

研究成果報告書

増殖因子結合蛋白としてのメタロプロテアーゼ の病態生理学的意義の解明

課題番号 16590680

平成 16 年度～平成 17 年度科学研究費補助金

(基盤研究 (C)) 研究成果報告書

平成 18 年 5 月

京都大学図書



1060668009

西 英一郎

附属図書館

京都大学・医学研究科 助教授

【はしがき】

本プロジェクトは、メタロプロテアーゼのM16ファミリーに属するNardilysin (NRDc) をEGFファミリーに属するHB-EGFの新規膜表面結合タンパク質として同定したことに端を発する(Nishi 他 EMBO. J, 2001)。NRDcはHB-EGFに特異的に結合し、同因子による細胞遊走を増強したが、そのメカニズムは不明であり、癌、心血管疾患におけるEGFファミリーとその受容体の重要性を鑑みた時、この全く新しい分子間結合の生物学的意義の解明は重要と考えられた。分泌型HB-EGFの新規膜表面結合タンパク質としてNRDcを同定した経緯より、当初からNRDcがEGFRの共役受容体として機能しているという仮説を検証する形で実験を進めてきたが、NRDc-EGFRの2量体あるいはHB-EGF-NRDc-EGFRの3量体の存在は確認できず、仮説の軌道修正を迫られた。HB-EGFは膜結合型の前駆体として生成された後、細胞外ドメインシェディング(膜近傍部での蛋白分解により、膜蛋白質の細胞外ドメインが不可逆的に切断される現象)を受けて分泌型となるが、このシェディングがHB-EGFの生理活性発現において極めて重要であることは様々な形で確かめられている。NRDcのHB-EGF膜結合型前駆体への生理作用を検討する過程で、NRDcがHB-EGFの前駆体とも結合することを確認し、同分子のHB-EGFのシェディングに対する効果を検討した所、強力なシェディング増強効果を有することが明らかになった。

細胞外ドメインシェディングは、定常状態の細胞においても少しずつ生じているが、細胞の活性化に伴い劇的に誘導される。メタロプロテアーゼ、中でもTNF- α converting enzyme (TACE)などADAMファミリーに属する酵素群が、シェディングを司る主な切断酵素であることが知られているが、その活性化機構はよくわかっていない。我々は、1) NRDcがHB-EGFのシェディングを正に調節していること、2) NRDcはTACEと複合体を形成し、TACE活性の増強を介してシェディングを増強すること、3) シェディング誘導因子(ホルボールエステルなど)がNRDcとTACEの複合体形成を促進すること、4) NRDcの発現を抑制すると、HB-EGFのシェディングも抑制されること、を明らかにした。更に、5) NRDcのシェディング増強効果はHB-EGFに限定されず広範な膜蛋白質に及ぶこと、6) NRDcはTACE以外のADAM蛋白の活性も増強すること、を示し、これまで全くわかっていなかったADAM蛋白、そして細胞外ドメインシェディングの活性化機構の一端を明らかにした(Nishi 他 論文校正中、Hiraoka 他 論文準備中、Yoshida

他 論文準備中)。これらの結果に立脚し我々は、シェディング誘導因子の刺激により①『NRDc の細胞膜上への移動』が起こり、②『TACE と結合』することで、③『TACE のコンフォメーションの変化による酵素活性の増強』を起こし、その結果④『基質膜蛋白質の細胞外ドメインシェディングの増強』を誘導する、という NRDc-ADAMs システム仮説を提唱している。現在、目的 1) この仮説を証明する形で、NRDc による ADAM 活性化のより詳細な分子機構を解明すること、2) NRDc 遺伝子改変マウスを用いて、NRDc-ADAM システムの生体での意義を解明すること、3) NRDc をターゲットとした抗シェディング療法の開発、4) 細胞外ドメインシェディング誘導に重要な新規分子の探索、を目指して実験を進めている。

【研究組織】

研究代表者：西 英一郎 (京都大学医学研究科 助教授)

交付決定額 (配分額)

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
平成 16 年度	2,200,000	0	2,200,000
平成 17 年度	1,400,000	0	1,400,000
総計	3,600,000	0	3,600,000

【研究発表】

1. 英文原著および総説

Nishi ,E. and Klagsbrun, M.: Heparin-Binding Epidermal Growth Factor-Like Growth Factor (HB-EGF) is a Mediator of Multiple Physiological and Pathological Pathways . Growth Factors. 2004 ; 22 : 253-260.

Ohtsuka, T., Imayoshi, I., Shimojo H, Nishi E, Kageyama R, McConnell SK.

Visualization of embryonic neural stem cells using Hes promoters in transgenic mice.

Mol Cell Neurosci. 2006; 31: 109-22.

【学会報告】

1. 国際学会における発表

Nishi, E.: Nardilysin, Metalloendopeptidase of M16 family, Induces the Ectodomain Shedding of HB-EGF,

Gordon Research Conference (Proteolytic Enzyme & the Inhibitors) (July 4-9, 2004, New Hampshire, USA)

Nishi, E, Hiraoka, Y, Yoshida, K, Nishimoto, N: Nardilysin enhances ectodomain shedding of membrane proteins through activation of disintegrin-metalloproteases

Gordon Research Conference (Matrix Metalloproteases) (Aug 28-Sep 2, 2005, Big Sky, MT, USA)

Hiraoka Y, Yoshida K, and Nishi E: Nardilysin Enhances α -Secretase Activity for Amyloid Precursor Protein. American Society for Cell Biology (ASCB) 45th Annual Meeting, Dec 10-14, 2005, San Francisco, CA, USA.

2. 国内学会における発表

西 英一郎、メタロプロテアーゼ、Nardilysin を標的にした抗シェディング療法の提唱

京都大学「医学領域」産学連携推進機構 平成17年度 第2回 産学情報交流会

平成17年8月19日, 京都

西 英一郎、平岡 義範、吉田 和弘、北 徹

ナルディライジンは TNF- α 変換酵素を活性化し、膜タンパク質のシェディングを増強する

第13回に本血管生物医学会

平成17年10月25-6日、仙台

西 英一郎、細胞外ドメインシェディング誘導における ADAM プロテアーゼ活性の制御機構

大阪大学蛋白質研究所セミナー、Membrane-proximal proteolysis: 膜近傍におけるプロテオシス研究の最先端

平成 18 年 2 月 21 日、大阪

【特許出願】

発明の名称：細胞外ドメインシェディングの異常亢進に起因する疾患の予防
及び／又は治療のための医薬

発明者：西英一郎

国内出願日：2005 年 3 月 1 日

出願番号：2005-055495

発明の名称：細胞外ドメインシェディングの異常亢進に起因する疾患の予防
及び／又は治療のための医薬

発明者：西英一郎

国内出願日：2006 年 2 月 28 日

出願番号：PCT / JP2006 / 303687