

令和 2 年 6 月 26 日現在

機関番号：32620

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K09941

研究課題名(和文)白血病・リンパ腫病態における血管ニッチの機能解明

研究課題名(英文) Roles of vascular niche in pathophysiology of leukemia and lymphoma

研究代表者

服部 浩一 (Hattori, Koichi)

順天堂大学・医学(系)研究科(研究院)・特任先任准教授

研究者番号：10360116

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は、白血病・リンパ腫を中心とした血液腫瘍性疾患、またその関連疾患における、血管内皮を中心とした微小環境 血管ニッチによる病態制御機構の解明である。研究代表者らは、腫瘍性疾患、炎症性疾患の疾患モデルを確立し、血液線維素溶解系因子や、マトリックスメタロプロテアーゼ、またepidermal growth factor like-domain 7(Egfl7)等の血管新生因子、成長因子によって構成され、臓器組織特異的な発現パターンを有する血管内皮由来のアンジオクリン因子群が、ニッチを構成する免疫系、間葉系細胞との相互作用を通じて、腫瘍細胞増殖や、異常血管新生を制御していることを示唆した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の学術的意義として、アンジオクリン因子が、白血病・リンパ腫、そしてこれらの関連疾患の病態において果たす役割を明らかにしたこと、そしてこれを通じて、血管内皮を中心とした複数の系統細胞の相互連関 - 血管ニッチによるホメオスタシス維持機構をアンジオクリンシステムと捉え、多くの生命現象、疾患病態を血管内皮障害の視点から解明したことが挙げられる。さらに、社会的意義の観点から、本研究で得られた知見を基礎として、白血病・リンパ腫などの血液腫瘍性疾患、炎症性疾患に対するアンジオクリン因子を標的とした新しい分子療法の可能性を研究成果として提示できたことは、社会への還元性を有した重要な研究と評価できる。

研究成果の概要(英文)：In this study, we evaluate the roles of vascular niche including tumor endothelial cells for hematological malignancies (leukemia, lymphoma, and related diseases), and during inflammatory disease progression. Here, we could establish a murine model of hematological malignancies and inflammatory diseases and suggest tissue-specific endothelium establishes specialized vascular niches that deploy sets of fibrinolytic factors matrix metalloproteinases, angiogenic and growth factors like epidermal growth factor like-domain 7 (Egfl7), known as angiocrine factors are distributed by organ-specific endothelium. Additionally, we could show these cues participate actively in the induction, specification, patterning, and guidance of tumor and inflammatory diseases progression and severity, as well as in the maintenance of homeostasis and metabolism through the crosstalk between endothelial cells and mesenchymal or hematological lineage cells driven by cytokines and chemokines.

研究分野：血液学、腫瘍学、免疫学、幹細胞生物学

キーワード：細胞・組織 生体分子 シグナル伝達 免疫制御学 血管内皮 アンジオクリン因子

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

研究代表者らは、これまでの研究で、骨髄中の造血幹細胞には、骨内膜と血管内皮近傍の二つの至適微小環境(ニッチ)が存在し、静止期から脱した細胞には、血管ニッチに局在する傾向があることを見出した。また代表者らは、これに続く基盤研究の一連の研究課題、「血小板増多に伴う腫瘍増殖機序の解析(血管新生スイッチの探索)」、「巨核球系細胞の白血病・リンパ腫増殖機構における機能解析」、「血液凝固・線維素溶解系(線溶系)の白血病・リンパ腫病態における機能解析」を通じて、白血病・リンパ腫の病態における血管内皮から産生される凝固・線維素溶解系(線溶系)因子の重要性、また post-natal(出生後) な状況下における造血と血管新生の密接な相互作用の存在等を明らかにしてきた(Avecilla S\*, Hattori K\*. et al. Nat Med. 10: 64-71. 2004)。加えて応募者らは、ケモカインや血管新生因子によるマトリックスメタロプロテアーゼ(MMP)の活性化に伴い、末梢組織中に動員された骨髄由来のアンジオサイトを中心とした腫瘍増殖や組織再生の基盤となる血管新生ニッチが形成されることを明らかにした(Jin DK et al. Nat Med. 12: 557-567. 2006)。これらの研究成果は、造血系細胞と血管内皮系細胞が、常に何らかの相互作用を有し、組織再生や腫瘍増殖といった生命現象を構成していることを示唆している分担者らは、これまでの研究で、骨髄中の血管周囲に、造血幹細胞の至適微小環境(ニッチ)、いわゆる「Vascular niche-血管ニッチ」が存在し、骨芽細胞周囲に存在する「骨内膜ニッチ」と共に、造血幹細胞の性状変化に応じた局在の可能性、さらに血管内皮細胞の造血幹細胞のニッチ構成分子としての重要性、造血制御機構への関与を報告した。その後の研究で、研究協力者でもある米国コーネル大学の Rafii らは、血管内皮細胞が、Akt と MAP キナーゼとの活性化バランスによるアンジオクリン因子の発現調節により、造血幹細胞動態を制御していること、さらに血管内皮細胞が、臍帯血由来の造血幹細胞や造血前駆細胞のニッチ細胞として機能していること等を報告した。さらに、最近、ヒト由来の臍帯血静脈由来の血管内皮細胞に Runx1 や Fosb 等の転写因子を遺伝子導入することにより、細胞リプログラミングを誘導し、造血系細胞を産生させることにも成功している。これらの事実は、造血幹細胞の生体内動態が、血管内皮細胞との相互作用によって制御されていることを示唆している代表者らは、昨年度までの基盤研究「アンジオクリン分子シグナルの白血病・リンパ腫病態における機能解明」の遂行過程で、アンジオクリン分子に属する一部の MMP が転写因子 Hes-1 との相互作用を有し、Kit-ligand のプロセッシングを介し、慢性骨髄性白血病の急性転化病態を制御していること(Nakahara F. et al. Blood. 123:3932-3942. 2014)、また同じくアンジオクリン分子に属する線溶系因子が、間葉系幹細胞、ストローマ細胞との相互作用、血管ニッチを通じた造血制御、そして白血病・リンパ腫の病態形成に関与していることを示唆した(Dhahri D. et al. Blood. 128:1063-1075. 2016, Heissig B et al. Cell Mol Life Sci. 72: 4759-4770. 2015)。加えて応募者らは、炎症性腸疾患の疾患モデルにおいて、アンジオクリン分子の産生分泌による造血刺激が免疫炎症反応を修飾していること、骨髄と消化管の間の血管内皮を介した臓器間相互作用—インタークライニンシグナルの存在の可能性を提示した (Munakata S. et al. Gastroenterology. 148:565-578. 2015)。

近年、血管ニッチが、Notch2 下流のシグナルを活性化するフィードフォワード機構を通じた白血病・リンパ腫細胞の悪性化に関与していることも報告されている(Cao Z. et al. Cancer Cell. 25:350-365. 2014)。しかしながら、血管ニッチの疾患特異的な構成や機能の詳細、またその治療応用、さらにインタークライニンシステムの存在の解明は、今後の研究課題となっている。

### 2. 研究の目的

前年度までの研究成果の考察からも、白血病・リンパ腫病態の正確な理解には、アンジオクリン分子の供給源となる血管内皮、そして血管内皮以外の他系統細胞の動態、さらにこれらの細胞によって構成される血管ニッチの器質的かつ機能的解明が必須と考えられる。また近年、血管ニッチについては、腫瘍臓器間の血管内皮を介した相互作用—インタークライニンシステムを制御しているとの仮説が提示されている。本研究では、白血病・リンパ腫病態を中心に、生体のストレス応答機構を制御する血管ニッチ—疾患特異的血管ニッチの構成、そしてその形成機序、悪性化の過程における機能解明を主目的とし、ここに二つの課題を設定する。**【第1の課題】**として、腫瘍と骨髄をはじめとする臓器組織との間に、血管内皮を通じた相互作用—インタークライニンシステムが存在することを明らかにする。さらに、これを基礎とした**【第2の課題】**として、血管ニッチあるいはインタークライニンシグナル構成分子を標的とした白血病・リンパ腫、あるいは各種炎症性疾患に対する新しい疾患治療法開発の基盤形成を進め、研究期間内に、その可能性の明確な提示までを行うこととした。

### 3. 研究の方法

本研究では**【課題1, 2】**に対し各年度に①~③のテーマを設定した。期間内に白血病・リンパ腫における血管ニッチの形成過程、構成や機能を明らかにし、分子療法開発の基盤形成を進

める計画である。疾患動物モデルの作製と患者検体の採取から、標本を集積し、さらにこれらの免疫学的及び病理学的な手法による解析を通じて、疾患特異的なニッチの形成、構成成分の変化、さらに採取細胞性状の変化と疾患病勢との相関性を精査する。また、薬剤や分子生物学的手法による血管内皮特異的なアンジオクリン分子群の発現調節が、生体内外の白血病・リンパ腫細胞の増殖状況、疾患病勢へ与える影響を評価検討する。さらに本研究成果を中心に、国内外での学会での発表や、国際誌総説での発表を通じた情報発信を、より積極的に行っていくことを計画した。

#### 4. 研究成果

昨年度までの研究で、代表者らは、tPA等の線溶系因子や、膜型MMPを含むプロテアーゼ、またepidermal growth factor like-domain 7(Egfl7)等の血管新生因子、成長因子によって構成される血管内皮系細胞由来のアンジオクリン因子群と、造血幹細胞、炎症性細胞を含む造血系細胞、間葉系細胞から分泌・産生される各種サイトカイン、増殖因子との相補的な発現、産生調節を通じて、血管内皮系細胞と造血幹細胞、炎症性細胞、そして間葉系幹細胞との各種細胞間で密接な相互作用を有し、白血病・リンパ腫増殖に伴う異常血管新生、そして形成される血管ニッチとの相互作用が、腫瘍増殖、関連病態、慢性炎症等の病態を制御する、疾患におけるアンジオクリンシステム存在とその機能を示唆した。

特に今年度の研究では、代表者らは、胸腺中の血管内皮から分泌されるepidermal growth factor like-domain 7(Egfl7)が、Flt3/Flt3 ligandシグナルの活性化を通じて、T細胞の成熟・分化、増殖を制御し、炎症惹起、腫瘍増殖に伴う免疫系細胞の動態に直接的に関与していることを明らかにした。また代表者らは、多発性骨髄腫の疾患動物モデルの解析により、異常血管新生から産生されるtPAをはじめとするアンジオクリン因子群による造血系細胞、炎症性細胞の増殖と動員、tPAの受容体low density lipoprotein related protein-1(LRP1)によるtPA/LRP1シグナルによるMMP、プロテアーゼによる増殖因子、炎症性サイトカインプロセッシングによる腫瘍増殖、腫瘍関連疾患、慢性炎症の上方制御のメカニズムについて論文報告した。

代表者らは、現在、こうした疾患モデルで得られたデータを確認すべく、臨床応用に向けた患者検体の解析と各科と連携したトランスレーショナルリサーチの準備に着手している。そしてアンジオクリン因子を新しい標的とした分子療法の研究基盤形成を、鋭利、計画、遂行へと進めている。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 11件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 1. Heissig B, Salama Y, Shimazu H, Takahashi S, Osada T and Hattori K	4. 巻 -
2. 論文標題 The multifaceted role of plasminogen in cancer and inflammation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cell Signal.	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 3. Salama Y, Andries H, Yokoyama K, Takahashi S Hattori K and Heissig B	4. 巻 -
2. 論文標題 The EGFL7-ITGB3-KLF2 axis enhances survival of multiple myeloma in preclinical models. Blood Adv. in press	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Blood Adv	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） doi: 10.1182/bloodadvances.2019001002	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 2. Sato-Okabayashi Y, Isoda K, Heissig B, Kadoguchi T, Akita K, Kitamura K, Shimada K, Hattori K and Daida H	4. 巻 -
2. 論文標題 Low-dose oral cyclophosphamide therapy reduces atherosclerosis progression decreasing inflammatory cells in a murine model of atherosclerosis by decreasing inflammatory cells in a murine model of atherosclerosis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 IJC Heart Vasc.	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Salama Yousef, Lin Shiou-Yuh, Dhahri Douaa, Hattori Koichi, Heissig Beate	4. 巻 33
2. 論文標題 The fibrinolytic factor tPA drives LRP1-mediated melanoma growth and metastasis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The FASEB Journal	6. 最初と最後の頁 3465 ~ 3480
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1096/fj.201801339RRR	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Salama Y, Hattori K, Heissig B.	4. 巻 490
2. 論文標題 The angiogenic factor Egfl7 alters thymogenesis by activating Flt3 signaling.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Biochem Biophys Res Commun.	6. 最初と最後の頁 209-216.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2017.06.023. Epub 2017 Jun 8.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Eiamboonsert S, Salama Y, Watarai H, Dhahri D, Tsuda Y, Okada Y, Hattori K, Heissig B.	4. 巻 488
2. 論文標題 The role of plasmin in the pathogenesis of murine multiple myeloma.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Biochem Biophys Res Commun.	6. 最初と最後の頁 387-392.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2017.05.062. Epub 2017 May 10.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Shimazu H, Munakata S, Tashiro Y, Salama Y, Dhahri D, Eiamboonsert S, Ota Y, Onoda H, Tsuda Y, Okada Y, Nakauchi H, Heissig B, Hattori K.	4. 巻 130
2. 論文標題 Pharmacological targeting of plasmin prevents lethality in a murine model of macrophage activation syndrome.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Blood	6. 最初と最後の頁 59-72.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1182/blood-2016-09-738096. Epub 2017 Mar 21.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 服部浩一、高橋聡、長田太郎、Heissig Beate	4. 巻 -
2. 論文標題 線溶系と炎症性疾患	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 日本血栓止血学会雑誌	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 長田太郎 野村収 服部浩一	4. 巻 -
2. 論文標題 腸管外合併症に対するGMAの有効性	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 日本アフレーシス学会雑誌	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Honjo K, Munakata S, Tashiro Y, Salama Y, Shimazu H, Eiamboonsert S, Dhahri D, Ichimura A, Dan T, Miyata T, Takeda K, Sakamoto K, Hattori K, Heissig B.	4. 巻 31
2. 論文標題 Plasminogen activator inhibitor-1 regulates macrophage-dependent postoperative adhesion by enhancing EGF-HER1 signaling in mice.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 FASEB J.	6. 最初と最後の頁 2625-2637.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1096/fj.201600871RR. Epub 2017 Mar 7.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 服部浩一	4. 巻 28
2. 論文標題 炎症性腸疾患と血液線維素溶解系	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 日本血栓止血学会雑誌	6. 最初と最後の頁 618-622.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) <a href="https://doi.org/10.2491/jjsth.28.589">https://doi.org/10.2491/jjsth.28.589</a>	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計9件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 4件)

1. 発表者名 Koichi Hattori
2. 発表標題 HSC expansion and mobilization from bone marrow niche
3. 学会等名 JOINT WORK SHOP NORWAY AND JAPAN IN REGENERATIVE MEDICINE (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 服部浩一, 高橋聡, Heissig Beate
2. 発表標題 臓器特異的血管内皮によるアンジオクラインシステム制御機構の解明
3. 学会等名 第19回日本再生医療学会総会
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 服部浩一, 高橋聡, Heissig Beate
2. 発表標題 アンジオクラインシステムによる組織修復とリモデリング制御機構
3. 学会等名 第18回日本再生医療学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hattori K, Takahashi S and Heissig B
2. 発表標題 Angiocrine system regulates macrophage -dependent aberrant tissue repair and remodeling
3. 学会等名 第80回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 服部浩一, Heissig Beate, 高橋聡
2. 発表標題 アンジオクラインシステムによるGVHD病態制御機構の解明
3. 学会等名 第10回日本血液疾患免疫療法学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 服部浩一、高橋聡、Heissig Beate.
2. 発表標題 アンジオクライン因子による間葉系幹細胞動態
3. 学会等名 第17回日本再生医療学会（国際学会）
4. 発表年 2018年～2019年

1. 発表者名 Shimazu H. Tashiro Y. Nakauchi H. Heissig B, Hattori K.
2. 発表標題 Functional analysis of the fibrinolytic system in the pathogenesis of hemophagocytic syndrome.
3. 学会等名 第79回日本血液学会学術集会（国際学会）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Hattori K, Takahashi S and Heissig B.
2. 発表標題 Angiocrine factors expand mesenchymal stromal cells n bone marrow niche.
3. 学会等名 第79回日本血液学会学術集会（国際学会）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Shimazu H, Munakata S, Tashiro Y, Salama Y, Eiamboonser S, Ohta Y, Onoda H, Tsuda Y, Okada Y, Nakauchi H, Heissig B and Hattori K.
2. 発表標題 Pharmacological targeting of plasmin prevents lethality and tissue damage in a murine model of macrophage activation syndrome.
3. 学会等名 第13回麒麟塾,
4. 発表年 2017年



〔図書〕 計1件

1. 著者名 多田昇弘、田中光一、大塚正人、平原 潔、服部浩一(全著者数87名、59番目)	4. 発行年 2017年
2. 出版社 技術情報協会	5. 総ページ数 428
3. 書名 動物 / 疾患モデルの 作製技術・病態解析・評価手法	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	ラフィー  (Rafii Shahin)		
連携研究者	高橋 聡  (Takahashi Satoshi)  (60226834)	東京大学・医科学研究所・准教授   (12601)	
連携研究者	ハイジッヒ ベアーテ  (Heissig Beate)  (30372931)	順天堂大学・免疫診断学・特任准教授   (32620)	