



【日本血栓止血学会サイト お役立ちリンク集】

日本血栓止血学会サイトに掲載しているおすすめコンテンツのリンクをご紹介します。

- ・ [診療ガイドライン](#)
- ・ [研修医のお役立ち論文コンテンツ](#)
- ・ [用語集](#)
- ・ [1\) 血栓止血の臨床-研修のために【第2版】（前編）](#)
2018年29巻6号 p. 537-764, 2018.
 - ・ オーバービュー 1編
 - ・ 検査 14編
 - ・ 血小板・血管の異常による出血性疾患 12編
 - ・ 凝固・線溶系異常による出血性疾患 17編
 - ・ 出血性疾患の治療（血液製剤など） 8編
- ・ [2\) 血栓止血の臨床-研修のために【第2版】（後編）](#)
2019年30巻1号 p. 3-247, 2019.
 - ・ 血栓性疾患 17編
 - ・ 血栓性疾患の治療薬 13編
 - ・ 血小板減少を伴う血栓性疾患 18編

本編は次ページより掲載しております。

PAI-1 阻害剤の新展開 —がん治療への臨床応用—

段 孝*, 内田 渡, 平塚秀明, 大島吉輝, 宮田敏男

New direction of PAI-1 inhibitor development: Clinical application to cancer treatment

Takashi DAN, Wataru UCHIDA, Hideaki HIRATSUKA, Yoshiteru OSHIMA,
and Toshio MIYATA

要約：PAI-1 に直接作用する低分子阻害剤は、当初、血栓性疾患への適応に向けて研究開発が進められたが、PAI-1 阻害剤をツールとした研究等から、がんや糖尿病、肥満などのメタボリックシンドローム、さらには、多発性硬化症やアルツハイマー病などの神経疾患への適応の可能性が示唆されている。一方で、PAI-1 阻害剤の開発研究は世界的になされてきたが、現在までに、その臨床試験の報告は、PAI-749 (diaplasinin, Wyeth Research 社) の第 I 相試験成績に留まり、理由は明らかではないが、PAI-749 は血栓症の動物モデルにおいては有効であったにもかかわらず、ヒトでは有効ではなかったと結論されている。本稿では、サルでの *in vivo* 薬効試験やヒト血漿を用いた *in vitro* 試験を行うことで PAI-1 阻害剤の臨床効果の予測が可能となることや、新たなメカニズムの解明によって、PAI-1 阻害剤のがんへの臨床応用の可能性が開けてきたことについて述べる。

Key words: PAI-1 inhibitors, clinical application, cancer, chronic myelogenous leukemia

Plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1) は、凝固線溶系や線維化などに重要な役割を演じており、国内における死因第 2 位の心疾患と、死因第 4 位かつ要介護者、寝たきり者の原因第 1 位の脳血管疾患の病因に深く関わっている。さらに興味深いことに、PAI-1 は死因第 1 位のがん、さらには糖尿病、肥満などメタボリックシンドロームにも関与しており、近年では、多発性硬化症、アルツハイマー病やパーキンソン病などの神経疾患との関連も指摘され、その阻害剤の開発は医療に貢献し、国民生活や経済社

*責任者連絡先：

東北大学大学院医学系研究科
〒980-8575 宮城県仙台市青葉区星陵町 2-1
Tel: 022-717-8158, Fax: 022-717-8159
E-mail: dantks@med.tohoku.ac.jp



段 孝

1980年
大阪薬科大学大学院修士課程
修了
1980年
中外製薬株式会社
総合研究所 薬理研究員
1997年
同上 創薬第1研究所 主席
研究員
2000年
同上 創薬資源研究所長
2007年
京都大学再生医科学研究所
産学官連携講師
2008年
東北大学大学院医学系研究科
講師
2012年
同上 准教授
薬学博士, 薬剤師, 臨床検査技師

会への波及効果も大きいと期待される。

PAI-1 に直接作用する低分子阻害剤の文献は、Xenova 社が 1996 年に報告した XR330 と XR334 が初出である¹⁾。それらの化合物は、未同定のストレプトマイセス属の凍結乾燥バイオマスから単離されたジケトピペラジン誘導体で、*in vitro* での PAI-1 阻害活性と、ラットにおいて静脈内投与により *ex vivo* および *in vivo* で血栓形成を抑制した^{1,2)}。経口投与が可能な低分子 PAI-1 阻害剤は、Wyeth Research 社が 2003 年に報告した WAY-140312 が最初である^{3,4)}。本化合物は、単一の結合部位で PAI-1 に結合し、*in vitro* での PAI-1 阻害活性の 50% 阻害濃度 (IC₅₀) は 15.6 μM で、ラットに対して 10 mg/kg の経口投与において、約 1 時間の血漿半減期と 29% の生物学的利用能 (BA) を示し、血漿中の PAI-1

活性を抑制するとともに、ラットの動脈および静脈血栓モデルにおいて動脈血流の改善および静脈血栓の減少を示した。なお、ADPまたはコラーゲンによって誘発される出血時間、トロンビン凝固時間、および血小板凝集には影響しなかった。これらの結果は、経口 PAI-1 阻害剤が、正常な血小板凝集および血液凝固能を維持しながら、血漿 PAI-1 活性を低下させ、血栓性疾患に適用できる可能性を示すものであった。それ以降、Wyeth Research 社は経口 PAI-1 阻害剤の研究開発を進め、PAI-039, PAI-749, PAZ-417 などの臨床開発候補化合物を報告している。ほぼ時を同じくして、Berlex Biosciences 社は、化合物バンクからのハイスループットスクリーニングで PAI-1 阻害活性を有する Compound 39 を見出している⁵⁾。

わが国における PAI-1 阻害剤の研究は、2008 年から報告がなされている。われわれのグループは、ヒト PAI-1 の X 線結晶構造解析情報を基に *in silico* の薬剤設計 (Structure Based Drug Design: SBDD) 技術を駆使してリード化合物 TM5007 を取得し、経口投与によるラット動静脈 (AV) シヤントモデルおよびマウス塩化鉄誘発動脈血栓モデルの 2 つのモデルにおける血液凝固を阻害し、またマウスプレオマイシン誘発肺線維症モデルで線維化抑制があることを示した⁶⁾。一方、医薬分子設計研究所のグループは、同様にバーチャルスクリーニングから IMD-1622 を見出し、腹腔内投与によりラット AV シヤントモデルおよびマウス動脈血栓モデルでの有効性と、さらにラット実験的自己免疫心筋炎 (EAM) モデルでの効力を示した^{7,8)}。ついで、2009 年、田辺三菱製薬は、ハイスループットスクリーニングで見出したヒット化合物をもとに、ラット動脈血栓モデルで静脈内投与により抗血栓作用を示す T-1776Na を報告している⁹⁾。

以上のように、当初の PAI-1 阻害剤は、血栓症や線維症の治療薬として研究開発が進められたが、PAI-1 阻害剤を用いた研究から、PAI-1 の血液線溶系以外における生理作用や病態における役割が明らかにされると同時に、PAI-1 阻害剤の新たな用途の可能性が示唆されるようになった。例えば、PAI-1 阻害剤のがん治療への応用である。

血中 PAI-1 の上昇は固形がんの進行に関連するこ

とや、抗 PAI-1 抗体がヒト線維肉腫細胞の浸潤および遊走を抑制し、*in vitro* の血管新生を阻害することを基に、2004 年に Xenova 社のグループは新規低分子 PAI-1 阻害剤の XR5967 が HT1080 線維肉腫細胞の浸潤や遊走を用量依存性に低下させ、さらに腫瘍による血管新生に関わるヒト内皮細胞を阻害することで、PAI-1 阻害剤ががんの治療に有効である可能性を最初に示した¹⁰⁾。さらに、Wyeth Research 社のグループは、2006 年に WAY-140312 の後継化合物である PAI-039 (tiplaxtinin) 5 mg/g の混餌投与が、*in vivo* で野生型マウスの FGF2 誘導性腫瘍血管新生モデルで血管形成の減少を示すが、PAI-1 ノックアウトマウスの条件では有効性を示さないことを報告した¹¹⁾。当初、新しい抗血栓薬になるものと考えられていた PAI-1 阻害剤は、最新の PAI-1 の生理作用の解明に伴って、がん以外にも、造血器疾患、神経性疾患、さらには加齢性疾患等への応用のポテンシャルが広がっている¹²⁾。

一方で、PAI-1 阻害剤の研究は世界的になされてきたが、現在までに、経口 PAI-1 阻害剤の臨床試験は 2010 年に PAI-749 (diaplasinin, Wyeth Research 社) の第 I 相薬効薬理試験が報じられているにすぎない¹³⁾。彼らは、健康人ボランティアにおける二重盲検試験で、*ex vivo* および *in vivo* の試験を検討して、血栓症の動物モデルにおいては有効であったにもかかわらず、PAI-749 はヒトでは血栓形成または線溶系に影響を与えないと結論している。以降、海外での PAI-1 阻害剤の新規研究開発はほとんど進んでいない。

本稿では、果たして、PAI-1 阻害剤はラットやマウスにおいて有効だが、ヒトでは効果がないのか、また血栓症や線維症の治療薬以外への用途、たとえば、がん治療に用いえるのかについての私見を述べてみたい。

1. PAI-1 阻害剤の動物種差について

PAI-1 のタンパク構造レベルでの動物間の相違は、それほど大きくないといわれている。PAI-1 は種差を超えて 402 アミノ酸からなり、ヒト PAI-1 のマウスとの相同性 (identity) で 79%、類似性 (similarity) は 95%、ラットとは相同性 (identity) で 80%、

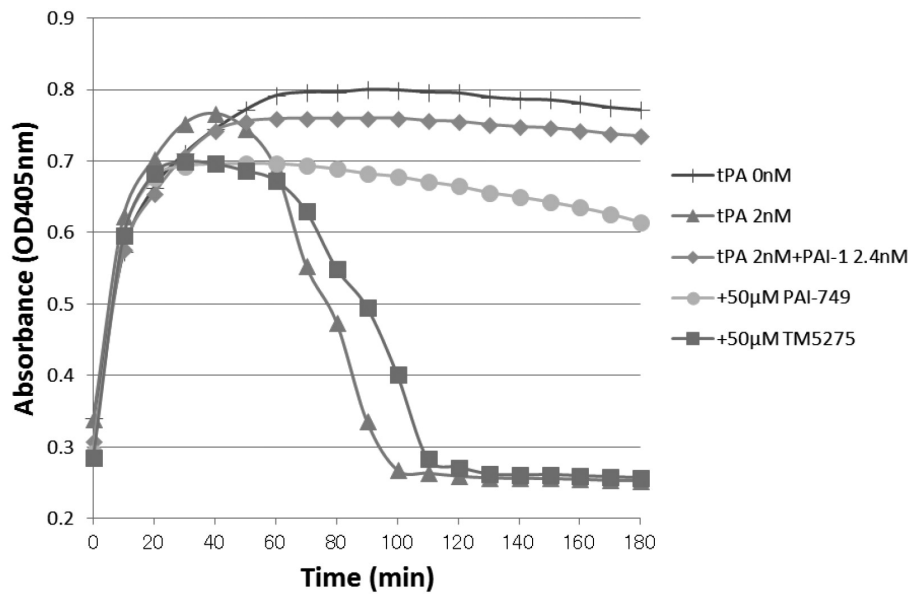


図1 *In vitro*でのヒト血漿凝塊溶解(plasma clot lysis)試験

ヒト血漿にトロンピンとカルシウムを添加するとフィブリン凝塊が生じ、その濁度を追跡できる。その際に、tPAを添加しておく、といった凝塊が生じて混濁した後に透明化(溶解)するが、さらに適量のPAI-1を追加すると溶解反応は進まない。その条件で、PAI-749を添加しても溶解はほとんど起こらないが、TM5275は溶解を促進し、ヒト血漿中でPAI-1阻害を示した。なお、tPAおよびPAI-1が存在しない条件では、TM5275は溶解を起こさない。

類似性(similarity)は96%である。Dewildeらは、ヒトとマウスのPAI-1の構造比較を行って、1)α-ヘリックスAの位置の相違、2)ゲート領域の相違と、3)反応中心ループ位置の違いがあることを示したが、ビトロネクチンおよびLRP1(低密度リポタンパク質受容体関連タンパク1)の結合部位には違いがないことを示した¹⁴⁾。

前述のPAI-749の論文では、PAI-749は*in vitro*でヒトPAI-1を阻害するが、*in vitro*でのヒト血漿凝塊溶解(plasma clot lysis)試験で25 µM(臨床試験における血漿中のPAI-749の最大濃度(Cmax)の約4倍)において効果がないのみならず、ヒト血漿から精製したフィブリンの凝塊溶解(fibrin clot lysis)試験においても、ビトロネクチンの有無にかかわらず、tPA依存性の溶解を促進しなかったことから、ヒトでの有効性の欠如はビトロネクチンの存在で説明できないことを示した。実際に、われわれの追試試験においても、*in vitro*でのヒト血漿凝塊溶解(plasma clot lysis)試験において、tPAとPAI-1の存在下、PAI-749は50 µMでも血漿凝塊の溶解をほとんど促

進しなかったが、われわれのPAI-1阻害剤のリード化合物であるTM5275はほぼ完全にPAI-1によるtPAの阻害を解除して凝塊溶解を促進した(図1)。

TM5275は、ラットの動静脈シャントモデルや塩化第二鉄誘発頸動脈血栓症モデルで有効性を示したのみならず、特筆すべきこととして、カニクイザルにおける光誘導血栓症モデルにおいても血管閉塞時間の有意な短縮を示している^{15,16)}。ヒトPAI-1とサルのそれとの相同性(identity)は97%、類似性(similarity)は100%である。PAI-1に動物種差の問題があるとすれば、PAI-1阻害剤の臨床効果を予測する上で、サルはもっともふさわしい動物種と思われるが、われわれが知る限り不思議なことに、低分子PAI-1阻害剤の有効性をサルで検討した報告は、われわれの血栓症モデルでの報告のみである。

2010年以降、PAI-1阻害剤の非臨床試験からの臨床予測は困難ということを経験し、PAI-1阻害剤の新規開発はトーンダウンしているが、サルでの*in vivo*試験やヒト血漿を用いた*in vitro*試験を行うことでブレークスルーが図れるのではないかとわれわ

れは考えている。

2. PAI-1 と固形がん

固形がんでは、PAI-1 パラドクスが存在する。

固形がんにおけるがん細胞の血管外遊出および血管新生は、1)がん細胞の基底膜および細胞外マトリックスへの付着および相互作用、2)局所的タンパク質分解、および3)がん細胞移動の3つのステップによって制御される。特に、乳がん、卵巣がん、胃がん、食道がん、結腸がん、肺がんおよび腎臓がんの患者において、ウロキナーゼ(uPA)とその阻害因子である PAI-1 は独立した予後因子(無再発生存率や全生存率)として示された¹⁷⁾。固形がんでは、uPA とその受容体(uPAR)が過剰に発現しているが、正常組織では、急速な組織修復の場合を除いては、uPA と uPAR はごくわずかししか発現していないことから、uPA や uPAR を標的として、それらの発現を抑制または阻害するためのアンチセンスオリゴ核酸、抗体、低分子化合物などの試みが 1990 年代から数多くなされてきている。しかし、PAI-1 はそのウロキナーゼ経路の生理的阻害因子であるにもかかわらず、長期生存率について分析すると、パラドキシカルに PAI-1 レベルの高い患者は低い PAI-1 レベルの患者よりもはるかに予後が悪いことが明らかになった。また、非臨床試験においても PAI-1 ノックアウトマウスにおけるがん細胞の増殖や浸潤ならびに血管新生は、正常マウスに比べて著しく軽微であった。そのことから、PAI-1/uPA/uPAR の複合体によるがん細胞の増殖や移動、血管新生を促進するという新たなモデルが提唱された¹⁸⁾。さらに、PAI-1 は、細胞外マトリックスのタンパク質分解を制御することにより細胞移動を調節することも明らかになった。すなわち、まず LRP1 が細胞外 PAI-1 に結合し、LRP1/PAI-1/uPA/uPAR/インテグリン複合体が形成されエンドサイトーシスされた後に、細胞膜上に uPAR、LRP1 とインテグリンは再分布され、再び LRP1 と PAI-1 の結合によって開始される反応が繰り返されることで、細胞が細胞外 PAI-1 に向かって移動する「接着 - 剥離 - 再接着」のサイクルで細胞遊走することが明らかにされた¹⁹⁾。この PAI-1 が一種の走化因子として働くメカニズムを利用し

て、血管内皮細胞が移動するときに血管新生が起こり、また腫瘍細胞自身は浸潤・遊走すると考えられている。

以上のことから、すでに述べた XR5967¹⁰⁾ がヒト線維肉腫由来 HT1080 がん細胞の浸潤遊走や血管新生を抑制することや、PAI-039¹¹⁾ が腫瘍血管新生を減少させる現象の合理的な説明が可能となり、PAI-1 阻害剤のがん治療への応用の論理的根拠が示された²⁰⁾。

PAI-1 は細胞移動の制御だけではなく、細胞シグナル伝達経路を介して細胞増殖や細胞のプログラム死(アポトーシス)にも関与することが明らかになっている²¹⁾。われわれのグループは、卵巣がんの患者でがん組織における PAI-1 mRNA 発現は予後不良と正相関し、PAI-1 発現卵巣がん細胞において、siRNA による PAI-1 のノックダウンや PAI-1 阻害剤の TM5275 が、G2/M 細胞周期停止およびアポトーシスに伴う細胞増殖の有意な抑制をもたらすことを示した²²⁾。さらに、TM5275 とその誘導体の TM5441 が複数のヒト腫瘍細胞株でアポトーシスを誘導して細胞生存率を低下させ、*in vivo* で HT1080 細胞およびヒト大腸がん由来 HCT116 細胞の担がんマウスへの TM5441 (20 mg/kg/日)の経口投与は、がん細胞アポトーシスを増加させ、腫瘍容積の減少および腫瘍血管構造に破壊効果を示したが、同じ用量で正常なヒト臍帯静脈内皮細胞(HUVEC)に対してはアポトーシスを誘発しなかった²³⁾。なお、卵巣がんの予後と PAI-1 レベルが正相関することは追試され、卵巣がん移植マウスにおいて、PAI-1 阻害剤 IMD-4482 が腫瘍容積、転移ならびに血管新生を減少させ、その機序として、PAI-1 阻害剤が PAI-1/uPA/uPAR/インテグリン複合体の相互作用を解離させ、インテグリンの細胞シグナル伝達経路である FAK(接着斑キナーゼ)のリン酸化が阻害される結果の可能性が示された²⁴⁾。また、PAI-1 の直接阻害剤ではないが、PAI-1 産生を抑制する化合物である静岡カフェイン工業所の SK-216 を、PAI-1 分泌性 Lewis 肺がん(LLC)または PAI-1 非分泌性 B16 メラノーマ細胞を皮下移植した担がんマウスに経口投与した結果、いずれも皮下腫瘍のサイズおよび転移の程度や血管新生を抑制したことから、PAI-1 阻害による抗腫瘍効果は宿主の PAI-1、すなわち細胞外 PAI-1 に

よって制御され、がん細胞自体の PAI-1 産生の影響を受けないことが示された²⁵⁾。

3. PAI-1 と血液がん

固形がんとは異なり、血液がんの予後が血中 PAI-1 レベルと相関するといった報告は見当たらない。例えば、白血病と正常な骨髄の比較試験において、正常骨髄では tPA が優勢であったのに対して、白血病骨髄では uPA が主な線溶活性化因子であった。また、正常骨髄および白血病骨髄はいずれも PAI-1 を同様の量で含有していたが、白血病骨髄では PAI-2 はほとんど含まれていなかった²⁶⁾。急性骨髄芽球性白血病 (AML) の患者において、AML サブグループ間の総 PAI 活性に有意な差はなかったが、活動期と寛解期の患者間では総 PAI 活性に差があることがわかり、総 PAI 活性は、AML 患者での再発に関与する可能性が示唆された²⁷⁾。一方、幼若な形態のまま増殖する AML 細胞とは異なり、慢性骨髄性白血病 (CML) 細胞は、分化・成熟を伴いほぼ正常な形態を有する。われわれは、PAI-1 阻害剤が骨髄ニッチの造血幹細胞を血液細胞へと分化させる独自の知見²⁸⁾から、造血幹細胞に由来する CML 幹細胞も CML 細胞に分化させることができるという仮説を立てた。

CML はかつて不治の病とされた 10 万人に 1~2 人程度が発症する非遺伝性の希少疾患である。造血幹細胞移植を施行しなければ急性転化して、ほぼすべての患者が 7~8 年以内に死亡する予後不良の悪性がんであった。しかしその治療は、2001 年の原因遺伝子 BCR-ABL を標的とする第一世代チロシンキナーゼ阻害剤 (TKI) のイマチニブ (IM) の登場により一変し、IM による 8 年間の治療成績では、CML 関連死は 7% にまで激減した²⁹⁾。しかし、IM によって分子遺伝学的完全寛解 (CMR: 遺伝子検査においても末梢血中に BCR-ABL 遺伝子が検出されなくなった最も深い寛解の状態をいう) が 2 年以上得られていても、投与を中止すると CMR 維持率は 1 年後で 41% と半数以上の患者で再発することが示され、CML 幹細胞の関与が示唆されている³⁰⁾。CML 幹細胞は骨髄ニッチで休止期 (G0) にあるために、TKI に抵抗性を示すと考えられる^{31, 32)}。CML 幹細胞

に作用しにくいことは、第二、第三世代の TKI においても共通の課題であるため、現行の CML 治療では、TKI を生涯服用する必要がある、TKI による副作用発現頻度や重篤度も高く、薬剤費も高額で患者および社会の医療費負担が大きい。このため、TKI の投薬中止後も寛解が維持できる新たな CML 治療法、すなわち根治療法の開発が希求されている。

BCR-ABL 陽性 CML 細胞のなかの CD34 + CD38 - 細胞は、多分化能をもち、細胞周期停止状態 (G0 期) で骨髄ニッチに存在し、造血幹細胞と類似した表現型を示すので、CML 幹細胞と考えられている³³⁾。また、末梢の CML 細胞は骨髄ニッチに逃避して CML 幹細胞に変化することが、BCR-ABL 遺伝子を導入した白血病細胞を移植した CML マウスで証明されている³⁴⁾。CML 幹細胞は TKI 存在下でも生存することから、TKI 療法という CML 細胞にとって致命的状態では CML 幹細胞となって生き延び、根治から免れていると考えられる。そこでわれわれは、骨髄ニッチから造血幹細胞を離脱させて血液細胞への分化を促進させることができるのと同様に、PAI-1 阻害剤で CML 幹細胞をすべて骨髄ニッチから離脱・分化させ、CML 細胞を TKI で殺して CML 幹細胞を根絶やしにする「CML 根治療法」の発想を得た (図 2)。

C3H マウス由来 32D 細胞に BCR-ABL 遺伝子を導入した CML 細胞株を C3H マウスに移植して骨髄に生着させた CML モデル実験において、IM 投与群では延命効果が見られるものの、投与を中止すると全例が死亡する。一方、IM と新規 PAI-1 阻害剤である TM5614 を併用した場合は、さらに生存期間の延長が認められたのみならず、生存率は 60% に達した。さらに、細胞内 PAI-1 がプロタンパク質転換酵素 furin のタンパク質分解活性を阻害し、MT1-MMP 活性を低下させ、造血幹細胞の骨髄ニッチにおける保持に関わっていることを見出した³⁵⁾。これらの発見は、PAI-1 が細胞内において幹細胞の調節因子であることを世界で初めて示したばかりではなく、おそらく造血幹細胞に由来する CML 幹細胞においても furin-PAI-1 系が骨髄ニッチでの存在に関わっており、CML 細胞への分化が抑制されているものと考えられた。また、PAI-1 阻害剤 TM5614 の

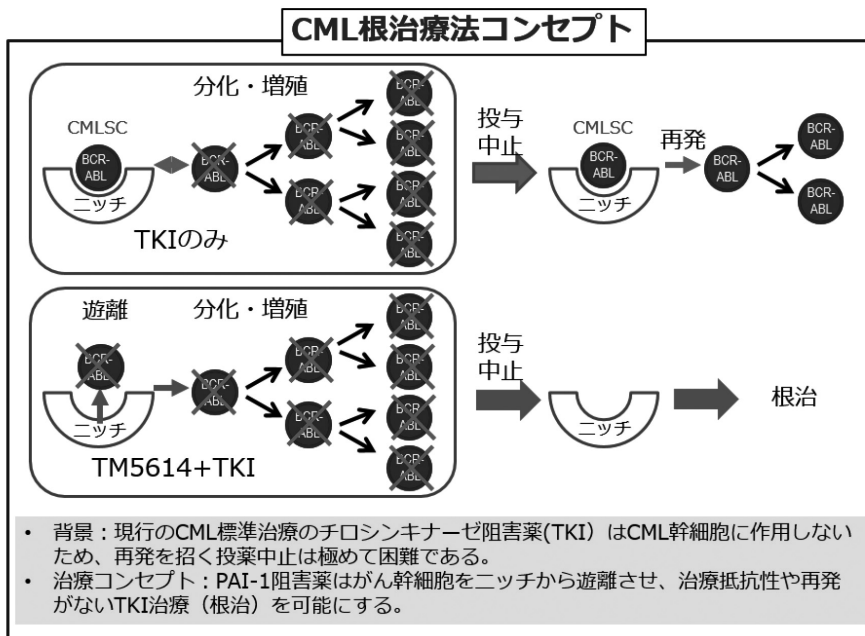


図2 CML 根治療法のコンセプト

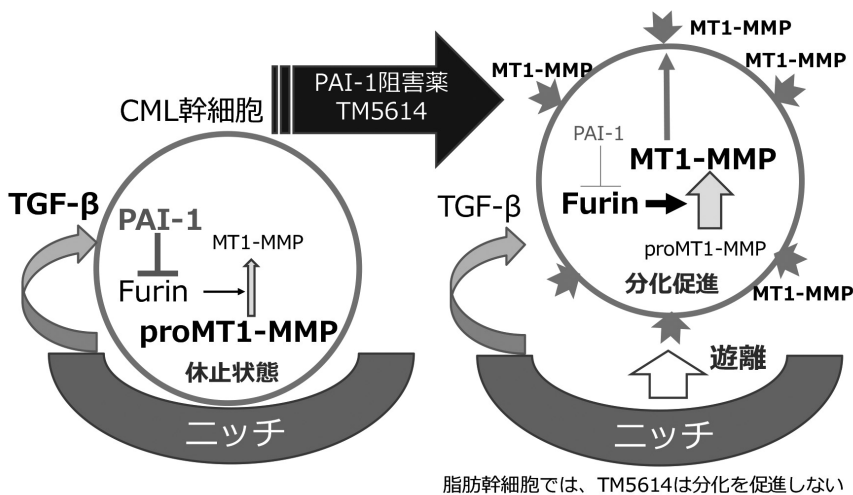


図3 PAI-1 阻害剤の CML 幹細胞に対する作用機序³⁶⁾

TM5614 は Furin-MT1-MMP の活性化を介して、休止 CML 幹細胞を骨髄ニッチから遊離させ、CML 細胞への分化を促進する。

作用機序は、CML 幹細胞の細胞内 PAI-1 を阻害することで、MT1-MMP 活性の活性化を介して、CML 幹細胞を骨髄ニッチから遊離・分化を促進する可能性が示唆された(図3)³⁶⁾。なお、TM5614 は臨床第 I 相試験を終了して、CML 患者での臨床第 II 相試験を検討中である。臨床第 I 相試験では、TM5614 が線溶活性化に働いている示唆を得ており、CML 患

者での有効性が示せることを期待している。

4. おわりに

当初、新しい抗血栓薬になるものと考えられていた PAI-1 阻害剤は、最新の PAI-1 の生理作用の解明に伴って、がん治療への臨床応用の可能性が広がっ

ている。筆者らは、今後も PAI-1 の新たな生理作用の解明と PAI-1 阻害剤の開発研究に取り組んでいきたいと考えている。

著者の利益相反(COI)の開示：

段 孝：役員・顧問職・社員など(横浜バイオリサーチサプライ, スタージェン)

内田 渡：役員・顧問職・社員など(レナサイエンス), その他の報酬(モジュラス)

大島吉輝：その他の報酬(東京生化学研究会)

宮田敏男：役員・顧問職・社員など(レナサイエンス), エクイティ(株など)(レナサイエンス), 研究費(受託研究, 共同研究, 寄付金等)(アステラス, メディエンス LSI, レナサイエンス), その他の報酬(興和)

その他の著者の利益相反(COI)の開示：

本論文発表内容に関連して開示すべき企業との利益相反なし

文献

- Bryans J, Charlton P, Chicarelli-Robinson I, Collins M, Faint R, Latham C, Shaw I, Trew S: Inhibition of plasminogen activator inhibitor-1 activity by two diketopiperazines, XR330 and XR334 produced by *Streptomyces* sp. *J Antibiot* **49**: 1014–1021, 1996.
- Charlton PA, Faint RW, Bent F, Bryans J, Chicarelli-Robinson I, Mackie I, Machin S, Bevan P: Evaluation of a low molecular weight modulator of human plasminogen activator inhibitor-1 activity. *Thromb Haemost* **75**: 808–815, 1996.
- Crandall DL, Hennen JK, Elokda H, Krishnamurthy G, Ant-rilli TM, Bauer JS, Morgan GA, Swillo RE: WAY-140312 reduces plasma PAI-1 while maintaining normal platelet aggregation. *Biochem Biophys Res Commun* **311**: 904–908, 2003.
- Crandall DL, Elokda H, Di L, Hennen JK, Gorlatova NV, Lawrence DA: Characterization and comparative evaluation of a structurally unique PAI-1 inhibitor exhibiting oral in-vivo efficacy. *J Thromb Haemost* **2**: 1422–1428, 2004.
- Ye B, Chou YL, Karanjawala R, Lee W, Lu SF, Shaw KJ, Jones S, Lentz D, Liang A, Tseng JL, Wu Q, Zhao Z: Synthesis and biological evaluation of piperazine-based derivatives as inhibitors of plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1). *Bioorg Med Chem Lett* **14**: 761–765, 2004.
- Izuhara Y, Takahashi S, Nangaku M, Takizawa S, Ishida H, Kurokawa K, van Ypersele de Strihou C, Hirayama N, Miyata T: Inhibition of plasminogen activator inhibitor-1: its mechanism and effectiveness on coagulation and fibrosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **28**: 672–677, 2008.
- Suzuki J, Ogawa M, Muto S, Yamaguchi Y, Itai A, Isobe M: The effects of pharmacological PAI-1 inhibition on thrombus formation and neointima formation after arterial injury. *Expert Opin Ther Targets* **12**: 783–794, 2008.
- Suzuki J, Ogawa M, Muto S, Itai A, Isobe M: A specific inhibitor of plasminogen activator inhibitor-1 suppresses rat autoimmune myocarditis. *Expert Opin Ther Targets* **12**: 1313–1320, 2008.
- Miyazaki H, Ogiku T, Sai H, Moritani Y, Ohtani A, Ohmizu H: Synthesis and evaluation of pyrrolin-2-one compounds, a series of plasminogen activator inhibitor-1 inhibitors. *Chem Pharm Bull* **57**: 979–985, 2009.
- Brooks TD, Wang SW, Brüner N, Charlton PA: XR5967, a novel modulator of plasminogen activator inhibitor-1 activity, suppresses tumor cell invasion and angiogenesis *in vitro*. *Anticancer Drugs* **15**: 37–44, 2004.
- Leik CE, Su EJ, Nambi P, Crandall DL, Lawrence DA: Effect of pharmacologic plasminogen activator inhibitor-1 inhibition on cell motility and tumor angiogenesis. *J Thromb Haemost* **4**: 2710–2715, 2006.
- 段 孝, 宮田敏男：PAI-1 阻害薬・そのポテンシャルと臨床への応用. *日血栓止血会誌* **26**: 310–317, 2015.
- Lucking AJ, Visvanathan A, Philippou H, Fraser S, Grant PJ, Connolly TM, Gardell SJ, Feuerstein GZ, Fox KA, Booth NA, Newby DE: Effect of the small molecule plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) inhibitor, PAI-749, in clinical models of fibrinolysis. *J Thromb Haemost* **8**: 1333–1339, 2010.
- Dewilde M, Van De Craen B, Compennolle G, Madsen JB, Strelkov S, Gils A, Declerck PJ: Subtle structural differences between human and mouse PAI-1 reveal the basis for biochemical differences. *J Struct Biol* **171**: 95–101, 2010.
- Izuhara Y, Yamaoka N, Kodama H, Dan T, Takizawa S, Hirayama N, Meguro K, van Ypersele de Strihou C, Miyata T: A novel inhibitor of plasminogen activator inhibitor-1 provides antithrombotic benefits devoid of bleeding effect in nonhuman primates. *J Cereb Blood Flow Metab* **30**: 904–912, 2010.
- 段 孝, 宮田敏男：創薬シリーズ トランスレーショナルリサーチ PAI-1 阻害薬のトランスレーショナルリサーチ. *日薬理誌* **136**: 340–343, 2010.
- Schmitt M, Wilhelm O, Jänicke F, Magdolen V, Reuning U, Ohi H, Moniwa N, Kobayashi H, Weidle U, Graeff H: Urokinase-type plasminogen activator (uPA) and its receptor (CD87): a new target in tumor invasion and metastasis. *J Obstet Gynaecol (Tokyo 1995)* **21**: 151–165, 1995.
- Binder BR, Mihaly J: The plasminogen activator inhibitor "paradox" in cancer. *Immunol Lett* **118**: 116–124, 2008.
- Czekay RP, Wilkins-Port CE, Higgins SP, Freytag J, Overstreet JM, Klein RM, Higgins CE, Samarakoon R, Higgins PJ: PAI-1: An integrator of cell signaling and migration. *Int J Cell Biol* 2011: 562481, 2011.
- Placencio VR, DeClerck YA: Plasminogen Activator Inhibitor-1 in Cancer: Rationale and insight for future therapeutic testing. *Cancer Res* **75**: 2969–2974, 2015.
- Lademann UA, Rømer MU: Regulation of programmed cell death by plasminogen activator inhibitor type 1 (PAI-1). *Thromb Haemost* **100**: 1041–1046, 2008.
- Mashiko S, Kitatani K, Toyoshima M, Ichimura A, Dan T,

- Usui T, Ishibashi M, Shigeta S, Nagase S, Miyata T, Yae-gashi N: Inhibition of plasminogen activator inhibitor-1 is a potential therapeutic strategy in ovarian cancer. *Cancer Biol Ther* **16**: 253–260, 2015.
- 23) Placencio VR, Ichimura A, Miyata T, DeClerck YA: Small molecule inhibitors of plasminogen activator inhibitor-1 elicit anti-tumorigenic and anti-angiogenic activity. *PLoS ONE* **10**: e0133786, 2015.
- 24) Nakatsuka E, Sawada K, Nakamura K, Yoshimura A, Kinose Y, Kodama M, Hashimoto K, Mabuchi S, Makino H, Morii E, Yamaguchi Y, Yanase T, Itai A, Morishige KI, Kimura T: Plasminogen activator inhibitor-1 is an independent prognostic factor of ovarian cancer and IMD-4482, a novel plasminogen activator inhibitor-1 inhibitor, inhibits ovarian cancer peritoneal dissemination. *Oncotarget* **8**: 89887–89902, 2017.
- 25) Masuda T, Hattori N, Senoo T, Akita S, Ishikawa N, Fujitaka K, Haruta Y, Murai H, Kohno N: SK-216, an inhibitor of plasminogen activator inhibitor-1, limits tumor progression and angiogenesis. *Mol Cancer Ther* **12**: 2378–2388, 2013.
- 26) McWilliam N, Robbie L, Booth N, Bennett B: Plasminogen activator in acute myeloid leukaemic marrows: u-PA in contrast to t-PA in normal marrow. *Br J Haematol* **101**: 626–631, 1998.
- 27) Yilmaz M, Dagdas S, Aki SZ, Guler N, Akoz AG, Erdin Z, Alanoglu G, Ozet G: The relation between plasminogen activator inhibitor activity and disease activation in acute myeloblastic leukaemia patients. *Clin Lab Haematol* **28**: 313–316, 2006.
- 28) Ibrahim AA, Yahata T, Onizuka M, Dan T, Van Ypersele De Strihou C, Miyata T, Ando K: Inhibition of plasminogen activator inhibitor type-1 activity enhances rapid and sustainable hematopoietic regeneration. *Stem Cells* **32**: 946–958, 2014.
- 29) Ferdinand R, Mitchell SA, Batson S, Tumor I: Treatments for chronic myeloid leukemia: a qualitative systematic review. *J Blood Med* **3**: 51–76, 2012.
- 30) Mahon FX, Réa D, Guilhot J, Guilhot F, Huguet F, Nicolini F, Legros L, Charbonnier A, Guerci A, Varet B, Etienne G, Reiffers J, Rousselot P; Intergroupe Français des Leucémies Myéloïdes Chroniques: Discontinuation of imatinib in patients with chronic myeloid leukaemia who have maintained complete molecular remission for at least 2 years: the prospective, multicentre Stop Imatinib (STIM) trial. *Lancet Oncol* **11**: 1029–1035, 2010.
- 31) Valent P: Exploring the curative potential of BCR-ABL1-targeting drugs for chronic myeloid leukaemia. *Lancet Oncol* **11**: 1010–1011, 2010.
- 32) Corbin AS, Agarwal A, Loriaux M, Cortes J, Deininger MW, Druker BJ: Human chronic myeloid leukemia stem cells are insensitive to imatinib despite inhibition of BCR-ABL activity. *J Clin Invest* **121**: 396–409, 2011.
- 33) Sloma I, Jiang X, Eaves AC, Eaves CJ: Insights into the stem cells of chronic myeloid leukemia. *Leukemia* **24**: 1823–1833, 2010.
- 34) Naka K, Hoshii T, Muraguchi T, Tadokoro Y, Ooshio T, Kondo Y, Nakao S, Motoyama N, Hirao A: TGF-beta-FOXO signalling maintains leukaemia-initiating cells in chronic myeloid leukaemia. *Nature* **463**: 676–680, 2010.
- 35) Yahata T, Ibrahim AA, Muguruma Y, Eren M, Shaffer AM, Watanabe N, Kaneko S, Nakabayashi T, Dan T, Hirayama N, Vaughan DE, Miyata T, Ando K: TGF-β-induced intracellular PAI-1 is responsible for retaining hematopoietic stem cells in the niche. *Blood* **130**: 2283–2294, 2017.
- 36) 段 孝, 宮田敏男: PAI-1 阻害薬の展望. *Thromb Med* **8**: 67–70, 2018.