

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 22 日現在

機関番号：32620

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24591983

研究課題名(和文)血液線維素溶解系を起点としたがん増殖機構の解明

研究課題名(英文)Blocking fibrinolytic system in mice reduces colorectal carcinogenesis associated with chronic colitis.

研究代表者

坂本 一博(sakamoto, kazuhiro)

順天堂大学・医学部・教授

研究者番号：60205763

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：線溶系因子であるプラスミンがMMPを介し、可溶性TNFの分泌に関わっている。潰瘍性大腸炎のTNF阻害薬の重要性やMMP-9が炎症のマーカーであるという報告から、プラスミン阻害剤が腸炎を抑制できる事を証明した。プラスミンはTNFのみならず、骨髄由来細胞の浸潤や炎症性サイトカインの分泌抑制機構も持ち合わせていた。AOM誘発大腸癌モデルマウスでも、同阻害剤が癌化を抑制した。プラスミンに代表されるセリンプロテアーゼによって活性化を受けるEGFやTGFのシグナルを介し、腫瘍の増大を抑制することを明らかにした。癌の微小環境であるマクロファージの浸潤を抑制することによって癌の増殖を抑制できることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Ulcerative colitis patients have a high risk of developing colitis cancer. The fibrinolytic system with plasmin is activated in patients with inflammatory bowel disease(IBM) as well as Matrix Metalloproteinases. We showed MMP family control the ectodomain shedding of TNF. Genetic and Pharmacological inhibition of plasmin can be regarded as a novel therapeutic target for the treatment of IBM. Plasmin inhibition could control colon inflammation and prevent colon carcinoma development in both model of Dextran Sulfate Sodium-induced(DSS) colitis and Azoxymethane/DSS colitic cancer. Moreover, blockade of plasmin prevented the infiltration of inflammatory myeloid cell and releasing the inflammatory cytokine such as TNF and CXCL5. Regarding of colitic cancer, plasmin regulated the migration of macrophages in tumor microenvironment. Our data provided evidence the inhibition of plasmin prevents the inflammatory response during acute colitis and during IBM-associated colon cancer development.

研究分野：消化器外科

 キーワード：新規がん増殖機構 線維素溶解系 マトリックスメタロプロテイナーゼ 大腸癌 プラスミン阻害剤
大腸発がんモデル

1. 研究開始当初の背景

近年、消化器がん患者の血液中でも、悪性化に伴って線溶系が亢進するとの臨床報告が数多くある (Dano K et al, *Thrombo Haemost*, 2005). 申請者らは最近、担がんモデルにおいて、プラスミンの阻害剤が生体内 MMP の活性を阻害し、血管新生因子やケモカインを供給する造血系細胞の腫瘍内浸潤を抑制し、一部の悪性リンパ腫治療に有効であることを見出した (Ishihara M et al, *Leukemia*, 2012).

これらの研究成果から、悪性度の高い消化器がんを中心にがん細胞の組織内浸潤、転移等における、MMP 相互活性化システムと凝固・線溶系因子群の動態を解明する本研究の着想に至った。

我々は、これまでに炎症性腸炎モデルマウスを作成し、炎症と線溶系の病態解明を行い、その臨床応用に至るまでの取り組みを続けている。

2. 研究の目的

本研究では、主に大腸がんを中心にがん細胞の組織内浸潤等の動態における、膜型 MMP をはじめとする MMP 相互活性化システムとセリンプロテアーゼ群に属する凝固・線溶系因子群の動態をとマウス実験から解析する。そしてこうした実験結果から、各種がんの病態形成過程におけるこれら各種プロテアーゼ活性化の各種生体因子のプロセッシング制御を含めた実態とその意義を明らかにすることを主目的とする。さらに線溶系因子あるいは MT1-MMP 等の酵素活性を標的とした、申請者らが一部のリンパ腫において明らかにした MMP 活性を線溶系のレベルから、いわば上流から抑制することによるがんの新規分子療法の可能性を消化器、固型がんにおいて探ることまでをその目的の範疇とする。

3. 研究の方法

消化器がんモデルマウスおよび患者検体を使用し、異常血管新生を含むがん増殖と線溶系亢進の関連性、プラスミンの生成に伴う MMP の活性化を介した生体内のがん増殖機構の解析、特にがん組織への骨髓由来細胞浸潤について検証することで、新規プラスミン阻害剤等によるがん増殖抑制効果について評価を行い、線溶系因子シグナルとがん増殖進展機構の関連性を明らかにする。

4. 研究成果

線溶系因子であるプラスミンがマトリックスメタロプロテアーゼ (MMP) を介し、可溶性 TNF の分泌に関わることが示唆されている。これまで潰瘍性大腸炎の臨床的 TNF 阻害薬の重要性や MMP-9 が炎症のマーカーであるといった報告から、プラスミン阻害剤により腸炎が抑制可能であることを証明した。プラスミンは TNF のみならず、骨髓由来細胞の浸潤や炎症性サイトカインの分泌抑制機構も持ち合

わせていた。また、AOM 誘発大腸癌モデルマウスにおいても、同阻害剤により癌化が抑制された。その機序はプラスミンに代表されるセリンプロテアーゼによって活性化を受ける EGF や TGF のシグナルを介し、腫瘍の増大を抑制していることを明らかにした。癌の微小環境であるマクロファージの浸潤を抑制することによって癌の増殖を抑制できることが示唆された。

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2件)

1) Inhibition of plasmin attenuates murine acute graft-versus-host disease mortality by suppressing the matrix metalloproteinase-9-dependent inflammatory cytokine storm and effector cell trafficking.

Sato A, Nishida C, Sato-Kusubata K, Ishihara M, Tashiro Y, Gritli I, Shimazu H, Munakata S, Yagita H, Okumura K, Tsuda Y, Okada Y, Tojo A, Nakauchi H, Takahashi S, Heissig B, Hattori K.

Leukemia. doi: 10.1038/leu.2014.151:2014.

2) Inhibition of Plasmin Protects Against Colitis in Mice by Suppressing Matrix Metalloproteinase 9-mediated Cytokine Release From Myeloid Cells.

Munakata S, Tashiro Y, Nishida C, Sato A, Komiyama H, Shimazu H, Dhahri D, Salama Y, Eiamboonsert S, Takeda K, Yagita H, Tsuda Y, Okada Y, Nakauchi H, Sakamoto K, Heissig B, Hattori K.

Gastroenterology, 2014; DOI: 10.1053/j.gastro.2014.12.001.

[学会発表](計9件)

1) プラスミン阻害薬による炎症性腸疾患の組織再生。

宗像慎也, 田代良彦, 小見山博光, 島津浩, 西田知恵美, 佐藤亜紀, 楠畑かおり, 坂本一博, Beate Heissig, 服部浩二. 日本再生医療学会総会, 3月5日, 京都, 2014

- 2) 線維素溶解系(線溶系)による炎症性腸疾患の制御機構の解明.
宗像慎也,田代良彦,島津浩,佐藤亜紀,西田知恵美,小見山博光,坂本一博, Beate H., 服部浩一 JDDW 第56回日本消化器病学会大会,神戸,10月24日,2014
- 3) Inhibition of Plasmin Protects Against Colitis-driven cancer in Mice by Suppressing Matrix Metalloproteinase 9-mediated Cytokine Release From Myeloid Cells.
Shinya Munakata, Hattori Koichi, Beate Heissig. 平成 27 年度 個体レベルでのがん研究支援活動ワークショップ 滋賀, 2015 年 2 月 6 日
- 4) Inflammatory bowel disease モデルにおける線溶系を介した抑制機序
宗像慎也, 小見山博光, Heissig Beate, 服部浩一, 坂本一博 お茶の水がんアカデミア 第 111 回集会, 2015 年 2 月 25 日, 東京
- 5) セリンプロテアーゼ阻害薬による Dextran sulfate sodium 誘発腸炎の抑制
盧尚志, 宗像慎也, 小見山博光, Heissig Beate, 服部浩一, 坂本一博 第 115 回日本外科学会定期学術集会, 2015 年 2 月 18 日 名古屋
- 6) 腹腔内癒着における線溶系阻害因子 PAI-1 の機能解明 本庄薫平, 宗像慎也, 小見山博光, Heissig Beate, 服部浩一, 坂本一博 第 115 回日本外科学会定期学術集会, 2015 年 2 月 18 日 名古屋
- 7) PAI-1 阻害剤による血管新生及び組織再生促進療法 田代良彦, 宗像慎也, 西田知恵美, 石原誠人, Gritli Ismael, 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 Beate, 服部浩一 第 12 回日本再生医療学会総会 横浜, 3 月 21-23 日, 2013

- 8) 腹腔内癒着における線溶系阻害因子 PAI-1 の機能解明 本庄薫平, 宗像慎也, 小見山博光, Heissig Beate, 服部浩一, 坂本一博 第 115 回日本外科学会定期学術集会, 2015 年 2 月 18 日 名古屋
- 9) PAI-1 阻害剤による血管新生及び組織再生促進.
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, 小泉麻季子, 楠畑かおり, 小見山博光, 坂本一博, 宮田敏男, ハイジツヒベアテ, 服部浩一 第 113 回日本外科学会定期学術集会, 福岡, 4 月 11 日, 2013

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 2 件)

名称: 術後癒着モデル及びその作成方法
発明者: 本庄薫平, 宗像慎也, 小見山博光, 坂本一博

権利者: 本庄薫平, 宗像慎也, 小見山博光, 坂本一博

種類: 国内

番号: 特許願: 2014-225968

出願年月日: 2014 年 11 月 06 日

名称: 患者原発性大腸癌の個別化転移モデルマウスの作製方法

発明者: 折茂 彰, 水越幸輔, 岡澤 裕五藤倫敏, 小見山博光, 樋野興夫, 坂本一博

権利者: 折茂 彰, 水越幸輔, 岡澤 裕五藤倫敏, 小見山博光, 樋野興夫, 坂本一博

種類: 国内

番号: 2013-193525

出願年月日: 2013 年 09 月 18 日

取得状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.juntendo.ac.jp/hospital/clinic/daicho/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

坂本 一博 (SAKAMOTO, Kazuhiro)

順天堂大学・医学部・教授

研究者番号：60205763

(2) 研究分担者

小見山 博光 (KOMIYAMA, Hiromitsu)

順天堂大学・医学部・講師

研究者番号：30348982

(3) 研究分担者

服部 浩一 (HATTORI, Koichi)

順天堂大学・医学部・前任准教授

研究者番号：10360116