

## 審査の結果の要旨

氏名 力丸 晃子

本研究はマトリックスメタロプロテアーゼ(MMP)ファミリーの中で、膜結合様式やアミノ酸配列などから独自の機能を持つことが推察されている GPI アンカー型膜型 MMP である MT4-MMP について、その発現細胞と発現細胞における機能を明らかにするため、解析ツールとなる遺伝子変換マウスの作製とそれを利用した MT4-MMP 発現細胞の同定及び機能解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. マウスの MT4-MMP エクソン 1 の転写開始コドンを含む領域に核移行シグナルを持つ LacZ 遺伝子を挿入し、MT4-MMP プロモーター制御下で LacZ を発現する遺伝子変換マウスを作製した。リアルタイム PCR の結果、精巣以外の各組織において野生型マウスにおける MT4-MMP mRNA 量とホモ接合型マウスにおける LacZ mRNA 量は相関し、ホモ接合型マウスの LacZ 発現は野生型マウスで MT4-MMP の転写を反映していることを示した。
2. マウス各組織の MT4-MMP の転写量をリアルタイム PCR によって解析した結果、MT4-MMP mRNA は解析した全組織に発現が認められ、特に、大脳、肺、子宮で高発現していることが示された。
3. 大脳組織から抽出したタンパク質を用いて IP-Western blot を行った結果、野生型及びヘテロ接合型マウスで MT4-MMP のタンパク質が検出され、ホモ接合型マウスでは検出されなかった。よって、今回作製したマウスはタンパク質レベルでも MT4-MMP が欠損していることを示した。また、大脳組織の LacZ 染色像、ニューロフィラメント抗体との共染色像から MT4-MMP は大脳において主に神経細胞で発現していることを示した。しかし、海馬では LacZ 染色によって錐体細胞層及び顆粒細胞層双方が一様に染色されているのに対し、大脳皮質では錐体細胞優位に染色され、大脳の部位によって MT4-MMP の発現に差があることを示した。

4. 子宮組織をはじめ、小腸、大腸の腸管組織及び大動脈などの平滑筋細胞層が LacZ で染色され、また、 $\alpha$ -SMA 抗体との共染色像と IP-Western blot の結果から、MT4-MMP が平滑筋細胞で発現していることを同定した。そして、リアルタイム PCR の結果、大脳など一部の組織を除いて、SMA mRNA 量と MT4-MMP mRNA 量は相関し、MT4-MMP は主に平滑筋細胞で発現していることを示した。
5. 肺の LacZ 染色像から、肺胞マクロファージにおける MT4-MMP の発現を推察し、さらに、脾臓赤脾髄の LacZ 染色像、肺胞及び腹腔マクロファージの LacZ 染色とマクロファージ特異的抗体 F4/80 との共染色像の結果から、MT4-MMP が組織マクロファージで発現していることを同定した。
6. 腹腔マクロファージを用いてマクロファージの基本的機能である貪食能、移動能、浸潤能について MT4-MMP 欠損による影響を解析した結果、それら機能では MT4-MMP が関与していないかあるいは他の酵素によって代償されていることが示唆された。また、*in vitro* の報告で示唆されている TNF- $\alpha$  のコンバーティング能についても、MT4-MMP 欠損マウスのマクロファージと野生型マウスのマクロファージは同等の TACE 様活性をもち、TNF- $\alpha$  のコンバーティングは、MT4-MMP の欠損に影響されないことを示した。
7. 生体内の急性炎症における MT4-MMP の寄与について局所性及び全身性炎症で検討したが、MT4-MMP 欠損による影響はみられず、MT4-MMP は急性炎症において主要な役割を演じていないことを示した。

以上、本論文は MT4-MMP プロモーター制御下に LacZ を発現する遺伝子変換マウスを作製し、そのマウスを解析した結果、MT4-MMP が神経細胞、平滑筋細胞、組織マクロファージに発現していることを同定した。本研究は MT4-MMP の今後の研究に有用な情報とツールをもたらし、これまで未知だった生体内における MT4-MMP の機能の解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。