

氏 名	えち ぜん や み ち こ 越 前 谷 美 智 子
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2899 号
学位授与の日付	平 成 17 年 5 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 分 子 医 学 系 専 攻
学位論文題目	The membrane - anchored MMP - regulator RECK is a target of myogenic regulatory factors (膜結合型 MMP 制御因子 RECK は myogenic regulatory factors の標的である)
論文調査委員	(主 査) 教 授 藤 田 潤 教 授 瀬 原 淳 子 教 授 鍋 島 陽 一

論 文 内 容 の 要 旨

RECK は活性型 *ras* 遺伝子による細胞トランスフォーメーションを抑制する cDNA として発現クローニングにより単離された。*RECK* はマトリックス・メタロプロテアーゼ (MMP) 阻害活性を持つ分子量約 110kDa の GPI アンカー型糖タンパク質をコードし、多くの悪性固形腫瘍で発現低下が見られる。線維肉腫細胞株を用いたモデル実験では、*RECK* の強制発現により細胞の浸潤能、転移能、血管新生誘導能等の抑制が観察されている。また、腫瘍組織における残存 *RECK* 発現量が患者の良好な予後と相関することが、肝、乳、膵、大腸、肺などの癌で見出されている。*RECK* 欠損マウスは、血管を含む様々な組織の発生異常を伴い胎生10.5日前後に死亡するが、この効果は MMP-2 との 2 重変異によって部分抑制されることから、*RECK* が MMP-2 の制御等を介して哺乳類の胚発生に必須の役割を果たしていることが判明した。しかし、胎生10.5日以降の発生や成体における *RECK* の機能、また発がんにおけるその役割の詳細に関しては不明である。

そこで、胎生10.5日以降のマウス胚における *RECK* の発現を、免疫染色法によって解析したところ、胎生13.5日前後の胚においては、骨格筋で *RECK* の高い発現が検出された。筋芽細胞の融合による筋管形成には、MMP ファミリーや ADAM ファミリーなどのメタロプロテアーゼが何らかの役割を演ずることが示唆されている。そこで、MMP 制御因子である *RECK* がこの過程に及ぼす影響について培養細胞を用いた検討を行った。その結果、以下の知見が得られた：

- 1) 胎生10.5日胚の全細胞を分散培養すると、*RECK* 欠損マウス由来細胞では野生型マウス由来細胞に比べ、明らかに多くの筋管が形成された。
- 2) マウス筋芽細胞株 C2C12 における筋管形成は、*RECK* の強制発現により抑制された。一方、2 種の MMP ファミリー分子 (MMP-2 と MT1-MMP) の強制発現は、筋管形成を促進した。
- 3) 線維芽細胞株に MyoD を強制発現させ、血清濃度を下げることによって筋管形成を誘導するという実験においても、*RECK* の発現は、筋管形成の頻度と筋管あたりの核の数を抑制した。
- 4) マウス線維芽細胞 C3H10T1/2 に MyoD を強制発現させると、*RECK* の発現は抑制された。
- 5) 4 種の筋形成制御因子 (MyoD ファミリー転写因子群) が *RECK* 遺伝子の転写に与える影響を luciferase 法によって解析したところ、MyoD は *RECK* プロモーターを抑制するのに対し、MRF4 は *RECK* プロモーターを活性化することを見出した。
- 6) マウス13.5日胚の切片における MyoD、MRF4、*RECK* の局在を免疫染色法により比較し、MRF4 と *RECK* の染色パターンが酷似していることを見出した。

これらの結果より、骨格筋形成には、*RECK* の発現が MyoD により抑制される（おそらく筋管形成）過程と MRF4 により促進される（おそらく細胞外マトリックス蓄積）過程が含まれることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

膜アンカー型 MMP 制御因子 RECK は、多くの固形がんで発現低下が見られ、RECK を強制発現させたがん細胞では浸潤、転移、血管新生の抑制が見られる。RECK 欠損マウスは胎生10.5日で死亡するため、RECK の生理機能に関しては不明の点が多い。

申請者は、胎生13.5日前後のマウス胚では、筋肉で RECK の発現が高いことに着目し、その意義について検討した。その結果、RECK の発現が培養筋芽細胞の myotube 形成を阻害すること、MyoD が RECK の発現を抑制すること、MyoD と近縁の転写因子 MRF4 は RECK の発現を逆に活性化することなどを見出した。マウス胎児の免疫組織化学的解析においても、RECK と MRF4 の発現パターンは類似しているが、RECK と MyoD の発現パターンは異なることが観察された。これらの結果より、骨格筋形成には、MyoD により RECK の発現が抑制され、筋管形成が促進される過程と、MRF4 により RECK の発現が活性化され、細胞外マトリックスの分解が抑制される過程が含まれることが示唆された。

以上の研究は、筋肉発生における細胞外マトリックスの役割の解明に貢献し、腫瘍悪性化機構の理解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17年 5 月 9 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。