The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	膜結合型プロテアーゼmembrane type II matrix metalloproteinase(MT2-MMP)の活性化機構と生物学的機能の解析
Author(s)	伊東, 絵望子
Citation	大阪大学, 2010, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/54190
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【3】

氏　　名	伊　東　絵望子（いとう　えみこ）
博士の専攻分野の名称	博　士（保健学）
学　位　記　番　号	第　２３７０２　号
学位授与年月日	平成22年３月23日
学位授与の要件	学位規則第４条第１項該当 医学系研究科保健学専攻
学　位　論　文　名	膜結合型プロテアーゼmembrane typeⅡmatrix metalloproteinase （MT2-MMP）の活性化機構と生物学的機能の解析
論文審査委員	（主査） 教　授　松浦　成昭 （副査） 教　授　山村　　卓　　教　授　三善　英知

論文内容の要旨

【序論】

癌の組織浸潤・転移は、癌細胞の原発巣からの離脱に始まる。癌細胞はその周囲を取り巻く細胞外基質に包囲されており、組織内移動が阻まれた状態にある。従って、離脱細胞が細胞外基質を溶かしつつ増殖・移動する事が浸潤・進展を可能にする。この際、主に使われる基質分解酵素がmatrix metalloproteinase(MMP)

である。1980年に癌細胞が分泌するIV型コラーゲン分解酵素(MMP-2)の作用が癌の転移能を決定する重要な因子でることが示唆され、このMMP-2の活性化因子として細胞膜局在型MMP (MT-MMP)が報告されている。MMPは全て潜在型酵素として産生されることから、細胞外基質の分解活性メカニズムを明らかにするためには、潜在型MMPの活性化機構の解明が必要である。癌の進展に重要な役割を果たしているMMP-2の活性化因子であるMT-MMPの活性化機構はまだほとんど解明されていない。

また、MT-MMPは、細胞の周囲で浸潤の方向にある基質を効率よく分解し得る事から、細胞の増殖・移動には特に重要であると見なされている。中でもMT1-MMPについては研究が進み、癌の浸潤・転移の際に特に重要で、かつ中心的役割を果たしていると考えられている。MT2-MMPはMT1-MMPと70%近い相同性を有することから、MT1-MMPと同様に癌の進展に重要な役割を演じることが予想されている。しかし意外にも、これまでMT2-MMPの知見はMT1-MMPに比し非常に限られている。

以上より、MT2-MMPはMMP-2の活性化と自らの細胞外基質(ECM : extra cellular matrix)分解活性で癌細胞の浸潤・転移に作用すると考えられる。

【目的】

MT1-MMPと同様にMT2-MMPは、癌の浸潤・進展に重要な役割を演じることが予想されている。しかし意外にも、これまでMT2-MMPの知見はMT1-MMPに比し非常に限られている。そこで本研究は、MT2-MMPの活性化機構の解明と癌進展の関連性について検討する。

【結果】

まず、MT2-MMPの活性化機構について検討を行った。MT-MMPはfuinと呼ばれるセリンプロテアーゼにより活性化される事が報告されている。そこで、可溶型MT2-MMPであるsoluble MT2-MMPと、furin 認識部位であると考えた126～131番目のRRRRKR配列に変異を入れたsoluble MT2A5-MMP を作製した。soluble MT2-MMPのプロセッシングがfurin inhibitorによりブロックされ、soluble MT2A5-MMPではfurinによるプロッセッシングが阻害された。次に、MT2-MMPの細胞機能について検討を行った。内在性にMT1-MMPとMT2-MMPを発現しているHT1080細胞(ヒト線維肉腫細胞株)では、siRNAによりMT1-MMPもしくはMT2-MMPの発現を抑制すると、遊走能・浸潤能の有意な抑制が見られた。また、3次元培養下でもMT1-MMPもしくはMT2-MMPの発現抑制により、増殖能の抑制が見られた。さらに、in vivoでのヌードマウスへの腫瘍細胞の移植でも、MT1-MMPもしくはMT2-MMPの発現抑制により、腫瘍増殖の抑制・生存率の改善が見られた。MT1-MMPとMT2-MMPの遊走能・浸潤能は同等で、3次元培養下での増殖能・in vivoで腫瘍増殖能はMT1-MMPよりMT2-MMPで有意であった。一方、内在性にMMP-2,MT1-MMPを発現しておらず、MT2-MMPを発現しているTMK-1(胃癌細胞株)でもHT1080細胞と同様の検討を行ったところ、MT2-MMPの発現抑制により遊走能・浸潤能・増殖能の有意な抑制が見られた。

【考察】

＜活性化機構＞

Soluble MT2-MMPのプロセッシングがfurin inhibitorによりブロックされ、また126～131番目のRRRRKR配列に変異を入れたsoluble MT2A5-MMPではfurinによるプロッセッシングが阻害されていることから、RRRRKR配列がsoluble MT2-MMPのプロセッシングの過程において、重要な役割を果たしていることが考えられる。また、soluble MT2-MMPの活性型のバンドが2つのバンドから構成されているということが分かった。これよりfurinによるプロッセッシング部位が１つではなく複数存在するのではないかということが示唆された。

また、126～131番目のRRRRKR配列に変異を入れたsoluble MT2A5-MMPではfurinにより活性が阻害されていることから、2つのバンドのうち１つは126～131番目のRRRRKR配列によるものである可能性が高いと考えられた。

＜細胞学的機能＞

MT2-MMPはMT1-MMPと同等の浸潤能・遊走能、MT1-MMP以上の増殖能を持ち、その機能はMMP-2,MT1-MMP非依存的であることが示された。これらのMT2-MMPの癌進展における機序についてはさらに理解を深める必要があるが、MT2-MMPが癌進展の抑制を目指す上で、ひとつのターゲットになり得ることを示す結果と考えられる。

以上より、MT2-MMPの活性化機構や機能の解明は、癌の浸潤・転移のメカニズムの解明や癌進展の抑制に重要な役割を果たすと考えられる。

論文審査の結果の要旨

癌の浸潤・転移においてMMPは重要な役割を果たしている。そのため、MMPの活性化機構や機能を検討する事は、癌の浸潤・転移を抑制する上で重要となっている。MMPの中でも、MT1-MMPについては研究が進み、癌の浸潤・転移の際に特に重要で、かつ中心的役割を果たしていると考えられている。申請者が調べたMT2-MMPはMT1-MMPと70%近い相同性を有することから、MT1-MMPと同様に癌の進展に重要な役割を演じることが予想されている。しかし意外にも、これまでMT2-MMPの知見はMT1-MMPに比し非常に限られている。そこで申請者は、MT2-MMPの活性化機構の解明と癌進展の関連性について検討を行った。その結果、活性化機構では、MT2-MMPのプロセッシングはfurin inhibitorによりブロックされ、また126～131番目のRRRRKR配列に変異を入れると、furinによるプロッセッシング阻害が見られた。さらに、がん進展におけるMT2-MMPの意義についての検討では、がん細胞の遊走能・浸潤能・3次元増殖能にMT2-MMPはMT1- MMPと同等あるいはそれ以上に重要で、さらにその機能はMMP-2,MT1-MMPに非依存性であった。

この研究は、従来癌の浸潤・転移に重要な役割を果たすと報告されてきたMT1-MMP以上に、MT2-MMPが癌進展において重要な役割を果たしていることを初めて示すものとして高く評価できる。以上より、本論文は博士（保健学）の学位授与に値するものと考えられる。