

氏名	みやもと しんいち
学位の種類	博士 (医学)
学位記番号	医博第 2687 号
学位授与の日付	平成 16 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研究科・専攻	医学研究科内科系専攻
学位論文題目	Matrix Metalloproteinase-7 Facilitates Insulin-like Growth Factor Bioavailability through its Proteinase Activity on Insulin-like Growth Factor Binding Protein-3 (マトリックスメタロプロテアーゼ-7はインスリン様増殖因子結合蛋白-3を分解する酵素活性を有し、インスリン様増殖因子の生物学的利用を高める。)
論文調査委員	(主査) 教授 鍋島陽一 教授 日合弘 教授 千葉勉

### 論文内容の要旨

マトリックスメタロプロテアーゼ(MMP)-7は間質細胞が主に分泌する他のMMPとは異なりがん細胞自身が分泌し、種々の細胞外マトリックスを分解することによりがんの浸潤、転移に重要な役割を果たしている。一方、最近の疫学的検討から血中のインスリン様増殖因子(IGF)の高値もしくはその機能を抑制するIGF結合蛋白(IGFBP)-3の低値が大腸がん、乳がん、前立腺がんおよび肺がんの発生と相関することが知られている。しかしながらこの原因を説明する分子機構は不明であった。IGFは主として肝臓で産生され、種々の細胞に対して増殖因子として働くだけでなく、抗アポトーシス作用や血管新生作用など多彩な生物学的効果をもたらす。しかしながらIGFは生理的条件下ではIGFBP-3と複合体を作り90%以上が非活性型として存在し、活性化にはプロテアーゼによるIGFBP-3の分解が必須である。IGFBP-3プロテアーゼとして現在までプラスミン、前立腺特異抗原、カテプシンDなどが報告されているがいずれも基質特異性は低く生理的な意味合いは不明であった。上記のがんはいずれもMMP-7を分泌することが報告されており特に大腸がんにおいては臨床検体の80%以上の症例で発現が確認されている。そこで申請者らは本研究でIGFBP-3がMMP-7の生理的な基質である可能性を評価する目的で精製蛋白を用いて *in vitro* での分解実験を試みた。IGFBP-3はMMP-7により濃度依存的、時間依存的に分解され26kDの断片を生じたがMMP-2、MMP-3にはこの活性は認められなかった。さらにこの活性はEDTA、1,10-フェナンスロリンといった2価イオンのキレート剤によって濃度依存的に抑制され、MMPの生理的抑制蛋白であるTIMP-1によっても抑制されたがセリンプロテアーゼインヒビターによっては抑制されなかった。以上より *in vitro* でMMP-7がIGFBP-3プロテアーゼ活性を持つことが示された。さらに詳細な検討の結果、IGFBP-3はMMP-7により26kD、17kD、15.5kD(2種)の少なくとも4つの断片に分解されることが明らかとなった。それぞれの断片をエドマン分解によりN末解析を行ったところR<sup>95</sup>-L<sup>96</sup>、K<sup>144</sup>-I<sup>145</sup>の2ヶ所の分解部位が同定された。前者はプラスミンにより報告のある部位であったが後者はまったく新規の部位であり、MMP-7特異的と考えられた。次にMMP-7によるIGFBP-3の分解がIGF signalに与える影響をIGF type1 receptor(IGF-1R)およびAktのリン酸化を指標に検討したところ3種の細胞株においてIGFBP-3によるIGF signalの抑制はMMP-7により完全に解除された。さらにMMP-7はIGFBP-3によって抑制されたIGFの抗アポトーシス効果も完全に回復させた。In vivo では大腸がんの臨床検体においてIGF-1RとMMP-7の共発現が確認された。

以上よりMMP-7によって活性化されたIGFががんの発生、転移に重要な役割を果たすことが示唆された。本論文の知見は腫瘍発生および臓器(特に肝)特異的転移を説明する新たな分子モデルを提唱するだけでなく、MMP-7ががん細胞由来であることからIGFBP-3分解産物の腫瘍マーカーとしての利用、がん特異的なドラッグデリバリーシステムの開発、MMP-7耐性IGFBP-3アナログを用いた治療法の開発など様々な臨床応用の可能性を内包している。

## 論文審査の結果の要旨

最近の疫学的検討から血中のインスリン様増殖因子 (IGF) の高値もしくはその生理的な抑制蛋白である IGF 結合蛋白 (IGFBP)-3 の低値が大腸がん、乳がん、前立腺がんおよび肺がんの発生と相関することが知られている。一方、これらのがんはいずれもマトリックスメタロプロテアーゼ (MMP)-7 を分泌する。IGF は主として肝臓で産生され、生理的条件下では IGFBP-3 と複合体を作り非活性型として存在し、活性化にはプロテアーゼによる IGFBP-3 の分解が必須である。これらの背景をもとに申請者らは本論分で初めて、MMP-7 が IGFBP-3 プロテアーゼ活性を持つことを報告した。IGFBP-3 は MMP-7 により 26kD, 17kD, 15.5kD (2 種) の少なくとも 4 つの断片に分解された。N 末解析の結果、切断部位の 1 つ (<sup>144</sup>Lys-<sup>145</sup>Ile) は新規の切断部位であり MMP-7 特異的であった。また MMP-2,3 にはこの活性が見られず、IGFBP-3 は MMP-7 の有力な生理的基質と考えられた。さらに MMP-7 は IGFBP-3 による IGF signal の抑制を完全に解除し、IGFBP-3 によって抑制された IGF の抗アポトーシス効果も完全に回復させた。また大腸がんの臨床検体において IGF I 型受容体と MMP-7 の共発現が確認された。これらの結果から MMP-7 によって活性化された IGF ががんの発生、転移に重要な役割を果たすことが示唆された。以上の研究は細胞由来のプロテアーゼによる増殖因子の局所的な活性化という新たな観点から、腫瘍発生および臓器特異的転移の解明に貢献し、IGFBP-3 の分解産物の腫瘍マーカーとしての利用、MMP-7 耐性 IGFBP-3 アナログを用いた治療法の開発などの臨床応用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認める。なお、本学位授与申請者は、平成16年1月14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。