

腫瘍形成におけるムチンの生物学的意義

中 田 博

京都産業大学工学部生物工学科

要 旨

上皮性癌細胞の産生するムチンは、担癌患者の癌組織や血流中に分泌され、様々な免疫系細胞と相互作用することがわかってきた。その中で、単球/マクロファージ上の受容体であるスカベンジャーリセプターにムチンが結合することにより、同細胞のシクロオキシゲナーゼ2が誘導され、プロスタグランジン E₂ の産生の亢進が明らかとなった。プロスタグランジン E₂ は、免疫抑制、アポトーシスの抑制及び血管新生などの生理作用をもち、癌細胞の増殖・進展に有利な状況をもたらすものと考えられる。事実、マウス乳癌由来細胞株でムチン産生細胞 TA3-Ha とムチン非産生細胞 TA3-St における腫瘍組織形成を比較することにより、ムチンを起点とするカスケードの存在と腫瘍組織の形成への関与が明確となった。

1. はじめに

正常な上皮組織では、生合成されたムチンは、細胞のアピカル側に分泌され、分泌タンパク質や膜タンパク質になる。そして、本来、消化管や気道などの粘膜を保護する役割を担う。上皮組織の極性を失った癌細胞では、細胞内輸送の方向性も失われ、癌組織や血液中にムチンが分泌されるようになる。

ムチンは、コアタンパク質上に多数の O-グリカン（ムチン型糖鎖）が結合した高分子の糖タンパク質である。ムチン遺伝子としては、部分配列も含めれば十数種報告されている¹⁾が、その特徴としては、多くのコアタンパク質が一定のアミノ酸配列の反復配列（タンデムリピート）をもつことである。その反復配列の一単位のアミノ酸数及び配列は、それぞれのムチンにより異なるが、Ser, Thr のいずれかあるいは2つのアミノ酸に富み、O-グリカンの結合する部位となっている（表1）。また、膜タンパク質と分泌タンパク質が存在し、前者には MUC1, 3, 4, 12, 16, 後者には MUC2, 5AC, 5B, 6 などがある。上皮性癌細胞を免疫原として単クローン抗体を作製すると、そのエピトープは糖鎖であり、コアタンパク質の変異は検出されなかった。すなわち、ムチンの癌性変化は、O-グリカン上の糖鎖に見られ、様々な癌関連糖鎖抗原が明らかにされた。正常ムチンも含めて、その糖含量は50%以上を占め、大半がO-グリカンである。O-グリカンは、多様なオリゴ糖で構成されるが、基本的な骨格は、母核構造、Gal と GlcNAc の繰り返し構造からなる基幹構造、それに SA や Fuc などの結合した修飾構造の部分で構成される。母核構造は、本来、生合成の中間体であるが、コアタンパク質の Ser または

表 1 ムチンのコアタンパク質の反復配列

ムチン	アミノ酸配列
MUC1	PG <u>ST</u> APPAHGVT <u>S</u> APDTRPA (20)
MUC2	PTT <u>PI</u> TTTTIVTPTPT <u>IG</u> TQT (23)
MUC3	H <u>ST</u> PS <u>F</u> TSSITTTETTS (17)
MUC4	<u>TSS</u> ASTGHATPLPVTD (16)
MUC5AC	<u>TTST</u> T <u>S</u> AP (8)
MUC5B	<u>S</u> STPGTAHTLTLVLT <u>TT</u> ATTPTATGSTATP (29)
MUC6	<u>S</u> PF <u>S</u> STGPM <u>T</u> ATS <u>F</u> QTTTTYPTPSHPQTTLPTHVPPF <u>S</u> TSLVTP <u>S</u> TG TVITP <u>TH</u> AQMATSAS <u>I</u> HSTPTGT <u>IP</u> PP <u>T</u> TLKATG <u>S</u> TH <u>T</u> APP <u>M</u> T <u>P</u> T <u>S</u> GTSQA <u>H</u> SS <u>F</u> STAKTSTSLHS <u>T</u> SS <u>TH</u> HEVTP <u>T</u> TTTTITPN <u>P</u> T <u>S</u> T <u>G</u> T <u>S</u> TPVA <u>H</u> TT <u>S</u> ATSSRLPT <u>P</u> F <u>T</u> TH <u>S</u> PP <u>T</u> GS (169)
MUC7	<u>T</u> TA <u>AP</u> PT <u>P</u> SAT <u>P</u> P <u>P</u> SS <u>S</u> APPE (23)
MUC8	<u>T</u> SCPRPLQEGTPGS (14)
MUC9	GAM <u>T</u> MT <u>S</u> VGHQSMTP (15)
MUC11	<u>S</u> GL <u>S</u> EE <u>S</u> TT <u>S</u> HSSPG <u>S</u> TH <u>T</u> LS <u>P</u> AST <u>T</u> T (28)

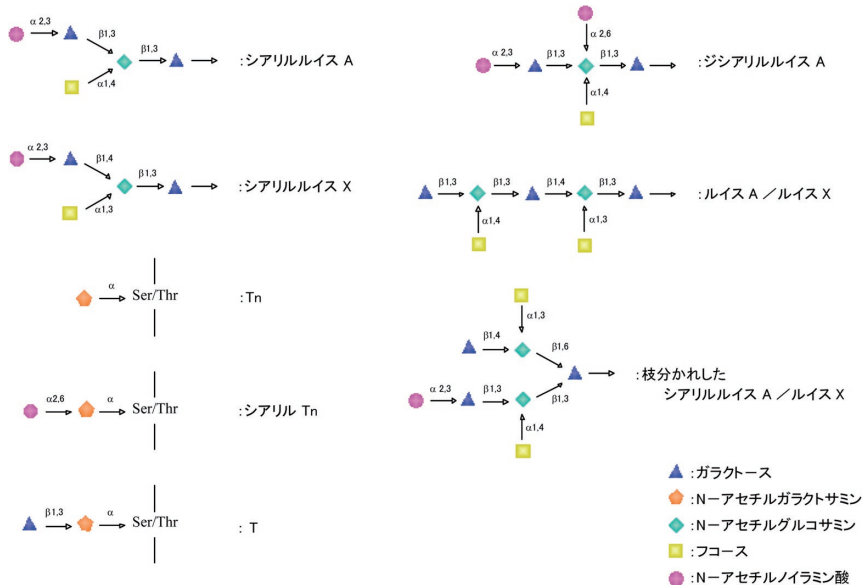
*括弧内の数字はアミノ酸残基数を示す。

表 2 O-グリカンのコア構造

<u>Core 1</u>	Gal β 1-3 GalNAc-	→	<u>Core 2</u>	GlcNAc β 1-6 Gal β 1-3 GalNAc-
<u>Core 3</u>	GlcNAc β 1-3 GalNAc-	→	<u>Core 4</u>	GlcNAc β 1-6 GlcNAc β 1-3 GalNAc-
<u>Core 5</u>	GalNAc α 1-3 GalNAc-			
<u>Core 6</u>	GlcNAc β 1-6 GalNAc-			
<u>Core 7</u>	GalNAc α 1-6 GalNAc-			
<u>Core 8</u>	Gal α 1-3 GalNAc-			

Thr 残基に結合した 1 個あるいは 2 個の糖からなり、コア 1～8 の 8 つの型に分類される (表 2)。基幹構造には、タイプ 1 糖鎖 (Gal β 1-3GlcNAc) とタイプ 2 糖鎖 (Gal β 1-4GlcNAc) の 2 種類が存在する。末端の糖鎖は、GalNAc, Gal, Fuc, SA などで修飾され、特徴的な末端構造となる。表 3 に示すように、O-グリカンの癌性変化は、大別して 2 つのタイプに分類される。単糖あるいは 2 糖程度で糖鎖の伸長が停止したいわゆる“糖鎖不全”による糖鎖がある。代表的な抗原として Tn や T 抗原があるが、Tn にシアル酸の結合したシアリル Tn 抗原も含めて、多くの上皮性癌で高い発現が見られる。一方、シアリルルイス a や x 抗原などは、通常の血液型抗原をベースとした抗原である。しかしながら、これらの抗原の発現も、正常細胞で合成されるよ

表3 代表的な癌関連糖鎖抗原



り長い糖鎖から特定の糖が付加されないことに起因するという報告²⁾もある。

2. 癌組織微小環境におけるムチンを起点とするカスケード

2-1. ヒト大腸癌細胞株 LS 180 細胞の産生するムチンによる単球/マクロファージの活性化
 腫瘍細胞の増殖・進展過程には、宿主との様々な相互作用が関与していると言われている。その相互作用には様々なサイトカインや生理活性物質が仲介していると考えられているが、そのような因子が宿主の免疫系細胞などから産生されることがある。その結果として、本来、腫瘍に対して抵抗性を示す生体防御機構が逆に利用され、腫瘍細胞自体から産生される生理活性物質も加わって、その微小環境が腫瘍の増殖・進展に適した状況に変容している可能性がある。このような機能を担う細胞として、免疫抑制マクロファージや TAM (Tumor-associated macrophage) が考えられているが、これらの細胞の実体とそのような因子を産生する機構についての分子的背景は明らかにされていない。

我々は、血中や癌組織に分泌されたムチンと免疫系細胞上のレクチンとの結合を想定して本研究を開始した。まず、MUC2 ムチンを産生するヒト大腸癌由来細胞株 LS 180 細胞とヒト末梢血単球を共培養し、その培養液中に分泌されるプロスタグランジン E₂ (PGE₂) を ELISA で測定した。図 1 に示すように、LS 180 細胞や単球の単独培養の場合に比して、共培養により PGE₂ の産生量が増加した (カラム c)。次に、LS 180 細胞の培養液による効果を見たところ

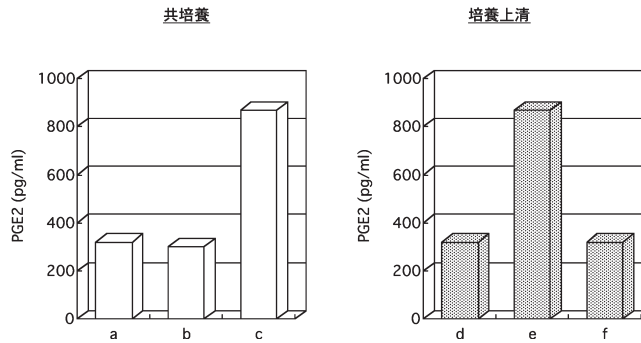


図1 ムチンによる単球からの PGE₂ 産生亢進

ヒト末梢血単球 (1×10^5 細胞) を a ~ f の条件で36時間培養し、培養液中に分泌された PGE₂ を ELISA で測定した。

a : 単球単独培養, b : LS180 細胞単独培養, c : ヒト末梢血単球+LS180 細胞, d : 単球 + 培養液, e : 単球 +LS180 細胞培養上清, f : 単球 + フェニル α -GalNAc 存在下で培養した LS180 細胞の培養上清

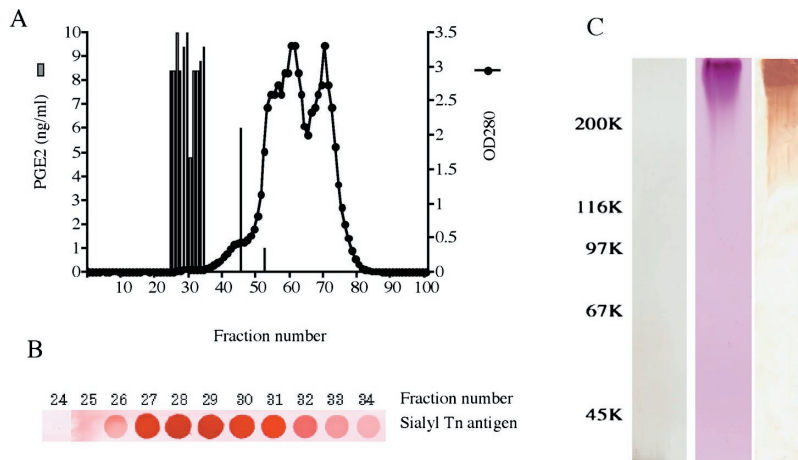


図2 LS180 細胞培養液のゲルろ過による分画

A : LS180 細胞の培養上清をセファロース 6B (3.0×10^5 cm) で分画し、OD₂₈₀ の吸光度を測定した。各画分の 1 μ g のタンパク質を単球 (1×10^5 細胞) の培養液に加え、24時間後に分泌された PGE₂ を測定した。

B : 各画分の 100 μ l をドットプロットし、抗シアリル Tn 抗体で検出した。

C : 精製したムチン (5 μ g) を電気泳動した。レーン a ; 銀染色, レーン b ; PAS 染色, レーン c ; ウェスタンブロッティング後、抗シアリル Tn, 抗 Tn, 抗シアリルルイス a 抗体で検出した。

ろ、十分にその活性が見られた (カラム e)。LS 180 細胞をフェニル α -N- アセチルガラクトサミン存在下で培養した培養上清については、PGE₂ の産生を亢進する活性は見られなかった (カラム f)。フェニル α -N- アセチルガラクトサミンは、ムチン上の O- グリカンの伸長を阻害する

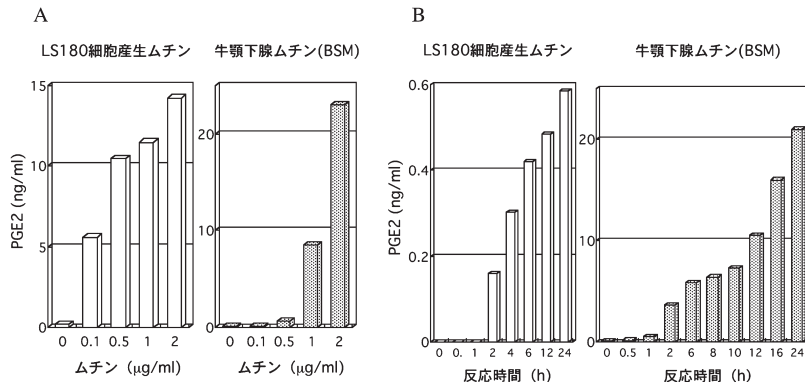


図3 ムチン処理によるヒト末梢血単球からの PGE₂ の産生亢進

A: 単球 (1×10^5 細胞) をムチン (0 ~ 2 µg タンパク質/ml) あるいは BSM (0 ~ 30 µg タンパク質/ml) 存在下で 12 時間培養し, 分泌された PGE₂ を測定した.

B: 単球 (1×10^5 細胞) をムチン (1 µg タンパク質/ml) あるいは BSM (30 µg タンパク質/ml) 存在下で図に示す時間培養し, 分泌された PGE₂ を測定した.

作用をもつことから, 上述の培養液中の活性化因子はムチンであることを強く示唆した. 従って, LS 180 細胞の培養上清より常法に従ったムチンの精製を試みた. 先ず, 培養上清をセファロース 6B のカラムを用いてゲルろ過で分画した. 各画分の一部をヒト末梢血単球の培養液に加え, PGE₂ の産生量を測定したところ, 図 2 A に示すように, その活性は素通り画分に見られた. また, 同様に一部の試料をドットプロットし, ムチン上のシアリル Tn 抗原を検出したところ, 活性と同じ画分に見いだされた (図 2 B). この結果も, ムチンに PGE₂ の産生を亢進する活性が存在することを示している. さらに, 過塩素酸沈殿, 還元アルキル化, 4 M グアニジン塩酸存在下でのゲルろ過によりムチンを精製した. 図 2 C に示すように, 得られたムチンは, 電気泳動後, CBB 染色では検出されず, PAS 染色及び膜に転写したムチン上の糖鎖抗原に対する抗体によって検出され, 夾雑物は存在しないことがわかった. 次に, 精製されたムチンをヒト末梢血単球の培養液に加え, その活性を測定した. 図 3 A は, 精製したムチン及び牛顎下腺ムチン (BSM) の結果を示す. 精製したムチンの場合, 100 ng/ml 程度の濃度で活性を認め, PGE₂ の産生はムチンの濃度依存的に増加した. BSM の場合も, 濃度は高いものの同様の傾向が見られた. 図 3 B は, ムチン及び BSM をそれぞれ 1 µg, 30 µg/ml の濃度で単球の培養液に加え, 時間を追って PGE₂ 量を測定したものである. 2 ~ 4 時間で明確にその効果が認められた.

2-2. ヒト末梢血単球におけるシクロオキシゲナーゼ 2 の誘導

PGE₂ は, 細胞膜より遊離したアラキドン酸を原料として合成されるが, その過程の調整酵

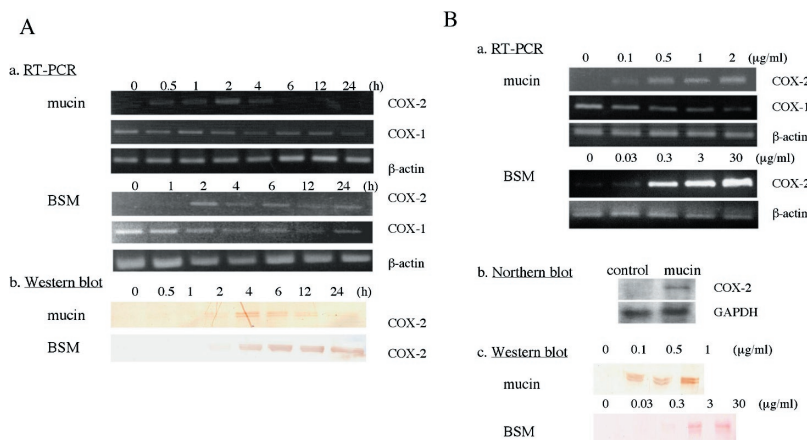


図4 単球における COX2 mRNA 及び酵素タンパク質の誘導

A: 単球 (5×10^6 細胞) をムチン ($1 \mu\text{g}$ タンパク質/ml) あるいは BSM ($30 \mu\text{g}$ タンパク質/ml) 存在下で図に示す時間培養した. a; Total RNA を単球より調製し, RT-PCR 産物のアガロース電気泳動を行った. b; タンパク質画分より COX2 タンパク質を免疫沈降し, 免疫沈降物を電気泳動した. 泳動後, ウェスタンブロットリングし, COX2 タンパク質に対する抗体を用いて検出した.

B: a; 単球 (5×10^6 細胞) をムチン ($0 \sim 2 \mu\text{g}$ タンパク質/ml) あるいは BSM ($0 \sim 30 \mu\text{g}$ タンパク質/ml) 存在下で 2 時間培養した. 単球より Total RNA を調製し, 上記と同じ方法で解析した. b; 単球 (2×10^7 細胞) をムチン ($1 \mu\text{g}$ タンパク質/ml) 存在下で 2 時間培養し, Total RNA を調製し, ノーザンブロットで解析した. c; a と同様の処理後, タンパク質画分を調製し, A-b と同様の方法で解析した.

素はシクロオキシゲナーゼ (COX) である. COX には構成型酵素である COX1 と誘導型酵素である COX2 が存在することが知られている^{3,4)}. COX の阻害剤である非ステロイド性抗炎症剤を常用する患者の大腸癌にかかる率は, 非常用者の半分以下であるという疫学的調査がある^{5,6)}. また, p53 ノックアウトマウスは, 小腸に多数のポリープを形成することが知られているが, さらに COX2 遺伝子を除去するとポリープの成長が著しく抑制されることが報告されている⁷⁾. 従来より, PGE₂ は免疫抑制⁸⁾, アポトーシスの抑制^{9,10)}, 血管新生¹¹⁾などの生理作用をもつことが知られており, 癌の増殖・進展に寄与することが予想される. ムチンによる PGE₂ の産生亢進が COX2 の誘導によるものか否かを検討した. 先ず, ムチン ($1 \mu\text{g/ml}$) あるいは BSM ($30 \mu\text{g/ml}$) を単球の培養液に加え, 時間経過とともに細胞より RNA とタンパク質画分を調製した. RT-PCR を行った後, COX1 及び COX2 mRNA の発現を調べた. また, タンパク質画分より COX2 酵素タンパク質に対する抗体を加え, 得られた免疫沈降物を電気泳動した. 膜に転写後, それぞれの抗体で検出した. COX2 mRNA 及びタンパク質は, それぞれ 2 時間, 4 時間程度で検出された. COX1 mRNA の発現は一定であった (図 4 A). また, 種々の濃度のムチン, BSM を単球の培養液に加え, 2 時間及び 4 時間経過後に細胞よりそれぞれ RNA 及びタンパク質画分を調製した. RT-PCR 及びウェスタンブロットリングを行った後に, それぞれ

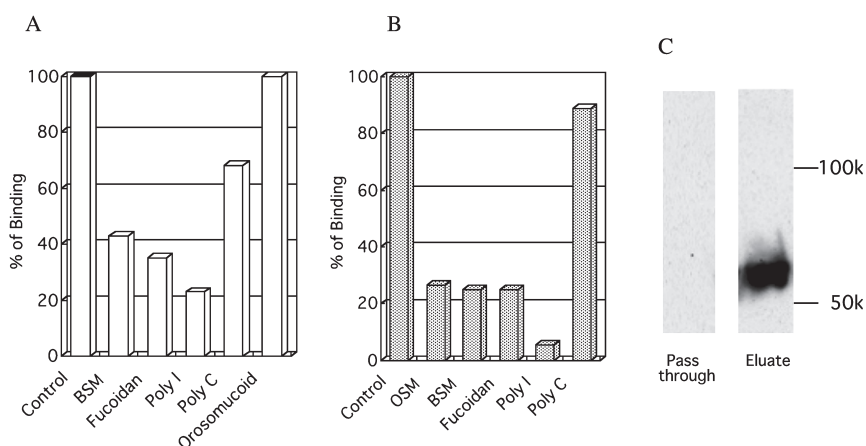


図5 ムチン受容体の検索

A: ^{125}I 標識ムチンの単球 (1×10^6 細胞) への結合を, 様々な阻害物質存在下で 4°C , 2 時間インキュベート後測定した.

B: 同様に, ^{125}I 標識ムチンの結合を, SCR cDNA トランスフェクタント (1×10^6 細胞) を用いて検討した.

C: FLAG タグ付き可溶性 SCR を作製し, BSM-セファロースのカラムに通した. 素通り及び溶出画分を回収し, 電気泳動を行った. ウェスタンブロッティング後, 抗 FLAG 抗体で検出した.

mRNA 及び酵素タンパク質を検出した. COX2 mRNA 及び酵素タンパク質は, いずれも 100 ng/ml 程度のムチンで誘導されることがわかった (図 4 Ba, c). BSM の場合, PGE_2 の産生の場合と同様に, より高い濃度が必要であった. また, COX2 mRNA のムチンによる誘導は, ノーザンブロットによっても確認された (図 4 Bb).

2-3. ムチン受容体の検索

精製したムチンを ^{125}I で標識し, ヒト末梢血単球への結合を様々な阻害物質の存在下で検討した. 図 5 A に示すように, ムチンの結合は BSM 以外にフコイダンやポリイノシン酸 (poly I) で強く阻害された. この特徴は, 単球/マクロファージに発現されているスカベンジャーリセプター (SCR) が受容体である可能性を示唆した. 図 6 は, 現在までに明らかにされている SCR ファミリーを示す. SCR は, 動脈硬化との関連で注目されている受容体であり, グループ A に属する受容体 (図 6 B) の場合, C 末端近くのコラーゲン様構造に存在する Lys/Arg クラスターの正電荷に対応する負電荷を適当な配置でもつ分子がリガンドとなることが知られている¹²⁾. ムチンの場合, シアル酸や硫酸基の負電荷が認識されるものと考えられる. 図 5 B は, SCR cDNA をトランスフェクトした細胞に対するムチンの結合を同様の阻害剤存在下で検討したものである. 予想通り, より明確に poly I で阻害され, ポリシチジル酸 (poly C) では阻害さ

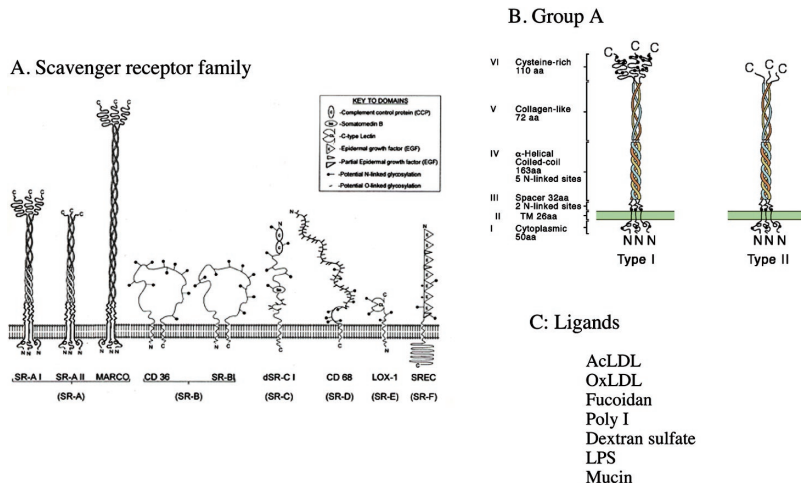


図6 スカベンジャーリセプター

れないことがわかった。これらの性質は、SCRのリガンドの性質と一致した。これらの結果をさらに明確にするために、可溶性SCRを作製し、BSM-セファロースに通した。素通り画分及び溶出画分を電気泳動後、膜に転写し、抗体を用いて検出した。図5Cに示すように、可溶性SCRは溶出画分に検出された。

2-4. ヒト大腸癌組織におけるムチン、マクロファージ、COX2の分布

In vitro で示されたムチンによるSCRを介したCOX2の誘導とPGE₂の産生が、実際に大腸癌組織で見られるか否かを検討した。大腸癌組織の連続切片を用いて、抗CD68抗体（マクロファージの検出）、抗COX2抗体、抗シアリルTn抗体及び抗Tn抗体による免疫組織化学を行った。その結果、ムチンの周辺に浸潤したマクロファージでは、COX2が誘導されていることがわかった（図7Aa, b, c, d）。一方、ムチンの存在しない癌組織では、浸潤したマクロファージにCOX2の誘導は観察されなかった（図7Ba, b, c, d）。

2-5. マウス乳癌細胞TA3-Ha及びTA3-Stの腫瘍形成

マウス乳癌由来細胞株TA3には、サブラインとしてムチン産生株であるTA3-Haと非産生株であるTA3-Stが存在する。TA3-Ha細胞は、エピグリカニンと名付けられたムチンを産生することが知られている。図8は、2つの細胞を抗Tn抗体を用いて染色したもので、TA3-Ha細胞の場合、細胞膜周辺に抗原が存在することがわかる。エピグリカニンについても、上述したCOX2を誘導する活性を有することを確認するために、TA3-Ha細胞の皮下腫瘍より精製を試みた。セファロース6Bによるゲルろ過、過塩素酸沈殿、還元アルキル化、4Mグアニジン

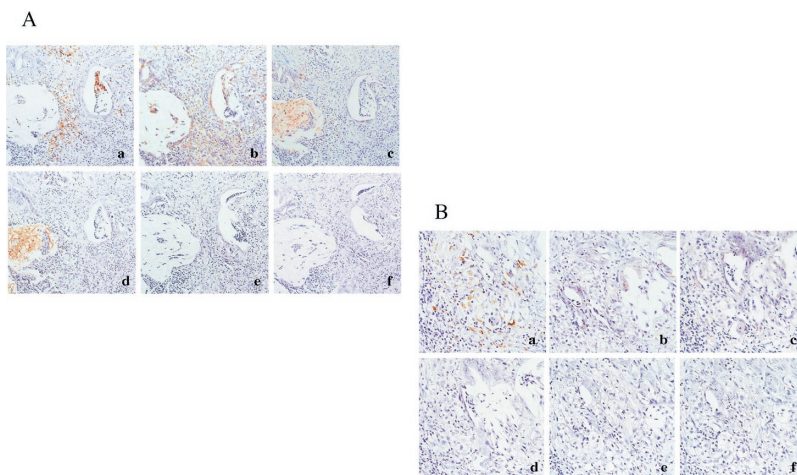


図7 大腸癌組織におけるマクロファージ, COX2 及び癌関連糖鎖抗原の分布

A: ムチンが存在する場合, B: ムチンが存在しない場合

a; CD68 (マクロファージ), b; COX2 タンパク質, c; Tn 抗原, d; シアリル Tn 抗原, e, f; コントロール抗体のみによる染色

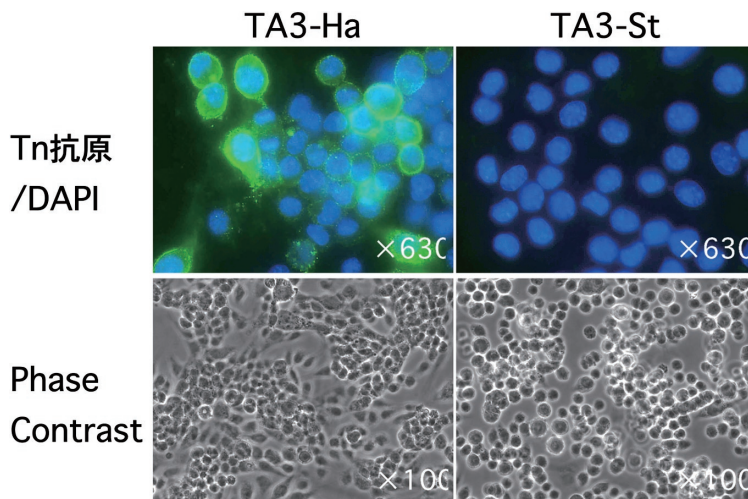


図8 マウス乳癌細胞株 TA3-Ha 及び TA3-St における Tn 抗原の発現

細胞を4%パラホルムアルデヒドで固定後, 抗 Tn 抗体 (MLS128) で検出した. 緑; Tn 抗原 (エピグリカニン), 青; 核 (DAPI)

塩酸存在下でのゲルろ過により精製標品を得た. マウスの腹腔マクロファージを調製し, エピグリカニンあるいは BSM の存在下で培養した. 4 時間後に一部の細胞を回収し, RNA を調製した. 残りの細胞については, 20 時間培養し, 回収した培養上清中の PGE₂ 量を ELISA で測

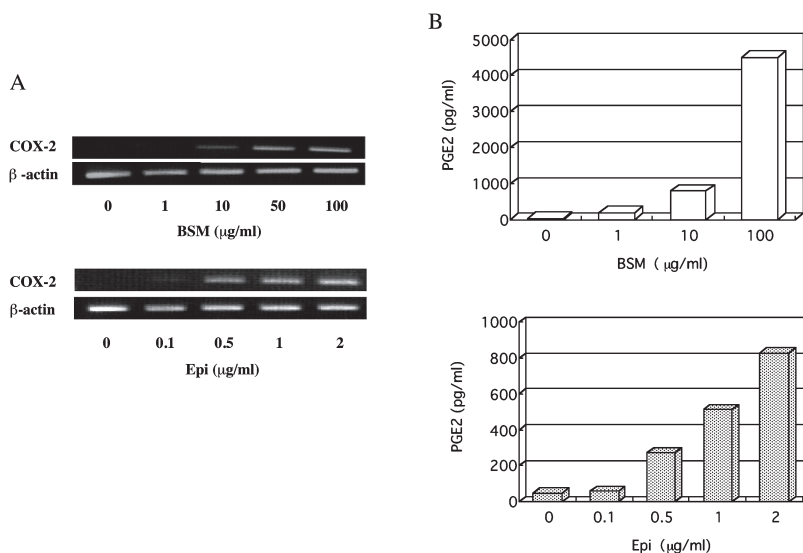


図9 ムチンによる COX2 の誘導と PGE₂ の産生亢進

A : マウス腹腔マクロファージ (1×10^5 細胞) をエビグリカニン (Epi) (0.1 ~ 2 µg/ml) あるいは BSM (1 ~ 100 µg/ml) の存在下で 4 時間培養し, RNA を調製した。

B : マウス腹腔マクロファージ (1×10^5 細胞) をエビグリカニン (0.1 ~ 2 µg/ml) 存在下で 20 時間, あるいは BSM (1 ~ 100 µg/ml) の存在下で 36 時間培養し, 分泌された PGE₂ を測定した。

定した。COX2 mRNA の誘導及び PGE₂ の産生は, いずれもムチンの濃度依存的に上昇した (図 9)。

次に, 2 つのサブラインの *in vitro* と *in vivo* における増殖を比較した。 *In vitro* での増殖は, 図10A に示すように 2 つの亜株でほぼ同様の増殖速度であった。しかしながら, *in vivo* (図 10B) においては, TA3-Ha の方が TA3-St に比して著しく早く増殖することがわかった。この相違は, 癌細胞と宿主との関係において, 2 つの細胞で何らかの差異があることを示唆している。

次に, TA3-Ha 及び TA3-St 細胞により形成された皮下腫瘍組織より, RNA 及びタンパク質を抽出した。COX2 mRNA 及び COX2 酵素タンパク質の誘導のレベルは, TA3-Ha 細胞の腫瘍組織において TA3-St のそれよりも高いことがわかった (図11A)。また, 血管新生因子 VEGF mRNA の発現も, TA3-Ha においては約 50 % 高いことがわかった (図11B)。さらに, 血管新生に重要な役割を果たすとされているマトリックスメタロプロテアーゼ -2 (MMP-2) の活性型についても, TA3-Ha において約 70 % 高い発現が認められた (図11C)。次に, TA3-Ha 及び TA3-St の腫瘍組織におけるムチン, マクロファージ (CD68), COX2 酵素タンパク質, 血管内皮細胞 (CD31) の分布を免疫組織化学的手法により検討した。図12に示すように, 生化学的な

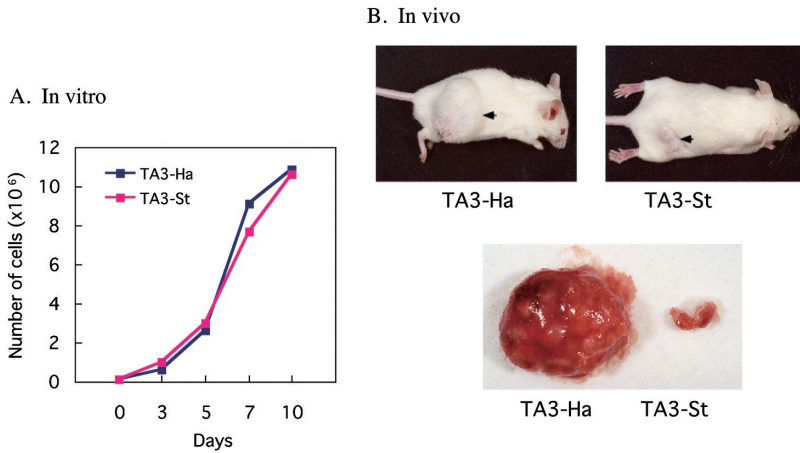


図10 マウス乳癌細胞株 TA3-Ha, TA3-St の皮下腫瘍形成

A : TA3-Ha, -St 細胞 (各々 1×10^5 細胞) を培養した.

B : TA3-Ha, -St 細胞 (各々 1×10^5 細胞) をマウス背皮下に注射し, 15 日後に腫瘍組織を摘出した.

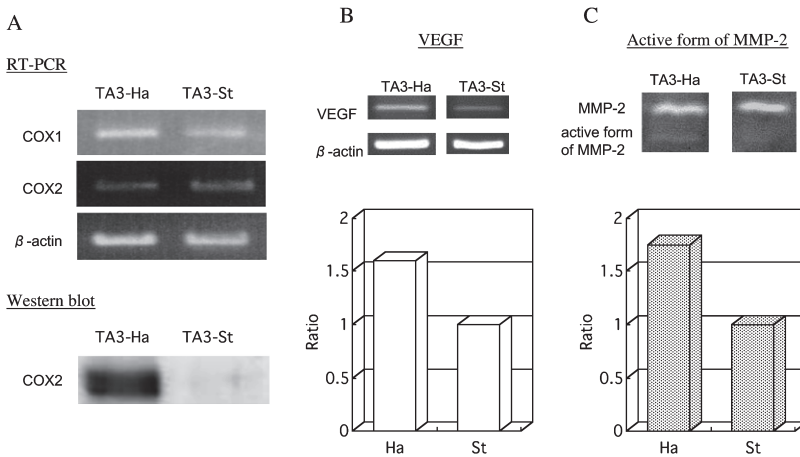


図11 マウス乳癌細胞株 TA3-Ha, TA3-St 腫瘍組織における血管新生関連因子の誘導

A : TA3-Ha, -St 細胞 (1×10^6 細胞) をマウス背皮下に注射し, 1 週間後に腫瘍組織を摘出し, RNA 及びタンパク質画分を調製した. RT-PCR により, COX2, COX1, β -actin mRNA の発現を比較した. タンパク質画分より免疫沈降により COX2 酵素タンパク質を調製した. 電気泳動後, ウェスタンブロッティングを行い, 抗 COX2 抗体により検出した.

B : 同様に調製した RNA を用いて, VEGF mRNA の RT-PCR による増幅産物をアガロース電気泳動後, バンドの濃さを数値化して発現量を比較した.

C : 同様の腫瘍組織よりタンパク質画分を調製し, 電気泳動後ゼラチンゲルグラフィーにより活性化型 MMP-2 酵素タンパク質を検出し, そのバンドの濃さを数値化して比較した.

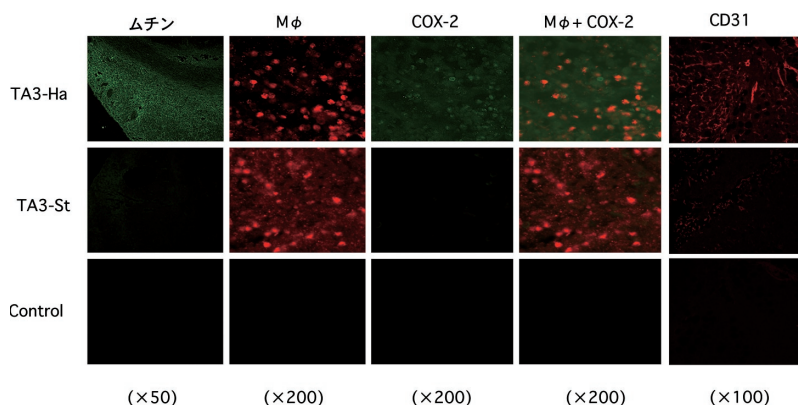


図12 マウス乳癌細胞株 TA3-Ha, TA3-St 腫瘍組織におけるムチン, マクロファージ, COX2 及び CD31 の分布

TA3-Ha, -St 腫瘍組織を 4%パラホルムアルデヒドで固定し, 凍結切片を作製した. 各抗体を一次抗体として用い, FITC 又はローダミン標識二次抗体により検出した. コントロールは, 一次抗体を用いずに同様の処理を行った.

データと一致した結果が得られた. すなわち, ムチンの発現は, TA3-Ha 腫瘍組織の全般に見られたが, TA3-St ではほとんど見られなかった. 浸潤したマクロファージの数は, 両腫瘍組織においてほぼ同様であった. COX2 酵素タンパク質の誘導は, TA3-Ha 腫瘍組織で観察された. マクロファージと COX2 酵素タンパク質をマージした図より, 明らかにマクロファージ中に COX2 酵素タンパク質が誘導されていることが示された. さらに, CD31 の分布より, 血管新生が TA3-Ha 腫瘍において著しく亢進していることがわかった.

ま と め

上述の結果をもとに, 癌組織の微小環境において, ムチンを起点として以下のようなカスケードが考えられる (図13). すなわち, 腫瘍細胞から産生されたムチンが, 浸潤マクロファージ上の SCR に結合する. 情報伝達の結果, COX2 が誘導され, PGE_2 の産生が亢進する. さらに, 武藤らの報告¹¹⁾によれば, PGE_2 は EP2 リセプターを介して周辺の細胞を活性化し, VEGF の誘導や, さらなる COX2 の誘導をもたらす. PGE_2 の過剰生産や VEGF の誘導により, 癌細胞の増殖・進展に有利な環境をもたらす. また, このモデルは, ヒト乳癌組織におけるシアルル Tn 抗原と COX2 の発現に相関性があるという報告¹⁴⁾とよく一致する. また, 中耳真珠腫においても同様の現象とみられる所見が報告されている¹⁵⁾.

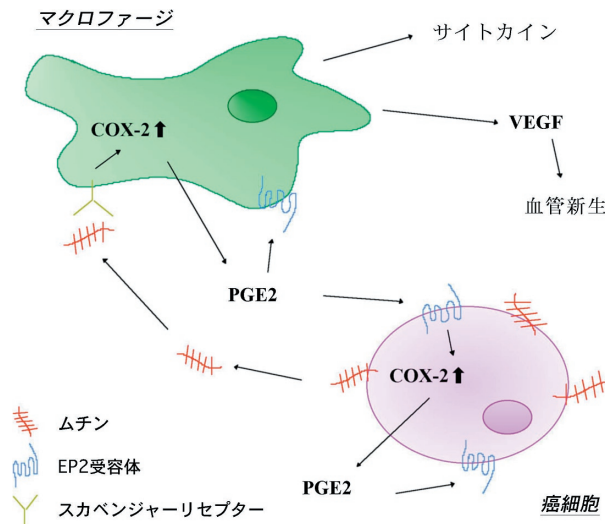


図13 癌組織微小環境におけるムチンを起点としたカスケード

展 望

ムチンを起点とした連鎖反応が、腫瘍組織形成に重要な役割を果たしている可能性を示した。そのカスケードの中に位置する COX2 の阻害剤が、大腸癌などの治療に使われようとしている。すなわち、本カスケードの停止は、癌の治療に有効であることが実証されている。ムチンと SCR の結合はその上流にあり、そのブロックはさらに有効である可能性がある。そのような観点から、SCR のエクストドメイン（可溶性 SCR）の効果を検討している。その手法は複数考えられるが、まず、癌細胞自体に可溶性 SCR の cDNA を発現させ、腫瘍組織全体に可溶性 SCR が分布した場合の効果を見たところ、少数の癌細胞（ $\sim 1 \times 10^4$ 細胞）では極めて有効であるという結果を得ている。さらに詳細に検討中である。また、人工ムチン（静岡大、村田博士との共同研究）をアンタゴニストとして用いることにより、腫瘍増殖に対する影響を調べることを計画している。

さらに、マクロファージの過剰刺激によるサイトカイン、生理活性物質の産生亢進が病因もしくは疾病の進展に関与すると思われる複数の病態があり、それらについても同様の手法で解析していく予定である。

参考文献

- 1) Dekker, J., Rossen, J. W., Buller, H. A. and Einerhand, A. W. (2002). The MUC family: an obituary. Trends Biochem. Sci., 27: 126–131.
- 2) Miyazaki, K., Ohmori, K., Izawa, M., Koike, T., Kumamoto, K., Furukawa, K., Ando, T., Kiso, M., Yamaji, T.,

- Hashimoto, Y., Suzuki, A., Yoshida, A., Takeuchi, M. and Kannagi, R. (2004). Loss of disialyl Lewis(a), the ligand for lymphocyte inhibitory receptor sialic acid-binding immunoglobulin-like lectin-7 (Siglec-7) associated with increased sialyl Lewis(a) expression on human colon cancers. *Cancer Res.*, **64**: 4498–4505.
- 3) Smith, W. L., Garavito, R. M. and DeWitt, D. L. (1996). Prostaglandin endoperoxide H synthases (cyclooxygenases)-1 and -2. *J. Biol. Chem.*, **271**: 33157–33160.
 - 4) Eberhart, C. E. and DuBois, R. N. (1995). Eicosanoids and the gastrointestinal tract. *Gastroenterology*, **109**: 285–301.
 - 5) Giovannucci, E., Egan, K. M., Hunter, D. J., Stampfer, M. J., Colditz, G. A., Willett, W. C. and Speizer, F. E. (1995). Aspirin and the risk of colorectal cancer in women. *N. Engl. J. Med.*, **333**: 609–614.
 - 6) Giardiello, F. M., Hamilton, S. R., Krush A. J., Piantadosi S., Hylind, L. M., Celano, P., Booker, S. V., Robinson, C. R. and Offerhaus, G. J. A. (1993). Treatment of colonic and rectal adenomas with sulindac in familial adenomatous polyposis. *N. Engl. J. Med.*, **328**: 1313–1316.
 - 7) Oshima, M., Dinchuk, J. E., Kargman, S. L., Oshima, H., Hancock, B., Kwong, E., Trzaskos, J. M., Evans, J. F. and Taketo, M. M. (1996). Suppression of intestinal polyposis in Apc delta716 knockout mice by inhibition of cyclooxygenase 2 (COX-2). *Cell*, **87**: 803–809.
 - 8) Plescia, O. J., Smith, A. H. and Grinwich, K. (1975). Subversion of immune system by tumor cells and role of prostaglandins. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **72**: 1848–1851.
 - 9) Tsujii, M. and DuBois, R. N. (1995). Alterations in cellular adhesion and apoptosis in epithelial cells overexpressing prostaglandin endoperoxide synthase 2. *Cell*, **83**: 493–501.
 - 10) Sheng, H., Shao, J., Morrow, J. D., Beauchamp, R. D. and DuBois, R. N. (1998). Modulation of apoptosis and Bcl-2 expression by prostaglandin E2 in human colon cancer cells. *Cancer Res.*, **58**: 362–366.
 - 11) Tsujii, M., Kawano, S., Tsuji, S., Sawaoka, H., Hori, M. and DuBois, R.N. (1998). Cyclooxygenase regulates angiogenesis induced by colon cancer cells. *Cell*, **93**: 705–716.
 - 12) Doi, T., Higashino, K., Kurihara, Y., Miyazaki, T., Nakamura, H., Uesugi, S., Imanishi, T., Kawabe, Y., Itakura, H., Yazaki, Y., Matsumoto, A. and Kodama, T. (1993). Charged collagen structure mediates the recognition of negatively charged macromolecules by macrophage scavenger receptor. *J. Biol. Chem.*, **268**: 2126–2133.
 - 13) Sonoshita, M., Takaku, K., Sasaki, N., Sugimoto, Y., Ushikubi, F., Narumiya, S., Oshima, M. and Taketo, M. M. (2001). Acceleration of intestinal polyposis through prostaglandin receptor EP2 in Apc(Delta 716) knockout mice. *Nat. Med.*, **7**: 1048–1051.
 - 14) Costa, C., Soares, R., Reis-Filho, J. S., Leitao, D., Amendoeira, I. and Schmitt, F. C. (2002). Cyclooxygenase 2 expression is associated with angiogenesis and lymph node metastasis in human breast cancer. *J. Clin. Pathol.*, **55**: 429–434.
 - 15) Nagai, T., Kawano, J. and Sukanuma, T. (1992). Sialomucin in middle ear cholesteatoma perimatrix. *Acta Otolaryngol.*, **112**: 686–690.