

ID No.215	
研究課題名	MT1-MMPおよびMT1-MMPと相互作用する分子群によるがんの悪性形質獲得の分子機序の解明と臨床応用
研究代表者	鍋島 一樹 (福岡大学・教授)
研究組織	<p>受入教員 清木 元治 (東京大学医科学研究所)</p> <p>研究分担者 宮本 新吾 (福岡大学)</p> <p>吉里 俊幸 (福岡大学)</p> <p>四元 房典 (福岡大学)</p> <p>植田 多恵子 (福岡大学)</p> <p>南 星旭 (福岡大学)</p> <p>宮田 康平 (福岡大学)</p> <p>青木 光希子 (福岡大学)</p> <p>古賀 佳織 (福岡大学)</p> <p>林 博之 (福岡大学)</p>
研究報告	
<p>本研究では、医科学研究所清木研におけるMT1-MMP結合蛋白の網羅的解析により、その結合とMT1-MMPによる活性化が証明された1)HB-EGF(ヘパリン結合型上皮系増殖因子)およびemmprin(マトリックスメタロプロテアーゼ発現誘導因子)に関して、特にその腫瘍における役割とその阻害について研究をおこなった。</p> <p>HB-EGFに関しては、i)理化学研究所長田抗生物質研究室の有するケミカルアレイを用いた新たなHB-EGF阻害物質の探求・同定、ii)HB-EGF発現調節遺伝子の同定、iii)MT1-MMPおよびHB-EGFを介したEMT(epithelial-mesenchymal transition)のヒト卵巣癌組織における実証をを23年度の目標とした。その中で、ii)に関して、卵巣癌のなかでも難治性な明細胞腺癌を用いて、HB-EGF発現調節遺伝子の同定を行った。HB-EGFが三次元増殖に必須の分子で、抗癌剤や標的治療薬の投与によりHB-EGFの発現を亢進させて薬剤への耐性を示すので、この特性を利用した。まず、明細胞腺癌細胞株を用いて、2次元培養条件下の細胞、マトリゲルを用いた3次元培養条件下の細胞、SCID MOUSEに形成された腫瘍から抽出したRNAを比較して、発現アレイ、microRNAアレイ、CGHアレイの3つのアレイシステムを利用しHB-EGF発現に関わる遺伝子の探索を行った。発現アレイの結果より、HB-EGFの発現亢進とともに血管新生に関わる遺伝子群の亢進を認めた。また、卵巣癌に対する抗癌剤の中でCPT-11(SN38)が、HB-EGFの特異的阻害薬であるCRM197との併用により効果的な抗腫瘍効果を示すことから、SN38によるHB-EGF発現に関わる転写因子の探索も同様にアレイシステムを利用して行ったところ、発現アレイで複数の転写因子を見出した。これらの転写因子のうち、転写開始前複合体形成に関与する基本的転写因子の一つでHB-EGFの発現が亢進することが明らかとなった。その転写因子の発現は卵巣明細胞癌の予後と関連し、HB-EGFの発現と相関した。以上より、HB-EGFの発現に関与するメカニズムの一端が解明され、関与する分子が絞り込まれた。今後は治療標的分子としての可能性を検証していく。</p> <p>Emmprinに関しては、その多機能性の解析を目標として、がん細胞膜上でemmprinと複合体を形成する蛋白質の質量分析(mass spectrometry, MS)による解析に取り組んだ。まずヒトEpithelioid sarcoma細胞株と線維芽細胞を共培養し、polylinker BS3(N-hydroxysuccinimide ester)によって架橋されたタンパクを解析した。目標とすべきは、非架橋資料には認められず、架橋資料にのみ認められ、Emmprinモノクローナル抗体にて認識される複合体蛋白である。この中で、full-lengthのEmmprinよりも分子量の大きな約100~140kDaの蛋白を電気泳動にて精製、抽出し、東京大学医科学研究所においてMS解析を行った。BS3にて架橋された資料(BS3使用群)から検出されたペプチド断片は516個、非架橋資料の同部位(control群)より得られたペプチド断片459個であった。このうち、control群とBS3使用群両者に共通のタンパクを除くと、149個に絞られた。この中にはemmprinを含み、さらにcaveolin-1, CD90, GLUT-1, GLUT-2, MCT-4, glypican-1 precursor等が含まれていた。現在、絞込みの継続と、複合体形成の確認およびemmprinのmatrix metalloproteinases(MMP)発現促進機能への関与の確認を行っている。</p>	