

# Kanser Tedavisinde Anjiyogenez İnhibitörlerinin Yeri

## THE PLACE OF ANGIOGENESIS INHIBITORS IN CANCER THERAPY

A. Selmin ATAERGİN\*, Ahmet ÖZET\*\*, Fikret ARPACI\*\*

\* Dr.,GATA İç Hastalıkları BD,

\*\* Doç.Dr.,GATA Tıbbi Onkoloji BD, ANKARA

### Özet

Önceden mevcut olan küçük damarlardan yeni kan damarlarının oluşması anlamına gelen anjiyogenez, embriyogenez ve yara iyileşmesinin yanı sıra, diabetik retinopati, hemanjiyom, psöriazis, artrit gibi yeni damar oluşumuyla seyreden pek çok hastalıkta olduğu gibi, tümör büyümesi için de önem taşımaktadır. Hipoksi ve henüz tam olarak belirlenememiş bazı uyarıcılar, tümör hücreleri, enflamasyonda rol alan hücreler ve bağ dokusu hücrelerini uyarak anjiyogenez özelliği taşıyan bir takım moleküllerin (VEGF: damar endoteli büyüme faktörü, FGF: fibroblast büyüme faktörü, TGF-beta: transforme edici büyüme faktörü, PDGF: trombosit kaynaklı büyüme faktörü.. gibi) oluşumuna yol açarlar.

Anjiyogenez cevabı oluşturabilme yeteneği muhtemelen tüm dokularda vardır. Stimülasyon ve inhibisyon arasında denge kurmuş olan anjiyogenezde rol alan faktörler arasındaki dengenin bozulmasıyla bir dizi karmaşık olay meydana gelir. Patolojik anjiyogenez, kanser de dahil olmak üzere pek çok hastalıkta önemli rol oynar. Anjiyogenezle birlikte seyreden bazı hastalıklarda prelinik ve klinik aşamada çalışmaları devam eden anjiyogenez inhibitörleri olarak adlandırılan birçok ilacın bu etkilerinden faydalanılarak kanser tedavisinde kullanılmaları düşünülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Anjiyogenez, Kanser, Anjiyogenez inhibitörleri

T Klin Tıp Bilimleri 1999, 19:100-105

### Summary

Angiogenesis, that is, the formation of new vessels from existing microvessels, is important in embryogenesis, wound healing, therefore in many diseases such of diabetic retinopathy, hemangiomas, psoriasis, arthritis, furthermore in tumor growth. Hypoxia and some other stimuli not well defined, drive tumor, inflammatory, and connective tissue cells to generate angiogenic molecules such as vascular endothelial growth factor (VEGF), fibroblast growth factor (FGF), transforming growth factor-beta (TGF-beta), platelet-derived growth factor (PDGF), and others.

The ability to mount an angiogenic response is probably present in all tissues. The overall lack of angiogenesis in normal situations probably results from the interaction of a complex series of multifactorial systems, each of which maintained in a state of balance between stimulation and inhibition. An imbalance of any of these systems, may lead to angiogenesis. Pathological angiogenesis is an important factor in many diseases including cancer. Several drugs some in preclinical trials and some in clinical use in cancer therapy, have recently been found to be angiogenesis inhibitors, and this may be their primary mechanism of action.

**Key Words:** Angiogenesis, Cancer, Angiogenesis inhibitors

T Klin J Med Sci 1999, 19:100-105

Önceden mevcut olan küçük damarlardan yeni damarların oluşması anlamına gelen anjiyogenez, diabetik retinopati, hemanjiyom, psöriazis, artrit gibi yeni damar oluşmasıyla seyreden pek çok hastalığın yanı sıra, tümör büyümesi için de önem

**Geliş Tarihi:** 31.03.1997

**Yazışma Adresi:** Dr.A.Selmin ATAERGİN  
GATA Tıbbi Onkoloji BD  
06018 Etilik, ANKARA

taşımaktadır (1,2). Hipoksi ve henüz tam olarak belirlenememiş bazı uyarıcılar, tümör hücreleri, enflamasyonda rol alan hücreler ve bağ dokusu hücrelerini uyarmak suretiyle anjiyogenez özelliği taşıyan bir takım moleküllerin [(VEGF) damar endoteli büyüme faktörü, (FGF) fibroblast büyüme faktörü, (TGF-β) transforme edici büyüme faktörü, (PDGF) trombosit kaynaklı büyüme faktörü gibi] oluşumuna yol açarlar (1).

Yeni damar oluşumu şu süreçler sonrasında meydana gelir: 1-) endotel hücrelerinin mikrovask-

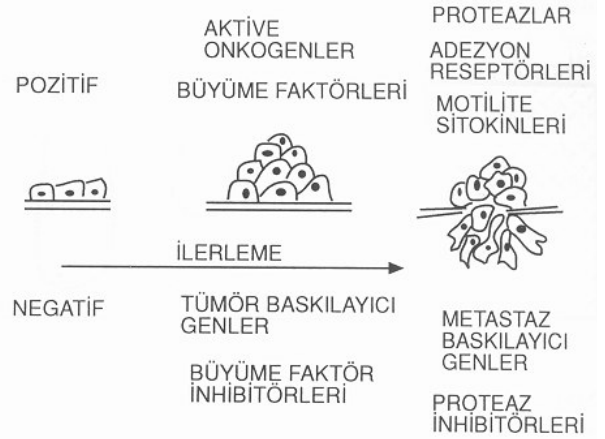
küler sahadan göç ederek çoğalması, 2-) proteolitik enzimlerin ortama belli oranlarda salınması, 3-) ekstraselüler matriksin bozulması ve yeniden yapılmasıdır (1).

Muhtemelen tüm dokuların anjiyogenez cevabı oluşturabilme yeteneği bulunmaktadır ve endotel hücrelerinin bazı faktörlerle uyarılmaları sonucunda anjiyogeneze neden olan olaylar dizisi başlamaktadır. Dokularda anjiyogenez, stimülasyon ve inhibisyon arasındaki dengenin bozulması sonrasinda ortaya çıkmaktadır: örneğin; büyüme faktörü düzeyindeki bir artış anjiyogeneze neden olabilmektedir. Bu şekilde, anjiyogeneze yol açan uyarının inhibisyonu, bazı antianjiyogenik ajanlarla sağlanabilmektedir (3). Tümör hücrelerinin büyümesine neden olan anjiyogenez sırasında çeşitli büyüme faktörleri, prostaglandinler v.s ortama salınarak anjiyogenez uyarımını başlatabilir. Anjiyogenez uyarınının etkisizleştirilmesiyle, henüz kapiller düzeyde büyüme evresinde iken anjiyogenez cevabı önlenabilir. Bu durum, etkin bir basamakta inhibisyon yaratılmasıyla anjiyogenezin tamamıyla ortadan kaldırılabileceğini düşündürmüştür (3). Böylece, anjiyogeneze birlikte seyreden hastalıklarda ve bazı tür kanserlerde klinik etkinliği kanıtlanmış veya prelinik çalışmaları devam eden pek çok anjiyogenez inhibitörleri olarak adlandırılan ilacın bu etki mekanizmaları nedeniyle kullanılmasına yönelik çalışmalar sürdürülmektedir. Hayvan modellerinde anjiyogenez inhibitörleriyle yapılan çalışmalarda bu ilaçların tümör hücrelerindeki kapillerlerde retraksiyon meydana getirerek nekroza sebep olduğu ve bu yolla tümör hücrelerinin büyümesini engellediği ve metastazları da azalttığı gösterilmiştir (3).

### Anjiyogenez-Tümör İnvazyonu ve Metastaz

Kanser hastalarında tedavinin yetersiz olmasının en büyük nedeni tümör invazyonu ve metastazdır. Metastaz primer tümörün en erken oluşum evresinden itibaren başlar ve zaman içinde tümörün büyümesine paralel olarak büyür. Tümörler histolojik tiplerine göre farklı metastaz gücüne sahiptirler. Pek çok epitel kökenli tümörde tümör hücrelerinin yayılımı tümörün damarlanmasından kısa bir süre sonra meydana gelmektedir.

Tümör oluşumu pozitif yönde (aktive onkogenler, büyüme faktörleri, proteazlar, motilite



**Şekil 1.** (Cancer: Principles and Practice of Oncology, 1997'den)

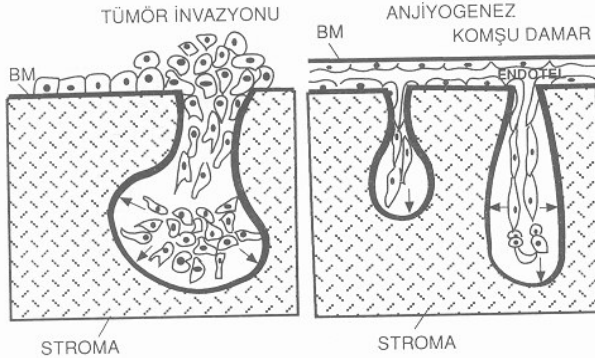
İnvazif kansere dönüşüm sırasında pozitif ve negatif yönde etkili olan elemanlar. Kontrolsüz proliferasyon sonucu bazı büyüme faktörleri ve aktive olmuş onkogenler artarken, süpresör onkogenlerde azalma meydana geliyor. İnvazyonu kolaylaştıran gen ürünlerinde artış olurken invazyonu kolaylaştıran proteinlerde kayıp meydana geliyor.

sitokinleri) ve negatif yönde (tümör baskılayıcı genler, büyüme faktör inhibitörleri, metastaz baskılayıcı genler, proteaz inhibitörleri) etkili olan elemanların pozitif yöne doğru kaymaları sonucunda meydana gelir (Şekil 1).

Metastaz oluşumunda ise tümör hücreleri, önce primer tümör bölgesinde çoğalır, interstisyel stromaya girer, buradaki kan damarları yoluyla dolaşıma katılırlar. Dolaşıma katılan tümör hücreleri hedef organa ulaşarak, hedef organın prekapiller venüllerinde endotel bazal membranına penetre olarak metastatik kolonileri başlatırlar (Şekil 2).

Anjiyogenez yeni mikrodamarların meydana gelmesi demektir. Bu durum kapiller damarlardaki endotel hücrelerinin proliferasyonuna bağlıdır: örneğin; yara iyileşmesi sırasında olan anjiyogenez bir hafta veya daha fazla sürerken, patolojik anjiyogenez aylar veya yıllar boyunca devam edebilir. Buradan yola çıkarak, antianjiyogenez tedavisinde gaye proliferasyon halindeki küçük damarların büyümesini önleyerek ilk başlangıç hallerinde kalmalarını sağlamaktır.

Endotel hücre proliferasyon çalışmaları, kantitatif ve ucuz olmasından dolayı anjiyogenez inhibitörlerini tanımlamada ve etkinliklerini ölçmede



**Şekil 2.** Anjiyogenez ve tümör invazyonu (Cancer: Principles and Practice of Oncology, 1997'den)

**Solda:** İn situdan invazif karsinomaya dönüşüm sırasında bazal membranda lizis meydana gelerek interstisyel stromaya yayılım oluyor.

**Sağda:** Anjiyogenezin erken safhalarında komşu damarın bazal membranında lizis meydana geliyor ve endotel stromaya doğru geç ediyor. Stromada lateral proteoliz ile genişleme meydana gelerek lümen oluşuyor. (Anjiyogenik faktörlerden  $\beta$ FGF endotel migrasyonunu, proteolizi ve proliferasyonu indüklemektedir.)

sıklıkla kullanılmaktadır. Son zamanlarda yeni bir kantitatif yöntemde fare korneası içine implante edilmiş 80 ng yavaş salımlı  $\beta$ FGF 5 gün içinde korneada neovaskularizasyonu stimüle etmektedir. Bu sürede, subkutan veya intraperitoneal yolla uygulanan anjiyogenez inhibitörü korneal neovaskularizasyonu inhibe etmektedir. Anjiyogenez inhibitörlerinin etkinlikleri bu yolla ölçülebilmektedir (4).

Bir grup endojen proteinin endotel hücresinin büyümesini inhibe ettiği gösterilmiştir. Bu endojen endotel inhibitörlerinin in vivo şartlarda anjiyogenez de inhibe ettikleri gösterilmiştir. Bunlar; trombosit faktör 4 (5), trombospondin (6), 16-kd'luk prolaktinin bir parçası (7), interferon  $\alpha$ -2a (8), doku metalloproteinaz inhibitörleri (TIMP) (9), plasental proliferine bağlı protein (10), interlökin-12 (11), ve anjiyostatindir (12).

Anjiyogenez inhibitörlerinin varlığından ilk olarak 1970'lerde bahsedilmiştir (13,14), ancak 10 yıl kadar sonra anjiyogenez molekülleri tanımlanmıştır; protamin ve platelet faktör 4, 1980'lerde ilk çalışılan anjiyogenez inhibitörleri olmuştur (15). Ardından, anjiyostatik steroidler (16), 1985 yılında ise fumagillin ve sentetik analogları (17) ve sonra da interferon  $\alpha$ -2a'nın anjiyogenez inhibitör etkisi keşfedilmiştir (8). Şimdiye kadar 40'dan fazla an-

**Tablo 1.** Araştırma aşamasındaki anjiyogenez inhibitörleri (18)

Anjiyogenez inhibitörleri	Aşam a
Thalidomide	Faz II
Platelet faktör 4	Faz II
AGM-1470	Faz I / II
IL-12	Faz I
BB2516(Marimastat)	Faz I
Tecogalan	Faz I
CAI	Faz I
CI-994	Faz I
CM 101	Faz I
Anti-ED-B(fibronektin)M Ab	Preklinik
OLX-514	Preklinik
CT-2584	Preklinik
Metastat	Preklinik
Angiostatin	Preklinik
FR-111142	Preklinik
VEGF inhibisyonu	Preklinik
GM 1474	Preklinik
Antisens fosforotioat oligonükleotid	Preklinik
Vitaxin	Preklinik
Sol. FLT-1 VEGF reseptör	Preklinik
FCE-26644 ve FCE-26950	Preklinik
$\alpha$ v $\beta$ 3 antagonistleri	Preklinik
Tirozin kinaz reseptörünün tanımlanmış reseptörleri	Preklinik

jiyogenez inhibitörü bildirilmiştir (18,19). Bunlardan bir kısmı faz 2 çalışmalarına girmesine rağmen, çoğu henüz preklinik deneme aşamasındadır (Tablo 1).

Anjiyogenez inhibitörlerinin etki mekanizmaları kesin olarak bilinmemekle birlikte, anjiyogenez oluşum evrelerinin çeşitli kademelerinde (damarsal devamlılığın bozulmasını indükleyerek, endotel hücre proliferasyonunu sağlayarak veya henüz bilinmeyen başka kademelerde), etkileşime girerek veya bloke ederek etki yaptıkları düşünülmektedir. Bazıları ise paradoksal etki gösterirler: örneğin; TGF- $\beta$  in vivo ortamda anjiyogenez inhibitörü olarak davranmazken, in vitro şartlarda endotel proliferasyonunu inhibe etmektedir.

### Kanser Tedavisinde Denenen Bazı Anjiyogenez İnhibitörleri

#### İnterferon

İnterferon  $\alpha$ -2a'nın antianjiyogen olduğunun keşfinin ardından, 1988'lerde 7 yaşındaki pulmoner hemanjiomalı bir çocukta başarıyla kullanılmaya başlamıştır (20,21). İnterferon- $\alpha$  ile ilgili

yapılmış olan diğer çalışmalar da ümit vericidir (22). Bir çalışmada, interferon  $\alpha$ -2a ile 20 hastanın 18'inde ilerlemiş hemanjiyomada gerileme tespit edilmiştir (23). Ayrıca, interferon  $\alpha$ -2a'nın özellikle solunum yolu hemanjiyomalarında laser tedavisine ek olarak kullanıldığında oldukça etkin olduğu da belirtilmiştir (24).

Pek çok hemanjiomalı (25) ve kanserli (26) hastanın serum ve idrarında anjiyogenik bir peptid olan b-FGF (bazik fibroblast büyüme faktörü) yüksek düzeyde saptanmıştır. Böylece yüksek düzeyler hemanjioma ve damarsal malformasyon ayırımını yapmaya yardımcı olmaktadır. Mesane kanserinde de tespit edilen b-FGF düzeyi interferon- $\alpha$  ile azaltılabilmektedir (27).

### ***Fumagillin Analogları***

Fumagillin, *Aspergillus fumigatus* fresenius-dan elde edilmiş olan bir antibiyotik türevidir. İn vitro olarak endotel proliferasyonunu, in vivo olarak ise anjiyogenezi inhibe eder (28). TNP-470 (AGM-1470), fumagillinden daha etkin ve daha az toksik özelliği olan bir fumagillin analogudur (29). Antianjiyogenez aktivitesi ve endotel hücre proliferasyonunu inhibe etme özelliği fumagillinden daha fazladır. Pikomolar konsantrasyonlarda proliferasyon olmuş endotel hücrelerini inhibe ederken, 100-10.000 kat yüksek konsantrasyonlarda pek çok tümör hücresinin büyümesi inhibe olur. Anjiyostatin gibi spesifik bir inhibitör olmamasına rağmen, endotel hücrelerine karşı oldukça selektif bir anjiyogenez inhibitörüdür. Kolon kanseri (30) ve diğer solid tümörlerde (28) çalışmaları devam etmektedir.

### ***Sinyal transdüksiyon yolağıyla aktif olan ajanlar***

Protein kinaz C, endotel büyümesinde etkin olduğu kadar tümör büyümesinde de çok önemli rol oynamaktadır. Bu nedenle, bu yolağı inhibe eden ve transforme edici büyüme faktör- $\beta$  (TGF- $\beta$ )'yı indükleyen yeni bir ajan olan Briostatin, faz I çalışmalarda kullanılmaya başlamıştır. Kemik iliğini baskılamadığı ve TNF- $\alpha$  ve IL-6 düzeylerini artırıcı etkisi olduğu görülmüştür (31).

### ***Metalloproteinaz inhibitörleri***

Meme kanseri tedavisi ile ilgili yapılan araştırmalarda, hem in vivo hem de in vitro yapılan çalış-

malar, matriks metalloproteinazlarının önemli rolü olduğunu göstermektedir. Bu nedenle, matriks metalloproteinaz inhibitörlerinin matriks metalloproteinazlarına karşı tedavide kullanılması düşünülmüştür. İn vivo yapılan laboratuvar çalışmaları, bunların çok yakın gelecekte kullanılabilecekleri şeklinde ümit vermektedir (32).

### ***Heparin-steroid konjüatları***

Folkman, yaptığı in vivo çalışmalarda protaminin anjiyogenez inhibitörü özelliği taşıdığını ifade etmiştir (33). Sonraki çalışmalarında yine Folkman ve ark. heparinle kortizonun kombine kullanımının anjiyogenezi güçlü bir şekilde inhibe ettiğini, embriyogenez, enflamasyon, bazı immün reaksiyonlar ve solid tümörlerin büyümesini kapiller proliferasyonu inhibe etmek suretiyle önlediğini göstermiştir (34). Sonraki yıllarda Wong ve ark. yaptıkları karşılaştırmalı bir çalışmada AGM-1470 (fumagillin analogu), hidrokortizon 21-fosfat + heparin kompleksi veya heparin +  $\beta$ -siklodekstrinin her üçünün de doza bağımlı olarak hücre büyümesinde inhibisyon oluşturduğunu tespit etmişlerdir (35).

### ***Östrojen metabolitleri***

2-metoksiöstradiolün yapılan in vitro bir çalışmada, solid tümörlerde neovaskülarizasyonu inhibe edip tümör büyümesini engellediği gösterilmiştir. Buna dayanarak bu steroid preparatının kanser tedavisinde ve diğer anjiyogenezle seyreden hastalıklarda yeri olabileceği belirtilmiştir (2).

### ***Anjiyostatin***

Etkin bir endojen anjiyogenez inhibitörü olan anjiyostatin aynı zamanda güçlü bir antitümöral ajandır. Plazminin  $\mu$  zincirinde bulunur, ancak plazminojen ne de plazmin anjiyogenezi inhibe etmezler; diğer yandan anjiyostatinin de antikoagülan özelliği bulunmamaktadır. Anjiyostatin Lewis akciğer kanserli farelerin serum ve idrarlarından purifiye edilmiştir (12,36). Rekombinan anjiyostatin ise yakın zamanda *Escherichia coli*'den elde edilmiştir. Anjiyostatin endotel proliferasyonunun spesifik bir inhibitörüdür. Tümör hücresinin büyümesi, epitel hücreleri, düz kas hücreleri veya fibroblast gibi neoplastik olmayan hücrelerin büyümesi üzerinde hiç bir etkisi yoktur.

### **Tecogalan (DS 4152)**

Arthrobacter isimli bir bakteri tarafından üretilen sülfatlanmış bir polisakkaridinin düşük molekül ağırlıklı bir fraksiyonundan izole edilmiştir (37). Endotel hücrelerin migrasyon ve proliferasyonunu inhibe edici etkisi vardır. Antitümör aktivitesi melanoma, histiositoma, Lewis akciğer karsinoması, kobay anjiyosarkoması ve insan meme kanserinde belirlenmiştir. Hem in vivo hem in vitro etkinliği Kaposi sarkomunda gözlenmiştir. Tespit edilen yan etkileri arasında ateş ve soğuk algınlığına benzer bulgular mevcuttur. Bu semptomlar asetaminofen verilmesiyle düzelmektedir. Kullanımı sırasında belirgin miyelosüpresyon ve diğer ilaç toksisiteleri gözlenmemiştir (38).

### **Tartışma**

Kanser tedavisinde yeni ufuklar vaat eden anjiyogenez inhibitörleriyle tedavide amaç, kapiller endotel hücrelerinin proliferasyonunu önlemek olarak görünmektedir. Endotel hücrelerine selektif etki gösteren anjiyogenez inhibitörleriyle yapılan çalışmalarda, kemik iliğinde baskılanma, gastrointestinal sistemle ilgili şikayetler veya saç kaybına neden olma tarzında kemoterapötiklerle yapılan tedavilerde oldukça sık görülen yan etkilerin çok daha az görüldüğü tespit edilmiştir.

Diğer taraftan, antianjiyogenez tedavisinin optimal düzeyde faydalı olabilmesi için aylar hatta yıllar gerekebilmektedir çünkü, hızla büyüyen kapiller yatağın küçültülmesi işlemi tümör hücrelerinin lizise uğratılması işleminden daha uzun bir süreç gerektirmektedir. Bu nedenle, antianjiyogen tedavi konvansiyonel sitotoksik tedavilerin aksine kesintisiz uzun süreli bir tedaviyi gerektirir. Sitotoksik tedavi ile elde edilen kısmi ya da tam yanıtlar, anjiyogenez inhibitörleriyle özellikle de tek başlarına kullanıldıklarında görülmeyebilir. Bu durumda tedavi için uzun süreye gerek olacaktır.

Bir diğer nokta, bugüne kadar anjiyogenez inhibitörleriyle yapılmış olan klinik veya hayvan çalışmalarında bu ilaçlara karşı direnç gelişimi önemli bir sorun teşkil etmemiştir. Mediasten veya karaciğerdeki büyük hemanjiyomlar interferon- $\alpha$  2a ile gün aşırı olmak kaydıyla bir yıl süreyle tedavi edilmesine rağmen ilaç rezistansı gelişmemiştir.

Antianjiyogen ve sitotoksik tedavinin kombine kullanılması tek olmalarına göre daha etkin olarak bulunmuştur.

Sonuç olarak şunlar söylenebilir:

■ Damarlanması fazla olan tümörlerin anjiyogenez inhibitörleri ile tedaviden daha fazla fayda görebildiğine inanılmaktadır.

■ Büyük çaplı tümörlerin (>2-3 cm) antianjiyogenlerle tedavi edilmesi yoluna gidilmemesi söylenmektedir.

■ Antianjiyogen tedavi ile benign tümörlerin değil de sadece malign tümörlerin tedavi edilmesi tavsiye edilmekte olup tüm bu öneriler halen spekülatif düzeydedir.

Tümör büyümesinin anjiyogeneze bağımlı olduğu 1971'lerden itibaren (39) bildirilmiştir. Yapılan laboratuvar çalışmalarının yakın bir gelecekte klinik düzeylerde de yaygınlaşması ümit edilmektedir.

### **KAYNAKLAR**

1. Battegay EJ. Angiogenesis: mechanistic insights, neovascular diseases, and therapeutic prospects. *J Mol Med* 1995; 73(7):333-46.
2. Fotsis T, Zhang Y, Pepper MS, Adlercreutz H, Montesano R, Nawroth PP, Schweigerer L. The endogenous oestrogen metabolite 2-methoxyoestradiol inhibits angiogenesis and suppresses tumor growth. *Nature* 1994; 368 (6468): 237-239.
3. Billington DC. Angiogenesis and its inhibition: potential new therapies in oncology and non-neoplastic diseases. *Drug Des Discov* 1991, 8(1):3-35.
4. Kenyon BM, Voest EE, Chen CC. A model of angiogenesis in the mouse cornea. *Invest Ophthalmol Visual Sci.* 1996; 37:1625.
5. Maione TE, Gray GS, Petro J, Hunt AJ, Donner A1, Bauer BI, Carson HF, Sharpe RJ. Inhibition of angiogenesis by recombinant human platelet factor-4 and related peptides. *Science* 1990; 247:77.
6. Rastinnejad F, Polverini P, Bouck NP. Regulation of the activity of a new inhibitor of angiogenesis by a cancer suppressor gene. *Cell* 1989, 56:345.
7. Clapp C, Martial JA, Guzman RC, Rentier-Delure F, Wiener RI. The 16-kilodalton N-terminal fragment of human prolactin is a potent inhibitor of angiogenesis. *Endocrinology* 1993, 133:1292.
8. Sidky YA, Borden EC. Inhibition of angiogenesis by interferons: Effects on tumor and lymphocyte-induced vascular responses. *Cancer Res* 1987, 47:5155.

9. Murphy AN, Unsworth E, Stetler-Stevenson W. Tissue inhibitor of metalloproteinase-2 (TIMP-2) inhibits  $\beta$ -FGF-induced human microvascular endothelial cell proliferation. *J Cell Physiol* 1993, 157:351.
10. Jackson D, Volpert O, Bouck N, Linzer DIH. Stimulation and inhibition of angiogenesis by placental proliferin and proliferin related protein. *Science* 1994, 266:1581.
11. Voest EE, Kenyon BM, O'Reilly MS, Truitt G, D'Amato RJ, Folkman J. Inhibition of angiogenesis in vivo by interleukin 12. *J Natl Cancer Inst* 1995, 87:581.
12. O'Reilly MS, Holmgren L, Chen C, Folkman J. Angiostatin induces and sustains dormancy of human primary tumors in mice. *Nature Med* 1996; 2:689.
13. Folkman J. Tumor angiogenesis therapeutic implications. *N Engl J Med* 1971; 286:1182.
14. Folkman J. Anti-angiogenesis: new concept for therapy of solid tumors. *Ann Surg* 1972; 175:408.
15. Taylor S, Folkman J. Protamine is an inhibitor of angiogenesis. *Nature* 1982, 297:307.
16. Folkman J, Langer R, Linhardt R, Haudenschild C, Taylor S. Angiogenesis inhibition and tumor regression caused by heparin or a heparin fragment in the presence of cortisone. *Science* 1983, 221:719.
17. Ingber DM, Fujita T, Kishimoto S, Sudo K, Kanamaru T, Brem H, Folkman J. Synthetic analogues of fumagillin that inhibit angiogenesis and suppress tumor growth. *Nature* 1990, 348:555.
18. Auerbach W, Auerbach R. Angiogenesis inhibitions: a review. *Pharmacol Therap* 1994, 63:26.
19. *Drug and Market Development* 1995, 6:218.
20. White CW, Sondheimer HM, Crouch EC, Wilson H, Fan LL. Treatment of pulmonary hemangiomas with recombinant interferon alfa-2a. *New Engl J Med* 1989, 320:1197.
21. Folkman J. Successful treatment of an angiogenic disease. *New Engl J Med* 1989; 320:1211.
22. Orchar PJ, Smith CH, Woods WG, Day DL, Dehner LP, Shapiro R. Treatment of hemangioendotheliomas with alfa interferon. *Lancet* 1989, 2:565.
23. Ezekowitz RA, Mulliken JB, Folkman J. Interferon alfa-2a therapy for life-threatening hemangiomas of infancy. *New Engl J Med* 1992; 326:1456.
24. Ohlms LA, Jones DT, Mc Gill TJI, Healy GB. Interferon alfa-2a therapy for airway hemangiomas. *Ann Otolaryngology, Rhinology, Laryngology* 1994; 103:1.
25. Takahashi K, Mulliken JB, Kozakewich HPW, Rogers LA, Folkman J, Ezekowitz RAB. Cellular markers that distinguish the phases of hemangioma during infancy and childhood. *J Clin Invest* 1994; 93:2357.
26. Nguyen M, Watanabe H, Budson AE, Richie JP, Hayes DF, Folkman J. Elevated fibroblast growth factor, in the urine of patients with a wide spectrum of cancers. *J Natl Cancer Inst* 1994; 86:356.
27. Dinney CPN, Eve BY, Fidler IJ. Inhibition of basic FGF expression by human transitional cell carcinoma following exposure to interferon alfa. (Abstract 3870) *Proc Am Assoc Cancer Res* 1996, 37:56.
28. Stepien H, Grochal M, Zielinsky Kw, Mucha S, Kunert-Radak J, Kulig A, Stavouy A, Pisarek h. Inhibitory effects of fumagillin and its analogue TNP-470 on the function, morphology and angiogenesis of an oestrogen-induced prolactinoma in Fisher 344 rats. *J Endocrinol* 1996, 150(1): 99-106.
29. Kusaka M, Sudo K, Fujita T, Marui S, Itoh F, Ingber D, Folkman J. Potent angiogenic action of AGM-1470: comparison to the fumagillin parent. *Biochem Biophys Res Commun* 1991; 174:1070.
30. Korno H, Tanaka T, Matsuda I, Kanai T, Maruo Y, Nishin N, Nakamura S, Bala S. Comparison of the inhibitory effect of the angiogenesis inhibitor TNP-470 and mitomycin-C on the growth and liver metastasis of human colon cancer. *Int J cancer* 1995; 61(2):268-71.
31. Harris AL, Fox S, Bicknell R, Lee R, Relf M, Le Jeune S, Kaklamanis L. Gene therapy through signal transduction pathways and angiogenic growth factors as therapeutic targets in breast cancer. *Cancer* 1994; 73(Suppl):1021-5.
32. Sledge GW Jr. Implications of the new biology for therapy in breast cancer. *Semin Oncol* 1996; 23 (1 Suppl 2):76-81.
33. Taylor S, Folkman J. Protamine: an angiogenesis inhibitor. *Nature* 1982; 297:307.
34. Folkman J, Langer R, Linhardt RJ, Haudenschild C, Taylor S. Angiogenesis inhibition and tumor regression caused by heparin in the presence of cortisone. *Science* 1983; 221:719-25.
35. Wong J, Wang N, Miller JW, Schuman JS. Modulation of human fibroblast activity by selected angiogenesis inhibitors. *Exp Eye Res* 1994; 58(4):439-51.
36. O'Reilly MS, Holmgren L, Shing Y, Chen V, Rosenthal RA, Moses M, Lane WS, Cao Y, Sage EH, Folkman J. Angiostatin: a novel angiogenesis inhibitor that mediates the suppression of metastases by a Lewis lung carcinoma. *Cell* 1994; 79:315.
37. Tanaka NG, Sakamoto N, Inoue K, Korenaga H, Kakoya S, Ogawa H, Osada Y. Antitumor effects of an antiangiogenic polysaccharide from an *Arthrobacter* species with or without a steroid. *Cancer Res* 1989, 49:6727-30.
38. Tulpule A, Snyder JC, Espina BM. A phase I study of Tecogalan, a novel angiogenesis inhibitor in the treatment of AIDS-related Kaposi's sarcoma and solid tumors. *Blood* 1994; 84:248.
39. Folkman J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications. *N Engl J Med* 1971; 285:1182.