

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 森 英 俊

細胞の運動および形態変化はアクチン細胞骨格系の再構築によって達成され、細胞が組織の中を運動する時には、細胞外基質（ECM）に接着し分解することが必要である。細胞接着分子は、ECMをリガンドとして結合する一方で、細胞内においてはシグナル分子やアクチン骨格系と会合している。従って、接着分子はECMからのシグナルを細胞内へ伝えると同時に、細胞運動を制御するシグナルによってその局在・活性が制御される。細胞表面で働くECM分解酵素として6種類の膜型マトリックスメタロプロテアーゼ（MT-MMP）が知られている。そのうちMT1-MMPは基底膜基質の主成分であるIV型コラーゲンを分解するMMP2（ゼラチナーゼA）の活性化と相関すること、癌細胞株にMT1-MMPを強発現させると浸潤能および転移能が増加することから、癌細胞浸潤の重要な分子であると考えられている。細胞運動の際のMT1-MMPは、接着分子やアクチン骨格系と連動し制御していると考えられるが、それを可能にする分子は不明である。本研究はMT1-MMPの細胞膜上での局在制御機構を解析する目的で行われたものである。

第一章では、MT1-MMPとアクチンの会合を規定するドメインの解析を試みている。細胞運動に関係する接着分子がアクチンと結合することによって、細胞運動と連動した制御を受けるのと同様に、MT1-MMPが細胞運動の先進部へと集結すれば、浸潤方向のECM分解に都合がよい。そこで、MT1-MMPの局在がアクチン骨格系の変化によって影響を受けるのかを調べるため、アクチンを脱重合させるサイトカラシンD（CyD）でアクチン骨格系を変化させた結果、細胞膜上でMT1-MMPとCD44とがそれぞれ局在を変化させ、両者が類似した局在を示すことを確認した。このことから、MT1-MMPの細胞膜表面での局在がCD44と同様に細胞内のアクチン骨格と連結して制御されていることを明らかにした。また、MT1-MMPはヘモベキシンドメインを介して、アクチン骨格系と会合している細胞表層因子と結合することによって間接的に細胞内アクチンと連携していると結論した。

第二章ではCD44によるMT1-MMPの局在制御機構の解析を試みている。CD44は、ヒアルロン酸などのECMをリガンドとし、細胞内ではアクチンと会合することや、細胞の運動能や浸潤・転移能を亢進させることが知られている。MT1-MMPの局在はインテグリンが存在する接着斑の部位よりはむしろCD44と一致したことから、CD44がMT1-MMPを細胞内アクチン骨格系にリンクさせる分子として機能している可能性を考えた。そこで、CD44とMT1-MMPの細胞膜上での結合を、リコンビナントタンパク質同士の結合と比較し、MT1-MMPのヘモベキシンドメインがCD44と結合することを示した。また、触媒ドメインはCD44と結合しないことも示した。さらに、CD44のヒアルロン酸結合ドメインと膜結合部位の間の領域に相当するリコンビナントタンパク質とMT1-MMPの変異体との直接の結合を検

討し、MT1-MMPはヘモペキシンドメインを介してCD44に直接結合することを明らかにした。次に、MT1-MMPとアクチンとの会合にCD44の細胞質ドメインが必須であるかを検討するために、CD44の細胞質ドメインに存在するアクチンと会合するためのドメインを欠失した変異体CD44-dEを作成し、CyD処理による細胞膜上でのCD44-dEの局在変化を観察した。その結果、MT1-MMPとアクチン骨格との関係にはCD44の細胞質ドメインが必須であることを示した。細胞運動の際にはアクチン骨格の再編成に伴ってMT1-MMP、CD44の局在も変化すると考えられる。そこで細胞にMT1-MMPの変異体を発現させPMA刺激により細胞運動を誘導した場合のMT1-MMP変異体と内在性CD44の細胞膜上での局在変化を比較した。その結果、MT1-MMPはヘモペキシンドメイン依存的にCD44と結合し、アクチン骨格の再編成に伴う細胞膜上のCD44の局在変化と挙動が一致することを見出した。

以上本論文は、MT1-MMPの細胞膜上の局在がCD44によって制御されていることを示し、癌細胞の浸潤を含めた細胞の組織内移動の際に、その運動先進部にMT1-MMPを局在化させ、ECM分解に利用するメカニズムを明らかにした。さらに、本研究の結果はプロテアーゼとアクチン骨格との結合を可能にする分子との連携を断つことが、従来のプロテアーゼ阻害剤に加えて、新たな浸潤制御の戦略になりうることを示し、学術上貢献するところが少なくない。

よって審査委員一同は本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。