

岡山 實 (京都産業大学)

細胞表層ヘパラン硫酸プロテオグリカンは、細胞膜貫通型と貫入型に分類されるが、前者の代表的ファミリーであるシンデカン²は4分子種からなり、ヘパラン硫酸を介して多くの可溶性（細胞増殖因子、サイトカイン、ケモカイン等）あるいは不溶性（細胞外マトリックス成分、細胞膜成分等）リガンドに対する低親和性受容体として機能し、各リガンド特異的な高親和性受容体のリガンド結合シグナルを調節していることが示されている。即ち、細胞表層ヘパラン硫酸は、多くの場合発現量依存的に、ヘパリン結合性因子の高親和性受容体と協調的に作用して、outside in あるいは inside out のシグナル伝達を制御し、そのバランスにより、微小環境に応答した細胞動態を決定している。

私達は、“細胞膜貫通型ヘパラン硫酸プロテオグリカン”の発見に始まり、後に“シンデカン²”と同定されたプロテオグリカンを中心に、がん転移の機構を、腫瘍組織形成の視点から明らかにする研究を行ってきた。現在、マウスモデル系ではあるが、ある程度、転移を人為的にコントロールし得る段階に至ったので、ここに報告する。

マウスルイス肺癌から自然転移能に基づき、低転移性 P29、中転移性 LM12-13、高転移性 LM66-H11 (以下 H11)株細胞を樹立し、まず、それらの細胞が皮下に形成する一次腫瘍を解析して、組織形成と細胞外マトリックス (ECM) との関係に焦点を絞り検討した結果、以下の相関を見出した。(1) 転移能と基底膜形成能との間の正の相関：高転移性細胞ほど基底膜形成能が高く、従って、腫瘍組織は上皮性 ECM である基底膜依存的な分化型形態を示した。(2) 転移能と間質誘導能との間の負の相関：低転移性細胞ほど間質誘導能が強く、腫瘍組織は誘導宿主間質細胞の形成するフィブロネクチン (FN) に富んだ間質型 ECM 依存的な低分化型形態を示した。このような組織形成における ECM 依存性の違いは、*in vitro*での FN 基質に対する細胞応答性 (アクチン細胞骨格形成) の違いに反映されていた。即ち、P29 細胞が FN 接着依存的にストレスファイバーを形成するのに対し、H11 細胞は皮質型アクチン形成を示した。次に、この差が、腫瘍細胞のシンデカン²発現量の差によること、シンデカン²が新規の FN 受容体としてインテグリン $\alpha 5 \beta 1$ と協調的に働きその FN 結合シグナルを制御すること、シンデカン²発現量と転移能との間に逆相関の存在することなどを明らかにした。

さらに、H11 細胞にシンデカン² cDNA を導入した H11-SN2

株細胞の転移能が大きく抑制される事実から、この逆相関には因果関係のあることが証明された。即ち、シンデカン-2は転移に対し抑制的に働く。そこで、その機構を明らかにする第一歩として、転移への直接的関与が示されているゼラチナーゼに対するシンデカンの関与を検討した。いずれの株細胞も、転移能に関係なく、主要ゼラチナーゼとしてマトリックスメタロプロテアーゼ-2 (MMP-2)を同程度発現していたが、転移能の高い細胞に限ってその活性化が観察された。興味深いことに、既知の MMP-2 活性化複合体成分、即ち、MT1-MMP 及び TIMP-2 の発現量は、株細胞間で有意差は認められなかった。そこで発現量が転移能と逆相関するシンデカン-2の MMP-2 活性化抑制への関与の可能性を検討した。即ち、細胞表層へパラン硫酸を酵素的に除去した場合、ヘパリン存在下で培養した場合、シンデカン-2のグリコサミノグリカン付加部位変異 cDNA を導入した場合の、腫瘍細胞の MMP-2 活性化抑制を計測した。これらの結果は、すべて矛盾することなく、MMP-2 活性化がシンデカン-2のヘパラン硫酸側鎖により抑制されることを示した。これは、MMP-2 がヘパリンに直接結合するという、親和性クロマトグラフィーの結果からも支持された。さらに、マウスに対するヘパリン投与が、予想通り自然転移及び実験転移ともに強く抑制することからも検証された。

細胞表層へパラン硫酸プロテオグリカンの機能は多岐にわたるが、MMP 活性化あるいは活性化抑制に関与する報告はこれまでなかった。潜在型で分泌した酵素の活性化を細胞近傍で調節することが、細胞の微小環境の再編成（例えば組織のリモデリングあるいは細胞の移動）に重要であることは容易に想像できる。糖鎖の構造多様性が問題解決を困難にしているように見えるこれらの制御の解明は、反スマートさ故に、研究意欲をかき立てるものでもある。

細胞表層へパラン硫酸プロテオグリカンの機能は多岐にわたるが、MMP 活性化あるいは活性化抑制に関与する報告はこれまでなかった。潜在型で分泌した酵素の活性化を細胞近傍で調節することが、細胞の微小環境の再編成（例えば組織のリモデリングあるいは細胞の移動）に重要であることは容易に想像できる。アフリカツメガエルの初期発生における左右軸の決定、あるいは神経成長円錐の形成にシンデカン-2が関与しているという報告などを考慮すると、本モデル系で得られた結果は、単に腫瘍細胞の動態を説明するばかりではなく、細胞表層へパラン硫酸が有する、微小環境との相互作用の普遍的な機能の可能性を示すものかもしれない。