

審査の結果の要旨

氏 名 泊 泰三

癌細胞の運動や浸潤過程において、膜結合型マトリックスメタロプロテアーゼ 1 (MT1-MMP) は細胞外マトリックス分解などの癌細胞膜上で起こるプロテオリシスに重要な役割を担うと考えられている。本研究では、癌細胞において、MT1-MMP がどのような膜分子を標的基質としているのか、また、MT1-MMP がどのような相互作用分子を介してプロテアーゼ活性の制御を受けるのか明らかにすることを目的に、癌細胞株より MT1-MMP が形成する分子複合体を明らかにする試みにより、下記の結果を得ている。

1. ドキシサイクリン発現誘導システムを用いて FLAG 標識した MT1-MMP および、対照を MT1-MMP ホモログである MT4-MMP のそれぞれ発現誘導可能なヒト悪性黒色腫株の樹立を行い、抗 FLAG 抗体アフィニティー担体カラムを用いて MT1、4-MMP の発現誘導に依存した蛋白質を単離した。これら単離した蛋白質をナノ流路系の逆相液体 HPLC と接続した質量分析装置により解析を試みたところ、MT1-MMP で 161 分子、MT4-MMP では 50 分子を同定した。また、CD63、 αv インテグリンや TIMP-3 など、既知の MT1-MMP 結合分子が MT1-MMP で同定した蛋白質の画分に含まれていた。

2. MT1-MMP 画分で同定した蛋白質から、9 種類の膜蛋白質に関して、MT1-MMP 複合体分子の評価を免疫沈降法により解析したところ、9 種類の膜蛋白質のうち 8 分子が MT1-MMP と共沈することが示された。また、蛍光免疫染色法から、8 種類の分子が MT1-MMP と共局在することが示された。

3. 上記に検討した 9 種類の膜蛋白質が MT1-MMP により分解されるのか否か、*in vitro* アッセイ法にて検討したところ、MT1-MMP により切断を受ける分子は EphA2 や 5T4 antigen など 4 種類含まれることが示された。

4. 本研究で解析した 9 種類の蛋白質のうち、MT1-MMP と複合体を形成することを確認した Interleukin 13 receptor alpha2、EphA2 や 5T4 antigen などの分子は、腫瘍マーカーとして臨床応用が期待されている分子であり、癌の増殖、運動や浸潤などの悪性形質に関与することが明らかとなっていることから、本研究で解析した分子と MT1-MMP の複合体形成が細胞機能に重要な機能制御が行われているものと考えられる。

以上の結果から本論文は、癌の悪性形質発現に関与する複数の分子が MT1-MMP と複合体を形成する分子として明らかにし、また、EphA2 や 5T4 antigen などの分子は MT1-MMP の標的基質となることも明らかにした。本研究により、これまでに個別に解析されてきた癌の悪性形質発現に関連する分子が、癌細胞表層で MT1-MMP と機能的複合体を形成している可能性が示され、本論文は、癌の悪性形質に関与する MT1-MMP の理解へ重要な貢献をなすと考えられ、学位授与に値するものと考えられる。