

- 10) Opresko, P.L., Mason, P.A., Podell, E.R., Lei, M., Hickson, I. D., Cech, T.R., & Bohr, V.A. (2005) *J. Biol. Chem.*, 280, 32069–32080.
- 11) Tomita, K., Matsuura, A., Caspari, T., Carr, A.M., Akamatsu, Y., Iwasaki, H., Mizuno, K., Ohta, K., Uritani, M., Ushimaru, T., Yoshinaga, K., & Ueno, M. (2003) *Mol. Cell. Biol.*, 23, 5186–5197.
- 12) Tomita, K., Kibe, T., Kang, H.Y., Seo, Y.S., Uritani, M., Ushimaru, T., & Ueno, M. (2004) *Mol. Cell. Biol.*, 24, 9557–9567.
- 13) Kibe, T., Ono, Y., Sato, K., & Ueno, M. (2007) *Mol. Biol. Cell.*, 18, 2378–2387.
- 14) Cobb, J.A., Schleker, T., Rojas, V., Bjergbaek, L., Tercero, J. A., & Gasser, S.M. (2005). *Genes Dev.*, 19, 3055–3069.

上野 勝

(広島大学大学院先端物質科学研究科
分子生命機能科学専攻)

The roles of DNA replication and recombination factors in telomere maintenance

Masaru Ueno (Department of Molecular Biotechnology, Graduate School of Advanced Sciences of Matter, Hiroshima University, 1-3-1 Kagamiyama, Higashi-Hiroshima 739-8530, Japan)

S100A8 と S100A9 によるがんの肺転移 制御

1. 転移におけるがん細胞

がんの血行性転移は少なくとも四つの段階からなる (図 1-A)。1, 原発巣で増殖したがん細胞同士の接着が失われそれを取り囲む正常な組織構築に matrix metalloprotease (MMP) などを活性化して浸潤する, 2, がんに囚らずも酸素と栄養を供給している血管の中に侵入し体循環によって転移を予定している臓器にたどりつく, 3, 転移予定臓器の血管から外に出る, 4, 転移予定臓器内で増殖する。この複雑な事象の根本要因はこれまでがん細胞そのもののの中に想定された『転移遺伝子』に求められてきた。歴史的には高転移性か否かによって発現に差のある遺伝子として同定された NDP kinase Nm23 などである¹⁾。その低発現や遺伝子変異ががんを転移性に導くとされてきた。しかし Nm23 の結合で Prune の cAMP phosphodiesterase (PDE) 活性およびがん細胞の転移能は促進され, PDE 阻害薬である dipyrindamole がこれを抑制する場合もある²⁾。現在までに RhoC や特定のケモカイン受容体をはじめ多くの遺伝子

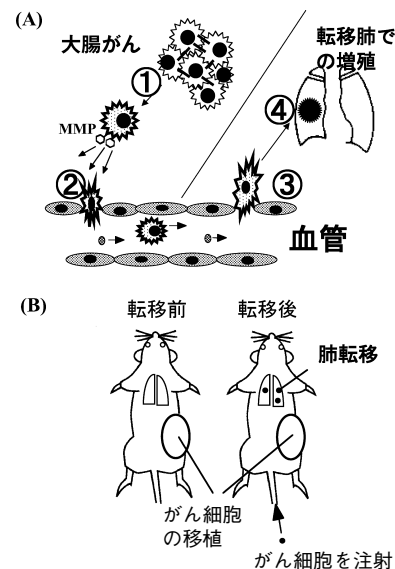


図 1 転移の各段階と実験系
A 転移の 4 段階 (本文参照)
B 転移のモデル実験 (本文参照)

が転移と関係があるものとしてがん細胞から同定されている^{3,4)}。転移には多段階かつ多彩な生物学的活性が必要であるが, 複数の分子の動態を制御する典型的な存在は転写因子である。例えば, Weinberg 博士の研究室では転移能力の異なるマウスの乳がん細胞における網羅的な遺伝子発現解析を上で述べた転移段階の達成度と比較検討し, 転写因子 Twist を同定した⁵⁾。転移の第一段階であるがん細胞同士の接着は E-cadherin に依存するが Twist は本接着分子の発現を低下させるだけでなく, 形態変化や細胞運動など多くの生物学的事象をひき起こすことが知られている。

2. 転移における生体側因子

一方, 生体側の転移に関わる現象の研究も進んできた。その最も理解しやすい例が腫瘍血管新生である。もちろんがんそのものがなければ腫瘍血管新生も起こらないのであるからあくまでがん細胞が議論の出発点であることに変わりはない。がん細胞はその制御を逸脱した過剰増殖ゆえに少なくとも局所的に低酸素状態となり転写因子 HIF-1 α や NF- κ B を介して JunB が誘導される⁶⁾。これらは血管内皮細胞増殖因子 (VEGF) の転写を起こし, がんに向かって血管が新生される。この血管は単に酸素と栄養をがんに供給するだけではなく, これを介して細胞や分泌性タンパク質が生体とがんとの間を往来する。例えば, リンパ球やマクロファージなど腫瘍免疫担当細胞はがん細胞の殺傷など

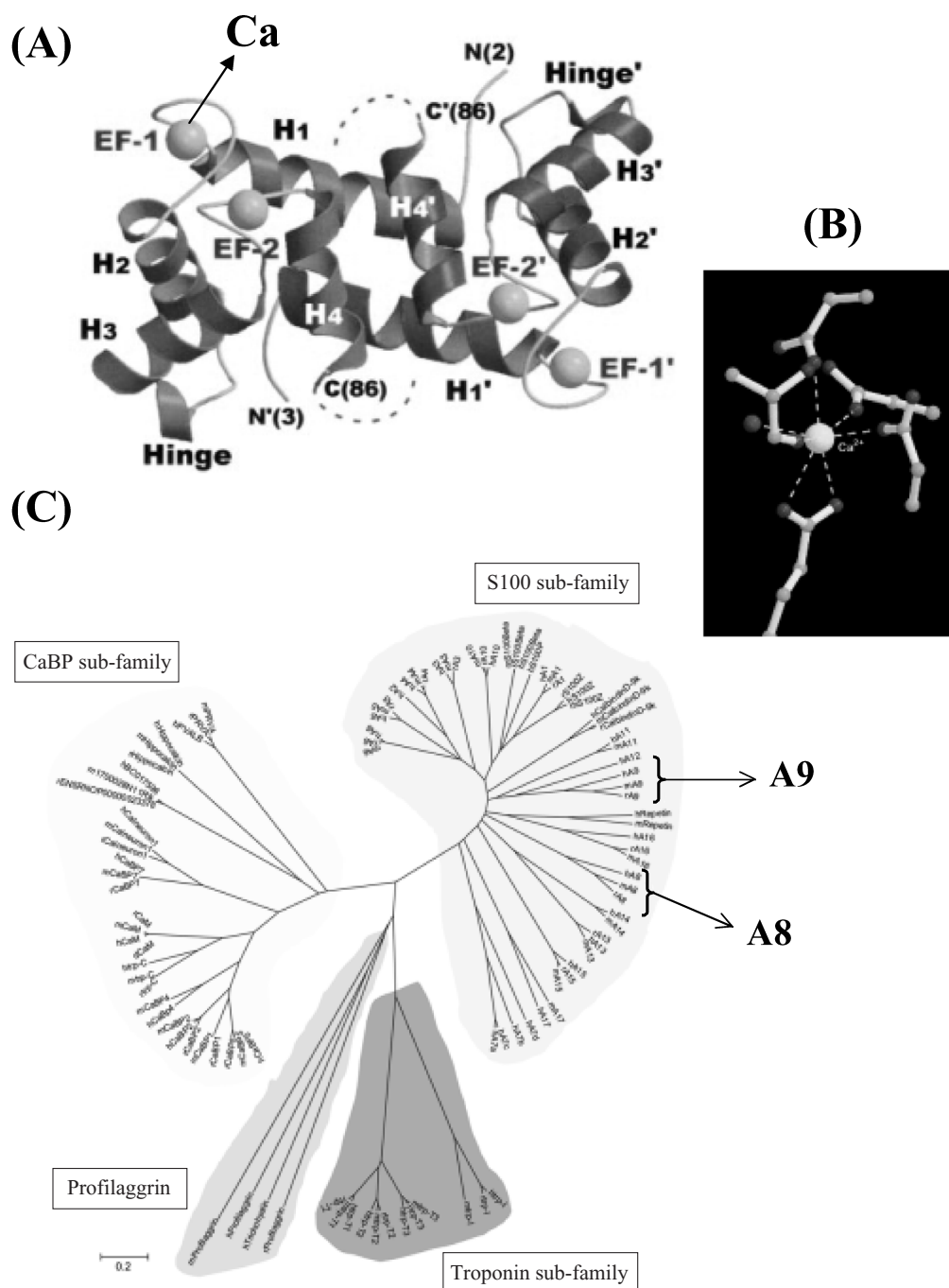


図2 S100 タンパク質

- A S100A9 のホモダイマーの結晶構造を示す。モノマーは4個の α ヘリックス (H1-4) からなり2個のヘリックス-ループ-ヘリックス (EF-hand, N端 EF-1, C端 EF-2) を形成する。各EFではヘリックスの介在領域にCaが結合する (文献12より引用)。
- B S100A8 のEF-2は7個の酸素原子がCa結合に関与している。
- C EF-hand superfamily の1000-bootstrap 解析 (文献10より引用)

に参与する。がん細胞からは先述の VEGF の他に TNF α , や TGF β などが腫瘍血管に分泌される。TGF β は ErbB-2 による乳がん発症には抑制的に働くが、がん細胞が一度血流に入ると上述した転移の第 3 段階、すなわち血管の外へがん細胞が出るステップに促進的に作用する⁷⁾。VEGF も Src の活性化を介してこの第 3 段階に関与している⁸⁾。

3. 転移予定臓器の転移前解析

このようにがん細胞から分泌される因子に刺激されて生体が反応しがん細胞と相互作用する。転移を議論する上で『種と土壌』という考え方がある。種とは植物に喩えた原発巣から弾けて飛ぶがん細胞のこと、また土壌とは種をまきうける畑に見立てた転移予定臓器のことである。種が飛来する前にその植物は腫瘍血管を利用してメッセージを転移予定臓器に送り遠隔操作で畑を耕し土壌を肥沃にして種の生着を促すのではないかと、という仮説も成り立つ。転移の四つの段階を分断することで単純化し、転移の生物学的実験系を構築できる (図 1-B)。すなわち、自然転移しないことがわかっているがん細胞をマウスの皮下に移植し増殖するのを待って原発巣に見立てる。できあがった皮下のがんからは多くの物質が分泌されて転移予定臓器の土壌を耕している。この時点で、第 1 および 2 段階をスキップする目的でマウスの尾静脈から同じがん細胞を静脈注射する。この実験系で注射されたがん細胞が最初に到達する臓器は肺であり、転移予定臓器が実際に肺であるならがん細胞を標識することによって肺への転移を定量化することができる。

皮下のがんができる前後、すなわち転移予定臓器の土壌が形成される前後で、マウス肺の cDNA マイクロアレイを施行したところ、S100A8 と S100A9 の mRNA が有意に上昇していた⁹⁾。マウスの転移前肺の血管内皮細胞とマクロファージで発現が誘導され、中和抗体の投与は転移を抑制した。『種と土壌』説でいえば S100A8 と S100A9 の発現で土壌が耕されたことになるが、抗 VEGF 抗体や抗 TNF α 抗体で両者の発現は抑制される。両タンパク質は慢性関節リュウマチの関節腔内滑液中にマクロファージが産生する Ca 結合性 EF-hand タンパク質として発見され、25-65% の相同性をもつ 25 種類からなる S100 ファミリーの構成員である (図 2)¹⁰⁻¹²⁾。この分子群の Ca 結合の K_d 値は 10-50 μ M である。S100 の生物学的機能はうつ病との関連など極めて多彩である。細胞運動を促進することから、がんの進展に関係があるとされる MIP-1 α , MCP-1, SDF-1 などと同じようないわゆる遊走因子でもある¹³⁾。種々の

がん、炎症、I 型糖尿病などで血中濃度が上昇することが知られており biomarker としての有用性が期待される。上述の転移モデル実験で、マウス肺での S100A8 発現は VEGF などに依存性であるが転写調節の詳細は不明である。Ca 依存性に A8/A9 ヘテロダイマーを形成し、heparin sulfate proteoglycans との結合を介してホモダイマーよりヘテロダイマーの方が強く血管内皮細胞に作用する。A8/A9 そのものでは詳細な生化学的解析はなされていないが S100 ダイマーの K_d 値は Ca 非存在下で 1-4 μ M, Ca 存在下で 10-500nM 程度である。組織特異的発現と標的タンパク質との結合に関与する C 端のもっとも変化に富む領域が相同性の高い本分子群の生物学的作用の特異性を決定しているらしい。事実、A8-null マウスは胎生 9.5 日で 100% 死亡するのに対し、A9-null マウスは生存し大きな異常はないが A8 タンパク質は検出されない。S100 タンパク質の生物学的特異性や A9 タンパク質による A8 タンパク質の安定化作用を示すものと考えられる。膜受容体に関しては不明な点が多いが NF κ -B や p38, p44/42MAP キナーゼなどを活性化することなどが報告されている。

4. ハイジャック説と多くの未解決問題

S100A8/A9 の転移予定肺における発現は何を意味するのであろうか。上述のマウス転移モデル実験で VEGFR1 陽性骨髓球系細胞が骨髓から肺へ動員されフィブロネクチン受容体であるインテグリン $\alpha 4 \beta 1$ を発現するが、これも土壌の準備である¹⁴⁾。この空間を転移前ニッチと呼びがん細胞 (種) が入ってくる。SDF-1 がニッチで高度に発現し、SDF-1 受容体を発現しているがん細胞は SDF-1 の濃度勾配を認識することでニッチに誘導されるという主張があるが¹⁴⁾、SDF-1 mRNA の有意な上昇を認めない場合もあり⁹⁾、複数の遊走因子が関与していると想像される。重要な点は、本来マクロファージなどが発現している遊走因子の受容体のがん細胞も不明の機序で発現していることであり、いわば生体防御機構のハイジャックだという点である (図 3)¹⁵⁾。では、最初に肺に移動するのはがん細胞か骨髓球系細胞か。先にはがん細胞が限り無く少数だけ肺に移動したことを生体が感知して防御の立場から骨髓球系細胞を骨髓から動員させるのか。動員させられた骨髓球系細胞はそこで土壌を準備するので転移の増幅機転が始まる。この場合、がん細胞の初期の微少転移は確率過程か。先に骨髓球系細胞が動員されるならなぜ肺なのか。転移の臓器特異性決定要素はがんの産生する増殖因子群のパターンか。転移予定臓器のセンサーは何か、どのようにして肺だと示すのか。

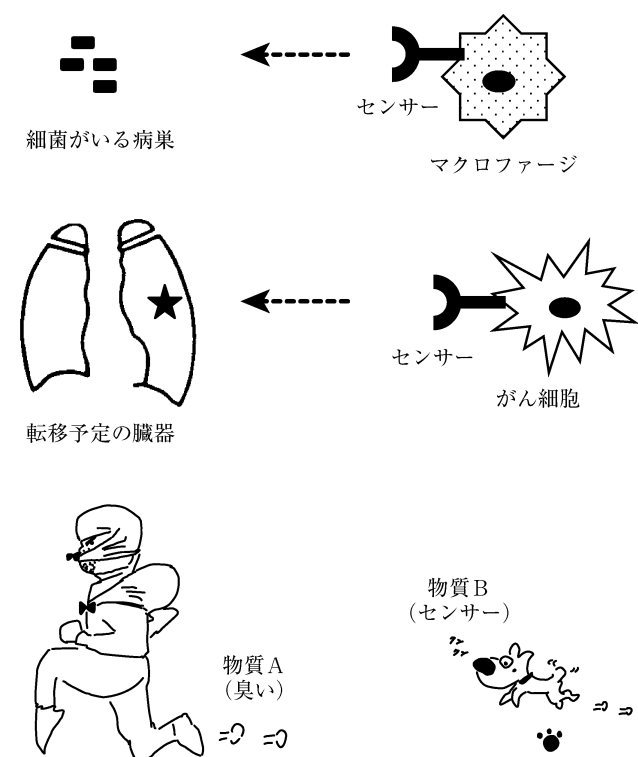


図3 ハイジャック説

外来性の微生物から生体を防御するためマクロファージなどの自然免疫担当細胞が動員される。この仕組みに便乗してがん細胞は転移するのではないかと。遠隔地の犯人を探し出す犬の嗅覚のように高度な物質間相互作用が存在すると思われる（文献15より引用）

なぜがん細胞が先に肺に移動すると感知できるのか。ニワトリと卵のようなものかもしれない。今後、ハイジャック説の詳細なメカニズムが解明されることを期待する。

- 1) Biggs, J., Hersperger, E., Steeg, P.S., Liotta, L.A., & Shearn, A. (1990) *Cell*, 63, 933-940.
- 2) D'Angelo, A., Garzia, L., Andre, A., Carotenuto, P., Aglio, V., Guardiola, O., Arrigoni, G., Cossu, A., Palmieri, G., Aravind, L., & Zollo, M. (2004) *Cancer Cell*, 5, 137-149.
- 3) Clark, E.A., Golub, T.R., Lander, E.S., & Hynes, R.O. (2000) *Nature*, 406, 532-535.
- 4) Muller, A., Homey, B., Soto, H., Ge, N., Catron, D., Buchanan, M.E., McClanahan, T., Murphy, E., Yuan, W., Wagner, S. N., et al. (2001) *Nature*, 410, 50-56.
- 5) Yang, J., Mani, S.A., Donaher, J.L., Ramaswamy, S., Itzykson, R.A., Come, C., Savagner, P., Gitelman, I., Richardson, A., & Weinberg, R.A. (2004) *Cell*, 117, 927-939.
- 6) Schmidt, D., Textor, B., Pein, O.T., Licht, A.H., Andrecht, S., Sator-Schmitt, M., Fusenig, N.E., Angel, P., & Schorpp-Kistner, M. (2007) *EMBO J.*, 26, 710-719.
- 7) Siegel, P.M., Shu, W., Cardiff, R.D., Muller, W.J., & Massa-

- gue, J. (2003) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 100, 8430-8435.
- 8) Weis, S., Cui, J., Barnes, L., & Cheresch, D. (2004) *J. Cell Biol.*, 167, 223-229.
 - 9) Hiratsuka, S., Watanabe, A., Aburatani, H., & Maru, Y. (2006) *Nat. Cell Biol.*, 8, 1369-1375.
 - 10) Ravasi, T., Hsu, K., Goyette, J., Schroder, K., Yang, Z., Rahimi, F., Miranda, L.P., Alewood, P.F., Hume, D.A., & Geczy, C. (2004) *Genomics*, 84, 10-22.
 - 11) Santamaria-Kisiel, L., Rintala-Dempsey, A.C., & Shaw, G.S. (2006) *Biochem. J.*, 396, 201-214.
 - 12) Itou, H., Yao, M., Fujita, I., Watanabe, N., Suzuki, M., Nishihira, J., & Tanaka, I. (2002) *J. Mol. Biol.*, 316, 265-276.
 - 13) Pease, J.E. & Williams, T.J. (2006) *Br. J. Pharm.*, 147, S212-S221.
 - 14) Kaplan, R.N., Riba, R.D., Zacharoulis, S., Bramley, A.H., Vincent, L., Costa, C., MacDonald, D.D., Jin, D.K., Shido, K., Kerns, S., Zhu, Z., Hicklin, D., Wu, Y., Port, J.L., Altorki, N., Port, E.R., Ruggero, D., Shmelkov, S.V., Jensen, K.K., Rafii, S., & Lyden, D. (2005) *Nature*, 438, 820-827.
 - 15) 丸 義朗 (2007年1月) 朝日選書「がんをくすりで治す」とは？, pp. 216-253, 朝日新聞社, 東京

丸 義朗

(東京女子医科大学医学部薬理学)

S100A8 and S100A9 regulate lung metastasis

Yoshiro Maru (Department of Pharmacology, Tokyo Women's Medical University, 8-1 Kawada-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 162-8666, Japan)

質量分析顕微鏡の進歩

生体高分子を組織切片上で、その位置情報を保持したまま解析できる方法としてイメージング質量分析 (Imaging Mass Spectrometry: IMS) が注目を集めている。本稿では前半で本年1月にはじめて開催されたIMSに特化した国際会議 (アメリカ質量分析学会ASMS主催) で発表された内容を中心に、IMSの世界的な研究動向を述べる。また後半では特に我々が現在開発中の顕微鏡レベルでの解像度を伴ったIMS、質量分析顕微鏡とその研究進展について説明する。

1. IMS誕生の必然性とその世界的動向

質量分析技術がポストゲノム時代のプロテオミクスという分野において非常に重要な役割を果たしてきた事実は、衆目の一致するところである。2002年に田中耕一 (株) 島津製作所) と John B. Fenn (Virginia Commonwealth Uni-