ett koncept som så småningom har blivit generellt accepterat.

Intresset från kliniskt verksamma läkare, från farmaceutisk industri och från allmänheten för framställning av angiogeneshämmare är mycket stort, framför allt för behandling av tumorsjukdomar. Det finns nu både experimentella och kliniska data som starkt talar för att tumörtillväxt och metastasering är angiogenesberoende. Detta beroende tillfredsställs genom att tumörer producerar tillväxtfaktorer, som till exempel vascular endothelial growth factor, VEGF, som stimulerar blodkärlsinväxt i tumörvävnaden (Figur 2).

Andra sjukdomar som karakteriseras av blodkärlstillväxt, som kroniska inflammatoriska ledsjukdomar och flera ögonsjukdomar, exempelvis diabetesretinopati, utgör tänkbara indikationer för behandling med angiogeneshämmare (Tabell I). Denna översikt syftar till att redogöra för dagsläget vad gäller olika typer av angiogeneshämmare, deras verkningsmekanismer och effekter i djurmodeller och i kliniska prövningar.

Normal och patologisk blodkärlsnybildning

Fysiologisk blodkärlsnybildning är noggrant reglerad. Funktionella blodkärl bildas när behovet uppstår, och när det metabola behovet är tillfredsställt avstannar processen. Vid patologiska tillstånd, som tumörväxt, är blodkärlsnybildningen dysfunktionell. Kärlen är ofta av dålig kvalitet, då de saknar täckande basalmembran och stödjeceller [3] och omsätts kontinuerligt. Tumörkärl kan ha mycket varierande diameter och sluta blint (Figur 3), vilket leder till ett dåligt flöde. Vävnadens metabola behov blir därför inte tillfredsställt, och den angiogena processen stimuleras ytterligare.

Exakt hur blodkärl bildas, fysiologiskt eller patologiskt, är inte fastställt, men ett tänkbart förlopp är det som skildras i Fi-

SAMMANFATTAT

Blodkärlsnybildning, angiogenes, spelar en avgörande roll för embryo- och vävnadstillväxt och understödjer en rad patologiska processer, som kroniska inflammationstillstånd och cancer.

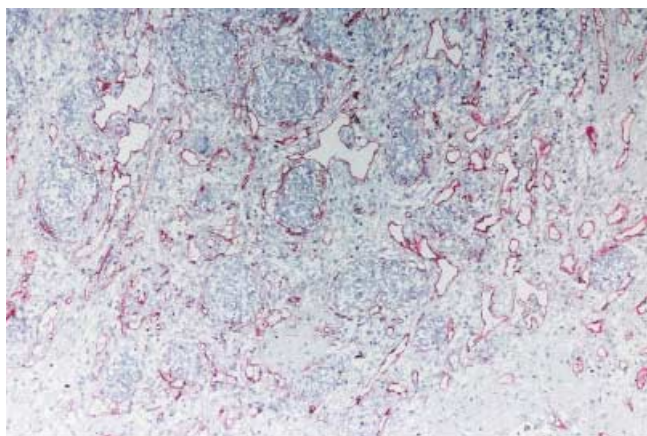
Hämning av angiogenes testas för närvarande som terapi i djurmodeller och i kliniska prövningar på människor för att bromsa upp eller till och med tillbakabilda olika tumörtyper.

Anti-angiogena farmaka kan vara syntetiska eller kroppsegna, endogena. De endogena anti-angiogena substanserna har hittills inte visat allvarlig toxicitet i kliniska prövningar och ger inte resistensutveckling vid behandling av tumörmodeller i möss.

Status för anti-angiogen behandling och aspekter på administration och dosering diskuteras i denna översikt.

Figur 4. Figuren visar hur blodkärl bildas från redan existerande kärl, den process som benämns angiogenes. Existerande kärl består av endotelceller som omges av ett basalmembran och är täckta av stödjeceller (pericyter). Endotelcellerna nås av ett stimulus, exempelvis en tillväxtfaktor. Därmed stimuleras produktion av proteaser som utsöndras av endotelcellerna och som leder till nedbrytning av basalmembranet och startar en uppluckring av omgivande extracellulära matrix. Pericyterna släpper från kärlet, och endotelcellerna kan därmed migrera ut i omkringliggande vävnad, dela sig och bilda ett nytt, lumeninnehållande kärl. Kärlet stabiliseras genom produktion av nytt basalmembran och nyrekrytering av pericyter.

I samband med anläggning av blodkärlstrådet under embryogenesen bildas kärnen genom en process som kallas vaskulogenes [4]. De molekylära mekanismer som styr angiogenes och vaskulogenes är överlappande men inte identiska. Se-



PREPARATION OCH FOTO: ERIK SKÖLDENBERG

Figur 1. Kärltäthet i tumörvävnad. Vid en vanlig bedömning av ett ljusmikroskopiskt snitt underskattar man ofta antalet blodkärl. Först när man gör specifika färgningar för kärlendotel framträder blodkärlen. Immunhistokemi mot endotelcellsantigenet CD 34 vid barnnjurcancer Wilms tumör. Originalförstoring $\times 200$.

Tabell I. Tillstånd som karakteriseras av fysiologisk eller patologisk angiogenes.

| Fysiologisk angiogenes | Patologisk angiogenes |
|------------------------|-------------------------------|
| Embryoutveckling | Tumörsjukdom |
| Sårhäkning | Kronisk inflammation |
| Livmoderslemhinnan | Retinopati, t ex vid diabetes |
| Ovulation | Psoriasis |

nare års forskning har visat att blodkärl också kan bildas från stamceller i cirkulationen (se referenser i [5]). Stamcellerna tar sig ut ur cirkulationen vid säten för aktiv angiogenes och deltar i uppbyggnaden av nya kärl. Under speciella omständigheter kan nya kärl byggas upp enbart av stamceller.

Tillväxtfaktorer stimulerar angiogenes

Angiogenes stimuleras av många olika typer av ämnen. Det är framför allt tillväxtfaktorer av olika slag som direkt eller indirekt reglerar angiogenes. VEGF, fibroblast growth factor (FGF) och platelet-derived growth factor (PDGF) är tre familjer av tillväxtfaktorer som stimulerar angiogenes. För den normala blodkärlsbildningen krävs en noggrann balans mellan positivt stimulerande tillväxtfaktorer och negativt reglerande faktorer som stimulerar regress av kärl och programmerad självdöd, apoptos, av endotelceller. Exempel på negativt reglerande proteiner är angiopoietiner, som binder till receptortyrosinkinaserna Tie1 och 2 [6] och signalproteiner, som till exempel serinkinasen p38 [7] som aktiveras av tillväxtfaktorer som VEGF och FGF.

Av de positivt stimulerande tillväxtfaktorerna har VEGF väckt stort intresse, främst på grund av att den ursprungligen identifierades som en tillväxtfaktor specifik för endotelceller. Detta är dock en sanning med modifikation; under senare tid har det visats att en rad andra celltyper, som till exempel nervceller, också svarar på VEGF-stimulering. VEGF verkar vara ett dåligt mitogen och har kanske en viktigare funktion i att stimulera överlevnad av endotelceller [5]. Det faktum att många, om än inte alla, tumörer producerar VEGF, och att produktionen potentiellas av hypoxi, har dock starkt intresset för denna tillväxtfaktor. VEGF skiljer sig dessutom från andra tillväxtfaktorer eftersom den inducerar en kraftig kärlpermeabilitet, som man kan utläsa av den alternativa beteckningen för VEGF, VPF (vascular permeability factor) [8]. Tumör-

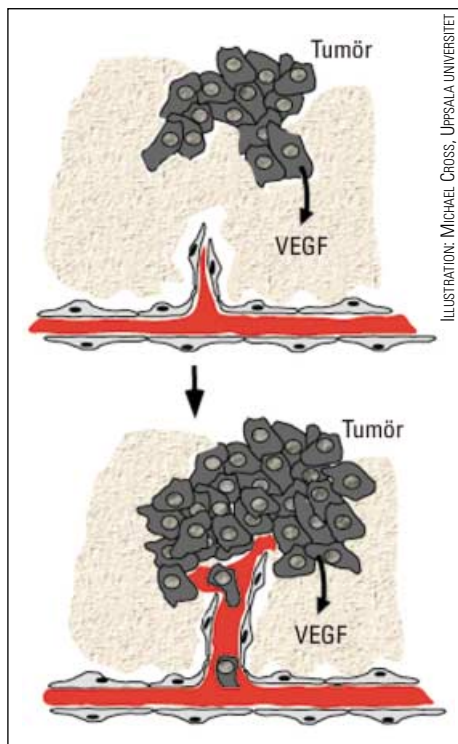


ILLUSTRATION: MICHAEL CROSS, UPPSALA UNIVERSITET

Figur 2. Tumörer stimulerar angiogenes. Tumören försörjs via passiv diffusion upp till en begränsad storlek på omkring 100 μm . Fortsatt tillväxt är beroende av tumörernas produktion av tillväxtfaktorer, som till exempel VEGF. VEGF utsöndras i vävnaden och stimulerar specifika receptorer på endotelceller i blodkärl, som växer in i tumören. Därmed underlättas också metastasering.

associerat ödem kan i de flesta fall hänföras till tumörproducerat VEGF.

Endotelceller som mål för tumörterapi

Strategier för angiogeneshämning kan i princip riktas in på vart och ett av de steg som bygger upp den angiogena processen (Tabell II). En neutraliserande anti-VEGF-antikropp är under klinisk utprovning. Syntetiska ATP-analoger som hämmar VEGF-receptoraktivering har tagits fram av flera olika bolag och prövas också kliniskt. Hämmare av matrixmetalloproteaser stoppar blodkärlsnybildning genom att förhindra nedbrytningen av extracellulära matrix. Även specifika antikroppar som binder och blockerar endotelcellernas förankringsproteiner, integriner, hämmar angiogenes och prövas kliniskt.

Verkningsmekanismerna för dessa syntetiska angiogeneshämmare som nämns ovan är uppenbara. Vi vet däremot ännu ganska lite om mekanismer för de så kallade endogena angiogeneshämmarna, som är fragment eller konformationsvarianter av kroppsegna proteiner (för en översikt, se [9]). Ett gemensamt mönster verkar vara att angiogeneshämmare startar apoptos av endotelceller.

Modeller för angiogeneshämning

Tack vare systematisk avel och utvecklingen av transgena djur har grundforskarna fått tillgång till immundefekta försöksdjur, som accepterar ympning av artfrämmande tumörvävnad, och till väl karakteriserade spontana tumörmodeller. I bland annat sådana modeller har effekterna av angiogeneshämmare prövats, dels som enda behandling, dels i kombination med cytostatika och strålning. Sammanfattningsvis uppvisar alla angiogeneshämmare i Tabell III en signifikant hämning av tumörtillväxten jämfört med placebo. Emellertid kan potensen variera med djurslag och tumörtyp, där snabbväxande, syngena tumörer svarar sämst och långsamt växande xenotransplanterade humana tumörer svarar bäst. Man vet nu också att den genetiska bakgrunden påverkar det angiogena svaret [10].

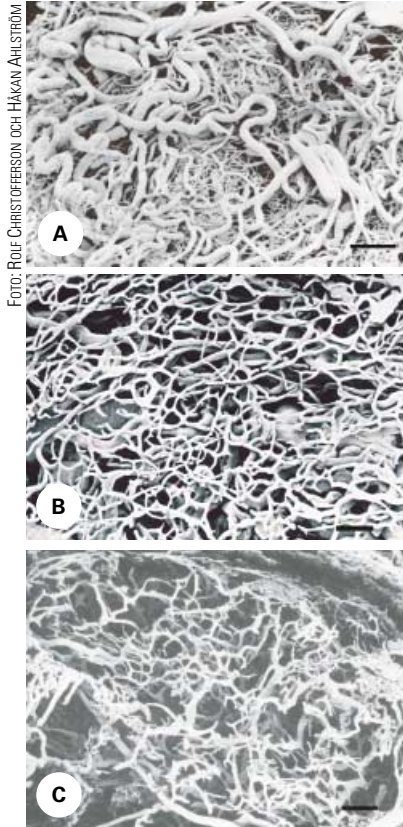
Det saknas fortfarande en »golden standard« för bedöm-

ANNONS

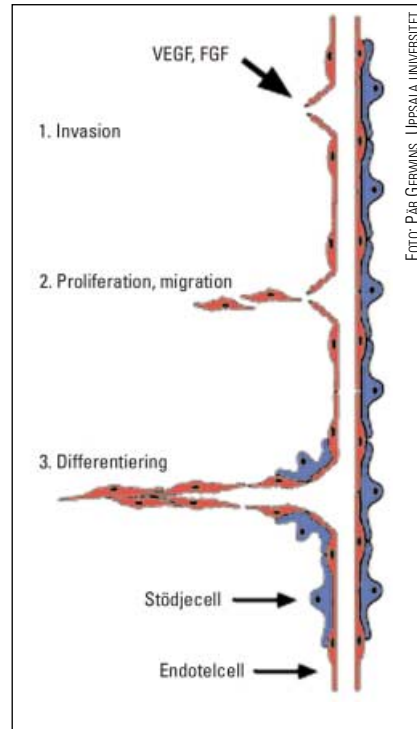
ANNONS

ANNONS

ANNONS



Figur 3. Tumörangiogenes. A: Tumörens kapsel är oftast bäst kärlförsörjd. Här är det lättast att hitta arteriella blodkärl, vilka ofta är slingriga och delar sig dikotomt. (Markör = 500 μm.) B: På insidan av tumören dominerar kapillärer och venösa kärl. Många av kapillärerna uppvisar spetsiga, blinda ändrar som tecken på knoppning av nya blodkärl. (Markör = 100 μm.) C: I övergången mellan kapseln (upp till höger) och tumörens mitt (nedåt vänster) ses rikligt med knoppande kapillärer. Kärlknopparna förernas och bildar nya tumörkapillärer. (Markör = 100 μm.) (Alla bilder: Svepelektromikroskopisk bild av en blodkärlsavgutning av en subkutant växande koloncancer, LS174T, på naken rått.)



Figur 4. Den angiogena processen. Tillväxtfaktorer som till exempel VEGF eller FGF stimulerar endotelceller att producera proteaser som bryter ned basalmembran och stimulerar invasion av endotelceller in i den omkringliggande vävnaden. Endotelcellerna delar sig och vandrar mot källan för stimulus. Cellerna differentierar och bildar ett nytt, lumeninnehållande kärl. Slutligen mognar kärlet och blir stabilt genom produktion av ett nytt basalmembran och genom att dra till sig stödjeceller.

ning av graden av angiogeneshämning, det vill säga den relativa potensen hos olika hämmare. Angiogeneshämmare bromsar tumörtillväxten med 10–85 procent, och denna effekt verkar potentiäras av cytostatika, strålbehandling och även vid tillägg av en annan angiogeneshämmare med annan verkningsmekanism. Toxiciteten är minimal jämfört med den hos cytostatika, och toxiciteten verkar vara skild från den angiogeneshämmande effekten. Angiogeneshämmare förhindrar ej sårhelning men kan sakta ner processen. Vissa angiogeneshämmare förhindrar ovulation och menstruation, men varken detta eller eventuella teratogena effekter är systematiskt undersökta.

År 1994 publicerades i tidskriften Cell ett arbete där Folkmans grupp visade att en endogen angiogeneshämmare, angiostatin, inte bara hämmade tillväxten hos en högmalign cytostatikaresistent mustumör, utan även framkallade tumörregress, det vill säga tumörerna krympte och försvann [11]. Gruppen har senare visat liknande data för endostatin och latent antitrombin III. En annan observation från samma grupp var att när angiogeneshämningen upphörde återkom tumörerna. Upprepades då behandlingen försvann tumörerna snabbare och återkom senare, för att efter ett varierande antal behandlingscykler till sist ej återkomma alls [12].

Sådana data talar för att specifik angiogeneshämning ej är förknippad med den resistensutveckling som ses vid exempelvis cytostatikabehandling. Vid angiogeneshämning ses utöver en bromsad tumörtillväxt även en minskning av kärltätheten i tumörerna jämfört med placebo. Såväl blodkärlens längd, yta som volym per tumörvolym minskar. Intressant nog påverkas inte andelen tillväxande tumörceller, däremot ses en dramatisk ökning av andelen apoptotiska tumörceller vid angiogeneshämning.

Behandling med angiogeneshämmare

Djurexperimentella studier har väckt två viktiga, delvis sammanhängande, kliniska frågeställningar: Dels frågan om do-

Tabell II. Hämmning av angiogenes genom blockering av de olika stegen i den angiogena processen.

| Komponenter | Hämmare |
|---------------------|-----------------------------|
| • Tillväxtfaktorer | → Antikroppar |
| • Receptorer | → Tyrosinkinashämmare |
| • Proteasproduktion | → Proteashämmare |
| • Proliferation | → Farnesyltransferashämmare |

seringen av angiogeneshämmare, dels frågan om surrogatmarkörer vid kliniska prövningar av angiogeneshämmare. De kliniska prövningar som idag görs av nya läkemedel mot cancer är designade för cytostatika; exempelvis ges den högsta tolererbara dosen till patienterna under maximalt fyra veckor, följt av fyra veckor utan behandling. Effekten av behandlingen utvärderas vid fixa tidpunkter med radiologiska metoder och graderas då som tumörprogress, stabil sjukdom eller objektiv respons, exempelvis en minskning av tumörvolymen med 30 procent eller mer.

Angiogeneshämmare har sannolikt ingen, låg eller oförutsägbar toxicitet jämfört med cytostatika, varför den maximalt tolererbara dosen är mindre intressant och den (i sin frånvaro definierade) optimalt biologiskt aktiva dosen borde användas i kliniska prövningar. Här diskuteras nu olika sätt att bedöma graden av angiogeneshämning hos patienter. Det är möjligt att anti-angiogenbehandling kan förhindra tumörprogress men inte nödvändigtvis leda till markant tumörvolymminskning, speciellt när det gäller stora, tidigare terapiresistenta tumörer. I dessa situationer är det väsentligt att ha en utvärderingsmöjlighet som exempelvis metabol reaktivitet i tumören studerad med positronemissionstomografi (PET). Detta kan vara särskilt värdefullt vid långsamt växande tumörer. PET kan även användas för titrering av optimal behandlingsdos.

Effekten av angiogeneshämmare kanske också bör följas med surrogatmarkörer, utöver radiologiska metoder och överlevnad. Exempel på sådana surrogatmarkörer är prostataspecifikt antigen (PSA), CA 19-9, alfafetoprotein, karcinembryonalt antigen, humant koriongonadotropin och kromo-

Tabell III. Angiogeneshämmare i kliniska prövningar, enligt NCI.

| Produktnamn | Företag | Prövningsfas |
|---|--------------------------|--------------|
| <i>Hämmare av matrixmetalloproteinaser</i> | | |
| Marimastat (BB2516) | British Biotech | Fas III |
| Solimastat (BB3644) | British Biotech | Fas I |
| Bay 12-9566 | Bayer | Fas III |
| AG3340 | Agouron | Fas III |
| COL-3 | Collagenex, NCI | Fas I-II |
| Neovastat (Æ-941) | Aeterna | Fas III |
| BMS-275291 | Bristol-Myers Squibb | Fas I-II |
| CGS27023A | Novartis | Fas I-II |
| <i>Hämmare av angiogena tillväxtfaktorer och receptorer</i> | | |
| Rh anti-VEGF-Mab | Genentech | Fas II-III |
| SU5416 | Sugen, NCI | Fas I-III |
| SU6668 | Sugen, NCI | Fas I |
| PTK787 (ZK22584) | Novartis | Fas I-II |
| Ribozyme | Ribozyme Pharmaceuticals | Fas I |
| DC101 | ImClone Systems | Fas I |
| <i>Hämmare av endotelcellsaktivering</i> | | |
| TNP-470 | Takeda-Abbott Pharm. | Fas II |
| Squalamine | Magainin | Fas I-II |
| Endostatin | EntreMed | Fas I |
| Angiostatin | EntreMed | Fas I |
| <i>Hämmare av rörbildning</i> | | |
| Vitaxin (rek. anti- $\alpha\text{v}\beta\text{3}$ Mab) | Ixsys | Fas I-II |
| EMD121974 | Merck | Fas I-II |
| CM101 | AstraZeneca | Fas I |
| Combretastatin | Oxigene | Fas I |
| <i>Hämmare med multipla effekter eller okänd mekanism</i> | | |
| Talidomid | Celgene | Fas II |
| IM682 | Cytran Inc | Fas I-III |
| Suramin | NCI | Fas II-III |
| PNU-145156E | Pharmacia & Upjohn | Fas I |
| Penicillamin | NCI | Fas II |
| Tetratiomolybdat | U. of Michigan | Fas I |
| Captopril | Bristol-Myers Squibb | Fas I-II |
| Carboxyamino-triazole (CAI) | NCI | Fas II |
| Metoxyöstradiol (2-MOE2) | EntreMed | Fas I |
| ABT-627 | Abbott | Fas II |
| Interleukin-12 | Hoffman Laroche | Fas II |
| Interferon-alpha | Schering-Plough | Fas II-III |
| Taxaner (docetaxel, paclitaxel) | Aventis, BMS | Fas II-III |
| Razoxane | CRF | Fas II |

granin A hos patienter med initialt förhöjda värden. Även välbefinnande, smärtor, illamående och viktutveckling kan tjäna som surrogatmarkörer. Kliniska prövningar bör dessutom kanske göras på patienterna omedelbart efter kirurgi och/eller framgångsrik cytostatikabehandling, eftersom angiogeneshämmare är mindre effektiva på stora, etablerade tumörer i djurförsök.

Cytostatika ges traditionellt i behandlingscykler för att låta bennmärgen hämta sig, medan angiogeneshämmare bör ges utan avbrott; ett behandlingsavbrott på fyra veckor tillåter en avsevärd angiogenes. Vid kliniska prövningar av angiogenes-

hämmare bör man ta hänsyn till att endotelcellerna alltid (till skillnad från de flesta tumörceller) är exponerade för cirkulationen. Om plasmanivåerna av en angiogeneshämmare hålls uppe kontinuerligt blir hämningen effektivare. Således bör kanske angiogeneshämmare ges i kontinuerlig infusion, eventuellt med implanterbara infusionspumpar. En ny observation är att flera, om inte alla, cytostatika hämmar endotelcellstillväxt och angiogenes [13, 14].

Således kan en del av den ofta goda initiala cytostatikaeffekten vara angiogeneshämning. Emellertid ges ju inte cytostatika på ett sätt som effektivt hämmar angiogenes enligt re-

sonemanget ovan. Kanske skulle cytostatika ges i låg dos kontinuerligt?

Översikt över de kliniska prövningarna

Det pågår ett stort antal kliniska prövningar med angiogeneshämmande läkemedel. De cancerformer som vanligen omfattas av kliniska prövningar är lungcancer, inkluderande småcellig lungcancer, ovarialcancer, prostatacancer, bröstcancer, njurcancer, malignt melanom, kolorektal cancer, myelom, lymfom samt hjärntumörer. De aktuella läkemedlen indelade efter verkningsmekanism presenteras kortfattat nedan. För aktuell information och länkar, se National Cancer Institutes (NCI) hemsida för kliniska prövningar av angiogeneshämmare [15].

II Hämmare av matrixmetalloproteinaser

Matrixmetalloproteinaser (MMP) är ofta överuttryckta i tumörer, vilket har kopplats till ökad vaskularisering av tumörvävnaden. MMP-aktivitet kan öka degradation av matrix och därmed underlätta endotelcellsinväsning in i vävnaden. MMP-aktivitet har också knutits till »aktivering« av angiogena tillväxtfaktorer, som produceras i inaktiv form och blir bioaktiva först efter processning. Ett exempel på matrixmetalloproteinshämmare är Marimastat.

Marimastat

Marimastat (BB2516, British Biotech/Schering-Plough) är en hämmare av metalloproteinaser som tas peroralt [16]. Dosebegränsande toxicitet är ett ställetssyndrom hos cirka en tredjedel av patienterna omfattande ledsmärtor, stelhet, muskelsmärter och till och med kontrakturer. I en fas II-studie på pankreascancer med 113 patienter gavs 25–100 mg×2. Ungefär hälften av patienterna hade stabil sjukdom radiologiskt under behandlingen [17]. I den uppföljande fas III-studien vid pankreascancer med 414 patienter gavs 5–25 mg×2.

Överlevnaden i marimastatgruppen var lika god som i den grupp som fick cellgiftet gemcitabin, men marimastat var mindre toxiskt och ökade inte infektionskänsligheten [18]. Fas III-studier pågår nu vid bröstcancer, småcellig lungcancer, prostatacancer, ventrikelcancer och gliom.

II Hämmare av angiogena tillväxtfaktorer och receptorer

Mycket intresse har inriktats på hämning av angiogena tillväxtfaktorer och deras receptorer, framför allt VEGF-systemet. Nya fynd tyder dock på att det kan vara en fördel att hämma flera tillväxtfaktorer och deras receptorer.

Avastin

Avastin (rekombinant humaniserad monoklonal anti-VEGF-antikropp, Genentech) hämmar VEGF genom immunoneutralisation. Avastin ges intravenöst var 1–4 vecka. I fas I-studien med 25 patienter sågs trötthet, huvudvärk och illamående samt i tre fall blödningar i tumören [19]. 12 patienter uppvisade stabil sjukdom under 72 dagar. Avastin genomgår nu fas III-prövningar vid metastaserande bröstcancer och kolorektal cancer.

SU5416

SU5416 (Sugen/Pharmacia) är en kompetitiv hämmare av tyrosinkinasreceptorerna VEGFR-1 och VEGFR-2 samt stamcells faktorns receptor c-kit. SU5416 hämmar angiogenes in vivo och in vitro. Preparatet ges som intravenös infusion eller peroralt. I en fas I/II-studie med 27 patienter med avancerad cancer gavs SU5416 i kombination med 5-FU (5-fluorouracil) och leukovorin. 37 procent av patienterna svarade på behandlingen med en mer än 50-procentig reduktion av tumör-

volymen. 44 procent av patienterna hade oförändrad tumörvolym, och endast 7 procent progredierade under behandlingen. 21 av patienterna lever fortfarande [20]. Preparatet genomgår nu fas II–III-studier vid metastaserande kolorektal cancer (även i Sverige enligt Sugén), hepatocellulär cancer, gliom, meningiom och mesoteliom med flera.

SU6668

SU6668 (Sugen/Pharmacia) är ett derivat av SU5416, som hämmar aktivering av VEGFR-2, platelet-derived growth factor (PDGF)-receptorn och FGF receptor-1. SU6668 hämmar angiogenes in vitro och in vivo. Substansen ges peroralt tre gånger dagligen och är i fas I-studier vid avancerad cancer [20].

IMC-1C11

IMC-1C11 (ImClone Systems) är en humaniserad musantikropp som immunoblockerar VEGFR-2. Dess musanalog DC-101 hämmar angiogenes in vitro och in vivo och har till och med givit upphov till tumörregress i en musmodell. IMC-1C11 är nu i fas I-prövningar vid kolorektal cancer med levermetastaser [21].

II Hämmare av endotelcellsaktivering

I denna klass ingår enligt NCI dels TNP-470, som är en av de första angiogeneshämmare som identifierats, dels de så kallade endogena inhibitorerna. De sistnämnda är fragment eller konformationella varianter av kroppsegna proteiner, med till största delen okänd verkningsmekanism.

TNP-470

TNP-470 (AGM-1470, Takeda-Abbot Pharmaceuticals) var den första syntetiska angiogeneshämmaren, en analog till antibiotikumet fumagillin. Substansen hämmar angiogenes och tumörtillväxt i en rad olika djurmodeller. Substansen ges som intravenös infusion tre gånger i veckan. I en fas I-studie omfattande 33 män med avancerad androgenkänslig prostatacancer [22] sågs en dosbegränsande toxicitet i form av ett reversibelt neuropsykiatriskt syndrom omfattande parestesier, ataxi och agitation. Det är tveksamt om detta syndrom är kopplat till substansens angiogeneshämmande effekt.

Hos flera av patienterna noterades en »flare«, det vill säga en övergående stegring av PSA. I en annan fas I-studie vid cervixcancer (18 patienter) sågs hos en av patienterna en komplett remission (under mer än 26 månader) samt tre fall av utebliven tumörprogression under 5–19 månader [23]. I en fas II-studie vid inoperabel njurcancer (33 patienter) uppvisade hos en av patienterna en kortvarig tumörrespons; sex patienter hade stabil sjukdom under minst ett halvårs behandling [24]. Fas III-studier pågår även vid Kaposis sarkom.

Angiostatin

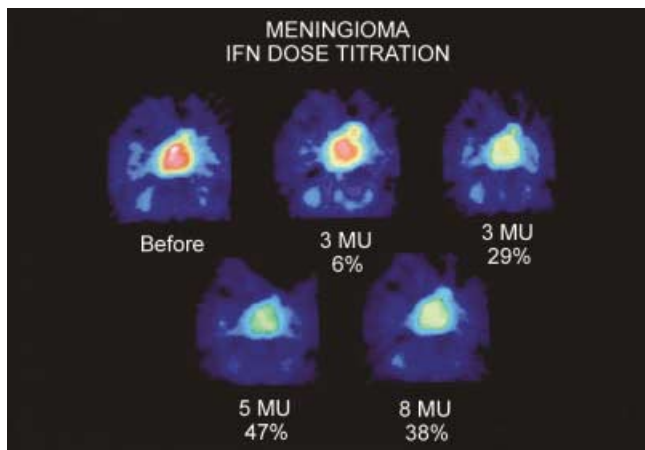
Rekombinant humant angiostatin (som är ett fragment av det kroppsegna proteinet plasminogen, EntreMed) gavs som subkutan injektion två gånger dagligen i en fas I-studie i Utrecht [25] omfattande 24 patienter med icke-småcellig lungcancer, kolon- och/eller bröstcancer. Ingen dosbegränsande toxicitet noterades, däremot erytem vid injektionsstället. En patient utvecklade höga IgG-titrar mot proteinet. Ingen påverkan på blodkoagulationen kunde påvisas. Stabil sjukdom sågs hos flera av patienterna under behandlingen. Det pågår ytterligare två fas I-studier, varav en i kombination med strålbehandling.

Endostatin

I en fas I-studie gavs rekombinant humant endostatin (som är ett fragment av det kroppsegna proteinet kollagen 18, Entre-

ANNONS

ANNONS



Figur 5. PET-bild med ^{11}C -L-metionin illustrerar en successivt ökande effekt av IFN- α . Bilden visar status före behandling, och efter behandling med en dos på 3×10^6 enheter subkutant dagligen (6 procent minskning av metioninupptaget): en dos på 3×10^6 enheter subkutant dagligen i ytterligare fyra veckor (29 procent minskning): en dos på 5×10^6 enheter (47 procent minskning): vid därefter ökad dos på 8×10^6 enheter syns ingen ytterligare effekt (38 procent minskning).

Med) först kontinuerligt intravenöst under fyra veckor, sedan subkutant två gånger dagligen till 20 patienter med behandlingsresistenta solida maligna tumörer [26]. Ingen toxicitet sågs, däremot några mindre tumörresponser. I en intressant ancillär studie till en fas I-studie togs tumör-, hud- och sårbiopsier före och under endostatinbehandlingen. Ingen statistiskt påvisbar skillnad kunde ses i kärldäthet, kärlmognad eller sårsläkning före eller under behandlingen [27]. Företaget går nu vidare med en fas II-studie vid metastaserande neuroendokrina tumörer.

II Hämmare av rörbildning

Gruppen av hämmare som beskrivs nedan är enligt NCI hämmare av rörbildning av endotel. Det torde vara en mer korrekt beskrivning att de på olika sätt startar programmerad självdöd, mer eller mindre specifikt, hos endotelet.

Vitaxin

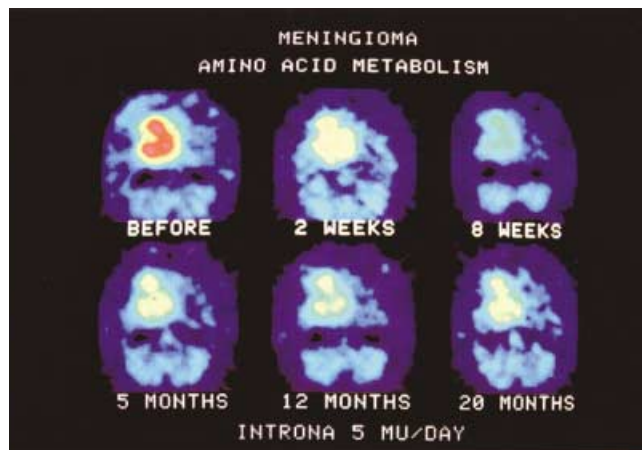
Vitaxin (Ixsys) är produktnamnet på en antikropp riktad mot $\alpha\text{v}\beta 3$ -integrinet (en cell-matrix adhesionsmolekyl), som är uttryckt i höga nivåer på tillväxande endotelceller in vivo. Vitaxin påverkar endotelceller att starta ett självmordsprogram (apoptos). Fas I-prövningar visar att behandlingen är väl tolererbar och att den i vissa fall har lett till stabilisering av tumörsjukdomen [28]. I en annan studie med 15 patienter med leiomyosarkom som behandlades med Vitaxin (intravenöst 0,25 mg/kg) kunde man dock inte se någon objektiv tumörrespons [29].

EMD121974

EMD121974 (Merck) är namnet på en cyklisk peptid som binder upp till och neutraliserar $\alpha\text{v}\beta 3$ -integrinet. I djurförsök på nakna möss har EMD121974 visats mycket effektiv i behandling av human medulloblastom-modelltumör [30]. Fas I/II-prövningar pågår vid recidiverande anaplastiska gliom (<http://www.nabtt.org/emd.html>).

Combretastatin

I barken på den afrikanska trädet bush willow, *Combretum caffrum*, har en liten organisk molekyl identifierats, som utgör grunden för preparatet combretastatin [31]. Combretastatin hindrar tillväxt av endotelet, och enligt företagets hemsida



Figur 6. PET-bild med ^{11}C -L-metionin på patient med ett meningioma som visar markant minskning i metioninupptag inom meningiomet under pågående IFN- α behandling (5×10^6 enheter subkutant dagligen). Bilden visar status före inledd behandling, efter 2 veckor, 8 veckor, 5 månader, 12 månader och 20 månader.

da leder behandling med combretastatin till att 95 procent av tumörcellerna i en solid tumör dör inom loppet av 24 timmar. En rad kliniska prövningar pågår i USA och i Europa.

II Hämmare med multipla effekter eller okänd mekanism

Från denna heterogena grupp (se Tabell III) har vi valt att diskutera några få hämmare som finns tillgängliga för behandling på andra indikationer. Exempelvis är interferon- α (IFN- α) tillgängligt som godkänt läkemedel på indikation hårcellsleukemi, och talidomid finns tillgängligt enligt gällande regler för licensförskrivning.

Talidomid behandling av intrakraniella tumörer

Talidomid har sedan 1960-talet använts vid behandling av lepra och har under senare år fått en ökad användning vid bland annat HIV-relaterade symtom och graft-versus-hostreaktioner. Talidomidets effekt på dessa tillstånd har ansetts bero på en specifik hämning av produktionen av TNF- α . Talidomid är ett mycket billigt läkemedel med en dygnskostnad på bara några kronor.

Talidomid har sedan många år prövats vid behandling av tumörer, men det är först under senare år som dess anti-angiogena effekt studerats mer i detalj och ett antal kliniska prövningar påbörjats för behandling av olika tumörformer. Talidomid ges peroralt, och dosen i prövningarna har varierat från 100 mg till över 1 200 mg per dag. Talidomids anti-angiogena effekt är inte helt klarlagd men anses omfatta en direkt påverkan på endotelcellerna, kanske via TNF- α .

Vi har behandlat ett begränsat antal patienter med malignt gliom, kordom och meningioma med talidomid i doser upp till 1 000 mg peroralt dagligen, på licensförskrivning [opubl data]. Flertalet av dessa patienter har behandlats i sent skede av sin tumörsjukdom med recidiverande progredierande tumörer. För att kunna följa behandlingseffekten har patienterna undersökts före och under pågående behandling med MRT och med PET (^{11}C -L-metionin). Med hjälp av PET kunde den metabola effekten av behandlingen bedömas efter bara några veckor och ineffektiv behandling därmed undvikas. Hos flera av patienterna kunde en minskning av ^{11}C -L-metioninupptaget inom tumören konstateras som ett tecken på behandlingseffekt på tumören.

Samtidigt kunde man också notera en uppbromsning av tumörprogressen. Flertalet tumörer progredierade dock senare.

Erfarenheten är alltför begränsad för att uttala sig om talidomids effekt mer generellt. Vi har dock kunnat konstatera att flertalet patienter tolererat behandlingen. De biverkningar som iakttagits har varit de tidigare beskrivna, med främst trötthet, obstipation och hos någon patient neuropati. Med hänsyn till de mycket allvarliga teratogena effekter som talidomid (Neurosedyn) orsakar är det ett absolut krav att de kvinnliga patienter som behandlas inte blir gravida.

De mest positiva behandlingsresultaten av talidomid som beskrivits är hos patienter med multipelt myelom. I en fas II-studie behandlades 169 patienter med avancerat behandlingsrefraktärt multipelt myelom med talidomid, upp till 800 mg dagligen. En 25-procentig minskning av myelomproteinet erhöles hos 37 procent av patienterna (50 procents minskning hos 30 procent av patienterna och nästan eller helt komplett remission sågs hos 14 procent av patienterna). Två års remission var 20 ±6 procent och överlevnad 48 ±6 procent [32]. I en annan studie på 54 patienter med progressivt multipelt myelom svarade 29 av dessa åtminstone delvis på talidomid. Minskad FGF-2-halt i plasma predikerade respons [33].

I en studie behandlades 39 patienter med avancerat recidiverande malignt gliom med talidomid i dos upp till 1 200 mg dagligen. 36 av dessa patienter kunde utvärderas, varav 2 visade partiell och 2 viss respons samt 12 patienter stationär sjukdom. Halten av FGF-2 i plasma korrelerades till progression och överlevnad [34]. Behandlingseffekten på andra tumörformer har varit mer varierad och svårvärderad; ofta har talidomid givits i slutskedet av tumörsjukdomen, och de varierande doserna gör jämförelse mellan olika studier komplicerad.

Sannolikt kan ökad angiostatisk effekt fås genom en kombination av läkemedel som har olika anti-angiogena verkningmekanismer, och flera kliniska prövningar pågår för att närmare studera detta. För patienter med Kaposis sarkom har kombinationsbehandling med talidomid och IFN- α prövats, med positivt resultat. I en prövning av prostatacancer gav kombination av docetaxel (Taxotere) och talidomid en sänkning av PSA med 50 procent eller mer hos 53 procent av patienterna [35]. Vidare har en kombination av talidomid och cytotatika i låg dos för att få förstärkt anti-angiogen effekt beskrivits som effektiv. Vanligen kombineras talidomid med cyklofosfamid. Vi har även prövat detta, vilket hade förstärkt effekt på tumören men som dock gav en grav leukopeni hos två patienter [publ data]. Det ter sig dock som att talidomid som enda behandling inte är tillräckligt effektiv, utan någon form av kombinationsbehandling är att rekommendera.

Metoxiöstradiol (2ME2)

Entremed har lanserat metoxiöstradiol, en naturligt förekommande östrogenmetabolit, under namnet Panzem. Panzem ges peroralt utan allvarlig toxicitet (östrogenlika effekter saknas) och slår ut både tumörceller och endotel. Preklinisk forskning har visat att metoxiöstradiol är en effektiv endotellsinhibitor, som inducerar apoptos och cellcykelblock och som effektivt stoppar tillväxt av modelltumörer [36]. En rad studier har också visat potentiell effekt av kombinationsbehandling med metoxiöstradiol och strålning. I pågående fas I/II-studier testas effekten av Panzem på bröstcancer, myelom och prostatacancer.

INF- α

INF- α har i en rad studier visats effektiv vid behandling av intrakraniella tumörer, meningiom och kraniofaryngiom [37, 38]. Den anti-angiogena effekten av IFN- α anses bero på inhibition av tumörens produktion av tillväxtfaktorer som FGF och VEGF. Vi har erfarenhet av IFN- α -behandling av patienter med inoperabla meningiom [39]. I denna serie behandla-

des tolv patienter med inoperabla meningiom, åtta kvinnor och fyra män. Nio av patienterna hade opererats tidigare, flera gånger. Flera av patienterna hade progredierande invalidiserande tumörer. IFN- α gavs i dosen 1,5–5×10⁶ enheter subkutant, dagligen. Patienterna följdes förutom med MRT också med ¹¹C-L-metionin PET, för att utvärdera behandlingseffekten. Nio av de tolv behandlade patienterna uppvisade ett markant minskat upptag i meningiomet av ¹¹C-L-metionin under IFN- α -behandling jämfört med före behandling (Figur 5).

Skillnaden i minskningen av ¹¹C-L-metionin mellan de metaboliskt reaktiva och de metaboliskt icke-reaktiva meningiomen var signifikant (P<0,002). Hos de patienter som fortsatte med IFN- α -behandlingen noterades en avstannning av tumörtillväxt. En av patienterna som på grund av biverkningar fick sluta med IFN- α uppvisade senare ökat metioninupptag, vilket följdes av tumörtillväxt. När IFN- α då återinsattes minskade på nytt ¹¹C-L-metioninupptaget och tumören avstannade i tillväxt. Tre av patienterna behandlades under lång tid, två patienter i mer än 8 år och en patient under 4,5 år (Figur 6). De två patienterna med den längsta uppföljningstiden står fortfarande på interferonbehandling. IFN- α har också framgångsrikt använts i behandling av karcinoider, men det är ännu oklart hur stor del av effekten som är anti-angiogen [40].

Perspektiv

Tumörbehandling med angiogeneshämmare är definitivt en spännande behandlingsprincip och har i djurförsök visat sig vara mycket lovande. Angiogenesprocessen är mycket komplex, och en specifik hämmarens effekt är oftast svår att förutse. Som vanligt visar sig det oftast mer komplext vid prövning på människa än vid behandling av tumörmodeller i djur. Intresset för angiogeneshämmare är mycket stort, och som refererats pågår ett stort antal kliniska prövningar.

Sammanfattningsvis kan sägas att det är svårt att överblicka och värdera de kliniska prövningarna av angiogeneshämmare, eftersom läkemedelsföretagen inte ger underhandsinformation innan studierna är utvärderade och publicerade. En studie med dåliga resultat eller en avbruten studie kan innebära ett stort ekonomiskt avbräck för ett läkemedelsföretag, inte minst för att börskursen påverkas. Vår bild är att prövningarna av angiogeneshämmare följer mönstret för nya läkemedelsgrupper, eftersom år av lovande prekliniska data följs av omfattande kliniska prövningar, där både etablerade och nya läkemedelsbolag är representerade. Behandling med angiogeneshämmare innebär inte garanterad bot för alla sorters cancer, men de kommer sannolikt att bli ett effektivt och väl tolererbart komplement till dagens behandlingsformer vid cancer.

Referenser

1. Folkman J. Tumor angiogenesis: Therapeutic implications. *N Engl J Med* 1971;285:1182-6.
2. Abramsson A, Berlin OO, Papayan H, Paulin D, Shani M, Betsholtz C. Analysis of mural cell recruitment to tumor vessels. *Circulation* 2002;105:112-7.
3. Risau W. Mechanisms of angiogenesis. *Nature* 1997;386:671-4.
4. Matsumoto T, Claesson-Welsh L. VEGF Receptor Signal Transduction. *Sci STKE* 2001;(112):RE21.
5. Cao Y. Endogenous angiogenesis inhibitors and their therapeutic implications. *Int J Biochem Cell Biol* 2001;33:357-69.
6. Rohan RM, Fernandez A, Udagawa T, Yuan J, D'Amato RJ. Genetic heterogeneity of angiogenesis in mice. *FASEB J* 2000;14:871-6.
7. O'Reilly MS, Holmgren L, Shing Y, Chen C, Rosenthal RA, Moses M, et al. Angiostatin: a novel angiogenesis inhibitor that mediates the suppression of metastases by a Lewis lung carcinoma. *Cell* 1994; 79:315-28.
8. Gately S, Kerbel R. Antiangiogenic scheduling of lower dose cancer chemotherapy. *Cancer J* 2001;7:427-36.

15. National cancer institute. Angiogenesis Inhibitors in Clinical Trials; 2002. Available from: URL: http://www.cancer.gov/clinical_trials/doc.aspx?viewid=B0959CBB-3004-4160-A679-6DD204BEE68C
16. Brown PD. Ongoing trials with matrix metalloproteinase inhibitors. Expert Opin Investig Drugs 2000;9:2167-77. (Also available from: URL: http://www.ashley-pub.com/PDFs/eid_CTR99g.pdf).
20. Sugen. Clinical trials; 2002. Available from: URL: http://www.sugen.com/webpage_templates/sec.php3?page_name=trials
26. Hansma AH, Hoekman K, Broxterman HJ, Boven E, van der Horst I, Pinedo HM. A phase I safety and pharmacokinetic study of continuous intravenous rhEndostatin followed by subcutaneous administration in patients with advanced cancers. Available from: URL: www.entremed.com/pdfs/Pinedo.poster.aacr2001miami.pdf
27. Mundhenke C, Thomas JP, Wilding G, Lee FT, Kelze F, Chappell R, et al. Tissue examination to monitor antiangiogenic therapy: a phase I clinical trial with endostatin. Clin Cancer Res 2001;7:3366-74.
39. Muhr C, Gudjonsson O, Lilja A, Hartman M, Zhang ZJ, Långström B. Meningioma treated with interferon-alpha, evaluated with ¹¹C-L-methionine positron emission tomography. Clin Cancer Research 2001;7:2269-76.

I Läkartidningens elektroniska arkiv
<http://tarkiv.lakartidningen.se>
är artikeln kompletterad med fullständig referenslista.

SUMMARY

Anti-angiogenic drugs probable complement in cancer therapy

Rolf Christofferson, Lena Claesson-Welsh, Carin Muhr

Läkartidningen 2002;99:4138-48

This review outlines the current status of anti-angiogenic treatment, with emphasis on clinical trials. In pathological growth, vessels become hyperstimulated and dysfunctional, due to overexpression of angiogenic growth factors, such as vascular endothelial growth factor (VEGF). Thus, various anti-angiogenic substances have been developed that neutralize VEGF; others aim to reduce the capacity of the cells to respond to this factor. In addition, substances that are inhibitors of matrix metalloproteinases or agents that induce programmed cell death (apoptosis) of endothelial cells are being tested. Another class of angiogenesis inhibitors includes those that already are in clinical use but on other indications. The National Cancer Institute (NCI) in the USA provides information on on-going clinical trials, which are being conducted on patients suffering from different solid tumor diseases, such as cancer of the colon, lung, prostate and breast. For treatment regimens with anti-angiogenic substances it is important to consider the appropriate dosing and dose interval. The clinical trials have in many instances only recently been initiated and it is premature to predict the outcome, especially as patients in the trials suffer from seriously progressive disease that has previously been treated and found to be therapy-resistant. In many cases combination therapy with an anti-angiogenic substance together with radiation, chemotherapy or other types of conventional tumor treatment, appears promising.

Correspondence: Lena Claesson-Welsh, Dept of Genetics and Pathology, Uppsala universitet, SE-751 85 Uppsala, Sweden

Hur man skriver ett vetenskapligt arbete



– och får det publicerat!

Läkartidningen och BMJ (British Medical Journal) arrangerar tre endagskurser för medicinska skribenter, 20, 21 och 22 november 2002.

Kursen presenterar hur Du på ett effektivt sätt omsätter tankar och koncept till en välskriven uppsats – hur man organiserar och analyserar sitt material, formulerar slutsatser och inte minst hur man väljer lämplig tidskrift och korresponderar med redaktioner och redaktörer enligt »spelets regler«.

Rent praktiskt bygger kursen på att Du med utgångspunkt från ett redan insamlat material skriver ett manuskriptutkast under kursdagen. Kurserna vänder sig därför i första hand till forskarstuderande med redan färdiginsamlade men kanske obearbetade data.

Kursledare är Tim Albert, vetenskapsjournalist på BMJ. Kurserna har gått flera år i Storbritannien och rönt stor uppskattning.

Kursavgiften är 2500 kronor och inkluderar frukost, lunch, kaffe och förfriskningar.

Så här anmäler Du Dig. Skicka in Dina fullständiga adressuppgifter, och ett kort CV (max 200 ord) till inga-maj.lagerholm@lakartidningen.se

Din anmälan måste vara hos oss senast den 30 oktober.

Läkartidningen vill genom kursen stimulera intresset för att skriva vetenskap på svenska, och deltagare intresserade av att medverka som skribenter av vetenskapliga referat har företräde.

Välkommen med Din anmälan
– antalet platser är begränsat!

Josef Milerad
docent, medicinsk chefredaktör