基礎老化研究　36(1);5－12,2012

【総　説】

細胞の生存・増殖・分化の制御と細胞接着由来シグナル

伊豫田拓也[1,2]、深井文雄[1,2]
[1]東京理科大学・薬学部・分子病態学教室
[2]東京理科大学総合研究機構・DDS 研究センター

要約

細胞外マトリクス（ECM）への細胞の接着は、細胞を物理的に支持するのみならず、細胞の生存、増殖、分化など、恒常性の維持に重要な生理現象に関わるシグナルの基盤となっている。それゆえ細胞接着が起因となるシグナル伝達における異常は、癌を含む種々病態の形成を招くと考えられ、細胞接着の制御機構をターゲットとした研究が、これまでに多くなされてきた。近年我々は、接着分子β1-インテグリンの活性化を介して細胞接着を増強するペプチド「TNⅢA2」を、ECM分子の１種であるテネイシン-C（TN-C）分子内より発見した。このペプチドは細胞の増殖・分化を制御し、さらに一部の細胞では細胞死の制御にも関与するなど、多彩な機能を示すことが分かってきた。そこで本稿ではTNⅢA2が示す様々な機能の紹介を通じ、これら生理現象におけるβ1-インテグリンシグナルの重要性について紹介する。

キーワード：ECM protein, Tenascin-C, Integrin,

1. はじめに

多細胞生物において細胞は、個々に独立して存在するのではなく、周囲の環境や他の細胞に接着することで器官・組織を形成し、機能的な集合体として存在している。この時細胞に接着の足場を提供する分子が、フィブロネクチンやコラーゲンなどに代表される細胞外マトリクス（ECM）ファミリー分子である。ECMファミリー分子は一般的に、細胞膜上に発現するインテグリンファミリー分子と相互作用することで、細胞をその場に繋ぎとめる役割を担う。しかしECM分子の機能は、このような物理的支持機能に留まらない。ECMとインテグリンの結合によって細胞側に伝えられるシグナルは、細胞の生存や増殖、分化、遊走など、細胞の生理機能を調節する重要なシグナルとなっている。

ECMファミリー分子の1つにテネイシン-C（TN-C）がある。TN-Cは胎児期において高い発現を示すが、生体の成熟に伴ってその発現量は低下する。しかし炎症や創傷治癒の局所、がん病巣などの特殊な環境下では、成体においてもTN-Cが一過的に高発現するとされ、各種病態との関連が注目されている。細胞の接着制御におけるTN-Cの機能に着目すると、多くの細胞に対してこの分子は、ECM分子でありながら細胞接着に直接関与せず、他のECMタンパクと細胞の相互作用を調節するというユニークな性質を示す。このような分子は“matricellular protein”ファミリーとして定義され、標的細胞の細胞膜上に存在する受容体に作用し、細胞からのサイトカインや増殖因子、またはタンパク分解酵素等の産生を調節することで、標的細胞の接着性やその他機能を制御している [1,2]。しかし今までのところ、TN-Cが細胞接着に対して示す効果にはコンセンサスが得られていない。いくつかの細胞においてはTN-Cが接着を促進するという結果が報告されている。一方、別の細胞では接着を抑制するとの結果も観察されている。

TN-Cが細胞接着を正負両方向に制御する機序については未だ不明な点が多いが、これを説明しうる可能性の1つとして、TN-C構造の多様性がある。TN-Cは分子内FNⅢリピート領域にて選択的スプライシングを受けることが知られており（図1）、多彩なアイソフォーム群を形成すると考えられる。またTN-C分子は生体内で6量体を形成しているという事実を考慮すると、TN-Cは発現する場所によって表出部位を使い分けることで、生体応答の適切な制御を担っている可能性がある。しかしTN-Cの種々スプライシング・バリアントが示す機能に関して、その詳細は未だ解明されていない。

一方で、ECM分子内に存在する種々領域が示す活性に関しては、既に様々な報告がされている。これら分子内領域のいくつかは、炎症性プロテアーゼであるマトリクスメタロプロテアーゼ（MMP）等による分解によって表出すると考えられることから、こちらも病態との関連が注目される。興味深い領域を分子内に持ち合わせるECM分子の1つに、“フィブロネクチン（FN）”がある。この分子は一般的に、β1-インテグリンとの結合を介し

連絡先：〒278-8510
千葉県野田市山崎2641
Tel: +81-4-7124-1501 ext 6466-6469
FAX: +81-4-7121-3619
e-mail: iyoda@rs.tus.ac.jp

て細胞接着に寄与する。しかし我々はこの接着に寄与するFN分子内に、細胞接着を抑制する機能性部位が存在することを見出した。この活性部位を含む22-merのペプチド(FNⅢ14)は、$\alpha 4\beta 1$（VLA-4）または$\alpha 5\beta 1$（VLA-5）インテグリンを不活性化することでFNを介した細胞接着を抑制しており、この活性の表出にはペプチドFNⅢ14のC末に存在するYTIYVIAL配列が重要であることを我々は明らかにした[3]。その後ペプチドFNIII14は、その反接着活性に基づいて細胞の生存や増殖、分化、さらに遺伝子発現の調節まで多大な影響を及ぼす、生理学的に重要なシステムであることが明らかとなった[3-8]。

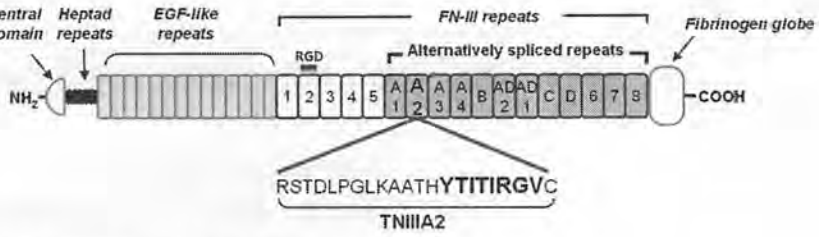

図1　テネイシン-C分子構造の概略図

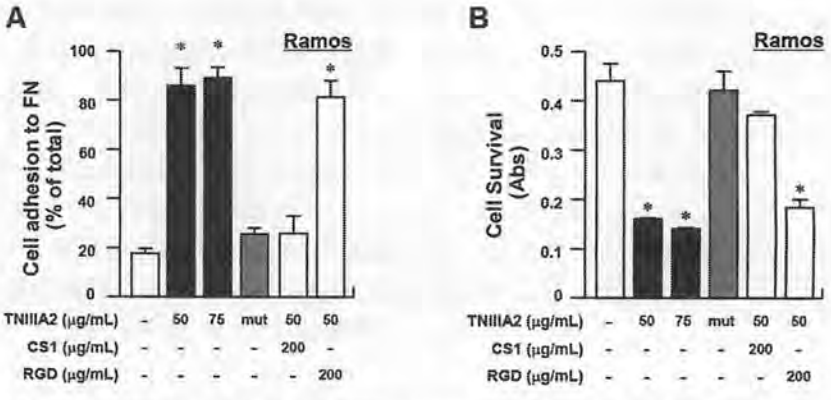

図2　RamosにおいてTNⅢA2が誘導する細胞接着の亢進(A)とアポトーシス誘導(B). mut; inactive controlペプチド, CS-1; $\alpha 4\beta 1$インテグリンアンタゴニスト, RGD; $\alpha 5\beta 1$インテグリンアンタゴニスト. ＊:p<0.05 vs TNⅢA2単独処置群. (参考文献[22]より改変)

我々は近年、このYTIYVIAL配列と相同性を有するYTITIRGV配列が、TN-C分子内に存在することを見出した。しかしこの配列を含む22-merのペプチド（TNⅢA2）は、その活性領域にペプチドFNⅢ14との相同性を有するにも関わらず、$\beta 1$-インテグリンの構造的・機能的活性化を介した細胞接着の促進という、FNⅢ14とは正反対の活性を示した。$\beta 1$-インテグリンの活性化はサイトカイン刺激などによるものが一般的であり、その活性化は一過的である（数時間のうちに基底状態に戻る）という性質を持つ[9]のに対して、TNⅢA2ペプチドが誘導する$\beta 1$-インテグリンの活性化は、その活性化状態を長時間維持するという特徴を持っている。また、TNⅢA2はヘパラン硫酸プロテオグリカン（HSPG）であるSyndecan-4を受容体とすることが明らかとなっており[10]、この“ペプチド-HSPG複合体”が$\beta 1$-インテグリン細胞外領域に直接作用することで、インテグリン構造の活性化型への変化を誘導することが分かっている。このユニークな“outside-outシグナル伝達系”によるインテグリンの活性化機構が、TNⅢA2において特徴的な$\beta 1$-インテグリンの「持続的活性化」に重要であることも示唆されており、既存のインテグリン活性化系とは著しく異なる経路を利用していることもわかってきている[10]。

TNⅢA2がある種の接着性細胞において細胞増殖を強く促進することから、この領域は腫瘍細胞の増殖、ひいては病態の進展に大きく寄与していると考えられる。その一方で非接着性のいくつかの細胞にはアポトーシスを誘導することも観察しており、生理的・病理的環境下におけるTNⅢA2の多機能性は注目に値する。そこで本稿ではTNⅢA2の機能に注目し、これまでに得られている知見を紹介する。

2. 浮遊性造血器悪性腫瘍細胞とTNⅢA2

2-1) TNⅢA2による白血病細胞のアポトーシス誘導

血球系細胞の生存・増殖において重要な役割を担うのが、FNとその受容体（インテグリン$\alpha 4\beta 1$/VLA-4、インテグリン$\alpha 5\beta 1$/VLA-5）に起因するシグナルであり[11]、造血器悪性腫瘍細胞の生存・増殖も、同様のインテグリンシグナル依存性を示す[12-14]。この時インテグリンシグナルは、アポトーシス抑制効果を基盤として、細胞の生存維持に寄与する[15,16]。またいくつかの白血病や骨髄腫では、骨髄に発現するFNに一部の腫瘍細胞が接着し、その結果として薬剤耐性（接着依存性薬剤耐性（CAM-DR））を獲得することも知られており[17]、薬剤存在下における腫瘍細胞の生存維持にも、インテグリンシグナルが深く関与している。

一方TN-Cの発現は、成体においては前述のとおり高くないが、骨髄などのリンパ系組織においては恒常的に発現している[18,19]。またがん病態局所においても、TN-Cの一過的な発現上昇が報告されている[20,21]。がん病態においてはMMPの高発現も認められることから、このような領域においてはTNⅢA2の表出が生じていると推測される。そこでTNⅢA2によって白血病細胞のインテグリン$\alpha 4\beta 1$を活性化し、強制的にFNに接着させた（図2A）。細胞接着の誘導により、細胞の生存・増殖が亢進すると予想されたが、実際には白血病細胞にアポトーシスによる細胞死が誘導されるとの結果を得た(図2B)[22]。ミエロイド系や赤血球の前駆細胞において、インテグリンを介したFNへの細胞接着がアポトーシス

を誘導するとの報告がされており[23-25]、上記我々の結果とも合致する。しかし一方で、白血病細胞のVLA-4を介したFNへの接着とそれに伴うCAM-DR獲得が、急性白血病の再発の主因であることも我々は報告している[26,27]、さらに前述の反接着誘導ペプチドFNⅢ14を抗がん剤と組み合わせて投与することで、再発のない完全な治療を白血病モデルマウスにおいて実現している[28]。この治療法の基盤は、FNⅢ14が誘導するβ1-インテグリンの不活化に伴う細胞接着の抑制により、白血病細胞のCAM-DRが解除されて抗がん剤感受性が高められる点にある。これらの結果は、インテグリンを介したCAM-DRが、確かに病態で成立していることを意味している。

インテグリンからのシグナルが、白血病細胞に「生」と「死」という両極端の結果を誘導するという事実に、整合性は取れるのであろうか。我々はこの矛盾が、「接着の強度と持続時間が、細胞の生死を決める重要なファクターになる」との仮説により説明可能であると考えている。即ちFNへの「適度」な接着は細胞の生存・増殖の維持にプラスに働き、逆にTNⅢA2が誘導するような「過度で持続的」な接着は細胞生存にはマイナスに働くとの考えである。CAM-DR獲得に関してなされている報告は、全て細胞の自発的な接着をベースに検討されたものであり、インテグリンを人為的に活性化させたものは皆無である[15,27,29,30]。またCAM-DRにおいて認められる白血病細胞の自発的な接着は、サイトカイン刺激を介したβ1-インテグリンの活性化に依存している[31]。前にも述べたが、一般的にサイトカインが誘導するβ1-インテグリンの活性化は急速（30min以内に最大値となる）かつ一時的（数時間以内に定常状態に回帰する）であり[9]、CAM-DRはこのような、細胞とFNとの「適度」な接着によって誘導されていると推測される。一方でTNⅢA2の誘導するような強力かつ持続的な細胞接着は、結果として細胞にアポトーシスを誘導すると考えている。

ではこのTNⅢA2が誘導する特徴的な細胞接着は、どのような機序に依っているのであろうか。この答えの1つとして我々は、TNⅢA2が細胞にアポトーシスを誘導するためには、Syndecan-4と呼ばれるHSPGの発現が必須であることを報告した[10,31]。Syndecanファミリー分子の発現は極めて高度に制御されており、好中球や末梢血単核球でのSyndecan-4発現は極めて低く[32,33]、確かにこれら末梢血細胞に対して、ペプチドTNⅢA2はアポトーシス誘導能を示さない（表1）。種々血球系細胞におけるSyndecan-4およびVLA-4の発現レベルとTNⅢA2誘導性アポトーシスの相関性に関する検討は、Syndecan-4分子がTNⅢA2受容体として機能する可能性を示唆している（表1）。

現在のところ、TNⅢA2によるインテグリンの活性化とそれに伴う細胞接着が、アポトーシス誘導へとシグナルを伝える仕組みについては不明である。しかしながら以上に記した結果は、インテグリンを介した細胞接着が、少なくとも血球系がん細胞の生存に対して「負」にも作用することを示唆している。TNⅢA2領域はTN-C分子内に埋没しているものの、ひとたび表出すれば血球悪性腫細胞の異常な生存・増殖を負に制御できるという事実から、今後は造血器腫瘍にあるリンパ系組織において、TNⅢA2領域をいかにして機能的に十分なレベルで表出させるか、その表出の機構とともに検討する価値がある。

表1　種々血球系細胞におけるVLA-4（α4β1インテグリン），VLA-5（α5β1インテグリン），およびSyndecan-4の発現レベルと、TNⅢA2誘導性細胞接着およびアポトーシスに対する感受性．（参考文献[53]より改変）

細胞種	発現率 (%)			細胞接着性		アポトーシス感受性	
	VLA-4	VLA-5	Syndecan-4	+ TNIIIA2	+ Mg^{2+}	+ TNIIIA2	+ Mg^{2+}
"患者由来急性骨髄性白血病細胞"							
患者 A	98.2	88.8	48.8	++	++	+	++
患者 B	97.5	98.5	9.5	-	+	-	++
"末梢血白血球細胞"							
好中球	6.7	N.D.	3.2	-	-	-	-
単球	48.6	N.D.	2.0	-	++	-	++
リンパ球	405	N.D.	4.4	-	++	-	+
"細胞株"							
B 細胞系							
Ramos	96.5	3.2	92.1	+++	++	+++	++
Raji	94.3	65.3	2.3	-	++	-	+
T 細胞系							
Jurkat	92.8	96.6	42.4	+++	++	+++	++
赤血球系							
K562	9.3	97.2	66.7	+++	++	-	-
骨髄系							
U937	98.1	98.2	87.5	+++	++	++	+++
HL60	99.8	99.7	75.3	+++	++	++	+
THP1	68.5	20.3	30.1	++	++	++	+
THP1(+PMA)	10.5	18.7	99.2	++	++	-	-

2-2) 赤血球分化の誘導とTNⅢA2

細胞分化の不完全性は、増殖の異常性と共に挙げられる腫瘍細胞の特徴の1つである。血球細胞の分化は、その増殖と同様、骨髄や胎児肝臓、胎児脾臓で生じている[11,34-38]。血球形成において重要な役割を担うレギュレーターはサイトカインや増殖因子であるが、血球前駆細胞と細胞外マトリクスとの相互作用も、血球分化を支える重要な因子と考えられている。血球分化の際には「造血幹細胞ニッチ」と呼ばれる微小環境が造血組織内に形成されるが、この微小環境の形成にはFNやTN、コラーゲン、ラミニン、そしてプロテオグリカンなどのECM分子がその構成分子として関与しており、中でもFNは最も重要な構成分子とされている[39-43]。赤血球分化においては、FN受容体のVLA-4やVLA-5を介した赤血球前駆細胞の接着が重要とされるが、この時FNは赤血球前駆細胞を物理的にアンカーするのみならず、細胞の生存・増殖の支持にも寄与すると考えられている[25,43-47]。しかしインテグリンシグナルと細胞分化に関しては、これまでその詳細がよく分かっていなかった。

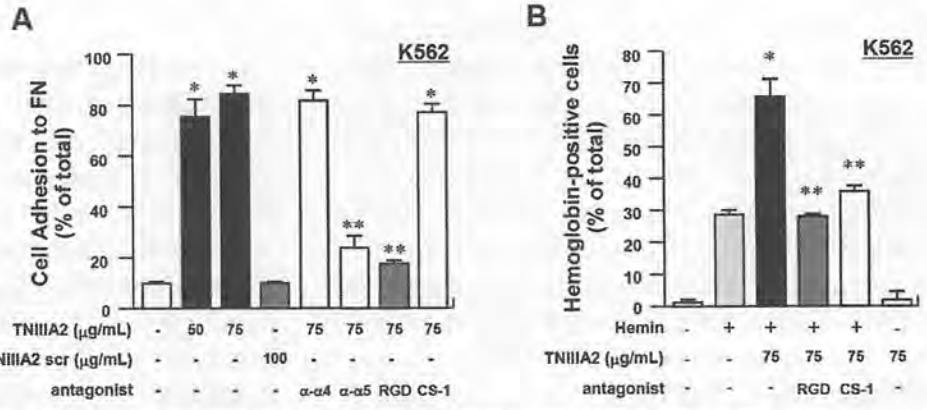

図3 K562細胞においてTNⅢA2が誘導する細胞接着の亢進(A)と赤血球分化(B). α-α4: α4インテグリン機能阻害抗体, α-α5: α5インテグリン機能阻害抗体. *:p<0.05 vs 未処置群. **: p<0.05 vs TNⅢA2単独処置群. (参考文献[53]より改変)

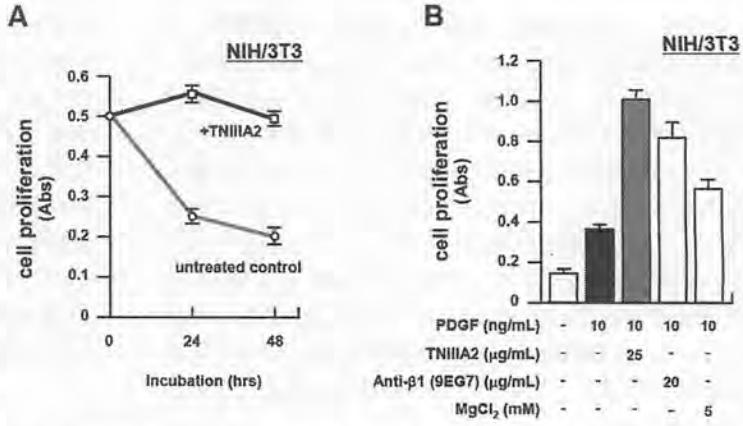

図4 NIH/3T3細胞においてTNⅢA2が示す(A)アノイキス耐性誘導効果と(B)PDGF依存性増殖の過剰増強効果.

最近我々はTNⅢA2による細胞接着の誘導が、hemin刺激による赤血球分化を顕著に増進することを明らかにした(図3)。赤血球への分化過程では、p38やJNK、そしてERKといったMAPKの関与が報告されており[48-52]、我々もK562細胞のhemin誘導性赤血球分化においてp38の活性化を観察したが、TNⅢA2はこの活性化を亢進させた[53]。K562細胞はFN受容体としてVLA-5のみを発現している [53,54] ことから、TNⅢA2が示す赤血球分化促進効果は、VLA-5を介したFNへの接着に依存していると考えられた。しかしVLA-5アンタゴニストのRGDペプチドのみならずVLA-4アンタゴニストのCS-1ペプチドも、TNⅢA2による赤血球分化（図3B）およびp38活性化の亢進を抑制したことから、VLA-4の関与も示唆された[53]。その後、TNIIIA2によるVLA-5を介したFNへの接着が、K562細胞にVLA-4発現を誘導することが示されたことから、この新たに発現したVLA-4を介したFNへの接着亢進が、p38の関与するシグナル伝達経路を介して、hemin誘導性の赤血球分化を促進していると考えている[53]。赤血球の分化には、骨髄間質細胞に発現するTN-Cが重要との報告があり[55]、我々の結果はこの詳細を示すものと考えられる。TNⅢA2の母体分子であるTN-Cは骨髄などの免疫系組織に高発現しており[18,19]、かつタンパク分解による修飾に感受性を持つ分子である[56]ことから、TNⅢA2領域の表出具合を制御できれば、少なくともがんの持つ性質の1つである「不完全分化」を減弱でき、病態の改善に寄与できる可能性がある。

3. 接着性細胞の生存・増殖とTNⅢA2

線維芽細胞や上皮系細胞などの接着性細胞は通常、β1-インテグリンを介したECMとの接着を失うとアポトーシス様の細胞死を起こす。この現象は足場喪失性細胞死（アノイキス）と呼ばれ、細胞が本来あるべき場所から脱離した際に別の場所で生存し続けることのないように仕組まれた、組織維持のための重要なシステムである[57,58]。一方でがん細胞は高い転移能を示すが、この能力はアノイキスに対する耐性を獲得することでもたらされると考えられており、細胞がアノイキス耐性を獲得する機序に関する理解は、がん病態の解明に重要な課題である。

最近我々は、マウス線維芽細胞株NIH/3T3細胞を脱着させた際に誘導される細胞死（アノイキス）が、TNⅢA2によって抑制されることを見出した（図4A)。この時TNⅢA2はAktやBcl-2の発現上昇を誘導しており、その一

方で細胞の接着状態には影響を与えないことから、細胞にアノイキス耐性を付与していると考えられる。一方様々ながん病態においては局所における増殖因子の高発現が観察されており、中でも変異した細胞の増殖促進にはPlatelet-Derived Growth Factor (PDGF) が寄与すると考えられている。しかしPDGF依存性の細胞増殖も、インテグリンを介したECMへの細胞接着なしでは生じない[59]。PDGFはPDGF受容体に作用し、自己リン酸化サイトのリン酸化を介してRas/MAPKの活性化を誘導する[60]が、この時インテグリンからのシグナルがPDGF受容体からのシグナルと合流し、MAPK/ERK経路の活性化状態が増幅されることで、細胞増殖が誘導される。この事実は接着受容体であるインテグリンが、増殖因子と同程度に細胞増殖に寄与することを示唆している。そこでFNコート上にて培養したNIH/3T3細胞の示すPDGF依存的な細胞増殖におけるTNⅢA2の効果を評価したところ、増殖がさらに促進されるとの観察結果を得た (図4B)。VLA-5の阻害がTNⅢA2による、PDGF依存性細胞増殖の過剰促進を抑制することから、この応答もβ1-インテグリンの活性化に依存しているといえる。更に、神経膠芽腫細胞はPDGF受容体を高発現することが知られているが、この神経膠芽腫細胞のPDGF依存性増殖が、TNIIIA2によるβ1インテグリン活性化によって著しく促進されることも明らかになっている(論文投稿中)。これらの知見は、TN-C内の活性部位「TNⅢA2」を標的とした薬剤が、過剰な細胞増殖を伴う疾患の治療に対して新たなアプローチとなる可能性を示唆している。

4. おわりに

今回注目したTN-Cの発現は、慢性肝炎や心筋梗塞、関節炎などの病態においても報告され、その病態の形成・進展との関連が示唆されている[61-63]。TNⅢA2領域はMMPなどの炎症性のプロテアーゼによるTN-Cの分解によって表出しうる[56]ことから、今回取り上げた悪性腫瘍以外の種々疾患治療においても、TNⅢA2領域が新規ターゲットとなる可能性を秘めている。一方でTNⅢA2による強力かつ持続的なインテグリンの活性化は、Rasの持続的な活性化を誘導する。Rasの持続的活性化は、前述の通り不死化されているマウス線維芽細胞株細胞においては細胞の生存維持や、場合によっては過剰増殖をもたらす。しかし最近、不死化していないヒト線維芽細胞株WI38細胞では、むしろ増殖が抑制され、細胞老化を引き起こすとの観察結果を得た。他のヒト細胞株でも同様の細胞老化が観察されるとともに、TNⅢA2の誘導する細胞老化がインテグリンの持続的活性化に基づいていることも分かってきた。これまで述べてきたとおり、炎症局所や種々病巣組織において表出したTNⅢA2は β1-インテグリンの活性化を誘導し、その微小環境にある細胞に持続的な細胞接着を促す。この時強力かつ持続的な接着を強制された細胞は老化を起こし、その結果不必要な応答が回避されることで、定常状態への速やかな回帰に寄与するのかもしれない。一方炎症局所における不応答性に変異をきたした細胞は、異常増殖やさらなる炎症応答などを誘導することで、がん化を含む種々病態を進展させている可能性が考えられる。病態の進行と接着誘導を介した細胞老化のクロストークについてはこれまで殆ど報告がないが、新たな病態制御のアプローチとして、その詳細の解明が期待される。

参考文献

[1] P. Bornstein P and Sage EH. Matricellular proteins: extracellular modulators of cell function. Curr Opin in Cell Biol 14:608-616, 2002.

[2] Murphy-Ullrich JE. The de-adhesive activity of matricellular proteins: is intermediate cell adhesion an adaptive state? J Clin Invest 107:785-790, 2001.

[3] Fukai F, Hasebe S, Ueki M, et al. Identification of the anti-adhesive site buried within the heparin-binding domain of fibronectin. J Biochem. 121:189-192, 1997.

[4] Watanabe K, Takahashi H, Habu Y, et al. Interaction with heparin and matrix metalloproteinase 2 cleavage expose a cryptic anti-adhesive site of fibronectin Biochemistry 39:7138-7144, 2000.

[5] Kato R, Kamiya S, Ueki M, et al. The fibronectin-derived antiadhesive peptides suppress the myofibroblastic conversion or rat hepatic stellate cells. Exp Cell Res. 265:54-63, 2001.

[6] Kato T, Ishikawa T, Kamiya S, et al. A new type of antimetastatic peptide derived from fibronectin. Clin Cancer Res. 8:2455-2462, 2002.

[7] Kamiya S, Kato R, Wakabayashi M, et al. Fibronectin peptides derived from two distinct regions stimulate adipocyte differentiation by preventing fibronectin matrix assembly. Biochem. 41:3270-3277, 2002.

[8] Kamiya S, Kawaguchi T, Hasebe S, et al. A fibronectin fragnment induces tumor necrosis factor production of rat basophilic leukemia cells. Biochim Biophys Acta. 1675:87-94, 2004.

[9] Chigaev A, Blenc AM, Braaten JV, et al. Real time analysis of affinity regulation of alpha 4-integrin. The physiologically activated receptor is intermediate in affinity between resting and Mn^{2+} or antibody activation J Biol Chem 276:48670-48678, 2001.

[10] Saito Y, Imazeki H, Miura S, et al. A peptide derived from tenascin-C induced β1 integrin activation through syndecan-4. J Biol Chem 282:34929-34937, 2007.

[11] Williams DA, Rios M, Stephens C, et al. Fibronectin and VLA-4 in haematopoetic stem cell-microenvironment interaction. Nature

352:438-441, 1991.

[12] Shain KH, Landowski TH, and Dalton WS. The tumor microenvironment as a determinant of cancer cell survival: a possible mechanism for de novo drug resistance. Curr Opin Oncol 12:557-563, 2000.

[13] Sachs L. The adventures of biologist: prenatal diagnosis, hematopoiesis, leukemia, carcinogenesis, and tumor suppression. Adv Cancer Res 66:1-40, 1995.

[14] Bradstock KF, and Gottlieb DJ. Interaction of acute leukemia cells with the bone marrow microenvironment: implications for control of minimal residual disease. Leuk Lymphoma 18:1-16, 1995.

[15] Hurley RW, McCarthy JB, and Verfaillie CM. Direct adhesion to bone marrow stroma via fibronectin receptors inhibits hematopoietic progenitor proliferation. J Clin Invest 96:511-519, 1995.

[16] Molla A, and Block MR. Adherence of Human erythroleukemia cells inhibits proliferation without inducing differentiation. Cell Growth Differ 11:83-90, 2000.

[17] Damiano JS, Hazlehurst LA, and Dalton WS. Cell adhesion-mediated drug resistance (CAM-DR) protects the K562 chronic myelogenous leukemia cell line from apoptosis induced by BCR/ABL inhibition, cytotoxic drugs, and γ-irradiation. Leukemia. 15:1232-1239, 2001.

[18] Chilosi M, Lestani M, Benedetti A, et al. Constitutive expression of tenascin-C in T-dependent zones of human lymphoid tissues. Am J Pathol 143:1348-1355, 1993.

[19] Ocklind G, Talts J, Fassler R, et al. Expression of tenascin in developing and adult mouse lymphoid organs. J Histochem Cytochem. 41:1163-1169, 1993.

[20] Atula T, Hedstrom J, Finne P, et al. Tenascin-C expression and its prognostic significance in oral and pharyngeal squamous cell carcinoma. Anticancer Res. 23:3051-3056,2003.

[21] Leins A, Riva P, Lindstedt R, et al. Expression of tenascin-C in various human brain tumors and its relevance for survival in patients with astrocytoma. Canceer. 98:2430-2439, 2003.

[22] Saito Y, Owaki T, Matsunaga T, et al. Apoptotis cell death of hematopoietic tumor cells through potentiated and sustained adhesion to fibronectin via VLA-4. J Biol Chem 285:7006-7015, 2010.

[23] Sugahara H, Kanakura Y, Furitsu T, et al. Induction of programmed cell death in human hematopoietic cell lines by fibronectin via its interaction with very late antigen 5. J Exp Med 179:1757-1766, 1994.

[24] Terui Y, Furukawa Y, Sakai T, et al. Up-regulation of VLA-4 expression during monocytic differentiation and its role in negative control of the survival of peripheral blood monocytes. J Immunol. 156:1981-1988, 1996.

[25] Kapur R, Cooper R, Zhang L, et al. Cross-talk between $\alpha 4\beta 1$ / $\alpha 5\beta 1$ and c-kit results in opposing effect on growth and survival of hematopoietic cells via the activation of focal adhesion kinase, maitogen-activated protein kinase, and Akt signalling pathways. Blood 97:1975-1981, 2001.

[26] Matsunaga T, Takemoto N, Sato T, et al. Interaction between leukemic-cell VLA-4 and stromal fibronectin is a decisive factor for minimal residual disease of acute myelogenous leukemia. Nat Med 91:158-165, 2005.

[27] Hazlehurst LA, and Dalton WS. Mechanisms associated with cell adhesion mediated drug resistance (CAM-DR) in hematopoietic malignancies. Cancer Metastasis Rev 20:43-50. 2001.

[28] Matsunaga T, Fukai F, Miura S, et al. Combination therapy of an anticancer drug with FNIII14 peptide of fibronectin effectively overcomes cell adhesion-mediated drug resistance of acute myelogenous leukemia. Leukemia 22:353-360. 2008.

[29] Wang MWJ, Consoli U, Lane CM, et al. Rescue from apoptosis in early (CD34-selected) versus late (non-CD34-selected) human hematopoietic cells by very late antigen 4- and vascular cell adhesion molecules (VCAM)1-dependent adhesion to bone marrow stromal cells. Cell Growth Differ 9:105-112, 1998.

[30] Damiano JS, Cress AE, Hazlehurst LA, et al. Cell adhesion mediated drug resistance (CAM-DR): role of integrins and resistance to apoptosis in human myeloma cell line. Blood 93:1658-1667, 1999.

[31] Lévesque JP, Leavesley DI, Niutta S, et al. Cytokines increase human hematopoietic cell adhesiveness by activation of very late antigen (VLA)-4 and VLA-5 integrins. J Exp Med 181:1805-1815, 1995.

[32] Yamashita Y, Oritani K, Miyoshi EK, et al. Syndecan-4 is expressed by B lineage lymphocytes and can transmit a signal for formation of dendritic processes. J Immunol. 162:5940-5948, 1999.

[33] Kaneider NC, Egger P, Dunzendorfer S, et al.

Syndecan-4 as an antithrombin receptor of human Neutrophil. Biocheml Biophysic Res Commun 287:42-46, 2001.

[34] Coulombel L, Vunillet MH, Leroy C, et al. Linage- and stage-specific adhesion of human hematopoetic progenitor cells to extracellular matrices from marrow fibroblasts. Blood 71:329-34, 1988.

[35] Williams DA. Molecular analysis of the hematopoietic microenvironment. Pediatr Res 36:557-560, 1994.

[36] Murti KG, Brown PS, Kumagai M, et al. Molecular interactions between human B-cell progenitors and the bone marrow microenvironment. Exp Cell Res 226:47-58, 1996.

[37] Clark BR, Gallagher JT, and Dexter TM. Cell adhesion in the stromal regulation of haematopoesis. Baillieres Clini Haematol 5:619-652, 1992.

[38] Wilson A, Trumpp A. Bone-marrow Haematopoietic-stem-cell niches. Nat Rev Immunol 6:93-106, 2006.

[39] Patel VP, and Lodish HF. A fibronectin matrix is required for differentiation of murin erythroleukemia cells into reticulocytes. J Cell Biol 105:3105-3118, 1987.

[40] Vuillet-Gaugler MH, Breton-Gorius J, Vainchenker W, et al. Loss of attachement to fibronectin with terminal human erythroid differentiation. Blood 75:865-873, 1990.

[41] Tada T, Widayati DT, and Fukuta K. Morphological study of the transition of haematopoietic sites in the developing mouse during the peri-natal period Anat Histol Embryol 35:235-240, 2006.

[42] Weinstein R, Riordan MA, Wenc K, et al. Dual role of fibronectin in hematopoietic differentiation. Blood 73:111-116, 1989.

[43] Eshghi S, Vogelezang MG, Hynes RO, et al. $\alpha 4\beta 1$ integrin and erythropoietin mediate temporally distinct steps in erythropoiesis: integrin in red cell development. J Cell Biol 177:871-880, 2007.

[44] Papayannopoulou T, Priestley GV, and Nakamoto B. Anti-VLA4/ VCAM-1-induced mobilization requires cooperative signaling through the kit/mkit ligand pathway. Blood 91:2231-2239, 1998.

[45] Van Der Loo JCM, Xiao X, McMillin D, et al. VLA-5 is expressed by mouse and human long-term repopulating hematopoietic cells and mediates adhesion to extracellular matrix protein fibronectin. J Clin Invest 102, pp. 1051-1061, 1998.

[46] Yanai N, Sekine C, Yagita H, et al. Roles for integrin very late antigen-4 in stroma-dependent erythropoiesis. Blood 83:2844-2850, 1994.

[47] Hamamura K, Matsuda H, Takeuchi Y, et al. A critical role of VLA-4 in erythropoiesis in vivo. Blood 87: 2513-2517, 1996.

[48] Witt O, Sand K, and A. Pekrun. Butyrate-induced erythroid differentiation of human K562 leukemia cells involves inhibition of ERK and activation of p38 MAP kinase pathways. Blood 95:2391-2396, 2000.

[49] Nagata Y, Takahashi N, Davis RJ, et al. Activation of p38 MAP kinase and JNK but not ERK is required for erythropoietin-induced erythroid differentiation. Blood 92:1859-1869, 1998.

[50] Park JI, Choi HS, Jeong JS, et al. Involvement of p38 kinase in hydroxyurea- induced differentiation of K562 cells. Cell Growth Differ 12:481-486, 2001.

[51] Woessmann W, and Mivechi NF. Role of ERK activation in growth and erythroid differentiation of K562 cells. Exp Cell Res 264:193-200, 2001.

[52] Di Pietro R, Di Giacomo V, Caravatta L, et al. Cyclic nucleotide response element binding (CREB) protein activation is involved in K562 erythroleukemia cells differentiation. J Cell Biochem 100:1070-1079, 2007.

[53] Tanaka R, Owaki T, Kamiya S, et al. VLA-5-mediated adhesion to fibronectin accelerates hemin-stimulated erythroid differentiation oh K562 cells through induction of VLA-4 expression. J Biol Chem. 284:19817-19825, 2009.

[54] Elices MJ, Osborn L, Takada Y, et al. VCAM-1 on activated endothelium interact with the leukocyte integrin VLA-4 at a site distinct from the VLA-4/fibronectin binding site. Cell. 60:577-584, 1990.

[55] Seki M, Kameoka J, Takahashi S, et al. Identification of tenascin-C as a key molecule determing stromal cell-dependent erythropoiesis Exp Hematol 34:519-527, 2006.

[56] Siri A, Knäuper V, Veirana N, et al. Different susceptibility of small and large human tenascin-C isoforms to degradation by matrix metalloproteinases. J Biol Chem 270 :8650-8654, 1995.

[57] Ilic D, Almeida EA, Schlaepfer DD, et al. Extracellular matrix survival signals transduced by focal adhesion kinase suppress p53-medi-

ated apoptosis. J Cell Biol 143:547-560, 1998.
[58] Frisch SM, and Screaton RA. Anoikis mechanisms. Curr Opin Cell Biol 13:555-562, 2001.
[59] Chiarugi P. From anchorage dependent proliferation to survival: Lessons from redox signaling. IUBMB Life 60:301-307, 2008.
[60] Claesson-Welsh L. Platelet-derived growth factor receptor signals. J Biol Chem 269:32023-32026, 1994.
[61] El-Karef A, Yoshida T, Gabazza EC, et al. Deficiency of tenascin-C attenuates liver fibrosis in immuno-mediated chronic hepatitis in mice. J Pathol 211:86-94, 2007.
[62] Nishioka T, Onishi K, Shimojo N, et al. Tenascin-C may aggravate left ventricular remodeling and function after myocardial infarction in mice. Am J Physiol 211:86-94, 2007.
[63] Midwood K, Sacre S, Piccinini AM, et al. Tenascin-C in an endogeneous activator of Toll-like receptor 4 that is essential for maintaining inflammation in arthritic joint disease. Nat Med 15:774-780, 2009.

Regulation of Cell Survival, Proliferation, and Differentiation through the β1-integrin signaling.

Takuya Iyoda[1, 2] and Fumio Fukai[1, 2]
[1] Department of Molecular Patho-Physiology, Faculty of Pharmaceutical Science, Tokyo University of Science
[2] Center for Drug Delivery Research, Research Institutes for Science and Technology, Tokyo University of Science

Cell adhesion to extracellular matrix (ECM) is an essential event not only for anchoring cell to stroma, but also for stimulating cell proliferation, differentiation, and migration. Since disorder of these processes leads to a variety of diseases including cancer, understanding of molecular mechanisms underlying the regulation of cell adhesion would provide an important basis for understanding of tissue homeostasis based on an anchorage-dependent cell regulation, and contribute to development of therapeutic strategy for relating diseases. We previously found a peptide from tenascin (TN)-C, termed TNIIIA2 which stimulates cell adhesion to ECM through activation of β1-integrin. It has become clear that TNIIIA2 is capable of modulating a variety of anchorage-dependent cellular processes, such as cell survival, proliferation, and differentiation through β1-integrin activation. The multifunctional properties of TNIIIA2 thus demonstrate an importance of β1-integrin signaling in cell regulation.

Key words : ECM protein, Tenascin-C, Integrin,