

京都大学	博士 (医学)	氏名	森岡 洋子
論文題目	The membrane-anchored metalloproteinase regulator RECK stabilizes focal adhesions and anterior-posterior polarity in fibroblasts (線維芽細胞において膜結合型メタロプロテアーゼ制御因子 RECK は接着斑と前後方向の極性を安定化させる)		
(論文内容の要旨) 細胞外マトリックス (ECM) は、細胞間隙を満たすのみならず、細胞自体の分裂、分化、移動、死などの運命決定に深く関わりとされている。個体発生やホメオスタシス維持において、良く制御された ECM リモデリングが必要となる場合が多いが、ECM 分解に関わる細胞外プロテアーゼとしてマトリックス・メタロプロテアーゼ (MMP) ファミリーが良く研究されており、MMP の脱制御が癌の浸潤、転移、血管新生に関わることも知られている。 <u>Reversion-inducing cysteine-rich protein with Kazal motifs (RECK)</u> は、活性型 <i>Ras</i> がん遺伝子によって悪性転換したマウス線維芽細胞の悪性形質を抑制する遺伝子として発見された遺伝子であり、GPI アンカー型膜結合糖タンパク質をコードする。RECK の発現は、様々な固形がんの組織で低下しており、切除腫瘍における RECK の発現量と患者の予後の間に相関性が見られる場合が多い。また、マウスでの腫瘍移植実験において、RECK の強制発現が血管形成、浸潤、転移を抑制する効果を持つことが示されている。 マウス胎児において RECK は、軟骨、骨格筋、神経筋接合部など ECM の蓄積が見られる部位で高く発現している。RECK 欠損マウスは、胎生 10.5 日頃に、I 型コラーゲンの著しい減少と間葉系組織、神経管、血管系などにおける発生の異常を伴って死亡する。RECK は、少なくとも 3 種類の MMP (MMP-2、MMP-9、MT1-MMP) や ADAM10、CD13/aminopeptidase N などの細胞外プロテアーゼを負に制御することが分かっている。しかし、RECK の細胞レベルでの生理機能には不明な点が多い。 そこで、本研究では、正常マウスおよび RECK 欠損マウスの胎児由来線維芽細胞 (MEF) を用い、RECK の個々の細胞における局在や RECK 欠損が細胞挙動に与える影響などを解析した。その結果： 1) RECK は核近傍の細胞質および細胞表面、特に ruffling 部位に豊富に存在する。 2) RECK 欠損細胞では、基質接着後の伸展 (spreading) が抑制されており、前後方向の極性がはっきりしないものが多い。 3) RECK 欠損細胞は、遊走因子 (PDGF) に対する走化性は示すが、正常細胞に比べて移動速度は高まり方向持続性は低下している。 4) RECK 欠損細胞では、接着斑 (focal adhesion) の安定性が低く、Rac1 と Cdc42 の活性化が異常に亢進している。 5) RECK 欠損細胞の表面では ECM 分解活性が著しく増加している。 6) RECK 欠損細胞で見られる形態や挙動の特徴は、活性化 RAS 遺伝子を持つ細胞株でもみられた。 7) RECK 欠損細胞で見られる異常は、フィブロネクチン基質上では軽減される。 以上の結果から、RECK は、細胞周囲の ECM、特にフィブロネクチンの分解			

を抑制し、細胞接着を安定化させることにより、前後方向の極性と移動方向を安定化させるものと考えられた。また、がん細胞ではこれらの特徴が失われている可能性が示唆された。

(論文審査の結果の要旨)

活性化*Ras*遺伝子によって悪性転換したマウス線維芽細胞に扁平復帰を誘導するcDNAとして単離された*RECK*は、様々なヒト固形がんが発現低下が見られ、マウスの発生に必須であることが先行研究において示されている。RECKは、いくつかのマトリックス・メタロプロテアーゼ(MMP)を制御することも見出されているが、細胞レベルでの生理機能にはなお不明の点が多い。

そこで申請者らは、正常マウスおよび*RECK*欠損マウスの胎児由来線維芽細胞 (MEF) を用い、RECKの細胞内局在やRECKの欠損が細胞挙動に与える影響を解析し、以下の知見を得た:

- 1)RECKは核近傍の細胞内および細胞表面に比較的多く存在する。
- 2)RECK欠損細胞では、細胞伸展の低下、前後極性の不明瞭化、接着斑 (focal adhesion) の不安定化などが見られる。また、細胞表面におけるMMP依存的なgelatin分解活性の上昇が見られる。
- 3)RECK欠損細胞で見られる形態および運動の異常は、フィブロネクチン基質上で抑制される。
- 4)RECK欠損細胞で見られる形態および運動の特徴は、活性化RAS遺伝子を持つ細胞株でもみられる。

これらの知見より、RECKは、細胞表面近傍における細胞外マトリックス分解の制御を通じて、細胞接着を安定化させ、細胞移動の方向を一定に保つ働きを持つものと考えられた。

以上の研究は、転移抑制分子RECKの生理機能と作用機構の解明に貢献し、分子腫瘍学の発展に寄与するところが多い。したがって、本論文は博士(医学)の学位論文として価値あるものとみとめる。

なお、本学位授与申請者は、平成21年2月10日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日以降