

[別紙 2]

審 査 の 結 果 の 要 旨

氏 名 早 下 裕 美

本研究において、早下君は新規遺伝子MT5-MMPの発現をマウス組織と初代培養系を用いて詳細に解析し、以下の結果を得た。

1. 新規遺伝子であるMT5-MMPのヒト・マウスでの組織における発現をNorthern blotにより明らかにした。さらにマウス組織でのMT5-MMP mRNAおよびproteinの発現を発生段階を追って明らかにした。
2. 1よりMT5-MMPの発現は神経系に特異的であったことから、マウス胚性腫瘍細胞（P19）の分化誘導系を用いて、P19を神経細胞に分化誘導した際に、MT5-MMPの発現がNeurofilamentを発現している神経細胞に見られることを明らかにした。
3. マウス後根神経節の初代培養において、MT5-MMPはNeurofilamentを発現している神経細胞に共局在し、その局在は成長円錐の先端と軸索・細胞体に見られることを示した。
4. 3で見られたMT5-MMPの発現が、軸索伸長阻害作用を示すとされているヘパラン硫酸プロテオグリカン・コンドロイチン硫酸プロテオグリカンを分解することで軸索伸長を促進する可能性を示した。また、この軸索伸長促進効果は、MMP阻害剤の添加により消失した。

以上の結果は、神経組織構築の際にMT5-MMPが関与していることを強く指摘している。即ち、本研究により神経特異的に発現するMT5-MMPが、どのような発生段階で脳組織のどの細胞に発現しているかがタンパク質レベル、mRNAレベルで明らかになった。成体でMT5-MMPの強い発現が見られた部位は神経の可塑性があるとされる領域であり、MT5-MMPが可塑性の形成に何らかの関与をしている可能性も考えられる。また、小脳の発生においては移動中の顆粒細胞層にMT5-MMPが局在し、その同じ細胞層にゼラチン分解活性が確認されたことから、MT5-MMPが何らかの細胞外基質を切断して顆粒細胞の移動を容易にしている可能性も考えられる。これまでにMT5-MMPは免疫組織染色によ

ラットの脳で発現していることと、その発生段階で大脳皮質と小脳のプルキンエ細胞と顆粒細胞層に発現していることが報告されていたが、その発現細胞が神経細胞に特異的であるのか、グリア細胞によるものであるか明らかではなかった。今回、P19を用いたin vitro分化誘導系でneurofilament, MT5-MMP, GFAP mRNAの発現量を解析したところ、MT5-MMPの発現は神経細胞に特異的なものであることが示された。マウス後根神経節の分散初代培養においてneurofilamentとMT5-MMPの免疫染色を行ったことによりMT5-MMPはneurofilamentを発現している神経細胞に発現し、その発現は細胞体、軸索と成長円錐の先端に見られることが明らかになった。MT5-MMPの基質としては現在までにpro-MMP2, ヘパラン硫酸プロテオグリカン, コンドロイチン硫酸プロテオグリカンなどが報告されていた。本研究で、軸索伸長阻害効果をもつとされているプロテオグリカンの基質上で後根神経節神経細胞の分散培養を行ったところ、その阻害効果はMT5-MMPの添加により消失し、MT5-MMPがプロテオグリカンを切断することにより軸索伸長を促進する可能性が示唆された。MMP-2はニワトリの後根神経節分散初代培養でMT5-MMPと同様に軸索と成長円錐の先端に発現することが報告されており、MT5-MMPがMMP-2の活性化を行い、協同的に軸索伸長の際に働いている可能性も考えられる。

本研究は、これまでその発現部位と神経細胞における生理的役割が明らかでなかったMT5-MMPが神経細胞特異的に発現し、神経の軸索伸長を制御すること、さらには神経のネットワーク形成においてMT5-MMPが果たす新たな役割を提唱するものであり、今後の研究に大きく貢献するものと考えられ、学位の授与に値するものと考えられた。