



東北大学



2010年1月19日

東北大学大学院医学系研究科

## がん転移の仕組みをナノメートルレベルで可視化

(ナノメートル精度の生体可視化技術開発により、  
がん転移時の細胞膜たんぱく質動態の劇的な変化を発見)

### <概要>

東北大学大学院医学系研究科の大内憲明 教授, 権田幸祐 講師の研究グループは, 東京大学大学院理学系研究科の樋口秀男 教授らと共同で, ヒトの乳がん細胞を植え付けたマウス内でたんぱく質や薬物 1 分子の動きを世界最高精度(9 ナノメートル(ナノメートル:ミリメートルの百万分の一))で解析できる装置を開発しました。がんにおいて最も恐ろしいのは, 他の臓器へ転移する能力であります。本研究グループはこの装置を用いて, がんの転移を引き起こす細胞膜たんぱく質に蛍光標識を行い, たんぱく質の動きを解析しました。その結果, (1)がん細胞の形態の変化が, がん転移時に重要であること, (2)転移の進行に従い膜たんぱく質の移動速度(拡散速度)が1000倍以上変化し, 速度増加が転移の活性化に重要であること, をマウスの研究ではじめて示しました。従来の生体観察技術は精度がマイクロメートル(ミリメートルの千分の一)のレベルであったため, 分子精度のがん転移の仕組みは長い間謎に包まれていました。本研究によって, はじめて分子レベルでがん転移の様子を可視化することができました。本研究の応用分野として, がん転移の活性化メカニズムの解明, 膜たんぱく質の移動速度変化を指標としたがん悪性度診断, そして抗がん剤改良による新たな治療法開発などが期待されます。本研究の成果は 2010 年 1 月 22 日に生命科学分野の学術誌「Journal of Biological Chemistry」にオンライン掲載されます。

### <詳細>

日本では年間33万人以上ががんで亡くなっており, 死亡原因の第一位であります。がんにおいて, 最も恐ろしいのはがん細胞が他の臓器へ転移する能力であり, このがん転移のメカニズム解明とその知見に基づく診断・治療法開発は, 社会全体が大いに期待しています。がん転移研究の推進には, がんのモデルとなるマウスの体内で, がんを活性化するたんぱく質や抗がん剤の動態を高精度で解析することが重要であります。しかし従来の生体観察では, マイクロメートルレベルの観察精度が限界でありました。たんぱく質や抗がん剤(数~100 ナノメートル)の大きさを考慮すると, この観察精度は十分とは言えず, より高精度な生体観察法の開発が期待されていました。本研究グループは, マウスの固定法改良により観察時の生体振動(呼吸や拍動)を大幅に軽減するとともに, 蛍光標識されたたんぱく質の位置解析法の開発を

行い、マウスの生体たんぱく質の動きを 9 ナノメートルの世界最高精度で解析可能な装置を開発しました(図1)。

これまでの研究により、がん転移にはがん細胞の「運動能力」や「細胞膜たんぱく質の移動速度の増加」が重要であることが示唆されています。細胞運動では、移動先端部の細胞膜が伸張した足のように動く構造(仮足)を形成し、これが運動の駆動力となります。また膜たんぱく質の移動速度の増加は、がん転移の活性化シグナルと反応する頻度(反応速度)を増加させると考えられています。しかし、これらの知見は、生体から分離した細胞実験での研究成果であり、血管が存在し複雑な組織構造を成す人やマウス体内のがん組織での実体解明が期待されていました。本研究グループは、がん転移を活性化する膜たんぱく質 PAR1(protease-activated receptor 1)に注目し、PAR1 を認識する特異的な抗 PAR1 抗体を調製しました(図2A)。抗 PAR1 抗体と量子ドット(蛍光性ナノ粒子)が結合したトレーサーを作製し(図2A)、トレーサーを尾静脈注入することで、マウスのがん細胞の PAR1 を蛍光標識しました(図2B)。その後、独自の装置で量子ドットの蛍光重心位置を解析し(図1)、PAR1 の動きの変化を調べました。がん細胞観察は、がんの転移過程を踏まえ、がん組織内で血管の遠方に位置するがん細胞(図2C)、血管近傍のがん細胞(図2D)、血流中のがん細胞(図2E)、血管壁に接着しているがん細胞(図2F、G)の順に行いました。その結果、血管遠方のがん細胞では、PAR1 は非常に遅い移動速度を示しましたが、血管内浸潤に向かって移動速度は増加し、血流中のがん細胞では血管遠方の細胞に比べ移動速度が約 1000 倍以上に増加していました(図2C-E)。このように膜たんぱく質の移動速度が増加することによって、転移が活性化されると考えられます。血流中のがん細胞は、その後血管壁に接着し、PAR1 の移動速度が血流中に比べ約二十分の一にまで減少しました(図2E-G)。血管近傍細胞(図2D)や血管壁接着細胞(図2G)では、細胞運動の進行方向へ向かって特異的に仮足を形成している様子が観察されました(図2写真)。また、これらの仮足上では他の膜領域と比較し、PAR1 の移動速度が数倍以上に増加していることが分かりました(図2D,G)。

以上の結果から、がん細胞は細胞内や組織内の場所にに応じて巧みに膜たんぱく質の移動速度を変化させることで、増殖・転移を活性して、がん転移を効果的に引き起こしているのであろうと考えられます。本研究成果の応用分野として、がん転移の活性化メカニズムの解明、膜たんぱく質の移動速度変化を指標としたがん悪性度診断、そして抗がん剤改良による新たな治療法開発などが期待されます。

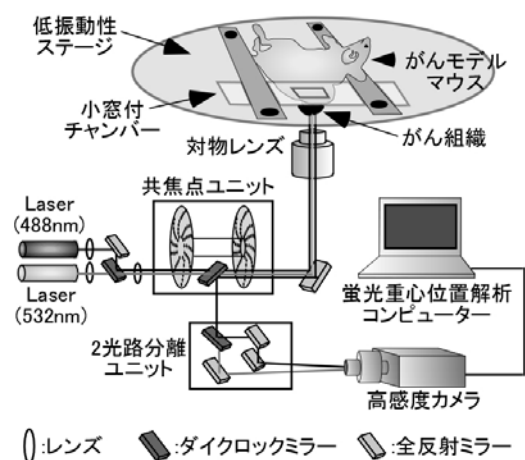


図1 解析装置の概略図

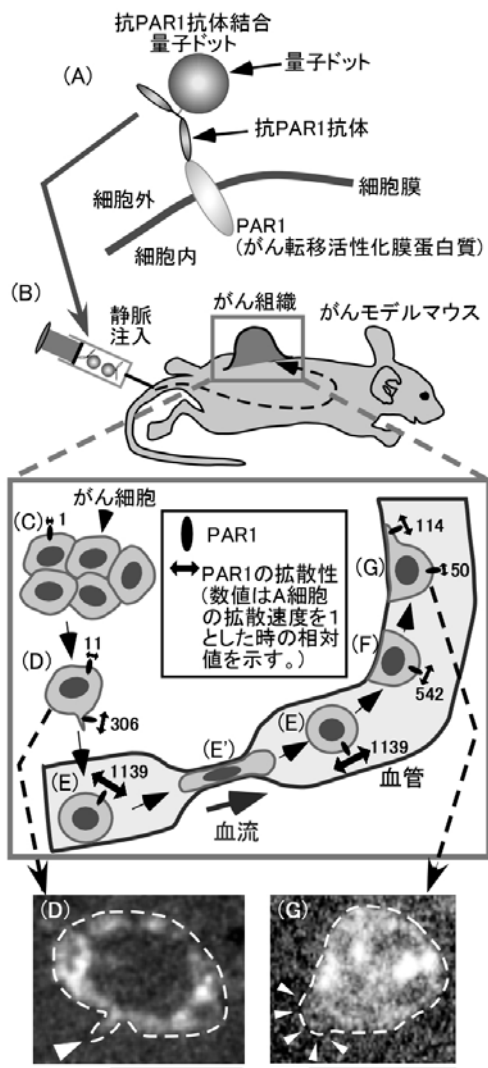


図2 実験方法と結果の概略図

抗 PAR1 抗体と量子ドットが結合したトレーサー(A)を尾静脈注入し、マウスのがん細胞の PAR1 を蛍光標識しました(B)。その後、独自光学装置で量子ドットの蛍光重心位置を解析し PAR1 の動きの変化を調べました。がん細胞観察は、がん転移過程を踏まえ、腫瘍血管の遠方に位置する細胞(C)、血管近傍の細胞(D)、血流中の細胞(E,E')、血管壁に接着し運動性を持たない細胞(F)、接着後運動性を持つ細胞(G)の順に行いました。その結果、PAR1 の移動速度は血管内浸潤過程に従い増加し(C→E)、血流中で最大になった後(E)、血管外漏出過程に従って減少しました(E→G)。血管近傍細胞(写真 D)や血管壁接着細胞(写真 G)では、細胞運動の進行方向へ向かって特異的に仮足を形成している様子が観察されました(写真中の矢頭)。また、これらの仮足上では他の膜領域と比較し、PAR1 の移動速度が数倍以上に増加していました(D、G)。写真の点線は細胞の輪郭を示し、バーは 10 マイクロメートルを示します。

本研究は以下の研究事業の成果の一部として得られました。

- 厚生労働科学研究費補助金（厚生労働省）:「生体超微細1分子可視化技術によるナノDDSとがん標的治療」  
研究代表者:大内憲明（東北大学大学院医学系研究科・教授）
- シーズ発掘試験（独立行政法人科学技術振興機構）:「癌疾患モデルマウスの*in vivo*ナノイメージング法の開発とナノ医療への応用」  
研究代表者:権田幸祐（東北大学大学院医学系研究科・講師）
- 戦略的創造研究推進事業(CREST)（独立行政法人科学技術振興機構）:「*In vivo* ナノイメージング技術の開発と生体運動機構の解明」  
研究代表者:樋口秀男（東京大学大学院理学系研究科・教授）

<論文名・著者名>

*In vivo* nano-imaging of membrane dynamics in metastatic tumor cells using quantum dots.

（日本語訳： 転移性腫瘍細胞の膜動態の量子ドットを用いた*in vivo* ナノイメージング）

Gonda K, Watanabe TM, Ohuchi N, Higuchi H.

*Journal of Biological Chemistry* 285: 2750-2757 (2010).

<お問い合わせ先>

権田 幸祐 (ゴンダ コウスケ)

東北大学大学院医学系研究科ナノ医科学寄附講座 講師

〒980-8575 宮城県仙台市青葉区星陵町2-1 東北大学 医学部1号館802

TEL/FAX: 022-717-7579

E-Mail: [gonda@m.tains.tohoku.ac.jp](mailto:gonda@m.tains.tohoku.ac.jp)

大内 憲明 (オオウチ ノリアキ)

東北大学大学院医学系研究科 外科病態学講座腫瘍外科学分野（兼ナノ医科学寄附講座）教授

〒980-8574 宮城県仙台市青葉区星陵町 1-1

TEL: 022-717-7210

FAX: 022-717-7217

E-Mail: [noriakio@mail.tains.tohoku.ac.jp](mailto:noriakio@mail.tains.tohoku.ac.jp)

樋口 秀男 (ヒグチ ヒデオ)

東京大学大学院 理学系研究科物理学専攻

〒113-8654 東京都文京区本郷 7-3-1

TEL: 03-5841-4128

FAX: 03-5841-7646

E-Mail: [higuchi@phys.s.u-tokyo.ac.jp](mailto:higuchi@phys.s.u-tokyo.ac.jp)

<報道担当>

長神 風二 (ナガミ フウジ)

東北大学大学院医学系研究科広報室

〒980-8575 宮城県仙台市青葉区星陵町2-1 東北大学 医学部1号館2F

TEL:022-717-7908

FAX:022-717-7923

E-mail: [f-nagami@mail.tains.tohoku.ac.jp](mailto:f-nagami@mail.tains.tohoku.ac.jp)