

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 29 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23591371

研究課題名(和文) 血液凝固・線維素溶解系の白血病・リンパ腫病態における機能解析

研究課題名(英文) The coagulation and the fibrinolytic system are essential drivers in the pathogenesis of leukemia and lymphoma

研究代表者

服部 浩一 (Hattori, Koichi)

東京大学・医科学研究所・特任准教授

研究者番号：10360116

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円、(間接経費) 1,170,000円

研究成果の概要(和文)：本研究で、研究代表者らは、凝固・血液線維素溶解系(線溶系)因子に代表されるセリンプロテアーゼや、膜型あるいは可溶性マトリックスメタロプロテイナーゼ(MMP)等の各種プロテアーゼの活性化を起点として、骨髄由来の造血系細胞群の腫瘍組織への動員が誘導され、そして白血病・リンパ腫をはじめとするがん組織微小環境「悪性ニッチ」の構成・形成を通じて、腫瘍性疾患の病態を制御していることを示唆した。また本研究を通じて、研究代表者らは、線溶系阻害剤によるMMP活性と腫瘍増殖の抑制に成功し、白血病・リンパ腫を含めたがん・腫瘍性疾患に対する、線溶系因子を標的とした、新しい分子療法の可能性と有用性を提示した。

研究成果の概要(英文)：The main coagulation and fibrinolytic factor plasmin, which is derived from its proform plasminogen (Plg) and one of its downstream targets, matrix metalloproteinases (MMP), have been linked to various malignancies. Here, we provide the evidence that blockade of plasmin reduces lymphoma growth by inhibiting MMP-dependent recruitment of bone marrow derived CD11b+ cells locally within the lymphoma tissue. Genetic Plg deficiency and drug-mediated plasmin blockade delayed lymphoma growth and diminished MMP-dependent marrow derived CD11b+ cell infiltration into lymphoma tissues and formation of malignant niche. We could show that CD11b+ cells play key a role in the growth of lymphoma and the other malignancies through malignant niche formation. Collectively, our data demonstrate a previously undescribed role of fibrinolytic system in tumor growth and provide strong evidence that specific blockade of plasmin a promising approach for the cancer treatments.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・血液内科学

キーワード：血液内科学 癌 酵素 生体分子 生理活性 発生・分化

1. 研究開始当初の背景

研究代表者らはこれまでに、ケモカイン、サイトカイン、血管新生因子の多くが、骨髄ストローマに存在するマトリックスメタロプロテイナーゼ(MMP)を活性化し、各種造血因子の可溶型から分泌型へのプロセッシングを促進し、骨髄細胞の分化と増殖、そして末梢組織への動員へ至るプロセスを解明してきた。また代表者らは、止血機構の中核を担い、血液凝固系分子の供給源ともなる血小板及び巨核球系細胞の増殖因子トロンボポイエチン(TPO)とその受容体である c-mpl 遺伝子欠損マウスの解析から、TPO/c-mpl シグナル以外に CXCL12 や fibroblast growth factor-4(FGF-4)等の生体因子が、巨核球の成熟分化や血小板増加を促進することを示唆した他、この際の「血管ニッチ」への細胞移動、VE カドヘリンによる血管内皮との結合の重要性を示唆した。

これに前後して、白血病・リンパ腫を含むがんの組織微小環境から CXCL12 が供給され、MMP の活性化を介し、病的な血管新生が促進されること、さらに一部の白血病細胞が、こうした微小環境に潜伏してやはり MMP の活性化を介し造血因子を産生することにより、白血病細胞増殖の基礎となる「悪性ニッチ」の形成に関与していることが、報告された。これらの事象は、いずれも止血・凝固系と MMP の活性化が、何らかの相互作用を有しながら、白血病・リンパ腫病態の形成に関与していることを示唆している。

一方、止血・凝固系と密接な関連性を有する血液線維素溶解系(線溶系)因子が、白血病・リンパ腫の病態で異常に増加するケースも数多く報告されている。近年、応募者らは生体内の MMP の活性化が、止血・凝固系と密接な関係を有する線溶系の主要な因子であるプラスミンの生成によって制御されていることを明らかにし、最近になって骨髄細胞の分化増殖、さらに血小板を含む骨髄由来細胞の動員と血管新生を介した生体各種組織の再生がプラスミノゲンの活性化によって促進されることを報告した。これらの研究を通じ、組織再生の極初期、傷害部位や骨髄の造血幹細胞ニッチの近傍にフィブリン沈着が先行することを見出しており、こうした実験結果は、止血・凝固機構の活性化が、プラスミン生成、MMP の活性化等を介し、白血病・リンパ腫の病態において、腫瘍細胞増殖の起点となっていることを示唆するものと考え、本研究課題の立案に至った。

2. 研究の目的

代表者らは、これまでの研究で、腫瘍増殖の主要な制御因子の一つである MMP の活性化が、止血・凝固系と密接に関係する線溶系因子プラスミンの生成によって制御されてい

ること、さらに止血機構を構成する血小板・巨核球系細胞の成熟分化が MMP 活性化によって制御されていること、さらにこれらの細胞が生体内血管新生を誘導する作用を有することを明らかにした。これらの研究成果から、凝固・線溶系の活性化が、MMP の活性化、骨髄由来細胞動員によるいわゆる「悪性ニッチ」の形成を介し、白血病・リンパ腫細胞の生体内での増殖を助長するとの仮説に至った。本研究では、白血病・リンパ腫病態における凝固・線溶系活性化の意義とその機序を明らかにすることを主目的とし、ここで得られた知見を基礎として、凝固・線溶系因子を標的とした白血病・リンパ腫に対する新規分子療法開発の基盤形成までをその目的の範疇と定める。

3. 研究の方法

本研究では、一部大学院生の助力を予定しているが、基本的には研究代表者自身が単独で行うこととする。平成 23 年度については、線溶系あるいは凝固系因子の遺伝子欠損マウス及びこれらの野生型について白血病・リンパ腫モデルを作製し、これらにマウス腫瘍の移植後の増殖状況、とこれに応じた骨髄、末梢血の細胞数及び構成の変化、血中のケモカイン、サイトカイン、血管新生因子、また各種プロテアーゼ活性等の生体因子量、さらに腫瘍及び諸臓器病理組織、免疫特殊染色の各所見を各群間で比較する。平成 24 年度は、ここで確立された白血病・リンパ腫モデルに対し、当方が作製に関与した新規の凝固・線溶系阻害剤の有効性を検討する。平成 25 年度には、各種凝固・線溶系因の他、各種 MMP、Kit-ligand 等の造血因子の遺伝子欠損マウスまたは特定の血球系が欠損した遺伝子改変マウスの白血病・リンパ腫モデルに凝固・線溶系阻害剤を使用し、これら薬剤の作用機序、さらにはその毒性・安全性についても精査定める予定である。

4. 研究成果

本研究で、研究代表者らは、凝固・線溶系因子に代表されるセリンプロテアーゼや、膜型あるいは可溶型MMP等の各種プロテアーゼの活性化を起点として、骨髄由来の造血系細胞群の腫瘍組織への動員が誘導され、そして白血病・リンパ腫をはじめとするがん組織微小環境—「悪性ニッチ」の構成・形成を通じて、腫瘍性疾患の病態を制御していることを示唆した。また本研究を通じて、研究代表者らは、線溶系阻害剤によるMMP活性と腫瘍増殖の抑制に成功し、白血病・リンパ腫を含めたがん・腫瘍性疾患に対する、線溶系因子を標的とした、新しい分子療法の可能性と有用性を提示した。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計6件)

1. Caiado F, Carvalho T, Rosa I, Remedio L, Costa A, Matos J, Heissig B, Yagita H, Hattori K, da Silva JP, Fidalgo P, Dias Pereira A, Dias S. Bonemarrow-derived CD11b+Jagged-2+ cells promote epithelial to mesenchymal transition and metastization in colorectal cancer. *Cancer Res.*2013 ;73(14)4233-46
DOI.10.1158/0008-5472.CAN-13-0085
2. Nishida C, Kusubata K, Tashiro Y, Gritli I, Sato A, Ohki-Koizumi M, Morita Y, Nagano M, Sakamoto T, Koshikawa N, Kuchimaru T, Kizaka-Kondoh S, Seiki M, Nakauchi H, Heissig B, and Hattori K. :MT1-MMP plays a critical role in hematopoiesis by regulating HIF-mediated chemo-/cytokine gene transcription within niche cells. *Blood.*119(23)5405-5416. 2012 .
DOI.10.1182/blood-2011-11-390849.
3. Tashiro Y, Nishida C, Sato-Kusubata K, Ohki-Koizumi M, Ishihara M, Sato A, Gritli I, Komiyama H, Sato Y, Tomiki Y, Sakamoto H, Dan T, Miyata T, Okumura K, Nakauchi H, Heissig B, and Hattori K: Inhibition of PAI-1 induces neutrophil-driven neoangiogenesis and promotes tissue regeneration via production of angiocrine factors in mice. *Blood.*119(26) 6382-6393. 2012
DOI. 10.1182/blood-2011-12-399659.
4. Okaji Y, Tashiro Y, Gritli I, Nishida C, Sato A, Ueno Y, Del Canto Gonzalez S, Ohki-Koizumi M, Akiyama H, Nakauchi H, Heissig B, *Hattori K: Plasminogen deficiency attenuates post-natal erythropoiesis in male

C57BL/6 mice through decreased activity of the LH-testosterone axis. *Exp Hematol*, Vol 40,143-154,2012
DOI. 10.1016/j.exphem.2011.10.008

5. Ishihara M, Nishida C, Tashiro Y, Gritli I, Rosenkvist J, Koizumi M, Yamamoto R, Yagita H, Okumura K, Nishikori M, Wanaka K, Tsuda Y, Okada Y, Nakauchi H, Heissig B, Hattori K., Plasmin inhibitor reduces T-cell lymphoid tumor growth by suppressing matrix metalloproteinase-9-dependent CD11b+/F4/80+ myeloid cell recruitment .*Leukemia*, 26.332-339.2012
DOI. 10.1038/leu.2011.203
6. Piao JH, Hasegawa M, Heissig B, Hattori K, Takeda K, Iwakura Y, Okumura K, Inohara N, Nakano H: Tumor necrosis receptor-associated factor (Traf)2 controls homeostasis of the colon to prevent spontaneous development of murine inflammatory bowel disease, *J Biol Chem*, (151: 17879-17888, 2011)
DOI. 10.1074/jbc.P111.221853

〔学会発表〕(計43件)

1. Hattori K: Protease activation triggers the process of tissue regeneration .The 8 th International Symposium of the Institute Network. (招待講演) 芝蘭会館、京都市 2013.6. 28
2. Sato A.Heissig B.Hattori K, Pharmacological Targeting of Plasmin Prevents Inflammatory Diseases Like Septic Shock and Acute Graft-versus-host Disease XIVth International Workshop Molecular & Cellular Biology of Plasminogen Activation,

- University of Notre Dame Indiana USA
2013.6.6
3. Nishida C, Sato-Kusubata K, Tashiro Y, Gritli I, Sato A, Ohki-Koizumi M, Morita Y, Nagano M, Sakamoto T, Seiki M, Nakauchi H, Heissig B, Hattori K. MT1-MMP plays a critical role in hematopoiesis by regulating HIF-mediated chemo-/cytokine gene transcription within niche cells, 第 54 回アメリカ血液学会, Georgia World Congress Center Atlanta. 2012.12.9
 4. Nishida C, Sato-Kusubata K, Tashiro Y, Gritli I, Sato A, Ohki-Koizumi M, Morita, Y, Nagano M, Sakamoto T, Seiki M, Nakauchi H, Heissig B, Hattori K: MT1-MMP REGULATES HEMATOPOIESIS THROUGH HIF-MEDIATED CHEMO-/CYTOKINE RELEASE FROM THE BONE MARROW NICHE, 第 10 回国際幹細胞学会, パシフィコ横浜、横浜市、2012.6.16 ポスター
 5. Sato-Kusubata K, Oki-Koizumi M, Heissig B, Hattori K: F-2214-Expansion of Mesenchymal Stem Cells Within The Murine Bone Marrow Niche Requires Activation of The Fibrinolytic Pathway. 第 10 回国際幹細胞学会, パシフィコ横浜、横浜市、2012.6.16
 6. Nishida C, Kusubata K, Tashiro Y, Gritli I, Sato A, Ohki-Koizumi M, Seiki M, Nakauchi H, Heissig B and Hattori K: MT1-MMP Regulates Hematopoiesis Through HIF-Mediated Chemo-/Cytokine Release From the Bone Marrow Niche 53 回アメリカ血液学会 サンディエゴ San Diego Convention Center. 2011.12.10~13
 7. Sato A, Tashiro Y, Nishida C, Gritli I, Kusubata, K, Takahashi S, Nakauchi H, Heissig B, Hattori K: A plasmin Inhibitor Prevents Lethal Acute Graft-Versus-Host Disease in Mice. 53 回アメリカ血液学会 (ASH Abstract Achievement Award 受賞) サンディエゴ San Diego Convention Center. 2011.12.10~13
 8. 宗像慎也、田代良彦、小見山博光、島津浩、佐藤亜紀、西田知恵美、坂本一博、Heissig Beate, 服部浩一: プラスミン阻害剤による炎症性腸疾患に対する腸管上皮保護と再生促進作用、第 13 回日本再生医療学会、京都国際会館、京都、2014.3.5
 9. Salama Y, 西田知恵美、Gritli I, Dhari D, Eiamboonsert S, 中内啓光、Heissig B 服部浩一: EGFL7 recruits quiescent HSCs into active cell cycle and expands HSCs、13 回日本再生医療学会、京都国際会館、京都、2014.3.6
 10. Sato A, Nishida C, Takahashi S, Tojo A, Nakauchi H, Heissig B, Hattori K: Plasmin inhibitor prevents acute graft-versus-host disease、第 75 回日本血液学会学術集会 札幌芸文館 札幌市 2013.10.12
 11. 西田知恵美, Heissig B, 服部浩一. 造血微小環境における MT1-MMP と造血因子の発現調節. 第 9 回麒麟塾, 東京 2013.7.14
 12. 宗像慎也、Heissig B、服部浩一: 炎症性腸疾患における血液凝固・線維素溶解系の機能解明について、第 13 回東京大学生命科学シンポジウム、東京大学、東京都、2013.6.8
 13. 島津浩、Heissig B、服部浩一: 血球貪食症候群における血液線維素溶解系からの機能解析、第 13 回東京大学生命科学シンポジウム、東京大学、東京都、2013.6.8
 14. Dhahri D, Koizumi M, Kusubata k, Nishida C, Hattori K, Heissig B: The expansion of Mesenchymal Stem Cell by

- the fibrinolytic system involves a crosstalk with endothelial cells.平成 25 年度東京大学医科学研究所成果発表会、(第二位)東京、2013.5.31
15. 島津浩, Dhahri D, Salama Y, 宗像慎也, 佐藤亜紀, C, 西田知恵美, Heissig B 服部浩一: Pharmacological targeting of plasmin prevents macrophage activation syndrome in mice.平成 25 年度東京大学医科学研究所成果発表会(第一位)東京、2013.5.31
 16. 宗像慎也, 田代良彦, 島津浩, 西田知恵美, イスマエルグリツリ, 佐藤亜紀, 小泉摩季子, 楠畑かおり, 小見山博光, 坂本一博, 宮田敏男, ハイジツヒペアテ, 服部浩一: PAI-1 阻害剤による血管新生及び組織再生促進療法. 第 113 回日本外科学会定期学術集会, 福岡, 2013.4.11
 17. 西田知恵美, 楠畑かおり, 田代良彦, Gritli I, 佐藤亜紀, 小泉(大木)摩季子, 守田陽平, 長野真, 坂本毅治, 口丸高弘. 近藤科江, 清木元治, 中内啓光, Heissig B, 服部浩一: 造血微小環境における MT1-MMP と造血因子の発現調節. 第 12 回日本再生医療学会, パシフィコ横浜、横浜市、2013.3.22
 18. 田代良彦, 宗像慎也, 西田知恵美, 石原誠人, Gritli I, 島津 浩, 佐藤亜紀, 楠畑かおり, 小泉摩季子, 小見山博光, 坂本一博, 宮田敏夫, 中内啓光, Heissig B, 服部浩一: PAI-1 阻害剤による血管新生及び組織再生促進療法. 第 12 回日本再生医療学会総会, 横浜, 2013.3.22
 19. Gritli I, Nishida C, Sato A, Shimazu H, Munakata S, Heissig B, Hattori K: Recruitment of Hematopoietic Progenitor and Stem Cells is Regulated by the Angiogenic Factor Epidermal Growth Factor- like Domain 7. 第 12 回日本再生医療学会, パシフィコ横浜、横浜市、2013.3.22
 20. 服部浩一: プロテアーゼ活性化を起点とした各種疾患病態制御機構、環境医学研究会、順天堂浦安病院。浦安市、2012.11.30
 21. Nishida C, Sato-Kusubata K, Tashiro Y, Gritli I, Sato A, Ohki-Koizumi M, Morita Y, Nagano M, Sakamoto T, Seiki M, Nakauchi H, Heissig B, Hattori K, MT1-MMP plays a critical role in hematopoiesis by regulating HIF-mediated cytokine gene transcription, 第 74 回日本血液学会, 京都国際会館、京都市、2012.10.20
 22. Sato, A, Nishida C, Gritli I, Sato-Kusubata K, Yagita H, Okumura K, Tsuda Y, Okada Y, Takahashi S, Tojo A, Nakauchi H, Heissig B, Hattori K: Aplasmin inhibitor prevents cytokine mediated inflammatory disease, 第 74 回日本血液学会、京都国際会館、京都市、2012.10.20,
 23. 服部浩一: プロテアーゼ活性化を起点としたがん増殖機構とその制御、お茶の水がんと学アカデミア第 87 回集会、順天堂大学東京都、2012.9.26
 24. Nishida C, Sato-Kusubata K, Tashiro Y, Gritli I, Sato A, Ohki-Koizumi M, Morita Y, Nagano M, Sakamoto T, Seiki M, Nakauchi H, Heissig B, Hattori K, MT1-MMP REGULATES HEMATOPOIESIS THROUGH HIF-MEDIATED CHEMO-/CYTOKINE RELEASE FROM THE BONE MARROW NICHE, 第 12 回東京大学生命科学シンポジウム, 東大 2012.6.30 ポスター
 25. 楠畑かおり, 小泉摩希子, Heissig B, 服部浩一: Expansion of mesenchymal stem cells within the murine bone marrow niche requires activation of the fibrinolytic pathway 第 12 回東京大学生命科学シンポジウム, 東京大学、東京都 2012.6.30 ポスター

-
26. 西田知恵美, 楠畑かおり, 田代良彦, 清木元治, 中内啓光, Heissig, B, 服部浩一: 生体内造血機構における MT1-MMP の機能解析. 第 11 回日本再生医療学会, パシフィコ横浜, 横浜市 2012.6.14 口演
27. 宗像慎也, Heissig B, 服部浩一: 炎症性腸疾患における凝固・繊維素溶解系の機能解明. 平成24年度東京大学医科学研究所研究成果発表会2012.6.1 (第一位)
28. 楠畑かおり, 小泉摩希子, Heissig B, 服部浩一: 血液線維素溶解系の活性化による骨髓間葉系幹細胞の増殖機構の解析. 平成24年度東京大学医科学研究所研究成果発表会2012.6.1 (第三位)
29. 島津浩, Heissig B, 服部浩一: プロテアーゼ活性を起点とした血球貪食症候群の病態解明・新規治療法への展望、平成24年度東京大学医科学研究所研究成果発表会 2012.6.1
30. 服部浩一: プロテアーゼ活性を起点とした造血・組織再生機構、Small Meeting on Hematology、東海大学 伊勢原市、(招待講演) 2012.5.16
31. 服部浩一: 血液線維素溶解系因子による造血系細胞の動態制御機構、第73回日本血液学会、名古屋国際会議場、名古屋市 (招待講演) 2011.10.15
32. 田代良彦, 西田知恵美, イスマイル グリツリ, 小泉摩希子, 佐藤弥生, ハイジッヒ・ベアテ, 服部浩一: 生体内組織再生における線維素溶解系因子PAI-1の機能解明、第73回日本血液学会、名古屋国際会議場、名古屋市2011.10.16
33. Nishida C, Kusubata K, Seiki M, Nakauchi N, Heissig B, Hattori K: MT1-MMP plays a critical role in the modulation of hematopoiesis.、第 73 回日本血液学会、名古屋国際会議場、名古屋市 2011.10.15
34. Sato A, Tashiro Y, Nishida C, Gritli I, Kusubata K, Heissig B, Hattori K: Aplasmin inhibitor prevents lethal acute graft-versus-host disease in mice, 第 73 回日本血液学会、名古屋国際会議場、名古屋市 2011.10.15
35. 服部浩一: リンパ腫に対する骨髄由来細胞動員及びマトリックスメタロプロテイナーゼ活性制御を伴うプラスミン阻害剤の有効性、第70回日本癌学会、名古屋国際会議場、名古屋市 2011.10.3
36. 服部浩一: 血液線維素溶解系と臓器・組織再生・最近の知見. 第4回臓器保護と治療研究会 長岡会館、仙台市 (招待講演) 2011.9.26
- [産業財産権]
出願状況 (計 1 件)
- 名称: 炎症性疾患治療剤
発明者: 服部浩一 津田裕子 服部ハイジッヒ ベアテ
権利者:
種類:
番号: COP-04115
出願年月日: 2011/9/2
国内外の別: 日本国
- [その他]
ホームページ等
<http://stemcell-u-tokyo.org/sc-re/>
6. 研究組織
(1) 研究代表者
服部 浩一 (Hattori Koichi)
東京大学医科学研究所 特任准教授
研究者番号: 10360116