

# 論文内容要旨

SK-216, an inhibitor of plasminogen activator inhibitor-1, limits tumor progression and angiogenesis.

(Plasminogen activator inhibitor-1 阻害剤、SK-216 は腫瘍進展と腫瘍血管新生を抑制する)

Molecular cancer therapeutics, 12:2378-2388, 2013.

主指導教員：河野修興教授

(応用生命科学部門 分子内科学)

副指導教員：秀道広教授

(統合健康科学部門 皮膚科学)

副指導教員：服部登准教授

(応用生命科学部門 分子内科学)

益田 武

(医歯薬学総合研究科 展開医科学専攻)

Plasminogen activator の活性を阻害する Plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) は生体内における最も重要な線溶系の抑制因子として知られているが、最近の研究成果から腫瘍の進展にも重要な役割を担っていることが明らかとなってきた。実際、様々な癌種において腫瘍組織における PAI-1 の高発現が予後不良と関連するとも報告されている。PAI-1 が腫瘍進展に関わる機序についてはまだ不明な点が多いが、腫瘍血管新生へ強く関わっていることは明らかにされており、その他にも腫瘍細胞の遊走や増殖、抗アポトーシスシグナルの亢進への関与も報告されている。これらの点を考慮すれば、PAI-1 が抗腫瘍治療の新規治療標的になりうることが示唆されるが、現在開発が進んできている PAI-1 阻害剤の抗腫瘍効果を検証した研究はほとんどない。また、PAI-1 は腫瘍組織において腫瘍細胞及び宿主細胞の両方から産生され、それぞれが腫瘍進展に関わっていると考えられるが、どちらから産生される PAI-1 がこの過程においてより重要な働きをしているかについてもまだ明らかにされていない。

以上を踏まえて、今回我々は、1) 腫瘍モデルマウスへ新規の PAI-1 特異的阻害剤である SK-216 を投与することで、腫瘍進展と腫瘍血管新生が抑制できるのか、2) 腫瘍と宿主側の PAI-1 のどちらが腫瘍の進展並びに血管新生により重要な役割を担っているのか、の2点を検証する目的で本研究を遂行した。

まず、PAI-1 を強発現している Lewis lung carcinoma (LLC) 細胞と PAI-1 を発現していない B16 メラノーマ細胞を用いて、野生型 C57BL/6 マウスに対して皮下腫瘍増殖モデルと尾静脈肺転移モデルを作製した。これらの腫瘍モデルマウスに SK-216 を経口投与したところ、LLC 細胞と B16 細胞を用いた両モデルにおいて腫瘍進展が抑制されることが明らかとなった。いずれの細胞から成る皮下腫瘍内の血管新生についても SK-216 投与による抑制効果が認められた。この結果から、SK-216 が腫瘍進展と血管新生の両方を抑制しうる作用を有することが示され、その効果には腫瘍細胞の PAI-1 発現の有無は無関係であることも判明した。

次に腫瘍細胞における PAI-1 の発現程度が腫瘍進展に関与するのかを検証する目的で、PAI-1 に対する siRNA あるいはコントロール siRNA を LLC 細胞に恒常的に発現させることで PAI-1 発現量の異なる2種類の LLC 細胞、PAI-1 ノックダウン LLC 細胞 (PAI-1 低発現) とコントロール LLC 細胞 (PAI-1 高発現)、を作製した。これらの PAI-1 発現量の異なる LLC 細胞を用いて、C57BL/6 バックグラウンドの PAI-1 ノックアウトマウス (宿主側 PAI-1 発現無) または野生型マウス (宿主側 PAI-1 発現有) に対して皮下腫瘍増殖モデルと尾静脈肺転移モデルを作製した。いずれのモデルにおいても野生型マウスに比して PAI-1 ノックアウトマウスにて腫瘍進展の有意な抑制が認められたが、PAI-1 ノックダウン LLC 細胞とコントロール LLC 細胞間には差を認めなかった。皮下腫瘍内の血管新生についても同様

の結果が得られたことから、腫瘍進展、血管新生には腫瘍側に比して宿主側のPAI-1発現がより重要な役割を担っていることが明らかとなった。さらに、上に示した皮下腫瘍モデルにSK-216を投与したところ、野生型マウスにおける腫瘍増殖は抑制されたが、PAI-1ノックアウトマウスではこの効果を認めないこと、PAI-1ノックダウンLLC細胞とコントロールLLC細胞間では腫瘍増殖に差を認めないことも判明した。腫瘍血管新生についても、SK-216の効果は宿主側のPAI-1発現に依存することが分かった。これらの結果から、SK-216の抗腫瘍効果、抗血管新生効果についても、腫瘍側のPAI-1発現レベルは無関係であり宿主側のPAI-1発現が重要であることが示された。

*in vivo* 実験においてSK-216が腫瘍血管新生抑制作用を有することが示されたので、*in vitro* において血管内皮細胞の増殖、遊走、脈管形成に対するSK-216の作用を検討した。培養中のSK-216の存在下では、血管内皮細胞の増殖への影響は見られなかったが、遊走と脈管形成が抑制されることが判明した。以上の結果から、SK-216が血管内皮細胞の遊走と脈管形成を抑制することで血管新生を抑制している可能性が示されたのである。

本研究から、新規のPAI-1阻害剤、SK-216は我々の用いたマウスの腫瘍モデルにおいて抗腫瘍、抗血管新生作用を示すことが明らかとなった。その作用は腫瘍側よりはむしろ宿主側のPAI-1の機能を抑制することが重要であることも判明した。SK-216による抗腫瘍効果はその抗血管新生作用を介したものであると考えられることから、SK-216が宿主側のPAI-1を標的とする新しい抗血管新生治療薬になりうる可能性も示唆されたのである。