

癌の転移機構とその制御に関する基礎的研究

(財) 癌研究会・癌化学療法センター

1. 目的

手術による癌の外科的治療法等はここ 10 年余、発展しているが、依然として、多くの癌患者が癌のため死亡する。その理由の一つは、癌が診断され、手術される時点においては、癌はすでに他の臓器に転移し、新たな病巣を作っているためである。したがって癌の転移の阻止と、治療法の開発は癌の治療成績を向上させるための第一条件となっている。癌転移には多くの局面があり、その機構は必ずしも良く解明されていない。このような現状をかんがみ、本研究では、当研究室で樹立した大腸、結腸癌、メラノーマ、リンパ肉腫などの多くの実験癌の転移系を用い、細胞生物学的、生化学的、さらには分子生物学的アプローチによって癌の転移機構を解明することを第一の目的とする。またさらには転移癌に対する治療法の研究を行なうことを第二の目的とする。

2. 組織

鶴尾 隆	(財) 癌研究会癌化学療法センター基礎研究部	部長
矢守 隆夫	(財) 癌研究会癌化学療法センター基礎研究部	研究員
浜田 洋文	(財) 癌研究会癌化学療法センター基礎研究部	研究員
杉本 芳一	(財) 癌研究会癌化学療法センター基礎研究部	研究員
遊佐 敬介	(財) 癌研究会癌化学療法センター基礎研究部	研究員

3. 計画及び材料と方法

1. 実験癌転移系の樹立：

大腸・結腸癌の転移系の分離、リンパ肉腫の高転移系の分離とそれら転移細胞の生化学的、生物学的解析を行なう。

2. 癌細胞がもつ血小板凝集因子に対するモノクローナル抗体の樹立とその応用：

高転移株 NL-17 を用い、癌細胞の血小板凝集活性因子に対するモノクローナル抗体を作成する。抗体の性質を調べるとともに治療効果を検討する。

3. 転移細胞の増殖をコントロールしている因子の解明：

転移した細胞がその特定の臓器で増殖できるためには、臓器からの増殖因子、血中の増殖因子、あるいは転移した細胞がもつ増殖因子の関与が考えられている。そこで、肺抽出液の増殖因子の解析、転移性細胞に対する血小板由来増殖因子 (PDGF)、インシュリン様増殖因子 (IGF-I) などの効果の解析、および転移性細胞の産生する増殖因子の解析を行なう。

4. 癌細胞の運動に関するモティリティファクターの精製と解析：

新たに転移に関与すると考えられるモティリティファクターを解析する。

5. オンコジーン (癌遺伝子) の転移への関与の解析：

低転移性 NL-44 癌細胞に c-erbB2 オンコジーンをトランスフェクトし、転移性への影響を調べる。

4. 成果

1. 実験癌転移系の樹立（報告文献 2、3）：

マウスコロシ 26 から樹立した高転移株 NL 系の転移能の解析をさらにすすめた。NL 系の中から、高転移株、低転移株を分離し、その性質を調べた。また新たに BALB/c マウスにコロシ 26 を継代移植中に、自然発生したと考えられるリンホザルコーマの分離に成功した。この系は培養によって維持出来、浮遊細胞と接着細胞の 2 系に分かれた。いずれもリンパ節、肝、脾、卵巣、腎などに広範な転移をおこす。

2. 癌細胞がもつ血小板凝集因子に対するモノクローナル抗体の樹立とその応用（報告文献 4、7、9 及び 11）

Colon26 の高転移性 NL-17 細胞の血小板凝集活性を阻害するモノクローナル抗体 8F11 と 20A11 を得た。これらの抗体は、NL-17 細胞表面の分子量 44KD の抗原を認識することが明らかとなった。さらに、モノクローナル抗体 8F11 が認識する B16 メラノーマの抗原は 41KD の糖蛋白であることが判明した。この糖蛋白は B16 由来の高転移株ほど多く発現している。8F11 を投与したマウスでは、コロシ 26 の高転移株 NL-17 の転移形成が抑制された。これは癌細胞が肺へ着床するのを 8F11 抗体が阻害することによっておきると考えられる。

また、マウス IFN- β を投与したマウスにおいては血小板凝集能が低下しており、NL-17 の転移形成は抑制されることが見出された。

3. 癌転移細胞の増殖をコントロールする因子の解析（報告文献 1、5、6 及び 8）

肺抽出液中にコロシ 26 高転移株の増殖を促進する増殖因子を見出し、その性質を調べた。また血中の増殖因子のうち、PDGF および IGF-I が生理的濃度でコロシ 26 高転移株の増殖を促進することを見出した。IGF-I の作用機作を IGF-1 に反応性の高い高転移性 NL-17 細胞と反応性の低い低転移性 NL-44 細胞で比較したところ、両細胞で IGF-1 のリセプターの数、機能に違いは見られなかったが、NL-17 細胞では細胞内の 150KD および 160KD 蛋白のチロシンリン酸化が亢進していることが判明した。一方、コロシ 26 の高転移株より無血清培養下で増殖する細胞（PS 株）を選択した。この細胞はマウス皮下に移植すると肺に多くの転移巣を形成する。他に脾臓、肝臓の肥大が見られ、病理像より好中球が増殖していることが判明した。また、PS 株の培養上清はマウス骨髄細胞の増殖を促進した。

4. 癌細胞の運動に関するモティリティファクターの精製と解析

ヒト細胞より NL-17、NL-22 のモティリティを亢進させる因子を見出した。精製及び詳しい解析を進めている。

5. オンコジーン（癌遺伝子）の転移への関与の解析（報告文献 10）

コロシ 26 から分離した低転移性 NL-4 細胞に活性型 c-erbB2 オンコジーンを導入し 10 個のクローンを得た。これらのオンコジーンのトランスフェクタントをマウス尾静脈より移植し、肺での転移形成を検討した。10 クローンとも NL-4 より高転移性であることが判明した。

5. 考察

1. 実験転移系の樹立

マウスに移植すると広範なリンパ節転移をおこすリンホサルコーマ系を新たに樹立することに成功した。現在、リンパ節転移モデルは非常に少ないため、この転移系はリンパ節転移の機構解析に極めて有用な系と考えられる。

2. 癌細胞がもつ血小板凝集因子に対するモノクローナル抗体の樹立とその応用

血小板凝集にはいくつかの分子機構があることが知られているが、本研究は、癌細胞表面の 44KD の糖蛋白が血小板凝集をおこすという新たな分子機構を明らかにし、かつこれが肺転移形式に重要な役割をもつことをモノクローナル抗体による血小板凝集の阻止および肺転移の阻止により直接証明した。また IFN- β の血小板凝集能低下を伴う肺転移抑制効果は、IFN- β の治療効果としてこれまでにない興味深いものである。

3. 転移細胞の増殖をコントロールする因子の解析

肺抽出液中に存在する増殖因子は、肺転移性癌細胞の肺への親和性を決定する要因になっている可能性がある。この因子は大変興味深いもので今後さらに精製しその性質を明らかにする必要がある。PDGF のコロニ 26 肺転移性細胞への増殖促進効果は、これらの細胞が血小板凝集を介して転移形成に向かう際にこれを促進すると考えられる。IGF-I の肺転移性細胞への増殖促進効果は、IGF-I の血中濃度より十分低い濃度で見られるため、IGF-I の転移に及ぼす影響は重要と考えられる。コロニ 26 肺転移性細胞における IGF-I の作用機作は、レセプターキナーゼによる 150KD および 160KD 蛋白のチロシンリン酸化というポストレセプターメカニズムが重要な役割をもつと推察される。一方の無血清培地で増殖しうる PS 株が肺転移能を獲得した事実は、癌細胞の産生する増殖因子の転移への関与を裏づけるものと考えられる。PS 株の移植により好中球の増加が見られ、かつ PS 株の培養上清が骨髄細胞の増殖を促進したことは PS 株がこれらの細胞に対する増殖因子を産生することを意味しており、これが転移にどう関与するかは興味深い。

4. 癌細胞の運動に関するモティリティファクターの精製と解析

モティリティファクターは非常に不安定なため精製が困難であり、現在その基本的な性質を研究中である。

5. オンコジーン（癌遺伝子）の転移への関与の解析

c-erbB2 のトランスフェクションにより、低転移性細胞が高転移性を獲得しうることを示された。これは、転移におけるチロシンキナーゼ型のオンコジーンの関与を示唆するもので興味深い。

6. 発表

1. Yamori, T., Tsuruo, T., et al. Growth stimulating activity of lung extract on lung-colonizing colon 26 clones and its partial characterization. Clin. Expl. Meta., 6: 131-139, 1988.
2. Tsuruo, T., et al. Development of lymphosarcoma lines with high metastatic ability to lymph nodes and visceral organs in BALB/c mice. Clin. Expl. Meta., 6: 141-152, 1988.
3. Matsuzaki, T., Tsuruo, T., et al. Inhibition of spontaneous and experimental metastasis by a new derivative of camptothecin, CPT-11, in mice. CCP. 21: 308-312,

1988.

4. Watanabe, M., Tsuruo, T., et al. Identification of a platelet-aggregating factor of murin colon adenocarcinoma 26: Mr44,000 membrane protein as determined by monoclonal antibodies. *Cancer Res.*, 48: 6411-6416, 1988.
5. Koenuma, M., Tsuruo, T., et al. Insulin and insulin-like growth factor 1 stimulate proliferation of metastatic variants of colon carcinoma 26. *Jpn. J. Cancer Res.*, 80: 51-58, 1989.
6. Tsuruo, T., et al. Stimulation of the growth of metastatic clones of mouse colon adenocarcinoma 26 in vitro by platelet-derived growth factor. *Jpn. J. Cancer Res.*, 80: 136-140, 1986.
7. Tsuruo, T., et al. Inhibition of lung colonization of mouse colon 26 adenocarcinoma by recombinant mouse interferon β through a modification of platelet function. *Clin. Expl. Metastasis*, 8: 203-213, 1990.
8. Sugimoto, Y., Tsuruo, T., et al. Establishment of highly metastatic variants of murine colon adenocarcinoma 26 under serum-free conditions. *Int. J. Cancer*, 46: 118-124, 1990.
9. Watanabe, M., Tsuruo, T., et al. Expression of a Mr41,000 glycoprotein associated with thrombin-independent platelet aggregation in high metastatic variants of murine B16 melanoma. *Cancer Res.*, 50, 1990 (in press).
10. Yusa, K., Tsuruo, T., et al. Low metastatic potential of clone from murine colon adenocarcinoma 26 increased by transfection of activated c-erbB-2 gene. *J. Natl. Cancer Inst.* 82: 1633-1636, 1990.
11. Sugimoto, Y., Tsuruo, T., et al. Suppression of experimental lung colonization of a metastatic variant of murine colon adenocarcinoma 26 by a monoclonal antibody 8F11 inhibiting tumor cell-induced platelet aggregation. *Cancer Res.* (submitted).
12. Yamori, T., Tsuruo, T., et al. Insulin like growth factor I (IGF-I) rapidly induces tyrosine phosphorylation of 150 kDa and 160 kDa proteins in highly metastatic mouse colon carcinoma 26 NL-17 cells. *Cancer Res.* (submitted).