

## 腫瘍関連炎症を評価するための 抗体ベースのツール

# 目次

## 1

慢性炎症およびがん

1-1 – 1-7

---

## 2

がんドライバー遺伝子および炎症

2-1 – 2-13

---

## 3

腫瘍微小環境

3-1 – 3-10

---

## 4

シグナル伝達および腫瘍関連炎症

4-1 – 4-9

---

## 5

要約および付録

5-1 – 5-3

---

# 慢性炎症およびがん

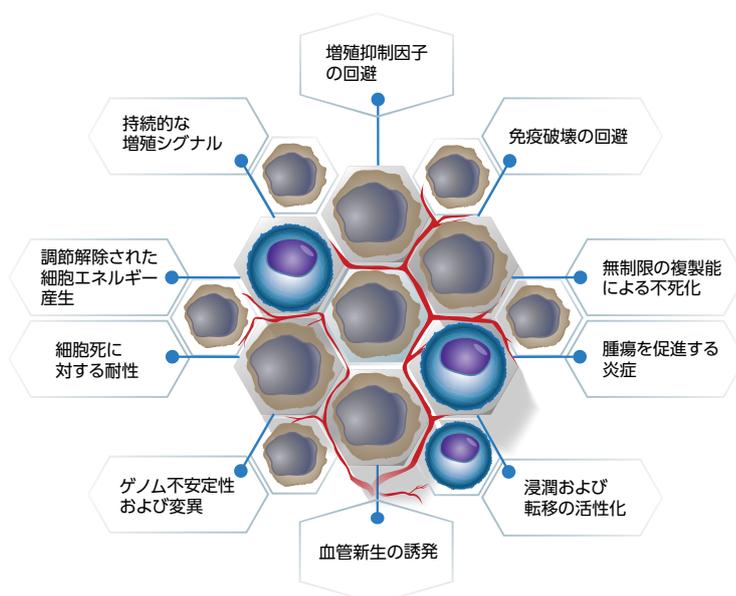
# 1

## イントロダクション

生理的炎症は、感染および組織損傷に対する身体の初期免疫防御の一つです。急性炎症は、身体が身体自身を治癒しようと働く際に生じ、その後、感染や組織損傷が回復するにつれて消失します。反対に、慢性炎症は有害で、がんを含む多くの重篤な疾患に関与します。<sup>1,2</sup> 研究者は炎症が高頻度で腫瘍進行に関与することを確認してきましたが、炎症誘発性の腫瘍形成に寄与する根底にあるメカニズムについては完全には解明されていません。組織への炎症細胞浸潤およびそれらのケミカルメディエーターの局所組織の微小環境におけるDNA、RNA、タンパク質、脂質、および代謝産物の有害な変化への寄与については多くのエビデンスが明らかにされています。<sup>3</sup>

がんのホールマークは、腫瘍細胞が示す特徴的で補完的な能力を表し、新生物疾患の複雑さを概念的に説明するフレームワークを提供します (図1.1)。数十年の研究を通して蓄積されたエビデンスは、腫瘍抑制因子遺伝子およびがん遺伝子における変異が最終的にどのように細胞機能の異常に寄与しているかについての情報を提供します。<sup>4,5</sup>

本ハンドブックは、腫瘍抑制因子遺伝子とがん関連炎症に寄与するがん遺伝子との関係についての情報の概要を提供することと、ウェスタンブロット、免疫蛍光分析、フローサイトメトリー、酵素結合免疫吸着測定法 (ELISA)、ならびにがん生物学、免疫学、および生物医学研究の他の分野に関連するターゲットの解析に常用される他のツールなどの幅広い実験手法に関する詳細なプロトコルへのアクセスを提供することを目的としています。



**図1.1. がんのホールマーク (特徴)** がんのホールマークについては、2000年に Hanahan および Weinberg によって、最初に6つの特徴 (増殖シグナルの自己充足; 増殖抑制シグナルに対する感受性の欠如; 組織への浸潤および転移; 無制限の複製能力; 持続的な血管新生; ならびにアポトーシスの回避) が発表されました。2011年にその統一概念は著者らによって更新および拡大されました。これらの基本原理について深く理解することによって、科学者によるがんの研究方法が変化し、新しい治療の選択肢が開発されてきました。

## 目次

慢性炎症およびがん	1-1
炎症の概要	1-4
参考文献	1-7



# 慢性炎症およびがん

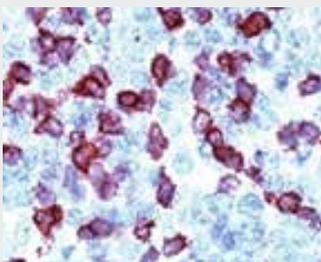
# 1

炎症反応の伝播や消退のプロセスには、複数の異なるタイプの細胞が関与しています。さまざまな細胞タイプの主な機能細胞表面マーカーを表1.1に示します。

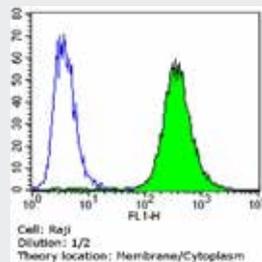
表1.1. 白血球によって発現する代表的な細胞表面マーカー

細胞タイプ	主な機能	主要なCD抗原	
		ヒト	マウス
<b>獲得免疫細胞</b>			
T細胞	ヘルパーT細胞：細胞傷害性T細胞による細胞性免疫およびB細胞による抗体産生を介した体液性免疫を促進するサイトカインの放出 細胞傷害性T細胞：細胞内病原体（すなわち、ウイルス）の排除；主要な組織適合性複合体（MHC）クラスII-結合同種抗原を発現する標的細胞を破壊する能力 制御性T細胞：免疫反応の抑制	CD3 CD4 CD8 CD4/CD25/FOXP3	CD3 CD4 CD8 CD4/CD25/FOXP3
B細胞	活性化B細胞はメモリー細胞、エフェクター細胞、および形質細胞に分化；T細胞への抗原提示 サイトカインの放出	CD19 CD20	CD45R/B220 CD19 CD22
NK細胞	免疫監視 強いシグナルに反応した標的細胞の殺傷 サイトカインの分泌	CD56	CD335 (Nkp46)
<b>自然免疫細胞</b>			
マクロファージ/ 単球	単球：組織に移動する組織マクロファージの前駆体 マクロファージ：IFN- $\gamma$ およびGM-CSFによって活性化；細胞内生物を殺傷；IL-1およびTNF $\alpha$ を分泌	CD14 CD33	CD11b/Mac-1 Ly-71 (F4/80)
樹状細胞	皮膚、リンパ節、および他の組織に存在 抗原提示細胞として機能	CD11c CD123	CD11c CD123
顆粒球 (好中球)	病原体を貪食および消化 酸化機構を介した細胞の殺傷	CD66b	CD66b Gr-1/Ly6G Ly6C
肥満細胞	アトピー性アレルギーに関連する急性炎症反応およびII型過敏症反応を生じるメディエーターの放出	Fc $\epsilon$ R1a	Fc $\epsilon$ R1a

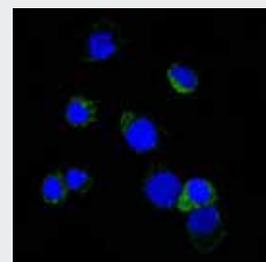
略語：CD：表面抗原分類；Gr-1：Ly-6Gとして知られる、グリコシルホスファチジルイノシトール（GPI）-結合骨髄分化マーカー；B220：B細胞分化マーカー；Ly：リンパ球抗原；Nkp46：自然細胞傷害性受容体（NCR）ファミリーのメンバー



**CD3e/CD3 epsilon Rabbit Monoclonal Antibody (SP7)**  
抗CD3e抗体（製品番号 MA1-90582）で染色したヒト扁桃腺細胞の免疫組織化学分析。



**CD20 Mouse Monoclonal Antibody (L26)**  
非染色コントロール（青色）または抗CD20抗体（製品番号 MA5-13141）（緑色）で染色したRaji細胞のフローサイトメトリー解析。



**Integrin alpha X/CD11c Mouse Monoclonal Antibody (N418)**  
抗CD11c抗体（製品番号 MA11C5）（緑色）で染色したTHP-1細胞の免疫蛍光分析。核はDAPI（青色）で染色。

これらの細胞表面マーカーおよび他の細胞表面マーカーに特異的な抗体はこちらをご覧ください。  
[thermofisher.com/antibodies](https://thermofisher.com/antibodies)

# 炎症の概要

# 1

## 細胞の表現型解析を支援する装置

白血球集団の免疫フェノタイプ解析をさらに支援するために、当社は、細胞イメージング、フローサイトメトリー、および他のアプリケーションに特化した装置を提供しています。

### 自動セルカウンター



シンプルな明視野カウントにはInvitrogen™ Countess™ II Automated Cell Counterを、フレキシビリティとアップグレードを備えた蛍光検出にはInvitrogen™ Countess™ II FL Automated Cell Counterを選択いただけます。

迅速かつ正確な細胞カウント、蛍光タンパク質発現のモニタリング、アポトーシスの評価、および細胞生存率の測定が可能です。

- 柔軟：オプションの2種類の蛍光チャンネルを装備
- 経済的：再利用可能な専用ガラススライドも使用可能
- 正確：オートフォーカス機能による計測精度の向上
- 迅速：処理時間は10秒以内

詳しい情報についてはこちらをご覧ください。 [thermofisher.com/countess](http://thermofisher.com/countess)

### フローサイトメトリー



Applied Biosystems™ Attune™ NxT Flow Cytometerは、モジュールデザインによって最大4種のレーザーと14色のマルチプレックス解析を可能とする構成となっています。Attune NxT Flow Cytometerは、革新的なアコースティックフォーカシング技術を採用し、従来のサイトメーターの最大10倍のスピードで、レーザーを使用したマルチカラーフローサイトメトリー解析を実現します。

- 所要時間を短縮：データ精度を犠牲にせずに10倍に高速化
- 簡単：シンプルなサンプル調製
- 革新的：独自開発のデータ収集および解析ソフトウェア
- 簡便：コンパクトな装置サイズ

詳しい情報についてはこちらをご覧ください。 [thermofisher.com/attune](http://thermofisher.com/attune)

### EVOS 細胞イメージング



Invitrogen™ EVOS™ Imaging Systemは、顕微鏡の複雑さを排除した設計によって、研究者が装置の操作や維持よりもデータにフォーカスすることを可能とします。

- シンプル：直感的操作により顕微鏡の複雑さを排除
- 高性能：暗室不要の蛍光イメージングを可能とする独自の設計
- 画期的：高品質のカメラおよび光路設計により、そのまま発表できる画像を取得
- 汎用性：ベーシックな透過光と完全自動蛍光システムを装備

詳しい情報についてはこちらをご覧ください。 [thermofisher.com/EVOS](http://thermofisher.com/EVOS)

# 炎症の概要

# 1

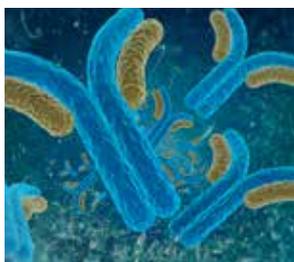
## 炎症のメディエーター

損傷細胞や活性化細胞から放出される可溶性タンパク質や化学物質は、炎症過程を制御します。これらの物質およびその受容体の作用を表1.2に示します。

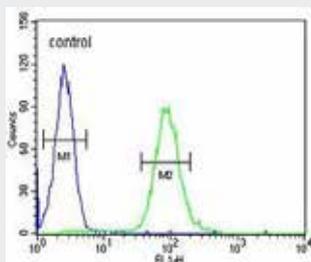
表1.2. 可溶性炎症メディエーター

メディエーター	機能
ヒスタミン、セロトニン、ブラジキニン、C3a、C5a、LTC <sub>4</sub> 、LTD <sub>4</sub> 、PGI <sub>2</sub> 、PGE <sub>2</sub> 、PGD <sub>2</sub> 、PGF <sub>2</sub> 、活性化ハーグマン因子、キニンノーゲンフラグメント、フィブリノペプチド	血管拡張、血管透過性亢進
TxA <sub>2</sub> 、LTB <sub>4</sub> 、LTC <sub>4</sub> 、LTD <sub>4</sub> 、C5a	血管収縮
C3a、C5a、ヒスタミン、LTB <sub>4</sub> 、LTC <sub>4</sub> 、LTD <sub>4</sub> 、TxA <sub>2</sub> 、セロトニン、PAF、ブラジキニン	平滑筋収縮
C5a、C3a	肥満細胞の脱顆粒
IL-3、G-CSF、GM-CSF (CSF2)、M-CSF	顆粒球/マクロファージの増殖および分化
C5a、LTB <sub>4</sub> 、IL-8、PAF、5-HETE、ヒスタミン、他	走化性
C5a、IL-8、PAF	リソソーム顆粒放出
C3b、iC3b	ファゴサイトーシス
TxA <sub>2</sub> 、PAF	血小板凝集
IL-1、TNF- $\alpha$ 、LTB <sub>4</sub>	内皮細胞への接着促進
IL-1、TNF- $\alpha$	肉芽腫形成
PGE <sub>2</sub> 、ブラジキニン、ヒスタミン、セロトニン	疼痛
IL-1、IL-6、TNF- $\alpha$ 、PGE <sub>2</sub>	発熱

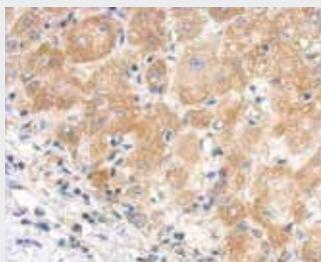
略語：C、補体；LT、ロイコトリエン；PG、プロスタグランジン；Tx、トロンボキサン；PAF、血小板活性化因子；IL、インターロイキン；CSF、コロニー刺激因子；G-CSF、顆粒球コロニー刺激因子；GM-CSF、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子；M-CSF、マクロファージコロニー刺激因子；5-HETE:5-ヒドロキシエイコサテトラエン酸；TNF、腫瘍壊死因子。  
全てのメディエーターが記載されていないことにご留意ください。



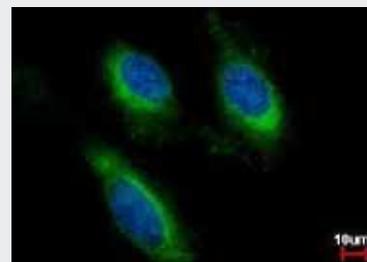
これらのメディエーターおよびがん研究に重要な他のタンパク質の評価を支援するために、当社では40,000種類を超える高品質な抗体ならびに幅広い抗体関連性品および受託サービスを取りそろえています。当社の抗体アッセイが幅広い抗体アプリケーションにおいて優れた実験結果の達成に寄与していることは、世界中の数千もの文献引用により実証されています。



**CSF2 Rabbit Polyclonal Antibody**  
抗CSF2抗体 (製品番号 PA5-24184) (緑色) で染色したHL-60細胞とネガティブコントロール細胞 (青色) をFITC標識二次抗体で処理しフローサイトメトリー解析で比較。



**C5 Rabbit Polyclonal Antibody**  
抗C5抗体 (製品番号 PA5-22183) を使用した、パラフィン包埋肝細胞がんにおけるC5の免疫組織化学分析。



**IL-1 Receptor 2 beta/CD122 Rabbit Polyclonal Antibody**  
抗IL-1R $\beta$ 抗体 (製品番号 PA5-28835) (緑色) およびThermo Scientific™ Hoechst™ 33342 (青色) で染色したHeLa細胞の免疫蛍光分析。

お客様の特定の研究アプリケーションに適した抗体は、こちらをご覧ください。

[thermofisher.com/antibodies](https://thermofisher.com/antibodies)

# 炎症の概要

1

## 外因性経路および内因性経路

外因性経路および内因性経路は、がん関連炎症を引き起こすと考えられています (図1.4)。<sup>8,14</sup> 外因性経路に寄与する因子としては、消化管、脾臓、および前立腺などのいくつかの体内組織において発現する感染や自己免疫によって誘導される慢性炎症が挙げられます。同様に、喫煙は気道内に炎症を引き起こすことが知られており、炎症に寄与するもう一つの外因性因子です。外因性因子に関連する炎症状態は、罹患組織のがん発生リスクの上昇と相関します。内因性経路を活性化する因子としては、有害な発がん促進遺伝子変異を導くイベントが挙げられます。例えば、発がん促進性の炎症の発生は、機能獲得型 (gain-of-function) の点変異、染色体再編、あるいは増幅などの腫瘍抑制遺伝子の不活性化やさまざまな発がん性変異と関係することが示されています。結果として生じる細胞の悪性形質転換は、先立つ原因となる炎症症状が存在しない場合でも、腫瘍微小環境における炎症誘発性メディエーターを産生する異常な機能的反応を誘導します。<sup>15</sup>

2つの経路が合流すると、いくつかのイベントが展開し、炎症の増幅に寄与します。腫瘍細胞における、転写因子 — 主に、核因子- $\kappa\beta$  (NF- $\kappa\beta$ )、シグナル伝達兼転写活性化因子3 (STAT3)、および 低酸素誘導因子-1 $\alpha$  (HIF1 $\alpha$ ) — の活性化は、注目すべきことです。続いて、これらの転写制御因子は、サイトカイン、ケモカイン、およびシクロオキシゲナーゼ-2 (COX-2) などの可溶性炎症メディエーターの産生を誘導します。これらは、炎症細胞を腫瘍微小環境に動員する働きを持つプロスタグランジンの産生に必要とされます (表1.2)。浸潤性炎症細胞、特に単球、顆粒球、およびリンパ球は、炎症誘発性サイトカインの産生をさらに誘導し、それによって、炎症症状を増幅させ、腫瘍形成を永続させる正のフィードバックループが形成されます。<sup>8</sup>

## 腫瘍関連炎症反応

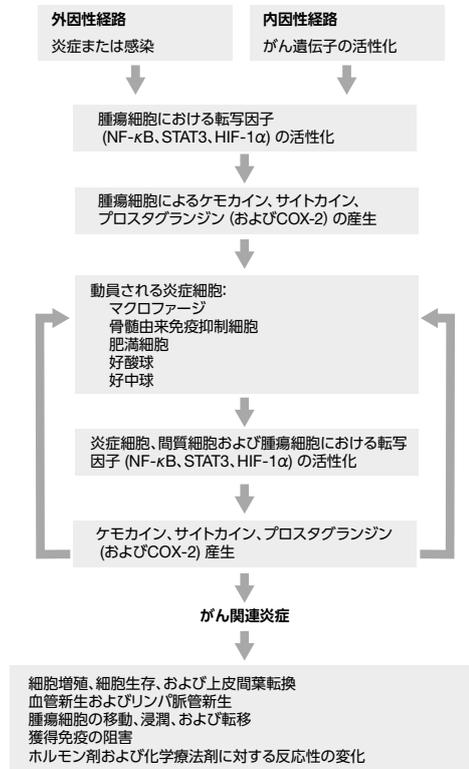
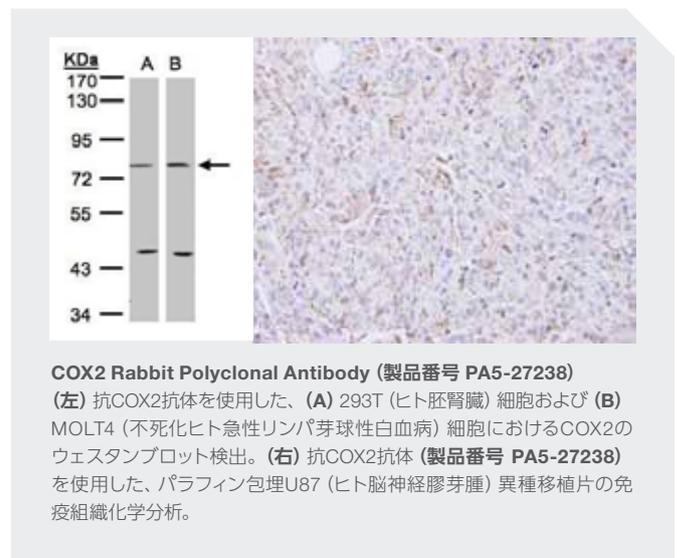


図1.4. 外因性経路および内因性経路 腫瘍進行には、2つの合流する経路が寄与すると考えられています。腫瘍微小環境内の炎症誘発性状態は、腫瘍の増殖および転移をサポートするのに必要とされる炎症状態を増大する可溶性因子を分泌する顆粒球の動員を促進します。



# 参考文献

# 1

1. Landskron G, De la Fuente M, Thuwajit P et al. (2014) Chronic inflammation and cytokines in the tumor microenvironment. *J Immunol Res* 2014:149185.
2. Tabas I, Glass CK (2013) Anti-inflammatory therapy in chronic disease: challenges and opportunities. *Science* 339(6116):166–172.
3. Mangerich A, Knutson CG, Parry NM et al. (2012) Infection-induced colitis in mice causes dynamic and tissue-specific changes in stress response and DNA damage leading to colon cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 109(27):E1820–9.
4. Hanahan D, Weinberg RA (2000) The hallmarks of cancer. *Cell* 100(1):57–70.
5. Hanahan D, Weinberg RA (2011) Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 144(5):646–674.
6. Medzhitov R (2008) Origin and physiological roles of inflammation. *Nature* 454(7203):428–435.
7. Lu H, Ouyang W, Huang C (2006) Inflammation, a key event in cancer development. *Mol Cancer Res* 4(4):221–233.
8. Mantovani A, Allavena P, Sica A et al. (2008) Cancer-related inflammation. *Nature* 454(7203):436–444.
9. Murphy KP. Janeway's Immunobiology. 8th ed. New York, NY. Garland Science, Taylor & Francis Group, LLC; 2012.
10. Merck Manuals. Chemical Mediators of Inflammation. Available: [http://www.merckvetmanual.com/mvm/pharmacology/anti-inflammatory\\_agents/chemical\\_mediators\\_of\\_inflammation.html#v3337363](http://www.merckvetmanual.com/mvm/pharmacology/anti-inflammatory_agents/chemical_mediators_of_inflammation.html#v3337363). Accessed March 15, 2015.
11. Khan MM. Chapter 2: Role of Cytokines. Immunopharmacology. DOI: 10.1007/978-0-387-77976-8\_2, Springer Science+Business Media, LLC 2008.
12. Liu C, Zhang Y, Zhan J et al. (2014) Interleukin-23A is associated with tumor growth in *Helicobacter-pylori*-related human gastric cancer. *Cancer Cell Int* 14(1):104.
13. Lu H, Ouyang W, Huang C (2006) Inflammation, a key event in cancer development. *Mol Cancer Res* 4(4):221–233.
14. Lowe J, Shatz M, Resnick MA et al. (2013) Modulation of immune responses by the tumor suppressor p53. *BioDiscovery* 8:2.
15. Grivninkov S, Greten F, Karin M (2010) Immunity, Inflammation, and Cancer. *Cell* 140(6): 883–899.

詳細はこちらをご覧ください。 [thermofisher.com/antibodies](http://thermofisher.com/antibodies)

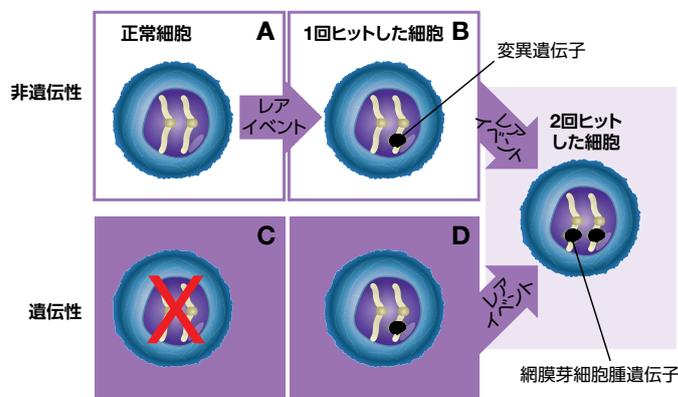
All rights reserved. All trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific and its subsidiaries unless otherwise specified.

# がんドライバー遺伝子および炎症

# 2

## イントロダクション

1940年代から1950年代に研究者は、がんの発症には遺伝的背景が関与している可能性があるかと仮定し始めました。<sup>1</sup> そのような考えは、現代の分子がん研究を立ち上げたパラダイムシフトを代表するものです。1950年代の間は疫学データおよび数学的モデルに依存していましたが、Nordlingらの研究者は、がんは連続的な変異（すなわちヒット）によって発生すると提唱しました。これにより、高齢化に伴うさまざまなヒトがんの発生頻度の増加を説明することが可能です。<sup>2</sup> Knudsonは、がんの発症に関与するヒットの最小数について理解するために、通常幼児期に発症する網膜の腫瘍である網膜芽細胞腫（RB）の根底にある遺伝的メカニズムについて調査する研究を開始しました（図2.1）。<sup>3</sup>



**図2.1. 2段階ヒット仮説** 本仮説は、家族性網膜芽細胞腫を持つ個体ではどのように両眼に複数の腫瘍が発生するのか、一方、本疾患の非遺伝型を持つ個体ではどのように片方の眼球に腫瘍が発生するのかについて説明します。(A) 個体は、通常、正常な母系および父系の染色体を受け継ぎ、特定のがん種に対する遺伝的感受性を持っていません。(B) 特定のがん種に対する遺伝的感受性を持つ個体は、受精時に第1の“ヒット”が生じているか、遺伝子変異を持って生まれています。(C) 第1の“ヒット”をもたらすまれな体細胞変異は、正常細胞を持って生まれた個体に生じ得ると考えられます。(D) 遺伝性および非遺伝性のがんの両方において、第2のヒット(この回は第1のヒットによって損傷した遺伝子の相同コピーに対する)を引き起こすレアイベントによって細胞の悪性形質転換が誘発されると考えられます。

Knudsonの統計解析から、疾患には2つのヒットまたは変異が関与する2種類の形態が存在することが予測されました。遺伝性網膜芽細胞腫のケースでは、最初のヒットは受精時に存在する遺伝子変異に関係していたのに対し、それに続く第2のヒットは同じ遺伝子の他方のコピーに生じる体細胞変異でした。家族性網膜芽細胞腫を受け継いだ子供が第2のヒットを生じる可能性は、変異を持たない子供の100,000倍以上です。逆に言えば、このモデルから、網膜芽細胞腫を生じる遺伝子を持たない個体において疾患が生じるには、2つの体細胞変異（類似した変異率で発生する）が必要であることが予測されました。<sup>4</sup>

1971年に、間接的にがん抑制遺伝子の概念につながる研究が公開され、発がんの2段階ヒット仮説（Knudson仮説）が提唱されました。これは、網膜芽細胞腫を含む数種の主要ながんにおいて見られる変異であるRB1 遺伝子が発見される15年前で、初めてヒト染色体の配列決定が行われた約28年前のことでした。<sup>5,6</sup>

## 目次

がんドライバー遺伝子および炎症	2-1
参考文献	2-13

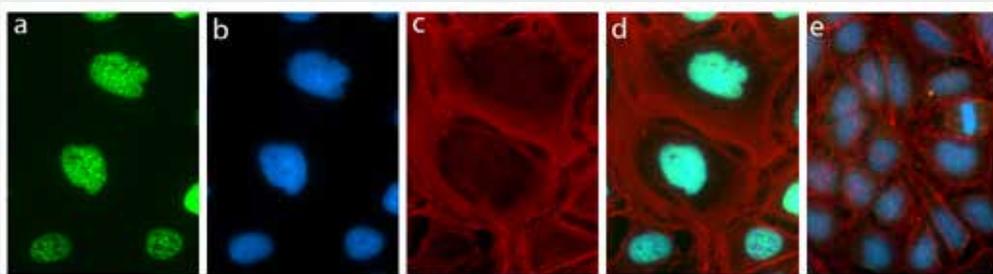
# がんドライバー遺伝子および炎症

# 2

## 家族性がん

RB1遺伝子変異の他に、さまざまなヒトがん抑制遺伝子が家族性がん症候群および非遺伝型のがんと関連します。新しい候補遺伝子が同定されると順次、調査および検証されていくものと考えられます。<sup>7</sup>

RB1遺伝子の変異に関連するがんの高い発生率は、このがん抑制遺伝子が重要であることを浮き彫りにしています。RB1の機能喪失は、小児における網膜芽細胞腫に関係します。RB1遺伝子によってコードされるタンパク質であるpRbは、細胞周期の制御因子であり、RB経路の調節不全はヒトがんの大部分の形態において観察されます。<sup>8</sup> 家族性がんおよび散発性がんに関連するがん抑制因子の例を表2.1に示します。<sup>9</sup>



**Rb [pSpT249/252] ABfinity™ Recombinant Rabbit Monoclonal Antibody** 抗Rb [pSpT249/252]抗体 (製品番号 701059) で染色したヒト骨肉腫細胞株U2OSの免疫細胞化学分析。(A) 二次抗体としてInvitrogen™ Goat Anti-Rabbit IgG Antibody, Alexa Fluor 488 Conjugate (製品番号 A11034) を使用 (緑色)。(B) 核染色にDAPIを使用し (青色)、(C) アクチン染色にInvitrogen™ Alexa Fluor™ 594 Phalloidin (製品番号 A12381) を使用 (赤色)。(D) リン酸化Rb (pRb)の核移行を示す細胞の重ね合わせ画像。(E) in situ pRb1を染色する抗体に対し添加されたpRb競合物を示す細胞の重ね合わせ画像。

表2.1. 代表的ながん抑制遺伝子

症候群/遺伝性がん	遺伝子産物	機能欠如	腫瘍関連炎症との関係
リ・フラウメニ症候群	p53	細胞周期調節; アポトーシス	炎症および線維性マトリックスの微小環境変化; NF- $\kappa$ B 依存性の炎症性微小環境変化 M2型微小環境の増大
家族性網膜芽細胞腫	RB	細胞周期調節	間質性線維芽細胞の増殖 VEGFレベルおよび血管拡張の増加
家族性大腸腺腫症	APC	シグナル伝達および制御	IL-23およびIL-17産生誘導
カウデン症候群	PTEN	シグナル伝達	活性化されたNF- $\kappa$ B サイトカインネットワークおよび間質細胞; 免疫細胞浸潤, 血管新生, NF- $\kappa$ B 活性化の増加; ECMリモデリング, 免疫細胞浸潤, および血管新生の増加
フォンヒッペル・リンドウ病	VHL	転写制御	VHL変異を有する腫瘍細胞が血管新生と腫瘍増殖を促進する成長因子およびTGF- $\beta$ などの抗炎症性サイトカインを分泌
遺伝性非ポリポーシス大腸がん6型、など多くのがん	TGF- $\beta$ RII	シグナル伝達	骨髄性細胞の浸潤および転移の促進
若年性ポリポーシス症候群	Smad4	シグナル伝達	炎症細胞浸潤および腫瘍進行の促進; 炎症, DNA損傷, p15, p16, p21の欠失; CCR1陽性骨髄性細胞の浸潤; 炎症

# がんドライバー遺伝子および炎症

# 2

## がん抑制機能喪失

がん抑制機能の喪失は、腫瘍形成を誘導する炎症過程に寄与することも知られています。がん抑制遺伝子は、ストレスおよびDNA損傷に対する細胞応答の制御や、細胞周期、老化、およびアポトーシスに関連するプロセスの調節に不可欠です。がん抑制因子の関与が、がん関連炎症反応の調節に役割を果たしていることは複数の実験的証拠で明らかにされています。<sup>10</sup>

- p53によるがん抑制機能喪失は、潰瘍性大腸炎罹患患者における結腸直腸がんのリスク増加に関与
- APCによるがん抑制機能喪失は、腸において腫瘍形成を誘導するIL-17産生増進に関与
- TGF- $\beta$ シグナル伝達の喪失は、炎症細胞の腫瘍微小環境への流入に関与

腫瘍関連炎症に関わる既知のがん抑制因子の例を図2.2に示します。また、数種の腫瘍抑制因子遺伝子が炎症の誘導に寄与する役割に関する一般情報を表2.1に示します。<sup>11</sup>

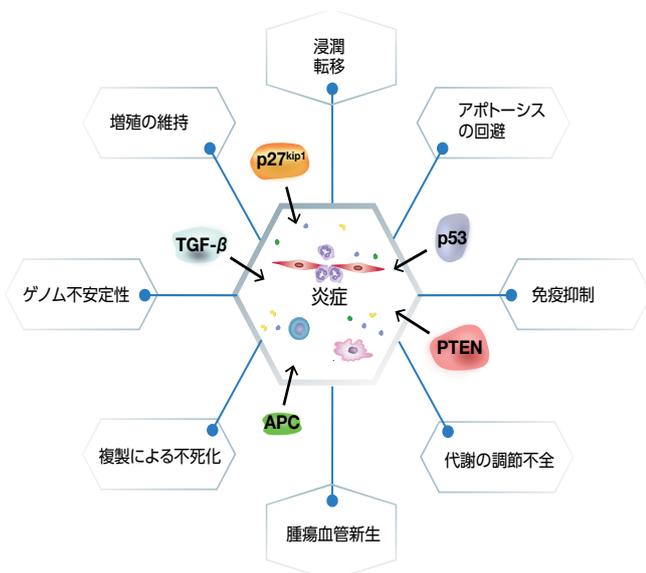
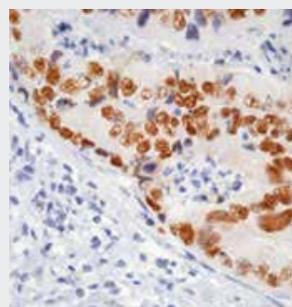


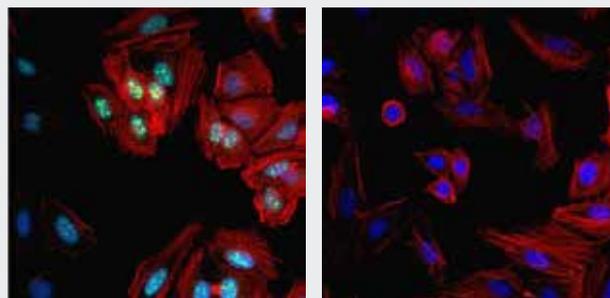
図2.2. p53、TGF- $\beta$ 、APC、PTEN、およびp27<sup>Kip1</sup>などのがん抑制因子の喪失は、炎症細胞の浸潤を誘導する成長因子、サイトカイン、およびケモカインの発現を増加させます。

がん抑制因子TP53 をコードする遺伝子における体細胞変異は、ヒトゲノムにおけるいずれの他の既知のドライバー遺伝子に影響を及ぼす変異よりも高頻度で発生します。p53シグナル伝達の調節不全は、無制御な細胞増殖を引き起こします。また、TP53における生殖細胞系列の異常は、リ・フラウメニ症候群—さまざまながんの早期発症の素因がある状態—を生じます。p53に関する情報は、1979年に初めて発表され、その数十年後に遺伝子の発がん特性について確認されました。<sup>12</sup>



### p53 Mouse Monoclonal Antibody (DO-7)

抗p53抗体 (製品番号 MA5-12557) で染色したホルマリン固定パラフィン包埋したヒト結腸がん組織の免疫組織化学分析。検出は、HRP標識二次抗体、及び発色基質を使用して実施。



### Ki-67 Rabbit Polyclonal Antibody

未染色 (右パネル)、抗Ki-67抗体 (製品番号 PA5-16785) による染色 (左パネル)。二次抗体にはDyLight™ 488 Goat Anti-Rabbit IgG Secondary Antibody (製品番号 35552) を使用。ホルマリン固定HeLa (不死化ヒト子宮頸がん) 細胞におけるKi-67 (緑色) の免疫蛍光分析。F-アクチン (赤色) はDyLight554-Phalloidin (製品番号 21834) で染色、核 (青色) はHoechst 33342で染色。

Ki-67は増殖細胞において発現する核タンパク質です。Ki-67は細胞周期のG1後期、S、M、およびG2期に選択的に発現するのに対し、G0 (静止) 期では発現が抑えられます。

# がんドライバー遺伝子および炎症

# 2

## 野生型p53

正常なホメオスタシスを維持するために、DNA損傷、低酸素、およびがん遺伝子活性化によって野生型p53が活性化されます。野生型p53—配列特異的転写因子—は、細胞周期の進行を阻害したり、老化を促進したり、あるいはストレスに対する反応においてアポトーシス細胞死を誘導します。がん抑制遺伝子の中で、TP53は最も広範に研究されており、多様なヒト腫瘍においてp53の不活性化が実証されています。TP53における有害突然変異は、異常な細胞増殖、ゲノム不安定性、およびがん進行につながります。<sup>11,13</sup>

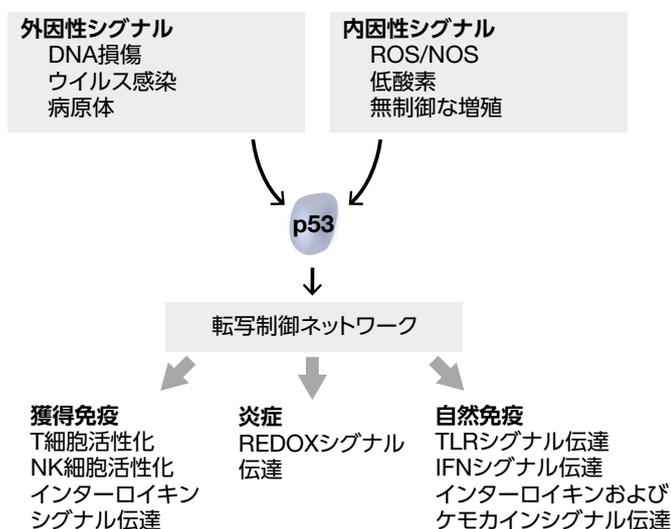
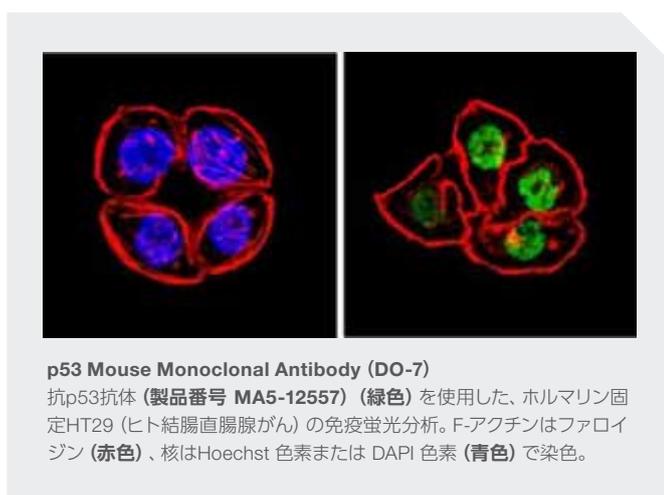


図2.3. 外因性シグナルおよび内因性シグナルはともに免疫系のp53を介する転写制御に寄与します。



## p53の他の機能

前述のがん抑制因子としての機能の他にも、p53関連機能について実験的証拠が得られています。正常状態下で、p53は、炎症反応の調節など、複数の細胞プロセスに関連する遺伝子を転写的に制御しています (図2.3) :<sup>13-17</sup>

- リボソーム生合成
- 老化の制御
- p53標的遺伝子の転写制御による自然免疫系の発現増加:
  - IFN調節因子 (IRF) IRF-9およびIRF-5 (抗ウイルス反応)
  - Toll様受容体3 (TLR3) によるウイルス感染の認識およびIFN経路の誘導を介した抗ウイルス応答の活性化
  - 単球走化性タンパク質-1 (MCP-1) 単球-マクロファージシステムの細胞の動員および活性化
- 自然免疫系および獲得免疫系のさまざまな細胞の調節に関連する遺伝子の転写制御

潰瘍性大腸炎 (UC) 関連結腸直腸がんの発症におけるp53の不活性化の関連性については明確にされています。UC患者の非がん結腸組織におけるTP53変異の頻度の増加は、DNA損傷、組織損傷を引き起こす活性酸素種 (ROS) および一酸化窒素 (NO) の活性を上昇させ、腫瘍形成を促進します。TP53の変異は、散発性結腸直腸がんの進行においても観察されます。<sup>18</sup> TP53変異と、炎症反応の増加、および腫瘍形成との関係性は、頭頸部、乳房、肝臓、および他の組織の腫瘍を含む他のがん形態でも説明されています。<sup>11</sup>

# がんドライバー遺伝子および炎症

# 2

## Adenomatous polyposis coli (APC)

Wnt/ $\beta$ -カテニン経路の制御機構は非常に複雑です。Wntおよび $\beta$ -カテニンはともにDrosophila (ショウジョウバエ) 属で最初に発見された、一連の核となる発生関連シグナル伝達タンパク質の一部です。<sup>19</sup> Wnt経路シグナル伝達の重要な制御因子として、APCはconductinを含む構造成分の細胞間結合に関与し、 $\alpha$ -および $\beta$ -カテニンの特定の内部領域への結合においてE-カドヘリンと競合します。APCは、活性型 $\beta$ -カテニン/転写因子4 (TCF4) 複合体の形成を制御します。APCは、明確になっているがん抑制因子で、APCタンパク質の喪失または減少につながる生殖細胞系列変異は大腸および直腸のがんに関与する家族性大腸腺腫症 (FAP) に関連します。APCにおける体細胞変異は、肺、乳房、結腸、および他の器官の悪性腫瘍にも関連します。<sup>20,21</sup>

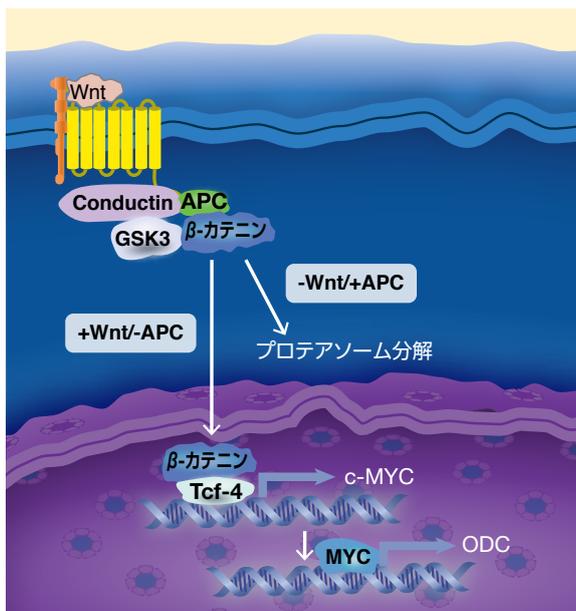


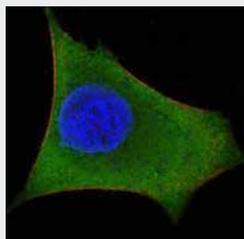
図2.4. Wnt/ $\beta$ -カテニンシグナル伝達 核内の $\beta$ -カテニン/Tcf-4複合体は、細胞増殖などのc-MYCを介する機能を制御し、がんの発生に寄与します。

## APCの欠失および腫瘍関連炎症

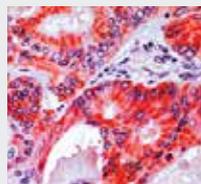
APCは、腸上皮細胞の増殖、および接着の制御因子です。APCの遊走および生殖細胞系列アレル欠失は、ヒト家族性大腸腺腫症症候群、および散発性結腸直腸がんのホールマークです。結腸直腸腫瘍は、免疫/炎症性浸潤および炎症性遺伝子特性を示します。APCは結腸がんのホールマークであることから、これらの臨床研究においてAPCと炎症に関連がある可能性が示唆されています。複数の実験的証拠において、結腸がんの進行におけるAPC欠損と腫瘍関連炎症の関与が示されています。これらの知見の代表例をいくつか示します。<sup>22,23</sup>

- 結腸直腸がんのマウスモデルにおいて、APC制御の喪失はその後の炎症誘発性可溶性因子のレベル増加と相関：
  - 変異型APCアレルを持つマウス腸上皮細胞における野生型APCアレルの不活性化は、腫瘍形成を促進します。
- IL-23 (微生物産物によるAPC欠損腺腫の浸潤に反応して、腫瘍浸潤骨髄性細胞において発現)：
  - IL-17の発現を促進します。
- IL-17Aは、特定のT細胞および自然免疫系の細胞によって産生します。
- IL-17の上方制御は、結腸直腸がんの進行および予後不良と相関します。
- シクロオキシゲナーゼ-2 (COX-2) は、腸上皮細胞の悪性形質転換を促進するプロスタグランジンE2の産生に不可欠です。

アスピリンなどの非ステロイド性抗炎症薬 (NSAID) は、強力な予防効果を示し、近年、結腸直腸がんの補助療法として提案されています。<sup>11</sup>



**WNT1 Mouse Monoclonal Antibody (10C8)** 抗Wnt1抗体 (製品番号 MA5-15544) (緑色) を使用した、HeLa (不死化ヒト子宮頸がん) 細胞の免疫蛍光分析。核はThermo Scientific™ DRAQ5™ 蛍光DNA色素 (青色) で染色。アクチンフィラメントはDyLight™ 554-Phalloidin色素 (赤色) で染色。



**APC Rabbit Polyclonal Antibody** 抗APC抗体 (製品番号 PA5-16883) で染色し、ペルオキシダーゼコンジュゲートおよびAECを使用して発色させた、ホルマリン固定パラフィン包埋 (FFPE) したヒト結腸がん。

# がんドライバー遺伝子および炎症

# 2

## ホスファターゼおよびテンシンホモログ (PTEN)

腫瘍抑制因子ホスファターゼおよびテンシンホモログ (PTEN) は、脂質およびタンパク質のデュアルホスファターゼ活性を持ち、ホスファチジルイノシトール3-キナーゼ (PI3K) を介するシグナル伝達の活性を抑制することによって、Aktを阻害します。PTENは、脂質ホスファターゼとして機能し、PIP<sub>3</sub>のイノシトール環の3位の水酸基を脱リン酸化し、PIP<sub>2</sub>を生成します。PTENは、PI3K/Akt/mTORシグナル伝達カスケードの負の制御因子として、増殖、生存、およびエネルギー代謝などの基本的な細胞機能の制御において極めて重要な役割を果たしています (図2.5)。<sup>24,25</sup> PTENは、PIP<sub>3</sub>と相互作用する他に、PI3KおよびFAKなどのチロシンリン酸基を持つ特定のタンパク質も認識し、シグナル伝達タンパク質Shcなどのセリン残基およびスレオニン残基を持つ特定のタンパク質に対するホスファターゼとしても作用します。<sup>26</sup>

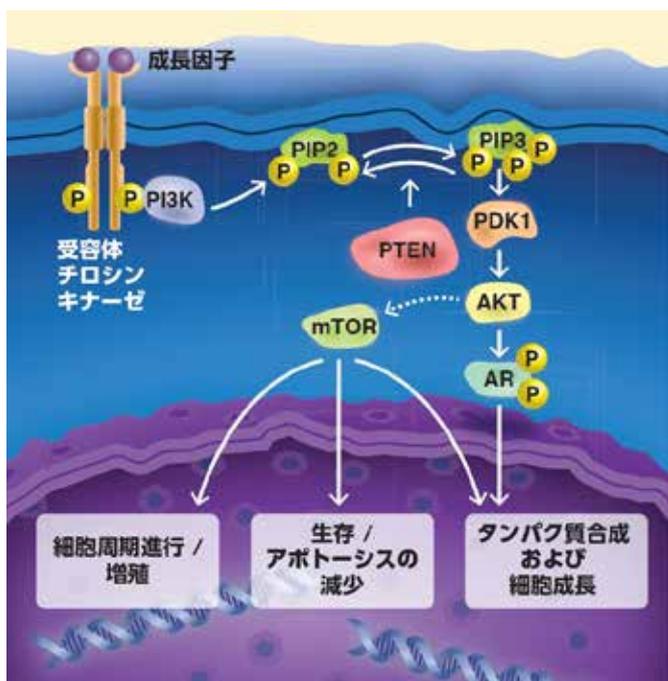
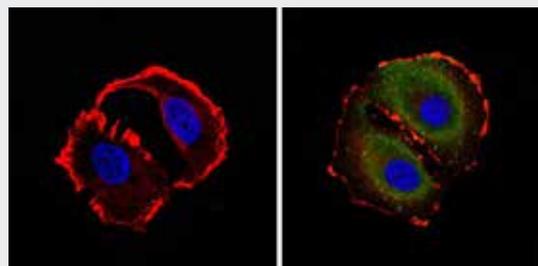


図2.5. PTENシグナル伝達は成長因子経路と高頻度で関与します。

数多くの臨床所見および実験所見において、腫瘍関連炎症の阻害においてPTENの果たす役割が支持されています。これらの知見を以下に示します：<sup>11,27</sup>

- ヒト頭頸部扁平上皮がんにおいて、PTEN制御の喪失は、単球浸潤および腫瘍血管新生の誘導およびNF- $\kappa$ Bの上方制御と関連します。
- がん遺伝子KRASによって誘導された膵管腺がんのマウスモデルにおいて、PTEN機能の喪失は、NF- $\kappa$ B活性の上方制御、間質活性化、および炎症細胞の流入と関連します。
- PTEN機能の喪失は、炎症促進性反応を誘導し、乳がんおよび前立腺がんの進行を促進することも報告されています。



PTEN Mouse Monoclonal Antibody (17.A)

抗PTEN抗体 (製品番号 MA5-12278) を使用した、ホルマリン固定したMCF-7 (不死化ヒト乳腺がん) 細胞の免疫蛍光分析。(右) 細胞質内のPTEN (緑色) と (左) 一次抗体不使用のネガティブコントロールとの比較。

# がんドライバー遺伝子および炎症

# 2

## トランスフォーミング増殖因子β (TGF-βRII)

トランスフォーミング増殖因子β (TGF-β) は、構造的にホモ二量体を形成するサイトカインのファミリーに属します。このファミリーにはアクチビンおよび骨形態形成タンパク質も含まれます。哺乳類アイソフォームには、TGF-β1、TGF-β2、およびTGF-β3があり、関連するセリン/スレオニン受容体とともに、これらに限定されませんが、細胞増殖、血管新生、免疫反応、およびアポトーシスなどの複数の生物学的プロセスを制御しています。TGF-βシグナル伝達の調節不全は、創傷治癒の異常、組織線維化、心血管疾患、自己免疫疾患、およびがんを含む他の障害に関与します。Smad1は、進化的に保存された細胞内タンパク質で、セリン/スレオニンキナーゼ受容体によって活性化され、核移行が生じ、それに続きTGF-βシグナル伝達の転写制御因子として機能します。<sup>28,29</sup>

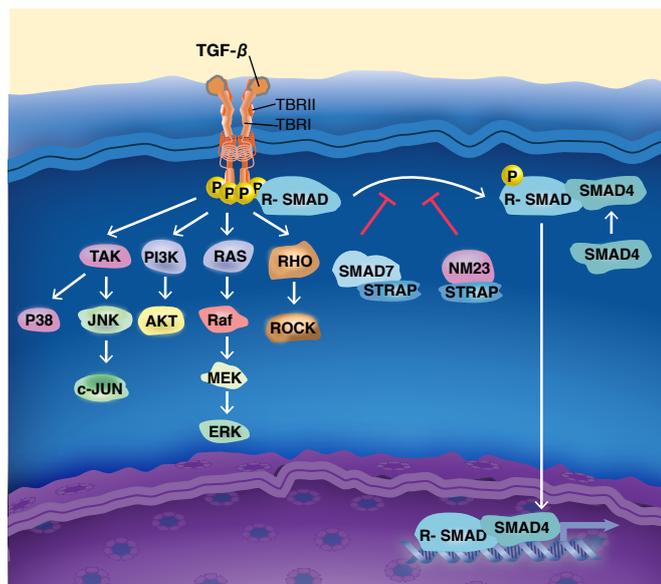


図2.6. TGF-βシグナル伝達経路



**TGFBR2 Rabbit Polyclonal Antibody**  
抗TGFBR2抗体 (製品番号 PA5-35076) (緑色) を使用した、HepG2 (ヒト肝細胞がん細胞株) 細胞の免疫蛍光分析。核はDAPI (青色) で染色。

## 腫瘍抑制におけるTGF-βシグナル伝達

複数の研究において、腫瘍抑制におけるTGF-β経路メディエーターの関与が示されています。<sup>30-32</sup> さまざまな腫瘍において、TGF-β受容体およびSmadタンパク質をコードする遺伝子における孤発性変異が同定されています。<sup>33,34</sup> また、TGF-βRIIをコードする遺伝子における機能喪失型の生殖細胞系列変異は、遺伝性非ポリポーシス結腸直腸がん (HNPCC) に関与します。TGF-βRIIにおける不活性化変異は、結腸がんの20~25%、ならびに胃、膵臓、乳房、肝臓、および他の器官のがんにおいても高頻度で発生していることが知られています。TGF-βR1をコードする遺伝子の不活性化変異についても報告されており、卵巣、乳房、膵臓、およびTリンパ球のがんを誘導することが知られています。複数の研究において、腫瘍はTGF-β受容体の発現を高頻度で下方制御し、TGF-βによる増殖阻害から回避していることが示されています。<sup>30,35,36</sup> TβRIIの腫瘍抑制因子としての根拠は、以下の代表例によって支持されています：

- 野生型TβRIIの外因性発現は、内因性TGF-βRII機能活性が欠如した結腸、乳房、または甲状腺のがん細胞において腫瘍の増殖を抑制しました。
- トランスジェニックマウスの皮膚におけるTGF-β1またはTβRIIの過剰発現は、がん抑制因子としての根拠も提供しました。
- マウス乳腺および肺におけるドミナントネガティブ変異型TβRIIのトランスジェニック過剰発現は、化学発がん物質に反応した腫瘍形成を増加させました。

TGF-β経路には、腫瘍抑制活性の他に、腫瘍促進活性もありますが、この二面性については解明されていません。例えば、いくつかの体細胞変異を持たない上皮がんは、TGF-βの増殖抑制作用を克服します。<sup>37</sup>

## TGF-βシグナル伝達および炎症

さまざまな研究において、TGF-βシグナル伝達の消失が腫瘍浸潤性炎症細胞の存在を増加させることが示されています。また、複数の臓器の上皮細胞におけるTGF-βRII変異は、炎症誘発性状態を促進することによる腫瘍進行と相関しています。さらに、がん関連線維芽細胞におけるTGF-β機能の喪失は、炎症促進性反応に必要なとされる遺伝子の発現を増進し、腫瘍進行に寄与しました。<sup>11</sup>

# がんドライバー遺伝子および炎症

# 2

## Smad4

ヒトSmad4は、8種類のヒトSmadアイソフォームの一つで、TGF- $\beta$ Rの下流で機能します。Smadタンパク質は、共通の構造的特徴を持ちますが、3種類の異なる機能的クラスに分類されます：<sup>38,39</sup>

- 受容体制御型Smadタンパク質 (R-Smad) は、TGF受容体によって直接リン酸化され、活性化されます。
  - Smad1、Smad5、およびSmad8 (BMP シグナル伝達を媒介)
  - Smad2、Smad3 (TGF- $\beta$ /アクチビン シグナル伝達を媒介)
- 共有型Smadは、R-Smadと複合体を形成し、核移行を経て、標的遺伝子の転写制御因子として機能します。
  - Smad4
- 抑制 (拮抗) 型Smadまたは抗-Smadは、シグナル伝達の負の制御因子として機能します。
  - Smad6 (グローバルな TGF- $\beta$ 経路の阻害剤)
  - Smad7 (BMP-特異的経路の阻害剤)

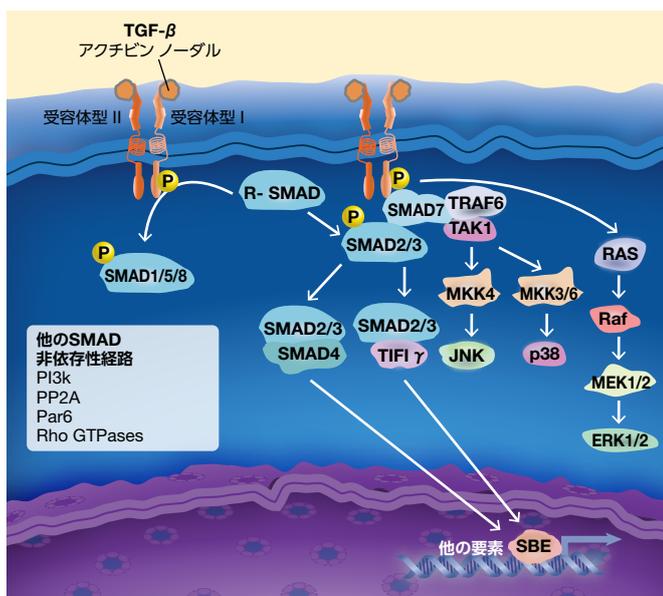
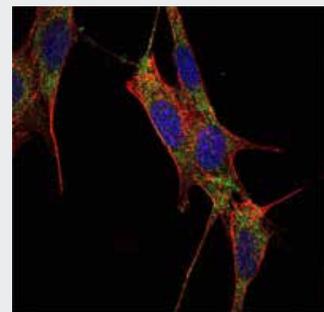


図2.7. TGF- $\beta$ およびSMADのシグナル伝達経路 Smad2、Smad3、およびSmad4における変異は、さまざまながん種で検出されています。

## 腫瘍抑制因子としてのSmad4

Smad4の腫瘍抑制因子機能についてはすでに立証されています。膀胱がんおよび結腸直腸がんは、高頻度でSmad4変異を持ちます。Smad4機能の喪失は、非がん性ポリープの存在および消化 (GI) 管における悪性腫瘍発現リスクの増加を特徴とする遺伝性疾患である若年性ポリポーシス症候群に関連します。また、Smad4調節不全は、乳がんの腫瘍形成および転移に関与していることも示されています。

結腸上皮細胞におけるSmad4混乱が腫瘍進行に寄与する炎症性骨髄細胞の動員を増加させることについてはさまざまな報告があります。Tリンパ球におけるSmad4欠失は、GIがんの発症に寄与する炎症誘発性サイトカインIL-5、IL-6、およびIL-13の分泌を誘導します。<sup>40,41</sup>



### SMAD4 Mouse Monoclonal Antibody (4G1C6)

抗SMAD4抗体 (製品番号 MA5-15682) (緑色) を使用した、NIH/3T3 (不死化マウス胎仔線維芽) 細胞の免疫蛍光分析。アクチンフィラメントはファロイジン (赤色)、核はDRAQ5 DNA色素 (青色) で染色。

Smad4と同様、Smad2およびSmad3は、腫瘍抑制因子として同定されています。しかしながら、低レベルのSmad3は腫瘍の抑制よりも進行を促進するという報告があります。<sup>42,43</sup>

# がんドライバー遺伝子および炎症

# 2

## がんのドライバー変異およびパッセンジャー変異

がん細胞で検出される点変異および転座において、遺伝子変異の大部分は腫瘍細胞の適応性（すなわち選択的増殖優位性）に影響しません（図2.8）。<sup>44,45</sup> 周囲の正常細胞よりも腫瘍細胞に対し増殖優位性を与えることがない変異はパッセンジャー変異と定義されます。一方、周囲の正常細胞よりも腫瘍細胞に対し増殖優位性を与える遺伝子はドライバー変異と考えられます。ドライバー遺伝子の中には、ドライバー変異が含まれます。しかしながら、ドライバー遺伝子にはパッセンジャー変異も含まれることに留意することは重要です。<sup>46,47</sup>

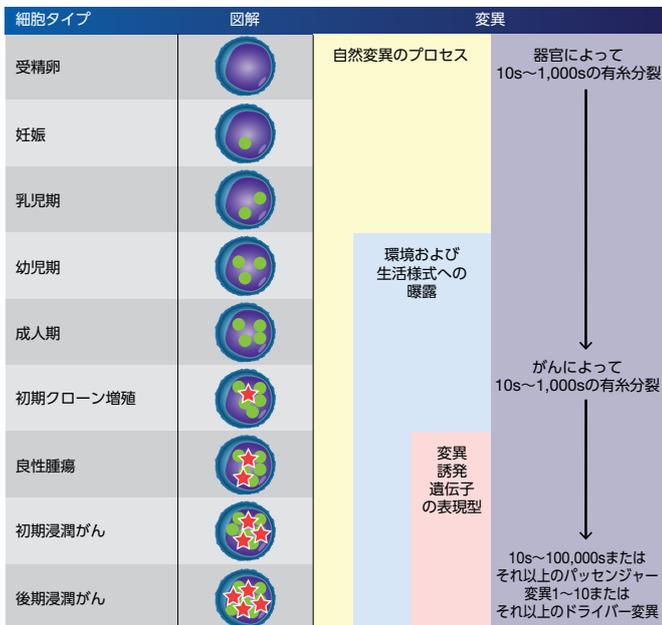


図2.8. 悪性細胞の形質転換の進行 正常細胞は、多段階のプロセスを経て、悪性細胞に形質転換されます。細胞の表現型が正常であっても、数世代にわたる細胞分裂によって経時的に体細胞変異が蓄積されます。これらは、正常な細胞分裂の結果として自然発生する変異および細胞が外部からの侵襲に曝された際に生じる変異原性の組み合わせによって発生します。

腫瘍抑制変異と同様に、発がん性変異はドライバー変異として分類されます。<sup>48</sup> がん遺伝子は、正常な細胞プロセスを調節するがん原遺伝子に由来しますが、がん原遺伝子における機能獲得型変異は、腫瘍への形質転換および増殖を誘発する可能性を持つ異常な遺伝子産物を産生します（図2.9）。（代表的ながん遺伝子については、表2.2を参照してください）。

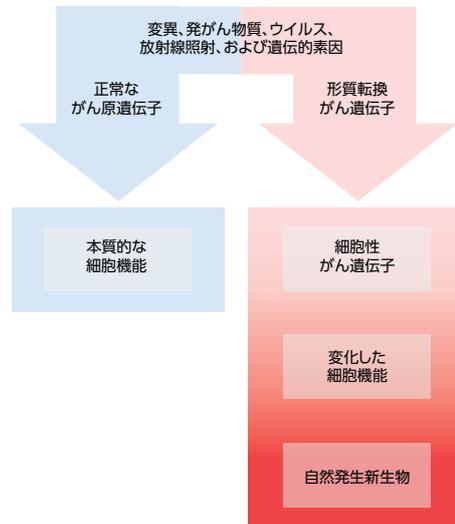


図2.9. がん遺伝子の二様性 サプレッサー変異に加えて、ドライバー変異もがん遺伝子に分類されると考えられます。本図は、がん遺伝子とともに、腫瘍進行を導く発がん性形質転換の可能性を持つ正常ながん原遺伝子が存在するという二様性を示しています。

遺伝子変異の蓄積は、最終的に細胞周期調節に必要とされるメカニズムを妨害します。正常な状態では、増殖シグナルの産生および伝播ならびに細胞増殖が高度に調節されています。増殖プロセスの厳密な制御は、健全な組織の構造および機能の維持をサポートします。増殖に関連するシグナル伝達経路は、通常、必要になると活性化され、不要になると不活性化されます。悪性細胞のホールマークの一つは、恒常的調節の喪失、および持続的、あるいは制御不能な増殖です。<sup>49</sup>

## がん遺伝子および腫瘍関連炎症

がん遺伝子変異は、悪性細胞形質転換のイニシエーターとしてのがん遺伝子の役割が十分に立証されている他、腫瘍の炎症の誘導に関与し、炎症誘発性メディエーターおよび血管新生メディエーターの産生を導きます。例えば、RASがん遺伝子のアイソフォームHRASおよびKRASにおける変異は、NF-κBならびにヒトがん細胞における炎症誘発性サイトカインおよびケモカインの産生を増進します。同様に、がん遺伝子BRAFにおける変異は、メラノーマにおける炎症プログラムとの関係性が指摘されています。また、MYC、RET、およびEGFRなどの遺伝子における発がん性変異は、さまざまな固形がんにおける腫瘍関連炎症の誘導をもたらしています。<sup>50</sup>

# がんドライバー遺伝子および炎症

# 2

表2.2. 代表的ながん遺伝子

がん遺伝子	関連するがん	細胞機能
ABL1	CMLおよび他の白血病	チロシンキナーゼシグナル伝達
AKT/PKB	乳がん、卵巣がん、結腸直腸がん、他のがん	セリン/スレオニン-特異的プロテインキナーゼ
BRAF	結腸直腸がん、転移性メラノーマ、他の固形がん、非ホジキンリンパ腫	セリン/スレオニンキナーゼシグナル伝達
CCND1	乳房および他の組織の上皮性悪性腫瘍、B細胞リンパ腫	細胞周期調節因子/サイクリン依存性キナーゼ調節因子
EGFR	上皮成長因子	チロシンキナーゼシグナル伝達
HER2	乳がんおよび特定の胃がん	チロシンキナーゼシグナル伝達
KRAS	結腸直腸がん	GTPase/シグナル伝達
MYC	リンパ腫および上皮性悪性腫瘍	転写因子/細胞周期調節因子
PIK3CA	結腸直腸がん	PI3Kの触媒サブユニット/シグナル伝達
RET	多発性内分泌腫瘍症2型および遺伝性甲状腺髄様がん	細胞機能: 受容体チロシンキナーゼ
SRC	結腸直腸、肝細胞、乳房、膵臓および他の肉腫	チロシンキナーゼシグナル伝達

略語: ABL1, Abelsonマウス白血病ウイルスがん遺伝子ホモログ1; AKT/PKB, AKT/プロテインキナーゼB; BRAF, v-rafマウス肉腫ウイルスがん遺伝子ホモログB; CCND1, サイクリンD1; MYC, v-mycトリ骨髄球腫がん遺伝子ホモログ; EGFR, 上皮成長因子受容体; HER2, ヒトジアミノベンジジン上皮成長因子受容体2; KRAS, カーステンラット肉腫ウイルスがん遺伝子ホモログ; PIK3CA, ホスファチジルイノシトール-4,5-二リン酸 3-キナーゼ, 触媒サブユニットα; SRC, SRC がん原遺伝子, 非受容体型チロシンキナーゼ

## RETがん遺伝子および炎症

RETがん遺伝子シグナル伝達経路については、がん化シグナル伝達と腫瘍形成を促進する炎症反応との関係についての十分に確立された例を提供します。RETがん原遺伝子は、GDNFファミリーリガンドと相互作用する受容体チロシンキナーゼをコードします。RET機能喪失変異は、ヒルシュスプルング病に関連し、発がん性変異は内分泌系および甲状腺に発生するがんを引き起こします。例えば、甲状腺細胞の形質転換は、RETがん遺伝子の染色体再編によって甲状腺乳頭がんに行進する可能性があり、特定の点変異は甲状腺髄様がんに関係します。RETにおける変異は、甲状腺細胞の機能を調節する炎症メディエーターをコードする遺伝子の調節不全も誘導する可能性があります。—これらのタンパク質の中には、成長因子、ケモカイン受容体、サイトカイン、メタロプロテアーゼ、および他のタンパク質クラスが含まれます (図2.10および表2.3)。がんの発生におけるこれらの因子の特定の役割については調査中です。RETの活性化変異を持つ甲状腺がんの治療には数多くの低分子阻害剤が使用されています。—その多くが甲状腺がん治療薬として食品医薬品局 (FDA) に承認されています。<sup>51,52</sup>

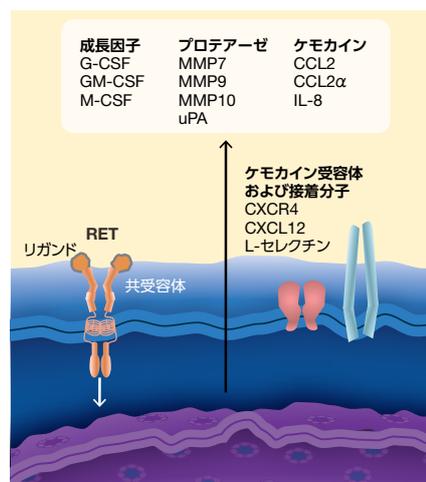


図2.10. RETシグナル伝達経路に関連するタンパク質

表2.3. RETシグナル伝達および腫瘍形成に関する炎症メディエーター

ターゲット	タンパク質のクラス	抗体 (製品番号)
RET	受容体チロシンキナーゼ	MA5-11513
G-CSF	成長因子	AHC2034
GM-CSF	成長因子	701136
M-CSF	成長因子	PA1-20182
CXCR4	ケモカイン受容体	PA3-305
CXCL12	ケモカイン受容体	PA1-29029
CCL2	ケモカイン	710002
IL-8	サイトカイン	710256
MMP7	メタロプロテアーゼ	PA5-28076
MMP9	メタロプロテアーゼ	MA5-15886
MMP10	メタロプロテアーゼ	PA5-29746
uPA	セリンプロテアーゼ	PA1-36015

# がんドライバー遺伝子および炎症

# 2

## 炎症および腫瘍進行

腫瘍抑制機能喪失とがんの進行に寄与する炎症の発生における発がん活性との関連性については、数多くの研究において明らかにされています。感染、化学刺激、および組織損傷などの因子は急性炎症につながります。また、遺伝的不安定性(変異)は、炎症細胞および間質細胞の動員、浸潤、および活性化を特徴とする局所炎症反応にさらに寄与するケミカルメディエーター発現の上昇につながります。炎症が未解決である場合、慢性炎症は腫瘍促進に寄与します。すなわち、始原細胞から良性病変が発生し腫瘍に進行するプロセス、良性腫瘍が悪性腫瘍に進行するプロセスをサポートします(図2.11)。腫瘍発生における感染、炎症、および遺伝的不安定性の関係についてサポートするデータは豊富にありますが、がんに関連する炎症の正確なメカニズムについては完全には理解されていません。しかしながら、これらの発がん促進イベントの中核をなすのは、マクロファージ、それらの炎症メディエーター、ならびに他の免疫系の細胞の存在です。<sup>53</sup>

腫瘍微小環境は高度に複雑で、がんの促進と抑制の両方の機能を持つ細胞の集合で構成されます。研究者は、膨大なリソースを費やして、腫瘍微小環境に寄与する細胞の複雑なネットワークおよび可溶性因子を制御するプロセスの解明を目指して尽力しています。腫瘍微小環境内の炎症誘発性状態を減少させるためのアプローチを考案および試験し、腫瘍拒絶を増強する可能性を有する殺腫瘍性リンパ球およびNK細胞などの細胞の活動を増強する状態を誘導するための取り組みが進められています。<sup>54</sup>

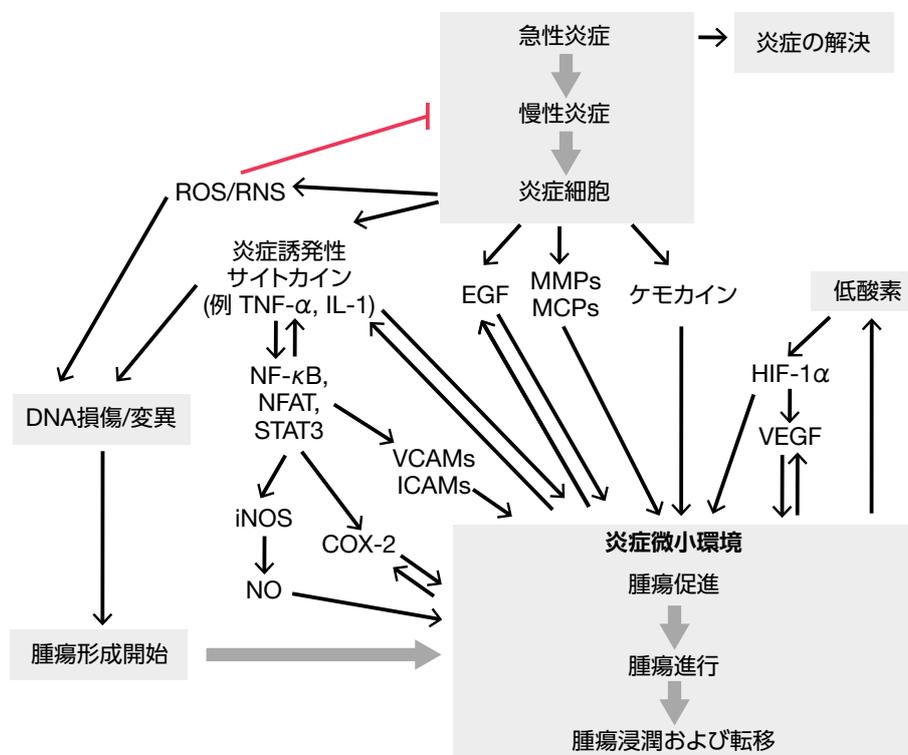


図2.11. 腫瘍関連炎症の発生および進行に関するメカニズム

# がんドライバー遺伝子および炎症

# 2



## 抗体：研究のための強力なツール

高品質の生物医学研究用抗体を生産する能力は、年を追うごとにがん生物学分野における新しい発見に貢献しています。当社では、数千ものがん研究用の一次抗体および二次抗体を提供しています。お客様の研究のフォーカスが増殖シグナル伝達、転移、アポトーシス、オートファジー、代謝、炎症、腫瘍抑制因子、または他のどのようながん関連研究分野であっても、当社はおお客様の研究の成功を確実にする研究用抗体の幅広いセレクションを取りそろえています。当社の抗体アッセイが幅広い抗体アプリケーションにおいて優れた実験結果の達成に寄与していることは、世界中の数千もの文献引用により実証されています。

表2.4.当社の抗体が引用されている代表的な文献

抗体	参考文献	アプリケーション
APC Mouse Monoclonal Antibody (CC-1) (製品番号 MA1-25884)	Zen K, Utech M, Liu Y et al. (2004) Association of BAP31 with CD11b/CD18: potential role in intracellular trafficking of CD11b/CD18 in neutrophils. <i>J Biol Chem</i> 279(43):44924–44930.	ICC
c-Myc Mouse Monoclonal Antibody (9E10) (製品番号 MA1-980)	Gleyzer N, Scarpulla RC (2013) Activation of a PGC-1-related coactivator (PRC)-dependent inflammatory stress program linked to apoptosis and premature senescence. <i>J Biol Chem</i> 288(12):8004–8015.	WB
EGFR Mouse Monoclonal Antibody (H11) (製品番号 MA5-13070)	Kyriakakis E, Maslova K, Frachet A et al. (2013) Cross-talk between EGFR and T-cadherin: EGFR activation promotes T-cadherin localization to intercellular contacts. <i>Cell Signal</i> 25(5):1044–1053.	IP, WB, ICC
HER-2/ErbB2 Mouse Monoclonal Antibody (e2-4001 + 3B5) (製品番号 MA5-14057)	Ozawa M, Shimojima M, Goto H et al. (2013) A cell-based screening system for influenza A viral RNA transcription/replication inhibitors. <i>Sci Rep</i> 3:1106.	WB
p53 Mouse Monoclonal Antibody (DO-7) (製品番号 MA5-12557)	Piccinin S, Tonin E, Sessa S et al. (2012) A “twist box” code of p53 inactivation: twist box:p53 interaction promotes p53 degradation. <i>Cancer Cell</i> 22(3):404–415.	IHC
pan RAS Mouse Monoclonal Antibody (Ras10) (製品番号 MA1-012)	Hamer PJ, Trimpe KL, Pullano T et al. (1990) Production and characterization of anti-RAS p21 monoclonal antibodies. <i>Hybridoma</i> 9(6):573–587.	FACS
PTEN Mouse Monoclonal Antibody (17.A) (製品番号 MA5-12278)	Volante M, Saviozzi S, Rapa I et al. (2007) Epidermal growth factor ligand/receptor loop and downstream signaling activation pattern in completely resected nonsmall cell lung cancer. <i>Cancer</i> 110(6):1321–1328.	IHC
Retinoblastoma Mouse Monoclonal Antibody (1F8 (Rb1)) (製品番号 MA5-11387)	Canzonieri V, Barzan L, Franchin G et al. (2012) Alteration of G1/S transition regulators influences recurrences in head and neck squamous carcinomas. <i>J Cell Physiol</i> 227(1):233–238.	IHC
SMAD4 Mouse Monoclonal Antibody (SMD46 (DCS-46)) (製品番号 MA5-14300)	Abe T, Furue M, Kondow A et al (2005) Notch signaling modulates the nuclear localization of carboxy-terminal-phosphorylated smad2 and controls the competence of ectodermal cells for activin A. <i>Mech Dev</i> 122(5):671–680.	IF, WB
SRC Mouse Monoclonal Antibody (1F11) (製品番号 MA5-15924)	Doisneau-Sixou SF, Cestac P, Chouini S et al. (2003) Contrasting effects of prenyltransferase inhibitors on estrogen-dependent cell cycle progression and estrogen receptor-mediated transcriptional activity in MCF-7 cells. <i>Endocrinology</i> 144(3):989–998.	WB
TGF beta Mouse Monoclonal Antibody (2E6) (製品番号 MA1-21479)	Gresham HD, Dale DM, Potter JW et al. (2000) Negative regulation of phagocytosis in murine macrophages by the Src kinase family members, Fgr. <i>J Exp Med</i> 191(3):515–528.	Blocking assay

略語：FACS, 蛍光標式細胞分取器; ICC, 免疫細胞化学; IF, 免疫蛍光; IHC, 免疫組織化学; IP, 免疫沈降; WB, ウェスタンブロットティング

抗体検索ツールで、目的の研究に適した抗体を見つけるためには、こちらをご覧ください。

[thermofisher.com/antibodies](https://thermofisher.com/antibodies)

- Frank SA *Dynamics of cancer: incidence, inheritance and evolution*. Chap. 4 Principal of theories. Princeton (NJ): Princeton University Press; 2007. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1569/>. Accessed March 2015.
- Marte B (2006) Milestone 9 (1953) Two-hit hypothesis. It takes (at least) two to tango. *Nature Milestones Cancer*. Available: <http://www.nature.com/milestones/milecancer/full/milecancer09.html>. Accessed March 2015.
- Fox Chase Cancer Center. Alfred G. Knudson Jr. summary page. <https://www.foxchase.org/blog/2013-04-30-dr-knudson-and-the-two-hit-theory>. Accessed March 2015.
- Knudson AG Jr. (1971) Mutation and cancer: statistical study of retinoblastoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 68(4):820–823.
- National Human Genome Research Institute, Scientists complete first chapter of book of life with decoding of first human chromosome. 1999. Available: <http://www.genome.gov/10002104>. Accessed March 2015.
- Chial H Tumor suppressor (TS) genes and the two-hit hypothesis. *Nature Education*. 1(1):177. Available: <http://www.nature.com/scitable/topicpage/Tumor-Suppressor-TS-Genes-and-the-Two-887>. Accessed March 2015.
- Weinberg R *The Biology of Cancer*, 2nd ed. New York (NY): Garland Science; 2014. Available: <https://books.google.com/books?id=MzMmAgAAQB>
- Goodrich DW (2006) The retinoblastoma tumor-suppressor gene, the exception that proves the rule. *Oncogene* 25(38):5233–5243.
- The Medical Biochemistry Page (2015). Tumor suppressor genes and activities. <http://themedicalbiochemistrypage.org/tumor-suppressors.php>
- Través PG, Luque A, Hortelano S (2012) Macrophages, inflammation, and tumor suppressors: ARF, a new player in the game. *Mediators Inflamm* 2012:568783.
- Yang L, Karin M (2014) Roles of tumor suppressors in regulating tumor-associated inflammation. *Cell Death Differ* 21(11):1677–1686.
- Olivier M, Hollstein M, Hainaut P (2010) TP53 mutations in human cancers: origins, consequences, and clinical use. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2(1):a001008.
- Lowe J, Shatz M, Resnick MA et al. (2013) Modulation of immune responses by the tumor suppressor p53. *BioDiscovery* 8:2.
- Fuster JJ, Sanz-González SM, Moll UM et al. (2007) Classic and novel roles of p53: prospects for anticancer therapy. *Trends Mol Med* 13(5):192–199.
- Munoz-Fontela C, Garcia MA, Garcia-Cao I et al. (2005) Resistance to viral infection of super p53 mice. *Oncogene* 24(18):3059–3062.
- Taura M, Eguma A, Suico MA et al. (2008) p53 regulates Toll-like receptor 3 expression and function in human epithelial cell lines. *Mol Cell Biol* 28(21):6557–6567.
- Huang S, Singh RK, Xie K et al. (1994) Expression of the JE/MCP-1 gene suppresses metastatic potential in murine colon carcinoma cells. *Cancer Immunol Immunother* 39(4):231–238.
- Hussain SP, Amstad P, Raja K et al. (2000) Increased p53 mutation load in noncancerous colon tissue from ulcerative colitis: a cancer-prone chronic inflammatory disease. *Cancer Res* 60(13):3333–3337.
- Clevers H, Nusse R (2012) Wnt/ $\beta$ -catenin signaling and disease. *Cell* 149(6):1192–1205.
- Genetics Home Reference. Familial adenomatous polyposis. Available: <http://ghr.nlm.nih.gov/condition/familial-adenomatous-polyposis>. Accessed March 2015.
- Virmani AK, Rathi A, Sathyanarayana UG et al. (2001) Aberrant methylation of the adenomatous polyposis coli (APC) gene promoter 1A in breast and lung carcinomas. *Clin Cancer Res* 7(7):1998–2004.
- Polakis P (2012) Wnt signaling in cancer. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 4(5).
- Grivnikov SI, Wang K, Mucida D et al. (2012) Adenoma-linked barrier defects and microbial products drive IL-23/IL-17-mediated tumour growth. *Nature* 491(7423):254–258.
- Jabbour E, Ottmann OG, Deininger M, et al. (2014) Targeting the phosphoinositide 3-kinase pathway in hematologic malignancies. *Haematologica* 99(1):7–18.
- Song MS, Salmena L, Pandolfi PP (2012) The functions and regulation of the PTEN tumor suppressor. *Nat Rev Mol Cell Biol* 13(5):283–296.
- Gu J, Tamura M, Pankov R et al. (1999) Shc and FAK differentially regulate cell motility and directionality modulated by PTEN. *J Cell Biol* 146(2):389–403.
- Garcia AJ, Ruscetti M, Arenzana TL et al. (2014) Pten null prostate epithelium promotes localized myeloid-derived suppressor cell expansion and immune suppression during tumor initiation and progression. *Mol Cell Biol* (11):2017–2028.
- Akhurst RJ, Hata A (2012) Targeting the TGF $\beta$  signalling pathway in disease. *Nat Rev Drug Discov* 11(10):790–811.
- Reinder J, Datta P (2011) TGF- $\beta$ -dependent and -independent roles of STRAP in cancer. *Frontiers Biosci* 16:105–115.
- Derynck R, Akhurst J, Balmain A (2001) TGF- $\beta$  signaling in tumor suppression and cancer progression. *Nat Genet* 29(2):117–129.
- Pardali K, Moustakas A (2007) Actions of TGF- $\beta$  as tumor suppressor and pro-metastatic factor in human cancer. *Biochim Biophys Acta* 1775(1):21–62.
- Antony ML, Nair R, Sebastian P et al. (2010) Changes in expression, and/or mutations in TGF- $\beta$  receptors (TGF- $\beta$  RI and TGF- $\beta$  RII) and Smad 4 in human ovarian tumors. *J Cancer Res Clin Oncol* 136(3):351–361.
- de Caestecker MP, Piek E, Roberts AB (2000) Role of transforming growth factor- $\beta$  signaling in cancer. *J Natl Cancer Inst* 92(17):1388–1402.
- Xu Y, Pasche B (2007) TGF- $\beta$  signaling alterations and susceptibility to colorectal cancer. *Hum Mol Genet* 16 Spec No 1:R14–20.
- Shin KH, Park YJ, Park JG (2000) Mutational analysis of the transforming growth factor beta receptor type II gene in hereditary nonpolyposis colorectal cancer and early-onset colorectal cancer patients. *Clin Cancer Res* 6(2):536–540.
- Bierie B, Moses HL (2010) Transforming growth factor beta (TGF- $\beta$ ) and inflammation in cancer. *Cytokine Growth Factor Rev* 21(1):49–59.
- Bachman KE, Park BH (2005) Dual nature of TGF- $\beta$  signaling: tumor suppressor vs. tumor promoter. *Curr Opin Oncol* 17(1):49–54.
- Hata A, Lagna G, Massagué J (1998) Smad6 inhibits BMP/Smad1 signaling by specifically competing with the Smad4 tumor suppressor. *Genes Dev* 12(2):186–197.
- Yan X, Liu Z, Chen Y (2009) Regulation of TGF- $\beta$  signaling by Smad7. *Acta Biochim Biophys Sin* 41(4):263–272.
- Deckers M, van Dinther M, Buijs J et al. (2006) The tumor suppressor Smad4 is required for transforming growth factor beta-induced epithelial to mesenchymal transition and bone metastasis of breast cancer cells. *Cancer Res* 66(4):2202–2209.
- Genetics Home Reference. Juvenile polyposis syndrome. Genetics Home Reference. Available: <http://ghr.nlm.nih.gov/condition/juvenile-polyposis-syndrome>. Accessed March 2015.
- Xu J, Attisano L (2000) Mutations in the tumor suppressors Smad2 and Smad4 inactivate transforming growth factor beta signaling by targeting Smads to ubiquitin-proteasome pathway. *Proc Natl Acad Sci USA* 97(9):4820–4825.
- Daly AC, Vizán P, Hill CS (2010) Smad3 protein levels are modulated by Ras activity during the cell cycle to dictate transforming growth factor- $\beta$  responses. *J Biol Chem*. 285(9):6489–6497.
- Heemskerck B, Kvistborg P, Schumacher TN (2013) The cancer antigenome. *EMBO J* 32(2):194–203.
- Stratton MR, Campbell PJ, Futreal PA (2009) The cancer genome. *Nature* 458(7239):719–724.
- Vogelstein B, Papadopoulos N, Velculescu VE et al. (2013) Cancer genome landscapes. *Science* 339(6127):1546–1558.
- Bozic I, Antal T, Ohtsuki H et al. (2010) Accumulation of driver and passenger mutations during tumor progression. *Proc Natl Acad Sci USA* 107(43):18545–18550.
- Greenman C, Stephens P, Smith R et al. (2007) Patterns of somatic mutation in human cancer genomes. *Nature* 446(7132):153–158.
- Chen HZ, Tsai SY, Leone G (2009) Emerging roles of E2Fs in cancer: an exit from cell cycle control. *Nat Rev Cancer* 9(11):785–797.
- Borrello MG, Degl'Innocenti D, Pierotti MA (2008) Inflammation and cancer: the oncogene-driven connection. *Cancer Lett* 267(2):262–270.
- Mulligan LM (2014) RET revisited: expanding the oncogenic portfolio. *Nat Rev Cancer* 14(3):173–186.
- American Cancer Society. Thyroid Cancer. <http://www.cancer.org/cancer/thyroidcancer/detailedguide/thyroid-cancer-treating-targeted-therapy>
- Lu H, Ouyang W, Huang C (2006) Inflammation, a key event in cancer development. *Mol Cancer Res* 4(4):221–233.
- Shiao SL, Ganesan P, Rugo HS et al. (2011) Immune microenvironments in solid tumors: new targets for therapy. *Genes Dev* 25(24):2559–2572.

詳細はこちらをご覧ください。  
[thermofisher.com/antibodies](http://thermofisher.com/antibodies)

All rights reserved. All trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific and its subsidiaries unless otherwise specified. Hoechst is a trademark of Hoechst GmbH.

## イントロダクション

19世紀に、炎症イベントとがん進行との関連性に関する最初の知見が報告されました。これらの先の知見をサポートする疫学的、実験的、および臨床的証拠を提供する数多くの報告が劇的に増加してきています。現在、がんの発生におけるリスクファクターとしての慢性炎症の存在に関しては多大な情報が存在しますが、このプロセスを誘導する正確なメカニズムは完全には理解されていません。<sup>1</sup>

前がん期は、細胞の成長および生存に必要な経路の活性化をもたらすゲノム異常を特徴とします。微小環境には、急性損傷に対する組織反応に類似するプロセスを介して腫瘍形成表現型をさらにサポートおよび促進する免疫細胞が含まれます。慢性炎症イベントが野放しで、腫瘍微小環境に一貫して存在していると、腫瘍進行（浸潤および転移）が促進されます。<sup>2</sup> 新生物の進行は、がん細胞単独の増殖プロセスでは腫瘍の進行を引き起こすのに不十分であるとされてきましたが、それよりもむしろ、炎症細胞、成長因子、活性化間質細胞、およびDNA損傷剤が豊富な微小環境の状況における持続的な増殖に依存しています（図3.1）。<sup>3</sup>

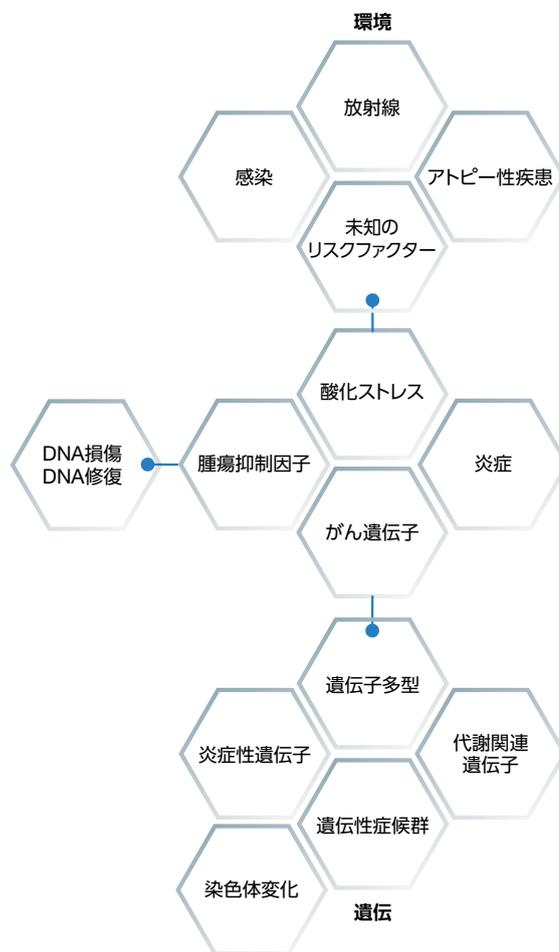
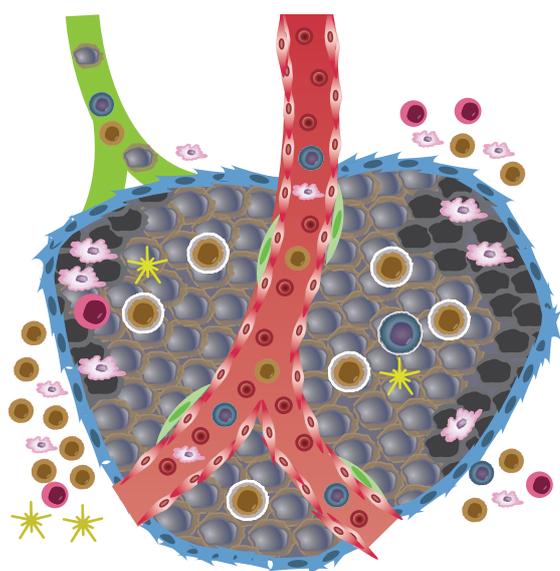


図3.1. がん進行における環境要因、遺伝的不安定性、および炎症の間の複雑な相互作用を示す簡略図

## 目次

腫瘍微小環境	3-1
参考文献	3-10

免疫細胞監視の主要な役割の一つは、組織の構造および機能を確実に維持し、病原体から宿主を保護する急性炎症反応を亢進させることです。感染や外傷による侵襲を受けている間、顆粒球が急性炎症部位に動員され、組織の損傷を限局化し、治癒を開始します。マクロファージや他の細胞タイプなどの白血球は、末梢循環から損傷部位に動員され、損傷した細胞およびデブリを除去し、炎症の解決を促進します。線維芽細胞は、細胞外マトリックス沈着に必要とされます。また、血管内皮細胞は、組織修復プロセスに必要とされる血管新生を媒介します。がん進行に関して、免疫細胞の特定の集団が抗腫瘍特性または腫瘍形成促進能を持つことが数人の科学者により明らかにされており、疾患進行は細胞サブセットと可溶性メディエーターのバランス環境に依存すると考えられています。悪性腫瘍は高頻度で慢性的で持続する病的炎症を伴うことが多くの文献で報告されています。<sup>2-4</sup>



- 赤血球細胞
- 悪性細胞
- 壊死性または低酸素性悪性細胞
- ★ 樹状細胞
- ナチュラルキラー細胞
- B細胞
- 線維芽細胞
- 内皮細胞
- T細胞
  - CD8+ 細胞傷害性
  - CD4+ (Th1およびTh2ヘルパー)
  - TH17細胞
  - Tregs
- 骨髄性細胞
  - 腫瘍関連マクロファージ (TAM)
  - 骨髄由来免疫抑制細胞 (MDSC)

腫瘍微小環境は、多様な細胞サブセットから構成されています (図3.2)。固形腫瘍におけるがん間質および免疫系に基づくバイオマーカープロファイルについて調べた最近の研究において、がん治療に対する生存および/または反応性と特定の細胞集団の割合の間には正または負の相関性がある可能性が示されました。例えば、ヒト乳がんの調査研究では、がん間質関連線維芽細胞 (CAF) は、腫瘍形成微小環境に寄与し、生存と負の相関があることが示されました。これらの細胞は、ケモカイン間質細胞由来因子1 (SDF-1、別名: CXCL12) と呼ばれる強力なリンパ球およびマクロファージ走化性因子を産生します。このケモカインのシグナルは受容体CXCR4を介して、腫瘍細胞の増殖、浸潤、および腫瘍血管新生を促進します。<sup>5-7</sup>

多種多様ながんにおいて、マクロファージの存在は血管密度の増加および低い臨床成績と相関することが数多くの研究で立証されています。腫瘍関連マクロファージ (TAM) の存在は腫瘍増殖をサポートします。さらに、腫瘍特異的CD8+ 細胞傷害性Tリンパ球 (CTL) が低レベルであるのに対し、マクロファージおよびCD4+ T細胞が高レベルであるという細胞の特徴はリスクフリーの生存を低減させることが予測されました。また、マウスモデルを用いたさまざまな研究において、乳房のTAMを減少させる操作による腫瘍微小環境の変化は、炎症を促進し、殺腫瘍活性を阻害することで、化学療法に対する反応性を増強し、腫瘍特異的CTLの機能を高める可能性が示されています。<sup>5</sup>

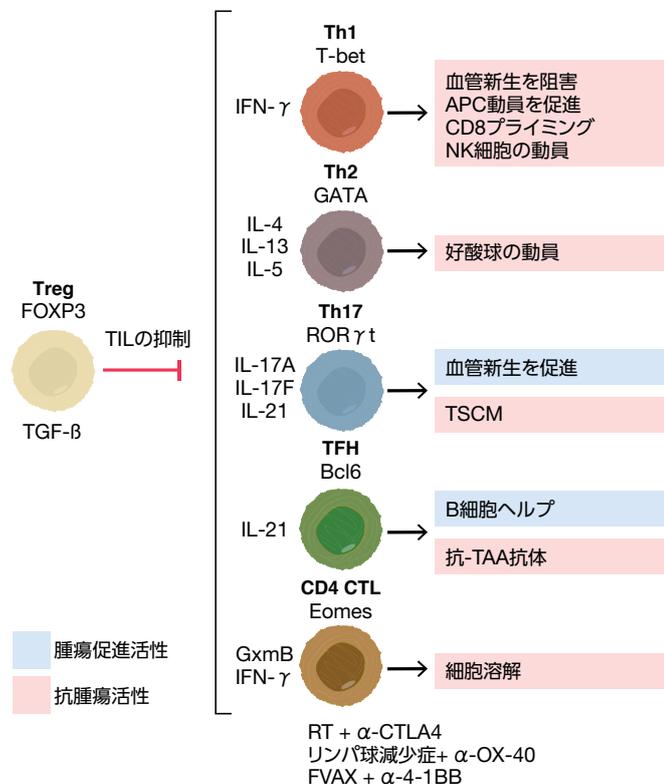
**図3.2. 炎症性腫瘍微小環境の代表的な細胞成分** 腫瘍関連マクロファージ (TAM)、骨髄由来免疫抑制細胞 (MDSC)、制御性T細胞 (Tregs)、および他の細胞などの固形腫瘍に存在する細胞は、樹状細胞などの抗原提示細胞を積極的に抑制し、細胞傷害性CD8+ T細胞 (CTL) およびナチュラルキラー細胞によって媒介される生産的な抗腫瘍反応を阻害します。

# 腫瘍微小環境

# 3

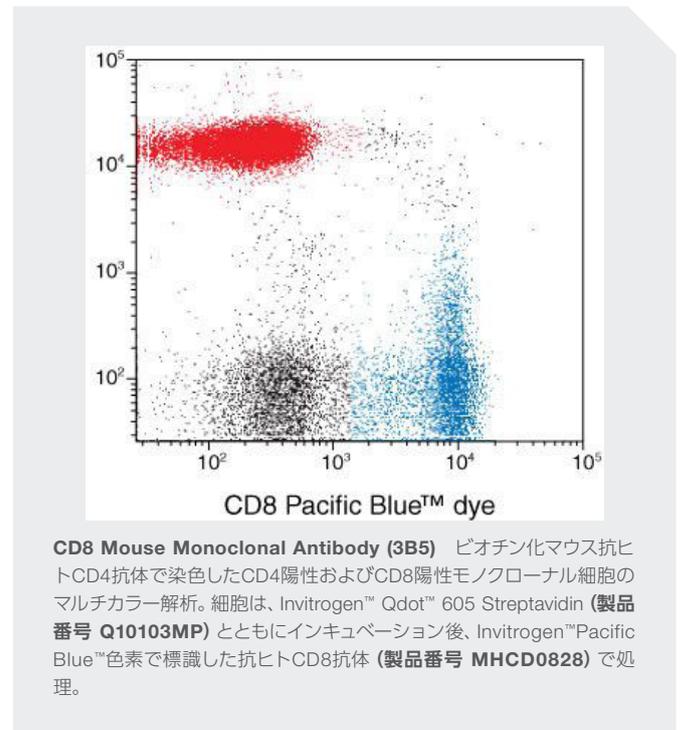
## CD4<sup>+</sup> T細胞サブセット

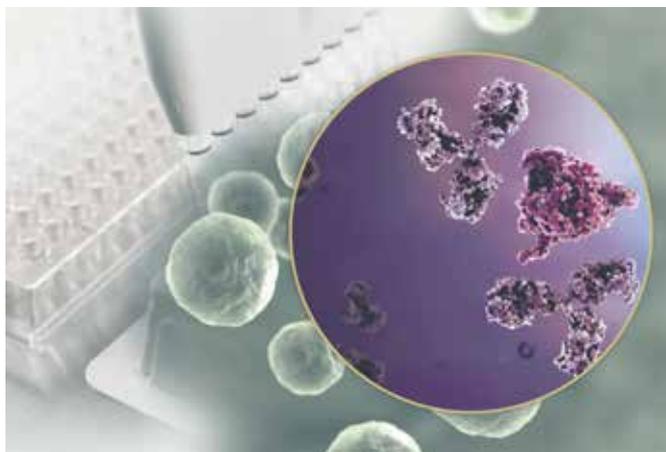
固形腫瘍の中には、いくつかのタイプのT細胞サブセットが存在します(図3.3)。Th1およびTh2サブセットは、最初に同定され、広く特性決定されました。Th1細胞系統は転写因子T-betによって制御されているのに対し、Th2細胞分化にはGATA-3が影響を及ぼします。CD4<sup>+</sup> Tヘルパー1 (Th1) 細胞は、腫瘍血管新生を抑制し、抗原提示細胞 (APC) およびNK細胞の動員を介する抗腫瘍特性を持ち、インターロイキン-2 (IL-2) やインターフェロンγ (IFN-γ) などのサイトカインを産生することによってCD8<sup>+</sup>細胞の機能をサポートします。一般的に、Th2細胞は殺腫瘍性好酸球を動員するIL-4およびIL-13—サイトカインを産生することによって抗腫瘍反応に寄与します。逆に、Th2は、IL-5の分泌を介して腫瘍進行を促進するとされます。Th17細胞は、抗菌性組織炎症に関与するIL-17、IL-21およびIL-22を産生し、多くのがんにおける腫瘍の成長および血管新生をサポートすると一般的に考えられています。FOXP3<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup> Tregは、FOXP3転写因子を発現し、免疫学的恒常性および自己寛容の維持に重要とされます。



**図3.3. T細胞サブセット** T細胞は、存在するサイトカインに依存して、さまざまなT細胞サブセットに分化します。種々のT細胞サブセットが種々の転写因子およびサイトカインのプロフィールを発現します。

制御性T細胞 (Treg) は、他のT細胞サブセットを阻害し、腫瘍進行に寛大な関与をしていると考えられます。FOXP3を介するTregへの分化誘導は、腫瘍微小環境内にTregが多数存在する潜在的な要因として示唆されています。Tregは、他の腫瘍がリンパ球に浸潤する機能を抑制しますが、通常、腫瘍進行に寛容な環境を供給していると説明されます。Tregは、IL-10、トランスフォーミング増殖因子β (TGF-β) の産生、および細胞傷害性Tリンパ球抗原4 (CTLA4) の関与を介して免疫反応を抑制することによって、腫瘍細胞を直接殺傷する可能性のあるCD8<sup>+</sup>T細胞 (細胞傷害性Tリンパ球 [CTL]とも呼ばれる) などの殺腫瘍細胞による抗原認識および腫瘍細胞のクリアランスを抑制します。<sup>8,9</sup>





## イムノアッセイを使用するTh1/Th2サイトカイン痕跡の検出

高品質の一次抗体および二次抗体の幅広いラインアップに加えて、当社では、サイトカインおよび他の目的の可溶性または細胞内タンパク質を検出するための広範なELISAキットを提供しています。感度、精度、および一貫性のある性能を確実にするために、当社のELISAキットは、感度、特異性、精度、ロット間の一貫性、回収率、および平行性を含む業界基準に適合することが試験によって保証されています。詳細は、ELISA validation and quality testing (ELISAの検証および品質検査) をご覧ください。

表3.1. 代表的なTh1/Th2サイトカインを検出するためのELISAキット\*

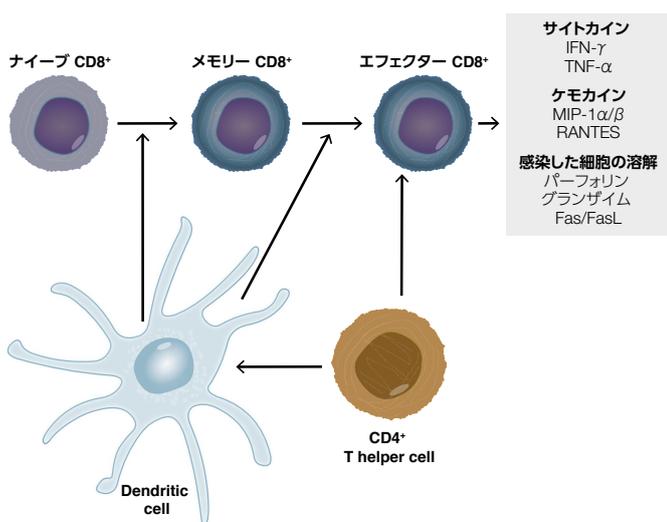
Th1サイトカイン (製品番号)	代表的な文献
Interferon- $\gamma$ IFN- $\gamma$ ELISA Kit, Human (製品番号 KAC1231) IFN- $\gamma$ ELISA Kit, Human (製品番号 KHC4021)	Kemper C, Chan AC, Green JM et al. (2003) Activation of human CD4+ cells with CD3 and CD46 induces a T regulatory cell 1 phenotype. <i>Nature</i> 421(6921):388–392.
Interleukin-12 IL-2 ELISA Kit, Human (製品番号 KHC0121) IL-12 (p40) ELISA Kit, Human (製品番号 KAC1561) IL-12 (p70) ELISA Kit, Human (製品番号 KAC1568)	Matsuoka T, Tabata H, Matsushita S (2001) Monocytes are differentially activated through HLA-DR, -DQ, and -DP molecules via mitogen-activated protein kinases. <i>J Immunol</i> 166(4):2202–2208.
Th2 cytokines (Cat. Nos.)	
Interleukin-4 IL-4 ELISA Kit, Human (製品番号 KAC1281) IL-4 ELISA Kit, Human (製品番号 KHC0041)	Sonmez M, Sonmez B, Eren N et al. (2004) Effects of interferon-alpha-2a on Th3 cytokine response in multiple myeloma patients. <i>Tumori</i> 90(4):3879–89.
Interleukin-5 IL-5 ELISA Kit, Human (製品番号 KHC0051) IL-5 ELISA Kit, Human (製品番号 EHIL5)	Liu K, Li Y, Prabhu V et al. (2001) Augmentation in expression of activation-induced genes differentiates memory from naïve CD4+ T cells and is a molecular mechanism for enhanced cellular response of memory CD4+ T cells. <i>J Immunol</i> 166(12):7335–7344.
Interleukin-13 IL-13 ELISA Kit, Human (製品番号 KHC0131) IL-13 Ultrasensitive ELISA Kit, Human (製品番号 KHC0134)	Baramki D, Koester J, Anderson AJ et al. (2002) Modulation of T cell function by (R)- and (S)-isomers of albuterol: anti-inflammatory influences of (R)- isomers are negated in presence of the (S)-isomer. <i>J Allergy Clin Immunol</i> 109(3):449–454.

\*これらおよび他のサイトカインを検出するためのさらなるヒト用のキットならびに複数のさまざまな生物種由来のタンパク質を検出するためのキットについてはこちらから検索してください。 [thermofisher.com/findelisa](http://thermofisher.com/findelisa)

当社のヒトおよびマウスサイトカインのマルチプレックス解析用Luminexキットはこちらをご覧ください。 [thermofisher.com/luminex](http://thermofisher.com/luminex)

## 細胞傷害性Tリンパ球

T細胞の腫瘍微小環境への漏出、T細胞の複製、および腫瘍内におけるクローン性増殖は、CD8<sup>+</sup>T細胞の殺腫瘍活性に必要と考えられます。抗原特異的CTLは、標的細胞におけるアポトーシスを誘導するパーフォリン、グランザイム、およびFasリガンド (FasL) などのタンパク質を産生します (図3.4)。腫瘍細胞の免疫回避には複数の機構が寄与しています。抗腫瘍免疫反応を制限する要因の例としては、これらに限定されませんが、がん細胞の近傍からのエフェクターT細胞の排除、T細胞数の減少、およびT細胞のがん細胞を認識し排除する能力の低下が挙げられます。<sup>10</sup> 例えば、特定の腫瘍関連マクロファージ (TAM) は、一つの理由としてエフェクターT細胞の機能を抑制する抑制性サイトカインのIL-10を分泌することから、腫瘍原性であると考えられています。



**図3.4. 活性化エフェクターCD8<sup>+</sup>T細胞は細胞溶解性顆粒、グランザイム、およびパーフォリンを産生** 細胞間接触している間、CD8<sup>+</sup> CTLは、ヒト白血球抗原1 (HLA-1) 分子HLA-1 (マウスホモログ; 主要組織適合性複合体1 (MHCクラスII)) において同種抗原を発現する細胞を直接殺傷する細胞溶解性顆粒を放出します。

T細胞反応の抑制は、さまざまな抑制性細胞表面分子の発現にも関係します。がん細胞、単球、マクロファージ、および樹状細胞は、活性化T細胞によって発現されるPD-1に関するプログラム細胞死タンパク質1リガンド1 (PD-1L) を発現します。この相互作用は、T細胞増殖、サイトカイン産生、およびCD8<sup>+</sup> T細胞における細胞溶解活性を抑制します。

トリプトファン代謝の調節は、腫瘍が免疫破壊を回避するもう一つの方法です。この必須アミノ酸は、腫瘍細胞、APC、および骨髄系由来サプレッサー細胞 (MDSC) において発現する酵素であるインドールアミン-2,3-ジオキシゲナーゼ (IDO) を必要とするプロセスを介して異化されます。キヌレニンなどのトリプトファン分解産物およびトリプトファンの枯渇によって生じたこの免疫抑制的環境は、腫瘍浸潤リンパ球にアネルギーおよびアポトーシスを誘導します。また、IDOはナイーブT細胞のTregへの分化を促進します。<sup>11,12</sup>

腫瘍微小環境内では、特定のケモカインの活性もT細胞および他の細胞タイプの蓄積に影響を及ぼします。例えば、腫瘍微小環境内でケモカインは翻訳後修飾されます。一例として、CCL2への窒素の翻訳後付加について説明します。腫瘍近傍は活性酸素種および活性窒素種が豊富で、CCL2の窒素 (N-CCL2) は腫瘍間質におけるT細胞の隔離に寄与しますが、腫瘍微小環境内の単球の誘引および集積を促進します。<sup>13</sup>

脈管構造はエフェクターT細胞のアクセスも排除していると考えられますが、Tregおよび骨髄性細胞の通過を可能とします。このことは、内皮Fasリガンド (FasL) の発現レベルが上昇した腫瘍に含まれるCD8<sup>+</sup> T細胞はわずかですが、Tregは豊富であり、これはc-FLIPの高発現によりFasLを介するアポトーシスに対して保護されているという観察によって支持されます。これらおよび他の免疫回避機構には、免疫療法戦略に対する重要な限界が存在しており、そうでなければ腫瘍特異的T細胞活性が上昇するはずと考えられます。<sup>12</sup>

# 腫瘍微小環境

## マクロファージおよびがん関連炎症

腫瘍抗原特異的CTLは、抑制性マクロファージサブセットの存在を含む多種多様な機構によって抑制されます(図3.5)。マクロファージサブセットは、腫瘍微小環境内の大部分を占め、多くの異なる機構を介して組織損傷、慢性炎症、および腫瘍進行に寄与します。例えば、骨髄由来免疫抑制細胞(MDSC)は、リンパ器官に動員されると、活性酸素種(ROS)の産生を上方制御します。STAT3を媒介する機構を介して、MDSCはアルギナーゼ1(ARG1)活性を上昇させ、一酸化窒素(NO)レベルを低下させます。CD8<sup>+</sup>T細胞に対する抗原を提示するプロセスにおいて、特定のROS、特にペルオキシナイトライトは、MDSCによって産生し、T細胞によって発現されるTCRおよびCD8分子のニトロシル化を誘導します。これらのプロセスは同種抗原に反応したT細胞においてアネルギーを誘導します。上方制御されるSTAT1活性は腫瘍部位に遊走するMDSCで検出されており、腫瘍部位において高レベルの誘導型一酸化窒素合成酵素(iNOS)、NO、およびARG1と低レベルのROSを産生します。この状況において、抗原非特異的にCD8<sup>+</sup>T細胞機能のMDSC阻害が生じます。<sup>14</sup>

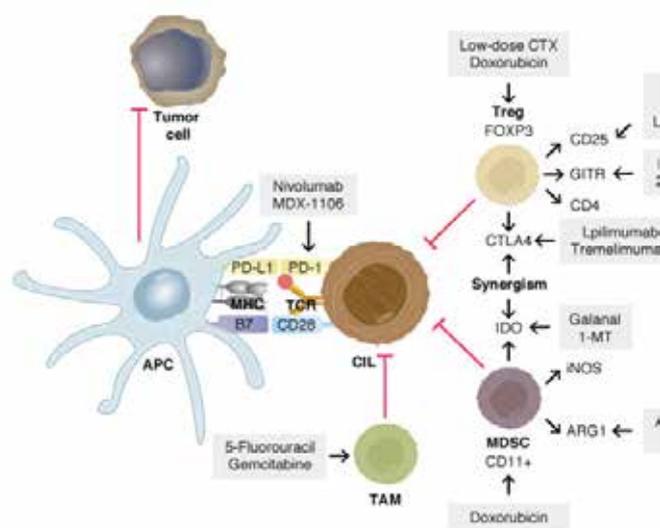


図3.5. CTLの負の制御 TAMおよびMDSCがCTLに対し直接的な抑制効果を発揮するのに加えて、MDSCはCD8<sup>+</sup>T細胞の抗腫瘍活性を負に制御するTregの産生も誘導します。

STAT経路およびNF-κB経路を介する転写制御は、MDSCの免疫抑制を仲介します。いったん活性化されると、MDSCはアルギナーゼ1、誘導型NOS (NOS2)、IDO、NADPHオキシダーゼ、ならびに細胞傷害性Tリンパ球、DC、およびNK細胞を抑制する免疫抑制性サイトカインを産生し、Tregの増加をもたらします。

腫瘍微小環境内では、MDSCが分化し、腫瘍関連マクロファージ(TAM)となります。TAMは、アルギナーゼ1またはiNOSを、同時にではありませんが上方制御します。TAMは、インターロイキン-1β/IL-1β、IL-6、IL-10およびトランスフォーミング増殖因子-β(TGF-β)などの抑制性サイトカインの産生を介する非特異的なT細胞の抑制に寄与します。M1 TAMサブセットは腫瘍細胞傷害性に関連するのに対し、M2サブセットは腫瘍進行に関係します(図3.6)。<sup>15,16</sup>

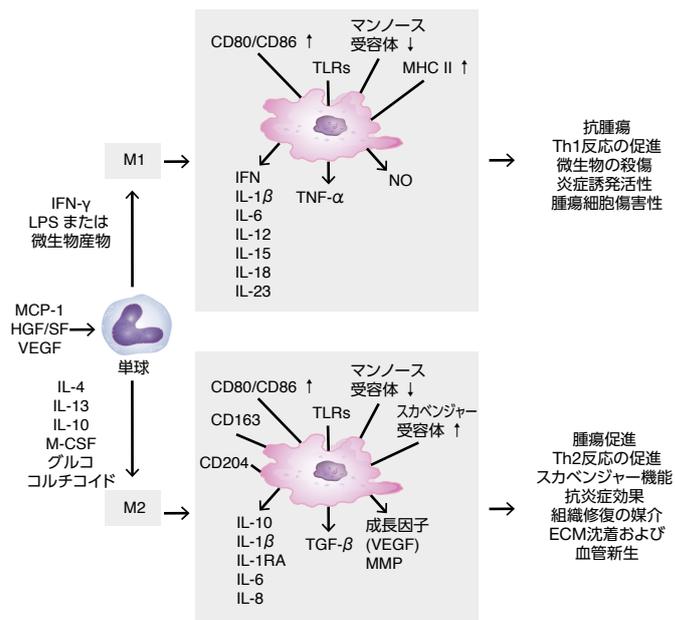


図3.6. 骨髄系由来サプレッサー細胞サブセット

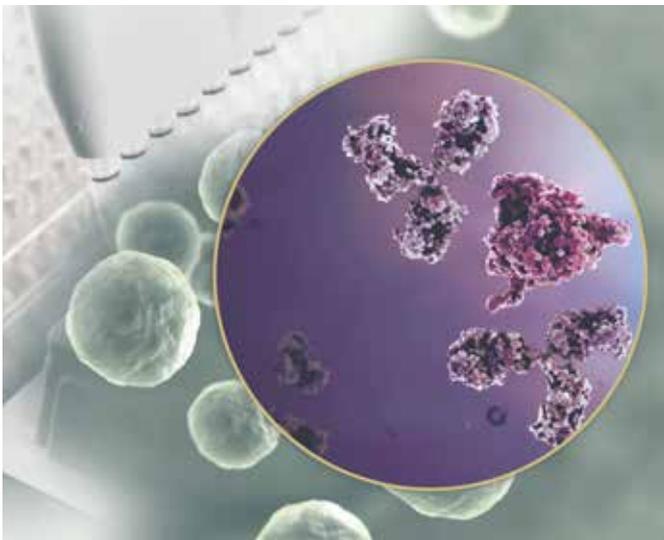


抗体は、免疫蛍光イメージング、免疫組織化学、ウェスタンブロットティング、ELISA、フローサイトメトリー、および他のアプリケーションを含む複数のアプリケーションで使用されています。当社の抗体が優れた実験結果の達成を可能とすることは世界中の多くの文献で実証されています。抗体検索ツールで、目的の研究に適した抗体を見つけるためにはこちらをご覧ください。  
[thermofisher.com/antibodies](https://thermofisher.com/antibodies)

悪性細胞および非形質転換細胞からなるがん組織は、複雑な腫瘍微小環境を構成します。腫瘍環境には、腫瘍原性と抗腫瘍性の両方の特性を持つT細胞および骨髄サブセットの他、他の数種の白血球、骨髄由来炎症細胞、血管およびリンパ管、線維芽細胞、ならびに脂肪細胞が含まれます。<sup>12,17</sup> さまざまな細胞タイプ、発現される代表的マーカー、およびいくつかの既知の機能に関するアウトラインを表3.2に示します。

**表3.2.腫瘍微小環境の白血球に関連する共通の特徴**

マーカー/細胞タイプ	共通の機能	抗体	当社の抗体が引用されている代表的な文献
CD8 $\alpha$	細胞傷害性Tリンパ球によって発現	CD8 Antibody (SP16) (製品番号 MA5-14548)	Kim ST, Jeong H, Woo OH et al. (2013) Tumor-infiltrating lymphocytes, tumor characteristics, and recurrence in patients with early breast cancer. <i>Am J Clin Oncol</i> 36(3):224–231.
CD4 <sup>+</sup>	ヘルパーT細胞およびTregを含む複数のT細胞サブセットによって発現	CD4 Antibody (4B12) (製品番号 MA5-12259)	Chen CH, Yeh YC, Wu GJ et al. (2010) Tracking the rejection and survival of mouse ovarian iso- and allograft in vivo with bioluminescent imaging. <i>Reproduction</i> 140(1):105–112.
CD25	複数のT細胞サブセットによって発現	IL-2R alpha/CD25 Antibody (2R12) (製品番号 M10AR)	de Toter D, Tazzari PL, DiSanto JP et al. (1992) Heterogeneous immunophenotype of granular lymphocyte expansions: differential expression of the CD8 alpha and CD8 beta chains. <i>Blood</i> 80(7):1765–1773.
FOXP3	CD4 <sup>+</sup> 、CD25 <sup>+</sup> Tregを含む複数の細胞タイプによって発現する転写因子	FOXP3 Antibody, FITC Conjugate (3G3) (製品番号 MA1-41628)	Silverstein AM, Galigniana MD, Chen MS et al. (1997) Protein phosphatase 5 is a major component of glucocorticoid receptor hsp90 complexes with properties of an FK506-binding immunophilin. <i>J Biol Chem</i> 272(26):16224–16230.
CD20	B細胞マーカー	CD20 Antibody (L26) (製品番号 MA5-13141)	Aki H, Tuzuner N, Ongoren S et al. (2004) T-cell-rich B-cell lymphoma: a clinicopathologic study of 21 cases and comparison with 43 cases of diffuse large B-cell lymphoma. <i>Leuk Res</i> 28(3):229–236.
CD14	ヒトマクロファージ/単球	CD14 Antibody (7) (製品番号 MA5-11394)	Carbonnelle-Puscian A, Copie-Bergman C, Baia M et al. (2009) The novel immunosuppressive enzyme IL411 is expressed by neoplastic cells of several B-cell lymphomas and tumor-associated macrophages. <i>Leukemia</i> 23(5):952–960.
CD11c	樹状細胞	Integrin alpha X/CD11c Antibody (N418) (製品番号 MA11C5)	Lloyd CM, Philips AR, Cooper GJ et al. (2008). Three-colour fluorescence immunohistochemistry reveals the diversity of cells staining for macrophage markers in murine spleen and liver. <i>J Immunol Methods</i> 334(1–2):70–81.



サイトカインは、腫瘍微小環境における細胞間コミュニケーションを媒介する低分子量タンパク質です。マクロファージおよびリンパ球などの免疫細胞、ならびに線維芽細胞および内皮細胞などの間質細胞は、細胞分化、成長、生存、遊走、および免疫細胞活性化に関するサイトカインを放出します。サイトカインは、抗腫瘍活性から細胞形質転換および悪性腫瘍の誘導に至るまで、がん細胞に幅広い影響を与えます。サイトカイン活性の最終結果は、炎症誘発性および抗炎症性のサイトカインのバランス、サイトカイン受容体の発現、ならびに腫瘍微小環境の細胞構成に依存します。<sup>18</sup> 腫瘍関連炎症の拡大に一般的に関与するサイトカイン、ケモカイン、および成長因子の重要な特徴を表3.3に示します。

表3.3.腫瘍微小環境の白血球に関連するタンパク質

由来	タンパク質	抗体製品番号	ELISAキット番号	がんに対する炎症に関連する機能
TAM	TGF- $\beta$ 1	MA1-116	KAC1688	免疫寛容環境を形成することによる発がんの後期における腫瘍成長の促進
MDSC, TAM	IL-6	700480	KAC1261	腫瘍成長の促進
MDSC, TAM	IL-8	710256	KAC1301	増殖の促進、遊走、および血管新生
MDSC, TAM, Tregs	IL-10	710170	KAC1321	抗炎症 Th1サイトカインおよびマクロファージ上の共刺激分子の発現の下方制御
Th17細胞	IL-17	MA1069	EHIL17A	血管新生および予後不良に関連
Th17細胞	IL-21	710141	EHIL21	腫瘍の発達に関連
Th17細胞	IL-22	701031	EHIL22	Th17細胞の分化の促進
マクロファージ、単球、好中球、T細胞、NK細胞	TNF- $\alpha$	710288	KHC3011	DNA損傷の誘導およびDNA修復の阻害 腫瘍成長の促進 血管新生因子の誘導
マクロファージ、T細胞、肥満細胞、NK細胞、内皮細胞、および線維芽細胞	GM-CSF	701136	KHC2011	マクロファージの活性化
内皮細胞、線維芽細胞	M-CSF	PA1-20182	EHCSF1	マクロファージの産生、分化、および機能の調節

# 腫瘍微小環境

## 腫瘍成長を抑制する免疫調節剤

過去10年の間、研究者たちは、免疫系の抗腫瘍活性の利用を目的とした数多くの治療アプローチを考案してきました。例えば、さまざまながんに対する治療用および予防用ワクチンの成功の可能性について幅広く試験されています。IL-2などのサイトカインはメラノーマおよび他のがんに対する免疫反応を増強するために処方されており、自己養子CD8<sup>+</sup>T細胞療法について評価するための複数の臨床試験が進行中で、分子標的T細胞療法を採用する実現可能性について評価することは研究の活動的な領域となっています。<sup>19-21</sup>

T細胞は幅広い共刺激受容体を発現します(図3.7)。T細胞活性化を決定する特異的な制御機構について深く理解することが、免疫抑制を阻害し、T細胞を介する抗腫瘍活性を増強する免疫療法用抗体の近年の開発につながっています。2つの新規薬剤ががん治療に新しいパラダイムをもたらしました。近年、チェックポイントタンパクの質CTLA-4およびPD-1の阻害剤がメラノーマおよび非小細胞肺がん(NSCLC)の治療薬としてFDAに承認されました(表3.4)。<sup>22-24</sup>

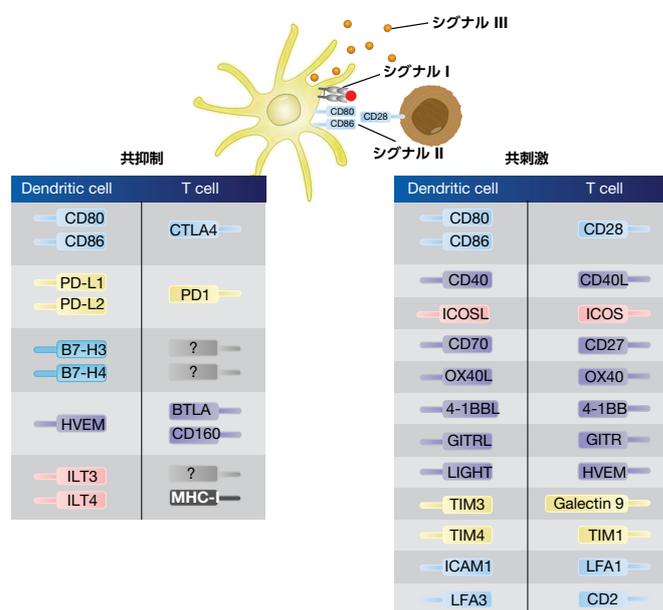


図3.7. T細胞の共刺激分子および共抑制分子ならびにそれらに対応するリガンド

表3.4.がん治療薬としてFDAに承認されたチェックポイント阻害剤

薬剤	ターゲット	作用機序	FDA承認(年)
イピリムマブ	CTLA-4	T細胞の活性化後、CTLA-4は細胞膜に局在化し、B7との結合においてCD28と競合し、T細胞受容体シグナル伝達を阻害します。イピリムマブは、CTLA-4シグナル伝達を阻害するモノクローナル抗体です。	2011; 切除不能または転移性のメラノーマの治療
ペンブロリズマブ	PD-1	PD-1は、増殖、サイトカイン産生、細胞溶解活性、および細胞生存を含む活性化T細胞の反応を阻害します。	2014; イピリムマブ治療後の切除不能または転移性のメラノーマの治療
ニボルマブ	PD-1		2014; イピリムマブ治療後に病勢進行した転移性メラノーマの治療  2015; プラチナ製剤ベースの化学療法での治療中または治療後に病勢進行した転移性NSCLCの治療

1. Balkwill F, Mantovani A (2001) Inflammation and cancer: back to Virchow? *Lancet* 357(9255):539–545.
2. Medzhitov R (2008) Origin and physiological roles of inflammation. *Nature* 454(7203):428–435.
3. Coussens LM, Werb Z (2002) Inflammation and cancer. *Nature* 420(6917):860–867.
4. Shiao SL, Ganesan AP, Rugo HS et al. (2011) Immune microenvironments in solid tumors: new targets for therapy. *Genes Dev* 25(24):2559–2572.
5. Gajewski TF, Schreiber H, Fu YX (2013) Innate and adaptive immune cells in the tumor microenvironment. *Nature Immunol* 10:1014–1022.
6. DeNardo DG, Brennan DJ, Rexhepaj E et al. (2011) Leukocyte complexity predicts breast cancer survival and functionally regulates response to chemotherapy. *Cancer Discov* 1(1):54–67.
7. Yang L, Karin M (2014) Roles of tumor suppressors in regulating tumor-associated inflammation. *Cell Death Differ* 21(11):1677–1686.
8. Kim HJ, Cantor H (2014) CD4 T-Cell Subsets and Tumor Immunity: The Helpful and the not-so-helpful. *Cancer Immunol Res* 2(2):91–98.
9. Anastakis D, Petanidis S, Kalyvas S et al. (2015) Mechanisms and applications of interleukins in cancer immunotherapy. *Int J Mol Sci* 16(1):1691–1710.
10. Spranger S, Koblish HK, Horton B et al. (2014) Mechanism of tumor rejection with doublets of CTLA-4, PD-1/PD-L1, or IDO blockade involves restored IL-2 production and proliferation of CD8(+) T cells directly within the tumor microenvironment. *Immuno Ther Cancer* 2:3.
11. Platten M, Wick W, Van den Eynde BJ (2012) Tryptophan catabolism in cancer: beyond IDO and tryptophan depletion. *Cancer Res* 72(21):5435–5440.
12. Joyce JA, Fearon DT (2015) T cell exclusion, immune privilege, and the tumor microenvironment. *Science* 348(6230): 74–80.
13. Molon B, Ugel S, Del Pozzo F et al. (2011) Chemokine nitration prevents intratumoral infiltration of antigen-specific T cell. *JEM* 208(10):1949–62.
14. Gabrilovich DI, Nagaraj S (2009) Myeloid-derived suppressor cells as regulators of the immune system. *Nat Rev Immunol* 9(3):162–174.
15. Sharda DR, Yu S, Ray M et al. (2011) Regulation of macrophage arginase expression and tumor growth by the Ron receptor tyrosine kinase. *J Immunol* 187(5):2181–2192.
16. Allavena P, Sica A, Solinas G, et al. (2008) The inflammatory micro-environment in tumor progression: the role of the tumor-associated macrophages. *Crit Rev Oncol Hematol* 66(1):1–9.
17. Balkwill FR, Capasso M, Hagemann T (2012) The tumor microenvironment. *Cell Science* 125(Pt 23):5591–5596.
18. Landskron G, De la Fuente M, Thuwajit P et al. (2014) Chronic inflammation and cytokines in the tumor microenvironment. *J Immunol Res* 2014:149185.
19. Johns Hopkins Medicine. [http://www.hopkinsmedicine.org/kimmel\\_cancer\\_center/centers/breast\\_cancer\\_program/breast\\_cancer\\_vaccine.html](http://www.hopkinsmedicine.org/kimmel_cancer_center/centers/breast_cancer_program/breast_cancer_vaccine.html)
20. Cancer Research Institute. (2015) Timeline of progress. <http://www.cancerresearch.org/our-strategy-impact/timeline-of-progress/timeline-detail>
21. The Scientist. (2015) The CAR T-cell race. <http://www.the-scientist.com/?articles.view/articleNo/42462/title/The-CAR-T-Cell-Race/>
22. Zamarin D, Wolchok JD (2014) Potentiation of immunomodulatory antibody therapy with oncolytic viruses for treatment of cancer. *Mol Ther Oncolytics* 1:14004.
23. National Cancer Institute. FDA Approval for Ipilimumab. <http://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/drugs/fda-ipilimumab>. Accessed March 2015.
24. FDA News Release. FDA approves Keytruda for advanced non-small cell lung cancer. <http://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm465444.htm>. Accessed October 2015.

詳細はこちらをご覧ください。

[thermofisher.com/antibodies](http://thermofisher.com/antibodies)

All rights reserved. All trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific and its subsidiaries unless otherwise specified. Hoechst is a trademark of Hoechst GmbH. Luminex is a trademark of Luminex Corporation.

# シグナル伝達および腫瘍関連炎症

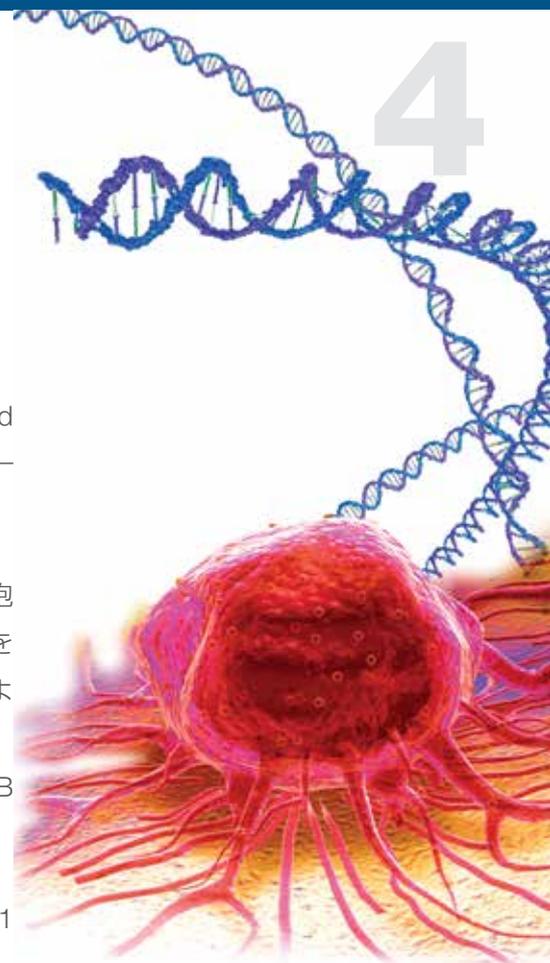
## イントロダクション

Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells (NF- $\kappa$ B)、hypoxia-inducible factor-1 alpha (HIF-1 $\alpha$ )、およびsignal transducer and activator of transcription (STAT) の3つの転写因子—腫瘍進行を促進する因子—は、炎症反応経路における重要なモジュレーターとして機能します。<sup>1</sup>

NF- $\kappa$ Bは、炎症反応急性期の調節因子で、効果的な免疫防御および形質転換細胞の排除に必要とされます。更に炎症メディエーターとしてのサイトカインの発現を増加させます。これらのサイトカインには、IL-1、IL-6、TNF- $\alpha$ 、リンホトキシン、およびIFN- $\alpha$ が含まれます。さらに、IL-1およびTNF- $\alpha$ はNF- $\kappa$ Bの活性化因子であり、フィードバックループを形成します。一方で、多くのさまざまなタイプのがんがNF- $\kappa$ Bを恒常的に発現し、腫瘍の形成および進行に関わりをもちます。<sup>2</sup>

HIF-1 $\alpha$ は、低酸素に対する細胞応答に関与します。酸素レベルが低下すると、HIF-1 $\alpha$ は、血管新生および赤血球生成などのプロセスを制御する遺伝子の転写を誘導します。炎症が生じている間、その周囲の免疫細胞において酸素濃度が低下します。この酸素濃度低下は、HIF-1 $\alpha$ の発現をより長く持続させるのに寄与します。多くのサイトカイン、例えばIL-1 $\beta$ は、HIF-1 $\alpha$ の転写を増加させます。サイトカインの使用は、HIF-1 $\alpha$ プロモーターに結合することが示されているNF- $\kappa$ Bによって媒介されます。<sup>3</sup>

タンパク質のSTATファミリーは、炎症が生じている間、炎症誘導因子のタイプによって複数の機能を果たします。誘導因子のタイプによって、どのサイトカインがトリガーとなるかが決定されます。それらのサイトカインは、STATタンパク質を活性化し、炎症を増加または減少させます。例えば、身体がウイルス感染に遭遇すると、さまざまなIFNがトリガーとなり、抗ウイルス作用を示すSTAT1およびSTAT2を活性化し、炎症を低下させます。それに対し、STAT6はTヘルパー細胞の分化を誘導します。分化タイプに依存して、Tヘルパー細胞は、アレルギー性炎症に正の影響を与え、自己免疫に負の影響を与えます。<sup>4</sup>



## 目次

シグナル伝達および腫瘍関連炎症	4-1
参考文献	4-9

# シグナル伝達および腫瘍関連炎症

## NF- $\kappa$ Bシグナル伝達経路の概要

NF- $\kappa$ Bは、活性化B細胞において免疫グロブリンの軽鎖エンハンサーに結合する転写因子として発見されました。NF- $\kappa$ Bファミリーメンバーは、RelA/p65、RelB、c-Rel、NF- $\kappa$ B1、およびNF- $\kappa$ B2の5つが同定されています。NF- $\kappa$ B1およびNF- $\kappa$ B2 (p105およびp100) は、これらの活性型p50およびp52へのタンパク質プロセッシングが必要とされます。NF- $\kappa$ Bタンパク質は、ホモ二量体またはヘテロ二量体を形成し、それらは通常、抑制性タンパク質のI $\kappa$ Bファミリーメンバーに結合します。p50およびp52は転写活性が欠失しており、これらのタンパク質のホモ二量体は翻訳抑制因子として作用するのに対し、p65やRelBなどのファミリーメンバーとヘテロ二量体化すると、活性化転写因子を形成します。<sup>5</sup>

がんにおけるNF- $\kappa$ Bのシグナル伝達タンパク質としての潜在的な役割は、RELA遺伝子 (p65サブユニットをコード) がクローニングされ、ウイルス性v-RELがん遺伝子との相同性が認識された後に明らかとなりました。多くの固形腫瘍およびリンパ性腫瘍においてNF- $\kappa$ Bは活性化型ですが、NF- $\kappa$ Bカスケード内のタンパク質をコードする遺伝子の大部分は変異していません。ほとんどの場合、がん細胞において、上流のシグナル伝達分子における機能獲得型変異や腫瘍微小環境における成長因子およびサイトカインの分泌の増加に対する反応を経ても、NF- $\kappa$ Bは活性化しています。<sup>6</sup>



**Phospho-NF $\kappa$ B-p65 [pSer276] Rabbit Polyclonal Antibody**  
抗NF $\kappa$ B-p65 [pSer276] 抗体 (製品番号PA5-37718) を使用した、メタノール固定HeLa細胞の免疫蛍光染色。

正常細胞や刺激性シグナルの非存在下では、NF- $\kappa$ Bタンパク質 (およびプロセッシングされていないp105およびp100) は、通常、抑制性タンパク質のI $\kappa$ Bファミリーメンバーに結合し、細胞質に局在化します。NF- $\kappa$ B活性化につながる要素は、細胞タイプに依存しますが (図4.1)、可能性のある活性化因子として、パターン認識受容体 (Toll様受容体およびNod様受容体)、炎症誘発性サイトカイン (TNF- $\alpha$ およびIL-1) のための受容体、ならびに抗原受容体が挙げられます。NF- $\kappa$ Bの活性化を導くI $\kappa$ Bキナーゼ (IKK) は、2つの触媒サブユニットIKK $\alpha$ とIKK $\beta$ 、および調節サブユニットIKK $\gamma$  (別名 NEMO) から構成されます。IKKは、I $\kappa$ Bをリン酸化し、ユビキチン化および分解を導きます。NF- $\kappa$ Bは、抑制性IKKから放出されると、核へ移行し、そこでリン酸化およびアセチル化され、遺伝子転写を活性化します (図4.1)。<sup>7</sup>

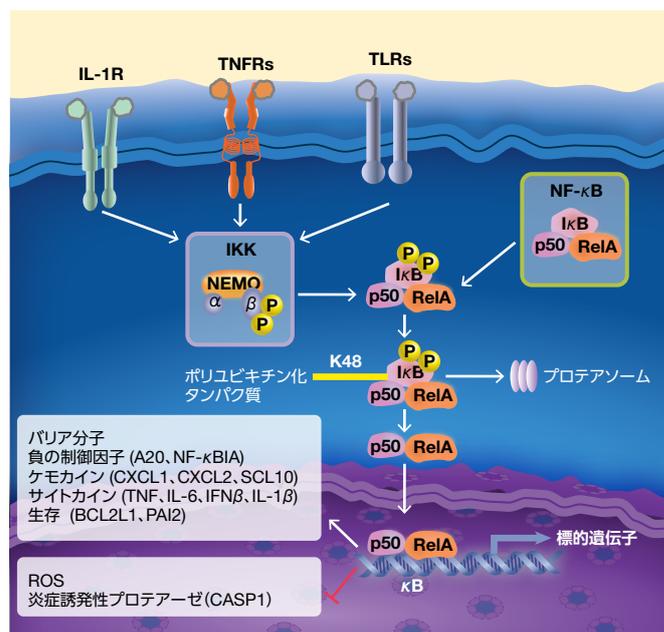


図4.1. NF- $\kappa$ Bの活性化およびシグナル伝達

# シグナル伝達および腫瘍関連炎症

## NF- $\kappa$ B調節プロセス

がんにおいて、NF- $\kappa$ Bは2つの役割を担っています。急性炎症反応におけるこの転写因子の完全活性化は、がん細胞に向けられた細胞傷害性免疫細胞の活性増加に関連します。しかしながら、NF- $\kappa$ Bは、多くのがんの形態において継続的に活性化状態にあり、大量の腫瘍形成反応を誘発します。NF- $\kappa$ B活性化は、アポトーシスを阻害する遺伝子や、細胞生存を促進する遺伝子発現を誘導し、腫瘍微小環境内の酸化ストレスに抵抗します。NF- $\kappa$ Bは、TNF- $\alpha$ 、IL-1、IL-6、およびIL-8などの多くのサイトカインの発現にも関与します(図4.2)。<sup>5</sup> 腫瘍形成に関与する多くの他の細胞プロセスは、NF- $\kappa$ Bによっても制御されています。これらの細胞プロセスには、細胞増殖、細胞接着、上皮間葉転換、細胞浸潤、転移、および血管新生、ならびに他のプロセスが含まれます(図4.2)。NF- $\kappa$ Bは、がん幹細胞において活性化されることも示されており、がん細胞の少数の亜集団が腫瘍成長を媒介し、化学療法に対する耐性を持つと考えられています。<sup>6</sup>

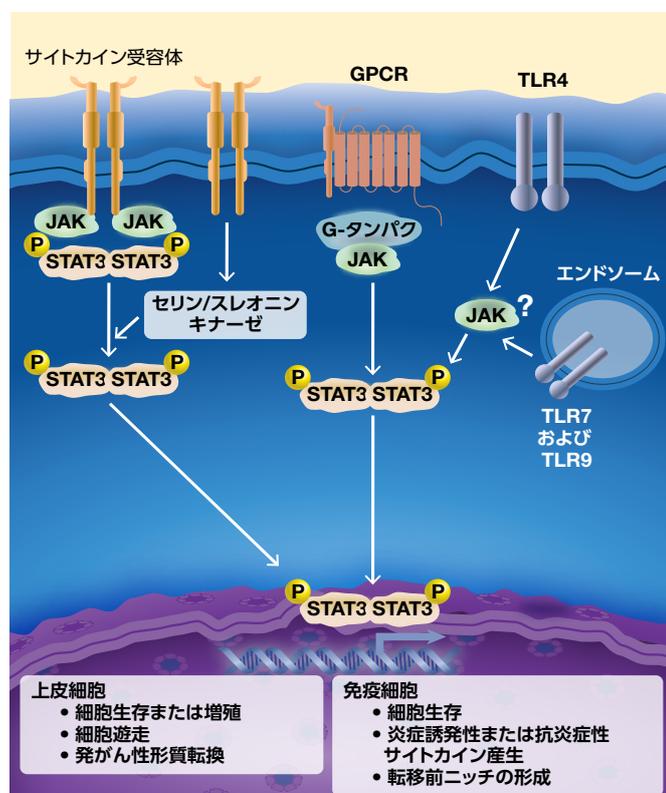


図4.2. NF- $\kappa$ Bの活性化およびシグナル伝達

## 炎症およびSTAT3シグナル伝達

インターフェロンおよびIL-6は、ヤヌスキナーゼ (JAK) -シグナル伝達および転写活性化因子 (STAT) シグナル伝達経路の活性化因子として同定された最初のメディエーターです。複数のサイトカインおよび成長因子が、この経路を介するシグナルとして知られています(図4.3および図4.5)。<sup>8</sup> 7種類のSTATタンパク質ファミリーメンバーのうち、STAT3およびSTAT5が最もがんの発症に関与していると思われます。<sup>9</sup> いくつかの最近の研究において、Toll様受容体 (TLR) およびNod様受容体 (NLR) は、サイトカインのように、JAK-STAT3経路を活性化し、続いて悪性細胞におけるTLRの発現を促進し、さらに腫瘍進行を促進することが示されています。正常細胞において、STATシグナル伝達は一過性ですが、成長因子およびサイトカインからJAK-STAT3経路までの増強された自己分泌型および傍分泌型のシグナル伝達は、遺伝的不安定性および腫瘍関連炎症に寄与すると考えられます。不活性化型のSTATタンパク質は、細胞質に存在します。膜受容体の刺激は、JAKファミリーの受容体関連チロシンキナーゼの活性化を誘導し、それによりSTATがリン酸化されます。JAK1は、STAT3の主要な活性化因子です。リン酸化STATタンパク質は、Src相同領域 (SH2) の相互作用を介して、ホモまたはヘテロ二量体を形成します。二量体STATタンパク質は、核に入り、遺伝子転写を制御します(図4.3)。<sup>6,10</sup>

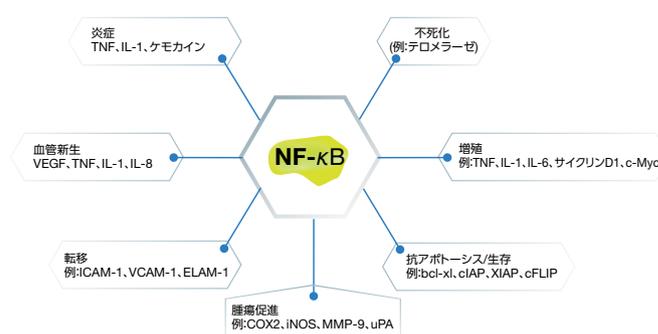


図4.3. NF- $\kappa$ Bは、正常細胞機能およびがんを多くの面で調節する転写制御因子です。

# シグナル伝達および 腫瘍関連炎症

## NF-κBおよびSTAT3クロストーク

NF-κBおよびSTAT3は、膨大な数のがんの発症に関与する標的遺伝子において、異なりかつ重複する役割を果たしています。STAT3は、3,000以上の異なる遺伝子のプロモーター領域に結合し、NF-κBファミリーはさらに多くのプロモーターに結合している可能性があると考えられています。腫瘍形成およびがん進行の過程で、一部の遺伝子/経路はNF-κBおよびSTAT3の両方の共通の標的となると考えられます。注目すべきは、両方の転写因子が、抗アポトーシスプロセス、血管新生、サイトカイン産生、炎症、サイトカイン遺伝子、細胞周期、および他のプロセスを制御する遺伝子の調節因子であることです。<sup>6</sup>

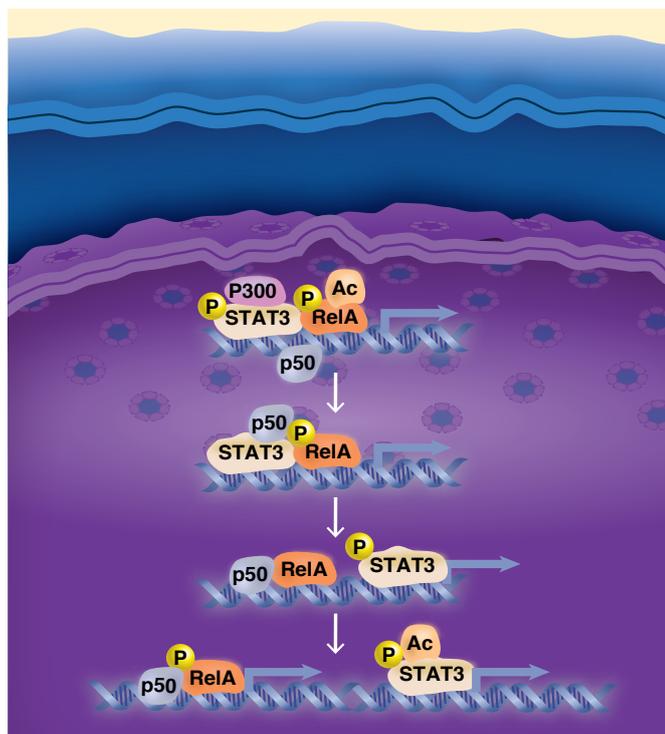
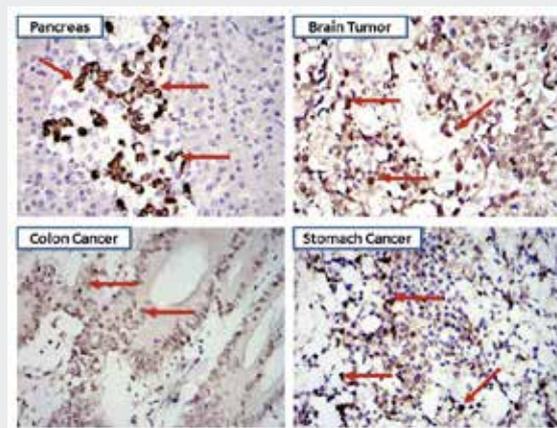


図4.4. NF-κB と STAT3 の間の分子クロストーク

NF-κBおよびSTAT3は、多種多様なメカニズムを介して、互いに影響し合います(図4.4)。1つのメカニズムは、直接的な物理的結合を介して生じ、転写活性またはDNA結合に影響を与えます。STAT3は、p65およびp50と相互作用することが示されており、それにより、NF-κBのSTATプロモーター領域への局在化やSTAT3のNF-κB結合領域への局在化が促進されます。STAT3の他に、p53、エストロゲン受容体、ATF3、SMAD3、およびSMAD4などの他の転写因子もNF-κBに結合することも知られています。

NF-κBおよびSTAT3などの転写因子は、それらのプロモーターまたはエンハンサー配列上のもう一方に近接するDNA配列にも結合し、転写制御機構の必要なコンポーネントをリクルートします。さらに、STAT3はアシルトランスフェラーゼp300をNF-κBにリクルートすることが示されています。RelAの翻訳後アシル化により、核への局在化が増加することは注目に値します。STATを介するNF-κBのアシル化がNF-κB活性の持続を増加させるというフィードフォワード機構が提唱されていますが、腫瘍微小環境における成長因子やサイトカインによる刺激と同様です。これは、がんにおけるNF-κBの恒常的な活性化に寄与します。NF-κBが活性化されると、IL-6などのサイトカインの放出が生じ、それによってSTAT3が活性化されます(図4.5)。<sup>5,6</sup>



### STAT3 Mouse Monoclonal Antibody (9D8)

抗STAT3抗体(製品番号 MA1-13042)を使用した、正常組織およびがん組織の生検の免疫組織分析。STAT3の核および細胞質への局在化が示された。

# シグナル伝達および 腫瘍関連炎症

## NF-κB 活性化因子

IL-1  
IL-17  
M-CSF  
T細胞受容体  
NLR  
TLF  
TNF

## STAT3 活性化因子

IL6 IL-25  
IL-10 IL-27  
IL-11 EGF  
IL-21 FGF  
IL-22 VEGF  
IL-23 レプチン  
IL-24

## NF-κBおよびSTAT3シグナル伝達のインデューサー

腫瘍微小環境内では、間質細胞、腫瘍浸潤性リンパ球、マクロファージ、および他の細胞タイプが細胞表面分子 (TLRおよびNLRなど) を発現するか、NF-κB経路およびSTAT3経路を活性化する可溶性因子を産生しています。当社の抗体検索ツールを使用して、これらならびにNF-κBおよびSTAT3シグナル伝達の他のインデューサーを認識する抗体を見つけてください。<sup>6</sup> 一次抗体および二次抗体の膨大なポートフォリオに加えて、当社では、お客様の研究目標の達成のために、幅広い手動および自動のウェスタンブロット装置ならびに試薬を提供しています。

**図4.5. NF-κBおよびSTAT3のシグナル伝達の一般的なインデューサー** タンパク質には、パターン認識分子 (すなわち、Nod様受容体 (NLR) およびToll様受容体)、抗原受容体 (すなわち、T細胞受容体 (TCR))、可溶性成長因子 (すなわち、上皮成長因子 (EGF)、線維芽細胞増殖因子 (FGF)、マクロファージコロニー刺激因子 (M-CSF)、血管内皮細胞増殖因子 (VEGF)、およびさまざまなインターロイキン (すなわち、インターロイキン-1 (IL-1) など) を含むサイトカイン、ならびに腫瘍壊死因子 (TNF) が含まれます。

## InvitrogenブランドのiBind™およびiBind Flex Western Deviceは、ウェスタンワークフローにおける免疫検出工程を自動化するためのSequential Lateral Flow (SLF) 技術を採用

従来のマニュアル処理法では、複数の抗体を準備・交換し、さらに目的ブロットを含むトレイ中で数時間かけて反応します。Invitrogen™ iBind™ Western Systemは、免疫検出工程を自動で行う電源・電池不要の装置です。抗体を充填するだけで、3時間後に抗体抗原反応は終わり検出の準備が整います。マニュアルウェスタンブロットティングの改良により誕生したiBind Western Systemは、ハンズオンタイムの短縮およびより一貫性のある結果を可能とします。

- 柔軟性—同条件でも、異なる条件下でも、一度に最大1枚のMidi Gel, 2枚のMini ゲル、または6枚のカットしたゲルの処理が可能
- 適合性—ニトロセルロース膜またはPVDF膜を使用して、直接標識で一次/二次抗体を検出 (AP, HRP, または蛍光標識)

細胞表面タンパク質および細胞内タンパク質の検出には、再現性に優れ、全てのウェスタン検出プロトコルに適合する、当社の自動化されたウェスタン処理システムをご使用ください。



優れたウェスタン性能については、こちらをご確認ください。

[thermofisher.com/ibind](https://thermofisher.com/ibind)

# シグナル伝達および腫瘍関連炎症

# 4

インターロイキン-6 (IL-6) は、強力な炎症誘導因子で、さまざまなT細胞サブセット、マクロファージ、好中球、上皮細胞、腫瘍細胞、および腫瘍微小環境内の他の細胞タイプによって分泌されます。IL-6および他のSTAT3誘導因子を検出するためのELISAは、こちらをご覧ください。 [thermofisher.com/findelisa](https://thermofisher.com/findelisa)

表4.1. 腫瘍微小環境に存在するサイトカインを検出するための代表的なELISAキット\*

サイトカイン (製品番号)	代表的な文献
TGF- $\beta$ TGF- $\beta$ 1 ELISA Kit, Multispecies (製品番号 KAC1688) TGF $\beta$ 2 ELISA Kit, Human (製品番号 EHTGFB2)	Günaydin RÖ, Kesikli SA, Kansu E et al. (2012) Identification of the peripheral blood levels of interleukin-12, interleukin-10, and transforming growth factor- $\beta$ in patients with laryngeal squamous cell carcinoma. <i>Head Neck</i> 34(3):393–397.
Interleukin-6 IL-6 ELISA Kit, Human (製品番号 KAC1261) IL-6R ELISA Kit, Human (製品番号 KHR0061)	Grzesiak JJ, Smith KC, Burton BW et al. (2005) GSK3 and PKB/Akt are associated with integrin-mediated regulation of PTHrP, IL-6 and IL-8 expression in FG pancreatic cancer cells. <i>Int J Cancer</i> 114(4):522–530.
Interleukin-8 IL-8 ELISA Kit, Human (製品番号 KAC1301) IL-8 ELISA Kit, Human (製品番号 KHC0081) IL-8 Ultrasensitive ELISA Kit, Human (KHC0084)	Dupoux A, Cartier J, Cathelin S et al. (2009) cIAP1-dependent TRAF2 degradation regulates the differentiation of monocytes into macrophages and their response to CD40 ligand. <i>Blood</i> 113(1):175–185.
Interleukin-10 IL-10 ELISA Kit, Human (製品番号 KHC0101) IL-10 ELISA Kit, Human (製品番号 KAC1321) IL-10 Ultrasensitive ELISA Kit, Human (製品番号 KHC0104) IL-10Ra (CD210a) ELISA Kit, Human (製品番号 EHIL10RA) IL-10Rb ELISA Kit, Human (製品番号 EHIL10RB)	Comito G, Giannoni E, Segura CP et al. (2014) Cancer-associated fibroblasts and M2-polarized macrophages synergize during prostate carcinoma progression. <i>Oncogene</i> 33(19):2423–2431.
Interleukin-17 IL-17 (CTLA8) ELISA Kit, Human (製品番号 KAC1591) IL-17A ELISA Kit, Human (製品番号 EHIL17A) IL-17B ELISA Kit, Human (製品番号 EHIL17B) IL-17F ELISA Kit, Human (製品番号 EHIL17F)	Aquaque S, Marcenaro E, Ferranti B et al. (2008) Human natural killer cells exposed to IL-2, IL-12, IL-18, or IL-4 differently modulate priming of naïve T cells by monocyte-derived dendritic cells. <i>Blood</i> 112(5):1776–1783.
Interleukin-23 IL-23 Heterodimer ELISA Kit, Human (製品番号 KHC0231)	Donato NJ, Fang D, Sun H et al. (2010) Targets and effectors of the cellular response to aurora kinase inhibitor MK-0457 (VX-680) in imatinib sensitive and resistant chronic myelogenous leukemia. <i>Biochem Pharmacol</i> 79(5):688–697.
TNF- $\alpha$ TNF alpha ELISA Kit, Human (製品番号 KHC3011) TNF alpha ELISA Kit, Human (製品番号 KAC1751) TNF alpha Ultrasensitive ELISA Kit, Human (製品番号 KHC3014)	Hirvinen M, Rajecki M, Kapanen M et al. (2015) Immunological effects of a tumor necrosis factor alpha-armed oncolytic adenovirus. <i>Hum Gene Ther</i> 26(3):134–144.
GM-CSF GM-CSF ELISA Kit, Human (製品番号 KHC2011)	Tassi E, Gavazzi F, Albarello L et al. (2008) Carcinoembryonic antigen-specific but not antiviral CD4 <sup>+</sup> T cell immunity is impaired in pancreatic carcinoma patients. <i>J Immunol</i> 181(9):6595–6603.

\*これらおよび他のサイトカインを検出するためのこの他のヒト用キットならびに複数のさまざまな生物種由来のタンパク質を検出するためのキットについてはこちらをご覧ください。 [thermofisher.com/findelisa](https://thermofisher.com/findelisa)

# シグナル伝達および腫瘍関連炎症

## がん標的治療

腫瘍進行の発展においてNF- $\kappa$ BおよびSTAT3の転写因子経路が中心的役割を果たしていると想定し、NF- $\kappa$ BおよびSTAT3のシグナル伝達経路ならびにこれらの経路に関連するいくつかのメディエーターを阻害する薬剤について評価するための数多くの前臨床試験および進行中の臨床試験が存在しています。<sup>11,12</sup> NF- $\kappa$ Bを直接的に標的とする薬剤は現在承認されていませんが、NF- $\kappa$ Bを間接的に標的とするFDA承認薬や前臨床試験中の化合物は存在します。Bortezomib— $\text{I}\kappa\text{B}\alpha$ の分解を抑制することによってNF- $\kappa$ Bを不活性化するプロテアソーム阻害剤—は、多発性骨髄腫およびマンツル細胞リンパ腫の治療薬としてFDAに承認されている他、承認されていませんが、前立腺がん治療薬としても検討されています。<sup>13,14</sup>

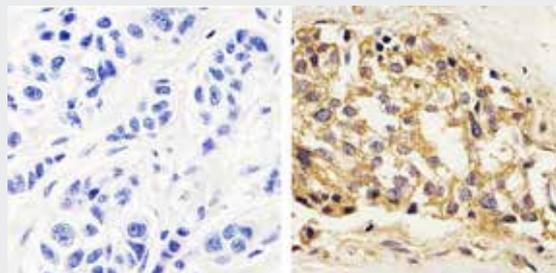
## NF- $\kappa$ Bシグナル伝達を標的とする戦略には、以下のアプローチの開発が含まれます：

- プロテアソーム阻害剤は、 $\text{I}\kappa\text{B}\alpha$ のコヒキチン化および分解に関与します。そのため、プロテアソーム阻害剤は、 $\text{I}\kappa\text{B}\alpha$ の半減期を延ばす可能性があります。
- NF- $\kappa$ B (RelA) の翻訳後修飾を阻害するアセチル化阻害剤は、その核局在化を減少させます。
- 遺伝子導入、細胞透過性ペプチド、およびsiRNAは、がんにおけるNF- $\kappa$ Bシグナル伝達の阻害について研究するためのさらなるアプローチです。<sup>15</sup>

## STAT3シグナル伝達を標的とする戦略には、以下のアプローチの開発が含まれます：

STATシグナル伝達の阻害には、数多くの戦略が使用されています。プロテインキナーゼは、幅広く薬理療法のターゲットとされています。STATの阻害では、STATのリン酸化に関与するチロシンキナーゼがターゲットとされます。STATは、リン酸化に続いて、二量化および活性化されます。

乳がん細胞におけるチロシンキナーゼ阻害は、培養細胞において、成長を阻害し、恒常的なSTAT3活性化の阻害と関係することが示されています。タンパク質の脱リン酸化も重要な調節シグナルで、シグナルをオフに切り替えたりオンに戻したりします。そのため、タンパク質チロシンホスファターゼの調節は、STATシグナル伝達を阻害するためのもう一つの有望なアプローチとして提案されています。STATシグナル伝達の生理学的タンパク質阻害剤には、STAT活性化を直接的または間接的に制御する内在性タンパク質が含まれます。このようなタンパク質の例として、SH2ドメイン含有タンパク質 (サイトカインシグナル伝達抑制因子; SOCS)、JAK結合タンパク質 (JAB)、およびSTAT誘導STAT阻害剤 (SSI) があります。その他のSTATシグナル伝達の阻害については、二量化の阻害物質、STAT DNA-結合および転写活性の阻害剤、ならびにSTATアンチセンスオリゴヌクレオチドが挙げられます。<sup>16</sup> NF- $\kappa$ Bシグナル伝達およびがんの進行を制御する分子経路について理解を深めることは、将来の新しい標的治療オプションの拡大に寄与すると考えられます。



**STAT3 ABfinity™ Recombinant Rabbit Oligoclonal Antibody (3HCLC)** 免疫組織化学染色によるSTAT3発現解析において、パラフィン包埋したヒト子宮頸がん (右) の細胞質を一次抗体を使用しないネガティブコントロール (左) と比較。組織は、ブロッキング後、抗STAT3抗体 (製品番号 710077) でプローブした。検出は、HRP標識二次抗体に続き、DABキットによる比色検出を実施した。

# シグナル伝達および腫瘍関連炎症

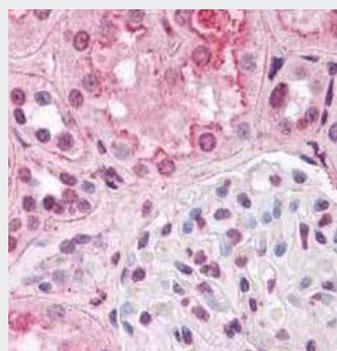
## 低酸素、炎症、およびがん

正常な生理的条件下の低酸素一すなわち、低い酸素濃度レベルの状態は、創傷治癒および発生過程に寄与します。しかしながら、無制御な低酸素状態は、虚血性心疾患、炎症性腸疾患、がんおよび他の症状など複数の異なる医学的症状に関連します。腫瘍微小環境内において、低酸素は通常の状態であり、腫瘍形成を促進します。転写制御は、細胞の順応を可能にする多様な一連の遺伝子によって大部分が媒介されています。低酸素に対する細胞応答は、低酸素誘導因子 (HIF) として知られる一群のタンパク質によって媒介されます。HIF は、HIF-1 $\alpha$ 、-2 $\alpha$ 、および-3 $\alpha$ の3つのファミリーメンバーからなり、HIF-1ががん進行に関与するとされています。<sup>17,18</sup> 低酸素領域の形成に寄与するいくつかの要因は、慢性炎症組織に関連します。これには、過度の炎症および線維症による微小血管系内酸素流の断絶、炎症が存在する組織細胞および代謝的に活性な浸潤性免疫細胞による酸素消費量の増加などが含まれます。<sup>19</sup>

HIF-1 の活性は、以下の観察から実証されているように、炎症と血管新生との関連について明確にされています：結腸直腸腫瘍において、COX-2はHIF-1による低酸素により転写誘導され、腫瘍生存および血管新生が促進されます。急速に成長する腫瘍において、HIF-1 は、アポトーシス抵抗性、血管リモデリングなどの数多くの細胞プロセスの活性化に関与し、腫瘍進行の強力なメディエーターである血管内皮細胞増殖因子 (VEGF) などの血管新生に不可欠な数多くの遺伝子を誘導します。<sup>20</sup> VEGF ファミリーメンバーは、血管透過性を増加させ、内皮細胞の増殖を誘導し、白血球粘着能を亢進し、新生血管の血管径を調節します。VEGF ファミリータンパク質と同族受容体の相互作用は、PI3K/ Akt, Ras/Raf-MEK/ Erk, eNOS/NOなどのがん細胞の増殖・生存における全ての重要因子のシグナル伝達経路を活性化します。HIF-1は、VEGF 調節の他、STAT3、NF- $\kappa$ B、mTOR、TGF- $\beta$ などのいくつかのさまざまな転写因子の関与するメカニズムを介して発がん促進活性を発揮します。

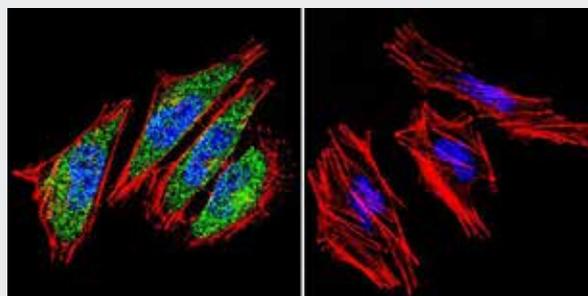
HIF-1が腫瘍形成に関連する制御遺伝子に中心的に関与しているという仮定のもと、HIF-1 シグナル伝達に関与する特定のメディエーターおよびターゲットを阻害する薬剤の開発に多くの力が注がれています。

転写因子の NF- $\kappa$ BおよびSTAT3は炎症反応の重要な調節因子で、がんの発生を促進し、HIF-1 $\alpha$ と連携して腫瘍進行を促進します。大部分の新生組織の微小環境における炎症性成分の存在は、血管新生、ホルモンに対する抵抗性 (ホルモン依存性腫瘍における) および抗腫瘍免疫を高頻度で増強する結果となっています。腫瘍細胞の生存、増殖、そして最終的な浸潤および転移は、全て腫瘍部位に存在する炎症メディエーターによって制御されています。<sup>1,21</sup>



**HIF-1 alpha Mouse Monoclonal Antibody (H1alpha67)**

抗HIF-1 $\alpha$ 抗体 (製品番号 MA1-16504) を用いたヒト腎臓の免疫組織化学染色。腎尿管上皮では中程度の強度での膜、細胞質および核の染色、糸球体では弱～中程度の強度での核染色が示された。



**Pierce™ HIF-1 beta Mouse Monoclonal Antibody (2B10)**

(左) 抗HIF-1 $\beta$ 抗体 (製品番号 MA1-515) を用いたA2058 細胞におけるHIF-1  $\beta$  (緑色) の免疫蛍光分析。F-アクチンはファロイジン (赤色) で、核はDAPI 色素 (青色) で染色。(右)。細胞は抗体を使用せずにプローブした (コントロール)。

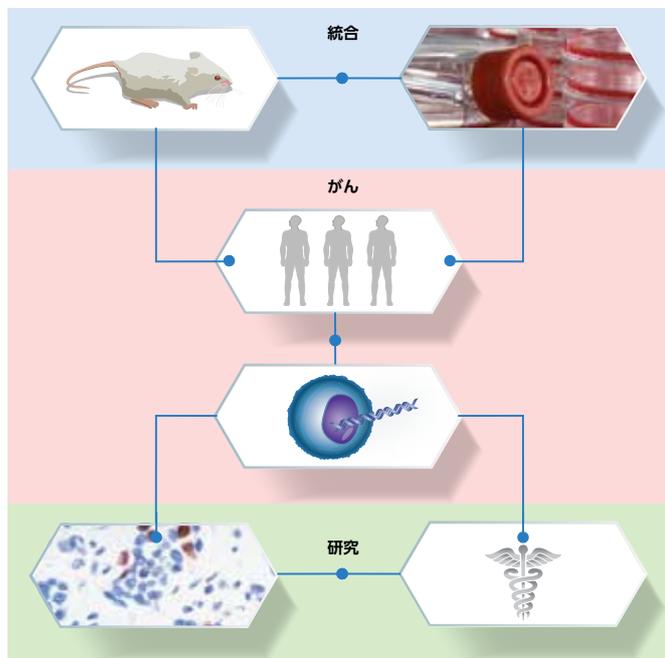
1. Porta C, Larghi P, Rimoldi M et al. (2009) Cellular and molecular pathways linking inflammation and cancer. *Immunobiology* 214(9–10):761–777.
2. Medzhitov R (2010) Inflammation 2010: new adventures of an old flame. *Cell* 140(6): 771–776.
3. Scholz CC, Taylor CT (2013) Targeting the HIF pathway in inflammation and immunity. *Curr Opin Pharmacol* 13(4):646–653.
4. Kaplan MH (2013) STAT signaling in inflammation. *JAKSTAT* 2(1):e24198.
5. Hoese B, Schmid JA (2013) The complexity of NF- $\kappa$ B signaling in inflammation and cancer. *Mol Cancer* 12:86.
6. Grivennikov S, Karin M (2010) Dangerous liaisons: STAT3 and NF- $\kappa$ B collaboration and crosstalk in cancer. *Cytokine Growth Factor Rev* 21(1):11–19.
7. Israël A (2010) The IKK complex, a central regulator of NF- $\kappa$ B activation. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2(3):a000158.
8. Yu H, Lee H, Herrmann A, et al. (2014) Revisiting STAT3 signalling in cancer: new and unexpected biological function. *Nat Rev Cancer* 14(11):736–746.
9. Khiong K, Adhika OA, Chakravitha M (2010) Inflammation, immunity, and cancer: the role of transcription factors NF- $\kappa$ B and STAT3. *Maj Kedokt Indon* 60(8):369–373.
10. Yu H, Pardoll D, Jove R (2009) STATs in cancer inflammation and immunity: a leading role for STAT3. *Nat Rev Cancer* 9(11):798–809.
11. Furgan M, Akinleye A, Mukhi N et al. (2013) STAT inhibitors for cancer therapy. *J Hematol Oncol*. 6:90.
12. Miller SC, Huang R, Srilatha S et al. (2010) Identification of known drugs that act as inhibitors of NF- $\kappa$ B signaling and their mechanisms of action. *Biochem Pharmacol* 79(9):1272–1280.
13. Li C, Chen S, Yue P et al. (2010). Proteasome inhibitor PS-341 (Bortezomib) induces calpain-dependent I $\kappa$ B $\alpha$  degradation. *J Biol Chem* 285(21):16096–16104.
14. National Cancer Institute. FDA approval for Bortezomib. <http://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/drugs/fda-bortezomib>. Accessed December 2, 2015.
15. de Lartigue J (2013) The inflammation link: NF- $\kappa$ B remains a difficult but intriguing target. OncLive <http://www.onclive.com/publications/oncology-live/2013/june-2013/the-inflammation-link-nf-b-remains-a-difficult-but-intriguing-target/2>. Accessed April 2015.
16. Turkson J, Jove R (2000) STAT proteins: novel molecular targets for cancer drug discovery. *Oncogene* 19(56):6613–6626.
17. Ke Q, Costa M (2006) Hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1). *Mol Pharmacol* 70(5):1469–1480.
18. Semenza GL (2014) Oxygen sensing, hypoxia-inducible factors, and disease pathophysiology. *Annu Rev Pathol*. 9:47–71.
19. Vaupel P, Mayer A (2014) Hypoxia in tumors: pathogenesis-related classification, characterization of hypoxia subtypes, and associated biological and clinical implications. *Adv Exp Med Biol* 812:19–24.
20. Peng XH, Karna P, Cao Z et al. (2006) Cross-talk between epidermal growth factor receptor and hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  signal pathways increases resistance to apoptosis by up-regulating survivin gene expression. *J Biol Chem* 281(36):25903–25914.
21. Balamurugan K (2015) HIF-1 at the crossroads of hypoxia, inflammation and cancer. *Int J Cancer* DOI:10.1002/ijc.29519.

詳細はこちらをご覧ください。

[thermofisher.com/antibodies](http://thermofisher.com/antibodies)

All rights reserved. All trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific and its subsidiaries unless otherwise specified. Hoechst is a trademark of Hoechst GmbH. Luminex is a trademark of Luminex Corporation.

## 要約



### 基礎研究、分子革命、および創薬

特定の遺伝子異常は腫瘍によってさまざまですが、がん遺伝子から誘導される複製ストレスや腫瘍抑制機能の喪失は、ゲノム不安定性を促進します。これは、腫瘍の誘発および進行を誘導する、複数のがんのホールマークの一つです。<sup>1</sup>

炎症は、7番目のがんのホールマークに分類されています。炎症は感染性微生物、細胞損傷、あるいは刺激物質に対する身体の免疫反応の一部です。多くの疫学および臨床研究では、全てのがんの25%が環境有害物質や感染によって生じる慢性炎症と関連すると推測されています。<sup>2</sup>

炎症性サイトカインネットワークはゲノム不安定性および腫瘍微小環境の確立に寄与しており、炎症とがんの関係の中核をなしていると考えられています。

有害な遺伝子変異と腫瘍微小環境の相乗的な関係は、がん細胞がさまざまな腫瘍監視機構を逃れ、悪性の表現型を獲得することを可能とします。

慢性炎症の原因を排除することによりがんの発生が減少することが実証されてきており、この目標を達成するために、腫瘍微小環境を制御するメカニズムをより深く理解し、腫瘍関連炎症を制御する戦略を開発するための研究が続けられています。<sup>3</sup>

基礎研究およびトランスレーショナルリサーチ（橋渡し研究）における研究用抗体の役割は非常に重要です。高度に精製された標的・特異的抗体を生産する能力は、組織、細胞、および細胞外コンパートメント内の特定のタンパク質機能を検出、定量、および観察することを可能とします。研究用抗体の使用は、細胞のイメージングに重要な役割を果たしており、これは強力な前臨床がんモデル、ゲノムおよびプロテオミクスツール、ならびに基礎科学および医学の進歩に寄与します。

### 参考文献

1. Negrini S, Gorgoulis VG, Halazonetis TD (2010) Genomic instability—an evolving hallmark of cancer. *Nat Rev Mol Cell Biol* 11(3):220-228.
2. Kidane D, Chae WJ, Czocho J et al. (2014) Interplay between DNA repair and inflammation, and the link to cancer. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 49(2):116-139.
3. Shimizu T, Marusawa H, Endo Y et al. (2012) Inflammation-mediated genomic instability: roles of activation-induced cytidine deaminase in carcinogenesis. *Cancer Sci* 103(7):1201-1206.

## 目次

要約および付録	5-1
抗体アプリケーション	5-2

# 抗体アプリケーション

# 5

## 一次抗体

神経変性疾患の発病に寄与する複雑なプロセスへの理解は、新しい治療法の開発に繋がると考えられます。神経細胞ネットワークについて観察、追跡、および徹底的に調査するためには、ツールと技術を正しく組み合わせることが必要とされます。

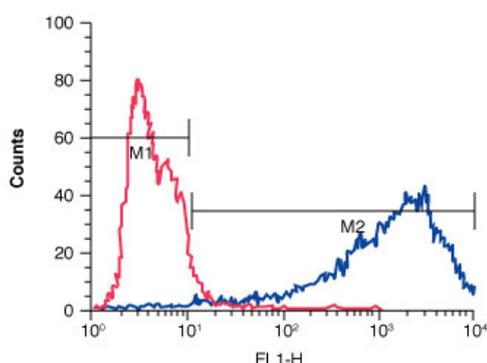
当社では、迅速なタンパク質検出および細胞イメージングのためのツール、ならびにお客様の研究目標の達成をお手伝いするためにデザインされた有用な製品を提供しています。

詳しい情報についてはこちらをご覧ください。

[thermofisher.com/antibody-applications](https://thermofisher.com/antibody-applications)

## アプリケーション

- 酵素結合免疫吸着測定法 (ELISA)
- 免疫染色
- フローサイトメトリー
- ウェスタンブロットニング
- 免疫沈降
- Luminex™ アッセイ



**Pierce™ beta-3 Tubulin Mouse Monoclonal Antibody (2G10)** 抗β-3 チューブリン抗体 (製品番号 MA1-118) で染色 (青いヒストグラム) または PBS 単独でインキュベーションした (赤いヒストグラム) SH-SY5Y (神経芽細胞腫細胞株) 細胞のフローサイトメトリー解析。

## 二次抗体

二次抗体は、標的抗原を間接的に検出するために使用されます。二次抗体の使用には、標識一次抗体単独での使用に比べてより多くのステップが必要とされますが、シグナルの増幅による感度の向上や標識および検出オプションにおける高い柔軟性などの重要な利点を提供できます。

当社では、広範なアプリケーションでの一次抗体の蛍光、発色および化学発光ベースの検出に使用するための高品質の幅広い標識および非標識二次抗体製品を提供しています。

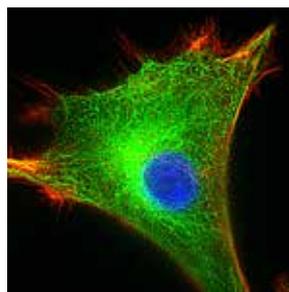
詳しい情報についてはこちらをご覧ください。

[thermofisher.com/secondary-antibody](https://thermofisher.com/secondary-antibody)

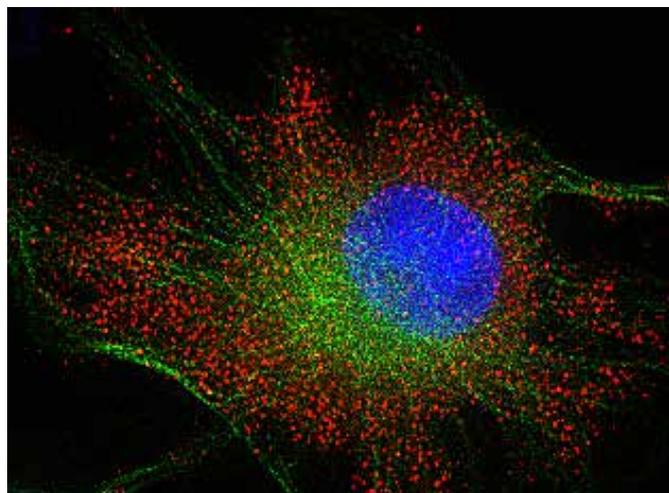
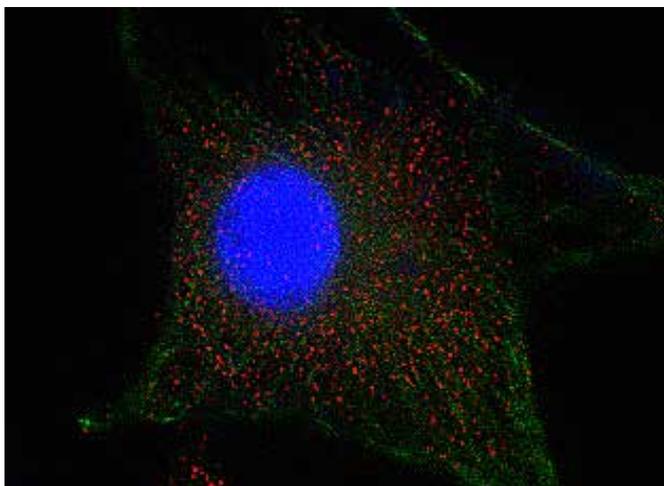
## 二次抗体標識物

- Invitrogen™ Alexa Fluor™ 色素
- 一般的な蛍光色素
  - フルオレセイン (FITC)
  - R-フィコエリトリン (RPE)
  - アロフィコシアニン (APC)
- 酵素:
  - 西洋ワサビペルオキシダーゼ (HRP)
  - アルカリホスファターゼ (AP)

近年、当社では、この研究用二次抗体のラインアップに加えて、新しい技術を採用し、交差反応性を排除するようにデザインした、Invitrogen™ Superclonal™ 二次抗体を発売しました (5.3 ページを参照)。



Invitrogen™ Goat Anti-Mouse IgG (H+L) Superclonal™ Secondary Antibody, Alexa Fluor 488 Conjugate Invitrogen™ alpha-Tubulin Mouse Monoclonal Antibody (B-5-1-2) (製品番号 322500) で反応後、Goat Anti-Mouse IgG (H+L) Superclonal™ Secondary Antibody, Alexa Fluor 488 Conjugate (製品番号 A28175) (緑色) で染色した U-87 MG ヒト神経芽腫細胞の免疫蛍光分析。核は Invitrogen™ SlowFade™ Gold 褪色防止用封入剤を使用して、DAPI (青色) で染色、F-アクチンフィラメントは Invitrogen™ Rhodamine Phalloidin (製品番号 R415) (赤色) で染色。



## Superclonal 二次抗体 — 交差反応性を排除するよう デザインされた新発想の二次抗体

**Invitrogen™ Superclonal 二次抗体は圧倒的に低いバックグラウンドを実現** 一次抗体の $\alpha$ -チューブリン抗体 (製品番号 322500) (緑色) および Pierce™ DISC1 ABfinity Recombinant Rabbit Oligoclonal Antibody (製品番号 710203) (赤色) で共標識したU-87 MG ヒト神経膠芽腫細胞の免疫蛍光分析。細胞は Invitrogen™ Goat Anti-Mouse IgG (H+L) Secondary Antibody, Alexa Fluor 488 Conjugate (製品番号 A11029) および Invitrogen™ Goat Anti-Rabbit IgG (H+L) Secondary Antibody, Alexa Fluor 555 Conjugate (製品番号 A21428) (左パネル)、または Goat Anti-Mouse IgG (H+L) Superclonal Secondary Antibody, Alexa Fluor 488 Conjugate (製品番号 A28175) および Invitrogen™ Goat Anti-Rabbit IgG (H+L) Superclonal™ Secondary Antibody, Alexa Fluor 555 Conjugate (製品番号 A27039) で標識 (右パネル) しました。核は SlowFade Gold 褪色防止用封入剤を使用して、DAPI (青色) で染色、F-アクチンフィラメントはローダミンファロイジンで染色しました (赤色)。

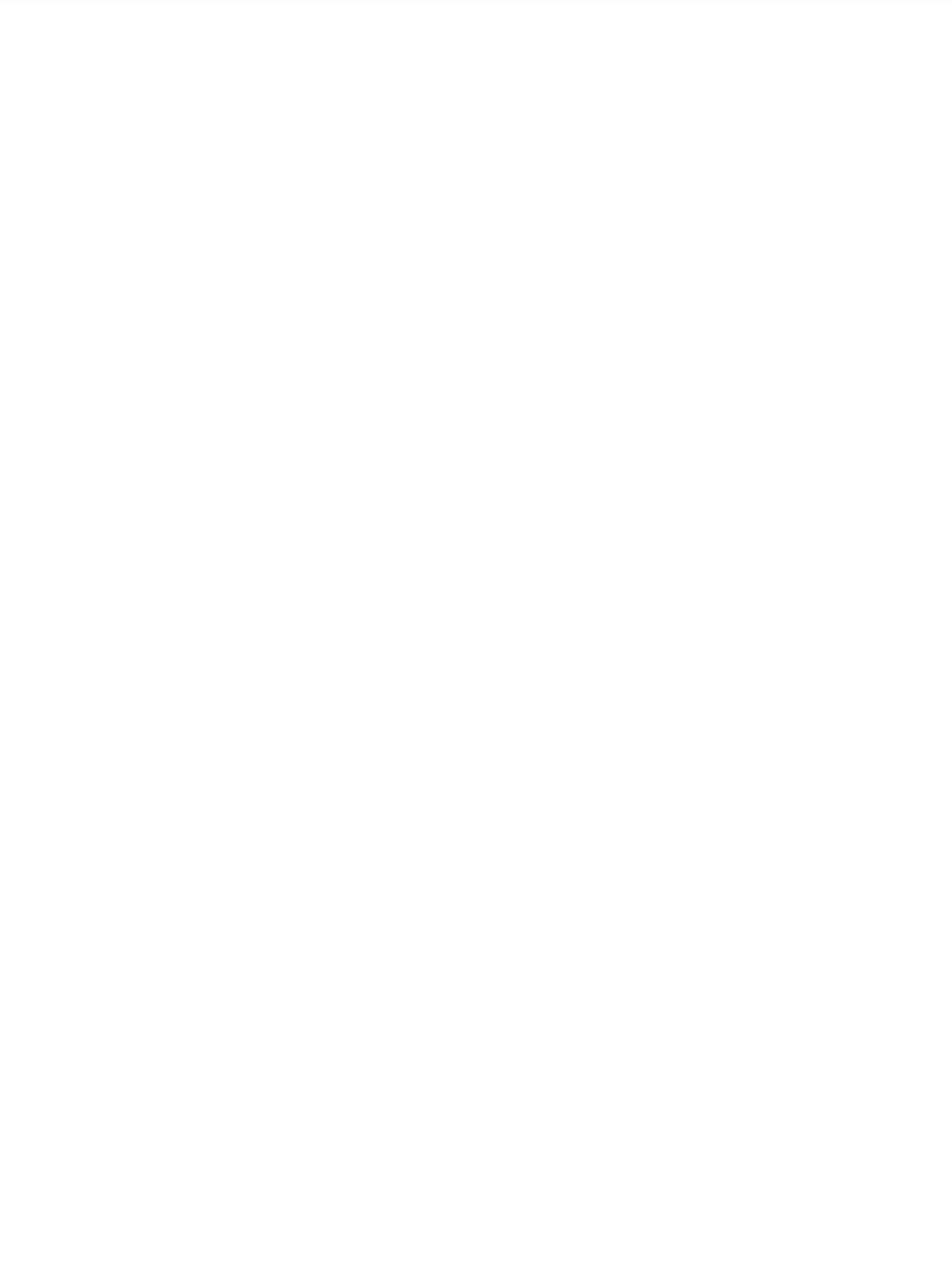
Thermo Fisher Scientificでしか入手できない、モノクローナル抗体の様に特異性が高くバックグラウンドやノイズの低減に貢献する新しいカテゴリーの二次抗体です。

ユニークで新しいSuperclonal二次抗体の特長：

- 一次抗体の検出において交差反応性を排除するようにデザイン
- 特異性の高い組換えモノクローナル抗体をプールして製品化することでバックグラウンドの低減に寄与
- 抗体遺伝子をクローニングすることで、動物由来の変動を排除し、ロット間差を極小化
- ELISA、ウェスタンブロット、および細胞イメージング (ICC、IF、および IHC) アプリケーションにおいて優れた結果が得られるように組換えモノクローナル抗体を選択および最適化
- ビオチン、西洋ワサビペルオキシダーゼ (HRP)、および Alexa Fluor 488~790色素による標識・非標識抗体をラインアップ

詳しい情報についてはこちらをご覧ください。

[thermofisher.com/superclonal](https://thermofisher.com/superclonal)



# 失敗しない抗体選びなら Invitrogenにおまかせ!



2017年、抗体バリデーションにおいて最も  
イニシアチブを発揮した企業\*1に選ばれました。

ANTIBODY VALIDATION  
INITIATIVE OF THE YEAR

**83,000** ~  
バリデーション済みの一次抗体と  
二次抗体の数  
続々追加中!

ヒトプロテオームの **91%** をカバーする  
抗体ラインナップ



**24** 蛍光二次抗体用 Invitrogen™ Alexa Fluor™ 色素の数  
論文への引用実績30,000以上



**4,600** 使いやすい標識済みの  
一次抗体の数



**9** 抗体がサポートする  
代表的なアプリケーション



- Flow cytometry
- Immunofluorescence/immunocytochemistry (F/ICC)
- Western blotting
- Immunohistochemistry (IHC)
- IP/mass spectrometry (MS)
- Immunoprecipitation (IP)/co-IP
- High-content analysis (HCA)
- ELISA
- Assays for the Luminex® platform

網羅的! **50** の研究領域に対応



**200,000** ~  
弊社の抗体を引用した論文数



**約13,000**

Invitrogen™ eBioscience™ の製品を含む  
フローサイトメトリー用抗体の数

**320**

Invitrogen™ Alexa Fluor™ および Invitrogen™ Superclonal™ 二次抗体の数



**966**  
Invitrogen™ Abfinity™ ウサギリコンビナント  
モノクローナル抗体の数



Performance  
guaranteed

Antibody Performance Guarantee\*2  
製品の性能を保証します。

\*1 抗体バリデーションの詳細につきましては、[thermofisher.com/jp-antibody-validation](http://thermofisher.com/jp-antibody-validation) をご覧ください。

\*2 Invitrogen抗体がウェブサイトやデータシートに示された通りの性能を実験で示さない場合、無料で製品を交換いたします。

Antibody Performance Guaranteeの利用規約につきましては [thermofisher.com/antibody-performance-guarantee](http://thermofisher.com/antibody-performance-guarantee) をご覧ください。

詳細はこちらをご覧ください。 [thermofisher.com/antibodies](http://thermofisher.com/antibodies)

研究用のみ使用できます。診断目的およびその手続上での使用はできません。  
記載の社名および製品名は、弊社または各社の商標または登録商標です。  
For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures. © 2016 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved.  
All trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific and its subsidiaries unless otherwise specified.  
DRAQ5 is a trademark of Biosstatus Limited. Hoechst is a trademark of Hoechst GmbH Corporation.  
Luminex is a trademark of Luminex Corporation.  
価格、製品の仕様、外観、記載内容は予告なしに変更する場合がありますので予めご了承ください。  
標準販売条件はこちらをご覧ください。 [thermofisher.com/jp-tc](http://thermofisher.com/jp-tc)

販売店

PA049-A18080B

サーモフィッシャーサイエンティフィック  
ライフテクノロジーズジャパン株式会社

本社：〒108-0023 東京都港区芝浦 4-2-8

テクニカルサポート ☎ 0120-477-392 ✉ [jptech@thermofisher.com](mailto:jptech@thermofisher.com)

オーダーサポート TEL: 03-6832-6980 FAX: 03-6832-9584

営業部 TEL: 03-6832-9300 FAX: 03-6832-9580

[facebook.com/ThermoFisherJapan](https://www.facebook.com/ThermoFisherJapan)

@ThermoFisherJP

[thermofisher.com](http://thermofisher.com)

**ThermoFisher**  
SCIENTIFIC