膜 ム コ 多 糖 と 癌 転 移

中島 元夫・入村 達郎・Garth L. Nicolson

テキサス大学 癌センター, M. D. アンダーソン病院・癌研究所, 腫瘍生物学部門

Mucopolysaccharides and Tumor Metastasis

Motowo Nakajima, Tatsuro Irimura and Garth L. Nicolson

Department of Tumor Biology, The University of Texas System Cancer Center, M. D. Anderson
Hospital and Tumor Institute, 6723 Bertner Avenue, Houston, Texas 77030, USA

Mucopolysaccharides (i.e., glycosaminoglycans) have recently been implicated with various aspects of tumor cell-host interactions. First, the presence of tumor cell-associated mucopolysaccharides may be related to the regulation of cellular growth and invasiveness of tumors. Particular mucopolysaccharides seem to play specific roles at the tumor cell periphery. For example, the mucopolysaccharide heparan sulfate (HS) has been shown to be structurally heterogeneous mainly due to the differences in 6-O-sulfation and N-sulfation of glucosamine, and the variations in HS sulfation have been found to be tissue specific and related to the malignant potentials of tumor cells. Qualitative and quantitative changes in HS may affect the microenvironment of cells and modify cellular interactions, growth and differentiation. Secondly, glycosaminoglycans such as HS constitute a major fraction of the endothelial cell basement membrane which acts as a barrier against the invasion of blood-borne tumor cells. We have found that metastatic tumor cells with high lung colonization potentials possess specific abilities to degrade both HS proteoglycans in the basal lamina-like matrix of cultured endothelial cells and purified, soluble lung HS. This observation may explain how metastatic tumor cells migrate through the vascular wall and develop metastatic lesions in distant, often specific, organ sites. In this review we discuss the roles of tumor cell-associated mucopolysaccharides and mucopolysaccharide degrading enzymes in tumor cell-host interactions which lead to metastasis.

Key Words: Tumor metastasis, Tumor invasion, Mucopolysaccharides (Glycosaminoglycans),
Heparan sulfate, Extracellular matrix, Basement membrane (Basal lamina), Heparanase

はじめに

1. 細胞膜ムコ多糖と癌細胞

1・1 癌組織のムコ多糖

1・2 癌細胞表面のヘパラン硫酸

1・3 細胞表面ムコ多糖と癌の転移性

2. 癌細胞転移と基底膜ムコ多糖

2・1 癌細胞転移における基底膜破壊

2・2 転移性癌細胞のムコ多糖分解酵素

おわりに

はじめに

ムコ多糖 (mucopolysaccharides または glycosaminoglycans, GAGs: 近年後者が多用される) は、よく知られているように、動物の体液、基底膜、軟骨や繊維性結

合組織などの細胞間マトリクス (intercellular matrix) を構成する物質であり、比較的長い研究の歴史をもっている。細胞間マトリクスは、ムコ多糖の他、コラーゲン、酸性糖タンパク、エラスチンなどから構成され、ムコ多糖自身はタンパクとの複合体、すなわちプロテオグリカ

ンとして存在する。これらは元来、組織の構造保持体であるという認識のうえでの研究対象であり、多くの記述に見られるように、細胞間マトリクスは主として組織の間質細胞（例えば繊維芽細胞など）により造られ、そこで実質細胞が成長し、活動・機能する場であるという認識に基づいてその役割が研究されてきた。そして例えば、ムコ多糖、コラーゲンの組織における分布の特異性は、組織の構造と機能との関連で注目され、さらには組織・器官の分化におけるこれらの物質の役割ということが注目されたしてきた。実際これは、一連の培養細胞を用いた細胞分化におけるムコ多糖とコラーゲンの役割に関する研究の誘因となった。しかし近年、特に1970年代に入り、あらゆる培養細胞がムコ多糖をはじめとする細胞外マトリクス (extracellular matrix) の成分を自分自身で造り出すことが見出され¹⁾、従来の概念、つまり間質細胞により造られる細胞間マトリクスという見方は改められなくてはならなくなった。言い換えれば、あらゆる細胞は自分自身で細胞外環境をつくり出し、自他に影響をおよぼしているという新たな認識が生まれたのである。これは細胞表面を含む細胞外に存在するムコ多糖の役割を理解するうえで重要な知見である。これまでのところムコ多糖の重要な機能としては、細胞-細胞間接着あるいは細胞-物質間接着²⁻⁸⁾、細胞増殖の制御⁹⁻¹²⁾、細胞分化の制御¹³⁻¹⁸⁾、細胞膜レセプターのマスキング^{1,19,20)}、細胞の運動の制御²¹⁾、細胞形態の維持²¹⁻²³⁾、物質透過の制御^{24,25)}、などが挙げられているが、これらの細胞の機能異常は取りもなおさず癌細胞の特徴として挙げられていることであり、多くの癌細胞研究に従事する人々の注目を集めずにはおかなかった。そして多くの実験結果から、細胞の癌化と細胞表面ムコ多糖の質的量的変化が関連しているという可能性が示唆されるにいたっている。それは逆にムコ多糖による細胞活動の制御を解明するために有用な系となりつつある。

さて一方では、癌細胞とムコ多糖の対立的関係が癌細胞転移のメカニズムの面から露呈してきた。今日の癌治療の最後の課題は、おそらくいかにして転移を防ぎ、癌再発の防止を完遂するかにかかっていくと思われるが、この癌細胞の転移機構について解明されていることは未だ微々たるものである。癌細胞はその転移の過程として、①原発巣から脈管内への侵入、②脈管内を介しての播種、③特定の器官内での脈管壁への付着と組織内への侵入、④その組織における増殖という過程を経なければならない。これら一連の過程の中で、転移性癌細胞は①と③の過程で2度基底膜 (basement membrane, basal lamina)

を通過せねばならないが、その基底膜破壊は物理的作用と酵素的作用によって果たし得ると考えられる。基底膜はプロテオグリカンとして存在するヘパラン硫酸 (HS)、コンドロイチン硫酸 (CS)、デルマタン硫酸 (DS)、ヒアルロン酸 (HA) などのムコ多糖、IV型コラーゲン、フィブロネクチン、ラミニンその他の糖タンパクにより構成されるが、特に硫酸化ムコ多糖とタンパクの複合体は乾燥重量比に占める割合が少ないにもかかわらず、水和したときの分子の巨大さ、その強い陰性荷電のために物質透過の強力な障壁となっていると考えられている²⁵⁾。つまり基底膜ムコ多糖は転移性癌細胞にとっても障壁たり得るわけであり、破壊の対象となる。事実 Kramer と Nicolson は、培養血管内皮細胞の造り出す基底膜様細胞外マトリクスに転移性マウス B16 メラノーマが選択的に付着し^{26,27)}、そこから硫酸化ムコ多糖のひとつである HS のフラグメントを分解放出することを観察した²⁸⁾。その分解活性は後述するように、B16 メラノーマの転移特異性と侵入性の異なるサブクローンで比較した結果、それらの間に顕著な相関が認められた^{28,29)}。これは癌細胞の転移性にムコ多糖分解酵素活性が関与していることを示唆するものである。

このように培養癌細胞を用いた研究は、近年のムコ多糖の研究の歴史に新しい展開をもたらしているといえるが、癌細胞を特徴づける二大局面である制御を外れた増殖性と転移性の両者に、異なる立場からムコ多糖の関与が考えられるにいたったことは誠に興味深い。

本稿では、細胞表面ムコ多糖の癌化に伴う変化について触れたのち、転移性癌細胞による基底膜ムコ多糖破壊について、筆者らの研究室での仕事を中心に紹介し、最近のこの領域におけるトピックを拾ってみることにしよう。

1. 細胞膜ムコ多糖と癌細胞

1・1 癌組織のムコ多糖

ムコ多糖が細胞の正常な分化、増殖の制御に重要な役割を担っているとすれば、異常な状態である癌細胞の持つムコ多糖に変化が見られることが期待され、この考えは癌の臨床的診断や治療の面から非常に興味をもたれるところである。例えば、数種の白血病や骨髄腫の患者において尿中ムコ多糖の総排泄量が正常な人に比べ一般にかなり高く、骨髄性白血病患者のそれは特に著しい³⁰⁾。しかし癌患者や担癌動物の尿中排泄ムコ多糖の量が相対的に高いという事実は、単純に普遍的なものではなく、排泄されるムコ多糖の質的量的な違いが個々の癌によって

異なる³⁰⁻³³⁾。この多様性は癌細胞の種類により造り出すムコ多糖の組成に違いがあることと¹⁾、後述するように癌細胞により基底膜や細胞外マトリクスから分解・遊離されるムコ多糖が尿中に存在することによるであろう。特に白血病の場合、後者の寄与は大きいと考えられる。

動物癌³³⁻³⁹⁾ およびヒト癌^{2,40-42)} の組織を直接分析した場合、正常組織に比べやはり高いレベルでムコ多糖の存在することが報告されている。もちろんその質的量的違いは個々のケースで異なっており、一般化することには多少無理があるが、多くの場合 HA の著しい増量が見られ、CS 特に CSC と DS が増量傾向にあるのに対し、HS は減少する。正常な動物およびヒトの体内におけるムコ多糖の分布には器官あるいは組織特異性のあることが見出されており^{2,11,36,43,44)}、癌の組織は癌細胞のみでなく宿主の正常細胞により造られるムコ多糖も存在することから、腫瘍組織全体のムコ多糖を分析した場合は質的量的違いに関する結果の解釈には慎重を要する。しかし Chiarugi ら³⁶⁾ と Dietrich ら²⁾ は様々な実験的事実を考慮したうえで、上記の様な傾向の解釈として興味ある仮説を述べているのは注目される。彼らの仮説を総合すると、「HS は細胞増殖のインヒビターであり、細胞接着と細胞分化のプロモーターであって、組織の恒常性の維持の方向に働いている。これに対し HA と CSC は細胞認識に阻害的に働き、細胞の接着性を低下させ、細胞の分裂増殖に促進的に働くのではないか。」ということになる。そこで次に細胞膜表面のムコ多糖について考えてみよう。

1・2 癌細胞表面のヘパラン硫酸 (heparan sulfate, heparitin sulfate)

ムコ多糖は広くあらゆる培養細胞表面に見出され¹⁾、特に HS は全ての細胞が合成して細胞表面 および細胞外マトリクスに放出蓄積できるものと思われ、その代謝回転は意外に速い⁴⁵⁾。最近 Hayman らは⁸⁾、ラットの PYS カルシノーマとマウス EHS ギザルコーマによって造られる基底膜の CS プロテオグリカンと HS プロテオグリカンを調製してこれらに対する抗体を作り、ラットの腎臓細胞の細胞外マトリクスにおける CS と HS の分布を観察して興味ある事実を発見している。正常腎臓細胞表面では HS プロテオグリカンは糖タンパクであるフィブロネクチンと同一の分布を示し、それらは繊維状のネットワークを形成している。これは抗フィブロネクチン抗体と抗 HS 抗体によるダブルラベル蛍光抗体法で観察されている。ところが Kirsten ギザルコーマウイルスでトランスフォームされた造腫瘍性腎臓細胞には

HS プロテオグリカンのネットワークが見られなかった。フィブロネクチンはウイルスあるいは化学発癌物質でトランスフォームされると減少もしくは欠損する細胞表面糖タンパクであり^{46,47)}、その減少は癌細胞の転移能の増大に関係していることが報告されている⁴⁸⁾。腎臓細胞表面ではもうひとつの細胞外マトリクスを構成する代表的な糖タンパク、ラミニンもフィブロネクチンと同様の分布を示し、両者はトランスフォームに伴い失われる⁴⁹⁾。一方 CS は正常細胞でもトランスフォームされた細胞でも斑点状に分布し、HS やフィブロネクチンの分布と著しく異なる。またそれはトランスフォームされた細胞でより強く検出された⁸⁾。

細胞のウイルスによるトランスフォーメーションに伴う細胞表面ムコ多糖の変化は数多く報告され^{36,50-55)}、とりわけトランスフォーメーションに伴う HS の減少あるいは質的变化^{36,50,51,52,55)}は、悪性化細胞の制御を外れた増殖性に関係があるのではないかと考えられている。実際、細胞の分裂期における HS の放出⁵⁷⁾をはじめ、分裂期と休止期における細胞表面 HS の量的変動^{52,57)}の事実は、HS に細胞増殖制御と相関があることを想像させる。また細胞表面 HS が細胞間接着を促進し^{3,5)}、細胞と物質の接着に介在していること⁶⁾、HS のより硫酸化の程度の高い硫酸化ムコ多糖であるヘパリンがフィブロネクチン⁵⁹⁾、ラミニン⁶⁰⁾とよく結合するという事実、さらにフィブロネクチン、ラミニンが細胞表面において HS と同一分布を示し⁸⁾、HS はフィブロネクチンとラミニンをコラーゲンに結合させる活性が高い⁸⁾ ことなどを考え合わせると、HS が細胞の運動と増殖を制御し、組織における細胞活動の恒常性を維持する方向に機能していることが期待される。さらに HS が細胞膜を介しての物質輸送、殊にイオン輸送を部分的に阻害し⁹⁾、腎糸球体基底膜においては限外濾過の機能の本体が HS プロテオグリカンであるらしいという事実^{24,25)}、HS は細胞表層に集中して存在するカルシウムイオンのレベルを調整する役割を果たし得るが^{2,61)}、カルシウムイオン依存性細胞-細胞間接着⁶²⁾ および細胞-物質間接着^{6,7)} が存在し、細胞内へのカルシウムの流入が例えばリンパ球幼若化⁶³⁾や膵臓細胞のインシュリン放出⁶⁴⁾、血小板のプロスタグランジンやトロンボキサン生合成⁶⁵⁾などを促すシグナルとして働くように細胞の活性化に機能する事実などを考え合わせると、HS の細胞増殖における制御的役割は一層支持されるであろう。

これに対しトランスフォーメーションに伴う HA や CS プロテオグリカンの増大^{8,56)}は、HA や CS が細胞接着

に否定的に働き⁶⁾、細胞分裂・増殖を促進する方向に機能するのではないかと想像させる。

さて HS は他の硫酸化ムコ多糖ときわめて異なる点がある。それは HS の構成糖のグルコサミンがアミノ基に結合した酸に不安定な硫酸基をもつことであり、このアミノ基の硫酸化の程度は不均一である。さらにグルコサミンあるいは *N*-アセチルグルコサミンの 6 位の硫酸基は不均一に硫酸エステル化されており、これらの硫酸化の程度が HS 分子に多様性を与えることになる。事実、組織により HS の硫酸化の程度の異なることが見出されている。例えば肝臓^{66, 67)}、肺^{67, 68)}、脳⁶⁹⁾などの HS は硫酸化の程度が高く、動脈^{67, 70)}や臍帯⁷¹⁾の HS では硫酸化の程度が低い。Nakamura らは癌化したヒト肝臓の組織には HS が著しく減少しているとともに、ウロン酸 1 モル当たりの硫酸基のモル数が正常肝組織に比べてかなり低いことを報告している⁷²⁾。そしてまたこれは CS や DS には見られない現象であると述べている。一方 Underhill ら^{51, 73)}と Winterbourne ら⁵⁵⁾はそれぞれ細胞表面 HS の荷電密度がトランスフォメーションにより低下することを見出し、さらに Winterbourne らはマウス胎児由来の細胞株で SV 40 によりトランスフォームされた株と高造腫瘍性株、親株の 3 細胞株についてそれらのもつ HS の構造を比較した結果、トランスフォームされた株と造腫瘍性株の細胞では 6-*O*-硫酸基をもつグルコサミンが著しく減少し、それがあある特定の硫酸基の少ない糖鎖領域に生じていると報告している⁷⁴⁾。

これらの報告を総合すると、HS は相対的量的変化のみでなくその硫酸化の程度の違いが細胞外微小環境における HS 自身と他の分子との相互作用に変化を及ぼし、それが細胞接着や増殖を制御するために機能している可能性が考えられる。そしてここに述べてきた癌細胞表面 HS に関する報告は、その傾向として前述の Chiarugi ら³⁶⁾と Dietrich ら²⁾の仮説を支持する方向にあるといえるのではないだろうか。

1・3 細胞表面ムコ多糖と癌の転移性

癌細胞の転移性とムコ多糖の変化を結びつけた報告はまだ少なく、その相関を論じるのは早計であるが、ここにいくつかの例を挙げてみよう。Heaney-Kleras と Kleras はマウス B16 メラノーマの肺に高転移性（高造腫瘍性）と低転移性のサブクローンについてそれらのムコ多糖を分析比較し、高転移性メラノーマでは HS 含量が低いと報告している⁷⁵⁾。また HA はいずれのメラノーマでも検出されなかった⁷⁵⁾。次章で述べるように B16

メラノーマの転移性と HS 分解酵素活性は相関が見られる²⁹⁾ので、高転移性メラノーマ細胞表面の HS が減少しているのは自己のもつ HS 分解酵素により生じている現象かもしれない。

Toole らはウサギ V2 カルシノーマの侵入性の高いものと侵入性を有さないものの HA 含量を比較し、侵入性を有するカルシノーマに 3～4 倍量の高い HA が存在することから、この分子の潤滑性が癌細胞の組織内遊走を助長して転移性が高くなるのではないかと述べている³⁴⁾。

Angello らはアデノカルシノーマの増殖が強く侵入性の高い株と弱い株を比較し、前者に HA が多く HS の少ないことを報告している⁷⁶⁾。また Kupchella らは化学発癌物質により誘発されたラットのヘパトカルシノーマの中で増殖の速さおよび転移性の異なる 3 株の癌細胞が造る肝臓癌組織のムコ多糖を調べた結果、HA、CS、HS は増殖の速いものほど多く、HS の量は転移性に比例していた³³⁾。つまりカルシノーマにおいては一般的に造腫瘍性、侵入性の高いものは HA 含量が高く、メラノーマとアデノカルシノーマでは転移性の高いものは HS が少ないのに対し、ヘパトカルシノーマでは HS も多いという傾向を与える。この事実はひとつには分析のアプローチの仕方の違いを反映するかもしれないが、もうひとつには、それぞれの癌細胞の由来と細胞株の選択・確立のされ方および転移性の評価のされ方に違いがあることが、癌細胞転移性と細胞膜ムコ多糖の相関の一般化を難しくしていると理解される。しかし増殖性や侵入性に関しては HA が正に相関し、HS が負に相関していると言えるかもしれない。

このように述べてくると、細胞の癌化と細胞表面ムコ多糖の関係は単純に結論が引き出せるかのように見えて実はそうではないことが理解される。Kraemer は¹⁾正常組織、正常培養細胞、癌組織、培養癌細胞のムコ多糖の分析に関する 1975 年以前のデータを整理しているが、結果は非常に多様で、明解な統一の見解を出そうという試みは残念ながら期待はづれに終わっている。彼はその中で過去の分析方法におけるいくつかの重要な問題点を挙げており、筆者らは恐らく分析方法の進歩と研究者の慎重なアプローチがこれらの問題点を克服しつつあるものと考えている。したがってここに述べてきた最近の精緻な研究成果とそれに基づく仮説はそれなりに評価されるべきものであり、近い将来、個々のケースを考慮に入れたより抱括的で精密な関係が解明されていくことが期待される。

2. 癌細胞転移と基底膜ムコ多糖

2・1 癌細胞転移における基底膜破壊

転移性癌細胞が原発巣から離れた組織に転移して増殖を達成するためには、まず周辺組織への侵入、体腔、リンパ管や血管への侵入とそれらの体液中を循環して遠隔組織への到達、末梢血管壁やリンパ管壁への付着と破壊・侵入、さらにその周辺組織への浸潤、血管形成を含む周辺微小環境の確立、そして増殖という長い過程を経なければならない^{77,78)}。これらの過程における全ての関門を突破することは非常に難しく、転移を成し遂げようとする癌細胞にとってきわめて効率の悪い過程であるといわねばならない⁷⁸⁾。

さて基底膜 (basement membrane, basal lamina) はあらゆる組織において境界膜として、組織の構造支持体あるいは骨格として存在し、その半透膜としての性質が重要な機能を担っている^{79,80)}。また細胞外マトリクスとして細胞分化の制御に寄与しているといわれる^{79,80)}。基底膜はいうまでもなく物理的、生理的な意味における膜であり、形態的、化学的、免疫学的には細胞膜とは全く異なる種類の構造体である⁷⁹⁾。例えば毛細血管や腎糸球体などの内皮細胞下の基底膜は物質の透過を制御するとともに、その構造の堅固さを維持しているものであり、眼の水晶体の構造を維持しているのもこれである。また骨格筋や肺、腎臓、肝臓、神経系組織、皮フなどの多くの組織において実質細胞と結合組織の間に位置する境界膜かつ細胞外骨格として機能している⁸⁰⁾。転移性癌細胞は転移を達成するためにはこれらの基底膜を通過せねばならず、例えば血行性転移 (blood-borne metastasis) では少なくとも2回血管壁の基底膜を通過しなければならない。

その事実、Ozello らにより乳癌患者の臨床標本において転移性カルシノーマによる基底膜破壊の様子が観察されたのをはじめ⁸¹⁾、転移性癌細胞による基底膜破壊・侵入の事実が組織学的観察により示されている⁸²⁻⁸⁴⁾。癌細胞による基底膜破壊は、細胞自身の運動等による機械的圧力による破壊と酵素による破壊が考えられるが、電子顕微鏡による組織学的観察から癌細胞が浸潤に際して基底膜を局所的に分解消失することが報告されており⁸⁵⁻⁸⁷⁾、それらは癌細胞から基底膜を分解する酵素あるいはその活性化因子が放出されることを示唆している。また癌細胞は血管壁への着床の際、血小板を付着した状態で基底膜の露出している部分によく接着することが見出されており^{88,89)}、これは基底膜破壊に先行して選択的接着の起こることを示唆する。癌細胞と血管壁との相互

作用は癌細胞の特定の臓器への選択的転移を引き起こす重要な因子と考えられ⁷⁸⁾、血管内皮細胞層と基底膜への侵入は転移性癌細胞の組織破壊の機構を知る格好のモデル現象ともなっている。つまり、癌細胞と血管内皮および基底膜の関係を探ることは、転移性癌細胞の悪性の何たるかを知るための糸口を与えるであろう。そのため内皮細胞およびそれが合成する基底膜あるいは細胞外マトリクスと転移性癌細胞との相互作用に関する研究が、*in vitro* の培養実験系において様々なモデルを駆使して行われている。例えば単層培養された血管内皮細胞^{26-29, 90-94)}、平滑筋細胞層上に培養された血管内皮細胞^{95,96)}、膀胱膜^{97,98)}、羊膜^{99,100)}、などが *in vitro* の実験系に導入されている。Nicolson らは単層の培養血管内皮細胞を用いて転移性癌細胞の接着と侵入に関する形態学的^{26-28,90,91,93)} 生化学的^{26-29,91-94)} 観点から研究を行ってきた。この形態学的研究から転移性癌細胞は Fig. 1 に示すような過程で血管壁への侵入を行うことが判明した^{26, 27,90,91)}。Nicolson らは各種臓器毛細血管の培養系の確立を試みているが、この系により様々な正常細胞と癌細胞が血管内皮細胞と内皮下マトリクスへ接着・侵入する様子を調べ、侵入の過程が転移性癌細胞の特徴を最もよく現わす段階であると思われること、さらにその臓器特異性、種特異性に言及する結果を報告している^{27,90)}。またマウスの脳の毛細血管内皮細胞を単離培養し、これに対して脳や肺転移特異性の異なる B16 メラノーマの接着を比較すると、脳に対する転移能の高いメラノーマは効率よく接着することを見出しており²⁷⁾、転移の臓器特異性の決定因子が血管内皮に存在する可能性を示している。さらに、興味あることに転移性癌細胞の B16 メラノーマは血管内皮細胞表面に対してよりも、これにより合成される基底膜様マトリクスに対してはるかに強い親和性を有することがこの実験系から見出された^{26,27)}。これは前述の基底膜露出部分への癌細胞の選択的接着が組織標本で観察された事実^{88,89)} と一致する。

血管内皮の基底膜あるいは内皮下マトリクスはコラーゲン⁷⁹⁾、フィブロネクチン^{28,101-104)} やラミニン¹⁰⁴⁻¹⁰⁶⁾ などの糖タンパクとプロテオグリカン^{28,107,108)} から成るが、B16 メラノーマはフィブロネクチンで被った表面に対しても同程度に強く接着し、それは抗フィブロネクチン抗体で完全に阻害された。しかし基底膜様マトリクスへの接着は抗フィブロネクチン抗体では部分的にしか阻害されず、接着因子が複雑であることが示された²⁶⁾。Murray らは転移性フィブロザルコーマが繊維性結合組織の成分である I 型コラーゲンには接着せず、基底膜の

- A. 転移性癌細胞の血管内皮表面への接着。内皮細胞間の結合部付近に起こる。
- B. 血管内皮細胞の収縮による内皮細胞結合部の開裂。
- C. 癌細胞の内皮細胞下への潜入と内皮細胞の基底膜からの剥離。
- D. 癌細胞の基底膜破壊と内皮細胞間結合の修復。
- E. 癌細胞の基底膜下への侵入。

Fig. 1 転移性癌細胞による血管内皮細胞層と内皮下基底膜への侵入の模式図

構成成分であるIV型コラーゲンによく接着すると報告している¹⁰⁹⁾。また Terranova らは転移性メラノーマおよびザルコーマがIV型コラーゲンによく接着するのに対し、正常細胞がI型コラーゲンに最もよく接着することを見出している¹¹⁰⁾。さらに彼らは、転移性癌細胞のIV型コ

ラーゲンへの接着がラミニンにより促進されるのに対し、フィブロネクチンでは影響を受けず、抗ラミニン抗体はIV型コラーゲンへの接着を低下させるとともに肺への転移を著しく抑制することなどを示し、ラミニンが癌細胞の基底膜接着に重要であると結論している¹¹⁰⁾。しかし Johansson らは、ラットの肝細胞を用いた実験で、細胞と物質の接着に機能する接着タンパクとしてのフィブロネクチンとラミニンに対してはそれぞれを認識する全く別の細胞レセプターが存在することを示している¹¹¹⁾。転移性癌細胞側のこれらのレセプターの問題を抜きにして接着タンパクの重要性を議論することは許されないだろう。Irimura らは糖タンパク合成阻害剤であるツニカマイシン処理により、肺への高転移能を有するB16メラノーマの肺腫瘍形成能の低下と血管内皮細胞および内皮下マトリクスへの接着の低下が引き起こされることを見出しており、癌細胞側の細胞膜糖タンパクの重要性を示した^{92,93)}。現在までのところ基底膜マトリクス側のムコ多糖が転移癌細胞の接着に関与しているという積極的証拠は報告されていないが、HSの細胞間接着および細胞-物質間接着への寄与²⁻⁸⁾、特にHSのフィブロネクチンとラミニンをコラーゲンに結合させる活性⁸⁾を考えると、その関与が期待される。この他、IrimuraとNicolsonの総説^{112,142)}に詳述されているように、様々な知見から転移癌細胞の血管壁への接着は複雑な因子によって支配されていると考えられる。

さて基底膜の破壊はどのように進められるのであろうか。基底膜の構成成分から考えると、その分解は多種類の酵素によって果たし得ると推察されるが、事実、近年急速に盛んになりつつある癌転移と分解酵素活性の関連の研究は多様な報告を生み出している。Liotta らは、基底膜の主たる構成タンパクであるIV型コラーゲンを特異的に分解する酵素が転移性癌細胞から分泌されることを見出し¹¹³⁾、転移性の異なるB16メラノーマのサブクローン間における比較から、その分泌するIV型コラーゲン分解酵素活性が高転移性のものほど高いことを示している¹¹⁴⁾。そして侵入性の強い転移性PMTザルコーマからこの酵素を部分精製しており、それがプラスミンまたは類似のタンパク分解酵素により活性化されることを報告している¹¹⁵⁾。Jones らはフィブロザルコーマを平滑筋細胞の合成した細胞外マトリクスに接触させると、コラゲナーゼによるコラーゲンおよびエラスターゼによるエラスチンの分解と、プラスミンによる糖タンパクの分解が見られることを示し、またコラゲナーゼ活性は細胞膜に局在する可能性を述べている⁹⁵⁾。さらにこのマトリ

クスの分解は血管内皮細胞の存在により阻害されることを報告している⁹⁶⁾。Wang らは B16 メラノーマの転移性がプラスミノゲン活性化酵素(ウロキナーゼ)産生量と相関していると報告している¹¹⁶⁾。しかし Liotta らはウロキナーゼによりプラスミノゲンから生じたプラスミンは単離したラミニンとフィブロネクチンを分解できるが、コラーゲンは分解できず、基底膜の分解においてプラスミンは非コラーゲンタンパクの分解にのみ作用することを報告している¹¹⁷⁾。一方 Kramer らは血管内皮細胞の合成した基底膜様細胞外マトリクスに B16 メラノーマを接触させると、プロテオグリカンの分解以外には部分分解されたフィブロネクチンのみの遊離を見出し、この過程にプラスミノゲンを必要としないと報告している²⁸⁾。

Sloane らはリソゾームのタンパク分解酵素であるカテプシン B の活性を B16 メラノーマの 1 次培養細胞について調べ、低転移性細胞に比べ高転移性細胞で高いことを見出している¹¹⁸⁾。この差は *in vivo* の腫瘍形成細胞において顕著で、*in vitro* の培養細胞では有意差がなくなると報告している¹¹⁹⁾。カテプシン B は中性付近でコラーゲンを分解できるだけでなく、不活性なコラゲナーゼ前駆体を限定分解して活性化することができる¹¹⁹⁾。Sloane らはさらにリポオキシゲナーゼ系のプロスタグランジン合成阻害剤である Nafazatron がこのカテプシン B の細胞外放出を抑制し¹²⁰⁾、これが癌細胞転移をも抑制することから、細胞膜を介しての酵素活性発現の制御が存在することを示唆している⁵⁸⁾。Sylvén らは蛍光抗体法による観察から癌細胞表面にカテプシンが出現することを見出し、このリソゾーム酵素の細胞表面への放出し易さと周辺微小環境への遊離のしやすさが、癌細胞の侵入と増殖性に関係するのではないかと述べている¹²¹⁾。このように基底膜破壊に関与の考えられるタンパク分解酵素についての報告は数多いが、*in vivo* での血管壁破壊と侵入にそれぞれの酵素がどの程度重要であるかは未だ解明されていない。これに比べ基底膜ムコ多糖分解酵素と癌転移についての報告は少なく、傾向としては以下に述べるようにひとつの方向に向かっていく。

基底膜を構成するプロテオグリカンの主たるものは HS プロテオグリカンであり^{122, 123)}、はじめに述べたようにこのプロテオグリカンの担う機能を考えると転移性癌細胞の破壊の対象となるであろう。Kramer らは培養血管内皮細胞の合成する基底膜様マトリクスに B16 メラノーマを接触させると、HS のフラグメントが選択的に分解遊離することを見出した²⁸⁾。このマトリクスの硫

酸化ムコ多糖は70%が HS で、残りは C6S と C4S であり、DS は検出されなかった。これに対し、B16 メラノーマによって分解遊離される硫酸化ムコ多糖の96%は HS であった。マトリクス中の HS はプロテオグリカンとして存在し、その分子量は 100 万前後であるが、アルカリ処理とコンドロイチナーゼ ABC 消化後のそれは分子量約 25,000 を与える。B16 メラノーマにより遊離される HS のフラグメントは平均分子量 10,000 であったことから、この転移性癌細胞が HS を特異的に分解するエンドグリコシダーゼを有することが示唆された。そして B16 メラノーマの血行性転移の達成の過程で起こる血管壁破壊と侵入には、血管内皮下基底膜への接着とその HS プロテオグリカン骨格を分解することが必須なのではないかという仮説が生まれた。さらに Nicolson²⁷⁾ と Nakajima ら²⁹⁾ は、肺、脳、子宮への転移性によって選択された B16 メラノーマのサブクローンおよび膀胱膜への侵入性により選択されたサブクローンを用い、それらの細胞がマトリクスから硫酸化ムコ多糖を分解遊離する活性を比較した。その結果、プロテオグリカン分解遊離活性が転移性と侵入性に相関していることを認めた (Fig. 2)。Vlodavsky らは、やはり培養血管内皮細胞または培養角膜内皮細胞の造る内皮下マトリクスに B16 メラノーマが短時間で接着し、硫酸化ムコ多糖の分解遊離が見られるが、この現象は精製されたトリプシン、コラゲナーゼ、ヒアルロニダーゼ、エラスターゼによって引き起こすことができないと報告している¹²⁴⁾。また彼らは T リンホーマの低転移性 Eb 株と高転移性 ESb 株を用いて培養内皮細胞のつくるマトリクスの分解を比較し、Eb 細胞では遊離する硫酸化ムコ多糖の分子量が100万から200万に対し、高転移性 ESb 細胞では分子量10,000のフラグメントが遊離されると報告している¹²⁵⁾。これは Kramer ら²⁸⁾と同様の結果がリンホーマの系でも得られたことになる。なおリンホーマ ESb の基底膜ムコ多糖分解活性は培養上清中に検出され、上述のタンパク分解酵素やコンドロイチナーゼ ABC では模倣できないと述べている¹²⁵⁾。

これら一連の知見は、少なくとも血管壁基底膜の破壊にその基底膜骨格形成プロテオグリカンの主たる構成成分である HS の分解が必須であることを示唆しているが、この是非は HS 特異的エンドグリコシダーゼの存否の探究にかかっている。なお Orkin らはトランスフォームされた繊維芽細胞のヒアルロン酸分解活性が正常細胞に比べ著しく高くなることを報告しているが、転移との関連は全く得られていない¹²⁶⁾。

Fig. 2 転移性の異なる B16 メラノーマによる培養血管内皮細胞が合成した基底膜様マトリクスからの硫酸化ムコ多糖の分解溶出²⁹⁾

B16-F1 (低肺転移性), F10 (高肺転移性), BL6 (高侵襲性・肺転移性), O13 (子宮転移性), B15b (脳転移性・肺転移性)

Bovine endothelial cell cultures were labelled metabolically with sodium [³⁵S] sulfate in 35mm culture dishes and subendothelial matrix was prepared according to Kramer *et al.*²⁸⁾. 2ml of B16 melanoma cell suspensions were plated on matrix at a concentration of 1.5×10^5 cells/ml. At various times during the incubation at 37°C aliquots of the media were removed and centrifuged at $40,000 \times g$ for 30 min. the radioactivity of supernatants were determined by liquid scintillation counting. Spontaneous release of radioactivity by a non-enzymatic process²⁸⁾ has been subtracted from raw data.

2・2 転移性癌細胞のムコ多糖分解酵素

Nakajima らは^{29,127,128)}, B16 メラノーマが HS 特異的分解酵素つまりヘパラーゼ活性を有するか否かを調べるため、精製牛肺 HS (分子量34,000) を基質として用い、Triton 存在下で調製した細胞ホモジェネートならびに無傷培養細胞とをそれぞれ反応させ、その反応物をポリアクリルアミドゲル電気泳動により分析した。この電気泳動における硫酸化ムコ多糖の分子量と移動度の関係は直線的であり、HS 分解の様子はその分子量の違いにより検出され、トルイジンブルー染色された泳動 HS のデンストメーターピークの面積の減少から分解比

Fig. 3 B16メラノーマ細胞ホモジェネートとインキュベートした HS の分解産物のポリアクリルアミドゲル電気泳動パターン²⁹⁾

Samples of purified bovine lung HS were incubated with homogenates prepared from B16-F10 melanoma cells for various times (0, 1, 3, 6 or 9h). A control sample contained a boiled cell homogenate from B16-F10. The samples were prepared for polyacrylamide gel electrophoresis, and the gels were stained with toluidine blue and scanned with a densitometer. Relative mobilities were determined and compared to the standard glycosaminoglycans. The decrease in total area of the densitometry peak indicates degradation of HS to low molecular weight components. The decrease in the left hand portion of the peak (shaded area) indicates degradation of high molecular weight HS to intermediate and low molecular weight components. Non-enzymatic degradation was not detected in a control sample after 24h incubation.

活性が算出された (Fig. 3). トルイジンブルーにより単糖と少糖は染色検出されないの、全面積の減少は主としてエクソグリコシダーゼによるものと考えられる。Fig. 4 は Fig. 3 の斜線部分の減少、すなわち大きな分子量の HS の減少 (B) が全体量の減少 (A) よりも急速に起こることを示し、B16 メラノーマにエンドグリコ

Fig. 4 B16メラノーマ細胞ホモジェネートによるHSの分解²⁹⁾

Upon incubation with B16 cell homogenates relative degradation activities were calculated from the decrease in total area of the HS peak (A) or the decrease in area of the high molecular weight half of the HS peak (B). Results are expressed as $\mu\text{g HS degraded}/\mu\text{g cellular protein}$.

シダーゼが存在することを示唆した。事実, Sephacryl S-200 のゲル濾過分析により単糖や二糖の出現に先立って分子量 4,000 から 22,000 の大きな分解産物の蓄積が起こることが確認され, リソゾームの代表的エクソグリコシダーゼである β -グルクロニダーゼの阻害剤, D-saccharic acid 1,4-lactone の存在下でも HS の大きなフラグメントへの分解は部分的にしか抑制されなかった¹²⁸⁾。HS, C6S, C4S, DS, ヘパリンを基質として B16 メラノーマの分解活性を比較したところ, HS のみに特異的に分解活性が高く, それはヘパリンにより強く阻害された¹²⁸⁾。最近 B16 メラノーマの強い HS 分解活性は, 血管内皮細胞²⁸⁾ や PYS カルシノーマ¹²³⁾, EHS ギリコーマ¹²²⁾ の合成する基底膜から単離精製された HS を基質とした場合も認められている^{129,130)}。Fig. 4 と Fig. 5 は B16 メラノーマの肺への転移能が高いものは, 細胞ホモジェネートおよび無傷細胞のいずれにおいても HS 分解活性の高いことを表わしており, 前述の Fig. 2 に示した結果と 考え合わせると, 肺への転移能と HS 分解酵素活性に強い相関があると結論される。

なお B16 メラノーマヘパラーゼにより β -グルクロニダーゼ阻害剤存在下で分解された HS フラグメントの還元末端分析の結果, この HS 特異的エンドグリコ

Fig. 5 B16 メラノーマ細胞による HS の分解²⁹⁾

B16 cells (1×10^5) were incubated with $50 \mu\text{g}$ purified bovine lung HS for various times in $200 \mu\text{l}$ medium containing 20mM Tricine (pH 7.3) at 37°C . Upon incubation with B16 melanoma cells relative degradation activities were calculated from the decrease in total area of the HS peak (A) or the decrease in area of the high molecular half of the HS peak (B). Results are expressed as $\text{pg HS degraded}/\text{cell}$.

シダーゼがエンドグルクロニダーゼであることが判明した¹²⁸⁾。この酵素が特異な大きさの HS 分解産物を生じること, 恐らく HS 分子の特異な構造, つまりグルコサミンのアミノ基や 6 位の水酸基の硫酸化あるいはアミノ基のアセチル化の違いがこの酵素によって認識されるからではないだろうか。このような例としては Ögren と Lindahl により報告されたマストサイトーマのヘパリン分解エンドグルクロニダーゼがあるが, これはマストサイトーマの巨大分子のヘパリンを市販ヘパリン並みの大きさで生理的活性を有するヘパリン分子に変換する¹³¹⁾。その分解はグルコサミンの *N*-アセチル基の多い部分に起こり, 特異的構造を認識しているらしい¹³¹⁾。

HS 特異的エンドグリコシダーゼの存在は皮膚繊維芽細胞¹³²⁾, ラット肝細胞¹³³⁾, ヒト血小板^{134~136)}, ヒト胎盤¹³⁷⁾ などが報告されており, ヒト胎盤ヘパラーゼはエンドグルクロニダーゼであることが示されている¹³⁷⁾。しかしこれらの生理的意義は未だ明らかにされていない。興味あることに, 血管壁侵入性を有するヒト白血球は HS 分解酵素活性が高いのに対し, 血管壁侵入性を有さない繊維芽細胞ではこの活性が低いことが認められた¹³⁰⁾。Wasteson らにより HS エンドグリコ

ダーゼの存在が報告された血小板^{134,135)}も血管壁へ侵入できることから、恐らく血管内皮細胞下の基底膜に破壊侵入するためには HS 分解酵素活性が必須であると思われる。

血行性転移において癌細胞の血小板付着と血液の部分的凝固は転移を助ける過程であると考えられているが、ヘパリン等の硫酸化多糖がある種の癌転移を抑制または修飾するという事実は、ひとつにはこの血液凝固を阻害することによるらしい^{138,139)}。またもうひとつにはこれら硫酸化多糖の強力な陰性荷電による癌細胞表面への直接的作用とその結果引き起こされる細胞機能の変化によると考えられている^{140,141)}。しかし前述のように B16 メラノーマのヘパラーゼがヘパリンにより強く阻害されるという事実は、ヘパリンが癌細胞の基底膜破壊を抑制して転移を阻害する可能性を示唆する。この転移性癌細胞のヘパラーゼが *in vivo* における基底膜中のプロテオグリカンにどのように作用し、癌転移のメカニズムの中でタンパク分解酵素といかなるコンビネーションで使われていくのかが今後解明されていかなければならない問題である。また正常細胞のもつヘパラーゼと癌細胞のヘパラーゼの違いはどこにあるのかも興味のもたれる問題である。

おわりに

ここに述べてきたように基底膜破壊は癌細胞の脈管を介しての転移に大変重要な段階であり、それは酵素による分解が不可欠と考えられる。この基底膜破壊を起こし得る酵素は様々考えられ、転移性癌細胞の持つタンパク分解酵素あるいはその活性化因子についてはいくつか報告されており、転移能との強い相関も示されている。しかしそれらが生体内における癌細胞の基底膜破壊にどの程度寄与しているかは不明であり、臓器特異的な転移との関連などは全く考えられていない。

我々は HS プロテオグリカンが基底膜の障壁の要であり、転移癌細胞はここを通過しなければならないことから、転移性癌細胞が血管内皮細胞下の基底膜様マトリクスより HS フラグメントを分解溶出する事実と、この細胞が HS 特異的エンドグリコシダーゼを有する事実を重視したい。そして HS 分子に存在する構造の多様性、つまり臓器特異的な構造が癌細胞の臓器特異的な転移を説明する可能性も秘めていることは、転移性癌細胞と基底膜 HS プロテオグリカンの関係の解明に多大な興味を注がせる。また前半に述べたように細胞自身が細胞膜表面に HS を合成保有し、転移性癌細胞表面では HS

が質的量的に変化していることも注目される。したがって HS の構造の多様性とそれに基づく臓器特異的な分布、そして細胞外マトリクスの HS による細胞活動の制御、さらに転移性癌細胞のもつ HS 分解酵素の役割の解明は、今後の癌細胞転移のメカニズムの究明において不可欠な研究課題となるのではないだろうか。

稿を終えるに当たり、本稿を著わす機会をお与え下さいました東京大学薬学部・生体異物免疫化学教室、大沢利昭教授に感謝致します。

参考文献

- 1) Kraemer, P. M.: in *Surfaces of Normal and Malignant Cells* (Hynes, R. O. ed) pp.149-198, Wiley, Chichester (1979)
- 2) Dietrich, C. P., Sampaio, L. O., Toledo, O. M. S., Cássaro, C. M. F.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **75**, 329-336 (1977)
- 3) Culp, L. A., Murray, B. A., Rollins, B. J.: *J. Supramol. Struct.*, **11**, 401-427 (1979)
- 4) Culp, L. A., Rollins, B. J., Buniel, J., Hitri, S.: *J. Cell Biol.*, **79**, 788-801 (1978)
- 5) Schubert, D., LaCorbiere, M.: *J. Biol. Chem.*, **255**, 11564-11569 (1980)
- 6) Rollins, B. J., Culp, L. A.: *Biochemistry*, **18**, 141-148 (1979)
- 7) Rollins, B. J., Culp, L. A.: *Biochemistry*, **18**, 5621-5629 (1979)
- 8) Hayman, E. G., Oldberg, Å., Martin, G. R., Rouslahti, E.: *J. Cell Biol.*, **94**: 28-35 (1982)
- 9) Chiarugi, V. P., Vannucchi, S.: *J. Theor. Biol.*, **61**, 459-475 (1976)
- 10) Ohnishi, T., Oshima, E., Ohtsuka, M.: *Exp. Cell Res.*, **93**, 136-142 (1975)
- 11) Sampaio, L. O., Dietrich, C. P., Giannotti-Filho, O.: *Biochim. Biophys. Acta*, **498**, 123-131 (1977)
- 12) Chiarugi, V. P., Vannucchi, S., Del Rosso, M., Urbano, P.: in *Proceedings of the Eleventh International Cancer Congress, Florence, Italy, October 20 to 26, 1974, Vol. 1* (Bucalossi, P., Veronesi, U. and Cascinelli, N. eds) pp.138-141, Excerpta Medica, Amsterdam (1975)
- 13) Bernfield, M. R., Banerjee, S. D., Cohn, R. H.: *J. Cell Biol.*, **52**, 674-689 (1972)
- 14) Kosher, R. A., Lash, J. W.: *Develop. Biol.*, **42**, 362-378 (1975)
- 15) Kosher, R. A., Lash, J. W., Minor, R. R.: *Develop. Biol.*, **35**, 210-220 (1973)
- 16) Toole, B. P., Jackson, G., Gross, J.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **69**, 1384-1386 (1972)
- 17) Augusti-Tocco, G., Chiarugi, V. P.: *Cell Differentiation*, **5**, 161-170 (1976)

- 18) Chiarugi, V. P.: *Exp. Cell Biol.*, **44**, 251-259 (1976)
- 19) Lippman, M.: *Nature* (London), **219**, 33-36 (1968)
- 20) Kraemer, P. M., Smith, D. A.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **56**, 423-430 (1974)
- 21) Toole, B. P.: in *Neuronal Recognition*(Barondes, S. H. ed) pp. 275-329, Plenum Publishing Corp., New York (1976)
- 22) Goto, M., Kataoka, Y., Kimura, T., Goto, K., Sato, H.: *Exp. Cell Res.*, **82**, 367-374 (1973)
- 23) Temin, H. M.: *J. Natl. Cancer Inst.*, **37**, 167-175 (1966)
- 24) Kanwar, Y. S., Linker, A., Farquhar, M. G.: *J. Cell Biol.*, **86**, 688-693 (1980)
- 25) Parthasarathy, N., Spiro, R. G.: *J. Biol. Chem.*, **256**, 507-513 (1981)
- 26) Kramer, R. H., Gonzalez, R., Nicolson, G. L.: *Int. J. Cancer*, **26**, 639-645 (1980)
- 27) Nicolson, G. L.: *J. Histochem. Cytochem.*, **30**, 214-220 (1982)
- 28) Kramer, R. H., Vogel, K. G., Nicolson, G. L.: *J. Biol. Chem.*, **257**, 2678-2686 (1982)
- 29) Nakajima, M., Irimura, T., DiFerrante, D., Di Ferrante, N., Nicolson, G. L.: *Science*, in press
- 30) Friman, C., Juvani, M.: *Acta Med. Scand.*, **198**, 115-122 (1975)
- 31) Gordin, A., Edgren, J., Friman, C., Holmström, T.: *Acta Med. Scand.*, **198**, 425-430 (1975)
- 32) Curran, K. L., Kupchella, C. E., Tamburro, C. H.: *Cancer*, **40**, 3050-3053 (1977)
- 33) Kupchella, C. E., Drake, E. E., Kennedy, J., Curran, K. L., Warick, R., Moris, H. P.: *Cancer Res.*, **41**, 419-424 (1981)
- 34) Toole, B. P., Biswas, C. and Gross, J.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **76**, 6299-6303 (1979)
- 35) Kojima, J., Nakamura, N., Kanatani, M., Akiyama, M.: *Cancer Res.*, **42**, 2857-2860 (1982)
- 36) Chiarugi, V. P., Vannucchi, S., Cella, C., Fibbi, G. Del Rosso, M., Cappelletti, R.: *Cancer Res.*, **38**, 4717-4721 (1978)
- 37) Choi, H. V., Meyer, K., Swarin, R.: *Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.A.*, **68**, 877-879 (1981)
- 38) Danishefsky, I., Oppenheimer, E. T., Heritier-Watkins, O., Wilhite, M.: *Cancer Res.*, **26**, 229-232 (1966)
- 39) Kuroda, J., Saito, S., Seno, N., Nagase, S., Anno, K.: *Cancer Res.*, **34**, 308-312 (1974)
- 40) Cudkowicz, G.: *Br. J. Cancer*, **10**, 759-762 (1956)
- 41) Hatae, Y., Yoda, Y., Makita, A.: *Gann*, **70**, 389-390 (1979)
- 42) Kojima, J., Nakamura, N., Kanatani, M., Ohmori, K.: *Cancer Res.*, **31**, 752-762 (1971)
- 43) Dietrich, C. P., Sampaio, L. O., Toledo, O. M.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **71**: 1-10 (1976)
- 44) Toledo, O. M. S., Dietrich, C. P.: *Biochim. Biophys. Acta*, **498**, 114-122 (1977)
- 45) Vogel, K., Kendall, V. F.: *J. Cell Physiol.*, **103**, 475-487 (1980)
- 46) Hynes, R. O.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **70**, 3170-3174 (1973)
- 47) Vaheri, A., Ruoslahti, E.: *Int. J. Cancer*, **13**, 579-586 (1974)
- 48) Chen, L. B., Burridge, K., Murray, A., Walsh, M. L., Copple, C. D., Bushnell, A., McDougall, J. K., Gallimore, P. H.: *Ann. NY. Acad. Sci.*, **312**, 366-381 (1978)
- 49) Hayman, E. G., Engvall, E., Ruoslahti, E.: *J. Cell Biol.*, **88**, 352-357 (1981)
- 50) Chiarugi, V. P., Vannucchi, S., Urbano, P.: *Biochim. Biophys. Acta*, **345**, 283-293 (1974)
- 51) Underhill, C. B., Keller, J. M.: *J. Cell Physiol.*, **90**, 53-60 (1977)
- 52) Vannucchi, S., Chiarugi, V. P.: *J. Cell Physiol.*, **90**, 503-510 (1977)
- 53) Underhill, C. B., Toole, B. P.: *J. Biol. Chem.*, **255**: 4544-4549 (1980)
- 54) Satoh, C., Duff, R., Rapp, F., Davidson, E. A.: *Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.A.*, **70**, 54-56 (1973)
- 55) Winterbourne, D. J., Mora, P. T.: *J. Biol. Chem.*, **253**, 5109-5120 (1978)
- 56) Dietrich, C. P., Armelin, H. A.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **84**, 794-801 (1978)
- 57) Kraemer, P. M., Tobey, R. A.: *J. Cell Biol.*, **55**, 713-717 (1972)
- 58) Dunn, J. R., Honn, K. V., Makim, S., Alex, R., Mitchell, G., Sloane, B. F.: *Fed. Proc.*, **41**, 333 (1982)
- 59) Stathakis, N. E., Mosesson, M. W.: *J. Clin. Invest.*, **60**, 855-865 (1977)
- 60) Sakashita, S., Engvall, E., Ruoslahti, E.: *FEBS Lett.*, **116**, 243-246 (1980)
- 61) Long, W. F., Williamson, F. B.: *J. Med. Sci.*, **7**, 429-434 (1979)
- 62) Brackenbury, R., Rutishauser, U., Edelman, G. E.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **78**, 387-391 (1981)
- 63) Luckasen, J. R., White, J. G., Kersey, J. H.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **71**, 5088-5090 (1974)
- 64) Wollheim, C. B., Blondel, B., Trueheart, P. A., Renold, A. E., Sharp, G. W. G.: *J. Biol. Chem.*, **250**, 1354-1360 (1975)
- 65) Knapp, H. R., Oelz, O., Jackson-Roberts, L., Sweetman, B. J., Oates, J. A., Reed, R. W.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **74**, 4251-4255 (1977)
- 66) Oldberg, Å., Höök, N., Öbrink, B., Pertoft, H., Rubin, K.: *Biochem. J.*, **164**, 75-81 (1977)
- 67) Linker, A., Hovingh, P.: *Carbohydr. Res.*, **29**, 41-62 (1973)
- 68) Dietrich, C. P., Nader, H. B.: *Biochim. Biophys. Acta*, **343**, 34-44 (1974)
- 69) Margolis, R. H., Atherton, D. M.: *Biochim. Biophys.*

- Acta*, **273**, 368-373 (1972)
- 70) Höök, M., Lindahl, U., Iverius, P.: *Biochem. J.*, **137**, 33-43 (1974)
- 71) Cifoneli, J. A., King, J. A.: *Connect. Tissue Res.*, **3**, 97-104 (1975)
- 72) Nakamura, N., Kojima, J.: *Cancer Res.*, **41**, 278-283 (1981)
- 73) Underhill, C. B., Keller, J. M.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **63**, 448-454 (1975)
- 74) Winterbourne, D. J., Mora, P. T.: *J. Biol. Chem.*, **256**, 4310-4320 (1981)
- 75) Heaney-Kleras, J., Kleras, F. J.: *J. Natl. Cancer Inst.*, **65**, 1345-1350 (1980)
- 76) Angello, J. C., Danielson, K. G., Anderson, L. W., Hosick, H. L.: *Cancer Res.*, **42**, 2207-2210 (1982)
- 77) Fidler, I. J., Gerstein, D. M., Hart, I. R.: *Adv. Cancer Res.*, **28**, 149-250 (1978)
- 78) Fidler, I. J., Nicolson, G. L.: *Cancer Biol. Rev.*, **2**, 171-234 (1981)
- 79) Kefalides, N. A., Alper, R., Clark, C. C.: *Int. Rev. Cytol.*, **21**, 167-228 (1979)
- 80) Vracko, R.: *Am. J. Pathol.*, **77**, 314-346 (1974)
- 81) Ozzello, L.: *Am. J. Pathol.*, **35**, 887-899 (1959)
- 82) Ludatscher, R. M., Luse, S. A., Sontzeff, V.: *Cancer Res.*, **27**, 1939-1952 (1967)
- 83) Carr, I., McGinty, F., Norris, P.: *J. Pathol.*, **118**, 91-99 (1976)
- 84) Frei, J. V.: *Histopathology*, **2**, 107-115 (1978)
- 85) Kawaguchi, T., Tobai, S., Nakamura, K.: *Invasion Metastasis*, **2**, 40-50 (1982)
- 86) Vlaeminck, M. N., Adenis, L., Mouton, Y., Damaille, A.: *Int. J. Cancer*, **10**, 619-631 (1972)
- 87) Wallace, A. C., Chew, E., Jones, D.S.: in *Pulmonary Metastasis*, Vol. 3 (Weiss, L., Gilbert, H. A. eds) pp.26-42, G. K. Hall, Boston (1978)
- 88) Warren, B. A., Vales, O.: *Br. J. Exp. Pathol.*, **53**, 301-313 (1972)
- 89) Warren, B. A.: *J. Med.*, **4**, 150-177 (1973)
- 90) Kramer, R. H., Nicolson, G. L.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **76**, 5704-5708 (1979)
- 91) Kramer, R. H., Nicolson, G. L.: in *International Cell Biology, 1980-1981* (Schweiger, S. ed) pp 794-799, Springer-Verlag, Heidelberg (1981)
- 92) Irimura, T., Gonzalez, R., Nicolson, G. L.: *Cancer Res.*, **41**, 3411-3418 (1981)
- 93) Irimura, T., Nicolson, G. L.: *J. Supramol. Struct. and Cell. Biochem.*, **17**, 325-336 (1981)
- 94) Nicolson, G. L., Irimura, T., Gonzalez, R., Ruoslahti, E.: *Exp. Cell Res.*, **135**, 461-465 (1981)
- 95) Jones, P. A., DeClerck, Y. A.: *Cancer Res.*, **40**, 3222-3227 (1980)
- 96) Jones, P. A., Neustein, H. B., Gonzales, F., Bogenmann, E.: *Cancer Res.*, **41**, 4613-4620 (1981)
- 97) Hart, I. R.: *Am. J. Pathol.*, **97**, 587-600 (1979)
- 98) Poste, G., Doll, J., Hart, I. R., Fidler, I. J.: *Cancer Res.*, **40**, 1636-1644 (1980)
- 99) Liotta, L. A., Lee, C. W., Morakis, D. J.: *Cancer Lett.*, **11**, 141-152 (1980)
- 100) Russo, R. G., Liotta, L. A., Thorgeirsson, U., Brundage, R., Schiffmann, E.: *J. Cell Biol.*, **91**, 459-467 (1981)
- 101) Stenman, S., Vaheri, A.: *J. Exp. Med.*, **147**, 1054-1065 (1978)
- 102) Birdwell, C. R., Gospodarowicz, D., Nicolson, G. L.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **75**, 3273-3277 (1978)
- 103) Courtoy, P. J., Kanwar, Y. S., Hynes, R. O., Farquhar, M. G.: *J. Cell Biol.*, **87**, 691-696 (1980)
- 104) Madri, J. A., Roll, F. J., Furthmayr, H., Foidart, J. M.: *J. Cell Bio.*, **86**, 682-687 (1980)
- 105) Chung, A. E., Jaffe, R., Freeman, I. L., Vergnes, J. P., Braginski, J., Carlin, B.: *Cell*, **16**, 277-287 (1979)
- 106) Gospodarowicz, D., Greensburg, G., Foidart, J. M., Savion, N.: *J. Cell Physiol.*, **107**, 171-183 (1981)
- 107) Weight, T. N., Ross, R.: *J. Cell Biol.*, **67**, 660-674 (1975)
- 108) Kanwar, Y. S., Farquhar, M. G.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **76**, 1303-1307 (1979)
- 109) Muray, J. C., Liotta, L. A., Rennard, S. I., Martin, G. R.: *Cancer Res.*, **40**, 347-351 (1980)
- 110) Terranova, V. P., Liotta, L. A., Russo, R., Martin, G. R.: *Cancer Res.*, **42**, 2265-2269 (1982)
- 111) Johansson, S., Kjellén, L., Höök, M., Timple, R.: *J. Cell Biol.*, **90**, 260-264 (1981)
- 112) Irimura, T., Nicolson, G. L.: *Oncologia*, **1**(3), 30-46 (1982)
- 113) Liotta, L. A., Abe, S., Gehron-Robey, P., Martin, G. R.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **76**, 2268-2272 (1979)
- 114) Liotta, L. A., Tryggvason, K., Garbisa, S., Hart, I., Foltz, C. M., Shafie, S.: *Nature* (London), **284**, 67-68 (1980)
- 115) Liotta, L. A., Tryggvason, K., Garbisa, S., Gehron-Robey, P., Abe, S.: *Biochemistry*, **20**, 100-104 (1981)
- 116) Wang, B. S., McLoughlin, G. A., Richie, J. P., Mannick, J. A.: *Cancer Res.*, **40**, 288-292 (1980)
- 117) Liotta, L. A., Goldfarb, R. H., Brundage, R., Siegal, G. P., Terranova, V., Garbisa, S.: *Cancer Res.*, **41**, 4629-4636 (1981)
- 118) Sloane, B. F., Dunn, J. R., Honn, K. V.: *Science* (Wash. D. C.), **212**, 1151-1153 (1981)
- 119) Sloane, B. F., Honn, K. V., Sadler, J. G., Turner, W. A., Kimpson, J. J., Taylor, J. D.: *Cancer Res.*, **42**, 980-986 (1982)
- 120) Sloane, B. F., Makim, S., Dunn, J. R., Lacoste, R., Theodorou, M., Battista, J., Alex, R., Honn, K. V.: in *Prostaglandins and Cancer* (Powels, T. J.,

- Bockman, R. S., Honn, K. V., Ramwell, P. eds) pp789-792, Alan R. Liss, Inc., New Ysrk (1982)
- 121) Sylvén, B., Snellman, O., Stråuli, P.: *Virchows Arch. B Cell Path.*, **17**, 97-112 (1974)
- 122) Hassell, J. R., Gehron Robey, P., Barrach, H.-J. Wilczek, J., Rennard, S. I., Martin, G. R.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **77**, 4494-4498 (1980)
- 123) Oohira, A., Wight, T. N., McPherson, J., Bornstein, P.: *J. Cell Biol.*, **92**, 357-367 (1982)
- 124) Vlodavsky, I., Ariav, Y., Atzmon, R., Fuks, Z.: *Exp. Cell Res.*, **140**, 149-159 (1982)
- 125) Vlodavsky, I., Fuks, Z., Ariav, Y., Altevogt, P., Schirrmacher, V.: *Cancer Res.*, Submitted
- 126) Orkin, R. W., Underhills, C. B., Toole, B. P.: *J. Biol. Chem.*, **257**, 5821-5826 (1982)
- 127) Nakajima, M., Irimura, T., DiFerrante, D. Di-Ferrante, N., Nicolson, G. L.: *J. Cell Biol.*, **91**, 119a (1981)
- 128) Nakajima, M., Irimura, T., DiFerrante, N., Nicolson, G. L.: *J. Cell Biol.*, **95**, 135a (1982)
- 129) Irimura, T., Nakajima, M., DiFerrante, N., Nicolson, G. L.: *Anal. Biochem.*, submitted.
- 130) Nakajima, M., Irimura, T., DiFerrante, N., Nicolson, G. L.: in preparation
- 131) Ögren, S., Lindahl, U.: *J. Biol. Chem.*, **250**, 2690-2697 (1975)
- 132) Klein, U., Kresse, H., von Figura, K.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **69**, 158-166 (1976)
- 133) Höök, M., Wasteson, Å., Oldberg, Å.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **67**, 1422-1428 (1975)
- 134) Wasteson, Å., Höök, M., Westermark, B.: *FEBS Lett.*, **64**, 218-221 (1976)
- 135) Wasteson, Å., Glimelius, B., Bush, C., Westermark, B., Heldin, C.-H., Norling, B.: *Thromb. Res.*, **11**, 309-321 (1977)
- 136) Oosta, G. M., Favreau, L. V., Beeler, D. L., Rosenberg, R. D.: *J. Biol. Chem.*, **257**, 11249-11255 (1982)
- 137) Klein, U., von Figura, K.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **73**, 569-576 (1976)
- 138) Hagmar, B., Boeryd, B.: *Path. Europ.*, **4**, 274-282 (1969)
- 139) Tsubura, E., Yamashita, T., Kobayashi, M., Higuchi, Y., Isobe, J.: *GANN Monogr. Cancer Res.*, **20**, 147-161 (1977)
- 140) Hagmar, B., Norrby, K.: *Int. J. Cancer*, **5**, 72-84 (1970)
- 141) Hagmar, B.: *Acta Path. Microbiol., Scand.*, **80**, 357-366 (1972)
- 142) Nicolson, G. L.: *Biochim., Biophys. Acta*, **675**, 113-176 (1982)

Liposomes, From Physical Structure to Therapeutic Application (Research Monographs in Cell and Tissue Physiology, Vol. 7)

ed. C. G. Knight: Strageways Research Laboratory, Cambridge, UK

1981年, xx+498 pages, 4200 Elsevier biomedical press, Amsterdam

リポソームの研究が Baugham によって始まって以来、約 20 年が経過した。この間約 10 冊のリポソームに関する成書が出版された。そのほとんどがシンポジウムなどをまとめたものであり、必ずしも内容が充実したものではなかった。今回 Research monographs in cell and tissue physiology シリーズの 7 巻目として出版された本書は、リポソームを総合的に解説したはじめての成書であり、500 頁におよぶ内容的にかなりしっかりしたものである。Baugham のやや懐古的な第 1 章 introduction にはじまり、第 2 章 リン脂質合成、第 3 章 リポソームの作成法、その特性。で実際の実験に直接役立つ情報が提供されている。第 4 章 フリーズ・フラクチャー、第 5 章 示差熱分析、第 6 章, ESR, 第 7 章 NMR, 第 8 章 X 線、中性子線回折、第 9 章 熱力学、では主として物理化学的観点からのリポソームの研究法、性質が述べられている。これらの分野はリポソーム研究の展開の上ではかなり初期から行われており、情報も豊富で場合によってはやや難解な点はあるにせよ、安心して読むことができる。第 10 章以下はより生物学的観点にまがてあてられており、第 10 章リポソームと血漿タンパク質、

免疫に関係したタンパク質との相互作用、第 11 章 リポソームと動物細胞の *in vitro* での相互作用、第 12 章 細胞にとりかこまれた脂質の代謝、が述べられている。第 13 章からは応用編で第 13 章 疎水性プロドラッグ、第 14 章 リポソームに保持された薬物の薬動力学、第 15 章 リポソームの経口、非経口投与、第 16 章 ターゲティング。この部分は本来、本書の内、最も注目すべき部分であるが、歴史が浅くそれだけ内容としては稀薄である。しかし現状を知るには充分である。最後は第 17 章 問題点と将来性、ということで全体がまとめられている。全般的にみるとリポソーム研究のかなりの部分がカバーされているといえよう。リポソーム作成が容易であるため、リポソームを使用している研究者は多い、しかしそれだけともするとリポソームの基礎的性質についての理解が不足のままあやまった使用が行われがちである。リポソームをこれから利用しようとする人のみならず、すでにリポソームを利用している研究者にも本書は一読を推められる

(東京大学薬学部 井上圭三)