

- 7) Shimada, A., Niwa, H., Tsujita, K., Suetsugu, S., Nitta, K., Hanawa-Suetsugu, K., Akasaka, R., Nishino, Y., Toyama, M., Chen, L., Liu, Z.J., Wang, B.C., Yamamoto, M., Terada, T., Miyazawa, A., Tanaka, A., Sugano, S., Shirouzu, M., Nagayama, K., Takenawa, T., & Yokoyama, S. (2007) *Cell*, 129 (4), 761-772.
- 8) Taylor, M.J., Perrais, D., & Merrifield, C.J. (2011) *PLoS Biol.*, 9(3), e1000604.
- 9) Takano, K., Toyooka, K., & Suetsugu, S. (2008) *EMBO J.*, 27 (21), 2817-2828.
- 10) Suetsugu, S. (2009) *FEBS Lett.*, 583 (21), 3401-3404.
- 11) Collins, A., Warrington, A., Taylor, K.A., & Svitkina, T. (2011) *Curr. Biol.*, 21 (14), 1167-1175.
- 12) Shimada, A., Takano, K., Shirouzu, M., Hanawa-Suetsugu, K., Terada, T., Toyooka, K., Umehara, T., Yamamoto, M., Yokoyama, S., & Suetsugu, S. (2010) *FEBS Lett.*, 584(6), 1111-1118.
- 13) Senju, Y., Itoh, Y., Takano, K., Hamada, S., & Suetsugu, S. (2011) *J. Cell Sci.*, 124 (Pt 12), 2032-2040.
- 14) Hansen, C.G., Howard, G., & Nichols, B.J. (2011) *J. Cell Sci.*, 124 (16), 2777-2785.
- 15) Suetsugu, S., Murayama, K., Sakamoto, A., Hanawa-Suetsugu, K., Seto, A., Oikawa, T., Mishima, C., Shirouzu, M., Takenawa, T., & Yokoyama, S. (2006) *J. Biol. Chem.*, 281 (46), 35347-35358.
- 16) Mattila, P.K., Pykalainen, A., Saarikangas, J., Paavilainen, V. O., Vihinen, H., Jokitalo, E., & Lappalainen, P. (2007) *J. Cell Biol.*, 176(7), 953-964.
- 17) Pykalainen, A., Boczkowska, M., Zhao, H., Saarikangas, J., Rebowski, G., Jansen, M., Hakanen, J., Koskela, E.V., Peranen, J., Vihinen, H., Jokitalo, E., Salminen, M., Ikonen, E., Dominguez, R., & Lappalainen, P. (2011) *Nat. Struct. Mol. Biol.*, 18(8), 902-907.
- 18) Scita, G., Confalonieri, S., Lappalainen, P., & Suetsugu, S. (2008) *Trends Cell Biol.*, 18(2), 52-60.
- 19) Suetsugu, S., Kurisu, S., Oikawa, T., Yamazaki, D., Oda, A., & Takenawa, T. (2006) *J. Cell Biol.*, 173(4), 571-585.
- 20) Itoh, T., Hasegawa, J., Tsujita, K., Kanaho, Y., & Takenawa, T. (2009) *Sci. Signal*, 2 (87), ra52.
- 21) Guerrier, S., Coutinho-Budd, J., Sassa, T., Gresset, A., Jordan, N.V., Chen, K., Jin, W.L., Frost, A., & Polleux, F. (2009) *Cell*, 138(5), 990-1004.

末次 志郎, 伊藤 弓弦
(東京大学分子細胞生物学研究所)

The BAR domain superfamily proteins bind to the cellular membrane of various curvatures

Shiro Suetsugu and Yuzuru Itoh (Institute of Molecular and Cellular Biosciences, The University of Tokyo, 1-1-1, Yayoi, Bunkyo-ku, Tokyo 113-0032, Japan)

がん細胞による浸潤突起形成の分子機構

1. はじめに

がんは日本人の死亡原因の1位であり、約3人に1人はがんで亡くなる。がん患者の命を奪う最も大きな要因は転移であるが、その制御は未だ非常に困難である。がん細胞が遠隔転移する主な様式は血行性転移であるが、その過程において基底膜の破壊と間質への浸潤、血管内侵入が不可欠である。しかし基底膜、間質、血管壁に存在する細胞外基質は物理的障害となるため、がん細胞はこれを分解し遊走する必要がある。従ってがん細胞による細胞外基質分解の分子機構の解析は、がん浸潤・転移の分子病態の解明と、それに基づく新たな治療法の開発に極めて重要である。最近になりがん細胞は浸潤突起 (Invadopodia) と呼ばれる構造を形成して細胞外基質を破壊し、浸潤・転移することが明らかになってきた。そこで本稿では浸潤突起に関するこれまでの研究の流れと最近の知見について概説したい。

2. 浸潤突起

浸潤突起は浸潤性がん細胞を生理的な基質上で培養した際に、細胞の底部に形成される細胞膜構造であり、細胞外基質を分解する活性を持つ (図1A)。1989年にChenによりv-Srcでトランスフォームした線維芽細胞が形成する構造として最初に報告され¹⁾、その後多くのヒトがん細胞株や腫瘍初代培養においても観察されている。マクロファージ、破骨細胞、樹状細胞などの単球由来細胞や血管内皮/平滑筋細胞などにより形成されるポドソーム (Podosome) も浸潤突起と良く似た分子構成を持ち細胞外基質を分解する^{2,3)}。これらの正常細胞は組織浸潤や細胞外基質リモデリングを行うことから、ポドソームは浸潤突起の生理的なカウンターパートだと考えられる。最近では浸潤突起とポドソームを合わせてInvadosomeと呼ぶこともある。

浸潤突起の中心構造はアクチン繊維であり、これを制御する様々なアクチン細胞骨格制御タンパク質が局在する⁴⁾。浸潤突起の検出には、蛍光標識した細胞外基質 (安価なゼラチンが良く用いられる) でカバーガラスをコートしてその上で細胞を培養し、アクチン繊維をファロイジン等で染色した後に蛍光顕微鏡や共焦点レーザー顕微鏡で観察する

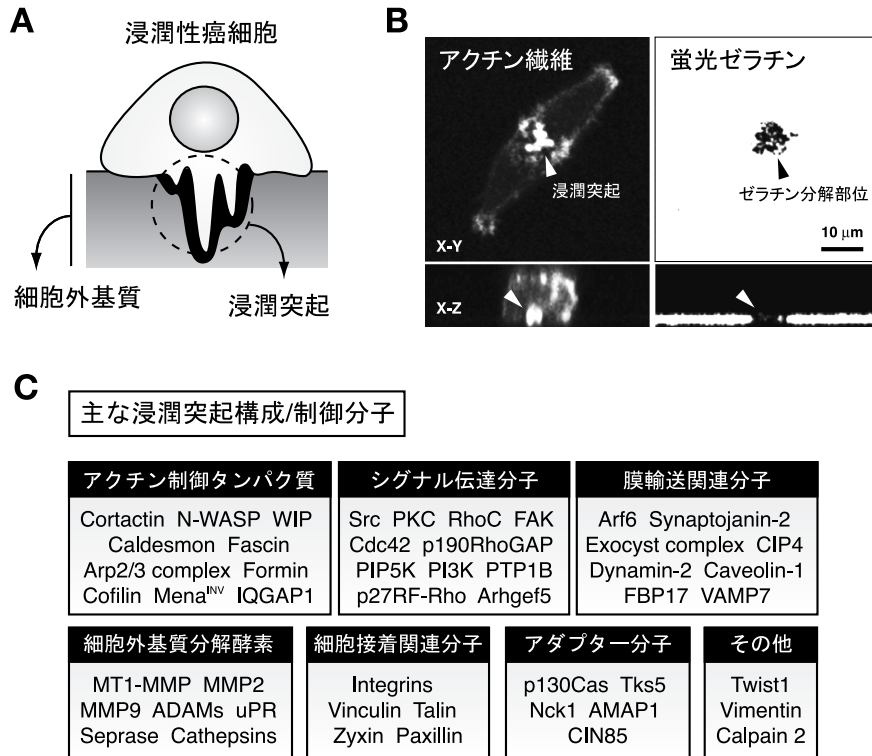


図1 浸潤突起

A. 浸潤突起の模式図. B. MDA-MB-231 ヒト乳がん細胞による浸潤突起形成. 蛍光ゼラチンでコートしたカバーガラス上でMDA-MB-231細胞を培養するとアクチン繊維に富む浸潤突起が細胞底部に形成され、黒く抜けたゼラチンの分解部位が観察される(矢頭). C. 主な浸潤突起構成/制御分子.

という方法が一般的に用いられる. 浸潤突起はアクチン繊維に富む点状の構造として観察され, その部分で蛍光細胞外基質の分解が起こる為に黒く抜けた部位を見ることができる(図1B). さらに浸潤突起のマーカであるコータクチン, N-WASP (Neural Wiskott-Aldrich syndrome protein), リン酸化チロシン, Tks5 (Tyrosine kinase substrate 5), MT1-MMP (Membrane-type 1 matrix metalloproteinase) などの共染色が行われる. 特にTks5は浸潤突起に特異的に存在すると考えられており, 現在最も良いマーカであろう. 他にも様々なシグナル伝達分子, 細胞-基質間接着分子, 細胞外基質分解酵素, 膜輸送関連分子などが局在する(図1C).

3. 浸潤突起形成の分子機構

浸潤突起は細胞増殖因子, インテグリン活性化などの刺激により形成される. これはがん細胞が細胞外基質に接し, 血管など細胞増殖因子の濃度が高い領域に向かって遊走する際に浸潤突起が形成されることを示唆している. 興

味深いことに細胞外基質を固くすると浸潤突起形成が促進されることが報告されている⁵⁾. 従ってがん細胞は周囲の環境を感知し, 必要に応じてメカノトランスダクションにより浸潤突起形成を誘導するものと考えられる.

これら細胞外のシグナルに応じて, Twist1による上皮間葉転換, 活性酸素種の産生, 脂質ラフト形成, イノシトールリン脂質代謝などが活性化され浸潤突起の形成が誘導される^{2,6,7)}. 我々はタイムラプスイメージングにより, 浸潤突起が前駆体の形成, アクチン重合による安定化, 細胞外基質分解と伸長というステップを経て成熟することを報告している^{8,9)}. 前駆体の形成にはアクチン制御タンパク質であるN-WASPやコータクチンが必要である. この前駆体においてコフィリンやMena^{NV}などの働きによりアクチンフィラメントの反矢じり端が露出され, これを足場とした急速なアクチン重合により構造が安定化される. さらにMT1-MMPなどの細胞外基質分解酵素が集積し細胞外基質の分解が起こり, さらにアクチン重合や微小管の働きにより突起が伸長していくと考えられている(図2).

面白いことに、浸潤突起は細胞核周辺の細胞膜にて良く形成され、ゴルジ体に近接して存在することが電子顕微鏡により観察されている。恐らく新たに合成された構成分子がゴルジ体を經由して浸潤突起に輸送されるものと考えられる。実際に最近 MT1-MMP を含む膜小胞が浸潤突起へ輸送される様子が観察されている¹⁰⁾。浸潤突起に膜輸送に関わる分子が多く存在するのは、このように構成分子の輸送や補給、リサイクリングなどが必要であるからだと考えられる。

4. がん浸潤・転移における浸潤突起の役割

以前から乳がん細胞株において浸潤突起形成能とがん細胞の浸潤・転移能に強い相関があることが示されていたが、浸潤突起の生体内での機能は長らく不明であった。我々は蛍光ラベルした移植腫瘍の二光子励起顕微鏡観察により、乳がん細胞が血管内へ侵入する際に浸潤突起様構造が観察されることを報告している¹¹⁾。また N-WASP のノックダウンにより浸潤突起形成能を抑制した乳がん細胞の移植腫瘍において、細胞運動と血管壁周辺の細胞外基質分解、血流への侵入及び肺転移が顕著に抑制されることを

見いだしている（論文投稿中）。他のいくつかの浸潤突起構成分子に関しても、動物モデルあるいは臨床研究においてがん転移に関わることが示されている。ラット腸間膜を用いた大腸がん細胞の ex vivo 培養系では、浸潤突起により基底膜が破壊されて小さな穴が形成され、そこからがん細胞が間質へと浸潤して行く様子が観察されている¹²⁾。さらに乳がん細胞の移植腫瘍切片において Tks5 陽性の浸潤突起が観察されている。実際に浸潤突起形成に必要な分子の発現抑制を行うと、このような構造がなくなり、肺転移が顕著に抑制される¹³⁾。従って、血行性転移の過程において、少なくともがん細胞が基底膜を破壊し間質へ浸潤する際、また血管壁を通過して血管内侵入を起こす際に浸潤突起は機能していると考えられる（図 3）。

5. おわりに

浸潤突起はがん浸潤・転移の過程を理解する上で非常に重要な構造であると考えられ、進行がんの治療標的となる可能性もある。実際に浸潤突起形成を指標とした阻害物質のハイスループットスクリーニングなども行われている¹⁴⁾。Migrastatin はがん細胞の運動を抑制する物質として

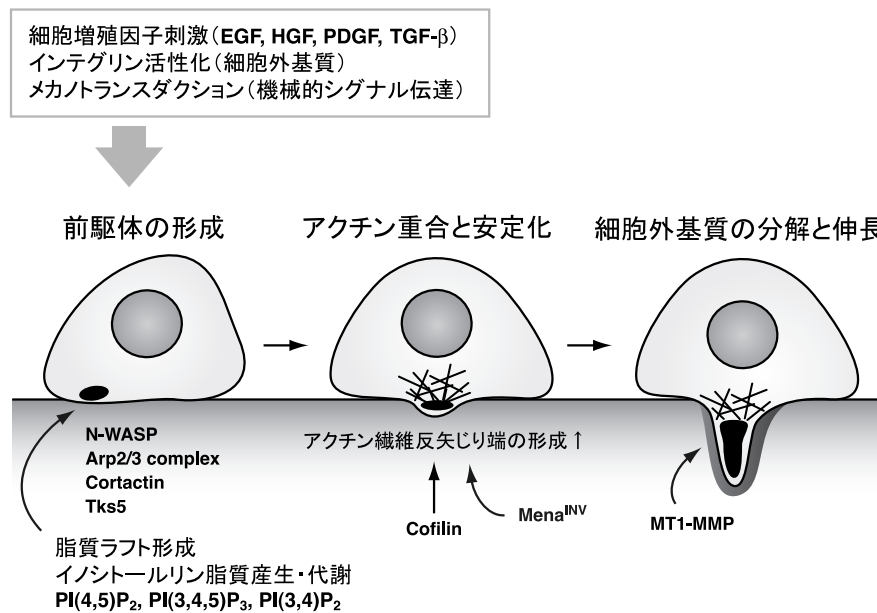


図 2 浸潤突起形成のモデル

浸潤突起形成は細胞増殖因子刺激、インテグリン活性化、メカノトランスダクションなどにより誘導される。まず脂質ラフト形成やイノシトールリン脂質産生代謝など細胞膜上のシグナルが引き金となり、N-WASP を含むアクチン制御タンパク質群により前駆体が形成される。次いでコフィリンや Mena^{INV} などによりアクチン重合が促進され前駆体の安定化が起こり、MT1-MMP を含む細胞外基質分解酵素が集積して細胞外基質が分解され浸潤突起の成熟と伸長が起こると考えられている。

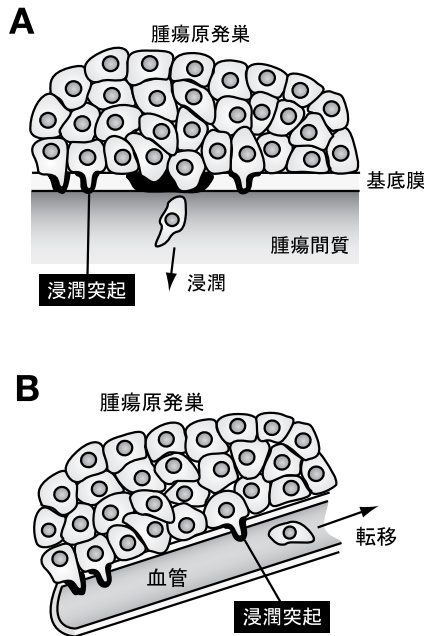


図3 がん浸潤・転移における浸潤突起の役割

A. がん細胞が腫瘍間質に浸潤遊走する際には、腫瘍を取り囲む基底膜を破壊する必要がある。浸潤突起は基底層の細胞外基質を分解し、がん細胞の浸潤を促進すると考えられている。B. がん細胞が血行性転移するためには、血管壁を通過し血流へ侵入するイントラバセーションと呼ばれるプロセスが必要である。浸潤突起は血管周囲のがん細胞により形成され、血管壁の細胞外基質を分解すると考えられる。

放線菌の一種から分離された抗生物質であり、その合成誘導体はマウスモデルにおいて乳がんの転移を抑制する。最近この Migrastatin 誘導体が浸潤突起の必須構成分子である Fascin の阻害物質であることが示された¹⁵⁾。これは浸潤突起構成分子ががん転移治療の創薬標的になる可能性を示した点で非常にインパクトがある。しかし、前述したように正常細胞もポドソームという良く似た構造を形成することから、浸潤突起を標的とする際にはポドソームとの相違を詳細に検討し、副作用が起こる可能性を極力さけるよう努力する必要がある。また今後さらに浸潤突起に関する研究を臨床応用するためには、腫瘍組織や腫瘍初代培養を用いたさらなる解析が必要であろう。

謝辞

本研究は主に現神戸大学大学院医学系研究科・竹縄忠臣教授、現大阪大学微生物病研究所・三木裕明教授、アルバートアインシュタイン医科大学・John Condeelis 教授、東京薬科大学生命科学部・深見希代子教授、国立がん研究

センター研究所・堺隆一分野長の研究室で行われたものです。この場を借りて深く御礼申し上げます。

- 1) Chen, W.T. (1989) *J. Exp. Zool.*, 251, 167-185.
- 2) Murphy, D.A. & Courtneidge, S.A. (2011) *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 12, 413-426.
- 3) Yamaguchi, H. & Oikawa, T. (2010) *Oncotarget*, 1, 320-328.
- 4) Nurnberg, A., Kitzing, T., & Grosse, R. (2011) *Nat. Rev. Cancer*, 11, 177-187.
- 5) Alexander, N.R., Branch, K.M., Parekh, A., Clark, E.S., Iwueke, I.C., Guelcher, S.A., & Weaver, A.M. (2008) *Curr. Biol.*, 18, 1295-1299.
- 6) Yamaguchi, H., Takeo, Y., Yoshida, S., Kouchi, Z., Nakamura, Y., & Fukami, K. (2009) *Cancer Res.*, 69, 8594-8602.
- 7) Yamaguchi, H., Yoshida, S., Muroi, E., Yoshida, N., Kawamura, M., Kouchi, Z., Nakamura, Y., Sakai, R., & Fukami, K. (2011) *J. Cell Biol.*, 193, 1275-1288.
- 8) Oser, M., Yamaguchi, H., Mader, C.C., Bravo-Cordero, J.J., Arias, M., Chen, X., Desmarais, V., van Rheenen, J., Koleske, A.J., & Condeelis, J. (2009) *J. Cell Biol.*, 186, 571-587.
- 9) Yamaguchi, H., Lorenz, M., Kempiak, S., Sarmiento, C., Coniglio, S., Symons, M., Segall, J., Eddy, R., Miki, H., Take-nawa, T., & Condeelis, J. (2005) *J. Cell Biol.*, 168, 441-452.
- 10) Poincloux, R., Lizarraga, F., & Chavrier, P. (2009) *J. Cell Sci.*, 122, 3015-3024.
- 11) Yamaguchi, H., Wyckoff, J., & Condeelis, J. (2005) *Curr. Opin. Cell Biol.*, 17, 559-564.
- 12) Schoumacher, M., Goldman, R.D., Louvard, D., & Vignjevic, D.M. (2010) *J. Cell Biol.*, 189, 541-556.
- 13) Eckert, M.A., Lwin, T.M., Chang, A.T., Kim, J., Danis, E., Ohno-Machado, L., & Yang, J. (2011) *Cancer Cell*, 19, 372-386.
- 14) Quintavalle, M., Elia, L., Price, J.H., Heynen-Genel, S., & Courtneidge, S.A. (2011) *Sci. Signal*, 4, ra49.
- 15) Chen, L., Yang, S., Jakoncic, J., Zhang, J.J., & Huang, X.Y. (2010) *Nature*, 464, 1062-1066.

山口 英樹

(国立がん研究センター研究所
転移浸潤シグナル研究分野)

Molecular mechanisms of invadopodium formation by cancer cells

Hideki Yamaguchi (Division of Metastasis and Invasion Signaling, National Cancer Center Research Institute, 5-1-1 Tsukiji, Chuo-ku, Tokyo 104-0045, Japan)