

学位授与番号	医博甲第1504号
学位授与年月日	平成14年3月22日
氏名	宮森久志
学位論文題目	Claudin Promotes Activation of Pro-matrix Metalloproteinase-2 Mediated by Membrane-type Matrix Metalloproteinases (クローディンは、模型 MMP による pro-MMP-2 の活性化を促進する)
論文審査委員	主査 教授 向田直史 副査 教授 山本博 教授 村上清史

内容の要旨及び審査の結果の要旨

膜型マトリックスメタロプロテアーゼ-1(MT1-MMP)はI,II,III型コラーゲン・ファイブロネクチンなどの細胞外マトリックスを直接分解し、また基底膜構成成分であるIV型コラーゲンの分解酵素Pro-MMP-2を活性化することで癌の浸潤・転移に促進的に働くと考えられている。しかしながら、MT1-MMPの活性制御機構についての知見は依然乏しい。そこで本研究では、Pro-MMP-2の活性化を指標としたMT1-MMP活性制御因子の探索を試みた。

MMPの豊富な産生源であるヒト胎盤由来cDNA発現ライブラリーを、MT1-MMP、Pro-MMP-2発現プラスミドと共にヒト胎児腎由来HEK293T細胞に導入し、MT1-MMPによるPro-MMP-2活性化をゼラチンザイモグラフィ法により検討した。得られた結果は以下のように要約される。

1. 発現クローニング法によりMT1-MMPによるPro-MMP-2活性化に促進的に作用する遺伝子として血管内皮細胞特異的タイトジャンクション構成タンパク質をコードするclaudin-5が得られた。
2. Claudin-5を介したMT1-MMPによるPro-MMP-2の活性化促進作用は、現在知られている膜型MMPファミリー6種類すべてについて認められた。
3. MT1-MMPによるPro-MMP-2活性化促進作用は、Claudin-5だけでなくClaudin-1,-2,-3でも同様に認められた。
4. Claudinを介したMT1-MMPによるPro-MMP-2の活性化促進作用は、Claudin-1の細胞外ドメイン変異体で喪失することからClaudinとMT1-MMPは細胞外で相互作用していると考えられた。
5. 免疫沈降法によりClaudin-1とMT1-MMP、MMP-2の結合が確認された。またこれらの結合はCOS-1細胞の内在性のClaudin-1に対しても認められた。
6. 免疫染色法によりClaudin-1とMT1-MMP、MMP-2の局在の一致が確認された。

以上よりClaudinは細胞膜表面上でMT1-MMP、Pro-MMP-2と直接結合し、これらの分子を濃縮することでPro-MMP-2活性化に促進的に働いていると考えられた。本研究は癌の浸潤・転移に重要な役割を果たすMT1-MMPの活性制御因子の新規スクリーニング法を開発し、本法を用いて活性促進因子としてクローディンを同定しその作用機序を解明したもので、癌転移研究に貢献する労作であり学位に値するものと評価した。