慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	Periceilular activation of proMMP-7 (promatrilysin-1) through interaction with CD151
Sub Title	潜在型MMP-7(潜在型マトリライシン-1)のCD151との相互作用を介した細胞周囲での活性化
Author	潮見, 隆之(Shiomi, Takayuki)
Publisher	慶應医学会
Publication year	2006
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.83, No.1 (2006. 3) ,p.6-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20060302-0006

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

Pericellular activation of proMMP-7（promatrilysin-1）through interaction with CD151

（潜在型 MMP-7（潜在型マトリライシン-1）のCD151との相互作用を介した細胞周囲での活性化）

潮　見　　隆　之

内容の要旨

マトリックスメタロプロテアーゼ（MMP）遺伝子ファミリーは、Zn^{2+}イオンを必要とするメタロプロテアーゼで、ヒトでは23種類の分子種が同定されている。これらの酵素群は、生体内のほとんどすべての細胞外マトリックス（ECM）成分に加えて非ECM分子分解能を有し、生理的状態での組織構築改変や病的状態での組織破壊に重要な役割を果たしている。ヒト肺癌や子宮内膜癌においては、MMP遺伝子ファミリーの１分子である潜在型MMP-7（マトリライシン－１）の活性化が浸潤・転移や予後と相関することが報告されているが、その活性化機構は全く不明である。

本研究では、潜在型MMP-7と結合する候補分子をスクリーニングし、候補分子との相互作用と潜在型MMP-7活性化との関係を検討するとともに、これらの肺癌組織での作用について調べた。

酵母two-hybrid systemで潜在型MMP-7をbaitとして、ヒト肺組織のcDNAライブラリーをスクリーニングし、候補分子としてインテグリンと結合する４回膜貫通型の膜タンパク質であるCD151分子を見いだした。MMP-7とCD151の両分子を発現するヒト直腸癌由来細胞株CaR-1細胞からMMP-7あるいはCD151を免疫沈降すると、両分子は共沈した。また、CD151を強制発現したCOS7細胞に精製した潜在型MMP-7を加えて免疫沈降しても、同様のデータが得られた。一方、精製した潜在型MMP-3を加えた実験では、共沈しなかった。アイソトープ標識潜在型MMP-7を用いたbinding assayでは、CD151発現細胞に有意に潜在型MMP-7が結合し、非標識潜在型MMP-7による競合阻害実験および抗CD151抗体を用いた阻害実験により結合の特異性が証明された。さらに、共焦点レーザー顕微鏡による観察で、両分子はこれらの細胞膜上に共存した。潜在型MMP-7とCD151のdeletion mutantを用いた酵母two-hybrid assayにより、潜在型MMP-7のpropeptideとCD151のCOOH末端側の細胞外ループが結合に関与していることを明らかにした。*In situ* zymographyにより、両細胞はプロテアーゼ活性を出現し、その活性はMMP阻害剤やMMP-7抗体およびCD151抗体で阻害され、両分子の相互作用により潜在型MMP-7が活性化されることを証明した。さらに、ヒト肺癌組織においても、両分子の相互作用による潜在型MMP-7活性化を認めた。

以上の結果は、CD151が潜在型MMP-7との結合により細胞膜表面での潜在型MMP-7の活性化に関わることを示しており、本活性化機構がヒト肺癌の浸潤・転移をはじめとした種々の病的組織破壊に関わる可能性を示唆している。

論文審査の要旨

ヒト肺腺癌や子宮内膜腺癌において、潜在型MMP-7（マトリライシン－１）の活性化が浸潤・転移や予後と相関することが報告されているが、その活性化機構は不明である。本研究では、酵母two-hybrid systemで潜在型MMP-7結合候補分子としてCD151分子を見い出し、両分子の結合を免疫沈降法とbinding assayで証明するとともに、共焦点レーザー顕微鏡により細胞膜上での両分子の共存を確認した。また、酵母two-hybrid assayにより、潜在型MMP-7のpropeptideとCD151のCOOH末端側の細胞外ループが結合に関与していることを示した。さらに、*in situ* zymographyで両分子の相互作用により潜在型MMP-7が細胞膜上で活性化されることを明らかにし、本活性化機構がヒト肺腺癌組織においても作用していることを示した。

審査では、CD151とインテグリン分子の結合部位について質問があり、COOH末端側の細胞外ループが関与していると回答された。また、実験で用いた細胞におけるインテグリン分子の発現について質問され、CaR-1細胞ではインテグリンα3，α6，β1，β4が発現していると説明された。トリプシンによる潜在型MMP-7の活性化について説明を求められたが、これまでのデータは*in vitro*での活性化であり、生体内での関与については報告がないと回答された。*In situ* zyomographyの像の解釈と用いた２種類の細胞による基質分解パターンの違いについて質問があり、写真が白黒で分かりにくくなっている点とMMP-7の産生量や活性化因子の発現レベルの差を反映している可能性が高いと説明された。また、活性化における基質の必要性について質問があった。これに対しては、基質の存在下ではCD151およびインテグリンの膜表面上での安定性に変化が生じ、潜在型MMP-7の活性化が促進されるためと説明された。免疫二重染色について使用している２つの抗CD151抗体のうち、CD151との結合をブロックする抗体で染色しても両分子が共存することを示す所見が得られた理由について質問された。これについては、CD151は局所に濃縮しており、潜在型MMP-7が結合したCD151とfreeのCD151が近接して存在しているためではないかと回答された。また、免疫二重染色においてCD151の染色が細胞質内に認められる原因について質問され、CD151の一部は細胞質内にも局在するとの報告があると回答された。CD151のpeptidase活性の有無については、アミノ酸シークエンスおよびこれまでの文献上、活性は無いと説明された。

以上、本研究は活性化因子が決定されていないという課題を残しているものの、潜在型MMP-7が細胞膜上でCD151との相互作用で活性化されるという新規活性化機構を細胞およびヒト肺癌組織で証明しており、MMPと癌細胞浸潤・転移研究分野において有意義な研究と評価された。

論文審査担当者　主査　病理学　岡田　保典
　　医化学　末松　　誠　　微生物学・免疫学　小安　重夫
　　病理学　坂元　亨宇

学力確認担当者：
　　審査委員長：末松　　誠

試問日：平成17年11月28日