



## 【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](#)

本編は次ページより掲載しております。

# PAI-1 阻害薬・そのポテンシャルと臨床への応用

段 孝\*, 宮田敏男

## PAI-1 inhibitors, its potential and clinical application

Takashi DAN, Toshio MIYATA

**Key words:** PAI-1 inhibitors, multiple sclerosis, inflammation, senescence, cell regeneration

段 孝

1980年、大阪薬科大学修士課程修了後、中外製薬株式会社に入社し、以後ほぼ一貫して、創薬研究に携わる。同社創薬資源研究所長を経て退職。2007年、京都大学再生医科学研究所講師を経て、2008年、東北大学大学院医学系研究科分子病態治療学分野講師。現在、同准教授。薬学博士、薬剤師、臨床検査技師。専門は創薬科学。大腸菌やCHO細胞でのバイオ医薬創製、低分子医薬のHTSからサルでの薬効試験、非臨床試験、ヒトでの第II相試験や臨床薬理試験まで幅広い創薬研究の経験をもち、大学・アカデミアからの創薬を展開している。

プラスミノゲン活性化因子インヒビター-1 (PAI-1, SERPINE1) は、最も研究が進んでいるセリン蛋白分解酵素インヒビター (SERPIN) の1つである。組織型あるいはウロキナーゼ型プラスミノゲン活性化因子 (t-PA, u-PA) を不活性化することで線溶系を抑制して血栓形成に重要な役割を演じ、血栓性疾患の病態に深く関わっている。

筆者らは、10年以上に亘って PAI-1 の生理作用の解明と PAI-1 阻害薬の開発に取り組んでいる<sup>1)</sup>。PAI-1 が t-PA と複合体を形成することで t-PA 活性を阻害するメカニズムに着目して、ヒト PAI-1 蛋白構造を基に in silico で見出したヒット化合物 TM5007 を用いて抗血栓作用を証明した<sup>2)</sup>。PAI-1 阻害作用の構造活性相関から約 190 個の新規誘導体を合成し、血栓症モデルでの薬理試験 (ラット, サル), 安全性薬理試験, 遺伝毒性試験, 2 週間反復投与試験からリード化合物 TM5275 を選択し、最も汎用されている抗血栓薬クロピドグレルに比較して遜色のない抗血栓作用を示すが、出血性副作用はないことを

確認した<sup>3)</sup>。血管内皮細胞から分泌された t-PA は内皮表面に留まることで効率の良い線溶活性を発揮する。PAI-1 は t-PA を内皮から抜き取って複合体を形成するが、TM5275 は t-PA を内皮に留まらせることで、プラスミン生成とフィブリン塊の分解を促進することが明らかになった<sup>4)</sup>。さらに構造最適化を進めて、約 450 種の新規化合物から臨床開発候補 TM5509 を見出して、医師主導治験を進めている (UMIN000010686, 000012853, 000015590)。

TM5509 の当初の臨床開発の目的は、心筋梗塞、脳梗塞、静脈血栓症、肺動脈血栓症などの血栓性疾患の治療や予防であった。しかし、マウスにおける放射線照射後の骨髄移植で PAI-1 阻害薬を投与すると、造血幹細胞因子 (SCF) が遊離して造血再生が著明に亢進する画期的な発見をした<sup>5)</sup>。さらに特筆すべきは、免疫不全マウスにおいて移植したヒト臍帯血由来造血幹細胞を増加させた。それらを契機に、「臍帯血移植後の造血障害改善薬」として開発することを目標に、TM5509 の医師主導臨床試験が進行中である。

血漿中に存在する PAI-1 の主な産生細胞は血管内皮細胞であるが、肝細胞、巨核球、白色脂肪細胞も PAI-1 を産生することが知られ、炎症の制御、糖尿病、肥満などメタボリックシンドロームや慢性腎臓病、癌などの生活習慣病、さらには組織再生や老化

\*責任者連絡先:

東北大学 大学院医学系研究科附属 創生応用医学研究センター 分子病態治療学分野  
〒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

にも関与していることがわかってきた。それにつれて、PAI-1 阻害薬の臨床応用の可能性も広がっている<sup>6,7,8)</sup>。

本論では、筆者らの PAI-1 の生理作用の解明と PAI-1 阻害薬の開発における最新の話題である、① PAI-1 とがん幹細胞、② PAI-1 と多発性硬化症、③ PAI-1 と老化の関連性について論じ、PAI-1 阻害薬のそれら疾患への臨床応用に向けてのポテンシャルを述べる。

## 1. PAI-1 とがん幹細胞

かつては不治の病とされた慢性骨髄性白血病 (CML) は、100 万人に 10~20 名程度の発症率の希少疾患である。造血幹細胞移植を施行しなければ急性転化期に進行して、ほぼ全ての患者が 7~8 年以内に死亡する予後不良の疾患であった。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 (IRIS 試験) では、CML 関連死は 7% にまで激減した<sup>9)</sup>。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。以下、「完全寛解」という) が 2 年以上得られていても、投与を中止すると完全寛解維持率は 1 年後で 41% と半数以上の患者で再発 (完全寛解の喪失) することが示され、CML 幹細胞の関与が示唆されている<sup>10)</sup>。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<sup>11,12)</sup>。CML 幹細胞に作用し難いことは、第二、第三世代の TKI においても共通の課題である。そのため、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い。また、TKI の薬剤費が 1 カ月で 33~65 万円と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 治療での完全寛解を投薬中止後も高率で維持できる新たな CML 治療法が希求されている。第二、第三世代 TKI も使用可能となった現在の CML の治療は、より早くより深い寛解の達成が目標となっており、さらには完全治癒に向けての新たな治療法の開発への期待が高まりつつある。

筆者らは、PAI-1 阻害薬の創薬に取り組み、TM5509 が骨髄ニッチから造血幹細胞を離脱させ、造血細胞へと分化させることを発見<sup>5)</sup>し、臍帯血移植後の造血回復を目標に医師主導治験を進めている。BCR-ABL 陽性白血病 (CML) 細胞のなかの CD34<sup>+</sup>CD38<sup>-</sup> 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ているなど、造血幹細胞と類似した表現型を示し、CML 幹細胞と考えられている<sup>13)</sup>。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<sup>14)</sup>。CML 幹細胞は、TKI 存在下でも生存できる一方、正常な造血幹細胞と同様のサイトカインへの反応性を示すことが報告され、TKI 療法という CML 細胞にとっては危機的状態では造血幹細胞様の CML 幹細胞となり生き延び、根治から免れていると考えられる。そこで筆者らは、PAI-1 阻害剤が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のと同様に、CML 幹細胞をニッチから離脱させ、分化した CML 細胞を TKI で殺す「CML 根治療法」の発想を得た。

C3H マウス由来の骨髄性前駆細胞株である 32D 細胞に、BCR-ABL 遺伝子を導入した 32Dp210 細胞株 (CML 細胞株) を C3H マウスに静脈内に移植して作成した CML モデル実験を行った。PAI-1 阻害剤は、臨床開発中の PAI-1 阻害薬 TM5509 よりさらに *in vivo* での PAI-1 阻害活性を高めた TM5614 を使用した。CML 細胞株移植後 8 日目から、①生理食塩水 (saline)、②イマチニブ (IM: 150 mg/kg)、③IM (150 mg/kg)+TM5614 (10 mg/kg) で、いずれも 1 日 1 回 7 日間経口投与を行った。CML 細胞株移植後 8 日目において 20% 前後の CML 細胞株が骨髄に生着することを確認している。生理食塩水群では CML 細胞株移植後 2 週間で全例が死亡し、IM 投与群では延命効果が見られたものの、投与中止により全例が死亡した。しかし、IM と TM5614 を併用した場合は、特筆すべき生存期間の延長が認められ、さらに生存率は 60% に達した。このことは、IM は増殖速度の速い分化細胞には作用するが、骨髄ニッチの G0 期 CML 幹細胞には作用せず、投与中止後再発 (CML 幹細胞からの CML 細胞の分化増殖) し、マウスは死に至ったと考えられる。一方、TM5614 は

CML 幹細胞を細胞周期に誘導することで、IM の効果を高め、薬剤中止後の生存率(寛解維持)が高率になったものと考えられる。なお、PAI-1 阻害剤を単独投与した場合は生理食塩水投与と同様の死亡傾向を示しており、PAI-1 阻害剤自体の効果では無いことを確認している。

その CML モデルマウスで、IM や PAI-1 阻害剤を 1 日 1 回 7 日間経口投与し、薬剤投与前、投与直後、投与 28 日後に骨髓に生着している CML 細胞株を FACS で解析した。CML 細胞株移植後 8 日目では、投薬開始時点の骨髓にはおよそ 20% 前後の CML 細胞株が生着していた。薬剤 7 日間投与終了直後では、CML 細胞株の著明な減少が確認された。さらに、28 日後に生存しているマウスを解析したところ、IM 単独投与群は再発して骨髓内の CML 細胞株が増加していたが、IM と PAI-1 阻害剤を併用した群では、骨髓中の CML 細胞株数は明らかな低値を示した。

CML では、その原因の BCR-ABL 遺伝子変異がどのようにして後天的に造血幹細胞で起こるかは分かっていない。マウスでは、造血幹細胞(Lineage 陰性、Sca-1 陽性 c-Kit 陽性(L-S+K+) 細胞)に BCR-ABL 遺伝子を導入した CML 幹細胞を移植することで、CML を人為的に発症させることができる。そこで、CML 幹細胞を移植 2 週間後、マウスの大腿骨と頸骨から骨髓細胞を採取し、CML 幹細胞を、c-kit 抗体、SCA-1 抗体で染色しフローサイトメーターで分画した。その PAI-1 mRNA の発現レベルは、L-S+K+ 分画の CML 幹細胞で最も高かった。また、PAI-1 を蛍光免疫染色した細胞を蛍光顕微鏡で撮影し、蛍光強度を定量化した結果においても、CML 幹細胞で PAI-1 タンパク質の発現が最も強かった。このことは、CML 幹細胞では、分化が始まった前駆細胞よりも PAI-1 発現が亢進していることを示し、換言すれば、CML 幹細胞は分化が進むに連れて PAI-1 の転写と発現量が減少する。この PAI-1 発現量の違いは、CML 幹細胞が分化した CML 細胞に比べて PAI-1 阻害剤に対する感受性が高い可能性を示唆している。

現在、TM5614 の非臨床安全性が確認され、作用機序や有効性がさらに明らかになりつつある。平成 27 年には、臨床試験開始までに必要となる非臨床安全性 GLP 試験を終了して、臨床第 I 相試験が開

始できる見込みである。

## 2. PAI-1 と多発性硬化症

多発性硬化症(MS)は、中枢神経の脱髄変性疾患の一つで、脳、脊髄、視神経などに病変が起こり、多様な神経症状の炎症性自己免疫疾患である。また、MS は特定疾患(公費対象)であり、厚生労働省が患者の医療費負担を公費助成する「特定疾患治療研究事業」開始 2 年目に指定されたが、未だに軽快者基準のない、言い換えると治療法が未確立の難病である。わが国の患者数は、平成 21 年度で 14,227 人(特定疾患医療受給者証交付件数)であるが、欧米での有病率は高く、世界では 250 万人の患者がおり増加傾向にある。約 80% は 50 歳までに発症し(平均 27 歳)、ほとんどは再発と寛解を繰り返し、長期の身体的障害および認識衰退を蓄積する。治療法としては、MS の初発あるいは再発時の急性期にはステロイド療法が行われ、メチルプレドニゾロンなどのステロイド大量点滴静注療法(パルス療法と呼ぶ)が推奨される。わが国における再発予防の第一選択薬はインターフェロン  $\beta$  注射薬(ベタフェロンおよびアボネックス)で、本治療により臨床的な再発が平均 30% 程度減少する。唯一承認の経口薬フィンゴリモド(イムセラ/ジレニア)は、突然死等の副作用があり、無効患者が約 20%、年間再発予防率 50% 程度と安全性、有効性ともに課題が大きく、満足できるものではない。しかし、世界での売上は 10 億ドルを超えており、MS 治療における経口薬のアンメットメディカルニーズの高さが窺い知れる。その改良を狙った S1P 受容体薬の開発研究は複数あるが、作用機序が異なり有効性と安全性が高い新たな経口薬が待望されている。

MS モデルとして汎用される実験的アレルギー性脳脊髄炎(EAE)が PAI-1 欠損マウスでは抑制されること<sup>15)</sup>、再発寛解型 MS 患者の再発期に血中 I-1 活性が上昇すること<sup>16)</sup>が報告されている。筆者らは、新規の PAI-1 阻害化合物 450 種の中から、脳移行性が高いと予測される TM5484 を用いて、MS モデル動物における PAI-1 阻害薬の薬効について検討した。In vitro 血液脳関門(BBB)再構築実験系で最も高い脳移行性が推測された TM5484(5 mg/kg/日)以



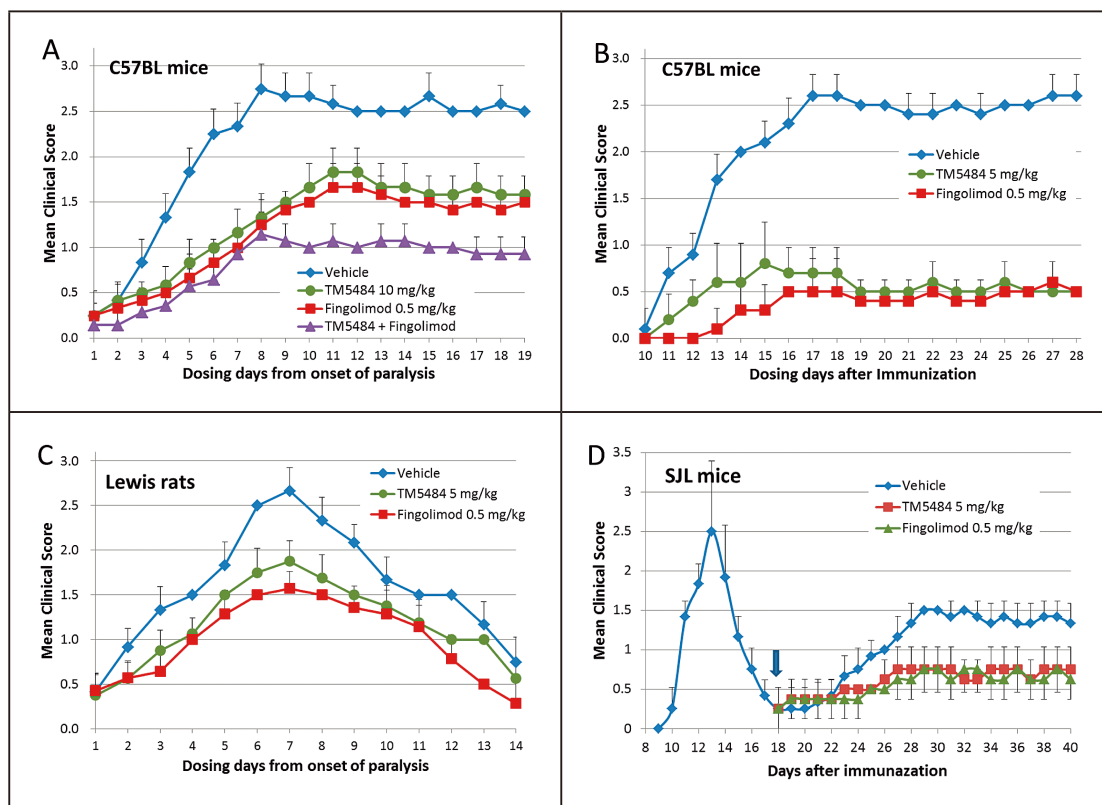


図1 PAI-1 阻害薬 TM5484 の MS モデル動物における薬理作用

TM5484 は、EAE/C57BL6 マウスにおいて治療効果(A)および予防効果(B)を示し、また Lewis ラット (C)、SJL/N マウス (D)においても治療効果を示した。その作用は、陽性対照薬のフィンゴリモドと同様であったが、併用効果が見られることから、作用機序の違いが示唆される。

上)は、陽性対照としたフィンゴリモドでの最大活性(0.5 mg/kg/日)に匹敵する治療効果を EAE/C57BL6 マウスで示し、併用効果が見られることから作用機序の相違が示唆された(図 1A)。PAI-1 阻害薬は、PAI-1 活性を抑制することで、マクロファージの浸潤を抑制<sup>17)</sup>し、神経細胞の生存・再生・シナプスの形成を促進する脳由来栄養因子 BDNF の転写を有意に上昇させる作用を有する<sup>18)</sup>。これは既存治療薬とは異なる作用であり、有効性、安全性ともに既存薬に比較して優位である可能性が高い。また、EAE/C57BL6 マウスにおける発症前投与で予防効果も認められた(図 1B)。EAE/C57BL6 マウス以外での薬効を確認する目的で、Lewis ラットおよび MS 再発モデル動物の SJL/N マウスでの薬効試験を実施した。その結果、TM5484 は Lewis ラット、SJL/N マウスともに有効性を示した(図 1C, D)。さらに、ヒトでの効果を予測するためのサルでの薬理試験で

は、TM5484 は 0.3 mg/kg で有意な薬効を示し、非臨床(非 GLP)の Ames 試験と hERG 試験で陰性(フィンゴリモドは陽性)、ラット 2 週間経口反復毒性試験の無毒性量が 30 mg/kg/日(雄)と安全性が高かった。米国 Wyeth 社の臨床試験でドロップアウトした PAI-749<sup>19)</sup>とは異なり、ヒト血漿中で作用することも確認している。

PAI-1 阻害薬の in vivo の MS モデルにおける薬効は、その PAI-1 阻害作用の強さと脳移行性により決定されるものと考えられる。筆者らは、PAI-1 阻害薬の構造最適化研究で、TM5484 より脳移行性が高いと推定される化合物や PAI-1 阻害作用が 10 倍以上高い化合物も得ている。今後、それらの化合物の安全性や薬物代謝を検討して、臨床開発に進めたいと考えている。

なお、PAI-1 遺伝子欠損マウスでは MS のモデルである EAE が発症しにくいことをヒントに、EAE

モデルにおける PAI-1 阻害薬の薬効を確認して、MS 治療への臨床応用の可能性を考えている。アルツハイマー病モデルの APP-PS1 マウスと PAI-1-KO マウスの掛け合わせでは、 $\beta$  アミロイド沈着が激減することが報告され<sup>20)</sup>、また APP-PS1 マウスで、ワイズ社の PAI-1 阻害薬で脳移行性の PAZ-417 はアミロイド  $\beta$  蓄積を抑制し、認知機能も回復させるのに対して、脳移行性がない PAI-749 では全く作用しないことが報告されている<sup>21)</sup>。そこで、脳移行性に優れた PAI-1 阻害薬を見出すことができれば、これら疾患に対する有用な治療薬となる可能性が強く示唆される。

### 3. PAI-1 と老化

希少難治性疾患で日本人に多いウェルナー症候群は常染色体劣性遺伝の早老症である。その原因は、RecQ 型 DNA ヘリカーゼ (WRN) の変異と考えられているが、この変異が何故、本疾患に特徴的な早老症状、糖尿病、動脈硬化、悪性腫瘍等をもたらすかは未解明である。日本は高齢化が世界的に最も早く進行している国であり、「健康日本 21(第二次)」の基本方針として、(1)健康寿命の延伸と健康格差の縮小、(2)生活習慣病の発症予防と重症化予防が出来る薬剤の開発が切望されている。ウェルナー症候群の臨床像はそれら課題の縮図と言って過言ではない。PAI-1 は、糖尿病、動脈硬化や悪性腫瘍のリスク因子であり、老化 HUVEC 細胞やウェルナー症候群患者の血中や繊維芽細胞で老化促進因子 IGFBP-3 と共に高発現していることから、老化マーカーと考えられてきた。一方、WRN 欠損マウスは早老化せず、テロメア短縮が加わることで早老症を発現<sup>22)</sup>。近年、正常 WRN が PAI-1 発現を抑制している<sup>23)</sup>。PAI-1 のノックダウンで細胞老化が抑制できる<sup>24)</sup>ことが報告された。申請者らは、早老症モデルの klotho マウスと PAI-1 欠損マウスを交配した klotho/PAI-1 欠損マウスにおいて、短命、低身長は著明に改善し、血中カルシウムおよびリン濃度については影響しないが、血中 PAI-1 と IGFBP-3 の上昇は正常化することを見出した(図 2<sup>25)</sup>)。

klotho 欠損マウスにおいて PAI-1 阻害により、IGFBP3 の血中濃度は低下し、肝臓、腎臓等の TRL

の発現低下は寛解した。PAI-1 の遺伝子発現は腎臓、肺に加え大動脈において klotho 欠損により顕著に増加したが、PAI-1 の阻害により回復した。腎臓における老化マーカー遺伝子 p16link4a の発現レベルも有意に低下した。Klotho 欠損による血中 FGF23 上昇は、PAI-1 阻害により有意な抑制が認められた。血中カルシウムおよびリン濃度については、PAI-1 阻害による影響は認められなかった。PAI-1 阻害薬の TM5441 の経口投与により、klotho 欠損に起因する体重減少は回復し、生存期間についても有意に延長し、最大で klotho 欠損マウスの倍以上の 300 日程度まで生存した。腎機能の指標である血中クレアチニンは、klotho 欠損により高値となるが、PAI-1 阻害により、野生型同様の値まで低下した。

また、抗 N $\omega$ -nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME: NO 合成酵素の阻害によって老化を促進すると見られる) 投与による血管老化モデルマウスにおいて、PAI-1 欠損および PAI-1 阻害薬(TM5441/5484) 投与の両方で、高血圧と動脈硬化が寛解することを実証した。L-NAME 投与による血管での老化マーカー遺伝子 p16(Ink4a) の発現亢進および肝臓や大動脈における ATLR テロメアの短縮が PAI-1 阻害薬投与により抑制されることを発見した<sup>26)</sup>。

経口 PAI-1 阻害薬 TM5441/5484 は、ヒト PAI-1 結晶の X 線構造解析、デザインした約 500 の誘導体<sup>27)</sup> から、有効性、安全性で選択した開発候補化合物である。TM5441/5484 は経口投与可能であり、同系列の PAI-1 阻害薬が医師主導臨床試験に進んでおり、また安全性予備試験(非 GLP)でも問題がないことから、安全性や製剤化における懸念は少なく、治療応用は比較的短期で可能と考えられる。

以上の一連の解析から、老化に伴う様々なバイオマーカーに対する PAI-1 阻害薬の多面的な治療寛解効果を確認することが出来た。これに基づき、今後はウェルナー症候群をはじめとする早老症のみならず、老化に関連する肺気腫・肺線維症<sup>28)</sup>といった呼吸器疾患に対する PAI-1 阻害薬の治療効果や作用機序の解析を行う予定である。本研究において、PAI-1 阻害薬の開発が成功すれば、一剤でウェルナー症候群の多様な老化病態に対して多面的な治療効果が期待できるばかりではなく、わが国が抱える生活習慣病の発症予防・重症化予防に効果を発揮する可能性

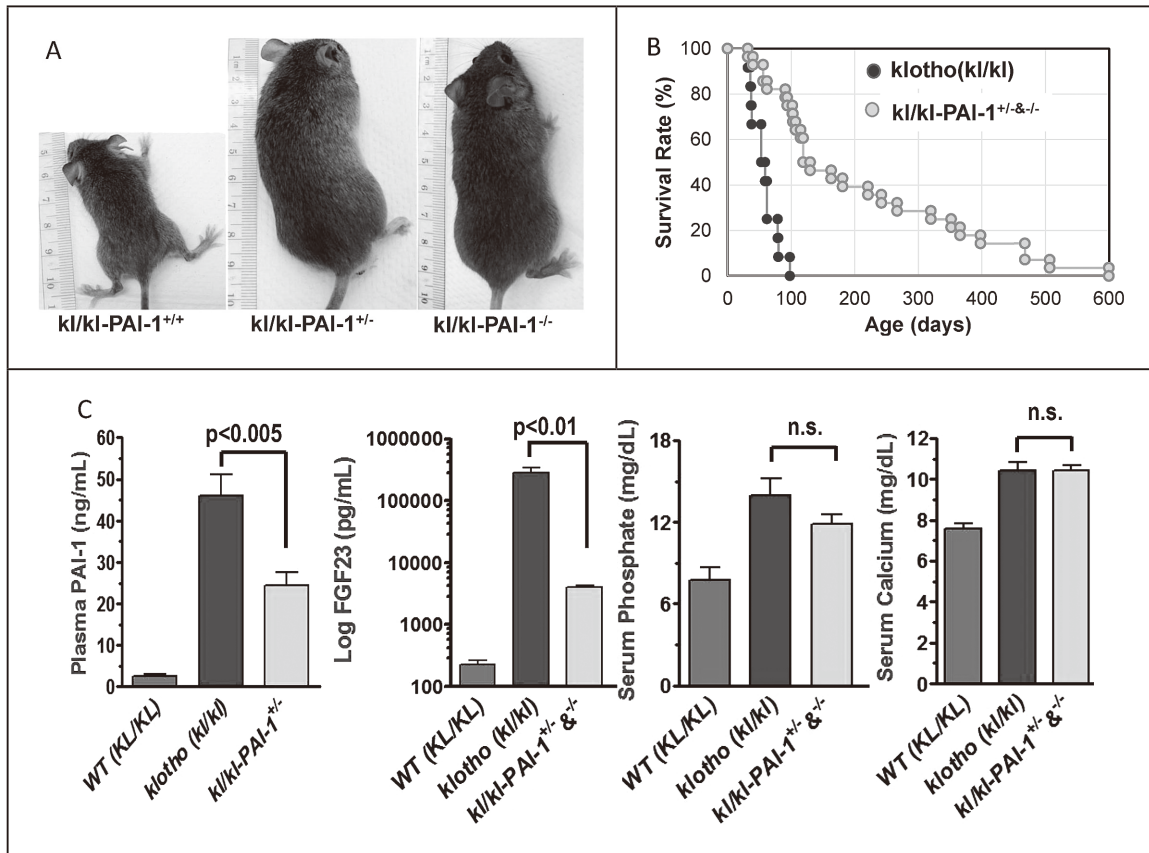


図2 早老症モデルの klotho マウスと PAI-1 欠損マウスの交配の影響  
klotho/PAI-1 欠損マウスにおいて、低身長(A)と短命(B)は著明に改善し、血中カルシウムおよびリン濃度については影響しないが、血中 PAI-1 と IGFBP-3 の上昇は正常化する(C)ことが見出された。

## PAI-1阻害薬の適応範囲

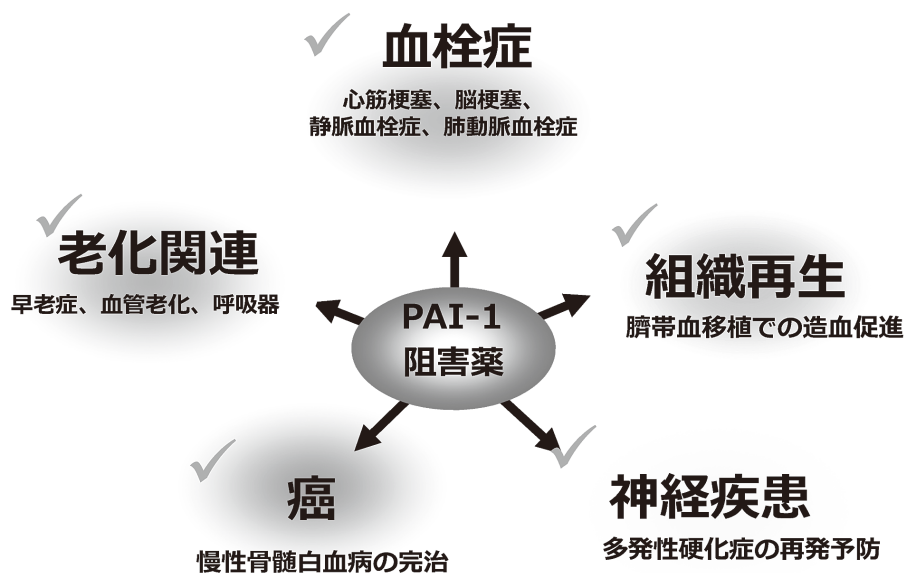


図3 広がる PAI-1 阻害薬の適用範囲

が考えられ、画期的な治療薬の創出が期待できる。

本研究ではさらに、日本およびアメリカにおいて PAI-1 の遺伝子多型を調べ老化マーカーとの相関を調べる予定であり、これらの知見を合わせることで、PAI-1 を標的とした老化関連の種々の病態に対する個別化医療の実現が期待される。

## 終わりに

当初、新しい抗血栓薬になるものと考えられていた PAI-1 阻害薬は、最新の PAI-1 の生理作用の解明に伴って、造血器疾患、神経性疾患、がん、さらには加齢性疾患への臨床応用とポテンシャルが広がっている(図 3)。筆者らは、今後も臨床応用を見据えた PAI-1 の新たな生理作用の解明と PAI-1 阻害薬の開発研究に取り組んでいきたいと考えている。

## 謝辞

本研究の一部は、(独)医薬基盤研究所の先駆的医薬品・医療機器研究発掘支援事業、厚生労働省の厚生労働科学研究費補助金(医療技術実用化総合研究事業)および厚生労働科学研究委託業務(難治性疾患等克服研究事業)、ならびに文部科学省の次世代がん研究シーズ戦略的育成プログラムの研究助成・支援を受けて行われた。

著者の利益相反(COI)の開示：

宮田敏男：役員・顧問職社員など(株式会社レナサイエンス)、エクイティ(株式会社レナサイエンス)  
その他著者全員の利益相反(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

- 1) 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. 日本薬理学雑誌 **136**: 340–343, 2010.
- 2) 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.
- 3) 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.
- 4) Yasui H, Suzuki Y, Sano H, Suda T, Chida K, Dan T, Miyata T, Urano T: TM5275 prolongs secreted tissue plasminogen activator retention and enhances fibrinolysis on vascular endothelial cells. *Thromb Res* **132**: 100–105, 2013.
- 5) 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.
- 6) 市村敦彦, 段 孝, 宮田敏男. PAI-1 阻害薬の臨床応用. 血栓止血誌 **24**: 387–391, 2013.
- 7) 段 孝, 市村敦彦, 宮田敏男. CKD と抗血栓療法 CKD における抗血栓療法の新たな展開. 血栓と循環 **21**: 137–143, 2013.
- 8) 段 孝, 市村敦彦, ニコラス・ペリッシュ, 宮田和彦, 赤堀浩司, 宮田敏男. Plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) 分子 新たな生理的役割と臨床応用. 臨床血液 **55**: 396–404, 2014.
- 9) Ferdinand R, Mitchell SA, Batson S, Tumor I: Treatments for chronic myeloid leukemia: a qualitative systematic review. *J Blood Med* **3**: 51–76, 2012.
- 10) Mahon FX, Rea D, Guilhot J, Guilhot F, Huguet F, Nicolini F, Legros L, Charbonnier A, Guerci A, Varet B, Etienne G, Reiffers J, Rousselot P; Intergroupe Francais des Leucemies Myeloides 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.
- 11) Valent P: Exploring the curative potential of BCR-ABL1-targeting drugs for chronic myeloid leukaemia. *Lancet Oncol* **11**: 1010–1011, 2010.
- 12) 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.
- 13) Sloma I, Jiang X, Eaves AC, Eaves CJ: Insights into the stem cells of chronic myeloid leukemia. *Leukemia* **24**: 1823–1833, 2010.
- 14) 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.
- 15) East E, Gverić D, Baker D, Pryce G, Lijnen HR, Cuzner ML: Chronic relapsing experimental allergic encephalomyelitis (CREAE) in plasminogen activator inhibitor-1 knockout mice: the effect of fibrinolysis during neuroinflammation. *Neuropathol Appl Neurobiol* **34**: 216–230, 2008.
- 16) Onodera H, Nakashima I, Fujihara K, Nagata T, Itoyama Y: Elevated plasma level of plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis. *Tohoku J Exp Med* **189**: 259–265, 1999.
- 17) Ichimura A, Matsumoto S, Suzuki S, Dan T, Yamaki S, Sato Y,



- Kiyomoto H, Ishii N, Okada K, Matsuo O, Hou FF, Vaughan DE, van Ypersele de Strihou C, Miyata T: A small molecule inhibitor to plasminogen activator inhibitor 1 inhibits macrophage migration. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **33**: 935–942, 2013.
- 18) Pelisch N, Dan T, Ichimura A, Sekiguchi H, Vaughan D, van Ypersele C, Miyata T: Plasminogen Activator Inhibitor-1 Antagonist TM5484 Attenuates Demyelination and Axonal Degeneration in a Mice Model of Multiple Sclerosis. *PLOS ONE* (2015 in press).
  - 19) 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.
  - 20) Liu RM, van Groen T, Katre A, Cao D, Kadisha I, Ballinger C, Wang L, Carroll SL, Li L: Knockout of plasminogen activator inhibitor 1 gene reduces amyloid beta peptide burden in a mouse model of Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* **32**: 1079–1089, 2011.
  - 21) Jacobsen JS, Comery TA, Martone RL, Elokda H, Crandall DL, Oganessian A, Aschmies S, Kirksey Y, Gonzales C, Xu J, Zhou H, Atchison K, Wagner E, Zaleska MM, Das I, Arias RL, Bard J, Riddell D, Gardell SJ, Abou-Gharbia M, Robichaud A, Magolda R, Vlasuk GP, Bjornsson T, Reinhart PH, Pangalos MN: Enhanced clearance of A $\beta$  in brain by sustaining the plasmin proteolysis cascade. *Proc Natl Acad Sci USA* **105**: 8754–8759, 2008.
  - 22) Chang S, Multani AS, Cabrera NG, Naylor ML, Laud P, Lombard D, Pathak S, Guarente L, DePinho RA: Essential role of limiting telomeres in the pathogenesis of Werner syndrome. *Nat Genet* **36**: 877–882, 2004.
  - 23) Castro E, Oviedo-Rodriguez V, Angel-Chavez LI: WRN polymorphisms affect expression levels of plasminogen activator inhibitor type 1 in cultured fibroblasts. *BMC Cardiovasc Disord* **8**: 5, 2008.
  - 24) Elzi DJ, Lai Y, Song M, Hakala K, Weintraub ST, Shiio Y: Plasminogen activator inhibitor 1--insulin-like growth factor binding protein 3 cascade regulates stress-induced senescence. *Proc Natl Acad Sci USA* **109**: 12052–12057, 2012.
  - 25) Eren M, Boe AE, Murphy SB, Place AT, Nagpal V, Morales-Nebreda L, Urich D, Quaggin SE, Budinger GR, Mutlu GM, Miyata T, Vaughan DE: PAI-1-regulated extracellular proteolysis governs senescence and survival in Klotho mice. *Proc Natl Acad Sci USA* **111**: 7090–7095, 2014.
  - 26) Boe AE, Eren M, Morales-Nebreda L, Murphy SB, Budinger GR, Mutlu GM, Miyata T, Vaughan D. Nitric oxide prevents alveolar senescence and emphysema in a mouse model. *PLoS One* **10**: e0116504, 2015.
  - 27) Miyata T, Kikuchi K, Kiyomoto H, van Ypersele de Strihou C: New era for drug discovery and development in renal disease. *Nat Rev Nephrol* **7**: 469–477, 2011.
  - 28) Huang WT, Vayalil PK, Miyata T, Hagood J, Liu RM: Therapeutic value of small molecule inhibitor to plasminogen activator inhibitor-1 for lung fibrosis. *Am J Respir Cell Mol Biol* **46**: 87–95, 2012.