

氏 名	オ 吳 ジュン 俊 瑞
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2444 号
学位授与の日付	平 成 14 年 3 月 25 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 分 子 医 学 系 専 攻
学位論文題目	The Membrane-Anchored MMP-Inhibitor RECK is a Key Regulator of Extracellular Matrix Integrity and Angiogenesis. (細胞膜結合型 MMP 阻害分子 RECK は、細胞外マトリックス構築及び血管新生の重要な制御因子である)
論文調査委員	(主 査) 教 授 中 尾 一 和 教 授 月 田 承 一 郎 教 授 野 田 亮

論 文 内 容 の 要 旨

細胞外マトリックス (ECM) のリモデリングは、動物の発生や成長においてのみならず、がん、創傷治癒、関節炎、骨多孔症などの病態においても重要な役割を演ずる。マトリックス・メタロプロテアーゼ (MMP) ファミリーは、ECM の様々な成分を分解する活性を持ち、ECM リモデリングに深く関わる。MMP は、一般に前駆体として合成され、必要に応じてプロドメイン切断 (プロセッシング) による活性化を受ける。これまでに発見された20種以上の MMP 中、特に MMP-2, MMP-9, MT1-MMP は、がん細胞の浸潤・転移に関与すると考えられている。

申請者らの研究室では、活性化 ras でトランスフォームした NIH3T3 細胞に、ヒト正常線維芽細胞 cDNA 発現ライブラリーをトランスフェクトし、正常復帰変異株を単離するという方法により、トランスフォーメーション抑制遺伝子を単離してきた。本研究で取り上げた RECK は、プロテアーゼ・インヒビター・モチーフを持ち、細胞膜に GPI アンカーされる分子量 110kDa の糖タンパク質をコードする遺伝子であり、様々な正常組織において比較的高い発現が見られるが、多くの腫瘍由来細胞株やトランスフォーム細胞では発現が低下している。また、RECK 遺伝子をがん細胞株内で強制発現させると、MMP-9 前駆体の分泌抑制と、転移・浸潤能の抑制が観察された。

今回、申請者らは、RECK タンパク質の作用機構および生理機能を知るために、以下のような実験を行った：

1) がん細胞内で RECK 遺伝子を強制発現させた際に起こる細胞外ゼラチン分解酵素活性の変化を、ザイモグラフィーによって詳細に検討した。その結果、RECK は、MMP-2 前駆体のプロセッシングも阻害することが見出された。組換え体タンパク質を用いた酵素化学的解析によって、RECK は、MMP-2 前駆体のプロセッシング酵素である MT1-MMP および活性化型 MMP-2 を直接阻害することが分かった。すなわち、RECK は、発がんに関わるとされる 3 種の MMP を制御することが示された。

2) RECK 遺伝子欠損マウスを作成し、その表現型を解析したところ、ホモ接合体は胎生10.5日前後に、野生型に比べやや小型の体軀、基底膜や結合組織の乱れ、コラーゲン線維の減少、血管成熟の遅延、腹部内出血などを伴い死に至ることが分かった。これらの内、体の大きさや基底膜の乱れは、MMP-2 遺伝子の変異を追加導入することによって緩和されたが、死期は0.5日遅延したのみであった。

3) RECK の発現が低下している線維肉腫由来細胞株 HT1080 にコントロール・ベクターまたは RECK 発現ベクターを導入し、ヌードマウス皮下に移植して腫瘍を形成させたところ、コントロールに比べ、RECK 発現腫瘍において、宿主動物の延命と腫瘍内部での血管分枝の著しい阻害が観察された。

以上の結果より、RECK は複数の MMP を阻害することによって ECM リモデリングの制御に関与し、殊に血管の成熟とパターン形成において重要な役割を演ずる事が示唆された。

論文審査の結果の要旨

申請者らは、トランスフォーメーション抑制活性を持つ膜結合型糖タンパク質 RECK の機能を知るために、3 種の実験を行い、以下のような知見を得た：

1) N-ras 活性化変異を持つヒト繊維肉腫細胞株 HT1080 に RECK を強制発現させると、培養上清中の活性化型 MMP-2 の量が著しく減少する。組換え体タンパク質を用いた実験から、RECK は、MT1-MMP と MMP-2 の阻害を通して pro-MMP-2 のプロセッシングを抑制する事が推測された。

2) RECK 遺伝子ホモ欠損マウスは、胎生10.5日前後に繊維状コラーゲンの著しい減少、血管の未発達などを伴って死亡し、この表現型は MMP-2 の欠損によって部分的に抑制された。

3) RECK を強制発現させた HT1080 細胞をヌードマウス皮下に移植すると、腫瘍の容積はコントロールと同様に増大するが、宿主の延命効果がみとめられた。組織学的解析により、RECK 発現腫瘍では血管の分枝が著しく抑制されていることが見出された。

これらの結果より、RECK が膜結合型 MMP 制御因子として、血管の成熟とパターン形成に重要な役割を演ずることが示唆された。

以上の研究は、血管新生における細胞外マトリックス・リモデリングの役割解明に貢献し、血管生物学および分子腫瘍学の進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認める。

なお、本学位授与申請者は、平成14年1月16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。